



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

2023年5月 第45卷第5期

CH
EMICAL
REAGENTS

Vol.45 No.5

May 2023

品质优选
高效体验

广告

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

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 主办
国药集团化学试剂有限公司
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 45 卷 第 5 期

总第 376 期

2023 年 5 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 ·

核酸适配体传感器在血小板衍生生长因子检测中应用进展

····· 杨柳,王乐乐,陶晴,孟娇然,丁敏,李兰英*,刘刚(1)

基于 BODIPY 的荧光探针检测活性氧的研究进展 ·····

····· 赖申枝,谢俊英*,李春艳,刘燕,肖洁(11)

酸致变色染料的应用研究进展 ·····

····· 孟德泉,单斌*,谭伟强,马继平(21)

烯炔配位聚合的链转移反应以及应用 ····· 刘照贺(33)

· 生化与药用试剂 ·

三萜类化合物结构修饰及活性研究进展 ·····

····· 何诗能,张清,谭珍媛,谢云峰,邱莉,谢集照*(41)

8-羟基喹啉衍生物镍(II)配合物的合成、晶体结构、抗肿瘤

活性及其与 BSA 作用研究 ·····

····· 袁涛,覃姣兰*,黄如川,姚鹏飞,范歆晨,谢亚茹(51)

2-苯基苯并咪唑诱导的线粒体功能障碍 ·····

····· 焦元红*,张晓卉,徐娟,潘凌立(59)

· 功能材料 ·

生物炭对废水中铜离子吸附的研究进展:改性方法与吸附

机制 ····· 刘丽,范世锁*,梅杨璐(66)

基于 AMD 回收的生物炭修饰 LDHs 降解土霉素研究 ·····

····· 王新泉,王进*,邓锐,许庆升,揣新,张凯,岳正波(77)

响应曲面法优化茶渣生物质炭对土壤氮磷吸附 ·····

····· 钱婧,蔡青松,黄显怀*,周肖瑜,刘英超,赵金金(85)

喹啉羧酸酯与水合肼的反应性凝胶及专一性识别 ·····

靳清贤,张广慧,刘冬,朱性堃,靳清艳,赵文阁,肖元化,方少明*(93)

· 分离提取技术 ·

- 微波协同离子液体[BMIm]Br 提取茶皂素
..... 喻冬秀*, 叶旅彬, 王秋怡, 黄淑莉, 钟建军(98)
- 超声-酶法辅助提取青叶胆多酚工艺优化及抗氧化性研究
..... 李汝艳, 杨申明*, 张旗麟, 许斌彬, 王振吉(106)

· 电化学和新能源 ·

- Ni/CrN 高效电催化剂的制备及其析氢催化性能
..... 胡骏, 梁书芹, 尹宏峰*(113)
- 锂离子电池硅基阳极预锂化研究进展
..... 杨井玉, 侯果林, 静若盈, 荣峻峰*(120)
- 均苯四酸钴铁 MOFs 衍生材料的制备及其锂离子电池性能
研究 耿庆帅, 王丽英*, 侯亚平(130)

· 化学品与环境 ·

- 席夫碱荧光探针的合成及其对三价金属的识别
..... 聂梅, 汤静洁, 黎鹏, 温慈恩, 秦健南, 黄冬婷*(136)
- 磁性聚吡咯基材料制备及对印染废水中 Cr(VI) 吸附特性
研究 陶冶*, 周文涛(142)
- 己二酸/硫酸掺杂聚苯胺对 Cr(VI) 的吸附行为
..... 蔡雨晴, 章东雪, 周娇, 周进康*, 孔垂灿, 李玉骏, 刘应科(148)

· 分析与测试 ·

- 碳纳米点荧光探针高效检测 α -葡萄糖苷酶
..... 赵丹, 黄晶晶*, 王燕敏, 马道(155)
- 正丁醇-盐酸法测定花生红衣中原花青素的方法优化
..... 何晓勇*, 王璇, 郭楠楠, 尚雪可(162)

* 通讯联系人

《化学试剂》介绍(前插页) ·

《化学试剂》期刊栏目介绍(后插页) ·

《化学试剂》期刊 2022 年度“优秀论文”“优秀作者”评选结果(后插页) ·

2023 年《化学试剂》期刊征订单(后插页) ·

《化学试剂》第五届编委会

顾 问 何鸣元 林国强 赵玉芬
傅若农 李建华

主 任 王 夔

副主任 柴之芳 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 赵黎明
郑岳青 朱永法

编 委 (按拼音为序)

褚小立 董庆利 付海燕 顾小焱
何 晖 胡高飞 胡跃飞 黄跟平
黄年玉 黄 挺 纪红兵 蒋少华
金慧子 李春艳 李金花 刘 昉
马 强 牛 佳 庞 欢 彭 羽
邵学广 宋金链 孙继红 孙志鹏
汤 磊 王保金 王德发 王 旭
王昊阳 王晓晨 王玉成 王志刚
肖 雪 徐 丽 徐久振 应志耀
喻小琦 臧慕文 张 磊 张 庆
张国新 张立兵 朱志伟

(本期编辑: 屈纓虹 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

Application Progress of Aptamer-based Sensors in Detection of Platelet Derived Growth Factor	
..... YANG Liu, WANG Le-le, TAO Qing, MENG Jiao-ran, DING Min, LI Lan-ying*, LIU Gang (1)	
Recent Developments of BODIPY-based Fluorescent Probes for the Detection of Reactive Oxygen	
..... LAI Shen-zhi, XIE Jun-ying*, LI Chun-yan, LIU Yan, XIAO Jie (11)	
Research Progress in the Application of Halochromic Dyes	MENG De-quan, SHAN Bin*, TAN Wei-qiang, MA Ji-ping (21)
Chain Transfer Reactions and Applications in Olefin Coordination Polymerization	LIU Zhao-he (33)
Research Progress on Structural Modification and Biological Activity of Triterpenes	
..... HE Shi-neng, ZHANG Qing, TAN Zhen-yuan, XIE Yun-feng, QIU Li, XIE Ji-zhao* (41)	
Synthesis, Crystal Structure, Antitumor Activity and Interaction with BSA of Nickel(II) Complex with 8-Hydroxyquinoline Derivative	YUAN Tao, QIN Jiao-lan*, HUANG Ru-chuan, YAO Peng-fei, FAN Xin-chen, XIE Ya-ru (51)
Dysfunction in Mitochondria Induced by 2-phenyl Benzimidazole	
..... JIAO Yuan-hong*, ZHANG Xiao-hui, XU Juan, PAN Ling-li (59)	
Copper Ion Removal from Wastewater by Biochar: Modification Method and Adsorption Mechanism	
..... LIU Li, FAN Shi-suo*, MEI Yang-lu (66)	
Degradation of Oxytetracycline by Biochar-modified LDHs Based on AMD Recovery	
..... WANG Xin-quan, WANG Jin*, DENG Rui, XU Qing-sheng, CHUAI Xin, ZHANG Kai, YUE Zheng-bo (77)	
Optimization of Soil Adsorption of Nitrogen and Phosphorus with Tea Residue Biochar by Response Surface Methodology	
..... QIAN Jing, CAI Qing-song, HUANG Xian-huai*, ZHOU Xiao-yu, LIU Ying-chao, ZHAO Jin-jin (85)	
Reactive Organogels and Specificity Recognition of Quinoline Carboxylate and Hydrazine Hydrate	JIN Qing-xian, ZHANG Guang-hui, LIU Dong, ZHU Xing-kun, JIN Qing-yan, ZHAO Wen-ge, XIAO Yuan-hua, FANG Shao-ming* (93)
Microwave Assisted Extraction of Tea Saponin by Ionic Liquid [BMIm] Br	
..... YU Dong-xiu*, YE Lv-bin, WANG Qiu-yi, HUANG Shu-li, ZHONG Jian-jun (98)	
Optimization and Antioxidant Activity of Polyphenols from <i>Suertia leduci</i> Franch. by Using Ultrasonic-Enzyme-Assisted Extraction Technology	LI Ru-yan, YANG Shen-ming*, ZHANG Qi-lin, XU Bin-bin, WANG Zhen-ji (106)
Preparation of Ni/CrN High-Efficiency Electrocatalyst and its Catalytic Performance in Hydrogen Evolution Reaction	
..... HU Jun, LIANG Shu-qin, YIN Hong-feng* (113)	
Research Progress on Pre-Lithiation of Silicon-Based Anode for Lithium-ion Batteries	
..... YANG Jing-yu, HOU Guo-lin, JING Ruo-ying, RONG Jun-feng* (120)	
Preparation of Anode Materials Derived CoFe-MOFs Supported by Pyromellitic Acid and Study on the Performance of Lithium Ions Batteries	GENG Qing-shuai, WANG Li-ying*, HOU Ya-ping (130)
Synthesis of a Schiff Base Fluorescent Probe and Its Selective Detection of Trivalent Metallic Ions	
..... NIE Mei, TANG Jing-jie, LI Peng, WEN Ci-en, QIN Jian-nan, HUANG Dong-ting* (136)	
Preparation of Magnetic Polypyrrole Based Material and Its Adsorption Characteristics for Cr(VI) in Textile Wastewater	
..... TAO Ye*, ZHOU Wen-tao (142)	
Adsorption Behavior of Adipic/sulfuric Acid Doped Polyaniline for Cr(VI)	
..... CAI Yu-qing, ZHANG Dong-xue, ZHOU Jiao, ZHOU Jin-kang*, KONG Chui-can, LI Yu-bo, LIU Ying-ke (148)	
Efficient Detection of α -Glucosidase Activity Based on the Carbon Nanodots Fluorescent Probes	
..... ZHAO Dan, HUANG Jing-jing*, WANG Yan-min, MA Xiao (155)	
Optimization of n-Butyl Alcohol-Hydrochloric Acid Method for Determination of Proanthocyanidins in Peanut Testa	
..... HE Xiao-yong*, WANG Xuan, GUO Nan-nan, SHANG Xue-ke (162)	

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

综述与专论

核酸适配体传感器在血小板衍生生长因子检测中应用进展

杨柳,王乐乐,陶晴,孟娇然,丁敏,李兰英*,刘刚

(上海市计量测试技术研究院 国家市场监管重点实验室(生物分析计量溯源),上海 201203)

摘要:血小板衍生生长因子(Platelet Derived Growth Factor, PDGF)是一种低分子量碱性蛋白质,其中 PDGF-BB 亚型是诊断和识别癌症的重要生物标志物蛋白,与多种疾病的诊断相关,包含肝纤维化、动脉粥样硬化、老年性黄斑变性和糖尿病性眼病等。同时,PDGF-BB 是一种具有多种生物学功能的细胞因子,被公认为伤口愈合和组织修复的药物。传统的 PDGF-BB 检测方法包括酶联免疫吸附法等在内的方法存在耗时长、成本高、仪器复杂等不足,限制了其实际应用。近年来,核酸适配体传感器以其高特异性、高灵敏度、低成本、响应速度快等优点在 PDGF-BB 检测方面引起科学家们越来越多的关注。综述了近年来检测 PDGF-BB 的核酸适配体传感器研究进展,以期为今后基于核酸适配体的 PDGF-BB 生物传感检测方法的设计提供参考。

关键词:PDGF-BB;核酸适配体传感器;电化学法;荧光法;比色法

中图分类号:O657.7 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2023)05-0001-10

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0020

Application Progress of Aptamer-based Sensors in Detection of Platelet Derived Growth Factor YANG Liu, WANG Le-le, TAO Qing, MENG Jiao-ran, DING Min, LI Lan-ying*, LIU Gang (Key Laboratory of Bioanalysis and Metrology for State Market Regulation, Shanghai Institute of Measurement and Testing Technology, Shanghai 201203, China)

Abstract: Platelet derived growth factor (PDGF) is a basic protein with low molecular mass and its subtype BB (PDGF-BB) commonly serves as an important protein biomarker for diagnosis and recognition of cancer, which has been implicated in various diseases, including liver fibrosis, atherosclerosis, age-related macular degeneration and diabetic eye disease. Furthermore, PDGF is a significant cytokine with multiple biological functions, which has been accepted as a chief medicine in wound healing and tissue repair. Traditional detection methods of PDGF-BB including enzyme-linked immunosorbent assay are time-consuming, costly, and complicated, thereby limiting their usefulness and making them impractical to implement at the point of care. In recent years, aptamer-based sensors have attracted more and more attention from scientist in the detection of PDGF-BB due to their high specificity, high sensitivity, low cost and fast response. The review summarized recent advances in the development of various aptamer-based sensors for PDGF-BB detection with the aim to provide a general guide for the design of aptamer-based sensitive biosensing assays for PDGF-BB in the future.

Key words: PDGF-BB; aptamer-based sensor; electrochemical method; fluorescence method; colorimetric method

血小板衍生生长因子(PDGF)是热稳定性较高的双链多肽蛋白,最初在血小板中被发现而得名,具有 PDGF-AA、PDGF-AB、PDGF-BB、PDGF-CC、PDGF-DD 这 5 种二聚体形式。其中 PDGF-BB 生物活性最高、功能最强^[1-3],作为疾病诊断的潜在生物标志物和治疗性药物,在生物医学领域发挥重要作用。首先,PDGF-BB 直接参与细胞转化过程,通常在正常的细胞中,PDGF-BB 的表达水平很低,但是在肝纤维化、肝癌和胃肠道间质瘤等人类肿瘤细胞中被持续地诱导或表达^[4,5],因此可作为癌症诊断的标志物,与多种疾病的诊断相关,包含动脉粥样硬化、肺动脉高压、糖尿病肾

病、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、慢性乙型肝炎、神经退行性疾病和肺腺癌等^[6-10]。同时,PDGF-BB

收稿日期:2023-01-12;网络首发日期:2023-02-16

基金项目:国家重点研发计划国家质量基础设施体系专项项目(2021YFF0600901);上海市市场监督管理局科技项目(2022-13)。

作者简介:杨柳(1995-),女,辽宁锦州人,硕士,助理工程师,主要研究方向为化学和生物计量。

通讯作者:李兰英,E-mail:lily@simt.com.cn。

引用本文:杨柳,王乐乐,陶晴,等.核酸适配体传感器在血小板衍生生长因子检测中应用进展[J].化学试剂,2023,45(5):1-10。

是一种具有重要生物学功能的细胞因子,在治疗慢性皮肤伤口时可促进愈合以及成纤维细胞活化和肉芽组织形成,参与伤口愈合等过程^[11],广泛应用于糖尿病晚期肢端溃疡的清创愈合与修复^[12]、重度烧伤^[13]、皮肤病^[14]、骨骼与牙齿缺损与再生^[15]以及关节修复^[16]等方面。

目前,PDGF-BB 的常规检测方法是基于抗体的免疫分析方法^[17],包括放射免疫分析方法^[18]、酶联免疫吸附方法^[19]、荧光免疫分析方法^[20]和化学发光免疫分析方法^[21]等。但是,这些免疫分析方法需要较长的时间周期制备抗体,不仅成本高、操作繁琐而且存在特异性不足等问题,极大地阻碍了它们的发展^[22]。核酸适配体(Aptamer),也称为“化学抗体”,是通过指数富集配体系统进化技术(SELEX 技术)筛选出来的一段单链核酸(DNA 或 RNA),可以特异性识别蛋白质等目标物质^[23,24]。与抗体相比,核酸适配体不仅对目标物具有高度的亲和力和特异性,还具有分子量低、稳定性高、免疫原性低、易于合成和修饰、成本低等特点。近年来,基于 PDGF-BB 核酸适配体的生物传感器研究不断涌现,具有操作简单、检测成本低、稳定性好、特异性强及设计灵活等优点^[25,26]。

本文根据信号输出方式,分类综述了近年来 PDGF-BB 核酸适配体传感器的构建策略,主要分为比色核酸适配体传感器、荧光核酸适配体传感器、电化学核酸适配体传感器和电致发光核酸适配体传感器等,期望对新型 PDGF-BB 核酸适配体传感器的设计提供借鉴价值。

1 比色核酸适配体传感器

比色法是以颜色变化为分析基础,通过肉眼识别或分光光度计监测,实现对引起颜色变化的目标物定性或定量检测。由于该方法具有操作简单、价格低廉、无需精密仪器设备、检测效率高等优点,是核酸适配体传感器最为常用的检测方法之一^[27-29]。

Xie 等^[30]采用 G-四链体 DNA 酶催化体系作为比色信号输出源和邻位探针作为特定识别元件构建了超灵敏检测 PDGF-BB 蛋白的比色核酸适配体传感器。如图 1a 所示,当 PDGF-BB 蛋白存在时,一对邻位探针通过其核酸适配体部分同步与 PDGF-BB 蛋白特异性结合后,不仅可以诱导基于 Mg^{2+} 的 DNA 酶(MNAzymes)释放大量的 G-四链

体 DNA 酶实现比色信号的输出,而且在引入链接 DNA 时,还能够自发组装成另一个 MNAzymes,实现比色信号的放大,从而实现 PDGF-BB 蛋白的定量检测。该方法在同一溶液中进行一步反应和显色,有利于自动化操作,重复性好,而且不需要昂贵的仪器设备,核酸无需任何标记,在临床诊断领域具有广阔的应用前景。随着纳米技术的进步,金纳米颗粒(AuNPs)、磁性纳米颗粒等纳米材料应用于 PDGF-BB 比色核酸适配体传感器构建中,以提高检测的灵敏度。Zhang 等^[31]采用 AuNPs 的局域表面等离子体共振效应引起颜色改变的现象和链置换扩增反应(SDA),设计了一种低成本的高灵敏检测 PDGF-BB 蛋白的比色核酸适配体传感器。如图 1b 所示,当存在 PDGF-BB 蛋白时,启动链置换扩增反应,SDA 扩增出信号探针与修饰有捕获信号探针的两种金纳米颗粒结合,从而引起 AuNPs 发生聚集,并伴随溶液由红色变为紫色的颜色变化,可以用肉眼直接观察到,并通过 UV-Vis 光谱仪定量得到线性响应范围为 2.0 ~ 8.0 nmol/L、检测限为 1.1 nmol/L。磁性纳米颗粒被广泛用于样品中目标物的分离和富集,Miao 等^[28]利用磁性纳米颗粒的磁分离技术和滚环扩增技术(RCA),开发了一种基于 pH 传感策略的比色传感器用于 PDGF-BB 的检测。免疫磁性纳米颗粒富集目标物 PDGF-BB,包括了 PDGF-BB 核酸适配体和触发 RCA 的探针与其特异性结合,从而触发多支滚环扩增,产生的大量富集了葡萄糖氧化酶树突状产物进一步催化氧化葡萄糖,生成黄色的葡糖糖酸,同时溶液由碱性变为酸性,从而实现对 PDGF-BB 的可视化定性检测和通过监测溶液 pH 的变化来定量检测 PDGF-BB。Zhang 等^[32]合成了 $Fe_3O_4@C$ 核壳纳米线来代替传统的辣根过氧化物酶(HRP 酶)加速催化氧化 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)作为颜色输出信号,设计了一种催化信号增强的比色核酸适配体传感器,用于高灵敏检测 PDGF-BB,如图 1c 所示,传感器采用经典的“三明治”结构,PDGF-BB 核酸适配体固定在微孔板表面作为捕获探针识别目标蛋白 PDGF-BB,而核酸适配体修饰的 $Fe_3O_4@C$ 核壳纳米线代替 HRP 酶标记的核酸适配体作为信号探针,与 HRP 酶相比,显著加速了无色底物 TMB 的氧化,产生淡蓝色到蓝色的颜色变化,通过监测颜色变化,实现对 PDGF-BB 的高灵敏定量检测,检测限达到 10 fmol/L。该方法引入具有催化功

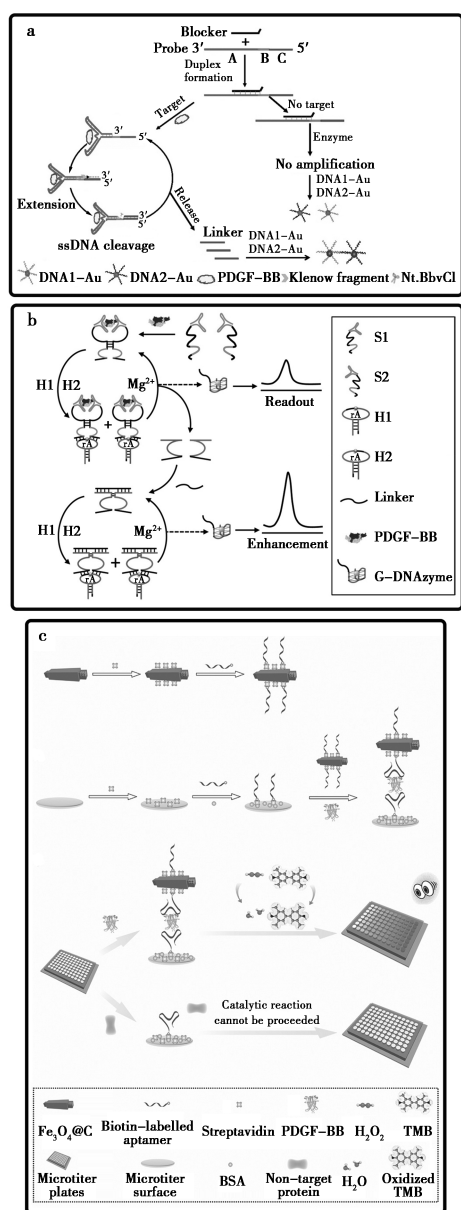


图 1 a.基于两个 MNzymes 的近距离结合触发组装和 G-DNAzymes 的双重释放用于 PDGF-BB 的超灵敏比色生物测定的工作机制示意图^[30];
b.基于 SDA 的比色法检测 PDGF-BB 示意图^[31];
c.NLISA 法比色法检测 PDGF-BB 的工作原理^[32]

Fig.1 a.Schematic illustration of the working mechanism based on the proximity binding-triggered assembly of two MNzymes and dual release of G-DNAzymes for the ultrasensitive colorimetric bioassay of PDGF-BB^[30];
b.Schematic illustration of colorimetric technique detecting PDGF-BB based on SDA^[31]; c.Working principle of colorimetric detection of PDGF-BB using NLISA assay^[32]

能的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{C}$ 核壳纳米线催化底物发生颜色变化,相比传统的 HRP 酶催化体系,具有更高的检测灵敏度和抗复杂生物体系干扰能力、检测稳定

性好等优点。

2 荧光核酸适配体传感器

荧光分析法是检测蛋白质最常用的分析方法,荧光基团通过标记或非标记方式与核酸适配体结合,荧光强度、荧光衰减速率以及荧光各向异性等可单独或相互结合作为信号输出方式,具有灵敏、快速、简单且成本较低等优势^[2,33],被广泛应用于 PDGF-BB 的荧光核酸适配体传感器中。

