

基础有机
综合化学实验

前 言

“创新是一个民族的灵魂，是一个国家兴旺发达的不竭动力”。如何培养创新精神，怎样增强实践能力，这正是人才培养模式改革中的重点，也是国家教育部“面向 21 世纪化学类专业教学内容和课程体系改革”教改项目中的一个重要课题。本书的编写就是围绕这一主题作了一些初步的探索。

在以往较为传统的有机化学实验教学模式中，多以孤立地介绍单个有机化合物的制备方法为中心来组织教学，着重强调的是实验操作技能的训练。在这样的一种教学模式中塑造出来的学生，虽然基本操作技能较扎实，但是综合能力都不足，常常只会“照方配药”而少有创新意识。

本书按照“强化综合性，淡化验证性”的原则，以反应原理，实验通法，方案设计，合成实验，分离提纯，波谱、色谱分析等内容为主要教学环节，环环相扣，融成一体，借以加强实验教学的综合性训练。这不仅节省了药品消耗，缩短了教学时间，而且更增加了实验教学的研究性和探索性。

另外书中选择了具有应用价值和绿色化的实验，这样做有助于激发学生对有机化学实验学习的兴趣和热情。

本书的立意体现了有机化学实验教学改革的一种思路，是具有探索性的尝试，其中肯定存在一些不成熟的地方及错误，希望读者批评指正。

编 者
于化学化工学院

目 录

综合实验	1
实验一	1
实验二	8
实验三	26
实验四	30
实验五	40
实验六	44
绿色化实验	48
实验一	50
实验二	53
应用实验	55
实验一	55
实验二	57
实验二	60
综合设计实验	63
实验一	63
实验二	65
探索性实验	66
实验一	66
现代化实验的发展	71

综合实验

实验一 无水乙醇的制备

1. 实验目的

- ①通过氧化钙法制无水乙醇，了解有机化学最基本、最常用的蒸馏技术，初步掌握回流操作；
- ②学会制备教学用无水乙醇的方法，同时了解其他无水乙醇的制备方法；
- ③学会检测液态有机物纯度的沸点测定方法；
- ④学会检测无水乙醇的方法，进一步了解乙醇的重要性质；
- ⑤初步掌握实验室中易燃有机物的一般防火知识。

2. 蒸馏及其技术的有关知识

蒸馏通常是指将液态物质加热至沸腾并使之汽化，而后再将汽化之蒸汽冷凝为液体的过程。凡能圆满地实现这一过程的工艺谓之蒸馏技术。

蒸馏技术主要用于液态混合物的分离与提纯，也可用于测定纯液态物质的沸点。还可以通过测定某液态物质的沸点定性检验其纯度。

2.1 关于液态混合物的分离与提纯

将液态混合物运用蒸馏技术进行分离与提纯时，由于低沸点物质较高沸点物质更易汽化，所以混合液沸腾时初始生成的蒸汽含有较多的低沸点物。当蒸汽冷凝为液体(称为馏出液)时，因其组成与蒸汽的组成基本相同，所以先蒸馏出来的主要是低沸点组分。这样，通过蒸馏，在不同温度阶段便可得到混合液中不同沸点的组分。从而达到分离与提纯的目的。

必须指出，只有当混合物中各组分的沸点相差达到 30°C 以上时，才可能达到比较好的分离与提纯效果。

2.2 关于恒沸混合物

某些液态有机物与其他液态物质以某一比例形成混合物时，常会形成有固定沸点的二元或三元恒沸液。例如，4.4%的水与 95.6%的乙醇会形成沸点为 78.17°C 的二元恒沸液，工业酒精便是这种恒沸液；7.4%的水、18.5%的乙醇和 74.1%的苯会形成沸点为 64.86°C 的三元恒沸液。显然，恒沸液不能用蒸馏的方法加以分离和提纯。

但是，事物往往都不是绝对的。加入某种极易挥发的物质，与原恒沸液中一个或几个组分生成新的恒沸液而蒸馏出来，其他组分则富集留下。工业上制无水乙醇有时就利用恒

沸液将工业乙醇中所含的水带走(除去)。其方法是在工业乙醇(乙醇含量为 95.6%)中加入一定量的苯,蒸馏此苯与工业乙醇的混合液,在 64.86℃时蒸出了含苯 74.1%、乙醇 18.5%和水 7.4%的三元恒沸液,使得工业乙醇中所含的水被三元恒沸液带走(除去)。随后,在 67.9℃时蒸出含苯 68.3%和乙醇 31.7%的二元恒沸液。待所有的苯蒸出后,最后的馏分便是无水乙醇了。当然,恒沸液中的乙醇和苯还要回收使用。

2.3 关于蒸馏装置

实验室中的蒸馏装置详看《有机化学实验》兰州大学,复旦大学化学系有机化学教研室主编,第二版的封面和书中 76 页中的介绍。

2.4 蒸馏装置装配的注意事项

①安装顺序。安装顺序一般由左至右,由下而上。首先从左下侧的热源开始,先放置好热源(煤气灯或液化气灯、或热浴、或电热套),根据热源的位置和高低选定蒸馏烧瓶的位置并固定。根据蒸馏烧瓶支管中心线与冷凝管的中心线成一直线的要求安装并固定冷凝管使之与蒸馏烧瓶支管紧密相连。进而装上接引管和接受器。最后安装温度计。要使整套装置安排在一个平面上,满足“横成面、纵成线”的要求。

②安装温度计。温度计的安装要求前面已作介绍,其目的是确保蒸馏时水银球能完全被蒸汽包围,从而获得准确的读数。若是磨口仪器,则有专用的温度计套管,在套管内滴入几滴高沸点液体后,把温度计放入即可。

③安装冷凝管。安装水冷凝管时要使冷凝水从下口进入,上口流出,以保证冷凝管完全被水充满。当蒸馏物沸点高于 140℃时,为防止因温差大造成水冷凝管破裂,应采用空气冷凝管。

④安装接受器。当馏出物的沸点低、挥发性大时,应将接受器放在水浴中;当馏出物易潮解时,在接受器上应连一装有氯化钙等干燥剂的干燥管;当蒸馏的同时还有有毒气体释出时,则在接受器上应装配毒气吸收装置(图 1.8 气体吸收装置)。

⑤气密性试验。蒸馏装置安装完毕后,除应检查是否符合上述规范外,还应进行整套装置的气密性试验,以防止因装置接缝不严密造成馏出物泄漏、毒气泄漏甚至引起火灾、爆炸等事故。必须经检查确认装置安装正确、安全后方可投入使用。

3.回流及其技术的有关知识

有机化学的许多反应都是在液相中或液-固混合物中经长时间加热才得以完成的。为了防止在长时间加热反应过程中物料的蒸发损失以及因物料蒸发而导致火灾、爆炸、环境污染等事故的发生,多应用回流技术。

在反应中令加热产生的蒸汽冷却并使冷却液流回反应系统的过程称之为回流。凡能圆满地实现这一过程的工艺称为回流技术。

3.1 关于回流装置

实验室中的回流装置主要由圆底烧瓶、冷凝管和热源等组成。冷凝管可根据需要选用水冷球形冷凝管、蛇形冷凝管或空气冷凝管(如图 1.6)。

3.2 回流装置装配与操作的注意事项

①物料的加入。一般物料及沸石可事先加入到烧瓶中而后再装上冷凝管等，如果物料均是液态，也可在装好冷凝管后从冷凝管上端加入液态物料。物料的容积一般约为烧瓶容积的 $1/3 \sim 1/2$ ，不超过 $2/3$ 为合适。蒸馏时烧瓶中物料的容积亦然。

②安装气体吸收装置或干燥装置。对于反应过程中产生有毒性气体的应在冷凝管上端加装气体吸收装置；对于易潮解的物料或产物则应在冷凝器上端连一装有无水氯化钙等干燥剂的干燥管。

③冷凝装置的操作。为了确保回流效率和实验安全，对用水冷冷凝管时应先通水后加热及先停止加热后关冷却水，中途不得断水；要通过调节冷却水流量及加热速度来控制回流速度.以液体蒸汽浸润界面不超过冷凝管有效冷却长度的 $1/3$ 为宜。

4.沸点测定的技术

某液态物体加热蒸发，其蒸汽压随温度升高而增大，当其蒸汽压达到与外界施于液面总压力(通常指大气压)相等时，有大量气泡从液体内部逸出，液体即沸腾，此时温度称为该液态物质的沸点。纯净的液态化合物在一定压力下有其固定的沸点。

沸点测定常用方法有两种，一是常量法，二是微量法。

4.1 常量法测沸点

将被测液态样品装入蒸馏装置，按蒸馏操作进行蒸馏。调节热源与冷凝水流速，使馏出物的馏出速度约为每秒 $1 \sim 2$ 滴，温度计水银球常见凝聚有液滴，此时温度计指示的温度恰为液相与气相平衡时的温度，即该被测液体样品的沸点。

还可用半微量的沸点测定仪测定沸点。

4.2 微量法测沸点

先制作沸点外管。截取直径为 $3 \sim 4\text{mm}$ ，长约 $8 \sim 9\text{cm}$ 的薄壁玻璃管，用灯焰封闭其一端，即制成沸点外管。

将被测液态样品滴两滴于沸点外管中，取一支比沸点外管约长 1cm 、且一端封闭的毛

细管(称毛细起泡管, 又称内管)倒置插入液体样品中(毛细管封闭端朝上)。

将沸点外管用小橡皮圈(或剪一小段约 2mm 的乳胶管)固定在温度计旁, 而后将二者放入浴液中, 见图 2.7。

慢慢提高浴液的温度, 使温度均匀地上升。当温度略高于沸点时, 可见到从毛细起泡管底部冒出一连串的小气泡。停止加热, 让浴液自行慢慢冷却, 可见到气泡冒出的速度逐渐减缓。此时应全神贯注观察。当气泡不再冒出、液体缩回内管前的那一瞬间, 毛细管内液体的蒸汽压和外界大气压相等, 温度计的读数便为该被测样品的沸点。

为确保沸点测定准确, 上述操作应重复数次。若几次测定的温度差不超过 1℃, 则说明测定准确。

5. 有机实验的加热与实验室安全

5.1 有机实验的加热

许多有机反应由于都发生共价键的断裂而需要较大的能量, 往往在室温下难于进行, 通过加热则可以加快反应速度。此外, 蒸馏、重结晶、溶解等也都需要加热。因此, 进行有机实验通常都离不开加热。

有机实验的加热一般有两种方式, 一是直接加热, 这是指热源与受热物体间的直接或间接隔容器壁的热交换; 另一是间接加热, 即热源与受热物体间通过传热介质进行热交换。

①直接加热。通常包括用火焰灯具和电加热器做热源两种方法。新近还发展了用微波加热的新方法。

用酒精灯、煤气灯、液化气灯等灯具直接加热时, 由于火焰直接作用于耐热器皿, 往往受热不均匀或温度剧烈变化而导致器皿破损。

用电加热器直接加热的电器, 包括电炉、电热板、电热套、电加热棒、红外灯等。

微波加热通常是将装反应物的器皿置于微波炉中进行加热。

②间接加热 通常包括选用不同介质的热浴, 如水浴、油浴、甘油浴、植物油浴、石蜡油浴、硅油浴或真空泵油浴、砂浴、空气浴等。

根据需要加热温度的不同而分别选用上述不同介质的热浴。一般来说, 需要加热的温度为 80℃ 以下时选水浴; 加热温度为 140~180℃ 时选甘油浴; 加热温度为 100~250℃ 时选油浴; 加热温度不超过 200℃ 时还可选用植物油浴(为使植物油热稳定性增加, 可在其中加入 1% 的对苯二酚, 油即因不会分解而不“冒烟”); 石蜡油浴可加热到 220℃, 但易冒烟燃烧; 硅油或真空泵油浴可用于加热到 250℃ 的反应或蒸馏; 砂浴可加热到 350℃; 空气浴则用于加热较高温度。

5.2 有机实验加热时的实验室安全

由于有机实验中接触到的有机溶剂、试剂等大多为易挥发、易燃、易爆的物质，许多有机溶剂、试剂在空气中含量达一定值时遇明火就会燃烧爆炸，许多有机溶剂、试剂还具毒性，因此做有机实验时安全便是头等重要的问题。做有机实验时应特别注意以下事项：

- ①易挥发、易燃、易爆的有机溶剂、试剂通常都不能采用直接加热而应采用间接加热。
- ②要让火源离有机溶剂、试剂尽可能地远。
- ③不能用敞口容器盛放有机溶剂、试剂；尽可能避免或减少有机物挥发到空气中。
- ④常压操作时整套装置要有一处与大气相通，切不可形成封闭体系，以免因体系内压力太大而使反应物冲出或使仪器炸裂而酿成火灾或毒害。通常将整套装置的尾气排放入水槽下水道。
- ⑤常压回流或蒸馏时应放沸石，并注意加热时器皿受热要均匀，升温、降温不应太剧烈，保持冷凝水畅通，以免因有机溶剂沸腾太剧烈来不及冷却逸到空气中而引起火灾。接收馏出液也应注意用小口接收器并在必要时冷却，防止因馏出液挥发逸至空气中而引起火灾。
- ⑥用易燃易爆的气体(如氢气、甲烷、二乙炔等等)时要最大限度地开启实验室内的排风装置并严禁室内有明火和火星产生。
- ⑦万一发生着火事故，应按第一章的要求进行紧急处理。

6.无水乙醇的制备实验

6.1 实验原理

工业酒精除含杂质(如甲醇)外，主要是由乙醇和水形成的二元恒沸液。为了要除去水和其他杂质.制得乙醇含量为 99.5%的无水乙醇，实验室中常用最简便的是生石灰法，即利用生石灰与工业酒精中的水反应生成不挥发、一般加热不分解的熟石灰(氢氧化钙)，以得到无水乙醇。这样的无水乙醇已能满足一般实验要求。为了使反应充分进行，除了将反应物混合放置过夜外，还让其加热回流一段时间。制得的无水乙醇(纯度可达 99.5%)用直接蒸馏法收集。

若要制得绝对无水乙醇(纯度>99.95%)，则将制得的无水乙醇和金属钠进一步处理，除去残余的微量水分即可。

6.2 实验仪器与药品

短颈圆底烧瓶(100mL)、球形冷凝管、直形冷凝管、蒸馏烧瓶或锥形瓶(50mL)、干燥管、水浴锅或电热套。95%乙醇(50mL)、生石灰(新鲜，15g)、无水氯化钙、无水硫酸铜。

6.3 实验内容

将 95%乙醇、生石灰装入圆底烧瓶，摇匀后用橡皮塞塞紧并放置过夜。

将上述装好物料的圆底烧瓶加上球形冷凝管、干燥管装配好一回流装置并在水浴(或电热套)上加热回流 1~2h。稍冷，改装成一蒸馏装置(如是普通玻璃仪器，直接用玻璃弯管接圆底烧瓶与冷凝管即可；如是标准磨口仪器，按规范加装蒸馏头、温度计、冷凝管等)接收器应与干燥管连接。

全部仪器均应是干燥过的。

用热水浴蒸馏出无水乙醇。最初 5mL 馏出液因含水量会相应多些，应单独收集。蒸馏至冷凝管几乎无液滴流出为止。计量得到的无水乙醇，计算回收率。

取后馏分 1mL 于小试管中，加入无水硫酸铜，观察现象。用 95%乙醇作对比实验，并得出结论。

7. 醇的重要性质与鉴定实验

7.1 醇钠的生成及其水解

取 1ml 的无水乙醇于一干燥试管中，加入一新切开的绿豆大小的金属钠，观察现象。用食指按住试管口，让气体发生量增多，移开食指，迅速伸入点燃的火柴，观察现象。不断摇动试管(必要时稍加热)，金属钠消失即反应完成，液体变粘稠。将粘稠液体移到表面皿上，待乙醇挥发即有固体乙醇钠析出。

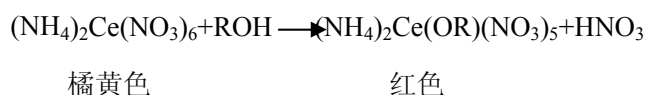
滴几滴水于乙醇钠上，加 1 滴酚酞试液于其中，观察现象并解释之。

用正丁醇、异丙醇、叔丁醇取代无水乙醇，重复上述实验，观察现象并解释之。

7.2 硝酸铈铵试验

取 2 滴无水乙醇于试管中，加入 1mL 水制成溶液，再滴入 3~5 滴硝酸铈铵试剂，摇动试管观察变化。凡含 10 个碳以下的中、低级醇均可与橘黄色的硝酸铈铵溶液作用生成红色络合物。

此反应可用来鉴别 10 碳以下化合物中是否含有羟基：



7.3 乙酰氯试验

取无水乙醇 0.5mL 于干燥试管中，逐滴加入 0.5mL 的乙酰氯，边加边振荡，注意试管是否发热。向试管口吹气，观察现象。再逐滴加入 5%NaOH 溶液使呈中性，注意反应物

的气味，若有香味则说明呈正反应。

凡低级醇均可与乙酰氯生成具有香味的乙酸酯，容易鉴别。高级醇与乙酰氯形成的乙酸酯因香味淡或无味而不易检出。但由于乙酰氯性质活泼，与酚、胺均可发生正反应，应予注意。

7.4 铬酸试验

取 5% 的 $K_2Cr_2O_7$ 溶液 1mL 于试管中，再加入 1ml 浓度为 $3mol \cdot L^{-1}$ H_2SO_4 ，摇匀，滴入 3~4 滴无水乙醇，边振荡边微热，注意 5s 内发生的现象。伯醇与仲醇因均可被氧化，所以试验均可呈阳性，溶液由橙色变为蓝绿色。叔醇不被氧化，试验呈阴性，溶液颜色不变。

8. 预习思考题

- ①蒸馏操作与回流操作都应注意哪些问题?
- ②蒸馏装置合乎规范要求的关键是哪些?
- ③蒸馏与回流时都要加沸石的目的是什么?素烧瓷片能否代替沸石?为什么?如果加热后发现未加沸石怎么办?
- ④微量法测沸点准确与否关键在哪里?
- ⑤如何避免发生有机实验时火灾、爆炸事故?

9. 参考文献

1. 兰州大学、复旦大学化学有机化学教研室编，王清廉、沈凤嘉修订，有机化学实验(第二版)高等教育出版社。
2. 吴泳主编，大学化学新体系实验，科学出版社。
3. 黄涛主编，张治民副主编，有机化学实验(第二版)高等教育出版社。

实验二 植物叶绿体色素的提取、 分离、表征及含量测定

1、叶绿体色素的提取

(1) 实验原理

- 1) 掌握有机溶剂提取叶绿体色素等天然化合物的原理和实验方法。
- 2) 了解皂化—萃取提取 β -胡萝卜素原理。
- 3) 了解 1, 4-二氧六环沉淀法提取叶绿素原理。

(2) 实验原理

植物光合作用是自然界最重要的现象，它是人类所利用能量的主要来源。在把光能转化为化学能的光合作用过程中，叶绿体色素起着重要的作用。高等植物内的叶绿体色素有叶绿素和胡萝卜素两类，主要包括叶绿素 a、叶绿素 b、 β -胡萝卜素和叶黄素四种。它们所呈现的颜色和在叶绿体中含量大约比例见表 2.1。

表 2.1 高等植物体内叶绿体色素的种类、颜色及含量比例

项 目	叶绿素		类胡萝卜素	
	叶绿素 a	叶绿素 b	β -胡萝卜素	叶黄素
颜色	蓝绿色	黄绿色	橙黄色	黄色
在叶绿体内各色 素含量比例	3	1	2	1

叶绿素(chlorophyll)是叶绿酸的酯，它在植物进行光合作用中吸收可见光，并将光能转变为化学能。叶绿素是植物进行光合作用所必需的催化剂。在绿色植物中叶绿素主要以叶绿素 a($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$)和叶绿素 b($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$)两种结构相似的形式存在，其差别仅是叶绿素 a 中一个甲基被叶绿素 b 中的甲酰基所取代。叶绿素的基本结构见图 2.1。在叶绿素分子结构中含有 4 个吡咯环，它们由 4 个甲烯基联结成卟啉环，在卟啉环中央有一个镁原子，它以两个共价键和两个配位键与 4 个吡咯环的氮原子结合成内配盐，形成镁卟啉。在叶绿素分子中还有两个羧基，其中一个与甲醇酯化成 $COOCH_3$ ，另一个与叶绿醇酯化成 $COOC_{20}H_{39}$ 长链。

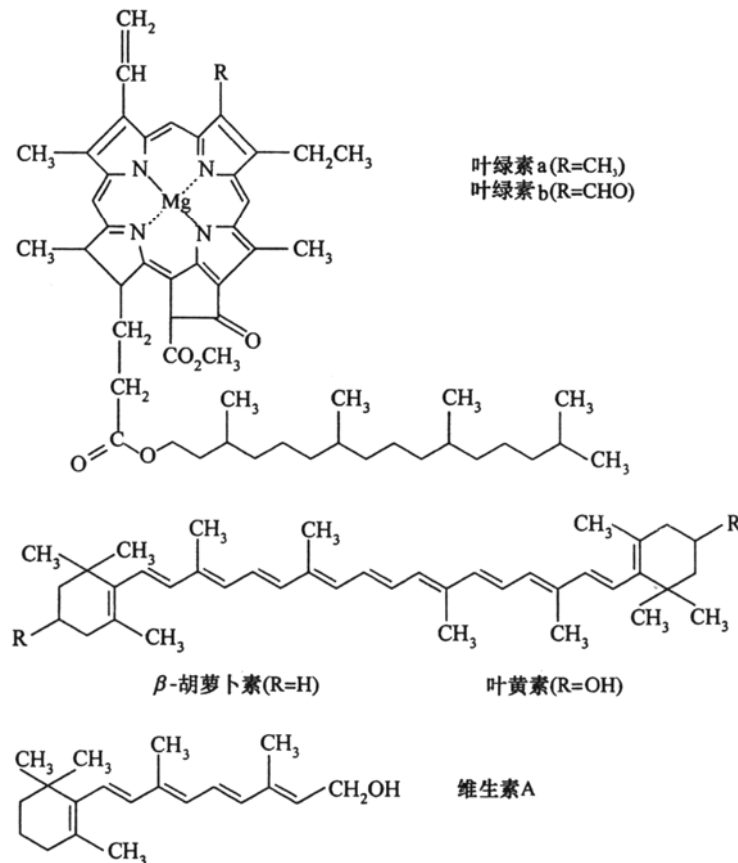


图 2.1 叶绿素 a、叶绿素 b、β-胡萝卜素、叶黄素和 维生素 A 的结构式

类胡萝卜素(carotenoid)是一类不饱和的四萜类碳氢化合物(如胡萝卜素, carotene)或它们的氧化衍生物(如叶黄素类, xanthophyll)。所有的类胡萝卜素均源于非环状的 C₄₀H₅₆ 结构。类胡萝卜素在强光下可防止叶绿素的光氧化;在弱光下,可作为辅助色素吸收光能并传递给叶绿素分子。胡萝卜素有 3 种异构体,即 a-、β-和 γ-胡萝卜素,其中 β-胡萝卜素含量最多,也最为重要。β-胡萝卜素还具有维生素 A 的生理活性,其结构是由两分子维生素 A 在端链失去两分子水结合而成。在生物体内,β-胡萝卜素受酶催化氧化即形成维生素 A。叶黄素(3, 3' -二羟基-α-胡萝卜素, lutein, C₄₀H₅₆O₂)是一种常见的氧化型的类胡萝卜素。β-胡萝卜素和叶黄素均属于脂溶性化合物。

