

雷氏盐特异沉淀法提取和分离海藻中的季铵化合物*

韩丽君¹ 符瑞文² 孙汉章²¹ 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)² 青岛海洋大学 266003)

提要 采用了与季铵化合物有高度化学反应特异性的雷氏盐(四硫氰基二氨合铬酸氨, Ammonium reinecke, ammonium tetrathiocyanatodiamminechromate) 将季铵化合物从样品中沉淀出来以达到提取和分离的目的。分析结果表明,海藻中季铵化合物的含量很丰富;绿藻特别是浒苔中的季铵化合物含量最高可达到 1.31%。

关键词 雷氏盐特异沉淀法,季铵化合物,化学反应特异性,海藻

海藻中的季铵化合物包括甜菜碱季铵化合物和非甜菜碱季铵化合物。目前已在海藻中发现了 18 种甜菜碱季铵化合物和 14 种非甜菜碱季铵化合物及衍生物。最简单的甜菜碱季铵化合物是甘氨酸甜菜碱。非甜菜碱季铵化合物包括:胆碱、乙酰胆碱、丙烯酸胆碱、胆碱硫酸酯、磷脂酰胆碱、N,N,N 三甲基酪胺、N,N,N 三甲基酪胺硫酸酯、泡叶胺、三甲基胺和三甲基氮氧化物、牛磺酸、N 甲基牛磺酸、N,N 二甲基牛磺酸和大麦芽碱等。科学家目前已经发现海藻中的季铵化合物有很好的药效活性,如:γ 氨基丁酸甜菜碱的药物活性类似于乙酰胆碱,可以降低血压,刺激神经节,抑制哺乳动物神经的肌肉传导等。另外季铵化合物也是一类和细胞激动素有类似生理活性的植物活性组分。农业肥料中含有一定量的甜菜碱季铵化合物可以明显地促进植物的生长。

本文采用了与季铵化合物有高度化学反应特异性的雷氏盐将季铵化合物从样品溶液中沉淀出来,以达到提取和分离的目的。在得到总的季铵化合物的含量之后将沉淀转化为可溶性的硝酸盐溶液,用标定好的 NaOH 溶液进行滴定的方法获得甜菜碱季铵化合物的含量。最后用差减法获得非甜菜碱季铵化合物的含量^[1]。试验表明这种提取和分离的方法是一种简单可行的分离方法对季铵化合物的工业化利用将有很好的潜在应用价值。

1 材料

实验所使用的新鲜海藻于 1996 年 3~6 月在青岛八大关和太平角海滨采集。新鲜海带样品是 1997 年 3 月在市场购买的(同时购买的新鲜海带用海水冲洗干净后立即直接在阳光下晾干,塑料袋密封后作为海带的干样品)(表 1)。所有的新鲜海藻用干净的海水冲洗数遍后,除去海藻表面的附生动植物及杂质,再用滤纸将海藻的表层水份吸干,在精确测定水份后直接称取一定重量的新鲜海藻进行后续分析。

表 1 海藻的种类、采集的时间和地点

Tab.1 Species of seaweed and collected time and site

海藻种类	采集时间 (年.月)	采集地点
石莼 <i>Ulva lactuca</i>	1996.3	太平角
浒苔 <i>Enteromorpha prolifera</i>	1996.4	太平角
鸡毛菜 <i>Pterocladia capillacea</i>	1996.4	太平角
多管藻 <i>Polysiphonia urceolata</i>	1997.3	太平角
海黍子 <i>Sargassum miyabei</i>	1996.6	太平角
鼠尾藻 <i>S. thunbergii</i>	1996.3	太平角
海带 <i>Laminaria japonica</i>	1997.3	市场购买
海带 <i>L. japonica</i> (干)	1997.3	市场购买后晒干

* 国家“九五”攻关资助项目 96-916-04 号。中国科学院海洋研究所调查研究报告第 3723 号。

收稿日期:1999-05-21;修回日期:1999-10-20

2 方法

2.1 季铵化合物的提取

500 g 新鲜海藻 (同种海藻另备一份准确计算出水分) 切碎后加入无水乙醇至乙醇浓度约为 70%, 用打浆机破碎, 萃取 24 h 后抽滤得萃取液, 两次洗涤滤渣后合并滤液。萃取液用旋转蒸发仪除去大量的水分、乙醇、色素以及大量贴壁的胶状物。将残留的浑浊液包括大量析出的盐分进行抽滤, 得到澄清的粗提液。

