

气相色谱法测定药用辅料甘油三乙酯的有关物质



张悦^{1,2}, 石蓉^{1,2}, 郑金凤^{1,2}, 刘雁鸣^{1,2}, 谢莹莹³, 李颖³

1. 湖南省药品检验检测研究院 (长沙 410001)
2. 国家药品监督管理局药用辅料工程技术研究重点实验室 (长沙 410001)
3. 湖南省药品审核查验中心 (长沙 410001)

【摘要】目的 建立气相色谱 (GC) 法测定药用辅料甘油三乙酯的有关物质。**方法** 采用 Rtx-1701 和 DB-1701 色谱柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 载气为氮气, 流速为 1.5 mL/min, 进样口温度为 200 °C, 采用氢火焰离子化检测器, 检测器温度为 250 °C, 程序升温。**结果** 在该色谱条件下, 各物质能有效分离, 在 2~40 μg/mL 范围内线性关系良好 ($r > 0.99$)。乙酸、甘油、1-单乙酸甘油酯、1,2-二乙酸甘油酯及 1,3-二乙酸甘油酯回收率分别为 100.7% ($RSD=3.12\%$)、95.1% ($RSD=3.66\%$)、99.43% ($RSD=4.62\%$)、103.66% ($RSD=5.88\%$)、103.15% ($RSD=4.17\%$) ($n=6$)。**结论** 本方法准确度高、重现性好, 可用于甘油三乙酯有关物质的测定, 为完善其质量标准提供依据。

【关键词】 甘油三乙酯; 气相色谱法; 有关物质; 药用辅料

Determination of related substances in the pharmaceutical excipient triacetin by gas chromatography

ZHANG Yue^{1,2}, SHI Rong^{1,2}, ZHENG Jinfeng^{1,2}, LIU Yanming^{1,2}, XIE Yingying³, LI Ying³

1. Hunan Institute for Drug Control, Changsha 410001, China
 2. NMPA Key Laboratory for Pharmaceutical Excipients Engineering Technology Research, Changsha 410001, China
 3. Hunan Drug Inspection Center, Changsha 410001, China
- Corresponding author: XIE Yingying, Email: m18674832739@163.com; LI Ying, Email: 13874957791@163.com

【Abstract】Objective To determine the related substances in the pharmaceutical excipient triacetin by gas chromatography (GC). **Methods** Rtx-1701 and DB-1701 chromatographic column (30 m×0.25 mm, 0.25 μm) was used, with nitrogen as the carrier gas, the flow rate was 1.5 mL/min, the inlet temperature was 200 °C, the hydrogen flame ionization detector was used, the temperature of the measuring instrument was 250 °C, and the program heating was used. **Results** Under this chromatographic condition, each substance could be effectively separated, and showed good linearity at 2-40 μg/mL ($r>0.99$). The recovery rates of acetic acid, glycerol, 1-monoglyceryl acetate, 1,2-diglyceryl acetate and 1,3-diglyceryl acetate

DOI: 10.12173/j.issn.1008-049X.202312007

基金项目: 湖南省自然科学基金科药联合基金项目 (2023JJ60106)

通信作者: 谢莹莹, 高级工程师, Email: m18674832739@163.com

李颖, 副主任药师, Email: 13874957791@163.com

were 100.7% ($RSD=3.12\%$), 95.1% ($RSD=3.66\%$), 99.43% ($RSD=4.62\%$), 103.66% ($RSD=5.88\%$) and 103.15% ($RSD=4.17\%$) ($n=6$), respectively. **Conclusion** This method has high accuracy and good reproducibility, which can be used for the determination of related substances in the triacetin, and provides a reference for the quality standard of triacetin.