Bahreyni 等^[34]基于 PDGF-BB 适配体 (Apt)、适配体互补链 (CS1/CS2) 和磁珠构建了一种简单、高灵敏的免标记荧光适配体传感器,用于血清中 PDGF-BB 的特异性检测。如图 2a 所示,当样品中没有 PDGF-BB 时,在磁珠表面形成双链 DNA (CS1-CS2/Apt),荧光染料 Picogreen (PG) 嵌入双链中产生显著的荧光信号;当样品中有 PDGF-BB 存在时,PDGF-BB 适配体与 PDGF-BB 特异性结合,导致只有 CS2 作为非常短的单链 DNA (ssDNA) 保留在磁珠表面,PG 荧光响应较弱。该传感器中磁珠和适配体互补链 (CS1/CS2) 的存在,显著提高了传感器的灵敏度,检测限为 0.13 nmol/L。虽然该传感器在灵敏度和信号模式 (它属于信号抑制模式) 方面存在需要改进之处,但是有望通过改变适配体和互补链的序列用于生物样品中其他分子的监测。为了提高传感器的生物相容性,Zhang 等^[35]巧妙设计了新型发夹探针,并结合纳米凝胶构建了可以循环利用的 PDGF-BB 荧光核酸适配体传感器,如图 2b 所示,发夹探针修饰在纳米凝胶上,当 PDGF-BB 存在时,发夹探针中的 PDGF-BB 适配体与 PDGF-BB 特异性结合,导致发夹探针打开,其中 G-四链体序列形成 G-四链体结构,硫黄素 T 与形成的 G-四链体结构选择性结合实现荧光信号增强。在没有 PDGF-BB 存在的情况下,游离的硫黄素 T 荧光信号较弱,从而实现 PDGF-BB 的特异性检测,检测限可达 23 pmol/L。有趣的是,采用 DNA 置换链反应和 K^+ 螯合剂,不仅可以从血清中提取 PDGF-BB,不受样品基质的干扰,具有优异的细胞相容性,而且可以实现传感器的再生循环使用。Li 等^[36]基于荧光共振能量转移 (FRET) 原理,利用十面体结构的银纳米粒子 (Ag_{10}NPs) 的金属增强荧光能力和两种 FRET 模式,设计了一种银纳米粒子增强的比率型荧光纳米传感器,其传感原理图如图 2c 所示,在 FRET 模式 1 中,Alexa fluor

488 作为供体, Cy3 作为受体, 而在 FRET 模式 2 中, Cy3 是供体, BHQ-2 是受体。在没有 PDGF-BB 的情况下, Alexa 的荧光被 Cy3 猝灭, 而银纳米粒子增强 Cy3 的荧光信号。随着 PDGF-BB 的加入, PDGF-BB 与两端标记了 Cy3 和 BHQ-2 的适配体特异性结合, 导致适配体结构发生变化, 形成 FRET 模式 2, Cy3 的荧光被 BHQ-2 猝灭, 此时银纳米粒子增强 Alexa 488 的荧光信号。Alexa 488 与 Cy3 的荧光强度比随着 PDGF-BB 浓度在 0.4~400 ng/mL 范围内显著增加。当 PDGF-BB 浓度在 3.1~200 ng/mL 范围内时, 该传感器获得了良

好的线性响应, 检测限为 0.4 ng/mL。Li 等^[37] 利用靶向诱导聚合酶活性设计了循环级联信号放大体系, 用于高灵敏度检测人血清中 PDGF-BB, 其原理图如图 2d 所示, 聚合酶活性最初因聚合酶与酶适配体序列的结合而受到抑制。PDGF-BB 与其适配体结合并触发聚合酶活性的释放, 从而进一步启动 PDGF-BB 和其适配体的同步循环, 随后置换荧光猝灭探针, 生成新的荧光双链 DNA 产物, 进而恢复荧光信号。两个循环级联反应成就了荧光信号的显著放大, 实现高灵敏度检测 PDGF-BB, 检测限低至 5.1 pmol/L。

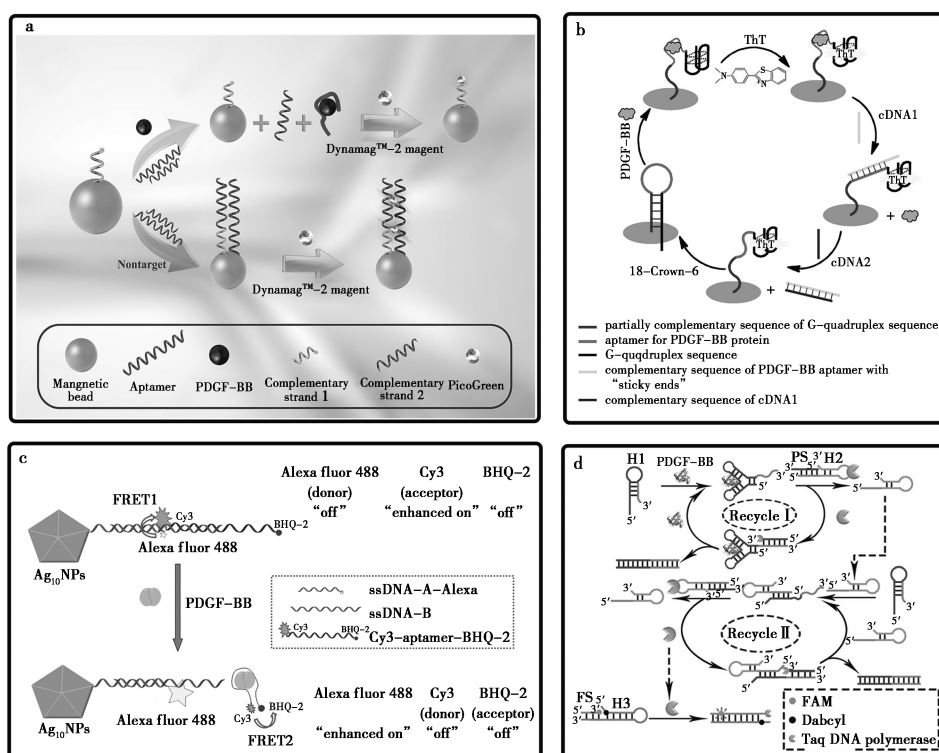


图 2 a. 在存在和不存在 PDGF-BB 的情况下适配体传感器的性能示意图^[34]; b. 可回收且灵敏的荧光适配体传感器示意图^[35]; c. 基于两种可调 FRET 模式的银增强比率纳米传感器的制备及蛋白 PDGF-BB 的传感^[36]; d. 对应于目标诱导的 DNA 聚合酶激活和循环放大级联的原理用于 PDGF-BB 的高灵敏度荧光测定^[37]

Fig.2 a. Schematic illustration of the performance of aptasensors in the presence and absence of PDGF-BB^[34]; b. Schematic diagram of recyclable and sensitive fluorescent aptamers^[35]; c. Preparation of silver enhanced ratimetric nanosensor based on two adjustable FRET modes and sensing of protein PDGF-BB^[36]; d. Principles corresponding to target-induced DNA polymerase activation and cyclic amplification cascades for highly sensitive fluorometric assays of PDGF-BB^[37]

3 电化学核酸适配体传感器

电化学核酸适配体传感器是将电化学的高灵敏度检测优势和核酸适配体的高特异性相结合, 把核酸适配体识别信号转化为电信号, 通过监测电流、电位或阻抗等的变化来检测目标分子。

Chang 等^[38] 利用均相酶催化诱导的 DNA 水凝胶作为信号抑制剂, 抑制 $g-C_3N_4@Au@Fc-NH_2$ 纳米材料的电化学信号, 并结合邻位连接技术和杂交链式反应放大技术, 构建了均相超灵敏检测 PDGF-BB 的电化学核酸适配体传感器, 如图 3a

所示,成膜性良好的 $\text{g-C}_3\text{N}_4 @ \text{Au} @ \text{Fc-NH}_2$ 纳米材料直接固定在电极表面,由于其导电性好、电阻小,可以提供较大的原始电化学信号,然后通过 DNA 杂交将 PDGF-BB 目标诱导均相催化形成的 DNA 水凝胶捕获到电极表面,从而显著降低电化学信号,实现 PDGF-BB 的定量检测,检测限可达到 3.5 fmol/L ,该方法将强信号抑制剂引入生物传感设计中,为实现生物标志物的高灵敏度检测开辟了新思路,在临床诊断、传感等相关领域具有潜在的应用前景。为了更加直观准确的检测 PDGF-BB, Huang 等^[39] 利用 Ni-Fe 普鲁士蓝类似物 (Ni-Fe PBA) 作为双功能信号探针,构建了检测 PDGF-BB 的电化学和比色双信号输出的核酸适配体传感器,其中 Ni-Fe PBA 探针中多种金属

离子的氧化还原使其具有优异的氧化还原活性,为电化学检测提供了氧化还原电流,同时, Ni-Fe PBA 探针的类似过氧化物酶,可以催化 TMB 显色。如图 3b 所示,修饰有适配体 Ap1 的双功能 Ni-Fe PBA 探针、PDGF-BB 和修饰有适配体 Ap2 的磁珠形成“三明治”结构,经外磁场磁分离后,将“三明治”复合物捕获到电极表面进行电化学分析,将未与 PDGF-BB 结合的 Ni-Fe PBA 探针进行比色分析,从而实现 PDGF-BB 的电化学和比色双检测,与传统的单信号模式相比,该传感器提供了更准确可靠的结果。Li 等^[7] 采用首次制备的 Cu-MOF@TpBD 核壳结构杂化纳米复合材料构建了检测 PDGF-BB 的无标记电化学适配体传感器。如图 3c 所示, Cu-MOF@TpBD 中央的 Cu-MOF 作

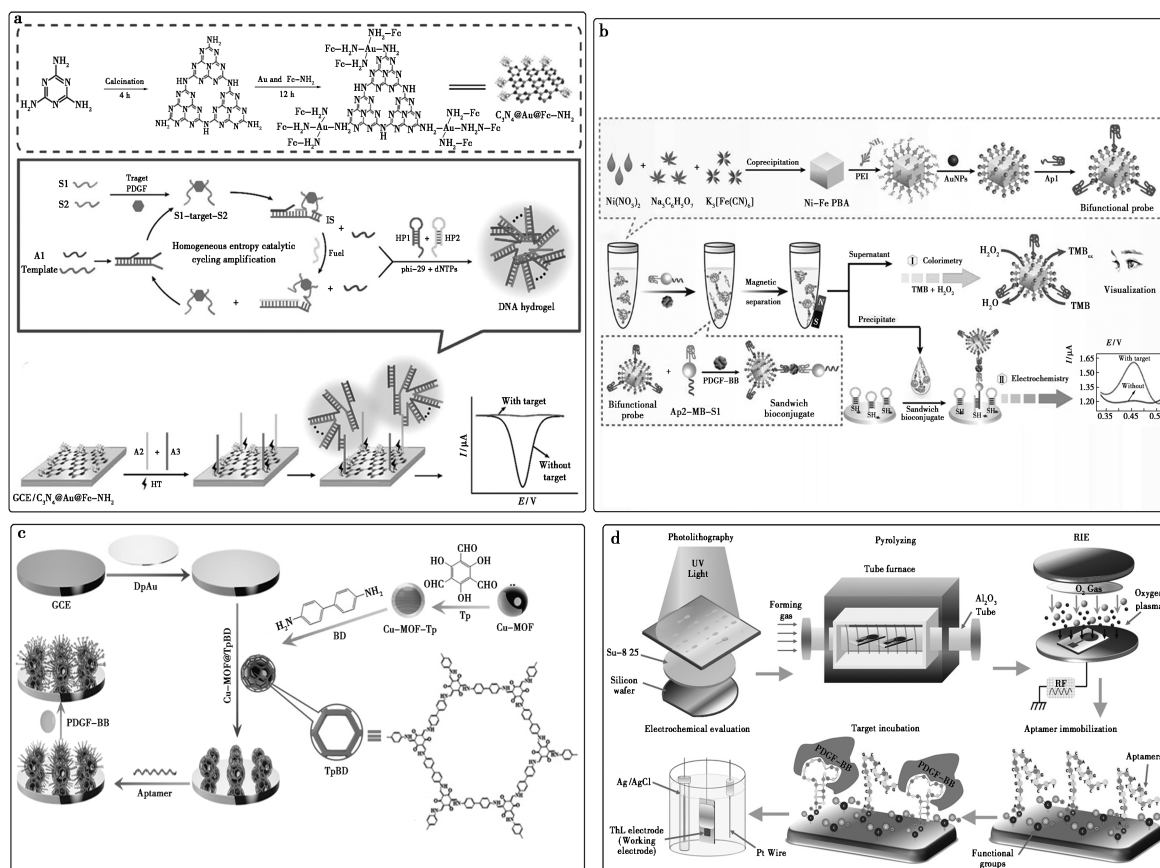


图 3 a.基于均相熵催化驱动的 DNA 水凝胶作为强信号阻滞剂的 PDGF 检测生物传感器^[38];

b.构建的双信号读出适合传感器示意图:双功能探针的制备和用于检测 PDGF-BB 的

EC-比色双信号读出传感的原理^[39]; c.基于适配体传感器检测 PDGF-BB 示意图^[7];

d.基于 C-MEMS 的 PDGF-BB 适配体传感器和电化学测试槽的制作过程示意图^[6]

Fig.3 a. Proposed biosensor for PDGF detection based on homogeneous entropy catalytic-driven DNA

hydrogel^[38]; b. Schematic illustration of the constructed dual-signal readout aptasensor: Preparation of

bifunctional probe; Principle of the EC-colorimetric dual-signal readout aptasensor for detection of PDGF-BB^[39];

c. Schematic diagram of the aptasensor preparation process for PDGF-BB detection^[7];

d. Schematic illustration of the fabrication process of the C-MEMS based PDGF-BB aptasensor^[6]

为电化学信号标签,多孔的 TpBD 作为外壳,通过 π - π 堆积、静电吸附等作用力固定用于捕获 PDGF-BB 的适配体,从而抑制 Cu-MOF 电化学信号,实现 PDGF-BB 高灵敏的电化学检测。该策略不需要对探针进行共价标记,可以避免繁琐的探针标记步骤,同时适配体可以保持最高的活性和亲和力。电化学阻抗谱(EIS)使用振幅正弦交流激励信号来确定吸附电极表面材料的可测量电阻和电容特性,是一种响应速度快、无标记、成本低、易于操作的识别方法^[40];Forouzanfar 等^[6]基于碳微机电系统(C-MEMS),构建了一种高灵敏度和无标记的电化学核酸适配体传感器,如图 3d 所示。经等离子体处理后的 C-MEMS 电极能够高效稳定地固定 PDGF-BB 核酸适配体,捕获 PDGF-BB,分别通过阻抗和电容两种信号的变化达到高灵敏检测 PDGF-BB 的目的。该传感器的优点在于方法简单,可实现无标记,但是此类方法缺少特异性的电化学行为,在实际生物样品检测中应用性较差。

4 电化学发光核酸适配体传感器

电化学发光(Electrochemiluminescence, ECL)是基于电极反应产物之间或电极反应产物与体系中组分之间进行化学反应,使得发光信号分子从激发态跃迁回基态产生光辐射的技术。电化学发光是电化学和化学发光技术的结合,兼具有电化学高灵敏度和化学发光背景信号低等优点,实现了简单、高灵敏度、低成本检测^[41,42]。

Gao 等^[43]制备了一种基于 β -环糊精/石墨氮化碳(β -CD/g- C_3N_4)复合材料的电化学发光适配体传感器,首次采用新型 β -环糊精非共价功能化 g- C_3N_4 复合 β -CD/g- C_3N_4 构建基于其适配体的 PDGF-BB 电化学发光检测平台。基于适配体的电化学发光传感器为处理 ECL 分析开辟一条新途径,以实现更广泛的分析应用。Xu 等^[8]基于二茂铁(Fc)抑制量子点 C_3N_4 纳米复合材料(QDs@CNNS)电化学发光的现象,设计了一种新型电化学适配体传感器用于检测血清中 PDGF-BB。如图 4a 所示,QDs@CNNS 具有稳定的、较强的 ECL 信号,Fc 标记的核酸适配体通过 π - π 堆积、静电吸附等作用力固定在 QDs@CNNS 上,并猝灭 QDs@CNNS 的 ECL 信号,PDGF-BB 和 Fc 标记的核酸适配体特异性结合使得 Fc 剥离 QDs@CNNS 表面,ECL 信号恢复,ECL 强度与 PDGF-BB 的浓度成正比,范围为 0.02 ~ 80 nmol/L,检测限为

0.013 nmol/L。由于 QDs@CNNS 纳米复合材料具有优异的 ECL 信号,可以结合信号放大策略,有望用于更多目标的超灵敏测定。

5 其他核酸适配体传感器

除以上几种常见方法外,Qian 等^[44]构建了固相光纤表面等离子共振(FO-SPR)生物传感平台,如图 4b 所示,固定在光纤上的适配体和固定在金纳米粒子上适配体与 PDGF-BB 以“三明治”结构特异性结合,显著放大了 FO-SPR 信号,实现对血清样品中 PDGF-BB 的特异性检测,检测限为 0.35 pmol/L。Ye 等^[45]通过使用无标记的核酸适配体和双引物,构建了一种简单而新颖的用于检测 PDGF-BB 的表面增强拉曼散射(SERS)适配体传感器,其原理如图 4c 所示,分别采用核酸内切酶和聚合酶辅助的核酸扩增反应,产生大量能打开修饰在金膜表面发夹探针的探针,拉曼标记的金纳米颗粒探针可以与被打开发夹探针杂交,从而固定在金膜表面,在金膜基底和探针之间产生耦合电磁场,实现 SERS 信号的放大,定量检测 PDGF-BB 的检测限可达到 0.42 pmol/L。该传感器具有潜在的通用性,可以通过改变核酸适配体便很容易地用于其他生物分子的检测。液晶(LCs)是一种兼具液体的流动性和固体的光学各向异性的材料,具有灵敏的取向响应和双折射等优异理化特性,因此作为一种“敏感元件”被广泛应用于生物传感领域^[46]。Qi 等^[46]基于适配体与 PDGF-BB 识别作用引发的磁珠表面原位滚环扩增(RCA),构建了高灵敏检测血液中 PDGF-BB 的液晶适配体传感器。当 PDGF-BB 存在的时候,磁珠表面的 RCA 可以发生,短链 DNA 扩增成长链 DNA。再将滚环扩增产物转移到对扩增 DNA 敏感的十八烷基三甲基溴化铵(OTAB)修饰的液晶界面,导致液晶的外观由暗变亮,从而实现 PDGF-BB 的检测。该传感器结合了磁珠高效富集分离、RCA 高效延伸 DNA 和高敏感的液晶界面三者的优势,提高了检测灵敏度,达到 0.12 pmol/L,比之前报道的 LC 传感器灵敏度提升至少 4 个数量级。

各类核酸适配体传感器的特点不同,表 1 列出了基于不同原理的核酸适配体传感器的优势和不足之处。表 2 汇总近几年基于核酸适配体检测 PDGF-BB 的生物传感器及相关参数,并根据检测方法进行了分类。

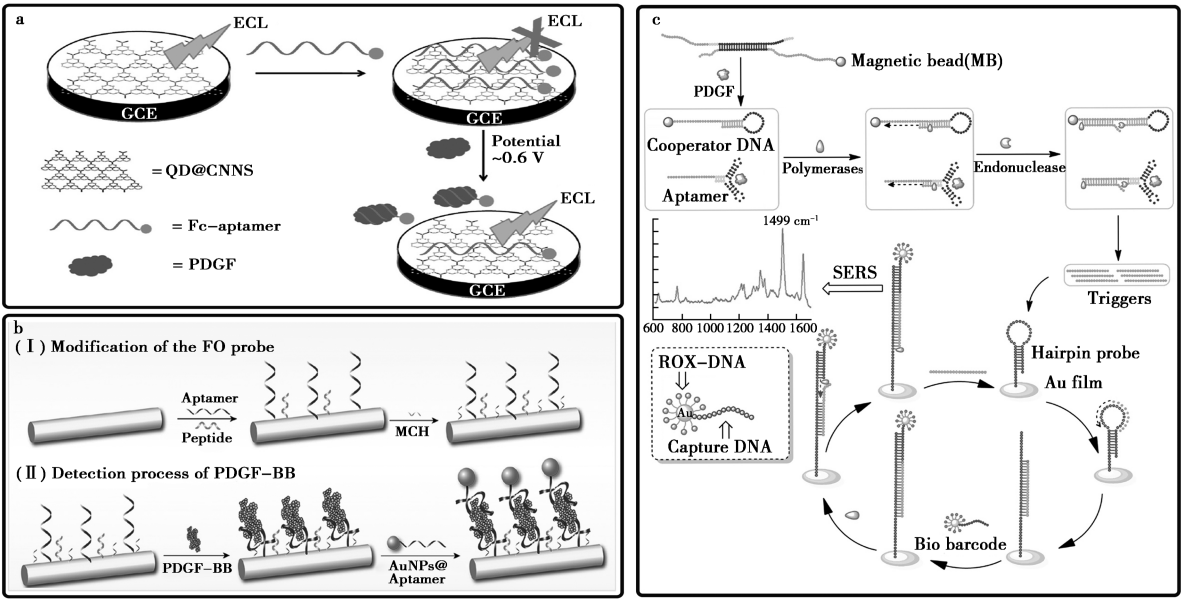


图 4 a.QDs@ CNNS 的 ECL 传感器工作原理图^[8];b.PDGF-BB FO-SPR 生物传感器示意图^[44];
c.使用无标记适配体的蛋白质双引物自发产生 SERS 信号增强试验^[45]

Fig.4 a.Working principle of the ECL sensor of QDs@ CNNS^[8] ;b.Schematic diagram of PDGF-BB FO-SPR biosensor^[44] ;c.Dual-primer self-generation SERS signal amplification assay for protein using label-free aptamer^[45]

表 1 不同原理的核酸适配体传感器的优势和不足

Tab.1 Advantages and disadvantages of different principles of aptamer sensors

方法	优势	不足
比色法	操作简单、价格低廉、无需高精密仪器设备、检测效率高	抗干扰能力不足,易受环境因素影响
荧光法	灵敏、快速、简单且成本较低、可选择性标记	荧光染料存在抗光漂白性差;标记型适配体传感器需要复杂的共价修饰或化学标记;非标记型适配体传感器的应用普遍性受到限制
电化学法	高灵敏度、高特异性、快速检测、可便携	对电极膜进行活化、材料修饰、适配体组装等前处理限制了其批量化生产及制备
SPR 法	无需标记、灵敏度高、操作简单	检测小分子物质需与纳米技术联用,成本偏高
SERS 法	需要样品量少、灵敏度高、无损分析和具有特征光谱	传感平台要求较高且成本较高,不宜广泛应用
电化学发光法	兼具有电化学高灵敏度和化学发光的背景信号低等优点,实现了简单、高灵敏度、低成本检测	发光过程短、仪器故障率较高

表 2 部分基于核酸适配体检测 PDGF-BB 的生物传感器的汇总

Tab.2 Partial summary of biosensors based on aptamer detection of PDGF-BB

方法	传感策略	线性范围	最低检测限	文献
比色法	酶富集的 pH 传感	1~25 pmol/L	0.94 pmol/L	[28]
比色法	G-四链体 DNA 酶催化	2.0 pg/mL~20 ng/mL	0.088 pg/mL	[30]
比色法	链置换扩增反应	2.0~8.0 nmol/L	1.1 nmol/L	[31]
比色法	Fe ₃ O ₄ @C 核壳纳米线催化	0.01~100 nmol/L	10 fmol/L	[32]
荧光法	磁珠的适配体和分裂互补链	0.2~100 nmol/L	0.13 nmol/L	[34]
荧光法	DNA 聚合酶激活循环级联放大体系	0.01~100 nmol/L	5.1 pmol/L	[37]
荧光法	发夹 DNA 修饰的纳米凝胶	0.025~0.3 nmol/L	23 pmol/L	[35]
荧光法	银聚合扩增(SAA)的微流体	16 pg/mL~250 ng/mL	1.4 pg/mL	[47]
荧光法	靶触发转录扩增级联	0.01~10 nmol/L	0.8 pmol/L	[48]
荧光法	荧光共振能量转移	3.1~200 ng/mL	0.4 ng/mL	[36]

