

药物合成中间体中残余甲醛的微型光谱快速检测

徐溢^{1,2,3}, 张文品^{1,2}, 田鹏^{1,2}, 张波^{1,3}, 温志渝^{1,3}

1. 重庆大学微系统研究中心, 重庆 400030
2. 重庆大学化学化工学院, 重庆 400030
3. 重庆大学新型微纳器件与系统技术国家重点学科实验室, 重庆 400030

摘要 采用自制的全息平场凹面光栅集成微型光谱仪, 搭建了微型光谱快速分析测试系统, 实现了雷尼替丁合成中间体中杂质甲醛的快速检测。利用酸性条件下甲醛-MBT-H-硫酸铁铵体系的显色作用, 通过优化甲醛测定条件, 建立了快速测定甲醛的方法。测定甲醛线性范围为 $0.04 \sim 0.20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9938$), 最低检测限达到 $0.04 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。通过与 UV-2550 岛津光谱仪及美国海洋公司 HR-2000 微型光谱仪的对比测试实验, 对所建立的微型光谱检测系统和甲醛检测方法进行了实际测试和可靠性验证, F 检验法检验显示测试结果无显著性差异。实验结果表明微型光谱快速分析测试系统能满足实验分析、工业过程监测和临床医学检验样品的快速、实时检测的需求, 具有巨大的潜在应用市场。

关键词 微型光谱仪; 药物中间体; 甲醛; 酚试剂

中图分类号: O657.3 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2009)02-0471-05

引言

在环境、食品卫生和工业生产快速实时监控领域, 国内外目前所采用的分析检测方法几乎都涉及到大型分析检测仪器, 虽然这些仪器能保证较高的精密度和准确度, 但是难以实现现场、实时和快速检测的需求。随着微电子学、MEMS、微机械加工技术、光电器件等相关技术的不断发展, 便携式、微型化的检测系统成为人们研究的热点, 与传统大型的分析检测仪器相比, 具有携带方便、功耗低、可集成化、可批量化生产、成本低等突出优点, 特别是能满足广泛分布的实时快速监测的应用需求^[1]。近年来, 基于 MEMS 技术而发展的便携式、微型化的光谱检测仪器备受瞩目, 在国外已有部分实现了实用化突破。与普通光谱分析仪一样, 微型光谱仪有着巨大的应用市场, 可以广泛应用于实验分析、工业过程监测、临床医学检验、航空航天遥感等领域^[2]。德国多特蒙德的 Microparts 公司利用自身开发的 LIGA 技术生产了 Micro Spec Vis2000 微型光谱仪^[3]; Goldman 等^[4]用聚合物和金属氧化物作为平面波导层, 制作了一种新型集成式微型光谱仪; 光纤式光谱仪也日趋成熟, 1992 年美国 Ocean Optic 公

司的 Michael 等研制出的 HR2000 光纤光谱仪^[5], 以单股光纤所获得的高分辨率光谱信息表征溶液的 pH 值和有毒金属浓度。2003 年我们研制出反射式混合集成微型光谱仪^[6,7], 成功用于临床检测项目的分析测试^[8,9], 在此基础上还进一步研制出全息平场凹面光栅集成微型光谱仪^[10]。

本文利用自制的微型光谱仪构建了一种操作简便、实时和快速的甲醛检测微型分析系统和检测方法, 以雷尼替丁合成中杂质甲醛为监控目标, 对实际样品体系中残留甲醛进行实时、快速监测, 以期准确而快速地测定残余甲醛的含量, 为工艺优化、过程控制和品质控制等提供强有力的理论支撑。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

仪器: 自制微型光谱检测仪(重庆大学微系统研究中心), HR2000 微型光谱仪(美国海洋光学公司), UV-2550 岛津光谱仪(日本岛津公司), BT-100 蠕动泵(重庆杰恒蠕动泵有限公司)。

试剂: 甲醛(HCHO, AR 级, 重庆北碚化学试剂厂), 使

收稿日期: 2007-08-10, 修订日期: 2007-12-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(20675089, 90307015), 国家科技部“863”计划项目(2006AA04Z345), 科技部国际科技合作项目(2006DFA13510), 重庆市自然科学基金重点项目(2006BA4012, 2006BB7184)和重庆大学研究生科技创新基金项目[200801A1A0230282]资助

