

9,10-二苯基蒽衍生物的制备及对铜离子上、下转换检测研究

陈硕然, 黄苏琴, 韩鹏举*, 叶常青, 宋飒飒, 王筱梅*

苏州科技大学, 绿色印刷纳米光子工程技术研究中心, 江苏省环境功能材料重点实验室, 江苏 苏州 215009

摘要 Cu^{2+} 是人体正常代谢所必需的微量元素之一, 但是过量的 Cu^{2+} 会造成代谢紊乱, 进而诱发各种疾病。长期以来, 铜材料的过度使用和后处理不当导致生活环境中的 Cu^{2+} 浓度超标, 成为重金属污染物之一, 因此生活环境中 Cu^{2+} 含量的检测成为人们关注的热点。基于荧光探针的荧光光谱法由于选择性好、灵敏度高等优点被广泛应用于离子检测领域。利用荧光探针分子与待检测离子可发生选择性的弱相互作用, 研究者们探索并设计了诸多可用于 Cu^{2+} 检测的荧光探针。然而普通的荧光探针由于灵敏度较差或选择性不理想等问题缺乏实际应用价值。设计并合成了一种新的化学型荧光探针分子 9,10-二(3'-羟基-4'-亚甲胺氨基硫脲苯基)蒽(b-HTPA)。该探针分子通过与 Cu^{2+} 的络合作用, 改变自身的电子排布结构, 使得其荧光性能发生显著变化, 由此对 Cu^{2+} 产生灵敏的响应。通过上、下转换荧光光谱来研究 b-HTPA 对 Cu^{2+} 检测的各项性能, 并结合拟合计算得出最终结果。选择性研究结果表明, 相比其他 13 种金属阳离子, Cu^{2+} 对 b-HTPA 荧光猝灭效果最为显著, 空白探针分子荧光与加入 Cu^{2+} 后的荧光强度比可达 150 : 1。灵敏性研究结果表明, b-HTPA 对 Cu^{2+} 的最低检测限为 $2.78 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 远低于中国卫生部《生活饮用水卫生标准》(GB5749—2006), 表现出良好的荧光响应灵敏性和理想的最低检测限。响应时间测试结果表明, b-HTPA 与 Cu^{2+} 在 0~2 min 时间范围内反应速率最大, 并在约 10 min 后反应完全, 说明 b-HTPA 在对 Cu^{2+} 检测中可以短时间产生响应, 降低实际应用中的检测时间和周期。还使用八乙基卟啉钯(PdOEP)作为光敏剂, 以 b-HTPA 为湮灭剂, 利用上转换荧光光谱对 b-HTPA/PdOEP/ Cu^{2+} 体系的灵敏性和检测限进行测试研究。结果表明, 探针的上转换荧光强度随着 Cu^{2+} 浓度的增加而降低, 具有良好的响应性, 通过拟合计算, 得出 b-HTPA 对 Cu^{2+} 的检测限为 $3.78 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 低于《生活饮用水卫生标准》规定的检测下限。设计合成的新型荧光探针分子 9,10-二(3-羟基-4-亚甲胺氨基硫脲苯基)蒽对 Cu^{2+} 具有高选择性、高灵敏度和理想的检测限, 且响应速度快, 展现了上转换发光在检测领域具有应用潜力。

关键词 蒽衍生物; 荧光探针; 上转换; Cu^{2+} ; 离子检测

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)12-3769-07

引言

铜是人体重要的微量元素之一, Cu^{2+} 在造血、结缔组织构建、神经系统维护等方面具有不可替代的作用, 但是过量的 Cu^{2+} 会造成代谢紊乱, 甚至引发疾病^[1]。与此同时, 作为一种性能优良的金属材料, 铜材料被广泛应用于建筑、机械制造、医疗器械等领域^[2]。随着工业化进程的推进, 铜材料的过度使用和不恰当的后处理工艺, 导致高浓度的 Cu^{2+} 逐渐

出现在人们的生活区域, 尤其是生活用水, 成为重金属污染物之一^[3]。因此, 如何检测生活环境中的 Cu^{2+} 含量吸引了众多研究者的关注^[4]。

目前, 基于荧光分子探针的荧光光谱法由于选择性好、灵敏度高、响应快且操作简单的优点得到广泛应用^[5-6]。荧光分子探针(简称荧光探针)能够与待检测离子发生选择性的弱相互作用或者络合等化学作用, 导致荧光分子结构改变, 从而引起分子的荧光性质(如荧光强度、荧光位移和荧光寿命等)发生显著变化, 通过这种变化来实现对待测离子的检

收稿日期: 2019-03-04, **修订日期:** 2019-07-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(51603141, 51873145), 江苏省自然科学基金-优秀青年基金项目(BK20170065), 江苏省自然科学基金项目(BK20160358), 江苏省高校自然科学研究重大项目(17KJA430016), 江苏省“六大人才高峰”(XCL-79), 江苏省第五期“333工程”项目(BRA2018340), 江苏省高校“青蓝工程”项目资助

