

浙江大学实验报告

课程名称: 有机化学实验 实验类型: 综合型 96
实验项目名称: 植物色素的提取与分离
学生姓名: 秦寒水 专业: 生物科学(强基) 学号: _____
同组学生姓名: 无
指导老师: 蓝国纯
实验地点: 实验中心532 实验日期: 2025 年 10 月 23 日

装订线

- 一、实验目的和要求
- 二、实验内容和原理
- 三、主要仪器设备(装置图)
- 四、主要试剂及产物的理化性质
- 五、实验步骤和现象及数据记录
- 六、实验结果与分析
- 七、讨论、心得

一、实验目的.

- ①. 了解从植物中提取色素的原理和方法.
- ②. 进一步熟悉薄层色谱原理及其实验操作技术.
- ③. 掌握 R_f 值的计算方法及 TLC 的基本用途.

二、实验原理.

- (1). 绿色植物中含有叶绿素、胡萝卜素和叶黄素等多种天然色素。叶绿素以叶绿素 a 和叶绿素 b 两种形式存在, 叶绿素 a 的含量通常是叶绿素 b 的三倍, 其易溶于醚、石油醚等非极性溶剂。
胡萝卜素为长链结构的共轭多烯, 叶黄素为胡萝卜素的羟基衍生物其含量常为胡萝卜素的两倍。与胡萝卜素相比, 叶黄素较易溶于醇, 而在石油醚中溶解度较小。

实验名称: _____ 姓名: _____ 学号: _____

(2). 薄层色谱法(TLC): 一种微量、快速和简便的色谱方法, 可用于分离混合物和精制化合物。将吸附剂或支持剂铺在玻璃板上、塑料或铝基片上, 将样品点, 在其上, 然后用溶剂展开, 使样品各组分相互分离。

• 含有固定相(吸附剂)和流动相(溶剂/展开剂)

正向色谱(固定相极性大于流动相) 反向色谱(流动相极性大于固定相)

• 被分离物质的分子受吸附剂的吸附和溶剂的溶解作用达到平衡时, 不同物质在固定相与流动相之间便有了质量分配比。

• R_f 值(比移值) = $\frac{\text{原点列色斑中心的距离}}{\text{原点到溶剂前沿的距离}}$, 在固定条件下, 某化合物 R_f 为常数。

(3). 旋转蒸发器: 能在较低温度下快速蒸发液体, 可用于实验室浓缩溶液、回收溶剂。本仪器由电动机带动可旋转的蒸发器、冷凝管和接受器组成。在圆底烧瓶中加入待处理溶液并置于热浴中, 蒸发出的溶剂经冷凝后流入接受瓶。

蒸发器的不断旋转使液体附于瓶壁形成薄膜, 蒸发面积大大增加, 加快了蒸发速率。

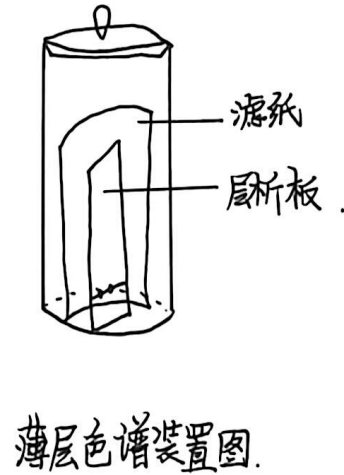
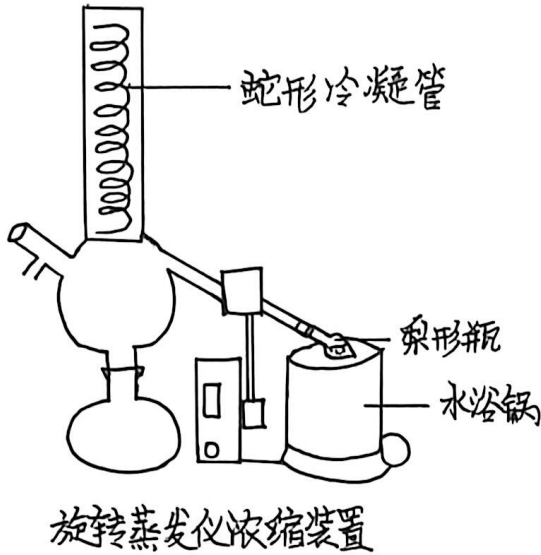
装
订

