

外消旋酒石酸拆分实验的改进

程岚军, 王欣媛, 安洁, 吴祥, 朱成峰, 付延明, 李有桂*

合肥工业大学化学与化工学院, 合肥 230009

摘要: 酒石酸及其衍生物可作为手性拆分剂拆分外消旋化合物, 现有拆分实验较复杂且现象不直观。本实验为改进实验, 以苯胺与外消旋酒石酸反应生成铵盐, 通过拆分试剂、结晶溶剂和温度等反应条件的优化, 获得了可视化的L型和D型酒石酸苯胺铵盐晶体, 分别再进行碱性水解, 酸化获得D(-)-酒石酸和L(+)-酒石酸。运用圆二色谱、旋光仪和核磁共振波谱等多种手段对拆分的晶体进行表征和确证。本改进实验立足于通过宏观现象反映微观本质, 便于学生对手性(分子)概念的理解和掌握。

关键词: 外消酒石酸; 苯胺; 酒石酸铵盐; 结晶; 手性拆分

中图分类号: G64; O6

Improvement of the Resolution Experiment of Racemic Tartaric Acid

Lanjun Cheng, Xinyuan Wang, Jie An, Xiang Wu, Chengfeng Zhu, Yanming Fu, Yougui Li*

School of Chemistry and Chemical Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China.

Abstract: Tartaric acid and its derivatives are commonly adopted as chiral resolving agents for the separation of racemic compounds. However, existing separation experiments tend to be complex with the not easily observed phenomena. This study presents an improved experiment in which aniline is reacted with racemic tartaric acid to form ammonium salts. By optimizing reaction conditions, including separation reagents, crystallization solvents, and temperature, visible L-type and D-type tartaric acid aniline ammonium salt crystals are obtained. These crystals are then subjected to alkaline hydrolysis and the following acidification to yield D(-)-tartaric acid and L(+)-tartaric acid. The separated crystals are further characterized and confirmed *via* various techniques, such as circular dichroism (CD), polarimetry, and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. This improved experiment emphasizes the macroscopic manifestation of the microscopic chiral nature, making it easier for students to understand and grasp the concept of chirality (molecular structure).

Key Words: Racemic tartaric acid; Aniline; Ammonium tartate; Crystallization; Chiral resolution

自19世纪初发现光学活性物质以来, 光学活性材料得到了快速的发展, 其在推动生物标记、手性分析和检测、对映异构体选择性分离、偏振相关光子学和光电子学等方面的发展具有重要意义^[1]。1848年, 法国微生物学家、化学家路易斯·巴斯德(Louis Pasteur)推测出手性现象是源于分子, 并用镊子在显微镜下分离得到(+)-酒石酸铵钠和(-)-酒石酸铵钠两种晶体, 最早实现了外消旋体的分离^[2]。

酒石酸(Tartaric Acid, 又名2,3-二羟基丁二酸)是一种重要的化工原料, 广泛应用于食品、医药、化工等行业^[3,4]。其为无色半透明晶体或白色细至粗结晶粉末, 分子式为C₄H₆O₆, 熔点: 200–206 °C,

收稿: 2024-08-10; 录用: 2024-11-04; 网络发表: 2025-02-13

*通讯作者, Email: liyg@hfut.edu.cn

基金资助: 安徽省研究生教育质量工程项目(2023lhypsfd005)

溶于水、甲醇和乙醇，微溶于乙醚；由于其分子中含有2个相同的手性C，含有一个内消旋体和一对对映体，通常以外消旋体的方式存在。近年来，有研究报道了酒石酸及其衍生物可作为手性配体应用于有机合成不对称催化反应中^[5-9]，还可作为手性拆分剂拆分外消旋化合物^[10,11]，其中“用D-酒石酸拆分外消旋 α -苯乙胺”还被用来作为手性拆分教学实验案例^[12]，该实验用程序控温结晶和水解工艺拆分外消旋苯乙胺，产物收率达86%以上，拆分效果较理想，但是作为教学实验，存在操作复杂、现象不直观的问题，不利于学生理解和掌握手性概念。

为了便于学生理解和掌握手性(光学活性)概念及其存在的现象，在巴斯德“显微镜下手工分离手性酒石酸盐晶体”的实验研究基础上，本文针对“外消旋酒石酸拆分实验”进行了改进。为了寻找一种简便、高效的拆分方法，实现外消旋酒石酸的拆分，本文从拆分剂、拆分溶剂体系两方面进行筛选和优化。在拆分剂的选取上，通过筛选发现：苯胺作为拆分剂，在甲醇-水混合溶剂体系中，通过调控溶剂比例、反应时间、温度等条件进行分步结晶，显微镜观察挑选，拆分得到可视化的L-和D-酒石酸铵盐晶体，再经碱化、萃取、酸化等处理，最终得到L型和D型的酒石酸，实现了外消旋酒石酸的拆分。本实验操作流程图如图1所示。实验拆分完成后，利用光学显微镜、旋光仪对拆分产物进行初步鉴定，运用圆二色谱、核磁共振等方法对拆分产物构型和结构做进一步表征和鉴定。本实验现象直观，操作简单，可作为一个综合教学实验推广应用。

