

## 第六章 综合实验

### 实验一 甲基橙的合成、pH 变色域确定及离解常数的测定

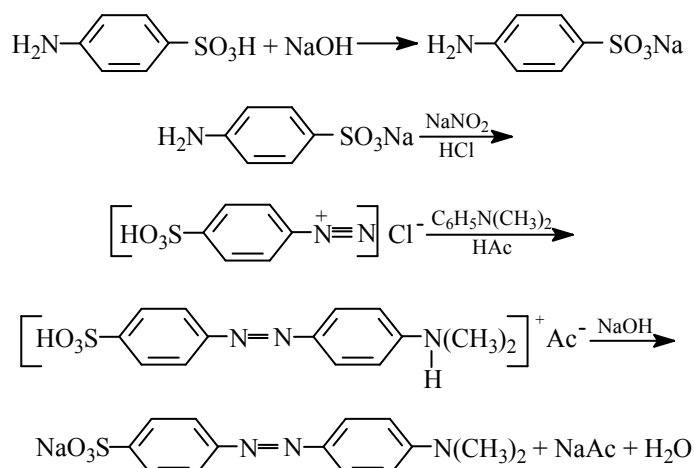
#### (一) 甲基橙的合成<sup>[1-7]</sup>

##### 一、实验目的

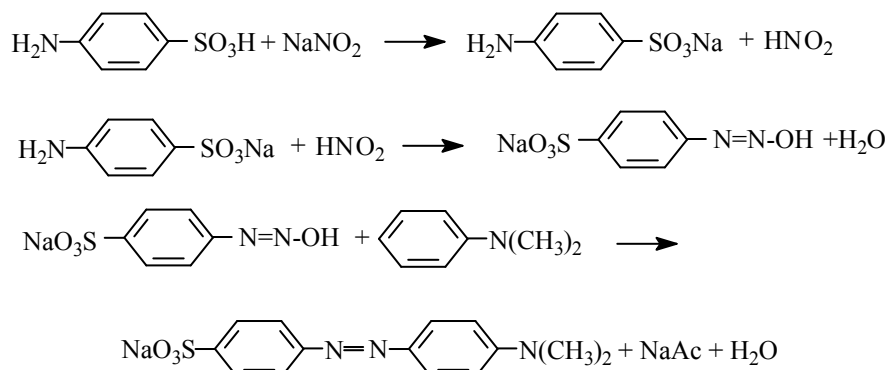
1. 掌握偶氮化反应的实验条件和操作方法。
2. 掌握重结晶的方法。

##### 二、方法原理

低温时：先将对氨基苯磺酸钠在酸性条件下制成重氮盐，然后在醋酸介质中与 N, N-二甲基苯偶合，最后在碱性条件下制成钠盐。重结晶后，得纯净的甲基橙。



常温时：传统的逆加法重氮化，必须在低温、强酸性环境中进行；改良法突破了低温反应条件的限制，充分利用对氨基苯磺酸本身的酸性来完成重氮化，反应如下：



### 三、主要试剂、仪器

1. 对氨基苯磺酸钠、亚硝酸钠、N,N-二甲基苯胺、氢氧化钠、浓盐酸、冰醋酸、乙醇，均为分析纯
2. 淀粉-碘化钾试纸
3. 三口烧瓶、分液漏斗、回流冷凝管
4. 磁力搅拌器、循环水泵、TU-1901 双光束分光光度计。

### 四、实验部分

#### 1. 常规低温制备甲基橙的方法

##### (1) 重氮盐的制备

在 100 mL 烧杯中放置 10 mL 5% 氢氧化钠溶液 (0.013 mol) 及 2.1 g 对氨基苯磺酸晶体 (0.01 mol) 温热使之溶解。另溶 0.8 g 亚硝酸钠 (约 0.011 mol) 于 6 mL 水中，加入上述烧杯内，用冰盐浴冷至 0~5℃。在不断搅拌下，将 3 mL 浓盐酸与 10 mL 水配成的溶液缓缓滴加到上述混合溶液中，并控制温度在 5℃ 以下。滴加完后用淀粉-碘化钾试纸检验。然后在冰盐浴中放置 15 分钟以保证反应完全。

##### (2) 偶合

在试管内混合 1.2 g N,N-二甲基苯胺 (0.01 mol) 和 1 mL 冰醋酸，在不断搅拌下，将此溶液慢慢加到上述冷却的重氮盐溶液中。加完后，继续搅拌 10 分钟，然后慢慢加入 25 mL 5% 氢氧化钠溶液，直至反应物变为橙色，这时反应液呈碱性，粗制的甲基橙呈细粒状沉淀析出。将反应物在沸水浴上加热 5 分钟，冷至室温后，再在冰水浴中冷却，使甲基橙晶体析出完全。抽滤，收集结晶，依次用少量水、乙醇洗涤，晾干。

若要得到较纯的产品，可用溶有少量氢氧化钠 (约 0.1~0.2 g) 的沸水 (每克粗产品物约需 25 mL) 进行重结晶。待结晶析出完全后，抽滤，沉淀依次用少量乙醇洗涤。得到橙色的小叶片状甲基橙结晶。产量 2.5 g (产率 76%)。

溶解少许甲基橙于水中，加几滴稀盐酸溶液，接着用稀的氢氧化钠溶液中和。观察颜色变化。

#### 2. 常温下一步制备甲基橙的方法

在 100 mL 三口烧瓶中加入 2.1 g 对氨基苯磺酸、0.8 g 亚硝酸钠和 30 mL 水，三口烧瓶中口装电动搅拌器，两侧口装滴液漏斗和回流冷凝管，开动搅拌至固体完全溶解。用量筒量取 1.3 mL N,N-二甲基苯胺，并用两倍体积乙醇洗涤量筒后一并加入滴液漏斗。边搅拌边慢慢滴加 N,N-二甲基苯胺。滴加完毕继续搅拌 20 min，再滴入 3 mL 1.0 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 溶液，搅拌 5 min。将该混合物加热溶解，静置冷却，待生成片状晶体后抽滤得粗产物。粗产物用水重结晶后抽滤，并用 10 mL 乙醇洗涤产物，以促其快干，得橙红色片状晶体。干燥，称重得产品 5.3 g，收率 85%。

在常温条件下，二甲基苯胺以游离形式存在，由于 -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub><sup>+</sup> 的强供电子共轭效应，使二甲基苯胺中苯环上的电子云密度增加，有利于重氮离子对其进行亲电取代反应。因此，重氮离子一旦生成，就立即与二甲基苯胺发生偶联而生成产物。

#### 3. 常温下二步制备甲基橙的方法

##### (1) 对氨基苯磺酸的重氮化反应

在 100 mL 烧杯中加入 25 mL 蒸馏水 (或 25 mL 95% 乙醇)，2.0 g 对氨基苯磺酸和 0.8 g 亚硝酸钠，室温下迅速搅拌 5 min，固体全部溶解，溶液由黄色转变成橙红色。(pH=5.6)

##### (2) 偶合生成甲基橙

在上述溶液中迅速加入 1.3 mL 新蒸过的 N,N-二甲基苯胺，将烧杯置于磁力搅拌器平台

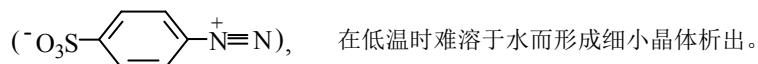
上搅拌 20min，反应液逐渐粘稠并呈红褐色，继续搅拌至反应液粘度下降，静置至反应液中有大量亮橙色晶体析出。

### 五、注意事项

1. 对氨基苯磺酸是两性化合物，酸性比碱性强，以酸性内盐存在，所以它能与碱作用成盐而不能与酸作用成盐。

2. 若试纸不显蓝色，尚需补充亚硝酸钠溶液。

3. 在此时往往析出对氨基苯磺酸的重氮盐。这是因为重氮盐在水中可以电离，形成中性内盐，



4. 若反应物中含有未作用的 N,N-二甲苯胺磺酸盐，在加入氢氧化钠后，就会有难溶于水的 N,N-二甲苯胺析出，影响产物的纯度。湿的甲基橙在空气中受光的照射后，颜色很快变深，所以一般得紫红色粗产物。

5. 重结晶操作应迅速，否则由于产物呈碱性，在温度高时易使产物变质，颜色变深。用乙醇、乙醚洗涤的目的是使其迅速干燥。

6. 甲基橙的另一制法：在 100 mL 烧杯中放置 2.1g 磨细氨基苯磺酸 (0.012 mol) 和 20 mL 水，在冰盐浴中冷却 0℃ 左右；然后加入 0.8 g 磨细的亚硝酸钠，不断搅拌，直到对氨基苯磺酸全溶为止。

在另一试管中放置 1.2 g 二甲苯胺 (0.01 mol, 约 1.3 mL)，使其溶于 15 mL 乙醇中，冷却到 0℃ 左右。然后，在不断搅拌下滴加到上述冷却的重氮化溶液中，继续搅拌 2~3 分钟。在搅拌下加入 2~3 mL 1 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液。

将反应物 (产物) 在石棉网上加热至全部溶解。先静置冷却，待生成相当多美丽的小叶片状晶体后，再于冰水中冷却，抽滤，产品可用 15~20 mL 水重结晶，并用 5 mL 酒精洗涤，以促其快干。产量约 2g，产品橙色。用此法制得的甲基橙颜色均一，但产量略低。

### 六、思考题

1. 什么叫偶联反应？试结合本实验讨论一下偶联反应的条件。

2. 在本实验中，制备重氮盐时为什么要把对氨基苯磺酸变成钠盐？

## (二) pH 变色域的测定<sup>[8]</sup>

### 一、实验目的

1. 通过对指示剂变色域的测定以及对指示剂在整个变色区域内颜色变化过程的观察，使学生在酸碱滴定实验中对如何判断终点颜色有一个准确的认识。

2. 了解常用缓冲溶液的制备方法。

### 二、方法原理

酸碱指示剂的 pH 变色域是指其色泽因溶液 pH 值的改变所引起的有明显变化的范围。指示剂颜色在 pH 变色域内是逐渐变化的，呈混合色。pH 变色域有两个端点变色点，其中一个变色点呈酸式色，另一个变色点呈碱式色，此两个端点，均为颜色不变点。在酸碱滴定中，我们目视的终点通常是变色域的一个端点，或中间点。

本实验是根据酸碱指示剂在不同 pH 值的缓冲溶液中颜色变化特性，确定不同酸碱指示剂的 pH 变色域。

### 三、主要试剂、仪器

1. 邻苯二甲酸氢钾溶液： $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

准确称取  $20.4220 \text{ g}$  在  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  干燥至恒重的邻苯二甲酸氢钾，用水溶解后转移至  $500 \text{ mL}$  容量瓶，稀至刻度后摇匀。

2. NaOH 溶液： $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

称取 NaOH  $20 \text{ g}$  溶解在水中，稀至  $500 \text{ mL}$ 。然后用邻苯二甲酸氢钾标定其浓度。最后稀至  $0.1000 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

3. HCl 溶液： $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

量取浓盐酸  $5.0 \text{ mL}$ ，加水稀释至  $500 \text{ mL}$ ，用 NaOH 标准溶液标定其浓度，并调整为  $0.1000 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

4. 甲基橙： $0.1\%$  水溶液。

称取  $0.10 \text{ g}$  甲基橙，加水溶解并稀释至  $100 \text{ mL}$ 。

5. 比色管： $25 \text{ mL}$ ，6 支；吸量管： $5 \text{ mL}$ ，4 支； $1 \text{ mL}$ ，4 支。

6. 分光光度计：722 型 (配 2 只  $10 \text{ mm}$  吸收池)、pHS-3C 型酸度计。

### 四、实验部分

甲基橙 pH 变色域的测定(参考值： $\text{pH } 3.1(\text{红})\sim\text{pH } 4.4(\text{黄})$ )

按下表，在 6 支比色管中加入各种试剂，配成  $\text{pH } 2.8\sim 4.6$  的缓冲溶液，然后各加入  $0.10 \text{ mL}$  甲基橙溶液，用水稀释至  $25 \text{ mL}$  标线，摇匀。进行目视比色，确定两端变色点和中间变色点。

表 6-1 pH 2.8~4.6 的缓冲溶液配制方案

| pH   | 2.8  | 3.0  | 3.2  | 3.6  | 3.8  | 4.0  | 4.2  | 4.4  | 4.6  |
|--|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| HCl/mL   | 7.23 | 5.58 | 3.93 | 1.60 | 0.73 | 0.02 |      |      |      |
| NaOH/mL  |      |      |      |      |      |      | 0.75 | 1.65 | 2.78 |
| $\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_4\text{K}/\text{mL}$ | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 | 6.25 |

### 五、注意事项

1. 上述体积数是按照  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  HCl 溶液 和  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaOH 溶液计算而得，所以要么配制  $0.100 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  HCl 和 NaOH 溶液，要么配制  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  HCl 和 NaOH 溶液再根据具体的浓度值进行换算。比如实测  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  HCl 浓度为  $0.0958 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，故  $\text{pH}=2.8$  时，应加的 HCl 体积为  $7.55 \text{ mL}$ ，而不是  $7.23 \text{ mL}$ 。如此类推。

2. 邻苯二甲酸氢钾溶液、HCl 或 NaOH 溶液需要准确加入。若在两个点之间有颜色变化，则需在两点之间加一个点。比如  $\text{pH}=3.0$  时，溶液为红色；而  $\text{pH}=3.2$  时，溶液为橙色；故需加  $\text{pH}=3.1$  这个点。

### 六、思考题

1. 实验中为什么要用不含  $\text{CO}_2$  的水？
2. 酸碱指示剂的变色机理是什么？

## (三) 光度法测定甲基橙的离解常数<sup>[9-11]</sup>

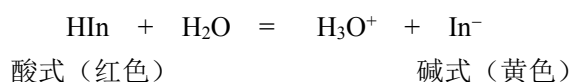
### 一、实验目的

1. 通过测量甲基橙在不同酸度条件下的吸光度，求出甲基橙的离解常数。
2. 了解光度法在研究离子平衡中的应用。
3. 掌握光度法测定原理，学会分光光度计的操作。

### 二、方法原理

甲基橙的酸式和碱式具有不同的吸收光谱，甲基橙溶液的颜色取决于其酸式和碱式的比例，可选择两者有最大吸收差值的波长（520nm）进行测量。

甲基橙的变色范围：pH > 4.4 呈黄色，pH < 3.1 呈红色。当甲基橙溶液在 pH 3.1~4.4 之间，有下列平衡关系式：



$$K = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{In}^-]}{[\text{HIn}]}$$

实验时，配制甲基橙浓度相同，但 pH 值不同的三个溶液。在 pH > 4.4 的溶液中，主要以其碱式  $\text{In}^-$  形式存在，设在波长 520 纳米处的吸光度为  $A_1$ ；在 pH < 3.1 的溶液中，主要以其酸式  $\text{HIn}$  形式存在，设在波长 520 纳米处的吸光度为  $A_2$ ；在已精确测知 pH 值（在 pH 3.1~4.4 之间）的缓冲溶液中，甲基橙以  $\text{HIn}$ 、 $\text{In}^-$  状态共存，设在波长 520 纳米处的吸光度为  $A_3$ ；缓冲溶液的氢离子浓度为  $[\text{H}_3\text{O}^+]$ ；以  $\text{HIn}$  状态存在的百分比为  $y$ ；以  $\text{In}^-$  状态存在的百分比为  $1-y$ 。则

$$A_3 = yA_2 + (1-y)A_1$$

$$K_{\text{HIn}} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+](1-y)}{y}$$

$$y = \frac{A_3 - A_1}{A_2 - A_1}, 1-y = \frac{A_2 - A_3}{A_2 - A_1}$$

$$K_{\text{HIn}} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+](A_2 - A_3)}{A_3 - A_1}$$

在测量时，如以指示剂的碱式 ( $\text{In}^-$ ) 溶液作参比溶液，则  $A_1=0$ ，

$$K_{\text{HIn}} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+](A_2 - A_3)}{A_3}$$

由测定的吸光度值，可求得离解常数。

### 三、主要试剂、仪器

1. 盐酸 1.00 mol·L<sup>-1</sup>。
2. 甲基橙（钠盐）溶液: 1.25×10<sup>-4</sup> mol·L<sup>-1</sup>。

3. HAc-NaAc 标准缓冲溶液：pH = 4.003。
4. 吸量管：1 mL、5 mL、10 mL。
5. 比色管：25 mL。
6. 分光光度计：722 型。

#### 四、实验部分

取三个比色管按下列方法配制溶液：

- (1) 10.00 mL 甲基橙水溶液；
- (2) 10.00 mL 甲基橙水溶液 + 1.00 mL 盐酸溶液；
- (3) 10.00 mL 甲基橙水溶液 + 10.00 mL pH≈4 标准缓冲溶液。

将以上各溶液用水稀释到刻度，摇匀。以比色管(1)中的溶液为参比溶液，用 1cm 液槽，在波长 520 纳米处，测量上述各溶液的吸光度，分别测得  $A_2$ 、 $A_3$ 。

#### 五、注意事项

1. 测试前，分光光度计和酸度计需预热并调试好。
2. 甲基橙的变色范围在 3.1~4.4 之间，故配制标准溶液时需控制 3.6~4.0，以减小测定误差。
3. 要准确配制 pH≈4 标准缓冲溶液，其准确与否直接影响测定结果。

#### 六、思考题

1. 改变甲基橙浓度对测定结果有何影响？
2. 测定温度对测定离解常数有影响吗？
3. 改变缓冲溶液的总浓度又如何？

## 实验二 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 磁性材料的制备及分析<sup>[12~19]</sup>

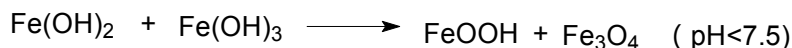
### 一、实验目的

1. 掌握共沉淀法制备纳米级磁性粒子。
2. 了解磁性功能材料的制备和分析。

### 二、方法原理

共沉淀法是在包含两种或两种以上金属离子的可溶性盐溶液中，加入适当的沉淀剂，使金属离子均匀沉淀或结晶出来，再将沉淀物脱水或热分解而制得纳米微粉。共沉淀法有两种：一种是 Massart 水解法，即将一定摩尔比的三价铁盐与二价铁盐混合液直接加入到强碱性水溶液中，铁盐在强碱性水溶液中瞬间水解结晶形成磁性铁氧化物纳米粒子。另一种为滴定水解法，是将稀碱溶液滴加到一定摩尔比的三价铁盐与二价铁盐混合溶液中，使混合液的 pH 值逐渐升高，当达到 6~7 时水解生成磁性  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米粒子。

共沉淀法是目前最普遍使用的方法，其  $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{Fe}^{3+}$  盐在碱性条件下，可以通过共沉淀方式并控制沉淀生长过程制备纳米级  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  颗粒。对颗粒表面进行适当修饰后，再分散到煤油中得到磁性液体。



### 三、主要试剂、仪器

1.  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (固体)、油酸钠、柠檬酸钠。
2.  $8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 水溶液、煤油、油酸、1+1 氨水。
3. 恒温水浴槽、真空干燥箱、离心机。
4. 环型磁铁。

所用试剂均为分析纯，水为去离子水。测定铁所用试剂见第五章中氧化还原滴定法部分的无汞盐法测铁矿石中的全铁。

### 四、实验部分

#### 1. 磁性颗粒制备

(1) 称取 5.40 g (0.020 mol)  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ，加入 200 mL 蒸馏水。待固体溶解完全后，用快速滤纸过滤除去少量不溶物，滤液备用。

称取 2.92g (0.020 mol 过量 5%)  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ，加入 200 mL 蒸馏水。待固体溶解完全后，用快速滤纸过滤除去少量不溶物，滤液备用。

(2) 将上述两种溶液倾入 500 mL 烧杯中，加入少量 1: 1 盐酸调节溶液 pH 值为 1~2，加入 0.43g (0.020 mol) 柠檬酸三钠，搅拌均匀。

