การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์กรดไขมัน EPA และ DHA ในน้ำมันปลาโดยเทคนิค GC-FID Method development and validation for determination of EPA and DHA in fish oil by GC-FID

อภิรดี เทิดพุทธคุณ* คเณศ เต็มไตรรัตน์ ชกีเราะห์ ละใบแด มารศรี คันยุไล Apiradee Terdputtakun*, Kanate Temtrirath, Shakiroh Labaidae, Marasee Khanyulai สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences

บทคัดย่อ

น้ำมันปลาเป็นหนึ่งในอาหารเสริมที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก ประโยชน์ของน้ำมันปลามาจากปริมาณกรดไขมันโอ เมก้า-3 ที่มีอยู่ในน้ำมันปลา กรดไขมันโอเมก้า-3 ที่พบได้มากในน้ำมันปลามีอยู่ 2 ชนิด คือ EPA (Eicosapentaenoic acid) และ DHA (Docosahexaenoic acid) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 422 พ.ศ. 2564 เรื่อง น้ำมันปลา กำหนดให้น้ำมันปลา เป็นอาหารที่กำหนดคุณภาพและมาตรฐาน รวมถึงได้มีเกณฑ์กำหนดปริมาณกรดไขมัน EPA และ DHA จึงได้พัฒนาและตรวจสอบ ความใช้ได้ของวิธีจิเคราะห์ EPA และ DHA ในน้ำมันปลาด้วยเทคนิค Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID) จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตามแนวทางของ EURACHEM พบว่าทั้ง EPA และ DHA มีช่วงการวิเคราะห์ที่ให้ ความสัมพันธ์แบบเส้นตรงในช่วง 0.5–8.0 mg/mL โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R²) > 0.999 มีขีดจำกัดของการวัดเชิง ปริมาณเท่ากับ 0.5 mg/mL การทดสอบความแม่น (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) ด้วยวัสดุอ้างอิงมาตรฐานที่ ความเข้มข้น 3 ระดับ พบว่าค่าคืนกลับอยู่ในช่วง 97–100% สำหรับ EPA และ 100–101% สำหรับ DHA ร้อยละส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐานสัมพัทธ์มีค่า HORRAT น้อยกว่า 2 ทั้งค่าคืนกลับและค่า HORRAT ต่างอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และค่าความใช้ได้ตามเกณฑ์การ ยอมรับ และมีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้วิเคราะห์หาปริมาณ EPA และ DHA ในน้ำมันปลาตามข้อกำหนดของกฎหมาย คำสำคัญ : EPA, DHA, น้ำมันปลา, การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี, GC-FID

Abstract

Fish oil is one of the popular nutritional supplements. The benefits of fish oil come from its omega-3 fatty acids content. Two dominant omega-3 fatty acids in fish oil are EPA (Eicosapentaenoic acid) and DHA (Docosahexaenoic acid). According to the Notification of the Ministry of Public Health No. 422 (2021) Re: Fish oil, fish oil and its contents including EPA and DHA are prescribed for food to have qualities and standards. Thus, the analytical method of EPA and DHA in fish oil by GC-FID was desired to be developed and validated. As a result of method validation based on EURACHEM, the calibration graphs of EPA and DHA showed the good linear range from 0.5 to 8.0 mg/mL with $R^2 > 0.999$. Limit of quantitation was 0.5 mg/mL. Accuracy and precision studies were performed using standard reference material of 3 concentration levels. The percentage recoveries were between 97–100% for EPA and 100–101% for DHA. The HORRAT values were less than 2. Both percentage recovery and HORRAT were within the acceptable criteria. Uncertainties of measurements at the confident level of 95% were less than 5%. Therefore, the proposed method shows the acceptable validated results and is suitable for analysis of EPA and DHA in fish oil in accordance with related regulation.

Keywords: EPA, DHA, fish oil, method validation, GC-FID **Corresponding author:** apiradee.t@dmsc.mail.go.th