

没食子酸辛酯标准样品的研制



XU Man

徐曼¹, 汪咏梅^{1,2}, 张亮亮^{1,2}, 吴冬梅^{1,2}, 陈笏鸿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: 研究了没食子酸辛酯标准样品的制备、均匀性和稳定性及其定值试验。将没食子酸辛酯工业品用无水乙醇溶解, 再用纯水稀释后重结晶, 得到高纯度的没食子酸辛酯标准样品。没食子酸辛酯含量测定采用液相色谱面积归一化法。所研制的没食子酸辛酯标准样品通过了均匀性检验和稳定性检验(6个月)。经定值检测, 该标准样品的质量分数为 99.472 0%, 不确定度为 0.03%。

关键词: 没食子酸辛酯; 标准样品; 定值; 均匀性检验; 稳定性检验

中图分类号: TQ35

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2012)03-0047-04

Study on Preparation of Reference Material of Octyl Gallate

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

(1. Institute of Chemical Industry of Forest Products, CAF; National Engineering Lab. for Biomass Chemical Utilization; Key and Open Lab. of 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 material of octyl gallate were studied. Highly purified reference material of octyl gallate was prepared from an industrial grade product of octyl gallate by solvent re-crystallization in ethanol and water. The content of octyl gallate in reference material was measured by peak area normalization of high performance liquid chromatographic analysis method. The reference materials passed the tests of homogeneity and stability (6 months). The measured mass fraction of octyl gallate reference material was 99.472 0% with uncertainty of 0.03% by certification.

Key words: octyl gallate; reference material; certification; homogeneity; stability

没食子酸辛酯又名梣酸辛酯, 是没食子酸深加工的精细化工产品, 分子式 $C_{15}H_{22}O_5$, 相对分子质量 282.34。没食子酸辛酯为白色至奶白色结晶粉末, 熔点 101~104 °C; 微溶于水, 易溶于乙醚、乙醇、丙二醇及植物油^[1]。没食子酸辛酯是一种性能优良的食品抗氧化剂, 对无水油脂的抗氧化性能尤佳, 可用于脂肪类、奶油类物质及油炸食品中, 具有提高食品品质, 延长食品的保质期, 增强保鲜防腐等功能^[2-3]; 可以单独使用, 也可以和其他没食子酸酯类、丁基羟基茴香醚等并用。没食子酸辛酯还具有抗血小板凝聚以及对心脑血管疾病的治疗作用, 是一种具有良好应用前景的药物, 国内外医药专家正对此进行着研究^[4-6]。没食子酸辛酯还用于生产无碳复写纸、热敏记录纸, 具有发色浓度高、固色时间长、显色效果强的特点^[7]。没食子酸辛酯在市场得到广泛应用, 但目前还没有统一的方法对其进行含量测定。采用现代分析手段如高效液相色谱法或紫外分光光度法进行测定没食子酸辛酯含量时, 都需要以标准样品作为参照物, 因此亟待研制没食子酸辛酯标准样品。本项目研究了没食子酸辛酯标准样品的制备方法并进行了均匀性检验、稳定性检验, 得到符合要求的没食子酸辛酯标准样品, 为标准样品的认证和采用液相色谱法测定没食子酸辛酯打下基础。

收稿日期: 2011-06-17

基金项目: 国家科技基础性工作专项(2007FY230200)

作者简介: 徐曼(1981-), 女, 江苏沭阳人, 助理研究员, 硕士, 从事植物资源化学利用研究; E-mail: lhsxuman@163.com。

1 实验

1.1 材料、试剂与仪器

没食子酸辛酯(98%),工业品,购自南京龙源天然多酚合成厂;无水乙醇(分析纯);甲醇(色谱纯);水: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;LC-20AB高效液相色谱仪,日本岛津公司。

