

روش تعیین مقدار ویتامین D₃ در روغن ماهی، پماد سوختگی و پماد A+D:

فاز متحرک (M.ph):

490 mL متانول را با 10 ml آب مقطر به خوبی مخلوط و گاززدایی کنید (2:98). می توان فاز متحرک را متانول خالص در نظر گرفت که در این صورت Run time کوتاهتری خواهیم داشت علاوه بر اینکه تغییری هم در مقدار Assay ایجاد نمی شود.

Standard Solution: (85 IU/10ml)

هر یک گرم پودر استاندارد ویتامین D₃ حاوی 40 MIU/g ویتامین D₃ است پس :
21.25 mg از پودر استاندارد را به دقت وزن کنید و با DMSO (دی متیل سولفوکساید) به حجم 10 ml برسانید . سپس 4 بار و هر بار به نسبت 1/10 با DMSO رقیق نمایید تا به غلظت 85 IU/10ml برسد .

Test Solution : (85 IU/10ml)

1- روغن ماهی (85 IU/g):

با توجه به برگه آنالیزهای متفاوت بطور متوسط هر یک گرم روغن ماهی، 100 IU ویتامین D₃ دارد. پس:
1 g از روغن ماهی را در 10 ml از DMSO حل کنید و به مدت 10 دقیقه در دمای 60°C سونیکه کنید و پس از خنک شدن از محلول زیرین بردارید و به مدت 5 دقیقه و با سرعت 8000rpm سانتریفوژ نموده به دستگاه تزریق کنید.

2- پماد سوختگی:

50% از پماد سوختگی را روغن ماهی تشکیل می دهد. با توجه به برگه آنالیز اگر هر یک گرم روغن ماهی 100 IU ویتامین D₃ داشته باشد در نتیجه 50 g آن 5000 IU ویتامین D₃ دارد . پس در واقع می توان گفت هر 100 g پماد سوختگی حاوی 5000 ویتامین D₃ است.
در نتیجه 1.7 g آن حاوی 85IU ویتامین D₃ است پس :
1.7 g از پماد را در 10 ml از DMSO حل کرده و به مدت 10 دقیقه در دمای 60°C سونیکه و پس از خنک شدن از محلول زیرین بردارید و به مدت 5 دقیقه و با سرعت 8000rpm سانتریفوژ نموده به دستگاه تزریق کنید.

3- پماد A+D:

هر 1 g از پماد معادل 85IU ویتامین D₃ است پس :
1 g از پماد را در 10 ml از DMSO حل کنید و به مدت 10 دقیقه در دمای 60°C سونیکه نمایید و پس از خنک شدن از محلول زیرین بردارید. سپس به مدت 5 دقیقه و با سرعت 8000rpm سانتریفوژ نموده، به دستگاه تزریق کنید.

شرایط سیستم کروماتوگرافی :

Flow rate : 1 ml/min
Wavelength : 265 nm
Cloumn : 5C18 , 25 × 0.46 Cm , 4μm
Inj . vol. : 20 μli

روش محاسبه :

1- محدوده قابل قبول برای ویتامین D₃ موجود در پماد A+D و پماد سوختگی : (76.5-93.5IU/g)
(ru/rs) × 85 IU/g =

(ru/rs): باید بین 0.9-1.1 باشد.

2- محدوده قابل قبول ویتامین D₃ موجود در برای روغن ماهی: (NLT: 100 IU/g)

(ru/rs) × 85 IU/g =

(ru/rs): باید بین 1-2 باشد.

فرحناز حدیدساز
مسئول آزمایشگاه شیمی
کارشناس ارشد شیمی

* در صورت نیاز می توانید از طریق شماره تلفن 0262-3432812-14 با شرکت داروسازی ایران ناژو تماس حاصل فرمایید.