

光度法对铜-苯丙氨酸配合物组成及稳定常数的测定

林秀丽¹ 主沉浮² 魏云鹤 高峰

(山东工业大学数理系应用化学教研室, 济南 250061)

铜、苯丙氨酸及二者的配合物在紫外光谱区均有较强的吸收, 为求得纯配合物的吸光度, 我们建立了三参比法, 并在此基础上探讨了 pH 值对配合物形成的影响。实验证实当 $\text{pH} \geq 7.5$ 时, 二者仅形成 1:2(M:L) 的配合物。我们还采用对应溶液法测定了该配合物的稳定常数。

关键词: 铜 苯丙氨酸 配合物 组成比 稳定常数
分类号: O614.12

测定

0 引言

前人用多种方法对铜-苯丙氨酸配位体系的配合物结构进行了研究^[1-5], 但用光度法对该体系的研究却未见报道, 因该体系在可见区吸收变化弱, 灵敏度低。而在紫外区, 除对该体系的醋酸介质中的紫外吸收光谱有过简略报道外^[6], 用光度法对该体系配合物组成及稳定常数的研究同样未见报道。为获得纯配合物的吸光度, 我们建立了三参比法, 在紫外区探讨了配合物组成, 测定了它们的稳定常数。

三参比法的建立过程如下:

设 $\text{Cu} \sim \text{Phe}$ 的配位反应为 (M, L 分别代表 $\text{Cu}(\text{II})$, Phe):



溶液的吸光度为 (以蒸馏水为参比):

$$A = \varepsilon_L[\text{L}] + \varepsilon_M[\text{M}] + \varepsilon_1[\text{ML}] + \varepsilon_2[\text{ML}_2] \quad (1)$$

式中 ε_L 、 ε_M 、 ε_1 、 ε_2 分别为相应物种的摩尔吸光系数。以 M 和 L 为参比可得:

$$A(\text{M}) = \varepsilon_L[\text{L}] + (\varepsilon_1 - \varepsilon_M)[\text{ML}] + (\varepsilon_2 - \varepsilon_M)[\text{ML}_2] \quad (2)$$

$$A(\text{L}) = \varepsilon_M[\text{M}] + (\varepsilon_1 - \varepsilon_L)[\text{ML}] + (\varepsilon_2 - 2\varepsilon_L)[\text{ML}_2] \quad (3)$$

则配合物的吸光度为:

$$A = (A_M + A_L) - A = \varepsilon_L[\text{L}] + (\varepsilon_1 - \varepsilon_M - \varepsilon_L)[\text{ML}] + (\varepsilon_2 - \varepsilon_M - 2\varepsilon_L)[\text{ML}_2] \quad (4)$$

利用(4)我们可以求取配合物的吸光度, 从而为研究配合物的组成及稳定常数打下了基础。

收稿日期: 1997-10-10, 收修改稿日期: 1998-04-04。

通讯联系人。

¹ 在山东中医药大学工作。

第一作者: 林秀丽, 女, 32 岁, 讲师, 现为中科院大连化物所在读博士生; 研究方向: 光分析与色谱分析。

1 实验部分

1.1 仪器

UV-3000 型可见紫外分光光度计(日本岛津),pHS-2 型酸度计。

1.2 试剂

苯丙氨酸(Phenylalanine,缩写为 Phe)标准液:

称一定量 Phe(DL- β 型,第二军医大药学系合成药物研究室生产)溶于少量蒸馏水中,用蒸馏水冲稀至一定体积而成。

Cu(II)标准液:

称一定量 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (A.R.)溶于少量蒸馏水,加一滴浓硫酸酸化后,用蒸馏水冲稀至一定体积,用 EDTA 标准溶液标定而成。

硼砂-盐酸缓冲液:

