维普资讯 http://www.cqvip.com

四苯基卟啉分光光度法测定人发中微量锰的研究

化学教研室 李惠芝 邱宗荫

提 要 本文对高灵敏度显色剂α,β,γ,δ—四苯基卟啉（TPP）与锰（Ⅱ）的配合反应作了较系统的研究，找到了显色反应的最佳条件，在此基础上建立了用TPP测定微量锰（Ⅱ）的光度分析法，并测定了常见的8种共存离子的最大允许量。本方法操作简便、灵敏度高。TPP锰（Ⅱ）配合物在466 nm的表观摩尔吸光系数为$1.14\times10^5 L\cdot mol^{-1}\cdot Cm^{-1}$，用于人发中微量锰的测定，结果令人满意

关键词 锰；α,β,γ,δ—四苯基卟啉；光度分析法

锰是人体必需的微量元素之一，它参与某些酶的激活过程，与一些疾病的发病机制有关。通过测定生物样品中锰含量来监测体内锰的水平，对研究微量元素与生物体的关系具有重要意义。测定水样中锰（Ⅱ）含量，有原子吸收分光光度法和过硫酸盐比色法等，生物样品中锰含量的测定主要为原子吸收分光光度法。

近来，用大环卟啉衍生物测定微量金属元素已引起人们的重视，这类化合物在一定条件下与某些金属离子形成较为稳定的配合物，其摩尔吸光系数高达$10^5\sim10^6$。大环卟啉类显色剂是一类很有发展前途的超高灵敏度显色剂。

至今，用于测定锰（Ⅱ）的卟啉类化合物均为水溶性的。已有用四（4—磺基苯）卟啉[1]、四（4—羧基苯）卟啉[2]、四（4—三甲胺基苯）卟啉[3]、四（1—磺基喹啉基苯）卟啉[4]测定水样、茶叶及矿样中锰（Ⅱ）含量的报告。用于血液、头发等生物样品的测定尚未见报导。水溶性卟啉类化合物合成困难、反应条件复杂、选择性较差，有的对比色杯污染严重。我们研究了非水溶性的α、β、γ、δ—四苯基卟啉（简称TPP）与锰（Ⅱ）的配合反应，找到了显色反应的最佳条件，在此基础上建立了用TPP测定微量锰（Ⅱ）的光度分析法。该方法操作简便、灵敏度高，用于人发中微量锰的测定，得到满意的结果。

RGIR. It suggested that RGIR might be related to β-adrenergic receptor. The results mentioned above seemed to indicate that the T_7-T_{11} of the spinal cord may play an important role in RGIR. The peripheral afferent and efferent pathway of this reflex would pass through the adrenergic sympathetic nervous fibre

KEY WORDS Gastric electric activity; Rectum-gastric inhibitory reflex(RGIR); Rabbit

维普资讯 http://www.cqvip.com

实验部分

1. 仪器与试剂

岛津UV—265型分光光度计；PHS—2型酸度计。

TPP系参考文献[5]提示的方法自合成。

TPP溶液：用重蒸N，N-二甲基甲酰胺配制，贮存液浓度为5.0×10^{-4}M，工作溶液为5×10^{-5}M，溶液可稳定4周。

金属离子溶液：氯化锰(A.R.)用水配成0.1M锰（Ⅰ）标准溶液，用时稀释成所需浓度。硝酸汞（A.R.）用水配成2.0×10^{-3}M的汞（Ⅰ）溶液。

1M吡啶溶液：重蒸吡啶加水配成。

实验用水均为重蒸馏水。

2. 实验方法

取0.2ml锰（Ⅰ）标准溶液于经校正的刻度试管中，依次加入0.4ml汞（Ⅰ）溶液、0.9ml吡啶溶液、4.0ml TPP溶液，再加N，N-二甲基甲酰胺至6.0ml，混匀，放置20min。然后在80～85°C水浴中加热10min，流水冷却，20min后在466nm处测定其吸光度。用1Cm比色皿，试剂空白作参比。