续表

方法	传感策略	线性范围	最低检测限	文献
电化学法	靶触发扩增	0.1~10 nmol/L	27 fmol/L	[49]
电化学法	基于 α -环糊精的新型 AuNPs 结构	0.52~1.52 nmol/L	0.52 nmol/L	[50]
电化学法	均相酶催化诱导的 DNA 水凝胶	0.01~10 nmol/L	3.5 fmol/L	[38]
电化学法	电化学和比色双探针	0.000 1~5 nmol/L	0.03 pmol/L	[39]
电化学法	核-壳 Cu-MOF@ TpBD 纳米复合材料	0.000 1~60 ng/mL	0.034 pg/mL	[7]
电化学法	聚乙烯亚胺金纳米粒子 (PEI-Au)	0.5~20.0 ng/mL	0.16 ng/mL	[51]
电化学法	碳微机电系统	1~10 nmol/L	0.75 pmol/L	[52]
电化学法	银纳米簇和适配体碳基纳米复合材料	1 pg/mL~0.05 ng/mL	0.82 pg/mL	[53]
电化学法	碳微机电系统	0.005~50 nmol/L	1.9 pmol/L	[6]
电化学发光法	基于 β -环糊精/石墨氮化碳复合材料	0.5 pg/mL~0.5 μ g/mL	0.26 pg/mL	[43]
电化学发光法	量子点 C_3N_4 纳米复合材料	0.02~80 nmol/L	0.013 nmol/L	[8]
SPR 法	光纤表面等离子共振	1~1 000 pmol/L	0.35 pmol/L	[44]
SERS 法	一、二、三级联放大	0.001~10 nmol/L	0.42 pmol/L	[45]
便携式传感器	基于三倍扩增的便携式血糖仪	0.316~3 160 fmol/L	0.11 fmol/L	[54]
液晶法	原位滚环放大	0.18~5 pmol/L	0.12 pmol/L	[46]

6 结论与展望

核酸适配体具有对目标物高度的亲和力和特异性,而且稳定性高、易于合成及修饰、成本低等,促使核酸适配体生物传感器在临床诊断领域备受关注。本文通过综述近年来基于核酸适配体的 PDGF-BB 生物传感器,期望对新型 PDGF-BB 以及其他生物标志物核酸适配体传感器的设计提供借鉴价值。尽管核酸适配体生物传感器表现出良好的分析性能,但在有些方面有待进一步提高,如在复杂生物体系中稳定性、生物毒性及生物相容性。此外,由于大多数的生物标志物在体液中含量非常低,而且种类繁多,因此未来的核酸适配体传感器可以结合新型纳米材料和 DNA 聚合酶、连接酶等工具酶,向更低的检测限和更高的特异性努力,为疾病诊断提供更加精准的依据。

参考文献:

- [1] CHEN P H, CHEN X, HE X. Platelet-derived growth factors and their receptors: Structural and functional perspectives[J]. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013, **1834**(10): 2 176-2 186.
- [2] RAZMI N, BARADARAN B, HEJAZI M, et al. Recent advances on aptamer-based biosensors to detection of platelet-derived growth factor[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2018, **113**: 58-71.
- [3] APPIAH-KUBI K, WANG Y, QIAN H, et al. Platelet-derived growth factor receptor/platelet-derived growth factor (PDGFR/PDGF) system is a prognostic and treatment response biomarker with multifarious therapeutic targets in cancers[J]. *Tumor. Biology.*, 2016, **37**(8): 10 053-10 066.
- [4] CHEN S W, CHEN Y X, ZHANG X R, et al. Targeted inhibition of platelet-derived growth factor receptor-beta subunit in hepatic stellate cells ameliorates hepatic fibrosis in rats[J]. *Gene. Therapy.*, 2008, **15**(21): 1 424-1 435.
- [5] LAU C K, YANG Z F, HO D W, et al. An akt/hypoxia-inducible factor-1 α /platelet-derived growth factor-BB autocrine loop mediates hypoxia-induced chemoresistance in liver cancer cells and tumorigenic hepatic progenitor cells[J]. *Clin. Cancer Res.*, 2009, **15**(10): 3 462-3 471.
- [6] FOROUZANFAR S, ALAM F, PALA N, et al. Highly sensitive label-free electrochemical aptasensors based on photoresist derived carbon for cancer biomarker detection[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2020, **170**: 112 598.
- [7] LI Y, LIU Z, LU W, et al. A label-free electrochemical aptasensor based on the core-shell Cu-MOF@ TpBD hybrid nanoarchitecture for the sensitive detection of PDGF-BB[J]. *Analyst*, 2021, **146**(3): 979-988.
- [8] XU H, LIANG S, ZHU X, et al. Enhanced electrogenerated chemiluminescence behavior of C_3N_4 QDs @ C_3N_4 nanosheet and its signal-on aptasensing for platelet derived growth factor[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2017, **92**: 695-701.
- [9] LIU Y, LIU W J, HU J, et al. Affinity binding-mediated fluorometric protein assay based on the use of target-triggered DNA assembling probes and aptamers labelled with upconversion nanoparticles: Application to the determina-

- tion of platelet derived growth factor-BB [J]. *Mikrochim. Acta*, 2019, **187**(1): 9.
- [10] CHEN Y X, GAO J, YAN K, et al. A light-induced self-powered competitive immunosensor for the detection of platelet derived growth factor-BB via an elaborately assembled bioconjugate [J]. *Sens. Actuators B Chem.*, 2020, **316**: 128-130.
- [11] LI D, LI X, SHEN B, et al. Aptamer recognition and proximity-induced entropy-driven circuit for enzyme-free and rapid amplified detection of platelet-derived growth factor-BB [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2019, **1092**: 102-107.
- [12] LI H H, FU X B, ZHANG L, et al. Research of PDGF-BB gel on the wound healing of diabetic rats and its pharmacodynamics [J]. *J. Surg. Res.*, 2008, **145**(1): 41-48.
- [13] ERMOLOV A S, SMIRNOV S V, KHVATOV V B, et al. The use of bioactive wound dressing, stimulating epithelial regeneration of III a-degree burn wounds [J]. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2008, **146**(1): 153-157.
- [14] MOTEGI S, FUJIWARA C, SEKIGUCHI A, et al. Possible contribution of PDGF-BB-induced autophagy in dermatofibrosarcoma protuberans: Autophagy marker Atg5 could be a differential marker between dermatofibrosarcoma protuberans and dermatofibroma [J]. *J. Dermatol. Sci.*, 2019, **93**(2): 139-141.
- [15] DEL ROSARIO C, RODRIGUEZ-EVORA M, REYES R, et al. BMP-2, PDGF-BB, and bone marrow mesenchymal cells in a macroporous beta-TCP scaffold for critical-size bone defect repair in rats [J]. *Biomed. Mater.*, 2015, **10**(4): 045-008.
- [16] BURGISSER G M, EVROVA O, CALCAGNI M, et al. Impact of PDGF-BB on cellular distribution and extracellular matrix in the healing rabbit Achilles tendon three weeks post-operation [J]. *Febs. Open Bio.*, 2020, **10**(3): 327-337.
- [17] HUANG Y, NIE X M, GAN S L, et al. Electrochemical immunosensor of platelet-derived growth factor with aptamer-primed polymerase amplification [J]. *Anal. Biochem.*, 2008, **382**(1): 16-22.
- [18] HUANG K J, LIU Y J, ZHAI Q F. Ultrasensitive biosensing platform based on layered vanadium disulfide-graphene composites coupling with tetrahedron-structured DNA probes and exonuclease III assisted signal amplification [J]. *J. Mater. Chem. B*, 2015, **3**(41): 8 180-8 187.
- [19] YAO L Y, YU X Q, ZHAO Y J, et al. An aptamer-based chemiluminescence method for ultrasensitive detection of platelet-derived growth factor by cascade amplification combining rolling circle amplification with hydroxylamine-enlarged gold nanoparticles [J]. *Anal. Methods*, 2015, **7**(20): 8 786-8 792.
- [20] ZHU J, HUANG Y, JIANG X P, et al. A new fluorescence immunosensing method based on aptamer-plasmid complex amplification [J]. *Chinese J. Anal. Chem.*, 2009, **37**(11): 1 596-1 600.
- [21] XILUAN Y, KUN Z, YUNTING Y, et al. Chemiluminescent detection of platelet derived growth factor-BB based on sandwich label-free aptasensor and biotin-streptavidin strategy [J]. *J. Immunol. Methods*, 2022, **506**: 113-289.
- [22] LU X, WEN X, FAN Z. A sensitive biosensor based on a ferrocene-marked adapter for the fluorescence detection of platelet-derived growth factor BB [J]. *J. Lumin.*, 2020, **221**: 117-042.
- [23] ROSCH J C, BALIKOV D A, GONG F, et al. A systematic evolution of ligands by exponential enrichment workflow with consolidated counterselection to efficiently isolate high-affinity aptamers [J]. *Eng. Reports*, 2020, **2**(1): Article e12 089.
- [24] 杜悦溶, 爱军. 适配体 AS1411 功能化纳米材料的合成和生物应用进展 [J]. *化学试剂*, 2021, **43**(7): 917-924.
- [25] MEIRINHO S G, DIAS L G, PERES A M, et al. Voltammetric aptasensors for protein disease biomarkers detection: A review [J]. *Biotechnol. Adv.*, 2016, **34**(5): 941-953.
- [26] MOKHTARZADEH A, TABARZAD M, RANJBARI J, et al. Aptamers as smart ligands for nano-carriers targeting [J]. *Trac-Trends Anal. Chem.*, 2016, **82**: 316-327.
- [27] ZHANG J J, CAO J T, SHI G F, et al. Sandwich-format electrochemiluminescence assay for PDGF-BB using quantum dots-dendrimer nanocomposites as probe [J]. *Talanta*, 2015, **141**: 158-163.
- [28] MIAO X, ZHU Z, JIA H, et al. Colorimetric detection of cancer biomarker based on enzyme enrichment and pH sensing [J]. *Sens. Actuators B: Chem.*, 2020, **320**: 128-435.
- [29] 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.
- [30] XIE Y, NIU F, YU A, et al. Proximity binding-triggered assembly of two MNazymes for catalyzed release of g-quadruplex DNazymes and an ultrasensitive homogeneous bioassay of platelet-derived growth factor [J]. *Anal. Chem.*, 2020, **92**(1): 593-598.
- [31] ZHANG H, LI F, CHEN H, et al. AuNPs colorimetric sensor for detecting platelet-derived growth factor-BB based on isothermal target-triggering strand displacement amplification [J]. *Sens. Actuators B: Chem.*, 2015, **207**: 748-755.
- [32] ZHANG R, LU N, ZHANG J, et al. Ultrasensitive aptamer-based protein assays based on one-dimensional core-

- shell nanozymes [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2020, **150**: 111 881.
- [33] FANG X H, CAO Z H, BECK T, et al. Molecular aptamer for real-time oncoprotein platelet-derived growth factor monitoring by fluorescence anisotropy [J]. *Anal. Chem.*, 2001, **73**(23): 5 752-5 757.
- [34] BAHREYNI A, TAHMASEBI S, RAMEZANI M, et al. A novel fluorescent aptasensor for sensitive detection of PDGF-BB protein based on a split complementary strand of aptamer and magnetic beads [J]. *Sens. Actuators B: Chem.*, 2019, **280**: 10-15.
- [35] ZHANG Z, HAN J, LI Y, et al. A sensitive and recyclable fluorescence aptasensor for detection and extraction of platelet-derived growth factor BB [J]. *Sens. Actuators B: Chem.*, 2018, **277**: 179-185.
- [36] LI H, ZHAO Y, CHEN Z, et al. Silver enhanced ratiometric nanosensor based on two adjustable fluorescence resonance energy transfer modes for quantitative protein sensing [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2017, **87**: 428-432.
- [37] LI Y, LI X, YANG F, et al. Target-induced activation of polymerase activity for recycling signal amplification cascades for sensitive aptamer-based detection of biomarkers [J]. *Analyst*, 2021, **146**(5): 1 590-1 595.
- [38] CHANG Y, LI M, WU Z, et al. Homogeneous entropy catalytic-driven dna hydrogel as strong signal blocker for highly sensitive electrochemical detection of platelet-derived growth factor [J]. *Anal. Chem.*, 2018, **90**(13): 8 241-8 247.
- [39] HUANG Y, GE J, CHEN H, et al. Dual-signal readout aptasensor for electrochemical and colorimetric assay using a bifunctional Ni-Fe PBA probe [J]. *Sens. Actuators B: Chem.*, 2021, **327**: 128 871.
- [40] FANG S, DONG X, LIU S, et al. A label-free multi-functionalized electrochemical aptasensor based on a Fe_3O_4 @ 3D-rGO @ plasma-polymerized (4-vinyl pyridine) nanocomposite for the sensitive detection of proteins in whole blood [J]. *Electrochim. Acta*, 2016, **212**: 1-9.
- [41] LIU Y M, ZHOU M, LIU Y Y, et al. Fabrication of electrochemiluminescence aptasensor based on in situ growth of gold nanoparticles on layered molybdenum disulfide for sensitive detection of platelet-derived growth factor-BB [J]. *RSC Adv.*, 2014, **4**(44): 22 888-22 893.
- [42] ZHANG J J, CAO J T, SHI G F, et al. A luminol electrochemiluminescence aptasensor based on glucose oxidase modified gold nanoparticles for measurement of platelet-derived growth factor BB [J]. *Talanta*, 2015, **132**: 65-71.
- [43] GAO J, XIONG H, ZHANG W, et al. Electrochemiluminescent aptasensor based on β -cyclodextrin/graphitic carbon nitride composite for highly selective and ultrasensitive assay of platelet derived growth factor BB [J]. *Carbon*, 2018, **130**: 416-423.
- [44] QIAN H, HUANG Y, DUAN X, et al. Fiber optic surface plasmon resonance biosensor for detection of PDGF-BB in serum based on self-assembled aptamer and antifouling peptide monolayer [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2019, **140**: 111 350.
- [45] YE S, ZHAI X, WU Y, et al. Dual-primer self-generation SERS signal amplification assay for PDGF-BB using label-free aptamer [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2016, **79**: 130-135.
- [46] QI L, HU Q, KANG Q, et al. Detection of biomarkers in blood using liquid crystals assisted with aptamer-target recognition triggered in situ rolling circle amplification on magnetic beads [J]. *Anal. Chem.*, 2019, **91**(18): 11 653-11 660.
- [47] LIU X, LI H, ZHAO Y, et al. Multivalent aptasensor array and silver aggregated amplification for multiplex detection in microfluidic devices [J]. *Talanta*, 2018, **188**: 417-422.
- [48] LI Y, YANG F, LI S, et al. Target-triggered tertiary amplifications for sensitive and label-free protein detection based on lighting-up RNA aptamer transcriptions [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2022, **1 217**: 340 028.
- [49] WANG Y H, CHEN Y X, WU X, et al. Electrochemical biosensor based on Se-doped MWCNTs-graphene and Y-shaped DNA-aided target-triggered amplification strategy [J]. *Colloids Surf. B*, 2018, **172**: 407-413.
- [50] HASANZADEH M, RAZMI N, MOKHTARZADEH A, et al. Aptamer based assay of platelet-derived growth factor in unprocessed human plasma sample and MCF-7 breast cancer cell lysates using gold nanoparticle supported alpha-cyclodextrin [J]. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2018, **108**: 69-80.
- [51] ZHAO H, LIU Q, WANG J, et al. Electrochemical aptamer sensor based on metal ion-labeled polyethyleneimine gold nanoparticles for simultaneous detection of multiple disease markers [J]. *Electrochim. Acta*, 2021, **399**: 139 423.
- [52] FOROUZANFAR S, PALA N, WANG C. In-situ integration of 3D C-MEMS microelectrodes with bipolar exfoliated graphene for label-free electrochemical cancer biomarkers aptasensor [J]. *Micromachines (Basel)*, 2022, **13**(1): 104.
- [53] ZHANG Z, GUO C, ZHANG S, et al. Carbon-based nanocomposites with aptamer-templated silver nanoclusters for the highly sensitive and selective detection of platelet-derived growth factor [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2017, **89**(Pt 2): 735-742.
- [54] HONG L, ZHOU F, SHI D M, et al. Portable aptamer biosensor of platelet-derived growth factor-BB using a personal glucose meter with triply amplified [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2017, **95**: 152-159.

基于 BODIPY 的荧光探针检测活性氧的研究进展

赖申枝¹, 谢俊英^{*1}, 李春艳², 刘燕¹, 肖洁¹

(1. 湖南化工职业技术学院 制药与生物工程学院, 湖南 株洲 412000;

2. 湘潭大学 化学学院, 湖南 湘潭 411105)

摘要:活性氧(ROS)是一种重要的含氧化学活性物质,与各种生理过程密切相关。但过量的 ROS 可能会导致诸多疾病,如心血管疾病、神经退行性疾病甚至癌症等,因此有效的识别和检测 ROS 具有重要意义。氟硼二吡咯亚甲基(BODIPY)由于其独特的光物理性质、优异的光化学稳定性以及可行的衍生化,近年来被广泛应用于检测 ROS。针对不同的活性氧进行分类,主要综述了近 5 年来国内外基于 BODIPY 荧光探针用于检测 ROS 的研究现状,并展望了 BODIPY 荧光探针检测 ROS 的发展方向,旨在为今后研究 ROS 在生理和病理过程中的作用提供一定的理论参考。

关键词:活性氧;BODIPY;荧光探针;检测;研究进展

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)05-0011-10

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0034

Recent Developments of BODIPY-based Fluorescent Probes for the Detection of Reactive Oxygen LAI Shen-zhi¹, XIE Jun-ying^{*1}, LI Chun-yan², LIU Yan¹, XIAO Jie¹ (1. Department of Pharmaceutical and Biological Engineering, Hunan Chemical Vocational Technology College, Zhuzhou 412000, China; 2. College of Chemistry, Xiangtan University, Xiangtan 411105, China)

Abstract: Reactive oxygen species (ROS) are important oxygen-containing chemical active substance, which are closely related to various physiological processes. But excessive ROS may cause many diseases, such as cardiovascular disease, neurodegenerative disease, and even cancer. Thus the effective identification and detection of ROS is of great importance. Due to the unique photo-physical properties, excellent photochemical stability and feasible derivatization, boron-fluoropyrrolidine methylene (BODIPY) has been widely used for ROS detection in recent years. This article classified different ROS, mainly reviewed the research status of BODIPY-based fluorescence probes for ROS detection at home and abroad in the past five years, prospected the development direction of BODIPY-based fluorescence probe for detection of ROS, and provided some reference value for future research on the role of ROS in the physiopathological process.

Key words: ROS; BODIPY; fluorescent probes; detection; research progress

1968 年, Treibs 和 Kreuaer 首次合成了 BODIPY 类荧光团,其结构如图 1 所示^[1]。由于 BODIPY 类荧光团具有摩尔吸光系数大、光稳定性良好、荧光量子产率较高、生物毒性低等优良性质,在过去三十多年受到了众多研究者的关注,被广泛应用于光催化、荧光探针、太阳能染料、生物标记等领域^[2-9]。特别是在构建功能性荧光探针方面, BODIPY 多样化的衍生能力,使其成为极具应用前景的生物应用支架。然而, BODIPY 染料仍然存在一些缺点,如波长发射短、固有的疏水性和缺乏靶向能力,这限制了其在生物医学方面的应用^[10]。通过在 BODIPY 母核的 2/6-或 3/5-位引入合适的基团,或者通过用氮原子取代 BODIPY 核心上的碳原子,可以将发射波长转移到更长的区域,得到的氮杂 BODIPY 衍生物在近红外(NIR)区域显示出很大的红移发射最大值,

同时保留了传统 BODIPY 染料的所有优良性能^[11]。此外,为了提高 BODIPY 染料的水溶性,在 BODIPY 结构的不同位置引入亲水基团受到了极大的关注^[12]。另一个解决 BODIPY 染料水溶性差的方案是通过自组装方法或用两亲聚合物封装疏水性的 BODIPY 来合成生物相容性的 BODIPY 纳米颗粒^[13]。

收稿日期:2023-01-26;网络首发日期:2023-02-21

基金项目:湖南省自然科学基金项目(2020JJ7038)。

作者简介:赖申枝(1989-),男,湖南浏阳人,博士,讲师,主要研究方向为荧光分子探针的设计与合成。

通讯作者:谢俊英, E-mail: xiejunying1204@163.com。

引用本文:赖申枝, 谢俊英, 李春艳, 等. 基于 BODIPY 的荧光探针检测活性氧的研究进展[J]. 化学试剂, 2023, 45(5): 11-20。

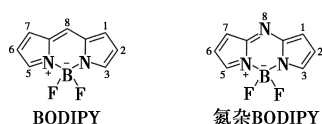


图 1 BODIPY 荧光团分子结构

Fig.1 Molecular structures of BODIPY fluorophore

ROS 是生物中产生的化学活性物质,主要包括次氯酸/次氯酸盐 (HOCl/ClO^-)、过氧化氢 (H_2O_2)、单线态氧 ($^1\text{O}_2$)、羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$)、超氧阴离子 ($\cdot\text{O}_2^-$)、次溴酸 (HOBr) 等。研究表明 ROS 在生命系统的生理和病理过程中起着至关重要的作用^[14]。ROS 作为生物活性极强的化学物质,可以对生物分子产生毒性作用,从而被认为是引起各种疾病,如心血管疾病、神经退行性疾病甚至癌症的罪魁祸首^[15]。荧光探针具有选择性好、灵敏度高、制备方便、可实时监测等优点,对于 ROS 的检测研究有广阔的应用前景。因此,设计并合成新型的荧光探针用于实现生物体内 ROS 的高效检测是一项具有重要意义的工作。

由于 BODIPY 荧光团的优良特性,目前已经有许多基于 BODIPY 的荧光探针用于检测 ROS,本文主要综述了近 5 年来国内外基于 BODIPY 荧光团用于检测 ROS 的新进展,并展望了 BODIPY 荧光探针的发展方向。

1 HOCl/ClO^- 荧光探针

ClO^- 是在髓过氧化物酶 (MPO) 催化下, H_2O_2 和 Cl^- 发生反应所生成的一种内源性 ROS。 ClO^- 在生理条件下与相应的 HOCl 以平衡形式存在,对免疫系统是至关重要的。然而,过量的 HOCl/ClO^- 可能会导致严重的疾病^[16]。此外,对 HOCl 在不同细胞器中的分布和作用的研究较少。因此,开发用于体内检测 HOCl 的小分子荧光探针显得尤为重要。

Kang 等^[17] 通过 Knoevenagel 缩合反应连接 BODIPY 和香豆素-醛基团,得到了一种比率型荧光探针 1,如图 2 所示。当加入 ClO^- ,在 515 nm 处形成新的发射带并随着 ClO^- 的浓度逐渐增强;相反,在 660 nm 处的发射逐渐减弱。这是由于烯烃 $\text{C}=\text{C}$ 键的氧化裂解反应导致的。该探针表现出较高的灵敏度 (检测限 (LOD) = 0.12 $\mu\text{mol/L}$),对 ClO^- 检测选择好且响应时间短。该探针用于 ClO^- 在活细胞和体内的实时成像。

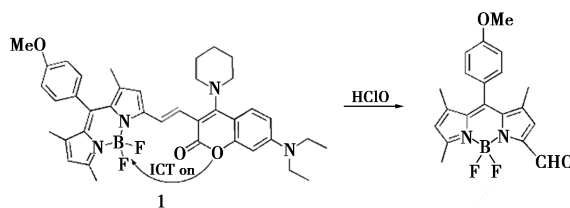


图 2 探针 1 的响应机理

Fig.2 Response mechanism of probe 1

Huang 等^[18] 开发了一种靶向溶酶体的 HClO 荧光探针 2,如图 3 所示。该探针以 BODIPY 为荧光团,醛氧肟为识别单元,吗啉为靶向基团。当 HClO 存在时,能观察到显著的光物理变化,在 530 nm 处的荧光发射峰显著增强,且荧光量子产率 (PLQY) 从 0.03 提高到 0.25。该探针的检出限为 16.5 nmol/L,能在 60 s 内快速响应。该探针可用于 MCF-7 细胞中溶酶体 HClO 的可视化监测。

