

槐米中芦丁提取、精制与鉴定的创新实验教学

陈红英*, 李良春, 黄毅, 郑仁林

西南科技大学生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621010

摘要: 为解决学生在芦丁提取、精制与鉴定实验中遇到的常见问题, 针对不同实验过程, 采用新的教学设计与实验工艺进行实践。改进后, 实验不仅提高了成功率, 增强了学生的自信心, 另一方面也通过创新实验向学生证明工艺改进对提高产品质量的重要性。通过该实验教与学的相互促进, 师生共同达成了学习目标。

关键词: 芦丁; 提取; 重结晶; 色谱鉴定; 创新实验; 实验教学

中图分类号: G64; O6

The Innovative Laboratory Teaching of Extraction, Purification and Identification of Rutin from *Sophora Japonica* L.

CHEN Hongying *, LI Liangchun, HUANG Yi, ZHENG Renlin

College of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, Sichuan Province, P. R. China.

Abstract: In order to solve the frequently encountered problems on the experiment of extraction, refining and identification of Rutin in the laboratory class, new methods of teaching design and experiment process were adopted to suit different experimental procedure. With the improvement, both the success rate and the students' confidence were improved. The innovation experiment also illustrated the importance of process improvement to improve the quality of the products. Through the mutual improvement of teaching and learning in this experiment, teachers and students achieved the goal of learning together.

Key Words: Rutin; Extraction; Recrystallization; Chromatographic identification; Innovative experiment; Laboratory teaching

芦丁作为一种常见的黄酮化合物, 具有抗氧化、降脂、降糖等多种生物活性^[1,2]。目前, 已知含有芦丁的原料较多, 如红枣、茶叶、烟叶、橙皮、番茄等, 其中, 荞麦和槐米中的芦丁含量较高。有关芦丁提取工艺也多有研究报道^[3-5]。药用的芦丁通常是从槐花米中提取^[6]。天然药物化学实验教材一般都含有“槐米中芦丁的提取”这部分内容, 很多高校制药工程专业也把此实验作为学生必做的实验。该实验涉及了天然产物的提取、分离、纯化、鉴定等过程, 涵盖了天然药物化学的基本实验操作: 过滤、重结晶、色谱鉴定分析等, 是一个比较典型的综合性实验。

该实验为我校制药工程专业天然药物化学课程必修内容。通过对几届学生的学习效果分析, 实验结果往往差强人意, 参差不齐, 实验总体效果并不好。一方面, 学生根据实验步骤中规定的条件按部就班操作, 对每一步的实验结果心里没有一定预期, 也没有标准可供参考, 导致制备的芦丁颜

收稿: 2018-03-09; 录用: 2018-03-22; 网络发表: 2018-04-16

*通讯作者, Email: chenhongying@swust.edu.cn

基金资助: 西南科技大学教育教学研究与改革项目(17xn0113)

色不正、纯度较低或出现根本得不到芦丁的情况；另一方面，学生不知应如何分析芦丁薄层鉴定结果，以及如何评价产品质量好坏。通过对几届学生的实验结果分析，主要原因在两个方面：1) 在三个方面的理解不到位(酸碱度控制、重结晶、薄层色谱观察)；2) 部分操作有误。为改善此状况，本文对实验教学中的提取工艺内容进行重新加工设计，并把相应的教学实践进行总结分析。

1 芦丁提取的创新实验

1.1 实验原理

芦丁为多羟基黄酮，具有酸性，易溶于碱液生成弱酸强碱盐，再用酸和该盐反应生成游离的黄酮。

1.2 原实验内容

方法大致有几种：碱提酸沉法、水提法、醇提法等。以碱提酸沉法为例。称取 10–30 g 槐花米粗粉(研碎)，加 300 mL 饱和石灰水，加热煮沸 30 min，热滤，用浓盐酸调节 pH=3–4，静置至沉淀充分析出，抽滤，弃去滤液，得粗品芦丁。