作者简介: 徐溢, 女, 1966 年生, 重庆大学化学化工学院教授 e-mail: xuyibbd@sina.com

用时稀释成 $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的甲醛标准溶液, 酚试剂 (3-甲基-苯并噻唑酮, $\text{C}_8\text{H}_9\text{N}_3\text{S} \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$, AR 级, 天津光复精细化工研究所), 使用浓度 $0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 硫酸铁铵 ($(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 上海试剂四厂)。

样品采集制备: 采用 BT-100 蠕动泵直接从反应釜的取样孔中吸取雷尼替丁合成中间体, 并直接泵入微型光谱仪的样品池, 注入一定体积的蒸馏水稀释, 随即与试剂充分反应得到待测液。

1.2 原理和方法

实验采用酚试剂法^[11]测定雷尼替丁中残留甲醛浓度, 甲醛与酚试剂 (MBTH) 反应生成嗪, 在高铁离子的存在下嗪与酚试剂的氧化反应生成蓝绿色化合物, 在 $\lambda_{\text{max}} = 630 \text{ nm}$ 处有强吸收, 通过测定吸收光谱强度以朗伯-比尔定律确定甲醛含量。

实验搭建的甲醛快速检测的微型光谱分析系统如图 1 所示。图中 1~6 分别是实际反应釜、蠕动泵、微型光谱分析仪、笔记本电脑、样品检测池和自制微光谱仪。首先对自制的微型光谱仪进行性能测试, 得其光谱范围、光谱带宽、波长准确度、波长重现性和杂散光等主要参数。然后采用微泵将被测溶液注入到流动样品室, 光源通过光纤耦合微型光纤光谱仪进行分光, 由 CCD 探测器探测光谱信号并以视频信号输出, 通过信号采集卡和 USB 接口与计算机相连, 完成数据采集并由设计的软件系统实现对光谱信号的处理与分析^[12, 13], 以获得实测样品中残余甲醛浓度。

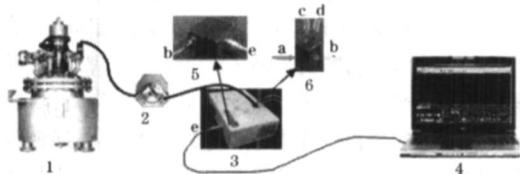


Fig 1 Formaldehyde monitoring microsystem based on homemade micro-spectrometer

a: Lamp-house; b: Fiber; c: Sample inlet;
d: Sample outlet; e: USB interface

2 结果及讨论

2.1 自制微型光谱仪性能测试

2.1.1 微型光谱仪的谱线标定

波长准确度和重现性是光谱分析仪器最重要的技术指标, 它直接反映了仪器测量结果的可信和可靠程度。实验采用汞灯对微型光谱分析仪进行标定, 采集汞灯的特征谱线 (365.0, 404.7, 435.8, 546.1, 578.0 nm) 的相关数据, 图 2 为汞灯谱。在上述特征波长处对微型光纤光谱仪进行波长标定, 结果显示测试波长与理论波长之间最大的偏差为 0.3 nm, 与标准特征谱线吻合良好。由于微型光谱仪采用电扫描的方式进行光谱扫描, 因此, 实际测试中波长重现性良好。

2.1.2 吸光度准确度和重现性

实验以 UV-2550 岛津光谱仪测试值作为参考对照值, 在波长为 510 nm 处用微型光谱仪平行测定系列浓度的氯化钴标准溶液 (表 1)。测试结果显示, 同一样品实际测定的吸

光度与对照值之间的最大偏差为 0.048, 吸光度 RSD 均小于 1%。表明测定结果具有良好的准确度及重现性。

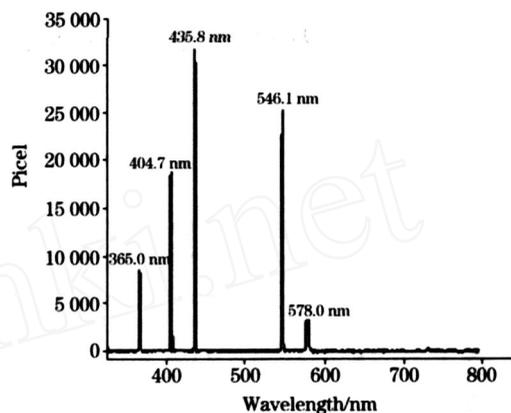


Fig 2 Mercuric lamp spectrum of microspectrometer

Table 1 Accuracy and reproducibility of absorption detected by homemade microspectrometer

