

# 原子吸收硫化锌法间接测定精氨酸络合反应的机理研究

刘文涵, 张丹, 郑建珍, 李丹, 马淳安

浙江工业大学化学工程院、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

**摘要** 通过编程计算精氨酸和锌离子在不同 pH 条件下的各种存在形式, 通过分析拟合分布图, 研究了在硫化锌法原子吸收间接测定精氨酸时的 pH 对原子吸收响应的影响及络合反应的机理。经对不同形态的精氨酸与金属锌离子的共存区域的各种组合探讨, 指出在 pH 9.0 左右最佳测定条件下的 pH 响应峰是由于精氨酸和锌离子的两种不同存在形式的变化所引起的左右峰边缘, 精氨酸是以正一价荷电形态的精氨酸基  $\text{Arg}^{+}$  与  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  形成了可溶性络合离子  $[\text{HN}=\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}]_2\text{Zn}(\text{OH})_2$ 。结果表明, 理论分析计算的结果与实验数据得到了基本吻合, 确定了硫化锌法原子吸收间接测定精氨酸时的络合物反应机理及络合物的组成结构。

**主题词** 火焰原子吸收光谱法; 精氨酸; 间接测定; 络合反应; 机理研究

**中图分类号:** O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2006)01-0147-04

## 引言

利用新生成的硫化锌悬浮液与精氨酸反应产生可溶性的络合物, 再用塞曼火焰原子吸收分光光度法测定溶液中的总锌浓度, 即可间接获知精氨酸的含量, 从而建立了硫化锌法原子吸收光谱间接测定精氨酸的方法<sup>[1-3]</sup>。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络合是什么? 整个测定又是利用的哪一种物质? 研究其络合反应的机理, 有助于整个间接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工作的开展和深入, 对氨基酸与金属离子的络合研究亦有一定的帮助。

本文在以前工作的基础上, 进一步利用计算机对精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和拟合作图, 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精氨酸的络合反应机理及络合物的组成结构。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

日立 180-80 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)。

精氨酸标准溶液( $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ): 精确称取  $0.1000 \text{ g}$  L-精氨酸(含量  $\geq 99\%$ )溶于  $1 \text{ mL}$   $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 NaOH 溶液中, 用蒸馏水稀释至  $100 \text{ mL}$ 。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; 以及其他试剂均为 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  $2 \text{ mL}$  5%氯化锌溶液, 边搅拌边加入  $3 \text{ mL}$  3%硫化钠溶液, 摇匀后离心分离, 倾去上层清液, 用  $6 \text{ mL}$  2% 硼砂水溶液将沉淀洗涤 2 次, 加  $0.3 \text{ g}$  固体 NaCl, 用 2% 的  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  溶液将沉淀稀释至  $100 \text{ mL}$ 。

精确移取一定量的精氨酸标准溶液或样品溶液于  $10 \text{ mL}$  离心管中, 加入  $1.5 \text{ mL}$  ZnS 悬浮液, 用力振荡均匀, 放置  $15 \text{ min}$ , 用离子交换水稀释至  $6.00 \text{ mL}$  摇匀, 离心分离后, 以试剂空白作参比, 用塞曼火焰原子吸收测定上层清液中锌的 FAAS 信号响应。

## 2 结果与讨论

### 2.1 精氨酸的间接测定原理及不同 pH 的影响

利用精氨酸根在一定条件下与新生成的硫化锌中的锌发生络合反应, 定量的形成可溶性络合物, 再将溶液中多余的硫化锌沉淀分离, 测定上层清液中的锌含量, 即可间接的测定精氨酸的含量。

在所选择的原子吸收光谱仪器和其他测定的最佳条件

收稿日期: 2004-11-12, 修订日期: 2005-03-29

基金项目: 浙江省分析测试基金(03053)资助项目

作者简介: 刘文涵, 1956 年生, 浙江工业大学化学工程院教授, 硕士生导师

下,测定了在同种缓冲溶液的不同 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,因而只能在碱性溶液中进行考察。随着 pH 的增大吸光度响应随之增大,在 pH 9.2 时达到最大值。

