

第一章 物质分离与提纯

实验 1 顺、反偶氮苯异构体的薄层色谱分析

一、实验目的

1. 了解薄层色谱的原理和应用。
2. 掌握薄层色谱的操作方法。

二、实验原理

色谱法是分离提纯和鉴定有机化合物的重要方法，在有机化学、生物化学和医学领域中已得到广泛的应用。色谱法可分为柱色谱、纸色谱、薄层色谱、气相色谱及高效液相色谱等类型，其中薄层色谱是一种微量、快速、简单、准确的分析分离方法。

薄层色谱又称薄层层析（thin layer chromatography），常用 TLC 表示。

薄层色谱是将吸附剂均匀地涂在玻璃板（或某些高分子薄膜）上作为固定相，经干燥、活化后点上待分离的样品，用适当的极性有机溶剂作为展开剂（即流动相）。当展开剂在吸附剂上展开时，由于样品中各组分对吸附剂吸附能力不同，发生无数次吸附和解吸过程。吸附能力弱的组分（即极性较弱的）随流动相迅速向前移动，吸附能力强的组分（即极性较强的）移动慢。利用各组分在展开剂中溶解能力和被吸附剂吸附能力的不同，最终将各组分彼此分开，薄层板上将显示出各种有色斑点（若本身无色则还需加显色剂显色，以确定斑点位置）。在薄板上混合物的每个组分上升的高度与展开剂上升的前沿之比称为该化合物的 R_f 值，又称比移值（见图 1-1）。

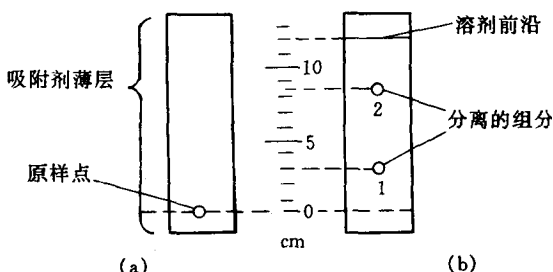


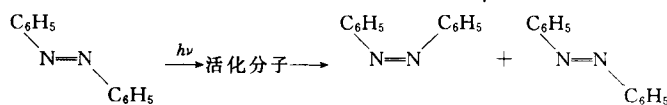
图 1-1 计算 R_f 值示意图

$$R_f = \frac{\text{溶质的最高浓度中心至原点中心的距离}}{\text{溶剂前沿至原点中心的距离}} = \frac{d_{\text{斑点}}}{d_{\text{溶剂}}} \quad (1-1)$$

$$R_{f,2} = \frac{8.4\text{cm}}{12\text{cm}} = 0.70, R_{f,1} = \frac{3\text{cm}}{12\text{cm}} = 0.25 \quad (1-2)$$

比移值 (R_f) 在一定条件下与溶质的分子结构、性能有关，所以不同的溶质在层析过程中比移值是不同的。但对同一溶质在相同条件下进行层析时，比移值就是一个特有的常数，因而可作为定性分析的依据。

本实验利用薄层色谱法对顺、反偶氮苯异构体进行分离、分析，反式偶氮苯在光照射下吸收紫外光形成活化分子。活化分子失去过量的能量，回到顺式或反式基态。得到顺式和反式偶氮苯的异构体。



在薄层板上，没有经过光照射的偶氮苯只有一个斑点，而经过光照射的偶氮苯则有二个斑点。

三、试剂与器材

试剂：固定相为薄层层析用硅胶 G（粒度为 180 目），流动相为无水苯：环己烷 = 1 : 3（体积比），反式偶氮苯（试样溶液的配制：取 0.1g 反式偶氮苯溶于 5mL 无水苯中，将此溶液分放于两个小广口瓶中，置一个广口瓶于太阳光下照射 1h 或用波长为 365nm 的紫外光照射 0.5h，另一个瓶用黑纸包好，避免阳光照射，以与光照后的溶液进行对比）。

器材：广口瓶，载玻片，烘箱，烧杯，毛细管，层析缸等。

四、实验步骤

1. 薄层板的制备。将清洁干燥的载玻片（10cm×3cm）放平，另将 1.5g 硅胶 G 和 3.5mL 去离子水置于小烧杯中，调成糊状后立即倒在载玻片上，并立即用手指头夹住载玻片两边沿水平方向轻轻振荡，使浆状物表面光滑且均匀附在载玻片上，水平放置，同样方法再制一块备用。

2. 薄层板的活化。将铺好的薄层板晾干后，置于 105~110 的烘箱中，恒温 0.5h，冷却后待用。

3. 点样。取管口平整的毛细管（内径 1mm），吸取光照后的偶氮苯溶液，在离薄层板边缘 1cm 的起点线上轻轻点样（注意勿接触薄层），若溶液太稀，一次点样不够，则可待前一次试样点干后，在原点样处再点，点样后的直径不要超过 2mm。再用另一毛细管吸取未经光照的反式偶氮苯溶液在同一块板上点样，两点之间的间距为 1cm。

4. 展开。将展开剂 6mL 环己烷与 2mL 苯倒入小层析缸中（液层高度约 0.5cm）盖上层析缸盖子，待容器内溶剂蒸气达到饱和后，将点好样的薄层板放入缸中进行展开（盖好层析缸）。薄层板与水平成 45°~50°角。当展开剂展开，前沿上升到离板的末端约 1cm 处（约 15~20min），取出薄板，立即用铅笔划出前沿的位置并晾干。

5. 计算 R_f 值。用尺量出斑点中心的移动距离和展开剂前缘的移动距离，并计算出顺、反偶氮苯的 R_f 值。

6. 用另一块板重复 2、3、4 操作。

五、思考题

- 简述薄层层析的原理及在本实验中的应用。
- R_f 值可以用来解释哪些问题？
- 物质的 R_f 值受哪些实验条件的影响？
- 层析缸中展开剂高度超过薄层板上点样线时对薄层色谱有何影响？

实验 2 纸层析法分离与鉴定金属离子

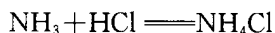
一、实验目的

- 掌握用纸层析法分离 Fe^{3+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 离子的基本原理及操作技术。

2. 掌握相对比移值 R_f 的计算及其应用。

二、实验原理

纸层析又称纸上层析, 简称 PC。它是在滤纸上进行的色层分析法。在滤纸的下端点上 Fe^{3+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 的混合液, 将滤纸插入盛有适量盐酸和丙酮的容器中。滤纸纤维素所吸附的水是固定相, 盐酸丙酮溶液是流动相, 又称展开剂。由于毛细作用, 展开剂沿着滤纸上升, 当它经过所点的试液时, 试液的每个组分向上移动。 Fe^{3+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 各组分在固定相和流动相中具有不同的分配系数, 即在两相中具有不同的溶解度。在水中溶解度较大的组分倾向于滞留在某个位置, 向上移动的速度较慢; 而在盐酸丙酮溶液中溶解度较大的组分倾向于随展开剂向上流动, 向上流动的速度较快。通过足够长的时间后所有组分可以得到分离。然后, 分别用氨水和硫化钠溶液喷雾, 氨与盐酸反应生成氯化铵。



