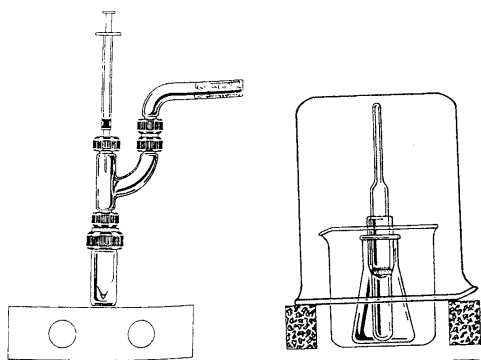


# 第34屆國際化學奧林匹亞微量實作模組與評量

方泰山\* 陳玉玲 趙潤隆  
國立臺灣師範大學 化學系



仔細研究我國 11 年來參加國際化學奧林匹亞競賽的 43 位同學們之各項成績結果，可以發現主要決定比賽勝負的關鍵，是在於實作部份微量的定性與定量分析，能否有好的成績表現。檢視國際化學奧林匹亞“實作課程”(競試)綱要，利用微量器材做合成：如在減壓下蒸餾裝置分離液體、蒸汽蒸餾裝置分離液體、選擇適當溶劑做物質的再結晶、由一些陽離子和陰離子的特殊反應、使用 Kofler 型或用類似的裝置來測熔點、使用一些特殊的反應來測定有機化合物；直接和間接的滴定(反滴定):如錳測定法碘測定法、基於氧化還原反應的其他型式的滴定法、錯合滴定法、在錯合滴定法中的溶液顏色變化，基於沉澱反應的體積滴定法、熱滴定法；分離方法如：薄層上的層析、管柱層析、在離子交換器上的分離；利用光譜光度計來測量 UV-VIS 的吸收，導電度測量的完成，主辦國自然要使用在上面所提及的技巧時，則

這個技巧將自動地以微量分層級爭高下。今年 34th IChO 的實作比賽題：(1)甲基-N-乙酰苯丙胺酯的酵素催化水解反應。(2)苯基乙內醯胺的合成。(3)鐵錠中鐵含量的測定等三個實驗，題本共 12 頁，以微量實作器材箱為主要操作工具，最能反應其競爭與評比的評量。本文將實作競試題與參考答案及自由反應評分標準提供給關心“動手做化學”的老師們如何準備高品質的微量實作與評量教材，做參考。

## 實作測驗注意事項

- 在實驗室中你必須從頭到尾都戴上大會提供的 safety 眼鏡。使用吸量管或吸管時不可用嘴吸取液體，必須伴以安全吸球或乳膠滴頭。嚴禁在實驗室吃、喝、或嚼口香糖。
- 參賽者必須注意安全，遵守秩序及保持儀器及環境的整潔。違反規則將被扣分。如對安全規則有所疑問請向工作人員詢問。
- 進入實驗室後請熟悉緊急出口及安全淋浴器位置所在。
- 在開始操作前，請仔細閱讀實作測驗的內容，並研讀答案紙上的答案格式。檢查儀器設備的位置。你有 15 分鐘的準備時間。
- 當宣佈開始時才能開始操作實驗。
- 你有 5 小時的時間實驗及作答。考試結束

前 15 分鐘將有預備鈴或警示。在監考員喊停後，你得馬上停止工作。超過 5 分鐘，該實驗題以零分計算。

- 本次實作測驗包括三個實驗。為了有效地利用時間，你需要先設計工作流程與計劃。儘可能同時操作多項實驗以節省時間。
- 將姓名與個人編號寫在答案紙上指定的位置上。
- 所有的答案須寫在指定的位置上，否則不予計分。絕對禁止在答案紙背面作答。若你要額外的紙張書寫，可向監考員索取。
- 測驗結束後，必須將所有的紙張（答案紙、方格紙、計算紙...）放入大會所供給的信封中，並予以密封。只有密封信封中的答案紙才會加以評分。
- 除非得到允許不得離開實驗室。當你得到允許離開實驗室時，將會發給你一張收據以證明收到你的密封信封。
- 只能使用大會發的工具與計算機。
- 元素週期表在測驗卷後面。
- 注意“有效數字”必須正確，須考慮估計實驗誤差的規則。否則依規定扣分。
- 本測驗含 5 張答案紙。
- 如有需要可要求大會提供英文版試題。