作者简介: 陈硕然, 1987年生, 苏州科技大学化学生物与材料工程学院教师 e-mail: chensr@mail.usts.edu.cn

* 通讯联系人 e-mail: wxyhpi@163.com; wangxiaomei@mail.usts.edu.cn

测^[7-8]。基于分子识别的荧光探针,不仅具有多种优点如极佳的选择性和高的灵敏度、样品用量少、检测方法快捷便利,并且已经实现了对金属离子、阴离子和有机生物活性分子的检测从而受到广泛关注^[9]。

近年来,研究者们基于上述原理探索并报道了多种可用于 Cu^{2+} 检测的荧光探针^[10]。目前最常用的设计方法,是利用探针分子与待检测离子发生选择性的弱相互作用,如氢键、配位键作用力,引起探针分子荧光强度的改变来构建荧光探针^[11]。该类荧光探针通过与待检测离子之间可逆的作用力结合,可以实现特定环境中待测离子的动态变化,且原理和制作简单,具有一定的应用价值。但是,该类探针分子与待测离子的结合容易被环境中诸如 pH、温度、极性等因素干扰,产生灵敏度低、选择性差等问题,极大的限制了该类荧光探针的应用^[12]。

基于此,更加稳定的反应型荧光探针被开发和设计出来。利用探针分子与待检测离子之间的化学反应,破坏探针分子原有的结构并形成新的化学结构,改变探针分子取代基团的电子能力或者共轭程度,从而改变探针分子/待测离子体系的荧光强度或者波长,造成宏观颜色变化,达到对离子检测的目的^[13]。

上转换发光能够将长波长的光转换为短波长的光,基于三线态-三线态湮灭机制上转换(TTA-UC)由于具有低的激发光能量阈值和高的上转换量子产率,目前受到研究者的青睐^[14]。TTA-UC 体系由三线态能量给体(光敏剂)与三重态能量受体(湮灭剂)构成,其上转换机制经历多个微观通道过程:光敏剂吸收低频光跃迁至单线态($^1S^*$),经由系间窜越(ISC)通道形成三线态($^3S^*$);而后经由三线态-三线态能量转移(triplet-triplet energy transfer, TTET)通道将能量传递给湮灭剂生成三线态湮灭剂($^3A^*$);再通过三线态-三线态湮灭(TTA)产生激发单线态湮灭剂($^1A^*$),最终跃迁回至基态,并发出上转换荧光,实现频率上转换^[15]。

基于上述理论,本文设计并合成了一种的新的化学型荧光探针分子 9,10-二(3'-羟基-4'-亚甲胺氨基硫脲苯基)蒽(b-HTPA),通过紫外吸收光谱和上、下转换荧光光谱来研究探针的光谱性质。并选取其他 13 种阳离子作为参比,确定 b-HTPA 对 Cu^{2+} 的选择响应性;配制不同浓度的 Cu^{2+} 进行荧光检测,分析和计算 b-HTPA 对 Cu^{2+} 的灵敏性和检测限。选择响应性和灵敏性研究结果表明,新型荧光化学探针分子 9,10-二(3'-羟基-4'-亚甲胺氨基硫脲苯基)蒽能够应用于对重金属离子 Cu^{2+} 的检测。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

4-溴-2-羟基苯甲醛、9,10-二硼酸酯蒽、1,4-二氧六环、无水乙醇和碳酸钾购于百灵威化学技术有限公司;四(三苯基膦)钨(0)购于江苏强盛功能化学股份有限公司;N,N-二甲基甲酰胺(DMF)购于国药集团化学试剂有限公司;无水硫酸钠、乙酸、石油醚购于上海润泽化学试剂有限公司;氨基硫脲和氯化钠购于无锡晶科化工有限公司;甲苯购于天津博

迪化工有限公司;二氯甲烷购于上海伊皮特化学试剂有限公司;其他试剂, MnCl_2 , NH_4Cl , ZnCl_2 , MgCl_2 , CdCl_2 , PbCl_2 , LiCl , NaCl , KCl , CaCl_2 , NiCl_2 , CoCl_2 , FeCl_2 , CuCl_2 均购于国药集团化学试剂有限公司。所有试剂均为分析纯。八乙基卟啉钯(PdOEP)购于 Frontier 公司。

AVANCE III 型核磁共振谱仪(瑞士 Bruker 公司),INO-VA400(ED)型质谱仪(瑞士 Bruker 公司),FA2004 型电子天平(上海一言仪器仪表有限公司),U-3500 型紫外-分光光度计(日立公司),FLS-920 型荧光光谱仪(英国爱丁堡公司),SZCL-3B 型磁力搅拌器(上海振华仪器公司),上转换荧光用 PR655 型的 SpectraScan 光谱仪测量,泵浦光源使用激光器代替(二极管泵浦固态型,激发波长为 532 nm, 60 mW · cm^{-2})。