植物叶绿体色素的提取、分离、表征及含量测定在植物生理学和农业科学研究中具有重要意义。同时,叶绿素和胡萝卜素等天然色素在食品工业和医药工业中也有广泛的用途。

叶绿素 a 和叶绿素 b 都是吡咯衍生物与金属镁的配合物,尽管它们分子中含有一些极性基团,但大的烷基结构使它们易溶于丙酮、乙醇、乙醚、石油醚等有机溶剂。β-胡萝卜素和叶黄素是脂溶性的四萜化合物。与胡萝卜素相比,叶黄素易溶于醇而在石油醚中的

溶解度较小。根据它们在有机溶剂中的溶解特性，可将它们从植物叶片中提取出来。植物叶绿体色素通常可用丙酮、乙醇、乙醚、丙酮—乙醚、乙醇—石油醚等有机溶剂提取。

由于粗提取液中还可能包括残余植物组织和其他可溶性杂质，实验中应对粗提液进一步纯化。

(3) 实验仪器与试剂

1) 仪器

研钵、量筒、分液漏斗等常用玻璃仪器一套。离心机一台。

2) 试剂

丙酮、乙醇、乙醚、石油醚等有机溶剂。饱和氯化钠水溶液。碳酸镁和无水硫酸钠。

(4) 实验步骤

1) 叶绿体色素的提取

方法一：新鲜绿叶蔬菜，如菠菜、空心菜等，洗净后弃除叶柄和中脉，然后用纱布或吸水纸将菜叶表面的水分吸干。称取处理过的菜叶 5g，剪碎后放在干净的研钵内，加入 0.1g 碳酸镁，先将菜叶粗捣烂，然后加入 10mL 乙醇—石油醚(2:3)。迅速研磨 5min。用一不锈钢网滤去菜叶残渣，再研磨提取一次。最后再用 10mL 乙醇—石油醚 (2:3) 洗涤研钵等容器，一并过滤。

方法二：类似于方法一，采用丙酮提取，但在纯化时应事先在分液漏斗中加入 15mL 石油醚。

2) 粗提取液的纯化

纯化色素时，将合并的滤液转入分液漏斗，加入 5mL 饱和的 NaCl 溶液和 45mL 蒸馏水，轻轻振荡，放置分层。小心地把下层的含乙醇水溶液放掉，用洗瓶沿分液漏斗内壁加入 50mL 蒸馏水洗涤石油醚层 2~3 次，以彻底洗去乙醇或丙酮。每次都要轻轻转动分液漏斗，使叶绿体色素保留在上层的石油醚层中，静置，待分层清楚后，去掉下面的水溶液。再往石油醚色素提取液加入少量无水 Na_2SO_4 除去残余水分。最后用旋转蒸发器，控制 30~35°C 水浴进行适当浓缩(约 10mL)，转入具塞的棕色瓶中置于暗处保存。

3) 皂化—萃取法提取 β -胡萝卜素

将 20mL 的植物色素甲醇—石油醚提取溶液移入 100mL 分液漏斗中，加入 5mL 30% KOH 甲醇溶液(将 KOH 加到 90% 甲醇水溶液中配制)，充分混合后避光放置 1h。叶绿素发生皂化反应脱去甲基和叶醇基，生成衍生叶绿素。然后，加水 25mL，轻轻振荡后静置 10min 分层，除去水溶液，即得黄色的 β -胡萝卜素石油醚溶液。然后将石油醚溶液用 100mL 蒸馏水分 3~4 次洗涤，再经过适当浓缩后移入分液漏斗，用 10mL 92% 甲醇洗涤，摇动后静

置分离，叶黄素萃取进入甲醇中。重复处理 3 次，合并所得 β -胡萝卜素石油醚溶液。

往分离后的甲醇溶液加入等体积的乙醚和等体积的水。振荡后用分液漏斗分出上层乙醚溶液，加入少量无水硫酸钠进行干燥。过滤后蒸去乙醚，即得深红色的叶黄素软膏状物质。

4) 1,4-二氧六环沉淀法提取叶绿素

绿色植物叶片的叶绿素用异丙醇提取。往 40mL 冷的浓缩粗提液中滴加 70mL 1,4-二氧六环+200mL 0.1mol / L $\text{Na}_2\text{HPO}_4^- \text{NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液(pH7.0)混合液，然后放在+5℃冰箱过夜。由于 1,4-二氧六环与叶绿素中心的 Mg 原子进一步配合，降低了色素溶解度，析出叶绿素沉淀。离心分离后，可进一步用水洗去叶绿素沉淀表面吸附的黄色的类胡萝卜素。

(5) 注意事项

1) 叶绿体色素对光、温度、氧气环境、酸碱及其他氧化剂都非常敏感。色素的提取和分析一般都要在避光、低温及无酸碱等干扰的情况下进行。乙醚使用前应重蒸除去过氧化物。

2) 使用低沸点易挥发有机溶剂要注意实验室安全。实验室要保持良好的通风条件，不得靠近明火操作。

3) 提取液不宜长期存放，必要时应抽干冲氮避光低温保存。

(6) 思考题

1) 什么是光合作用?

2) 试讨论叶绿素、 β -胡萝卜素的生理意义及实际应用。

3) 绿色植物叶片的主要成分是什么?提取液可能含有哪些化合物?

4) 一般天然产物的提取方式有哪些?残余的植物组织应如何除去?

5) 用乙醇-石油醚提取和用丙酮提取可能对结果产生什么影响?

2、叶绿体色素的色谱分离

(1) 实验目的

1) 掌握纸色谱分离原理和实验技术。

2) 掌握薄层色谱分离原理和实验技术。

3) 掌握快速柱色谱分离原理和实验技术。

(2) 实验原理

色谱法是与植物天然色素的分离提取同时发展起来的。色谱法(纸色谱、薄层色谱和

柱色谱)至今仍然是分离叶绿素等天然色素最有效的方法。

色谱法分离叶绿体色素的基本原理是利用不同色素在各种有机溶剂中的分配系数或在吸附剂上的吸附能力的不同,当它们通过色谱柱/床时,这种分配或吸附过程反复多次地进行,最后将它们一一分离开来。

通常认为,纸色谱属于分配色谱。它是以滤纸为惰性支持物,滤纸纤维一般能吸收约20%的水分,其中有6%~7%以氢键形式与纤维素上的羟基结合,构成纸色谱的固定相。在展开过程中,被分离组分在展开剂和固定相之间不断进行分配,达到相互分离。薄层色谱和柱色谱的吸附剂(固定相)有硅胶、氧化铝、硅藻土等无机物,也有糖类、纤维素、聚酰胺、C₁₈和离子交换树脂等有机物。它们的分离机制也各不相同,如吸附、分配,氢键、正相和反相色谱等。

对于纸色谱或薄层色谱,毛细管作用是推动溶剂展开的动力。被分离物质在图谱上的位置,可用比移值 R_f 表示

$$R_f = \frac{\text{原点至斑点中心的距离}}{\text{原点至溶剂前沿的距离}} \quad (2.1)$$

比移值的大小与被分离物质的分配系数大小有关,它是纸色谱法和薄层色谱法实验中唯一可用数值表示的重要参数。在一定的色谱系统中,在确定的温度下, R_f 是被分离物质的特征常数。 R_f 值差别越大,则分离越完全。

对于相同的色谱体系,薄层色谱的 R_f 值与液相色谱的容量因子 k 值之间有一定的关系

$$k = \frac{1 - R_f}{R_f} \quad (2.2)$$

即在薄层色谱中展开快的组分,在柱色谱中先出峰。通过薄层色谱实验可以探索高效液相色谱合适的流动相组成。

值得一提的是,快速柱色谱(flash chromatography),它是介于经典柱色谱和高效制备型液相色谱之间的一种实验室分离技术,主要用于天然产物和化学反应产物的快速分离和纯化工作。

本实验通过纸色谱、薄层色谱和快速柱色谱方式,对植物色素的提取液进一步分离成叶绿素 a、叶绿素 b、 β -胡萝卜素和叶黄素几个组分,并进行光谱表征和鉴定其纯度。通过多次纸制备色谱也可以得到少量叶绿素 a 和叶绿素 b 纯晶。

(3) 实验仪器与试剂

1) 仪器

层析缸、大量筒、表面皿、带有加压装置的玻璃层析柱等常规层析装置。

新华 1 号层析滤纸。

2) 试剂

①CCl₄、石油、乙醚、乙醇和甲醇等有机溶剂。

②硅胶 G、中性氧化铝等吸附剂。

(4) 实验步骤

1) 纸色谱分离

纸色谱展开方式有上升法、下降法、辐射法和双向展开等形式。叶绿体色素的分离一般采用新华 1#层析滤纸，展开剂有 CCl₄、甲苯，石油醚—乙醚—乙醇(30: 10: 0.5)等。

①下降法

采用 2cm×25cm 新华 1#层析滤纸，用毛细管点样，斑点不应超过 5mm。晾干后，放入圆形层析缸，以 CCl₄(可选择其他溶剂，下同)为展开剂展开，使蓝绿色叶绿素 a、黄绿色叶绿素 b 及黄色的类胡萝卜素相互分开。当展开结束时，将滤纸取出放在通风橱避光晾干，观察斑点的颜色和形状，计算各色素的 R_f 值。

②上升法

上升法可在大试管或 250mL 的量筒中进行。采用 2cm×30cm 的新华 1#层析滤纸，CCl₄ 展开。

③制备层析

方法一，在一个半升大的层析缸里进行，放入 1.5cm 深的 CCl₄，并让溶剂饱和一段时间。取一 20cm×20cm 层析滤纸，在滤纸的底部大约 2.5cm 的地方画一条铅笔线。利用毛细管将色素提取液沿着铅笔线间断划一条 2~3cm 长的样品线，然后使其晾干。必要时可重复点样直至样品带呈深绿色。晾干后，将纸卷成一个松散的圆筒，上端用回形针固定，将其立在层析缸里展开。

当展开至靠近顶端时，取出滤纸晾干。

方法二，取一 ϕ 11cm 层析滤纸，利用毛细管将色素提取液在滤纸的中心点样，为提高制备量，吹干后反复点样 3~4 次，斑点约 1cm。吹干后，用另一干净毛细管在样斑中心斑点 1~2 滴展开剂，让样品形成一均匀的样品环。沿着滤纸斑点中心穿一个约 ϕ 3mm 洞，做一 2cm 长的滤纸芯穿过。取一对 ϕ 10cm 培养皿，其中一个倒入约 1/3 的石油醚—乙醚—乙醇(30:10:0.5)，放上层析滤纸，盖好另一培养皿展开。为了减少叶绿素的分解，可将培养皿置于棕色干燥器中。本法可以很好的分离天然叶绿素 a 和叶绿素 b，重现性较好。

多次制备可以得到少量高纯的天然叶绿素 a 和叶绿素 b 纯品。

纸色谱分离后，可将叶绿素 a 和叶绿素 b 色带分别剪下，用 90%丙酮溶出，低温避光

保存，以备配制光谱标准液时使用。

2) 薄层色谱

薄层色谱是一种较新的分离物质的方法，具有快速、微量、灵敏度高、分离效率高等优点。薄层色谱对天然产物的分离、鉴定更有独到之处，在中草药有效成分的纯化鉴定中广泛应用。

分离叶绿体色素的薄层色谱吸附剂有硅胶、纤维素、聚酰胺、 C_{18} 等。下面仅介绍常用的硅胶薄层色谱法。

①薄层板的制备

取若干块洗净的载玻片(5cm×20cm)，采用硅胶 G 加适量蒸馏水调制后制成薄层板，晾干后在 105℃活化 0.5h，放在干燥器内备用。

②点样

取制备好的薄层板一块，在板两侧距底边 1.5cm 处各做一记号，用玻璃毛细管吸取浓缩的色素石油醚提取液，从距两侧记号 1.5cm 处，分别用毛细管点样，斑点不应超过 5mm，晾干。

③展开

分离叶绿体色素的展开剂有：石油醚(60~90℃)—丙酮—乙醚(3:1:1)；石油醚—丙酮(8:2)；石油醚—乙酸乙酯(6:4)；苯—丙酮(7:3)和石油醚(30~60℃)—丙酮—正丁醇(90:10:4.5)等。

本实验将 150mL 石油醚(60~90℃)—丙酮—乙醚(3:1:1)展开剂倒入层析缸中，并在层析缸的内壁四周贴一张 5cm 高的滤纸，滤纸下部浸在展开剂中，盖好盖子平衡 10~15min。将点好样的硅胶板放入展开缸里，液面不能超过点样线，盖好盖子进行上行层析。待展开剂前沿上升到距硅胶板上端 1.5~2cm 时，取出硅胶板置于通风橱里晾干，可看到层析板上出现若干色素带，其排列顺序一般是 β -胡萝卜素、去镁叶绿素、叶绿素 a、叶绿素 b 和叶黄素等多条色带。用铅笔标记出样品斑点，计算各色素的比移值 R_f 。

④样品收集

将层析板上分开的 β -胡萝卜素、叶绿素 a、叶绿素 b 的色带分别用干净的刮刀刮入试管中，加入 5mL 丙酮提取，低温避光保存。

⑤温度对薄层色谱分离的影响

取两块 1cm×5cm 的商品高效硅胶板，点样后，以相同的展开剂，分别置于冰箱(4℃)和室温(20℃以上)展开。观察和对比它们的分离结果。

3) 柱色谱

①氧化铝柱色谱

中性氧化铝应在 500℃ 烘干 4h，然后冷却至 100℃，迅速装瓶，置于干燥器中待用。玻璃快速层析柱为自行设计加工。

在直径 1.0cm 的层析柱底部放少量的玻璃丝，上面铺一层 0.5cm 高的海沙，然后加入 10cm 高的层析中性氧化铝(250 目)。轻敲柱子将填料弄平，必要时可用吸气机将氧化铝填料吸实。然后再加上一层 0.5cm 高的海沙。加入 25mL 石油醚，用打气球加压浸湿氧化铝填料。整个洗脱过程应保持液面高于氧化铝填料。当液面接近氧化铝填料时，将 2.0mL 植物色素的浓缩提取液小心地加到色谱柱顶部。加完后，打开下端活塞，让液面下降到高于氧化铝填料 1mm 左右，关闭活塞，加 2mL 石油醚，打开活塞，使液面下降，经几次反复洗涤，使色素全部进入氧化铝柱体。

待色素全部进入柱体后，在柱顶小心加入 25mL 石油醚—丙酮(9: 1)溶液，适当加压洗脱出第 1 个有色组分——橙黄色的 β —胡萝卜素溶液。然后用约石油醚—丙酮(7: 3)溶液洗脱出第 2 个黄色带——叶黄素溶液和第 3 个色带——叶绿素 a(蓝绿色)。最后用石油醚—丙酮(1: 1)溶液洗脱叶绿素 b(黄绿色)组分。收集各色带后，转入棕色瓶低温保存。

②蔗糖柱色谱

将市售白砂糖在粉碎机中磨碎，掺入 3% 的优质淀粉，充分混匀，以防止层析过程中糖粉结块。糖粉必须过 140 目分样筛，装柱前放在 70℃ 烘箱中干燥 4h。

小心将糖粉装入色谱柱中，边装时边敲柱外壁，随后进行抽气使糖柱紧实。最后制得糖柱高度约为 15cm，并在上面铺一层海沙。用 50mL 石油醚加压浸湿糖柱。若色谱分离不在暗室中进行，色谱柱外面应用黑纸包住，以免光照破坏叶绿素。

取 5mL 石油醚色素提取液加在柱上，用石油醚洗脱胡萝卜素。接着用汽油—苯(10:1)洗脱叶黄素，用汽油—苯(1:2)洗脱叶绿素 a，最后用乙醚洗脱叶绿素 b。

4) 样品纯度的鉴定

色谱法分离得到的样品组分，可用吸收光谱(400~700nm)和荧光光谱进行表征和鉴定。其纯度也可通过薄层色谱点板实验和后面介绍的三种测定技术进行测定。

(5) 注意事项

- 1) 强光会破坏色素，提取过程应尽可能在弱光或暗室中进行。
- 2) 使用低沸点易挥发有机溶剂要注意实验室安全。实验室要保持良好的通风条件，使用有机溶剂不得靠近明火操作。
- 3) 分离后的单一色素提取液不宜长期存放，必要时应抽干充氮避光低温保存。

(6) 思考题

1) 色谱法是一种高效分离技术, 其“高效性”在于独特的色谱分离过程。结合本实验观察到的植物色素分离过程, 联想和体会 GC 和 HPLC 的分离过程。

2) 为什么植物色素的色谱分离大多采用含石油醚提取液, 而不直接用丙酮提取液?

3) 简述纸色谱分离色素原理。

4) 根据叶绿体色素的纸色谱、薄层色谱和柱色谱图谱, 讨论 R_f 和 t_r 参数之间的关系。

5) 试比较叶绿素、胡萝卜素和叶黄素 3 种色素的极性, 为什么胡萝卜素在氧化铝色谱柱中移动最快?

6) 为什么色素在吸附柱上会分离成不同的色带? 试从柱色谱原理, 以及色素的化学结构加以分析。

7) 有实验表明, 叶绿体色素在硅胶薄板, 异辛烷—丙酮—乙醚(3:1:1)和反相 C_{18} 薄板, 甲醇—丙酮—水(20:4:3)的展开顺序正好相反, 试解释这一现象。

3. 叶绿素 a 和叶绿素 b 的导数分光光度法同时测定

(1) 实验目的

1) 了解导数分光光度法的基本原理和方法。

2) 掌握利用导数分光光度法同时测定叶绿素 a 和叶绿素 b 的方法。

(2) 实验原理

取适量叶绿素 a 和叶绿素 b 及类胡萝卜素(R)的标准储备液稀释到适当浓度, 均以 $600\text{nm} / \text{min}$ 的扫描速率在自动扫描式分光光度计上绘制其吸收光谱, 并均以 $\Delta\lambda = 4\text{nm}$ 转换成一阶导数光谱。三条导数光谱的重叠图见图 2.2。由图可见:

在 646nm 波长处叶绿素 b 的一阶导数值为零, 而在此波长处叶绿素 a 有一定的负一阶导数值; 类似地, 在 635nm 波长处叶绿素 a 的一阶导数值为零, 而在此波长处叶绿素 b 有一定的负一阶导数值, 因而在此两波长处进行测定, 两者互不干扰。由于类胡萝卜素(R)在此波长范围内的一阶导数值均为零, 因此也不干扰叶绿素 a 和叶绿素 b 的测定。

分别以叶绿素 a 和叶绿素 b 的浓度(由分光光度法确定)为横坐标, 以相应的导数值为纵坐标绘制各自的工作曲线。由样品溶液相应波长处的导数值, 从各自的工作曲线上即可查得样品溶液中两者的含量, 再经换算即可求得蔬菜叶片样品中叶绿素 a 和叶绿素 b 的百分含量。

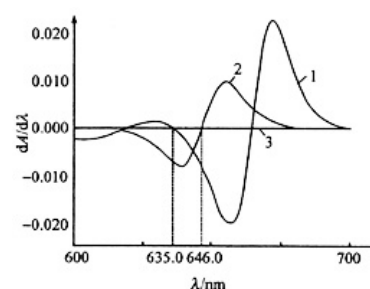


图 2.2 叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素的一阶导数光谱图

1. 叶绿素 a ($2.815 \mu\text{g/mL}$);
2. 叶绿素 b ($2.787 \mu\text{g/mL}$);
3. 类胡萝卜素 ($5.802 \mu\text{g/mL}$)

(3) 实验仪器与试剂

1) 仪器

①自动扫描式分光光度计。

②离心机。

2) 试剂

①叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素的标准溶液用购买来的纯品试剂配制或自行用菜叶经纸色谱分离提纯后稀释而得均可。

②丙酮溶液(90%)。

③MgCO₃(AR)。

(4) 实验步骤

1) 配制叶绿素 a 和叶绿素 b 的标准溶液系列, 应用分光光度法确定其浓度。分别移取用购买来的纯品试剂配制或用菜叶经纸色谱分离提纯稀释而得的叶绿素 a 标准溶液 1.00mL、2.00mL、3.00mL、4.00mL、5.00mL 于 5 个 10mL 的棕色容量瓶中, 用 90% 的丙酮溶液定容, 用分光光度法分别测定其在 644nm 和 662nm 处的吸光度, 用 $c_{\text{叶绿素 a}}(\mu\text{g}/\text{mL})=9.78A_{662}-0.99A_{644}$ 计算其浓度。再分别移取用购买来的纯品试剂配制或用菜叶经纸色谱分离提纯稀释而得的叶绿素 b 标准溶液 1.00mL、2.00mL、3.00mL、4.00mL、5.00mL 于 5 个 10mL 的棕色容量瓶中, 用 90% 的丙酮溶液定容, 用分光光度法分别测定其在 644nm 和 662nm 处的吸光度, 用 $c_{\text{叶绿素 b}}(\mu\text{g}/\text{mL})=21.43A_{644}-4.65A_{662}$ 计算其浓度。

2) 绘制叶绿素 a 和叶绿素 b 的一阶导数谱图, 并确定其导数测定波长。按实验原理中所阐述的方法绘制叶绿素 a 和叶绿素 b 的一阶导数谱图, 并按实验原理中所述的方法确定其可供测定的导数波长。各组获得的一阶导数测定波长可能略有不同, 应以自己测得的为准。

3) 绘制叶绿素 a 和叶绿素 b 的工作曲线。按上述方法操作, 分别测量各份叶绿素 a 标准溶液一阶导数光谱中 646.0nm 处的导数峰值 H_a (单位: cm)。以叶绿素 a 的含量为横坐标, 以 H_a 为纵坐标作图即得叶绿素 a 的工作曲线。同样按上述方法操作, 分别测量各份叶绿素 b 标准溶液一阶导数光谱中 635.0nm 处的导数峰值 H_b (单位: cm)。以叶绿素 b 的含量为横坐标, 以 H_b 为纵坐标作图即得叶绿素 b 的工作曲线。在计算机上分别求出叶绿素 a 和叶绿素 b 的工作曲线的拟合方程和相关系数。将数据和计算结果填入表 2.2 和表 2.3 中。

表 2.2 叶绿素 a 工作曲线的绘制

序号	A ₆₄₄	A ₆₆₂	C _{叶绿素 a} / (μg/mL)	H ₆₄₆ /cm
1				
2				
3				
4				
5				
拟合方程:			Y:	

表 2.3 叶绿素 b 工作曲线的绘制

序号	A ₆₄₄	A ₆₆₂	C _{叶绿素 b} / (μg/mL)	H ₆₄₆ /cm
1				
2				
3				
4				
5				
拟合方程:			Y:	

4) 蔬菜叶片样品中叶绿素 a 和叶绿素 b 含量的测定。取 0.5g 左右新鲜去脉的菜叶，准确称量。剪碎，置于研钵中，加 0.15gMgCO₃ 和 3mL90%丙酮，研磨至浆状。抽滤，多次洗涤。滤液收集在 50mL 容量瓶中，以 90%丙酮定容。按上述方法以 90%丙酮溶液作为参比溶液进行测定，即可获得样品溶液的一阶导数谱图。分别量取 H_a 和 H_b，由叶绿素 a 和叶绿素 b 的标准曲线上即可查出样品溶液中叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量。将数据和计算结果填入表 2.4 中。

表 2.4 样品测定结果(样品: 菜叶; 称量:g)

H ₆₄₆ /cm	C _{叶绿素 a} / (μg/mL)	样品中叶绿素 a 含量/%	H ₆₃₅ /cm	C _{叶绿素 b} / (μg/mL)	样品中叶绿素 b 含量/%

因为叶绿素 a 和叶绿素 b 很容易受光分解，因此上述样品溶液的制备过程应尽可能快些。

(5) 数据记录与处理完成表 2.2~表 2.4 的填写

(6) 思考题

1) 既然可以用分光光度法测定叶绿素 a 和叶绿素 b, 为何还要用导数分光光度法测定蔬菜叶片中叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量?

