

# 利用溴酸钠-苹果酸-[CuL](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>-硫酸 化学振荡体系分析测定酪氨酸

沈 慧<sup>1</sup>, 张祖德<sup>1</sup>, 胡 刚<sup>2</sup>

(1. 中国科学技术大学化学系, 安徽合肥 230026; 2. 安徽大学化学系, 安徽合肥 230039)

**摘要:** 利用不同浓度的酪氨酸对溴酸钠-苹果酸-[CuL](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>-硫酸化学振荡反应体系的扰动, 得到一种新的定量分析测定酪氨酸的方法, 其中[CuL](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>的L为5, 7, 7, 12, 14, 14-六甲基-1, 4, 8, 11-四氮杂环十四-4, 11-二烯。研究表明, 当不同浓度的酪氨酸加入到振荡反应体系时, 振荡振幅的改变值 $\Delta A_m$ 与酪氨酸浓度的对数值 $\lg\{[\text{Tyr}]_0\}$ 之间呈良好的线性关系, 线性范围为 $1.235 \times 10^{-6} \sim 2.677 \times 10^{-4}$  mol/L, 相关系数 $r=0.999\ 18$ ; 振荡周期的改变值 $\Delta T$ 与酪氨酸浓度的对数值 $\lg\{[\text{Tyr}]_0\}$ 呈良好的线性关系, 线性范围为 $7.444 \times 10^{-7} \sim 4.534 \times 10^{-4}$  mol/L, 相关系数 $r=0.993\ 61$ 。此外还研究了反应温度、搅拌速度和组成浓度对该振荡反应的影响, 同时初步探讨了酪氨酸扰动化学振荡的机理。

**关键词:** 化学振荡; 四氮杂大环铜配合物; 酪氨酸; 扰动

中图分类号: O654.1 文献标识码: A doi:10.3969/j.issn.0253-2778.2010.07.005

## Determination of tyrosine based on NaBrO<sub>3</sub>-Malic acid- [CuL](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> oscillating system

SHEN Hui<sup>1</sup>, ZHANG Zude<sup>1</sup>, HU Gang<sup>2</sup>

(1. Department of Chemistry, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China;

2. Department of Chemistry, Anhui University, Hefei 230039, China)

**Abstract:** A new quantitative analytical method for the determination of tyrosine by the perturbation caused by different amounts of tyrosine on the NaBrO<sub>3</sub>-Malic acid-[CuL](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> oscillating chemical system is reported. The unsaturated ligand L in the complex [CuL](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> is 5, 7, 7, 12, 14, 14-hexamethyl-1, 4, 8, 11-tetraazacyclotetradeca-4, 11-diene. When different concentrations of tyrosine is injected into the oscillating chemical system, the mutation of the amplitude  $\Delta A_m$  fits a linear relationship to the logarithm of the concentration of tyrosine  $\lg\{[\text{Tyr}]_0\}$  in the range  $1.235 \times 10^{-6} \sim 2.677 \times 10^{-4}$  mol/L very well. The correlation coefficient is 0.999 18. The experimental results also show that there is the linear relationship between the change in the oscillating period  $\Delta T$  of the chemical system and the logarithm of the concentration of tyrosine  $\lg\{[\text{Tyr}]_0\}$  in the range  $7.444 \times 10^{-7} \sim 4.534 \times 10^{-4}$  mol/L. The correlation coefficient is 0.993 61. The effect of influential variables, such as temperature, stirring rate and the concentration of components on the oscillating system are studied. Some aspects of the probable

收稿日期: 2009-01-15; 修回日期: 2009-04-22

基金项目: 安徽省教育厅重点科研项目(KJ2008A118)资助。

作者简介: 沈慧, 女, 1976年生, 硕士。研究方向: 无机化学。E-mail: shenhui@mail.ustc.edu.cn

通讯作者: 张祖德, 教授。E-mail: zzd@ustc.edu.cn

mechanism of perturbation of tyrosine on the oscillating chemical system are also discussed.

**Key words:** oscillating chemical system; tetrazamacrocyclic complex; tyrosine; perturbation

## 0 引言

酪氨酸(Tyrosine,简称 Tyr,结构式见图1)是人体内较重要的氨基酸,属芳香族氨基酸<sup>[1]</sup>,也是合成肾上腺素、去甲肾上腺素及甲状腺素的重要原料及体内黑色素合成的前体物质.人体内酪氨酸含量的稳定与否直接反映人体的健康状况,因此测定酪氨酸的含量对于营养学、临床医学以及药物分析都有十分重要的意义<sup>[2]</sup>.

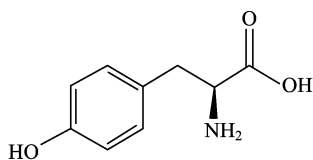


图1 酪氨酸结构式

Fig. 1 The structure of tyrosine

目前常见的测定酪氨酸的方法有:分光光度法<sup>[3]</sup>、荧光法<sup>[4]</sup>、电化学分析法<sup>[5]</sup>、HPLC法<sup>[6]</sup>、酶分析法、毛细管电泳法<sup>[7]</sup>等.由于以上测试方法或预处理较复杂,或虽然准确度高、快捷,但需要的设备昂贵、测试条件要求较高,或设备要求简单但测试的准确度不高,或当溶液中含有强酸性杂质时对测定结果有影响,因而在具体应用中存在很大限制.

