

高等學校教材

化学工程与工艺实验技术

尹卫平 张玉清 主编



化学工业出版社

16-33
1-2

河南科技大学教材出版基金资助

高等学校教材

化学工程与工艺实验技术

尹卫平 张玉清 主 编



化学工业出版社

· 北 京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

化学工程与工艺实验技术/尹卫平, 张玉清主编. —北京:
化学工业出版社, 2007. 7
高等学校教材
ISBN 978-7-122-00501-4

I. 化… II. ①尹…②张… III. 化学工程-化学实验-
高等学校-教材 IV. TQ016

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 074200 号

责任编辑: 徐雅妮 宋林青
责任校对: 宋 玮

装帧设计: 尹琳琳

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)
印 装: 北京云浩印刷有限责任公司
787mm×1092mm 1/16 印张 7 $\frac{3}{4}$ 字数 179 千字 2007 年 7 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899
网 址: <http://www.cip.com.cn>
凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 15.00 元

版权所有 违者必究

前 言

本书是为了适应教学改革、更好地培养我国 21 世纪化学工程与工艺专业人才的需要,在多年实验教学实践的基础上编写的实验教材。本书内容经过反复推敲,尽量既兼顾本学科的方向,又兼顾内容的新颖性及覆盖面,内容涵盖高分子化工、精细化工、天然产物化工等专业实验,是一部综合性较强的专业实验教材。

全书内容包括专业实验规则、实验、附录三个方面内容。在专业实验规则中,简要叙述了实验室安全、试剂的存放与废弃试剂的处理、实验仪器、学生专业实验守则等,让学生牢固树立“安全第一”的意识,熟悉化学药品和实验仪器的使用原则,遵守实验室规章制度。实验技术是本书的重点,按实验的性质分为三大部分,52 个实验。第一部分是基础实验,主要是简单化学反应、分离实验,目的是巩固学生的专业基础知识;第二部分是专业实验,主要是材料的合成、结构鉴定与性能表征,目的是培养学生分析问题和解决问题的能力;第三部分是综合和设计实验,设立这部分实验的目的是使学生对已掌握的化学工程与工艺实验理论、实验方法进行综合应用。附录部分为方便实验工作,介绍了实验中常用实验药品预处理方法。为了达到理论与实践的结合,本书既注重对基础理论的讲解,更注重对学生自主动手能力的培养。

本书由尹卫平、张玉清主编,吕本莲、宋文生担任副主编,参加编写工作的有:宋文生(专业实验规则、实验 3.6),段文录(实验 1.1~1.4、实验 2.15~2.17、实验 3.2~3.4、附录 3、附录 4),刘翠云(实验 1.5~1.8、实验 1.10~1.13、实验 3.5、实验 3.8、附录 1、附录 2),吕本莲(实验 1.9、实验 2.21~2.29),杨敏、吕本莲(实验 1.14、实验 1.15、实验 2.18~2.20、实验 3.1),刘红宇、刘翠云(实验 2.1~2.11),陆昶(实验 2.12~2.14、实验 3.7)。全书由尹卫平、张玉清、宋文生、吕本莲统稿。

本书的编写得到了河南科技大学教务处的支持和帮助,在此表示衷心的感谢。

由于编者水平有限,书中难免存在不妥之处,恳请读者批评指正。

编 者

2007 年 5 月于洛阳

目 录

专业实验规则	1
--------------	---

第一部分 基础实验	4
-----------------	---

实验 1.1 菠菜色素的提取和分离	4
实验 1.2 氨基酸的纸色谱	6
实验 1.3 薄层色谱	8
实验 1.4 制备薄层色谱	11
实验 1.5 甲基丙烯酸甲酯的本体聚合	12
实验 1.6 苯乙烯的溶液聚合	13
实验 1.7 醋酸乙烯酯的乳液聚合（白乳胶的制备）	14
实验 1.8 苯乙烯的悬浮聚合	15
实验 1.9 聚乙烯醇缩甲醛的制备	17
实验 1.10 苯乙烯的阳离子聚合	18
实验 1.11 界面缩聚法制备尼龙-610	20
实验 1.12 苯乙烯-顺丁烯二酸酐的交替共聚	21
实验 1.13 酚醛树脂的合成	22
实验 1.14 表面活性剂定性定量测定	24
实验 1.15 泡沫性能的测定——罗氏泡沫测定仪	27

第二部分 专业实验	29
-----------------	----

实验 2.1 密度法测定聚合物的结晶度	29
实验 2.2 偏光显微镜法观察聚合物球晶形态	30
实验 2.3 黏度法测定聚合物的分子量	33
实验 2.4 端基分析法测定聚合物的分子量	35
实验 2.5 聚合物温度-形变曲线的测定	37
实验 2.6 聚合物熔融指数的测定	39
实验 2.7 聚合物冲击性能的测定	40
实验 2.8 聚合物介电常数的测定	42
实验 2.9 差示扫描量热仪测定聚合物的玻璃化温度	43
实验 2.10 扫描电子显微镜观察聚合物的形态	45
实验 2.11 溶胀法测定聚合物的交联度	48
实验 2.12 聚合物拉伸性能的测定	50

