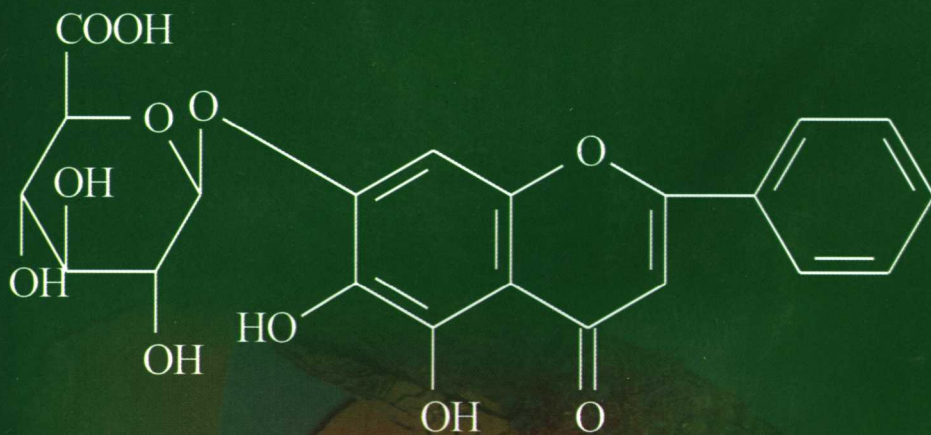


高等院校技术课程新体系试用教材

天然产物提取分离与鉴定技术

TIANRAN CHANWU TIQU FENLI YU JIANDING JISHU

主编 王俊儒 审校 朱 玮



西北农林科技大学出版社

中国医药出版社
CHINA MEDICAL SCIENCE PUBLISHING HOUSE

天然产物提取分离与鉴定技术

主编 王保生 副主编 王保生 王保生 王保生



中国医药出版社 北京 100029

天然产物提取分离与鉴定技术

主 编 王俊儒
编 者 王俊儒 高锦明 张玉林
董娟娥 张继文 张 涛
耿会玲 龚月桦 季晓晖
审 校 朱 玮

西北农林科技大学出版社

内 容 简 介

本书分两篇,共8章,既涉及有天然产物成分化学,也有天然产物分析、中药提取工艺技术、资源化学、资源综合利用和天然产物合成内容。第一篇为天然产物化学实验技术原理,主要包括天然产物化学实验操作与安全防护知识,常规提取分离与纯化技术简介,现代提取技术和现代分离分析技术进展等4章内容。第二篇是天然产物研究各论,主要包括有效成分分离纯化与鉴定实验,天然活性成分定量分析,综合实验和设计型实验等4章内容。其中涉及数十种药用资源植物,还有真菌、昆虫等资源,涵盖黄酮、生物碱、有机酸、皂苷等各类次生代谢产物的现代提取技术和现代分离分析方法,也有天然物衍生制备等实验内容。每章末列有进一步阅读的文献,为深入研究提供参考。

本书引用了编者多年研究积累的实验方法,也吸收了近年许多新颖的实验技术和分离工艺研究资料。书中既有常规实验以加强基础技能训练,又有综合实验和设计型实验。每个实验提供多种提取方案和检测鉴定方法,并贯穿工艺设计思路。

本书可作为农林院校生物学科、食品加工、林产品加工及应用化学等专业高年级本科生和研究生天然产物化学实验、植物化学实验、野生资源加工工艺等多门技术课程选用教材。同时对于中药制药企业科研人员进行中药材质量检测也是一本实用参考书。

图书在版编目(CIP)数据

天然产物提取分离与鉴定技术/王俊儒主编. —杨凌:西北农林科技大学出版社,2005
ISBN 7-81092-241-6

I. 天… I. 王… III. ①植物—提取—高等学校—教学参考资料②植物—分离—高等学校—教学参考资料③植物—鉴定—高等学校—教学参考资料 IV. Q946

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 136165 号

天然产物提取分离与鉴定技术 王俊儒 主编

出版发行 西北农林科技大学出版社
地 址 陕西杨凌杨武路3号 邮 编:712100
电 话 总编室:029-87093105 发行部:029-87093302
电子邮箱 press0809@163.com
印 刷 西安华新彩印有限责任公司
版 次 2006年5月第1版
印 次 2006年5月第1次
开 本 787mm×1092mm 1/16
印 张 10.75
字 数 248千字

ISBN 7-81092-241-6/Q·5

定价:17.50元

本书如有印装质量问题,请与本社联系

前 言

近十年来天然产物化学在成分化学,资源化学,应用化学,指纹图谱,天然产物合成,高通量筛选等领域取得了长足的进展。伴随中药现代化、GAP 规范、GMP 规范等实施,天然产物化学学科定会在促进科学家和企业家有效利用我国丰富的天然产物资源,研发出对人类健康有用的产品方面做出重要贡献。《天然产物提取分离与鉴定技术》一书正是为了适应学科发展的新形势,配合高等农林院校新专业调整和各专业新教学计划的实施,满足农林院校生物学科、应用化学、林产化工、食品工程、植物毒素、植物源农药等领域的高年级本科生和研究生教学需要而编写的。