2.2 季铵化合物的纯化

柱径为 2.1 cm 的阳离子树脂首先进行前处理 (处理方法略), 最终备好阳离子柱的 pH 为 6.83。

上述的粗提液以 1 滴/s 的速度过阳离子树脂后用 500 ml, 3 mol/L 氨水洗脱。氨水洗脱液减压浓缩至干后再溶于水, 得到纯化的季铵化合物溶液备用。

； 结果和讨论

3.1 季铵化合物的定性检测

海藻中的季铵化合物均为德尔根多夫 (Dragendorff's) 阳性化合物, 与德尔根多夫试剂反应呈阳性显色, 产生褐色沉淀。沉淀的多少可以定性反应海藻中季铵化合物的存在和数量的相对比较。5 ml 纯化的季铵化合物样品加入几滴德尔根多夫试剂后产生的沉淀结果如图 1 所示。

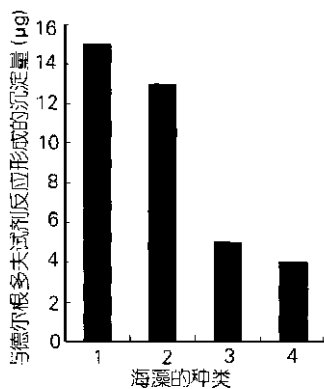


图 1 不同海藻对德尔根多夫试剂阳性反应产生的沉淀
1, 2, 3, 4 分别代表海藻的种类: 浒苔、鸡毛菜、海葵子和海藻
Fig.1 Precipitation amount of some main seaweed by Dragendorff's reagent

3.2 季铵化合物的分离提取

雷氏盐与季铵基团的反应具有高度的特异性, 形成雷纳克酸季铵化合物沉淀 (沉淀包括甜菜碱季铵化合物和非甜菜碱季铵化合物)。在 pH 为 1 的酸性 (用浓盐酸酸化) 环境中有利于雷纳克酸季铵化合物的形成, 并可以避免葫芦巴碱、龙虾肌碱、蓆豆甜菜碱、脯氨酸甜菜碱和反-4 羟基脯氨酸甜菜碱这几种甜菜碱季铵化合物自身形成内盐。为了使沉淀反应能最大程度的进行采用了饱和的雷氏盐溶液并且在冰水浴中进行。形成的沉淀再用丙酮-水溶液 (7: 3 v/v) 将其溶解, 然后减压浓缩并冷冻干燥, 获得季铵化合物的干重百分含量结果见表 2。

表 2 海藻中的季铵化合物含量 (均为干重 %)

Tab.2 The contents of quaternary ammonium compounds in seaweeds (dry weight %)

海藻种类	季铵化合物含量 (%)	甜菜碱季铵化合物含量 (%)	非甜菜碱季铵化合物含量 (%)
石莼	0.78	0.55	0.23
浒苔	1.31	1.00	0.31
鸡毛菜	0.34	0.25	0.09
多管藻	0.67	0.50	0.17
海葵子	0.059	0.035	0.024
鼠尾藻	0.012	0.005	0.007
海藻	0.018	0.01	0.008


3.3 甜菜碱季铵化合物的定量分析

上述形成的雷纳克酸季铵化合物沉淀用丙酮水溶液溶解后在加入硝酸根将雷纳克酸季铵化合物转化为可溶性的硝酸季铵化合物溶液, 在 pH 为 6 的条件下用标定好的 NaOH 溶液滴定。虽然雷纳克酸沉淀包括非甜菜碱季铵化合物, 但由于它们没有羧基或磺酸基 (如牛磺酸甜菜碱等), 加之酸性较弱, 因此滴定的结果为甜菜碱季铵化合物。分析测定结果见表 2。

由于季铵化合物的多样性和获得标准物的困难性, 对计算出来的甜菜碱季铵化合物的浓度 mol/L, 按分布最广泛、含量最高的甘氨酸甜菜碱季铵化合物的分子量估算海藻中甜菜碱季铵化合物的最低湿重百分含量, 再根据海藻的水分计算出甜菜碱季铵化合物的干重百分含量。

分析结果可以明显地看出海藻中季铵化合物的含量很丰富。绿藻, 特别是浒苔中的季铵化合物含量

研究报告 *REPORTS*

最高可达 1.31%。这个分析结果对开发利用海藻中的季铵化合物是非常有意义的。 1 韩丽君、范晓。海洋科学集刊。北京:科学出版社, 1999, 41:86-92

主要参考文献

EXTRACTING AND SEPERATING OF QUATERNARY AMMONIUM COMPOUNDS FROM SEA WEEDS WITH PEINKEATE SALT

HAN Li-jun¹ FU Rui-wen² SUN Han-zhang²

(¹*Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071*)

(²*Qingdao Ocean University, 266003*)

Received: May, 21, 1999

Key Words: Quaternary ammonium compounds, Peinkeate salt, Special reaction, Sea weeds

Abstract

Peikeate salt was used to extract and separate quaternary ammonium compounds from seaweeds. Seven seaweeds were analyzed by the method. The result shows that 1.31%, the content of quaternary ammonium compounds in *Ectocarpus prolifera* is the highest in all Analyzed seaweeds. The results also show that this is suitable method to collect quaternary ammonium compounds from seaweeds. (本文编辑:张培新)