1.2 制备与测试

1.2.1 9,10-二(3-羟基-4-亚甲胺氨基硫脲苯基)蒽(b-HTPA)的制备

(1)在 250 mL 的三口烧瓶中加入 4-溴-2-羟基苯甲醛(2.84 g, 14.19 mmol · L^{-1}), 9,10-二硼酸酯蒽(2 g, 4.73 mmol · L^{-1})溶于 100 mL 1,4-二氧六环和 24 mL 乙醇,将 K_2CO_3 (9.84 g, 69 mmol · L^{-1})溶于 48 mL 蒸馏水,与上述溶液混合。在混合溶液中鼓入氮气 15 min,随后加入四(三苯基膦)钨(0)(0.39 g, 1.2 mmol · L^{-1}),继续鼓入氮气 5 min,在氮气氛围中加热回流,反应过程中通过点板跟踪反应进度,展开剂为二氯甲烷:石油醚=1:1,反应进行至 48 h,原料 9,10-二硼酸酯蒽的点几乎消失,停止反应。

(2)反应结束后,将反应溶液减压蒸馏后可得到黑色固体混合物,选用二氯甲烷和饱和食盐水多次萃取分离有机相;加入无水 Na_2SO_4 除水后,使用柱层析法分离产物,所用展开剂为二氯甲烷:石油醚=1:1,再通过重结晶二次提纯,得到黄色中间产物 1.2 g,产率为 60%。

(3)称取上述中间产物(1 g, 2.39 mmol · L^{-1}),氨基硫脲(3 g, 7.17 mmol · L^{-1})溶于 40 mL 甲苯,在混合溶液中鼓入氮气 15 min,随后加入 5 mL 乙酸作为催化剂,在氮气氛围下加热回流,反应过程点板跟踪,反应进行 24 h,待中间产物的点几乎消失,停止反应。反应结束后,将反应溶液减压蒸馏后得到固体混合物,使用柱层析法分离产物,所用展开剂为二氯甲烷:石油醚=1:1,再通过重结晶二次提纯,得到淡黄色产物 0.5 g,产率为 37%。

1.2.2 光谱测试

探针光谱测试使用 pH 为 7.0 的 HEPES 作为缓冲溶液。在 3 mL 比色皿中加入 b-HTPA 溶液(DMF:H₂O=2:1, V/V),然后加入 HEPES 缓冲溶液,使 b-HTPA 最终浓度为 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

(1)紫外吸收光谱。将装有 2 mL b-HTPA 溶液的比色皿与相同体积的 HEPES 缓冲溶液放入通过 U-3500 型紫外分光光度计进行紫外吸收光谱的测试。

(2)下转换荧光发射光谱。将装有 2 mL b-HTPA 溶液的比色皿放入 FLS-920 型荧光光谱仪中,选用波长为 380 nm 激光作为激发光源,在入射光的垂直方向上对比色皿中缓冲溶液进行检测。

(3)上转换荧光发射光谱。将装有 2 mL b-HTPA 溶液的比色皿放入光纤光谱仪槽中,使用波长为 532 nm 激光作为激发光源,在入射光的垂直方向上对比色皿中缓冲溶液进行检测。

1.2.3 b-HTPA 对 Cu^{2+} 选择性荧光光谱测试

配制 Mn^{2+} , NH_4^+ , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Li^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} 和 Cu^{2+} 14 种阳离子溶液,浓度均为 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,滴加至 b-HTPA 溶液体系,配制成 b-HTPA 浓度为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,金属离子为 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合溶液,进行荧光光谱测试。

1.2.4 b-HTPA 对 Cu^{2+} 灵敏性及最低检测限的测定与计算

不同 Cu^{2+} 浓度溶液的配制:使用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cu^{2+} 溶液,滴加至 b-HTPA 溶液体系,配制成 b-HTPA 浓度为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, Cu^{2+} 溶液分别为 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 40, 60, 80 和 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合溶液。

在 $\text{DMF} : \text{H}_2\text{O} = 2 : 1$ (V/V , $\text{pH} 7.0$) 测试体系中,激发光波长为 380 nm,探针浓度为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,逐渐增加 Cu^{2+} 的浓度测定其荧光发射光谱的变化。

最低检测限计算公式^[16]

$$\text{Detection limit} = 3\delta/k$$

其中 δ 为空白条件下的标准偏差; k 为被测物浓度和荧光之间的线性关系斜率。

2 结果与讨论

2.1 b-HTPA 的紫外吸收光谱

本文制备的 b-HTPA 结构式如图 1 所示。

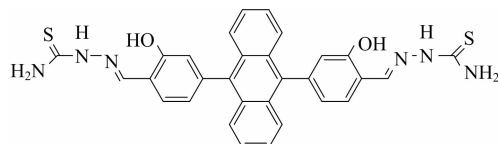


图 1 探针分子 b-HTPA 结构

Fig. 1 The molecular structure of probe b-HTPA

图 2 为 b-HTPA ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 在 $\text{DMF} : \text{H}_2\text{O} = 2 : 1$ ($\text{pH} 7.0$) 溶剂中的紫外-可见吸收光谱图。由图可知,在 DMF 溶液中,其吸收带分别为 342, 378 以及 397 nm,这是 b-HTPA 中蒽基团的电子振动所产生的特征峰,其中 342 nm 处为叠加峰,考虑到荧光测试结果的准确性,本文选择 380 nm 作为荧光发射光谱激发光源。