实验 2.13	聚合物加工流变性能测试	53
实验 2.14	旋转式黏度计测定乳状液黏度	55
实验 2.15	丹皮酚的提取和分离	57
实验 2.16	粉防己生物碱的提取、分离与鉴定	58
实验 2.17	芦丁的提取、分离与鉴定	61
实验 2.18	乙酸苄酯的合成	64
实验 2.19	磺胺醋酰钠的合成	66
实验 2.20	新橙花醚的合成	68
实验 2.21	十二烷基硫酸钠的合成	69
实验 2.22	液体香波的配制	70
实验 2.23	弱酸性染料的染色	72
实验 2.24	聚乙烯醇-水玻璃内墙涂料	73
实验 2.25	聚醋酸乙烯酯乳胶涂料配制	75
实验 2.26	食品与饲料用防霉剂——丙酸钙	76
实验 2.27	食品防腐剂——尼泊金甲酯	77
实验 2.28	膏霜类护肤化妆品	78
实验 2.29	手部洁肤品——免水洗手膏的配制	81
第三部分	综合和设计实验	83
实验 3.1	十二烷基甜菜碱的合成	83
实验 3.2	有机化合物中元素定性分析	84
实验 3.3	溶解度分组试验	87
实验 3.4	天然产物分类实验	89
实验 3.5	甲基丙烯酸甲酯聚合的综合实验	92
实验 3.6	软质聚氨酯泡沫的制备	97
实验 3.7	硬质聚氯乙烯的加工与力学性能综合实验	98
实验 3.8	阳离子型聚丙烯酰胺絮凝剂实验设计	102
附录		104
附录 1	常用单体的性质及精制	104
附录 2	常用引发剂的性质、制备及精制	106
附录 3	天然产物化学成分检出试剂配制法	107
附录 4	常用有机溶剂的性质及回收精制	111
参考文献		115

专业实验规则

化学工程与工艺实验技术是化学工程与工艺专业本科生的必修专业课。学生在大学四年中除学习理论知识外,实验教学是培养学生动手能力和巩固所学理论知识的必然要求。实验教学涉及各种仪器药品以及水、电、气等,因此,学生熟悉专业实验规则,减少实验事故,维持正常的实验教学是非常重要的。

一、实验室安全

圆满完成一项专业实验,不仅意味着顺利获得预期结果,更重要的是避免安全事故的发生。在实验过程中,经常会使用易燃、易爆、有毒和腐蚀性化学药品。化学药品使用不当,就可能引起着火、爆炸、中毒和烧伤等事故。玻璃仪器和电器设备使用不当,也会引起事故。以下为实验中常常遇到的几类安全事故。

1. 火警和火灾

专业实验常常遇到许多易燃有机溶剂,有时还会使用碱金属和金属有机化合物,操作不当就会引起火警和火灾。实验室出现火警和火灾的原因如下:

- ① 使用明火(如电炉、煤气)直接加热有机溶剂,容易造成溶剂溅出和大量挥发;
- ② 多数专业实验涉及明火加热;
- ③ 随意抛弃易燃、易氧化化学品;
- ④ 电器由于长期和重复使用,容易出现老化漏电现象,引起火灾。

因此,应尽可能使用水浴、油浴或加热套进行加热,避免使用明火;长时间加热溶剂时,应使用冷凝装置;浓缩有机溶液时,不得在敞口容器中进行,最好使用旋转蒸发仪等装置,避免溶剂挥发并四处扩散。必须使用明火时,应使明火远离易燃有机溶剂和药品。按要求处理废弃溶剂和药品;经常检查电器是否能正常工作,及时更换和修理易损部件。熟悉灭火器等安全设施,并妥善保管,不得挪作他用。

如出现火警,可根据不同情况采取相应对策。

- ① 容器中溶剂发生燃烧:移去或关闭明火,用石棉布将容器覆盖,隔绝空气使火焰自熄。
- ② 溶剂溅出并燃烧:首先移去或关闭明火,尽快移去试验装置附近的其他易燃易爆药品,使用石棉布盖于火焰之上或使用二氧化碳灭火器。
- ③ 碱金属引起的着火:移去附近溶剂,使用石棉布盖住着火部位,以避免火焰蔓延。注意:不得用水来灭火。

2. 爆炸

进行放热反应,有时会因反应失控而导致玻璃反应器炸裂,导致试验人员受到伤害;在进行减压操作时,玻璃容器由于存在瑕疵也会发生炸裂。在这种情况下,应特别注意对眼睛的保护,防护眼镜等保护眼睛的用品应成为实验室的必备品。因此,实验中应避免高温高浓度操作;仔细检查玻璃仪器是否存在缺陷;必要时在装置和人员之间放置保护屏;

