

图书在版编目 (CIP) 数据

综合化学实验/杨正银,王春明,李志孝主编. —兰州: 兰州
大学出版社, 2005. 4
ISBN 7-311-02567-2

I. 综... II. ①杨...②王...③李... III. 化学实验
IV. 06-3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 040746 号

综合化学实验

主编 杨正银 王春明 李志孝

兰州大学出版社出版发行

兰州市天水南路 222 号 电话 8912613 邮编 730000

E-mail: press@onbook.com.cn

http: //www. onbook. com. cn

兰州大学出版社激光照排中心照排

兰州空军印刷厂印刷

开本: 787×1092 1/16

印张 12.25

2005 年 4 月第 1 版

2005 年 4 月第 1 次印刷

字数 280 千字

印数 1~1000 册

ISBN7-311-02567-2/O·183

定价 18.00 元

综合化学实验

(化学专业)

主编 杨正银 王春明

兰州大学出版社

前 言

创新是人类发展的不竭动力,培养创新人才应是高等教育的首要目标。为了实现这一目标,我们在实验教学和教材编写中始终贯彻了创新精神,因此本书的编写从内容到形式都不同于以往的实验教科书。

当前我国经济建设和科学技术高速发展,市场经济逐渐完善,新形势要求择业者知识面广,一专多能,具有较强的开拓和创新能力。因此深化教育改革、促进高等教育从应试教育向素质教育转变势在必行。为了培养更多高素质的创新人才,使学生能适应新的择业形势,我们在本科化学实验教学改革中制定了淡化专业、拓宽知识面、加强创新能力培养的指导思想。实验课不再仅仅是验证理论课结论的配角,而是自成体系、独立设课。通过系统的实验教学训练,达到提高学生的综合技能,最大限度地锻炼学生灵活应用所学知识和独立从事科研的能力之目的。改变过去由于专业划分太细,造成学生知识面窄,所学知识零碎,只见树木不见森林的局面。综合化学实验正是为实现这一目标而设计的。

综合化学实验 1996 年首先为化学系基础理论班开设,从 2000 年开始过渡到化学专业其它班,从此化学本科教学中取消了原有的五个二级学科(无机、分析、有机、物理化学和高分子),综合化学实验全面取代了原专业实验。综合实验与原专业实验的区别在于:从培养目标看,侧重点不同,专业实验重点培养专门技能,综合实验重点培养综合素质。从实验的组成结构看,在专业实验中一种方法或一种手段构成一个实验,具有单项实验特征,而综合实验中解决某一个问题所需要的若干种方法或手段共同构成一个实验,综合实验是若干个单项实验有机的结合。从所涵盖的二级学科数量看,专业实验只包括一个二级学科,综合实验一般包括两个以上二级学科。综合化学实验是不断深化教学改革的结果,需要做长期艰苦的工作才能终达完善。

由于一级学科专业的多样性,目前兰州大学化学化工学院的综合实验分为三个方向:化学、应用化学和化工,相应的教材分为四册,本书是综合实验化学分册,供化学专业使用。本书主要内容包括六章,第一章是介绍与化学交叉的高新技术,培养创新能力,探索新领域的研究性实验;第二章是与二级学科结合紧密的基础综合实验;第三章是涉及多个二级学科的中级综合实验;第四章是有一定难度的高级综合实验;第五章是培养学生综合分析和独立从事科研的能力,熟悉和掌握查阅文献资料技能的文献实验;第六章是介绍仪器操作的附录。从教学目的看,本书的内容可分为两个层次,第一是必修实验,旨在使学生得到全面的综合性训练,增强综合应用所学知识和独立解决实际问题的能力;第二是选修实验,旨在拓宽知识面,激发学生的创新意识,培养创新能力。按照兰州大学化学化工学院选修综合实验与学位论文相结合的指导思想,学位论文随着选修实验的确定将在大学四年级第一学期开始。因此选修综合实验是由学生按照各自兴趣选择具有指导意义的

