

三嗪-罗丹明荧光探针的合成及水中铜离子检测研究

吕永军, 安荣华, 黄超, 魏薇

(四川理工学院化学工程学院, 四川 自贡 643000)

摘要:合成了一种新型三嗪-罗丹明荧光探针分子TR1,采用质谱、核磁共振和红外光谱表征了分子结构,并结合紫外可见吸收光谱和荧光光谱,研究了它的光谱性能、铜离子的识别性能及溶剂体系、pH等影响因素。实验结果表明,在CH₃CN/H₂O(体积比1:1)体系中加入Cu²⁺后,TR1在553 nm处吸收峰强度显著增强,在580 nm处的荧光辐射增强了100倍,表明探针TR1与Cu²⁺形成1:1结构的共轭体系较大的开环荧光复合物。该复合物在含H₂O比例为0~80%的CH₃CN中和pH值3.0~7.5范围内保持较高的稳定性。在4.0×10⁻⁷ mol/L~5.0×10⁻⁵ mol/L浓度范围内,TR1荧光强度与Cu²⁺浓度呈较好的线性关系,最低检出限达到8.0×10⁻⁸ mol/L。在含Cu²⁺的自来水和河水样品检测中,回收率均接近100%,相对标准偏差RSD≤4.0%。

关键词:罗丹明;荧光探针;铜离子

中图分类号: O657

文献标志码: A

引言

铜是生命体中的微量矿物元素之一,铜离子含量的高低与大量酶催化过程和贫血、冠心病、不孕症等疾病都密切相关。在环境中,过量的铜矿开采和冶炼,导致大气、土壤和水体铜污染,通过生物链富集危害人体健康^[1-3]。

目前,铜离子的测定方法主要有荧光光谱、紫外-可见吸收光谱、电化学法、原子吸收、原子发射等^[4-6]方法。其中,荧光分光光度法具有选择性好、灵敏度高、操作简便等优点,近年来备受研究者关注。针对铜离子的荧光识别检测,已有较多报道^[7-8]。由于Cu²⁺具有顺磁性结构,极易导致荧光猝灭,为荧光探针分子的设计和

识别检测带来挑战^[9]。开发灵敏度高和选择性好的荧光增强型铜离子探针分子具有十分重要的研究意义。

罗丹明是一种氧杂蒽类荧光色素,具有量子产率高、抗酸碱、发射波长位于可见光区等优势,广泛用于金属离子荧光探针设计。罗丹明衍生物闭环状态下无荧光,开环后荧光增强,发射红色荧光信号,是优良的荧光增强型金属离子识别和检测的信号报告单元^[10]。因此,基于罗丹明化合物的金属离子探针被广泛报道。目前基于罗丹明衍生物的Cu²⁺荧光探针分子结构中一般引入含氮、含氧、含硫等配体基团,改善其识别检测的选择性和灵敏度。Wu等^[11]合成了含硫脲单元的罗丹明荧光探针,对Cu²⁺表现出较强的选择性和灵敏度,最低检测限

收稿日期:2018-03-12

基金项目:四川省教育厅项目(16ZA0260;16ZA0251);大学生创新基金(201710622014);四川理工学院人才引进项目(2017RCL20)

作者简介:吕永军(1984-),男,四川自贡人,博士,主要从事有机超分子识别分析方面的研究,(E-mail)yjlv@suse.edu.cn

可达 4.72×10^{-8} mol/L。Thennarasu 等^[12]报道的双罗丹明单元的 Cu^{2+} 探针比单个罗丹明单元探针的灵敏度增高近一倍。Tao 等^[13]合成了三足席夫碱类罗丹明探针对 Cu^{2+} 的检测限为 1.13×10^{-7} mol/L, 荧光显著增强。对比可知, 增加罗丹明络合单元, 检测限降低, 结合作用增强, Cu^{2+} 识别检测的灵敏度明显提升, 这是当前探针分子研究的主要发展方向和趋势。综述报道的罗丹明荧光探针大多识别研究体系为有机体系^[14], 而用于实际样品中的金属铜离子检测方面的研究较少报道^[15-19]。

