

3,4,5-三甲氧基苯甲醛标准样品的研制



WANG Yong-mei

汪咏梅^{1,2}, 陈笏鸿^{1*}, 张亮亮^{1,2}, 吴冬梅^{1,2}, 徐曼¹, 吴在嵩¹

(1. 中国林业科学研究院林产化学工业研究所; 生物质化学利用国家工程实验室; 国家林业局林产化学工程重点开放性实验室; 江苏省生物质能源与材料重点实验室, 江苏南京 210042;
2. 中国林业科学研究院林业新技术研究所, 北京 100091)

摘 要: 研究了 3,4,5-三甲氧基苯甲醛标准样品的制备、均匀性和稳定性及其定值试验。用 3,4,5-三甲氧基苯甲醛工业品与亚硫酸氢钠溶液加成反应, 经 H_2SO_4 酸化, 结晶; 再用乙醇溶解, 纯水稀释重结晶, 得到高纯度的 3,4,5-三甲氧基苯甲醛标准样品。标准样品含量测定采用气相色谱面积归一化法, 并通过了均匀性检验和稳定性检验(9 个月)。经定值检测, 3,4,5-三甲氧基苯甲醛标准样品的质量分数为 $99.42\% \pm 0.07\%$ 。

关键词: 3,4,5-三甲氧基苯甲醛; 标准样品; 定值; 均匀性检验

中图分类号: TQ351.0

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2010)04-0025-04

Preparation of 3,4,5-Trimethoxy-benzaldehyde as Reference Substance

WANG Yong-mei^{1,2}, CHEN Jia-hong¹, ZHANG Liang-liang^{1,2},
WU Dong-mei^{1,2}, XU Man¹, WU Zai-song¹

(1. Institute of Chemical Industry of Forest Products, CAF; National Engineering Lab. for Biomass Chemical Utilization; Key and Open Lab. on Forest Chemical Engineering, SFA; Key Lab. of Biomass Energy and Material, Jiangsu Province, Nanjing 210042, China; 2. Institute of New Technology of Forestry, CAF, Beijing 100091, China)

Abstract: Preparation, homogeneity, stability and certification of reference substance of 3,4,5-trimethoxy-benzaldehyde were studied. Highly purified reference substance of 3,4,5-trimethoxy-benzaldehyde was prepared from an industrial grade 3,4,5-trimethoxy-benzaldehyde product by $NaHSO_3$ addition reaction followed by acidifying with H_2SO_4 and re-crystallization in ethanol and water. The content of 3,4,5-trimethoxy-benzaldehyde in reference substance was measured by gas chromatographic area normalization. The reference substance of 3,4,5-trimethoxy-benzaldehyde passed the test of homogeneity, and it was stable during 9 months at least. Through valuation test, 3,4,5-trimethoxy-benzaldehyde content of the reference substance was $99.42\% \pm 0.07\%$.

Key words: 3,4,5-trimethoxy-benzaldehyde; reference material; certification; homogeneity

3,4,5-三甲氧基苯甲醛是五倍子单宁、塔拉单宁等没食子单宁的一种重要衍生物, 是一种重要的合成中间体, 在医药上主要用于生产磺胺增效剂甲氧苄氨嘧啶(TMP)^[1]。3,4,5-三甲氧基苯甲醛为白色至微黄色针状晶体, 熔点 $74\sim 75\text{ }^\circ\text{C}$, 沸点 $163\sim 165\text{ }^\circ\text{C}$ (1.33 kPa)。制药厂一般用羟胺法测定其含量, 但滴定突跃小, 终点变色缓慢, 误差大。聂善文等^[2-3]用紫外法进行测定低含量的样品时杂质对测值有干扰。作者曾经试用多种方法测定其含量, 最后选定用气相色谱法进行 3,4,5-三甲氧基苯甲醛的测定。气相色谱法测定需要标准样品作为对照品, 作者对 3,4,5-三甲氧基苯甲醛标准样品的制备、均匀性检验、稳定性检验进行研究, 为标准样品的认证和用气相色谱法测定 3,4,5-三甲氧基苯甲醛打下基础。