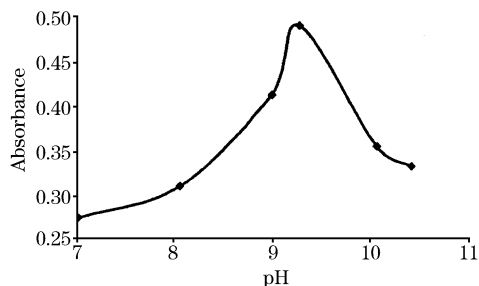


Fig. 1 Relation between glutamic acid and different pH

在 pH>9.2 以后,随着 pH 的增大,响应反而下降,表明溶液中的锌离子含量,随着 pH 的增大而降低,存在着另一种副反应的发生,降低了可溶性的锌络合物的存量。为了考察测定反应的进行方式,以下从精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 阶段的络合反应形式。

## 2.2 精氨酸的存在形式及在不同 pH 条件下的分布

精氨酸在水溶液中有四种不同的电离状态,如图 2 中的 (1)Arg<sup>++</sup>, (2)Arg<sup>+++</sup>, (3)Arg<sup>±</sup>, (4)Arg<sup>-</sup> 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,精氨酸为电中性,为等电点,此时的 pH 为 10.76。当改变溶液的 pH 值时,精氨酸的带电情况会随着溶液的 H<sup>+</sup> 的浓度变化而发生改变。

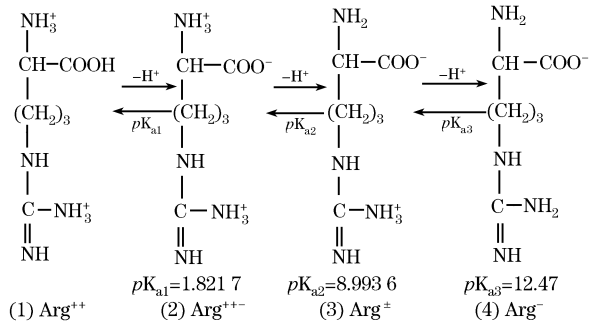


Fig. 2 Different status of arginine in different pH

图 3 是根据精氨酸在水溶液中的各级酸碱解离常数<sup>[4,5]</sup>,通过自己编制的计算机程序计算和绘制的在不同 pH 条件下精氨酸的不同形态的分布情况。

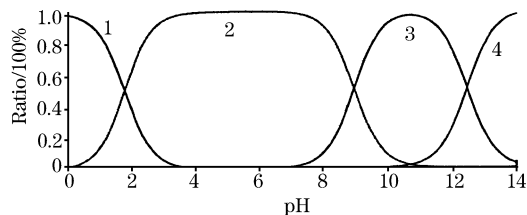


Fig. 3 Distribution graph of different status of arginine in different pH

从图 3 中可以看出,精氨酸的第一种形态 Arg<sup>++</sup> 基本在 pH<3 以下;第二种形态 Arg<sup>+++</sup> 在 pH 1~10 之间,分布范围最大;第三种形态 Arg<sup>±</sup> 分布在 pH 8~13 之间,最大浓度出现在 pH 10.8,这与等电点 10.76 吻合,此时中性分子的比例为 96.4%,分子式(2)为 1.52%,而分子式(4)为 2.06%,分子式(2)和(4)对中性分子的等电点的影响不大;第四种形态 Arg<sup>-</sup> 在 pH 11 以后逐渐上升,在 pH>14 后基本全转化为带-1 价电荷的精氨酸基 Arg<sup>-</sup>。从图 1 的最佳 pH 9 左右的测定条件结合图 3 可知,此时精氨酸的反应形式主要是以带+1 价电荷的分子式(2)Arg<sup>+++</sup> 或(3)Arg<sup>±</sup> 参与反应的,从以下的分析可以得到精氨酸主要是以第二种形态 Arg<sup>+++</sup> 与锌进行络合反应的。