研究性实验 (第一章) 相关内容,自己进一步检索文献,设计实验步骤,利用学位论文时间完成实验。

本书是在兰州大学化学化工学院领导的直接关怀和各研究所的积极配合下,经过有关老师的共同努力完成的一项集体成果。这些实验反映了兰州大学化学化工学院目前实验课教学的一些新成果,既满足了教学的急需,也为今后的发展准备了充足的储备实验。本书的前言、第一章、第二章 (2.1,2.2),第三章 (3.1,3.2,3.3,3.4,3.7,3.8,3.9,3.11)、第四章 (4.1)、第五章和附录由杨正银编写,参与本书编写的还有王春明 (1.7,2.8)、田喧 (2.3,2.4,3.10)、李志孝 (3.6)、杨瑛 (2.5,2.6,2.7)、李彦峰 (2.10,2.11,3.15)、刘兴好 (2.9,3.14)、苏中兴 (3.11,3.13)、徐抗成 (3.5)、常希俊 (2.8.3)、张海霞 (2.8.1)、蒲巧生、孙乔玉 (2.8.4)、张功成 (4.2) 和李秀英 (2.3) 等。全书由杨正银、王春明、李志孝统稿审定。吴集贵教授对本书的编写提出了宝贵意见。王春明教授作为学院主管本科教学工作的副院长,在与本书有关的教学改革方案提出与支持方面做了一定的工作。

本书也还有许多不足之处,有待以后进一步完善。

编 者
2005 年 4 月

目 录

第一章 研究性实验	1
实验 1.1 金属纳米氧化物的水热合成及表征	2
实验 1.2 燃料电池	5
实验 1.3 多聚链式反应 (PCR) 技术	8
实验 1.4 分子蒸馏技术	11
实验 1.5 超临界流体萃取	15
实验 1.6 等离子体聚合	18
实验 1.7 石墨和单晶硅原子级面结构的扫描隧道显微镜镜像分析	21
第二章 基础综合实验	26
实验 2.1 肉桂酸乙酯的合成及用 ¹ HNMR <i>J</i> 鉴定顺反异构	26
实验 2.2 7-羟基-4-甲基香豆素的合成及结构测定	28
实验 2.3 磺胺药物的合成及氨基和硫含量测定	30
实验 2.4 桃儿七中鬼臼等木脂素类化合物及黄酮类化合物的分离和鉴定	38
实验 2.5 彩色电视红色荧光粉——YVO ₄ :Eu 的制备	41
实验 2.6 [Co ^(II) Salen] 配合物的合成和载氧作用	44
实验 2.7 配合物 [Cr (NH ₃) ₆] (NO ₃) ₃ 的合成和表征	49
实验 2.8 茶叶中咖啡因和无机微量元素的测定	59
实验 2.9 苯乙烯的悬浮聚合以及在溶液中聚苯乙烯分子尺寸的测定	68
实验 2.10 乙酸乙烯酯溶液聚合及乳液聚合	74
实验 2.11 离子型聚合——环醚的开环聚合	78
第三章 中级综合实验	80
实验 3.1 纳米粉体材料合成及 XRD 和 TG-DTA 表征	80
实验 3.2 手性配合物的制备及光学异构体的离析	85
实验 3.3 2-羰基丙酸 (吡啶-4-甲酰基) 胺和 Mn (II) 配合物的合成及结构测定	90
实验 3.4 配合物的合成、分光化学序和磁性测定	95
实验 3.5 pH 法测定乙二胺合铜的逐级稳定常数	101
实验 3.6 槐花米中芦丁的分离及其甙元—槲皮素和糖的鉴定	108
实验 3.7 对乙酰氨基苯乙醚 (非那西丁) 的合成及结构测定	113
实验 3.8 2,4,6-三氧六氢嘧啶 (巴比土酸) 的合成及 NMR 法测定互变异构	117
实验 3.9 α-氧代戊二酸的合成及结构测定	120

实验 3.10	相转移法合成 α -羟基苯乙酸及其拆分	123
实验 3.11	纳米 TiO_2 粉体的制备及气相色谱法测定比表面积	126
实验 3.12	等温法测定 $\text{KCl}-\text{CeCl}_3-\text{H}_2\text{O}$ 三元水盐体系 25°C 的溶解度	132
实验 3.13	程序升温脱附—— NH_3 在沸石上的化学吸附动力学参数的测定	138
实验 3.14	苯乙烯与丙烯腈 (甲基丙烯酸甲酯) 共聚合反应及竞聚率的测定	142
实验 3.15	甲基丙烯酸甲酯负离子聚合及其红外光谱测定	150
第四章 高级综合实验		153
实验 4.1	大环 Schiff 碱配体和锰 (II) 配合物的合成及对羟基自由基的清除率测定	153
实验 4.2	2,5-环己二烯-1 α ,4 α -双丙二腈 (TCNQ) 的合成及结构测定	159
第五章 文献实验		165
实验 5.1	香豆素衍生物的系列合成及结构测定	166
实验 5.2	染料木黄酮的合成	167
实验 5.3	苯并六员氧杂环的合成	168
第六章 附录		169
附录 1	ZRY-2P 综合热分析仪操作程序	169
附录 2	XD-3A 记录式和 XRD6000X 射线衍射仪的操作程序	170
附录 3	PMX-SI60 NMR 波谱仪操作程序	175
附录 4	UV-240 紫外—可见光分光光度计	179
附录 5	ICP-6500 操作程序	182
附录 6	日立 180-80 原子吸收光度计石墨炉原子化法操作规程	184
附录 7	常用小仪器介绍	185
附录 8	WZZ-1 型旋光仪操作方法	190

