

赤霉素的 2.5 次微分极谱分析*

A 2.5 Order Differential Polarographic Analysis Method for the Determination of Gibberelin

刘旭红 蒋丛建** 赵长凤 蒋治良
Liu Xuhong Jiang Chongjian Zhao Changfeng Jiang Zhiliang

(广西师范大学 桂林市育才路 3 号 541004)

(Guangxi Normal Univ., 3 Yucailu, Guilin, Guangxi, 541004)

摘要 研究在 0.65 mol/L H_2SO_4 -0.16 mg/mL 十二烷基苯磺酸钠条件下, 赤霉素的氧化产物于 -1.0 V (vs SCE) 处产生的灵敏的 2.5 次微分极谱波的极谱行为, 建立一个测定 0.08 μ g/mL~6 μ g/mL 赤霉素的极谱分析方法。

关键词 赤霉素 浓硫酸 2.5 次微分极谱法

中图法分类号 O 657.14

Abstract Under the conditions of 0.65 mol/L H_2SO_4 -0.16 mg/mL sodium dodecylbenzene sulfonate, the oxidation product of gibberelin exhibits a sensitive 2.5 order differential polarographic wave at -1.0 V (vs SCE). The polarographic behaviour has been studied. A polarographic method for determining gibberelin ranged from 0.08 μ g/mL to 6 μ g/mL has been described.

Key words gibberelin, concentrated sulphuric acid, 2.5 order differential polarography

赤霉素是一类重要的植物内源生长激素, 赤霉素分析方法的探索无论是在农业化学还是在植物生理化学研究中均具有重要意义。荧光分析法^[1~4]具有灵敏度高等特点, 但其操作过程冗长, 限制了它的广泛应用。高效液相色谱法^[5]是测定赤霉素的一种快速灵敏的分析方法, 但设备昂贵, 不易普及。2.5 次微分极谱法具有灵敏度高、分辨力强、仪器简单等特点, 但尚未见用于赤霉素分析。本文采用 2.5 次微分极谱法研究了浓硫酸氧化赤霉素的反应机理, 探讨了赤霉素氧化产物的极谱特性及其表面活性剂十二烷基苯磺酸钠的增敏作用, 并用于赤霉素分析。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

82 型新示波伏安仪 (浙江丽水无线电厂), 三电极系统, 滴汞电极 (DME) 作工作电极, 饱和

甘汞电极作参比电极, 铂丝作辅助电极, 扫描速度 250 mV/s, 滴汞周期 9 s, 起始扫描电位 -0.70 V, 阴极化扫描, 2.5 次微分。

准确称取 50 mg 赤霉素标准品用乙醇溶解并定容至 25 mL 即为 2 mg/mL 赤霉素贮备液, 然后用乙醇稀释制成所需浓度的工作液。

1.2 实验方法

取 1 mL 赤霉素乙醇溶液于一支 25 mL 比色管中, 慢慢滴加 9.0 mL 浓硫酸, 混匀, 放置 5 min 取此液 1.0 mL 加入装有约 20 mL 蒸馏水的另一支 25 mL 比色管中, 再加入 1.0 mL 4.0 mg/mL 十二烷基苯磺酸钠溶液, 用水稀释至刻度, 混匀, 测量其 2.5 次微分极谱波峰电流 e'' 值。

2 结果

2.1 反应介质的选择

分别试验了赤霉素与浓硫酸、高氯酸、硝酸、磷酸和盐酸的反应情况。实验结果表明, 无论在常温下还是在加热条件下, 赤霉素与磷酸或盐酸均不发生降解反应, 无极谱波产生。赤霉素乙醇溶液与硝酸反应