硫化钠与各组分生成黑色硫化物 (Fe_2S_3 、 CoS 、 NiS 、 CuS)。

各组分在纸层析中的相对比移值用 R_f 表示:

$$R_f = \frac{\text{斑点中心移动距离}}{\text{溶剂前沿移动距离}} = \frac{h}{H} \quad (2-1)$$

R_f 值与溶质在固定相和流动相间的分配系数有关。当层析纸 (滤纸)、固定相、流动相的温度一定时, 每种物质的 R_f 值为一定值。所以各金属离子的分离情况可用比移值 R_f 来衡量, 并用它们与 NH_3 、丁二酮肟、 Na_2S 等显色剂反应来确证, 以达到分离分析的目的。

三、试剂与器材

试剂: HCl ($6\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 丙酮, 浓氨水, Na_2S ($0.5\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), FeCl_3 ($0.03\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), CoCl_2 ($0.03\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), NiCl_2 ($0.03\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), CuCl_2 ($0.03\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), FeCl_3 、 CoCl_2 、 NiCl_2 、 CuCl_2 混合液 (溶液浓度均为 $0.03\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

器材: 滤纸 $13\text{cm} \times 16\text{cm}$, $\phi 0.1\text{cm}$ 毛细管 (学生自己拉制), 800mL 烧杯, 塑料薄膜。

四、实验步骤

1. 取一张 $13\text{cm} \times 16\text{cm}$ 的滤纸作层析纸。以 16cm 长的边为底边, 距离底边 2cm 处用铅笔画一条与底边平行的基线, 按图 2-1 将纸折叠成 8 片, 除左右最外两片以外, 在每片铅笔线的中心位置上依次写上 Fe^{3+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 混合物和未知样品。

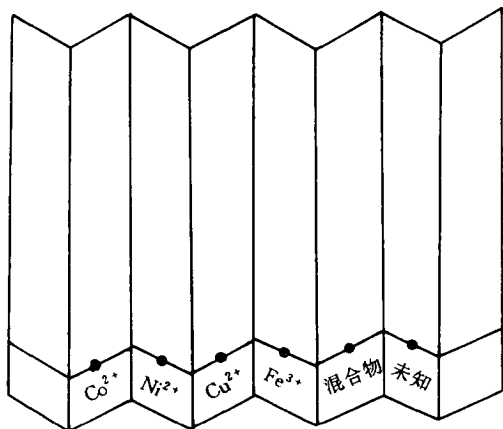


图 2-1 滤纸折叠示意图

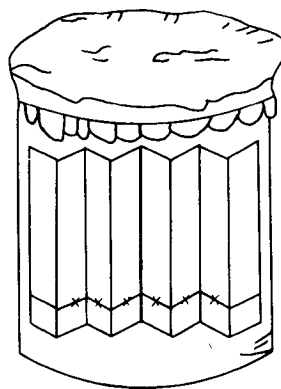


图 2-2 纸层析简易装置示意图

2. 分别配制浓度为 $0.03\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 FeCl_3 、 CoCl_2 、 NiCl_2 、 CuCl_2 溶液和它们的混合液，用干净的专用毛细管分别在层析纸上按上述指定位置点样，最后用专用毛细管点未知样品。每种试液的斑点直径应小于 0.5cm 。让层析纸上试液的斑点自然干燥。

3. 在 800mL 烧杯中加入丙酮 35mL 、 $6\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸 10mL ，盖上塑料薄膜轻轻振摇烧杯，充分混和展开剂。揭开塑料薄膜，按图 2-2 所示把层析纸放入烧杯内，展开剂液面应略低于层析纸上的铅笔线，盖上塑料薄膜，用橡皮筋固定。

4. 仔细观察与记录在层析过程中发生的现象。当展开剂前沿上升离层析纸顶部 2cm 处停止层析，取出层析纸，及时用铅笔画下展开剂前沿位置。

5. 在通风橱内自然干燥层析纸。干燥后用浓氨水喷雾，使之润湿，再喷 $0.5\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫化钠溶液，自然干燥层析纸。

五、实验现象记录与数据处理

1. 记录各组分在层析时显示的颜色。

2. 用铅笔画下各黑斑点的轮廓，测量斑点中心位置至基线的垂直距离 h ；测量展开剂前沿至基线垂直距离 H （精确至 0.1cm ）；记录测量结果。

3. 计算 R_f 值。

4. 根据对照试验（颜色、 R_f 值），试判断未知组分中是何种物质。

实验现象记录 and 数据处理

层析物质名称	FeCl_3	CoCl_2	NiCl_2	CuCl_2	混合物	未知物
层析时颜色						
喷雾氨水显色						
喷雾硫化钠显色						
h 值						
H 值						
R_f 值						

实验 3 苯、甲苯气相色谱分析

一、实验目的

1. 了解气相色谱仪的基本结构和工作原理。
2. 学习气相色谱仪的使用。
3. 学习、掌握色谱柱的柱效能测定方法。

二、基本原理

色谱柱的柱效能是色谱柱的一项重要指标，可用于考察色谱柱的制备工艺操作水平以及估计对试样分离的可能性。在一定色谱条件下，色谱柱的柱效可用有效塔板数（ $n_{\text{有效}}$ ）及有效塔板高度（ $H_{\text{有效}}$ ）来表示，塔板数愈多或塔板高度愈小，色谱柱的分离效能愈好。有效塔板数及有效塔板高度的计算公式如下：

$$H_{\text{有效}} = 5.54 \left(\frac{t_R}{Y_{1/2}} \right)^2 = 16 \left(\frac{t_R}{Y} \right)^2 \quad (3-1)$$

$$H_{\text{有效}} = \frac{L}{n_{\text{有效}}}, t'_R = t_R - t_M \quad (3-2)$$

式中 t_R 和 t'_R 分别为组分的保留时间和调整时间； t_M 为空气的保留时间（死时间）； $Y_{1/2}$ 为色谱峰的半峰宽度； Y 为色谱峰的峰底宽度； L 为色谱峰的长度。

由于不同组分在固定相和流动相之间的分配系数不同，因而同一色谱柱对不同组分的柱效能也不相同。所以在报告 $n_{\text{有效}}$ 时，应注明对何种组分而言。

三、试剂与器材

试剂：苯、甲苯、邻二甲苯、乙醚等，均为分析纯。分别将 2.5mL 苯和甲苯放入 50mL 容量瓶中，用邻二甲苯稀释至刻度。

器材：气相色谱仪（热导池检测器），填充色谱柱（固定相：邻苯二甲酸二壬酯；担体：硅烷化白色担体；柱内径：3 或 4mm；柱长：1m 或 2m），微量注射器（50 μ L 或 10 μ L）。

四、实验步骤

1. 开启仪器，设定实验操作条件（参见附录 1 102G 型气相色谱仪的操作）。

按气相色谱仪操作步骤开启仪器。设定柱温为 110 $^{\circ}$ C，气化温度为 150 $^{\circ}$ C，检测器温度为 110 $^{\circ}$ C，载气流量为 30~40mL $\cdot$ min $^{-1}$ 左右；记录仪的量程为 5mV，纸速 600mm $\cdot$ h $^{-1}$ 。待仪器上电路和气路系统达到平衡、记录仪基线平直时，即可进样。