第一章 研究性实验

研究性实验从内容到形式都不同于以往的实验,是本书最富有新意的一章。研究性实验属选修实验,是一种开放性的设计实验,主要是把与化学交叉的高新技术知识介绍给同学们,旨在让学生了解最新的学科发展动向,拓宽学生的知识面,激发学生求新、创新的欲望。研究性实验不同于其它章节的实验,不指定具体实验步骤,由学生按照各自兴趣选择相关内容,自己进一步检索文献,确定具体目标,设计实验步骤,结合毕业论文完成实验。由于研究性实验与毕业论文相结合,可以不受课时限制。以下是本章各实验的意义和内容简介。

能源是国民经济发展的动力。人类社会进步的历史表明,每一次能源技术的创新突破都给生产力的发展和社会进步带来了重大而深远的变革。随着人们对环境保护是人类社会可持续发展战略的认识加深,21 世纪将是高效、洁净和安全利用新能源的时代。然而时至今日,绝大部分的能量转化是通过热机过程来实现的。热机过程受卡诺循环的限制,不但转化效率低,而且还造成了严重的能源浪费和环境污染。因此,以氢与氧为燃料和氧化剂的高效洁净的燃料电池将成为新世纪大力发展的理想能源。所以燃料电池、化学激光将是本章介绍的重要内容。

纳米科学被称为 21 世纪的科学,纳米科技的发展在新世纪将会起到举足轻重的作用。随着我国社会经济的进步,对高科技的需求不断增大,纳米材料作为纳米科技的重要组成部分将发挥越来越重要的影响,所以纳米陶瓷、纳米复合材料、纳米制备技术及表征方法简介也是本章的重要内容之一。

从发现 DNA 双链结构到人类基因组计划和线虫、水稻等基因组计划的完成,人类对遗传物质的结构和功能以及表达和调控有了全面和深入的认识,转基因技术已在农作物、蔬菜、水果以及家畜类食品中广为应用。因此,作为对有高特异性引物的外源基因检测的新手段,PCR (Polymerase Chain Reaction) 技术显得越来越重要。从 Saiki 等人 1985 年将 PCR 技术首先应用于 β -珠蛋白基因扩增和镰刀状红细胞贫血的产前诊断,现已涉及到分子生物学、医学、生物工程、考古学等领域,并使这些领域取得了突飞猛进的发展。因此,在该技术诞生后不到十年时间,其发明者 Kary Mullis 就于 1993 年获得了诺贝尔化学奖。所以本章将较具体地介绍 PCR 技术。

自然界的物质绝大多数都是混合物,天然存在的纯物质少之又少。因此,分离提纯技术在化学中占有极其重要的地位。分离技术的发展与人类的生产实践密切相关,伴随着生产力的发展,科学技术的进步,分离方法也从简到繁、从低级到高级不断地改进、创新。本章将介绍超临界流体萃取和分子蒸馏技术等高新分离技术。

等离子体化学是在物理学、化学、电子学、真空技术等学科交叉发展的基础上形成的一门新兴化学分支学科。它随当代高科技的蓬勃发展应运而生,探索并揭示着物质处于

“第四态”——等离子体状态下的性质、特点和化学反应规律,同时为化学合成、制膜技术、表面处理和精细化学加工提供了崭新的技术手段。等离子体技术可使物质吸收电能实现一系列传统化学所不能实现的新的化学反应。该技术已广泛地应用于化学化工、材料科学及半导体工艺等领域。在开发新材料、新能源和全面革新微电子器件工艺方面开辟了许多新的研究方向、取得了许多举世瞩目的应用成果。本章将引入等离子体聚合实验。

实验 1.1 金属纳米氧化物的水热合成及表征

一、概述

“纳米”(nm)是一个尺寸的度量。纳米材料就是材料的组成中至少有一相的晶粒尺寸在 1~100nm 之间的材料。长期以来,人类对物质世界的认识一直停留在宏观和微观两个层次上。所以纳米材料中涉及的许多未知过程和新奇现象,很难用传统物理、化学理论进行解释。直到 20 世纪 80 年代介观理论的提出,才使人类对自然的认识进入了一个新的阶段。介观是指介于宏观和微观之间的领域,包括团簇、纳米和亚微米体系。

