

原子吸收光谱法间接研究组氨酸锌的配合反应

刘文涵¹, 吴小琼¹, 郑建珍¹, 肖珊美², 王丽华¹

¹ 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分析测试中心, 浙江 杭州 310032

² 金华职业技术学院, 浙江 金华 321017

摘要 编程计算了不同 pH 条件下的组氨酸和锌离子的各种存在形式并分析了拟合分布图, 研究了在硫化锌法原子吸收间接测定组氨酸时的 pH 值对原子吸收响应的影响及络合反应的机理。指出在 pH 9.5 左右最佳测定条件下, 所形成的可溶性组氨酸锌配合物是由电中性的组氨酸基 His^+ 和带负一价电荷形态的组氨酸基 His^- 与 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 共同形成的 $\text{Zn}(\text{OH})_2 \cdot (\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_9)_2$, $\text{Zn}(\text{OH})_2 \cdot [(\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_8)^-]_2$, $\text{Zn}(\text{OH})_2 \cdot (\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_9) \cdot [(\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_8)^-]$ 。结果表明, 理论计算分析的结果与实验数据基本吻合, 确定了硫化锌法原子吸收间接测定组氨酸时的配合物反应机理及配合物的组成结构。

关键词 火焰原子吸收光谱法; 组氨酸; 间接测定; 配合反应; 机理研究

中图分类号: O657.3 文献标识码: A 文章编号: 1002-0593(2007)01-0182-04

引言

利用新生成的硫化锌悬浮液与组氨酸反应产生可溶性的配合物, 再用塞曼火焰原子吸收分光光谱法测定溶液中的总锌浓度, 即可间接获知组氨酸的含量, 从而建立了硫化锌法原子吸收光谱间接测定组氨酸^[123]。在间接测定的条件选择中发现, 在碱性条件下有一个最佳 pH 峰值, 表明在不同 pH 条件下, 溶液中的各种离子或分子, 随着 pH 的变化有着不同的存在状态, 在最佳测定条件下的组合配合是什么? 整个测定又是利用的哪一种物质? 研究其配合反应的机理, 有助于整个测定及其性能的提高和改善, 也有利于类似的原子吸收间接测定研究工作的开展和深入, 对氨基酸与金属离子的配合反应研究亦有一定的帮助。

本文在前文^[123]的基础上, 进一步利用计算机对组氨酸和金属锌离子在不同 pH 溶液中的离子状态及分布作数值分析并拟合作图, 研究探讨在最佳 pH 测定条件下的离子组合状态, 确定了硫化锌法原子吸收间接测定组氨酸时的配合反应机理及配合物的组成结构。

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)。

组氨酸标准溶液($10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$): 精确称取 0.2500 g 12 组氨酸(生化试剂 BR, 中国医药上海化学试剂公司)溶于 25 mL $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH (AR) 溶液, 用蒸馏水稀释至 25 mL 容量瓶中。用时临时配制, 不宜放置过长时间。

5% 氯化锌溶液; 3% 硫化钠溶液; 及其他试剂均为 AR 级, 水为离子交换水。

1.2 实验步骤

硫化锌悬浮液的制备: 取 2 mL 5% 氯化锌溶液, 边搅拌边加入 3 mL 3% 硫化钠溶液, 摇匀后离心分离, 倾去上层清液, 用 6 mL 2% 硼砂水溶液将沉淀洗涤两次, 加 0.3 g 固体 NaCl, 用 2% 的 $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 溶液将沉淀稀释至 100 mL。

精确移取一定量的组氨酸标准溶液于 10 mL 离心管中, 加入 11.5 mL ZnS 悬浮液, 用力振荡均匀, 放置 20 min, 用离子交换水稀释至 60.0 mL 摇匀, 离心分离后, 以试剂空白作参比, 用塞曼火焰原子吸收光谱法测定上层清液中锌的 FAAS 吸光度值。

