

# 《天然产物提取工艺学》实验指导书

编者：徐怀德

西北农林科技大学食品科学与工程学院

二〇〇九年五月

## 目 录

实验室规则.....	2
实验室安全守则.....	3
急救常识.....	4
实验一 从辣椒中提取分离辣椒红色素 .....	5
实验二 从槐米中提取芸香甙与定性反应 .....	10

## 实验室规则

- 1、实验室所用的溶剂、药品很多是易燃、易爆、有毒、有腐蚀性、刺激性的物质，且实验操作又常在加温或减压情况下进行，需用各种电源、电器及其他仪器，操作不慎会造成火灾、爆炸、中毒、触电、漏水等事故，因此必须遵守实验室各项制度，严格遵守操作规程，听从教师指导，维护实验室安全，如发生事故应立即采取措施并报告教师。
- 2、实验前应做好预习，明确实验目的、要求、操作步骤、方法和基本原理，做好计划，在不清楚实验目的及每一操作步骤之前，切勿开始做任何实验。
- 3、实验时要做到整齐、清洁，保持桌面、仪器、水槽、地面四洁。任何固体物质不能投入水槽，切不可将可燃或易挥发的溶剂倒入水槽。
- 4、实验前应检查仪器、装置是否合格，公用仪器和试剂应在指定地点使用，并保持清洁，不能任意挪动。
- 5、进入实验室必须穿工作服，实验过程中不能擅自离开，认真做好实验记录，实验室内应保持安静，严禁吸烟。
- 6、实验过程中要节约水、电、药品，爱护仪器，仪器损坏后应填写报损单，注明原因，由实验教师按规定处理。
- 7、实验完毕，值日生应将实验室打扫干净，关好水、电、门、窗，方可离开。

## 实验室安全守则

在实验中，常使用甲醇、乙醇、乙醚、石油醚等易挥发、易燃、有毒的有机溶剂及易碎的玻璃仪器，操作不慎，容易发生事故。常见事故有“火灾”、“爆炸”、“外伤”、“中毒”等，为防止事故发生，必须随时注意以下几点：

- 1、在使用或存放易燃、易挥发的有机溶剂时，必须远离明火，万一有机溶剂着火，应立即用棉布或其它物品盖住，使之隔绝空气而熄。
- 2、不得在烘箱内干燥带有有机溶剂的仪器和物品。
- 3、回流或蒸馏易燃有机溶剂时，瓶内液量不超出三分之二，不能使用明火加热，应根据情况选用水浴、油浴或沙浴，加热前要在溶液内放入沸石，防止暴沸，但在加热途中不得加入沸石或活性炭，否则也会暴沸。
- 4、实验开始前应检查仪器是否完整无损，装置是否正规；回流、蒸馏时，冷凝水是否通畅，装置各接口是否漏气；若在常压下进行回流或蒸馏，装置必须与大气相通，不能密闭。
- 5、使用电器设备（如电烘箱、电冰箱、真空泵等）及各种分析仪器时一定要弄清电路及操作规程，不懂就问，切勿自作主张。
- 6、卤代甲苯、苯、苯胺、甲醇、二硫化碳、汞、铅等均为有毒或剧毒药品，中毒途径一般为消化道、呼吸道及皮肤吸收，因此在取用时，注意不要洒在外面，保持良好的通风状况，切不可随意乱倒。

实验室一旦发生火灾事故，应保持镇静，切勿惊慌失措，应立即采取各种相应措施，减少事故损失。首先要立即断绝火源（如电源等），并移开周围的易燃物质。少量溶剂（几毫升）着火，可任其烧完；小口容器内溶剂着火可用石棉网或湿布盖熄；小火可用湿布或黄沙盖熄；火较大时应根据情况采用下列灭火器：泡沫灭火器、四氯化碳灭火器、二氧化碳灭火器。无论何种灭火器，皆应从火的四周开始向中心扑灭。油浴或有机溶剂着火时绝不可用水浇，否则反而使火势蔓延。若衣服着火，切勿奔跑，赶快脱下衣服或用厚的外衣包裹致熄。较严重者应躺在地上（以免火焰烧向头部）用防火毯紧包致熄，或用水冲淋。