纳米材料存在小尺寸效应、表面界面效应、量子尺寸效应及量子隧道效应等基本特性,这些特性使得纳米材料有着传统材料无法比拟的独特性能和极大的潜在应用价值。例如,通过纳米材料处理,可在物体表面形成一层稳定的气体薄膜,使油或水无法与材料的表面接触,这样物体表面既不沾油,也不沾水。如果在玻璃表面涂一层掺有纳米氧化钛的涂料,普通玻璃马上变成具有自清洁功能的“自净玻璃”。当然,纳米材料的应用不仅仅局限于此。表 1-1 列出了纳米材料的主要应用领域。

表 1-1 纳米材料的应用领域

性 能	用 途
磁学性能	磁记录,磁流体,磁存储,磁传感,磁探测器等
电学性能	电极,超导体,量子器件,压敏和非线性电阻材料等
热学性能	低温烧结材料,热交换材料,耐热材料
悬浮性能	各种高精度抛光液
力学性能	超硬、高强、高性能陶瓷和高韧、高硬涂层
光学性能	吸波隐身材料,光反射材料,光开关,光通信,发光材料等
敏感特性	湿敏,温敏,氧敏
催化性能	催化剂
流动性	固体润滑剂,油墨
其他	医用材料(药物载体,细胞分离,医疗诊断),能源材料(燃料电池)

二、基本概念和表征

1. 基本概念

晶粒 (Grain) 指单一晶体,晶粒内部物质均匀,单相,无晶界和气孔存在。

颗粒 (Primary Particle) :一种分离的低气孔率粒子单体,其特点是不可渗透。

团聚体 (Agglomerate) 由一次颗粒通过表面力吸引或化学键合形成颗粒,它是很多一次颗粒的集合。

二次颗粒 (Granules) 通过某种方式人为地制造的粉体团聚离子。

胶粒 (Colloidal Particles) 即胶体颗粒。

2. 纳米粒径的表征

(1) X 射线小角度散射法

小角度 X 射线是指 X 射线衍射中倒易点阵原点附近的相干散射现象。散射角 ϵ (rad) 大约为十分之几度到几度的数量级, ϵ 与颗粒尺寸 d (nm) 及射线 λ (nm) 的关系如下:

$$\epsilon = \frac{\lambda}{d} \quad (1-1)$$

(2) X 射线衍射线线宽法

X 射线衍射线线宽法测定的是细微晶粒尺寸。这种方法不仅可以用于分散颗粒的测定,也可用于晶粒极细的纳米陶瓷的晶粒大小测定。衍射线宽度与晶粒度的关系可由谢乐公式表示如下:

$$\beta = \frac{0.89\lambda}{L \cos \theta}$$

式中: β 为半峰高宽 (rad); L 为晶粒直径 (nm); λ 为 X 射线波长 (nm); θ 为衍射角。

3. 显微结构分析

(1) 透射电子显微镜 (TEM) 法

透射电子显微镜法是一种准确、可靠、直观的测定、分析方法。透射电子显微镜是以聚焦电子束为照明源,使用对电子束透明的薄膜试样,以透射电子为成像信号。电子束经聚焦后均匀照射到试样的某一观察微小区域上,入射电子与试样物质相互作用,透射的电子经放大投射在观察图形的荧光屏上,显出与观察试样区的形貌、组织、结构——对应的图像。透射电子显微镜不仅可以观察纳米颗粒的大小和形状,还可以根据图像的衬度来估计颗粒厚度,是空心还是实心等。

(2) 扫描电子显微镜 (SEM) 法

扫描电子显微镜法是利用聚焦电子束在试样表面按一定时间、空间顺序作栅网式扫描,与试样相互作用产生二次电子信号发射,发射量的变化经转换后在镜外显微荧光屏上逐点呈现出来,得到反映试样表面形貌的二次电子像。二次电子像不但分辨率高 ($2 \sim 10\text{nm}$),而且焦点深度大,因此,可以利用扫描电子显微镜的二次电子像观察表面起伏的