本文设计合成一种新型结构的罗丹明化合物 TR1, 依靠三嗪结构共价连接三个罗丹明单元, 用于提高探针分子对金属离子检测的灵敏度, 合成路线如图 1 所示。采用紫外-可见吸收光谱和荧光光谱等方法, 考察了 TR1 对 Cu^{2+} 的识别性能, 并用于水样中 Cu^{2+} 检测。

1 实验部分

1.1 实验仪器和试剂

Lambda35 型紫外-可见分光光度计(美国 Perkin Elmer 公司); LS-55 型荧光分光光度计(美国 Perkin Elmer 公司); AVANCE-400 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司); ZQ-4000 型质谱仪(美国 Waters 公司); CP213 电子天平(美国奥豪斯公司); DF-1 磁力搅拌器(上海力辰科技公司)。

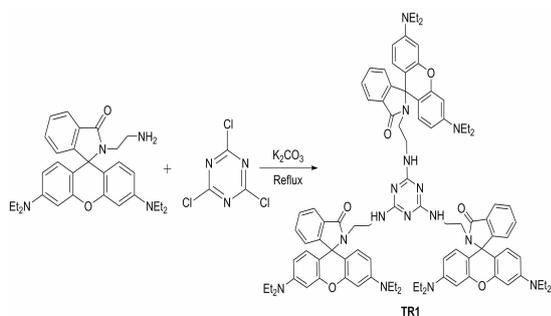


图 1 TR1 探针分子的合成路线

金属离子标准溶液: 准确称取一定量的金属氯化盐 (Na^+ 、 K^+ 、 Al^{3+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Co^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Hg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Pb^{2+}), 配成浓度为 5.0×10^{-2} mol/L 的贮备液, 使用时适当稀释。所用实验药品均为市售分析

纯, 实验室用水为超纯水。

TR1 标准溶液: 准确称取一定量的化合物 TR1 溶于乙醇中, 配成浓度为 1.0×10^{-3} mol/L 的贮备液, 使用 0.02 mol/L Tris-HCl 溶液 (pH = 7.0) 稀释到所需浓度, 保持 CH_3CN 与 H_2O 的体积比为 1:1。

1.2 化合物 TR1 的合成与表征

将三聚氯氰 (0.102 g, 0.6 mmol) 溶于 20 mL 二氧六环, 加入缚酸剂 K_2CO_3 (0.3 g, 2.3 mmol), 滴加 20 mL 罗丹明乙二胺 (0.826 g, 1.8 mmol) 的二氧六环溶液, 30 min 滴加完毕。 N_2 保护, 控制温度 9°C 反应 2 h, 升至室温反应 2 h, 回流反应 2 h, 溶液为浅棕黄色。减压蒸除二氧六环, 得棕黄色固体, 经丙酮重结晶, 得到 0.39 g 藕粉色固体 TR1, 产率 42%, 熔点: $208 - 209^\circ\text{C}$ 。ESI-MS: $1529.0[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): (δ = 1.12 (t, J = 8.9 Hz, 36H, CH_3), 3.36 (m, 24H, CH_2), 3.54 (t, J = 2.6 Hz, 6H, CH_2), 6.27 (m, 6H, ArH), 6.38 (m, 6H, ArH), 6.54 (m, 6H, ArH), 7.01 (s, 3H, NH), 7.04 (m, 3H, ArH), 7.18 (t, J = 6.0 Hz, 3H, ArH), 7.56 (t, J = 6.4 Hz, 3H, ArH), 7.84 (d, J = 7.5 Hz, 3H, ArH)。 $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): (δ = 12.9, 45.8, 47.1, 76.5, 106.5, 114.3, 127.7, 128.0, 128.8, 130.2, 132.3, 139.2, 149.4, 151.9, 162.5, 169.3。IR: 3429.45 cm^{-1} (-N-H), 2970.96 cm^{-1} 和 2929.09 cm^{-1} (-C-H), 1689.96 cm^{-1} (-C=O), 1615.39 cm^{-1} 和 1514.71 cm^{-1} (-C=C 和 -C=N), 1220.21 cm^{-1} (-C-O-) 和 1118.41 cm^{-1} (-C-N-)。

2 结果与讨论

2.1 金属离子光谱识别性能

在 4 mL $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (体积比 1:1) 的 TR1 溶液中加入不同浓度的 Cu^{2+} , 分别测定紫外可见吸收光谱和荧光光谱, 如图 2 所示。随着 Cu^{2+} 浓度的升高, TR1 在 553 nm 处的吸收峰逐渐增强, 加入 20 倍摩尔当量的 Cu^{2+} , 吸收光谱基本稳定。溶液颜色由无色变为玫红