## 急救常识

1、外伤：如为一般轻伤，应取出伤口中的碎玻璃或固体物，及时挤出污血，用蒸馏水冲洗后，涂上红药水，用消毒纱布包好。如为大伤口，应立即用绷带扎紧伤口上部，使之停止出血，急送医院。

2、火伤：轻伤涂甘油或硼酸凡士林，重伤送医院。

3、试剂灼伤：

（1）酸液或碱液灼伤皮肤时，首先用大量水冲洗。若为酸液灼伤，再用 5%碳酸氢钠溶液洗涤；若为碱液灼伤，再用 1%醋酸溶液洗涤。最后用水洗，涂上油膏凡士林。

（2）酸液或碱液溅入眼睛时，抹去溅在眼睛外面的液体，立即用大量水冲洗。若为酸液，再用 1%碳酸氢钠溶液冲洗；若为碱液灼伤，再用 1%硼酸溶液冲洗。最后用水冲洗，再滴入蓖麻油。

（3）酸液或碱液洒在衣服上时，先用大量水冲洗。若为酸液再用稀氨水洗；若为碱液，再用 10%醋酸溶液洗涤，然后用氢氧化铵中和多余醋酸，最后用水洗。

（4）酸液洒在地板上，先撒石灰粉，再用水冲洗。

上述各种急救法，仅为暂时减轻痛苦的措施，若伤势过重，急救后应速送医院。

# 实验一、从辣椒中提取分离辣椒红色素

## The Extraction of Red Pigment from Chili

实验学时：6

实验类型：综合性实验

所属实验课程名称：现代分离技术、天然产物提取工艺学实验

实验指导书名称：天然产物提取工艺学实验指导书

相关理论课程名称：有机化学，天然产物化学等。

撰稿人：徐怀德

日期：2009年3月

### 一、目的与任务

目的：通过从红辣椒中提取红色素，了解从现代分离技术分离活性有机化合物的过程和基本操作；巩固和提高实验技能与常用测试仪器设备的使用能力；培养学生综合运用所学课程知识，学会观察思考和分析实验过程的能力，为今后从事科学研究工作打下基础；掌握薄层色谱板、色谱柱的制作及用以分离技术；培养学生理论联系实际作风，实事求是，严肃认真的科学态度和良好的工作作风。

### 二、实验原理

辣椒是茄科植物辣椒的果实，因其具有独特的风味在全世界普遍种植使用。辣椒统称为 Capsicum，因产地不同其名称也有差异，产于非洲、印度和中国的辛辣刺激性强的称为 Chillies；产于西班牙、匈牙利的低辣度大辣椒称为 Paprika；辣度介于二者之间的称为 Red peppers。我国是辣椒的种植大国，全国有五、六百万亩辣椒。我国的辣椒分为福建的小米椒、四川的朝天椒、江南的羊角椒、河南的樱椒、山东的大红椒等。

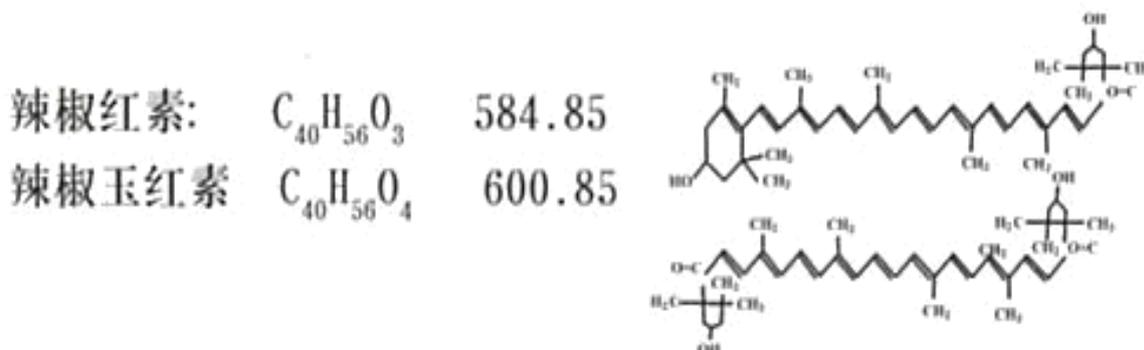
辣椒果实所含辛辣成分为辣椒碱类物质，包括：辣椒碱(Capsaicin)，二氢辣椒碱(Dihydrocapsaicin)，降二氢辣椒碱(Nordihydrocapsaicin)，高辣椒碱(Homocapsaicin)，高二氢辣椒碱 I (Homodihydrocapsaicin I)，高二氢辣椒碱 II(Homodihydrocapsaicin II)，壬酰香荚兰胺(Nonoyl vanillylamide)，辛酰香荚兰胺(Decoyl vanillylamide)，癸酰香荚兰胺(Capryl vanillylamide)。辣椒红色素包括隐黄素(Cryptoxanthin)，辣椒红素(Capsanthin)，辣椒玉红素(Capsorubin)，胡萝卜素(Carotene)；还含维生素 C，柠檬酸，酒石酸，苹果酸、蛋白质、矿物质等。种子中含有龙葵碱(Solanine)，龙葵胺(Solanidine)，以及

