

席夫碱红色荧光探针的合成及对乙醇的识别

迟浩波, 刘宗瑜, 任彬, 陈姿匀, 李志英*

(忻州师范学院 化学系, 山西 忻州 034000)

摘要: 饮酒在中国人的生活中, 有着悠久的历史文化和传统, 在很多场合有重要地位, 然而过度饮酒则可酿成大祸。以聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和对苯二胺(PPDA)为原料微波辅助合成发射红色荧光的席夫碱, 用此席夫碱为荧光探针对乙醇进行了检测。用荧光光谱、紫外光谱和红外光谱对席夫碱进行了表征, 原料和席夫碱的荧光光谱和紫外光谱都不同, 红外光谱图在 $1\ 624\ \text{cm}^{-1}$ 处出峰说明生成了聚合席夫碱, 席夫碱在激发波长为 $511\ \text{nm}$ 下, 发射 $608\ \text{nm}$ 红色的荧光。在 pH 7 的溶液中席夫碱荧光探针随着乙醇的加入荧光增强, 增强程度在一定范围内呈线性关系, 建立了一种测定乙醇含量的新方法。该方法的线性范围为 $10\% \sim 80\%$ 。操作方便, 简单, 可视化乙醇的含量。

关键词: 席夫碱; 聚乙烯吡咯烷酮; 荧光探针; 对苯二胺; 乙醇

中图分类号: O65 文献标识码: A 文章编号: 0258-3283(2024)10-0058-05

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2024.0273

Synthesis of Schiff base Red Fluorescent Probes and Identification of Ethanol CHI Hao-bo, LIU Zong-yu, REN Bin, CHEN Zi-yun, LI Zhi-ying* (Department of Chemistry, Xinzhou Normal University, Xinzhou 034000, China)

Abstract: Drinking has a long history culture and tradition in the life of the Chinese people, and plays an important role in many occasions, but excessive drinking can cause great disasters. The Schiff base emitting red fluorescence was synthesized by microwave-assisted using polyvinylpyrrolidone (PVP) and p-phenylenediamine (PPDA) as raw materials. Schiff base was used as fluorescent probe for the detection of ethanol. Schiff base was characterized by fluorescence spectra, UV spectra and infrared spectra. Fluorescence and ultraviolet spectra of the raw materials and Schiff bases are different. The peak at $1\ 624\ \text{cm}^{-1}$ in infrared spectrum indicated that Schiff base was generated, along with an emission wavelength of $608\ \text{nm}$ and an excitation wavelength of $511\ \text{nm}$. In pH 7 solution, the fluorescence of Schiff base probe was enhanced with the addition of ethanol, and the enhancement degree was linear with the content of ethanol in a certain range. In conclusion, a method for the determination of ethanol content was established, and the linear range was $10\% \sim 80\%$. This method is convenient and simple for the visualization of ethanol content.

Key words: Schiff base; polyethylpyrrolidone; fluorescent probe; p-phenylenediamine; ethanol

时至今日“酒驾, 醉驾”几乎可以算是一个老生常谈的问题, 醉驾也已经入刑法^[1], 但是就在这样一个全民抵制酒驾醉驾的大背景下, 我们看到了很多人还存在侥幸心理, 为了抵制喝酒人的侥幸心理, 需要研究一种简单、快速测定酒精含量的方法。酒精的化学名称叫乙醇, 乙醇含量的测定在临床、医药、制酒、饮料及发酵工业中都非常重要^[2], 传统测定乙醇的方法主要有物理方法^[3]和化学方法^[4], 这些方法中, 分光光度法一般操作繁琐、费时、准确度差; 荧光光纤乙醇传感器、模式滤光检测、气相色谱法虽然准确, 但需要昂贵的仪器^[5], 因此, 研究一种快速、连续、简便, 可视测定乙醇的方法具有非常重要的意义。

荧光探针作为一种新型的检测工具, 因具有操作简单、反应迅速、对设备依赖小、制备成本低等优点, 在化学传感、生物检测与识别、临床治疗、

细胞成像等领域已得到了广泛的应用^[6]。荧光探针具有高度的选择性和生物相容性^[7], 生物相容性有了进一步提升, 检测功能实现了集成化, 因而有望在环境检测、医学、以及生命科学等领域发挥积极的作用^[8,9]。

