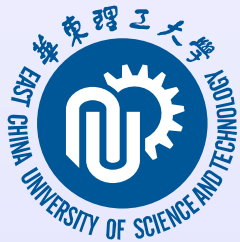


## 第二章 目标成分分离纯化技术(一)

上次课内容回顾:

目标成分的提取分离一般程序:

材料选择-材料预处理-细胞破碎-目标成分提取  
-浓缩-分离纯化

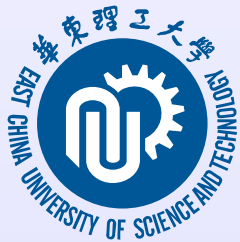


# 材料预处理

材料预处理的目的是：

- √ 保留成分活性
- √ 除去非需组织
- √ 便于后续操作

- ◆ 提取蛋白（酶）等材料，应冷冻保存；
- ◆ 动物材料需要除去一些与实验无关的结缔组织、脂肪组织；
- ◆ 植物种子需要除壳，提取分离小分子成分，材料常需干燥；
- ◆ 微生物发酵材料需要将菌体与发酵液分开；
- ◆ 材料过大，需粉碎等等。



# 细胞破碎方法

目标成分： 胞内、胞外

## ✓ 机械法

组织捣碎机：动物组织、植物肉质种子、柔嫩的叶芽

匀浆器：量少和动物脏器组织

研钵：细菌、坚硬植物材料

## ✓ 物理法

超声波处理法：微生物材料

反复冻溶法：动物性材料

## ✓ 化学法

酶溶法：植物性材料、微生物材料

化学渗透法：破碎细菌

# 目标成分常用的提取方法

## √ 溶剂提取法

### “相似相溶” 原则

- 浸渍法
- 渗漉法
- 煎煮法
- 回流提取法
- 连续回流提取法 (索氏提取法)
- 超声提取法

溶剂、  
热稳  
定性

## √ 水蒸气蒸馏法

## √ 升华法

**蛋白质、多糖：**水溶液提取为主。蛋白常采用类似生理条件下的缓冲液，如20-50mmol/L的磷酸盐缓冲液（pH7.0-7.5）或0.1mol/L Tris-HCl（pH7.5-8.0）缓冲液。

**小分子：**有机溶剂提取为主。常以醇溶液提取。

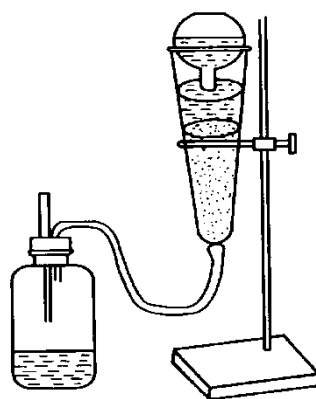
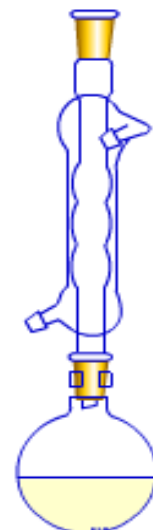
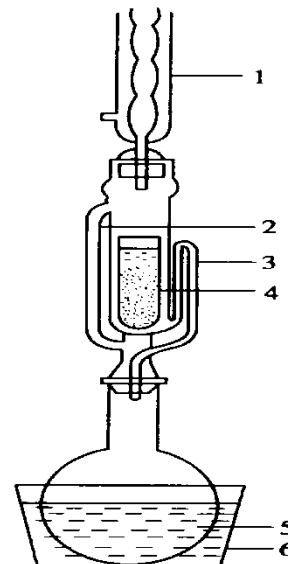


图 2-1 连续渗漉装置



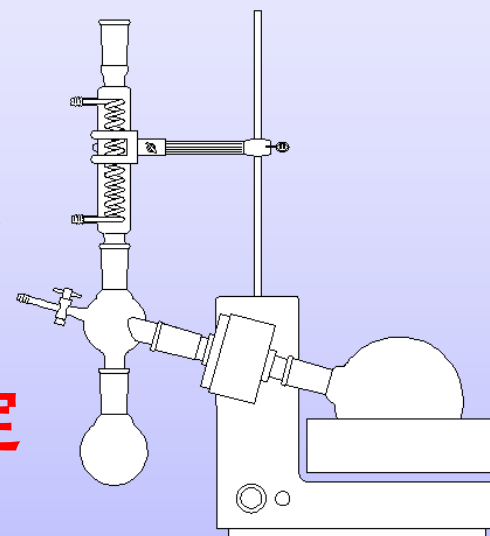
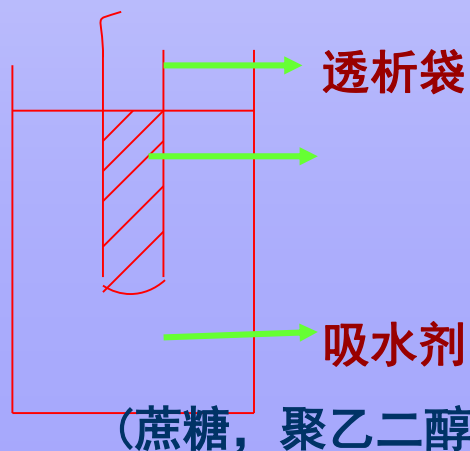
回流装置示意图



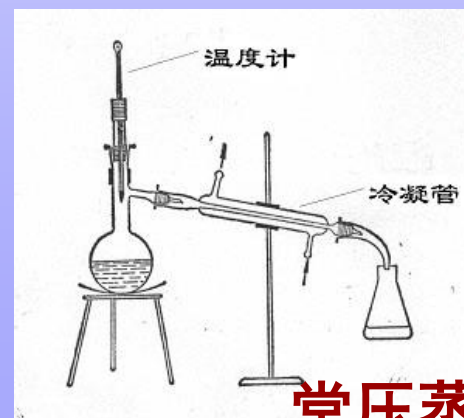
# 提取液浓缩的常用方法

1. 蒸发法：水提取液, 热稳定（多糖提取液）
2. 蒸馏法：有机溶剂提取液, 热稳定（多数小分子）
3. 沉淀浓缩法：
4. 冷冻干燥浓缩法
5. 透析袋浓缩法
6. 超滤膜浓缩法
7. 凝胶浓缩法
8. 浓缩胶浓缩法

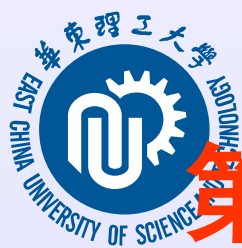
水提取液, 热不稳定



负压蒸馏 (旋转蒸发仪)



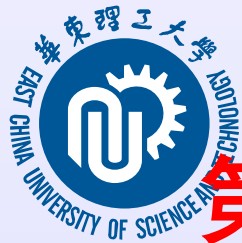
常压蒸馏



## 第二章 目标成分分离纯化技术(一)

分离纯化:

