气相色谱法测定硬脂酸中的脂肪酸组分

肖　江[1,2]，帅海涛[1,2]，陈　凡[1,2]，黄致远[1,2]，王向峰[1,2]，帅放文[2]
（1. 湖南省药用辅料工程技术研究中心有限公司，湖南长沙 410331；2. 国家药用辅料工程技术研究中心，湖南长沙 410331）

摘要：建立了气相色谱法测定硬脂酸中脂肪酸的组成。检测前先采用甲酯化的方法，将硬脂酸中的脂肪酸转化为脂肪酸甲酯。色谱柱为 DB-FFAP 毛细管柱（30 m×0.32 mm×0.5 μm），程序升温，起始温度为 70 ℃，保持 2 min，再以 5 ℃ /min 的速率升温至 240 ℃，保持 24 min。进样口温度为 220 ℃，氢火焰离子化检测器温度为 260 ℃，分流比为 10 ∶ 1。采用峰面积归一化法计算各脂肪酸甲酯含量。结果显示，所考察的 16 个脂肪酸甲酯峰均可有效分离，各组分在 1 ～ 100 μg/ml 内线性关系良好，精密度和稳定性均良好，各脂肪酸的检出限均低于 3.4 μg/g。此外，对国内外 7 个厂家的 25 批样品进行了检测，均符合现行标准规定。

关键词：硬脂酸；脂肪酸组成；气相色谱；药用辅料
中图分类号：R917　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2022)01-0108-05
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.01.012

Determination of Fatty Acid Composition in Stearic Acid by GC

XIAO Jiang[1,2], SHUAI Haitao[1,2], CHEN Fan[1,2], HUANG Zhiyuan[1,2], WANG Xiangfeng[1,2], SHUAI Fangwen[2]
(*1. Hunan Pharmaceutical Excipients Engineering and Technology Research Center Co., Ltd., Changsha 410331;*
2. National Engineering and Technology Research Center of Pharmaceutical Excipients, Changsha 410331)

ABSTRACT: A gas chromatography method was established to determine the composition of fatty acids in stearic acid. Before detection, the methyl esterification reaction was conducted to convert the fatty acids in stearic acid into fatty acid methyl esters. The DB-FFAP capillary column (30 m×0.32 mm×0.5 μm) was used. The initial column temperature was set at 70 ℃ for two minutes, followed by incraesing to the final temperature of 240 ℃ for twenty-four minutes with a rate of 5 ℃/min. The temperature of the injection port was 220 ℃, the temperature of the flame ionization detector was 260 ℃, and the split ratio was 10∶1. The peak area normalization method was used to calculate the content of each fatty acid methyl ester. The results showed that all peaks of the sixteen fatty acid methyl ester could be effectively separated. It was linear for all of them in the range of 1 – 100 μg/ml. The precision and stability were good, and the detection limit of each fatty acid was lower than 3.4 μg/g. In addition, twenty-five batches of stearic acid samples from seven domestic and foreign manufacturers were tested, and they all met the current standards.

Key Words: stearic acid; fatty acid composition; GC; pharmaceutical excipient

硬脂酸（stearic acid，**1**）是自然界广泛存在的一种脂肪酸，几乎所有油脂中都有含量不等的 **1**，其广泛应用于橡胶、纺织、塑料、日化、食品和医药工业中。作为一种药用辅料，**1** 主要用作片剂、胶囊剂的润滑剂，局部用制剂的乳化剂和增溶剂，片剂包衣层的黏合剂，也作为缓释制剂的载体[1—2]。

1 的工业化生产方法主要有分馏法和压榨法，系由动、植物油脂水解或氢化后精制而得；精制后主要成分为 **1**（$C_{18}H_{36}O_2$）与棕榈酸（$C_{16}H_{32}O_2$），并根据二者的含量进行分型控制[2—5]，在药用辅料领域一般分为 50、70 和 95 型。不同型号的 **1**，熔点

收稿日期：2021-02-23
基金项目：湖南省自然科学基金科药联合基金(2020JJ9004)、国家药典委员会药品标准制修订研究课题(2018Y052)
作者简介：肖　江(1986—)，男，高级工程师，从事药品质量及工艺研究。
Tel：0731-84659105
E-mail：xiao341@126.com

