DOI：10.19789/j.1004-9398.2023.05.015
文献引用：韩蕊，张悦，王佳艺，等.以问题为导向的设计性实验在仪器分析实验课教学中的应用：以加味香连丸组分含量测定实验为例[J].首都师范大学学报（自然科学版），2023，44（5）：102-107. HAN R，ZHANG Y，WANG J Y，et al. Application of problem-oriented design experiments in the teaching of Instrumental Analysis Experiment：taking the component content determination of Jiawei Xianglian Pills as an example[J]. Journal of Capital Normal University（Natural Science Edition），2023，44（5）：102-107.

以问题为导向的设计性实验在仪器分析实验课教学中的应用：以加味香连丸组分含量测定实验为例*

韩　蕊[1]，张　悦[1]，王佳艺[1]，任家乐[1]，李晶芳[1]，殷宏庆[1]，赵丽娟[2]，宋丽丽[1**]，杨　珍[1**]

（1. 天津中医药大学中药学院，天津　301617；2. 太仓市中医医院，江苏 苏州　215400）

摘要：为使学生适应现代中药质量控制的发展趋势，将设计性实验引入到仪器分析实验课程教学中，旨在提高学生的探索精神，锻炼学生的创新思维，培养出更符合社会需要的药学专业型人才。本文以学生为中心构建设计性实验，指导学生以问题为导向，对气相色谱法同时测定加味香连丸中藁本内酯、去氢木香烃内酯和厚朴酚的含量实验进行优化，包括线性关系、检测限、精密度、稳定性、重复性和回收率等，并完成实际样品检测。学生自主设计并完成实验，并实行多元化考核，包括撰写实验方案、实验过程及提问、操作实践和实验数据的记录与处理，对应分数比值为2∶3∶3∶2。在课程结束后通过调查问卷对学生开展教学效果评估，结果显示该教学方法可以提高学生的学习兴趣，锻炼学生的思维能力。

关键词：教学改革；仪器分析；气相色谱法；多组分同时测定
中图分类号：G642；O657；R286　　**文献标识码**：A

Application of problem-oriented design experiments in the teaching of Instrumental Analysis Experiment: taking the component content determination of Jiawei Xianglian Pills as an example*

HAN Rui[1]，ZHANG Yue[1]，WANG Jiayi[1]，REN Jiale[1]，LI Jingfang[1]，YIN Hongqing[1]，ZHAO Lijuan[2]，SONG Lili[1**]，YANG Zhen[1**]

（1. School of Traditional Chinese Medicine，Tianjin University of Traditional Chinese Medicine，Tianjin　301617；2. Taicang City Hospital of Traditional Chinese Medicine，Suzhou Jiangsu　215400）

Abstract：In order to make students adapt to the development trend of modern quality control of traditional Chinese medicine，design experiments are introduced into the teaching of Instrumental

收稿日期：2022-10-21
* 国家自然科学基金项目（81803961）；天津市教委科研计划项目（2017KJ153，2017KJ132）；天津中医药大学2020年教育教学改革研究一般课题项目（2020JY021）
** 通信作者：sll0204@163.com；yzwygb@126.com

Analysis Experiment course, aiming to improve students' spirit of exploration, exercise their innovative thinking, and cultivate professional pharmacy talents that better meet the needs of society. In this paper, students were instructed to construct a student-centered designed experiment to optimize the experiments for the simultaneous determination of ligustilide, dehydroandrographolide and magnolol in Jiawei Xianglian Pills by gas chromatography, including linear relationship, detection limit, precision, stability, repeatability and recovery rate, and complete the actual sample detection. Students design and complete the experiment independently, and implement diversified assessment, including write the experiment plan, experiment process and questions, operation practice, recording and processing of experimental data, the corresponding score ratio is 2∶3∶3∶2. At the end of the course, a questionnaire was used to evaluate the teaching effect of students. The results showed that the teaching method could improve students' interest in learning and train their thinking ability.

