

反应型香豆素探针的合成及其对 废水中汞离子的检测

张璐^{1*}, 信熙卿¹, 魏白²

(1. 平顶山工业职业技术学院, 河南 平顶山 467001;
2. 中国平煤神马集团尼龙科技有限公司, 河南 平顶山 467001)

摘要:以间苯二酚为原料合成了一种新型反应型的香豆素二硫缩醛荧光探针(L1),并通过结构确证。在pH 6.15~9.96时,探针L1可以高选择性对Hg²⁺进行荧光检测,检测限低至1.6 nmol/L;同时提出了L1对Hg²⁺的传感机制,并通过核磁研究证实。在紫外线下,肉眼可检测到荧光的颜色变化。实际应用研究表明,荧光探针L1能应用于真实水样中Hg²⁺的痕量检测。

关键词:香豆素;荧光探针;二硫缩醛;汞离子

中图分类号:O62

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2021)01-0239-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2021.01.048

Reactive coumarin-derived probe for trace detection of Hg²⁺ in real water samples

ZHANG Lu^{1*}, XIN Xi-qing¹, WEI Bai²

(1. Pingdingshan Polytechnic College, Pingdingshan 467001, China;

2. Nylon Technology Co., Ltd., China Pingmei Shenma Group, Pingdingshan 467001, China)

Abstract: A novel reactive 8-(bis (butylthio) methyl)-7-hydroxy-4-methylcoumarin (L1) fluorescent probe is designed and synthesized, and its structure is characterized. L1 probe shows highly selective fluorescent sensing to Hg²⁺ in the pH range from 6.15 to 9.96 in ethanol/water (*v/v*=1/1) solution, showing a low detection limit of 1.6 nmol·L⁻¹. The sensing mechanism of L1 towards Hg²⁺ is proposed and verified by ¹HNMR studies. Under a UV lamp, the fluorescence color changes for L1 can be easily observed by the naked eye. It is verified by actual application that L1 probe can be applied in the trace detection of Hg²⁺ in real water samples.

Key words: coumarin; fluorescent probe; dithioacetal; mercury ions

汞是地球自然环境的组成部分,约占地壳质量的百万分之零点五,是毒性最高的金属之一^[1]。根据不同的毒性动力学特性大致分为3类(元素形式、2价无机形式和有机汞)。Hg²⁺(无机形式)是水生环境中最稳定的无机汞形式,具有致癌性、高溶解性、细胞毒性^[2]。世界卫生组织(WHO)明确规定饮用水中Hg²⁺的浓度必须低于6 μg/L(30 nmol/L)^[3]。水中的汞离子可以被微生物吸收并转化为甲基汞进而进入食物链并引起各种严重的疾病。长期摄入大量汞会导致神经系统损害、对免疫系统的影响等严重的健康问题^[4]。因此,开发快速高效检测水中Hg²⁺的方法具有重要意义。近年来,用于检测汞离子的化学传感器由于高选择性、出色的灵敏度和可直接检测水样中的汞离子而备受关注^[5-7]。这类荧光探针可分2类:基于配位和基于反应。对于基于反应的荧光探针,Hg²⁺的测定是通过受体和Hg²⁺之间的

特定化学反应实现的^[8-9],因此通常具有出色的选择性和对Hg²⁺的高敏感性。

香豆素具有大的摩尔消光系数、相对较长的激发和发射波长以及较高的量子效率,已被广泛用作荧光探针设计^[10]。硫缩醛基团可以被Hg²⁺选择性脱硫,从而形成相应的醛导致荧光强度发生变化^[11]。因此设计并合成了一种将硫缩醛基团引入到香豆素衍生物中的反应型的“开-关”荧光探针(L1)。探针L1在pH 6.15~9.96的乙醇/水(*v/v*=1/1)溶液内,对Hg²⁺表现出高度选择性的荧光检测,检测限低至1.6 nmol/L。提出了探针L1对Hg²⁺的识别机制,并通过¹HNMR研究得到了证实。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

