

# 四羧基钴酞菁催化氧化邻苯二胺测定过氧化氢 Determination of Hydrogen Peroxide Based on the Oxidation Reaction of *o*-Phenylenediamine Using Tetracarboxy Cobalt Phthalocyanine as Catalyst

唐宁莉, 夏海鸣, 蒙兴龙, 廖文满, 凌悦菲

TANG Ning-li, XIA Hai-ming, MENG Xing-long, LIAO Wen-man, LING Yue-fei

(桂林理工大学化学与生物工程学院, 广西桂林 541004)

(College of Chemistry and Biological Engineering, Guilin University of Technology, Guilin, Guangxi, 541004, China)

**摘要:**在 pH 值为 9.0 的 Britton-Robinson 缓冲溶液中, 以四羧基钴酞菁作为过氧化物模拟酶催化过氧化氢与邻苯二胺的反应, 建立一种测定微量过氧化氢的新方法。结果显示, 反应的产物 2,3-二氨基吩嗪在 421nm 处有一最大吸收峰, 其吸光度值随过氧化氢加入量的增加而增加, 吸光度差值与过氧化氢浓度在  $0 \sim 2.07 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$  范围内呈线性关系, 检出限为  $1.36 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 。该方法简单, 适用于微量过氧化氢含量的测定。

**关键词:**过氧化氢 邻苯二胺 四羧基钴酞菁 分光光度法

**中图分类号:** O657.32 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-7378(2010)03-0316-03

**Abstract:** In Britton-Robinson buffer solution of pH 9.0, the reaction between *o*-phenylenediamine (OPDA) and hydrogen peroxide was catalyzed by tetracarboxy cobalt phthalocyanine, which provided a new method for the determination of hydrogen peroxide. The maximum absorption of product (2,3-Diaminophenazine) is 421 nm. As the amount of hydrogen peroxide is increase, the intensity of absorption increased. The calibration graphs of hydrogen peroxide determination was linear over the range of  $0 \sim 2.07 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$  with a detection limit of  $1.36 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ . The method is simple and can be applied to determine samples containing microamount of  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

**Key words:** hydrogen peroxide, *o*-phenylenediamine, tetracarboxy cobalt phthalocyanine, spectrophotometry

过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )是一种重要的化合物, 作为一种强氧化剂可用作漂白剂、消毒剂、脱氧剂、液体燃料推进剂等。大气中的过氧化氢可将 4 价的硫氧化为 6 价的硫从而导致酸雨的产生, 此外生物体内许多物质也能通过某些反应产生过氧化氢, 因此过氧化氢的检测在环境分析、生物分析和临床诊断等领域中都具有重要的意义。目前定量测定过氧化氢的常用方法如分光光度法、荧光光度法和化学发光法

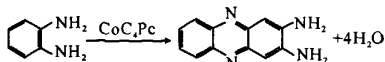
常需要使用过氧化物酶——辣根过氧化物酶(HRP)。然而天然辣根过氧化物酶不但价格较高, 且不容易长期保存, 容易失活或活性降低, 为了保持它的活性, 实验条件和储存环境都很苛刻。为了克服 HRP 的这些不足, 人们开始研究用其模拟酶来替代 HRP。目前已见报道的过氧化物模拟酶主要是金属卟啉类化合物, 如氯化血红素<sup>[1]</sup>、血红蛋白<sup>[2]</sup>、锰(Ⅱ)、铁(Ⅲ)、钴(Ⅲ)等的卟啉络合物<sup>[3,4]</sup>。金属酞菁类化合物的结构与卟啉极其相似, 分子中具有四氮杂四苯并卟啉结构, 也是过氧化物酶的优良模拟体, 近年来利用水溶性的磺酸基取代金属酞菁的过氧化物模拟酶特性对  $\text{H}_2\text{O}_2$  进行定量测定已有一些报

收稿日期: 2010-06-20

作者简介: 唐宁莉(1965-), 女, 教授, 主要从事分子光谱分析研究。

道<sup>[5,6]</sup>。

本文首次以四羧基钴酞菁作为过氧化物模拟酶,催化  $H_2O_2$  与邻苯二胺反应,产物 2,3-二氨基吩嗪在 421 nm 处有最大吸收峰,据此建立检测微量过氧化氢的分光光度分析法。该反应如下所示。



## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

TU-1901 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司生产);pHS-3C 型酸度计(上海雷磁仪器厂生产)。

$H_2O_2$  (广州化学试剂二厂生产):取 2ml 30%  $H_2O_2$  稀释至 250ml,用高锰酸钾法标定得准确浓度为  $3.977 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ ,作为储备液,将储备液用水稀释得  $1.591 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  的工作液。邻苯二胺(OPDA,江阴市华亚化工有限公司生产):准确称取 0.8012g 邻苯二胺固体溶解于水中,定容到 100ml 容量瓶中,得到浓度为  $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$  OPDA 溶液。四羧基钴酞菁( $\text{CoC}_4\text{Pc}$ ):依文献合成并纯化,经紫外光谱、红外光谱表征与文献相符。称取 0.1498g  $\text{CoC}_4\text{Pc}$  用 50ml 0.2mol/L NaOH 溶液溶解,用水定容至 100ml,配成  $2.004 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$  贮备液,工作液用水稀释至  $4.008 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ ;Britton-Robinson (B-R) 系列缓冲溶液:pH 值 2.0 ~ 11.8,用 0.04mol/L 的混合酸(磷酸、乙酸、硼酸的浓度均为 0.04mol/L)和 0.2mol/L NaOH 溶液配制;所用试剂均为分析纯,实验用水均为二次蒸馏水。

