

原子吸收光谱间接测定碱式胱氨酸锌配合物的稳定常数

刘文涵, 杨 未, 陈 丹, 王丽丽, 马淳安

浙江工业大学化材学院绿色化学合成技术国家重点实验室培育基地分析测试中心, 浙江 杭州 310032

摘 要 利用硫化锌法火焰原子吸收间接测定胱氨酸(Cystine, Cys₂Cys)。在碱性条件下, 胱氨酸能与硫化锌悬浮液反应生成可溶性碱式胱氨酸锌配位化合物, 在 pH 9.40 时达到最大浓度, 原子吸收光谱法测定了最大浓度时的配合物含量, 并对碱式胱氨酸锌稳定常数进行了测定和理论计算。碱式胱氨酸锌的稳定常数平均值 B_{st} 为 9.916×10^{32} , 其 $\log B_{\text{st}} = 32.996$ 。表明原子吸收光谱不仅可用于微量元素的测定和有机化合物的间接测定, 同时也可进行配合离子的物理形态、物理常数的研究和测定。

关键词 火焰原子吸收光谱法; 胱氨酸锌; 间接测定; 配位平衡; 稳定常数

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2008)030692-03

引 言

研究发现在一定的条件下, 谷氨酸、胱氨酸能够与新生态的硫化锌沉淀形成可溶性的碱式谷氨酸锌、胱氨酸锌配位化合物, 利用原子吸收可以测定配位反应平衡后的总锌离子浓度进而间接测定谷氨酸、胱氨酸的含量, 形成了硫化锌法火焰原子吸收间接测定氨基酸的新方法^[1-3]。

本文是利用硫化锌法火焰原子吸收间接测定胱氨酸(Cystine, Cys₂Cys), 在对测定机理、配合物组成的探讨基础上, 利用原子吸收光谱间接测定胱氨酸时所形成的可溶性锌配合离子的配位平衡反应, 对配位平衡的稳定常数进行测定探讨和研究, 通过测得的数据求算了碱式胱氨酸锌配位离子的稳定常数。

研究表明原子吸收不仅可用于微量元素的测定和有机化合物的间接测定, 也可以进行配合离子的物理形态、物理常数的研究和测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

日立 18280 型塞曼火焰原子吸收分光光度计, 日立牌锌空心阴极灯, HI 9321 Microprocessor pH Meter (HANNA Instruments), 微型计算机, VB 软件编程系统。

1.2 胱氨酸(C₆H₁₂N₂O₄S₂)标准溶液(1 mg/mL): 精确称取 0.1000 g 1.2 胱氨酸(中国医药集团上海化学试剂公

司, 生化试剂, >99.0%)溶于 3 mL 1 mol/L 的 NaOH 溶液, 用蒸馏水在 100 mL 容量瓶中稀释至刻度。用时临时配制, 不宜放置过长时间。

2% 氯化锌溶液; 3% 硫化钠溶液及其他试剂均为 AR 级, 水为蒸馏水。

1.2 实验步骤

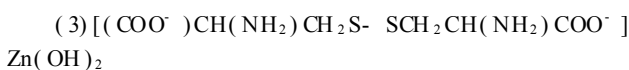
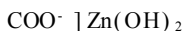
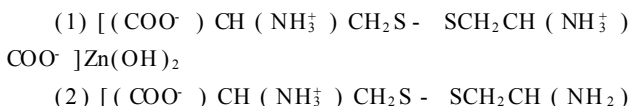
精确移取一定量的胱氨酸标准溶液于 10 mL 离心管中, 加入 0.6 mL ZnS 悬浮液, 用 2% 硼砂水溶液(pH 9.40)稀释至 50 mL, 用力振荡均匀, 放置 20 min, 离心分离 10 min 后, 以试剂空白作参比, 用塞曼火焰原子吸收测定上层清液中锌的 FAAS 信号响应^[4, 5]。