1997-05-23 收稿, 1997-06-16 修回

* 广西区教委资助项目。

** 工作单位为桂林国家森林公园。

剧烈, 不安全, 峰电流不稳定。浓硫酸或高氯酸均能氧化赤霉素, 生成的氧化产物显蓝色荧光。其中前者反应较快, 在 3 min 内即完成。考虑到浓硫酸使用不便, 改用 1: 硫酸且在沸水浴中加热, 不产生电活性物质。改变硫酸的加入量进行试验, 结果表明, 当浓硫酸大于 6 mL 后, e'' 值趋于稳定。故选择赤霉素乙醇溶液与浓硫酸的体积比为 1: 9, 最后极谱测量介质为 0.65 mol/L H_2SO_4 。赤霉素氧化产物的极谱波峰电流 e'' 值在 1 h 内稳定, 尔后有降低趋势。

2.2 表面活性剂的选择

表面活性剂对该波的影响试验表明, 十二烷基苯磺酸钠对该波有很强的增敏作用 (图 1)。当十二烷基苯磺酸钠浓度大于 0.1 mg/mL 时, e'' 值趋于稳定。本文选择 0.16 mg/mL 十二烷基苯磺酸钠。

2.3 干扰试验

分别研究了 10 余种常见物质对测定 $2 \mu\text{g/mL}$ 赤霉素的影响。结果表明, 200 倍的 K^+ 、 Cl^- 、尿素、 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 、 NO_3^- 等不干扰测定, 说明本法的选择性好。

2.4 工作曲线

在选定条件下, 赤霉素浓度在 $0.08 \mu\text{g/mL} \sim 6 \mu\text{g/mL}$ 范围内与 e'' 值呈良好线性关系。该法的检出限为 $0.04 \mu\text{g/mL}$, 是测定赤霉素较灵敏的方法之一^[4,5], 且该法操作简便快速, 设备价廉。对 $0.2 \mu\text{g/mL}$ 和 $2.0 \mu\text{g/mL}$ 赤霉素分别平行测定 10 次, 求得其相对标准偏差分别为 1.8% 和 1.0%。

2.5 试样分析

按赤霉素标准溶液配制步骤制备试样溶液, 按选择条件测定之, 结果 (表 1) 与荧光法一致。

表 1 赤霉素样品分析结果

Table 1 Analytical results for gibberelin

样品 Sample	单次测定值 Single-measured ($\mu\text{g}/\text{mg}$)					平均值 Average ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	相对标准偏差 Relative standard error (%)	荧光法 Spectro- fluorimetry ($\mu\text{g}/\text{mg}$)
1#	846	848	850	850	852	849	0.27	850
2#	872	873	875	877	878	875	0.29	876
3#	900	903	905	905	905	904	0.24	900

2.6 赤霉素氧化产物的极谱特性

赤霉素在酸性和碱性介质中均无波产生。其降解产物在 0.65 mol/L H_2SO_4 介质中于 -1.0 V 产生一灵敏清晰的 2.5 次微分极谱波 (图 2), 随着 $[H^+]$ 降低, 峰电位负移, 说明电极反应有 H 参与。图 3 表明, 该波具有吸附波之特征^[6]。循环伏安试验表明, 阳极化扫描无波。在 $20^\circ\text{C} \sim 40^\circ\text{C}$ 范围内, 求得其平均温度

系数为 $-0.93\% / ^\circ\text{C}$ 。表面活性剂对该波的影响试验表明, 当分别加入 Tween-80 十六烷基三甲基溴化铵、四丁基碘化铵、OP 乳化剂时, 峰电流均降低。而十二烷基苯磺酸钠对该波有显著的增敏效应, 当其浓度高于 0.3 mg/mL 时, 峰电流亦降低 (图 1)。这说明该波具有吸附性。