【Keywords】 Triacetin; Gas chromatography; Related substances; Pharmaceutical excipients

甘油三乙酯又称三醋酸甘油酯, 英文名为 Triacetin, 由甘油和醋酸酯化合成制得。作为药用辅料, 在制药行业中常用作溶剂、增塑剂和保湿剂等^[1]。《中国药典(2020年版)》^[2]、EP11.0^[3]、USP 现行版^[4]及 BP2023^[5]均收录甘油三乙酯质量标准。《中国药典(2020年版)》、EP11.0、BP2023 甘油三乙酯质量标准中未设置有关物质项, 而 USP 现行版对醋酸、甘油、1-单乙

酸甘油酯、2-单乙酸甘油酯、1,2-二乙酸甘油酯、1,3-二乙酸甘油酯 6 个工艺相关杂质(结构式见图 1)、其他单个非特定杂质和总杂量进行了控制。

为了进一步完善《中国药典(2020年版)》质量标准, 及了解市场上药用辅料甘油三乙酯有关物质含量情况, 本研究参考 USP 现行版, 建立了气相色谱(gas chromatography, GC)法测定药用辅料甘油三乙酯的有关物质。

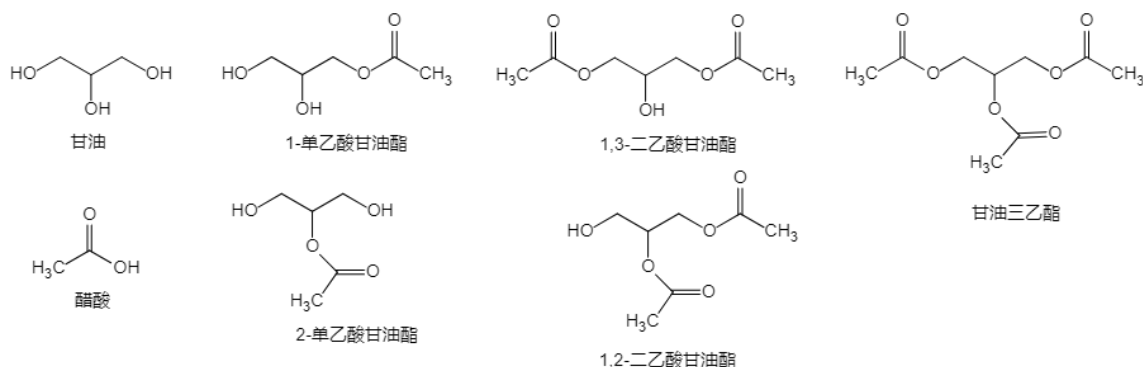


图1 杂质结构式图

Figure 1. Impurity structure diagram

1 材料

1.1 主要仪器

GC-2010 气相色谱仪(日本岛津仪器有限公司); 7890A 气相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司); MS105DU 电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司, 精度: 0.10 mg)。

1.2 主要药品与试剂

甘油三乙酯(批号: R124G0, 纯度 $\geq 99.3\%$)、1-单乙酸甘油酯(批号: 12258900, 纯度 99.5%)来源于 USP; 1,2-二乙酸甘油酯(批号: 10-RAJ-188-1, 纯度 90%)、1,3-二乙酸甘油酯(批号: 2-LXM-129-1, 纯度约 50%)来源于 Toronto Research Chemicals; 苯甲醇(批号: 190019-201903, 纯度 $\geq 99.9\%$)、乙酸(批号: 190079-202002, 纯度 99.90%)、甘油(批号:

190057-202104, 纯度 99.90%)来源于中国食品药品检定研究; 其余试剂均为分析纯; 水为纯化水; 甘油三乙酯样品由 3 家不同生产企业提供, 其中 A 企业 3 批, B 企业 3 批, C 企业 1 批。

2 方法与结果

2.1 GC 色谱条件

色谱柱: Rtx-1701 (30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m) 和 DB-1701 (30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m); 采用氢火焰离子化检测器; 进样口温度: 200 $^{\circ}$ C; 检测器温度: 250 $^{\circ}$ C; 载气为氮气; 流速: 1.5 mL/min; 分流比: 10:1; 采用程序升温: 起始温度为 50 $^{\circ}$ C, 维持 4 min, 以 30 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 140 $^{\circ}$ C, 维持 13 min, 以 10 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 200 $^{\circ}$ C, 维持 5 min, 以 30 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 230 $^{\circ}$ C, 维持 10 min。