本书包括天然产物成分化学、天然产物分析、中药提取工艺技术、资源应用化学和天然产物合成等方面的内容,在选材上既注意了各种类型的次生代谢产物,又兼顾了近年研究中较为热门的一些资源性材料。书中所涉及的实验方法有一些是编者多年研究工作的积累,同时也吸收了许多新颖的技术、方法以及提取分离工艺资料。在体系编排上,先是技术原理和研究进展部分,其后是各类天然产物(包括纯品和高质量提取物)的提取分离和鉴定,并增加了定量分析实验,最后是综合性实验和设计性实验(其中有少量天然结构改造实验内容)。本书围绕有效成分的预试、提取、分离与鉴定技术,重在介绍其原理、资源背景知识和实验方法。在有效成分的提取分离方面,采用多种现代提取和分离技术,并贯穿了工艺设计的思路,对提取分离的天然产物,在每一步骤都注意了提取产品的定性和定量检测,所提供的检测方法也有数种,便于比较和选用,以期达到拓宽学生的思维空间,培养学生的实验兴趣,提高其实际操作能力和科学素养的目的。每章末列有进一步阅读的文献,为深入研究提供参考。在实验中涉及部分试剂的配制附录于书末。

本书为西北农林科技大学《植物化学》校级精品课程项目建设内容之一,是高锦明教授主编的《植物化学》(科学出版社,2003)配套技术课程教材,可作为农林院校生物学科、食品加工、林产化工以及应用化学等专业高年级本科生天然产物化学实验、植物化学实验等多门技术课程的试用教材。其中许多实验也适于相关领域的硕士生植物化学实验和天然产物化学实验等选用。

参加本书编写的有王俊儒、高锦明、张玉林、董娟娥、张继文、张涛、耿会玲、龚月桦、季晓晖等同志,植物学点硕士生胡志彬、张义英、张普照、杨俊峰等参与了资料收集和化学结构绘制工作,最后由王俊儒、张玉林和张继文统稿,朱玮教授审校。

本书在编写过程中得到西北农林科技大学生命科学学院和教材科有关领导和同志们的大力支持,南京药科大学周荣汉教授,本校生命科学学院梁宗锁教授、马希汉教授、马柏林教授、周文明副教授、汪玉秀副教授等提出了许多宝贵建议,西北农林科技大学出版社张行勇编审对植物学名作了认真核对,并对有关内容提出了重要建议,国家生命科学基地班庞珂佳、贺甜甜、史晓燕等同学参与部分文字校对工作,在此一并致谢。

在本书撰写过程中,由于水平所限,不当之处在所难免,恳请读者给予批评指正。

西北农林科技大学

《天然产物提取分离与鉴定技术》编写组

2005年6月

目 录

第一篇 天然产物化学实验技术原理

第 1 章 天然产物化学实验操作与实验安全防护	(1)
1.1 做好天然产物化学实验的意义	(1)
1.2 实验安全与防护知识	(3)
第 2 章 常规提取与分离纯化技术简介	(6)
2.1 有效成分常规提取方法	(6)
2.2 有效成分的分离纯化技术与方法	(7)
第 3 章 现代提取技术	(14)
3.1 超声促提技术	(14)
3.2 微波辐射诱导促提技术	(16)
3.3 超临界流体萃取技术	(17)
3.4 吸附技术	(18)
第 4 章 现代分离分析技术	(22)
4.1 色谱分离技术简介	(22)
4.2 膜分离技术	(23)
4.3 双水相萃取技术	(27)
4.4 气相色谱法简介	(28)
4.5 高效液相色谱技术	(29)
4.6 制备色谱技术进展	(36)
4.7 分离分析方法和处理条件对植物成分结构的影响	(37)

第二篇 天然产物成分研究各论

第 1 章 有效成分的分离纯化与鉴定	(41)
实验 1.1 薄层层析与纸层析检测有效成分	(41)
实验 1.2 植物体中化学成分的单项预试与系统预试	(46)
实验 1.3 药用植物成分的定性鉴定法	(53)
实验 1.4 八角茴香油的提取与鉴定	(57)
实验 1.5 丁香油的提取与鉴定	(60)
实验 1.6 盐酸小檗碱的提取分离与鉴定	(62)
实验 1.7 芦丁的提取、纯化与鉴定	(66)
实验 1.8 黄芩苷的提取鉴定	(69)
实验 1.9 从橙子果皮中分离橙皮苷	(74)
实验 1.10 从芝麻油中分离芝麻素和芝麻脂素	(76)
实验 1.11 穿心莲内酯与新苷的提取分离	(79)
实验 1.12 薯蓣中薯蓣皂苷元的提取、精制和检识	(84)