(3) 将上述混合液置于电热板上加热至 70~80℃，不断搅拌下缓慢滴加 1+1 氨水，此时不断有沉淀产生。继续滴加氨水直至溶液 pH 值约为 9。

(4) 放置沉淀 30 min.，弃去上层清液（最好将磁铁置于烧杯底部，加快磁性物质沉降），加入蒸馏水洗涤 3~4 次，少量乙醇洗涤 2 次至溶液为中性。

(5) 沉淀在 60~80℃ 真空干燥，得到黑色  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  固体粉末（此样品作为分析用铁样）。

#### 2. 磁性液体制备

(1) 上述步骤 4 得到的磁性颗粒液体置于 400 mL 烧杯，加入 150 mL 水，使用 pH 计测量其 pH 值，并将电极固定在烧杯中，滴加  $8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 至 pH 值约为 10。加热溶液至 80℃ 并保持此温度，在剧烈搅拌下，一边滴加油酸（共 25 mL），一边滴加 NaOH 保持 pH 值为 10。油酸加完后保持 pH 值为 10，80℃ 下继续搅拌 30 min.，静置自然冷却。

(2) 剧烈搅拌下，在烧杯中倾入 125 mL 1: 1 盐酸，磁性物质凝聚在一起。倾出清液，加入去离子水洗涤 3~4 次，倾去清液。

(3) 玻棒搅拌下，加入煤油清洗一次，2000 rpm 离心，弃去上层清液。同样方法再用无水酒精处理一次。

(4) 得到的黏性物质放入表皿中，置于真空干燥箱中在 60℃ 干燥 8 小时。

(5) 烘干后的固体物质冷却、称量。加入 2 倍固体量的煤油，用研钵研磨至无明显颗粒存在。再转移至小烧杯中慢速搅拌 2h。

(6) 搅拌后的悬浮体系用 5000 rpm 离心 10 min.，完成后取出中层液体装瓶，即为煤油

基磁性液体。

### 3. 铁含量的测定

同氧化还原滴定法中的无汞盐法测定铁

准确称取 0.11~0.13g 干燥的产物三份 {其中老师称量两份}，分别置于 250 mL 锥形瓶中，加少量水使试样湿润，然后加入 20 mL 1:1 HCl，于电热板上温热至试样分解完全。若溶样过程中盐酸蒸发过多，应适当补加，用水吹洗瓶壁，此时溶液的体积应保持在 25~50 mL 之间，将溶液加热至近沸，趁热滴加 15% 氯化亚锡至溶液由棕红色变为浅黄色，加入 3 滴硅钼黄指示剂，这时溶液应呈黄绿色，滴加 2% 氯化亚锡至溶液由蓝绿色变为纯蓝色，立即加入 100 mL 蒸馏水，置锥形瓶于冷水中迅速冷却至室温。然后加入 15 mL 磷硫混酸、4 滴 0.5% 二苯胺磺酸钠指示剂，立即用  $K_2Cr_2O_7$  标准溶液滴定至溶液呈亮绿色，再慢慢滴加  $K_2Cr_2O_7$  标准溶液至溶液呈紫红色，即为终点。计算产物铁的质量百分数。

### 五、注意事项

1. 制备得到的磁性液体，加磁场时可以在显微镜下观察到明显的六角型规律结构。可以将称量纸折叠成方形，纸内放置少量浓磁性液体，将强磁铁隔纸放置在下面，肉眼可以观察到固体微粒形成磁束。

2. 在制备磁性液体时，可用一定量的油酸钠代替油酸，同时控制溶液的 pH 值，后续步骤相同。

### 六、思考题

1. 在制备磁性颗粒时，加入柠檬酸三钠和氨水的目的是什么？
2. 在制备的水溶液中加入盐酸时，为什么磁性物质会凝聚出来？
3. 最后一次离心，为何只取中间层液体装瓶？

## 实验三 SDS 在 $Al_2O_3$ 表面的聚集及分离、富集铜离子<sup>[20~25]</sup>

### 一、实验目的

1. 让学生了解阴离子表面活性剂 SDS 在金属氧化物  $Al_2O_3$  表面的吸附过程。
2. 掌握这种表面活性剂聚集体用于分析的原理。

### 二、方法原理

#### 1. 氧化铝的表面改性

未改性的氧化铝虽可吸附金属离子，但吸附效率很差，难以应用。但若对其表面改性，如在水溶液中，混合十二烷基硫酸钠 (SDS) 和  $Al_2O_3$ ，SDS 通过库仑引力在  $Al_2O_3$  表面聚集，经此 SDS 涂层的  $Al_2O_3$  可用于分离富集测定重金属离子 (如铜) 或用于去除废水中的重金属离子等。

#### 2. 重金属离子在氧化铝表面的吸附机理

氧化铝表面改性后，由于表面由原来的亲水性而转为疏水性，故难以直接吸附铜离子。但铜离子与铜试剂形成弱极性的络合物后，则很容易吸附在氧化铝表面的 SDS 栅栏层中。

#### 3. 重金属离子的分离机理

重金属离子能否被吸附在氧化铝表面，取决于它们与铜试剂的络合能力，若其它金属离子与铜试剂的络合能力差，则难以被吸附。若其它金属离子与铜试剂也能形成络合物，则可



根据它们的稳定性的差别，通过酸度的控制，使某些络合物被破坏，从而实现分离的目的。

#### 4. 改性的氧化铝的应用及应用效果评价

与金属络合物结合，在一定 pH 条件下，金属络合物吸附在  $\text{Al}_2\text{O}_3$  表面的聚集体中。该体系可用于分离、富集铜离子；也可用于处理废水中的重金属离子。为了解分离、富集效果或处理废水中的铜离子的除去效果，可采用光度法测定上层清液中的未被吸附的铜络合物。也可过滤后，用硝酸解吸，再用原子吸收或光度法测定金属离子。

### 三、主要试剂、仪器

1.  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (10~50  $\mu\text{m}$  微粒)：在  $5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{HNO}_3$  溶液中超声清洗 3 min，然后用去离子水冲洗干净。

2. 十二烷基硫酸钠 (SDS)：固体粉末。

3. 二乙基氨基二硫代甲酸钠 (铜试剂, 0.1%, W/V)：溶解 0.1g 铜试剂在 100 mL 水中。

4. 金属离子标准溶液 ( $1.00 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，用时稀释至  $40 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的工作液)。

5. SDS 标准溶液： $1.00 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

6. HAc-NaAc 缓冲溶液: pH=4.0、磷酸盐缓冲溶液: pH=7.5。

7. 海明 1622 (苄基苯氧基氯化铵) 水溶液浓度： $1.00 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

8. 偶氮红指示剂：0.5%乙醇浓度。

9. TritonX-100：2%水溶液

10. 苯，AR

### 四、实验部分

#### 1. SDS 涂层的 $\text{Al}_2\text{O}_3$ 微粒制备

取经过处理的  $\text{Al}_2\text{O}_3$  微粒 (5 g) 搅拌下，缓慢加入悬浮在 150 mL 水和 0.4g SDS 混合溶液中，悬浮液用  $4 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{HNO}_3$  酸化，调至 pH=2，振荡 10 分钟后，去除上层清液，水洗 2~3 次。将 SDS 涂层的  $\text{Al}_2\text{O}_3$  微粒转移进入一个微孔过滤器中进行过滤，以去除未吸附在  $\text{Al}_2\text{O}_3$  微粒上的 SDS 和其它离子。这种多孔玻璃器放有孔径为  $0.45 \mu\text{m}$  的聚碳酸酯膜，可防止  $\text{Al}_2\text{O}_3$  渗漏。水洗后沉淀移至表面皿上， $110^\circ\text{C}$  烘干，备用。

#### 2. SDS 的两相滴定法

##### (a) 海明1622 (苄基苯氧基氯化铵) 的标定

用2mL移液管移取2.00 mL SDS标准溶液于100具塞量筒中，加入48 mL水，10mL pH=7.5磷酸盐缓冲溶液，2 mL偶氮红指示剂和5 mL苯，用5 mL微量滴定管以海明1622滴定。每次加液后均需摇振、静置、分层。当有机相出现红色即达终点。根据 $c_1V_1=c_2V_2$ 计算海明1622浓度。

##### (b) 水样测定

如水样为均匀液体，摇匀水样，用50 mL移液管移取水样滴定。如果水样含有悬浮固体杂质，混匀水样，移取50.00 mL，用大孔径滤纸过滤，收取滤液于100 mL具塞量筒中，用2次(每次5 mL)缓冲溶液淋洗固体杂质，合并滤液于量筒中滴定。

#### 3. 标准曲线绘制

取一系列一定质量的金属离子，如  $40 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的铜离子 0.0, 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL，加 pH=4.0 HAc-NaAc 缓冲溶液 2.5 mL，加 2% TritonX-100 水溶液 1.0 mL，再加 1.0 mL 1 铜试剂溶液，放置 5 分钟，并用水稀至 25 mL；用分光光度法测定吸收值，制作相应的标准曲线。

#### 4. 水样中的重金属离子的吸附和分析

取 0.5 mL 铜金属离子标准溶液 ( $40.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )，放入 100 mL 烧杯中，加 pH=4.0 HAc-NaAc 缓冲溶液 2.5 ml，加 2% TritonX-100 水溶液 1.0 mL，再加 1.0 mL 铜试剂溶液，放置 5 分钟，加蒸馏水 20.00 mL，加入 2.0 g SDS 涂层的  $\text{Al}_2\text{O}_3$  震荡 30 分钟，将混合液转移到离心管中进行离心分离，20 分钟 {2000 rpm} 后取出上层清液，到入比色皿中，在  $\lambda=420 \text{ nm}$  处用分光光度法测定吸光度，并与标准曲线对比，计算去除率。

#### 五、注意事项

1. SDS 涂层的  $\text{Al}_2\text{O}_3$  微粒制备时，要注意将过量的 SDS 清洗干净，否则会影响后面的测定。
2. 做标准曲线时，要确保有良好的线性关系。若做出的校证曲线相关系数较小，需重新制作，以保证后期样品测定的可靠性。
3. 做样品分析时，离心后要确保液固分相明显，否则增加离心时间或离心速度。测定时要取上清液，若有漂浮物，要用滴管取。

#### 六、思考题

- 1 为什么 SDS 能在  $\text{Al}_2\text{O}_3$  微粒表面聚集，其他金属氧化物微粒可否？
- 2 金属络合物为何能被吸附在 SDS 涂层的  $\text{Al}_2\text{O}_3$  表面？
- 3 如何消除金属离子在测定过程的干扰？

### 实验四 绿茶中茶多糖的提取和含量测定<sup>[26-29]</sup>

#### 一、实验目的

1. 了解生物活性物质提取和其中含量的测定方法。
2. 掌握一些特殊分离方法的基本原理和实验操作。

#### 二、方法原理

茶多糖是一种含多羟基的高分子化合物，水提取后，可采用乙醇沉淀和膜截留的方法将茶多糖从提取液中分离出来。

多糖的测定采用苯酚-硫酸法。苯酚-硫酸法是利用多糖在硫酸的作用下先水解成单糖，并迅速脱水生成糖醛衍生物，然后与苯酚生成橙黄色化合物。再以比色法测定。

#### 三、主要试剂、仪器

1. 绿茶。
2. 硫酸、乙醇、氯化钠、溴化十六烷基三甲基铵 (CTMAB)。
3. 苯酚：5% 水溶液。
4. 葡萄糖溶液： $30.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。
5. EC (表儿茶素) 标准储备液： $10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。
6. 盐酸联苯胺：1% 的水溶液。
7. 亚硝酸钠：0.5% 的水溶液。
8. Millipore 超滤器、UV2000 紫外可见分光光度计、Alpha-I-5 真空冷冻干燥机、多功能粉碎机、集热式磁力搅拌器。

#### 四、实验部分

### 1. 茶多糖的提取

分别用分析天平准确称取适量绿茶茶末若干份，茶末分别于85℃的水中恒温加热1 h，冷却至室温，过滤，在清液中加入3倍于其体积的无水乙醇，醇析3 h后将所得的沉淀用无水乙醇洗涤数次，抽滤，干燥即得粗茶多糖。将茶末分别置于最佳温度下的不同质量分数(浓度3%)的盐酸溶液或碳酸钠溶液、氢氧化钠溶液中，按前述方法提取茶多糖。

也可用超滤法和CTMAB沉淀可分别制备茶多糖粗提物，步骤如下：

绿茶→(85℃温水30 min)水提液→(真空浓缩或超滤)浓缩液或截留液(截留分子量10000)→乙醇沉淀或CTMAB沉淀物→冷冻干燥(或用水溶解或用NaCl溶液溶解，用乙醇沉淀一次后再冷冻干燥)→茶多糖提取物。

### 2. 多糖测定

#### (1) 溶液配制

5%苯酚溶液：取12.5 g苯酚，置250 mL容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，避光，冷藏。

葡萄糖溶液：准确称取105℃干燥恒重的葡萄糖0.1000g，置100 mL容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，配成1.000 mg·L<sup>-1</sup>的标准溶液。用时配成30.00 μg·mL<sup>-1</sup>的工作溶液。

#### (2) 多糖测定

准确吸取30.00 μg·mL<sup>-1</sup>的标准溶液1 mL，加入5%苯酚溶液1.6 mL，浓硫酸7 mL，室温放置10 min，然后置100℃恒温水浴加热15 min，取出后立即放入冷水中冷却15 min。以1 mL水、1.6 mL 5%苯酚溶液、7 mL浓硫酸混合液做空白，在490 nm处测定吸收值。

样品中的多糖的测定方法同上。

### 3. 茶多酚的测定

#### (1) 溶液配制

EC(表儿茶素)标准储备液：准确称取经干燥恒重的EC标准品1.0000g于100 mL容量瓶中，加蒸馏水配成浓度为10 mg·mL<sup>-1</sup>的标准液。

重氮化-偶合反应试剂的配制：盐酸联苯胺配制成1%的水溶液，亚硝酸钠配成0.5%的水溶液，盐酸配成17.5%的水溶液。

#### (2) 茶多酚测定

先将1%盐酸联苯胺0.5 mL、17.5%盐酸3.0 mL和0.5%亚硝酸钠5.0 mL反应生成重氮盐，再与1%茶多酚0.1 mL进行偶合反应，得到化合物在400 nm处测定吸收值。

### 五、注意事项

1. 不同方法提取物的组成和组分含量不同，因此，在选择提取方法时，要注意提取物的用途和选用的分析方法。

2. 重氮化-偶合反应时，一定要控制在适当的温度范围内，以保证反应顺利进行和减少副产物。

### 六、思考题

1 茶多糖提取采用水或极性有机溶剂各有什么利弊？对一种生物活性物质的提取应该注意哪些问题？

2 本法中茶多酚测定的原理是什么？你认为有无其他简单的方法？

## 实验五 季铵盐改性土壤对水中苯酚的吸附及去除效果分析<sup>[30~35]</sup>

### 一、实验目的

1. 通过本实验可了解对环境水样中有机污染物苯酚的去除方法。
2. 掌握经表面活性剂改性的土壤对苯酚的吸附规律和苯酚的测定方法。

### 二、方法原理

在温度为50~55°C和pH为中性时，采用十六烷基三甲基溴化铵（CTMAB）对土壤进行改性。改性后的土壤表面因两亲型表面活性剂的存在而大大提高了对水样中苯酚的吸附。而在不同pH时，改性的土壤对苯酚的去除效果明显不同，这是由于在不同pH时，吸附机理不同所致。

当pH=3~10时，CTMAB-土壤对水中苯酚的吸附效率较低，变化不大。而pH>10时，苯酚的去除率却随pH增大而提高，当pH=12时，去除率达最高值，这与苯酚的电离有关。苯酚的电离常数 $K_a=10^{-9.98}$ 。当pH=10时，水中分子态酚与离子态酚之比近似0.9:1。当pH<10时，苯酚主要以分子形式被CTMAB-土壤吸附；当pH>10时，苯酚则以阴离子形式吸附在CTMAB-土壤的内外表面。可见，CTMAB-土壤对阴离子态酚的吸附效果要高于对分子态酚的吸附效果。

### 三、主要仪器、试剂

1. 土壤样品：可用标准土壤样品，也可取本地地表的土壤（地表下方10 cm处），经风干、粉碎、研磨后过100目筛。
2. 十六烷基三甲基溴化铵（CTMAB）：1%水溶液，溶解1g CTMAB在100 mL水中。
3. 苯酚：苯酚：0.1 g·L<sup>-1</sup>水溶液，溶解0.01g苯酚在100 mL水中。
4. 4-氨基安替比林：
5. 铁氰化钾溶液：
6. 氨性缓冲溶液：pH=10
7. 调速多用振荡器：HY-2型，酸度计：pH S-3C型，分光光度计：722型。

### 四、实验部分

#### 1. CTMAB改性的土壤的制备

称取一定量的土壤样品（20~30 g），置于烧杯中，向烧杯中加入100 mL 1% CTMAB溶液，在50~55 °C时，搅拌2 h后，冷却至常温过滤，用去离子水洗涤数次，再过滤后风干粉碎，过100目筛备用。

#### 2. 苯酚的吸附

将一定量的CTMAB-土壤样品（15 g）和100 mL苯酚溶液加入250 mL碘量瓶中，盖紧瓶盖后在振荡器中以160 r·min<sup>-1</sup>的速率振荡一定时间（1 h）后过滤，取滤液分析酚含量。

控制溶液pH分别为6.0和12.0按上面方法实验，进行苯酚的吸附和测定。

#### 3. 苯酚的测定

苯酚的测定可采用4-氨基安替比林光度法，方法如下：

取一定量苯酚的试液，用氨性缓冲溶液控制pH 10左右，加一定量的铁氰化钾溶液和4-氨基安替比林水溶液，反应10 min后，在505 nm处测定吸收值。可用单标或标准曲线确定苯酚的含量。

#### 4. 吸附等温线的绘制

根据测定的苯酚的浓度和吸附量绘制吸附等温线，比较不同 pH 时，吸附等温线的特点，并给出相应的吸附等温方程。此外，根据实验结果，判断用该法用于环境水样中苯酚去除的可行性。

#### 五、注意事项

1. 在用 CTMAB 改性土壤时，一定要注意过量部分的 CTMAB 除去，以免影响后面的吸附和测定。
2. 测定苯酚时，若用单标法，要注意测定的样品的浓度和标准溶液的相近；若用标准溶液法，要注意测定的样品的浓度在工作曲线的线性范围内。

#### 六、思考题

- 1 用 CTMAB 可对土壤进行改性，若用其他类型的表面活性剂可否？
- 2 土壤的类型对实验结果有何影响，为什么？
- 3 在此实验的基础上，你认为本实验有无可改进之处，若有如何实现。

### 实验六 YBaCuO 超导材料制备及成分结构分析<sup>[36-39]</sup>

#### 一、实验目的

1. 学习化学方法合成制备超导体
2. 了解功能材料的综合分析方法
3. 探索超导体中元素含量与超导性之间的关系。

#### 二、方法原理

超导体的显著特性之一是降低其所处温度达某一定值时，其电阻可降低为零。目前高温超导体的零电阻温度一般高于液氮温度区，已经在超导电机、电磁屏蔽、超高速计算机、高速磁悬浮的等众多方面得到广泛应用。

YBaCuO 体系是最早发现的高温超导体之一，超导性与各元素的相对含量密切相关。YBa<sub>2</sub>Cu<sub>3</sub>O<sub>y</sub> 零电阻温度可以达到 90K 以上。本实验根据此化学式中金属原子比例，采用湿化学方法制备预烧料，在管式炉中焙烧、研磨再烧结后，得到超导体。采用 EDTA 返滴定法测定 Y 和 Cu 含量，再用硫脲—抗坏血酸破坏 EDTA—Cu 配合物，测定 Cu 的含量。分别采用重量法和氧化还原方法测定体系中 Ba 的含量和氧的含量。由粉末 X—衍射分析对产物进行物相分析，并测定其零电阻温度。

