

烟草化学成分分析实验指导书

李永忠 丁金玲 编

云南农业大学烟草学院

2007 年 9 月

前言

《烟草化学成分分析实验》是烟草专业的核心专业课之一,具有较强的实践性。《烟草化学成分分析实验实验指导书》是配合高等院校烟草专业使用的面向 21 世纪课程教材《烟草化学》编写的实验教材。在编写过程中,根据该门课的特点和要求,尽量力求理论与实际紧密结合,培养和提高学生的独立思考能力。全书分为两部分,第一部分为实验方法与实验技术原理,第二部分为综合型、设计性实验,一共收集了 16 个实验,最后附有综合实验报告和实验课程论文的基本格式与写作方法。

本书主要介绍烟草化学成分分析常规的标准方法,分析的内容主要是与烟草品质密切相关的几类化学成分。以实验原理、实验方法、实验手段以及实验操作技术为主要内容,并安排综合实验、设计实验及实验报告写作训练。通过对具体实验方案的设计与实施,激发学生的学习兴趣,启发探索和开拓精神,使学生能灵活运用所学知识,培养查阅文献、综合分析、实验设计和应用能力,以便为将来从事科学研究奠定基础。

本书可供烟草专业学生实验或实习选用;对于农学类各专业的学生,也可以根据各自的需要,从中选择合适的实验。同时也可以作为相关专业科研人员参考书。

本书是在 2001 年编写的《烟叶化学品质分析实验指导书》的基础上改编而成,本书的编写参阅了已出版的教材及相关著作,从中借鉴或吸取了有益的内容,在此一并表示衷心的感谢。

由于编者水平有限,错误和不妥之处在所难免,希望采用本教材的师生提出宝贵意见。

编者

2007 年 9 月

实验室规则及实验要求

I 实验室规则

- 1、实验室必须保持安静、整洁。
- 2、除指定的仪器外,不得动用其他仪器。使用仪器前,应了解其性能和操作方法,并注意爱护;使用完毕,应记录仪器使用情况。
- 3、使用药品和试剂应注意安全,公用药品必须在原来放置的地方取用,并注意节约。
- 4、实验材料严禁倒入水槽内,有腐蚀性的废液必须小心倒入废液桶(以便做统一处理)。
- 5、实验过程中要小心谨慎,万一损坏仪器设备,应如实报告老师,并办理登记手续。如属违反操作规则而造成的损失,视情节轻重赔偿或处分。
- 6、实验完毕,应清洗玻璃仪器、收拾台面,值日生应负责整个实验室清洁卫生工作(包括关水电、抹台面、扫地、倒垃圾)。

II 实验要求

通过实验课学习,使学生获取大量的实验事实,经过观察、思考、归纳、总结,从感性认识上升到理性认识。学生经过严格而系统的训练,规范地掌握基本操作技术,确定严格的“量”的概念,学会运用误差理论正确处理实验数据。通过实验,提高学生的动手能力、观察能力、查阅能力、记忆能力、思维能力、想象能力和表达能力,从而使具备一定的分析问题和解决问题的能力,具备初步的科学研究能力。同时,在实验过程中培养学生求真务实、团结协作、勤奋不懈、百折不挠的精神,并且使学生养成节约、整洁、准确和有条不紊的良好实验习惯。具体要求:

1、实验预习

实验预习是做好实验的重要保证,是实验成败的关键之一。

- (1) 阅读实验教材,明确实验目的与要求,理解实验原理。
- (2) 了解相关仪器的结构及使用方法。
- (3) 了解实验药品、实验内容、实验步骤、操作方法以及注意事项。
- (4) 根据预习情况,认真写出预习报告。

2、实验过程

实验过程中,必须认真而规范操作,仔细观察,勤于思考,如实记录,做到边做实验、边思考、边记录。

(1) 严格按操作规程及实验步骤独立操作，既要大胆，又要细心。

(2) 将实验中所观察的实验现象，测定的实验数据准确、及时记录在实验记录本上（绝不允许随意记录在小纸片上）。记录必须做到简明扼要、字迹清晰，原始数据不得涂改，更不允许杜撰原始数据。

(3) 若实验现象出现异常时，可以通过对照试验、空白实验进行分析，查找原因。不允许在不明白原因的情况下擅自重做。

(4) 若实验结果达不到要求，应认真检查原因，经教师同意后重做实验。

3、实验结束

(1) 认真核对实验数据，清洗实验用具。

(2) 认真完成实验报告。

实验报告格式如下：

① 实验目的

② 实验原理

③ 实验仪器、实验装置、试剂、材料

④ 原始实验数据、实验现象及测定数据

⑤ 实验结果处理

⑥ 结果讨论

⑦ 思考题

实验报告要求书写工整，层次清楚，表达准确、图表完整、结论恰当。能为他人或自己今后重复相同的实验作为参考。

目录

前言	1
实验室规则及实验要求	2
第一部分 实验方法与实验技术原理	
实验一、烟叶样品的采集和制备	5
实验二、烟叶样品的水分测定	
一、常压恒温干燥法	7
二、减压低温干燥法	9
实验三、烟叶样品中烟碱的测定	10
附 添加活性炭法测定烟碱	13
实验四、烟叶样品中总挥发碱的测定	15
实验五、烟叶样品中总氮的测定	18
实验六、烟叶样品中蛋白质的测定	21
实验七、烟叶样品中全钾的测定	23
实验八、烟叶样品中氯含量的测定	26
实验九、烟叶样品中还原糖的测定	29
实验十、烟叶样品中水溶性总糖的测定	33
实验十一、烟叶样品中淀粉含量的测定	38
实验十二、烟叶样品中粗脂肪的测定	41
实验十三、烟草中酚类物质的测定	43
实验十四、烟气中总凝聚物的测定	45
第二部分 综合性、设计性实验	
综合性实验 1 不同品种、不同地点烟叶样品中无机成分的测定	48
设计性实验 1 不同品种、不同地点烟叶样品中含氮化合物的分析比较	48
设计性实验 2 不同品种、不同地点烟叶样品中糖类物质的分析比较	49
实验课程论文写作格式及考核	51
附表 葡萄糖、果糖含量和氧化铜的关系	53
参考文献	55

第一部分 实验方法与实验技术原理

实验一、烟叶样品的采集和制备

（一）实验目的

学会并熟练掌握烟叶样品的采样原则以及采集、制备和保存等操作技能。

（二）主要仪器设备

低温烘箱、植物粉碎机、软毛刷、广口瓶、40 目铜筛、标签。

（三）实验内容及操作步骤

1、采样：检样→混合样品→平均样品；

2、除灰尘、杂质及病斑：采集的初烤烟叶→先用软毛刷轻轻刷净粘附于叶片上的沙粒、细土、灰尘（尤其是下部叶）→剪去病斑和枯焦部分；

3、去主脉、剪碎：抽去主脉→用剪刀剪成碎块或丝后放在白瓷盘内；

4、烘干：立即将白瓷盘置于 60℃ 的低温烘箱内烘烤（间隔一定时间翻动烟叶碎片，并注意不要把烟叶碎片翻洒到烘箱中）→烘至用手能捻碎为止；

5、烟叶样品的粉碎：立即取出烘干烟叶碎片→用植物粉碎机粉碎，研磨（细叶梗要反复研磨，务必使全部过筛，不可丢弃。）后倒入 40 目铜筛使其全部通过 40 目铜筛；

6、分析样品的保存：将已通过 40 目铜筛的烟末充分混匀后立即装入洗净烘干的 250ml 广口瓶中密封保存→用铅笔编号登记→填好标签贴在瓶上，格式如下：

样品来源	
编 号	
样品名称	
采样部位	
制样时间	
采样制样人	

7、分析样品保存注意事项：

（1）采集的所有样品都必须按编号用专册登记，抓紧时间组织人员分析，以防止其中的水分或挥发性物质及其他待测物质含量变化；

（2）不能立即分析必须用石蜡密封在样品瓶中，妥善保存，避免日光、高温、潮湿和有害气体的污染；

(3) 全部分析工作结束，分析数据核实无误后才能弃去，而重要的研究项目或长期研究项目的样品，可长期保存，以便必要时查核或补充其他分析项目用。

(四) 思考题

- 1、简述采样、检样、混合样品、平均样品的概念。
- 2、样品采集、制备过程中应注意些什么？
- 3、如何贮存烟叶样品？样品贮存过程中应注意些什么？

实验二、烟叶样品的水分测定

一烘箱干燥法

一、常压恒温干燥法

(一) 实验目的

掌握烟叶样品水分的测定意义和原理; 学会并熟练掌握烟叶样品水分的测定的操作技能及结果计算。

(二) 原理

利用水在 100℃ 蒸发的特性, 使烟叶样品处在 100 ~ 105℃ 的条件下, 经过一定时间, 使样品中水分挥发散失 (严格地说散失的是水和挥发性物质的总量), 得到无水的干物质。样品原重和样品干重之差即水分, 从而计算出水分百分数。

(三) 主要仪器设备

分析天平、恒温烘箱 (内部各部位温度变动不应超过 $\pm 2^{\circ}\text{C}$, 以保证恒温)、称量瓶 (铝盒或瓷坩埚)、角勺、干燥器。

(四) 实验内容及操作步骤

1、称量瓶称量 (分析天平的操作): 将洗净烘干的称量瓶打开盖子 → 置于 100 ~ 105℃ 烘箱中烘 30min → 用坩埚钳取出 → 放入干燥器中冷却至室温称重为 W_1 → 如此反复直至称量瓶恒重 ($\pm 0.002 \sim \pm 0.003\text{g}$);

2、样品称重 (分析天平的操作): 用骨匙 (角勺) 将烟叶样品搅拌均匀 → 称取烟样 2.0000 ~ 5.0000g 左右于称量瓶中 → 称重为 W_2 (W_1 + 样品重);

3、烘干样品 (烘烤箱的操作): 将盛有样品的称量瓶打开盖子放入 100 ~ 105℃ 烘箱中烘 2h;

4、烘干样品的冷却 (干燥器的操作) 与称重 (分析天平的操作): 用坩埚钳将称量瓶从烘箱中取出 → 放入干燥器中冷却至室温 (约 10 ~ 15min) 后称重为 W_3 (W_1 + 样品干重), 再烘 30min 冷却后称重, 要求两次称量不超过 $\pm 0.002 \sim \pm 0.003\text{g}$ 。

(五) 结果计算

$$\text{烟叶样品含水率 (\%)} = \frac{W_2 - W_3}{W_2 - W_1} \times 100$$

1-含水率=

$$\text{相对偏差}(\%) = \frac{|\text{均值} - \text{任意值}|}{\text{均值}} \times 100$$

(六) 讨论

编号	称量瓶重 W_1 (g)	样品重 (g)	W_2 (样品重+ 瓶重) (g)	W_3 (样品干重+ 瓶重) (g)	含水率 (%)	均值 (%)	相对偏 差 (%)	1-含水 率

(七) 注意事项

- 1、防止在样品准备或称量过程中水分含量的变化。
- 2、每次取放称量瓶或铝盒均用坩埚钳。
- 3、烘烤后要放在干燥器中冷却至室温。热的称量瓶或铝盒不能立即放到分析天平上去称量。
- 4、如果测定的目的是为了求得大田烟叶产量, 则应将采来的新鲜烟叶刷净后立即称重, 然后根据样品的制备方法在 $100 \sim 105^\circ\text{C}$ 下烘 $3 \sim 4\text{h}$ 再称重, 可求得干物质重。

$$\text{烟叶干物重}(\%) = \frac{\text{烘干后烟叶重}}{\text{新鲜烟叶重}} \times 100$$

如果估计出新鲜烟叶单产数量, 即可求得干烟叶的产量。

(八) 思考题

- 1、什么是系统误差? 什么是偶然误差?
- 2、什么是平行测定?
- 3、什么是相对偏差? 什么是超差?
- 4、什么是有效数字?
- 5、从化学分析的角度上简述烟叶样品水分的测定意义。
- 6、测定烟叶水分的方法有哪几种? 什么是直接法? 什么是间接法?
- 7、简述常压恒温干燥法测定水分的原理。
- 8、烘箱干燥法测定烟叶样品水分的过程中应注意些什么?