收稿日期: 2010-04-19

基金项目: 科技基础性工作专项(2007FY230200)

作者简介: 汪咏梅(1964-), 女, 浙江义乌人, 副研究员, 从事植物资源化学利用研究; E-mail: njlhswym@163.com

* 通讯作者: 陈笏鸿, 研究员, 主要从事植物资源化学利用研究; E-mail: chen-jiahong@163.com。

1 实验

1.1 材料、试剂与仪器

3,4,5-三甲氧基苯甲醛(TMB),工业品,购自南京龙源天然多酚合成厂;亚硫酸氢钠、硫酸为分析纯;水为一级水;FD-1型冷冻干燥机,日本EYELA公司;WRR熔点仪,上海精密科学仪器有限公司;气质联用仪,Agilent 68090/5973;GC-2010气相色谱仪,日本岛津公司;LIBROR AHL-200型电子天平,日本岛津公司。

1.2 标准样品的制备

3,4,5-三甲氧基苯甲醛工业品 0.5 mol,加入 40% 亚硫酸氢钠溶液进行加成反应,加水稀释使溶解,过滤,滤液用 40% H_2SO_4 酸化,产物结晶析出。过滤并水洗晶体,再用乙醇溶解,加入纯水稀释使重结晶,得到高纯度的标准品。

1.3 化学成分分析和质量分析

1.3.1 气质联用色谱条件 色谱柱 HP-5MS (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm),升温程序:80 $^\circ\text{C}$ (2 min) $\xrightarrow{5^\circ\text{C}/\text{min}}$ 250 $^\circ\text{C}$ (10 min),汽化温度 280 $^\circ\text{C}$,分流比 50:1,载气 He 流速 1 mL/min。样品配制质量浓度 10 g/L,溶剂甲醇,进样量 1 μL 。

1.3.2 气相色谱条件 色谱柱 HP-5 (30 m \times 0.32 mm \times 0.25 μm),升温程序:120 $^\circ\text{C}$ (2 min) $\xrightarrow{5^\circ\text{C}/\text{min}}$ 200 $^\circ\text{C}$ (5 min),汽化温度 280 $^\circ\text{C}$,样品配制质量浓度 10 g/L,溶剂甲醇,进样量 1 μL 。

1.3.3 熔点测定 按 WRR 熔点仪测定。

1.4 均匀性检验

按 GB/T 15000.5 - 1994^[4],采用 F 检验法对标准样品进行均匀性检验。从上述样品中随机抽取 10 瓶,用气相色谱法进行含量测定,每瓶重复测 4 次。

用方差分析法,通过组间方差和组内方差的比较来判断各组之间有无系统误差,如果二者的比小于统计检验的临界值则认为样品是均匀的。

1.5 定值方法

在样品通过均匀性检验后,采用气相色谱测定方法定值。随机选 6 瓶样品,每瓶分别重复测定 2 次,将定值测定数据按测定方法进行汇总,用格拉布斯检验法从统计上剔除可疑值;计算其平均值、标准偏差及不确定度。

1.6 稳定性检验

每隔一定时间,从上述样品中随机抽取 2 瓶,用气相色谱法进行含量测定,每瓶重复测 3 次,取平均值。观察测定值是否大于目标值的范围内,如低于目标值则视为不稳定。

2 结果与讨论

2.1 标准样品的制备

采用亚硫酸氢钠加成法提纯 TMB 是行之有效的方法^[5]。在制备过程中,采用热水重结晶得到的产品用 GC-MS 分析其杂质成分较多,改用乙醇溶剂重结晶后产品的纯度较高,测定熔点值为 74.0~74.7 $^\circ\text{C}$,与文献值相符。从而确定用乙醇重结晶法。按 1.2 节方法制备得到白色针状晶体 50 g,分装 25 瓶,每瓶装 2 g。

2.2 化学成分的 GC-MS 分析

将 3,4,5-三甲氧基苯甲醛的工业品和提纯制备的试样分别按 1.3.1 节的条件进行 GC-MS 分析,结果见表 1。

由表 1 对比看出,工业品的质量分数为 88.035%,杂质峰为 5 个;提纯后的样品质量分数 99.051%,杂质峰为 2 个。证明提纯方法是行之有效的。

表1 3,4,5-三甲氧基苯甲醛工业品和标准品的GC-MS分析结果
Table 1 Results and analysis of GC-MS of industrial products and reference substance of 3,4,5-trimethoxy-benzaldehyde