#### 三、主要仪器、试剂

1. Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(纯度 > 99.5%)，Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 标准溶液。
2. BaCO<sub>3</sub>，BaO<sub>2</sub>，CuO，Y(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O，Ba(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>，Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O，KI，Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>，EDTA。
3. 二甲酚橙：0.5%水溶液。
4. 六亚甲基四胺：30%水溶液。
5. 硫脲：10%水溶液。
6. 邻菲罗啉：0.1%乙醇溶液。
7. 抗坏血酸：5%水溶液。
8. 淀粉：0.5%水溶液。

9. 管式电炉、烘箱 X 射线衍射仪、标准直流四引线超导测定仪。

#### 四、实验部分

##### 1. 湿化学法制备 $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_y$ 预烧料

(1) 根据  $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_y$  化学式，加入 6g  $\text{Y}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ，并由各金属原子的比例，计算所需的  $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$  和  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  的质量。

(2) 将按所需质量准确称取的盐置于烧杯中，加入 60 mL 蒸馏水，加热溶液至微沸，待固体全溶后，用  $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{KOH}$  调节溶液的 pH 为 7~8，加入适量饱和  $\text{BaCO}_3$  溶液使金属离子沉淀完全。过滤，充分洗涤沉淀，直至滤液的 pH 值稳定在 9.7 左右。

(3) 将沉淀置于烘箱中于  $120^\circ\text{C}$  下烘干。

(4) 将烘干后的沉淀研细后转入瓷舟中，将瓷舟置于  $920^\circ\text{C}$  的高温炉中恒温 4 小时后，切断电源，让样品在炉膛的空气氛中冷却至  $100^\circ\text{C}$  后转入干燥器中冷却并保干。此焙烧产物即为超导体的预烧料。

##### 2. 预烧料成型与退火

将预烧料转入研钵中充分研磨，并使所有粉末能通过 300 目筛。在油压机上，用 35~40 MPa 压力，将部分预烧料压成小圆片。连同未成型的剩余预烧料，一起置于瓷舟中，放入管式炉便于通气的瓷管内，同时通入一定流速的氧气 ( $30 \sim 40 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ )，升温至  $920^\circ\text{C}$ ，烧结 6 小时。然后以  $1^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  速度缓慢降温，降至  $600^\circ\text{C}$  时再恒温 3 小时。然后断电随炉自然冷却。冷至  $100^\circ\text{C}$  取出置干燥器中备用。

##### 3. $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_y$ 中各组分含量测定

###### (1) 钇、铜含量的测定

将上述经二次焙烧所得未经压片的烧结料转入研钵中，充分研细直至无颗粒感，装入称量瓶中。准确称取烧结料样品 0.6 g 左右，加入  $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{HCl}$  溶液 25 mL，加热使其完全溶解后，转入 250 mL 容量瓶中，定容。

移取 25.00 mL 溶液，加入 10 mL 六亚甲基四胺，再准确加入  $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDTA 标准溶液 25 mL 左右，煮沸 1min，冷却后加入 20 mL 蒸馏水及 3 滴二甲酚橙指示剂，溶液呈黄绿色，用  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  标准溶液滴定至溶液变为蓝紫色为终点。

在上述溶液中，再依次加入硫脲 20 mL，抗坏血酸溶液 10 mL，邻菲罗啉 10 滴。充分搅拌，几分钟后溶液呈亮黄色，再用  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  标准溶液滴定至微红色。

此溶液保留用于样品中活性氧的测定。

###### (2) 钡的测定

① 准确称取 0.5 g 左右烧结试样两份置于 250 mL 烧杯中，加水 60 mL，10 mL  $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸，盖上表皿，加热近沸；

② 另取两小烧杯加入 30 mL  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$ ，加热近沸；

③ 将热、沸  $\text{H}_2\text{SO}_4$  慢慢加入到热的钡盐溶液中，不断搅拌溶液；

④ 检验上层清液，仔细观察是否沉淀完全；

⑤ 沉淀完全后，盖上表面皿，置沸水浴上加热陈化 1 小时。冷却后慢速定量滤纸过滤；

⑥ 用已恒重瓷坩埚，按重量分析的要求，将上述已陈化并已冷却的  $\text{BaSO}_4$  沉淀进行过滤，并洗至滤液中无  $\text{Cl}^-$ ；

⑦ 沉淀灰化后，灼烧至恒重。根据样品及沉淀质量，计算钡的质量分数。

###### (3) 活性氧的测定

用测定过钇、铜的溶液测定活性氧，方法见实验开放实验部分实验二。扣除试剂空白值。

##### 4. 焙烧产物的 X 射线衍射物相分析

用 x 射线衍射仪对焙烧产物进行物相分析，采用粉末压片方法，根据所得谱图与 x 射线粉末衍射标推卡片对照，确定产物的物相与晶相。

#### 5. 焙烧产物的零电阻温度的检测

采用标准直流四引线法测定产物的零电阻温度。

### 五、注意事项

1. 制备  $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_y$  预烧料时，沉淀的滤液的 pH 控制可利用精密 pH 试纸或用 pH 计测定。

2. 用高温炉处理样品时，放入或取出样品一定要用专门的工具，严禁用手直接放入或取出样品。

3. 测定材料中铜时，用还原、络合以置换和掩蔽铜时，一定要反应的完全（与反应温度有关），否则误差较大。

4. 用硫酸钡法测定材料中钡时，洗涤一般选用温水，但要注意控制洗涤液用量和洗涤的次数。

### 六、思考题

1. 本实验中钡的测定，除了重量法以外，还有哪些其它化学方法可以应用？

2. 简述超导体的超导原理。

3. 沉淀钡时，为什么要加入热的硫酸溶液？

## 实验七 蛋清中白蛋白的磁性分离和测定<sup>[40-41]</sup>

### 一、实验目的

1. 磁性分离介质的制备及纯化
2. 梯度磁场分离蛋白
3. 蛋白质荧光分析

### 二、方法原理

采用化学共沉淀方式制备稳定的水基纳米磁性液体( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )，其表面修饰的亲生物性活性剂在弱酸性溶液中活化，然后在中性溶液中与维生素 H 结合(biotinylation)。得到的溶液可以高度选择性地结合白蛋白。在梯度磁场下，与磁性颗粒结合的白蛋白与其它混合成分分离。分离后，撤除磁场，样品经过处理后进行荧光检测。

### 三、主要仪器、试剂

1.  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaIO}_4$ 。
2. 葡聚糖 (dextran): 30% 水溶液。
3. 维生素 H(biotin hydrazide): 固体。
4. 卵白素(avidin):  $1.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。
5. Tween 20: 0.1% 水溶液。
6. 荧光黄: 0.1% 水溶液。
7. 磷酸缓冲溶液 (PBS):  $\text{pH}=7.4$ , 柠檬酸缓冲溶液:  $\text{pH}=5.0$ 。
8. 凝胶层析柱: Sephacryl-S 300。
9. 荧光分光光度计、透析袋、集热式磁力搅拌器、离心机、梯度磁场分离装置。

#### 四、实验部分

##### 1. 水溶性纳米磁性液体制备

1) 称取 dextran(Mw 40000) 7.5g 于 100 mL 小烧杯中，缓慢加入 25 mL 去离子水，使 dextran 充分湿润，然后将烧杯置于 68℃ 水浴中加热 20~30 min.，至 dextran 全部溶解得到清亮溶液；

2) 称取  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  3.8g， $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  1.6 g，置于 300 mL 洁净烧杯中，加入 35 mL 去离子水，搅拌（500 rpm）至铁盐全部溶解；

3) 将溶解后的 dextran 搅拌下加入到铁盐溶液中，继续搅拌溶液至 dextran 完全分散在溶液中；

4) 在剧烈搅拌下，在上述溶液中滴加加入 50 mL 7.5%(v/v)氨水。加完后溶液 pH 值在 10~11 之间，立即将溶液烧杯置于 68℃ 水浴中，搅拌下保持 30 分钟，得到悬浊液；

5) 悬浊液在搅拌下冷却至室温，离心 5 分钟，上层溶液倾析至洁净烧杯中保留待用。

##### 2. 磁性粒子 biotinylate 化反应：

1) 纯化后的磁性液体 5.0 mL，置于 100 mL 烧杯中。称取 30 mg 固体高碘酸钠，溶于 30 mL pH5.0 citrate 缓冲溶液中。然后将其加入到溶液中，于暗处避光搅拌反应 30 min.；

2) 反应完成后，立即通过事先准备好的层析柱(Sephacryl-S 300)，层析柱用 pH 7.4 PBS 缓冲溶液饱和，洗提液为 pH 7.4 的 PBS 缓冲溶液；

3) Biotinylated 反应：氧化的磁性液体通过层析柱后，置于 100 mL 烧杯中，加入 30 mg biotin hydrazide，于暗处避光搅拌反应 12 小时，使配位反应完全；

4) 在反应溶液中加入 Tween-20，使 Tween-20 在溶液中浓度为 0.1%。然后将溶液置于封口后的透析袋中，透析液为 1000 mL 0.1 mol·L<sup>-1</sup> PBS 缓冲溶液，透析 24 小时；

Biotinylation 完成后，用微量吸管准确吸取溶液 100 μL，置于反应瓶中，加入 Avidin (1.00 mg·mL<sup>-1</sup>) 1.00 mL，3.00 mL，5.00 mL，8.00 mL，10.00 mL，分别补加 PBS 缓冲溶液 9.00、7.00、5.00、2.00、0.00 mL，保持溶液总体积一致 (10 μg biotin 可以配位 1.0 mg avidin)。

##### 3. 磁性分离和检测

1) 固定磁性分离装置；

2) 制备凝胶层析柱，以 pH7.4 的 PBS 缓冲溶液为洗提液，溶液缓慢通过；

3) 将反应后的溶液加入到凝胶柱中，开始加磁场，同时进行洗提；

4) 待样品分离完毕，关闭磁场，洗脱磁性颗粒；

5) 样品加入荧光试剂，测定其含量；

6) 由加入的 avidin 量，绘制标准曲线。

#### 五、注意事项

1. 滴加 dextran 时，一定要充分搅拌，以确保 dextran 已经完全分散在溶液中，然后才可滴加氨水，以制备纳米磁性粒子。

2. 若自行装柱，一定要保证所装柱子紧密，没有气泡。柱子在整个使用过程中，不能干，溶液（样品液或淋洗液）始终超过柱床。

3. 透析时，透析液要换几次，以确保透析完全。

#### 六、思考题

1. 简要比较水基磁性液体和油基磁性液体制备中的异同点。

2. 在实验中，为什么要采用几种缓冲溶液？

3. 荧光测定的结果和生物物质的加入量是否一致，为什么？



## 实验八 纳米碱式硫酸铜的均匀沉淀法制备及纯度分析<sup>[42-46]</sup>

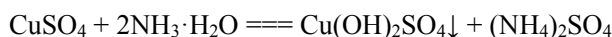
### 一、实验目的

1. 了解均匀沉淀制备纳米碱式硫酸铜的方法。
2. 熟悉纳米材料中铜的测试技术。

### 二、方法原理

通过对常规碱式硫酸铜制备方法的改良，如利用溶液浓度、蒸氨时间和 pH 的控制，添分散剂等手段，可均匀沉淀出纳米碱式硫酸铜。并通过配位置换滴定法测定碱式硫酸铜的纯度。

CuSO<sub>4</sub> 与氨水反应生成铜氨配合物时开始生成的沉淀就是碱式硫酸铜：



配位置换滴定法测定铜的原理见第五章络合滴定部分。

### 三、主要试剂、仪器

1. 氧化铜、氨水、硫酸铵、碘化钾、尿素。
2. 重铬酸钾标准溶液：0.01 mol·L<sup>-1</sup>。

用差减法准确称取干燥的（180℃烘两小时）分析纯 K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 固体 0.7~0.8 g 于 100 mL 烧杯中，加 50 mL 水使其溶解之，定量转入 250 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。

3. 硫代硫酸钠溶液：0.05 mol·L<sup>-1</sup>。

在台秤上称取 6.5 g 硫代硫酸钠溶液，溶于 500 mL 蒸馏水中，转移到 500 mL 试剂瓶中，摇匀后备用。

4. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>：30%水溶液。
5. 硫氰酸钾溶液：20%。
6. 淀粉溶液：0.5%。

称取 0.5 g 可溶性淀粉，用少量水调成糊状，慢慢加入到沸腾的 100 mL 蒸馏水中，继续煮沸至溶液透明为止。

7. 盐酸：3 mol·L<sup>-1</sup>、硝酸：1:3、氢氧化铵溶液：1:1、醋酸：6 mol·L<sup>-1</sup>。
8. HAc-NaAc 缓冲溶液：pH=3.5。
9. 500 mL 圆底烧瓶。
10. 集热式磁力搅拌器、球形冷凝管、透射电镜：JEM-100cxII (高压 100KV)。

### 四、实验部分

#### (1) 纳米碱式硫酸铜的制备

称取氧化铜 8g，不断搅拌下逐步加入 5 mol·L<sup>-1</sup> 氨-2.5 mol·L<sup>-1</sup> 硫酸铵混合溶液 75 mL，常温下使其溶解，过滤杂质后加入适量分散剂聚乙烯吡咯烷酮，转入圆底烧瓶中，置于集热式磁力搅拌器上，强烈沸腾回流蒸氨，至 pH 降至 7.5~8.0 时，结束蒸氨，过滤并以水洗尽杂质后用乙醇洗涤两遍，经 60℃ 干燥即得产品。然后用氧化还原滴定法测定纳米碱式硫酸铜的纯度。

#### (2) 产物中铜含量测定

### ①硫代硫酸钠溶液的标定

用移液管移取 25.00 mL  $K_2Cr_2O_7$  溶液置于 250 mL 锥形瓶中，加入  $3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  HCl 5 mL，1g 碘化钾，摇匀后放置暗处 5 分钟。待反应完全后，用蒸馏水稀释至 50 mL。用硫代硫酸钠溶液滴定至草绿色。加入 2 mL 淀粉溶液，继续滴定至溶液自蓝色变为浅绿色即为终点，平行标定三份，计算  $Na_2S_2O_3$  溶液的量浓度。

②准确称取 0.25~0.35g 左右的产物三份{其中老师称二份}，分别置于 250 mL 锥形瓶中，加入 1:3  $HNO_3$  5 mL，在通风橱中小火加热，至不再有棕色烟产生，继续慢慢加热至合金溶解完全。蒸发溶液至约 2 mL 体积。取下，冷却后，用少量水吹洗瓶壁，继用 25 mL 蒸馏水稀释，并煮沸使可溶盐溶解。趁热逐滴加入 1:1 氨水，至刚有白色沉淀出现。再逐滴加入  $6 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  HAc，摇匀至沉淀完全溶解后，过量 1~2 滴。加  $pH = 3.5$  的 HAc~NaAc 缓冲溶液 5 mL，冷却至室温，加入 1g 碘化钾，摇匀。立即用  $Na_2S_2O_3$  溶液滴至浅黄色，加入 20%KSCN 溶液 3 mL，再滴至黄色几乎消失。然后加 0.5%淀粉溶液 3 mL，继续滴至蓝色刚刚消失为终点。由消耗  $Na_2S_2O_3$  溶液的体积，计算产物中铜的质量百分数。

## 五、注意事项

### 1. 添加剂对纳米粒径的影响

粒子越细，表面自由能越大，越容易发生团聚现象，导致粒子变大。加入的分散剂被粒子吸附，生成界面保护膜，降低表面能，是防止团聚现象的主要手段。故加入适量分散剂是制备纳米碱式硫酸铜所必需的。

### 2. 均匀沉淀法

本实验所采用的氨-铵盐混合溶剂制备纳米碱式硫酸铜的方法也是均匀沉淀的范畴。这是因为其分解蒸氨过程具备均匀沉淀所必须具备的条件，实质上同样是均匀沉淀过程。在沸腾并充分搅拌的条件下，反应器的各个部位温度相同，反应是在反应器的各个部位同时发生的，沉淀所需的铜离子，是氨解过程逐步释放出来的，因此氨浸法中的蒸氨过程符合均匀沉淀所具备的条件。在分散剂等试剂的协同作用下，能制备出粒径范围窄的纳米碱式硫酸铜。

### 3. 溶液浓度对纳米粒径的影响

沉淀过程是一种特殊的结晶过程，经验公式（槐式公式）为：

$$V = K \frac{Q - S}{S}$$

式中：

$V$  为晶核的形成速度；

$K$  为与沉淀性质，介质及温度等因素有关的常数；

$Q$  为加入沉淀剂瞬间沉淀物质的浓度，本实验即是瞬间  $Cu^{2+}$ ,  $OH^-$ ,  $SO_4^{2-}$  浓度的几何平均值；

$S$  为开始沉淀时沉淀物质的溶解度（晶核的溶解度），可看作沉淀作用的阻力；

$Q - S$  为沉淀开始瞬间的过饱和度，它是引起沉淀作用的动力；

$(Q - S) / S$  为沉淀开始瞬间的相对过饱和度。

可知，溶液的相对过饱和度越大，分散度越大，形成的晶核数目就越多，有利于得到细小颗粒沉淀。 $S$  主要由沉淀的性质决定，要想获得高分散度，必须提高  $Q$  值。

经实验得出，当铜-氨离子浓度达到  $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时，可以得到分散度很高的沉淀微粒。

### 4. 蒸氨速率和 pH 对纳米粒径的影响

蒸氨作用是生成碱式硫酸铜，蒸氨时游离氨及铜氨离子中的配合氨受热挥发，溶液 pH

值下降，pH 降至 8.5 时开始产生碱式硫酸铜沉淀，pH 值降至 7.5~8.0 时，铜离子基本沉淀完毕。实验发现，pH 自 8.5 至 7.5 的下降速率对纳米粒的大小有影响，下降速率快，颗粒更小更分散。蒸氨时加热强度大，氨挥发速度快，则 pH 下降速率快，有利于微粒的细化。本实验将蒸氨时间控制在 90~120min 内完成，可获得粒度均匀的纳米颗粒。

氨解均匀沉淀制备碱式硫酸铜，微粒生成的 pH 值在 7.0~8.5 之间，此范围内有利于超细的球形颗粒的生成，如果使铜略微过剩，在 pH 7.5~8.0 附近结束蒸氨，粒子更细更分散，团聚程度较小；在此 pH 范围内，粒子的  $|d\xi|$  电位值较大，因静电排斥而保持高度分散。

#### 六、思考题

1. 可否用其它铜盐代替氧化铜？
2. 可否用其它缓冲溶液来控制 pH 值？

### 实验九 超微粒子 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 的制备及纯度分析<sup>[47]</sup>

#### 一、实验目的

1. 了解利用表面活性剂形成的分子有序组合体的特点及在制备超微粒子中的应用。
2. 掌握纳米材料纯度分析。

#### 二、方法原理

由于溶剂能渗透到 TritonX-100/  $\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  层状液晶中，且渗透性很强，渗透率高达 50% 以上，故层状液晶结构中的溶剂层厚度则很小，一般小于 3 nm。因而，可利用层状液晶这种分子有序组合体制备水溶性超微粒子。而在含水量小于 60% 的 TritonX-100/  $\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  层状液晶区域内， $\text{CuSO}_4$  的溶解度均小于 1.0 g /100 g 溶剂。而在纯水中则为 20.7 g /100 g。也即在含  $\text{CuSO}_4$  的层状液晶中， $\text{CuSO}_4$  存在于溶剂层内，由于溶剂向两亲双层大幅度渗透，使得溶剂层内  $\text{CuSO}_4$  过饱和而析出。由于溶剂层为纳米级，故制备出的  $\text{CuSO}_4$  也为纳米粒子。

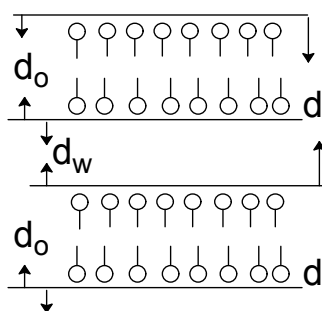


图 6-1 层状液晶的结构

图 6-1 是层状液晶的形态，由此可了解在层状液晶中纳米  $\text{CuSO}_4$  粒子的形成过程。

#### 三、主要试剂、仪器

1.  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、
2. TritonX-100
3. 正癸醇、无水乙醇均为分析纯，水为二次蒸馏水