2.2 pH 影响研究

为了确定 b-HTPA 可应用的 pH 环境,本文考察了探针 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的荧光强度随 pH 值的变化(测试条件: $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 380/440 \text{ nm}$)。由图 3 所示,可以观察到,pH 值在 1~3 范围内,荧光强度随 pH 值升高而降低;pH 值在 3~7 范围内,荧光强度随 pH 值升高而升高;pH 值在 7~9 时,荧光强度变化幅度较小;pH 值在 9~11 范围内,荧光强度随 pH 值升高而降低;而 pH 值在 12~14 范围内,荧光已经发生猝灭。其可能原因为随着 H^+ 浓度的变化,b-HTPA 分子官能

团电荷会发生一定程度的转移,进而对荧光结构造成影响,改变荧光发射能级,影响分子的荧光特性。由此可知,b-HTPA 荧光强度可在 pH 值为 6~9 的较宽范围内保持稳定,说明 b-HTPA 可以在生物细胞内 Cu^{2+} 的检测应用。因此,本文选择了 $\text{DMF} : \text{H}_2\text{O} = 2 : 1$ (V/V , $\text{pH} 7.0$) 作为溶液体系。

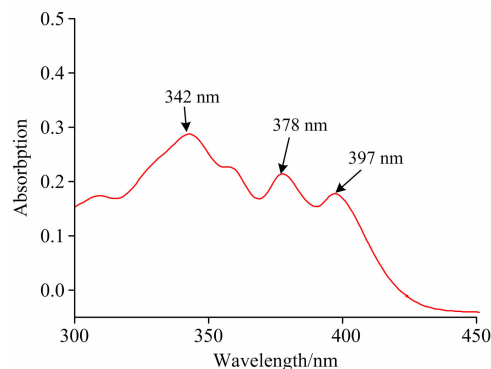


图 2 探针分子 b-HTPA 的紫外-可见吸收光谱

Fig. 2 UV-Visible absorption spectra of b-HTPA in HEPES solution

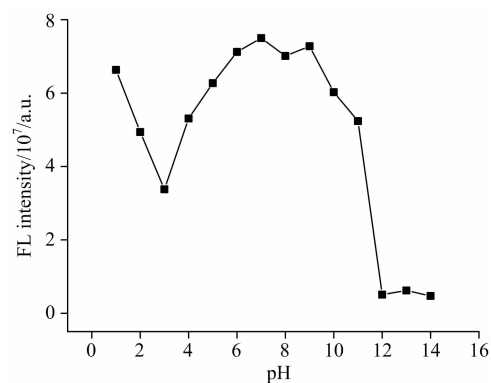


图 3 b-HTPA ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 溶液体系的荧光强度在不同 pH 值下的趋势($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 380/440 \text{ nm}$)

Fig. 3 Fluorescence intensity responses of b-HTPA ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) in different pH ($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 380/440 \text{ nm}$)

2.3 选择性荧光测试研究

对目标金属离子的高选择性是检验探针分子能够作为该金属离子荧光探针的基本条件。

为了探究探针对 Cu^{2+} 的选择性,选取了包括 Cu^{2+} 的 14 种阳离子进行荧光测试。在相同检测条件下,向探针溶液体系中分别滴加 14 种不同的金属离子,配制成 b-HTPA 浓度为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,金属离子为 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合溶液,进行荧光光谱测试,如图 4(a)所示。不同金属离子混合溶液,均检测出有不同强度的荧光,而 Co^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} 和 Cu^{2+} 四种离子混合溶液引起不同程度的荧光猝灭行为,其中 Cu^{2+} 的猝灭效果最为显著,几乎完全猝灭。

图 4(b)为在条件相同的情况下,空白 b-HTPA 荧光与加入 14 种不同金属阳离子的 b-HTPA 荧光强度之比 (F_0/F)。从中可知, Cu^{2+} 对 b-HTPA 荧光的猝灭度达到 150 倍,

与之相比,其他金属离子对 b-HTPA 荧光没有引发明显的猝灭或增强现象。这是因为荧光探针本身的电子排布为 D- π -D 结构,具有强荧光,当 Cu^{2+} 与 b-HTPA 发生络合后,b-HTPA 变为 A- π -A 结构,导致探针的荧光被抑制,体系颜色变化明显,由无色变为黄色,发生荧光猝灭。因此,本文中 b-HTPA 对 Cu^{2+} 有很好的荧光响应,且对 Cu^{2+} 表现出高选择性。