结果与讨论

锰（Ⅰ）与TPP形成配合物的条件

(1)吡啶和汞盐对反应速度的影响 通常卟啉和金属离子在常温下反应速度很慢。文献[6]报导，PKa在4～7之间的含氮有机碱作为辅助配合剂能催化配位反应，某些金属离子的存在也能加速配位反应的进行。我们试验了Zn、Cd(Ⅱ)、Hg(Ⅱ)等金属离子以及吡啶的影响，结果表明，Cd（Ⅱ）Hg（Ⅱ）对配位反应有明显的催化加速作用。如果不加Cd（Ⅱ）或Hg（Ⅱ）则在试验条件下466nm处没有TPP锰（Ⅰ）配合物的吸收峰，说明TPP与锰(Ⅰ)没有配合。当加入Cd(Ⅱ)或Hg（Ⅱ）后则能较快的生成TPP锰(Ⅰ)配合物。根据文献[8]提示，这是由于Hg(Ⅱ)、Cd（Ⅱ）较易与TPP配合，这些金属离子使叶吩环的构型改变，有利于Mn（Ⅰ）置换TPP汞（Ⅱ）、TPP镉（Ⅱ）配合物中的Hg（Ⅱ）和Cd（Ⅱ）而生成锰（Ⅰ）配合物，从而加速了锰（Ⅰ）与TPP的反应。分别加入相同量的Hg（Ⅱ）和Cd（Ⅱ）时，Hg(Ⅱ)的催化作用大于Cd(Ⅱ)，所以本实验中选用Hg（Ⅱ）。如果没有吡啶存在，反应的进行也较慢，当吡啶和Hg(Ⅱ)同时存在时，反应速度大大加快。吡啶加速显色反应的原理目前尚不十分清楚。图1.表明，2×10^{-3}MHg(Ⅱ)的最适用量为0.4mL。图2.表明，1M吡啶的最适量为0.9mL。