标液浓度 $c(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0
自制微光谱仪测得吸光度值 A_i					
1	0.156	0.312	0.506	0.674	0.916
2	0.154	0.311	0.509	0.673	0.917
3	0.157	0.312	0.508	0.675	0.917
测定平均值 A	0.156	0.312	0.508	0.674	0.917
UV-2550 岛津光谱仪测定值 A_s	0.152	0.299	0.477	0.635	0.869
偏差 ($A_i - A_s$)	0.004	0.013	0.031	0.039	0.048
RSD/ %	0.98	0.185	0.30	0.15	0.06

2.1.3 光谱带宽

光谱带宽是影响光谱仪定量分析误差的主要因素之一, 也是衡量光谱仪性能的重要参数。实验以汞灯在 546.1 nm 的特征谱线的半宽度表示该光谱仪的光谱带宽, 通过对测试数据的分析, 自制微型光谱仪的带宽为 1.31 nm。

综上所述, 本实验采用的自制微型光纤光谱仪的光谱范围 340~770 nm, 光谱带宽 $< 2 \text{ nm}$, 波长准确性 $< \pm 1 \text{ nm}$, 波长重复性 $< 1 \text{ nm}$, 吸光度准确度 0.048, 吸光度 RSD $< 1\%$ 。测试结果证明: 自制的微型光谱分析仪性能指标已经达到中华人民共和国国家计量检定规程《JJ G464 - 1996 生化分析仪》的要求, 能满足实际测试需求。

2.2 甲醛检测条件优化

2.2.1 甲醛的吸收光谱

按照实验方法采用微型光谱仪检测分析系统可在极短的时间内获得甲醛的全光谱连续扫描谱图 (图 3), 保障本系统在对样品实现全波长的动态和实时检测。结果显示: 该体系在 630 nm 处有最大吸收峰, 无其他杂质峰干扰, 选择此波长作为测定波长。

2.2.2 氧化剂浓度

为了避免氧化剂硫酸铁铵溶液易水解而形成 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 乳浊液的问题, 实验采用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸酸性溶剂配制硫酸铁铵溶液, 并优化了不同氧化剂用量对测定结果的影响 (图 4), 结果显示在 1.0 mL 的 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸铁铵下, 样品体系吸光度值最高。

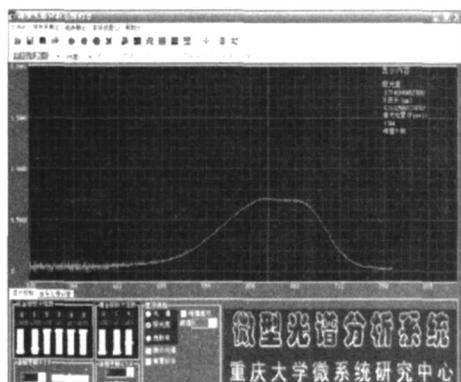
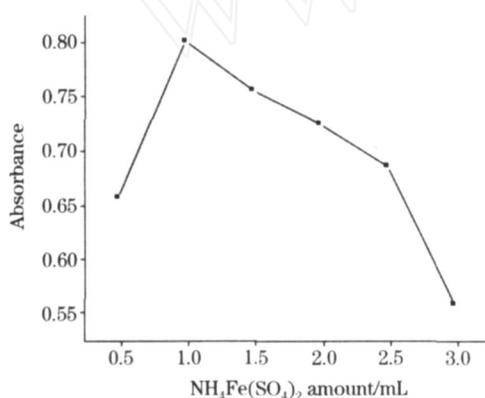


Fig. 3 Absorption spectrum of formaldehyde

Fig. 4 Effect of $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ amount on absorption

2.2.3 显色剂用量

显色剂用量是影响实验结果的精密度及准确度的重要因素。实验优化了酚试剂用量对测定吸光度的影响(图5)。结果显示:酚试剂的加入量在2.0~2.5 mL可显色完全,因此,实验选用酚试剂的用量为2.5 mL。

2.3 样品分析

2.3.1 工作曲线及检测限

实验得到甲醛测定的线性回归方程为 $A = 0.4607c + 0.1349$, 线性相关系数 0.9938, 线性范围 $0.04 \sim 0.20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 摩尔吸光系数为 $_{630\text{nm}} = 1.84 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。方法的最低检出限可达到 $0.04 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

Table 2 Comparison of accuracy among different detection methods for remnant formaldehyde