## 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 Zn<sup>2+</sup> 形式存在,由于 Zn(OH)<sub>2</sub> 是两性化合物能够在强碱性溶液中溶解,形成 OH<sup>-</sup> 的络合物。其形成的各级分子式和累积形成常数<sup>[4,5]</sup>,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 Zn<sup>2+</sup> 的简单形式存在,含量比例在 96% 以上。分子式为 Zn(OH)<sup>+</sup> 和 Zn(OH)<sub>2</sub> 是两种中间过渡形态,其最大含量分别在 pH 8.4 时的 2.71% 和 pH 10.8 时的 18.6%。分子形式 Zn(OH)<sub>2</sub> 的最大含量在 pH 9.4 为 96.9%,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,少量的 Zn(OH)<sub>2</sub> 逐步转化为过渡态 Zn(OH)<sub>3</sub><sup>-</sup> 大多数转化为 Zn(OH)<sub>4</sub><sup>2-</sup>,并最终全部转化为 Zn(OH)<sub>4</sub><sup>2-</sup> 而溶解。

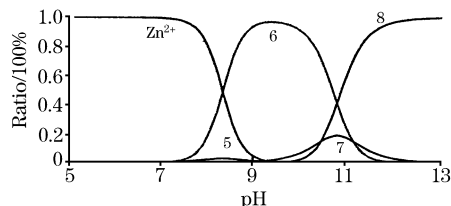


Fig. 4 Distribution graph of status of zinc ion in different pH

## 2.4 间接测定最佳条件时的离子组合形式

图 5 是不同形态的精氨酸基 Arg<sup>+++</sup>, Arg<sup>±</sup> 与锌离子在 pH 9 左右时的共存区域图,图 5 中的 I, II, III 是共存区域,只有在这一共存区域内才能同时存在精氨酸基的 Arg<sup>+++</sup>、Arg<sup>±</sup> 形态与 Zn(OH)<sub>2</sub>,可以看出,在间接测定精氨酸最佳条件 pH 9 左右时的精氨酸形式主要有两种: +1 价的 Arg<sup>+++</sup> 和 0 价的 Arg<sup>±</sup> 分子形态,而金属锌离子主要以 Zn(OH)<sub>2</sub> 形式存在,结合图 1 中最佳测定时的 pH 值在 9 左右,不难看出此时精氨酸与 Zn(OH)<sub>2</sub> 所形成的可溶性络合

物应该是由 +1 价的  $\text{Arg}^{++}$  组成, 图 5 中的由  $\text{Arg}^{++}$  和  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  所围成的 I, II 区域与图 1 中的 pH 影响峰形基本一致, 图 5 中的 I, II 区域所围成的峰形 pH 最大值在 8.5 左右, 与最佳测定值 pH 在 9 左右略有偏差, 这可能是存在测定误差或共存组分的影响。在图 5 中由  $\text{Arg}^{\pm}$  分子形态和  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  所围成的 II, III 区域所形成的峰形的最大值在 pH 10.1 左右, 与图 1 的峰形位置和分布有明显的差异。

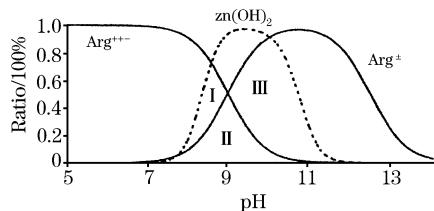
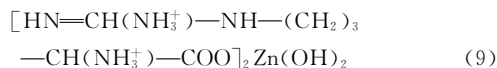


Fig. 5 Area graph of coexistence of arginine and  $\text{Zn}(\text{OH})_2$

Solid line: area of arginine; dashed line: area of  $\text{Zn}(\text{OH})_2$ ; I, II, III: coexistence area

因而可以认为精氨酸与金属锌离子在 pH 9 左右所生成的可溶性络合物是由精氨酸基  $\text{Arg}^{++}$  与  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  所形成的, 其络合离子的主要形式为

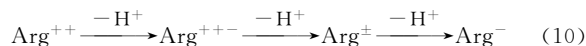


在测定最佳 pH 9.2 以下时, 由于  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  浓度的急速下降(图 4, 曲线 6 的左边)形成了图 1 中响应峰形的左边上升峰半边; 又由于主要参与络合的精氨酸基  $\text{Arg}^{++}$  在 pH 8.0~10.0 之间时急速下降形成了图 1 中 pH 9.0 以后的下降半边, 从而形成了图 1 中不同 pH 对测定精氨酸的关系曲线, 但需要注意的是图 1 中的峰形的左右半边的形成机理是不一样的。