2) 研磨菜叶样品时为何要加入固体碳酸镁?

4. 叶绿素 a 和叶绿素 b 的同步荧光法测定

(1) 实验目的

1) 掌握同步荧光分析基本原理和测量方法。

2) 了解荧光分光光度计的基本结构和工作原理, 掌握其使用方法。

(2) 实验原理。

同步荧光分析法是多组分同时分析的良好手段之一, 以其谱图简单、选择性高及散射光干扰少等优点而引起人们的注意, 获得广泛的应用。

在常规荧光分析中, 所获得的两种类型的光谱是荧光激发光谱和发射光谱。同步荧光光谱是在同时扫描激发和发射两个单色器波长的情况下测绘光谱的, 由测得的荧光强度信号与对应的激发波长(或发射波长)构成光谱图, 称为同步荧光光谱。根据单色器扫描方式的不同, 同步荧光法又可分为恒波长法、可变角法和恒能量法。最早提出、目前最广为使用的恒波长同步荧光分析法, 即在扫描过程中使激发波长和发射波长两者之间始终保持固定的波长间隔($\Delta \lambda = \lambda_{em} - \lambda_{ex}$)。对该法而言, 波长差 $\Delta \lambda$ 又是关键性的实验参数。可变角同步荧光法提供了更为灵活的波长扫描方式。该法激发和发射单色器保持同时扫描, 但扫描速率不同, 所得的可变角同步荧光光谱常更能满足体系中各组分的波长要求, 光谱选择性更好, 但一般商品化荧光分光光度计上尚不具备该扫描功能。Lumex 公司新近的 Fluorat-02-Panorama 型荧光分光计可进行线性可变角同步扫描。恒能量同步荧光法特别适于某些多环芳烃的分析, 在扫描过程中保持激发和发射单色仪之间恒定的波数差关系, PERKINELMER 公司的 LS—50B 和 LUMEX 公司的 Fluorat-02-Panorama 等型号的荧光分光计已具备该功能。对于某种待测物质, 在实验条件保持固定的情况下, 同步荧光信号与待测物质的浓度成正比。

叶绿素 a 和叶绿素 b 的分子结构相似, 它们的荧光激发光谱和发射光谱重叠严重, 用常规荧光方法难以实现其同时测定。叶绿素 a 和叶绿素 b 的发射峰分别位于 667nm 和 650nm; 叶绿素 a 有两激发峰, 强峰在 428nm, 次峰在 409nm, 而叶绿素 b 的激发峰位于 457nm。本实验采用同步荧光测定技术, 用 $\Delta \lambda = 258\text{nm}$ 得到适宜于叶绿素 a 测定的同步荧光光谱, 叶绿素 b 不干扰; 用 $\Delta \lambda = 193\text{nm}$ 得适宜于叶绿素 b 的同步荧光光谱, 叶绿素 a 不干扰。然后根据各自的同步荧光峰强度与对应浓度的线性关系进行定量测定。

(3) 实验仪器与试剂

1) 仪器

①自动扫描式荧光分光光度计。

②离心机。

2) 试剂

①叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素的标准溶液用购买来的纯品试剂配制或自行用菜叶经纸色谱分离提纯后稀释而得均可。

②丙酮溶液(90%)。

③MgCO₃(AR)。

(4) 实验步骤

1) 标准溶液的制备

取叶绿素 a 和叶绿素 b 的储备液，分别用 90%丙酮稀释成 100ng / mL、40.0ng / mL、80.0ng / mL、120ng / mL、160ng / mL、200ng / mL 的两个系列标准溶液。

2) 荧光激发和发射光谱的测绘

叶绿素 a: 取叶绿素 a 和叶绿素 b 标准溶液各一份(以 160ng / mL 为例)，定激发波长为 428nm, 在 600~800nm 范围内扫描其荧光发射光谱; 定发射波长为 667nm, 在 350~600nm 范围内扫描其荧光激发光谱。

叶绿素 b: 定激发波长为 457nm, 在 600~800nm 范围内扫描其荧光发射光谱; 定发射波长为 650nm, 在 350—600nm 范围内扫描其荧光激发光谱。

3) 同步荧光光谱的测绘

测叶绿素 a, 排除叶绿素 b 的干扰: 取叶绿素 a 和 b 标准溶液各一份(以 160ng / mL 为例), 用 $\Delta \lambda = 258\text{nm}$ 在激发波长 350~600nm 范围内进行同步扫描, 仅得叶绿素 a 的同步荧光光谱, 叶绿素 b 几乎无信号。

测叶绿素 b, 排除叶绿素 a 的干扰: 取叶绿素 a 和叶绿素 b 标准溶液各一份, 用 $\Delta \lambda = 193\text{nm}$ 在激发波长 350~600nm 范围内进行同步扫描, 仅得叶绿素 b 的同步荧光光谱, 叶绿素 a 几乎无信号。

4) 工作曲线

测叶绿素 a: 以 $\Delta \lambda = 258\text{nm}$ 对系列叶绿素 a 标准溶液进行同步扫描, 由同步荧光峰信号对浓度绘制成工作曲线。

测叶绿素 b: 采用 $\Delta \lambda = 193\text{nm}$, 同上法绘制叶绿素 b 的工作曲线。

5) 菜叶中叶绿素 a 和 b 的测定

取干净新鲜菜叶 0.5g，剪碎置于研钵，加入 0.1gMgCO₃，2~3mL 丙酮，研磨至浆状，用滤纸过滤，以 90%少量丙酮多次洗涤，将丙酮萃取液收集于 25mL 棕色容量瓶中，用 90%丙酮稀释至刻度。取适量溶液再稀释 100 倍。

用与绘制工作曲线相同的方法分别测叶绿素 a 和叶绿素 b 的同步荧光峰强度，查对工作曲线，求出浓度值，计算出菜叶中叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量。

(5) 注意事项

- 1) 叶绿素见光易分解，注意避光操作。
- 2) 注意荧光分光光度计的开关机顺序。开机时主机电源需在确认氙灯亮后才开启。关机时则相反，主机电源先关。

(6) 思考题

- 1) 叶绿素同步荧光光谱和常规荧光光谱相比，有什么不同?
- 2) 本实验是采用恒波长差式的同步荧光法进行的，菜叶萃取液无需分离，经两次扫描步骤，测出其中叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量。有否更简便的荧光分析方法，能利用一次扫描得到的一张光谱，完成叶绿素 a 和叶绿素 b 的测定?请加以解释。

5. 高效液相色谱法同时测定叶绿素和类胡萝卜素

(1) 实验目的

- 1) 了解高效液相色谱在叶绿体色素全分析的应用。
- 2) 掌握生物样品的高效液相色谱实验技术。
- 3) 初步掌握梯度洗脱实验技术。

(2) 实验原理

从植物提取液分离出来的叶绿素和胡萝卜素已发现有多种异构体，而且常常是同时存在的。因此对叶绿素和胡萝卜素的深入研究较为困难。高效液相色谱既能对单一组分进行定量，又能对混合物中的多组分在分离的基础上进行定量。既能用于主要成分的含量测定，又能用于微量和痕量组分的测定。高效液相色谱是一种准确度好和精密度高的分析技术。因此，尽管难以得到所有的植物色素标准品，但高效液相色谱技术仍被认为是研究叶绿素和胡萝卜素的一种最有效手段。

叶绿体色素提取液可以采用正相或反相高效液相色谱法分析，实验表明，反相高效液相色谱法更加方便。但由于色素提取液各组分的极性差别较大，等度洗脱可能使某些组分的分离不够完全。因此，对植物色素提取液的全分析应采用梯度洗脱方式以改善分离和缩

短分析时间。

本实验采用高效液相色谱法可对绿色植物叶片提取液中的色素进行较全面的分离，并直接测定叶绿素 a、叶绿素 b 和 β -胡萝卜素的含量。

(3) 实验仪器与试剂

1) 仪器

TSP 高压梯度 HPLC 仪，3500-3200 型高压梯度泵，UV-2000 型双波长吸收检测器，Rheodyne 7725i 六通进样阀，PC1000 色谱工作站，微量进样器(100 μ L)，CQ-50 超声波除气装置，HypersilBDSC₁₈(4.0mm \times 200mm，5 μ m)。

2) 试剂

叶绿素 a、叶绿素 b 和 β -胡萝卜素纯品为 Sigma 公司产品，甲醇和乙腈为液相色谱淋洗剂，二氯甲烷为 AR 试剂，实验用水为二次去离子水，经玻璃系统重蒸馏。

(4) 实验步骤

1) 色素的提取

取 0.5g 左右干净的新鲜的去脉菜叶，准确称量。剪碎，置于研钵中，加 0.1gMgCO₃ 和 5mL90%丙酮，研磨至浆状，分次加入 5mL 丙酮，沥出提取液。高速离心后，移出上清液。重复提取直至植物组织无色。合并上清液，转入 50mL 容量瓶中，以 90%丙酮定容。试液经过 0.2 μ m 针筒式微孔滤膜过滤器直接注入色谱仪分析。

另取一菜叶在沸水中煮 5min，然后放入水中冷却，用纸吸干后按上述方法提取色素，用于对照菜叶加热后色素成分有否变化。

2) 流动相的配制

实验前，配制二氯甲烷—乙腈—甲醇—水(20: 10: 65: 5，体积比)流动相。流动相需用 0.45 μ m 微孔膜过滤，并经超声波除气 15min 后使用。

3) 色谱条件试验

色谱柱为 HypersilBDC₁₈(4.0mm \times 200mm，5 μ m)，另加一20mmC₁₈ 的保护柱。流动相为二氯甲烷—乙腈—甲醇—水(20: 10: 65: 5，体积比)，流速为 1.5mL / min，检测波长为 440nm 和 660nm。进样体积为 20 μ L。

如仪器正常，可进标准化合物试液分析得到正确的色谱图。标准试液组分的出峰顺序依次为叶黄素、叶绿素 b、叶绿素 a 和 β -胡萝卜素。如分离不理想，可适当调节试验条件，使之得到良好的分离度和重现性的色谱图为止。

对比讨论两个波长的色谱图。

4) 工作曲线的绘制

于 5 个 10mL 容量瓶中，分别移入 0mL、0.20mL、0.40mL、0.60mL、0.80mL 和 1.00mL 0.10mg / L 色素标准混合液，用流动相定容，然后分别进样分析。为提高各个组分的检测灵敏度，可设定一个检测波长—时间程序进行检测。在 0~50mg / L 范围内，叶黄素、叶绿素 b、叶绿素 a 和 β -胡萝卜素的浓度应与峰面积呈现良好线性关系。计算相应的回归方程和相关系数。

5) 实际样品测定

油菜、小白菜和生菜以及色素提取物经 0.2 μ m 针头式过滤器直接进样分析。根据保留值定性，对照工作曲线计算各组分含量。

6) 植物色素提取液的全分析

参考文献[21, 22]，设计一梯度洗脱程序，如流动相 A 为甲醇—水(9: 1)，流动相 B 为乙酸乙酯。开始色谱分析时，20min 内流动相 B 由 0% 提高到 50%。但其他色素的确定要根据文献值和采用二极管阵列检测器获取光谱图进行讨论。

(5) 注意事项

1) 在所有的提取过程中，应尽可能防止色素发生分解、氧化。操作过程中均应在避免高温、强光照射、高湿度、低 pH 条件下迅速完成。

2) 色素提取液可能含有不溶物(如植物组织)，必须除去，否则将缩短柱寿命。实验过程采用保护柱和针头过滤器保护色谱柱。

3) 开启仪器应按操作规程，观察仪器参数是否在设定范围内。待仪器稳定后，方可进样分析。

4) 每完成一种试液分析，应用丙酮等溶剂将进样注射针彻底洗干净。否则会引起样品残留，影响下一个样品分析。

5) 实验结束，应按规定清洗仪器，方能关机。

(6) 思考题

1) 在 HPLC 中，采用双波长检测有什么好处?如何确定色谱峰的纯度?

2) 为什么要进行梯度洗脱?在梯度洗脱过程中要注意哪些问题?

3) 对生物样品进行高效液相色谱分析，应对进样溶液做哪些预处理?

4) 如何确定待测组成的色谱峰及含量?

5) 对比同一份植物叶片试液的 3 种分析结果，简述导数分光光度法、同步荧光法和高效液相色谱法的特点。

6. 参考文献

1. C.H. 列别捷夫。植物生理学。杨汉金，卫新中译。厦门：厦门大学出版社，1991.77
2. Goodwin T W. Chemistry and biochemistry of plant pigments, Vol. 2, New York :Academic Press,1976. 1 and 38
3. Diehl-Jones S chlorophyll separation and spectral identification. J of Chem Educ, 1984, 61(5):454456
4. 李国刚，高小霞.叶绿素的伏安行为和测定.分析化学，1992，20(9)：989~992
5. 秦浩然，马魁英.浅谈叶绿素色素的提取、分离实验的基本原理.生物学通报，1989，(9)：6~9
6. 朱广廉，钟海文，张爱琴.植物生理学实验.北京：北京大学出版社，1990.46
7. 兰州大学等.有机化学实验.北京：高等教育出版社，1994.272
8. 赤堀四郎，木村健二郎.基础化学实验大全(III)：有机化学实验.吴琪，王文红译.北京：科学普及出版社，1988.235
9. Drexlor D, BaUschmitter K. Separation of chlorophyll a and metalloporphyrins by HPLC in normal-phase mode using adiol-phase. Fresenius J Anal Chem, 1994, 348(8 - 9):590-594
10. 张志良.生理学实验指导.北京：高等教育出版社，1990.78
11. 薛应龙.植物生理学实验.北京：高等教育出版社，1985.59
12. Fried B, Sherma J. Thin layer chromatography. New York: M Dekker, 1986. 296
13. 胡慧玲，罗汉生.盐藻中 β -胡萝卜素的分离与测定——纸层析法.海湖盐与化工，1996，25(6)：37~38
14. 阮源萍，朱庆枝.一种简便的天然叶绿素 a 和叶绿素 b 的纯化方法.分析试验室，2001，20(增刊)：151~15
15. 王尊本，郑朱梓，雷颖帆.蔬菜叶片中叶绿素 a 和叶绿素 b 的一阶导数分光光度法测定.分析试验室，1994，13(2)：36~38
16. 王尊本，郑朱梓，欧阳丽丽.导数分光光度法同时测定叶绿素 a 和叶绿素 b.分析化学，1992，20(8)：987
17. 黄贤智，许金钩，蔡挺.同步荧光分析法同时测定叶绿素 a 和叶绿素 b.高等学校化学学报，1987，8(5)：418~420
18. Lee Y Q, Huang X Z, XuJ Getal. Reverse variable-angle synchronous spectrofluorimetry for rapid simultaneous determination of chlorophyll a and chlorophyll b. Chin Chem Lett, 1991，2(1)：23—26

19. 李耀群, 丁爽, 黄贤智等. 脱镁叶绿素 a 和脱镁叶绿素 b 的联合同步荧光分析法. 光谱学与光谱分析, 1992, 12(2): 43—46
20. Alexander T A, Gao GH, Tran C D. Development of a novel fluorimeter based on superluminescent light-emitting diodes and acousto-optic tunable fiber and its application in the determination of chlorophylls a and b. *Appl Spectrosc*, 1997, 51(11): 1603—1606
21. 陈国珍, 黄贤智, 许金钧等. 荧光分析法. 第二版. 北京: 科学出版社, 1990. 201
22. X.H. 波钦诺克. 植物生理化学分析方法. 荆家海, 丁钟荣译. 北京: 科学出版社, 1981. 231
23. 袁建明, 张义明, 史贤明等. 高效液相色谱测定藻类中的类胡萝卜素和叶绿素, 色谱, 1997, 15(2): 133
24. Eskins K, Dutton H J. Sample preparation for high-performance liquid chromatography of higher plant pigments. *Anal Chem*, 1979, 51(11): 1885~1886
25. Francis G, Huseby W B, Anderson M. An improved HPLC system for the analysis of photosynthetic pigments. *Chromatographia*, 1993, 35(3 / 4): 189—192
26. Iriyama K, Yoshiura M, Shiraki M. Micro-method for the qualitative and quantitative analysis of photosynthetic pigments using high-performance liquid chromatography. *J of Chromatogr*, 1978, 154: 302—305

实验三 菠菜色素的提取与分离

1. 实验目的

①通过菠菜色素的提取与分离，加深对天然色素(杂环或萜类化合物等)有关知识的理解；

②学习柱色谱有关技术；

③熟练萃取、分液漏斗使用、紫外光谱测定等技术。

2. 柱色谱有关知识和技术

柱色谱又叫柱层析。与薄层色谱、纸色谱一样，同属色谱法，都是分离、纯化与鉴定有机物的重要方法之一。它们的基本原理相同，都是利用不同物质在不同溶剂形成的两相中具有不同分配系数，当两相作相对运动时，这些物质在两相中的分配反复进行多次，使得那些分配系数不同(哪怕是只有微小差异)的组分得以分离。

柱色谱与薄层色谱、纸色谱的区别在于它们所用的仪器设备及操作不同。柱色谱是待分离的混合液经装有吸附剂的长管(图 3.35)，由于吸附剂表面对各液体组分吸附力大小不同，从而使各组分得以按一定顺序分离(吸附力强的先被吸附，吸附力弱的后被吸附)。当加入洗脱溶剂时，由于各组分吸附力不同，下移的速度不同，便形成若干色带。吸附力最弱的组分首先随溶剂流出，吸附力最强的组分最后随溶剂流出，从而达到分离的目的。因此，柱色谱的操作通常都分为装柱、装样、洗脱与分离、柱的清洗等几个步骤。柱色谱通常可分为吸附色谱和分配色谱两种。吸附色谱以氧化铝或硅胶等为吸附剂；分配色谱则以硅胶或硅藻土与纤维素等为支持剂。吸附剂或支持剂均为固定相。

化合物在固定相上的吸附力与其极性大小有关，极性强者吸附力大。例如，化合物在氧化铝吸附剂上的吸附力大小顺序是：酸、碱>醇、胺、硫醇>酯、醛、酮>芳烃化物>卤代烃、醚>烯>饱和烃。

柱色谱中的流动相通常叫作洗脱剂或淋洗剂。洗脱剂的极性越大，样品的洗脱速度越快，所以，为了得到适当的分离速度，选择合适的洗脱剂非常重要。常用洗脱剂的极性大小顺序是：乙酸>吡啶>水>甲醇>乙醇>丙醇>丙酮>乙酸乙酯>乙醚>三氯甲烷>二氯甲烷>苯>甲苯>二硫化碳>四氯化碳>环己烷>石油醚、己烷。

经常还使用混合溶剂当洗脱剂。此外，选择洗脱剂时还要考虑其他因素，如粘度较小、

毒性较小、沸点适中、燃点较高，以有利于操作和安全。

一般情况下，如果洗脱剂能较好地溶解样品，则直接采用洗脱剂做溶剂。样品溶液的体积不宜太大，一般以每克样品用少于 15mL 的溶剂为宜，否则色谱分散，影响效果。

3. 菠菜色素提取与分离的实验

3.1 实验原理

绿色植物如菠菜叶中含有叶绿素(绿)，胡萝卜素(橙)和叶黄素(黄)等多种天然色素。

叶绿素存在两种结构相似的形式即叶绿素 a($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$)和叶绿素 b($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$)，其差别仅是 a 中一个甲基被 b 中的甲酰基所取代。它们都是吡咯衍生物与金属镁的络合物，是植物进行光合作用所必需的催化剂。植物中叶绿素 a 的含量通常是 b 的 3 倍。尽管叶绿素分子中含有一些极性基团，但大的烃基结构使它易溶于醚、石油醚等一些非极性的溶剂。

胡萝卜素($C_{40}H_{56}$)是具有长链结构的共轭多烯。它有三种异构体，即 α -、 β -和 γ -胡萝卜素，其中 β -异构体含量最多，也最重要。生长期较长的绿色植物中，异构体中 β -体的含量多达 90%。 β -体具有维生素 A 的生理活性，其结构是两分子维生素 A 在链端失去两分子水结合而成的。在生物体内， β -体受酶催化氧化即形成维生素 A。目前 β -体已可进行工业生产，可作为维生素 A 使用，也可作为食品工业中的色素。

叶黄素($C_{40}H_{56}O_2$)是胡萝卜素的羟基衍生物，它在绿叶中的含量通常是胡萝卜素的两倍。与胡萝卜素相比，叶黄素较易溶于醇而在石油醚中溶解度较小。

这些色素易溶于有机溶剂，因此可将它们萃取出来。而后用柱层析，以同样的或其他混合有机溶剂当洗脱剂，便可将这些色素分离。

这些天然色素可在食品工业中作添加剂使食品染色，对人体无害，也可在医药工业中用作原料，如从胡萝卜素中提取 β -胡萝卜素，这种异构体作为生产维生素 A 的原料使用。

3.2 实验仪器与药品

层析柱(或酸式滴定管)、锥形瓶、烧杯、分液漏斗、布氏漏斗、抽滤瓶、水泵、剪刀、研钵、圆底烧瓶、冷凝管、牛角管、滴液漏斗、730 型分光光度计。

中性氧化铝(20g, 150~160 目)、95%乙醇、石油醚(60~90℃)、丙酮、正丁醇、菠菜叶(5g)、石英砂、棉花、无水硫酸钠。

3.3 实验内容

①菠菜色素的提取

将菠菜叶洗净用滤纸吸干并切成碎片，用研钵捣烂，用石油醚—乙醇混合溶液(体积比 3:2)浸提(10mL)。抽滤后滤液移入分液漏斗，用水萃取以除去乙醇(3mL×2)，注意不要激烈振荡，以防发生乳化现象。弃去水—乙醇层，石油醚层用无水硫酸钠干燥后滤入圆底烧瓶，在水浴上蒸去石油醚(回收)至体积约 1mL 为止。

②菠菜色素的分离

a.装柱：在层析柱中加入石油醚。在小烧杯中加入些石油醚，取少许棉花(或玻璃棉)用石油醚浸湿，挤去气泡后放在层析柱底部，在它上面放片直径略小于管柱的滤纸或铺一薄层细砂。通过玻璃漏斗缓缓加入氧化铝，同时打开活塞让石油醚流下，以保持柱内石油醚的高度不变。氧化铝在柱的堆积过程中可用软性物轻轻敲震层析柱以便使氧化铝装得平实。装完后再用一圆形滤纸或一薄层细沙覆盖在氧化铝上面。调节柱中石油醚液面高度，确保石油醚液面高出氧化铝或细沙 1~2mm。

b.装样：将菠菜色素浓缩提取液用滴管小心地从层析柱顶部加入。加完后打开活塞，让液面下降到柱中氧化铝层上缘以下 1mm 处，关闭活塞，加几滴石油醚，打开活塞，使液面下降如前，如此反复多次，使菠菜色素全部进入柱体。

c.洗脱与分离：在柱顶小心加入约 1.5~2cm 高度的石油醚—丙酮洗脱剂(体积比 9:1)，而后在柱上方装一滴液漏斗，内装 15mL 洗脱剂，用完再加。让洗脱剂逐滴滴入柱内。打开柱下方活塞让洗脱剂逐滴流出，用锥形瓶收集。层析即开始进行。当第一个有色成分即将滴出时，另取一洁净的锥形瓶收集，得橙黄色溶液，即胡萝卜素。将洗脱剂换成 7:3 的石油醚—丙酮混合液，继续洗脱可得到第二色带的黄色溶液即叶黄素。将洗脱剂换成丁醇—乙醇—水(体积比 3:1:1)混合液，可洗脱叶绿素 a(蓝绿色)和叶绿素 b(黄绿色)。

②β-胡萝卜素的紫外光谱测定

将分离得到的橙黄色试样，用石油醚稀释后，用 730 型分光光度计测定 400~600nm 范围内的吸收，指出测定的 λ_{\max} 值(以石油醚作空白试剂)。

参考数据：β-胡萝卜素 481(123027)，453(141254)。

4.预习思考题

①菠菜色素提取的原理和方法是什么？

②柱色谱与薄层色谱、纸色谱有何异同?