实验 1.13	人参总皂苷的提取与精制	(87)
实验 1.14	虎杖中大黄素的提取与鉴定	(91)
实验 1.15	β -胡萝卜素和番茄红素的提取分离与测定	(94)
实验 1.16	果胶的提取与精制	(98)
第 2 章	天然活性成分的定量分析	(103)
实验 2.1	银杏叶总黄酮定量测定	(103)
实验 2.2	橙皮苷的分离纯化与分析测定	(106)
实验 2.3	植物中糖类的分离鉴定与定量测定	(110)
实验 2.4	中药材中多糖含量的测定	(114)
实验 2.5	原花青素的含量测定	(118)
第 3 章	综合实验	
综合实验 A:	绿原酸的分离纯化及样品中绿原酸分析测定	(125)
实验 3.1	绿原酸的分离纯化	(125)
实验 3.2	纸层析-紫外分光光度法测定样品中绿原酸含量	(129)
实验 3.3	纸层析-可见分光光度法测定绿原酸	(131)
实验 3.4	高效液相色谱法测定植物样品中的绿原酸	(133)
综合实验 B:	丹参醌类和丹参素类提取纯化与定量分析测定	(135)
实验 3.5	丹参醌类提取与鉴定	(135)
实验 3.6	丹参素类的提取与鉴定	(139)
实验 3.7	样品中丹参醌类和丹参素类定量分析	(142)
综合实验 C:	苦皮藤素母体分离与衍生物合成	(145)
实验 3.8	苦皮藤素母体分离与鉴定	(145)
实验 3.9	苦皮藤素母体结构改造与衍生物制备	(148)
第 4 章	设计型实验	(151)
实验 4.1	不同资源的苦皮藤素类母体提取及其结构改造	(151)
实验 4.2	葛根素的提取分离与检测	(152)
实验 4.3	天麻素的提取分离与检测	(154)
实验 4.4	天然色素的提取与检测	(155)
实验 4.5	丹参醌类和丹参素类的联合提取	(156)
实验 4.6	斑蝥素的提取与结构修饰	(157)
实验 4.7	蜡梅生物碱的分离与生物活性	(158)
实验 4.8	昆虫信息素的提取与结构鉴定	(159)
附录	常用检出试剂、显色剂及配制方法	(161)

第一篇 天然产物化学实验技术原理

第1章 天然产物化学实验操作与实验安全防护

1.1 做好天然产物化学实验的意义

天然产物化学是一门运用现代物理、现代化学和现代生物学的理论和方法来研究天然来源(动物、植物、微生物)产物中化学成分的学科,其研究对象主要是植物体内的次生物质,如生物碱类、苷类、萜类等。它是与植物化学、天然药物化学、中草药化学、植物生物化学等学科关系紧密,且相互交叉的一个分支学科,主要涉及生物体合成和累积的大量次生物质,研究这些化学成分的组成和化学结构特征、生物合成过程、在体内的周转与代谢、天然分布规律及其生物功能等,是天然产物化学研究的基本内容。目前,天然产物化学涵盖天然产物成分化学、天然产物分析化学、天然产物资源化学、天然产物合成化学和天然产物应用化学等内容。

生物体化学组成成分极其复杂,化合物种类很多,包括初生物质和次生物质,如糖类、核酸、油脂、蛋白质、挥发油、色素、有机酸、鞣质、植物胶、生物碱、甾体、黄酮、苷类等多种成分,且含量变化较大。具有明显生物活性并起医疗作用的常称为有效成分,其中有些是初生物质,有些是次生物质。例如,植物体中产生的对其他生物有毒害作用的化学物质称为有毒成分,又称为植物毒素。从积极意义方面来考虑,很多植物毒素的毒性作用往往与药理作用相关联,即小剂量有治疗作用,大剂量则导致中毒。另外,天然产物的有效与无效并不是一成不变的、绝对的。随着新方法、新技术、新设备的广泛应用,很多有效成分结构陆续被阐明,一些原来被认为是无效成分的,因发现了其新的生物活性而被视为有效成分,因此有效成分的概念已逐渐延伸到已知的生物体化学成分的各个类别领域中。如某些脂肪、蛋白质、多糖组分因具有抗癌活性而被认为是有效成分;鞣质在中草药中普遍存在,一般对治疗疾病不起主导作用,被视为无效成分,但在五倍子、虎杖、地榆中因其含量较高并有一定生物活性而成为有效成分。天然产物化学所涉及的知识面较广,因此学习天然产物化学不可能按照认识的漫长过程,对每个化合物的结构特征、性质及提取分离、检测过程都一一尝试,而只要求学习各类典型化合物的结构特征和性质,按结构骨架和官能团的典型特征分门别类地去认识。书本知识的学习缩短了认识事物的过程,使我们在较短时间内对天然产物化学所涉及各类化合物和基本研究方法有一些了解,但这种基本知识的学习缺乏感性认识,即对符号和推理有较深的印象,而对具体化合物则知之甚少。

要增强感性认识,加深实际体验有两种途径:一种是进实验室做实验,研究次生物质,以提高科学思维能力和动手能力;另一种是在生产和实践过程中认知天然产物化学的丰富内容,尤其是现代社会生活离不开能源、材料、药品等物质,且丰富的生物资源又给人们提供了物质生活基础。化学科学的发展特别是对植物资源的研究开发和利用给人们带来了高效低毒的植物性农药、丰富可口的食品以及治病保健的医药品,但与此同时也造成了环境污染,资源枯竭等生态危机。