乙酰乙酸乙酯,分析纯,天津致远化工试剂厂生

收稿日期:2020-03-18;修回日期:2020-11-09

作者简介:张璐(1982-),女,硕士,讲师,研究方向为有机荧光小分子合成,通讯联系人,zhanglu2212@126.com。

产;间苯二酚,质量分数 98%,天津希恩斯医药科技有限公司生产;醋酸盐或硝酸盐,分析纯,成都华夏化工试剂厂生产;实验用水为去离子水。

400 MHz 核磁共振仪 (Me_4Si 作内标),美国 Agilent 公司生产;FINNIGAN-LCQ DECA 型质谱仪,美国赛默飞公司生产;IR200 型傅里叶变换红外光谱仪 (KBr 压片),美国赛默飞公司生产;Vario MICRO 型自动元素分析仪,德国 Elementar 公司生产;WRS-1B 型数字熔点仪,上海精密仪器仪表有限公司生产;TU-1901 型双光束紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器公司生产;Dual-FL 型快速荧光光谱仪,日本 HORIBA 公司生产;NEX UP1000 型超纯水机,北京普析通用仪器公司生产;PHSJ-4F 型 pH 计,上海雷磁公司生产。中间体 1 和 2 的合成方法参照文献[12]。合成路线如图 1 所示。

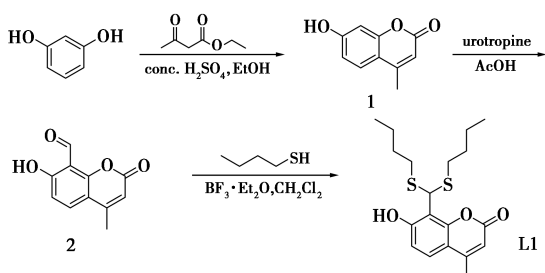


图 1 目标探针 L1 的合成路线

1.2 探针 L1 的合成及表征

向化合物 2 (204 mg, 1 mmol) 的二氯甲烷 (10 mL) 溶液中加入正丁硫醇 (180 mg, 2 mmol), 随后加入 5 滴三氟化硼-二乙基醚化物。然后将混合物在室温 (25℃) 下搅拌 12 h。TLC 监测反应进程。反应完成后,将所得混合物碱化至 pH 8~9,二氯甲烷 (50 mL) 萃取、分离、干燥、浓缩。粗产物通过快速柱层析纯化,得到所需产物 (213 mg), 为白色固体。收率为 58%, m. p. 223~224℃。IR (KBr), ν , cm^{-1} : 3 330、2 972、2 941、2 885、1 710、1 605、1 573、1 391、1 362、1 307、1 056。 ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz), δ : 8.53 (s, 1H, OH)、7.47 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, ArH)、6.89 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, ArH)、6.14 (t, $J=1.2$ Hz, 1H, ArH)、5.97 (s, 1H, S-CH)、2.61 (dd, $J=7.2, 8.0$ Hz, 4H, CH_2)、2.40 (s, 3H, CH_3)、1.63~1.55 (m, 4H, CH_2)、1.42~1.33 (m, 4H, CH_2)、0.87 (t, $J=7.2$ Hz, 6H, CH_3)。 ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz), δ 160.46、159.87、153.11、151.58、125.38、

114.73、113.05、111.54、111.10、42.01、32.80、31.03、21.81、18.89、13.51。ESI-MS, m/z : 367.64 $[\text{M}+1]^+$ 。元素分析, $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{S}_2$, 实测值 (计算值), %: C 62.26 (62.48)、H 7.15 (7.12)。

1.3 重金属离子的测定

不同重金属离子溶液 (Ag^+ 、 Al^{3+} 、 Ba^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Hg^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+}) 采用醋酸盐或硝酸盐配制成浓度为 1 mmol/L 的去离子水溶液。探针 L1 储备溶液用 DMSO 溶解,乙醇/水 ($v/v=1/1$) 溶液定容得到浓度为 1 mmol/L 的储备液。测定条件:激发光 369 nm,狭缝宽 2 nm,扫描范围 390~750 nm。

2 结果与讨论

2.1 探针 L1 对不同金属阳离子的选择性

在紫外-可见光谱中 (图 2), 探针 L1 的吸收带出现在 272 nm 处。当向 L1 (100 $\mu\text{mol/L}$) 的溶液中不断增加 Hg^{2+} 浓度 (0~0.8 当量), 在 272 nm 处的吸收带逐渐增强, 这清楚地表明 L1 与 Hg^{2+} 开始不断发生反应。荧光光谱中 (图 3), 在 369 nm 激发后, 探针 L1 在 451 nm 处显示出非常强的荧光发射。加入 Hg^{2+} (5 $\mu\text{mol/L}$) 后, 淡蓝色荧光发射光立即淬灭。相反, 在相同条件下添加其他金属离子后, 没有检测到明显的荧光变化。与单独的 L1 相比, 这些常见的荧光淬灭离子 (Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 和 Cr^{3+}) 并没有显著淬灭, 表明探针 L1 对 Hg^{2+} 的选择性高于其他金属离子。