澳洲茄边碱(Solamargine), 澳洲茄胺(Solasodine), 澳洲茄碱(Solasonine)等生物碱。

辣椒红色素是一种存在于成熟红辣椒果实中的四萜类橙红色色素。其中极性较大的红色组分主要是辣椒红素和辣椒玉红素, 占总量的 50%~60%, 另一类是极性较小的黄色组分, 主要成分是  $\beta$ -胡萝卜素和玉米黄质。红辣椒含有多种色泽鲜艳的天然色素, 其中呈深红色素主要是由辣椒红脂肪酸酯和少量辣椒玉红素脂肪酸酯所组成, 呈黄色的色素则是  $\beta$ -胡萝卜素。

辣椒红色素不仅色泽鲜艳, 热稳定性好, 而且耐光、耐热、耐酸碱、耐氧化, 无毒副作用, 是高品质的天然色素, 广泛用于食品、化妆品、保健品等行业。

国内外辣椒红素的生产方法主要有油溶法、超临界萃取法和有机溶剂法三种。本实验是以二氯甲烷为萃取溶剂, 从红辣椒中只萃取出色素, 经浓缩后用薄层层析法作初步分析, 或用柱层析法分离出红色素, 用红外光谱鉴定并测定其紫外吸收。



目前世界各国均批准使用辣椒红色素, 国际国内市场潜力很大, 前景乐观。辣椒红是目前世界销量最大的天然色素, 也是最走俏的产品。国外主要生产国有西班牙、印度等国, 目前供不应求。美国一年需 4000t 天然色素, 其中辣椒红色素约 1000t, 日本每年需辣椒红约 500t, 加拿大、澳大利亚、新加坡、西欧市场的需求量也很大。世界每年对辣椒红色素的需求量约 8000t, 国际市场潜力很大。我国辣椒资源十分丰富, 南北均有种植, 我国每年大量出口韩国、日本、欧共体等。辣椒红色素国内市场需求很大, 国内三资企业出口产品和婴幼儿食品生产厂、饮料厂均使用天然辣椒红色素。

### 三、实验试剂与器材

实验材料：干燥红辣椒（辣椒尽量研细，提高提取效率）

试剂：二氯甲烷、硅胶 G（200~300 目）、沸石、石油醚、二氯甲烷。

标准品：辣椒红的脂肪酸酯、辣椒玉红素和  $\beta$ -胡萝卜素

仪器：100mL 圆底烧瓶、球形冷凝管、布氏漏斗、漏斗、吸滤瓶、广口瓶、色谱柱、锥形瓶、玻璃棒、200mL 烧杯、100mL 烧杯、50mL 烧杯、毛细管、滴管、滤纸、硅胶薄层板、量筒、层析缸、恒温水浴锅、循环水多用真空泵，紫外光谱仪、红外光谱仪等。

### 四、实验步骤

#### 1. 色素的萃取和浓缩

将干的红辣椒剪碎研细，称取 2g，置于 100 mL 圆底烧瓶中，加入 30 mL 二氯甲烷和少许沸石（两三粒），装上回流冷凝管，70-80℃水浴加热回流提取 30 分钟。冷至室温后抽滤。将所得滤液用水浴加热回收二氯甲烷，蒸馏浓缩至干即为混合色素的粗品（小心水进入容器，影响干燥的速度和效果）。称重，计算得率。