样品和断口以及颗粒三维方向的立体形貌。

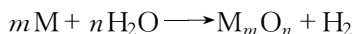
(3) 扫描隧道显微镜 (STM) 法

扫描隧道显微镜法的基本原理是基于量子隧道效应,利用直径为原子尺度的尖针,在离样品表面只有 10^{-12}m 数量级的距离时,双方原子外层的电子云略有重叠。这时在针尖和样品之间加一定电压,便会引发量子隧道效应,样品和针尖间产生隧道电流,其大小与针尖到样品的间距有关,这样可由电流的变化反馈出样品表面起伏的电讯号。隧道电子显微镜是一种直接研究物质表面微观结构的新型显微镜,其横向分辨率为 $0.1\sim 0.2\text{nm}$,深度分辨率达 0.001nm ,并克服了一般电镜中高能电子对样品的辐射损伤、对样品表面起伏分辨率低以及样品必须处于真空的限制。

三、水热合成纳米金属氧化物

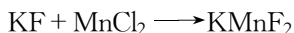
溶剂热反应是高温高压下在溶剂(水、苯等)中进行的有关化学反应的总称,以水为溶剂的水热合成研究已有许多报道,用水热合成的超细粉末的方法可分成以下几类:

(1) 水热氧化

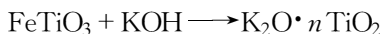


$\text{M} = \text{Cr}, \text{Fe}$ 及合金等。

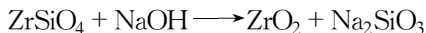
(2) 水热沉淀



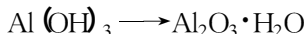
(3) 水热合成



(4) 水热分解



(5) 水热结晶



水热合成法的优点在于可直接生成氧化物,避免了一般液相合成方法需要经过煅烧转化成氧化物这一步骤,从而极大地降低乃至避免了硬团聚的形成。如以 $\text{Ti}(\text{OH})_4$ 胶体为前驱物,采用 $\phi 30\text{mm} \times 430\text{mm}$ 的管式高压釜,内加贵金属内衬,高压釜作分段加热,以建立适当的上下温度梯度。 300°C 纯水中加热反应 8h,用乙酸调至中性,用去离子水充分洗涤,再用乙醇洗涤,在 100°C 烘干可得到 25nm 的 TiO_2 粉体。

四、要求

1. 选择一种方法,参考文献设计制备纳米粉体氧化物的实验,制备纳米粉体。
2. 选择适当的方法表征、研究温度、压力对制备纳米粒径的影响规律。

参考文献

1. 王世敏,许祖勋,傅晶. 纳米材料制备技术. 北京:化学工业出版社,2002
2. 高谦,李蔚. 纳米陶瓷. 北京:化学工业出版社,2002
3. 王秀萍. 仪器分析技术. 北京:化学工业出版社,2003

实验 1.2 燃料电池

一、概述

时至今日,绝大部分的能量转化是通过热机过程来实现的,热机过程受卡诺循环的限制,不但转化效率低,而且还造成了严重的能源浪费和环境污染。因此,以氢与氧为燃料和氧化剂的高效洁净的燃料电池将成为新世纪大力发展的理想能源。

燃料电池是一种电化学的发电装置,可以等温地按电化学方式直接将化学能转化为电能。燃料电池不同于常规意义上的电池,它的燃料和氧化剂不是贮存在电池内,而是贮存在电池外部的贮罐中,当它工作时,即连续稳定输出电能时,必须不断地向电池内部送入燃料与氧化剂(如氢气和氧气)。与此同时它还要排出与生成量相等的反应产物,如氢氧燃料电池中所生成的水。因此,从工作方式上看,它类似于常规的汽油和柴油发电机。但燃料电池不经过热机过程,因此,不受卡诺循环的限制,能量转化效率高(40%~60%),环境友好,几乎不排放氮的氧化物。而且,二氧化碳的排放量也比常规发电厂减少40%以上。

燃料电池按所采用的电解质可分为碱性燃料电池,一般以氢氧化钾为电解质 磷酸型燃料电池,以浓磷酸为电解质 质子交换膜燃料电池,以全氟或部分氟化的磺酸型质子交换膜为电解质 熔融碳酸盐型燃料电池,以熔融的锂—钾碳酸盐或锂—钠碳酸盐为电解质 固体氧化物燃料电池,以固体氧化物为氧离子导体。各种燃料电池的技术状态见表 1-2。

表 1-2 燃料电池的技术状态

电池类型	电解质	导电离子	工作温度/℃	燃料	氧化剂	技术状态	规模
碱性燃料电池 (AFC)	KOH NaOH	OH ⁻	室温~200	纯氢	纯氧	已在航天中成功应用	1~100kW
质子交换膜燃料电池 (PEMFC)	全氟磺酸膜	H ⁺	室温~100	纯氢, 净化重整气	氧气或空气	已有电动车样车	1~300kW
磷酸燃料电池 (PAFC)	H ₃ PO ₄	H ⁺	100~200	重整气	空气	已用于分散电站	1~2000kW
固体氧化物燃料电池 (SOFC)	氧化钇稳定的氧化锆	O ²⁺	800~1000	净化煤气、天然气	空气	已开发成功	1~100kW