容易发生燃烧或爆炸的药品应分开存放，避免两者接触而发生反应。

3. 中毒

在使用有毒试剂时，应认真操作，妥善保管；残留物不得乱扔，必须做到有效的处理。在接触有毒和腐蚀性试剂时，必须带橡皮等材质的防护手套，操作完毕后立即洗手，切勿让有毒试剂粘附到五官和伤口。在进行有毒气体和腐蚀性气体反应的实验时，应在通风橱中操作，并尽可能在排到大气之前做适当处理，使用过的器具应及时清洗。在实验室内不得饮食和喝水，养成工作完毕离开实验室之前洗手的习惯。若皮肤上溅上有毒有害物质，应根据其性质，采取适当方法进行清洗。

4. 外伤

玻璃仪器破裂、温度计损害会造成意外伤害，因此，操作时切勿用力过猛。如果造成机械伤害，应取出伤口中的玻璃或固体物，用水洗涤后涂上药水，用绷带扎住伤口或贴上创可贴；大伤口应先按住血管以防大出血，稍加处理后去医院就诊。

发生化学试剂灼伤皮肤和眼睛事故时，应根据试剂的类型，在用大量水冲洗后，再用弱酸或弱碱溶液洗涤。

为了处理意外事故，实验室应配备灭火器、石棉布、硫磺和急救药箱等用具。同时需要严格遵守实验室安全规则，养成良好的实验习惯，在从事不熟悉和危险实验时更应小心谨慎，防止因操作不当而造成实验事故。

二、试剂的存放与废弃试剂的处理

1. 化学试剂的保管

实验室所用试剂，不得随意散失、遗弃，应根据它们的化学性质分门别类，妥善放置在适当场所。

2. 废弃试剂的处理

废弃化学试剂不可倒入下水道，应分类加以收集、回收再利用。无害的固体废弃物可以作为垃圾倒掉；有害的化学药品则需进行适当处理；对反应过程中产生的有害气体，应按规定进行处理，以免污染环境。

除上述两方面外，及时整理实验室和实验台面并清洗玻璃仪器，合理放置实验设备，保持整洁舒适的工作环境，也是高质量完成实验所要求的。

三、实验仪器

实验中进行的化学反应、溶剂的配置、物质的纯化以及许多分析测试多数是在玻璃仪器中进行的，另外还需要一些辅助设施，如金属器皿、电化学仪器等。

1. 玻璃仪器

玻璃仪器按接口的不同可以分为普通玻璃仪器和磨口玻璃仪器。普通玻璃仪器之间通过橡皮塞连接，橡皮塞上开孔的大小合适与否以及孔道的位置影响实验装置的搭置。磨口仪器的接口已标准化，注意内外磨口的使用。仪器使用完毕后应将装置拆开，尤其是磨口玻璃仪器，磨口上应涂少量硅脂。对于烧瓶、试管、冷凝管、漏斗、蒸馏头等玻璃仪器，已在基础化学实验中广泛接触，在此不再叙述。

2. 辅助器件

专业实验中，除使用大量玻璃仪器外，辅助器件的使用对试验的完成同样重要。铁架台和铁夹等金属器具用来固定玻璃仪器时应谨慎操作，避免损坏玻璃仪器。使用真空泵时

应避免倒吸现象的发生,造成真空泵损坏。使用氮气、氧气、氢气等钢瓶时,应检查减压阀和钢瓶总阀是否泄漏,避免事故的发生。

3. 玻璃仪器的清洗与干燥

玻璃仪器的清洗与干燥是避免引入杂质的关键。清洗玻璃仪器最常用的方法是使用毛刷和清洁剂,清除玻璃表面的污物,然后用水反复冲洗,直至器壁不挂水珠,烘干后以供下次使用。

四、学生专业实验守则

① 进入实验室必须遵守实验室的各项规章制度,保持室内安静整洁,不准在室内吸烟、随地吐痰、乱扔杂物,非实验用品一律不准带进实验室。

② 实验过程中,要听从教师指导,保持安静,正确操作,仔细观察、认真记录和周密思考。

③ 要注意安全、整洁和节约,养成良好的习惯。绝对不允许任意混合各种化学药品。实验完毕后,立即把仪器洗刷干净,并整理好药品和实验台。洗涤干净的试管一律倒插在试管架上。