2. 测定试样的保留时间 t_R 。用微量注射器吸取 3 μ L 试液进样，记录试样色谱图，重复两次。

3. 测定死时间 t_M ，吸取 0.3~0.5mL 空气进样，记录空气色谱图，重复两次。

4. 实验完毕后，用乙醚抽洗微量注射器数次，并按仪器操作步骤关闭仪器。

五、数据记录及处理

1. 记录实验条件。

(1) 色谱柱：柱长，内径，固定相；

(2) 载气及其流量、柱前压；

(3) 柱温，气化温度；

(4) 检测器，桥电流，温度；

(5) 进样量；

(6) 记录仪量程和纸速。

2. 测量空气色谱图中的死时间 (t_M)，以 mm 表示。

3. 测量试样色谱图中苯和甲苯的保留时间 (t_R) 及色谱半峰宽度 ($Y_{1/2}$)，均以 mm 表示。

4. 分别计算苯和甲苯在该色谱柱上的有效塔板数 ($n_{\text{有效}}$) 和有效塔板高度 ($H_{\text{有效}}$)。将各数据列表表示。

六、思考题

1. 本实验测得的有效塔板数可说明什么问题？

2. 试比较测得的苯和甲苯的 $n_{\text{有效}}$ 值，并说明为什么用同一根色谱柱分离不同组分时， $n_{\text{有效}}$ 不同？

实验 4 乙醇-水溶液的分馏

一、实验目的

1. 了解分馏原理及其应用。

2. 正确掌握简单分馏操作。

二、实验原理

蒸馏和分馏都是分离提纯液体有机化合物的重要方法。然而普通蒸馏主要用于分离两种以上沸点相差较大的液体混合物，而分馏是分离和提纯沸点相差较小的液体混合物。从理论上讲，只要对蒸馏的馏出液经过反复多次的普通蒸馏，也可以分离沸点相差较小的液体混合物。但这样做，操作既烦琐、费时又浪费很大，而应用分馏则能克服这些缺点，提高分离效率（参见《实验化学原理与方法》第四章，第四节）。

分馏操作是使沸腾的混合物蒸气通过分馏柱，在柱内蒸气中高沸点组分被柱外冷空气冷凝变成液体，流回烧瓶中，使继续上升的蒸气中含低沸点组分相对增加。冷凝液在回流途中遇到上升的蒸气，两者之间进行了热量与质量的交换，上升的蒸气中高沸点组分又被冷凝下来。低沸点组分继续上升，在柱中如此反复地气化、冷凝。当分馏柱效率足够高时，首先从柱上面出来的是纯度较高的低沸点组分。随着温度的升高，后蒸出来的主要是高沸点组分，留在蒸馏烧瓶中的是一些不易挥发的物质。

分馏原理也可通过二元沸点-组成（图 4-1）来说明。图中下面一条曲线是 A、B 两种化合物不同组成时的液体混合物沸点，而上面一条曲线是指在同一温度下，与沸腾液体相平衡时蒸气的组成。例如某混合物在 90°C 沸腾，其液体含化合物 A 58%（摩尔分数）化合物 B 42%（摩尔分数），见图中 V_1 ，该蒸气冷凝后为 C_2 而与 C_2 相平衡的蒸气相 V_2 其组成 A 为 90%（摩尔分数），B 为 10%（摩尔分数）。由此可见，在任何温度下气相总是比与之相平衡的沸腾液相有更多的易挥发的组分。若将 C_2 继续经过多次气化，多次冷凝，最后可将 A 和 B 分开。但必须指出，凡能形成共沸组成的混合物都具有固定沸点，这样的混合物不能用分馏方法分离。

三、试剂与器材

试剂：60% 乙醇水溶液 100mL。

器材：如图 4-2 所示的分馏装置。

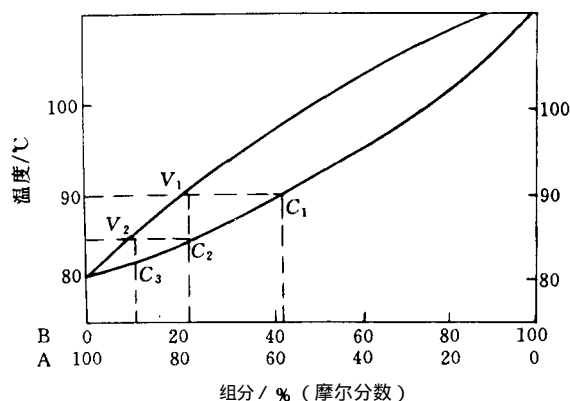


图 4-1 A-B 系统沸点-组成曲线图

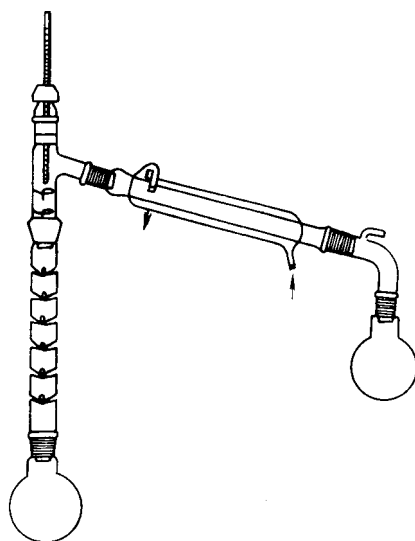


图 4-2 分馏装置

四、实验步骤

1. 按图 4-2 安装分馏装置。必要时需在分馏柱上包上保温石棉绳。
2. 在 250mL 圆底烧瓶中，加入 60% 的乙醇水溶液 100mL，并加入 2~3 粒沸石。
3. 打开冷凝水，用水浴加热到溶液沸腾，蒸气慢慢升入分馏柱。此时要严格控制加热温度，使蒸气慢慢上升到柱顶。
4. 注意观察温度的读数，当蒸气温度约为 78℃ 时，收集馏出液，馏出液速度控制在每秒 1~2 滴。
5. 当蒸气温度发生持续下降时，即可停止加热，得到约 50~60mL 馏出液。
6. 用酒精比重计测定馏出液的质量分数。
7. 记录馏出液的馏出温度范围、质量分数、体积及前馏分和残留液的体积。

五、思考题

1. 分馏与简单蒸馏在原理及应用上有何不同？通过得到的实验结果比较说明之。
2. 分馏装置中，温度计的位置如何？过高、过低对馏出结果有何影响？
3. 为什么要加入沸石？在液体沸腾时可否补加沸石？为什么？
4. 可否用反复分馏得到 100% 乙醇？为什么？可采用什么方法制取 100% 乙醇？

实验 5 粗苯甲酸乙酯的水蒸气蒸馏

一、实验目的

1. 了解水蒸气蒸馏原理及其应用。
2. 掌握水蒸气蒸馏的装置和操作。
3. 掌握分液漏斗的使用和保管。

二、实验原理

水蒸气蒸馏也是分离和提纯有机化合物的常用方法（参见《实验化学原理与方法》第四章的第四节），但被提纯的物质必须具备以下条件：不溶或难溶于水；与水一起沸腾时不发生化学变化；在 100℃ 左右该物质蒸气压至少在 1.33kPa 以上。