粗分级分离和细分级分离



# 第一节 粗分级分离技术

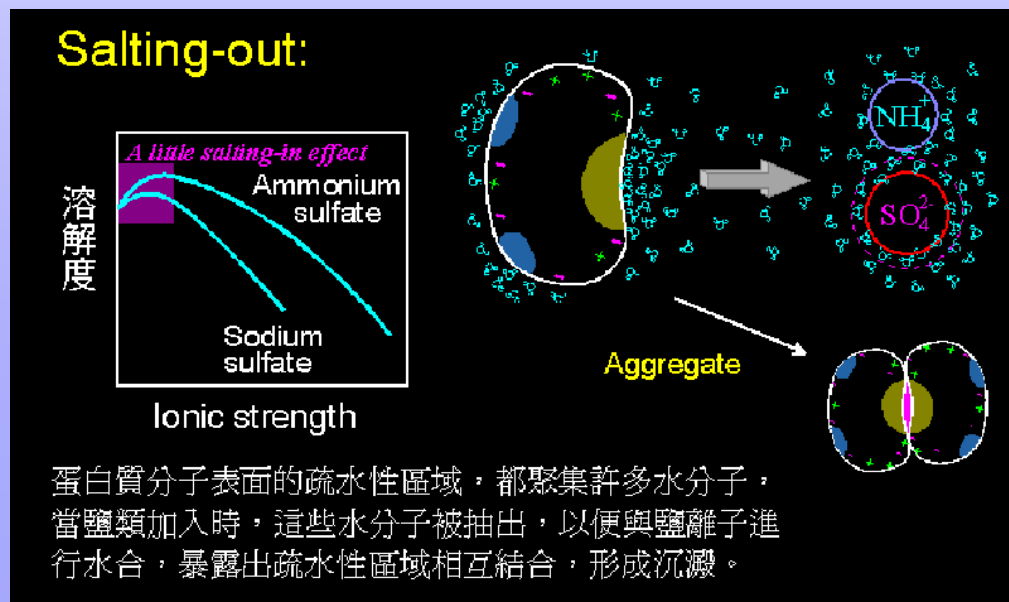
- ★ 根据溶解度不同
- ★ 根据分子量差异

## 一、根据溶解度不同：

- 1. 沉淀法：**加入合适的沉淀剂，使得溶液物理环境的变化引起溶质的溶解度降低，使其沉淀析出的分离和浓缩技术。**盐析、有机溶剂沉淀、等电点沉淀等。**亲水性成分粗分时常用。
- 2. 萃取法：**利用溶质在互不相溶的两相之间分配系数不同而使溶质得到纯化的技术。**溶剂萃取、双水相萃取、超临界流体萃取等。**亲脂性和中等极性成分粗分级分离时常溶剂萃取；亲水性成分常用双水相萃取；精油等低极性组分常用CO<sub>2</sub>超临界流体萃取。

## 沉淀法之一：盐析 (salt out)

- 向蛋白质溶液中加入大量的中性盐[ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ]，使蛋白质脱去水化层而聚集沉淀，这种现象称为盐析。
- 盐析作用是由于当盐浓度较高时，盐离子与水分子作用，使水的活度降低，原来溶液中大部分的自由水转变为盐离子的水化水，从而降低蛋白质极性基团与水分子之间的作用，破坏蛋白质分子表面的水化层。

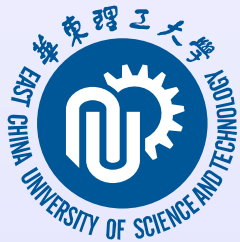




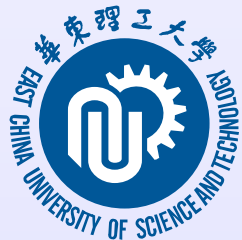
## 分段盐析

不同的蛋白质分子，由于其分子表面的极性基团的种类、数目以及排布的不同，其水化层厚度不同，故盐析所需要的盐浓度也不一样，因此调节蛋白质的中盐浓度，可以使不同的蛋白质分别沉淀。如：





- 常用的盐析剂是**硫酸铵**，盐析能力强，在水中的溶解度大，价格便宜，浓度高时也不会引起蛋白质活性丧失。
- 盐析沉淀的蛋白质仍保持天然构象，即仍有活性。
- 蛋白质用盐析方法沉淀分离后，还需要脱盐才能进一步精提纯。脱盐常用**透析法**和**凝胶过滤法**。



## 沉淀法之二：有机溶剂沉淀

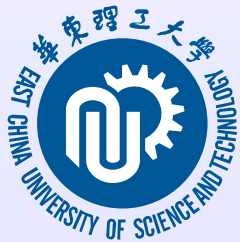
加入一定量亲水性有机溶剂，**乙醇**、**丙酮**等，降低溶质的溶解度，使其沉淀析出的分离纯化方法。

如，0–4℃，加入一定量**乙醇**、**丙酮**将**蛋白质**沉淀析出（10℃易变性）。

**多糖**提取液，常加入**乙醇**，醇沉方法使得多糖沉淀析出。

### 原理：

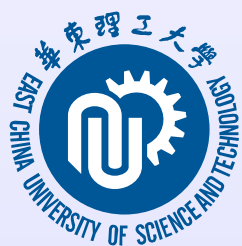
- ① 亲水性有机溶剂加入溶液后降低了溶液的介电常数，导致溶剂的极性减小，降低溶质的溶解度，聚集形成沉淀；
- ② 水溶性有机溶剂本身的水合作用降低了亲水溶质分子表面原有水化层的厚度，降低了它的亲水性，导致脱水凝集。



## 沉淀法之三：等电点沉淀

利用蛋白质、核苷酸、氨基酸等两性电解质在等电点时溶解度最低的特性，向提取液中加入酸或碱，调整其pH值，使其沉淀析出的方法，称为等电点沉淀法。

**原理：**在等电点时，蛋白质等两性电解质分子以两性离子形式存在，其分子净电荷为零（即正负电荷相等），此时蛋白质分子颗粒在溶液中因没有相同电荷的相互排斥，分子相互之间的作用力减弱，其颗粒极易碰撞、凝聚而产生沉淀，所以在等电点时，其溶解度最小，最易形成沉淀物。

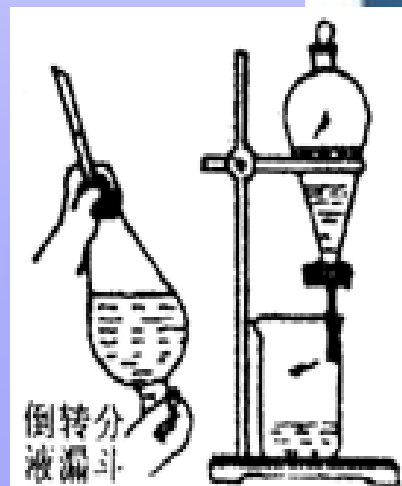


# 萃取法之一：有机溶剂萃取

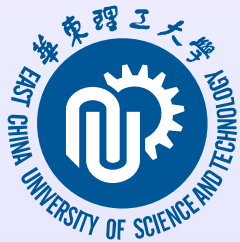
利用溶质在互不相溶的溶剂里溶解度的不同，用一种溶剂把溶质从另一溶剂所组成的溶液里提取出来的操作方法。**有机溶剂作为萃取剂，料液常为水溶液。**常用分液漏斗操作。