二、减压低温干燥法

由于在 $100 \sim 105^{\circ}\text{C}$ 下烘烤样品可能引起各种误差, 例如糖类的炭化、不饱和酸的氧化、某些挥发性物质如植物碱类等的挥发, 故在条件许可的情况下, 采用真空低温烘烤结果更准确。

1、方法原理: 减压时, 样品中的水分在较低温度 ($70 \sim 80^{\circ}\text{C}$) 下即可蒸发殆尽。

2、主要仪器及用具

分析天平、真空烘箱、抽气泵、洗气瓶、U型压力表、铝盒(称量瓶或瓷坩埚)、角勺、干燥器。

3、实验内容及操作步骤

(1) 称量瓶称重(分析天平的操作): 将洗净烘干的称量瓶打开盖子→置于 $100 \sim 105^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘 30min →用坩埚钳取出→放入干燥器中冷却至室温称重为 W_1 →如此反复直至称量瓶恒重 ($\pm 0.002 \sim \pm 0.003\text{g}$);

(2) 样品称重(分析天平的操作): 用骨匙(角勺)将烟叶样品搅拌均匀→称取烟样 $2.0000 \sim 5.0000\text{g}$ 左右于称量瓶中→称重为 W_2 (W_1 + 样品重);

(3) 烘干样品(真空烘烤箱的操作): 将盛有样品的称量瓶打开盖子放入已预热到 80°C 左右的真空烘干箱中关好烘箱门, 打开抽气机抽气, 使烘箱中气压下降到 1333.22Pa , 并保持这一气压调节温度使其保持在 $70 \sim 80^{\circ}\text{C}$ →保持该条件烘烤 2h →停止抽气→缓缓打开洗气瓶上的活塞, 使空气从毛细管进入→待烘烤箱气压回升到大气压;

(4) 烘干样品的冷却(干燥器的操作): 用坩埚钳将称量瓶取出→放入干燥器中冷却至室温称重;

(5) 烘干样品的称重(分析天平的操作): 重复将盛有样品的称量瓶打开盖子放入已预热到 80°C 左右的真空烘干箱中关好烘箱门, 打开抽气机抽气, 使烘箱中气压下降到 1333.22Pa , 并保持这一气压调节温度使其保持在 $70 \sim 80^{\circ}\text{C}$ →保持该条件烘烤 0.5h →停止抽气→缓缓打开洗气瓶上的活塞, 使空气从毛细管进入→待烘烤箱气压回升到大气压→用坩埚钳将称量瓶取出→放入干燥器中冷却至室温→称重为 W_3 (W_1 + 样品干重), 两次称量不超过 $\pm 0.002 \sim \pm 0.003\text{g}$ 。

4、结果计算同常压恒温干燥法。

实验三、烟叶样品中烟碱的测定

—紫外分光光度法

(一) 实验目的

掌握烟叶样品中烟碱的测定意义和紫外分光光度法测定烟碱的原理; 学会并熟练掌握紫外分光光度法测定烟碱的操作技能及结果计算。

(二) 方法原理

利用烟碱具有与水蒸汽共同蒸馏的特性, 在强碱性介质 NaOH 存在下进行水蒸汽蒸馏, 使全部植物碱 (包括烟碱、去甲基烟碱、新烟碱等) 挥发而逸出, 然后根据烟碱对紫外光具有特殊的吸收能力, 其吸收峰值为 259nm 处, 并且其吸光度与烟碱的含量成正比。借助紫外分光光度计可测得待测液烟碱的浓度, 进一步换算求得烟碱的含量。

(三) 实验仪器及用具

主要仪器设备及用具: 电子天平、紫外分光光度计、蒸馏装置、500ml 凯氏瓶、250ml、100ml 容量瓶、定氮球、10ml、25ml 移液管、50ml 量筒。

试剂: NaCl (分析纯)、NaOH (分析纯)、HCl (1:4)、HCl (0.05N)

(四) 实验内容及操作步骤

1、称量(分析天平的操作): 称取烟样 0.8000g 左右于 500ml 凯氏瓶中→加 NaCl 25g、NaOH 3g;

2、加蒸馏水及沸石: 加 30ml 蒸馏水和沸石 2 块;

3、蒸馏装置的安装:

(1) 配定氮球: 配上合适的定氮球→使定氮球的蒸汽进入管的下端浸入凯氏瓶的液面下;

(2) 蒸馏装置的安装:

a. 将凯氏瓶安装于蒸馏装置上;

b. 吸取 10ml 1:4HCl 于 250ml 三角瓶中→将三角瓶置于冷凝管的下端收集馏出液 (冷凝管的下端要浸入 HCl 液面下);

c. 将定氮球上带胶塞 (馏出液蒸汽流出) 的一端接于蒸馏装置的冷凝管上端→将蒸汽进入管接于蒸汽发生器的蒸汽流出管上;

4、蒸馏: 打开冷凝水管后立即通气蒸馏→待蒸馏正常后给凯氏瓶适当加热, 以保持

凯氏瓶原有体积（其间不断摇动凯氏瓶，使粘附在瓶壁上的烟末摇下反复蒸馏）→待馏出液达 220~230ml→停止蒸馏并冲洗冷凝管内壁及末端；

5、待测液的定容：

（1）用蒸馏水定容：取下冷却后转移至 250ml 容量瓶中→用蒸馏水定容到刻度，摇匀后备用。

（2）用 0.05N HCl 定容：吸取该液 25ml 于 100ml 容量瓶中→用 0.05N HCl 定容至刻度，摇匀后备用。

6、比色测定（紫外分光光度计的操作）：

（1）比色皿的校正：用蒸馏水或参比液校正比色皿吸光度差异；

（2）定波长比色：用 0.05N HCl 作参比液→在紫外分光光度计 236nm、259nm、282nm 处测其吸光度值 A。

（五）结果计算

$$\text{烟碱}(\%) = \frac{1.059 \times F \times \left[A_{259} - \frac{1}{2}(A_{236} + A_{282}) \right] \times V}{W \times (1 - \text{含水率}) \times 34.3 \times 1000} \times 100$$

式中 1.059—换算为重量法测定值的校正系数；

34.3—烟碱的吸光系数，即 1000ml 中含有 1g 纯烟碱溶液，按测定值计为 34.3；

F—稀释倍数；

A_{259} 、 A_{236} 、 A_{282} —吸光度值；

V—蒸馏液的定容体积（250ml）。

（六）讨论

编号	w(g)	吸光度值				烟碱 (%)	均值 (%)	相对偏 差 (%)
		A_{236}	A_{259}	A_{282}	A			

（七）注意事项：

- 1、蒸馏装置必须密闭不漏气，否则造成烟碱损失；
- 2、蒸汽蒸馏必须在强碱性介质 NaOH 存在下进行；
- 3、在 259nm 处的吸光度值必须小于 1.5，否则应扩大稀释倍数后在进行比色测定。

(八) 思考题

- 1、烟碱在烟草体中的存在形态有哪几种？
- 2、烟碱在植株体内的分特性是什么？
- 3、烟碱的主要性质有哪些？
- 4、烟碱的测定意义是什么？
- 5、烟碱的测定方法有哪几种？
- 6、紫外分光光度法测定烟碱的原理是什么？
- 7、紫外分光光度法测定烟碱的过程中应注意些什么？

附：添加活性炭法

一、方法原理:

由于烟碱和无机酸结合较有机酸强, 因此, 用一定浓度的无机酸提取, 可以把烟碱从烟叶中分离出来。同时将活性炭粉末加入样品中脱去提取液中杂色。然后根据烟碱对紫外光有选择吸收, 其吸光度与烟碱含量呈正相关, 可由紫外分光光度计测得待测液的浓度, 从而计算出烟碱的含量。

二、主要仪器用具及试剂: 电子天平、紫外分光光度计、振荡器、250ml 三角瓶、250ml 容量瓶、25ml 移液管、漏斗、滤纸。

试剂: 0.5N HCl、活性炭粉末

三、操作步骤

- 1、称量 (分析天平的操作): 称取烟样 0.1000g 左右于 250ml 三角瓶中。
- 2、加活性炭: 测定烤烟和香料烟时, 需向三角瓶中加入样品量两倍的活性炭粉末。
- 3、加 0.5N HCl: 用移液管加 25ml 0.5N HCl 于 250ml 三角瓶中。
- 4、振荡: 将盛烟叶样品和 0.5N HCl 的三角瓶立即放在振荡器上振荡 5min 后取出。
- 5、过滤、定容: 将振荡后的溶液过滤于 250ml 容量瓶中, 用蒸馏水冲洗残渣及三角瓶 2~3 次, 再用蒸馏水定容至刻度, 摇匀备用。
- 6、比色测定 (紫外分光光度计的操作):
 - (1) 比色皿的校正: 用蒸馏水或参比液校正比色皿吸光度差异;
 - (2) 定波长比色: 用 0.05N HCl 作参比液 → 在紫外分光光度计 236nm、259nm、282nm 处测其吸光度值 A。

四、结果计算

$$\text{烟碱}(\%) = \frac{1.059 \times \left[A_{259} - \frac{1}{2}(A_{236} + A_{282}) \right] \times V}{W \times (1 - \text{含水率}) \times 34.3 \times 1000} \times 100$$

式中 1.059—换算为重量法测定值的校正系数;

34.3—烟碱的吸光系数, 即 1000ml 中含有 1g 纯烟碱溶液, 按测定值计为 34.3;

F—稀释倍数;

A_{259} 、 A_{236} 、 A_{282} —吸光度值;

V—提取液的定容体积 (250ml)。

五、讨论

编号	w(g)	吸光度值				烟碱 (%)	均值 (%)	相对偏 差 (%)
		A ₂₃₆	A ₂₅₉	A ₂₈₂	A			

六、思考题

- 1、简述添加活性炭法测定烟碱的原理。
- 2、添加活性炭法测定烟碱的过程中应注意些什么？

实验四、烟叶样品中总挥发碱的测定

(酸碱中和滴定法)

(一) 实验目的

掌握烟叶样品中总挥发碱的测定意义和酸碱滴定法测定总挥发碱的原理; 学会并熟练掌握酸碱滴定法测定总挥发碱的操作技能及结果计算。

(二) 方法原理

应用 $\text{pH}=8$ 的磷酸二氢钾-硼砂缓冲液进行蒸汽蒸馏, 使烟叶中的氨类物质 (如游离的尼古丁、酰胺、胺类等) 挥发逸出, 用过量的 HCl 标准溶液吸收挥发逸出的成分, 然后以甲基红-次甲基蓝混合指示剂指示终点, 用 NaOH 标准溶液滴定剩余的 HCl , 从耗用的 NaOH 毫升数计算出总挥发碱 (以 NH_3 计) 的含量。

(三) 主要仪器设备及试剂

主要仪器设备及实验用具: 电子天平、蒸馏装置、500ml 凯氏瓶、1000ml 三角瓶、定氮球、15ml 移液管、100ml 量筒、50ml 碱式滴定管

试剂:

1、 $\text{pH}=8$ 的磷酸二氢钾-硼砂缓冲液

A 液: 0.1N 磷酸二氢钾 (称 13.61g 磷酸二氢钾溶于 1000ml 水中)

B 液: 0.05N 硼砂 (称 19.61g 硼砂溶于 1000ml 水中)

用量筒量取 A 液 492ml 于一烧杯中, 再量取 B 液 535ml 倒入同一烧杯中混匀, 即为 $\text{pH}=8$ 的磷酸二氢钾-硼砂缓冲液。

2、0.1N HCl 标准溶液: 移液管吸取 HCl (1.19) 8.3ml 注入盛有 150-200ml 蒸馏水的 1000ml 容量瓶中, 并用蒸馏水定容至刻度, 摇匀后备用, 标定。

3、0.1N NaOH 标准溶液: 称 NaOH 4g 左右用无 CO_2 蒸馏水溶解转移至 1000ml 容量瓶中, 在用无 CO_2 的蒸馏水定容至刻度, 摇匀后备用, 标定。

4、混合指示剂: 0.125% 甲基红酒精液同 0.083% 的次甲基蓝的酒精液以 1:1 混合均匀而成。

(四) 实验内容及操作步骤

1、称量 (分析天平的操作): 称取烟样 2.5000g 左右于 500ml 凯氏瓶中;

2、加磷酸二氢钾-硼砂缓冲液及沸石: 加 $\text{pH}=8$ 的磷酸二氢钾-硼砂缓冲液 75ml 和沸石 2 块;

3、蒸馏装置的安装:

(1) 配定氮球: 配上合适的定氮球→使定氮球的蒸汽进入管的下端浸入凯氏瓶的液面下;

(2) 蒸馏装置的安装:

a、将凯氏瓶安装于蒸馏装置上;

b、吸取 15ml 0.1N HCl 标准液于 1000ml 三角瓶中→将三角瓶置于冷凝管的下端收集馏出液(冷凝管的下端要浸入 HCl 液面下);

c、将定氮球上带胶塞(馏出液蒸汽流出)的一端接于蒸馏装置的冷凝管上端→将蒸汽进入管接于蒸汽发生器的蒸汽流出管上;

4、蒸馏: 打开冷凝水管后立即通气蒸馏→蒸馏正常后给凯氏瓶适当加热以保持凯氏瓶原有体积(其间不断摇动凯氏瓶, 使粘附在瓶壁上的烟末摇下反复蒸馏)→待馏出液达 800ml 左右→停止蒸馏并冲洗冷凝管内壁及末端;

5、滴定: 取下三角瓶冷却后→滴加甲基红一次甲基蓝混合指示剂 8~10 滴→用 0.1N 的 NaOH 标准溶液滴定到溶液由紫红色变为无色或灰白色即为终点→记下 NaOH 耗用体积(ml)→同时做空白试验(校正试剂误差)。

(五) 结果计算:

$$\text{总挥发碱}(\%) = \frac{[N_{HCL}(V_{HCL} - V_0) - N_{NaOH}V_{NaOH}] \times 0.017}{W \times (1 - \text{含水率})} \times 100$$

式中: 0.017—氨(NH₃)的毫克当量值。

(六) 讨论

编号	W (g)	V _{HCL} (ml)	V ₀ (ml)	N _{HCL}	V _{NaOH} (ml)	N _{NaOH}	总挥发 碱(%)	均值 (%)	相对偏 差(%)	1-含水率

