

分析测试

荧光探针测定乙交酯中总质子浓度

姜 诚,陶圣燃,陈 群*,沐逸冰,张乐琦,王 玮

(江苏省绿色催化材料与技术重点实验室,常州大学,江苏常州 213164)

摘要:以氟化硼络合二吡咯甲川类(BODIPY)染料为荧光团,正丁胺为识别体,合成了一种新型酸敏感的BODIPY类荧光探针。通过研究荧光探针乙醇酸浓度的光谱行为,建立了荧光光谱法测定乙交酯中总质子浓度的方法。结果表明,乙醇酸浓度在0.2~1.2 mmol/L范围内,体系荧光强度呈线性关系,其线性方程为 $Y = 71.4 + 180.5 \times 10^3 c(\text{mol/L})$,相关系数 r 为0.998 9,检出限为0.3 $\mu\text{mol/L}$,乙交酯中总质子浓度检测结果令人满意。

关键词:荧光探针;乙醇酸;乙交酯;总质子浓度

中图分类号:0657.3

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2015)08-0177-03

Determination of proton concentration in glycolide using fluorescent probe

JIANG Cheng, TAO Shen-ran, CHEN Qun*, MU Yi-bing, ZHANG Le-qi, WANG Wei

(Jiangsu Key Laboratory of Advanced Catalytic Materials and Technology, Changzhou University, Changzhou 213164, China)

Abstract: A novel acid sensitive fluorescent probe is prepared using BODIPY dye as a fluorophore and *n*-butyl amine as a receptor. Based on the fluorescence enhancement of the probe in the presence of glycolic acid, a novel method for the determination of total proton concentration in glycolide is proposed. The result shows that the fluorescence enhancement value of the probe is linearly proportional to the concentration of glycolic acid in the range of 0.2 – 1.2 mmol/L with a correlation coefficient of 0.998 9. The detection limit is found to be 0.3 $\mu\text{mol/L}$. The proposed method has been successfully used for the determination of total proton concentration in glycolide sample with satisfactory results.

Key words: fluorescent probe; glycolic acid; glycolide; total proton concentration

BODIPY类荧光染料是近年来出现并发展起来的一种荧光染料,其母体结构如图1所示。BODIPY类荧光材料具有非常优异的光物理性能^[1-2]。在这些荧光染料的基础上,连接与活性物质反应的基团,可以合成具有特定用途的功能性荧光探针,用于金属阳离子^[3]、糖类分子^[4]等许多物质的荧光分析及作为pH探针^[5-6]。荧光探针技术是利用某些试剂与非荧光或弱荧光化合物以共价或其他形式结合形成荧光络合物或聚集体进行测定^[1]。荧光探针技术拓宽了荧光分析范围。

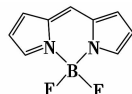


图1 BODIPY类荧光染料母体结构

乙交酯是合成可降解脂肪族聚酯聚乙醇酸(PGA)的重要中间体,其总质子摩尔分数对PGA的聚合度有至关重要的影响,最佳的总质子摩尔分数范围为0.03%~0.35%^[7]。目前,乙交酯中总质子摩尔分数是通过测定乙交酯中所含杂质乙醇酸、乙

醇酸二聚体和水的量换算而来^[7],存在操作繁琐、重复性差等缺点。

笔者以BODIPY类染料为荧光团,正丁胺为识别体,合成了一种基于光诱导电子转移(PET)作用机理的酸敏感荧光探针^[8],合成路线如图2所示。该探针对于H⁺有较强的响应,并以此建立了乙交酯中总质子摩尔分数的荧光探针测定方法。

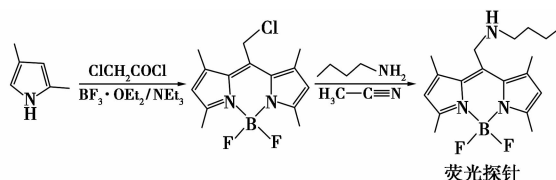


图2 荧光探针分子的合成路线

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

核磁共振波谱仪(AVANCE III 400 MHz型, Bruker公司生产); Cary 6000 ioptics 荧光光谱仪,美国 Varian 公司生产; UV1201 紫外分光光度仪,北京

瑞利分析仪器有限公司生产;GCMS-QP2010,日本岛津 Shimadzu 生产。

2,4-二甲基吡咯,AR,贝斯特试剂有限公司生产;氯乙酰氯,AR,阿拉丁试剂有限公司生产;二甲基亚砜(DMSO)、三乙胺、正丁胺、1,2-二氯乙烷、乙腈,AR,上海凌峰化学试剂有限公司生产;乙醇酸、三氟化硼乙醚,98%,阿拉丁试剂有限公司生产;乙交酯,实验室自制;硅胶,粒径小于 0.000 3 mm,青岛海洋化工厂生产。