2 结果与讨论

2.1 原子吸收间接测定组氨酸原理及不同 pH 的影响

利用组氨酸根在一定条件下与新生成的硫化锌中的锌发生配合反应, 定量地形成可溶性配合物, 再将溶液中的多

余的硫化锌沉淀分离,测定上层清液中的锌含量,即可间接地测定组氨酸的含量^[1]。

在所选择的原子吸收光谱仪器和其他检测的最佳条件下,测定了在同一缓冲体系的不同 pH 条件下,溶液 pH 对原子吸收响应的关系曲线,其结果如图 1 所示。由于 ZnS 在 pH < 7 时会发生溶解,因而考察只能在碱性溶液中进行。随

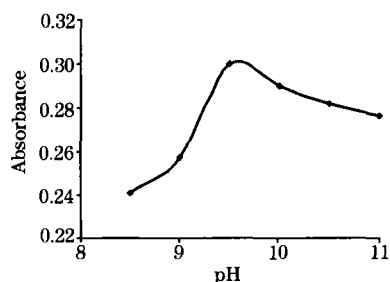


Fig 1 Concentration of Zn²⁺Histidine at different pH

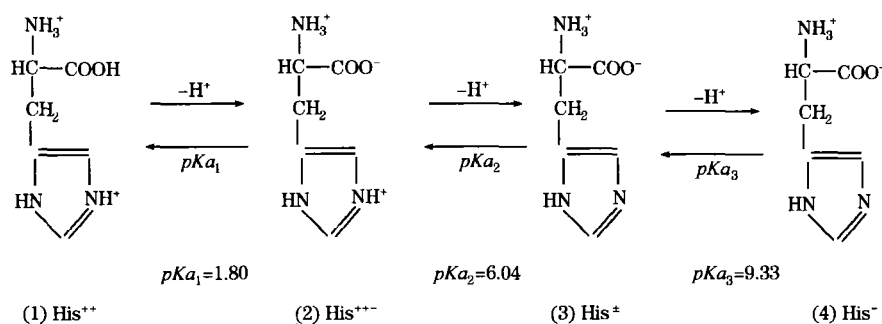


Fig 2 Difference status of histidine at different pH

图 3 是根据组氨酸在水溶液中的各级酸碱解离常数^[56],通过自己编制的计算机程序计算和绘制的在不同 pH 条件下组氨酸的不同形态的分布情况。

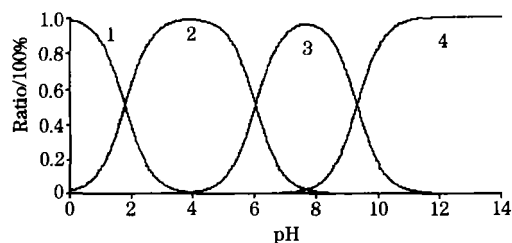


Fig 3 Distribution graph of different status of Histidine at different pH

从图 3 中可以看出,组氨酸的第 1 种形态 His⁺⁺ 基本在 pH 3 以下;第 2 种形态 His⁺⁺⁺ 在 pH 1~7 之间,分布范围较大;第 3 种形态 His⁺ 分布在 pH 5~10 之间,最大浓度出现在 pH 7.68,这与等电点 7.59 基本吻合^[5,6],此时中性分子的比例为 95.67%,分子式(2)为 2.19%,而分子式(4)为 2.15%,对中性分子的等电点的影响不大;第 4 种形态 His⁻ 在 pH 8 以后逐渐上升,到 pH 11 以后基本全转化为带 -1 价电荷的组氨酸基 His⁻。从图 1 的最佳 pH 9.5 左右的测定条件结合图 3 可知,此时组氨酸的反应形式主要是以呈 0 价

着 pH 的增大吸光度响应随之增大,在 pH 9.5 左右时达到最大值。

在 pH > 9.5 以后,随着 pH 的增大,响应反而下降,表明溶液中的配合锌离子含量随着 pH 值的增大而降低,存在着另一种副反应的发生,降低了可溶性的锌配合物的存量。为了考察测定反应的进行方式,以下从组氨酸和锌离子两个方面分别探讨在不同 pH 时的存在形式,以确定不同 pH 阶段的配合反应形式。