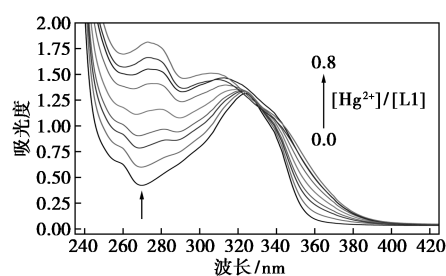


图 2 探针 L1 的紫外-可见光光谱

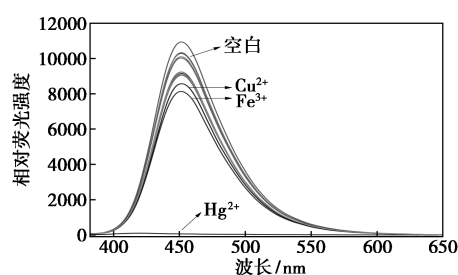


图 3 探针 L1 的荧光光谱 ($\lambda_{\text{ex}}=369$ nm)

为了研究探针 L1 (5 $\mu\text{mol/L}$) 对 Hg^{2+} 的定量检测能力,控制 L1 的浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$,随着 Hg^{2+} 离子浓度的增加 (0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 $\mu\text{mol/L}$),可以得到低浓度的荧光滴定曲线 (图 4)。L1 的荧光强度在 451 nm 处的波长显著降低。体系最大荧光强度和 Hg^{2+} 浓度之间的关系如图 4 所示。此外,添加 0~0.6 当量的 Hg^{2+} 离子时, L1 的发射强度与 Hg^{2+} 的浓度之间具有良好的线性相关性 ($R^2=0.9913$) (图 5)。根据 3σ 方法 ($\text{LOD}=3\sigma/K$, σ 代表空白溶液的标准偏差, K 代表图中标准曲线的斜率),探针 L1 对 Hg^{2+} 的检出限 (LOD) 达到 1.6 nmol/L,结果表明,探针 L1 可以潜在地用于分析化学中痕量 Hg^{2+} 的选择性检测。

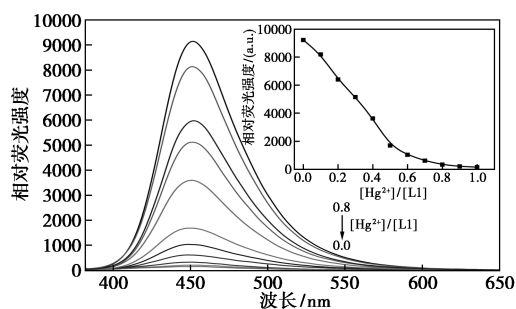


图 4 不同浓度 Hg^{2+} 存在时探针 L1 的荧光光谱 ($\lambda_{\text{ex}}=369\text{ nm}$)

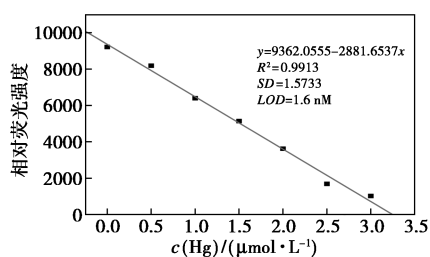


图 5 不同浓度 Hg^{2+} 存在时探针 L1 的荧光强度的线性拟合

2.2 探针 L1 识别 Hg^{2+} 的机理研究

基于以上结果,提出了一种 Hg^{2+} 促进的水解脱硫机理,用于探针 L1 对 Hg^{2+} 的荧光反应,并通过 NMR 研究确证。在向探针 L1 溶液中添加 Hg^{2+} 后, $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ 与探针 L1 的硫原子之间的配位导致硫缩醛上的碳原子活化。观察到显著的光谱变化 (图 6)。在存在 Hg^{2+} 的情况下,甲基 (0.87×10^{-6})、亚甲基 (2.61×10^{-6} 、 1.63×10^{-6} 、 1.42×10^{-6}) 和次甲基 (5.97×10^{-6}) 的质子信号消失,并且在 $10.50\times$