(七) 注意事项:

- 1、总挥发碱不能在强碱性介质 NaOH 下进行蒸汽蒸馏, 必须在 pH8.0 的磷酸二氢钾—硼砂缓冲液中进行蒸汽蒸馏。
- 2、使用新配制的缓冲溶液时必须作空白试验;
- 3、蒸汽发生器中的蒸馏水应事先煮沸 20min 以驱除 CO₂ 后在进行蒸汽蒸馏;
- 4、蒸馏装置必须密闭不漏气。

(八) 思考题

- 1、什么是总挥发碱？它包括哪些成分？为什么要对总挥发碱进行测定？
- 2、什么是空白试验？
- 3、简述酸碱滴定法测定总挥发碱的原理。
- 4、烟碱的测定与总挥发碱的测定有何异同点？
- 5、测定总挥发碱为什么不在强碱性介质 NaOH 下进行蒸汽蒸馏，而要在 pH=8.0 的磷酸二氢钾—硼砂缓冲溶液下进行蒸汽蒸馏？
- 6、酸碱滴定法测定烟叶总挥发碱的过程中应注意些什么？

实验五、烟叶样品中总氮的测定

(H_2O_2 - H_2SO_4 消化-蒸馏法)

(一) 实验目的

掌握烟叶样品中总氮的测定意义和原理, 学会并熟练掌握总氮测定的操作技能及结果计算。

(二) 方法原理

用强氧化剂过氧化氢和浓硫酸高温消煮植物样品, 以氧化植物样品中的有机碳等有机化合物, 使成为二氧化碳等, 从而使植物中的氮素比较完全地释放出来, 并与硫酸结合成硫酸铵, 再用定氮蒸馏方法测定或扩散法测定。

(三) 主要仪器设备及试剂

主要仪器: 电子天平、KDN-2C 定氮仪、红外消煮炉、消化管、酸式滴定管、100ml 容量瓶

试剂: 浓硫酸、30% H_2O_2 、pH=5.0 的 2% H_3BO_3 —指示剂 (含甲基红—溴甲酚绿乙醇液)、0.02N 的 H_2SO_4 标准液、40%NaOH

(四) 操作步骤

1、称样: 称取烟样 0.6000g 左右于 200ml 消化管中;

2、加浓硫酸: 滴加少量水润湿烟叶样品→加浓硫酸 10ml 轻轻摇匀后上置一小漏斗 (最好放置过夜);

3、样品消煮 (在消煮样品的同时, 做两份空白试验):

(1) 低温消煮: 在消煮炉上先低温慢慢加热至开始冒出大量白烟, 微沸约 5min, 待溶液呈均匀的棕黑色时升至高温 (320~340℃);

(2) 高温 (320~340℃) 消煮: 取下稍微冷却 (约 30 秒), 滴加 7~10 滴 30% H_2O_2 , 摇匀后继续加热微沸约 5min, 取下稍微冷却 (约 30 秒), 滴加 6~9 滴 30% H_2O_2 , 如此反复多次 (H_2O_2 用量依次减少) 直到消煮液完全清亮为止, 再继续微沸 5~10min 以除尽剩余的 H_2O_2 。

4、消煮液的冷却、转移与定容: 取下消化管冷却后加入 10ml 蒸馏水, 冷却后无损失的转移到 100ml 容量瓶中, 用蒸馏水多次洗涤消化管及小漏斗, 混匀后冷却至室温, 用蒸馏水定容至刻度, 摇匀后备用。

5、定氮蒸馏:

(1) KDN-2C 定氮仪的操作: 连接并打开冷凝水水龙头开关→将定氮仪蒸汽发生器的蒸馏水进入管插入蒸馏水桶中→接通电源通电(绿灯亮)→待红灯亮时即可开始进行氨的蒸馏。

(2) 空蒸: 将 250ml 三角瓶置于定氮仪右侧馏出液导出管下的托盘上→再将消化管加蒸馏水 10ml 后放在定氮分析仪左侧蒸汽导出管下的托架上→打开“开汽”开关空蒸馏 5min 后取下→开始进行待测液蒸馏。注: 每一个样品蒸馏结束后都要空蒸馏一次。

(3) 待测液(氨)的蒸馏:

a、用移液管吸取 15ml 2% H_3BO_3 —指示剂于 250ml 三角瓶中→然后将三角瓶置于定氮仪右侧馏出液的托盘上吸收蒸馏挥发逸出的氨(馏出液导出管下端要浸入液面下)。

b、用移液管吸取待测液 10ml 于消化管中→再加 40%NaOH 5ml 以使溶液呈碱性(切勿摇动消化管)→立即将消化管放在定氮仪左侧蒸汽导出管下的托架上(切勿让消化管漏气)→打开“开汽”开关通气蒸馏→待馏出液达 150ml 左右时→停止蒸馏, 并用少量蒸馏水冲洗浸入液面下的馏出液导出管。

6、氨的滴定: 取下三角瓶→立即用 H_2SO_4 标准溶液滴定至溶液由绿色变为紫红色即为滴定终点→记下 H_2SO_4 标准溶液的耗用体积(ml)→同时做空白试验。

(五) 结果计算:

$$\text{全氮}(\%) = \frac{N(V - V_0) \times 0.014 \times \text{分取倍数}}{W \times (1 - \text{含水率})} \times 100$$

$$\text{蛋白质}(\%) = 6.25 \times (\text{总氮} - \text{烟碱氮})$$

$$= 6.25 \times (\text{总氮} - \text{烟碱} \times 0.1727)$$

(六) 讨论

编号	W (g)	V (ml)	V_0 (ml)	N	总氮 (%)	均值 (%)	相对偏差 (%)	氮碱比	蛋白质 (%)	1-含水 率

(七) 注意事项:

1、消化开始时应低温加热, 待泡沫及烟雾消失溶液呈均匀的棕黑色后才可增大火力

使之沸腾，沸腾温度应保持在 338℃ 左右。

2、蒸馏液达 150ml 时应停止蒸馏，若继续蒸馏，微量的碱蒸汽被馏出液带入接受瓶，造成含氮量偏高。

（八）思考题

- 1、总氮的主要成分有哪些？
- 2、简述总氮的测定意义。
- 3、何为凯氏定氮法？近百年来凯氏定氮法进行了哪些改进？
- 4、过氧化氢—硫酸法消煮烟叶样品，在消煮过程中溶液颜色发生了那些变化？
- 5、如何对蛋白质进行间接换算？为何测出的蛋白质为粗蛋白质？
- 6、总氮的测定过程中要注意些什么？

实验六、烟叶样品中蛋白质的测定

—间接法

(一) 实验目的

掌握烟叶样品中蛋白质的测定原理, 学会并熟练掌握蛋白质测定的操作技能及结果计算。

(二) 方法原理:

利用重金属将蛋白质沉淀或控制 pH 于蛋白质的等电点外, 蛋白质的溶解度最小, 可以将蛋白质分离出来, 按总氮的测定方法进行消化、定氮, 再乘以系数, 得到的蛋白质为纯蛋白质的含量。

(三) 主要仪器设备及试剂

主要仪器设备: 电子天平、KDN-2C 定氮仪、红外消煮炉、消化管、酸式滴定管、250ml 容量瓶

试剂:

- 1、6%的硫酸铜溶液: $6\text{g CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 溶于 100ml 水中。
- 2、碱性醋酸铅: 200g 氧化铅和 300g 醋酸铅置于瓷蒸发皿中→在沸水浴上加热使它溶化→用玻棒小心混合→将小块研碎成糊状物质→然后加 1L 水→盖上表面皿放置一昼夜, 不要摇动→小心地将液体滤入干净的细口玻璃瓶中→盖严放置(因为溶液易在空气中变浑浊)→每次可取出一部分使用。
- 3、1.25%氢氧化钠溶液: 1.25g NaOH 溶于 100ml 水中。
- 4、其他试剂: 浓硫酸、1:10 的 $\text{CuSO}_4 : \text{K}_2\text{SO}_4$ 混合加速剂、pH=5.0 的 2% H_3BO_3 —指示剂(0.099g 溴甲酚绿和 0.066g 甲基红溶于 100ml 乙醇中)、0.02N 的 H_2SO_4 标准液、40%NaOH、5% BaCl_2

(四) 实验项目内容及操作步骤:

- 1、称量: 称取样品 2.0000~4.0000g 放于 150ml 烧杯中;
- 2、蛋白质的沉淀: 加 50ml 沸水→加热至沸 15min 后取下→放置 30min→缓缓注入 25ml 6%的硫酸铜溶液→用玻棒搅拌→同时加入 25ml 1.25%氢氧化钠溶液→放置 30min~60min 使沉淀完全(也可放置过夜);
- 3、过滤: 用倾斜法过滤→用沸水洗涤沉淀, 洗至滤液遇 5% BaCl_2 不再产生 BaSO_4 白色沉淀为止(间接表示非蛋白质含氮物已经洗净)→滤液留作可溶性氮测定用;

4、沉淀的烘干：将洗净的沉淀及滤器一起放入 60℃烘箱中烘至近干；

5、蛋白质的消煮：将已烘干的沉淀连带滤纸卷成筒状→毫无损失地转移入 250ml 凯氏瓶中→用量筒加入浓硫酸 20~30ml→放置 2h 或过夜→加入 1:10 的 CuSO_4 : K_2SO_4 5g→在电炉上先用小火加热（注意倾斜放置）→逐渐升温（避免黑色物质溅于瓶外）→在出现白色蒸汽后才可加大火力使之沸腾→消煮至溶液呈无色透明→再消煮 30min→冷却；

6、定容：用蒸馏水通过漏斗将消煮液洗入 250ml 容量瓶中→混匀后冷却至室温→用水定容至刻度，摇匀后备用。

7、氮的测定（蒸馏法）：详细操作步骤见总氮的测定。

（五）结果计算：

$$\text{蛋白质}(\%) = \text{全氮} \times 6.25$$

式中：6.25 为换算系数。

（六）讨论

编号	W (g)	V(ml) (H_2SO_4)	V_0 (ml) (H_2SO_4)	N (H_2SO_4)	全氮 (%)	蛋白质 (%)	均值 (%)	相对偏差 (%)	1-含水率

（七）注意事项

1、消化开始时应低温加热，待泡沫及烟雾消失溶液呈均匀的棕黑色后才增大火力使之沸腾，沸腾温度应保持在 338℃左右。

2、蒸馏液达 150ml 时应停止蒸馏，若继续蒸馏，微量的碱蒸汽被馏出液带入接受瓶，造成含氮量偏高。

（八）思考题

1、简述蛋白质的测定意义。

2、全氮和总氮有什么区别？

3、蛋白质的测定过程中应注意些什么？

实验七、烟叶样品中全钾的测定

(火焰光度法)

(一) 实验目的:

掌握烟叶样品中钾的测定意义和火焰光度法测定钾的原理, 学会并熟练掌握火焰光度计的操作技能及测定结果计算。

(二) 方法原理:

如果单独测定烟样的钾可采用 1N 的 NH_4OAc 浸提, 直接用火焰光度法测定最为快速方便。

钾的待测液用压缩空气使溶液喷成雾状与燃气混合后燃烧, 钾元素的原子受火焰激发后能发射该元素所特有波长的光谱线, 用火焰光度计测量其光谱线强度, 进而根据光谱线强度与其浓度成正比的关系, 来测定钾元素的浓度 (从标准曲线上查得或回归方程求得待测液的钾浓度 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 从而算出钾元素的含量。

(三) 主要仪器设备及试剂

主要仪器设备及用具: 电子天平、红外消煮炉、消化管、6420 型火焰光度计、5ml 刻度移液管、50ml、100 ml 容量瓶。

试剂:

1、100ppm 钾标准溶液: 称取 0.1907g 氯化钾 (AR, 110℃烘干 2h) 溶于水中, 定容至 1L, 即为 100ppm (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 K 标准液), 存于塑料瓶中。

2、配制 0、2.5、10、20、40、60ppm ($\mu\text{g}/\text{ml}$) 的钾标准溶液: 分别吸取 100ppm 钾标准溶液 0、2.5、10、20、40、60ml → 分别放入 100ml 容量瓶中 → 加入与待测液等量的 H_2SO_4 (若为湿灰化各加 5ml 空白消煮液) → 用蒸馏水定容至刻度, 摇匀后备用。

(四) 实验内容及操作步骤:

1、钾标准曲线或回归方程的建立: $y=a+bx$

x(ppm)	0	2.5	10	20	40	60
y (检流计读数)	0					100

2、定容: 吸取测氮待测液 5ml 于 50ml 容量瓶中 → 用蒸馏水定容至刻度 → 摇匀后备用。

3、火焰光度计操作:

- (1) 开机: 打开火焰光度计和空气压缩机的电源开关;
- (2) 调整火焰光度计上的点火和燃气开关: 将火焰光度计上的点火和燃气开关调节至最小位置 (关闭);
- (3) 打开煤气罐开关和煤气调节阀;
- (4) 点火: 用右手用力按住点火开关 → 左手调节点火阀 → 火焰点燃后 (火焰高 4 ~ 6cm) → 松开左右手 → 用右手慢慢调节燃气阀直至点燃蓝色火焰 → 左手将点火阀关闭 → 右手慢慢调节燃气阀直至蓝色火焰柱周围出现 12 个小火焰柱 → 预热 15 ~ 20min 即可测定。