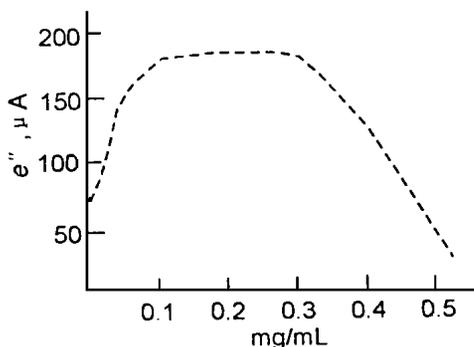


图 1 十二烷基苯磺酸钠的影响

Fig. 1 Effect of sodium dodecylbenzene sulfonate concentration

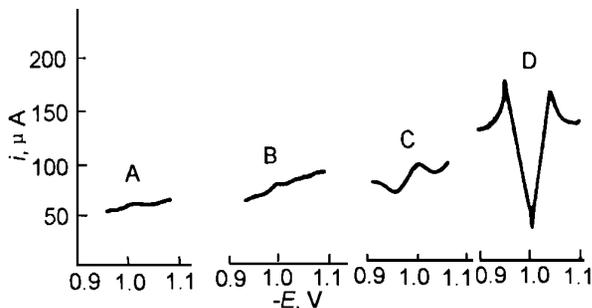


图 2 赤霉素氧化产物的极谱波

Fig. 2 Polarographic wave for the product of gibberelin
A: 常规波 Normal wave; B: 半微分 Semi-order differential; C: 1.5 次微分 1.5 order differential; D: 2.5 次微分 2.5 order differential.

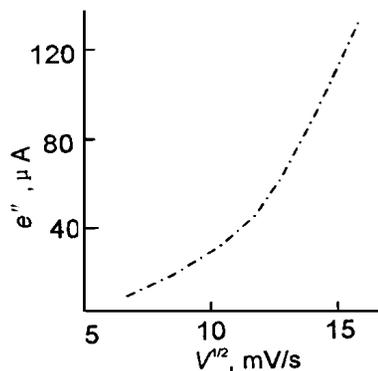
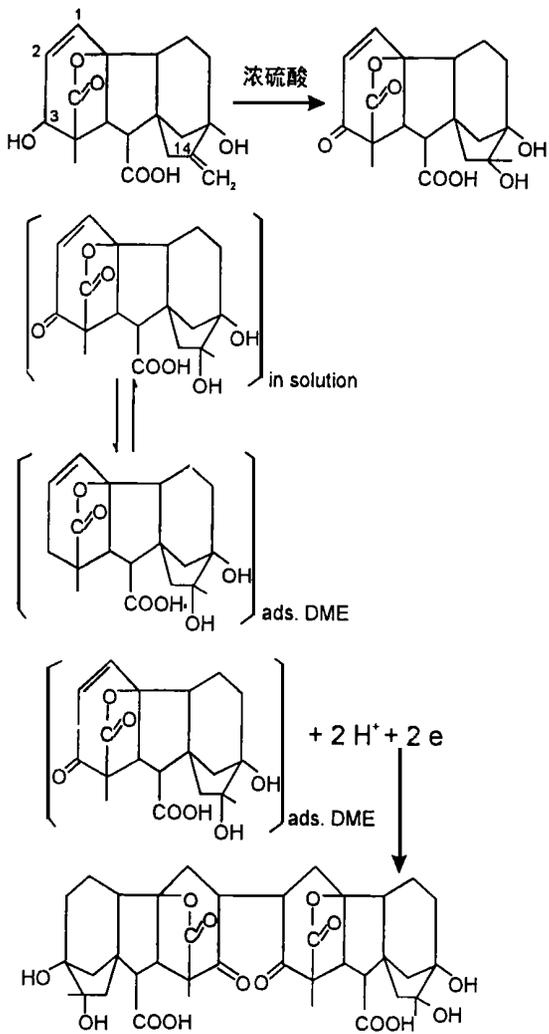


图 3 扫描速度 $v^{1/2}$ 与 e'' 的关系

Fig. 3 The relationship between scanning velocity $v^{1/2}$ and e''

