

原子吸收光谱法间接测定苯丙氨酸

刘文涵, 杨 未, 王晓兵

(浙江工业大学 化学工程与材料学院, 浙江 杭州 310032)

摘要: 新生成的 ZnS 悬浮液与苯丙氨酸在碱性条件下, 可以反应生成可溶性碱式苯丙氨酸锌配合物, 用塞曼原子吸收光谱测定配合物溶液中的总锌质量浓度即可间接地得到苯丙氨酸的质量分数. 拟定了原子吸收间接测定苯丙氨酸的最佳条件和方法, 在 pH 9.0 的 2% 硼砂底液中于室温下使苯丙氨酸试液与新生成的 ZnS 悬浮液反应 22 min, 离心分离后测定上层清液的 FAAS 响应. 在所选定的条件下苯丙氨酸测定的线性质量浓度范围为 0~23 mg/mL, 特征质量浓度为 0.226 mg/mL, 检测限质量浓度为 0.829 mg/mL. 该法用于样品中的苯丙氨酸测定, 其相对标准偏差 *RSD* 为 3.56%, 方法的收率在 91%~109% 之间. 并对测定机理进行了探讨.

关键词: 火焰原子吸收光谱法; 苯丙氨酸; 间接测定; 硫化锌法

中图分类号: O657.31; Q517

文献标识码: A

文章编号: 1006-4303(2007)03-0237-04

Indirect determination of phenylalanine by flame atomic absorption spectrometry with ZnS

LIU Wen-han, YANG Wei, WANG Xiao-bing

(College of Chemical Engineering and Materials Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China)

Abstract: Phenylalanine can react with new prepared zinc sulfide suspension to form a soluble complex of zinc phenylalanine. Then, phenylalanine concentration can be determined indirectly by measuring the total zinc concentration in complex solution by Zeeman flame atomic absorption spectrometry. And the optimal conditions of indirect determination method of phenylalanine concentration were obtained, in pH 9.0, 2% Na₂B₄O₇ solution, phenylalanine solution reacting 22 min with ZnS suspension at room temperature. At the selected condition, the linear range of phenylalanine concentration determined is within 0~23 mg/mL. The characteristic concentration is 0.226 mg/mL. The detection limit is 0.829 mg/mL. The method used for the determination of phenylalanine concentration exhibits 91%~109% recoveries and 3.56% *RSD*, respectively. Moreover, the mechanism of measurement was investigated and proposed.

Key words: flame atomic absorption spectrometry; phenylalanine; indirect determination; ZnS

收稿日期: 2006-09-11

基金项目: 浙江省分析测试基金资助项目(04128); 浙江省重中之重学科开放基金资助项目(20050505)

作者简介: 刘文涵(1956—), 男, 浙江杭州人, 教授, 主要从事仪器分析、分析仪器技术、计算机化学及在线检测的教学和科研工作.

0 引言

苯丙氨酸(Phenylalanine, Phe)是人体必需的 8 种氨基酸之一,可用于氨基酸输液,综合氨基酸制剂,合成抗癌药物、抗病毒药物的开发利用,以及用于孕妇营养补剂和婴幼儿的特殊奶粉,烟酸缺乏症治疗药等,是重要的营养物质;在工业上,L-苯丙氨酸主要用于功能性食品添加剂阿斯巴甜的生产,特别是对糖精生产实行限制,在甜菊糖甜味剂产品遭遇麻烦的情况下,阿斯巴甜需求量激增,L-苯丙氨酸的市场需求也相应增加,在我国以及世界范围有着巨大的市场应用。

利用原子吸收光谱间接测定谷氨酸曾有报道^[1-3],一般为利用金属铜的化合物如磷酸铜沉淀或其悬浮液与氨基酸反应形成铜配合物,离心沉降后,测定上层清液中的铜质量分数,来达到间接测定氨基酸的质量分数的目的,由于该方法所用的磷酸铜的 K_{sp} 不是很小,因而在测定清液中本底铜离子的质量分数会影响测定,使本底背景质量分数有所提高。

笔者在硫化锌法原子吸收光谱间接测定谷氨酸^[4-6]的基础上,试验发现 L-苯丙氨酸亦能与 K_{sp} 很小的新生的硫化锌悬浮液反应生成碱式苯丙氨酸锌配合物,离心分离 ZnS 沉淀后,用火焰原子吸收测定上层清液中的锌质量分数,进而间接的测定苯丙氨酸的质量分数。

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)。

L-苯丙氨酸($C_9H_{11}NO_2$)标准溶液(50 mg/mL):精确称取 2.500 0 g L-苯丙氨酸(上海康捷生物科技发展有限公司生产,生化试剂,层析纯)溶于 10 mL 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液,用蒸馏水在 50 mL 容量瓶中稀释至刻度,用时临时配制,不宜放置过长时间。

氯化锌溶液(5%):称取 5.0 g $ZnCl_2$ (AR)溶于 95 mL 蒸馏水中,摇匀。

硫化钠溶液(3%):称取 Na_2S (AR)固体 3.0 g,溶于 97 mL 的蒸馏水中,摇匀。

硼砂溶液(2%, pH=9):称取 20 g 固体硼砂溶于 980 mL 的蒸馏水中。

试剂均为 AR 级或以上,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 $Na_2B_4O_7$ 溶液将沉淀稀释至 100 mL。

