



中文核心期刊
中国科技核心期刊
《中国科技期刊数据库》来源期刊
《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊

《中国学术期刊(光盘版)》收录期刊
美国《化学文摘》(CA)收录期刊
全国石油和化工期刊100强
全国石油和化工精品期刊40强

ISSN 0258-3283
CN 11-2135/TQ

化学试剂

CHEMICAL REAGENTS

2022年6月 第44卷第6期



国药集团化学试剂有限公司
Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd.

用心守护安全

广告

ISSN 0258-3283



中国石油和化学工业联合会 主管

中国分析测试协会
国药集团化学试剂有限公司 主办
北京国化精试咨询有限公司



化学试剂

中文核心期刊

主要栏目

综述与专论
生化与药用试剂
功能材料
分离提取技术
电化学和新能源
化学品与环境
分析与测试
标准物质与标准品
合成与工艺技术



中文核心期刊

中国科技核心期刊

《中国科技期刊数据库》来源期刊

《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊

《中国学术期刊(光盘版)》收录期刊

美国化学文摘(CA)收录期刊

全国石油和化工期刊100强

全国石油和化工精品期刊40强

地址: 北京市西城区太平街8号院6号楼107室
投稿网址: <https://hxsj.cbpt.cnki.net>

电话: (010) 58321793, (010) 58321153
E-mail: webmaster@chinareagent.com.cn

1979 年 4 月创刊·月刊

第 44 卷 第 6 期

总第 365 期

2022 年 6 月 15 日出版

主管单位 中国石油和化学工业联合会

主办单位 中国分析测试协会
国药集团化学试剂有限公司
北京国化精试咨询有限公司

出版单位 化学试剂编辑部

地址 北京市西城区太平街 8 号院
6 号楼 2 层 107 室

邮政编码 100050

联系电话 010-58321793 010-58321723

广告及发行 010-58321153

投稿网址 <https://hxsj.cbpt.cnki.net>

E-mail webmaster@chinareagent.com.cn

名誉主编 王 夔

主 编 何 晖

印 刷 北京科信印刷有限公司

国内总发行 北京市报刊发行局
邮发代号 2-444

国内订阅处 全国各地邮电局

海外总发行 中国国际图书贸易集团
有限公司
国外代号 M591

连续出版物号 ISSN 0258-3283
CN 11-2135/TQ

广告发布登记 京西工商广登字
20170008 号

国内定价 40.00 元/本 480.00 元/年

化学试剂

HUAXUE SHIJI

目 次

· 综述与专论 ·

- 丝氨酸蛋白酶有机小分子荧光探针的研究进展
..... 尧功梅, 庞承云, 蒙柳卫, 李清* (791)
- 基于纳米材料的比色适配体传感器的应用
..... 韩高宸, 李静*, 张冰, 王之飞, 汤顺洁, 赵志煊, 高文超* (801)

· 生化与药用试剂 ·

- 雷公藤红素与人血清白蛋白的相互作用
..... 刘浩, 樊世萌, 欧阳敬禹, 尤祥宇*, 苏江涛, 李玲玲, 肖红卫 (810)
- 以 3,5-二芳基取代吡唑为 Cap 的新型选择性 HDAC6 抑制
剂: 设计、合成及抑酶活性评价
..... 何格, 张明明, 李志, 徐星星, 袁真, 王琴, 马晓东* (816)

· 功能材料 ·

- 改性柚子皮生物炭吸附亚甲基蓝性能研究
..... 张妍杰, 王欢, 蔡玉福, 边子琦, 赵兴, 刘彦琳, 赵永华* (822)
- 纳米零价铁吸附法去除废水中的 Pb^{2+}
..... 左国强*, 苏小莉, 刘改云, 宋欣宇, 张露露 (828)
- 氯化铁改性椰壳活性炭去除 2,4-二氯苯酚的吸附性能
研究 刘雪平, 闫晓乐,
张焕, 张瀚月, 田丽, 宋忠贤, 毛艳丽, 张霞, 延旭, 康海彦* (835)
- 板栗壳活性炭对中性红和活性蓝 19 的吸附行为
..... 韦琴*, 周帆 (841)
- CdI_2 -phen/bpy 溶剂热体系中 $Cd(II)$ 配合物的合成、晶体
结构及荧光传感性能研究
..... 朱圣加, 陈飞, 张柔, 付玉, 许伟*, 罗云杰 (846)
- 铜滤膜基环丙沙星分子印迹复合膜的制备、吸附性能及表
面增强拉曼散射活性研究
..... 张杰, 唐丽, 卜明, 马玉坤, 王海君*, 王静 (850)
- 过渡金属取代磷酸盐催化剂的制备及氧化脱硫性能研究
高爽, 张俊茹, 李佳其, 于悦, 韩璐, 肖舒宁, 袁运鸿, 陈晓陆* (858)

· 分离提取技术 ·

正交试验法优化复方玉液汤提取工艺及对小鼠的急性毒性研究 张文祥,郭凤,陈鹏德,吴思宇,姚蓝*(865)

· 电化学和新能源 ·

基于石墨烯金粒子的肾上腺素分子印迹电化学传感器研究 孙晨阳,康天放*,鲁理平,程水源(872)

茜素绿染料的 Ti/PbO₂ 电极与 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极催化降解比较研究 ... 沈宏*,章维维,姚春冀,杨叶,范宏亮,鞠莉(880)

基于 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 检测丙烯酰胺 尚平*,杨永,赵荣敏,崔文广(888)

· 分析与测试 ·

醇类香料单体在加热卷烟中的转移行为研究 徐如彦,朱梦薇,饶先立,王鸣,胡玉轩,李朝建,师东方,石怀斌,郑晓云*(894)

HPLC 测定人血清中三种抗 HIV 药 龚爱琴(904)

中缅管输进口原油微量元素分析研究 李秀林,韩家曦,刘汗青,武梦琦,王群威,杨新周*(908)

利用不稳定 Konig 体系的中间产物光度法快速测定水中氰化物 李晓惠*,刘海军,许艳广(915)

· 标准物质与标准品 ·

土壤基质中不同目标浓度重金属标准样品的研制 陈晋,徐冬梅,唐晓菲,张敏*(920)

· 合成与工艺技术 ·

2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮类衍生物的合成 赵美玲,刘芊芊,张翠兰,龙思会*,李立*,刘斌(926)

吴茱萸次碱合成工艺改进 陈仕云,高永好,吴宗好,桂双英,何勇*(931)

硫酸苯肼的合成及分析方法 祁锴铤,辜顺林,刘建武,张跃,严生虎*(936)

* 通讯联系人

《化学试剂》介绍(前插页)·

《化学试剂》期刊 2021 年度“优秀论文”“优秀作者”名单公布(后插页)·

2022 年《化学试剂》期刊征订单(后插页)·

《化学试剂》第四届编委会

顾 问 何鸣元 林国强 傅若农

主 任 王 夔

副主任 柴之芳 李建华 王 刚

副主编 (按拼音为序)

方岩雄 姜雪峰 李培武

余远斌 许家喜 张庆合

赵丽娇 郑岳青 朱永法

编 委 (按拼音为序)

董方霆 顾小焱 何 晖

胡跃飞 纪红兵 仇大器

刘 昉 南 山 牛 刚

牛 佳 邵学广 宋金链

孙继红 汤 杰 汤 磊

王保金 王德发 王 旭

王玉成 王志刚 徐 丽

应志耀 喻小琦 臧慕文

詹家荣 张 磊 张 庆

钟儒刚 周 沛 朱志伟

(本期编辑:吕兰香 孟翠苗)

中文核心期刊

中国科技核心期刊

《中国科技期刊数据库》来源期刊

《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊

《中国学术期刊(光盘版)》收录期刊

美国《化学文摘》(CA)收录期刊

全国石油和化工期刊 100 强

全国石油和化工精品期刊 40 强



《化学试剂》官方微信公众号

CONTENTS

Recent Advances on the Design Strategy and Application Status of Small Organic Molecular Fluorescent Probes of Serine Protease	YAO Gong-mei, PANG Cheng-yun, MENG Liu-wei, LI Qing* (791)
Colorimetric Apta-sensors Based on Nanomaterials and Its Applications	 HAN Gao-huan, LI Jing*, ZHANG Bing, WANG Zhi-fei, TANG Shun-jie, ZHAO Zhi-huan, GAO Wen-chao* (801)
Interaction between Celastrol and Human Serum Albumin	 LIU Hao, FAN Shi-meng, OUYANG Jing-yu, YOU Xiang-yu*, SU Jiang-tao, LI Ling-ling, XIAO Hong-wei (810)
Novel Selective HDAC6 Inhibitors Bearing 3,5-Diaryl-substituted 1H-Pyrazole as Capmoieties: Design, Synthesis and Evaluation of Enzymatic Activity	 HE Ge, ZHANG Ming-ming, LI Zhi, XU Xing-xing, YUAN Zhen, WANG Qin, MA Xiao-dong* (816)
Adsorption of Methylene Blue by Modified Pomelo Peel Biochar	 ZHANG Yan-jie, WANG Huan, CAI Yu-fu, BIAN Zi-qi, ZHAO Xing, LIU Yan-lin, ZHAO Yong-hua* (822)
Absorption Removal of Pb ²⁺ from Wastewater by Nanoscaled Zero-Valent Iron Particles	 ZUO Guo-qiang*, SU Xiao-li, LIU Gai-yun, SONG Xin-yu, ZHANG Lu-lu (828)
Adsorption Performance of FeCl ₃ Modified Coconut Shell Activated Carbon for the Removal of 2,4-Dichlorophenol	 LIU Xue-ping, YAN Xiao-le, ZHANG Huan, ZHANG Han-yue, TIAN Li, SONG Zhong-xian, MAO Yan-li, ZHANG Xia, YAN Xu, KANG Hai-yan* (835)
Adsorption Behavior of Chestnut Shell Activated Carbon for Neutral red and Active Blue 19	WEI Qin*, ZHOU Fan (841)
Synthesis, Crystal Structure and Fluorescence Sensing Properties of Cd(II) Complex in CdL ₂ -phen/bpy Solvothermal System	ZHU Sheng-jia, CHEN Fei, ZHANG Rou, FU Yu, XU Wei*, LUO Yun-jie (846)
Preparation and Adsorption Properties of Ciprofloxacin Molecularly Imprinted Composite Membrane with SERS Activity Based on Copper Filter Membrane	ZHANG Jie, TANG Li, BU Ming, MA Yu-kun, WANG Hai-jun*, WANG Jing (850)
Preparation of Transition Metal Substituted Phosphomolybdic Acid and Catalytic Performance in Oxidation Desulfurization	GAO Shuang, ZHANG Jun-ru, LI Jia-qi, YU Yue, HAN Lu, XIAO Shu-ning, YUAN Yun-hong, CHEN Xiao-lu* (858)
Orthogonal Experiment of Optimizing the Extraction Process of Yuye Decoction and Its Acute Toxicity on Mice	ZHANG Wen-xiang, GUO Feng, CHEN Peng-de, WU Si-yu, YAO Lan* (865)
Molecularly Imprinted Electrochemical Sensor for Epinephrine Based on the Composite of Graphene and Gold Particles	SUN Chen-yang, KANG Tian-fang*, LU Li-ping, CHENG Shui-yuan (872)
Degradation of Alizarin Green (AG) by Ti/PbO ₂ Electrode and Ti/IrO ₂ +Ta ₂ O ₅ Electrode	SHEN Hong*, ZHANG Wei-wei, YAO Chun-ji, YANG Ye, FAN Hong-liang, JU Li (880)
Detection of Acrylamide Based on Nafion/GSH-Fe ₃ O ₄ @Cs/Pt/GCE	SHANG Ping*, YANG Yong, ZHAO Rong-min, CUI Wen-guang (888)
Study on Transfer Behavior of Alcohol Flavor Monomers in Heated Cigarettes	XU Ru-yan, ZHU Meng-wei, RAO Xian-li, WANG Ming, HU Yu-xuan, LI Chao-jian, SHI Dong-fang, SHI Huai-bin, ZHENG Xiao-yun* (894)
Simultaneous Determination of Three Anti HIV Drugs in Serum by HPLC	GONG Ai-qin (904)
Analysis of Trace Elements in Crude Oil Imported from China-Myanmar Pipeline	LI Xiu-lin, HAN Jia-xi, LIU Han-qing, WU Meng-qi, WANG Qun-wei, YANG Xin-zhou* (908)
Rapid Determination of Cyanide in Water by Spectrophotometry with Intermediate Product of Unstable Konig System	LI Xiao-hui*, LIU Hai-jun, XU Yan-guang (915)
Development of Reference Materials for Heavy Metals in Soil Matrix	CHEN Jin, XU Dong-mei, TANG Xiao-fei, ZHANG Min* (920)
Synthesis of 2-(1,3-Dihydroisobenzofuran)-1-acetophenone Derivatives	ZHAO Mei-ling, LIU Qian-qian, ZHANG Cui-lan, LONG Si-hui*, LI Li*, LIU E (926)
Improved Synthesis of Rutaecarpine	CHEN Shi-yun, GAO Yong-hao, WU Zong-hao, GUI Shuang-ying, HE Yong* (931)
Synthesis and Analysis Method of Phenylhydrazine Sulfate	QI Kai-ni, GU Shun-lin, LIU Jian-wu, ZHANG Yue, YAN Sheng-hu* (936)

Sponsor: China Association for Instrumental Analysis
Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd.
Beijing Guohua Jingshi Consulting Co., Ltd.
Editor and Publisher: Chemical Reagents Editorial Board
(F2, Building No.6, Yard 8, Taiping Street,
Xicheng District, Beijing, China 100050)
Overseas Distributor: China International Books Trading Corporation
P.O.Box 399, Beijing, China(Code No.M591)

Honorary Editor-in-Chief: WANG Kui
Editor-in-Chief: HE Hui
Phone: (010) 58321793
Website: <https://hxsj.cbpt.cnki.net>
Subscription: Local Post Offices
Costal Distribution Code: 2-444

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2022008908

化学试剂,2022,44(6),791~800

综述与专论

丝氨酸蛋白酶有机小分子荧光探针的研究进展

尧功梅¹,庞承云²,蒙柳卫¹,李清^{*1}

(1.广西医科大学药学院,广西南宁 530021;2.广西医科大学附属肿瘤医院药学部,广西南宁 530021)

摘要:丝氨酸蛋白酶与人类生命健康息息相关。人体内丝氨酸蛋白酶水平的异常会引起疾病,危害人类生命安全。丝氨酸蛋白酶荧光探针对于检测体内和体外的丝氨酸蛋白酶数量、活性动态以及临床疾病的治疗有重要意义。因此,重点回顾了近5年来文献中报道的性能优异的常见丝氨酸蛋白酶荧光探针,以各种丝氨酸蛋白酶的显色标记为出发点,总结了目前丝氨酸蛋白酶的荧光探针的合成和性能研究,旨在为丝氨酸蛋白酶的荧光探针设计策略与检测应用提供理论参考。

关键词:丝氨酸蛋白酶;荧光探针;设计策略;发光机理;性能研究;检测应用

中图分类号:R944;R95 文献标识码:A 文章编号:0258-3283(2022)06-0791-10

Recent Advances on the Design Strategy and Application Status of Small Organic Molecular Fluorescent Probes of Serine Protease YAO Gong-mei¹, PANG Cheng-yun², MENG Liu-wei¹, LI Qing^{*1} (1. College of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2. Department of Pharmacy, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 791~800

Abstract: Serine proteases are closely related to human life and health. Abnormal levels of serine proteases in the human body can cause diseases and endanger human life. Serine protease fluorescent probes are of great significance for detecting the number and activity dynamics of serine proteases in vivo and in vitro, as well as the treatment of clinical diseases. Therefore, this review article focuses on reviewing common serine protease fluorescent probes with excellent performance in the past five years. Based on the chromogenic labeling of various serine proteases, this review summarizes the current synthesis and performance research of fluorescent probes for serine proteases, aiming to provide a theoretical reference for the design strategies and detection applications of fluorescent probes for serine proteases.

Key words: serine protease; fluorescent probe; design strategy; luminescence mechanism; performance study; detection application

在人体代谢过程中蛋白质水解起着重要作用,当蛋白酶活性发生异常时会引发系列疾病^[1]。丝氨酸蛋白酶起着主导作用,参与人体生死过程^[2]。首先,丝氨酸蛋白酶与传染病、过敏和致癌的发病机制有关,这3种疾病的病理表现形式都源于过度的炎症。丝氨酸蛋白酶可激活PAR-2,从而触发G蛋白信号通路参与生长因子的调控,进而诱导与细菌感染或病毒致病性相关的呼吸系统疾病的发生,现已证明它与肺炎链球菌在致病过程中的热诱导扩散明显相关^[3,4]。有研究证明,人机体在接触过敏原时,免疫系统的反应与丝氨酸蛋白酶的活动有密切联系,在感染中,病原体丝氨酸蛋白酶可能引起人类基因的表观遗传变化,并引发不良连锁反应^[5]。弹性蛋白酶型丝氨酸蛋白酶的活化可能导致癌症的发生^[6]。相反的是,Chien等^[7]发现人体中的丝氨酸蛋白酶家族可以通过诱导癌细胞凋亡,从而达到抑制

肿瘤发生发展的效果。它也是众多疾病可靠的标志物,可作为诊断和治疗各种疾病的潜在靶点。因此,成像酶对于研究酶的功能和疾病的诊断都有着重要意义^[8]。引入分子探针后,基于反射成像技术原理,荧光染料的激发波长照射组织,电荷耦合器件相机和带通滤波器将收集从组织表面发射回来的荧光图像,成像仪产生并检测分析信号,可生成活体的二维或三维图像^[9]。由此出发点

收稿日期:2022-01-05;网络首发日期:2022-03-08

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21762009);中央引导地方科技发展专项项目(桂科ZY20198020)。

作者简介:尧功梅(1996-),女,广西玉林人,硕士生,主要研究方向为新型荧光探针的研究与开发。

通讯作者:李清,E-mail:qinglixmu@163.com。

引用本文:尧功梅,庞承云,蒙柳卫,等.丝氨酸蛋白酶有机小分子荧光探针的研究进展[J].化学试剂,2022,44(6):791-800。

设计丝氨酸蛋白酶的荧光探针成为近年来的研究热点。本文概述了几种常见的丝氨酸蛋白酶,如二肽基态酶Ⅳ(Dipeptidyl peptidase-Ⅳ, DPP-Ⅳ)、成纤维细胞活化蛋白 α (Fibroblast activation protein- α , FAP- α)、人中性弹性蛋白酶(Human neutrophil elastase, HNE)、金属 β -内酰胺酶(Met- β -lactamases, MBLs)、乙酰胆碱酯酶(Acetylcholinesterase, AChE)和羧酸酯酶(Carboxylesterase, CES)的荧光探针结构及其药理活性,并综述其设计策略与应用现状。

1 二肽基态酶Ⅳ荧光探针

二肽基态酶Ⅳ(DPP-Ⅳ)是一种位于人体内细胞表面的丝氨酸蛋白酶,在人体内分泌和免疫功能活动中起着重要作用^[10],其不仅是治疗2型糖尿病的重要靶点,也与癌症的治疗有着紧密的联系。

Zou 等^[11]合成了荧光探针1,其与 DPP-Ⅳ结合后,在酶的水解作用下,甘氨酸脯氨酰(Gly-Pro)基团脱去后,苯环上的氨基暴露出来,探针的荧光发生改变。实验证明该探针可用于监测 DPP-Ⅳ的活性。

Liu 等^[12]研发了探针2,也是基于分子内电荷转移(ICT)机理产生荧光。Gly-Pro 与发光小分子(*E*)-2-(3-(4-氨基苯乙烯基)-5,5-二甲基环己-2-烯-1-亚基)丙二腈(ADM)有着微弱的推拉电子效应,当 Gly-Pro 与 DPP-Ⅳ结合后,酰胺键断裂, Gly-Pro 脱去,发射波长为 654 nm,荧光探针颜色从黄色变为粉红色,ICT 效应增强发出明显的开启近红外荧光信号。研究表明,探针2在 DPP-Ⅳ显像中表现出良好的特异性和敏感性。

Xing 等^[13]以萘酰亚胺为荧光团, DPP-Ⅳ抑制剂阿格列汀和利拉列汀作为识别基团偶联制备得到探针3、4。探针与 DPP-Ⅳ结合后,光诱导电

子转移(PET)效应被阻断,荧光恢复。探针3、4的相对荧光量子产率分别为86%和70%。其中探针3对 DPP-Ⅳ的 IC_{50} 值为 14.5 mmol/L,而探针4的 IC_{50} 为 66.6 mmol/L。研究结果表明,两种探针均显示出较好的荧光性质,探针3已被证实可用于 DPP-Ⅳ特异性识别和活细胞成像。

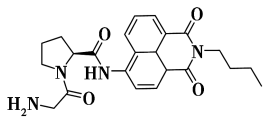
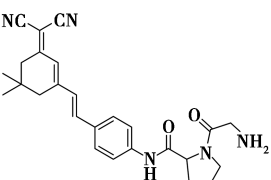
Ogasawara 等^[14]构建了一种基于 PET 机理的 DPP-Ⅳ红色荧光探针5。探针5未与 DPP-Ⅳ识别之前,由于氧杂蒽环的 N 原子与底物肽连接,分子 PET 效应很强,荧光几乎处于猝灭状态。当 DPP-Ⅳ与探针识别后,在酶的催化下,底物肽从探针分子上断裂,阻断了 PET 过程,荧光发射得以恢复。该探针已应用于在癌症患者的临床标本中灵敏地检测食管癌。

Guo 等^[15]报道了一例基于 ICT 机理的水溶性近红外(NIR)荧光探针6。该探针以含磺酸基的花青素染料为母体,在母体上引入 Gly-Pro 识别基团。其与 DPP-Ⅳ结合后,在酶的水解下,识别基团脱去,最大发射波长红移,分子内电荷发生变化,裸露的氨基有更强的供电子能力,探针6在生理条件下能发出明显的近红外荧光信号,能用于 DPP-Ⅳ的选择性成像。荧光探针的检测限为 0.19 ng/mL。该探针不仅能够在活细胞和肿瘤小鼠模型中实现高分辨率成像,还能用于检测2型糖尿病患者和健康人血清中 DPP-Ⅳ活性。

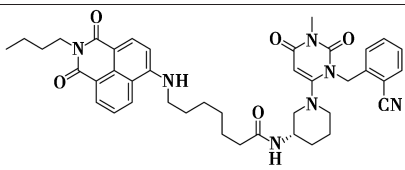
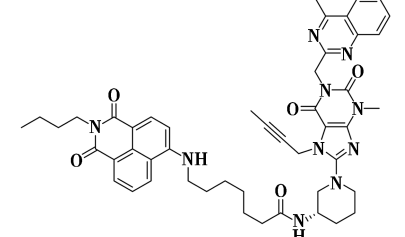
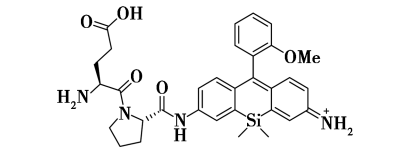
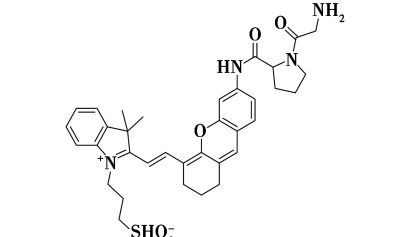
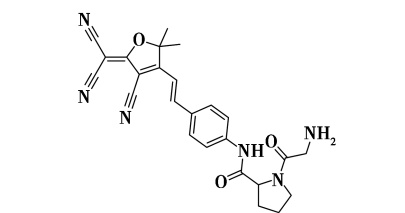
Wang 等^[16]以 2-(4-氨基苯乙烯基)-3-氰基-5,5-二甲基呋喃-2(5*H*)-亚乙基丙二腈(DCDHF-NH₂)为发光基团, Gly-Pro 作为 DPP-Ⅳ的识别单元,设计合成了荧光探针7。与 DPP-Ⅳ结合后,探针7被 DPP-Ⅳ催化降解,释放出发光基团 DCDHF-NH₂,检测液的荧光由黄色变为红色。数据表明,探针7在糖尿病早期诊断方面具有突出的潜力,有望应用于临床实践。

表1 二肽基态酶Ⅳ荧光探针

Tab.1 Dipeptidyl peptidase-Ⅳ fluorescent probe

DPP-Ⅳ荧光 探针序号	分子结构	识别单元	荧光基团	检测机理	检测限	量子产率/ %
探针1 ^[11]		甘氨酸脯氨酸	N-丁基-4-氨基-1,8-萘酰亚胺	ICT	0.78 ng/mL	45
探针2 ^[12]		甘氨酸脯氨酸	ADM	ICT	1 μ g/mL	文中未标明

续表

DPP-IV 荧光探针序号	分子结构	识别单元	荧光基团	检测机理	检测限	量子产率/%
探针 3 ^[13]		阿格列汀	<i>N</i> -丁基-4-氨基-1,8-萘酰亚胺	PET	文中未标明	86
探针 4 ^[13]		利拉列汀	<i>N</i> -丁基-4-氨基-1,8-萘酰亚胺	PET	文中未标明	70
探针 5 ^[14]		二肽谷氨酸脯氨酸	羟甲基罗丹明绿	PET	文中未标明	0.2
探针 6 ^[15]		甘氨酸脯氨酸	花菁素染料	ICT	0.19 ng/mL	文中未标明
探针 7 ^[16]		甘氨酸脯氨酸	DCDHF-NH ₂	ICT	5.8 ng/mL	0.25

2 成纤维细胞活化蛋白 α 荧光探针

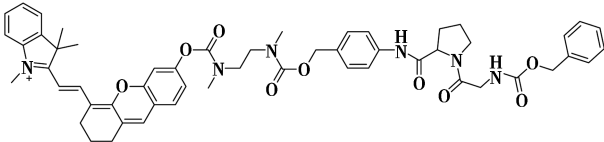
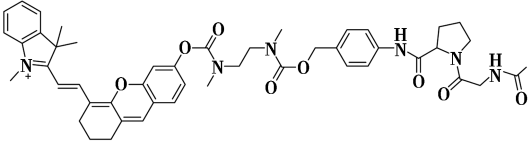
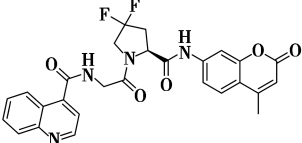
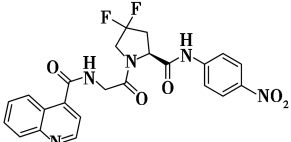
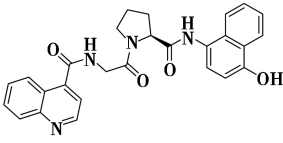
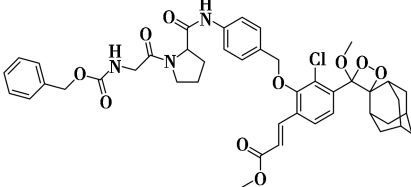
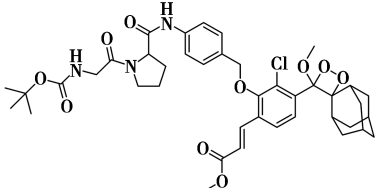
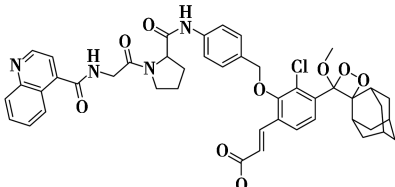
成纤维细胞活化蛋白- α (FAP- α) 也是一类重要的丝氨酸蛋白酶,对疾病的调控有着重要作用^[17]。

Miao 等^[18]报道了一种基于 ICT 机理的荧光探针 8、9。探针 8、9 以氨基甲酸酯基为连接基团,将能量供体肽底物羧苄氧基甘氨酸脯氨酸或乙酰基甘氨酸脯氨酸和能量受体近红外半菁染料结合而设计的。两种探针最初都是非荧光的,在 FAP- α 存在下,肽底物和氨基甲酸酯基之间的酰胺键断裂形成中间体苯胺,发生消除反应后,近红外半菁染料具有增强的氧原子供电子能力。两种探针的最大吸收峰发生变化,探针发出剧烈荧光。该探针可用于异常瘢痕纤维病变皮肤细胞的特异性成像。

De decker 等^[19]基于其前期研发的 FAP 抑制剂的基础上设计合成了 11 个荧光探针,其中探针 10、11 和 12 是系列中的最优化合物。该目标化合物选择了 3 种荧光基团:7-氨基-4-甲基香豆素、对硝基苯胺和 4-氨基萘酚。实验结果表明,吡咯烷环上的二氟化显著提高了 FAP- α 的亲合力,同时也增加了亲脂性,降低了溶解度。氨基酸残基的选择上甘氨酸比丙氨酸对 FAP- α 有更高的亲和力。探针 10~12 的裂解效率和 FAP- α 选择性等于或超过迄今为止报道的肽基 FAP- α 底物,证明了 4-氨基萘酚探针能成功应用于生物样品中空间定位 FAP- α 活性。

Fu 等^[20]设计了 3 种基于化学引发电子交换发光(CIEEL)机制的探针 13~15。3 种探针分别以 *N*-末端苄氧羰基、*N*-叔丁氧羰基或 *N*-喹啉-4-羧

表 2 成纤维细胞活化蛋白 α 荧光探针
Tab.2 Fibroblast activation protein α fluorescent probe

FAP-α 荧光 探针序号	分子结构	识别单元	荧光 基团	检测 机理	检测限	量子产 率/%
探针 8 ^[18]		(2-(2-乙酰基吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)氨基甲酸苄酯(肽底物)	CyOH	ICT	文中未标明	文中未标明
探针 9 ^[18]		N-(2-(2-乙酰基吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)乙酰胺(肽底物)	CyOH	ICT	文中未标明	文中未标明
探针 10 ^[19]		N-(2-(3,3-二氟吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)喹啉-4-甲酰胺	7-氨基-4-甲基香豆素	ICT	文中未标明	文中未标明
探针 11 ^[19]		N-(2-(3,3-二氟吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)喹啉-4-甲酰胺	对硝基苯胺	ICT	文中未标明	文中未标明
探针 12 ^[19]		N-(2-(3,3-二氟吡咯烷-1-基)-2-氧代乙基)喹啉-4-甲酰胺	4-氨基苯酚	ICT	文中未标明	文中未标明
探针 13 ^[20]		甘氨酸脯氨酸	金刚亚甲基-二氧杂环丁烷	CIEEL	0.785 ng/mL	文中未标明
探针 14 ^[20]		甘氨酸脯氨酸	金刚亚甲基-二氧杂环丁烷	CIEEL	0.965 ng/mL	文中未标明
探针 15 ^[20]		甘氨酸脯氨酸	金刚亚甲基-二氧杂环丁烷	CIEEL	0.587 ng/mL	文中未标明

酸来抑制化学激发能,都以金刚亚甲基-二氧杂环丁烷为发光基团。与 FAP-α 结合后,脯氨酸的酰胺键断开,苯甲酸酯立即衰变到基态,将会诱导绿光能量的释放。探针 13 的特异性优于探针 14 和 15。数据表明,探针 13 是一种很有潜力的 FAP-α

体外实时检测工具。

3 人中性弹性蛋白酶荧光探针

人中性粒细胞弹性蛋白酶(HNE)是一种丝氨酸蛋白酶,属于人嗜中性粒细胞、单核细胞、巨

噬细胞和内皮细胞产生的水解酶家族^[21]。

Schulz-Fincke 等^[22]研发了基于 FRET 机理发光的荧光探针 16。FRET 信号的产生是由于有两个色氨酸残基足够靠近活性位点,由此产生的 Ser195-邻氨基甲酸酯配合物的苯环作为荧光团,被附近的色氨酸部分激发。色氨酸又可能激发邻氨基苯甲酸荧光团,导致香豆素部分的激发和 490 nm 的发射。该探针具有足够的荧光标记,可以在低纳米摩尔范围内对 HNE 进行凝胶内荧光检测。

Schulz-Fincke 等^[23]基于 PET 机理设计合成了荧光探针 17。荧光探针 17 是将识别基团磷酸肽的乙炔苯基部分和氟硼二吡咯染料(BODIPY)荧光团结合,用含 1,2,3-三唑的连接体结构作为连接基团设计合成。探针 17 与 HNE 结合后,

BODIPY 荧光团发出剧烈的红色荧光。该探针具有较高的特异性。这种新的探针有望成为进一步研究 HNE 在多种炎症疾病中的病理生理作用的有价值的工具。

Liu 等^[24]设计了一种新型的半菁类荧光团近红外探针 18,探针 18 以五氟乙基作为识别基团,半菁染料为荧光基团。探针与 HNE 结合后产生强烈的红色荧光。其已成功应用于 ALI 模型小鼠进行时空成像,也成为临床诊断 ALI 等肺部疾病的一个有前途的新工具。

Zhang 等^[25]基于 ICT 机理设计合成了近红外荧光探针 19。探针 19 与 HNE 识别后,释放出具有显著荧光信号的游离 TMN-NH₂,在近红外波段发出明亮的荧光发射信号。探针 19 可被开发用于生物分析和临床检查的许多其他应用。

表 3 人中性弹性蛋白酶荧光探针

Tab.3 Fluorescent probe of human neutrophil elastase

HNE 荧光 探针序号	分子结构	识别单元	荧光基团	检测 机理	检测限	量子产率/ %
探针 16 ^[22]		邻氨基苯甲酸	香豆素 343	FRET	文中未标明	文中未标明
探针 17 ^[23]		磷酸肽	BODIPY	PET	文中未标明	文中未标明
探针 18 ^[24]		五氟乙基	半菁染料	ICT	29.6 ng/mL	文中未标明
探针 19 ^[25]		五氟乙酰胺	二氰异弗尔酮	ICT	5.60 ng/mL	文中未标明

4 乙酰胆碱酯酶荧光探针

乙酰胆碱酯酶(AChE)和丁酰胆碱酯酶(BChE)都是丝氨酸水解家族的重要成员^[26]。对 AChE 抑制剂进行筛选,在临床医学、药品研发、食品卫生、环境卫生等方面具有非常重要的意义。

Shi 等^[27]通过偶联亮氨酸和四苯乙烯,研制了 pH 敏感的聚合诱导发射(AIE)探针 20。它能

根据环境 pH 的变化产生荧光强度的变化,能灵敏、选择性地对脲酶和 AChE 进行检测。在酸性条件下,荧光猝灭。当 pH 值为碱性时,由于探针 20 的疏水性质,它表现出较强的荧光。AChE 能将其底物 ACh 水解成乙酸和胆碱,生成的乙酸增加了溶液的酸性,从而促进了探针 20 的质子化,降低了其荧光强度,利用这一特性,可对样

品中的 AChE 进行检测。

Yang 等^[28]合成了一种水溶性荧光冠烯探针 21,其选择光化学稳定性和电子平面扩展 π 共轭结构的冠状烯衍生物为荧光基团。多巴胺在空气中被氧化形成聚多巴胺,聚多巴胺表现为宽带吸收。它与探针 21 的发射带重叠良好,促进了从激活的探针 21 到聚多巴胺的有效能量转移。具有较大平面 π 共轭结构的探针 21 通过强 π 堆积和疏水相互作用与聚多巴胺结合,可猝灭探针 21 的荧光。AChE 催化乙酰硫代胆碱水解后荧光恢复,检测限为 0.05 mU/mL。该方法还具有较高的选择性,已成功应用于人血清中 AChE 活性的检测和湖水中 AChE 抑制剂的检测。

Zhang 等^[29]设计了一种能灵敏检测 AChE 的荧光探针 22,其噻唑与酚羟基部分可与 Cu^{2+} 发生配位,形成探针 22- Cu^{2+} 配合物。荧光探针 22- Cu^{2+} 配合物可被 ACh 水解产生的胆碱裂解,随着胆碱与 Cu^{2+} 的竞争性结合,荧光基团释放,成为能检测 AChE 活性的“开关”。

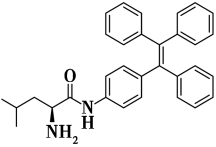
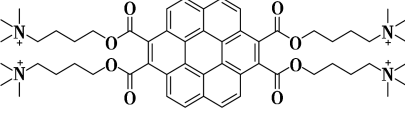
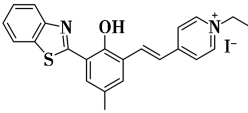
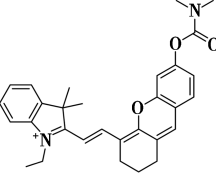
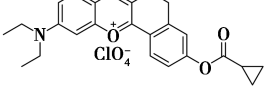
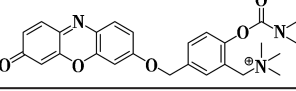
Ma 等^[30]合成了基于 ICT 发光原理的荧光探

针 23。荧光探针 23 以半花青素为荧光基团, N,N -二甲基乙酰胺为识别基团。探针 23 被 AChE 识别后, N,N -二甲基甲氨甲酰部分发生裂解,探针 ICT 过程恢复,发生荧光变化。探针 23 已被成功应用于监测维甲酸或缺氧刺激下 PC12 细胞内源性乙酰胆碱酯酶活性的动态变化。

Cao 等^[31]开发了一种长发光荧光探针 24,探针 24 以 10-(二乙氨基)-3-羟基-5,6-二氢苯并[c]咕吨-12-高氯酸铵(NBD)作为荧光基团,环丙酮为识别基团设计合成的。当探针 24 被 BChE 识别后,环丙酮的酯基断裂,发光团 NBD 释放出来,发出很强的红色荧光。研究表明,探针 24 有望成为 BChE 相关疾病研究的敏感工具。

Wu 等^[32]开发了对 AChE 特异性识别的荧光探针 25,其是将识别基团二甲基氨基甲酸酯胆碱和荧光基团试卤灵用 4-羟基苯甲醇连接起来合成的。探针 25 与 AChE 结合后,释放出荧光基团试卤灵,探针 25 恢复荧光信号。研究表明,该探针还可以监测正常小鼠大脑中 AChE 活动的分布。

表 4 乙酰胆碱酯酶荧光探针
Tab.4 Acetylcholinesterase fluorescent probe

AChE 荧光 探针序号	分子结构	识别 单元	荧光 基团	检测 机理	检测限	量子产率/%
探针 20 ^[27]		亮氨酸	四苯乙烯	AIE	文中未标明	文中未标明
探针 21 ^[28]		CTCA	CTCA	PET	0.05 mU/mL	文中未标明
探针 22 ^[29]		噻唑和酚羟基	HBTP	ESIPT	12.50 nmol/mL	文中未标明
探针 23 ^[30]		N,N -二甲基 乙酰胺	半花青素	ICT	0.1173 U/mL	30
探针 24 ^[31]		环丙酮	NBD	ICT	29.0 ng/mL	63±4
探针 25 ^[32]		二甲基氨基 甲酸酯胆碱	试卤灵	ICT	0.017 U/mL	文中未标明

5 羧酸酯酶(CES)荧光探针

羧酸酯酶(CES)是丝氨酸水解酶超家族的重要成员^[33]。CES1 分布广泛,可催化各种底物中的酯键断裂^[34]。

Tian 等^[35]以 BODIPY-羧基荧光基团为母体设计合成了荧光探针 26。因其羧基 BODIPY 的酯类衍生物包含一个大的羧基和一个小的醇基,能与 CES1 特异性结合。与 CES1 发生特异性识别,吸电子性强的酯类水解为吸电子性弱的羧酸盐阴离子,激发了 595 nm 左右的荧光发射的急剧增加,实现荧光响应。研究显示探针 26 具有细胞膜透性,成功地用于监测 CES1 在活细胞、组织切片和动物中的活性。

Wang 等^[36]研发出了荧光探针 27。该探针以二氰基亚甲基-4*H*-吡喃(DCM)作为荧光基团,亮氨酸作为荧光猝灭的开关。探针与 CES2 反应后,释放出荧光团 DCM,肉眼可观察到颜色由浅黄色变为玫瑰红。数据表明该探针还实现了原位和体内评估抗癌前药 CPT-11 在原位结肠小鼠模型肿瘤病变的治疗效果。

Ma 等^[37]报道了一种 BODIPY 为荧光团的探针 28。探针 28 本身具有强烈的荧光现象,当其与 CES1 结合后,探针中的羧酸键被水解成吸电子的羧基,探针荧光强度降低,荧光信号发生变化。研究表明,探针 28 可以选择性检测 CES1,同时也是一种很有前途的农药检测工具。

Wang 等^[38]研制了一种荧光探针 29 用于检

测 CES 活性。探针 29 有 3 个酯基,实现了多位点识别和检测限低的优点。酯基被 CES1 识别后,酯基水解成羧酸酯酶,探针电负性和荧光强度增强。荧光探针 29 能够特异性识别 CES1,已成功用于监测活细胞中 CES1 的活性。

Zhang 等^[39]合成了荧光探针 30。荧光探针 30 以 1,3-二氯-7-羟基-2*H*-螺[吡啶-9,10-环己烷]-20,50-二烯-2,40-二酮(DSAO)作为荧光基团,苯甲酸作为识别基团。加入 CES2 后,荧光探针 30 的酯基断裂,释放出 DSAO 荧光团,引起荧光变化。研究表明,荧光探针 30 可作为一种近红外荧光探针检测复杂生物体系中 CES2 的活性。

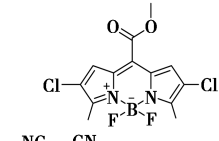
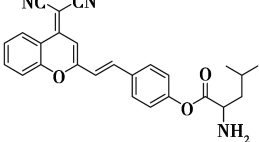
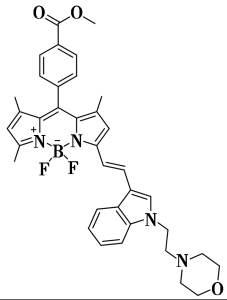
Dai 等^[40]根据聚合诱导发射(AIE)设计了荧光探针 31,未添加 CES 前,荧光基团的荧光被阻断,荧光探针 31 的识别基团酯基被 CES 识别后,酯基水解成羧基,水解产物的荧光强度增强。研究表明,荧光探针 31 不仅能选择性检测 CES1 还能检测出西维因。

Zhang 等^[41]开发了新型红色荧光探针 32,探针以乙酰基作为识别基团,乙酰基与 CES 特异性识别后,乙酰氧基而迅速断裂,以二氰异弗尔酮为主的荧光团被释放,产生显著的近红外荧光信号和开启荧光响应,其 Stokes 位移大于 100 nm。结果表明探针 32 可作为一种潜在的 CES 指标应用于临床与 CES 相关疾病的诊断和合理用药。

Guo 等^[42]设计出一种水溶性荧光探针 33,该

表 5 羧酸酯酶荧光探针

Tab.5 Carboxylesterase fluorescent probe

CES 荧光 探针序号	分子结构	识别单元	荧光基团	检测 机理	检测限	量子产率/%
探针 26 ^[35]		甲酸甲酯	BODIPY-羧基	PET	0.05 mU/mL	文中未标明
探针 27 ^[36]		亮氨酸	DCM	ICT	0.087 μg/mL	文中未标明
探针 28 ^[37]		甲酸甲酯	BODIPY	ICT	2.15 μg/mL	53

续表

CES 荧光 探针序号	分子结构	识别单元	荧光基团	检测 机理	检测限	量子产率/%
探针 29 ^[38]		甲酸甲酯	BODIPY	ICT	2.50 ng/mL	49
探针 30 ^[39]		苯甲酸	DSAO	ICT	0.03 mg/mL	文中未标明
探针 31 ^[40]		甲酸甲酯	咪唑基	AIE	27.8 ng/mL	43
探针 32 ^[41]		乙酰基	二氰异弗尔酮	ICT	2.76×10^{-3} U/mL	文中未标明
探针 33 ^[42]		乙酰基	4-(2-(6-乙酰氧基萘-2-基)乙烯基)吡啶-1-鎓	ICT	0.98×10^{-6} U/mL	32

探针具有良好的水溶性,识别基团乙酸酯与 CES 结合后,乙酰基被水解成羟基,释放出荧光代谢物,并出现肉眼可见的绿色到黄色的颜色变化。该探针已成功应用于斑马鱼活体羧酸酯酶活性的检测和成像。

6 结论与展望

丝氨酸蛋白酶在许多生理和病理过程中起着关键作用,并且在许多临床适应症中被证明是诊断和治疗靶点。蛋白酶参与多种生理和病理途径,丝氨酸蛋白酶的异常会引起一系列疾病。设计合成各种丝氨酸蛋白酶荧光探针,实时监测细胞内的丝氨酸蛋白酶活性和动态对研究细胞功能、细胞过程和相关疾病有着重要的意义。

未来的丝氨酸蛋白酶荧光探针研究的发展方向应包括:(1)增强靶向性和灵敏度,开发对丝氨酸蛋白酶的特异性识别,提高检测灵敏性;(2)优

化荧光性能,开发多种机制的丝氨酸蛋白酶荧光探针如双光子、纳米、近红外荧光探针等;(3)提高生物相容性,在结构设计上选择如多肽、磷酸酯、聚乙二醇等一些生物相容性好的分子,增加细胞膜穿透性,降低细胞毒性;(4)开发荧光成像与其他成像方式相结合的多模态成像,提高成像的安全性和检测的准确性;(5)设计长波长的荧光探针,早日应用于体内成像。开发出适合丝氨酸蛋白酶相关疾病早期诊断的荧光探针,对于丝氨酸蛋白酶相关疾病的病理研究和药物开发将具有重大的意义。

参考文献:

- [1] XU P, HUANG M. Small peptides as modulators of serine proteases [J]. *Curr. Med. Chem.*, 2020, **27**(22): 3 686-3 705.
- [2] HARISH B S, UPPULURI K B. Microbial serine protease inhibitors and their therapeutic applications [J]. *Int. J. Bi-*

- ol. Macromol.*, 2018, **107** (Pt B): 1 373-1 387.
- [3] MENOU A, DUITMAN J, FLAJOLET P, et al. Human airway trypsin-like protease, a serine protease involved in respiratory diseases [J]. *Am. J. Physiol. : Lung Cell. Mol. Physiol.*, 2017, **312** (5): L657-L668.
- [4] CHAO Y, BERGENFELZ C, SUN R, et al. The serine protease htra plays a key role in heat-induced dispersal of pneumococcal biofilms [J]. *Sci. Rep.*, 2020, **10** (1): 22 455.
- [5] TAMMEN S A, FRISO S, CHOI S W. Epigenetics: The link between nature and nurture [J]. *Mol. Aspects Med.*, 2013, **34** (4): 753-764.
- [6] CHOUDHURY R, DAS P, DE T, et al. 115 KDa serine protease confers sustained protection to visceral leishmaniasis caused by leishmania donovani via IFN-gamma induced down-regulation of TNF-alpha mediated MMP-9 activity [J]. *Immunobiology*, 2013, **218** (1): 114-126.
- [7] CHIEN J, CAMPIONI M, SHRIDHAR V, et al. Htra serine proteases as potential therapeutic targets in cancer [J]. *Curr. Cancer Drug Targets*, 2009, **9** (4): 451-468.
- [8] LI J, CHEN K, LIU H, et al. Activatable near-infrared fluorescent probe for in vivo imaging of fibroblast activation protein-alpha [J]. *Bioconjug. Chem.*, 2012, **23** (8): 1 704-1 711.
- [9] RAZGULIN A, MA N, RAO J. Strategies for in vivo imaging of enzyme activity: An overview and recent advances [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40** (7): 4 186-4 216.
- [10] 耿蔚然. 利格列汀促进大鼠心脏低温保存后心功能恢复的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
- [11] ZOU L W, WANG P, QIAN X K, et al. A highly specific ratiometric two-photon fluorescent probe to detect dipeptidyl peptidase IV in plasma and living systems [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2017, **90**: 283-289.
- [12] LIU T, NING J, WANG B, et al. Activatable near-infrared fluorescent probe for dipeptidyl peptidase IV and its bioimaging applications in living cells and animals [J]. *Anal. Chem.*, 2018, **90** (6): 3 965-3 973.
- [13] XING J, GONG Q, ZHANG R, et al. A novel non-enzymatic hydrolytic probe for dipeptidyl peptidase IV specific recognition and imaging [J]. *Chem. Commun.*, 2018, **54** (63): 8 773-8 776.
- [14] OGASAWARA A, KAMIYA M, SAKAMOTO K, et al. Red fluorescence probe targeted to dipeptidylpeptidase-IV for highly sensitive detection of esophageal cancer [J]. *Bioconjug. Chem.*, 2019, **30** (4): 1 055-1 060.
- [15] GUO X, MU S, LI J, et al. Fabrication of a water-soluble near-infrared fluorescent probe for selective detection and imaging of dipeptidyl peptidase IV in biological systems [J]. *J. Mater. Chem. B*, 2020, **8** (4): 767-775.
- [16] WANG J, ZHANG L, QU Y, et al. Long-wavelength ratiometric fluorescent probe for the early diagnosis of diabetes [J]. *Anal. Chem.*, 2021, **93** (33): 11 461-11 469.
- [17] STEIN S, WEBER J, NUSSER-STEIN S, et al. Deletion of fibroblast activation protein provides atheroprotection [J]. *Cardiovasc. Res.*, 2021, **117** (4): 1 060-1 069.
- [18] MIAO Q, YEO D C, WIRAJA C, et al. Near-infrared fluorescent molecular probe for sensitive imaging of keloid [J]. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 2018, **57** (5): 1 256-1 260.
- [19] DE DECKER A, VliegE G, VAN ROMPAEY D, et al. Novel small molecule-derived, highly selective substrates for fibroblast activation protein [J]. *ACS Med. Chem. Lett.*, 2019, **10** (8): 1 173-1 179.
- [20] FU A, WANG H, HUO T, et al. A novel chemiluminescence probe for sensitive detection of fibroblast activation protein-alpha in vitro and in living systems [J]. *Anal. Chem.*, 2021, **93** (16): 6 501-6 507.
- [21] JAKIMIUK K, GESEK J, ATANASOV A G, et al. Flavonoids as inhibitors of human neutrophil elastase [J]. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2021, **36** (1): 1 016-1 028.
- [22] SCHULZ-FINCKE A C, TIKHOMIROV A S, BRAUNE A, et al. Design of an activity-based probe for human neutrophil elastase: Implementation of the lossen rearrangement to induce forster resonance energy transfers [J]. *Biochemistry*, 2018, **57** (5): 742-752.
- [23] SCHULZ-FINCKE A C, BLAUT M, BRAUNE A, et al. A bodipy-tagged phosphono peptide as activity-based probe for human leukocyte elastase [J]. *ACS Med. Chem. Lett.*, 2018, **9** (4): 345-350.
- [24] LIU S Y, XIONG H, LI R R, et al. Activity-based near-infrared fluorogenic probe for enabling in vitro and in vivo profiling of neutrophil elastase [J]. *Anal. Chem.*, 2019, **91** (6): 3 877-3 884.
- [25] ZHANG W, ZHOU Y, LI D, et al. Near-infrared fluorescent probe with large stokes shift for detecting human neutrophil elastase in living cells [J]. *Spectrochim. Acta A*, 2021, **252**: 119 533.
- [26] 张淑芳. 鸭血乙酰胆碱酯酶近红外荧光检测探针的研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2018.
- [27] SHI L, LIU Y, WANG Q, et al. A pH responsive AIE probe for enzyme assays [J]. *Analyst*, 2018, **143** (3): 741-746.
- [28] YANG M, ZHOU H, ZHANG Y, et al. Controlled synthesis of polydopamine: A new strategy for highly sensitive fluorescence turn-on detection of acetylcholinesterase activity [J]. *Microchim. Acta*, 2018, **185** (2): 132.

- [29] ZHANG P, FU C, XIAO Y, et al. Copper(II) complex as a turn on fluorescent sensing platform for acetylcholinesterase activity with high sensitivity [J]. *Talanta*, 2020, **208**: 120-126.
- [30] MA J, SI T, YAN C, et al. Near-infrared fluorescence probe for evaluating acetylcholinesterase activity in pc12 cells and in situ tracing ache distribution in zebrafish [J]. *ACS Sens.*, 2020, **5**(4): 1-246.
- [31] CAO T, ZHENG L, ZHANG L, et al. A highly butyrylcholinesterase selective red-emissive mitochondria-targeted fluorescent indicator imaging in liver tissue of mice [J]. *Sensor. Actuat. B-Chem.*, 2021, **330**: 129-134.
- [32] WU X, AN J M, SHANG J, et al. A molecular approach to rationally constructing specific fluorogenic substrates for the detection of acetylcholinesterase activity in live cells, mice brains and tissues [J]. *Chem. Sci.*, 2020, **11**(41): 11 285-11 292.
- [33] 丁乐乐, 田镇豪, 侯洁, 等. 基于 BODIPY 母核的羧酸酯酶 1 特异性荧光探针底物的设计研发 [J]. *药学学报*, 2017, **52**(1): 58-65.
- [34] GHODKE V M, PUNEKAR N S. Environmental role of aromatic carboxylesterases [J]. *Environ. Microbiol.*, 2021, <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15774>.
- [35] TIAN Z, DING L, LI K, et al. Rational design of a long-wavelength fluorescent probe for highlyselective sensing of carboxylesterase 1 in living systems [J]. *Anal. Chem.*, 2019, **91**(9): 5 638-5 645.
- [36] WANG Y, YU F, LUO X, et al. Visualization of carboxylesterase 2 with a near-infrared two-photon fluorescent probe and potential evaluation of its anticancer drug effects in an orthotopic colon carcinoma mice model [J]. *Chem. Commun.*, 2020, **56**(32): 4 412-4 415.
- [37] MA C, WU J, SUN W, et al. A near infrared bodipy-based lysosome targeting probe for selectively detection of carboxylesterase 1 in living cells pretreated with pesticides [J]. *Sensor. Actuat. B-Chem.*, 2020, **325**: 128-129.
- [38] WANG Y, MA C, ZHENG X, et al. A red emission multiple detection site probe for detecting carboxylesterase 1 based on bodipy fluorophore [J]. *J. Photochem. Photobiol. A*, 2021, **421**: 113-116.
- [39] ZHANG X Y, LIU T T, LIANG J H, et al. A highly selective near infrared fluorescent probe for carboxylesterase 2 and its biological applications [J]. *J. Mater. Chem. B*, 2021, **9**(10): 2 457-2 461.
- [40] DAI J, ZHAO Y, HOU Y, et al. Detection of carboxylesterase 1 and carbamates with a novel fluorescent protein chromophore based probe [J]. *Dyes Pigm.*, 2021, **192**: 109-110.
- [41] ZHANG J, PENG Y, LI Y, et al. Development of a near-infrared fluorescent probe with large Stokes shift for carboxylesterases detection and its application in living systems [J]. *Dyes Pigm.*, 2022, **198**: 109-110.
- [42] GUO F F, WU W N, ZHAO X L, et al. A water-soluble lysosome-targetable fluorescent probe for carboxylesterase detection and its application in biological imaging [J]. *Dyes Pigm.*, 2022, **199**: 110-111.

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2022008925

化学试剂,2022,44(6),801~809

基于纳米材料的比色适配体传感器的应用

韩高寰,李静*,张冰,王之飞,汤顺洁,赵志换,高文超*

(太原理工大学 生物医学工程学院,山西 太原 030024)

摘要:比色分析是一种检测目标物的方法,具有肉眼可见、操作方便、快捷、实时等优点,被广泛应用于医疗分析、环境监测、食品安全和质量分析等领域。纳米材料具有优良的光学性能和催化性能,目前通常被当作信号转化元件应用在比色传感器中。核酸适配体(Aptamer, Apt)具有特异性识别功能且易于修饰和编辑,在比色传感器的设计中主要作为识别元件,也可以作为信号转化元件和信号放大元件。基于纳米材料的比色适配体传感器同时具备了两种材料的优点,可以实现对大多数目标物的检测,是极具潜力的比色传感器研究方向。总结了基于纳米材料和 Apt 结合的比色传感器的构建方案和显色原理,并简要归纳了其在农药、癌症标志物、生物小分子、抗生素、重金属离子等目标物检测当中的研究进展。

关键词:传感器;适配体;纳米材料;分析检测

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2022)06-0801-09

Colorimetric Aptasensors Based on Nanomaterials and Its Applications HAN Gao-huan, LI Jing*, ZHANG Bing, WANG Zhi-fei, TANG Shun-jie, ZHAO Zhi-huan, GAO Wen-chao* (School of Biomedical Engineering, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 801~809

Abstract: Colorimetric analysis is an efficient method for detecting objects, it has been widely used in medical analysis, environmental monitoring, food safety, and quality analysis owing to their visible, easy/fast operation, high real-time merits, and so on. While nanomaterials have excellent optical and catalytic properties, which are often used as signal conversion components in colorimetric sensors. Aptamers with specific recognition functions, are easy to be modified and edited, therefore have been mainly used as recognition components for designing colorimetric sensors, as well as signal conversion and amplification components. The colorimetric sensors based on the combination of nanomaterials and aptamers integrate the advantages of each component and can realize the detection of most target objects, which is one promising colorimetric sensor research area. In this review article, the construction scheme and color rendering principle of the colorimetry Aptasensors are summarized. Furthermore, the main applications of detecting pesticides, cancer markers, biologically small molecules, antibiotics, heavy metal ions, and other target objects are also briefly summarized.

Key words: sensor; aptamer; nanomaterials; analytical detection

比色分析作为获取目标物浓度信号的重要手段之一,最早在公元前就被用于目标物的检测中。早期的比色分析方法主要利用化合物之间的特异性结合显色,应用范围很窄,且精度较低。但因其具有检测方便快捷、实时、不需要复杂的仪器和专业人员等优点,引起了研究人员的关注。

扩大检测范围和降低检测限是比色分析主要研究的问题,寻找合适的信号转化元件和识别元件是这一问题的核心。随着对纳米材料研究的深入,研究人员发现纳米材料具备独特光学、电学、磁学及化学性质^[1],是一种十分理想的比色传感器信号转化元件,同时还可以作为构建比色传感器的良好载体。核酸适配体(Aptamer, Apt)本质

上是一段具备特异性识别功能的核酸序列,通过合适的设计可以特异性识别细胞、病毒、生物大分子、有机化合物、无机化合物、金属离子等目标

收稿日期:2022-01-12;网络首发日期:2022-03-08

基金项目:山西省面上青年基金资助项目(201901D211102);国家自然科学基金青年基金资助项目(21605111);山西省回国留学人员科研资助项目(2020-053)。

作者简介:韩高寰(1994-),男,湖北荆州人,硕士生,主要研究方向为生物传感器。

通讯作者:李静, E-mail: lijing@tyut.edu.cn; 高文超, E-mail: gaowenchao@tyut.edu.cn。

引用本文:韩高寰,李静,张冰,等.基于纳米材料的比色适配体传感器的应用[J].化学试剂,2022,44(6):801-809。

物^[2,3],极大增加了比色分析的检测范围,是一种十分有效的识别元件。利用 Apt 和纳米材料设计的传感器同时具备了两种材料的优点,相比于传统比色传感器而言,它的检测目标更广泛,超过传统的抗体-抗原体系以及化学小分子识别体系;产生比色响应的方式更多,传感器的设计方法更加多样。文章总结了基于纳米材料的比色适配体传感器的构建,重点综述了比色适配体传感器的主要分类及其在分析检测中的应用进展,并对其未来发展趋势进行了展望。

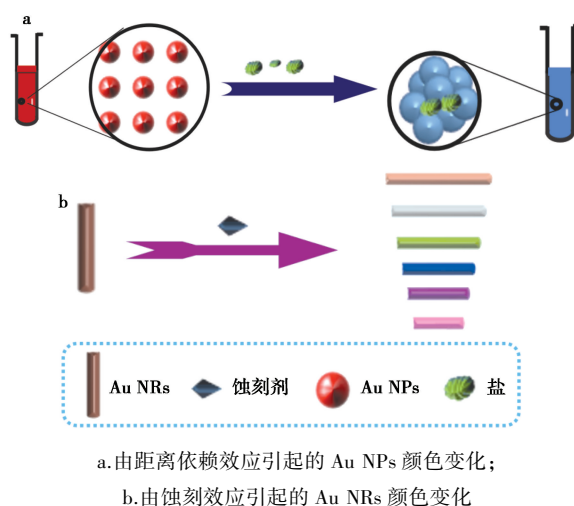
1 基于纳米材料的比色适配体传感器的构建

在纳米材料和 Apt 结合的比色传感器的构建中,两者的结合方式主要有两种:一种是物理吸附作用,另一种是共价键结合^[4]。物理吸附主要依赖于纳米材料和适配体之间的静电相互作用、范德华力或氢键^[5];共价键结合的常用方式包括金属-S 键结合^[6]和借助链霉素和素-生物素系统修饰后的特异性结合等^[7]。

此外,近年来杂交链式反应(HCR)^[8,9]、滚环扩增反应(RCA)^[10,11]等一系列等温扩增技术的发展,使基于 Apt 构建的比色传感器同时具备了信号放大的功能。根据不同的显色机制,从依赖纳米粒子光学特性的比色传感器和利用催化底物显色的比色传感器来阐述基于纳米材料和适配体结合的比色传感器的构建。

1.1 基于纳米材料光学性能的比色适配体传感器

在比色检测中,由纳米材料的局域表面等离子共振(LSPR)变化引起的颜色变化是一个重要的显色机制^[12]。LSPR 是由金属纳米材料的表面电子云分布引起的,它在电磁波谱的可见光区提供了独特的光电特性。通过对金属纳米材料的形状、尺寸、团聚状态做出调控,可以使表面等离子共振光谱发生蓝移或红移^[13]。典型的如图 1a 左所示,金纳米粒子(Au NPs)表面通常携带负电荷,可以在中性溶液中保持稳定,此时溶液通常为红色。加入盐溶液后,Au NPs 表面电荷被中和后发生聚集现象,如图 1a 右所示,此时溶液为蓝色,从而实现比色响应。还可以通过蚀刻剂影响纳米材料的形状和大小,实现比色信号响应。如图 1b 所示,金纳米棒(Au NRs)被蚀刻剂蚀刻后,根据蚀刻程度不同,可以呈现出丰富的颜色变化^[14]。



a.由距离依赖效应引起的 Au NPs 颜色变化;

b.由蚀刻效应引起的 Au NRs 颜色变化

图 1 Au 纳米材料的 LSPR 变化

Fig.1 LSPR changes of Au nanomaterials

Apt 可以作为控制纳米材料之间的距离,使纳米材料发生距离依赖 LSPR 变化的重要元件。依据这个特性,通过目标物与 Apt 特异性结合或者加入盐溶液和 Apt 共同影响纳米材料的聚集状态,从而产生比色响应,是一种简单有效的比色传感器设计思路,其设计方案如图 2 所示。

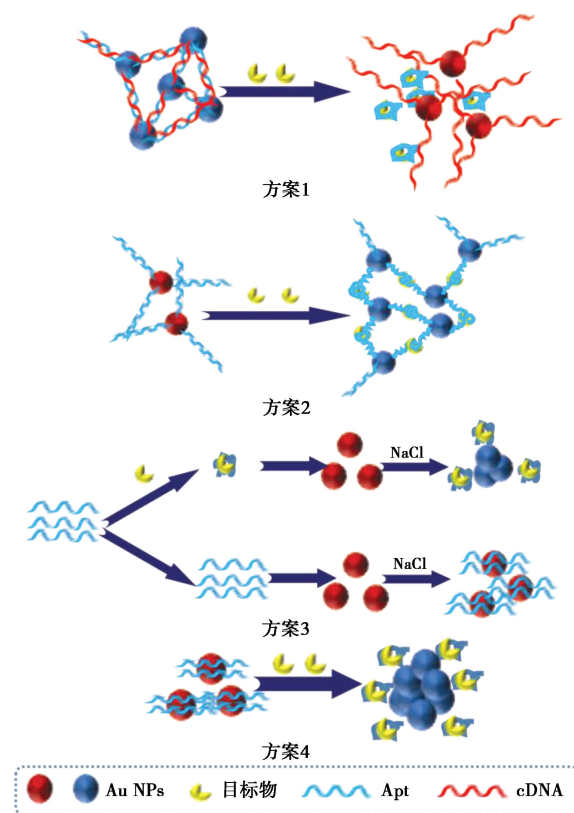


图 2 利用 Au NPs 构建的比色适配体传感器原理图

Fig.2 Schematic diagram of colorimetric Apt-sensor constructed using Au NPs

Nguyen 等^[15]利用静电作用将 Apt 与 Au NPs

配合,在高盐溶液中保护 Au NPs 不聚集。在类毒素-A 存在的情况下,通过类毒素-A 与 Apt 特异性较强的结合,将 Apt 从 Au NPs 表面置换,导致 Au NPs 被盐溶液聚集,溶液由酒红色变为蓝色,产生比色响应。类似的比色传感器设计方便、结构简单,通过替换或增加适配体的种类,就能实现对其他目标物的检测^[16],是目前主流的设计方案。但其缺陷也较为明显,即难以利用核酸扩增手段达到信号放大的目的。更重要的是在传感器的设计中,部分目标物也可以配合纳米材料,造成信号上的严重干扰^[17]。相关研究者在 Apt-Au NPs 结合的比色传感器中发现,砷^[18]、多巴胺、三聚氰胺^[19]、卡那霉素^[20]、氯霉素 (CAP)^[17]、腺苷^[21]等目标物都与柠檬酸修饰的 Au NPs 有较强的相互作用。此外,pH 也会对目标物和 Au NPs 的相互作用产生较大影响,最终对实验结果产生干扰^[22]。在构建这类比色传感器之前,研究目标物和纳米粒子的相互作用是必要步骤。

Apt 和纳米材料通过共价键结合相对较难实现,但优势也更明显。Apt 可以通过共价键多位点修饰纳米材料,便于达到信号级联放大或多目标检测的目的。Tatulli 等^[23]设计了 3 个核酸探针 P1、P2、P3,P1 由生物素修饰,结合到链霉亲和素修饰的磁珠 (MBs) 上,P2 为捕获探针,两端都可以和 P1、P3 特异性结合,P3 和 P1 序列相似,多个 P3 探针修饰在 Au NPs 上,被 P2 探针捕获级联,Au NPs 最终被核酸探针聚集偶联成网络结构,导致等离子共振信号放大,目标 DNA 裸眼检测限 (LOD) 为 7.5×10^2 cfu/ μ L。具体原理如图 3 所示,该方法通过 3 个探针的协同作用,提高了比色传感器的灵敏度。

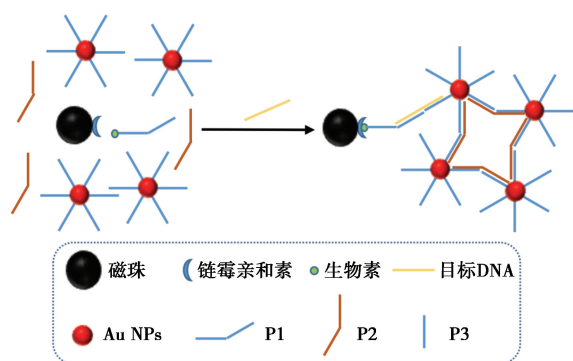


图 3 多探针级联的信号放大

Fig.3 Multiprobe cascading signal amplification

在 Apt 与纳米材料共价结合后,由于静电力、

空间位阻等效应,比色传感器的稳定性得以增强。共价结合也存在缺陷,在评价 Apt 亲和力和时,理想状态是 Apt 和目标物都处于天然状态。然而,在基于 Apt 和纳米材料的比色传感器中,Apt 往往因为被结合在纳米材料上而发生了结构上的改变,不当的设计可能导致 Apt 对目标物的亲和力下降,影响比色传感器的灵敏性^[24]。

1.2 基于催化性能的比色适配体传感器

目前研究报道的纳米材料模拟酶类型包括过氧化物酶、过氧化氢酶、氧化酶、葡萄糖酶、超氧化物歧化酶等。纳米材料的催化活性除了和种类有关之外,还和它的尺寸以及形貌密切相关,通过蚀刻^[14]和修饰以及复合多种纳米材料^[25]都可以改变纳米粒子的催化活性。

在比色检测中最常利用的是纳米材料的过氧化物酶活性,可以通过对显色底物 3,3',5,5'-四甲基联苯胺 (TMB)、二氨基联苯胺 (DAB)、邻苯二胺 (OPD) 等的催化氧化将目标物浓度信号转化为比色信号。在利用催化显色设计的比色传感器中,有两个最典型的结构,一种是固定材料-Apt/cDNA-纳米材料的结构。如图 4a 所示,这种结构在加入目标物后,Apt 与目标物结合,Apt-纳米材料从固定材料上分离,具有催化性能的纳米材料催化显色底物显色,将目标物信号转化为比色信号。为了便于分离,固定材料一般选择纳米磁珠。Qian 等^[26]利用硫醇化的 Apt 能与金属纳米粒子通过金属-S 键结合的特性,构建了 Au MBs-Apt/cDNA-Au NPs 的复合比色探针。在加入黄曲霉素 B1 (AFB1) 后,部分 cDNA-Au NPs 由于 Apt/AFB1 复合物的形成而从 Au MBs-Apt 分离。使用外部磁场分离和收集释放的 cDNA-Au NPs 报告探针,并利用 Au NPs 过氧化物酶活性和促进银沉积的能力,将 AFB1 信号最终转化为比色和电化学双响应信号,比色信号的 LOD 可以达到 0.43 pg/mL。

另一种结构则由固定材料-Apt1 加上 Apt2-纳米材料两部分组成。如图 4b 所示,在加入目标物后,比色传感器组合成固定材料-Apt1/目标物/Apt2-纳米材料的结构。具备催化性能的纳米材料末端催化底物显色,将目标物信号转化为比色信号。Tao 等^[27]以纳米金修饰的 MoS₂ 纳米复合物为过氧化物酶,构建了类似的夹心免疫结构检测,LOD 可以达到 0.7 ng/mL。

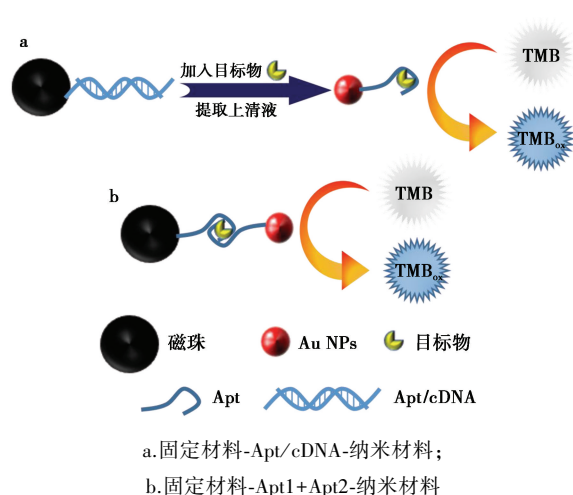


图 4 两种典型的三明治结构比色适配体传感器

Fig.4 Two typical sandwich structure colorimetric Aptasensor

除了上述两种典型方案,还有一些显色原理也可以作为比色传感器构建的基础。如 Dang

等^[28]利用部分 Apt 吸附在纳米材料上可降低纳米材料的催化活性的原理构建了比色传感器,用于检测葡萄糖;而 Setlem 等^[29]构建了辣根过氧化物酶(HRP)修饰的 Apt 比色传感器,利用其在氯化血红素和 H_2O_2 的存在下能催化 TMB 显色的原理检测食品中的 AFB1,该方法通过合适的级联扩增手段达到信号放大的目的,有利于提高检测的灵敏度。

2 基于纳米材料的比色适配体传感器在实际检测中的应用

由于比色适配体传感器易于设计的特性,目前已经有文献报道了利用比色适配体传感器来检测一系列目标物的方法,表 1 列出了部分比色适配体传感器在实际检测中的应用实例,以便参考。

表 1 部分比色适配体传感器及其应用

Tab.1 Some colorimetric Aptasensors and their applications

类别	检测物	检测样本	检测限	Apt 偶联纳米材料	参考文献
疾病检测	前列腺特异性抗原	人血清	20 pg/mL	Au NPs	[30]
	腺苷	肺癌患者尿液	21 nmol/L	Ag NPs	[31]
	三磷酸腺苷	人血清	1.7 nmol/L	Au NPs	[32]
	凝血酶	人血清	10 nmol/L	Fe-MOF	[33]
	牙科细菌	唾液	12 cfu/mL	Fe_3O_4 NPs	[34]
	C 反应蛋白	人尿	1.2 μ g/mL	Au NPs	[35]
环境监测	Cd^{2+}	白葡萄酒	0.7 ng/mL	Au-MoS ₂	[27]
	Pb^{2+}	自来水	2.5 nmol/L	SiO ₂	[36]
	Hg^{2+}	河水	0.7 nmol/L	Fe_3O_4 @AuNPs	[37]
	Si^{3+}	饮用水	10 ng/mL	Au NPs	[38]
	孔雀石绿	养殖水	1.8 nmol/L	Au NPs	[39]
	戊唑醇	自来水	4.13 nmol/L	Au NPs	[40]
	雌二醇	鱼塘水、自来水、湖水	0.1 nmol/L	Au NPs	[41]
	微囊藻毒素-LR	新鲜鲫鱼组织和水样	3.0 ng/L	Cu/Au/Pt TNS	[25]
食品安全	黄曲霉素 M1	牛奶	0.002 ng/L	Au NPs	[42]
	玉米赤霉烯酮	玉米油	0.08 ng/mL	Au NPs	[43]
	卡那霉素	牛奶	0.2 pg/mL	Pt NPs	[44]
	金黄色葡萄球菌	猪肉和牛奶	10 cfu/mL	Au NPs	[6]
	赭曲霉毒素 A	葡萄汁	9.0 nmol/L	Au NRs	[14]
	鼠伤寒沙门氏菌	牛奶	33 cfu/mL	Au NPs	[45]

2.1 疾病诊断

比色适配体传感器可以实现对细胞^[46]、病毒^[47]、生物大分子^[15]等与人类疾病与健康相关的目标物的快速准确的检测,这使比色传感器在疾病诊断中的应用成为可能。

Ravan 等^[7]基于发夹链介导的置换反应(TMSD)交联 Au NPs 聚合,设计了检测目标 DNA 的方法。该系统基于两个辅助发夹结构核酸和 3

个生物素化发夹结构核酸,以两种分子回路的形式进行循环自组装的级联反应,催化 DNA 电路形成三臂结构耦合 Au NPs,使溶液颜色由红色变为蓝色。这种方法有很强的信号放大作用,LOD 可以达到 5 fmol/L。

António 等^[35]提出了一种简单而快速的比色法检测 C 反应蛋白(CRP)用于炎症性疾病的临床检测,使用柠檬酸修饰的 Au NPs 和 CRP 适配

体作为传感元件。适配体由富含鸟嘌呤的 ssDNA 组成,吸附在 Au NPs 表面。CRP 存在的情况下,ssDNA 从 Au NPs 表面释放,优先与蛋白相互作用,失去保护的 Au NPs 聚集,颜色由红变蓝。该方法检测速度快(5 min),检测范围广(0.889~20.7 $\mu\text{g/mL}$),LOD 能达到 1.2 $\mu\text{g/mL}$ 。

检测癌症除了直接对癌细胞进行检测之外,对癌症标志物如外泌体^[16]、C 反应蛋白^[35]、甲基化 DNA^[48]、前列腺特异性抗原^[30]等的简单快速检测对癌症诊断和治疗也有重大的意义。Jiang 等^[16]利用 Apt 与 Au NPs 的配合保护纳米粒子在高盐溶液中聚集。在外泌体存在的情况下,破坏了 Apt 与 Au NPs 之间特异性较弱的结合,而外泌体表面蛋白与适配体特异性较强的结合将适配体从 Au NPs 表面置换,导致 Au NPs 聚集。凭借不同外泌体蛋白对适配体的亲和性不同以及不同癌细胞外泌体含量的差别,这种方法可以同时检测 PC-3(人前列腺癌标志物)、Ramos(人急性淋巴细胞白血病标志物)和 CEM(人急性淋巴细胞白血病标志物)3 种不同的癌细胞,在癌症检测中有很大的应用前景。

2.2 环境监测

2.2.1 农药与抗生素

农药的使用极大提高了农作物的产量,但也带来了环境污染问题。常见的农兽药如百草枯、毒死蜱^[49]、脱落酸^[50]、啉虫脒^[51]、孔雀石绿^[39]等,具有很强的毒性,对人类健康和生态环境危害很大。冉旭东等^[52]筛选出百草枯的高亲和性适配体,并通过生物素修饰结合在链霉亲和素修饰的纳米磁珠上,以 Au NPs 的聚集作为比色信号,建立了基于 Apt 识别的百草枯农药比色检测方法,检出限为 25.2 nmol/L,远低于人体的安全限。

氯霉素^[17]、四环素^[53]、卡那霉素^[54]、氨基青霉素^[55]等抗生素的滥用制造了一系列的“超级细菌”,造成了严重的环境问题。此外,环境中抗生素浓度过高还可能直接危害人体健康。Wu 等^[53]设计了一种基于 ss-DNA 片段协同控制金纳米粒子聚集的新型抗生素比色传感器,如图 5 所示,以一种能与氯霉素和四环素(TET)特异性结合的多功能 Apt 吸附在 Au NPs 表面,保护 Au NPs 不在盐溶液中聚集。Apt 由两段链组成,短片段与 CAP 特异性结合,长片段与 TET 特异性结合。在目标物(TET 或 CAP)存在时,Apt 的识别片段从 Au NPs 的表面分离。与长片段相比,短片段对

Au NPs 抗盐诱导聚集的能力更强。在体系中加入 CAP 时,长片段被吸收,导致 Au NPs 在最佳高盐条件下轻微聚集,溶液颜色由酒红色变为紫色。相反,在体系中加入 TET 时,短片段被吸收,较长的片段并不能有效稳定 Au NPs,在同样的最佳高盐条件下,会导致更严重的聚集,溶液的颜色由酒红色变为蓝色。优化条件后,TET 和 CAP 的 LOD 分别为 32.9、7.0 nmol/L。该方法 Au NPs 的最佳检测时间为 10 min,方便快捷,但特异性不够好,部分常用抗生素对检测结果影响较大,这是因为它们与 TET 具有相似的结构。

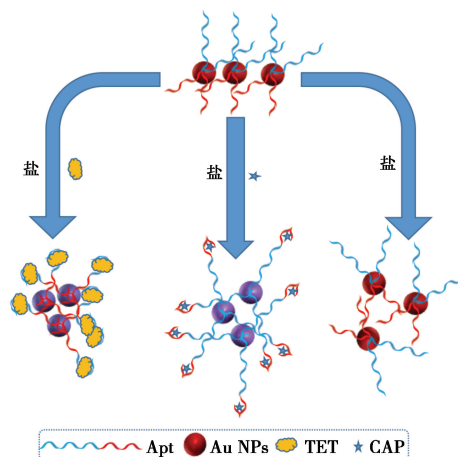


图 5 同时检测 TET 和 CAP 原理图

Fig.5 Check TET and CAP schematics simultaneously

2.2.2 重金属离子与其他环境毒素

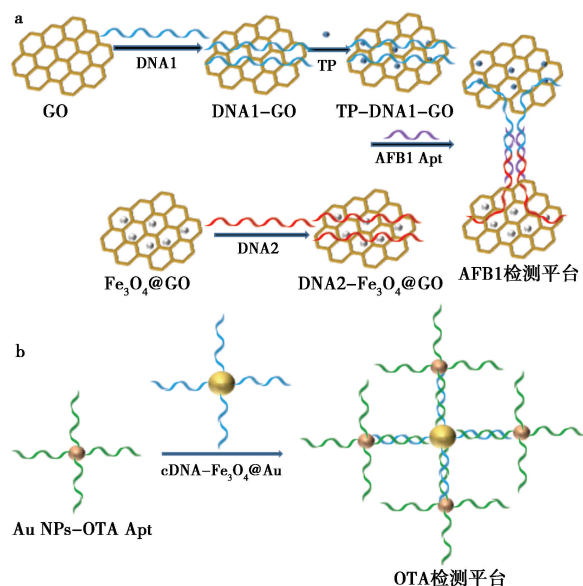
目前,工业废水中的重金属离子(Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 、 As^{3+} 等)对水体的污染十分严重,因此,开发一种对其进行快速检测的方法具有非常重要的意义^[27,40]。Tao 等^[27]建立了以纳米金修饰的 MoS_2 纳米复合物为酶模拟物的比色适配体传感器检测镉的方法。生物素化的 Cd^{2+} 适配体通过生物素-链霉亲和素结合固定在微孔板的底部, Cd^{2+} 适配体的互补链连接到具有增强过氧化物酶活性的 Au- MoS_2 纳米复合材料上。 Cd^{2+} 信号探针与靶 Cd^{2+} 竞争结合 Cd^{2+} 适配体,通过加入显色底物可以观察到颜色的变化,从而实现对 Cd^{2+} 的可视化检测。溶液在 450 nm 处的吸光度与 Cd^{2+} 浓度呈良好的线性关系。该方法使用的 Au- MoS_2 纳米复合材料相比于 Au NPs 具有更多催化活性位点,制备的传感器检测限更低,达到了 0.7 ng/mL。

水藻爆发释放的藻毒素是河海水水质污染的一大原因,Wu 等^[25]建立了一种新型的三金属纳米粒子(Cu/Au/Pt TNS)包裹的 DNA 水凝胶用于微

囊藻毒素-LR (MC-LR) 的比色检测。靶向响应性 3D DNA 水凝胶结合了靶向响应性 DNA 水凝胶和增强过氧化物酶活性的 Cu/Au/Pt TNS 的双重优点,能够精确控制捕获和释放 Cu/Au/Pt TNS。将 MC-LR 的 Apt 与线性聚丙烯酰胺链上的两条互补 DNA 链杂交,构建 DNA 水凝胶网络。只要 MC-LR 存在,Apt 就会竞争性地与 MC-LR 结合,使水凝胶溶解并释放预载的 Cu/Au/Pt TNS,从而催化 H_2O_2 与 TMB 之间的反应产生变色。这种比色生物传感器对 MC-LR 的检测线性范围为 4.0~10 000 ng/L, LOD 为 3.0 ng/L。类似的, Qiang 等^[56] 构建了岩藻毒素的比色适配体传感器, LOD 为 3 fg/mL。

2.3 食品品质与安全

食源性致病微生物及其分泌毒素的残留是威胁食品安全的重大问题之一。现在已经开发出了针对如金黄色葡萄球菌^[6]、活鼠伤寒沙门氏菌^[45]、大肠杆菌^[57,58] 等食源性细菌的比色传感器。而对于链霉素^[5]、赭曲霉毒素 A (OTA)^[14]、AFB1^[26]、黄曲霉素 M1^[11] 这类具有强毒性或致癌性的细菌分泌毒素,很多研究者也构建出了适用的比色适配体传感器。Zhu 等^[59] 研制了一种用于两种支原菌毒素检测的比色适配体传感器,构建了胸腺素 (TP)-GO-DNA1/AFB1Apt/DNA2- Fe_3O_4 @GO 结构的 AFB1 检测平台和 Au NPs-OTA Apt/cDNA- Fe_3O_4 @Au 结构的 OTA 检测平



a. AFB1 检测平台的构建; b. OTA 检测平台的构建

图 6 同时检测 AFB1 和 OTA 的传感器结构图

Fig.6 Picture of sensor structure for detecting AFB1 and OTA simultaneously

台,结构如图 6 所示。在碱性条件下,通过加入 AFB1 后释放的 TP 使溶液变蓝来检测 AFB1 的浓度,在酸性条件下加入的 OTA 使 Au NPs 释放,可以在 H_2O_2 存在下催化 TMB 显色,检测 OTA 的浓度。由于检测条件的不同,两种检测方法互不干扰,检测效率较高。AFB1 的检测范围为 5~250 ng/mL, OTA 的检测范围为 0.5~80 ng/mL,该传感器已成功应用于实际样品检测,在食品安全领域具有广阔的应用前景。

Duan 等^[58] 通过合成铜基金属-有机框架纳米粒子和功能化的大肠杆菌 Apt,开发了一种比色传感器来检测大肠杆菌。Apt1 被固定在微孔板上作为捕获探针,合成的铜钼杂多酸纳米粒子,用链霉亲和素和生物素化的 Apt2 进行修饰以形成信号探针。在大肠杆菌存在的情况下,捕获探针和信号探针都与大肠杆菌结合,形成三明治型复合物。铜钼杂多酸能催化无色过氧化物酶底物产生比色信号。这种方法能在 $16 \sim 1.6 \times 10^6$ cfu/mL 的浓度范围内快速、灵敏地定量大肠杆菌,检出限为 2 cfu/mL。

在食品品质检测和风味检测上,比色适配体传感器也有一定的应用^[60]。三聚氰胺是一种富氮有机化合物,有时会被作为非法添加剂添加到食品中,增加食品表观蛋白质含量。Hu 等^[61] 利用三聚氰胺 Apt 功能化 Au NPs 作为检测探针,利用 Apt 在盐溶液中保护 Au NPs 不被聚集,检测牛奶中的三聚氰胺。牛奶中三聚氰胺浓度在 0.5 nmol/L 以下时,检测相关系数为 0.998, LOD 为 14.9 nmol/L。

Feng 等^[62] 选择了鳕鱼科的 3 种鳕鱼作为目标种,利用鳕鱼科 12S rDNA 互补探针-Au NPs 系统检测鳕鱼 12S rDNA。12S rDNA 互补探针-Au NPs 在盐溶液中保持稳定,溶液呈现酒红色,加入 12S rDNA 后,互补链从 Au NPs 上分离, Au NPs 聚集,溶液变为蓝色。3 种样品检出限分别为 2.2、3.15 和 2.65 ng/ μ L。这种传感器反应灵敏,可以用于鳕鱼品质检测。

3 结论

随着纳米材料和 Apt 技术的发展,比色传感器的构建变得越来越容易实现。大多数目标物的检测如金属离子、有机小分子、生物大分子、病毒、细菌等都可以由纳米材料和适配体组成的检测平台实现检测。辅助纸基化和信息化的检测手段,

使比色分析向着简便化、普适化、非专业化方向等发展,成为多数检测手段的可替代方案。

近年来比色法开发的传感器的检测限已经可以达到商用的程度,限制比色传感器商用的最大阻碍是成本问题,目前使用最多的纳米材料是 Au NPs,价格过于高昂。在比色传感器的设计中,开发新的便宜的纳米材料势在必行。同时对纳米材料和检测目标物之间的相互作用研究得不够透彻,这对检测结果的可信度提出了挑战,是一个亟待解决的问题。此外,传统比色传感器难以实现对多目标的检测,基于纳米材料和 Apt 技术结合的比色传感器,由于不同 Apt 间的高特异性,在一定程度上可以解决该问题。最后,利用纸基化和智能化的设计实现多通道检测,降低检测成本和提升检测效率,将是适配体比色传感器未来研究的重要方向。

参考文献:

- [1] 吕佳,张皓淳,张冰,等.纳米材料比色分析传感器在食品检测中的应用进展[J].化工进展,2017,36(1):20-27.
- [2] KIM Y S, RASTON N H, GU M B. Aptamer-based nanobiosensors[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2016, 76: 2-19.
- [3] NOORANIAN S, MOHAMMADINEJAD A, MOHAJERI T, et al. Biosensors based on aptamer-conjugated gold nanoparticles: A review[J]. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 2021, 7(16): 1-18.
- [4] HE Z, YIN H, CHANG C C, et al. Interfacing DNA with gold nanoparticles for heavy metal detection[J]. *Biosensors (Basel)*, 2020, 10(11): 2-18.
- [5] EMRANI A S, DANESH N M, LAVAE P, et al. Colorimetric and fluorescence quenching aptasensors for detection of streptomycin in blood serum and milk based on double-stranded DNA and gold nanoparticles[J]. *Food Chem.*, 2016, 190: 115-121.
- [6] YAO S, LI J, PANG B, et al. Colorimetric immunoassay for rapid detection of *Staphylococcus aureus* based on etching-enhanced peroxidase-like catalytic activity of gold nanoparticles[J]. *Microchim. Acta*, 2020, 187(9): 504.
- [7] RAVAN H, AMANDADI M, HASSANSHAHIAN M, et al. Dual catalytic DNA circuit-induced gold nanoparticle aggregation: An enzyme-free and colorimetric strategy for amplified detection of nucleic acids[J]. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2020, 154: 896-903.
- [8] BI S, YUE S, ZHANG S. Hybridization chain reaction: A versatile molecular tool for biosensing, bioimaging, and biomedicine[J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2017, 46(14): 4 281-4 298.
- [9] LI P, LI W, XIE Z, et al. A label-free and signal-amplifiable assay method for colorimetric detection of carcinoembryonic antigen[J]. *Biotechnol. Bioeng.*, 2022, 119(2): 504-512.
- [10] DU Y, ZHOU Y, WEN Y, et al. Multiplexed aptasensing of food contaminants by using terminal deoxynucleotidyl transferase-produced primer-triggered rolling circle amplification: Application to the colorimetric determination of enrofloxacin, lead(II), *Escherichia coli* O157:H7 and tropomyosin[J]. *Microchim. Acta*, 2019, 186(12): 840.
- [11] ABNOUS K, DANESH N M, RAMEZANI M, et al. A novel colorimetric aptasensor for ultrasensitive detection of aflatoxin M1 based on the combination of CRISPR-Cas12a, rolling circle amplification and catalytic activity of gold nanoparticles[J]. *Anal. Chim. Acta*, 2021, 1165: 338 549.
- [12] CHANG C C. Recent advancements in aptamer-based surface plasmon resonance biosensing strategies[J]. *Biosensors*, 2021, 11(233): 1-21.
- [13] 苏邵,李晶,汪联辉.基于纳米材料比色传感器的构建及其应用[J].南京邮电大学学报,2018,38(3):98-110.
- [14] TIAN F, ZHOU J, FU R, et al. Multicolor colorimetric detection of ochratoxin A via structure-switching aptamer and enzyme-induced metallization of gold nanorods[J]. *Food Chem.*, 2020, 320: 126 607.
- [15] NGUYEN D K, JANG C H. A simple and ultrasensitive colorimetric biosensor for anatoxin-a based on aptamer and gold nanoparticles[J]. *Micromachines*, 2021, 12(12): 1-11.
- [16] JIANG Y, SHI M, LIU Y, et al. Aptamer/AuNP biosensor for colorimetric profiling of exosomal proteins[J]. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2017, 56(39): 11 916-11 920.
- [17] TAO X, HE F, LIU X, et al. Detection of chloramphenicol with an aptamer-based colorimetric assay: Critical evaluation of specific and unspecific binding of analyte molecules[J]. *Microchim. Acta*, 2020, 187(12): 3-11.
- [18] ZONG C, ZHANG Z, LIU B, et al. Adsorption of arsenite on gold nanoparticles studied with DNA oligonucleotide probes[J]. *Langmuir*, 2019, 35(22): 7 304-7 311.
- [19] LIU X, HE F, ZHANG F, et al. Dopamine and melamine binding to gold nanoparticles dominates their aptamer-based label-free colorimetric sensing[J]. *Anal. Chem.*, 2020, 92(13): 9 370-9 378.

- [20] ZHOU J, LI Y, WANG W, et al. Kanamycin adsorption on gold nanoparticles dominates its label-free colorimetric sensing with its aptamer [J]. *Langmuir*, 2020, **36**(39): 11 490-11 498.
- [21] ZHANG F, HUANG P J, LIU J. Sensing adenosine and ATP by aptamers and gold nanoparticles: Opposite trends of color change from domination of target adsorption instead of aptamer binding [J]. *ACS Sens.*, 2020, **5**(9): 2 885-2 893.
- [22] LI J, ZUO X, LIU H, et al. Influence of pH on aptamer-based gold nanoparticles colorimetric sensors [J]. *J. Iran. Chem. Soc.*, 2021, **18**(9): 2 231-2 239.
- [23] TATULLI G, POMPA P P. An amplification-free colorimetric test for sensitive DNA detection based on the capturing of gold nanoparticle clusters [J]. *Nanoscale*, 2020, **12**(29): 15 604-15 610.
- [24] WAN Y, ZHAO J, HE J, et al. Nano-Affi: A solution-phase, label-free, colorimetric aptamer affinity assay based on binding-inhibited aggregation of gold nanoparticles [J]. *Analyst*, 2020, **145**(12): 4 276-4 282.
- [25] WU P, LI S, YE X, et al. Cu/Au/Pt trimetallic nanoparticles coated with DNA hydrogel as target-responsive and signal-amplification material for sensitive detection of microcystin-LR [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2020, **1** 134: 96-105.
- [26] QIAN J, REN C, WANG C, et al. Gold nanoparticles mediated designing of versatile aptasensor for colorimetric/electrochemical dual-channel detection of aflatoxin B1 [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2020, **166**: 112 443.
- [27] TAO Z, WEI L, WU S, et al. A colorimetric aptamer-based method for detection of cadmium using the enhanced peroxidase-like activity of Au-MoS₂ nanocomposites [J]. *Anal. Biochem.*, 2020, **608**: 113 844.
- [28] DANG X, ZHAO H. Bimetallic Fe/Mn metal-organic-frameworks and Au nanoparticles anchored carbon nanotubes as a peroxidase-like detection platform with increased active sites and enhanced electron transfer [J]. *Talanta*, 2020, **210**: 120 678.
- [29] SETLEM K, MONDAL B, SHYLAJA R, et al. Dual aptamer-DNAzyme based colorimetric assay for the detection of AFB1 from food and environmental samples [J]. *Anal. Biochem.*, 2020, **608**: 113 874.
- [30] SHAYESTEH O H, GHAVAMI R. A novel label-free colorimetric aptasensor for sensitive determination of PSA biomarker using gold nanoparticles and a cationic polymer in human serum [J]. *Spectrochim. Acta A*, 2020, **226**: 117 644.
- [31] YOUSEFI S, SARAJI M. Optical aptasensor based on silver nanoparticles for the colorimetric detection of adenosine [J]. *Spectrochim. Acta A*, 2019, **213**: 1-5.
- [32] SANG F, ZHANG X, LIU J, et al. A label-free hairpin aptamer probe for colorimetric detection of adenosine triphosphate based on the anti-aggregation of gold nanoparticles [J]. *Spectrochim. Acta A*, 2019, **217**: 122-127.
- [33] WANG Y, ZHU Y, BINYAM A, et al. Discovering the enzyme mimetic activity of metal-organic framework (MOF) for label-free and colorimetric sensing of biomolecules [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2016, **86**: 432-438.
- [34] ZHANG L, QI Z, ZOU Y, et al. Engineering DNA-nanozyme interfaces for rapid detection of dental bacteria [J]. *ACS Appl. Mater. Inter.*, 2019, **11**(34): 30 640-30 647.
- [35] ANTÓNIO M, FERREIRA R, VITORINO R, et al. A simple aptamer-based colorimetric assay for rapid detection of C-reactive protein using gold nanoparticles [J]. *Talanta*, 2020, **214**: 120 868.
- [36] DUAN N, LI C, SONG M, et al. Signal amplification of SiO₂ nanoparticle loaded horseradish peroxidase for colorimetric detection of lead ions in water [J]. *Spectrochim. Acta A*, 2022, **265**: 120 342.
- [37] WANG L, LIU F, SUI N, et al. A colorimetric assay for Hg(II) based on the use of a magnetic aptamer and a hybridization chain reaction [J]. *Microchim. Acta*, 2016, **183**(11): 2 855-2 860.
- [38] BERLINA A, KOMOVA N, ZHERDEV A, et al. Colorimetric technique for antimony detection based on the use of gold nanoparticles conjugated with Poly-A oligonucleotide [J]. *Appl. Sci.*, 2019, **9**(22): 4 782.
- [39] ZHAO C, HONG C Y, LIN Z Z, et al. Detection of malachite green using a colorimetric aptasensor based on the inhibition of the peroxidase-like activity of gold nanoparticles by cetyltrimethylammonium ions [J]. *Microchim. Acta*, 2019, **186**(5): 322.
- [40] XIE X, LI L, WANG L, et al. Colourimetric detection of tebuconazole in aqueous solution based on an unmodified aptamer and the aggregation of gold nanoparticles [J]. *Aust. J. Chem.*, 2021, **74**(12): 838-846.
- [41] PU H, HUANG Z, SUN D W, et al. Development of a highly sensitive colorimetric method for detecting 17 β -estradiol based on combination of gold nanoparticles and shortening DNA aptamers [J]. *Water, Air, & Soil Pollut.*, 2019, **230**(6): 124.
- [42] LERDSRI J, SOONGSONG J, LAOLUE P, et al. Reliable colorimetric aptasensor exploiting 72-Mers ssDNA and gold nanoprobe for highly sensitive detection of aflatoxin M1 in milk [J]. *J. Food Compos. Anal.*, 2021, **102**:

- 103 992.
- [43] SUN S, XIE Y. An enhanced enzyme-linked aptamer assay for the detection of zearalenone based on gold nanoparticles [J]. *Anal. Methods*, 2021, **13**(10): 1 255-1 260.
- [44] LIU M, YANG Z, LI B, et al. Aptamer biorecognition-triggered hairpin switch and nicking enzyme assisted signal amplification for ultrasensitive colorimetric bioassay of kanamycin in milk [J]. *Food Chem.*, 2021, **339**: 128 059.
- [45] WEI S, LI J, HE J, et al. Paper chip-based colorimetric assay for detection of Salmonella typhimurium by combining aptamer-modified Fe₃O₄@Ag nanoprobe and urease activity inhibition [J]. *Microchim. Acta*, 2020, **187**(10): 554.
- [46] RAVAN H, NOROUZI A, SANADGOL N, et al. Colorimetric nanoplatfrom for visual determination of cancer cells via target-catalyzed hairpin assembly actuated aggregation of gold nanoparticles [J]. *Microchim. Acta*, 2020, **187**(7): 392.
- [47] BASSO C R, CRULHAS B P, MAGRO M, et al. A new immunoassay of hybrid nanomater conjugated to aptamers for the detection of dengue virus [J]. *Talanta*, 2019, **197**: 482-490.
- [48] LI Z M, PI T, YAN X L, et al. Label-free and enzyme-free one-step rapid colorimetric detection of DNA methylation based on unmodified gold nanoparticles [J]. *Spectrochim. Acta A*, 2020, **238**: 118 375.
- [49] LIU Q, HE Z, WANG H, et al. Magnetically controlled colorimetric aptasensor for chlorpyrifos based on copper-based metal-organic framework nanoparticles with peroxidase mimetic property [J]. *Microchim. Acta*, 2020, **187**(9): 524.
- [50] WANG S, ZHANG H, LI W, et al. A multi-channel localized surface plasmon resonance system for absorptiometric determination of abscisic acid by using gold nanoparticles functionalized with a polyadenine-tailed aptamer [J]. *Microchim. Acta*, 2019, **187**(1): 20.
- [51] YANG L, SUN H, WANG X, et al. An aptamer based aggregation assay for the neonicotinoid insecticide acetamiprid using fluorescent upconversion nanoparticles and DNA functionalized gold nanoparticles [J]. *Microchim. Acta*, 2019, **186**(5): 308.
- [52] 冉旭东, 吴远根. 百草枯核酸适配体的筛选及其比色检测研究 [J]. *分析化学*, 2019, **47**(4): 567-575.
- [53] WU Y Y, HUANG P, WU F Y. A label-free colorimetric aptasensor based on controllable aggregation of AuNPs for the detection of multiplex antibiotics [J]. *Food Chem.*, 2020, **304**: 125 377.
- [54] ZHU X, TANG L, WANG J, et al. Enhanced peroxidase-like activity of boron nitride quantum dots anchored porous CeO₂ nanorods by aptamer for highly sensitive colorimetric detection of kanamycin [J]. *Sensor. Actuat. B-Chem.*, 2021, **330**: 129 318.
- [55] SHAYESTEH O H, GHAVAMI R. Two colorimetric ampicillin sensing schemes based on the interaction of aptamers with gold nanoparticles [J]. *Microchim. Acta*, 2019, **186**(7): 485.
- [56] QIANG L, ZHANG Y, GUO X, et al. A rapid and ultrasensitive colorimetric biosensor based on aptamer functionalized Au nanoparticles for detection of saxitoxin [J]. *RSC Adv.*, 2020, **10**(26): 15 293-15 298.
- [57] GUPTA R, KUMAR A, KUMAR S, et al. Naked eye colorimetric detection of Escherichia coli using aptamer conjugated graphene oxide enclosed Gold nanoparticles [J]. *Sensor. Actuat. B-Chem.*, 2021, **329**: 129 100.
- [58] DUAN N, YANG W, WU S, et al. A visual and sensitive detection of escherichia coli based on aptamer and peroxidase-like mimics of copper-metal organic framework nanoparticles [J]. *Food Anal. Methods*, 2020, **13**(7): 1 433-1 441.
- [59] ZHU W, LI L, ZHOU Z, et al. A colorimetric biosensor for simultaneous ochratoxin A and aflatoxins B1 detection in agricultural products [J]. *Food Chem.*, 2020, **319**: 126 544.
- [60] PAVASE T R, LIN H, SOOMRO M A, et al. Visual detection of tropomyosin, a major shrimp allergenic protein using gold nanoparticles (AuNPs)-assisted colorimetric aptasensor [J]. *J. Mar. Sci. Technol.*, 2021, **3**(3): 382-394.
- [61] HU X, CHANG K, WANG S, et al. Aptamer-functionalized AuNPs for the high-sensitivity colorimetric detection of melamine in milk samples [J]. *PLoS One*, 2018, **13**(8): 1-15.
- [62] FENG J, ZHU Q, WANG Y. Colorimetric detection of Gadidae species using probe-modified gold nanoparticles [J]. *Food Control*, 2020, **116**: 107 287.