4. 超声波清洗器、离心机、小角 X 射线仪、冷冻蚀刻电子显微镜。

#### 四、实验部分

##### 1. 1.2%CuSO<sub>4</sub> 水溶液制备

称取 1.2 g CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 溶于 100 mL 水中。

##### 2. 层状液晶的制备

称取 35 g TritonX-100 溶于 55 g 水中，加入 10 g 正癸醇，制备成层状液晶溶液。

##### 3. CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 的制备

以 1.2% 硫酸铜水溶液代替组分水制备层状液晶，即有 CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 结晶析出。经高速离心分离、无水乙醇充分洗涤、振荡分散后，即可制成。

##### 4. CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 超微粒子的表征

用小角 X 射线测量层间距，由此算出溶剂层厚度。用冷冻蚀刻电子显微镜测定 CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 超微粒的粒径大小。

##### 5. CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 的纯度分析

利用前述的碘量法（氧化还原法）或置换滴定法（EDTA 法）测出超微粒子中 CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 的质量分数，因而可分析 CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 纳米粒子的纯度。

#### 五、注意事项

1. 制备液晶时，所需的表面活性剂浓度较大，溶解时，要充分搅拌以确保溶解和分散。
2. 要确定液晶的形成，除采用冷冻蚀刻电子显微镜外，也可通过测定粘度或折光率方法确定。

#### 六、思考题

1. 能否用 TritonX-100/ C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>OH/H<sub>2</sub>O 作为介质制备 KCl 超微粒子？
2. 测定 CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 的两种方法在上述体系中各有什么利弊？

## 实验十 类脂囊泡的制备及用于磺基水杨酸的包封<sup>[48~52]</sup>

#### 一、实验目的

1. 了解囊泡作为药物载体的应用前景。
2. 掌握囊泡的制备方法和药物包封率的测定方法。

#### 二、方法原理

囊泡是由密闭双分子层所形成的球形或椭球形或扁球形的单间或多间小室结构。由于两亲分子在空间排列上是单层尾对尾地结合成密闭双分子层，壳（双分子层）外是亲水头处在水溶液环境，以及壳内则是包藏水的内层微相。

图 6-2 是囊泡存在的几种形态及包封（包容）目标物质的位置。由此可清楚地解释囊泡的形成过程和药物的包封。

表面活性剂能否形成囊泡取决于其分子构型，通常认为，当表面活性剂形成的两个单层、内层曲率与外层曲率相等且符号相反时，会形成不对称的双层。而曲率的正负可以由表面活性剂的临界排列参数  $P$  来确定，若  $P > 1$ ，表示自发曲率为负值； $P < 1$ ，则表示自发曲率为正值。一般认为要求满足  $P$  略小于 1 的条件。

类脂囊泡是一种由非离子表面活性剂组成的双层结构，如果在制备类脂囊泡时加入药物，在囊泡形成的同时可实现对药物的包封。

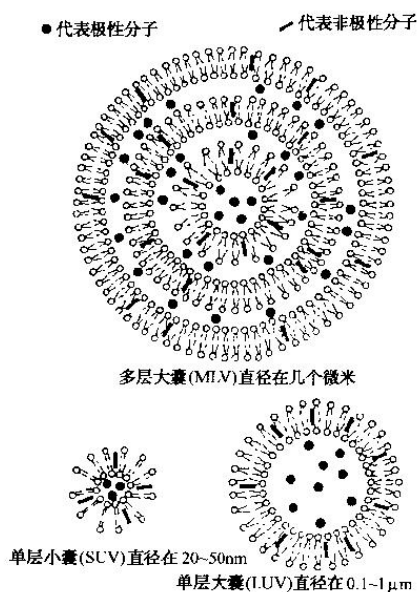


图 6-2 囊泡的几种类型

### 三、主要试剂、仪器

1. 磷酸缓冲溶液 (PBS): 在 800 mL 去离子水中溶解 8.0 g NaCl、0.20 g KCl、1.44 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、0.42 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 或 HCl 调节 pH 至 7.4, 再加水定容至 1000 mL。
2. 磺基水杨酸水溶液: 1.0 g·L<sup>-1</sup>。
3. TU-2000 型紫外可见分光光度计。
4. pH S-3C 酸度计。
5. KS-3000 超声清洗仪。
6. 透析袋。

### 四、实验部分

#### 1. Span80/PEG400 类非离子表面活性剂囊泡的制备

将 Span80、PEG400、1.0 g·L<sup>-1</sup> 的磺基水杨酸溶液或水溶液按照质量比 0.0030:0.9970:99.0 依次加入烧杯中，室温下超声 15min，即制成含磺基水杨酸的囊泡溶液或空白囊泡溶液。

将按上述方法精密配制含药物溶液及空白囊溶液分别用 PBS 缓冲溶液(pH=7.41)稀释数倍后在紫外/可见分光光度计从 190~350 nm 间进行扫描，其目的是寻求磺基水杨酸的最大吸收峰，并了解空白囊泡是否对药物分子测定有干扰。结果表明磺基水杨酸在 208 nm 处有最大吸收且空白囊泡不干扰。故选择 208 nm 为测定波长。

#### 2. 磺基水杨酸标准曲线的建立

精密配制浓度 $\rho$ 分别为 0.4、0.7、1.0、2.0、3.0 mg·L<sup>-1</sup> 的磺基水杨酸标准曲线，在 208 nm 处测定吸光度 A。以 $\rho$  为横坐标，A 为纵坐标进行线性回归得标准曲线。结果表明，在 0~3mg·L<sup>-1</sup> 浓度范围内，线性良好，回归方程为：

$$A = -0.0270 + 914.3739\rho \quad (R = 0.99975, n = 5)$$

#### 3. 包封率的测定

囊泡包封率(EE)的测定是通过透析分离出游离药物的方法。取 2ml 囊泡溶液于透析袋中，在 100 mL PBS 缓冲溶液中透析 24h，测定最大吸收波长处的吸光度，扣除空白囊泡的吸收，由工作曲线确定游离药物的浓度，根据下式计算包封率。

$$EE\% = \frac{c_t - c_f}{c_t} \times 100\%$$

#### 4. 囊泡中磺基水杨酸的释放研究

采用透析法测定囊泡包封药物缓释率。取相应 10 mL 囊泡包封物于透析袋中，加入与袋外相同的模拟肠液以维持透析袋内外的离子强度相等。将透析袋放入盛有 100 mL 模拟肠液的广口瓶中，同时将瓶置于 37℃ 水浴中，保持袋外轻微搅拌。每隔一定时间，从袋外取一定量透析液在 208 nm 处测量吸光度，然后放回瓶中，直至吸光度不变为止，既视为达到平衡时，解开透析袋，将全部溶液倒入瓶中，测其不同时刻的吸光度。按同样方法，将同浓度下无囊泡的磺基水杨酸直接放入袋内，测其吸光度。测量结果代入上式计算出某时刻释放药物的质量，再按下式计算缓释率。从而测量药物囊泡包封物以及无囊泡时纯的药物的释放情况。实验时以缓释时间 360min 为准。

$$\text{缓释率} = \frac{\text{t时刻包封在囊泡中物通过通过渗透膜的}}{\text{t时刻未包封药物通渗透膜的药量}} \times 100\%$$

#### 五、注意事项

1. 制备囊泡时，因要取的溶液质量比相差较大，故要注意选用适合的方法移取，以确保组成比准确。
2. 测定药物释放时，除了保证透析的时间相同外，测定所用的时间也要大致相同，以保证测定结果的可靠性。
3. 做标准曲线时，要确定所做的曲线满足一定的线性关系，若线性不好，说明操作过程中存在一定偏差，需重新制作。

#### 六、思考题

1. Span80/PEG400 体系为什么可形成囊泡？你能说出这种类脂囊泡的结构吗？
2. Span80/PEG400 形成的囊泡具有较好的稳定性，你能解释其中的原因吗？
3. 透析法常用来分离大分子和小分子，你能说出利用透析法的有缺点吗？
4. 本实验采用透析前后药物量之差来测定包封率和研究药物释放，你认为是否有其它方法可采用？

### 实验十一 MCM-41 型介孔分子筛的合成及其化学修饰<sup>[53-61]</sup>

#### 一、实验目的

1. 了解新型 MCM-41 介孔分子筛的特点，如孔径、比表面积(>1 000 m<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup>)、吸附容量(> 0.7 cm<sup>3</sup>·g<sup>-1</sup>)的大小。
2. 了解分子筛在大分子的吸附、分离和催化转化、在降解有机废物、汽车尾气处理、水质净化等方面的应用。

## 二、方法原理

以液晶为模板合成 MCM-41 介孔分子筛有以下可能的几种机理：

### 1. 液晶模板机理

在此模型中，他们认为具有双亲水基团的表面活性剂，如  $C_n$ TMABr 在水中达到一定浓度时形成棒状胶束，并规则排列成所谓“液晶”结构，其憎水基向里，带电的亲水基头部伸向水中，当硅源物质加入时，通过静电作用，硅酸根离子可以和表面活性剂离子结合，并附着在有机表面活性剂胶束的表面，形成在有机圆柱体表面的无机墙，两者在溶液中同时沉淀下来，产物经水洗、干燥、煅烧，除去有机物质，只留下骨架状规则排列的硅酸盐网络，从而形成 MCM-41 介孔材料。图 6-3 即为以液晶模板机理合成 MCM-41 介孔分子的路线。

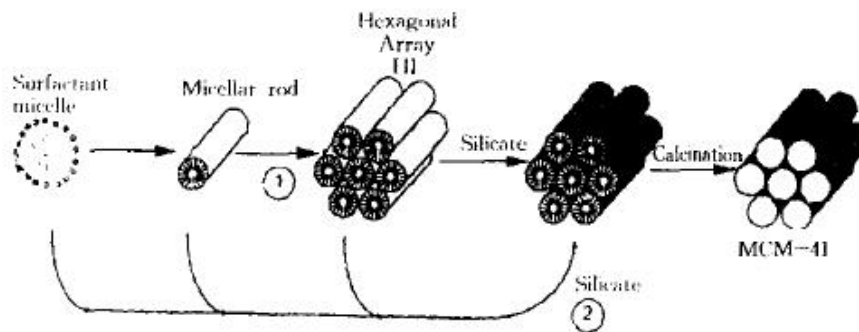


图 6-3 液晶的形成过程

### 2. 电荷匹配机理

电荷匹配实际上是有机与无机离子在界面处的电荷匹配，虽然表面活性剂的使用量小于棒状胶束，即液晶形成的临界胶束浓度，但介孔结构仍然可以形成。因为在介孔材料合成过程中，离子之间的经典作用力占据主导作用。当使用带电的表面活性剂时，活性剂的配位反离子首先与多电荷的聚硅酸根离子进行离子交换。这些多配位的硅酸根离子可以与几个表面活性剂离子键合，并屏蔽掉表面活性剂亲水头基之间的静电斥力，从而促使表面活性剂棒状胶团在较低浓度下的形成，并按六方堆积的方式排列，形成介孔结构。

### 3. 协同作用机理

认为三维有序的结构体系是分子级的有机和无机物种相互作用、协同组装形成的，有机胶束加速无机物种的缩聚过程，而无机物种的缩聚反应对胶束形成类液晶相结构有序体又具有促进作用。预先有序的有机表面活性剂的排列不是必须的，但它们可能参与反应。即在硅源加入之前，单个表面活性剂分子与球状或棒状胶束处于动态平衡之中。硅源加入后首先在液相中反应形成带电荷的可溶性硅物种，此物种通过与表面活性剂胶束表面的同性离子发生交换而吸附在胶束表面，同时也和液相中表面活性剂分子作用形成新的无机-有机复合物，吸附有硅物种的胶束和复合分子在离子键、氢键和分子间色散力的作用下，通过多重热力学平衡最后形成具有稳定结构的介孔材料。

协同作用机理具有一定的普遍性，能够解释介孔分子筛形成过程中的许多实验现象。如合成不同于液晶结构的新相产物，低表面活性剂浓度下的合成及合成过程中的相转变现象等。

## 三、主要试剂、仪器

1. 十六烷基三甲基溴化胺(CTAB)、硅酸钠( $Na_2SiO_3 \cdot 9H_2O$ )。

2. 正硅酸乙酯(TEOS)、氢溴酸、
3.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ :  $5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{NaOH}$ :  $2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。
4. 集热式磁力搅拌器、马夫炉、

#### 四、实验步骤

##### 1. 硅源型 MCM-41 型介孔分子筛的合成

###### (1) 碱性条件下的合成

###### a: 硅酸钠作硅源

将 25 g 硅酸钠( $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{O}/\text{SiO}_2=1.03 \pm 0.03$ )加热溶解于 50 mL 蒸馏水中, 用  $5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液调节 pH 在 8~9 之间, 搅拌 10 min, 使溶液变为粘稠的透明凝胶状。引入十六烷基三甲基溴化胺(CTAB)6.4 g, 使合成物体系中各物质的摩尔比为  $\text{SiO}_2$ : CTAB:  $\text{H}_2\text{O}=1:0.2:40$ , 室温下搅拌 0.5 h, 形成白色凝胶状。将混合物放于反应釜中,  $130^\circ\text{C}$  左右晶化 72 h, 冷却至室温后, 布氏漏斗抽滤, 蒸馏水洗去大量表面活性剂泡沫, 烘干。由此得到的分子筛原粉在空气中于  $260^\circ\text{C}$  焙烧 2 h, 后在  $540^\circ\text{C}$  焙烧 6 h, 以除去表面活性剂。

###### b: 正硅酸乙酯作硅源

将 2.0 g 十六烷基三甲基溴化铵和 10.0 mL 氢氧化钠溶液( $2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )于 95.0 mL 去离子水中搅拌溶解, 待溶液澄清后, 缓慢滴加 11.5 mL 正硅酸乙酯, 继续搅拌 1 h, 将反应物移入反应釜, 于  $100^\circ\text{C}$  水热晶化 3 d。产物经过滤、洗涤、 $60^\circ\text{C}$  下干燥, 最后于  $550^\circ\text{C}$  焙烧 6 h, 即得 MCM-41 介孔分子筛。

###### (2) 酸性条件下的合成(正硅酸乙酯作硅源)

在  $50^\circ\text{C}$  恒温下将 CTAB 8 g 溶于 24 mL 水中, 加入氢溴酸溶液, 调至  $\text{pH}=1.05$  左右, 在强力搅拌下再加入 40 g HBr 液, 并缓慢滴入正硅酸乙酯 15 mL, 再加入 40 mL 蒸馏水, 使合成体系中各物质摩尔比为  $\text{TEOS}:\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{NBr}:\text{HBr}:\text{H}_2\text{O}=1:0.3:2.5:70$ , 在该温度下恒温搅拌 30 h(晶化)后,  $50^\circ\text{C}$  恒温静置 6 h(老化), 冷却至室温, 抽滤, 洗涤, 烘干。最后将分子筛原粉在空气中, 于  $260^\circ\text{C}$  焙烧 2 h,  $540^\circ\text{C}$  焙烧 6 h。

由于各种因素都可能影响分子筛的合成, 因此有必要对各种影响因素进行研究。混和时间、pH 值和晶化条件对 MCM-41 中孔分子筛的合成影响最大, 而混和温度和搅拌方式影响则较小。另外, 表面活性剂链长、种类及其脱除方式都会影响中孔分子筛的合成和结构特性。虽然, 一般合成条件各不相同, 但表面活性剂/二氧化硅在 0.08~0.5 之间, 通常低于 0.3, 溶液 pH 值为 7~13 左右。

##### 2. 硅源型 MCM-41 型介孔分子筛的化学修饰

纯硅中孔分子筛 MCM-41 具有明显的缺点: 骨架中晶格缺陷少, 缺乏质子酸和 L 酸中心。除表面硅羟基有微弱酸性外, 基本不表现任何酸性。且离子交换能力小, 不具备催化氧化反应的能力, 因此有必要针对不同的催化反应目的来改善其催化活性, 增加酸性位。而其表面的硅羟基对其的改性提供了方便。MCM-41 的改性主要有 3 种途径:

###### (1) 在合成中直接引入其他杂原子

实践证明, 引入杂原子得到的分子筛 MCM-41 比表面积变化不大, 但催化活性有极大提高。如将 3 价的  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{B}^{3+}$ , 取代 4 价  $\text{Si}^{4+}$ , 产生 B 酸位, 可用于许多的酸催化反应。其中以铝的取代最为突出。在 MCM-41 中引入铝原子后, 与 4 配位骨架铝相连的内孔道羟基, 提供了 Bronsted 酸中心和催化活性。

###### (2) 通过离子交换在孔道内表面引入无机物

纯硅中孔分子筛可以通过浸渍, 离子交换的方法将金属, 金属氧化物, 金属盐, 硫酸, 杂多酸等负载到分子筛上, 使其呈现不同强度的酸性或碱性, 以达到不同的催化目的。引入不同的过渡金属可以改变 MCM-41 表面酸性和亲水性, 用于催化多种的氧化反应。



### (3) 孔道内表面有机修饰或功能化

中孔 MCM-41 分子筛相对较大的孔道结构，比其它微孔分子筛更适于有机大分子官能团和配体的固载。而通过有机官能团的立体结构和疏水作用，可调整表面活性中心的数量和可接近性，从而精细调变表面催化活性。因此，在孔道内表面修饰或功能化有机官能团，成为中孔 MCM-41 分子筛研究的新热点。

### 五、注意事项

1. 用  $H_2SO_4$  溶液调节 pH 时，要注意控制滴速，以防止析出二氧化硅。
2. 反应时间、pH 值和晶化条件对 MCM-41 中孔分子筛的合成影响很大，所以在实验过程要注意这些条件的控制。

### 六、思考题

1. 你认为在酸性或碱性和不同硅源时制备出的 MCM-41 型介孔分子筛会有什么差别？
2. 合成产物通常需干燥后，在焙烧，为何不直接焙烧？
3. MCM-41 型介孔分子筛有何用途？

## 实验十二 海藻酸盐微胶囊的制备、药物包封及缓控释分析<sup>[62~74]</sup>

### 一、实验目的

1. 掌握海藻酸 (ALG) 微胶囊的制备方法。
2. 了解海藻酸 (ALG) 微胶囊作为药物载体在包埋细胞、酶、蛋白质、核酸及多糖等方面的应用。

### 二、实验原理

在静电力作用下，海藻酸钠溶液通过注射剂挤出针尖，在针尖处形成球形液面，液面在注射器推动下增长，依次形成月牙形液面、倒锥形液面和细丝状液柱，在静电作用下崩解形成小液滴。当液柱的重力( $F_g$ )、注射器推动力( $F_p$ ) 和静电力( $F_e$ ) 之和大于表面张力时，液柱崩解。海藻酸钠液柱崩解后在自身表面张力作用下变成直径为  $d$  的球形，进入含凝胶化盐氯化钙溶液中，生成海藻酸钙凝胶微球。

药物从微囊中溶出受  $CaCl_2$  浓度和交联时间的影响，随着交联时间和浓度的增加，囊膜厚度增加，药物的溶出变慢。海藻酸钙凝胶微囊被认为是贮库式释药系统，药物溶出符合零级动力学，通过控制囊膜的厚度来调整制剂中药物的溶出速率。

### 三、主要试剂、仪器

1. 海藻酸钠，氯化钙
2. 吐温60，无水乙醇，盐酸。
3. 醋酸地塞米松 (进口分装)。
4. 空白海藻酸钙凝胶小球(自制)。
5. 盐酸缓冲液(pH= 1.3)，磷酸缓冲液(pH= 6.8)。
6. 集热式磁力搅拌器、注射器。

### 四、实验部分

1. 微胶囊制备

海藻酸钠明胶微胶囊采用注射器滴制而成。分别取一定量质量浓度(w/v) 海藻酸钠和明胶，用蒸馏水充分溶解，两者混匀后用注射器滴入到一定浓度的CaCl<sub>2</sub> 溶液中，浸泡一定时间后，真空抽滤，用蒸馏水洗涤凝胶表面钙离子，于4℃冰箱中冷藏备用。