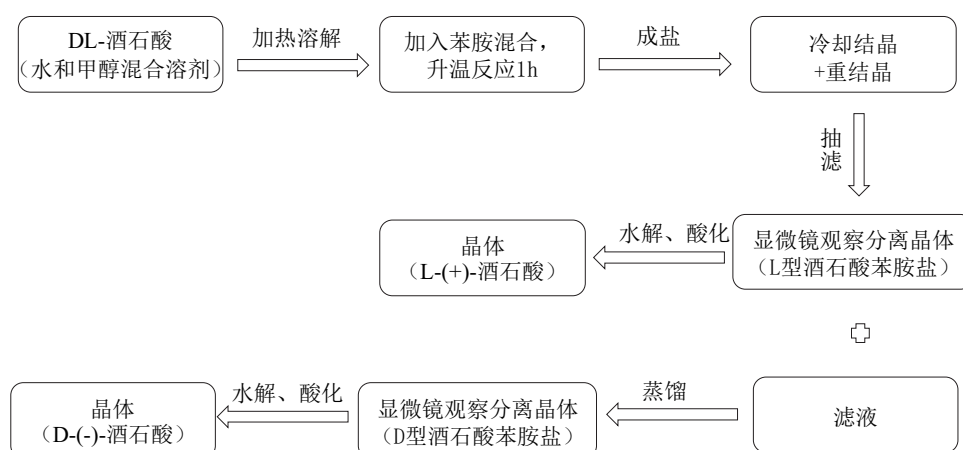


图1 实验流程图

1 实验部分

1.1 实验原理

外消旋酒石酸的拆分是通过苯胺和酒石酸发生酸碱中和反应生成胺盐，根据两种胺盐晶体在混合溶剂中析出顺序不同，并通过多次重结晶优化拆分产物结晶条件，可顺利获得较好的晶型，借助显微镜观察，手工分离挑选出不同晶型酒石酸苯胺盐，进而实现外消旋酒石酸的拆分。本实验化学反应式如图2所示。

1.2 实验试剂

本实验所用试剂如表1所示。

1.3 实验步骤

1.3.1 外消旋酒石酸的手性拆分

依次称量3.0 g外消旋酒石酸，15 mL蒸馏水，25 mL甲醇加入圆底烧瓶中，搅拌加热至70 °C，待固体溶解完后，加入3.3 mL苯胺，反应1 h后停止加热，自然冷却结晶。若析出针状结晶，加热溶解重新结晶至析出棱状结晶。抽滤，滤液备用，棱状晶体用水和甲醇混合溶液($V_{\text{水}}:V_{\text{甲醇}}=3:5$)洗涤，所得晶体样品置于70 °C烘箱中干燥，利用显微镜观察挑选得到L-酒石酸苯胺盐，称量并计算产率。