1.2 标准样品的制备方法

在20 mL恒温的无水乙醇溶剂中缓慢加入没食子酸辛酯,边加入边搅拌,直至达到过饱和。30 min后过滤,用洁净烧杯收集滤液。缓慢加水稀释使重结晶,得到乳白色固体,抽滤水洗。55 °C真空干燥得到高纯度的没食子酸辛酯标准品。

1.3 化学成分分析和质量分析方法

1.3.1 高效液相色谱法测定 测定条件:色谱柱 Kromasil C18-5 μm, 4.5 mm × 150 mm;流动相为甲醇-水(体积比 80:20,含 0.1% 磷酸);待测样品质量浓度 0.1 g/L(以甲醇-水为溶剂);进样量 20 μL;流速 1 mL/min;UV 检测 273 nm。

1.3.2 熔点测定 采用 WRR 熔点仪测定。

1.4 均匀性检验方法

采用 F 检验法^[8]对上述制得的没食子酸辛酯标准样品进行均匀性检验。从制备分装好的样品中随机抽取 6 瓶,用液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。如果二者之比小于统计检验的临界值则认为样品是均匀的。 F 检验的统计量可由式(1)计算:

$$F = \frac{Q_1/v_1}{Q_2/v_2} \quad (1)$$

式中: F —统计量; Q_1 —组间方差平方和; v_1 —组间自由度; Q_2 —组内方差平方和; v_2 —组内自由度。

$$Q_1 = \sum_{i=1}^m n_i (\bar{X}_i - \bar{\bar{X}})^2 \quad (2)$$

$$Q_2 = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_j} (X_{ij} - \bar{X}_i)^2 \quad (3)$$

式中: \bar{X} —平均值, $\bar{X} = \sum_{i=1}^n X_i/n, \%$; $\bar{\bar{X}}$ —总平均值, $\bar{\bar{X}} = \sum_{i=1}^m \bar{X}_i/m, \%$; n —重复测定次数; m —样品数。

1.5 定值方法

在样品通过均匀性检验后,采用液相色谱方法进行含量测定。随机选 5 瓶样品,每瓶分别重复测定 3 次。将测定数据汇总,用格拉布斯检验法从统计上剔除可疑值;并对数据正态性进行检验。格拉布斯统计量(G)、标准偏差(S)、偏态系数(A)、峰态系数(B)按式(4)~式(7)计算。

$$G = \frac{|X - \bar{X}|}{S} \quad (4)$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad (5)$$

$$A = \frac{|m_3|}{\sqrt{(m_2)^3}} \quad (6)$$

$$B = \frac{m_4}{(m_2)^2} \quad (7)$$

式中: \bar{X} —平均值, $\%$; S —标准偏差; $m_2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n}$; $m_3 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^3}{n}$; $m_4 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^4}{n}$;

n —重复测定次数。

标准样品含量不确定度(u)的确定按式(8)进行计算^[8]：

$$u = t_{(\alpha, n-1)} \times \frac{S}{\sqrt{n}} \quad (8)$$

1.6 稳定性检验方法

在6个月内,每隔1个月,从上述制备分装好的标准样品中随机抽取3瓶,用液相色谱法进行含量测定,每瓶平行测定3次,取平均值。如测定值低于目标值,则视为不稳定。

2 结果与讨论

2.1 标准样品的制备

没食子酸辛酯的提纯有一定的难度。曾采用活性炭吸附方法进行提纯,由于没食子酸辛酯的水溶性较差,在处理过程中活性炭无法完全分离。改用溶剂重结晶方法提纯,选择了多种不同配比的溶剂进行重结晶试验,结果表明不同的溶剂对产物得率和品质有较大影响。将没食子酸辛酯,溶于50%乙醇-水、75%乙醇-水混合溶剂、无水乙醇,重结晶后得到没食子酸辛酯标准样品。通过测定熔点和HPLC法检测发现50%乙醇-水、75%乙醇-水混合溶剂重结晶得到的标准样品纯度与原料基本持平,无水乙醇重结晶得到的样品纯度得到较大提高,经HPLC法测定含量平均值由98.5217%提高到99.4580%。根据试验结果,最终选择无水乙醇为重结晶溶剂,所得产品的纯度较高,测定熔点值为101~104℃,与文献值相符。