和酸值均有较大差异，直接影响其在制剂中的功能性。除此之外，**1** 作为一种混合物，其他脂肪酸或杂质也将直接影响本品的质量及功能性，但国内外药典均未对其进行控制。

本研究在各国药典脂肪酸组成检查方法与前人工作的基础上[6—11]，建立了气相色谱法测定 **1** 中脂肪酸的组成。先采用甲酯化的方法，将硬脂酸中的脂肪酸转化为脂肪酸甲酯，再用建立的 GC 法检测分析国内外厂家生产的药用辅料 **1**，以期为有效控制 **1** 的质量提供参考。

1 仪器与试药

GC2010 PLUS 型气相色谱仪（日本 Shimadzu 公司）；XS-205 型电子分析天平（瑞士 Mettler Toledo 公司）。

己酸甲酯（**2**，含量≥ 99.7%，批号 K1622029）、正辛酸甲酯（**3**，含量 >99.0%，批号 E1910129）、癸酸甲酯（**4**，含量≥ 99.5%，批号 F2008065）、月桂酸甲酯（**5**，含量≥ 99.5%，批号 E2028091）、棕榈酸甲酯（**6**，含量≥ 99.0%，批号 J1925092）、硬脂酸甲酯（**7**，含量 >99.5 %，批号 B2010023）和亚麻酸甲酯（**8**，含量 99%，批号 F1924047）的对照品均购于美国 Aladdin 公司；肉豆蔻酸甲酯（**9**，含量 99.5%，批号 129448）、亚油酸甲酯（**10**，含量 99.6%，批号 G1008268）、花生酸甲酯（**11**，含量 99.9 %，批号 G145316）和山嵛酸甲酯（**12**，含量 99.4%，批号 G167494）的对照品均购于德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH；棕榈油酸甲酯（**13**，含量 99%，批号 1601907）、二十碳烯酸甲酯（**14**，含量 >99%，批号 1591907）和二十二碳烯酸甲酯（**15**，含量 99.0%，批号 1981903）的对照品均购于坛墨质检科技股份有限公司；油酸甲酯（**16**）对照品（上海麦克林生化科技有限公司，含量 99%，批号 C10948936）；二十四烷酸甲酯（**17**）对照品（美国 NU-CHEK 公司，含量 >99 %，批号 N-24-S6-A）。

1 样品（厂家 A，批号 170401、F230C171001、F230C180101；厂家 B，批号 180101、180102、180103；厂家 C，批号 5C2657M、5B2057H、5D0018A、5B0068A、5B1298E、5B0028A、5A0548B；厂家 D，批号 20180406、20180501、20180508；厂家 E，批号 101820171101、101820171102、101820171103；厂家 F，批号 2H3326J、2H3557J、GAR460871；厂家 G，批号 20170724546、20170904554、20171207566；以上均为药用级辅料，其中厂家 A ～ E 为国内厂家，厂家 F ～ G 为国外厂家）。14%三氟化硼甲醇溶液（上海安谱实验科技股份有限公司，分析纯，批号 W7920040）；甲醇、正庚烷均为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 DB-FFAP 毛细管柱（30 m×0.32 mm×0.5 μm），固定液为硝基对苯二甲酸改性的聚乙二醇；升温程序 起始温度为 70 ℃，维持 2 min，以 5 ℃ /min 的速率升温至 240 ℃，维持 24 min；进样口温度 220 ℃；氢火焰离子化检测器温度 260 ℃；分流比 10 ∶ 1；载气 氮气；流速 2.42 ml/min；进样量 1 μl。

2.2 溶液配制

混合对照品溶液：分别取 **2** ～ **17** 对照品适量，加入正庚烷溶解并稀释制成每 1 ml 中分别含 **2** ～ **17** 各 0.1 mg 的溶液，作为混合对照品溶液。

供试品溶液：取 **1** 样品约 0.1 g，精密称定，置锥形瓶中，加入 14%三氟化硼甲醇溶液 5 ml，振摇使溶解，置水浴中回流 20 min，放冷，用正己烷 10 ～ 15 ml 转移至分液漏斗中，加水 10 ml 与氯化钠饱和溶液 10 ml，振摇分层，弃去下层，正己烷层中加入无水硫酸钠 6 g 干燥，除去水分后置 25 ml 量瓶中，用正己烷定容，摇匀，作为供试品溶液。

