

## 研 究 簡 报

### 毛蚶維生素B<sub>12</sub>的提炼及其吸收光譜的檢定

水产部海洋水产研究所

过紹武 蔣維錚

#### 前 言

維生素 B<sub>12</sub> (以下簡称 B<sub>12</sub>) 是恶性贫血等病症的有效药剂, 現已广泛用于临床医疗; 其粗制品微量拌入饲料中, 可以促进动物的生长, 这在国外已用于畜牧业中。

在 B<sub>12</sub> 的試驗研究和工业生产中所用的原料, 大多为 齿类肝脏和抗 菌素廢液, 至今尚未 悉有人从水产品中提出过 B<sub>12</sub> 結晶和作过其特性分析。

毛蚶 (*Arca subcrenata*) 是我国北方沿海产量最多的一种貝类, 产期亦較集中, 每年秋后, 在辽宁省的王家窩舖、河北省的塘沽和山东省的羊角沟等地 均大量加工, 其脫壳煮湯和蚶肉洗液則全部废弃, 未加利用。

在水产品綜合利用的要求下, 从1959年开始, 我們测定了毛蚶中 B<sub>12</sub> 的含量, 并在探索其有关提取条件取得一定結果的基础上, 进行了 B<sub>12</sub> 結晶的提炼試驗, 其目的在于了解毛蚶 B<sub>12</sub> 結晶的特性和毛蚶煮湯的利用途径。

#### 試 驗 方 法

毛蚶 B<sub>12</sub> 結晶基本上是按华北制药厂的抗 菌素廢液 B<sub>12</sub> 的生产工艺提炼的。但在試驗中, 也曾发生过一些問題, 例如氧化后用有机溶剂抽提时, 产生严重的乳化和不易分层的現象, 以及提取量偏低等等。为此, 我們就有关工序的提取条件作了調整和改变, 并用于毛蚶 B<sub>12</sub> 的提炼。这些作了調整的工序簡述如下:

1. 原料处理及蚶肉 B<sub>12</sub> 的浸出: 用水洗去鮮毛蚶壳面的泥沙, 置于蒸汽箱内 (90℃以上) 蒸 5~7 分钟, 收取其蚶湯; 或置于沸水鍋中, 煮 20 分钟 (水量以浸没毛蚶为适度) 后取出毛蚶, 收集其蚶湯。

脫壳后的蚶肉加 2 倍重量的水和 0.1% 的 NaNO<sub>2</sub>, 調节 pH 值至 6.0 (±0.2), 保温在 85℃ 左右, 攪拌浸出 45 分钟, 收取浸出液 (蚶肉再經溫水洗滌后加工为淡干品或制成其他食品)。

合併蚶湯和蚶肉 B<sub>12</sub> 浸出液, 即可进行下一工序的提取, 或者加入 0.1% 的酚, 調节 pH 值至 5.0~5.5, 置冷处保存备用。

pH 值以工业用浓硫酸和无水碳酸鈉調节, 用精密 pH 試紙 (E. Merck 出品) 測定, 以下同。

2. 白土吸附与脫附: 向蚶湯和蚶肉 B<sub>12</sub> 浸出液中加入 2.5% 的白土, 調节 pH 值为 2.7 (±0.2), 攪拌吸附 90 分钟, 靜置, 待白土完全沉淀后, 弃去上部水液。此时, 液中 B<sub>12</sub> 有 90% 左右被白土吸附。

取吸附 B<sub>12</sub> 的白土, 行两次脫附, 第一次脫附加水 2.0~2.5 倍, 第二次脫附加水 1.0~1.5 倍; pH 值均調节为 9.0 (±0.2); 稳定剂用量, 第一次脫附加原白土重量的 0.5% NaNO<sub>2</sub> 和 0.25% Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, 第二次脫附加 0.25% NaNO<sub>2</sub> 和 0.12% Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>; 各在 75℃ (±2℃) 溫度下攪拌脫附 45 分钟。两次总脫附率为 80% 左右 (第

一次脫附率為68%，第二次脫附率為13%左右)。活性白土系青島市手工業管理局化工厂出品。

3. 先提取後氫化：由於毛蚶 B<sub>12</sub> 液中含有較多的雜質，白土吸附和脫附僅能分離部分雜質，減壓濃縮只有縮小體積而無分離雜質的作用。因此，經減壓濃縮後的毛蚶 B<sub>12</sub> 濃縮液中，仍含有較多的蛋白質和其他雜質，如按抗菌素廢液 B<sub>12</sub> 的生產工藝先氫化後提取時，則產生乳化和不易分層的現象，並降低 B<sub>12</sub> 的提取率。採用先提取後氫化的方法，並改變某些條件後，即可避免上述問題。