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022008856

化学试剂, 2022, 44(6), 810~815

生化与药用试剂

雷公藤红素与人血清白蛋白的相互作用

刘浩¹, 樊世萌¹, 欧阳敬禹¹, 尤祥宇^{*1}, 苏江涛¹, 李玲玲², 肖红卫³

(1.湖北工业大学 生物工程与食品学院,湖北 武汉 430068;2.武汉文理学院 医学院,湖北 武汉 430345;

3.湖北省农业科学院 畜牧兽医研究所 动物胚胎工程与分子育种湖北省重点实验室,湖北 武汉 430072)

摘要:通过使用荧光光谱、分光光度法以及等温滴定量热法等方法,研究了人血清白蛋白(HSA)与雷公藤红素的结合方式,采用分子对接的方式分析相互作用模式。荧光光谱结果可知,雷公藤红素与HSA主要通过氢键和范德华力结合,并且雷公藤红素猝灭HSA内源荧光的机制为静态猝灭,同时两者的结合过程主要受温度影响。在两者的结合过程中,会导致HSA的构象与微环境发生微小的改变。结合分子对接结果可知,两者的结合过程可能主要是通过疏水相互作用、范德华力等弱相互作用进行结合。为雷公藤红素在血液中的运输及传递提供了理论支持,对深入理解雷公藤红素的药效学和药代动力学性质具有重要的意义。

关键词:人血清白蛋白;雷公藤红素;荧光;等温滴定量热法;分子对接

中图分类号:R961 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2022)06-0810-06

Interaction between Celastrol and Human Serum Albumin LIU Hao¹, FAN Shi-meng¹, OUYANG Jing-yu¹, YOU Xiang-yu^{*1}, SU Jiang-tao¹, LI Ling-ling², XIAO Hong-wei³ (1.School of Food and Biological Engineering, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China; 2.Medical School, Wuhan University of Arts and Science, Wuhan 430345, China; 3.Hubei Provincial Key Laboratory of Animal Embryo Engineering and Molecular Breeding, Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430072, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 810~815

Abstract: In this paper, fluorescence spectroscopy, spectrophotometry, and isothermal titration calorimetry were used to study the binding mode of simulated human serum albumin (HSA) and celastrol, and molecular docking was used to analyze the interaction mode. Fluorescence spectrum results showed that celastrol and HSA were mainly bound via hydrogen bond and intermolecular force, and the mechanism of celastrol quenching HSA endogenous fluorescence was static quenching, and the binding process of celastrol and HSA was mainly affected by temperature. In the combination process, it was revealed that the conformation and micro-environment of HSA would change slightly. Combining the molecular docking results, the bonding process of the two may be mainly governed by weak interactions such as hydrophobic interaction and intermolecular force. This study provides theoretical support for the transport and delivery of celastrol in blood and is of great significance for further understanding the pharmacodynamics and pharmacokinetic properties of celastrol.

Key words: human serum albumin; celastrol; fluorescence; isothermal titration calorimetry; molecular docking

雷公藤红素(Celastrol, CL)是一种从传统中草药雷公藤根皮中提取的三萜类化合物,它是用于治疗类风湿病的雷公藤片、雷公藤多苷片等制剂的有效成分之一^[1]。大量的报道表明,雷公藤红素具有广泛的抗炎、抗氧化和抗癌活性。雷公藤红素在慢性炎症和自身免疫性疾病(如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮和银屑病等)^[2]、神经退行性疾病(如阿尔茨海默病、帕金森病等)^[3]、动脉粥样硬化^[4]、肥胖^[4]、2型糖尿病^[4]、癌症^[5]等一系列慢性疾病的实验模型中都显示出良好的预防/治疗效果。深入研究显示,雷公藤红素调控

的主要细胞信号通路包括 NF- κ B 通路、MAPK 通路、JAK/STAT 通路、PI3K/Akt/mTOR 通路和抗

收稿日期:2021-12-13;网络首发日期:2022-03-08

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(81703409);湖北省教育厅科学研究计划项目(B2017047, B2018421)。

作者简介:刘浩(1996-),男,湖北天门人,硕士生,主要研究方向为功能高分子材料。

通讯作者:尤祥宇, E-mail: youxiangyu@hbut.edu.cn。

引用本文:刘浩,樊世萌,欧阳敬禹,等.雷公藤红素与人血清白蛋白的相互作用[J].化学试剂,2022,44(6):810-815。

氧化防御机制等^[5]。尽管雷公藤红素具有显著的药理活性,但其临床应用仍受到严重副作用的严格限制,主要因为水稳定性差、生物利用度低、治疗窗口窄和不良副作用等^[6]。

人血清白蛋白(Human serum albumin, HSA)分子量约为 66.5 kDa,是人体血浆中含量最丰富的蛋白质(35~50 g/L),也存在于各种人体器官中,如皮肤、肌肉、肠道、肝脏等;HSA 是血浆中最重要的载体蛋白之一,具有结合和转运大量内源性和外源性化合物的生理功能,尤其是可溶性较低的疏水化合物^[7]。有研究表明,HSA 可被肿瘤或炎症组织优先摄取,HSA 似乎比健康组织更能穿透类肿瘤或炎症部位^[8]。基于 HSA 的炎性靶向能力,已经开展了一些针对类风湿性关节炎的靶向治疗研究;根据这些研究,针对 HSA 的修饰并不影响其炎症靶向作用^[9]。除了靶向炎症组织,近年来还有很多基于 HSA、BSA(牛血清白蛋白)或 RSA(鼠血清白蛋白)的肿瘤等病理组织的药物靶向性实验获得了报道^[8]。

综上,为深入研究雷公藤红素与人体内 HSA 的结合、相互作用情况,本文除了使用传统的荧光光谱和分光光度法研究其结合机理外,还使用了等温滴定热法(Isothermal titration calorimetry, ITC)以及分子对接实验对两者的相互作用进行的补充研究,得到了比较有价值的结论。等温滴定热法是研究分子相互作用的常用技术。在最佳条件下,大多数热力学反应参数可由 ITC 确定,如解离常数(K_d)、焓变(ΔH)、反应的化学计量比(n)、熵变(ΔS)和吉布斯自由能(ΔG),通过参数推断雷公藤红素和 HSA 之间的主要结合作用力。最后通过将实验结果进行综合分析,发现了雷公藤红素与 HSA 的结合机理,有助于了解雷公藤红素的整体药代动力学特征,旨在改善其水稳定性差、生物利用度低、靶向药物递送等问题的研究中提供一定的理论支持。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

RF-6000 型荧光分光光度计(日本岛津公司);Epoch 超微量型分光光度计(美国伯腾仪器公司);NANO-ITC 型等温滴定微量热仪(美国 TA 仪器);UPT-I-10T 型超纯水仪(四川优普超纯科技有限公司);96 孔石英微孔板(上海晶安生物科技有限公司)。

人血清白蛋白(SDS-PAGE $\geq 98\%$, 美国 Sigma-Aldrich 公司);雷公藤红素(HPLC $\geq 98\%$, PS020074, 成都普思生物科技股份有限公司);二甲基亚砜、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);实验用水均为实验室自制去离子水。

1.2 实验方法

1.2.1 荧光光谱实验

实验在 3 个温度梯度下(293、303、310 K)分析雷公藤红素对人血清白蛋白的荧光猝灭。HSA 浓度为 15 $\mu\text{mol/L}$ (溶剂为 PBS 溶液)。将雷公藤红素母液溶于二甲基亚砜(DMSO)中,工作液为使用上述 PBS 溶液稀释至其终浓度为 150 $\mu\text{mol/L}$ (DMSO 浓度为 5%),阴性对照为不含雷公藤红素的含等量 DMSO 的 PBS 溶液(DMSO 浓度为 5%)。本实验中 PBS 溶液为 1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.4)。实验中激发波长为 285 nm,狭缝宽度为 5 nm。

1.2.2 超微量分光光度实验

实验于 303 K 下进行,HSA 浓度为 15 $\mu\text{mol/L}$ (溶剂为 PBS 溶液)。雷公藤红素母液溶于二甲基亚砜(DMSO)中,工作液为使用 PBS 溶液稀释至 15、30、45、60、90、120、150 $\mu\text{mol/L}$ (DMSO 浓度为 5%),阴性对照为不含雷公藤红素的含等量 DMSO 的 PBS 溶液(DMSO 浓度为 5%)。扫描范围为 200~300 nm,使用石英微孔板测量。

1.2.3 等温滴定热实验

等温滴定热实验采用 NANO-ITC 等温滴定微量热仪,样品池体积为 300 μL ,注射器体积 50 μL 。将 300 μL (15 $\mu\text{mol/L}$) HSA 溶液注入样品池,50 μL (200 $\mu\text{mol/L}$) 雷公藤红素溶液装入注射器,恒温至 303 K,待基线稳定后滴定,每次滴定体积为 2 μL ,间隔时间为 120 s;在相同条件下以雷公藤红素溶液滴定含等量的 DMSO 的 PBS 作为空白。滴定结束后得到量热曲线,处理数据后得到焓变(ΔH)、熵变(ΔS)和解离常数(K_d)等热力学参数。

1.2.4 分子对接实验

NCBI 上查得 HSA 蛋白序列(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP-000468.1>),去掉 N 端 18 个氨基酸的引导肽序列,将余下的 591 个氨基酸序列在蛋白质结构模拟在线网站(<https://swissmodel.expasy.org>)上进行结构模拟,产生 HSA 的 PDB 文件,并经分子对接软件 Accelrys Discov-

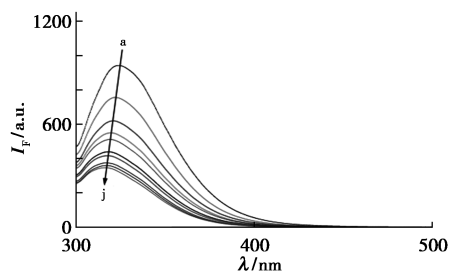
ery Studio 2.5 分析后自动产生可能的结合位点;利用在线软件(<http://translate.alphama.com.cn/>)生成雷公藤红素分子结构的 MOL 文件。运用 Accelrys Discovery Studio 2.5 对上述 PDB 文件和 MOL 文件进行分子对接、结构作图并优化调整。

2 结果与讨论

2.1 雷公藤红素与 HSA 相互作用的荧光光谱

2.1.1 荧光猝灭机理

由于 HSA 分子中存在色氨酸和酪氨酸 2 个生色基团,因此使其具有内源荧光的特性^[10,11]。本实验以 285 nm 为激发波长,测定 HSA 溶液在波长为 300~500 nm 范围内的荧光发射光谱。结果如图 1 所示,在波长为 285 nm 的激发光作用下,HSA 在 340 nm 波长处出现了荧光。分析光谱可知,当 HSA 浓度不变时,HSA 的内源性荧光强度随着雷公藤红素浓度的增加而降低,说明雷公藤红素可以导致 HSA 的内源性荧光猝灭,这是由于雷公藤红素使 HSA 溶液的微环境发生了改变,说明两者可能发生了相互作用。



箭头从上到下表示 HSA 与雷公藤红素的浓度比从 1:1 变化至 1:10

图 1 温度为 303 K 时,雷公藤红素对 HSA 荧光猝灭的影响

Fig.1 Effect of celastrol on fluorescence quenching of HSA at 303 K

动态猝灭又称碰撞猝灭,是指荧光物质受到激发,由基态转变为激发态,激发态的荧光物质与猝灭剂发生碰撞,使激发态荧光物质释放热量给环境,以无辐射的形式跃迁为基态,发生猝灭效应,但动态猝灭不会使蛋白质的构象发生改变,且动态猝灭会随着温度的升高而增强,随着溶液粘度的增加而减弱^[12]。静态荧光猝灭是指处于基态的荧光物质与猝灭剂发生反应或是相互结合生成了非荧光化合物,导致荧光的猝灭;对于蛋白质而言,与猝灭剂结合生成的非荧光复合物会使蛋白质的荧光强度显著降低^[13]。从图 1 可以看出,雷公藤红素与 HSA 的反应中,HSA 的内源荧光强

度随着雷公藤红素浓度的增加出现了有规律地降低,出现了荧光猝灭现象,证明两者之间发生了相互作用。又通过分析图 1 中不同雷公藤红素浓度下 HSA 荧光峰的峰型以及峰出现的位置,发现除了荧光强度降低外,其他基本没有变化,可以判断出雷公藤红素使 HSA 荧光强度降低是通过静态猝灭的方式,表明两者之间发生了结合。

无论是静态猝灭还是动态猝灭,荧光物质与猝灭剂的猝灭速率都遵循 Stern-Volmer 曲线方程^[13]:

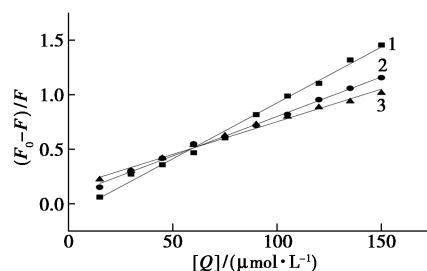
$$F_0/F = 1 + K_q\tau_0[Q] = 1 + K_{SV}[Q] \quad (1)$$

式中, F_0 为 HSA 溶液的荧光强度; F 为溶液中加入雷公藤红素后 HSA 的荧光强度; K_q 为双分子表观猝灭常数, $L/(mol \cdot s)$; $[Q]$ 为溶液中雷公藤红素浓度, $\mu mol/L$; $\tau_0 = 10^{-8} s$ 为蛋白质内源性荧光寿命值; K_{SV} 为动态猝灭常数, L/mol 。

根据上述公式可以得到方程(2):

$$K_{SV} = K_q\tau_0 \quad (2)$$

本文测定了 293、303、310 K 3 种不同的温度下雷公藤红素和 HSA 相互作用体系荧光光谱,根据公式(1)以 $(F_0 - F)/F$ 对猝灭剂(雷公藤红素溶液)浓度 $[Q]$ 作图,得到斜率 K_{SV} ,结果如图 2 所示。由图可知,在不同温度下 Stern-Volmer 曲线都拟合出很好的线性关系(293、303、310 K 下拟合度 R^2 分别为 0.993、0.996、0.991),同时曲线的斜率会随温度的上升而减小。由此可以得出,荧光猝灭现象并不是雷公藤红素与 HSA 相互发生碰撞而导致的动态猝灭,而是由于两者之间结合得到了非荧光复合物,属于静态猝灭^[14]。此外,两者相互作用体系的荧光 Stern-Volmer 曲线良好的线型关系也表明了动态猝灭和静态猝灭在体系中不可能同时存在^[15]。



曲线 1~3 分别代表温度为 293、303、310 K

图 2 雷公藤红素与 HSA 结合的 Stern-Volmer 线性图(HSA 浓度为 15 $\mu mol/L$)

Fig.2 Stern-Volmer linear graph of celastrol binding to HSA with HSA concentration 15 $\mu mol/L$

2.1.2 雷公藤红素对 HSA 的结合位点、结合常数

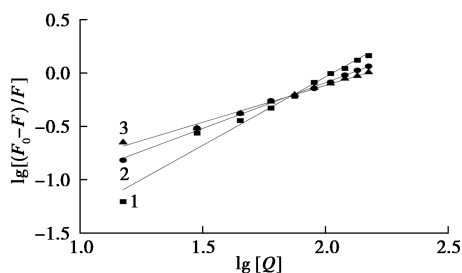
在静态猝灭中,通过荧光物质与猝灭剂分子

间的结合常数表达式可以推导出荧光强度与猝灭剂的关系。先假设在 HSA 上有 n 个独立且相同的结合位点,且 HSA 的荧光强度与游离态 HSA 浓度成正比,则 HSA 与雷公藤红素间的猝灭反应可由 Lineweaver-Burk 公式(3)获得 K_A 与 n :

$$\lg[(F_0 - F)/F] = \lg K_A + n \lg[Q] \quad (3)$$

式中, K_A 为雷公藤红素与 HSA 的结合常数; n 为雷公藤红素与 HSA 的结合位点数。

以上述公式进行线性拟合得到图 3 (293、303、310 K 下拟合度 R^2 分别为 0.994、0.997、0.992)。经计算可知,随温度的升高,雷公藤红素与 HSA 的结合位点数从 1.282 4 (293 K)、0.858 4 (303 K)、0.690 8 (310 K) 逐渐降低;且两者之间的结合位点数更接近于 1,说明一个 HSA 分子上只有一个雷公藤红素分子的结合位点;温度对结合位点数影响相对来说并不大,也进一步证明雷公藤红素使 HSA 内源荧光强度降低的过程不是动态猝灭。计算可得雷公藤红素与 HSA 的结合常数 K_A (10^3 L/mol) 分别为 399.7 (293 K)、64.1 (303 K)、31.5 (310 K)。



曲线 1~3 分别代表温度为 293、303、310 K

图 3 雷公藤红素与 HSA 结合的 Lineweaver-Burk 线性图

Fig.3 Lineweaver-Burk linear diagram of celastrol binding to HSA

由上述结果可知雷公藤红素与 HSA 二者在 303 K 时的结合能力不仅远远小于配体与受体间的强结合能力 ($10^6 \sim 10^9$ L/mol),也小于已报道的一般药物(或毒素)与 HSA 间的中等结合能力 ($10^4 \sim 10^6$ L/mol)^[15-17],说明二者的结合属于非共价结合。

2.2 雷公藤红素与 HSA 的相互作用的热力学分析

2.2.1 雷公藤红素与 HSA 的热力学类型的判断

分子间弱相互作用一般包括氢键、范德华力、疏水作用力、芳环堆积作用等。当温度较为接近时,可以近似将反应焓变作为常数,两物质间相互

作用的热力学参数符合下列关系:

$$\lg K_A = -(\Delta H/2.303RT) + \Delta S/2.303R \quad (4)$$

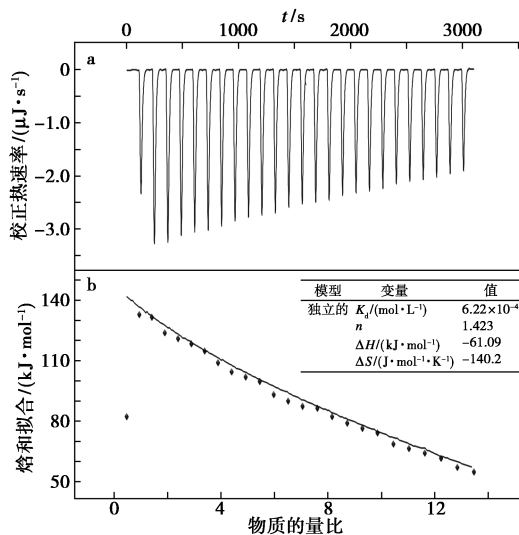
$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (5)$$

式中, K_A 为相应温度下的结合常数; ΔH 与 ΔS 为焓变与熵变; ΔG 为吉布斯自由能,可以判断反应是否为自发反应; R 为常数,取值为 8.314 J/(mol·K); T 为热力学温度。

由化学反应热力学原理可知, $\Delta G < 0$ 有利于反应的自发进行。通过(4)、(5)式结合上述图 3,计算可得出 ΔH 为 -79.2 kJ/mol, ΔS 为 -226.7 J/(mol·K), ΔG 为 -10.51 kJ/mol (303 K)。

2.2.2 等温滴定量热法测定雷公藤红素与 HSA 的相互作用

在 303 K 下雷公藤红素滴定 HSA,图 4a 中每一峰值表示每次滴定产生的热变化补偿,图 4b 为以被滴定分子的物质的量比为横坐标,每次滴定产生的热效应为纵坐标作图得到一条相互作用曲线。由图可知,雷公藤红素与 HSA 结合的 ΔH 和 ΔS 均小于 0,表明结合过程为放热熵减过程,且根据热力学参数与作用力类型的关系, $\Delta H < 0$ 、 $\Delta S < 0$,说明主要结合作用力为氢键或范德华力,由此可以推断雷公藤红素和 HSA 的结合作用力主要是氢键、范德华力等弱相互作用力^[16]。



a. 雷公藤红素与 HSA 相互作用的等温量热滴定曲线;

b. 结合反应热对雷公藤红素与 HSA 物质的量比的单位点结合的拟合曲线

图 4 303 K 时雷公藤红素滴定 HSA 的等温滴定微量热曲线

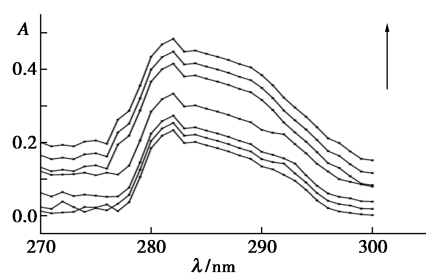
Fig.4 Isothermal titration trace heat curve of HSA titrated by celastrol at 303 K

利用 NANO-ITC 自带的 Launch Nano Analyze 软件对得到的 ITC 数据进行拟合,以雷公藤红素与 HSA 物质的量比为横坐标,相应产生的热效应

为纵坐标进行非线性最小方差拟合,结果如图 4b 所示,可以计算得到雷公藤红素与 HSA 之间相互作用的热力学参数。拟合后可以确定二者间平衡解离常数 K_d 为 6.22×10^{-4} mol/L,摩尔结合焓 ΔH 为 -61.09 kJ/mol、摩尔结合熵 ΔS 为 -140.2 J/(mol·K),结合位点数(n)为 1.423,且由上述公式(4)、(5)计算可得, ΔG 为 -18.81 kJ/mol。结果与荧光光谱分析得到的结果相吻合。

2.3 雷公藤红素与 HSA 的紫外吸收光谱分析

根据动态猝灭和静态猝灭的原理可知,动态猝灭不会影响 HSA 的紫外吸收光谱,静态猝灭则会有所影响。本实验分别测定了 HSA、HSA 与雷公藤红素混合溶液(以相应的雷公藤红素为空白)的紫外吸收光谱,结果如图 5 所示。HSA 在 280 nm 处左右有一吸收峰,一般认为 280 nm 处的吸收主要来源于蛋白质中含有的芳香族氨基酸残基中的共轭双键,如酪氨酸、苯丙氨酸。加入雷公藤红素后,发现 HSA 在 250~300 nm 波长范围内吸光值显著增加,表明雷公藤红素与 HSA 进行了结合。



曲线由下到上表示 HSA 与雷公藤红素的浓度比从 1:1 变化至 1:10

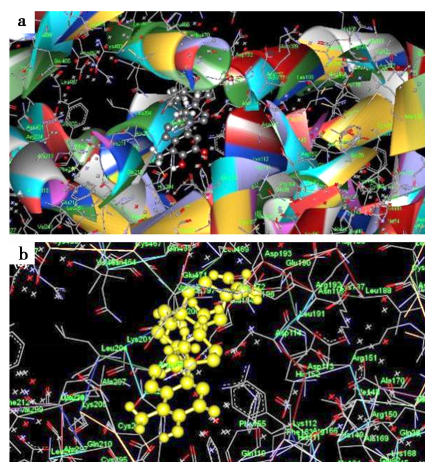
图 5 HSA 浓度为 1 μ mol/L 时,HSA 与雷公藤红素的浓度比从 1:1 至 1:10 变化时的紫外吸收光谱

Fig.5 UV absorption spectrum when the concentration ratio of HSA to celastrol changed from 1:1 to 1:10 when HSA concentration is 1 μ mol/L

从图 5 可以看出,随着体系雷公藤红素的浓度不断增加,溶液在 250~300 nm 波长范围的紫外吸收强度逐渐增强;同时芳香族氨基酸残基共轭双键的吸收峰轻微红移至 282 nm,HSA 的构象决定了其中氨基酸残基微环境的变化,紫外吸收光谱也会随之改变,这也进一步表明了雷公藤红素与 HSA 相互作用,结合形成了新的非荧光复合物,导致 HSA 在 250~300 nm 波长范围的紫外吸收光谱的变化。由此更进一步表明雷公藤红素对 HSA 的荧光猝灭机制为静态猝灭。

2.4 雷公藤红素与 HSA 的分子对接

选择蛋白质数据库 (<http://www.pdbus.org>) 中 HSA 晶体结构(ID 4IW1)作为本研究在线模拟的 HSA 结构的参照。利用 Accelrys Discovery Studio 2.5 软件对所模拟的 HSA 结构进行分析,自动产生了 21 个可能的小分子结合位点,运用该软件内 LibDOCK 程序对 HSA 蛋白中的 21 个可能结合位点与雷公藤红素分子进行对接验证。通过分子对接试验发现,HSA 蛋白结构上存在一个可能的雷公藤红素结合“口袋”,主要是由 α -螺旋和无规卷曲结构围成,具体位置大约为 α -螺旋 G195~Q210、 α -螺旋 F212~K231、 α -螺旋 E233~H248、无规则卷曲 S279~E203 所围成,如下图 a 所示,由此推测雷公藤红素与 HSA 之间存在疏水相互作用;进一步分析后发现,雷公藤红素既不与该“口袋”区域内的任一原子、也不与 HSA 蛋白上的其他原子形成氢键或形成过近接,如下图 b 所示,且通过比较,该“口袋”区域的半径要远大于雷公藤红素分子,由此推测雷公藤红素通过和“口袋”区域内的氨基酸残基以非固定的、相对松散的疏水作用等弱相互作用力与 HSA 结合。



a.HSA 与雷公藤红素结合区域;

b.HSA 与雷公藤红素相互作用的氨基酸残基
HSA 与雷公藤红素的对接结果

Docking results of HSA with celastrol

3 结论

本实验采用荧光光谱、分光光度法以及等温滴定量热法研究了模拟体内雷公藤红素与 HSA 的相互作用。结果表明,雷公藤红素对 HSA 荧光猝灭机制为静态猝灭。由不同温度的荧光实验得到二者之间反应的热力学参数以及分子对接实验可知,雷公藤红素与 HSA 间的结合反应自发进行

($\Delta G < 0$)的熵减($\Delta S < 0$)放热($\Delta H < 0$)反应,且二者之间的结合作用力为范德华力、疏水相互作用力等较弱的结合力。等温滴定量热实验的结果也验证了荧光光谱实验所得到的结果。由上述荧光光谱实验结果可知雷公藤红素与HSA二者在303 K时结合常数 K_A 仅为 6.41×10^4 L/mol,说明二者的结合属于非共价结合,二者间很弱的相互作用也侧面印证了雷公藤红素存在的水稳定性差、靶向性差等成药性较差的问题。

参考文献:

- [1] 袁菱,童德银.雷公藤红素及其制剂的抗肿瘤研究进展[J].中国医院药学杂志,2016,**36**(14):6.
- [2] VENKATESHA S H, DUDICS S, ASTRY B, et al. Control of autoimmune inflammation by celastrol, a natural triterpenoid[J]. *Pathog. Dis.*, 2016, **74**(6): ftw059.
- [3] LI J H, HAO J J. Treatment of neurodegenerative diseases with bioactive components of tripterygium wilfordii [J]. *Am. J. Chin. Med.*, 2019, **47**(4): 769-785.
- [4] XU L Y, ZHAO W J, WANG D M, et al. Chinese medicine in the battle against obesity and metabolic diseases[J]. *Front Physiol.*, 2018, **9**: 850.
- [5] CHEN S R, DAI Y, ZHAO J, et al. A mechanistic overview of triptolide and celastrol, natural products from *tripterygium wilfordii* Hook F [J]. *Front Pharmacol.*, 2018, **9**: 104.
- [6] SHI J F, LI J X, XU Z Y, et al. Celastrol: A review of useful strategies overcoming its limitation in anticancer application[J]. *Front Pharmacol.*, 2020, **11**: 558-741.
- [7] FANALI G, MASI A D, TREZZA V, et al. Human serum albumin: From bench to bedside [J]. *Mol. Aspects Med.*, 2012, **33**(3): 209-290.
- [8] TAO C, CHUAH Y J, XU C J, et al. Albumin conjugates and assemblies as versatile bio-functional additives and carriers for biomedical applications[J]. *J. Mater. Chem. B*, 2019, **7**(3): 357-367.
- [9] FIEHN C, KRATZ F, SASS G, et al. Targeted drug delivery by in vivo coupling to endogenous albumin: An albumin-binding prodrug of methotrexate (MTX) is better than MTX in the treatment of murine collagen-induced arthritis[J]. *Ann. Rheum. Dis.*, 2008, **67**(8): 1188-1191.
- [10] LI J, LI J, YONG J. Spectroscopic analysis and molecular modeling on the interaction of jatrorrhizine with human serum albumin (HSA) [J]. *Spectrochim. Acta A*, 2013, **118C**: 48-54.
- [11] ARUMUG A M, SELVA S, MALAICHA M Y, et al. Comprehensive multispectroscopic analysis on the interaction and corona formation of human serum albumin with gold/silver alloy nanoparticles [J]. *J. Phys. Chem. B*, 2015, **119**(30): 9461-9476.
- [12] 张孟丽,杨树德,刘宇,等.茯苓酸与人血清白蛋白相互作用的荧光光谱及分子对接研究[J].药物分析杂志,2020,**40**(12): 2141-2148.
- [13] FEI D, WEI L, LI Z. Sulfometuron-methyl binding to human serum albumin: Evidence that sulfometuron-methyl binds at the Sudlow's site I [J]. *J. Mol. Struct.*, 2010, **968**(1/3): 59-66.
- [14] JUDIS J. Binding of sulfonylureas to serum proteins [J]. *J. Pharm.*, 2010, **61**(1): 89-93.
- [15] 杨少梅,侯瑾,黄志宁,等.紫杉醇与人血清白蛋白的相互作用[J].厦门大学学报(自然科学版),2014,**53**(4): 7.
- [16] MIURA K. An overview of current methods to confirm protein-protein interactions [J]. *Protein Pep. Lett.*, 2018, **25**(8): 728-733.
- [17] MA W N, YANG L, HE L C. Overview of the detection methods for equilibrium dissociation constant K_D of drug-receptor interaction [J]. *J. Pharm. Anal.*, 2018, **8**(3): 147-152.

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022008857

化学试剂, 2022, 44(6), 816~821

以 3,5-二芳基取代吡唑为 Cap 的新型选择性 HDAC6 抑制剂: 设计、合成及抑酶活性评价

何格¹, 张明明¹, 李志¹, 徐星星¹, 袁真¹, 王琴¹, 马晓东^{*1,2}

(1.安徽中医药大学 药学院, 安徽 合肥 230038; 2.安徽省中医药科学院 药物化学研究所, 安徽 合肥 230012)

摘要:为发现新型组蛋白去乙酰化酶抑制剂(Histone deacetylase inhibitors, HDACis), 基于现有代表性选择性 HDAC6 抑制剂的结构特征, 采用构象限制型的 3,5-二芳基取代吡唑为 Cap 单元构建目标分子, 经 Claisen-Schmidt 反应、环合、亲核取代、水解、缩合、羟胺解反应合成了 9 个化合物, 并通过氢谱和质谱对其进行结构确证。抑酶活性测试结果显示, 化合物 4-((3,5-二(4-氯苯基)-1H-吡唑-1-基)甲基)-N-羟基苯甲酰胺(5a)对 HDAC6 具有良好的抑制活性($IC_{50}=0.25\text{ }\mu\text{mol/L}$)和一定的亚型选择性。

关键词:设计; 合成; 组蛋白去乙酰化酶 6 抑制剂; 抑酶活性评价; 选择性

中图分类号:R914.5 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2022)06-0816-06

Novel Selective HDAC6 Inhibitors Bearing 3,5-Diaryl-substituted 1H-Pyrazole as Cap moiety: Design, Synthesis and Evaluation of Enzymatic Activity HE Ge¹, ZHANG Ming-ming¹, LI Zhi¹, XU Xing-xing¹, YUAN Zhen¹, WANG Qin¹, MA Xiaodong^{*1,2} (1.College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China; 2.Department of Medicinal Chemistry, Anhui Academy of Chinese Medicine, Hefei 230012, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 816~821

Abstract: This study is conducted to discover novel histone deacetylase inhibitors (HDACis). Based on the structural characteristics of the representative histone deacetylase 6 (HDAC6) selective inhibitors, nine target compounds that feature conformationally restricted 3,5-diaryl-substituted 1H-pyrazole as the Cap moiety were designed based on structural characteristics of the representative selective HDAC6is, and synthesized via Claisen-Schmidt reaction, cyclization reaction, substitution reaction, hydroxylaminolysis. Their molecular structures have been confirmed by ¹H NMR and MS. The biochemical assay showed that compound 4-((3,5-bis(4-chlorophenyl)-1H-pyrazol-1-yl) methyl)-N-hydroxybenzamide (5a) exhibited acceptable HDAC6 inhibitory activity ($IC_{50}=0.25\text{ }\mu\text{mol/L}$) and moderate selectivity.

Key words: design; synthesis; histone deacetylase 6 inhibitor; biochemical assay; selectivity

组蛋白的乙酰化修饰是调控抑癌基因表达的主要表观遗传学方式。体内的组蛋白乙酰化水平由组蛋白乙酰转移酶和组蛋白去乙酰化酶(Histone deacetylases, HDACs)共同调控, 在正常生理状态下, 两者可维持乙酰化/去乙酰化过程的动态平衡^[1]。在多种恶性肿瘤中, HDACs 异常表达, 可显著上调组蛋白的去乙酰化水平, 使之与 DNA 紧密结合, 从而下调抑癌基因表达。相反, HDACis 可通过上调组蛋白乙酰化, 干预上述表观遗传途径, 发挥抗肿瘤作用。目前已获批的 HDACis 有 Vorinostat (SAHA)、Belinostat、Panobinostat、Romidepsin、Chidamide, 但由于对 HDAC 缺乏亚型选择性, 仅适用于部分血液瘤, 且均存在恶心、呕吐、QT 间期延长等副作用^[2-4], 故亟需发现具有亚型选择性的新型 HDACis 以改善药物的安全性, 并获得实体瘤疗效。

目前发现的 HDACs 包括 18 种亚型, 即 HDAC1-11 和 Sirtin 家族; HDAC1-11 的辅基均为 Zn^{2+} , 而 Sirtuin 家族的辅基为 NAD^{+} 。在所有 HDACs 亚型中, HDAC6 结构独特^[5], 具有两个催化结构域, 且主要在细胞质中表达, 其底物除组蛋白外, 还包括 α -tubulin、Hsp90 等非组蛋白^[6-9], 故表现出较之其他亚型更广泛的生物学功能。在基

收稿日期: 2021-12-13; 网络首发日期: 2022-03-07

基金项目: 安徽省高等学校自然科学研究项目 (KJ2020A-0412)。

作者简介: 何格(1998-), 女, 湖南邵阳人, 硕士生, 主要研究方向为基于靶点的抗肿瘤药物设计。

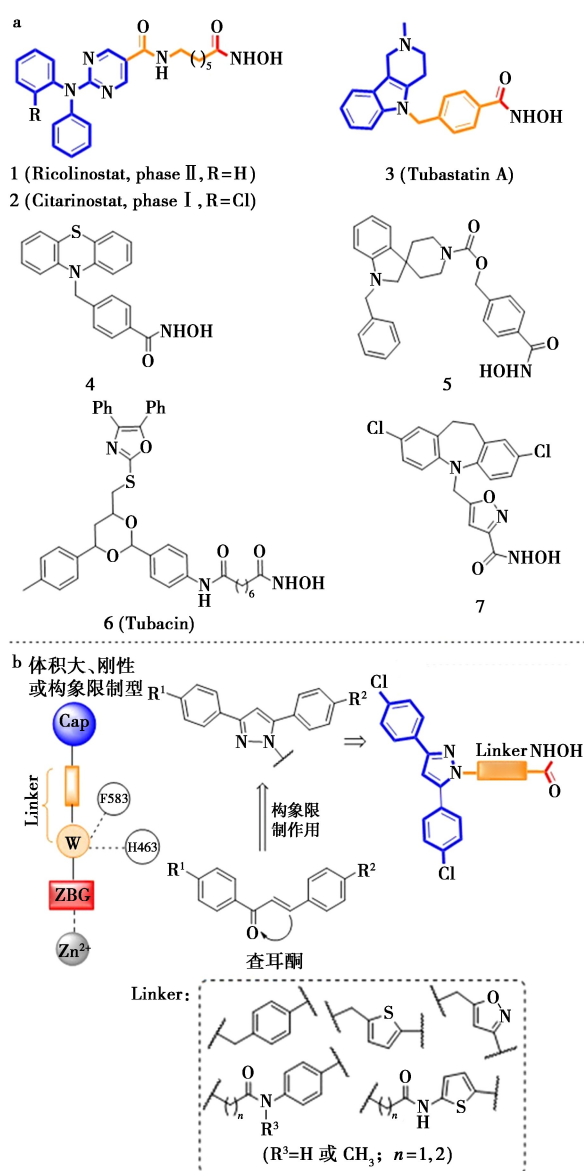
通讯作者: 马晓东, E-mail: o-omaxiaodong@163.com。

引用本文: 何格, 张明明, 李志, 等. 以 3,5-二芳基取代吡唑为 Cap 的新型选择性 HDAC6 抑制剂: 设计、合成及抑酶活性评价[J]. 化学试剂, 2022, 44(6): 816-821。

因敲除实验中,与 HDAC1 敲除的致死性相比,HDAC6 敲除的小鼠无明显表型异常^[10]。研究表明,选择性 HDAC6 抑制剂 (HDAC6 inhibitors, HDAC6is) 在癌症、神经退行性疾病和自身免疫性疾病治疗方面均具有良好的应用前景^[11-13]。除具有良好的安全性外,选择性 HDAC6is 还具有实体瘤疗效^[14]。新近研究证实,HDAC6 抑制剂可通过下调肿瘤细胞 PD-L1 免疫哨卡的表达,调控肿瘤微环境,有望为肿瘤免疫治疗提供新选择^[15]。当前,HDAC6is Ricolinostat^[16] 和 Citarinostat^[17] (化合物 1、2,见图 1a) 虽已进入临床研究,但其选择系数 (Selectivity index, SI, 抑制 HDAC1 和 HDAC6 的 IC_{50} 比值) 均偏低,故治疗窗口仍较窄。因此发展高选择性的 HDAC6is 具有重要意义。

HDACi 由 3 个结构单元组成:与蛋白表面相互作用的表面识别基团 (Surface recognition group, Cap)、结合催化通道的连接片段 (Linker) 以及末端的 Zn^{2+} 辅基结合基团 (Zinc binding group, ZBG)。HDAC6 的结构特征为其选择性抑制剂的设计提供了重要依据:其蛋白表面更大且催化通道更宽,故与蛋白表面相互作用的 Cap 与占据催化通道的 Linker 是决定选择性的关键因素^[18]。基于已有 HDAC6is 的化学结构,以体积较大、刚性、半刚性或构象限制型的基团为 Cap 有利于提升选择性 (化合物 1~7,见图 1a)^[15,19-22];同时,引入苯基或五元芳杂基作为 Linker 末端可与催化通道的 H463、F583 产生 $\pi-\pi$ 堆积,从而更好地匹配催化通道 (化合物 3~5、7,见图 1a)^[15,20-22]。

查耳酮及其结构类似物具有抗癌、抗菌、抗疟等广泛的药理学特性^[23]。鉴于现有选择性 HDAC6is 的 Cap 结构特征,本团队将查耳酮的 α,β -不饱和酮结构闭环,由此得到构象限制型的 3,5-二芳基取代吡唑 Cap 单元,并通过不同过渡片段将其与苯基或五元芳杂基异羟肟酸结构共价连接,得到一系列具有新颖化学结构的目标分子,见图 1b)。为初步验证该设计的合理性,我们共制备了 9 个化合物,以进行初步的构效关系 (Structure-activity relationship, SAR) 研究。抑酶活性评价结果显示,化合物 5a 对 HDAC6 具有良好的抑酶活性 ($IC_{50} = 0.25 \mu\text{mol/L}$),且具有一定亚型选择性。



a. 代表性 HDAC6is; b. 目标分子的设计思路

图 1 HDAC6is 的结构式及目标分子的设计思路

Fig.1 Structures of representative HDAC6is and design rationale of target compounds

1 实验部分

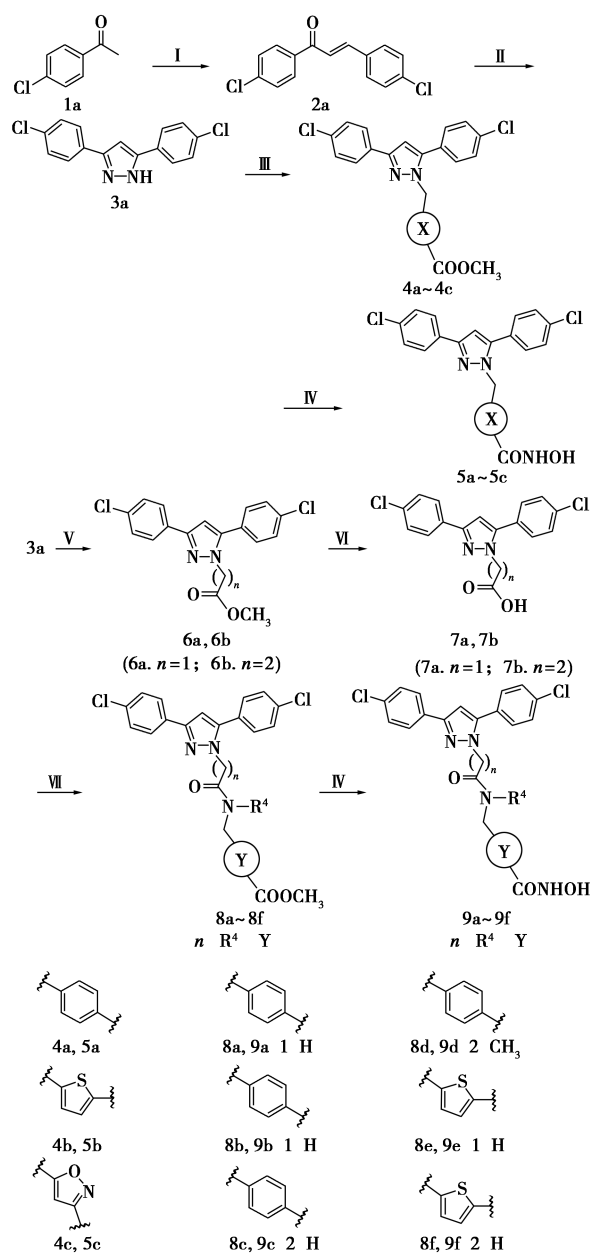
1.1 主要仪器与试剂

AV 400 型超导核磁共振仪、Esquire-LC-00075 型液质联用质谱仪 (德国 Bruker 公司); ZF-7 型三用紫外分析仪 (上海嘉鹏科技有限公司); DZF-200 型真空干燥箱 (上海森信实验仪器有限公司); FA-2004 型电子天平 (上海浦春计量仪器有限公司); 0.074~0.048 mm 型柱层析硅胶 (青岛海洋化工有限公司)。

所用试剂均为市售化学纯或分析纯,除特别说明外,不经处理直接使用。

1.2 实验原理

4-氯苯乙酮(1a)与4-氯苯甲醛经 Claisen-Schmidt 缩合得查耳酮衍生物 2a,后者与对甲苯磺酰肼环合、并原位脱去对甲苯磺酰基得 3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑(3a)。



反应条件和试剂: I. 4-氯苯甲醛, NaOH (10%), 乙醇, 0 °C; II. 对甲苯磺酰肼, I_2 , K_2CO_3 , 乙醇, 75 °C; III. 对氯甲基苯甲酸甲酯或 5-(溴甲基)噻吩-2-羧酸甲酯或 5-(溴甲基)异噻唑-3-羧酸甲酯, NaH (60%), *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF), 室温; IV. NaOH(s), 50% NH_2OH 水溶液, 四氢呋喃/甲醇, 室温; V. 溴乙酸乙酯或溴丙酸甲酯, K_2CO_3 , 无水乙腈, N_2 , 80 °C; VI. LiOH(s), 四氢呋喃/甲醇/水, 室温; HCl (1 mol/L); VII. 4-((甲氨基)甲基)苯甲酸甲酯盐酸盐或 4-(氨基甲基)苯甲酸甲酯盐酸盐或 5-(氨基甲基)噻吩-2-羧酸甲酯盐酸盐, 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDCI), 1-羟基苯并三唑 (HOBt), 三乙胺, 二氯甲烷, 室温。

目标化合物的合成路线

Synthetic route for target compounds

磺酰肼环合、并原位脱去对甲苯磺酰基得 3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑(3a)。化合物 3a 经与卤甲基芳甲酸酯的亲核取代及羟胺解得目标化合物 5a~5c; 经与溴乙酸乙酯或溴丙酸甲酯的亲核取代、水解、与 4-(氨基甲基)苯甲酸甲酯盐酸盐或 4-((甲氨基)甲基)苯甲酸甲酯盐酸盐或 5-(氨基甲基)噻吩-2-羧酸甲酯盐酸盐缩合成酰胺、羟胺解得目标化合物 9a~9f。合成路线如左图所示。

1.3 化合物的合成

1.3.1 1,3-二(4-氯苯基)丙-2-烯-1-酮(2a)的制备

将 2.0 g (12.94 mmol) 化合物 1a 溶于 13 mL 乙醇和 16 mL 10% NaOH 溶液中,待搅拌均匀后,加入 1.82 g (12.94 mmol) 4-氯苯甲醛,冰浴反应 1 h。反应完毕,加入冰水混合物淬灭,冰浴下以浓 HCl 调至 pH 7~8,抽滤,滤饼经乙醇重结晶得 1.7 g 淡黄色固体,产率 47.4%。

1.3.2 3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑(3a)的制备

将 1.6 g (5.77 mmol) 化合物 2a 溶于 32 mL 乙醇中,依次加入 2.5 g (13.68 mmol) 对甲苯磺酰肼, 289 mg (1.14 mmol) I_2 , 置于 75 °C 下搅拌回流 10 min。随后,加入 2.36 g (17.10 mmol) K_2CO_3 , 继续反应。反应完毕,减压浓缩,加入饱和碳酸氢钠溶液,抽滤,滤饼经乙醇重结晶得 967 mg 白色絮状固体,产率 58.0%。

1.3.3 4-((3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基)苯甲酸甲酯(4a)的制备

将 150 mg (0.52 mmol) 化合物 3a 溶于 2 mL DMF 中,冰浴下加入 133 mg (0.57 mmol) 60% NaH,室温搅拌 10 min 后,加入 115 mg (0.62 mmol) 对氯甲基苯甲酸甲酯,继续反应。反应完毕,依次以饱和碳酸氢钠、水、饱和食盐水洗涤,乙酸乙酯萃取,有机相用无水硫酸钠(5 g)干燥、浓缩,粗品采用石油醚/乙酸乙酯柱层析得 130 mg 白色固体,产率 56.8%。

1.3.4 4-((3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基)-*N*-羟基苯甲酰胺(5a)的制备

将 108.8 mg (2.4 mmol) NaOH 溶于 50% NH_2OH 水溶液(1.5 mL),于其中加入溶有 100 mg (0.23 mmol) 化合物 4a 的 V(四氢呋喃):V(甲醇)=1:1 混合液(4 mL),室温搅拌反应。反应完毕,冰浴下以醋酸调至 pH 7~8,真空减压浓缩有机溶剂,抽滤,滤饼水洗,粗品采用二氯甲烷/甲醇柱层析得 67 mg 白色固体,产率 66.4%。 1H NMR

(DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 11.16 (s, 1H); 9.00 (s, 1H); 7.88 (d, 2H, J =8.4 Hz); 7.67 (d, 2H, J =8.0 Hz); 7.56 (d, 2H, J =8.4 Hz); 7.50 (d, 2H, J =4.8 Hz); 7.48 (d, 2H, J =4.8 Hz); 7.10 (d, 2H, J =8.2 Hz); 7.05 (s, 1H); 5.48 (s, 2H)。ESI-HRMS, m/z : 438.076 5 [M+H]⁺。

化合物 5b、5c 参考化合物 5a 的合成方法制备。

5-((3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基)-*N*-羟基噻吩-2-甲酰胺(5b): 白色固体, 产率 51.2%。¹HNMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 11.15 (s, 1H); 9.09 (s, 1H); 7.89 (d, 2H, J =8.4 Hz); 7.61 (d, 2H, J =8.4 Hz); 7.55 (d, 2H, J =8.4 Hz); 7.50 (d, 2H, J =8.4 Hz); 7.45~7.37 (m, 1H); 7.01 (s, 1H); 6.89 (d, 1H, J =4.0 Hz); 5.58 (s, 2H)。ESI-HRMS, m/z : 444.032 8 [M+H]⁺。

4-((3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑-1-基)甲基)-*N*-羟基异噻唑-2-甲酰胺(5c): 淡黄色固体, 产率 60.7%。¹HNMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 11.49 (s, 1H); 9.37 (s, 1H); 7.85 (d, 2H, J =8.4 Hz); 7.66~7.55 (m, 4H); 7.49 (d, 2H, J =8.4 Hz); 7.04 (s, 1H); 6.61 (s, 1H); 5.64 (s, 2H)。ESI-HRMS, m/z : 429.050 6 [M+H]⁺。

1.3.5 3-((3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑-1-基)乙酰酯(6a)的制备

将 1.0 g (3.45 mmol) 化合物 3a 溶于 20 mL 无水乙腈中, 依次加入 691.38 mg (4.14 mmol) 溴乙酸乙酯、1.0 g (7.245 mmol) K₂CO₃, 于 N₂ 氛围下, 80 °C 搅拌反应。反应完毕, 向反应瓶中加入水、静置, 析出固体, 抽滤, 滤饼采用石油醚/乙酸乙酯柱层析得 1.2 g 白色固体, 产率 90.2%。

1.3.6 3-((3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑-1-基)乙酸(7a)的制备

将 1.0 g (2.6 mmol) 化合物 6a 溶于 15 mL V(四氢呋喃):V(甲醇):V(水)=3:1:1 的混合溶液中, 冰浴下加入 311 mg (13 mmol) LiOH, 室温反应。反应完毕, 减压蒸出有机溶剂, 冰浴下以 (1 mol/L) 稀 HCl 调至 pH 3~4, 抽滤、干燥后得 885 mg 白色固体, 无需纯化直接用于下一步, 产率 98.1%。

1.3.7 4-((2-(3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑-1-基)乙酰氨基)甲基)-苯甲酸甲酯(8a)的制备

将 200 mg (0.58 mmol) 化合物 7a 溶于 4 mL 二氯甲烷, 依次加入 120.77 mg (0.63 mmol)

EDCI、85.13 mg (0.63 mmol) HOBT, 室温搅拌 0.5 h 后, 加入 127.77 mg (0.63 mmol) 4-(氨基甲基)苯甲酸甲酯盐酸盐和 361.46 mg (1.89 mmol) 三乙胺, 继续室温反应。反应完毕, 依次以饱和碳酸氢钠溶液、水、饱和食盐水洗涤, 二氯甲烷萃取, 有机相用无水硫酸钠 (5 g) 干燥、减压浓缩, 粗品采用石油醚/乙酸乙酯柱层析得 201 mg 白色固体, 产率 72.5%。

1.3.8 4-((2-(3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑-1-基)乙酰氨基)甲基)-*N*-羟基苯甲酰胺(9a)的制备

将 67 mg (1.68 mmol) NaOH 溶于 50% NH₂OH 水溶液 (1 mL), 于其中加入溶有 100 mg (0.21 mmol) 化合物 8a 的 V(四氢呋喃):V(甲醇)=1:1 的混合液 (2 mL), 室温搅拌反应。反应完毕, 冰浴下以醋酸调至 pH 7~8, 真空减压浓缩有机溶剂, 抽滤, 滤饼水洗, 粗品采用二氯甲烷/甲醇柱层析得 60 mg 白色固体, 产率 66.7%。¹HNMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 11.20 (s, 1H); 9.03 (s, 1H); 8.81 (t, 1H, J =5.6 Hz); 7.87 (d, 2H, J =8.8 Hz); 7.71 (d, 2H, J =8.4 Hz); 7.59 (d, 4H, J =6.4 Hz); 7.50 (d, 2H, J =8.4 Hz); 7.29 (d, 2H, J =8.0 Hz); 6.99 (s, 1H); 4.89 (s, 2H); 4.35 (d, 2H, J =6.0 Hz)。ESI-HRMS, m/z : 495.100 0 [M+H]⁺。

化合物 9b~9f 参考化合物 9a 的制备方法制备。

4-((2-(3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑-1-基)-*N*-甲基乙酰氨基)甲基)-*N*-羟基苯甲酰胺(9b): 白色固体, 产率 52.1%。¹HNMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 11.21 (s, 1H); 9.04 (s, 1H); 7.92~7.82 (m, 2H); 7.78~7.71 (m, 2H); 7.61~7.55 (m, 3H); 7.53~7.47 (m, 2H); 7.31~7.17 (m, 2H); 7.01~6.95 (m, 1H); 5.28 (s, 1H); 5.16 (s, 1H); 4.70 (s, 1H); 4.55 (s, 2H); 2.99 (s, 2H); 2.85 (s, 1H)。ESI-MS, m/z : 509 [M+H]⁺。

4-((2-(3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑-1-基)丙酰氨基)甲基)-*N*-羟基苯甲酰胺(9c): 白色固体, 产率 42.4%。¹HNMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 11.12 (s, 1H); 8.98 (s, 1H); 8.53 (t, 1H, J =6.0 Hz); 7.90~7.84 (m, 2H); 7.67~7.55 (m, 6H); 7.51~7.46 (m, 2H); 7.18 (d, 2H, J =8.4 Hz); 6.92 (s, 1H); 4.36 (t, 2H, J =6.8 Hz); 4.27 (d, 2H, J =5.6 Hz); 2.86 (t, 2H, J =7.2 Hz)。ESI-

HRMS, m/z : 509. 114 9 [M+H]⁺。

4-((2-(3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑-1-基)-*N*-甲基丙酰氨基)甲基)-*N*-羟基苯甲酰胺(9d): 白色固体, 产率 56.3%。¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ : 11.16 (s, 1H); 9.01 (d, 1H, J = 6.4 Hz); 7.87 (d, 1H, J = 8.4 Hz); 7.81 (d, 1H, J = 8.0 Hz); 7.74 (d, 1H, J = 8.0 Hz); 7.69 ~ 7.57 (m, 5H); 7.52 ~ 7.44 (m, 2H); 7.26 (d, 1H, J = 7.6 Hz); 7.15 (d, 1H, J = 7.6 Hz); 6.97 ~ 6.85 (m, 1H); 4.62 (s, 1H); 4.51 (s, 1H); 4.43 ~ 4.28 (m, 2H); 3.16 ~ 3.01 (m, 2H); 2.94 (s, 2H); 2.79 (s, 1H)。ESI-HRMS, m/z : 523. 127 8 [M+H]⁺。

5-((2-(3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑-1-基)乙酰氨基)甲基)-*N*-羟基噻吩-2-甲酰胺(9e): 白色固体, 产率 46%。¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ : 11.18 (s, 1H); 9.11 (s, 1H); 8.93 (d, 1H, J = 5.6 Hz); 7.87 (d, 2H, J = 8.4 Hz); 7.63 ~ 7.53 (m, 4H); 7.52 ~ 7.47 (m, 3H); 6.99 (s, 1H); 6.95 (d, 1H, J = 4.0 Hz); 4.84 (s, 2H); 4.48 (d, 2H, J = 5.6 Hz)。ESI-MS, m/z : 501 [M+H]⁺。

5-((2-(3,5-二(4-氯苯基)-1*H*-吡唑-1-基)丙酰氨基)甲基)-*N*-羟基噻吩-2-甲酰胺(9f): 淡黄色固体, 产率 51.3%。¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ : 11.12 (s, 1H); 9.07 (s, 1H); 8.66 (t, 1H, J = 6.0 Hz); 7.91 ~ 7.81 (m, 2H); 7.68 ~ 7.57 (m, 4H); 7.52 ~ 7.44 (m, 2H); 7.42 ~ 7.31 (m, 1H); 6.89 (s, 1H); 6.86 (d, 1H, J = 3.6 Hz); 4.42 ~ 4.28 (m, 4H); 2.81 (t, 2H, J = 7.2 Hz)。ESI-MS, m/z : 515 [M+H]⁺。

1.4 抑酶活性测试

目标分子的 HDAC6、HDAC1 抑制活性采用 Fluorescent-based HDAC Activity Assay 测定: 配制待测化合物的 DMSO 溶液, 并按试剂盒说明依次配制缓冲液、酶溶液、Substrate/Trypsin 混合溶液; 将梯度浓度的化合物溶液、酶溶液、Substrate/Trypsin 混合溶液分别加入到 384 孔板中以配制催化反应体系, 并设置对照孔; 室温孵育一定时间后, 采用 Synergy 酶标仪读取荧光信号值, 计算各浓度下的抑制率, 拟合量效曲线, 得到 IC₅₀ 值。

2 结果与讨论

化合物 5a ~ 5c、9a ~ 9f 对 HDAC1/HDAC6 的抑制活性结果如表 1 所示。抑酶活性测试结果表明, 化合物 5a 对 HDAC6 具有良好的抑制活性, 其

IC₅₀ 为 0.25 μ mol/L, 同时具有一定的亚型选择性 (SI = 6.0), 而在相同测试条件下, 上市 HDAC 泛抑制剂 SAHA 的 SI 值仅为 0.34。在 Linker 为亚基芳基的化合物中, 化合物 5a 的抑酶活性最优, 当其苯基替换为噻吩 (5b) 和异噻唑 (5c) 时活性下降。在化合物 5a ~ 5c 的基础上, 进一步通过引入酰胺基团延长 Linker 得到化合物 9a ~ 9f, 但其抑酶活性较之化合物 5a 未有显著提升。其中, 化合物 9f 抑酶活性最优, IC₅₀ 为 0.18 μ mol/L。如前所述, Cap 和 Linker 是影响抑酶活性/选择性的关键结构因素, 在后续研究中, 将以化合物 5a 为先导物, 进一步丰富 Cap 和 Linker 的结构多样性, 以发现更优的选择性 HDAC6is。

表 1 目标化合物的抑酶活性评价

Tab.1 Inhibitor activity evaluation of target compounds

化合物	IC ₅₀ / (μ mol · L ⁻¹)		选择性系数 SI (HDAC1/HDAC6)
	HDAC1	HDAC6	
5a	1.5	0.25	6
5b	4.2	0.70	6
5c	2.2	0.56	3.9
9a	—	0.84	—
9b	—	0.39	—
9c	—	0.27	—
9d	—	0.25	—
9e	—	0.90	—
9f	—	0.18	—
SAHA	0.011	0.032	0.34

3 结论

本文基于选择性 HDAC6is 的结构特征, 将查耳酮的 α, β -不饱和酮结构闭环, 由此得到构象限制型的 3,5-二芳基取代吡唑 Cap 单元, 并通过不同过渡片段将其与苯基或五元芳杂基异羟肟酸结构共价连接, 设计、合成了 9 个目标分子。抑酶活性测试结果表明, Linker 为亚甲基苯基的化合物 5a 对 HDAC6 具有良好的抑酶活性 (IC₅₀ = 0.25 μ mol/L) 和一定的亚型选择性 (SI = 6.0), 而在 Linker 上进一步引入酰胺键后, 抑酶活性未有显著提升。后续本团队将以化合物 5a 为先导物, 通过进一步丰富 Cap、Linker 的结构多样性开展 SAR 研究, 以发现抑酶活性、选择性更优的 HDAC6is。

参考文献:

[1] BOLDEN J E, PEART M J, JOHNSTONE R W. Antican-

- cer activities of histone deacetylase inhibitors [J]. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2006, **5**(9):769-784.
- [2] CHEN Y, WANG X, XIANG W, et al. Development of purine-based hydroxamic acid derivatives: Potent histone deacetylase inhibitors with marked in vitro and in vivo antitumor activities [J]. *J. Med. Chem.*, 2016, **59**(11):5 488-5 504.
- [3] ABDIZADEH T, KALANI M R, ABNOUS K, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel coumarin-based benzamides as potent histone deacetylase inhibitors and anticancer agents [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2017, **132**:42-62.
- [4] SHAH R R. Safety and tolerability of histone deacetylase (HDAC) inhibitors in oncology [J]. *Drug Saf.*, 2019, **42**(2):235-245.
- [5] OSKO J D, PORTER N J, NARAYANA REDDY P A, et al. Exploring structural determinants of inhibitor affinity and selectivity in complexes with histone deacetylase 6 [J]. *J. Med. Chem.*, 2020, **63**(1):295-308.
- [6] LOPRESTI P. HDAC6 in diseases of cognition and of neurons [J]. *Cells*, 2020, **10**(1):12.
- [7] FEINBERG A P, TYCKO B. The history of cancer epigenetics [J]. *Nat. Rev. Cancer*, 2004, **4**(2):143-153.
- [8] LOMBARDI P M, COLE K E, DOWLING D P, et al. Structure, mechanism, and inhibition of histone deacetylases and related metalloenzymes [J]. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2011, **21**(6):735-743.
- [9] TRAN A D, MARMO T P, SALAM A A, et al. HDAC6 deacetylation of tubulin modulates dynamics of cellular adhesions [J]. *J. Cell. Sci.*, 2007, **120**(Pt 8):1 469-1 479.
- [10] SENGER J, MELESINA J, MAREK M, et al. Synthesis and biological investigation of oxazole hydroxamates as highly selective histone deacetylase 6 (HDAC6) inhibitors [J]. *J. Med. Chem.*, 2016, **59**(4):1 545-1 555.
- [11] YU C W, HUNG P Y, YANG H T, et al. Quinazolin-2,4-dione-based hydroxamic acids as selective histone deacetylase-6 inhibitors for treatment of non-small cell lung cancer [J]. *J. Med. Chem.*, 2019, **62**(2):857-874.
- [12] YU C W, CHANG P T, HSIN L W, et al. Quinazolin-4-one derivatives as selective histone deacetylase-6 inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease [J]. *J. Med. Chem.*, 2013, **56**(17):6 775-6 791.
- [13] MAZZONE R, ZWERGEL C, ARTICO M, et al. The emerging role of epigenetics in human autoimmune disorders [J]. *Clin. Epigenetics.*, 2019, **11**(1):34.
- [14] YANG Z, WANG T, WANG F, et al. Discovery of selective histone deacetylase 6 inhibitors using the quinazoline as the cap for the treatment of cancer [J]. *J. Med. Chem.*, 2016, **59**(4):1 455-1 470.
- [15] SHEN S, HADLEY M, USTINOVA K, et al. Discovery of a new isoxazole-3-hydroxamate-based histone deacetylase 6 inhibitor ss-208 with antitumor activity in syngeneic melanoma mouse models [J]. *J. Med. Chem.*, 2019, **62**(18):8 557-8 577.
- [16] COSENZA M, CIVALLERO M, MARCHESELLI L, et al. Ricolinostat, a selective HDAC6 inhibitor, shows anti-lymphoma cell activity alone and in combination with bendamustine [J]. *Apoptosis*, 2017, **22**(6):827-840.
- [17] HUANG P, ALMECIGA-PINTO I, JARPE M, et al. Selective HDAC inhibition by ACY-241 enhances the activity of paclitaxel in solid tumor models [J]. *Oncotarget*, 2017, **8**(2):2 694-2 707.
- [18] HAI Y, CHRISTIANSON D W. Histone deacetylase 6 structure and molecular basis of catalysis and inhibition [J]. *Nat. Chem. Biol.*, 2016, **12**(9):741-747.
- [19] WONG J C, HONG R, SCHREIBER S L. Structural biasing elements for in-cell histone deacetylase paralog selectivity [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**(19):5 586-5 587.
- [20] VÖGERL K, ONG N, SENGER J, et al. Synthesis and biological investigation of phenothiazine-based benzhydroxamic acids as selective histone deacetylase 6 inhibitors [J]. *J. Med. Chem.*, 2019, **62**(3):1 138-1 166.
- [21] SARASWATI A P, RELITTI N, BRINDISI M, et al. Spiroindoline-capped selective HDAC6 inhibitors: Design, synthesis, structural analysis, and biological evaluation [J]. *ACS Med. Chem. Lett.*, 2020, **11**(11):2 268-2 276.
- [22] BUTLER K V, KALIN J, KOZIKOWSKI A P, et al. Rational design and simple chemistry yield a superior, neuroprotective HDAC6 inhibitor, tubastatin A [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**(31):10 842-10 846.
- [23] 何猛, 喻明军, 姚日生. 具有肾保护活性的查耳酮衍生物的设计合成及活性评价 [J]. *中国药物化学杂志*, 2021, **31**(10):786-796.

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022008868

化学试剂, 2022, 44(6), 822~827

功能材料

编者按:环境污染已经严重威胁人类健康,尤其是重金属离子、有机污染物、染料引发的水污染,有效处理水污染成为一个重要的研究课题。吸附材料具备来源广、价格低、性能优等特点,且在使用时不会引起二次污染,寻找高效的吸附材料正成为研究热点。

本栏目收录了 3 篇改性生物质吸附材料和 1 篇纳米级吸附材料,涉及改性柚子皮、氯化铁改性椰壳、板栗壳活性炭、纳米零价铁等对染料、 Pb^{2+} 、2,4-二氯苯酚的吸附,这类吸附材料在单位吸附量、选择性、重复利用等方面展现出了良好的性能。

改性柚子皮生物炭吸附亚甲基蓝性能研究

张妍杰,王欢,蔡玉福,边子琦,赵兴,刘彦琳,赵永华*

(辽宁工业大学 化学与环境工程学院,辽宁 锦州 121001)

摘要:采用硝酸-高锰酸钾活化法对制备的柚子皮生物炭进行改性处理,并将其作为吸附剂探究了其对亚甲基蓝的吸附性能。通过静态吸附实验考察了亚甲基蓝溶液的 pH、初始浓度、吸附时间、吸附温度、吸附剂投加量等条件对吸附效果的影响,并确定了该吸附过程的吸附动力学、吸附等温线和吸附热力学。实验结果表明,在改性生物炭投加量为 0.6 g/L、pH 7、亚甲基蓝溶液浓度为 100 mg/L、50 °C 吸附 180 min 的条件下,改性生物炭对亚甲基蓝的吸附容量为 68.28 mg/g。通过准二级动力学方程和 Freundlich 方程更好的描述了该吸附过程,同时吸附热力学表明该吸附过程是一个自发吸热过程。

关键词:柚子皮;生物炭;亚甲基蓝;吸附

中图分类号:X703 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2022)06-0822-06

Adsorption of Methylene Blue by Modified Pomelo Peel Biochar ZHANG Yan-jie, WANG Huan, CAI Yu-fu, BIAN Zi-qi, ZHAO Xing, LIU Yan-lin, ZHAO Yong-hua* (School of Chemistry & Environmental Engineering, Liaoning University of Technology, Jinzhou 121001, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 822~827

Abstract: Pomelo peel-derived biochar was firstly modified by using nitric acid-potassium permanganate activation method and used as adsorbent for methylene blue (MB), the adsorption performance for methylene blue was investigated. The influences of pH, initial MB concentration, adsorption time, adsorption temperature, and the amount of adsorbent on the adsorption performance of Pomelo peel-derived biochar were investigated by static adsorption experiments, and the adsorption kinetics, adsorption isotherms, and adsorption thermodynamics were determined. The results showed that the adsorption capacity of MB was 68.28 mg/g under the condition of adsorbent concentration of 0.6 g/L, pH 7, methylene blue concentration of 100 mg/L, and adsorption at 50 °C for 180 min. The adsorption process could be better described by the quasi-second-order kinetic equation and Freundlich equation. Adsorption thermodynamics revealed that the adsorption was spontaneous and endothermic.

Key words: Pomelo peel; biochar; methylene blue; adsorption

随着印染行业的快速发展,染料产品数量和用量的逐渐增多,由此带来的印染废水排放量急剧增加。印染废水属于传统的高污染废水,对人体和环境的危害极大。由于废水中存在的染料能够吸收光线,从而使得水体透明度降低、颜色加深,不仅不利于水生生物和微生物的生长,影响水体自净,还容易引起视觉上的污染。当水体污染严重时,会使人类的健康受到严重影响。因此,如

收稿日期:2021-12-17;网络首发日期:2022-03-08

基金项目:辽宁省自然科学基金指导计划项目(2019-ZD-0690)。

作者简介:张妍杰(2000-),女,辽宁辽阳人,本科生,主要研究方向为环境化学。

通讯作者:赵永华, E-mail:lgdzyh@163.com。

引用本文:张妍杰,王欢,蔡玉福,等.改性柚子皮生物炭吸附亚甲基蓝性能研究[J].化学试剂,2022,44(6):822-827。

何去除印染废水中的染料引起了人们的极大关注^[1,2]。亚甲基蓝作为印染行业中应用最广的染料之一,虽然呈低毒性,但是长期接触对身体也会有一定的危害。因此,人们对废水中亚甲基蓝的去除了进行了大量研究,结果发现吸附法^[3]、混凝法^[4]、氧化法^[5]、生物法^[6]等都可以达到去除亚甲基蓝的目的。在众多方法中,吸附法由于其操作简单、脱色效率好且无副产物等特点,成为降解亚甲基蓝最常用的方法。在吸附法中,吸附剂的选择尤为重要,围绕着高效、廉价、环境友好等特点,人们也开发了大量的吸附剂。其中活性炭由于具有吸附容量大、吸附速率快,是一种应用最广的吸附剂^[7-9]。

柚子皮是一种来源于生活的废弃物,其富含纤维素、半纤维素和果胶等^[10,11],在制备富含含氧官能团的水热炭材料方面具有潜在价值,已有学者将其直接作为吸附剂。为了让这些废弃物得到更好的利用,本文以柚子皮作为原料,采用惰性氛围焙烧的方法制备生物炭,并对其改性处理,同时将其作为吸附剂吸附亚甲基蓝,探究了其对于亚甲基蓝的吸附性能。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

TL1200 型管式炉(南京博蕴通仪器科技有限公司);UV2300 II 型分光光度计(上海天美科学仪器有限公司);DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司);FA2104A 型电子分析天平(上海精天电子仪器有限公司);DHG-9240A 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

浓硝酸、高锰酸钾、双氧水和亚甲基蓝均为分析纯;柚子皮取自福建产红西柚。

1.2 实验方法

1.2.1 改性生物炭的制备

(1)预处理。首先用去离子水和乙醇对收集到的柚子皮进行多次洗涤,以除去所含的杂质,然后将其置于烘箱内于 80 ℃ 的温度下进行干燥,利用粉碎机将干燥后的柚子皮粉碎,最后过 60 目筛,即完成了原料的预处理。

(2)碳化。将放有预处理后原料的坩埚置于管式炉中,在氮气氛围下从室温以 5 ℃/min 的升温速率加热到 500 ℃,并在该温度下保持 2 h,然

后自然冷却至室温后取出。将预碳化的样品用去离子水洗涤数次,之后将样品在鼓风干燥箱中 80 ℃ 下干燥 12 h。

(3)后处理。取 3 g 碳化步骤中制取的碳化产物和 120 mL 浓硝酸分别加入圆底烧瓶中,再加入 15 g 高锰酸钾,冰水浴条件下搅拌 2 h,然后移到 35 ℃ 水浴锅中反应 1 h。反应完成后把水浴锅升温至 60 ℃,反应 15 min,加 250 mL 去离子水,再反应 25 min,接着再加入 500 mL 去离子水和 30 mL 双氧水搅拌,最后从水浴锅中取出圆底烧瓶静置,离心,洗涤直至中性。最后将碳化产物在烘箱中于 80 ℃ 干燥 12 h。用研钵将烘干后的碳化物磨成粉末备用,即制得改性柚子皮生物炭^[12]。

1.2.2 吸附实验

取一定量的改性柚子皮生物炭,加入 200 mL 一定浓度的亚甲基蓝溶液中,通过 0.1 mol/L NaOH 和 HCl 溶液调节溶液 pH 值,在磁力水浴锅上一定温度下搅拌一段时间后,用 0.22 μm 有机系滤膜过滤,于 664 nm 下测定其吸光度。吸附率 $R(\%)$ 和吸附容量 $q_t(\text{mg/g})$ 分别按照公式(1)和(2)计算^[7]。

$$R = [(C_0 - C_t)/C_0] \times 100\% \quad (1)$$

$$q_t = [(C_0 - C_t)V]/m \quad (2)$$

其中: C_0 为亚甲基蓝初始浓度,mg/L; C_t 为吸附后亚甲基蓝溶液浓度,mg/L; V 为溶液体积,L; m 为吸附剂的用量,g。

2 结果与讨论

2.1 亚甲基蓝吸附条件的考察

2.1.1 吸附剂投加量

分别将 0.06、0.08、0.1、0.12、0.14 g 改性生物炭加入 200 mL(40 mg/L)亚甲基蓝溶液中,即改性生物炭的投加量分别为 0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 g/L,在 50 ℃ 水浴锅中,磁力搅拌 180 min,改性生物炭投加量对吸附效果的影响如图 1 所示。

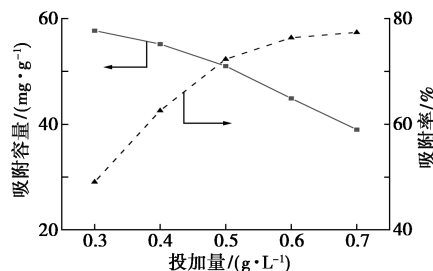


图 1 改性生物炭投加量对亚甲基蓝吸附性能的影响

Fig.1 Effect of modified biochar dosage on adsorption performance of methylene blue

从图 1 中可看出,随着改性生物炭用量的增加,其对亚甲基蓝的吸附率也逐渐增加。当改性生物炭投加量超过 0.6 g/L 时,亚甲基蓝吸附率的变化不明显,此时亚甲基蓝的吸附率为 76.36%。这是由于在改性生物炭投加量低于 0.6 g/L 时,随着改性生物炭投加量增大,用于吸附亚甲基蓝的活性位点也随之增加,结果使得吸附率增大。当改性生物炭投加量高于 0.6 g/L 时,由于溶液中亚甲基蓝的数量有限,吸附剂的增加会导致吸附剂的吸附位点难以达到饱和,部分吸附剂的吸附位点处于空位状态,没有被充分利用,因此吸附量随着改性生物炭投加量的增大而减小。故选择 0.6 g/L 的改性生物炭投加量为宜。

2.1.2 pH 值的影响

将 0.12 g 改性生物炭加入 200 mL (40 mg/L) 亚甲基蓝溶液中,分别调整溶液至 pH 4、5、6、7、8,于 50 °C 水浴锅中磁力搅拌 180 min,考察 pH 对亚甲基蓝吸附性能的影响,结果如图 2 所示。

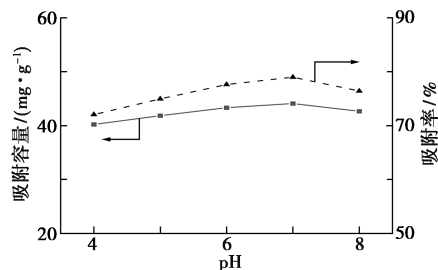


图 2 溶液 pH 对亚甲基蓝吸附性能的影响

Fig.2 Effect of solution pH on adsorption performance of methylene blue

通过实验可看出,在所考察的 pH 范围内,亚甲基蓝吸附率均超过 70%。亚甲基蓝在溶液中是以阳离子形式存在的,随着溶液 pH 升高,改性生物炭表面的负电荷数量增多,但吸附率并没有随 pH 升高而呈现出逐渐增加的趋势,这与文献 [13] 报道结果一致。这表明改性生物炭对亚甲基蓝的吸附不是以静电吸附机制进行的,而是发生了专性吸附。改性生物炭吸附亚甲基蓝时,受溶液 pH 影响较小,这有利于用改性生物炭处理 pH 变化较大的染料废水。

2.1.3 温度对吸附效果的影响

将 0.12 g 改性生物炭加入 200 mL (40 mg/L) 亚甲基蓝溶液中,调整溶液至 pH 7,分别在 35、40、45、50、55 °C 水浴锅中磁力搅拌 180 min,考察

吸附温度对亚甲基蓝吸附性能的影响,实验结果如图 3 所示。

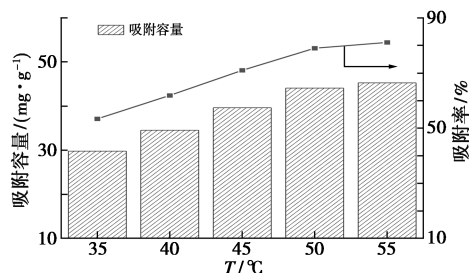


图 3 吸附温度对亚甲基蓝吸附性能的影响

Fig.3 Effect of adsorption temperature on adsorption performance of methylene blue

从图 3 中可以看出,随着反应温度的升高,改性生物炭对亚甲基蓝的吸附量逐渐升高,这是由于温度升高,一方面可以加快亚甲基蓝分子的运动,增加其与改性生物炭接触的几率,另一方面可以使溶液粘度降低,从而进一步加快亚甲基蓝分子从改性生物炭表层到孔径内部的扩散速率^[14],由此使得吸附量增大;当吸附温度大于 50 °C,改性生物炭对亚甲基蓝的吸附量的影响趋于稳定。所以本实验选择改性生物炭吸附亚甲基蓝的温度为 50 °C。

2.1.4 吸附时间的影响

将 0.12 g 改性生物炭加入 200 mL (40 mg/L) 亚甲基蓝溶液中,调整溶液至 pH 7,在 50 °C 水浴锅中磁力搅拌,考察吸附时间对亚甲基蓝吸附性能的影响,结果如图 4 所示。

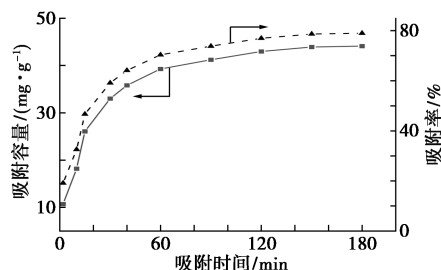


图 4 吸附时间对亚甲基蓝吸附性能的影响

Fig.4 Effect of adsorption time on adsorption performance of methylene blue

在前 90 min 内,改性生物炭对亚甲基蓝的吸附量和吸附率均随着吸附时间的增加而急剧增大,而后吸附率和吸附量增加缓慢。吸附开始时,改性生物炭上的所有活性位点都是空的,溶液中亚甲基蓝的浓度较高,因此,液固相中亚甲基蓝分子浓度差较大,即吸附驱动力较大,从而导致吸附速率较快。但随着吸附过程的进行,改性生物炭

表面的活性位点被亚甲基蓝占据,有效活性位点逐渐降低,亚甲基蓝浓度降低,导致吸附驱动力逐渐减小,吸附速率逐渐下降,吸附趋于饱和。当吸附时间达到 180 min 时,吸附过程达到饱和,吸附量和去除率达到最大。

2.1.5 亚甲基蓝浓度的影响

将 0.12 g 改性生物炭加入 200 mL 浓度分别为 20、40、60、80、100 mg/L 的亚甲基蓝溶液中,调整溶液至 pH 7,在 50 ℃ 水浴锅磁力搅拌 180 min,考察亚甲基蓝浓度对其吸附性能的影响,结果如图 5 所示。

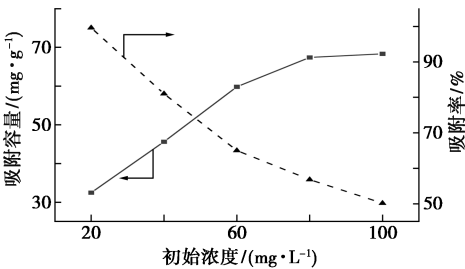


图 5 亚甲基蓝浓度对亚甲基蓝吸附性能的影响

Fig.5 Effect of methylene blue concentration on adsorption performance of methylene blue

改性生物炭对亚甲基蓝的吸附量随着亚甲基蓝初始浓度增加而增加,当亚甲基蓝初始浓度从 20 mg/L 增加到 100 mg/L 时,吸附量从 32.46 mg/g 提高到 68.28 mg/g。亚甲基蓝的初始浓度越大,液固两相的浓度差也就越大,吸附的推动力增加,所以导致吸附量增加。另外从反应平衡移动的角度来讲,在可逆反应达到平衡后,提高化学反应方程式一边物质的浓度,则平衡会朝着另一边移动^[15]。故提高亚甲基蓝初始浓度可以有效提高改性生物炭的吸附量。

不同吸附剂对亚甲基蓝(MB)染料吸附性能比较见表 1。由表可知,本文所制备的生物炭与其他吸附剂相比具有更大的吸附容量,性能较优。

表 1 不同吸附剂对亚甲基蓝吸附性能比较

Tab.1 Comparison of adsorption performance of different adsorbents for MB

吸附剂	吸附条件	吸附容量/ (mg·g ⁻¹)	参考 文献
高锰酸钾改性稻壳	投加量:4.0 g/L, MB 浓度:80 mg/L, 25 ℃	19.591	[16]
磁性椰壳活性炭	投加量:0.4 g/L, MB 浓度:10.31 mg/L, 25 ℃	25.77	[17]

续表

吸附剂	吸附条件	吸附容量/ (mg·g ⁻¹)	参考 文献
松木生物炭	投加量:1.67 g/L, MB 浓度:20 mg/L, 室温	5.81	[18]
竹子生物炭	投加量:1.67 g/L, MB 浓度:20 mg/L, 室温	4.67	[18]
花生壳生物炭	投加量:1.67 g/L, MB 浓度:20 mg/L, 室温	3.51	[18]
柚子皮生物炭	投加量:0.6 g/L, MB 浓度:100 mg/L, 50 ℃	68.28	本文

2.2 吸附动力学分析

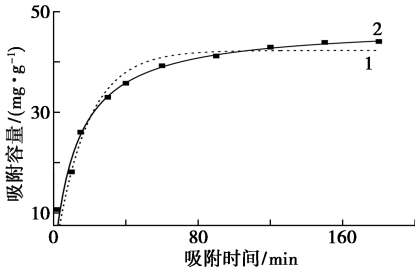
将 0.12 g 改性生物炭加入 200 mL(40 mg/L)亚甲基蓝溶液中,调整溶液至 pH 7,在 50 ℃ 水浴锅磁力搅拌一定时间,对改性生物炭吸附亚甲基蓝进行动力学研究。分别采用准一级动力学(公式 3)和准二级动力学(公式 4)^[16]对改性生物炭吸附亚甲基蓝的吸附过程进行拟合,通过比较相关系数 R^2 确定相应的动力学模型。

$$q_t = q_e(1 - e^{-k_1 t}) \quad (3)$$

$$q_t = (q_e^2 k_2 t) / (1 + q_e k_2 t) \quad (4)$$

式中: q_e 为改性生物炭对亚甲基蓝的平衡吸附量,mg/g; q_t 为在 t 时刻改性生物炭对亚甲基蓝的吸附量,mg/g; k_1 和 k_2 分别为准一级和准二级吸附速率常数,min⁻¹和 g/(mg·min)。

采用不同动力学模型,利用 Origin 8 软件对实验数据进行非线性拟合(见图 6),得到亚甲基蓝在改性生物炭上吸附的动力学参数(见表 2)。准二级动力学拟合的相关系数($R^2 = 0.9763$)远大于准一级动力学拟合的相关系数($R^2 = 0.9466$),表明改性生物炭对亚甲基蓝的吸附过程可以很好地用准二级动力学模型来表达。另外,将表 2 和图 6 的数据进行对比分析,可以发现准二级动力学模型预测的平衡吸附量更接近实验值,这进一步说明吸附过程符合准二级动力学。



1.准一级动力学;2.准二级动力学

图 6 动力学方程拟合曲线

Fig.6 Kinetics equation fitting curves

表 2 动力学模型参数

Tab.2 Parameters of kinetics model

准一级动力学方程			准二级动力学方程		
$k_1/$ min^{-1}	$q_e/$ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	R^2	$k_2/(g \cdot$ $\text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$	$q_e/$ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	R^2
0.057	42.29	0.946 6	0.001 7	47.30	0.976 3

2.3 吸附等温线分析

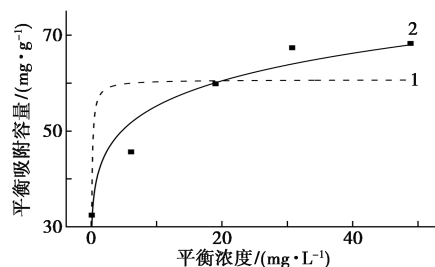
将 0.12 g 改性生物炭加入 200 mL 浓度分别为 20、40、60、80、100 mg/L 的亚甲基蓝溶液中,调整至 pH 7,在 50 ℃ 水浴锅中磁力搅拌 180 min,选用 Freundlich(公式 5)和 Langmuir(公式 6)等温吸附模型对吸附实验数据进行拟合分析。

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (5)$$

$$q_e = (q_{\max} K_L C_e) / (1 + K_L C_e) \quad (6)$$

式中: C_e 为亚甲基蓝的平衡浓度,mg/L; q_e 为改性生物炭对亚甲基蓝的平衡吸附量,mg/g; $q_{\max}$ 为改性生物炭对亚甲基蓝的理论最大吸附量,mg/g; K_F 和 K_L 分别为 Freundlich 和 Langmuir 吸附常数。

根据实验数据以及 Freundlich 和 Langmuir 模型公式,以 q_e 对 C_e 作图,并进行非线性拟合,结果见图 7。根据拟合的结果进行参数计算,结果见表 3。



1.Langmuir 模型;2.Freundlich 模型

图 7 吸附等温模型

Fig.7 Adsorption isothermal model

表 3 改性生物炭吸附亚甲基蓝的等温吸附模型参数

Tab.3 Isothermal adsorption model parameters of adsorption of methylene blue by modified biochar

Freundlich 模型			Langmuir 模型		
K_F	$1/n$	R^2	$q_{\max}$	K_L	R^2
40.826	0.131 1	0.939 0	60.711	13.34	0.672 1

结果表明, Freundlich 等温吸附模型对吸附平衡数据拟合较好,其相关系数 $R^2 = 0.939 0$ 远大于 Langmuir 等温吸附模型对吸附平衡数据拟合得出的相关系数 ($R^2 = 0.672 1$)。另外,从图 7 可以清楚的看出, Freundlich 等温吸附模型和吸附平衡数据很好的拟合。因此,改性生物炭对亚甲基蓝的吸附行为更符合 Freundlich 模型。

2.4 吸附热力学

吸附热力学参数主要包括:吉布斯自由能 (ΔG^0)、焓变 (ΔH^0)、熵变 (ΔS^0),这 3 个参数可以通过公式 (7)、(8)、(9) 算出^[15,19]:

$$\Delta G^0 = -RT \ln k_d \quad (7)$$

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T \Delta S^0 \quad (8)$$

$$\ln k_d = -\Delta H^0 / RT + \Delta S^0 / R \quad (9)$$

$$k_d = (C_0 - C_e) / C_e \quad (10)$$

式中: k_d 为吸附分配系数, L/mg; R 为气体摩尔常数 8.314 J/(mol·K); T 为绝对温度。

将 0.12 g 改性生物炭加入 200 mL (40 mg/L) 亚甲基蓝溶液中,调整溶液至 pH 7,分别在 35、40、45、50、55 ℃ 水浴锅中磁力搅拌 180 min,测量并计算 k_d 值(表 4)。以 $\ln k_d$ 对 $1/T$ 作图,结果如图 8 所示。根据其拟合曲线的斜率和截距求出 ΔH^0 和 ΔS^0 的值,如表 4 所示。众所周知, ΔG^0 为负时,正向反应是自发的。而当 ΔG^0 为正时,正向反应是非自发的。当 ΔG^0 为零时,体系达到了平衡点。从表 4 数据中看出,改性生物炭对亚甲基蓝吸附随温度的升高, ΔG^0 的值由 -0.347 kJ/mol 降至 -3.968 kJ/mol,从而表明了改性生物炭吸附亚甲基蓝过程的自发性。而且,此种现象也说明了温度越高,吸附过程越有利。 ΔH^0 的值为正,说明吸附过程为吸热过程,适当的提高温度,有助于吸附过程的进行。 ΔS^0 的值为正值,说明改性生物炭吸附亚甲基蓝是无序的且存在较大的混乱。

表 4 生物炭吸附亚甲基蓝的热力学参数

Tab.4 Adsorption thermodynamic parameters of methylene blue onto biochar

温度/ ℃	$k_d/$ ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)	$\Delta G^0/$ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	$\Delta S^0/$ ($\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)	$\Delta H^0/$ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
35	1.45	-0.347		
40	1.62	-1.258		
45	2.45	-2.365	191.341	58.548
50	3.76	-3.555		
55	4.29	-3.968		

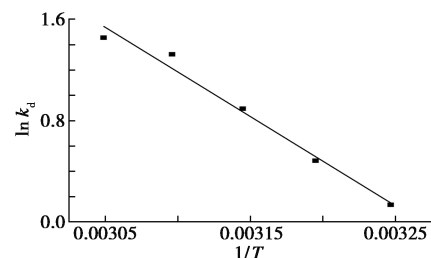


图 8 改性生物炭对亚甲基蓝的吸附热力学拟合曲线

Fig.8 Fit of adsorption thermodynamics of methylene blue onto modified biochar

3 结论

以生物质废弃物柚子皮为原料利用硝酸和高锰酸钾活化法制备改性柚子皮生物炭,在投加量为 0.6 g/L、pH 7、温度为 50 ℃、亚甲基蓝浓度为 100 mg/L、吸附时间为 180 min 的条件下,改性柚子皮生物炭对亚甲基蓝的吸附容量可达 68.28 mg/g。改性柚子皮生物炭吸附亚甲基蓝的过程更好的符合准二级动力学模型和 Freundlich 模型。改性柚子皮生物炭吸附亚甲基蓝过程是一个自发的吸热过程。

参考文献:

- [1] 叶存玲,伍心妮,王治科,罗丹明 B 在碱化丝瓜络纤维上的吸附性能[J].环境污染与防治,2013,35(1):10-15.
- [2] HASSAN A F, ABDEL-MOHSEN A M, FOUDA M M G. Comparative study of calcium alginate, activated carbon, and their composite beads on methylene blue adsorption[J]. *Carbohydr. Polym.*, 2014, 102: 192-198.
- [3] 沈燕琼,高永强,杨青松,等. UIO-67 材料的制备及其在水溶液中吸附亚甲基蓝染料[J].化学试剂,2019,41(11):1115-1118.
- [4] CANIZARES P, MARTÍNEZ F, JIMÉNEZ C, et al. Coagulation and electrocoagulation of wastes polluted with dyes[J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2006, 40(20): 6418-6424.
- [5] RIVERA F L, RECIO F J, PALOMARES F J, et al. Fenton-like degradation enhancement of methylene blue dye with magnetic heating induction[J]. *J. Electroanal. Chem.*, 2020, 879: 114-117.
- [6] BHARTI V, VIKRANT K, GOSWAMI M, et al. Biodegradation of methylene blue dye in a batch and continuous mode using biochar as packing media[J]. *Environ. Res.*, 2019, 171: 356-364.
- [7] ZHOU F, BI H, HUANG F. Ultra-large specific surface area activated carbon synthesized from rice husk with high adsorption capacity for methylene blue[J]. *J. Inorg. Mater.*, 2021, 36(8): 893-900.
- [8] 朱业晋,刘姿君,黄莉萍,等.脐橙皮渣活性炭对水中染料的吸附特性研究[J].鞍山师范学院学报,2021,23(4):43-48.
- [9] 朱国婷,邢献军,汪家权,等.酸预处理活性炭对废水染料的吸附研究[J].环境科学与技术,2016,39(S2):160-165.
- [10] 黄瑶瑶,石润平,黄涵芳,等.柚子皮对模拟放射性废水中钍(IV)的选择性吸附[J].应用化工,2017,46(9):1742-1746.
- [11] 刘德明,赵玮林,郭克彬,等.酸反应介质对柚子皮水热炭表面性质及吸附性能的影响[J].环境化学,2020,39(10):2921-2928.
- [12] 刘留,谭周亮,张福平,等.猕猴桃果皮制备杂原子掺杂多孔碳材料及其超电性能研究[J].石河子大学学报(自然科学版),2019,37(3):265-272.
- [13] 张鹏会,李艳春,胡浩斌,等.银杏叶生物炭对亚甲基蓝的吸附特性[J].环境污染与防治,2017,39(11):1229-1234.
- [14] WANG X, ZHU N, YIN B. Preparation of sludge-based activated carbon and its application in dye wastewater treatment[J]. *J. Hazard. Mater.*, 2008, 153(1/2): 22-27.
- [15] KHAN A A, SINGH R P. Adsorption thermodynamics of carbofuran on Sn(IV) arsenosilicate in H⁺, Na⁺ and Ca²⁺ forms[J]. *Colloid. Surface. A*, 1987, 24(1): 33-42.
- [16] 闫改萌,石丹丹,张渺,等.改性稻壳对水中亚甲基蓝的吸附性能研究[J].化学工程师,2021,35(9):35-38.
- [17] 秦洁,常薇杜,燕萍,等.磁性椰壳活性炭的制备与吸附性能[J].西安工程大学学报,2021,35(5):7-11.
- [18] HUFF M D, KUMAR S, LEE J W. Comparative analysis of pinewood, peanut shell, and bamboo biomass derived biochars produced via hydrothermal conversion and pyrolysis[J]. *J. Environ. Manage.*, 2014, 146: 303-308.
- [19] ZHAO Y H, GENG J T, CAI J C, et al. Adsorption performance of basic fuchsin on alkali-activated diatomite[J]. *Adsorpt. Sci. Technol.*, 2020, 38(5/6): 151-167.