2.2 组氨酸的存在形式及在不同 pH 条件下的分布

组氨酸在水溶液中有 4 种不同的电离状态,如图 2 中的 (1) His⁺⁺, (2) His⁺⁺⁺, (3) His⁺, (4) His⁻ 分子式,相应的带电荷分别为 +2, +1, 0 和 -1 价。其中分子式(3)为中性不带电荷,当主要为分子式(3)时,组氨酸呈电中性,为等电点,此时的 pH 为 7.59。当改变溶液的 pH 值时,组氨酸的带电情况会随着溶液的 H⁺ 的浓度变化而发生改变,其中组氨酸侧链咪唑基上的氮原子也参与 H⁺ 的平衡^[46]。

和带 -1 价电荷的分子式(3) His⁺ 或(4) His⁻ 参与反应的,从以下的分析可以得到组氨酸主要是以第 3 种形态 His⁺ 参加与锌进行配合反应的。

2.3 锌离子在不同 pH 条件下的存在形式及分布

金属锌离子同样在水溶液中,在不同 pH 条件下会有不同的存在形式,在酸性时以 Zn²⁺ 形式存在,由于 Zn(OH)₂ 是两性化合物能够在强碱性溶液中溶解,形成 OH⁻ 的配合物。其形成的各级分子式和累积形成常数^[57],列于方程式 (5), (6), (7), (8) 中。

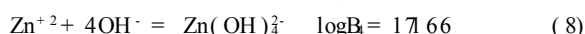


图 4 是根据锌离子的各级反应和累积形成常数,通过微机编程和数值计算绘制的锌离子在不同 pH 条件下的状态分布图。从图 4 中可以看出 pH 7.6 以下的中性和酸性溶液中主要以 Zn²⁺ 的简单形式存在,含量比例在 96% 以上。分子式为 Zn(OH)⁺ 和 Zn(OH)₃⁻ 是 2 种中间过渡形态,其最大含量分别在 pH 8.4 时的 2.71% (5) 和 pH 10.8 时的 18.6% (7)。分子形式 Zn(OH)₂ 的最大含量在 pH 9.4 为 96.9% (6),在 pH 9.4 以前时急速下降,在 pH 8.0 时为 16.3%,在 pH 7.6 时为 3.0%,在 pH 9.4 以上时, Zn(OH)₂ 逐步少

量的转化为过渡态 $\text{Zn}(\text{OH})^3$ 大多数转化为 $\text{Zn}(\text{OH})_4^{2-}$ (8), 并最终全部转化为 $\text{Zn}(\text{OH})_4^{2-}$ 而溶解。