2.2 标准样品的均匀性检验^[9]

从外观观察,制备得到的没食子酸辛酯标准样品颜色和状态均匀。随机抽取6个样品测定其含量,采用 F 检验法进行均匀性检验。检验数据和结果见表1。

表1 没食子酸辛酯标准样品均匀性检验结果

Table 1 Homogeneity test results of the content of octyl gallate reference material

样品序号 No. of samples	测量值1 test 1	测量值2 test 2	测量值3 test 3	测量值4 test 4	平均值 average value
1	99.4254	99.4973	99.3582	99.3507	99.4079
2	99.4362	99.5192	99.3547	99.3391	99.4123
3	99.4056	99.4420	99.3627	99.4021	99.4031
4	99.4230	99.4648	99.5746	99.4321	99.4736
5	99.3992	99.3763	99.3325	99.5016	99.4024
6	99.4123	99.5700	99.4543	99.4416	99.4696

$n=4$,计算平均值(\bar{X}): $\bar{X} = \sum_{i=1}^n X_i/n$, $m=6$ 计算总平均值: $\bar{\bar{X}} = \sum_{i=1}^6 \bar{X}_i/6 = 99.4282$ 。由式(2)、

(3)计算得到: $Q_1 = 0.22943$; $Q_2 = 0.08223$; $v_1 = m - 1 = 5$; $v_2 = 6 \times (4 - 1) = 18$ 。由公式(1)计算得到: $F = \frac{0.022943/5}{0.08223/18} = 1.0044$ 。查 F —分布表, F 检验的临界值 $F_{0.05} = 2.77$ 。

表明在样品非均匀性影响的显著性 $\alpha = 0.05$ 的情况下, F 检验的计算统计量1.0044小于其临界值2.77,说明在95%的置信区间内,标准样品的均匀性良好,由此可以判定样品均匀性检验合格。

2.3 标准样品定值^[10]

2.3.1 定值数据 用HPLC法在同一实验室、同样测试条件、不同时间、不同人测得15个含量测定值,按数值自小而大顺序排列(%):99.3922、99.4032、99.4051、99.4213、99.4425、99.4733、99.4754、99.4806、99.4911、99.5019、99.5037、99.5109、99.5126、99.5317、99.5344。

$n=15$,计算平均值 \bar{X} : $\bar{X} = 99.4720(\%)$,由式(5)计算标准偏差(S): $S = 0.0478$ 。

2.3.2 格拉布斯法检验 按格拉布斯法(Grubb's test)^[5]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)计算按1.5节公式(4)进行,计算与检验结果见表2。

表2 格拉布斯法检验结果

Table 2 Grubbs test

序号 No.	可疑值 suspect value	平均值(\bar{X}) average value	S	n	临界值($G_{0.05}$) critical value	测定值(G) measured value	评价 evaluation
1	99.5344	99.4720	0.0478	15	2.405	1.3054	保留 retaining
2	99.3922	99.4720	0.0478	15	2.405	1.6695	保留 retaining

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

2.3.3 数据正态性的检验^[11] 用偏态系数(A)检验数据的不对称性,用峰态系数(B)检验数据的峰态。对于服从正态分布的数值, A 应小于相应的临界值, B 应处于 $B \sim B'$ 临界区间中。

A 、 B 按1.5节公式(6)、(7)进行计算。已知: $\bar{X} = 99.4720$, $n = 15$ 。由15个测值计算得: $m_2 = 0.21 \times 10^{-2}$; $m_3 = -0.4276 \times 10^{-4}$; $m_4 = 0.8345 \times 10^{-5}$; $A = 0.4343$; $B = 1.8349$ 。