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2022.0044

化学试剂, 2022, 44(6), 828~834

纳米零价铁吸附法去除废水中的 Pb^{2+}

左国强*, 苏小莉, 刘改云, 宋欣宇, 张露露

(济源职业技术学院 冶金化工系, 河南 济源 459000)

摘要:通过液相还原法,采用 NaBH_4 还原 Fe^{2+} 制备了粒径约为 50 nm 的纳米零价铁(nZVI),并应用于含 Pb^{2+} 废水处理,详细考察了颗粒大小、酸度、温度、投入量、初始浓度和反应时间对 Pb^{2+} 去除率的影响。结果表明,过量的 NaBH_4 有利于 nZVI 网状结构的生成,也有利于 nZVI 对溶液中 Pb^{2+} 的去除,常温下,调节溶液 pH 4~6, nZVI 的投加量为 0.5 g/L,当 Pb^{2+} 初始浓度小于 200 mg/L 时, nZVI 可在 20 min 内完成对 Pb^{2+} 的去除,当 Pb^{2+} 的初始浓度为 300~500 mg/L 时,反应时间延长至 60 min 才能完全去除,而当 Pb^{2+} 的初始浓度为 600 mg/L 时,去除率最大仅为 84.3%。动力学实验表明, nZVI 对溶液中 Pb^{2+} 的吸附符合 Lagergren 准二级动力学模型,其吸附过程受化学吸附控制。Langmuir 和 Freundlich 等温吸附模型对该过程的拟合程度都较高,表明 Pb^{2+} 的去除过程中单分子吸附和多分子吸附共存。当 Pb^{2+} 的初始浓度小于 10 mg/L 时,滤液中的 Fe^{2+} 浓度低于生活饮用水卫生标准《GB 5749—2006》中规定的限量要求,不会对环境造成二次污染。

关键词:纳米零价铁(nZVI); 铅; 吸附; 废水; 吸附动力学

中图分类号:X703 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2022)06-0828-07

Absorption Removal of Pb^{2+} from Wastewater by Nanoscaled Zero-Valent Iron Particles ZUO Guo-qiang*, SU Xiao-li, LIU Gai-yun, SONG Xin-yu, ZHANG Lu-lu (Department of Metallurgy and Chemical Engineering, Jiyuan Vocational and Technical College, Jiyuan 459000, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 828~834

Abstract: Nanoscaled zero-valent iron (nZVI) particles with average size of 50 nm were synthesized in aqueous solution via reduction of Fe^{2+} with NaBH_4 . Experiments on absorption removal of Pb^{2+} in solution with nZVI particles were carried out. The effects of the particle size, pH, temperature, dosage, initial concentration, and reaction time on the removal efficiency of Pb^{2+} were investigated. The results showed that it was beneficial to the formation of the network structure of nZVI and the removal of Pb^{2+} in the solution when the excess amount of NaBH_4 was used. At room temperature, adjusting the pH value of the solution to 4~6, and the dosage of nZVI was 0.5 g/L, nZVI removed Pb^{2+} in 20 min when the initial Pb^{2+} concentration was less than 200 mg/L. While, in order to remove Pb^{2+} completely, the reaction time was extended to 60 min when the initial concentration of Pb^{2+} was 300~500 mg/L. However, when the initial concentration of Pb^{2+} was 600 mg/L, the maximum removal efficiency was only 84.3%. Kinetic experiments showed that, the adsorption kinetics of Pb^{2+} on nZVI in solution was in accordance with Lagergren-pseudo-second-order model, which was mainly controlled by chemical adsorption. The adsorption behavior was highly compatible with Langmuir and Freundlich isothermal adsorption models, indicating that removal of Pb^{2+} was monolayer adsorption coexisted with multi-layer adsorption. When the initial Pb^{2+} concentration was less than 10 mg/L, the concentration of Fe^{2+} in the filtrate was lower than the limited demand of Standards for Drinking Water Quality 《GB5749—2006》, which would not cause secondary pollution to the environment.

Key words: nanoscale zero-valent iron (nZVI); Pb; adsorption; wastewater; adsorption kinetic

铅作为一种具有生物蓄积毒性的重金属离子,严重危害着环境和人体健康,国家《铅、锌工业污染物排放标准(GB 25466—2010)》^[1]中,将铅列为第一类污染物,车间或车间处理设施排放口铅的最高允许排放质量浓度为 1.0 mg/L,河南省《铅冶炼工业污染物排放标准》(DB 41/684—2011)^[2]提出了更严格的要求,最高允许排放浓度为 0.3 mg/L,因此含 Pb^{2+} 废水的深度处理一直是化学工作者研究的热点。

目前,含 Pb^{2+} 废水的处理方法主要有化学沉

淀法、吸附法、膜分离法、离子交换法、生物修复和

收稿日期:2022-02-14;网络首发日期:2022-03-24

基金项目:河南省 2020 年科技发展计划项目(202102210259);济源市 2020 年度科技发展计划项目(20022008);济源职业技术学院 2019 年度青年骨干教师资助项目。

作者简介:左国强(1982-),男,河南济源人,硕士,副教授,主要研究方向为重金属离子的分离与富集,E-mail:guoqian-gzuo@126.com。

引用本文:左国强,苏小莉,刘改云,等.纳米零价铁吸附法去除废水中的 Pb^{2+} [J].化学试剂,2022,44(6):828-834。

电解技术等。化学沉淀法操作方便、设备简单,广泛应用于高浓度、大流量的含铅废水处理^[3];吸附法操作简单,可同时处理多种重金属污染物,尤其适合低浓度废水处理,但废渣的处理及再生成本较高^[4];膜分离法无需添加其他化学试剂,能耗低,但分离膜需要定期更换,成本较高^[5];离子交换法选择性好、回收率高、操作工艺简单,但存在外排含盐废液、树脂普遍适用性差等缺点^[6];生物法可同时处理多种金属离子,处理方法简便实用、过程控制简单、污泥量少,但占地面积大、处理效率不稳定^[7];电解法可回收单质铅,但耗电量较大,处理能力小^[8]。

近年来,纳米零价铁(Nanoscale zero-valent iron, nZVI)因其高比表面积、优异的吸附性和反应活性等优点被广泛应用于重金属污染物的去除^[9-13],本文详细探讨了 nZVI 颗粒大小、酸度、温度、投入量、初始浓度对 Pb^{2+} 去除率的影响,探讨 nZVI 处理 Pb^{2+} 的关键影响因素和作用机理,并对废水处理后的溶液中的 Fe 元素浓度进行考察,为废水中 Pb^{2+} 的高效处理提供依据。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

PHS-3C 型酸度计(上海仪电科学仪器股份有限公司);JJ-1 型精密增力电动搅拌器(常州金坛区西城新瑞仪器厂);DZKW-5 型电子恒温水浴锅(北京中兴伟业仪器有限公司);SHZ-D(Ⅲ)型循环水真空泵、DZF-6020 型真空干燥箱(巩义市予华仪器有限责任公司);Scios2 型扫描电子显微镜(美国 Thermofisher Scientific 公司);XYD2-60-H 型纯水仪(北京湘顺源科技有限公司);TAS-990 型原子吸收分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

Pb^{2+} 标准储备溶液(1 000 mg/L,使用时逐级稀释到所需浓度,中国计量科学研究院); $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、乙醇(分析纯,西陇科学股份有限公司); NaBH_4 (国药集团化学试剂有限公司); HCl 、 NaOH 溶液(0.1 mol/L,优级纯,山西同杰化学试剂有限公司);实验用水为超纯水。

1.2 火焰原子吸收法工作条件

火焰原子吸收法测定工作条件见表 1,当滤液中 Pb^{2+} 的浓度为 1~30 mg/L 时,空心阴极灯使用最灵敏线 283.3 nm,滤液中 Pb^{2+} 的浓度为 30~

200 mg/L 时,使用次灵敏线 261.4 nm。

表 1 原子吸收光谱仪工作条件

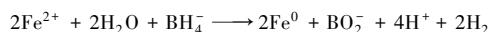
Tab.1 Working condition of AAS

元素	波长/ nm	灯电流/ mA	光谱 带宽/ nm	乙炔流量/ ($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$)	燃烧器 高度/ mm	燃烧器 位置/ mm
Pb	283.3	2	0.4	1 600	6	0
	261.4	2	0.4	1 600	6	0

1.3 实验方法

1.3.1 纳米零价铁颗粒的制备

100 mL 无水乙醇/水溶液中($V(\text{无水乙醇}):V(\text{水})=3:7$)分别加入 1、2、4 g $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$,完全溶解后转移至带电动搅拌器的三口烧瓶中,通入高纯氮气 30 min,以除去溶液中的溶解氧。将 50 mL(0.5 mol/L) NaBH_4 溶液从恒压漏斗中逐滴加入至三口烧瓶中,滴加过程中持续搅拌,滴加速度控制在 2 滴/s,随着 NaBH_4 溶液的加入,溶液逐渐变黑,说明体系中有 nZVI 生成,化学反应方程式为:



反应完成后,继续通入氮气,直到三口烧瓶中不再有氢气生成为止。反应结束后,用真空泵抽滤,先用无氧水冲洗 3 遍,再用无水乙醇洗 3 遍,最后将制备的材料 60 °C 真空干燥 12 h 备用。加入 1、2、4 g 的 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 制备得到的样品分别标记为 nZVI-1、nZVI-2、nZVI-3。

1.3.2 纳米零价铁去除 Pb^{2+} 的试验

移取一定量的 200 mg/L 的 Pb^{2+} 溶液于 500 mL 烧杯中,用 0.1 mol/L HCl 或 0.1 mol/L NaOH 调节到不同的酸度,准确移取 100 mL 一定酸度的 Pb^{2+} 溶液于 250 mL 三口烧瓶中,准确加入一定量的纳米零价铁,恒温下机械搅拌一段时间,过滤,利用原子吸收光谱仪测定滤液中 Pb^{2+} 的浓度,通过标准曲线法仪器自动读出滤液中 Pb^{2+} 的浓度。采用公式(1)计算 Pb^{2+} 去除率 $E(\%)$,采用公式(2)计算 Pb^{2+} 去除量 $Q(\text{mg/g})$ 。

$$E(\%) = (1 - c/c_0) \times 100 \quad (1)$$

$$Q = [(c_0 - c) \times V]/m \quad (2)$$

式中: c_0 为 Pb^{2+} 的初始浓度,mg/L; c 为滤液中 Pb^{2+} 的浓度,mg/L; V 为溶液的体积,L; m 为加入到三口烧瓶中的纳米零价铁的质量,g。

1.3.3 标准溶液系列的配制

分别向 5 个 100 mL 容量瓶中加入适量的 Pb^{2+} ,根据滤液中 Pb^{2+} 浓度的不同,分别配制成

表 2 所示各元素含量的标准系列溶液。

表 2 标准系列溶液中各元素含量

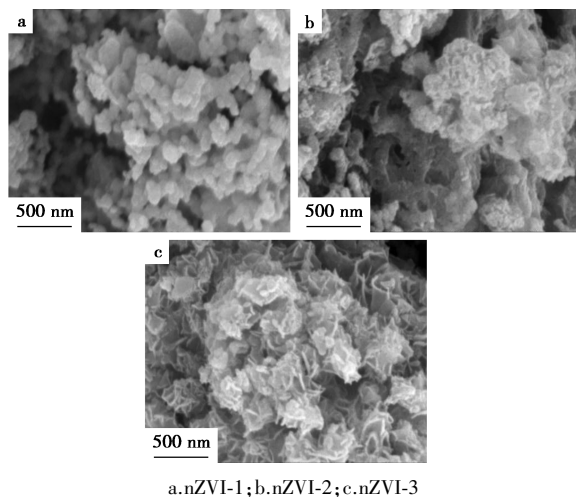
Tab.2 Content of each element in standard solution series (mg/L)

序号	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅
S1	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0
S2	50	100	150	200	250

2 结果与讨论

2.1 纳米零价铁颗粒的形貌特征

图 1 为同时放大 8 万倍的情况下, nZVI-1、nZVI-2、nZVI-3 的 SEM 图像, 由图可以看出, 合成过程中 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 的加入量与纳米零价铁的微观形貌关系较大, 当 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 的加入量为 1 g 时, nZVI 呈颗粒状, 粒径约为 30~50 nm, 颗粒与颗粒之间有一定的间隙, nZVI 整体呈网状结构, 这种结构有利于吸附。当 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 的加入量逐渐增大时, 生成的 nZVI 由颗粒状逐渐转变为雪花片状, 这可能是随着溶液中 Fe^{2+} 浓度的升高, Fe^{2+} 的相对过饱和度增大, BH_4^- 与 Fe^{2+} 颗粒间的聚集速度相对较大, nZVI 生成速度相应较快, 使得 nZVI 颗粒在机械搅拌的环境中来不及长大, 从而颗粒较小, 而较小的颗粒表面能较大, 容易团聚, 不利于金属离子的吸附。



a. nZVI-1; b. nZVI-2; c. nZVI-3

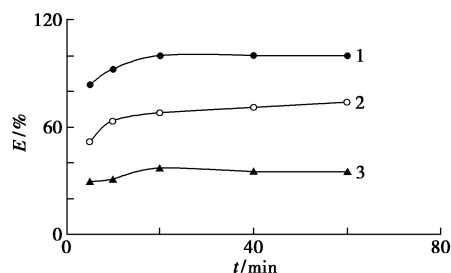
图 1 制备的 nZVI 的 SEM 图

Fig.1 SEM micrograph of nZVI

2.2 nZVI-1~nZVI-3 号纳米零价铁颗粒对 Pb^{2+} 的吸附特性

固定三口烧瓶中 Pb^{2+} 溶液的体积为 100 mL, 控制体系的酸度为 pH 5, 分别加入 50 mg 的 nZVI-1、nZVI-2、nZVI-3 号纳米零价铁, 每隔一段

时间检测一次体系中 Pb^{2+} 的浓度, 其余同 1.3.2, 考察 nZVI 类型对 Pb^{2+} 去除率的影响, 结果如图 2 所示。由图可以看出, 反应时间相同的情况下, 随着初始 Fe^{2+} 含量的增加, 生成的 nZVI 对 Pb^{2+} 的去除率不断下降, 当 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 的加入量为 4.0 g 时, nZVI-3 对 Pb^{2+} 的去除率最大值仅为 35.6%, 而当加入量为 1.0 g 时, 搅拌时间为 20 min 时, nZVI-1 对 Pb^{2+} 的去除率就可达到 100%, 这与上述 nZVI 颗粒的形貌特征分析相一致, nZVI-1 号纳米零价铁呈网状结构, 颗粒较小, 比表面积较大, 吸附能力强, 而 nZVI-2 号、nZVI-3 号纳米零价铁颗粒较大, 不利于对 Pb^{2+} 的去除。经计算, $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 的加入量为 1、2、4 g 时, BH_4^- 与 Fe^{2+} 的物质的量比分别为 5.0、2.5、1.25, 远大于化学计量系数比 0.5, 这说明合成过程中过量的 BH_4^- 对产品 nZVI 的吸附性能有利, 本实验选择 nZVI-1 为研究对象。



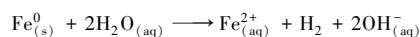
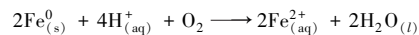
曲线 1~3 分别为 nZVI-1、nZVI-2、nZVI-3

图 2 nZVI-1~nZVI-3 纳米零价铁颗粒处理 Pb^{2+} 性能比较

Fig.2 Performance comparison of nZVI-1~nZVI-3 in treating Pb^{2+}

2.3 nZVI 加入后水溶液酸度的变化

固定三口烧瓶中 Pb^{2+} 溶液的体积为 100 mL, 分别调节体系的酸度为 pH 2~4, 其余同 1.3.2, 反应结束后重新测量溶液的酸度, 结果表明, 体系的酸度分别变化为 pH 3.68、5.70、6.12, 这说明 nZVI 的加入引起了溶液酸度的变化, 使 pH 值上升了 1.5~2.5 个单位, 这与黄潇月等^[14]的报道基本一致。这是由于 nZVI 具有较强的还原性 ($E^\ominus(\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^0) = -0.44 \text{ V}$), 加入水中后可自发地与溶解氧或水直接发生如下反应。



上述反应将消耗水中的氢离子或产生氢氧根离子, 因此溶液的 pH 值上升。

2.4 体系酸度对 Pb^{2+} 去除率的影响

实验表明,当 Pb^{2+} 的浓度为 200 mg/L 时,调节酸度为 pH 6.5 时,溶液明显观察到有无定形沉淀 $\text{Pb}(\text{OH})_2^0$ 生成,因此,本实验考察了体系的 pH 2~6 时,溶液酸度对 Pb^{2+} 去除率的影响,结果如图 3 所示。由图可以看出,酸度对 Pb^{2+} 去除率影响较大,pH 2 时,去除率仅为 59.5%,这说明高酸度不利于 Pb^{2+} 的处理,这是由于 nZVI 的表面覆盖着 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 和 $\text{FeOOH}^{[15]}$,将 nZVI 加入到溶液中时,覆盖在 nZVI 表面的铁氧化物会因为质子化/去质子化作用而使表面带电,如下式所示。

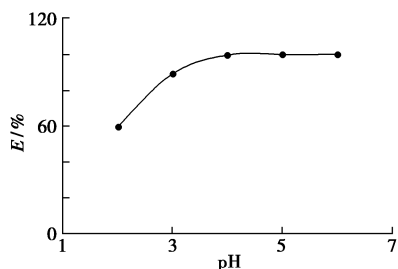
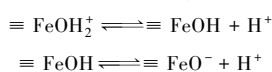
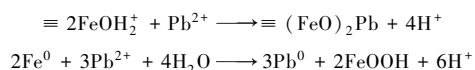


图 3 pH 的变化对 Pb^{2+} 去除率的影响

Fig.3 Effect of pH on Pb^{2+} removal efficiency

因此,颗粒表面的带电性质与溶液的 pH 值直接相关,表面不带电荷时的 pH 值称为颗粒的等电点,在等电点前后,胶体颗粒的带电性质将发生改变,黄潇月等^[14]经过试验得出纳米零价铁的等电点约为 8.1, $\alpha\text{-FeOOH}$ 的等电点约为 8.6。当 pH 值低于等电点时,颗粒表面带正电,nZVI 与阴离子亲和力较强,pH 值高于等电点时,颗粒表面带负电,nZVI 与阳离子亲和力较强,有利于 Pb^{2+} 的去除。

当溶液的 $\text{pH} < 6$ 时,即使考虑到 nZVI 加入后引起的酸度变化,体系的 pH 值仍低于等电点,颗粒表面因富含 $\equiv \text{FeOH}^+$ 而带正电,不利于 Pb^{2+} 的处理,此时,nZVI 可能通过表面配合或者还原的作用处理 Pb^{2+} ,可能发生的反应如下:



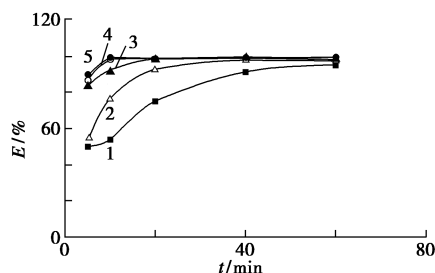
根据平衡移动原理,提高酸度,化学平衡向逆反应方向移动,既不利于表面配合也不利于还原反应的发生,因此,在较高的酸度下, Pb^{2+} 去除率较小。

由图还可以看出,随着体系 pH 值的增大, Pb^{2+} 去除率不断提高,而后趋于稳定,这是由于在

弱酸性 pH 范围内,随着 pH 值的增加,nZVI 颗粒表面官能团质子化程度越来越弱,与 Pb^{2+} 的静电斥力也就越来越小,就更有利于 nZVI 的表面配合或者还原反应的发生。

2.5 nZVI-1 投入量和反应时间对 Pb^{2+} 去除率的影响

固定三口烧瓶中 Pb^{2+} 溶液的体积为 100 mL,控制体系的酸度为 pH 5,分别加入 30、40、50、60、70 mg 的 nZVI-1 号纳米零价铁,每隔一段时间检测一次体系中 Pb^{2+} 的浓度,其余同 1.3.2,考察 nZVI 用量对 Pb^{2+} 去除率的影响,结果如图 4 所示。由图 4 可以看出,当反应时间在 20 min 以内时,nZVI 用量对去除率影响较大,nZVI 用量越大,在相同的反应时间内, Pb^{2+} 去除率就越高,如反应时间为 5 min,当纳米零价铁的用量为 50 mg 时,去除率为 86.7%,远大于 30 mg 时的 49.8%,这是由于 nZVI 用量越大,表面的活性位点就越多,就可以与更多的 Pb^{2+} 发生配合或还原作用,去除率就越高。



曲线 1~5 分别为 30、40、50、60、70 mg

图 4 nZVI-1 投入量对 Pb^{2+} 去除率的影响

Fig.4 Effect of the amount of nZVI-1 on Pb^{2+} removal efficiency

当反应时间达到 20 min 时,50~70 mg 的 nZVI 都可使 Pb^{2+} 去除率达到 95% 以上,这说明较多的 nZVI 用量可以在较短的时间去除掉溶液中的 Pb^{2+} ,而 nZVI 的用量为 30 mg,反应时间为 60 min,去除率也接近 100%,这说明少量的纳米零价铁通过长时间的处理,也可以去除体系中的 Pb^{2+} 。

2.6 初始浓度对 Pb^{2+} 去除性能的影响

固定 nZVI 的用量为 50 mg,分别使用不同初始浓度的 Pb^{2+} 溶液,调节溶液的 pH 5,机械搅拌 60 min,分别进行去除反应试验,计算 Pb^{2+} 去除量和去除率,考察初始浓度对 Pb^{2+} 去除性能的影响。实验发现,当 Pb^{2+} 溶液的初始浓度为 700 mg/L 时,控制溶液的 pH 5,溶液中的铅以无定形

沉淀 $\text{Pb}(\text{OH})_2^0$ 的形式存在,溶液变浑浊,因此,本实验中, Pb^{2+} 的初始浓度最大值设定为 600 mg/L。

Pb^{2+} 初始浓度对去除性能的影响如图 5 所示,由图可以看出,nZVI 对 Pb^{2+} 的去除量随初始浓度的增加而升高,低浓度时尤其明显,几乎成直线上升趋势,当初始浓度为 100 mg/L 时,去除量仅为 162 mg/g,初始浓度升高到 300 mg/L 时,去除量升高至 472.1 mg/g,这说明初始浓度的增大有利于提高 nZVI 材料中活性位点的利用,nZVI 对溶液中的 Pb^{2+} 有较高的处理能力。高浓度时, Pb^{2+} 去除量增加的趋势逐渐变缓,这说明 nZVI 表面的活性位点已几乎被完全使用。

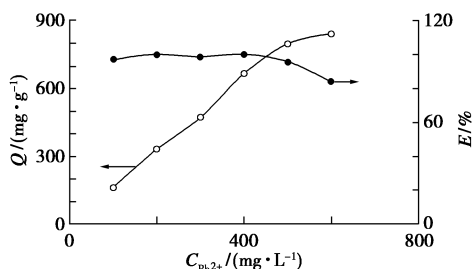


图 5 初始浓度对 Pb^{2+} 去除性能的影响

Fig.5 Effect of initial concentration on Pb^{2+} removal performance

由图还可以看出, Pb^{2+} 去除率随着初始浓度的升高逐渐降低,当 Pb^{2+} 初始浓度为 100 ~ 500 mg/L 时,去除率都在 95% 以上, Pb^{2+} 初始浓度进一步升高到 600 mg/L 时,去除率下降到 84.3%,这说明体系中 50 mg nZVI 对 Pb^{2+} 的去除能力是有限的,当反应时间达到 60 min 时,nZVI 对 Pb^{2+} 的去除基本达到平衡,此时,去除量达到最大值 842 mg/g。

2.7 温度对 Pb^{2+} 去除率的影响

固定三口烧瓶中 Pb^{2+} 溶液的体积为 100 mL,体系的酸度为 pH 5,纳米零价铁的量 30 mg,水浴温度分别为 20、50 °C,每隔一段时间检测一次体系中 Pb^{2+} 的浓度,其余同 1.3.2,考察温度对 Pb^{2+} 去除率的影响,结果如图 6 所示。由图可以看出,当反应时间较短时,温度升高去除率明显升高,尤其是反应 5 min 时,去除率由 20 °C 时的 49.8% 迅速升高到 50 °C 时的 85.5%,反应时间超过 40 min 后,去除率逐渐趋于一致,接近 100%,这说明 nZVI 对 Pb^{2+} 的反应是吸热反应,升温能够加快反应的进行。

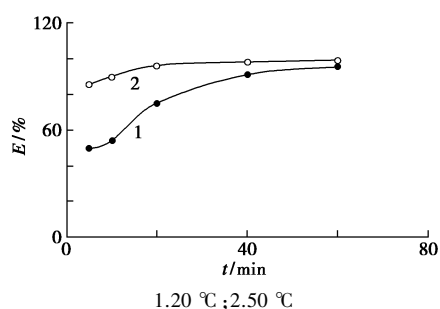


图 6 反应温度对 Pb^{2+} 去除率的影响

Fig.6 Effect of reaction temperature on Pb^{2+} removal efficiency

2.8 纳米零价铁吸附动力学研究

nZVI 对 Pb^{2+} 的吸附动力学行为,分别采用准一级动力学模型(式(3))和准二级动力学模型(式(4))进行拟合:

$$Q_t = Q_e(1 - e^{-k_1 t}) \quad (3)$$

$$Q_t = (k_2 Q_e^2 t) / (1 + k_2 Q_e t) \quad (4)$$

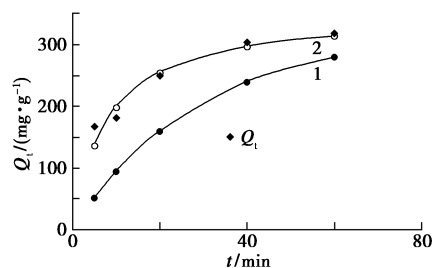
式中: Q_t 为 t 时刻的吸附量,mg/g; Q_e 为平衡吸附量,mg/g; t 为吸附时间,min; k_1 、 k_2 分别为准一级和准二级吸附速率常数,单位分别为 min^{-1} 和 $\text{g}/(\text{mg} \cdot \text{min})$ 。

根据(3)、(4)式分别对图 6 中 20 °C 的动力学数据进行线性拟合,得出准一级、准二级反应动力学模型相关参数,如表 3 所示。由此绘制的准一级、准二级反应动力学模型曲线如图 7 所示。由表 3 和图 7 可以看出,准二级动力学模型能够更好地拟合 Pb^{2+} 的吸附,拟合系数达到了 0.995 4,并且该模型拟合出的平衡吸附量(357 mg/g)与实测值(333 mg/g)更为接近,而准一级动力学模型与实际偏差较大,这说明准二级动力学模型能

表 3 nZVI 吸附 Pb^{2+} 的动力学参数

Tab.3 Kinetics parameters for adsorption of Pb^{2+} by nZVI

准一级动力学模型			准二级动力学模型		
$Q_e /$ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	$k_1 /$ (min^{-1})	R^2	$Q_e /$ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	$k_2 /$ ($\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	R^2
296	0.034 4	0.981 6	357	0.000 351 9	0.995 4



1.准一级动力学;2.准二级动力学

图 7 Pb^{2+} 的吸附动力学模型比较

Fig.7 Comparison of kinetic model for Pb^{2+} adsorption

够较好地描述 nZVI 对 Pb²⁺ 的去除,吸附去除主要受化学吸附控制。

2.9 等温吸附模型

图 5 中 Pb²⁺ 的去除量随初始浓度的变化数据分别通过 Langmuir 方程(式(5))和 Freundlich 方程(式(6))进行拟合:

$$C_e/Q_e = 1/(K_L Q_m) + C_e/Q_m \tag{5}$$

$$\ln Q_e = (1/n) \ln C_e + \ln K_F \tag{6}$$

式中, Q_e 为平衡吸附量,mg/g; Q_m 为饱和吸附量,mg/g; C_e 为平衡浓度,mg/L; K_L 为 Langmuir 吸附平衡常数; K_F 为 Freundlich 吸附系数; n 为 Freundlich 常数。

结果如表 4 所示,Langmuir 等温吸附模型和 Freundlich 等温吸附模型对 Pb²⁺ 吸附过程的拟合程度均较高,Langmuir 模型的相关系数在 0.99 以上,模拟出的最大吸附量(909 mg/g)与实测值(842 mg/g)也较为接近,Freundlich 模型的相关系数在 0.97 以上,这说明 nZVI 对 Pb²⁺ 的吸附既有单分子吸附,也有多分子吸附。Freundlich 等温吸附模型中 $1/n < 0.5$,说明 nZVI 对 Pb²⁺ 的吸附较容易进行。

表 4 纳米零价铁对 Pb²⁺ 的等温吸附方程参数

Tab.4 Isotherm parameters for Pb²⁺ adsorption on nZVI

Langmuir			Freundlich		
$Q_m/$ (mg·g ⁻¹)	$K_L/$ (dm ³ ·g ⁻¹)	R^2	K_F	$1/n$	R^2
909	0.08	0.998 3	108	0.468 8	0.975 2

2.10 滤液中 Fe 元素浓度考察

为考察 nZVI 吸附去除 Pb²⁺ 后,是否会在滤液中引入 Fe 元素而导致二次污染,分别选用不同浓度的 Pb²⁺ 标准溶液,调节溶液的 pH 5,各加入 50 mg nZVI,控制搅拌时间为 30 min,过滤后分别测定滤液中 Fe²⁺ 的浓度,结果如表 5 所示,由表可以看出,随着 Pb²⁺ 初始浓度的增大,滤液中的 Fe²⁺ 的浓度逐渐升高,这是由于 Pb²⁺ 初始浓度的增大使得参与吸附和还原反应的 nZVI 的量相应增多,生成的 Fe²⁺ 的量也相应增多。由表 5 还可以看出,当体系中没有 Pb²⁺ 时,滤液中仍有少量的 Fe²⁺,这是由于 nZVI 活性较强,能够直接与水或水中的溶解氧发生反应,当体系中 Pb²⁺ 原始浓度为 10 mg/L 时,滤液中的 Fe²⁺ 浓度达到 0.299 mg/L,仍低于生活饮用水卫生标准《GB 5749—2006》^[16] 中规定的限量要求 0.3 mg/L,这说明在处理低浓度含 Pb²⁺ 废水时,nZVI 具有较高的优势,不会对环境造成二次污染。

表 5 Pb²⁺ 初始浓度对滤液中 Fe²⁺ 浓度的影响

Tab.5 Effect of initial concentration of Pb²⁺ on the concentration of Fe²⁺ in filtrate

	Pb ²⁺ 初始浓度/(mg·L ⁻¹)				
	0	10	40	100	200
滤液中 Fe ²⁺ 的浓度/ (mg·L ⁻¹)	0.263	0.299	2.298	7.088	8.892

2.11 实际废水吸附实验

准确移取 100 mL 河南省济源市某冶炼厂含 Pb²⁺ 实际废水于 250 mL 三口烧瓶中,加入 50 mg nZVI,调节溶液的 pH 5.0,平衡时间为 30 min,其余同 1.3.2,分析结果见表 6,由表可以看出,经处理后 Pb²⁺ 的浓度在 0.088~0.284 mg/L 之间,满足河南省《铅冶炼工业污染物排放标准》(DB 41/684—2011)相关要求。

表 6 实际废水分析结果

Tab.6 Analysis results of wastewater

废水	Pb ²⁺ 初始浓度/ (mg·L ⁻¹)	去除率/%	排放浓度/ (mg·L ⁻¹)
1 [#]	15.8	98.5,99.1,98.2	0.237,0.142,0.284
2 [#]	12.6	99.3,98.8,98.5	0.088,0.151,0.189

3 结论

本文在反应体系中加入过量的 NaBH₄ 合成了具有网状结构的 nZVI,并探索了 nZVI 处理废水中的 Pb²⁺ 的最佳试验条件。常温下,调节溶液的 pH 4~6,nZVI 的投加量为 0.5 g/L 时,Pb²⁺ 初始浓度越大,nZVI 完全去除溶液中的 Pb²⁺ 的时间也就越长,当 Pb²⁺ 的初始浓度为 600 mg/L 时,去除率最大仅为 84.3%。nZVI 对废水中 Pb²⁺ 的去除更符合准二级动力学方程,吸附速率主要由化学吸附决定,Langmuir 方程和 Freundlich 方程都能较好地模拟 Pb²⁺ 的吸附过程,吸附既有单分子吸附,也有多分子吸附。含 Pb²⁺ 废水经 nZVI 处理后,溶液中的 Fe²⁺ 浓度随 Pb²⁺ 初始浓度的增大而升高,当 Pb²⁺ 的初始浓度小于 10 mg/L 时,滤液中的 Fe²⁺ 浓度低于生活饮用水卫生标准《GB 5749—2006》中规定的限量要求,不会对环境造成二次污染,这为低浓度含 Pb²⁺ 废水的吸附去除提供了一种新的思路。

参考文献:

[1] 环境保护部,国家质量监督检验检疫总局.铅、锌工业污染物排放标准:GB 25466—2010[S].北京:中国标准出版社,2010-10-01.

- [2] 河南省环境保护厅, 河南省质量技术监督局. 铅冶炼工业污染物排放标准: DB 41/684—2011[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011-09-30.
- [3] CURO K, FLORES J V. Removal of lead wastewater from the thermal stabilizer industry by chemical precipitation[J]. *J. Environ. Sci. (China)*, 2017, **1**(1): 17-22.
- [4] EL-NAGGAR I M, AHMED S A, SHEHATA N, et al. A novel approach for the removal of lead (II) ion from wastewater using Kaolinite/Smectite natural composite adsorbent[J]. *Appl. Water Sci.*, 2019, **9**(1): 1-13.
- [5] KARIM M R, ALJAZ M O, ALHARTH N H, et al. Composite nanofibers membranes of poly (vinyl alcohol)/chitosan for selective lead (II) and cadmium (II) ions removal from wastewater[J]. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2019, **169**: 479-486.
- [6] PAN Z F, AN L. Removal of heavy metal from wastewater using ion exchange membranes[M]. Switzerland: Springer International Publishing, 2019: 25-46.
- [7] 邹炎, 蒲生彦, 薛圣炆, 等. 土壤霉菌菌丝球制备及其吸附 Pb(II) 性能[J]. 工业水处理, 2017, **37**(3): 30-33.
- [8] SANTOS I C A, SANTOS I O, PONTUAL L V, et al. Electrolytic removal of cadmium, lead and copper from wastewater[J]. *JEP*, 2016, **7**(5): 699-704.
- [9] LI S, WANG W, LIANG F, et al. Heavy metal removal using nanoscale zero-valent iron (nZVI): Theory and application[J]. *J. Hazard. Mater.*, 2017, **322**: 163-171.
- [10] JIANG D, ZENG G, HUANG D, et al. Remediation of contaminated soils by enhanced nanoscale zero valent iron[J]. *Environ. Res.*, 2018, **163**: 217-227.
- [11] DONG H, LI L, LU Y, et al. Integration of nanoscale zero-valent iron and functional anaerobic bacteria for groundwater remediation: A review[J]. *Environ. Int.*, 2019, **124**: 265-277.
- [12] 张守秋, 岑洁, 吕德义, 等. 纳米零价铁去除水中重金属铅、铬离子的研究[J]. 高校化学工程学报, 2019, **33**(3): 524-532.
- [13] LIU Y, WU T, WHITE J C, et al. A new strategy using nanoscale zero-valent iron to simultaneously promote remediation and safe crop production in contaminated soil[J]. *Nat. Nanotechnol.*, 2021, **16**(2): 197-205.
- [14] 黄潇月, 王伟, 凌岚, 等. 纳米零价铁与重金属的反应: “核-壳”结构在重金属去除中的作用[J]. 化学学报, 2017, **75**(6): 529-537.
- [15] MU Y, JIA F L, AI Z H, et al. Iron oxide shell mediated environmental remediation properties of nano zero-valent iron[J]. *Environ. Sci. Nano*, 2017, **4**(1): 27-45.
- [16] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. 生活饮用水卫生标准: GB 5749—2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006-12-29.

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2022008791

化学试剂,2022,44(6),835~840

氯化铁改性椰壳活性炭去除2,4-二氯苯酚的吸附性能研究

刘雪平,闫晓乐,张焕,张瀚月,田丽,宋忠贤,毛艳丽,张霞,延旭,康海彦*

(河南城建学院 河南省水体污染与防治重点实验室,河南 平顶山 467000)

摘要:以椰壳活性炭为原料,进行氯化铁改性,探究其对2,4-二氯苯酚吸附性能影响的研究。通过静态吸附实验得到了最佳改性条件,使得对2,4-二氯苯酚吸附性能进一步得到提升,并结合实际水体酸碱性探究,对模拟废水实验进行了pH探究,进一步优化了材料对实际水体的适用性。研究表明,氯化铁浓度为0.8 mol/L、改性时间为24 h条件下改性得到的炭材料(BC-F)吸附性能最佳,吸附剂的最佳使用量应为0.04 g,吸附过程应在弱酸或碱性环境中进行,在实际水体中实用性较好;且该吸附过程符合准一级动力学和Freundlich等温吸附方程,以化学吸附为主。

关键词:椰壳活性炭;氯化铁改性;吸附;2,4-二氯苯酚;动力学

中图分类号:X703 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2022)06-0835-06

Adsorption Performance of FeCl₃ Modified Coconut Shell Activated Carbon for the Removal of 2,4-Dichlorophenol LIU Xue-ping, YAN Xiao-le, ZHANG Huan, ZHANG Han-yue, TIAN Li, SONG Zhong-xian, MAO Yan-li, ZHANG Xia, YAN Xu, KANG Hai-yan* (Henan Key Laboratory of Water Pollution Control and Rehabilitation, Henan University of Urban Construction, Pingdingshan 467000, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 835~840

Abstract: In this study, ferric chloride-modified coconut shell-derived activated carbon (AC) was prepared, the effect of ferric chloride modification on the adsorption performance of 2,4-dichlorophenol was investigated. The optimum modification conditions were obtained through static adsorption experiments, which significantly improved the adsorption performance of 2,4-dichlorophenol. The pH of the simulated wastewater experiment was also investigated in combination with the acidity and alkalinity of actual wastewater to further optimize the applicability of the as-modified material. This study presented that the best adsorption performance of ferric chloride-modified AC was obtained with a dosage of 0.8 mol/L ferric chloride concentration and a modification time of 24 h; also, the adsorption process was suggested to be carried out in a weakly acidic or alkaline environment, which was close to the practical condition in the actual wastewater. Furthermore, the adsorption process was testified to conform to the quasi-level kinetics and Freundlich isothermal adsorption equation that was governed by chemisorption.

Key words: coconut shell activated carbon; FeCl₃ modified; adsorption; 2,4-DCP; kinetics

石油工业、煤炭生产和各种工厂废水的排放是氯酚类污染物的主要来源。氯酚类化合物具有难降解、易富集、毒性大等特点^[1]。2,4-二氯苯酚(2,4-DCP),是酚类污染的典型代表,广泛应用于造纸、印刷、皮革等工业领域,也被应用于杀虫剂和木材防腐剂等的生产加工^[2],在生产过程中可以通过各种途径进入环境,不仅对农业和渔业造成损失,而且危害人体健康,因此如何将其降解及消除一直受到人们关注。

含酚废水的处理方法有:光降解、光催化氧化、膜分离、吸附法等。吸附法因具有吸附效果好、处理过程简单、无二次污染等特点,已在废水治理方面广泛应用。椰壳作为一种产量较大且廉价的生物质炭材料,直接废弃或者燃烧会造成资源浪费、污染环境等问题,将其进行处理制成具有一定吸附性能的活性炭,从而达到废物利用,节约

资源目的,已成为水处理领域研究热点之一。

邓清等^[3]报道了椰壳活性炭对含Zn²⁺和Cd²⁺废水吸附净化效果,在pH 7、炭投加量为4 g、振荡反应温度为40℃、反应时间为120 min条件下,Zn²⁺和Cd²⁺废水净化效果最佳,且Zn²⁺的去除效果较好。张研等^[4]研究表明椰壳活性炭可以有效改善化工废水中COD、色度值、吸附有机物。

收稿日期:2021-11-15;网络首发日期:2022-03-10

基金项目:河南科技攻关项目(202102310280,212102310068,202102310287)。

作者简介:刘雪平(1973-),女,湖南衡山人,博士,副教授,主要研究方向为水治理。

通讯作者:康海彦,E-mail:kanghaiyan2007@163.com。

引用本文:刘雪平,闫晓乐,张焕,等.氯化铁改性椰壳活性炭去除2,4-二氯苯酚的吸附性能研究[J].化学试剂,2022,44(6):835-840。

李晓梅等^[5]对椰壳活性炭进行酸改性,探究了改性后活性炭对苯酚吸附性能,发现改性后的活性炭比表面积增大、官能团数量增加、孔隙结构发达,进一步提升了苯酚的去除效率。由此可知,椰壳活性炭对重金属、化工废水中有害物质、酚类污染物等都具备较好的吸附能力,但其对氯化酚类化合物吸附性能方面的研究,鲜有报道。

本文采用氯化铁溶液作为改性剂对椰壳活性炭进行改性,对改性方法进行优化,探究吸附剂用量、溶液 pH 值、吸附时间、反应温度对 2,4-DCP 吸附效果的影响;同时对制得的活性炭进行红外(FT-IR)以及拉曼(Raman)表征分析,进而分析其吸附机理,以期对 2,4-DCP 去除提供理论数据。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Nicolet 6700 型傅里叶变换红外光谱仪(瑾恒仪器(上海)有限公司);inViaReflex 型拉曼光谱仪(雷尼绍(上海)贸易有限公司);QYC-210ZC 型全温培养摇床(上海新苗医疗器械制造有限公司);U7S 型双光束紫外-可见分光光度计(上海佑科仪器仪表有限公司);pHS-3E 型 pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司);ML204C 型电子天平(梅特勒-托利多(上海)仪器有限公司);TGL-20M 型高速冷冻离心机(长沙湘智离心机仪器有限公司);DHG-9055A 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

2,4-二氯苯酚、氯化铁(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);椰壳活性炭(河南神马尼龙化工有限责任公司)。

1.2 样品制备

将椰壳活性炭加入纯水(电阻率为 18.25 MΩ·cm)中,加热到煮沸 30 min,过滤,用纯水冲洗椰壳活性炭至上清液透明,pH 为中性,105 ℃干燥 5 h,过 100~200 目筛,装袋,备用,命名为 BC。

称取 0.6 g BC 置于 100 mL 锥形瓶中,加入 50 mL(0.2、0.4、0.8、1、1.5 mol/L)改性 FeCl₃ 溶液,用保鲜膜封住锥形瓶口,于全温培养摇床中恒温改性(转速 160 r/min)一定时间(6、12、18、24、30 h),抽滤,洗至中性,105 ℃干燥 5 h,研磨所得固体,过 100~200 目筛,备用,吸附剂命名为 BC-F。

1.3 吸附条件实验

称取一定量 BC、BC-F 于 100 mL 锥形瓶中,加入 50 mL 2,4-DCP(初始质量浓度为 100 mg/L),在恒温摇床上振荡 2 h,转速为 160 r/min,上清液过 0.45 μm 滤头(针式过滤头),用 U7S 紫外-可见吸收分光光度计测定溶液中 2,4-DCP 剩余浓度,考察了改性剂浓度、改性时间,吸附过程中吸附剂用量、溶液 pH 对材料吸附性能的影响。吸附量和去除率的计算见式(1)、(2)。

$$Q_e = [(C_0 - C_e)/m] \times V \quad (1)$$

$$R = [(C_0 - C_e)/C_0] \times 100\% \quad (2)$$

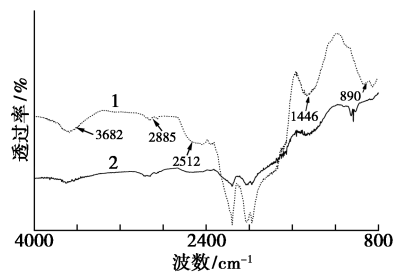
式中, Q_e 为达到吸附平衡时的吸附量,mg/g; V 为溶液的体积,L; m 为吸附剂投加量,g; C_0 为 2,4-DCP 初始质量浓度,mg/L; C_e 为吸附达到平衡时溶液中 2,4-DCP 质量浓度,mg/L; R 为吸附效率,%。

2 结果与讨论

2.1 表征

2.1.1 FT-IR 分析

由红外图谱可知,3 682 cm⁻¹ 处峰归属于 OH,2 885 cm⁻¹ 附近为—CH₂ 的吸收峰,2 512 cm⁻¹ 峰可能是—COOH 上 OH 的聚合振动峰,1 446 cm⁻¹ 处的吸收峰归属于 C=O、C=C 的伸缩振动吸收峰^[6,7],890 cm⁻¹ 附近为 C—H 的连续振动峰。图 1 表明 BC 表面含有上述类别官能团,改性后使得这些官能团峰强度增强。



1. BC-F; 2. BC

图 1 FT-IR 图谱

Fig.1 FT-IR spectrum

2.1.2 Raman 分析

拉曼图谱表明,BC、BC-F 均在 1 350 cm⁻¹ 和 1 598 cm⁻¹ 左右出现特征吸收峰(D 峰、G 峰)。BC-F 拉曼图谱中 D 峰/G 峰强度值(I_D/I_G)为 0.84 较 BC 样品 I_D/I_G 值大(0.79),表明椰壳炭的无序化程度在改性后得到提升,炭表面孔径具有更明显的无规则结构,进而提升材料的吸附能力^[8]。

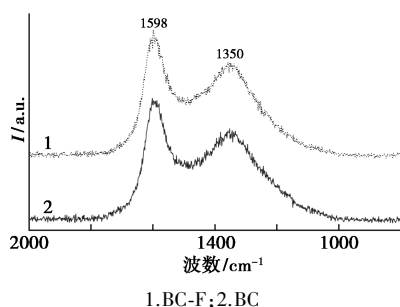


图 2 Raman 图谱

Fig.2 Raman spectrum

2.2 吸附实验

2.2.1 改性时间影响

称取 5 份 1.5 mol/L FeCl_3 溶液, 0.01 g 改性活性炭 BC-F (改性时间分别为 6、12、18、24、30 h) 分别置于 100 mL 锥形瓶中, 各锥形瓶中加入 50 mL 2,4-DCP 溶液 (初始质量浓度为 100 mg/L)。将上述溶液转移至恒温摇床上振荡 2 h, 转速为 160 r/min, 反应温度 298 K, 探究改性时间对 2,4-DCP 去除效果的影响, 结果见图 3。

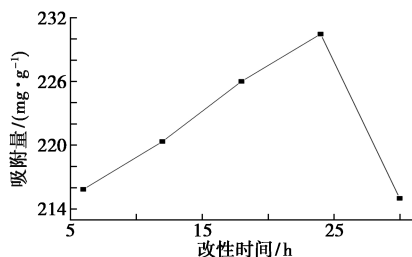


图 3 改性时间对吸附性能影响

Fig.3 Effect of modification time on adsorption performance

由图 3 可知, 改性时间低于 24 h 时, BC-F 吸附性能随改性时间增加而增强, 但改性时间超过 24 h 后, 材料吸附性能降低。这可能是因为 FeCl_3 在一定程度上会增强 BC 吸附性能; 改性时间超过 24 h 后, 由于改性时间过长, 导致改性后的 BC-F 样品吸附性能降低。BC-F (改性 24 h) 对 2,4-DCP 吸附容量最大为 230.45 mg/g, 因此选用 24 h 为最佳改性时间。

2.2.2 改性剂浓度影响

在 5 个 100 mL 锥形瓶中分别加入 0.01 g BC-F (改性时间为 24 h, FeCl_3 浓度分别为 0.2、0.4、0.8、1、1.5 mol/L), 再加入 50 mL 2,4-DCP 溶液 (初始质量浓度为 100 mg/L)。将上述溶液转移至恒温摇床上振荡 2 h, 转速为 160 r/min, 反应温度 298 K, 探究改性剂浓度对 2,4-DCP 去除效果的影响。如图 4 所示, 2,4-DCP 吸附容量随

FeCl_3 浓度增加呈现先增加后降低的趋势。改性剂浓度为 0.8 mol/L 时, 2,4-DCP 吸附容量最大为 237.22 mg/g, 其浓度超过 0.8 mol/L 时, 2,4-DCP 吸附容量开始下降, 这可能是因为 FeCl_3 浓度过高或过低都不利于 BC 的改性, FeCl_3 浓度过低时, 对 BC 改性不完全, 去除率低; 而 FeCl_3 浓度过高时, 会造成 BC 内部结构破坏, 从而造成对 2,4-DCP 的吸附性能降低。故最佳改性剂浓度为 0.8 mol/L。

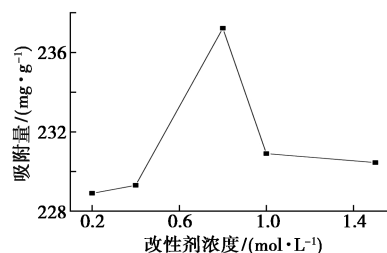


图 4 改性剂浓度对吸附性能影响

Fig.4 Effect of modifier concentration on adsorption performance

2.3 改性前后对比吸附性能研究

在 2 个盛有 50 mL 2,4-DCP 溶液 (初始质量浓度为 100 mg/L) 的 100 mL 锥形瓶中分别加入 0.01 g BC、BC-F (改性时间为 24 h, FeCl_3 浓度为 0.8 mol/L)。将混合溶液转移至恒温摇床, 转速为 160 r/min, 振荡 2 h (反应温度 298 K), 进行改性前后活性炭对 2,4-DCP 去除效果的探究, 测试结果列于表 1 中。

表 1 改性前后活性炭吸附参数

Tab.1 Adsorption parameters of activated carbon before and after modification

样品	浓度/(mg·L ⁻¹)	吸附容量/(mg·g ⁻¹)	去除率/%
BC-F	100	237.22	47.5
BC	100	202.83	40.6

由表 1 数据可知, 改性活性炭 BC-F 对 2,4-DCP 吸附容量及吸附效果较 BC 有明显提升。BC-F 对 2,4-DCP 吸附容量从 202.83 mg/g 增加至 237.22 mg/g, 提升了 34.39 mg/g。2,4-DCP 去除率从 40.6% 提升至 47.5%, 增加了 6.9%。因此后续对 BC-F (改性时间为 24 h, FeCl_3 浓度为 0.8 mol/L) 吸附 2,4-DCP 进行探讨。且与其他方法改性制得的椰壳活性炭相比, 本研究中所得到的 BC-F 活性炭吸附性能有明显提升^[9,10]。

2.4 吸附条件优化

2.4.1 投加量影响

称取 6 份 0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1 g

BC-F 样品(FeCl_3 浓度为 0.8 mol/L , 改性时间为 24 h), 依次加入 6 个盛有 50 mL $2,4\text{-DCP}$ (初始质量浓度为 100 mg/L) 溶液的锥形瓶中。将混合溶液置于恒温摇床上 (转速为 160 r/min , 反应温度为 298 K) 振荡吸附 2 h , 探究样品投加量对吸附性能的影响, 结果见图 5。

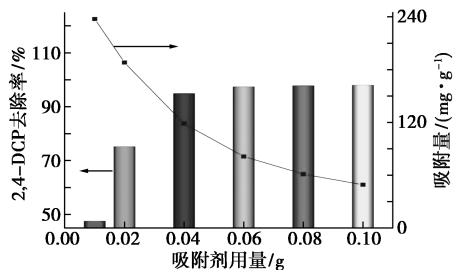


图 5 样品投加量对吸附性能的影响

Fig.5 Effect of sample dosage on adsorption performance

由图 5 可知, $2,4\text{-DCP}$ 去除率随投加量的增加逐渐增加。当 BC-F 的用量增加至 0.04 g 时, $2,4\text{-DCP}$ 去除率已达到 94.9% , 吸附容量为 118.62 mg/g 。继续增加 BC-F 用量, $2,4\text{-DCP}$ 去除率趋于稳定, 但吸附容量急剧下降。BC-F 的用量增加至 0.1 g 时, $2,4\text{-DCP}$ 去除率为 98% , 仅增长 3.1% , 而吸附容量从 118.62 mg/g 降至 49 mg/g , 因为污染物浓度一定时, 增加吸附剂用量, 在一定程度上增加了可供吸附的活性位点, 去除率升高, 但吸附剂的吸附容量随样品用量增加呈降低趋势^[11]。故结合 $2,4\text{-DCP}$ 吸附量及去除率, 选用 0.04 g BC-F 为最佳投加量。

2.4.2 pH 的影响

刘寒冰等^[12]研究表明, 溶液的不同酸碱度对活性炭吸附性能有较大影响。为了探究其酸碱度对 BC-F 的影响, 各取 50 mL (100 mg/L) $2,4\text{-DCP}$ 溶液分别加入 7 个盛有 0.04 g BC-F 的 100 mL 锥形瓶中, 调节溶液 pH ($\text{pH } 1, 3, 5, 7, 9, 11, 12$), 将锥形瓶置于恒温振荡摇床中, 转速为 160 r/min , 反应温度为 298 K 条件下振荡 2 h , 随即用 $0.45 \mu\text{m}$ 的滤头 (针式过滤头) 进行抽滤, 最后用紫

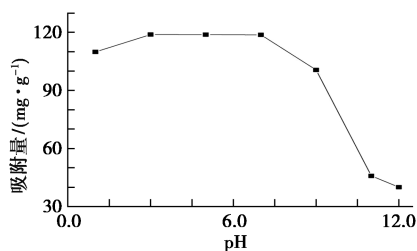


图 6 溶液 pH 对吸附性能影响

Fig.6 Effect of solution pH on adsorption performance

外分光光度计在 285 nm 处进行检测。

从图 6 中可以看出, BC-F 对 $2,4\text{-DCP}$ 吸附性能随溶液 pH 增加呈现先增强后降低。BC-F 吸附性在弱酸环境 and 中性环境中基本保持一致, 溶液 pH 3 时, BC-F 对 $2,4\text{-DCP}$ 的吸附容量最大, 118.78 mg/g , 溶液 pH 5、7 时, $2,4\text{-DCP}$ 的吸附容量分别为 118.72 、 118.62 mg/g 。当溶液 pH 为碱性环境时, BC-F 对 $2,4\text{-DCP}$ 的吸附容量急剧下降, 溶液 pH 12 时, $2,4\text{-DCP}$ 的吸附容量仅为 39.98 mg/g 。出现上述现象的原因是由于 $2,4\text{-DCP}$ 的 pK_a 值为 7.85 , 当溶液 $\text{pH} < 7.85$ 时, 溶液中的 $2,4\text{-DCP}$ 主要以分子形态存在, $\text{pH} > 7.85$ 时, $2,4\text{-DCP}$ 主要以离子形式存在, 而碱性环境下, 溶液中 OH^- 增多, 与 $2,4\text{-DCP}$ 离子态存在竞争吸附关系, 从而影响吸附效果^[13]。因此 BC-F 应在弱酸或中性环境中对 $2,4\text{-DCP}$ 进行吸附。

2.5 吸附动力学实验

$2,4\text{-DCP}$ 初始质量浓度为 100 mg/L , BC-F 用量为 0.04 g , 溶液 pH 7, 置于恒温摇床上, 反应温度为 298 K 。定时用注射器取上层溶液, 过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤头 (针式过滤头), 用 U7S 紫外-可见吸收分光光度计测定溶液中浓度, 探究吸附时间对 BC-F 吸附性能的影响, 结果见图 7。采用准一级动力学和准二级动力学对图 7 中数据进行拟合, 探究其吸附机理。

准一级动力学吸附速率模型数学表达式^[14]为:

$$\frac{dq_t}{dt} = K_1(q_e - q_t) \quad (3)$$

将上式进行积分, 利用边界条件可以得到其线性形式为:

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - K_1 t \quad (4)$$

准二级动力学吸附速率模型数学表达式^[15,16]为:

$$\frac{dq_t}{dt} = K_2(q_e - q_t)^2 \quad (5)$$

将其进行转化:

$$t/q_t = 1/(K_2 q_e^2) + t/q_e \quad (6)$$

式中, q_e 为吸附过程达到平衡时吸附量, mg/g ; q_t 为 t 时刻吸附量, mg/g ; K_1 为准一级动力学吸附速率常数, min^{-1} ; K_2 代表准二级动力学吸附速率常数, $\text{g}/(\text{mg} \cdot \text{min})$ 。

由图 7 可知, BC-F 对 $2,4\text{-DCP}$ 的吸附容量随吸附时间持续增长。吸附时间小于 70 min 时, 吸附容量急剧增长, 吸附时间为 70 min 时, 吸附容量为 119.30 mg/g , 当吸附时间超过 70 min 后, $2,4\text{-DCP}$ 吸附容量虽保持增长趋势, 但增长速度缓慢, 120 min 时, 吸附容量达到 119.55 mg/g 为

平衡吸附容量。

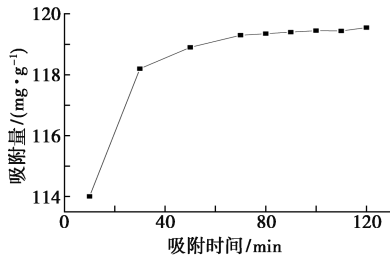
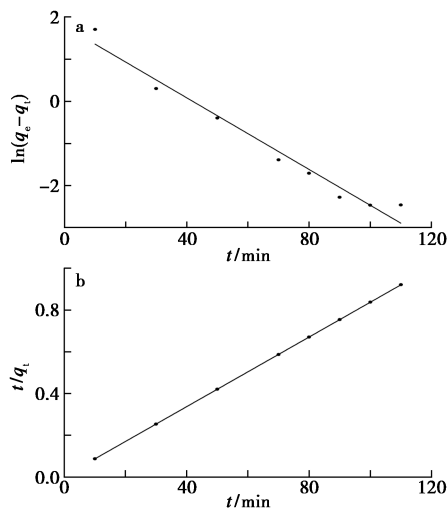


图 7 吸附时间对吸附性能影响
Fig.7 Effect of adsorption time on adsorption performance

准一级、准二级动力学拟合结果见图 8, 所得相关参数见表 2。从图 8 中也可以看出, 与准一级动力学方程相比, 准二级动力学能更好地与数据点重合, 从表 2 中可以看出准二级动力学拟合方程相关系数相对较高为 0.999 9, 且计算所得的 q_e 与实验值非常接近, 误差仅为 0.78%。这是因为准二级动力学适用于整个吸附过程中控制速率的机理分析, 而准一级动力学一般只适合对吸附初始阶段的动力学进行描述, 而不能准确地描述吸附的全过程。因此准二级动力学方程能更好地描述 BC-F 对 2,4-DCP 的吸附过程, 吸附过程以化学吸附为主^[17]。



a. 准一级动力学; b. 准二级动力学
图 8 动力学吸附拟合曲线

表 2 BC-F 吸附 2,4-DCP 的动力学方程拟合参数
Tab.2 Parameters fitted to the kinetic equation for the adsorption of 2,4-DCP by BC-F

准一级动力学		准二级动力学	
$K_1/(\text{min}^{-1})$	R^2	$K_2/(\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$	R^2
0.042 5	0.971 3	0.016 8	0.999 9

2.6 等温吸附实验

采用 Langmuir 和 Freundlich 模型对吸附实验数据进行拟合。

Langmuir 吸附等温式为:

$$q_e = (q_m C_e) / (K_L + C_e) \quad (7)$$

线性表达式为:

$$C_e/q_e = C_e/q_m + 1/(K_L q_m) \quad (8)$$

Freundlich 吸附等温式方程为

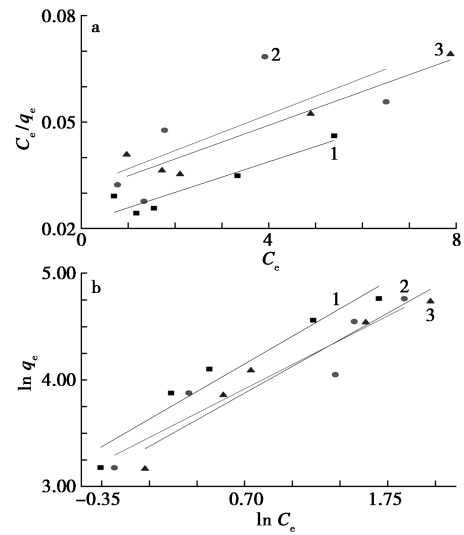
$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (9)$$

将两边取对数, 得到

$$\ln q_e = \ln K_F + (1/n) \ln C_e \quad (10)$$

式中, q_e 代表吸附达到平衡时吸附量, mg/g ; q_m 表示吸附剂最大吸附量, mg/g ; C_e 指吸附平衡液相中溶质的浓度, mg/L ; K_L 为 Langmuir 模型中平衡常数, L/mg ; K_F 是 Freundlich 模型中平衡常数, mg/g 。

分别以 $C_e/q_e - C_e$ 、 $\ln q_e - \ln C_e$ 作图, 拟合曲线示于图 9, 依据曲线斜率和截距计算所得参数列入表 3。



曲线 1~3 的温度分别为 298、308、318 K
a. Langmuir 模型; b. Freundlich 模型

图 9 BC-F 吸附 2,4-DCP 的等温吸附模型拟合曲线
Fig.9 Fitting curves of isothermal adsorption model for 2,4-DCP adsorption by BC-F

表 3 BC-F 吸附 2,4-DCP 的等温吸附模型拟合参数
Tab.3 Fitting parameters of isothermal adsorption model for 2,4-DCP adsorption by BC-F

温度/ K	Langmuir 模型			Freundlich 模型		
	$q_m/(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	$K_L/(\text{L} \cdot \text{mg}^{-1})$	R^2	n	$K_F/(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	R^2
298	232.56	0.200	0.887 5	1.352	37.809	0.943 8
308	196.08	0.161	0.517 6	1.536	31.824	0.886 5
318	206.33	0.159	0.915 5	1.400	29.274	0.940 9

由表 3 可知,不同温度下数据拟合程度更符合 Freundlich 模型,拟合系数均大于 Langmuir 模型拟合系数,表明 BC-F 对 2,4-DCP 的吸附不局限于单层吸附^[18]。吸附强度系数 $n > 1$ ($1/n < 1$),表明该吸附过程容易发生^[19],此外, K_L 值随温度升高逐渐减小,说明温度升高不利于 BC-F 对 2,4-DCP 的吸附。

3 结论

3.1 采用 FeCl_3 改性椰壳活性炭得到样品 BC-F,研究发现 BC-F(改性时间为 24 h, FeCl_3 浓度为 0.8 mol/L)投加量为 0.04 g 时,其在弱酸或中性环境中对 2,4-DCP 的吸附性能最佳。

3.2 吸附过程符合准二级动力学及 Freundlich 等温吸附方程,表明 BC-F 对 2,4-DCP 的吸附过程是以化学吸附为主体的多层吸附,这与 FT-IR、Raman 表征结果相照应,表面官能团在吸附过程中起着重要作用,改性后活性炭颗粒表面无序化使得其表面粗糙程度增加,有利于对 2,4-DCP 的吸附。

参考文献:

- [1] PERA-TITUS M, GARCIA-MOLINA V, BANOS M A, et al. Degradation of chlorophenols by means of advanced oxidation processes: A general review[J]. *Appl. Catal. B: Environ.*, 2004, **47**(4): 219-256.
- [2] CHALIHA S, BHATTACHARYYA K G. Fe(III)-, Co(II)- and Ni(II)-impregnated MCM-41 for wet oxidation destruction of 2,4-dichlorophenol in water[J]. *Catal. Today*, 2009, **141**(1): 225-233.
- [3] 邓清, 李春阳, 邓志华, 等. 活性炭对含 Zn^{2+} 和 Cd^{2+} 的重金属废水吸附净化效果研究[J]. *化工新型材料*, 2019, **47**(4): 204-207.
- [4] 张研, 崔伟超, 刘红雨. 活性炭吸附法净化工业废水的研究[J]. *盐科学与化工*, 2020, **49**(10): 15-17.
- [5] 李晓梅, 金焱翥, 张雅情. 盐酸改性椰壳活性炭的制备及表征[J]. *炭素*, 2017, (3): 39-42.
- [6] 钱玉鹏, 王路路, 吴望妮, 等. 表面改性对蛭石流延浆料性能的影响[J]. *硅酸盐通报*, 2020, **39**(7): 2 326-2 329.
- [7] 谢叔媚, 张莹, 徐建军, 等. 以橘子皮为原料制备生物质炭及其对 Cr(VI) 的吸附性能研究[J]. *湖北工程学院学报*, 2017, **37**(6): 5-10.
- [8] 张伟霞. 真菌调控生物质基多级孔炭的制备及其甲苯吸附性能[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.
- [9] 陈雷震. 处理含苯酚污水的吸附剂筛选和吸附机理研究[J]. *石油炼制与化工*, 2021, **52**(9): 75-82.
- [10] 张会平, 肖新颜, 杨立春. K_2CO_3 活化法制备椰壳活性炭[J]. *华南理工大学学报*, 2006, (3): 63-66.
- [11] 刘宏燕. 椰壳基活性炭改性及其对 Pb^{2+} 的吸附性能研究[D]. 长沙: 中南大学, 2010.
- [12] 刘寒冰, 杨兵, 薛南冬. 酸碱改性活性炭及其对甲苯吸附的影响[J]. *环境科学*, 2016, **37**(9): 3 670-3 678.
- [13] SILVA A M, LIMA R, LEO V A. Mine water treatment with limestone for sulfate removal[J]. *J. Hazard. Mater.*, 2012, **221/222**(30): 45-55.
- [14] 苏锦, 王清萍, 金晓英, 等. 纳米有机膨润土对苯酚的吸附性能研究[J]. *环境污染与防治*, 2010, **32**(3): 39-46.
- [15] 何建玲. 新型吸附树脂对苯乙酸的吸附热力学研究[J]. *离子交换与吸附*, 2004, **20**(2): 131-137.
- [16] MARTINEZ M L, TORRES M M, GUZMAN C A, et al. Preparation and characteristics of activated carbon from olive stones and walnut shells[J]. *Ind. Crops Prod.*, 2006, **23**(4): 23-28.
- [17] 丁世敏, 封享华, 汪玉庭, 等. 交联壳聚糖多孔材料微球对染料的吸附平衡及动力学分析[J]. *分析科学学报*, 2005, **21**(2): 127-130.
- [18] ALESSANDRO D S. Factors affecting sorption of organic compounds in natural sorbent/water systems and sorption coefficients for selected pollutants: A review[J]. *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 2011, **30**(1): 187-439.
- [19] TIAN Y, WU M, LIN X, et al. Synthesis of magnetic wheat straw for arsenic adsorption[J]. *J. Hazard. Mater.*, 2011, **193**(20): 10-16.

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2022008715

化学试剂,2022,44(6),841~845

板栗壳活性炭对中性红和活性蓝19的吸附行为

韦琴*,周帆

(武汉工商学院 环境与生物工程学院,湖北 武汉 430065)

摘要:以板栗壳为原料制备板栗壳活性炭,以振荡时间、pH和温度3个单因素考察了板栗壳活性炭对中性红和活性蓝19的吸附效果,分析了等温吸附过程并从吸附动力学角度探讨了两种染料的吸附机理。结果表明:板栗壳活性炭对中性红染料的最佳吸附条件是pH 4、温度为35℃、振荡时间为120 min;对活性蓝19最佳吸附条件是pH 2、温度为40℃、振荡时间为150 min。板栗壳活性炭对两种染料的吸附过程与Freundlich模型拟合度更高,该过程主要是多分子层吸附。用准二级动力学方程($R^2>0.99$)比准一级动力学方程更适合描述板栗壳活性炭对两种染料的吸附特性。板栗壳活性炭对两种染料的吸附以化学吸附为主。

关键词:板栗壳活性炭;中性红;活性蓝19;吸附行为;Freundlich模型

中图分类号:X703 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2022)06-0841-05

Adsorption Behavior of Chestnut Shell Activated Carbon for Neutral red and Active Blue 19 WEI Qin*, ZHOU Fan
(College of Environmental and Biological Engineering, Wuhan Technology and Business University, Wuhan 430065, China),
Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 841~845

Abstract: Herein, activated carbon (AC) was prepared from the chestnut shell. The effect of chestnut shell-derived AC on the adsorption of neutral red and active blue 19 was explored by varying the following parameters including oscillation time, pH, and temperature. The isothermal adsorption process was analyzed and the mechanism for adsorbing the two dyes was discussed from the viewpoint of adsorption kinetics. Results showed that the optimal adsorption conditions for neutral red dye were pH of 4.0, the temperature of 35℃, and the oscillation time of 120 min. The optimum adsorption conditions for active blue 19 were pH of 2.0, the temperature of 40℃, and the oscillation time of 150 min. The adsorption processes of the two dyes on chestnut shell-derived AC matched better with the Freundlich model, indicating that the process was governed by multi-molecular layer adsorption. Furthermore, the quasi-second-order kinetic equation ($R^2>0.99$) was more suitable than the quasi-first-order kinetic equation to describe the adsorption characteristics, suggesting that these two dyes were chemically adsorbed on chestnut shell-derived AC.

Key words: chestnut shell activated carbon; neutral red; active blue 19; the adsorption behavior; Freundlich model

印染废水具有高色度、有机物浓度大和生物难降解的特点,印染废水的直接排放将对生态环境和人体健康构成严重威胁^[1],因此其有效处理和再利用是行业清洁发展的关键。染料废水常用的处理方法包括化学法、生物法和物理吸附法等^[1]。对于印染废水的处理,一般采用操作简单、成本低的吸附法。活性炭具有内部空隙结构发达、比表面积大、物理化学性质稳定等特点,广泛用于印染废水的处理中^[2]。传统的吸附剂虽然效果好,但是对预处理要求高,而且原料价格居高不下,如何开发出廉价高效的吸附剂,是当前吸附处理研究的一个热点。生物炭是一种由废弃生物材料在缺氧或低氧条件下高温热裂解而成的固体多孔碳质材料^[3,4],价格低廉、吸附能力强,常用于去除各种污染物,如废水中的重金属、农药和染料^[5]。近年来,许多专家和学者都开始用果

壳、果皮等农林废弃物为原料制备活性炭吸附剂并得到了良好的吸附效果,如穆德颖^[6]采用橘皮活性炭吸附处理染料废水的研究;党志强等^[7]采用核桃果皮基活性炭对两种染料进行吸附的动力学研究;张晋峰等^[8]采用花生壳活性炭吸附染料废水中结晶紫。在板栗的生产加工过程中,大量的板栗壳被废弃,造成巨大浪费,而且每年栗区有大量废弃的板栗壳被随地焚烧或腐烂,既危害环

收稿日期:2021-10-23;网络首发日期:2022-03-08

基金项目:湖北省科技厅技术创新专项重点项目(2017AFB577);湖北省高等学校实验室研究项目(HB-SY2019-09)。

作者简介:韦琴(1981-),女,湖北天门人,硕士,教授,主要研究方向为生物化学,E-mail:53471348@qq.com。

引用本文:韦琴,周帆.板栗壳活性炭对中性红和活性蓝19的吸附行为[J].化学试剂,2022,44(6):841-845。

境又易引发火灾。板栗壳来源广、价格低廉,本研究用板栗壳制备活性炭吸附剂处理吸附典型染料中性红和活性蓝 19,可扩大其在污水处理研究领域的应用,为农林废物制备吸附剂吸附印染废水的研究提供一定的理论依据。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

YP-202 N 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司);722 E 型可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司);HP2 C 型离心机(湖南湘仪动力测试仪器有限公司);DG-120 型中草药粉碎机(浙江省瑞安市飞达器械有限公司);ZP. M6/10 型马弗炉(上海均珂仪器科技有限公司);40 目分样筛(上虞市龙翔精密仪器厂);PHS-3 BW 型 pH 计(上海般特仪器有限公司)。

中性红、活性蓝 19、浓盐酸、氯化锌、氢氧化钠(分析纯,天津市百世化工有限公司);板栗壳为市售。

1.2 中性红和活性蓝 19 标准曲线的制作

将中性红配制质量浓度分别为 0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mg/L 的溶液,在最大吸收波长 553 nm 下,测吸光度并绘制标准曲线(活性蓝 19 染料试验过程同上,其最大吸收波长是 598 nm)。中性红染料线性回归方程为 $y=0.0249x+0.0011$,相关系数 $R^2=0.9990$,其中 x 为中性红染料质量浓度,mg/L; y 为吸光度值 A 。活性蓝 19 染料线性回归方程为 $y=0.0183x+0.0018$,相关系数 $R^2=0.9983$,其中 x 为活性蓝 19 染料质量浓度,mg/L; y 为吸光度值 A 。结果表明,中性红和活性蓝 19 染料在质量浓度 0~10.0 mg/L 均呈良好的线性关系。

1.3 板栗壳活性炭的制备

将 20 g 氯化锌溶于 80 mL 蒸馏水中,加入 1%稀盐酸溶液,直至溶液澄清后配制待用。板栗壳洗净晒干,磨碎后过 40 目筛,按照 $m(\text{板栗壳}):m(20\% \text{氯化锌溶液})=1:2$ 混合浸泡 16 h 后,放入马弗炉,设置温度 500 °C,活化 60 min,待板栗壳活性炭冷却,用 1%稀盐酸酸洗、水洗至 pH 7 后,100 °C 烘干制得^[9]。

1.4 单因素吸附试验

将 5 份各 0.1 g 板栗壳活性炭分别加入 5 份 100 mL(20 mg/L)中性红染料于锥形瓶中。测定振荡时间对吸附效果的影响:在 pH 7、常温下,

150 r/min^[9] 分别振荡 30、60、90、120、150 min 后,离心取上清液,计算得到吸附剂吸附后中性红染料的剩余质量浓度,吸附量(q_t , mg/g)和去除率(η)按公式(1)和公式(2)求得。测定温度对吸附效果的影响:在 pH 7,温度为 20~40 °C 的梯度(活性蓝 19 染料温度梯度为 20~45 °C),150 r/min^[3] 的条件下,在各染料的最佳振荡时间下,离心取上清液,计算得到吸附剂吸附后中性红染料的剩余质量浓度。测定 pH 对吸附效果的影响:选择不同 pH 2、5、7、9、11,温度为室温,时间为各染料的最佳吸附振荡时间,其他条件同上。活性蓝 19 染料试验过程同上。

$$q_t = [(C_0 - C)V]/m \quad (1)$$

$$\eta = [(C_0 - C)/C_0] \times 100\% \quad (2)$$

式中: C_0 为吸附剂吸附前染料的浓度,mg/L; C 为吸附剂吸附后染料的浓度,mg/L; V 为染料体积,L; m 为吸附剂质量,g。

1.5 等温吸附模型分析

将 5 份各 0.1 g 板栗壳活性炭分别加入 100 mL 质量浓度分别为 5、10、15、20、25 mg/L 的中性红染料。在最佳吸附试验条件下,密封振荡,离心取上清液,代入各自的标准曲线,得到吸附剂吸附后中性红染料的剩余浓度,吸附量(q_t)可按公式(1)求得。作图得到等温吸附线,常数可由截距、斜率求得^[10,11]。活性蓝 19 染料试验过程同上,加入的 100 mL 活性蓝 19 染料质量浓度分别为 4、10、12、15、20 mg/L。

1.6 吸附动力学

将 6 份各 0.1 g 板栗壳活性炭分别加入 100 mL(20 mg/L)中性红染料,在各染料的最佳吸附条件下密封振荡,振荡时间为 20、40、80、100、120、140 min,静置、离心取上清液,计算得到吸附剂吸附后中性红染料的剩余浓度,吸附量(q_t)可按公式(1)求得。作图得到吸附动力学方程,常数可由斜率求得^[12-14]。活性蓝 19 染料试验过程同上。

2 结果与讨论

2.1 振荡时间对两种染料吸附效果的影响

由图 1 可知,振荡时间越长,板栗壳活性炭对两种染料的吸附量和去除率随之增大,吸附效果越好。吸附期间,两种染液由于被板栗壳活性炭吸附,吸附环境的染液浓度逐渐变小,造成高低浓度差,低浓度染料分子更好被板栗壳活性炭吸附,表现为吸附量增大,吸附效果好。图 1a 中到

150 min 时吸附稍有下降的趋势,故中性红最佳振荡时间是 120 min。图 1b 中到 150 min 时曲线趋于平缓,表明此时处于吸附平衡,故活性蓝 19 最佳振荡时间是 150 min。

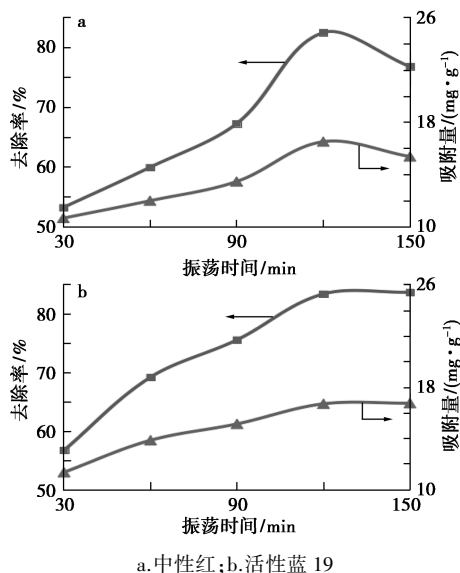


图 1 振荡时间对两种染料去除率和吸附量的影响
Fig.1 Effect of oscillation time on the removal rate and adsorption capacity of the two dyes

2.2 温度对两种染料的吸附效果的影响

由图 2a 可知,当温度达到 35 ℃时,板栗壳活性炭对中性红的吸附量和去除率达到最大值,此时吸附效果最好,在 35 ℃之前,吸附量不稳定是吸附平衡过程的表现。由图 2b 可知,在 20 ~ 40 ℃范围内,吸附温度越高,板栗壳活性炭对活性蓝 19 染料的吸附量越大,吸附效果越好,当吸

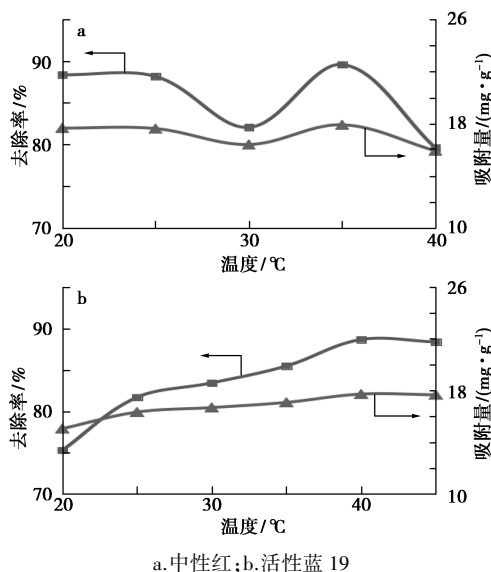


图 2 温度对两种染料去除率和吸附量的影响
Fig.2 Influence of temperature on the removal rate and adsorption capacity of the two dyes

附温度为 40 ℃时,板栗壳活性炭对活性蓝 19 染料的吸附量和去除率达到最大值。吸附量随温度升高而增加可能是由于离子之间的化学作用增强,吸附剂和活性炭的表面基团增加了离子的扩散速率^[15]。由图 2b 可知,在 45 ℃时吸附量和去除率不再增加,说明温度在 40 ℃时达到了吸附平衡。过高的温度会使板栗壳活性炭的孔结构部分坍塌,导致空隙变小^[16],也使得中性红吸附能力变差。

2.3 pH 对两种染料的吸附效果的影响

由图 3 可知,板栗壳活性炭对中性红和活性蓝 19 的吸附量和去除率分别在 pH 4 和 pH 2 时达到最大值,此时的吸附效果最好,而且随着溶液 pH 的增大,吸附量呈下降趋势,pH 越大下降的越快。当染液呈酸性时,液体中的板栗壳活性炭表面带正电,会与中性红阳离子染料产生静电排斥作用,此时吸附效果不太好,而对于活性蓝 19 阴离子染料来说,正好和板栗壳活性炭表面的正电荷产生静电吸引作用,此时有较好的吸附效果。当染液呈碱性时,液体中的板栗壳活性炭表面带负电,这些负电荷和阳离子染料产生静电吸引作用,能更好地吸附中性红染料。溶液的 pH 值并不是越高越好^[16],如果 pH 值高到大于中性红解离常数时,会产生一定的静电排斥阻碍,影响板栗壳活性炭对中性红和活性蓝 19 的染料的吸附量,导致吸附效果不佳,中性红在一定 pH 条件下与板栗壳活性炭之间的静电斥力占主导作用。此

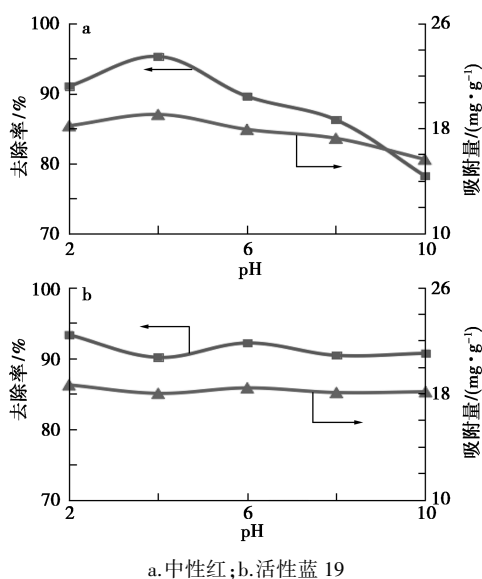


图 3 pH 对两种染料去除率和吸附量的影响
Fig.3 Influence of pH on the removal rate and adsorption capacity of the two dyes

外,板栗壳活性炭孔结构会在高 pH 下发生膨胀,使得其传质能力有所增加,这可能是在图 3b 中板栗壳活性炭对活性蓝 19 染液在高 pH 仍然有较好吸附量的原因。

2.4 等温吸附模型分析

本研究用 Langmuir、Freundlich 两种模型的方程对实验数据进行拟合。

Langmuir 模型吸附表达式:

$$c_e/q_e = (1/q_m)c_e + 1/(q_m K_L) \quad (3)$$

Freundlich 模型吸附表达式:

$$\ln q_e = \ln K_F + (1/n) \ln c_e \quad (4)$$

式中: K_L 为 Langmuir 的平衡常数, L/mg ; q_m 为板栗壳活性炭的最大吸附量, mg/g ; q_e 为板栗壳活性炭的平衡吸附量, mg/g ; c_e 为板栗壳活性炭吸附平衡时染料的浓度, mg/L ; n 为强度系数; K_F 为 Freundlich 的平衡常数, L/g 。

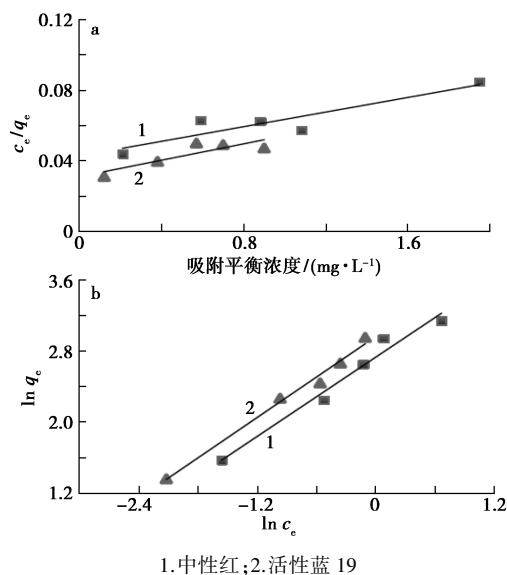


图 4 Langmuir 和 Freundlich 等温线

Fig.4 Langmuir and Freundlich isotherms

表 1 板栗壳活性炭对中性红和活性蓝 19 吸附等温线参数

Tab.1 Adsorption isotherms of chestnut shell activated carbon on neutral red and active blue 19

参数	Langmuir 模型		
	$q_m/(mg \cdot g^{-1})$	$K_L/(L \cdot mg^{-1})$	R^2
中性红	48.31	0.4859	0.8396
活性蓝 19	43.29	0.7476	0.7448
参数	Freundlich 模型		
	$K_F/(L \cdot g^{-1})$	$1/n$	R^2
中性红	12.8739	0.9817	0.9634
活性蓝 19	19.2402	0.7586	0.9886

由图 4 和表 1 可知,板栗壳活性炭对两种染料进行线性拟合后,Langmuir 模型的相关系数 R^2

分别为 0.8396 和 0.7448, Freundlich 模型的相关系数 R^2 分别为 0.9634 和 0.9886。板栗壳活性炭对中性红和活性蓝 19 的吸附过程与 Freundlich 模型拟合度更高,该过程主要是多分子层吸附。此外,一般认为, $1/n$ 大于 2.0 时较难吸附,在 0.1~0.5 时很容易吸附^[4]。根据表 1,相比两种染料的 $1/n$ 数值,可知两种染料均较容易被板栗壳活性炭吸附,相比之下活性蓝 19 更容易被吸附。

2.5 吸附动力学

本研究通过吸附动力学模型,对 20 mg/L 的中性红和活性蓝 19 的吸附过程进行拟合,研究吸附原理。

准一级动力学方程:

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - (k_1/2.303)t \quad (5)$$

准二级动力学方程:

$$t/q_t = 1/(k_2 q_e^2) + t/q_e \quad (6)$$

式中: k_1 为准一级吸附反应速率常数, min^{-1} ; k_2 为准二级吸附反应速率常数, $g/(mg \cdot min)$; q_e 为吸附剂对染料的平衡吸附量, mg/g ; q_t 为不同时刻吸附剂对染料的吸附量, mg/g 。

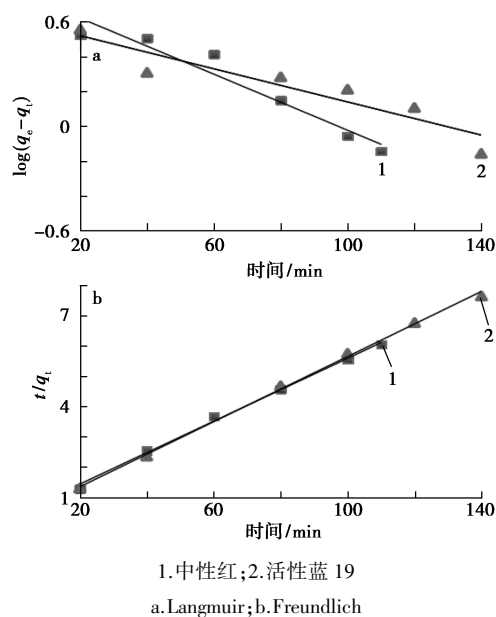


图 5 准一级和准二级动力学模型

Fig.5 Quasi-first-order and quasi-second-order dynamics model

吸附剂对染料的平衡吸附量 q_e 通过动力学吸附实验得到,中性红和活性蓝 19 的平衡吸附量分别为:18.77 mg/g 和 18.43 mg/g。振荡时间为 150 min 时,板栗壳活性炭对活性蓝 19 的吸附达到平衡,所以动力学吸附实验在 20~140 min 之间设置 6 组进行测量;振荡时间为 120 min 时,板栗壳活性炭对中性红的吸附达到平衡,所以动力学

吸附试验在 20~110 min 之间设置 6 组进行测量。分别得到准一级和准二级动力学方程,对中性红和活性蓝 19 在板栗壳活性炭上的吸附动力学行为进行了较为详细的模拟。

表 2 板栗壳活性炭对中性红和活性蓝 19 吸附动力学参数

Tab.2 Adsorption kinetic parameters of chestnut shell activated carbon on neutral red and active blue 19				
染料名称	准一级动力学方程			
	$q_{e,cal}/(mg \cdot g^{-1})$	动力学方程	$k_1/(min^{-1})$	R^2
中性红	6.04	$y = -0.0081x + 0.7812$	0.0187	0.9341
活性蓝 19	4.11	$y = -0.0048x + 0.6143$	0.0111	0.8659
染料名称	准二级动力学方程			
	$q_{e,cal}/(mg \cdot g^{-1})$	动力学方程	$k_2/(g \cdot mg^{-1} \cdot min^{-1})$	R^2
中性红	19.27	$y = 0.0519x + 0.3931$	0.0069	0.9963
活性蓝 19	18.58	$y = 0.0538x + 0.2678$	0.0108	0.9982

由图 5 和表 2 可知,中性红和活性蓝 19 的准二级动力学方程的拟合程度都高于准一级动力学方程,相关系数 R^2 分别为 0.996 3 和 0.998 2,都大于 0.996。

综上,用准二级动力学方程比准一级动力学方程描述板栗壳活性炭对这两种染料的吸附情况更好,板栗壳活性炭对两种染料的吸附以化学吸附^[17]为主。

3 结论

中性红在一定 pH 条件下与板栗壳活性炭之间静电斥力占主导作用。Langmuir 模型的相关系数 R^2 分别为 0.839 6 和 0.744 8, Freundlich 模型的相关系数 R^2 分别为 0.963 4 和 0.988 6。板栗壳活性炭对中性红和活性蓝 19 的吸附过程与 Freundlich 模型拟合度更高,该过程主要是多分子层吸附,相比两种染料的 $1/n$ 数值,可以得到活性蓝 19 染料更容易被板栗壳活性炭吸附。用准二级动力学方程比准一级动力学方程更适合描述板栗壳活性炭对中性红和活性蓝 19 染料的吸附情况,板栗壳活性炭对两种染料的吸附以化学吸附为主。

参考文献:

[1] 王会丽,赵越,马乐宽,等.复合改性膨胀石墨的制备

及对酸性艳蓝染料的吸附[J].高等学校化学学报, 2016, **37**(2):335-341.

[2] 雷晓玲,黄芳,陈焱,等.活性炭对典型染料的吸附性能研究[J].工业水处理,2013, **33**(5):57-60.

[3] HU B W, GUO X J, ZHENG C, et al. Plasma-enhanced amidoxime/magnetic graphene oxide for efficient enrichment of U(VI) investigated by EXAFS and modeling techniques[J]. *Chem. Eng. J.*, 2019, **357**:66-74.

[4] QIU M Q, WANG M, ZHAO Q Z, et al. XANES and EXAFS in vestigation of uranium incorporation on nZVI in the presence of phosphate[J]. *Chemosphere*, 2018, **201**:764-771.

[5] FENG F M, BAO W Z, JING R D. Adsorption of cadmium by biochar produced from pyrolysis of corn stalk in aqueous solution[J]. *Water Sci. Technol.*, 2016, **319**:1336-1345.

[6] 穆德颖.橘皮活性炭吸附处理染料废水的研究[J].哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2017, **33**(6):682-686.

[7] 党志强,刘晓红,李通,等.核桃果皮基活性炭对 2 种染料吸附的动力学研究[J].杨凌职业技术学院学报, 2017, **3**:33-35.

[8] 张晋峰,张莹琪.花生壳活性炭吸附染料废水中结晶紫的研究[J].节水灌溉, 2015, **4**:52-54.

[9] 胡巧开,邓真丽,何舟.板栗壳活性炭的制备及其对活性艳橙的脱色研究[J].印染助剂, 2012, **29**(4):32-34.

[10] 吴焕领,魏赛男,崔淑玲.吸附等温线的介绍及应用[J].染整技术, 2006, **28**(10):12-14.

[11] 张平,李科林,仇银燕,等.稻壳活性炭对活性艳蓝 KN-R 的脱色研究[J].环境科学与技术, 2014, **1**:110-113.

[12] 康亚璞,刘国光,李富华,等.花生壳、核桃壳吸附活性艳蓝动力学、热力学研究[J].环境工程, 2014, **1**:31-33.

[13] 赵元慧,王连生,丁蕴铮,等.有机物在沉积物上吸附与解吸动力学常数的计算与测定[J].环境化学, 1993, **2**:155-159.

[14] 杜薇,霍璐,唐雨,等.生物炭和活性炭吸附水中典型染料的研究[J].当代化工, 2019, **2**:229-234.

[15] ABOUA K N, YOBOUET Y A, YAO K B, et al. Investigation of dye adsorption onto activated carbon from the shells of macoré fruit[J]. *Environ. Manage.*, 2015, **156**:10-14.

[16] 李凤娟.活性炭吸附法处理染料废水研究进展[J].时代农机, 2016, **43**(4):68-69.

[17] 党永辉,徐红霞,魏丽南,等.板栗壳对水中孔雀石绿和刚果红的吸附研究[J].化工新型材料, 2016, **10**:122-124.

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022008903

化学试剂, 2022, 44(6), 846~849

CdI₂-phen/bpy 溶剂热体系中 Cd(II) 配合物的合成、晶体结构及荧光传感性能研究

朱圣加, 陈飞, 张柔, 付玉, 许伟*, 罗云杰
(宁波大学 材料科学与化学工程学院, 浙江 宁波 315211)

摘要:在溶剂热条件下, 利用 CdI₂ 分别与邻菲罗啉(phen)、2,2'-联吡啶(bpy)反应得两个新的 Cd 配合物 Cd(phen)₂I₂ 和 Cd(bpy)₂I₂。通过 X-射线单晶衍射、红外光谱、热重分析等方法对其表征。晶体结构分析表明, Cd(II) 离子与两个 phen 或 bpy 配体上 4 个 N 原子以及 2 个 I 原子配位形成畸变的八面体配位, 借助 π - π 堆积和 C—H $\cdots$ I 氢键相互作用形成超分子构筑。此外, 还研究了配合物 Cd(phen)₂I₂ 对不同金属阳离子的荧光传感性能, 结果表明 Fe³⁺ 具有较高选择性和明显的荧光猝灭响应。

关键词:镉(II) 配合物; 晶体结构; 荧光传感; Fe³⁺

中图分类号: O652.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2022)06-0846-04

Synthesis, Crystal Structure and Fluorescence Sensing Properties of Cd(II) Complex in CdI₂-phen/bpy Solvothermal System ZHU Sheng-jia, CHEN Fei, ZHANG Rou, FU Yu, XU Wei*, LUO Yun-jie (School of Material Science Chemical Engineering, Ningbo University, Ningbo 315211, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 846~849

Abstract: Two new Cd complexes: Cd(phen)₂I₂ and Cd(bpy)₂I₂ were prepared under solvothermal conditions by reacting CdI₂ with 1,10-phenoline (phen) and 2,2'-bipyridine (bpy), respectively. The complexes were characterized by using IR, TG, and X-ray single crystal diffraction. The crystal structure analysis revealed that each Cd(II) ion is coordinated with four N atoms from the two phen or bpy ligands, and two I atoms forming a distorted octahedral coordination geometry. The supramolecule was constructed via π - π stacking and C—H $\cdots$ I hydrogen bond interactions. The fluorescent sensing of Cd(phen)₂I₂ to a series of metal cations was investigated. The results showed that Fe³⁺ ion had higher selectivity and apparent fluorescence quenching response.