聚乙烯吡咯烷酮(Polyvinyl pyrrolidone, PVP)是一种高分子聚合物^[10], 是纳米材料制备中常用

收稿日期: 2024-04-26; 网络首发日期: 2024-06-14

基金项目: 山西省大学生创新创业训练计划立项项目(20230942)。

作者简介: 迟浩波(2002-), 男, 河北周口人, 本科生, 主要研究方向为荧光探针的设计与传感。

通讯作者: 李志英, E-mail: lizhiying8001@163.com。

引用本文: 迟浩波, 刘宗瑜, 任彬, 等. 席夫碱红色荧光探针的合成及对乙醇的识别[J]. 化学试剂, 2024, 46(10): 58-62。

的表面活性剂和稳定剂,具有柔性链状结构,含有大量羰基和亚甲基。羰基的存在,使得 PVP 有着较高的阳离子性和反应性^[11],因此,聚乙烯吡咯烷酮对某些物质有较强的配合能力。分子中也含有内酰胺,是强极性基团,具有亲水作用。因此其溶解性非常好,既易溶于水,也易溶于有机溶剂^[12]。吡咯烷酮环上有较高的电子密度,这种结构特征使得 PVP 表现出良好的表面活性,因此较易形成氢键和配合物,特别是对极性基团(例如:羟基、羰基、胺基等),也较易与活性氢原子配合,显示出较强的配合能力,可与许多含活性氧原子的化合物生成配合物^[13,14]。

本文以聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和对苯二胺(PPDA)为原料在微波功率 455 W 条件下微波 6 min,合成席夫碱荧光探针,此荧光探针用于乙醇的检测,方法体系简单、快速。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

PR124ZH 型电子天平(奥豪斯仪器(常州)有限公司); Evolution 220 型紫外-可见分光光度计(美国赛默飞世尔科技公司); LWMC-201 型微波电脑微波化学反应器(南京陵江科技开发有限公司); FTIR-8400 型傅里叶变换红外光谱仪、日立 F-4600 型荧光分光光度计(日本岛津公司)。

聚乙烯吡咯烷酮(分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 邻苯二胺、间苯二胺、对苯二胺(分析纯,天津市光复精细化工有限公司); 无水乙醇(分析纯,北京化学试剂公司); 实验室中所用的水均为二次蒸馏水。

1.2 实验方法

1.2.1 席夫碱制备方法

取一支 10 mL 比色管,依次加入 1 mL (1.0×10^{-3} mol/L) PVP 溶液, 6 mL (1.0×10^{-3} mol/L) PPDA 溶液,加入 0.4 mL (1.0×10^{-4} mol/L) HCl,用蒸馏水定容到 10 mL 摇匀,在微波功率 455 W 条件下微波 6 min,得席夫碱溶液,于室温中保存。

1.2.2 量子产率的计算^[15]

将罗丹明 B 作为基准物质,其在激发波长为 511 nm 时标准荧光量子产率值为 0.31^[13],用荧光和紫外仪分别测定席夫碱与基准物质荧光光谱的峰面积和吸光度值,将数值代入量子产率公式:

$$\Phi_X = \Phi_R \times (I_X/I_R) \times (A_R/A_X) \quad (1)$$

式中, I 为荧光发射曲线的峰面积; A 为吸光度值,指荧光量子产率值;下标 X 为待测物; R 为标准物。

1.2.3 对无水乙醇的测定

取两支 10 mL 比色管,一支加入 1 mL 席夫碱溶液,另一支加入 1 mL 席夫碱溶液和 6 mL 乙醇溶液,用蒸馏水定容至刻度摇匀,在温度为 50 °C,反应时间为 40 min 条件下,在激发波长 511 nm 处测得荧光强度分别为 F_0 、 F ,计算出 ΔF ($\Delta F = F_0 - F$)。