三、主要试剂与产物的物理性质

名称	分子量	性状	熔点/°C	沸点/°C	相对密度	折光率	溶解度:
正己烷	86.18	无色挥发液体	-95.27	68.72	0.6593	1.3727	难溶于水, 可溶于乙醚, 易溶于酮
丙酮	58.079	无色易挥发易燃液体	-94.9	56.06	0.7902	1.3588	与水、醇、乙醚混溶
乙醇	46.07	无色透明液体	-114.1	78	0.789	1.3614	可溶于水、甲醇、乙醚、氯仿
石油醚	戊烷、己烷混合物	无色透明, 有煤油气味	<-73	90~100	0.64~0.66	1.42	不溶于水, 溶于乙醚、苯
叶绿素	混合物	绿色	120~153	1000左右	—	—	不溶于水, 易溶于有机溶剂
叶黄素	568.872	暗黄棕色液体	196	—	0.994	—	不溶于水, 溶于己烷等
β -胡萝卜素	536.88	深红色或暗红色晶状粉末	183	—	1.00	—	不溶于水, 丙二醚、甘油
无水 Na_2SO_4	142.04	白色粉末或晶尘, 有吸潮性	884	1700	2.68	1.484	不溶于乙醇, 溶于水。

实验名称：_____ 姓名：_____ 学号：_____

四、主要装置结构图.



装

五、实验步骤

订

1. 色素提取:

取 10.08 g 菠菜叶子剪碎在研钵中, 并碾磨, 加入 20 mL 丙酮继续研磨 2~5 min. 再将丙酮溶液倒出弃去.

加入 15 mL 正己烷研磨混合物 5 min 后过滤提取物, 重复使用正己烷提取 2 次. 合并所得的提取液, 在旋转蒸发器下浓缩约至 1 mL 左右.

2. 点样:

用毛细玻璃管点样, 样品点直径小于 3 mm, 且距离底部约 1 cm, 干燥并反复点样几次

3. 展开:

使用丙酮: 正己烷 = 1:4 作为展开剂, 待色谱完全展开后观察色谱图并计算 R_f .

可以观察到绿色提取液

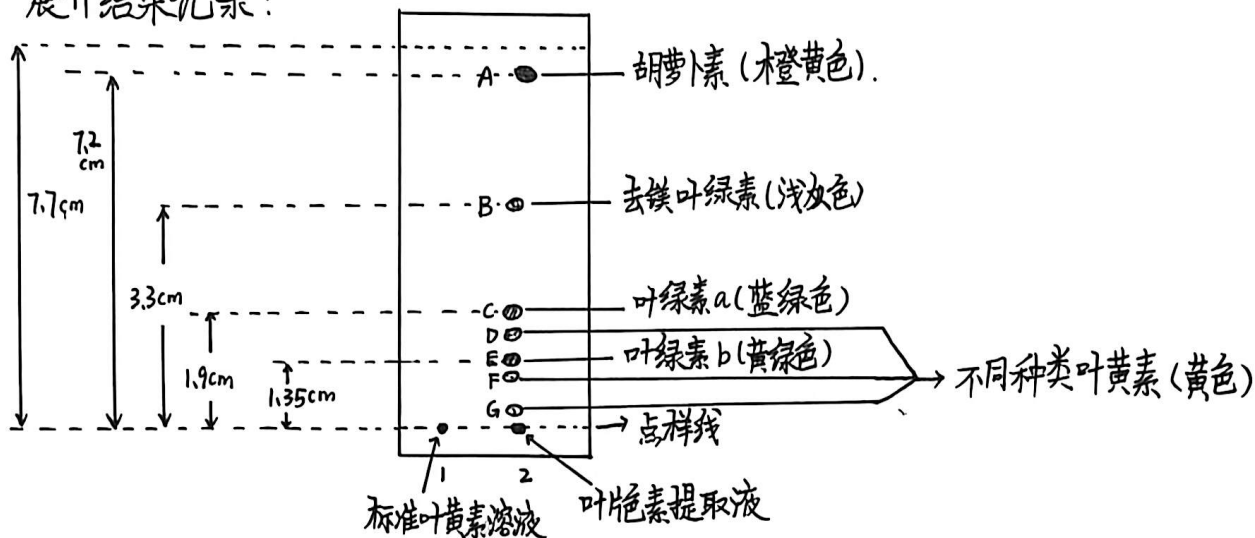
其间防止有水, 应加入适量的无水 Na_2SO_4 除去水.

浓缩过程由于减压可以观察到瓶内有白霜生成. 易加热后液体快速浓缩.

可以观察到展开剂上升, 色素也分为不同颜色在层析板上不同位置展开. 颜色也不同地依次展开.