或另一制备方法：

海藻酸钠为天然植物胶的盐类，配制前先将水温升至60℃左右，边快速搅拌边将海藻酸钠均匀加入，以防分散不及而结成团块。再将乳化剂吐温60加入海藻酸钠水溶液中，混合均匀，然后将萃取剂P507均匀加入到不断搅拌的海藻酸钠水溶液中进行乳化。然后将乳化液装入注射针筒中，用步进器经锐孔将其滴入不断搅拌的氯化钙溶液中，形成微胶囊，将制得的微胶囊过滤并用清水洗去表面吸附的钙离子，然后浸泡在蒸馏水中备用。

滴制工具为10 mL的注射器，滴头为处理过的医用9号针头，滴距为8 cm。

## 2. 药物的包封

### (1) 滴制法

将模型药混悬于一定浓度的海藻酸钠水溶液中，再滴入CaCl<sub>2</sub>溶液中，交联若干小时（亦可称为钙化过程）形成凝胶小球，冲洗后室温干燥至恒重，即得适宜粒径的凝胶小球。

### (2) 浸渍法

将空白的海藻酸钙凝胶小球浸入药液中，放置若干小时，然后冲洗、干燥至恒重得含药凝胶小球。粒径1.5~1.0 mm，平均质量0.8 mg。

### (3) 反滴法

将药物溶于CaCl<sub>2</sub>水溶液中再滴入海藻酸钠水溶液，钙离子从液滴中扩散出来与海藻酸钠形成水不溶性的海藻酸钙凝胶薄膜，包裹于含药液滴的四周，干燥得球状、表面有光泽的微囊(平均粒径3.1mm)。

## 3. 测定条件

精密称取醋酸地塞米松对照品0.01g 和空白海藻酸钙凝胶小球0.005g 于50 mL 容量瓶中，分别用磷酸缓冲液-无水乙醇(2：1) 混合溶剂于超声波中振荡溶解，稀释至刻度，摇匀后，在350 nm~ 200 nm 处进行紫外吸收光谱扫描。知在240nm 处醋酸地塞米松有最大吸收，而空白小球在此处也有一定吸收，对前者紫外吸收会产生干扰，选用对仪器要求简单、操作方便、快速的系数倍率法进行含量测定，可消除干扰。

配制一定浓度的醋酸地塞米松溶液与空白海藻酸钙凝胶小球溶液，于240 nm ~ 250 nm 处，每隔1 nm 分别测定两者的吸光度，根据K值尽量接近1，ΔA值尽可能大的原则，最终确定λ<sub>1</sub>=240 nm，λ<sub>2</sub>= 250 nm，K=1.06 (n= 3)。

$$\text{其中, } K = \frac{A_{\lambda_1}^0}{A_{\lambda_2}^0}; \quad \Delta A = A_{\lambda_1}^d - A_{\lambda_2}^d \quad (\text{上标 } 0: \text{表示空白, } d: \text{表示药物})$$

## 4. 工作曲线

按照3，分别配制一系列浓度的醋酸地塞米松对照液和空白小球溶液于240 nm、250 nm 处分别测定吸光度值，以ΔA = A<sub>240</sub> - K A<sub>250</sub>计算ΔA，计算得回归方程 c = aΔA + b，回归系数(n= 6)，和线性范围（参考值：4.78 ~25.56 μg·mL<sup>-1</sup>）。

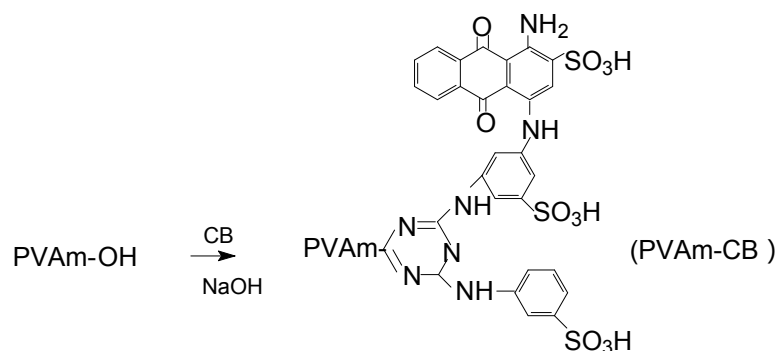
## 5. 样品测定

取适量小球研细后，精密称取0.015g 于50mL 容量瓶中，用磷酸缓冲液-无水乙醇(2：1) 混合溶剂溶解，定容稀释10 倍后，于240nm、250nm 处测定吸光度值，将ΔA 值代入回归方程计算。

## 6. 溶出性能检测

取醋酸地塞米松凝胶小球适量按照溶出度测定法(《中国药典》2000 版二部附录XC 第





### 三、主要试剂、仪器

1. 聚乙烯醇 (1750±50): 50 mg·mL<sup>-1</sup>。
2. 活性染料汽巴蓝 CBF3GA: 5mg·mL<sup>-1</sup>。
3. 对苯二甲醛, NaOH, HCl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaCl。
4. 乙酸-乙酸钠缓冲溶液: pH6.6。
5. 铜试剂水溶液: 0.1%。
6. TritonX-100 水溶液: 2%。
7. Cu<sup>2+</sup>溶液标准溶液: 40μg·mL<sup>-1</sup>。
8. 比色管: 25mL。
9. 集热式磁力搅拌器、多功能振荡器、分光光度计。

### 四 实验部分

#### 1. PVA 膜的制备

称取 10g PVA, 加入 200 mL 蒸馏水, 在 95℃ 恒温水浴中加热 0.5h 以上, 溶解后, 备用。取 50 mg·mL<sup>-1</sup> PVA 溶液 50 mL 加入到烧杯中, 室温磁力搅拌 10min。在上面的 PVA 溶液中加入对苯二甲醛 (0.2g 溶于 15 mL 水) 经充分搅拌 10min 中后加入 HCl (5 mol·L<sup>-1</sup>) 调 pH=1 左右, 然后在 80℃ 恒温水浴中加热 2h, 取下, 用牛角勺取 2、4、6 勺分别均匀铺在 3 个玻璃器皿上, 室温下干燥。(需二天以上)

将玻璃器皿在 65 °C 上加热 10 min 左右, 倒掉热水, 加入一定量冷蒸馏水, 稍后小心取下 PVA 膜, 备用。

#### 2. 亲和 PVA 膜制备

取 0.05gCB 染料溶于 10 mL 蒸馏水中, 置于恒温水浴锅中 (45℃), 恒温后将制备好的 PVA 膜放入其中, 搅拌 10 min, 然后在上述溶液中加入 0.2g NaCl (溶于 2 mL 蒸馏水中) 继续搅拌 10min; 加入 0.1g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(溶于 5 mL 蒸馏水中), 再继续搅拌 15min; 取出亲和 PVA 膜, 依次用蒸馏水 (洗至流出液无色为止)、NaCl 溶液 (1 mol·L<sup>-1</sup>)、NaOH 溶液 (0.25 mol·L<sup>-1</sup>)、蒸馏水冲洗, 最后以在 630nm 处无明显吸收值为准。

#### 3. Cu<sup>2+</sup>吸附或制备金属配位亲和膜

在小烧杯中, 加入 1.0 mL pH=6.6 HAc-NaAc 缓冲液, 1.0 mL Cu<sup>2+</sup>溶液 (40 μg·mL<sup>-1</sup>), 加入亲和 PVA 膜, 加入 10 mL 蒸馏水, 搅拌后, 在振荡器上振荡 1h, 然后溶液转移 25 mL 比色管中, 加入 0.1% 铜试剂溶液 2.0 mL, 2% TritonX-100 4.0 mL 稀至刻度, 摇匀。依此, 同样制备空白和 Cu<sup>2+</sup>对照品。放置 10min 后, 在 450nm 处测吸收值。依此计算 Cu<sup>2+</sup>吸附量。

### 五、注意事项

1. PVA 是高分子，溶解较为困难，需要高温和一定时间才能溶解完全。
2. 取 PVA 膜时要小心，可先用薄刀片挑起，再用镊子小心剥下。
3. 制备亲和膜时，一定要冲洗干净，确保没有非化学键合的 CB 染料吸附在膜上。

### 六、思考题

1. 制备不同厚度 PVA 膜有什么作用？
2. CB 染料的负载量对制备金属配位亲和膜有什么影响？金属配位亲和膜与亲和膜在分离蛋白质等生物大分子时有何不同？
3. 你如何判断 CB 染料在 PVA 膜上是化学吸附或是物理吸附？
4. 请你写出亲和膜制备所涉及的化学反应式。

## 实验十四 纳米羟基磷灰石材料的制备及成分分析<sup>[87~105]</sup>

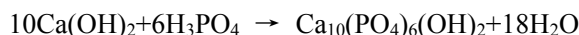
### 一、实验目的

1. 掌握纳米羟基磷灰石(Hydroxyapatite, HAP)的制备方法。
2. 了解羟基磷灰石在生物和医学方面的应用。

### 二、方法原理

#### 1. 共滴定法合成

基本原理是通过控制溶液的pH 值，使溶液保持能够生成HAP的最佳环境，通过反应速率的控制来实现HAP的生成，然后通过控制保温时间来实现晶体的晶化过程。具体的反应方程式如下：

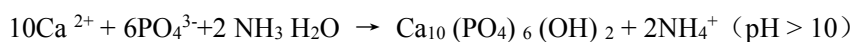


控制体系的 pH 值为 9，反应温度为室温，充分搅拌反应 6 小时，然后陈化，干燥即可。

#### 2. 水热法合成

与其他湿化学方法相比，水热法具有如下特点：水热法可直接得到结晶良好的粉体，不需作高温灼热处理，避免了在此过程中可能形成的粉体硬团聚；通过控制水热条件，可得到不同的粉体晶粒物相和形貌；晶粒线度适度可调，水热法制备的粉体晶粒线度与反应条件（反应温度、反应时间、前驱物形式等）有关；工艺较为简单。

以Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 和(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>为原料，控制反应条件如下：Ca/P 为1.67；溶液pH为11.0；反应如下：



### 三、主要试剂、仪器

1. Ca(OH)<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, (NH<sub>4</sub>)<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O。
2. 二甲基甲酰胺。
3. 二甲酚橙：0.5%水溶液。
4. 孔雀绿：0.1%钙指示剂水溶液。
5. 磷酸二氢钾标准溶液：准确称取 10.2068g 的 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>，用少量水溶解并移至 250 mL 容量瓶中，用水稀至刻度后摇匀。

6. 钙标准溶液：浓度为 $0.3000 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ；准确称取纯 $\text{CaCO}_3$  2.497 g溶于10 mL 1+1  $\text{HNO}_3$ 后，准确稀释到1 L ( $\text{Ca}=1.000 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )。

7. 铋标准溶液：浓度约 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ；称取 $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  48 g溶于50 mL 1+1  $\text{HNO}_3$  中，加水稀释至1 L，用EDTA 标定。

8. EDTA标准溶液：称取EDTA 二钠盐7.5 g溶于水中并稀释至1 L(浓度约 $0.02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )，用钙标准溶液标定。

9. 离心机、电动搅拌器、干燥箱。

#### 四、实验部分

##### 1. 羟基磷灰石合成方法

###### (1) 化学沉淀法合成

将 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  分别溶于一定的溶剂(去离子水或无水乙醇)中配成 $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液，加入少量表面活性剂(溶液中聚乙二醇浓度为3%)，并同时用氨水调节溶液pH约为9。控制Ca/P 比为1.67，在剧烈搅拌条件下，向 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  溶液中滴加 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 溶液，在反应的过程中，不断用氨水调节pH，使它保持稳定，滴加完毕后，继续搅拌30 min，得白色胶状沉淀，将该沉淀陈化24h后，用去离子水离心洗涤数遍， $110^\circ\text{C}$ 干燥，或在高温下煅烧2h，最后研磨备用。

###### (2) 水热法合成

按制备30 g HAP，根据HA中 $n(\text{Ca})/n(\text{P}) = 10/6$ ，称取36.40 g  $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  和70.52 g  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  分别用500 mL 和400 mL 的1.7%氨水( $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 溶解(将溶液的pH值调至10~11)，同时滴加一定量的分散剂N，N-二甲基甲酰胺(DMF)。在磁力搅拌下将 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  溶液以一定的速度滴加到 $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$  溶液中，两种溶液混合后形成凝胶状的沉淀，用浓氨水将反应混合物的pH 值调至10~11。然后放入高压釜中，密闭，在一定温度保温后取出。冷却后取出反应物，用双重蒸馏水洗涤至滤液为中性，然后换用无水乙醇洗涤三次，过滤后放入恒温干燥箱中 $40^\circ\text{C}$ 真空干燥，然后贮存于干燥器中待用。

或研究中以 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  和 $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (分析纯) 为原料，将二甲基甲酰胺(分析纯) 作为分散剂。二甲基甲酰胺能和大多数溶剂以任意比混溶，沸程在 $151\sim 154^\circ\text{C}$ 。将 $2.2 \text{ mol} (\text{NH}_4)_3\text{PO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  溶于1000 mL 去离子水，加 $\text{NH}_3\cdot \text{H}_2\text{O}$  调节，使 $\text{pH} > 10$ ，配成一定浓度的1号液。在加热搅拌条件下把 $3.7 \text{ mol} \text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 溶于1500 mL 去离子水中，配成2号液。反应中化学计量比为1.67，与人自然骨中Ca/P 比值一致。

合成时，先将1号液加入，同时加入1000 mL 二甲基甲酰胺。在加热搅拌条件下缓缓滴入2号液。当温度上升到 $100^\circ\text{C}$ 时初步恒定，水被蒸馏排出溶液，同时加入二甲基甲酰胺，当二甲基甲酰胺加入量至2000 mL 时，温度逐渐上升，并恒定在 $140\sim 145^\circ\text{C}$ 之间。此时恒温处理2h，以在常压下制备HAP 纳米晶体。待自然冷却后取出试样，分别用水和乙醇洗去二甲基甲酰胺，然后用离心机脱水，试样在 $50^\circ\text{C}$ 进行48h 干燥。

##### 2. 羟基磷灰石组成分析方法

###### (1) 条件实验

取磷标准溶液20.00 mL，钙标准溶液20.00 mL于小烧杯中混合，加入一定体积的1+1  $\text{HNO}_3$ 、加水至总体积约60 mL。将溶液加热至沸，趁热缓慢加入25.00 mL 标准铋盐溶液，搅拌混匀，冷至室温后，用1% $\text{HNO}_3$  溶液转移入100 mL 容量瓶中并稀释至刻度。干过滤，分取滤液测定磷和钙的含量。

磷的测定：取滤液20.00 mL于锥形瓶中，加水约60 mL，二甲酚橙指示剂4滴，用EDTA滴定到黄色。

钙的测定：取滤液20.00 mL 于锥形瓶中，加水约60 mL，加孔雀绿指示剂3滴，加

10 mL 20%三乙醇胺，滴加20%NaOH 至溶液无色后再过量4 mL，加入适量钙指示剂，用EDTA滴定到纯蓝色。

#### (2) 样品测定

准确称取约0.1克样品于烧杯中，加入10mL 1+1 HNO<sub>3</sub>，小心蒸发至近干。稍冷后，以少量水吹洗杯壁，加入5 mL 1+1 HNO<sub>3</sub>，加水至总体积约60 mL。以下操作同条件试验，唯在滴定磷和钙前可加入少许抗坏血酸以消除铁的干扰。

羟基含量测定可加过量的盐酸，用NaOH滴定剩余的盐酸，再根据前面的测定结果，确定羟基的含量。由此，可确定羟基磷灰石的组成。

### 五、注意事项

1. 制备羟基磷灰石时，要想制备一定形态的产物，需要注意控制反应物滴定速度。
2. 制备羟基磷灰石时，一定要洗涤干净，否则测定磷和钙、特别是羟基时会有较大的误差。

### 六、思考题

1. 请你说出 EDTA 法测定磷的原理。
2. 测定钙时，加入孔雀绿的目的何在？加三乙醇胺起什么作用？

## 实验十五 微孔滤膜富集测定食品中微量铁<sup>[106~112]</sup>

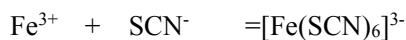
### 一、实验目的

1. 了解微孔滤膜用于分离富集的原理。
2. 掌握微孔滤膜用于铁的分选富集方法。了解 Fe-SCN-CV 三元络合物的特点。

### 二、实验原理

从结构上分析，微孔滤膜（MF）乃一极薄滤膜，内呈多孔海绵状之结构。微孔过滤乃筛分过程，属于精密过滤。微孔精密过滤是指滤除 0.1μm 至 10μm 微粒之过滤技术，一般而言，过滤机理分表面型与深层型两类。经由高级技术制造的 MF 其过滤机理为表面型过滤。因过滤孔径固定，故可确保过滤的精度与可靠度。本实验中，铁由于形成了 Fe-SCN-CV 三元络合物可被 MF 截留而与母体分开，从而达到分离富集的作用。

对于含量较低的铁，常规的分光光度法无法准确测定。微孔滤膜分离富集-光度法测定是利用铁和硫氰酸盐、结晶紫（CV）形成三元络合物的特点，并通过微孔膜过滤除去干扰，少量溶剂将膜溶解后就又达到富集的作用，然后再用光度法测定。



### 三、主要试剂、仪器

1. 铁标准溶液：准确称取 1.4297g 经预先灼烧的高纯 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 于烧杯中，滴加(1+1)HCl 并加热使其溶解，冷却，定量转移于 1000ml 容量瓶中，用水定容。  
此溶液为含铁 1.00 g·L<sup>-1</sup> 储备液。使用时，稀释至 1.00 mg·L<sup>-1</sup> 的工作液。
2. 硫氰酸钾：100 g·L<sup>-1</sup> 水溶液。

3. 结晶紫(CV):  $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  水溶液。
4. 聚乙烯醇(PVA):  $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  水溶液。
5. 硫酸:  $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。
6. 二甲基亚砷(DMSO)。
7. 721 型分光光度计、pHS-3C 型酸度计。
8. 玻璃过滤器, 微孔滤膜(孔径  $0.2 \mu\text{m}$ ), 抽吸泵。

#### 四、实验部分

##### 1. 实验方法

准确移取  $1.0 \mu\text{g}$  铁标准溶液于  $25 \text{ mL}$  比色管中, 依次加入  $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$  溶液  $2.0 \text{ mL}$ ,  $100 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{KSCN}$  溶液  $5.0 \text{ mL}$ ,  $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{PVA}$  溶液  $1.0 \text{ mL}$ ,  $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{CV}$  溶液  $1.0 \text{ mL}$ , 摇匀, 放置  $20 \text{ min}$  后, 用微孔滤膜过滤富集后, 将富集膜置于内盛  $10 \text{ mL}$  二甲基亚砷的比色管中, 振荡使其溶解, 然后在 721 型分光光度计上于  $540 \text{ nm}$  处, 以试剂空白为参比, 用  $0.5 \text{ cm}$  比色皿测定其吸光度。

##### 2. 吸收曲线

准确称取  $1.0 \mu\text{g}$  铁标准溶液, 按实验方法分别测定富集前水相中和富集后二甲基亚砷溶液中的吸收曲线。实验结果表明, 富集后在二甲基亚砷溶液中的最大吸收波长为  $540 \text{ nm}$ , 与富集前水溶液中基本一致, 说明该络合物在有机相中基本不变。所以本文选择  $540 \text{ nm}$  为测定波长。

##### 3. 工作曲线

于  $25 \text{ mL}$  比色管中分别加入  $0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 \mu\text{g}$  铁标准溶液, 按实验方法显色、富集、测定。铁含量在  $0\sim 2.5 \mu\text{g}\cdot 10 \text{ mL}^{-1}$  范围内符合朗伯-比耳定律。

##### 4. 食品中铁的测定

把固体颗粒样品洗净, 在温度  $80^\circ\text{C}$  的烘箱中烘干, 冷却后, 磨碎。准确称取样品  $0.5\sim 1 \text{ g}$  于坩埚中, 在电炉上加热至白烟冒尽, 然后放入高温炉中, 从低稳升至  $800^\circ\text{C}$ , 灼烧  $4 \text{ h}$ , 取出冷却, 加  $1 \text{ mL}$  (1+1)  $\text{HCl}$ , 微热溶解后, 定量转入  $100 \text{ mL}$  容量瓶中, 用水定容。移取适量试液于  $25 \text{ mL}$  比色管中, 按实验方法测定溶液的吸光度, 并依据工作曲线计算样品中铁的含量。

#### 五、注意事项

1. 本法适用于含量较低的铁的测定, 若为较高含量的铁, 用此法无优势。
2. 溶解铁时, 溶解后若残留的酸较少, 需补加, 以防高价铁水解; 稀释时, 仍需注意同样的问题。

#### 六、思考题

1. 你认为微孔滤膜分离富集-光度法有何有缺点?
2. 测定食品中的铁时, 为什么要高温熔样?
3. 三元络合物和三元缔合物有何区别?

