

文章编号:1009-038X(2004)02-0053-05

甘氨酸螯合铁的合成工艺

林 萍, 宋常英, 张晓鸣

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘 要: 以氯化亚铁和甘氨酸为原料,研究了甘氨酸螯合铁的合成工艺条件. 结果表明,pH 值、配位比以及抗氧化剂用量对产品组成和得率有很大影响. 确定了螯合的最适条件为:pH 值为 5.5、配位比为 4:1. 采用有机溶剂萃取法,使甘氨酸螯合铁在无水乙醇中以沉淀的方式析出,实现甘氨酸螯合铁与无机铁的分离. 讨论了萃取时有机溶剂用量对产品得率的影响,在无水乙醇与滤液的体积比为 9:1 时,亚铁得率最高.

关键词: 甘氨酸;铁;螯合;有机溶剂

中图分类号:Q 517

文献标识码: A

The Synthesis Conditions of Ferrous Glycinate

LIN Ping, SONG Chang-ying, ZHANG Xiao-ming

(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: The synthesizing conditions of ferrous glycinate chelate using ferrous chloride and glycine as raw materials were studied in this paper. The result showed that the constitution of the product and the recovery of ferrous were considerably affected by pH, the molar ratio of glycine to ferrous, and the amount of antioxidant. The optimal reaction condition is pH 5.5, the molar ratio of 4:1. The filtrate was treated with organic solvent and the ferrous glycinate chelate was precipitated in ethyl alcohol absolute. Consequently, the chelate can be purified and analyzed by common chemical method. Extraction solvent was also evaluated. The effect of volume ratio of organic solvent to filtrate on the recovery of ferrous was studied. The highest recovery rate of ferrous was obtained at 9:1 of ethyl alcohol absolute to filtrate of ferrous glycinate.

Key words: glycine;ferrous chloride;chelate;organic solvent

铁是人和动物所必需的微量元素,制造血红蛋白、肌红蛋白和细胞色素都必须依赖铁. 铁与动物体内造血、携氧和产能等过程有直接关系. 据联合国世界卫生组织调查,全世界有 20 亿贫血人口^[1],在我国,缺铁性贫血也很普遍,有些地区,婴幼儿和中小学生缺铁性贫血患者高达 64.4%,其中妇女达 47%^[1,2].

食物中的铁经消化,在通过小肠膜吸收时,一些草酸盐、植酸盐等盐类物质极易与铁形成不溶性沉淀,降低了铁的吸收率^[3,4]. 多年来各国研究人员一直在探求副作用小、生物利用率高的铁营养强化剂^[5~7]. 据报道,特殊的螯合铁的形式对治疗成年、青年及儿童的缺铁性贫血非常有效^[8],而氨基酸螯合铁就是这样一种优良的补铁物质. 氨基酸可以作

收稿日期:2003-07-12; 修回日期:2003-11-18.

基金项目:江苏省高校高新技术产业化项目(JH02-097)资助课题.

作者简介:林萍(1977-),女,陕西白水人,食品科学硕士研究生.

为铁离子的载体,增加铁在肠腔中的溶解度,促进铁的吸收.甘氨酸是相对分子质量最小的氨基酸,甘氨酸螯合铁更容易被人和动物体吸收、利用^[9].目前,氨基酸微量元素螯合物作为饲料添加剂研究较多,但作为食品营养强化剂尚不多见.作者以氯化亚铁和甘氨酸为原料合成甘氨酸螯合铁,采用有机溶剂萃取的方法分离提纯,并对其组成进行了研究.

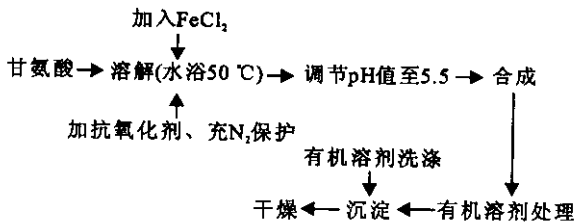
1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

氯化亚铁(AR):上海山海工学团实验二厂产品;无水乙醇:上海振兴化工一厂产品;甘氨酸(AR):中国医药(集团)上海化学试剂公司产品;无水甲醇(AR):中国医药(集团)上海化学试剂公司产品;多功能快速消化器:江苏省宜兴市科教仪器研究所生产;722 光栅分光光度计:上海第三分析仪器厂生产;精密 pH 计:上海精密科学仪器有限公司生产;低速大容量离心机:上海科学仪器厂生产.