注意：蒸发操作应在通风橱中进行或水浴加热回收二氯甲烷，安装冷凝装置在 70~80℃水浴中蒸馏浓缩，回收溶剂。当瓶内剩余少量液体时，停止加热，将蒸馏残液转入表面皿，与沸水浴上蒸发近干，再加入少许无水乙醇驱赶残留的二氯甲烷，最后得到红色物质即为色素的混合物。

#### 2. 柱层析分离

选用内径 1 cm，长约 15-20 cm 的层析柱，检查柱旋塞是不完好，有无渗漏现象，用硅胶 20 g，再将 40-60 ml 二氯甲烷与 20 g 硅胶调成糊状（如不能调成糊状，可以多加二氯甲烷，硅胶和二氯甲烷用量可以根据柱的大小灵活调整，硅胶柱的高度达到便于加样和操作就可以），通过大口径固体漏斗加入到柱中，边加边轻轻敲击层析柱，使吸附剂装填致密，并保持层析柱中的固定相不干（其二氯甲烷液面高出砂层 2 cm 即可）。

再打开活塞，待二氯甲烷溶液液面与硅胶上层的砂层平齐时，柱装好后用滴管汲取混合色素的浓缩液（或蒸干的色素液用 0.5-1 ml 二氯甲烷溶解），用一根较长的滴管将混合色素液加入柱顶（注意：上样不宜太），再打开旋塞，待色素溶液液面与硅胶上层的砂层平齐时，用一根较长的滴管缓缓注入

少量洗脱剂（二氯甲烷），然后，小心冲洗内壁后用二氯甲烷混合液淋洗，观测记录色素的分离情况，并用不同的接收瓶分别接收先流出柱子的色带。当色带完全流出后停止淋洗。将相同颜色组分的接收液合并。回收溶剂蒸发操作应在通风橱中进行或水浴加热回收二氯甲烷，安装冷凝装置在 70~80℃ 水浴中蒸馏浓缩，回收溶剂也可以用旋转蒸发器蒸发浓缩，收集色素。

有兴趣的同学，可以把收集的不同色素组分继续进行二次色谱层析分离，进一步观测分离效果，方法同上。

### 3. 柱效和色带的薄层检测

取三块硅胶薄层板，划好起始线，用不同的平口毛细管点样。每块板上点两个样，其中一个为混合色素浓缩液，另一个分别为第一、第二、第三色带。仍用体积比为 1:3 的石油醚：二氯甲烷混合液作展开剂展开。展开后记录各斑点的大小、颜色并计算其  $R_f$  值，比较各色带的  $R_f$  值，如有标准品辣椒红的脂肪酸酯、辣椒玉红素和  $\beta$ -胡萝卜素对照，指出各色带是何化合物。观察各色带点样展开后是否有新的斑点产生，推估柱层析分离是否达到了预期效果。

### 4. 红色素的红外光谱鉴定和紫外吸收

将柱中分得的红色带浓缩蒸发至干，充分干燥后用溴化钾压片法作红外光谱图，与红色素纯样品的谱图相比较，并说明在 3100~3600  $\text{cm}^{-1}$  区域中为什么没有吸收峰。

用自己分得的红色素作紫外光谱，确定  $\lambda_{\text{max}}$ 。

## 五、注意事项

1. 本展开剂一般能获得良好的分离效果。如果样点分不开或严重拖尾，可酌减点样量或稍增二氯甲烷比例。

2. 不可用同一支毛细管汲取不同的样液。

3. 回流速度不可过快，以防浸泡提取不充分

4. 尽量将溶剂蒸干

5. 回收溶剂的温度不宜过高，以防止溶剂爆沸。

## 六、实验安排、考核与成绩评定

实验安排方式：本实验为专业实验，每组 2-4 人。

考核与成绩评定：

实验前提问占总成绩 10%，实验动手能力和实验态度占总成绩 40%，实验报告及实验结果占总成绩 50%；或者根据实验报告及实验结果评定实验成绩。

### 七、思考题

1. 层析柱中有气泡会对分离带来什么影响？如何除去气泡？
2. 层析过程中有时会出现“拖尾”现象，一般由什么原因造成的？对层析结果有何影响？如何回避“拖尾”现象？
3. 如果样品不带色，如何确定斑点的位置？举 1~2 个例子说明。
4. 把收集的不同色素组分继续进行二次层析分离，分析一下你会观测到什么样的分离现象？