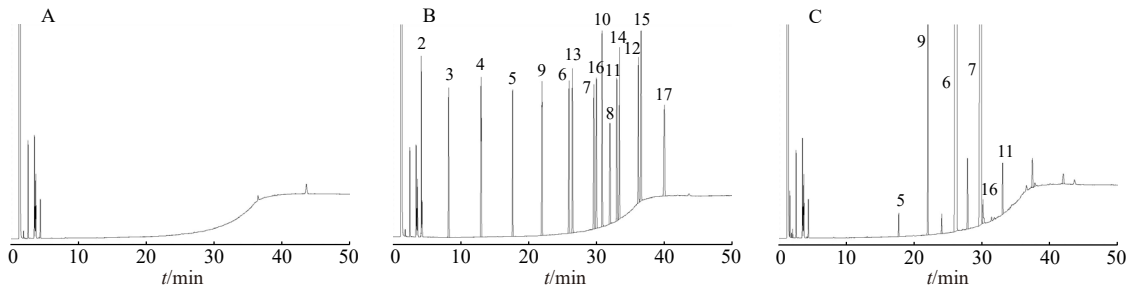
空白溶液：除了不加入 **1** 样品，其他步骤同本项下“供试品溶液”配制方法。

2.3 系统适用性试验

取“**2.2**”项下空白溶液、混合对照品溶液和供试品溶液（厂家 E，批号 101820171101）各 1 μl，按“**2.1**”项下色谱条件分别进样测定，记录色谱图。结果见图 1，可见空白溶液的色谱图中除溶剂峰外未见其他明显色谱峰，表明溶剂不干扰测定；混合对照品溶液和供试品溶液的色谱图中相邻的色谱峰间分离度良好，分离度均大于 1.5，理论塔板数均大于 49 800。

2.4 相对校正因子的测定

分别取 **2** ～ **17** 对照品适量，加正庚烷溶解并稀释制成每 1 ml 中分别含 **2** ～ **17** 各 1 mg 的溶液，



A：空白溶液，B：混合对照品溶液，C：供试品溶液

2－**2**；3－**3**；4－**4**；5－**5**；6－**6**；7－**7**；8－**8**；9－**9**；10－**10**；11－**11**；12－**12**；13－**13**；14－**14**；15－**15**；16－**16**；17－**17**

图 1　典型色谱图

Fig.1　Typical Chromatograms

作为混合对照品贮备液。精密量取混合对照品贮备液 0.01、0.015、0.1、0.2、0.5、1 ml，分别置 10 ml 量瓶中，加正庚烷定容，摇匀，即得系列线性溶液，按“**2.1**”项下色谱条件进样分析。以质量浓度（*c*）为横坐标、峰面积（*A*）为纵坐标进行线性回归，并计算各组分相对于 **7** 的校正因子，结果见表 1，可见各组分在 1 ～ 100 μg/ml 内线性关系良好。

表 1　线性试验结果及相对校正因子

Tab.1　Results of Linearity Test and Relative Correction Factors of Fatty Acid Composition

化合物	线性方程	*r*	相对校正因子
2	*A*=1 660 685*c* − 2 260	0.998 8	1.58
3	*A*=2 019 509*c* − 1 375	0.999 3	1.30
4	*A*=2 187 451*c* − 1 476	0.999 3	1.20
5	*A*=2 381 895*c* − 1 421	0.999 2	1.10
6	*A*=2 600 216*c* − 1 447	0.999 3	1.01
7	*A*=2 631 164*c* − 1 403	0.999 3	1.00
8	*A*=1 833 608*c* − 1 431	0.999 0	1.43
9	*A*=2 490 157*c* − 1 643	0.999 2	1.06
10	*A*=2 962 198*c* − 2 077	0.999 3	0.89
11	*A*=2 714 326*c* − 1 570	0.999 2	0.97
12	*A*=2 752 895*c* − 1 984	0.999 0	0.96
13	*A*=2 604 923*c* − 1 597	0.999 3	1.01
14	*A*=2 701 421*c* − 1 892	0.999 2	0.97
15	*A*=2 762 078*c* − 905	0.999 0	0.95
16	*A*=2 792 464*c* − 1 701	0.999 2	0.94
17	*A*=2 795 275*c* − 2 215	0.999 3	0.94