③本实验成功的关键是什么?

5.参考文献

1. 兰州大学、复旦大学化学有机化学教研室编, 王清廉、沈凤嘉修订, 有机化学实验(第二版)高等教育出版社, 1998

2. 吴泳主编, 大学化学新体系实验, 科学出版社, 2001

3. 黄涛主编, 张治民副主编, 有机化学实验(第二版)高等教育出版社, 1998

实验四 三苯甲醇的制备

1. 实验目的

- (1) 通过三苯甲醇的制备，进一步加深对 Grignard 反应及 Grignard 试剂应用的理解与认识；
- (2) 进一步熟练实验的操作技术；
- (3) 学习并初步掌握薄层色谱法。

2. 薄层色谱的有关知识

色谱分析是以相分配原理为基础的。它是基于利用分析试样中各组分在不相混溶并作相对运动的两相(固定相与流动相)中的溶解度不同或在固定相上而达到使各组分分离的目的。这点与前面学习过的萃取相类似。经过近一个世纪的发展，现包括柱色谱、纸色谱、薄层色谱、气相色谱和高效液相色谱等多种。由于色谱具有高效、灵敏、准确等特点，在有机化学、生物化学研究及有关化工生产等各领域中得到广泛的应用。

薄层色谱又称薄层层析，常用 TLC 表示(thin layer chromatography)，是色谱分析诸方法中之佼佼者。它是近年发展起来的一种微量、快速而简单的分离分析方法。

薄层色谱兼备了柱色谱和纸色谱所具有的灵敏、快速、准确等优点，它既适用于小量(从几十微克到几微克，甚至 $0.01 \mu\text{g}$)样品的分离；又可用于多达 500mg 样品中各组分的分离和精制。它还运用于挥发性较小或在较高温度易发生变化而不能用气相色谱分析的物质。

2.1 薄层色谱的分类

薄层色谱通常分为分配色谱和吸附色谱两类。薄层分配色谱的支持剂多为硅藻土和纤维素。薄层吸附色谱最常用的吸附剂是硅胶和氧化铝。

2.2 薄层色谱及其比移值(或称移动率, R_f)

①薄层色谱的展开

a. 色谱板(又称薄层板)：将吸附剂或支持剂的薄层(约 0.25~1mm)均匀涂布于洗涤干净并干燥的玻璃板(10cm×3cm)上，干燥、活化后即成。

色谱板上薄层均匀与否直接影响分析结果，因此是分析成败的关键之一。

b. 点样：将溶于低沸点溶剂(常用乙醚、丙酮、四氯化碳、乙醇、苯)的样品溶液(常配成 1% 溶液，用内径小于 1mm 管口平整的毛细管点到距色谱板一端上 1cm 处的起始线上，斑点直径一般不超过 2mm，点样要轻，不可刺破薄层。如溶液太稀，可在前次溶剂挥发后在原处反复重点。同一块色谱板上样点间距应为 1cm。

c.展开：根据样品的极性、溶解度和吸附剂的活性等因素选择展开剂。薄层色谱用的展开剂绝大多数为有机溶剂。将点有样品的色谱板在展开槽内浸入展开剂，即发生相分配，样点随之移动，此过程称之为展开，展开方式有两种，即直立式和近水平式，如图 3.33 和 3.34 所示。

d.显色：许多有机物展开后得到具有各种颜色的斑点，则不需显色。对于无色物质，则需在展开后根据该化合物的特性采用各种方法进行显色。如有的化合物在紫外光下产生荧光，则可用紫外光令其显色，酚类可用 FeCl_3 乙醇溶液喷雾显色；芳香伯胺可用二甲氨基苯甲醛喷雾显色等。

薄层色谱还可使用腐蚀性的显色剂如浓硫酸、浓盐酸和浓磷酸等。对于含有荧光剂(硫化锌镉、硅酸锌、荧光黄)的薄层板在紫外光下观察，展开后的有机化合物在亮的荧光背景上呈暗色斑点。另外也可用卤素斑点试验法来使薄层色谱斑点显色，这种方法是将几粒碘置于密闭容器中，待容器充满，碘的蒸气后，将展开后的色谱板放入，碘与展开后的有机化合物可逆地结合，在几秒钟到数秒钟内化合物斑点的位置呈黄棕色。但是当色谱板上仍含有溶剂时，由于碘蒸气亦能与溶剂结合，致使色谱板显淡棕色，而展开后的有机化合物则呈现较暗的斑点。色谱板自容器内取出后，呈现的斑点一般在 2-3s 消失，因此必须立即用铅笔标出化合物的位置。

② 计算比移值(R_f)

测量点样时原点到样点移动至主斑点的中心间距离，即化合物移动距离 a ；溶剂(展开剂)前沿至原点中心的距离，即溶剂移动距离 b 。

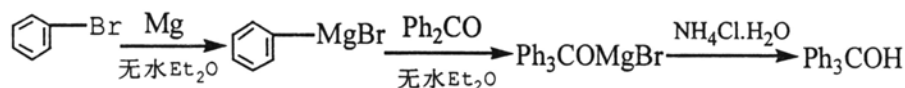
$$R_f = a/b$$

R_f 值与样品化合物及展开剂的性质、温度和吸附剂(或支持剂)种类等因素有关。如展开剂、温度及吸附剂(或支持剂)等条件相同，则 R_f 值应为样品化合物的特性常数。由于影响 R_f 值的因素很多，难于准确测定，所以一般采取在相同的实验条件下用标准试样作对比实验来进行化合物的鉴定。

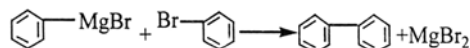
3 三苯甲醇制备的实验

3.1 实验原理

通常用溴苯通过生成 Grignard 试剂苯基溴化镁与二苯酮反应合成三苯甲醇。这也是一个典型的 Grignard 反应：



副反应产生联苯:

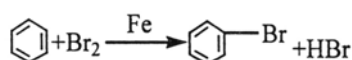


本实验用的溴苯与二苯酮均用自制的产品。

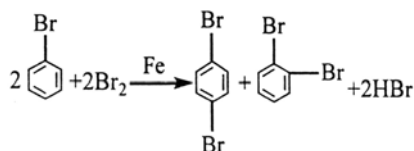
3.2 溴苯的制备

[反应式]

主反应



副反应:



苯的溴化反应主要副产物是对二溴苯。苯、溴苯(沸点 156℃)和对二溴苯(沸点 220℃)沸点虽相差较大,但通过一次普通蒸馏仍很难分开,故最初收集的馏分范围较宽。蒸去溴苯后的残液经乙醇重结晶后得对二溴苯。

溴苯和对二溴苯都用作有机合成的中间体。

[试剂]

16g(5.2mL, 0.1mol)溴, 10g(11.5mL, 0.13mol)无水苯, 0.3g 铁屑, 10%氢氧化钠溶液, 95%乙醇, 无水氯化钙。

[步骤]

在 250mL 三颈瓶上,分别装置冷凝管和滴液漏斗,另一口用塞子塞紧,冷凝管上端连溴化氢气体吸收装置(见图 1.8)⁽¹⁾。

在三颈瓶内加入 11.5mL 无水苯和 0.3g 铁屑,滴液漏斗中加入 5.2mL 溴⁽²⁾。向三颈瓶中先滴入 1mL 溴,不要摇动,片刻诱导期后,反应即开始(必要时可用水浴温热),可观察到有溴化氢气体放出。慢慢滴加其余的溴,加入速度以维持反应物微沸⁽³⁾为宜,约 30min 加完,并时加摇动。加完溴后,再在 70-80℃的水浴上加热 15min,至冷凝管中无溴的红色蒸气并且几乎无溴化氢气体逸出为止。向反应瓶内加入 30mL 水⁽⁴⁾,摇振后抽滤除去少量铁屑。粗产物转入分液漏斗分去水层,依次用 10mL10%氢氧化钠溶液⁽⁵⁾, 50mL 水洗涤。

经无水氯化钙干燥后，用水浴先蒸去苯。然后在石棉网上用小火加热，当温度上升至 135℃时，换上空气冷凝管进行蒸馏，收集 145—170℃之间的馏分。将此馏分再蒸一次，收集 154—160℃的馏分⁽⁶⁾，溴苯产量约 8—10g。

将第一次蒸馏的残液趁热倒在表面皿上，凝固后用滤纸吸收邻二溴苯(熔点 7.1℃)后，将固体置于 25mL 锥形瓶中，在热水浴加热下滴加 95%乙醇，直至固体全部溶解后再多加 0.5-1mL 乙醇(约需 5mL)。稍冷后，加入少许活性炭(约 0.5g)，在水浴温热后用折叠滤纸过滤。滤液冷却后即有片状晶体析出。用玻璃钉漏斗和吸滤管抽气过滤，得约 0.5g 对二溴苯。产物干燥后测熔点。纯对二溴苯的熔点为 87.33℃,纯溴苯的沸点为 156℃，折光率 n_D^{20} 1.5597。

本实验约需 6h。

[注释]

(1)实验仪器必须干燥，否则反应开始很慢，甚至不起反应，实验开始前应检查仪器装置是否严密，滴液漏斗必须重新涂好凡士林。

(2)见实验五 1,2- 二溴乙烷注释(1)。

(3)溴加入速度过快则反应剧烈，二溴苯产量增加，同时由于较多的溴和苯随溴化氢逸出而降低溴苯产量。

(4)水洗涤主要是除去三溴化铁，溴化氢及部分溴，如未洗涤完全，则用氢氧化钠溶液洗涤时，会产生胶状的氢氧化铁沉淀，难以分层清楚。

(5)由于溴在水中溶解度不大，需用氢氧化钠溶液将其洗去，其反应式如下：



(6)二次蒸馏可除去夹杂的少量苯，得到较纯的溴苯。

[思考题]

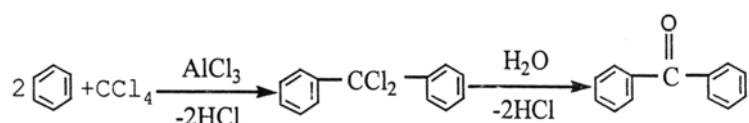
(1)为什么本实验所用仪器和试剂必须干燥，水份对反应有何影响？

(2)在制备溴苯时，哪种试剂是过量的，为什么？应采取哪些措施减少对二溴苯的生成？

3.3 二苯酮(benzophenone)的制备

实验方法(一)：由四氯化碳和无水苯在无水三氯化铝催化下制备

[反应式]：



[试剂]

6g(约 0.046mol)无水三氯化铝, 7g(8mL, 0.09mol)无水苯, 21mL 四氯化碳, 无水硫酸镁

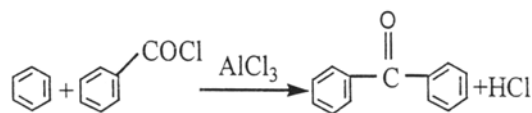
[步骤]

在 250mL 三颈瓶(1)上, 分别装置搅拌器、冷凝管和 Y 型管。冷凝管上端装一氯化钙干燥管, 后者再接一气体吸收装置。Y 型管上分别装置滴液漏斗和温度计。

迅速称取 6g 无水三氯化铝, 置于三颈瓶中, 再加入 14mL 四氯化碳。将三颈瓶在冷水浴中冷却到 10—15℃, 开动搅拌, 自滴液漏斗中慢慢滴入 8mL 无水苯及 7mL 四氯化碳的混合液, 维持反应温度在 5—10℃之间⁽²⁾, 约 10—15min 滴完。加完后, 在 10℃左右继续搅拌 1h, 然后将三颈瓶浸入冰水浴, 在搅拌下慢慢滴加 100mL 水。加完后改为蒸馏装置, 在水浴上尽量蒸去四氯化碳及未反应的苯。再在石棉网上用小火加热蒸馏 0.5h, 以除去残留的四氯化碳⁽³⁾, 并促使二苯二氯甲烷水解完全。分出下层粗产物, 水层用蒸出的四氯化碳萃取一次, 合并后用无水硫酸镁干燥。先在常压下蒸去四氯化碳, 当温度升至 90℃左右时停止加热, 稍冷后再进行减压蒸馏, 收集 156—159℃ / 1.33kPa(10mmHg)的馏分。产物冷却后固化⁽⁴⁾, 熔点 47—48℃, 产量 6—7g。

实验方法(二): 由苯甲酰氯和无水苯在无水三氯化铝催化下制备

[反应式]



[试剂]

7.5g(0.055mol)无水三氯化铝, 30mL(0.34mol)无水苯, 7.3g(6mL, 0.05mol)苯甲酰氯, 浓盐酸, 5%氢氧化钠, 无水硫酸镁。

[步骤]

在 250mL 三颈瓶上分别装置搅拌器、冷凝管和滴液漏斗, 冷凝管上端装一氯化钙干燥管, 后者再接气体吸收装置。

迅速称取 7.5g 无水三氯化铝放入三颈瓶中, 再加入 30mL 无水苯。开动搅拌, 自滴液漏斗滴加 6mL 新蒸馏过的苯甲酰氯。反应液由无色变为黄色, 三氯化铝逐渐溶解。加完后(约需 10min), 在 50℃水浴上加热 1.5-2h。至无氯化氢气体逸出。此时反应液为深棕色。将三颈瓶浸入冰水浴中, 慢慢滴加 50mL 冰水和 25mL 浓盐酸的混合液, 分解反应产物。分解完全后, 分出苯层。依次用 15mL 5%的氢氧化钠及 15mL 水各洗一次, 粗产物用无水硫酸镁干燥。

干燥后的液体按实验方法(一)处理, 产量约 5g。

纯粹二苯酮的熔点为 49°C(5)。

本实验约需 8h。

[注释]

(1)见实验二十三苯乙酮注释(1)。

(2)若温度低于 5°C, 则反应缓慢, 高于 10°C时则有焦油状物产生。

(3)约可回收 14mL 四氯化碳, 其中含少量苯。

(4)冷却后有时不易立即得到结晶, 这是由于形成低熔点(26°C)β-型二苯酮之故, 也可用石油醚(30-60°C)进行重结晶, 代替减压蒸馏。

(5)二苯酮有多种晶形, α型熔点 49°C, β型熔点 26°C, γ型熔点 45—48°C, δ型熔点 51°C。

[思考题]

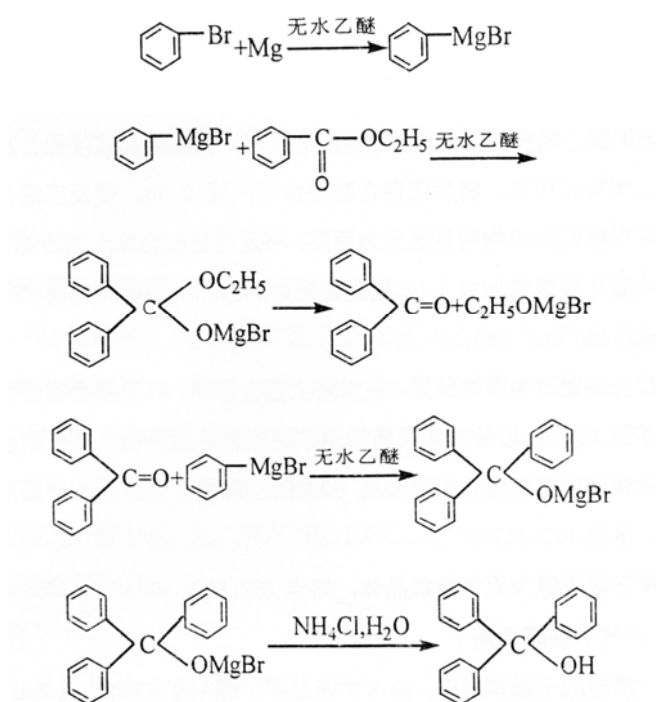
(1)本实验方法(一)中为什么是四氯化碳过量而不是苯过量?如苯过量有什么结果?

(2)反应完成后, 加入水(方法一)或浓盐酸与冰水的混合液(方法二)的目的是什么?

3.4 三苯甲醇(triphenyl carbinol)的制备

实验方法(一): 苯基溴化镁与苯甲酸乙酯的反应

[反应式]



[试剂]

1.5g(0.062mol)镁屑, 10g(6.7mL, 0.064mol)溴苯(新蒸), 4g(3.8mL, 0.026mol)苯甲酸乙酯, 无水乙醚, 7.5g 氯化铵, 乙醇。

[步骤]

1. 苯基溴化镁的制备

在 250mL 三颈瓶⁽¹⁾上分别装置搅拌器⁽²⁾、冷凝管及滴液漏斗, 在冷凝管及滴液漏斗的上口装置氯化钙干燥管。瓶内放置 1.5g 镁屑⁽³⁾及一小粒碘片⁽⁴⁾, 在滴液漏斗中混合 10g 溴苯及 25mL 无水乙醚。先将三分之一的混合液滴入烧瓶中, 数分钟后即见镁屑表面有气泡产生, 溶液轻微混浊, 碘的颜色开始消失。若不发生反应, 可用水浴或手掌温热。反应开始后开动搅拌, 缓缓滴入其余的溴苯醚溶液, 滴加速度保持溶液呈微沸状态。加毕后, 在水浴继续回流 0.5h, 使镁屑作用完全。

2. 三苯甲醇的制备

将已制好的苯基溴化镁试剂置于冷水浴中, 在搅拌下由滴液漏斗滴加 3.8mL 苯甲酸乙酯和 10mL 无水乙醚的混合液, 控制滴加速度保持反应平稳地进行。滴加完毕后, 将反应混合物在水浴回流 0.5h, 使反应进行完全, 这时可以观察到反应物明显地分为两层。将反应物改为冰水浴冷却, 在搅拌下由滴液漏斗慢慢滴加由 7.5g 氯化铵配成的饱和水溶液(约需 28mL 水), 分解加成产物⁽⁵⁾。

将反应装置改为蒸馏装置, 在水浴上蒸去乙醚, 再将残余物进行水蒸气蒸馏(见图 3.7), 以除去未反应的溴苯及联苯等副产物。瓶中剩余物冷却后凝为固体, 抽滤收集, 粗产物用 80% 的乙醇进行重结晶, 干燥后产量约 4.5-5g, 熔点 161—162℃⁽⁶⁾。

纯粹三苯甲醇为无色棱状晶体, 熔点 162.5℃。

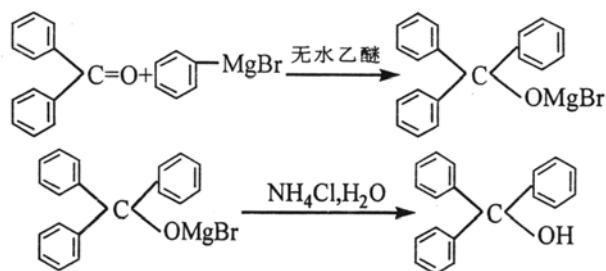
3. 三苯甲基碳正离子

在一洁净的干燥试管中, 加入少许三苯甲醇(约 0.02g)及 2mL 冰醋酸, 温热使其溶解, 向试管中滴加 2—3 滴浓硫酸, 立即生成橙红色溶液, 然后加入 2mL 水, 颜色消失, 并有白色沉淀生成。解释观察到的现象并写出所发生变化的反应式。

本实验约需 8—10h。

实验方法(二): 二苯酮与苯基溴化镁的反应

[反应式]



[试剂]

0.75g(0.03mol)镁屑, 4.8g(3.2mL, 0.03mol)溴苯, 5.5g(0.03mol), 二苯酮, 无水乙醚, 6g 氯化铵, 乙醇。

[步骤]

仪器装置及操作步骤同实验方法(一)。

用 0.75g 镁屑和 3.2mL 溴苯(溶于 15mL 无水乙醚)制成 Grignard 试剂后, 在搅拌下滴加 5.5g 二苯酮溶于 15mL 无水乙醚的溶液, 加毕后加热回流 0.5h。然后用 6g 氯化铵配成饱和溶液(约需 22mL 水)分解加成产物蒸去乙醚后进行水蒸气蒸馏, 冷却, 抽滤固体, 经乙醇—水重结晶, 得到纯净的三苯甲醇结晶, 产量 4-4.5g, 熔点 161—162℃。

本实验约需 8—10h。

[注释]

(1)见 2—甲基—2—己醇注释(2)。

(2)见 2—甲基-2-己醇注释(3)。实验也可用手摇或电磁搅拌代替电动搅拌。

(3)见 2—甲基-2-己醇注释(4)。

(4)Grignard 反应的仪器用前应尽可能进行干燥。有时作为补救和进一步措施清除仪器所形成的水化膜, 可将已加入镁屑和碘粒的三颈瓶在石棉网上用小火小心加热几分钟, 使之彻底干燥。烧瓶冷却时可通过氯化钙干燥管吸入干燥的空气。在加入溴苯醚溶液前, 需将烧瓶冷至室温, 熄灭周围所有的火源。

(5)如反应中絮状的氢氧化镁未全溶时, 可加入几毫升稀盐酸促使其全部溶解。

(6)本实验可用薄层色谱鉴定反应的产物和副产物。用滴管吸取少许水解后的醚溶液于一干燥锥形瓶中, 在硅胶 G 层析板上点样, 用 1:1 的苯—石油醚作展开剂, 在紫外灯下观察, 用铅笔在荧光点的位置做出记号。从上到下四个点分别代表联苯, 苯甲酸乙酯, 二苯酮和三苯甲醇, 计算它们的 R_f 值。可能的话, 用标准样品进行比较。

[思考题]

(1)见实验 2—甲基-2-己醇思考题(1)。

(2)本实验中溴苯加入太快或一次加入, 有什么不好?