实验名称: _____ 姓名: _____ 学号: _____

展开结果记录:



-3

六、实验结果分析.

本次实验进行了两次薄层层析, 我选取结果较为清晰的一板进行分析:
点样线到层析液前沿距离为 $L = 7.7\text{cm}$. 如上图中: $A: 7.2\text{cm}$ $B: 3.3\text{cm}$.

$C: 1.9\text{cm}$ $D: 1.7\text{cm}$ $E: 1.35\text{cm}$ $F: 1.1\text{cm}$ $G: 0.3\text{cm}$.

由此可以计算出系列色素的 R_f . **判断**

胡萝卜素: $R_{fA} = \frac{A}{L} = \frac{7.2}{7.7} \approx 0.935$ 去镁叶绿素: $R_{fB} = \frac{B}{L} = \frac{3.3}{7.7} \approx 0.428$

叶绿素 a: $R_{fC} = \frac{C}{L} = \frac{1.9}{7.7} \approx 0.247$ 叶绿素 b: $R_{fD} = \frac{D}{L} = \frac{1.7}{7.7} \approx 0.221$

三种不同叶黄素: $D: R_{fD} = \frac{D}{L} = \frac{1.7}{7.7} \approx 0.221$

$F: R_{fF} = \frac{F}{L} = \frac{1.1}{7.7} \approx 0.143$

$G: R_{fG} = \frac{G}{L} = \frac{0.3}{7.7} \approx 0.039$ 所有的样点呈椭圆形

展开剂为丙酮:正己烷=1:4.

此次实验得到的主要 R_f 值均在 $0.15 \sim 0.75$ 之间, 表明整体的结果较为不错, 观察到胡萝卜素 $R_f = 0.935$ 略有偏高, 其可能是展开时间的问题, 可以尝试延长展开时间, 但还是保留展开前沿线的合适位置.

并且此次的标准叶黄素未有色素点出现, 可能是由于试剂变质的原因, 因此此处不对样品的比对进行分析.

装
订
线

实验名称: _____ 姓名: _____ 学号: _____

七. 实验讨论与心得

① 针对胡萝卜素的 R_f 讨论: 计算得到的胡萝卜素 R_f 值约为 0.935, 这比课堂上所述的 R_f 尽可能范围 (0.15~0.75) 偏大。但查阅相关资料可知, 在改变不同展开剂中非极性溶剂的比例时, 胡萝卜素的 R_f 值几乎出现在 0.93 左右^[1], 因此表示此次结果较为理想, 而 R_f 范围只需满足大多点在内即可, 并非对所有色素点的要求。

② 对于叶绿素的 R_f 讨论: 本次得到的 Chl a 的 R_f 为 0.247, Chl b 为 $R_f = 0.175$ 相对于 0.15 较接近, 因此思考能否改进使得 R_f 值尽可能在中间数值内。可以适当调整比例, 如增大丙酮的含量, 使展开剂极性增大, 叶绿素 a 与叶绿素 b 展开到基线的距离也会相应地增大。由相关文献可知丙酮: 正己烷 = 3:7 的效果较本次实验的 1:4 更为理想^[1], 可以尝试调整来比较。

③ 对于其他方法的色素分离: 可以使用柱色谱, 通过正己烷-无水乙醇进行梯度洗脱, 以硅胶或中性氧化铝为固定相, 尝试不同的体积比, 将植物色素逐步洗脱, 达到进一步纯化合物以及分离色素的效果^[1]

④ 关于几种叶黄素的讨论: 本次得到了 3 种不同叶黄素点, 而由于叶黄素标准液的问题无法比对。可以使用紫外光谱分析, 将得到的黄色样点用石油醚稀释后加入比色皿, 用 V-240 紫外分光光度计测量吸光^[3]。由此对样品的紫外测定可进一步区别探究三种不同叶黄素的性质。

附. 参考文献

- [1]. 雷霓, 孙耀冉, 贾晓亚, 等. 薄层色谱法分离菠菜色素实验的绿色改进[J]. 石家庄学院学报, 2024, 26(03): 41-47. DOI: 10.13573/j.cnki.sjzxyxb.2024.03.005.
- [2]. 黄婷婷, 王若楠, 高展, 等. "菠菜叶中色素的提取与分离"实验改进[J]. 大学化学, 2023, 38(08): 259-267.
- [3]. 郭乃妮, 李海燕, 赵维, 等. 菠菜色素的提取与分离实验教学优化探索[J]. 皮革与化工, 2021, 38(04): 41-44.