10^{-6} 处形成新的共振,这是醛质子的特征。这些现象表明, Hg^{2+} 与 L1 之间的反应导致脱硫并形成相应的醛 (图 7)。为了研究探针 L1 在不同环境中检测 Hg^{2+} 的适用性,研究了 pH 的影响。在各种缓冲溶液中检测到不存在和存在 Hg^{2+} (5 $\mu\text{mol/L}$) 的情况下 L1 (5 $\mu\text{mol/L}$) 的荧光发射。探针 L1 在 pH 6.15~9.96 的范围内表现出较强的荧光发射。加入 Hg^{2+} 后,有效淬灭了所得溶液的荧光发射。这些结果表明,探针 L1 在相对较宽的 pH 范围 (6.15~9.96) 中对 Hg^{2+} 高度敏感。考虑到主要的生物学成像实验是在中性环境下进行的,因此探针 L1 可能适用于测量生物学样品中的 Hg^{2+} 。

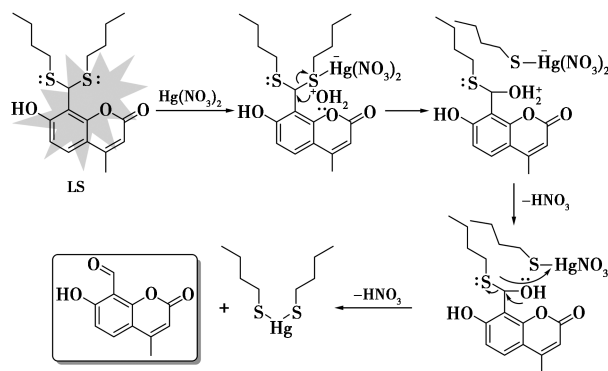


图 6 探针 L1 与 Hg^{2+} 的反应机理

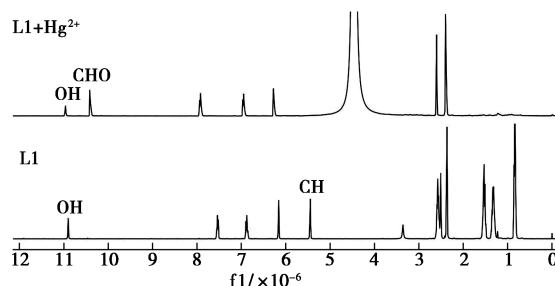


图 7 探针 L1 和 L1-Hg^{2+} 的核磁滴定

2.3 探针 L1 识别 Hg^{2+} 的抗干扰性

为探究 L1 对 Hg^{2+} 的识别反应是否会受到其他金属离子的影响,进行了离子抗干扰实验。在 L1 浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 的乙醇/Tris (pH 7.0) 溶液中加入 5 $\mu\text{mol/L}$ 的 Hg^{2+} ,同时分别加入相同浓度的其他金属离子,测试荧光光谱。以 451 nm 处荧光峰强度为基准,由表 1 可以看出,当加入其他金属离子时,荧光强度与只加入 Hg^{2+} 时相比并无明显变化,表明探针 L1 对 Hg^{2+} 的识别具有良好的荧光响应和优异的抗干扰能力,L1 是一种具有潜在应用价值的 Hg^{2+} 荧光淬灭型探针。

表 1 探针 L1 的抗干扰实验 相对荧光强度

	空白	Ag ⁻	Al ³⁺	Ba ²⁺	Co ²⁺	Cr ³⁺
无 Hg ²⁺	9215.2	11005.7	10155.2	10397.2	9288.5	9102.8
有 Hg ²⁺	62.7	40.3	36.1	38.2	29.9	32.2
	Cu ²⁺	Fe ³⁺	Pb ²⁺	Mg ²⁺	Zn ²⁺	Hg ²⁺
无 Hg ²⁺	8616.4	8187.9	10081.4	10349.9	9162.5	62.7
有 Hg ²⁺	36.1	34.2	35.9	37.1	37.7	22.9

根据已知方法^[13], 探针 L1 用于测量实际水样中的 Hg²⁺ 含量, 包括自来水、工业中水和工业废水(来自工业区)。所有水样品均通过 0.2 mm 滤膜过滤, 以去除较大的特定杂质, 然后通过萃取去除残留的有机物。将所得样品在 10.0 mL 容量瓶中用乙醇和水($v/v=1/1$) 稀释。表 2 显示了使用探针 L1 加上适当的 Hg²⁺ 浓度梯度获得的结果。结果表明, 探针 L1 具有良好的回收率, 并且在 Hg²⁺ 分析中具有很高的准确性。因此, 探针 L1 可以测量实际水样中 Hg²⁺ 的浓度, 在环境分析中具有实用价值。