对每个人来说学习方法不尽相同,有的人善于记忆化合物的结构和性质,有的人习惯

于理解规律。实际上记忆和理解都是不可缺少的。在记忆的基础上理解,在理解的基础上加深记忆。实验不仅是印证书本知识,而更重要的是让我们在提出问题的过程中解决问题并发现新的问题,从而培养科学的求知习惯,有助于以后解决更复杂的科学问题和实际问题,并因此有所创新。许多科学家就是在探讨前人未能解决的问题过程中有所发现和创造的。

要做好天然产物化学实验,必须做好以下两方面的工作。

1.1.1 明确实验目的和意义

对于实验技术性课程来说,如果没有目的,不带着问题去做,就不会产生任何兴趣,也无法做好实验,根本无从谈起培养各方面的技能,更与创新无缘。化学是一门以实验为基础的学科,许多化学的理论与规律都来自实验结果。这些理论与规律的应用与评价,也需要依据实验的探索和检验。

通过做天然产物化学实验,要达到四个方面的目的:一是通过观察实验中定性反应的现象获得对生物体中化学成分的感性认识,为有效成分的成功提取分离打好基础;二是通过大量具体实验操作,掌握各类重要化合物的提取、分离、鉴定、检测的技术和方法;三是在培养观察力和动手操作能力的过程中,培养和提高学生独立思考和独立工作的能力,并通过准确地观察记录实验现象、正确处理分析实验数据和用文字表述实验结果,培养对科学信息的综合能力和表达能力,为科学研究创新能力的培养打下基础;四是通过具体的实验操作,掌握实验室工作的有关知识,提高自身安全防护意识,培养处理事故的应急能力。

1.1.2 积极参与整个实验过程

要达到上述目的,需要积极参与整个实验过程。整个实验过程包括实验预习、实验操作、数据记录与处理、实验室卫生维护、实验报告撰写等。

(1) 实验预习

实验课要求学生既要动手做实验,又要动脑思考问题,因此实验前必须做好预习。预习时应做到:认真阅读实验教材、有关教科书和参考资料,查阅有关数据;明确实验目的和基本原理;了解实验内容、实验步骤和实验过程中应注意的问题;熟悉安全注意事项;在此基础上写出实验预习笔记,内容包括实验题目、实验操作简要步骤、应记录的数据、实验注意事项等。实验前对实验各个过程和操作做到心中有数,对所涉及的基本知识了解掌握,才能使实验顺利进行,达到预期的效果。

(2) 实验操作与数据记录处理

学生在教师指导下独立地进行实验操作是实验课教学的核心环节。应按实验指导中所提示的步骤、方法、操作程序进行。实验操作要准确到位。若根据实际条件改用新的实验方案,应经教师批准后方可进行。整个实验操作要求做到下列4点。

① 严格按实验方法,准确操作,细心观察现象。

② 对定量实验操作,取用试剂、加样等要准确,操作手法规范到位。

③ 实验过程中应勤动手勤思考,仔细分析问题,力争自己解决问题,但遇到疑难问题自己难以解决时,可请教师指点。

④ 尊重实验事实,及时如实详细记录实验现象和测定的数据。如果发现实验现象和理论不符合,或实验数据反常,要认真分析查找相关原因,也可以做对照试验、空白试验或

自行设计实验来核对,必要时应重做验证,从中得到有益的结论。实验操作结束后,进一步对数据统计或正确计算处理,以得出合理结论。

(3) 实验室安全与卫生维护

在实验过程中,严格遵守实验室工作规则,人身安全第一。经常保持实验台面整洁。废纸、火柴梗和碎玻璃等废弃物应倒入垃圾箱内,酸性废液应倒入废液缸内,切勿倒入水槽,以防堵塞或锈蚀下水管道。碱性废液倒入水池并用水冲洗。各种仪器用完后应洗净放归原处。

(4) 实验报告撰写

撰写实验报告是对所作试验和相关知识进行归纳和提高的过程,也为以后论文的撰写打下基础。实验报告的内容一般应包括实验目的、原理、装置图、实验内容与步骤、实验现象与数据处理、结果(结论)、注意事项、讨论与建议、思考题解答等要目。实验报告的撰写应简明扼要,文字简洁,表达准确无误。其中讨论部分对于学生总结实验结果、激发学习兴趣、提高自身认识具有促进作用。这是一个明理、探索、求真的过程,因而在实验教学中常用。尤其是对实验过程中发现的异常现象或结果处理时出现的异常结论,也应在实验报告中以书面的形式展开讨论,以求提高。为方便学生进一步明确实验原理、操作要点、注意事项和加深对实验现象及结果的理解,在实验前后指导教师一般设计有各种形式的讨论,以加强实验教学的效果。