$0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼砂(A.R.)加不同量 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl(A.R.)配成一系列不同 pH 值(7~10)的溶液(注:该缓冲溶液在 $\text{pH} < 7$ 时无缓冲能力。我们试图用 $\text{pH} < 7$ 时有缓冲能力的 HAc-NaAc 溶液调节,但试验证明 Ac^- 在 220 nm 左右有较强吸收,因此,对后文提到的 4.5, 5.5, 6.0, 6.5 几个点的 pH 值,我们在酸度计上用稀 HCl 和稀 NaOH 调节得到)。

1.3 实验方法

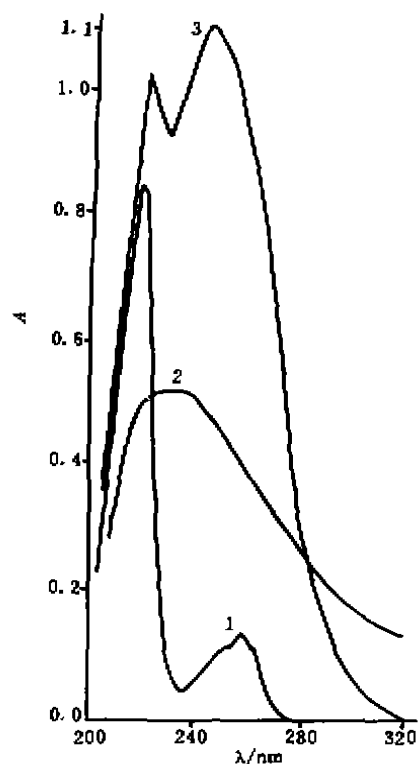
于 25 mL 比色管中,分别加入所需浓度的 Cu 标准液、苯丙氨酸溶液,及 5 mL 缓冲液,稀释至刻度摇匀。置石英比色皿中,按反应体系的光学性质选择合适溶液为参比,扫描吸收光谱或在固定波长下测定吸光度。

2 结果与讨论

2.1 铜、苯丙氨酸及其配合体系紫外吸收光谱

图 1 为 M~L 体系中两反应物及配合物加剩余反应物的吸收光谱。

曲线 3 含有两反应物的吸收,为扣除它们的影响,我们另配制了两份溶液。其一: $C^{\text{M}} > C^{\text{L}}$;其二: $C^{\text{M}} < C^{\text{L}}$ 。显色后,分别以水、L、M 为参比,扫描它们的光谱。见图 2:

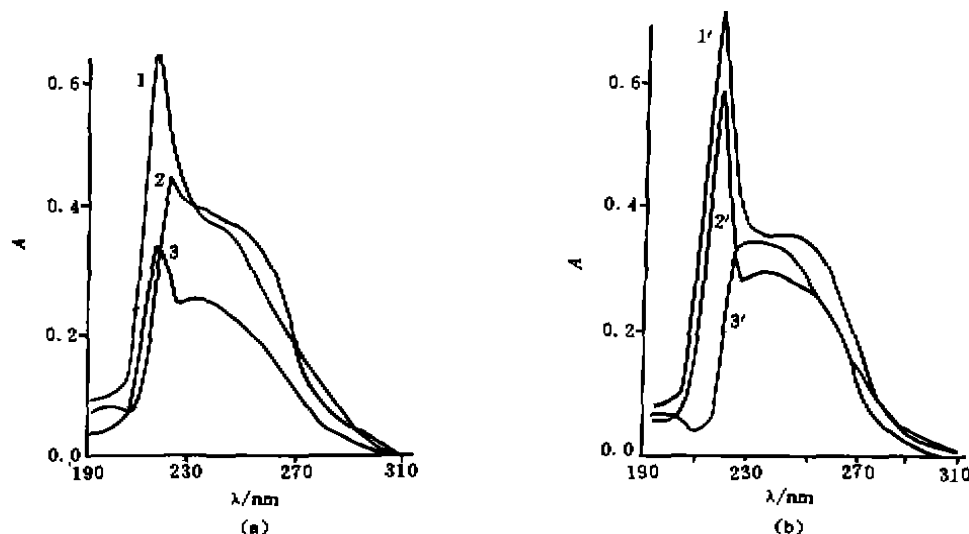


1: L 2: M 3: M~L

图 1 Cu~Phe 体系的吸收光谱

Fig. 1 Absorption spectra of Cu~Phe system

pH=9.0, reference solution: H_2O , quartz cell; 2 cm, temperature: $25 \pm 1^\circ \text{C}$ $C^{\text{M}} = 2.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $C^{\text{L}} = 5.6 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$



1, 1'; $M \sim L(H_2O)$; 2, 2'; $M \sim L(L)$; 3, 3'; $M \sim L(M)$; $pH = 6.0$, quartz cell; 2cm, temperature; $25 \pm 1^\circ C$

(a); $C^M = 2.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot L^{-1}$, $C^L = 0.8 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot L^{-1}$

(b); $C^M = 0.8 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot L^{-1}$, $C^L = 2.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot L^{-1}$

图2 Cu~Phe 吸收光谱

Fig. 2 Absorption spectra of Cu~Phe system

根据溶液的组成, (a)溶液较易形成 1:1 的配合物, (b)溶液较易形成 1:2 的配合物。我们暂且不讨论两者哪一为主的问题, 只笼统称之为配合物光谱, 两组曲线比较: 曲线 2、2' 扣除 L 吸收后尚受铜的影响, 由于 2 中的 C^M 大于 2', 所以 2 的吸光度大于 2'; 曲线 3、3' 扣除 M 吸收后尚受苯丙氨酸的影响, 而且 3' 的吸光度大于 3, 显然是 3' 中的 C^L 大于 3 中的 C^L 的缘故。又 2、2' 的差别大于 3、3', 因此后者较接近配合物的光谱, 其中 3 更接近于 1:1 配合物的光谱, 3' 更接近于 1:2 配合物的光谱。但上述曲线都不是纯配合物的光谱。

由图 1、2 可见, 曲线中 220 nm 附近的峰, 基本上属 L、M 的吸收; 235 nm 附近的峰, 基本上属配合物的吸收。

2.2 组成测定

由于配合物的形成及两种配合物的分布与溶液的 pH 有关, 因此, 我们用摩尔比法与连续变量法, 研究了 pH 值不同时对配合物形成的影响。

我们在 pH 分别为 4.5、5.5、6.5、7.0、7.5、8.5、9.0、9.5 处, 用摩尔比法和连续变量法分别测定了配合物的组成。结果表明: 当 $pH \geq 7.5$ 时, 铜和苯丙氨酸仅形成组成比为 1:2 (M:L) 的配合物。如图 3 所示。

$pH < 7.5$ 时, 未获得明朗结论。连续变量法曲线普遍是 $C^M < C^L$ 曲线上凸, 可能是 1:1 和 1:2 配合物同时形成的结果 (图 4)。

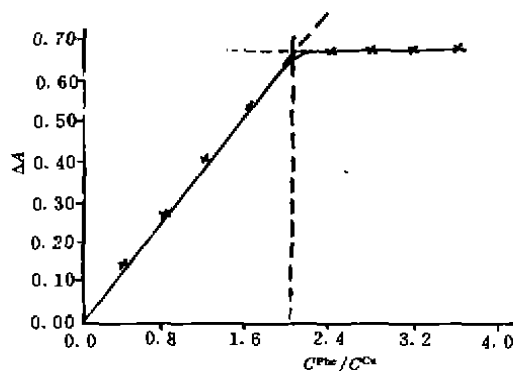


图 3a Cu~Phe 体系摩尔比曲线

Fig. 3a Molar ratio curve of Cu~Phe system

$\lambda_{\text{max}} = 235 \text{ nm}$, reference solution: M, H_2O , L, respectively. quartz cell; 1 cm, temperature; $25 \pm 1^\circ\text{C}$, pH=7.5, 8.5, 9.0, 9.5; $C^{\text{M}} = 2.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (in Fig. 3a)