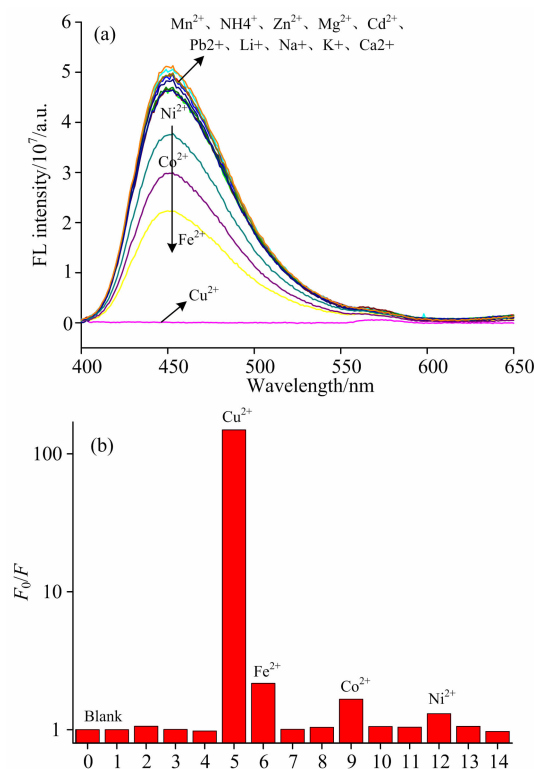


图 4 (a) b-HTPA ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 在不同金属离子 ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 存在下的荧光光谱 ($\lambda_{\text{ex}} = 380 \text{ nm}$, DMF : $\text{H}_2\text{O} = 2 : 1$, V/V, pH 7.0); (b) 相同条件下 b-HTPA ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 溶液中加入不同金属阳离子 ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的荧光强度之比

Fig. 4 (a) Fluorescence spectra variation of b-HTPA ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) upon addition of different metal cations ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) ($\lambda_{\text{ex}} = 380 \text{ nm}$, DMF : $\text{H}_2\text{O} = 2 : 1$, V/V, pH 7.0); (b) Fluorescence intensity ratio of b-HTPA ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) upon addition of different metal cations ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

2.4 灵敏性研究及检测限分析

配制不同浓度 Cu^{2+} 与 b-HTPA ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 混合溶液,通过荧光光谱的分析,研究 b-HTPA 对 Cu^{2+} 的响应灵敏性,并拟合计算最低检测限。

图 5(a) 为 b-HTPA 荧光强度随 Cu^{2+} 浓度的变化图。从图中可知,随着 Cu^{2+} 浓度的增加,探针的荧光强度随之降低。当 Cu^{2+} 浓度 $\geq 40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,其荧光强度不再发生变化(猝灭度达到 90% 以上)。

图 5(b) 为 b-HTPA/ Cu^{2+} 混合溶液体系相对荧光强度 F/F_0 随着 Cu^{2+} 浓度的变化图。本文选择了 $0 \sim 8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

的 Cu^{2+} 浓度范围,对 b-HTPA/ Cu^{2+} 体系相对荧光强度 F/F_0 进行拟合。且在该浓度范围得出一条较好线性相关的工作曲线,相关系数为 $k=0.094$, $R^2=0.986$ 。根据空白溶液的相对标准偏差计算得到,数值为 8.51×10^{-3} ,通过 3 倍信噪比方法计算,依据公式 $3\delta/k$ (k 为修正曲线的斜率) 计算出了探针分子 9,10-二(3-羟基-4-亚甲胺氨基硫脲苯基) 蒽对 Cu^{2+} 的检测限为 $2.78 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,远低于中国卫生部《生活饮用水卫生标准》(GB5749—2006)。因此,b-HTPA 对 Cu^{2+} 在中性缓冲溶液中表现出好的荧光响应灵敏性和较为理想的最低检测限。

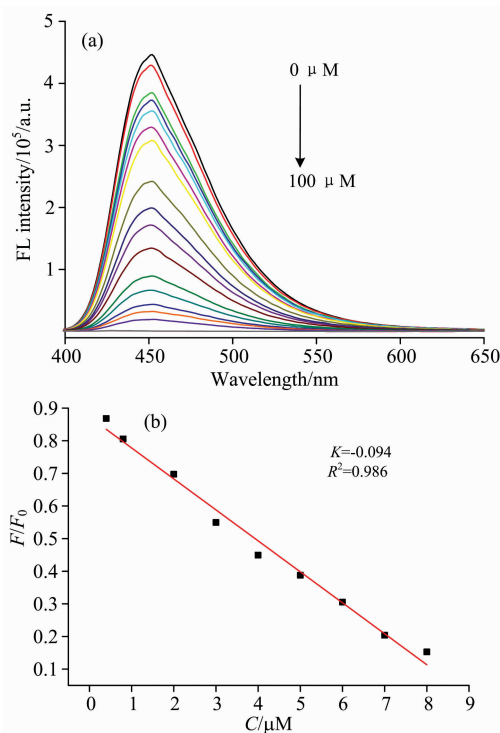


图 5 (a) b-HTPA ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 在不同浓度 Cu^{2+} ($0 \sim 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 存在下的荧光光谱图 ($\lambda_{\text{ex}} = 380 \text{ nm}$, DMF : $\text{H}_2\text{O} = 2 : 1$, V/V, pH 7.0); (b) b-HTPA ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 在不同浓度 Cu^{2+} ($0 \sim 8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 存在下的荧光光谱图的工作曲线 ($\lambda_{\text{ex}} = 380 \text{ nm}$, DMF : $\text{H}_2\text{O} = 2 : 1$, V/V, pH 7.0)