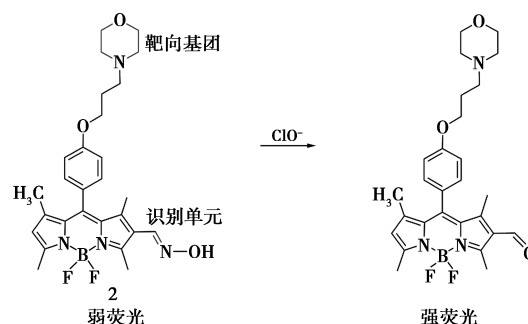


图 3 探针 2 的响应机理

Fig.3 Response mechanism of probe 2

Wang 等^[19] 使用 N,N-二甲基硫代氨基甲酸酯 (DMTC) 单元作为有效的 HOCl 识别基团,制备了一种基于光诱导电子转移机理 (PET) 的红光发射的荧光探针 3,如图 4 所示。在没有 HOCl 的条件下,由于从 BODIPY 染料到缺电子的 4-DMTC 苯基吡啶部分的 PET 效应,该探针几乎没有荧光

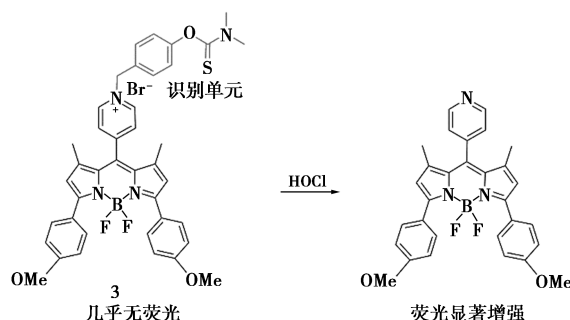


图 4 探针 3 的响应机理

Fig.4 Response mechanism of probe 3

光。但是加入 HOCl 后,DMTC 部分脱硫水解,随后出现羟基的释放和自牺牲裂解,导致荧光强度显著增强,其与 0~50 $\mu\text{mol/L}$ 范围内的 HOCl 浓度呈线性关系,HOCl 的检出限为 60 nmol/L。该探针能够监测 HeLa 和 RAW 264.7 细胞的外源性/内源性 HOCl。

Haldar 等^[20]利用水溶性聚合物探针的优势,以醛氧肟为识别单元,巧妙设计了一种基于 BODIPY 的聚合探针 4,如图 5 所示,并用于 HOCl 检测。当加入 HOCl 后,探针表现出荧光增强,溶液由粉红色变为黄色。在 HOCl 的存在下,探针的光学变化归因于 C=N—OH 键向氧化肟的转化。探针表现出对 HOCl 的高灵敏度 (LOD = 17 nmol/L,检测时间 < 1 min) 和高选择性。该探针用于检测纯水介质中的 HOCl,并能以较低毒性对活细胞中的外源性 HOCl 成像。

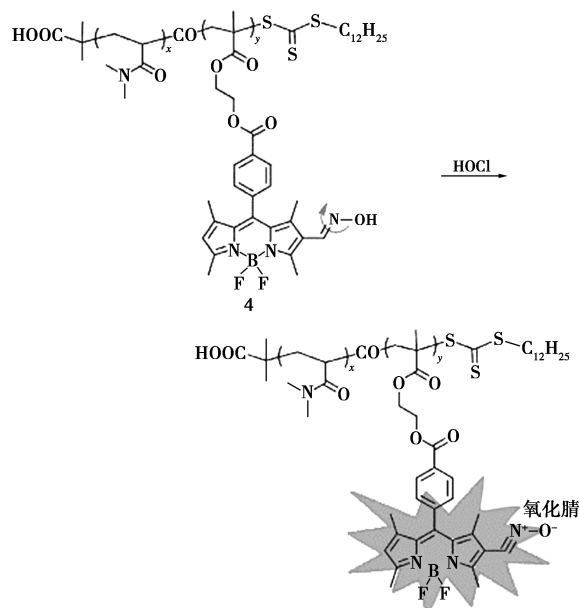


图 5 探针 4 的响应机理

Fig.5 Response mechanism of probe 4

Shi 等^[21]制备了一种新型的 NIR 氮杂 BODIPY 荧光探针 5,如图 6 所示,该探针在两个苯基环上具有两个碲原子,能高选择性的检测 HClO/ClO⁻。由于两个碲原子的 PET 效应,该探针的荧光被充分猝灭。在与 HClO/ClO⁻充分反应后,由于两个富含电子的碲原子发生氧化,探针在 738 nm 处出现强烈的近红外发射,同时荧光量子产率从 0 变为 0.11。在乙腈-水溶液中,该探针的检测限为 0.09 $\mu\text{mol/L}$,适用范围广 (pH 2~10),并成功地应用于检测生物系统中的外源性和内源性 HClO/ClO⁻。

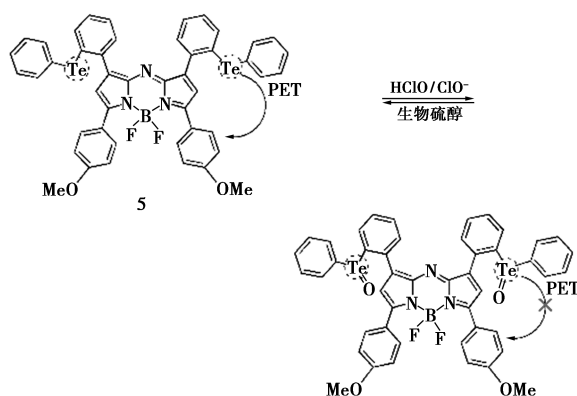


图 6 探针 5 的响应机理

Fig.6 Response mechanism of probe 5

Leng 等^[22]合成了一种高选择性、高灵敏性测定 ClO⁻ 的 BODIPY 荧光探针 6,如图 7 所示。二氨基顺丁烯二腈作为响应基团,羧基基团能增加探针的水溶性。由于存在分子内电荷转移机理 (ICT) 效应,抑制了荧光团上从 LUMO 轨道到 HOMO 轨道的电子跃迁,导致探针发射微弱荧光。当加入 ClO⁻ 后, ICT 效应消失,探针在 511 nm 处的荧光强度大大增强,其检测限和线性范围分别为 298 nmol/L、10.0~250.0 $\mu\text{mol/L}$ 。通过测定实际水样中的次氯酸盐,得到回收率为 89.5%~112.0%。该探针用于检测活小鼠黑色素瘤细胞 (B16-F10) 和人神经母细胞瘤细胞 (SH-SY5Y) 中的内源性的 ClO⁻,还成功地应用于斑马鱼的荧光成像。

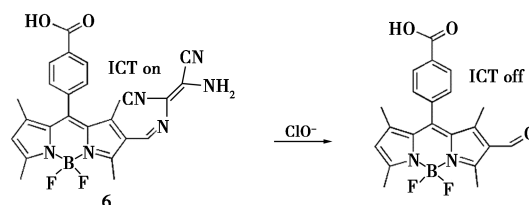


图 7 探针 6 的响应机理

Fig.7 Response mechanism of probe 6

基于与探针 3 相同的识别基团和响应机理, Fan 等^[23]设计了一种高选择性、高灵敏性检测 HOCl 的 NIR BODIPY 荧光探针 7,如图 8 所示。加入 HClO 后,在 661 nm 处的荧光增强 20 倍,检测限低至 1.8 nmol/L。此外,该探针成功应用于小鼠肝损伤模型中的生物成像,通过监测体内外 HClO 浓度的波动来诊断和可视化药物性肝损伤,并评估保肝药物的解毒作用。

Liang 等^[24]设计了一种新型的基于 BODIPY 的 NIR 比率型荧光探针 8,如图 9 所示,该探针

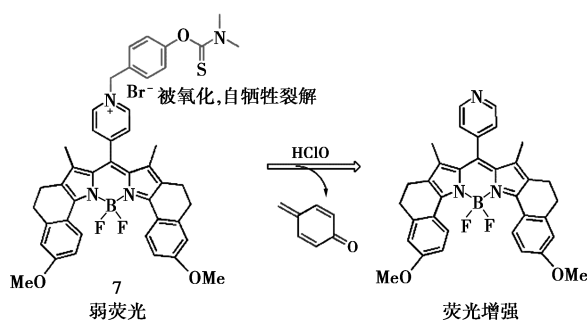


图 8 探针 7 的响应机理

Fig.8 Response mechanism of probe 7

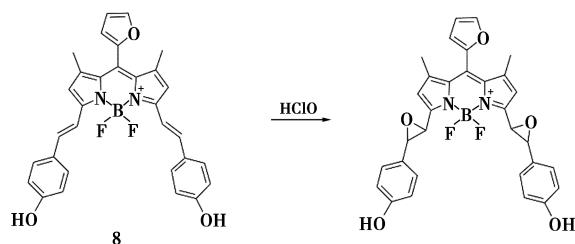


图 9 探针 8 的响应机理

Fig.9 Response mechanism of probe 8

HClO 具有高度选择性和敏感性,检测限为 16.74 nmol/L,响应时间短于 60 s。探针在 700 nm 处有荧光发射,当加入 HClO 后,荧光发射蓝移,在 530 nm 有显著的荧光发射,其荧光强度比 ($I_{530\text{ nm}}/I_{700\text{ nm}}$)增加了约 1 200 倍。该探针被成功地应用于 HClO 检测的便携式测试条装置,此外探针可以实时监测活体中的 HClO 水平。

2 H_2O_2 荧光探针

H_2O_2 是几种细胞过程的有效生物标志物,如细胞中的蛋白质折叠、生长、信号、分化和迁移^[25]。 H_2O_2 在生物合成、宿主防御和细胞信号等多种生物过程中也起着重要作用。 H_2O_2 同时是重要的微量营养物质,在人体生理过程中起着至关重要的作用, H_2O_2 浓度失调会引起氧化应激、衰老和一些严重疾病,包括阿尔茨海默病、心血管疾病和癌症^[26]。用于检测生理性 H_2O_2 的荧光探针已经引起了广泛的关注。

An 等^[27]基于 BODIPY 四唑衍生物,开发了 4 种用于原位检测 H_2O_2 的“开-关”型荧光探针 9~12,如图 10 所示。将四唑部分与 BODIPY 骨架以不同的方式连接,从而制得 BODIPY 四唑衍生物。通过光学点击反应,对位连接和间位连接的 BODIPY 四唑衍生物对富马酸二甲酯的响应良好,其中间位连接的 BODIPY 四唑衍生物的反应

活性最好。所得吡唑啉环加合物(9-pyr 和 10-pyr)的荧光强度显著降低。然而,经 H_2O_2 进一步处理后,母体 BODIPY 四唑衍生物的荧光完全恢复。进一步制备了水溶性的 BODIPY 四唑衍生物,并将其作为“开-关”荧光探针,用于初始生物正交原位生成和 HeLa 细胞内的 H_2O_2 可视化成像。

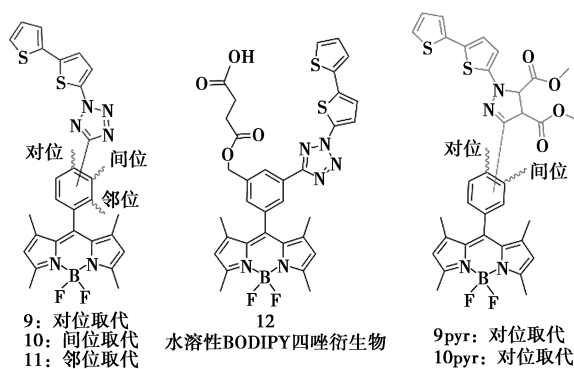


图 10 探针 9~12 的化学结构

Fig.10 Chemical structures of probe 9~12

Xu 等^[28]合成了一种基于 PET 效应的靶向溶酶体的 H_2O_2 荧光探针 13,如图 11 所示,该探针的硒代吗啉基团具有靶向和结合位点作用, BODIPY 作为荧光团。当从 pH 7 降至 pH 3 时,硒代吗啉基团中的氨基氮原子发生质子化,通过抑制 PET 效应,导致探针在 504 nm 处的荧光增强。该探针的 pKa 值为 4.78,在溶酶体的 pH 范围之内。当在酸性溶液中额外加入 H_2O_2 时,在 504 nm 处的荧光强度明显增强,这是因于硒代吗啉基团的硒原子发生了氧化还原反应,导致 PET 效应中断。该探针成功应用于活细胞和正常斑马鱼溶酶体中内源性/外源性 H_2O_2 的检测。

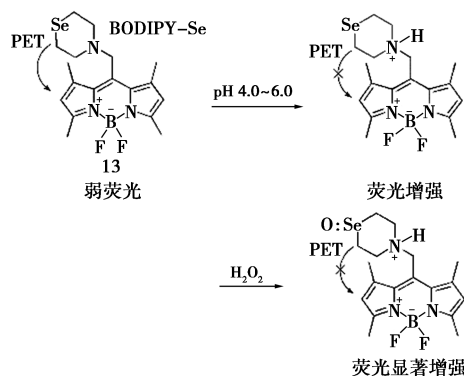


图 11 探针 13 的响应机理

Fig.11 Response mechanism of probe 13

Mao 等^[29]采用常见的硼酸酯氧化裂解方法

和 ICT 过程,通过以氮杂 BODIPY 为荧光团,亲水性聚乙烯乙二醇生物素片段作为靶向基团,频哪醇硼酸盐作为识别单元,设计了一种 NIR 比率型荧光探针 14,如图 12 所示。通过引入羰基作为缺电子连接点来调节 ICT 诱导的波长位移,探针 14 的两个末端官能团能对溶液中 H_2O_2 产生比率型 NIR 响应,并用于体内和体外 H_2O_2 的可视化传感。

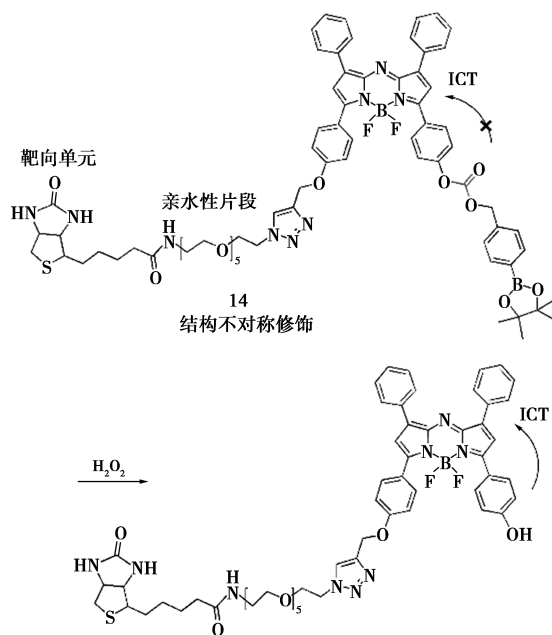


图 12 探针 14 的响应机理

Fig.12 Response mechanism of probe 14

Namkoong 等^[30]开发了两种针对 H_2O_2 的荧光增强型电化学发光(ECL)荧光传感器 15、16,

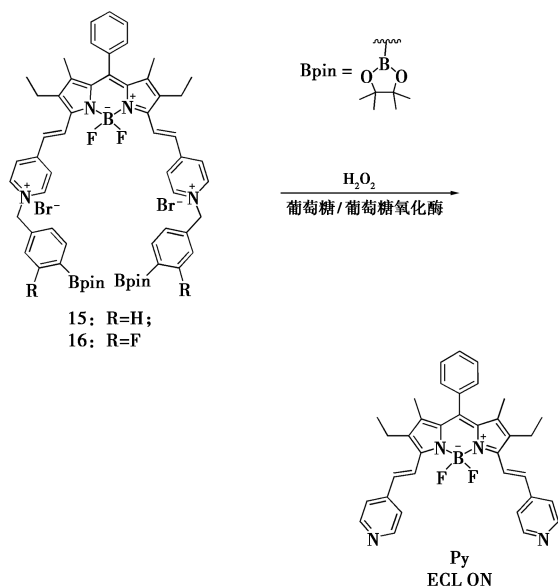


图 13 探针 15、16 的响应机理

Fig.13 Response mechanism of probe 15 and 16

如图 13 所示。将连接了吡啶的 BODIPY 与频哪醇硼基基部分连接,这两者分别作为 ECL 响应基团和对 H_2O_2 的反应部位。Py 优异的电化学稳定性使其能够通过 ECL 通道灵敏可靠地检测 H_2O_2 。与不含氟相比,相邻的氟原子增强了硼酸盐对 H_2O_2 的反应性,氟化反应加速了 H_2O_2 的检测。

Wei 等^[31]通过将吸电子的内消旋亚甲基丙二腈与 BODIPY 巧妙结合,研制了一种新型荧光探针 17,如图 14 所示。该探针表现出对水溶液和活细胞中 H_2O_2 检测的较高选择性和灵敏度。加入 H_2O_2 后,在 540 nm 处出现了强烈的荧光发射,相应的量子产率从 0.009 变为 0.13。这可能是由于双键的快速加入和氧化所致。该探针的检出限为 31 nmol/L,适用于 pH 值范围为 6~10。在 H_2O_2 和佛波醇乙酯(PMA)存在下,RAW264.7 细胞内荧光显著增强。

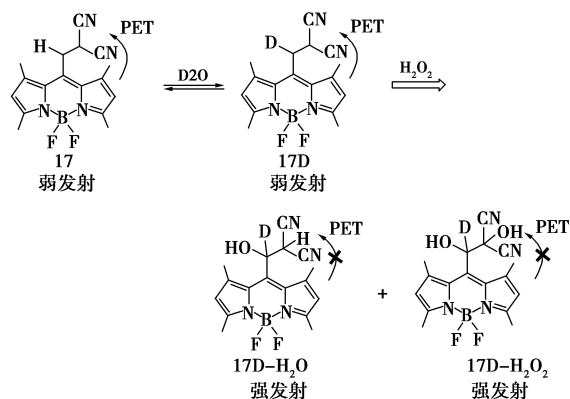


图 14 探针 17 的响应机理

Fig.14 Response mechanism of probe 17

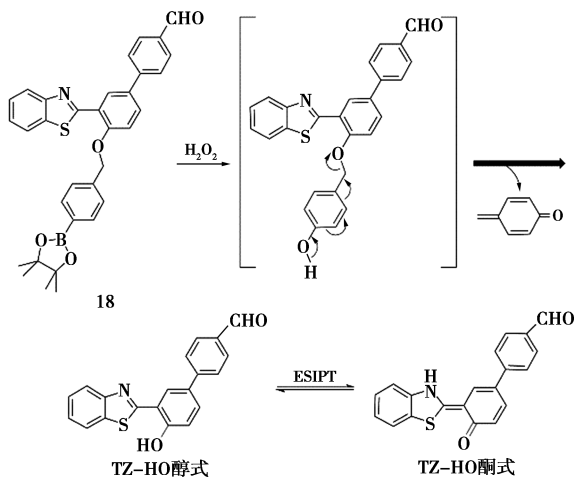


图 15 探针 18 的响应机理

Fig.15 Response mechanism of probe 18

Tang 等^[32]基于苯并噻唑的激发态分子内质子转移(ESIPT)发光机理,设计了一种新型的用于检测 H_2O_2 的荧光化学传感器 18,如图 15 所示。当荧光团附着在硼酸酯部分时,该探针由于分子内相互作用而显示出微弱的荧光。当加入的 H_2O_2 与硼酸酯反应,硼酸酯基团分离,荧光团上的羟基恢复并形成潜在的荧光探针 TZ-HO。基于 ESIPT,TZ-HO 通过由烯醇式到激发态酮式的瞬间转换,显示出强的荧光信号。该探针用于检测水介质中的 H_2O_2 及细胞中的外源 H_2O_2 ,检测限为 $1\ \mu\text{mol/L}$,具有极低的细胞毒性。

3 $^1\text{O}_2$ 荧光探针

$^1\text{O}_2$ 属于 ROS 的一种,可以通过酶促代谢及非酶的化学反应或在光动力治疗期间发生光化学反应等形成。 $^1\text{O}_2$ 是一种细胞毒活性物质,在大多数真核细胞中内源性产生,并参与许多生化过程,包括凋亡反应等^[33]。 $^1\text{O}_2$ 的检测对于阐明其在生理和病理过程中的作用机制非常重要。

Filatov 等^[34]设计并合成了一系列新型无重原子、荧光量子产率高的 BODIPY-蒽光敏剂 19~22,如图 16 所示。自旋轨道电荷转移谱系间跳跃机制(SOCT-ISC)是三重态产生的机制。在 $^1\text{O}_2$ 的存在下,形成了相应的双环氧化物 BODIPY 衍生物。水溶性的 BODIPY 衍生物成功地应用于细胞中单线态氧的检测。

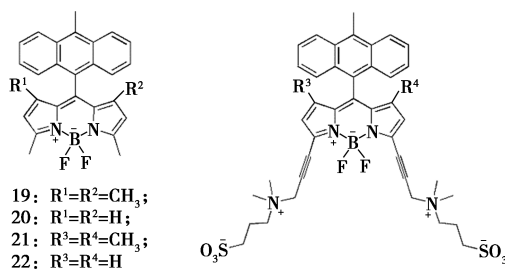


图 16 探针 19~22 的化学结构

Fig.16 Chemical structures of probe 19~22

Kaya 等^[35]以 BODIPY 为荧光团、咪唑环为 $^1\text{O}_2$ 响应基团,研制了两种 $^1\text{O}_2$ 荧光探针 23 和 24,如图 17 所示。两种探针均可选择性地与 $^1\text{O}_2$ 在氯仿中形成相应的内过氧化物加合物,其中 $^1\text{O}_2$ 由四苯基卟啉的氧饱和氯仿溶液经红色 LED 光照射后产生。这导致探针 23 在 $510\ \text{nm}$ 处、探针 24 在 $575\ \text{nm}$ 处的发射光谱均有大幅度增加。探针 23 成功应用于细胞培养中 $^1\text{O}_2$ 的成像。

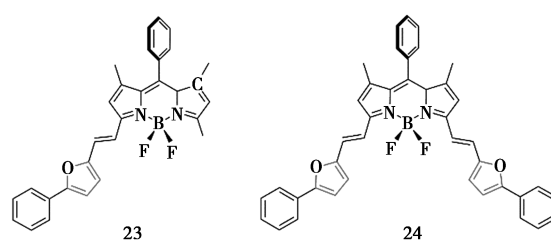


图 17 探针 23、24 的化学结构

Fig.17 Chemical structures of probe 23 and 24

4 $\cdot\text{OH}$ 荧光探针

$\cdot\text{OH}$ 作为 ROS 的一种,含有一个未成对电子,具有极强的氧化能力,主要在细胞内线粒体电子传递过程中形成,线粒体的髓过氧化物酶可催化 O_2 生成 $\cdot\text{OH}$ 。 $\cdot\text{OH}$ 在生物系统中可以迅速与生物分子发生反应,导致细胞损伤甚至凋亡。由于 $\cdot\text{OH}$ 重要的生物学意义,高效的 $\cdot\text{OH}$ 荧光探针被广泛应用^[36]。

Lei 等^[37]设计了一种用于测定 $\cdot\text{OH}$ 的新型荧光探针 25,如图 18 所示。在探针溶液中加入 $\cdot\text{OH}$ 后,导致该探针的一个氯原子被羟基取代形成非荧光产物, $514\ \text{nm}$ 处的荧光猝灭。该探针的检测限低至 $11\ \text{nmol/L}$,荧光强度与 $\cdot\text{OH}$ 浓度在 $0.1\sim 120\ \mu\text{mol/L}$ 范围内呈良好的线性关系。该探针可以特异性地识别 $\cdot\text{OH}$,细胞毒性低,并且具有良好的生物相容性,可用于活细胞中的 $\cdot\text{OH}$ 成像。

