

54.5
323

有机化学近代技术

YOUJI HUAXUE JINDAI JISHU

R. P. 林斯台德

J. A. 艾維吉 著

M. 华 莉

复旦大学有机化学教研组译

500159
1960
人民教育出版社

本书系根据英国 Butterworths 科学文献出版社(Butterworths Scientific Publications) 1955 年出版的 R. P. 林斯台德(Linstead)、J. A. 艾维吉(Elvidge) 和 M. 华莉(Whalley) 合著的“有机化学近代技术”(A Course in Modern Techniques of Organic Chemistry)一书译出。

近一二十年来有机实验技术有了很大的发展,但一般学校实验用书仍旧停留在烧杯、烧瓶的阶段。自从教学改革以来,实验室现代化的要求就更迫切。这本书提供了不少新材料,可作为革新的大学有机化学实验的参考书。

有机化学近代技术

R. P. 林斯台德等著

复旦大学有机化学教研组译

人民教育出版社出版 高等学校教材编辑部
北京宣武门内大街27号
(北京市书刊出版业营业登记证出字第2号)

上海华文印刷厂印刷
新华书店上海发行所发行
各地新华书店经售

统一书号 15010·953 开本 850×1168 1/32 印张 5 6/16
字数 126,000 印数 1—26,000 定价(5) 0.70
1960年10月第1版 1960年10月上海第1次印刷

导 言

本书是以英国皇家理工学院(Imperial College of Science and Technology)在1951年开设的一门有机化学新课程为依据的。该课程的目的是满足对学生实验训练上日益增长的需要。我们认为这种需要是普遍的,虽然它的重要性将随不同学校的教学方法以及学习者的要求而异。与其他学校及其他国家的教员和学生讨论后,我们加强了这样的想法,同时由于大家对这一新课程兴趣很大,看来把它编写成书一定是很有用的。

有机化学这门科学建立的“经典”时期,大约在1860到1930年,当时使用一些非常简单的实验技术。一个学生只要做一些有代表性的反应和操作的合成试验,以及通过定性,定量分析工作,就很容易学到这些技术。这样,一般新毕业的大学生再进行一些正规的技术训练,就可以进行创造性的实验研究工作,不论是理论方面的或应用方面的。

最近二十年来,由于引进了许多非常有效的新技术,大大地改变了有机化学的实验工作;没有这些新技术,近年来许多显著的进展将是不可能的。微量分析及色层分离就是这样的例子。这一发展虽然大大地加强了化学研究工作者的能力;却产生了一个教育问题。在一般大学毕业生的实验训练和对研究工作者的要求之间有了距离。对于新从事研究工作的人,这种缺陷一般是作这样的安排来弥补的,即学习与他本人的课题有关的特殊高级技术,但总的说来,在其他方面的知识他仍停留在原来很低的水平。

于是,在英国皇家理工院所安排的实验有机化学的教学中

04543

引入了本书所叙述的有关近代技术的课程来加以充实。在教学计划中,这成为本学院有机化学专业三年級学生必修课之一,但本质上这是一門过渡性的课程,所以也可以为其他学校来的新研究生所选修。

的确,已經有許多很好的书籍及专著詳尽地討論了各种現代技术。譬如关于分餾及色层分离就有标准的著作。我們的目的不是去重复它們。我們选择了二十九个題目,分別写成短章。每一章按照情况概述了方法的一般原理,在某些特殊情形中,我們叙述了在应用时詳細的操作步驟。我們的目的,第一是提供完全可靠的指导,使学生在特殊操作时具有信心,第二是闡明其中包含的基本原理。我們尽量避免使用过分复杂的仪器。因此所述的步驟虽然是好的,但不一定是最新的,因为如果很好学会了原理,将来就易于理解任何的改变。每一章均附有主要参考文献,以及深入学习的指示。

此书分为三部分:

分离及純化技术;

特殊反应技术;

