

TỔNG HỢP THĂM DÒ HOẠT TÍNH SINH HỌC PHỨC CHẤT CỦA EUROPI (III) VỚI L-TRYPTOPHAN

Đến Tòa soạn 13-3-2007

NGUYỄN TRỌNG UYẾN¹, LÊ HỮU THIỀNG², NGUYỄN THỊ THUÝ HẰNG²

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - ĐHQG Hà Nội

²Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên

SUMMARY

The complex of of Europium with L-Tryptophan have been isolated in solid state. The structure of the complex was determined by thermal decomposition and IR spectral methods. Biological activities of complex of Europium were studied.

I - MỞ ĐẦU

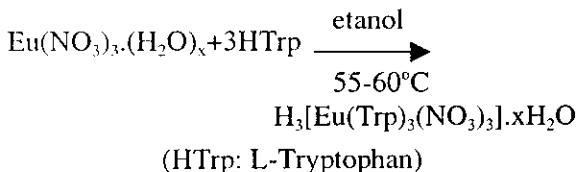
Việc nghiên cứu phức chất của nguyên tố đất hiếm (NTDH) với các aminoaxit có ý nghĩa khoa học và thực tiễn [1, 2]. Hoạt tính sinh học của phức chất đất hiếm với các aminoaxit trên các đối tượng khác nhau đã được chỉ ra ở [3 - 5]. Trong công trình này chúng tôi thông báo kết quả tổng hợp và thăm dò hoạt tính sinh học của phức chất tạo bởi Eu(III) với L-Tryptophan trên mầm thóc giống.

II - THỰC NGHIỆM

1. Tổng hợp phức chất

- Phức chất được điều chế theo phản ứng của Eu(NO₃)₃ với L-Tryptophan trong hỗn hợp nước; etanol là 1:1 ở nhiệt độ 60°C [2]. Bằng phương pháp phân tích nguyên tố, phân tích nhiệt, phổ hồng ngoại và đo độ dẫn điện (tiến hành tương tự như [6]) cho thấy phức chất thu được ứng với công thức H₃[Eu(Trp)₃(NO₃)₃].3H₂O. Phức chất tan tốt trong nước, kém tan trong các dung môi hữu cơ như etanol, axeton,...

Phương trình phản ứng tạo phức như được trình bày theo sơ đồ sau.



Xác định thành phần phức chất [6].

Hàm lượng europi được xác định bằng cách mungmột lượng xác định phức chất ở nhiệt độ 900°C trong thời gian 1 giờ, ở nhiệt độ này phức chất bị phân huỷ và chuyển ve dạng oxit Eu₂O₃. Hòa tan oxit này trong dung dịch HNO₃ loãng và chuẩn độ ion Eu³⁺ bằng dung dịch DTPA chỉ thị asenazo III, pH = 4. Hàm lượng nitơ xác định bằng phương pháp Kenzan, hàm lượng NO₃ xác định bằng phương pháp đo quang dựa trên sự tao mẫu của ion nitrat với axit phenoldisulfuric. Hàm lượng nước được xác định theo tài liệu [7].

Kết quả ở bảng 1 cho thấy hàm lượng europi, nitơ, ion nitrat và nước xác định bằng thực nghiệm khá phù hợp với hàm lượng các nguyên tố, hàm lượng nitrat và nước theo công thức giả thiết.

2. Thăm dò hoạt tính sinh học của phức chất

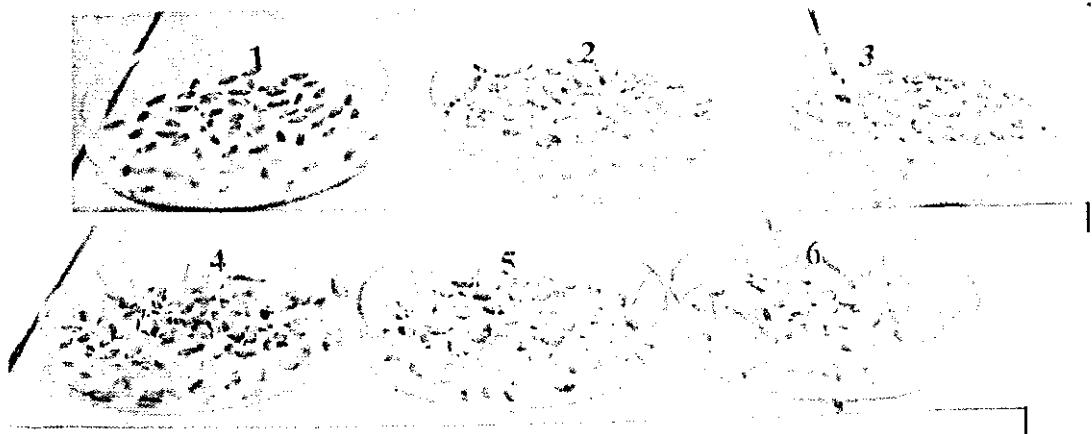
a) Khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng phức chất đến sự phát triển mầm của hạt thóc giống