2.2 溶液的制备

内标溶液：取苯甲醇适量，精密称定，用异丙醇溶解稀释制成 0.02 mg/mL 的溶液，即得。

对照品溶液：分别精密称取甘油三乙酯、甘油、乙酸、1-单乙酸甘油酯、1,2-二乙酸甘油酯、1,3-二乙酸甘油酯适量，用内标溶液稀释制成 1.0 mg/mL 的对照品储备液；再精密量取对照品储备液适量，用内标溶液配制成 2, 5, 10, 20, 30, 40 $\mu\text{g/mL}$ 系列混合对照品溶液。

供试品溶液：精密称取本品 1.0 g，置 50 mL 量瓶中，用内标溶液溶解并稀释至刻度，即得。

对照溶液：精密量取供试品溶液 1.0 mL，置 100 mL 量瓶中，加内标溶液稀释至刻度，即得。

2.3 系统适用性试验

精密量取内标溶液、对照品溶液及供试品溶液各 1 μL ，注入气相色谱仪，记录色谱图。结果空白无干扰，各杂质峰能有效分离，具体见图 2。

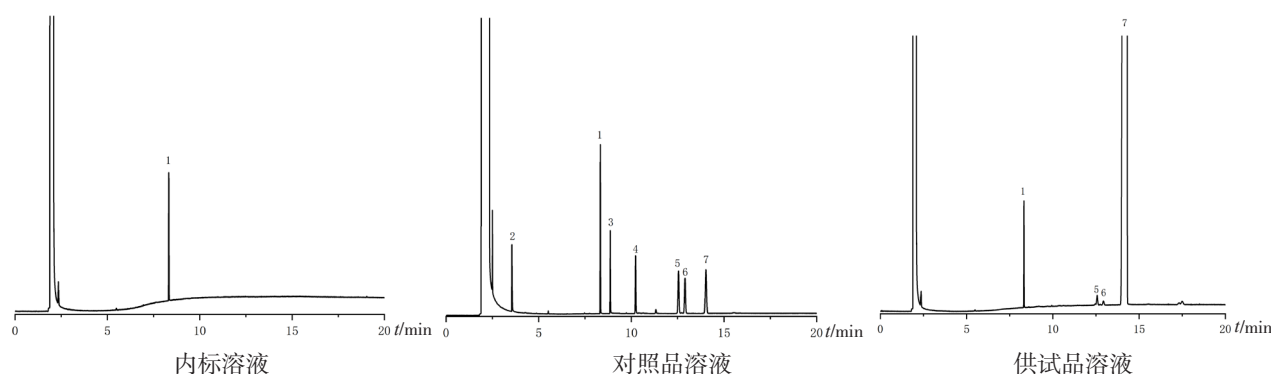


图2 典型GC色谱图

Figure 2. Typical GC chromatogram

注：1.内标；2.乙酸；3.甘油；4.1-单乙酸甘油酯；5.1,3-二乙酸甘油酯；6.1,2-二乙酸甘油酯；7.甘油三乙酯。

2.4 专属性试验

分别取样品 1.0 g，进行酸（1 mol/L 盐酸溶液 1 mL，室温 1 h）、碱（1 mol/L 氢氧化钠溶液 1 mL，室温 2 h）、氧化（30% 过氧化氢 1 mL，室温过夜）、高温（80 $^{\circ}\text{C}$ 过夜）、光照（4 500 lx 过夜）破坏试验后，按“2.2”项下方法处理。结果表明，经酸、碱、氧化、高温、光照破坏条件破坏后，降解产物能与主峰完全分离，符合要求，具体见图 3。

2.5 线性关系、检测限与定量限试验

取“2.2”项下系列混合对照品溶液各 1 μL ，注入气相色谱仪，以浓度为横坐标（ X ， $\mu\text{g/mL}$ ），各物质峰面积与内标峰面积比值为纵坐标（ Y ）绘制标准曲线。结果显示，各物质在浓度 2~40 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积比呈良好的线性关系。精密量取混合对照品溶液适量，逐级稀释，设定量限信噪比为 10，检测限信噪比为 3。结果见表 1。

2.6 精密度试验

取“2.2”项下混合对照品溶液（30 $\mu\text{g/mL}$ ）连续进样 6 次。结果显示，各物质峰面积的 RSD 均小于 1.8%（ $n=6$ ），表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验