精确移取一定量的苯丙氨酸标准溶液或样品溶液于 10 mL 离心管中,加入 1.5 mL ZnS 悬浮液,用力振荡均匀,放置 22 min,用离子交换水稀释至 6.00 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 苯丙氨酸的测定原理

利用苯丙氨酸在一定条件下能与硫化锌中的锌发生配合反应,定量地形成配合物,再将溶液中的多余的硫化锌沉淀分离,测定上层清液中的总锌质量分数,即可以间接的测定苯丙氨酸的质量分数。经初步试验表明,在碱性条件下苯丙氨酸根可以从硫化锌中夺取锌,形成更稳定的可溶性碱式苯丙氨酸锌配合物,因而可以采用硫化锌来进行苯丙氨酸的间接测定。

2.2 塞曼原子吸收仪器工作条件选择

经过试验和选择,仪器的最佳工作条件列于表 1。测定表明锌离子在 0~3.98 $\mu\text{g/mL}$ 的质量浓度范围内与吸光度呈良好的线性关系,线性回归方程为 $A = 0.0907C + 0.0865$ 线性相关系数为 $r = 0.9936$ 。

表 1 塞曼原子吸收测定条件

Table 1 Optimization determining conditions of FAAS						
元素	波长	灯电流	狭缝	燃烧器	空气	乙炔
	/nm	I/mA	/nm	高度	压力	压力
				h/mm	p/MPa	p/MPa
Zn	213.9	10.0	0.4	7.5	0.186	0.034

2.3 反应酸度的影响

用不同 pH 的缓冲溶液进行苯丙氨酸锌的配合反应试验,结果如图 1。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 9.0 时达到最

大值,表明此时形成了苯丙氨酸锌的可溶性配合物,可以用于间接测定.故选择以 2% 的 $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 溶液 (pH 9.0) 作为 ZnS 悬浮液和苯丙氨酸配合反应的底液.

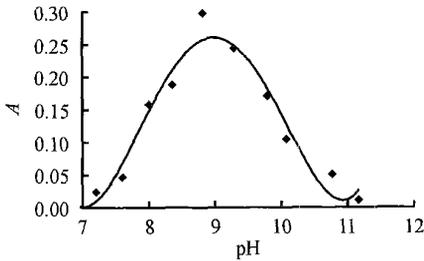


图 1 不同 pH 对苯丙氨酸锌的影响

Fig. 1 Relation between signal of FAAS and different pH

2.4 反应时间的影响

在室温下测定了 6.0 mL 苯丙氨酸标准溶液与 4.0 mL ZnS 悬浮液于 pH 9.0 下,反应时间对测定值的影响,如图 2 所示.结果表明反应时间在 0~20 min 区间内,溶液中锌的吸光度随反应时间的增加而增大,反应时间达到 20 min 后响应达到稳定值,表明配合反应基本达到平衡.选择 22 min 已能满足测定的需要.

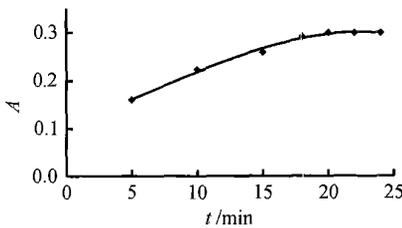


图 2 反应时间与吸光度关系

Fig. 2 Relation between signal of FAAS and reaction time

2.5 ZnS 用量的影响

分别吸取 0.0 mL, 1.0 mL, 1.5 mL, 2.0 mL, 2.5 mL, 3.0 mL ZnS 标准溶液和 2.0 mL L-苯丙氨酸溶液于 10 mL 离心管中,摇匀,放置反应 22 min 后,用 2% 硼砂溶液稀释至 6 mL,离心分离 10 min 后取出.吸取上层清液测定其吸光度信号,结果如图 3 所示.可以看出随着 ZnS 加入量的增加吸光度也增加,到 1.5 mL 后达到最大值并趋于恒定,选择 1.5 mL 作为 ZnS 的用量.

2.6 反应温度的影响

试验了从室温 20 到 55 时,不同温度下的配合反应后的响应值,结果表明反应温度对响应值几乎没有影响,因而实验选择室温作为反应温度.

2.7 苯丙氨酸的标准工作曲线

在选定的仪器工作条件和室温下,以 2% 的

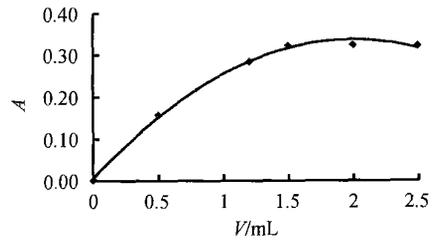


图 3 ZnS 加入量与吸光度关系

Fig. 3 Relation between signal of FAAS and added ZnS $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 溶液为底液, ZnS 悬浮液加入量为 1.5 mL,再加入不同量的苯丙氨酸,用水稀释至 6.00 mL 摇匀,配合反应时间 22 min,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 吸收值,得到不同浓度下的苯丙氨酸的标准工作曲线,如图 4.从图 4 可以看出测定苯丙氨酸的线性工作范围在 0~23 mg/mL 内,其线性回归方程为 $A = 0.0183C + 0.0103$,相应的线性相关系数为 $r = 0.9964$,特征质量浓度为 0.226 mg/mL,检测限为 0.829 mg/mL.