④ 酒精灯用过后,应立即用罩盖好(严禁用嘴吹熄),易燃品使用时必须远离灯火,用毕后立即盖紧瓶塞。

⑤ 对有毒和强腐蚀性的药品,切勿吸入口中或溅在皮肤上。实验所用仪器、药品一律不得带出室外,一经发现,要严肃处理。用剩的有毒药品要交还教师。

⑥ 用过的废液应倒入指定的废液桶里,切不可倒入水池或地面。废纸及火柴棒等不得随地乱抛。

⑦ 正确使用和妥善保管所用仪器,如有损坏,应及时报告老师,酌情赔偿,如有隐瞒、舞弊,一经查出,按实验室规定处罚。

⑧ 每次实验前应先检查所用仪器是否洁净和完整,如查出有破损等情况,应及时报告老师,及时更换。

⑨ 实验前一定要认真预习实验内容,明确实验目的和要求,弄清操作步骤、方法和基本原理,实验课后要认真完成实验报告。

⑩ 实验室内一切物品未经本室负责人员批准,严禁携出室外,借出物品必须办理登记手续。

第一部分 基础实验

实验 1.1 菠菜色素的提取和分离

一、实验目的

1. 通过绿色植物色素的提取和分离, 了解天然物质分离提纯的方法。
2. 通过柱色谱和薄层色谱分离操作, 加深对微量有机物色谱分离原理的了解。

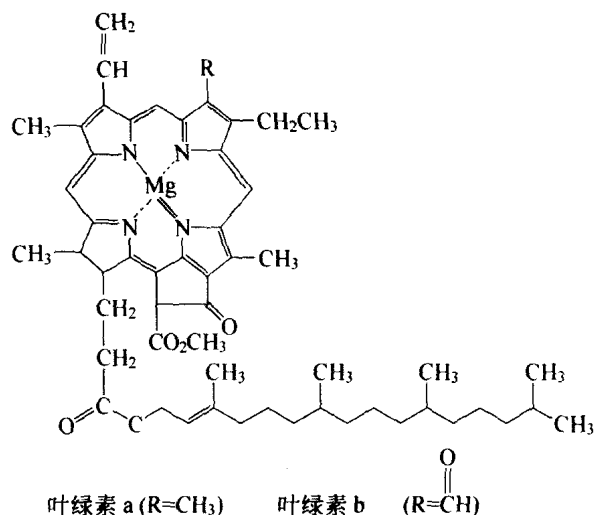
二、实验原理

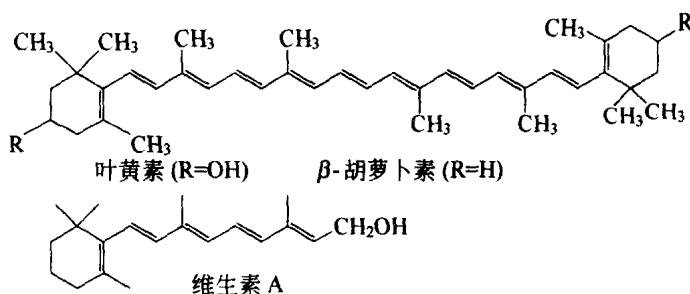
绿色植物如菠菜叶中含有叶绿素(绿色)、胡萝卜素(橙色)和叶黄素(黄色)等多种天然色素。

叶绿素存在两种相似的结构, 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 中的一个甲基被 b 中的甲酰基所取代。它们都是吡咯衍生物与金属镁的配合物, 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。在生物体内, β -异构体受酶催化氧化即形成维生素 A。目前 β -胡萝卜素已可进行工业生产, 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。





三、仪器、试剂

仪器：研钵、布氏漏斗、圆底烧瓶、层析缸、玻璃色谱柱、分液漏斗、剪刀、水浴锅。

试剂：硅胶 G、中性氧化铝、甲醇、石油醚（60~90℃）、丙酮、乙酸乙酯、菠菜叶、无水硫酸钠。

四、实验步骤

1. 菠菜色素的提取

称取 20g 新鲜洗净（或冷冻）的菠菜叶，用剪刀剪碎并与 20mL 甲醇拌匀，在研钵中研磨约 5min，然后用布氏漏斗抽滤菠菜汁，弃去滤液。将抽滤后的菠菜渣放回研钵，每次用 20mL 3 : 2（体积比）的石油醚-甲醇混合液拌匀研磨并进行抽滤，合并深绿色滤液，转入分液漏斗，每次用 10mL 水洗涤两次，以除去萃取液中的甲醇。洗涤时要轻轻旋荡，以防止产生乳化。弃去水-甲醇层，石油醚层用无水硫酸钠干燥后滤入圆底烧瓶，在水浴上蒸去大部分石油醚至体积约为 1mL 为止。

2. 薄层色谱

取四块显微载玻片，用硅胶 G 调制后制板，晾干后在 110℃ 下活化 1h。

展开剂：(a) 石油醚-丙酮 = 9 : 1、7 : 3（体积比）；(b) 石油醚-乙酸乙酯 = 6 : 4（体积比）。

取活化后的层析板，点样后，小心放入预先加入选定展开剂的层析缸内，盖好盖子。待展开剂上升至规定高度时，取出层析板，用铅笔做出标记，在空气中晾干，进行测量，分别计算出 R_f 值。

分别用展开剂 (a) 和 (b) 展开，比较不同展开剂的展开效果。观察斑点在板上的位置并排列出胡萝卜素、叶绿素和叶黄素的 R_f 值的大小次序。注意：更换展开剂时，须干燥层析缸。