亲脂性的物质，一般多用亲脂性有机溶剂，如苯、氯仿或乙醚与水之间进行两相萃取；

目标成分是中等极性物质，常用乙酸乙酯、丁醇与水之间进行两相萃取。如，黄酮类成分多用乙酸乙酯和水的两相萃取；皂苷类则多选用正丁醇和水作两相萃取。

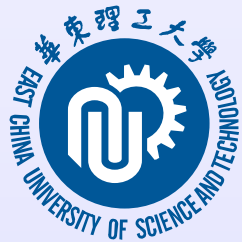


分液漏斗



## 萃取法之二：双水相萃取

- ✓ 在蛋白质、酶、核酸等生物大分子的粗级分离中常用。
- ✓ 双水相体系通常由水溶性的**两种高聚物**组成，或**一种高聚物与一种盐组成**。
- ✓ **两种高聚物**组成的双水相体系，其成相机理是由于高聚物分子的空间阻碍作用，相互无法渗透，不能形成均一相，从而具有分离倾向，在一定条件下即可分为二相。**聚乙二醇 (PEG) / 葡聚糖 (DX)** 。
- ✓ **聚合物 / 盐**构成的双水相体系，其成相机理是由于盐析作用。一般采用**聚乙二醇 (PEG)** 作为其中一相成相物质，而盐相则多采用**硫酸盐或者磷酸盐**。



## 萃取法之三：超临界流体萃取

- ✓ 是指用超临界流体为溶剂（ $\text{CO}_2$ ），从固体或液体中萃取可溶组分的传质分离操作。
- ✓  $\text{CO}_2$ 可看作是与水相似的无毒、廉价的有机溶剂。
- ✓ 超临界状态下， $\text{CO}_2$ 具有选择性溶解。SFE- $\text{CO}_2$ 对低分子、低极性、亲脂性、低沸点的成分如挥发油、烃、酯、内酯、醚，环氧化合物等表现出优异的溶解性。

## 二、根据分子量差异：

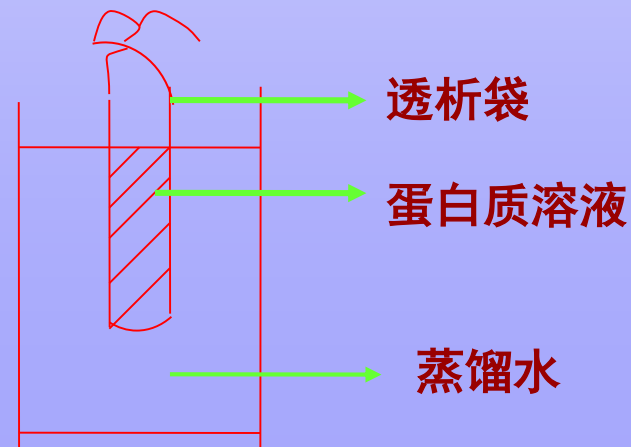
**膜分离法：**用半透膜作为选择障碍层、在膜的两侧存在一定量的能量差作为动力，允许某些组分透过而保留混合物中其他组分，各组分透过膜的迁移率不同，从而达到分离目的的技术。动力——浓度差、静压力差、电位差。

✓ 浓度差为动力： 透析

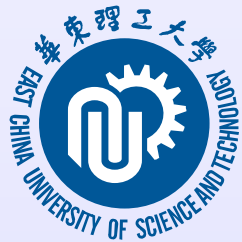
是将含有小分子杂质的蛋白质溶液装在半透膜（玻璃纸、火绵纸等）制的析袋里放在蒸馏水中进行，可不断更换蒸馏水，至杂质除去。