4、钾浓度的测定:

(1) 钾标准溶液的测定: 用钾标准溶液的 60ppm 和 0ppm 分别调节火焰光度计检流计的 100 和 0 → 然后从低浓度到高浓度顺序进行测定 → 记录检流计的读数(y) → 以记录检流计的读数(y)为纵坐标 → 钾浓度(x)为横坐标 → 绘制标准曲线或建立回归方程。

(2) 待测液的测定: 用钾标准溶液的 60ppm 和 0ppm 分调节火焰光度计检流计的 100 和 0 → 将稀释后的待测液直接在火焰光度计上测定 → 记录检流计的读数(y)。

(3) 求钾浓度: 从标准曲线上查得或回归方程 $y=a+bx$ 求得待测液的钾浓度(ug/ml)

(五) 结果计算:

$$\text{全钾}(\%) = \frac{x(\text{ppm}) \times \text{测读液体积} \times \text{分取倍数}}{W \times (1 - \text{含水率}) \times 10^6} \times 100$$

$$\text{K}_2\text{O}(\%) = \frac{x(\text{ppm}) \times \text{测读液体积} \times \text{分取倍数} \times 1.205}{W \times (1 - \text{含水率}) \times 10^6} \times 100$$

(六) 讨论

编号	W (g)	检流计的读数(y)	待测液钾浓度 x(ug/ml)	全钾 (%)	K ₂ O (%)	均值 (%)	相对偏差 (%)	1-含水率

(七) 注意事项

- 1、总灰分制备的待测液吸取 2 ~ 5ml 于 100ml 容量瓶中(钾的浓度最好控制在 10 ~ 30ppm), 用蒸馏水定容摇匀;

2、用湿灰化制备的待测液测钾, 应注意:

(1) 溶液中的酸度大小对测定结果有很大的影响, 待测液中酸度如超过 0.25mol/l 以上, 会使读数降低。一般酸度 $< 0.05\text{mol/l}$;

(2) 电离干扰: 电离电位较低的元素, 如钾为 4.34 伏特, 在火焰中有较大的电离, 电离的结果使原子数目减少, 并降低了特征光谱强度, 故被测元素在试液中的含量限制在一定范围, 浓度不能过低, 以免产生电离干扰。(3) 自吸干扰: 用发射法测定易电离元素时, 往往会遇到纯盐溶液的标准曲线呈“S”形, 因为低浓度时电离作用明显, 出现曲线下凹; 而高浓度时产生自吸作用, 即火焰中心发射的被测元素的共振线遭到火焰外围“冷区”中该元素的基态原子所吸收, 使发射强度减弱。故试样被测元素含量高时, 可通过稀释, 使被测元素在试液中限制在一定范围, 而又不使其浓度过低, 以免产生电离干扰, 又能减少自吸干扰。(4) 标准液和待测液的组成应尽量相同, 故可在 K 标准溶液系列中加入相当量的空白消煮液 (5ml)。

(5) 标准溶液配制时间过久浓度会有变化或混入杂质, 应现配现用, 以减少误差。

(八) 思考题

- 1、简述烟叶中钾的测定意义。
- 2、简述烟叶中钾的存在特性及对烟叶燃烧性的影响。
- 3、烟叶中钾的测定方法主要有哪几种? 目前最常用的是哪几种?
- 4、简述火焰光度法测定钾的原理。
- 5、火焰光度法测定烟叶样品钾的过程中应注意些什么?

实验八、烟叶样品中氯含量的测定

一莫尔法（硝酸银容量法）

（一）实验目的

掌握烟叶样品中氯含量的测定意义和莫尔法测定烟叶样品中氯含量方法原理，学会并熟练掌握半微量滴定管的使用和烟叶样品中氯含量测定的实验操作技能及结果计算。

（二）方法原理：

烟样经过碱性干灰化后，所得灰分用水溶解， Cl^- 即溶于水中。根据分步沉淀原理，在 pH 值 6.5~10.5 的溶液中，以 K_2CrO_4 作指示剂，用 AgNO_3 标准溶液滴定 Cl^- 。等当点前， Ag^+ 首先与 Cl^- 生成乳白色 AgCl 沉淀，等当点后， Ag^+ 与 CrO_4^{2-} 生成 Ag_2CrO_4 砖红色沉淀，指示到达终点。由反应消耗的标准 AgNO_3 用量，计算出氯的含量。

（三）主要仪器设备及试剂

主要仪器设备及用具：电子天平、水浴锅、低温电炉、低温电炉（高温电炉）、100ml 容量瓶、150ml 三角瓶、25ml 移液管、半微量滴定管。

试剂：

- 1、5%(1:2)的 Na_2CO_3 与 KNO_3 溶液：称取 1.67g Na_2CO_3 和 3.33g KNO_3 溶于 100ml 水中。
- 2、10% NH_4NO_3 溶液：10g NH_4NO_3 溶于 100ml 水中。
- 3、10% H_2SO_4 溶液：将 10ml 浓 H_2SO_4 注入 90ml 水中混匀备用。
- 4、12% NaHCO_3 溶液：12g NaHCO_3 溶于 100ml 水中。
- 5、0.5% 酚酞指示剂：0.5g 酚酞溶于 100ml 95% 的乙醇中。
- 6、5% K_2CrO_4 作指示剂：5g K_2CrO_4 溶于少量水中→滴加 1N 的 AgNO_3 至有砖红色沉淀生成→过滤后将滤液稀释至 100ml。
- 7、0.02N 的 NaCl 标准溶液：1.1690g NaCl （基准试剂，120℃烘干 4h），溶于水后定容至 1000ml。
- 8、0.02N 的 AgNO_3 标准溶液：

3.3978g AgNO_3 （AR）用蒸馏水溶解→转入 1000ml 容量瓶→定容至刻度→摇匀后避光保存于棕色瓶中备用，并用 0.02N 的 NaCl 标准溶液标定。

（四）实验项目内容及操作步骤：

- 1、称量 (电子天平的操作和使用): 称取烟样 2~3g 放于 30ml 瓷坩埚中。
- 2、Cl⁻ 的固定: 滴加 5% (1:2) 的 Na₂CO₃ 与 KNO₃ 溶液 (约 40 滴) 湿润之 (切勿搅拌样品) → 置于沸水浴锅上加热 1h 后取下。
- 3、低温炭化: 在低温电炉上缓缓加热至灰分不在燃烧 (表面灰白不冒烟)。
- 4、高温灰化 (马福炉的操作与使用): 将低温炭化后的烟样放入 500℃ 的电炉中灰化 → 高温灰化 15min 后可取出 → 若在高温电炉中还没使炭粒燃烧尽 → 待冷却后可滴加 10% NH₄NO₃ 溶液于炭粒上 (增加灰化速度) → 再移入高温电炉中灰化 → 如此反复直至灰分变成白色或灰白色为止。
- 5、灰化物的溶解和定容: 将灰化完全的灰化物用热蒸馏水反复溶解 → 过滤于 100ml 容量瓶中 (残渣和坩埚要反复冲洗) → 冷却至室温后用蒸馏水定容 → 摇匀后备用。
- 6、Cl⁻ 的滴定 (半微量滴定管的使用、滴定终点的确定):
 - (1) 调节酸碱度: 吸取待测液 25ml 于 150ml 三角瓶中 → 加 0.5% 酚酞指示剂 1 滴 → 用 10% H₂SO₄ 溶液及 12% NaHCO₃ 溶液调至待测液呈微碱性 (pH 6.5~10.5, 微红色)。
 - (2) 滴定: 将已调好酸碱度的待测液加 0.5ml 5% 的 K₂CrO₄ 指示剂 → 摇匀后用 0.02N 的 AgNO₃ 标准溶液滴定 → 在充分摇动下滴至溶液有砖红色沉淀出现不消失为止 → 记下 AgNO₃ 耗用体积 (ml)。

(五) 结果计算:

$$\text{烟叶中的氯 (\%)} = \frac{NV \times 0.0355 \times \text{分取倍数}}{W \times (1 - \text{含水率})} \times 100$$

式中: 0.0355—1m molCl⁻ 的克数 (g)。

(六) 讨论:

编号	W (g)	V(AgNO ₃) ml	N	氯 (%)	均值 (%)	相对偏 差 (%)	钾氯比	1-含水 率

(七) 注意事项

- 1、灰化温度必须在 500℃ 左右;
- 2、铬酸钾做指示剂, 只能在中性或微碱性溶液中进行, 测定溶液应在 pH 值 6.5~10.5 之间。

3、氯离子含量高时, 因生成白色氯化银沉淀过多而影响终点, 此时可减少待测液吸取量。

4、大量硫酸盐存在会对测定发生干扰, 一般 < 32mg 时对本测定一般无干扰。

5、滴定时要充分摇动待测液。

(八) 思考题

1、简述烟叶中氯的测定意义。

2、什么是莫尔法? 简述莫尔法测定氯的原理。

3、为什么要在微碱性条件下进行氯离子的滴定? 滴定过程中为何要充分摇动待测液?

4、莫尔法测定氯的过程中应注意些什么?

实验九、烟叶样品中还原糖的测定

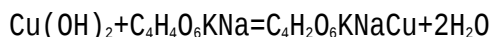
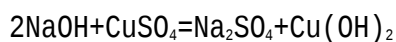
(伯川法)

(一) 实验目的

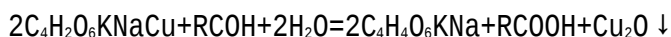
掌握烟叶样品中还原糖的法定意义和伯川法定测还原糖方法原理, 学会并熟练掌握蓝线滴定管的使用和伯川法测定还原糖的操作技能及结果计算。

(二) 方法原理:

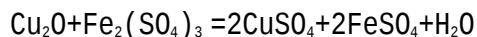
烟叶中的还原糖用乙醇溶剂浸出, 利用单糖上的醛基(葡萄糖)和酮基(果糖)在碱性溶液中能与斐林试剂作用的特性, 把二价铜还原为氧化亚铜, 其所形成的反应如下: 斐林试剂是铜的酒石酸盐:



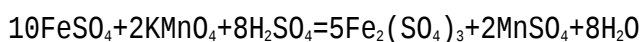
由于醛基和酮基的存在, 还原糖与斐林试剂作用后, 把 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ , 本身被氧化成葡萄糖酸。



生成的 Cu_2O 为红色沉淀, 在硫酸介质中, 可被硫酸高铁氧化为二价铜, 而三价的高铁被还原为二价铁。



然后用高锰酸钾溶液来滴定形成的硫酸亚铁, 反应如下:



根据 KMnO_4 的用量, 可计算出铜的量 ($1\text{ml } 0.1\text{mol/l KMnO}_4$ 相当于 63.54mg 铜), 再由铜的量查出 (汉蒙德表) 与其相当的葡萄糖的含量。

(三) 主要仪器设备及试剂:

主要仪器设备及用具: 电子天平、电热水浴锅、低温电炉、 G_4 玻璃坩埚、抽滤装置 (DSJ1 膜式电动吸引器、抽滤瓶)、 500ml 平底烧瓶、 100ml 量筒、 100ml 量杯、 25ml 移液管、 10ml 刻度移液管、洗耳球、 250ml 容量瓶、 250ml 三角瓶、 200ml 消化管、漏斗、 400ml 烧杯、玻棒、蓝线滴定管。

试剂:

1、斐林试剂

斐林试剂甲: 溶解 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 80g 溶于水中, 移入 1000ml 容量瓶中, 用蒸馏水

定容至刻度, 摇匀后备用。

斐林试剂乙: 溶解酒石酸钾钠 ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 400g 及 100gNaOH 溶于水中, 移入 1000ml 容量瓶中, 用蒸馏水定容至刻度, 摇匀后备用。

2、20%中性醋酸铅: 称取 200g 醋酸铅 (AR) 溶于水中, 过滤后稀释至 1L。

3、20%草酸钾: 称取 200g 醋酸铅 (AR) 溶于水中, 稀释至 1L。

4、0.1mol/L KMnO_4 标准溶液: 称取 3.2g KMnO_4 溶于水中, 用煮沸冷却的蒸馏水定容至刻度, 摇匀后保存于棕色瓶中, 一星期后用以下方法标定:

将 AR 级 $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 在 105℃烘箱中烘 2h, 取出放在干燥器中冷却至室温后称取 0.14~0.20g 于 250ml 三角瓶中 (一式三份), 加水及 1:3HCl 溶液各 10ml, 加热到 80—90℃。取下用配好的 KMnO_4 溶液滴定到溶液呈粉红色在 1min 内不褪色为止。根据 KMnO_4 用量和 $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 称量来计算 KMnO_4 溶液的浓度。

$$N_{\text{KMnO}_4} = \frac{\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4 \text{用量}}{0.0670 \times V_{\text{KMnO}_4}}$$