1.2 实验方法

1.2.1 荧光探针的合成

取 2,4-二甲基吡咯 2 mmol 加入到氮气充分保护的装有 200 mL 二氯甲烷的三口瓶中,缓慢滴加氯乙酰氯 1 mmol 和二氯甲烷 20 mL 的混合溶液。在常温下搅拌反应 2 h,常温减压浓缩反应液约 30 mL 后,加入三氟化硼乙醚 5.6 mmol。逐步滴加三乙胺 28.6 mmol。常温下反应 2 h,减压蒸出反应溶剂后得到黑色的固体。经过硅胶柱层析[展开剂: $V(\text{石油醚})/V(\text{二氯甲烷})=1:1$],可得到红色的固体粉末,即带 Cl 基团的 BODIPY 荧光染料。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 2.53 (s, 12H, CH_3), 4.77 (s, 2H, CH_2), 6.08 (s, 2H, CH); $^{13}\text{C NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 14.6, 16.0, 37.3, 122.5, 131.6, 136.1, 141.3, 156.8; EIMS: 296.0。

在 100 mL 的四口圆底瓶中加入 1 mmol 上述产物和 4 mmol 正丁胺,40 mL 乙腈作为溶剂,30℃ 下搅拌反应 1 h。粗产物通过硅胶柱层析[展开剂: $V(\text{石油醚})/V(\text{二氯甲烷})=1:1$],产物即为荧光探针。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 0.90 ~ 0.93 (m, 3H, CH_3), 1.35 ~ 1.39 (m, 2H, CH_2), 1.48 ~ 1.53 (m, 2H, CH_2), 2.46 (s, 6H, CH_3), 2.51 (s, 6H, CH_3), 2.72 ~ 2.75 (m, 2H, CH_2), 3.92 (s, 2H, CH), 6.05 (s, 2H, CH); $^{13}\text{C NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 14.0, 14.6, 20.5, 45.3, 50.2, 121.7, 132.3, 140.6, 140.2, 155.1; EIMS: 333.2。

1.2.2 乙醇酸浓度的标准曲线测定

用 DMSO 溶解荧光探针,配成浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 的溶液,避光保存。用荧光探针的 DMSO 溶液溶解乙醇酸,配制浓度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mmol/L 的 6 份乙醇酸溶液。在激发波长 480 nm 下,研究不同浓度的乙醇酸对荧光探针荧光强度的影响。以乙醇酸浓度为横坐标,荧光强度为纵坐标,绘制标准曲线,得到标准曲线方程。

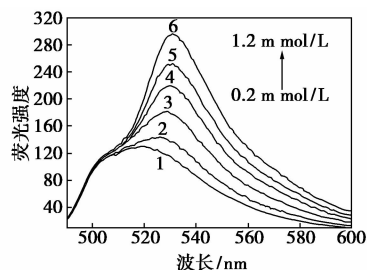
1.2.3 乙交酯中总质子浓度的测定

将乙交酯样品在 100℃ 下加热 2 h,使乙交酯中微量水分与乙交酯充分反应,水解为单体乙醇酸。精密称量 1 g 处理过的乙交酯于 25 mL 容量瓶中,用荧光探针的 DMSO 溶液定容。测定其在 530 nm 处的荧光强度。由标准曲线方程计算得到总质子浓度。

2 结果与讨论

2.1 乙醇酸浓度对荧光探针荧光强度的影响

乙醇酸浓度对荧光探针荧光强度的影响如图 3 所示。



1—0.2 mmol/L; 2—0.4 mmol/L; 3—0.6 mmol/L; 4—0.8 mmol/L; 5—1.0 mmol/L; 6—1.2 mmol/L

图 3 乙醇酸浓度对荧光探针的荧光强度的影响

从图 3 中可以看出,乙醇酸浓度在一定范围内,体系的荧光强度随乙醇酸浓度的增加而有规律的增加。说明荧光探针对 H^+ 具有较好的识别功能,因此,可以用来测定乙交酯中的总质子浓度。这是由于荧光强度的变化主要是基于 PET 作用机理^[8],即取代氨基未质子化时,N 原子的孤对电子通过 PET 效应使母体荧光团的荧光淬灭,而质子化后,PET 效应被阻断,荧光团荧光显著增强,如图 4 所示。随着乙醇酸浓度的增大,溶液在 530 nm 处的荧光增强逐步增加到最大。

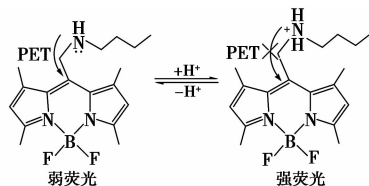


图 4 荧光探针的 PET 作用机理

2.2 乙交酯加热时间对探针荧光强度的影响

随着乙交酯加热时间的延长,体系荧光强度逐渐增大,当加热时间为 2 h,荧光强度达到最大,此后随着时间的延长,荧光强度趋于平衡。说明乙交酯与所含的微量水已完全反应成为乙醇酸二聚体,对