查表得:临界值 $A_{\alpha=0.05, n=15} = 0.85$; 临界区间 $B \sim B'_{\alpha=0.05, n=15} = 1.72 \sim 4.13$ 。亦即: A 的统计检验量小于临界值, B 处于临界区间内。由此可确定测值数据分布具有正态性,可对其进行有效统计分析。

2.3.4 标准样品含量标准值和不确定度的确定 已知 $\bar{X} = 99.4720$, $S = 0.0478$, $n = 15$ (见2.3.1节); $t_{(\alpha, n-1)}$ 为 t 分布置信系数,选 $\alpha = 0.05$, 查表得 $t_{(0.05, 14)} = 2.15$ 。

代入1.5节公式(8)计算可得不确定度0.03%。

2.4 标准样品的稳定性评价

取3瓶标准样品,每间隔1个月进行平行检验,用上述测定的同一仪器、同样方法测定其含量,每瓶平行测定3次,取平均值。表3为没食子酸辛酯标准样品在存放6个月内含量的变化情况。

从表3结果可知,质量分数变化均不高于标准值的下限 ($>99.4420\%$)。因此在本抽检时间6个月内没食子酸辛酯样品是稳定的。

表3 没食子酸辛酯标准样品稳定性检验结果

Table 3 Stability test of octyl gallate reference material

放置时间/月 storage time/month	实测平均值 determined average value/%			
	1#	2#	3#	平均值 total value
0	99.3976	99.4064	99.5735	99.4592
1	99.4609	99.5422	99.5615	99.5215
2	99.4563	99.4260	99.4553	99.4459
3	99.4375	99.4930	99.4546	99.4617
4	99.5649	99.5296	99.5742	99.5562
5	99.4182	99.3904	99.5312	99.4466
6	99.4920	99.4431	99.4615	99.4655

3 结论

3.1 没食子酸辛酯标准样品采用工业级没食子酸辛酯经无水乙醇重结晶提纯方法制备。

3.2 没食子酸辛酯标准样品的含量测定采用液相色谱面积归一化法;所研制的没食子酸辛酯标准样品通过了均匀性检验和稳定性检验(6个月);定值测定结果显示,所研制的没食子酸辛酯标准样品质量分数的标准值为 $99.4720\% \pm 0.03\%$ 。

3.3 本项目对没食子酸辛酯标准样品制备方法和定值方法的研究,可为制备有证标准样品提供技术依据。

参考文献:

- [1] 李子彬, 俸培宗, 莱剑秋, 等. 中国化工产品大全(下卷)[M]. 北京: 化学工业出版社, 1994: 551.
- [2] 吴在嵩, 严立楠, 马莎, 等. 没食子酸衍生物作为食用油抗氧化剂的研究[J]. 林产化学与工业, 1993, 13(1): 25-31.
- [3] 陈琳, 伍焜贤. 棕酸酯类对食用油脂的抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 1998, 19(3): 36-40.
- [4] 张家俊, 刘春梅, 陈文为. 没食子酸丙酯抗炎作用的观察[J]. 中西医结合杂志, 1986, 6(10): 609-610, 582.
- [5] CHEMETSKI V P, BELYSHERA T D, VOLOSHCHUK V G, et al. Gallic acid esters [J]. Metody Poluch khim. Reaktivov PreP, 1967(15): 186-190.
- [6] 陈瑗, 周玫. 自由基医学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1991: 465-466.
- [7] 毕良武, 吴在嵩, 陈筋鸿, 等. 没食子酸正辛酯合成工艺研究[J]. 林产化工通讯, 2001, 35(3): 3-5.
- [8] 国家技术监督局. 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]. 1994.
- [9] 全浩, 韩永志. 标准物质及其应用技术[M]. 2版. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [10] 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]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [11] 全国化工标准物质委员会. 分析测试质量保证[M]. 沈阳: 辽宁大学出版社, 2004.