

紫外分光光度法在复合氨基酸铜配合物测定中的应用

The Coordination Matching Determination of the Cupric Complexes of Amino Acid by the Ultraviolet Spectroscopy

张进霞^{1,2}, 袁洪水¹, 王世英¹, 韩继刚^{1,2}, 朱宝成^{1,2*}

(1. 河北农业大学生命科学学院, 保定 071001; 2. 河北大学生命科学学院, 保定 071002)

氨基酸铜配合物作为新型杀菌剂已有许多报道。本实验室最早把氨基酸铜配合物用于防治棉花黄萎病。氨基酸配合物是氨基酸和金属离子相结合而形成的较稳定的化学结构, 它可以保护金属离子的生物效价。金属离子与氨基酸配合后通过细胞膜的速度比无机金属离子大 20~30 倍, 提高了机体对金属离子的利用率。为了测定复合氨基酸铜配合物制备过程中的氨基酸与铜离子的配位比, 本实验确定了简单实用的紫外分光光度计测定方法。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂

紫外分光光度计(6405 型, JENWAY), 酸度计(DELTA320 型, METTLER-TOLEDO)。

甘氨酸、谷氨酸、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、天冬氨酸、复合氨基酸(含量 48%)、硫酸铜、NaOH、活性炭。

1.2 实验方法

1.2.1 氨基酸与铜离子的配合测定。取 7 支容量瓶分别加入 0.01 mol·L⁻¹ 氨基酸溶液 0 μL、500 μL、1000 μL、1500 μL、2000 μL、2500 μL 及 3000 μL, 然后每瓶依次加入 0.01 mol·L⁻¹ 的硫酸铜溶液 500 μL, NaOH 调 pH, 加蒸馏水定容至 50 mL。充分摇匀, 室温放置 10 min, 8000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 测定上清液在 230 nm 处的光吸收值。等量的氨基酸溶液为空白对照。

1.2.2 复合氨基酸与铜离子的配合测定。配制 1.2% 复合氨基酸溶液后, 用 3% 的活性炭脱色 40 min 后, 滤去活性炭。取 19 支容量瓶分别加入 1.2% 复合氨基酸溶液 0 μL、10 μL、20 μL、30 μL、40 μL、50 μL、60 μL、70 μL、80 μL、90 μL、100 μL、110 μL、120 μL、130 μL、140 μL、150 μL、160 μL、170 μL 及 180 μL, 然后每瓶依次加入 1.2% 的硫酸铜溶液 60 μL, NaOH 调 pH, 最后定容至 50 mL。等量的复合氨基酸溶液为空白

对照。

1.2.3 pH 滴定曲线。配制 6% 的复合氨基酸溶液及复合氨基酸铜反应液各 50 mL, 分别用 0.5 mol·L⁻¹ NaOH 滴定, 作 pH-NaOH 的关系曲线。

2 结果与分析

2.1 氨基酸铜离子配合物的光吸收测定

经测定, 硫酸铜溶液在 230 nm 处的吸光值为 0.014, 对氨基酸铜离子配合物的吸光度测定影响较小, 可以忽略不计。从图 1 可以看出, 甘氨酸、谷氨酸铜、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、天冬氨酸在 230 nm 处的光吸收值较低, 它们对配合物的光吸收测定影响较小, 所以氨基酸铜配合物在 230 nm 下的吸收值可以反映配合物的形成情况。氨基酸与铜离子的配位比为 2:1 时, 溶液达到了较高的光吸收值, 如再增加氨基酸的量, 溶液的光吸收值增加并不明显, 因此认为氨基酸与铜离子合适的配位比为 2:1。

2.2 复合氨基酸铜离子配合物的光吸收测定

从图 2 可知, 在加入复合氨基酸的体积为 0~60 μL 时, 配合物的形成速度较快, 其 230 nm 下的光吸收值迅速升高, 加入体积 60 μL 时, 几乎达到最高, 此时的配合状态最好; 而 60 μL 以后, 趋势较缓。因此, 如果不考虑本底的影响, 应该是实验中相等浓度的两种溶液(1.2%), 加入体积比为 1:1 的时候配合达到最佳状态, 即复合氨基酸和硫酸铜的质量比为 1:1。由于本次实验所用复合氨基酸粉的氨基酸含量为 48%, 因此得到复合氨基酸粉与五水硫酸铜的质量比约为 2:1。若复合氨基酸的平均分子量按照 128 计算, 氨基酸与 Cu²⁺ 的配位比即为 2:1。这一结果与单一组分氨基酸与铜离子的配位比一致。

复合氨基酸粉的氨基酸含量为 48%, 因此得到复合氨基酸粉与五水硫酸铜的质量比约为 2:1。若复合氨基酸的平均分子量按照 128 计算, 氨基酸与 Cu²⁺ 的配位比即为 2:1。这一结果与单一