1.2 实验方法

1.2.1 合成 采用直接配位法及有机溶剂萃取法,以亚铁盐和甘氨酸为原料,在 50℃ 水浴中反应,合成甘氨酸螯合铁.工艺路线如下:



1.2.2 分析方法 甘氨酸含量测定:凯氏定氮法^[10].甘氨酸螯合铁中,只有甘氨酸是惟一的氮源,因此,用凯氏定氮法测定甘氨酸含量,方法简单,结果准确.甘氨酸螯合铁的测定曾尝试用高效液相色谱法,但是,流动相溶液以及洗脱过程可能会使甘氨酸螯合铁分解.

总铁含量测定:邻菲罗啉比色法(测定铁时要对样品用酸处理)^[11].亚铁含量测定:硫氰酸盐分离,邻菲罗啉比色法^[12].水分测定:恒重法^[11].

2 结果与讨论

2.1 合成及纯化过程中各阶段甘氨酸螯合铁的组分分析

为了研究甘氨酸螯合铁的合成与分离纯化工艺,首先按上述工艺合成并分离产物,对各阶段分

离组分做定量分析,结果见表 1.

表 1 合成及纯化过程中各阶段甘氨酸螯合铁组分分析
Tab.1 Composition of ferrous glycinate in various stages of synthesis and purification

样品	总铁 质量/g	亚铁 质量/g	甘氨酸 质量/g	总铁 收率/%	甘氨酸 收率/%
滤液	1.076	0.829	4.504	96.5	99.38
结晶	1.033	0.807	3.771	92.6	83.2
纯化后产品	0.83	0.67	2.357	74.4	52.1

注:滤液为反应结束后,未经任何处理的液体;结晶为滤液用一定体积的有机溶剂萃取,放置冰箱中静置结晶;纯化产品指滤液用有机溶剂萃取后,再用适量有机溶剂洗涤数次,放置干燥器中干燥.甘氨酸螯合铁的合成:在 500 mL 三颈烧瓶中加入 6 g 甘氨酸,加入 25 mL 水溶解,然后加入抗氧化剂约 0.07 g,在通入氮气的同时,加入 4 g 左右的氯化亚铁,用质量浓度 40 g/dL 氢氧化钠溶液调节反应的 pH 值至 5.5,水浴 50℃ 加热,pH 值恒定后反应持续 15 min.

从表 1 中可以看出,滤液中铁和甘氨酸的收率分别为 96.5%,99.4%,这说明甘氨酸与铁反应后,绝大部分的铁和甘氨酸都留在滤液中,只有很少部分的铁在反应过程中生成氢氧化铁沉淀损失掉.

结晶后甘氨酸收率降为 83%,说明部分游离甘氨酸可以通过结晶分离出去.有机溶剂萃取时,甘氨酸和螯合物都沉淀下来,但是,沉淀的颜色和形式完全不同.螯合物是黑色的粘稠状沉淀,而甘氨酸在有机溶剂和水的混合液中为絮状沉淀,因此,很容易把二者分离.纯化后,甘氨酸的收率进一步降低到 52%,说明很大部分游离甘氨酸可以通过有机溶剂萃取和洗涤除去.

结晶后总铁与亚铁的含量和结晶前滤液中的基本接近,说明铁大部分参与了甘氨酸的螯合反应,这也是滤液中能存在 96.5% 铁的原因.纯化后总铁和亚铁量有所降低,原因可能是和氨基酸螯合不太紧密的铁在无水乙醇洗涤过程中被除去.这部分铁可能是以离子键作用和游离的甘氨酸阴离子结合,随着非螯合甘氨酸的除去也被洗掉.

合成与分离纯化过程中铁和甘氨酸在不同阶段的含量变化表明有机溶剂萃取法可能实现甘氨酸螯合铁与游离铁分离.

