

工作简报

高效液相色谱法测定棉秆水解液中苯酚和糠醛

张根林, 班丽丽, 邓 辉, 孙 萍

(石河子大学 新疆兵团化工绿色过程重点实验室, 石河子 832003)

摘要: 取经折断并粉碎至大小约为 0.63 mm 的棉秆样品, 用硫酸(2.7+97.3)溶液在 110 °C 水解 4 h, 用 0.45 μm 滤膜过滤。采用 Shim-pack VP-ODS C₁₈ 色谱柱及甲醇-水(70+30)溶液作流动相进行分离, 并用 PDA 于 272 nm 作紫外检测及高效液相色谱外标法定量测定棉秆水解产物中的苯酚和糠醛含量。苯酚在 0.01~20.0 mg·L⁻¹ 范围内呈线性关系, 糠醛在 0.01~30.0 mg·L⁻¹ 范围内呈线性关系。苯酚和糠醛的检出限(3S/N)均为 0.005 mg·L⁻¹。苯酚和糠醛分别在 3 个浓度水平上做回收率试验, 测得回收率分别为 90.6%~100.5% 和 92.9%~99.8%。测定值的相对标准偏差(n=6)分别在 1.1%~2.1% 和 1.7%~2.5% 范围内。

关键词: 高效液相色谱法; 苯酚; 糠醛; 棉秆水解产物

中图分类号: O657.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-4020(2011)10-1192-03

HPLC Determination of Phenol and Furfural in Hydrolysate of Cotton Stalks

ZHANG Gen-lin, BAN Li-li, DENG Hui, SUN Ping

(Key Lab. of Green Process in Chem. Eng., Shihezi University, Shihezi 832003, China)

Abstract: Cotton stalks were snapped and crushed to size of ca. 0.63 mm and hydrolyzed in H₂SO₄ (2.7+97.3) solution at 110 °C for 4 h. After cooling and centrifuging, the supernatant was taken and filtered on 0.45 μm filtering membrane. The filtrate was used for HPLC analysis for phenol and furfural, using Shim-pack VP-ODS C₁₈ column and mobile phase of CH₃OH-H₂O (70+30) for separation and UV-detection with PDA detector at 272 nm for determination of both the phenol and furfural in the linearity ranges of 0.01 to 20.0 mg·L⁻¹ and 0.01 to 30.0 mg·L⁻¹ respectively. Detection limits (3S/N) found were same as 0.005 mg·L⁻¹. Values of recovery found, by addition of standards at 3 concentration levels, were in the ranges of 90.6%–100.5% and 92.9%–99.8% with values of RSD's (n=6) in the ranges of 1.1%–2.1% and 1.7%–2.5% for phenol and furfural respectively.

Keywords: HPLC; Phenol; Furfural; Hydrolysate of cotton stalks

植物纤维是自然界中最丰富的可再生资源, 我国每年产生农作物秸秆数量巨大。这些资源目前利用很少, 大部分被浪费, 甚至造成环境污染。近年来就如何有效利用植物纤维资源, 各国学者都在进行深入研究。随着石油资源的逐渐枯竭, 秸秆资源的生物转换与资源化应用已成为研究的热点, 如通过

秸秆纤维水解后的糖液进行微生物发酵方法制取液体燃料、气体燃料及其他高附加值等产品的研发工作^[1-4]。目前, 稀酸水解是广泛使用的一种棉秆纤维素处理产生糖的方法, 但水解液中会产生大量苯酚、糠醛等物质, 这类物质能抑制微生物发酵^[5-6], 因此, 须加以检测和控制。棉秆纤维同其它木质纤维素相同, 主要由纤维素、半纤维素和木质素组成, 酸水解过程中生成的多种单糖继续降解, 容易生成糠醛等呋喃类物质, 木质素易形成苯酚等酚类物质^[7]。

目前测定苯酚的方法主要有电化学法^[8]、分光光度法^[9]和色谱法^[10]等。糠醛的分析方法主要有

收稿日期: 2010-08-18

基金项目: 石河子大学高层次人才引进专项资助(RCZX200707)

作者简介: 张根林(1981—), 男, 甘肃会宁人, 讲师, 硕士, 主要从事生物加工过程及其仪器分析研究。

• 1192 •

电位滴定法、分光光度法^[11]等,利用高效液相色谱法测定木质纤维素水解液中糠醛的含量已有报道^[12],未见利用高效液相色谱法同时测定苯酚和糠醛的报道。

本工作建立了高效液相色谱法测定棉秆水解液中苯酚和糠醛含量的方法,为研究棉秆水解液在脱毒、生物转化等后续操作中的变化规律提供方便。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