色,而加入 Na^+ 、 K^+ 、 Al^{3+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Co^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Hg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Pb^{2+} 等其它金属离子,TR1 不产生明显的吸收光谱变化和颜色变化。TR1 对 Cu^{2+} 的选择性响应不受其它金属离子干扰(图 2(b))。

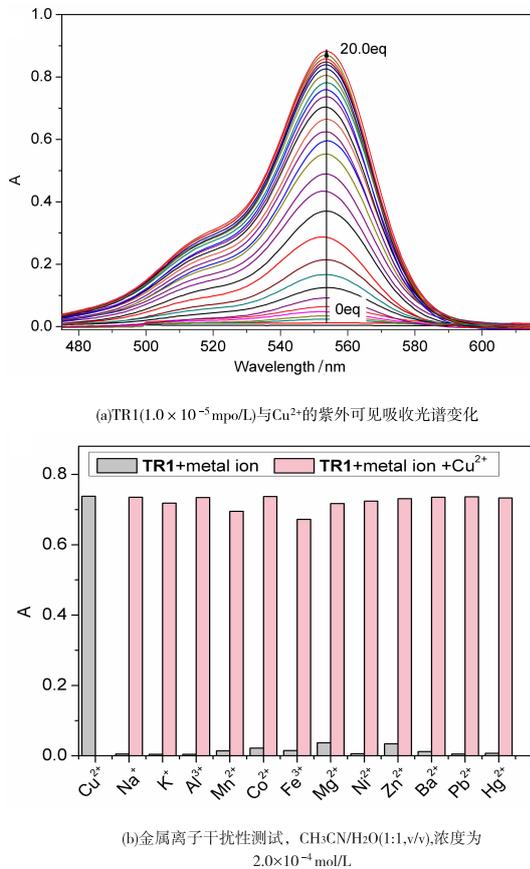


图 2 紫外可见吸收光谱图和荧光光谱图

荧光光谱滴定结果如图 3 所示,加入 Cu^{2+} ,TR1 在 580 nm 出现新的荧光发射峰。当 Cu^{2+} 的加入量为 20 倍摩尔当量时,TR1 的荧光强度增强约 100 倍。但是加入其它金属离子,TR1 荧光光谱变不出现显著变化,并且对 Cu^{2+} 响应不产生干扰,表明 TR1 对 Cu^{2+} 的荧光识别具有较高的选择性。光谱研究结果表明,TR1 与 Cu^{2+} 络合后,罗丹明螺酰胺环发生开环,形成了共轭体系较大的荧光化合物,进而出现明显的吸收光谱和发射光谱^[20-21]。