近年来,化学振荡反应在分析测定中的应用得到了持续地发展.一些微量、痕量的外加物种可以改变振荡反应的复杂动力学机理<sup>[8]</sup>,通过记录化学振荡反应变化的参数(如振荡的诱导期、振荡周期、振荡振幅、振荡寿命等)达到定量分析的目的.利用化学振荡反应进行分析测定具有灵敏度高、仪器简单、操作方便等优点,应用范围也越来越广泛.已报道测定的金属阳离子有钴<sup>[9]</sup>、铜<sup>[10]</sup>等,有机物有 $\alpha$ -萘酚<sup>[11]</sup>、1-萘胺<sup>[12]</sup>、水合肼<sup>[13]</sup>、糠醛<sup>[14]</sup>等.化学振荡在尿酸<sup>[15]</sup>、维生素<sup>[16]</sup>、药物<sup>[17-18]</sup>及毒性物质<sup>[19]</sup>等生化及药物分析检测中已有应用.故我们考虑设计一种振荡体系测定酪氨酸,用以替代或改进以往测定酪氨酸的方法.

前苏联科学家 Yatsimirskii<sup>[20]</sup>曾于1982年首次发现了四氮杂大环配合物[CuL](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>或[NiL](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>可以代替Ce<sup>4+</sup>、Mn<sup>2+</sup>以及Fe(phen)<sub>3</sub><sup>3+</sup>催化的丙二酸为有机底物的BZ化学振

荡.实际上,此类化学振荡体系中的有机底物丙二酸也可以被丙酮酸<sup>[21]</sup>和乳酸<sup>[22-23]</sup>替代.苹果酸从分子结构上看,可能是[CuL](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>催化BZ化学振荡的潜在有机底物.故我们设计并发现了溴酸钠-苹果酸-[CuL](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>-硫酸化学振荡体系<sup>[24]</sup>,并将该体系用于测定酪氨酸.

## 1 研究方法

### 1.1 实验仪器与试剂

#### 1.1.1 实验仪器

85-2型恒温磁力加热搅拌器(常州市国华仪器厂);10℃~100℃的WMZK-01温度指示控制仪(上海华辰医用仪表有限公司);SHZ-D型循环水式真空泵(河南巩义豫华仪器厂);FT-IR Nexus-870 Nicolet 380型智能傅立叶红外光谱仪(上海禾工科学仪器有限公司);元素分析仪(Elementar Vario E1-III,南京凯迪仪器分析有限公司);AB204-N型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);LK 2005型电化学工作站(天津兰力科化仪器);XWTD-264型自动平衡记录仪(上海大华仪表厂);213型铂电极(上海精密科学仪器有限公司);217型双液接甘汞Hg|Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>|Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>|电极(上海伟业仪器有限公司);PHS-25B型数字酸度计(上海大普仪器有限公司).

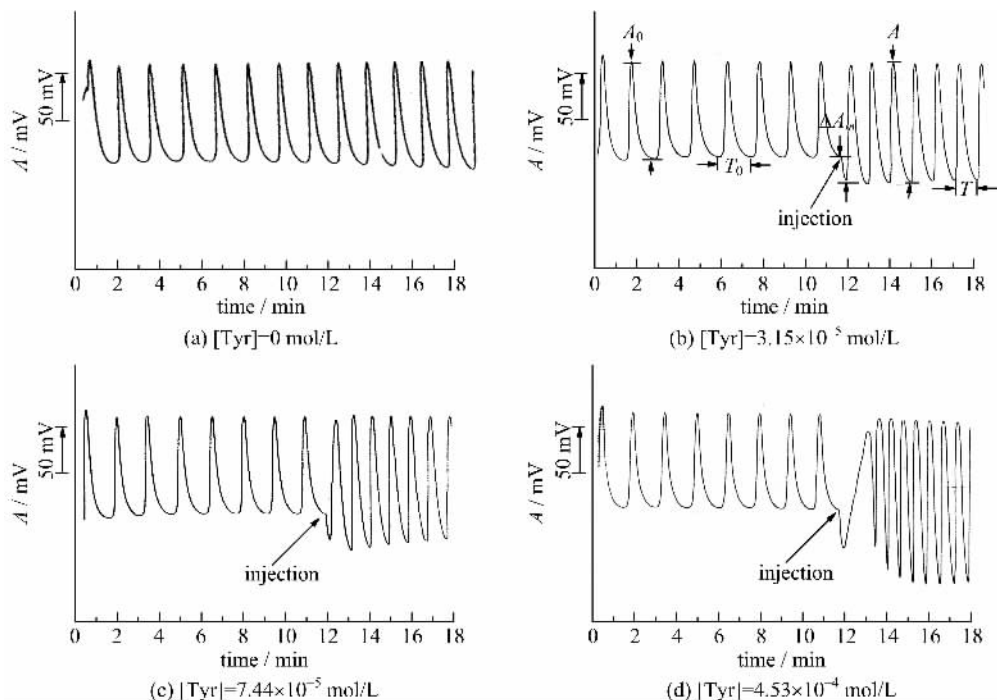
#### 1.1.2 试剂

无水乙二胺、无水甲醇、无水乙醇、无水丙酮、70%高氯酸、水合醋酸铜、溴酸钠、DL-苹果酸、95%~98%浓硫酸,均为分析纯.L-酪氨酸(99%,安徽省恒锐新技术开发有限责任公司).实验全部使用二次蒸馏去离子水,用95%~98%的浓硫酸配制1.15 mol/L的硫酸溶液作为储备液,用以配制以下浓度的溶液:0.6 mol/L的溴酸钠溶液,2.0 mol/L的DL-苹果酸溶液,1.84×10<sup>-2</sup> mol/L的[CuL](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>溶液.