水蒸气蒸馏常用于下列几种情况：

- (1) 在常压下易发生分解的高沸点有机物。
- (2) 含有较多固体的混合物，而用一般蒸馏、萃取或过滤等方法又难以分离。
- (3) 混合物中含有大量树脂状物质或不挥发性杂质，采用蒸馏、萃取等方法也难以分离。

在难溶或不溶于水的有机物中通入水蒸气或与水一起共热，使有机物随水蒸气一起蒸馏出来，这种操作称为水蒸气蒸馏。根据分压定律，这时混合物的蒸气压应该是各组分蒸气压之和，即：

$$p_{\text{总}} = p_{\text{H}_2\text{O}} + p_{\text{A}} \quad (5-1)$$

式中 $p_{\text{总}}$ 是混合物总蒸气压； $p_{\text{H}_2\text{O}}$ 为水的蒸气压； p_{A} 为不溶或难溶于水的有机物的蒸气压。

当 $p_{\text{总}}$ 等于 101.325kPa 时，该混合物开始沸腾。显然，混合物的沸点低于任何一个组分的沸点，即该有机物在比其正常沸点低得多的温度下，可被蒸馏出来。馏出液中有机物的质量 (m_{A}) 与水的质量 ($m_{\text{H}_2\text{O}}$) 之比，应等于两者的分压 (p_{A} 、 $p_{\text{H}_2\text{O}}$) 与各自相对分子质量 (M_{A} 和 $M_{\text{H}_2\text{O}}$) 乘积之比。

$$\frac{m_A}{m_{H_2O}} = \frac{p_A M_A}{p_{H_2O} M_{H_2O}} \quad (5-2)$$

三、试剂与器材

试剂：粗苯甲酸乙酯 10mL，或粗乙酸正丁酯 20mL。

器材：水蒸气蒸馏装置是由水蒸气发生器和简易蒸馏装置两部分组合而成（见图 5-1）。

四、实验步骤

1. 按图 5-1 安装好实验装置，注意各仪器连接处不得漏气。

2. 在水蒸气发生器中加入约容器体积 2/3 的水，安全管下端要接近器底，三口烧瓶中加入 10mL 粗苯甲酸乙酯。

3. T 形管上的螺旋夹打开，开通冷凝水。

4. 加热水蒸气发生器，使水迅速沸腾。

5. 当 T 形管支管有水蒸气冲出时，旋紧螺旋夹，使水蒸气导入三口烧瓶中，不久即有混浊液流入接受器。

6. 当馏出液透明澄清时，即可停止蒸馏。应先打开螺旋夹再停止加热。

7. 馏出液倒入分液漏斗中静止，分层后，分出有机层，置于小锥形瓶中，加适量干燥剂无水氯化钙至透明，滤去干燥剂用量筒量取

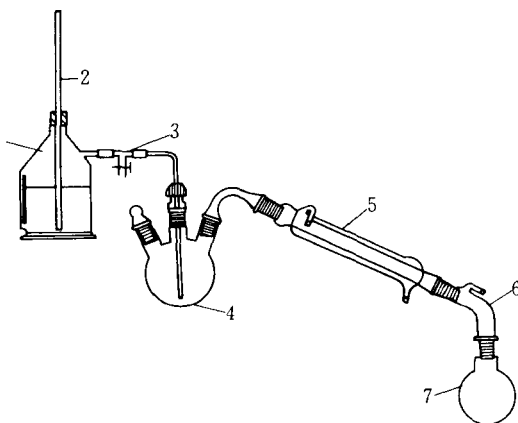


图 5-1 水蒸气蒸馏装置

1—水蒸气发生器； 2—安全管； 3—T 形管及螺旋夹；

4—三口烧瓶； 5—直形冷凝管； 6—接引管；

7—接受瓶（圆底烧瓶）

体积。

五、思考题

1. 水蒸气蒸馏的原理是什么？有什么实用意义？
2. 安全管和 T 形管各有什么作用？
3. 如何判断水蒸气蒸馏的终点？
4. 停止水蒸气蒸馏操作上要注意什么？为什么？
5. 使用分液漏斗应注意些什么？

实验 6 苯甲酸乙酯的减压蒸馏

一、实验目的

1. 了解减压蒸馏的原理和应用。
2. 掌握减压蒸馏装置的安装和操作。

二、实验原理

高沸点有机化合物在常压下蒸馏往往易发生分解、氧化或聚合。在这种情况下，采用减压蒸馏方法最为有效（参见《实验化学原理与方法》第四章的第四节）。

液体的沸点随外界压力变化而变化，若降低系统的压力，则液体的沸点温度亦将随之降低。化合物的沸点与压力之间的关系可粗略估算，当压力降低到 2.666kPa (20mmHg) 时，其沸点比常压下的沸点低 100~120℃，要正确了解物质在不同压力下的沸点，可从有关文献中

查阅压力-沸点关系图或计算表。也可从经验曲线图 6-1 中近似地推算其在不同压力下的近似沸点。

例如，某化合物在常压的沸点为 234°C ，欲找其 2.666kPa 压力下的沸点。可在图 6-1 的 B 线上找出相当于 234°C 的点，将此点与 C 线上 2.666kPa 处的点联成一直线，此直线延长与 A 相交，此交点即为该化合物在 2.666kPa 时的沸点，约为 118°C 。

三、试剂与器材

试剂：苯甲酸乙酯 20mL 。

器材：减压蒸馏装置是由蒸馏、抽气、测压和保护四部分组成，见图 6-2。

蒸馏部分由圆底烧瓶、克氏蒸馏头、冷凝管、接引管和接受器组成。在克氏蒸馏头带有支管一侧的上口插温度计，另一口则插一根末端拉成毛细管的厚壁玻璃管 1，毛细管下端离瓶底约 $1\sim 2\text{mm}$ ，在减压蒸馏中，毛细管主要起到沸腾中心、搅动作用，并防止暴沸保持沸腾平稳。

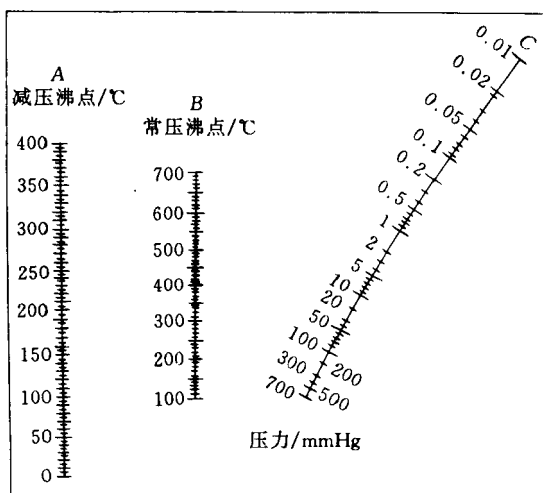


图 6-1 有机液体的沸点-压力的经验计算图
($1\text{mmHg} = 133.322\text{Pa}$)