注：溴化钾压片法此法是红外光谱中最常用的样品制备方法。取供试品约 1mg，置玛瑙研钵中，加入干燥的溴化钾或氯化钾细粉约 200mg，充分研磨均匀，置于直径为 13mm 的压模中，使铺布均匀，抽真空约 2min 后，加压至 0.8~1GPa，保持 2~5min，除去真空，取出制成的供试片，用目视检查应均匀透明，应无明显颗粒状样品。

使用前，KBr 应研磨并经 200 过筛，120℃干燥 4 小时，放磨口瓶中并置干燥器内保存备用。由于 KBr 极易吸水，当发现磨口瓶中的 KBr 粉末已结成团块时，应重新干燥后再用。对 KCl 的要求同 KBr。

样品的研磨宜适中，研磨不够易造成光谱基线倾斜，而研磨过度则会导致转晶或晶格烦人破坏，所以研磨的时间和力度应适当控制。为避免或减弱研磨对晶格的破坏，以样品和 KBr 混匀后研磨为好。通常，压制的药片若透明均匀而且用它录制的光谱基线平直，即表明研磨适中。

如样品或 KBr 含水量较高，压片时抽气不够，研磨不够等因素均可影响药片的透明度。

## 实验二 从槐米中提取芸香甙与定性反应

实验学时：3

实验类型：普通实验

所属实验课程名称：现代分离技术、天然产物提取工艺学实验

实验指导书名称：天然产物提取工艺学实验指导书

相关理论课程名称：有机化学，天然产物化学等。

撰稿人：徐怀德

日期：2009年3月

### 一、目的要求

1. 以芦丁为实例学习黄酮类化合物的提取分离方法。
2. 掌握黄酮类化合物的主要性质及黄酮苷、苷元和糖部分的检识方法。
3. 掌握由黄酮苷水解制取黄酮苷元的方法。
4. 学习聚酰胺 TLC 法在黄酮类化合物中的应用。

### 二、实验原理

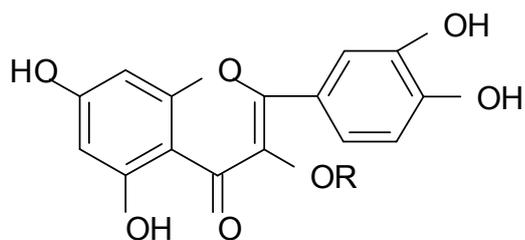
槐花米系豆科槐属植物 (*Sophora japonica* L.) 的未开放花蕾。味苦，性凉。具凉血止血之功效，历来作为止血药物治疗痔疮、子宫出血、吐血、鼻血等。其所含主要成分为芦丁 (Rutin, 亦称芸香苷)，其含量高达 23.5%，槐花开放后降至 13.0%。芦丁为维生素 P 类药物，药理试验证明其有调节毛细血管渗透作用，临床用于治疗毛细血管脆性引起的出血症，也用于高血压症的辅助药物。此外，芦丁还可作为制药原料，用于制造槲皮素 (Quercetin)、羟乙基槲皮素、羟乙基芦丁、二羟乙基芦丁等。

芦丁广泛存在于植物中，现已发现含芦丁的植物达 70 种以上，本实验以槐花米为原料提取芦丁。

由槐米提取芦丁的方法有水或醇浸提法，热、冷碱浸提酸沉法，每法各有优缺点。前者所需时间长，后者有一定水解产物存在。为克服这些缺点，已多采用超声提取，利用强力超声波发生“空化”现象的瞬间所产生的强大冲击力，使药材组织中的分子在不被破坏结构的情况下，更快的与组织剥离，继而分散溶解在溶剂中，从而提高溶出的速度和溶出率。