2.5　计算方法的选择

1 中的各脂肪酸均为同系物，各组分含碳量差异较小，根据相对校正因子的测定结果可知，各主要脂肪酸的相对校正因子在 0.9 ～ 1.1。在筛选前处理试验条件时，观察到水解时间、甲酯化试剂浓度、回流时间等对各脂肪酸的转化率有一定影响，采用外标法检测误差较大。由于 **1** 样品所含组分众多，难以找到既分离良好又不干扰测定的合适内标物质。通过试验发现，前处理方法的差异对 **1** 样品脂肪酸组成的比例几乎无影响，因此参照各国药典中药用辅料的脂肪酸组成或含量测定方法，确定采用峰面积归一化法计算 **1** 中脂肪酸组成的含量。

2.6　精密度试验

精密量取“**2.2**”项下混合对照品溶液 1 μl，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定，连续进样测定 6 次，以峰面积计算 RSD。结果显示，**2** ～ **17** 峰面积的 RSD（*n*=6）分别为 0.68%、0.73%、0.78%、0.89%、0.86%、0.84%、0.79%、0.84%、0.83%、0.83%、0.94%、0.93%、0.80%、0.85%、0.85%、0.83%，说明重复性良好。

2.7　检测限和定量限

精密量取“**2.2**”项下混合对照品溶液，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，分别以信噪比约为 3 和 10 计算检测限和定量限。结果显示，**2** ～ **17** 的检测限分别为 2.0、1.9、1.9、1.9、1.8、1.7、2.9、1.8、1.7、1.9、2.0、1.9、2.0、2.2、1.7 和 3.4 μg/g；定量限分别为 6.0、5.8、5.8、5.7、5.3、5.1、8.6、5.4、5.0、5.6、6.1、5.7、6.0、6.5、5.0 和 10.1 μg/g。

2.8　稳定性试验

精密量取“**2.2**”项下混合对照品溶液，分别于

0、2、4、6、8、10 和 12 h 时按“**2.1**”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。结果显示，**2** ～ **17** 在 12 h 内峰面积的 RSD（n=7）分别为 0.81%、0.80%、0.85%、0.95%、0.86%、0.80%、0.77%、0.90%、0.80%、0.85%、1.06%、0.93%、0.83%、0.81%、0.82%、0.99%，均小于 2%，表明各脂肪酸甲酯的峰面积在 12 h 内基本稳定。

2.9 样品测定

取 25 批 **1** 样品，按照“**2.2**”项下方法制备供试品溶液，按“**2.1**”项下色谱条件进样分析，采用面积归一化法计算各脂肪酸甲酯的含量，结果见表 2（各样品中 **2** ～ **4**、**8**、**10**、**12** ～ **15**、**17** 均未检出）。

3 讨论

3.1 各国药典对 **1** 的控制

1 收载于《中华人民共和国药典》2020 年版四部、食品添加剂标准、美国药典（USP 43）、欧洲药典（EP 10.0）、英国药典（BP 2021）、日本药典（JP 18），各国标准基本一致，仅控制 **1** 和棕榈酸的含量，未对其脂肪酸组成进行检查，其中型号为 50 和 70 的产品中，**1** 和棕榈酸总量控制为 90%，其他 10% 的组分未作限制。

3.2 药用辅料 **1** 的组成测定结果分析

本研究结果显示，所有样品中 **1** 和棕榈酸的总量均大于 97%，远高于各国药典对型号为 50 和 70 的产品的规定。所测定的样品中除 **1** 和棕榈酸外，主要为月桂酸、肉豆蔻酸、花生酸、油酸，合计占比约 1%，己酸、辛酸、癸酸、亚油酸、山嵛酸、棕榈油酸、二十碳烯酸、二十二碳烯酸和二十四烷酸均未检出，其他未知组分占比为 0.21%～ 2.18%，差异较大。

结合国内外药用辅料 **1** 的脂肪酸组成测定结果，为进一步控制 **1** 的质量，可将型号为 50 和 70 的产品中 **1** 和棕榈酸总量限度由 90.0% 提高至与 95 型号相同的 96%，并对未知单杂及杂质总量进行控制。

