

DBT脱硫产物的定量分析

李国强，魏东盛，邓飞



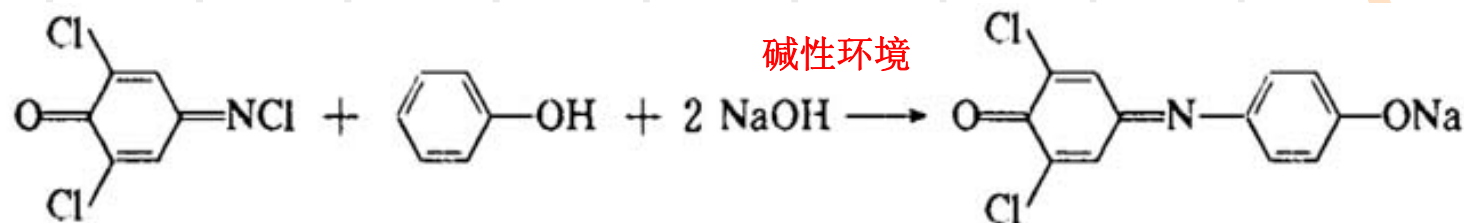
一、实验目的

➤ 在燃油的微生物脱硫过程中脱硫产物的定量分析是判定生物催化剂的脱硫活性及脱硫率的依据。因此，在生物脱硫过程中要实时检测脱硫产物的含量，以确定脱硫菌株的催化活力、脱硫速率及脱硫条件是否合适。

➤ (1) 了解DBT脱硫产物定量分析的原理。

➤ (2) 掌握DBT脱硫产物定量分析的方法。

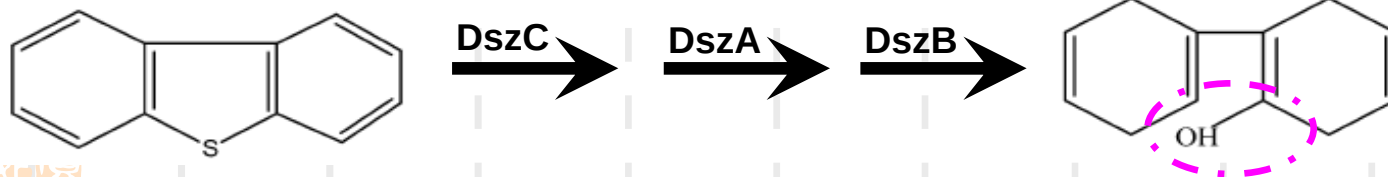
二、实验原理



Gibb's试剂
(2,6-二氯醌-4-氯酰亚胺)

含酚羟基的化合物

蓝色产物



在碱性溶液中，Gibb's试剂（2,6-二氯醌-4-氯酰亚胺）可以亲电攻击苯酚羟基的对位生成蓝色的2,6-二氯醌酚盐，其颜色在一定的浓度范围内随底物浓度的增加而加深，因此可以用分光光度法测定底物的浓度。

三、实验材料



➤ 2-HBP母液

准确称取0.9mg 2-HBP，置于10mL容量瓶内用去离子水定容至10mL，即2-HBP母液浓度为90mg/L(0.53mmol/L)

➤ Gibb's试剂

准确称取100mg 2-HBP，置于10mL容量瓶内用无水乙醇定容至10mL，浓度为10mg/mL。



► pH 8.0磷酸盐缓冲液

pH	0.2mol/L NaH ₂ PO ₄ (ml)	0.2mol/L Na ₂ HPO ₄ (ml)
5.7	93.5	6.5
5.8	92.0	8.0
5.9	90.0	10.0
6.0	87.7	12.3
6.1	85.0	15.0
6.2	81.5	18.5
6.3	77.5	22.5
6.4	73.5	26.5
6.5	68.5	31.5
6.6	62.5	37.5
6.7	56.5	43.5
6.8	51.0	49.0
6.9	45.0	55.0
7.0	39.0	61.0
7.1	33.0	67.0
7.2	28.0	72.0
7.3	23.0	77.0
7.4	19.0	81.0
7.5	16.0	84.0
7.6	13.0	87.0
7.7	10.5	89.5
7.8	8.5	91.5
7.9	7.0	93.0
8.0	5.3	94.7

四、试验步骤



► 标准曲线的绘制

管号	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]	7 [#]
稀释倍数	50	40	30	25	20	10	9
2-HBP 浓度 (mg/L)	1.8	2.25	3.0	3.6	4.5	6.0	9.0
pH8.0 磷酸缓冲液 (mL)	5.88	5.85	5.80	5.76	5.56	5.60	5.40
2-HBP 母液 (mL)	0.12	0.15	0.20	0.24	0.35	0.40	0.60
吸光度							

每支试管内加入60 μ L Gibb's试剂, 30℃反应30min, 于610nm处测其吸光度值。以吸光度为纵坐标, 2-HBP浓度为横坐标绘制标准曲线, 并拟合计算式。

四、试验步骤



➤ 发酵液中**2-HBP**的定量分析

取样后用2N盐酸将pH调到5.0以下，终止反应。发酵液离心去除菌体后，用10%的碳酸钠调pH 8.0，按体积比为100:1加入Gibb's试剂，30℃反应30min，测定其610nm处吸光度，在标准曲线上查其相应的点，读出对应的2-HBP浓度或根据拟合的计算式计算出2-HBP的浓度。

如果样品反应后测得的吸光度超出标准曲线的范围，将样品用去离子水稀释后（5倍或10倍）再进行定量分析。



五、思考题

1. 利用Gibb's试剂测定DBT生物脱硫产物的原理是什么？
2. 如何对DBT脱硫产物进行定性分析？
3. 能否用其它方法对DBT脱硫产物进行定量分析？请举例说明。