Phương pháp thí nghiệm: Chọn mỗi mẫu 150 hạt thóc giống (thóc Khang dân) kích thước tương đối đồng đều (khối lượng $3,195 \pm 0,005$ gam). Ngâm mỗi mẫu 24 giờ trong nước sau đó chuyển chúng vào các đĩa Petri được lót dưới và đây trên bằng giấy lọc. Hàng ngày tưới mẫu bằng các dung dịch phức chất có nồng độ: 15 ppm, 30 ppm, 60 ppm, 100 ppm và 150 ppm. Mẫu so sánh tưới bằng nước cất, thể tích các

dung dịch phức chất đem tưới là 100ml, ngày tưới 3 lần, mỗi lần 10 phút. Các dung dịch tưới được thu hồi để tưới lại lần sau. Khi ngâm hạt và sau mỗi lần tưới các mẫu được đặt vào tủ ấm, ấm nhiệt ở 30°C . Sau khi mầm phát triển được số ngày tuổi nhất định, chúng tôi tiến hành đo chiều cao thân, độ dài rễ của từng cây trong các mẫu thí nghiệm. Kết quả được trình bày ở hình 1 và bảng 2.

Bảng 1: Hàm lượng % của европи, nitơ, ion nitrat và nước của phức chất

Công thức giả thiết	Eu		N		NO_3^-		H_2O	
	LT	TN	LT	TN	LT	TN	LT	TN
$\text{H}_3[\text{Eu}(\text{Trp})_3(\text{NO}_3)_3].3\text{H}_2\text{O}$	15,05	14,83	10,05	8,75	4,58	4,51	5,30	5,18



Hình 1: Ảnh hưởng của hàm lượng phức chất đến mầm của hạt thóc giống

Mẫu 1: H_2O Mẫu 2: 15 ppm Mẫu 3: 30 ppm
 Mẫu 4: 60 ppm Mẫu 5: 100 ppm Mẫu 6: 150 ppm

Bảng 2: Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ phức $\text{H}_3[\text{Eu}(\text{Trp})_3(\text{NO}_3)_3].3\text{H}_2\text{O}$ đến sự phát triển mầm hạt thóc giống

Mẫu	Hàm lượng phức chất	Chiều cao trung bình mầm, cm			Hàm lượng phức chất, ppm		
		% số hạt			% số hạt		
		$\leq 0,5$	0,5 - 1	>1	$\leq 0,5$	0,5 - 1,5	$>1,5$
1	0	10,0	76,7	13,3	0,0	46,6	53,4
2	15	6,6	76,8	16,6	0,0	40,0	60,0
3	30	0,0	83,4	16,6	0,0	83,4	16,6
4	60	0,0	90,0	10,0	70,0	30,0	0,0
5	100	0,0	90,0	10,0	93,4	6,6	0,0
6	150	0,0	93,4	6,6	100,0	0,0	0,0

Số lần lặp lại các mẫu: 10 lần

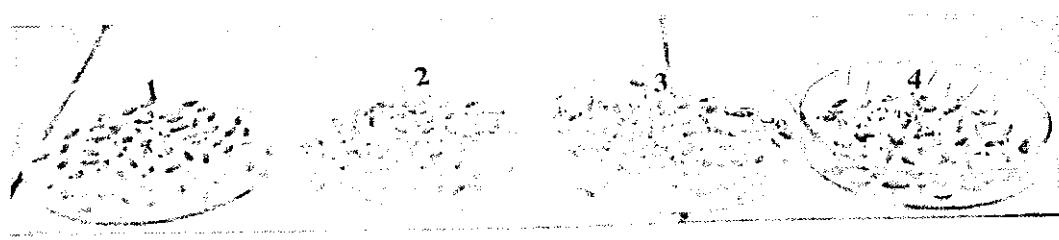
Từ kết quả bảng 2 cho thấy phức $H_3[Eu(Trp)_3(NO_3)_3].3H_2O$ có tác dụng kích thích sự phát triển mầm của hạt thóc giống. Trong khoảng nồng độ khảo sát, ở nồng độ 15ppm sự kích thích làm tăng chiều cao thân, chiều dài rễ; ở nồng độ 30ppm đến 150ppm làm tăng chiều cao thân, làm giảm chiều dài rễ. Tác dụng kích thích sự phát triển thân mầm tăng theo nồng độ của phức chất.