1.2 实验安全与防护知识

在实验中按规程正确操作和使用实验室仪器设备,爱护国家财物。保持肃静,注意节约水、电和煤气,保持实验台面的干净整洁,物品摆放有序,有水渍污物及时擦干净。实验柜内仪器应存放有序,清洁整齐。保持整个实验室的整洁和安全。实验结束后关好水、电、气等。植物化学实验中所使用的化学药品,多数是易燃、易爆、有腐蚀性和有毒的物品。因此,熟悉一般的安全知识,重视安全规范操作是非常重要的。实验时,要严格遵守关于水、电、煤气和各种仪器、药品的使用规定。

(1) 人身安全第一

注意安全不仅仅是个人的事情,发生了事故不仅损害个人的健康,还要危及周围他人的生命安全,并使国家的财产受到损失,影响工作的正常进行。因此思想上不能麻痹大意,而应高度重视,而且在实验前应了解仪器的性能和药品的性质以及本实验中的安全事项。在实验过程中,要集中注意力,并严格遵守实验室安全守则,以防意外事故发生。有时个别同学出于好奇心理,随意混合各种化学药品,极容易造成事故,这是绝对禁止的。

(2) 学会一般救护措施

一旦出现意外事故时应保持镇静,不要惊慌失措,及时采取应急措施,越早越好;若有烧伤、烫伤、割伤时应立即报告教师,并及时进行适当地急救处理。为了对意外事故进行紧急处理,实验室应配备急救药箱,常备药品有:红药水;碘酒(3%);烫伤膏;甘油;消炎粉;碳酸氢钠溶液(饱和);饱和硼酸溶液;醋酸溶液(2%);氨水(5%)等。

实验室紧急事故的处理方法有8种。

①玻璃创伤 伤处不能抚摸,也不能用水洗涤。应先把碎玻璃从伤处挑出。轻伤可涂

紫药水(或红汞、碘酒),必要时撒些消炎粉或敷些消炎膏,用绷带包扎。

②烫伤 不要用冷水洗涤伤处。伤处皮肤未破时可涂擦饱和碳酸氢钠溶液或用碳酸氢钠调成糊状敷于伤处,也可抹些獾油或烫伤膏;如果伤处皮肤已破,可涂些紫药水或10%的高锰酸钾溶液。

③酸腐蚀致伤 先用大量水冲洗,再用饱和碳酸氢钠溶液(或稀氨水、肥皂水)轻轻清洗,最后再用水冲洗,如果酸溅入眼内,用大量水冲洗后,送医院诊治。

④碱腐蚀致伤 先用大量水冲洗,再用2%醋酸溶液或饱和硼酸溶液冲洗。如果碱溅入眼中,应立即用硼酸溶液冲洗。

⑤吸入刺激性或有毒气体 吸入氯、氯化氢气体时,可吸入少量酒精和乙醚的混合蒸气使之解毒。吸入硫化氢或一氧化碳气体而感到不适时,应立即到室外呼吸新鲜空气。值得注意的是氯、溴中毒不可进行人工呼吸。

⑥毒物进入口内 把5~10 mL稀硫酸铜溶液加入一杯温水中,内服后,用手指伸入咽喉部,促使呕吐,吐出毒物,然后立即送医院诊治。

⑦触电 首先切断电源,然后在必要时进行人工呼吸。

⑧起火 起火后,要立即边灭火,边防止火势蔓延(如采取切断电源,移走易燃药品等措施)。灭火时要针对起因选用合适的方法。一般的小火可用湿布、石棉布或砂子覆盖燃烧物,即可灭火。火势大时可使用泡沫灭火器。但电器设备所引起的火灾,只能使用二氧化碳或四氯化碳灭火器灭火,不能使用泡沫灭火器,以免触电。实验着火时,切勿惊慌乱跑,应赶快脱下外衣,用脚踩灭,或用石棉布覆盖着火处。如火势较大,并且有相当多的易燃易爆物品在附近时,应及时将着火基本情况(地点,火灾性质,潜在危险,来往路线等)准确地报告消防部门。

实验室常用的灭火器及其适用范围见表1-1。

表 1-1 实验室常用的灭火器及其适用范围

灭火器类型	药液成分	适用范围
干粉灭火器	碳酸氢钠等盐类物质与适量的润滑剂和防潮剂	扑救油类、可燃性气体、电气设备、精密仪器、图书文件以及遇水易燃物品的初起火灾
酸碱式	H_2SO_4 和 $NaHCO_3$	非油类和电气失火的一般初起火灾
泡沫灭火器	$Al_2(SO_4)_3$ 和 $NaCO_3$	适于油类起火
CO_2 灭火器	液态 CO_2	适于扑灭电器设备、小范围油类及忌水的化学品失火

(3) 掌握一些实验废液的基本处理方法

对于实验过程中产生的废液,要掌握一些基本的处理方法,以保持实验室环境与自然环境不受污染。实验中经常会产生某些有毒的气体、液体和固体,需要预处理后及时排弃。如不经处理直接排出就可能污染周围空气和水源,污染环境,损害人体健康。因此对废液、废气和废渣要经过一定的处理后,才能排放。