Keywords: teaching reform; instrumental analysis; gas chromatography; simultaneous determination of multiple components

CLC: G642; O657; R286　　**DC**: A

0　引　言

仪器分析是中药学本科阶段非常重要的专业基础课，是一门具有强实践性和综合性的应用科学，在学生的知识结构中起着承前启后的重要作用。而实验课教学不仅可以验证和补充理论知识，还可以提高学生的实践能力。仪器分析实验课教学内容主要是利用各种仪器实现物质的定性和定量分析等[1-2]。通过该课程的学习，学生能够初步掌握常用的仪器分析方法，解决实际问题。现有文献对仪器分析实验进行的改革实践，多是从教学模式出发，如基于虚拟仿真软件的线上线下混合式教学模式[3]和基于“互联网+”的雨课堂混合式教学模式[4]等。因此有关实验理论的教学方式已经有了大量的创新研究，但是基于实验内容的研究多是验证性或单一实验，实验难度较低，不利于培养学生的综合创新能力[5]。现有研究中，利用自主设计的实验进行授课可供参考的案例不多，因此本文尝试将问题导入式自主设计性实验应用于仪器分析实验教学中。

中药质量控制和评价是制约中药现代化发展的关键问题之一，随着中药分析技术的快速发展，逐步由无指标、单一指标向多指标成分过渡[6]。目前本科实验教学中中药组分含量的测定仍以单一成分为主，已经不能满足现代中药的发展趋势，与实际应用脱离，存在应用局限性[7-8]。与单一组分的含量测定相比，多组分同时测定的质量评价更符合中药组分多的特点，更能为中药质量评价提供一定的参考价值[9-10]。本文以加味香连丸多组分同时测定为例，以问题为导向、学生为中心构建设计性实验，提出可行性途径与方式，为提高实验教学质量提供参考。

1　教学实验设计

1.1　综合设计性实验内容优化

在实际工作中常用的中药质量检测方法有薄层色谱（thin-layer chromatography，TCL）、紫外-可见光分光光度（ultraviolet and visible spectrophotometry，UV-Vis）、高效液相色谱（high performance liquid chromatography，HPLC）和气相色谱（gas chromatography，GC）等方法[11]。TCL法多用于中药的定性检测，其他3种方法多用于中药的定量检测。如TCL法鉴别华山姜药材[12]，UV-Vis法测定首乌苷中蒽醌的含量[13]，HPLC法测定菊明降压丸中5种成分的含量[14]，GC法测定仁术脐膏中4种成分的含量[15]。

加味香连丸是由姜厚朴、木香和当归等12味中药制成的中药制剂，具有清热祛湿，化滞止痛的功效，临床用于大肠湿热所致的痢疾。现行质量标准收载于《中华人民共和国药典（2020年版）》[16]，仅对单一指标成分盐酸小檗碱进行HPLC法含量测定，对木香、厚朴、枳壳和延胡索进行TCL法定性鉴别。中药制剂为多组分复杂体系，现行质量标准中含量测定和TCL法鉴别不能对加味香连丸质量控制进行整体评价[17]。目前在加味香连丸质量控制方面的研究主要集中在利用HPLC法检测芍药苷、柚皮

苷、橙皮苷、黄芩苷和盐酸小檗碱等成分的含量[18-21],但是用GC法对其中多种活性成分进行检测的实验尚无报道。加味香连丸中厚朴、木香和当归等主药中的活性成分分别是厚朴酚、去氢木香烃内酯和藁本内酯,均具有挥发性。现代药理活性研究表明厚朴酚[22]、去氢木香烃内酯[23]和藁本内酯[24]具有抗炎、抗氧化等多种功效,有很大的研究价值。GC法适合分离分析含有挥发性成分的样品,因此本文拟用GC法同时测定加味香连丸中厚朴酚、去氢木香烃内酯和藁本内酯的含量,以期对加味香连丸质量标准的建立提供参考。

1.2　以问题为导向、学生为中心构建设计性实验

在本科教学中,GC实验的主要目的是让学生了解GC的工作原理、仪器组成和使用方法,掌握GC法的定性定量方法。实验教学实施过程及参与对象示意如图1所示。首先,教师在课前有针对性地讲解与实验相关的理论知识,如色谱曲线、保留值和峰面积等概念。教师布置任务,要求学生4人为1组,思考"如何使用GC法测定加味香连丸组分含量"的核心问题,鼓励学生提出自己的见解和解决方法,由此激发学生的学习兴趣,培养学生思考问题的好习惯。