编号	1	2	3	4	5	\bar{x}	s	RSD/ %
UV-2550 岛津光谱仪测定残余甲醛浓度/ %	19.09	19.21	19.26	19.24	19.15	19.19	0.0696	0.36
海洋微型光谱仪测定残余甲醛浓度/ %	19.01	19.12	19.25	19.18	19.04	19.12	0.0987	0.52
自制微型光谱仪测定残余甲醛浓度/ %	18.90	19.06	19.26	19.21	18.95	19.08	0.1573	0.82

采用 F 检验法判断微型光谱仪与 UV-2550 岛津光度仪检测结果之间的差异性, $F = s_{\text{微}}^2 / s_{\text{岛}}^2 (5.1) < F_{0.05, 4, 4} (6.39)$, 说明两种测试手段获得的结果无显著性差异; 同样地与 HR2000 微型光谱仪(美国)测试结果对比, 也无显著差异。三种不同仪器测定的结果的 RSD 均小于 1%,

2.2.4 显色时间

实验考察了显色的时间对测定溶液的吸光度的影响作用(图6), 结果表明 13 min 后反应体系基本稳定, 吸光度不随时间而变化, 选取 15 min 为反应时间。

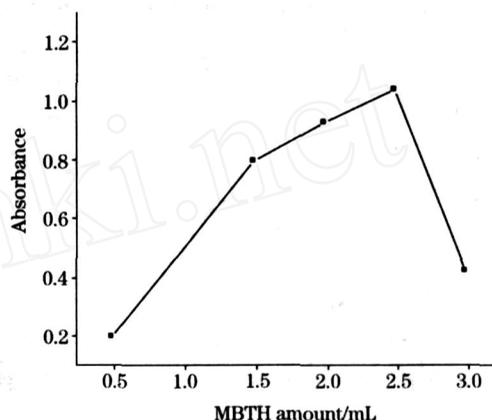


Fig. 5 Effect of amount of MBTH on absorption

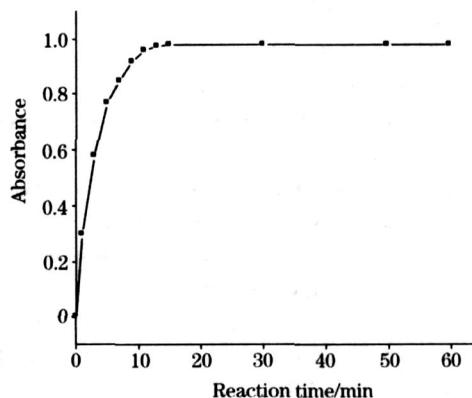


Fig. 6 Effect of reaction time on absorption

2.3.2 样品分析

由微型分析系统实时采集的光谱信息(吸光度和透射比)可在定时定点进行残余甲醛的定量分析, 为工业生产的实时监测提供强有力的理论支撑。将雷尼替丁合成过程中中间体按实验方法进行采样和测定, 采用标准曲线法获得测试结果如表2所示。同时, 以标准加入法进行回收实验, 测试结果见表3所示。

表明测定的重现性高, 满足我国药典规定用于药检分析检测的基本要求。因此, 基于微型光谱仪的甲醛检测方法可以用于实际样品的分析测试。

实验测得样品中残余甲醛平均质量分数为 19.08%, 这是由于在反应中甲醛作为反应物是以过量的形式存在, 而在

后续的工艺中还需要除掉这些残留甲醛。通过残余甲醛的测定结果不仅可以计算出整个合成工艺的产率,同时能为进一步优化合成的工艺条件提供参考依据。

回收率为 98.95% ~ 102.00%,表明该方法准确性高,达到分析检测的基本要求,可应用于实际样品的测定分析。

3 结 论

本文建立了一种基于自制全息平场凹面光栅集成微型光谱仪的甲醛快速检测分析系统和方法。自制全息平场凹面光栅集成微型光谱仪具有良好稳定的测试性能,可以有效实现对药物中间体中杂质甲醛含量进行实时快速监测,方法简单、方便、快速、稳定,具有较好的精密度和准确度,该方法检测灵敏度可达到 $0.04 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,测定 5 次的 RSD 值小于 1%,平均回收率为 98.95% ~ 102.00%,满足生产过程质量控制检测的需求。所建立的微型化快速系统在常规化学分析、工业过程监测、临床医学检验等领域显示出极大的应用前景。