取本品（批号：73603）1.0 g，平行制备 6 份

供试品溶液，依法测定。结果显示，样品中乙酸、甘油、1,3-二乙酸甘油酯、1,2-二乙酸甘油酯的平均含量为 0.002%，0.003%，0.03% 和 0.02%， RSD 分别为 12.35%，7.75%，3.53% 和 6.74%（ $n=6$ ），未检出 1-单乙酸甘油酯。

2.8 稳定性试验

取混合对照品溶液（30 $\mu\text{g/mL}$ ），分别在 0, 2, 4, 6, 12, 24 h 进样测定。结果显示，各物质峰面积的 RSD 均小于 2.86%（ $n=6$ ），表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.9 回收率试验

取本品（批号：73603）1.0 g，精密加入混合对照品溶液（乙酸 0.98 mg/mL、甘油 1.00 mg/mL、1-单乙酸甘油酯 0.99 mg/mL、1,2-二乙酸甘油酯：0.9 mg/mL、1,3-二乙酸甘油酯 1.02 mg/mL）1.0 mL，平行制备 6 份供试品溶液，依法测定并计算回收率。结果显示，乙酸、甘油、1-单乙酸甘油酯、1,2-二乙酸甘油酯、1,3-二乙酸甘油酯的回收率分别为 100.7%（ $RSD=3.12\%$ ）、95.1%（ $RSD=3.66\%$ ）、99.43%（ $RSD=4.62\%$ ）、103.66%（ $RSD=5.88\%$ ）、103.15%（ $RSD=4.17\%$ ）（ $n=6$ ）。