b) *So sánh ảnh hưởng của phức chất, ion kim loại và phối tử đến sự phát triển mầm của hạt thóc giống*

Đã tiến hành như thí nghiệm 2, mẫu nghiên

cứu được ngâm trong các dung dịch: dung dịch phức $H_3[Eu(Trp)_3(NO_3)_3].3H_2O$ nồng độ 30ppm, dung dịch $Eu(NO_3)_3$ nồng độ 30ppm và dung dịch HTrp nồng độ 90ppm. Thời gian thí nghiệm là 3 ngày. Các kết quả được trình bày ở hình 2 và bảng 3.

Từ kết quả bảng 3 cho thấy cũng như phức chất, ion kim loại và phối tử đều có tác dụng kích thích sự phát triển mầm của hạt thóc giống. Đối với phức chất sự kích thích làm tăng chiều cao thân, làm giảm chiều dài rễ, còn ion kim loại và phối tử thì làm tăng chiều cao thân, chiều dài rễ. Tác dụng kích thích của phức chất kém hơn ion kim loại và phối tử.



Hình 2: Ảnh hưởng của phức, phối tử và ion trung tâm đến hình thái mầm của hạt thóc giống

Mẫu 1: H_2O (đối xứng)

Mẫu 2: $H_3[Eu(Trp)_3(NO_3)_3].3H_2O$ 30 ppm

Mẫu 3: $Eu(NO_3)_3$ 30 ppm

Mẫu 4: L-Tryptophan 90 ppm

Bảng 3: Kết quả so sánh ảnh hưởng của phức $H_3[Eu(Trp)_3(NO_3)_3].3H_2O$, $Eu(NO_3)_3$ và L-Tryptophan đến sự phát triển mầm hạt thóc giống

Mẫu	Dung dịch nghiên cứu	Chiều cao trung bình mầm, cm			Độ dài trung bình rễ, cm		
		% số hạt $\leq 0,5$	% số hạt $0,5 - 1$	% số hạt >1	% số hạt $\leq 0,5$	% số hạt $0,5 - 1,5$	% số hạt $>1,5$
1	H_2O	10,0	76,7	13,3	0,0	46,6	53,4
2	$H_3[Eu(Trp)_3(NO_3)_3].3H_2O$ (30ppm)	0,0	83,4	16,6	0,0	83,4	16,6
3	$Eu(NO_3)_3$ (30ppm)	0,0	63,3	36,7	0,0	36,6	63,4
4	HTrp (90ppm)	0,0	56,6	43,4	0,0	20,0	80,0

Số lần lặp lại các mẫu: 10 lần

3. Đánh giá một số yếu tố sinh hoá

a) *Khảo sát ảnh hưởng của phức chất đến protein, proteaza, α -amilaza ở mầm của hạt thóc giống*

Tiến hành thí nghiệm với mẫu của hạt thóc đã chịu ảnh hưởng của phức chất $H_3[Eu(Trp)_3-$

$(NO_3)_3].3H_2O$ ở các nồng độ khác nhau, thời gian 3 ngày.

Cân mỗi mẫu thí nghiệm 5 gam mầm thóc, nghiên trong cối thuỷ tinh, thêm vào 100ml dung dịch đệm photphat ($pH = 6,8$), trộn đều, lọc và li tâm lấy phần dung dịch trong. Xác định một số yếu tố sinh hoá: protein, proteaza, α -

amilaza. Hàm lượng protein xác định theo phương pháp Lowry [8]. Hoạt độ proteaza xác định theo phương pháp Anson cải tiến [8]. Hoạt độ α -amilaza xác định theo phương pháp Heikel [8]. Mật độ quang được đo trên máy UV-VIS 201- Shimadzu. Các kết quả được trình bày ở bảng 4.

Từ kết quả bảng 4 cho thấy: Trong khoảng nồng độ khảo sát, ở khoảng nồng độ 15 ppm đến 30 ppm tác động của phức chất đã làm giảm hàm lượng protein, còn ở khoảng nồng độ 60 ppm đến 150 ppm lại làm tăng hàm lượng protein của

mầm thóc giống. Hoạt độ proteaza và α -amilaza tăng theo nồng độ của phức chất.

b) So sánh ảnh hưởng của phức chất, ion kim loại và phối tử đến protein, proteaza, α -amilaza ở mầm hạt thóc giống

Đã tiến hành như thí nghiệm 3.1 với các mẫu nghiên cứu dung dịch phức chất $H_3[Eu(Trp)_3-(NO_3)_3].3H_2O$ nồng độ 30 ppm và dung dịch HTrp nồng độ 90 ppm, thời gian thí nghiệm là 3 ngày. Các kết quả được trình bày ở bảng 5.