✓ 静压力差为动力：微滤；超滤；反渗透

✓ 以电场为动力：电渗析



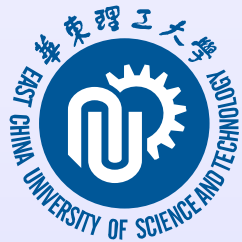




## 第二节 细分级分离技术

色谱法: Chromatography

电泳法: Electrophoresis



# 一、色谱法概论

**问题：**

**问题1：什么是色谱法？**

**问题2：为什么色谱法能将混合物分开？**

**问题3：色谱法的分类？**

**问题4：各种色谱法的应用范围？**

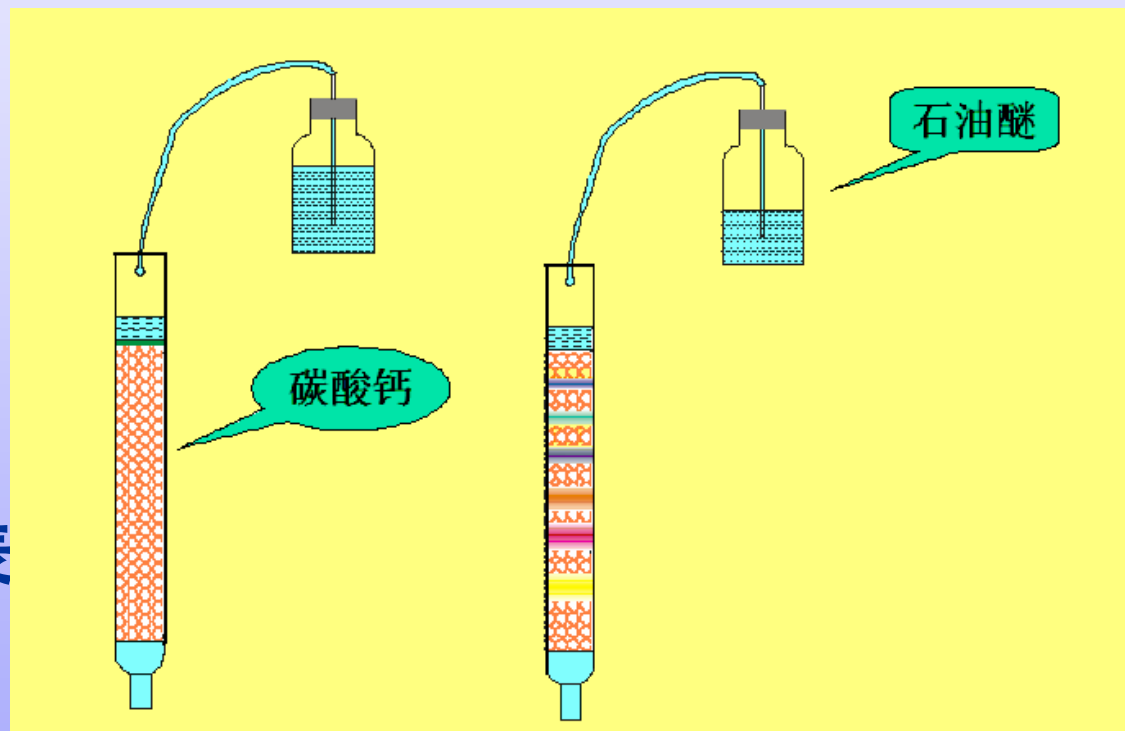
# 1、什么是色谱法？

## 茨维特的实验

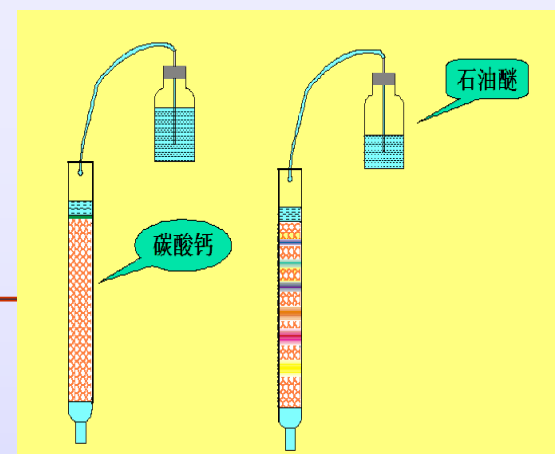
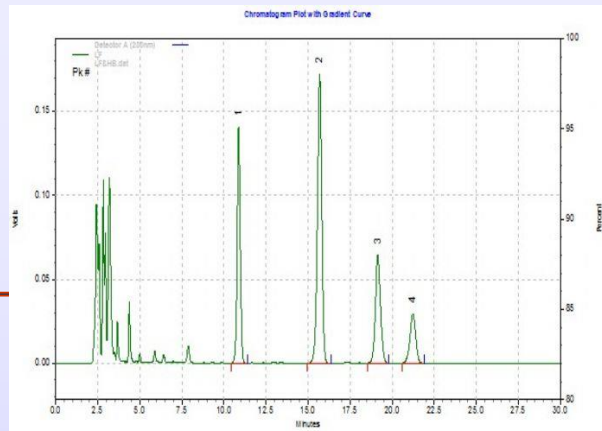
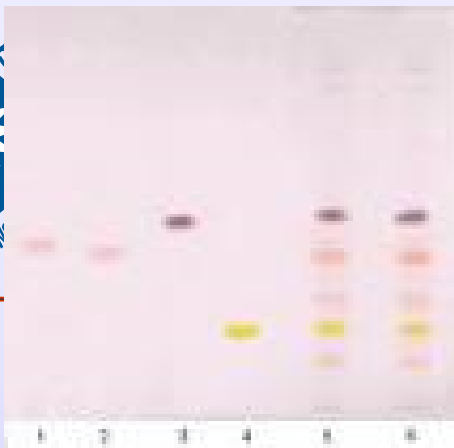
**茨维特：**

俄国植物学家，主要从事植物色素的研究工作，在1906 年发表的文章中，首次提出了**色谱**的概念。

■ Chromatography



色谱=层析



● 色谱法是一种分离方法。

特点：有两相(固定相和流动相)

固定相 (stationary phase)：即固定的物质（可以是固体或液体）

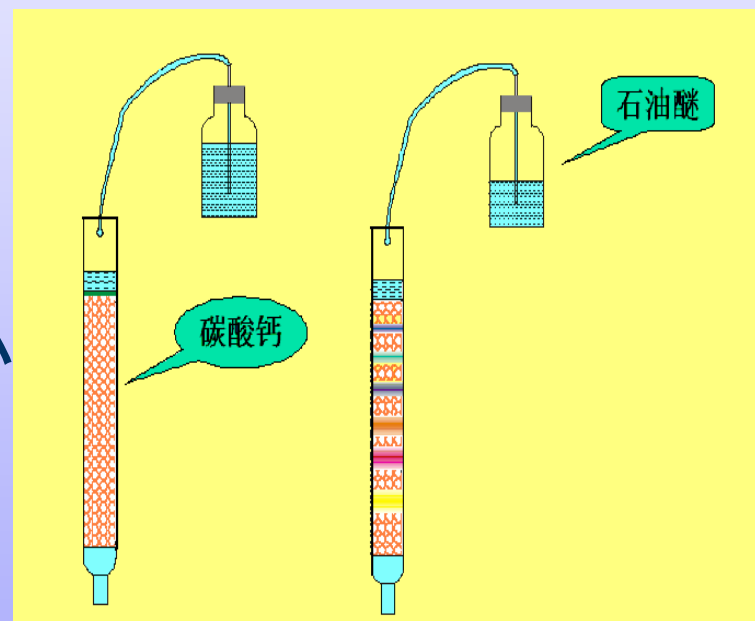
流动相 (mobile phase)：即流动的溶液或气体。以气体为流动相的称为气相色谱，液体为流动相的称为液相色谱。

● 将色谱法用于分析中，则称为色谱分析。

✓ 色谱是一种分离、分析法。

## 2、色谱法分离原理

- 当流动相中所携带的混合物流过固定相时，就会和固定相发生作用。
- 由于混合物中各组分在性质和结构上有差异，与固定相发生作用的大小也有差异。
- 因此在同一推动力作用下，不同组分在固定相中的滞留时间有长有短，从而按先后不同的次序从固定相中流出。



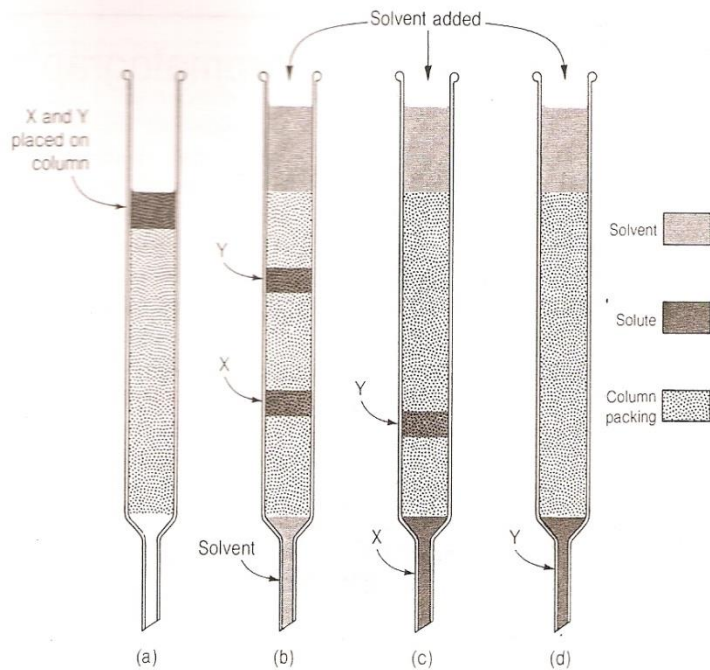
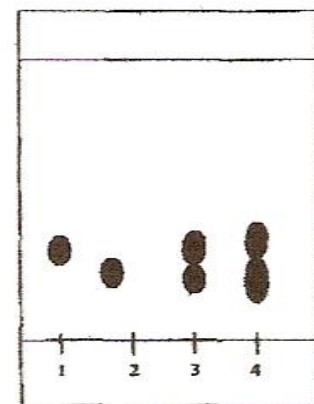


FIGURE 17.1 Illustration of chromatographic separation: (a) mixture of solutes X and Y added to top of column; (b) after solvent has flowed through the column for some time, X and Y are separated on the column; (c) X elutes from the column; (d) Y elutes from the column to complete the separation