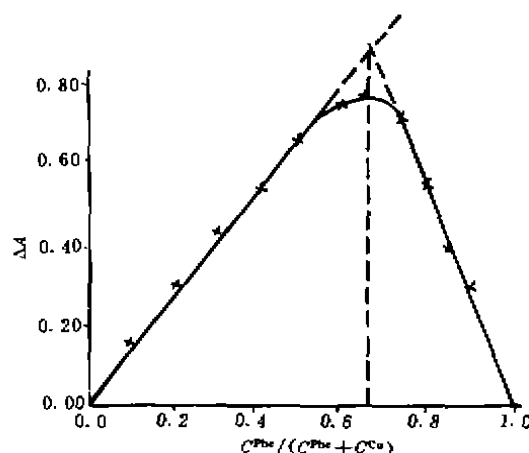


图 3b Cu~Phe 体系连续变量曲线

Fig. 3b Job's curve of Cu~Phe system

2.3 稳定常数的测定

我们在 pH=6.0 处,进行了配合物稳定常数的计算。

配合物的吸收光谱如图 5 所示,我们选用的最大吸收波长为 $\lambda_{\text{max}} = 235 \text{ nm}$ 。

由于研究体系为逐级配位体系,存在两种配合物,因此,我们用对应溶液法测定配合物的稳定常数:

对应溶液法的理论基础是卞隆函数,其定义为:

$$n = \frac{C^{\text{L}} - [\text{L}]}{C^{\text{M}}} = \frac{\beta_1[\text{L}] + 2\beta_2[\text{L}]^2}{1 + \beta_1[\text{L}] + \beta_2[\text{L}]^2} \quad (5)$$

说明 n 只是 $[\text{L}]$ 的函数,即 $[\text{L}]$ 相同的溶液其 n 亦相同,这样一系列 $[\text{L}]$ 相同而 C^{L} 、 C^{M} 不同的溶液即为对应溶液。得对应溶液后,将式(5)写成: $C^{\text{L}} = nC^{\text{M}} + [\text{L}]$ (6),利用图解法便可计算 n 和 $[\text{L}]$ 。

找对应溶液,实验上要通过平均摩尔消光系数 $\bar{\epsilon}$,它的定义为:

$$\bar{\epsilon} = A/C^{\text{M}} = \frac{\epsilon_1\beta_1[\text{L}] + \epsilon_2\beta_2[\text{L}]^2}{1 + \beta_1[\text{L}] + \beta_2[\text{L}]^2}$$

由上式可知,测得每份溶液的 A 后,即可求出 $\bar{\epsilon}$ 值。又 $\bar{\epsilon}$ 亦只是 $[\text{L}]$ 的函数,那么找到 $\bar{\epsilon}$ 相同的一系列溶液,也就找到了一系列对应溶液。

M~L 配合物稳定常数的求算过程如下:

(1) 求 $\bar{\epsilon}$ 并找对应溶液:

固定 C^{M} , 渐增 C^{L} , 配制四列 (C^{M} 取不同值) 溶液, 在波长 235 nm 处分别以 M、L、 H_2O 为参比, 测吸光度, 据式(4) 计算配合物的吸光度 ΔA , 然后计算 $\bar{\epsilon}$ 。结果见表 1。