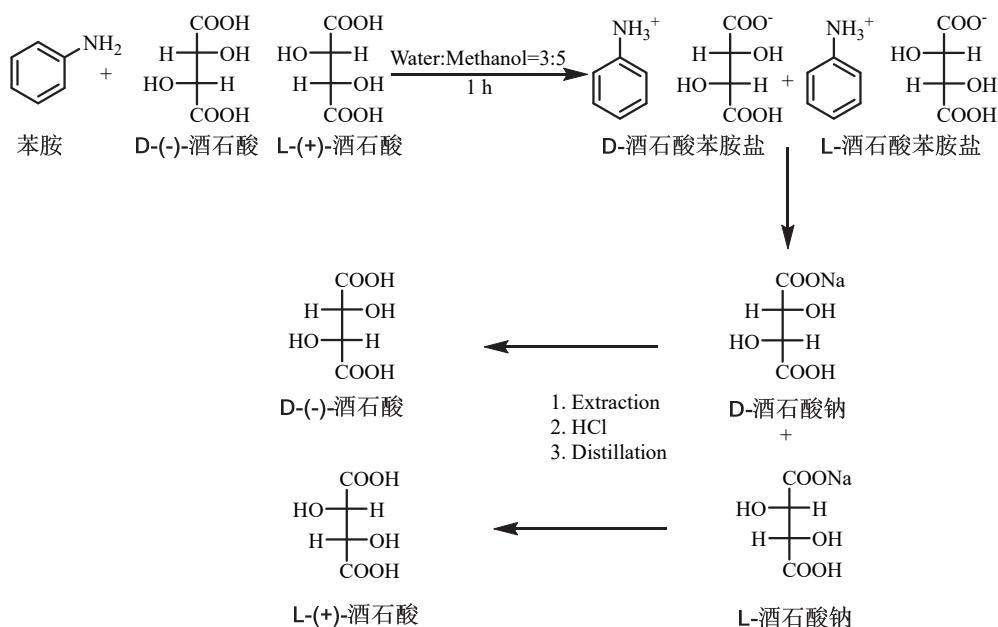


图2 化学反应式

表1 实验试剂

试剂名称	规格型号	厂家
D-(-)-酒石酸	AR, 99%	上海麦克林生化科技股份有限公司
L-(+)-酒石酸	AR, 99%	上海阿达玛斯贝塔试剂有限公司
DL-酒石酸	AR, 99%	上海泰坦科技股份有限公司
苯胺	AR, 99.5%	国药集团化学试剂有限公司
蒸馏水		自制

上述滤液置于蒸馏烧瓶中，90 °C条件下常压加热蒸馏50 min除去甲醇(体积约为15 mL)，待温度超过90 °C时，停止加热，自然冷却结晶得白色棱状结晶(若析出针状结晶，应重新加热溶解并冷却至完全析出棱状结晶)。抽滤，用蒸馏水洗涤，70 °C干燥，利用显微镜观察挑选得到D-酒石酸苯胺盐，称重并计算产率。

1.3.2 酒石酸铵盐转变为酒石酸

称取0.92 g L-酒石酸苯胺盐，倒入50 mL烧杯中并加入25 mL去离子水，用玻璃棒充分搅拌使其溶解，向溶液中不断滴加0.5 mol·L⁻¹的氢氧化钠溶液至过量，调节溶液pH大于等于9.0，使酒石酸苯胺盐转变为酒石酸钠和苯胺；将该溶液倒入150 mL的分液漏斗中，从漏斗上口滴加30 mL乙醚溶液，充分震荡，使苯胺转容到乙醚溶液中，静置，待溶液分层后，进行分液，得到含氢氧化钠和酒石酸钠混合溶液；向混合溶液中滴加盐酸，调节溶液pH为4.0。

将该溶液倒入蒸馏烧瓶中，搭好蒸馏装置，加热控制蒸馏温度为98 °C，待蒸馏烧瓶中的溶液剩余5 mL左右时，停止加热，冷却后将烧瓶中的溶液倒入小烧杯中，静置自然冷却结晶，得到白色块状晶体。抽滤，用蒸馏水洗涤，70 °C干燥得到L-(+)-酒石酸，称重并计算产率。

类似的，上述方法可将D型酒石酸苯胺盐转变为D-(-)-酒石酸。

1.3.3 光学显微镜观察

将上述拆分产物分别放置在光学显微镜下进行观察；区分不同拆分产物晶体晶面的镜面，验证左旋和右旋镜面，比较手性异构体之间的区别。

1.3.4 核磁共振波谱分析

称取20 mg待测样品，加入离心管中，移液枪移取0.5 mL D₂O加入离心管，超声至完全溶解，将样品加到核磁管中，封盖待核磁共振波谱仪检测；处理并分析核磁共振波谱谱图(¹H NMR)，验证产物结构。

1.3.5 比旋光度测定

调零。量取10 mL水加入到旋光管中，置于自动旋光仪中调零；

标准品测定。分别称取D-(-)-酒石酸、L-(+)-酒石酸和DL-酒石酸0.100 g置于三个小烧杯中，加入10 mL水溶解，分别加入到1 dm的旋光管中，依次测量旋光度，取三次测量平均值，作为其旋光度测量值；

拆分样品测定。分别称取0.100 g干燥后的拆分产物样品，按照上述步骤进行旋光度的测定；

比旋光度的计算。按照如下公式进行比旋光度的计算：

$$[\alpha]_D^t = \frac{100\alpha}{C \times L}$$

其中 t 为温度， D 表示波长为589 nm的钠灯光源， α 为旋光度， C 为溶液浓度(g/100 mL)， L 为旋光管长度(dm)。

1.3.6 圆二色光谱法(CD)检测拆分产物

样品制备：称量D-(-)-酒石酸、L-(+)-酒石酸和DL-酒石酸，拆分所得D-酒石酸苯胺盐、L-酒石酸苯胺盐，D-(-)-酒石酸拆分产物、L-(+)-酒石酸拆分产物各75.0 mg，用去离子水溶解；将溶液稀释至10 mmol·L⁻¹，移取300 μ L待测样于比色皿中，放入圆二色谱仪器中进行检测。