式中—0.0670 为 $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 的当量

5、硫酸高铁溶液: 称取铁铵矾 [$\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$]135g 或无水 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 55g 于水中, 稀释至 1L 后移入另一个 2500ml 棕色瓶中加入 4mol/L H_2SO_4 400ml 酸化, 备用。

6、邻菲罗林指示剂: 称取邻菲罗林 (AR) 1.485g 和硫酸亚铁 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, AR) 0.695g 于 100ml 水中 (可加热促使溶解)。

7、95%乙醇 (AR)。

8、4mol/L H_2SO_4 : 吸取 112ml 浓硫酸, 缓缓加入 800ml 水中, 边加边搅动, 冷却后定容至 1L。

(四) 实验内容及操作步骤:

I 糖液的制备

1、称量 (电子天平的操作和使用): 称取烟叶样品 2.0000~3.0000g (一般指烤烟, 如分析含糖量较少的雪茄烟、白肋烟等则需要称取 4.0000~6.0000g) 放入 200ml 的消化管 (或 250ml 三角瓶) 中。

2、糖液的浸提、回流抽提: 向上述消化管 (或三角瓶) 中加入 95%的乙醇 70ml, 轻轻摇匀后静置过夜, 次日将消化管或三角瓶置于水浴锅上回流抽提 30min (待消化管或三角瓶中的液体沸腾时开始计时), 取下静置片刻后将上清液过滤于 500ml 平底

烧瓶中, 最后一次将烟末残渣倒于滤纸上, 并用少量乙醇洗涤消化管或三角瓶 3~4 次及残渣 1 次, 待过滤完毕后, 残渣留作测定淀粉, 滤液用于测定还原糖和水溶性总糖。

3、.回收乙醇: 将盛有糖液的置于回流装置上将乙醇回收至只剩下 1ml 左右, 取下平底烧瓶。

4、残渣的溶解: 立即向平底烧瓶中加入 80ml 热蒸馏水使残渣溶解。

5、蛋白质的沉淀: , 立即向平底烧瓶中加入 20%醋酸铅 10ml 沉淀蛋白质, 摇匀后静置片刻, 将上清液过滤于 250ml 三角瓶中, 再用热蒸馏水少量多次洗涤烧瓶及残渣后再过滤于 250ml 三角瓶中(控制滤液体积在 200ml 左右)。

6、除去铅离子: 往滤液中加 20%草酸钾 10ml 除滤液中多余的铅离子(形成絮状物), 上述滤纸上残渣用水冲洗至滴下滤液不与 20%草酸钾形成絮状物为止。

7、过滤、定容: 将三角瓶中滤液再一次过滤于 250ml 容量瓶中, 并用蒸馏水洗涤三角瓶 3~4 次及残渣 1 次, 冷却至室温后定容, 摇匀后备用。

该糖液含有还原性糖即单糖(葡萄糖和果糖)和双糖类的麦芽糖, 以及非还原性糖即蔗糖。还原糖可以直接用斐林试剂来测定, 非还原性糖即蔗糖则必须经过水解后才能测定。故待测液中应测定或换算出如下几种糖:

(1) 经水解后测得的糖为可溶性总糖;

(2) 未经水解测得的糖为还原性糖;

(3) 两者之差为非还原性糖。

II 还原糖的测定

1、吸取糖液: 从上述容量瓶中吸取糖液 50ml 于 400ml 烧杯中;

2、加费林试剂: 用移液管直接加斐林试剂的甲液及乙液各 25ml 于烧杯中;

3、加热煮沸: 将烧杯放于电炉上加热, 使在 4min 内开始沸腾, 并保持沸腾 2min(时间要准确, 事先可用斐林试剂做预备试验), 不断用玻璃棒轻轻搅动以产生 Cu_2O 红色沉淀。

4、抽滤: 立即将红色 Cu_2O 沉淀吸滤到 G₄玻璃坩埚中, 用热蒸馏水(60~80℃)充分洗涤烧杯和玻璃坩埚内的红色 Cu_2O 沉淀, 然后将玻璃坩埚放回原烧杯中。

5、 Cu_2O 的溶解: 向 G₄玻璃坩埚中加入 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 溶液 30~40ml(一般 30ml 即可)溶解红色的 Cu_2O 沉淀;

6、取出坩埚：待红色的 Cu_2O 沉淀完全溶解后，用玻棒轻轻挑起坩埚，用蒸馏水冲洗坩埚外面，用手拿住坩埚外壁，再用蒸馏水洗瓶冲洗坩埚内壁，然后将坩埚取出。

7、滴定（蓝线滴定管的使用及滴定终点的确定）：向烧杯中加入 3 滴邻菲罗林指示剂，用 KMnO_4 标准溶液慢慢滴至溶液由棕黄色变为蓝绿色时即为终点。记下 KMnO_4 标准溶液用量（ml）。

8、用斐林试剂甲、斐林试剂乙液各 25ml 做空白试验，如 Cu_2O 重量大于 0.5mg，应在糖量测定时加以校正。

（五）结果计算：

$$\text{Cu (mg)} = N (V_{\text{KMnO}_4} - V_0) \times 63.54$$

从附表（汉蒙德表）查出相当于 Cu 量（mg）的葡萄糖的重量（mg）。

$$\text{还原糖 (\%)} = \frac{\text{查出糖量} \times \text{分取倍数}}{W \times (1 - \text{含水率}) \times 1000} \times 100$$

$$\text{糖碱比} = \frac{\text{还原糖 (\%)}}{\text{烟碱 (\%)}}$$

（六）结果讨论：

编号	W (g)	V(ml)		Cu 量 (mg)	查出糖量 (mg)	还原糖 (%)	均值 (%)	相对 偏差 (%)	糖碱比	1-含水 率
		V_0	V							

（七）注意事项：

- 1、所用的醋酸铅必须是中性；
- 2、必须严格控制糖液浓度、pH 等条件、加热时间、加热强度。

（八）思考题

- 1、什么是单糖？什么是还原性总糖？
- 2、还原糖的测定方法有哪几种？此外还有哪几种方法测定还原糖？其中最常用而准确的方法有哪几种？
- 3、简述还原糖的测定意义。
- 4、什么是糖碱比？

实验十、烟叶样品中水溶性总糖的测定

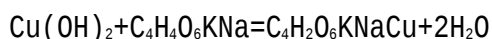
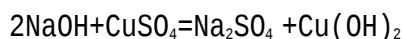
(伯川法)

(一) 实验目的:

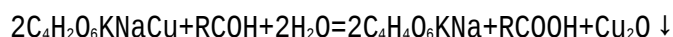
掌握烟叶样品中水溶性总糖的测定意义和伯川法测定水溶性总糖的方法原理, 学会并熟练掌握蓝线滴定管的使用和伯川法测定水溶性总糖的操作技能及结果计算。

(二) 方法原理:

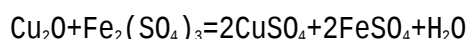
烟叶中的水溶性总糖用乙醇溶剂浸出, 加酸使非还原性糖即蔗糖水解后转化为单糖, 再利用单糖上的醛基(葡萄糖)和酮基(果糖)在碱性溶液中能与斐林试剂作用的特性, 把二价铜还原为氧化亚铜, 其所形成的反应如下: 斐林试剂是铜的酒石酸盐:



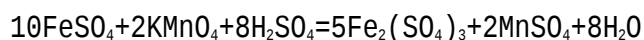
由于醛基和酮基的存在, 还原糖与斐林试剂作用后, 把 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ , 本身被氧化成葡萄糖酸。



生成的 Cu_2O 为红色沉淀, 在硫酸介质中, 可被硫酸高铁氧化为二价铜, 而三价的高铁被还原为二价铁。



然后用高锰酸钾溶液来滴定形成的硫酸亚铁, 反应如下:



根据 KMnO_4 的用量, 可计算出铜的量 ($1\text{ml } 0.1\text{mol/l KMnO}_4$ 相当于 63.54mg 铜), 再由铜的量查出 (汉蒙德表) 与其相当的葡萄糖的含量。

(三) 主要仪器设备及试剂:

主要仪器设备: 电子天平、电热水浴锅、低温电炉、 G_4 玻璃坩埚、抽滤装置 (DSJ1 膜式电动吸引器、抽滤瓶)、 500ml 平底烧瓶、 100ml 量筒、 100ml 量杯、 25ml 移液管、 10ml 刻度移液管、洗耳球、 250ml 容量瓶、 250ml 三角瓶、 200ml 消化管、表面皿、漏斗、 400ml 烧杯、玻棒、广泛 pH 试纸、蓝线滴定管。

试剂:

1、斐林试剂

斐林试剂甲：溶解 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 80g 溶于水中，移入 1000ml 容量瓶中，用蒸馏水定容至刻度，摇匀后备用。

斐林试剂乙：溶解酒石酸钾钠 ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 400g 及 100gNaOH 溶于水中，移入 1000ml 容量瓶中，用蒸馏水定容至刻度，摇匀后备用。

2、20%中性醋酸铅：称取 200g 醋酸铅 (AR) 溶于水中，过滤后稀释至 1L。

3、20%草酸钾：称取 200g 醋酸铅 (AR) 溶于水中，稀释至 1L。

4、1:3HCl 溶液：1 份浓 HCl (AR) 加 3 份蒸馏水。

5、10% NaOH：称取 100gNaOH (AR) 溶于水中，稀释至 1L。

6、0.1%甲基红：称取 0.1g 甲基红溶于 100ml95%乙醇中。

7、0.1mol/L KMnO_4 标准溶液：称取 3.2g KMnO_4 溶于水中，用煮沸冷却的蒸馏水定容至刻度，摇匀后保存于棕色瓶中，一星期后用以下方法标定：

将 AR 级 $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 在 105℃烘箱中烘 2h，取出放在干燥器中冷却至室温后称取 0.14~0.20g 于 250ml 三角瓶中（一式三份），加水及 1:3HCl 溶液各 10ml，加热到 80—90℃。取下用配好的 KMnO_4 溶液滴定到溶液呈粉红色在 1min 内不褪色为止。根据 KMnO_4 用量和 $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 称量来计算 KMnO_4 溶液的浓度。

$$N_{\text{KMnO}_4} = \frac{W(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4)}{0.0670 \times V_{\text{KMnO}_4}}$$

式中—0.0670 为 $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 的克当量

8、硫酸高铁溶液：称取铁铵矾 [$\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$] 135g 或无水 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 55g 于水中，稀释至 1L 后移入另一个 2500ml 棕色瓶中加入 4mol/L H_2SO_4 400ml 酸化，备用。

9、邻菲罗林指示剂：称取邻菲罗林 (AR) 1.485g 和硫酸亚铁 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, AR) 0.695g 于 100ml 水中（可加热促使溶解）。

10、95%乙醇 (AR)。

11、4mol/L H_2SO_4 ：吸取 112ml 浓硫酸，缓缓加入 800ml 水中，边加边搅动，冷却后定容至 1L。

（四）实验内容及操作步骤：

I 糖液的制备

1、称量（电子天平的操作和使用）：称取烟叶样品 2.0000~3.0000g（一般指烤烟，

如分析含糖量较少的雪茄烟、白肋烟等则需要称取 4.0000~6.0000g) 放入 200ml 的消化管(或 250ml 三角瓶)中。

2、糖液的浸提、回流抽提: 向上述消化管(或三角瓶)中加入 95%的乙醇 70ml, 轻轻摇匀后静置过夜, 次日将消化管或三角瓶置于水浴锅上回流抽提 30min (待消化管或三角瓶中的液体沸腾时开始计时), 取下静置片刻后将上清液过滤于 500ml 平底烧瓶中, 最后一次将烟末残渣倒于滤纸上, 并用少量乙醇洗涤消化管或三角瓶 3~4 次及残渣 1 次, 待过滤完毕后, 残渣留作测定淀粉, 滤液用于测定还原糖和水溶性总糖。

3、回收乙醇: 将盛有糖液的置于回流装置上将乙醇回收至只剩下 1ml 左右, 取下平底烧瓶。

4、残渣的溶解: 立即向平底烧瓶中加入 80ml 热蒸馏水使残渣溶解。

5、蛋白质的沉淀: 立即向平底烧瓶中加入 20%醋酸铅 10ml 沉淀蛋白质, 摇匀后静置片刻, 将上清液过滤于 250ml 三角瓶中, 再用热蒸馏水少量多次洗涤烧瓶及残渣后再过滤于 250ml 三角瓶中(控制滤液体积在 200ml 左右)。

6、除去铅离子: 往滤液中加 20%草酸钾 10ml 除滤液中多余的铅离子(形成絮状物), 上述滤纸上残渣用水冲洗至滴下滤液不与 20%草酸钾形成絮状物为止。

7、过滤、定容: 将三角瓶中滤液再一次过滤于 250ml 容量瓶中, 并用蒸馏水洗涤三角瓶 3~4 次及残渣 1 次, 冷却至室温后定容, 摇匀后备用。

该糖液含有还原性糖即单糖(葡萄糖和果糖)和双糖类的麦芽糖, 以及非还原性糖即蔗糖。还原糖可以直接用斐林试剂来测定, 非还原性糖即蔗糖则必须经过水解后才能测定。故待测液中应测定或换算出如下几种糖:

- (1) 经水解后测得的糖为可溶性总糖;
- (2) 未经水解测得的糖为还原性糖;
- (3) 两者之差为非还原性糖。

II 水溶性总糖的测定

- 1、吸取糖液: 从上述容量瓶中吸取糖液 50ml 于 400ml 烧杯中;
- 2、加酸水解: 用刻度移液管向烧杯中加入 6ml 1:3HCl 溶液, 立即将烧杯放在沸水浴上进行水解 30min;
- 3、调酸碱度: 取下烧杯冷却至室温, 滴加 0.1%甲基红 3 滴, 用 10%NaOH 和 1:3HCl

调至中性;

4、加费林试剂和热蒸馏水: 用移液管直接加斐林试剂的甲液及乙液各 25ml 和热蒸馏水 50ml 于烧杯中;

5、加热煮沸: 将烧杯放在电炉上加热, 使在 4min 内开始沸腾, 并保持沸腾 2min (时间要准确, 事先可用斐林试剂做预备试验), 不断用玻璃棒轻轻搅动以产生 Cu_2O 红色沉淀。

6、抽滤: 立即将红色 Cu_2O 沉淀吸滤到 G₄ 玻璃坩埚中, 用热蒸馏水 (60 ~ 80℃) 充分洗涤烧杯和玻璃坩埚内的红色 Cu_2O 沉淀, 然后将玻璃坩埚放回原烧杯中。

7、 Cu_2O 的溶解: 向 G₄ 玻璃坩埚中加入 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 溶液 30 ~ 40ml (一般 30ml 即可) 溶解红色的 Cu_2O 沉淀;

8、取出坩埚: 待红色的 Cu_2O 沉淀完全溶解后, 用玻棒轻轻挑起坩埚, 用蒸馏水冲洗坩埚外面, 用手拿住坩埚外壁, 再用蒸馏水洗瓶冲洗坩埚内壁, 然后将坩埚取出。

9、滴定 (蓝线滴定管的使用及滴定终点的确定): 向烧杯中加入 3 滴邻菲罗林指示剂, 用 KMnO_4 标准溶液慢慢滴至溶液由棕黄色变为蓝绿色时即为终点。记下 KMnO_4 标准溶液用量 (ml)。

10、用斐林试剂甲、斐林试剂乙液各 25ml 做空白试验, 如 Cu_2O 重量大于 0.5mg, 应在糖量测定时加以校正。

(五) 结果计算:

$$\text{Cu (mg)} = N (V_{\text{KMnO}_4} - V_0) \times 63.54$$

从附表 (汉蒙德表) 查出相当于 Cu 量 (mg) 的葡萄糖的重量 (mg)。

$$\text{水溶性总糖 (\%)} = \frac{\text{查出糖量} \times \text{分取倍数}}{W \times (1 - \text{含水率}) \times 1000} \times 100$$

$$\text{施木克值} = \frac{\text{水溶性总糖 (\%)}}{\text{蛋白质 (\%)}}$$

(六) 结果讨论:

编号	W (g)	V(ml)		Cu 量 (mg)	查出糖量 (mg)	水溶性总 糖 (%)	均值 (%)	相对偏 差 (%)	施木克 值	1-含水 率
		V ₀	V							

(七) 注意事项:

- 1、所用的醋酸铅必须是中性;
- 2、酸化后的糖液用 NaOH 中和必须适当, 否则会产生沉淀, 导致含糖量降低;
- 3、必须严格控制糖液浓度、pH 等条件、加热时间、加热强度。

(八) 思考题

- 1、什么是水溶性总糖? 它包括哪些糖?
- 2、伯川法测定水溶性总糖时为什么要严格控制溶液的的浓度、加热时间、加热强度和温度?
- 3、什么是施木克值?
- 4、伯川法测定水溶性总糖的过程中应注意些什么?

实验十一、烟叶样品中淀粉含量的测定

一酸直接水解法

(一) 实验目的

掌握烟叶样品中淀粉含量的测定意义和酸直接水解法测定淀粉的方法原理, 学会并熟练掌握蓝线滴定管的使用和酸直接水解法测定烟叶样品中淀粉含量的操作技能及结果计算。

(二) 方法原理:

首先用乙醇将烟叶中可溶性糖浸出并分离出去, 用乙醇反复冲洗残渣, 滤液留做可溶性糖和还原糖的测定, 然后用适量的盐酸将残渣(淀粉)水解转化为单糖, 再按照单糖的测定原理进行测定, 通过查表求得单糖含量, 从而计算出淀粉的含量。

(三) 实验用具及试剂:

1、斐林试剂

斐林试剂甲: 溶解 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 80g 溶于水中, 移入 1000ml 容量瓶中, 用蒸馏水定容至刻度, 摇匀后备用。

斐林试剂乙: 溶解酒石酸钾钠 ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 400g 及 100gNaOH 溶于水中, 移入 1000ml 容量瓶中, 用蒸馏水定容至刻度, 摇匀后备用。

2、20%中性醋酸铅: 称取 200g 醋酸铅 (AR) 溶于水中, 过滤后稀释至 1L。

3、20%草酸钾: 称取 200g 醋酸铅 (AR) 溶于水中, 稀释至 1L。

4、5:4 HCl 溶液: 5 份浓 HCl (AR) 加 4 份蒸馏水。

5、0.1mol/l KMnO_4 标准溶液: 称取 3.2g KMnO_4 溶于水中, 用煮沸冷却的蒸馏水定容至刻度, 摇匀后保存于棕色瓶中, 一星期后法标定:

6、硫酸高铁溶液: 称取铁铵矾 [$\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$] 135g 或无水 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 55g 于水中, 稀释至 1L 后移入另一个 2500ml 棕色瓶中加入 4mol/L H_2SO_4 400ml 酸化, 备用。

7、邻菲罗林指示剂: 称取邻菲罗林 (AR) 1.485g 和硫酸亚铁 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, AR) 0.695g 于 100ml 水中 (可加热促使溶解)。

8、95%乙醇 (AR)。

9、10% NaOH: 称取 100gNaOH (AR) 溶于水中, 稀释至 1L。

10、4mol/L H_2SO_4 : 吸取 112ml 浓硫酸, 缓缓加入 800ml 水中, 边加边搅动, 冷却后定容至 1L。

11、0.1%甲基红: 称取 0.1g 甲基红溶于 100ml 95%乙醇中。

12、40%NaOH、1NNaOH、

(四) 实验内容及操作步骤:

1、称量(电子天平的操作和使用): 称取烟叶样品 2.0000~3.0000g(一般指烤烟, 如分析含糖量较少的雪茄烟、白肋烟等则需要称取 4.0000~6.0000g)放入 200ml 的消化管(或 250ml 三角瓶)中。

2、糖液的浸提、回流抽提(去可溶性糖): 加入 100ml 乙醇(95%)静置一夜, 次日将上清液过滤于平底烧瓶中(残渣留在消化管或 250ml 三角瓶中), 再加 100ml 乙醇(95%)和一块小瓷片(以防加热时跳动), 然后置于水浴锅上回流抽提 30min, 取下静置片刻后将上清液过滤于原来的平底烧瓶中, 最后一次将烟末残渣倒于滤纸上, 并用乙醇洗涤消化管或 250ml 三角瓶 3 次及残渣 1 次, 待过滤完毕后(残渣留作测定淀粉, 糖液用于测定还原糖和水溶性总糖), 即可回收乙醇。

3、淀粉的酸水解: 将滤纸上残渣用 150ml 蒸馏水洗入 200ml 消化管→加 5:4 HCl 溶液 20ml→摇匀→消化管口置一小漏斗→然后将消化管连同消化管架一起放入 100—105℃恒温烘箱中加热酸化 3 小时→取出立即过滤于 250ml 容量瓶中→冷却后用蒸馏水定容至刻度→摇匀后备用。

4、中和糖液: 用量筒或移液管吸取糖液 100ml 于 250ml 三角瓶中→加甲基红 2 滴→用 40%NaOH、1NNaOH 和 5:4 HCl 将糖液调至中性。

5、沉淀蛋白质、除去 Pb^{2+} 、定容: 向三角瓶中加入醋酸铅 15ml 沉淀蛋白质→将溶液过滤于另一 250ml 三角瓶中→再向三角瓶滤液中加入 20%草酸钾 15ml 除去 Pb^{2+} →将溶液过滤于 250ml 容量瓶→用蒸馏水定容至刻度→摇匀后备用。

6、淀粉的测定:

(1) 吸取糖液: 从容量瓶中吸取糖液 50ml 于 400ml 烧杯中;

(2) 加费林试剂: 用移液管直接加斐林试剂的甲液及乙液各 25ml 于烧杯中;

(3) 加热煮沸: 将烧杯放于电炉上加热, 使在 4min 内开始沸腾, 并保持沸腾 2min(时间要准确, 事先可用斐林试剂做预试), 不断用玻璃棒搅动, 产生 Cu_2O 红色沉淀。

(4) 抽滤: 立即将 Cu_2O 红色沉淀吸滤到 G₄玻璃坩埚中, 用热蒸馏水充分洗涤烧杯和玻璃坩埚内 Cu_2O 的红色沉淀, 然后将玻璃坩埚放回原烧杯中。

(5) Cu_2O 的溶解: 向 G_4 玻璃坩埚中加入 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 溶液 30 ~ 40ml (一般 30ml 即可), 使 Cu_2O 的红色沉淀完全溶解;

(6) 取出坩埚: 用玻棒轻轻挑起坩埚, 用蒸馏水冲洗坩埚外面, 用手拿住坩埚外壁, 再用蒸馏水洗瓶冲洗坩埚内壁, 然后将坩埚取出。

(7) 滴定 (蓝线滴定管的使用及滴定终点的确定): 向烧杯中加入 2 滴邻菲罗林指示剂, 用 KMnO_4 标准溶液慢慢滴至溶液呈蓝绿色时即为终点。记下 KMnO_4 标准溶液用量 (ml)。

(8) 用斐林试剂的甲及乙液各 25ml 做空白试验, 如 Cu_2O 重量大于 0.5mg, 应在糖量测定时加以校正。

(五) 结果计算:

$$\text{Cu (mg)} = N (V_{\text{KMnO}_4} - V_0) \times 63.54$$

从附表 (汉蒙德表) 查出相当于 Cu 量的葡萄糖的重量。

$$\text{淀粉 (\%)} = \frac{\text{查出糖量} \times \text{分取倍数} \times 0.9}{W \times (1 - \text{含水率}) \times 1000} \times 100$$

(六) 结果讨论:

编号	W (g)	V (ml)		Cu 量 (mg)	查出 糖量 (mg)	淀粉 (%)	均值 (%)	相对 偏差 (%)	1-含水率
		V_0	V						

(七) 注意事项:

- 1、所用的醋酸铅必须是中性;
- 2、酸化后的糖液用 NaOH 中和必须适当, 否则会产生沉淀, 导致含糖量降低;
- 3、必须严格控制加热时间。

(八) 思考题

- 1、简述淀粉的测定意义。
- 2、淀粉的测定过程中应注意些什么?

实验十二、烟叶样品中石油醚提取物（粗脂肪）的测定

（油重法）

（一）实验目的

掌握烟叶样品中石油醚提取物（粗脂肪）的测定意义和油重法测定烟叶样品中石油醚提取物（粗脂肪）的方法原理，学会并熟练掌握脂肪浸提器的操作使用和油重法测定烟叶样品中石油醚提取物（粗脂肪）的操作技能及结果计算。

（二）方法原理：

用石油醚浸提烟草样品，可将烟草中的芳香油、树脂、色素、醛、蜡、脂肪等物质提取出来，称之为石油醚提取物（粗脂肪），通过抽提、烘干、称重，即得到石油醚提取物（粗脂肪）的含量。

（三）主要仪器及试剂：

电子天平、索氏脂肪抽提器、恒温水浴锅、干燥箱。

试剂：石油醚（30~60 沸程）

（四）实验内容及操作步骤：

- 1、称量（电子天平的操作和使用）：精确称取烟样 2.0000g 左右→分成两份→分别放在脱脂滤纸上→用脱脂线包好。
- 2、索氏脂肪抽提器处理：将索氏脂肪抽提器洗净后置于 100~105℃烘箱中烘 3~4 小时→取出冷却后将其底瓶称重（B）→两次底瓶称重不超过 0.5mg。
- 3、加入石油醚：将包有烟叶样品的滤纸包放入索氏脂肪抽提器的浸提器内→将称好重量的底瓶装入 200ml 石油醚。
- 4、水浴上加热回流取提：将索氏脂肪抽提器的底瓶的 1/2 浸入水浴中→控制水温在 85℃左右→石油醚每小时回流 4~6 次→抽提 8~12 小后停止抽提。
- 5、回收石油醚：待浸提器内的石油醚抽提完毕→先将滤纸包取出→再将底瓶中的石油醚蒸至浸提器中→等浸提器中石油醚容积接近虹吸管高度时取下浸提器→将石油醚倒出→如此反复操作直到底瓶中不再有石油醚蒸汽挥发为止→则石油醚提取物就留在底瓶内。
- 6、烘干、干燥器冷却、称重：将底瓶取下→洗净外部→置于 10~20mmHg 的减压干燥箱中于 60℃干燥 1h(或 100~105℃的常压恒温烘箱中烘干 3 小时)→烘至恒重→取出置于干燥器中冷却→称取重量（A）。

(五) 结果计算:

$$\text{石油醚提取物(粗脂肪)}(\%) = \frac{A-B}{W \times (1 - \text{含水率})} \times 100$$

式中: A—底瓶加石油醚提取物重量(g);

B—底瓶重量(g);

W—样品重(g)。

(六) 结果讨论:

编号	W(样品重) (g)	底瓶重 (g)	底瓶重+石油 醚提取物(g)	石油醚提取 物(%)	均值 (%)	相对偏差 (%)	1-含水率

(七) 注意事项:

- 1、烟叶含糖较多, 要以冷水处理过滤除之, 样品干燥后应研细, 装样品的滤纸筒一定要紧密, 不能往外漏样品。
- 2、冷凝管上端最好连接一个氯化钙干燥管, 这样不仅可以防止空气中水分进入, 而且还可以避免石油醚挥发到空气中污染实验室环境。如无此装置, 塞一团脱脂棉球即可。
- 3、将浸提接受瓶放入减压干燥箱时, 瓶口向一侧倾斜 45° 放置, 这样干燥迅速。
- 4、平行测定结果的相对误差要小于 5% ;
- 5、油重法测得的石油醚提取物为粗脂肪, 因为有机溶剂浸提脂肪的同时, 色素、蜡质、挥发油、树脂等也被浸提出来。

(八) 思考题

- 1、何谓烟叶粗脂肪(石油醚提取物)? 它分为哪两类? 各包括哪些物质?
- 2、简述烟叶粗脂肪(石油醚提取物)的测定意义。
- 3、烟叶中粗脂肪(石油醚提取物)的测定方法有哪几种? 为何用有机溶剂提取的脂肪均为粗脂肪?
- 4、烟叶粗脂肪的测定过程中应注意些什么?