定量分析以及有关的物理測量技术。

往往很难决定究竟需要包括那些内容和略去那些内容。我們的主导原則是包括那些作为一个熟練的有机化学工作者所必須熟悉和必須掌握的方法和操作。我們选择了一些比較簡單的題目,如用作分析的化合物的最后純化及干燥,卡累斯管 (Carius tube) 反应及常压催化氫化等,因为根据我們的經驗,新的研究生在这些操作中往往遭到失敗。我們所略去了的那些操作,照我們看来,最好由特殊訓練的技术人員来进行,至少在大的研究部門或机关可以如此。因此我們沒有述及紅外光譜測定,放射性物質的“計數”,以及大部分的微量定量分析等步驟。这些方法在本系是由专

职人员作为“对外服务”来进行的，对学生则采用讲解及示范来说明它们的应用，而不进行实际操作。但基于教育上的需要，我们还是包括了碳氢的半微量测定以及凯氏 (Kjeldahl) 法氮的微量测定。我们略去了一二个最新的操作，如气相色谱法，因为在这方面我们还没有足够的实际经验。

如何开设由这些实验所组成的课程，在下面再作一些说明可能会有帮助。设备的各种部件大部分是固定装配的，并专供这门课程进行时所应用。每一学生轮流使用这些仪器。实验总共约需200小时。在此时间内一个好的学生可以很顺利地完成15—20个实验。在实验工作的前一阶段增加七次关于基本原理的讲授。虽然象前面已经说过，在实验中我们尽量避免使用过分精密的仪器，但是其中有些仍是很贵重的。在皇家理工学院中为此课程所购的特殊设备约化费2000英镑。

R. P. 林斯台德

J. A. 艾维吉

M. 华 莉

South Kensington

1955年2月

目 录

导言

第一部分 分离及纯化技术..... 1

1. 吸附色层分离..... 1
2. 分配色层分离(苯-水/硅胶系统)..... 6
3. 纸上色层分离(氨基酸及羧酸)..... 9
4. 离子交换色层分离(分离氨基酸).....18
5. 多次分级萃取(液-液系统).....21
6. 纸上电泳(分离氨基酸).....28
7. 蛋白质的分离与纯化(离心法, 结晶法, 渗析法及低压冻干法).....31
8. 分馏(在控制减压情况下).....35
9. 减压升华, 附小量固体的分子蒸馏.....43
10. 用作分析的固体的最后纯化(结晶).....47
11. 用作分析的液体的最后纯化(蒸馏), 附小量分子蒸馏.....55

第二部分 特殊反应技术.....65

12. 真空系统技术(少量操作例如示踪原子工作).....65
13. 常压催化氢化.....71
14. 高压催化氢化(高压釜).....77
15. 在卡里斯管(Carius tube)中的反应.....81
16. 气相催化反应.....84
17. 在液氨中的反应(自乙炔制炔醇).....91
18. 氢化锂铝在制备上的应用.....96
19. 电解制备(阳极耦合).....99
20. 臭氧分解..... 102

第三部分 定量分析技术及有关物理测量技术..... 108

- 小量固体及液体的称量..... 108
21. 碳和氢的半微量测定..... 110
22. 氮的微量测定(凯氏法)..... 117
23. 活氢的测定[采里费丁诺夫(Zerewitinoff)法和氢化锂铝法]..... 120
24. 分子量的测定(冰点降低法, 沸点升高法与等温蒸馏法)..... 126

25. 电位滴定.....	134
26. 极谱分析.....	142
27. 比色分析.....	146
28. 吸收光谱(可见光谱仪).....	152
29. 反应动力学的测量(应用吸收光谱, 光电仪器).....	157

第一部分 分离及纯化技术

1. 吸附色层分离

引 言

色层分离法是用于分离混合物和提纯化合物的一门成熟的技术。

在吸附色层分离中,把一个物质的溶液流经装有吸附剂的柱,然后让溶剂缓缓地滤过。这时色层谱逐渐显现,即溶质在柱中自上而下按对吸附剂亲和力的大小,分成若干色区或带。继续洗提时,已分离的溶质可以从柱上洗到洗出液中而分别收集。或者将柱抽吸干,挤出后按色区分开,在各色区中的物质可以萃取出来。