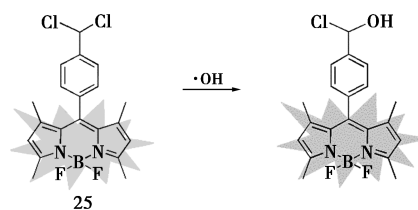


图 18 探针 25 的响应机理

Fig.18 Response mechanism of probe 25

Qu 等^[38]利用 PET 效应,设计了两种 NIR 增强型荧光探针 26 和 27,如图 19 所示。通过利用三苯基膦作为识别位点以及 BODIPY 染料作为荧光团来识别 $\cdot\text{OH}$ 。在 $\cdot\text{OH}$ 作用下,三苯基膦被氧化形成了三苯基氧化膦,因此从三苯基磷酸酯孤对电子到 BODIPY 荧光团的 PET 作用被阻断,从而在 $665\ \text{nm}$ 处能观察到荧光的显著增强。该荧光探针的检测限为 $10\ \mu\text{mol/L}$,表现出在含有高含量 ROS/RNS 背景下,几乎不受干扰。同时该荧光探针对于 $\cdot\text{OH}$ 有选择性,用于 HeLa 细胞中羟基

自由基的生物成像,几乎没有细胞毒性。

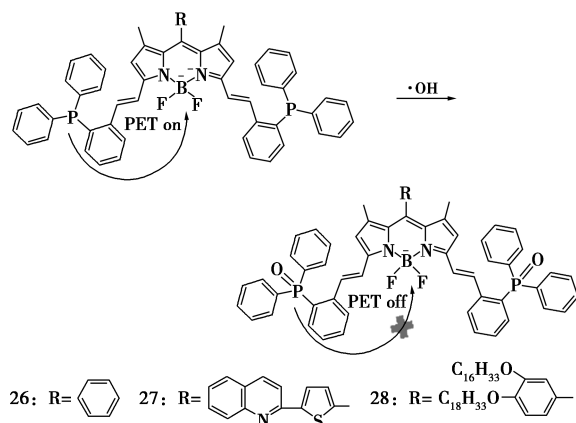


图 19 探针 26~28 的响应机理

Fig.19 Response mechanism of probe 26~28

基于相同的识别基团和响应机理,2020 年,Qu 等^[39]构建了一种对 $\cdot\text{OH}$ 敏感的增强型荧光探针 28,如图 19 所示。加入 $\cdot\text{OH}$ 后,观察到在 650 nm 处有典型的 BODIPY 荧光团强发射。该探针用于十四烷酰佛波醇乙酸酯 $\cdot\text{OH}$ 的检测,表现出灵敏度高、选择性好、细胞毒性低等优势。

5 $\cdot\text{O}_2^-$ 荧光探针

$\cdot\text{O}_2^-$ 是人类生命必需的另一种重要 ROS,特别是在细胞生长和代谢过程中,但 $\cdot\text{O}_2^-$ 的过度表达可能导致严重疾病。基于这一事实,许多荧光探针被开发应用于超氧化物的检测^[40]。

Deshmukh 等^[41]制备了一种新型含苯硒基 BODIPY 探针 29,如图 20 所示,用于选择性检测 $\cdot\text{O}_2^-$,检测限为 4.42 $\mu\text{mol/L}$ 。该探针在加入 KO_2 后,在 526 nm 处发出强烈的绿色荧光,且荧光强度增加 11 倍。这是由于硒被 $\cdot\text{O}_2^-$ 氧化后,硒化苯基无法将电子转移到 BODIPY 部分,最终 PET 效应消除,探针产生了荧光。细胞毒性研究显示有 95% 细胞存活率,对 MCF-7 细胞株荧光显微镜成像表明该探针可用于选择性和敏感检测细胞内 $\cdot\text{O}_2^-$ 。

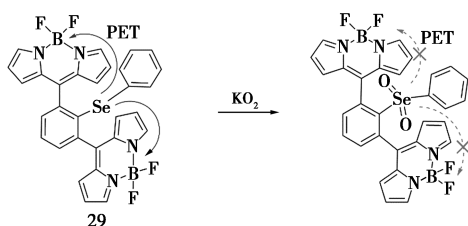


图 20 探针 29 的响应机理

Fig.20 Response mechanism of probe 29

Madibone 等^[42]制备了一种基于环联硒化物 BODIPY 探针 30(如图 21 所示)用于选择性检测 $\cdot\text{O}_2^-$,其选择响应性较其他 ROS 高 9 倍。探针的检测限为 0.924 $\mu\text{mol/L}$ 。在 $\cdot\text{O}_2^-$ 存在下,探针在 521 nm 处荧光强度显著增加。这是由于该探针的硒被 $\cdot\text{O}_2^-$ 氧化,硒中心没有电子从环联硒化物转移到 BODIPY 核心,PET 过程被阻断。哺乳动物乳腺癌细胞株中 $\cdot\text{O}_2^-$ 的选择性检测研究表明,该探针具有体内检测 $\cdot\text{O}_2^-$ 的实用性。

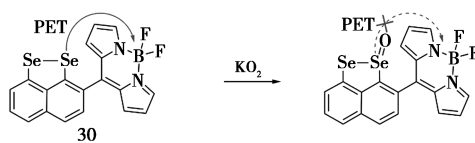


图 21 探针 30 的响应机理

Fig.21 Response mechanism of probe 30

Li 等^[43]开发了一种新型基于 BODIPY 的荧光探针 31,如图 22 所示。当加入 KO_2 ,探针中的磷酸盐键被 $\cdot\text{O}_2^-$ 选择性裂解。氧化后,紧接着新生成的酚羟基通过 1,6-消除反应切断碳酸酯键,同时释放 BODIPY-COOH 荧光团。该探针对 $\cdot\text{O}_2^-$ 具有良好的选择性,不受其他 ROS 的干扰,并成功地应用于 RAW264.7 细胞中内源性 $\cdot\text{O}_2^-$ 的荧光成像。

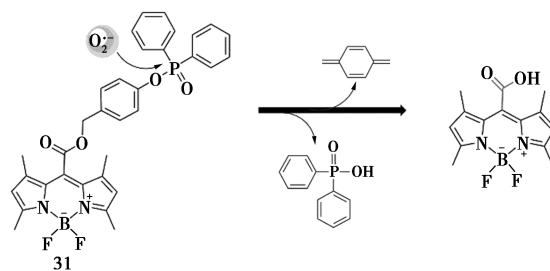


图 22 探针 31 的响应机理

Fig.22 Response mechanism of probe 31

6 HOBr 荧光探针

HOBr 是一种重要的 ROS,化学性质和物理性质均与 HOCl 具有高度相似性。与其他 ROS 类似,HOBr 的过量生成会损伤机体,导致炎症组织损伤和各种疾病^[44]。

由于缺乏区分特异的荧光探针来监测由嗜酸粒细胞过氧化酶(EPO)产生的次溴酸和由 MPO 产生的次溴酸,Kim 等^[45]开发了一种 BODIPY 探针 32(如图 23 所示)来检测 HOBr,该探针对于 HOBr 具有高的动力学选择性($\geq 1\ 200:1$)。当在

探针溶液中加入由 EPO 产生的次溴酸后,由于产生的卤化化合物在发射 J-聚集体的自组装作用,探针荧光增强。该探针显示出高的灵敏度(LOD 为 0.09 ng/mL)和快速的响应性(≤ 2 s)。因此,该探针可用于在癌细胞氧化应激和活小鼠免疫反应的 EPO 活性成像。

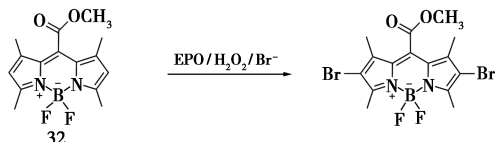


图 23 探针 32 的响应机理

Fig.23 Response mechanism of probe 32

7 结论及展望

由于 BODIPY 染料的显著特性,如摩尔吸光系数大、光稳定性良好、荧光量子产率较高、生物毒性低等, BODIPY 荧光探针得以快速发展。ROS 在信号传导和病理状态中起重要作用,利用荧光探针检测 ROS 物质已经得到了广泛认可。尽管许多研究者致力于开发基于 BODIPY 荧光团的 ROS 探针,但还存在很多挑战。目前该类近红外探针的发射波长大多数在近红外一区(650~900 nm)范围内,在信噪比和组织穿透深度等方面仍然存在不足,而发射波长大于 900 nm(近红外二区)的荧光探针能较好地解决传统近红外荧光探针的问题。因此,开发具有更深层组织穿透能力、高信噪比的近红外二区 BODIPY 荧光团的 ROS 探针可能成为未来研究的热点领域。此外,兼具水溶性及体内靶向能力的 BODIPY 荧光探针的研究较少,尚需继续深入研究。更重要的是,该类探针大多数还停留在细胞成像和动物活体成像阶段,而真正的实际应用还很少见。相信 BODIPY 荧光团在未来仍将是检测 ROS 荧光探针发展的重点之一。

参考文献:

[1] TREIBS A, KREUZER F H. Difluoroboryl-Komplexe von di- und tripyrrylmethenen[J]. *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 1968, **718**(1): 208-223.

[2] LIM S, HAQUE M M, SU D, et al. Development of a BODIPY-based fluorescent probe for imaging pathological tau aggregates in live cells[J]. *Chem. Commun.*, 2017, **53**(10): 1 607-1 610.

[3] CHEN X X, NIU L Y, SHAO N, et al. BODIPY-based fluorescent probe for dual-channel detection of nitric oxide and glutathione: Visualization of cross-talk in living cells[J]. *Anal. Chem.*, 2019, **91**(7): 4 301-4 306.

[4] QIN Y, LIU X, JIA P P, et al. BODIPY-based macrocycles[J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2020, **49**(16): 5 678-5 703.

[5] MEI Y, LI H, SONG C Z, et al. An 8-arylselenium BODIPY fluorescent probe for rapid and sensitive discrimination of biothiols in living cells[J]. *Chem. Commun.*, 2021, **57**(79): 10 198-10 201.

[6] ZHANG Y, ZHANG J, SU M, et al. Rational molecular design of a reversible BODIPY-based fluorescent probe for real-time imaging of GSH dynamics in living cells[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2021, **175**: 112 866.

[7] SONG Y, TAO J, WANG Y, et al. A novel dual-responsive fluorescent probe for the detection of copper(II) and nickel(II) based on BODIPY derivatives[J]. *Inorg. Chim. Acta*, 2021, **516**: 120 099.

[8] KSENOFONTOV A A, BOCHAROV P S, KSENOFONTOVA K V, et al. Water-soluble BODIPY-based fluorescent probe for BSA and HSA detection[J]. *J. Mol. Liq.*, 2022, **345**: 117 031.

[9] 朱金彪, 闫力强, 吴雄志. 基于氟硼二吡咯亚甲基荧光探针的研究进展[J]. *化学试剂*, 2022, **44**(5): 633-642.

[10] KOWADA T, MAEDA H, KIKUCHI K. BODIPY-based probes for the fluorescence imaging of biomolecules in living cells[J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2015, **44**(14): 4 953-4 972.

[11] SHI Z, HAN X, HU W, et al. Bioapplications of small molecule Aza-BODIPY: From rational structural design to in vivo investigations[J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2020, **49**(21): 7 533-7 567.

[12] BOENS N, LEEN V, DEHAEN W. Fluorescent indicators based on BODIPY[J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2012, **41**(3): 1 130-1 172.

[13] ZHANG T, MA C, SUN T, et al. Unadulterated BODIPY nanoparticles for biomedical applications[J]. *Coord. Chem. Rev.*, 2019, **390**: 76-85.

[14] WU L, SEDGWICK A C, SUN X, et al. Reaction-based fluorescent probes for the detection and imaging of reactive oxygen, nitrogen, and sulfur species[J]. *Acc. Chem. Res.*, 2019, **52**(9): 2 582-2 597.

[15] CHENG P, ZHANG J, HUANG J, et al. Near-infrared fluorescence probes to detect reactive oxygen species for keloid diagnosis[J]. *Chem. Sci.*, 2018, **9**(30): 6 340-

- 6 347.
- [16] JIAO X, LI Y, NIU J, et al. Small-molecule fluorescent probes for imaging and detection of reactive oxygen, nitrogen, and sulfur species in biological systems [J]. *Anal. Chem.*, 2018, **90**(1): 533-555.
- [17] KANG J, HUO F, ZHANG Y, et al. Detecting intracellular ClO^- with ratiometric fluorescent signal and its application in vivo [J]. *Sensor. Actuat. B*, 2018, **273**: 1 532-1 538.
- [18] HUANG C, QIAN Y. A fast-responded lysosomal-targeted fluorescent probe based on BODIPY with low limit detection for hypochlorous acid and its application of intracellular hypochlorous acid bioimaging [J]. *Opt. Mater.*, 2019, **92**: 53-59.
- [19] WANG X, TAO Y, ZHANG J, et al. Selective detection and visualization of exogenous/endogenous hypochlorous acid in living cells using a BODIPY-based red-emitting fluorescent probe [J]. *Chem. Asian J.*, 2020, **15**(6): 770-774.
- [20] HALDAR U, SHARMA R, RUIDAS B, et al. Toward rapid and selective detection of hypochlorous acid in pure aqueous media and its application to cell imaging: BODIPY-derived water-soluble macromolecular chemosensor with high sensitivity [J]. *Dyes Pigm.*, 2020, **172**: 107 858.
- [21] SHI W J, FENG L X, WANG X, et al. A near-infrared-emission aza-BODIPY-based fluorescent probe for fast, selective, and “turn-on” detection of HClO/ClO^- [J]. *Talanta*, 2021, **233**: 122 581.
- [22] LENG J, NIE W, YUAN L, et al. A BODIPY-diaminomaleonitrile based water-soluble fluorescent probe for selective “off-on” detection of hypochlorite [J]. *ChemistrySelect*, 2022, **7**(12): e202 200 378.
- [23] FAN G, WANG N, ZHANG J, et al. BODIPY-based near-infrared fluorescent probe for diagnosis drug-induced liver injury via imaging of HClO in cells and in vivo [J]. *Dyes Pigm.*, 2022, **199**: 110 073.
- [24] LIANG Y, CHEN Z, LIU Q, et al. A NIR BODIPY-based ratiometric fluorescent probe for HClO detection with high selectivity and sensitivity in real water samples and living zebrafish [J]. *Spectrochim. Acta A*, 2023, **290**: 122 268.
- [25] WANG M, MA J, GUAN X, et al. A novel H_2O_2 electrochemical sensor based on NiCo_2S_4 functionalized reduced graphene oxide [J]. *J. Alloys Compd.*, 2019, **784**: 827-833.
- [26] LEONARDI S G, ALOISIO D, DONATO N, et al. Amperometric sensing of H_2O_2 using Pt- TiO_2 /reduced graphene oxide nanocomposites [J]. *ChemElectroChem*, 2014, **1**(3): 617-624.
- [27] AN P, LEWANDOWSKI T M, LIN Q. Design and synthesis of a BODIPY-tetrazole based “off-on” in-cell fluorescence reporter of hydrogen peroxide [J]. *ChemBioChem*, 2018, **19**(12): 1 326-1 333.
- [28] XU C, QIAN Y. A selenamorpholine-based redox-responsive fluorescent probe for targeting lysosome and visualizing exogenous/endogenous hydrogen peroxide in living cells and zebrafish [J]. *J. Mater. Chem. B*, 2019, **7**(16): 2 714-2 721.
- [29] MAO W, ZHU M, YAN C, et al. Rational design of ratiometric near-infrared Aza-BODIPY-based fluorescent probe for in vivo imaging of endogenous hydrogen peroxide [J]. *ACS Appl. Bio. Mater.*, 2020, **3**(1): 45-52.
- [30] NAMKOONG Y, OH J, HONG J I. Electrochemiluminescent detection of glucose in human serum by BODIPY-based chemodosimeters for hydrogen peroxide using accelerated self-immolation of boronates [J]. *Chem. Commun.*, 2020, **56**(55): 7 577-7 580.
- [31] WEI Y F, WANG X, SHI W J, et al. A novel methylenemalononitrile-BODIPY-based fluorescent probe for highly selective detection of hydrogen peroxide in living cells [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2021, **226**: 113 828.
- [32] TANG J, LI F, LIU C, et al. Attractive benzothiazole-based fluorescence probe for the highly efficient detection of hydrogen peroxide [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2022, **1 214**: 339 939.
- [33] KWON N, KIM D, SWAMY K M K, et al. Metal-coordinated fluorescent and luminescent probes for reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) [J]. *Coord. Chem. Rev.*, 2021, **427**: 213 581.
- [34] FILATOV M A, KARUTHEDATH S, POLESTSHUK P M, et al. Generation of triplet excited states via photoinduced electron transfer in meso-anthra-BODIPY: Fluorogenic response toward singlet oxygen in solution and in vitro [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, **139**(18): 6 282-6 285.
- [35] KAYA S, ISMAIEL Y A, KWON N, et al. Imaging of intracellular singlet oxygen with bright BODIPY dyes [J]. *Dyes Pigm.*, 2021, **188**: 109 158.
- [36] CHEN X, WANG F, HYUN J Y, et al. Recent progress in the development of fluorescent, luminescent and colori-

- metric probes for detection of reactive oxygen and nitrogen species [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2016, **45**(10): 2 976-3 016.
- [37] LEI K, SUN M, DU L, et al. Sensitive determination of endogenous hydroxyl radical in live cell by a BODIPY based fluorescent probe [J]. *Talanta*, 2017, **170**: 314-321.
- [38] QU X, SONG W, SHEN Z. A highly selective NIR fluorescent turn-on probe for hydroxyl radical and its application in living cell images [J]. *Front. Chem.*, 2019, **7**: 598.
- [39] QU X, BIAN Y, CHEN Y, et al. A sensitive BODIPY-based fluorescent probe for detecting endogenous hydroxyl radicals in living cells [J]. *RSC Adv.*, 2020, **10**(48): 28 705-28 710.
- [40] MAEDA H, YAMAMOTO K, NOMURA Y, et al. A design of fluorescent probes for superoxide based on a non-redox mechanism [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**(1): 68-69.
- [41] DESHMUKH P P, NAVALKAR A, MAJI S K, et al. Phenylselenenyl containing turn-on dibodipy probe for selective detection of superoxide in mammalian breast cancer cell line [J]. *Sensor. Actuat. B*, 2019, **281**: 8-13.
- [42] MADIBONE K S, DESHMUKH P P, NAVALKAR A, et al. Cyclic organoselenide BODIPY-based probe: Targeting superoxide in MCF-7 cancer cells [J]. *ACS Omega*, 2020, **5**(23): 14 186-14 193.
- [43] LI Z, LI S, LV H, et al. BODIPY-based rapid response fluorescence probe for sensing and bioimaging endogenous superoxide anion in living cells [J]. *Spectrochim. Acta A*, 2022, **269**: 120 766.
- [44] GORRINI C, HARRIS I S, MAK T W. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy [J]. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2013, **12**(12): 931-947.
- [45] KIM T I, HWANG B, LEE B, et al. Selective monitoring and imaging of eosinophil peroxidase activity with a J-Aggregating probe [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2018, **140**(37): 11 771-11 776.

酸致变色染料的应用研究进展

孟德泉, 单斌*, 谭伟强, 马继平

(青岛理工大学 环境与市政工程学院, 山东 青岛 266520)

摘要:酸致变色染料是指在一定范围内其颜色可随 pH 值的改变发生可逆变化的一类功能染料。基于酸致变色染料开发的 pH 传感器, 可广泛应用于生物工程、健康监测、食品安全、环境监测等研究领域。按照染料的结构类型, 简要介绍了酸致变色染料的变色机理, 详细总结了近几年在相关领域的应用研究进展。最后对该类染料的发展方向进行了展望, 旨在为酸致变色染料的设计开发和应用研究提供新的视角。

关键词:酸致变色染料; pH 指示剂; 变色机理; pH 传感器

中图分类号:TQ617 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2023)05-0021-12

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0043

Research Progress in the Application of Halochromic Dyes MENG De-quan, SHAN Bin*, TAN Wei-qiang, MA Ji-ping (School of Environmental and Municipal Engineering, Qingdao University of Technology, Qingdao 266520, China)

Abstract: Halochromic dyes are a kind of functional dye, the color of which can change reversibly with the change of pH value in a certain range. A series of pH sensors explored from halochromic dyes can be widely used in biological engineering, health monitoring, food safety, environmental monitoring, and other research fields. According to the classification of dyes, the mechanisms of halochromic dyes were briefly introduced and the application research progress in related fields in recent years was summarized in detail. Finally, the development direction was prospected, with the aim to provide a new perspective for the design and application of halochromic dyes.