进一步阅读的参考文献

- [1] 国家安全生产监督管理局. 危险化学品名录汇编. 北京: 化学工业出版社, 2004
- [2] 公安部消防局和国家安全生产监督管理局化学品登记中心合编. 危险化学品应急处置速查手册. 北京: 中国人事出版社, 2004
- [3] 王德学. 危险化学品安全管理条例释义. 北京: 化学工业出版社, 2002
- [4] 李庆文. 对学校当前实验室建设中安全问题的思考. 中国现代教育装备, 2005, 2: 43-45
- [5] 徐静年. 论高校实验室的安全管理. 中国现代教育装备, 2005, 5: 36-38
- [6] 编辑委员会. 危险化学品安全管理与事故应急(预案)救援编制手册, 长春: 吉林电子出版社, 2004
- [7] 刘海成, 李奉翠. 化学实验室的危险化学品安全管理. 安全、健康和环境, 2004, 9: 32-33
- [8] 关键, 敖铭翰. 化学实验室消防安全分析. 齐齐哈尔大学学报, 2004, 3: 94
- [9] 汪 涛. 化学实验中的安全知识教育. 中国现代教育装备, 2003, 5: 54-55

第 2 章 常规提取与分离纯化技术简介

2.1 有效成分常规提取方法

2.1.1 溶剂提取法

溶剂提取法是最常用的提取方法,即选用对所需成分溶解度大而对其他成分溶解度小的溶剂将所需的成分从植物组织内溶解出来。溶剂的选择要注意 3 点:

- ①溶剂对所需成分溶解度大,对杂质溶解度小;
- ②与植物中化学成分不起化学反应;
- ③溶剂要经济易得,可回收,使用安全,不污染环境。

(1) 常用提取溶剂

常用提取溶剂有 3 类。

①水 水是一种强极性溶剂。植物材料中的无机盐、糖类(相对分子质量不太大的)、鞣质、氨基酸、蛋白质、有机酸盐、生物碱盐及苷类等均可被水溶出。酸性水有利于提取生物碱,碱性水有利于溶出有机酸、黄酮、蒽醌、内酯、酚类成分等,其缺点为:a. 水提取法易酶解苷类成分;b. 因果胶及粘液质、淀粉类物质的存在使水提液难以过滤;c. 次生物质有许多为亲脂性成分,溶解度不大,不易提取完全;d. 杂质较多;不及时处理易霉变;e. 不易浓缩,常在浓缩至一定阶段时有大量泡沫产生,致使浓缩难度增大。

②亲水性有机溶剂 如乙醇、甲醇、丙酮等能与水混溶的有机溶剂。以乙醇最为常用,溶解性能好,对植物细胞的穿透能力较强。亲水性的成分除蛋白质、粘液、果胶、淀粉和部分多糖外,大多能在乙醇中溶解。难溶于水的亲脂性成分,在乙醇中的溶解度也较大。与水相比,乙醇具有以下优点:a. 用量少,提取时间短,溶出的水溶性杂质少;b. 可回收反复使用;c. 提取液不易发霉变质。另外乙醇具有毒性小,价格便宜,来源方便等特点。

③亲脂性有机溶剂 如石油醚、苯、氯仿、乙醚、乙酸乙酯等不与水混溶的有机溶剂。它们的特点是:a. 选择性强,不容易溶出亲水性杂质;b. 挥发性大,多易燃有毒,价格昂贵;c. 透入植物组织的能力较弱。若植物材料中含有较多水分,则难溶出次生物质。因此,在安全无法保障的条件下,直接应用这类溶剂提取有一定的局限性。

(2) 影响提取效率的因素

①植物材料的粉碎程度 适当细的颗粒有利于提高溶出效果。

②温度 提取温度愈高,溶解度增大,有利于提取。但杂质溶出量也相对增多,同时热不稳定成分的损失增大。

③提取时间 在未达到溶出平衡之前,随时间延长溶出量增加。但达到平衡后,再增加提取时间也无益于提取,应更换新鲜溶剂。

④材料的干湿程度 新鲜植物含有大量水分,有机溶剂难以渗入植物组织中,因此宜用干燥材料。同样,用水提取含有大量脂类成分的材料时,应先脱脂。

⑤浓度梯度 植物细胞内外的溶液浓度梯度愈大,愈有利于溶出。如搅拌、更换溶剂、

渗漉等可有效地保持较大的浓度梯度,提高溶出效率。

(3)常用的提取方式

①浸渍法 冷浸或温浸,常用水或乙醇,每次浸泡3~5 d,浸泡2~3次。此法操作简便,适宜于热不稳定、易分解或破坏的成分的提取。但此法提取时间长,溶剂用量大,提取效率不高。

②渗漉法 将植物材料粉末加入适量浸出溶剂润湿,装入渗漉筒内,压实后,在上端不断添加溶剂,使之渗过材料,溶出的可溶性成分即从下口流出。优点是提取效率高,但提取时间长,提取液体积太大,浓缩困难。