2 结果与讨论

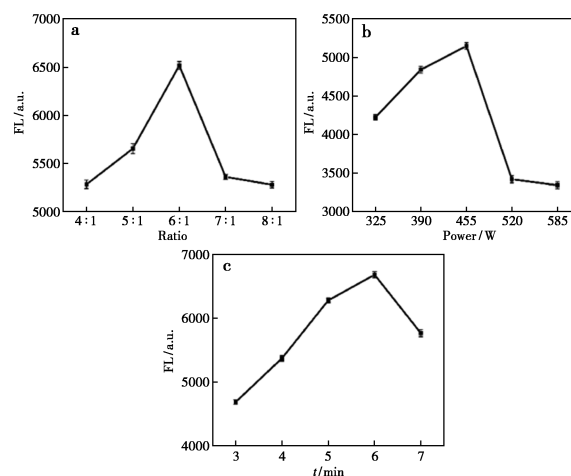
2.1 荧光探针的合成条件优化

2.1.1 PPDA 与 PVP 最佳比例的选择

按 1.2.1 方法用固定变量法,在 1 mL (1.0×10^{-3} mol/L) 的 PVP 溶液中,再分别加入 4、5、6、7、8 mL (1.0×10^{-3} mol/L) 对苯二胺溶液,确定 PVP 与对苯二胺的最佳用量,再分别加入 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL (1.0×10^{-4} mol/L) HCl,来测定最佳的酸度,结果如图 1a 所示,由图可知,固定反应功率和时间,随着 PPDA 用量的增加,制备好的席夫碱的荧光强度先增强后降低,用量为 6 mL 时,荧光强度最强,所以 $V(\text{PPDA}):V(\text{PVP})=6:1$ 。

2.1.2 微波功率和时间的选择

按 1.2.1 方法用固定变量法,选择功率依次为 325、390、455、520、585 W 条件下微波 6 min;固定微波功率为 455 W,时间依次为 3、4、5、6、7 min 条件下,检测荧光强度,结果如图 1b 和 1c 所示。



a. PPDA 与 PVP 的比例; b. 微波功率; c. 微波时间

图 1 反应条件对席夫碱荧光强度的影响

Fig.1 Effect of reaction conditions on the fluorescence intensity of Schiff base

由图 1 可知,固定反应物的浓度和用量以及微波时间,随微波功率的增大,制备席夫碱的荧光强度先增强后降低,功率为 455 W 时,荧光强度最强,所以微波的最佳功率为 455 W,同样的方法确定微波时间为 6 min。

在 $V(1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L 对苯二胺}) : V(1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L PVP}) = 6 : 1$, 对苯二胺放置时间为 40 min、微波前放置时间为 20 min、微波后放置时间为 30 min 时,荧光强度最强。

2.2 微波前后放置时间和 pH 对席夫碱荧光强度的影响

按 1.2.1 方法依次加入 1 mL ($1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$) PVP 溶液, 6 mL ($1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$) PPDA 溶液, 加入 0.4 mL ($1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$) HCl, 用蒸馏水定容到 10 mL 摇匀, 依次放置 10、20、30、40、50、60 min, 另外将上述溶液在功率为 455 W 微波 6 min, 待其冷却后分别用水定容至 10 mL, 放置同样的时间测定荧光强度; 用移液枪分别移取 1 mL 制备好的席夫碱溶液和 6 mL 无水乙醇, 采用盐酸和氢氧化钠调至 pH 1~14 于 10 mL 比色管中, 用蒸馏水定容, 在激发波长 $\lambda = 511 \text{ nm}$ 下检测荧光, 结果如图 2 所示。

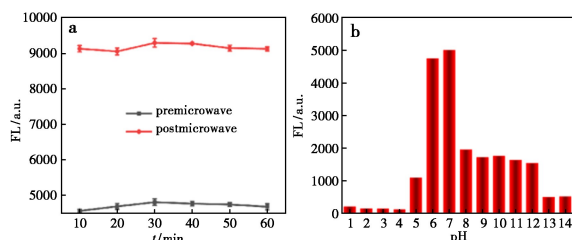


图 2 放置时间(a)和 pH(b)对荧光探针荧光强度的影响

Fig.2 Influence of placement time (a) and pH (b) on fluorescence intensity of fluorescent probe

由图 2 可知,微波后荧光强度增大且在 60 min 内,荧光强度几乎不变,微波后荧光探针非常稳定, pH 6~7 时荧光最强。此外,席夫碱的形成通常在 pH 4~7 的范围内进行,在 pH>7 时稳定,在 pH<5 时易于水解。不同席夫碱探针的稳定性与反应试剂相关,需要通过实验来确定,本实验 PVP-对苯二胺探针形成的最佳条件为 pH 6~7。