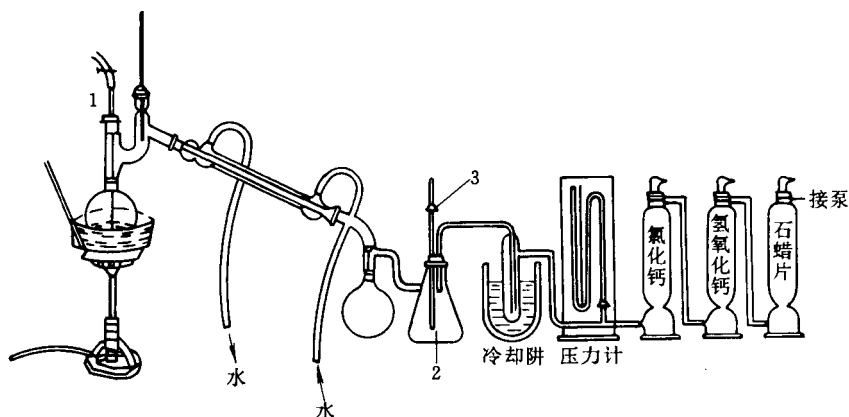


图 6-2 减压蒸馏装置

1—末端拉成毛细管的厚壁玻璃管； 2—吸滤瓶； 3—三通活塞

在减压蒸馏装置中，接引管一定要带有支管，该支管与抽气系统连接，在蒸馏中若要收集不同馏分，则可用多头接引管，见图 6-3。多头接引管上也要带有支管。根据馏程范围可转动多头接引管集取不同馏分。接受器可用圆底烧瓶、吸滤瓶等耐压器皿，但不能用锥形瓶。

保护系统是由安全瓶（通常用吸滤瓶）、冷阱和两个或两个以上的吸收塔组成。吸滤瓶 2 的瓶口上装两孔橡皮塞，一孔通过玻璃管、橡皮塞依次与冷阱、水银压力计及吸收塔油泵相连接，另一孔接三通活塞 3。安全瓶的支口与接引管上部的支管通过橡皮管连接。安全瓶的作用是使减压系统中的压力平稳，即起缓冲作用。三通活塞 3 是用来调节系统压力和放空。冷却阱一般放在广口保温瓶中，用冰-盐等冷却剂冷却，目的是把减压系统中低沸点有机溶剂充分冷凝下来，以保护油泵。泵前装有两个或三个吸收塔。

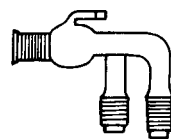


图 6-3 多头接引管

吸收塔内的吸收

剂的种类常由蒸馏液体性质而定。一般有无水氯化钙、固体氢氧化钠、钠石灰、粒状活性炭、石蜡片和分子筛等。其目的是吸收酸性气体、水蒸气和有机物蒸气。若用水泵减压，则不需要吸收装置。

测量减压系统的压力，可用水银压力计。一般有一端封闭的封闭式 U 形压力计和开口式压力计。见图 6-4。压力计的使用 开口 U 形压力计，一端接在安全瓶或冷阱上，另一端通大气，当减压系统压力稳定时，先读下两臂水银柱高度之差（注意： $1\text{mmHg}=133.322\text{Pa}$ ），然后用实测的大气压力减去该差值，即为系统的压力或真空度。封闭式 U 形压力计其两水银柱差即为系统的压力。

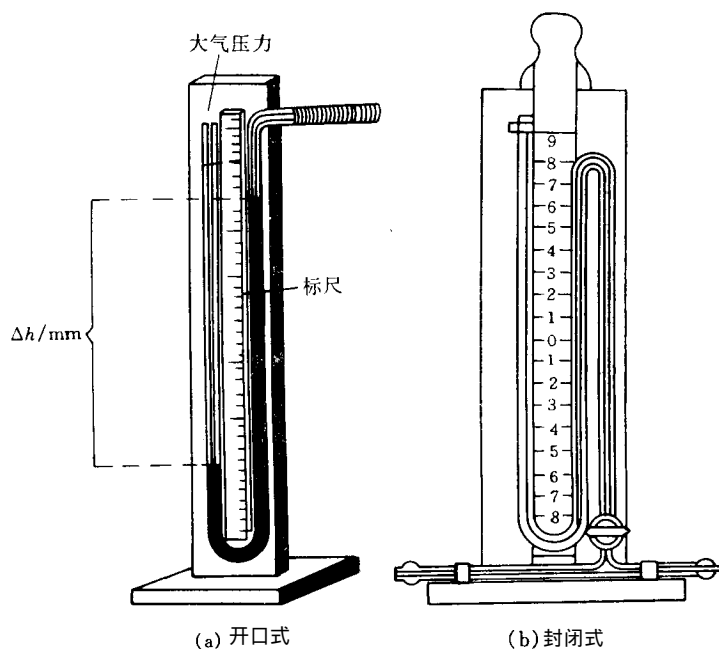


图 6-4 U 形水银压力计

抽气减压，实验室常用水泵或油泵减压。水泵常因其结构、水压和水温等因素，不易得到较高的真空度。油泵可获得较高真空度，好的可抽到真空度 13.3Pa 。油泵结构较为精密，如果有挥发性的有机溶剂、水或酸性蒸气进入，会损坏油泵的机械结构和降低真空泵油的质量。如果有有机溶剂被油吸收，增加了蒸气压从而降低了抽真空的效能；若水蒸气被吸入，能使油乳化，使泵油品质变坏；酸性蒸气的吸入能腐蚀机械，因此使用油泵时必须十分注意。

四、实验步骤

1. 按图 6-2 安装好减压装置（2~3 人一组），安装时，蒸馏部分磨口连接要紧密配合，也可在磨口处涂上少量真空脂。

2. 检查装置的气密性，系统的低压至少要达到 1.3kPa (10mmHg)。

3. 将 20mL 苯甲酸乙酯倒入圆底烧瓶中，然后小心插入毛细管。

4. 先打开安全瓶上活塞，开泵抽气，慢慢关闭安全瓶活塞，调节毛细管上的螺旋夹，使液体中产生连续而平和的小气泡。

5. 开启冷凝水，慢慢打开压力计上的活塞，调节二通活塞 3 使压力读数为 $1.3\sim 2.7\text{kPa}$ 左右，加热，控制馏速为每秒 $1\sim 2$ 滴，当系统达到稳定时，立即记下压力和温度，作为第一

组的数据。

6. 移去热源，调节三通活塞 3，使压力为 4.0~5.3kPa，6.7~8.0kPa，10.7~13.3kPa，重复同样操作，记下第二、第三、第四组数据。

7. 上述数据填入下表，并根据文献值找出相应压力下的沸点高度。

编 号	压力/Pa	实际 $t/^{\circ}\text{C}$	文献 $t/^{\circ}\text{C}$
1			
2			
3			
4			

8. 停止蒸馏（蒸馏结束后），一定要先移去热源，旋开毛细管上端螺旋夹，再慢慢打开安全瓶上活塞，使水银压力计逐渐恢复原状。再关闭油泵，最后拆卸仪器。

五、思考题

1. 什么是减压蒸馏？有什么实用意义？
2. 如何检查减压系统的气密性。
3. 油泵减压和水泵减压时，是否都需要吸收保护装置？为什么？
4. 开始减压蒸馏时，为什么先抽气再加热？而结束时为什么先停止加热，再关泵？顺序能否颠倒？为什么？