#### 安全要求

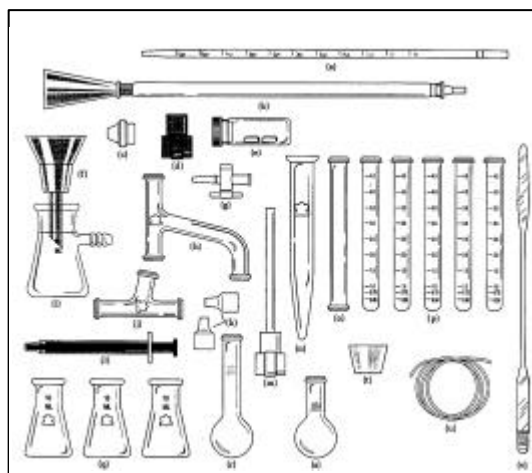
要嚴格遵守準備題中的安全守則

廢棄的化學藥品、物質、玻璃器皿之處理

將廢棄的化學藥品、物質、破碎玻璃器皿，置於適當的容器中。

#### 實驗後的清理

實驗桌在實驗後必須清理乾淨，並用濕紙巾擦拭



#### 化學藥品、玻璃器材與裝備：

微量玻璃實驗裝置之認識(如上圖)

- (a) 溫度計(在實驗桌上)
- (b) 層析管柱
- (c) 溫度計轉接管
- (d) 連接器
- (e) 磁攪拌子
- (f) Hirsch 漏斗
- (g) 單向開關栓
- (h) 蒸餾頭(60 mm)
- (i) 過濾瓶(25 mL)
- (j) 連接導管
- (k) 筒狀塞子(8 mm 血清塞)
- (l) 聚乙烯材質的注射器(1 mL)
- (m) 具支持柱的連接管
- (n) 離心管(15 mL)
- (o) 蒸餾管
- (p) 反應試管(10× 100 mm)
- (q) 錐形瓶(10 mL)
- (r) 長頸燒瓶(5 mL)
- (s) 短頸燒瓶(5 mL)

(t) 過濾轉接器		密封塑膠袋	1
(u) 1/16'' PTFE 導管		化學藥品	
(v) 刮勺		Methyl	500 mg (exact weight
玻璃器材與裝備		<i>N</i> -acetyl-phenylalaninate	± 1 mg)
砂浴(砂另外供給)	1	(NAcPheOMe)	
錐形瓶(50 毫升)	1	甲基- <i>N</i> -乙醯苯丙胺酯	
滴定管(50 毫升)	1	( <i>S</i> )-Phenylalanine (Phe)	500 mg (exact weight
滴定管夾	1	<i>S</i> -苯丙氨酸	± 1 mg)
鐵夾	2	Sodium cyanate (NaOCN)	300 mg
鐵架	2	氰酸鈉	
研鉢	1	α-Chymotrypsin solution	10 mL 向大會工作
燒杯 100mL	1	(0.05% in water)	人員領取
量筒 10mL	1	α-胰凝乳蛋白?	
量液瓶 250mL	1	鐵錠(信封內)	1 錠
量液瓶 100mL	2	甲醇	20 mL
漏斗	1	鹽酸 4M	50 mL
移液管 10mL	2	氫氧化鈉 0.100M	70 mL(確實的濃度
安全吸球	1		會寫在試卷中)
玻璃滴管	10	氫氧化鈉 1M	3 mL
玻璃滴管乳頭	3	丙基紅溶液(0.02% , 溶於	3 mL
稱量紙	20	乙醇中)	
磁攪拌器	1	pH 8 緩衝溶液	150 mL
磁攪拌子	1	Hydroxylamine.HCl	10 mL
鑷子	1	solution	
藥勺	1	(H <sub>2</sub> NOH.HCl)100 g L <sup>-1</sup>	
有蓋大型 TLC 實驗瓶	1	氫氧化脘	
層析薄板 5*10 cm	4	1,10-Phenanthroline	20 mL
薄層毛細管	5	solution 1 g L <sup>-1</sup>	
光譜樣品容槽 1.000 cm	2	菲? 溶液	
玻棒	1	Di-isopropylether	50 mL
樣品試管	4	異丙醚	
馬錶	1	丙酮(高純度)	10 mL
		TLC 展開液(2% 甲酸溶	20 mL
		於乙酸乙酯中)	
		pH 試紙	4 張
		Hi-flow filter aid	5 g
		丙酮洗液	250 mL