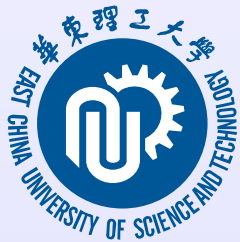
各组分在互不相溶的两“相”溶剂之间的分配系数（一种溶质在互不相溶两种溶剂溶解度达到平衡时，在两溶剂中的浓度比例）之差异（分配色谱）、组分对吸附剂吸附能力不同（吸附色谱）、分子的大小的差异（排阻色谱）或其它亲和作用的差异（亲和色谱），来进行反复地吸附或分配，从而使混合物中的各组分得以分离。

mobile phase taking samples flows through stationary phase---  
elution (洗脱), Development (展开);  
流动相携带混合样品经过固定相—洗脱, 展开

mobile phase —eluent (洗脱液), developer (展开剂)  
流动相—洗脱液, (展开剂)



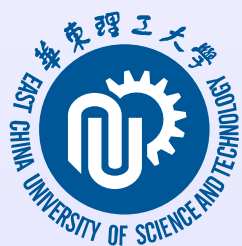
正丁醇:乙酸乙酯:水  
(7:2:1 上层)



## 3、色谱法的分类

### 根据分离的原理

- ✓分配色谱(Partition chromatography): partition coefficient
- ✓吸附色谱(Adsorption chromatography) : adsorption capability
- ✓分子排阻色谱(Molecular Exclusion Chromatography) :size,shape
- ✓亲和色谱(Affinity Chromatography ): affinity capability
- ✓离子交换色谱(Ion Exchange Chromatography ): ion characteristic



**According to carrier(根据载体及操作条件的不同):**

● Paper Chromatography: 纸色谱

● Thin-Layer Chromatography, TLC: 薄层色谱

● Column Chromatography: 柱色谱

√ Liquid chromatography(液相色谱)

Partition chromatography

Adsorption chromatography

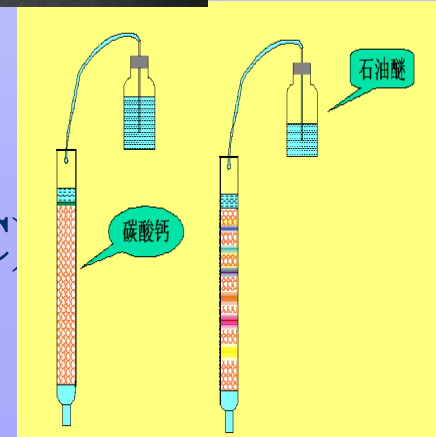
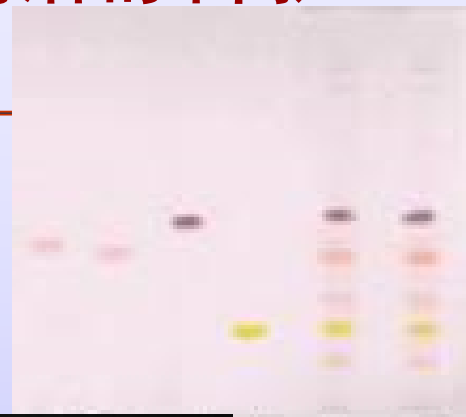
Molecular Exclusion Chromatography

Affinity Chromatography

Ion Exchange Chromatography

High performance liquid chromatography (HPLC)

√ Gas chromatography : 气相色谱







## 二. 纸色谱, 纸层析 (Paper Chromatography, PC)

### 1. Principle of Paper Chromatography ( 原理) :

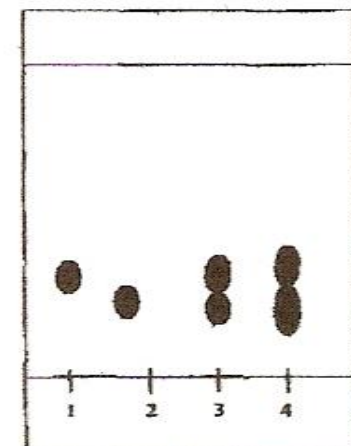
#### Partition chromatography

**Stationary phase:** Water (固定相为滤纸上吸附的水)

paper is the support or carrier (滤纸是水的支持物或载体)

**Mobile phase:** water and organic solvent (流动相为有机溶剂和水)

滤纸纤维中含有的羟基会从空气中吸收水分, 并以氢键和滤纸纤维素结合。当流动相 (展开剂) 在滤纸上移行时, 样品也就在流动相和水相中反复分配, 最后由于各组分在两相中分配系数不同, 迁移速度也就不同, 从而使不同的组分在滤纸上得以分离。



正丁醇:乙酸乙酯:水  
(7:2:1 上层)

## Retardation value ( $R_f$ ) 比移值

$$R_f = \frac{\text{Distance traveled by solute}}{\text{Distance travelled by mobile phase solvent front}}$$

各组分的位置一般用**比移值** $R_f$ （点样线到样品展开完毕后斑点的位置之间的距离与点样线到展开溶剂前沿距离的比值）表示。 $R_f$  值的大小与化合物的结构、性质、展开的溶剂系统、温度、展开方式等有关。

## 2. Operation (操作)

- 1) **Choice of the paper(滤纸的选择)**: 滤纸的质地要均一, 厚薄要适宜、平整无折痕, 杂质要少。若含有过多的杂质, 会影响分析的结果。一般定性的分析需要使用较薄的滤纸, 而分离制备则需要厚质滤纸, 如新华5号等。
- 2) **Choice of the elution(展开剂的选择)**: 纸色谱的展开剂常由有机溶剂和水组成, 往往不是单一溶剂。如常用的**正丁醇-水**。
- 3) **Load the sample(点样)**: 样品的浓度一般配制成0.5~15 mg/mL的溶液 (适宜的浓度要根据预试验确定, 不同成分有所差异), 然后用毛细点样管 (定量时采用刻度毛细管或微量注射器点样) 点于离滤纸底边2~4 cm左右的点样线上。点样的斑点直径不应超过0.5 cm, 点样时可以采用少量多次点样的方法, 每次点少量样品后立即用电风吹干, 再进行下一次的点样, 这样可以避免样品斑点的扩散过大; 如果同一张滤纸上点多个样品, 样品之间的距离不可以太紧, 以2 cm以上为宜, 这样可以避免样品展开后相互影响、干扰; 点样量不宜过大, 超载会导致拖尾现象, 影响分离效果, 以10~30  $\mu\text{g}$ 为适。

## 4) Manner of the elution (展开方式):

### Up, Down, two-dimension

根据溶剂的移行方向，可以分为上行法和下行法。在分离一些复杂的组分时，还常采用双向纸层析，就是先用一种展开系统展开后，冷风吹干后，再采用另一种展开系统在与前一次展开垂直的方向作第二次展开。