2.2 溶剂体系对 TR1 - Cu^{2+} 识别的影响

溶剂体系对 TR1 和 Cu^{2+} 识别反应的影响如图 4 所示。在含水比例为 0 ~ 80% 的 CH_3CN 体系中,TR1 与

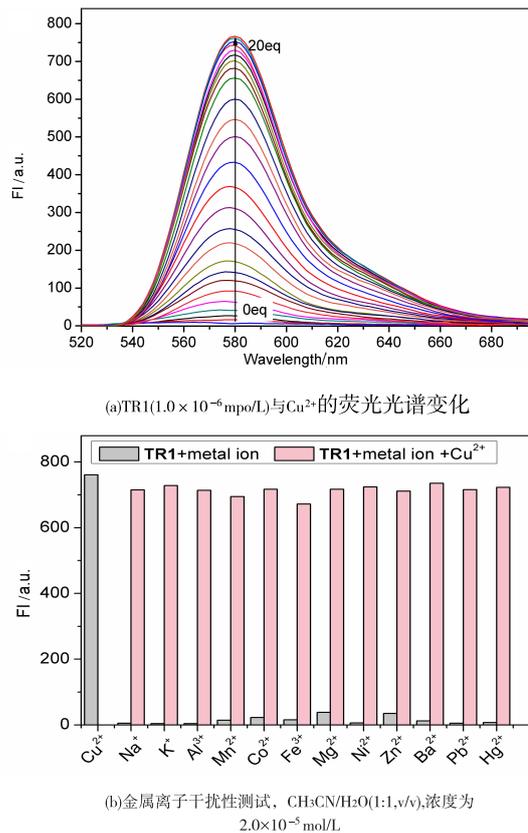
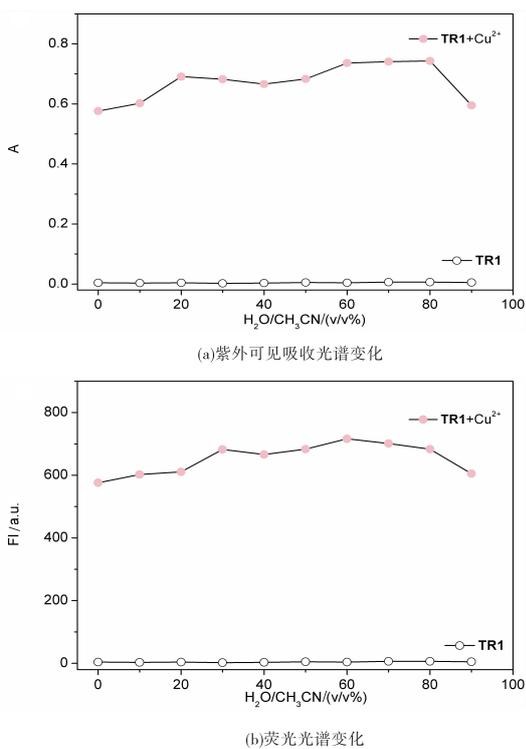
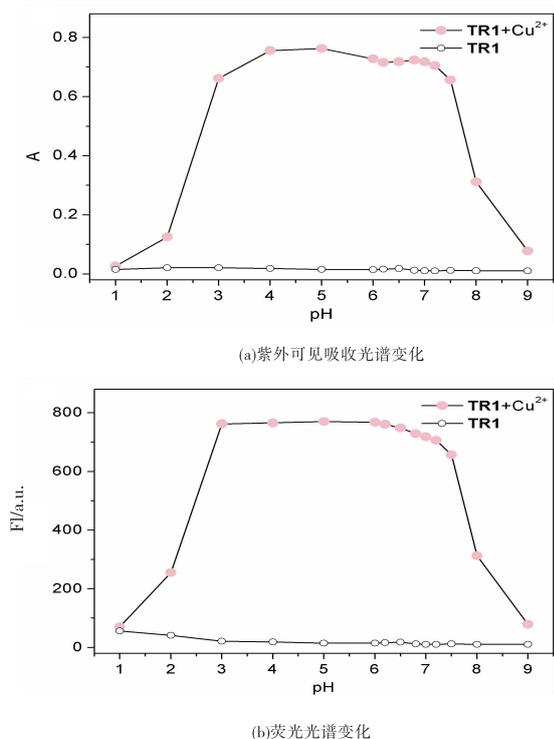


图 3 荧光光谱滴定结果图

Cu^{2+} 之间的相互作用基本不受影响。当 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 的体积比为 90% 时,吸光度和荧光强度均有略微降低,说明较多的水可能导致化合物的溶解度降低或强水合作用导致荧光化合物分解。探针分子 TR1 的分子光谱性能不随溶剂体系的变化而发生明显改变。考虑其在生理细胞体系和环境体系中应用和确保较高响应灵敏度的前提下,本文选择 $V(\text{CH}_3\text{CN})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$ 体系,对 TR1 - Cu^{2+} 进行光谱分析测试研究。