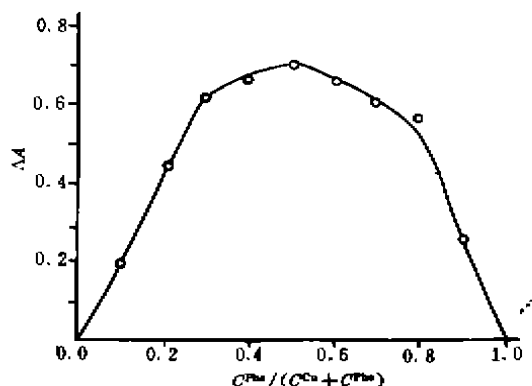


图 4 Cu~Phe 连续变量曲线

Fig. 4 Job's curve of Cu~Phe system

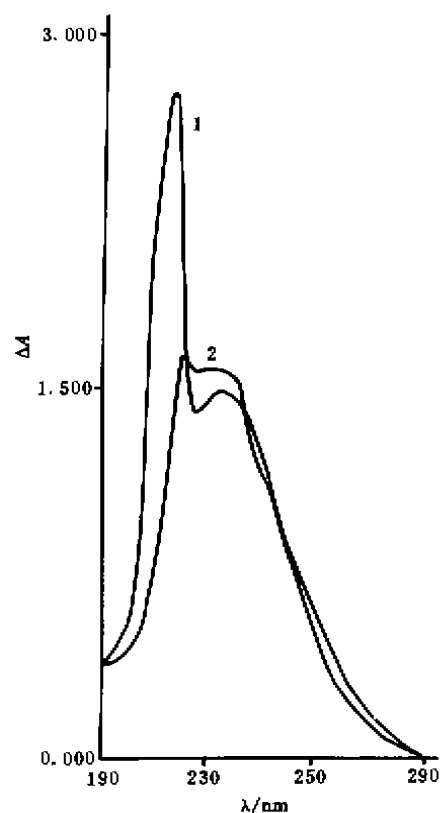
以 $\bar{\epsilon}$ 对 C^L 作图, 得一曲线; 四组不同的 C^M 可得四条曲线, 如图 6。

在固定 $\bar{\epsilon}$ 值下, 作四条平行线交诸曲线于 a, b, c, d 点, 四点代表的溶液(组成)即互为对应溶液, 它们的 $[L]$ 相同, 这四条平行线得四组对应溶液。

(2) 求 $\bar{n}$ 和 $[L]$

据式(6) $C^L = \bar{n}C^M + [L]$, 以互为对应溶液的 C^L 对 C^M 作图, 得图 7。

图中直线的斜率为 $\bar{n}$, 截距即 $[L]$, 四条直线可得四组 $\bar{n}$ 与 $[L]$, 分别将其代入式(5), 并加以整理得二元一次方程式, 见表 2。



1: M~L(L), 2: M~L(M)

图 5 Cu~Phe 配合物的吸收光谱

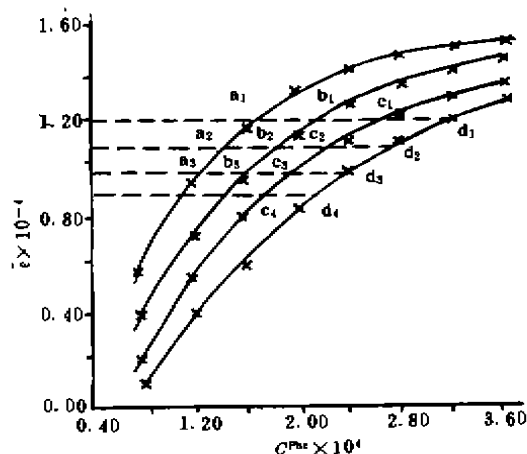
Fig. 5 Absorption spectra of Cu~Phe

$\lambda_{max} = 235$ nm, pH = 5.5, quartz cell; 2 cm. temperature; 25 ± 1 C. pH = 6.0, temperature; 25 ± 1 C reference solution; M, H_2O , L, respectively quartz cell; 4 cm, $C^M = 1.2 \times 10^{-4}$ mol $\cdot$ L $^{-1}$, $C^L = 2.4 \times 10^{-4}$ mol $\cdot$ L $^{-1}$

