

紫外双波长法检测葡萄糖降解产物 5-HMF 的研究

袁月,姚双全,王双飞*

(广西大学轻工与食品工程学院,广西 南宁 530004)

摘要: 5-羟甲基糠醛(HMF)是一种重要的平台化合物,是制取生物质液体燃料和其他化工产品的前体,可通过葡萄糖脱水制得。采用双波长紫外分光光度法测定葡萄糖转化为5-羟甲基糠醛的葡萄糖的转化率和HMF的产率。并通过验证实验验证了该方法的准确性。结果表明,该方法为大规模工业化检测提供一种简单有效的检测手段。

关键词: 葡萄糖;脱水;5-羟甲基糠醛;双波长紫外可见光谱

中图分类号: TQ251

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2016)02-0176-03

DOI: 10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2016.02.046

Determination of HMF by dual wavelength UV spectrophotometry

YUAN Yue, YAO Shuang-quan, WANG Shuang-fei*

(College of Light Industry and Food Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: 5-Hydroxymethylfurfural(HMF) is a key intermediate for renewable fuels and fine chemicals, which can be synthesized from glucose, a typical hydrolysis production of biomass. Dual wavelength UV spectrophotometry provides a new approach for determination of glucose conversion rate and yield of HMF. Experiments are performed to demonstrate the accuracy and precision of this method. The result shows that this method is effective and reliable. It provides a simple and effective means for large-scale industrialization determination in the future.

Key words: glucose; dehydration; 5-hydroxymethylfurfural; dual wavelength UV spectrophotometry

随着石油和煤炭等不可再生石化资源的过度消耗和人类社会对能源需求的不断增加,原料丰富、价格低廉的可再生生物质资源转化为液体燃料的开发利用越来越得到人们的重视^[1-3]。5-羟甲基糠醛(HMF)就是这样一种生物质资源的新型平台化合物。HMF由木质纤维素水解生成的葡萄糖脱水制得,以HMF为原料可以合成许多有用化合物和新型高分子材料,包括医药、树脂类塑料、柴油燃料添加物等一系列具有高附加值的产品^[4-6]。葡萄糖因为廉价且资源丰富,被认为是制备HMF的更好原料^[7-8]。

对于HMF的测定,目前主要有高效液相色谱法(HPLC)^[9-12]和紫外分光光度法^[13-14]。HPLC方法准确,重复性好,但操作程序复杂,待测样品预处理要求较高。紫外分光光度法对样品处理要求低,使测定程序简单化,测定速度快捷化,也存在检测重现性较差,检测灵敏度较低的问题。

笔者采用双波长紫外分光光度法测定以CPL-LiCl为溶剂的反应体系中HMF的含量,并对该方法

的准确度进行了验证。

1 实验部分

1.1 实验原料及所需仪器

D-(+)-Glucose,分析纯;5-羟甲基糠醛(BR,质量分数>98%),购自上海晶纯生物科技有限公司(中国);己内酰胺,购自光华科技股份有限公司(中国广东);氯化锂、五氧化二磷、氯化钙、氧化铝,分析纯,购自科隆化工(中国成都)。

磁力搅拌器;紫外可见分光光度计UV-845x,美国安捷伦科技。

1.2 配制CPL/LiCl离子液体

取5.000g己内酰胺放入50mL烧瓶里,按氯化锂与己内酰胺摩尔比为1:2、1:3、1:4和1:5将氯化锂加入到烧瓶中。再将烧瓶放入油浴锅中,在磁力搅拌下加热至120℃,至无色透明液体保持2h,得到离子液体。

1.3 双波长法测定5-羟甲基糠醛

配置5个已知浓度的HMF溶液,溶液浓度范围

收稿日期:2015-07-26

基金项目:广西大学2015年博士研究生创新项目功能性蔗渣半纤维素的制备与应用研究YCBZ201501

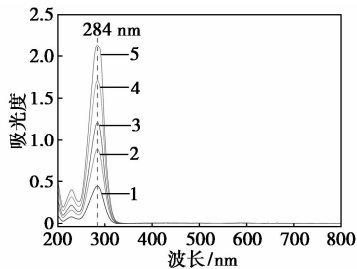
作者简介:袁月(1989-),女,硕士生,主要研究方向为清洁化制浆造纸新技术与污染控制, woshiyue@hotmail.com;王双飞(1963-),男,博士,教授,博士生导师,主要从事清洁化制浆造纸与污染控制新技术等方面的研究,通讯联系人, 0771-3237097, shuangfeiwxg@163.com。