2 结果与讨论

2.1 间接测定的最佳酸度及胱氨酸锌配合离子

利用胱氨酸在一定测定条件下与硫化锌中解离出的锌离子发生配合反应, 定量的形成可溶性配合物, 再将溶液中多余的硫化锌沉淀分离, 测定上层清液中的总锌含量, 即可间接的测定胱氨酸的含量。实验发现在 pH 9.4 时有一个最大吸收峰。经过对不同酸度时的胱氨酸分子形态及锌离子的存在形式, 进行了理论计算和分子形态分布图的拟合。研究表明随着酸度变化的响应峰是由于胱氨酸和锌离子在不同酸度下存在形式不同, 理论计算结果主要以显电中性的 Cys₂Cys 和 -1 价的 Cys₂Cys 能与实验数据吻合^[6, 7]。结果表明在 pH 9.4 时的胱氨酸以三种胱氨酸基的形式同时存在, 而锌离子此时 96% 左右为 Zn(OH)₂, 所形成的可溶性配合物为碱式

胱氨酸, 有三种结构形式。即,



其结构式和配位体为如图 1 和图 2 所示。

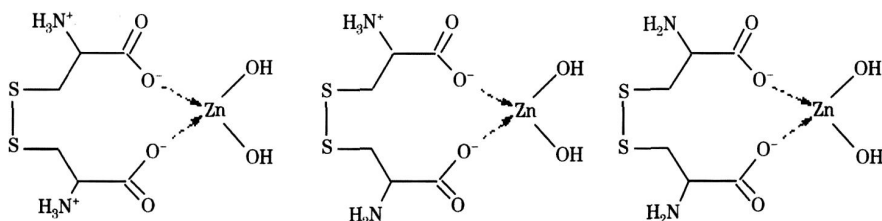


Fig 1 Complex of alkalescency zinc cystine

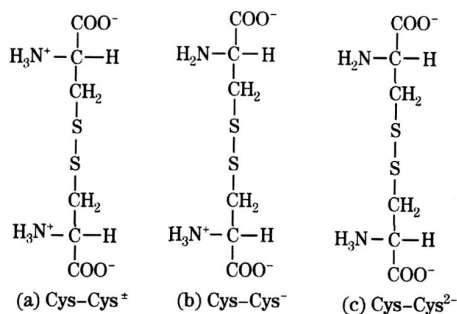
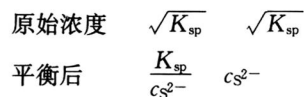
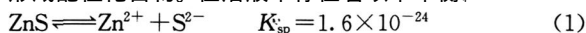


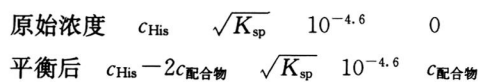
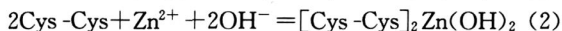
Fig 2 Cystine with pH 9.4

2.1.2 配合反应的平衡关系

胱氨酸在不同酸度的水溶液中基本有五种不同的电离状态, 在 pH 9.4 时主要图 2 所示的以 (Cys-Cys^-) , (Cys-Cys^-) 和 (Cys-Cys^{2-}) 形态存在, 与溶液中的锌离子以及 OH^- 形成配位化合物。在溶液中存在着以下平衡,



由于有 ZnS 的存在, Zn^{2+} 的浓度还未达到生成 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 沉淀的浓度, 另一方面为了简化计算, 可在平衡中暂且不考虑 $\text{Zn}(\text{OH})_2 \rightleftharpoons \text{Zn}^{2+} + 2\text{OH}^-$ 平衡, 只考虑配合物累积形成常数, 不计算逐级形成常数, 且 pH 9.4 时 $c_{\text{OH}^-} = 10^{-4.6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 碱式胱氨酸锌的配位反应平衡可表示为,