实验十三、烟草中酚类物质的测定

(一) 实验目的

掌握烟叶样品中酚类物质的测定意义和 KMnO_4 氧化滴定酚的方法原理; 熟练掌握 KMnO_4 氧化滴定酚的实验操作技能及结果计算。

(二) 方法原理: 酚类物质易被氧化, 它可与多种氧化剂发生反应。用 KMnO_4 氧化滴定酚的方法, 是国际上广泛应用的一种方法。所用试剂方便易得, 但易被氧化的物质也较多加芳胺类、硫化物等都可被氧化。故多采用两次滴定的方法进行分析, 即第一次滴定还原物质的总量, 第二次用明胶-酸-盐试剂将酚类物质沉淀, 再滴定溶液中的其他还原性物质。

(三) 主要仪器及试剂:

主要仪器: 电子天平、水浴锅、蓝线滴定管

试剂:

1、0.1%溶液靛红指示剂: 1g 靛红加入 50ml 浓硫酸中, 用水稀释至 1L。

2、 KMnO_4 溶液: 准确称取 0.65 ~ 0.68g KMnO_4 溶于 1L 水中, 煮沸 1h 后放置过夜, 然后用玻璃砂漏斗过滤于棕色瓶中。其浓度用草酸钠溶液标定。方法为: 准确称取 0.5 ~ 0.6g 烘干的草酸钠, 将其溶解定容至 250ml。吸取 25ml 溶液于锥形瓶中, 加 30ml 水和 6 ~ 10ml 3mol/L 硫酸溶液, 再水浴上加热至 75 ~ 85℃, 保持温度, 用 KMnO_4 溶液滴定。

$$\begin{aligned}\text{KMnO}_4 \text{ 溶液浓度 (mol/L)} &= \frac{\text{草酸钠重量 (g)} \times 1000 \times 25}{\text{消耗 KMnO}_4 \text{ 体积 (ml)} \times 134 \times 250 \times 2.5} \\ &= \frac{\text{草酸钠重量 (g)} \times 40}{\text{消耗 KMnO}_4 \text{ 体积 (ml)} \times 134}\end{aligned}$$

3、胶盐溶液: 称取 25g 明胶, 加 700ml 饱和氯化钾溶液后, 在水浴上加热溶解, 冷却后加饱和氯化钾溶液, 使溶液体积为 1L。

4、氯化钠酸性溶液: 再 975ml 饱和氯化钠溶液中加入 25ml 浓硫酸后, 搅拌均匀。

5、高岭土: 110℃ 干燥 4h。

(四) 实验内容及操作步骤:

1、准确称取烟样 2.5g 左右, 置于 250ml 锥形瓶中, 加沸水 150ml, 在水浴上浸提 15min, 趁热过滤, 滤渣和滤纸放回原锥形瓶中, 再加 50ml 水在水浴上浸提 15min。

趁热过滤, 收集滤液, 冷却后定容至 250ml。

2、准确量取 10ml 待测液于锥形瓶中, 加入靛红溶液 25ml 和 75ml 水后, 用 KMnO_4 溶液滴定至溶液颜色由蓝绿转为黄绿, 记录 KMnO_4 溶液耗用体积 A。

3、吸取 50ml 待测液, 加 25ml 胶盐溶液, 搅拌均匀后加饱和氯化钠酸性溶液 50ml、高岭土 10g, 充分搅拌后静置澄清, 上层清液用干燥滤纸过滤, 吸取滤液 25ml 于三角锥形瓶中, 用 KMnO_4 溶液滴定至溶液颜色由蓝绿转为黄绿, 记录 KMnO_4 溶液耗用体积 B。

(五) 结果计算:

$$\text{酚类化合物含量}(\%) = \frac{(A-B) \times 0.0291 \times C \times \text{分取倍数}}{W \times (1 - \text{含水率})} \times 100$$

式中: 0.0291—1ml 1mol/L KMnO_4 溶液相当于多酚类物质的重量 (g) (此系数值为原苏联采用)。美国采用 0.0208。

C— KMnO_4 溶液溶液浓度。

(六) 结果讨论:

编号	W (样品重) (g)	A (ml)	B (ml)	酚类化合物 (%)	均值 (%)	相对偏差 (%)	1-含水率

(七) 思考题

简述酚类化合物的测定意义及方法原理。

实验十四、烟气中总凝聚物的测定

(一) 实验目的

掌握自动吸烟机的操作技能、工作环境和主要技术条件

(二) 测定原理

用自动吸烟机燃吸经过挑选的烟支, 通过捕集器收集烟气总凝聚物(焦油+水分+烟碱), 根据燃吸的烟支数和收集得到的总凝聚物重, 计算出每支卷烟主流烟气中产生的总凝聚物含量(毫克/支烟), 精确至0.1毫克。

(三) 仪器和试剂

- 1、自动吸烟机: 每个吸烟道上每分钟吸一次, 每次吸2秒, 吸烟体积为35ml的任何型号的限制性吸烟机均可使用, 吸烟机应安放在空气流动很小的房间内, 理想的大气条件是: 相对湿度 $60\% \pm 2\%$, 温度 $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$ 。
- 2、吸烟捕集器—选用塑料或玻璃, 测试项目不同, 类型不同。
- 3、体积指示器(皂泡流量计)。
- 4、乳胶管或密封套(各种型号卷烟均适用)夹持卷烟。
- 5、电动卷烟点火器—安装在吸烟机上, 或一个12v电烙铁芯。
- 6、天平: 万分之一的电子天平。
- 7、通风纱网: 带有机玻璃盖和前罩的金属制品, 上面有许多小孔, 靠自然通风, 用于吸烟机通风排气。
- 8、滤膜片: 使用前将每张平放在吸烟实验室大气环境中平衡过夜。
- 9、手套、镊子、干燥器。
- 10、试剂

洗涤剂溶液: 如10%(阴离子表面活性剂)水溶液, 用于体积指示器。

(四) 操作步骤

1、吸烟机准备

启动吸烟机, 保持自动循环, 预热20min以上, 机器预热后, 核对吸烟持续时间和间隔时间, 吸烟持续时间为 2.0 ± 0.1 秒, 吸烟间隔时间以使 60 ± 0.5 秒完成一个循环, 得到每分钟吸烟一次的频率, 在吸烟的全过程中保持吸烟机处于自动循环状态。

2、设定吸烟体积

使用体积指示器依次设定每个烟道的吸烟体积为 $35 \pm 0.5\text{ml}$, 体积指示器经一阻

力管连接到捕集器前边的卷烟位置处, 要保证所有接头不漏气, 所用阻力管的压力降大至等于卷烟压力降的平均值。在吸烟开始前和结束时, 保持吸烟机仍处于循环状态下核对吸烟体积。

3、标出烟蒂位置

用圆珠笔在卷烟接缝处或雪茄的外包纸是标出欲留位置细线, 剔除任何在标记时偶然撕裂或破损的卷烟。

4、捕集器准备

吸烟机预热时, 准备捕集器。戴上手套, 用镊子取一片滤片放在捕集器前部, 粗面朝向卷烟, 轻轻地放上一个大小合适的密封环, 将镊子倒过来, 小心地轻轻将其压下, 放正, 用手将捕集器后部拧入, 保证滤膜片放正, 边缘压紧, 没有破损。将准备好的捕集器留两个作空白, 其余四个称重, 精确至**0.1mg**, 将经过称重的捕集器拧入吸烟道圆锥接座(吸烟口), 各接点用“O”型环密封。

5、吸烟: 准备好吸烟机和卷烟, 连续进行抽吸, 将卷烟分成四组并从每组中取出一支卷烟, 将作好烟蒂标记, 没有破损的卷烟末端接到烟嘴上, 一般使用一个直径合适的2cm长的乳胶管折过来套住卷烟以防漏气。将吸烟计数器调至零, 启动个烟道进入循环操作状态, 并在吸烟机第一次吸烟时依次点燃各支卷烟, 要保证第一次就平稳地点着。

当燃烧区达到烟蒂标记时, 用一把锋利的剪刀在燃烧区后面2mm处剪断卷烟。每个烟道可以再吸一次, 以清除烟蒂中剩余的烟气。如烟蒂标记线在吸烟时达到, 则作为吸烟总数计算。记录吸烟口数, 清洗烟蒂中剩余烟气的这口吸烟不计在内。

从每个密闭铁罐中取出第二支卷烟, 按上述方法吸烟, 重复上述步骤, 直到所需卷烟都吸入滤膜片为止。

核对最后的吸烟体积, 该体积应为 **$35 \pm 0.5\text{ml}$** , 记录最初和最终的吸烟体积和每个烟道每支卷烟的吸烟次数, 把这些数据和卷烟取样的细节填写在分析结果上。

每张滤膜片一般可阻留**200mg**总凝聚物, 最多可达**400mg**。一般情况下相当于5支普通卷烟, 或4支较长的卷烟, 或3支小雪茄所产生的总凝聚物量, 总凝聚物中最多可含**40mg**的水, 烟碱含量约为**0.1 ~ 15mg**。

吸烟机吸烟结束后, 戴上手套, 取下4个捕集器分别称重, 精确至**0.1mg**, 所增加的重量即表示烟气中总凝聚物量。每个捕集器的测析结果, 误差不得大于**5%**, 否

则重新测试。

（五）计算

$$\text{总凝聚物 (mg/支)} = \frac{\text{捕集器增加的重量}}{\text{所抽吸的卷烟数目}}$$

（六）注意事项

- 1、卷烟应标出烟蒂记号并在吸烟前一直将其存放于空调房间内，吸烟时将卷烟转移到吸烟场所的密闭铁罐中。
- 2、体积指示器在使用时必须常常用洗涤剂冲洗，以便于洗涤液膜自由移动。
- 3、卷烟点火应平缓进行，不要使卷烟与点火器过早接触和炭化。
- 4、当切去燃烧的烟蒂时，应将已燃烧的烟丝部分都切去。
- 5、同一种牌号的卷烟需作多次抽吸时，应尽可能将卷烟分布在吸烟机的各个不同的吸烟口上，以防不同的吸烟口有差异。

（七）思考题

简述自动吸烟机工作的环境和主要技术条件。

第二部分 综合性、设计性实验

一、基本原理简介

综合性实验 1 (见第一部分实验七和实验八):

不同品种、不同地点烟叶样品中无机成分的测定

钾的测定采用火焰光度法: 钾的待测液用压缩空气使溶液喷成雾状与燃气混合后燃烧, 钾元素的原子受火焰激发后能发射该元素所特有波长的光谱线, 用火焰光度计测量其光谱线强度, 进而根据光谱线强度与其浓度成正比的关系, 来测定钾元素的浓度 (从标准曲线上查得或回归方程求得待测液的钾浓度 $\mu\text{g/ml}$), 从而计算出钾元素的含量。

氯的测定采用莫尔法: 烟样经过碱性干灰化后, 所得灰分用水溶解, Cl^- 即溶于水中。根据分步沉淀原理, 在 pH 值 6.5 ~ 10.5 的溶液中, 以 K_2CrO_4 作指示剂, 用 AgNO_3 标准溶液滴定 Cl^- 。等当点前, Ag^+ 首先与 Cl^- 生成乳白色 AgCl 沉淀, 等当点后, Ag^+ 与 CrO_4^{2-} 生成 Ag_2CrO_4 砖红色 (或红棕色) 沉淀, 指示到达终点。由反应消耗的标准 AgNO_3 用量, 计算出氯的含量。