#### 1. 槐米中主要成分的物理性质：

##### (1) 芦丁



R=芸香糖

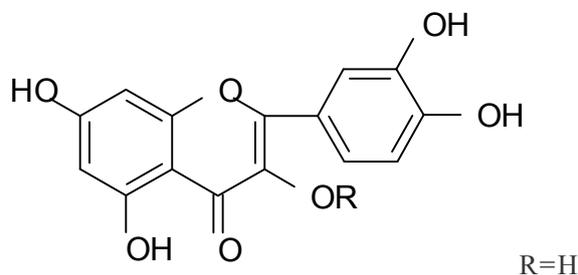
浅黄色粉末或极细的针状结晶，熔点：含三分子结晶水物 177℃—178℃；无水物为 188℃

溶解度见下表：

	水	甲醇	乙醇	吡啶
冷	1: 8000	1: 100	1: 300	1: 12
热	1: 200	1: 10	1: 30	易溶

不溶于乙醚、氯仿、石油醚、乙酸乙酯、丙酮等溶剂。易溶于碱液且呈黄色，酸化后复析出。可溶于浓硫酸和浓盐酸且呈棕黄色，加水稀释复又析出。

(2)槲皮素 (Quercetin) :



黄色结晶，熔点：含两分子结晶水物 313℃—314℃，无水物 316℃。

溶解度：可溶于甲醇、乙醇、乙酸乙酯、冰醋酸、吡啶、丙酮等溶剂，不溶于水、乙醚、苯、氯仿、石油醚。

2. 提取分离原理：

(1) 利用芦丁可溶于热水，难溶于冷水的性质进行提取；再利用芦丁在热乙醇和冷乙醇中溶解度差异较大的性质进行精制。

(2) 利用芦丁可被稀酸水解，生成苷元和糖，通过纸色谱和薄层色谱进行检识。

### 三、实验试剂与器材

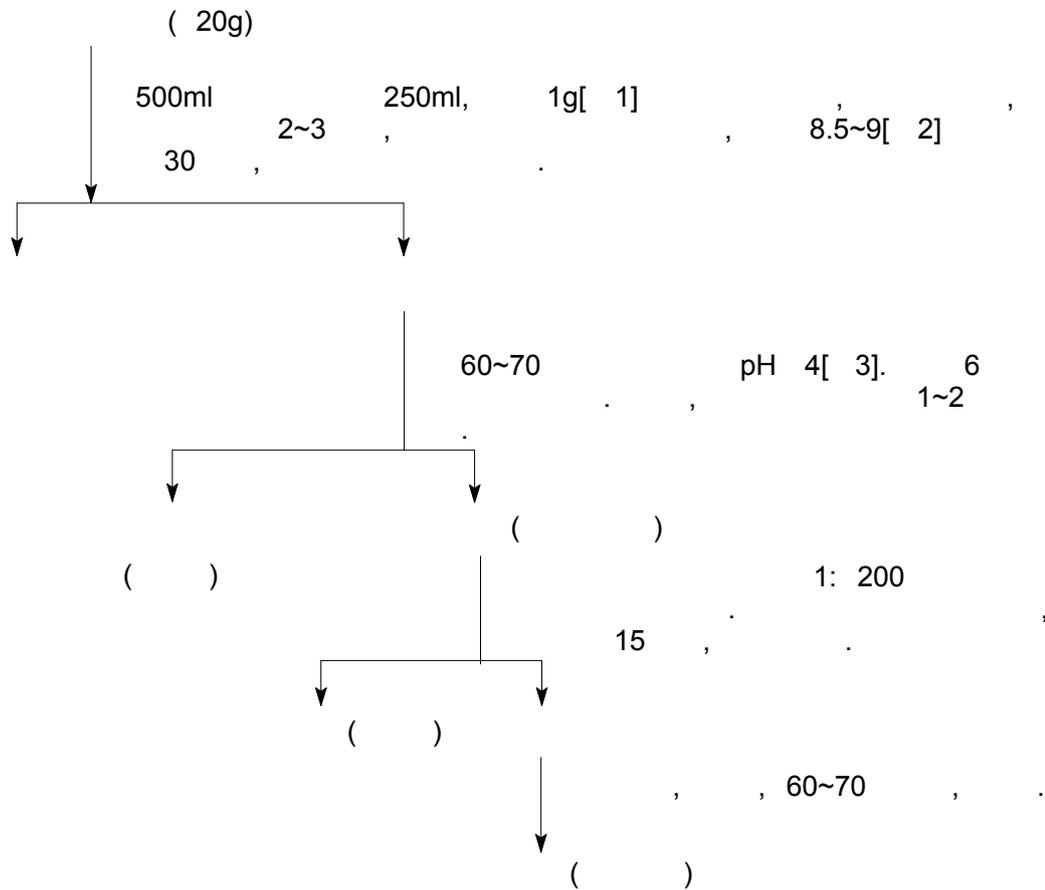
实验材料：槐米、槲皮素和芦丁标准品

试剂：蒸馏水、碳酸钙、浓盐酸、镁粉、pH试纸、1%氢氧化钠、浓硫酸、 $\alpha$ -萘酚试剂、50%乙醇、1%三氯化铝-甲醇试剂、1%醋酸镁-甲醇试剂、1%槲皮素标准品；1%芸香甙标准品、正丁醇、冰醋酸、水、苯胺-邻苯二甲酸试剂、石灰乳、硼砂。

仪器：500ml 烧杯、研磨、脱脂棉、滤纸、布氏漏斗、吸滤瓶、广口瓶、试管、玻璃棒、200mL 烧杯、100mL 烧杯、滴管、硅胶薄层板、量筒、层析缸、硅胶薄层板、循环水多用真空泵电子天平、电热套 等。

#### 四、实验内容

##### 1. 芸香甙的提取：



注 1: 硼砂因能与芦丁结合, 起保护邻二酚羟基, 不被氧化破坏的作用, 实验证明, 提取时加入硼砂, 产品质量要好些。