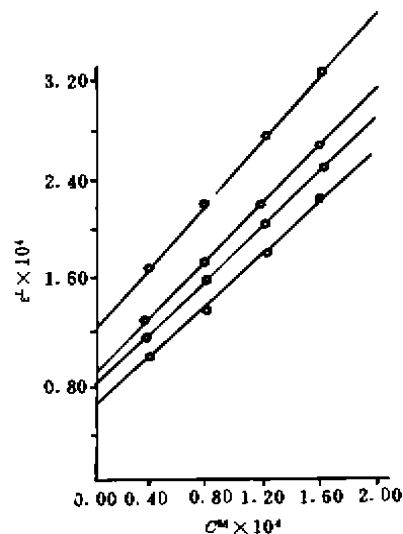
表 1 系列溶液 $\bar{\epsilon} \times 10^{-4}$ 值
Table 1 Series of Solution $\bar{\epsilon} \times 10^{-4}$

$C^M \times 10^4$	$C^L \times 10^4$							
	0.80	1.20	1.60	2.00	2.40	2.80	3.20	3.60
0.40	0.589	0.936	1.175	1.318	1.401	1.479	1.519	1.533
0.80	0.387	0.733	0.977	1.137	1.262	1.357	1.417	1.460
1.20	0.208	0.561	0.801	0.983	1.121	1.208	1.279	1.336
1.60	0.080	0.378	0.596	0.811	0.962	1.080	1.201	1.278

quartz cell; 2 cm, temperature; 25 ± 1 C, pH = 6.0, $\lambda_{max} = 235$ nm, reference solution; M, L, H_2O

图 6 $\epsilon \sim C^L$ 曲线Fig. 6 $\epsilon \sim C^L$ curvereference solution: M, H₂O, L respectively

quartz cell: 2 cm temperature: 25 ± 1 °C pH

= 6.00, $\lambda_{\max}$ = 235 nm图 7 对应溶液的 $C^M \sim C^L$ 图Fig. 7 C^M vs C^L corresponding solution表 2 四组对应溶液测得的 $\bar{n}$ 和 $[L]$ 值Table 2 $\bar{n}$ and $[L]$ Obtained From Four Sets of Corresponding Solutions

No.	correspondin solution	$[L] \times 10^{-4}$	$\bar{n}$	(5): changes into $(1-\bar{n})[L]\beta_1 + (2-\bar{n})[L]^2\beta_2 = n$
1	$a_1 \sim d_1$	0.68	1.024	$4.509 \times 10^{-5}\beta_2 - 1.632 \times 10^{-5}\beta_1 = 1.024$
2	$a_2 \sim d_2$	0.80	1.087	$5.843 \times 10^{-5}\beta_2 - 6.960 \times 10^{-6}\beta_1 = 1.087$
3	$a_3 \sim d_3$	0.91	1.097	$7.478 \times 10^{-5}\beta_2 - 8.827 \times 10^{-6}\beta_1 = 1.097$
4	$a_4 \sim d_4$	1.26	1.258	$1.178 \times 10^{-4}\beta_2 - 3.251 \times 10^{-5}\beta_1 = 1.258$

(3) 求稳定常数

我们任取二方程,组成方程组,可求 β_1, β_2 , 结果见表 3:表 3 对应溶液求解的 β_1, β_2 值Table 3 β_1, β_2 Obtained From Corresponding Solutions

combined EQ number	1, 2	1, 3	1, 4
$\text{Log } \beta_1$	4.693	4.992	4.699
$\text{Log } \beta_2$	8.398	8.419	8.389

average value $\text{Log } \beta_1 = 4.795$, $\text{Log } \beta_2 = 8.402$

当 pH=6.0 时, L 的酸效应系数为:

$$\alpha_H = 1 + k_1[H^+] + k_1k_2[H^+]^2$$

$$1 + 10^{9.18} \times 10^{-6.00} + 10^{9.18} \times 10^{2.21} \times 10^{-12.00} = 10^{3.18}$$