3. 柱色谱

在 2cm×30cm 的色谱柱中，加入 15cm 高的石油醚。另取少量脱脂棉，先在小烧杯中用石油醚浸湿，挤压以驱除气泡，然后放在色谱柱底部，轻轻压紧，塞住底部。将层析用的中性氧化铝（150~160 目），从玻璃漏斗中缓缓加入，小心打开柱下活塞，保持石油醚高度不变，流下的氧化铝在柱子中堆积。用橡皮锤轻轻在色谱柱的周围敲击，使吸附剂装得均匀致密。柱中溶剂面由下端活塞控制，既不能满溢，更不能干涸。装完后，上面再加一片圆形滤纸，打开下端活塞，放出溶剂，直到氧化铝表面溶剂剩下 1~2mm 高时关上活塞（注意：在任何情况下，氧化铝表面不得露出液面）。

将上述菠菜色素的浓缩液，用滴管小心地加到色谱柱顶部，加完后，打开下端活塞，

让液面下降到柱面以上 1mm 左右，关闭活塞，再沿柱壁加数滴石油醚，打开活塞，使液面下降，经几次反复，使色素全部进入柱体。

待色素全部进入柱体后，在柱顶小心加洗脱剂石油醚-丙酮 9:1（体积比）溶液。打开活塞，让洗脱剂逐滴放出，层析即开始进行，用锥形瓶收集。当第一个有色成分即将滴出时，取另一个锥形瓶收集，得橙黄色溶液，这就是胡萝卜素。

用石油醚-丙酮 7:3（体积比）作洗脱剂，分出第二个黄色带，即叶黄素。再用正丁醇-乙醇-水 3:1:1（体积比）洗脱叶绿素 a（蓝绿色）和叶绿素 b（黄绿色）。

五、思考题

1. 试比较叶绿素、叶黄素和胡萝卜素三种色素的极性，为什么胡萝卜素在色谱柱中移动最快？
2. 为什么在色谱柱中不易观察到叶黄素的黄色带？

实验 1.2 氨基酸的纸色谱

一、实验目的

1. 了解纸色谱的基本原理和操作技术。
2. 掌握纸色谱分离、鉴别氨基酸等化合物的方法。

二、实验原理

纸色谱属于分配色谱的一种，主要用于多功能团或高极性化合物如糖、氨基酸等的分离分析。通常用特制的滤纸如新华 1 号滤纸作为支持物，以纸上所吸附的水作固定相，用与水不相混溶或相混溶的溶剂为展开剂作流动相。因此纸色谱可以看作是溶质（试样）在固定相与流动相之间的连续抽提，依靠溶质在两相间的分配系数不同而达到分离的目的。一定的物质在两相之间有固定的分配系数，因此在纸色谱图谱上也有固定的比移值。将欲分离的样品溶液点在纸条上晾干。当流动相沿纸条移动时，带着试样中的各组分以不同的速率向前移动，在一定时间内，不同组分被带到纸上的不同部位，出现层析现象，以达到分离的目的。纸色谱是一种分离鉴别氨基酸的常用分析方法。

纸色谱法的一般操作是将待测样品溶于适当溶剂，点样于滤纸一端，选择适当的溶剂系统，从点样的一端通过毛细现象向另一端展开。展开完毕，取出滤纸晾干，以适当的显色剂显色，纸上可出现有色斑点的色谱（层析）图谱。样品经层析后往往用比移值 R_f 来表示某一化合物在纸色谱图谱中的位置。

$$R_f = \frac{r}{R}$$

式中， r 为原点至层析斑点中心的距离； R 为原点至溶剂前沿的距离。

三、仪器、试剂

仪器：色谱缸、毛细管、新华 1 号滤纸、电吹风、培养皿、量筒、三角瓶、搪瓷盘。

试剂：1% 甘氨酸溶液，1% 苯丙氨酸溶液，甘氨酸、苯丙氨酸各含 1% 的混合液，正丁醇，甲酸（88%），蒸馏水，0.5% 茚三酮的丙酮溶液。

四、实验步骤

1. 配置展开溶剂

取洁净干燥的量筒按下列比例配置展开溶剂：

正丁醇：甲酸（88%）：蒸馏水=15：3：2

配好后，置于三角瓶中混合振摇使之均匀，放置待用。配制展开剂时，强烈振摇使混合液充分混匀，放置，如果分层，取体积大的一层作为展开剂。绝不能把各组成溶液倒入色谱缸，振摇色谱缸来配制展开剂。混合不均匀和没有分液的展开剂，会造成纸色谱失败。

2. 点样

取色谱滤纸条（6cm×30cm），在纸的一端2cm处用铅笔轻轻划一条横线，作为起始线，在滤纸起始线处划三个小圆圈，作为记号，在滤纸的另一端剪一个三角形的小孔，供悬挂滤纸时使用。然后用毛细管（内径约0.5mm）将苯丙氨酸标准液和甘氨酸标准液以及两种氨基酸的混合液，分别点于层析纸条起始线上所做记号处，每点应点样3~4次，每次点样后，用吹风机吹干，再点下一次。点的直径一般不超过0.5cm。