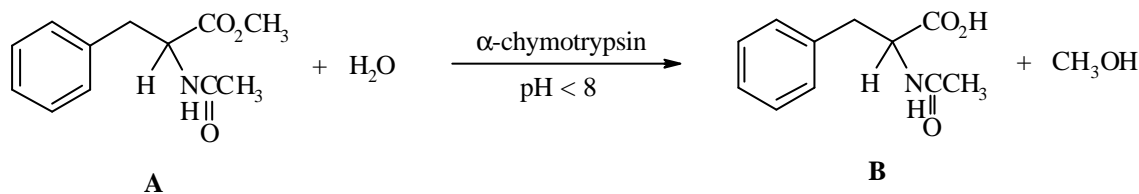
蒸餾水洗液 500 mL  
 公用物品  
 衛生紙  
 海綿  
 毛刷  
 垃圾桶  
 石蠟保鮮膜(Parafilm)

公用設備  
 加熱板  
 超音波槽  
 真空馬達  
 分光計  
 電子天平  
 UV 燈

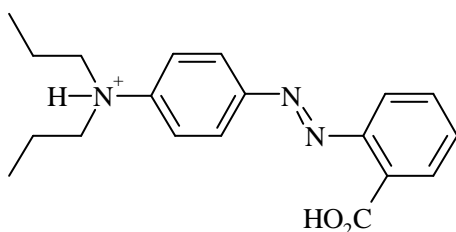
(1)Enzymatic Hydrolysis of Methyl  
*N*-Acetyl-phenylalaninate  
 甲基-*N*-乙醯苯丙胺酯的酵素催化水  
 解反應

簡介

$\alpha$ -胰凝乳蛋白酶( $\alpha$ -Chymotrypsin) 是



*N*-乙醯苯丙胺酸 **B** (*N*-acetyl-phenylalanine) 的生成速率，可由 0.100M NaOH 滴定來監測，並以丙基紅當作酸鹼指示劑。



Propyl red (protonated form)  
 At pH < 5: pink; at pH > 6: yellow

丙基紅(質子化型式)  
 在 pH<5 粉紅； pH>6 黃

一種具高度選擇性的蛋白質分解酶，可藉由催化酯類水解反應來辨識天然  $\alpha$ -胺基酸的衍生物。本實驗是研究外消旋的甲基-*N*-乙醯苯丙胺酯 **A** (Methyl *N*-Acetyl-phenylalaninate) 的酵素催化水解反應(反應式如下)

步驟

注意：請向實驗室助理索取本實驗所需、裝在樣本瓶內的  $\alpha$ -胰凝乳蛋白酶。

將外消旋的甲基-*N*-乙醯苯丙胺酯 **A** [約 500 mg，在標有 NacPheOMe 的瓶子標籤上有其精確的重量( $\pm 1$  mg)]全部置入一個 50mL 的錐形瓶中，並以約 2.5 mL 的甲醇溶解；接著再滴入 4 滴的丙基紅(0.02%，於乙醇溶液中)。本動力學實驗是將 10 mL 的 0.05%  $\alpha$ -胰凝乳蛋白酶水溶液一次全部加入錐形瓶後，並立即按下碼錶，開始計時。

當反應混合物變成粉紅色時，你需要立刻用 0.100 M 的 NaOH 加以滴定，直到溶液的顏



4. 計算本實驗 0.100 M NaOH 的消耗量，並以毫莫耳 (mmol) 表示。

答案:

請詳細列出計算過程:

- 0.100 M NaOH 的消耗量 = 75 分鐘 NaOH 的體積  $\times 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (10 分)

5. 計算 *N*-acetyl-(*R,S*)-phenylalaninate A 的水解程度，並以莫耳百分率 (mol%) 表示。

答案:

請詳細列出計算過程:

- *N*-acetyl-(*R,S*)-phenylalaninate A 的水解程度 = (exp. mmol NaOH / calc. mmol A)  $\times 100\%$  (10 分)

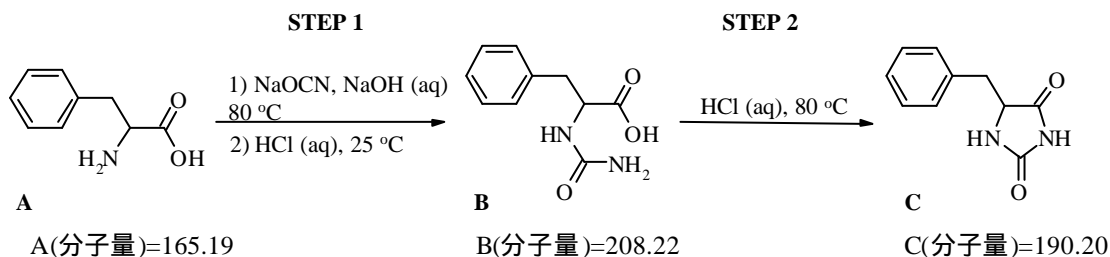
6. 下列那一敘述與你的實驗結果相符合? 請在方格內劃記。

- 此酵素催化的水解反應可以得到 methyl *N*-acetyl-(*S*)-phenylalaninate 與 *N*-acetyl-(*R*)-phenylalanine.
- 此酵素催化的水解反應可以得到 *N*-acetyl-(*R,S*)-phenylalanine.
- 此酵素催化的水解反應可以得到 methyl *N*-acetyl-(*R*)-phenylalaninate 與 *N*-acetyl-(*S*)-phenylalanine
- 反應過程中此酵素會失去其催化的活性
- 若實驗操作正確，則第三個選項是正確的。(10 分)
- 此答案必須符合實驗的觀察結果。

(2) 苯基乙內醯 (Benzylhydantoin) 的合成簡介:

-胺基酸可以組成肌肉或蛋白質，並且可以用來合成各種藥品，本實驗可利用天然

的 *S*-phenylalanine (*S*-苯丙氨酸) A 經二個實驗步驟來合成產物--苯基乙內醯胺 C，產物 C 可以用來合成各種具生理活性的衍生物。



## 步驟

### 步驟 1

*記住：你必須留下少量的 A，以做為後面步驟中之 TLC 分析用。*

將 S-phenylalanine(S-苯丙氨酸) A (500 mg, 3 毫莫耳，精確的重量會標示在樣本瓶上)以及 300 毫克( 46 毫莫耳) 的氰酸鈉 (NaOCN) 置於長頸圓底燒瓶中，放入攪拌子後再加入 3 mL 的水。將兩滴濃度為 1M 的氫氧化鈉溶液加入圓底燒瓶的懸浮溶液中。圓底燒瓶需裝上冷凝管(以蒸餾管代替)。最後將此溶液置於 80 的砂浴中加熱並用攪拌器攪拌。

### 重要提示

*為了達到適當的溫度而不浪費時間，應該在實驗一開始就打開電源，開始加熱砂浴，並隨時用溫度計檢測砂浴的溫度。*

當實驗的混合液在 80 砂浴中加熱至少 30 分鐘後，將所得到的澄清液冷卻至室溫並倒至小的錐形瓶，用少量的水洗滌反應的圓底燒瓶，並倒入前述的小錐形瓶中。在小錐形瓶中放入磁攪拌子攪拌，並用 4M 的鹽酸溶液慢慢地滴加至小錐形瓶內直至試紙顯示 pH<3。若無法攪拌均勻時，可加入適量的水至此白色懸浮液中幫助攪拌。