根据文献 [7] 知, 在不饱和脂肪族酮类中其双键若与羰基共扼则在 DME 上要比饱和脂肪族酮更易还原, 在酸性溶液中还原生成双酮。其机理为:



3 讨论

实验结果表明:该氧化产物不能使无色盐基品红显红色;加入硫酸苯肼对该波影响不大;加入 Ce^{4+} , 峰电流慢慢降低;在 $0.65 \text{ mol/L H}_2\text{SO}_4$ 介质中,赤霉素与 Ce^{4+} 反应亦在 -1.0 V 处产生一极谱波,但不随时间延长而增高。上述实验表明,赤霉素氧化产物分子中无 $-CHO$ 存在。浓硫酸和高氯酸均有氧化性,可将赤霉素分子中 C₁₄ 处的 $-OH$ 氧化生成羰基,这样就与 C₁₃ 处的 $-C=C-$ 键形成共扼体系,且分子共平面性和刚性较大,体系能量降低,易于在 DME 表面还原且显色和产生荧光。

参考文献

- 1 Gordon J et al. Determination of gibberelin by spectrophotometric method. *Agr J Food Chem*, 1968, 16: 520.
- 2 北京农业大学. 赤霉素的应用和生产. 北京: 化学工业出版社, 1970, 36.
- 3 陈国珍等. 荧光分析. 北京: 科学出版社, 1990, 557.
- 4 国家商检局 FOA-PAM 编译组. 农药残留量分析手册. 长沙: 湖南科技出版社, 1990, 722.
- 5 张政等. 赤霉素 A₃ 的液相色谱分析. *农药*, 1992, 31(2): 26.
- 6 姚修仁, 邓立群. 极谱催化波图谱. 北京: 地质出版社, 1988, 17.
- 7 Kolthoff IM, Lingane J J 著. 极谱学. 许大兴译. 北京: 科学出版社, 1958, 646.

(责任编辑: 邓大玉)

医学发展的趋势

(上接第 109 页)

(4) 免疫学 重点研究课题有: 细胞因子; 补体系统的结构与功能; 人体肿瘤特异性抗原及相关抗原; 造血干细胞的标记、更新, 增殖和分化调节; 淋巴细胞分化; 免疫耐受机理; 免疫应答调节及遗传控制; I_g 基因系统与 MHC 的结构与功能; MHC 与疾病的易感性; 补体基因; 免疫病理; 免疫药理; 移植免疫; 生植免疫; 老年免疫。

(5) 内分泌学 重点研究课题有: 激素基因的表达与调控; 激素受体的结构与功能 (受体基因); 腺体激素的结构与功能; 内分泌疾病的病因和发病机理; 内分泌细胞和腺体的移植; 新激素及活性肽研究; 激素和活性物质对细胞生长的调控; 人生长发育和衰老过程中的内分泌变化; 激素相互关系

(6) 药理学 重点研究课题有: 药物对基因及其表达的影响; 药物对受体、酶、功能蛋白、活性多肽和生物膜的影响; 药物对细胞生命活动的影响; 中草药活性成分; 内源性活性物质及药物调节; 药物代谢; 免疫药理; 老年药理; 分子药理

(7) 生物技术与生物医学工程 重点研究课题有: 基因置换和修饰; 基因工程新型载体; 转基因动物模型; 抗生素基因工程; 药用植物基因工程; 蛋白质工程; 增强重组疫苗抗原性的途径; 多价疫苗; 医学影像技术及图像处理与分析技术; 捕捉、提取和记录入体内信息的新技术; 人工脏器和器官。

还要重视: 异种器官移植, 利用基因组改造技术, 改造动物器官的抗原性, 提供临床移植的器官组织, 并发展供移植的异种器官的产业; 寄生虫 (血吸虫、疟疾) 和病毒 (爱滋病) 基因工程疫苗。

(摘自 21 世纪初科学发展趋势课题组《21 世纪初科学发展趋势》1996 P97-99)