Fig. 5 (a) Fluorescence spectra variation of b-HTPA ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) upon addition of Cu^{2+} ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) in HEPES buffer solution from 0 to $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ excited at 380 nm; (b) Fluorescence spectral working curve of b-HTPA ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) upon addition of Cu^{2+} in HEPES buffer solution from 0 to $8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

2.5 探针分子响应时间

通过对 b-HTPA/ Cu^{2+} 体系的 $0 \sim 10 \text{ min}$ 时间范围的荧光响应测试,研究了 b-HTPA 对 Cu^{2+} 的响应时间问题。图 6 是在探针 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 溶液中加入 Cu^{2+} ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 后,b-HTPA/ Cu^{2+} 体系荧光强度变化图。从图中可知,b-HTPA/ Cu^{2+} 体系的荧光强度随着时间的增加而逐渐降低,

即发生荧光猝灭现象。b-HTPA/Cu²⁺ 体系的荧光强度在 0~2 min 内急剧降低, 之后的荧光强度降低速率放缓, 约在 10 min 后基本上保持不变(猝灭度达到 90% 以上)。说明 b-HTPA 与 Cu²⁺ 在 0~2 min 时间范围内相互作用速率最大, 并在约 10 min 后反应完全, 且其反应产物的荧光强度之后的 10 min 都保持相对稳定, 表明该反应产物具有光稳定性。这些结果表明, 9, 10-二(3'-羟基-4'-亚甲胺氨基硫脲苯基) 葱可以迅速与 Cu²⁺ 反应完全。且由于 b-HTPA 与反应产物的稳定性, 使得实验方法极为可靠。

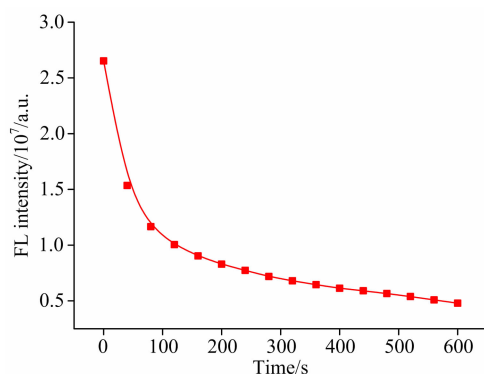


图 6 b-HTPA(10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 反应体系的荧光强度随时间的变化

Fig. 6 Variation of fluorescence intensity of b-HTPA/Cu²⁺ system with time

2.6 探针分子上转换荧光灵敏性探索

通过下转换荧光光谱的研究, 本文确定了 b-HTPA 对 Cu²⁺ 具有良好的荧光响应灵敏性和较为理想的最低检测限, 基于多种手段检测和研究的理念, 使用八乙基卟啉钡(PdOEP)作为光敏剂^[17], b-HTPA 为淬灭剂, 利用上转换荧光光谱对 b-HTPA/Cu²⁺ 体系的灵敏性和检测限进行探索研究。

b-HTPA 的上转换荧光强度随 Cu²⁺ 浓度的变化趋势如图 7(a)所示。随着 Cu²⁺ 浓度的增加, 探针的上转换荧光强度发生相应的降低。图 7(b)为 Cu²⁺ 浓度为 0~100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 对 b-HTPA/Cu²⁺ 体系相对荧光强度 F/F_0 进行拟合得到的一条线性相关的工作曲线, 工作曲线相关系数为 $k=0.012$, $R^2=0.954$ 。 δ 为 b-HTPA 与光敏剂两种组分空白溶液的相对标准偏差, 测试计算得其数值为 1.26×10^{-2} , 依据公式 $3\delta/k$ (k 为修正曲线的斜率) 计算出 b-HTPA/PdOEP 上转换体系对 Cu²⁺ 的上转换检测限为 $3.78 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。该检测限同样低于中国卫生部《生活饮用水卫生标准》(GB5749—2006) 中规定的检测下限, 可以应用于 Cu²⁺ 检测领域。

4 结论

设计并合成了一种新型荧光化学探针分子 9,10-二(3'-羟基-4'-亚甲胺氨基硫脲苯基) 葱(b-HTPA), 通过上、下转换荧光光谱来研究 b-HTPA 对 Cu²⁺ 检测的各项性能进行研究。选择性研究结果表明, 相比其他 13 种金属阳离子,