3. 展开

取适量配制好的展开溶剂（正丁醇：甲酸：蒸馏水=15：3：2），倒入干燥的培养皿内，将培养皿平放在色谱缸中（注意液面保持水平），然后将上述已点样的滤纸条，垂直悬挂在密闭的色谱缸中（这时纸条下端不应触及展开溶剂），使其先被溶剂蒸气饱和0.5h，然后再将滤纸条的下端浸入培养皿的溶剂中，进行密闭展开。待溶剂前沿扩散至距离滤纸条上端2cm处时，取出滤纸条，并立即用铅笔划出溶剂前沿位置，最后用吹风机吹干（冷吹）或晾干。

4. 显色

取一个干燥的搪瓷盘，内盛0.5%茚三酮溶液作显色剂，将已干的滤纸条在显色剂中浸湿，然后取出纸条，充分吹干（冷吹），再将已吹干的纸条置于60~65℃烘箱中约10~20min，此时纸上出现各氨基酸的紫色层析斑点。

5. 计算 R_f 值

在相同条件下，化合物的 R_f 值总是一个稳定的数值，而不同物质的 R_f 值不同，故可以用它来鉴别有机化合物。本实验的样品是两种氨基酸（苯丙氨酸和甘氨酸），点单一氨基酸处对应斑点，显色后，应出现单一的氨基酸的紫色层析斑点。而点混合氨基酸处显色后对应出现两个紫色层析斑点。用直尺量取原点至各层析斑点中心的距离和原点至溶剂前沿的距离，即可计算出两种氨基酸的 R_f 值。

6. 鉴别混合氨基酸

将两种混合氨基酸的两个 R_f 值分别与两个单一氨基酸的 R_f 值作比较，由此鉴别混合氨基酸。

五、注意事项

1. 裁取滤纸条时，注意双手尽量不捏纸面，以免手上有油脂或其他物质污染滤纸，影响层析。

2. 层析所用的溶剂系统，必须按照规定比例配置，否则将影响 R_f 值的大小。

3. 层析时，将滤纸一端浸于展开溶剂内时，应注意勿使溶剂浸没点样处。

4. 点样时，点不可过大，直径不得超过0.5cm，以免扩散时，由于点太大而产生拖尾现象。

六、思考题

1. 纸色谱属于吸附色谱还是分配色谱，为什么？
2. 在做纸色谱实验时，为什么色谱缸等展开容器必须尽量密闭？
3. 在色谱滤纸上点的样品，若斑点过大，对色谱有什么影响？

实验 1.3 薄层色谱

一、实验目的

1. 了解薄层色谱的原理及应用范围。
2. 掌握薄层板的制备及薄层色谱的操作方法。
3. 掌握吸附剂活度测定的原理及方法。
4. 应用薄层色谱法检识天然产物化学成分。

二、实验原理

1. 薄层色谱的原理及应用

色谱法 (Chromatography) 亦称色层法、层析法等，是分离、纯化和鉴定有机化合物的重要方法之一。色谱法的基本原理是利用混合物各组分在某一物质中的吸附或溶解性能 (分配) 的不同，或其亲和性的差异，使混合物的溶液流经该物质进行反复的吸附或分配作用，从而使各组分分离。

薄层色谱是把吸附剂 (或载体) 均匀地铺在一块玻璃板或塑料板上形成薄层，在此薄板上进行色谱分离，按分离机制可分为吸附、分配、离子交换和凝胶过滤色谱等。

在有机化学中的应用主要包括以下几个方面。

① 分离混合物 一些结构类似、理化性质也相似的化合物组成的混合物，一般应用化学方法分离很困难，但应用色谱法分离，有时可得到满意的结果。

② 精制提纯化合物 有机化合物中含有少量结构类似的杂质，不易除去，可利用色谱法分离以除去杂质，得到纯品。

③ 鉴定化合物 在条件完全一致的情况下，纯粹的化合物在薄层色谱或纸色谱中都呈现一定的移动距离，称比移值 (R_f 值)，所以利用色谱法可以鉴定化合物的纯度或确定两种性质相似的化合物是否为同一物质。但影响比移值的因素很多，如薄层的厚度、吸附剂颗粒的大小、酸碱性、活性等级、外界温度和展开剂纯度、组成、挥发性等。所以，要获得重现的比移值就比较困难。为此，在测定某一试样时，最好用已知样品进行对照。

$$R_f = \frac{\text{溶质最高浓度中心至点中心的距离}}{\text{溶剂前沿至原点中心距离}}$$

④ 观察一些化学反应是否完成，可以利用薄层色谱或纸色谱观察原料色点的逐步消失，以证明反应完成与否。

薄层色谱法在天然产物和药物化学成分的研究中，主要应用于化学成分的预试验、化学成分的鉴定及探索柱色谱分离的条件。用薄层色谱进行天然产物化学成分检识，可依据各类成分性质及熟知的条件有针对性地进行。由于在薄层上展开后，可将一些杂质分离，选择性高，可使预试验结果更可靠，不仅可通过显色获知成分类型，而且可初步了解主要成分的数目及其极性大小。