(i) 葱的提纯,干法装柱

装置见图1。推一小撮棉花团至柱的底部,装入氧化铝(3—4厘米高),以刮刀用力敲击高出氧化铝5厘米处的柱身,并用一根玻棒制成的杵将氧化铝压紧。再加入另一份氧化铝并压紧,直至柱高度达20厘米为止。用正己烷润湿氧化铝,用杵压紧氧化铝,小心使柱的顶部成为水平,此时柱顶必须盖有溶剂(约5厘米高)。推一松的棉花团至离氧化铝1厘米处。从分液漏斗放入工业用葱(50毫克)的正己烷(50毫升)溶液,调节流速至1—2滴/秒。必要时可用缓慢的抽气,但不能使溶剂自柱底部蒸发。用正己烷(100

毫升)来显出色层谱,在紫外灯光中检验时可看到三个带:

- (a) 顶部:狭的蓝荧光色带(咪唑);
- (b) 中部:无荧光的黄色带(萘);
- (c) 底部:宽的紫色荧光色带(蒽)。

继续用正己烷(约75毫升)显色层谱。当荧光物质开始进入洗出液时,调换接受器。再用1/1正己烷-苯洗提蒽,在减压下蒸发洗出液得到纯蒽(约30毫克),熔点 213.5°C ,在日光中有显著的荧光。

洗净及干燥柱身,弃去氧化铝。

(ii) 2,4-二硝基苯腈的分离.湿法装柱

装置见图1,用热的洗液(铬酸-硫酸)清洗柱身,冲洗并干燥之。推入一团玻璃毛至底部。在一250毫升三角烧瓶内放入皂土(bentonite 28克)与硅藻土(酸洗过)(7克)一起摇动,加氯仿(55毫升)搅成浆状。旋动此浆液并稳妥地倒入柱中。当吸附剂下沉时,用尺的粗的一边轻轻敲柱,使空气泡上升。用氯仿冲洗柱的里面:溶剂高度保持在吸附剂上面5—7厘米。推一小团玻璃毛至离吸附剂1厘米处,当溶剂液面降至近玻璃毛时,装上分液漏斗(图1)。

应用上面的步骤,要使柱的顶部成为平面是有些困难的:顶部必须盖有溶剂,而且不能扰动,因此用一团玻璃毛(棉花会吸附二硝基苯腈)。如果柱顶部不平,将会形成不规则色带,而且当色带洗提时,不规则还会逐步扩大。

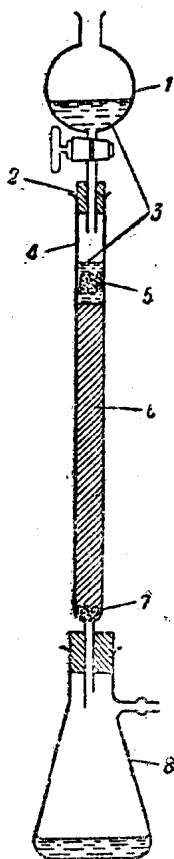


图1. 吸附色层分离(洗提法)的装置:
1—100毫升分液漏斗; 2—橡皮塞; 3—溶液; 4—色层柱, 28×1.7厘米; 5—松棉花团; 6—氧化铝, 20厘米高; 7—棉花团; 8—250毫升接受器。

立即从分液漏斗中注入 1/1 苯甲醛与环己酮的 2,4-二硝基苯腙(200 毫克)混合物的氯仿(50 毫升)溶液。当液面降至玻璃毛时,从分液漏斗加入氯仿。色谱显出,在柱中出现一上橙下黄的色带,未起变化的试剂牢固地吸附在柱的顶端。继续用氯仿洗提,直至黄色部分已洗下来,换一接受器,用 1/50 乙醇-氯仿溶液洗提橙色带。分别蒸发洗提液(见图 52),测定两主要部分及混合部分的含量及熔点(环己酮衍生物的熔点 162°C ; 苯甲醛衍生物的熔点 231°C ; 各 80—100 毫克)。必要时可进行再结晶。