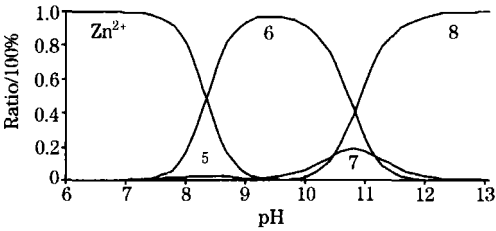


Fig 4 Distribution graph of status of zinc ion at different pH

21 4 不同 pH 条件下的离子组合形式

图 5 是不同形态的组氨酸基 His^+ , His^- 与锌离子在 pH 9.5 左右时的共存区域图, 图 5 中的 $\tilde{\text{N}}$, $\tilde{\text{O}}$, $\hat{\text{O}}$, $\hat{\text{O}}$ 是共存区域, 只有在这一共存区域内才能同时存在组氨酸基的 His^+ , His^- 形态与 $\text{Zn}(\text{OH})_2$, 可以看出, 在原子吸收光谱间接测定组氨酸最佳 pH 9.5 左右时的组氨酸形式主要有 2 种分子形态 0 价的 His^+ 和 -1 价的 His^- , 而金属锌离子主要以 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 形式存在, 结合图 1 中最佳测定时的 pH 值在 9.5 左右, 不难看出此时与 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 所形成的可溶性配合物, 其组氨酸 0 价的 His^+ 和 -1 价的 His^- 都有可能, 考察 His^+ 和 His^- 都有相同的羧基 COO^- 作为配体, 可以与 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 配位形成可溶性配位络合物, 当这 2 种形式的组氨酸同时均能与 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 配位时, 所形成的可溶性锌配合物的浓度分布为 $\tilde{\text{N}}$, $\tilde{\text{O}}$, $\hat{\text{O}}$, $\hat{\text{O}}$ 共存区域所围成的曲线, 其最大值在 pH 9.4 左右; 若组氨酸是以 0 价的 His^+ 与 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 配位, 则浓度分布应为 $\tilde{\text{N}}$, $\hat{\text{O}}$ 区域所围成的曲线, 其最大值应在 His^+ 与 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 曲线的交点处 pH 8.17 左右; 若组氨酸是以 -1 价的 His^- 与 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 配位, 则浓度分布应为 $\hat{\text{O}}$, $\hat{\text{O}}$ 区域所围成的曲线, 其最大值应在 His^- 与 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 曲线的交点处 pH 10.1 左右, 在 pH 11 之后 $\text{Zn}(\text{OH})_4^{2-}$ 将会明显增加而干扰。

因而从图 1 的峰形位置、分布和以上的分析, 可以认为组氨酸与金属锌离子在 pH 9.5 左右所生成的可溶性配合物

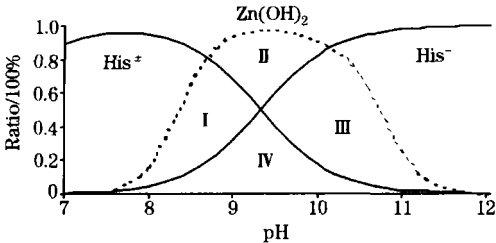
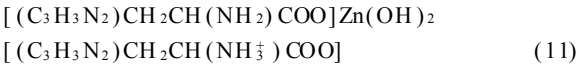


Fig 5 Area graph of coexistence of histidine and $\text{Zn}(\text{OH})_2$

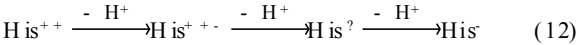
Solid line: area of histidine; dashed line: area of $\text{Zn}(\text{OH})_2$; $\tilde{\text{N}}$, $\tilde{\text{O}}$, $\hat{\text{O}}$, $\hat{\text{O}}$: Coexistent area

是由组氨酸基 His^+ 和 His^- 与 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 所共同形成的, 其配合离子的主要形式为

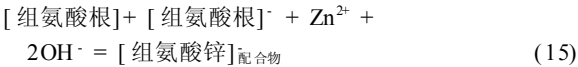
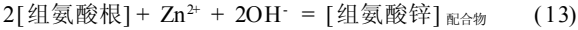


21 5 反应机理探讨

由于原子吸收光谱测定是在最佳 pH 9.5 时进行, 此时硫化锌在水溶液中存在着平衡: $\text{ZnS} = \text{Zn}^{2+} + \text{S}^{2-}$, $\text{Zn}^{2+} + 2\text{OH}^- = \text{Zn}(\text{OH})_2$, 而组氨酸在一定的碱性溶液中存在以下平衡



生成的 0 价的[组氨酸基] $^+$ (His^0) 和 -1 价的[组氨酸基] $^-$ (His^-) 与 ZnS 中解离出的 Zn^{2+} 在碱性条件下反应生成更加稳定的碱式组氨酸锌可溶性配合物



碱式组氨酸锌配合物的分子式为: $\text{Zn}(\text{OH})_2 \# (\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_9)_2$, $\text{Zn}(\text{OH})_2 \# [(\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_8)^-]_2$, $\text{Zn}(\text{OH})_2 \# (\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_9) \# [(\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_8)^-]$, 如 9, 10, 11 式所示; 结构式为图 6 所示。