### 1.2 实验过程

#### 1.2.1 四氮杂大环铜配合物[CuL](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>的合成

按照文献<sup>[25]</sup>的方法,首先合成配体高氯酸盐L·2HClO<sub>4</sub>(分子式为C<sub>16</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>·2HClO<sub>4</sub>),式中的L为5,7,7,12,14,14-六甲基-1,4,8,11-四氮杂环十四-4,11-二烯.利用合成的配体按照文献<sup>[26-</sup>



共同条件:  $[\text{NaBrO}_3]=0.018 \text{ mol/L}$ ,  $[\text{Malic acid}]=0.19 \text{ mol/L}$ ,  $[\text{H}_2\text{SO}_4]=1.15 \text{ mol/L}$ ,  $[[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2]=3.45 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$

图 2 不同浓度酪氨酸对 B-Z 振荡的扰动

Fig. 2 The perturbation on B-Z oscillating system caused by different amount of tyrosine

27]的方法,合成配合物 $[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2$ .合成的 L · 2HClO<sub>4</sub>, $[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2$ 经元素分析仪、红外光谱等检测手段证实与文献一致.

### 1.2.2 酪氨酸的分析测定

控制温度在 $20^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ ,搅拌速度为 $500 \text{ r/min}$ ,由平衡走纸记录仪开始记录振荡曲线.向放有转子的 $50 \text{ mL}$ 干燥烧杯中依次加入下列溶液:1.15 mol/L的硫酸溶液 $27.5 \text{ mL}$ ,2 mol/L的苹果酸溶液 $3.8 \text{ mL}$ ,0.6 mol/L的溴酸钠溶液 $1.2 \text{ mL}$ ;将铂电极(工作电极)和甘汞电极(参比电极)迅速插入反应液中,约 $10 \text{ s}$ 后加入 $1.84 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ 的催化剂 $[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2$  $7.5 \text{ mL}$ ,反应溶液总体积为 $40 \text{ mL}$ .经过一段非常短(不足 $10 \text{ s}$ )的诱导期后,溴酸钠与苹果酸在酸性溶液中的反应显示出了典型的B-Z化学振荡行为并很快进入稳定的振荡阶段.当振荡稳定后,在铂电极指示电位的最低点用微量进样器向 $50 \text{ mL}$ 烧杯中加入一定浓度的酪氨酸溶液,观察不同浓度的酪氨酸溶液对振荡行为的影响,并记录相应参数.

## 2 结果与讨论

### 2.1 线性关系

以加入催化剂 $[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2$ 为时间起点,在

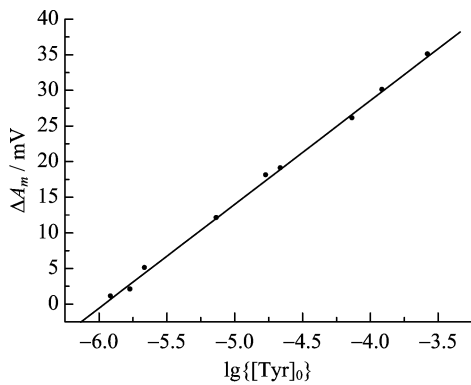
第八周期铂电极指示电位的最低点迅速向烧杯中加入一定浓度的酪氨酸溶液,从平衡记录仪记录的振荡图形(图2)可见酪氨酸对振荡体系产生明显扰动,振荡振幅和振荡周期都发生了改变.我们定义振荡振幅的改变量为 $\Delta A_m = A - A_0$ ,其中 $A$ 和 $A_0$ 分别是酪氨酸加入前和加入后的振荡振幅;定义振荡周期的改变量为 $\Delta T = |T - T_0|$ ,其中 $T$ 和 $T_0$ 分别是酪氨酸加入前和加入后的振荡周期.

在保持 $[\text{NaBrO}_3]$ 、 $[\text{Malic acid}]$ 、 $[\text{H}_2\text{SO}_4]$ 、 $[[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2]$ 以及温度不变的条件下,重复上述振荡实验,在第八周期铂电极指示电位的最低点迅速向烧杯中加入另一浓度的酪氨酸溶液.研究发现,加入的酪氨酸浓度越大,振荡图形在加入点的 $\Delta A_m$ 及 $\Delta T$ 也越大.

通过计算,将酪氨酸在体系中的浓度作常用对数处理,以酪氨酸浓度的对数 $\lg\{[\text{Tyr}]_0\}$ ( $[\text{Tyr}]$ 单位: mol/L)为横坐标,以振幅的突变量 $\Delta A_m$ 为纵坐标,进行作图.结果发现,在酪氨酸浓度在 $1.235 \times 10^{-6} \sim 2.677 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 的范围改变时, $\Delta A_m$ 与 $\lg\{[\text{Tyr}]_0\}$ 呈良好的线性关系(如图3,式(1)).

线性关系式如下:

$$\Delta A_m = 14.56927 \lg\{[\text{Tyr}]_0\} + 86.84608 \quad (1)$$



条件:  $[\text{NaBrO}_3]=0.018 \text{ mol/L}$ ,  $[\text{Malic acid}]=0.19 \text{ mol/L}$ ,  
 $[\text{H}_2\text{SO}_4]=1.15 \text{ mol/L}$ ,  $[[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2]=3.45 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$

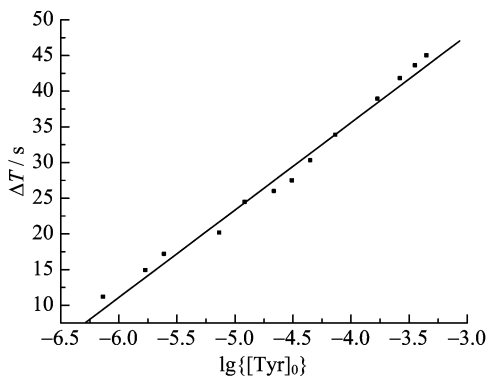
图 3  $\Delta A_m$  与  $\lg\{[\text{Tyr}]_0\}$  的线性关系

Fig. 3 The linear relationship between  $\Delta A_m$  and  $\lg\{[\text{Tyr}]_0\}$

相关系数  $r=0.99918$ .