2.2 铁源及萃取剂的选择

上述实验表明,螯合物可在有机溶剂中沉淀析出,如果选择适当的铁源可以使游离金属离子溶于有机溶剂,就可以使螯合铁和游离铁分离,为进一步的提纯和检测提供可能.常见的亚铁盐有硫酸亚铁和氯化亚铁.表 2 比较了不同铁盐在不同的有机溶剂中的溶解性情况.

表 2 不同铁盐在有机溶剂中的溶解情况
Tab.2 The solubility of various iron salts in the organic solvents

铁盐	乙醇体积分数/%								丙酮体积分数/%							
	100	90	80	70	60	50	40		100	90	80	70	60	50	40	
FeSO ₄ · 7H ₂ O	—	—	—	—	—	—	+-		—	—	—	—	—	—	+-	
FeCl ₂ · 4H ₂ O	++	++	++	++	++	++	++		—	—	—	—	—	—	+-	

注:— 为不溶解;— 为溶解不明显;+- 为溶解明显,++ 为全部溶解.

从表 2 中看出,在体积分数 50% 到 90% 的乙醇溶液中,硫酸亚铁的溶解度变化不大,基本不溶.因此,用硫酸亚铁做为铁源合成螯合铁,不能使游离金属离子和螯合物分离.

氯化亚铁能完全溶于乙醇中,实验研究表明,三氯化铁也能溶于乙醇.这样,就可以用乙醇萃取反应液、游离的 Fe²⁺ 或 Fe³⁺ 溶解在乙醇中,而螯合铁在乙醇中沉淀析出.因此用氯化亚铁做铁源,可以实现有机铁和无机铁的分离,提高产品的纯度.

2.3 萃取溶剂用量的选择

因为甘氨酸螯合铁是一种水溶性螯合物,用有机溶剂萃取时,萃取溶剂的用量直接影响整个萃取时溶液中水相的浓度,从而影响甘氨酸螯合铁的溶解度和提取率.加入的无水乙醇量少的话,溶液中的水使乙醇相稀释,那么不可避免的有一部分螯合物会溶解到乙醇与水的混合液中,造成损失;但如果加入过多的无水乙醇处理,也会造成不必要的浪费.见图 1.

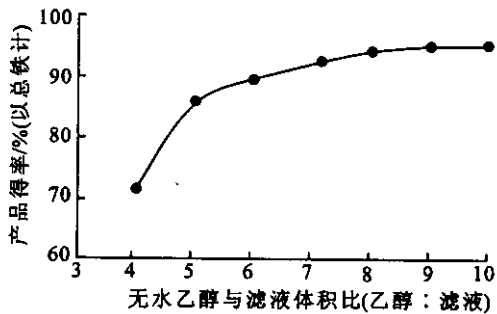


图 1 无水乙醇用量对产品得率的影响
Fig.1 Effect of the volume ratio of organic solvent to filtrate on the recovery

由图 1 可知,萃取剂无水乙醇与滤液的体积比越大,产品中铁含量越高,铁的提取率越大,体积比 9 : 1 以后,再增加乙醇用量,铁的提取率已基本不变,因此可以确定无水乙醇与滤液的体积比为 9 : 1 最为适宜.

2.4 合成工艺条件的选择

影响氨基酸螯合物合成工艺及稳定性的因素主要有 pH 值、配位比、反应的温度、时间等.一般金属离子的配位反应是一个室温下的快速反应,温

度和时间对它的影响都不大^[13].适当加温只是为了提高甘氨酸的溶解度.为了避免无机铁的水解,反应物的浓度一般都比较低,甘氨酸溶解性受到一定影响,作者主要讨论了 pH 值、配位比、抗氧化剂用量等对合成工艺的影响.

2.4.1 反应体系 pH 值对配位反应的影响 pH 值是影响金属离子与氨基酸螯合反应的一个重要因素.在 pH 值较低的酸性条件下,H⁺ 将与金属离子竞相争夺供电子基团,从而不利于氨基酸金属螯合物的形成;在 pH 值较高的碱性条件下,羟基与供电子基团争夺金属离子而形成羟基螯合物,从而产生氢氧化物的沉淀.一种配位体 L 只有当 pH 值达到一定的条件下,才能以未加合(接受)质子的形式 L⁻ 存在.当 pH 值逐渐降低时配位体是以加合质子 HL,H₂L……等形式存在,配位体 L 在反应液中的浓度很低,不利于向对螯合平衡有利的方向转移.因此,一种配位体在 pH 值多大时能全部以未加合质子的形式存在,达到较好的螯合效果,是一个关键.实验选取 pH 值在 5~7 的范围内变化,研究 pH 值对螯合反应的影响(反应配位比 3 : 1)(见图 2).