注 2: 加石灰乳既能达到碱溶解提取芦丁的目的, 还可以除去槐花米中大量的粘液质和酸性树脂 (形成钙盐沉淀), 但 pH 不能过高和长时间煮沸, 因为会导致芦丁的降解。

注 3: pH 过低会使芦丁形成锌盐而降低收率。

## 2. 芸香甙的精制:

取粗制芸香甙 2g, 置 500ml 烧杯中, 加蒸馏水 400ml, 加热煮沸, 趁热抽滤。滤液放置过夜, 析晶, 抽滤, 得精制芸香甙。

## 3. 芸香甙的水解:

称取精制芦丁约 2g, 研细, 加  $H_2SO_4$  150ml, 投入 500ml 锥形瓶中, 放沸石, 直火沸腾后, 保持 2 小时, 放冷后抽滤, 滤液保留作糖份的鉴定, 水洗沉淀后, 粗品用 95%乙醇大约 20ml 回流溶解, 趁热过滤, 放置, 加水至 50%左右浓度, 得黄色针晶, 即为芸香甙的水解产物槲皮素, 继续加热至结晶物不再增加时为至。抽滤, 保留滤液 20ml, 以检查滤液中的单糖。所滤得的槲皮素粗晶加 70%乙醇 80ml, 加热回流使之溶解, 趁热过滤, 放置析晶, 抽滤得精制槲皮素。减压下 110℃干燥, 即可得到槲皮素无水物。

## 4. 芸香甙、槲皮素及糖的检识:

(1) 氢氧化钠试验: 取芸香甙少许置于试管中, 加水 2ml 振摇, 观察试管中是否有变化。滴加 1%氢氧化钠溶液数滴, 振摇使其溶解, 溶液呈透明黄色。再加入 1%盐酸溶液数滴, 使其呈现酸性反应, 则溶液由透明转为混浊状态。

(2)  $\alpha$ -萘酚-浓硫酸试验: 取芸香甙少许置于试管中加乙醇 1ml 振摇, 加

$\alpha$ -萘酚试剂 2—3 滴振摇，倾斜试管，沿管壁徐徐加入 0.5ml 浓硫酸，静置，观察二层溶液界面变化，应出现紫红色环。

(3) 盐酸—镁粉试验：取芸香甙少许置于试管中，加 50%乙醇 2ml，在水浴中加热溶解，滴加浓盐酸 2 滴，再加镁粉约 50mg，即产生剧烈的反应。溶液逐渐由黄色变为。