(3)如苯甲酸乙酯和乙醚中含有乙醇，对反应有何影响？

(4)写出苯基溴化镁试剂同下列化合物作用的反应式(包括用稀酸水解反应混合物)。

①二氧化碳；②乙醇；③氧；④对甲基苯甲腈；⑤甲酸乙酯；⑥苯甲醛。

(5)用混合溶剂进行重结晶时，何时加入活性炭脱色？能否加入大量的不良溶剂，使产物全部析出？抽滤后的结晶应该用什么溶剂洗涤？

4. 薄层色谱实验

4.1 制色谱板

用 3g 硅胶 G 和 6mL 0.5—1%的羟甲基纤维素的水溶液在烧杯中调成糊状物(或用 3g 氧化铝与 3mL 水调成糊状物)，辅在清洁干燥的玻璃板上，用手轻轻振摇，使表面均匀光滑。平放晾干。

4.2 活化色谱板

将晾干的色谱板置于烘箱内，慢慢升温，维持 105~110℃活化 30min (氧化铝板在 200℃烘 4h 可得活性 II 的薄层)。

4.3 点样

在已活化色谱板的竖向一端距边缘 1cm 处用软铅笔轻轻划一直线(点样线)，取内径小于 1mm 的毛细管吸取装在微型锥形瓶内的三苯甲醇粗产品轻轻地接触到点样线的某一位置上。如觉得溶液太稀，一次点样不够，待乙醚挥发后，可重复在原位置点样。每次点样后，原点扩散直径不超过 2~3mm。

4.4 展开

用 1:1 的苯—石油醚作展开剂。将点好样品的色谱板小心放入 250mL 内盛展开剂的广口瓶内。点样一端向下，浸入展开剂中约 0.5cm，切不可浸到点样线。用玻片盖住广口瓶口(图 3.33)。当看到展开剂前沿上升到板的上端约 1cm 处时取出色谱板，尽快在展开剂上升的前沿处划一记号，晾干。

4.5 记录

在紫外光下观察，用铅笔在荧光点的位置做出记号。从上到下三个点分别代表联苯、二苯酮和三苯甲醇。量出各斑点和展开剂在色谱板上移动的距离。计算各样品的 R_f 值。

5. 预习思考题

①了解三苯甲醇制备的原理和方法。

- ②提高三苯四醇产率的关键有哪些。
- ③影响实验产率的因素有哪些?
- ④了解薄层色谱法的原理和操作关键。

6. 参考文献

1. 兰州大学、复旦大学化学有机化学教研室编, 王清廉、沈凤嘉修订, 有机化学实验(第二版)高等教育出版社, 1998
2. 吴泳主编, 大学化学新体系实验, 科学出版社, 2001
3. 黄涛主编, 张治民副主编, 有机化学实验(第二版)高等教育出版社, 1998

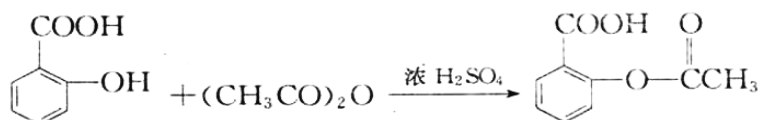
实验五 阿司匹林胶囊的制备和红外分析表征

一、实验目的

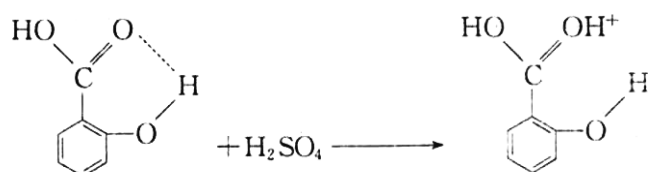
1. 掌握乙酰水杨酸的制备原理。
2. 了解混合溶剂进行重结晶的基本原理和操作技术。
3. 了解乙酰水杨酸胶囊的制备工艺。

二、实验原理

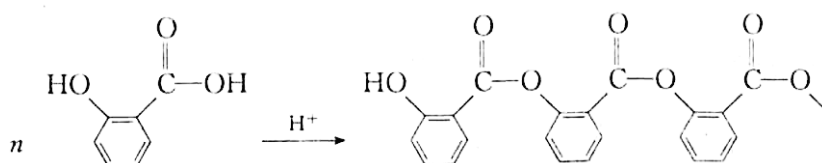
乙酸水杨酸又称阿司匹林 (aspirin), 是一个广泛使用的具有退热、镇痛作用的药物。乙酰水杨酸常用的制备方法是水杨酸与乙酸酐作用, 使水杨酸分子中羟基上的氢原子被乙酰基取代, 生成乙酰水杨酸。



由于水杨酸分子中羧基与羟基可形成氢键, 常加入少量的浓 H₂SO₄ 或浓 H₃PO₄ 以破坏氢键使酰化反应易于进行。



在生成乙酰水杨酸的同时, 水杨酸分子之间可以发生酯化反应, 生成二聚或多聚水杨酸。



合成的乙酰水杨酸中的主要杂质是二聚或多聚水杨酸和反应不完全或后处理时发生水解的水杨酸。利用乙酰水杨酸能与 NaHCO₃ 反应生成水溶性钠盐, 而副产物二聚或多聚水杨酸不溶于 NaHCO₃。这种性质上的差别可除去乙酰水杨酸中的二聚或多聚水杨酸。再利用水杨酸和乙酰水杨酸均可溶于乙醚, 而乙酰水杨酸不溶于石油醚的特性, 可用乙醚和

石油醚混合溶剂重结晶，达到提纯的目的。

与大多数酚类化合物一样，水杨酸可与 FeCl_3 形成蓝紫色配合物，而乙酰水杨酸因酚羟基已被酸化，不再与 FeCl_3 发生颜色反应。

胶囊剂分硬胶囊剂、软胶囊剂（胶丸）和肠溶胶囊剂，硬胶囊剂系指一定量的药物和辅料制成均匀的粉末或颗粒，充填于空心胶囊中制成。空心胶囊是由明胶或其他适宜的药用材料制成具有弹性的两节圆筒，能互相紧密套合，硬胶囊剂的内容物应干燥、松散、混合均匀。软胶囊剂指将一定量的药物加适宜的辅料密封于球形、椭圆形或其他形状的软质囊材中，用压制法制成。肠溶胶囊指硬胶囊或软胶囊经医用高分子材料处理或用其他适宜方法加工而成，其囊壳不溶于胃液，但能在肠液中崩解而释放活性成分。

本实验制备硬胶囊剂。

三、预习要求

- 1.重结晶溶剂的选择。
- 2.水杨酸的显色反应。

四、仪器和试剂

仪器 100mL、50 mL 锥形瓶；100℃温度计；吸滤瓶；布氏漏斗；循环水泵；50 mL、10 mL 量筒；150 mL 烧杯；滴管；红外光谱仪。

试剂 水杨酸；乙酸酐；浓 H_2SO_4 ；浓 HCl ；95%乙醇；0.1% FeCl_3 溶液；饱和 NaHCO_3 溶液；乙醚；石油醚；淀粉；硬质空胶囊。

五、实验内容

1.阿司匹林的合成

在干燥的 100 mL 锥形瓶中，加入 2.8g 水杨酸，4 mL 乙酸酐和 5 滴浓 H_2SO_4 充分摇匀。在 $80\sim 90^\circ\text{C}$ 水溶液上加热 5min，取出锥形瓶在冷水浴中冷却，即有乙酰水杨酸的结晶析出，用 30mL 冷水，先加 2~3 mL 冷水分解过量的乙酰^[1]。在不断搅拌下慢慢加入剩余的冷水^[2]，在冰水浴中冷却。待结晶完全，减压抽滤，用滤液反复淋洗锥形瓶，直至所有固体都被转移至布氏漏斗中。用少量水洗涤固体，减压抽滤，尽量抽干溶剂。

2.阿司匹林的提纯

(1) 将固体转移至 150 mL 烧杯中，在搅拌下加入 25 mL 饱和 NaHCO_3 溶液，不断搅拌直至无 CO_2 气体产生，抽滤。用 5 mL 水冲洗漏斗，将滤液倒入预先盛有 4 mL 浓盐酸和 8 mL 水配成溶液的烧杯中，搅拌使乙酰水杨酸析出。用冷水冷却，使沉淀完全，减压抽滤。

用少量冷水洗涤固体，压干。将固体转移至表面皿上，用水蒸气烘干，得乙酰水杨粗制品。

(2) 实验室关闭一切热源后^[3]，取烘干的粗制品 1g，放入干燥的 50 mL 锥形瓶中，加乙醚 10 mL，在热水浴中温热搅拌溶解，加 10 mL 石油醚^[4]，将锥形瓶置于冰水浴中冷却结晶，减压抽滤，用少量石醚洗涤结晶，干燥，得精制乙酰水杨酸。

3.阿司匹林纯度比较

取 3 支试管，分别加极少量的水杨酸、乙酰水杨酸粗制品和精制品，各加 10 滴乙醇，2 滴 0.1%FeCl₃ 溶液，观察比较溶液的颜色。

4.阿司匹林胶囊的制备

准确称取 0.3g 精制的乙酰水杨酸和 0.03g 淀粉，在称量上混合均匀，将药物平铺在纸上，捏取囊体，切口向下插进物料层，反复多次，将所有物料装进整个囊体，套上囊帽即可。

5.阿司匹林的鉴定

用 KBr 压片法获得产物的 IR 谱图，并与乙酰水杨酸的标准谱图比较。

乙酰水杨酸的红外光谱图如图 5.1

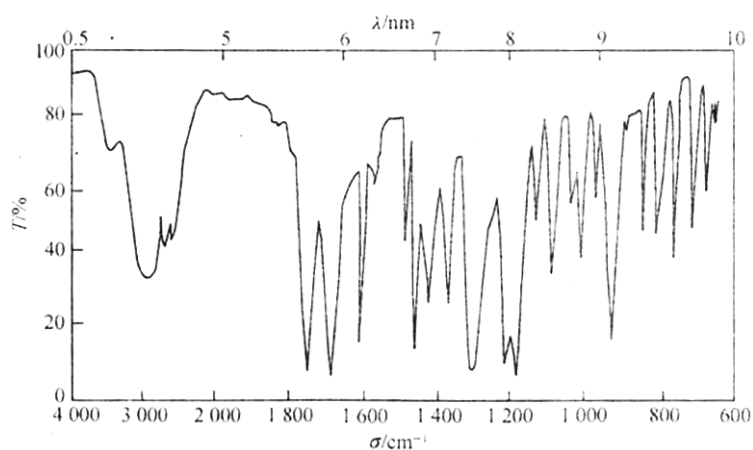


图 5.1 乙酰水杨酸的红外光谱图

六、数据记录与结果处理

编号	试样	加入试剂	现象
1	水杨酸	加 10 滴乙醇，2 滴 0.1%FeCl ₃ 溶液	
2	乙酰水杨酸粗制品	加 10 滴乙醇，2 滴 0.1%FeCl ₃ 溶液	
3	乙酰水杨酸精制品	加 10 滴乙醇，2 滴 0.1%FeCl ₃ 溶液	

七、思考题

- 1.为什么粗制的乙酰水杨酸在水蒸气浴烘干前应尽量抽干溶剂?
- 2.为什么水杨酸和乙酸酐反应应控制水浴温度为 80~90℃?

3.什么情况下用混合溶剂进行重结晶?

八、注释

[1]趁热加入量水，过量的乙酰激烈分解，反应放热可使反应物沸腾，小心放出的热酸蒸气。

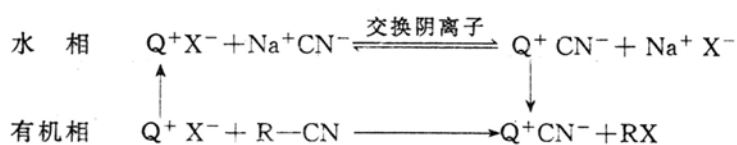
[2]搅拌不充分或加水太快，出现浅黄色油状物或块状固体析出。遇此现象可在水浴中加热搅拌溶解，慢慢冷却结晶。

[3]乙醚和石油醚易燃，不可接触火源。

[4]水不宜作为重结晶溶剂，乙酰水杨酸在水中加热会部分水解，水杨酸在水中溶解度很小不易除净。

实验六 相转移催化合成

在有机合成中，通常均相反应容易进行，而非均相反应则难以发生。例如在有机相与水相或无机盐共存的多相体系中，反应就十分困难。1951年，M. J. Jarrousse 发现环己醇或苯乙腈在二相体系中进行烷基化时，季铵盐具有明显的催化作用。1965年，M. Makosza 等人对季铵盐催化下的烷基化反应作了系统的研究，人们这才认识到，季铵盐具有一种奇特的性质，它能够使水相中的反应物转移到有机相中，从而加速反应，提高收率。后来，具有季铵盐这类性质的化合物就被称作相转移催化剂(Phase Transfer Catalyst, 缩写为PTC)，以卤代烷与氰化钠在季铵盐催化下的反应为例，其催化作用原理如下：



其中， Q^+ 为季铵盐阳离子； X^- 为阴离子； Q^+X^- 表示季铵盐。

季铵盐阳离子 Q^+ 既有亲油性又具亲水性。当 Q^+ 进入水相时，会与水相中的阴离子 CN^- 发生交换，形成离子对 Q^+CN^- ；由于 Q^+ 的亲油性， Q^+CN^- 便转移到有机相中，从而使 CN^- 与 RX 在有机相中发生取代反应，生成 R-CN 。与此同时，从卤代烷分子中置换出来的卤负离子 X^- 与 Q^+ 形成新的离子对 Q^+X^- ，即再生季铵盐，它将重返水相。如此循环反复，从而加速反应进程。

常用的相转移催化剂有三类：盐类、冠醚类和非环多醚类。

以季铵盐为代表的盐类化合物，价廉无毒，是上述三类相转移催化剂中应用最广泛的一种。在这类催化剂中，阳离子 Q^+ 的体积要适中。若 Q^+ 体积太大，就会降低它在水中的溶解度；若 Q^+ 太小，它在水中溶解度会增大，但在有机相中的溶解性差，这样都会影响到相转移催化作用。通常，季铵盐分子中每个烷基的碳原子数为 2~12。

冠醚的相转移催化作用是由于它对金属离子具有配合作用，同时，自身又具有亲油性所导致。它可以使无机化合物，如 KOH 、 KMnO_4 等溶解在有机溶剂中，因而增强其阴离子在非极性溶剂中的反应活性。不过，由于冠醚价格较贵、毒性较高，因而其应用受到一定的限制。

非环多醚类相转移催化剂的作用机理与冠醚类似。例如聚乙二醇(PEG)，当其呈弯曲状时，形如冠醚，对一些金属离子也具有一定的配合能力。一般分子量在 400~600 之间的聚乙二醇，其弯曲结构的孔径大小适中，对金属离子的配合能力较强，相转移催化效果较好。

参考文献

(1)戴姆洛夫 EV, 戴姆洛夫 SS. 相转移催化作用. 贺贤璋, 胡振民译. 北京: 化学工业出版社. 1988

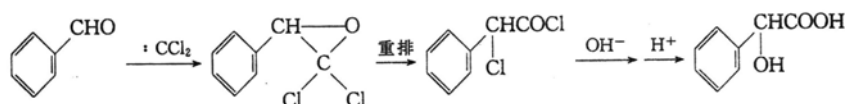
(2)范如霖, 徐传宁等编译. 有机合成中的相转移催化作用. 上海: 上海科学技术出版社, 1982

6.1 (±)-苯乙醇酸(扁桃酸)

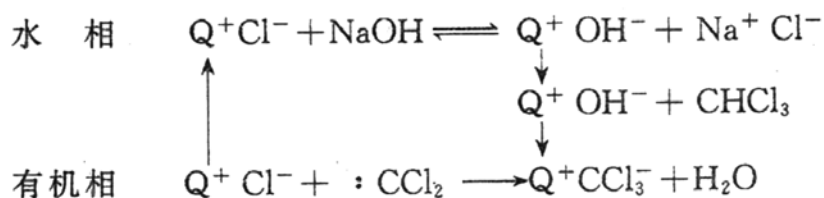
一. 实验目的:

学习相转移催化合成基本原理, 掌握季铵盐在多相反应中的催化机理和应用技术, 巩固萃取及重结晶操作技术。

扁桃酸(Mandelic Acid), 学名为苯乙醇酸, 又称苦杏仁酸, 可作医药中间体, 用于合成环扁桃酯、扁桃酸乌洛托品及阿托品类解痛剂; 也可用作测定铜和铅的试剂。扁桃酸可以通过 α, α -二氯苯乙酮($C_6H_5COCHCl_2$)或扁桃腈($C_6H_5CH(OH)CN$)的水解而制得。不过这两条合成路线都较长, 尤其是后者, 还要用到剧毒物 NaCN, 工业生产不安全, 而且收率只有 46%。本实验在季铵盐氯化苄基三乙基铵(TEBAC)的催化下一锅煮(one-pot)制得扁桃酸, 收率可达 75%。其反应机理如下:

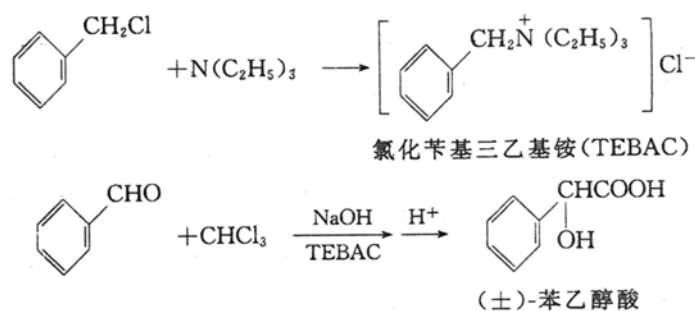


其中, CCl₂ 称作二氯卡宾, 反应活性很高。过去, 有二氯卡宾参与的反应都是在严格无水的条件下进行的。现在, 由于相转移催化剂的介入, 在水相-有机相两相体系中产生二氯卡宾已变得十分方便, 其机理如下:



需要指出的是, 用化学方法合成扁桃酸只得到外消旋体。若要获得其纯的对映异构体, 还须进行手性拆分 (参见 13.1)。

反应式



二. 药品

氯化苄	12.7g (11.5ml, 0.1mol)
三乙胺	10.1g (14ml, 0.1mol)
苯	25ml
苯甲醛	10.6g (10.1ml, 0.1mol)
氯仿	24g (16ml, 0.2mol)
30%氢氧化钠	35ml
乙醚	140ml
无水硫酸镁	5~6 g

三. 实验操作:

依次向 100ml 圆底烧瓶中加入 11.5ml 氯化苄、14ml 三乙胺和 25ml 苯, 并在瓶口上配置回流冷凝管, 再投入 1~2 粒沸石。

注意: 氯化苄有毒! 并具有催泪刺激性。三乙胺和苯均有毒, 量取时应在通风橱中操作。

加热回流 1.5h 后, 将反应液冷却至室温, 氯化苄基三乙基铵即呈晶体析出, 经水泵减压过滤, 用玻璃盖挤压滤饼, 即可置放在盛有无水氯化钙和石蜡⁽¹⁾的干燥器中以备用。

注意: 过滤时宜在通风橱中进行, 因滤液中尚有部分未反应完全的具有刺激性的氯化苄会逸出。季铵盐极易吸水, 过滤应迅速。

在 250ml 三口烧瓶上, 配置搅拌器、冷凝管、滴液漏斗和温度计(参见图 20.5(2))。

依次加入 10.1 ml 苯甲醛、16ml 氯仿和 1 g 氯化苄基三乙基铵。水浴加热并搅拌⁽²⁾。

当反应温度升至 56℃, 开始自滴液漏斗慢慢滴加 35ml 30%氢氧化钠水溶液。滴加碱液过程中, 保持反应温度在 60~65℃, 大约 20min 滴毕, 继续搅拌 40min, 反应温度维持在 65~70℃。

用 200ml 水将反应液稀释, 然后用乙醚萃取两次(2×30ml), 合并醚层(留待回收乙醚)。用 50%硫酸酸化水相至 pH=2~3, 再用乙醚萃取两次(2×40ml)。此次萃取液合并后用无水硫酸镁干燥, 蒸除乙醚, 即得外消旋苯乙醇酸粗品。

注意：蒸除乙醚时，应避明火！

将(±)-苯乙醇酸粗品置入 100ml 烧瓶，配置回流冷凝管。先加入少许甲苯于烧瓶中，加热后再补加甲苯，直至溶剂微微沸腾时粗产物恰好溶解为止⁽³⁾。趁热过滤，母液于室温静置，使结晶慢慢析出。

产品经干燥后称量，测定熔点并计算产率。

(±)-苯乙醇酸呈白色片状晶体，mp120~122℃。

记录(±)-苯乙醇酸的红外光谱，并与 6.1 图作比较，指出产物在谱图中的重要吸收峰。

四. 附注：

- (1)干燥器中放石蜡以除去产物中残余的烃类溶剂。
- (2)此反应是发生在两相界面之间，强烈搅拌反应混合物，有利于加速反应。
- (3)每克粗产物约需 1.5ml 甲苯。