### 1.2 实验方法

在 10 ml 比色管中,分别加入 pH 值 9.0 的 B-R 缓冲溶液 1.5 ml,  $4.008 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$  的四羧基钴酞菁 0.8 ml,  $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$  邻苯二胺溶液 1.5 ml,  $H_2O_2$  工作液 1.0 ml,以不加过氧化氢溶液为空白,用水定容到刻度,摇匀。在 100℃ 水浴中加热 10 min,冷却至室温后在 TU-1901 双光束紫外可见分光光度计上,以水为参比,用 1cm 比色皿,在 421nm 处分别测量加有过氧化氢溶液的吸光值  $A$  和试剂空白溶液的吸光值  $A_0$ ,求出差值  $\Delta A (\Delta A = A - A_0)$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 吸收光谱

分别扫描不同反应体系的吸收光谱,结果(图

1)发现在波长 421 nm 处,OPDA 本身的吸收较弱(曲线 a),加入  $H_2O_2$  后,其氧化产物在此处的吸收增强(曲线 b),而四羧基钴酞菁对  $H_2O_2$  氧化 OPDA 的反应有较强的催化作用,加入  $\text{CoC}_4\text{Pc}$  后吸收明显增强(曲线 d)。随着  $H_2O_2$  浓度的增加吸收也增大,并且在一定范围内成线性关系,据此可建立定量测定过氧化氢的新方法。

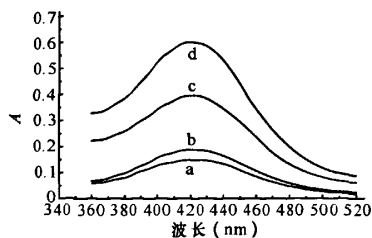


图 1 吸收光谱

a. OPDA + B-R; b. OPDA + B-R +  $H_2O_2$ ; c.  $\text{CoC}_4\text{Pc}$  + OPDA + B-R; d.  $\text{CoC}_4\text{Pc}$  + OPDA + B-R +  $H_2O_2$ 。

### 2.2 温度对体系的影响

分别在不同的温度下进行试验,结果发现,温度低于 60℃ 时体系基本不反应,从 60℃ 开始,  $\Delta A$  随着温度的升高而增大,100℃ 时  $\Delta A$  最大,故选择 100℃ 水浴进行反应。

### 2.3 反应时间对体系的影响

在 100℃ 条件下对反应时间进行试验,结果发现反应时间在 10~30min 内  $\Delta A$  值较大且变化较小,考虑到加热时间太久过氧化氢会分解,因此选择反应 10min 后进行测定。

### 2.4 不同缓冲溶液的影响

分别试验了硼砂-氢氧化钠、B-R 和  $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$  3 种缓冲溶液对体系  $\Delta A$  的影响,结果表明在 B-R 缓冲溶液中,体系的反应现象较明显,  $\Delta A$  值最大,灵敏度最高。同时试验了不同 pH 值的系列 B-R 缓冲溶液对体系的影响,结果表明当 pH 值为 9.0 时  $\Delta A$  最大,故选择 pH 值为 9.0 的 B-R 缓冲溶液为反应介质。

### 2.5 B-R 缓冲溶液用量的影响

对 B-R 缓冲溶液用量的影响进行了试验,结果表明,当 B-R 缓冲溶液的用量在 0.5~1.5ml 时,  $\Delta A$  值随缓冲溶液用量的增大而增大,用量为 1.5ml 时  $\Delta A$  值最大,大于 1.5ml 后,  $\Delta A$  值随缓冲溶液用量的增大而减小,所以选择 B-R 缓冲溶液的加入量为 1.5ml。

### 2.6 四羧基钴酞菁用量的影响

随着  $\text{CoC}_4\text{Pc}$  加入量的增加,  $\Delta A$  也随着增大,

从 0.6ml 开始增大的幅度不大,考虑到  $\text{CoC}_4\text{Pc}$  溶液的颜色比较深,加入的量过多会影响测定,且随着  $\text{CoC}_4\text{Pc}$  量的增加试剂空白的吸光值  $A_0$  也会随着增大,经过综合考虑选择测定时加入 0.8ml  $\text{CoC}_4\text{Pc}$ 。

### 2.7 邻苯二胺用量的影响

邻苯二胺用量试验显示,当邻苯二胺的用量在 0.5~1.5ml 时,  $\Delta A$  值随其用量的增大而增大,用量为 1.5ml 时体系的  $\Delta A$  值最大,大于 1.5ml 后,  $\Delta A$  值随其用量的增大而减小,所以选择邻苯二胺用量为 1.5ml。