表 2　1 样品中脂肪酸组成的测定结果（n=2）/%

Tab.2　Results of Fatty Acid Composition of Samples（n=2）/%

厂家	批号	样品型号	5	6	7	9	11	16	其他未知组分
	170401	70	0.01	33.37	64.15	0.07	0.63	0.10	1.67
厂家A	F230C171001	50	–	39.93	59.03	0.22	0.48	0.10	0.24
	F230C180101	70	–	33.74	65.09	0.03	0.60	0.08	0.46
	180101	50	–	44.07	54.63	0.19	0.46	0.07	0.58
厂家B	180102	50	0.01	44.07	54.23	0.19	0.49	0.06	0.95
	180103	50	0.01	43.89	54.09	0.18	0.45	0.07	1.31
	5C2657M	50	0.01	55.24	42.09	0.21	0.40	0.09	1.96
	5B2057H	95	0.01	4.39	93.48	0.03	0.69	0.05	1.35
	5D0018A	95	0.01	5.78	92.37	0.04	0.77	0.07	0.96
厂家C	5B0068A	70	0.02	33.71	64.57	0.14	0.57	0.06	0.93
	5B1298E	70	0.01	33.95	64.40	0.08	0.53	0.08	0.95
	5B0028A	70	0.02	32.78	65.36	0.19	0.65	–	1.00
	5A0548B	95	0.01	5.07	93.73	0.04	0.73	0.05	0.37
	20180406	50	0.04	39.87	59.07	0.22	0.48	0.10	0.22
厂家D	20180501	50	0.03	46.29	52.34	0.49	0.46	0.16	0.23
	20180508	50	–	46.44	51.36	0.10	0.48	0.08	1.54
	101820171101	50	0.02	56.96	40.38	0.44	0.12	0.05	2.03
厂家E	101820171102	50	0.04	57.52	40.64	0.71	0.12	0.04	0.93
	101820171103	50	–	57.37	40.25	0.12	–	0.08	2.18
	2H3326J	50	0.01	58.18	40.04	0.63	0.45	0.02	0.67
厂家F	2H3557J	50	0.05	57.03	41.43	0.39	0.45	0.08	0.57
	GAR460871	50	0.01	56.46	41.02	0.82	0.62	0.17	0.90
	20170724546	50	–	49.82	49.34	0.06	0.47	0.09	0.22
厂家G	20170904554	50	–	49.57	49.66	0.05	0.39	0.12	0.21
	20171207566	50	0.01	49.22	49.35	0.11	0.42	0.09	0.80

注：“–”为未检出

国内外药典中收载了较多以 **1** 为原料合成的药用辅料，如硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂酸锌等，也可采用本研究拟定的方法进行脂肪酸组成的考察，并根据测定结果调整相应的限度标准。

参考文献：

[1] RAYMOND C R, PAUL J S, MARIAN E Q. Handbook of pharmaceutical excipients (sixth edition) [M]. New York: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, 2009: 697-699.

[2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品添加剂 硬脂酸: GB 1886.101-2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.

[3] 韩金勇, 崔风杰. 脂肪酸氢化制硬脂酸的可行性研究[J]. 化工科技市场, 2001, **24**(4): 24-25.

[4] 李玉鹏, 庄　锐, 缪海平, 等. 大豆油极度氢化制备高纯硬脂酸[J]. 云南化工, 2020, **47**(5): 47-48.

[5] 何　霖, 谭亚南, 韩　伟, 等. 脂肪酸加氢催化剂研究现状[J]. 四川化工, 2011, **14**(4): 28-31.

[6] 李　伟, 李善茂. 化妆品中硬脂酸的HPLC-MS测定[J]. 广州化工, 2012, **40**(22): 110-111.

[7] 吴云辉, 理云露, 徐敦明. 食品中硬脂酸的测定[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, **5**(11): 3664-3671.

[8] 公　谱, 邓干然, 曹建华, 等. 棕榈油的螺旋压榨制取及其脂肪酸组分分析[J]. 安徽农业科学, 2011, **39**(6): 3659-3661.

[9] 刘　冰. GC-MS分析测定5种植物油中脂肪酸成分研究[J]. 食品工业, 2014, **35**(4): 222-224.

[10] 阿拉坦图雅, 张　丽, 乌志颜, 等. 9种食用植物油脂肪酸成分分析[J]. 赤峰学院学报: 自然科学版, 2019, **35**(12): 5-7.

[11] 汪雪芳, 杨瑞楠, 薛　莉, 等. 28种功能性食用油脂肪酸组成研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, **8**(11): 4336-4343.