五. 思考题

- (1)以季铵盐为相转移催化剂的催化反应原理是什么？
- (2)本实验中，如果不加入季铵盐会产生什么后果？
- (3)反应结束后为什么要用水稀释？而后用乙醚萃取，目的是什么？
- (4)反应液经酸化后为什么再次用乙醚萃取？
- (5)在(±)-苯乙醇酸的红外光谱中为什么羟基峰呈尖细状(见图 1)？

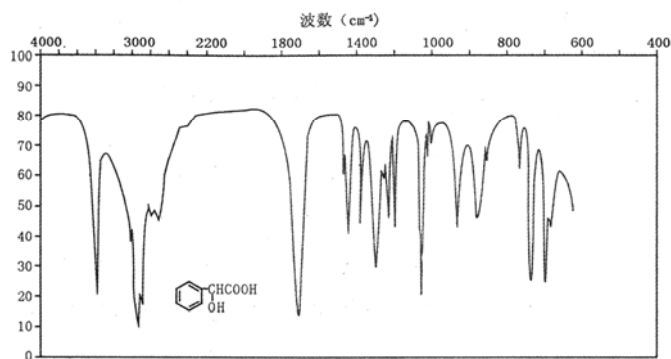


图 1 (±)-苯乙醇酸的红外光谱图 (研糊法)

绿色化实验

物质合成技术

物质的合成可分为有机物的合成和无机物的合成两大类。有机物和无机物的合成.不仅使新材料不断涌现,而且使生命科学的研究进入了新的天地。因为化学家们可按照自己的意愿和需要合成自然界有的或没有的物质,使世界变得丰富多彩。1965年,我国的化学家合成了结晶牛胰岛素,为生命的合成奠定了理论基础。当代的有机合成艺术大师 Woodward 在 27 岁时就完成了喹宁的全合成,其后又合成了利血平、胆固醇、马钱子碱、羊毛甾醇、四环素、叶绿素等。1985年,美国的 Richard Smalley 等人用激光轰击石墨并向真空膨胀制备出了 32 面体的“足球烯” C_{60} ,当时,这种新材料的售价是黄金的 100 倍。科学技术发展到今天,不仅克隆技术方兴未艾,而且化学家们既可使铅笔“芯”变成“金棒”,也可使果蝇在翅膀上长出眼睛。由此说明,物质的合成技术不仅是理论的升华,而且也是技术的综合与升华。

20 世纪 70 年代以来,微波和微波等离子体在非通信领域中的应用有了迅速的发展。1986 年开始了微波合成技术研究,发现在微波炉密封管内进行的高锰酸盐氧化甲苯为苯甲酸的反应比常规回流快 5 倍,而 4-氰基酚盐与苯甲基氯的反应快 240 倍。其后在有机化合物的几十类合成反应中也都取得了很大的成功。这一发现对于几个世纪来惯用的传统加热技术提出了挑战,给有机化学反应注入了新思想.揭示了其在促进有机反应中所具有的潜在价值。微波合成技术已涉及到有机化学领域的方方面面,并成功地应用于多种有机反应,展示了其广泛的应用前景。从 1986 年至今短短十几年时间,微波促进有机反应的研究已发展成为一门引人注目的全新领域——MORE 化学(microwave—induced organic reaction enhance-ment chemistry)。

某一物质的制备方法,首先与该物质的性质有关;其次与所用的原料有关;第三与所得产品的要求(如纯度要求;物性要求——粒度大小,磁、光、电学性质要求,颜色要求等等)有关。所以即使是同一种化合物往往也有许多种制备方法(目前已知的无机化合物就达 800 多万种以上)。所以选择合理的合成路线是制备实验中首先要考虑的问题。

选择合理的合成路线的原则:

(1)合成过程中的每一个化学反应从热力学方面考虑应是可能的,从动力学角度分析应是现实的。

(2)从经济的角度看,投入产出比要高。即在得到同样产品数量、质量的条件下,原

料的利用率要高，试剂的消耗要少，投入的人工要省，能源消耗、设备折旧要低。所以从经济的角度考虑，无论是古老的还是现代的工艺手段均可以用，只要经济效果好。

(3)环境污染要少。化学工业是环境污染的大户，人们在大量制造化学制品为人类造福的同时，又给人类赖以生存的环境造成了污染，从而危及了人类的生存。这是一对突出的矛盾，所以在制定合成路线时，一定要考虑减少和消除环境污染。近年来提出的无污染合成路线，是一种新思路，必须重视。如微波合成技术、超声波合成技术等。

(4)在保证质量、经济效益及无污染的前提下，要求工艺简单。

实验一 乙酸乙酯的合成(微型实验)

一、实验目的

- 1.了解酯化反应的原理和酯的制备方法。
- 2.学习微型蒸馏、回流、过滤等操作。

二、实验仪器与药品

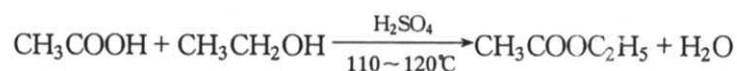
仪器：微型磨口蒸馏装置、25mL 三颈烧瓶、滴液漏斗、分液漏斗、锥形瓶。

药品：无水乙醇、冰乙酸、浓硫酸、饱和碳酸钠溶液、饱和氯化钙溶液、饱和氯化钠溶液、无水碳酸钾。

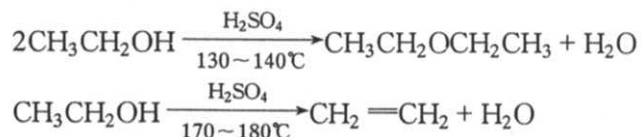
三、实验原理

在少量浓硫酸催化下，乙酸和乙醇作用生成乙酸乙酯。乙酸乙酯的合成反应须控制在一定的温度范围内进行，温度太低，反应速度慢；温度过高，则会发生副反应生成乙醚或乙烯。

主反应：



副反应：



酯化反应是可逆反应，为了提高酯的产量，本实验采取加入过量乙醇及不断把反应中生成的酯和水蒸出的方法。在工业生产中，一般采用加入过量的乙酸。以便使乙醇转化完全，避免由于乙醇和水及乙酸乙酯形成二元或三元共沸物给分离带来困难。

本实验所用的催化剂是浓硫酸，实验过程中会产生废酸。根据绿色化的原理，我们可选择采用固体超强酸或微型实验。固体超强酸可分离回收重复利用，微型实验可减少污染物质的用量。因此均可达到绿色化的要求。

四、实验步骤(微型实验)

在 25mL 三颈烧瓶中加入 4mL 乙醇，然后一边摇动一边慢慢地加入 4mL 浓硫酸。混合均匀，加几粒沸石。从三颈烧瓶一侧口插入温度计到液面下，另一侧口连接蒸馏装置，中间口安装滴液漏斗，漏斗末端应浸入液面以下，距瓶底约 0.5~1cm。

仪器装好后，在滴液漏斗内加入 7.5mL 乙醇和 7mL 冰乙酸，摇匀。用电热套加热三颈烧瓶。当瓶内溶液温度升到 110~120℃时，开始由滴液漏斗中滴入乙醇和冰乙酸的混合液。控制好混合液滴入的速度，使之与馏出的速度尽可能相同，并始终维持反应液温度在 110~120℃之间。滴加完毕后，继续加热数分钟，直到温度升至 130℃而且不再有液体馏出为止。所得馏出液为粗乙酸乙酯。

取出接液瓶，往馏液中慢慢加入 Na_2CO_3 饱和溶液，直至不再有 CO_2 气体产生。将混合液移入分液漏斗中，静置分层，放出下面的废液层。用石蕊试纸检查酯层，如果仍显酸性，应再用少量 Na_2CO_3 饱和溶液洗涤，直到不显酸性为止。

酯层接着用等体积的 NaCl 饱和溶液洗涤，再用等体积饱和 CaCl_2 溶液洗涤 2 次。每次洗涤后。都应放出下层废液。

洗涤完毕。将乙酸乙酯从分液漏斗的上口倒入干燥的 20mL 锥形瓶中，加入无水 K_2CO_3 干燥约 15~20min，干燥过程中要间歇振荡锥形瓶。

待澄清后，小心将锥形瓶中的上层清液滤入(或用倾析法倒入)干燥的蒸馏烧瓶中。装配好蒸馏装置，在水浴上加热蒸馏，用一个已预先称量的干燥锥形瓶收集 73~78℃的馏分，便可得到较纯的乙酸乙酯产品。

在台秤上称出所得产品的质量并计算产率。

纯乙酸乙酯是具有果香味的无色液体，沸点 77.3℃，折光率 $n_D^{20}=1.3727$ 。

【注意事项】

①温度不宜过高，否则会增加副产物乙醚的含量。滴加速度太快，会使乙酸和乙醇来不及作用而被蒸出。

② Na_2CO_3 必须洗去，否则下一步用饱和 CaCl_2 溶液洗去醇时，会产生絮状的 CaCO_3 沉淀，造成分离的困难。为减少酯在水中的溶解度(每 17 份水溶解 1 份乙酸乙酯)。故用饱和 NaCl 溶液洗涤。

③由于水与乙醇、乙酸乙酯形成二元或三元恒沸物，故在未干燥前已是清亮透明溶液，因此，不能以产品是否透明作为是否干燥好的标准，应以干燥剂加入后吸水情况而定，并放置 30min，其间要不时摇动。

④乙酸乙酯与水或醇形成二元和三元共沸物的组成及沸点如表 4-7。

表 4-7 乙酸乙酯、水或醇形成的二元或三元共沸物的组成

沸点/°C	组成/%		
	乙酸乙酯	乙醇	水
70.2	82.6	8.4	9.0
70.4	91.9	—	8.1
71.8	69.0	31.0	—

因此，酯层中的乙醇不除净或干燥不够时，由于形成低沸点的共沸混合物。从而影响到酯的产率。

思考题

1. 能否用浓 NaOH 溶液代替 Na_2CO_3 饱和溶液来洗涤粗酯以除去其中的酸?为什么?
2. 粗乙酸乙酯产品用饱和的 Na_2CO_3 、NaCl 和 CaCl_2 溶液洗涤后, 如果不用无水 K_2CO_3 处理便进行蒸馏, 这样对实验结果有何影响?

实验二 肉桂酸的合成及分析

一、实验目的

- 1.了解肉桂酸的制备原理和方法。
- 2.掌握回流、水蒸气蒸馏等操作。

二、实验仪器与药品

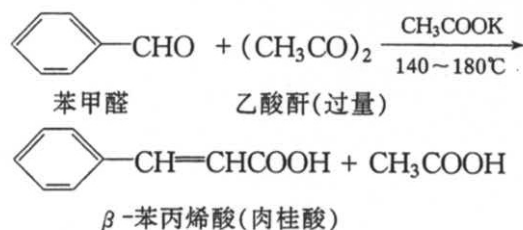
仪器：圆底烧瓶、三颈烧瓶、水蒸气发生器、回流冷凝管、直形冷凝管、锥形瓶、温度计、抽滤瓶、接液管、T形管、真空泵、吸滤瓶、电热套。

药品：5.3g(5mL, 0.05mol)苯甲醛(新蒸)、8g(7.5mL,0.078m01)乙酸酐(新蒸)、3g 无水乙酸钾、 Na_2CO_3 、浓 HCL、活性炭。

三、实验原理

肉桂酸(cinnamic)存在于妥卢香脂、苏合香脂等中,主要用于制备脂类,供配制香精(如紫丁香型)和医药等用。

利用 Perkin 反应,将芳醛与酸酐混合后在相应的羧酸盐存在下加热,可以发生类似的羟醛缩合作用,生成 β -苯丙烯酸,即肉桂酸。通常使用的催化剂有乙酸钠、乙酸钾,有时也可用 K_2CO_3 或叔胺代替。反应式如下:



四、实验步骤

在 100mL 圆底烧瓶中,依次加入 3g 研细的无水乙酸钾粉末、7.5mL 乙酸酐和 5mL 苯甲醛及几粒沸石,振荡使之混合。装上回流冷凝管,然后在 165~175℃的油浴中加热回流 1.5~2h。反应完毕,将反应混合物趁热倒入盛有 20mL 水的 500mL 三口烧瓶中,用少量热水冲洗反应瓶,使反应物全部转入三口烧瓶中。然后慢慢加入适量的固体 Na_2CO_3 ,使溶液呈微碱性(pH=8~9)。然后进行水蒸气蒸馏(见图 4-32),馏出液为带有油珠的乳浊液(苯甲醛和 H_2O),蒸馏至馏出液无油珠为止。

将水蒸气蒸馏装置改为回流装置,向蒸馏瓶中加入少量活性炭,加热回流 10min,趁

热过滤，在搅拌下往滤液中小心加入浓 HCl 至呈酸性(pH=3~4)。冷却,等结晶全部析出后再进行抽滤，并以少量冷水洗涤沉淀。抽干后的粗产品在 80℃的烘箱中烘干，称量，计算产率(产率一般为 40%~50%)，并测其熔点。

肉桂酸粗品可用热水(溶于热水中)或 70%乙醇进行重结晶纯化。肉桂酸为无色针状晶体，有顺反异构体，通常以反式形式存在，其 mp 为 133~134℃，bp 为 300℃。

【注意事项】

①乙酸酐久置后因吸潮和水解将转变为乙酸，故本实验所需的乙酸酐必须在实验前进行重新蒸馏。

②久置的苯甲醛含有苯甲酸，故需蒸馏除去。

③没有合适的油浴用油时，亦可用简易的空气浴代替油浴进行加热，即将烧瓶底部向上移动。稍微离开石棉网进行加热回流。

思考题

- 1.本实验在水蒸气蒸馏前，是否可用 NaOH 溶液代替 Na_2CO_3 进行碱化?为什么?
- 2.苯甲醛和丙酸酐在无水丙酸钾的催化下，相互作用后得到什么产物?

应用实验

实验一 固体酒精的制备

酒精的学名是乙醇，易燃。燃烧时无烟无味，安全卫生。由于酒精是液体，较易挥发，携带不便。所以作燃料使用并不普遍。针对以上缺点，做成固体酒精，降低了挥发性且易于包装和携带，使用更加安全。固体酒精特别适用于某些用途，例如用作火锅燃料和室外野炊的热源，是酒家、旅游者、地质人员、部队及其它野外作业者的必备品。

利用硬脂酸钠受热时软化，冷却后又重新固化的性质，将液态酒精与硬脂酸钠搅拌共热，充分混合，冷却后硬脂酸钠将酒精包含其中，成为固状产品。若在配方中加入虫胶、石蜡等物料作为粘结剂，可以得到质地更加结实的固体酒精。由于所用的添加剂均为可燃的有机化合物，不仅不影响酒精的燃烧性能，而且可以燃烧得更为持久并释放更多的热能。

一、实验目的

掌握固体酒精的配制原理和实验方法。

二、原料

酒精(工业用酒精 $\geq 95\%$)无色透明、易燃易爆的液体， $b.p.78.4^{\circ}\text{C}$ ， $d_4^{20}0.7893$ ，在本实验中作为主燃料。

硬脂酸钠在本实验中由硬脂酸和氢氧化钠中和制得。硬脂酸又名十八烷酸，是柔软的白色片状固体， $m.p.69\sim 71^{\circ}\text{C}$ 。工业品的硬脂酸中常含有软脂酸(十六烷酸)，但不影响使用。硬脂酸不溶于水而溶于热乙醇。

虫胶片虫胶是天然树脂，由虫胶树上的紫胶虫吸食、消化树汁后的分泌液在树上凝结干燥而成。将虫胶在水中煮沸，溶去一部分有色物质后所得到的黄棕色薄片即为虫胶片。虫胶的化学成分比较复杂，主成分是一些羟基羧酸内酯和交酯混合物的树脂状物质，平均相对分子质量约 1000。碱水解物的主要成分是 9,10,16—三羟基十六烷酸和三环倍半萜烯酸，此外还有六羟基十四烷酸等多种长链的羟基脂肪酸。虫胶片不溶于水，受热软化，冷后固化，在本实验中用作粘结剂。

石蜡是固体烃的混合物，由石油的含蜡馏分加工提取得到。石蜡一般为块状的固体， $m.p.50\sim 60^{\circ}\text{C}$ ，可燃。在本实验中石蜡是固化剂并且可以燃烧，但加入量不能太多，否则燃烧难以完全而产生烟和不愉快的气味。

三、实验操作

方法①称取 0.8g (0.02mol)氢氧化钠,迅速研碎成小颗粒,加入 250mL 的圆底烧瓶中再加入 1g 虫胶片、80mL 酒精和数小粒沸石。装置回流冷凝管,水浴加热回流,至固体全部溶解为止。

在 100 mL 烧杯中加入 5g(约 0.02mol)硬脂酸和 20mL 酒精,在水浴上温热至硬脂酸全部溶解。然后从冷凝管上端将烧杯中的物料加入含有氢氧化钠、虫胶片和酒精的圆底烧瓶中,摇动使其混合均匀。回流 10min 后移去水浴。反应混合物自然冷却。待降温至 60℃时倒入模具中,加盖以避免酒精挥发。冷至室温后完全固化,从模具中取出即得到成品。

切一小块产品。直接点火燃烧,观察燃烧情况。

方法②向 250 mL 圆底烧瓶加入 9g(约 0.035mol)硬脂酸、2g 石蜡、50 mL 酒精和数小粒沸石,装置回流冷凝管,摇匀。在水浴上加热至约 60℃并保温至固体溶解为止。

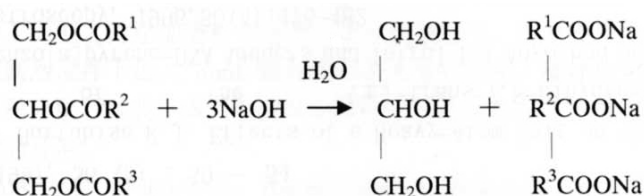
将 1.5g(约 0.037mol)氢氧化钠和 13.5g 水加入 100mL 烧杯中,搅拌溶解后再加入 25mL 酒精,搅匀。将碱液从冷凝管上端加进含硬脂酸、石蜡和酒精的圆底烧瓶中,在水浴上加热回流 15min 使反应完全。移去水浴,待物料稍冷而停止回流时,趁热倒入模具,冷却后取出即得到成品。切一小块产品点燃,观察燃烧情况。

实验时间:每种方法均约 3h。

实验二 肥皂的制备

肥皂是高级脂肪酸金属盐(钠、钾盐为主)类的总称,包括软皂、硬皂、香皂和透明皂等。肥皂是最早使用的洗涤用品,对皮肤刺激性小,具有便于携带、使用方便、去污力强、泡沫适中和洗后容易去除等优点。所以尽管近年来各种新型的洗涤剂不断涌现,但它仍是一种深受用户欢迎的去污和沐浴用品。

以各种天然的动、植物油脂为原料,经碱皂化而制得肥皂,是目前仍在使用的生产肥皂的传统方法。



不同种类的油脂,由于其组成有别,皂化时需要的碱量不同。碱的用量与各种油脂的皂化值(完全皂化 1g 油脂所需的氢氧化钾的毫克数)和酸值有关。以下是一些油脂的皂化值。

油脂	椰子油	花生油	棕榈油	牛油	猪油
皂化值	185	137	250	140	196

现将用于制肥皂的主要原料的性质和作用作一介绍。

油脂指植物油和动物脂肪,在制肥皂过程中它提供长链脂肪酸。由于以 C12—C18 的肥皂洗涤效果最好,所以制肥皂的常用油脂是椰子油(C12 为主)、棕榈油(C16—C18 为主)、猪油或牛油(C16—C18 为主)等。脂肪酸的不饱和度会对肥皂品质产生影响。不饱和度高的脂肪酸制成的皂,质软而难成块状,抗硬水性能也较差。所以通常要把部分油脂催化加氢使之成为硬化油(或称硬化油),然后与其它油脂搭配使用。

碱 主要使用碱金属氢氧化物。由碱金属氢氧化物制成的肥皂具有良好的水溶性。由碱+金属氢氧化物制得的肥皂一般称作金属皂,难溶于水,主要用作涂料的催化剂和乳化剂,不作洗涤剂使用。

其它 为了改善肥皂产品的外观和拓宽用途,可加入色素、香料、抑菌剂、消毒药物以及酒精、白糖等,以制成香皂、药皂或透明皂等产品。

一、实验目的

学习洗涤剂的基本知识;熟悉制造肥皂的基本操作。

二、原料

牛油 棕仁油或椰子油 氢氧化钠

三、实验操作

①在 250mL 烧杯中加入 100mL 水和 12.5g (0.3mol) 氢氧化钠, 搅拌溶解备用。称取 49g(0.05mol)牛油和 21g(0.03mol)棕仁油或椰子油置入 400mL 烧杯中, 用热水浴加热使油脂熔化。搅拌下将碱液慢慢加入油脂中, 然后置入沸水浴中加热进行皂化。皂化过程中要经常搅拌, 直至反应混合物从搅拌棒上流下时形成线状并在棒上很快凝固为止。反应时间约需 2—3h。反应完毕, 将产物倾入模具中(或留在烧杯内)成型。冷却即成为肥皂, 约 170g。

本实验制得的产品是含有甘油的粗肥皂。实际生产中要分离甘油并将制得的肥皂进行挤压、切块、打印、干燥等机械加工操作, 才能成为供应市场的产品。

②实验时间 4h。

四、其它肥皂产品

采取以上步骤相似的操作, 改变油脂品种、配比和工艺条件, 可以制备其它品种的肥皂。

(1)软肥皂加入 43g 大豆油或亚麻油、50g 水、9g 氢氧化钠和 5g(95%)乙醇。在 80 °C 下反应, 至反应终点后加水至反应混合物的总质量为 100g 后出料。由于使用了高度不饱和的油脂为原料, 所制得的产品为黄白色透明的软块。软肥皂主要用于配制液体清洁液, 也可作为液体合成洗涤剂的消泡剂使用。

(2)精制硬肥皂和香皂精制的肥皂和香皂一般要以椰子油配合硬化油等高饱和度的油脂为原料, 同时要将反应后产生的甘油分离出来, 使制品质地坚实耐用并有一定的抗硬水性。

若在加工成型之前添加香料和色素, 则可制成香皂。精制操作如下: 完成皂化操作之后, 保温并在剧烈搅拌下加入 70mL 热的饱和盐水进行盐析, 搅拌均匀, 撤离水浴, 放置过夜使自然降温 and 分层。固液分离后取固体皂作进一步的成型加工。对碱液进行减压分馏, 以回收其中所含的甘油。

(3)透明皂将 10g 牛油、10g 椰子油和 8g 蓖麻油加入烧杯中.加热至 80°C 使油脂混合物熔化。搅拌下快速加入 17g 30%氢氧化钠和 5g 95%乙醇的混合液。在 75°C 的水浴上加热皂化, 到达终点后停止加热。在搅拌下加入 2.5g 甘油和由 5g 蔗糖与 5g 水配成的预热至