Key words: Cd(II) complex; crystal structure; fluorescent sensing; Fe³⁺

近年来,合成配合物采用最多的有机配体是含有芳环骨架结构的化合物,主要是由于它们有多样化的配位模式、极强配位能力和较好的荧光性能^[1-4]。另外此类有机配体合成配合物时,芳环骨架结构具有共轭 π 体系,容易形成 π - π 堆积和 C—H $\cdots$ π 相互作用,形成的配合物结构新颖且性质优异^[5,6]。其次,含杂原子如氮、氧或硫的芳环骨架结构的化合物中的杂原子增强了其配位能力,使得化合物与金属离子配位成功的几率增大,同时丰富了配位模式,所合成的配合物其拓扑结构新颖且多样化^[7,8]。合成的配合物在吸附分离^[9]、药物缓释^[10]、催化^[11]、发光和传感^[12]等方面都有很大的研究价值和应用价值,尤其是作为发光探针检测某些物质,可在浓度很低范围内检测物质含量,与采用大型仪器检测相比具有操作简单、成本低、便利等特点^[13,14]。

本文采用 CdI₂ 在溶剂热反应条件下分别与邻

菲罗啉、2,2'-联吡啶反应制备得到 Cd(phen)₂I₂ 和 Cd(bpy)₂I₂ 配合物,对配合物的晶体结构进行了表征,并探究了配合物的荧光传感性能。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

R-Axis Rapid 型 X-射线单晶衍射仪(日本理

收稿日期:2022-01-03;网络首发日期:2022-03-08

基金项目:稀土资源利用国家重点实验室开放课题项目(RERU2021023);宁波大学大学生科技创新(SRIP)项目(2021SRIP1104)。

作者简介:朱圣加(1994-),男,江苏兴化人,硕士生,主要从事功能材料的合成及性质研究。

通讯作者:许伟, E-mail: xuwei@nbu.edu.cn。

引用本文:朱圣加,陈飞,张柔,等. CdI₂-phen/bpy 溶剂热体系中 Cd(II) 配合物的合成、晶体结构及荧光传感性能研究[J]. 化学试剂, 2022, 44(6): 846-849。

学株式会社); RF-5301PC 型荧光分光光度计、FTIR-8900 型傅里叶变换红外光谱仪(日本岛津公司); 2400 II CHNO/S 型元素分析仪(美国 Perkin Elmer 有限公司); TG/DTA 6300 型差热-热重分析仪(日本精工公司)。

2,2'-联吡啶(bpy, 98%)、一水合邻菲啰啉(phen, 98%)、*N,N*-二甲基乙酰胺(DMA, >99.5%)、碘化镉(99%)、溴化钾(99%)(国药集团化学试剂有限公司); 乙二醇(99%)、乙醇(95%)(上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。所用试剂使用时未进一步纯化。

1.2 合成方法

Cd(phen)₂I₂(1): 将 0.366 2 g (2 mmol) CdI₂·0.720 8 g (4 mmol) phen·H₂O 溶于 5 mL 乙二醇和 5 mL DMA 中, 将溶液转入 20 mL 具有聚四氟乙烯内衬的不锈钢反应釜中, 封闭后移入烘箱内, 120 °C 下反应并保持 3 d, 反应完成后自然冷却至室温, 过滤并用乙醇反复洗涤, 得到无色透明块状晶体。元素分析, C₂₄H₁₆CdI₂N₄, 实测值(计算值), %: C 33.26(33.03); H 1.97(2.20); N 7.53(7.71)。IR(KBr), ν , cm⁻¹: 3 497(s), 1 728(s), 1 654(s), 1 439(m), 1 715(m), 772(m), 652(m)。

Cd(bpy)₂I₂(2): 合成过程与配合物 1 相同, 只是用 2,2'-联吡啶代替了 phen·H₂O, 反应完成处理后得到无色透明单晶。元素分析, C₂₀H₁₆CdI₂N₄, 实测值(计算值), %: C 35.61(35.37); H 2.17(2.20); N 8.31(8.25)。IR(KBr), ν , cm⁻¹: 3 506(s), 1 733(s), 1 624(s), 1 474(s), 1 695(m), 754(m), 689(m)。

1.3 晶体结构测定方法

选择形状规则、大小适中的单晶配合物 1、2, 用环氧树脂固定在纤维玻璃丝顶端, 再置于单晶衍射仪上。在单晶衍射仪上采用石墨单色化的 Mo-K α 射线($\lambda = 0.071\ 073\ \text{\AA}$)测定, 在室温下以 $\omega/2\theta$ 扫描方式进行数据收集。所有衍射数据经 L_p 因子校正和经验吸收校正, 初始模型的构建和结构的精修通过 SHELXS-2016^[15] 和 SHELXL-2016^[16] 程序进行。采用直接法解出晶体结构。对所有非氢原子坐标及其各向异性温度因子进行全矩阵最小二乘法校正。所有氢原子的坐标都通过固定的键距进行精修, 位于 C 原子上氢原子和 O/N 原子上的氢原子的各向同性的温度因子值设置为与其相连的非氢原子的值的 1.2 倍和 1.5 倍。

1.4 荧光传感测试

将配合物 1 研磨成不超过 200 目的粉末样品后, 称取 1 mg 样品分散于 2 mL (200 mg/L) M(Cl)_x 金属溶液中 ($M = \text{Na}^+, \text{Co}^{2+}, \text{Al}^{3+}, \text{Cd}^{2+}, \text{Mn}^{2+}, \text{Pb}^{2+}, \text{Fe}^{3+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Ag}^+, \text{Ca}^{2+}, \text{K}^+, \text{Ni}^{2+}$), 超声 30 min, 静置 1 h, 再超声 1.5 min, 形成均一的分散溶液后转移至石英比色皿中, 在 400 nm 的激发波长下依次测定上述混合溶液的发射光谱。所有混合溶液的发射光谱均测 3 次, 以 3 次结果的平均值为实验数据。

2 结果与讨论

2.1 晶体结构描述

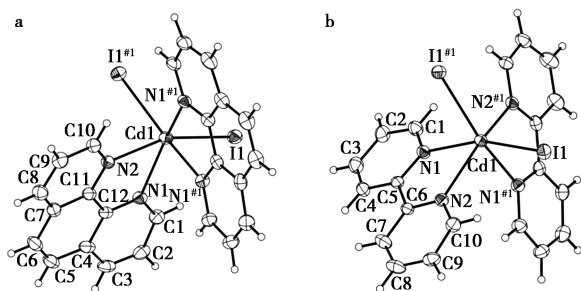
表 1 配合物 1、2 的晶体学数据和精修参数

Tab.1 Crystal data and structure refinements of compound 1 and 2

配合物	1	2
化学式	C ₂₄ H ₁₆ CdI ₂ N ₄	C ₂₀ H ₁₆ CdI ₂ N ₄
分子量	726.61	678.57
晶体尺寸/mm ³	0.21×0.16×0.07	0.41×0.23×0.16
晶系	正交晶系	正交晶系
空间群	<i>Pbcn</i>	<i>Pbcn</i>
<i>a</i> /Å	13.558(3)	13.762(3)
<i>b</i> /Å	9.628(2)	9.214(2)
<i>c</i> /Å	17.606(4)	16.706(3)
<i>V</i> /Å ³	2 298.3(8)	2 118.4(7)
<i>Z</i>	4	4
计算密度/(g·cm ⁻³)	2.100	2.128
单胞中的电子数目	1368	1272
线性吸收系数 μ /(mm ⁻¹)	3.656	3.957
θ 范围/(°)	3.2~27.5	3.1~27.5
<i>R</i> _{int}	0.074 7	0.041 1
<i>R</i> ₁ , <i>wR</i> ₂ [<i>I</i> ≥ 2 σ (<i>I</i>)]	0.053 4, 0.137 1	0.025 2, 0.053 4
<i>R</i> ₁ , <i>wR</i> ₂ (全部数据)	0.073 9, 0.159 0	0.029 9, 0.057 5
可观测衍射点的 <i>S</i> 值	1.094	1.030

异质同晶化合物 1、2 属于正交晶系、*Pbcn* 空间群。晶体结构如下页图所示, 由图可知 Cd(II) 离子与两个 phen 或 bpy 配体上 4 个 N 原子以及 2 个 I 原子配位形成畸变的八面体, Cd—N 键的距离分别为 2.380(6)~2.475(6) Å(1) 和 2.406(3)~2.426(3) Å(2), Cd—I 键的距离分别为 2.886(1) Å(1) 和 2.868(1) Å(2), 与文献中已报道的配合物中相关键长的值相近^[17,18]。沿晶胞 *c* 方向两个结晶学等价的 phen 配体互相平行, 其质心间距 Cg—Cg 为 3.39(3) Å 与 3.42(2) Å, 表明存在 π - π 堆积作用, 形成一维链状结构。借助 C—H…I 氢键作用($d(\text{C1}\cdots\text{I1}) = 3.752(5)\ \text{\AA}$

(1)、3.826(6) Å(2); $\angle \text{C1—H1A} \cdots \text{I1} = 136^\circ$ (1)、 137° (2)), 链与链之间相互作用形成平行于(001)面的二维超分子层状构筑。



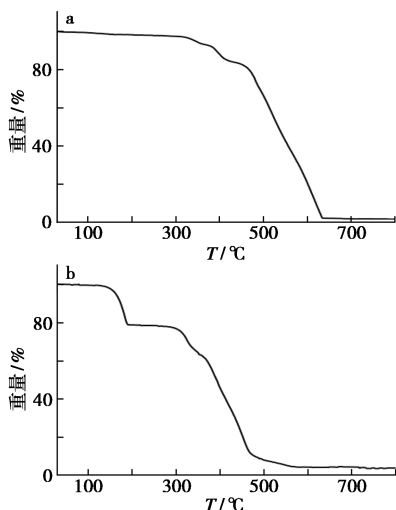
a. 配合物 1; b. 配合物 2

配合物分子结构示意图

Schematic diagram of molecular structure of complex

2.2 热重分析

在空气氛围下以 10 °C/min 的升温速率从室温加热到 800 °C, 结果如图 1 所示。由图可知, 配合物 1、2 分别在 330 °C 和 150 °C 之前未见明显的失重现象, 说明这两种配合物具有较好的热稳定性。两者热重曲线可分为两个失重阶段: 第一阶段分别出现在 330~460 °C 和 150~190 °C 升温过程中, 失重率分别为 18.6% 和 22.8%, 分别对应失去结构中一个 phen 配体和 bpy 配体; 第二个阶段, 分别在 460~630 °C 和 300~560 °C 升温过程中, 失重率是 80.7% 和 72.2%, 配合物的主体结构基本坍塌, 产物接近零, 主要归因于失去剩下的一个配体与 CdI₂ 的升华。



a. 配合物 1; b. 配合物 2

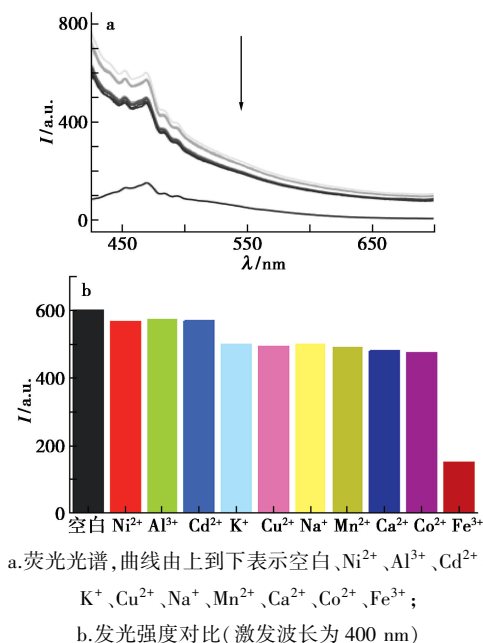
图 1 配合物的热重曲线

Fig.1 TG curves of complex

2.3 荧光传感分析

基于配合物 1 的潜在发光性质, 探究不同金

属阳离子对其发光性质的影响以及配合物 1 对不同金属离子的荧光传感性能, 结果如图 2a 所示。由图可知, 以 400 nm 为激发波长, 在质量浓度相同的不同金属溶液中, 配合物 1 的发光强度顺序依次是 $\text{Ni}^{2+} > \text{Al}^{3+} > \text{Cd}^{2+} > \text{K}^+ > \text{Cu}^{2+} > \text{Na}^+ > \text{Mn}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Fe}^{3+}$ 。如图 2b 所示, 在 425~600 nm 范围内, 所有的发射光谱的发射峰的位置和形状没有明显的变化, 只有因加入不同金属离子, 导致发光强度有所差异。对比发现, 尤其是加入 Fe^{3+} 的水溶液对配合物 1 有异常明显的猝灭效应。



a. 荧光光谱, 曲线由上到下表示空白、 Ni^{2+} 、 Al^{3+} 、 Cd^{2+} 、 K^+ 、 Cu^{2+} 、 Na^+ 、 Mn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Co^{2+} 、 Fe^{3+} ;
b. 发光强度对比 (激发波长为 400 nm)

图 2 配合物 1 在不同金属阳离子溶液中的
荧光光谱和发光强度对比图

Fig.2 Emission spectra and luminescence intensities
of complex 1 immersed in different cation solutions

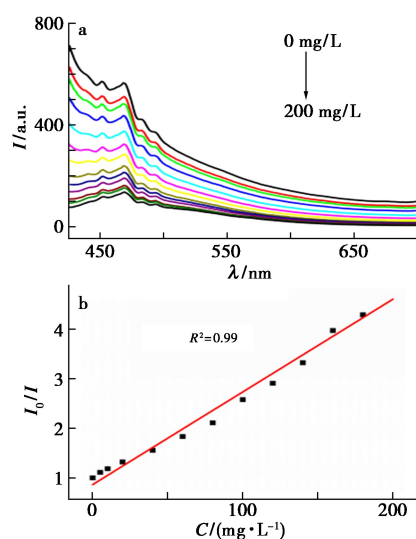
探究了配合物 1 在不同浓度的 Fe^{3+} 水溶液中的发光强度, 如图 3a 所示, 在 0~200 mg/L 浓度范围内, 随着 Fe^{3+} 浓度的增强, 发光强度逐步减弱。

采用 Stern-Volmer (S-V) 公式分析 Fe^{3+} 对配合物 1 的发光猝灭效率。 Fe^{3+} 的 K_{sv} 经计算为 $2.4 \times 10^3 \text{ L/mol}$ 。

$$I_0/I = 1 + K_{sv}C$$

其中: K_{sv} 为发光猝灭常数, L/mol; I_0 是配合物 1 在水溶液中的初始发光强度; I 是在加入 Fe^{3+} 溶液后的发光强度; C 为 Fe^{3+} 的浓度, mg/L。

为了进一步研究配合物 1 对 Fe^{3+} 的传感敏感度, 如图 3b 将低浓度下 I_0/I 与 Fe^{3+} 的浓度进行拟合, 并根据检出限的计算公式得出 Fe^{3+} 的检出限为 4.639 mg/L。



a. 在不同浓度的 Fe^{3+} 离子溶液中配合物 1 的荧光光谱(由上到下浓度依次增加); b. 配合物 1 与 Fe^{3+} 浓度的线性拟合图

图 3 Fe^{3+} 浓度对配合物 1 的影响结果图

Fig.3 Effect of Fe^{3+} concentration on complex 1

3 结论

本文采用水热法制备了两种镉(II)配合物,建立了配合物 $\text{Cd}(\text{phen})_2\text{I}_2$ 对不同金属阳离子的荧光传感性能,其可作为荧光探针检测水中的 Fe^{3+} 的含量,并且在较低浓度时与 Fe^{3+} 浓度呈良好的线性关系。该方法具有成本低、操作简单、响应速度快,灵敏度高等特点,为合理设计和制备新型荧光传感材料提供借鉴。

参考文献:

- [1] MU Y J, RAN Y G, ZHANG B B, et al. Dicarboxylate ligands modulated structural diversity in the construction of $\text{Cd}(\text{II})$ coordination polymers built from N-heterocyclic ligand; Synthesis, structures, and luminescent sensing[J]. *Cryst. Growth Des.*, 2020, **20**(9): 6 030-6 043.
- [2] RATH B B, VITTAL J J. Water stable $\text{Zn}(\text{II})$ metal-organic framework as a selective and sensitive luminescent probe for $\text{Fe}(\text{III})$ and chromate Ions[J]. *Inorg. Chem.*, 2020, **59**(13): 8 818-8 826.
- [3] 许益轩. 发光金属有机框架材料的合成及其在荧光分析检测中的应用[D]. 兰州: 兰州大学, 2021.
- [4] 许明媛, 朱莉娜, 李涛. 1,8-萘二酸构筑的六核锌配合物的合成、结构和荧光性质[J]. *化学试剂*, 2020, **42**(11): 1 351-1 354.
- [5] YU Y, WANG Y H, YAN H, et al. Multiresponsive luminescent sensitivities of a 3D Cd -CP with visual turn-on and ratiometric sensing toward Al^{3+} and Cr^{3+} as well as turn-off sensing toward Fe^{3+} [J]. *Inorg. Chem.*, 2020, **59**(6): 3 828-3 837.
- [6] LI D J, ZHANG S S, FENG X, et al. A novel peroxidase

mimetic Co-MOF enhanced luminol chemiluminescence and its application in glucose sensing[J]. *Sensor. Actuat. B-Chem.*, 2019, **296**: 126 631.

- [7] ZHANG Q S, WANG J, KIRILLOV A M, et al. Multifunctional Ln-MOF luminescent probe for efficient sensing of Fe^{3+} , Ce^{3+} , and acetone[J]. *ACS Appl. Mater. Inter.*, 2018, **10**(28): 23 976-23 986.
- [8] ZHAO R, LI F Z, YU J P, et al. A new preorganized metal-organic linker for the construction of luminescent coordination polymers[J]. *Cryst. Growth Des.*, 2020, **20**(10): 6 966-6 972.
- [9] RACHURI Y, PARMAR B, SURESH E. Three-dimensional $\text{Co}(\text{II})/\text{Cd}(\text{II})$ metal-organic frameworks: Luminescent Cd -MOF for detection and adsorption of 2,4,6-trinitrophenol in the aqueous phase[J]. *Cryst. Growth Des.*, 2018, **18**(5): 3 062-3 072.
- [10] LI H Y, LV N N, LI X, et al. Composite CD-MOF nanocrystals-containing microspheres for sustained drug delivery[J]. *Nanoscale*, 2017, **9**(22): 7 454-7 463.
- [11] PAGIS C, FERBINTEANU M, ROTHENBERG G, et al. Lanthanide-based metal organic frameworks: Synthetic strategies and catalytic applications [J]. *ACS Catal.*, 2016, **6**(9): 6 063-6 072.
- [12] WANG Y, XING S H, BAI F Y, et al. Stable lanthanide-organic framework materials constructed by a triazoly carboxylate ligand; Multifunction detection and white luminescence tuning [J]. *Inorg. Chem.*, 2018, **57**(20): 12 850-12 859.
- [13] XING P C, WU D, CHEN J S, et al. A Cd -MOF as a fluorescent probe for highly selective, sensitive and stable detection of antibiotics in water [J]. *Analyst*, 2019, **144**(8): 2 656-2 661.
- [14] GUAN Q L, SUN Y, HUO R, et al. Cu-MOF material constructed with a triazine polycarboxylate skeleton: Multifunctional identify and microdetecting of the aromatic diamine family (*o,m,p*-phenylenediamine) based on the luminescent response [J]. *Inorg. Chem.*, 2021, **60**(4): 2 829-2 838.
- [15] SHELDRICK G M. SHELXT-integrated space-group and crystal-structure determination [J]. *Acta Crystallogr. A*, 2015, **71**(Pt 1): 3-8.
- [16] SHELDRICK G M. Crystal structure refinement with SHELXL [J]. *Acta Crystallogr. C*, 2015, **71**(Pt 1): 3-8.
- [17] CHEN S S, ZHANG Z Y, LIAO R B, et al. A photoluminescent $\text{Cd}(\text{II})$ coordination polymer with potential active sites exhibiting multiresponsive fluorescence sensing for trace amounts of NACs and Fe^{3+} and Al^{3+} ions [J]. *Inorg. Chem.*, 2021, **60**(7): 4 945-4 956.
- [18] FAN C, ZHU B, ZHANG X, et al. Highly stable acid-induced emission-enhancing Cd -MOFs: Synthesis, characterization, and detection of glutamic acid in water and Fe^{3+} ions in acid [J]. *Inorg. Chem.*, 2021, **60**(9): 6 339-6 348.

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022008803

化学试剂, 2022, 44(6), 850~857

铜滤膜基环丙沙星分子印迹复合膜的制备、吸附性能及表面增强拉曼散射活性研究

张杰^a, 唐丽^a, 卜明^a, 马玉坤^b, 王海君^{*a}, 王静^a

(齐齐哈尔医学院 a.药学院, b.医药科学研究院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

摘要:为实现环丙沙星的快速识别,制备了可以选择性吸附环丙沙星的具有表面增强拉曼活性的铜滤膜基分子印迹复合膜。以环丙沙星为模板分子,铜滤膜为基膜,甲基丙烯酸为功能单体,乙二醇二甲基丙酸酯为交联剂,偶氮二异丁腈为引发剂,甲醇、二氯甲烷的混合溶剂为反应溶剂和致孔剂,通过自由基聚合制备了分子印迹复合膜。红外光谱表征膜的结构,显微镜表征膜的形貌。对膜的吸附性能和表面增强拉曼散射活性进行了系统研究。复合膜为一层白色、连续、均匀的薄膜,表面光滑无裂纹。120 min 左右膜对环丙沙星的吸附达到平衡,最大吸附量为 $8.11 \mu\text{g}/\text{cm}^2$,至少可以重复使用 6 次,印迹因子为 4.0。膜具有表面增强拉曼散射活性,对环丙沙星检测的最低浓度为 $1.00 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$ 。

关键词:环丙沙星;分子印迹;复合膜;铜滤膜;表面增强拉曼散射

中图分类号: O657.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2022)06-0850-08

Preparation and Adsorption Properties of Ciprofloxacin Molecularly Imprinted Composite Membrane with SERS Activity Based on Copper Filter Membrane ZHANG Jie^a, TANG Li^a, BU Ming^a, MA Yu-kun^b, WANG Hai-jun^{*a}, WANG Jing^a (a.College of Pharmacy, b.Research Institute of Medicine & Pharmacy, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 850~857

Abstract: In order to realize the rapid recognition of ciprofloxacin (CIP), a molecularly imprinted composite membrane (RC-MIM) with Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) activity based on copper filter membrane was prepared, which could selectively absorb CIP. Using CIP as the template molecule, copper filter membrane as the base membrane, methacrylic acid (MAA) as the functional monomer, and ethylene glycol dimethylpropionate (EGDMA) as the crosslinking agent, azodiisobutyronitrile (AIBN) as the initiator, mixed solvent (methanol and dichloromethane) respectively as the reaction solvent and porogen, RC-MIM was prepared via free radical polymerization. The structure of the RC-MIM was characterized by infrared spectroscopy and the morphology by optical microscope. The adsorption performance and SERS activity of the membrane were systematically studied, revealing that RC-MIM was a white, continuous, and uniform membrane with a smooth surface and free of crack. The adsorption of ciprofloxacin on the membrane reached equilibrium after about 120 min, and the maximum adsorption capacity was $8.11 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. The membrane could be reused at least 6 times, and the imprinting factor was 4.0. Due to the SERS activity of RC-MIM, the minimum detection concentration of ciprofloxacin was $1.00 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$.

Key words: ciprofloxacin; molecularly imprinted; composite membrane; copper filter membrane; Surface-Enhanced Raman Scattering

第三代喹诺酮类抗菌药环丙沙星(CIP)杀菌效果好,被广泛地应用于临床^[1],又因其能够促进动物生长,也作为一种饲料添加剂常被使用在水产养殖和畜牧业^[2]。随之而来,CIP的滥用现象日渐凸显,所带来的环境污染问题愈发严重,对人体健康产生了危害^[3]。环境中CIP含量低、基质复杂,增加了检测难度。常规的液相、气相、紫外等分析方法对痕量目标物的快速检测存在局限,因此开发高效率的检测分析新方法十分必要。

表面增强拉曼散射(SERS)是一种在金、银、

铜、铂等少数的粗糙金属表面显著增强拉曼信号的技术,因其高灵敏性常被应用于痕量物质的分

收稿日期:2021-11-24;网络首发日期:2022-03-09

基金项目:黑龙江省省属本科高校基本科研业务费科技项目(2019-KYYWF-1242)。

作者简介:张杰(1996-),男,河北承德人,硕士生,主要研究方向为分子印迹材料的制备。

通讯作者:王海君, E-mail: qmuhjwang@163.com。

引用本文:张杰,唐丽,卜明,等.铜滤膜基环丙沙星分子印迹复合膜的制备、吸附性能及表面增强拉曼散射活性研究[J].化学试剂,2022,44(6):850-857。

析检测^[4],但其在选择性检测方面存在局限。分子印迹技术(MIT)以高度交联的聚合物包覆模板分子,将模板分子洗脱后得到含有特定三维结构和识别位点的分子印迹聚合物(MIPs)和分子印迹复合膜(MIM),都可以实现对目标化合物的选择性富集^[5,6]。将 MIT 与 SERS 联用制备具有 SERS 效应的分子印迹复合膜(MIM)既可以对目标化合物快速选择性富集又可以具有高的检测灵敏度^[7]。近年来,人们制备了拥有各种优异性能的 MIM^[8-11],其中基膜的选择至关重要。由于具有 SERS 活性的铜片表面实现了维生素 B^[12]、甲基咪唑^[13]等物质的分析检测,所以同样具有 SERS 活性、廉价易得的铜滤膜,相较于 MIM 常用的柔性基膜(如醋酸纤维素)更具刚性、韧性与渗透性,成为了研制具有 SERS 效应 MIM 的基膜首选。

本研究以铜滤膜为基底膜,采用 CIP 为模板分子,在铜滤膜表面接枝丙烯硫醇,通过表面自由基聚合技术制备了具有 SERS 活性的 MIM(RC-MIM),对其进行结构表征、性能评价和 SERS 分析。为实现环丙沙星的快速识别和检测提供了新的研究思路。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

KQ-600V 型超声波清洗机(昆山超声仪器有限公司);Equinox 55 型傅里叶变换红外光谱仪(德国 Bruker 公司);UV-2550 型紫外分光光度计(北京浦西通用仪器有限公司);THZ-82 型水浴恒温振荡器(金坛市城西峥嵘实验仪器厂);D-5610021 型真空干燥箱(常熟市中盛医用有限责任公司);索式提取萃取装置(昆明科伯仪表有限公司);HITACHI S-4300 型扫描电子显微镜(日本日立公司);DXR3 型显微拉曼光谱仪(美国 Thermo fisher 公司)。

环丙沙星(CIP, 98%)、恩诺沙星(ENR, 98%)、四环素(TC, 90%)、氨苄青霉素三水物(AMP, 98%)、3-丙烯硫醇(95%)、偶氮二异丁腈(AIBN, 98%)、丙烯酰胺(AM, 98%)、乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA, 98%)(安徽泽生科技有限公司);甲基丙烯酸(MAA)、丙烯酸(AA)、冰醋酸、无水乙醇、甲醇、二氯甲烷(分析纯,天津市科欧密化学试剂有限公司);铜滤膜(江苏宁聪丝网

有限公司)。

1.2 研究方法

1.2.1 功能单体的筛选与用量的优化

以 CIP 为模板分子,分别与 3 种常见功能单体(MAA、AA、AM)以 1:4 的物质的量比制备 RC-MIM,检测膜对 4.00 $\mu\text{g/mL}$ CIP 标准溶液的吸附能力,筛选最适功能单体。考察 CIP 与最适功能单体分别以 1:2、1:4、1:6、1:8、1:10 物质的量比制备的 RC-MIM 对 CIP 的吸附能力,进行功能单体用量的优化。

1.2.2 RC-MIM 的制备

基膜表面的修饰:将 400 目铜滤膜裁成面积为 1 cm^2 的正方形滤膜,用 800 目砂纸打磨其表面,再分别用丙酮、无水乙醇和去离子水超声波清洗,然后浸入到 10%稀盐酸溶液中 10 min,去除氧化层后用去离子水冲洗, N_2 流干燥。再将其浸入到 0.4 mmol/L 的丙烯硫醇中,80 min 后取出,晾干备用。

RC-MIM 的制备:向 50 mL 反应溶剂(V (二氯甲烷): V (甲醇)=3:2)中依次加入 308.6 mg (0.80 mmol) CIP 和 30 μL (0.32 mmol) MAA,超声 10 min 使其混合均匀,而后加入 268.1 mg (1.60 mmol) AIBN 与 3 232.6 μL (16 mmol) EGDMA,充氮排氧。经 36 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴充分振荡 12 h,形成预聚液。将表面经丙烯硫醇修饰的铜滤膜放入含预聚液的密闭容器中,充氮排氧,于 65 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥箱内聚合 4 h。冷却后取出膜,去离子水清洗表面,再以索氏提取法(V (甲醇): V (乙酸)=9:1)反复洗脱至 CIP 全部去除,烘干备用。非印迹复合膜(RC-NIM)的制备除原料中不加入 CIP,其余条件均与印迹膜相同。

1.2.3 结构及形貌表征

RC-MIM、RC-NIM 以及分别吸附 CIP 后的膜表面刮粉,研细备用。采用红外光谱法(KBr 压片,2 cm^{-1} 分辨率下,32 次连续扫描,波长范围为 4 000~450 cm^{-1})对上述物质的结构进行表征。用光学显微镜和扫描电子显微镜对膜的形貌进行表征。

1.2.4 吸附实验

紫外分光光度法(UV)考察 RC-MIM 的吸附性能,标准曲线方程为 $y=0.1175x-0.0031$ ($R^2=0.9993$)。

动态吸附:将 RC-MIM 置于 4.00 $\mu\text{g/mL}$ CIP

标准溶液中,分别在 0、5、10、15、20、25、30、60、120、240、720 min 时,考察在不同时间内 RC-MIM 对 CIP 的吸附情况。平行 3 次实验。通过下式计算吸附量,进行动力学模型拟合。

$$Q_t = V(c_0 - c_t)/A_m$$

式中, c_0 为 CIP 初始浓度, $\mu\text{g/mL}$; c_t 为吸附一定时间后溶液中 CIP 浓度, $\mu\text{g/mL}$; V 为溶液体积, mL ; A_m 为膜的表面积, cm^2 。

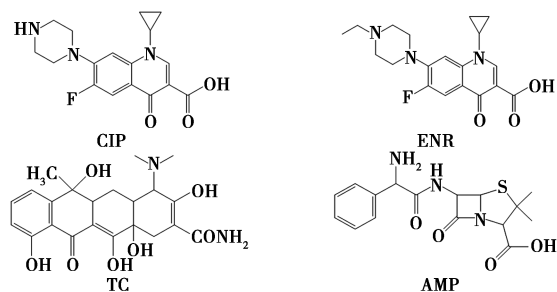
静态吸附:将 RC-MIM、RC-NIM 分别于 0.25、0.50、1.00、2.00、4.00、8.00、16.00 $\mu\text{g/mL}$ CIP 标准溶液中室温浸没 2 h,考察 RC-MIM、RC-NIM 对不同浓度 CIP 溶液的吸附情况。平行 3 次实验。通过下式计算吸附量,进行等温吸附模型拟合。

$$Q_e = V(c_0 - c_e)/A_m$$

式中, c_0 为 CIP 初始浓度, $\mu\text{g/mL}$; c_e 为吸附后溶液中 CIP 平衡浓度, $\mu\text{g/mL}$; V 为溶液的体积, mL ; A_m 为膜的表面积, cm^2 。

印迹因子 K ($K = Q_{\text{em}}/Q_{\text{en}}$, Q_{em} 为印迹膜吸附量, Q_{en} 为非印迹膜吸附量)

选择性吸附:在 2 $\mu\text{mol/mL}$ CIP、ENR、TC、AMP 标准溶液中分别置入 RC-MIM,吸附 2 h,计算吸附量。RC-NIM 的操作方法与 RC-MIM 一致。



CIP 及对比药物的结构式

Chemical structures of CIP and comparative drugs

重复性吸附:将 RC-MIM 浸于 4.00 $\mu\text{g/mL}$ CIP 标准溶液中吸附 2 h,取出测定吸附量,对膜进行洗脱。重复 6 次上述操作,分别计算吸附量。

1.2.5 SERS 检测

不同基膜制备 MIM 的 SERS 活性检测:以不锈钢滤膜基分子印迹复合膜(SS-MIM)作为 SERS 活性对照膜,制备方法除改换不锈钢滤膜作为基膜其余与 RC-MIM 相同。RC-MIM、SS-MIM 分别置于 1.00×10^{-4} mol/L CIP 溶液中吸附 2 h,检测拉曼光谱,检测波长为 532 nm,激光功率为 7.9 mW,曝光时间为 0.200 00 s(5 Hz),扫描次数 20。洗脱后在膜的相同位置再次分别检测拉曼光谱。

RC-MIM 的 SERS 活性分析:以 CIP 的拉曼光谱为参比,对 RC-MIM 拉曼光谱特征峰进行归属。RC-MIM 分别在 1.00×10^{-2} 、 1.00×10^{-4} 、 1.00×10^{-6} 、 1.00×10^{-8} 和 1.00×10^{-9} mol/L CIP 溶液中吸附 2 h 后检测拉曼光谱,考察 RC-MIM 对 CIP 的最低检测浓度。

2 结果与讨论

2.1 功能单体筛选及用量优化

功能单体的作用是聚合反应提供聚合位点和与模板分子所对应的识别位点。不同功能单体形成的聚合物其识别位点的基团与空间结构各不相同。3 种单体制备的 RC-MIM 对 CIP 的吸附量及印迹因子如表 1 所示,其中 MAA 为单体的 RC-MIM 对 CIP 印迹因子最大。CIP 分子结构具有强碱性的哌嗪环,MAA、AA 为酸性功能单体,较 AM 具有更强的结合能力。而 MAA 比 AA 多一组供电子效应的甲基,在发生接枝交联或者加成聚合时比 AA 效能更好。因此 MAA 为最适功能单体。

表 1 不同功能单体制备的膜对 CIP 的吸附能力

Tab.1 Adsorption capacity of membranes based on different functional monomers on CIP

单体种类	RC-MIM 吸附量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$)	RC-NIM 吸附量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$)	印迹因子
MAA	7.98	1.99	4.0
AA	4.88	2.10	2.1
AM	2.12	1.70	1.2

模板分子与特定功能单体在不同物质的量比下会产生不同的分子间作用力。功能单体用量的优化结果见表 2。MAA 比例较低时模板与单体形成的复合物少会导致聚合物中结合位点少。但过高的物质的量比会产生更高的非特异性结合,降低了结合选择性,在物质的量比 1:4 之后,随着

表 2 $n(\text{CIP}):n(\text{MAA})$ 制备的膜对 CIP 的吸附能力

Tab.2 Adsorption capacity of membranes based on $n(\text{CIP}):n(\text{MAA})$ on CIP

$n(\text{CIP}):n(\text{MAA})$	RC-MIM 吸附量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$)	RC-NIM 吸附量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$)	印迹因子
1:2	6.63	2.20	2.9
1:4	7.98	1.99	4.0
1:6	7.77	2.18	3.6
1:8	7.69	2.19	3.5
1:10	7.76	2.24	3.5

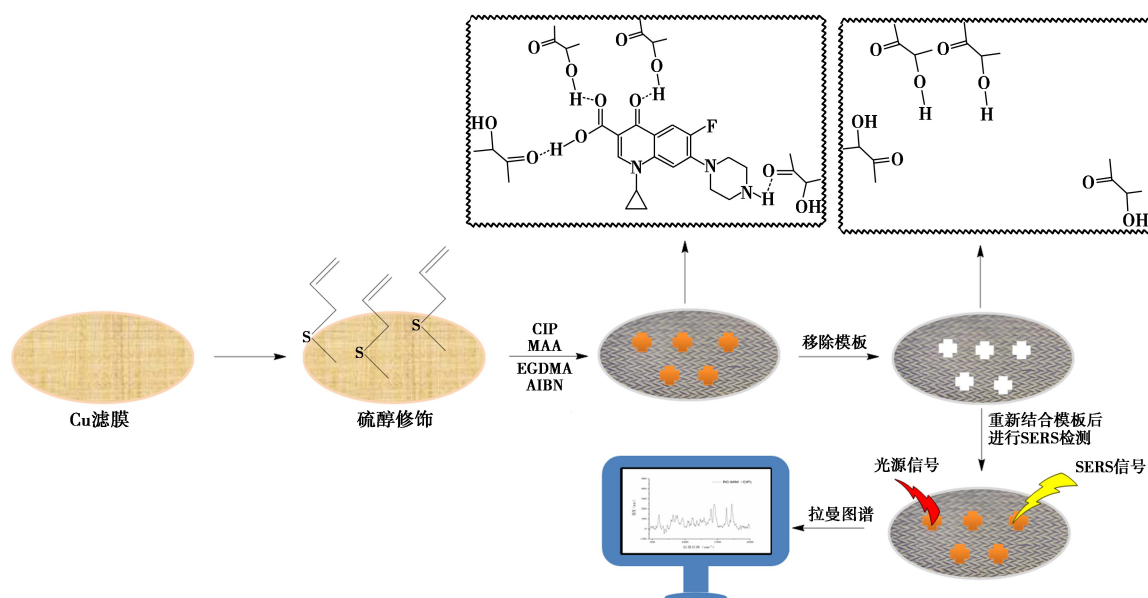
MAA 比例的提高,印迹因子逐渐减小。因此 CIP 与最适功能单体 MAA 最佳比例为 1:4。

2.2 RC-MIM 的制备及表征

2.2.1 RC-MIM 的制备

丙烯硫醇一端为巯基与铜滤膜表面有较好的结合力,另一端为乙烯基提供了表面自由基热聚合条件。CIP 和 MAA 均匀分散于溶剂中通过分子间氢键进行自组装,再加入交联剂 EGDMA 和自由基引发剂 AIBN 混合形成预聚液,放入表面

接枝乙烯基的铜滤膜,发生热聚合反应,在铜滤膜表面生长了一层聚合物膜。用洗脱液通过索氏提取法破坏 CIP 与 MAA 间的氢键,去除模板分子后,膜的内部就留下具有特定形状、识别位点和适宜尺寸的空腔结构,即制备了可以特异识别 CIP 的 RC-MIM。吸附 CIP 时 RC-MIM 对于拉曼光谱具有明显 SERS 活性,原因是具有 SERS 效应的金属铜滤膜为 RC-MIM 的生长基膜,膜的形成及 SERS 机制如下图所示。

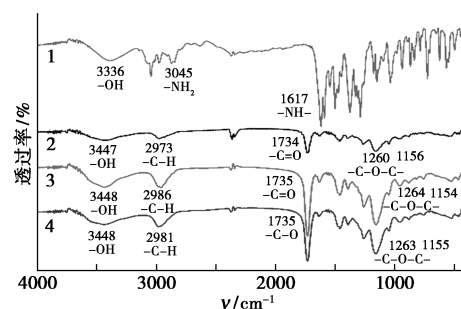


RC-MIM 的形成及 SERS 机制示意图

Schematic diagram of the preparation and SERS mechanism of RC-MIM

2.2.2 结构表征

图 1 为红外光谱对比图。谱线 1 在 3 336 cm^{-1} 宽峰、1 617、3 045 cm^{-1} 的双峰归属于 CIP 中—OH、—NH—、—NH₂ 的特征吸收峰。谱线 2、3、4 的 2 986 cm^{-1} 左右为膜结构中—C—H 不对称伸缩振动峰,3 448 cm^{-1} 附近的宽峰归属为结构中—OH 不对称伸缩振动,1 735 cm^{-1} 左右为膜上的 C=O 特征峰,1 260 和 1 154 cm^{-1} 为 O=C—O 和 C—O—C 的不对称伸缩振动峰。谱线 2、3、4 与谱线 1 完全不同,说明对 CIP 的吸附不是膜表面的物理附着,而是吸附进入膜的空腔结构。谱线 2、3、4 没有明显不同的特征峰,说明 RC-MIM 的结构稳定,不会受吸附 CIP 而改变,印迹膜与非印迹膜具有相同的特征基团。谱线 3 与谱线 2 相比,—OH 和 C=O 的吸收峰有所增强,说明识别位点的裸露使得峰强有所提高。



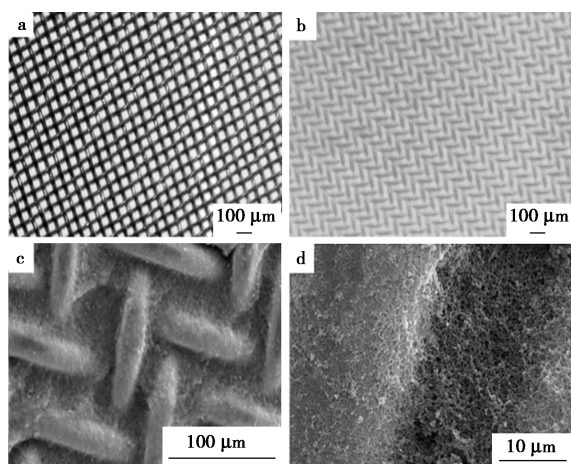
1.CIP;2.吸附 CIP 后的 RC-MIM;3.RC-MIM;4.RC-NIM

图 1 红外光谱

Fig.1 Infrared spectra

2.2.3 形貌表征

图 2 为显微镜图。图 2a、2b 分别为光学显微镜下空白铜滤膜及 RC-MIM 的表面形貌,铜滤膜表面生长了一层连续均匀的白色薄膜,薄膜表面光滑无裂痕、无明显缺陷。图 2c、2d 分别为不同放大倍率下 RC-MIM 的扫描电子显微镜图,膜的表面为疏松的多孔网状结构,孔道均匀。



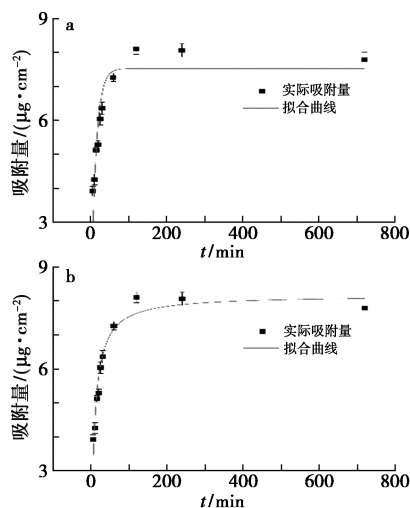
a. 空白铜滤膜, b. RC-MIM;
c, d 为不同放大倍率下扫描电子显微镜形貌

图 2 显微图片

Fig.2 Microscopic photograph

2.3 动态吸附

以吸附时间为横坐标, RC-MIM 的吸附量为纵坐标, 采用一级和二级动力学模型分别对数据进行拟合, 如图 3 所示。图 3a 是一级动力学拟合曲线 ($Q_t = Q_{\max}(1 - e^{-kt})$); 图 3b 为二级动力学拟合曲线 ($Q_t = kQ_{\max}^2 t / (1 + kQ_{\max} t)$)。式中, 吸附时间为 t , min; Q_t 是膜对 CIP 的吸附量, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; $Q_{\max}$ 是平衡吸附量, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; k 代表速率常数。



a. 一级动力学模型; b. 二级动力学模型

图 3 动力学拟合曲线

Fig.3 Kinetic fitting curve

图 3a、3b 中的拟合曲线显示, 0~120 min 内 RC-MIM 对 CIP 的吸附量随着吸附时间而增加的趋势显著, 说明 RC-MIM 具有连续的 CIP 识别位点和空腔结构。120 min 后 CIP 达到吸附平衡后曲线趋于平稳, 说明 RC-MIM 的有效空腔已被

CIP 基本填充饱和。

表 3 拟合曲线的回归参数

Tab.3 Regression parameters of the fitted curves

动力学模型	参数		
	k	$Q_{\max}/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$	r^2
一级动力学模型	0.077 1	7.52	0.807
二级动力学模型	0.014 6	8.16	0.927

表 3 是拟合曲线的回归参数, 其中二级动力学模型拟合的 r^2 更接近 1。理论最大吸附量 $Q_{\max} = 8.16 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, 更接近实际测量数据 ($8.11 \mu\text{g}/\text{cm}^2$)。因此, 二级动力学模型可以更好地描述 CIP 和 RC-MIM 之间的吸附过程。

2.4 静态吸附

室温下, 以 CIP 标准溶液浓度为横坐标, RC-MIM、RC-NIM 对 CIP 的吸附量及印迹因子为纵坐标, 制作静态吸附曲线, 如图 4 所示。RC-MIM、RC-NIM 分别在 CIP 溶液浓度为 $4.00 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $1.00 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时达到吸附最大值, 印迹因子稳定在 3.5 左右。相较于 RC-NIM, RC-MIM 对 CIP 吸附性能更好, 这是由 RC-MIM 上的印迹孔穴及孔穴上的结合位点对 CIP 具有高亲和性决定的。

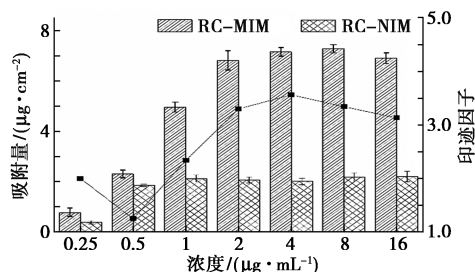


图 4 静态吸附

Fig.4 Static adsorption

为进一步评估 RC-MIM 对 CIP 的结合性能, 选择 Langmuir 和 Freundlich 等温吸附模型来拟合数据。Langmuir 等温吸附模型的非线性拟合公式如下式:

$$Q_e = (Q_{\max} k C_e) / (1 + k C_e)$$

式中, C_e 为吸附浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$; Q_e 是膜对 CIP 的吸附量, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; $Q_{\max}$ 是最大吸附量, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; k 代表 Langmuir 吸附常数。

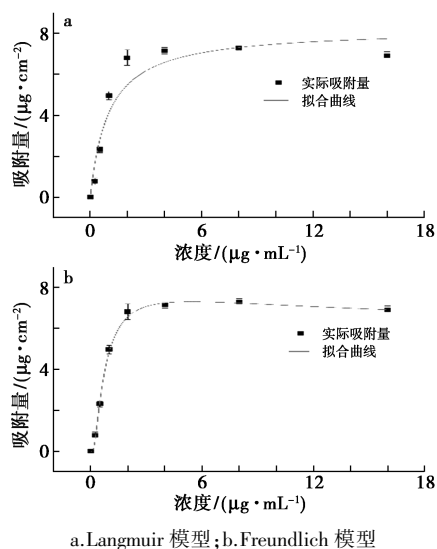
Freundlich 等温吸附模型的非线性拟合公式如下:

$$Q_e = k C_e^{(1/n)}$$

式中, C_e 为吸附浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$; Q_e 是膜对 CIP 的吸附量, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; k 和 n 代表 Freundlich 的吸附常数。

图 5a 和 5b 分别是 Langmuir ($r^2 = 0.934 75$)

和 Freundlich ($r^2 = 0.998\ 05$) 等温吸附模型的非线性拟合曲线。曲线的相关系数 r^2 表明, Freundlich 等温线模型比 Langmuir 等温线模型更好地描述了 CIP 在 RC-MIM 上的吸附过程。据文献[14]报道, Langmuir 是一种模拟单层吸附发生在均质表面上且吸收材料之间没有相互作用的模型, 而 Freundlich 则是一种模拟多层吸附和非均相表面吸附的模型, 因此, RC-MIM 对 CIP 的吸附过程更倾向于多层吸附或非均相吸附。



a. Langmuir 模型; b. Freundlich 模型

图 5 等温模型非线性拟合

Fig.5 Nonlinear fitting of isothermal model

2.5 选择性吸附

RC-MIM、RC-NIM 对 CIP 及对比药物的吸附量, 如图 6 所示。RC-MIM 对 CIP 的吸附量大于其他对比药物, 表明 RC-MIM 对 CIP 具有良好的特异结合性。由于 ENR 与 CIP 有相同的喹诺酮母核结构, 故 RC-MIM 对 ENR 也表现出一定的吸附能力。但 ENR 相比 CIP 缺少亚氨基结构, 形成氢键的能力弱, 且 ENR 分子体积大于 CIP, 不易进入结合位点, 因此吸附能力小于 CIP。TC、AMP

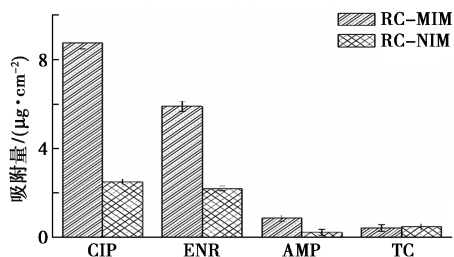


图 6 RC-MIM、RC-NIM 对 CIP 及对比药物的吸附量

Fig.6 Adsorption capacity of RC-MIM and RC-NIM to CIP and comparative drugs

的母核结构及官能团与 CIP 差异较大, 因此 RC-MIM 对 TC、AMP 的吸附量较低。

2.6 重复再生性

RC-MIM 对 CIP 的重复吸附曲线如图 7 所示。经过 6 次反复使用, RC-MIM 对 CIP 的吸附量略有降低。原因可能是洗脱过程中有少量的 MAA 从膜结构中脱落, 但仍具有良好的吸附能力。RC-MIM 至少可重复使用 6 次, 说明 RC-MIM 具有良好的重复再生性能。

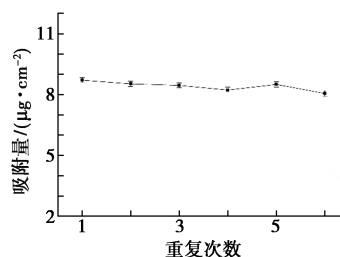


图 7 RC-MIM 对 CIP 的重复吸附曲线

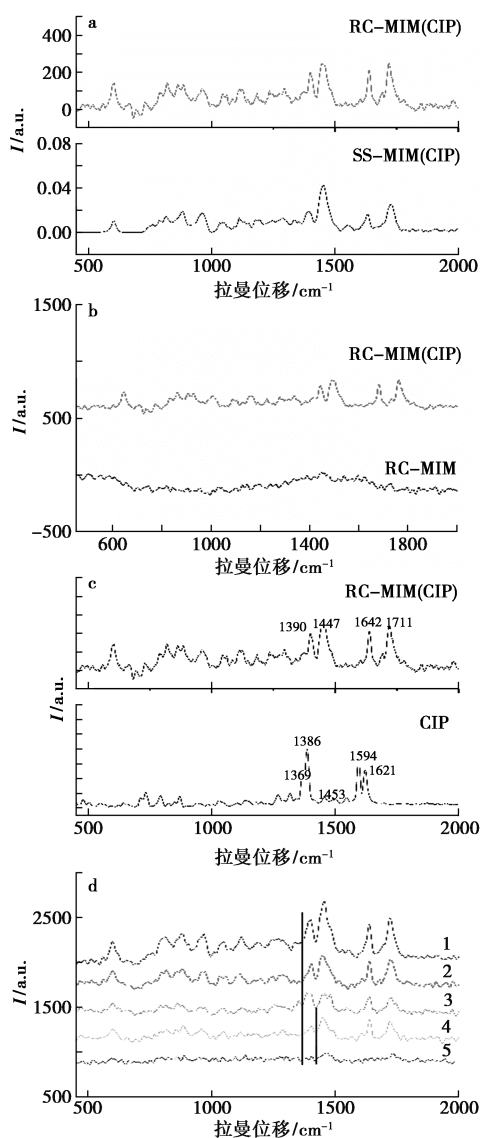
Fig.7 Repeat adsorption curve of RC-MIM to CIP

2.7 SERS 活性

图 8 为拉曼光谱图。图 8a 分别是铜滤膜为基膜制备的 RC-MIM 及不锈钢滤膜为基膜制备 SS-MIM 吸附相同量 CIP 后的拉曼光谱对比图。其中吸附 CIP 后的 RC-MIM 拉曼光谱吸收峰强度显著高于 SS-MIM, 增强倍数约为 1×10^4 。说明不锈钢滤膜没有使拉曼光谱增强的性能, 而铜滤膜为基膜制备的 RC-MIM 具有明显的 SERS 活性。RC-MIM 吸附 CIP 前后拉曼光谱对比结果如图 8b 所示, 未吸附 CIP 的 RC-MIM 拉曼光谱无明显吸收峰出现, 而吸附 CIP 后的 RC-MIM 拉曼光谱出现明显的吸收峰。

以 CIP 的拉曼光谱为基准, 对吸附 CIP 的 RC-MIM 拉曼光谱吸收峰进行归属, 如图 8c 所示。CIP 的拉曼光谱中, $1\ 369\ \text{cm}^{-1}$ 为吡嗪环的振动峰, $1\ 386\ \text{cm}^{-1}$ 为 O—C—O 对称伸缩振动峰, $1\ 453\ \text{cm}^{-1}$ 为 O—C—O 非对称伸缩振动峰, $1\ 594\ \text{cm}^{-1}$ 为喹诺酮环的振动, $1\ 621\ \text{cm}^{-1}$ 处为芳香环中 C=C 伸缩振动峰。吸附 CIP 的 RC-MIM 拉曼谱图中, $1\ 711\ \text{cm}^{-1}$ 处为 C=O 伸缩振动, $1\ 642\ \text{cm}^{-1}$ 处为 C=C 伸缩振动, $1\ 447\ \text{cm}^{-1}$ 处为 —C—H— 变形振动, $1\ 390\ \text{cm}^{-1}$ 处为 O—C—O 对称伸缩振动峰。CIP 在 RC-MIM 孔隙中与印迹位点之间受氢键作用使得分子振动受到限制, 拉曼光谱特征峰有所变化。 $1\ 390\ \text{cm}^{-1}$ 的 O—C—O 对称伸缩振动峰吻合度相对较好, 可以作为特征峰作进一步研

究。图 8d 为吸附不同浓度 CIP 的 RC-MIM 拉曼光谱对比图。随着 CIP 溶液浓度的减小,特征峰的强度逐渐降低。吸附 1.00×10^{-9} mol/L 及以下浓度 CIP 溶液的 RC-MIM 的拉曼光谱特征峰几乎无响应,因此最低检测浓度为 1.00×10^{-8} mol/L。与常用的拉曼光谱分析法检测 CIP 的最低检测浓度相当^[15-19],因此该膜具有良好的 SERS 活性。



a. RC-MIM 与 SS-MIM 拉曼光谱对比图; b. 富集 CIP 前后 RC-MIM 的拉曼光谱对比图; c. RC-MIM 与 CIP 拉曼光谱对比图; d. 吸附不同浓度 CIP 的 RC-MIM 拉曼光谱对比图, 曲线 1~5 分别表示浓度为 10^{-2} 、 10^{-4} 、 10^{-6} 、 10^{-8} 、 10^{-9} mol/L

图 8 拉曼光谱

Fig.8 Raman spectra

3 结论

将分子印迹技术与表面增强拉曼散射技术联用,通过表面自由基聚合技术制备了一种具有表

面增强拉曼散射活性的、可以快速富集喹诺酮类抗菌药环丙沙星的分子印迹复合膜。膜对环丙沙星的表面增强拉曼散射信号响应灵敏,可以选择性识别并富集环丙沙星,具有良好的重复再生性能。将膜浸渍样品溶液后取出就能进行拉曼光谱检测,检测后对膜的洗脱液进行浓缩即可实现环丙沙星的快速分离、回收,在药物检测和分离领域具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] ZIMMERMANN S, KLINGER-STROBEL M, BOHNERT J A, et al. Clinically approved drugs inhibit the staphylococcus aureus multidrug efflux pump and reduce biofilm formation[J]. *Front. Microbiol.*, 2019, **10**: 2762.
- [2] HAN Q F, SONG C, SUN X, et al. Spatiotemporal distribution, source apportionment and combined pollution of antibiotics in natural waters adjacent to mariculture areas in the Laizhou Bay, Bohai Sea[J]. *Chemosphere*, 2021, **279**: 130-138.
- [3] LANG H, CHEN L, HOU G H, et al. Impact of coastal environmental factors on quinolone distribution in intertidal surface sediments of the Bohai Sea and Yellow Sea, China[J]. *Water Sci. Technol.*, 2019, **19**(1/2): 482-491.
- [4] LU S C, YOU T T, YANG N, et al. Flexible SERS substrate based on Ag nanodendrite-coated carbon fiber cloth: Simultaneous detection for multiple pesticides in liquid droplet[J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2020, **412**(5): 1159-1167.
- [5] RATAUTAITE V, SAMUKAITE-BUBNIENE U, PLAUSINAITIS D, et al. Molecular imprinting technology for determination of uric acid[J]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, **22**(9): 5032.
- [6] 苏立强, 靳岩爽, 陈嘉琪, 等. 基于 ATRP 技术制备姜黄素分子印迹复合膜及应用[J]. *中草药*, 2019, **50**(6): 1348-1353.
- [7] LU R Q, QI Z K, WANG S Y, et al. Rapid detection of illegal biguanides in hypoglycemic health products using molecular imprinting combined with SERS technology[J]. *Microchem. J.*, 2021, **169**(1): 106-113.
- [8] MA Y K, WANG H J, GUO M Y. Stainless steel wire mesh supported molecularly imprinted composite membranes for selective separation of ebracteolata compound b from euphorbia fischeriana[J]. *Molecules*, 2019, **24**(3): 565.
- [9] CAO X L, ZHANG Z, LIU G Y, et al. Reproduction of mag-

- netic dummy template molecularly imprinted polymers for the determination of aminoglycosides antibiotics in milk [J]. *Food Anal. Methods*, 2021, **14**(2): 111-120.
- [10] CHEN L X, WANG X Y, LU W H, et al. Molecular imprinting: Perspectives and applications [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2016, **45**(8): 2 137-2 211.
- [11] 毛艳丽, 李朝阳, 刘超朋, 等. 磁性分子印迹麦秆炭吸附环丙沙星性能研究 [J]. *化学试剂*, 2021, **43**(12): 1 631-1 637.
- [12] 张振龙. 4-二甲胺基偶氮苯和维生素 B₁₂ 的表面增强拉曼散射光谱 [D]. 郑州: 河南大学, 2004.
- [13] 潘英骋, 薛路远, 郭小玉, 等. 卤素离子对甲基咪唑在铜电极表面增强拉曼光谱的增敏作用 [J]. *上海师范大学学报(自然科学版)*, 2012, **41**(1): 70-74.
- [14] 苏立强, 周磊, 翟明翠, 等. 双酚 A 分子印迹材料的制备及其性能评价 [J]. *化学试剂*, 2014, **36**(9): 835-838.
- [15] 李萍. 新型 SERS 基底在食品安全检测中的应用研究 [D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2016.
- [16] WANG K, MENG Y, JIAO X, et al. Facile synthesis of an economic 3D surface-enhanced raman scattering platform for ultrasensitive detection of antibiotics [J]. *Food Anal. Methods*, 2020, **13**(10): 1 947-1 955.
- [17] WANG K, GUO Z, LI Y, et al. Few-layer NbTe₂ nanosheets as substrates for surface-enhanced raman scattering analysis [J]. *ACS Appl. Nano Mater.*, 2020, **3**(11): 11 363-11 371.
- [18] GUO X T, LI J H, ARABI M, et al. Molecular-imprinting-based surface-enhanced raman scattering sensors [J]. *ACS Sens.*, 2020, **5**(3): 601-619.
- [19] CAO X L, ZHAO F N, JIANG Z, et al. Rapid analysis of bitertanol in agro-products using molecularly imprinted polymers-surface-enhanced raman spectroscopy [J]. *Food Anal. Methods*, 2018, **11**(14): 1 435-1 443.

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2022008850

化学试剂, 2022, 44(6), 858~864

过渡金属取代磷钼酸催化剂的制备及氧化脱硫性能研究

高爽, 张俊茹, 李佳其, 于悦, 韩璐, 肖舒宁, 袁运鸿, 陈晓陆*

(营口理工学院 化学与环境工程学院 辽宁省化学助剂合成与分离重点实验室, 辽宁 营口 115014)

摘要:以有机氨功能化的 SBA-15 为载体, 制备过渡金属取代的磷钼酸 (PMo_{11}M , $\text{M} = \text{Fe}, \text{Co}, \text{Cu}$) 负载型催化剂。利用 XRD、FT-IR、BET、TEM、TG 等手段对催化剂结构进行表征, 结果表明, 过渡金属成功负载到载体 SBA-15 上; 催化剂的整体结构没有发生明显改变, 催化剂活性组分均匀地分散在介孔 SBA-15 的表面和孔道中。结合 XPS 数据和氧化脱硫实验结果, 发现催化剂表面的氧空位, 可以活化活性氧物种, 有助于催化剂脱硫性能的提升。以二苯并噻吩 (DBT) 为底物, 进行氧化脱硫反应, 考察引入的过渡金属对催化剂结构的改变和催化活性的影响。得到 Co 取代催化剂 ($\text{PMo}_{11}\text{Co-NH}_2\text{-SBA-15}$) 的脱硫效果最好, DBT 的转化率达到 91.15%。 $\text{PMo}_{11}\text{Co-NH}_2\text{-SBA-15}$ 催化剂具有良好的循环稳定性。

关键词:过渡金属; 氧化脱硫; SBA-15; 磷钼酸; 二苯并噻吩

中图分类号: O643.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2022)06-0858-07

Preparation of Transition Metal Substituted Phosphomolybdic Acid and Catalytic Performance in Oxidation Desulfurization GAO Shuang, ZHANG Jun-ru, LI Jia-qi, YU Yue, HAN Lu, XIAO Shu-ning, YUAN Yun-hong, CHEN Xiao-lu* (Liaoning Key Laboratory of Chemical Additive Synthesis and Separation, Department of Chemical Engineering, Yingkou Institute of Technology, Yingkou 115014, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 858~864

Abstract: The supported catalysts of transition metal-substituted phosphomolybdic acid (PMo_{11}M , $\text{M} = \text{Fe}, \text{Co}, \text{Cu}$) were prepared using organic ammonia-modified SBA-15 substrate. The as-made catalysts were characterized by XRD, FT-IR, BET, TEM, and TG. Results showed that the transition metals had been successfully loaded on the organic ammonia-modified SBA-15 support. The overall structure of the catalyst had not changed apparently, and the active components of the catalyst were uniformly distributed on the surfaces of mesopores of SBA-15. Combined with XPS data and oxidative desulfurization experimental results, it was found that the oxygen vacancy on the catalyst surface can efficiently generate active oxygen species, which was helpful to improve the desulfurization performance. The oxidative desulfurization reaction was carried out with dibenzothiophene (DBT) as a substrate. The effects of transition metals on the structure and catalytic activity of the catalysts were investigated. It was found that the $\text{PMo}_{11}\text{Co-NH}_2\text{-SBA-15}$ catalyst possessed the best desulfurization performance, achieving a conversion of 91.15% for DBT and very good cycling stability.

Key words: transition metal; oxidation desulfurization; SBA-15; phosphomolybdic acid; dibenzothiophene

随着世界燃油消耗量的快速增长, 燃油中硫化物带来的环境污染问题引起世界各国的广泛关注。传统的加氢脱硫方法 (HDS) 对二苯并噻吩 (DBT) 及其衍生物的去除不能达到深度脱硫的要求。因此, 许多非 HDS 方法, 如生物脱硫、吸附脱硫、氧化脱硫、光催化等已发展成为实现深度脱硫的主要方法^[1,2]。在众多燃油脱硫方法中, 氧化脱硫技术 (ODS) 反应条件温和、工艺流程简单, 对杂环类硫化物脱硫率高, 并且使用的氧化剂 H_2O_2 成本低、环境友好、原子效率高, 是一种极具潜力的深度脱硫方法。

多金属氧酸盐 (POM) 以其独特的酸性和良好的氧化还原性, 已经广泛的应用于工业催化领域中^[3-7]。负载型多相 POM 催化材料能够在分子

水平上对形状、尺寸、结构、电荷、酸度以及氧化还原性能等方面进行调控, 优化 POM 的性能, 拓展其应用领域^[8-11]。由于过渡金属取代的 POM 材

收稿日期: 2021-12-10; 网络首发日期: 2022-03-08

基金项目: 辽宁省化学助剂合成与分离重点实验室项目 (ZJNK2013); 辽宁省区域创新联合基金项目 (2020-YKLH-36); 辽宁省教育厅基本科研项目 (青年项目 LJKQZ2021183); 营口理工学院 2022 年大创项目 (202214435032)。

作者简介: 高爽 (1987-), 男, 吉林长春人, 博士, 副教授, 主要从事多相催化材料的研究。

通讯作者: 陈晓陆, E-mail: 42329816@qq.com。

引用本文: 高爽, 张俊茹, 李佳其, 等. 过渡金属取代磷钼酸催化剂的制备及氧化脱硫性能研究 [J]. 化学试剂, 2022, 44(6): 858-864。

料易与载体中的 N、O 原子发生配位作用,起到协同催化的效果,在负载型多相催化体系中有更广阔的应用空间^[12-14]。Cavaleiro 等^[15]通过离子交换法将过渡金属(Fe 和 Mn)取代的磷钨酸成功的引入到 N(Et)₃ 功能化的 SBA-15 上,制备出负载型金属催化剂。所得催化剂在以 H₂O₂ 为氧化剂的环辛烯反应中表现出了较高的催化活性。该催化剂在使用时也表现出相对较好的循环稳定性。Gao 等^[16]以磷钨酸为核心,TiO₂ 为壳,采用一步模板法制备了一种多金属氧基微球催化剂。表征结果表明,磷钨酸以 TiO₂ 相为核心,形成了核壳结构。考察了合成的核壳结构催化剂的氧化脱硫性能。催化剂 PW₁₂@TiO₂ 在最佳条件下,对二苯并噻吩具有很好的催化活性。浸出和回收实验表明 PW₁₂@TiO₂ 催化剂具有良好的循环利用性,7 个循环后硫去除率没有显著降低。Chamack 等^[17]将 H₄[PM₁₁VO₄₀] 负载于锆改性的 SBA-15 上,制备材料在起到催化作用的同时,还能将反应形成的矾类化合物吸附于催化剂表面,从而简化了矾类产物的后处理过程。

本文将过渡金属 Co、Fe、Cu 取代的磷钼酸(PMo₁₁M, M = Fe, Co, Cu)负载于 3-氨丙基-三乙氧基硅烷(APTES)功能化的 SBA-15(NH₂-SBA-15)表面,制备了系列钼基多相催化剂(PMo₁₁M-NH₂-SBA-15, M = Fe, Co, Cu),考察了其氧化脱硫性能。采用多种表征手段对所制备的催化剂的组成结构和微观形貌进行分析。结合氧化脱硫实验,考察不同过渡金属取代的负载型催化剂在结构变化和催化性能方面的差异,并对催化剂循环稳定性进行研究。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

D/MAX-RB 型 X 射线衍射仪(XRD,日本理学公司);ASAP 2000 型吸附仪(BET,美国 Micromeritics 公司);WQF-510A 型傅里叶变换红外光谱仪(北京瑞利公司);Q500 型热重分析仪(美国 TA 公司);HT7800 型透射电镜(测试电压为 200 kV,日本日立公司)。

硝酸钴(分析纯)、硝酸铁(分析纯)、硝酸铜(分析纯)、甲苯(分析纯)、H₂O₂(30 wt%)(国药集团化学试剂有限公司);钼酸钠、二苯并噻吩(分析纯,上海麦克林生化科技有限公司);硅酸四乙酯(试剂级 98%,上海阿拉丁生化科技股份

有限公司);蒸馏水(自制)。

1.2 催化剂的制备

1.2.1 过渡金属修饰磷钼酸 PMo₁₁M (M = Fe, Co, Cu) 的合成

化合物 PMo₁₁M (M = Fe, Co, Cu) 的合成方法参照文献[18]所述的方法。将一定量的 Na₂HPO₄·12H₂O 溶于 10 mL 蒸馏水中制得溶液 A;将 Co(NO₃)₂·6H₂O 溶于 10 mL 沸水中制得溶液 B;混合溶液 A 和溶液 B,冷却后滴加浓硫酸酸化。将一定量的 Na₂MoO₄·2H₂O 溶于水后,加入到酸化的溶液中,产生大量絮状沉淀,搅拌并滴加浓硫酸至混合溶液变澄清。待混合液冷却后,用乙醚对上述溶液进行萃取,取下层醚合物,空气氛围下除去乙醚,得到黄绿色固体,重结晶。最终得到 H₇PMo₁₁CoO₄₀·xH₂O,重复上述步骤可制得 H₆PMo₁₁FeO₄₀·xH₂O, H₇PMo₁₁CuO₄₀·xH₂O 记为 PMo₁₁M (M = Fe, Co, Cu)。

1.2.2 NH₂-SBA-15 的合成

SBA-15 根据文献[15]所述的方法进行合成。—NH₂ 功能化的 SBA-15 需要在无水无氧的条件下用施兰克方法操作^[19]。将 1.0 g 预先真空干燥好的 SBA-15 快速加入到 30 mL 无水无氧处理的甲苯中。氮气保护下,加入 2 mmol 的 APTES,110 ℃ 冷凝回流 24 h,然后抽滤、洗涤,二氯甲烷抽提 12 h,真空条件下干燥,记为 NH₂-SBA-15。

1.2.3 NH₂-SBA-15 固载 PMo₁₁M 催化材料的合成

将一定量的 NH₂-SBA-15 加入溶有一定量 PMo₁₁M 的 30 mL 甲醇溶液中,80 ℃ 条件下搅拌冷凝回流 24 h,甲醇洗涤后,所得固体用无水甲醇 80 ℃ 抽提 12 h,真空条件下干燥过夜,最终得到 PMo₁₁M-NH₂-SBA-15 (M = Fe, Co, Cu)。作为比较,用同样的方法将磷钼酸 PMo₁₂ 固载在 NH₂-SBA-15 上,记为 PMo₁₂-NH₂-SBA-15。

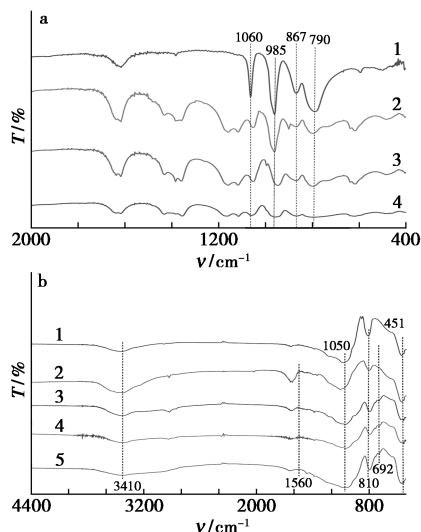
1.3 氧化脱硫反应的性能评价

将 DBT 溶于正壬烷溶液配制成硫质量分数为 1 000 μg/g 的模拟油品。将 30% 的 H₂O₂ 和一定量的 PMo₁₁M-NH₂-SBA-15 加入三口烧瓶中,再加入配制的模拟油和等体积的乙腈作为萃取剂,恒温回流至指定反应温度(温度范围 40~80 ℃),反应开始后每隔 0.5 h 用移液枪移取上层油相溶液离心、静置作为分析样品,利用 RPP-2000S 型荧光定硫仪对硫质量分数进行测定。

2 结果与讨论

2.1 红外光谱表征(FT-IR)

采用 WQF-510A 型傅里叶变换红外光谱仪测定钼基催化剂的 FT-IR 谱图,如图 1a 所示,PMo₁₁M 在 1 060、985、867、790 cm⁻¹处出现的吸收峰分别归属于 P—O 键在 PO₄ 四面体中的反对称伸缩振动、Mo=O 键在 MoO₆ 中的反对称伸缩振动、Mo—O_b—Mo 中桥氧键的反对称伸缩振动、Mo—O_c—Mo 中桥氧键的反对称伸缩振动^[19],这些典型的 Keggin 型骨架结构说明成功合成 Keggin 型的催化活性中心。与 PMo₁₂ 簇相比,PMo₁₁M 相应的吸收峰均有少许偏移,这可能是由于部分的 Mo 被过渡金属 M 替换所致^[14]。



a. PMo₁₁M 的 FT-IR 图, 曲线 1~4 分别为 PMo₁₂、PMo₁₁Co、PMo₁₁Fe、PMo₁₁Cu; b. 载体及负载后催化剂的 FT-IR 图, 曲线 1~5 分别为 SBA-15、PMo₁₂-NH₂-SBA-15、PMo₁₁Cu-NH₂-SBA-15、PMo₁₁Fe-NH₂-SBA-15、PMo₁₁Co-NH₂-SBA-15

图 1 不同催化剂的 FT-IR 图

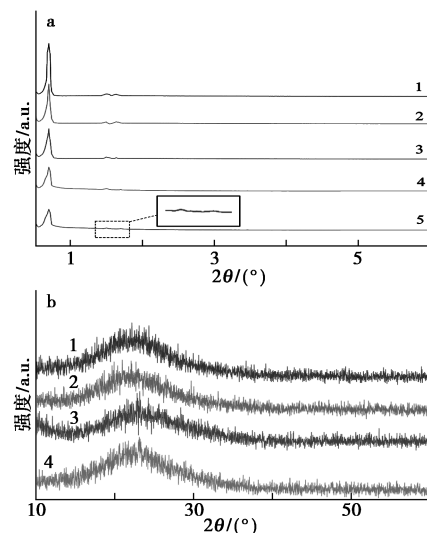
Fig.1 FT-IR spectras of different catalysts

由图 1b 可知, SBA-15 在 1 050、810、451 cm⁻¹处出现的吸收峰分别归属于 Si—O—Si 的不对称伸缩振动、Si—O—Si 的对称伸缩振动和 Si—O—Si 的弯曲振动, 均为 SBA-15 的典型特征峰^[13]。PMo₁₁M-NH₂-SBA-15 在 692 cm⁻¹和 1 560 cm⁻¹处的吸收峰归属于—NH₂ 中—N—H 键的弯曲振动, 说明—NH₂ 基团成功嫁接到 SBA-15 表面。各样品在 3 410 cm⁻¹处出现较宽的吸收峰, 归属于 Si—OH 和吸附 H₂O 中—O—H 键的伸缩振动。而 PMo₁₁Co-NH₂-SBA-15 的吸收峰强度较弱, 说明其结构中 Si—OH 与 H₂O 吸附较少。

2.2 X 射线粉末衍射(XRD)

从图 2a 中可以看出, SBA-15 和 NH₂-SBA-15

在 0.8、1.5、1.7°处出现 3 个衍射峰, 分别归属于 (100)、(110)、(200) 晶面, 表明合成的 SBA-15 具有规整的二维六方结构。与 SBA-15 相比, PMo₁₁M-NH₂-SBA-15 的晶面衍射峰略有下降, 表明 PMo₁₁M 被成功地引入到 NH₂-SBA-15 的孔道中^[9]。其中, PMo₁₁Cu 引入之后, (110) 和 (200) 晶面的衍射峰几乎不见, 但局部放大后仍然可见, 推测 PMo₁₁M 的引入使 SBA-15 孔道结构的长程有序性发生一定程度的改变。图 2b 为广角 XRD 谱图, 可以看出 PMo₁₁M-NH₂-SBA-15 材料在 2θ = 15°~30°处出现了一个较宽的介孔分子筛的典型衍射峰。并没有观察到归属于 PMo₁₁M 杂多酸的特征峰, 推测 PMo₁₁M 在介孔 SBA-15 的孔道内是均匀分布的。



a. 小角 XRD 谱图, 曲线 1~5 分别为 SBA-15、PMo₁₂-NH₂-SBA-15、PMo₁₁Co-NH₂-SBA-15、PMo₁₁Fe-NH₂-SBA-15、PMo₁₁Cu-NH₂-SBA-15; b. 广角 XRD 谱图, 曲线 1~4 分别为 PMo₁₂-NH₂-SBA-15、PMo₁₁Co-NH₂-SBA-15、PMo₁₁Fe-NH₂-SBA-15、PMo₁₁Cu-NH₂-SBA-15

图 2 催化剂的小角和广角 XRD 谱图

Fig.2 Small angle and wide angle XRD patterns of catalysts

2.3 N₂ 吸附脱附(BET)

采用 N₂ 吸附脱附技术研究了不同催化剂的介观结构。从图 3 中可以看出, SBA-15 和 PMo₁₁M-NH₂-SBA-15 均呈现出典型的具有清晰 H1 型滞后环的第 IV 型等温线, 说明合成材料具有介孔材料的典型特征。在 SBA-15 孔道中引入有机基团—NH₂ 和 PMo₁₁M 后, SBA-15 的介孔结构依旧规整。由表 1 可以看出, 与载体相比, PMo₁₁M 活性中心的引入使得催化剂的比表面积、孔容、孔径

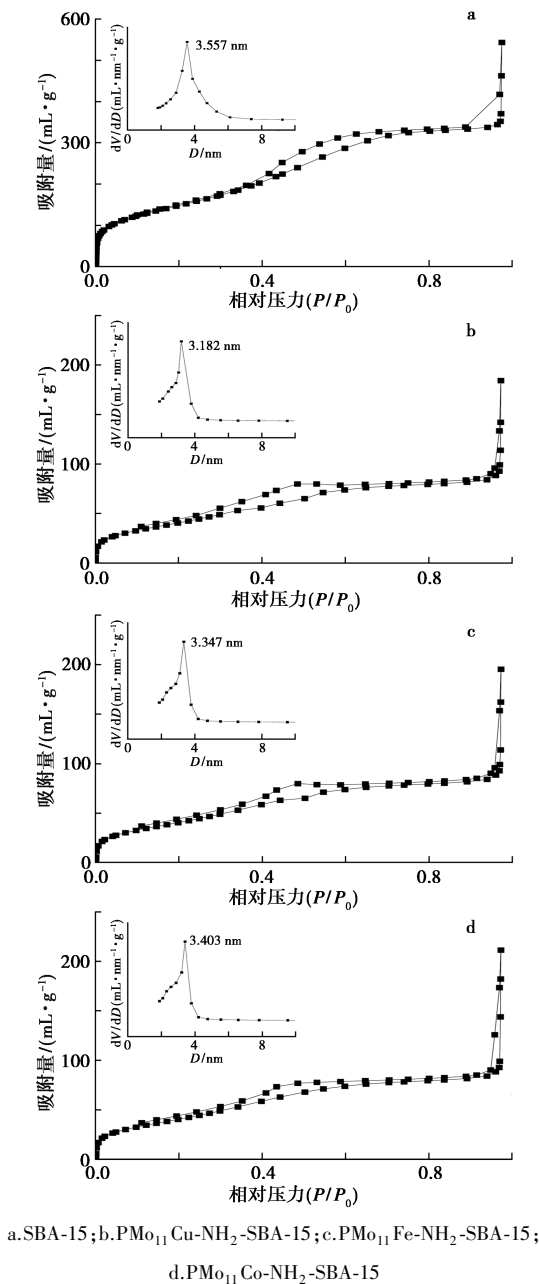


图 3 载体及负载后催化剂的 N_2 吸附脱附等温线和孔径分布图(插图)

Fig.3 N_2 Adsorption-desorption isotherms and pore diameter distribution of support and supported catalysts

表 1 不同催化剂的孔道结构参数

Tab.1 Textural properties of different catalysts

样品	$A_{BET}/$ ($m^2 \cdot g^{-1}$)	$v_p/$ ($cm^3 \cdot g^{-1}$)	$d_p/$ nm
SBA-15	543.2	0.802	3.557
$PMo_{11}Cu-NH_2-SBA-15$	184.2	0.305	3.182
$PMo_{11}Fe-NH_2-SBA-15$	195.3	0.332	3.347
$PMo_{11}Co-NH_2-SBA-15$	211.3	0.351	3.403

均有下降,说明上述基团被成功地引入到 SBA-15 的孔道之中。负载后 $PMo_{11}Co-NH_2-SBA-15$ 催化剂仍然具有较高的比表面积、孔容和孔径。

2.4 透射电镜(TEM)

SBA-15 和 $PMo_{11}M-NH_2-SBA-15$ 的 TEM 表征结果如图 4 所示,由图 4 可以看出 SBA-15 具有长程有序的孔道结构;引入 $PMo_{11}M$ 活性组分后, SBA-15 在垂直和平行孔方向的结构未发生改变。TEM 结果再次印证了 $PMo_{11}M$ 活性组分的引入并没有破坏 SBA-15 规整的介孔结构。

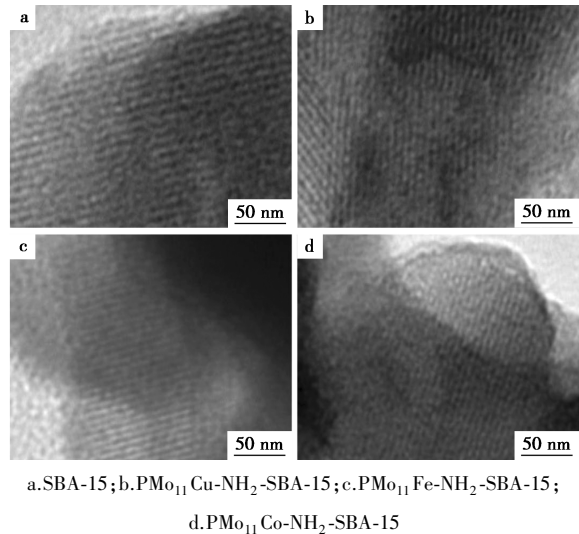


图 4 载体及负载后催化剂的 TEM 图

Fig.4 TEM images of support and supported catalysts

2.5 热重分析(TG)

从图 5 可以看出,在 25~700 $^{\circ}C$ 下各样品存在两次热失重。在 25~100 $^{\circ}C$ 间产生了第一次质量损失,载体表面吸附的水分子消失是导致此现象的原因。第二次质量损失在 200~600 $^{\circ}C$, SBA-15 的损失是表面 $Si-OH$ 基团的脱羟基;而 $PMo_{11}Co-NH_2-SBA-15$ 中除了有机基团 $-NH_2$ 被分解外,催化剂的活性组分也被热分解。因此, $PMo_{11}Co-NH_2-SBA-15$ 比 SBA-15 多失重 6.03%。结合

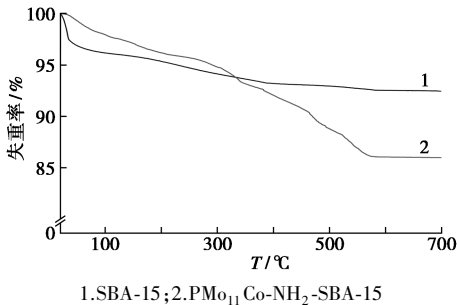


图 5 催化剂的 TG 图

Fig.5 TG Curves of different catalysts

FT-IR、BET、TG 等表征结果证实了有机基团和 PMo_{11}M 活性中心在 SBA-15 孔道内得到了保留。

2.6 催化剂的 XPS 表征

为探究 $\text{PMo}_{11}\text{M-NH}_2\text{-SBA-15}$ 催化剂的表面结构及价态,对催化剂进行了 XPS 表征。图 6a 是催化剂表面 Mo 元素的 XPS 分峰拟合谱图。由图 6a 可知,结合能为 235.1、231.9 eV 处分别代表了 Mo(VI) 的 $3d_{3/2}$ 、 $3d_{5/2}$; 结合能为 232.1、228.9 eV 处分别代表了 Mo(V) 的 $3d_{5/2}$ 、 $3d_{3/2}$ 。说明在 $\text{PMo}_{11}\text{Cu-NH}_2\text{-SBA-15}$ 和 $\text{PMo}_{11}\text{Fe-NH}_2\text{-SBA-15}$ 催化剂表面的 Mo 元素主要以 Mo(VI) 和 Mo(V) 的形式存在^[20]。结合能为 231.3、227.9 eV 的位置处出现两个峰值,分别代表了 Mo(II) 的 $3d_{3/2}$ 、 $3d_{5/2}$,说明 $\text{PMo}_{11}\text{Co-NH}_2\text{-SBA-15}$ 催化剂表面的 Mo 元素不仅以 Mo(VI) 和 Mo(V) 的形式存在,还有 Mo(II) 的形式存在^[21],由此推测, $\text{PMo}_{11}\text{Co-NH}_2\text{-SBA-15}$ 催化剂中的 Mo 处于富电子状态,更倾向以低价态形式存在。通过计算图 6a 中谱峰面积得到不同价态 Mo 元素所占物质的量比,如表 2 所示。由表 2 可知, $\text{PMo}_{11}\text{Cu-NH}_2\text{-SBA-15}$ 催化剂表面低价态的 Mo 元素 (Mo(V) 和 Mo(II)) 占 26.04%, $\text{PMo}_{11}\text{Fe-NH}_2\text{-SBA-15}$ 催化剂表面低价态的 Mo 元素含量稍多 (32.64%), $\text{PMo}_{11}\text{Co-NH}_2\text{-SBA-15}$ 催化剂表面低价态的 Mo 元素最多达到 50.17%。与 $\text{PMo}_{12}\text{-NH}_2\text{-SBA-15}$ 相比, $\text{PMo}_{11}\text{M-NH}_2\text{-SBA-15}$ 催化剂的结合能有负移动,说明过渡金属与 Mo 之间有较强的电子相互

作用。图 6b 是催化剂表面 O 元素的 1s 轨道 XPS 分峰拟合谱图。由图 6b 可知,催化剂表面 O1s 解析谱可拟合为 3 种类型,分别为 O_I (532.7 eV)、 O_II (531.6 eV)、 O_III (530.3 eV)^[22]。其中具有较高结合能的 O_I 归属于催化剂表面吸附的羟基氧 ($-\text{OH}$), O_III (530.3 eV) 属于催化剂的晶格氧,而 O_II (531.6 eV) 归属于催化剂表面形成的吸附氧。根据峰面积计算可知, $\text{PMo}_{11}\text{M-NH}_2\text{-SBA-15}$ ($\text{M} = \text{Cu, Fe, Co}$) 催化剂中吸附氧的含量分别为 43.51%、39.1% 和 73.03%。 $\text{PMo}_{11}\text{Co-NH}_2\text{-SBA-15}$ 催化剂的表面的吸附氧含量最多。表面吸附氧的含量反映的是催化剂氧空位的含量。而氧空位是气相氧气和晶格氧之间进行交换的一个重要媒介^[23]。

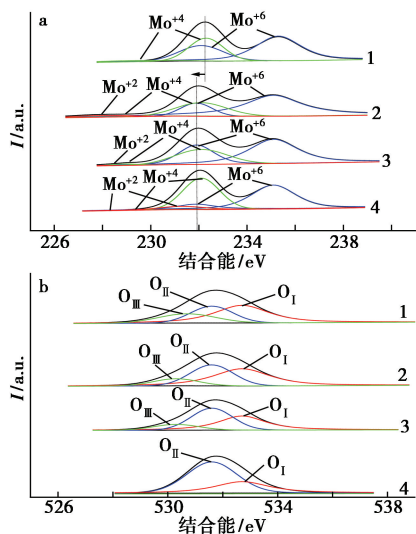
表 2 不同催化剂的 XPS 数据分析

Tab.2 XPS data analysis of different catalysts

催化剂	$x_{\text{Mo}}/\%$			$x_{\text{O}}/\%$		
	Mo(VI)	Mo(V)	Mo(II)	O_I	O_II	O_III
$\text{PMo}_{12}\text{-NH}_2\text{-SBA-15}$	70.52	29.48	0	50.86	28.19	20.95
$\text{PMo}_{11}\text{Fe-NH}_2\text{-SBA-15}$	67.36	29.57	3.07	43.87	43.51	12.62
$\text{PMo}_{11}\text{Cu-NH}_2\text{-SBA-15}$	73.96	25.82	0.22	47.17	39.10	13.73
$\text{PMo}_{11}\text{Co-NH}_2\text{-SBA-15}$	49.83	37.91	12.26	26.95	73.03	0.02

2.7 催化剂的氧化脱硫性能评价

为了探究 $\text{PMo}_{11}\text{M-NH}_2\text{-SBA-15}$ 催化剂在以 H_2O_2 为氧化剂的氧化脱硫反应中的催化性能,分别将上述催化剂进行氧化脱硫反应,并将结果列于表 3。由表 3 看出, $\text{PMo}_{12}\text{-NH}_2\text{-SBA-15}$ 、 $\text{PMo}_{11}\text{Cu-NH}_2\text{-SBA-15}$ 、 $\text{PMo}_{11}\text{Fe-NH}_2\text{-SBA-15}$ 、 $\text{PMo}_{11}\text{Co-NH}_2\text{-SBA-15}$ 催化剂的 DBT 转化率分别为 63.27%、71.14%、79.44% 和 91.15%。BET 表征结果表明 $\text{PMo}_{11}\text{Co-NH}_2\text{-SBA-15}$ 催化剂具有最大的比表面积,使其表面有更多的活性位点,可以负载更多的催化活性组分。较大的孔容、孔径结构,让硫化物在其分子筛孔道结构内扩散更通畅,降低反应体系中的传质阻力。XPS 表征表明过渡金属引入使 $\text{PMo}_{11}\text{M-NH}_2\text{-SBA-15}$ 催化剂的结合能位置发生了偏移,改变了电子云密度,调节了电子结构,使催化剂表面具有更多氧空位,表面氧空位的增多使催化剂具有更强的氧解离能力,能够更好的活化氧化剂,进而提升催化反应活性。其氧空位含量顺序为 $\text{PMo}_{11}\text{Co-NH}_2\text{-SBA-15} > \text{PMo}_{11}\text{Fe-NH}_2\text{-SBA-15} > \text{PMo}_{11}\text{Cu-NH}_2\text{-SBA-15}$ 。催化剂氧空位的含量顺序与氧化脱硫实验结果一致。



曲线 1~4 分别为 $\text{PMo}_{12}\text{-NH}_2\text{-SBA-15}$ 、 $\text{PMo}_{11}\text{Fe-NH}_2\text{-SBA-15}$ 、 $\text{PMo}_{11}\text{Cu-NH}_2\text{-SBA-15}$ 、 $\text{PMo}_{11}\text{Co-NH}_2\text{-SBA-15}$

a. Mo3d XPS 谱图; b. O1s XPS 谱图

图 6 不同催化剂的 XPS 谱图

Fig.6 XPS spectra of different catalysts

表 3 不同催化剂的氧化脱硫性能^注

Tab.3 Oxidative desulfurization performance of different catalysts

催化剂	DBT 转化率/%
PMo ₁₂ -NH ₂ -SBA-15	63.27
PMo ₁₁ Cu-NH ₂ -SBA-15	71.14
PMo ₁₁ Fe-NH ₂ -SBA-15	79.44
PMo ₁₁ Co-NH ₂ -SBA-15	91.15

注:催化反应条件为温度 60 ℃、活性组分负载量 30%、剂油体积比 1:1。

2.8 催化剂的循环稳定性评价

为了考察催化剂的循环稳定性,进行了多次重复试验。将不同催化剂回收分离并用甲醇洗涤后烘干循环使用,结果如表 4 所示。由表 4 中可以看出,在操作条件不变的情况下,催化剂循环使用 3 次后,各种催化剂活性都有不同程度的下降。PMo₁₂-NH₂-SBA-15 催化剂活性下降最为明显, DBT 转化率降至 51.43%。而 PMo₁₁M-NH₂-SBA-15(M=Cu, Fe, Co)催化剂的 DBT 转化率基本稳定。结合 XPS 分析,催化剂表面的羟基氧(—OH)含量顺序为 PMo₁₂-NH₂-SBA-15>PMo₁₁Cu-NH₂-SBA-15>PMo₁₁Fe-NH₂-SBA-15>PMo₁₁Co-NH₂-SBA-15。催化剂表面的羟基氧可通过氢键吸附催化活性组分,并且催化活性组分与羟基氧吸附容易造成活性组分的堆积,使反应物向活性中心的扩散受阻,这将降低催化剂整体的催化活性^[24]。说明催化剂表面吸附的羟基氧会对催化剂的循环稳定性造成影响。

表 4 催化剂的循环稳定性

Tab.4 Cycling stability of the catalysts

循环次数	DBT 转化率/%			
	PMo ₁₂ -NH ₂ -SBA-15	PMo ₁₁ Cu-SBA-15	PMo ₁₁ Fe-SBA-15	PMo ₁₁ Co-SBA-15
1	63.27	71.14	79.44	91.15
2	56.89	68.37	76.63	89.26
3	51.43	65.20	74.12	88.88

3 结论

将过渡金属取代的磷钼酸(PMo₁₁M, M=Fe, Co, Cu)负载于 APTES 功能化的 SBA-15 载体,制备了系列钼基多相催化剂(PMo₁₁M-NH₂-SBA-15, M=Fe, Co, Cu),用于氧化脱硫反应中。考察不同过渡金属取代的负载型催化剂在结构变化和催化性能方面的差异,发现过渡金属取代后催化剂的脱硫性能得到提升。其中 PMo₁₁Co-NH₂-SBA-15

催化剂的脱硫效果最优, DBT 的转化率达到 91.15%,并具有良好的循环稳定性。多种表征手段证明过渡金属的引入能够使催化活性组分均匀的分散在载体的表面和孔道中,并且没有破坏载体的孔道结构。结合 XPS 数据和氧化脱硫实验结果,发现过渡金属能够调节 Mo 周围的电子结构,使催化剂表面具有更多的氧空位,有效活化活性氧物种,增强催化剂表面的氧解离能力,更好的提升催化剂的氧化脱硫性能。

参考文献:

- [1]王勇,申海平,任磊,等.燃料油氧化脱硫机理的研究进展[J].化工进展,2019,38(1):95-103.
- [2]陈晓陆,高爽,靳玲玲,等.Cu(I)CeY 吸附剂的制备及脱硫性能研究[J].现代化工,2017,37(6):132-136.
- [3]丁邦琴,朱蓓蓓,李侠.氧化石墨烯负载钨钼酸催化氧化脱硫性能的研究[J].化学试剂,2018,40(5):429-432.
- [4]鄢景森,王泽青,鄂永胜,等.磷钨钼杂多酸相转移催化剂的制备及其深度氧化脱硫性能[J].燃料化学学报,2019,41(11):1337-1345.
- [5]李剑,王雪莹,黄鑫,等.CuWO₄/SBA-15 催化剂的制备及其光催化氧化脱硫性能[J].燃料化学学报,2020,48(5):632-640.
- [6]GOYAL R, DUNBRE D, KONATHALA L N S, et al. Oxidative coupling of aniline and desulfurization over nitrogen rich mesoporous carbon [J]. Catal. Sci. Technol., 2015, 5(7):3632-3638.
- [7]刘帅,刘进博,李旭贺,等.WO₃/g-C₃N₄ 异质结催化剂的制备及其氧化脱硫性能[J].燃料化学学报,2019,47(7):852-862.
- [8]姚培,李树白,张悻涵,等.离子液体负载复合材料在燃料油中脱硫的研究进展[J].化学试剂,2021,43(8):1061-1069.
- [9]JIN M M, WANG J K, WANG B, et al. Highly effective green oxidation of aldehydes catalyzed by recyclable tungsten complex immobilized in organosilanes-modified SBA-15[J]. Microporous Mesoporous Mater., 2019, 277:84-94.
- [10]张仁丽,王瑶,遇治权,等.氟改性 UiO-66 负载钼基过氧化物催化氧化含硫化合物[J].高等学校化学学报,2021,42(6):1914-1923.
- [11]LIU Q, LI J, ZHAO Z, et al. Design, synthesis and catalytic performance of vanadium-incorporated mesoporous silica KIT-6 catalysts for the oxidative dehydrogenation of propane to propylene[J]. Catal. Sci. Technol., 2016, 6(15):5927-5941.
- [12]GAO J, YANG J X, CAI X W, et al. Facile preparation of

- Co₆W₆C/W@ NC electrocatalyst for hydrogen evolution reaction using transition metal substituted polyoxometalates as precursor[J]. *Mater. Lett.*, 2020, **271**: 127-122.
- [13] 靳满满. WO₃/SBA 多相催化剂制备及催化与催化加氢反[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2019.
- [14] HU D W, SONG X J, ZHANG H, et al. Aerobic epoxidation of styrene over Zr-based metal-organic framework encapsulated transition metal substituted phosphomolybdic acid[J]. *Mol. Catal.*, 2021, **506**: 111-152.
- [15] CAVALEIRO A, ESTRADA A, SANTOS I. Silica supported transition metal substituted polyoxotungstates: Novel heterogeneous catalysts in oxidative transformations with hydrogen peroxide[J]. *Appl. Catal., A: Gen.*, 2011, **392**: 28-35.
- [16] GAO H C, WU X N, SUN D M, et al. Preparation of core-shell PW₁₂@ TiO₂ microspheres and oxidative desulfurization performance [J]. *Dalton Trans.*, 2019, **48**: 5 749-5 755.
- [17] CHAMACK M, MAHJOUB A R, AGHAYAN H. Catalytic performance of vanadium-substituted molybdophosphoric acid supported on zirconium modified mesoporous silica in oxidative desulfurization [J]. *Chem. Eng. Res. Des.*, 2015, **94**: 565-572.
- [18] LI K, WANG J, ZOU Y, et al. Surfactant-assisted sol-gel synthesis of zirconia supported phosphotungstates or Ti-substituted phosphotungstates for catalytic oxidation of cyclohexene[J]. *Appl. Catal., A: Gen.*, 2014, **482**: 84-91.
- [19] JIN M M, NIU Q T, GUO Z M, et al. Epoxidation of cyclohexene with H₂O₂ over efficient water-tolerant heterogeneous catalysts composed of mono-substituted phosphotungstic acid on Co-functionalized SBA-15[J]. *Appl. Organomet. Chem.*, 2019, **33**: 5 115-5 127.
- [20] MARYAM A, LEILAS G, MEHDI E. Novel metal-free N-doped biographenes and their MoO₃ bifunctional catalysts for ultra-deep oxidative desulfurization of heavy fuel[J]. *Sep. Purif. Technol.*, 2021, **274**: 119-144.
- [21] SUN Y M, HU X L, LUO W, et al. Ultrafine MoO₂ nanoparticles embedded in a carbon matrix as a high-capacity and long-life anode for lithium-ion batteries[J]. *J. Mater. Chem.*, 2012, **22**(2): 425-431.
- [22] XU J D, GUO Y F, HUANG T T, et al. Hexamethonium bromide-assisted synthesis of CoMo/graphene catalysts for selective hydrodesulfurization[J]. *Appl. Catal., B: Environ.*, 2019, **244**: 385-395.
- [23] LIN Y, LIU M, PAN Y, et al. Porous Co-Mo phosphide nanotubes: An efficient electrocatalyst for hydrogen evolution[J]. *J. Mater. Sci.*, 2017, **52**(17): 10 406-10 417.
- [24] SAEED H, MOHAMMAD K, ABDOLVAHAB S, et al. Oxidative desulfurization of a model liquid fuel over an rGO-supported transition metal modified WO₃ catalyst: Experimental and theoretical studies[J]. *Sep. Purif. Technol.*, 2021, **269**: 118-129.