在席夫碱制备过程中, PVP 作为亲电试剂, 其中羰基双键作为亲电位点。若在反应体系中加入适量酸, 羰基上的氧则会结合酸中的质子, 使碳基质子化。质子迁移后使氧对周围电子的吸引能力增大, 羰基排电子会被氧吸引, 从而导致羰基碳

上缺电子, 碳的正电性更大, 由前线轨道理论可知, LUMO 能量降低。故加入适量酸增强了羰基的亲电性能, 可以更好地与亲核试剂反应^[16]。

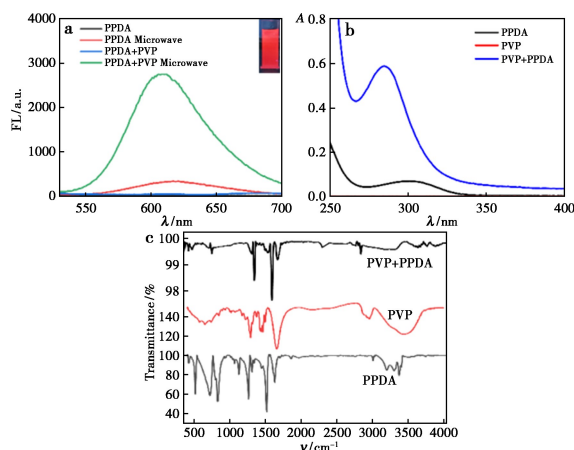
但酸的用量需要注意, 席夫碱本身在酸碱条件下都会分解, 若酸过量, 对苯二胺会被质子化, 使反应难以发生, 并且 PVP-对苯二胺席夫碱探针生成后又会分解, 荧光强度不高; 若酸过少, PVP 反应活性不高, 反应不充分, 生成的探针较少, 荧光强度也较低^[17]。

2.3 荧光探针的表征

取 3 支 10 mL 比色管, 一支加入 PVP 溶液, 一支加入对苯二胺溶液, 一支加入 PVP 和对苯二胺的混合溶液, 用蒸馏水定容至 10 mL, 在微波功率为 455 W 下辐射 6 min 的条件下合成席夫碱, 测得荧光强度结果如图 3a 所示, 由图可知, 席夫碱的发射波长为 608 nm。

取 3 支比色管, 一支加 PVP 溶液, 一支加对苯二胺溶液, 一支加席夫碱溶液, 用紫外仪测得各自的光谱图, 结果如图 3b 所示, 由图可知, PVP 在 200~400 nm 处没有紫外吸收峰, 对苯二胺、席夫碱在此波段处有峰, 但席夫碱的紫外吸收比对苯二胺强, 且峰位发生了移动, 可知已经合成了席夫碱。

将原料及制备好的席夫碱溶液置于烘箱中烘干, 除去水分, 以溴化钾为背景, 测定红外吸收^[18], 结果如图 3c 所示。



a. 荧光光谱图; b. 紫外光谱图; c. 红外光谱图

图 3 原料和席夫碱的光谱图

Fig.3 Spectrograms of materials and Schiff bases

由图 3 可知, 合成的物质在 1624 cm^{-1} 附近出现红外吸收, 说明有 C=N 键形成, 可知席夫碱已经合成。

2.4 荧光探针量子产率的计算

按照 1.2.2 方法,席夫碱的量子产率根据公式计算结果如表 1 所示。

表 1 荧光量子产率(波长单位:nm)

样品	Start	End	Area	Abs	Lifetime
席夫碱	531	700	27 414	0.022	0.12
席夫碱+乙醇	531	700	97 653	0.015	0.76
罗丹明 B	531	700	77 161	0.009	0.31

2.5 测定乙醇的最佳条件

取 2 支 10 mL 比色管,按 1.2.1 方法制备席夫碱原液,一支加入 1 mL 原液,一支加入 1 mL 原液和 6 mL 无水乙醇溶液。在激发波长 511 nm 下测定荧光强度,结果如图 4 所示,取 6 支 10 mL 比色管,依次加入 1 mL 席夫碱,设置不同的反应时间,分别在 10、20、30、40、50、60 min 下测定荧光强度 F 。取 6 支 10 mL 比色管,依次加入 1 mL 席夫碱,设置不同的水浴温度(30、40、50、55、60、70 $^{\circ}\text{C}$),测定荧光强度 F 。