峰序号 peak No.	保留时间/min retention time	GC含量/% GC content	组分 constituents
工业品 industrial products	1	16.105	88.035 3,4,5-三甲氧基苯甲醛 3,4,5-trimethoxy-benzaldehyde
	2	18.259	1.305 2-[[(4-甲基苯基) 亚氨基] 甲基]-苯酚 2-[[(4-methylphenyl) imino] methyl]-phenol
	3	18.688	0.806 3,4,5-三甲氧基苯甲酸甲酯 3,4,5-trimethoxy-benzoic acid, methyl ester
	4	22.751	0.992 十六酸甲酯 hexadecanoic acid, methyl ester
	5	25.866	5.576 十八碳二烯酸甲酯 9,12-octadecadienoic acid, methyl ester
	6	25.981	3.287 十八烯酸甲酯 9-octadecenoic acid, methyl ester, (E)-
标准品 reference substance	1	15.790	0.354 邻苯二甲酸二乙酯 diethyl phthalate
	2	16.207	99.051 3,4,5-三甲氧基苯甲醛 3,4,5-trimethoxy-benzaldehyde
	3	18.654	0.595 3,4,5-三甲氧基苯甲酸甲酯 benzoic acid, 3,4,5-trimethoxy-, methyl ester

2.3 标准样品的均匀性检验

随机抽取10个3,4,5-三甲氧基苯甲醛标准样品测定其含量的均匀性检验数据见表2。

表2 3,4,5-三甲氧基苯甲醛标准样品的均匀性检验数据
Table 2 Test of homogeneity of 3,4,5-trimethoxy-benzaldehyde reference substance %

抽样瓶号 sample No.	测量值 determined values				平均值 average
	1	2	3	4	
1	99.53147	99.58564	99.56740	99.53627	99.55520
2	99.57438	99.57630	99.56429	99.53376	99.55070
3	99.58039	99.59054	99.56052	99.56242	99.57347
4	99.58211	99.56024	99.57385	99.55462	99.56770
5	99.57248	99.57547	99.55943	99.56258	99.56749
6	99.57477	99.55411	99.56891	99.56042	99.56455
7	99.57124	99.58204	99.52930	99.58087	99.57587
8	99.56933	99.53038	99.57726	99.58707	99.57749
9	99.57045	99.54896	99.56932	99.58726	99.55899
10	99.55227	99.57473	99.56211	99.59835	99.57187
<i>F</i>	1.25	$F_{0.05}(9,30)$	2.86		

由表中数据算得:组间平方和 $Q_1 = 0.003$, 组间自由度 $v_1 = 10 - 1 = 9$; 组内平方和 $Q_2 = 0.008$, 组内自由度 $v_2 = 10 \times (4 - 1) = 30$, 统计量 $F = (Q_1/v_1)/(Q_2/v_2) = 1.25$ 。

查 F 分布表^[4] 得到临界值 $F_{0.05}(9,30) = 2.86$, 统计量 F 小于 $F_{0.05}(9,30)$, 说明在 95% 的置信区间内, 标准样品的均匀性良好。

2.4 定值

2.4.1 定值数据 用 GC-FID 法在同一实验室、同样测试条件、不同时间、不同人测得 12 个含量测定值, 按数值自小而大顺序排列: 99.26%、99.32%、99.32%、99.33%、99.34%、99.34%、99.42%、99.44%、99.54%、99.54%、99.56%、99.57%, 计算公式如下^[6]:

$$\text{平均值 } \bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^{12} X_i}{12} = 99.42\%$$

$$\text{标准偏差 } S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{12} (X_i - \bar{X})^2}{12 - 1}} = 0.1093\%$$