其次,针对教师提出的问题,学生借助网络资源查阅文献、收集资料,小组讨论后提出实验方案,并以小组为单位进行汇报[25]。汇报结束,教师结合实验方案随机向学生提问,引出实验的难点内容,包括对检测目标活性成分的选取、样品前处理方法的选择、最佳分离条件的优化等。引导学生思考和讨论、注重互动、鼓励踊跃发言,加深对问题理解。例如样品前处理方法的选择,教师可提问如何对中药样品进行前处理?溶剂萃取包括哪些常用方法?采用什么溶剂进行萃取?萃取时间如何设置?通过连环提问和讨论,引导学生得出以液固溶剂萃取方法提取加味香连丸的有效组分,以甲醇为溶剂进行萃取条件优化,得出最佳样品前处理方法。即以问题为导向,鼓励学生独立思考、查阅文献,通过自主学习与实验探索答案。

再次,在教师的帮助下,引导学生制定实验方案,包括样品前处理方法及优化、仪器参数、实际样品检测和数据处理。教师实物展示讲解仪器的构造和仪器工作原理,提供仪器操作步骤,并重点强调关键细节和操作。在练习中指导和纠正学生的不当操作,通过练习后,学生按照计划进行实验,独立完成标准溶液和实际样品的配制,仪器方法编辑和样品检测等[26]。在实验过程中,学生需及时讨论实验中存在的问题,不断改进实验方案,确保实验顺利进行。

最后,实验结束后,学生撰写实验报告,并完成数据分析与讨论。教师批改实验报告并及时向学生反馈批改内容,使学生及时认识到在实验中存在的问题,修改和完善实验报告。

1.3　教学成绩考核

在传统实验课程中,学生考核成绩主要以考勤和实验报告为主。其中实验报告比例较大,主要基于实验结果的准确性和实验报告的完整性来评定。值得注意的是,由于所有学生完成同一个实验,实验步骤相同,实验结果相近,部分学生间会存在实验报告抄袭现象,增加了教师合理地评定成绩的难度。为更准确地评定学生的实际实验成绩,实行多元化考核,考核包括撰写实验方案、实验过程及提问、操作实践和实验数据的记录与处理,对应分数占比为2∶3∶3∶2。

为了了解学生对该课程的评价,在课程结束后,学生进行网上匿名问卷调查。从2019年秋季学期至2022年春季学期,进行了为期6个学期的调查,每学期选取约50名中药学专业学生为调查对象。调查时间设定在实验分析课程结束后的学期末,并在获得知情同意的前提下进行。参考相关文献[27-28],调查问卷涉及实验课总体情况、课程设置、

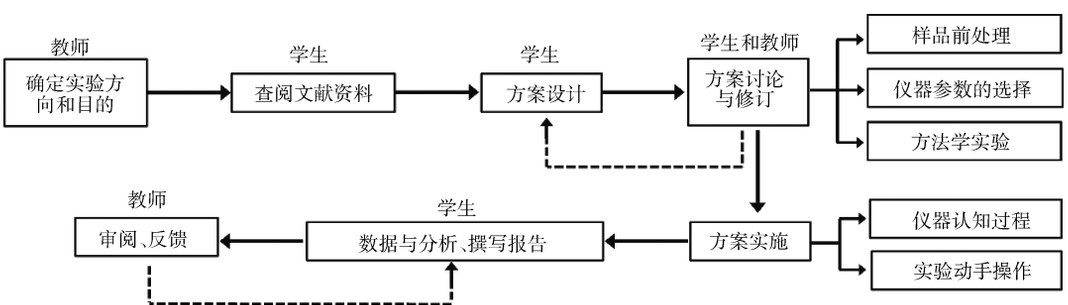


图1　实验教学实施过程示意

实验课表现、教学效果和学习效果5个部分,每个部分设置4个问题。使用李克特量表(likert scale)方式打分,包括非常满意、满意、一般、不满意和非常不满意,对应得分为5、4、3、2和1分。调查问卷总分为100分,统计学生调查问卷平均得分。

2　教学实验实施

2.1　试剂及药品

藁本内酯对照品(批号:CFS202101)购自武汉天植生物技术有限公司;去氢木香烃内酯对照品(批号:1203A025)购自北京索莱宝科技有限公司;厚朴酚对照品(批号:110729-202015)购自中国食品药品检定研究院;加味香连丸(批号:19081014、4082033)购自北京同仁堂制药有限公司,规格为6 g/袋。色谱纯甲醇购自康科德公司;实验用水为娃哈哈纯净水,购自杭州娃哈哈集团有限公司。