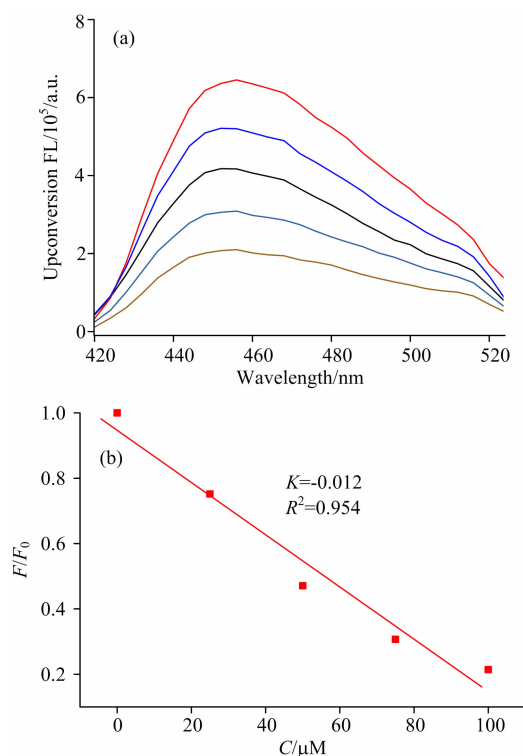


图 7 (a) b-HTPA(10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 在不同浓度 Cu²⁺ 存在下的上转换荧光光谱 ($\lambda_{\text{ex}} = 532 \text{ nm}$, DMF : H₂O = 2 : 1, V/V, pH 7.0, PdOEP = 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); (b) b-HTPA (10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 在不同浓度 Cu²⁺ 存在下的上转换荧光光谱的工作曲线 (0~100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

Fig. 7 (a) Up-conversion fluorescence spectra variation of b-HTPA (10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) upon addition of Cu²⁺ (0~100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) in HEPES buffer solution excited at 532 nm; (b) Up-conversion fluorescence spectral working curve of b-HTPA (10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) upon addition of Cu²⁺ (0~100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) in HEPES buffer solution

Cu²⁺ 对 b-HTPA 荧光猝灭效果最为显著, 空白 b-HTPA 荧光与加入 Cu²⁺ 后的荧光强度比可达 150 : 1, 证明 b-HTPA 对 Cu²⁺ 具有高选择性; 灵敏性研究及检测限分析结果表明, b-HTPA 对 Cu²⁺ 的检测限为 $2.78 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 远低于中国卫生部《生活饮用水卫生标准》(GB5749—2006), 表现出好的荧光响应灵敏性和较为理想的最低检测限; b-HTPA 响应时间测试结果表明, b-HTPA 与 Cu²⁺ 在 0~2 min 时间范围内相互作用速率最大, 并在约 10 min 后反应完全, 说明 b-HTPA 可以在短时间与 Cu²⁺ 发生最强响应, 降低应用中的检测时间和周期。上转换荧光光谱对 b-HTPA/Cu²⁺ 体系的灵敏性和检测限的研究结果表明, 探针的上转换荧光强度随着 Cu²⁺ 浓度的增加而降低, 具有良好的响应性, b-HTPA 对 Cu²⁺ 的检测限为 $3.78 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 低于《生活饮用水卫生标准》规定的检测下限。本文合成的新型荧光探针分子 9,10-二(3'-羟基-4'-亚甲胺氨基硫脲苯基) 葱对 Cu²⁺ 具有高选择性, 高灵敏度和理想的检测限, 且响应速度快, 在 Cu²⁺ 检测领域具有应用潜力。

References

- [1] LI Jing-hong, BIAN Lin, TIAN Su-yan, et al(李景红, 边琳, 田素燕). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2017, 37(1): 321.
- [2] Al-Timimy A, Giangrande P, Degano M, et al. IEEE Transactions on Industry Applications. 2018; 54(4): 3260.
- [3] CHENG Hang, WAN Yuan, CHEN Yi-yun, et al(程航, 万远, 陈奕云, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2018, 38(3): 771.
- [4] Nan Q, Rong P, Jiang Y, et al. Spectrochimica Acta Part A: Molecular & Biomolecular Spectroscopy. 2017, 174: 307.
- [5] Bhatta S R, Mondal B, Vijaykumar G, et al. Inorganic Chemistry, 2017, 56(19): 11577.
- [6] Liu J, Ren J, Xie Z, et al. Nanoscale, 2018, 10(10): 4642.
- [7] Sarder P, Maji D, Achilefu S. Bioconjugate Chemistry, 2015, 26(6): 963.
- [8] Liu J, Xie Z, Shang Y, et al. ACS Applied Materials & Interfaces, 2018, 10(7): 6701.
- [9] Mocanu S, Matei I, Ionescu S, et al. Physical Chemistry Chemical Physics, 2017, 19(40): 27839.
- [10] Huang K, Yue Y, Jiao X, et al. Dyes & Pigments, 2017, 143: 379.
- [11] Zhang Q, Zhang L, Wang P, et al. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2014, 103(2): 643.
- [12] Wang P, Li B L, Li N B, et al. Spectrochimica Acta Part A: Molecular & Biomolecular Spectroscopy, 2015, 135: 198.
- [13] Tan J, Wang X, Zhang Q, et al. Sensors & Actuators B Chemical, 2018, 260: 727.
- [14] Ye C, Ma J, Han P, et al. RSC Advances, 2019, 9(31): 17691.
- [15] Ye C, Zhou L, Wang X, et al. Phys. Chem. Chem. Phys., 2016, 18(16): 10818.
- [16] Li G, Lv N, Bi W, et al. New Journal of Chemistry, 2016, 40(12): 10213.
- [17] Williams A K, Davis B J, Crater E R, et al. Journal of Materials Chemistry C, 2018, 6: 3876.