洗净和干燥柱身,弃去吸附剂。

很多醛与酮的 2,4-二硝基苯腙也可用氧化铝[中性或酸洗过的: Brockmann 活性 II—IV 级(见参考文献)]来进行分离。

在苯或苯-氯仿溶液中,用无水硫酸镁作吸附剂,2,4-二硝基苯腙及其盐能很容易从粗的 2,4-二硝基苯腙中分出。无水硫酸镁的制法如下:将普通的“无水”硫酸镁放在一洁净的盘上加热,用 360°C 温度计搅拌直至温度达 240°C ,于是将硫酸镁在真空干燥器中冷却,用 60—80 孔的筛子筛过。

(iii) 在有几种吸附剂的柱上分离绿叶色素

Tswett's 的经典分离方法是用碳酸钙柱进行的(*Ber. deutsch. bot. Ges.*, 1906, 24, 384)。在柱中用三种不同的吸附剂时,得到较好的结果(见图 2)。显出的色层谱挤出后再进行处理。

在 24 小时内完成整个实验。

将 3—4 片洁净新鲜的绿叶(如菠菜叶)或一把草在 $30—40^{\circ}\text{C}$ 干燥一小时或在室温放置过夜,将绿叶切细,在石油醚(沸点 $60—80^{\circ}\text{C}$)(90 毫升)、苯(10 毫升)及甲醇(30 毫升)的混合液中浸一小时,萃取液过滤,滤液用水(4×50 毫升)小心地洗涤以除去甲醇(过分剧烈的摇动会形成乳状液,这时需要用离心分离),溶液最后用硫酸钠干燥(不用硫酸镁)。借转动圆底烧瓶内的溶液,烧瓶速

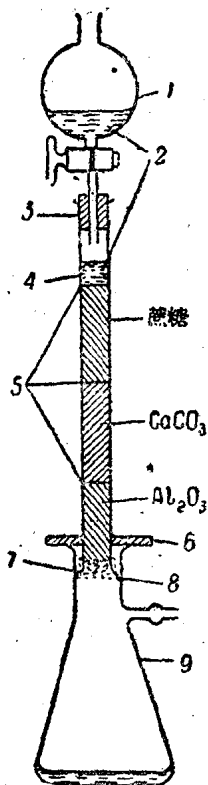


图2. 柱末端为开口式可推出吸附剂的吸附层分离装置:

1—100毫升分液漏斗;
2—溶液; 3—橡皮塞;
4—色层柱, 20×1.7厘米;
5—圆纸片; 6—过滤环;
7—棉花团; 8—铜丝网;
9—250毫升接受器。

接一抽滤泵,在蒸气浴上加热,以使溶液在减压下很快地浓缩至5—10毫升(见图52)——不必用防沸毛细管或防沸棒。

在洁净的柱的下端绕上一片洁净的金属铜丝网(1.5吋²)(见图2)。推入一小团棉花至柱底,然后用干法或者湿法装上吸附剂,如用湿法则更好些。

干法装柱 (a)4厘米高的氧化铝(H型); (b)6厘米高的碳酸钙(预先在80—100°C干燥30分钟,并经过80—100孔筛过); (c)6厘米高的蔗糖粉(特别纯化过的)(80—100孔筛过),筛子必须洗净。先以石油醚(沸点60—80°C)将柱润湿,然后加入这色素的萃取液。

吸附剂的湿法装柱(前处理同上面一样)

在三个50毫升三角烧瓶中用石油醚(分别为15, 30, 20毫升)拌和氧化铝(8克),碳酸钙(5.3克),及蔗糖(7.0克)。首先将氧化铝浆装入柱内,轻轻设柱[见(ii)],用少量石油醚仔细洗涤柱的内部,当氧化铝沉下后,在顶上放入一圆滤纸片(15毫米直径用打孔器切下)。在吸附剂上的液体(约5厘米高),使圆纸片慢慢落下,准确而不带入空气。当溶剂平面降到离氧化铝顶部2厘米时,倒入碳酸钙浆。碳酸钙沉淀得更慢,需要时轻轻敲柱5分钟。用石油醚冲洗柱的内部,放入一圆滤纸片,当溶剂平面降到相当低时,加入蔗糖浆,让蔗糖浆沉下,同样放入圆纸片,然后装上分液漏斗(见图2)。