### 实验十六 乙二胺四乙酸铁钠的制备及组成测定<sup>[113~115]</sup>

#### 一、实验目的

1. 掌握乙二胺四乙酸铁钠的制备方法。



2. 了解乙二胺四乙酸铁钠作为铁营养剂的特点。

## 二、方法原理

乙二胺四乙酸铁钠(EDTANaFe)是一种新的补铁剂，相比硫酸亚铁而言，它的性质稳定、对胃肠无刺激、在人体内吸收率高，还可促进内源性铁的吸收并具有排毒作用，因而收到广泛关注。

本实验采用两步法制备乙二胺四乙酸铁钠。第一步，制备氢氧化铁；第二步，采用 EDTA 二钠盐和新鲜制备的氢氧化铁来制备目标产物。然后利用重铬酸钾法测定铁；利用 EDTA 滴定法测定 EDTA；利用挥发法测结晶水含量；最后利用差减法算出钠的含量。由此，可测出乙二胺四乙酸铁钠组成。本实验也可采用 EDTA 二钠盐和 FeCl<sub>3</sub> 直接制备乙二胺四乙酸铁钠。反应如下：



## 三、主要试剂

1. FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O，乙二胺四乙酸(H<sub>4</sub> EDTA)，乙二胺四乙酸二钠(Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub> EDTA·2H<sub>2</sub>O)，碳酸氢钠、NaOH、HCl (1:1)、HNO<sub>3</sub>氨水 (1:1)、无水乙醇。

2. KMnO<sub>4</sub>：2%水溶液。

3. K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>标准溶液：准确称取在150~180℃烘干2小时的K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>0.7~0.8 g，置于100 mL烧杯中，加50 mL水搅拌至完全溶解，然后定量转移至250 mL容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。

4. 氯化亚锡溶液：15%和2%的1:1 HCl溶液。

在台秤上称取15g SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O于250 mL较干的烧杯内，加入浓盐酸50 mL，加热溶解后，边搅拌边慢慢加入水稀释成质量百分数为15%的溶液，并放入锡粒，这样可保存几天，2%的溶液则在用前把15%的溶液用1:1 HCl溶液稀释。

5. 硅钼黄指示剂：称取硅酸钠(Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O)1.35g溶于10 mL水中，加5 mL HCl混匀后，加入5%钼酸铵溶液25 mL，用水稀释至100 mL，放置3天后使用。

6. 二苯胺磺酸钠指示剂。0.5%水溶液。

7. 硫磷混酸：用150 mL浓硫酸加入至700 mL水中，冷却后，再加入150 mL磷酸，混匀。

8. 六亚甲基四胺：20%水溶液。

9. 二甲酚橙：0.2%水溶液。

10. 铅标准溶液：0.02000 mol·L<sup>-1</sup>。

## 四、实验部分

### 1. NaFeEDTA·3H<sub>2</sub>O的合成

#### (1) 乙二胺四乙酸为原料

H<sub>4</sub> EDTA 2.92 g (0.01 mol)与2.70 g (0.01 mol) FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O溶于20 mL水中，加热下搅拌得黄色的澄清溶液，然后将1.92 g (0.04 mol) NaHCO<sub>3</sub>分步加入到溶液中，颜色由黄色变为橙色，继续加热搅拌，至溶液变浑浊。停止加热搅拌，静置，过滤，乙醇洗涤，水洗沉淀，直到无氯离子为止(用硝酸银溶液加硝酸检验)，50℃干燥24 h后得粉晶产物，产率73.8%。将上述得到的粉末溶于适量水中，加热使其沸腾，然后向沸液中不断滴加乙醇，当溶液变浑浊后，继续滴加，直到浑浊不再消失为止，加热近沸，或再加入少量的水使其溶解澄清，然后静置，自然析出红褐色晶体。

#### (2) 乙二胺四乙酸二钠为原料

$\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  3.72 g (0.01 mol) 和 2.70 g (0.01 mol)  $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  溶于 20 mL 水中，然后用碳酸氢钠调节  $\text{pH} = 5$ ，反应 30 min。静置，抽滤，干燥后得到  $\text{NaFeEDTA}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  粉晶，产率 73.4%。

### (3) 两步法合成

第一步 氢氧化铁的制备：将称取的 4.8g (0.12 mol) 氢氧化钠溶于 100 mL 去离子水中，再称取 10.8g (0.04 mol) 三氯化铁溶于适量的去离子水后加入上述氢氧化钠溶液中，充分搅拌，待反应完全后，过滤，得氢氧化铁沉淀。再将此沉淀水洗 3 遍，最后制得 4.28g (0.04 mol) 氢氧化铁纯品。

第二步  $\text{EDTA}\text{NaFe}$  的制备：先将 16.4g (0.044 mol)  $\text{EDTANa}_2$  溶于 200 mL 60~70℃ 的去离子水中使成  $\text{EDTANa}_2$  溶液。将上述  $\text{EDTANa}_2$  溶液倒入 500 mL 圆底烧瓶中，在不断搅拌下分次加入上述制得的 4.28g (0.04 mol) 氢氧化铁。调溶液的  $\text{pH}$  至 8，在 100℃ 水浴下恒温加热 2h，趁热过滤。将滤液减压浓缩至粘稠状(密度为  $1.3\sim 1.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ )，冷却后加入 95% (体积分数) 的乙醇，搅拌至变成固体状(醇洗 3 次)。烘干，机械搅拌至细粒状，再烘干，得黄棕色粉末状产品。

## 2. $\text{NaFeEDTA}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 组成测定

### (1) 铁含量测定

产物经盐酸溶解后，采用重铬酸钾法测定。

准确称取 0.50~0.65g 干燥的产物三份{其中老师称量两份}，分别置于 250 mL 锥形瓶中，加少量水使试样湿润，然后加入 20 mL 1:1 HCl，于电热板上温热至试样分解完全。若溶样过程中盐酸蒸发过多，应适当补加，用水吹洗瓶壁，此时溶液的体积应保持在 25~50 mL 之间，将溶液加热至近沸，趁热滴加 15% 氯化亚锡至溶液由棕红色变为浅黄色，加入 3 滴硅钼黄指示剂，这时溶液应呈黄绿色，滴加 2% 氯化亚锡至溶液由蓝绿色变为纯蓝色，立即加入 100 mL 蒸馏水，置锥形瓶于冷水中迅速冷却至室温。然后加入 15 mL 磷硫混酸、4 滴 0.5% 二苯胺磺酸钠指示剂，立即用  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  标准溶液滴定至溶液呈亮绿色，再慢慢滴加  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  标准溶液至溶液呈紫红色，即为终点。计算产物铁的质量百分数。

### (2) EDTA 含量测定

准确称取 0.7~0.8 g 产物经盐酸溶解后，经过阴离子交换树脂，得到不含铁离子的溶液，然后经调  $\text{pH}$  后，稀释至 100 容量瓶中，备用。

准确移取 25.00 试样三份分别置于 250 mL 锥形瓶中，加入二甲酚橙 1 滴，摇匀，加入六亚甲基四胺 5 mL，再用 1:1  $\text{HNO}_3$  调至刚变亮黄，用铅标准溶液滴定至红紫色即为终点。计算试样中 EDTA 的质量百分数。

### (3) 结晶水含量测定

利用挥发法测定产物中结晶水含量，由此可确定结晶水数目。

### (4) 钠含量测定

铁、EDTA、结晶水含量确定后，钠含量可知。

## 五、注意事项

1. 以硅钼黄作指示剂，用氯化亚锡还原三价铁时，氯化亚锡要一滴一滴地加入，并充分摇动，以防止氯化亚锡过量，否则使结果偏高。如氯化亚锡已过量，可滴加 2%  $\text{KMnO}_4$  至溶液再呈亮绿色，继续用氯化亚锡调节之。

2. 铁还原完全后，溶液要立即冷却，及时滴定，久置会使  $\text{Fe}^{2+}$  被空气中的氧化。

3. 滴定接近终点时， $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  要慢慢地加入，过量的  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  会使指示剂的氧化型破坏。

4. 试样若不能被盐酸分解完全，则可用硫磷混酸分解，溶样时需加热至水分完全蒸发出现三氧化硫白烟，白烟脱离液面 3~4 cm。但应注意加热时间不能过长，以防止生成焦磷

酸盐。

5. 合成时，利用乙二胺四乙酸二钠为原料较为方便，建议使用。

#### 六、思考题

1. 本实验中，你认为有其它方法测定 EDTA 含量吗？
2. 你能说出常量分析测定钠含量的方法吗？

## 实验十七 氨基酸的薄层层析分离和鉴定<sup>[116~124]</sup>

### 一、实验目的

1. 了解薄层层析的基本原理及应用。
2. 练习薄层板的制备。
3. 了解薄层色谱中溶剂和吸附剂的选择方法。
4. 掌握薄层色谱分离的基本操作。

### 二、方法原理

薄层层析法是一种检验微量物质的快速准确的分析分离手段。它是将某种吸附剂在一块玻璃板（或硬质塑料板等）上铺成均匀的薄层，把要分离鉴定的样品溶液点在薄层板的一端，在密闭的层析缸内用适宜的溶剂（即展开剂）展开，从而进行层析分析的方法。

吸附剂对被吸附化合物的吸附能力有强弱之分，这与吸附剂本身的性质和被吸附化合物的性质是有关的。当被测样品随着展开剂在吸附剂上前进时，由于不同化合物具有不同的结构和性质，展开剂对它们的洗脱力和它们在吸附剂上的吸附、解吸附的性能也就有所不同，因而在吸附剂上移动的距离也就不会相同，这样就达到了分离的目的。

在薄层层析中为了获得良好的分离效果必须选择适当的吸附剂和展开剂。吸附剂含水较多时吸附能力就会大为减弱，因此使用吸附剂时一般要先进行加热去水的活化处理。在薄层层析中所用的吸附剂种类很多，用得最广泛的是氧化铝和硅胶。化合物被吸附剂吸附后，要选择适宜的溶剂进行展开。展开剂是一种或两种以上溶剂按一定比例组成的溶剂系统。溶剂的选择通常是依据被测物中各成份的极性、溶解度以及吸附剂活性和分离效果等因素来考虑，否则会影响吸附剂活性和分离效果。

观察层析结果时，如果化合物本身有颜色，可直接观察他的斑点。如本身无色，可用显色剂显色。不同物质所用显色剂是不同的。如果被测物质是有机化合物，一般都可采用碘蒸气进行显色。本实验中采用的是茚三酮显色剂。

### 三、主要试剂、仪器

1. 甘氨酸、缬氨酸溶液：1.00 mg·mL<sup>-1</sup>。
2. 茚三酮：0.2%异丙醇溶液。
3. 乙醇，乙酸。
4. 层析用硅胶。
5. 载玻片、层析缸。
6. 烘箱

### 四、实验部分

1. 薄层板的制备

将 10 g 硅胶 G 和 15 mL 水在小烧杯内迅速混合均匀，再加入 5 mL 水继续搅拌。将调好的糊状物倒在洗净干燥好的玻璃板上，用手摇晃，使其表面均匀光滑，厚度在 0.25~1 mm 间为宜。在室温下晾干后，置于烘箱内慢慢升温，在 105~110℃ 下活化约半小时。取出后放于干燥器内备用。所配制的硅胶乳状液可制备薄层板 3~5 块。

## 2. 氨基酸的分离和鉴定

用毛细管分别取甘氨酸、缬氨酸溶液（各约 1.00 mg·mL<sup>-1</sup>）在薄层板上一端约 0.5 cm 处点样。如在一块板上点二个样，则它们之间必须相隔一定距离；另取甘氨酸和缬氨酸混合溶液（0.5 mg·L<sup>-1</sup>）点在另一块薄层板上，点样完毕。等斑点干燥后小心地将板置于盛有展开剂（水:乙醇:乙酸 = 1:6:0.5）的层析缸内，点样端浸入展开剂深度约 0.3 cm 为宜。待展开剂上升了 10cm 以上后，可停止展开。取出薄层板，在前沿线处用大头针轻轻穿刺薄层作出记号。等板晾干后，在 110℃ 烘箱内干燥大约 10 分钟，然后用喷雾器均匀地喷上茚三酮显色剂，再放入烘箱内烘烤约 15 分钟，即可显出各析层斑点。分别测出氨基酸的 R<sub>f</sub> 值，并推断它们相互混合时能否进行层析分离。

## 五、注意事项

1. 点样需点在展开剂液面以上，所以，展开剂的量一定要适当。
2. 喷上茚三酮显色剂时，一定要均匀喷洒；否则影响显色效果。
3. 在制备薄层板时，要尽可能地制成均匀且厚薄适当的硅胶薄层，否则会影响分离结果。

## 六、思考题

1. 点样的位置对分离结果有何影响？
2. 层析板制好后，活化的作用是什么？

## 实验十八 离子色谱测定地表水中阴离子<sup>[125~130]</sup>

### 一、实验目的

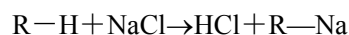
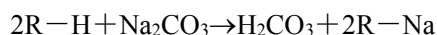
1. 了解离子色谱分离的基本原理。
2. 掌握离子色谱仪的操作和使用过程中应注意的问题。
3. 了解阴离子的测定方法。

### 二、方法原理

采用双柱法，分离柱后面串联一根抑制柱。Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 洗脱液由低压泵输送通过进样阀、进样器、色谱分离柱、抑制柱和流通池，在分离柱中产生如下反应（以分析 Cl<sup>-</sup> 离子为例）：



抑制柱中的反应为：



可见，Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 在抑制柱中生成弱电解的 H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>，使洗脱剂电导（又称本底电导）

生物活性。壳聚糖具有独特的阳离子特性，可以与海藻酸钠(聚阴离子)通过静电相互作用，在海藻酸钠微囊表面复合一层聚电解质半透膜。从而提高微囊的稳定性和载药量，并可调节药物释放速度。此外，壳聚糖还较常用的聚赖氨酸更安全。

### 三、主要试剂、仪器

1. 鲜虾壳。
2. 盐酸，氢氧化钠，冰醋酸，氯乙酸，无水乙醇，30%双氧水，高锰酸钾，草酸，过氧化氢。
3. 铬黑 T 指示剂，甲基橙，碘化钾淀粉试纸。
4. 氨-氯化铵缓冲溶液，PBS(pH=7.4)缓冲液。
5. 牛血清白蛋白(BSA): Fraction V, Mw=66 000。
6. 海藻酸钠: 低粘度(25℃, 2%溶液粘度 0.2 N·s/m<sup>2</sup>)。
7. span80, 植物油。
8. 乌氏粘度计、集热式恒温加热磁力搅拌器、电热恒温水浴箱、电热恒温干燥箱、pH S-3C 酸度计、离心机。

### 四、实验部分

#### 1. “一步法”制备壳聚糖方法

虾壳经水洗、粉碎(粒度 0.5~2 cm)后，在室温下用 10%新盐酸浸泡 4h 除钙(得一次废盐酸)，过滤并水洗至中性，然后利用氢氧化钠溶液(浓度为 20%)，在 100℃下碱煮 30min 以脱去蛋白质，最后在 140℃下直接用 55%氢氧化钠溶液脱乙酰 4h，过滤、水洗至中性，干燥制得壳聚糖样品。

#### 2. 一般实验方法

##### (1) 甲壳素的制备

先将鲜虾壳洗净烘干粉碎到 20~30 目备用。取 100 g 净虾壳粉在 500 mL 烧杯中用 3%浓度的 HCl 溶液 300 mL 室温下浸泡 12 h，软化水洗至中性，再用 3%浓度的 NaOH 溶液 100 mL 在 80℃下搅拌反应 3h，洗去蛋白质和脂肪，再进行浸酸、水洗、碱反应、水洗重复三次，固体物用清水洗到中性后用 20%的高锰酸钾溶液浸泡 1 h，水洗后用 2%草酸还原，最后水

洗至中性干燥得产品 8.3 g。

##### (2) 壳聚糖制备

壳聚糖为甲壳素脱除乙酰胺基产品，壳聚糖具有溶液粘稠、易于成膜的特点。脱乙酰度越大，但脱乙酰基的同时常引起分子量的降低，使溶液粘度下降，壳聚糖制备如下：

取 20g 甲壳素用 40%浓度 NaOH 50 mL 于 60℃浸泡 8 h，用热水洗涤后，再用碱液处理一次，热水洗至中性，60℃干燥得 15.7g、脱乙酰度为 83%的壳聚糖。

#### 3、壳聚糖的降解

常温下称取 1.0 g 壳聚糖搅拌溶于 0.2 mol·L<sup>-1</sup>的乙酸溶液中，壳聚糖的含量为 2%，待壳聚糖完全溶解呈均相状态后，置于设定温度的恒温(50℃)振荡水浴锅中，在控制的反应温度下，pH=5.5 时，加入 w=0.02 的过氧化氢(8.2 mL)，慢速均匀搅拌。反应 12 时间后，所得的样品用二次水浸洗直至双氧水洗净(用碘化钾淀粉试纸不变色为止)，抽滤，室温干燥后即可得到不溶于水的低分子量壳聚糖。将壳聚糖和经双氧水降解的壳聚糖在室温下干燥，然后将其与碘化钾一起碾成粉末并压片，进行红外光谱的测定。

#### 4. 壳聚糖-海藻酸钠微囊的制备

一定浓度的 2.5 mL 海藻酸钠(5%)和 BSA 水溶液(药物与海藻酸钠的重量比为 0.2)

乳化于 50 mL 植物油(另加入 1% span80)，转速 800 r·min<sup>-1</sup>。10 min 后，加入 50 mL 含有浓度为 0.5% 壳聚糖的水溶液(含 3% CaCl<sub>2</sub>)，调 pH=6.0，30 min 后，离心分离，蒸馏水洗，后用丙酮洗两次，真空干燥。

#### 5. 蛋白质包埋率的测定

由于在制备过程中直接测定蛋白质在水相的含量较困难，所以用下面的方法测定包埋率：约 20 mg 干燥微囊置于 5 mL 生理盐水中，待充分溶胀后加至 5 mL 0.2 mol·L<sup>-1</sup> PBS(pH=7.4) 缓冲液中。12 h 后，剧烈搅拌 30 min 使微囊破裂，滤去不溶物。BSA 的含量由 Lowry-Folin 法测定。

#### 6. 体外释放实验

约 50 mg 干燥壳聚糖-海藻酸微囊置于 10 mL 生理盐水(含 0.01% 叠氮化钠)，每隔一定时间取 7 mL 溶液，用 Lowry-Folin 法测定蛋白质含量。同时加入等量新鲜释放液，保持恒定体积。所有实验重复三次，取平均值。

### 五、注意事项

1. 在用过氧化氢降解壳聚糖时，温度的影响最大，要注意温度的控制。
2. 测定蛋白质包封率时，滤去不溶物时要适当洗涤，同时要保证滤液的清亮。

### 六、思考题

1. 在用过氧化氢降解壳聚糖时，若温度过高会产生什么影响？
2. 为什么在用过氧化氢降解壳聚糖时，随着反应时间的延长和反应温度的提高，产物色泽逐渐加深？

## 实验二十八 海藻酸盐-钙络合物制备、组成和络合常数测定<sup>[196]</sup>

### 一、实验目的

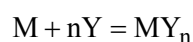
1. 掌握海藻酸盐-钙络合物制备方法。
2. 掌握海藻酸盐-钙络合物组成和络合常数测定方法。