2 结果与讨论

2.1 DL-酒石酸拆分实验

本实验优化选取不同胺类化合物、不同溶剂条件拆分DL-酒石酸。反应条件对晶型的影响见表2中反应1-6。结果表明，当溶剂为 $V_{\text{水}} : V_{\text{甲醇}} = 3 : 5$ 的混合溶液，胺类试剂为苯胺，反应试剂为1 h时，拆分DL-酒石酸所得析出晶体晶型较好。

表2 不同试剂和不同胺类试剂拆分酒石酸晶型效果

反应序号	反应溶剂	胺类试剂	反应时间/h	晶型效果
1	水	α -苯乙胺	0.5	结晶较少或为粉末状
			1	粉末状
2	$V_{\text{水}} : V_{\text{甲醇}} = 1 : 1$	α -苯乙胺	1	结晶较少或为粉末状
3	$V_{\text{水}} : V_{\text{甲醇}} = 3 : 5$	α -苯乙胺	1	针状
4	甲醇	α -苯乙胺	1	结晶较少或为粉末状
6	$V_{\text{水}} : V_{\text{甲醇}} = 3 : 5$	苯胺	1	棱柱状
7	甲醇	乙胺	0.5	无结晶
8	$V_{\text{水}} : V_{\text{甲醇}} = 3 : 5$	三乙胺	1	结晶较少或为粉末状

在此优化实验条件基础上，利用苯胺拆分DL-酒石酸，反应溶剂为 $V_{\text{水}} : V_{\text{甲醇}} = 3 : 5$ 混合溶液，反应1 h，制备得DL-酒石酸苯胺盐。静置结晶，结合显微镜观察挑选获得无色透明棱状晶体(L-酒石酸苯胺盐)；收集过滤的滤液，倒入烧杯并搅拌加热至70 $^{\circ}$ C，进行蒸发结晶，去除甲醇和部分水后停止加热，自然冷却结晶，结合显微镜观察挑选可获得无色透明棱状晶体(D-酒石酸苯胺盐)。

称量3.0 g DL-酒石酸与3.3 mL苯胺在甲醇水混合溶液中反应，重复三次实验，得产率结果见表3。

表3 三次平行实验所得拆分产物产率表

反应序号	拆分得L型产物		拆分得D型产物	
	质量/g	产率	质量/g	产率
1	2.1943	90.3%	1.9197	79.0%
2	2.1478	89.5%	1.9634	80.8%
3	2.2815	93.8%	2.0047	82.5%

平行实验结果表明,两种构型产物,拆分产率较高。在接下来的拆分产物酒石酸苯胺盐到酒石酸的转化反应与纯化过程中,经过碱化、萃取、酸化和蒸馏处理后得到的L型和D型酒石酸拆分产物最终得率约为61%。

2.2 光学显微镜观察拆分产物晶型

上述实验中,利用苯胺拆分外消旋酒石酸,利用普通光学显微镜对晶体晶面形貌进行直观观察,分别获得两种无色透明棱状晶体。

光学显微镜观察到商品化的D-(-)-酒石酸、L-(+)-酒石酸、DL-酒石酸试剂样品,多为无规则颗粒晶体,其晶体形貌特征不明显(图3A、3B、3C);而通过拆分实验获得的拆分产物样品L-酒石酸苯胺盐(图3D)和D-酒石酸苯胺盐(图3E)的晶体晶型则较好,晶面形貌图与巴斯德显微镜观察晶体晶面(图3H)较一致,都是棱状晶体;且部分形貌较好的晶体可以明显区分D型和L型酒石酸盐的特征晶面信息。此外,对于一些较大颗粒的两种构型的结晶晶体,即L-(+)-酒石酸苯胺盐和D-(-)-酒石酸苯胺盐晶体晶型外观的差别可通过肉眼直接看出,晶面特征信息肉眼可见,现象直观。