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2022008898

化学试剂,2022,44(6),865~871

分离提取技术

正交试验法优化复方玉液汤提取工艺及对小鼠的急性毒性研究

张文祥,郭凤,陈鹏德,吴思宇,姚蓝*

(新疆医科大学 中医学院,新疆 乌鲁木齐 830057)

摘要:优化玉液汤的提取工艺并考察其对小鼠的急性毒性。通过设置3个考察因素:料液比、药材浸泡时间、提取时间,确立3个评价指标:总皂苷含量、干膏得率、总多糖含量。在此基础上设计正交试验并根据综合评分结果确定玉液汤的最佳提取工艺。按此提取工艺对玉液汤进行回流提取,所得药液进行小鼠的急性毒性研究。小鼠给药后连续观察14 d,在此期间记录小鼠的基本状态、检测各组小鼠血常规和生化指标;取小鼠心、肝、脾、肺、肾计算脏器指数,HE染色观察各组小鼠脏器病理变化。最终确定玉液汤水提工艺最佳条件为:料液比1:10 g/L、药材浸泡1 h、回流2.5 h。小鼠连续给药14 d内未出现中毒和死亡情况,且给药组与对照组比较,体质量、摄食量、摄水量、血常规、生化指标和各脏器的脏器指数均未有统计学差异;各组小鼠主要脏器病理学未见异常。优化条件下的玉液汤水提工艺含量稳定,且服用安全无毒。

关键词:玉液汤;水提工艺;急性毒性;总皂苷;干膏得率;总多糖

中图分类号:R284.2 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2022)06-0865-07

Orthogonal Experiment of Optimizing the Extraction Process of Yuye Decoction and Its Acute Toxicity on Mice ZHANG Wen-xiang, GUO Feng, CHEN Peng-de, WU Si-yu, YAO Lan* (College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830057, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 865~871

Abstract: The objective of this work is to optimize the extraction process of Yuye decoction and explore its acute toxicity on mice. Methods include studying the material/liquid ratio, the soaking time of medicinal herbs, and the extracting time. The evaluation factor of this study is the content of total saponins, the dry ointment yield, total polysaccharide content. The best extraction process of Yuye decoction was obtained based on the design of an orthogonal experiment. Reflux extraction of Yuye decoction was carried out according to the above mentioned extraction process, and the acute toxicity of the solution was studied using mice. The mice were observed for 14 days after administration. During this period, the basic state of the mice, blood routine, and biochemical indexes of each group were recorded. The heart, liver, spleen, lung, and kidney of mice were collected to calculate the viscera index, and the pathological changes of viscera were observed by HE staining. Results indicated that the optimal extraction conditions of Yuye decoction were the solid-liquid ratio of 1:10 g/L, soaking for 1 h, and reflux for 2.5 h. No poisoning or death of mice occurred within 14 days of continuous administration, meanwhile, there were no statistically significant differences in body weight, food intake, water intake, blood routine, biochemical indexes, and organ indexes between the administration group and the control group. No abnormality was found in the pathology of the main organs in each group. In conclusion, the content of Yuye decoction is stable and safe under our optimized conditions.

Key words: Yuye decoction; water extraction process; acute toxicity; total saponins; dry ointment yield; total polysaccharides

清代著名医家张锡纯编著的《医学衷中参西录》中对玉液汤有详尽的记载,原方包括五味子、生黄芪、葛根、天花粉、知母、生山药、生鸡内金在内七味中药,具有益气补脾、生津止渴和滋阴固肾的功效^[1-4],是治疗“消渴症”的名方。因2型糖尿病的临床表现与古代“消渴症”大致相同,复方玉液汤在临床中被广泛用于气阴两虚证2型糖尿病的治疗。现代药理学实验与临床研究均证明了复方玉液汤对于气阴两虚证2型糖尿病具有良好疗效^[5,6]。目前,复方玉液汤仍以传统水煎煮形

式服用,操作较为繁琐、煎煮时间尚无统一标准,

收稿日期:2021-12-30;网络首发日期:2022-03-07

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2019D01C214)。

作者简介:张文祥(1998-),男,吉林白山人,硕士生,主要研究方向为糖尿病及并发症药理学。

通讯作者:姚蓝, E-mail:56174475@qq.com。

引用本文:张文祥,郭凤,陈鹏德,等.正交试验法优化复方玉液汤提取工艺及对小鼠的急性毒性研究[J].化学试剂,2022,44(6):865-871。

故药物的疗效无法控制。为更好的发挥玉液汤药效,确保有效成分的充分提取,本实验以干膏得率、总皂苷含量和总多糖含量为考察指标,对玉液汤水提工艺进行优化,为临床应用提供参考。此外,由于中药复方不同于单味药,具有多成分、多靶点、有效成分复杂等特点^[7,8],因此对于中药复方的安全性监测是必要的。本研究针对优化工艺后的玉液汤水提物进行了急性毒性试验研究,为其安全性提供了科学依据,确保其临床用药安全有效。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

UV-2700 型紫外分光光度计(日本岛津公司);HH-S4 型电热恒温水浴锅(北京市光明医疗仪器有限公司);FA2004N 型分析天平、DY15K 型电子天平(上海菁海仪器有限公司);BC-5000VET 型动物专用全自动血细胞分析仪、BS-240VET 型全自动生化分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司);SF-TDL-5C 型高速冷冻离心机(上海菲恰尔分析仪器有限公司)。

黄芪甲苷对照品(批号:B20564,HPLC $\geq$ 98%)、D-无水葡萄糖对照品(批号:S08J6G1,HPLC $\geq$ 98%)(上海源叶生物科技有限公司);生黄芪、生山药、知母、生鸡内金、葛根、五味子、天花粉的中药饮片(新疆自治区百草堂大药房),具体产地、批号和生产厂家见表 1。

表 1 中药饮片来源

Tab.1 Sources of TCM decoction pieces

中药饮片	产地	批号	生产厂家
生黄芪	甘肃省	210601	安徽汇仁堂中药饮片有限公司
生山药	河南省	210301	安徽汇仁堂中药饮片有限公司
知母	河北省	190901	安徽道源堂中药饮片有限公司
生鸡内金	安徽省	210501	安徽道源堂中药饮片有限公司
葛根	湖北省	200602	安徽省泽华国药饮片有限公司
五味子	辽宁省	200301	安徽道源堂中药饮片有限公司
天花粉	河北省	19112706	四川禾一天然药业有限公司

1.2 实验动物

昆明小鼠 40 只(SPF 级),雌性雄性各一半,7~8 周龄,体质量均在 18~22 g 之间,购自于新疆医科大学动物实验中心,动物生产许可证号:SCXK(新)2018-0002。饲养于新疆医科大学动物实验中心屏障环境内,温度(23 $\pm$ 3)℃,白天与黑夜各 12 h,相对湿度保持在 40%~70%之间,常规饲料喂养,自由进食。

1.3 实验方法

1.3.1 正交试验设计

采用回流提取法,以水为溶剂,干膏得率、总皂苷和总多糖含量为考察指标,利用熵权法确立各指标权重系数,计算综合评分。干膏得率评分(Y1)=干膏得率/干膏得率最大值 $\times$ 100 $\times$ 干膏得率权重系数;总皂苷含量评分(Y2)=总皂苷含量/总皂苷含量最大值 $\times$ 100 $\times$ 总皂苷含量权重系数;总多糖含量评分(Y3)=总多糖含量/总多糖含量最大值 $\times$ 100 $\times$ 总多糖含量权重系数;综合评分=Y1+Y2+Y3。设计正交试验确立最佳提取工艺,各因素水平见表 2。

表 2 正交试验设计

Tab.2 Orthogonal experimental design

水平	因素		
	A 料液比/(g·L ⁻¹)	B 提取时间/h	C 药材浸泡时间/h
1	1:8	1.5	0.5
2	1:10	2.0	1.0
3	1:12	2.5	1.5

1.3.2 权重系数的确立

熵权法的熵是系统无序程度的一个度量,根据其定义,常被用来衡量一个指标的离散程度,当熵值变大,离散程度则随之减小,解释为该指标对于综合评价的影响变小。相同熵值变小,离散程度则随之变大,对于综合评价的影响就越大^[9-11]。进行综合评价时需保证各评价指标的单位相同,由于本研究中所设计的评价指标的单位各不相同,因此需对所有评价指标进行无量纲化处理。本实验采取的标准化方式如下:

(1) 评价价值(X_{ij})

$$X_{ij} = (X_{ij} - m_j) / (M_j - m_j)$$

其中: X_{ij} 表示第 j 个指标下第 i 个项目的评价价值, M_j 表示 X_{ij} 的最大值, m_j 表示 X_{ij} 的最小值。

(2) 标准化后的数据(P_{ij})

$$P_{ij} = X_{ij} / \sum_{i=1}^n X_{ij}$$

(3) 熵值(e_j)

$$e_j = -\ln(n)^{-1} \sum_{i=1}^n P_{ij} \ln(P_{ij})$$

(4) 差异性系数(G_j)

$$G_j = 1 - e_j$$

(5) 各指标的权重(W_j)

$$W_j = G_j / \sum_{j=1}^m G_j (j = 1, 2, 3, \dots, m)$$

1.3.3 指标成分含量测定

(1) 干膏得率的测定

将1.3.1中各个因素水平的玉液汤提取液置于水浴锅中蒸去水分,呈浸膏状,转移至烘箱中,烘干至恒重,取出并计算干膏得率。

(2) 总皂苷含量测定

精密称取5 mg 黄芪甲苷对照品,置于10 mL容量瓶中,无水乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得黄芪甲苷对照品溶液。精密称取1.3.1各因素水平的玉液汤干粉各10 mg,置于10 mL容量瓶中用水定容至刻度,超声1 h,水饱和正丁醇萃取3次,蒸去萃取液中水分、甲醇溶解并转移到25 mL容量瓶中定容至刻度、摇匀,即为总皂苷供试品溶液。

精密吸取黄芪甲苷对照品溶液0.05、0.10、0.20、0.30、0.40、0.50 mL,分别置10 mL具塞试管中,各具塞试管分别加入2 mL无水乙醇、0.5 mL 8%香草醛试剂、7.5 mL浓硫酸、摇匀;置于电热恒温水浴锅中62℃加热20 min,取出,于540 nm波长处测定吸光度值,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y=3.2599X+0.0052$ ($R^2=0.999$)。结果显示,皂苷在0.025~0.25 mg/mL范围内,线性关系稳定,以此计算总皂苷含量。

(3) 总多糖含量测定

精密称取10 mg D-无水葡萄糖对照品,置于50 mL容量瓶中,蒸馏水溶解并稀释至刻度,摇匀,即得D-无水葡萄糖对照品溶液。精密称取1.3.1各因素水平的玉液汤干粉各0.5 g,加入30 mL 80%乙醇超声30 min,加水150 mL,加热回流1 h,过滤,重复上述操作1次。合并两次滤液,转移至250 mL容量瓶,加水稀释至刻度,摇匀,即得总多糖供试品溶液。精密吸取D-无水葡萄糖对照品溶液0.20、0.40、0.80、1.20、1.60 mL,分别置于10 mL具塞试管中,各具塞试管分别加入1 mL 5%苯酚溶液、7 mL浓硫酸,最后加水补足至10 mL,轻轻摇晃均匀,置80℃水浴中加热15 min后取出,于490 nm波长处测定吸光度值,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y=0.035X+0.0525$ ($R^2=0.9991$)。结果显示,多糖在0.04~0.32 mg/mL范围内,线性关系稳定,以此计算总多糖含量。

1.3.4 方法学考察

(1) 仪器精密度试验

精密吸取0.3 mL 黄芪甲苷、1.0 mL D-无水

葡萄糖对照品溶液,依照1.3.3方法测定吸光度值,反复测定6次,计算RSD值分别为0.35%、0.25%,说明该仪器精密度良好。

(2) 重复性试验

依照1.3.3方法,分别精密称取样品粉末各6份,配制成供试品溶液并分别测定吸光度值,计算RSD值分别为1.51%、0.64%,说明该方法的重复性良好。

(3) 稳定性试验

精密吸取已经配制好的总皂苷和总多糖供试品溶液,依次在0、30、60、90、120 min时测定相应时间的吸光度值,计算RSD值分别为1.16%、0.34%,说明本研究所用供试品溶液在120 min内稳定。

1.4 急性毒性实验

1.4.1 药液配制

按1.3确定的玉液汤最佳提取工艺对玉液汤进行提取,浓缩。将能顺畅通过1 mL注射器连接小鼠灌胃针头的最大药液浓度作为小鼠灌胃的最大给药浓度(0.23 g/mL)^[7]。

1.4.2 半数致死量(LD₅₀)预实验

取20只昆明小鼠(SPF级),雄性雌性各一半,再将雄性和雌性分别随机等量分为给药组和对照组,每组5只,给药组给予0.23 g/mL玉液汤药液,对照组给予等体积的生理盐水。在开始灌胃前的12 h内撤除所有饲料但不撤除水,12 h后根据小鼠的最大灌胃体积(40 mL/kg)给药1次,6 h后按照相同操作再给1次,共两次。给药后密切观察小鼠状态,形态学变化,连续观察7 d,如出现小鼠死亡情况,立即解剖,观察分析各脏器组织病变情况,同时作好记录。若未能测得LD₅₀,就认为小鼠灌胃玉液汤水提物的最大耐受剂量为18.4 g/kg,依此剂量进行最大耐受量(Maximum tolerated dose, MTD)实验。

1.4.3 MTD实验

(1) 动物分组及给药

40只昆明小鼠(SPF级),雌性雄性各一半,再将雄性和雌性分别随机等量分为给药组和对照组,每组10只,在开始灌胃前的12 h内撤除所有饲料但不撤除水,12 h后根据小鼠的最大灌胃体积(40 mL/kg)给药1次,6 h后按照相同操作再给1次,共两次。给药组给予0.23 g/mL玉液汤药液,对照组给予等体积的生理盐水。

(2) 一般情况观察

给药 14 d 期间,观察小鼠的精神状态、呼吸、摄食饮水情况、毛发、运动状态及排泄物形态。若发生中毒死亡情况,及时解剖分析并作好记录。

(3) 记录体重、摄食量和摄水量

连续 14 d 记录小鼠的体重变化,24 h 内小鼠饲料和水的消耗量,根据相应公式计算出小鼠的摄食量和摄水量。

(4) 血常规检测

小鼠常规饲养 14 d 后,禁食不禁水 12 h,摘眼球取血,抗凝采血管收集一小部分,使用动物专用全自动血细胞分析仪进行血常规各指标检测。

(5) 血液生化指标检测

剩余血液用不加抗凝剂的采血管收集起来,室温下静置 1 h,离心吸取上层血清,-80 ℃冻存备用。全自动生化分析仪检测血清中的谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、谷丙转氨酶(ALT)、尿素氮(BUN)、肌酐(Crea) 5 项生化指标。

(6) 病理学观察

取血后的小鼠进行脱臼处死并进行解剖,肉眼观察各组织脏器发生病变情况,将各组小鼠心、肝、脾、肺、肾逐一取下,剔去黏附在各脏器上的多余组织和脂肪。用生理盐水洗净血液,滤纸吸去水分并称重,计算脏器指数。称重后将脏器固定于 4%多聚甲醛中,HE 染色进行病理学观察。

1.5 统计分析

采用 SPSS 23.0 对实验数据进行统计分析,所有数据均用平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)的方式来表示,对于组与组之间的差异性分析采用单因素方差分析法(One-way ANOVA)。

2 结果与讨论

2.1 正交试验结果及分析

2.1.1 计算权重系数及综合评分

根据熵权法计算得出总皂苷、干膏得率、总多糖的权重系数分别为 0.435 676 0、0.241 688、0.322 636。各因素评分及综合评分结果见表 3。

表 3 正交试验具体设计及结果

Tab.3 Specific design and results of orthogonal experiment

序号	A	B	C	干膏 得率/% (mg·g ⁻¹)	总皂苷/ (mg·g ⁻¹)	总多糖/ (mg·g ⁻¹)
1	1	1	1	18.48	86.98	468.24
2	1	2	2	21.96	90.72	472.12
3	1	3	3	26.20	86.18	245.76

续表

序号	A	B	C	干膏 得率/% (mg·g ⁻¹)	总皂苷/ (mg·g ⁻¹)	总多糖/ (mg·g ⁻¹)
4	2	2	1	19.78	109.82	432.02
5	2	3	2	27.17	168.75	521.27
6	2	1	3	25.65	123.31	261.93
7	3	3	1	20.54	111.69	464.36
8	3	1	2	23.26	117.15	499.93
9	3	2	3	24.78	108.20	257.40
K ₁	200.82	220.62	216.41			
K ₂	243.55	210.77	254.06			
K ₃	223.64	236.62	197.54			
k ₁	66.94	73.54	72.14			
k ₂	81.18	70.26	84.69			
k ₃	74.55	78.87	65.85			
R	14.24	8.61	18.84			

序号	Y1	Y2	Y3	综合评分
1	16.44	22.46	28.98	67.88
2	19.53	23.42	29.22	72.18
3	23.31	22.25	15.21	60.77
4	17.60	28.35	26.74	72.69
5	24.17	43.57	32.26	100
6	22.82	31.84	16.21	70.86
7	18.27	28.84	28.74	75.85
8	20.69	30.25	30.94	81.88
9	22.04	27.93	15.93	65.91

2.1.2 正交试验结果直观分析

根据表 3 可以看出,对于干膏得率、总皂苷含量和总多糖含量的影响因素中,药材浸泡时间(C)>料液比(A)>提取时间(B)。其中最佳的提取工艺组合是 A2B3C2,即药材加入 10 倍量的水浸泡 1 h 后,再回流提取 2.5 h。

2.1.3 正交试验方差分析

对于综合评分各因素水平正交试验结果进行方差分析,结果见表 4。各因素的 P 值均大于 0.05,故 A、B、C 3 个因素对于综合评分无显著性影响。

表 4 方差分析结果

Tab.4 Results of variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	P 值
A	304.796	2	152.398	4.771	0.173
B	113.389	2	56.694	1.775	0.360
C	551.921	2	275.961	8.639	0.104
误差	63.887	2	31.944		

2.1.4 最佳工艺验证

为了验证所确立的最佳提取条件的准确性与合理性,取原处方药材量的 2 倍,按照最佳提取条件进行 3 次验证,结果见表 5。干膏得率、总皂苷含量和总多糖含量的 RSD 分别为 0.82%、0.43% 和 0.22%,说明此最佳提取工艺稳定可靠。

表 5 验证实验结果

Tab.5 Verify experimental results			
序号	干膏得率/%	总皂苷/(mg·g ⁻¹)	总多糖/(mg·g ⁻¹)
1	26.81	167.64	520.47
2	27.08	167.79	520.85
3	27.22	166.49	522.64
平均值	27.05	167.31	521.32
RSD/%	0.82	0.43	0.22

2.2 急性毒性实验结果

2.2.1 LD₅₀ 预实验结果

灌胃给药后的小鼠未出现异常状况,精神状态良好,正常进食饮水,没有发生中毒死亡情况,无法测得半数致死量,因此进行 MTD 实验。

2.2.2 MTD 实验结果

(1) 一般情况观察

给药组和对照组小鼠在灌胃后,不久便开始进食饮水,灌服玉液汤水提物 14 d 之内未出现中毒迹象,无小鼠死亡。小鼠的精神运动状态良好,毛发顺畅有光泽;摄食摄水量正常;排泄物规整,无便秘腹泻情况。结果说明,18.4 g/kg 是小鼠对于玉液汤的最大耐受剂量。

(2) 体质量

由表 6 可知,小鼠在给药前,各组体重无明显差异;给药后,各组小鼠在 14 d 内体重均逐渐增

表 6 小鼠体质量变化情况($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab.6 Changes in body weight of mice			
组别	给药前/g	给药后/g	
		1 d	3 d
给药雄	19.66±1.52	21.88±2.13	24.43±2.12
给药雌	19.72±1.93	20.93±1.96	23.11±2.08
对照雄	19.28±1.88	20.58±2.60	23.49±2.62
对照雌	19.03±1.13	20.96±1.08	23.13±1.02
组别	给药后/g		
	5 d	9 d	14 d
给药雄	27.03±2.49	32.03±2.75	34.38±2.30
给药雌	24.81±2.06	28.54±1.82	30.03±2.32
对照雄	26.41±2.55	32.50±2.11	36.15±1.41
对照雌	24.96±1.30	28.03±1.12	29.17±1.87

加,且在同一时间段内,各组小鼠体重均未有显性差异($P>0.05$)。

(3) 摄食量和摄水量

由表 7、8 可知,各组小鼠在给药前的摄食量和摄水量无明显差异。给药后 14 d 内,各组小鼠在同一时间段内摄食量与摄水量的比较无统计学差异($P>0.05$)。

表 7 小鼠的摄食量变化情况($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab.7 Changes in food intake of mice				
组别	性别	给药后摄食量/(g·g ⁻¹)		
		给药前	1 d	3 d
给药组	雄	0.41±0.01	0.40±0.03	0.36±0.03
	雌	0.36±0.03	0.36±0.04	0.37±0.09
对照组	雄	0.46±0.04	0.48±0.05	0.44±0.05
	雌	0.40±0.04	0.42±0.07	0.37±0.09
组别	性别	给药后摄食量/(g·g ⁻¹)		
		5 d	9 d	14 d
给药组	雄	0.32±0.02	0.31±0.04	0.27±0.02
	雌	0.32±0.11	0.42±0.08	0.35±0.03
对照组	雄	0.38±0.01	0.38±0.05	0.27±0.04
	雌	0.29±0.04	0.47±0.10	0.36±0.08

表 8 小鼠的摄水量变化情况($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab.8 Changes in water intake of mice				
组别	性别	给药后摄水量/(g·g ⁻¹)		
		给药前	1 d	3 d
给药组	雄	0.37±0.05	0.32±0.03	0.35±0.02
	雌	0.40±0.05	0.30±0.03	0.33±0.01
对照组	雄	0.30±0.06	0.33±0.09	0.30±0.10
	雌	0.27±0.03	0.33±0.03	0.28±0.06
组别	性别	给药后摄水量/(g·g ⁻¹)		
		5 d	9 d	14 d
给药组	雄	0.24±0.27	0.42±0.03	0.20±0.02
	雌	0.28±0.01	0.41±0.01	0.21±0.01
对照组	雄	0.28±0.10	0.40±0.05	0.19±0.01
	雌	0.29±0.02	0.38±0.04	0.21±0.01

(4) 血液生化指标

血液生化指标中 ALT、AST、ALP 属于肝功能指标,其中 ALT、AST 数值升高表明药物可能导致肝脏细胞损害^[12],ALP 数值升高表明药物可能诱发胆汁淤滞^[13]。BUN、Crea 属于肾功能指标,这两项指标的异常,反应药物可能影响机体肾小球滤过功能^[14]。由表 9 可知,给药 14 d 后各对照组与给药组小鼠的 5 项血液生化指标无显著性差异($P>0.05$)。

表 9 小鼠血液生化指标检测($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab.9 Detection of blood biochemical indexes in mice

组别	性别	14 d		
		ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)
给药组	雄	27.00±3.77	40.50±7.23	196.80±25.75
	雌	26.90±5.15	42.70±5.95	204.90±32.22
对照组	雄	26.50±4.55	41.60±6.87	207.90±30.96
	雌	25.70±8.82	38.80±6.55	215.70±49.21

组别	性别	14 d	
		BUN/(mmol·L ⁻¹)	Crea/(μmol·L ⁻¹)
给药组	雄	6.42±1.01	205.90±37.98
	雌	6.35±0.93	156.00±17.99
对照组	雄	6.90±1.43	215.30±37.51
	雌	6.27±1.23	154.10±26.51

(5)脏器指数

由表 10 可知,对各组小鼠的心、肝、脾、肺、肾的脏器指数进行统计分析均未见显著性差异($P>0.05$)。

表 10 小鼠的脏器指数($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab.10 Organ index of mice

组别	心脏指数	肝脏指数	脾脏指数
给药雄	5.41±0.64	56.97±4.01	3.17±0.47
给药雌	5.28±0.56	50.46±3.30	3.63±1.04
对照雄	5.03±0.47	57.29±4.27	3.08±0.72
对照雌	4.97±0.46	55.34±3.55	3.23±0.70

组别	肺脏指数	肾脏指数
给药雄	6.49±0.76	14.90±1.56
给药雌	5.98±0.50	10.64±0.96
对照雄	5.76±0.62	15.24±1.07
对照雌	5.76±0.48	11.31±1.11

2.2.3 血常规

血常规检测可在一定程度反映机体组织脏器发生病变的潜在风险,可用于评价药物的毒性和安全性^[7]。由表 11 可知,各对照组与给药组小鼠的血常规各项指标均无显著性差异($P>0.05$)。

表 11 小鼠血常规指标检测($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab.11 Detection of blood routine indexes in mice

血常规项目名称	给药雄	给药雌
白细胞数目 WBC/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	6.25±1.56	6.09±2.20
中性粒细胞绝对值 Neu/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	1.34±0.47	0.79±0.31
淋巴细胞数目 Lymph/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	4.41±1.19	4.99±1.93
单核细胞数目 Mon/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	0.21±0.07	0.19±0.04
中性粒细胞百分比 Neu/%	21.71±5.69	13.46±4.21
淋巴细胞百分比 Lymph/%	70.39±5.91	81.26±5.25
单核细胞百分比 Mon/%	4.11±1.26	2.58±0.70
红细胞计数 RBC/(10 ¹² ·L ⁻¹)	10.43±0.50	10.95±0.46

续表

血常规项目名称	给药雄	给药雌
血红蛋白 HGB/(g·L ⁻¹)	158.89±5.60	163.60±6.11
红细胞比积 HCT/%	50.69±1.54	51.32±2.01
平均红细胞体积 MCV/fL	48.64±1.27	46.91±1.35
平均红细胞血红蛋白含量 MCH/pg	15.23±0.53	14.96±0.59
平均红细胞血红蛋白浓度 MCHC/(g·L ⁻¹)	313.56±7.86	318.60±6.20
红细胞体积分布宽度 RDW-CV/%	14.96±1.21	14.75±0.72
红细胞宽度标准差 RDW-SD/fL	33.02±3.06	32.26±2.58
血小板记数 PLT/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	618.22±	625.10±
	168.07	108.50
平均血小板体积 MPV/fL	6.00±0.49	5.88±0.38
血小板分布宽度 PDW	16.38±0.25	16.24±0.22

血常规项目名称	对照雄	对照雌
白细胞数目 WBC/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	7.19±1.30	7.48±2.07
中性粒细胞绝对值 Neu/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	1.46±0.39	1.01±0.26
淋巴细胞数目 Lymph/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	5.36±1.12	6.07±1.79
单核细胞数目 Mon/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	0.20±0.05	0.23±0.07
中性粒细胞百分比 Neu/%	20.45±4.56	13.79±2.62
淋巴细胞百分比 Lymph/%	74.24±4.66	80.61±2.26
单核细胞百分比 Mon/%	2.92±1.17	3.05±0.47
红细胞计数 RBC/(10 ¹² ·L ⁻¹)	10.06±0.68	10.51±0.57
血红蛋白 HGB/(g·L ⁻¹)	150.27±8.89	159.10±10.04
红细胞比积 HCT/%	49.26±2.88	50.04±3.57
平均红细胞体积 MCV/fL	49.00±2.19	47.56±1.18
平均红细胞血红蛋白含量 MCH/pg	14.98±0.93	15.09±0.44
平均红细胞血红蛋白浓度 MCHC/(g·L ⁻¹)	305.45±11.72	318.10±9.30
红细胞体积分布宽度 RDW-CV/%	14.80±1.41	14.29±0.62
红细胞宽度标准差 RDW-SD/fL	32.46±4.17	30.08±2.24
血小板记数 PLT/(10 ⁹ ·L ⁻¹)	628.91±	651.50±
	187.03	147.67
平均血小板体积 MPV/fL	5.84±0.39	5.95±0.52
血小板分布宽度 PDW	16.48±0.29	16.44±0.44

2.2.4 病理学观察

HE 染色结果显示,给药组与对照组小鼠中的心肌细胞均排列整齐,心肌束形态完整,心肌纤维分布均匀;肝脏细胞围绕着中央静脉向外呈放射状排列,肝小叶结构完整清晰,未见炎性细胞浸润;脾脏中皮髓交界线明显清晰,白髓和红髓中有大量的淋巴细胞分布;肺脏中肺泡结构均清晰完整,无内容物,未见坏死、变性;肾脏中肾小球肾间质均清晰可见,系膜正常,肾小管上皮细胞排列整齐,结果见图 1。

3 结论

本实验采用正交试验设计 L₉(3³),结合熵权法计算综合评分来确定最佳提取工艺。为玉液汤水提方法中的多项指标综合评价提供依据。根据

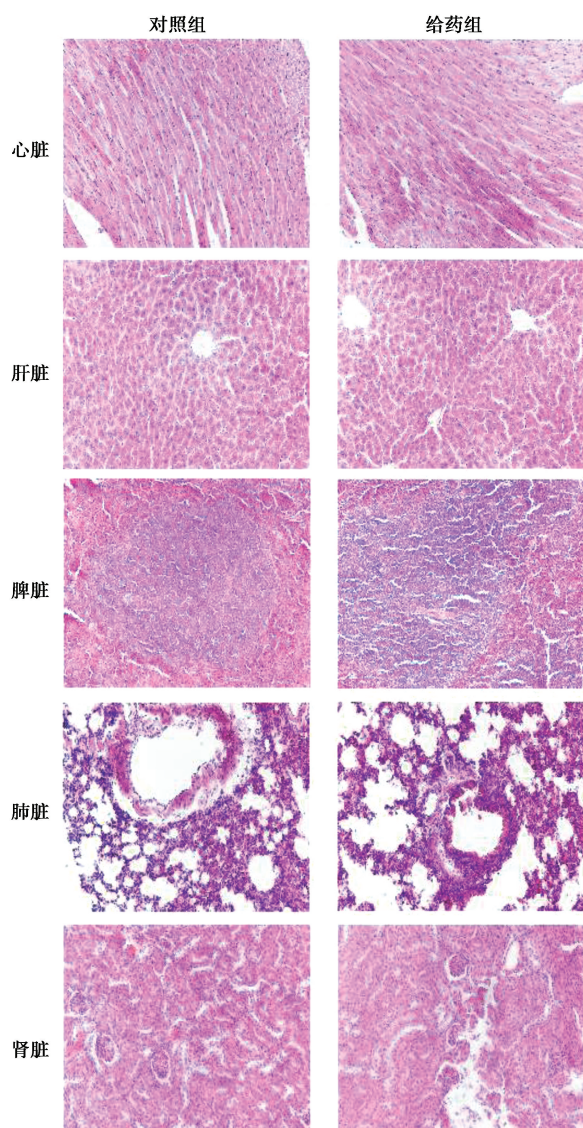


图 1 玉液汤对于小鼠各脏器的病理学影响

Fig.1 Pathological effects of Yuye decoction on various organs in mice (200×)

实验结果,以及直观分析和方差分析结果确立了加入 10 倍量的水、回流提取 2.5 h、药材浸泡 1 h 为玉液汤最佳水提工艺。

经优化提取工艺得到的复方玉液汤水提物,进一步开展急性毒性试验研究。结果发现,未能测得玉液汤干预后小鼠的 LD_{50} ,故进行了最大耐受量实验。实验中未出现小鼠中毒死亡情况。且在给药后的 14 d 内,小鼠的精神状态、毛发、摄食、饮水等一般情况未有异常,故推断小鼠对于玉液汤的 MTD 是 18.4 g/kg。对给药后各组小鼠体重与摄食量变化显示,玉液汤对雌雄小鼠的体重与摄食量增长均没有影响,说明玉液汤不影响正常小鼠的饮食和进水;血常规检测结果显示玉液汤给药 14 d 后,各组小鼠的血常规指标之间无显

著性差异,说明玉液汤对于小鼠血液成分无明显影响;血液生化指标结果显示,给药组与对照组的 5 项指标无显著性差异,说明玉液汤对于小鼠的肝功能和肾功能无明显毒性损伤;对各组小鼠病理学观察结果显示,玉液汤水提物对雌雄小鼠心、肝、脾、肺、肾均无明显的病理改变,进一步说明玉液汤水提物口服对机体主要脏器无急性毒性损伤。

综上所述,采用正交试验优化得到的玉液汤水提工艺,有效成分含量稳定,且对小鼠没有明显的毒性,说明本实验确定的玉液汤最佳水提工艺稳定、服用安全。

参考文献:

- [1] 王璐,张文凤,张锡纯论治消渴的学术思想探微[J].长春中医药大学学报,2020,36(3):412-414.
- [2] 张彦雨.玉液汤煎膏剂的制备工艺及质量标准研究[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2016.
- [3] 卢琼,盛蓉,何珊珊,等.玉液合剂质量标准研究[J].中国药业,2014,23(10):37-39.
- [4] 曲林,周爽,吕晓霞,等.玉液颗粒的质量标准研究[J].黑龙江医药,2013,26(3):413-415.
- [5] 石春香,翁金生.玉液汤加减治疗气阴两虚型消渴病的临床疗效[J].临床合理用药杂志,2021,14(27):149-151.
- [6] 杜春华.玉液降糖方联合二甲双胍对气阴两虚型 2 型糖尿病的干预效果[J].中国合理用药探索,2021,18(6):82-85.
- [7] 莫尊汇,陈美先,王鹏程,等.活心丸对小鼠的急性毒性研究[J].中国药物警戒,2021,18(10):924-929.
- [8] 查青,陈燕妮,史海龙,等.土贝母急性毒性实验研究[J].辽宁中医药大学学报,2021,23(4):41-46.
- [9] 成余勤,石森林,来平凡.基于熵权法和正交设计优化加减当归芍药散挥发油的 β -环糊精包合工艺[J].中草药,2021,52(10):2 951-2 957.
- [10] 王光函,姜鸿,刘晶,等.基于多指标综合评分法优选化胃舒颗粒挥发油包合工艺[J].中草药,2020,51(6):1 537-1 541.
- [11] 柳兰,李雅,易丽娟,等.基于多指标综合评分法优选理气活血方挥发油提取包合工艺[J].中国现代应用药学,2019,36(11):1 358-1 362.
- [12] 宋玲玲,王君明,关月晨,等.金钱草不同溶剂提取物对雷公藤毒性抑制作用的比较[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(3):63-71.
- [13] 郭平,康超,黄卉.紫叶丹胶囊对二乙基亚硝胺致肝损伤保护作用研究[J].毒理学杂志,2019,33(5):399-402.
- [14] 陈进汝,刘熙,李冬梅,等.云南松松塔提取物急性毒性实验研究[J].时珍国医国药,2017,28(8):1 837-1 840.

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022008923

化学试剂, 2022, 44(6), 872~879

电化学和新能源

基于石墨烯金粒子的肾上腺素分子印迹电化学传感器研究

孙晨阳, 康天放*, 鲁理平, 程水源

(北京工业大学 环境与生命学部 区域大气污染防治北京市重点实验室, 北京 100124)

摘要:制备了石墨烯和金纳米粒子的复合物(GS-AuNP),用扫描电镜对其进行了表征。将该复合物和壳聚糖(CS)依次修饰到玻碳电极(GCE)表面,制得修饰电极(CS/GS-AuNP/GCE)。以3-氨基苯硼酸盐(APBA)为单体,肾上腺素(EP)分子为模板,采用循环伏安法(CV)在该修饰电极表面进行电聚合,制备了分子印迹聚合物(MIP)膜,洗脱掉模板分子EP后得到分子印迹传感器(MIP/CS/GS-AuNP/GCE),用于肾上腺素的检测。溶液中的EP可与传感器表面的MIP特异性结合,在富集一定时间后,通过差分脉冲伏安法(DPV)检测溶液中EP的浓度。在优化的实验条件下,DPV峰电流分别在 $1.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ mol/L及 $1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ mol/L EP的浓度范围内随EP浓度的增大而呈线性增大,检出限为 5×10^{-8} mol/L。制备的MIP/CS/GS-AuNP/GCE传感器成功应用于实际样品中的肾上腺素含量检测,回收率在98%~105%之间。

关键词:GS-AuNP复合物;电化学传感器;分子印迹聚合物;电聚合;肾上腺素

中图分类号:O657.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2022)06-0872-08

Molecularly Imprinted Electrochemical Sensor for Epinephrine Based on the Composite of Graphene and Gold Particles

SUN Chen-yang, KANG Tian-fang*, LU Li-ping, CHENG Shui-yuan (Key Laboratory of Beijing on Regional Air Pollution Control, Faculty of Environment and Life, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 872~879

Abstract: The composite of the graphene sheet (GS) and gold nanoparticles (AuNP) was prepared and characterized by using scanning electron microscope. The as-made composite and chitosan (CS) were modified onto the surface of a glassy carbon electrode in sequence to prepare a modified electrode (denoted as CS/GS-AuNP/GCE). Using 3-aminophenylboronic acid (APBA) as monomer and epinephrine (EP) molecules as a template, electropolymerization was carried out on the surface of the modified electrode by cyclic voltammetry (CV). After eluting the template EP, the molecularly imprinted electrochemical sensor (MIP/CS/GS-AuNP/GCE) was obtained. EP can specifically bind to the MIP on the surface of the sensor. After a certain period of enrichment, the concentration of EP in the solution can be detected by differential pulse voltammetry (DPV). Under optimized experimental conditions, the DPV peak current increased linearly with the increase of EP concentration in the ranges of $1.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ mol/L and $1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ mol/L. The detection limit is 5×10^{-8} mol/L. In conclusion, the MIP/CS/GS-AuNP/GCE sensor was successfully applied to the detection of EP in actual samples with a good recovery rate of 98% to 105%.

Key words: GS-AuNP composite; electrochemical sensor; molecularly imprinted polymer; electropolymerization; epinephrine

肾上腺素(EP)是一种由神经系统或肾上腺髓质分泌的儿茶酚胺类神经递质^[1],具有加速人体心跳与血液流动,加快代谢转换的作用。肾上腺素被广泛应用于多种疾病的临床治疗,如过敏性休克、支气管哮喘及心搏骤停等。此外,由于肾上腺素可以加快人体反应能力,各类体育赛事均明确禁止运动员使用肾上腺素类药物^[2]。

目前,国内外检测EP的方法有高效液相色谱法^[3]、毛细管电泳法^[4]、荧光法^[5]和电化学法^[6]。其中,电化学法由于具有操作简单、成本低廉、灵敏度高优点而受到了广泛关注^[7]。然而,肾上腺素的检测环境中包含大量的干扰物质,

如尿酸(UA)、抗坏血酸(AA)及其他神经递质等,且干扰物质的浓度通常高于肾上腺素的浓度,但传统的电化学方法缺少特异性,检测效果较差。

收稿日期:2022-01-11;网络首发日期:2022-03-11

基金项目:北京市科技计划项目(Z171100002217002);教育部博士点基金资助项目(20131103110011)。

作者简介:孙晨阳(1998-),男,河北衡水人,硕士生,主要从事电化学分析的研究。

通讯作者:康天放, E-mail: kangtf@bjut.edu.cn。

引用本文:孙晨阳,康天放,鲁理平,等.基于石墨烯粒子的肾上腺素分子印迹电化学传感器研究[J].化学试剂, 2022, 44(6): 872-879。

因此,建立具有准确度高、灵敏度高、选择性好的肾上腺素电化学传感检测方法具有重要意义。

分子印迹技术是通过制备具有特定空间结构孔穴的分子印迹聚合物,使其对模板分子具有专一性识别的技术,用分子印迹聚合物制备传感器的敏感膜,可以提高传感器的选择性。近年来,有关 EP 分子印迹电化学传感器已有一些研究报告^[8],但已有的分子印迹传感器还存在一些缺点,如印迹分子包埋过深、灵敏度低等。金纳米粒子具有良好的电化学性能,石墨烯(GS)可用于负载活性物质,两者协同作用可以促进电子快速转移,进而极大提高传感器的灵敏度^[9]。通过电聚合法可以在纳米材料表面制备分子印迹聚合物膜,使印迹孔穴位于聚合物膜表面,便于模板分子的吸附与解离,因此具有更好的检测选择性和灵敏度^[10]。

本文在玻碳电极(GCE)表面依次修饰石墨烯(GS)与金纳米粒子(AuNP)的复合物(GS-AuNP)和壳聚糖(CS)溶液。CS 成膜性能好,能防止 GS-AuNP 修饰层从 GCE 表面脱落,提高了电极表面的稳定性。选用 3-氨基苯硼酸(APBA)为功能单体,肾上腺素(EP)为模板分子,肾上腺素作为邻苯二酚的衍生物,可以与 APBA 中的硼酸基团结合形成环状硼酸酯结构^[2]。本文采用循环伏安法在 CS/GS-AuNP/GCE 表面电聚合分子印迹膜,制得分子印迹电化学传感器,建立了检测 EP 的电化学分析方法。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

CHI660e 型电化学分析仪(循环伏安法实验,采用三电极系统:以直径 3 mm 的玻碳电极或修饰电极为工作电极,饱和甘汞电极为参比电极,Pt 丝电极为对电极,上海辰华仪器有限公司);JSM6301F 型扫描电子显微镜(日本电子公司);UV-2450 型紫外-可见吸收光谱仪(日本岛津公司)。

3-氨基苯硼酸盐(APBA)、(±)-肾上腺素盐酸盐、石墨烯纳米片(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);抗坏血酸、尿酸、果糖(国药集团化学试剂有限公司);可溶性淀粉(分子量 342.3,上海麦克林生化科技有限公司);氯金酸($\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Au}\% > 47\%$,天津光复精细化工研究所);壳聚糖(百灵威科技有限公司);NaOH、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot$

$12\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、KCl、乙醇、冰醋酸、硫酸、葡萄糖(天津福晨化学试剂厂)。上述所用试剂均为分析纯,实验用水由 Milli-Q Advantage A10 超纯水系统(法国 Millipore 公司)制备。

1.2 石墨烯-金纳米粒子复合物的制备

参考文献[9]方法制备石墨烯-金纳米粒子复合材料(GS-AuNP)。首先,取 5 mg GS 加入 10 mL 超纯水中,超声 2 h,得到均匀的 GS 悬浊液。然后依次将 0.5 mL (1.0 wt%) HAuCl_4 和 1 mg NaOH 加入到 GS 悬浊液中,超声 3 h,使 $[\text{AuCl}_4]^-$ 离子附着在石墨烯纳米片表面,金纳米粒子在石墨烯纳米片上原位生长。然后将混合液以 8 000 r/min 离心 10 min,用超纯水清洗沉淀,重复 3 次,在 80 °C 真空干燥后制得 GS-AuNP 复合材料。然后将 GS-AuNP 分散到超纯水中,制得 1.0 mg/mL 悬浊液,放于 4 °C 冰箱中备用。

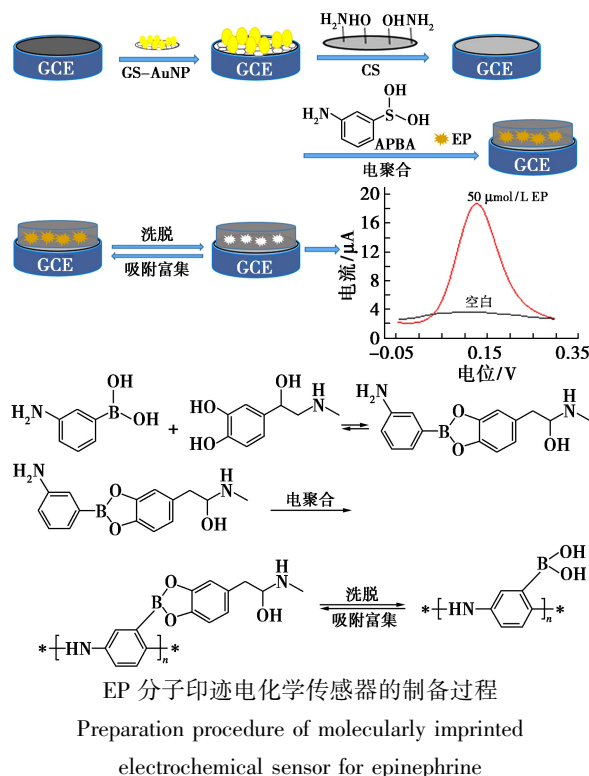
1.3 MIP 电化学传感器的制备

肾上腺素分子印迹传感器的构建过程如下页图所示。先将 GCE 用 0.5 μm 的氧化铝悬浊液抛光成镜面,用水清洗干净,然后依次用超纯水、无水乙醇、超纯水各超声清洗 4 min,氮气吹干。然后将 10 μL GS-AuNP 悬浊液滴涂到电极表面,室温晾干。继续滴涂 6 μL 含 0.02 mol/L 醋酸的 0.25 mg/mL 壳聚糖溶液,晾干后得到修饰电极 CS/GS-AuNP/GCE。配制含 10 mmol/L APBA 和 10 mmol/L 肾上腺素的 0.1 mol/L、pH 7.4 磷酸盐缓冲溶液(PBS),通氮除氧 5 min,然后避光静置 4 h,APBA 作为苯硼酸的衍生物可以与 EP 的羟基通过共价键形成苯硼酸酯。将 CS/GS-AuNP/GCE 电极浸入到 10 mL 该溶液中,在 -0.2 ~ +1.0 V 以 50 mV/s 的速率循环伏安扫描 10 圈,用超纯水冲洗干净,然后置于 0.5 mol/L H_2SO_4 溶液中,搅拌洗脱 5 min,以去除分子印迹膜中的绝大部分肾上腺素模板分子,用超纯水冲洗后,将电极置于 0.5 mol/L H_2SO_4 溶液中,在 0 ~ +1.5 V 的电位范围内以 100 mV/s 的速率循环伏安扫描 10 圈,以除去残存的模板分子,得到分子印迹聚合物膜修饰电极 MIP/CS/GS-AuNP/GCE。非分子印迹传感器的制备方法除了制备过程不加入模板分子肾上腺素以外,其他步骤与分子印迹传感器的制备相同。

1.4 测定方法

取 10 mL 含有不同浓度肾上腺素的 0.1 mol/L、pH 7.4 的磷酸盐缓冲溶液(PBS)置于电解池中,

向溶液通入高纯氮气 5 min, 以便除去溶解氧, 为了防止空气中的氧气重新溶入溶液, 在电化学测定过程中实行氮气氛围保护。将三电极放入溶液中, 静置富集 10 min, 而后进行循环伏安或差分脉冲伏安 (DPV) 扫描, 记录扫描曲线。循环伏安扫描的电位范围为 $-0.2 \sim +0.6$ V, 扫描速率 100 mV/s。差分脉冲伏安实验的参数如下: 电位增量 4 mV, 脉冲幅度 50 mV, 脉冲宽度 0.05 s, 取样间隔 0.016 7 s, 脉冲周期 0.5 s, 静置时间 2 s, 电位扫描范围 $-0.05 \sim +0.30$ V。

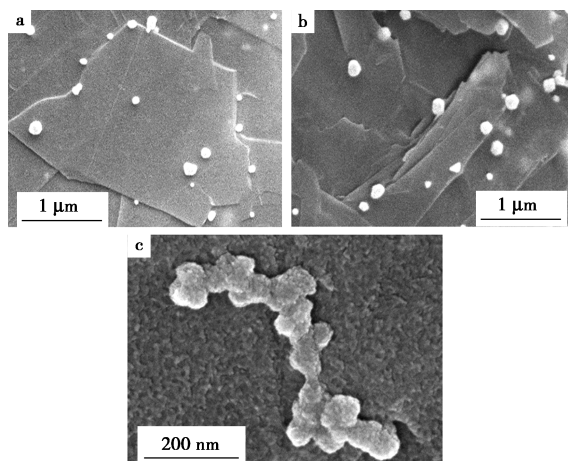


2 结果与讨论

2.1 CS/GS-AuNP 修饰电极的表征

图 1a 为石墨烯-金纳米粒子复合物修饰玻碳电极 (GS-AuNP/GCE) 的扫描电镜图。从图 1a 可以看出, AuNP 形状单一且呈球形, 直径在 70 ~ 170 nm, 均匀生长在石墨烯纳米片表面。图 1b 为 CS/GS-AuNP 的扫描电镜图。滴涂在电极表面的壳聚糖形成了一层无色的膜, 提高了 GS-AuNP 修饰材料在电极表面的稳定性。相比于 GS-AuNP 复合材料, 壳聚糖形成的粘性膜使 CS/GS-AuNP 表面更加粗糙。图 1c 为电聚合后 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 电极的扫描电镜图。由图 1c 可见, 电聚合后的 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 电极表面高度交联, 金纳米粒子表面包裹了一层聚合物薄膜, 电

极表面变得更加粗糙。



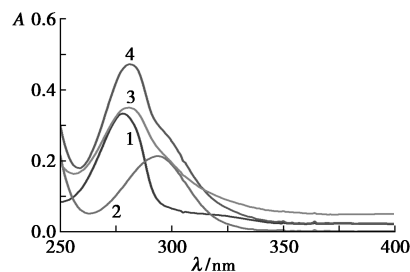
a. GS-AuNP; b. CS/GS-AuNP; c. MIP/CS/GS-AuNP/GCE

图 1 扫描电镜图

Fig.1 Scanning electron microscopy images

2.2 EP 和 APBA 的相互作用

本文采用紫外吸收光谱法研究了 EP 和 APBA 之间的相互作用。图 2 为 0.1 mmol/L EP 溶液 (曲线 1)、0.1 mmol/L APBA 溶液 (曲线 2)、含 0.1 mmol/L EP 和 0.1 mmol/L APBA 的混合溶液 (曲线 3) 的紫外吸收光谱, 以及该混合溶液的模拟紫外吸收光谱 (曲线 4)。由图 2 可知, EP 和 APBA 均在 250 ~ 325 nm 区域产生强吸收带, 该紫外吸收带是由芳环结构的 $\pi-\pi^*$ 跃迁引起的特征吸收谱带。EP 的最大吸收波长为 278 nm, 吸光度为 0.333; APBA 的最大吸收波长为 293 nm, 吸光度为 0.213; 混合溶液的最大吸收波长为 282 nm, 吸光度为 0.348; 将曲线 1 和曲线 2 吸光度加和后的拟合曲线 4 的最大吸收波长为 279 nm, 吸光度为 0.472。



1. 1.0×10^{-4} mol/L EP; 2. 1.0×10^{-4} mol/L APBA;
3. 混合溶液; 4. 模拟曲线

图 2 紫外吸收光谱图

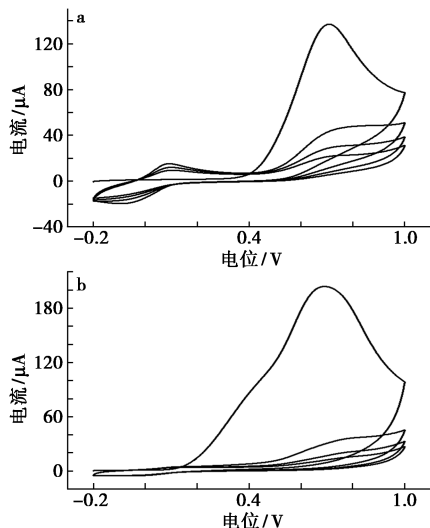
Fig.2 Ultraviolet absorption spectra

根据朗伯比尔定律, 若各吸光物质间没有相互作用, 体系的总吸光度等于各组分吸光度之和。而与拟合曲线 4 相比, 曲线 3 的吸光度值减小, 且

最大吸收波长红移,证明肾上腺素与 3-氨基苯硼酸之间存在相互作用,两者之间形成了苯硼酸酯结构^[11]。

2.3 分子印迹膜的表征

图 3a 为 3-氨基苯硼酸的电聚合循环伏安曲线。在电聚合制备聚氨基苯硼酸的过程中,0.7 V 附近有明显的氧化峰,该氧化峰对应被吸附的 APBA 单体氧化为自由基阳离子,自由基阳离子发生偶合反应,在 CS/GS-AuNP/GCE 电极表面生成了聚合物薄膜。在 0 V 附近出现了一对氧化还原峰,对应非导电的还原态聚苯胺转化为中间氧化态聚苯胺的过程^[2,12]。随着循环伏安扫描圈数增加,峰电流逐渐降低,氧化峰电位发生正移,还原峰电位发生负移,说明电极表面形成了一层导电性不佳的聚合物膜。



a. 非印迹聚合的循环伏安图; b. 分子印迹聚合的循环伏安图

图 3 电聚合制备分子印迹膜的循环伏安曲线

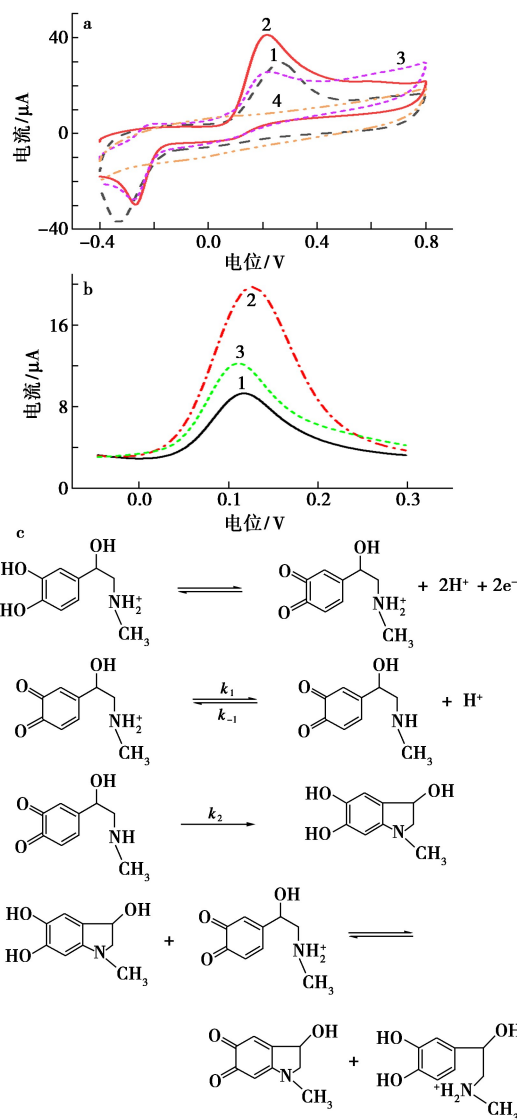
Fig.3 Cyclic voltammograms of molecularly imprinted films prepared by electropolymerization

图 3b 为含有肾上腺素的 3-氨基苯硼酸电聚合循环伏安曲线。与 3-氨基苯硼酸单一组分存在时的电聚合曲线(图 3a)相比,图 3b 的循环伏安曲线在 0 V 附近的氧化还原峰的峰电流明显降低,且位于 0.7 V 附近的氧化峰电流显著增大,说明 3-氨基苯硼酸与肾上腺素模板分子之间发生了强烈的相互作用,形成了苯硼酸酯 APBA-EP。由图 3b 可见,电聚合 APBA-EP 过程中,阳极电流从 0.2 V 开始逐渐增大,而 APBA 电聚合时阳极电流在 0.4 V 处才明显增大,这是因为在第一圈阳极扫描时,少部分游离的 EP 被电氧化,由邻苯二酚衍生物被氧化成邻苯二醌衍生物,该过程对

应 0.2~0.4 V 产生的较小的氧化峰,并且与位于 0.7 V 附近的氧化峰发生重叠。

2.4 修饰电极的电化学特性

用循环伏安法和差分脉冲伏安法表征了不同修饰电极。图 4a 为不同修饰电极在含有 5.0×10^{-5} mol/L 肾上腺素的 PBS 溶液中的循环伏安图,



a. CV 图, 曲线 1~4 分别为 CS/GS-AuNP/GCE、MIP/CS/GS-AuNP/GCE、NIP/CS/GS-AuNP/GCE 在含 5.0×10^{-5} mol/L 肾上腺素的磷酸盐缓冲溶液中的 CV 曲线, 以及 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 在空白磷酸盐缓冲溶液中的 CV 曲线; b. DPV 图, 曲线 1~3 分别为 CS/GS-AuNP/GCE、MIP/CS/GS-AuNP/GCE、NIP/CS/GS-AuNP/GCE 在含 5.0×10^{-5} mol/L 肾上腺素的磷酸盐缓冲溶液中的 DPV 曲线; c. 肾上腺素的电化学反应机理

图 4 肾上腺素在不同修饰电极上的循环伏安图和差分脉冲伏安图及电化学反应机理

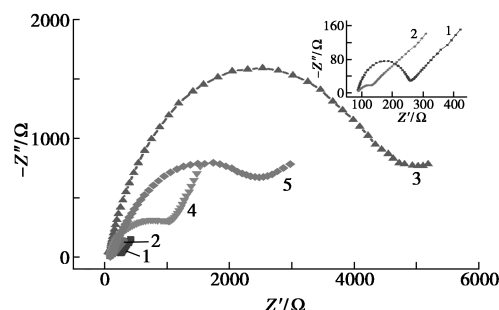
Fig.4 CV and DPV curves of EP at different modified electrodes and the mechanism of electrochemical reaction

扫描电位范围为 $-0.4 \sim 0.8$ V,可以观察到在 0.2 V 和 -0.3 V 处分别有明显的氧化峰和还原峰。由图 4a 可见,MIP/CS/GS-AuNP/GCE 在肾上腺素溶液中的循环伏安氧化峰电流(曲线 2)明显高于 CS/GS-AuNP/GCE 在该溶液中的峰电流(曲线 1),说明相比于不具有特异性识别功能的 CS/GS-AuNP 复合材料,所制备的分子印迹膜对肾上腺素具有良好的选择性吸附性能。肾上腺素在非印迹的 NIP/CS/GS-AuNP/GCE 电极上的循环伏安氧化峰电流(曲线 3)明显小于其在 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 和 CS/GS-AuNP/GCE 电极上的氧化峰电流,这是因为非印迹电极表面没有与模板分子肾上腺素互补的印迹孔穴,且导电性欠佳,只能通过非特异性吸附富集溶液中的肾上腺素,选择性和响应灵敏度相对较差。将分子印迹电极 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 浸入空白磷酸盐缓冲液中循环伏安扫描一圈(曲线 4),得到的 CV 曲线平坦无峰,说明印迹电极中的肾上腺素已经完全洗脱。

图 4b 为不同修饰电极在含 5.0×10^{-5} mol/L 肾上腺素溶液中的 DPV 曲线,电位扫描范围为 $-0.05 \sim 0.30$ V,肾上腺素在 CS/GS-AuNP/GCE 电极上的峰电流明显小于肾上腺素在 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 修饰电极上的峰电流。NIP/CS/GS-AuNP/GCE 修饰电极对溶液中的肾上腺素具有一定的非特异性吸附能力,但由于缺少能特异性结合肾上腺素模板分子的印迹孔穴,肾上腺素在 NIP/CS/GS-AuNP/GCE 修饰电极上的峰电流显著小于在 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 修饰电极上的峰电流。CV 与 DPV 表征结果均说明 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 修饰电极对肾上腺素的检测性能更好。图 4c 为模板分子肾上腺素的反应机理方程式,肾上腺素首先在工作电极上发生的电氧化反应,随后发生化学反应^[13]。

用电化学阻抗法(EIS)考察了不同修饰电极的阻抗变化。如图 5 所示,相比于裸玻碳电极(曲线 1),CS/GS-AuNP/GCE 修饰电极(曲线 2)的阻抗明显减小,说明 CS/GS-AuNP 修饰材料具有良好的导电性。在 CS/GS-AuNP/GCE 修饰电极表面电聚合制备 MIP 膜(曲线 3)后,阻抗明显增大,这是因为形成的 MIP 聚合膜比较致密,导电性差。用硫酸溶液将印迹膜中的模板分子洗脱后(曲线 4),MIP 聚合膜中形成了与模板分子互补的印迹孔穴,印迹孔穴可作为离子转移通道,加快 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 探针的电子传递速率,阻抗明

显下降。MIP/CS/GS-AuNP/GCE 修饰电极在 5.0×10^{-5} mol/L 肾上腺素溶液中富集 10 min 后(曲线 5),肾上腺素与印迹孔穴特异性结合,离子转移通道被阻断,阻抗值增大。



1. 裸 GCE; 2. CS/GS-AuNP/GCE; 3. 洗脱前的 MIP/CS/GS-AuNP/GCE; 4. 洗脱后的 MIP/CS/GS-AuNP/GCE; 5. 在肾上腺素溶液中富集后的 MIP/CS/GS-AuNP/GCE

图 5 不同修饰电极的 EIS 图

Fig.5 EIS curves of different modified electrodes

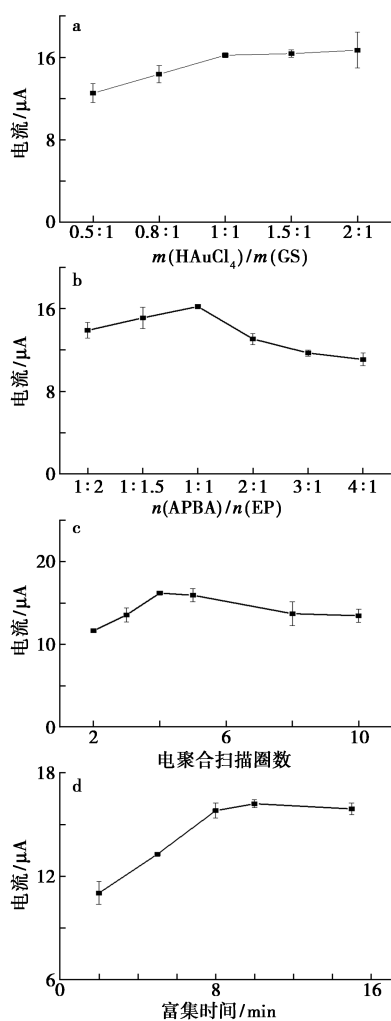
2.5 实验条件优化

研究了复合材料中石墨烯/氯金酸的质量比及电聚合溶液中 3-氨基苯硼酸/肾上腺素浓度比、电聚合扫描圈数、富集时间对修饰电极检测性能的影响。以不同条件下制备的分子印迹电极 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 作为工作电极,将三电极浸入已事先通氮除过氧的含 5.0×10^{-5} mol/L 肾上腺素的 PBS 溶液中,静置富集 10 min,通过比较 DPV 峰电流的大小确定最佳实验条件。

优化了复合材料制备过程中氯金酸/石墨烯的质量比对 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 传感器性能的影响。按照 HAuCl_4/GS 质量比为 0.5:1、0.8:1、1:1、1.5:1、2:1 分别制备了 GS-AuNP 复合材料,结果如图 6a 所示。当 HAuCl_4/GS 质量比小于 1:1 时,随着制备过程中氯金酸质量的增加,MIP/CS/GS-AuNP/GCE 传感器峰电流逐渐增大。当 HAuCl_4/GS 质量比达到 1:1 后,若再进一步增加氯金酸的用量,则传感器峰电流不再明显增加,因此为降低传感器的制备成本,在后续制备 GS-AuNP 复合材料的实验中,选择 HAuCl_4/GS 质量比为 1:1。

考察了电聚合溶液中功能单体/模板分子(APBA/EP)的物质的量比对 EP 在 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 传感器上响应性能的影响。如图 6b 所示,制备传感器所采用的 APBA 和 EP 的物质的量比为 1:2、1:1.5、1:1、2:1、3:1、4:1,MIP/CS/GS-AuNP/GCE 峰电流随 APBA/EP 物质的量比升高呈先增高后减小的趋势,当 APBA/EP 物质

的量比为 1:1 时, MIP/CS/GS-AuNP/GCE 传感器峰电流最大。这是因为 APBA/EP 物质的量比小于 1:1 时, 功能单体的数量不足, 不能形成足够的印迹孔穴。随着 APBA/EP 物质的量比逐渐增大, 溶液中存在许多未与模板分子 EP 结合的 APBA 分子, 由此电聚合得到的印迹膜较为平坦, 洗脱后形成的印迹位点数量减少, 制备的 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 传感器性能较差。因此本文在后续实验中选择 APBA/EP 的物质的量比为 1:1。



a. HAuCl₄ 和 GS 的质量比; b. APBA 和 EP 的物质的量比;
c. 电聚合扫描圈数; d. 富集时间

图 6 不同实验条件对 EP 的差分脉冲伏安峰电流的影响

Fig.6 Effects of different experimental conditions on peak current of DPV of EP

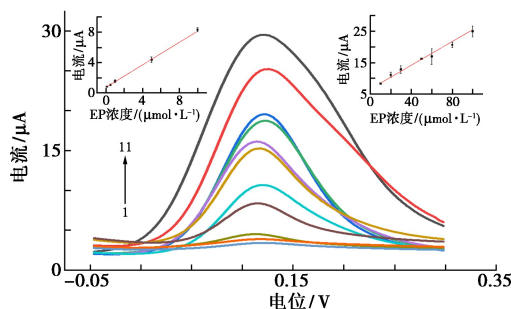
考察了扫描圈数对 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 传感器检测性能的影响。将 CS/GS-AuNP/GCE 浸入含 0.010 mol/L APBA 和 0.010 mol/L EP 的 0.1 mol/L、pH 7.4 磷酸缓冲溶液中, 分别循环伏安扫描 2、3、4、5、8、10 圈。如图 6c 所示, 循环伏

安扫描 4 圈后, 制备的传感器具有最佳检测性能。当电聚合少于 4 圈时, 生成的印迹位点不足, 对 EP 的检测灵敏度下降。当电聚合多于 4 圈时, 分子印迹膜厚度增加, 印迹位点被包裹, 模板分子与印迹位点结合的阻碍程度增大, 也会导致传感器对 EP 的检测灵敏度降低。因此本文选择电聚合循环伏安扫描的圈数为 4 圈。

优化了传感器在肾上腺素溶液中的富集时间, 在富集了 2、5、8、10、15 min 后, 分别测定肾上腺素在 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 传感器上的峰电流, 结果如图 6d 所示。随着富集时间增加, 峰电流逐渐增大, 在 8 min 后逐渐趋于稳定。为保证检测效果, 后续实验选择 10 min 作为富集时间。

2.6 线性工作曲线

在最佳实验条件下制备了 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 传感器, 采用差分脉冲伏安法对不同浓度的肾上腺素溶液进行检测。图 7 为该传感器在不同浓度的肾上腺素溶液中富集 10 min 后, 记录到的 DPV 曲线, 小插图 of DPV 峰电流 i_p 与 EP 浓度之间的标准曲线。在 $1.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ mol/L 浓度范围内, 峰电流 i_p 与 EP 浓度呈线性关系, 线性回归方程为 $i_p (\mu A) = 0.7553 + 0.7370c$ ($\mu mol/L$), 相关系数 γ 为 0.9931。此外, 在 $1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ mol/L 浓度范围内, 峰电流 i_p 也与 EP 浓度呈线性关系, 线性回归方程为 $i_p (\mu A) = 6.605 + 0.1890c$ ($\mu mol/L$), 相关系数 γ 为 0.9933。传感器的检出限 ($S/N=3$) 为 5×10^{-8} mol/L。将本研究结果与近年来其他文献报道的方法进行对比, 结果表明本研究制备的 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 传感器具有较低的检出限或较宽的线性范围(表 1)。



曲线 1~11 对应的浓度分别为 1.0×10^{-7} 、 5.0×10^{-7} 、 1.0×10^{-6} 、 5.0×10^{-6} 、 1.0×10^{-5} 、 2.0×10^{-5} 、 3.0×10^{-5} 、 5.0×10^{-5} 、 6.0×10^{-5} 、 8.0×10^{-5} 、 1.0×10^{-4} mol/L EP; 插图: 标准曲线

图 7 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 传感器对不同浓度 EP 的差分脉冲伏安曲线

Fig.7 DPV curves of MIP/CS/GS-AuNP/GCE sensor toward different concentrations of EP

表 1 不同传感器差分脉冲伏安法检测
肾上腺素的比较^注

Tab.1 Comparison of different sensors for the
determination of EP by DPV

修饰电极类型	线性范围/ (mol·L ⁻¹)	检出限/ (mol·L ⁻¹)	参考 文献
f-MWCNTs/BR9/GCE	$1.96 \times 10^{-5} \sim 8.25 \times 10^{-5}$	9.0×10^{-6}	[14]
Au/ZnO/PPy/RGO/GCE	$6.0 \times 10^{-7} \sim 5.0 \times 10^{-4}$	5.8×10^{-8}	[15]
MIP/AuNPs/GCE	$9.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-4}$	7.6×10^{-8}	[16]
NiONP-MWCNT-DHP/GCE	$7.0 \times 10^{-8} \sim 4.8 \times 10^{-6}$	5.0×10^{-8}	[17]
AgNP/SiO ₂ /GO-修饰电极	$2.0 \times 10^{-6} \sim 8.0 \times 10^{-5}$	2.7×10^{-7}	[18]
MIP/CS/GS-AuNP/GCE	$1.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$, $1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4}$	5.0×10^{-8}	本文

注:f-MWCNTs(Functionalized multiwall carbon nanotubes):功能化多壁碳纳米管;BR9(Basic red 9):碱性红 9;RGO(Reduced graphene oxide):还原氧化石墨烯;NiONP(Nickel oxide nanoparticles):氧化镍纳米粒子;DHP(Dihexadecylphosphate):磷酸二鲸蜡酯;AgNP(Silver nanoparticles):银纳米粒子;GO(Graphene oxide):氧化石墨烯。

2.7 传感器的重现性、稳定性及干扰实验

取 5 支用相同方法制备的印迹电化学传感器,在 0.1 mol/L PBS(pH 7.4)中采用 DPV 检测 8.0×10^{-5} mol/L EP, 计算得到的相对标准偏差(RSD)为 4.2%, 表明该传感器具有良好的重现性。将电极放在 4 ℃ 的冰箱中保存 10 d, 测量的 EP 氧化峰电流与初始峰电流比较, 为初始峰电流

的 97.8%, 说明该方法制备的分子印迹传感器具有良好的稳定性。

使用干扰物抗坏血酸(Ascorbic acid, AA)、尿酸(Uric acid, UA)、果糖(Fructose, Fru)、葡萄糖(Glucose, Glu)、可溶性淀粉(Amylum, Amy)、SO₄²⁻、Mg²⁺ 对传感器进行特异性评估。干扰实验所用肾上腺素浓度均为 2.0×10^{-5} mol/L, AA、UA、Fru、Glu、Amy 浓度均为 2.0×10^{-4} mol/L, SO₄²⁻ 和 Mg²⁺ 浓度为 2.0×10^{-3} mol/L。实验结果如图 8a 所示, 当各干扰物与 EP 共存时, DPV 峰电流变化幅度在 6.9% ~ 11.8% 之间, 说明制备的传感器具有良好的选择性。图 8b 为印迹电化学传感器在含不同干扰物质的肾上腺素溶液中的 DPV 曲线。

2.8 实际样品检测

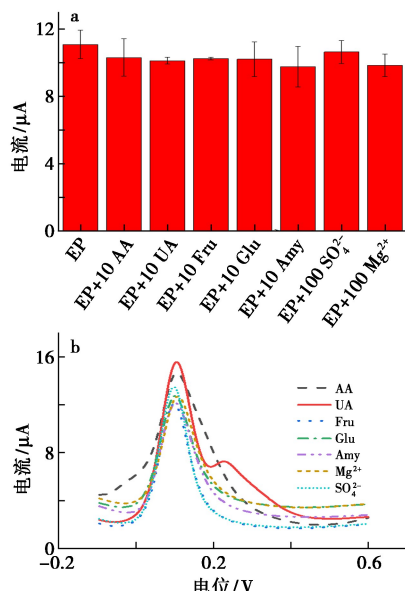
采用本文制备的 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 传感器对市售的盐酸肾上腺素注射液(兽用) 和正常人血清样品进行检测。盐酸肾上腺素注射液购自上海全宇生物科技动物药业有限公司, 正常人血清购自 Genia Life Science。采用标准加入法, 用 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 传感器对盐酸肾上腺素注射液样品及人血清样品进行检测, 结果如表 2 所示。按照线性工作曲线计算得到的样品中肾上腺素浓度与实际浓度比较接近, 证明 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 传感器对实际样品中的肾上腺素具有良好的检测性能。

表 2 肾上腺素注射液样品的检测^注

Tab.2 Determination of epinephrine injection samples

样品	注射液 1	注射液 2	注射液 3	人血清样品
检出量 ¹⁾ /mg	0.99	1.00	1.09	Nd ²⁾
肾上腺素含量/mg	1.0	1.0	1.0	—
RSD/%	5.24	9.86	7.02	—
加标量/mg	1.0	1.0	1.0	1.0
检出量/mg	1.01	1.00	1.05	0.98
回收率/(%) ± S. D. (n=5)	101 ± 4	100 ± 8	105 ± 5	98 ± 7

注: 1) 5 次测定的平均值; 2) Nd: 未检出。



a. 印迹传感器在含不同干扰物的 EP 溶液中的 DPV 峰电流;
b. 印迹传感器在含不同干扰物质的 EP 溶液中的 DPV 曲线
图 8 不同物质对 EP 在传感器上差分脉冲伏安峰
电流的影响

Fig.8 Effects of different species on the DPV
current of EP at the sensor

3 结论

本工作选取了具有良好导电性的 GS-AuNP 复合材料作为基底材料, 以 APBA 作为功能单体, 基于 APBA 与 EP 之间可以形成苯硼酸酯结构的原理, 采用电聚合法在修饰电极表面制备了 EP 分子印迹聚合物, 成功构建了 MIP/CS/GS-AuNP/GCE 传感器。研究表明, 制备的传感器具有良好的选择性和抗干扰性、线性范围宽、检出限

低,且具有良好的稳定性及重复性,对实际样品中EP的检测具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] VALENTINI F, CIAMBELLA E, CONTE V, et al. Highly selective detection of epinephrine at oxidized single-wall carbon nanohorns modified screen printed electrodes (SPEs) [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2014, **59**: 94-98.
- [2] ZHANG J, GUO X T, ZHOU J P, et al. Electrochemical preparation of surface molecularly imprinted poly (3-aminophenylboronic acid)/MWCNTs nanocomposite for sensitive sensing of epinephrine [J]. *Mater. Sci. Eng. C*, 2018, **91**: 696-704.
- [3] CARRERA V, SABETER E, VILANOVA E, et al. A simple and rapid HPLC-MS method for the simultaneous determination of epinephrine, norepinephrine, dopamine and 5-hydroxytryptamine: Application to the secretion of bovine chromaffin cell cultures [J]. *J. Chromatogr. B*, 2007, **847**(2): 88-94.
- [4] ZLATUSE D P, DAVID C C, CHRISTOPHER R B, et al. Determination of catecholamines and metanephrines in urine by capillary electrophoresis-electrospray ionization-time-of-flight mass spectrometry [J]. *J. Chromatogr. B*, 2002, **776**(2): 221-229.
- [5] MENON S, JESNY S, SIVASANKARAN U, et al. Fluorometric determination of epinephrine: A green approach [J]. *Anal. Sci.*, 2016, **32**(9): 999-1 001.
- [6] SHAHROKHIAN S, GHALKHANI M, AMINI M K. Application of carbon-paste electrode modified with iron phthalocyanine for voltammetric determination of epinephrine in the presence of ascorbic acid and uric acid [J]. *Sensor. Actuat. B-Chem.*, 2009, **137**(2): 669-675.
- [7] SHAHROKHIAN S, SABERI R S. Electrochemical preparation of over-oxidized polypyrrole/multi-walled carbon nanotube composite on glassy carbon electrode and its application in epinephrine determination [J]. *Electrochim. Acta*, 2011, **57**(15): 132-138.
- [8] HUYNH T P, BIKRAM K C C, LISOWSKI W, et al. Molecularly imprinted polymer of bis(2,2'-bithienyl) methanes for selective determination of adrenaline [J]. *Bioelectrochemistry*, 2013, **93**: 37-45.
- [9] MA Y, SHEN X L, ZENG Q, et al. A glassy carbon electrode modified with graphene nanoplatelets, gold nanoparticles and chitosan, and coated with a molecularly imprinted polymer for highly sensitive determination of prostate specific antigen [J]. *Microchim. Acta*, 2017, **184**(11): 4 469-4 476.
- [10] ZENG Y B, ZHOU Y, KONG L, et al. A novel composite of SiO₂-coated graphene oxide and molecularly imprinted polymers for electrochemical sensing dopamine [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2013, **45**: 25-33.
- [11] EGAWA Y, GOTOH R, SEKI T, et al. Sugar response of boronic acid-substituted azobenzene dye-modified polymer [J]. *Mater. Sci. Eng. C*, 2009, **29**(1): 115-118.
- [12] DEORE B A, HACHEY S, FREUND M S. Electroactivity of electrochemically synthesized poly (aniline boronic acid) as a function of pH: Role of self-doping [J]. *Chem. Mater.*, 2004, **16**(8): 1 427-1 432.
- [13] HAWLEY M D, TATAWAWADI S V, PIEKARSKI S, et al. Electrochemical studies of the oxidation pathways of catecholamines [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1967, **89**: 447-450.
- [14] LI Y, ALI M A, CHEN S M, et al. Poly (basic red 9) doped functionalized multi-walled carbon nanotubes as composite films for neurotransmitters biosensors [J]. *Colloids Surf. B*, 2014, **118**: 133-139.
- [15] GHANBARI K, HAJIAN A. Electrochemical characterization of Au/ZnO/PPy/RGO nanocomposite and its application for simultaneous determination of ascorbic acid, epinephrine, and uric acid [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 2017, **801**: 466-479.
- [16] LIU F, KAN X W. Conductive imprinted electrochemical sensor for epinephrine sensitive detection and double recognition [J]. *J. Electroanal. Chem.*, 2019, **836**(1): 182-189.
- [17] FIGUEIREDO L C, SILVA T A, VICENTINI F C, et al. Simultaneous voltammetric determination of dopamine and epinephrine in human body fluid samples using a glassy carbon electrode modified with nickel oxide nanoparticles and carbon nanotubes within a dihexadecylphosphate film [J]. *Analyst*, 2014, **139**(11): 2 842-2 849.
- [18] FERNANDO H C, THIAGO C C, RICHARD L, et al. Simultaneous determination of epinephrine and dopamine by electrochemical reduction on the hybrid material SiO₂/graphene oxide decorated with Ag nanoparticles [J]. *Analyst*, 2014, **139**(18): 4 634-4 640.

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022008842

化学试剂, 2022, 44(6), 880~887

茜素绿染料的 Ti/PbO₂ 电极与 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极催化降解比较研究

沈宏^{*1}, 章维维², 姚春冀¹, 杨叶¹, 范宏亮¹, 鞠莉¹

(1. 杭州医学院 公共卫生学院, 浙江 杭州 310007; 2. 杭州嘉澍环境监测有限公司, 浙江 杭州 311000)

摘要:主要研究了 Ti/PbO₂ 电极与 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极催化氧化体系对茜素绿(AG)染料废水的催化降解效果。结果表明,当 AG 初始浓度 100 mg/L,电解质浓度 0.1 mol/L,电流密度 30 mA/cm²,pH 5.86,处理 70 min 后,Ti/PbO₂ 电极和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极催化氧化体系对 AG 和化学需氧量(COD)的处理效率分别高于 81.4% 和 51.6%。相较于 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极,具有四棱锥形结构晶粒的 Ti/PbO₂ 电极稳定性较高,且 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极表面由于存在干泥状裂痕结构,工作过程中易出现表面局部剥落现象,形成的 TiO₂ 钝化膜则会导致槽压升高和电极活性下降,影响体系的催化氧化效率。

关键词:形稳电极;Ti/PbO₂ 电极;Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极;茜素绿;电催化降解

中图分类号: O643.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2022)06-0880-08

Degradation of Alizarin Green (AG) by Ti/PbO₂ Electrode and Ti/IrO₂+Ta₂O₅ Electrode SHEN Hong^{*1}, ZHANG Weiwei², YAO Chun-ji¹, YANG Ye¹, FAN Hong-liang¹, JU Li¹ (1. College of Public Health, Hangzhou Medical College, Hangzhou 310007, China; 2. Hangzhou Jiashu Environmental Monitoring Co., Ltd., Hangzhou 311000, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 880~887

Abstract: In this work, the degradation efficiencies of alizarin green (AG) by Ti/PbO₂ electrode and Ti/IrO₂+Ta₂O₅ electrode were studied. The optimal degradation conditions were obtained: initial AG concentration of 100 mg/L, Na₂SO₄ concentration of 0.1 mol/L, the current density of 30 mA/cm², and pH 5.86. After being treated under this specific optimal condition for 70 min, the removal rates of AG and COD were higher than 81.4% and 51.6%, respectively. Compared with Ti/IrO₂+Ta₂O₅ electrode with a mud-cracked surface, the Ti/PbO₂ electrode possessed higher stability due to its pyramid crystal structure. Because of the surface spalling phenomenon observed during the degradation experiments, passivated TiO₂ film was formed, leading to the increase of cell voltage and degraded electrocatalytic oxidation capability.