二、原理

燃料电池是一种能量转换装置。它按电化学原理工作,但它的电极与普通干电池不

同,由导电多孔材料制备的扩散层(支撑层)和电催化剂制备的催化层两层组成。在燃料电池工作时电化学反应在催化层进行,电催化剂使电极与电解质界面上的电荷转移反应得以加速,从而等温地把贮存在燃料和氧化剂中的化学能直接转化为电能。图 1-1 为碱性氢氧燃料电池原理图。碱性燃料电池以氢氧化钾为电解质,导电离子为 OH^- 。

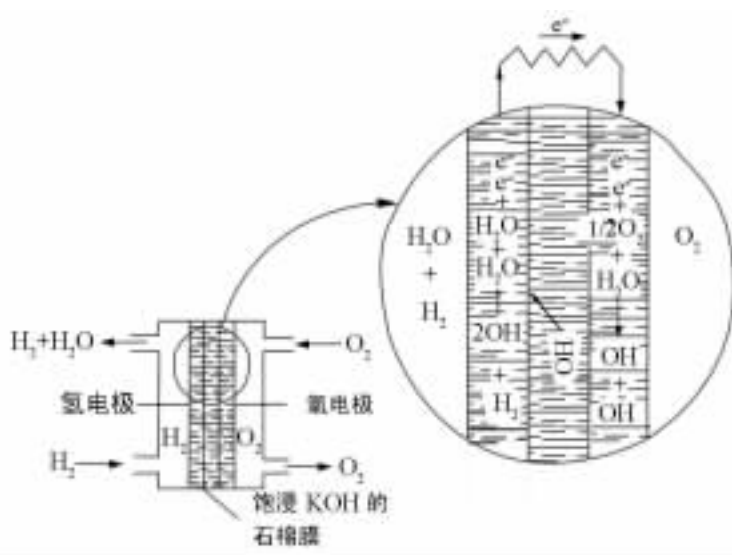


图 1-1 碱性氢氧燃料电池原理图

电极反应如下：

燃料(如氢)在阳极发生氧化反应： $\text{H}_2 + 2\text{OH}^- \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^-$ $\varphi_0 = -0.828\text{V}$

氧化剂(如氧)在阴极发生还原反应： $\frac{1}{2}\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \longrightarrow 2\text{OH}^-$ $\varphi_0 = -0.401\text{V}$

总反应： $\frac{1}{2}\text{O}_2 + \text{H}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O}$ $E_0 = 1.229\text{V}$

三、燃料电池的关键材料与部件

构成燃料电池的关键材料与部件包括：电极、隔膜与集流板(或称双极板)。

电极是燃料(如氢)氧化和氧化剂(如氧)还原的电化学反应发生的场所。燃料电池通常由气体燃料和氧化剂(如氢气和氧气)组成。由于气体在电解质溶液中的溶解度很低,为了提高燃料电池的实际工作电流密度,减少极化,一方面应增加电极的真实表面积,另一方面应尽可能地减少液相介质的边界层厚度。多孔气体扩散电极就是为适应这种要求而研制出来的。

电解质隔膜的功能为传导离子和分隔氧化剂与还原剂(如氧气和氢气)。从结构上可以把电解质隔膜分为两类：微孔膜与无孔膜。不管是哪一类膜,其构成材料都必须能耐受在电池工作条件下的电解质腐蚀,以保持其结构的稳固,确保电池长期稳定工作。

集流板也称双极板,它起着收集电流、分隔氧化剂与还原剂的作用,并将反应物(如氢和氧)均匀分配到电极各处,再传送到电极催化层进行电化学反应。集流板涉及的关键技术是材料的选择、流体流动的流场设计与其加工技术。

四、要求

1. 检索文献,试制电极、隔膜或集流板任意一种。
2. 测量所制电极、隔膜或集流板的性质,尝试组装燃料电池。
3. 测量活化极化、浓差极化、欧姆极化造成的电位降低值。