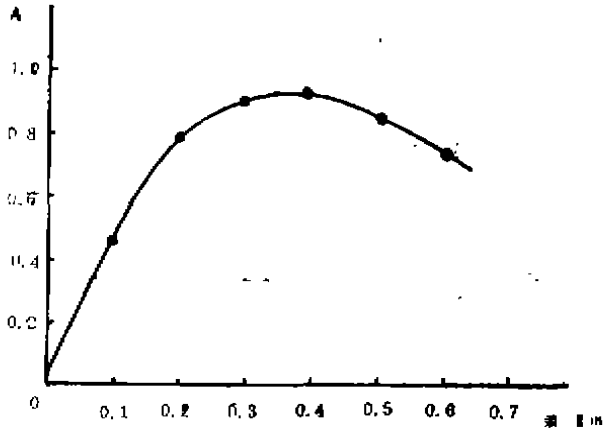


图1 汞(Ⅱ)的影响

6.0ml溶液中含有：2×10^{-4}MMn(Ⅱ)0.2ml，1M吡啶0.9ml，5×10^{-5}MTPP4.0mL。

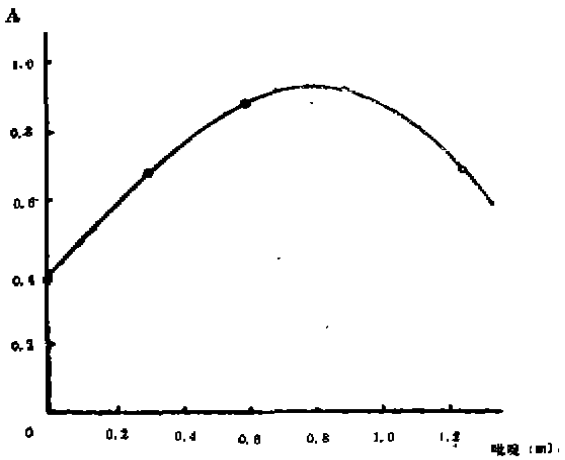


图2 吡啶的影响

6.0ml溶液中含有2×10^{-4}MMn(Ⅱ)0.2ml，2×10^{-3}MHg(Ⅱ)0.4mL，5×10^{-5}MTPP 4.0ml。

维普资讯 http://www.cqvip.com

（2） **吸收光谱** 在实验条件下，TPP的最大吸收峰在417nm，TPP锰（Ⅰ）配合物的最大吸收峰在466nm，两者间的对比度较大($\Delta\lambda=49$nm)，TPP对锰（Ⅰ）的测定干扰不大（参见图3b）。但是，图3a表明，TPP汞(Ⅱ)配合物的吸收峰在436nm，与TPP锰(Ⅰ)配合物的吸收峰间的对比度较小($\Delta\lambda=30$nm)，将影响锰（Ⅰ）的测定。实验发现，测定溶液经加热数分钟后，TPP汞(Ⅱ)配合物的吸收峰消失，而在417nm出现TPP的吸收峰。估计是TPP汞（Ⅰ）配合物受热分解游离出TPP的缘故（图3）。这样，通过加热可消除汞（Ⅰ）对测定锰（Ⅰ）的影响。

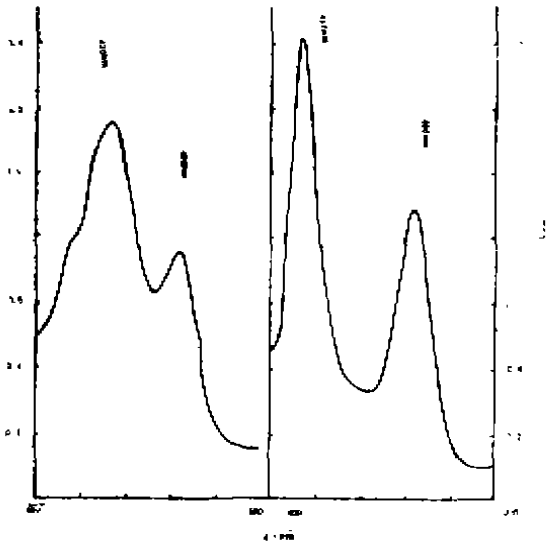


图3 吸收光谱

a.加热前 b.加热后

（条件同图1.图2.）

（3） **加热温度与加热时间** 试验了80°C以下、80～85°C、85°C以上、沸水浴等几种加热条件，以80～85°C为好。加热温度偏低，测定结果重复性欠佳；温度偏高，液面有细粉状TPP析出，对测定不利。试验了82℃时加热时间的影响，结果表明加热10～15分钟重复性好。

（4） **TPP用量** 为使配位反应进行完全，卟啉类显色剂一般均过量使用。本方法选择用量为4.0ml，再增大TPP浓度将使反应溶液变浑浊，不利于测定。

（5） **反应介质** 笔者在研究TPP与锌、镉、铅、铜的配位反应时发现，反应体系中一定量的硼酸—硼砂的存在能促进配位反应的进行。但这一实验结果不适于锰(Ⅰ)与TPP的配位反应，硼酸—硼砂溶液的加入使反应受到抑制。

（6） **配合物的稳定性** 在反应体系中加入TPP后，要生成稳定的TPP锰（Ⅰ）配合物并使TPP汞（Ⅱ）配合物的吸收峰完全消失，需要一定时间。实验发现，加热完毕20min后，锰（Ⅰ）配合物的吸光度值达到稳定，故本实验确定加热完毕20分钟后测吸光度。在实验条件下，配合物至少能稳定2小时。

2. 线性范围

锰(Ⅰ)浓度在0～2.5μg/6.0ml范围内遵守比耳定律。对0.8756ugMn(Ⅰ)/6.6ml进行10次平行测定，求得TPP锰（Ⅰ）配合物的表观摩尔吸光系数$\varepsilon_{466}=1.14\times10^5$ L·mol^{-1}·Cm^{-1}。