Key words: dimensionally stable anode (DSA); Ti/PbO₂ electrode; Ti/IrO₂+Ta₂O₅ electrode; alizarin green (AG); electrocatalytic degradation

印染废水具有排放量大、有机物含量高、成分复杂、可生化性差、色度高、水质变化大等特点,属于难处理工业废水之一^[1-3]。根据染料化学结构和发色基团的不同可将其分为蒽醌染料、偶氮染料、芳甲烷染料、靛族染料等^[4]。其中,蒽醌染料兼具色泽鲜艳、染色牢度好、固色率高等优点,成为印染行业中第二大用量的染料^[5]。相关研究结果表明蒽醌染料对人体及生态环境具有一定的毒性^[6,7],天青 B 染料可显著降低洋葱根尖细胞的有丝分裂指数,并伴随出现染色体异常现象,推测这主要是由于蒽醌染料中的伯胺结构能插入生物体内 DNA 双螺旋结构中的相邻碱基对之间,导致生物体发生诱变^[7,8]。因此,这类可生化性差且具有一定生物毒性的蒽醌染料废水在环保领域中大大限制常规生物处理技术对印染废水的处

理效果^[9]。

电催化氧化技术通过以电子传递和转移为主的直接电化学反应,及利用电解产生强氧化性物质破坏有机物分子的间接电化学反应,最终矿化目标污染物,达到降解有机物、净化水质的目

收稿日期:2021-12-08;网络首发日期:2022-03-08

基金项目:浙江省医药卫生科技计划资助项目(2019KY362);浙江省自然科学基金青年基金资助项目(LQ19H260004)。

作者简介:沈宏(1988-),女,浙江杭州人,博士生,主要从事饮用水安全与环境健康研究,E-mail: song.wei0326@163.com。

引用本文:沈宏,章维维,姚春冀,等.茜素绿染料的 Ti/PbO₂ 电极与 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极催化降解比较研究[J].化学试剂,2022,44(6):880-887。

的^[10]。电催化氧化法具备可控性高、反应条件温和、氧化能力强及环境友好等优点,是处理难降解有机废水的有效方法^[11]。电催化氧化技术中,催化电极是体系的核心要素之一。20 世纪 60 年代开发的形稳电极(Dimensionally stable anodes, DSA),是一类主要由 Ti 为电极基体材料的金属氧化物涂层电极^[12]。目前,DSA 电极表面较为常见的金属氧化物主要有:氧化铅、氧化铱、锡铈氧化物等。其中,二氧化铅(PbO₂)电极因为具有较高的析氧电位、导电性、催化活性和稳定性而在电解工业领域中得到广泛应用^[13,14]。二氧化铱(IrO₂)电极则主要被用于硫酸电解质溶液的电解工艺体系中,IrO₂ 涂层中惰性组分的掺杂是进一步提高该类电极表层稳定性的有效方式,而 Ta₂O₅ 作为一种化学稳定性很强的氧化物,将其添加到 IrO₂ 涂层中不仅增强了涂层与钛基体间的接触稳定性,且在含有机物电解体系中还可有效抑制阳极电位急剧升高的现象,起到延长电极使用寿命的作用^[15]。

本文以蒽醌染料茜素绿(AG)为目标污染物,分别以 Ti/PbO₂ 和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 网状电极成品作阳极,金属钛片作阴极,通过电催化氧化法去除水中 AG,考察 AG 初始浓度、电流密度、pH 和电解质浓度对目标污染物及化学需氧量(COD)去除率的影响,并对比研究不同阳极材料(Ti/PbO₂ 和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅)的电催化氧化效果。旨在为蒽醌染料废水治理提供科学的实验依据。

1 实验方法

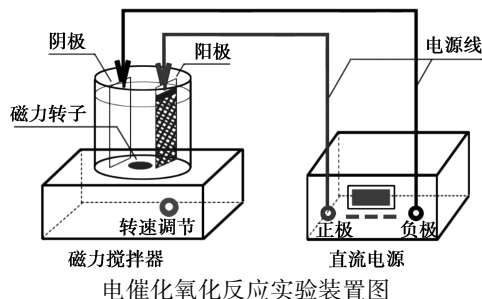
1.1 主要仪器与试剂

UV-1800 型紫外光谱仪(日本岛津公司); S470-K 型 pH 计(瑞士梅特勒托利多公司); SU8000 型电子扫描显微镜(日本 Hitachi 公司)。

蒽醌染料茜素绿(AG)为市购商品,使用前未经提纯。模拟废水由 AG(目标污染物)与超纯水配制而成。实验所用阳极(Ti/PbO₂ 电极和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极)为网状电极,购于苏州市枫港钛材设备制造有限公司,阴极(钛片)则由上海泽瓯钛业有限公司提供(Ti 片纯度为 99.99%)。实验过程中采用自配硫酸(0.1 mol/L)和氢氧化钠(0.1 mol/L)溶液进行 pH 值调节。试剂均为分析纯或优级纯。实验用水由超纯水机制得。

电催化氧化体系主要由阳极、阴极、磁力搅拌器及电源组成,降解时阴极片的面积需与阳极片

的保持一致,且阴极应尽量放置在阳极对面,取 250 mL 的 AG 模拟废水于玻璃烧杯内,以无水硫酸钠作电解质,在磁力搅拌作用下进行氧化降解实验。电催化氧化反应实验装置如下图所示。



Schematic of electrochemical oxidation system

1.2 分析方法

1.2.1 水样的 AG 浓度、COD 及 pH 测定

实验过程中对水样进行定时取样(0、5、10、20、30、60、70 min)。各时间点取 2 mL 水样,稀释 5 倍后进行 AG 浓度和 COD 的测定。利用紫外光谱仪对样品 UV-Vis 吸收光谱(190~650 nm)进行全波段扫描,确定 AG 发色基团的最大吸收波长为 642 nm,并在 642 nm 处测定处理前、后水样的吸光度值,将所得吸光度值代入以下标准曲线(图 1),进行 AG 浓度的计算,并计算氧化体系的 AG 去除效率。化学需氧量(COD)的快速检测则依照国家环境保护行业标准 HJ/T 399—2007《水质化学需氧量的测定快速消解分光光度法》^[16],在检测波长 440 nm 条件下进行测定。水样 pH 值采用 pH 计进行测定。

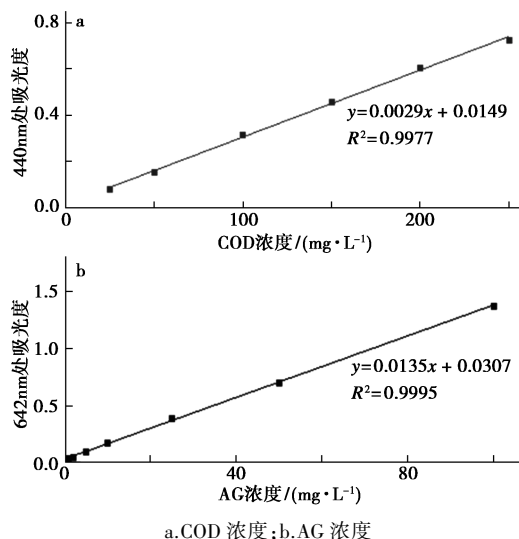


图 1 不同浓度与吸光度的标准曲线

Fig.1 Standard curves of different concentration vs.absorbance

1.2.2 瞬时电流效率(ICE)的计算

瞬时电流效率(ICE)的计算采用 COD 值方法,见式(1)。

$$\text{ICE} = [(\text{COD}_{t_1} - \text{COD}_{t_2}) / 8I(t_2 - t_1)] FV \quad (1)$$

式中, COD_{t_1} 、 COD_{t_2} 分别表示在降解时刻 $t_1(\text{s})$ 、 $t_2(\text{s})$ 时的化学需氧量 COD, mg/L ; F 为法拉第常数, $96\,487\text{ C/mol}$; V 为溶液体积, L ; I 为电流, mA 。

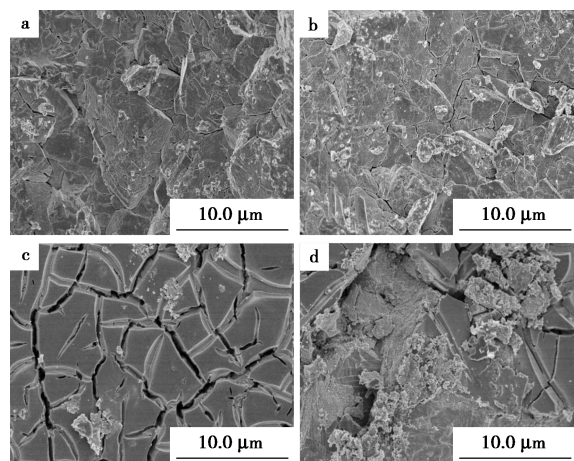
1.2.3 电极的 SEM 表征

电极样品 SEM 分析采用电子扫描显微镜, 喷金处理后在扫描电压 15 kV 条件下进行形貌表征分析。

2 结果与讨论

2.1 电极表面形貌分析

图 2 为 5 k 放大倍率下 Ti/PbO_2 电极和 $\text{Ti/IrO}_2 + \text{Ta}_2\text{O}_5$ 电极电催化氧化前、后的表面镀层扫描电镜(SEM)图。



a. 工作前 Ti/PbO_2 电极表面; b. 工作 910 min 后 Ti/PbO_2 电极表面; c. 工作前 $\text{Ti/IrO}_2 + \text{Ta}_2\text{O}_5$ 电极表面; d. 工作 910 min 后 $\text{Ti/IrO}_2 + \text{Ta}_2\text{O}_5$ 电极表面

图 2 电极在 5 k 放大倍率下的 SEM 图

Fig.2 SEM of the electrodes with mag 5 k

由图 2a、2b 可观察到, 利用电沉积法制得的 Ti/PbO_2 电极表面由带棱角的晶粒紧密堆积而成, 晶体具有较为明显的四棱锥形结构特征, 颗粒粗大完整, 轮廓均匀清晰。凹凸不平的立体表面形态增加了电极比表面积, 通过提高电极与污染物的有效接触面积, 促进催化氧化体系的降解效率。完整致密的电极表面结构不仅能有效阻止新生态氧扩散, 还可防止 TiO_2 绝缘层的形成, 分散结晶间应力的同时, 改善电极表面微观电流分布^[17]。

通过对比图 2a、2b 可知, 在累计工作时长达

910 min 后, Ti/PbO_2 电极镀层表面出现了有机物团的残留, 但表面形貌并未出现较大变化, 由此可知, Ti/PbO_2 电极具有较高的稳定性。由图 2c 和 2d 则可看出, $\text{Ti/IrO}_2 + \text{Ta}_2\text{O}_5$ 表面镀层具有热分解法制备金属氧化物涂层电极的典型样貌, 即电极表面存在大小不一且深浅不一的干泥状裂痕, 这主要是在电极金属氧化物涂层制备过程中经反复加热、冷却后, 钛基体与涂层膨胀系数的不同所产生的热应力而导致的涂层内干泥状裂纹^[18,19]。 $\text{Ti/IrO}_2 + \text{Ta}_2\text{O}_5$ 电极表面裂纹可提高其与电解质的有效接触, 增大电极催化活性, 是电催化氧化反应的主要发生位点, 通过热分解法制备的金属氧化物涂层电极表面均具有一定数量的裂纹和孔洞, 但过多的裂纹和孔洞也可能会加速电解液通过裂纹到达基体而形成非导电性的氧化钛, 并促使电极催化活性的衰退^[20,21]。对比图 2c、2d 可知, 当 $\text{Ti/IrO}_2 + \text{Ta}_2\text{O}_5$ 电极在累计工作时长达 910 min 后, 镀层表面残留有机物出现团聚, 且电极表面局部区域剥落, 出现较大孔穴。热分解法制备的氧化物阳极表面裂纹通常仅存在于涂层表面, 而非贯穿至钛基表面^[22], 但伴随着电催化氧化过程中电解液由裂纹向内部的渗透, 及析出气体的扩散、冲刷, 涂层开始变薄、剥落, 形成孔穴, 而钛基表面 TiO_2 钝化膜的形成也将导致槽压升高, 电极活性下降^[22-24]。

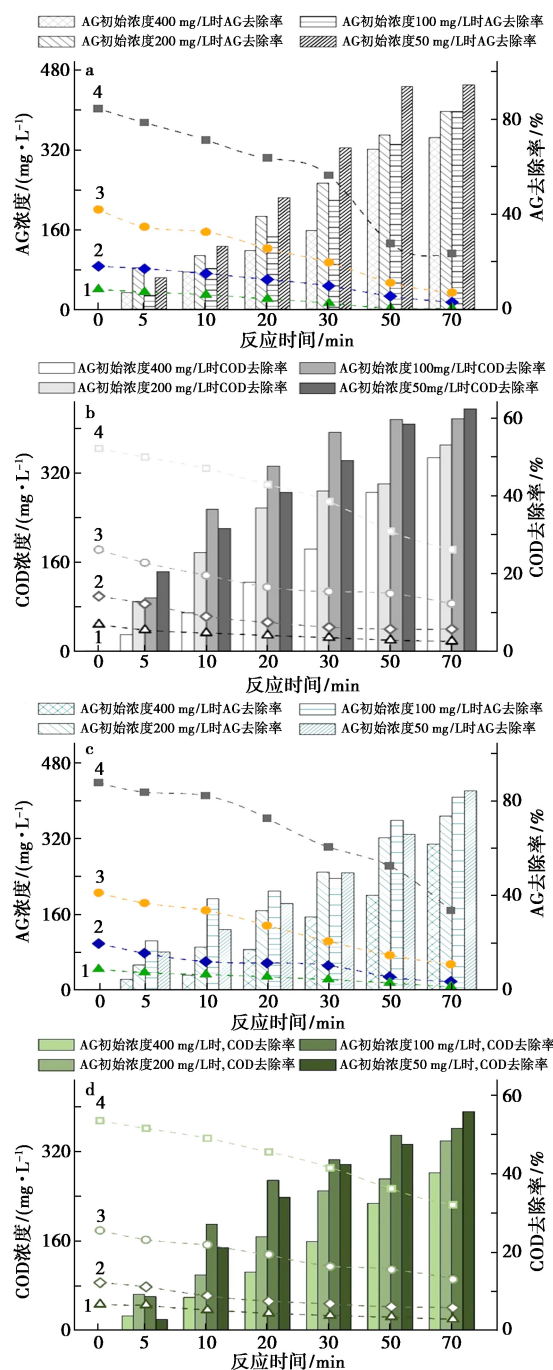
2.2 工艺参数考察

2.2.1 初始浓度

分别在以 Ti/PbO_2 电极和 $\text{Ti/IrO}_2 + \text{Ta}_2\text{O}_5$ 电极为阳极的电催化氧化体系中, 当电流密度为 30 mA/cm^2 , 电解质浓度 (Na_2SO_4) 为 0.1 mol/L 时, 经 70 min 处理后, 考察 AG 初始浓度 (50 、 100 、 200 和 400 mg/L) 对体系去除率的影响, 结果见图 3, 其中数值均为 3 次测定平均值, 相对标准偏差 $\text{RSD} < 4.3\%$ 。

在图 3a、3b 显示的 Ti/PbO_2 电催化氧化体系中, 对比 AG 初始浓度由 50 mg/L 增至 200 mg/L 过程中 AG 及 COD 的浓度变化可知, 降解时间 70 min 时, 体系对 AG 的去除效果逐渐稳定, 而当 AG 初始浓度增至 400 mg/L , 处理 70 min 时, COD 浓度仍持续下降。在图 3c、3d 所显示的 $\text{Ti/IrO}_2 + \text{Ta}_2\text{O}_5$ 电催化氧化体系中, 当 AG 初始浓度分别为 50 、 100 及 200 mg/L 时, 处理 70 min 后, 体系对 AG 及 COD 的去除率逐渐稳定。由此可知, AG 初始浓度为 50 、 100 及 200 mg/L 时, 经 Ti/PbO_2

电极和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极处理 70 min 后,体系对 AG 及 COD 的去除率可达到稳定。



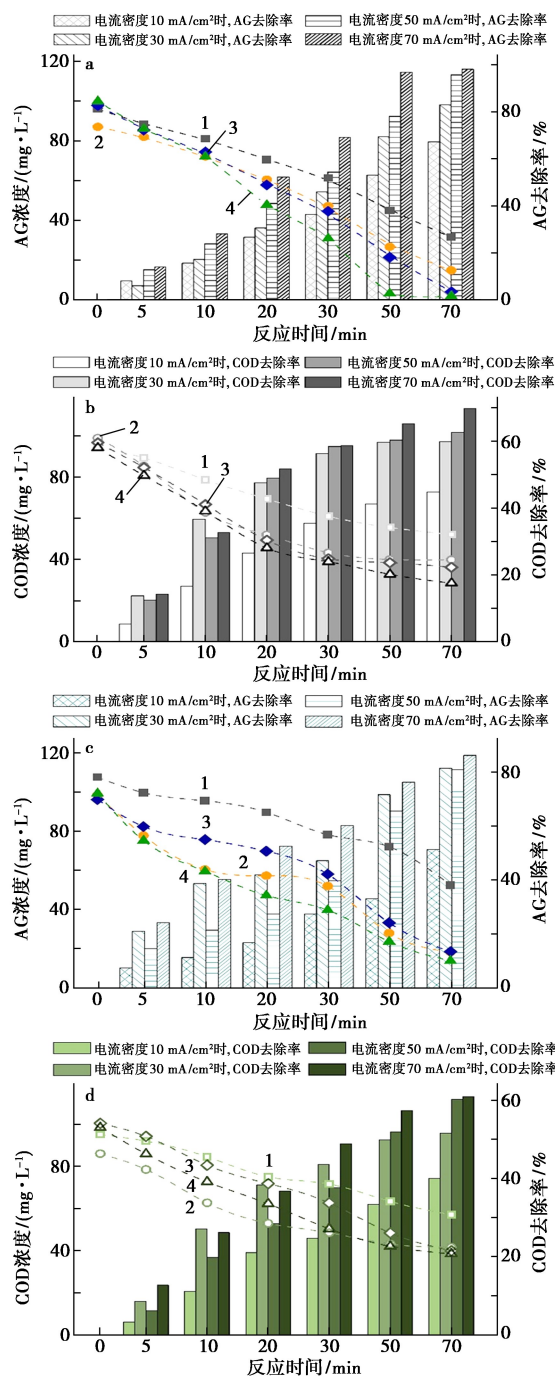
a, c 分别表示 Ti/PbO₂ 催化体系和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 催化体系的 AG 去除率, 曲线 1~4 分别代表 AG 初始浓度为 50、100、200 和 400 mg/L 时 AG 的浓度; b, d 分别表示 Ti/PbO₂ 催化体系和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 催化体系的 COD 去除率, 曲线 1~4 分别代表 AG 初始浓度为 50、100、200 和 400 mg/L 时 COD 的浓度

图 3 不同 AG 初始浓度条件下 Ti/PbO₂ 和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 催化体系的去除率

Fig.3 Removal efficiencies by Ti/PbO₂ electrode and Ti/IrO₂+Ta₂O₅ electrode with different initial concentrations of AG

2.2.2 电流密度

分别在 Ti/PbO₂ 电极和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极



a, c 分别表示 Ti/PbO₂ 催化体系和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 催化体系的 AG 去除率, 曲线 1~4 分别代表电流密度为 10、30、50 和 70 mA/cm² 时 AG 的浓度; b, d 分别表示 Ti/PbO₂ 催化体系和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 催化体系的 COD 去除率, 曲线 1~4 分别代表电流密度为 10、30、50 和 70 mA/cm² 时 COD 的浓度

图 4 不同电流密度条件下 Ti/PbO₂ 和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 催化体系的去除率

Fig.4 Removal efficiencies by Ti/PbO₂ electrode and Ti/IrO₂+Ta₂O₅ electrode with different current density

的催化氧化体系中,分别选取电流密度 10、30、50 和 70 mA/cm²,AG 初始浓度 100 mg/L,电解质浓度(Na₂SO₄)为 0.1 mol/L,处理 70 min,体系的 AG 和 COD 去除率见图 4,其中数值均为 3 次测定平均值,相对标准偏差 RSD<3.9%。

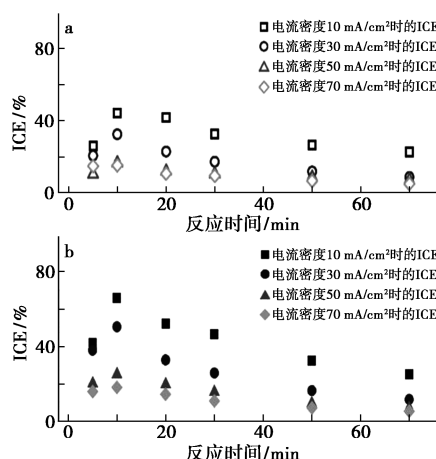
在图 4 所示的两种不同催化体系中,当电流密度在 10~70 mA/cm² 区间内,催化氧化体系对 100 mg/L 初始浓度的 AG 具有降解效果,且随电流密度的增加,体系的 COD 及 AG 去除率升高;处理 70 min 后,当电流密度 10、30、50 和 70 mA/cm² 时,Ti/PbO₂ 电极催化氧化体系的 AG 去除率分别为 67.2%、82.9%、95.7% 和 98.0%,见图 4a;COD 去除率分别为 44.8%、59.8%、62.6% 和 69.8%,见图 4b;Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极催化氧化体系的 AG 去除率分别为 51.3%、81.4%、80.8% 和 86.1%,见图 4c;COD 去除率分别为 40.0%、51.6%、60.2% 和 60.9%,见图 4d。

Ti/PbO₂ 电极催化氧化体系中,对比不同电流密度条件下 AG 浓度及其去除率(图 4a)可知,当电流密度为 70 mA/cm²,处理 50 min 及 70 min 后 AG 浓度分别为 3.3 mg/L 和 2.0 mg/L,体系对 AG 的去除效果可达稳定;对比各电流密度条件下 COD 浓度及其去除率的结果(图 4b)可知,当电流密度在 30~70 mA/cm² 区间时,处理 30 min 后 COD 浓度波动开始变小,70 min 处理效果达稳定。Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极催化氧化体系中,当电流密度在 30~70 mA/cm² 区间时,处理 70 min 后,体系对 AG 及 COD 的去除效果(图 4c 和 4d)逐渐达到稳定。

图 4 显示的 Ti/PbO₂ 电极和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极催化氧化体系中,电流密度从 10 mA/cm² 升至 30 mA/cm² 时,AG 和 COD 去除率增涨较快。电催化降解过程中,电流主要用于以下两方面:一方面是用于产生羟基自由基等活性基团,以降解目标污染物;而另一方面是用于电极析氧、放热等副反应,若电极副反应过于剧烈则会降低电极对电流的有效利用。当电流密度从 10 mA/cm² 升至 30 mA/cm² 时,电极副反应对电催化活性的抑制并不显著,体系对 AG 和 COD 的去除率有明显的增加;而当电流密度超出 30 mA/cm² 后,副反应增强并加大了对电极降解效率的抑制,削弱了体系对目标污染物去除率和矿化率的增长。

Ti/PbO₂ 电极和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极催化氧化体系中,电流密度(CD)分别为 10、30、50 和 70

mA/cm² 时,不同时间点的瞬间电流效率(ICE)如图 5 所示。不同 CD 条件下,降解 10 min 时 ICE 均升高至最大值,后逐渐下降至稳定。电流密度的变化会影响电流效率,而在电催化氧化过程中电流效率在较短时间达到相对较高值,这主要是由于氧化反应副产物较多,而随着电催化氧化作用的持续,一部分副产物被氧化降解,因此,体系的 ICE 值将最终逐渐达到稳定。对比不同 CD 条件下的 ICE_{-70 min} 可知,随着 CD 的增大,ICE_{-70 min} 表现出降低的趋势,其中,当 CD 从 10 增至 30 mA/cm² 时,降解 70 min 时 ICE 下降较为明显,而 CD 从 30 提高至 70 mA/cm² 时,ICE_{-70 min} 较为相近。结合图 4 和图 5,可推断出当 CD 小于 30 mA/cm² 时,电流密度是电极催化效率的主要抑制因素,而 CD 超过 30 mA/cm² 后,由于电流增大导致的电极副反应是阻碍电催化增加的主要抑制因素。综合以上分析,选用 30 mA/cm² 作为最佳电流密度条件。



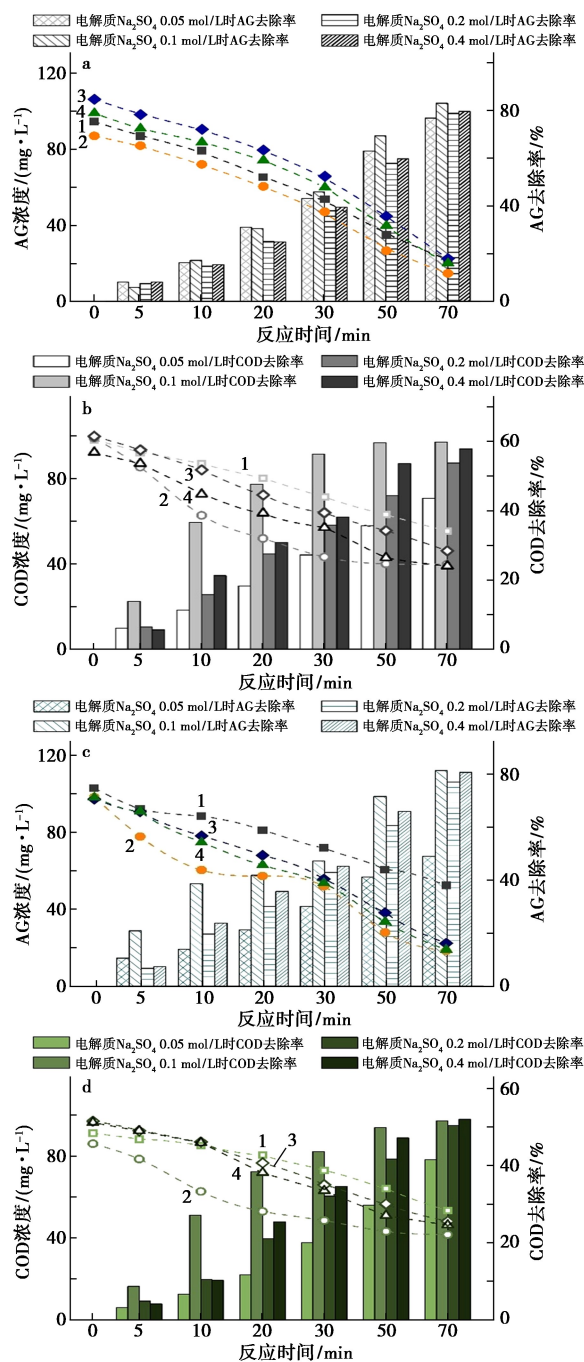
a. Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 催化体系; b. Ti/PbO₂ 催化体系
图 5 不同电流密度条件下不同催化体系的瞬间电流效率

Fig.5 Instantaneous current efficiency (ICE) by different electrodes with different current density

2.2.3 电解质浓度

以硫酸钠(Na₂SO₄)为电解质,分别向 Ti/PbO₂ 电极和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极的催化氧化体系中加入不同浓度电解质 0.05、0.1、0.2 和 0.4 mol/L,在 AG 初始浓度为 100 mg/L,电流密度 30 mA/cm² 条件下,处理 70 min,体系对 AG 和 COD 的去除率见图 6,其中数值均为 3 次测定平均值,相对标准偏差 RSD<4.8%。

由图 6b 和 6d 可知,在 Ti/PbO₂ 电极和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极的催化氧化体系,Na₂SO₄ 浓度从



a、c 分别表示 Ti/PbO₂ 催化体系和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 催化体系的 AG 去除率, 曲线 1~4 分别代表电解质 Na₂SO₄ 浓度为 0.05、0.1、0.2 和 0.4 mol/L 时 AG 的浓度; b、d 分别表示 Ti/PbO₂ 催化体系和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 催化体系的 COD 去除率, 曲线 1~4 分别代表电解质 Na₂SO₄ 浓度为 0.05、0.1、0.2 和 0.4 mol/L 时 COD 的浓度

图 6 不同电解质浓度条件下 Ti/PbO₂ 和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 催化体系的去除率

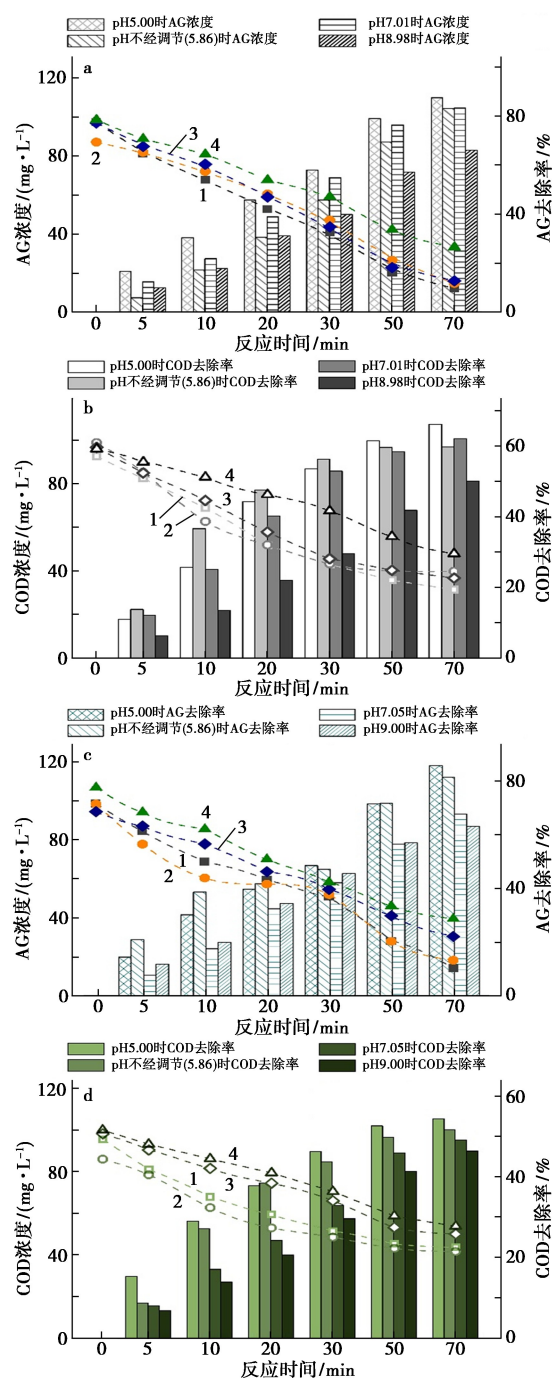
Fig.6 Removal efficiencies by Ti/PbO₂ electrode and Ti/IrO₂+Ta₂O₅ electrode with different concentrations of electrolyte

0.05 增至 0.4 mol/L 的过程中, 体系对 AG 及 COD 的去除效果表现出相似的变化趋势, 且当 Na₂SO₄ 浓度为 0.1 mol/L 时, AG 和 COD 的去除率达最大值; 当 Na₂SO₄ 浓度 ≤ 0.1 mol/L 时, AG 和 COD 去除率随电解质浓度的升高而增大, 说明在该浓度区间内电解质浓度的增大将改善电极表面传质环境, 增加电极导电能力, 从而提高了体系对有机物的去除效率; 相较于 Na₂SO₄ 浓度为 0.1 mol/L 时体系对 AG 和 COD 的去除率, Na₂SO₄ 浓度 > 0.1 mol/L 时, AG 和 COD 的去除率均下降, 推测可能是由于 Na₂SO₄ 浓度超出一定范围后, 溶液电导率增大会降低电极电势, 加剧体系副反应的发生, 不利于有机物在电极表面的降解。综合以上分析, 选择 Na₂SO₄ 浓度 0.1 mol/L 为最佳电解质浓度条件。

2.2.4 体系 pH 值

用 0.1 mol/L 氢氧化钠及 0.1 mol/L 硫酸对 Ti/PbO₂ 电极和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极的催化氧化体系 pH 进行调节, 将体系 pH 分别调节至 (5.00 ± 0.05)、(7.00 ± 0.05) 和 (9.00 ± 0.05), 以不进行调节的样品设为对照样 (pH 5.86), 在 AG 初始浓度 100 mg/L, 电解质浓度 0.1 mol/L, 电流密度 30 mA/cm² 条件下, 处理 70 min, 体系对 AG 和 COD 的去除效果见图 7, 其中数值均为 3 次测定平均值, 相对标准偏差 RSD < 5.2%。

催化体系 pH 值可通过改变电极/溶液界面的双电层结构、析氧电位、降解途径及降解产物以影响目标污染物的去除效果。由图 7a 和 7b 可知, Ti/PbO₂ 电极催化体系中, pH 在 5.00 ~ 7.01 范围内, pH 值对体系 AG 及 COD 去除率影响不大; 且处理 70 min 后, 体系的 AG 及 COD 去除率波动范围分别为 66.1% ~ 87.4% 及 50.1% ~ 66.2%; 当 pH 值升至 8.98 时, Ti/PbO₂ 电极催化体系对 AG 和 COD 去除率明显下降。Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极催化体系中 (图 7c 和 7d), pH 在 5.00 ~ 9.00 范围内变化时, pH 值对体系 AG 及 COD 去除率的影响较大, 且随 pH 值上升, 体系 AG 和 COD 的去除率表现出明显下降趋势。处理 70 min 后, pH 值为 5.00 条件下, 体系的 AG 和 COD 的去除率达最大值, 分别为 85.6% 和 54.2%, 而当 pH 为 9.00 时, AG 和 COD 去除率达最小值, 分别为 63.0% 和 46.3%。由此可知, 针对 Ti/PbO₂ 电极和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极的催化氧化体系, 酸性条件有利于 AG 的降解、矿化。这主



a、c 分别表示 Ti/PbO₂ 催化体系和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 催化体系的 AG 去除率, 曲线 1~4 分别代表 pH 为 5.00、5.86、7.05 和 9.00 时, AG 的浓度; b、d 分别表示 Ti/PbO₂ 催化体系和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 催化体系的 COD 去除率, 曲线 1~4 分别代表 pH 为 5.00、5.86、7.05 和 9.00 时 COD 的浓度

图 7 Ti/PbO₂ 和 Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 催化体系的去除率

Fig.7 Removal efficiencies by Ti/PbO₂ electrode and Ti/IrO₂+Ta₂O₅ electrode

要是由于酸性条件可促进催化体系中羟基自由基的生成, 羟基自由基则是对目标污染物进行有效降解和矿化的主要活性物质; 酸性条件还将利于

催化体系内中间产物的分解, 减少中间产物在电极表面的聚集及吸附, 改善电极表面活性位点与目标污染物间的传质作用, 从而提高体系对污染物的去除作用。

3 结论

Ti/PbO₂ 电极表面晶粒具有四棱锥形结构, 工作 910 min 后, 电极表面形貌未出现较大变化, 该类电极具有较高稳定性; Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极表面存在干泥状裂痕结构, 工作 910 min 后, 电极表面局部剥落, 伴随较大孔隙出现, 形成 TiO₂ 钝化膜会导致槽压升高和电极活性下降; 当 AG 初始浓度为 100 mg/L, 电解质浓度为 0.1 mol/L, 电流密度为 30 mA/cm², 并不对酸碱度进行人为调节的条件下 (pH 5.86), 经电催化处理 70 min 后, Ti/PbO₂ 电极催化氧化体系对 AG 和 COD 的去除效率分别可达 82.9% 和 59.8%, Ti/IrO₂+Ta₂O₅ 电极催化氧化体系对 AG 和 COD 的去除率为 81.4% 和 51.6%。

参考文献:

- [1] 张徐洁, 万梅, 王晨光, 等. 原料材质、产品类型及生产工序对印染废水产生特性的影响研究[J]. 环境科学学报, 2020, 40(11): 4 189-4 198.
- [2] 艾兵, 孙天琦, 刘凡, 等. P 掺杂氮化碳催化剂可见光降解亚甲基蓝废水[J]. 化学试剂, 2020, 42(9): 1 039-1 044.
- [3] 周圆, 李怀波, 郑凯凯, 等. 印染工业园区集中废水处理达标难点及 DOM 特征解析[J]. 环境工程学报, 2020, 14(8): 2 193-2 202.
- [4] 庄华伟. 氧化还原酶在印染废水处理中的应用[J]. 印染, 2019, 9: 51-57.
- [5] 姜杰, 付秋平, 余磊, 等. MOF(Ni)-74 对废水中偶氮染料刚果红的吸附性能研究[J]. 化学试剂, 2021, 43(11): 1 466-1 472.
- [6] KAMILA R T, AGATA S, KONRAD A S, et al. Comparative study of eco- and cytotoxicity during biotransformation of anthraquinone dye Alizarin Blue Black B in optimized cultures of microscopic fungi[J]. Ecotoxicol. Environ. Saf., 2018, 147: 776-787.
- [7] IZHARUL H, ABHAY R M. Biodegradation of Azure-B dye by Serratia liquefaciens and its validation by phytotoxicity, genotoxicity and cytotoxicity studies[J]. Chemosphere, 2018, 196: 58-68.
- [8] 胡士钰. 茜素红 S 对肝细胞和抗氧化酶毒性效应与机

- 理的研究[D].济南:山东大学,2020.
- [9] XUE X H, NA L, FANG Y, et al. Comparative study of antiestrogenic activity of two dyes after Fenton oxidation and biological degradation[J]. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2018, **164**: 416-424.
- [10] 廖泽远,任大军,陶敏,等.印制电路板企业显影去膜有机废水电催化预处理研究[J]. *化学试剂*, 2020, **42**(5): 578-583.
- [11] 郭芬岬,马雨涵,戎怡坤,等. Co₉S₈-CuS 纳米片阵列的电沉积制备及其电催化产氧性能研究[J]. *化学试剂*, 2019, **41**(11): 1110-1114.
- [12] 张招贤. 钛电极工学[M]. 北京:冶金工业出版社, 2000: 144-145.
- [13] 薛娟琴,张立华,于丽花. 电化学氧化法处理含盐苯醌模拟废水[J]. *环境工程学报*, 2019, **13**(3): 607-615.
- [14] 黄金鑫,杨海,李海峰,等. 电化学氧化还原法降解卤代有机污染物的研究进展[J]. *化学试剂*, 2017, **39**(1): 29-36.
- [15] 邱志军. 酸性介质中析氧阳极的性能及其应用[D]. 杭州:浙江工业大学,2018.
- [16] 环境保护部,国家环境保护总局. 水质化学需氧量的测定快速消解分光光度法: HJ/T 399—2007[S]. 北京:中国环境科学出版社,2008-03-01.
- [16] 唐长斌,郑超,于丽花,等. 电镀镍中间层对钛基二氧化铅阳极性能的影响[J]. *稀有金属材料与工程*, 2019, **1**: 143-151.
- [17] AMANO F, FURUSHO Y, HWNAG Y M. Amorphous iridium and tantalum oxide layers coated on titanium felt for electrocatalytic oxygen evolution reaction[J]. *ACS Appl. Energy Mater.*, 2020, **3**(5): 4531-4538.
- [18] 袁洪飞. 溶胶-凝胶法制备的Ti/IrO₂+Ta₂O₅阳极涂层性能[J]. *材料保护*, 2010, **12**: 19-21.
- [19] 胡吉明,吴继勋. Ti基IrO₂+Ta₂O₅涂层中氧化物附着量的XRF分析[J]. *材料保护*, 2000, **4**: 43-44.
- [20] 姚书典,沈嘉年,刘冬,等. 涂层IrO₂+Ta₂O₅钛阳极在析氧过程中的形貌和成分变化[J]. *贵金属*, 2006, **27**(4): 12-17.
- [21] 庞海丽,蒙鹏君,杨莹,等. La掺杂的SnO₂-Sb中间层对钛基IrO₂+Ta₂O₅电极性能的影响[J]. *表面技术*, 2017, **7**: 51-56.
- [22] KONG H, LU H, ZHANG W L, et al. Performance characterization of Ti substrate lead dioxide electrode with different solid solution interlayers[J]. *J. Mater. Sci.*, 2012, **47**(18): 6709-6715.
- [23] UKUNDIMANA Z, OMWENE P I, GENGE E, et al. Electrooxidation as post treatment of ultrafiltration effluent in a landfill leachate MBR treatment plant: Effects of BDD, Pt and DSA anode types[J]. *Electrochim. Acta*, 2018, **286**: 252-263.
- [24] 徐瑶,谭粤,夏莉,等. 水电解制氢技术的现状与展望[J]. *应用化工*, 2022, **1**: 185-189.

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022008862

化学试剂, 2022, 44(6), 888~893

基于 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 检测丙烯酰胺

尚平^{*1a}, 杨永^{1b}, 赵荣敏^{1a}, 崔文广²

(1. 石家庄职业技术学院 a. 食品与药品工程系, b. 学生工作部, 河北 石家庄 050081;

2. 石家庄学院 化工学院, 河北 石家庄 050035)

摘要: 制备 Nafion/还原性谷胱甘肽-四氧化三铁@碳/铂/玻碳电极 (Nafion/Glutathione-ferric oxide@Carbon/Platinum/Glassy carbon electrode, Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE) 传感器对丙烯酰胺 (Acrylamide, AM) 进行定量分析。合成了核壳结构的四氧化三铁@碳纳米复合材料 (Ferric oxide@Carbon nanocomposites, Fe₃O₄@Cs), 并在此基础上负载铂纳米粒子 (Platinum nanoparticles, Pt), 制备新型的 Fe₃O₄@Cs/Pt 纳米复合材料。以还原性谷胱甘肽 (Glutathione, GSH) 为探针, 在 Fe₃O₄@Cs/Pt 的基础上, 制备了 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 传感器。通过对 GSH 固载量、Nafion 浓度、加成时间、加成温度等条件的优化确定传感器的最佳工作条件。研究发现, Fe₃O₄@Cs/Pt 具有良好的导电性和生物相容性, 能有效提高传感器的灵敏度; AM 浓度负对数与其与 GSH 间加成率在 $1 \times 10^{-10} \sim 1 \times 10^{-5}$ mol/L 范围内呈良好的线性关系, 线性方程为 $Y = -6.025X + 73.632$ (X 为 AM 浓度的负对数), $R^2 = 0.9974$, 检出限为 5.624×10^{-11} mol/L, 且该传感器短期稳定性较好。该方法简单、方便可用于丙烯酰胺的定量分析。

关键词: 纳米粒子; 还原性谷胱甘肽; 丙烯酰胺; 传感器; 检测

中图分类号: TS207.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2022)06-0888-06

Detection of Acrylamide Based on Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE SHANG Ping^{*1a}, YANG Yong^{1b}, ZHAO Rong-min^{1a}, CUI Wen-guang² (1a. Department of Food and Drug Engineering, 1b. Department of Student Affairs, Shijiazhuang University of Applied Technology, Shijiazhuang 050081, China; 2. College of Chemical Engineering, Shijiazhuang University, Shijiazhuang 050035, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 888~893

Abstract: Nafion/Glutathione-ferric oxide@Carbon/Platinum/Glassy carbon electrode (Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE) sensor was prepared for the quantitative analysis of acrylamide (AM). Platinum nanoparticles (Pt) were loaded onto the core-shell structured Fe₃O₄@Cs nanocomposites to obtain the Fe₃O₄@Cs/Pt composites. Afterward, the Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE sensor was prepared based on Fe₃O₄@Cs/Pt using glutathione (GSH) as a probe molecule. The optimum working conditions of the as-made sensor were determined by optimizing the parameters such as the fixed GSH loading, Nafion concentration, addition time, and addition temperature, et al. The results showed that the Fe₃O₄@Cs/Pt had a good conductivity and biocompatibility, thus could effectively improve the sensor sensitivity. A good linear relationship between the negative logarithm of AM concentration and its addition rate with GSH was obtained in a range of $1 \times 10^{-10} \sim 1 \times 10^{-5}$ mol/L, the linear equation was $Y = -6.025X + 73.632$ (X was the negative logarithm of AM concentration), $R^2 = 0.9974$, and the detection limit was 5.624×10^{-11} mol/L. The sensor also showed very good stability in the short term. Our method is simple and convenient and can be used for the quantitative analysis of acrylamide.

Key words: nanoparticles; glutathione; acrylamide; sensor; detection

丙烯酰胺 (Acrylamide, AM) 是一种常见于油炸、烧烤、烹饪等经高温处理食物中的一种致癌物^[1-3]。在煎炸、烘烤类食物中, AM 含量最高可

达 2 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 远超世界卫生组织规定的日限值 0.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ ^[4-7], 长期食用 AM 超标的食物可对人的肝脏、神经系统、免疫系统造成不可逆的伤

收稿日期: 2021-12-15; 网络首发日期: 2022-03-07

基金项目: 河北省高等学校人文社会科学研究项目 (SZ201073)。

作者简介: 尚平 (1979-), 女, 河北衡水人, 硕士, 副教授, 主要研究方向为化学与制药工程, E-mail: shangping2671@163.com。

引用本文: 尚平, 杨永, 赵荣敏, 等. 基于 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 检测丙烯酰胺[J]. 化学试剂, 2022, 44(6): 888-893。

害^[8,9],因此,研究一种快检方案对 AM 进行定量分析,意义重大。

目前关于 AM 的检测方法主要有气相色谱法、高效液相色谱法等^[10,11]。这些方法虽然准确、可靠、灵敏度高,但不适合快速定量分析。电化学分析法,由于具有设备体积小、方便、快捷以及成本低等优点,在快速定量分析方面潜力巨大。目前电化学分析检测 AM 的方法主要有血红蛋白传感器法、核酸适配体法等。这些方法虽然简单、快捷,但其加成、孵育时间较长,因此在电化学传感器定量分析 AM 方面还存在一些不足^[12,13]。还原性谷胱甘肽(Glutathione, GSH)传感器法由于其既具有核酸适配体传感器的检出限较低的优点又克服了血红蛋白加成时间长的弊端^[14],因此在制备电化学传感器定量分析 AM 方面存在较大的潜力。

GSH 电化学传感器在 AM 定量分析方面虽然具有其他传感器所不具备的优良特性,但其本身不稳定,且所产生的电化学信号弱,因此,需要引入纳米材料来提高其电信号、改善其稳定性。Fe₃O₄ 纳米材料由于具有良好的生物相容性和吸附性可以很好的改善 GSH 的稳定性,但其本身容易团聚,因此需要在其表面负载纳米聚合物^[15,16]。Fe₃O₄@Cs 是一种具有核壳结构的纳米复合材料,由于是在 Fe₃O₄ 的外层负载了一层碳层,可以有效的缓解其聚集的现象,同时增大其表面积^[17]。铂(Platinum nanoparticles, Pt)纳米材料具有良好导电性和电化学催化活性,不仅有助于提高传感器的稳定性而且可以为 GSH 提供良好的电化学稳态环境。因此,本文在 Fe₃O₄@Cs 纳米复合材料的基础上,负载 Pt 制备 GSH 电化学传感器对丙烯酰胺进行定量分析,目前,关于 Fe₃O₄-GSH 传感器检测 AM 的研究虽然已有报道,但关于 GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt 型传感器检测 AM 的研究还未见报道。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

CHI-660E 型电化学工作站(上海辰华仪器有限公司);PHS-25 型台式数显 pH 酸度计(上海雷磁仪器厂);FJD-1030 型超声波清洗器(广东固特超声股份有限公司);TG16G-X 型台式离心机(常州市亿能实验仪器厂);DZF-6020 型真空干燥箱

(浙江赛德仪器设备有限公司)。

丙烯酰胺(分析纯,济南盛茉莉化学有限公司);还原性谷胱甘肽(分析纯,上海稳泰生物技术有限公司);Nafion(分析纯,酷尔化学科技(北京)有限公司);亚铁氰化钾、铁氰化钾(分析纯,上海展云化工有限公司);磷酸氢二钠、磷酸二氢钠(分析纯,珠海市质汇化学助剂有限公司);氯铂酸(分析纯,天津市永大化学试剂有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 Fe₃O₄@Cs/Pt 的制备

Fe₃O₄@Cs 参考文献[17]制备。取 100 mL 浓度为 2 mg/mL 的 Fe₃O₄@Cs 分散液于 250 mL 锥形瓶中,超声分散 15 min,加热至沸腾,除去溶液中的氧气。然后加入 10 mL 浓度为 2 mg/mL 的氯铂酸溶液,超声 5 min,使其完全分散均匀。在不断超声条件下,加入 20 mL 浓度为 2 mg/mL 的抗坏血酸溶液,超声分散 10 min,然后冷却至室温,静置 6 h,吸取上清液,将固体产物用离心机离心洗涤后,置于真空干燥箱中于 60 °C 条件下,真空干燥,即得 Fe₃O₄@Cs/Pt,将干燥后的 Fe₃O₄@Cs/Pt 称重并记录 m_1 ,备用。

1.2.2 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 的制备

GCE 参照文献[18]、[19]处理。准确吸取 6 μ L 浓度为 1 mg/mL 的 Fe₃O₄@Cs/Pt 于 GCE 表面,室温条件下干燥,然后取 4 μ L 浓度为 20 μ g/ μ L 的 GSH 于 GCE 表面在 4 °C 环境条件下干燥,最后取 1 μ L 1.5% 的 Nafion 滴加于传感器表面于 4 °C 环境条件下干燥即得 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 传感器,将制备好的传感器置于 4 °C 环境保存备用。

1.2.3 样品处理

取 7.108 mg 的丙烯酰胺粉末,均匀撒在 2 g 的薯条上面,然后参考文献[20]对薯条进行处理。取处理后的薯条上清液,用 0.1 mol/L 的磷酸氢二钠和磷酸二氢钠定容至 100 mL,并调节至 pH 为 4.5,备用。

2 结果与讨论

2.1 形貌表征

用 SEM 对制备好的 Fe₃O₄@Cs/Pt 进行形貌表征,其结果见图 1。

由图 1 可知,制备好的 Fe₃O₄@Cs/Pt 为球形结构,大小均匀、表面光滑,直径约为 800~1 000 nm,

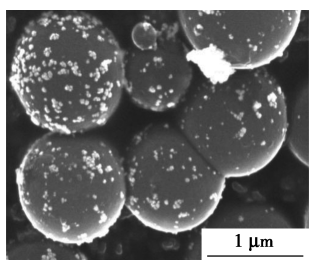


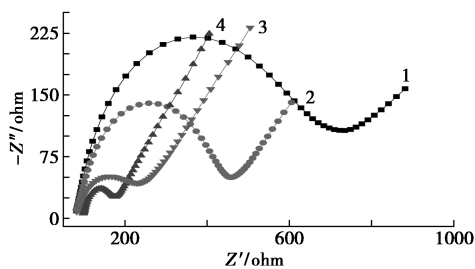
图 1 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{Pt}$ 的 SEM 表征

Fig.1 SEM characterization of $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{Pt}$

且 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}$ 表面均匀分散着 Pt 纳米粒子,通过对制备好的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{Pt}$ 进行称量发现,其质量与 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}$ 相比增加了 17.4 mg,这说明, $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}$ 对 Pt 纳米粒子的负载率为 8.7%。

2.2 不同传感器的电化学表征

以 10 mmol/L 的 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ 溶液 (含 0.1 mol/L KCl) 为电解质溶液,分别对 GCE、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{GCE}$ 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{Pt}/\text{GCE}$ 和 Nafion/GSH- $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{Pt}/\text{GCE}$ 进行交流阻抗 (Electrochemical impedance spectroscopy, EIS) 表征,其结果见图 2。



1. GCE; 2. $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{GCE}$; 3. $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{Pt}/\text{GCE}$;
4. Nafion/GSH- $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{Pt}/\text{GCE}$

图 2 不同传感器的 EIS 曲线

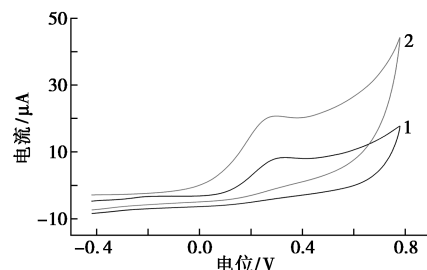
Fig.2 EIS curves of different sensors

从图 2 分析可知, GCE 阻抗为 653.39 Ω , $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{GCE}$ 阻抗为 372.43 Ω , 与 GCE 相比阻抗降低了 43%。这说明 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}$ 能够有效的促进电子的转移,降低阻抗。 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{Pt}/\text{GCE}$ 的阻抗为 77.23 Ω , 与 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{GCE}$ 相比,阻抗进一步降低了 79.26%, Nafion/GSH- $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{Pt}/\text{GCE}$ 阻抗为 145.34 Ω , 与 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{Pt}/\text{GCE}$ 相比阻抗增加了 88.19%, 这是因为, GSH 为生物大分子,其本身阻抗较大,因此当其固载到电极表面后导致传感器阻抗增加,同时也说明 GSH 已经很好地固定在电极表面^[1]。

2.3 AM 与传感器加成前后的循环伏安曲线

以 pH 4.5 的 PBS 缓冲液为支持电解质溶

液, Nafion/GSH- $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{Pt}/\text{GCE}$ 为工作电极,进行循环伏安 (Cyclic voltammetry, CV) 扫描,然后向其中加入 AM 使其浓度为 1×10^{-6} mol/L, 让 AM 与 Nafion/GSH- $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{Pt}/\text{GCE}$ 加成 50 s 后再对其进行 CV 扫描,其结果见图 3。



扫描速率: 100 mV/s; 1. 加成后; 2. 加成前

图 3 AM 与传感器加成前后的 CV 曲线

Fig.3 CV Curves of AM and sensor before and after addition

由图 3 分析可知,传感器测得的氧化峰电流 (Oxidation peak current, I_p) 为 1.197 μA 。经与 AM 加成 50 s 后,其 I_p 为 0.746 μA , 与加成前相比 I_p 降低了 37.68%, 即加成率为 37.68%。这是因为 AM 与 GSH 上的巯基结合,生成了 AM-GSH 复合物,进而影响到电化学反应,而 AM 与 GSH 的加成率和 AM 的浓度存在一定的关系,据此可对 AM 进行定量分析。

2.4 GSH 固载量的优化

分别用 1、2、3、4、5 和 6 μL 浓度为 20 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的 GSH 制备传感器,然后将制备好的 Nafion/GSH- $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{Pt}/\text{GCE}$ 置于 pH 4.5 的 PBS 缓冲液中,然后对其进行 CV 扫描,其结果见图 4。

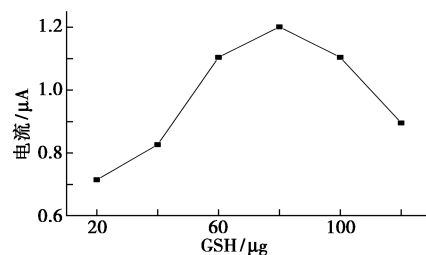


图 4 GSH 对 Nafion/GSH- $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{Pt}/\text{GCE}$ 的影响

Fig.4 Effect of GSH on Nafion/GSH- $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{Cs}/\text{Pt}/\text{GCE}$

从图 4 分析可知,随着 GSH 固载量的增加,获得的 I_p 逐渐增加,随后减小。这是因为 GSH 为电化学反应的介质,因此随着其固载量的增加 I_p 逐渐增加,但 GSH 为生物大分子,其本身阻抗较大,当过多的 GSH 固载到电极表面后,会导致传感器阻抗增加^[9],进而降低 I_p , 因此综上所述, GSH 固载量选取 80 μg 。

2.5 Nafion 量的优化

分别用 0.5%、1.0%、1.5%、2.0% 和 2.5% 的 Nafion 制备传感器,然后对其进行 CV 扫描,研究 Nafion 对传感器的影响,其结果见图 5。

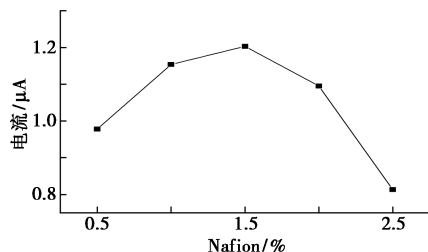


图 5 Nafion 对 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 的影响

Fig.5 Effect of Nafion on Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE

从图 5 分析可知, Nafion 对 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 有显著性影响,一方面 Nafion 具有良好的成膜特性,随着其使用量的增加可以有有效的保护 GSH 从传感器表面的脱落,进而有利于电化学反应的进行;另一方面,当过多的 Nafion 固定到传感器表面后,会导致膜层较好,影响 GSH 与反应电解质的接触,影响 GSH 的反应环境,且过多的 Nafion 也会导致阻抗的增加,进而导致 I_p 的降低。因此综上所述, Nafion 浓度选取 1.5%。

2.6 加成温度选择

分别在 28、30、32、34、36、38 和 40 °C 的环境下,让 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 与浓度为 1×10^{-6} mol/L 的 AM 进行加成反应,研究加成温度对其加成率的影响,其结果见图 6。

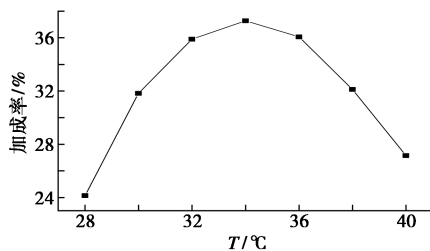


图 6 加成温度对 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 的影响

Fig.6 Effect of addition temperature on Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE

从图 6 分析可知,加成温度对加成率有显著的影响。这是因为当温度过低时 GSH 的活性受到可逆性抑制,影响 GSH 与 AM 巯基化的反应,但当温度过高时会使 GSH 的活性受到不可逆性抑制,破坏其结构,导致其自身氧化,进而影响到

GSH 与 AM 的加成率^[21]。因此,综上所述,加成温度选取 34 °C。

2.7 加成时间选择

在最佳试验条件下,分别让 GSH 与 1×10^{-6} mol/L 的 AM 加成反应 20、40、60、80、100 和 120 s,研究加成时间对 GSH 与 AM 加成率的影响,其结果见图 7。

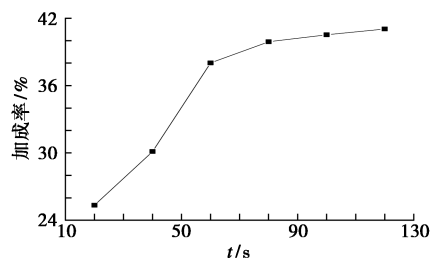


图 7 加成时间对 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 的影响

Fig.7 Effect of addition time on Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE

由图 7 可知,随着加成时间的延长,其加成效果逐渐减弱,其加成率在 20~60 s 内增加的较为显著,随后其加成率趋势逐渐趋于平缓。这是因为,随着加成时间的延长,GSH 有效加成浓度逐渐降低,进而导致其与 AM 的加成速率逐渐降低,影响电化学反应的正向进行。因此,综上所述,加成时间选取 60 s。

2.8 标准曲线

在最佳试验条件下,分别用不同浓度的 AM 与 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 进行加成反应,来研究其加成率与 AM 浓度间的关系,其结果如图 8 所示。

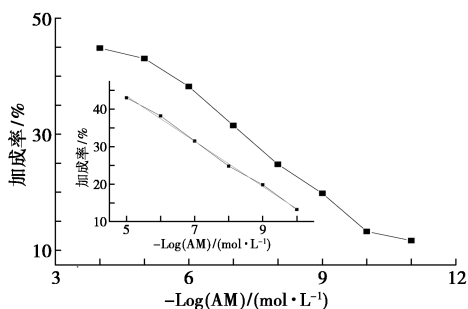


图 8 AM 浓度与加成率间的关系曲线

Fig.8 Relationship curve between AM concentration and addition rate

由图 8 可知,AM 浓度负对数和其与 GSH 间加成率在 $1 \times 10^{-10} \sim 1 \times 10^{-5}$ mol/L 呈良好的线性关系,线性方程为 $Y = -6.025X + 73.632$ (X 为 AM 浓度的负对数), $R^2 = 0.9974$,检出限为 5.624×10^{-11}

mol/L, 检出限较低, 满足试验要求。

2.9 实际样品检测

取 5 mL 处理好的加标溶液, 用制备好的 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 对其进行检测分析, 根据加标率计算出其浓度并和气相色谱法检测结果进行对比, 其结果见表 1。

表 1 加标回收率试验^注

Tab.1 Standard addition recovery test			
方法	检测浓度/ (g·L ⁻¹)	平均回收率/ %	RSD/ %
Nafion/GSH-Fe ₃ O ₄ @ Cs/Pt/GCE	9.68×10 ⁻⁷	96.5	7.937
	9.56×10 ⁻⁷		
	9.71×10 ⁻⁷		
气相色谱法	9.74×10 ⁻⁷	97.23	9.610
	9.62×10 ⁻⁷		
	9.81×10 ⁻⁷		

注: 加标浓度均为 1×10⁻⁶ g/L。

从表 1 分析可知, Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 对 AM 的平均加标回收率为 96.5%, RSD 为 7.937%, 其检测结果与气相色谱法相比无显著性差异, 可信度较高。

2.10 稳定性研究

将制备好的 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 置于 4 °C 环境中进行保存, 每隔 12 h 对其进行 CV 扫描, 来研究 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 的稳定性, 其结果见图 9。

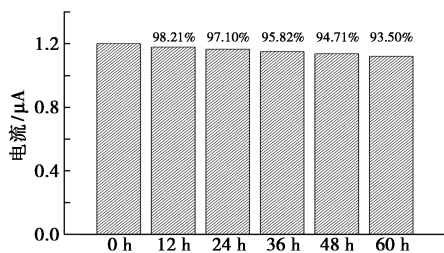


图 9 保存时间对 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 的影响

Fig.9 Effect of storage time on Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE

由图 9 可知, 在 4 °C 保存环境下, 随着保存时间的延长, Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 的有效性逐渐降低, 但当 60 h 后其仍能达到最初效果的 93.50%, 说明该传感器的短期稳定性良好。

3 结论

制备了 Fe₃O₄@Cs/Pt 纳米复合材料, 并在此基础上制备了 Nafion/GSH-Fe₃O₄@Cs/Pt/GCE 传

感器, 用于 AM 的快速定量分析。研究发现, 所制备的传感器线性范围较宽, 短期稳定性较好, 准确度较高。该方案简便、可行, 可用于油炸、煎烤以及烘焙类食物中 AM 的现场快速分析。

参考文献:

- [1] MARYAM A, REZA E K, REZA F, et al. An electrochemical biosensor based on hemoglobin oligonucleotides modified electrode for detection of acrylamide in potato fries [J]. *Food Chem.*, 2019, **271**(15): 54-61.
- [2] 周媛, 张娟, 高富来. 降低油条中丙烯酰胺含量工艺的优化 [J]. *中国粮油学报*, 2020, **25**(6): 127-131.
- [3] 黄双全, 聂辉, 许樱沪, 等. 马蹄皮提取物对油条制作过程中丙烯酰胺生成抑制研究 [J]. *中国食品添加剂*, 2020, **3**: 108-112.
- [4] HU Q Q, XU X H, FU Y C, et al. Rapid methods for detecting acrylamide in thermally processed foods: A review [J]. *Food Control*, 2015, **56**: 135-146.
- [5] CHENG J, ZHANG S, WANG S, et al. Rapid and sensitive detection of acrylamide in fried food using dispersive solid-phase extraction combined with surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. *Food Chem.*, 2019, **276**(15): 157-163.
- [6] MOHAMMAD F, MOHAMMAD H, FEZZEH A, et al. 2-Naphthalenthiole derivatization followed by dispersive liquid-liquid micro extraction as an efficient and sensitive method for determination of acrylamide in bread and biscuit samples using high-performance liquid chromatography [J]. *J. Chromatogr. A*, 2018, **1558**: 14-20.
- [7] 杨雪欣, 陈可靖. 食品中抑制丙烯酰胺的研究进展 [J]. *食品研究与开发*, 2020, **41**(10): 220-224.
- [8] MARILIA B G, THIAGO F S M, ROBERTA S, et al. Determination of acrylamide in brewed coffee by dispersive liquid-liquid micro extraction (DLLME) and ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) [J]. *Food Chem.*, 2019, **282**: 120-126.
- [9] PAN M F, LIU K X, YANG J Y, et al. Review of research into the determination of acrylamide in foods [J]. *Foods*, 2020, **9**(4): 524-543.
- [10] HUSEYIN A, MARCAL P, KEN M R, et al. Application of infrared micro spectroscopy and chemometric analysis for screening the acrylamide content in potato chips [J]. *Anal. Methods*, 2013, **5**(8): 2 020-2 027.
- [11] 战旭梅, 刘萍, 祁兴谱, 等. 高效液相色谱法测定高温加工食品中丙烯酰胺 [J]. *食品安全质量检测学报*,

- 2020, **11**(22): 8 496-8 501.
- [12] 戴煌, 唐天昊, 陈柯君, 等. 食品中丙烯酰胺检测方法研究进展[J]. 食品工业科技, 2020, **41**(14): 329-336.
- [13] WANG Q Y, JI J, JIANG D L, et al. An electrochemical sensor based on molecularly imprinted membranes on a P-ATP-AuNP modified electrode for the determination of acrylamide[J]. *Anal. Methods*, 2014, **6**: 6 452-6 458.
- [14] QING C X, ZENG N L, JIA Y F, et al. Ratiometric electrochemical aptasensor based on ferrocene and carbon nanofibers for highly specific detection of tetracycline residues[J]. *Sci. Rep-UK*, 2017, **7**(1): 1-10.
- [15] MEHDI B, AMIRHASSAN A, BEHROOZ M, et al. A simple approach for simultaneous detection of cadmium (II) and lead (II) based on glutathione coated magnetic nanoparticles as a highly selective electrochemical probe[J]. *Sensor. Actuat. B-Chem.*, 2018, **273**: 1 142-1 150.
- [16] SUJIT D, GANESHLENIN K, RAVI K, et al. Terephthalic acid capped iron oxide nanoparticles for sensitive electrochemical detection of heavy metal ions in water[J]. *Electroanal. Chem.*, 2017, **788**: 91-98.
- [17] ZHANG X B, TONG H W, LIU S M, et al. An improved Stober method towards uniform and monodisperse Fe₃O₄@C nanospheres[J]. *J. Mater. Chem.*, 2013, **1**: 7 488-7 493.
- [18] LI X W, WEN H, FU Q, et al. Morphology-dependent NiO modified glassy carbon electrode surface for lead (II) and cadmium (II) detection[J]. *Appl. Sur. Sci.*, 2016, **363**: 8-12.
- [19] NAGINA B, MEHWISH A, HAFIZA Z R, et al. A high performance electrochemical sensor for Pb²⁺ ions based on carbon nanotubes functionalized CoMn₂O₄ nanocomposite[J]. *ChemistrySelect*, 2020, **5**: 7 909-7 918.
- [20] 魏芳. 丙烯酰胺的电化学检测方法研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2014.
- [21] 郭敬轩. 基于纳米金复合材料的血红蛋白传感器用于丙烯酰胺的检测研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2016.

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022008798

化学试剂, 2022, 44(6), 894~903

分析与测试

醇类香料单体在加热卷烟中的转移行为研究

徐如彦¹, 朱梦薇², 饶先立¹, 王鸣¹, 胡玉轩¹, 李朝建¹, 师东方¹, 石怀斌¹, 郑晓云^{*1}

(1. 江苏中烟工业有限责任公司, 江苏 南京 210019;

2. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院, 河南 郑州 450002)

摘要:为研究醇类香料单体在加热卷烟中的转移规律, 将 28 种醇类香料单体添加到加热卷烟烟芯中, 建立了加热卷烟烟芯中醇类香料单体的检测分析方法, 并分析了醇类香料单体在加热卷烟抽吸前后的转移行为。结果显示: 贮存期间, 28 种醇类香料单体的烟芯持留率为 7.13%~91.70%、降温段迁移率为 0~9.10%、滤嘴迁移率为 0~30.76%、散失率为 1.83%~81.65%。抽吸过程中, 28 种醇类香料单体的向主流烟气颗粒物转移率 (MS 转移率) 为 2.29%~34.02%、烟芯残留率为 1.17%~24.01%、滤嘴截留率为 8.27%~29.46%。互为同系物的醇类单体遵守随着分子量增大、沸点增高, 烟芯持留率、向主流烟气颗粒物转移率增加, 散失率减小的规律。互为同分异构体的醇类单体遵循物质结构稳定性越好、沸点越高, 烟芯持留率和向主流烟气颗粒物转移率越高, 散失率越小的规律。香叶醇、橙花醇、肉桂醇的烟芯持留率高、散失率小、向主流烟气颗粒物转移率高, 适用做加热卷烟香精调配香原料。

关键词:电加热卷烟; 醇类香料; 持留率; 迁移率; 转移率; 截留率; 散失率

中图分类号: TS411 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2022)06-0894-10

Study on Transfer Behavior of Alcohol Flavor Monomers in Heated Cigarettes XU Ru-yan¹, ZHU Meng-wei², RAO Xian-li¹, WANG Ming¹, HU Yu-xuan¹, LI Chao-jian¹, SHI Dong-fang¹, SHI Huai-bin¹, ZHENG Xiao-yun^{*1} (1. China Tobacco Jiangsu Industrial Co., Ltd., Nanjing 210019, China; 2. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 894~903

Abstract: In order to study the transfer principle of alcohol flavor monomers in heated cigarettes, 28 kinds of alcohol flavor monomers were added into heated cigarette cores, and a method for the detection and analysis of alcohol flavor monomers in heated cigarette cores was established. The transfer behavior of alcohol flavor monomers before and after smoking was analyzed. Results showed that during the storage period, the retention rate of the cigarette core of 28 kinds of alcohol flavor monomers was 7.13%~91.70%, the mobility of the cooling section was 0~9.10%, the mobility of the filter rod was 0~30.76%, and the loss rate was 1.83%~81.65%. During the smoking process, the mainstream smoke particle-phase transfer rate (MS transfer rate) of 28 alcohol flavor monomers was 2.29%~34.02%, the residual rate of cigarette core was 1.17%~24.01%, and the rejection rate of filter rod was 8.27%~29.46%. Alcohol monomers that are homologous to each other obey the law that with the increase of the molecular weight and the boiling point, the retention rate of the smoke core and the rate of transferring to the mainstream smoke particle-phase matter increase, while the loss rate decreases. Alcohol monomers that are isomers of each other follow the principle that the better the stability of the material structure and the higher the boiling point, the higher the retention rate of the smoke core and the transfer rate of particulate matter to the mainstream smoke will be, also the smaller the loss rate. As revealed by our study, the geraniol, nerol, and cinnamyl alcohols have relatively high core retention rates, low loss rates, high transfer rates to mainstream smoke particles, and are suitable choices for heating cigarette flavoring and flavoring raw materials.

Key words: heat-not-burn product; alcohol spices; retention rate; mobility rate; transfer rate; rejection rate; loss rate

加热不燃烧卷烟是一类新型烟草制品^[1,2], 通过加热烟草而非点燃烟草的抽吸方式来产生烟

气, 大大减少了主流烟气中因高温裂解产生的有害成分^[3-5], 侧流烟气也随之降低^[6]。随着控烟

收稿日期: 2021-11-17; 网络首发日期: 2022-03-10

基金项目: 单体香料原料热失重及在加热卷烟中的释放行为研究项目 (Q/JSZY/GL-13.18-6)。

作者简介: 徐如彦 (1974-), 男, 河南周口人, 硕士, 高级工程师, 主要从事烟草香料研究。

通讯作者: 郑晓云, E-mail: zhengxy@jszygs.com。

引用本文: 徐如彦, 朱梦薇, 饶先立, 等. 醇类香料单体在加热卷烟中的转移行为研究 [J]. 化学试剂, 2022, 44(6): 894-903。

形势的日趋严峻,加热不燃烧卷烟产品逐渐成为国内外烟草公司的研究热点^[7-10]。而加热卷烟在大幅降低有害成分释放量后,如何提升加热卷烟感官质量和满足感是限制加热卷烟快速发展的重要因素^[11]。为了丰富加热卷烟的香气特征,提升消费者的抽吸感受,可在卷烟中添加香精香料来衬托、增补香味,增加烟气浓度,改善吃味,掩盖杂气,减少刺激性,赋予产品特征香味,突出卷烟产品的个性化风格^[12]。

近年来,围绕加热卷烟展开的研究主要在加热设备、烟气释放物和评价减害效果的细胞毒理学研究方面^[13-16],如郑绪东等^[17]研究了加热卷烟在不同温度下烟气成分以及烟气粒相物、烟碱、甘油、丙二醇的释放特性;周昆等^[18]研究了加热卷烟烟气气溶胶的化学成分、毒理学评价及抽吸时烟叶或烟草材料的热解情况。目前国内外关于加热卷烟中香原料的应用,尤其是单体香原料在加热卷烟中的转移行为研究鲜有报道。醇类香料具有优美的香气,与烟香协调,可增加卷烟烟气的香气和香韵,使烟气吸味柔和,掩盖杂气,通常具有青香、果香、木香、酒香,是烟用香精中一类常用的香原料^[19]。因此,本文以28种醇类香料单体为研究对象,测定加热卷烟中的烟芯持留率、迁移率和散失率,以及抽吸后醇类香料单体向主流烟气粒相物中的转移率、烟芯残留率和滤嘴截留率,为醇类香料单体在加热卷烟烟芯香原料的选择和香精的调配提供理论基础和数据支撑。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

RM20H型转盘式吸烟机(德国博瓦特凯西公司);7890B型气相色谱仪(美国Agilent公司);SB-3200DT型恒温恒湿箱(德国弗兰茨宾德有限公司);SB-3200DT型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);EL204型电子天平(感量0.0001g,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)。

香叶醇、 α -松油醇、芳樟醇、橙花醇、薄荷醇、氧化芳樟醇、柏木醇、橙花叔醇、金合欢醇、肉桂醇、正丁醇、正戊醇、正己醇、3-辛醇、壬醇、癸醇、异戊醇、3-己醇、苯乙醇、苯丙醇、2-甲基苯甲醇、1-苯基-1-丙醇、反式-3-己烯-1-醇、3-甲氧基苯甲醇、2-甲氧基苯甲醇、1,2-丁二醇、2,3-丁二醇、1,3-丁二醇、苯乙酸苯乙酯(内标)(色谱纯,百灵威科技

有限公司);二氯甲烷(色谱级,迪马科技有限公司);无水乙醇、正己烷、异丙醇(色谱级,天津大茂化工试剂厂)。

加热不燃烧卷烟((12 mm烟支+8 mm中空+15 mm特殊材料+10 mm醋纤滤嘴)×圆周22 mm,江苏中烟工业有限责任公司);使用烟具为iQOS 2.4 plus。

1.2 标准溶液的配制

配制以异丙醇为溶剂、浓度为30 $\mu\text{g/mL}$ 苯乙酸苯乙酯的内标溶液。准确称取一定质量的各醇类香料标准品于容量瓶中,用内标溶液逐级稀释,得到质量浓度为1.134、2.268、4.536、9.072、15.120、25.200、42.000、70.000 $\mu\text{g/mL}$ 的系列标准工作溶液。

1.3 加热卷烟的加香与放置处理

筛选平均重量偏差 ± 30 mg范围内的空白加热卷烟烟支作为试验烟支。以异丙醇为溶剂,配制各醇类香料单体质量浓度为4.6 mg/mL的混合香料溶液。采用中心注射法向空白烟支中注入混合香料溶液,每支卷烟注射量为10 μL (烟支的香精添加量为烟芯质量的0.5%)。注射完毕将加香加热卷烟密封并在恒温恒湿((22 $\pm$ 2) $^{\circ}\text{C}$, RH 60% $\pm$ 5%)环境放置48 h。

1.4 样品前处理

1.4.1 加香加热卷烟抽吸前醇类香料的分析

选取6支加香加热卷烟以及空白加热卷烟,迅速将烟支分为三段(烟芯、滤嘴、降温段),将烟芯、滤嘴、降温段剥离后分别转移至50 mL锥形瓶中,各加入10 mL含有苯乙酸苯乙酯的异丙醇萃取液(30 $\mu\text{g/mL}$),分别超声萃取10、20、20 min,萃取液分别过膜,进行GC分析。

1.4.2 加香加热卷烟抽吸后醇类香料的分析

选取6支加香加热卷烟以及空白加热卷烟按照加拿大深度抽吸模式(HCI)的标准要求^[20]使用RM20H转盘式吸烟机进行抽吸,抽吸参数为抽吸容量55 mL、持续时间3 s、抽吸间隔30 s、抽吸11口,剑桥滤片(直径44 mm)捕集卷烟主流烟气总粒相物,保留烟支。抽吸结束后,分别将捕集烟气的剑桥滤片、滤嘴以及烟芯分别转移至50 mL的三角瓶中,分别加入6、10、10 mL含有苯乙酸苯乙酯的异丙醇萃取液,将剑桥滤片摇床振荡15 min、烟芯超声萃取10 min、滤嘴超声萃取20 min,所得萃取液分别过膜,进行GC分析。

1.5 持留率、迁移率、散失率、转移率、截留率测定

1.5.1 贮存过程中持留率、迁移率、散失率测定

$$Y_1 = [(m_1 - m_0)/m] \times 100\% \quad (1)$$

$$Y_2 = [(m_3 - m_2)/m] \times 100\% \quad (2)$$

$$Y_3 = [(m_5 - m_4)/m] \times 100\% \quad (3)$$

$$Y_4 = 1 - (Y_1 + Y_2 + Y_3) \quad (4)$$

式中: Y_1 为烟芯持留率, %; Y_2 为滤嘴迁移率, %; Y_3 为降温段迁移率, %; Y_4 为散失率, %; m 为外加香料量, $\mu\text{g}/\text{支}$; m_0 为空白卷烟烟芯中的香料量, $\mu\text{g}/\text{支}$; m_1 为加香卷烟烟芯中香料量, $\mu\text{g}/\text{支}$; m_2 为空白卷烟滤嘴中的香料量, $\mu\text{g}/\text{支}$; m_3 为加香卷烟滤嘴中香料量, $\mu\text{g}/\text{支}$; m_4 为空白卷烟降温段中香料量, $\mu\text{g}/\text{支}$; m_5 为加香卷烟降温段中香料量, $\mu\text{g}/\text{支}$ 。

1.5.2 抽吸过程中烟气转移率、烟芯残留率及滤嘴截留率测定

$$Y_5 = (M_1/m) \times 100\% \quad (5)$$

$$Y_6 = (M_2/m) \times 100\% \quad (6)$$

$$Y_7 = (M_3/m) \times 100\% \quad (7)$$

式中: Y_5 为主流烟气粒相物转移率, %; Y_6 为滤嘴截留率, %; Y_7 为烟芯残留率, %; M_1 为主流烟气粒相物中香料量, $\mu\text{g}/\text{支}$; M_2 为加香卷烟抽吸后滤嘴中香料量, $\mu\text{g}/\text{支}$; M_3 为加香卷烟抽吸后烟芯中香料量, $\mu\text{g}/\text{支}$; m 为外加香料量, $\mu\text{g}/\text{支}$ 。

1.6 分析方法

GC 条件: 色谱柱: HP-5MS 毛细管柱 (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm); 进样口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 检测器 (FID) 温度: 280 $^{\circ}\text{C}$; 载气: 氮气; 柱流速为 1.0 mL/min; 分流比: 15:1, 进样量 1.0 μL ; 程序升温: 50 $^{\circ}\text{C}$ (保持 2 min), 12 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升到 62 $^{\circ}\text{C}$, 再以 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升到 88 $^{\circ}\text{C}$, 再以 14 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升到 116 $^{\circ}\text{C}$, 再以 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 118 $^{\circ}\text{C}$, 再以 0.2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 120 $^{\circ}\text{C}$, 再以 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 136 $^{\circ}\text{C}$, 再以 0.1 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 138 $^{\circ}\text{C}$, 再以 0.5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 140 $^{\circ}\text{C}$, 再以 25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 190 $^{\circ}\text{C}$, 再以 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 210 $^{\circ}\text{C}$ (保持 5 min), 再以 6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 258 $^{\circ}\text{C}$ (保持 2 min)。

2 结果与讨论

2.1 烟芯前处理条件优化

2.1.1 萃取溶剂的选择

按照 1.4.1 方法, 改变萃取液的种类, 考察不同溶剂对醇类香料单体萃取效果的影响, 如图 1 所示。结果表明, 异丙醇对烟芯中醇类香料单体具有较高的萃取效果, 因此选择异丙醇作为萃取溶剂。

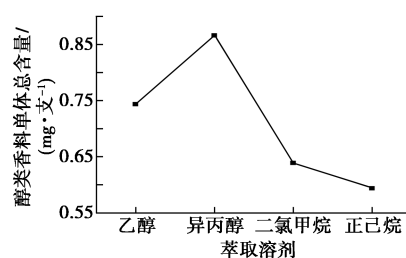


图 1 不同萃取溶剂对醇类香料单体萃取效果的影响

Fig.1 Effect of different extraction solvents on the extraction efficiency of alcohol perfume monomers

2.1.2 萃取方式的选择

按照 1.4.1 方法, 改变萃取方式, 考察不同萃取方式对萃取效果的影响, 如图 2 所示。结果表明, 超声萃取对烟芯中醇类香料单体具有较高的提取效果, 这可能是由于超声波频率较高且超声过程中液体温度逐渐升高, 可以加速溶质的溶解^[21], 因此选择超声作为烟芯萃取方式。

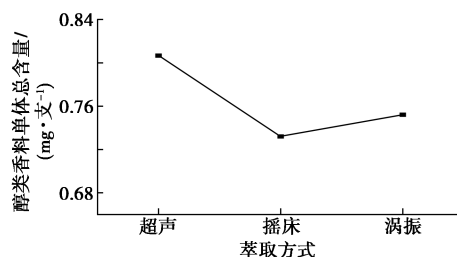


图 2 不同萃取方式对醇类香料单体萃取效果的影响

Fig.2 Effect of different extraction methods on the extraction effect of alcohol perfume monomers

2.1.3 萃取时间的选择

按照 1.4.1 方法, 考察不同萃取时间对萃取效果的影响, 如图 3 所示。结果表明, 随着超声时间的延长, 萃取出的目标物含量先增加后趋于稳定, 原因可能是 10 min 时目标物含量达到萃取平衡, 此后目标物的萃取量随着萃取时间的延长无明显变化^[22]。因此选择 10 min 作为萃取时间。

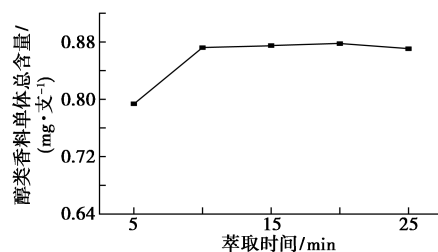


图 3 不同萃取时间对醇类香料单体萃取效果的影响

Fig.3 Effect of different extraction time on the extraction effect of alcohol perfume monomers

2.1.4 萃取液体积的选择

按照 1.4.1 方法, 考察不同萃取液体积对萃

取效果的影响,如图 4 所示。结果表明,10 mL 时醇类香料单体的萃取质量达到最大值。这可能是由于萃取液增加会增大接触面积,但超过一定量后会起到稀释的作用^[23]。因此,选择 10 mL 作为萃取液体积。

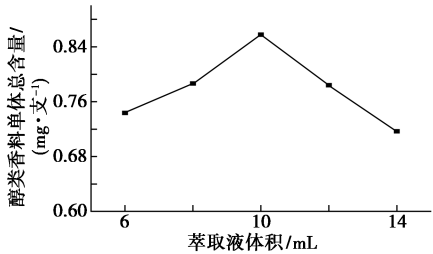


图 4 不同萃取液体积对醇类香料单体萃取效果的影响

Fig.4 Effect of different extraction volumes on the extraction effect of alcohol perfume monomers

2.2 方法学验证

2.2.1 工作曲线、精密度、检出限、定量限

标准工作溶液进行 GC 分析,将各醇类香料单体与内标物的峰面积比(x)对相应的各醇类香料单体浓度与内标浓度比(y)进行线性回归分析,得到各醇类香料单体的工作曲线,并计算 10 次重复试验的相对标准偏差(RSD),结果见表 1。由此可见,所分析的 28 种醇类香料单体在质量浓度 1.134 ~ 70.000 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性良好($R \geq 0.999\ 0$),检出限为 0.013 1 ~ 0.052 0 $\mu\text{g/mL}$,定量限为 0.043 7 ~ 0.173 2 $\mu\text{g/mL}$,RSD 值为 0.508 8%~4.987 2%,该方法重复性较好。

表 1 28 种醇类香料单体的线性方程、相关系数、RSD、检出限和定量限^注

Tab.1 Linear equation, correlation coefficient, RSD, detection limit and quantification limit of 28 kinds of alcohol perfume monomers

名称	回归方程	相关系数(R)
正丁醇	$y = 1.486\ 2x + 0.064\ 8$	0.999 1
异戊醇	$y = 1.326\ 3x + 0.014\ 8$	0.999 5
正戊醇	$y = 1.485\ 4x + 0.070\ 7$	0.999 0
2,3-丁二醇	$y = 2.417\ 6x + 0.056\ 8$	0.999 3
3-己醇	$y = 1.268\ 8x + 0.040\ 1$	0.999 0
1,2-丁二醇	$y = 3.182\ 6x + 0.100\ 5$	0.999 0
反式-3-己烯-1-醇	$y = 1.691x + 0.040\ 3$	0.999 3
1,3-丁二醇	$y = 3.653\ 9x - 0.020\ 3$	0.999 5
正己醇	$y = 1.246x + 0.040\ 6$	0.999 2
正辛醇	$y = 1.262\ 5x + 0.0495$	0.999 4
氧化芳樟醇	$y = 1.304x - 0.023\ 2$	0.999 1
芳樟醇	$y = 1.068\ 9x + 0.001\ 9$	0.999 5

续表

名称	回归方程	相关系数(R)
苯乙醇	$y = 1.089\ 9x + 0.086\ 4$	0.999 0
2-甲基苯甲醇	$y = 0.923\ 7x + 0.041\ 9$	0.999 1
1-苯基-1-丙醇	$y = 1.122\ 9x + 0.042\ 5$	0.999 3
正壬醇	$y = 1.028\ 1x + 0.041\ 4$	0.999 1
L-薄荷醇	$y = 1.019x + 0.020\ 8$	0.999 0
α -松油醇	$y = 1.129\ 9x + 0.012\ 4$	0.999 4
橙花醇	$y = 1.071\ 5x + 0.070\ 9$	0.999 3
苯丙醇	$y = 1.075\ 6x + 0.056\ 7$	0.999 1
香叶醇	$y = 1.016\ 9x + 0.032\ 5$	0.999 0
2-甲氧基苯甲醇	$y = 1.111\ 2x + 0.042\ 2$	0.999 4
正癸醇	$y = 1.020\ 2x + 0.044\ 6$	0.999 0
3-甲氧基苯甲醇	$y = 1.361\ 5x + 0.104\ 3$	0.999 0
肉桂醇	$y = 1.125\ 6x + 0.100\ 1$	0.999 1
橙花叔醇	$y = 1.471\ 6x + 0.030\ 4$	0.999 1
柏木醇	$y = 0.823\ 2x + 0.029\ 1$	0.999 1
金合欢醇	$y = 1.362x + 0.065\ 8$	0.999 2

名称	RSD/%	检出限 ¹⁾ / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	定量限 ²⁾ / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
正丁醇	1.819 2	0.033 2	0.110 8
异戊醇	1.283 9	0.013 1	0.043 7
正戊醇	2.910 7	0.040 1	0.133 6
2,3-丁二醇	4.430 9	0.019 2	0.064 0
3-己醇	3.828 2	0.034 1	0.113 5
1,2-丁二醇	1.878 8	0.025 2	0.084 1
反式-3-己烯-1-醇	1.742 7	0.016 0	0.053 4
1,3-丁二醇	1.776 1	0.017 9	0.059 7
正己醇	4.271 2	0.046 4	0.154 8
正辛醇	2.620 4	0.037 1	0.123 5
氧化芳樟醇	0.783 9	0.044 3	0.147 8
芳樟醇	0.999 5	0.041 9	0.139 8
苯乙醇	2.252 5	0.016 9	0.056 3
2-甲基苯甲醇	2.126 1	0.014 2	0.047 3
1-苯基-1-丙醇	4.344 4	0.027 0	0.089 9
正壬醇	4.987 2	0.032 0	0.106 7
L-薄荷醇	4.139 5	0.052 0	0.173 2
α -松油醇	2.270 1	0.039 9	0.133 0
橙花醇	1.714 7	0.048 5	0.161 6
苯丙醇	0.528 2	0.039 3	0.131 0
香叶醇	3.673 2	0.046 8	0.156 1
2-甲氧基苯甲醇	4.562 5	0.016 8	0.055 9
正癸醇	2.646 0	0.019 6	0.065 2
3-甲氧基苯甲醇	2.917 0	0.016 8	0.055 9
肉桂醇	3.813 5	0.027 6	0.092 1
橙花叔醇	0.508 8	0.035 1	0.116 9
柏木醇	1.650 8	0.029 9	0.099 7
金合欢醇	2.050 1	0.034 1	0.113 8

注:1)按最低浓度的标准偏差的 3 倍计算;2)按最低浓度的标准偏差的 10 倍计算。

2.2.2 加标回收率与精密度

选择标样加入法测定加标回收率,选取 3 份加香加热卷烟样品,分别加入低、中、高 3 个不同水平浓度的混标溶液,按照 1.6 分析方法,测定 3 个不同加标水平下的 28 种醇类香料单体的回收率,平行测定 3 次,如表 2 所示,结果表明,28 种醇类香料单体的平均回收率为 92.44% ~ 109.59%,该方法回收率较高,适用于加热不燃烧卷烟香料单体的测定。

表 2 28 种醇类香料单体的加标回收率测定结果

Tab.2 Determination of the recovery rate of 28 kinds of alcohol perfume monomers				
名称	原质量分数/ (mg·支 ⁻¹)	加标量/ (mg·支 ⁻¹)	测定值/ (mg·支 ⁻¹)	平均回收 率/%
正丁醇	0.008 8	0.004 4	0.013 4	103.69
		0.008 8	0.017 7	101.11
		0.013 2	0.022 6	104.31
异戊醇	0.011 8	0.005 6	0.017 4	100.74
		0.011 2	0.022 8	98.14
		0.016 8	0.028 3	98.29
正戊醇	0.011 6	0.006 3	0.018 1	102.90
		0.012 6	0.024 2	100.39
		0.018 8	0.029 1	92.83
2,3-丁二醇	0.041 9	0.020 5	0.062 4	99.84
		0.041 0	0.082 6	99.32
		0.061 5	0.102 4	98.42
3-己醇	0.010 8	0.005 8	0.016 9	105.04
		0.011 6	0.022 6	101.70
		0.017 3	0.028 1	100.19
1,2-丁二醇	0.042 2	0.024 2	0.068 7	109.48
		0.048 5	0.090 5	99.57
		0.072 7	0.114 9	99.99
反式-3-己烯-1-醇	0.010 6	0.005 7	0.016 6	105.68
		0.011 3	0.022 2	102.38
		0.017 0	0.026 5	93.63
1,3-丁二醇	0.026 5	0.013 4	0.040 4	103.40
		0.026 8	0.053 3	100.07
		0.040 2	0.065 6	97.23
正己醇	0.012 0	0.005 5	0.018 0	108.21
		0.011 0	0.022 8	98.10
		0.016 5	0.028 1	97.63
正辛醇	0.035 3	0.017 3	0.053 3	103.85
		0.034 6	0.069 4	98.45
		0.051 8	0.086 5	98.88
氧化芳樟醇	0.023 5	0.011 7	0.036 0	106.55
		0.023 5	0.047 6	102.46
		0.035 2	0.058 8	100.26
芳樟醇	0.028 9	0.014 0	0.043 6	105.02
		0.028 1	0.057 0	99.90
		0.042 2	0.070 5	98.53
苯乙醇	0.048 1	0.026 9	0.074 7	98.76
		0.053 9	0.107 1	109.37
		0.080 8	0.129 2	100.42

续表

名称	原质量分数/ (mg·支 ⁻¹)	加标量/ (mg·支 ⁻¹)	测定值/ (mg·支 ⁻¹)	平均回收 率/%
2-甲基苯甲醇	0.062 8	0.022 4	0.085 2	99.88
		0.044 9	0.107 4	99.41
		0.067 3	0.134 7	106.79
1-苯基-1-丙醇	0.042 7	0.021 2	0.064 5	102.88
		0.042 5	0.083 9	96.99
		0.063 7	0.107 4	101.54
正壬醇	0.041 4	0.025 2	0.068 4	107.14
		0.050 5	0.092 9	102.07
		0.075 7	0.122 1	106.63
L-薄荷醇	0.039 1	0.019 8	0.058 9	99.78
		0.039 7	0.078 8	99.99
		0.059 5	0.104 3	109.59
α-松油醇	0.040 7	0.021 9	0.062 7	100.33
		0.043 8	0.084 3	99.60
		0.065 7	0.107 3	101.39
橙花醇	0.048 4	0.024 6	0.074 8	107.44
		0.049 2	0.096 5	97.78
		0.073 8	0.123 5	101.76
苯丙醇	0.044 7	0.024 6	0.070 5	105.01
		0.049 2	0.093 1	98.38
		0.073 8	0.117 3	98.42
香叶醇	0.045 8	0.025 0	0.072 2	105.55
		0.050 1	0.096 2	100.61
		0.075 2	0.118 2	96.33
2-甲氧基苯 甲醇	0.043 9	0.022 0	0.065 3	97.35
		0.044 0	0.088 9	102.23
		0.066 0	0.104 9	92.44
正癸醇	0.050 8	0.028 9	0.081 7	106.76
		0.057 9	0.109 6	101.59
		0.086 8	0.139 4	102.06
3-甲氧基苯 甲醇	0.054 6	0.031 5	0.086 0	99.61
		0.063 0	0.122 9	108.47
		0.094 5	0.146 5	97.24
肉桂醇	0.055 7	0.037 7	0.093 2	99.36
		0.075 6	0.136 2	106.49
		0.113 3	0.165 1	96.60
橙花叔醇	0.033 0	0.025 8	0.058 6	99.06
		0.051 7	0.083 7	98.16
		0.077 5	0.107 8	96.56
柏木醇	0.048 4	0.031 6	0.079 8	99.35
		0.063 4	0.108 5	94.80
		0.095 0	0.139 8	96.21
金合欢醇	0.054 9	0.053 4	0.108 0	99.47
		0.107 1	0.162 0	99.98
		0.160 5	0.214 6	99.49

2.2.3 溶液稳定性

取混合香料溶液 1 份,加入内标物制备各单体质量浓度为 46 μg/mL 的混合溶液,在室温条件下放置 0、4、6、8、10、24 h 后,按照 1.6 分析方法进样测定,计算各醇类香料单体与内标物的峰

面积比值(见表 3),由表 3 可知,28 种醇类香料单体的 RSD 在 0.841 5%~4.353 3%($n=3$),表明样品溶液在 24 h 内稳定。

表 3 28 种醇类香料单体的稳定性测定结果
Tab.3 Stability measurement results of 28 kinds of alcohol perfume monomers

名称	时间/h			
	0	4	6	8
正丁醇	0.819 7	0.825 3	0.811 9	0.754 0
异戊醇	1.038 7	1.041 5	1.048 2	1.098 7
正戊醇	0.898 2	0.921 5	0.916 2	0.943 1
2,3-丁二醇	0.929 1	0.936 8	0.936 5	0.909 5
3-己醇	1.040 1	1.025 6	1.045 1	1.080 4
1,2-丁二醇	0.890 2	0.924 7	0.931 9	0.916 9
反式-3-己烯-1-醇	0.831 8	0.818 2	0.828 2	0.829 2
1,3-丁二醇	1.308 5	1.325 5	1.271 7	1.250 8
正己醇	1.058 4	1.023 8	1.030 6	1.083 7
正辛醇	1.062 8	1.016 8	1.022 7	1.071 2
氧化芳樟醇	1.073 7	1.079 1	1.086 2	1.035 5
芳樟醇	1.141 7	1.157 4	1.181 9	1.143 5
苯乙醇	1.504 5	1.521 4	1.530 1	1.569 4
2-甲基苯甲醇	1.233 8	1.272 2	1.141 3	1.255 9
1-苯基-1-丙醇	1.175 8	1.130 8	1.138 2	1.127 5
正壬醇	1.051 2	1.029 8	1.037 8	1.079 1
L-薄荷醇	1.391 5	1.494 5	1.379 5	1.425 6
α -松油醇	1.196 3	1.147 9	1.167 0	1.118 1
橙花醇	1.138 0	1.130 0	1.152 6	1.146 2
苯丙醇	1.157 7	1.178 4	1.152 9	1.187 1
香叶醇	1.193 1	1.141 6	1.128 6	1.170 8
2-甲氧基苯甲醇	0.950 4	0.928 0	0.871 5	0.930 2
正癸醇	1.177 1	1.125 0	1.147 8	1.177 2
3-甲氧基苯甲醇	1.061 2	1.039 2	1.031 2	1.033 7
肉桂醇	1.200 8	1.145 7	1.139 7	1.162 1
橙花叔醇	0.861 3	0.932 1	0.846 0	0.875 1
柏木醇	1.130 2	1.146 4	1.185 3	1.142 9
金合欢醇	1.259 7	1.287 9	1.354 7	1.269 9

名称	时间/h		平均值	RSD/%
	10	24		
正丁醇	0.834 5	0.851 8	0.816 2	4.097 2
异戊醇	1.026 0	1.045 3	1.049 7	2.398 9
正戊醇	0.928 6	0.982 7	0.931 7	3.114 7
2,3-丁二醇	0.908 7	0.898 7	0.919 9	1.771 3
3-己醇	1.028 0	0.960 3	1.029 9	3.821 0
1,2-丁二醇	0.890 3	0.930 5	0.914 1	2.101 0
反式-3-己烯-1-醇	0.818 7	0.904 6	0.838 5	3.921 3
1,3-丁二醇	1.223 9	1.217 7	1.266 3	3.481 2
正己醇	1.073 6	0.959 3	1.038 2	4.353 3

续表

名称	时间/h		平均值	RSD/%
	10	24		
正辛醇	1.070 8	0.960 8	1.034 2	4.181 1
氧化芳樟醇	1.031 7	1.063 9	1.061 7	2.164 5
芳樟醇	1.169 5	1.177 1	1.161 9	1.469 1
苯乙醇	1.466 5	1.578 7	1.528 4	2.722 6
2-甲基苯甲醇	1.234 4	1.191 6	1.221 5	3.908 1
1-苯基-1-丙醇	1.120 8	1.165 5	1.143 1	1.952 4
正壬醇	1.018 9	0.961 3	1.029 7	3.826 3
L-薄荷醇	1.427 1	1.418 1	1.422 7	2.819 3
α -松油醇	1.248 2	1.171 2	1.174 8	3.780 9
橙花醇	1.132 4	1.128 9	1.138 0	0.841 5
苯丙醇	1.104 0	1.096 4	1.146 1	3.299 3
香叶醇	1.189 0	1.169 1	1.165 4	2.201 8
2-甲氧基苯甲醇	0.972 0	0.941 9	0.932 3	3.624 0
正癸醇	1.186 7	1.166 7	1.163 4	1.977 4
3-甲氧基苯甲醇	1.057 1	1.049 3	1.045 3	1.193 4
肉桂醇	1.169 8	1.153 3	1.161 9	1.885 9
橙花叔醇	0.914 8	0.853 3	0.880 4	3.986 9
柏木醇	1.202 5	1.183 0	1.165 1	2.482 7
金合欢醇	1.254 7	1.245 8	1.278 8	3.119 8

2.3 抽吸前醇类香料的转移行为分析

按照 1.4.1 的方法,测定各醇类香料单体的转移率,见表 4,结果表明:(1)28 种醇类香料单体的烟芯持留率为 7.13%~91.70%,其中香叶醇的烟芯持留率最大,其次是肉桂醇、正癸醇、橙花醇;(2)降温段迁移率为 0%~9.10%、滤嘴迁移率为 0%~30.76%,大多数醇类香料单体的滤嘴迁移率高于降温段迁移率;(3)散失率为 1.83%~81.65%,其中 L-薄荷醇的散失率最小,其次是香叶醇、橙花醇、肉桂醇;(4)香叶醇、肉桂醇以及橙花醇烟芯持留率高,散失率小,迁移率较小,可为加热卷烟烟芯加香原料选择提供参考。

表 4 28 种醇类香料单体在卷烟抽吸前的转移行为分析

Tab.4 Analysis of the transfer behavior of 28 alcohol perfume monomers before cigarette smoking			
名称	分子量	沸点/℃	烟芯持留率/%
正丁醇	74	117.7	8.19
异戊醇	88	131.2	7.13
正戊醇	88	138.0	12.02
2,3-丁二醇	90	229.2	29.89
3-己醇	102	134.4	10.15
1,2-丁二醇	90	207.5	28.20
反式-3-己烯-1-醇	100	154.5	12.94
1,3-丁二醇	90	204.0	16.03

续表			
名称	分子量	沸点/℃	烟芯持留率/%
正己醇	102	157.8	14.59
正辛醇	130	195.2	57.48
氧化芳樟醇	170	188.0	54.24
芳樟醇	154	199.0	36.84
苯乙醇	122	219.5	83.52
2-甲基苯甲醇	122	205.0	83.70
1-苯基-1-丙醇	136	219.0	71.11
正壬醇	144	215.0	82.42
L-薄荷醇	156	215.0	74.56
α-松油醇	154	221.0	75.77
橙花醇	154	227.0	85.62
苯丙醇	136	237.5	78.14
香叶醇	154	230.0	91.70
2-甲氧基苯甲醇	138	249.0	63.25
正癸醇	158	227.0	85.91
3-甲氧基苯甲醇	138	255.0	69.77
肉桂醇	134	258.0	87.81
橙花叔醇	222	146.0	50.38
柏木醇	222	292.0	75.20
金合欢醇	222	283.0	70.14
名称	滤嘴迁移率/%	降温段迁移率/%	散失率/%
正丁醇	13.08	2.10	76.63
异戊醇	21.24	2.77	68.86
正戊醇	19.10	2.36	66.53
2,3-丁二醇	6.91	2.69	60.51
3-己醇	22.72	4.17	62.96
1,2-丁二醇	0	2.32	71.80
反式-3-己烯-1-醇	13.92	1.23	71.91
1,3-丁二醇	0	0	81.65
正己醇	21.00	4.92	61.56
正辛醇	14.40	4.92	23.20
氧化芳樟醇	30.76	9.10	5.90
芳樟醇	28.96	9.03	25.16
苯乙醇	5.12	6.50	4.85
2-甲基苯甲醇	4.45	3.86	7.99
1-苯基-1-丙醇	6.58	3.89	18.42
正壬醇	7.81	2.05	7.72
L-薄荷醇	16.87	6.74	1.83
α-松油醇	12.63	6.20	5.39
橙花醇	7.80	4.56	2.03
苯丙醇	2.70	1.25	17.90
香叶醇	3.49	2.80	2.00
2-甲氧基苯甲醇	0	0	36.75
正癸醇	5.72	1.34	7.03

续表			
名称	滤嘴迁移率/%	降温段迁移率/%	散失率/%
3-甲氧基苯甲醇	0	0	30.23
肉桂醇	6.20	3.50	2.49
橙花叔醇	2.60	1.92	45.10
柏木醇	0	1.46	23.33
金合欢醇	1.28	1.58	27.01

2.4 抽吸后醇类香料向主流烟气的转移行为分析

按照 1.4.2 的方法,测定各醇类香料单体的转移率,结果(表 5)表明:(1)28 种醇类香料单体向主流烟气粒相物转移率为 2.29%~34.02%,其中香叶醇向主流烟气粒相物转移率最高,其次是橙花醇、肉桂醇;(2)28 种醇类香料单体的烟芯残留率为 1.17%~24.01%,香叶醇、橙花醇、肉桂醇的烟芯残留率分别为 22.92%、20.23%、15.13%;(3)28 种醇类香料单体的滤嘴截留率为 8.27%~29.46%,香叶醇、橙花醇、肉桂醇的滤嘴截留率分别为 25.18%、28.36%、17.73%。这表明香叶醇、橙花醇、肉桂醇向主流烟气粒相物转移率较高且残留率相对较低,与抽吸前的结论相一致,可为加热卷烟烟芯香原料的选择和香精的调配提供参考。

表 5 28 种醇类香料单体在卷烟抽吸后的转移行为分析

Tab.5 Analysis of the transfer behavior of 28 alcohol flavor monomers after cigarette smoking					
名称	分子量	沸点/℃	烟芯残留率/%	滤嘴截留率/%	MS 转移率/%
正丁醇	74	117.7	1.58	14.34	2.29
异戊醇	88	131.2	1.49	9.64	2.34
正戊醇	88	138.0	1.60	17.24	6.55
2,3-丁二醇	90	229.2	10.41	15.49	11.07
3-己醇	102	134.4	1.53	15.41	4.14
1,2-丁二醇	90	207.5	9.15	8.39	9.88
反式-3-己烯-1-醇	100	154.5	1.17	16.49	8.27
1,3-丁二醇	90	204.0	5.31	8.27	3.10
正己醇	102	157.8	1.69	18.09	10.28
正辛醇	130	195.2	3.05	18.42	17.18
氧化芳樟醇	170	188.0	15.88	23.56	18.79
芳樟醇	154	199.0	11.83	19.90	20.21
苯乙醇	122	219.5	21.73	24.26	26.42
2-甲基苯甲醇	122	205.0	20.66	19.56	7.34
1-苯基-1-丙醇	136	219.0	9.35	18.94	19.23
正壬醇	144	215.0	7.99	19.19	22.38
L-薄荷醇	156	215.0	11.57	26.85	20.55

续表					
名称	分子量	沸点/ ℃	烟芯残留 率/%	滤嘴截留 率/%	MS 转移 率/%
α-松油醇	154	221.0	22.04	29.46	26.01
橙花醇	154	227.0	20.23	28.36	33.16
苯丙醇	136	237.5	14.81	23.29	24.58
香叶醇	154	230.0	22.92	25.18	34.02
2-甲氧基苯甲醇	138	249.0	17.15	15.79	18.58
正癸醇	158	227.0	9.74	18.09	29.55
3-甲氧基苯甲醇	138	255.0	19.30	15.24	19.72
肉桂醇	134	258.0	15.13	17.73	32.07
橙花叔醇	222	146.0	15.89	14.49	19.48
柏木醇	222	292.0	23.60	19.82	23.89
金合欢醇	222	283.0	24.01	14.63	20.29

2.5 互为同系物的醇类香料单体转移行为研究

如图 5 所示,随着分子量增大沸点增高,互为同系物的正丁醇、正戊醇、正己醇、正辛醇、正壬醇、正癸醇,其烟芯持留率、烟芯残留率、向主流烟气粒相物转移率逐渐增大;降温段迁移率、滤嘴迁移率、滤嘴截留率先增加后减小;散失率逐渐减小。原因可能是直链饱和醇类随着碳链增长,分子量变大,沸点升高,低沸点香料由于较强的挥发性在贮存及抽吸时较易发生逸散。说明在添加量相同的情况下,同系高级脂肪醇类的加香效果较好。

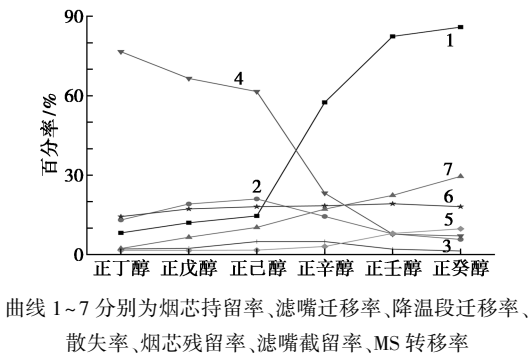


图 5 互为同系物的醇类香料单体的转移情况
Fig.5 Transfer of perfume monomers of alcohol homologues

2.6 不同饱和度的醇类香料单体转移行为研究

如图 6 所示,与饱和的正己醇相比,不饱和的 3-己烯-1-醇的烟芯持留率、降温段迁移率、滤嘴迁移率、向主流烟气粒相物转移率、烟芯残留率和滤嘴截留率相对较低,散失率较高,可能由于双键的稳定性较弱、沸点较低,从而有较强的透发性所致。与饱和的苯丙醇相比,不饱和的肉桂醇的烟芯持留率、滤嘴迁移率、降温段迁移率、向主流烟

气粒相物转移率和烟芯残留率相对较高,滤嘴截留率、散失率较低,可能由于肉桂醇中双键与苯环发生共轭效应,分子结构稳定性较强,不容易挥发所致。

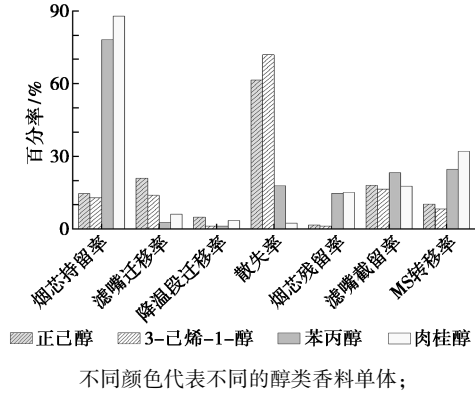


图 6 不同饱和度的醇类香料单体转移情况
不同颜色代表不同的醇类香料单体;
相同图案代表同一组不同饱和度的醇类香料单体

Fig.6 Transfer of alcohol perfume monomers with different degrees of saturation

2.7 互为同分异构体的醇类香料单体转移行为研究

如图 7 所示:
(1)与正戊醇、正己醇、苯丙醇相比,其同分异构体异戊醇、异己醇、1-苯基-1-丙醇的烟芯持留率、向主流烟气粒相物转移率、烟芯残留率和滤嘴截留率较低,降温段迁移率、滤嘴迁移率和散失率相对较高,原因可能是互为同分异构体的醇类,支链越多、化学结构越分散,沸点越低,越易挥发。
(2)1,3-丁二醇、1,2-丁二醇、2,3-丁二醇的烟芯持留率、降温段迁移率、滤嘴迁移率、滤嘴截留率、向主流烟气粒相物转移率和烟芯残留率逐渐增加,散失率逐渐减小;2-甲氧基苯甲醇、3-甲氧基苯甲醇的烟芯持留率、烟芯残留率和向主流烟气粒相物转移率逐渐增加,散失率、滤嘴截留率逐渐减小。降温段迁移率和滤嘴迁移率均未检测到。原因可能与分子极性有关,相对分子质量相同时,极性大的物质化学键较强,沸点较高,散失率小。

(3)互为顺反异构体的橙花醇和香叶醇,随着沸点的增大,烟芯持留率、向主流烟气粒相物转移率和烟芯残留率逐渐升高,降温段迁移率、滤嘴迁移率、散失率和滤嘴截留率逐渐减少,两者向主流烟气粒相物中的转移率差异不大,可能由于两者沸点较为接近,转移行为比较相似。

(4)与芳樟醇、橙花叔醇相比,环状结构的 α-松油醇、柏木醇的烟芯持留率、向主流烟气粒相物

转移率、烟芯残留率和滤嘴截留率较高,降温段迁移率、滤嘴迁移率和散失率较低。原因可能由于环状结构较稳定,沸点较高所致。

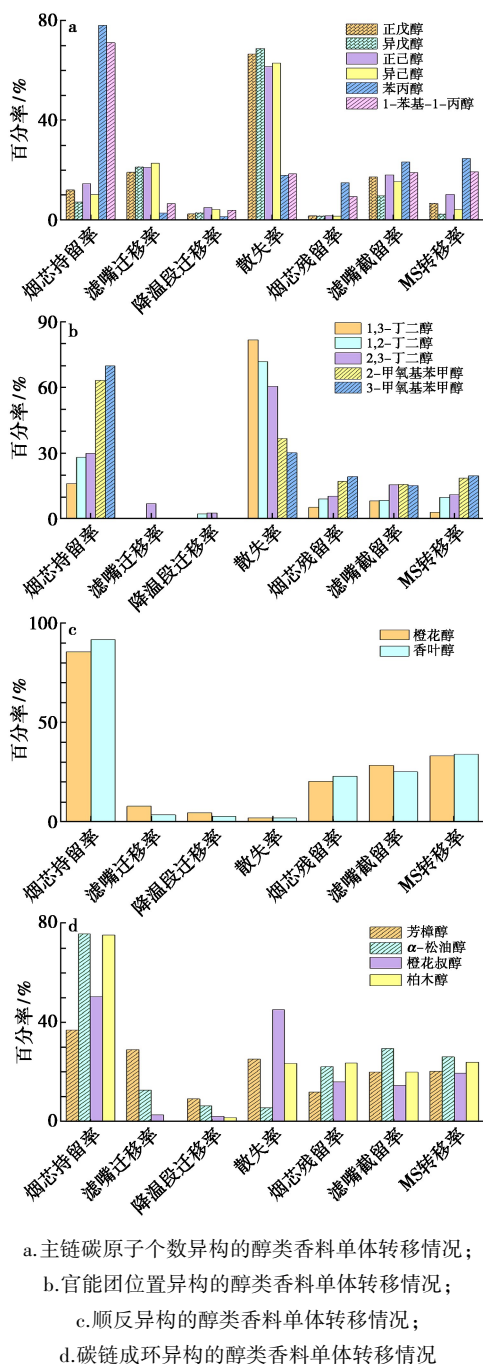


图 7 互为同分异构体的醇类香料单体转移情况

Fig.7 Transfer of alcohol perfume monomers that are isomers of each other

3 结论

本文建立了加热卷烟烟芯中醇类香料单体的分析方法,并研究了 28 种醇类香料单体在加热卷烟中的转移规律。结果表明:(1)萃取溶剂为异丙醇、萃取方式为超声、萃取时间为 10 min、萃取

液体积为 10 mL 为加热卷烟烟芯最佳前处理条件;(2)所建方法在质量浓度 1.134 ~ 70.000 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性良好($r \geq 0.999\ 0$)、检出限较低、回收率较高、重复性好,适用于加热卷烟外加醇类香料单体的测定;(3)贮存期间,28 种醇类香料单体的烟芯持留率为 7.13% ~ 91.70%、降温段迁移率为 0% ~ 9.10%、滤嘴迁移率为 0% ~ 30.76%、散失率为 1.83% ~ 81.65%;(4)抽吸过程中,28 种醇类香料单体的主流烟气粒相物转移率为 2.29% ~ 34.02%、烟芯残留率为 1.17% ~ 24.01%、滤嘴截留率为 8.27% ~ 29.46%;(5)香叶醇、橙花醇、肉桂醇的烟芯持留率高、散失率小、向主流烟气粒相物转移率高,适用做加热卷烟香精调配香原料;(6)互为同系物的醇类单体遵守随着分子量增大、沸点增高,烟芯持留率、向主流烟气粒相物转移率增加,散失率减小的规律;(7)互为同分异构体的醇类香料单体遵循物质结构稳定性越好、沸点越高,其烟芯持留率和向主流烟气粒相物转移率越高,散失率越小的规律。该研究为醇类香料单体在加热卷烟烟芯香原料的选择和香精的调配提供理论基础和数据支撑。

参考文献:

- [1] 罗一鸣,张献英.新型烟草制品发展综述[J].广东化工,2021,48(13):111-112;131.
- [2] 廖波.我国新型烟草制品发展状况分析[J].现代营销(经营版),2021,(7):16-17.
- [3] 周昆,杨继,杨柳,等.加热不燃烧卷烟气溶胶研究进展[J].中国烟草学报,2017,23,(5):121-129.
- [4] 李翔,谢复伟,刘惠民.新型烟草制品毒理学评价研究进展[J].烟草科技,2016,49(1):88-93.
- [5] 王颖,杨文彬,王冲,等.加热不燃烧卷烟产品主流烟气中香味成分的比较[J].食品与机械,2019,35(6):64-68.
- [6] 郭林青,梁坤,黄玉川,等.薄荷型微胶囊在加热卷烟中的应用研究[J].轻工科技,2021,37(11):17-19.
- [7] 肯生叶,温光和,杨雪燕,等.GC-TCD 法同时检测加热不燃烧卷烟烟草材料中的水分、1,2-丙二醇、烟碱和丙三醇[J].烟草科技,2020,53(5):41-46.
- [8] 黄运东.菲莫国际加热不燃烧烟具专利的分析[J].科技经济市场,2019,(4):7-9.
- [9] 龚淑果,刘巍,黄平,等.加热不燃烧卷烟烟气主要成分的逐口释放行为[J].烟草科技,2019,52(2):62-71.
- [10] 郭林青,梁坤,黄玉川,等.薄荷型微胶囊在加热卷烟

- 中的应用研究[J].轻工科技,2021,**37**(11):17-19.
- [11]刘亚丽,王金棒,郑新章,等.加热不燃烧烟草制品发展现状及展望[J].中国烟草学报,2018,**24**(4):91-106.
- [12]高海有,刘秀明,高莉,等.烟用香精香料研究现状与发展趋势[J].香料香精化妆品,2019,(2):70-73;69.
- [13]张虎,段沅杏,杨柳,等.加热卷烟气溶胶化学成分分析研究进展[J].中国烟草学报,2021,**27**(6):120-126.
- [14]艾明欢,杨菁,沈轶,等.TG-FTIR 联用研究 HnB 烟草基质在 400 ℃ 以下的热解特性和气相产物[J].中国烟草学报,2020,**26**(1):8-14.
- [15]VANDER T M, FRENTZEL S, DE L H, et al. Aerosol from a candidate modified risk tobacco product has reduced effects on chemotaxis and transendothelial migration compared to combustion of conventional cigarettes [J].*Food and Chem. Toxicol.*, 2015, **86**:81-87.
- [16]PHILLIPS B, VELJKOVIC E, BOUE S, et al. An 8-month systems toxicology inhalation/cessation study in apoe^{-/-} mice to investigate cardiovascular and respiratory exposure effects of a candidate modified risk tobacco product, THS 2.2, compared with conventional cigarettes [J].*Toxicol. Sci.*, 2016, **149**(2):411-432.
- [17]郑绪东,李志强,王程娅,等.不同加热温度下电加热不燃烧卷烟烟气释放特性研究[J].安徽农业科学,2018,**46**(36):168-171.
- [18]周昆,杨继,杨柳,等.加热不燃烧卷烟气溶胶研究进展[J].中国烟草学报,2017,**23**(5):121-129.
- [19]谢剑平.烟草香原料[M].北京:化学工业出版社,2009:1-511.
- [20]Health Canada Test Method T-115: Determination of tar, water, nicotine and carbon monoxide in mainstream [EB/OL]. (1999-12-31) [2018-12-03]. <https://health.canada.ca/apps/open-information/tobacco/100PDF/T-115E.pdf>.
- [21]罗静,方金豹,谢汉忠,等.超声波辅助萃取桃果实挥发性物质的效果[J].果树学报,2014,**31**(5):828-835.
- [22]夏启东,何邦华,侯英,等.气相色谱质谱法测定6种加香目标物质的含量及对烟丝加香均匀性的评价[J].分析测试学报,2012,**31**(7):816-822.
- [23]张文洁,郑美玲,朱远洋,等.非邻苯酯类增塑剂在卷烟中的转移行为[J].精细化工,2019,**36**(10):2155-2160.