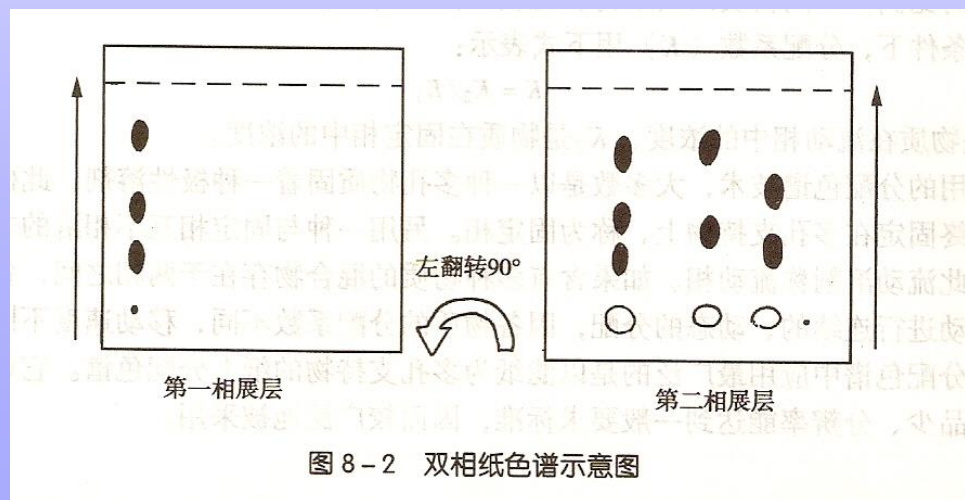
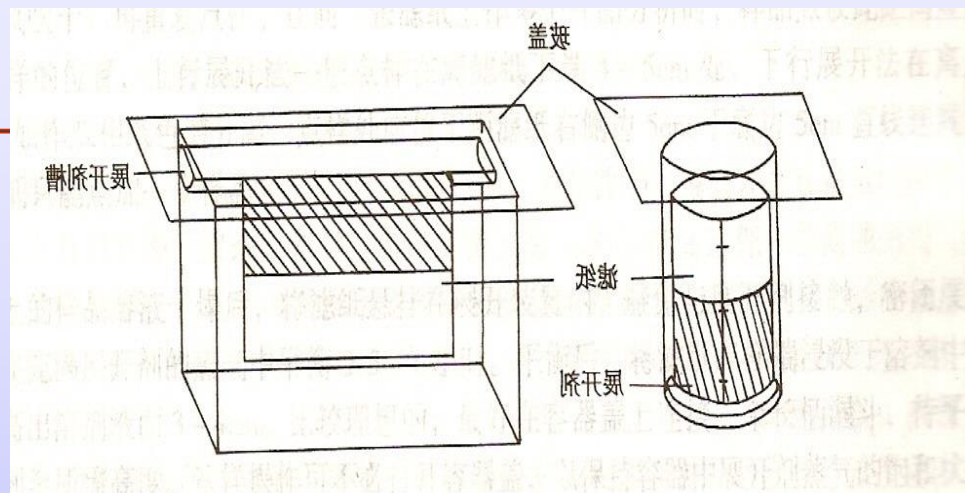


图 8-2 双相纸色谱示意图

**5) Detect (显色与检识):** 展开结束后, 取出滤纸, 马上用铅笔记下溶剂前沿的位置, 吹干滤纸后进行检识。本身有颜色的成分, 可以直接在日光下观察, 计算 $R_f$ 值; 有紫外吸收的结构, 如黄酮、香豆素等, 可以在紫外灯下检识其位置; 对于无色又无紫外吸收的化合物, 则可以先采用一定的显色剂显色后检识, 如碘蒸气可作通用显色剂, 生物碱的显色可用碘化铋钾, 氨基酸、肽类可用茚三酮显色检识。

近年来, 由于薄层色谱的快速发展, 纸层析主要用于**糖类、氨基酸的分离鉴别**。制备不常用。

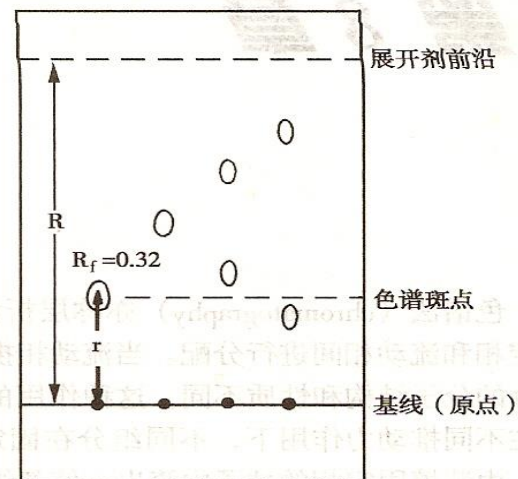
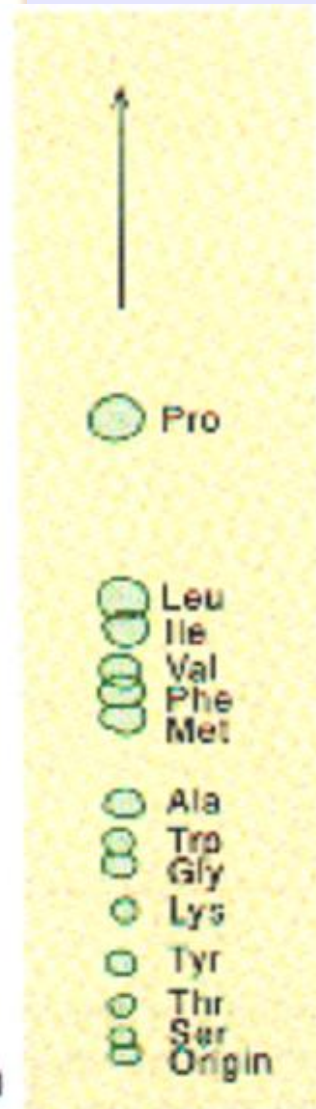


图 8-1 纸色谱  $R_f$  值计算示意图

沿移动的距离





# 三、薄层色谱 (Thin-Layer Chromatography, TLC)

## 1. 原理 ( Principle): 吸附力差异

吸附色谱 (Adsorption chromatography):

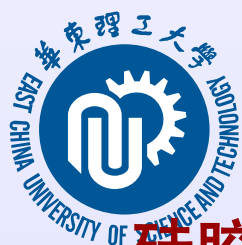
固定相: 吸附剂 (硅胶、氧化铝、聚酰胺)

流动相: 两种或以上溶剂混合

(2种有机溶剂混合/硅胶、氧化铝; 甲醇: 水/聚酰胺)

一般是将作为固定相的吸附剂均匀涂布到平面载板上, 如玻璃板、塑料膜、铝箔等, 形成一薄层, 将样品点样于薄层上, 借助展开剂的移行, 根据各组分的吸附性能的差异来达到分离的目的。





**硅胶、氧化铝：极性**吸附剂。

**物理吸附**， 无选择性， 吸附与解吸是可逆的；速度快， 实际应用最多。

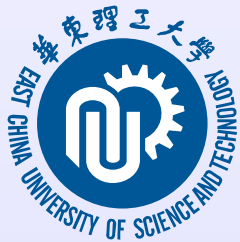
**聚酰胺：极性**吸附剂。

**半化学吸附**， 介于物理吸附与化学吸附之间， 其吸附力较弱；半化学吸附有一定应用价值。如：**聚酰胺**与黄酮类、醌类等酚性化合物之间的**氢键**吸附属于**半化学吸附**。

**流动相**：两种或以上溶剂混合

（2种有机溶剂混合/**硅胶、氧化铝**； 甲醇：水/**聚酰胺**）

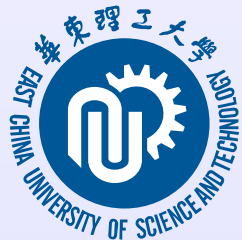
**薄层色谱**也称**薄层层析**， 是一种简便、快速、微量的层析方法， 它兼备了纸色谱和柱色谱的优点。可用来分析、制备。也常用作柱色谱的先导， 用来预试摸索柱色谱的洗脱条件。