80℃的溶液，搅匀后静置降温。当温度下降至 60℃时可加入适量的香料，搅匀后山料，冷却成型，即可得到透明香皂。配方中加了乙醇、甘油和蔗糖等，使产品透明、光滑、美观，而且内含保湿剂，是较好的皮肤洗洁用品。

(4)药皂在精制肥皂或制造透明皂的后期，加入适量的苯酚、甲苯酚、硼酸或其他有杀菌效力的药物，可制得有杀菌消毒作用的药皂。

实验三 透明皂的制备

一、实验目的

- 1.了解皂化反应的基本原理。
- 2.了解工业制造透明皂的工艺过程和方法。

二、实验原理

透明皂的主要成分与肥皂相同，都是高级脂肪酸的钠盐。高级脂肪酸的钠盐属于阴离子表面活性剂，具有去污功效，是家用洗涤剂的主要品种。与肥皂的制备方法不同的是透明皂的制备中加入了松香、乙醇等物质，使得皂基在外观上晶莹剔透。透明皂的制造方法有以下两种。

1.加入物法

加入物法需用纯净的油脂作为原料，以保证成皂的色泽及透明度。常用的油脂有牛羊油、脱色棕榈仁油、蓖麻油及松香乙醇等。在所用的原料中应无钙质，如在制造过程中能使用软水，则更为合适。

牛羊油椰子油热到 80℃左右，再加入蓖麻油，碱液与乙醇混和在一起，在搅拌下以很快的速度加到油脂中。乙醇的存在能大大地加速皂化反应。控制皂化物料的温度不超过 75℃。当皂化完全时将样品溶解在去离子水中应透明清晰^[2]。皂化完毕后再加入其它辅助原料，如香精及着色剂等。冷却后的肥皂切成所需大小的皂块，放在盘架中晾置一定时间后，再行打印包装。成皂的脂肪酸含量约 40%。

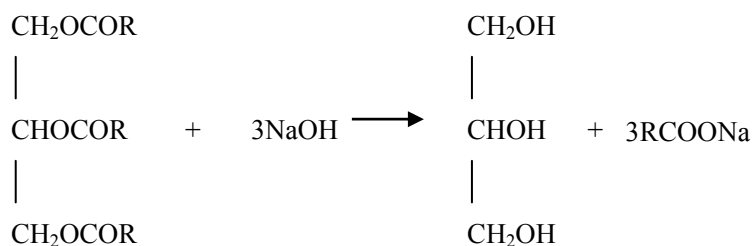
2.研压法

国内生产的透明洗衣皂，绝大多数都是用“研压法”加工制造的，不需加用乙醇、糖及甘油等，采用香皂的加工工艺，成皂的脂肪酸含量都在 72%左右。

油脂配方与香皂的相同，基本上是 80%牛羊油及 20%椰子油，也可根据油源情况，使用一部分猪油、茶油、花生油或硬化油（为保证硬化油的色泽好、一般都用色泽好的猪油、花生油或去氢化菜油）等。

这种透明皂与一般肥皂一样，由煮沸法制得皂基，再通过帘式烘房烘成皂片。皂片的水分不一，为 12%—20%，但拌料后肥皂的水分一般都控制在 22%—24%，以上组分通过研磨使皂基达到均匀混合的目的：当皂基的透明度符合要求时，可以进行压条、打印和包装。

透明皂制备过程中涉及的皂化可以表达如下：



三、预习要求

1. 预习关于表面活性剂性质相关的内容，
2. 皂化反应。

四、仪器和试剂

仪器 电炉（800—1500W）；天平；水浴锅（可用 1000mL 的烧杯代替）；烧杯（400mL，1 只；250mL，2 只）；滴管；玻璃棒；表面皿；不锈钢角匙。

试剂 棕榈油；椰子油；蓖麻油；牛油；38° Be 氢氧化钠溶液；95%乙醇（或医用酒精）；甘油（丙三醇）；白砂糖；山梨醇。

五、实验内容

在 250mL 的烧杯中加入 10g 棕榈油、4.8g 牛油和 14.8g 椰子油，在水浴锅中加热至 80℃ 左右，待其完全融化后，搅拌均匀。然后加入 11.8g 蓖麻油，搅拌均匀。此时，由于蓖麻油的加入温度略有下降，控制温度在 75℃ 左右。在搅拌下加入 24g 38° Be 氢氧化钠溶液和 20mL 95%乙醇，搅拌均匀后立即盖上表面皿，以防酒精挥发^[3]。以后每隔 1min 搅拌一次，同时观察反应物的状态。当反应混合物变为透明状物时，表明皂化反应已经完成。进一步的检验可以用吸管吸取少许反应混合物。滴入水中后无油状物并可立即分散于水中。

皂化结束后停止加热，先用不锈钢角匙除去漂浮表面的泡沫状物，然后在搅拌下反应混合物中加入 3.7g 甘油，再加入由 12g 白砂糖和 12mL 水配成的热溶液^[4]，加入 1.5g 山梨醇，继续搅拌至均匀。

当温度下降到约 60℃ 时，加入少量香精，搅拌均匀后即可皂料倒入预先准备好的皂模中冷却固化成型^[5]。

六、数据记录和处理

详细记录各种物料加入时的温度、时间和反应混合物的状态以及反应过程中观察到的现象。记录成品的外观和质量。

七、思考题

- 1.制作透明皂的过程中，如果碱的用量过多或过少，制成的透明皂在使用时会发生什么情况？
- 2.为什么制作好的透明皂不能马上出厂？

八、注释

[1]蓖麻油以及一些不饱和度较高的油脂，过热会使色泽变深，因此不宜与其他油脂一起投入，而是在加入碱液前加入。

[2]皂化不完全时，制成的皂基不能透明，且影响洗涤效果。但皂基中的碱不能过量太多。因此应控制皂基的 pH 在 10 左右。

[3]控制乙醇的挥发。乙醇与皂基的比例应适中，皂基的量太多，会变得不透明，乙醇太多，则制得的透明皂太软，不耐使用。

[4]加入甘油和白砂糖的目的是增加透明皂的透明度。

[5]刚做好的透明皂太软，且遇水极易溶解，因此需要放置一个星期左右蒸发表面的水与乙醇。蒸发过程中最好要覆盖织物。学生完成实验后可以带回干燥。

参考文献

1. 张英，精细化学品配方大全。北京：化学工业出版社，2001

综合设计实验

农副产品的化学综合利用

农副产品中可被利用的资源很多，例如：大麦、稻谷、玉米的糠壳；动物的毛发、血液、骨骼、内脏和分泌物；水产品中的鱼杂、虾和蟹的下脚料及海藻、贝壳等。这些农副产品都是由多种化学成分构成的复合体，我们可以利用各种化学实验技术或已有的文献资料事先弄清这些复合体的化学组成和相对含量，然后设计相应的工艺路线，采用合适的分离手段，将这些复合体中的各种化学成分分开，制取有用的生物化学产品。掌握了这项技术，不仅可以变废为宝，提高农副产品的经济价值。而且可以消除或减少对环境的污染，为实现我国农业的可持续发展做出贡献。

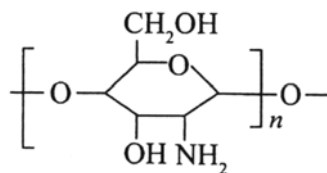
实验一 壳聚糖及其衍生物的制备

一、实验目的

- 1.了解壳聚糖及其衍生物的应用概况。
- 2.学习壳聚糖及其衍生物的制备原理和方法。
- 3.强化学生环保意识，变废为宝。

二、设计提示

甲壳素（chitin）在自然界中不仅含量十分丰富，而且可生物降解，是环境友好产品。利用沿海地区丰富的虾蟹壳为原料，可生产出甲壳素，变废为宝，净化环境。甲壳素经浓碱处理去掉乙酰基后得壳聚糖（chitosan），分子结构如下：



壳聚糖经化学改性可得系列的衍生物，如：羧甲基壳聚糖、低聚壳聚糖等。这些系列产品在许多方面有着极其广泛的用途。如在医学方面可作为抗癌制剂、手术缝线、人造皮肤、药物载体等；在轻工业上可作为化妆品填料、增白剂、固发剂、或增强纸张的光洁度；在环保方面可作为絮凝剂、吸附剂，用于污水处理，还可用作饮料的澄清剂、无毒包装材料等；在农业方面是一种新型植物生长调节剂，促进植物生长、增加产量、提高品质、诱

导植物的广谱抗病性，还可用于生产生物农药，用于果蔬保鲜。因此壳聚糖及其衍生物系列产品有很好的潜在需求量和市场前景。

三、实验要求

- 1.设计由甲壳素制备壳聚糖或羧甲基壳聚糖或低聚壳聚糖的方案。
- 2.制备 2~5g 的产品。

参考文献

- 1.宋光泉主编.1999.通用化学实验技术（下册）.广州：广东高等教育出版社
- 2.林宝凤.1997.甲壳素及其衍生物的研究进展.广西化工，26（4）：35~39
- 3.施建军等.1998.壳聚糖羧甲基化改性的制备研究.安徽化工，94（4）：26~28
- 4.林宝凤.1998.壳聚糖成膜剂特性的研究.食品与发酵，24（1）：44~47
- 5.罗平等.2000.水溶性低分子壳聚糖的制备.化学研究与应用，12（6）：677~679

实验二 从猪血中提取 SOD 和凝血酶

一、实验目的

- 1.了解蛋白质提取、分离、纯化的特性。
- 2、进一步熟练掌握离心分离、树脂分了提纯等基本操作。

二、设计提示

超氧化物歧化酶，简称 SOD (superoxide dismutase)，是一种广泛存在于动、植物及微生物中的金属酶。酶是活细胞产生的一类具有催化功能的生物分子—生物催化剂，其中绝大多数是蛋白质，可在一定浓度的酸、碱、盐溶液中溶解，又可在一定浓度的有机溶剂中沉淀。借此，可以把 SOD 从血液中提取出来，然后用柱层析等分离技术获得纯净的 SOD 产品。

凝血酶存在于血浆中，而提取 SOD 仅需要血球，故将猪血离心分离出血球和血浆后，可分别提取 SOD 和凝血酶。由于凝血酶也是一种蛋白质，也可用与提取 SOD 类似的方法提取凝血酶。

三、实验要求

- 1.设计提取、纯化、浓缩、干燥 SOD 或凝血酶的方案。
- 2.制备精品 SOD 或凝血酶。

参考文献

1. 宋光泉主编.1999.通用化学实验技术（下册）.广州：广东高等教育出版社
2. 刘旭光等.1998.猪血综合开发利用的研究.安徽农业科学， 1： 93~94
3. 金应世，金晓玲.2000.动物血液中提取 SOD 的工艺流程与技术.内蒙古畜牧科学， 21 (4)： 45~46

探索性实验

实验一 茶多酚提取及抗氧化作用的研究

一、实验目的

- (1) 掌握从茶叶或茶叶下脚料中提取茶多酚的方法。
- (2) 掌握用分光光度法测定茶多酚总量的方法。
- (3) 了解化学发光的原理和掌握流动注射化学发光仪的使用。
- (4) 掌握用化学发光仪测定茶多酚清除超氧阴离子的方法。

二、实验原理

茶叶中富含多羟基的酚性物质—茶多酚 (tea-polyphenol, TP)。茶多酚的主要组分是儿茶素, 占茶多酚含量的 80%左右。茶多酚中几种主要儿茶素所占的比例分别为: L-表没食子儿茶素没食子酸酯 (L-EGCG) 50%~60%, L-表儿茶素没食子酸酯 (L-ECG) 15%~20%, L-表没食子儿茶素 (L-EGC) 10%~15%, L-表儿茶素 (L-EC) 4%~6%。其结构式如图 1.1 所示。

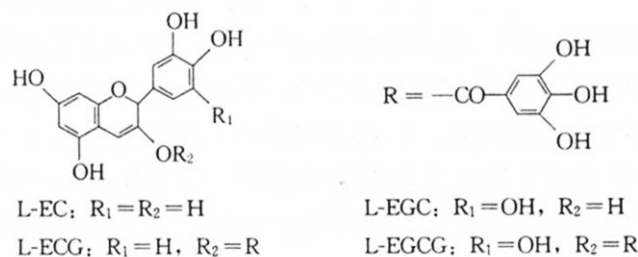


图 1.1 四种儿茶素的结构

茶多酚不仅是构成茶叶色、香、味的主体化学物质, 而且是一种理想的天然食品抗氧化剂, 已被列为食品添加剂 (GB12493—90)。此外, 它还具有清除自由基、抗衰老、抗辐射、减肥、降血脂、防癌等多方面的功能。茶多酚在食品加工、医药保健、日用化工等领域具有广阔的应用前景。近十年来, 国内外特别是我国和日本对探索新的茶多酚提取分离工艺日益关注。

过量酒石酸铁在茶多酚溶液中与茶多酚反应生成稳定的紫褐色配合物, 溶液颜色的深浅与溶液中茶多酚的含量成正比。因此可通过比色法定量测定茶多酚。研究表明, 以儿茶酚作为测定标准物可以较好代表茶多酚, 所以一般可用儿茶酚来制作标准曲线。如果希望进一步简化分析操作, 可用在一定操作条件下“吸光度为 1.00 时, 试液中茶多酚的浓度为

7.826mg · mL⁻¹”这一经验值，直接从试液的吸光度测定值来计算样品的茶多酚含量。

生物体内的氧化代谢中不断产生各种自由基，超氧阴离子自由基（O₂^{·-}）是其中危害较大，活性较强的一种氧自由基。超氧自由基可以引发电子转移，使糖类、氨基酸、蛋白质、核酸和脂类等发生氧化，遭受损伤与破坏，超氧阴离子自由基还与衰老、肿瘤、辐射和细胞吞噬有关，在引起脂质过氧化、形成动脉粥样硬化和引起脑血管病方面都起着很重要的作用。因此，超氧阴离子自由基的检测对生命科学、自由基生物学的研究有重要的意义。

测定超氧阴离子自由基的方法主要有电子自旋共振法（ESR）、液相色谱法、比色法和化学发光法。由化学反应提供能量而导致的光辐射现象称为化学发光（chemiluminescence, CL）。近年来，由于化学发光法具有仪器简单，操作方便和灵敏度高优点受到人们的重视。化学发光作为一种分析方法已有几十年的历史，其原理及应用有很多专著及文献论述。化学发光的最新发展主要在原有发光试剂及体系的基础上、研究合成新的发光试剂，建立新的发光体系；与其他技术[如流动注射技术（FLA）、高效液相色谱（HPLC）、固定化试剂技术、传感器技术以及生化免疫技术等]联用。

邻苯三酚在碱性条件下自氧化产生超氧阴离子自由基O₂^{·-}，超氧阴离子由O₂^{·-}与化学发光试剂鲁米诺（Luminol）反应使之氧化，产生一个电子激发态的中间产物，但电子返回基态时，可发出化学冷光。用发光检测装置即可定置测定发光强度。反应体系中的超氧阴离子自由基O₂^{·-}的量可以用化学发光强度（CL）来相对表示。当体系中存在自由基清除剂时，超氧阴离子自由基O₂^{·-}的含量将减少，发光强度会得到抑制。清除剂清除超氧阴离子自由基O₂^{·-}的能力越强，发光被抑制的百分数越高。据此可测定各种自由基清除剂对超氧阴离子自由基 O₂^{·-}的清除能力。

本实验是研究从茶叶中提取天然抗氧化剂——茶多酚的制备方法，工艺包括沸水提取、沉淀、酸化萃取、脱溶剂及真空干燥，其特征在于提取液中加入能使茶多酚沉淀的可溶性无机盐，分离沉淀后，在沉淀中加入强酸或中强酸剂至沉淀完全溶解，制得酸化液，再用乙酸乙酯萃取，经脱溶剂、干燥制得茶叶天然抗氧化剂——茶多酚，并对茶多酚进行定量分析与抗氧化性研究。若要得到儿茶素中的各单体组分，则进一步经过柱色谱法或高效液相色谱法（HPLC）纯化。

三、仪器与试剂

仪器 离心机，旋转蒸发仪，真空干燥箱，分光光度计，IFEL-D 型智能流动注射化学发光分析仪，循环水泵，pH 计，布氏漏斗，抽滤瓶，分液漏斗，液相色谱仪。

试剂 硫酸锌，碳酸钠，硫酸，乙酸乙酯，芦丁（生化试剂，上海试剂二厂），槲皮

素（色谱纯），抗坏血酸。

酒石酸铁溶液：称取硫酸亚铁（ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ）1g 和酒石酸钾钠（ $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\text{NaK} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ）5g，混合后加蒸馏水溶解，定容到 1000mL。此溶液可稳定使用 10d。

pH=7.5 的磷酸盐缓冲液：称取磷酸氢二钠（ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ）60.2g 和磷酸二氢钠（ $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ）5.00g，混合后加蒸馏水溶解，定容到 1000mL。

$0.05\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3$ （pH=10.2）缓冲溶液，加重蒸水至 100mL。

$1\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 鲁米诺：用 $0.05\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3$ （pH=10.2）缓冲溶液配制，避光储藏。

$6.25 \times 10^{-4}\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 邻苯三酚：先用 $0.001\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{HCl}$ 配制 $0.01\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的邻苯三酚，使用前用重蒸水稀释。

四、实验步骤

1. 茶多酚的提取

称取茶叶末或茶叶若干克，加入沸水，搅拌数分钟，用滤布过滤，再用沸水浸提一次。合并提取液加入一定量的硫酸锌，用 $0.01\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{Na}_2\text{CO}_3$ 调 pH，使茶多酚沉淀完全，放置数分钟后离心分离。在沉淀中加入 $4\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{H}_2\text{SO}_4$ 至 pH 为 2 左右，离心分离少量未溶解沉淀。溶液用同体积的乙酸乙酯萃取，合并萃取液，用旋转蒸发器减压浓缩。将浓缩液转移至蒸发皿，在真空干燥箱中干燥（ 40°C ），得到茶多酚的粗晶体。称出茶多酚的质量，计算茶多酚的提取率。

2. 茶多酚总量测定

（1）样品试液制备

准确称取茶多酚的粗晶体，用少量重蒸水溶解，定容。

（2）测定

吸取样品试液 1mL 于 25mL 容量瓶中，加入蒸馏水 4mL 和酒石酸铁 5mL，摇匀，再加入 pH 为 7.5 的磷酸盐缓冲液稀释至刻度，以蒸馏水代替样品试液，加入同样的试剂配制参比溶液。选择 540nm 波长和 1cm 的比色皿测定吸光度。如吸光度大于 0.8，则需减少试液的体积再测定一次。

（3）茶多酚含量按式（1.1）计算

$$\text{茶多酚含量} = \frac{A \times 7.826 \times V}{1000 \times V_1 m} \times 100\% \quad (1.1)$$

式中：A 为样品试液的吸光度；V 为样品试液的总体积（mL）； V_1 为测定时吸取的样

品试液量 (mL); m 为茶多酚样品的质量 (g)。

3. 茶多酚清除超氧阴离子自由基的测定

用 $0.05\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3(\text{pH}=10.2)$ 缓冲溶液配制茶多酚试样。流动注射化学发光分析流路如图 1.2 所示, 鲁米诺溶液 (a) 通过蠕动泵 (P) 传送, 经六通阀 (V) 定

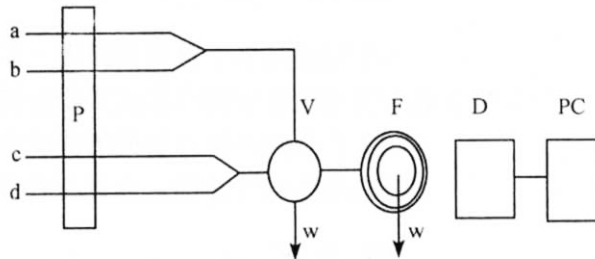


图 1.2 流动注射化学发光分析流路图

量注射 ($75\ \mu\text{L}$) 到由蠕动泵传送的邻苯三酚 (c) 和 $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3(\text{pH}=10.2)$ 缓冲液 (d) 经三通汇合的载流中; 在流通池 (F) 中进行反应, 产生化学发光, 光电倍增管检测器 (D) 检测发光信号; 信号通过计算机 (PC) 进行处理, 以峰面积定量, 化学发光强度记为 CL 。图 36.2 中 b 为备用进样口, w 为废液出口。然后用不同浓度的茶多酚溶液代替碳酸缓冲液得到不同的化学发光强度记为 CL_1 。实验中蠕动泵转速为 $40\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 运行时间 20s, 重复 3 次, 阀位先为 L 后为 R, 输液管内径为 0.8mm , 采样管长为 12cm , 阀池距为 10cm 。茶多酚对超氧阴离子自由基清除率可按式 (1.2) 计算

$$S(\%) = \frac{CL_0 - CL_1}{CL_0} \times 100\% \quad (1.2)$$

根据实验结果绘制多酚浓度与超氧阴离子清除率曲线。

4. 探索浸取时间、硫酸锌用量和 pH 等对茶多酚提取的影响 (略)

5. 茶多酚清除超氧阴离子自由基能力的比较

将芦丁、槲皮素和抗坏血酸中的一种或几种配成适当的浓度, 用步骤 3 的相同方法测定它们清除超氧阴离子自由基能力, 并和茶多酚比较。

五、注意事项

- (1) 如采用茶末做原料, 水提取液要用滤布过滤。
- (2) 乙酸乙酯萃取时不要摇晃过度, 以免出现乳化层。
- (3) 磷酸盐缓冲液在常温下易发霉, 应当冷藏。
- (4) 流动注射化学发光分析法所用试剂要用重蒸水配制。
- (5) 茶多酚总量测定和茶多酚清除超氧阴离子自由基的测定所用茶多酚量要根据实

验的具体情况确定。

(6) 配制缓冲溶液时, pH 要用 pH 计准确测量。

六、思考题

- (1) 怎样能进一步地提高茶多酚的提取率?
- (2) 流动注射化学发光分析测定自由基的主要原理是什么?
- (3) 本实验中的发光强度和哪些因素有关?
- (4) 茶多酚为什么具有清除氧自由基的作用?

