

保健食品中 DHEA 含量测定方法研究

杨大进 方从容 王竹天 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

摘 要 为检测保健食品功效成分 DHEA 的含量,应用流动相甲醇:水= 80: 20 对试样进行超声提取,采用反相高压液相色谱法,215 nm 波长定性定量分析。方法具有特异性好、准确度高、操作简便等特点,DHEA 的最小检出限为 8 ng。

关键词 保健食品 普拉睾酮 色谱法,高压液相 食品分析

DHEA(dehydroepiandrosterone,脱氢表雄甾酮)是人体肾上腺素的一种。对预防和治疗心血管疾病、增强免疫力、延缓衰老等均有一定效果。在山药、甘薯中含量较高。目前已有含 DHEA 的保健食品出现,且在国外市场上已有销售。为对这类保健食品进行有效的监督检验,迫切需要建立简便、快速有效的方法。目前 DHEA 的检验多采用分光光度法,该法实验时间长、干扰多,试剂品种多且步骤繁琐。为此,我们建立了以检测所用的流动相提取、稀释、高压液相色谱定性、定量的方法,结果令人满意。

1 材料与方法

1.1 试剂

无水乙醇 分析醇。

甲醇 保证试剂。

DHEA 标准溶液 准确称量 DHEA 标准品(Sigma 公司)0.010 0 g,加入检测用流动相并定容至 10 mL。此溶液每毫升含 1 mg DHEA。

1.2 仪器

510 高压液相色谱仪 (带 481 紫外检测器、740 积分仪、U-6K 进样器)Water 公司产品。

超声波清洗器 CX-250 北京医疗设备二厂产品。

1.3 试样预处理 准确称取一定量片剂粉末或胶囊内容物于试管中,加入流动相 10mL,使浓度为每毫升中大约含 DHEA 1 mg。超声提取 5 min 后以 3 000 r/min 离心 3 min。准确量取 2mL 试样溶液于试管中,加入流动相定容至 5 mL,摇匀。经 0.45 μm 滤膜过滤后待进样。

1.4 色谱条件

色谱柱 μBONDAPAK™C18 4.6×250 mm

柱温 室温

检测波长 215 nm

灵敏度 0.02 AUFS

流动相 甲醇:水= 80: 20

流速 0.6 mL/min

进样量 10 μL

色谱分析 量取 10 μL 标准溶液及试样溶液注入色谱仪中,以保留时间定性,以试样峰高或峰面积与标准比较定量。

1.5 计算

$$X = \frac{h_1 \times C \times V \times 5}{h_2 \times m \times 2}$$

X — 试样中 DHEA 的含量,mg/g;

h₁ — 试样峰高或峰面积;

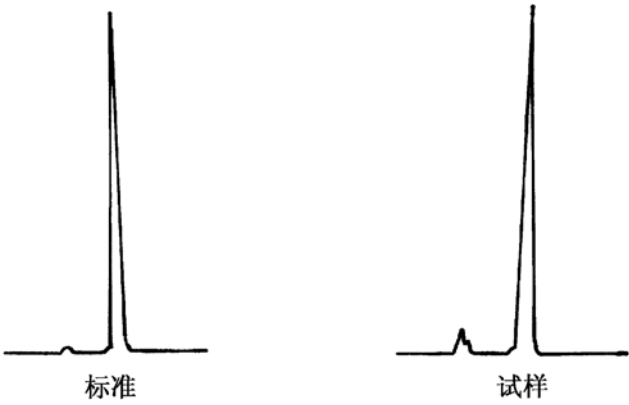
C — 标准溶液浓度,mg/mL;

V — 试样定容体积,mL;

h₂ — 标准溶液峰高或峰面积;

m — 试样量,g。

1.6 色谱图



2 结果与讨论

2.1 前处理方法的选择 目前, 由于该类保健食品属于单一成分试样, 片剂中的填充物对试样分析无干扰, 故可选择简单的前处理方法。前处理中的关键问题是要保证试样中的 DHEA 能充分溶解在提取溶剂中。对于提取溶剂曾选择甲醇、70% 乙醇、流动相三种, 使用相同试样进行多次试验发现使用流动相的效果最佳, 而且使用流动相可使实验简单避免其它溶剂干扰。

2.2 液相色谱条件的选择 对 DHEA 标准溶液进行紫外光谱检测, 发现其最大吸收波长为 215 nm, 流动相在此波长无响应。流动相采用甲醇-水效果很好, 甲醇用量在 60% 以上与检测灵敏度关系不大, 为使测定组分与杂质很好分离且保证保留时间尽可能短, 选择 5 种流动相比比例, 其中以甲醇: 水= 80: 20 最好,

下进行液相色谱分析, 以峰高对浓度作校正曲线, 得线性回归方程和线性相关系数分别为 $y = 35\,859.81 - 1\,629.94x$, $r = 0.9998$ 。

表 1 流动相选择结果

甲醇: 水	灵敏度	保留时间
98: 2	高	4.75
90: 10	高	5.44
80: 20	高	7.40
60: 40	高	9.77
40: 60	低	12.09

2.4 方法的准确性 根据试样测定步骤, 做两个浓度加标回收试验, 每个浓度作 6 个平行样, 低浓度

表 2 试样 DHEA 精密度测定 mg⁽¹⁾

试 样	1	2	3	4	5	6	$\bar{x}$	RSD
国产保健食品	28.6	28.2	27.8	27.4	28.1	27.6	28.0	1.6
进口保健食品	52.2	51.7	50.8	51.6	51.9	50.1	51.4	1.5

注: (1) 为每粒胶囊中的毫克数

2.6 实际试样测定与稳定性情况 检测申报保健食品的 DHEA 的测定结果见表 3。从检测结果看试样的标示量与实际检测结果基本吻合, 但某进口保健食品中有一批号的试样中未检出 DHEA。其稳定情况见表 4。

表 3 DHEA 测定结果 mg⁽¹⁾

试 样	产地	DHEA 标示量	DHEA 检测量
DHEA 胶囊	中国	25	25.7
		50	51.6
青春素片	美国	25	26.1
DHEA 片	美国	25	24.4
DHEA 胶囊	中国	未标示量	28.2

注: (1) 为每粒胶囊中的毫克数

中的 DHEA 的方法, 具有方法简单、分离效果好、无干扰、线性范围宽、时间短等优点, 回收率及精密度均符合食品分析的要求, 适合基层开展此项检验工作。

3.2 DHEA 与 MT(褪黑激素) 测定方法具有相似之处。特点是测定终产物的含量相对一般食品检测要简单, 但这类产品对 DHEA 纯度要求极高, 对副产物有严格限制。本研究主要提供终产品含量测定方法, 对 DHEA 纯度、副产物的要求是今后产品监测的关键, 需进一步研究。

表 4 试样中 DHEA 稳定性试验结果 mg⁽¹⁾

试样名称	产 地	第一次试验	第二次试验
DHEA 胶囊	中 国	(97.3.11) 25.8	(98.3.6) 25.1
全营养素片	美 国	(97.11.28) 28.7	(98.3.6) 27.9

注: (1) 为每粒胶囊中的毫克数

括号内为检测时间

3 结论

3.1 使用流动相提取, 高压液相色谱分析保健食品