## 常用的物理吸附剂的基本规律:

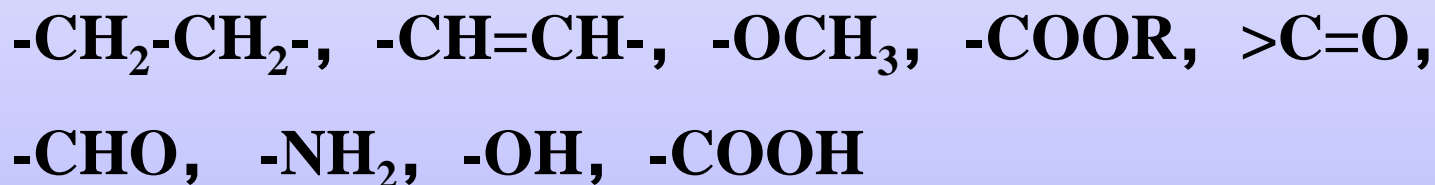
- ✓ 硅胶、氧化铝（极性吸附剂）
- ✓ 极性吸附剂对极性物质具有较强的亲和能力（极性强的溶质将被优先吸附）。
- ✓ 洗脱溶剂极性越弱，则极性吸附剂对溶质表现出的吸附能力就越强；洗脱溶剂的极性增强，则极性吸附剂对溶质的吸附能力随之减弱。





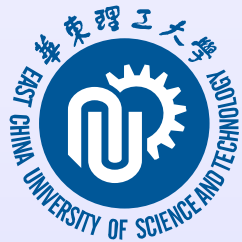
## 极性及其强弱判断

a: 化合物的极性：按下列官能团的顺序增强



极性增强方向

✓ 化合物的极性：由分子中所含官能团的种类、数量及排列方式等综合因素决定。



## b: 溶剂的极性:与介电常数大小一致

|      |      |
|------|------|
| 环己烷  | 1.88 |
| 苯    | 2.29 |
| 无水乙醚 | 4.47 |
| 氯仿   | 5.20 |
| 乙酸乙酯 | 6.11 |
| 乙醇   | 26.0 |
| 甲醇   | 31.2 |
| 水    | 81.0 |

极性递增

## 2. Operation (操作):

### 1) Choice of sorbent(吸附剂的选择): 薄层吸附色谱用的吸附剂常用的是氧化铝、硅胶、聚酰胺。



硅胶是无定形多孔性物质，略具酸性，适用于酸性和中性物质的分离和分析。薄层用的硅胶分为：“硅胶H” -不含粘合剂；“硅胶G” -含煅石膏作黏合剂；“硅胶HF254” -含荧光物质，可用于254nm紫外光下观察荧光；“硅胶GF254” -既含煅石膏又含荧光剂。除煅石膏外，实验室还常用0.5-0.8%的羧甲基纤维素钠(CMC-Na)或淀粉作黏合剂。

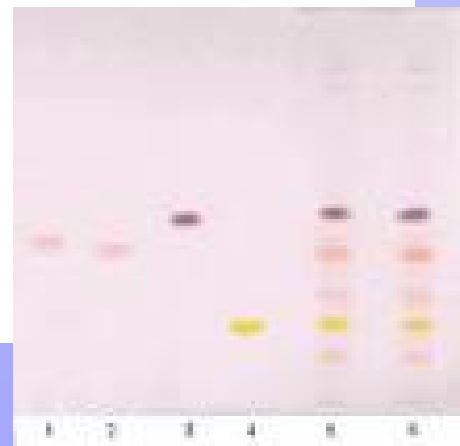
氧化铝有中性、酸性、碱性三种类型。其中中性氧化铝 (pH7.5) 的用途最广；酸性氧化铝 (pH4~5) 适于分离酸性物质，如酸性色素、氨基酸等。碱性氧化铝 (pH9~10) 适于分离碱性和中性成分，如生物碱等。分为氧化铝H，氧化铝G，氧化铝HF254，氧化铝GF254等不同类型。

聚酰胺可以分离极性和非极性物质，如黄酮类、生物碱、有机酸、蒽醌类、萜类、糖类、苷类等等，尤其在黄酮类化合物、蒽醌类、酚类化合物的分离方面，明显有优越性。

**2) Plate making(制板):** 薄层层析所用的玻璃板, 除另有规定外, 一般为 $2.5 \times 8$  cm、 $5 \times 10$  cm、 $5 \times 20$  cm、 $10 \times 10$  cm、 $10 \times 20$  cm、 $20 \times 20$  cm大小, 2 mm厚。玻璃板洗净干燥后, 将调成糊状的吸附剂或支持剂均匀地、厚度固定地涂在其表面, 使成薄层。若用硅胶, 则硅胶和水的比例一般按1: 2.5 (重量比) 混合均匀成糊状; 若为氧化铝, 则与水的比例常用1: 1调制。然后把铺好的薄层板放在平台上阴晾至干透。将干透的薄层板置 $105 \sim 110$  °C烘箱中加热活化0.5~1 h, 活性板置干燥器中保存备用。

**3) Load the sample(点样):** 在离薄层板一端约1.5 cm处, 用铅笔轻轻地划一条线作为点样线。先选择低沸点的合适的有机溶剂 (甲醇、丙酮、氯仿、乙醚、苯、乙醇等) 将样品溶解成适宜浓度的溶液, 对于水溶性样品, 先用少量水溶解, 再用甲醇或乙醇稀释定容。用点样毛细管少量、多次、反复地点于点样线的某点上, 点样斑点不宜超过0.3 cm, 若为多个样品点于同一板上,

则各点样斑点应保持适当的距离, 以1.5 cm~2 cm左右为宜。点样量要适量, 样品太少, 斑点会不清楚, 难以观察; 样品太多, 往往出现斑点拖尾现象, 以致样品不容易分开。



#### 4) Choice of the elution(展开剂的选择):

一般地说，在薄层板上凡溶剂的极性越大，对化合物的洗脱力越大，即溶质在薄层板上移动的距离也越大，极性越小，对化合物的洗脱力越小。薄层色谱用的展开剂绝大多数是有机溶剂，用单一溶剂常不宜达到分离效果，**一般都用两个或两个以上的溶剂按不同比例混合而成。**

5) **Elute(展开):** 展开操作必须在密闭的容器中进行，展开的方式可分为上行展开、下行展开、平卧展开及径向展开。通常用上行法，具体操作是把薄层板放在缸内，将点有样品的一端浸入展开剂中，其深度约0.5 cm (**注意样品不能浸入溶剂中**)，溶剂展开的距离一般到薄层板的3/4处即可，展开所需的时间随吸附剂、展开剂的性质、薄层板的大小不同而不同，需数分钟到几小时不等。展开结束后，马上取出薄层板，用铅笔划下溶剂前沿的位置，然后冷风吹干或自然挥干溶剂，检视。