(4) 三氯化铝试验：取芸香甙流放置于试管中，加甲醇 1—2ml，在水浴锅上加热溶解，加 1%三氯化铝—甲醇试剂 2—3 滴，溶液呈现鲜黄色。取槲皮素按上述步骤同样进行试验。

(5) 醋酸镁试验：取芸香甙少许置于试管中，加入甲醇 1—2ml，在水浴中加入溶解，加 1%醋酸镁—甲醇试剂 2—3 滴，溶液有黄色荧光反应。取槲皮素按上述步骤同样进行试验。

(6) 芸香甙和槲皮素的纸层析检识：

支持剂：新华层析滤纸（中速、20×7cm）或硅胶薄层板

样 品：自制 1%芸香甙乙醇溶液；自制 1%槲皮素乙醇溶液。

对照品：1%槲皮素标准品；1%芸香甙标准品乙醇溶液。

展开剂：正丁醇：冰醋酸：水（4：1：1）或者 15%醋酸水溶液。可以选择二组同学改变展开剂组成，如用正丁醇：冰醋酸：水（2：2：1）观测比较展开结果。

显色剂：分三步：可见光下观察颜色；紫外灯下观察荧光；喷三氯化铝试剂呈黄色斑点。

(7) 糖的纸层析检识：取上述芸香甙水解后的母液 20ml，加入氢氧化钡细粉（约 2.6 克）中和至 pH7，滤除生成的硫酸钡沉淀（可用滑石粉助滤）。滤液在水浴中浓缩至 1—2ml，供纸层析点样用。

支持剂：新华层析滤纸（中速、20×7cm）。

样 品：水解浓缩液。

对照品：葡萄糖标准品水溶液；鼠李糖标准品水溶液。

展开剂：正丁醇：冰醋酸：水（4：1：5 上层）。

显色剂：喷苯胺—邻苯二甲酸试剂，于 105℃ 加热 10 分钟，显棕斑点；

喷胺性硝酸银试剂，于 100℃ 左右加热，呈棕褐斑点。

## 五、实验说明及注意事项

1. 本实验直接用沸水从槐米中提取芸香甙，收得率稳定且操作简便。
2. 在提取前应注意 将槐米略捣碎，使芸香甙易于被热水提出。
3. 用浓盐酸调节 pH4—5 时，勿过度酸化，如 pH 值过低，会降低芸香甙有收得率。
4. 槲皮素以乙醇重结晶时，如所用乙醇浓度过高（90%以上），一般不易析出结晶。此时可于乙酸溶液中滴加适量蒸馏水，使呈微浊状态，放置，槲皮素即可析出。

#### 六、实验安排、考核与成绩评定

实验安排方式：本实验为专业实验，每组 2-4 人。

考核与成绩评定：

实验前提问占总成绩 10%，实验动手能力和实验态度占总成绩 40%，实验报告及实验结果占总成绩 50%；或者根据实验报告及实验结果评定实验成绩。

#### 七、思考题

1. 黄酮类化合物有哪些提取方法？本实验为什么用沸水煮提？
2. 分析在芦丁水解过程中观察到的现象。
3. 本实验中各色谱的原理是什麼？分析化合物结构与  $R_f$  值的关系。
4. 如何利用芦丁制备生产槲皮素和鼠李糖。

#### 注：试剂配制

(1) 无水甲醇：用分析纯的甲醇，加入 10%CaO，放置 24 小时后，加热回流 1 小时，回流时冷凝管顶端应安装  $\text{CaCl}_2$  干燥管，然后蒸馏得无水甲醇。

(2) 甲醇钠溶液：取金属钠 0.25g，切碎，小心加入无水甲醇 10ml 中，此溶液贮存于玻璃瓶中，用橡皮塞密封。

(3) 氢氧化钠溶液：取 2.0g NaOH，加 10ml 水溶解。

(4) 三氯化铝溶液：2.5g 无水三氯铝小心地加入无水甲醇 250ml 中，放置 24 小时后全溶即得。

(5) 醋酸钠：用无水粉状醋酸钠。

(6) 硼酸饱和液：将无水硼酸加入适量无水甲醇，制成饱和溶液。

依照上述方法制备的各贮备液，可存放使用 6 个月。