Preparation of 9,10-Diphenylanthracene Derivative and Its Detection for Cu^{2+} by Up/Down-Conversion

CHEN Shuo-ran, HUANG Su-qin, HAN Peng-ju*, YE Chang-qing, SONG Sa-sa, WANG Xiao-mei*

Research Center for Green Printing Nanophotonic Materials, Jiangsu Key Laboratory for Environmental Functional Materials, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China

Abstract Cu^{2+} is one of the essential trace elements for human metabolism, while excess ingestion will cause metabolic disorders even diseases. However, Cu^{2+} has been elevated levels in living environment due to overuse and inappropriate reprocessing measures of copper, which makes Cu^{2+} one of the toxic heavy metal pollutions. Therefore, the continuous concern over Cu^{2+} pollution has been a hot issue and attracted interest in the detection methods for Cu^{2+} . Fluorescent spectrometry based on fluorescence probe has been widely used in ion detection field owing to good selectivity and high sensitivity. So far, researchers have developed fluorescence probes for Cu^{2+} detection based on selectional weak interaction between probe molecules and ions to be measured. However, these strategies all involve selectivity or sensitivity drawbacks, making the probes difficult for practical applications. Here, we designed and synthesized a new molecule 9,10-bis(3'-hydroxy-4'-thiosemicarbazide) phenylanthracene (b-HTPA) as a fluorescence probe for Cu^{2+} detection. The electron configuration of b-HTPA would change through coordinating with Cu^{2+} , which would cause the remarkable change of fluorescence property of the b-HTPA as responsiveness for Cu^{2+} . Characterizations of the detection of b-HTPA for Cu^{2+} were mainly carried out by down/up conversion fluorescence spectral. Results of selectivity research showed that Cu^{2+} has the strongest fluorescence quenching effect compared with the other thirteen kinds of metal cations. Besides, upon addition of Cu^{2+} about 150-fold decrease of fluorescence intensity was observed compared to other metal cations. The results indicated the good selectivity of b-HTPA to Cu^{2+} . Results of sensitivity research showed that the detection limit of b-HTPA to Cu^{2+} was $2.78 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ which was much lower than the hygienic standard for drinking water (GB5749—2006), which indicated high fluorescent response sensitivity and ideal detection limit. The results of response time test revealed that interaction rate between b-HTPA and Cu^{2+} was very high in the first two minutes and completely reacted within ten minutes, which showed that b-HTPA could be capable of reacting intensively with Cu^{2+} in short time which may save detection period. Moreover, up-conversion fluorescence spectra were also used for the sensitivity evaluation of b-HTPA to Cu^{2+} with palladium(II) octaethylporphyrin (PdOEP) as the sensitizer. The research results showed that intensity of

up-conversion fluorescence obviously declined upon the addition of Cu^{2+} and the detection limit was $3.78 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ which is also lower than the hygienic standard. This work designed and synthesized the 9,10-bis (3'-hydroxy-4'-thiosemicarbazide) phenylanthracene as a fluorescence probe for Cu^{2+} detection, and the probe was proved to have highly selective and sensitive. Moreover, the probe b-HTPA had ideal detection limit and short detection period, which gave it great potential in the field of Cu^{2+} detection.

Keywords Anthracene derivative; Fluorescence probe; Up-conversion; Cu^{2+} ; Ion detection

(Received Mar. 4, 2019; accepted Jul. 2, 2019)

* Corresponding authors

(上接 3754 页)

会务组联系方式

李成辉(会议稿件)

四川大学分析测试中心

电话: 028-85410280; 18980877825

Email: atcpubs@scu.edu.cn

吴兰(会议咨询)

四川大学分析测试中心

电话: 028-85412512; 13688385033

Email: wulan@scu.edu.cn

王香凤(厂商联络)

北京师范大学分析测试中心

电话: 010-58807981; 13520034335

Email: xiangfeng@bnu.edu.cn

支持媒体:

会议官网: 光谱网 <http://www.sinospectroscopy.org.cn>(会议各类信息发布以光谱网信息为准)

支持媒体:

分析测试百科网 <http://www.antpedia.com/>

仪器信息网 <http://www.instrument.com.cn>

主办单位:

中国光学学会

中国光学学会光谱专业委员会

中国化学会

承办单位:

四川大学分析测试中心

第 21 届全国分子光谱学学术会议暨 2020 年光谱年会组委会

2019 年 6 月 18 日