七、参考文献

1. 贾之慎, 杨贤强.1990.茶多酚抗氧化作用的研究与应用.食品科学, 11: 1~5
2. 商业部杭州茶叶加工研究所.1989.茶叶品质理化分析.上海: 上海科学技术出版社
3. 杨贤强, 叶立扬, 贾之慎.1990.一种从茶叶中提取天然抗氧化剂的方法.中国专利, 公开号 CN1043730A
4. 余兆祥, 王筱平.2001.复合型沉淀剂提取茶多酚的研究.食品工业科技, 3: 32~34
5. Dodeigne C,Thuns L,Lejeune R.2000.Chemiluminescence as diagnostic tool.A review,Ta-lanta,51:415~425
6. Yu W,Zhao Y,Xue Z et al.2001.The antioxidant prorties of lycopene concentrate extracted from tomato paste.Journal of the American Oil Chemists Society,78:697~701

现代化学实验的发展

化学在促进社会发展与满足人类社会的需求方面有明显的重要性，化学实验的发展在当代科学的发展中占有极为重要的地位。在现代科学中许多重要成就都与化学实验技术的发展分不开，每一种新技术的发明，往往都会给科学的发展带来巨大的推动。因此，在这一章里设置一个窗口，概括介绍现代化学实验的发展及一些重要的现代化学实验技术。引导学生向窗内窥视，哪怕仅仅是一瞥，也可以使大家尽早对化学实验技术的发展前沿有所触及，使之从更广阔的视野去了解和认识化学科学，为进一步学习和实践打下良好的基础。

1. 化学实验发展的趋势概述

化学实验发展的趋势可以归纳为：多学科的综合化、化学实验手段的现代化、实验工艺和产品的绿色化。

1.1 多学科的综合化

现代自然科学发展的一大特征就是从高度分化走向高度综合。高度分化是科学技术高度发展的结果，高度综合是学科相互渗透成为一个有机整体的必然趋势。现代的化学实验偏重于综合，特别是学科的相互渗透，相互融合。如重大的生物问题常常和化学实验紧密相关，核酸、蛋白质、糖、光合作用等等。今天的化学家需要懂得更多的物理和生物学知识。新的学科方向，如化学物理、高分子物理、生物物理等学科间的融合，生物无机、金属有机、有机固体等学科间的汇合，都说明了化学实验正向邻近的学科扩展，或者说邻近的学科正向化学渗透。这是一种趋势，一种发展，一种进步。

1.2 化学实验手段的现代化

化学实验手段是制约化学科学研究的一个非常重要的方面，发展分析和测试的新方法，并依靠计算技术，使化学的“耳目”以及据以工作的信息趋于灵敏和可靠，这是现代化学实验发展的必然方向。

虽然在 19 世纪化学实验手段已经有了相当的水平，形成了一套相对较完整的化学常规仪器和设备，但质量还不高，种类还不够齐全，精度也欠灵敏和准确。为克服这些不足，人们在原有的实验手段加以改进的同时，积极吸收现代科学技术的新成果，创造和发明了一大批现代化的实验仪器和设备，从而为现代化学实验的发展打下了牢靠的物质基础。在现代化学实验中，新的实验手段的发明和创造，往往导致化学科学研究的重大突破。现代化学实验因使用了很多灵敏、精确和快速的实验手段，从而使仪器化的特点尤为突出。

红外光谱、核磁共振、顺磁共振和质谱等手段已被广泛使用；在微量、痕量分析方面，出现了原子吸收光谱分析、极谱分析、库仑分析，以及离子交换分离、电泳层析等新的分析、分离技术和手段；在化学结构的分析测定方面，出现了 x 射线荧光光谱、光电子能谱、扫描电镜、电子探针、拉曼激光光谱、分子束、中子衍射、皮秒激光光谱等现代化的实验技术和手段。运用这些实验手段，能精确地进行化学定量检测，从而大大促进了化学实验手段的精密化。

近 30 年来，高新技术的发展速度是空前的，其中计算机技术和激光技术是推动化学迅速发展的极大动力。这两项技术在 20 世纪 90 年代已经达到了很高的水平。以计算机技术的进步为例，计算机的换代自 20 世纪 50 年代开始，几乎每 10 年换一代，而且每一代计算机的形式和应用范围又是多种多样。计算技术包括整个情报信息技术已经深入到人类社会的每一个角落。现在的时代多多少少地带上了微电子—计算机—自动化的标志。计算机在计算速度、存储量、显示方式等方面都能满足化学研究的需要，多种内容的数据库已经在世界范围内联网，内容不断增加。中小型的工作站在某些特定用途中更是异常方便，大至分子设计、药物设计，小至结构显示、图形设计等，无疑对化学研究是非常重要的。计算机在化学实验中的应用主要有：化学反应条件的预测、利用计算机提高测试选择性及灵敏度、计算机辅助有机合成、计算机模拟化学实验、利用计算机处理实验数据等。各种各样的化学数据库和图像显示技术使分子设计达到了较高的水平，计算机辅助的药物合成已经有效地进行。各种计算机工作站已经普遍地用于化学的某些领域，特别是在结构化学中起了重要作用。计算机在化学实验中得到了卓有成效的应用，已成为重要的化学实验手段。各种仪器的联机使用和自动化，不仅用于电分析化学、谱学、微观反应动力学、平衡常数的测定、分析仪器的控制、数据的存贮与处理等，而且还能使经典的化学实验操作达到控制的自动化。激光技术的出现，使化学家对化学反应的动力学研究达到了分子水平。激光技术的发展近 20 多年来已经在调频、脉宽等方面有了很大进步。用激光技术来研究化学反应、物质结构已非昔日可比。飞秒激光也许已经达到瞬间的极限了，用来探索电子在分子中的运动可谓极有广阔前景。

1.3 实验工艺和产品的绿色化

化学在造福人类的同时，也给环境带来了很多的问题。如化肥给农民带来了丰收，但过量使用化肥的结果是农民增产不增收，土地酸化板结，化肥从农田排水进入江河湖泊，造成水体富营养化，破坏了环境。事实上，化学污染严格地说并非化学本身之过，化学污染的真正源头是化学的实际应用过程即化学工艺过程中所存在的种种问题。因此，必须在源头上来控制污染的产生，这是现代化学实验发展的必然趋势。下面仅以农用化工产品的

绿色化生产为例，来说明这一发展趋势的绿色思路 and 理念。

农用化工产品的绿色化生产，在化肥及农药的生产上已取得较大的进展。比如用低温等离子体技术合成氨、“干法”磷肥生产工艺、微生物肥料、仿生农药及手性农药的开发和生产等。

1. 农用肥料的绿色化生产技术

磷铵复合肥生产中废渣的循环利用与废水的封闭循环利用，已成为一种较为成熟的工艺，这种工艺虽然大大降低了“三废”排放，但仍没有走出末端治理的老套路。最近，四川大学化学系的陈天朗等人发明的“干法”磷肥生产新工艺则突破了传统的方法。传统的“热法”和“湿法”磷肥生产工艺在生产过程中都要产生大量的废气、废水和废渣，而“干法”工艺则只需要将磷矿石粉碎后，与特殊的固体解磷剂混合即可施用。固体解磷剂是利用配位化学的原理，将无机酸溶液与尿素进行络合，使其成为固体。这种固化的无机酸与磷矿粉干法混合时并不反应，但施入土壤以后，在水的作用下，固化酸即可与磷矿粉发生解磷反应，逐渐释放出可供植物吸收的磷素。这样，不仅相当于把磷肥厂办到了大地上，将“三废”消弭于无形；而且更重要的是这种“干法”工艺，为开发利用占我国磷矿总数90%以上的中低品位磷矿找到了一条简易可行的途径，因为这些低品位的磷矿用传统的方法大多无开采价值。微生物肥料的开发方法与“干法”磷肥的生产工艺有异曲同工之妙。这种肥料是将大量的城市垃圾分拣后(主要是除去玻璃、金属等无机物和塑料等难降解的有机物)进行粉碎，然后再加入各类经过筛选的微生物，得到微生物肥料。这种肥料施入土壤后，在适宜的环境条件下(温度、湿度、pH值等)，其中的微生物就开始繁殖，并不断产生解氮、解磷、解钾作用，释放出可供植物吸收的氮、磷、钾。施用微生物肥料长出的农产品不仅其口感、色泽等品质比施用化肥的要好得多，而且产量相当；同时，微生物肥料的生产也为大量城市垃圾的处理找到了一条好办法。

2. 农药的绿色化生产

目前，化学农药的生产和使用与农作物的产量息息相关，但传统的农药本身是带毒的，它的生产和使用在提高农作物产量的同时，也对环境和人类的健康产生了一定的危害。农药通过生态系统的食物链进入各种生物体和人体，通过生物扩大作用逐渐积累，在杀灭害虫的同时，也杀死了大量的天敌，破坏了生态平衡，使害虫产生抗药性。结果是害虫越治越多，越治越重，产生恶性循环。人类也逐渐尝到了滥用化学农药的苦果。要解决这一问题，最重要的途径就是生产绿色农药。目前，农药生产的绿色化主要从两个方面着手：一是研究和开发对环境友好的高效低毒农药(如拟除虫菊酯、拟原白头翁素及诱杀害虫的生物激素等仿生农药)。这类农药一般有三个特点：①安全性高且无公害，毒性(对人、畜)低且

易分解；②生物活性高，使用剂量大都在 5~100 克 / 公顷之间，这同以前每公顷几千克的用量相比，对环境的影响本身就减轻了许多；③选择性高，几乎所有的新品种仿生农药都有其特定的作用方式，对人畜无毒；二是改革现有的传统农药的生产方式，在原料选择、产率的提高、寻找新的先导化合物(如杂环化合物，尤其是含氮的杂环化合物)及新的农药中间体(如催化卤化合成杂环农药中间体、酶催化合成手性中间体等)上下功夫，实现生产过程的绿色化。

2 化学实验新技术简介

2.1 膜分离技术

这是适应当代新产业发展的一项高技术。被公认为是 20 世纪末至 21 世纪中期最有发展前途的高技术之一。膜分离的基本原理是利用天然或人工合成的、具有选择透过性的薄膜，以外界能量或化学位差为推动力，对双组分或多组分体系进行分离、分级、提纯或富集。分离膜多数是固体(目前大部分膜材料是有机高分子)，也可以是液体。它们的共同之处是：必须对被其分离的体系具有选择性透过的能力。

膜分离技术与传统的蒸馏、吸附、萃取等分离技术相比有以下的优势：第一，膜分离通常是一个高效的分离过程；第二，膜分离过程的能耗(功耗)通常比较低；第三，多数膜分离过程的工作温度在常温附近，特别适用于对热过敏物质的处理；第四，膜分离设备本身没有运动的部件，工作温度又在常温下，所以很少需要维护，可靠度很高；第五，膜分离过程的规模和处理能力可在很大范围内变化，而它的效率、设备单价、运行费用等变化不大；第六，膜分离由于分离效率高，通常设备的体积比较小，占地较少。而且膜分离可以直接插入已有的生产工艺流程，不需要对生产线进行大的改变。

由于膜分离技术具有突出的优势，因此膜分离技术的研究与开发发展迅速受到各国政府和工业、科技界的高度重视。我国在 1958 年开始离子交换膜和电渗析、反渗透、超滤、微孔过滤、液膜、气体分离等膜分离过程的研究、应用与开发。20 世纪 80 年代又陆续开展了渗透汽化、膜萃取、膜蒸馏和膜反应等新膜过程的研究，一些技术上较为成熟的膜过程得到应用。90 年代以来，更是进入了全盛时期。

膜分离技术应用领域广泛，目前已应用于食品、医学、石油、化工、环境工程、国防、交通、运输等方面。它可应用于液相或气相体系，对于液相分离，可用于水溶液体系、非水溶液体系以及含有其他微粒的水溶液体系。如：水资源再生的生产新技术，它已用于海水、苦咸水淡化；电厂、铁路锅炉给水预脱盐；电子、医药超纯水制备；工业废水回收再利用等；化工过程中的物质分离、浓缩、提纯、精制等。低品位原材料的回收与再利用以及环境保护(污水及废气处理)，也都与膜分离过程密切相关。

膜过程是一门新兴的多学科交叉的高技术。膜的材料涉及高分子化学、无机化学；膜的制造、过程的分离特性、传递性质和传递机理属于物理化学和数学研究的范畴；过程中涉及的流体力学、传热、传质、化工动力学及过程的设计，主要属于化学工程研究范围；生物膜、合成生物膜属于化学和生物学研究范畴。另一方面，从应用的领域看，还涉及医学、食品、石油、环境保护等行业的有关学科。

2.2 纳米材料技术

1. 概述

纳米材料(nanophase materials)是 20 世纪 80 年代中期发展起来的一种新型功能材料。这一新材料及其科学技术涉及到几乎全部现有的科学和技术领域，包括物理、化学、生物、材料、信息、机械等众多学科，涉及的技术领域有计算机、扫描隧道显微加工、微电子、电子束、激光束、等离子体、核分析等，因此，越来越引起世界各国科学界的极大关注。近年来对纳米材料的制备、结构与性能以及应用前景均进行了广泛而深入的研究，研究的对象也由单相单质金属和单相陶瓷发展到了合金、金属间化合物、复相陶瓷及复合材料。由于纳米科学技术具有极其重要的战略意义，美、英、日、德等发达国家都非常重视，这因而引起世界各国科学界的极大关注。美国材料科学学会将其誉为“21 世纪最有前途的材料”。目前世界各国都竞相将纳米技术列为面向 21 世纪的战略性的基础研究的优先发展项目。

纳米材料包括纳米粉末、纳米多孔材料、纳米致密材料和纳米复合材料等。纳米微粒一般在 1~100nm 之间，处于微观粒子和宏观物质交界的过渡区，具有许多既不同于微观粒子又不同于宏观物质的特性。纳米微粒可以是晶态的、准晶态的或是无定形的；纳米材料可以是金属的、陶瓷和半导体的，因而由纳米微粒构成的纳米材料近年来在材料科学界、物理学界、化学界、冶金界和陶瓷界中受到了极大重视。这种材料的制备在根本上改变了材料的结构，可望产生诸如超高强度金属及合金、塑性陶瓷和金属间化合物及性能特异的原子规模复合材料等新一代材料，为克服材料科学领域中很多长期未能解决的问题开辟了新途径。

2. 纳米材料的特性

从化学或物理的角度来看，纳米级(10^{-9} m)微粒的结构和性能由于表面原子或分子占的比例超乎寻常的大。而导致完全不同于一般微粒的性能。与传统的晶体或非晶体相比，纳米材料中有相当多的原子处于表面或界面上，因而它具有一系列反常的物理性能，如高电阻率就是其中之一，许多纳米材料的电阻率不仅远高于相应的粗晶粒多晶，而且高于相应的非晶态材料。纳米微晶材料也称晶态、非晶态之外的“第三态固体材料”。纳米微晶材料是由两部分组成的，一是晶体，二是界面，其界面原子数的比例极大，约占 50%。这种超

微颗粒可由晶粒或非晶态物质组成，但其界面呈无规则分布。纳米微晶中的原子排列既不同于长程有序的晶体，也不同于长程无序、短程有序的“气体状”固体结构。由于纳米微晶材料具有特殊结构，使纳米微晶材料的性能明显地不同于相同化学成分的晶态及非晶态材料。一般来说，纳米材料具有低密度、高膨胀系数、低饱和磁化率、低扩散激活能、高扩散系数、高断裂强度和高比热的特点。特殊的光学、电学、催化等性能都是一个非常引人注目的研究领域，尤其在微电子学、特殊陶瓷等方面的应用已经初见端倪。用扫描隧道法(STM)加工的原子排布，已经可以画出几纳米的中国地图，超塑性陶瓷已经可达400%变形的程度。难怪有人预言“纳米科学技术将成为下一信息时代的核心”。

3. 纳米材料的制备方法

纳米材料的制备方法大体可分为物理法和化学法。物理法又称粉碎法。它是将固体材料由大变小，即将块状物质粉碎制得纳米级微粉粒子；化学法又称构筑法，它是由下限原子、离子、分子通过成核和生长两个阶段合成制成纳米级材料。其主要制备方法有以下几种：

(1) 化学气相沉积法是目前生产纳米材料最有效的途径之一。它是以气体为原料，先在气相中通过化学反应形成物质的基本离子，再经过成核和生长两个阶段合成薄膜、粒子和晶体等材料。化学气相沉积法包括常压、低压、等离子体辅助气相沉积等，这一工艺方法在半导体、氧化物、氮化物和碳化物纳米薄膜制备中应用较多，此法具有较大的适用性和实用性。

(2) 液相化学合成法是目前实验室和工业上普遍采用的合成纳米粉末的方法，它的优点是：容易添加微量有效成分，可以精确控制化学组成。纳米材料表面活性高，工业化成本较低。该方法首先选择一种或多种合适的可溶性金属盐类，按所制备的材料组成计量配制溶液，使各元素呈离子或分子态，再用合适的沉淀剂或采用蒸发、升华、水解等操作。使金属离子均匀沉淀或结晶出来，最后将沉淀或结晶物脱水或加热分解得到纳米级材料。液相法又可分为沉淀法、水解法、氧化法、还原法、冻结干燥法、喷雾法、电解法等。该方法的缺点是获得的纳米材料种类较少(以制取氧化物为主)，产品杂质含量较大，生成的粉末易团聚，分散困难。

(3) 固相法成本低，产量大，制备工艺简单，可在一些对粉末粒径要求不高的场合下使用。缺点是能耗大、效率低，产品粒径不够微细，粒子易氧化变形。固相法又可分为机械粉碎法和固相反应法两大类。机械粉碎法是用各种超微粉碎机将原料直接粉碎研磨成纳米级超微粉。此法主要用于制备脆性的纳米材料。固相反应法是把金属盐或金属氧化物按配方混合，研磨后进行燃烧，发生固相反应，直接得到或研磨得到纳米材料。

(4)纳米颗粒的其他制备方法有分子筛组装纳米粒子法、气溶胶法等，其中气溶胶法对纳米颗粒的制备具有很大的吸引力，因为它提供了对粉体的功能和尺寸的多种可控性。纳米材料的制备技术发展很快，各种各样的制备技术已经能够制备出不同形状、不同结构的纳米材料，随着工艺的不断改进和研究的进一步深入。无疑将会有更多新的纳米材料问世。

4. 纳米材料的应用

纳米材料具有奇特的力学、电学、磁学、光学、热学以及化学(吸收、催化)等诸多方面的性能。因而其应用领域日益广泛。以下介绍主要几个方面的应用：

(1)在化学工业方面的应用 催化是超微颗粒应用的重要领域之一，利用超微颗粒甚高的比表面积与活性。可以显著地提高催化效率，国际上已将其作为第4代催化剂进行研究与开发，它在燃烧化学、催化化学中起着十分重要的作用。

(2)在电子工业方面的应用 在磁记录上的应用，磁记录是信息储存与处理的重要手段，随着信息化的迅速发展，要求记录密度日益提高，纳米微粒为这种高密度记录提供了有利条件。磁性纳米微粒由于尺寸小，具有单磁畴结构和矫顽力很高的特性，用它制作磁记录材料可以提高信噪比，改善图像质量。因此，用它作为一种重要的信息功能材料，已引起发达国家的高度重视；在传感器上的应用，纳米微粒是应用于传感器最有前途的材料，利用超微颗粒巨大的比表面积可以制成气敏、湿敏、光敏、温敏等多种传感器。其优点之一是仅需微量超微颗粒便可发挥其功能。另一优点是通过改变工作温度可以用同一种膜有选择地检测多种气体，尤其与半导体集成电路结合在一起，可以构成集成化超微颗粒多功能传感器，它具有高灵敏度、高响应速度、高精度以及低功耗。

(3)在生物、医学方面的应用 在医药工业中对原料及其制剂中的颗粒细度要求越来越高，随着国际标准的提高，颗粒细、药效好、用量少成为必然趋势，采用超细微粉制备技术是达到上述要求最理想的方法之一。另外，由于纳米粒子比红细胞小得多，可以在血液中自由运动，因此可以注入各种纳米粒子到人体各部位，检查病变和进行治疗。

(4)在陶瓷工业领域的应用 由于陶瓷有诸如脆性、烧结温度高等缺点，其应用受到一些限制，而纳米微晶陶瓷材料则不同，它具有很好的韧性和延展性，其硬度值与传统陶瓷材料相同。也就是说，纳米陶瓷的特点是表面具有常规陶瓷的高硬度、高化学稳定性，内部却保持纳米陶瓷的高韧性、高延展性。

(5)在硬质合金方面的应用 纳米级硬质合金的出现是硬质合金领域的一场革命。由于这种合金具有纳米级的显微结构，因此具有极高的硬度和韧性，从而实现了过去难以达到的力学性能。纳米级硬质合金的问世，为硬质合金在切削刀具、印刷板电路钻头等方面的发展展示了崭新的前景。

(6)在航天领域中的应用纳米材料具有特殊的光学性能、高饱和磁化强度、高频特性、高机械性能和高超塑成型性，因此，在航天领域中有可能用它作隐身材料、梯度功能材料、纳米永磁材料、高机械性能和高超塑成型性合金以及航空燃烧气涡轮发动机等。

2.3 仿生合成技术

尽管生命现象神秘莫测，但其本质不外是生物体内的化学反应。与普通化学反应不同的是，生物体内的化学反应是在极为温和的条件下进行的，而且其反应效率、转化率以及反应的立体选择性极高。很少会发生在普通反应器中很难避免的副反应。例如，在普通反应器中合成氨基酸时，通常得到的是外消旋的氨基酸，不管你使用多么优秀的催化剂，也很难使这些反应的光学选择率达到 100%。但是，生物体内的氨基酸合成反应却显得相当简单。生物体每天都在合成组成蛋白质的各种氨基酸，它不仅不需要腐蚀性较强的强酸强碱和普通反应器中苛刻的无水条件或高温高压条件，在温和的条件下就能完成，而且无需人为控制。所得到的是清一色的左旋产品，从不出现差错。科学家对此惊讶不已，尤其是当科学家注意到生物矿化进程中分子识别、分子自组装和复制构成了五彩缤纷的自然界。并开始有意识地利用这一自然原理来指导特殊材料的合成时，仿生合成技术才真正为人们所重视。在大量研究的基础上，科学家在体外对生物体内的化学合成反应进行了模仿。例如，模仿生物膜的输送、浓缩和分离等结构和功能，科学家开发了液膜分离技术，并在气体分离、海洋资源的开发利用、微量元素的提取分离以及环境保护等方面得到了广泛的应用。又如，模仿无机物在有机物调制下形成的机理(生物体内骨、牙和贝壳等的形成机理)，合成过程中先形成有机物的自组装体，使无机先驱物在自组装聚集体和溶液的相界面发生化学反应，然后在自组装体的模板作用下形成无机 / 有机复合体，将有机物模板去除后得到了具有一定形状的有组织的无机材料。这一技术目前已被用于合成许多具有特殊性能的新型材料，例如具有良好的生物相容性的骨移植材料、具有优秀性能的隔音隔热材料、具有对细菌和病毒进行准确分类的纳米精细孔结构分子筛以及具有高渗透通量、高分离精度的纯净水生产材料等。随着研究的深入，许多物质和材料的合成必将朝着分子设计和化学“裁剪”的方向发展，仿生合成技术在这些领域上将会给人类带来一片全新的天地。