在相同的实验条件下,取  $7.5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$  的酪氨酸溶液做 6 组平行实验,测得的相对标准偏差 (RSD) 为 1.94%,说明重现性较好。

以酪氨酸浓度的对数  $\lg\{[\text{Tyr}]_0\}$  为横坐标,以振荡周期的突变量  $\Delta T$  为纵坐标进行作图。结果发现,酪氨酸浓度在  $7.444 \times 10^{-7} \sim 4.534 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$  的范围改变时, $\Delta T$  与  $\lg\{[\text{Tyr}]_0\}$  呈良好的线性关系(如图 4,式(2))。



条件:  $[\text{NaBrO}_3]=0.018 \text{ mol/L}$ ,  $[\text{Malic acid}]=0.19 \text{ mol/L}$ ,  
 $[\text{H}_2\text{SO}_4]=1.15 \text{ mol/L}$ ,  $[[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2]=3.45 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$

图 4  $\Delta T$  与  $\lg\{[\text{Tyr}]_0\}$  的线性关系

Fig. 4 The linear relationship between  $\Delta T$  and  $\lg\{[\text{Tyr}]_0\}$

线性关系式如下:

$$\Delta T = 12.24535 \lg\{[\text{Tyr}]_0\} + 84.5734 \quad (2)$$

相关系数  $r=0.99361$ .

在相同的实验条件下,取  $7.5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$  的酪氨酸溶液做 6 组平行实验,测得的相对标准偏差 (RSD) 为 1.58%,说明重现性较好。

样品测定与加标回收实验:按照实验的方法,在操作条件为  $[\text{NaBrO}_3]=0.018 \text{ mol/L}$ ,  $[\text{Malic acid}]=0.19 \text{ mol/L}$ ,  $[\text{H}_2\text{SO}_4]=1.15 \text{ mol/L}$ ,  $[[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2]=3.45 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  的情况下,采用标准加入法测定实验室中合成水样中的酪氨酸的浓度及其回收率,结果如表 1。

表 1 加标回收试验

Tab. 1 Sample analysis and recovery experiments

sample number	determine result $n$	added $/(10^{-4} \text{ mol/L})$	found $/(10^{-4} \text{ mol/L})$	recovery /%
1	0.41472	0.25	0.6663	100.24
2	0.48572	0.25	0.78038	106.07
3	0.78039	0.25	0.93886	91.11
4	0.78039	0.25	1.07049	103.89
5	0.6620	0.75	1.46844	104.00
6	1.0000	0.75	1.71987	98.28

## 2.2 影响测试的因素

### 2.2.1 各组分浓度的影响

反应在 50 mL 烧杯的开放体系中进行,保持组成振荡体系四种组分中的三种浓度不变,改变一种浓度,对溴酸钠浓度、苹果酸浓度、硫酸浓度及  $[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2$  浓度对待测物酪氨酸加入前后的振荡体系各参数的影响分别进行评估,确定最佳测试浓度。评估时,综合考虑以下两方面因素:①振荡图形的稳定性;②加入酪氨酸引起的  $\Delta A_m$  及  $\Delta T$  的值大小, $\Delta A_m$  及  $\Delta T$  的值越大,说明此种浓度对应的振荡对酪氨酸的加入越敏感,则越有利于分析测定。不同浓度的苹果酸、 $[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2$ 、硫酸、溴酸钠与加入相同浓度酪氨酸时振荡体系的响应关系见图 5。

由图 5(a)可看出,随着苹果酸浓度在  $0.16 \sim 0.22 \text{ mol/L}$  的范围逐渐增加, $\Delta A_m$  起伏不定,到浓度为  $0.19 \text{ mol/L}$  时达到最大值,再增加苹果酸的浓度  $\Delta A_m$  将迅速减少。 $\Delta T$  同样没有固定的变化规律,但从图中可见,在苹果酸浓度达到  $0.19 \text{ mol/L}$  时振荡周期的改变量  $\Delta T$  也达到一个较大值,随后又减小。 $\Delta A_m$  及  $\Delta T$  的值越大,反映体系在此种状态下对被测物的加入越敏感,越有利于测试。考察平衡记录仪记录的不同苹果酸浓度对应的振荡图形,能够发现在苹果酸浓度为  $0.19 \text{ mol/L}$  附近时振荡图形比较稳定。综合考虑上述原因,最终选择  $0.19 \text{ mol/L}$  为分析测定酪氨酸时苹果酸的浓度。

改变  $[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2$  的浓度在  $2.76 \times 10^{-3} \sim$