2.4.2 格拉布斯法检验 按格拉布斯法^[7] 检验最大值和最小值是否异常值, 取检出水平 $\alpha = 5\%$ 。统计量 G 按下式计算, 计算与检验结果见表 3。

$$G = \frac{|X - \bar{X}|}{S}$$

表3 格拉布斯法检验

Table 3 Grubb's test

序号 No.	可疑值/% doubtable value	平均值/% average	标准偏差/% S	测量次数 n	临界值 $G_{0.05}$	统计量 G	结论 conclusion
1	99.57	99.42	0.1093	12	2.412	1.37	保留 reserved
2	99.26					1.46	

从表中可看出,计算的统计量 G 都小于相应的临界值 $G_{\alpha=0.05}$ (查表得到),由此判定无界外值。

2.4.3 标准样品的含量标准值和不确定度的确定 按以下公式进行计算^[8]:

$$\bar{X} \pm t_{(\alpha, n-1)} \times \frac{S}{\sqrt{n}}$$

上式中,已知 $\bar{X}=99.42\%$, $S=0.1093\%$, $n=12$; $t_{(\alpha, n-1)}$ 为 t 分布置信系数,选 $\alpha=0.05$,查表得 $t_{(0.05, 11)}=2.20$ 。代入公式计算:

$$99.42\% \pm 2.20 \times \frac{0.1093\%}{\sqrt{12}} = 99.42\% \pm 0.07\%$$

2.5 标准样品的稳定性评价

取两瓶样,每间隔0、3、6、9个月进行平行检验,每瓶取3个样,用上述测定的同一仪器、同样方法测定其含量,检验数据见表4。

表4 3,4,5-三甲氧基苯甲醛标准样品的稳定性检验数据

Table 4 Test of stability of 3,4,5-trimethoxy-benzaldehyde reference substance

%

放置时间/月 storage time/month	样品1 sample 1				样品2 sample 2			
	1	2	3	平均值 average	1	2	3	平均值 average
0	99.53	99.57	99.54	99.54	99.57	99.55	99.56	99.57
3	99.54	99.54	99.54	99.54	99.55	99.56	99.57	99.56
6	99.42	99.40	99.43	99.41	99.42	99.43	99.44	99.43
9	99.51	99.52	99.49	99.51	99.52	99.53	99.54	99.53

从表4看出,含量变化不大,都不低于标准值的下限($>99.35\%$)。因此在本抽检时间9个月内样品是稳定的。

3 结论

3.1 3,4,5-三甲氧基苯甲醛标准样品的制备采用亚硫酸氢钠加成法和乙醇重结晶来提纯。

3.2 3,4,5-三甲氧基苯甲醛标准样品含量的测定采用气相色谱面积归一化法。

3.3 本次研制的标准样品是均匀的;9个月的稳定性试验结果显示产品是稳定的。

3.4 在一个实验室进行定值测定结果显示,3,4,5-三甲氧基苯甲醛标准样品含量的标准值为 $99.42\% \pm 0.07\%$ 。

3.5 确定了3,4,5-三甲氧基苯甲醛标准样品的研制和测试方法,为制备国家有证标准样品打下基础。

参考文献:

- [1]李玉华,赵美法.三甲氧基苯甲醛及其下游产品的开发与应用[J].化工中间体,2002(13):3-9.
- [2]聂善文,汪长梁,高明光,等.甲氧苄啶中间体3,4,5-三甲氧基苯甲醛的含量测定[J].中国医药工业杂志,1990,21(1):24-25.
- [3]王纯信.三甲氧基苯甲醛的紫外分光光度测定法[J].中国医药工业杂志,1991,22(6):274-275.
- [4]GB/T 15000.5-1994,标准样品工作导则(5)——化学成分标准样品技术通则[S].
- [5]宁东刚,王琳.三甲氧基苯甲醛(TMB)的精制方法[J].南都学坛:自然科学版,1999,19(6):38-39.
- [6]中国标准化协会全国标准样品技术委员会.标准样品实用手册[M].中国标准出版社,2003.
- [7]全浩,韩永志.标准物质及其实用技术[M].2版.中国标准出版社,2003.
- [8]GB/T 15000.3-2008,标准样品工作导则(3)——标准样品定值的一般原则和统计方法[S].