③煎煮法 提取液杂质多,水煎液易霉变、腐败,不宜存放。

④回流提取法 采用回流加热装置,用有机溶剂回流提取,一般需提取3次。

⑤连续回流提取法 采用较少溶剂,用索氏提取器(又叫脂肪提取器)或连续加热提取器进行提取,效率高,节省溶剂,但因提取常需数小时至几十小时,溶出的成分在烧瓶内受热时间长,热不稳定成分易被破坏。

用溶剂提取法所得提取液需浓缩回收有机溶剂,并得到高浓度的提取物,浓缩方法有普通蒸馏和减压蒸馏等。

2.1.2 其他提取方法

(1)水蒸气蒸馏法 除溶剂提取法外,水蒸气蒸馏法可用于提取挥发性成分如挥发油、挥发性生物碱等。它是将水蒸气通入盛有植物材料(含挥发性成分)的容器中,使挥发性成分随水蒸气蒸馏出来的提取方法。它要求挥发性成分与水不相混溶或仅微溶,且不因受热而被破坏。

(2)升华法 升华法是用来提取具有升华性质的化学成分,即固体物质受热不经液态而直接气化,蒸气遇冷又凝结成固体的过程。如茶叶中的咖啡因、樟木中的樟脑、植物材料中的苯甲酸等可用升华法提取。该法操作简便,但直接用火加热易焦化,且效率低,为防止某些成分分解,可采用减压升华装置。

2.2 有效成分的分离纯化技术与方法

天然有机化合物数目十分庞大,结构复杂多样,性质千差万别,决定了分离技术的多种多样。已知的几百万种有机化合物因碳链骨架、官能团、相对分子质量及空间结构的不同构成了性质十分复杂的有机物家族。从熔点、沸点、折光、密度、酸碱性、相对分子质量、溶解度和吸附性能等方面查证,有些物质在某些性质上接近,但在其他性质上差别大。另一些物质也许正相反。在多数情况下利用样品组分的物理性质如沸点、溶解度、吸附性能和相对分子质量大小的不同进行分离,也有一些情况是利用反应性质的不同而达到分离的目的。实际工作中分离量差异十分悬殊,不同的分离对象和分离目的要选择相适应的分离方法、分离材料和分离工艺。选定的分离技术皆有其特点和适应性,但也有其局限性。

2.2.1 分离纯化技术的分类

根据相之间物质的传质过程,可以将分离技术分为机械分离和传质分离两大类。机械分离的对象是有明显区别的两相混合物,用简单的机械方法将其分离,分离过程中不存在相间的物质传递。如过滤、离心等方法即属于机械分离法。传质分离中存在两相,待分离

的原料为一相,分离剂为另一相。分离过程中两相之间有传质过程发生,如色谱法,萃取法等。实际应用中一个分离过程常由多步组成,也可能同时要分别使用机械分离和传质分离。例如用重结晶来提纯有机物,既有结晶这样的传质分离,也有过滤这样的机械分离。

分离纯化技术的分类常常是按分离原理来进行的。按蒸气压不同实现分离的有蒸馏、分馏、减压蒸馏、水蒸气蒸馏;按在两相中溶解度不同或分配比不同实现分离的有萃取、双水相萃取、逆流分配等;依靠物质从过饱和溶液中结晶析出的性质实现分离的有重结晶、多步结晶、沉淀法;按色谱流动相的不同,可分为气相色谱和液相色谱;按色谱固定相承载容器的不同可分为柱色谱、薄层色谱和纸色谱;按固定相对溶质保留机理(溶质与固定相之间的作用原理)的不同,又可分为正相、反相、离子交换、排阻、疏水相互作用和亲和色谱;靠有一定大小孔径的膜来实现不同大小分子分离的有透析和超滤等膜分离法;因分子大小不同及带电情况不同在电场中实现分离的有电泳、等电聚焦和毛细管电泳等方法。

本节主要介绍常规分离方法中的蒸馏技术、系统溶剂分离法、两相溶剂萃取法、沉淀法、盐析法、透析法、结晶法、分馏法等。

2.2.2 蒸馏技术

蒸馏和分馏是利用有机化合物具有不同的沸点进行分离的方法,有关的技术包括普通蒸馏、减压蒸馏、水蒸汽蒸馏、分馏和分子蒸馏。蒸馏和分馏是实验室及工业上普遍使用的分离技术,方法简便有效,可以用于液体组分的分离提纯和浓缩。

在实际应用中,此类方法受被分离组分的沸点差别大小的制约。当组分沸点接近时,蒸馏一般难以保证纯度,而要使用分馏。但是当沸点差别小于 1°C 时,即使精密分馏也往往不能分开这两种液体。在常压的沸点下不稳定的物质或者常压下沸点太高的组分可以用减压蒸馏或者分子蒸馏来分离。

在蒸馏中应注意如下问题:

选择合适的加热方式。天然有机化合物的蒸馏最好不用明火直接加热烧瓶,一般是用热浴加热。沸点在 85°C 以下时用水浴,沸点在 $85^{\circ}\text{C}\sim 200^{\circ}\text{C}$ 之间可用油浴。沸点再高时要用硅油浴、沙浴或减压蒸馏,而目前减压蒸馏使用更为普遍一些。