2. 薄层板的制备

薄层板分为硬板（加黏合剂）和软板（不加黏合剂）两种。

（1）不加黏合剂的薄层板涂布法

① 氧化铝薄层 将吸附剂置于薄层涂布器中，调节涂布器的高度，向前推动，即得均匀薄层。取表面光滑，直径统一的玻璃棒一支，依据所制备薄层的宽度、厚度要求，在玻璃棒两端套上厚度为 0.3~1mm 的塑料圈或金属环，并在玻璃棒一端一定距离处套上较厚的塑料圈或金属环，以使玻璃棒向前推动时能保持平行方向，操作时，将氧化铝粉均匀地铺在玻璃板上，匀速向前推动。

② 纤维素薄层 一般取纤维素粉 1 份加水约 5 份，在烧杯中混合均匀后，倒在玻璃板上，轻轻振动，使涂布均匀，水平放置，待水分蒸发至近干，于 $100^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥 30~60min 即得。

③ 聚酰胺薄层 取锦纶丝（无色干净废丝即可）用乙醇加热浸泡 2~3 次，除去蜡质等。称取洗净的锦纶丝 1g，加 85% 甲酸 3mL，在水浴上加热使溶，再加 70% 乙醇 6mL。继续加热使完全溶解成透明胶状溶液。将此溶液适量倒在水平放置的、用清洁液洗净的玻璃片上，并自然向周围推匀，厚度约 0.3mm，薄层太厚，干后会裂开。将铺好的薄层水平放在盛温水的盘上，使盘中的水蒸气能熏湿薄层，盘子加玻璃板盖严密，薄板放置约 1h 完全固化变不透明白色，再放数小时后，泡在流水中洗去甲酸，先在空气中晾干，后在烘箱中 100°C 恒温加热活化 15min，冷却后置于干燥器中贮存备用。

（2）加黏合剂薄层的涂布法

① 硅胶 G 薄层 薄层色谱用的硅胶分为：硅胶 G（G 是 Gypsum 石膏的缩写，表示加了石膏），硅胶 H（H 表示不加石膏），硅胶 GF254（GF254 表示加石膏和波长 254nm 显绿色荧光的硅酸锌锰）。硅胶 GF365（表示加石膏和波长 365nm 显黄色荧光的硫化锌镉）。氧化铝则类推。

取硅胶 G 或硅胶 GF 一份，置烧杯中加水约 5 份混合均匀，放置片刻，随即用药匙取一定量，分别倒在一定大小的玻璃片上（或倒入涂布器中，推动涂布），均匀涂布成 0.25~0.5mm 厚度，轻轻振动玻璃板，使薄层面平整均匀，在水平位置放置，待薄层发白近干，于烘箱中 100°C 活化 0.5~1h，冷却后贮于干燥器内备用。活化温度和时间可依需要调整，一般检识水溶性成分或一些极性大的成分时，所用薄层板只在空气中自然干燥，不经活化即可贮存备用。

② 硅胶（H）羧甲基纤维素钠（CMC-Na）薄层 取羧甲基纤维素钠 0.2g，溶于 25mL 水中，在水浴上加热搅拌使完全溶解，倒入烧杯中，加薄层层析用硅胶（颗粒度 10~40 μm 的约 6~8g）。混成均匀的稀糊，按照硅胶 G 薄层涂布法制备薄层，或取 0.8% 羧甲基纤维素钠 10mL，倒入广口瓶（高约 10~12cm）中，然后逐步加入薄层色谱用硅胶 3.3g，不断振摇成均匀的稀糊，把两块载玻片面对面结合在一起，这样每片只有一面与硅胶糊接触，使薄片浸入硅胶稀糊中，然后慢慢取出，分开两块薄片，将未粘附硅胶糊的那一面水平放在一张清洁的纸上，让其自然阴干， 100°C 下烘 30min。冷却后于干燥器内备用。未消耗的硅胶稀糊可贮存在广口瓶内，以供再用。

一般用 0.5%~1% 的羧甲基纤维素钠溶液，宜配制后用脱脂棉过滤，则所制备的薄层表面较为细腻平滑。CMC-Na 系碳水化合物，调制时应在水浴上进行。活化温度不应过高，防止碳化。

氧化铝薄层、氧化铝羧甲基纤维钠薄层的制备方法同上，一般所需要氧化铝比硅胶稍多。

目前国内外市场有预先制好的薄层板，底板有玻璃、塑料、铝片等。可按需要用玻璃刀划割，也有用剪刀剪成所要的大小，使用方便，价格稍贵。

(3) 特殊薄层的制备

根据分离工作的特殊需要，可制成以下几种特制薄层。

① 酸、碱薄层和 pH 缓冲薄层 为了改变吸附剂的酸碱性，以改进分离效果，可在吸附剂中加入稀酸溶液（如 $0.1 \sim 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 草酸溶液）代替水制成酸性氧化铝薄层使用，硅胶微呈酸性，可在铺层时用稀碱溶液（如 $0.1 \sim 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液）代替水制成碱性的硅胶薄层。用醋酸钠、磷酸盐等不同 pH 的缓冲液代替水铺层，制成一定 pH 缓冲的薄层。