LC-10A 高效液相色谱仪,配备二极管阵列(PDA)检测器和化学工作站。

苯酚和糠醛混合标准储备溶液:称取苯酚 0.100 0 g 和糠醛 0.030 0 g 于 100 mL 容量瓶中,用少量甲醇溶解后用水稀释至刻度,配制成苯酚和糠醛质量浓度分别为 1.000 g · L⁻¹ 和 30.0 mg · L⁻¹ 的混合标准储备溶液。

甲醇为色谱纯,试验用水为超纯水。

1.2 仪器工作条件

SHIMADZU Shim-pack VP-ODS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),带保护柱;流动相为甲醇-水(70+30)溶液,流量为 0.8 mL · min⁻¹,检测波长为 272 nm,柱温为 28 °C,进样量为 10 μL。

1.3 试验方法

称取干燥粉碎至约 0.63 mm 的棉秆 5.000 0 g,置于 250 mL 锥形瓶中,加入硫酸(2.7+97.3)溶液 60 mL,于 110 °C 温度下水解 4 h,冷却后,以 10 000 r · min⁻¹ 转速离心 15 min,控制水解液为 60 mL,将上清液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,所得滤液即为棉秆样品水解液,稀释后按仪器工作条件对水解液中苯酚和糠醛含量进行测定。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的选择

经 PDA 检测器对 5.00 mg · L⁻¹ 苯酚标准溶液和 15.0 mg · L⁻¹ 糠醛标准溶液在 190~370 nm 波长范围进行全波长扫描,其紫外吸收光谱分别见图 1 和图 2。

由图 1 可知:苯酚在波长 200,212,272 nm 处有 3 个吸收峰,糠醛在波长 198,225,275 nm 处有 3 个吸收峰。苯酚和糠醛均在 200 nm 左右有较强吸收,但由于在该波段别的试剂和有机物也有较强吸收,所以易造成干扰。为了能在同一波长条件下

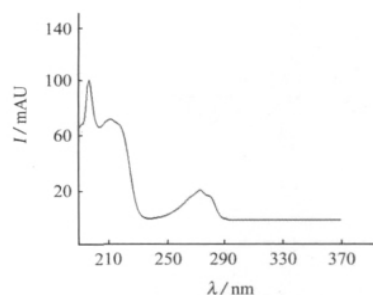


图 1 5.00 mg · L⁻¹ 苯酚溶液的紫外吸收光谱

Fig. 1 UV spectrum of 5.00 mg · L⁻¹ of phenol solution

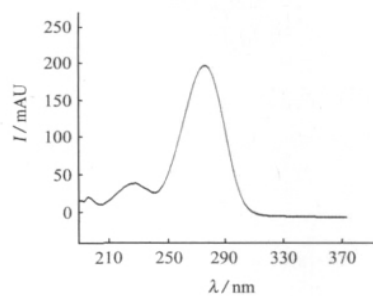


图 2 15.0 mg · L⁻¹ 糠醛溶液的紫外吸收光谱

Fig. 2 UV spectrum of 15.0 mg · L⁻¹ of furfural solution

同时测定苯酚和糠醛,试验选择测定波长为 272 nm。

2.2 流动相的选择

苯酚和糠醛为非离子型极性化合物,所以选用反相色谱系统进行分离。在反相色谱中 C₁₈ 色谱柱应用范围最广且有较高的分辨率,选用 C₁₈ 为非极性固定相,采用甲醇和水溶液为极性流动相。流动相组成对检测分离度和响应值的影响见表 1。

表 1 流动相组成对苯酚和糠醛分离度的影响

Tab. 1 Effect of composition of mobile phase on the values of separation factors of phenol and furfural

流动相 V _{甲醇} /V _水	保留时间/min		峰面积		分离度
	苯酚	糠醛	苯酚	糠醛	
90 : 10	4.492	3.431	150 246	650 499	1.80
80 : 20	4.450	3.425	151 007	651 227	1.92
70 : 30	4.448	3.403	152 749	657 895	2.09
60 : 40	4.402	3.396	149 808	648 233	1.44
50 : 50	4.387	3.376	140 452	595 432	1.25

从表 1 可以看出:在所选流动相组成情况下,苯酚和糠醛的分离度均较大,能有效分离。当流动相为甲醇-水(70+30)溶液时,苯酚和糠醛的分离度和检测灵敏度最为理想,能达到完全分离的效果,可以作为苯酚和糠醛的分析条件,色谱峰见图 3。在此