加热前必须先加沸石或素磁片,以防止液体过热造成暴沸。在每次冷却下来后或者加料后开始重新蒸馏时必须重新加沸石,也就是说一般沸石不能重复使用。用搅拌或导入(导管插入液体)方式也可以起到防止暴沸的作用。特别是当蒸馏液粘度大或蒸馏中会析出固体时使用沸石不方便,可改用搅拌防止暴沸。

要控制热浴的温度。热浴的温度最多比液体沸点高出 30°C ,否则蒸馏太快,甚至因蒸气压太大而冲开塞子引起着火。特别是蒸馏乙醚等低沸点液体时须特别小心。

若馏出液需绝对干燥,在接液管的支管上可接一个干燥塔,以防止大气中水分侵入。若馏出液毒性大或气味难闻,可在接液管支管上接一个吸收瓶吸收,或者在某些情况下接一根管子引入水槽下水管,用水流带走逸出的气体。

蒸馏前应了解被蒸馏物的性质。一是了解其组成沸点,二是了解有无在蒸馏中会发生爆炸的物质存在。如过氧化物、高氯酸、肼等物质达到一定浓度后自身或在有机物存在下发生爆炸。当有这些物质存在时应先除去或控制其浓度不要接近危险点,并且要在有安全保护装置的条件下进行蒸馏。

普通蒸馏装置在蒸馏过程中始终不能完全密封,总要有一处通大气,保持与大气压平衡。

减压蒸馏是分离和提纯天然有机物的一种常用方法。该法特别适用于那些常压蒸馏时易发生分解、聚合及其他反应的化合物,以及那些沸点高、在常压蒸馏时难以蒸出的有机物的分离纯化。其基本原理是,液体表面分子的逸出所需的能量随外界压力的降低而降低。因此,当液体表面的压力降低时,便可降低液体的沸点(表 2-1)。

表 2-1 几种有机物的沸点与压力的关系

	沸点(°C)							
	101 308 Pa	6 665 Pa	4 000 Pa	3 333 Pa	2 666 Pa	2 000 Pa	1 333 Pa	667 Pa
水	100	38	30	26	22	17.5	11	1
氯苯	132	54	43	39	34.5	29	22	10
甘油	290	204	192	188	182	175	167	156
葱	354	225	207	201	194	186	175	159

从表 2-1 列出的一些有机物的沸点与压力的关系可知,降低压力能使有机物沸点大大下降,容易蒸出。

减压蒸馏装置主要由蒸馏装置和减压装置两部分组成。

蒸馏装置部分由克氏蒸馏瓶、毛细管、温度计、冷凝管、尾接管和接液瓶组成。克氏蒸馏瓶也可用三口烧瓶加蒸馏头代替,毛细管与蒸馏头分别插在两个口上。毛细管的下端插入液体底部,但又不接触瓶底。毛细管上端有一段带螺丝夹的橡皮管,橡皮管内插入一根细金属丝,用调节螺丝夹的松紧来调节进入的气量。毛细管的作用是使少量空气进入,作为液体的气化中心,避免暴沸。此处的毛细管起到一般蒸馏中沸石的作用。减压蒸馏中不能使用沸石时,可以改用搅拌代替毛细管。使用搅拌代替毛细管的作用既可以提高真空度,又可以避免空气对蒸馏瓶内组分的氧化作用。接液管又叫尾接管,有单头和多头两种,使用多头尾接管时可以在蒸馏过程中转动从而使不同馏分流入不同的接液瓶内。接液瓶一般使用圆底烧瓶。在减压蒸馏系统中不能使用平底烧瓶,以防真空度高时损坏瓶子。用磨口仪器进行减压蒸馏,使用水泵时磨口处可不用涂油脂,用真空泵作减压蒸馏时,系统压力在 133 Pa 以上可涂凡士林,系统压力在 133 Pa 以下涂高真空油脂。

减压装置由泵,保护装置及测压装置组成。

常用的抽气泵有水泵和油泵两类。水泵一般用玻璃或金属制成。水泵的效能与其结构、水压和水温有关。水泵所能达到的最低压力是当时室温下水蒸气的压力,如室温 10°C 时,水泵最低可抽到 1 200 Pa;水温 30°C 时最低压力可抽到 4 199 Pa。旋片式机械真空泵一般能抽到压力 137 Pa(0.1~5 mm Hg),最好能达到几帕。油泵结构精密,工作条件要求较严。蒸馏时如果有挥发性的有机溶剂,水或酸的蒸气进入泵内均会影响油泵的性能。若要达到更高的真空,即要让系统压力低于几帕(即 10^{-3} mm Hg)就必须用扩散泵,而扩散泵一定要有抽真空的前置泵。

实验室最常用的测压计有水银压力计及真空表。使用水泵常配用水银压力计,使用机械真空泵时配用真空表。水银压力计有开口式和封闭式两种。