1.3 创新实验设计

称取 10–30 g 槐花米粗粉(研碎)，加 300 mL 蒸馏水，用饱和石灰水调节 pH 为 8–9，加热微沸 30 min (注意控温和添加水分，保持恒定的 pH)，用纱布热滤，热滤液用浓盐酸调节 pH=3–4，静置 1 h 至沉淀析出，抽滤，弃去滤液，得粗品芦丁。

1.4 教学实践结果分析

用碱提酸沉法进行粗芦丁的提取，首先关键是酸碱度的调节。过酸过碱都难得到适量纯度的粗品。学生操作过程中，多用 pH 试纸调节酸碱度。那酸碱度到底为多少合适呢？另外，第一次碱提后溶液的过滤时间相对较长，会导致芦丁析出。原实验教学的不足：长时间煮沸会导致水分蒸发，体积减少，溶液酸碱度改变，芦丁在溶液中也会析出；第一次碱提溶液过滤用抽滤的方式时，芦丁易析出，滤纸上有一层薄薄的粘液，堵住滤孔，过滤速度较慢；溶液静置过夜待芦丁析出，这导致实验时间相对延长，在有限的教学时间内，要有效地完成多批次的学生小组实验教学有一定的难度，也无法在有限的时间内及时发现实验成效。改进后实验教学效果：在 2 h 内，所有实验组基本都能有效完成实验内容，得到粗品芦丁。首先用纱布在常压漏斗中快速过滤，滤液保持一定温度，用浓盐酸慢慢调节酸度至合适范围后静置。溶液中会有大量的黄色颗粒状物质出现。为让学生心里有一定的实验预期效果，特意在 PPT 中放置相关实验图片(图 1)，以便学生随时纠正自己的实验不当操作。



图 1 盐酸调节后芦丁析出效果

2 芦丁精制的创新实验

2.1 实验原理

利用芦丁在不同溶剂(常用水或乙醇)中溶解度的不同进行重结晶。

2.2 原实验内容

将粗品芦丁悬浮于蒸馏水中，加热煮沸 15 min，热滤，弃去沉淀，滤液静置得芦丁结晶。

2.3 创新实验设计

将粗品芦丁悬浮于适量无水乙醇中，加热溶解，热滤，弃去沉淀，滴加适量蒸馏水继续加热至微浑浊，静置得芦丁结晶。

2.4 教学实践结果分析

在原实验中,单纯用水或乙醇进行重结晶,首先按大致比例加入溶剂量,加热溶解,热滤后弃去沉淀,滤液静置。实验结果是:在有限时间内,析出的晶体很少,或得不到晶体。静置过夜后,仍得不到大量晶体。实验重新设计后,改为加热浓缩上清液,固体用混合溶剂结晶法,用热乙醇溶解后,热滤,滤液滴加蒸馏水至溶液变浑浊。或者固体用单一溶剂结晶法,用热乙醇或热水溶解后,继续加热至溶液些许浑浊。然后溶液静置,待晶体析出。在有限时间内,混合溶剂结晶法和单一溶剂结晶法均可得到相应的晶体(图 2),但晶体的外观是不一样的(图 3)。



图 2 不同溶剂下芦丁析出的效果图

从左到右分别为:乙醇、乙醇溶解后滴加蒸馏水、蒸馏水



图 3 不同溶剂条件析出的芦丁

从左到右分别为:乙醇、混合溶剂(乙醇溶解后滴加蒸馏水)、蒸馏水

3 芦丁鉴定的创新实验

3.1 实验原理

把重结晶得到的芦丁和芦丁对照品配制成适当的溶液,点于同一张硅胶板上,展层,显色,比较斑点的颜色和位置。

3.2 原实验内容

三氯化铝纸片反应:在两张滤纸上分别滴加芦丁对照品和精制芦丁的醇液,各滴加 1%三氯化铝乙醇溶液,于紫外光下观察荧光变化,记录现象。

薄层鉴定:分别取精制芦丁和芦丁对照品溶液,用毛细管点于硅胶 G 板上,在已饱和的展开剂中展开,在可见光下观察色斑,再于紫外灯下观察荧光斑点,喷洒 1%三氯化铝乙醇溶液,观察荧光斑点。