2.2　仪器

使用安捷伦科技有限公司生产的型号为Agilent 7820A的GC进行样品检测,搭配氢火焰离子化检测器(flame ionization detector,FID),HP-5毛细管色谱柱(30 m×320 μm×250 nm,100.00%聚二甲基聚硅氧烷),载气为N_2、流速为3 mL/min,进样口温度为280 ℃。

2.3　溶液配制

(1)标准溶液。称取19.4 mg藁本内酯对照品,置于50 mL容量瓶中,加入甲醇定容,得到质量浓度为388 mg/L的藁本内酯对照品溶液。称取2.0 mg去氢木香烃内酯和4.0 mg厚朴酚对照品,分别置于2 mL容量瓶中,加入甲醇定容,分别得到质量浓度为1 000和2 000 mg/L的去氢木香烃内酯对照品和厚朴酚对照品溶液。分别称取10.0和20.0 mg的去氢木香烃内酯和厚朴酚对照品,置于10 mL容量瓶中,加入藁本内酯对照品溶液定容,得到质量浓度分别为388、1 000和2 000 mg/L的藁本内酯、去氢木香烃内酯和厚朴酚初始混合标准溶液。移取150、200、300、400、600和800 μL初始混合标准溶液分别置于1 mL容量瓶中,甲醇定容,得到一系列标准混合溶液(命名为标准混合溶液1~6),待用,不同组分对应的质量浓度如表1所示。标准混合溶液7为初始混合标准溶液。

(2)样品溶液。分别称取批号为19081014和4082033的加味香连丸18 g(命名为样品1和2),分别研磨成细粉状。称取2 g细粉置于10 mL烧杯中,加入少量甲醇溶解,待溶解后转移至10 mL容量瓶,加入甲醇至约2/3容积处,密塞,超声提取30 min,冷却至室温后加甲醇至刻度处,摇匀,滤膜过滤,收集滤液,待用。

表1　不同标准混合溶液组分质量浓度　单位:mg/L

编号	藁本内酯	去氢木香烃内酯	厚朴酚
1	58	150	300
2	78	200	400
3	116	300	600
4	155	400	800
5	233	600	1 200
6	310	800	1 600
7	388	1 000	2 000

2.4　GC条件

程序升温模式为,起始温度80 ℃、保持3 min,20 ℃/min上升到200 ℃、保持7 min,再以40 ℃/min上升到280 ℃、保持2 min。检测器温度为300 ℃,尾吹气流量为25 mL/min,空气流量为400 mL/min,氢气流量为30 mL/min,进样体积为1 μL,分流比为50∶1。

2.5　方法学考察与样品检测

验证建立的GC方法,包括对线性关系、检出限、精密度、稳定性、重复性和回收率的考察,并应用于实际样品的检测。(1)线性关系:GC检测标准混合溶液1~7,分别统计检测液中3种组分对应的峰面积和质量浓度,进行线性曲线拟合;(2)检出限:以信噪比3∶1作为标准确定3个成分的检出限;(3)精密度:以混合标准溶液2,连续检测6次,计算峰面积相对标准偏差(relative standard deviation,RSD);(4)稳定性:以实际样品1,在室温下分别放置0、2、4、6、8和10 h后进行GC检测,计算RSD值;(5)重复性:GC检测实际样品1,重复检测6次,计算RSD值;(6)回收率:GC检测回收率样品,重复检测6次,计算RSD值;(7)实际样品检测:GC分别检测实际样品1和2,重复检测3次,记录峰面积,按标准曲线法计算样品中各待测物质的含量。

2.6　数据处理

借助Open Lab色谱数据系统的自动积分功能对色谱峰进行积分,数据处理采用Excel进行计算。

3　实验结果

3.1　定量结果

加味香连丸中3种挥发性活性成分的定量检测

结果列于表2。结果表明,在选定的条件下各组分的色谱峰分离度好,线性相关系数>0.999,加标回收率在99.44%~102.90%,相对标准偏差≤2.09%。通过方法学研究,其线性、精密度、重复性、稳定性和回收率均符合定量要求,可为提高加味香连丸的质量标准提供参考。