表 2 传感器 L1 对真实水样中 Hg²⁺ 的测定

水样	pH	添加 Hg ²⁺ 浓度/ (nmol·L ⁻¹)	检出 Hg ²⁺ 浓度/ (nmol·L ⁻¹)	检出率/ %	RSD/ %
自来水	7.60	2	1.96	98.00	0.8893
		5	4.93	98.60	
		8	7.98	99.75	
工业中水	7.85	2	1.98	99.00	0.6331
		5	4.99	99.80	
		8	8.02	100.25	
工业废水	8.60	2	2.03	101.50	1.0642
		5	4.97	99.40	
		8	8.06	100.75	

3 结论

设计并合成了高度选择性和灵敏的香豆素衍生的二硫缩醛荧光探针(L1)。在乙醇/水($v/v=1/1$) 溶液中用 Hg²⁺ 表现出明显的“开-关”荧光行为, 并具有强烈的浅蓝色荧光发射猝灭。计算出的检出限为 1.6 nmol/L, 并保持稳定, 在 pH 6.15~9.96 范围

内检测到 Hg²⁺。此外, 探针 L1 在实际水样分析中对 Hg²⁺ 的检测显示出令人满意的结果, 并且可以进一步用于化学和环境系统中检测纳摩尔浓度的 Hg²⁺ 的潜在应用。

参考文献

- [1] Selin N E. Science and strategies to reduce mercury risks: A critical review [J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2011, 13(9): 2389-2399.
- [2] Henriques M C, Loureiro S, Fardilha M, et al. Exposure to mercury and human reproductive health: A systematic review [J]. *Reproductive Toxicology*, 2019, 85(4): 93-103.
- [3] WHO. The international programme on chemical safety. environmental health criteria I. Mercury: Geneva, Switzerland [Z]. World Health Organization, 1976.
- [4] Fretham S J B, Caito S, Martinez-Finley E J, et al. Mechanisms and modifiers of methylmercury-induced neurotoxicity [J]. *Toxicology Research*, 2012, 1(1): 32-38.
- [5] Sharma B M, Sanka O, Kalina J, et al. An overview of worldwide and regional time trends in total mercury levels in human blood and breast milk from 1966 to 2015 and their associations with health effects [J]. *Environment International*, 2019, 125(4): 300-319.
- [6] Liu T, Chu Z Y, Jin W Q. Electrochemical mercury biosensors based on advanced nanomaterials [J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2019, 23(7): 3620-3632.
- [7] Liu C B, Chen X Y, Zong B Y, et al. Recent advances in sensitive and rapid mercury determination with graphene-based sensors [J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2019, 7(12): 6616-6630.
- [8] Wang G, Xu G, Zhu Y, et al. A “turn-on” carbon nanotube-Ag nanoclusters fluorescent sensor for sensitive and selective detection of Hg²⁺ with cyclic amplification of exonuclease III activity [J]. *Chemical Communications*, 2014, 50(6): 747-750.
- [9] Rasheed T, Bilal M, Nabeel F, et al. Fluorescent sensor based models for the detection of environmentally-related toxic heavy metals [J]. *Science of The Total Environment*, 2018, 615(2): 476-485.
- [10] Chen K Y, Guo Y, Lu Z H, et al. Novel coumarin-based fluorescent probe for selective detection of bisulfite anion in water [J]. *Chinese Journal of Chemistry*, 2010, 28(1): 55-60.
- [11] Gu L, Zheng T, Xu Z X, et al. A novel bifunctional fluorescent and colorimetric probe for detection of mercury and fluoride ions [J]. *Spectrochimica Acta Part A*, 2019, 207(1): 88-95.
- [12] 苏策, 王鹏. 可识别 Al³⁺ 的香豆素类荧光增强型探针的合成机性能研究 [J]. *兰州理工大学学报*, 2018, 44(1): 65-69.
- [13] Chang I J, Hwang K S, Chang S K. Selective Hg²⁺ signaling via dithiane to aldehyde conversion of an ESIPT fluorophore [J]. *Dyes and Pigments*, 2017, 137(2): 69-74. ■