② 配合薄层 硝酸银薄层的制法：可在吸附剂中加入 5%~25% 硝酸银水溶液代替水制成均匀糊状，再按常法铺成薄层，制成薄层避光阴干，于 105°C 活化 0.5h 后避光贮存，制成的薄层以不变成灰色为好，在三天内应用。也可先把硝酸银用少量水溶解，再用甲醇稀释成 10% 的溶液，把预先制好的硅胶 G 薄层浸入此溶液中约 1min，取出避光阴干，按上法活化，贮存。

3. 吸附剂的活度测定

(1) 氧化铝活度的测定

一般可用 4~5 种偶氮染料以薄层色谱法进行测定。

染料试剂的配制：取偶氮苯（Azobenzene）50mg、对甲氧基偶氮苯（*p*-methoxyazobenzene）、苏丹黄（Sudan I, benzeneazo- β -naphthol）、苏丹红（Sudan III, tetrazobenzol- β -naphthol）、对氨基偶氮苯（*p*-aminoazobenzene）各 20mg，分别溶于 50mL 重蒸馏的四氯化碳（经氢氧化钠干燥）中。

常规方法制备不含黏合剂氧化铝薄层，以铅笔尖或毛细管尖在薄层板一端 2~3cm 处间隔 1cm 左右轻轻点上 5 个可以看清的小点，各吸取约 0.02mL 染料试剂分别点滴于原点上，以四氯化碳为展开剂，展开时薄层板与容器底部交角在 $10^{\circ} \sim 40^{\circ}$ 之间，展开后测出各斑点的 R_f 值，再根据表 1-1 确定氧化铝的活度（一般高活性氧化铝 I~III 级活度使用本法时，结果往往偏低）。

表 1-1 氧化铝活度与偶氮染料 R_f 值的关系

偶氮染料	氧化铝活度级 R_f 值			
	二级	三级	四级	五级
偶氮苯	0.59	0.72	0.85	0.95
对甲氧基偶氮苯	0.16	0.45	0.69	0.89
苏丹黄	0.02	0.25	0.87	0.98
苏丹红	0.00	0.10	0.35	0.50
对氨基偶氮苯	0.00	0.05	0.08	0.19

另取一块不含黏合剂的氧化铝薄层板，置于水蒸气饱和容器内，2~3h 后取出，按上述方法测定活度。观察有无变化。

(2) 硅胶活度的测定

一般选用三种染料的薄层色谱法进行测定。

欧洲药典 1969 年记载用 0.01% 二甲基黄（Dimethy-yellow. *p*-dimethylaminoazo-

benzene)。苏丹红 (Sudan III)、靛酚蓝 (Indophenol blue, 4-tapnthoquinone-4-dimethyl aminoaniline) 的苯溶液各 10 μ L 点滴于硅胶 G 或硅胶 H 薄层上, 以苯为展开剂, 展开 10cm (约 20min), 三种染料应明显分离, 靛酚蓝斑点接近于起始线, 则认为薄层板活度符合要求。

三、仪器试剂

仪器: 色谱缸、毛细管、电吹风、薄层板。

试剂: 硅胶 H、CMC-Na 溶液、氯仿、乙醚、贝母、丹参、石油醚、乙酸乙酯。

四、实验内容

1. 湖北贝母生物碱成分的 TLC 检识

吸附剂: 硅胶 CMC-Na 薄层

样品: 湖北贝母总生物碱氯仿溶液

展开剂: C₆H₆-EtoAc-NHEt₂ (6:4:1)

显色剂: 改良碘化铋钾喷雾

2. 丹参色素的 TLC 检识

吸附剂: 硅胶 CMC-Na 薄层

样品: 丹参乙醚提取液

展开剂: 石油醚-乙酸乙酯 (9:1)

五、思考题

1. 为什么点样时斑点越小, 分离效果越好?
2. 展开剂的液面高出薄层板的斑点, 将会产生怎样的后果?
3. 有两种有机化合物 A 和 B, 不知是同种化合物还是不同化合物, 试用薄层色谱的实验结果, 予以回答。

实验 1.4 制备薄层色谱

一、实验目的

掌握制备薄板分离少量化合物的方法。

二、实验原理

其原理与薄层色谱相同, 而吸附剂用量大大超过一般薄层板用量, 因此可用于分离 1~2g 样品, 同时具有薄层色谱展层时间短操作快的优点, 因此常用于少量化合物的分离。

三、仪器与试剂

仪器: 制备薄层板 (20cm $\times$ 20cm)、研钵、双槽大色谱缸、抽滤瓶、刮刀、量筒、锥形瓶。

试剂: 硅胶 HF₂₅₄、氯仿、甲醇、羧甲基纤维素钠、样品 (混合物)。

四、实验步骤

1. 制板

将大色谱板洗净晾干, 用浸有无水乙醇的脱脂棉再擦一遍。取硅胶 HF₂₅₄ 30g, 加 0.3% 羧甲基纤维素钠溶液 90mL, 调匀, 倒在层析板上摊平整, 室温放置干燥。于 105 $^{\circ}$ C