向 B<sub>12</sub> 濃縮液中加入 20% (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (W/V)，攪拌使之溶解，在 60℃ 左右保溫 10 分鐘，以 1:2 甲酚-丁醇進行正抽提（用有機溶劑提取水液中的 B<sub>12</sub>），用量為 B<sub>12</sub> 水液體積的 1/10，搖動 5 分鐘，然後分出水液，以同樣方法反復抽提三次，使水液中的 B<sub>12</sub> 轉溶于有機溶劑。合併三次有機溶劑，加入同體積的四氯化碳惰性液劑和 1/10 體積的水，進行反抽提（將有機溶劑中的 B<sub>12</sub> 轉溶于水），每次搖動 5 分鐘，分離出有機溶劑，按同樣方法反復抽提三次，使有機溶劑中的 B<sub>12</sub> 完全轉溶于水。合併三次水抽提液，即為一次水提液。

這樣，在 B<sub>12</sub> 的抽提率（正抽提率為 97%，反抽提率為 90%，正反總抽提率為 88%），分離雜質和分層的效果上，均比目前用抗菌素廢液生產 B<sub>12</sub> 所採用的 1:3 酚-丁醇為佳。採用 1:2 酚-丁醇時，正抽提率很高（99.8%），但反抽提率低（37.7%）。若需提高 1:2 酚-丁醇的反抽提效果，可以适当增加惰性溶劑的用量。

將一次水提液調至 pH 5.0~5.5（pH 值過高，在以後有機溶劑抽提時產生乳化和不易分層；pH 值過低，將逸出劇毒的氫化氫），加入 0.5% NaCN (W/V)，此時氫化液的 pH 值上升至 12 左右，完全符合 B<sub>12</sub> 的氫化必須在鹼性環境下進行的要求（NaCN 用量過多，pH 值則上升至 12 以上，B<sub>12</sub> 易受破壞，且不利於以後的操作）。

先提取後氫化的方法，既可事先分離雜質和縮小體積，以大大減少氫化鈉的用量（可比生產上的 1.0~1.2% 用量減少 90% 以上），又能防止乳化和提高 B<sub>12</sub> 提取率（可比先氫化後提取方法提高 10% 以上）。

4. 用醋酸將氫化後 B<sub>12</sub> 液的 pH 值調至 7.0~7.5，再用 1:1 甲酚-四氯化碳抽提，以 1/5 體積的無鹽水洗滌一次後，滴加液醋酸將 pH 值降至 4.5~5.0，使二氫絡合物分解成氫鈷維生素 (B<sub>12</sub>)，繼用 1/5 體積的無鹽水洗滌兩次，以除去殘存的氫離子。向甲酚-四氯化碳加惰性溶劑和水進行反抽提，得鮮紅色 B<sub>12</sub> 的兩次水提液，然後經氫化鋁層析、丙酮結晶、干燥即得毛蚶 B<sub>12</sub> 結晶品。B<sub>12</sub> 含量用微生物法測定。B<sub>12</sub> 吸收光譜系用英國 Hilger 廠出的 Uvispek 分光光度計測定的。

## 結果與討論

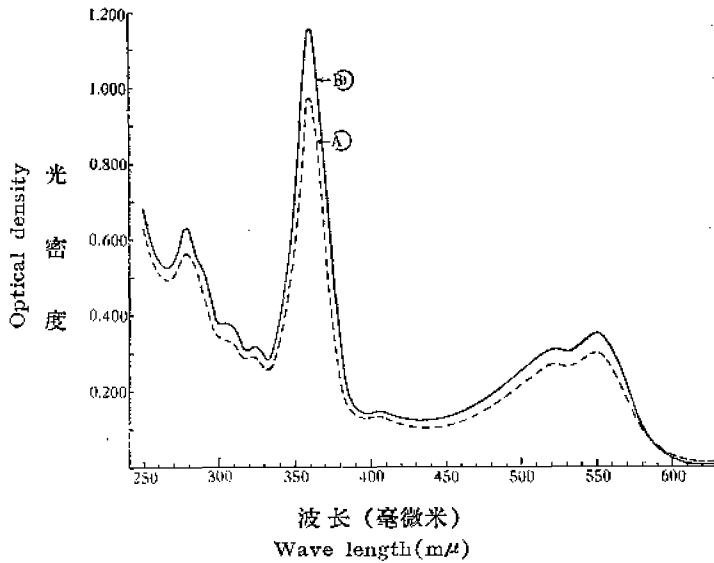
1. 鮮毛蚶肉每 100 克含 B<sub>12</sub> 65~85 微克。毛蚶在加工生產中蒸煮的蚶湯含 B<sub>12</sub> 0.20~0.30 微克/毫升，蚶肉浸出液含 B<sub>12</sub> 0.25~0.40 微克/毫升，接近於具有工業生產價值的抗菌素廢液的 B<sub>12</sub> 含量（0.3~0.6 微克/毫升）。