由于原始浓度中, $c_{\text{Zn}^{2+}} = c_{\text{S}^{2-}} = \sqrt{K_{\text{sp}}}$, 平衡后 $c_{\text{S}^{2-}} = \sqrt{K_{\text{sp}}} + c_{\text{配合物}}$, 则有,

$$\beta_{\text{总}} = \frac{c_{\text{配合物}}}{(c_{\text{Cys-Cys}} - 2c_{\text{配合物}})^2 \cdot (K_{\text{sp}} / (\sqrt{K_{\text{sp}}} + c_{\text{配合物}})) \cdot c_{\text{OH}^-}^2} = \frac{c_{\text{配合物}} \cdot (\sqrt{K_{\text{sp}}} + c_{\text{配合物}})}{K_{\text{sp}} \cdot (c_{\text{Cys-Cys}} - 2c_{\text{配合物}})^2 \cdot c_{\text{OH}^-}^2} \quad (3)$$

因为测得的溶液中的锌离子为各种可溶性形态的锌或配位离子, 所以测定的锌浓度值为

$$c_{\text{测}} = c_{\text{Zn}^{2+}} + c_{\text{配合物}} = \frac{K_{\text{sp}}}{\sqrt{K_{\text{sp}}} + c_{\text{配合物}}} + c_{\text{配合物}} \quad (4)$$

联立关系

$$\begin{cases} \beta_{\text{总}} = \frac{c_{\text{配合物}}}{(c_{\text{Cys-Cys}} - 2c_{\text{配合物}})^2 \cdot (K_{\text{sp}} / (\sqrt{K_{\text{sp}}} + c_{\text{配合物}})) \cdot c_{\text{OH}^-}^2} \\ c_{\text{测}} = \frac{K_{\text{sp}}}{\sqrt{K_{\text{sp}}} + c_{\text{配合物}}} + c_{\text{配合物}} \end{cases} \quad (5)$$

式中 $K_{\text{sp}} = 1.6 \times 10^{-24}$, $c_{\text{OH}^-} = 2.5118 \times 10^{-5}$ 。

只要在测定的线性范围内, 测定一定浓度下的胱氨酸与 ZnS 悬浮液反应平衡后的上层清液中的总锌含量, 代入方程 (5) 式, 便可解得方程组中的配合物稳定常数 $\beta_{\text{总}}$ 。

2.1.3 实际测定及计算结果

测定在已选择的检测最佳条件下进行, 即 pH 9.4, 反应放置 20 min, 在稳定工作区内进行测量。胱氨酸原始浓度 $c_{\text{Cys-Cys}}$ 是配制的浓度, 总锌测得值是根据锌标准工作曲线和线性关系式的测定求算值。

由于方程组 (5) 是一个高次非线性方程, 手工计算非常麻烦, 本实验数据处理采用计算机自编的程序进行数值搜索方式, 寻找出偏差最小的解, 为了减少计算误差, 计算中的所有变量均采用双精度值。胱氨酸的原始浓度、测定的锌总浓度和计算的稳定常数列于表 1。

从表 1 可以看出, 测定和计算所得的碱式胱氨酸锌配位反应平衡稳定常数在 9.542×10^{32} 到 10.353×10^{32} 之间, 其平均值为 $\beta_{\text{总}} = 9.916 \times 10^{32}$, $\log \beta_{\text{总}} = 32.996$ 。

反应机理表明该碱式胱氨酸锌配位化合物只能在 pH 9.4 附近的一段酸度区域内存在^[7]。

3 结 论

通过硫化锌悬浮液作为测定有机化合物胱氨酸的信息源, 以间接测定胱氨酸, 在确定其测定反应机理后可进行胱氨酸锌的配位平衡常数的测定, 经过测定和计算得到碱式胱氨酸锌在 pH 9.4 时的配位化合物的稳定常数为 9.916×10^{32} , 其 $\log \beta_{\text{总}} = 32.996$ 。表明原子吸收光谱不仅可用于微量元素的测定和有机化合物的间接测定, 也可以进行配合离子的物理形态、物理常数的测定和研究。