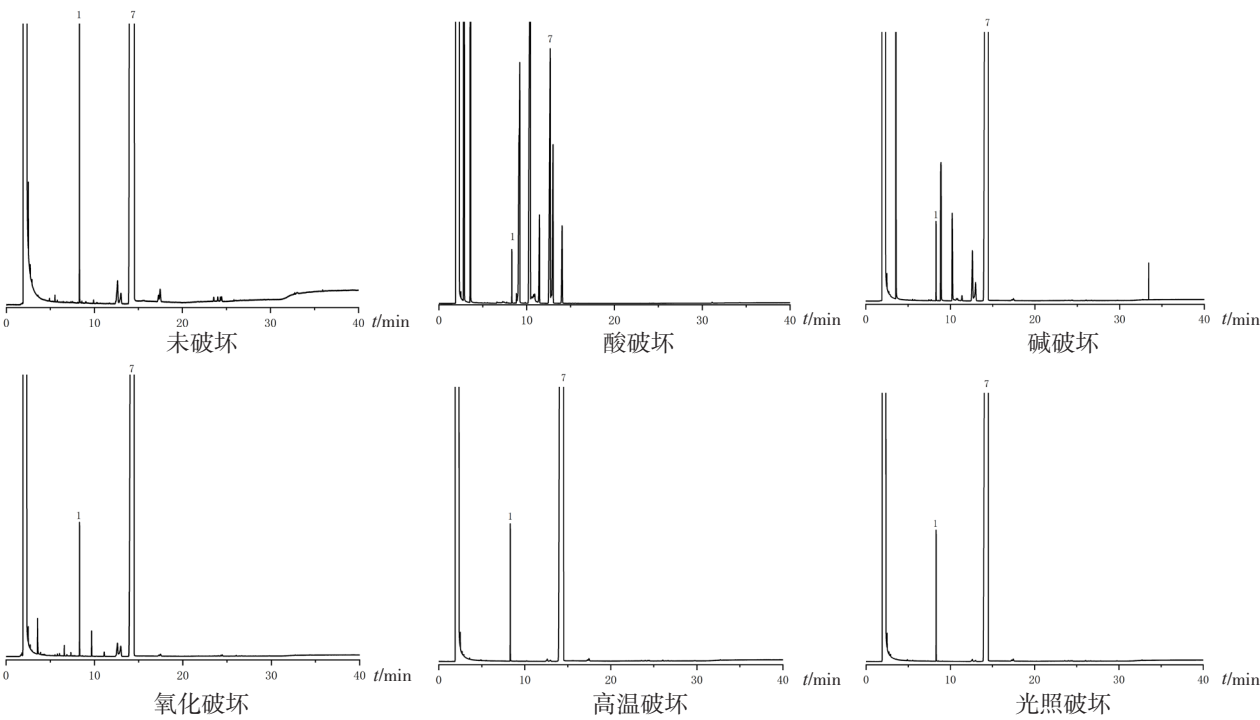


图3 专属性试验GC色谱图
Figure 3. GC chromatogram of specificity test

注：1.内标；7.甘油三乙酯。

表1 线性关系、检测限与定量限测定结果

Table 1. The results of standard curve, detection limit and quantification limit

名称	回归方程	定量限 ($\mu\text{g/mL}$)	检测限 ($\mu\text{g/mL}$)	校正因子	
				本次研究	USP现行版
甘油三乙酯	$Y=0.026\ 2X+0.017\ 7\ (r=0.999\ 6)$	2.107	0.632	—	—
甘油	$Y=0.015\ 2X-0.033\ 0\ (r=0.997\ 4)$	4.457	1.337	0.85	0.54
乙酸	$Y=0.012\ 9X-0.017\ 8\ (r=0.998\ 8)$	3.919	1.176	0.70	0.62
1-单乙酸甘油酯	$Y=0.015\ 4X-0.018\ 0\ (r=0.999\ 6)$	3.430	1.029	0.86	1.00
1,2-二乙酸甘油酯	$Y=0.018\ 7X-0.008\ 8\ (r=0.999\ 5)$	4.271	1.281	1.04	0.73
1,3-二乙酸甘油酯	$Y=0.018\ 6X+0.006\ 7\ (r=0.999\ 6)$	2.466	0.740	1.03	1.00

2.10 耐用性试验

采用不同品牌气相仪、不同品牌色谱柱测定样品（批号：73603）。结果样品中有关物质含量测定无明显差异，各物质均可较好地分离，表

明方法的耐用性良好，结果见表2。

2.11 样品测定

取7批甘油三乙酯样品，依法测定，采用主成分自身对照法计算含量，结果见表3。

表2 耐用性试验结果

Table 2. The results of durability test

名称	仪器和色谱柱型号	
	Shimadzu GC-2010/DB-1701 ($30\ \text{m} \times 0.32\ \mu\text{m}, 0.5\ \mu\text{m}$)	Agilent 7890A GC/Rtx-1701 ($30\ \text{m} \times 0.32\ \mu\text{m}, 0.5\ \mu\text{m}$)
乙酸 (%)	<0.01	<0.01
甘油 (%)	<0.01	<0.01
1-单乙酸甘油酯	未检出	未检出
1,3二乙酸甘油酯 (%)	0.06	0.06

续表2

名称	仪器和色谱柱型号	
	Shimadzu GC-2010/DB-1701	Agilent 7890A GC/Rtx-1701
	(30 m × 0.32 μm, 0.5 μm)	(30 m × 0.32 μm, 0.5 μm)
1,2-二乙酸甘油酯 (%)	0.05	0.05
其他最大单个杂质 (%)	0.06	0.06
总杂质 (%)	0.12	0.13

表3 样品测定结果 (%, n=3)

Table 3. The results of sample determination (%, n=3)

编号	生产企业	批号	乙酸	甘油	1-单乙酸甘 油酯	1,3-二乙 酸甘油酯	1,2-二乙 酸甘油酯	其他最大单 杂质	总杂质
J1	A	75597	<0.01	<0.01	未检出	0.11	0.05	0.10	0.26
J2	A	73603	<0.01	<0.01	未检出	0.03	0.02	0.06	0.13
J3	A	71432	<0.01	<0.01	未检出	0.04	0.02	0.07	0.18
J4	B	20210401	未检出	未检出	未检出	0.04	0.02	0.04	0.13
J5	B	20210402	未检出	未检出	未检出	0.04	0.02	0.04	0.14
J6	B	20210403	未检出	未检出	未检出	0.04	0.02	0.05	0.18
J7	C	K53639700	<0.01	<0.01	未检出	0.10	0.04	0.15	0.56

3 讨论

3.1 分流比调整

USP 现行版有关物质中采用气相法测定有关物质，以氢气为载气，流速 1.5 mL/min，分流比 40 : 1。国内气相色谱仪常以氮气为载气^[6-8]，另发现按照 USP 现行版设置分流比为 40 : 1 时，仪器灵敏度很低，无法满足试验要求。故本次研究采用氮气作为载气，分流比调整为 10 : 1。