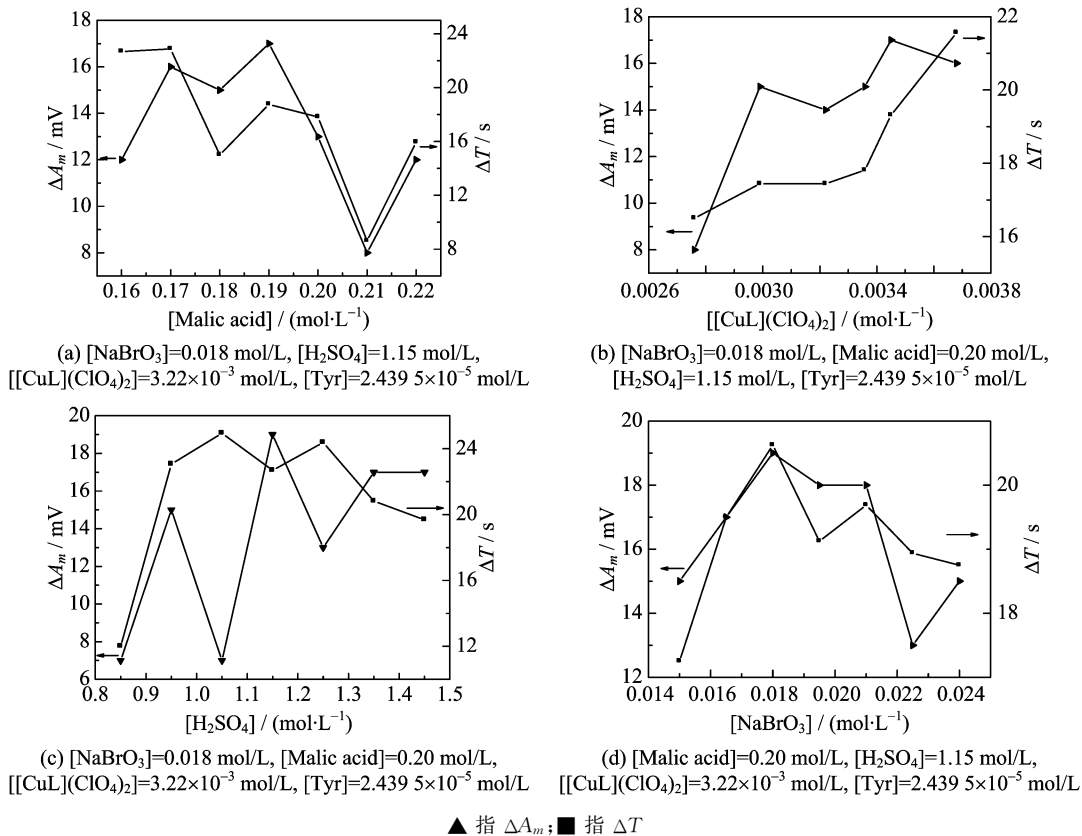


图 5 组分(a)苹果酸, (b)  $[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2$ , (c)硫酸, (d)溴酸钠浓度对酪氨酸扰动振荡体系的影响

Fig. 5 Influence of the concentration of (a) malic acid, (b)  $[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2$ , (c)sulfuric acid, (d)sodium bromate on the tyrosine perturbed oscillating system

$3.68 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  变化, 硫酸浓度在  $0.85 \sim 1.45 \text{ mol/L}$  变化, 溴酸钠浓度在  $1.50 \times 10^{-2} \sim 2.25 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$  变化, 可得到  $\Delta A_m$  和  $\Delta T$  与浓度的关系图(图 5(b)、图 5(c)、图 5(d)). 综合考虑振荡图形的稳定性及对酪氨酸加入的敏感性两方面因素, 最终选择  $3.45 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ ,  $1.15 \text{ mol/L}$ ,  $0.018 \text{ mol/L}$  分别为定量分析酪氨酸时催化剂、硫酸及溴酸钠的最佳浓度.

### 2.2.2 反应温度对振荡的影响

Didenko 等<sup>[28]</sup>曾发现 B-Z 反应本身有周期放热现象. 实验表明, 温度对振荡反应的确有明显影响, 因此控制温度对进行分析测试至关重要. 固定  $[\text{NaBrO}_3] = 0.018 \text{ mol/L}$ ,  $[\text{Malic acid}] = 0.19 \text{ mol/L}$ ,  $[\text{H}_2\text{SO}_4] = 1.15 \text{ mol/L}$ ,  $[[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2] = 3.45 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ , 在  $5 \sim 35 \text{ }^\circ\text{C}$  之间每隔  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  进行振荡反应.  $278 \text{ K}$  ( $5 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 时振荡图形相当不稳定, 平均振荡周期约为  $6 \text{ min}$ , 平均振幅约为  $60 \text{ mV}$ , 不能用于分析测试. 当温度比较高, 如  $308 \text{ K}$  ( $35 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 时, 振荡图形和低温时的图形差别非常大, 周期明显缩

短, 仅  $0.4 \text{ min}$ , 振幅增大到约  $80 \text{ mV}$ , 图形漂移比  $278 \text{ K}$  时还严重, 更不适合用于定量分析测定. 在  $278 \sim 308 \text{ K}$  的温度区间, 随着温度升高, 振荡的平均周期持续缩短, 而振幅在  $278 \sim 298 \text{ K}$  之间逐渐增加, 随后又开始缓慢下降. 从图形的稳定性去分析, 当温度在  $283 \sim 293 \text{ K}$  之间时, 图形都比较稳定, 漂移不严重, 但  $293 \text{ K}$  较接近室温, 其对应的平均振荡周期 ( $1.33 \text{ min}$ )、平均振幅 ( $100 \text{ mV}$ ) 均比较适中, 图形也很稳定. 为获得较好的重现性和较高的精密度及稳定性, 最终选择  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $293.15 \text{ K}$ ) 为分析测定酪氨酸的最佳实验温度.