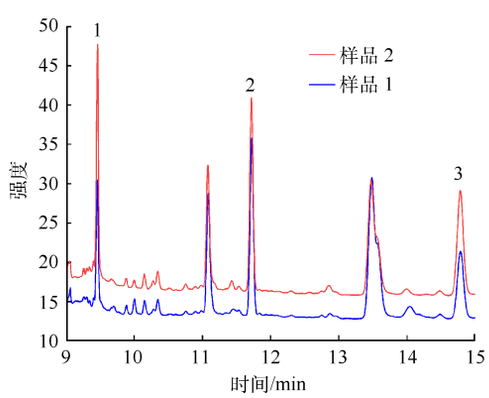
表2　加味香连丸中3种挥发性活性成分的定量结果

名称	线性范围/(mg·L^{-1})	标准曲线拟合	相关系数	检测下限/(mg·L^{-1})	RSD/%			回收率/%
					精密度	稳定性	重复性	
藁本内酯	400~2 000	A=256.64ρ−5.990	0.999 2	39	1.00	2.09	0.97	99.44
去氢木香烃内酯	150~800	A=332.65ρ−12.934	0.999 1	25	0.41	1.35	2.07	102.90
厚朴酚	60~310	A=248.63ρ−67.240	0.999 2	200	0.65	1.51	1.70	101.92

注:RSD指相对标准偏差;A为峰面积;ρ为质量浓度。

3.2　实际样品测定

实际样品1和2的GC检测结果如图2所示。经计算,实际样品1和2中,藁本内酯的质量分数分别为90和140 μg/g,去氢木香烃内酯的质量分数分别为130和150 μg/g,厚朴酚的质量分数分别为230和310 μg/g。



注:1为藁本内酯;2为去氢木香烃内酯;3为厚朴酚。

图2　实际样品的色谱图

4　教学改革效果

问题导向式学习模式更注重培养学生运用所学知识去解决实际问题的能力、团队协作以及人际沟通交往能力等,作为传统教育的一个补充,这种方法的优点十分明显。以加味香连丸含量测定实验进行教学实践初探,学生通过查阅文献、方案设计、实验操作,顺利完成实验内容并得到了初步的实验结论,取得了满意的学习效果。在“以问题导入、学生为中心构建设计性实验”方法的应用下,能较好地实现该课程的教学目标,与之前传统的验证型实验相比,学生在撰写实验方案、实验过程及提问和操作实践的考核得分均大幅度提高。这表明了本项教学改革明显提高了学生设计实验的能力以及学习该课程的热情,拓宽了学生知识面,提升了实验操作能力。在以问题为导向、自主设计实验的双重优势下,为学生提供了更为宽松的实验环境,注重问题的发掘和解决,注重理论与实际相结合,有助于学生掌握理论知识,培养学生系统全面地分析解决问题的能力,培养学生使用大型仪器的实践动手操作能力。除此之外,以问题为导向的互动式教学能够促进良好师生关系的建立。

满意度调查问卷结果显示,6个学期中学生对仪器分析实验课的满意度较高,平均分为90~95分。通过学生问卷调查分析,学生对问题导入式的自主设计实验的接受程度较高,认可度较高。学生认为在该模式下更能激发求知欲产生兴趣,同时对课程的记忆印象程度、知识点理解程度较深,能够更轻松地掌握知识,有助于提高成绩、培养科学精神和创新思维,并且学生表示更愿意教师在其他课程开展结合问题导入、学生为中心构建设计性实验的实验教学。

5　结束语

本文以问题导入、学生为中心构建设计性实验,对GC法同时测定加味香连丸中藁本内酯、去氢木香烃内酯和厚朴酚的含量实验进行优化。问卷调查表明学生对该教学模式接受度、认可度较高,是一种可以进一步推广的教学模式。但到目前为止,由于实验材料不能完全满足每一项设计的要求,实验教师并没有对学生完全放开、完全自主,而是将讨论后的实验方案根据现有实验条件以及可行性进行统一后再实施,学生的自主性并没有得到充分的体现。下一步计划可以让学生完全自主地设计实验,准备充足的实验条件和实验材料,使学

生在探索中获取知识，锻炼学生的思维能力和提高创造力。如能根据社会发展及时更新教学内容，将以问题为导向的设计性实验大量应用在仪器分析实验课教学中，相信对于仪器分析实验课程的教学品质会有质的提升。

参 考 文 献

[1] 贾海浪，林丽霞.仪器分析线上线下混合式课程改革探讨[J].化学教育(中英文)，2022，43(8)：32-37.

[2] 耿萍，徐志爱.基于“立德树人”的仪器分析化学实验教学改革探索[J].实验室研究与探索，2020，39(11)：163-166.

[3] 樊强文，任绘君，武国蓉，等.虚实结合模式在“现代仪器分析实验”中的教学改革与实践[J].东华理工大学学报(社会科学版)，2021，40(3)：297-300.