组分氨基酸与铜离子的配位比一致。

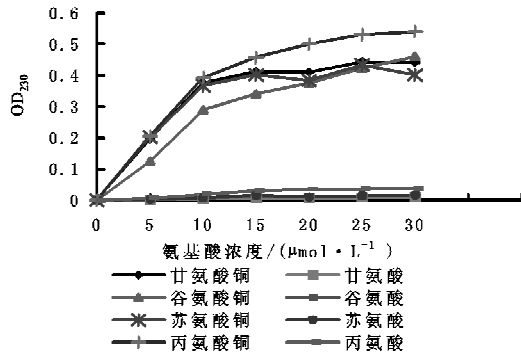


图 1 氨基酸铜配合物光吸收曲线

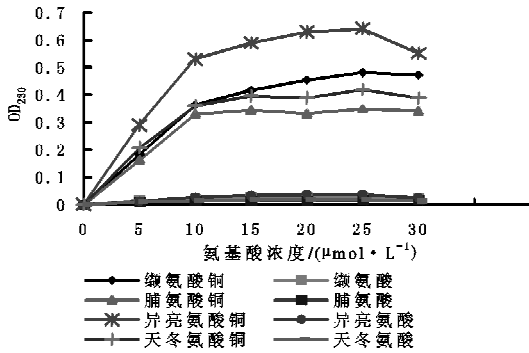


图 2 复合氨基酸铜配合物光吸收曲线

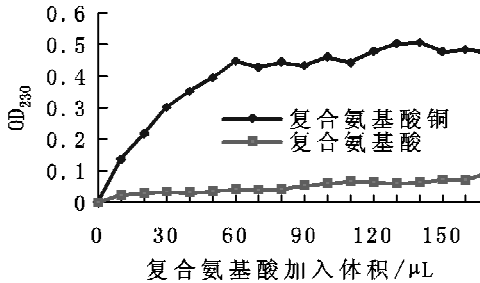


图 3 复合氨基酸铜配合物光吸收曲线

2.3 复合氨基酸与铜离子的配合反应滴定曲线

在图 3 中,曲线 a 是由 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 标准溶液滴定复合氨基酸液,曲线 b 是用同浓度的 NaOH 溶液滴定复合氨基酸与硫酸铜反应液所绘制 pH 滴定曲线。曲线 b 位于曲线 a 之下,这表明复合氨基酸与铜离子配合后,释放 H^+ 从而引起溶液的 pH 值降低。另外, pH 3.97~4.92 时,曲线 b 有一平坦部分,由此反映出在该 pH 范围内,配合反应进行的最快。这是配合反应放出 H^+ 消耗了所滴入的 NaOH 溶液,致使 pH 上升幅度较小,仍保持在 3.97~4.92,直至反应近完成。从 a 与 b 差式滴定曲线 a-b 曲线上更清楚说明这一点。而且,由这三条曲线还可以分

析得出:从化学结构理论看, Cu^{2+} 与氨基酸羧基成键,氨基酸分子中氨基氮上有孤对电子,可提供给铜空轨道产生配位键,因而形成双氨基酸的铜配合物,即氨基酸与 Cu^{2+} 配位比为 2 : 1。

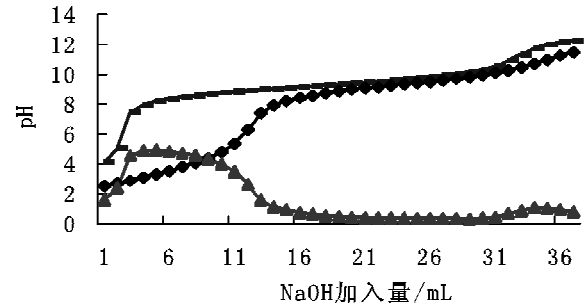


图 3 复合氨基酸与铜离子的配合反应滴定曲线

Fig. 3 The titration curve of cupric complexes of mixed amino-acid

综合看来,以上的实验都可以说明紫外分光光度法可以用来测定复合氨基酸铜的配合,其配位比为 2 : 1。

3 结论与讨论

本实验室最早把复合氨基酸铜用于防治棉花黄萎病,并得到了较好的效果。作为杀菌剂,其复合氨基酸铜中起主要作用的是铜离子,如果复合氨基酸和铜离子配合的配位比合适,可以提高铜离子的利用率,同时减少氨基酸的使用量,以降低成本。

工业生产的复合氨基酸成分比较复杂,其氨基酸含量每批都会有所差异,因此用紫外分光光度法测定复合氨基酸和铜离子的配合,可以不用测定氨基酸的含量直接找出合适的复合氨基酸粉与硫酸铜的质量比,并由此可以推算出氨基酸粉中的氨基酸含量,以指导农用杀菌剂的生产。

甘氨酸、谷氨酸铜、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、天冬氨酸这 8 种氨基酸在复合氨基酸中的含量比较高,而且在农业中可作为杀菌剂、杀虫剂及植物生长促进剂等应用。所以以它们为代表,用紫外分光光度法测定其与铜离子的配位比,以实例说明氨基酸与铜离子的配位比为 2 : 1。证明紫外分光光度法测定的复合氨基酸和铜离子的配位比符合此比例。

pH 滴定实验从化学结构理论的角度进一步证明了这个比例,说明在生产中可以用紫外分光光度法测定复合氨基酸和铜离子的配合。这种方法所需仪器简单,不用其他的试剂,适合生产中的应用。