Key words: halochromic dyes; pH indicators; discoloration mechanism; pH sensors

染料是一种具有特定共轭结构的有机化学产品。随着社会经济的快速发展, 染料早已不只在纺织行业得到应用, 更在生物、电子、信息等高新技术领域发挥着巨大的作用^[1]。变色染料作为一种具有特殊性能及广阔应用前景的功能染料, 引起了人们广泛关注。致使染料发生变色的因素有光照、温度、pH 值及溶剂效应等, 而由这些因素引起的染料颜色变化可以作为一种重要的视觉信号。目前, 常见的变色染料主要包括光致变色、热致变色、离子致变色、电致变色和溶剂致变色等类型^[2]。其中, 关于光致和热致变色染料的研究较多, 相关产品也已投入消费市场^[3,4]。酸碱度的变化同样能使多种染料发生变色效应, 此类染料被称为酸致变色染料或 pH 值敏感型染料。

酸致变色染料是指在一定范围内其颜色可随 pH 值的改变发生可逆变化的一类功能染料。酸致变色属于离子致变色的一种, 与其相关的研究正逐渐增多^[5]。许多化学反应过程中都不可避免地会发生酸碱度的改变, 而颜色变化作为一种直观的视觉信号, 对监测这些反应过程中 pH 值

的变化具有重要意义。酸致变色染料最初主要用作分析化学中测定酸碱滴定终点的酸碱指示剂, 但随着现代仪器分析方法的发展, 这种传统应用的重要性已经逐渐降低。尤其是近年来, 基于酸致变色染料开发的 pH 传感器, 更广泛地应用于生物医学工程、生理健康监测、食品包装、环境科学与工程等领域^[6]。

本文从酸致变色染料的结构出发, 简单介绍了其常见结构类型与酸致变色机理, 并按照酸致变色染料的应用领域, 较为详细地综述了近年来在生物工程、健康监测、食品安全、环境监测等领域的应用研究进展(见图 1), 同时对该类染料的未来发展进行了展望, 力求为酸致变色染料的设计开发和应用研究提供新的视角。

收稿日期: 2023-01-30; 网络首发日期: 2023-02-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21808118)。

作者简介: 孟德泉(1997-), 男, 山东济宁人, 硕士生, 主要研究方向为功能染料合成及应用。

通讯作者: 单斌, E-mail: shanbin@qut.edu.cn。

引用本文: 孟德泉, 单斌, 谭伟强, 等. 酸致变色染料的应用研究进展[J]. 化学试剂, 2023, 45(5): 21-32。

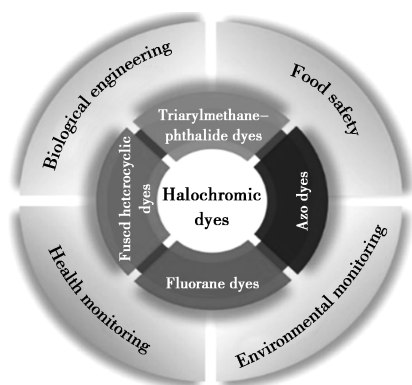


图 1 酸致变色染料的分类及其应用领域

Fig.1 Classification and application of halochromic dyes

1 酸致变色染料的结构及变色机理

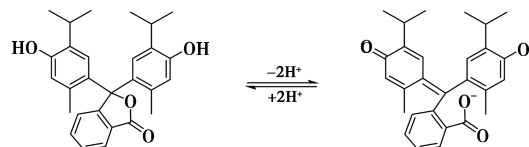
按照化学结构来分,常见的酸致变色染料大致可分为三芳甲烷苯酞类、荧烷类、偶氮类、稠杂环类等多种类型^[7]。其中,荧烷类酸致变色染料也多是三芳甲烷结构为母体的荧光染料。这些类型的酸致变色染料在发生颜色变化时,主要是染料分子在质子化或去质子化过程中发生开环反应或同分异构现象,从而引起最大吸收波长发生红移或蓝移,分别称为正酸致变色染料和负酸致变色染料^[8]。

1.1 三芳甲烷苯酞类

三芳甲烷类染料由芳环上带有卤素、烷基、烷氧基、磺酸基和羧基等取代基的三芳基甲烷主链组成,其颜色取决于这些取代基的性质、数量和位置。它可分为三苯基甲烷、二苯萘甲烷和杂化三苯基甲烷衍生物等类型^[9],常见的染料有玫瑰红酸、媒介蓝、孔雀石绿、结晶紫等^[10]。该类染料能够在一定 pH 值范围内呈现出明显的颜色变化,同时具有良好的变色可逆性。这其中研究最多的是三芳甲烷苯酞类染料,主要包括酚酞、邻甲酚酞、百里酚酞、 α -萘酚酞等^[11-13]。除此之外,酚红、甲酚红、溴酚蓝、百里酚蓝、溴百里酚蓝、溴甲酚绿、溴甲酚紫等磺酞类染料也属于以三芳甲烷结构为母体的酞类酸致变色染料的常见类别^[14,15]。

许多三芳甲烷苯酞类染料在酸性条件下以内酯形式存在,呈无色;在碱性条件下以醌形式存在,为深着色^[16]。以百里酚酞(Thymolphthalein)为例,其碱性条件下表现为蓝色的醌式结构,而当 pH 值下降时,便会得到质子形成无色的内酯结

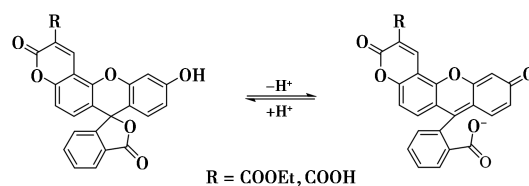
构^[17],其互变异构如图 2 所示。三芳甲烷苯酞类酸致变色染料在碱性 pH 值范围内具有较好的选择性和重现性,主要表现为由无色到红、紫或蓝色的颜色变化^[18]。

图 2 百里酚酞的酸致变色机理^[17]Fig.2 Halochromic mechanism of thymolphthalein^[17]

1.2 荧烷类

荧烷类染料是一种以氧杂蒽为基础的咕吨类染料,常用作荧光探针。其中,以荧光素^[19]和罗丹明^[20]为母体的荧烷类酸致变色染料研究较多。此外,其结构中还可能包含吡咯硼、香豆素、苯并菲、磷杂菲、席夫碱、噻唑、吡啶、吡喃、吡啶、吡喃等基团^[21,22]。

以文献报道的荧光素/香豆素型荧烷染料(CF)为例,染料在酸性条件下为无色,但在碱的作用下,荧烷分子中心碳原子构成的内酯环打开,形成大共轭结构而显色,同时常表现出荧光响应,并且这种显色反应是可逆的,其互变异构如图 3 所示^[23]。该类染料选择性好、pH 值灵敏度高,并且其紫外光谱或荧光光谱可随 pH 值发生可逆变化,常被用于细胞、生物体等环境中的 pH 值监测^[24,25]。

图 3 荧烷染料 CF 的酸致变色机理^[23]Fig.3 Halochromic mechanism of fluorane dyes CF^[23]

1.3 偶氮类

偶氮染料由一个或多个偶氮基两端连接芳基的一类有机化合物^[26]。偶氮染料种类繁多,合成相对简单,具有色光鲜艳、发色强度高和亲和力高的特点,是最丰富的染料类别之一。常见的指示剂如甲基红、甲基橙、刚果红等都属于偶氮类染料。该类染料结构中常存在着偶氮/胺或偶氮/脒的互变异构,因此在不同酸碱环境中常呈现出一定的颜色差异^[27]。

氨基偶氮染料存在偶氮和胺的异构体,如图

4a 所示^[28],文献报道了一种接枝水性聚氨酯的氨基偶氮苯染料(AZO-CO-WPU),其酸致变色现象是由于叔胺在酸性条件下质子化形成了胺异构体,而在碱性条件下又变为偶氮形式。羟基偶氮染料则存在偶氮/肼的同分异构体,如图 4b 所示^[29],酸性红 26(Acid Red 26)分子结构中的 O—H 基团具有与偶氮键形成氢键的能力,从而形成肼式结构。当 pH 值较高时,有利于去质子化的偶氮体,而在酸性条件下,肼式结构的占比会逐渐增大,因此染料颜色随 pH 值发生变化。偶氮类酸致变色染料色彩鲜艳,合成方法简便,应用较为广泛。此外,为了解决部分染料 pH 敏感性差、颜色变化不明显、pH 变色范围宽、吸光系数低及容易造成测量误差等缺点,研究人员设计开发了一系列新型偶氮类酸致变色染料,同时结合分子动力学和密度泛函理论计算等方法对其变色行为进行系统研究,具有良好的应用前景^[30]。

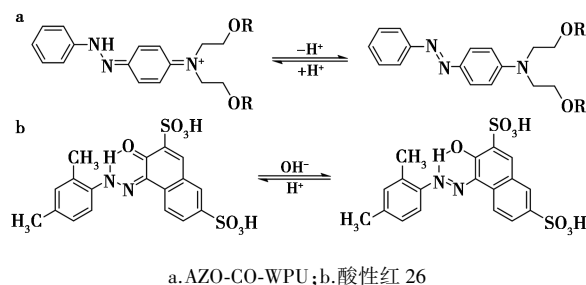


图 4 两种偶氮染料的酸致变色机理^[28,29]

Fig.4 Halochromic mechanism of two azo dyes^[28,29]

1.4 稠杂环等其他类

许多稠杂环类染料因含有吩噻、吩噁、吩噻、苯并呋喃、苯并吡喃等杂环结构,具有较好的酸致变色性能^[31,32]。比如,中性红、藏红 T 等染料含吩噻类结构,常用作酸碱指示剂、氧化还原指示剂及生物染色剂,其变色机理同样基于质子化或去质子化引起的染料共轭结构的改变^[33]。

部分天然染料因含有醌类、类黄酮类、多酚类、二酮类、生物碱类等化合物的特征结构,对 pH 值也具有较强的敏感性。其中,石蕊(Litmus)是从地衣植物中提取得到的天然色素,主要成分是 7-羟基吩噻酮类结构发色体。在酸性溶液中,它可结合质子生成红色阳离子 HL^+ ;在碱性溶液中,它又可消除一个质子生成蓝色阴离子 L^- ,其互变异构如图 5 所示^[34]。

此外,天然染料中研究较多的花青素属于类黄酮化合物,其基本结构母核是 2-苯基苯并吡

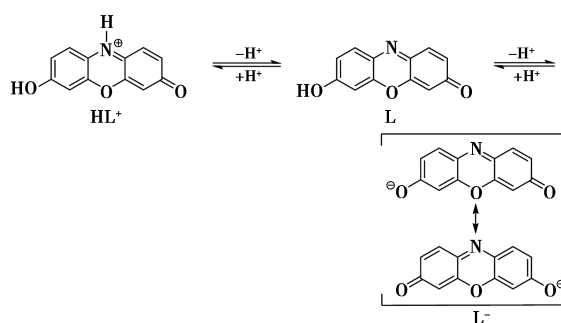


图 5 石蕊的酸致变色机理^[34]

Fig.5 Halochromic mechanism of litmus^[34]

喃^[35];茜素、紫草素则分别属于蒽醌、萘醌类天然色素;姜黄素是从姜科及天南星科植物根茎中提取的一种二酮类化合物。这些天然染料绿色无害,无生物毒性,具有较好的酸致变色性能,可以更加放心地应用于健康监测或食品包装等领域^[36]。

2 酸致变色染料的应用

酸致变色染料因其优异的 pH 变色可视性和可逆性,自被发现以来引起了科研者的极大兴趣。基于酸致变色染料开发的 pH 传感器可广泛应用于生物工程、健康监测、食品安全、环境监测等研究领域。将该类染料与纤维素、纳米材料、高分子聚合物、金属有机骨架及纺织品等基质结合制备成复合材料,可进一步改善染料实际应用性能,拓宽酸致变色染料的应用场景^[37-40]。

2.1 生物工程

在生物学中,pH 值与细胞生命活动、细菌及病毒的生长繁殖有着千丝万缕、不可分割的内在联系。细胞在不同生理过程中会引发 pH 值的动态变化,不同的细胞器所处环境的酸碱度也有所不同。利用酸致变色染料对环境 pH 值敏感的特性,可以实现对线粒体与溶酶体等细胞器的 pH 值监测及对细菌生长、核酸扩增等生物反应过程的可视检测^[41,42]。文献报道的几种酸致变色染料在生物工程领域的应用性能如表 1 所示。

细胞内 pH 值是与细胞代谢、生长和分裂、凋亡、耐药性和酶活性等细胞行为和生理过程相关的重要参数。细胞内 pH 值异常会破坏细胞的正常生理功能,甚至导致严重的疾病。因此,准确测定细胞内 pH 值对某些疾病的诊断和治疗非常重要。荧光染料具有优异的光学性质,灵敏度高、毒

表 1 酸致变色染料在生物工程领域的应用^注

Tab.1 Application of halochromic dyes in biological engineering

使用染料名称	pH 响应范围	颜色变化	应用	文献
荧光素/半花菁染料 Mito-pH	6.15~8.38	紫 $\rightleftharpoons$ 红	检测细胞线粒体 pH 值	[43]
磺胺罗丹明探针 Probe 8	4.2~7.6	无 $\rightleftharpoons$ 红	检测细胞线粒体 pH 值	[44]
半花菁染料 AH ⁺ /BH ⁺	4.0~10.1	蓝紫-蓝绿	检测细胞线粒体 pH 值	[45]
罗丹明/喹啉染料 Dyad	3.0~9.0	红 $\rightleftharpoons$ 绿	监测细胞溶酶体 pH 值	[46]
荧光探针 BFFPH	2.5~12.2	无 $\rightleftharpoons$ 橙	检测大肠杆菌活细胞	[47]
甲基红	—	黄 $\rightleftharpoons$ 暗红	检测产醋酸菌群	[48]
酚红/甲酚红/中性红	6.0~8.8	黄 $\rightleftharpoons$ 红/ 黄 $\rightleftharpoons$ 红/ 粉 $\rightleftharpoons$ 橙	核酸扩增目视检测	[49]
孔雀石绿	—	绿 $\rightleftharpoons$ 无	疟疾扩增检测	[50]

注:—表示引用参考文献中未提及,下同。

性低,在细胞成像相关领域得到了广泛应用。基于荧光团接枝特定靶向基团合成的酸致变色染料,可实现定位目标检测及实时监测 pH 值的目的。Chen 等^[43]通过将 pH 值敏感的异硫氰酸酯荧光素(FITC)与 pH 值不敏感的半花菁基团结合,构建了一种比率型 pH 传感器(Mito-pH),并应用于线粒体的 pH 值检测,其 pH 值线性响应范围为 6.15~8.38。Qiu 等^[44]开发了一系列具有磺胺罗丹明结构的 pH 探针,并将筛选出的 pKa 值为 5.584 的 pH 探针(Probe 8)成功用于精确测量线粒体 pH 值的变化,该探针在 pH 4.2~7.4 之间具有良好的可逆性,同时通过研究高葡萄糖浓度下正常细胞和癌细胞之间线粒体 pH 值的巨大差异,为抗癌策略提供新的思路。

线粒体及溶酶体能否在细胞中发挥其独特的功能很大程度上取决于其 pH 值。通过染料质子化和去质子化作用可实现对线粒体及溶酶体 pH 值变化的比率荧光检测。Yan 等^[45]通过将二硫代缩醛和甲醛残基连接到半花菁染料上制备了比率型近红外荧光探针(AH⁺和 BH⁺),其 pKa 值分别为 6.85、6.49,两支探针均对 pH 值变化有肉眼可见的颜色变化和显著的比率荧光响应,并在检测活细胞线粒体的 pH 值中得到应用。Srivastava 等^[46]将含有罗丹明和喹啉结构的染料(Dyad)共价附着在羧基化的聚苯乙烯纳米粒子(PSNPs)表面,如图 6a 所示,所开发的 pH 纳米传感器在 pH

3.0~9.0 范围内呈现出肉眼可见的颜色变化,可用于细胞溶酶体的 pH 值监测。

大肠杆菌和金黄色葡萄球菌是威胁疾病的两大致病菌,而敏感和特异的生物传感器可以检测细菌的存在,从而帮助控制由此产生的疾病。Mohamed 等^[47]制备了一种基于氧杂蒽衍生物的荧光探针(BFFPH),该探针对于碱性 pH 值具有较高的敏感性和选择性,pKa 值分别为 8.82、10.66,可实现较宽 pH 值范围(2.5~12.2)内的 pH 值监测,并将其作为比色化学传感器成功应用于在共聚焦荧光显微镜下检测大肠杆菌中,其作用机理如图 6b 所示。pH 值对细菌的生长繁殖起着关键作用,而 pH 值在 4.0~4.5 之间通常有利于细菌纤维素的生产。Kumar 等^[48]在含有乙醇和 CaCO₃ 的培养基中加入甲基红(Methyl Red, MR)作为 pH 值指示剂,利用 MR 在碱性 pH 值下呈黄

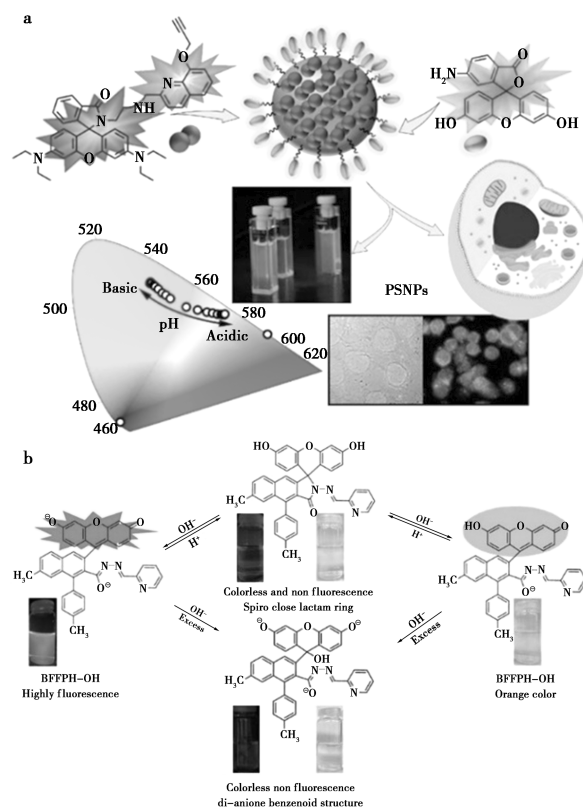


图 6 a.基于罗丹明/喹啉染料的多色聚苯乙烯纳米传感器用于监测细胞 pH 值^[46];b.基于荧光探针 BFFPH 的比色化学传感器用于大肠杆菌检测及其作用机理^[47]

Fig.6 a.Multicolor polystyrene nanosensor for monitoring pH value of cellular based on rhodamine/quinoline dye^[46];b.Colorimetric chemosensor for detection of Escherichia coli based on fluorescence probe BFFPH and its mechanism^[47]

色、在酸性 pH 值下变为暗红色的特性,可以清晰的分辨低 pH 值的产醋酸菌群。此方法具有快速、准确、灵敏的特点,可用于产醋酸细菌特别是产纤维素醋酸杆菌的筛选。

核酸扩增是生命科学领域从基础研究到临床诊断的重要工具。扩增比色检测是一种普遍适用的核酸扩增目视检测方法,因为它不需要专门、昂贵的仪器,就可使分子诊断检测能够立即进行。利用酸致变色染料的低成本、可视化及灵活性的特点,使等温放大技术得以充分实现。Tanner 等^[49]在环介导等温扩增(LAMP)反应中利用酚红(Phenol Red)、甲酚红(Cresol Red)、中性红(Neutral Red)等酸致变色染料可实现快速(<30 min)、灵敏地核酸扩增目视检测,该方法利用了在最小缓冲能力下进行的扩增反应所产生的 pH 值变化,使核酸扩增反应的目视检测变得更加容易。Zen 等^[50]介绍了一种基于孔雀石绿(Malachite Green)等酸致变色染料的 LAMP 检测方法,在 pH 8.8、染料浓度为 125 μmol/L 的缓冲液中,颜色变化最为明显。用该方法检测了 4 种疟原虫和健康献血者等 71 份临床血样,其敏感性和特异性均为 100%,是一种简单、低成本的疟疾诊断方法。

2.2 健康监测

近年来,智能可穿戴设备在柔性电子器件和各种功能材料的研发基础上得到了飞速发展。将酸致变色染料与柔性基质结合能够实时监测动物及人体体液如汗液、伤口组织液等一系列与 pH 值有关的生理参数,这对于丰富智能可穿戴传感器功能以及监测人体的生理健康有着积极意义^[51-54]。文献报道的几种酸致变色染料在健康监测领域的应用性能如表 2 所示。

表 2 酸致变色染料在健康监测领域的应用

Tab.2 Application of halochromic dyes in health monitoring				
使用染料名称	pH 响应范围	颜色变化	应用	文献
溴甲酚紫	4.0~7.0	黄↔蓝	监测人体汗液的贴片	[55]
三氰呋喃脲探针	4.0~8.0	黄↔紫	监测人体汗液的棉签	[56]
溴甲酚绿	2.5~6.9	黄↔蓝	监测皮肤表面 pH 值的贴片	[57]
甲基红/溴百里酚蓝/酚酞	5.0~9.0	红↔黄/黄↔蓝/无↔紫红	监测皮肤组织的 pH 传感器	[58]

续表

使用染料名称	pH 响应范围	颜色变化	应用	文献
茜素/花青素	2.0~11.0	橙↔紫/品红↔黄	监测伤口愈合的敷料	[59]
蝶豆花花青素	2.0~12.0	红↔蓝↔绿	监测伤口愈合的敷料	[60]
二苯甲酮偶氮染料 DyeA	7.9~9.3	黄↔蓝紫	测定模拟小肠液 pH 值	[61]
H 酸偶氮染料 DyeI	3.2~4.0	红↔蓝	监测模拟胃液 pH 值	[62]

汗液是一种生物液体,主要由水组成,同时含有电解质和其他成分,如尿素、丙酮酸和乳酸等。排汗是降低因体育锻炼而引起的人体体温升高的主要过程,而实时汗液分析对于监测运动期间的生理状况非常重要。研究表明,在运动时,人体出汗的 pH 值一般在 5.0~7.0 之间。Morris 等^[55]将溴甲酚紫(Bromocresol Purple)固着在莱卡、涤纶等纺织品上,用以实时监控人体汗液的 pH 值。通过织物的毛细管效应收集皮肤表面的汗液,当汗液的 pH 值超过指示剂的 pKa 后,纺织品就会呈现出由黄到蓝的颜色变化,这种变化可以用一种 LED 探测器通过测量漫反射光的方法监控,并在 5 min 内完成变色。因此,高吸水性材料可以作为酸致变色染料的承载基质,用以监测人体汗液的 pH 变化。Abdelrahman 等^[56]将三氰呋喃脲探针(Hydrazone Probe)封装在海藻酸钙微胶囊内,并负载在高吸水性棉织物上,开发了一种可实时监测汗液 pH 值的棉签,根据介质 pH 值由酸性转为碱性时,肉眼可见的由浅黄变为深黄、橙色和紫色的颜色变化,能够实时跟踪人体汗液的变化。

皮肤是人体最大的器官,这使得它很容易成为对人体进行健康诊断的器官。一般来说,皮肤表面的典型 pH 值范围在 4.0~6.0 之间。Finnegan 等^[57]以溴甲酚绿(Bromocresol Green)为 pH 指示剂,开发了一种简单、可穿戴的 pH 比色传感器,用于皮肤表面 pH 值监测,如图 7a 所示。研究结果表明,传感器的感应点会因皮肤释放的氨或胺等挥发性含氮化合物而发生颜色变化。尽管不同个体之间存在一定的差异,但传感器颜色反应和皮肤表面 pH 值之间具有很强的相关性。Yetisen 等^[58]基于甲基红(Methyl Red)、溴百里酚蓝(Bromothymol Blue)和酚酞(Phenolphthalein)指示剂,开发了一种微创可注射真皮生物传感器,用于测量猪皮肤组织中的 pH 值、葡萄糖和白蛋白浓度,其 pH 值响应范围为 5.0~9.0,并且可通过

通过检测包装内的气体含量来评估真空包装后的包装完整性。Yusufu 等^[65]以邻甲酚酞(*o*-Cresolphthalein)为 pH 指示剂,制备了一种可以检测空气中极低 CO₂ 浓度的比色真空压力传感器,根据指示剂在去质子化和质子化时不同的颜色变化,在真空包装中得到很好的应用。贮藏过程中成熟代谢物引起的 CO₂ 水平的变化改变了 pH 值,而包装容器内部的 CO₂ 含量可用于表明水果的成熟程度。Noiwan 等^[66]制备了含有溴百里酚蓝(Bromothymol Blue)和甲基红(Methyl Red)指示剂的甲基纤维素膜,用于监测水果的成熟度。如图 8a 所示,成熟代谢物引起的 CO₂ 水平的变化改变了包装内的 pH 值,由此产生的颜色变化与芒果中的 CO₂ 含量有很好的相关性,可很好地确认芒果的最低、半成熟和完全成熟水平。

智能包装中新鲜度指标的潜在作用不仅在于保护消费者免受食物中毒,还在于通过提供更动态的“最佳食用日期”来减少食物浪费和提高可持续性。Rong 等^[67]以溴百里酚蓝(Bromothymol Blue)为 pH 指示剂,将羧甲基纤维素钠与卡拉胶混合溶液浇铸干燥,制得一种新型智能标签(CNCB),标签可以根据包装内由 CO₂ 浓度变化所引起的颜色变化来指示鲜切木瓜的新鲜度。AL-obaidi 等^[68]以酚红(Phenol Red)和溴百里酚蓝(Bromothymol Blue)为指示剂,制备了一种三层 CO₂ 敏感智能标签,监测真空包装条件下的鸡胸肉的新鲜度。研究表明,酚红指示剂标签的颜色变化更为明显,二氧化碳含量的增加与颜色的变化密切相关。

新鲜的蛋白质类食品如海鲜、家禽肉蛋奶以及新鲜的水果等都存在腐烂变质的风险,人误食后可能会导致腹泻呕吐等一系列的症状,这一现象在闷热的夏季尤为明显。新鲜食品变质过程中所释放的气体如氨气会引起包装内环境 pH 的变化,利用酸致变色染料可对食品新鲜度进行直观的比色监测。Mohammadalinejad 等^[69]将从紫牡丹花(EAE)中提取的花青素掺入细菌纤维素膜中制备了一种智能指示膜,并用于监测包装虾的新鲜度。指示膜对虾在不同阶段有明显的颜色响应,这些颜色变化与虾的总挥发性盐基氮(TVB-N)、活菌总数(TVC)变化一致,与 pH 值具有良好的相关性,可通过颜色变化直观地识别虾的腐败程度。Ezati 等^[70]通过将茜素(Alizarin)掺入淀粉-纤维素纸中,制备了一种新型的 pH 敏感指示

剂,用于监测虹鳟鱼片的新鲜度。茜素-淀粉-纤维素指示剂(ASC)在 pH 2.0~11.0 范围内具有从黄到紫明显的颜色变化,且 ASC 从橙色到红棕色的颜色变化与鱼肉中 TVB-N 的含量完全一致。