是 0.019 ~ 0.093 mmol/L。将蒸馏水置于比色皿中进行空白样品扫描,然后分别将 5 个标准溶液样品置于比色皿中进行紫外可见光波谱扫描,记录样品在 200 ~ 800 nm 波长范围内波谱图。为防止样品中离子液体对紫外可见光谱分析的干扰,设置空白对照组和实际样品组:配制空白离子液体,置于比色皿中进行紫外可见光波谱扫描,记录样品在 200 ~ 800 nm 波长范围内波谱图;将葡萄糖以 10% 离子液体的用量加入到离子液体中,110℃ 下反应 3 h,反应后溶液利用可见分光光度计检测。

2 结果与讨论

2.1 双波长可见光谱法测定 HMF

不同浓度的 HMF 标准溶液在 200 ~ 800 nm 波长范围内的紫外-可见光光谱图如图 1 所示。



1—0.019 mmol/L; 2—0.037 mmol/L; 3—0.056 mmol/L;
4—0.075 mmol/L; 5—0.093 mmol/L

图 1 HMF 标准溶液紫外吸收光谱

从图 1 中可以看出,在 284 nm 波长处,不同浓度的 HMF 标准溶液都有明显的吸收峰,且随着溶液浓度的增大,吸收强度也不断增大。在 200 ~ 350 nm 波长内,不同浓度的 HMF 标准溶液都有一定的吸收,但在 350 nm 以后,吸光度近乎为零。由于 5-羟甲基糠醛在 284 nm 处有最大吸光度,因此可以采用紫外分光光度法进行检测。

284 nm 处 HMF 溶液浓度与吸光度的关系如图 2 所示。

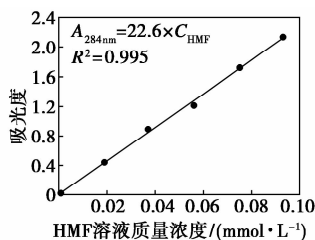


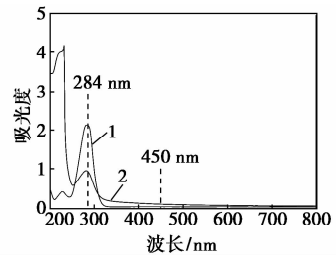
图 2 284 nm 处 HMF 溶液浓度与吸光度关系

由图 2 可以看出,随着 HMF 溶液浓度的增大,吸光度呈线性增加趋势。由曲线近似方程可知,他

们均遵循朗伯-比尔定律^[15],即 $A_{284\text{ nm}} = 22.6 \times C$ ($R^2 = 0.995$)。

2.2 实际得到的 HMF 干扰物质的影响

待测 HMF 溶液与标准溶液的波长与吸光度的关系如图 3 所示。

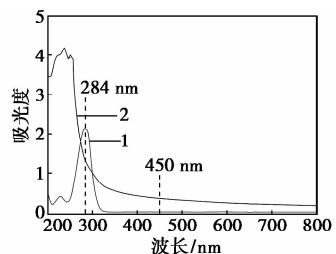


1—HMF 标准溶液; 2—待测样品

图 3 HMF 标准溶液与待测样品紫外吸收光谱图

由图 3 可以看出,在波长为 350 ~ 600 nm 内,待测样品有一定的吸光度,而标准 HMF 溶液在 350 ~ 600 nm 以后没有吸光度,吸光度存在一定的漂移。这是由于葡萄糖在脱水生成 HMF 的过程中,前期制备的离子液体中存在有己内酰胺等带有不饱和键的物质,离子液体的存在会对 HMF 的吸收产生干扰。这是制备得到的 HMF 紫外吸光度在 350 ~ 600 nm 处有漂移的原因^[16-17]。