设计性实验 1 (见第一部分实验三、实验三四和实验五):

不同品种、不同地点烟叶样品中含氮化合物的分析比较

烟碱测定采用紫外分光光度法: 利用烟碱具有与水蒸汽共同蒸馏的特性, 在强碱性介质 NaOH 存在下进行水蒸汽蒸馏, 使全部植物碱 (包括烟碱、去甲基烟碱、新烟碱等) 挥发而逸出, 然后根据烟碱对紫外光具有特殊的吸收能力, 吸收峰值为 259nm, 并且其吸光度与烟碱的含量成正比。借助紫外分光光度计可测得待测液烟碱的浓度, 进一步换算求得烟碱的含量。

总挥发碱测定采用酸碱滴定法: 利用 pH8.0 的磷酸二氢钾—硼砂缓冲液进行蒸汽蒸馏, 将烟叶样品中的氨类物质 (如游离的尼古丁、氨、酰胺及胺类物质等) 挥发逸出, 用 0.1N HCl 标准溶液吸收逸出的挥发成分, 然后以甲基红—次甲基蓝混合指示剂指示终点, 用 0.1N NaOH 标准滴定剩余的酸, 记下 NaOH 标准溶液的耗用体积 (ml), 从而计算出总挥发碱的含量 (以 NH_3 计)。

总氮测定采用凯氏定氮法: 用强氧化剂过氧化氢和浓硫酸高温消煮植物样品, 以氧化植物样品中的有机碳等有机化合物, 使成为二氧化碳等, 从而使植物中的氮素比较完全地释放出来, 并与硫酸结合成硫酸铵, 再用定氮蒸馏方法测定或用扩散法测定。

蛋白质采用间接计算法。即:

$$\text{蛋白质}(\%) = (\text{总氮} - \text{烟碱} \times 0.1727) \times 6.25。$$

设计性实验 2 (见第一部分实验九和实验十):

不同品种、不同地点烟叶样品中糖类物质的分析比较

还原糖的测定采用伯川法: 烟叶中的还原糖用乙醇溶剂浸出, 利用单糖上具有的醛基和酮基与斐林试剂作用的特性, 把二价铜还原为氧化亚铜 (Cu_2O)。由于醛基和酮基的存在, 还原糖与斐林试剂作用后, 把 Cu^{2+} 还原为 Cu^+ , 本身被氧化成葡萄糖酸。生成的 Cu_2O 为红色沉淀, 在硫酸介质中, 可被硫酸高铁氧化为二价铜, 而三价的高铁被还原为二价铁。然后用高锰酸钾溶液来滴定形成的硫酸亚铁, Fe^{2+} 再定量地被 KMnO_4 所氧化, 根据 KMnO_4 的用量, 可计算出铜的量 (1ml 1mol/l KMnO_4 相当于 63.54mg 铜), 再由汉蒙德表查出与其相当的葡萄糖的含量 (mg), 从而换算出还原糖的百分含量。

水溶性总糖测定采用伯川法: 烟叶中的水溶性总糖用乙醇溶剂浸出, 加酸水解后, 将非还原性糖即蔗糖转变为单糖 (转化糖), 再按还原糖的测定原理及方法步骤进行测定, 从而换算出水溶性总糖的百分含量。

二、实验的设备、材料配置

实验材料: 不同地点、不同品种、不同部位初烤烟叶。即: X2F、C3F、B2F

实验设备: 植物粉碎机、鼓风恒温干燥箱 (或真空干燥箱)、电子天平 (0.1mg)、干燥器、水蒸气蒸馏装置、UV-8500 (或 UV-120) 紫外分光光度计、消煮炉、KDN-2C 定氮仪、低温电炉、高温电炉、火焰光度计、水浴锅、电动吸引器、抽滤装置、滴定装置、索氏脂肪抽提器。

三、实验项目与学时

序号	实验项目名称	内容提要	学时分配	实验类型	每组人数	实验要求	实验开设年级/学期	备注
1	不同品种、不同地点烟叶样品的制备与保存	样品制备、烘箱和粉碎机的操作、样品的保存	3	技术	3~4	必选	大三/第五	
2	不同品种、不同地点烟叶样品的水分测定	电子天平、干燥器、恒温烘箱（或真空干燥箱）等操作	3	技术	3~4	必选	大三/第五	
3	不同品种、不同地点烟叶样品石油醚提取物（粗脂肪）的测定	样品的包扎、索氏脂肪抽提器、恒温干燥箱的操作等	4	技术	3~4	必选	大三/第五	
4	不同品种、不同地点烟叶样品中无机成分的测定	火焰光度计、高温电炉、半微量滴定管等的操作	9	综合	3~4	必选	大三/第五	
5	不同品种、不同地点烟叶样品中含氮化合物的测定	称量、蒸馏装置的操作、紫外分光光度计的操作、定氮仪、滴定装置的操作	12	设计	3~4	必选	大三/第五	
6	不同品种、不同地点烟叶样品中糖类物质的测定	称量、糖液的提取、蛋白质的沉淀、除铅离子、抽滤装置的操作、蓝线滴定管的操作等	9	设计	3~4	必选	大三/第五	

四、实验方式与要求

考核与实验报告

(1) 技术考核: 植物粉碎机的操作、恒温鼓风干燥箱的操作、电子天平的操作、干燥器、移液管、量瓶使用、水蒸气蒸馏装置的操作、紫外分光光度计的操作、比色皿的校正、KDN-2C 定氮仪的操作、滴定管（酸式、碱式）的使用、火焰光度计的操作、索氏脂肪抽提器的操作、电动吸引器的操作、实验记录规范（有效数字记录）。

考核方法为每人独立操作, 教师现场评分。

(2) 笔试考核: 实验课程教学结束后, 在每次实验的思考题范围内进行笔试。综合实验报告以综合实验报告考核, 设计实验以实验课程论文考核。即:

1、期末试卷成绩占 40%。

笔试考核: 实验课程教学结束后, 在每次实验的思考题范围内进行笔试。

2、综合实验报告考核 (50%)

(1) 实验前预习情况 (5 分)

(2) 实验态度、实验习惯 (15)

(3) 实验目的及实验原理 (20 分)

(4) 实验操作技巧及动手能力 (仪器使用、实验操作、实验安全、节约、卫生) (30 分)

(5) 实验误差及数据处理等 (20 分)

(6) 实验报告书写规范与整洁 (10 分)

3、实验课程论文撰写格式及考核 (10%)

实验课程结束后, 以组统计数据, 根据所测实验数据, 查阅参考文献, 每人撰写一份实验课程论文。其撰写格式如下:

(1) 题名 (5 分):

题名是实验课程论文的“眉目”, 是论文内容的高度概括。因研究型综合实验在取材、测定方法上有选择性, 而个人在文章构思和资料取舍上有不同, 题名也有可能不同, 但必须能准确、简要地表达论文的特定内容, 切记题名空泛。

(2) 署名 (2 分):

先署学生名 (班级), 再署指导教师名。

(3) 摘要 (25 分):

摘要是论文的内容提要, 对论文基本内容的浓缩, 应注意简单、精粹、完整, 忠于原文。

(4) 关键词 (3 分):

也称主题词, 每篇论文应列出 3~5 个。

(5) 前言 (10 分):

主要介绍研究背景、目的及意义。

(6) 正文 (55 分):

①材料和方法 (10 分):

材料: 指植物材料, 应交代材料的来源、取样部位、干样或鲜样。

方法: 指测定方法, 对公认方法可直接写方法名称, 但必须注明方法来源。如对公认方法有改进, 应将改进内容写清楚。

②结果与分析 (30 分):

结果与分析是实验课程论文的主题部分。它要把研究型综合实验获得的结果用简明的图、表准确表达出来, 并对其结果做出正确分析和评价。图比表能更直观、形象地表示变化规律。表或图一定要有编号和名称。

③结论或讨论 (10 分):

结论又称结语或小结, 主要应用叙述型文字, 对结果进行分析, 并联系所学理论知识得出的总判断、总评价。如论文得不出明确的结论, 也可不写结论而进行讨论, 在讨论中提出建议、设想及尚待解决的问题。

④参考文献 (5 分):

文中引用了他人或前人的观点、方法、数据和材料等, 都要在文中出现的地方予以标明 (以^[1]标注), 并在文末列出参考文献。参考文献的排列顺序以文中出现的先后为序。

[1]连续出版物 作者. 题名. 出版年, 卷(期): 起页码—止页码

[2]专著 作者. 书名. 出版地: 出版社, 出版年, 起页码—止页码

附表 葡萄糖、果糖含量和氧化铜的关系

(mg)					
铜	葡萄糖	果糖	铜	葡萄糖	果糖
10	4.6	5.2	88	43.0	45.2
12	5.6	6.2	90	44.0	46.2
14	6.5	7.2	92	45.0	47.3
16	7.5	8.2	94	46.0	48.3
18	8.5	9.2	96	47.0	49.4
20	9.4	10.2	98	48.0	50.4
22	10.4	11.2	100	49.0	51.5
24	11.4	12.3	102	50.0	52.5
26	12.3	13.2	104	51.1	53.6
28	13.3	14.3	106	52.1	54.6
30	14.3	15.3	108	53.1	55.7
32	15.3	16.3	110	54.1	56.7
34	16.2	17.3	112	55.1	57.8
36	17.2	18.3	114	56.1	58.9
38	18.2	19.4	116	57.2	59.9
40	19.2	20.4	118	58.2	61.0
42	20.1	21.4	120	59.2	62.0
44	21.1	22.4	122	60.2	63.1
46	22.1	23.5	124	61.2	64.2
48	23.1	24.5	126	62.3	65.2
50	24.1	25.5	128	63.3	66.3
52	25.1	26.5	130	64.3	67.4
54	26.1	27.6	132	65.4	68.4
56	27.0	28.6	134	66.4	69.5
58	28.0	29.6	136	67.4	70.6
60	29.0	30.6	138	68.5	71.6
62	30.0	31.7	140	69.5	72.7
64	31.0	32.7	142	70.5	73.8
66	32.0	33.7	144	71.6	74.9
68	33.0	34.8	146	72.6	75.9
70	34.0	35.8	148	73.7	77.0
72	35.0	36.8	150	74.7	78.1
74	36.0	37.9	152	75.7	79.2
76	37.0	38.9	154	76.8	80.3
78	38.0	40.0	156	77.8	81.3
80	39.0	41.0	158	78.9	82.4
82	40.0	42.0	160	79.9	83.5
84	41.0	43.1	162	81.0	84.6
86	42.0	44.1	164	82.0	85.7

附表 葡萄糖、果糖含量和氧化铜的关系

(mg) (续)

铜	葡萄糖	果糖	铜	葡萄糖	果糖
166	83.1	86.8	242	123.8	128.9
168	84.1	87.8	244	124.9	130.0
170	85.2	88.9	246	126.0	131.2
172	86.2	90.0	248	127.1	132.3
174	87.3	91.1	250	128.2	133.4
176	88.3	92.2	252	129.3	134.6
178	89.4	93.3	254	130.4	135.7
180	90.4	94.4	256	131.6	136.7
182	91.5	95.5	258	132.7	138.0
184	92.6	96.6	260	133.8	139.1
186	93.6	97.7	262	134.9	140.3
188	94.6	98.8	264	136.0	141.1
190	95.7	99.9	266	137.1	142.6
192	96.8	101.0	268	138.2	143.7
194	97.9	102.1	270	139.3	144.8
196	98.9	103.2	272	140.4	146.0
198	100.0	104.3	274	141.6	147.1
200	101.1	105.4	276	142.7	148.3
202	102.2	106.5	278	142.8	149.4
204	103.2	107.6	280	144.9	150.6
206	104.3	108.7	282	146.0	151.8
208	105.4	109.8	284	147.2	152.9
210	106.5	110.9	286	148.3	154.1
212	107.5	112.1	288	149.4	155.2
214	108.6	113.2	290	150.5	156.4
216	109.7	114.3	292	151.7	157.5
218	110.8	115.4	294	152.8	158.7
220	111.9	116.5	296	153.9	159.9
222	112.9	117.6	298	155.1	161.0
224	114.0	118.8	300	156.2	162.2
226	115.1	119.9	302	157.3	163.4
228	116.2	121.0	304	158.5	164.5
230	117.3	122.1	306	159.6	165.7
232	118.4	123.3	308	160.7	166.9
234	119.5	124.4	310	161.9	168.0
236	120.6	125.5	312	163.0	169.2
238	121.7	126.6	314	164.2	170.4
240	122.7	127.8	316	165.3	171.6

注: 本表适用于 Cu 系分析

参考文献

- [1]王瑞新主编.烟草化学.北京: 中国农业出版社, 2003
- [2]王瑞新, 韩富根, 杨素勤等编.烟草化学分析法.河南科学技术出版社, 1996
- [3]肖协忠编.烟草化学.北京: 中国农业科技出版社, 1997
- [4]阎克玉编.烟草化学.河南: 郑州大学出版社, 2002
- [5]金闻博, 戴亚编.烟草化学.北京: 清华大学出版社, 1994