参考文献

1. 衣宝廉. 燃料电池. 北京:化学工业出版社,2000
2. 林维民. 燃料电池系统. 北京:化学工业出版社,1996

实验 1.3 多聚链式反应 (PCR) 技术

一、概述

从发现 DNA 双链结构到人类基因组计划和线虫、水稻等基因组计划的完成,人类对遗传物质的结构和功能以及表达和调控有了全面和深入的认识,转基因技术已在农作物、蔬菜、水果以及家畜类食品中广为应用。因此,作为对有高特异性引物的外源基因检测的新手段,PCR (Polymerase Chain Reaction) 技术显得越来越重要。从 Saiki 等人 1985 年将 PCR 技术首先应用于 β -珠蛋白基因扩增和镰刀状红细胞贫血的产前诊断,现已涉及到分子生物学、医学、生物工程、考古学等领域,并使这些领域取得了突飞猛进的发展。因此,在该技术诞生后不到十年时间,其发明者 Kary Mullis 就于 1993 年获得了诺贝尔化学奖。

二、原理

PCR 是英文“Polymerase Chain Reaction”的缩写,也称基因扩增技术,是一种在体外由引物介导的 DNA 聚合酶催化的聚合反应。利用该技术可以在短时间内快速、准确地将任何一个目的序列大量复制。正常生物体内某一 DNA 序列 (或基因) 的量非常少,常规方法无法检测,而 PCR 方法可以使非常少量的 DNA 序列大量扩增,达到实验所能检测的量。

PCR 是在一种高温 DNA 聚合酶 (Thermostable Taq DNA Polymerase) 的作用下通过引物和模板 DNA 的作用来扩增 DNA 的。模板可以是基因组 DNA、单链 DNA、克隆的 DNA 序列或 RNA (通过反转录成 cDNA)。当已知一个目的基因的序列时,就可以设计两个引物,引物的长度一般为 20~25 个碱基 (生化 257),其中一个和被扩增 DNA 的 3'端互补,另一个是其 5'端序列。当一个引物的 3'端已经确定后,其 5'端可以加上适当的内切酶切点等以利于 PCR 产物进一步克隆、转化、分析等。从理论上讲,PCR 反应很简单,在一个小 Eppendorf 管中加入 DNA 引物、dNTP、反应缓冲液和酶,然后滴入一滴矿物油以防止蒸发,放入已调好反应程序的温度控制仪就可以了。典型的反应程序是 92~95℃ 用于变性 DNA ;40~60℃ 用于引物和模板退火 ;72℃ 用于酶反应以催化 DNA 聚合。当然有时也可以把退火温度升高到 72℃ 进行,这时就只有两步的 PCR 反应。假设反应能够达到 100% 效率的话,那么在 20 个循环后将会有 106 倍 DNA 被扩增。



图 1-2 PCR 反应过程示意图

三、PCR 反应体系介绍

PCR 反应成分主要有五种,即 引物、酶、dNTP、模板 DNA 和反应缓冲液。反应终体积一般控制在 $25\sim 50\mu\text{L}$ 。

1. 引物

引物是与模板 DNA 特异序列匹配的寡核苷酸片段,为适合不同的应用目的,可进行化学修饰,如荧光标记、生物素标记等。引物的设计与选择应遵循一系列的原则。其长度常用 20bp 左右,浓度为 $0.25\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2. Taq 酶

Taq DNA 聚合酶是从一种嗜热性真菌中分离出来的 DNA 聚合酶,相对分子质量为 93kD,具有 $5'\rightarrow 3'$ 聚合酶活性和 DNA 合成依赖性链置换的 $5'\rightarrow 3'$ 外切核酸酶活性,不具有内在的 $5'\rightarrow 3'$ 外切核酸酶活性,此外 Taq 酶还具有非模板依赖性在扩增产物末端加 A 的特性。其突出特点是对合成 DNA 具有比较高的最适温度 (T_{opt}),在 70°C 对 M13 上富含 GC 的 30 聚体引物的延伸率大于 60 核苷酸/秒 (nt/s),在 55°C 也有明显的延伸活性 (24nt/s)。在较低的温度下,Taq DNA 聚合酶的表现合成能力明显减弱,如 37°C 时为 1.5nt/s , 22°C 时为 0.25nt/s 。催化一典型的 PCR 反应约需酶量 2.5 单位。Taq DNA 聚合酶是 Mg^{2+} 依赖性酶,PCR 反应缓冲液提供了相应的离子条件。目前商品化的 Taq DNA 聚合酶主要有从栖热水生杆菌中提纯的天然酶,大肠菌合成的基因工程酶,以及针对不同目的需求研制的专用酶,如测序专用酶、为确保扩增特异性的 Gold Taq 等。