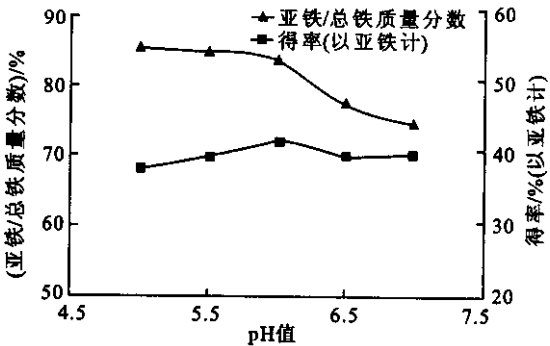


图 2 pH 值对产品组分的影响
Fig.2 Effect of pH on the constituent of product

从图 2 可以看出,随着 pH 值不断升高,亚铁占总铁百分比逐渐减少,在 pH 值 6.0 以上发生明显的降低.这说明在反应过程中,pH 值较高的条件下,有较多的 Fe²⁺ 被氧化.尽管 Fe³⁺ 也可以与甘氨酸螯合,但不能被人体吸收利用.观察不同 pH 值条件下产品的复水情况,结果见表 4.

表 4 不同 pH 值条件下产品复水后的氧化稳定性情况

Tab. 4 Oxidation stability of the products at different pH when rehydrated

pH 值	氧化稳定性
5.0	+
5.5	+
6.0	++
6.5	++

注：++为复水后立刻水解氧化产生沉淀；+为复水后 5~10 min 水解产生沉淀，氧化不明显。

综上所述,选择合适的 pH 值为 5.5.

2.4.2 不同配位比对配位反应的影响 配位比即配位体与金属离子的摩尔数之比.它是影响金属离子与氨基酸配位反应的一个重要因素,配位比太小,不能形成稳定的环状结构,配合物不稳定;配位比太大,会造成氨基酸的浪费,不经济.因此,实验在确定了 pH 值条件后,研究了能达到一定螯合程度的最小配位比,既保证产品成本,又能充分利用氨基酸,降低产品成本.为此设计了不同配位比条件下的螯合反应,并对产品做了分析,结果见图 3.

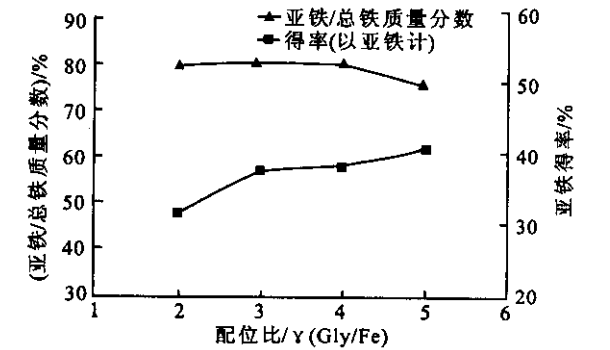


图 3 配位比对产品组分的影响

Fig. 3 Effect of the molar ratio on the constituent of product

由图 3 可以看出,配位比 2 : 1 的亚铁得率明显比其他 3 个小,说明它在反应过程中,有较多的铁水解氧化损失了.配位比分别为 3 : 1,4 : 1,5 : 1,亚铁得率相差不大.亚铁得率随配位比增大逐渐升高,说明配位比增大有利于防止反应中铁的氧化.但是,加入过量的氨基酸显然在经济上不合理,因此,还要综合后面的复水性实验来确定一个最佳的配位比.

2.4.3 复水性实验 复水性即指产品在水中的溶解性及水解程度,定性表示为产品溶于水,溶液中的铁质量占总铁质量比例.甘氨酸螯合铁作为一种食品营养强化剂,良好的复水性是其重要的质量指

标.图 4 中研究了不同配位比条件下合成得到的纯品的复水情况.