3. 共存离子的影响

在1.757ugMn(Ⅱ)/6.0ml存在下，测定了8种共存离子的最大允许量（以测定结果的相对误差＜±5%时的离子量作为允许量），结果见表1。

表1 共存离子的允许量

(1.757μgMn(Ⅱ)/6.0ml)

共存离子(Me)	允许量 μg/6.0ml	质量比 Me/Mn
Cd(Ⅰ)	4.495	2.6
Zn(Ⅰ)	5.216	3.0
Co(Ⅰ)	11.792	6.7
Mg(Ⅰ)	4.000	2.3
Pb(Ⅰ)	4.148	2.4
Cu(Ⅰ)	0.254	0.14
Ca(Ⅰ)	96.113	55.0
Fe(Ⅰ)	16.000	9.1

维普资讯 http://www.cqvip.com

4. **人发中微量锰的测定**

（1）**样品处理** 头发经洗净、烘干后，准确称取1.0g置于瓷坩埚中，放入马福炉内加热。先在250°C碳化1小时，继而升温至480℃加热6小时。冷后加入少量0.1M盐酸溶解灰份（可微热），至成澄清溶液。然后在较低温度下将盐酸蒸干，用少量水分次溶解残渣，洗入离心管中（总量2.0ml）。离心后，取上清液0.5ml进行测定。

（2）**工作曲线** 由于头发中存在的其他成分的影响，因此，用本法测定人发中的微量锰时，工作曲线需采用相应的"本底"进行校正。方法为：选一份锰含量接近于零的发样，按"4(1)"步骤处理。将所得离心后的上清液作为本底溶液，加入不同量的锰(Ⅱ)，配成校正标准溶液。测定时，校正标准溶液取用量为0.5ml，汞（Ⅰ）溶液取0.5ml，其余同"实验方法"。由此校正标准溶液所得之工作曲线，线性范围与前述"2"结果相同。直线回归方程式为：

$C=0.2868A-0.0026$（C：测定溶液中Mn(Ⅱ)浓度，A：吸光度值），相关系数$r=0.9922$。在测定具体样品时，为检验工作曲线的可靠性，可在样品溶液中加入已知量的锰(Ⅱ)同时进行测定，予以验证。

（3）**测定结果** 四份发样用本法和原子吸收分光光度法*平行测定，结果列于表2。表明本法与原子吸收法测定结果基本一致。本方法的回收率为90.38～98.93%。

表2 人发样品的测定结果 (μg/g)

测定方法	样品1	2	3	4
TPP法	1.358	3.191	1.628	0.591
原子吸收法	1.381	3.151	1.327	0.597

* 原子吸收法测定结果由中心实验室陶毅同志提供。

参考文献

[1] 李华民，等.分析化学，1984；12(8)：695

[2] IShii，H.et al. Anal.Chim. Acta,1982；136：347

[3] 徐勉懿，等. 武汉大学学报（分析化学专刊），1985：51

[4] 五十岚淑郎，等. 分析化学(日)，1983；32：39

[5] 黄泽兴，等. 分析化学，1986；14 (12)：881

[6] 童沈阳，等. 化学试剂，1987；9 (1)：29

STUDY OF SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF TRACE Mn IN HUMAN HAIR WITH MESE-TETRAPHENYL PORPHYRIN

Li Huizhi et al.

(Department of Chemistry)

The α、β、γ、δ-tetraphenyl porphyrin (TPP), a highly sensitive reagent for direct spectrophotometric dertermination of ultramicro quantities of metals, has been synthesized. The complex reaction of TPP with Mn(II) has been studied. A sensitive method for the determination of trace Mn(II) with TPP has bocn established. The apparent molar absorptivity of the Mn(II) complex is 1.14×10^5 L. $mol.^{-1}cm^{-1}$ at 466nm. The method has been applied to the determination of trace Mn in human hair with satisfactory results

KEY WORDS Manganese; α, β, γ, δ-tetraphenyl porphyrin; Spectrophotometry