$$\therefore \text{Log } \alpha_H = 3.18$$

在此,我们用 β_1', β_2' 表示条件稳定常数, β_1, β_2 表示稳定常数:

$$\therefore \beta_1' = \frac{[ML']}{[M'][L']} = \frac{[CuL']}{[Cu'][L']} = \frac{[CuL]}{[Cu][L]\alpha_H} = \beta_1/\alpha_H^{[?]}$$

$$\text{即 } \beta_1 = \alpha_H \beta_1'$$

$$\beta_2' = \frac{[CuL_2']}{[Cu'][L']^2} = \frac{[CuL_2]}{[Cu][L]^2\alpha_H^2} = \beta_2/\alpha_H^2$$

$$\text{即 } \beta_2 = \alpha_H^2 \beta_2'$$

$$\therefore \text{Log} \beta_1 = \text{Log} \beta_1' + \text{Log} \alpha_H = 4.795 + 3.180 = 7.975$$

$$\text{Log} \beta_2 = \text{Log} \beta_2' + 2\text{Log} \alpha_H = 8.402 + 2 \times 3.180 = 14.76$$

我们将本法结果与文献^[6]作了比较(计算用质子化常数也由该文献提供),结果见表4:

表4 M~L配合物的稳定常数
Table 4 Stability Constants of M~L Complexes

complexes system	results of this method		results of literature	
	Log β_1	Log β_2	Log β_1	Log β_2
Cu-Phe	7.97	14.76	7.86	14.77

以上表明,本法结果与文献值基本一致,说明我们的方法可行、可靠。此方法同样适用于对两反应物及配合物均有吸收的类似体系,如铜~酪氨酸,铜~蛋氨酸等。

参 考 文 献

- [1] Bunel S., Ibarra C., Bunton C. A. *Inorg. Nucl. Chem. Letters*, **1975**, *11*, 213.
- [2] Bunel S., Ibarra C., Rodriguez M., Urbina A., Bunton C. A. *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1981**, *43*(5), 971.
- [3] Carlsson C., Liedberg B. *Mikrochim. Acta*, **1987**, 1(1-6), 149.
- [4] Szabó-Plánka T., Rockenbauer A., Györ M., Gaizer F. *J. Coord. Chem.* **1988**, *17*(1), 69.
- [5] Magomedbekov U. G., PEN'kov V. I., Shakhgiriier I. B. *Pis-khem, Metody Analiza i Kontrolya Pri-n, Mukhachikhi*, **1982**, *75* (RUSS).
- [6] DA Shi-Lu(达世禄), LI Xiao-Jia(李小佳), WANG Zhong-Hua(王忠华) *Fen Xi Huaxue* (Chinese J. Anal. Chem.), **1991**, *19*(6), 700.
- [7] Wuhan University(武汉大学) *Analytical Chemistry 3rd ed.* (分析化学(第三版)), Beijing: High Education Press, **1995**, p169~170.
- [8] Martell E., Smith R. M. *Critical Stability Constants Vol. I: Amino Acids*.

SPECTROPHOTOMETRIC STUDIES ON THE COMPOSITIONS AND STABILITY CONSTANTS OF COPPER (I)-PHENYLALANINE COMPLEXES

LIN Xiu-Li ZHU Chen-Fu WEI Yun-He GAO Feng

(Shandong University of Technology, Jinan 250061)

Copper (I), Phenylalanine (Phe) and their complexes all have strong ultraviolet absorptions. In order to obtain the absorbance of Cu (II)~Phe complexes, we set up three reference method, discussed the influence of pH to the formation of the complexes, and justified that when $\text{pH} \geq 7.5$, only 1 : 2 (Cu : Phe) complex was formed. We further detected stability constants of Cu (I)~Phe complexes using corresponding solution method.

Keywords: copper phenylalanine complex composition stability constant