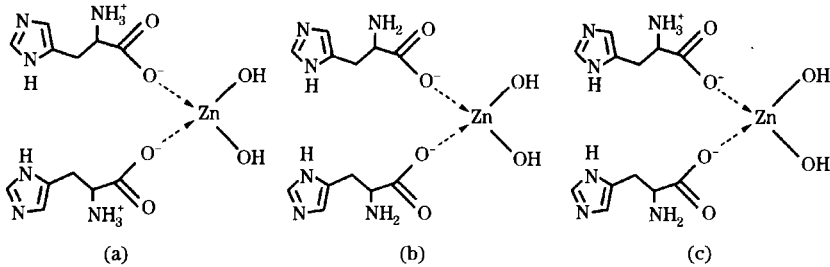


Fig 6 Configuration graph of soluble zinc Histidine complex

(a): $\text{Zn}(\text{OH})_2 \# (\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_9)_2$; (b): $\text{Zn}(\text{OH})_2 \# [(\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_8)^-]_2$; (c): $\text{Zn}(\text{OH})_2 \# (\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_9) \# [(\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_8)^-]$

3 结 论

通过计算机对组氨酸和锌离子在不同 pH 条件下的数值

拟合和图示分布研究, 并对硫化锌法原子吸收光谱法间接测定组氨酸时的不同 pH 对响应值的影响曲线的分析, 表明在最佳 pH 测定条件下, 溶液中所测得的为带 0 价电荷的组氨酸基 His^{++} 和带 -1 价电荷的组氨酸基 His^- 与 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 共

同组成的可溶性配合物。而形成 pH 影响峰的原因是由于组 所引起的。
氨酸和 $\text{Zn}(\text{OH})_2$, 在不同 pH 情况下的生成配合反应的变化

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(6): 968.
- [4] HAO A2you, SUN Chang2zhi(郝爱友, 孙昌伎). Organic Chemistry(精编有机化学教程). Ji. nan: Shandong University Press(济南: 山东大学出版社), 2003. 401.
- [5] David R Lide, ed. , CRC Handbook of Chemistry and Physics, Internet Version 2005, Boca Raton FL: CRC Press, 2005. 8. / Dissociation Constants of Organic Acids and Bases.
- [6] Group of Analysis Chemistry of University of Hangzhou(杭州大学化学系分析化学教研室). Handbook of Analysis Chemistry(Chemistry)(分析化学手册# 第一分册 化学分册). The Second Edition(第2版). Beijing: Chemistry Industry Publishing House(北京: 化学工业出版社). 1997. 148.
- [7] LIU Wen2han, ZHANG Dan, 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.

Indirect Studies of Zinc2Histidine Complex Reaction by FAAS

LIU Wen2han¹, WU Xiao2qiong¹, ZHENG Jian2zhen¹, XIAO Shan2mei², HUANG L2hua¹

1. College of Chemical Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China

2. Jinhua Vocational College of Technology, Jinhua 321017, China

Abstract Each state of histidine and zinc ion in aqueous solution with different pH was calculated by computer, producing the scatter diagram. Under the influence of solution pH, the mechanism of complex reaction in indirectly determining histidine by flame atomic absorption spectrometry with ZnS was studied. In different state of histidine and zinc ion in aqueous solution at different pH, the response peak with pH in giving conditions was obtained. The soluble complex ion is composed of 0 valence histidine His^{+} and - 1 valence histidine His^{+} and $\text{Zn}(\text{OH})_2$. The theoretical analysis from computing and scatter diagram agrees very well with the data determined from the experiments. The structures of complex ion are $\text{Zn}(\text{OH})_2 \# (\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_9)_2$, $\text{Zn}(\text{OH})_2 \# [(\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_8)^-]_2$ and $\text{Zn}(\text{OH})_2 \# (\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_9) \# [(\text{C}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{H}_8)^-]$.

Keywords Flame atomic absorption spectrometry; Histidine; Indirect determination; Complex reaction; Mechanism

(Received Dec. 8, 2005; accepted Mar. 16, 2006)