体系的荧光强度已无影响。因此,选定乙交酯的加热时间为2 h。

2.3 荧光探针的浓度选择

考察了体系中荧光探针的浓度对 H^+ 分析灵敏度的影响。当荧光探针的浓度较低时,体系的荧光强度很弱,少量乙醇酸的加入,体系荧光强度变化很小,检测灵敏度低;当荧光探针的浓度较高时,体系的荧光强度相对较强,加入少量的乙醇酸,相对荧光强度变化大,可以显著地提高检测灵敏度,但是线性检测范围明显变窄。为了兼顾灵敏度和线性检测范围,荧光探针的浓度以 $1 \mu\text{mol/L}$ 为宜。

2.4 线性范围、标准曲线及检出限

在最佳实验条件下测定乙醇酸标准系列溶液,如图5所示。由图5可以看出,乙醇酸浓度在 $0.2 \sim 1.2 \text{ mmol/L}$ 范围内与探针荧光强度(Y)有较好的线性关系,线性方程为 $Y = 71.4 + 180.5 \times 10^3 c(\text{mol/L})$,相关系数 r 为 0.9989 ,检出限为 $0.3 \mu\text{mol/L}$ 。

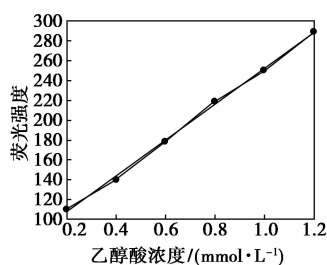


图5 乙交酯总质子浓度的标准曲线

2.5 乙交酯样品中总质子浓度的测定重复性实验

利用本文所述方法,通过下式进行了乙交酯样品中总质子浓度的测定:

$$\text{总质子浓度} = c \times 10^{-3} \times 25 \times (M/m) \times 100\%$$

其中, m 为乙交酯的质量, g ; M 为乙交酯的分子质量, g/mol 。

荧光探针法测定的乙交酯的总质子摩尔分数数据如表1所示,与之对应的乙交酯荧光探针谱图如图6所示。

表1 荧光探针法测定的乙交酯的总质子摩尔分数

序号	乙交酯/ g	530 nm 处荧光值	$c/(\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	质子摩尔 分数/%	均值/ %
1	0.98	115.2	1.33	0.394	
2	1.14	118.4	1.42	0.361	0.362
3	1.76	140.5	2.01	0.331	

尔分数为 0.362% , 位于 $0.01\% \sim 0.5\%$ 之间,满足了进一步聚合的要求。采用相同批次的乙交酯,利用文献[9]报道的方法测定了其所含的总质子摩尔分数为 0.32% , 结果与荧光法测定基本一致。

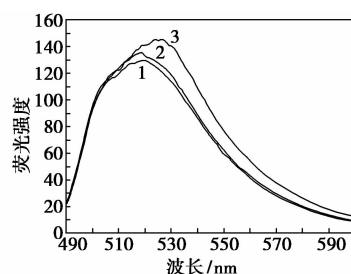


图6 乙交酯试样的荧光探针谱图

3 结论

在较温和的条件下合成了酸敏感荧光探针,研究了乙交酯中总质子摩尔分数与荧光探针发光强度的关系,探讨了其相互作用的最佳条件,建立了测定乙交酯中总质子摩尔分数的高灵敏性和重复性好的新方法。本法操作简单,成本较低,耗时较短。

参考文献

- [1] Jun S, Lee J, Sakamoto S, *et al.* Rotaxane-based molecular switch with fluorescence signaling[J]. *Tetrahedron Letters*, 2000, 41(4): 471-475.
- [2] Karolin J, Johansson L B A, Strandberg L, *et al.* Fluorescence and absorption spectroscopic properties of Dipyrometheneboron Difluoride (BODIPY) derivatives in liquids, lipid membranes, and proteins[J]. *Am Chem Soc*, 1994, 116:7801-7806.
- [3] Zeng L, Miller E W, Pralle A, *et al.* A selective turn-on fluorescent sensor for imaging copper in living cells[J]. *Am Chem Soc*, 2005, 128:10-11.
- [4] DiCesare N, Lakowicz J R. Fluorescent probe for monosaccharides based on a functionalized boron-dipyromethene with a boronic acid group[J]. *Tetrahedron Letters*, 2001, 42:9105-9108.
- [5] Baruah M, Qin W, Basaric N, *et al.* BODIPY-based hydroxyaryl derivatives as fluorescent pH probes[J]. *Org Chem*, 2005, 70:4152-4157.
- [6] Qin W, Baruah M, Stefan A, *et al.* Photophysical properties of BODIPY-derived hydroxyaryl fluorescent pH probes in solution[J]. *Chem Phys Chem*, 2005, 6:2343-2351.
- [7] Hiroyuki, Fumio Akutsu, Fuminori Kobayashi. Process for producing aliphatic polyester; US,0073032[P]. 2007-03-29.
- [8] James T D. Saccharide-selective boronic acid based photoinduced electron transfer (PET) fluorescent sensors[J]. *Top Curr Chem*, 2007, 277:107-152.
- [9] 佐藤浩幸,阿久津文夫,小林史典. 聚乙醇酸树脂组合物:CN, 101321829A[P]. 2008-12-10. ■

从表1中可以看出,3次测定的平均总质子摩