HMF 标准溶液和 CPL/LiCl 紫外吸收光谱如图 4 所示。



1—HMF 标准溶液; 2—CPL/LiCl 离子液体

图 4 HMF 标准溶液和 CPL/LiCl 紫外吸收光谱

由图 4 可知,空白离子液体在 350 ~ 600 nm 处确实存在一定的吸光度,说明假设是正确的。同时可以看到,空白离子液体在 284 nm 处也有吸光度,这会对得到的 HMF 的吸光度带来影响。因此,284 nm 处 HMF 溶液的吸光度应为实际测得 284 nm 的吸光度减去 284 nm 处离子液体的吸光度。

2.3 紫外可见光双波长法测定 HMF

由于实际检测中有干扰物质的存在,为了排除在紫外可见光谱测定 HMF 含量时干扰物质的影响,建立一种双波长测定 HMF 的方法,构成紫外双波长

图谱,公式如下:

$$A_{\text{HMF绝对}284} =$$

$$A_{\text{样品}284} - A_{\text{CPL/LiCl}284} = A_{\text{样品}284} - A_{\text{CPL/LiCl}450} \times K \quad (1)$$

$$K = A_{\text{CPL/LiCl}284} / A_{\text{CPL/LiCl}450} = 1.345 / 0.34748 = 3.871$$

式中: $A_{\text{CPL/LiCl}284}$ 和 $A_{\text{CPL/LiCl}450}$ 分别为 CPL/LiCl 离子液体在 284 nm 和 450 nm 处的吸光度; $A_{\text{HMF绝对}284}$ 为样品中 HMF 在 284 nm 的吸光度; $A_{\text{样品}284}$ 为实际测得的样品在 284 nm 处的吸光度; K 为 CPL/LiCl 离子液体在 284 nm 和 450 nm 处的吸光度的比值。

测得 CPL 空白离子液体的吸光度 $A_{\text{CPL/LiCl}284} = 1.345$, $A_{\text{CPL/LiCl}450} = 0.34748$ 。根据朗伯比尔定律,同一离子液体在 284 nm 的吸光度与 450 nm 的吸光度存在固定的比例,所以,利用样品中 CPL/LiCl 离子液体在 450 nm 处的吸光度,可以得到样品中 CPL/LiCl 离子液体在 284 nm 处的吸光度。另外,HMF 在 284 nm 处的吸光度为实际测得的样品在 284 nm 处的吸光度减去样品中 CPL/LiCl 离子液体在 284 nm 处的吸光度。结合朗伯比尔定律中吸光度与浓度之间的关系,计算出样品中 HMF 的浓度。

2.4 双波长法的精密度和准确性检验

为了证明紫外可见光双波长法的精确性和准确性,做了 5 组回收实验。利用双波长法,算出样品中 HMF 物质的量,结果如表 1 所示。在样品溶液中加入 4.0、8.0、10.0、15.0 μmol 和 20.0 μmol 待测组分的标准 HMF 溶液。根据双波长法,得到待测组分的总浓度,扣除样品中该组分原有的 HMF 物质的量,即回收的标准物质的量,回收率分别为 95.0%、97.5%、99.0%、98.7% 和 97.0%。标准物质的回收率应尽可能接近 100%,如果回收率太高或太低,都说明这种方法不可靠,一般实际的回收率误差在 $\pm 5\%$ 都认为此方法可靠,实验中,5 组实验均符合 5% 的误差范围,验证此方法可靠。

表 1 HMF 回收率

样品	HMF 加入量/ μmol	HMF 测定量/ μmol	HMF 回收率/%
1	4.0	3.8	95.0
2	8.0	7.8	97.5
3	10.0	9.9	99.0
4	15.0	14.8	98.7
5	20.0	19.4	97.0

采用双波长紫外分光光度法测定样品中 HMF 物质的量,结果表明,该方法操作简单、快速,无需显色处理,回收率较准,为生物质水解生产 5-羟甲基糠醛提供了一种快速有效的检测手段。