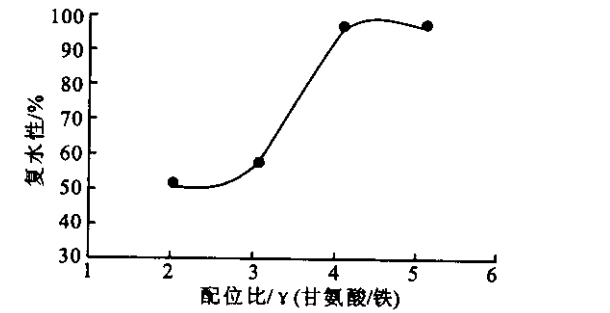


图 4 不同配位比下产品的复水性

Fig. 4 The rehydration of the product at various molar ratios

在合成过程中,加入的甘氨酸量越多,产品就越不容易水解.由图 4 很明显看出,配位比为 4 : 1 时复水性很好,溶液基本不水解,而配位比为 3 : 1 时复水性很差,水解相当严重.这说明要提高螯合铁的稳定性和复水性,必需有一定的甘氨酸结合率.因此,选择配位比为 4 : 1 较合适.

2.4.4 抗氧化剂用量对配位反应的影响 铁的吸收主要在小肠上部,吸收效率与铁的存在状态及粘膜因素有关^[13].离子铁还原成 Fe^{2+} 才能被机体吸收.在螯合铁的生产过程中, Fe^{2+} 在水中极易被氧化为 Fe_2O_3 沉淀.因此,在螯合过程中,如何保护 Fe^{2+} ,使其最大限度地与氨基酸螯合,这是目前氨基酸螯合铁研究过程中的一个最重要的问题.作者采用在螯合前加入抗氧化剂的方法防止铁的氧化.

加入的抗氧化剂量多少是一个关键问题.如果过少,则会有部分铁不能被保护,如果过多,最终产品中抗氧化剂的含量也越多,可能影响产品的纯度及分析检测.在 pH 值为 5.5,配位比为 4 : 1 的条件下不同抗氧化剂用量对产品组成的影响见图 5.

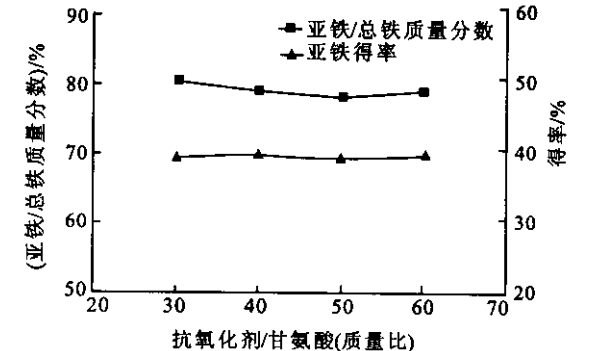


图 5 抗氧化剂用量对产品组分的影响

Fig. 5 Effect of the dose of antioxidant on the constituent of product

图 5 表明,抗氧化剂用量对产品组分基本无影响.因此, $m(\text{抗氧化剂}) : m(\text{甘氨酸}) = 60 : 1$ 就可以达到保护的效果.

2.5 甘氨酸螯合铁产品成分分析和红外光谱分析

在上述优化后的工艺条件下,pH 值 5.5,配位比(Gly/Fe)为 4 : 1,合成并纯化甘氨酸螯合铁产品,其成分分析结果见表 5.

表 5 甘氨酸螯合铁产品的成分分析
Tab.5 Composition of the Ferrous glycinate

成分	质量分数/%
甘氨酸	61.80
盐	19.87
总铁	11.42
螯合铁	
亚铁	9.11
游离铁	≈0
其它成分 (水分,抗氧化剂等)	6.87

从产品的成分分析结果看,螯合铁产品中还有较多的盐存在,主要是由调节 pH 值的碱所引入,在后续研究中将通过透析、超滤等方法进一步纯化产品.