Bảng 4: Kết quả khảo sát ảnh hưởng của phức chất đến một số yếu tố sinh hoá ở mầm hạt thóc giống

Yếu tố sinh hoá	H_2O	Nồng độ của phức $H_3[Eu(Trp)_3-(NO_3)_3].3H_2O$ (ppm)				
		15	30	60	100	150
Protein, mg/ml	0,135	0,080	0,095	0,500	0,158	0,170
Proteaza, $\mu\text{mol}/\text{ml}$	0,200	0,500	0,400	1,280	1,550	1,550
α -amilaza, $\mu\text{mol}/\text{ml}$	1,200	1,800	2,100	3,200	4,500	5,200

Số lần lặp lại các mẫu: 10 lần

Bảng 5: Kết quả so sánh ảnh hưởng của phức $H_3[Eu(Trp)_3-(NO_3)_3].3H_2O$, Eu(NO_3)₃ và HTrp đến các yếu tố sinh hoá ở mầm hạt thóc giống

Yếu tố sinh hoá	H_2O	Phức chất nồng độ 30ppm	Eu(NO_3) ₃ nồng độ 30ppm	HTrp nồng độ 90ppm
Protein, mg/ml	0,135	0,095	0,180	0,100
Proteaza, $\mu\text{mol}/\text{ml}$	0,200	0,400	1,280	1,950
α -amilaza, $\mu\text{mol}/\text{ml}$	1,200	2,100	2,900	1,500

Số lần lặp lại các mẫu: 10 lần

Từ kết quả bảng 5 cho thấy: phức chất và phối tử làm giảm hàm lượng protein, tác dụng này của phức kém hơn so với phối tử, còn ion kim loại làm tăng hàm lượng protein.

Phức chất, ion kim loại và phối tử đều làm tăng hoạt độ proteaza và α -amilaza. Tác dụng làm tăng hoạt độ proteaza của phức chất kém hơn so với ion kim loại và phối tử, tác dụng làm tăng hoạt độ α -amilaza của phức chất kém ion kim loại, tốt hơn phối tử.

III - KẾT LUẬN

1. Đã tổng hợp được phức chất của Eu^{3+} với L-Tryptophan, phức chất có thành phần là $H_3[Eu(Trp)_3-(NO_3)_3].3H_2O$.

2. Đã chỉ ra ion Eu^{3+} và phức chất của nó với L-Tryptophan có tác dụng kích thích sự phát triển mầm của hạt thóc. Trong khoảng nồng độ khảo sát của phức chất (từ 60 ppm đến 150 ppm) sự kích thích tăng theo nồng độ. Mức độ kích

thích của phức chất kém ion kim loại và phối tử. Sự kích thích làm tăng chiều cao thân, làm giảm chiều dài của rễ mầm thóc giống và làm thay đổi một số yếu tố sinh hoá: protein, proteaza, α -amilaza.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. P. Idrasenan, M. Lakshmy. J. Indian. Chem. Soc., Vol. 36A, 998 - 1000 (1997).
2. Celia R, Carubelli, Anna M. G, Massabni and Sergio R de A. Leite J. Brazil Chem Soc, Vol 8. No 6. P. 597- 602 (1997).
3. Đặng Vũ Minh, Lưu Minh Đại. Báo cáo tổng hợp đề tài nghiên cứu thí nghiệm phân vi lượng cho cây lúa. Viện Khoa học Vật liệu, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam (1995).
4. Nguyễn Trọng Uyển, Nguyễn Đình Bảng, Lê Xuân Thành, Nguyễn Ngọc Vinh. Tạp chí Hóa học. T. 30(4), 38- 41 (1992).
5. Nguyễn Trọng Uyển, Nguyễn Văn Tý, Lê Hữu Thiêng, Đỗ Thị Thu. Tạp chí Phân tích Hóa, Lý và Sinh học, T. 2(4), 9 - 10 (1997).
6. Nguyễn Trọng Uyển, Lê Hữu Thiêng, Lê Minh Tuấn, Dư Định Động. Tạp chí Hóa học. T. 44(3), 311 - 316 (2006).
7. Nguyễn Thị Thanh Phong. Luận án Tiến sĩ Hóa học, Trung tâm KHTN&CNQG, Hà Nội (1995).
8. Nguyễn Lan Dũng, Phạm Thị Trần Châu. Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học. T.3. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 116 - 137 (1978).