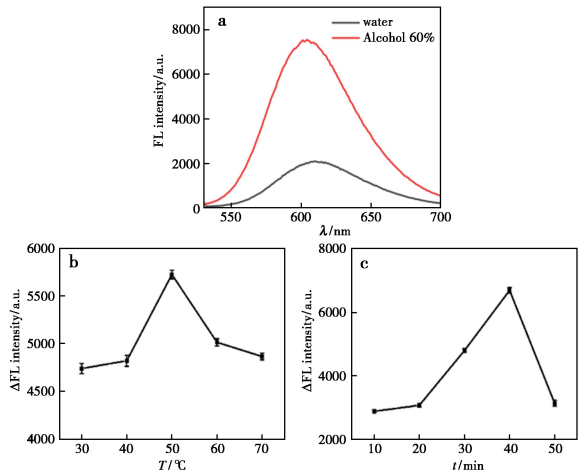


图 4 a.乙醇与席夫碱作用的荧光光谱图;b.水浴温度对反应的影响;c.水浴时间对反应的影响

Fig.4 a.Fluorescence spectra of the interaction of ethanol with Schiff bases;b.Influence of water bath temperature on reaction;c.Influence of water bath time on reaction

由图 4a 可知,乙醇与席夫碱作用,荧光增强,所以可以选择性测定乙醇的含量,由图 4 可知,席夫碱与乙醇作用,40 min 时 ΔF 达到最大;50 $^{\circ}\text{C}$ 时 ΔF 达到最大。所以席夫碱测定乙醇时在温度为 50 $^{\circ}\text{C}$,时间 40 min 效果最好。

2.6 测定体系选择性和工作曲线

依次加入 1 mL 新合成的席夫碱溶液,各加入

1 mL(1.0×10^{-2} mol/L) FeCl_2 、 FeCl_3 、 CuCl_2 、 CoCl_2 、 MnCl_2 、 NiCl_2 、 MgCl_2 、 ZnCl_2 、 AlCl_3 、 PbCl_2 溶液,用无水乙醇定容至 10 mL,在激发波长 $\lambda = 511$ nm 下检测荧光,结果表面 CuCl_2 、 FeCl_3 、对席夫碱稍有影响,其他离子均无干扰。

在 8 支比色管中均加入 1 mL 席夫碱溶液,然后分别加入不同体积的乙醇溶液,用蒸馏水定容到刻度,测定荧光强度。得检测无水乙醇的荧光光谱图,酒精含量在 10%~80% 范围内成线性关系且线性关系较好,线性方程为 $F = 67.16c + 771.57$ (c 为百分含量), $R^2 = 0.9921$ 。

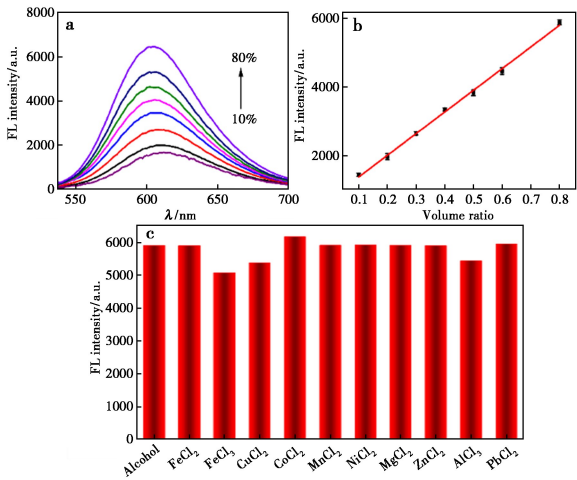


图 5 a.不同浓度乙醇与席夫碱作用的荧光光谱;b.工作曲线;c.干扰物质的测定

Fig.5 a.Fluorescence spectra of Schiff bases with different concentrations of ethanol;b.Working curves;c.Determination of interfering substances

2.7 实际样品的测定

取 1 支 10 mL 比色管,加入 1 mL 席夫碱溶液和 1 mL 待测溶液,用蒸馏水定容至 10 mL,测定其荧光强度,代入工作曲线中计算样品中乙醇含量为 12%,再取 3 只比色管,准确移取 1 mL 席夫碱溶液,再依次向其中 3 支比色管中加入 2、5、9 mL 无水乙醇,最后用蒸馏水定容至 10 mL,用荧光分光光度计测其荧光强度,并计算测定结果,算出加标回收率,重复 3 次。