将色素的浓萃取液注入柱中,用 4/1 石油醚(沸点 60—80°C)——苯显出色层。勿使柱的顶部流干。当过滤的速度过慢时,宁可在柱上加空气压力而不用抽气:用压力橡皮管通过 T 形管接通漏斗的顶部和压缩空气系统, T 形管的另一头插入水银中以调节需要的压力。

在柱中出现下列色带:

(a) 顶部。橄榄绿色(在蔗糖部分):叶绿素 b;

(b) 蓝绿色(在蔗糖或碳酸钙部分):叶绿素 a;

(c) 黄色(在碳酸钙部分):叶黄素;

(d) 底部。红橙色(在氧化铝部分):胡萝卜素。

当色层显谱完全后,在接受器上连接一过滤用泵,把柱抽至接近干燥。拿去铜丝网。用一平头的玻棒小心地将柱中的吸附剂推出,放在一张纸上,或用刮刀将有色的区域挖出来。分别用含有甲醇(0.2 毫升)的乙醚(10 毫升)溶液以有色区域洗出色素。用可见光的分光光度计测定洗液中色素的含量(见 28 章)。

记录各部分中主要吸收峰及其他两端吸收峰的位置。

洗净和干燥柱身。

参 考 文 献

Cassidy, *Technique of Organic Chemistry*, Vol. 5, Interscience Publishers, Inc., New York, 1951.

Lederer, Lederer, *Chromatography*, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 1953.

Strain, *Chromatographic Adsorption Analysis*, Interscience Publishers, Inc., New York, 1942.

Williams, *An Introduction to Chromatography*, Blackie and Son Ltd., London, 1948; *The Elements of Chromatography*, Blackie and Son Ltd., London, 1954, Chap. 2.

Zechmeister, Chohnoky, Principles and Practice of Chromatography, Chapman and Hall Ltd., London, 1941.

氧化铝的品级, 参看: Brockmann, Schodder, Ber., 74, 73 (1941).

2. 分配色层分离

引言

当混合物各组分在两液相中具有不同的分配系数时, 应用分配色层分离方法可以把它們分离。其中一个液体吸着于柱中的固体上(例如水吸着于硅胶上)。另一个溶解了混合物的液体注入柱中, 接着再注以单纯的溶剂。当溶质在柱中流过时, 发生了无数次的分配, 因此得到分离, 最后逐一地被洗到洗提液中。支持固定液相的固体难免会对溶质有些吸附力, 但一般是选择吸附力最小的固体。

在硅胶上分离 4'-四氢邻苯二酰亚胺 与顺-六氢邻苯二酰亚胺

将硅胶(色层分离级)(60克)与水(27毫升; 45% 硅胶重量)一起搅动。如硅胶稍微发粘时, 将它铺展在纸上, 于室温干燥。

色层柱的活塞不要涂润滑油(图3)。

取苯(500毫升)与水(100毫升)一起震摇5分钟。将这苯加至色层柱身的一半(活塞关闭着), 推一团棉花至柱的底部, 用一长玻棒(直径6毫米)压紧。加入4—5克, 硅胶并用长玻棒紧压约2—3分钟。分批加入硅胶, 每次4—5克, 每批都同样压紧。将所有硅胶装至40厘米高约需45分钟(装柱的手续是非常重要的)。把硅胶柱的顶部弄成水平, 并加一团棉花盖住(图3), 再装上分液漏斗。用湿苯(50毫升)冲洗柱身。

保持硅胶柱上有一层溶剂复盖是非常重要的。

将溶于湿苯 (15 毫升) 的亚胺混合物 (各 100 毫克) (Ficken, France and Linstead, *J. Chem. Soc.*, 1954, 3730; Ficken and Linstead, *ibid.*, 1952, 4846) 溶液加至柱中, 速度每分钟不大于 1 毫升, 继之以相同速度加入湿苯。弃去最初 20 毫升的洗提液。