### 2.2.3 搅拌速度对振荡的影响

保持底物浓度为上述实验测定的最佳浓度, 温度为  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , 改变搅拌速度从  $300 \text{ r/min}$  到  $900 \text{ r/min}$  每隔  $200 \text{ r/min}$  变化. 随着搅拌速度从  $300 \text{ r/min}$  到  $900 \text{ r/min}$  增加, 振荡的周期逐渐减少, 振荡的振幅 ( $A$ ) 逐渐增加. 当搅速高于  $600 \text{ r/min}$  时, 振荡图形漂移明显, 振幅增加、周期减少也非常明显, 已不适合用于定量分析测试. 最终选择  $500 \text{ r/min}$

为分析测定酪氨酸的搅拌速度。

### 2.2.4 干扰离子

根据文献报道,化学振荡体系很容易受外在干扰离子的影响,因此我们测定了一些可能对体系有影响的离子.对于[CuL](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>催化的化学振荡体系,在酪氨酸浓度为 $1.25 \times 10^{-5}$  mol/L,控制误差小于5%的情况下,考察了常见离子及其他氨基酸的干扰情况.表2为不干扰酪氨酸测定时体系中能共存的干扰离子或物质的最大浓度倍数.

可以看出,无机离子Cl<sup>-</sup>、Br<sup>-</sup>、I<sup>-</sup>、C<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>2-</sup>、Ag<sup>+</sup>及色氨酸(Trp)、半胱氨酸(Cys)、苯酚、对硝基苯酚、对氨基苯酚、焦性没食子酸等对测定酪氨酸的影响比较大.其中Ag<sup>+</sup>和体系中的Br<sup>-</sup>结合产生AgBr沉淀;很低浓度的Trp及Cys也会对体系产生非常大的影响.而金属离子Ni<sup>2+</sup>、Na<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Al<sup>3+</sup>;Li<sup>+</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>及氨基酸组氨酸(His)、赖氨酸(Lys)、天冬氨酸(Asp)、谷氨酰胺(Gln)等对分析测定都没有太大影响.

表2 干扰离子对测定酪氨酸的影响

([Tyr]= $1.25 \times 10^{-5}$  mol/L)

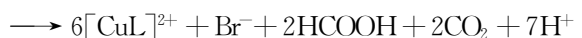
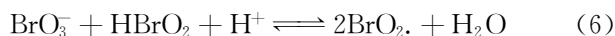
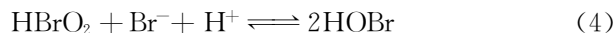
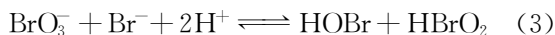
Tab. 2 Influence of foreign ions and species on the determination of  $1.25 \times 10^{-5}$  mol/L tyrosine

foreign ions and species	tolerated ratio	foreign ions and species	tolerated ratio
Ni <sup>2+</sup> , Na <sup>+</sup>	2 000	Glu(谷氨酸)	40
Mg <sup>2+</sup> , Al <sup>3+</sup> , Li <sup>+</sup>	1 000	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , F <sup>-</sup> , CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	10
His(组氨酸)	800	Ag <sup>+</sup>	2
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	500	I <sup>-</sup> , C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1
Lys(赖氨酸), Asp(天冬氨酸), Gln(谷氨酰胺)	400	Br <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup>	0.1
Arg(精氨酸)	200	Trp(色氨酸)	0.1
Zn <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , K <sup>+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	100	苯酚, 对硝基苯酚, 对氨基苯酚, 焦性没食子酸	0.1
Ser(丝氨酸)	100	Cys(半胱氨酸)	0.01

【注】条件:[NaBrO<sub>3</sub>]=0.018 mol/L, [Malic acid]=0.19 mol/L, [H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>]=1.15 mol/L, [[CuL](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>]= $3.45 \times 10^{-3}$  mol/L.

## 3 酪氨酸影响机理的初步探讨

四氮杂大环铜配合物催化的振荡反应是一种新型的振荡反应,此类反应的详细机理目前尚难以证实.根据实验结果和FKN机理,胡刚等<sup>[29]</sup>认为该振荡体系可能包含下列基本的反应步骤:

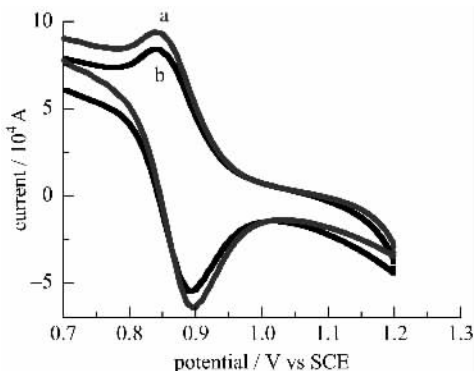


(9)

反应(3)~(6)与用Ce<sup>3+</sup>, Mn<sup>2+</sup>等作为催化剂的B-Z反应的前四个反应是一致的.反应(7)表示苹果酸的溴化,反应(8)、(9)导致[CuL]<sup>2+</sup>和[CuL]<sup>3+</sup>出现周期性变化.从而使溶液的颜色出现玫红色—橙红色—玫红色的周期性变化.上述反应净结果似乎只是消耗了NaBrO<sub>3</sub>和苹果酸,而[CuL]<sup>2+</sup>在反应过程中仅起传递电子作用.但实际上[CuL]<sup>2+</sup>在酸性介质中不稳定,自身易被溴化而破坏,所以四氮杂大环铜配合物作为催化剂是消耗的,这已在催化剂对振荡反应影响的实验中得到了证实.