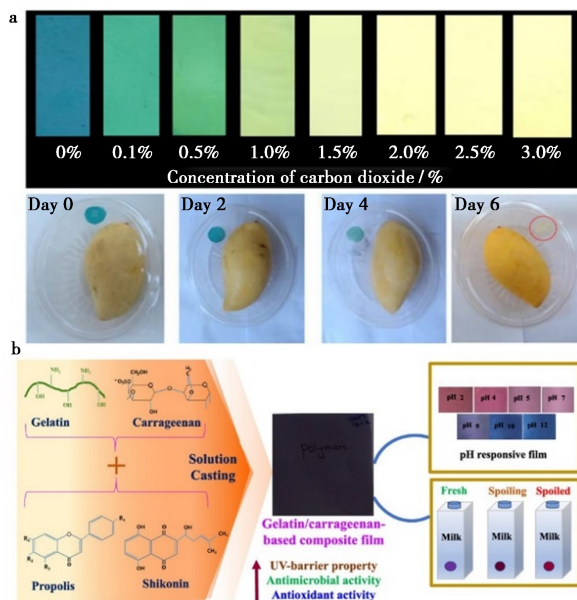


图 8 a.基于溴百里酚蓝和甲基红的 CO₂ 指示膜用于监测芒果的成熟度^[66];b.基于紫草素的智能显色膜用于监测牛奶的新鲜度^[72]

Fig.8 a.CO₂ indicator film for monitoring the ripeness quality of mango based on bromothymol blue/methyl red^[66];b.Smart color-indicator film for monitoring the freshness of milk based on shikonin^[72]

基于对人体安全健康的考虑,目前研究较多的食品包装用酸致变色染料主要集中在花青素、紫草素、茜素等天然染料上。将该类染料与纤维素等可降解物质结合制得的智能薄膜作为食品包装更加符合绿色环保的健康理念。另外,此类与众不同新奇食品包装无疑也会勾起消费者的兴趣,激发消费行为。Moradi 等^[71]开发了一种基于黑胡萝卜花青素(CA)和细菌纳米纤维素的智能 pH 传感器,在 pH 2.0~11.0 的范围内,根据传感器在鱼片的生鲜阶段、最佳食用阶段和变质阶段不同的颜色变化,监测虹鳟鱼和鲤鱼鱼片在贮藏期间的新鲜度及腐败情况。Roy 等^[72]以紫草素(Shikonin)和蜂胶为原料制备了多功能智能变色复合膜,如图 8b 所示。从紫草根中提取的紫草素溶液在 pH 2.0~12.0 的范围内表现出优异的 pH 值变色响应性能,具有良好的气敏性和稳定性,能有效地监测包装牛奶的新鲜度。

2.4 环境监测

酸致变色染料对酸或碱性物质有良好的敏感性。在环境监测领域,除用于传统的水体 pH 值检测外,还可用于监测二氧化碳(CO₂)、氯化氢(HCl)及氨气(NH₃)等酸性或碱性气体的泄露,以及检测空气湿度的变化及其他环境指标等^[73,74]。文献报道的几种酸致变色染料在环境监测领域的应用性能如表 4 所示。

表 4 酸致变色染料在环境监测领域的应用

使用染料名称	pH 响应范围	颜色变化	应用	文献
中性红	5.9~8.2	红 $\rightleftharpoons$ 橙黄	检测二氧化碳的传感器	[75]
甲酚红	7.2~8.8	黄 $\rightleftharpoons$ 紫	检测二氧化碳的疏水膜	[76]
甲基橙/ 刚果红	—	橙 $\rightleftharpoons$ 黄绿/ 灰绿 $\rightleftharpoons$ 深橙	检测 NH ₃ 和 HCl 的薄膜	[77]
芳腈型染料	—	黄 $\rightleftharpoons$ 蓝	检测 NH ₃ 的气凝胶	[78]
茜素	2~12	黄 $\rightleftharpoons$ 紫	检测 NH ₃ 和醋酸蒸汽的指示膜	[79]
偶氮染料 TPESHD	7.25~12.5	黄 $\rightleftharpoons$ 蓝	检测氨及 Cu ²⁺ 的检测条	[80]
偶氮染料 AZO	1.0~6.1	黄 $\rightleftharpoons$ 紫	检测湿度和溶剂中水的复合材料	[81]
甲酚红/百里 酚蓝	1.2~7.0	红 $\rightleftharpoons$ 黄/ 紫 $\rightleftharpoons$ 黄	检测湿度的涤纶织物	[82]

全球 CO₂ 水平增加严重影响着地球生物的生存,因此用于监测 CO₂ 浓度的传感器在环境保护中愈发重要。越来越多的国家将“双碳”目标上升为国家战略,具有监测环境中 CO₂ 功能的气体传感器也受到极大关注。Ericson 等^[75]以中性红(Neutral Red)为指示剂,将其用作 CO₂ 传感器,在 pH 7.3 的缓冲介质中,指示剂的光学灵敏度随吸收光谱和发射光谱的变化而变化,对溶解氧的敏感性为零,对 CO₂ 的检出限可达 2.11 mmol/L。Jeong 等^[76]用甲酚红(Cresol Red)与胺类聚合物(支链聚乙烯亚胺)和芳香聚合物结合制备了一种疏水薄膜,可用于检测干燥环境下的 CO₂。支化聚乙烯亚胺上的胺基可与 CO₂ 发生反应生成铵离子,薄膜的颜色从紫色变为黄色,颜色变化的程度取决于 CO₂ 暴露时间和添加到薄膜中的支链聚乙烯亚胺的量。

NH₃ 和 HCl 等挥发性气体都是工业生产中

的常见气体,但它们是有毒和腐蚀性物质,可能威胁人类健康和环境。因此,有必要研制一种方便、灵敏、可靠的酸碱气体检测装置。Li 等^[77]开发了一种基于甲基橙(Methyl Orange)、刚果红(Congo Red)等指示剂和咪唑结构增敏剂的 pH 响应型超薄膜气敏传感器。如图 9a 所示,基于指示剂的质子化和去质子化作用,所制备的 Langmuir-Blodgett (LB)膜对 HCl 及 NH₃ 表现出良好的可视化响应。Al-Qahtani 等^[78]通过在羧甲基纤维素(CMC)基质中加入芳腈型酸致变色染料(Aryl-hydrazonal 3),开发了一种简单、可逆的比色检测气凝胶。该气凝胶对氨表现出显著的敏感性,与氨接触立即从黄色变为蓝色,对 NH₃(aq)的检测限为 1~250 μg/L,并且具有良好的可逆性。

酸致变色染料应用时常需选择合适的承载基质,而羧甲基纤维素、纤维素纳米纤维及醋酸纤维素等材料都可作为该类染料的良好载体。Ezati 等^[79]将茜素(Alizarin)加入到羧甲基纤维素(CMC)和纤维素纳米纤维(CNF)不同类型的两种聚合物中,制备了两种 pH 值响应型指示膜,在 pH 2.0~12.0 的范围内,指示膜呈现明显的由黄到紫的变化,用作智能气体传感器,对氨气和醋酸蒸汽表现出高灵敏度和可逆的颜色变化。在检测酸或碱性气体的同时,某些酸致变色染料还可与环境中的重金属离子形成特定的螯合物或配合物,从而产生颜色变化或荧光响应以达到检测环境金属离子的作用。Aysha 等^[80]合成了一种新型的杂环偶氮染料(TPESHD),以此作为双功能比色化学传感器,可在 pH 7.25~12.5 范围内呈现出由黄色到蓝色的颜色变化,并对乙醇水溶液中的 Cu²⁺具有很好的选择性和灵敏的检测能力,检出限可达 0.63 μmol/L。同时,以染料 TPESHD 和醋酸纤维素制备的检测条对极低浓度的氨溶液(0%~0.12%,V/V)仍具有很高的检测灵敏度。

此外,湿度检测在工业生产和日常生活中发挥着重要作用。在石油工业的气/液有机化工产品生产中,水通常被认为是一种杂质,微量水会严重影响产品的收率、化学活性和应用范围。因此,准确、快速地测定水含量对保持产品的高质量和可靠性非常重要。Yoo 等^[81]将一种 pH 值敏感的偶氮染料(AZO)包覆在分子筛(AlPO₄-5)中制备了复合材料 AZO@AlPO₄-5,用于检测湿度和有机溶剂中的微量水。AlPO₄-5 不仅是酸致变色染料的载体,同时还可促进吸附在其骨架上的水分子

的解离,生成的 H^+ 使偶氮染料质子化,从而产生肉眼可见的颜色变化,灵敏度高,检测范围宽,响应速度快,可重复使用,可应用于工业生产过程和环境监测中。此外,湿度检测在日常生活中也发挥着重要作用。利用湿度引起 pH 值的变化从而使染料发生相应的颜色变化。Zhang 等^[82]以甲酚红(Cresol Red)和百里酚蓝(Thymol Blue)为 pH 值指示剂,以亲水二氧化硅气凝胶为吸湿剂,通过丝网印刷法制备了 2 种湿敏变色涤纶织物(CRP/TBP),如图 9b 所示。利用织物中添加的硼酸随湿度(RH)的变化调节体系 pH 值,从而影响指示剂的变色。当 RH 在 0%~100% 范围变化时,CRP/TBP 颜色变化明显,并且表现出可逆、可重复的湿度敏感性。

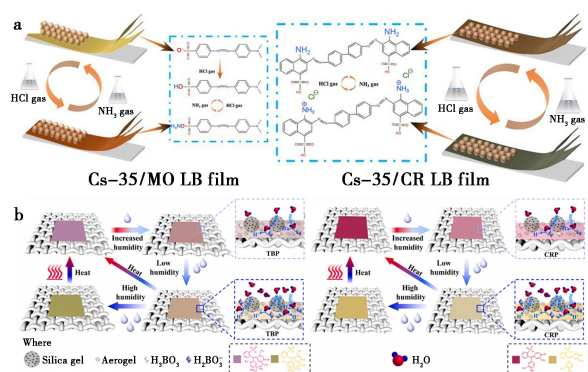


图 9 a.基于甲基橙/刚果红的 LB 膜的酸碱气体响应机理^[77];b.基于甲酚红/百里酚蓝的湿敏变色织物的结构及传感机理^[82]

Fig.9 a. Acid-alkali gases response mechanism of LB films based on MO and CR^[77]; b. Structure and sensing mechanism of humidity-sensitive discoloration fabric based on cresol red and thymol blue^[82]

3 结论与展望

酸致变色染料具有优异的 pH 值敏感性、变色可视性和可逆性,在生物工程、健康监测、食品安全、环境监测等研究领域展现出了良好的应用性能,具有广阔的工业化前景。此外,随着人们对酸致变色染料应用研究的日益深入,基于此类功能染料与各种基质结合开发的 pH 传感器,在传感方面展现出了较为强劲的发展势头。然而,对于酸致变色染料的开发应用尚需考虑诸多因素,如染料结构与性能的关系、灵敏度和稳定性及安全性以及承载基质的影响等问题。因此,后续研究应主要从以下几个方向进行。

3.1 染料的酸致变色性能取决于染料的结构,

染料结构的不同直接导致其性能的差异,染料的应用领域和应用效果也与其分子结构密切相关。针对不同类型的酸致变色染料,需要系统研究染料分子结构与其酸致变色性能的关系,探究酸致变色染料分子结构中的发色团、助色团等因素对其 pH 值敏感性和变色范围的影响,并结合分子动力学和密度泛函理论计算等方法,对该类染料的可逆变色机理进行更深入系统地研究。

3.2 酸致变色染料的灵敏度、稳定性与安全性等指标是制约其应用性能的重要因素。研究时需要根据不同的应用环境,优选特定 pH 值变色范围的染料,使其更加符合不同环境的应用需求,同时继续拓展酸致变色染料的种类,开发性能更加优异、环境友好、生态环保的新型酸致变色染料,并研究染料的酸致变色灵敏度、变色响应速度、可逆性与重复使用性、可靠性、稳定性与安全性等指标;此外,针对具有绿色健康优势的天然染料,有效解决制约其提取、色光、牢度性能及稳定性的难题,更好地应用于健康监测、食品包装等领域。

3.3 酸致变色染料根据其不同的应用领域,有时需要选择特定的承载基质,而承载基质也会对染料的酸致变色性能产生一定影响。目前文献报道的承载基质主要为纳米材料、薄膜材料、多功能聚合物及纤维织物等,其相应的制备技术主要包括溶胶-凝胶法、掺杂负载、染色及涂层印刷等方法。通过研究酸致变色染料不同的承载基质、传感器制备工艺及染料与承载基质间的结合关系,将为高性能 pH 值传感器的研究开发提供理论指导,也会进一步拓展酸致变色染料的发展方向和应用领域。

参考文献:

- [1] 张淑芬.中国染料工业现状与发展趋势[J].化工学报, 2019, **70**(10): 3 704-3 711.
- [2] CHRISTIE R M. Chromic materials for technical textile applications[M]. Advances in the Dyeing and Finishing of Technical Textiles. Cambridge: Woodhead Publishing, 2013.
- [3] CHENG Y, ZHANG X, FANG C, et al. Discoloration mechanism, structures and recent applications of thermochromic materials via different methods: A review[J]. J. Mater. Sci. Technol., 2018, **34**(12): 2 225-2 234.
- [4] GULATI G K, GULATI L K, KUMAR S. Recent progress in multi-stimulable photochromic oxazines with their wide-ranging applications [J]. Dyes Pigm., 2021, **192**: 109 445.

- [5] SCHUEREN L V D, CLERCK K D. Coloration and application of pH-sensitive dyes on textile materials[J]. *Color. Technol.*, 2012, **128**(2): 82-90.
- [6] KHAN M I, MUKHERJEE K, SHOUKAT R, et al. A review on pH sensitive materials for sensors and detection methods[J]. *Microsyst. Technol.*, 2017, **23**(10): 4 391-4 404.
- [7] BAMFIELD P. Chromic phenomena: Technological applications of colour chemistry[M]. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2010.
- [8] SCHUEREN L V D, CLERCK K D. The use of pH-indicator dyes for pH-sensitive textile materials[J]. *Text. Res. J.*, 2010, **80**(7): 590-603.
- [9] GERMINARIO G, RIGANTE E C L, VAN DER WERF I D, et al. Pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry of triarylmethane dyes[J]. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 2017, **127**: 229-239.
- [10] NG C H, OHLIN C A, WINTHER-JENSEN B. Characterisation of a series of triarylmethane dyes as light harvesters for photo-electrochemical systems[J]. *Dyes Pigm.*, 2015, **115**: 96-101.
- [11] SABNIS R W. Developments in the chemistry and applications of phthalein dyes. Part 2: Biological applications[J]. *Color. Technol.*, 2018, **134**(5): 347-363.
- [12] TIUFTIAKOV N Y, KALINICHEV A V, RUDENKO I V, et al. pH-dependent distribution of the indicator dye tetrabromophenolphthalein ethyl ester between aqueous solution and plasticized polymeric phase: Predicting the lifetime of ion-selective optical sensors[J]. *Colloid Interface Sci. Commun.*, 2020, **37**: 100 295.
- [13] TAKEZAWA H, AKIBA S, MURASE T, et al. Cavity-directed chromism of phthalein dyes[J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2015, **137**(22): 7 043-7 046.
- [14] MOJBAFAN M, ZANJANCHI F, TAHERKHANI M. The influence of physical factors on the halochromic behavior of the pH-sensitive sulfonphthalein dyes: A DFT study[J]. *Chem. Pap.*, 2020, **74**(12): 4 355-4 363.
- [15] TATINI D, ANSELM E, CABRUCCI G, et al. Ionochromism, solvatochromism and effect of dissolved gases on the spectral properties of bromothymol blue[J]. *J. Mol. Liq.*, 2022, **365**: 120 196.
- [16] SABNIS R W. Developments in the chemistry and applications of phthalein dyes. Part 1: Industrial applications[J]. *Color. Technol.*, 2018, **134**(3): 187-205.
- [17] ASICIOGLU F, TEKIN T, OZBEK N, et al. Prepared disappearing ink and deciphering of documents[J]. *J. Forensic Sci.*, 2019, **64**(6): 1 898-1 905.
- [18] 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.
- [19] BAIG M Z K, OH H, SON Y A. Highly visible bis-heterocyclic acridinium and xanthenium-based dyes: Synthesis, AIEE, and modacrylic dyeing[J]. *Dyes Pigm.*, 2022, **200**: 110 159.
- [20] BAR N, CHOWDHURY P. A brief review on advances in rhodamine B based chromic materials and their prospects[J]. *ACS Appl. Electron. Mater.*, 2022, **4**(8): 3 749-3 771.
- [21] WEN Y, JING N, HUO F, et al. Recent progress of organic small molecule-based fluorescent probes for intracellular pH sensing[J]. *Analyst*, 2021, **146**(24): 7 450-7 463.
- [22] YUE Y, HUO F, LEE S, et al. A review: The trend of progress about pH probes in cell application in recent years[J]. *Analyst*, 2017, **142**(1): 30-41.
- [23] QI S, LI Q, LIU W, et al. Coumarin/fluorescein-fused fluorescent dyes for rapidly monitoring mitochondrial pH changes in living cells[J]. *Spectrochim. Acta A*, 2018, **204**: 590-597.
- [24] OHGAKI R, TERAMURA Y, HAYASHI D, et al. Ratio-metric fluorescence imaging of cell surface pH by poly(ethylene glycol)-phospholipid conjugated with fluorescein isothiocyanate[J]. *Sci. Rep.*, 2017, **7**(1): 1-9.
- [25] 李冬梅, 杨金清, 刘玉芳, 等. 一种新型罗丹明 pH 光学探针的合成及性能研究[J]. *化学试剂*, 2020, **42**(3): 311-314.
- [26] NAIME J, AL MAMUN M S, ALY M A S, et al. Synthesis, characterization and application of a novel polyazo dye as a universal acid-base indicator[J]. *RSC Adv.*, 2022, **12**(43): 28 034-28 042.
- [27] GILANI A G, TAGHVAEI V, RUFCHAH E M, et al. Tautomerism, solvatochromism, preferential solvation, and density functional study of some heteroarylazo dyes[J]. *J. Mol. Liq.*, 2019, **273**: 392-407.
- [28] WANG W, FENG D, ZHANG Y, et al. Development of azobenzene-functionalized eco-friendly waterborne polyurethane with halochromic property[J]. *Mater. Lett.*, 2020, **268**: 127 561.
- [29] VANNUCCI G, CAÑAMARES M V, PRATI S, et al. Analysis of the tautomeric equilibrium of two red mono-azo dyes by UV-Visible, Raman and SERS spectroscopies[J]. *Spectrochim. Acta A*, 2021, **261**: 120 007.
- [30] COELHO F L, DE ÁVILA BRAGA C, ZANOTTO G M, et al. Low pH optical sensor based on benzothiazole azo dyes[J]. *Sensor. Actuat. B*, 2018, **259**: 514-525.
- [31] ŽUTAUTAS V, JELINSKAS T, PAULIUKAITĖ R. A novel sensor for electrochemical pH monitoring based on polyfolate[J]. *J. Electroanal. Chem.*, 2022, **921**: 116 668.
- [32] COELHO F L, DUARTE R, BRAGA C, et al. Benzothiazole merocyanine dyes as middle pH optical sensors[J]. *Dyes Pigm.*, 2020, **176**: 108 193.

- [33] ERICSON M N, SHANKAR S K, CHAHINE L M, et al. Development of neutral red as a pH/pCO₂ luminescent sensor for biological systems [J]. *Chemosensors*, 2021, **9**(8): 210.
- [34] CALDARA M, COLLEONI C, GUIDO E, et al. Optical monitoring of sweat pH by a textile fabric wearable sensor based on covalently bonded litmus-3-glycidoxypolytrimethoxysilane coating [J]. *Sensor. Actuat. B*, 2016, **222**: 213-220.
- [35] WESTON M, PHAN M A T, ARCOT J, et al. Anthocyanin-based sensors derived from food waste as an active use-by date indicator for milk [J]. *Food Chem.*, 2020, **326**: 127 017.
- [36] LUO X, ZAITOON A, LIM L T. A review on colorimetric indicators for monitoring product freshness in intelligent food packaging: Indicator dyes, preparation methods, and applications [J]. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2022, **21**(3): 2 489-2 519.
- [37] SZADKOWSKI B, MANIUKIEWICZ W, RYBIŃSKI P, et al. Bio-friendly stable organic-inorganic hybrid pigments based on carminic acid and porous minerals: Acid/base allochroic behavior and UV-stabilizing effects on ethylene-norbornene copolymer matrix [J]. *J. Environ. Chem. Eng.*, 2022, **10**(5): 108 268.
- [38] BOCCALON E, SASSI P, PIOPI L, et al. Onion skin extract immobilized on Halloysite-layered double hydroxide filler as active pH indicator for food packaging [J]. *Appl. Clay Sci.*, 2022, **227**: 106 592.
- [39] WANG G, HE H, XU J, et al. Preparation of fish freshness colorimetric indicator label based on the dye of BTB grafted on MOF carrier [J]. *Sensor. Actuat. B*, 2022, **354**: 131 230.
- [40] YUE J Y, SONG L P, DING X L, et al. Ratiometric fluorescent pH sensor based on a tunable multivariate covalent organic framework [J]. *Anal. Chem.*, 2022, **94**(31): 11 062-11 069.
- [41] HAN J, BURGESS K. Fluorescent indicators for intracellular pH [J]. *Chem. Rev.*, 2010, **110**(5): 2 709-2 728.
- [42] GUERN F L, MUSSARD V, GAUCHER A, et al. Fluorescein derivatives as fluorescent probes for pH monitoring along recent biological applications [J]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, **21**(23): 9 217.
- [43] CHEN Y, ZHU C, CEN J, et al. Ratiometric detection of pH fluctuation in mitochondria with a new fluorescein/cyanine hybrid sensor [J]. *Chem. Sci.*, 2015, **6**(5): 3 187-3 194.
- [44] QIU J, ZHONG C, LIU M, et al. A tunable pH probe scaffold based on sulfonamide rhodamine and its application in mitochondrial pH research [J]. *Sensor. Actuat. B*, 2022, **371**: 132 606.
- [45] YAN Y, ZHANG Y, XIA S, et al. Ratiometric near-infrared fluorescent probes based on hemicyanine dyes bearing dithioacetal and formal residues for pH detection in mitochondria [J]. *Molecules*, 2021, **26**(7): 2 088.
- [46] SRIVASTAVA P, TAVERNARO I, GENDER C, et al. Multicolor polystyrene nanosensors for the monitoring of acidic, neutral, and basic pH values and cellular uptake studies [J]. *Anal. Chem.*, 2022, **94**(27): 9 656-9 664.
- [47] MOHAMED M B I, AYSHA T S, ELMORSI T M, et al. Colorimetric chemosensor and turn on fluorescence probe for pH monitoring based on xanthene dye derivatives and its bioimaging of living Escherichia coli bacteria [J]. *J. Fluoresc.*, 2020, **30**(3): 601-612.
- [48] KUMAR M, TANOJ N, SARAN S. A modified, efficient and sensitive pH indicator dye method for the screening of acid-producing acetobacter strains having potential application in bio-cellulose production [J]. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2020, **191**(2): 631-636.
- [49] TANNER N A, ZHANG Y, EVANS JR T C. Visual detection of isothermal nucleic acid amplification using pH-sensitive dyes [J]. *Biotechniques*, 2015, **58**(2): 59-68.
- [50] ZEN L P Y, LAI M Y, BINTI ROZLAN S I, et al. End-point detection of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) on malaria by direct observation with colorimetric dyes [J]. *Exp. Parasitol.*, 2022, **239**: 108 310.
- [51] YANG X, YI J, WANG T, et al. Wet-adhesive on-skin sensors based on metal-organic frameworks for wireless monitoring of metabolites in sweat [J]. *Adv. Mater.*, 2022, **34**(44): 2 201 768.
- [52] YIN L, CAO M, KIM K N, et al. A stretchable epidermal sweat sensing platform with an integrated printed battery and electrochromic display [J]. *Nat. Electron.*, 2022, **5**(10): 694-705.
- [53] HONG T, CHOI Y K, LIM T, et al. Elastic halochromic fiber as a reversible pH sensor [J]. *Adv. Mater. Technol.*, 2021, **6**(3): 2 001 058.
- [54] SCHAUDE C, FRÖHLICH E, MEINDL C, et al. The development of indicator cotton swabs for the detection of pH in wounds [J]. *Sensors*, 2017, **17**(6): 1 365.
- [55] MORRIS D, COYLE S, WU Y, et al. Bio-sensing textile based patch with integrated optical detection system for sweat monitoring [J]. *Sensor. Actuat. B*, 2009, **139**(1): 231-236.
- [56] ABDELRAHMAN M S, FOU DA M M G, AJAREM J S, et al. Development of colorimetric cotton swab using molecular switching hydrazone probe in calcium alginate [J]. *J. Mol. Struct.*, 2020, **1 216**: 128 301.
- [57] FINNEGAN M, DUFFY E, MORRIN A. The determination of skin surface pH via the skin volatile emission using wearable colorimetric sensors [J]. *Sens. Bio-Sens. Res.*, 2022, **35**: 100 473.