同时准备试验洗提液中的亚胺 (Rydon and Smith, *Nature, Lond.*, 1952, 169, 922; Reindel and Hoppe, *Chem. Ber.*, 1954, 87, 1103)。放置 12 只试管 ($5 \times \frac{5}{8}$ 吋) 于架子上, 每一试管放入 1 毫升约 0.05N 高锰酸钾溶液。这是为发生氯气用的。分别在 9 厘米培养皿中放入 (a) 1/1 乙醇-丙酮 (10 毫升) 及 (b) 联邻甲苯胺 (4, 4'-二氨基-3, 3'-二甲基苯) 溶于 5 毫升 2N 醋酸的饱和溶液和 5 毫升约 0.05N 碘化钾的混合液——此混合液必须在 10 小时以内使用。培养皿用盖盖住。

每次收集 7 毫升洗提液于试管 ($3 \times \frac{1}{2}$ 吋) 中, 试管置于木架上 (或用自动分次收集器)。在每一间隔的试管中检验亚胺的存在。

在一滤纸条 (Whatman No. 1; 15 × 1 厘米) 上离一端约 5 厘米处折一痕, 勿使手指触及长的一端。在纸条长的部分的中点滴上一滴试液, 用吹风机吹热空气使干 (工业用吹风机), 将纸条在乙醇-丙酮中浸一下, 然后用一折迭滤纸 (15 厘米) 吸去纸条上的液体, 但勿使干。

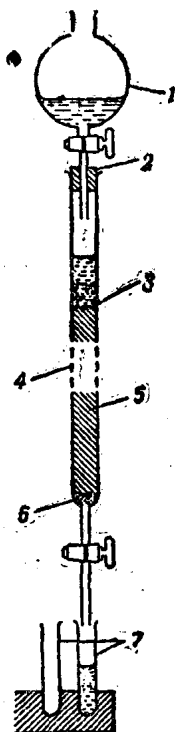
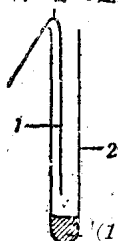


图 3. 分配色层分离的装置:

1—250 毫升分液漏斗; 2—橡皮塞;
3—松棉花团; 4—色层柱, 64 × 1.7 厘米;
5—硅胶, 40 厘米长; 6—棉花团; 7—试管, $3 \times \frac{1}{2}$ 吋。

在高锰酸钾溶液的试管中加入 10% 盐酸(1 毫升), 将纸条长的部分悬挂在此试管的氯气流中 4—5 分钟(见图 4)。再浸纸条于邻

离一端 ~5 厘米处浸渍



(1 毫升 0.05
N KMnO_4 + 1
毫升 10% HCl)

图 4. 试纸用稀氯处理, 作亚胺之测定:

1—做好的滤纸条(15×1 厘米), 已滴上试液; 2—试管(5×5/8 吋)。

甲苯胺-碘化钾溶液中, 如很快出现暗蓝色点(在准确的位置), 则表示有亚胺存在。

将第一个含有亚胺的试管作上标记, 继续再收集 30 管, 每隔一管都做亚胺试验, 直至试验得负结果就停止收集。

把含有亚胺的试管每隔一管蒸发至干: 固体移至一小皿中(平底, 直径 4 厘米), 试管用丙酮冲洗, 然后放在一大的有防护罩的真空干燥器中(12 吋), 用水泵抽空。测定固体熔点(4'-四氢邻苯二酰亚胺的熔点: 172°C; 顺-六氢邻苯二酰亚胺的熔点: 137°C)。把相当的固体和溶液部分合并, 用丙酮将这些

物质移入一大皿中(平底, 8 厘米直径)置于一有防护罩的真空干燥器(以浓硫酸为干燥剂)中, 减压抽去溶剂, 将两种酰亚胺及混合部分(假如有的话)的重量记下(4'-四氢邻苯二酰亚胺 70—90 毫克; 顺-六氢邻苯二酰亚胺 50—80 毫克)。

柱的底部连接过滤用泵, 吸入空气通过柱身至硅胶相当干燥。倾出硅胶弃去, 再冲洗柱身并干燥。

参考文献

- Cassidy, *Technique of Organic Chemistry*, Vol. 5, Interscience Publishers, Inc., New York, 1951.
Lederer, Lederer, *Chromatography*, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 1953.
Martin, Synge, *Biochem. J.*, **35**, 1358 (1941).
Williams, *An Introduction to Chromatography*, Blackie and Son Ltd., London,

1948; The Elements of Chromatography, Blackie and Son Ltd., London, 1954, Chap. 3.