### 二、方法原理

海藻酸钠是天然多糖，具有生物相容和生物降解的特点。海藻酸钠与多价阳离子接触时(如钙离子)，具有瞬时凝胶化特性，由此可制备海藻酸盐-钙络合物或胶囊。

把体积为 V<sub>1</sub>、浓度为 c<sub>1</sub> 的海藻酸钠溶液(NaAlg)加入预先配好的浓度为 c<sub>2</sub> 体积为 V<sub>2</sub> 过量的金属盐溶液中，在 25℃ 下反应一段时间后静置 24h，充分交联得到一定粒度的络合物，取上层清液，测定溶液中金属离子的浓度为 c<sub>3</sub>。将沉淀过滤，并用蒸馏水洗涤络合物沉淀 3~5 次，干燥，称重，质量为 m。然后把沉淀放入体积为 V<sub>3</sub>(V<sub>3</sub>=V<sub>1</sub>+V<sub>2</sub>) 蒸馏水中一段时间，取上层清液再测定其中的金属离子浓度为 c<sub>4</sub>。

海藻酸盐络合物的络合比的计算如式 4：



$$n = \frac{c_{MY_n}}{c_M c_Y^n}, K = \frac{c_{MY_n}}{c_M c_Y^n}$$

$$n = \frac{m - (c_2V_2 - c_3V_3)M_2}{(c_2V_2 - c_3V_3)M_1} \quad (\text{n为络合比})$$

式中， $M_1$ 为海藻酸根的分子量，175.112； $M_2$ 为金属离子的分子量； $m, V$ 的单位分别为mg, mL。

$$c_{MY_n} = \frac{(c_2V_2 - c_3V_3)}{V_3}, \quad c_M = c_4, \quad c_Y = nc_4$$

$$K = \frac{(c_2V_2 - c_3V_3)}{Vn^n c_4^{n+1}}$$

### 三、主要试剂、仪器

1. 海藻酸钠，氯化钙，
2. 温干燥箱、电子天平、722型分光光度计、pH S-3C 酸度计。

### 四、实验部分

先把 $\text{CaCl}_2$ 配制成浓度为 $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液，再配制浓度为 $0.02 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的海藻酸钠溶液。然后往40 mL海藻酸钠溶液中分别直接加入60 mL的 $\text{CaCl}_2$ 溶液，结果生成了白色絮状沉淀。静置24h后，取上层清液，测定溶液中金属离子的浓度。将沉淀过滤，并用蒸馏水洗涤络合物沉淀3~5次，干燥，称重。然后把沉淀放入100 mL蒸馏水中一段时间，取上层清液再测定其中的金属离子浓度。

### 五、注意事项

1. 制备海藻酸盐-钙络合物时，浓度影响较大，故实验时要注意加入 $\text{CaCl}_2$ 溶液的速度。
2. 测定钙浓度时，要注意选择适合的测定方法。

### 六、思考题

1. 制备海藻酸盐-钙络合物时，若采用滴加的形式加入反应物，对实验结果有何影响？
2. 测定的络合常数与制备方法有关吗？

参考文献

- 1、张复兴，常温合成甲基橙，衡阳师专学报，1994，12（1）：31—33。
- 2、何锡风，安红，谷振华，常温合成甲基橙方法的研究，齐齐哈尔大学学报，2005，21（2）：16-18。
- 3、任树梅，李考真，甲基橙合成的一种改进方法，聊城师院学报（自然科学版），2000，13（1）：63-65。
- 4、张建丽，魏媛，曹毅，甲基橙合成实验的改进，化学与黏合，2009，31（1）：75-77。
- 5、陈勇，周国平，杨建男，甲基橙合成实验的改进，实验室研究与探索，2002，21（3）：95-96。
- 6、杨丽君，高小茵，仲一卉，甲基橙制备方法的改良，云南师范大学学报，2003，23（3）：57-58。
- 7、刘建国，孙笃周，一步法常温合成甲基橙，化学试剂，1997，19（6）：374-374。
- 8、北京大学化学分析化学教研室，基础分析化学实验（第二版），北京大学出版社，1997。
- 9、范晓燕，于媛，徐斌，酸碱指示剂离解常数的测定，实验室科学，2007，（2）：89-90。
- 10、樊静，沈学静，王瑞勇，樊靖，光度法测定甲基橙和二甲基黄在甲醇-水混合溶剂中的离解常数，分析实验室，1998，17（4）：5-8。
- 11、汤定宇，弱酸离解常数的测定方法探讨，重庆师范学院学报（自然科学版），1994，11（1）：78-85。
- 12、张效岩，王英，张亚非，磁性纳米粒子的制备及应用，磁性材料及器件，2004，35（6）：14-17。
- 13、李东风，孟哲，贾振斌，魏丽，化学共沉淀法制备纳米级软磁铁氧体研究进展，应用科技，2003，30（4）：54-56。
- 14、李成魁，祁红璋，严彪，磁性纳米四氧化三铁颗粒的化学制备及应用进展，上海金属，2009，31(4)：54-58。
- 15、李铁福，邓英杰，宋小平，金志雄，氧化铁纳米粒子的制备，沈阳药科大学学报，2003，20（5）：325-327。
- 16、吴明在，张启花，刘艳美，冯俊生，宋学萍，水热法制备  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  粒子及其形貌控制，安徽大学学报（自然科学版），2009，33（3）：60-64。
- 17、H.T. Chan, Y.Y. Do, P.L. Huang, et al, Preparation and properties of bio-compatible magnetic  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2006, 304,e415-e417。
- 18、F.Y. Cheng, C.H. Su, Y.S. Yang, et al, Characterization of aqueous dispersions of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles and their biomedical applications, Biomaterials, 2005, 26, 729-738。
- 19、H. Shang, W.S. Chang, S. Kan, et al, Synthesis and characterization of paramagnetic microparticles through emulsion-templated free radical polymerization, Langmuir, 2006,22,2516。
- 20、M. Hiraide, Removal of metal ions from waste-water by SDS-modified alumina, Anal. Sci., 1999,15,1055-1062。
- 21、A. Adak, A. Pal, Removal of phenol from aquatic environment by SDS-modified alumina: batch and fixed bed studies, Separation and Purification Technology, 2006,50,256-262。
- 22、M. Ghaedi, K. Niknam, A. Shokrollahi, Flame atomic absorption spectrometric determination of trace amounts of heavy metal ions after solid phase extraction using modified sodium dodecyl sulfate coated on alumina, Journal of Hazardous Materials, 2008, 155,121-127。
- 23、M. Ghaedi, H. Tavallali, A. Shokrollahi, Flame atomic absorption spectrometric determination



of zinc, nickel, iron and lead in different matrixes after solid phase extraction on SDS-coated alumina as their bis (2-hydroxyacetophenone)-1,3-propanediimine chelates, *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 166, 1441-1448.

24、A.S. Gawade, A.K. Vanjara, M.R. Sawant, Removal of herbicide from water with sodium chloride using surfactant treated alumina for wastewater treatment, *Separation and Purification Technology*, 2005,41,65-71。

25、A. Adak, M. Bandyopadhyay, A. Pal, Removal of crystal violet dye from wastewater by surfactant-modified alumina, *Separation and Purification Technology*, 2005,44,139-144。

26、陈建国, 茶多糖的提取及其药理作用研究概况, *中草药*, 2000, 31 (7): 6-7。

27、陈建国, 胡欣、梅松, 茶叶中茶多糖的提取和测定方法, *中国卫生检验杂志*, 2004, 14 (4): 432-433。

28、董群, 郑丽伊, 方积年, 改良的苯酚-硫酸法测定多糖和寡糖含量的研究, *中国药学杂志*, 1996, 31 (9): 551-553。

29、王黎明, 夏文水, 水法提取茶多糖工艺条件优化, *食品科学*, 2005, 26 (5): 171-174。

30、W.J. Zhou, K. Zhu, H.Y. Zhan, et al, Sorption behaviors of aromatic anions on loess soil modified with cationic surfactant, *Journal of Hazardous Materials B*, 2003, 100, 209-218。

31、B. Gao, X.R. Wang, J.C. Zhao, et al, Sorption and cosorption of organic contaminant on surfactant modified soils, *Chemosphere*, 2001,43,1095-1102。

32、Z.F. Meng, Y.P. Zhang, Z.Q. Zhang, Simultaneous adsorption of phenol and cadmium on amphoteric modified soil, *Journal of Hazardous Materials*, 2008,159,492-498。

33、M.C. Hernandez-Soriano, M.D. Mingorance, A. Peria, Interaction of pesticides with a surfactant-modified soil interface: effect of soil properties, *Colloids and Surface A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2007, 306, 49-55。

34、陈芳艳, 唐玉斌, 罗鹏, 季铵盐改性土壤对水中苯酚的吸附及机理研究, *重庆环境科学*, 2000, 22 (2): 50-53。

35、陈宝梁, 朱利中, 林斌, 陶澍, 阳离子表面活性剂增强固定土壤中的苯酚和对硝基苯酚, *土壤学报*, 2004, 41 (1): 148-150。

36、C. Legros, C. Haut, L. Ponsonnet-Mora, et al, Fabrication of pure YBaCuO powders with controlled microstructure, *Journal of European Ceramic Society*, 1999, 19, 165-173。

37、Effects of substrate preparation on properties of YBaCuO thin film, *Physics C*, 2000, 341-348, 1993-1994。

38、杨遇春, 高温超导材料十年来的研究开发与进展, *稀有金属*, 1997, 21 (6): 430-438。

39、杨遇春, 稀土在高温超导材料中的应用, *稀有金属材料与工程*, 2000, 29 (2): 78-81。

40、张阳德, 翟登高, 龚连生, 半乳糖化白蛋白磁性阿霉素纳米粒制备工艺的优化, *中国医学工程*, 2004, 12 (4): 1-4。

41、J.H. Chang, K.H. Kang, J.S. Choi, et al, High efficiency protein separation with organosilane assembled silica coated magnetic nanoparticles, *Superlattices and Microstructures*, 2008, 44,442-448。

42、易求实, 均匀沉淀法制备纳米碱式硫酸铜杀菌剂的研究, *杀虫剂*, 2001, 40 (8): 20-22。

43、肖顺华, 刘明登, 赵临远, 从含铜废渣中制备碱式硫酸铜的研究, *广西师范大学学报(自然科学版)*, 1999, 17 (3): 65-68。

44、高新勤, 由孔雀石制备碱式硫酸铜的研究, *无机盐工业*, 1994, (3): 4-7。

45、H. Tanaka, N. Koga, Preparation and thermal decomposition of basic copper (II) sulfates, *Thermochimica Acta*, 1988,133,221-226。

- 46、H. Tanaka, M. Kawano, N. Koga, Thermogravimetry of basic copper(II) sulphate obtained by titrating NaOH solution with CuSO<sub>4</sub> solution, *Thermochimica Acta*, 1991,182, 281-292。
- 47、严鹏权, 郭荣, 黄明昌, 刘正铭, 层状液晶中超微粒子材料 CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 的制备, *科学通报*, 1994, 39 (14): 1289-1291。
- 48、Hua W, Liu T Q. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2007, 302: 377-382
- 49、安娅, 胡长刚, 张笑一, PTA/AOT 自发形成囊泡作为药物载体的缓释性研究, *贵州师范大学学报(自然科学版)*, 2005, 23 (3):105-107。
- 50、王大林, 盛坤贤, 非离子表面活性剂囊泡作为药物载体的进展, *中国医药工业杂志*, 1998, 29 (5): 235-240。
- 51、张景京, 陆彬, 类脂囊泡的研究进展, *国外医药—合成药 生化药 制剂分册*, 1999, 20 (3): 188-192
- 52、T.Q. Liu, R. Guo, W. Hua, J. Qiu, Structure behaviors of hemoglobin in PEG 6000/Tween 80/Span 80/H<sub>2</sub>O noisome system, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2007,293, 255-261。
- 53、霍涌前, 李菲, 李恒欣, 张逢星, MCM-41 型介孔分子筛的合成及其化学修饰, *西北大学学报(自然科学版)*, 2003, 33 (1): 57-60。
- 54、韩梅, 陈静, 王锦堂, 孙蕊, MCM-41 中孔分子筛的改性及其应用, *化工时刊*, 2006, 20 (6): 63-66。
- 55、沈俊, 罗文彬, 张昭, 低质量分数表面活性剂作模板合成 MCM-41 中孔分子筛的机理探讨, *四川大学学报(工程科学版)*, 2003, 35 (2): 60-63。
- 56、张一平, 周春晖, 费金华, 于英民, 郑小明, 介孔分子筛 MCM-41 表面的有机胺功能化及其应用, *分子催化*, 2007, 21 (2): 109-114。
- 57、李酩, 介孔分子筛 MCM-41 的合成方法与晶化条件, *材料导报*, 2004, 18 (9): 15-17。
- 58、李文江, 赵纯, 宋利珠, 水玻璃为原料在开放体系中快速合成介孔材料 MCM-41, *高等学校化学学报*, 2001, 22 (6): 1013-1015。
- 59、周春晖, 张波, 李庆伟, 蔡晔, 葛忠华, 反应介质对 MCM-41 介孔分子筛合成的影响研究, *浙江工业大学学报*, 2001, 29 (2): 110-114。
- 60、C.D. Wu, Q.M. Gao, J. Hu, et al, Rapid preparation, characterization and hydrogen storage properties of pure and metal ions doped mesoporous MCM-41, *Microporous and Mesoporous Materials*, 2009,117, 165-169。
- 61、X.B. Liu, H. Sun, Y.H. Yang, Rapid synthesis of highly ordered Si-MCM-41, *Journal of Colloid and Interface Science*, 2008, 319, 377-380。
- 62、廖艳华, 马献力, 李成海, 赵丽娅, 海藻酸钙微胶囊的制备, *化工技术与开发*, 2003, 32 (6): 17-19。
- 63、王爱玲, 杨江科, 尹利, 闫云君, 海藻酸钠明胶协同固定化的研究, *生物技术*, 2006, 16 (6): 69-72。
- 64、李志勇, 倪才华, 熊诚, 李倩, 海藻酸钠的疏水改性及释药性能研究, *化学通报*, 2009, (1): 93-96。
- 65、王康, 何志敏, 海藻酸微胶囊的制备及在药物控释中的研究进展, *化学工程*, 2002, 30 (1): 48-54。
- 66、刘伟, 王莹, 王士斌, 乳化-凝胶化法制备药用载体海藻酸钙微球的研究, *生物医学工程研究*, 2008, 26 (2): 155-158。
- 67、马萍, 孙淑英, 一种新的缓释载体-海藻酸钙凝胶小球的研究概况, *国外医药-合成药 生*

- 化药 制剂分册，1998，19（3）：190-192。
- 68、陈国，黄世丰，制备中空海藻酸钙胶囊新方法的研究，山西大学学报（自然科学版），2008，31（1）：119-123。
- 69、O.J. Cayer, P.F. Noble, V.N. Paunov, Fabrication of novel colloidosome microcapsules with gelled aqueous cores, *Journal of Materials Chemistry*, 2004,14,3351-3355。
- 70、A. Kikuchi, M. Kawabuchi, M. Sugihara, et al, Pulsed dextran release from calcium-alginate gel beads, *Journal of Controlled Release*, 1997,47, 21-29。
- 71、I. Yosha, A. Shani, S. Magdassi, Slow Release of Pheromones to the Atmosphere from Gelatin-alginate beads, *J. agric Food Chem.*, 2008, 56, 8045-8049。
- 72、C.C. Ribeiro, C.C. Barrias, M.A. Barbosa, Calcium-phosphate-alginate microspheres as enzyme delivery matrices, *Biomaterials*, 2004, 25, 4363-4373。
- 73、D. Lemoice, F. Wauters, S. Boucheridhomme, V. Preat, Preparation and characterization of alginate microspheres containing a model antigen, *International Journal of Pharmaceutics*, 1998, 176, 9-19。
- 74、X.D. Liu, W.M. Xue, Q. Liu, et al, Swelling behaviour of alginate-chitosan microcapsules prepared by external gelation or internal gelation technology, *Carbohydrate Polymers*, 2004, 56, 459-464。
- 75、卞晓锴，施柳青，梁国明，陆晓峰，聚乙烯醇复合膜的制备，膜科学与技术，2004，24（2）：12-15。
- 76、邱运仁，张启修，吴振东，改性PVA超滤膜的制备与性能研究，膜科学与技术，2001，21（5）：25-28。
- 76、金民，秦培勇，陈萃仙，李继定，交联聚乙烯醇膜材料结构与性能的相关性，膜科学与技术，2003，23（4）：16-18。
- 77、郭红霞，金民，陈萃仙，李继定，交联聚乙烯醇膜材料中水的状态，化学研究与应用，2005，17（2）：194-196。
- 78、孙义明，周建刚，彭少贤，酃华兴，膜用PVA改性的研究现状及进展，现代塑料加工应用，2004，16（2）：40-43。
- 79、张乐洋，徐海生，沈群东，聚乙烯醇多孔膜的制备，功能高分子学报，2001，14（2）：174-176。
- 80、朱丹，徐海生，沈群东，杨昌正，高分子辅助倒相法制备聚乙烯醇多孔膜，功能高分子学报，1999，12（3）：31-34。
- 81、J. Kumar, S.F. DSouza, Preparation of PVA membrane for immobilization of GOD for glucose biosensor, *Talanta*, 2008, 75,183-188。
- 82、S. Xiao, R.Y.M. Huang, X. Feng, Preparation and properties of trimesoyl chloride crosslinked poly(vinyl alcohol) membranes for pervaporation dehydration of isopropanol, *Journal of Membrane Science*, 2006, 286, 245-254。
- 83、Y.Z. Zhang, H.Q. Li, H. Li, et al, Preparation and characterization of modified polyvinyl alcohol ultrafiltration membranes, *Desalination*, 2006,192, 214-223。
- 84、B. Bolto, T. Tran, M. Hoang, Z. Xie, Crosslinked poly(vinyl alcohol) membranes, *Progress in Polymer Science*, 2009, 34,969-981。
- 85、L. Zhang, G. Jin, Bilirubin removal from human plasma by Cibacron Blue F3GA using immobilized microporous affinity membranous capillary method, *Journal of Chromatography B*, 2005, 821, 112-121。
- 86、G. Jin, L. Zhang, Q.Z. Yao, Novel method for human serum albumin adsorption/separation