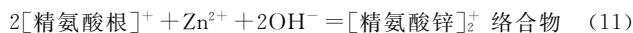
### 2.5 间接测定络合反应机理探讨<sup>[6]</sup>

由于测定是选择在最佳 pH 9.2 时进行, 此时硫化锌在水溶液中存在着平衡:  $\text{ZnS}=\text{Zn}^{2+}+\text{S}^{2-}$ , 而精氨酸在一定的

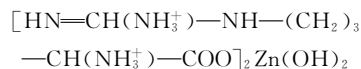
碱性溶液中存在以下平衡



生成的 +1 价的[精氨酸基]<sup>+</sup>( $\text{Arg}^{+-}$ )与  $\text{ZnS}$  中解离出的  $\text{Zn}^{2+}$  在碱性条件下反应生成更加稳定的碱式精氨酸锌可溶性络合物



碱式精氨酸锌络合物的分子式为:  $\text{Zn}(\text{OH})_2 \cdot (\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}^+$ , 结构式为



结构式的示意图见图 6。

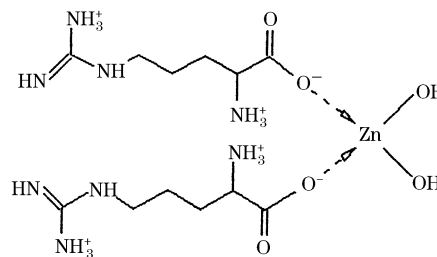


Fig. 6 Configuration graph of soluble zinc arginate complexing

## 3 结 论

通过计算机对精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, 并对硫化锌原子吸收间接测定精氨酸时的不同 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 +1 价电荷的精氨酸基  $\text{Arg}^{+-}$  和  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  组成的可溶性络合物。而形成 pH 影响峰的原因是由于精氨酸和  $\text{Zn}(\text{OH})_2$ , 在不同 pH 情况下的生成反应的变化所引起的, 峰形的左右半边的形成机理是不一样的。

## 参 考 文 献

- [1] LIU Wen-han, ZHANG Qing-xin, ZHANG Qing-yi, 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 Wen-han, SHAN Wei-guang, GAO Yun-fang, TAN Jin-hui, SHAN Sheng-yan(刘文涵, 单伟光, 高云芳, 谈金辉, 单胜燕). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2003, 23(6): 1191.
- [3] LIU Wen-han, ZHANG Dan, LI Zu-guang, WANG Li-li(刘文涵, 张丹, 李祖光, 王丽丽). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(6): 968.
- [4] Dean J A. Lange's Handbook of Chemistry. Thirteenth Edition, McGraw-Hill Book Company, 1985. 5.
- [5] Group of Analysis Chemistry of Hangzhou University(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.
- [6] LIU Wen-han, SHAN Sheng-yan, ZHANG Dan, WU Xiao-qiong(刘文涵, 单胜艳, 张丹, 吴小琼). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(10): 1717.

## Studies of Complexing Action Mechanism in the Indirect Determination of Arginine by FAAS with ZnS

LIU Wen-han, ZHANG Dan, ZHENG Jian-zhen, LI Dan, MA Chun-an

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

**Abstract** Each state of arginine and zinc ion in aqueous solution under different pH conditions was calculated by computer, giving out the scattergram. After the investigation, the mechanism of complexing action in indirectly determining arginine by flame atomic absorption spectrometry with ZnS was studied in terms of the influence of solution pH. It is with different state of arginine and zinc ion in aqueous solution in differential pH that the response peak with pH in given conditions is obtained. The reason for forming the left peak is different from the reason for forming the right peak. The soluble complexing ion is composed of +1 valence arginine  $\text{Arg}^{++-}$  and  $\text{Zn}(\text{OH})_2$ . The theoretical analysis from computing and scattergram dovetails very well the data determined from the experiments. The structure of complexing ion is  $[\text{HN}=\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}(\text{NH}_3^+)-\text{COO}]_2\text{Zn}(\text{OH})_2$ .

**Keywords** Flame atomic absorption spectrometry; Arginine; Indirect determination; Complexing action; Mechanism investigation

(Received Nov. 12, 2004; accepted Mar. 29, 2005)