將白色的沈澱物用抽濾法過濾，並用足量的水洗滌固體，最後再使用少量(不能用太多以免產物被溶解)的異丙醚洗滌二次以除去大部分的水，這個尿素衍生物 B 必須在濾紙上繼續抽濾至少 3 分鐘以儘可能除去溶劑。

記住留下少量的產物 B，以做為以後

TLC 分析之用。

### 步驟 2

將尿素的衍生物 B 移到長頸的圓底燒瓶中，並加入濃度 4M 的鹽酸溶液 3mL。加一磁攪拌子至此懸浮液中，並將此溶液在 80 砂浴中加熱。溶液會慢慢變為澄清。反應 30 分鐘後，此溶液可能會產生部分沈澱。將此溶液冷卻至室溫後，將所得之懸浮液用抽濾法過濾，並用足量的水洗滌固體。最後用少量的異丙醚洗滌二次以除去大部分的水，然後將產物留在濾紙上並繼續抽濾 3 分鐘，最後將產物轉移至另一張濾紙上，在空氣中乾燥至少 30 分鐘。

產物 C、及尿素衍生物 B、以及起始物 A 必須同時點在同一片 TLC 板上做鑑定分析。製作兩片相同的 TLC 板其步驟如下，首先將少量的上述化合物分別溶解於適量之丙酮中，然後用毛細管將樣品按問題 5 之順序分別點至同一片 TLC 板上，將此兩相同的 TLC 板放置於展開瓶中展開。TLC 板的展開液是由 2% 甲酸溶於乙酸乙酯所構成。溶液展開後用夾子取出 TLC 板，並馬上用鉛筆畫出溶劑最前沿的位置，再使用 UV 燈檢測 TLC 板展開之結果。用鉛筆將觀察到的每一個點清楚完整的圈畫出來，將所觀察之 TLC 板結果完整的畫到答案卷的第 5 題上，並列出式子以計算每一個點的  $R_f$  值。取結果最好的那一片 TLC 板用石蠟保鮮膜(parafilm)包住後放入塑膠袋寫上姓名及號碼交予大會人員。如果此次分析結果不理想，而且時間允許的話，可利用剩下的兩片 TLC 板再進行一次薄層分析。

將產物 C 放至已知重量之空樣本瓶(空瓶重已標示在瓶上) 後，稱其總重量，並計算出產物 C 之重量及產率。

大會將幫你測定產物的熔點，以檢測你產物的品質。(答案紙 2)(略)

34th IChO Laboratory Task 答案紙 3

Score 18 points

	1	2	3	4	5	6	7	8
Marks	10	20	10	10	20	10	10	10

## (2)Synthesis of Benzylhydantoin

## 苯基乙內醯胺的合成

反應物 A 的重量(標示在樣本瓶上):

毫克(mg)

空的樣本瓶重量

毫克(mg) (貼有 YOUR PRODUCT 標籤的樣本瓶)

1. 裝入產物 C 後的樣本瓶總重:

毫克(mg)

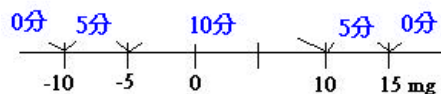
- 稱含樣品瓶及反應物 A 的重量，最高分為 10 分

影響重量的因素：

-平衡因素(balance dependency)  $\pm 5$  mg

-溶劑蒸發(evaporation of solvent)+5 mg

- 學生稱重誤差  $\leq +10$  mg，或  $\leq -5$  mg (10分)

+10 mg < 學生稱重誤差  $\leq +15$  mg，或  $< -5$  mg 誤差  $\leq -10$  mg (5分)誤差  $> +15$  mg，或  $> -10$  mg (0分)

2. 產物 benzylhydantoin C 的實際重量:

毫克(mg)

計算產物 benzylhydantoin C 的產率:

答案: \_\_\_\_\_ %

請詳細列出計算過程:

- 最高分 20 分

產率只接熔點範圍在 160~190 。

實驗平均產率：72~75%，配分標準如下：



產率(%)	65~80	81~90	>90	60~64	50~59	25~49	<25
分數(分)	20	15	10	15	10	5	0

若產率計算錯誤，扣 5 分。

3. 尿素衍生物 B 的  $R_f$  值

答案:

請詳細列出計算過程:

- 最高分：10 分。

實驗的平均值：0.50~0.55。

$R_f$ 值	0.50~0.55	0.45~0.49	<0.45	0.56~0.60	>0.60
分數(分)	10	5	0	5	0

4. benzylhydantoin C 的  $R_f$  值

答案:

詳細列出計算過程:

- 最高分：10 分。

實驗的平均值：0.70~0.75。

$R_f$ 值	0.70~0.75	0.65~0.69	<0.65	0.76~0.80	>0.80
分數(分)	10	5	0	5	0

5. 將最好的那一片 TLC 板的展開結果，詳細完整的畫在以下格子中



- TLC 的分析，最高分：20 分。

評分標準如下：

- position of front line >5 cm (5 分)
- quality and marking of spots\* (5 分)
- pure product B (single spot) (5 分)
- pure product C (single spot) (5 分)

- \*沒有標出(S)-phenylalanine A：扣 5 分

6. 根據 TLC 板分析所得到的結論是：

化合物 B:

- 是純物質
- 含有化合物 A
- 含有數種其它不純物

化合物 C:

- 是純物質
- 含有化合物 B
- 含有化合物 A 和 B
- 含有數種其它不純物

● 最高分：10 分。

化合物 B 正確 (5 分)

化合物 C 正確 (5 分)

7. 產物 benzylhydantoin C 的外觀為

- 白色
  - 黃色
  - 黏稠狀
  - 單晶
  - 粉狀
- 產物 benzylhydantoin C 的外觀最高分：10 分。

顏色正確 (5 分)

結構正確 (5 分)

8. 大會幫你所測得之 benzylhydantoin C 的熔點範圍 °C

● 產物 benzylhydantoin C 的熔點測定，最高分：10 分。

文獻資料：184 。評分標準：

實驗的平均值：178~180

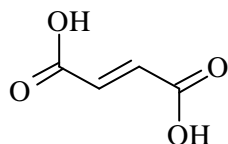
熔點範圍( )	176~190	172~175	<172	>190
分數(分)	10	5	0	0

將你結果最好的一片 TLC 板標上姓名及編號裝入塑膠袋內，交予大會人員(答案紙 4)(略)

### (3)鐵錠中鐵含量的測定

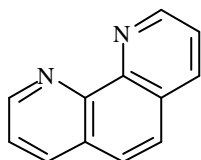
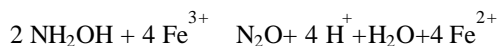
#### 簡介

鐵為血紅素中之基本成分，它在血液中將氧傳送到人體各部分，在許多的代謝反應中扮演著重要的角色。如果缺乏鐵將導致貧血，解決人體缺乏鐵元素的方法之一是服用鐵錠。鐵錠中的主要有效成分是 Fe(II)，它是以反丁烯二酸 Fe(II) 的型式存在。除了 Fe(II) 的有機化合物外，鐵錠中還含有一些其他物質，如：膠著劑。反丁烯二酸的結構如下：



反丁烯二酸

Fe(II) 會與菲林 (1,10-phenanthroline) 形成橘紅色之  $[(C_{12}H_8N_2)_3Fe]^{2+}$  錯合物。此二價鐵錯合物的吸收度，可於 pH=8 之緩衝液中以 510nm 的波長加以測量。因為菲林只會與二價鐵相結合，所以可用此方法來決定鐵錠中鐵的含量，但二價鐵不是很穩定，很容易被氧化成三價鐵，故加入氫氧化脒 hydroxylammonium chloride ( $NH_2OH \cdot HCl$ ) 來將所有的三價鐵還原成二價鐵。化學反應式如下：



1,10-Phenanthroline (菲林)

#### 步驟

以電動天平精稱鐵錠的重量至 mg。以研鉢將鐵錠磨成粉狀，並全部倒入 100mL 的燒杯中，並用少量的蒸餾水沖洗殘留在研鉢的鐵錠粉末，再一併倒入該燒杯中。在燒杯中加入 5mL 的 4M 鹽酸。將燒杯移至加熱板上加熱至大約 60℃，此時溶液會變成黃色。