3.2 升温程序调整

按照 USP 现行版有关物质升温程序考察样品，结果发现样品进样 20 min 后，升温坡度出现多个杂质峰（图 4-A）。将升温速率由 30 ℃ /min 调整为 10 ℃ /min 后，发现相对保留时间 32.139 min 处出现新的杂质峰（图 4-B）。故采用优化后的升温程序，洗脱出全部杂质。

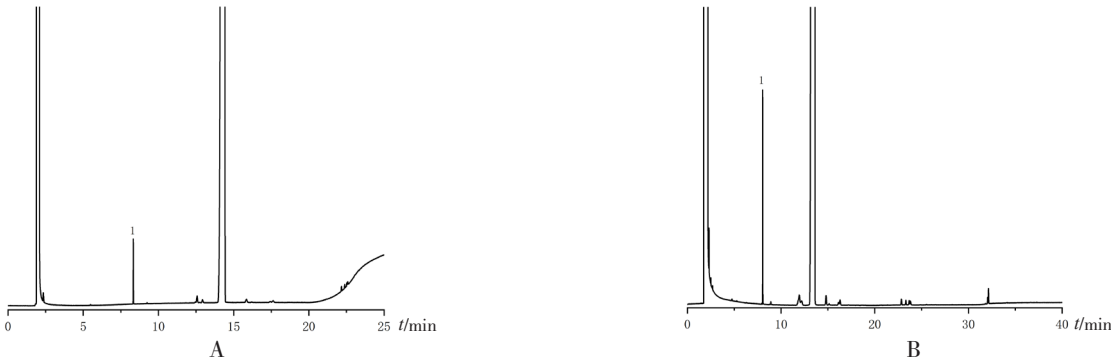


图4 升温程序调整的典型GC色谱图

Figure 4. Typical GC chromatogram for adjusting the heating program

注：A.USP现行版方法；B.升温程序调整后。

3.3 计算方式、限度的拟定

USP 现行版采用加校正因子的自身对照法计算乙酸、甘油、1- 单乙酸甘油酯、2- 单乙酸甘油酯、1,2- 二乙酸甘油酯、1,3- 二乙酸甘油酯 6 个

工艺相关杂质，并规定 6 个杂质均不得过 0.1%，其他单个杂质不得过 0.1%，杂质总量不得过 0.2%。

本次研究结果显示，乙酸、甘油、1- 单乙酸甘油酯、1,2 二乙酸甘油酯等 4 个杂质的校正因

子均 ≤ 1 ，与 USP 现行版标准中的规定有一定差异，这可能是对照品纯度或仪器参数差异导致；且征集的 7 批样品中乙酸、甘油、1- 单乙酸甘油酯、1,2 二乙酸甘油酯含量低。查阅文献，乙酸、甘油等 6 个特定杂质^[9] 毒性均较低，结合安全性和校正因子综合分析，建议在质量标准中不对上述 6 个杂质进行单独控制，仅对单个非特定杂质和总杂质进行控制，采用不加校正因子的自身对照法进行计算^[10-12]。杂质限度建议参照 USP 现行版拟定，即单个杂质不得过 0.1%，总杂质不得过 0.2%。

3.4 小结

本研究建立的 GC 法准确高、重复性好，为完善药用辅料甘油三乙酯质量标准提供依据。样品测定结果显示，7 批样品中，1 批样品单个杂质超出了拟定限度（不得过 0.1%），2 批样品总杂质超出了拟定限度（不得过 0.2%），应加强质量监管。