Table 1 Results of determination and calculation

次数	胱氨酸原始浓度		总锌测定值		稳定常数 B
	(Lg# mL ⁻¹)	(mol# L ⁻¹)	A	(mol# L ⁻¹)	
1	50	21 081 @10 ⁻⁴	01 053	21 121 @10 ⁻⁴	91 542 @10 ³²
2	100	41 162 @10 ⁻⁴	01 098	41 073 @10 ⁻⁴	101 353 @10 ³²
3	150	61 242 @10 ⁻⁴	01 146	61 154 @10 ⁻⁴	101 195 @10 ³²
4	200	81 323 @10 ⁻⁴	01 199	81 452 @10 ⁻⁴	91 610 @10 ³²
5	250	101 404 @10 ⁻⁴	01 241	101 274 @10 ⁻⁴	101 161 @10 ³²
6	300	121 484 @10 ⁻⁴	01 295	121 615 @10 ⁻⁴	91 703 @10 ³²
7	350	141 565 @10 ⁻⁴	01 345	141 783 @10 ⁻⁴	91 620 @10 ₃₂
8	400	161 646 @10 ⁻⁴	01 385	161 518 @10 ⁻⁴	101 061 @10 ³²
9	450	181 727 @10 ⁻⁴	01 434	181 643 @10 ⁻⁴	91 996 @10 ³²
Average					91 916 @10 ³²

Note: FAAS, A= 01 000 959 67c+ 01 004 083 33(Lg# mL⁻¹)

参 考 文 献

[1] LIU Wen2han, ZHANG Qing2xin, ZHANG Qing2yi, et al(刘文涵, 章庆新, 张清义, 等). Journal of Instrumental Analysis(分析测试学报), 2003, 22(4): 58.

[2] LIU Wen2han, SHAN Wei2guang, GAO Yun2fang, et al(刘文涵, 单伟光, 高云芳, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2003, 23(6): 1191.

[3] LIU Wen2han, ZHANG Dan, LI Zu2guang, et al(刘文涵, 张 丹, 李祖光, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(3): 968.

[4] Dean J A Ed. Lange s Handbook of Chemistry, Thirteenth Edition, McGraw2Hill Book Company, 1985. 5.

[5] Analytical Chemistry Teaching & Research Section, Department of Chemistry, Hangzhou University(杭州大学分析化学教研室). Hand2book of Analytical Chemistry (Chemical Fascicule), Second Edition(分析化学手册, 第2版). Chemical Industry Publishing House, 1997. 12.

[6] LIU Wen2han, ZHANG Da, ZHENG Jian2zhen, et al(刘文涵, 张 丹, 郑建珍, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(1): 147.

[7] LIU Wei2han, SHAN Sheng2yan, ZHANG Da, et al(刘文涵, 单胜艳, 张 丹, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(11): 1872.

Indirect Determination of Stability Constant of Zinc Cystine Chelate by Flame Atomic Absorption Spectrometry with ZnS

LIU Wen2han, YANG Wei, CHEN Dan, WANG L2li, MA Chun2an
College of Chemical Engineering and Materials Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China

Abstract Cystine was indirectly determined by flame atomic absorption spectrometry with ZnS. Base on the determination mech2anism, the composition of complex, the complex balance reaction of soluble zinc ion, which formed in the determination of cys2tine by FAAS, and the stability constant of complex balance were discussed in the present paper. Under the alkalescent cond2itions, cystine (Cy2Cys) can react with zinc sulfide suspension solution to form a soluble complex or chelate of zinc cystine. The maximum concentration was reached at pH 9 4 and the quantity of the chelate was determined by flame atomic absorption spec2trometry with zinc sulfide. The stability constants of the complex compound of zinc cystine were studied successfully, after the numeric measurements and theoretical investigations under the bes2optimized acidity for determination. In conclusion, at the best optimized acidity pH 9 4, the stability constant of alkalescent zinc cystine is between 91 542 @10³² and 101 353 @10³², the average value is B_w= 91 916 @10³², and log B_w= 321 996. The standard deviation is 01 301 @10³². It is shown that the atomic ab2sorption spectrometry can be used not only for the determination of trace elements and the indirect determination of organic com2pound, but also for the study of physical configuration and the determination of physical constant of complex ion.

Keywords Flame atomic absorption spectrometry; Zinc cystine; Indirect determination; Complex balance; Stability constant
(Received Nov. 29, 2006; accepted Mar. 9, 2007)