然後將燒杯移至超音波槽中，用保麗龍固定振盪至少 5 分鐘，懸浮液要用漏斗 (Hirsch funnel) 抽氣過濾，記得過濾前在 Hirsch funnel 中壓入一層適量過濾用的 hi-flow filter aid 粉末，並以少量水先將粉末整層潤濕，接著將懸浮液抽氣過濾，再以大量的水沖洗以避免樣品殘留於 hi-flow filter aid 粉末上。記得收集所有的濾液，並小心移入 250mL 的量瓶中，加入蒸餾水至 250mL 的標記處，記得要搖晃均勻。隨後以移液管量取 10 毫升液體至一個 100mL 的量瓶中，同樣的加入蒸餾水至標記處。

再以移液管由此 100mL 量瓶中，量取 10 毫升液體並置入另一個 100mL 的量瓶中。接著加入 10 毫升的菲林溶液及 1 毫升的氫氧化脒溶液，再加入 pH 為 8 的緩衝液至 100mL 的標記處。

取適量待測樣品溶液和參考液(純水)，分別裝入寬 1.000cm 的樣品容槽中，以分光計測其在 510nm 下之吸收度。

二價鐵菲林錯合物在 510nm 的莫耳吸收常數( $\epsilon$ )為  $11100 M^{-1}cm^{-1}$ ，利用此數據來計算鐵錠中鐵的含量。

#### 重要

為了消除分光計本身所引起的誤差，請

將你測量到的吸收度乘上各機器的校正參數。

34<sup>th</sup> IChO Laboratory Task

答案紙 5

Score 10 points

	1	2	3	4	5
Marks	15	40	20	10	15

## Determination of Iron in Iron Pills

## 鐵錠中鐵含量的測量

1. 鐵錠的重量 mg

- 最高分：15 分
- 單位錯誤：扣 10 分
- 藥錠重量不在 315~332mg 範圍內：扣 10 分

分光計的編號

分光計的校正參數

2. 分光計的讀數： AU ; 校正後的吸收度：

- 最高分：40 分
- 只有一個數值(觀察或正確)：扣 10 分

數值範圍	0.475~0.575	0.376~0.475	<0.375	0.575~0.659	>0.659
分數(分)	40	20	0	20	0

3. 二價鐵菲林錯合物在樣品容槽中的濃度： mmol L<sup>-1</sup>

詳細列出計算過程:

- 最高分：20 分
- 寫出 Lambert-Beer 公式：10 分
- 計算正確：10 分
- 單位錯誤：扣 10 分

4. 鐵錠中 Fe(II)的含量： mg

詳細列出計算過程:

- 最高分：10 分
- 計算中因素 10 錯誤：扣 5 分

計算中因素 4 錯誤：扣 5 分

計算中因素 2.5 錯誤：扣 5 分

計算中沒有分子量：扣 5 分

5. 計算鐵錠中鐵的重量百分比(%)

答案:

詳細列出計算過程:

●最高分：15 分

計算正確：5 分

鐵的重量百分比(%)	15~25	10~15	<10	25~30	>30
分數(分)	10	5	0	5	0

(上承第 48 頁)

(參閱師大科學教育月刊 226 期)

(2)本期徵答題不限您作答的題數，請於 92

年 01 月 24 日前將回函寄達：

(100) 台北市南海路 56 號，台北市立建國  
高級中學訓育組，楊希聰老師收。

(信封上請註明通訊解題)

(3)徵答題可能有多種解法，本期參考答案與  
徵答者之優良解答，答題優良者姓名、就

讀學校，將於 92 年 03 月份在建國高級中學  
數學科網站上發佈。

(4)進入建中網站方法：

1. 先利用瀏覽器進入建中首頁

(網址：<http://www.ck.tp.edu.tw/>)

2. 至最新消息(或教學研究子目錄下之數學  
科)點選數學科通訊解題。