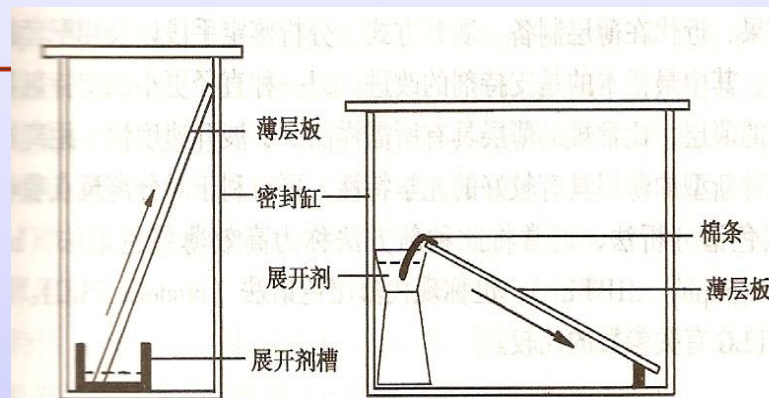


图 8-4 几种展层装置示意图

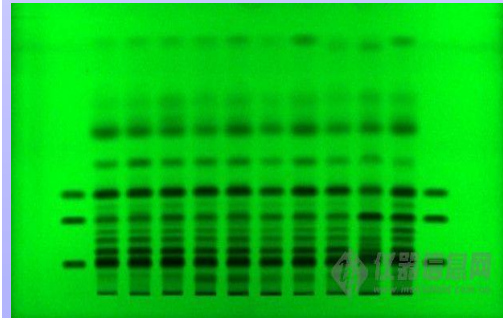
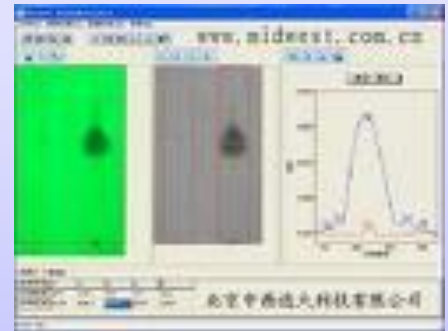


6) **Detect(检识)**: 如果化合物本身有颜色, 分离后可以直接在日光下观察它的斑点; 如果化合物本身无颜色, 但有紫外吸收, 则紫外灯下观察荧光; 如果既无颜色又无紫外吸收, 则可以展开分离后置碘缸中显色, 许多化合物都能与碘形成棕色斑点。碘蒸气挥发后, 斑点颜色即褪色, 所以, 碘显色后应立即标出斑点位置。另外, 还有许多种显色剂, 可以根据不同的化合物, 选用不同的显色剂。

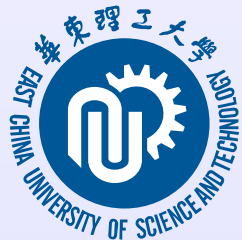
常用的显色方式有蒸气显色、喷雾显色、浸渍显色等。

**$R_f$  = 展开后, 点样线至斑点中心的距离 / 展开后, 点样线至溶剂前沿的距离**

$R_f$ 值随分离化合物的结构、固定相、流动相的性质、温度等多种因素的不同而变化。当各因素固定时,  $R_f$ 就是一个特定的常数, 因而可以作为定性分析的依据。但是由于影响的因素太多, 实验数据往往与文献报道的不完全一致, 因此在鉴定时常常采用对照品同步展开分析。







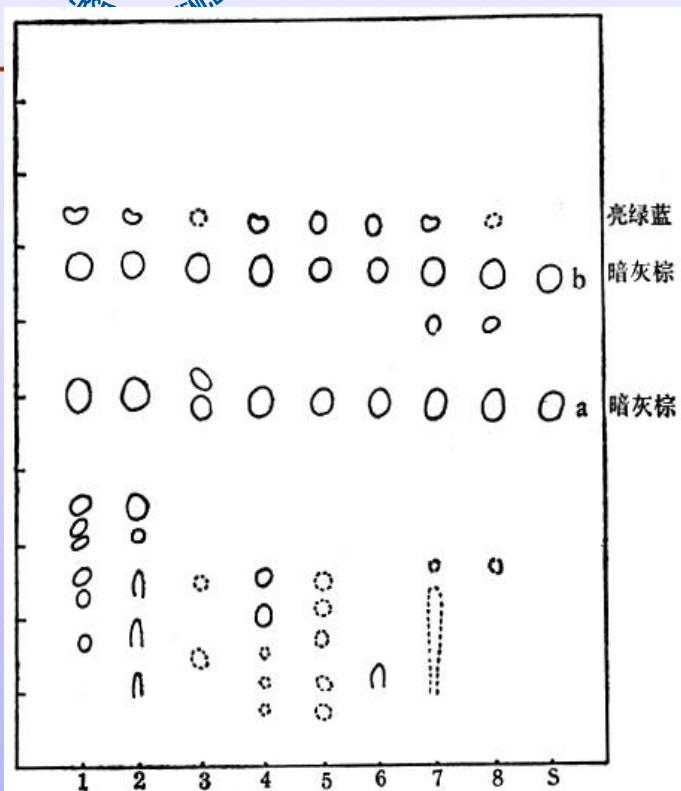
## 通用显色剂

**硫酸：** A. 浓硫酸与甲醇等体积小心混合，冷却； B. 15%浓硫酸的正丁醇溶液； C. 5%浓硫酸的乙醚溶液； D. 5%浓硫酸乙醇溶液； E. 浓硫酸与乙酸等体积混合，

用以上任一试液喷后，空气干燥15 min，于110℃加热。

**碘：** A. 0.5%碘的氯仿溶液； B. 碘蒸气：将少许碘结晶放入一密闭容器内，容器内为碘蒸汽饱和。

**高锰酸钾-硫酸：** 高锰酸钾0.5 g溶于15 ml 40%硫酸中。



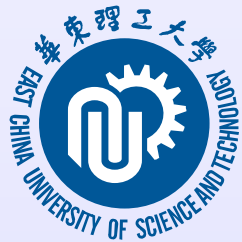
## 黄芩薄层层析图谱

S: a 黄芩素 b 汉黄芩素

1. 黄芩(北京) 2. 黄芩(大庆) 3. 滇黄芩
4. 川黄芩 5. 甘肃黄芩
6. 丽江黄芩 7. 大黄芩 8. 粘毛黄芩

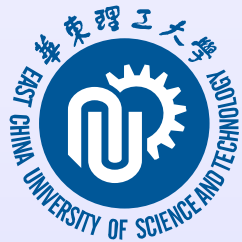
薄层层析可以分析、分离纯化制备  
目标化合物





# 思考

- 发酵生产亲脂性小分子如何提取、初步粗分离？
- 发酵生产大分子蛋白质如何提取、粗分离？
- 中药中小分子如何提取、粗分离？



*Thank you for your attention!*