[4] 李芳，吴祥，李冰，等.“互联网+”时代下雨课堂在现代仪器分析课程教学中的实践与探索[J].化学教育(中英文)，2022，43(2)：57-63.

[5] 刘永明，李桂芝，文嘉慧，等.仪器分析教学中通过实例培养学生的创新能力：电位滴定终点确定的新方法[J].化学教育(中英文)，2020，41(10)：18-22.

[6] 聂黎行，钱秀玉，张毅，等.中成药质量等级标准研究原则和方法的探讨[J].沈阳药科大学学报，2021，38(12)：1327-1333.

[7] 靳然，赵百孝.气相色谱指纹图谱在中药分析及质量评价中的应用[J].现代科学仪器，2010(1)：122-123+126.

[8] 刘思燚，蔡毅，于江泳，等.论中药质量控制的传承与创新[J].中国食品药品监管，2021(9)：4-9.

[9] 魏锋，程显隆，荆文光，等.中药材及饮片质量标准研究有关问题思考[J].中国药学杂志，2022，57(18)：1493-1503.

[10] 张敏，王芳，刘惠娟，等.一测多评法在中药质量控制中的应用[J].中国民族民间医药，2021，30(14)：51-55.

[11] 陈振华，刘苏珍，周斌，等.浅谈中药质量标准现状与几种质量评价方法[J].时珍国医国药，2016，27(3)：694-696.

[12] 杜沛霖，李鹏，谭勇，等.华山姜的生药学研究[J].时珍国医国药，2022，33(7)：1649-1652.

[13] 俞静静，楼招欢，吕圭源.首乌苷中蒽醌类成分含量测定方法比较研究[J].中华中医药学刊，2015，33(3)：586-588.

[14] 乔巧玉，刘峻男，邱昭昭，等.HPLC法测定菊明降压丸中五种成分的含量[J].沈阳药科大学学报，2023，40(3)：293-299.

[15] 曹谦，侯雪楠，刘宇，等.GC法同时测定仁术脐膏中4种成分[J].中成药，2020，42(8)：2147-2149.

[16] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(2020年版)[S].北京：中国医药科技出版社，2020：855.

[17] 钟国男，张余芳，林冠，等.加味香连丸HPLC指纹图谱和11个成分定量分析[J].食品与药品，2022，24(4)：344-351.

[18] 李想，卢静华.HPLC法同时测定加味香连丸中芍药苷、柚皮苷、橙皮苷和黄芩苷[J].中成药，2015，37(9)：1955-1958.

[19] 何洋，黄娟萍，孙悦，等.HPLC同时测定加味香连丸中的和厚朴酚与厚朴酚[J].华西药学杂志，2011，26(6)：585-587.

[20] 何洋，孙悦，黄娟萍，等.HPLC法同时测定加味香连丸中木香烃内酯和去氢木香烃内酯的含量[J].药物分析杂志，2011，31(2)：222-224.

[21] 陶胜源，刘玉波，车慧，等.高效液相色谱法测定加味香连丸中盐酸小檗碱的含量[J].解放军药学学报，2009，25(3)：257-259.

[22] 魏巍，张明发，沈雅琴.厚朴酚及和厚朴酚的胃肠道药理作用及其机制的研究进展[J].药物评价研究，2022，45(9)：1914-1921.

[23] 杨琴芳.木香不同部位香连丸抗炎活性筛选及新香连丸急性毒性研究[D].重庆：西南大学，2019.

[24] 何树苗，陈元堃，曾奥，等.藁本内酯药理作用及机制研究进展[J].广东药科大学学报，2021，37(2)：152-156.

[25] 伍丽，钟雪莲，周骏宏.民族地区高校学生自主设计型实验的教学设计和创新：以化工专业实验为例[J].化工高等教育，2020，37(1)：138-141.

[26] 种瑞峰，常志显，冯彩霞，等.“学生自主设计”仪器分析实验课程教学的研究[J].实验科学与技术，2021，19(4)：51-56.

[27] 颜戊利，毋福海，白研，等.仪器分析实验教学效果调查与对策分析[J].教育教学论坛，2022(30)：26-29.

[28] 王梦，乔善磊，余静，等.卫生化学实验效果调查与分析[J].中国卫生检验杂志，2019，29(22)：2804-2807.

(责任编辑：王　媛)