- from aqueous solutions and human plasma with Cibacron Blue F3GA-Zn(II) attached microporous affinity membranous capillaries, *Journal of Membrane Science*, 2007, 287, 217-279。
- 87、于方丽, 周永强, 张卫珂, 马景云, 羟基磷灰石生物材料的研究现状、制备及发展前景, *陶瓷*, 2006, (2): 7-12。
- 88、韩艳君, 姜庆辉, 李木森, 多孔羟基磷灰石的研究现状与发展, *材料科学与工程学报*, 2004, 22 (6): 929-933。
- 89、王爱娟, 吕宇鹏, 孙瑞雪, 羟基磷灰石在生物活性物质分离与提纯领域中应用的研究发展, *材料导报*, 2006, 20 (6): 111-115。
- 90、但敏, 李斌, 陈枫等, 羟基磷灰石的制备方法及其研究发展, *现代生物医学进展*, 2006, 6 (11): 125-127。
- 91、张超武, 李娟莹, 共沉淀法制备羟基磷灰石影响因素的研究, *材料导报*, 2006, 20 (11): 390-396。
- 92、焦燕, 吕宇鹏, 王爱娟, 李士同, 特殊形态羟基磷灰石的制备及研究进展, *生物骨材料与临床研究*, 2009, 6 (2): 47-51。
- 93、王扬, 王宇明, 李海东, 纳米羟基磷灰石的制备及工艺优化, *长春工业大学学报(自然科学版)*, 2009, 30 (2): 137-141。
- 94、黄文, 王青, 王德平, 中空羟基磷灰石微球的制备工艺, *同济大学学报(自然科学版)*, 2005, 33 (1): 88-92。
- 95、刘信安, 李伟, 王里奥, 球状多孔羟基磷灰石生物材料的制备与结构, *应用化学*, 2003, 20 (3): 223-227。
- 96、吕奎龙, 孟祥才, 李星逸, 滕利群, 纳米羟基磷灰石制备的研究进展, *佳木斯大学学报(自然科学版)*, 2002, 20 (4): 384-388。
- 97、李传浩, 沈玉华, 谢安建, 裘灵光, SDS水溶液中纳米羟基磷灰石的制备与表征, *宿州学院学报*, 2007, 22 (2): 108-110。
- 98、Y.J. Wang, S.H. Zhang, K. Wei, et al, Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanopowders using cationic surfactant as a template, *Materials Letters*, 2006, 60, 1484-1487。
- 99、O.C.W. Jr, J.R. Hull, Surface modification of nanophase hydroxyapatite with chitosan, *Materials Science and Engineering C*, 2008, 28, 434-437。
- 100、S. Nayer, M.K. Sinha, D. Basu, A. Sinha, Synthesis and sintering of biomimetic hydroxyapatite nanoparticles for biomedical applications, *J. Mater Sci Mater Med*, 2006, 17, 1063-1068。
- 101、D. He, X.F. Xiao, F. Liu, R.F. Liu, Chondroitin sulfate template-mediated biomimetic synthesis of nano-flake hydroxyapatite, *Applied Surface Science*, 2008, 255, 361-364。
- 102、J. Somnuk, T. Wiwut, B. Virote, synthesis of hydroxyapatite nanoparticles using an emulsion liquid membrane system, *Colloids and Surface A: Physicochem Eng Aspects*, 2007, 296, 149-153。
- 103、B. Ashis, B. Amit, B. Susmita, Hydroxyapatite nanopowders: Synthesis, densification and cell-materials interaction, *Materials Science and Engineering C*, 2007, 27, 729-735。
- 104、H.T. Schmidt, A.E. Ostafin, Liposome directed growth of calcium phosphate nanoshells, *Advanced Materials*, 2002, 14, 532-535。
- 105、H. Li, W.Y. Huang, Y.M. Zhang, M. Zhong, Biomimetic synthesis of enamel-like hydroxyapatite on self-assembled monolayers, *Materials Science and Engineering C*, 2007, 27, 756-761。
- 106、杨勇, 杨秀丽, 罗川南, 马玉涛, 滤膜溶解分光光度法测定微量铁, *化学世界*, 2002,

(2) : 107-110。

107、徐秀云, 王宝全, 张树军, 微孔滤膜应用中的问题, 山东医药工业, 2000, 19 (1) : 40-41。

108、杨勇, 杨秀丽, 微孔滤膜富集邻联吡啶分光光度法测定微量铁, 食品科学, 1999, (10): 63-65。

109、杨勇, 杨秀丽, 罗川南, 微孔滤膜富集测定食品中微量铁的研究, 食品工业科技, 2000, 21(1): 70-72。

110、宫美乐, 袁国梁, 我国微孔滤膜研究现状与发展, 膜科学与技术, 2003, 23 (4) : 186-189。

111、I. Mori, M. Toyoda, Y. Fujita, et al, Preconcentration of 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol-iron(III)-capriquat on a membrane filter, and third-derivative spectrophotometric determination of iron(III), Talanta, 1994, 41, 251-254。

112、O.W. Lau, S.Y. Ho, Simultaneous determination of traces of iron, cobalt, nickel, copper, mercury and lead in water by energy-dispersive x-ray fluorescence spectrometry after preconcentration as their piperazino-1,4-bis(dithiocarbamate) complexes, Anal. Chim. Acta, 1993,280,269-277。

113、张志朋, 孙建科, 蒋琪英, 钟国清, 食品强化剂NaFeEDTA · 3H<sub>2</sub>O的合成及表征, 精细化工, 2008, 25 (8) : 775-783。

114、陈阳, 蒋琪英, 孙建科, 钟国清, 食品强化剂NaFeEDTA配合物合成及应用研究进展, 食品与机械, 2008, 24 (2) : 137-140。

115、R. Meier, F.W. Heinemann, Structure of the spontaneously resolved six-coordinate potassium chloro-(ethylenediaminetriacetato acetic acid) iron(III) monohydrate and the seven-coordinate potassium ((ethylenediaminetriacetato) iron(III) sesquihydrate, Inorganica Chimica Acta, 2002, 337, 317-327。

116、R. Bhushan, J. Martens, Amino acids thin-layer(planar) chromatography, Encyclopedia of Separation Science, 2007,2012-2033。

117、田大昕, 但悠梦, 王辉等, 十二烷基硫酸钠/正丁醇/正己烷/水微乳液在氨基酸薄层色谱中的应用, 应用化学, 2001, 18 (4) : 329-331。

118、谭志斗, 田大昕, 陈小强等, 微乳液在氨基酸薄层色谱中的应用, 湖北民族学院学报(自然科学版), 2001, 19 (1) : 78-80。

119、田大昕, 史伯安, 谢艳, 一种新的展开剂用于氨基酸的薄层色谱分析, 色谱, 2003, 21 (1) : 91-93。

120、屈永年, 李贵华, 龚坚, 纸色谱和薄层色谱分离氨基酸的实验研究, 南阳医学院学报, 1998, 17 (1) : 56-57。

121、A. Mohammad, A. Zehra, Surfactants modified silica phase for sorption studies of essential amino acids by thin layer chromatography, Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects, 2007,301,404-411。

122、Y. Nagata, T. Idia, M. Sakai, Enantiomeric resolution of amino acids by thin-layer chromatography, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2001,12,105-108。

123、D. Kazmierczak, W. Ciesielski, R. Zakrzewski, et al, Application of iodine-azide reaction for detection of amino acids in thin-layer chromatography, Journal of Chromatography A, 2004,1059 ,171-174。

124、T.Cserhati, E. Forgacs, Thin layer chromatography and principal component analysis for the study of the interaction of amino acids with some antisense nucleosides, Analytica Chimica Acta, 1995,316,105-110。

- 125、陶钢, 牛星梅, 许立峰, 离子色谱法测定地表水中阴离子的研究, 理化检验-化学分册, 2000, 36 (10), 459-461。
- 126、林晓君, 离子色谱法测定饮用水中常见阴离子, 福建分析测试, 2004, 13(2): 1946-1948。
- 127、李文杰, 张国棋, 离子色谱法同时测定水中10阴离子含量, 中国卫生检验杂志, 2008, 18 (11): 2285-2287。
- 128、M.E.F. Boy, F. Cabrera, F. Moreno, Analysis of inorganic anions in drainage water and soil solution by single-column ion chromatography, Journal of Chromatography A, 1998, 823, 285-290。
- 129、N. Gros, B. Gorenc, Performance of ion chromatography in the determination of anions and cations in various natural waters with elevated mineralization, Journal of Chromatography A, 1997, 770, 119-124。
- 130、N. Gros, B. Gorenc, Anions in mineral waters-facilitated transition to ion chromatographic monitoring, Water Research, 1995, 29, 1591-1594。
- 131、邓凡政, 石影, 张宝娟等, 聚乙二醇-硫酸铵-亚硝基R盐体系中钴(II)的分离及其存在形态, 分析化学, 1998, 26 (9): 1115-1117。铁(III)、
- 132、邓凡政, 石影, 刘庆, 用聚乙二醇-硫酸铵-铬黑T体系从铁(III)、钴(II)、镍(II)、铜(II)中分离镉的研究, 分析化学, 1995, 23 (7): 832-834。
- 133、邓凡政, 石影, 陈岩, 用聚乙二醇-硫酸铵-铝试剂体系分离铁(III)、铝(III)、钴(II)、镍(II)、铜(II)、镉(II)、锰(II), 分析化学, 1997, 25 (2): 215-218。
- 134、M. Shibukawa, N. Nakayama, T. Hayashi, et al, Extraction behaviour of metal ions in aqueous polyethylene glycol-sodium sulphate two-phase systems in the presence of iodide and thiocyanate ions, Analytica Chimica Acta, 2001, 427, 293-300。
- 135、R.D. Rogers, A.H. Bond, C.B. Bauer, et al, Metal ion separation in polyethylene glycol-based aqueous biphasic systems: correlation of partitioning behavior with available thermodynamic hydration data, Journal of Chromatography B, 1996, 680, 221-229。
- 136、沈静茹, 孙小梅, 雷灼霖等, PEG6000修饰物混合吐温80-硫酸铵盐的液-固萃取体系分离纯化血红蛋白, 化学学报, 2002, 60 (5): 859-865。
- 137、X.M. Sun, Y.Z. Li, J.R. Shen, et al, Purification of malic dehydrogenase by using liquid-solid extraction system of Tween 80-(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O, Journal of China Pharmaceutical University, 1999, 30(5): 387-391。
- 138、柳畅先, 邓江天, 雷锦桂等, 用吐温80-盐-水液-固萃取体系从兔肌中分离纯化乳酸脱氢酶, 化学研究与应用, 1997, 9 (5): 493-496。
- 139、A.B. Diaz, I. Caro, I. Ory, et al, Evaluation of the conditions for the extraction of hydrolitic enzymes obtained by solid state fermentation from grape pomace, Enzyme and Microbial Technology, 2007, 41, 302-306。
- 140、L. Patrolecco, S. Capri, S. Angelis, et al, Determination of endocrine disrupting chemicals in environmental solid matrices by extraction with a non-ionic surfactant (Tween 80), Journal of Chromatography A, 2004, 1022, 1-7。
- 141、孙小梅, 李步海, 陈静瑶, 聚乙烯吡咯啉酮-盐-水液-固萃取体系分离纯化 $\alpha$ -淀粉酶的研究, 分析科学学报, 1995, 11 (3): 43-46。
- 142、孙京新, 姜连芳, 李文香, 蛋清中溶菌酶的提取, 莱阳农学院学报, 1998, 15 (4): 285-288。
- 143、Y.P. Tzeng, C.W. Shen, T. Yu, Liquid-liquid extraction of lysozyme using a dye-modified ionic liquid, Journal of Chromatography A, 2008, 1193, 1-6。

- 144、Y.O. Shin, M.E. Weber, J.H. Vera, Effect of salt and volume ratio on the reverse micellar extraction of lysozyme using DODMAC, *Fluid phase Equilibria*, 2003, 207,155-165。
- 145、K.H. Noh, J.Y. Imm, One-step separation of lysozyme by reverse micelles formed by the cationic surfactant, cetyldimethylammonium bromide, *Food Chemistry*, 2005,93,95。
- 146、蔡红, 张春丽, 石影, 非有机溶剂萃取光度法测定镍的研究, *稀有金属*, 2004, (28) (2) :380-382。
- 147、张平伟, 朱屯, 钴镍协同萃取体系, *化工冶金*, 1997, 18 (3) : 282-288。
- 148、兰兴华, 镍和钴溶剂萃取进展, *世界有色金属*, 2004, (9) : 35-39。
- 149、B.R. Reddy, S.V. Rao, K.H. Park, Solvent extraction separation and recovery of cobalt and nickel from sulphate medium using mixtures of TOPS 99 and TIBPS extractants, *Minerals Engineering*, 2009, 22, 500-505。
- 150、X.J. Zhang, X.G. Li, H.B. Cao, et al, Separation of copper, iron (III), zinc and nickel from nitrate solution by solvent extraction using LK-C2, *Separation and Purification Technology*, 2009, 48,531-534。
- 151、A. Agrawal, M.K. Manoj, S. Kumari, et al, Extractive separation of copper and nickel from copper bleed stream by solvent extraction route, *Minerals Engineering*, 2008,21,1126-1130。
- 152、V. Sridhar, J.K. Verma, S.A. Kumar, Selective separation of copper and nickel by solvent extraction using LIX 984N, *Hydrometallurgy*, 2009,99,124-126。
- 153、李蛟, 刘俊成, 支撑液膜在线萃取富集流动注射荧光光度法测定水中痕量苯酚, *分析实验室*, 2009, 28 (5) : 91-93。
- 154、王献科, 李玉萍, 液膜分离富集、测定水中微量苯酚, *中国给水排水*, 2000, 16 (1) : 49-51。
- 155、姚秉华, 张三学, 郭攀峰等, 离子液体内耦合液膜迁移苯酚的研究, *分析科学学报*, 2008, 24 (4) : 394-398。
- 156、孙贤波, 杜慧芳, 周祖铭, 乳化液膜法提取苯酚的动力学研究, *环境化学*, 1999, 18 (1) : 46-51。
- 157、梁舒萍, 陆冠棋, 乳浊液膜处理含酚废水, *环境科学与技术*, 1998, (4) : 42-45。
- 158、A.M.Y. Jaber, S.A. Ali, G.O. Yahaya, Studies on phenol permeation through supported liquid membranes containing functionalized polyorganosiloxanes, *Journal of Membrane Science*, 2005,250,85-94。
- 159、M.T.A. Reis, O.M.F. Freitas, M.R.C. Ismael, et al, Recovery of phenol from aqueous solutions using liquid membranes with Cyanex 923, *Journal of Membrane Science*, 2007,3050,313-324。
- 160、P. Venkateswaran, K. Palanivelu, Recovery of phenol from aqueous solution by supported liquid membrane using vegetable oils as liquid membrane, *Journal of Hazardous Materials B*, 2006,131,146-152。
- 161、Y.Y. Park, A.H.P. Skelland, L.J. Forney, et al, Removal of phenol and substituted phenols by newly developed emulsion liquid membrane process, *Water Research*, 2006, 40,1763-1772。
- 162、H.R. Mortaheb, M.H. Amini, F.Sadeghian, et al, Study on a new surfactant for removal of phenol from wastewater by emulsion liquid membrane, *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 160, 582-588。
- 163、P.F.M.M. Correia, J.M.R. Carvalho, Recovery of phenol from phenolic resin plant effluents by emulsion liquid membranes, *Journal of Membrane Science*, 2003,225,41-49。
- 164、金谷, 李吉峰, 杨键, *理化检验-化学分册*, 2004, 40 (9): 497-500。

- 165、李波, 焦舰, 王光鑫等, 流动注射光度法测定痕量铁, 化学研究与应用, 2003, 15 (5): 728-730。
- 166、韩莉, 张柳珍, 李世雄, 流动注射法测定全铁含量的新实验, 实验室研究与探索, 2002, 21 (6): 61-65。
- 167、P.M. Sarradin, N.L. Bris, C.L. Gall, et al, Fe analysis by the ferrozine method: Adaptation to FIA towards in situ analysis in hydrothermal environment. *Talanta*, 2005, 66, 1131-1138。
- 168、T. Sakai, A. Yanagisawa, K. Higuchi, et al, New spectrophotometer equipped with long light path length cells and two channel FIA for trace metals, *Talanta*, 2000, 52, 153-159。
- 169、D.A. Weeks, K.W. Bruland, Improved method for shipboard determination of iron in seawater by flow injection analysis, *Analytica Chimica Acta*, 2002, 453, 21-32。
- 170、刘小辉, 江和源, 尧渝, 高纯度儿茶素的制备技术, 中国茶叶, 2009, (8), 8-11。
- 171、吕守茂, 祝巨, 俞远志等, 茶叶中提取咖啡因实验装置的改进, 实验室研究与探索, 2009, 28(5): 32-33。
- 172、张万明, 自茶叶中提取咖啡因实验教学探索与研究, 化学教育, 2007, (1): 51-52。
- 173、龚正礼, 蒲建, 刘勤晋, 茶叶儿茶素提取和纯化研究, 西南农业大学学报, 1995, 17 (6): 545-548。
- 174、凌敏, 袁华, 喻宗沅, 从茶叶废弃液中提取咖啡因的研究, 应用化工, 2002, 31 (1): 42-43。
- 175、李晓林, 鹿海真, 张坦东等, 茶叶中提取天然咖啡因的方法改进, 山东师范大学学报(自然科学版), 2007, 22 (2): 139-140。
- 176、吴明光, 王金茂, 茶叶中儿茶素、咖啡因和叶绿素的提取和分析鉴定, 厦门大学学报(自然科学版), 1995, 34 (1): 140-142。
- 177、洪丽雅, 茶叶中提取咖啡因实验教学的探索, 实验室科学, 2007, (1): 80-81。
- 178、K.H. Row, Y.Z. Jin, Recovery of catechin compounds from Korean tea by solvent extraction, *Bioresource Technology*, 2006, 97, 790-793。
- 179、G.M. Matilde, C.R.G. Julian, I. Elena, et al, Recovery of catechins and proanthocyanidins from winery by-products using subcritical water extraction, *Analytica Chimica Acta*, 2006, 563, 44-50。
- 180、N.S. Kumar, M. Rajapaksha, Separation of catechin constituents from five tea cultivars using high-speed counter-current chromatography, *Journal of Chromatography A*, 2005, 1083, 223-228。
- 181、L. Bazinet, D. Labbe, A. Tremblay, Production of green tea EGC- and EGCG-enriched fractions by a two-step extraction procedure, *Separation and Purification Technology*, 2007, 56, 53-56。
- 182、M.G. Ferruzzi, R.J. Green, Analysis of catechins from milk-tea beverages by enzyme assisted extraction followed by high performance liquid chromatography, *Food Chemistry*, 2006, 99, 484-491。
- 183、赵景联, 宋克风, 蛋壳制备乳酸钙的研究, 现代化工, 1997, (1): 31-33。
- 184、张继武, 范克铃, 利用鸡蛋壳制备乳酸-葡萄糖酸钙的研究, 食品添加剂, 2006, 27 (5): 149-151。
- 185、张富捐, 盛淑玲, 用蛋壳灰分制备乳酸钙的研究, 食品工业科技, 2003, 24 (9): 56-57。
- 186、Z. Li, Y.H. Zhang, T.W. Tan, preparation of edible calcium lactate crystal from crude L-lactic acid via chemical precipitation method, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2009, 108, 5138-5138。



- 187、刘羿君，楼陈钰，侯智谋等，过氧化氢在乙酸均相体系中对壳聚糖的降解，功能高分子学报，2007，19（4）：426-430。
- 188、任艳玲，郭益冰，赵亚红等，过氧化氢在中性条件下氧化降解壳聚糖的研究，南通大学学报（医学版），2007，27（4）：254-256。
- 189、舒晓正，朱康杰，壳聚糖—海藻酸钠微囊对蛋白质控制释放的研究，功能高分子学报，1999，12（4）：423-430。
- 190、佟锡江，李淑华，柏薇薇，虾壳制备甲壳素壳聚糖羧甲基壳聚糖，齐齐哈尔大学学报，2001，17（1）：38-40。
- 191、Q.Z. Huang, L.H. Zhuo, Y.C. Guo, Heterogeneous degradation of chitosan with  $H_2O_2$  catalysed by phosphotungstate, Carbohydrate Polymers, 2008,72,500-505。
- 192、Q.Z. Huang, S.M. Wang, J.F. Huang, et al, Study on the heterogeneous degradation of chitosan with hydrogen peroxide under the catalysis of phosphotungstic acid, Carbohydrate Polymers, 2007,68,761-765。
- 193、Y.J. Du, Y.Q. Zhao, S.C. Dai, et al, Preparation of water-soluble chitosan from shrimp shell and its antibacterial activity, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2009, 10, 103-107。
- 194、X. Huang, Y.Z. Du, H. Yuan, et al, Preparation and pharmacodynamics of low-molecular-weight chitosan nanoparticles containing insulin, Carbohydrate Polymers, 2009, 76, 368-373。
- 195、H.K. Holme, L. Davidsen, A. Kristiansen, et al, Kinetics and mechanisms of depolymerization of alginate and chitosan in aqueous solution, Carbohydrate Polymers, 2008, 73, 656-664。
- 196、王孝华，聂明，谭世语，几种常见海藻酸盐络合常数的测定，食品科学，2005，26（10）：194-195。