3 结论

以离子液体己内酰胺-氯化锂为溶剂,研究了生物质水解产物葡萄糖向 HMF 的转化工艺,探索了其不同波长下吸光度以及吸光度与浓度的关系,通过实验得出以下结论:在 284 nm 处,不同 HMF 标准溶液都有明显的吸收峰,且随着溶液浓度的增大,吸收强度也不断增大;HMF 标准溶液在 284 nm 特征波长处的吸光度与其对应浓度的线性关系遵循朗伯-比尔定律;284 nm 处 HMF 溶液的吸光度应为实际测得 284 nm 的吸光度减去 284 nm 处离子液体的吸光度。

双波长紫外分光光度法测定样品中 HMF 物质的量的方法有效可靠。该方法操作简单、快速,无需显色处理,回收率较准,为生物质水解生产 5-羟甲基糠醛提供了一种快速有效的检测手段。

参考文献

- [1] Camarero Espinosa S, Kuhnt T, Foster E J, *et al.* Isolation of thermally stable cellulose nanocrystals by phosphoric acid hydrolysis [J]. *Biomacromolecules*, 2013, 14(4): 1223 - 1230.
- [2] David Martin Alonso, Jesse Q Bond, James A Dumesic. Catalytic conversion of biomass to biofuels [J]. *Green Chemistry*, 2010, 12: 1493 - 1513.
- [3] Melero J A, Iglesias J, Garcia A. Biomass as renewable feedstock in standard refinery units. Feasibility, opportunities and challenges [J]. *Energy & Environmental Science*, 2012, 5: 7393 - 7420.
- [4] Bicker M, Hirth J, Vogel H. Dehydration of fructose to 5-hydroxymethylfurfural in sub- and supercritical fluids [J]. *Supercritical Fluids*, 2005, 36(2): 118 - 126.
- [5] Dodds D R, Gross R A. Chemicals from biomass [J]. *Science*, 2007, 318: 1250 - 1251.
- [6] 王军,张春鹏,欧阳平凯. 5-羟甲基糠醛制备及应用的研究进展 [J]. *化工进展*, 2008, 27(5): 702 - 707.
- [7] Zhou L, Liang R, Ma Z, *et al.* Conversion of cellulose to HMF in ionic liquid catalyzed by bifunctional ionic liquids [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 129: 450 - 455.
- [8] Xiao S, Liu B, Wang Y, *et al.* Efficient conversion of cellulose into biofuel precursor 5-hydroxymethylfurfural in dimethyl sulfoxide-ionic liquid mixtures [J]. *Bioresource Technology*, 2014, 151: 361 - 366.
- [9] Hu Lei, Sun Yong, Lin Lu, *et al.* Catalytic conversion of glucose into 5-hydroxymethylfurfural using double catalysts in ionic liquid [J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2012, 43(5): 718 - 723.
- [10] 王晶晶. 离子液体中纤维素催化水解制备 5-羟甲基糠醛 [D]. 天津:天津大学, 2000.

高,操作复杂,成本较高;激光衍射散射法是实验室最常用、成本最低、最快捷的超细粉体粒度测量方法。利用激光粒度测量仪对不同粉体的测量条件各不相同^[9-15],测量条件选取不当会使测定结果有很大偏差。笔者利用激光粒度仪测定纳米腐殖酸粉体粒度分布,以样品的 D_{50} 为考察指标(D_{50} 常用来表示粉体平均粒度),通过单因素及正交实验研究了分散剂种类、超声温度、超声时间、分散质浓度、分散剂质量分数对粒度测量结果的影响。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

无水乙醇,CP,天津市风船化学试剂科技有限公司生产;六偏磷酸钠,AR,上海麦克林生化有限公司生产;纳米腐殖酸,自制。SM-6700F 型扫描电子显微镜(SEM),日本电子公司生产;KQ-500DE 型数控超声波清洗器,超声功率为 40 kHz,昆山市超声仪器有限公司生产;LS-900 型欧美克激光粒度仪,量程为 0.05 ~ 500 μm ,欧美克科技有限公司生产;HZK-FA210 型电子天平,精度为 0.1 mg,福州华志科学仪器有限公司生产。