3. dNTP

dNTP 即 dATP、dCTP、dGTP 和 dTTP 的混合物,干粉呈颗粒状,溶液呈酸性。在 PCR 反应中,dNTP 的浓度通常为 $50\sim 200\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

4. 模板 DNA

传统的模板 DNA 提取方法是采用去垢剂 (如 SDS 等) 来裂解细胞,用蛋白酶 K 消化去除蛋白质,尤其是与 DNA 结合的蛋白质,再用酚/氯仿抽提,经乙醇或异丙醇沉淀、TE 溶解备用。但近几年发展了一些更加简便实用的 DNA 提取技术,如 Chelex-100、FTA、碱裂解法等。模板 DNA 量通常为 $25\sim 100\text{ng}$ 。

5. PCR 缓冲液

标准 PCR 缓冲液主要包括 $50\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl、 $10\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl ($\text{pH}=8.4$)、 $1.5\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MgCl_2 、 $100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 白明胶。

四、要求

1. 选择转基因食品和普通食品各两种,检索文献设计用 PCR 技术检验高特异性引物

的外源基因是否存在。

2. 比较四种食品的差异。

参考文献

1. 裴黎. 现代 DNA 分析技术理论与方法. 北京 中国人民大学出版社, 2002
2. 李如亮. 生物化学实验. 武汉 武汉大学出版社, 1998

实验 1.4 分子蒸馏技术

一、概述

分子蒸馏技术是随着人们对真空状态下气体的运动理论进行深入研究而逐渐发展起来的。早在 20 世纪初,人们就意识到要利用真空来改进蒸馏过程,并开始了降低蒸馏过程中气相阻力的研究,这便是分子蒸馏技术研究的开始。我国分子蒸馏技术的研究起步较晚,上世纪 60 年代才有研究者开始研究;上世纪 80 年代末期,国内引进了几套分子蒸馏生产线,用于硬脂酸单甘油酯的生产。与此同时,国内许多研究单位也进行了实验室技术研究,但工业化应用报道很少。北京化工大学新特科技发展公司从上世纪 90 年代初开始对分子蒸馏技术进行开发研究,从小试、中试至工业化生产,已先后完成了利用分子蒸馏技术精制鱼油、天然维生素 E、 α -亚麻酸、二聚脂肪酸、异氰酸酯加成物、辣椒红色素、角鲨烯等多个产品的工业化生产,建成分子蒸馏生产装置 30 余条。鉴于开发的分子蒸馏技术的成功应用,该公司于 2001 年荣获“国家科技进步二等奖”。国内外的工业实践证明,分子蒸馏技术应用广泛。到目前为止,分子蒸馏技术已应用于百余种产品的生产,而更具商业吸引力的应用仍在不断开发。可以预见,随着人们追求天然产品、回归自然潮流的兴起,新产品不断出现,分子蒸馏技术必将以其在产品提纯中的高效优质、条件温和而备受青睐,开发应用将会得到进一步发展。

二、分子蒸馏基本原理

分子蒸馏技术是一种特殊的液—液分离技术,分子蒸馏不同于常规蒸馏,它突破了常规蒸馏依靠沸点差分离的原理,而是依靠不同物质分子运动平均自由程的差别实现物质分离的。根据分子运动理论,液体混合物受热后分子运动会加剧,当接受到足够能量时,就会从液面逸出成为气相分子。随着液面上方气相分子的增加,有一部分气相分子就会返回液相。在外界条件保持恒定的情况下,最终会达到分子运动的动态平衡,从宏观上看即达到了平衡。

根据分子运动平均自由程公式,不同种类的分子,由于其分子有效直径不同,故其平均自由程也不同,即从统计学观点看,不同种类分子逸出液面后不与其它分子碰撞的飞行距离是不同的。分子蒸馏的分离作用就是依据液体分子受热会从液面逸出,而不同种类分子逸出后,在气相中其运动平均自由程不同这一性质来实现的。

如图 1-3 所示,液体混合物沿加热板自上而下流动,被加热后能量足够的分子逸出液面,轻分子的分子运动平均自由程大,重分子的分子运动平均自由程小,若在离液面距离小于轻分子的分子运动平均自由程而大于重分子的分子运动平均自由程处设置一冷凝板,此时,气体中的轻分子能够到达冷凝板,由于在冷凝板上不断被冷凝,从而破坏了体系中轻分子的动态平衡,而使混合液中的轻分子不断逸出;相反,气相中的重分子因不能到达冷凝板,很快与液相中重分子趋于动态平衡,表观上重分子不再从液相中逸出,这样,液