为进一步证实酪氨酸对振荡体系的扰动,在H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+ [CuL]<sup>2+</sup>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+NaBrO<sub>3</sub>以及H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+苹果酸介质中加入 $5 \times 10^{-6}$  mol/L,  $2.5 \times 10^{-5}$  mol/L酪氨酸溶液,分别记录它们的循环伏安图.由实验结果可知,只有H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+NaBrO<sub>3</sub>介质中加入酪氨酸后可以从循环伏安图中看到变化,由此推测NaBrO<sub>3</sub>可能与酪氨酸发生了反应.图6为不同浓度酪氨酸加入到底物H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+NaBrO<sub>3</sub>溶液中的循环伏安结果.由图形可以看出,随着加入的酪氨酸浓度增大,H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+NaBrO<sub>3</sub>的氧化峰和还原峰相应降低,间接证明BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>在酸性条件(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>中)下被酪氨酸消耗,可以推测这是由于BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>被酪氨酸还原的缘故.

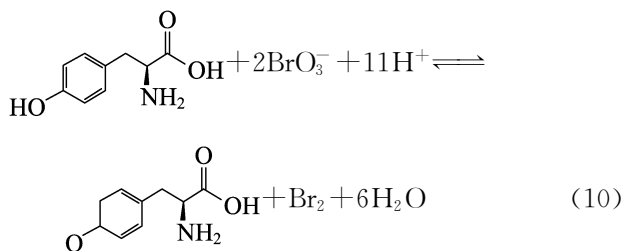
从循环伏安结果可知,BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>消耗明显,故BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>最有可能氧化酪氨酸.反应体系中存在多个氧化还原电对:BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Br<sub>2</sub>(1.51 V), BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Br<sup>-</sup>(1.44 V). BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Br<sub>2</sub>电极电势值比BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>/Br<sup>-</sup>电极电势值大,因此我们认为BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>的还原产物可能是Br<sub>2</sub>单质而不是Br<sup>-</sup>.由于酪氨酸结构(图1)中的苯环含有活性羟基,苯环连同活性羟基很容易被氧化为对应的醌式结构,BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>和酪氨酸的反应可能如下:



a:  $[\text{Tyr}] = 5 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ , b:  $[\text{Tyr}] = 2.5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$   
 共同条件:  $[\text{NaBrO}_3] = 0.045 \text{ mol/L}$ ,  
 $[\text{H}_2\text{SO}_4] = 1.15 \text{ mol/L}$ , 扫描速度为  $0.1000 \text{ V/s}$

图 6 不同浓度酪氨酸对  $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{NaBrO}_3$  底物溶液影响的循环伏安图

Fig. 6 The cyclic voltammograms of the reaction in  $\text{NaBrO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$  caused by different amount of tyrosion



## 4 结论

将不同浓度的酪氨酸加入到溴酸钠-苹果酸- $[\text{CuL}](\text{ClO}_4)_2$ -硫酸化学振荡反应体系中,会使得该体系的振荡振幅和振荡周期都发生改变. 振荡振幅的改变值  $\Delta A_m$  与酪氨酸浓度的对数值  $\lg\{[\text{Tyr}]_0\}$  之间呈良好的线性关系,线性范围为  $1.235 \times 10^{-6} \sim 2.677 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ ; 振荡周期的改变值  $\Delta T$  与酪氨酸浓度的对数值  $\lg\{[\text{Tyr}]_0\}$  呈良好的线性关系,线性范围为  $7.444 \times 10^{-7} \sim 4.534 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ . 由此,我们确立了一种可以简单而方便地定量测定酪氨酸的新方法.

循环伏安实验的结果表明,酪氨酸在化学振荡体系中被  $\text{BrO}_3^-$  氧化. 酪氨酸结构中的苯环连同活性羟基被氧化为对应的醌式结构,而  $\text{BrO}_3^-$  被还原为  $\text{Br}_2$  单质. 上述机理有其合理性.

### 参考文献(References)

[1] 邹忠梅,喻长远. 人体生命之源——氨基酸 [M]. 北

京:中国医药科技出版社,2000:76-77.