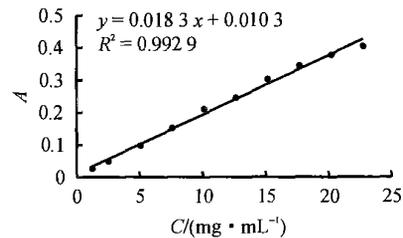


图 4 苯丙氨酸工作曲线

Fig. 4 Working curve for determining Phenylalanine

2.8 共存离子的影响

试验了 Cd^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , Mo^{2+} , Ca^{2+} , K^{+} , Mg^{2+} , NO_3^{-} , SO_4^{2-} 共存时在一定量情况下不产生干扰.由于 Ag_2S 的溶度积 K_{sp} 比 ZnS 更小,当有 Ag^{+} 存在时,将会形成 Ag_2S 解离出 Zn^{2+} 而干扰测定.

2.9 样品分析

取普通自来水配制成的模拟样品,经稀释后按选定条件进行测定,结果列于表 2.其收率在 91.5%~108.7% 之间, RSD 为 3.56%.总体表明,该方法可用于苯丙氨酸的测定.

2.10 反应机理

硫化锌在水溶液中存在平衡: $\text{ZnS} = \text{Zn}^{2+} + \text{S}^{2-}$,而苯丙氨酸在一定的碱性溶液中以苯丙氨酸根形式存在,存在以下平衡:

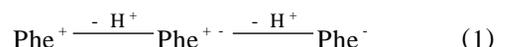
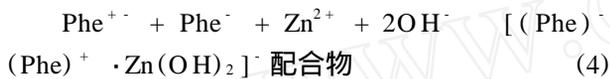
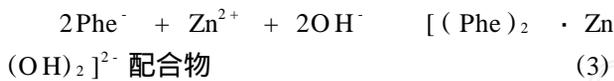


表 2 样品测定结果

Table 2 Results of determination and precision

模拟样品浓度		实测值		平均值	标准偏差 S	相对标准偏差 $RSD/ \%$	收率 $R/ \%$	
$C/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$		$C/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$		$C/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$				
7.148	7.148	6.641	6.540	6.591	0.071 4	1.08	92.91	91.49
10.721	10.721	11.086	11.658	11.372	0.404 5	3.56	103.40	108.74
14.295	14.295	15.294	15.188	15.241	0.075 0	0.49	106.99	106.25

另外研究表明在 pH 9.0 左右生成的苯丙氨酸根同时存在着 Phe^{+} 和 Phe^- 的两种形态,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苯丙氨酸锌可溶性配合物.



在所选定的条件下测定溶液中的总锌离子的质量浓度,由于硫化锌的 K_{sp} 很小,溶液中的锌离子的本底质量浓度很低,约在 $10^{-7} \mu\text{g}/\text{mL}$,对测定不会带来影响,溶液中的总锌质量浓度可以看成仅仅是苯丙氨酸根与锌离子反应生成的配合物质量浓度,测定其质量浓度即可间接的得到苯丙氨酸的质量浓度.

采用本法测定较单纯的苯丙氨酸体系时,对于所加入的补锌元素因有 S^{2-} 的存在形成沉淀不会产生干扰;而文献采用磷酸铜法测定时补锌元素将有影响.

3 结 语

所建立的硫化锌原子吸收光谱法间接测定苯丙氨酸,可用于苯丙氨酸较单纯样品的测试,其在氨基酸中所添加的补锌元素不会对测定产生干扰,具有一定的应用价值.

参考文献:

- [1] 孙智敏,张德强,孙汉文. 火焰原子吸收法间接测定调味品中的谷氨酸[J]. 分析仪器,2000,(3):33-35.
- [2] 李尚德,李移,莫丽儿,等. 谷氨酸锌的合成最佳条件研究[J]. 广东微量元素科学,2001,8(12):54-57.
- [3] 杨光,郎惠云. 原子吸收光谱法在药物分析中的应用及进展[J]. 分析科学学报,2000,16(1):76-80.
- [4] 刘文涵,单伟光,高云芳,等. 硫化锌法原子吸收间接测定谷氨酸络合反应的机理研究[J]. 光谱学与光谱分析,2003,23(6):1191-1193.
- [5] 刘文涵,章庆新,张清义,等. 谷氨酸的硫化锌法原子吸收光谱间接测定[J]. 分析测试学报,2003,22(4):58-60.
- [6] 刘文涵,张丹,郑建珍,等. 原子吸收硫化锌法间接测定精氨酸络合反应的机理研究[J]. 光谱学与光谱分析,2006,26(1):147-150.

(责任编辑:刘 岩)