实验 7 粗乙酰苯胺重结晶

一、实验目的

1. 了解重结晶法提纯固体有机物的原理和意义。
2. 掌握重结晶的基本操作法（包括回流、抽滤、热过滤、脱色等）。

二、实验原理

重结晶是提纯固体有机化合物常用方法之一。从有机反应物或天然有机物中要得到纯的固体有机物往往要通过重结晶（参见《实验化学原理与方法》第四章的第三节）。

固体有机化合物在溶剂中的溶解度随温度变化而改变，一般温度升高溶解度也增加，反之则溶解度降低。如果把固体有机物溶解在热的溶剂中制成饱和溶液，然后冷却到室温以下，则溶解度下降，原溶液变成过饱和溶液，这时就会有结晶固体析出。利用溶剂对被提纯物质和杂质的溶解度的不同，使杂质在热滤时被除去或冷却后被留在母液中，从而达到提纯的目的。重结晶提纯方法主要用于提纯杂质含量小于 5% 的固体有机物，杂质过多常会影响结晶速度或妨碍结晶的生长。

重结晶的关键是选择适宜的溶剂。合适的溶剂必须具备下列条件。

- (1) 与被提纯的物质不起化学反应。
- (2) 被提纯物质在热溶剂中溶解度大，冷却时溶解度小，而杂质在冷、热溶剂中溶解度都较大，杂质始终留在母液中。或者杂质在热溶剂中不溶解，这样在热过滤时也可把杂质除去。
- (3) 溶剂易挥发，但沸点不宜过低，便于与结晶分离。
- (4) 希望价格低、毒性小、易回收、操作安全。

常用的重结晶溶剂及有关性质见表 7-1。

表 7-1 常用的重结晶溶剂

溶 剂	沸点/℃	冰点/℃	相对密度	与水的混溶性 ^①	易燃性 ^②
水	100	0	1.0	+	0
甲醇	64.96	<0	0.7914 ²⁰	+	+
95%乙醇	78.1	<0	0.804	+	++
冰醋酸	117.9	16.7	1.05	+	+
丙酮	56.2	<0	0.79	+	+++
乙醚	34.51	<0	0.71	—	++++
石油醚	30~60	<0	0.64	—	++++
乙酸乙酯	77.06	<0	0.90	—	++
苯	80.1	5	0.88	—	++++
氯仿	61.7	<0	1.48	—	0
四氯化碳	76.54	<0	1.59	—	0

“+”表示混溶；“—”表示不混溶。

② “0”表示不燃；“+”表示易燃；“+”越多，表示易燃程度越大。

选择溶剂具体试验方法：取 0.1g 结晶固体于试管中，用滴管逐滴加入溶剂，并不断振荡试管，待加入溶剂约为 1mL 时，注意观察是否溶解，若完全溶解或间接加热至沸完全溶解，但冷却无结晶析出，表明该溶剂是不适用的；若此物质完全溶于 1mL 沸腾的溶剂中，冷却后析出大量结晶，这种溶剂一般认为是合适的；如果试样不溶于或未完全溶于 1mL 沸腾的溶剂中，则可逐步添加溶剂，每次约加 0.5mL，并继续加热至沸，当溶剂总量达 4mL，加热后样品仍未全溶（注意未溶的是否是杂质），表明此溶剂也不适用。若该物质能溶于 4mL 以内热溶剂中，冷却后仍无结晶析出，必要时可用玻璃棒摩擦试管内壁或用冷水冷却，促使结晶析出，若晶体仍不能析出，则此溶剂也是不适合的。

按上述方法对几种溶剂逐一试验、比较可选出较为理想的重结晶溶剂。当难以选出一种合适溶剂时，常使用混合溶剂。混合溶剂一般由两种彼此可互溶的溶剂组成，其中一种较易溶解结晶，另一种较难或不能溶解。常用的混合溶剂有：乙醇-水，乙醇-乙醚，乙醇-丙酮，乙醚-石油醚，苯-石油醚等。

三、试剂与器材

试剂：粗乙酰苯胺 5g，15%乙醇-水约 50mL。

器材：见图 7-1。

四、实验步骤

本实验为二人一组。

1. 称取 5g 粗乙酰苯胺，加入 100mL 圆底烧瓶中，加入 15%乙醇水溶液约 30mL，投入 1~2 粒沸石，装上回流冷凝管（见图 7-1），打开冷却水。

2. 用水浴加热，保持乙醇回流，观察固体溶解情况。

3. 若有固体不溶或油状物，可从冷凝管上口逐次补加溶剂，每次 5mL，直至固体恰好完全溶解，再过量 5mL 溶剂。

4. 移去水浴，稍冷后，取下圆底烧瓶，加入少许活性炭，装上冷凝管，继续水浴加热，回流 5~10min。

5. 在制备饱和溶液的同时，剪好滤纸并将布氏漏斗和吸滤瓶放在水浴中预热。

6. 按图 7-2 安装好预热好的抽滤装置，将热溶液趁热抽滤，并尽快将滤液倒入干净的烧杯。

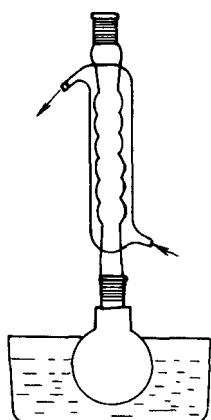


图 7-1 回流冷凝装置

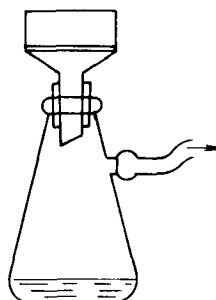


图 7-2 抽滤装置

7. 滤液慢慢冷却至室温，晶体析出后，再进行抽滤，用少量水洗涤晶体，挤压晶体抽干。
8. 产品晾干或用红外灯烘干，称重，计算收率。

五、思考题

1. 重结晶法提纯固体有机化合物，有哪些主要步骤？简单说明每步的目的？
2. 重结晶所用的溶剂为什么不能太多，也不能太少？如何正确控制溶剂量？
3. 活性炭为什么要在固体物质全溶后加入？又为什么不能在溶液沸腾时加入？
4. 在活性炭脱色热抽滤时，若发现母液中有少量活性炭，试分析可能由哪些原因引起的？应如何处理？
5. 停止抽滤后，发现水倒流入吸滤瓶中去，这是什么原因所引起的？

实验 8 咖啡因的提取

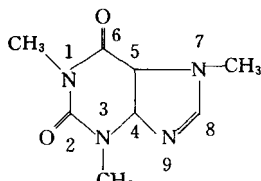
一、实验目的

1. 学习从茶叶中提取咖啡因的原理与方法。
2. 掌握索氏提取器的原理及其应用。
3. 掌握升华原理及操作。

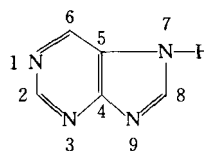
二、实验原理

茶叶中含有多种黄嘌呤衍生物的生物碱，其主要成分为含量约占 1%~5% 的咖啡因（caffeine，又名咖啡碱），并含有少量茶碱和可可豆碱，以及 11%~12% 的丹宁酸（又名鞣酸），还有约 0.6% 的色素、纤维素和蛋白质等。

咖啡因的化学名为 1,3,7-三甲基-2,6-二氧嘌呤，其结构为：



咖啡因（1,3,7-三甲基-2,6-二氧嘌呤）



嘌呤

纯咖啡因因为白色针状结晶体，无臭，味苦，置于空气中可风化，易溶于水、乙醇、氯仿、

丙酮，微溶于石油醚，难溶于苯和乙醚。它是弱碱性物质，水溶液对石蕊试纸呈中性反应。咖啡因在 100°C 时失去结晶水并开始升华， 120°C 升华显著， 178°C 时很快升华。无水咖啡因的熔点为 238°C 。