1.2 纳米腐殖酸的粒度测定

纳米腐殖酸制备方法参考文献[8]。其粒度测定方法如下:取超声管,加入 10 mL 一定质量分数的分散剂及一定质量纳米腐殖酸,置于以水为超声介质的超声机底部超声分散一定时间后取出,及时使用激光粒度分析仪测定其粒度分布。

2 结果与讨论

2.1 分散剂种类对粒度分布的影响

取 3 只超声管,分别加入 10 mL 质量分数为

0.1% 六偏磷酸钠溶液、无水乙醇、去离子水作分散剂,然后在 3 只超声管中加入 0.002 g 纳米腐殖酸粉末。将超声管置于超声波清洗器中超声分散 15 min。超声完毕及时利用激光粒度分析仪测定其粒度分布,结果如表 1 所示。

表 1 分散剂种类对粒度测量结果的影响

	0.1% 六偏磷酸钠	去离子水	无水乙醇
中位径/nm	60	120	270

由表 1 可以看出,用六偏磷酸钠溶液作分散剂时测得的粒度最为准确,原因是:①静电排斥作用。由于六偏磷酸钠溶液呈弱酸性,腐殖酸颗粒在其中呈正电性^[6],六偏磷酸钠在水中极易生成 $\text{Na}_4\text{P}_6\text{O}_{18}^{2-}$ 离子使其带负电性,不同电性促使六偏磷酸钠包裹在纳米腐殖酸表面,从而提高了纳米腐殖酸颗粒表面电位,使得纳米腐殖酸之间排斥作用增大,阻止了腐殖酸颗粒团聚;②空间位阻效应。六偏磷酸钠属于高分子化合物,其直链长度在 20 ~ 100 个单位,吸附在纳米腐殖酸表面会产生空间立体保护作用,防止腐殖酸颗粒二次团聚。所以选用六偏磷酸钠作分散剂测得的粒度比较准确。

取 2 支超声管,加入 10 mL 质量分数为 0.1% 六偏磷酸钠分散剂溶液,然后分别称取 0.002 g 纳米腐殖酸放入超声管中。分别在冰水混合条件和常温条件下进行超声,超声时间为 15 min。超声完毕及时使用激光粒度分析仪测定其粒度分布,结果如表 2 所示。

表 2 超声温度对测量结果影响

	常温	冰水混合
中位径/nm	130	60

(上接第 178 页)

[11] 万毅. 离子液体中单糖催化脱水制 5-羟甲基糠醛[D]. 大连: 大连理工大学, 2009.

[12] Tao F, Song H, Chou L. Hydrolysis of cellulose in SO_3H -functionalized ionic liquids[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(19): 9000-9006.

[13] Ramazan Gürkan, Nail Altunay. Quantification of 5-hydroxymethylfurfural in honey samples and acidic beverages using spectrophotometry coupled with ultrasonic-assisted cloud point extraction[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2015, 42: 141-151.

[14] 冯红伟, 扶雄. 紫外分光光度法测定蜂蜜中 5-羟甲基糠醛含量

[J]. *食品工业科技*, 2010, 31(3): 635-637.

[15] Mudasir Ahmad Rather, Ghulam Mohammad Rather, Sarwar Ahmad Pandit, et al. Determination of cmc of imidazolium based surface active ionic liquids through probe-less UV-Vis spectrophotometry[J]. *Talanta*, 2015, 131: 55-58.

[16] Liu Dajiang, Chen Eugene Y X. Polymeric ionic liquid (PIL)-supported recyclable catalysts for biomass conversion into HMF[J]. *Biomass & Bioenergy*, 2013, 48: 181-190.

[17] Liu Dajiang, Chen Eugene Y X. Ubiquitous aluminum alkyls and alkoxides as effective catalysts for glucose to HMF conversion in ionic liquids[J]. *Applied Catalysis A General*, 2012, 435/436: 78-85. ■