参考文献

- 1 王明, 周永芳, 张哲铭, 等. 三乙酸甘油酯合成中催化剂与能耗的关键技术 [J]. 塑料, 2023, 52(1): 5-9. [Wang M, Zhou YF, Zhang ZM, et al. Key technologies of catalysts and energy consumption in synthesis of bio-based triacetin[J]. Plastics, 2023, 52(1): 5-9.] <http://qikan.cqvip.com/Qikan/Article/Detail?id=7109083756>.
- 2 中国药典 2020 年版. 四部 [S]. 2020: 634.
- 3 EP11. 0[S]. 2021: 4265.
- 4 USP 现行版 [S]. 2023.
- 5 BP2023[S]. 2023: 5421.
- 6 陈名清, 刘灿, 唐宝强, 等. 顶空气相色谱法测定 15- 羟基硬脂酸聚乙二醇酯中环氧乙烷和二氧六环含量 [J]. 中国药品标准, 2023, 24(2): 205-211. [Chen MQ, Liu C, Tang BQ, et al. Determination of ethylene oxide and dioxane in 15-hydroxystearic acid polyethylene glycol ester by headspace gas chromatography[J]. Drug Standards of China, 2023, 24(2): 205-211.] DOI: [10.19778/j.chp.2023.02.017](https://doi.org/10.19778/j.chp.2023.02.017).
- 7 李浩宇, 唐宝强, 何东升, 等. 气相色谱法测定药用辅料聚西托醇 1 000 中的残留杂质 [J]. 中国药科大学学报, 2022, 53(3): 293-299. [Li HY, Tang BQ, He DS, et al. Determination of residual impurities in pharmaceutical excipient cetomacrogol 1 000 by gas chromatography[J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2022, 53(3): 293-299.] DOI: [10.11665/j.issn.1000-5048.20220306](https://doi.org/10.11665/j.issn.1000-5048.20220306).
- 8 陈子龙, 路京, 赵丽, 等. 毛细管气相色谱法同时测定盐酸妥洛特罗原料的残留溶剂、杂质与含量 [J]. 中南药学, 2021, 19(10): 2154-2157. [Chen ZL, Lu J, Zhao L, et al. Simultaneous determination of residual solvents, impurity and content in tulobuterol hydrochloride by capillary gas chromatography[J]. Central South Pharmacy, 2021, 19(10): 2154-2157.] DOI: [10.7539/j.issn.1672-2981.2021.10.029](https://doi.org/10.7539/j.issn.1672-2981.2021.10.029).
- 9 方欣欣, 严翠霞, 梅妮, 等. 凝胶渗透色谱法同时测定山嵛酸甘油酯中单、二、三甘油酯和游离甘油含量 [J]. 中国药品标准, 2023, 24(1): 20-24. [Fang XX, Yan CX, Mei N, et al. Simultaneous determination of mono, di- and triglyceride and free glycerol content in glyceryl behenate by gel permeation chromatography[J]. Drug Standards of China, 2023, 24(1): 20-24.] DOI: [10.19778/j.chp.2023.01.003](https://doi.org/10.19778/j.chp.2023.01.003).
- 10 廉贞霞, 李霞, 姜鹰雁, 等. 气相色谱法测定 N,N- 二异丙基乙胺中的有关物质 [J]. 食品与药品, 2023, 25(6): 520-523. [Liang ZX, Li X, Jiang YY, et al. Determination of related substances in N,N-di isopropyl ethylamine by gas chromatography[J]. Food and Drug, 2023, 25(6): 520-523.] DOI: [10.3969/j.issn.1672-979X.2023.06.007](https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-979X.2023.06.007).
- 11 王辉, 帅海涛, 唐璐强, 等. 气相色谱法测定高级脂肪醇中的有关物质 [J]. 当代化工, 2023, 52(1): 243-247. [Wang H, Shuai HT, Tang LQ, et al. Determination of related substances in higher fatty alcohol by GC[J]. Contemporary Chemical Industry, 2023, 52(1): 243-247.] DOI: [10.3969/j.issn.1671-0460.2023.01.051](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-0460.2023.01.051).
- 12 谢婷, 伍鸣亮, 曾海金, 等. 气相色谱法测定环丙甲酸中有关物质的方法学研究 [J]. 山东化工, 2022, 51(21): 147-150, 157. [Xie T, Wu ML, Zeng HJ, et al. GC analysis and methodology research for related substance in cyclopropanecarboxylic acid[J]. Shandong Chemical Industry, 2022, 51(21): 147-150, 157.] DOI: [10.3969/j.issn.1008-021X.2022.21.043](https://doi.org/10.3969/j.issn.1008-021X.2022.21.043).

收稿日期: 2023 年 12 月 02 日 修回日期: 2024 年 01 月 15 日
本文编辑: 钟巧妮 李 阳