2.3 pH 对 TR1 - Cu^{2+} 识别的影响

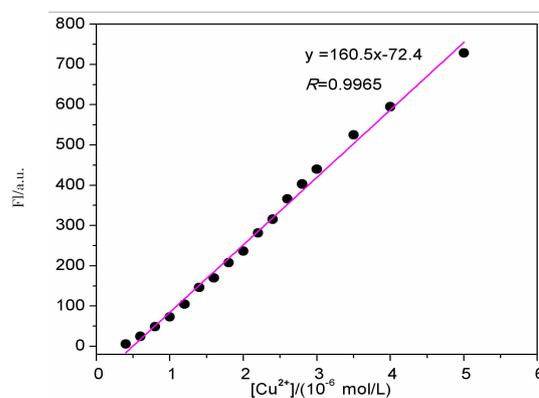
考察 pH 对 TR1 和 TR1 - Cu^{2+} 的吸收光谱和发射光谱的影响(图 5)。由图 5 可知,在较宽的 pH 范围内(3.0 ~ 7.5),TR1 对 Cu^{2+} 的光谱响应基本保持稳定。在强酸和强碱条件下,TR1 与 Cu^{2+} 不发生作用,原因可能在于强酸环境会引起 TR1 分解;强碱可能导致溶液中 Cu^{2+} 沉淀,不利于形成稳定的铜离子配合物。考虑 TR1 探针检测体系在生理环境中的潜在应用,便于后期的细胞荧光成像研究,本文控制溶液 $\text{pH} = 7.0$ 。

图4 溶剂体系对TR1和TR1-Cu²⁺识别体系的影响图5 pH对TR1和TR1-Cu²⁺识别体系的影响

2.4 水样品中Cu²⁺检测

在最优条件下, $V(\text{CH}_3\text{CN})/V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$, $\text{pH} = 7.0$, 采用荧光光谱建立TR1荧光强度对Cu²⁺浓度的标

准工作曲线。在 $4.0 \times 10^{-7} \text{ mol/L} \sim 5.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 浓度范围内, 线性拟合方程为: $FI_{580} = 160.5C_{\text{Cu}^{2+}} - 72.4$, 相关系数 $R = 0.9965$, 以3倍标准偏差计算得到最低检出限为 $8.0 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$, 如图6所示。以自来水和河水作为Cu²⁺样品, 重复测定三次, 结果见表1。为验证该测定方法的准确性, 测定Cu²⁺加标回收率约为100%, 相对标准偏差RSD(4%), 该方法基本满足精密度要求。

图6 TR1对Cu²⁺的荧光检测标准工作曲线表1 水样中Cu²⁺测定

样品	加入Cu ²⁺ 浓度 /(10 ⁻⁷ mol/L)	检测Cu ²⁺ 浓度 /(10 ⁻⁷ mol/L)	回收率 /%	RSD /(%, n = 3)
自来水	0.00	101.40	101	3.5
	5.00	106.52	102	1.8
	15.00	115.98	97	2.1
	30.00	131.23	99	2.3
河水	0.00	140.37	105	4.0
	10.00	150.49	101	3.4
	20.00	160.25	99	2.5
	40.00	180.41	100	2.1

3 结论

(1) 成功合成一种新型三嗪罗丹明荧光探针分子TR1, 可选择性灵敏检测Cu²⁺。溶剂体系和pH变化对TR1-Cu²⁺识别体系的紫外可见吸收光谱和荧光光谱变化的影响较小。

(2) 探针TR1可用于实际样品中Cu²⁺检测, 回收率和RSD均达到要求, 有望用于水环境和生命体系中Cu²⁺的选择性准确检测。

参考文献:

- [1] HINGE S P,ORPE M S,SATHE K V,et al.Combined removal of Rhodamine B and Thodamine 6G from wastewater using novel treatment approaches based on ultrasonic and ultraviolet irradiations[J].Desalin Water Treat,2016,57:1-13.
- [2] 王夏芳.铜离子对环境危害现状及对策研究[J].国土与自然资源研究,2015(1):55-57.
- [3] 向华,丁晓英.铜污染对水体-水生植物的毒害效应研究进展[J].湖南农业科学,2009(11):54-56.
- [4] 崔娜,张晓娟,王志明.铜离子荧光探针的研究进展[J].合成化学,2017,25(4):360-368.
- [5] 李敏,孔慧芳,郭志慧.基于铜离子与 DNA 相互作用的铜离子检测[J].高等学校化学学报,2016,37(7):1269-1275.
- [6] 苑鹤,王卫娜,吴秋华,等.磁性石墨烯固相萃取/原子吸收法测定环境水样中的痕量铜[J].分析测试学报,2013,32(1):69-73.
- [7] 崔娜,张晓娟,王志明.铜离子荧光探针的研究进展[J].合成化学,2017,25(4):360-368.
- [8] WU D,SEDGWICK A C,GUNNLAUGSSON T,et al. Fluorescent chemosensors:the past,present and future[J]. Chem Soc Rev,2017,46:7105-7123.
- [9] XU L,WEI S,DIAO Q,et al.Sensitive and selective rhodamine-derived probes for fluorometric sensing of pH and colorimetric sensing of Cu^{2+} [J].Sens Actuators B, 2017,246:395-401.
- [10] WANG X,TAO J,CHEN X,et al.An ultrasensitive and selective “off-on” rhodamine-based colorimetric and fluorescent chemodosimeter for the detection of Cu^{2+} [J].Sens Actuators B.,2017,244:709-716.
- [11] WANG Y,CHANG H,WU W N,et al.A highly sensitive and selective colorimetric and off-on fluorescent chemosensor for Cu^{2+} based on rhodamine 6G hydrazide bearing thiosemicarbazide moiety[J].J Photoch Photobio A.,2017,335:10-16.
- [12] CHEREDDY N R,THENNARASU S.Synthesis of a highly selective bis-rhodamine chemosensor for naked-eye detection of Cu^{2+} ions and its application in bio-imaging[J].Dyes Pigm,2011,91(3):378-382.
- [13] ZENG X,CHONG W,LEI D,et al.A new tripodal rhodamine B derivative as a highly selective and sensitive fluorescence chemosensor for copper (II) [J].Sci China Ser B.,2009,52(4):523-528.
- [14] YANG Y,ZHAO Q,FENG W,et al.Luminescent Chemosensors for Bioimaging[J].Chem Rev,2013,113:192-270.
- [15] WANG J,ZONG Q.A new turn-on fluorescent probe for the detection of copper ion in neat aqueous solution [J].Sens Actuators B.,2016,216:572-577.
- [16] SHI Z,TANG X,ZHOU X,et al.A highly selective fluorescence “turn-on” probe for Cu(II) based on reaction and its imaging in living cells[J].Inorg Chem, 2013,52:12668-12673.
- [17] DU W,CHENG Y,SHU W,et al.A novel rhodamine-based fluorescence chemosensor containing polyether for mercury(ii) ions in aqueous solution[J].Quim Nova,2017,40(7):733-738.
- [18] LIU C,JIAO X,HE S,et al.A highly selective and sensitive fluorescent probe for Cu^{2+} based on a novel naphthalimide-rhodamine platform and its application in live cell imaging[J].Org Biomol Chem,2017,15:3947-3954.
- [19] 袁跃华,冯峰,田茂忠,等.罗丹明类荧光探针的合成及对铜离子的检测[J].高等化学学报,2011,32(1):

62-66.

渡金属阳离子荧光分子探针研究进展[J].有机化

[20] 孙伟,胡德禹,吴志兵,等.基于罗丹明的重金属和过

学,2011,31(7):997-1010.

Synthesis of Fluorescent Probe Based on Triazine-Rhodamine and Its Application in the Determination for Cu^{2+} in Water Sample

LV Yongjun, AN Ronghua, HUANG Chao, WEI Wei

(School of Chemical Engineering, Sichuan University of Science & Engineering, Zigong 643000, China)

Abstract: A novel fluorescent probe of triazine-rhodamine derivative TR1 was synthesized and characterized by MS, NMR and IR, which exhibited interesting Cu^{2+} sensing properties. Their spectral changes of the volume ratio of $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ and pH were performed through UV-Vis and fluorescence spectroscopy. The results showed that the addition of Cu^{2+} in $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1, volume ratio) solution of TR1 led to the significant enhancement of absorbance at 553nm and 100-fold increasement of fluorescence intensity at 580nm. It was concluded that TR1 could coordinate with Cu^{2+} in 1:1 stoichiometry with the formation of a large π -conjugated complex, which is stable in the pH of 3.0 ~ 7.5 and 0 ~ 80% H_2O -containing CH_3CN solution. A good linear relationship was observed between fluorescence intensity changes and Cu^{2+} concentrations from 4.0×10^{-7} ~ 5.0×10^{-5} mol/L with the detection limit of 8.0×10^{-8} mol/L. The practical applications of TR1 were evaluated by measurement of Cu^{2+} in tap and river water samples, which showed satisfactory recovery about 100% and relative standard deviation values $RSD \leq 4.0\%$.

Key words: rhodamine; fluorescent probe; copper ion