咖啡因具有刺激心脏、兴奋大脑神经和利尿等作用，因此可单独作为药物或出现在药物配方中。

咖啡因可由人工合成法或提取法获得。本实验采用提取法从茶叶中提取咖啡因。利用咖啡因易溶于乙醇、易升华等特点，以 95%乙醇作溶剂，通过索氏提取器（或回流）进行连续抽提，然后浓缩、焙炒而得粗制咖啡因，再通过升华提取得到纯的咖啡因（参见《实验化学原理与方法》第四章的第四节）。

三、试剂与器材

试剂：茶叶，95%乙醇，生石灰。

器材：60mL 索氏提取器一套，蒸发皿，玻璃漏斗，蒸馏头，接受管，50mL 锥形瓶，直形冷凝管。

四、实验装置

1. 索氏提取器。固-液萃取是从天然物如植物中提取固体天然产物常用的方法。利用溶剂对样品中被提取成分与杂质之间溶解度不同而达到分离提取的目的。索氏提取器（或脂肪提

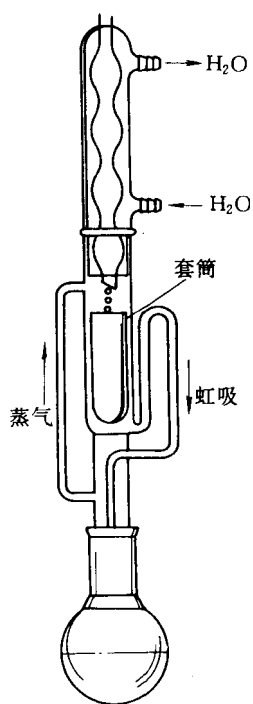


图 8-1 索氏提取器

取器）是一种实验室常用的连续固-液提取装置，见图 8-1 所示，将被提取的固体置于由滤纸做成的套筒中，低沸点的溶剂置于圆底烧瓶，被加热回流，溶剂蒸气通过左边的侧管上升到冷凝管并被冷凝液化，液滴滴入有固体的套筒，热溶剂充满套筒，把所需的化合物从固体中通过溶解而提取出来。当套筒被溶剂充满时，右边的侧管发生虹吸作用，含有被提取物的溶剂全部流回到烧瓶中。蒸发、冷凝、提取、虹吸的过程重复无数次后，被提取成分浓缩在蒸馏瓶中。由于被提取物的沸点比溶剂高，或者被提取物是固体，所以集中在烧瓶中。在每一次提取过程中，都是纯溶剂被蒸发到套筒中溶解被提取物，因而使用的溶剂量较少，即能达到良好的提取效果。

2. 回流提取装置。在无索氏提取器的情况下，可采用回流冷凝装置（见图 7-1）一般回流冷凝装置所用溶剂量较大，且提取效果较索氏提取器差。

3. 升华装置。具有较高蒸气压的固体物质，在加热到熔点以下，不经过熔融而直接变成蒸气，蒸气遇冷再凝结成固体的过程称为升华。用升华法可制得纯度较高的产品，但此法损失较大。

在蒸发皿中加入已充分干燥的待升华物质，蒸发皿上盖一张带有密集小孔的滤纸，再倒扣一个口径比蒸发皿略小的玻璃漏斗。

为避免蒸气逸出，在漏斗颈部塞一小团棉花。图 8-2 即为常压升华装置。

五、实验步骤

称取 5g 茶叶末，将其装入滤纸套筒中，把套筒小心地插入索氏提取器中，取 40mL 95%乙醇加入 60mL 平底烧瓶中，加入几粒沸石，按图 8-1 安装好装置。加热水浴，连续提取 2~2.5h 后，提取液颜色较淡，待溶液刚刚虹吸流回烧瓶时，立即停止加热。

安装好蒸馏装置，水浴上进行蒸馏，蒸出大部分乙醇并回收乙醇。残液（约 5~10mL）倒入蒸发皿中，加入 2g 研细的生石灰粉，在玻璃棒不断搅拌下于蒸汽浴上将溶剂蒸干。再在石棉网上用小火小心地将固体焙炒至干。

取一只合适的玻璃漏斗，罩在隔以刺有许多小孔的滤纸的蒸发皿上（见图 8-2）。用小火小心加热升华，若漏斗上有水汽应用滤纸擦干。当滤纸上出现白色针状物时，可暂停加热，稍冷后仔细收集滤纸正反面的咖啡因晶体。残渣经拌和后可用略大的火再次升华。合并产品后称重，测熔点。

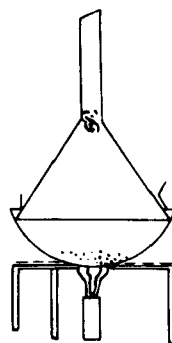


图 8-2 常压升华装置

六、思考题

1. 索氏提取器的原理是什么？与直接用溶剂回流提取比较有何优点？
2. 升华前加入生石灰起什么作用？
3. 升华操作的原理是什么？
4. 为什么在升华操作中，加热温度一定要控制在被升华物熔点以下？
5. 为什么升华前要将水分除尽？
6. 除了升华还可以用何方法提纯咖啡因？

实验 9 酪蛋白的等电点分离

一、实验目的

1. 了解和掌握从牛乳中制备酪蛋白的原理。
2. 掌握从牛乳中制备酪蛋白的方法。

二、实验原理

牛乳中主要的蛋白质是酪蛋白，含量约为 $35\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。酪蛋白是一些含磷蛋白质的混合物，等电点为 4.7。利用等电点时溶解度最低的原理，将牛乳的 pH 调至 4.7 时，酪蛋白就沉淀出来。用乙醇洗涤沉淀物，除去脂类杂质后便得到纯的酪蛋白。

三、试剂与器材

试剂：牛奶 2500mL，95%乙醇 1200mL 无水乙醇 1200mL， $0.2\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{pH}=4.7$ 的醋酸-醋酸钠缓冲液 3000mL。

器材：离心机，抽滤装置，精密 pH 试纸或酸度计，电炉，烧杯，温度计。

四、实验步骤

1. 溶液配制

A 液： $0.2\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸钠溶液。称取 $\text{NaAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 54.44g，定容至 2000mL。

B 液： $0.2\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸溶液。称取优级纯醋酸（含量大于 99.8%）12.0g，定容至 1000mL。

取 A 液 1770mL，B 液 1230mL 混合即得 $\text{pH}=4.7$ 的醋酸-醋酸钠缓冲液 3000mL。

乙醇-乙醚混合液 2000mL，乙醇：乙醚=1：1（体积）。

2. 将 100mL 牛奶加热到 40°C ，在搅拌下慢慢加入预热到 40°C 、 $\text{pH}=4.7$ 的醋酸缓冲液 100mL，用精密 pH 试纸或酸度计调 pH 至 4.7。