条件下苯酚和糠醛的保留时间分别为 4.448 min 和 3.403 min。

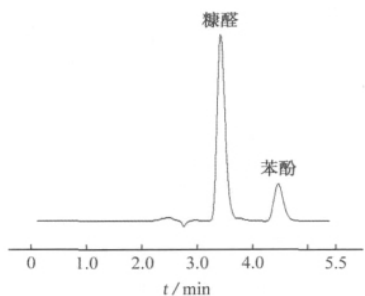


图3 苯酚和糠醛的色谱图

Fig. 3 Chromatogram of phenol and furfural

2.3 标准曲线与检出限

按仪器工作条件对苯酚和糠醛标准溶液系列进行测定,以苯酚和糠醛的质量浓度对其峰面积绘制标准曲线,线性范围、线性回归方程及相关系数见表2。

表2 苯酚和糠醛的标准曲线与检出限

Tab. 2 Standard curves and detection limit of phenol and furfural

组分	线性范围 $\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	线性回归方程	相关系数
苯酚	0.01~20.0	$y=12\,500\rho+168.75$	0.999 2
糠醛	0.01~30.0	$y=100\,000\rho+104\,850$	0.999 6

在色谱条件下,对空白溶液进行测定,计算苯酚和糠醛的检出限($3S/N$)均为 $0.005 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.4 样品中苯酚和糠醛含量及回收率

将棉秆水解液稀释 200 倍后,按仪器工作条件测得苯酚和糠醛的质量浓度分别为 $1\,523 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $520 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。同时进行加标回收试验,回收率结果见表3。

表3 苯酚和糠醛的回收试验($n=6$)

Tab. 3 Tests for recovery of phenol and furfural

组分	测定值 $\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	标准加入量 $\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	测得总量 $\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	回收率 /%	RSD /%
苯酚	7.61	3.81	11.06	90.6	2.1
		7.61	15.12	98.7	1.8
		15.22	22.91	100.5	1.1
糠醛	2.60	1.30	3.81	92.9	2.5
		2.60	5.14	97.5	2.1
		5.20	7.79	99.8	1.7

参考文献:

[1] FAULDS C B, BARTOLOME B, WILLIAMSON G. Novel biotransformations of agro-industrial cereal • 1194 •

waste by ferulic acid esterases[J]. Ind Crops Prod, 1997,6:367-374.

[2] 邓辉,李春,李飞,等.棉花秸秆糖化碱预处理条件优化[J].农业工程学报,2009,25(1):208-212.

[3] SUN Y, CHENG J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review[J]. Biore-source Technol, 2002,83:1-11.

[4] SYU M J. Biological production of 2,3-butanediol[J]. Appl Microbio Biotechnol, 2001,55:10-18.

[5] 庄军平,林鹿,庞春生,等.木质纤维素稀水解液脱毒研究进展[J].现代化工,2009,29(2):19-24.

[6] ZALDIVAR J, MARTINEZ A, INGRAM L O. Effect of alcohol compounds found in hemicellulose hydrolysate on the growth and fermentation of ethanologenic Escherichia coli[J]. Biotechnol Bioeng, 2000,68:524-530.

[7] TAHERZADEH M J, KEIKHOSRO K. Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review[J]. Bioresources, 2007,2(3):472-499.

[8] LIU Song-qin, YU Jiu-hong, JU Huang-xian. Renewable phenol biosensor based on tyrosinase colloidal gold modified carbon paste electrode [J]. J Electroanal Chem, 2003,540:61-67.

[9] 龚正君,黄玉明,章竹君.流动注射化学发光测定水中的苯酚[J].分析化学,2002,30(9):1123-1125.

[10] 廖海明,吕海鸿,徐康森.骨肽注射液中苯酚含量的RP-HPLC法测定[J].药物分析杂志,2005,25(4):397-398.

[11] 杜海波,赵杰,熊俊丽.废水中糠醛测定方法的探讨[J].干旱环境监测,2003,17(3):137-138.

[12] MUSSATTO S I, SANTOS J C, ROBERTO I C. Effect of pH and activated charcoal adsorption on hemicellulosic hydrolysate detoxification for xylitol production[J]. J Chem Technol Biot, 2004,79:590-596.

好消息

为了感谢新老读者对《理化检验-化学分册》期刊的厚爱,我科技期刊发行部决定,凡在我期刊发行部订阅 2012 年全年期刊者,一律送 1963 年(创刊)~2001 年过刊光盘一套。需订阅者请与上海材料研究所科技期刊发行部联系。

联系人:王敏先生,联系电话:021-65527634,邮箱:wm@mat-test.com。