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2022008839

化学试剂, 2022, 44(6), 904~907

HPLC 测定人血清中三种抗 HIV 药

龚爱琴

(扬州工业职业技术学院 化学工程学院, 江苏 扬州 225127)

摘要:建立一种用高效液相色谱法同时测定人血清中 3 种抗 HIV 药(拉米夫定、富马酸替诺福韦二吡呋酯和 ACC007)的新方法。测定时采用 Dionex C₁₈(5 μ m, 4.60 mm $\times$ 250 mm)色谱柱;流动相为甲醇-水,采用梯度洗脱方式,流速为 0.6 mL/min;检测波长为 260 nm。结果发现在优化色谱条件下,拉米夫定、富马酸替诺福韦二吡呋酯和 ACC007 的线性范围分别为 2.07~103.5、5.15~206.0、2.06~51.45 μ g/mL,检出限分别为 1.05、2.60、1.03 μ g/mL,加样回收率分别为 98.54%~103.8%、98.29%~102.5%、101.7%~108.4%。本方法简单快速,可用于人血清中 3 种药物含量的测定。

关键词:抗 HIV 药;拉米夫定;富马酸替诺福韦二吡呋酯;ACC007;HPLC

中图分类号:O657.7 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2022)06-0904-04

Simultaneous Determination of Three Anti HIV Drugs in Serum by HPLC GONG Ai-qin (Chemical Engineering Institute, Yangzhou Polytechnic Institute, Yangzhou 225127, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 904~907

Abstract: In this work, a new method for the simultaneous determination of lamivudine, tenofovir disoproxil fumarate, and ACC007 in human serum was developed with high-performance liquid chromatography (HPLC). A Dionex C₁₈ chromatographic column (5 μ m, 4.60 mm $\times$ 250 mm) was used with the methanol-water mobile phase (gradient elution) and a flow rate of the mobile phase of 0.6 mL/min. The detection wavelength was 260 nm. Under the optimized chromatographic conditions, the linear ranges of lamivudine, tenofovir disoproxil fumarate and ACC007 were 2.07~103.5, 5.15~206.0, 2.06~51.45 μ g/mL, respectively; the detection limits for lamivudine, tenofovir disoproxil fumarate and ACC007 were 1.05, 2.60, and 1.03 μ g/mL, respectively; and accordingly, the recoveries in the spiked samples were 98.54%~103.8%, 98.29%~102.5%, and 101.7%~108.4%, respectively. The proposed method is simple and fast and can be used for the determination of these three drugs in human serum.

Key words: anti HIV drug; lamivudine; tenofovir disoproxil fumarate; ACC007; HPLC

艾滋病是由于机体感染人类免疫缺陷病毒(Human immunodeficiency virus, HIV)而引发的全身性疾病。艾滋病人由于免疫功能严重缺损,常会引起严重的机会感染,未经治疗的感染者在疾病晚期易于并发各种严重感染和恶性肿瘤,最终导致死亡^[1,2]。

目前国际上治疗艾滋病的药物有 6 大类 30 多种,分别为核苷类逆转录酶抑制剂(Nucleoside reverse transcriptase inhibitor, NRTIs)、非核苷类逆转录酶抑制剂(Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor, NNRTIs)、蛋白酶抑制剂(Protease inhibitor, PIs)、整合酶抑制剂(Integrase strand transfer inhibitor, INSTIs)、融合酶抑制剂(Fusion inhibitor, FIs)及 CCR5 抑制剂(C—C chemokine receptor type 5)^[3]。2 个 NRTIs 类药物联合 1 个 NNRTIs 类药物是目前治疗艾滋病的临床推荐方案^[4]。富马酸替诺福韦二吡呋酯(简称替诺福韦)、拉米夫定属于 NRTIs 类药物,是国内临床常用的抗

HIV 药物,也是绝大部分国家的一线用药^[5,6]。ACC007 是一种 NNRTIs 类潜在药物,具有优良的抗病毒活性和很好的安全性,在 2017 年获得国家“十三五”重大新药创制科技重大专项^[7]。替诺福韦、拉米夫定、ACC007 三者制成的复方制剂称为 ACC008,是江苏艾迪药业股份有限公司正在研究的新药,目前已获批进行药物临床试验^[8]。

在药物临床研究过程中,监测生物体液中药

收稿日期:2021-12-07;网络首发日期:2022-03-07

基金项目:江苏高校“青蓝工程”项目(苏教师[2018]12号);江苏省高等学校优秀科技创新团队项目(苏教科[2017]6号);江苏省大学生实践创新课题项目(202013754024Y);扬州工业职业技术学院高层次人才科研启动经费项目。

作者简介:龚爱琴(1974-),女,江苏扬州人,博士,教授,主要研究方向为仪器分析、药物分析, E-mail:578288049@qq.com。

引用本文:龚爱琴.HPLC 测定人血清中三种抗 HIV 药[J].化学试剂,2022,44(6):904-907。

物浓度对了解其药动学非常重要。文献调研显示黄洁琼^[9]用 LC-MS/MS 法测定了比格犬血浆中替诺福韦、拉米夫定、ACC007 的含量,其他方法尚未见报道。本文提出用 HPLC 法测定人血清中替诺福韦、拉米夫定、ACC007 含量,方法简单易于普及。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Ultimate 3000 型高效液相色谱仪(带紫外检测器,美国戴安公司);UV-1801 型紫外分光光度计(北京北分瑞利分析仪器有限责任公司);L2-4K 台式低速离心机(湖南可成仪器设备有限公司)。

拉米夫定(含量 99.8%)、替诺福韦(含量 99.8%)、ACC007(含量 99.7%)标准物质(江苏艾迪药业股份有限公司);无水乙醇(分析纯)、甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)(国药集团化学试剂有限公司);水为高纯水。

1.2 标准溶液的配制

分别准确称取 0.10 g 的拉米夫定、替诺福韦、ACC007 标准物质于 100 mL 容量瓶中,加 50 mL 乙醇超声溶解后,用乙醇稀释至刻度线,摇匀,此浓度为 1.0 mg/mL,置于冰箱冷藏室保存。使用前用无水乙醇稀释至 0.10 mg/mL。

1.3 血清样品的制备

取 1.0 mL 健康自愿者的血清于 10 mL 离心管中,分别加入 0.20 mL(1.0 mg/mL)3 种药物的标准溶液,再加入乙腈至 10 mL,摇匀,以 2 500 r/min 的转速离心 5 min,取上清液供色谱分析^[10,11]。

1.4 色谱条件

色谱柱为 Dionex C₁₈(5 μm, 4.60 mm×250 mm);流动相为甲醇-水,采用梯度洗脱,流速为 0.6 mL/min;检测波长为 260 nm;柱温为 25 ℃;进样量为 20 μL。

采用单因素实验考察了色谱条件,利用色谱峰信号值进行了方法学验证。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

2.1.1 测定波长的选择

分别取 1.0 mL(0.1 mg/mL)3 种药物的标准溶液于 10 mL 离心管中,用无水乙醇稀释至刻度

线,摇匀,以乙醇为参比,扫描吸收光谱曲线。图 1 为拉米夫定、替诺福韦、ACC007 的紫外吸收光谱曲线,由图可知,替诺福韦、ACC007 在 260 nm 处出现吸收峰,拉米夫定在 260 nm 处吸收也较大,故色谱分析时固定紫外检测器的测定波长为 260 nm。

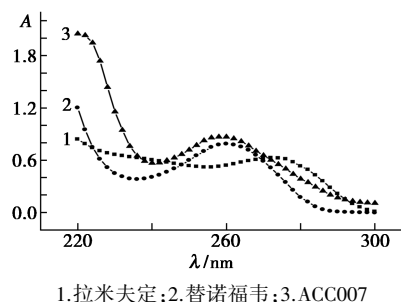
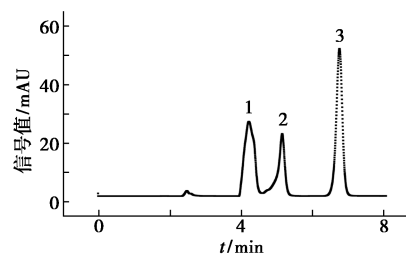


图 1 吸收曲线

Fig.1 Absorption curves

2.1.2 流动相的选择

固定流动相流速为 0.6 mL/min,研究了不同比例甲醇、乙腈、水混合溶液为流动相时的色谱分离情况,结果发现不用乙腈,甲醇与水比例为 85:15 时 3 种药物分离较好(图 2),但替诺福韦色谱峰拖尾较严重。



1.拉米夫定;2.替诺福韦;3.ACC007

图 2 色谱图(流动相为 V(甲醇):V(水)=85:15)

Fig.2 Chromatogram [The mobile phase was methanol-water (85:15)]

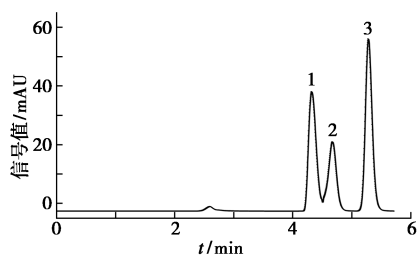
2.1.3 流动相洗脱方式的选择

固定流动相为甲醇与水,考察了梯度洗脱时药物的分离情况。实验结果显示(图 3),当采用表 1 所示梯度洗脱方式时,3 种药物分离较好,且替诺福韦色谱峰拖尾现象得到改善,后续研究中采用该种方式洗脱,拉米夫定保留时间为 4.327 min,替诺福韦保留时间为 4.673 min,ACC007 保留时间为 5.287 min。

表 1 梯度洗脱方式

Tab.1 Mode of gradient elution

洗脱方式	时间/min	甲醇/%	水/%
梯度洗脱	0~3	95	5
	3~6	75	25



1. 拉米夫定; 2. 替诺福韦; 3. ACC007

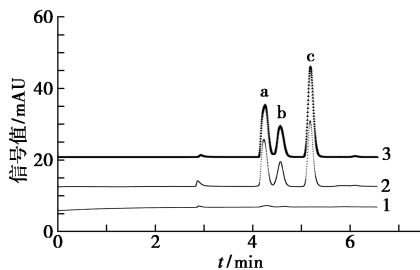
图 3 梯度洗脱时的色谱图

Fig.3 Chromatogram of gradient elution

2.2 方法学验证

2.2.1 专属性实验

图 4 显示了空白血清(曲线 1)、加样血清(曲线 2)、3 种药物标准溶液(曲线 3)的色谱图。由图可知,加样血清中 3 种药物保留时间与标准溶液中 3 种药物保留时间一致,空白血清在 3 种药物保留时间处没有色谱峰,表示血清中共存组分对测定没有干扰,方法的专属性较好。



a. 拉米夫定; b. 替诺福韦; c. ACC007

1. 空白血清; 2. 加样血清; 3. 标准溶液

图 4 标准溶液的色谱图

Fig.4 Chromatograms of standard solutions

2.2.2 线性关系与检出限

在优化的色谱条件下,取不同浓度的 3 种药物分别进样测定,以测定信号值为纵坐标、药物浓度为横坐标绘制工作曲线,结果见表 2。由表 2 可知,拉米夫定、富马酸替诺福韦二吡呋酯和 ACC007 的线性范围分别为 2.07~103.5、5.15~206.0、2.06~51.45 $\mu\text{g/mL}$,检出限分别为 1.05、2.60、1.03 $\mu\text{g/mL}$ 。

表 2 线性关系与检出限

Tab.2 Linear relationship and detection limit

药物	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	斜率	截距	相关 系数	检出限/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
拉米夫定	2.07~103.5	0.996	0.515	0.999 5	1.05
替诺福韦	5.15~206.0	0.594	0.266	0.999 6	2.60
ACC007	2.06~51.45	1.486	0.835	0.999 9	1.03

2.2.3 精密度与重现性

分别配制浓度为 10.0、20.0、30.0 $\mu\text{g/mL}$ 的

拉米夫定、替诺福韦、ACC007 标准溶液,同法进样测定,每个浓度平行测定 6 次,以测定的信号值计算精密度,结果拉米夫定的 RSD 分别为 0.48% (10.0 $\mu\text{g/mL}$)、0.33% (20.0 $\mu\text{g/mL}$)、0.35% (30.0 $\mu\text{g/mL}$),替诺福韦的 RSD 分别为 0.53% (10.0 $\mu\text{g/mL}$)、0.61% (20.0 $\mu\text{g/mL}$)、0.37% (30.0 $\mu\text{g/mL}$),ACC007 的 RSD 分别为 0.31% (10.0 $\mu\text{g/mL}$)、0.22% (20.0 $\mu\text{g/mL}$)、0.48% (30.0 $\mu\text{g/mL}$),表明方法的重现性较好。

2.2.4 样品测定与回收率

实验中用研究方法测定了血清中拉米夫定、替诺福韦、ACC007 的含量,测定结果见表 3,血清中拉米夫定浓度为 20.9 $\mu\text{g/mL}$,替诺福韦浓度为 21.1 $\mu\text{g/mL}$,ACC007 浓度为 20.4 $\mu\text{g/mL}$ 。血清样品制备时各药物浓度分别为:拉米夫定 20.7 $\mu\text{g/mL}$ 、替诺福韦 20.6 $\mu\text{g/mL}$ 、ACC007 20.6 $\mu\text{g/mL}$ 。实验结果显示测定值与加样值没有显著性差异。

采用加标回收的方法考察了方法的准确度,测定结果见表 3。由结果可知,回收率分别为 98.54%~103.8% (拉米夫定),98.29%~102.5% (替诺福韦),101.7%~108.4% (ACC007),表明方法准确性较好,可以用于血清中 3 种药物的测定。

表 3 样品测定和回收率实验结果

Tab.3 Results of sample determination and recovery

(n=3)

药物	标准溶液加入量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	平均测定值/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	平均回收 率/%	RSD/ %
拉米夫定	0.00	20.90	—	1.05
	10.30	31.05	98.54	0.96
	20.60	42.28	103.80	1.31
	30.90	52.11	101.00	1.52
替诺福韦	0.00	21.10	—	0.89
	10.20	31.56	102.50	1.38
	81.80	101.50	98.29	1.75
	163.20	182.60	98.96	0.77
ACC007	0.00	20.40	—	0.73
	10.29	31.55	108.40	0.58
	20.58	41.49	102.50	1.28
	30.87	51.79	101.70	0.76

3 结论

采用药物联合治疗的“鸡尾酒”疗法,是目前治疗艾滋病的常用方法。由拉米夫定、替诺福韦、ACC007 这 3 种药物制成的复方制剂,刚获批进

入临床试验阶段,不可避免要进行药动学监测,但目前报道的同时测定 3 种药物的方法很少。本研究提出了用 HPLC 法测定 3 种药物含量,流动相为甲醇与水,简单易得,且色谱条件易于控制。方法学验证结果表明该方法可用于人血清中 3 种药物的测定。实验中同时要注意,3 种药物见光不稳定,要注意避光保存。

参考文献:

- [1] 赵松峰, 张晓, 师秀琴, 等. 新型 HIV-1 蛋白酶抑制剂的合成[J]. 化学试剂, 2017, **39**(9): 999-1 002.
- [2] 韩孟杰, 陈清峰, 徐鹏, 等. 砥砺前行“十三五”艾滋病防控迈向新征程——我国艾滋病防治回顾与展望[J]. 中国艾滋病性病, 2021, **27**(12): 1 075.
- [3] 刘帅凤, 彭振仁, 沈智勇. 艾滋病抗病毒药物及其治疗策略的研究进展[J]. 应用预防医学, 2016, **22**(3): 282-285.
- [4] 唐琪, 卢洪洲. 艾滋病流行现状及防治策略探讨[J]. 复旦学报(医学版), 2017, **44**(6): 744-751.
- [5] 白跃飞, 皮昌桥, 吴晓璟, 等. HIV 蛋白酶抑制剂硫酸阿扎那韦的合成[J]. 中国新药杂志, 2018, **27**(15): 1 798-1 802.
- [6] 白跃飞, 黄丽荣, 皮昌桥, 等. HIV 蛋白酶抑制剂利托那韦的制备[J]. 中国新药杂志, 2018, **27**(20): 2 412-2 416.
- [7] 胡雄林, 刘三侠, 沈小宁. 抗 HIV 复合制剂的制备及评价[J]. 中国新药杂志, 2020, **29**(6): 686-691.
- [8] 江苏艾迪药业股份有限公司关于 ACC008 片获得药物临床试验批准通知书的公告. <https://finance.sina.com.cn/roll/2020-07-31/doc-iivhuipn5996492.shtml>.
- [9] 黄洁琼. 新型抗 HIV 复方制剂 LC-MS/MS 检测方法的建立及比格犬药动学研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2016.
- [10] GONG A Q, ZHU X S. Miniaturized ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction in a coupled-syringe system combined with UV for extraction and determination of danazol in danazol capsule and mice serum[J]. *Spectrochim. Acta A*, 2016, **159**: 163-168.
- [11] 曹聪, 郑运亮, 胡兴江, 等. LC-MS/MS 法测定健康人体血浆中阿齐沙坦的浓度及在药代动力学研究中的初探[J]. 药物分析杂志, 2017, **37**(4): 737-744.

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022008917

化学试剂, 2022, 44(6), 908~914

中缅管输进口原油微量元素分析研究

李秀林¹, 韩家曦², 刘汗青¹, 武梦琦¹, 王群威³, 杨新周^{*4}

(1.瑞丽海关, 云南 瑞丽 678600; 2.瑞丽中检检验认证有限公司, 云南 瑞丽 678600;

3.宁波海关技术中心, 浙江 宁波 315010; 4.德宏师范高等专科学校 理工学院, 云南 芒市 678400)

摘要:测定中缅管输原油中 9 种元素, 为原油国别鉴定、原油溯源提供依据, 为中缅管输原油运输及下游的冶炼过程提供科学基础。采用灰化碱熔-电感耦合等离子体发射光谱法对中缅管输原油中 9 种元素进行测定。结果表明, 中缅管输进口 5 个国家的原油中含有 Al、Si、V、Ni、Fe、Na、Ca、Zn 8 种元素, 原油中均未检出 P 元素。8 种元素中 Fe 含量占比 75.73%, V 含量占比 10.87%, Si 含量占比 4.73%, Ni 含量占比 4.18%, 其余元素占比 4.56%。通过分析得出, 中缅管输进口的 5 国原油 Si/V、Ni/V 比值均小于 1, 呈现出海相原油的特性, 不同油种元素的含量存在一定差异, 且有一定的规律性, 各油种间 Ni/V、Si/V 比值相差不大, Fe/V 比值的波动较大, 可以按此对 5 个国家原油进行溯源。

关键词:灰化碱熔; 电感耦合等离子体发射光谱法; 中缅管输原油; 元素

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2022)06-0908-07

Analysis of Trace Elements in Crude Oil Imported from China-Myanmar Pipeline LI Xiu-lin¹, HAN Jia-xi², LIU Han-qing¹, WU Meng-qi¹, WANG Qun-wei³, YANG Xin-zhou^{*4} (1. Ruili Customs, Ruili 678600, China; 2. Ruili Inspection and Certification Co., Ltd., Ruili 678600, China; 3. Ningbo Customs Technology Center, Ningbo 315010, China; 4. College of Science and Technology, Dehong Teachers College, Mangshi 678400, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 908~914

Abstract: The determination of nine elements in crude oil transported by China-Myanmar pipeline provides a basis for crude oil identification and traceability, and provides a scientific basis for crude oil transportation and downstream smelting process. Nine elements in crude oil from China-Myanmar pipeline were determined by ash-lized alkali fusion inductively coupled plasma emission spectrometry. Eight elements, such as Al, Si, V, Ni, Fe, Na, Ca and Zn, were detected in the crude oils from the five countries imported from the China-Myanmar pipeline, but P element was not detected in the crude oils. The contents of Fe, V, Si, Ni and other elements were 75.73%, 10.87%, 4.73%, 4.18% and 4.56%, respectively. Through analysis, the sino-burmese pipeline crude oil imports of five countries Ni/V and Si/V ratio was less than 1, presented the characteristics of crude oil at sea, oil of different kinds of element contents in there was a difference, and had the certain regularity, between each kind of Ni/V and Si/V ratio were similar, the Fe/V ratio of volatile, can according to the five countries of crude oil for traceability.

Key words: ashing alkali soluble; inductively coupled plasma atomic emission spectrometry; the China-Myanmar pipeline carries crude oil; element

原油主要是由不同的烃类化合物及其衍生物组成, 其中所含的主要元素有碳、氢、硫、氮和氧, 除此之外还含有少量的微量元素^[1]。原油中的微量元素有几十种, 目前已经检测出 59 种, 其中金属微量元素 45 种^[2,3]。原油中金属元素对原油的加工和使用危害性极大, 在石油加工过程中, 原油中的微量金属元素会影响催化剂的活性, 缩短催化剂的使用寿命, 严重时会导致催化剂的永久性中毒^[4]。如镍和钒对原油二次加工过程的催化裂化和重油加氢处理过程会造成很大危害, 在催化裂化加工过程中, 镍、钒配合物发生分解反应, 脱掉的金属沉积在催化剂表面上, 影响催化剂的活性, 严重情况下会造成催化剂失活^[5]。原油

中的钙不仅加剧设备的腐蚀, 影响安全生产, 导致催化剂丧失活性, 严重时造成非计划停工^[6]。原油中的金属元素及其盐类, 在原油加工过程中都能直接或间接的引起有关设备的结垢与腐蚀, 催

收稿日期: 2022-01-08; 网络首发日期: 2022-03-09

基金项目: 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目 (202005AC160061); 海关总署 2020 年科技计划项目 (2020HK246)。

作者简介: 李秀林 (1985-), 男, 云南宾川人, 学士, 工程师, 主要从事光谱分析研究。

通讯作者: 杨新周, E-mail: YXZ1149@126.com。

引用本文: 李秀林, 韩家曦, 刘汗青, 等. 中缅管输进口原油微量元素分析研究[J]. 化学试剂, 2022, 44(6): 908-914。

化剂的中毒失活和产品质量的下降等问题。这些问题不仅严重影响到炼油厂的生产安全,而且会引起炼油厂能耗的增加和经济效益的下降^[7]。此外,微量金属元素,在原油勘探和加工过程中还会向周围环境排放,造成污染^[8]。因此,原油中有害元素的种类及其含量是评价原油优劣的一项重要指标^[9]。

由于生成石油的低级动植物的种类、石油形成的环境条件不尽相同,不同油田、不同油区、甚至不同油井开采出的原油的性质及其所含金属元素的种类、含量和存在形态差异很大^[1]。地域不相同的石油由于地质环境及周边环境因素的作用,彼此之间镍钒比值也表现出很大差异^[10],因为油品中的微量金属镍、钒元素的含量和镍钒比值(Ni/V)受外界因素的作用很小,可以有效的区分溢油种类^[11]。经过筛选的特征比值一般满足独特性和差异性,具有地球化学意义。原油痕量金属元素钒、镍和 Ni/V 比值是区分陆相和海相生油岩相的一个有效的地球化学指标^[12-14]。国内外学者大多以原油样品中的镍钒比值作为参数来考察不同地区原油的属性。也可利用微量元素来确定生油岩相,进行油源对比。通过分析得到的大量元素含量数据,为产地判别、原产地溯源技术提供依据,为相关部门在制定减排控污和人群健康影响的预防控制上提供参考^[15]。

近年来,伴随着原油开采深度的加大,世界原油资源向着劣质化的方向发展,劣质原油中金属含量是常规原油的数倍^[16]。了解原油中元素含量不仅有利于提高原油、成品油的质量,而且为炼油过程中脱除金属提供有利依据^[10]。进口原油质量安全事关人民群众切身利益、国门安全和对外贸易可持续发展,是实现质量强国的重要组成部分。科学预防和有效控制质量安全风险,是加强全面质量管理、促进质量提升的重要途径,原油在加工过程产生的重金属污染问题越来越受到人们重视,我们必须加强对原油元素的检验监管。

目前测定原油中微量元素常用的方法有原子吸收光谱法、原子荧光光谱法、紫外-可见分光光度法等。随着原子发射光谱技术的发展和成熟,电感耦合等离子体原子发射光谱(ICP-AES)法因具有多元素同时测定、线性范围宽、灵敏度高、基体效应小、精密度高、快速准确等特点在原油元素分析中得到广泛应用^[9]。

中缅油气管道,是继中哈、中亚、中俄之后的

第四大能源战略通道,是中缅两国友谊和“一带一路”紧密合作的示范性工程,它的运行对中国解决能源安全问题、实现能源来源地和运输通道多元化,具有重要的战略意义^[17,18]。本文对中缅管输进口主要的 5 国原油中 9 种元素含量、诊断比值进行分析研究,确保储运及炼油设备的安全平稳,提高原油质量,降低风险,为进口原油检验监管、储运加工及贸易交接提供数据支撑。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

iCAP7200 型电感耦合等离子体发射光谱仪(美国赛默飞世尔科技公司);Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司);SGM M15/12A 型人工智能箱式电阻炉(美国西格玛公司);AL204 型电子分析天平(瑞士梅特勒托利多公司);100 mL 铂金坩埚(天津银鹏发展金属制品有限公司)。

硫酸氢钾、DL-酒石酸、四硼酸锂、氟化锂(分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);单元素标准溶液(GSB G62027-90(3301),国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院);V21 磨损金属有机标油($10 \mu\text{g/g}$,英国 LGC 公司);盐酸(MOS 级,天津市风船化学试剂科技有限公司)。

1.2 样品信息

根据每月提供的卸船报告、原产地证进行油品的划分,中缅管输进口原油主要来自 5 个国家,共计分析原油 87 批次,其中包括 A 国轻质原油(9 批次)、B 国原油(14 批次)、C 国混合原油(20 批次)、D 国中质原油(34 批次)、E 国原油(10 批次)。

1.3 样品的制备

抽检原油样品混匀后,用铂金坩埚称取 20.0 g 原油,用电炉缓慢加热并点燃原油,控制好燃烧火焰,直至炭化完全,将铂金皿和试料放入预先加热至(525 ± 25) °C 的马弗炉中进行灰化 4 h,取出加入 0.4 g 四硼酸钾助熔剂,将铂金皿和试料放入预先加热至(925 ± 25) °C 的马弗炉中进行碱熔 15 min,取出冷却至室温,向铂金皿中加入 50 mL 酒石酸(5 g 酒石酸溶解于 1 000 mL 4% 盐酸中),将铂金皿放于电热板上热溶,溶解完全后取下铂金皿,冷却后将其转移至 100 mL 塑料容量瓶中,用超纯水定容至 100 mL,上机待测^[19]。

1.4 标准曲线方程

9 种元素线性方程如表 1 所示。从表 1 中可

知,9 种元素线性方程相关系数(r)为 0.999 2~1.000 0,说明 9 种元素线性关系良好,适合原油中 9 种元素含量的测定。

表 1 9 种元素线性方程、线性范围、相关系数及其检出限

Tab.1 Linear equation, linear range, correlation coefficient and detection limit of 9 elements

元素	线性方程	r	线性范围/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	检出限/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
Al	$y=1\ 255.506\ 3x+447.076\ 3$	0.999 9	0.5~5.0	2.0
Si	$y=116.463\ 3x+13.967\ 4$	0.999 5	0.5~25.0	2.5
V	$y=478.544\ 6x+1.397\ 0$	1.000 0	0.5~25.0	1.0
Ni	$y=517.661\ 6x+8.817\ 8$	0.999 9	0.5~25.0	1.0
Fe	$y=1\ 318.379\ 1x+95.698\ 8$	1.000 0	0.5~25.0	2.0
Na	$y=8\ 320.077\ 9x+132.683\ 3$	0.999 2	0.5~5.0	1.0
Ca	$y=1\ 424.773\ 8x+230.468\ 1$	1.000 0	0.5~5.0	2.0
Zn	$y=2\ 510.385\ 7x+31.040\ 0$	0.999 9	0.5~5.0	1.0
P	$y=1\ 255.506\ 3x+447.076\ 3$	0.999 7	0.5~5.0	1.0

2 结果与讨论

2.1 准确性

取同一份混合标准品溶液连续测定 6 次,测得各元素 RSD 为 0.05%~1.56%,表明仪器精密度良好。以 A 国轻质原油 A1 为例,做 3 组平行实验,采用检测平均结果计算 3 组间的相对标准偏差,通过计算得出,3 组间的组间精密度为 0.28%~4.90%,说明方法偏差较小。以 V21 磨损金属有机标油($10\ \mu\text{g/g}$)按照 1.3 方法进行测定,测定结果见表 2,从表 2 可知标准物质检测结果满足标准物质证书要求,方法准确度高。

表 2 标准物质测定

Tab.2 Determination of standard substances

元素	测定结果			平均值	真值
	1	2	3		
Al	10.05	9.98	10.02	10.02	10.0±0.1
Si	9.95	9.97	9.99	9.97	10.0±0.1
V	10.01	10.05	10.03	10.03	10.0±0.1
Ni	10.05	10.02	10.03	10.03	10.0±0.1
Fe	10.08	10.05	10.02	10.05	10.0±0.1
Na	9.97	9.98	9.96	9.97	10.0±0.1
Ca	10.02	10.03	10.06	10.04	10.0±0.1
Zn	10.02	10.09	10.03	10.04	10.0±0.1
P	9.96	9.98	9.95	9.96	10.0±0.1

2.2 不同产地原油元素分析

对不同国家的原油进行元素测定,结果见表 3。从表中可以看出,5 个国家原油中含有 Al、Si、V、Ni、Fe、Na、Ca、Zn 等 8 种元素,8 种元素中

Fe 含量最高,为 771.30 mg/kg 。5 个国家原油中均未检出 P 元素。8 种元素中变异系数最大是 Fe,说明不同产地的原油 Fe 元素含量差异较大。Ni 元素含量变异系数最小,说明不同产地原油中 Ni 元素含量较稳定。从图 1 中可以看出,原油中 8 种元素 Fe 含量占比为 75.73%,V 含量占比为 10.87%,Si 含量占比为 4.73%,Ni 含量占比为 4.18%,其余元素占比为 4.56%。

表 3 原油中 9 种元素测定结果^注

Tab.3 Determination of 9 elements in crude oil

		(mg/kg)				
原油品种	编号	Al	Si	V	Ni	Fe
A 国轻质原油	A1	ND	10.92	31.72	10.73	118.04
	A2	ND	10.73	31.14	10.43	115.28
	A3	ND	11.66	31.86	10.79	90.42
	A4	ND	11.03	31.19	9.64	87.30
	A5	ND	11.08	32.45	11.36	162.65
	A6	ND	13.37	31.17	10.46	111.79
	A7	ND	12.11	32.39	10.64	132.30
	A8	ND	7.71	21.26	10.86	230.18
	A9	ND	5.03	11.08	10.28	66.58
B 国原油	B1	ND	13.70	30.29	10.21	315.47
	B2	ND	13.93	29.60	10.40	456.67
	B3	ND	14.99	28.01	10.96	130.12
	B4	ND	14.23	28.26	9.95	112.45
	B5	ND	5.61	11.16	8.72	280.17
	B6	ND	5.61	11.48	9.26	480.54
	B7	ND	5.36	12.51	9.24	461.25
	B8	ND	16.70	40.83	12.28	609.84
	B9	ND	20.55	51.50	12.97	278.12
	B10	ND	5.97	15.12	9.65	76.20
	B11	ND	4.25	8.48	9.74	58.65
	B12	ND	10.40	28.12	10.19	125.19
	B13	ND	7.29	19.48	9.31	63.37
	B14	ND	4.30	9.75	10.20	65.82
C 国混合原油	C1	ND	5.05	10.92	8.62	156.22
	C2	ND	15.81	31.52	10.39	167.98
	C3	ND	19.85	49.29	12.77	425.27
	C4	ND	14.37	33.38	10.08	484.90
	C5	ND	13.92	32.63	10.00	235.31
	C6	ND	10.20	23.82	9.64	110.00
	C7	ND	7.00	12.97	9.28	127.17
	C8	ND	5.76	12.09	7.53	46.94
	C9	ND	15.42	37.30	10.25	321.00
	C10	ND	14.68	36.52	11.04	476.78
	C11	ND	16.09	38.06	10.93	194.51
	C12	ND	19.49	46.37	12.61	155.30
	C13	2.43	23.54	46.44	12.93	69.92
	C14	ND	14.23	37.38	12.14	49.38
	C15	ND	11.72	29.41	10.68	78.71
	C16	ND	11.89	29.38	10.26	60.53
	C17	ND	11.35	29.23	9.78	49.81
	C18	ND	11.34	28.94	10.62	79.22
	C19	ND	11.42	28.47	9.86	70.08
	C20	ND	10.51	28.33	10.06	57.98

续表							续表					
原油品种	编号	Al	Si	V	Ni	Fe	原油品种	编号	Na	Ca	Zn	P
D 国中质原油	D1	ND	19.26	47.51	10.84	97.16	B 国原油	B1	3.51	6.03	ND	ND
	D2	2.55	12.93	12.18	9.14	33.29		B2	2.03	5.32	ND	ND
	D3	2.24	12.08	12.43	10.70	57.47		B3	1.34	6.64	ND	ND
	D4	ND	10.89	11.56	8.07	46.57		B4	1.38	6.55	ND	ND
	D5	ND	7.50	10.77	10.13	304.84		B5	2.59	3.23	ND	ND
	D6	ND	5.36	10.68	9.36	164.36		B6	2.20	2.59	ND	ND
	D7	5.41	17.57	10.18	11.40	63.07		B7	2.31	2.24	1.18	ND
	D8	3.12	12.93	10.08	9.50	51.67		B8	10.14	7.89	1.78	ND
	D9	ND	13.85	30.01	8.73	128.29		B9	5.05	4.02	ND	ND
	D10	ND	13.69	30.61	10.38	240.13		B10	4.11	5.36	ND	ND
	D11	ND	11.91	29.73	10.63	94.26		B11	2.59	4.13	ND	ND
	D12	ND	12.13	30.01	10.93	93.41		B12	6.47	8.30	ND	ND
	D13	ND	8.37	19.47	9.97	130.13		B13	1.58	2.59	ND	ND
	D14	ND	6.39	9.82	9.97	169.41		B14	1.86	3.18	ND	ND
	D15	ND	6.41	10.00	10.08	140.15	C 国混合原油	C1	3.15	4.29	ND	ND
	D16	ND	11.54	27.89	9.93	255.49		C2	10.09	13.86	ND	ND
	D17	ND	14.13	30.01	10.14	207.77		C3	4.90	3.79	ND	ND
	D18	ND	13.13	29.53	10.60	555.06		C4	9.11	9.63	1.22	ND
	D19	ND	13.81	37.96	11.27	150.27		C5	3.53	3.93	ND	ND
	D20	ND	10.01	17.64	10.57	29.75		C6	1.19	ND	ND	ND
	D21	ND	6.98	12.42	11.55	29.47		C7	4.65	3.98	ND	ND
	D22	ND	9.33	12.29	10.62	70.18		C8	2.94	2.63	ND	ND
	D23	ND	6.93	12.28	10.85	22.93		C9	1.33	3.02	ND	ND
	D24	ND	14.48	37.47	10.52	89.54		C10	ND	ND	ND	ND
	D25	ND	13.12	37.62	11.52	76.80		C11	5.93	6.88	1.77	ND
	D26	ND	12.48	36.58	10.87	110.95		C12	10.08	15.09	ND	ND
	D27	ND	11.87	32.84	10.86	102.64		C13	10.17	21.96	ND	ND
	D28	ND	5.96	10.82	10.36	40.29		C14	1.75	3.41	ND	ND
	D29	ND	5.35	11.19	10.40	98.50		C15	ND	2.75	ND	ND
	D30	ND	15.66	34.93	11.78	87.92		C16	3.79	4.59	ND	ND
	D31	ND	18.42	48.13	13.38	182.17	C17	1.32	2.60	ND	ND	
	D32	ND	22.68	46.45	12.47	173.83	C18	4.05	4.68	ND	ND	
	D33	ND	19.56	45.79	12.75	77.29	C19	3.99	5.20	ND	ND	
	D34	5.57	39.65	46.07	13.49	771.30	C20	2.47	3.07	ND	ND	
E 国原油	E1	ND	12.58	31.01	10.70	494.21	D 国中质原油	D1	4.12	4.08	ND	ND
	E2	ND	13.18	30.50	9.58	334.02		D2	15.66	38.10	ND	ND
	E3	ND	13.53	29.25	10.72	364.16		D3	10.08	21.81	ND	ND
	E4	ND	14.35	28.60	10.39	420.41		D4	15.00	25.29	ND	ND
	E5	ND	18.93	28.10	9.96	264.95		D5	2.23	5.06	ND	ND
	E6	ND	14.94	38.03	11.37	208.31		D6	1.89	3.47	ND	ND
	E7	ND	13.91	36.09	10.53	151.35		D7	13.62	33.24	1.00	ND
	E8	ND	5.44	13.59	9.31	99.95		D8	8.77	23.92	ND	ND
	E9	ND	4.13	10.81	9.10	103.48		D9	ND	28.84	ND	ND
	E10	ND	13.85	36.80	10.41	120.94		D10	7.45	9.13	ND	ND
平均值	—	12.19	26.92	10.50	178.09	D11		1.46	2.05	ND	ND	
最大值	—	39.65	51.50	13.49	771.30	D12		ND	ND	ND	ND	
最小值	—	4.13	8.48	7.53	22.93	D13		6.16	6.66	ND	ND	
极差	—	35.52	43.02	5.96	748.37	D14		18.27	20.74	ND	ND	
标准差	—	5.35	11.88	1.11	151.86	D15		9.68	12.34	ND	ND	
变异系数/%	—	43.88	44.13	10.57	85.27	D16		ND	2.04	ND	ND	
原油品种	编号	Na	Ca	Zn	P	D17	ND	2.22	ND	ND		
A 国轻质原油	A1	ND	ND	ND	ND	D18	4.72	5.76	ND	ND		
	A2	ND	ND	ND	ND	D19	1.12	ND	ND	ND		
	A3	ND	ND	ND	ND	D20	8.01	12.66	ND	ND		
	A4	1.17	ND	ND	ND	D21	2.30	6.15	ND	ND		
	A5	ND	ND	ND	ND	D22	5.55	12.15	ND	ND		
	A6	1.15	ND	ND	ND	D23	3.21	7.09	ND	ND		
	A7	1.32	ND	ND	ND	D24	8.15	7.52	ND	ND		
	A8	6.25	7.16	ND	ND	D25	1.23	ND	ND	ND		
	A9	7.47	9.84	ND	ND							

		续表			
原油品种	编号	Na	Ca	Zn	P
D 国中质原油	D26	ND	ND	ND	ND
	D27	ND	ND	ND	ND
	D28	7.33	9.92	ND	ND
	D29	3.63	5.09	ND	ND
	D30	13.89	19.41	ND	ND
	D31	4.64	7.78	ND	ND
	D32	ND	114.14	ND	ND
	D33	5.46	10.23	ND	ND
	D34	16.49	36.25	ND	ND
	E1	9.16	7.94	ND	ND
E 国原油	E2	10.63	11.56	ND	ND
	E3	2.24	5.50	ND	ND
	E4	11.37	15.72	ND	ND
	E5	11.75	24.26	ND	ND
	E6	ND	ND	ND	ND
	E7	ND	ND	ND	ND
	E8	1.61	ND	ND	ND
	E9	ND	ND	ND	ND
	E10	ND	ND	ND	ND
平均值		—	—	—	—
最大值		—	—	—	—
最小值		—	—	—	—
极差		—	—	—	—
标准差		—	—	—	—
变异系数/%		—	—	—	—

注：“ND”表示“未检出”。

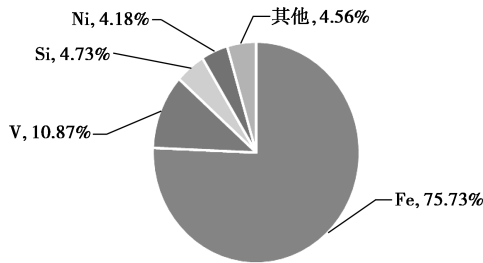


图 1 原油中元素含量百分比

Fig.1 Percentage of elements in crude oil

2.3 不同国家原油中 4 种元素分析及 Si/V、Ni/V、Fe/V 比值分析

从表 4 中可以看出,不同国家原油中 4 种元素及 Si/V、Ni/V、Fe/V 比值变化。由表可知,D 国中质原油 Fe 元素的变异系数最大,为 103.38%,说明 D 国中质原油 Fe 元素含量差异最大。A 国轻质原油 Ni 的变异系数最小,为 4.44%,说明 A 国轻质原油 Ni 元素含量比较稳定。使用诊断比值进行不同油源之间的比较,原油痕量金属元素 V、Ni 和 Ni/V 比值是区分陆相和海相生油岩相的一个有效的地球化学指标^[12,13]。地域不相同石油由于地质环境及周边环境因素的作用,彼此之间镍钒比值也表现出很

大差异^[10]。油品中的微量金属镍、钒元素的含量和镍钒比值受外界因素的作用很小,可以有效的区分溢油种类^[11]。Ni/V 及 Fe/V 的信息特征有利于油种的鉴别^[20]。通过 V、Ni 的比值可将原油划分为陆相或者海相的原油,一般 Ni/V<1 为海相原油,Ni/V>1 为陆相原油。由表 4 可知,中缅管输进口的 5 国原油 Si/V、Ni/V 比值均小于 1,而 Fe/V 比值较大,说明中缅管输进口的 5 国原油均为海相原油。

表 4 原油中 4 种元素及比值分析

Tab.4 Analysis of four elements and their ratios in crude oil

原油品种/产地	结果	Si	V	Ni	Fe
A 国轻质原油	平均值	10.40	28.25	10.58	123.84
	最大值	13.37	32.45	11.36	230.18
	最小值	5.03	11.08	9.64	66.58
	极差	8.34	21.37	1.72	163.60
	标准差	2.52	7.32	0.47	48.56
	变异系数/%	24.23	25.91	4.44	39.21
B 国原油	平均值	10.21	23.18	10.22	250.99
	最大值	20.55	51.50	12.97	609.84
	最小值	4.25	8.48	8.75	58.65
	极差	16.30	43.02	4.25	551.19
	标准差	5.38	12.86	1.18	188.19
	变异系数/%	52.69	55.48	11.54	74.98
C 国混合原油	平均值	13.18	31.12	10.47	170.85
	最大值	23.54	49.29	12.93	484.90
	最小值	5.05	10.92	7.53	46.94
	极差	18.49	38.37	5.40	437.96
	标准差	4.62	10.62	1.36	144.58
	变异系数/%	35.05	34.12	12.99	84.62
D 国中质原油	平均值	12.83	25.09	10.70	145.48
	最大值	39.65	48.13	13.49	771.30
	最小值	5.35	9.82	8.07	22.93
	极差	34.30	38.31	5.42	748.37
	标准差	6.42	13.57	1.17	150.40
	变异系数/%	50.04	54.08	10.93	103.38
E 国原油	平均值	12.48	28.28	10.21	256.18
	最大值	18.93	38.03	11.37	494.27
	最小值	4.13	10.81	9.10	99.95
	极差	14.8	27.22	2.27	394.26
	标准差	4.42	9.21	0.71	141.70
	变异系数/%	35.42	32.57	6.95	55.31
原油品种/产地	结果	Si/V	Ni/V	Fe/V	
A 国轻质原油	平均值				
	最大值				
	最小值	0.368	0.374	4.38	
	极差				
	标准差				
	变异系数/%				

续表				
原油品种/产地	结果	Si/V	Ni/V	Fe/V
B 国原油	平均值	0.44	0.441	10.83
	最大值			
	最小值			
	极差			
	标准差			
	变异系数/%			
C 国混合原油	平均值	0.424	0.336	5.49
	最大值			
	最小值			
	极差			
	标准差			
	变异系数/%			
D 国中质原油	平均值	0.511	0.426	5.8
	最大值			
	最小值			
	极差			
	标准差			
	变异系数/%			
E 国原油	平均值	0.441	0.361	9.06
	最大值			
	最小值			
	极差			
	标准差			
	变异系数/%			

按照 Si/V、Ni/V、Fe/V 比值,以不同国家为横坐标、元素比值为纵坐标,由于原油中 Fe/V 比值较大,在建立比值对比图中缩小一个数量级,结果见图 2。由图 2 可知,不同国家原油中的 Ni/V 及 Fe/V 比值分布有一定的规律性,Si/V 无规律可寻。其 Ni/V 比值均小于 1,5 个国家原油均呈现出海相原油的特性,Fe/V 比值均大于 1,说明油样中铁的含量普遍比钒的含量高。其中 B 国原油 Fe/V 比最大,为 10.83,B 国原油 Ni/V 最大,为 0.441,C 国原油 Ni/V 比最小为 0.336,A 国原油 Fe/V 比最小,为 4.38。各油种间 Ni/V、Si/V 比值相差较小,而 Fe/V 比值的波动较大,可以按此对 5 个国家原油进行溯源。

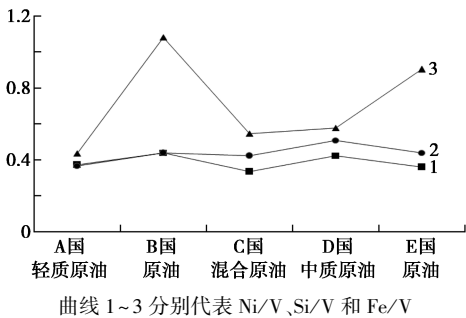
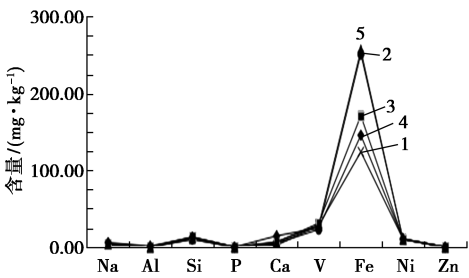


图 2 不同国家 Ni/V、Si/V 及 Fe/V 比值对比
Fig.2 Comparison of Ni/V, Si/V and Fe/V ratios in different countries

2.4 不同油种元素质量比平均值数据分析

将不同油种之间 9 种元素为横坐标(按元素相对原子质量大小排序)、不同元素含量平均值为纵坐标,绘制不同油种元素含量平均值线性图。从图 3 可知,5 种原油中硅、钒、镍、铁元素的含量较高,其中铁元素的含量最高,而后依次为钒、硅、镍,在下游的原油冶炼过程中对 4 种元素应引起高度重视,以防止催化剂中毒及造成环境污染。各油种之间铁元素变化较大,其他元素变化较小。说明不同油种的金属元素组成存在一定差异,有一定的规律性。



曲线 1~5 分别代表 A 国轻质原油、B 国原油、C 国混合原油、D 国中质原油和 E 国原油

图 3 不同油种的元素比较

Fig.3 Comparison of elements between different oil species

3 结论

本实验收集 5 个国家 87 份原油样品,按照灰化碱熔-电感耦合等离子体发射光谱法对原油中 Al、Si、V、Ni、Fe、Na、Ca、Zn、P 9 种元素进行测定。5 个国家原油中均未检出 P 元素。通过实验得出 8 种元素中 Fe 含量最高,为 771.30 mg/kg。8 种元素 Fe 含量占比为 75.73%,V 含量占比为 10.87%,Si 含量占比为 4.73%,Ni 含量占比为 4.18%,其余元素占比为 4.56%。原油中 Fe 元素含量差异较大,Ni 元素含量较稳定。研究结果表明,不同油种元素的含量存在一定差异,且有一定的规律性,可以以此作为原油国别鉴定的依据。中缅管输进口的 5 国原油 Si/V、Ni/V 比值均小于 1,呈现出海相原油的特性,其中铁的含量均比钒的含量高。各油种间 Ni/V、Si/V 比值相差不大,Fe/V 比值的波动较大,可以按此来对 5 个国家原油进行溯源。

中缅管输进口 5 国原油中硅、钒、镍、铁元素的含量较高,其中铁元素的含量最高,而后依次为钒、硅、镍,在原油运输及下游的冶炼过程中对 4

种元素应引起高度重视,需要相关部门加强监控,做好原油风险监测工作,以防止管道腐蚀、炼化过程中催化剂中毒及造成环境污染。

参考文献:

- [1] 张佩甫.原油中金属杂质的危害及脱除方法[J].石油化工腐蚀与防护,1996,13(1):9-11.
- [2] 张宏洋.硼氢化钠加氢条件下铬(Ⅲ)对阿曼原油中镍、钒捕集作用的研究[D].上海:华东理工大学,2014.
- [3] 罗艳托,朱建华,张世杰,等.金属元素对原油加工的危害及分离研究现状[J].青岛科技大学学报,2003,24:34-37.
- [4] XIE H, HUANG K, LIU J, et al. Determination of trace elements in residual oil by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. Anal. Bioanal. Chem., 2009, 393(8): 2 075-2 080.
- [5] 雷云秋.镍钒卟啉化合物脱金属研究[D].北京:中国石油大学,2016.
- [6] 张学佳,纪魏,康志军,等.原油中钙的危害及脱钙技术[J].石油与天然气化工,2008,37(4):307-311.
- [7] 张佩甫.原油中金属杂质的危害及脱除方法[J].石油化工腐蚀与防护,1996,13(1):9-12.
- [8] 丁祖国,柴之芳,马建国,等.江汉油田原油和生油岩有机抽提物中过渡族微量元素特征及其石油地球化学意义[J].沉积学报,1992,10(1):108-116.
- [9] 索金玲,吴珊,张金龙,等.坩埚灰化-ICP-AES法测定管输原油中金属元素含量[J].石油炼制与化工,2013,44(4):100-104.
- [10] 张金龙.ICP及ICP-MS在石油及其产品金属元素分析中的应用研究[D].新疆:石河子大学,2016.
- [11] 杨玉婷.利用镍钒比鉴别溢油种类[D].大连:大连海事大学,2016.
- [12] 张博全,王启军,张征瑞,等.在确定生油岩相中原油痕量金属钒、镍比的应用[J].石油学报,1981,2(4):44-50.
- [13] 姜乃煌.我国陆相原油的钒镍含量和钒镍比探讨[J].石油与天然气地质,1988,9(1):73-76.
- [14] 陈哲龙,柳广弟,王绪龙,等.微量元素在混源油类型划分及油源对比中的应用[J].中国石油大学学报,2017,41(6):50-63.
- [15] 陈发荣,杨春茹,李景喜,等.原油中微量金属元素的测定及聚类分析[J].分析科学学报,2011,27(3):371-374.
- [16] 贺晓江.原油中镍和钒的危害及脱除技术现状[J].石油化工腐蚀与防护,2012,29(4):1-4.
- [17] 牟雪江.油气合作推动共赢大业-中缅油气管道项目践行“一带一路”造福两国愿景[J].中国石油企业,2017,4(4):33-39.
- [18] 王晓梅.从中缅油气管道看中国能源安全战略选择[J].国际经济合作,2013,4(10):38-43.
- [19] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.原油及残渣燃料油中铝、硅、钒、镍、铁、钠、钙、锌、磷的测定 灰化碱熔-电感耦合等离子体发射光谱法:SN/T 3190—2012[S].北京:中国标准出版社,2012-05-07.
- [20] 李景喜,陈发荣,崔维刚,等.不同原油中金属元素的测定及聚类分析[J].分析测试学报,2010,29(6):558-563.

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2022008888

化学试剂,2022,44(6),915~919

利用不稳定 Konig 体系的中间产物光度法快速测定水中氰化物

李晓惠*,刘海军,许艳广

(辽宁科技学院 药化学院,辽宁 本溪 117004)

摘要:以异烟酸、双甲酮分别作为 Konig 反应的开环、缩合试剂,产生的聚甲炔染料在该异烟酸-双甲酮体系中易分解,该体系为不稳定的 Konig 体系,但其中间产物具有较高的摩尔吸收系数(ε),采用分光光度法获得其中间产物的 $A \sim t$ 曲线,相应建立了快速测定氰化物的新方法。在拟定的实验条件下,该体系的中间产物在 531 nm 处产生最大吸收, ε 为 $2.36 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$,其 $A \sim t$ 曲线呈近似平顶峰型,氰化物浓度在 0.010~0.800 mg/L 范围内与 $A \sim t$ 曲线中的 $A_{\max}$ 呈良好的线性关系($R=0.9998$),单个样品的测试时间小于 5 min。该方法用于焦化废水中氰化物的测定,回收率在 97.9%~101.1%之间, $\text{RSD} \leq 1.5\%$,其测定值与标准方法的测定值吻合,该研究为将 Konig 反应拓展应用至不稳定体系提供技术参考。

关键词:不稳定 Konig 体系;双甲酮;中间产物;分光光度法;氰化物;测定

中图分类号: O657.32;X832 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2022)06-0915-05

Rapid Determination of Cyanide in Water by Spectrophotometry with Intermediate Product of Unstable Konig System

LI Xiao-hui*, LIU Hai-jun, XU Yan-guang (Department of Biomedical and Chemical Engineering, Liaoning Institute of Science and Technology, Benxi 117004, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 915~919

Abstract: In this study, isonicotinic acid and dimedone were used as the ring-opening reagent and condensation reagent of the Konig reaction, respectively. The in situ produced polymethine dye was easily decomposed in the isonicotinic acid-dimedone system which can be determined as an unstable Konig system. However, the intermediate product had a higher molar absorption coefficient (ε), the $A \sim t$ curve of the intermediate product was obtained by using a new method based on spectrophotometry for the rapid determination of cyanide. In the given experimental condition, the intermediate product of the system has a maximum absorption at 531 nm, featuring an ε of $2.36 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$. The $A \sim t$ curve is approximately flat-top peak shaped, the cyanide concentration is in a good linear relationship with the $A_{\max}$ of $A \sim t$ curve ($R=0.9998$) within the range of 0.010~0.800 mg/L, the testing time of a single sample is less than 5 min. The recovery of our method was 97.9%~101.1% and the RSD was less than 1.5% when applied to determine the cyanide in coking wastewater, the measured values were in good agreement with that of the standard method. Our study provides technical references for extending the application of the Konig reaction to unstable systems.

Key words: unstable Konig system; dimedone; intermediate product; spectrophotometry; cyanide; determination

氰化物是一种剧毒物质,尤其是当它以 HCN 形式存在时^[1]。我国城镇污水处理厂污染物排放标准规定总氰化物的最高允许排放限值为 0.5 mg/L^[2]。基于 Konig 反应的分光光度法是目前国内外广泛采用的氰化物分析方法^[3,4]。Konig 反应中的缩合反应是分步进行的,缩合试剂先与戊烯二醛类化合物缩合成中间产物(一次缩合产物),再与中间产物缩合成颜色更深、灵敏度更高的聚甲炔染料^[5]。缩合试剂不同,聚甲炔染料的化学、光学、电化学性质不同,其中聚甲炔染料的稳定性决定了 Konig 体系的稳定与否。基于稳定 Konig 体系中聚甲炔染料的测量建立的氰化物分析方法有分光光度法^[6,7]、流动注射分析法^[8]、极

谱法^[9,10]等,也有部分研究者尝试基于稳定 Konig 体系中呈动态变化的中间产物的测量建立氰化物的分析方法,如基于异烟酸-吡啶啉酮体系的流动注射分析^[11]、普通分光光度分析^[12]和利用 $A \sim t$

收稿日期:2021-12-27;网络首发日期:2022-03-08

基金项目:辽宁省教育厅服务地方项目(L2020lkyfwd-06);
辽宁省教育厅面上项目(LJKZ1064)。

作者简介:李晓惠(1978-),女,辽宁营口人,硕士,讲师,主要研究方向为水质检测技术和膜污染控制技术, E-mail: 13050296981@163.com。

引用本文:李晓惠,刘海军,许艳广.利用不稳定 Konig 体系的中间产物光度法快速测定水中氰化物[J].化学试剂, 2022, 44(6): 915-919。

测试技术的快速测定方法^[13],但未见基于非稳定 Konig 体系中间产物测量的氰化物分析方法报道。

双甲酮可选择性的与醛类缩合^[14],可作为 Konig 反应的缩合试剂^[15]。前期实验发现,在异烟酸-双甲酮体系中聚甲炔染料稳定性极差,为不稳定 Konig 体系。为此,考察了该体系中间产物、聚甲炔染料的 $A \sim t$ 行为以及利用中间产物测定氰化物的可行性,进行了废水中氰化物快速测定的技术探索。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

N2 型可见分光光度计(上海仪电分析仪器有限公司);TU-1950 型双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用公司);pHS-2F 型数字 pH 计(上海精密仪器有限公司);HH-4 型数显恒温水浴锅(国华电器公司)。

氢氧化钠(优级纯,国药集团化学试剂有限公司);氰化钾(分析纯)、异烟酸(分析纯)、 N,N -二甲基甲酰胺(分析纯)、双甲酮(96%)(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、氯胺 T、亚砷酸钠(分析纯,沈阳化学试剂厂);实验用水为高纯水。

1.2 溶液配制

氢氧化钠溶液(1 g/L):称取 1.0 g 氢氧化钠,溶于水中,稀释至 1 L;氰化物标准储备液:称取 0.250 g 氰化钾,用 1 g/L 氢氧化钠溶液溶解并定容至 100 mL,采用硝酸银滴定法^[3]标定其浓度;氰化物标准使用液(5.00 mg/L):将标准储备液用 1 g/L 氢氧化钠溶液逐级稀释;氯胺 T 溶液(10 g/L):称取 1.0 g 氯胺 T,溶于水,稀释至 100 mL;异烟酸溶液(30 g/L):称取 3.0 g 异烟酸溶于 50 mL 2% 氢氧化钠溶液,加水稀释至 100 mL;双甲酮溶液(56 g/L):称取 5.6 g 双甲酮,用 N,N -二甲基甲酰胺溶解,并稀释至 100 mL;异烟酸-双甲酮溶液:将 $V(\text{异烟酸}):V(\text{双甲酮}) = 1:2$ 混合;亚砷酸钠溶液(25 g/L):称取 2.5 g 亚砷酸钠,用水溶解并稀释至 100 mL;磷酸盐缓冲溶液:称取 34.0 g 无水磷酸二氢钾和 35.5 g 无水磷酸氢二钠溶于水,加水至 1 000 mL。

1.3 实验方法

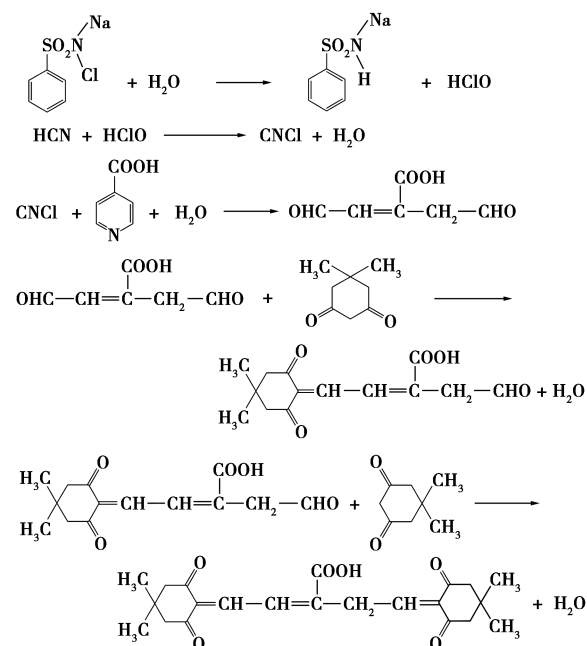
移取适量氰化物标准使用液或待测试样

($m(\text{CN}^-) \leq 20 \mu\text{g}$) 于 25 mL 比色管中,加入 1 g/L 氢氧化钠溶液至 10.0 mL,加入 5.0 mL 磷酸盐缓冲溶液,混匀,加入 0.20 mL 氯胺 T 溶液,混匀,放置 1 min,加入 2.0 mL 亚砷酸钠溶液,混匀,加入 7.5 mL 异烟酸-双甲酮溶液,以水定容,混匀;将上述试液置于 50 °C 的恒温水浴中,40 s 后取出,将试液转入 10 mm 的比色皿中,以水为参比,在 531 nm 处,利用 N2 型分光光度计的“动力学测量”功能测取试液在 120 s 内的 $A \sim t$ 曲线,在 $A \sim t$ 曲线上读取 A_{max} (见图 2 内插图)。

2 结果与讨论

2.1 分析反应机理

分析反应机理如下图所示,在中性条件下,水中氰化物与氯胺 T 的水解产物(HClO)作用生成氯化氰,氯化氰与异烟酸反应,经水解而成 3-羧基-戊烯二醛,3-羧基-戊烯二醛与双甲酮经一次缩合反应生成中间产物,中间产物再与双甲酮经二次缩合反应生成聚甲炔染料。聚甲炔染料在该体系中不稳定,以中间产物为光度法测量对象。



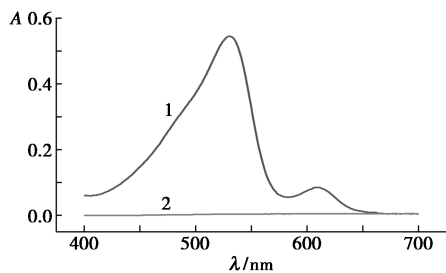
分析反应机理

Mechanism of the analytical reaction

2.2 吸收光谱及 $A \sim t$ 曲线

按实验方法,将试液($m(\text{CN}^-) = 15.0 \mu\text{g}$)在水浴中加热 40 s 后,测得了其在 400~700 nm 波长范围内的吸收光谱,结果如图 1 所示。在本实验的异烟酸-双甲酮体系中,试剂空白在 400~700 nm 波长范围内无吸收,其中间产物及聚甲炔染料

的最大吸收波长分别为 531、609 nm, $\Delta\lambda = 78$ nm, 中间产物的 $A_{\max}$ 值是聚甲炔染料的 6.4 倍。



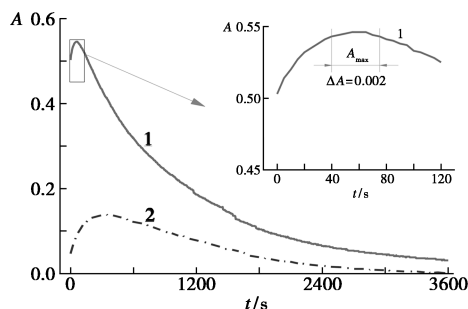
1. 试液 ($m(\text{CN}^-) = 15.0 \mu\text{g}$); 2. 试剂空白

图 1 异烟酸-双甲酮体系的吸收光谱

Fig.1 Absorption spectrum of the isonicotinic acid-dimedone system

为进一步考察该体系的稳定性,按实验方法,当 $m(\text{CN}^-) = 15.0 \mu\text{g}$ 时,测得该体系的 $A \sim t$ 曲线,见图 2。由聚甲炔染料的 $A \sim t$ 曲线可知,其 A 值在 230~445 s 范围达到最大值 ($A = (0.137 \pm 0.002)$),随后快速降低,在 3 600 s 时 A 值接近零,聚甲炔染料在该体系中不稳定,该体系为不稳定的 Konig 体系,其聚甲炔染料的 A 值始终低于其中间产物的 A 值。由中间产物的 $A \sim t$ 曲线可见,其 A 值在 40~75 s 范围达到最大 ($A_{\max} = (0.544 \pm 0.002)$),基本保持恒定,在 120 s 内,曲线呈平顶峰型(见图 2 插图),可短时间内方便的获取 $A \sim t$ 曲线上的 $A_{\max}$ 。

该中间产物的摩尔吸收系数(ϵ)为 $2.36 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$,高于异烟酸-吡啶酮体系的中间产物($\epsilon = 2.2 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$)^[13],是强吸收,可以利用该不稳定体系的中间产物测定氰化物。



1. 中间产物; 2. 聚甲炔染料

图 2 中间产物和聚甲炔染料的 $A \sim t$ 曲线

Fig.2 $A \sim t$ curves of the intermediate product and polymethine dye

2.3 分析条件的确定

当 $m(\text{CN}^-) = 15.0 \mu\text{g}$ 时,进行下述分析条件的考察。

2.3.1 pH 值

考察了在 pH 5.12~7.51 范围内, $A_{\max}$ 随 pH 值的变化情况,结果见图 3。结果表明,在 pH 5.12~6.84 范围内变化时, $A_{\max}$ 值随 pH 的增大而增大,即增大 pH 有利于中间产物的生成;在 pH 6.84~7.20 之间变化时, $A_{\max}$ 值稳定且最大,当 pH>7.2, $A_{\max}$ 略有下降,这与氯化氰在碱性条件下转化成氰酸盐有关^[16]。实验最终选择 pH 7.0,加入 5.0 mL 磷酸盐缓冲溶液予以控制^[3]。

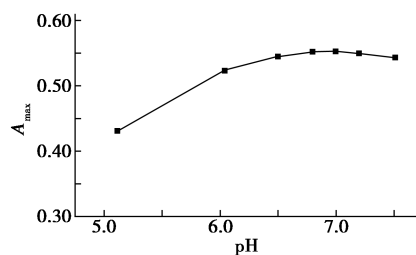


图 3 pH 对 $A_{\max}$ 的影响

Fig.3 Influence of pH on $A_{\max}$

2.3.2 氯胺 T 溶液加入量

固定反应时间为 1 min^[3],氯胺 T 溶液加入量在 0.1~0.3 mL 范围内, $A_{\max}$ 最大且稳定,表明氰化物已定量转化成氯化氰,因此选择氯胺 T 溶液加入量为 0.2 mL。

2.3.3 亚砷酸钠溶液加入量

加入亚砷酸钠溶液是为了去除试液中过量的氯胺 T 水解产生的次氯酸,因为次氯酸会氧化缩合试剂^[17],其存在不利用缩合反应的进行。为此,考察了亚砷酸钠溶液加入量在 0~5.0 mL 范围内变化时对 $A_{\max}$ 的影响。结果表明,当亚砷酸钠溶液加入量为 0~1.6 mL 时, $A_{\max}$ 随其近似线性增大,且 $A_{\max}$ 的重现性较差;当其加入量在 1.6~2.5 mL 范围内时, $A_{\max}$ 值最大且稳定;当其加入量大于 2.5 mL, $A_{\max}$ 值呈下降趋势,因此选择亚砷酸钠溶液的加入量为 2.0 mL。

2.3.4 异烟酸、双甲酮溶液加入量

异烟酸可与氯化氰反应生成 3-羧基-戊烯二醛,异烟酸溶液加入量在 1.5~3.0 mL 范围内, $A_{\max}$ 最大且稳定,表明氯化氰已定量转化成 3-羧基-戊烯二醛,则其加入量最终定为 2.5 mL。

如图 4 所示,当双甲酮溶液加入量(V)低于 4.5 mL 时, $A_{\max}$ 随其增大明显,当加入量在 4.5~6.5 mL 范围内变化时, $A_{\max}$ 随其加入量的增大不明显,表明在低浓度范围内增加双甲酮浓度能有效提高中间产物的生成速度及浓度,但在高浓度

范围内,提高双甲酮浓度不仅加快了中间产物的产生,也加快了中间产物向聚甲炔染料的转化,即当加入量 >4.5 mL时,中间产物的产生与转化趋于平衡,因此选择加入量为 5.0 mL。为简化操作,将 $V(\text{异烟酸}):V(\text{双甲酮})=1:2$ 制成异烟酸-双甲酮溶液,加入 7.5 mL该溶液。

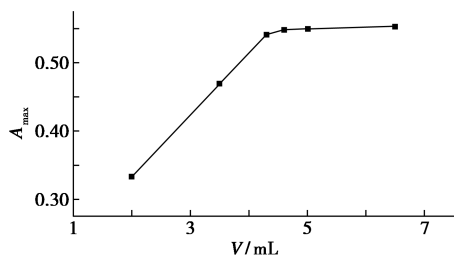


图4 双甲酮溶液加入量对 $A_{\max}$ 的影响

Fig.4 Influence of the addition amount of dimedone solution on $A_{\max}$

2.3.5 加热时间

如图5所示,试液温度(T)随加热时间(t')近似线性增高, T 影响中间产物生成速度及其转化成聚甲炔染料的速度,随着 T 的升高, $A \sim t$ 曲线中的上升期与平顶期将显著缩短。

在 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的恒温水浴中,考察了 t' 对 $A_{\max}$ 的影响。图5结果表明,当 $t' < 30$ s, $A_{\max}$ 随 t' 略有增大($\Delta T = 9.6\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时, $A_{\max}$ 增大 6.5%);当 t' 在 $30 \sim 50$ s内, $A_{\max}$ 值稳定且最大;当 $t' > 50$ s时, $A \sim t$ 曲线已处于下降期,所测得的 $A_{\max}$ 不是 $A \sim t$ 曲线的峰值。综上,加热时间选为 40 s。

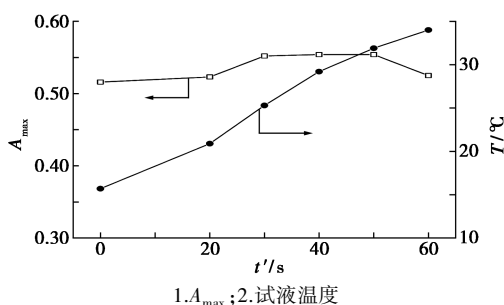


图5 加热时间对 $A_{\max}$ 和试液温度的影响

Fig.5 Influence of heating time on $A_{\max}$ and the temperature of test solution

2.4 方法的线性范围及检出限

氰化物在 $0.010 \sim 0.800$ mg/L范围内, $A_{\max}$ 值与其浓度呈良好的线性关系($R = 0.9998$),线性方程为 $A = 0.9092\rho + 0.008$,方法的检出限(扣除试剂空白, 0.010 吸光度对应的氰化物浓度)为 0.010 mg/L^[18]。

2.5 样品分析

测定了焦化厂废水处理设施二沉池出水及最终出水中的氰化物。

2.5.1 样品的预处理

对水样中可能存在的活性氯等氧化剂、 NO_2^- 、硫化物、油类、还原性物质及碳酸盐等干扰物进行检查,并按HJ 484—2009《水质 氰化物的测定 容量法和分光光度法》^[3]要求处理。移取 200.0 mL上述样品,以 10.0 mL(10 g/L)NaOH溶液为吸收液,按HJ 484—2009标准中总氰化物的分析方法进行蒸馏处理,获取总体积为 100.0 mL的待测试样。

取 10.0 mL待测试样,按1.3实验方法进行测定。

2.5.2 分析结果

测定结果如表1所示,结果表明,对于焦化厂二沉池出水及最终出水中氰化物的测定,回收率在 $97.9\% \sim 101.1\%$ 之间,相对标准偏差(RSD) $\leq 1.5\%$,方法具有较好的重现性,该法的测定值与标准方法的测定值吻合。在熟练操作条件下,单个样品的测试时间小于 5 min。

表1 样品分析结果

Tab.1 Analysis results of the samples ($n=5$)

水样	异烟酸-巴比妥酸法 ^[3]	本方法		
	测定值/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	测定值/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	RSD/ %	回收率/ %
设施二沉池出水	0.673	0.669	0.9	101.1
最终出水	0.191	0.189	1.5	97.9

同异烟酸-吡啶啉酮、异烟酸-巴比妥酸法^[3]相比,本法的测定上限是前两种方法的 1.7 倍以上,其测定范围涵盖了污水综合排放标准中氰化物的最高允许排放浓度^[19,20],测试时间低于前两种方法的三分之一,也不需考虑聚甲炔染料稳定性对测定的苛刻要求^[3,7],适合于废水中氰化物的快速测定及含氰废水处理过程中氰化物的实时检测。

3 结论

异烟酸-双甲酮体系是一个不稳定的Konig反应体系,难以通过测量其产生的聚甲炔染料的吸光度确定水中氰化物含量,但其中间产物仍具有较高的摩尔吸收系数,可通过测量其中间产物

的吸光度建立水中氰化物的定量分析方法。本研究从不稳定的 Konig 体系中发掘出较灵敏的氰化物测定方法,缩短了分析时间,拓宽了 Konig 反应的应用范围,该方法可用于废水中氰化物的快速测定,实用性强。

参考文献:

- [1] HU J W, LIN W C, HSIAO S Y, et al. An indanedione-based chemodosimeter for selective naked-eye and fluorogenic detection of cyanide [J]. *Sensor. Actuat. B-Chem.*, 2016, **233**: 510-519.
- [2] 国家环境保护总局,国家质量监督检验检疫总局.城镇污水处理厂污染物排放标准:GB 18918—2002[S].北京:中国环境科学出版社,2002-12-24.
- [3] 环境保护部.水质 氰化物的测定 容量法和分光光度法:HJ 484—2009[S].北京:中国环境科学出版社,2009-09-27.
- [4] 祖新,杨玲娟,李羽翡,等.氰化物检测技术研究进展[J].工业水处理,2020, **40**(3): 11-16.
- [5] MARCZENKO Z.元素的分光光度法测定[M].郑用熙,任奇钰,冯克聪,等译.北京:地质出版社,1983:172.
- [6] 方诚,凌芳,郑琦,等.异烟酸-吡啶啉酮光度法测定硫酸铵中氰化物[J].化学试剂,2017, **39**(11): 193-195; 200.
- [7] 祝旭初,程军蕊.异烟酸-巴比妥酸分光光度法测定水中氰化物的改进[J].中国给水排水,2014, **30**(18): 136-139.
- [8] TANAKA A, DEGUCHI K, DEGUCHI T. Spectrofluorimetric determination of cyanide and thiocyanate based on a modified König reaction in a flow-injection system [J]. *Anal. Chim. Acta*, 1992, **261**(1/2): 281-286.
- [9] 郭忠,张文德,孙仕萍,等.单扫示波极谱法测定氰化物的方法研究[J].分析科学学报,2005, **21**(1): 109-110.
- [10] 田亚赛,李晓惠,刘海军.异烟酸-巴比妥酸极谱法测定水中痕量氰化物[J].分析试验室,2016, **35**(2): 201-203.
- [11] ZHU Z, FANG Z. Spectrophotometric determination of total cyanide in waste waters in a flow-injection system with gas-diffusion separation and preconcentration [J]. *Anal. Chim. Acta*, 1987, **198**: 25-36.
- [12] 张磊,王丹君,吴小平.异烟酸-吡啶啉酮光度法快速测定水体中氰化物[J].理化检验(化学分册),2004, **40**(6): 341-342.
- [13] 田亚赛.利用分光光度计的时间扫描功能快速测定水中氰化物[J].分析试验室,2015, **34**(11): 1333-1335.
- [14] 颜红.比色法测定纺织品中甲醛含量的确认研究[J].光谱实验室,2004, **21**(1): 79-82.
- [15] PITSCHMANN V, TUSAROVA I, HALAMEK E, et al. The use of tristimulus colorimetry for the determination of hydrogen cyanide in air by a modified König method [J]. *J. Serb. Chem. Soc.*, 2010, **75**(6): 813-822.
- [16] 熊如意,乐美承.碱性氯化法处理选矿含氰废水[J].环境科学与技术,1998, **3**: 28-30.
- [17] EPSTEIN J. Estimation of microquantities of cyanide [J]. *Anal. Chem.*, 1947, **19**(4): 272-274.
- [18] 国家环境保护总局水和废水监测分析方法编委会编.水和废水监测分析方法(第四版)[M].北京:中国环境科学出版社,2002:29.
- [19] 国家环境保护局.污水综合排放标准:GB 8978—1996[S].北京:中国环境科学出版社,1996-10-04.
- [20] 辽宁省质量技术监督局,辽宁省环境保护局.辽宁省污水综合排放标准:DB 21/1627—2008[S].北京:中国标准出版社,2008-08-01.

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2022008807

化学试剂,2022,44(6),920~925

标准物质与标准品

土壤基质中不同目标浓度重金属标准样品的研制

陈晋,徐冬梅,唐晓菲,张敏*

(安徽省生态环境监测中心,安徽 合肥 230071)

摘要:介绍了一种土壤重金属标准样品的研制过程。土壤样品经匀浆、干燥、研磨、混匀分瓶包装后,用 X 射线荧光光谱法对土壤标准样品进行了均匀性、稳定性检验,并采用 ICP-OES、ICP-MS 和 XRF 对制备的标准样品进行了定值。试验结果表明:土壤标准样品均匀性良好,各元素和氧化物的瓶间均匀性不确定度 u_{bb} 范围为 0.02 mg/kg~0.043%;在常温避光保存条件下,该土壤标准样品在为期 12 个月的稳定性检验过程中无不稳定变化趋势;再处理过程对土壤的性质几乎没有影响。该方法是一种简单、有效的制备目标浓度、特定污染因子土壤重金属标准样品的方法。

关键词:X 射线荧光光谱法;重金属;土壤;标准样品;目标浓度

中图分类号:X833 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2022)06-0920-06

Development of Reference Materials for Heavy Metals in Soil Matrix CHEN Jin, XU Dong-mei, TANG Xiao-fei, ZHANG Min* (Anhui Eco-Environment Monitoring Center, Hefei 230071, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 920~925

Abstract: The preparation method for developing candidate reference materials of heavy metals in soils matrix have been developed. The samples were prepared by mixing, drying, grounding and packing, followed by homogeneity testing, stability testing and the value of the reference material was determined by ICP-OES, ICP-MS and XRF. The soil reference material exhibited good homogeneity and stability. Additionally, the uncertainty of the uniformity between bottles (u_{bb}) was 0.02 mg/kg~0.043%, and the sample exhibited good uniformity. The reference material was stored at room temperature, and its stability was determined for 12 months, the results indicated good stability. The reprocessing process has almost no effect on the properties of the soil reference materials. That is a good foundation for the development reference materials of heavy metals in soil matrix.