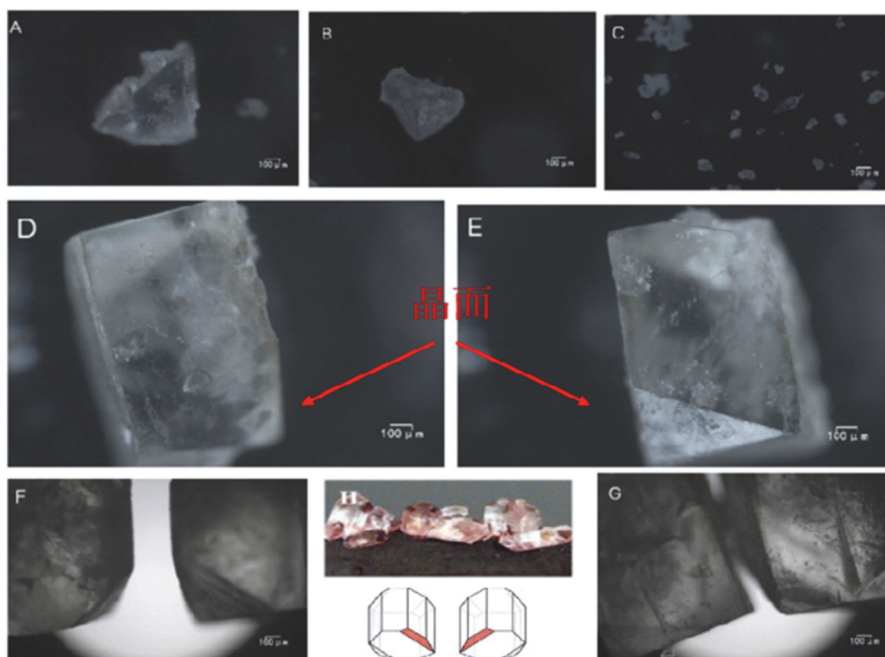


图3 (A) D-酒石酸晶体; (B) L-酒石酸晶体; (C) DL-酒石酸晶体; (D) L-酒石酸苯胺盐晶体; (E) D-酒石酸苯胺盐晶体; (F)和(G) L-酒石酸苯胺盐晶体和D-酒石酸苯胺盐晶体对比图; (H) 巴斯德拆分晶体示意图

结合文献资料中的DL-酒石酸盐的晶面信息,显微镜观察结果显示:先结晶出来的无色透明棱状晶体中有较多的L-酒石酸苯胺盐晶体(图3D);其次,滤液结晶获得的无色透明棱状晶体含有较多D-酒石酸苯胺盐晶体(图3E)。实验结果表明,通过苯胺与外消旋酒石酸反应形成外消旋酒石酸苯胺盐,

可分步结晶并借助显微镜分离得到不同手性的酒石酸胺盐产物(L-型酒石酸苯胺盐和D-型酒石酸苯胺盐), 并且其晶体特征晶面形貌与巴斯德手工拆分酒石酸盐实验结果较一致。此外, 经过碱化、萃取、酸化和蒸馏处理得到的L-酒石酸和D-酒石酸晶体, 通过显微镜或肉眼观察, 同样可以看到类似的特征晶面信息。

2.3 比旋光度测定

分别对标准D-(-)-酒石酸、L-(+)-酒石酸、DL-酒石酸, 拆分产物D-酒石酸苯胺盐、L-酒石酸苯胺盐, 以及拆分产物D-(-)-酒石酸和拆分产物L-(+)-酒石酸进行旋光度测定并计算出相应的比旋光度(见表4)。与标准品比旋光度数据比较, 酒石酸与苯胺的反应产物——酒石酸苯胺盐的构型分别为D型和L型, 即D-酒石酸苯胺盐和L-酒石酸苯胺盐; 并且最终的拆分产物酒石酸样品的旋光测定结果也显示出了与标准品较一致的比旋光度数值, 说明制备的酒石酸苯胺盐, 通过重结晶、借助显微镜分离, 初步实现了对外消旋酒石酸的旋光异构体的拆分, 并经过后续处理获得了相应的拆分产物L-(+)-酒石酸和D-(-)-酒石酸, 相应化合物的结构和构型还需要圆二色谱、红外光谱和核磁共振波谱等方法进一步确证。

表4 不同样品旋光度和比旋光度测量值

类别	测量实际	旋光度 α	比旋光度
标准品	D-(-)-酒石酸	-0.183	-1.808
	L-(+)-酒石酸	0.180	1.824
	DL-酒石酸	0.000	0.000
拆分样品	D-酒石酸苯胺盐	-0.181	-1.836
	L-酒石酸苯胺盐	0.176	1.862
	D-(-)-酒石酸	-0.187	-1.855
	L-(+)-酒石酸	0.184	1.796

2.4 圆二色谱测定拆分产物

为了确证拆分产物的构型, 利用圆二色谱(CD)对不同手性的酒石酸及其苯胺盐的特征吸收峰进行检测。CD实验结果表明: 标准品D-(-)-酒石酸、L-(+)-酒石酸、DL-酒石酸在CD光谱检测中分别具有相应的特征吸收峰(图4A), 分别对应不同的构型。