但是，決定工業生產的因素，不僅取決於原料中 B<sub>12</sub> 含量的多寡，而且還必須考慮到國家對這種產品（結晶品）的需要情況，建廠生產布局的合理性以及設備的利用率等等，就我們所了解的情況，目前尚難用毛蚶加工的煮湯為原料生產 B<sub>12</sub> 結晶制品。鑑於在毛蚶的正常加工過程中，100 斤鮮毛蚶可得蒸煮蚶湯和蚶肉煮液 120~130 斤，在加工期間易于集中，B<sub>12</sub> 的含量又較高，因此，可以在加工生產毛蚶的地區，因地制宜地建立簡單設備，生產 B<sub>12</sub> 粗制品，作為促進家禽、家畜生長的飼料，以擴大毛蚶加工廢棄物的利用。

2. 毛蚶 B<sub>12</sub> 結晶的提取率為蚶湯和浸出液中 B<sub>12</sub> 含量的 20% 左右，顯得偏低。這是由於試驗設備簡陋，不可能取用大量原料進行提煉，因而在繁復的工藝過程中，特別是少量樣品在層析、結晶過程中，B<sub>12</sub> 的損耗較大。如採用正規的生產設備，並按上述方法進行提煉時，毛蚶湯中 B<sub>12</sub> 的提取率，有可能達到以抗菌素廢液為原料的 B<sub>12</sub> 提取率。

3. 從毛蚶湯中提取的 B<sub>12</sub> 為暗紅色針狀結晶，與用抗菌素廢液提取的 B<sub>12</sub> 結晶（標準品）同以分光光度計檢定了其吸收光譜，結果如圖。

由下圖可以看出，曲線 A 的三個特征吸收峰分別位於 278.3 毫微米、361.0 毫微米和 550.0 毫微米，峰值



毛蚶 $B_{12}$ 结晶 (A) 与标准 $B_{12}$ 结晶 (B) 之吸收光谱  
Absorption spectra of vitamin  $B_{12}$ : (A) from *Arca subcrenata*, (B) standard.

光密度之比为:

$$\frac{A_{361}}{A_{278}} = 1.72, \quad \frac{A_{361}}{A_{550}} = 3.25$$

曲线B之三个特征吸收峰亦分别位于278.3毫微米、361.0毫微米和550.0毫微米, 峰值光密度之比为:

$$\frac{A_{361}}{A_{278}} = 1.85, \quad \frac{A_{361}}{A_{550}} = 3.27$$

根据以上测定结果, 毛蚶 $B_{12}$ 结晶特性符合《中华人民共和国药典》的规定(1963年)。

### 摘 要

1. 本文研究了毛蚶维生素 $B_{12}$ 的含量及其提炼方法。试验证明: 鲜毛蚶肉每百克含 $B_{12}$ 65~85微克, 在加工生产中蒸煮的蚶汤含 $B_{12}$ 0.20~0.30微克/毫升, 蚶肉浸出液含 $B_{12}$ 0.25~0.40微克/毫升。

2. 从毛蚶中提取的 $B_{12}$ 为暗红色针状结晶, 其三个特征吸收峰分别位于278.3毫微米、361.0毫微米和550.0毫微米, 峰值光密度之比为:

$$\frac{A_{361}}{A_{278}} = 1.72, \quad \frac{A_{361}}{A_{550}} = 3.25$$

表明毛蚶 $B_{12}$ 结晶特性符合《中华人民共和国药典》的规定(1963年)。

THE EXTRACTION OF VITAMIN B<sub>12</sub> FROM  
*ARCA SUBCRENATA* AND THE DETERMINATION  
OF ITS ABSORPTION SPECTRA

JIWANG-HUI FISHERIES RESEARCH INSTITUTE, MINISTRY OF FISHERIES

GUO SHAO-WU AND JIANG WEI-ZHENG

ABSTRACT

1. The vitamin B<sub>12</sub> content of the Mollusk (*Arca subcrenata*) and its extraction methods have been studied. The results obtained indicate that the vitamin B<sub>12</sub> content of the fresh meat of *Arca subcrenata* is 65~85r/100g., of its broth obtained during processing, 0.20~0.30r/ml. and of the extractive of its meat 0.25~0.40r/ml.

2. The vitamin B<sub>12</sub> extracted from *Arca subcrenata* consists of needle-shaper crystals of dark red color. Its three absorption peaks are found at 273.3m $\mu$ , 361.0 m $\mu$  and 550.0 m $\mu$ . The ratios of absorbency are:

$$\frac{A_{361}}{A_{273}} = 1.72, \quad \frac{A_{361}}{A_{550}} = 3.25$$

It was confirmed that the characteristics of vitamin B<sub>12</sub> crystals extracted from *Arca subcrenata* well agree with the descriptions in Chinese Pharmaceutical Code (1963).