Table 3 Recovery of standard addition of formaldehyde

编号	本底值 / μg	加标值 / μg	平均测得值 / $\mu\text{g}(n=5)$	平均回收率 / $\%(n=5)$
1		1.000 0	2.897 1	98.95
2		1.500 0	3.413 9	100.42
3	1.907 6	2.000 0	3.929 2	101.08
4		2.500 0	4.457 6	102.00
5		3.000 0	4.960 4	101.76

取 1.000 0 g 上述样品稀释至 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,以 1.0 mL 该甲醛样品为本底值,加入系列浓度的甲醛标准溶液,按实验方法平行测定 5 次,计算回收率,结果显示:甲醛的平均

参 考 文 献

- [1] Gaylin M Yee, Nadim I Maluf, Paul A. Sensors and Actuators, 1997, 58(1): 61.
- [2] FAN Shi-fu(范世福). Modern Scientific Instruments(现代科学仪器), 2000, 3: 10.
- [3] Stephen J Dearden. A Comparative Review of Some Commercial Spectrographs[EB/ OL]. <http://users.erols.com/njastro/faas/pages/paper001.htm>.
- [4] Goldman D S, White P L, Anheier N C. Applied Optics, 1990, 29(31): 4583.
- [5] Morris Michael J, Walters Roy A. SPIE, 1993, 1796: 141.
- [6] WEN Zhi-yu, CHEN Gang, WEN Zhong-quan, et al(温志渝, 陈刚, 温中泉, 等). Acta Optica Sinica(光学学报), 2003, 23(6): 740.
- [7] CHEN Gang, WEN Zhi-yu, WEN Zhong-quan, et al(陈刚, 温志渝, 温中泉, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2003, 23(6): 1232.
- [8] HU Song, WEN Zhi-yu, LIANG Yu-qian, et al(胡松, 温志渝, 梁玉前, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(9): 1769.
- [9] CHEN Gang, WEN Zhi-yu, WEN Zhong-quan, et al(陈刚, 温志渝, 温中泉, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(3): 439.
- [10] ZHANG Bo, WEN Zhi-yu(张波, 温志渝). Semiconductor Optoelectronic(半导体光电), 2007, 28(1): 147.
- [11] XU Bo-hong, YAN Hui-fang(徐伯洪, 闫慧芳). Methods for Monitoring Hazardous Substances in the Air of Workplace(工作场所有害物质监测方法). Beijing: Chinese People's Public Security University Press(北京:中国人民公安大学出版社), 2003. 191.
- [12] XIONG Yu-hong, WEN Zhi-yu, CHEN Gang, et al(熊宇虹, 温志渝, 陈刚, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(8): 1332.
- [13] CHEN Gang, WEN Zhi-yu, LIANG Yu-qian, et al(陈刚, 温志渝, 梁玉前, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(3): 346.

Quick Determination of Formaldehyde Remnant in the Pharmic Intermediates by Homemade Microspectrometer

XU Yi^{1,2,3}, ZHANG Weir-pin^{1,2}, TIAN Peng^{1,2}, ZHANG Bo^{1,2}, WEN Zhi-yu^{1,2,3}

1. Microsystem Research Center, Chongqing University, Chongqing 400030, China

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China

3. Key Lab for Optoelectronic Technology & Systems of Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400030, China

Abstract The rapid and real-time analytical system based on photometrical methodology of a homemade holographic flat field concave grating integrated microspectrometer was established, which was applied to detect the remnant formaldehyde in the intermediate of ranitidine synthesis. Based on the chromogenic reaction of formaldehyde with MBTH and $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ in acid medium, the methodology of formaldehyde detection was developed. Furthermore, factors affecting the chromogenic reaction were optimized in details. Under the optimized conditions, a good linear relationship in the range of $0.04\text{--}0.20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9938$) was obtained and the lowest detection limit achieved $0.04 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. In order to demonstrate the methodology and reliability of the microspectrometer analytical system, comparative experiments were carried on among the homemade microspectrometer, SHIMADZU UV-2550 spectrophotometer and U. S. A. Ocean Optic HR2000 Microspectrometer. The *F*-test was employed to check the reliability and efficiency of the proposed methodology. No significant difference was shown among them. The experimental results showed that the set up analytical system could satisfy the needs of quick and real-time detection in practical applications for experimental analysis, industrial monitoring and medicinal diagnosis.

Keywords Homemade microspectrometer; Pharmic intermediates; Formaldehyde; Phenol reagent

(Received Aug. 10, 2007; accepted Dec. 20, 2007)