Key words: X-ray fluorescence spectrometry; heavy metals; soil; reference materials; target concentration

土壤标准样品是指具备一定均匀性、稳定性和确定污染特性量值的土壤样品,广泛应用于环保、地质、农业、水利等行业,在量值溯源与传递、质量控制与保证、仪器校准、方法验证等工作中具有重要作用^[1-3]。近年来,各国研究机构都对土壤标准样品进行了深入的研究,已有包含沙土、壤土、黏土等多种土壤类型的商品化土壤标准样品在市场上供选用,在全国土壤污染状况详查、农用地土壤污染状况详查等工作中起到了重要的作用。目前,土壤标准样品的制备方法主要是以采集具有一定污染特性的土壤,并以此为原料通过风干、除杂、研磨、过筛、混匀等步骤制取质地均匀的土壤样品,再通过协作定值等手段确定特定污染特性准确量值来获取土壤标准样品^[4-6]。在实际工作中,由于土壤来源限制、研制目的不同等原因,有时会存在土壤标准样品中相关污染特性浓度值明显低于土壤环境质量标准中的限值、土壤标准样品基质与实际土壤基质不同等问题,给特

定情况下开展质量控制工作带来了一定的困难。为了满足实际工作中对土壤重金属污染水平和土壤基质的要求,通过添加法制备更加接近实际工作需要的土壤标准样品具有一定的现实意义,也是对现有土壤标准样品的有益补充。

针对实际工作中对土壤污染水平和基质的需求,本文以一定基质的土壤为原料样品,经粉碎、过筛、混匀等步骤后,与一定浓度的水溶性重金属盐溶液混合搅拌均匀后,再按照 HJ/T 166—2004《土壤环境监测技术规范》^[7]的相关规定制得了不同浓度的土壤重金属标准样品,采用 X 射线荧

收稿日期:2021-11-26;网络首发日期:2022-03-08

作者简介:陈晋(1989-),男,安徽六安人,硕士,工程师,主要研究方向为生态环境监测分析。

通讯作者:张敏, E-mail:15856998189@163.com。

引用本文:陈晋,徐冬梅,唐晓菲,等.土壤基质中不同目标浓度重金属标准样品的研制[J].化学试剂,2022,44(6):920-925。

光光谱法对土壤标准样品的均匀性、稳定性进行了检验,并开展了铅、锌、砷等 3 种加标元素的定值研究。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

RSX Primus IV 型波长色散 X 射线荧光光谱仪(日本理学公司);NexION 350D 型电感耦合等离子体质谱仪(铂金埃尔仪器(上海)股份有限公司);iCAP 6300 型电感耦合等离子体发射光谱仪(赛默飞世尔科技(中国)有限公司);ZHY401B 型压样机(北京众合创业科技发展有限公司);NBL223e 型电子天平(艾德姆衡器(武汉)有限公司);DHG-9123A 型干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);MG200 型臼式研磨仪(北京格瑞德曼仪器设备有限公司);S210 型 pH 计(瑞士梅特勒公司)。

土壤成分分析标准物质(GBW07405、GBW07407、GBW07447、GBW07449、GBW07450、GBW07451、GBW07452、GBW07453、GBW07456、GBW07385、GBW07386、GBW07387、GBW07388、GBW07389、GBW07390、GBW07391)、水系沉积物成分分析标准物质(GBW07301a、GBW07307a、GBW07308a、GBW07309、GBW07310、GBW07311、GBW07312、GBW07318、GBW07358、GBW07359、GBW07360、GBW07361、GBW07362、GBW07363、GBW07364、GBW07365、GBW07366、GBW07375、GBW07376、GBW07377、GBW07378、GBW07379、GBW07380、GBW07381)(地球物理地球化学勘探研究所);乙酸铅、乙酸锌、砷酸钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 样品的制备

将作为基础样的土壤,经自然风干、粉碎后过 100 目筛,然后进行混匀处理,将该样记作 T0,于 X 射线荧光光谱仪中测定后进行下一步处理。将 T0 分成两份(每份约 5 kg,准确称量其质量),进行下一步处理,称之为“再处理”:①称取 0.400 g 砷酸钠、4.00 g 乙酸锌、4.00 g 乙酸铅分别溶于 1 L 超纯水中,分步加入到第一份基础样中,充分搅拌均匀后自然风干,再次粉碎、过筛、混匀,记作 T1;②称取 1.00 g 砷酸钠、10.0 g 乙酸锌、10.0 g 乙酸铅分别溶于 1 L 超纯水中,分步加入到第二份基础样中,其他处理方式同①,记作 T2。将混匀的样品 T1、T2 分别装入棕色玻璃瓶中,每瓶

40 g,每份样品各分装 125 瓶,室温下避光保存。

1.3 样品的测定

将待测样品置干燥箱中于 105 ℃ 条件下烘干后,直接称取 5.0 g 样品,以塑料环镶边,在 20 t 压力下保持 30 s,将样品压成片(厚度不小于 7 mm),于 X 射线荧光光谱仪中测试,仪器参考测试条件见表 1。

表 1 波长色散 X 射线荧光光谱仪测试条件^注

Tab.1 Measurement conditions of wavelength dispersive X-ray fluorescence spectrometry

元素/ 化合物	谱线	2θ/(°)		晶体	探测器
		峰位	背景		
As	K _α	33.964	34.600	LiF(200)	SC
Zr	K _α	22.524	23.240	LiF(200)	SC
Zn	K _α	41.782	42.740	LiF(200)	SC
V	K _α	77.262	75.680	LiF(200)	PC
Th	L _α	27.450	29.600	LiF(200)	SC
Ti	K _α	86.156		LiF(200)	SC
Sr	K _α	25.132	25.940	LiF(200)	SC
Sc	K _α	97.740		LiF(200)	PC
Rb	K _α	26.598	26.140	LiF(200)	SC
Pb	L _β	28.240	29.600	LiF(200)	SC
P	K _α	141.100	143.400	Ge	PC
Ni	K _α	48.656	49.580	LiF(200)	SC
Mn	K _α	62.968	63.960	LiF(200)	SC
La	L _α	138.810		LiF(220)	PC
Hf	L _α	45.860		LiF(200)	PC
Ga	K _α	38.898	39.500	LiF(200)	SC
Cu	K _α	45.016	46.580	LiF(200)	SC
Cr	K _α	69.354	74.320	LiF(200)	PC
Ce	L _α	128.210	127.280	LiF(220)	PC
Ba	L _α	87.130	88.560	LiF(200)	PC
SiO ₂	K _α	109.070		PET	PC
Al ₂ O ₃	K _α	144.810		PET	PC
Fe ₂ O ₃	K _α	57.500		LiF(200)	SC
K ₂ O	K _α	136.680		LiF(200)	PC
Na ₂ O	K _α	46.678	48.900	RX25	PC
CaO	K _α	113.120		LiF(200)	PC
MgO	K _α	38.420		RX25	PC

注:管电压为 50 kV;管电流为 60 mA。

2 结果与讨论

2.1 均匀性检验

均匀性是表征土壤标准样品特定指标量值一致性的重要参数,与样品粒径分布、混匀程度等因素密切相关,开展均匀性检验是评价土壤标准样品是否合格的关键环节。标准样品均匀性评价一

般采用单因素方差分析法(又称 F -检验法)^[8-11], 统计量 F 的计算公式为:

$$F = (Q_1/\nu_1)/(Q_2/\nu_2) \tag{1}$$

式中, Q_1 为组间差方和; Q_2 为组内差方和; ν_1 为组间自由度; ν_2 为组内自由度。

为了避免复杂的前处理过程引入误差,影响测定结果准确性,本次土壤标准样品均匀性检验,采用精密度较高的波长色散 X 射线荧光光谱法,对标准样品中砷、锌、铅等 24 种元素和氧化物进行了测定,元素或氧化物含量范围从几毫克每千克的铅(Hf)到含量超过百分之六十的二氧化硅(SiO_2),几乎覆盖了从低到高所有不同含量级别的元素或氧化物,包括易受干扰的物质 Fe_2O_3 。在样品混匀并分装后,采用随机抽样法,按照《标准样品工作导则(3)标准样品定值的一般原则和统计方法》(GB/T 15000.3—2008)^[12]中的相关规定,抽取其中 11 瓶土壤样品进行均匀性测定,每瓶样品平行测定 3 次,土壤标准样品的均匀性测定结果见表 2。由表 2 中数据可见,各元素相对标准偏差(RSD)范围为 0.11%~11%,查表得在 95%置信度条件下,组间自由度和组内自由度分别为 10 和 22 时; $F_{0.05}(10,22)=2.30$,可见表中所列所有元素的均匀性统计量 F 均小于 2.30,说明使用该方法制备的土壤标准样品均匀性良好,由瓶间不均匀性导致的不确定度分量 u_{bb} 范围为 0.02 mg/kg~0.043%。

表 2 土壤标准样品均匀性检验结果^注

Tab.2 Homogeneity assessment results of the reference materials in soil

元素/ 化合物	T1			
	总均值	RSD/%	F	u_{bb}
As	35.9	3.40	0.41	0.42
Zr	269	1.10	0.16	1.10
Zn	335	0.42	0.71	0.46
Y	26	3.70	0.88	0.31
V	80.3	5.70	1.49	1.70
Ti	4290	0.59	0.25	9.20
Th	8.8	7.10	1.49	0.24
Sr	161	0.49	0.63	0.27
Sc	10.9	3.10	0.70	0.11
Rb	105	0.78	0.88	0.27
Pb	510	0.46	0.39	0.82
P	1311	0.53	0.24	2.50
Mn	651	0.76	0.24	1.80
La	33.4	3.60	0.29	0.43
Hf	8.1	1.40	0.54	0.04

续表

元素/ 化合物	T1			
	总均值	RSD/%	F	u_{bb}
Ga	17.1	3.40	0.57	0.20
Cr	64	1.50	1.66	0.41
Ce	70.6	8.30	0.33	2.10
Ba	554	1.80	0.92	3.30
SiO_2	63	0.19	0.49	0.043
Fe_2O_3	4.87	0.27	0.97	0.005
K_2O	2.29	0.18	0.35	0.002
CaO	2.93	0.68	0.22	0.007
MgO	1.73	0.32	1.52	0.004

元素/ 化合物	T2			
	总均值	RSD/%	F	u_{bb}
As	79.2	1.50	0.46	0.42
Zr	264	0.45	0.41	0.43
Zn	731	0.32	0.93	0.74
Y	21.5	4.50	0.32	0.35
V	79.8	8.80	1.06	0.99
Ti	4216	0.58	0.71	8.1
Th	5.6	11.00	1.37	0.21
Sr	162	0.60	0.74	0.32
Sc	10.6	3.10	1.72	0.14
Rb	106	0.82	1.45	0.31
Pb	1170	0.26	1.49	1.10
P	1305	0.50	0.31	2.30
Mn	654	0.72	0.86	1.50
La	33.1	2.50	0.64	0.28
Hf	8.1	1.00	1.26	0.02
Ga	17.0	4.20	0.94	0.23
Cr	63.5	2.60	0.15	0.62
Ce	70.8	6.80	0.84	1.60
Ba	556	1.60	1.01	0.56
SiO_2	62.3	0.11	1.49	0.027
Fe_2O_3	4.87	0.23	1.44	0.007
K_2O	2.27	0.15	2.00	0.007
CaO	2.89	0.52	0.71	0.005
MgO	1.67	0.44	1.56	0.006

注:总均值和 u_{bb} 中氧化物计量单位为%,其他元素计量单位为 mg/kg。

2.2 稳定性检验

本研究主要考察在常温避光保存条件下,土壤标准样品中砷、锌、铅等 3 种特定元素的长期稳定性,在样品分瓶包装后的第 0、3、6、9、12 个月,分别进行了 5 次抽样检测,每次随机抽取 3 瓶,以 X 射线荧光光谱法对每瓶样品平行测定 2 次,取 6 次测定均值作为该时间点稳定性检测结果。采用《标准样品工作导则(3)标准样品定值的一般原则和统计方法》(GB/T 15000.3—2008)中趋势

分析法一元线性拟合模型进行统计分析^[10-13],结果见表 3。由表 3 可见,所有组分的斜率绝对值 $|b_1|$ 均小于 $t_{(0.95,3)} \times s(b_1)$,说明在显著性水平为 0.05 的情况下,斜率 b_1 不显著,即在 12 个月的稳定性观察期内未观测到不稳定性,使用该方法制得的土壤标准样品稳定性良好,由样品不稳定性带来的不确定度(u_{lis})范围为 0.4~4.2 mg/kg。

表 3 土壤标准样品稳定性检验结果

	materials in soil (mg/kg)					
	T1			T2		
	As	Zn	Pb	As	Zn	Pb
0	36.8	333	507	79.3	731	1 165
3	36.8	335	507	78.5	729	1 167
6	37.2	334	508	80.8	730	1 163
9	36.5	336	508	80.3	730	1 162
12	36.7	334	507	80.9	734	1 169
Mean	36.8	334	507	80.0	731	1 165
b_0	36.9	334	507	79.0	729	1 165
b_1	-0.016 7	0.100	0.033	0.167	0.233	0.100
$s(b_1)$	0.029 4	0.129	0.069	0.081	0.199	0.348
$t_{(0.95,3)} \times s(b_1)$	0.093 5	0.410	0.219	0.258	0.633	1.11
u_{lis}	0.4	1.6	0.8	1.0	2.4	4.2

2.3 标准值的确定

采用《标准样品工作导则(3)标准样品定值的一般原则和统计方法》(GB/T 15000.3—2008)和《标准物质定值的通用原则及统计学原理》(JJF 1343—2012)^[14]中推荐的定值方式:“由同一实验室采用两种或更多不同原理的独立参考方法定值”对所制得的标准样品进行了定值。为保证测量结果的溯源性,在标准样品定值的过程中,所用分析方法均为精密度和准确度较高的国家或行业标准分析方法:《土壤和沉积物无机元素的测定波长色散 X 射线荧光光谱法》HJ 780—2015^[15]、《土壤和沉积物 12 种金属元素的测定王水提取-电感耦合等离子体质谱法》HJ 803—2016^[16]、《展览会用地土壤环境质量评价标准》(附录 B)HJ 350—2007^[17]。所用仪器均经过计量检定或校准,所用标准溶液(LPCS-01-1, AccuStandard)可溯源至 SI 国际单位,在定值过程中全程使用国家有证标准物质 GBW07390(GSS-34)、GBW07391(GSS-35)进行质量控制。分别采用了电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)、电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)、波长色散 X 射线荧光光谱等 3 种方法对制备的标准样品进行了定

值,每种方法均测定 10 次,各元素定值分析方法及结果见表 4。将各方法测定的结果进行汇总,首先用 Grubbs 法和 Dixon 法剔除组内可疑数据,用 Cochran 法进行组间等精度检验,再用 t 检验法检查各组数据的显著性差异,最后以偏态系数和峰态系数法检验其正态性。经上述检验过程,所测数据均符合要求,因此各组数据平均值的均值(总均值)即为标准样品的标准值,由定值过程中产生的不确定度 u_{char} 范围为 0.2~3.1 mg/kg。

表 4 标准样品定值方法和测定结果

元素	materials (mg/kg)		
	T1		u_{char}
	测定结果	总均值	
As	ICP-MS: 37.1、38.7、37.7、37.0、37.4、37.7、39.5、38.1、36.5、37.9 XRF: 38.0、36.3、36.1、37.6、35.7、37.9、38.9、33.9、36.1、37.4	37.3	0.5
	ICP-MS: 345、365、343、332、335、327、368、344、322、327 XRF: 334、333、332、332、337、332、333、329、331、337 ICP-OES: 324、351、330、310、320、349、347、353、351、354		
Zn	ICP-MS: 506、543、533、510、500、493、535、536、507、498 XRF: 503、508、505、510、503、502、508、507、508、504 ICP-OES: 488、523、522、484、480、515、513、520、518、520	338	2.4
Pb	ICP-MS: 78.3、78.6、77.2、78.4、79.1、78.8、80.8、78.1、79.6、77.1 XRF: 78.7、78.8、77.9、81.4、78.1、79.5、80.3、77.7、79.8、77.7	510	3.1
As	ICP-MS: 728、722、718、723、719、735、726、730、725、729 XRF: 724、726、725、728、727、729、726、729、728、724 ICP-OES: 723、735、724、731、732、730、723、723、730、727	78.8	0.2
Zn	ICP-MS: 1 142、1 151、1 142、1 146、1 167、1 164、1 170、1 155、1 162、1 156 XRF: 1 165、1 167、1 177、1 164、1 167、1 159、1 159、1 162、1 156、1 156 ICP-OES: 1 154、1 166、1 153、1 160、1 169、1 168、1 145、1 155、1 163、1 160	727	0.6
Pb		1 159	2.2

2.4 不确定度评定

标准样品的不确定度(u_{CRM})主要考虑定值的不确定度(u_{char})、样品均匀性的不确定度(u_{bb})以及由于样品的不稳定性带来的不确定度(u_{lis}),计

算公式为: $u_{\text{CRM}} = \sqrt{u_{\text{char}}^2 + u_{\text{bb}}^2 + u_{\text{lis}}^2}$; 以扩展不确定度 U_{CRM} 表示标准样品的最终不确定度, 计算公式为: $U_{\text{CRM}} = k \times u_{\text{CRM}}$ (取置信概率 95%, 即 $k = 2$), 将扩展不确定度除以标准值计算相对扩展不确定度, 用以评价标准样品定值质量水平, 详细数据见表 5。从表中数据可见, 砷、锌、铅等 3 中元素的相对扩展不确定度范围为 0.8% ~ 4.6%, 表明标准样品定值准确, 不确定度水平满足日常环境检测对土壤标准样品的要求。

表 5 标准样品的定值和扩展不确定度
Tab.5 Values and expanded uncertainties of the reference materials

元素	T1			T2		
	标准值/ (mg· kg ⁻¹)	扩展不 确定度 (k=2)	相对扩 展不确 定度/%	标准值/ (mg· kg ⁻¹)	扩展不 确定度 (k=2)	相对扩 展不确 定度/%
As	37.3	1.7	4.6	78.8	2.3	2.9
Zn	338	6	1.8	727	6	0.8
Pb	510	7	1.4	1159	10	0.9

2.5 再处理对样品基质的影响

2.5.1 理化性质

称取 10.0 g 土壤标准样品置于 50 mL 的高型烧杯中, 加入 25 mL 无二氧化碳的水, 用保鲜膜密封, 在磁力搅拌器上剧烈搅拌 2 min 后, 静置 30 min 测定其 pH^[18]; 称取 0.5 g 土壤标准样品放入试管中, 准确加入 10.00 mL (0.4 mol/L) 重铬酸钾-硫酸溶液, 在油浴锅中于 170 ~ 180 °C 条件下加热 5 min 取出, 把试管内消煮液及残渣全部转移至 250 mL 三角瓶中, 滴加邻菲罗啉指示剂, 用硫酸亚铁标准溶液滴定至棕红色, 测定其有机质 (Organic matter) 含量^[19]; 称取 2.0 g 土壤标准样品, 用 1 mol/L 乙酸铵溶液反复处理, 使之成为 NH₄⁺ 饱和土, 用乙醇洗去多余乙酸铵后, 将土壤全部转移至凯氏瓶中, 测定其阳离子交换量 (Cation exchange capacity)^[20]。土壤的理化性质测定结果见表 6, 其 pH 在再处理前后呈现逐渐变小的趋势, 即土壤变酸了, 这可能与加入的物质种类和加入量有关, 其中乙酸铅和乙酸锌均显弱酸性, 而其加入量远大于显弱碱性的砷酸钠, 因而使土壤标准样品更偏向酸性, 但由于土壤本身组成的复杂性使其自身具有一定的缓冲作用, pH 总体变化不大 (极差最大为 0.41), 说明再处理过程对土壤 pH 有一定的影响, 但影响较小; 有机质和阳离子交换量的测定结果显示, 土壤标准样品再处

理前后无明显变化趋势, 样品间相对偏差均在标准规定范围内, 说明再处理过程对土壤标准样品的有机质和阳离子交换量无影响。从测定结果可见: 土壤标准样品在再处理过程前后理化性质变化不大, 对土壤的总体性质影响较小。

表 6 土壤标准样品 pH、有机质和阳离子交换量测定结果

Tab.6 pH, organic matter and cation exchange capacity of the reference materials in soil

样品	pH	有机质/(g·kg ⁻¹)	阳离子交换量/(cmol(+)/kg)
T0	7.73	13.6	16.1
T1	7.49	14.5	16.4
T2	7.32	13.9	16.2

2.5.2 元素含量

为了验证再处理过程对元素含量的影响, 将再处理前后土壤标准样品中的元素含量进行对比, 见表 7。从对比结果可见, 再处理前后土壤标准样品 24 种元素和氧化物中除砷、锌、铅外, 其含量基本没有变化, 采用 Grubbs 法对测定结果进行显著性检验, 结果表明无显著性差异, 说明再处理对土壤标准样品中主要元素含量的影响较小。

表 7 土壤标准样品再处理前后元素含量对比^注

Tab.7 Comparison of element content of reference materials in soil before and after reprocessing

元素/化合物	T0	T1	T2
Zr	269	264	269
Y	26	21.5	30.5
V	80.3	79.8	80.2
Ti	4 290	4 216	4 370
Th	8.8	5.6	11.9
Sr	161	162	157
Sc	10.9	10.6	11.5
Rb	105	106	105
P	1 311	1 305	1 283
Mn	651	654	709
La	33.4	33.1	34.3
Hf	8.1	8.1	7.9
Ga	17.1	17	17.6
Cr	64	63.5	65.9
Ce	70.6	70.8	74.4
Ba	554	556	560
SiO ₂	63	62.3	62.9
Fe ₂ O ₃	4.87	4.87	4.99
K ₂ O	2.29	2.27	2.31
CaO	2.93	2.89	2.92
MgO	1.73	1.67	1.8

注: 氧化物的计量单位为%, 其他元素的计量单位为 mg/kg。

3 结论

采用重金属盐溶液与基体土壤混合的方式,通过搅拌匀浆、自然风干、研磨混匀、分瓶包装等步骤,研制了具有特定污染因子和目标浓度的土壤标准样品。采用X射线荧光光谱法,对制备的土壤标准样品开展了均匀性、稳定性试验,结果表明:土壤标准样品中砷、锌、铅等3种重金属元素均匀性良好;为期12个月的稳定性检验表明其无不稳定变化趋势,该土壤标准样品稳定性良好;再处理过程对土壤的性质影响较小。该方法是一种简单、有效的制备目标浓度、特定污染因子土壤重金属标准样品的方法,为制备与实际工作中土壤污染水平和土壤基质相近的土壤标准样品提供了新的思路与方式。本文仅以砷、锌、铅等3种重金属元素为例进行了研究,在实际工作中,可根据需要拓展到其他元素和化合物。同时为避免不同物质之间的相互作用(如混合后产生沉淀或气体等)影响添加效果,应根据实际情况采取分步加入目标元素或物质的方式来制备多元素混合标样,同时应慎重选择加标元素来源,避免因加入标准物质引起土壤理化性质的改变。

参考文献:

- [1] 鄯国强.标准样品的开发与应用[J].理化检验-化学分册,2003,39(3):189-193.
- [2] 宋国强,谢夏青.标准样品在环境监测应用中几点问题的探讨[J].中国环境监测,2011,27(4):1-3.
- [3] 藏慕文.标准物质与分析测试Ⅲ.标准物质的研制[J].分析试验室,1987,3:44-51.
- [4] 田衍,杨珺,孙自杰,等.矿区污染场地土壤重金属元素分析标准样品的研制[J].岩矿测试,2017,36(1):82-88.
- [5] 曹丹丹,田文,封跃鹏,等.土壤中有机氯农药残留分析用标准样品的制备[J].色谱,2010,28(5):483-486.
- [6] 刘海萍,鲁炳闻,房丽萍,等.含13种有机氯农药土壤标准样品的研制[J].化工环保,2016,36(1):110-114.
- [7] 生态环境部.土壤环境监测技术规范:HJ/T 166—2004[S].北京:中国环境出版社,2004-12-09.
- [8] AMH VAN D V, TPJLINSING E R, PAUWELS J. Uncertainty calculations in the certification of reference materials 2. Homogeneity study[J]. *Accred. Qual. Assur.*, 2001, 6(1):26-30.
- [9] 韩永志.标准物质的均匀性及其检验[J].化学分析计量,2001,10(3):34-35.
- [10] 李先江,国振,赵光亮,等.GBW(E)100675 乙腈中展青霉素溶液标准物质的研制[J].分析试验室,2021,40(7):860-864.
- [11] 吴冰,史乃捷,韦超.水中溴酸根溶液标准物质的研制[J].分析试验室,2015,34(3):315-317.
- [12] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.标准样品工作导则(3)标准样品定值的一般原则和统计方法:GB/T 15000.3—2008[S].北京:中国标准出版社,2008-03-07.
- [13] VAN DER VEEN A M H, LINSINGER T P J, PAUWELS J. Uncertainty calculations in the certification of reference materials 3. Stability study[J]. *Accred. Qual. Assur.*, 2001, 6(1):257-263.
- [14] 国家质量监督检验检疫总局.标准物质定值的通用原则及统计学原理:JJF 1343—2012[S].北京:中国质检出版社,2012-04-17.
- [15] 生态环境部.土壤和沉积物无机元素的测定波长色散X射线荧光光谱法:HJ 780—2015[S].北京:中国环境出版社,2015-12-14.
- [16] 生态环境部.土壤和沉积物12种金属元素的测定王水提取-电感耦合等离子体质谱法:HJ 803—2016[S].北京:中国环境出版社,2016-06-24.
- [17] 生态环境部.展览会用地土壤环境质量评价标准(附录B):HJ 350—2007[S].北京:中国环境出版社,2007-06-15.
- [18] 生态环境部.土壤pH值的测定电位法:HJ 962—2018[S].北京:中国环境出版社,2018-07-29.
- [19] 中华人民共和国农业部.土壤检测第6部分:土壤有机质的测定:NY/T 1121.6—2006[S].北京:中国农业出版社,2006-07-10.
- [20] 国家林业局.森林土壤阳离子交换量的测定:LY-T 1243—1999[S].北京:中国林业出版社,1999-07-15.

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022008949

化学试剂, 2022, 44(6), 926~930

合成与工艺技术

2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮类衍生物的合成

赵美玲^{1,2}, 刘芊芊², 张翠兰², 龙思会^{*1}, 李立^{*2}, 刘娥²

(1. 武汉工程大学 化工与制药学院, 湖北 武汉 430205;

2. 荆楚理工学院 化工与药学院, 湖北 荆门 448000)

摘要:在钴催化体系下,以邻苯二甲醇和苯乙酮为起始原料,一锅法反应得到 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮,进而对底物进行拓展,得到标题化合物,并对反应条件进行优化。结果表明,以甲苯为溶剂、叔丁醇钾为碱,钴催化剂用量为 10% mol,标题化合物的产率较好。化合物结构经 ¹HNMR 和 ¹³CNMR 确证。该方法具有反应条件温和、操作简单、产率较高的特点。

关键词:钴催化;邻苯二甲醇;一锅法;2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮;合成

中图分类号:0625.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2022)06-0926-05

Synthesis of 2-(1,3-Dihydroisobenzofuran)-1-acetophenone Derivatives ZHAO Mei-ling^{1,2}, LIU Qian-qian², ZHANG Cui-lan², LONG Si-hui^{*1}, LI Li^{*2}, LIU E² (1. Chemical Engineering and Pharmacy, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China; 2. College of Chemical Engineering and Pharmacy, Jingchu University of Technology, Jingmen 448000, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 926~930

Abstract: 2-[(1,3-Dihydroisobenzofuran)-1-yl]acetophenone was synthesized by the one-pot reaction of phthaloyl alcohol and acetophenone in the cobalt catalyzed system. The reaction conditions were optimized. Target compounds were obtained by expanding the substrates. The results showed that target compounds were obtained in good yields in toluene as solvent with potassium *tert*-butoxide as base and 10% mol cobalt as catalyst. The structures of the compounds were confirmed by ¹HNMR and ¹³CNMR. The method is characterized as mild reaction conditions, simple operation, and high yield.

Key words: cobalt catalysis; phthaloyl alcohol; one pot; 2-(1,3-dihydroisobenzofuran)-1-acetophenone; synthesis

异苯并呋喃及其衍生物是一类重要的杂环化合物,广泛存在于自然界中^[1,2],显示出良好的生物特性及药理活性^[3],如抗肿瘤、抗癫痫^[4]、抗抑郁症、抗结核病、糖尿病^[5]等,同时在染料和超分子领域也有着广泛的应用,是非常有用的有机合成中间体。1,3-二氢异苯并呋喃是合成 1,3-二氢异苯并呋喃酮(苯酞)的重要原料,可进一步得到抗肿瘤和抗动脉粥样硬化药物^[6]。因此,异苯并呋喃及其衍生物已成为医药和分子化学的研究热点。2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物是一类重要的药物中间体,受到了广泛关注。

目前对于 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物的合成方法已有相关报道。Barnala 等^[7]报道了一种以邻甲酰基查耳酮为原料、频哪醇硼烷为氢源、方酰胺作为催化剂的制备方法,

反应得到 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物,产率为 87%。该方法需先在 0℃ 下反应,后升温至 45℃,且成本较高,反应路线如下页图所示。

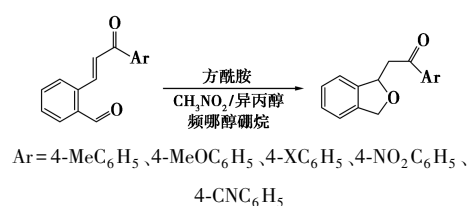
收稿日期:2022-01-22;网络首发日期:2022-03-09

基金项目:湖北省教育厅优秀中青年团队项目(T2021027);荆楚理工学院科研项目(ZD202105);荆楚理工学院研究生科研专项基金项目(YJS202102);荆楚理工学院大学生创新项目(202011336010, S202111336023)。

作者简介:赵美玲(1997-),女,内蒙古赤峰人,硕士生,主要研究方向为药物合成工艺研究。

通讯作者:李立, E-mail: liue2011@126.com。

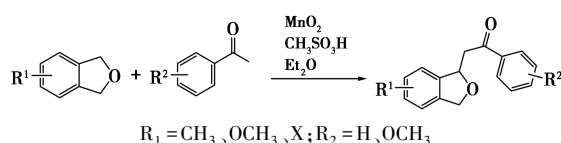
引用本文:赵美玲,刘芊芊,张翠兰,等. 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮类衍生物的合成[J]. 化学试剂, 2022, 44(6): 926-930。



2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物合成^[7]

Synthesis of 2-(1,3-dihydroisobenzofuran)-1-acetophenone derivatives^[7]

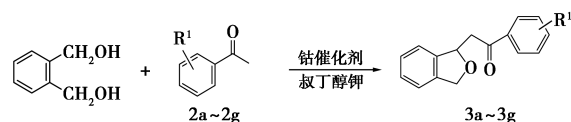
Liu 等^[8]发现,以 1,3-二氢苯并异呋喃为原料,和苯乙酮在二氧化锰催化下得到 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物(见下图)。该方法操作简单,但产率只有 40%。



2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物合成^[8]

Synthesis of 2-(1,3-dihydroisobenzofuran)-1-acetophenone derivatives^[8]

本文在文献[9-13]的基础上,设计了一条合成 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物的路线,即以邻苯二甲醇(1)为起始原料,与苯乙酮类化合物(2)经钴催化体系催化“一锅法”制备 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物(3)。



化合物	a	b	c	d	e	f	g
R ¹	H	4-CH ₃	4-OCH ₃	4-F	4-Cl	4-NO ₂	4-CN

2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物的合成

Synthesis of 2-(1,3-dihydroisobenzofuran)-1-acetophenone derivatives

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

MP-100 型熔点仪(温度未经校正,山东海能公司);Bruker Avance 400 MHz 型核磁共振仪(瑞士布鲁克公司)。

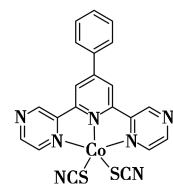
所用试剂均为市售分析纯或化学纯。

1.2 实验方法

1.2.1 钴催化剂的制备

参考文献[14]、[15],在室温条件下,将 311 mg(1 mmol)4-苯基-2,6-二(2'-吡嗪基)吡啶溶解于 20 mL 甲醇-二氯甲烷混合溶液(V(甲醇):

V(二氯甲烷)=1:4)中,加入 2 mL 含有 350 mg(1 mmol)硫氰酸钴(Co(SCN)₂)的甲醇溶液。混合溶液搅拌过夜后,过滤,滤液缓慢蒸发 4 d,得到黄色固体,过滤,用二氯甲烷洗涤,干燥,即得 421 mg 钴催化剂,产率为 72.3%,m. p. 159.5 ~ 161.2 °C,结构式如下图。



钴催化剂的结构式

Structural formula of cobalt catalyst

1.2.2 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物的合成通法

4 mmol 钴金属催化剂和 10 mmol 叔丁醇钾在室温下溶解于 30 mL 甲苯中,再加入 50 mmol 邻苯二甲醇和 40 mmol 苯乙酮衍生物(2a~2g),然后回流反应 24 h。反应结束后,冷却至室温,去除溶剂。所得混合物通过柱色谱法(V(乙酸乙酯):V(石油醚)=1:3)分离得纯品,即得到 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物(3a~3g)。

2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮(3a):类白色固体,产率 89.5%,m. p. 79.5 ~ 80.2 °C(文献^[7]值:80~81 °C)。¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz), δ: 7.99(d, 2H, J = 8.5 Hz); 7.57(t, 1H, J = 8.0 Hz); 7.47(t, 2H, J = 8.0 Hz); 7.30 ~ 7.24(m, 4H); 5.91(td, 1H, J = 5.2, 2.7 Hz); 5.15(dd, 1H, J = 12.0, 2.2 Hz); 5.11(d, 1H, J = 12.0 Hz); 3.54(dd, 1H, J = 16.0, 8.0 Hz); 3.37(dd, 1H, J = 16.0, 4.0 Hz)。¹³C NMR(CDCl₃, 100 MHz), δ: 197.6, 141.5, 139.3, 137.1, 133.3, 128.6(2C), 128.3(2C), 127.8, 127.5, 121.6, 121.1, 80.2, 72.7, 45.4。

2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-对甲基苯乙酮(3b):白色固体,产率 91.3%,m. p. 70.6 ~ 71.9 °C(文献^[7]值:71 ~ 73 °C)。¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz), δ: 7.90(d, 2H, J = 8.0 Hz); 7.33 ~ 7.21(m, 6H); 5.90(td, 1H, J = 5.2, 2.8 Hz); 5.15(dd, 1H, J = 12.0, 4.0 Hz); 5.10(d, 1H, J = 12.0 Hz); 3.52(dd, 1H, J = 16.5, 7.3 Hz); 3.34(dd, 1H, J = 16.5, 5.2 Hz); 2.40(s, 3H)。¹³C NMR(CDCl₃, 100 MHz), δ: 197.6, 144.1, 141.6, 139.3, 134.8, 129.5(2C), 128.5(2C), 127.8, 127.5, 121.7,

121.1, 80.3, 72.8, 45.6, 21.7。

2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-对甲氧基苯乙酮(3c):油状液体,产率 91.4%。¹HNMR(CDCl₃, 400 MHz), δ : 7.96(d, 2H, J = 8.0 Hz); 7.33~7.20(m, 4H); 6.93(d, 2H, J = 8.0 Hz); 5.88(td, 1H, J = 5.2, 2.7 Hz); 5.14(dd, 1H, J = 12.3, 2.2 Hz); 5.09(d, 1H, J = 12.1 Hz); 3.86(s, 3H); 3.50(dd, 1H, J = 16.0, 8.0 Hz); 3.29(dd, 1H, J = 16.4, 5.2 Hz)。¹³CNMR(CDCl₃, 100 MHz), δ : 196.5, 163.7, 141.6, 139.4, 130.7(2C), 130.3, 127.8, 127.5, 121.6, 121.1, 113.8(2C), 80.4, 72.7, 55.5, 45.3。

2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-对氟苯乙酮(3d):白色固体,产率 88.6%, m. p. 73.0~74.7 °C (文献^[7]值: 73~75 °C)。¹HNMR(CDCl₃, 400 MHz), δ : 8.01(dd, 2H, J = 8.0, 4.0 Hz); 7.33~7.22(m, 4H); 7.13(t, 2H, J = 8.0 Hz); 5.89(td, 1H, J = 5.1, 2.4 Hz); 5.16(dd, 1H, J = 12.3, 2.2 Hz); 5.10(d, 1H, J = 12.0 Hz); 3.51(dd, 1H, J = 16.0, 8.0 Hz); 3.32(dd, 1H, J = 16.0, 4.0 Hz)。¹³CNMR(CDCl₃, 100 MHz), δ : 196.5, 165.9(2C), 141.5, 139.3, 133.7, 131.2, 127.8(2C), 121.4(2C), 115.9(2C), 80.3, 72.7, 45.6。

2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-对氯苯乙酮(3e):白色固体,产率 86.5%, m. p. 78.2~79.7 °C (文献^[7]值: 79~81 °C)。¹HNMR(CDCl₃, 400 MHz), δ : 7.98(d, 2H, J = 8.0 Hz); 7.42(d, 2H, J = 8.2 Hz); 7.32~7.20(m, 4H); 5.88(td, 1H, J = 5.0, 2.3 Hz); 5.14(dd, 1H, J = 14.3, 2.2 Hz); 5.08(d, 1H, J = 12.0 Hz); 3.49(dd, 1H, J = 16.0, 8.0 Hz); 3.28(dd, 1H, J = 16.0, 4.0 Hz)。¹³CNMR(CDCl₃, 100 MHz), δ : 196.5, 142.1, 139.8, 139.4, 135.7, 129.2(2C), 128.6(2C), 127.4, 127.1, 121.6, 121.3, 80.1, 72.6, 45.4。

2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-对硝基苯乙酮(3f):类白色固体,产率 79.6%, m. p. 119.4~120.6 °C (文献^[7]值: 119~121 °C)。¹HNMR(CDCl₃, 400 MHz), δ : 8.31(d, 2H, J = 8.0 Hz); 8.14(d, 2H, J = 7.8 Hz); 7.33~7.21(m, 4H); 5.85(td, 1H, J = 5.0, 2.3 Hz); 5.15(dd, 1H, J = 14.1, 2.1 Hz); 5.06(d, 1H, J = 12.0 Hz); 3.57(dd, 1H, J = 16.0, 8.0 Hz); 3.38(dd, 1H, J = 16.3, 4.3 Hz)。¹³CNMR(CDCl₃, 100 MHz), δ :

196.8, 150.3, 141.6, 141.2, 139.7, 129.5(2C), 128.1, 127.5, 123.6(2C), 121.5, 121.2, 80.2, 72.7, 46.0。

2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-对氰基苯乙酮(3g):白色固体,产率 81.4%, m. p. 131.2~133.7 °C (文献^[7]值: 132~135 °C)。¹HNMR(CDCl₃, 400 MHz), δ : 8.10(d, 2H, J = 8.4 Hz); 7.78(d, 2H, J = 8.2 Hz); 7.28~7.26(m, 4H); 5.86(m, 1H); 5.11(m, 2H); 3.52(dd, 1H, J = 16.6, 7.6 Hz); 3.34(dd, 1H, J = 16.5, 4.4 Hz)。¹³CNMR(CDCl₃, 100 MHz), δ : 196.8, 140.9, 140.2(2C), 139.3, 132.7(2C), 127.2, 121.5(2C), 121.3, 118.0, 116.7, 80.1, 72.7, 45.8。

2 结果与讨论

2.1 钴催化剂制备

钴催化剂参考文献[14]、[15]制备,由硫氰酸钴和 4-苯基-2,6-二(2'-吡嗪基)吡啶反应制备。本课题组也尝试过采用无水氯化亚铁和该配体反应,也可得到有效的铁催化剂,但催化效率比钴催化剂要低,因此最终选取钴金属和 4-苯基-2,6-二(2'-吡嗪基)吡啶形成钴催化体系。

2.2 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物的合成

将邻苯二甲醇和苯乙酮衍生物在室温下溶解于甲苯中,再加入钴催化剂和叔丁醇钾,反应得到 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物(3a~3g)。以制备化合物 3a 为模板反应,就反应条件对产率的影响进行了探讨。

2.2.1 反应溶剂对反应产率的影响

按照上述方法,在整个反应中,分别采用了 6 种不同的溶剂,发现不同的溶剂对于反应的产率有较大影响,结果见表 1。

表 1 反应溶剂对化合物 3a 产率的影响

Tab.1 Effect of solvents on the yield of compound 3a

反应溶剂	产率/%	反应溶剂	产率/%
乙腈	57.0	甲苯	89.5
四氢呋喃	64.0	甲醇	75.6
<i>N,N</i> -二甲基甲酰胺-水	80.0	甲醇-二氯甲烷	79.0

2.2.2 碱对反应产率的影响

按照上述方法,在其他条件不变的情况下,以甲苯为溶剂,更换了碱的种类,考察对反应产率的影响,结果见表 2。

表 2 碱对化合物 3a 产率的影响

Tab.2 Effect of bases on the yield of compound 3a

碱	Na ₂ CO ₃	EtONa	<i>t</i> -BuOK	DBU	三乙胺
产率/%	56	79	89.5	63	47

2.2.3 催化剂用量对反应产率的影响

在反应过程中,也考察了催化剂用量对产率的影响,结果见表 3。在其他条件不变的情况下,没有使用催化剂时,产率很低,只有 22%;使用催化剂后,产率明显提高,在催化剂用量为 10% mol 时,此时产率最大;随后继续增加催化剂用量,产率变化不大。综合考虑,选取催化剂的用量为 10% mol。

表 3 催化剂用量对化合物 3a 产率的影响

Tab.3 Effect of catalyst amounts on the yield of compound 3a

催化剂用量/% mol	0	5	10	15	20
产率/%	22	78	89.5	88	87.2

2.2.4 反应底物扩展

以 4-取代的苯乙酮作为反应底物,采用“一锅法”得到 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物。研究过程中发现,不同取代的反应底物均可以得到较高产率的 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物,取代基的电子效应对实验的结果影响不大。具体结果见表 4。限于本实验仅考

表 4 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物

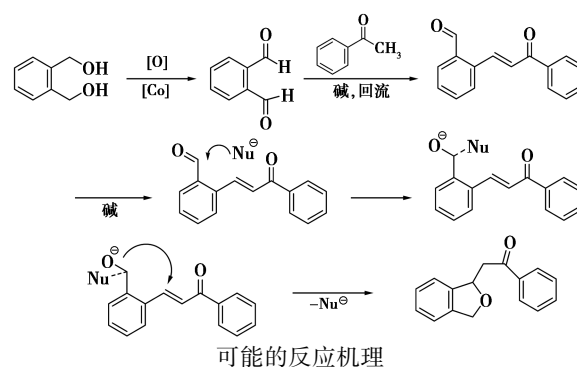
Tab.4 2-(1,3-Dihydroisobenzofuran)-1-acetophenone derivatives

化合物	产物	产率/%	m. p./°C
3a		89.5	79.5~80.2
3b		91.3	70.6~71.9
3c		91.4	—
3d		88.6	73.0~74.7
3e		86.5	78.2~79.7
3f		79.6	119.4~120.6
3g		81.4	131.2~133.7

察了 4-取代苯乙酮类底物,并没有考察苯乙酮其他位置的取代以及取代邻苯二甲醇类化合物,所以得到目标产物种类较少,后期将进一步研究不同取代的邻苯二甲醇底物和苯乙酮类底物,以及取代基电子效应对产率的影响。

2.2.5 反应机理推测

在文献报道和实验结果分析的基础上,认为反应机理可能是:邻苯二甲醇首先氧化为醛类化合物,再与苯乙酮在碱性条件下发生缩合反应得到邻甲酰基查耳酮,再在碱性条件下,缩合反应得到 1,3-二氢异苯并呋喃类化合物。



Plausible mechanism of reaction

为了验证这一推测,在反应瓶中加入邻苯二甲醇、钴催化剂,于空气中反应,结果显示有邻苯二甲醛生成。另外,又将原料邻苯二甲醇换成邻苯二甲醛,与苯乙酮进行反应,结果在该反应条件下可以得到目标产物。这说明推测的反应机理是很有可能的。

3 结论

本文报道了一种合成 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮衍生物的新方法。该方法是在碱性条件下,不同取代苯乙酮和邻苯二甲醇在钴催化下一锅法合成,得到 7 种 2-(1,3-二氢异苯并呋喃)-1-苯乙酮类化合物。同时对反应条件进行了优化,与已有文献报道的合成方法相比,该方法具有反应条件温和、操作简单、产率较高的特点。

参考文献:

- [1] SYAMA SUNDAR C H, REDDY RAMANA M, SRIDHAR B, et al. BF₃ · OEt₂-catalyzed synthesis of 1-(tetrahydropyran-3-yl)-1,3-dihydroisobenzofuran and transfused hexahydropyrano [3,2-*c*]chromene derivatives [J]. *Tetrahedron Lett.*, 2014, **55** (30): 4 236-4 239.

- [2] 刘雪. 海洋活性分子 HKS 为先导的新型凝血酶抑制剂的合成[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2016.
- [3] 李娟, 李匡元, 张军伟. 4-(4-乙基苯基) 甲基-1,3-二氢异苯并呋喃的合成工艺研究[J]. 精细化工中间体, 2019, **49**(6): 41-45.
- [4] 朱星星, 张继振, 王雅珍, 等. 3-亚甲基异苯并呋喃-1(3H)-酮的合成新方法[J]. 化学研究与应用, 2014, **26**(5): 766-770.
- [5] 陈兴海, 奥玛·派克, 黄求理, 等. 异苯并呋喃衍生物、其药物组合物和制剂以及用途: 108 640 958A[P]. 2018-10-12.
- [6] MIMURA Y, KOBAYASHI S, OKABE M, et al. Anti-competence effects of synthetic phthalides derivatives on platelet-derived growth factor-induced DNA synthesis in primary cultures of rat aorta smooth muscle cells[J]. *Biol. Pharm. Bull.*, 1995, **18**(12): 1 660-1 664.
- [7] BARNALA R, BRAJA G D, PRASANTA G. Organocatalytic, enantioselective, intramolecular Oxa-Michael reaction of alkoxyboronate: A new strategy for enantioenriched 1-substituted 1,3-dihydro-isobenzofurans[J]. *Org. Lett.*, 2014, **16**(21): 5 580-5 583.
- [8] LIU X G, SUN B, XIE Z Y, et al. Manganese dioxide-methanesulfonic acid promoted direct dehydrogenative alkylation of sp^3 C—H bonds adjacent to a heteroatom[J]. *J. Org. Chem.*, 2013, **78**(7): 3 104-3 112.
- [9] ALAVAALA G K R, PEDIREDDI N, SU Z, et al. Bronsted acid catalyzed enantioselective assembly of spirochroman-3,3-oxindoles[J]. *Org. Lett.*, 2020, **22**(8): 2 925-2 930.
- [10] XIN H P, QING W H, WEN F C, et al. Copper(II) catalyzed cross-dehydrogenative coupling of cyclic benzylic ethers with simple carbonyl compounds by $Na_2S_2O_8$ [J]. *Tetrahedron*, 2014, **70**(21): 3 447-3 451.
- [11] 王国新, 谢国豪, 吴元鏊. 3-(3'-羟基丁基) 异苯并呋喃-1(3H)-酮的合成[J]. 合成化学, 2000, **8**(1): 63-66.
- [12] 吴健, 张继振, 王雅珍, 等. 3-亚甲基异苯并呋喃-1(3H)-酮的合成[J]. 化学研究与应用, 2012, **24**(5): 791-795.
- [13] 袁硕, 王四喜, 陈锦杰, 等. 苯胺促进的异苯并呋喃酮类衍生物的合成[J]. 有机化学, 2018, **38**: 3 009-3 015.
- [14] LI L, LIU E, XIONG H X, et al. Mononuclear, dinuclear and polymeric cobalt(II) complexes built on 4-aryl-2,6-bis(2'-pyrazinyl) pyridines[J]. *Polyhedron*, 2017, **132**: 64-69.
- [15] 刘娥, 李立威, 姚明, 等. 铁催化合成 1,3,5-三芳基-1,5-戊二酮类化合物[J]. 化学试剂, 2021, **43**(10): 1 452-1 455.

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2022008821

化学试剂, 2022, 44(6), 931~935

吴茱萸次碱合成工艺改进

陈仕云¹, 高永好⁴, 吴宗好⁴, 桂双英^{2,3}, 何勇^{*4,5}

(1. 合肥学院 分析测试中心, 安徽 合肥 230601; 2. 药物制剂技术与应用安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230012;

3. 安徽中医药大学 药学院, 安徽 合肥 230012; 4. 合肥华方医药科技有限公司, 安徽 合肥 230088;

5. 合肥工业大学 化学与化工学院, 安徽 合肥 230009)

摘要:以靛红、色胺为起始原料, 缩合得到 *N*-(2-氨基苯甲酰基)色胺, 在硫酸氢钠存在下与原甲酸三乙酯经 Pictet-Spengler 反应合成了 7,8,13*b*,14-四氢吲哚并[2',3':3,4]吡啶并[2,1-*b*]喹唑啉-5(7*H*)-酮, 最后芳构化制备吴茱萸次碱, 总产率 55.8%。目标化合物结构经 ¹HNMR、¹³CNMR 和 ESI-MS 确证。该工艺反应条件温和、操作简单、原料易得、成本低廉、适用于工业化生产。

关键词: 吴茱萸次碱; 环合; Pictet-Spengler 反应; 合成; 改进

中图分类号: R914.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2022)06-0931-05

Improved Synthesis of Rutaecarpine CHEN Shi-yun¹, GAO Yong-hao⁴, WU Zong-hao⁴, GUI Shuang-ying^{2,3}, HE Yong^{*4,5}

(1. Analytical & Testing Center, Hefei University, Hefei 230601, China; 2. Anhui Province Key Laboratory of Pharmaceutical Preparation Technology and Application, Hefei 230012, China; 3. Department of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China; 4. Hefei Huafang Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Hefei 230088, China; 5. School of Chemistry and Chemical Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China), Huaxue Shiji, 2022, 44(6), 931~935

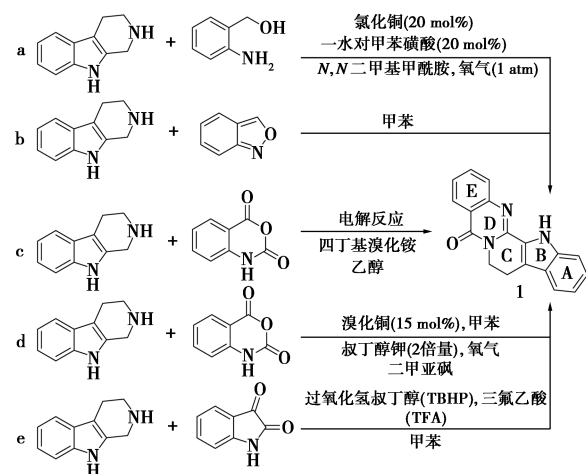
Abstract: *N*-(2-aminobenzoyl) tryptamine was firstly prepared using indigo and tryptamine as the starting materials by condensation reaction. Then, 7,8,13*b*,14-tetrahydroindolo [2',3':3,4] pyrido [2,1-*b*] quinazoline-5(7*H*)-one was synthesized using triethyl orthoformate in the presence of sodium bisulfate following the Pictet-Spengler reaction. Finally, the rutaecarpine was prepared by aromatization with a total yield of 55.8%. The target compound had been confirmed by using ¹HNMR, ¹³CNMR and ESI-MS. Our improved processes have the merits of mild reaction conditions, simple operation, easy availability of raw materials, and low costs, which are suitable for industrial production.

Key words: rutaecarpine; cyclization; Pictet-Spengler reaction; synthesis; improvement

吴茱萸次碱(1)是一种天然的喹唑啉生物碱^[1], Asahina 首次从中药吴茱萸(*Evodia rutaecarpa*)中分离的单体。研究表明吴茱萸次碱有抗

高血压、抗癌、抗炎、抗肥胖和抗血栓形成等多种药理活性^[2], 引起了学者的广泛关注并研究其合成路线。2006 年, 王翠玲等^[3]对合成方法进行了系统地总结。

最近, Nguyen 等^[4]以 CuCl₂ 催化 2-氨基芳基甲醇与 2,3,4,9-四氢-1*H*-吡啶[3,4-*b*]吲哚串联 C(sp²)-H 胺化环化构建 D 环制备目标产物 1



吴茱萸次碱的合成路线^[4-8]

Synthetic route of rutaecarpine^[4-8]

收稿日期: 2021-12-01; 网络首发日期: 2022-03-09

基金项目: 安徽省教育厅高校自然科学基金项目(KJ2020A672); 药物制剂技术与应用安徽省重点实验室开放基金资助项目(2021KFKT01)。

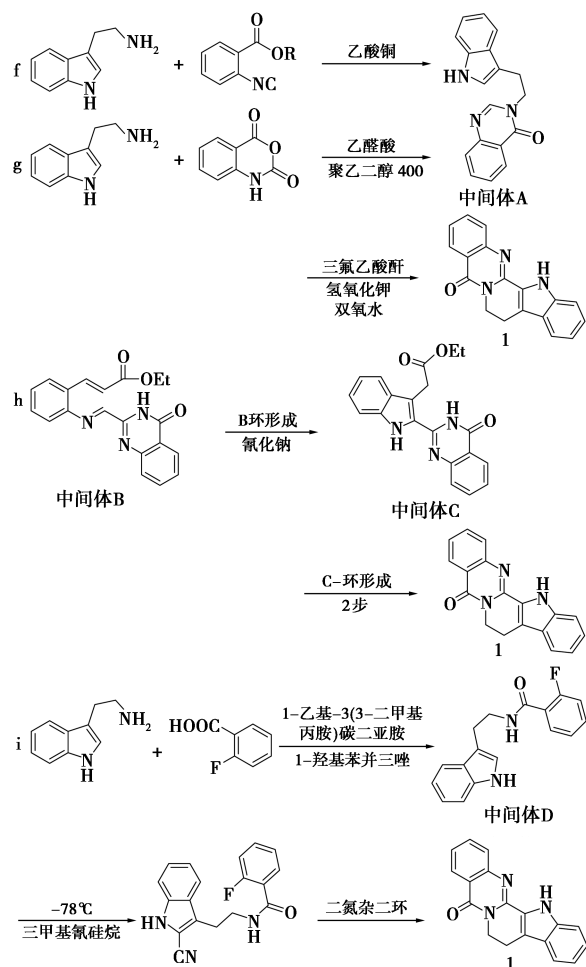
作者简介: 陈仕云(1981-), 女, 安徽凤阳人, 硕士, 实验师, 主要研究方向为有机合成与分析。

通讯作者: 何勇, E-mail: 410452166@qq.com。

引用本文: 陈仕云, 高永好, 吴宗好, 等. 吴茱萸次碱合成工艺改进[J]. 化学试剂, 2022, 44(6): 931-935。

(路线 a); Li 等^[5]以苯并[*c*]异噻唑和 2,3,4,9-四氢-1*H*-吡啶[3,4-*b*]吡啶直接缩合制备目标产物 1(路线 b); Chen 等^[6]采用电化学方法构建多环稠合喹唑啉酮,以靛红酸酐和 2,3,4,9-四氢-1*H*-吡啶[3,4-*b*]吡啶为原料直接脱羧构建 D 环制备目标产物 1(路线 c); Patel 等^[7]以 2,3,4,9-四氢-1*H*-吡啶[3,4-*b*]吡啶和靛红酸酐,在 CuBr 催化下,通过开环环合构建 D 环合成目标产物 1(路线 d); 靛红和 2,3,4,9-四氢-1*H*-吡啶[3,4-*b*]吡啶通过 TFA/TBHP 氧化环合构建 D 环(路线 e)^[8]。

Collet 等^[9]提供了一种乙酸铜催化色胺与 2-异氰苯甲酸甲酯酰化制备构成 C 环(A)的方法。在不进一步纯化的情况下,中间体 A 可以与三氟甲基磺酸甲酯和六甲基磷酰胺顺利反应提供吴茱萸碱(路线 f)。然而 2-异氰苯甲酸甲酯底物需要两个合成步骤准备; Rao 等^[10]首先用色胺、靛红酸酐和乙醛酸为底物,通过自发脱羧反应制备 D 环(A)。随后的三氟乙酸酐(TFAA)促进的



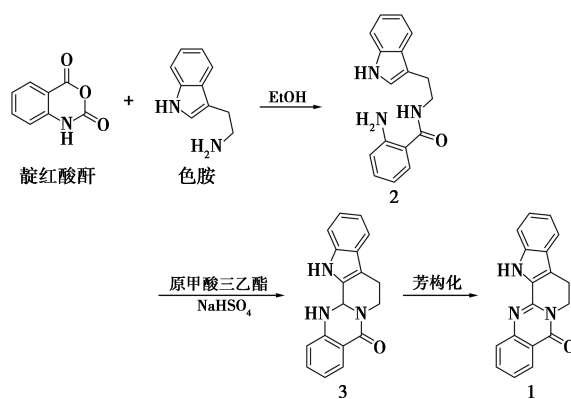
吴茱萸碱的合成路线^[9-12]

Synthetic route of rutaecarpine^[9-12]

Pictet-Spengler 反应导致 C 环的形成(路线 g); Kwon 等^[11]以中间体 B 为原料,在剧毒试剂 NaCN 作用下合成中间体 C,再经 2 步,通过构建 B/C 环合成目标产物 1(路线 h); Liang 等^[12]以色胺为原料,在 1-羟基苯并三唑和碳二亚胺盐酸盐条件下与邻氟苯甲酸缩合得到中间体 D、在 -78 °C 条件下与三甲基氰硅烷制备关键中间体 E,直接一锅法构建 C/D 环合成目标产物 1(路线 i)。

综上所述,合成目标产物 1 的方法各有利弊,构建环的个数越少,合成起始原料结构越复杂,难以获得、合成路线短、方法简便;随着构建环的环数增加,起始物料易得,但合成步骤多且复杂。

本文以价格便宜、原料易得的靛红酸酐、色胺经缩合制备 *N*-(2-氨基苯甲酰基)色胺(2)、经硫酸氢钠催化,化合物 2 与原甲酸三乙酯一锅法构建 C/D 环合成 7,8,13*b*,14-四氢吡啶并[2',3':3,4]吡啶并[2,1-*b*]喹唑啉-5(7*H*)-酮(3),最后芳构化制备目标产物 1,合成路线如下图所示。该路线具有合成路线短、反应条件温和、操作简单,适用于工业化制备。



吴茱萸碱的合成路线

Synthetic route of rutaecarpine

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 1290 型超高压液相色谱仪(美国安捷伦公司); AB4000 型三重四极杆串联质谱仪(ESI+源,美国 ABSciex 公司); AV III 400 MHz 和 600 MHz 型核磁共振仪(DMSO-*d*₆ 为溶剂, TMS 为内标,德国 Bruker 公司)。

靛红酸酐、色胺(98.5%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 原甲酸三乙酯、硫酸氢钠、DMF、过氧化尿素、乙醇、二氯甲烷、乙酸乙酯、正

己烷(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 实验过程及结构检测

1.2.1 *N*-(2-氨基苯甲酰基)色胺(2)的合成

在三颈瓶中加入 16 g (0.1 mol) 色胺、16.3 g (0.1 mol) 靛红酸酐和 100 mL 乙醇,加热回流 2 h, TLC 检测反应程度 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{正己烷})=1:3$,反应结束后,减压回收溶剂,冷却、析晶、抽滤得到 25.6 g 类白色晶体,产率 91.7%。 $^1\text{H NMR}(\text{DMSO}-d_6, 400 \text{ MHz})$, δ : 10.81 (s, 1H, —NH); 8.32~8.33 (m, 1H, —ArH); 7.58~7.59 (d, 1H, $J=7.8 \text{ Hz}$, —ArH); 7.45~7.46 (d, 1H, $J=7.8 \text{ Hz}$, —ArH); 7.33~7.35 (d, 1H, $J=8.4 \text{ Hz}$, —ArH); 7.18 (s, 1H, —ArH); 7.11~7.13 (m, 1H, —ArH); 7.05~7.08 (m, 1H, —ArH); 6.97~7.00 (m, 1H, —ArH); 6.68~6.70 (d, 1H, $J=8.4 \text{ Hz}$, —ArH); 6.48~6.51 (m, 1H, —ArH); 6.41 (s, 2H, —NH₂); 3.48~3.51 (d, 2H, $J=7.2 \text{ Hz}$, —CH₂); 2.92~2.94 (d, 2H, $J=7.2 \text{ Hz}$, —CH₂)。 $^{13}\text{C NMR}(\text{DMSO}-d_6, 100 \text{ MHz})$, δ : 170.07, 150.84, 137.49, 132.76, 129.25, 128.54, 123.81, 122.16, 119.57, 119.46, 117.56, 116.22, 115.77, 113.24, 112.61, 41.05, 26.47。ESI-MS, m/z : 280.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

1.2.2 7,8,13*b*,14-四氢吲哚并[2',3':3,4]吡啶并[2,1-*b*]喹唑啉-5(7*H*)-酮(3)的合成

在三颈瓶中加入 2.79 g (0.01 mol) 中间体 2、4.5 g (0.03 mol) 原甲酸三乙酯、20 mL DMF、0.5 g (4 mmol) 硫酸氢钠,加热至 100 °C, 4 h 后, TLC 监测反应程度 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{正己烷})=1:3$,反应结束后,加入 50 mL 水、100 mL 乙酸乙酯,分取有机相,水洗、干燥、减压回收溶剂,乙醇重结晶、抽滤得到 2.3 g 类白色固体,产率 79.5%。 $^1\text{H NMR}(\text{DMSO}-d_6, 400 \text{ MHz})$, δ : 10.87 (s, 1H, —NH); 8.20~8.22 (dd, 1H, $J=8.0, 1.2 \text{ Hz}$, —ArH); 8.10 (s, 1H, —ArH); 7.79~7.84 (m, 1H, —ArH); 7.61~7.64 (m, 1H, —ArH); 7.54~7.58 (m, 1H, —ArH); 7.34~7.36 (d, 1H, $J=8.0 \text{ Hz}$, —ArH); 7.13 (s, 1H, —ArH); 7.05~7.09 (m, 1H, —ArH); 6.95~6.99 (m, 1H, —ArH); 4.24~4.27 (d, 2H, $J=7.2 \text{ Hz}$, —CH₂); 3.12~3.15 (d, 2H, $J=7.2 \text{ Hz}$, —CH₂)。 $^{13}\text{C NMR}(\text{DMSO}-d_6, 100 \text{ MHz})$, δ : 160.66, 148.40, 148.34, 136.72, 134.68, 127.59, 127.46, 127.40, 126.50, 123.82,

122.05, 121.56, 118.90, 118.73, 111.95, 110.63, 47.22, 26.47。ESI-MS, m/z : 290.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

1.2.3 吴茱萸次碱(1)的合成

在圆底烧瓶中加入 2.9 g (0.01 mol) 中间体 3、100 mL 二氯甲烷、2 g (0.02 mol) 过氧化尿素,室温搅拌 2 h, TLC 监测反应程度 $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{正己烷})=1:4$,反应结束后,加入 50 mL 水,分取有机层,水洗、干燥、减压回收溶剂,得 2.2 g 白色固体,产率 76.6%。 $^1\text{H NMR}(\text{DMSO}-d_6, 400 \text{ MHz})$, δ : 11.90 (s, 1H, —NH); 8.16~8.18 (d, 1H, $J=7.8 \text{ Hz}$, —ArH); 7.80~7.84 (m, 1H, —ArH); 7.65~7.70 (m, 1H, —ArH); 7.47~7.50 (m, 1H, —ArH); 7.25~7.29 (m, 1H, —ArH); 7.08~7.12 (m, 1H, —ArH); 4.44~4.48 (d, 2H, $J=7.2 \text{ Hz}$, —CH₂); 3.17~3.20 (d, 2H, $J=7.2 \text{ Hz}$, —CH₂)。 $^{13}\text{C NMR}(\text{DMSO}-d_6, 100 \text{ MHz})$, δ : 161.08, 147.84, 145.78, 139.12, 134.91, 127.57, 127.07, 126.92, 126.47, 125.36, 125.22, 121.18, 120.44, 120.21, 118.34, 113.03, 41.29, 19.40。ESI-MS, m/z : 288.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

2 结果与讨论

2.1 化合物 3 合成的环合试剂考察

以产率为考察指标对化合物 3 合成过程中的环合试剂进行考察。以 DMF 为溶剂, $n(\text{化合物 } 2):n(\text{环合试剂})=1:3$,固定反应时间为 4 h,反应温度为 100 °C,对环合试剂 37% 甲醛水溶液、原甲酸三乙酯、原甲酸三甲酯、多聚甲醛进行考察,实验结果见表 1。由表 1 可知,以 37% 甲醛水溶液、多聚甲醛作为环合试剂,未得到预期产物;以原甲酸三乙酯和原甲酸三甲酯作为环合试剂,原甲酸三乙酯产率较原甲酸三甲酯高,因此确定原甲酸三乙酯作为环合试剂。

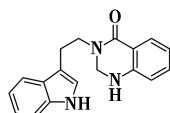
表 1 环合试剂对化合物 3 产率的影响

Tab.1 Effect of cyclization reagent on the yield of compound 3

环合试剂 种类	37% 甲醛 水溶液	多聚甲醛	原甲酸 三乙酯	原甲酸 三甲酯
产率/%	痕量	痕量	79.5	62.6

在化合物 2 与 37% 甲醛水溶液环合过程中,几乎没有化合物 3 生成,但得到一个未知化合物,经 ESI-MS 检测分子量为 292.7,最终分离得到白色固体,经 NMR 测试得到以下数据: $^1\text{H NMR}$

(DMSO- d_6 , 600 MHz), δ : 10.83 (s, 1H, —NH); 7.67 ~ 7.69 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz, —ArH); 7.63 ~ 7.65 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz, —ArH); 7.33 ~ 7.35 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz, —ArH); 7.23 ~ 7.26 (t, 1H, $J = 7.8$ Hz, —ArH); 7.18 (s, 1H, —ArH); 7.06 ~ 7.08 (t, 1H, $J = 7.8$ Hz, —ArH); 6.98 ~ 7.00 (t, 1H, $J = 7.8$ Hz, —ArH); 6.71 ~ 6.74 (m, 2H, —ArH); 6.66 (m, 1H, —ArH); 4.56 (s, 2H, —CH₂); 3.37 ~ 3.70 (d, 2H, $J = 7.2$ Hz, —CH₂); 2.95 ~ 2.97 (d, 2H, $J = 7.2$ Hz, —CH₂)。 ¹³CNMR (DMSO- d_6 , 150 MHz), δ : 163.17, 149.43, 136.66, 133.19, 128.23, 127.59, 123.23, 121.39, 118.81, 118.71, 117.94, 116.57, 114.90, 111.89, 111.82, 59.39, 45.99, 23.81。结合文献[13], 推测未知化合物为 3-(2-(1H-吡啶-3-基)乙基)-2,3-二氢喹唑啉-4(1H)-酮, 结构如下图所示。

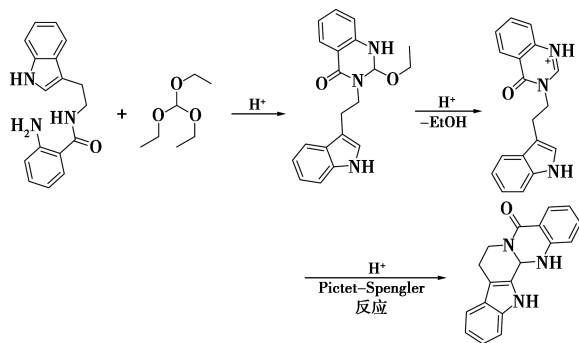


未知化合物可能结构

Possible structure of unknown compound

2.2 中间体 3 可能合成机理

在参考经典 Pictet-Spengler 反应, 发现反应中烯胺需活化后才能够与芳环反应成环^[14-19], Bronsted 酸和 Lewis 酸都可以活化烯胺催化 Pictet-Spengler 反应进行, 硫酸氢钠是一种价廉、易得、稳定的无机酸, 能够催化合成化合物 3, 可能反应机理见下图。



7,8,13b,14-四氢吡啶并[2',3':3,4]

吡啶并[2,1-b]喹唑啉-5(7H)-酮合成机理

Synthetic mechanism of 7,8,13b,14-tetrahydroindolo
[2',3':3,4] pyrido [2,1-b] quinazolin-5(7H)-one

3 结论

本文以靛红酸酐、色胺为原料经缩合制备 *N*-

(2-氨基苯甲酰基)色胺, 在硫酸氢钠催化下, 与原甲酸三乙酯环合、最后氧化合成了吴茱萸次碱, 分别经 ESI-MS、¹HNMR 和 ¹³CNMR 确证了其结构, 讨论了未知化合物产生原因, 合成路线共 3 步, 该方法简单, 后处理方便, 易于操作。能够适应较大规模原料的生产要求以及进一步研究其生理活性奠定了物质基础。

参考文献:

- [1] 王奇志, 严奇, 靳桐, 等. 吴茱萸属植物中喹唑啉生物碱的分布、生物活性和化学合成[J]. 植物资源与环境学报, 2019, **28**(4): 84-98.
- [2] 刘树森, 孙文斌, 李文兰, 等. 基于网络药理学的黄连-吴茱萸药对抗癌及治疗心脑血管疾病机制研究[J]. 中草药, 2020, **51**(1): 109-117.
- [3] 王翠玲, 刘建利, 令亚萍. 吴茱萸次碱的合成进展[J]. 有机化学, 2006, **41**(10): 1437-1443.
- [4] NGUYEN T T, NGUYEN K X, PHAM P H, et al. Copper-catalyzed synthesis of pyrido-fused quinazolinones from 2-aminoarylmethanols and isoquinolines or tetrahydroisoquinolines[J]. *Org. Biomol. Chem.*, 2021, **19**(21): 4726-4732.
- [5] LI J, WANG Z B, XU Y, et al. Catalyst-free cyclization of anthranils and cyclic amines: One-step synthesis of rutaecarpine[J]. *Chem. Commun.*, 2019, **55**(80): 12072-12075.
- [6] CHEN X, ZHANG X, LU S, et al. Electrosynthesis of polycyclic quinazolinones and rutaecarpine from isatoic anhydrides and cyclic amines[J]. *RSC Adv.*, 2020, **10**(72): 44382-44386.
- [7] PATEL S M, CHADA H, BISWAL S, et al. Copper-catalyzed intramolecular C—H amination via ring-opening cyclization strategy to quinazolin-4-ones: Development and application in rutaecarpine synthesis[J]. *Synthesis*, 2019, **51**(16): 3160-3170.
- [8] JIA F C, CHEN T Z, HU X Q. TFA/TBHP-promoted oxidative cyclization for the construction of tetracyclic quinazolinones and rutaecarpine[J]. *Org. Chem. Front.*, 2020, **7**(13): 1635-1639.
- [9] COLLET J W, NOL E, ROOSE T R. Synthesis of quinazolin-4-ones by copper catalyzed isocyanide insertion[J]. *J. Org. Chem.*, 2020, **85**(11): 7378-7385.
- [10] RAO K R, RAGHUNADH A, MEKALA R. Glyoxylic acid in the reaction of isatoic anhydride with amines: A

- rapid synthesis of 3-(un)substituted quinazolin-4(3H)-ones leading to rutaecarpine and evodiamine[J]. *Tetrahedron. Lett.*, 2014, **55**(43): 6 004-6 006.
- [11] KWON S H, SEO H A, CHEON C H. Total synthesis of luotonin A and rutaecarpine from an aldimine via the designed cyclization[J]. *Org. Lett.*, 2016, **18**(20): 5 280-5 283.
- [12] LIANG L N, AN R, HUANG T, et al. A simple approach for the syntheses of rutaecarpine and its analogs[J]. *Tetrahedron. Lett.*, 2015, **56**(19): 2 466-2 468.
- [13] 陈仕云, 何勇, 高永好, 等. 盐酸氨溴索葡萄糖注射液有关物质的合成[J]. 化学试剂, 2019, **41**(10): 1 098-1 100.
- [14] 姜建辉, 张杰, 赵俭波, 等. 2-甲氧基吴茱萸次碱的首次全合成[J]. 化学试剂, 2011, **33**(11): 1 001-1 002.
- [15] 王悦秋, 梁大伟, 魏雯. 4-(4'-取代苯基)氨基-6,7-二甲氧基喹唑啉衍生物的合成与抗肿瘤活性研究[J]. 化学试剂, 2019, **41**(12): 1 233-1 238.
- [16] 张旭光, 刘春芬, 慕金超. 艾代拉里斯中间体(S)-2-(1-氨基丙基)-5-氟-3-苯基-4(3H)-喹唑啉酮三氟乙酸盐的合成及晶体结构表征[J]. 化学试剂, 2019, **41**(11): 1 197-1 200.
- [17] 张帅波, 金岩, 李振建, 等. 6-氨基-7-甲氧基喹唑啉的合成[J]. 化学试剂, 2018, **40**(4): 383-388.
- [18] BERGMAN J, BERGMAN S. Studies of rutaecarpine and related quinazolinocarboline alkaloids[J]. *J. Org. Chem.*, 1985, **50**(8): 1 246-1 255.
- [19] LI Y Z, FENG T T, LIU P, et al. Optimization of rutaecarpine as ABCA1 up-regulator for treating atherosclerosis[J]. *ACS Med. Chem. Lett.*, 2014, **5**(8): 884-888.

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022008905

化学试剂, 2022, 44(6), 936~940

硫酸苯肼的合成及分析方法

祁锴铤^{1,2}, 辜顺林^{1,2}, 刘建武^{1,2}, 张跃², 严生虎^{*1,2}

(1.常州大学 药学院, 江苏 常州 213164; 2.石油和化工行业连续流技术工程实验室, 江苏 常州 213164)

摘要:以苯胺、硫酸、亚硝酸钠为原料, 经过重氮化反应、还原反应、酸化反应合成了硫酸苯肼, 探索了最佳合成工艺条件, 在进行重氮化反应时, 采用了连续流微通道反应器, 大大缩短了时间, 解决了重氮化反应过程中易飙温失控的问题, 极大的保证了人员安全, 且降低能耗、节约成本, 为硫酸苯肼工业化生产提供了参考。同时采用了 HPLC 对产品进行分析, 峰形尖锐对称, 分离效果较好, 为生产硫酸苯肼的纯度分析提供一些参考。

关键词:硫酸苯肼; 连续流; 合成; 高效液相色谱法; 分析

中图分类号: TQ246.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2022)06-0936-05

Synthesis and Analysis Method of Phenylhydrazine Sulfate QI Kai-ni^{1,2}, GU Shun-lin^{1,2}, LIU Jian-wu^{1,2}, ZHANG Yue², YAN Sheng-hu^{*1,2} (1.School of Pharmacy, Changzhou University, Changzhou 213164, China; 2.Continuous Flow Engineering Laboratory of National Petroleum and Chemical Industry, Changzhou 213164, China), Huaxue Shiji, 2022, **44**(6), 936~940

Abstract: Phenylhydrazine sulfate was synthesized through diazotization reaction, reduction reaction and acidification using aniline, sulfuric acid, and sodium nitrite as raw materials. The optimal synthesis conditions were explored. A continuous flow micro-channel reactor was introduced for the diazotization reaction, which greatly shortened the time and reduced the risk of thermal runaway caused by the strong exothermic diazotization process, therefore, it ensured the safety of personnel, reduced energy consumption, and saved cost. Our research results provide references for the industrial manufacture of phenylhydrazine sulfate. Besides, HPLC detection method was also established to analyze the product, the peak shape was sharp and symmetrical, indicating good separation effect, which provided reliable references for the purity analysis of phenylhydrazine sulfate.

Key words: phenylhydrazine sulfate; continuous flow; synthesis; HPLC; analysis

芳基肼被应用于合成吡啶^[1]、吡唑^[2]、吡啶^[3]、三唑^[4]等含氮杂环化合物, 这些含氮杂环化合物有着广泛的应用, 例如医药、农药、染料等领域。许多药物分子中含有芳基肼结构单元, 如异烟肼是医治结核病的首选药物, 可以治疗各种类型的结核病^[5]; 苄基肼用于帕金森病和帕金森综合症的治疗^[6]; 肼屈嗪被用于治疗高血压^[7]。此外, 芳基肼还可用于染料的合成, 如合成苏丹红类染料^[8]。因此, 对芳基肼的合成方法进行创新与优化具有极为重要的意义。

苯肼是最简单的芳基肼, 用途极为广泛。在农药方面, 以苯肼为起始原料可以合成有机磷杀虫剂三唑磷, 被用来防治谷物上的害虫^[9]。在医药方面, 苯肼还可以用来合成解热镇痛药物安替比林^[10]。此外, 苯肼也可用作测定醛、酮的分析试剂^[11]。

苯肼的合成方法大多以苯胺为原料, 大多是经过重氮化、还原、酸化、中和、蒸馏这几步得到^[12], 而经过类似的前三步反应可以得到硫酸苯

肼。由于重氮化反应具有强放热的特点且生成的重氮盐在常温下就会分解, 不易储存, 因此在间歇釜式反应器中反应时需要严格控制温度和滴加亚硝酸钠的速度。即便如此, 由于间歇釜式传热传质效果不佳, 反应仍有局部过热的问题存在, 使得产物容易分解, 严重时甚至会对工作人员、设备造成不可估量的伤害。近年来, 连续流化学技术日趋成熟, 该技术适用于快速、强放热反应, 在常规管式连续流技术的基础上开发出的微通道反应技术, 与间歇技术相比, 有着比表面积大^[13]、传质和传热效率高^[14,15]、易于控制、降低能耗^[16]等优势, 可以克服上述缺点。微通道反应器的使用, 在很大程度上提高了反应过程中的安全性及可

收稿日期: 2022-01-04; 网络首发日期: 2022-03-07

作者简介: 祁锴铤(1996-), 女, 陕西咸阳人, 硕士生, 主要从事连续流合成工艺研究。

通讯作者: 严生虎, E-mail: ysh@cczu.edu.cn。

引用本文: 祁锴铤, 辜顺林, 刘建武, 等. 硫酸苯肼的合成及分析方法[J]. 化学试剂, 2022, **44**(6): 936-940。

控性。本课题组在连续流方面进行深入研究^[17-20],应用微通道反应器处理重氮化、硝化、氧化等多种反应。

本文以苯胺、亚硝酸钠、硫酸为原料,经过重氮化、还原、酸化等反应合成硫酸苯肼,其中重氮化反应通过具有脉冲混合结构微通道反应器研究了苯基重氮盐的连续流合成工艺,还原反应及酸化等步骤进行了间歇条件探究。该工艺具有操作简便、安全性高、减少人工等优点。

1 实验部分

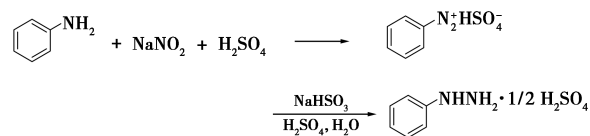
1.1 主要仪器与试剂

TBP-5002SF 型柱塞计量泵(上海同田生物技术股份有限公司);依利特型高效液相色谱仪(北京创新通恒科技有限公司);DL-180E 型超声波清洗器(上海之信仪器有限公司);紫外-可见分光光度计(上海棱光技术有限公司);FA2204 型电子分析天平(常州科源电子仪器有限公司);ST-HC-F100 型金属微通道反应器(江苏迪源精密仪器科技有限公司)。

苯胺(分析纯,上海沃凯生物技术有限公司);亚硝酸钠(分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);硫酸(95%~98%,昆山金城试剂有限公司);亚硫酸氢钠(分析纯)、甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)(萨恩化学技术(上海)有限公司);磷酸(分析纯,天津市化学试剂三厂);四丁基溴化铵(分析纯,上海达瑞精细化学品有限公司);去离子水(实验室自制)。

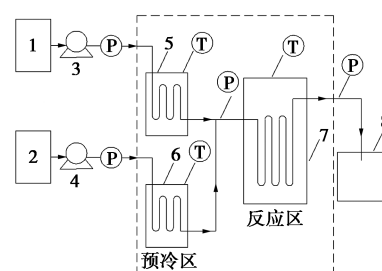
1.2 实验过程

将苯胺与硫酸的混合溶液(室温)记为原料 1,亚硝酸钠水溶液(室温)记为原料 2,待整个体系温度达到设定值,泵的流速稳定后,用计量泵分别将原料 1、原料 2 送进微通道反应器的预冷区域,待原料 1 与原料 2 预冷到一定温度后,再继续进入反应区进行重氮化反应,连续合成苯基重氮盐的流程如右上图所示。将得到的苯基重氮盐快速加入到提前配好的亚硫酸氢钠溶液中反应一定时间,升温至一定温度,待还原反应结束后,再往



反应方程式

Reaction equation



1,2.原料罐;3,4.原料计量泵;5,6.预冷区;

7.反应区;8.产物收集区

连续流反应装置(重氮化反应)

Continuous flow reactor (diazotization reaction)

反应体系中加入硫酸溶液进行酸化,在一定温度下反应一定时间,待反应结束后,冷却,有固体析出,过滤得到产物,干燥,称重。反应方程式如左下所示。将得到的产物用 HPLC 进行分析监测。

2 结果与讨论

2.1 重氮化反应条件探索(连续)

重氮化反应采用了连续流微通道反应器,依次考察了亚硝酸钠用量、硫酸用量、重氮化反应时硫酸质量分数、停留时间、重氮化反应温度等条件对合成硫酸苯肼的影响,实验结果如图 1~5 所示,其中硫酸苯肼产率以苯胺计算所得。经过考察发现,改变重氮化反应条件时,影响硫酸苯肼产率的因素有以下几点:(1)亚硝酸钠用量,当亚硝酸钠用量较少时,反应不够完全,亚硝酸钠用量太多时会导致氧化等副反应产生,只有当 $n(\text{苯胺}):n(\text{亚硝酸钠})=1:1.05$ 时,产物产率最高;(2)硫酸用量,从结果以及综合环保与成本方面考虑,当 $n(\text{苯胺}):n(w=15\% \text{ 的硫酸})=1:1.2$ 时为最佳条件;(3)重氮化反应时硫酸质量分数,当硫酸质量分数为 15% 时,可以得到更多的目标产物;(4)停留时间,停留时间过短,原料还未完全反应,停留时间过长,苯基重氮盐会分解,以停留时间 80 s 最佳;(5)重氮化反应温度,由于苯基重氮盐不稳

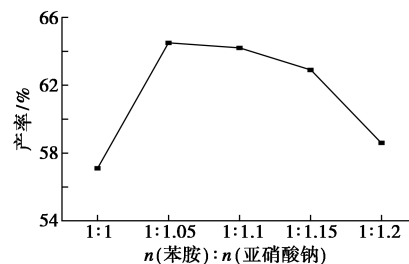


图 1 亚硝酸钠用量对反应的影响

Fig.1 Influence of the dosage of sodium nitrite on the reaction

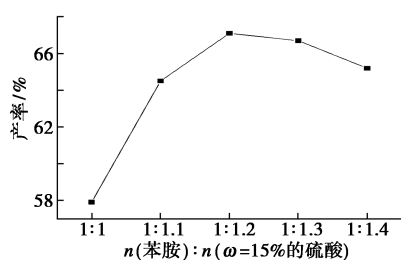


图2 重氮化反应时硫酸($w=15\%$)用量对反应的影响

Fig.2 Influence of the amount of sulfuric acid ($w=15\%$) on the reaction in the diazotization reaction

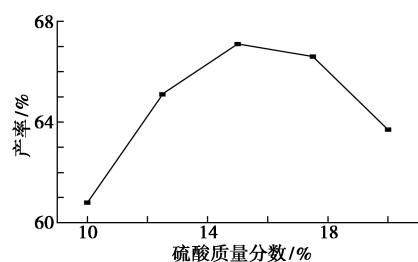


图3 重氮化反应时硫酸质量分数对反应的影响

Fig.3 Influence of sulfuric acid mass fraction on reaction during diazotization reaction

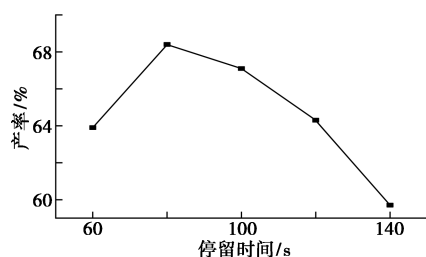


图4 停留时间对反应的影响

Fig.4 Effect of residence time on the reaction

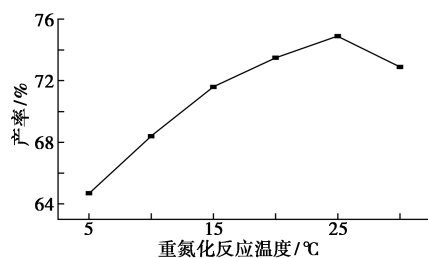


图5 重氮化反应温度对反应的影响

Fig.5 Effect of diazotization reaction temperature on the reaction

定,受热易分解,且随着温度的升高,自偶合等副反应随之发生,导致产率降低,因此反应温度不宜过高,为了保证产物的产率,选择重氮化反应温度 25 °C 最佳。综上所述,重氮化连续反应最佳条件为: $n(\text{苯胺}):n(\text{亚硝酸钠})=1:1.05$, $n(\text{苯胺}):n(w=15\% \text{ 的硫酸})=1:1.2$,重氮化反应时硫酸质量分数 15%,停留时间 80 s,重氮化反应温度 25 °C。

2.2 还原反应与酸化反应条件探索(间歇)

还原与酸化两步反应依次考察了还原反应温度、酸化温度、还原反应时间、亚硫酸氢钠用量等条件对合成硫酸苯肼的影响(间歇),实验结果如图 6~9 所示,其中硫酸苯肼产率以苯胺计算所得。经过考察发现,为了保证产率且减少能耗,还原反应温度与酸化温度不宜过低,也不能过高。同时还原反应时间过短则反应不完全,时间过长会有副反应产生,导致产率下降。另外, NaHSO_3 的用量是决定产物产率高低的重要因素。经过对反应条件的考察,最终得到还原反应与酸化反应

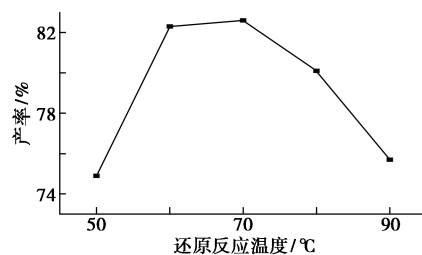


图6 还原反应温度对反应的影响

Fig.6 Effect of reduction reaction temperature on the reaction

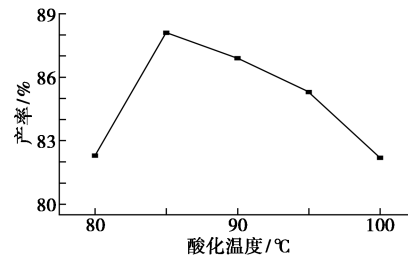


图7 酸化温度对反应的影响

Fig.7 Effect of acidification temperature on the reaction

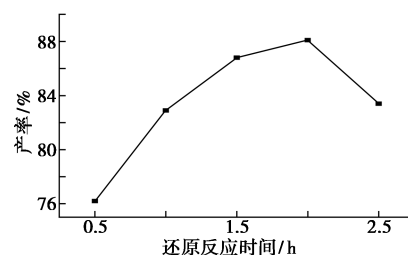


图8 还原反应时间对反应的影响

Fig.8 Effect of reduction reaction time on the reaction

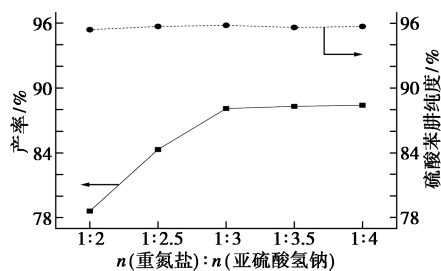


图9 NaHSO_3 用量对反应的影响

Fig.9 Influence of the amount of NaHSO_3 on the reaction

的最佳条件如下:还原反应温度 60 ℃、酸化反应温度 85 ℃、还原反应时间 2 h、 $n(\text{重氮盐}):n(\text{亚硫酸氢钠})=1:3$,最终产率可达 88.1%。

以苯胺、硫酸、亚硝酸钠为原料经过重氮化反应、还原反应、酸化合成硫酸苯肼,探索了最佳合成工艺条件,确定了最佳条件为: $n(\text{苯胺}):n(\text{亚硝酸钠})=1:1.05$, $n(\text{苯胺}):n(w=15\% \text{硫酸})=1:1.2$,重氮化反应时硫酸质量分数 15%,重氮化反应温度 25 ℃,停留时间 80 s, NaHSO_3 溶液质量分数 25%, $n(\text{重氮盐}):n(\text{NaHSO}_3)=1:3$, $n(\text{NaHSO}_3):n(\text{酸化时 } \text{H}_2\text{SO}_4)=1:1$,还原反应时间 2 h,还原反应温度 60 ℃,酸化时硫酸的质量分数为 35%,酸化反应温度 85 ℃,酸化反应时间 1 h,产率可达 88.1%。

2.3 产品分析方法

采用 HPLC 对产品进行分析,依次考察了流动相的体系、流动相中 pH 值、色谱柱等条件对硫酸苯肼及杂质峰形的影响,结果如图 10~12 所示。经过考察发现,乙腈-水体系为流动相时,硫酸苯肼的峰形明显优于以甲醇-水作为流动相的峰形;将流动相按乙腈与水不同体积比进行分离试验,流动相为 $V(\text{乙腈}):V(\text{水})=42:58$ (含 1 g/L 四丁基溴化铵),再用磷酸调节 pH 值,当溶液的 pH 2 时,硫酸苯肼与杂质峰出峰拖尾严重,且出峰时间比 pH 3~5 时的出峰时间长,而当 pH 3~5 时,峰形尖锐对称。分别采用 WondaSil C18 Superb 色谱柱和 Supersil AQ-C18 色谱柱时,硫酸苯肼的峰形良好。

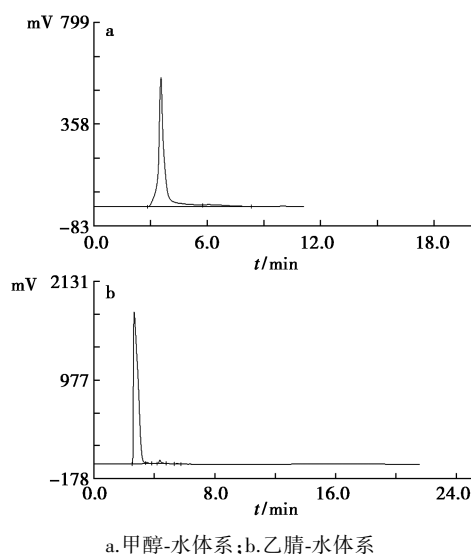
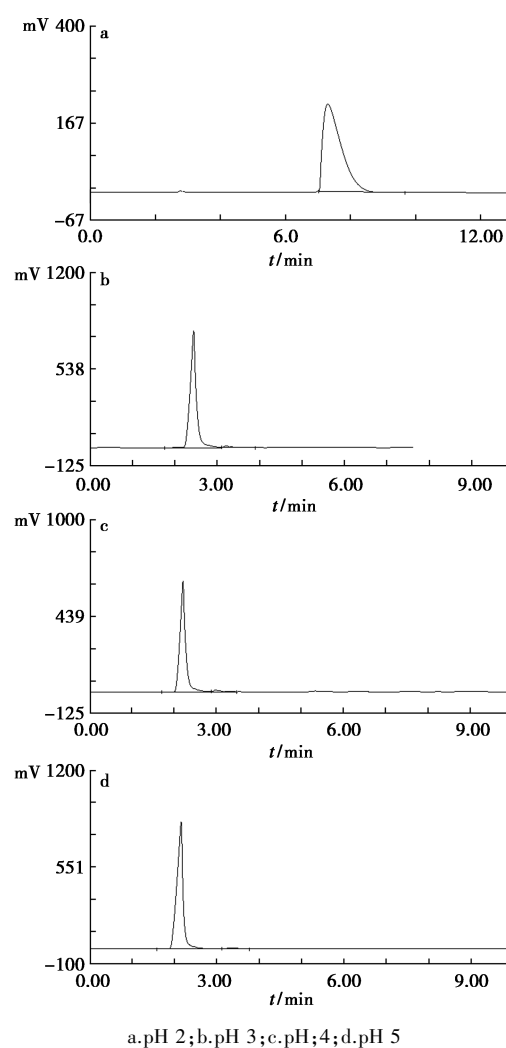


图 10 不同流动相体系时样品 HPLC 图

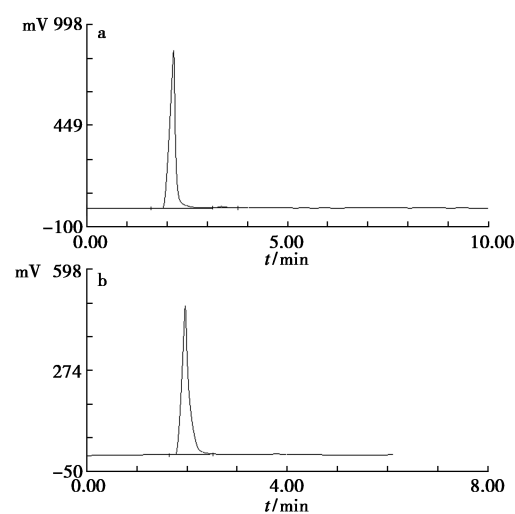
Fig.10 HPLC diagrams of samples with different mobile phase systems



a.pH 2;b.pH 3;c.pH 4;d.pH 5

图 11 不同 pH 时的硫酸苯肼色谱图

Fig.11 Chromatograms of phenylhydrazine sulfate at different pH



a.Supersil AQ-C18 色谱柱;b.WondaSil C18 Superb 色谱柱

图 12 不同色谱柱时的色谱图

Fig.12 Chromatograms with different columns

最终确定硫酸苯肼分析方法:采用依利特

Supersil AQ-C18 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 V(乙腈):V(水) = 42:58 (含 1 g/L 四丁基溴化铵), 再用磷酸调节至 pH 5, 流速为 1 mL/min, 紫外检测波长为 254 nm, 进样量为 20 μL, 保留时间为 2.85 min, 产品纯度为 95.8%, 如图 13 所示。

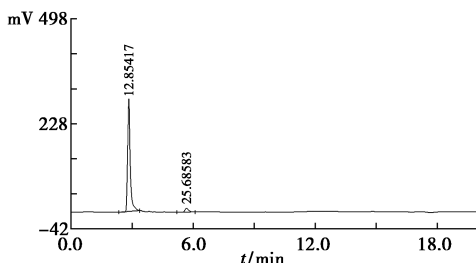


图 13 硫酸苯肼液相色谱图

Fig.13 Liquid chromatogram of phenylhydrazine sulfate

3 结论

以苯胺、硫酸、亚硝酸钠为原料经过重氮化反应、还原反应、酸化合成硫酸苯肼, 探索了最佳合成工艺条件, 在进行重氮化反应时, 引入连续流微通道反应技术, 大大缩短了时间, 且解决了重氮化反应过程中易飘温失控的问题, 极大的保证了人员安全、降低能耗、节约了成本, 为硫酸苯肼工业化生产提供了参考。同时采用了 HPLC 对产物进行分析, 峰形尖锐对称, 分离效果较好, 为生产硫酸苯肼的纯度分析提供一些参考。

参考文献:

- [1] HUMPHREY G R, KUETHE J T. Practical methodologies for the synthesis of indoles [J]. *Chem. Rev.*, 2006, **106**(7): 2 875-2 911.
- [2] SCHMIDT A, BEUTLER A, SNOVDOVYCH B. Recent advances in the chemistry of indazoles [J]. *Eur. J. Org. Chem.*, 2008, **2 008**(24): 4 073-4 095.
- [3] FUSTERO S, SÁNCHEZ-ROSELLÓ M, BARRIO P, et al. From 2000 to mid-2010: A fruitful decade for the synthesis of pyrazoles [J]. *Chem. Rev.*, 2011, **111**(11): 6 984-7 034.
- [4] HUANG R H, YANG Y C, WANG D S, et al. Where does Au coordinate to *N*-(2-pyridyl) benzotriazole: Gold-catalyzed chemoselective dehydrogenation and borrowing hydrogen reactions [J]. *Org. Chem. Front.*, 2018, **5**(2): 203-209.
- [5] YAGHOUBI A, DAVOODI J, ASGHARZADEH F, et al. Therapeutic effect of an anti-tuberculosis agent, isoniazid, and its nano-isoform in ulcerative colitis [J]. *Int. Immunopharmacol.*, 2021, **96**(5): 107 577-107 586.
- [6] KUYUMCU SAVAN E, ERDOADU G. Simultaneous determination of levodopa and benserazide using poly (3-methylthiophene) and a multi-walled carbon nanotube sensor [J]. *J. Solid State Electrochem.*, 2017, **21**(8): 2 209-2 217.
- [7] 秦星宇, 冯蕊, 狄斌. 胍屈嗪-*N*-乳糖结合物的制备以及体外代谢研究 [J]. *中国药科大学学报*, 2017, **48**(6): 687-695.
- [8] 江丽荣, 王博文, 陈佳洛, 等. 基于芳基胍的苏丹红类染料的合成 [J]. *山东化工*, 2021, **50**(3): 41-43.
- [9] 陆阳, 董超宇, 冯世龙, 等. 三唑磷的相转移催化合成 [J]. *农药*, 2006, **45**(6): 402-403.
- [10] THUPYAI A, PIMPASRI C, YOTPHAN S. DABCO-catalyzed silver-promoted direct thiolation of pyrazolones with diaryl disulfides [J]. *Org. Biomol. Chem.*, 2018, **16**(3): 424-432.
- [11] 杨怀青, 管庆宝, 张帆, 等. 高效液相色谱法测定高纯度苯肼 [J]. *分析科学学报*, 2014, **30**(3): 425-427.
- [12] 付春. 高纯度苯肼的合成 [J]. *精细与专用化学品*, 2004, **12**(14): 19-21.
- [13] 丁云成, 王法军, 艾宁, 等. 微反应器内连续重氮化/偶合反应进展 [J]. *化工学报*, 2018, **69**(11): 4 542-4 552.
- [14] ZHANG F X, CERATO NOYERIE C, WOHL P, et al. Intensified liquid/liquid mass transfer in corning advanced-flow reactors [J]. *Chem. Eng. Trans.*, 2011, **24**: 1 369-1 374.
- [15] 穆金霞, 殷学锋. 微通道反应器在合成反应中的应用 [J]. *化学进展*, 2008, **20**(1): 60-75.
- [16] MARALLA Y, SONAWANE S, KASHINATH D, et al. Process intensification of tetrazole reaction through tritylation of 5-[4'-(methyl) biphenyl-2-Y1] using microreactors [J]. *Chem. Eng. Process.*, 2017, **112**: 9-17.
- [17] 陆雨, 严生虎, 张跃, 等. 过氧化氢氧化 β-巯基乙醇合成羧基磺酸的连续流工艺 [J]. *现代化工*, 2020, **40**(7): 217-220.
- [18] 薛鹏博, 严生虎, 刘建武. 过氧化氢氧化二甲基亚砷合成二甲基砷的连续流工艺 [J]. *现代化工*, 2019, **39**(3): 208-211.
- [19] 张跃, 张菁, 辜顺林, 等. 微通道中硝基胍的连续流合成 [J]. *精细化工*, 2016, **33**(8): 946-950.
- [20] 岳家委, 辜顺林, 刘建武, 等. 重氮乙酸乙酯的连续流合成工艺研究 [J]. *现代化工*, 2021, **41**(6): 205-208.

《化学试剂》期刊 2021 年度“优秀论文”“优秀作者”名单公布

《化学试剂》1979 年创刊,是编辑出版化学试剂及相关领域的中文核心期刊。近年来,在编委专家的大力支持下,本刊组约稿数量不断增加,论文质量、期刊评价指标稳步提升。为激励广大作者撰写学术论文的积极性,吸引更多高水准的论文,进一步提高本刊的学术水平和稿件质量,《化学试剂》编辑部连续多年开展了“优秀论文”和“优秀作者”的评选活动,并向获奖者颁奖及赠刊。

2021 年度的评选活动继续秉着实事求是和科学严谨的态度,在参考科技论文数据统计机构 2020 年影响力统计分析的基础上,对论文的影响力指标、科学性、创新性、论文质量等多方面因素进行综合评价,最终从 2020 年出版的 272 篇论文中评选出 5 篇优秀论文和 5 位优秀作者,具体名单见下表。

2021 年度“优秀论文”名单

编号	论文题目	作者	作者单位	卷(期)号
1	农产品中内吸性农药残留检测技术与研究进展	陈亨业,邓高琼,付海燕,余远斌	中南民族大学	42(10)
2	茶多酚的提取及抑菌活性研究综述	蔡静,叶润,贾凯,孙伟,赵丽平	信阳农林学院	42(2)
3	纳米金电催化还原 CO ₂ 的载体效应	高明洋,朱英明,梁斌	四川大学	42(8)
4	基于质量平衡法的有机物纯度测量技术进展	张庆合,杨吉双,焦慧,李秀琴	中国计量科学研究院	42(8)
5	气相色谱-三重四极杆质谱法测定大肠杆菌中有机酸的含量	高慧敏,侯捷,盛立彦,张鹏帅,雷雯,李丹	上海化工研究院	42(4)

2021 年度“优秀作者”名单

编号	作者	单位
1	赵丽娇	北京工业大学
2	程旺兴	安徽中医药大学
3	汤磊	贵州医科大学
4	刘畅	锦州医科大学
5	冯柏年	江南大学

在此,向获得“优秀论文”“优秀作者”称号的作者表示祝贺,同时也衷心地感谢广大科研工作者对我刊的关注与支持! 预祝各位科研工作者创造更多的科技成果、创作更优秀的科技论文,为国家的科技繁荣做出更大的贡献!

《化学试剂》编辑部

2022 年 4 月

2022 年《化学试剂》期刊征订单

《化学试剂》于 1979 年创刊,是主要报道化学试剂及相关领域的科技期刊,国内外公开发刊。

《化学试剂》是中文核心期刊,中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)。是《中国科技期刊数据库》《中国学术期刊综合评价数据库》《中国学术期刊(光盘版)》收录期刊、中国石油和化工行业优秀期刊;是美国化学文摘(CA)主要摘录的千种期刊。

《化学试剂》快速报道和介绍化学试剂、精细化学品、专用化学品及相关领域的研究动态、理论知识、科研成果、技术经验、新产品的合成、分离、提纯以及各种测试技术等,及时反映国内外相关领域的发展水平。热情欢迎各界人士订阅本刊。

刊 号:CN 11—2135/TQ,ISSN 0258—3283

邮发代号:2-444

国内订阅处:全国各地邮局

国外总发行:中国国际图书贸易总公司

国外代号:M591

定 价:40 元/期 480 元/年

欢迎读者直接与编辑部联系订阅,并将订刊回执回传至编辑部,如需样刊也请与编辑部联系。

编辑部地址:北京市西城区太平街 8 号院 6 号楼 107 室 邮编:100050

电话:(010)58321153,(010)58321793 网址:https://hxsj.cbpt.cnki.net E-mail:webmaster@chinareagent.com.cn

订 刊 回 执

单 位		收 刊 人	
邮寄地址		邮 编	
联 系 人		电 话	
订刊时间	202 ____年____期~202 ____年____期	订阅份数	
电子邮件		寄款金额	

银行汇款方式如下,见款后寄发票

银行汇款:

户 名:北京国化精试咨询有限公司

帐 号:11171401040002050

开户行:中国农业银行股份有限公司北京朱雀门支行

广告

广 告 目 次

国药集团化学试剂有限公司	封面(彩色)	江苏强盛功能化学股份有限公司	QC6(彩色)
国药集团化学试剂有限公司	封二(彩色)	上海馨晟试化工科技有限公司	QC7(彩色)
天津阿尔塔科技有限公司	QC1(彩色)	南京化学试剂股份有限公司	QC8(彩色)
上海阿拉丁生化科技股份有限公司	QC2(彩色)	天津市科密欧化学试剂有限公司	QC9(彩色)
慕尼黑上海分析生化展	QC3(彩色)	广东光华科技股份有限公司	QC10(彩色)
世界环境日	QC4(彩色)	北化试剂	封三(彩色)
天津市康科德科技有限公司	QC5(彩色)	西陇科学股份有限公司	封底(彩色)

QC:前部彩色广告插页

QD:前部单色广告插页

HC:后部彩色广告插页

HD:后部单色广告插页