3. 紙上色层分离

引 言

紙上色层分离一般是分配色层分离的一种形式, 它的固定相是滤紙上常常吸着的水, 紙本身作为支持剂, 而移动相是預先經水饱和的溶剂。此方法不单单是一个分配过程。其中可能有吸附现象, 所以在不同情况下, 这一过程可从單純的吸附轉变到單純的分配色层分离。

一滴混合物溶液在滤紙(长或圓形的紙片)上干燥, 然后把此滤紙条装在一密封的容器中, 使之能被有机液体所潤湿(借重力作用向下, 或借毛细管作用向上或水平方向), 而揮发时不致损失。

这一方法可用于各种类型有机混合物的定性分析, 也能用微量分析方法来定量, 一般是用比色法測定分离出来的色点。它的主要应用是氨基酸混合物的定性分析。

(i) 向下的两向紙上层析法氨基酸的分离和鉴定

把一滴氨基酸溶液滴在紙片的一角上干燥。用第一溶剂潤湿起始“点”, 即分离出一行的“色点”(相应于混合物的组分)。第一溶剂干燥后, 將紙片旋轉九十度, 用第二溶剂在另一方向繼續显层。二向显层的結果, 一般能使混合物完全分离(見图 7)。將滤紙再次干燥后, 用茚三酮噴雾及加热后, 就可見到分离出的氨基酸“色点”。

用三張滤紙同时进行:

(a) 作为参考的氨基酸 使用 0.01M 的氨基酸在 10% 的异

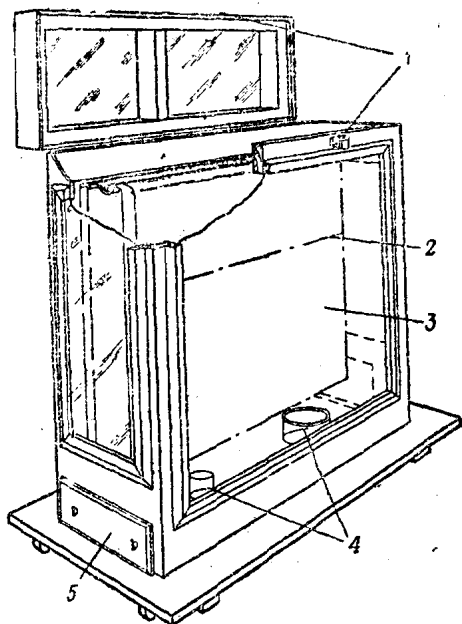


图5. 紙上色层分离柜:

1—盖鎖; 2—溶剂前沿位置; 3—紙片; 4—盛试剂的皿;
5—可移动的板。

丙醇溶液(色层分离用氨基酸标准溶液)。

(b) 尿 用你自己的最好是刚便出来的尿(这种尿含有最高的氨基酸含量)。

(c) 蛋白质水解物 把血清蛋白质(第七章)或明胶水解: 将这蛋白质(100毫克)与浓盐酸(3毫升)及水(2毫升)一起回流过夜。用水(约10毫升)稀释此溶液, 加入2N氢氧化钠溶液至pH为7.0(或用1/1酚红与溴甲酚绿混合溶液作为外部指示剂, 其颜色变化是: pH 6.6, 黄; 6.8, 绿; 7.0, 灰; 7.2, 紫; 7.4, 深紫), 用水稀释到50毫升。

为了避免外来的“色点”, 尽可能不去动纸, 并勿将纸放在实验