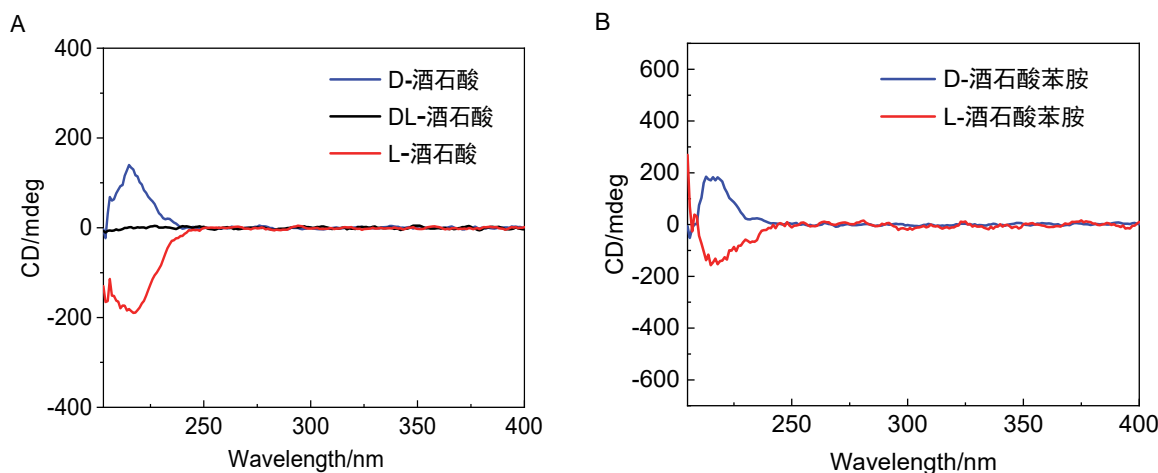


图4 (A) 酒石酸原料的CD谱图; (B) 酒石酸拆分产物的CD谱图

由图4(B)可以看出, 结晶后显微镜挑选所得拆分产物L-酒石酸苯胺盐和D-酒石酸苯胺盐分别具有相应的特征吸收峰, 与其旋光特性一致。说明通过苯胺与外消旋酒石酸形成酒石酸苯胺盐, 可分步结晶, 结合显微镜挑选分离获得两种纯的L-酒石酸苯胺盐和D-酒石酸苯胺盐, 实现对外消旋酒石酸的初步拆分; 在此基础上, 对碱化、萃取、酸化蒸馏等方法得到的最终的D-(-)-酒石酸、L-(+)-酒石酸样品, 进行圆二色谱检测, 发现其光谱特征与标准品较一致, 也说明实现了对外消旋酒石酸的拆分, 并且得到两种不同构型的L-(+)-酒石酸和D-(-)-酒石酸。

2.5 红外吸收光谱测定拆分产物

为了确认拆分产物的结构特征, 利用红外吸收光谱分别检测了原料L-和D-酒石酸、拆分产物酒石酸苯胺盐, 以及拆分后获得的L-(+)-酒石酸和D-(-)-酒石酸。分析红外谱图(图5A)可知, 3446 cm^{-1} 处为O-H的伸缩振动带, 吸收带强而宽; 由于酒石酸在液态中的缔合作用, C=O伸缩振动频率移向低频, 在 1735 cm^{-1} 处振动, 表明拆分产物中存在羧基团; 经过拆分产物酒石酸苯胺盐(图5B)的水解酸化得到的拆分产物L-酒石酸和D-酒石酸的红外谱图与原料的红外光谱图比较一致, 也说明了我们拆分DL-酒石酸的外消旋化合物得到两种构型的酒石酸。由图5B可知, 3358 cm^{-1} 处为N-H伸缩振动, 1102 cm^{-1} 和 1286 cm^{-1} 为C-N伸缩振动, 表明拆分产物中存在胺, 680 cm^{-1} 处为 $-(\text{CH}_2)_n-$ 的面外弯曲振动, $1725\text{--}1411\text{ cm}^{-1}$ 处为芳环骨架的伸缩振动, 表明拆分产物中存在苯环, 3358 cm^{-1} 处为O-H的伸缩振动。红外结果表明: 拆分得到了L型和D型的酒石酸苯胺盐; 并最终拆分获得L-(+)-酒石酸和D-(-)-酒石酸两种化合物。