将上述悬浮液冷却至室温。离心 15min（3000r/min）。弃去上清液，得酪蛋白粗制品。

3. 用水洗沉淀三次，离心 10min（3000r/min），弃去上清液。

4. 在沉淀中加入 30mL 乙醇，搅拌片刻，将全部悬浮液转移至布氏漏斗中抽滤。用乙醇-乙

醚混合液洗沉淀两次，抽干。

5. 将沉淀摊开在表面皿上，风干得酪蛋白纯品。

6. 准确称重，计算含量和得率。

五、实验结果

1. 计算 100mL 牛乳中酪蛋白的含量（质量分数）。

2. 计算酪蛋白的得率（测得含量 / 理论含量）；式中理论含量为 3.5g/100mL 牛乳。

六、思考题

1. 等电点沉降蛋白质的原理是什么？

2. 在实验步骤中为什么要对牛乳和醋酸缓冲液进行加热？

实验 10 酵母核糖核酸的分离

一、实验目的

1. 了解核酸的组分。

2. 掌握鉴定核酸组分的方法。

二、实验原理

工业上常以酵母为原料，大量提取核糖核酸。这是因为酵母核酸的大部分是核糖核酸 RNA，而脱氧核糖核酸 DNA 的含量少于 2%，一般不必再花功夫进行分离。另外，酵母来源广泛，菌体易于收集，RNA 提取也较方便。本实验利用浓盐法提取 RNA，其原理是在高盐浓度下，酵母细胞透性增大，胞内 RNA 随水分流向胞外。菌体残渣离心除去，可得含 RNA 的提取液。再利用等电点沉淀法原理，调节 pH 值达到核糖核酸的等电点（ $\text{pH}=2.0\sim 2.5$ ），使 RNA 沉淀，进而分离洗涤、干燥，即制得 RNA 粗品。

三、试剂与器材

试剂：10%NaCl (C.P.)； $6\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{HCl}$ (A.R.)，95%乙醇 (C.P.)，市售鲜酵母。

器材：精密 pH 试纸（ $\text{pH}=0.5\sim 5.0$ ），广泛 pH 试纸（ $\text{pH}=1\sim 14$ ），250mL、100mL、50mL、10mL 烧杯各 1 个，100mL 三角烧瓶 1 个，40mL 布氏漏斗 1 个，125mL 吸滤瓶 1 个，表面皿 1 个，10mL 离心管 2 支；100mL 容量瓶 2 个，50mL 容量瓶 1 个，2mL 移液管 3 支，1mL 移液管 2 支，天平，恒温水浴，离心机。

四、实验步骤

1. 提取。取市售鲜酵母二块，放入 100mL 塑料离心管中称重。将离心管置冰浴中，缓慢加入蒸馏水约 60mL，边加边搅拌均匀。然后于 3000r/min 离心分离 15min 弃去上层清液，所得沉淀物湿酵母泥再称重。根据所得湿酵母泥的质量（如果超过 20.0g 则只取 20.0g），加入 10% 的 NaCl 溶液，使配成的酵母溶液系统中，酵母和水的质量比为 1:10，将此酵母置于沸水浴中煮沸提取 1h。

2. 分离。将酵母液从沸水浴中取出用自来水冷却，然后将悬浮液倒入离心管内，于 3500r/min 离心 20min。沉淀为菌体残渣，上层清液含 RNA。

3. 沉淀 RNA。离心所得上清液倾于 50mL 烧杯中，并置于 250mL 烧杯冰浴内冷却。待冷却至 10℃ 以下时，用滴管小心滴入 $6\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{HCl}$ ，并不断搅拌，调节 pH 值至 2.0~2.5，随后继续于冰浴中静置 10min，使 RNA 充分沉淀。

4. 洗涤及抽滤。上述悬浮液于 3000r/min 离心 10min 分离所得 RNA 沉淀置于 10mL 小

烧杯中,用 95%乙醇 5~10mL 充分搅拌洗涤,然后在布氏漏斗上抽滤。沉淀再用 95%乙醇 5~10mL 洗涤三次,然后于 80℃ 烘干。

五、实验结果

称重,计算 RNA 粗品的产率。

六、思考题

1. 沉淀 RNA 时为什么要调节 pH 至 2.0~2.5?
2. 提取 RNA 为什么要在沸水浴中进行?

实验 11 环己烷-乙醇恒压气液平衡相图绘制

一、实验目的

1. 测定常压下环己烷-乙醇二元系统的气液平衡数据,绘制 101.325kPa 下的沸点-组成的相图。

2. 掌握阿贝折射仪的原理和使用方法。

二、实验原理

液体混合物中各组分在同一温度下具有不同的挥发能力。因而,经过气液间相变达到平衡后,各组分在气、液两相中的浓度是不相同的。根据这个特点,使二元混合物在精馏塔中进行反复蒸馏,就可分离得到各纯组分。为了得到预期的分离效果,设计精馏装置必须掌握准确的气液平衡数据,也就是平衡时的气、液两相的组成与温度、压力间的依赖关系。工业上大量重要的系统平衡数据,很难由理论计算,必须由实验直接测定,即在恒压(或恒温)下测定平衡的蒸气与液体的各组成。其中,恒压数据应用更广,测定方法也较简便。

恒压测定方法有多种,以循环法最普遍。循环法原理的示意图见图 11-1。

在沸腾器 P 中盛有一定组成的二元溶液,在恒压下加热。液体沸腾后,逸出的蒸气经完全冷凝后流入收集器 R。达一定数量后溢流,经回流管流回到 P。由于气相中的组成与液相中不同,所以随着沸腾过程的进行,P、R 两容器中的组成不断变化,直至达到平衡时,气、液两相的组成不再随时间而变化,P、R 两容器中的组成也保持恒定。分别从 R、P 中取样进行分析,即得出平衡温度下气相和液相的组成。

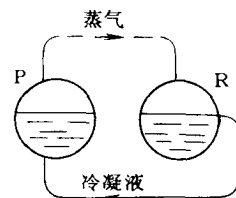


图 11-1 循环法原理示意图

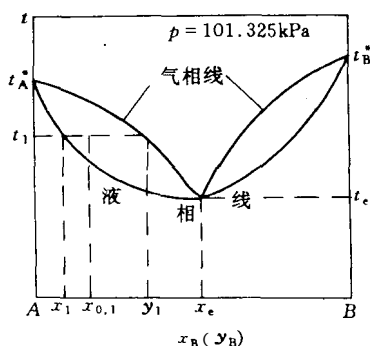


图 11-2 有最低恒沸点的二元气液平衡相图

本实验测定的环己烷-乙醇二元气液恒压相图,如图 11-2 所示。图中横坐标表示二元系的组成(以 B 的摩尔分数表示),纵坐标为温度。显然曲线的两个端点 t_A^* 、 t_B^* 即指在恒压下纯 A 与纯 B 的沸点。若溶液原始的组成为 $x_{0,1}$,当它沸腾达到气液平衡的温度为 t_1 时,其平衡气液相组成分别为 y_1 与 x_1 。用不同组成的溶液进行测定,可得一系列 t - x - y 数据,据此画出一张由液相线与气相线组成的完整相图。图 11-2 的特点是当系统组成为 x_0 时,沸腾温度为 t_0 ,平衡的气相组成与液相组成相同。因为 t_0 是所有组成中的沸点最低者,所以这类相图称为具有最低恒沸点的气液平衡相图。