表 2 乙醇样品的测定及加标回收实验

Tab.2 Determination of ethanol samples and experiment of labeling recovery ($n=3$)

平均测定值/%	加标值/%	测定值/%	回收率/%	标准偏差
12.0	20.0	32.5	102.0	5.61
	50.0	61.8	99.6	3.80
	90.0	105.0	103.0	4.31

3 结论

建立席夫碱和测定乙醇的新方法,该方法简单快速、操作简便、选择性较好、试剂易得,结果令人满意。制备的席夫碱在紫外灯的照射下发出红色荧光。在 50 ℃ 下,水浴 40 min,发现乙醇对席夫碱的荧光强度有增强效应,乙醇含量在 10% ~ 80% 范围内呈良好的线性关系。合成一种新的席夫碱应用于测定乙醇,具有良好的使用价值。

参考文献:

- [1] 李凯,徐贵勇,蒋芝玉,等.醉驾入刑定罪量刑标准的调适与完善——以“血液酒精含量+情节”的重塑为进路[J].医学与法学,2024,16(1):54-65.
- [2] 廖海达,陈萍,莫亦铭,等.乙醇在水果采后保鲜中的应用研究进展与展望[J].食品研究与开发,2022,43(11):219-224.
- [3] 李云志,陈俊峰,邱智华,等.气相色谱法检测消毒产品中的正丙醇与乙醇[J].中国洗涤用品工业,2021,239(2):85-90.
- [4] 杜祎,李敬龙,张金玲,等.一种快速检测露酒中乙醇含量的新技术[J].酿酒科技,2015,258(12):71-73.
- [5] 侯延民,唐江宏,宋书香,等.乙醇荧光光纤传感器的研究[J].光谱实验室,2001,18(2):201-204.
- [6] 周叶红,畅怡宁,宋丽雪,等.一种席夫碱荧光探针的制备及其对 Cu^{2+} 的检测[J].分析科学学报,2023,39(6):649-655.
- [7] 张翔,余小光,童孟良,等.高度选择性和灵敏性的银离子荧光探针的研究进展[J].广东化工,2021,48(22):24-25.
- [8] 吴松.前沿科研成果融入药物化学实验教学——细胞内溶酶体定位的 NO 新型荧光探针的合成及生物成像[J].广东化工,2023,50(19):177-180.
- [9] 钞静静,王文新,王之卿,等.用于生物成像的近红外小分子荧光探针的研究进展[J].化学试剂,2023,45(6):52-60.
- [10] 詹世平,刘思啸,王景昌,等.聚乙烯吡咯烷酮用于药物递送载体材料的研究进展[J].功能材料,2021,52(1):1 033-1 038.
- [11] 张博,周雪,吴丽君,等.速溶性聚合物微针的制备及性能研究[J].华西药理学杂志,2018,33(2):146-148.
- [12] 韩慧芳,崔英德,蔡立彬.聚乙烯吡咯烷酮的应用[J].精细石油化工进展,2003,(11):43-48.
- [13] 谢长英,凌峰.过氧化氢-聚乙烯吡咯烷酮络合物在口腔护理美白产品中的应用[J].口腔护理用品工业,2018,28(1):25-28.
- [14] 谢琳琳,徐宁宁,曹焕,等.羟丙基壳聚糖双胍盐酸盐碘膜的制备及抑菌性研究[J].化工新型材料,2016,44(8):186-189.
- [15] 莫瑞淇,汤鼎初,李伟,等.内标法测量三重态-三重态湮灭上转换发光量子产率[J].分析科学学报,2023,39(6):643-648.
- [16] 王瑾玲,郁铭,杨云,等.TTA 的席夫反应和分子力学、量化计算[J].物理化学学报,2002,18(5):389-393.
- [17] 万平红,余燕影,樊柏林,等.根皮素蛋氨酸席夫碱的合成及其性质研究[J].天然产物研究与开发,2014,26(12):1 907-1 911.
- [18] 赵俊,蔡小华.色酮-3-甲醛席夫碱新型荧光探针高选择性检测 CN 离子[J].化学试剂,2022,44(5):724-728.