- [2] 马文瑾,郭满栋,薛淑萍,等. 酪氨酸在玻碳电极上的电化学氧化及分析特性研究 [J]. 松辽学刊(自然科学版), 1999, (2): 51-53.
- [3] 薛建国,傅敏恭,杨伟平,等. 分光光度法测定人尿中酪氨酸 [J]. 分析实验室, 2001, 20(2): 20-22.
- [4] 揭念琴,扬竟和,刘学峰,等. 荧光光度法测定血清中酪氨酸 [J]. 理化检验-化学分册, 1994, 30(6): 364-365.
- [5] 王顺国,彭图治,沈报恩,等. 蒙脱石修饰碳糊电极测定氨基酸的研究: II 酪氨酸的测定 [J]. 分析化学, 1994, 22(6): 590-592.
- [6] 刘洪基,谢光华,房其年. 脑脊液中游离氨基酸的化学衍生-高效液相色谱分析 [J]. 分析化学, 1991, 19(7): 746-750.
- [7] Cobb K A J, Noiorny M V. Selective determination of arginine-containing and tyrosine-containing peptides using capillary electrophoresis and laser-induced fluorescence detection [J]. Anal Biochem, 1992, 200(1): 149 - 155.
- [8] Strizhak P E, Didenko O Z, Ivaschenko T S. Determination of trace of thallium using the transient chaotic regime in the belousov-zhabotinskii oscillating chemical reaction [J]. Anal Chim Acta, 2001, 428: 15-21.
- [9] Wang Jie, Yang Wu, Ren Jie, et al. Trace determination of cobalt ion by using malic acid-malonic acid double substrate oscillating chemical system [J]. Chinese Chemical Letters, 2008, 19(9): 1103-1107.
- [10] Gao J, Wang L, Yang W, et al. Kinetic Determination of Indium Ion Based on the B-Z Oscillating Chemical System [J]. J Braz Chem Soc, 2006, 17(3): 458-462.
- [11] Yang Wu, Sun Kanjun, Lv Weilian, et al. Determination of alpha-naphthol by an oscillating chemical reaction using the analyte pulse perturbation technique [J]. Analytica Chimica Acta, 2005, 554: 218-223.
- [12] Gao Jinzhang, Wei Xiaoxia, Yang Wu, et al. Determination of 1-naphthylamine by using oscillating chemical reaction [J]. Journal of Hazardous Materials, 2007, 144: 67-72.
- [13] Raoof J, Ojani R, Kiani A, et al. The Potentiometric effect of hydrazine on a Belousov-Zhabotinskii oscillating chemical reaction: Application to the determination of hydrazine [J]. Bull Chem Soc Jpn, 2005, 78: 258-261.
- [14] Gao Jinzhang, Dai Hongxia, Yang Wu, et al. Determination of furfural in an oscillating chemical reaction using an analyte pulse perturbation technique [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2006, 384(6): 1438-1443.

- [15] Wang Jun, Yang Shutao, Cai Ruxiu, et al. A new method for determination of uric acid by the lactic acid-acetone-BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Mn<sup>2+</sup>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> oscillating reaction using the analyte pulse perturbation technique [J]. *Talanta*, 2005, 65 (3):799-805.
- [16] Pejić N, Blagojević S, Anić S, et al. Determination of ascorbic acid in pharmaceutical dosage forms and urine by means of an oscillatory reaction system using the pulse perturbation technique [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 389(6): 2 009-2 017.
- [17] 高锦章, 曲婕, 魏晓霞, 等. 青霉素对乳酸-丙酮-溴酸钾-硫酸锰-硫酸开放化学振荡体系的扰动[J]. *分析化学*, 2008, 36(6): 735-739.
- [18] Gao Jinzhang, Dai Hongxia, Chen Hua, et al. Kinetic Determination of Ribavirin by using the B-Z Oscillating Chemical Reaction [J]. *J Chil Chem Soc*, 2007, 52 (2): 1 150-1 154.
- [19] 高锦章, 陈晓东, 任杰, 等. 在非平衡稳定态的 Belousov-Zhabotinsky 体系中检测苏丹红 I [J]. *分析化学*, 2008, 36(10): 1 354-1 358.
- [20] Yatsimirskii K B, Tikhonova L P, Zakrevskaya L N. New oscillating chemical reactions involving copper and nickel tetraazamacrocyclic complexes [J]. *React. Kinet. Catal. Lett*, 1982, 21: 381-386.
- [21] Hu Gang, Hu Lin, Xu Zhiqiang. Period of homogeneous oscillations in the B-Z system involving a tetraazamacrocyclic complex [J]. *Asian Journal of Chemistry*, 2004, 16: 1 063-1 068.
- [22] Hu Gang, Hu Lin, Ni Shisheng. Oscillatory reactions in the lactic acid/acidic bromate system with a tetraazamacrocyclic nickel(ii) complex as catalyst [J]. *React Kinet Catal Lett*, 2006, 88:349-355.
- [23] Hu Gang, and Zhang Zude. A new chemical oscillator with a macrocyclic copper(II) complex as catalyst and lactic acid as the substrate [J]. *Chem Lett*, 2006, 35 (10): 1 154 -1 155.
- [24] Hu Gang, zhang zude, Hu Lin, et al. A new oscillating reaction of the Belousov-Zhabotinskii-type with a macrocyclic copper(II) complex as catalyst [J]. *Trans Metal Chem*, 2005, 30: 856-860.
- [25] Curtis N F, Hay R W. A novel heterocycle synthesis. Formation of 7, 7, 12, 14, 14-hexamethyl-1, 4, 8, 11-tetra-azacyclotetradeca-4, 11-diene dihydroperchlorate by reaction of diaminoethane monohydroperchlorate with mesityl oxide or acetone [J]. *Chem Commun ( London )*, 1966: 524-525; doi: 10. 1039/C19660000524.
- [26] Hu L, Hu G, Xu H H. . Kinetic determination of Ag<sup>+</sup> using a novel Belousov-Zhabotinskii oscillating system catalyzed by a macrocyclic complex [J]. *J Anal Chem*, 2006, 61: 1 021-1 025.
- [27] House D A, Curtis N F. Transition metal complexes with aliphatic Schiff Bases. V. Copper(II) and Nickel (II) complexes of 1, 3-propanediamine and their reactions with acetone [J]. *J Am Chem Soc*, 1964, 86: 223-225.
- [28] Didenko O Z, Strizhak P E. Effect of temperature and small amounts of metal ions on transient chaos in the batch Belousov Zhabotinsky system [J]. *Chem Phys Lett*, 2001, 340: 55-61.
- [29] Hu Gang, Chen Panpan, Wang Wei, et al. Kinetic determination of pyrogallol by a novel oscillating chemical reaction catalyzed by a tetraazamacrocyclic complex [J]. *Electrochimica Acta*, 2007, 52: 7 996-8 002.