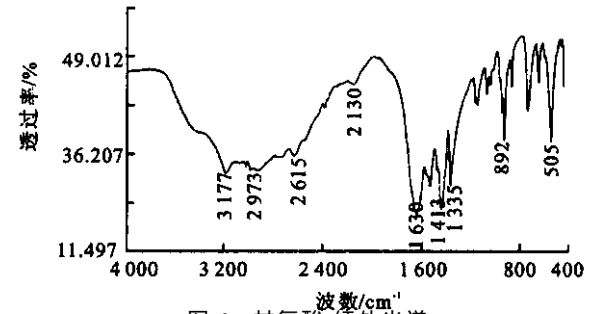


图 6 甘氨酸 红外光谱
Fig. 6 Infrared spectrum of glycine

参考文献:

[1] 程义勇,蒋与刚. 生物医学微量元素数据手册[M]. 天津:天津科学技术出版社,1994. 226.
[2] 刘志皋. 食品营养学[M]. 北京:中国轻工业出版社,1991.
[3] Ekhard E,Zidgler L J, Filer J r. 现代营养学(第 7 版)[M]. 闻芝梅,陈君石译. 北京:人民卫生出版社,1998. 267—278.
[4] 王夔,徐辉碧,唐任寰,等. 生命科学中的微量元素[M]. 北京:中国计量出版社,1992.
[5] Kar A,Ochuba O N. Preparation and in vivo evaluation of iron(II)—amino acid complexes[J]. *Indian J Pharm Sci*,1981, 43(6):213—216
[6] Anderson Dean, Abdel-Monem R. Iron methionine complex salts[P]. USA:067,994,1978—10—10.
[7] H Dewayne Ashmead. Intestinal absorption of metal irons and chelates[J]. *Charles C Thomas Publisher*,1985,8:227—330.
[8] 赵惠敏,王继业. 氨基乙酸螯合铁的研究[J]. 河北师范大学学报(自然科学版). 2000,24:56—59.
[9] Oscar Pineda H. DeWayne Ashmead. Effectuveness of treatment of iron—deficiency anemia in infants and young children with ferrous bis—glycinate chelate[J]. *Nutrition*, 2001,17(5):381—384.
[10] 黄伟坤. 食品检验与分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,1981.
[11] 宁开桂. 实用饲料分析手册[M]. 北京:中国农业科技出版社,1992.
[12] 张祥林. 络合物化学[M]. 北京:冶金工业出版社,1979.
[13] Ranganathan S, Vasantha Lakshmi K, Vinodini Reddy. Trial of ferrous glycine sulphate in the fortification of common salt with iron[J]. *Food Chemistry*,1996,57(2):311—315.

(责任编辑:杨 萌)

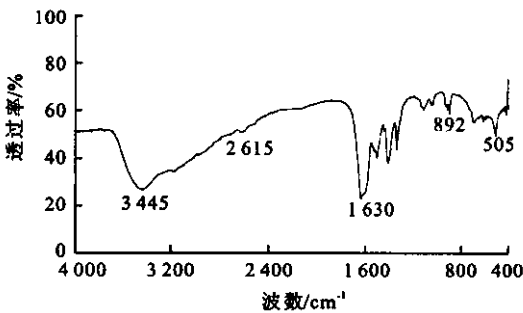


图 7 甘氨酸铁 红外光谱
Fig. 7 Infrared spectrum of ferrous glycinate

将纯化后的产品做红外光谱分析,并和纯品甘氨酸比较.(见图 6,7). 甘氨酸的红外光谱在 2 600 ~3 100 cm⁻¹有强宽谱带,这是 NH³⁺ 的特征吸收峰,而甘氨酸铁的红外光谱中无此吸收峰,说明甘氨酸螯合铁中没有游离的 NH³⁺. 同时,甘氨酸在 2 130 cm⁻¹处有一个较强的吸收峰,这是 α-氨基酸的特征吸收,而甘氨酸铁的红外图谱中无此吸收峰,因此,可以确定甘氨酸铁螯合物中没有游离的甘氨酸存在. 产品是以甘氨酸螯合铁的形式存在.

3 结 论

- 1) 根据不同的铁盐在有机溶剂中溶解性的不同,确定铁源为氯化亚铁.
- 2) 采用有机溶剂处理法,使甘氨酸螯合铁以沉淀的方式析出. 确定了萃取溶剂的用量:V(有机溶剂) : V(滤液)=9 : 1.
- 3) 直接配位法制取甘氨酸螯合铁,确定了最佳生产工艺条件:水浴 50 ℃, pH 值 5.5, 配位比(Gly/Fe)为 4 : 1.