3.3 创新实验设计

三氯化铝纸片反应:在同一张滤纸上分别滴加芦丁、槲皮素醇液,各加 1%三氯化铝乙醇溶液,

分别于自然光、紫外光下观察荧光变化,记录现象。

薄层鉴定:分别取粗品芦丁、精制芦丁及芦丁和槲皮素的对照品溶液,用毛细管点于硅胶 G 板上,在已饱和好的展开剂中展开,在可见光下观察色斑,再于紫外灯下观察荧光斑点,喷洒 1%三氯化铝乙醇溶液,观察斑点。再用氨水熏蒸。

3.4 教学实践结果分析

薄层定性实验中学生常遇到的问题是不知为什么做这个实验,做出结果又不知如何处理分析,薄层斑点不知如何描述。实验改进后,通过对整个实验过程中产品的薄层分析,可以直观地让学生观察产品质量提高的过程,同时也通过“一看、二照、三显色”的方式让学生清楚地观察到斑点的明显变化,可采取多种方式达到目的。通过和两种对照品芦丁和槲皮素的比较,从产品斑点的颜色和位置上分析产品在整个实验过程中成分的变化(图 4)。从图中可以看出粗品和水溶剂重结晶的产品中,含有部分槲皮素,而混合溶剂重结晶析出的产品未见到槲皮素斑点。这样的结果一方面说明粗品精制的必要性,另一方面也说明重结晶溶剂的选择对产品质量的影响。

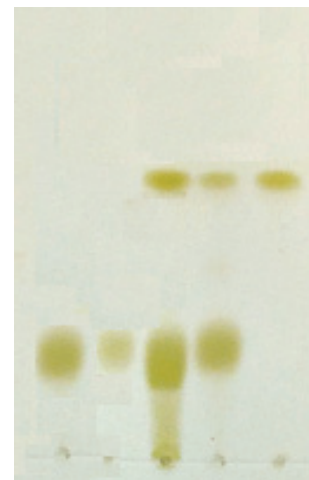


图 4 样品的薄层色谱图

从左到右分别为: 芦丁对照品、精制芦丁(混合溶剂重结晶)、粗品芦丁、精制芦丁(在水中重结晶)、槲皮素对照品

4 结语

细节决定成败。之前学生按照实验指导书内容进行实验,按部就班,但对影响实验的关键因素心里没有一定预期。针对教学实践中学生常遇到的问题对部分教学内容进行改进和重新设计后,实验现象更明显,实验成功率较高,而且在实验中让学生通过实验结果直观展现工艺对产品的重要性。

教学相长。通过对学生在学习过程中遇到的常见问题的思考,可以促使教师对教学内容、方法进行改进,从而更好地指导学生的学习。教与学,没有固定的模式和方法,只有在实践中不断摸索前进。为达到教学目的,可以采用多种方式和手段来实施。

参 考 文 献

- [1] 臧志和,曹丽萍,钟铃. 医药导报, 2007, 26 (7), 758.
- [2] 龙全江,杨韬. 中国中医药信息杂志, 2002, 9 (4), 39.
- [3] 张江,张丽,木卡代斯·斯依提,赵翡翠. 中国中医药信息杂志, 2018, 25 (1), 64.
- [4] 王国栋,李双,李田霞. 武汉职业技术学院学报, 2017, 16 (5), 103.
- [5] 陈静,陈志宏,张余,柏钰,黄承浩. 食品工业, 2017, No. 8, 272.
- [6] 胡杰,邓宇. 中国食物与营养, 2006, No. 8, 94.