### 2.8 工作曲线

在最佳反应条件下,过氧化氢的浓度在  $0 \sim 2.07 \times 10^{-4} \text{mol/L}$  范围内与差值  $\Delta A$  有线性关系,其线性回归方程为:  $\Delta A = 2310.4C + 0.001$  ( $C$  的单位为  $\text{mol/L}$ ),相关系数  $r = 0.9965$ 。平行测定 9 次试剂空白求得标准偏差  $S = 0.0105$ ,求得检出限为  $1.36 \times 10^{-5} \text{mol/L}$ 。

### 2.9 干扰物质的影响

当  $\text{H}_2\text{O}_2$  的浓度为  $1.59 \times 10^{-4} \text{mol/L}$  时,考察了常见的金属离子、阴离子对本方法的干扰情况。当相对误差  $\leq \pm 5\%$  时,共存物质的允许量见表 1 (以  $\mu\text{g/ml}$  计)。

表 1 不同干扰物质的影响

干扰物质	允许量 ( $\mu\text{g/ml}$ )	干扰物质	允许量 ( $\mu\text{g/ml}$ )
$\text{Ca}^{2+}$	0.1	$\text{NH}_4^+$	4.072
$\text{Mg}^{2+}$	7.25	$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$	2.0
$\text{Fe}^{3+}$	0.0013	$\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$	0.2
$\text{Cu}^{2+}$	0.006	$\text{SO}_3^{2-}$	0.04
$\text{Al}^{3+}$	0.02	$\text{CO}_3^{2-}$	10
$\text{Zn}^{2+}$	0.04	Vc	6.0
$\text{Ni}^{2+}$	0.918		

### 2.10 样品分析

分别取两个厂家生产的 1.0 ml 过氧化氢消毒液(广东南国药业有限公司 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  和江门市恒健药业有限公司 2.5%~3.5%  $\text{H}_2\text{O}_2$ )于 500 ml 容量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,得到待测液。取 0.5ml 待测液,按实验方法测定其中的过氧化氢含量;同时对待测液进行标准加入回收实验(加入 0.5ml 待测液和 0.5ml  $\text{H}_2\text{O}_2$  标准溶液),平行测定 5 次,平均回收率分别为 95.3%、95.8%(见表 2)。

表 2 样品分析结果 ( $n=5$ )

样品	单次测定值 ( $10^{-5} \text{mol/L}$ )	测定平均值 ( $10^{-5} \text{mol/L}$ )	RSD (%)	样品中 $\text{H}_2\text{O}_2$ 含量 ( $\text{mol/L}$ )	加标量 ( $10^{-5} \text{mol/L}$ )	加标测定总量 ( $10^{-5} \text{mol/L}$ )	回收率 (%)	平均回收率 (%)
1 <sup>#</sup>	7.8	7.9	1.68	0.7946	7.96	15.6	95.8	95.3
	7.3					15.8	97.9	
	8.5					15.4	93.6	
	8.0					15.3	92.5	
	8.1					15.7	96.9	
2 <sup>#</sup>	8.6	8.5	0.72	0.8476	7.96	16.0	95.2	95.8
	8.4					16.3	98.5	
	8.7					15.9	94.7	
	8.2					16.1	96.9	
	8.5					15.9	94.7	

1<sup>#</sup>:广东南国药业有限公司样品;2<sup>#</sup>:江门市恒健药业有限公司样品。

## 3 结束语

以  $\text{CoC}_4\text{Pc}$  为过氧化物模拟酶,OPDA 为氢供体底物,建立了酶催化分光光度法测定  $\text{H}_2\text{O}_2$  的新体系。该方法简单,适用于微量  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量的测定,与以往的酶分析方法相比,避免了酶的失活,有一定实用价值。

### 参考文献:

- [1] 郑宁,葛晨源,郭忠先,等.氯化血红素作为过氧化物模拟酶与 HRP 的比较研究[J].分析科学学报,2001,17(4):265-269.
- [2] 王全林,刘志洪,蔡汝秀,等.血红蛋白作为催化剂高灵敏测定过氧化氢[J].分析化学,2002,30(8):928-931.
- [3] 姚凤姬,王林涛,慈云祥.过氧化物模拟酶——锰-四磺基苯叶啉的研究与应用[J].北京大学学报:自然科学版,1999,35(4):437-439.
- [4] Saito Y, Mifune M, Nakashima S. Peroxidase-like catalytic of anion-exchange resins modified with metalloporphyrins in the dye formation reaction of N, N-diethylaniline with 4-AAP by  $\text{H}_2\text{O}_2$ [J]. Chem Pharm Bull, 1987, 35(2):869-872.
- [5] 黄应平,张玉玲,颜克美,等.过氧化物模拟酶催化氧化测定过氧化氢[J].三峡大学学报:自然科学版,2002,24(2):185-188.
- [6] 李永新,赵丹华,卓淑娟,等.四磺基锰酞菁作为过氧化物模拟酶在过氧化氢测定中的应用[J].分析化学,2003,31(6):768-770.

(责任编辑:韦廷宗)