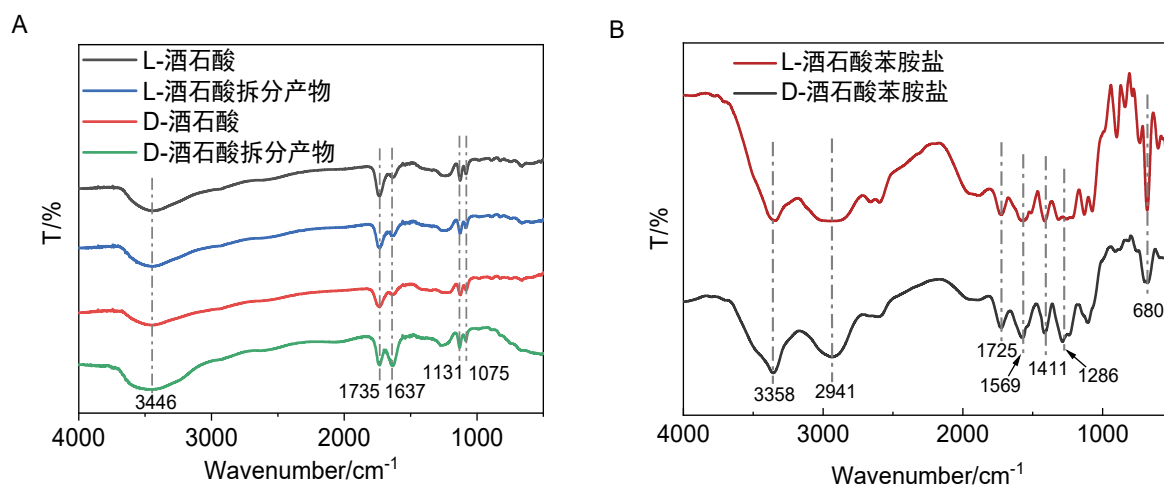


图5 (A) L-酒石酸、L-酒石酸拆分产物、D-酒石酸、D-酒石酸拆分产物溶液的红外吸收光谱图;
(B) L-酒石酸苯胺盐、D-酒石酸苯胺盐的红外吸收光谱图

2.6 核磁共振波谱测定拆分产物结构

为了进一步确定拆分产物结构特征, 利用核磁共振波谱来对反应产物进行检测。首先, 用外消旋酒石酸与苯胺按照物质的量为1:1和1:2反应, 分步结晶, 显微镜观察挑选得到不同构型的产物; 再用核磁共振波谱检测不同比例反应得到的两种L-酒石酸苯胺盐(图6), 比较图6A、6B两个谱图, 可知 ^1H NMR信号基本相同。其中, 峰a、峰b、峰c为苯环上的5个H的信号, 峰d为酒石酸中的2个H的信号。 ^1H NMR结果表明, 两种比例反应产物中酒石酸与苯胺均以1:1的方式结合形成酒石酸苯胺盐(图6A和图6B)。此外, 通过 ^1H NMR实验, 发现拆分所得D-酒石酸苯胺盐的 ^1H NMR谱图与图6A相同; 并且原料L-(+)-酒石酸、D-(-)-酒石酸样品与拆分产物L-(+)-酒石酸和拆分产物D-(-)-酒石酸的核磁共振波谱谱图结果较一致, 说明拆分实验最后得到两种构型单一的酒石酸。

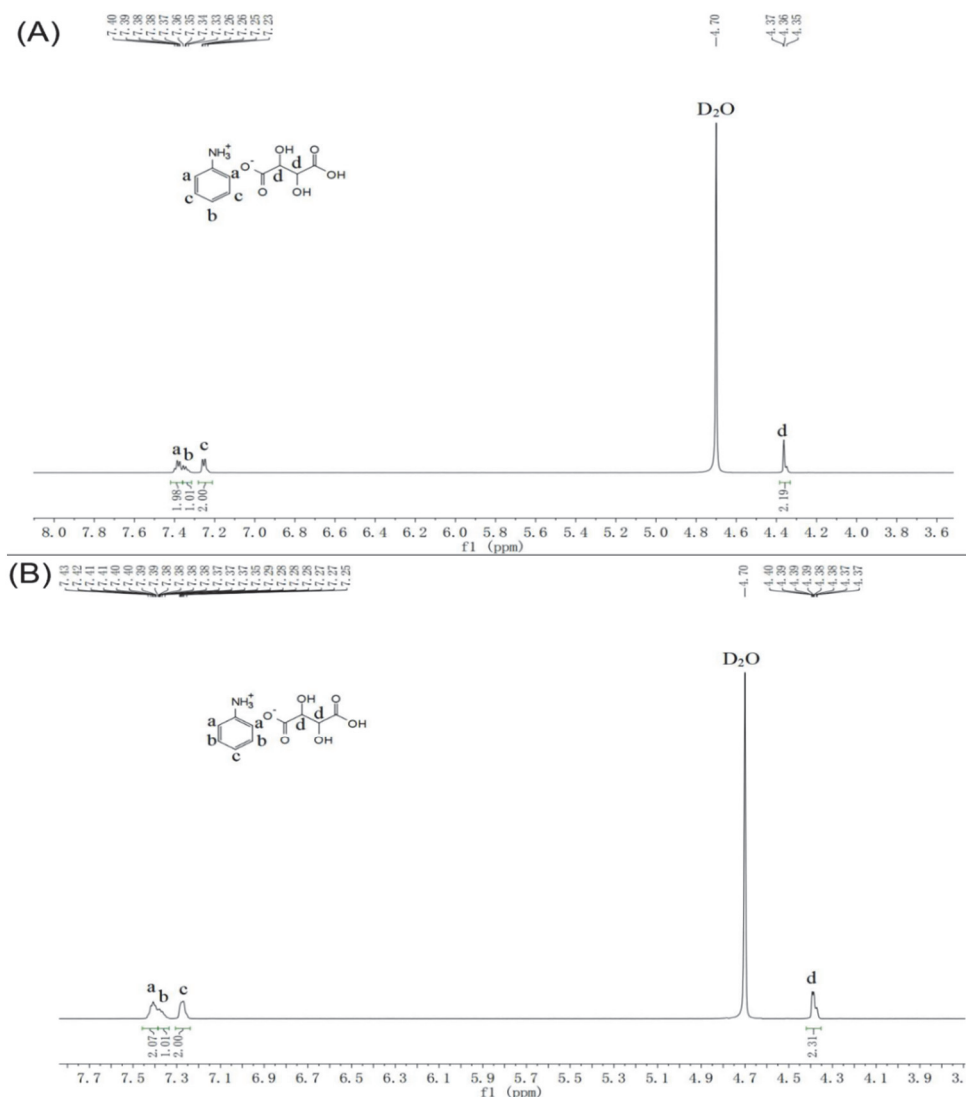


图6 酒石酸：苯胺 = 1 : 1 (A)和1 : 2 (B)反应所得拆分产物L-酒石酸苯胺盐的核磁共振谱图

综上，通过光学显微镜观察、比旋光度测定、圆二色光谱、红外光谱和核磁共振波谱检测分析，结果证明本实验成功地通过苯胺与DL-酒石酸反应，形成相应的铵盐，结合显微镜观察挑选分离分别得到两种单一构型的酒石酸苯胺盐；并通过调节pH、萃取、蒸馏等后续步骤，得到L-(+)-酒石酸和D-(-)-酒石酸，实现DL-酒石酸盐的手性拆分。

3 结语

本文通过对“外消旋酒石酸拆分实验”进行改进，通过简单的操作，用苯胺与外消旋酒石酸反应生成盐，通过借鉴“显微镜下手工分离手性酒石酸盐晶体”的方法，从无旋光性的溶液中得到了互为镜像的手性对映的L-酒石酸苯胺盐和D-酒石酸苯胺盐晶体及最终得L-酒石酸和D-酒石酸拆分产物，对微观的手性分子实现了可视化展示。从宏观现象反映微观本质，与理论知识联系紧密，让学生充分感受“手性化学之美”；同时用核磁、圆二色谱等方法对获得的晶体进行了结构表征和确证。在该教学实验中，学生可以学习手性知识；运用手性拆分技术来实现手性化合物的分离、检测与鉴定；既锻炼了学生对实验条件的探究能力，又培养“以小见大”的学术思维。同时，本实验的方法和思路还可以推广应用于其他手性化合物的分离研究，实现可视化观测手性化合物晶体的目标。

参 考 文 献

- [1] Kahr, B. *Chir* **2018**, *30*, 351.
- [2] Ball, P. *Elegant Solutions: Ten Beautiful Experiments in Chemistry*; Royal Society of Chemistry Cambridge: London, UK, 2005, pp: 541–542.
- [3] 金蕾蕾, 陈方磊, 王晓钟, 陈英奇, 戴立言. 高校化学工程学报, **2020**, *34* (5), 1235.
- [4] Li, M.; Su, J.; Yang, H.; Feng, L.; Wang, M.; Xu, G.; Shao, J.; Ma, C. *Horticulturae* **2023**, *9*, 1173.
- [5] 邓艳芳, 吴桐, 李泽文, 李思思, 胡雨函, 李畅, 裴月湖. 沈阳药科大学学报, **2019**, *36* (11), 1056.
- [6] 李路, 张志欣, 王涛. 山东化工, **2019**, *48* (24), 158.
- [7] Waser, M.; Gratzler, K.; Herchl, R.; Muller, N. *Org. Biomol. Chem* **2012**, *10* (2), 251.
- [8] Prasad, K. R.; Chandrakumar, A.; Anbarasan, P. *Tetrahedron Asym.* **2006**, *17* (13), 1979.
- [9] Alonso, E. R.; León, I.; Kolesníková, L.; Mata, S.; Alonso, J. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 17410.
- [10] 向燕龙, 蔡水洪. 化学通报, **2000**, *9*, 53.
- [11] Kodama, S.; Yamamoto, A.; Matsunaga, A.; Hayakawa, K. *J. Chromatogr. A* **2001**, *932* (1–2), 139.
- [12] 古凤强, 吕远洋, 吕世柱, 唐建荣, 李镇锋, 刘天穗, 陈亿新, 陈国术. 广州化工, **2013**, *41* (5), 5.