- [58] YETISEN A K, MOREDDU R, SEIFI S, et al. Dermal tattoo biosensors for colorimetric metabolite detection [J]. *Angew. Chem. Et. Int.*, 2019, **131**(31): 10 616-10 623.
- [59] CUI L, HU J, WANG W, et al. Smart pH response flexible sensor based on calcium alginate fibers incorporated with natural dye for wound healing monitoring [J]. *Cellulose*, 2020, **27**(11): 6 367-6 381.
- [60] KITI K, THANOMSILP C, SUWANTONG O. The potential use of colorimetric pH sensor from *Clitoria ternatea* flower for indicating bacterial infection in wound dressing application [J]. *Microchem. J.*, 2022, **177**: 107 277.
- [61] WANG Y, TANG B, ZHANG S. A visible colorimetric pH sensitive chemosensor based on azo dye of benzophenone [J]. *Dyes Pigm.*, 2011, **91**(3): 294-297.
- [62] SHAN B, DENG Y, TANG B, et al. A new highly sensitive and colorimetric pH indicator derived from 2-amino-5-nitrothiazole and H-acid [J]. *Chem. Lett.*, 2016, **45**(4): 472-474.
- [63] ALIZADEH-SANI M, MOHAMMADIAN E, RHIM J W, et al. pH-sensitive (halochromic) smart packaging films based on natural food colorants for the monitoring of food quality and safety [J]. *Trends Food Sci. Technol.*, 2020, **105**: 93-144.
- [64] ALMASI H, FORGHANI S, MORADI M. Recent advances on intelligent food freshness indicators; an update on natural colorants and methods of preparation [J]. *Food Packag. Shelf Life*, 2022, **32**: 100 839.
- [65] YUSUFU D, MILLS A. A colourimetric vacuum air-pressure indicator [J]. *Analyst*, 2019, **144**(20): 5 947-5 952.
- [66] NOIWAN D, SUPPAKUL P, RACHTANAPUN P. Preparation of methylcellulose film-based CO₂ indicator for monitoring the ripeness quality of mango fruit cv. Nam Dok Mai Si Thong [J]. *Polymers*, 2022, **14**(17): 3 616.
- [67] RONG L, ZHANG T, MA Y, et al. An intelligent label using sodium carboxymethyl cellulose and carrageenan for monitoring the freshness of fresh-cut papaya [J]. *Food Control*, 2023, **145**: 109 420.
- [68] AL-OBAIDI A, KARACA I M, AYHAN Z, et al. Fabrication and validation of CO₂-sensitive indicator to monitor the freshness of poultry meat [J]. *Food Packag. Shelf Life*, 2022, **34**: 100 930.
- [69] MOHAMMADALINEJHAD S, ALMASI H, MORADI M. Immobilization of Echinium amoenum anthocyanins into bacterial cellulose film: A novel colorimetric pH indicator for freshness/spoilage monitoring of shrimp [J]. *Food Control*, 2020, **113**: 107 169.
- [70] EZATI P, TAJIK H, MORADI M, et al. Intelligent pH-sensitive indicator based on starch-cellulose and alizarin dye to track freshness of rainbow trout fillet [J]. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2019, **132**: 157-165.
- [71] MORADI M, TAJIK H, ALMASI H, et al. A novel pH-sensing indicator based on bacterial cellulose nanofibers and black carrot anthocyanins for monitoring fish freshness [J]. *Carbohydr. Polym.*, 2019, **222**: 115 030.
- [72] ROY S, RHIM J W. Preparation of gelatin/carrageenan-based color-indicator film integrated with shikonin and propolis for smart food packaging applications [J]. *ACS Appl. Bio Mater.*, 2020, **4**(1): 770-779.
- [73] WEI K, MA L, MA G, et al. A two-step responsive colorimetric probe for fast detection of formaldehyde in weakly acidic environment [J]. *Dyes Pigm.*, 2019, **165**: 294-300.
- [74] WANG L, JENSEN K, HATZAKIS N, et al. Robust dual optical sensor for pH and dissolved oxygen [J]. *ACS Sens.*, 2022, **7**(5): 1 506-1 513.
- [75] ERICSON M N, SHANKAR S K, CHAHINE L M, et al. Development of neutral red as a pH/pCO₂ luminescent sensor for biological systems [J]. *Chemosensors*, 2021, **9**(8): 210.
- [76] JEONG S, LEE C, LEE J, et al. Hydrophobic films for optical detection of dry carbon dioxide based on ion pairing and an amine polymer [J]. *Korean J. Chem. Eng.*, 2022, **39**(6): 1 597-1 603.
- [77] LI N, ZHAO T, BIAN P, et al. Gas-responsive and self-powered visual composite langmuir-blodgett films for ultrathin gas sensors [J]. *Langmuir*, 2022, **38**(21): 6 761-6 770.
- [78] AL-QAHTANI S D, SNARI R M, AL-AHMED Z A, et al. Novel halochromic hydrazone chromophore immobilized into rice-straw based cellulose aerogel for vapochromic detection of ammonia [J]. *J. Mol. Liq.*, 2022, **350**: 118 539.
- [79] EZATI P, RHIM J W, MORADI M, et al. CMC and CNF-based alizarin incorporated reversible pH-responsive color indicator films [J]. *Carbohydr. Polym.*, 2020, **246**: 116 614.
- [80] AYSHA T S, EL-SEDIK M S, MOHAMED M B I, et al. Dual functional colorimetric and turn-off fluorescence probe based on pyrrolinone ester hydrazone dye derivative for Cu²⁺ monitoring and pH change [J]. *Dyes. Pigm.*, 2019, **170**: 107 549.
- [81] YOO H, KIM H S. Real-time colorimetric water content monitoring of organic solvents by an azo dye incorporated into AlPO₄-5 nanochannel [J]. *J. Mater. Chem. C*, 2019, **7**(24): 7 336-7 343.
- [82] ZHANG J, TAN J, CHEN X, et al. High humidity-sensitive discoloration materials fabricated with pH indicator ingredients [J]. *Dyes Pigm.*, 2021, **195**: 109 740.

烯烃配位聚合的链转移反应以及应用

刘照贺

(中石化(北京)化工研究院有限公司,北京 100013)

摘要:链转移反应在烯烃配位聚合过程中占据重要位置,不仅可以控制聚合物的分子量,甚至还可以利用链转移反应调控聚合物的拓扑结构。以均相催化剂催化烯烃配位聚合过程中的链转移反应为切入点,讨论了常见的链转移反应、向催化体系加入合适的链转移剂合成功能化基团封端的聚烯烃、配位聚合中聚合物链向溶剂甲苯转移的新颖链转移反应,以及通过链转移反应控制聚合物拓扑结构的机理,最后以氢气(H_2)为链转移剂,分别讨论了对非均相催化剂催化乙烯和丙烯聚合活性的影响机制。

关键词:链转移反应;均相催化剂;非均相催化剂;分子量;拓扑结构

中图分类号: O632.12 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)05-0033-08

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0007

Chain Transfer Reactions and Applications in Olefin Coordination Polymerization LIU Zhao-he (SINOPEC (Beijing) Research Institute of Chemical Industry Co., Ltd., Beijing 100013, China)

Abstract: Chain transfer reaction plays an important role in coordination polymerization, which could not only control the average molecular weight of the polymer, but also regulate the topology of the polymer. This review started from the chain transfer reactions in coordination polymerization by using homogeneous catalyst, discussed respectively the usual mode of the chain transfer reactions, the synthesis of chain-end functionalized polyolefin by adding the proper chain transfer agent to the catalytic system, chain transferring to solvent toluene in coordination polymerization as a novel mode, the mechanism of chain transfer reactions affecting polymer topology. In the end, the influence mechanism of H_2 as chain transfer agent in the polymerization activity of ethylene and propylene by using heterogeneous catalyst were discussed in detail.

Key words: chain transfer reactions; homogeneous catalyst; heterogeneous catalyst; average molecular weight; topology

聚烯烃树脂广泛用于人们日常生活的各个方面,其中 Ziegler-Natta 催化剂(ZN 催化剂)在合成聚烯烃树脂领域占据重要位置。通过设计催化剂以及控制聚合条件可以得到不同微观结构的聚烯烃,聚烯烃树脂的结构决定了树脂材料不同的用途。在聚合物微观结构的诸多方面,聚合物的立构规整性是决定聚合物性质和用途最关键因素。如无规聚丙烯是非晶性材料,只能在非常有限的领域使用,如粘合剂或者沥青改性剂;等规聚丙烯为结晶性材料,具有良好的耐热性,广泛用于纤维、食品容器、薄膜等领域,是当今商业上重要的聚合物。因此,科学家们在控制聚合物的立构规整性方面进行了大量的研究,主要包括活性种结构、区域、立构选择性,催化剂结构与聚合物立构规整性的关系等^[1-3]。另外,聚合物的分子量对聚合物的性质也有极大的影响,链转移反应是控制聚合物分子量最有效的方法。然而,对于烯烃聚合中的链转移反应研究相对较少。

ZN 催化剂催化烯烃聚合时,带有聚合物链的活性种经过链转移反应得到新的活性种继续引发

聚合反应,也就是说催化剂通过链转移反应可以引发多条聚合物链,降低催化剂的使用量。因此,链转移反应对活性种浓度、聚合活性、聚合物分子量、聚合物链末端结构甚至聚合物的拓扑结构等方面具有一定的影响。另一方面,链末端功能化的聚烯烃是一种非常有用的聚合物材料,在保持聚烯烃原有的性质条件下,链末端引入的功能基团可以为许多反应提供反应位点,如反应共混、合成嵌段聚合物等。然而链末端功能化聚合物的制备很大程度上局限于活性聚合^[4,5],并且只有少量过渡金属催化剂表现出活性聚合的特征^[6-8]。而链转移反应为聚合物链末端引入极性基团提供了极佳的机会,是合成端基功能化聚烯烃一种简单方便的方法。

收稿日期:2023-01-05;网络首发日期:2023-03-06

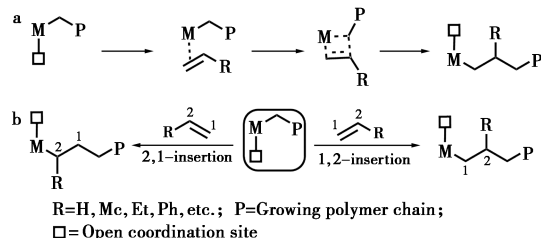
作者简介:刘照贺(1991-),男,河南安阳人,博士,工程师,主要研究方向为气相聚乙烯催化剂,E-mail: liuzhh.bjhy@sinopec.com。

引用本文:刘照贺. 烯烃配位聚合的链转移反应以及应用[J]. 化学试剂, 2023, 45(5): 33-40。

到目前为止,学者们对烯烃配位聚合中的链转移反应已有一定的认识,并且应用链转移反应成功合成了多种结构的聚合物。本综述从均相催化剂催化烯烃聚合过程中常见的链转移反应为切入点,首先阐述了烯烃聚合过程中链增长反应的单体插入方式和链转移反应的类型、影响因素,并且利用链转移反应合成功能化基团封端的聚合物;其次对配位聚合中聚合物链向溶剂甲苯转移的新颖链转移方式进行了概述;紧接着,基于链转移反应而提出的“链行走”聚合方法和“链穿梭”聚合方法分别得到支化聚烯烃和嵌段聚合物不同拓扑结构的机理进行了诠释。氢气(H_2)作为烯烃聚合工业上最常用的链转移剂调控聚合物分子量,文章最后分别讨论了 H_2 对乙烯、丙烯聚合反应活性的影响。本综述旨在讨论烯烃配位聚合过程中的链转移反应类型以及基于链转移反应的应用,而非对链转移反应具体实例进行概述,希望能帮助到对链转移反应有研究兴趣的科研工作者。

1 链增长和链转移反应

在烯烃聚合过程中,链增长反应和链转移反应通常同时存在,两者为竞争关系。为了更好地说明链转移反应,有必要先简单说明一下链增长反应。Cossee 模型是所有链增长模型中较简单,同时接受度比较高的烯烃插入机理模型,烯烃单体首先通过 $C=C$ 双键与活性中心配位,形成 π -配位的化合物,然后经过四元环过渡态插入烯烃双键,周而复始得到聚烯烃化合物,如图 1a 所示^[9,10];当烯烃单体的 R 基不是 H 原子的时候,烯烃 $C=C$ 双键中的两个碳原子不等价,单体插入存在 1,2-插入和 2,1-插入两种插入方式,如图 1b 所示。



a. 烯烃单体配位插入; b. 单体 2,1-插入和 1,2-插入方式

图 1 烯烃插入示意图

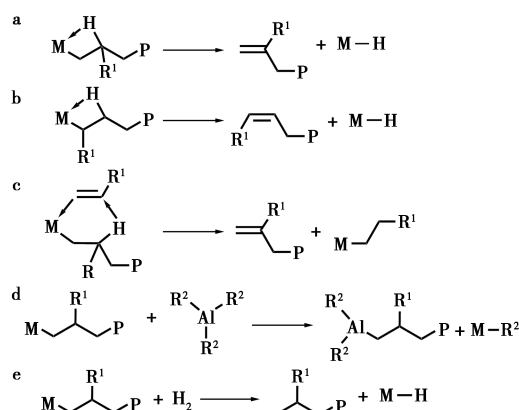
Fig.1 Diagram of olefin insertion process

在烯烃配位聚合中,常见的链转移反应包括 β -H 消除,向单体转移以及向助催化剂如烷基铝

转移,如图 2 所示,其中 β -H 消除和向单体转移统称为 β -H 转移反应。从图 2 可以看出,当催化剂催化烯烃聚合具有不同区域选择性而相同链转移反应时,如 β -H 消除,虽然都出现不饱和双键,但是双键取代基的位置是不同的,如图 2a 和 2b 所示,因此可以通过链末端推测催化剂催化烯烃的区域选择性;当催化剂催化烯烃聚合过程发生 β -H 转移反应,聚合物末端是相同的,如图 2a 和 2c 所示,但是 β -H 消除反应速率是与单体浓度无关的量,因此可以通过单体浓度与聚合物分子量之间的关系确定。Chien 等^[11]研究了 $CpTi(O^--C_4H_9)_3/MAO$ [Cp 代表环戊二烯基以及衍生物, MAO 为助催化剂]催化苯乙烯聚合的动力学行为,发现当苯乙烯浓度较高 ($[S] = 1.4 \text{ mol/L}$) 时, β -H 消除反应速率与向单体转移速率相当;而苯乙烯浓度较低 ($[S] < 1.4 \text{ mol/L}$) 时, β -H 消除反应为主要链转移反应。催化剂催化烯烃聚合过程中发生其他不同的链转移反应时,聚合物链末端是不同的,如图 2a 和 2d 所示。因此,科学家们通过研究链末端确定体系中的链转移方式。在烯烃配位聚合过程中,通常是多种链转移方式同时存在,假设活性种可以快速形成并且不失活的条件下,聚合物的聚合度与链转移的速率常数以及单体浓度的关系如式 (1) 所示^[11]。

$$\overline{DP}^{-1} = k_{tr}^M/k_p + (k_{tr}^{\beta} + k_{tr}^A)/k_p [M] \quad (1)$$

其中: $\overline{DP}^{-1}$ 为聚合物聚合度的倒数; k_{tr}^M 为向单体转移的速率常数; k_{tr}^{β} 为 β -H 消除反应速率常数; k_{tr}^A 为向助催化剂转移的速率常数; k_p 为链增长速率常数; $[M]$ 为单体浓度, mol/L 。

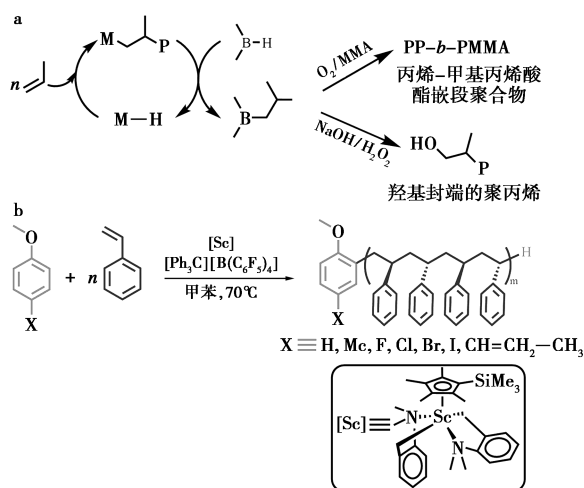


a. 单体 1,2-插入, β -H 消除反应; b. 单体 2,1-插入, β -H 消除反应; c. 单体 1,2-插入, 向单体发生链转移反应; d. 向烷基铝发生链转移反应; e. 向 H_2 发生链转移反应

图 2 烯烃配位聚合过程中常见的链转移反应

Fig.2 Common chain transfer reactions mode in olefin coordination polymerization

另外,科学家们经常会向聚合体系中加入链转移剂控制聚合物的分子量,如选用非均相 ZN 催化剂以及茂金属催化剂进行烯烃工业生产时, H_2 常被用作链转移剂控制聚合物的分子量,如图 2e 所示;也可以向均相催化体系加入含有功能基团的链转移剂,合成链末端功能化的聚烯烃。如选用均相催化剂催化丙烯聚合过程中,加入含有硼氢(B—H)键的烷基硼化合物可以得到硼(B)封端的聚丙烯,该化合物在氧气存在的条件下形成过氧化物,形成的自由基在室温下可以对甲基丙烯酸酯等极性单体进行自由基聚合,得到丙烯-甲基丙烯酸酯嵌段聚合物;B 封端的聚丙烯也可以通过氢氧化钠和双氧水处理转化成羟基封端的聚丙烯,如图 3a 所示^[12]。含 B—H 键的烷基硼化合物之所以可以作为链转移剂是由于具有 Lewis 碱性的氢(H)与具有 Lewis 酸性的活性中心相互作用实现链转移反应,因此也可以选用其他具有 Lewis 碱性含 H 的化合物作为链转移剂,如含硅氢(Si—H)键化合物作为链转移剂得到 Si 封端的聚合物^[13-15]。Yamamoto 等^[16]选用单茂催化剂催化苯乙烯聚合,向聚合体系加入苯甲醚类化合物,通过甲氧基邻位碳氢(C—H)键的活化实现聚合物链向苯甲醚类化合物的转移反应,合成了功能化基团封端的间规聚苯乙烯,如图 3b 所示。基于 C—H 活化机理,该课题组选用单茂型钪催化剂催化 4-甲氧基苯乙烯聚合,聚合过程中同时发生配位聚合和逐步聚合,合成了支化的 4-甲氧基苯乙烯聚合物^[17]。



a. 硼(B)封端的聚丙烯的合成以及应用;

b. 通过 C—H 活化机理制备功能化聚苯乙烯

图 3 通过链转移反应制备端基功能化的聚烯烃

Fig.3 Chain-end functionalized polyolefins synthesized through chain transfer reactions

通过对配位聚合链转移反应进行大量的研究,发现烯烃聚合过程中的链转移反应不仅受催化剂结构的影响,而且也受聚合条件的影响。链转移反应的活化能通常大于单体插入的活化能^[18],因此聚合温度对链转移反应速率的影响更大。Fukui 等^[19]报道了选用 $Cp_2ZrMe_2/B(C_6F_5)_3$ 催化体系在 $-78\text{ }^\circ\text{C}$ 聚合温度或者选用 $Cp_2HfMe_2/$ 三辛基铝催化体系在 $-50\text{ }^\circ\text{C}$ 聚合温度催化丙烯聚合,虽然链增长速率变慢且催化剂的活化效率较低,但是在该聚合温度下链转移反应速率慢至可以忽略,聚合物的分子量随着聚合时间线性增长,表现出活性聚合的特征。

2 聚合物链向溶剂甲苯转移

在自由基聚合以及阳离子聚合体系中,聚合物链向溶剂转移是一种常见的链转移反应。然而在配位聚合中,通常认为甲苯是反应惰性的,可作为聚合溶剂,因此在配位聚合中聚合物链向溶剂甲苯发生链转移是一种全新的链转移方式。2016 年, Ehm 等^[20]选用单茂磷亚胺 Ti 催化剂在甲苯溶剂中催化丙烯聚合,聚合物链向甲苯的甲基发生转移。作者认为聚合物链向溶剂甲苯的链转移反应是由于带有聚合物链的活性种中的 Ti—C 键发生均裂形成 Ti 离子自由基和带有自由基的聚丙烯链,带有自由基的聚丙烯链从甲苯的甲基夺取 H 原子得到聚合物,而新形成的苄基自由基与 Ti 离子自由基结合得到新的活性种,催化丙烯聚合得到芳环封端的聚丙烯。2020 年, Lin 等^[21]合成了氟取代的 β -双亚胺钪催化剂,催化苯乙烯聚合发现聚合物链向甲苯甲基邻位发生了链转移反应,这也是首例在配位聚合中不涉及自由基实现聚合物链向溶剂甲苯转移的报道。作者猜测聚合反应中带有聚合物链的活性种通过配体上的 F 原子与甲苯上甲基的 H 原子相互作用,甲苯的甲基在 F 原子的作用下起到了活化苯环和导向的作用,使得甲苯上甲基邻位的 C—H 键被活化,甲苯上甲基邻位的 H 原子转移到聚合物链上得到饱和聚合物链,同时新生成的苯基钪配合物成为新的活性种,然后苯乙烯以 1,2-方式连续插入得到低分子量聚苯乙烯,如图 4 所示。其中甲苯上甲基邻位 C—H 键的活化是整个循环过程中最重要的步骤,当选用苯为溶剂时,由于缺少甲基的活化和导向作用,很难发生苯环上 C—H 键的活化。而卤素取代的甲苯作为溶剂时,取代基卤素干扰

了配体上 F 原子与甲基上 H 原子的相互作用,也不能实现对该类分子 C—H 键的活化。同年,该课题组选用单茂钪催化剂催化苯乙烯聚合时,向催化体系加入了与催化剂当量的烯丙氧基苯,体系中发生严重的链转移反应,与 Yamamoto 等^[16]报道的向单茂钪催化剂催化苯乙烯聚合体系中加入苯甲醚类化合物,聚合物链向甲氧基的邻位发生链转移反应得到功能化基团封端的间规聚苯乙烯不同,作者通过聚合物链末端分析证明了聚合物链没有向烯丙氧基苯发生链转移反应,而是向溶剂甲苯上甲基的邻位发生了链转移反应,并且由于烯丙氧基苯中双键与中心金属的灵活配位,扰乱了苯乙烯的插入,使催化剂对苯乙烯聚合的立构选择性改变,由间规选择性变成无规选择性^[22]。在配位聚合中聚合物链向溶剂转移的发现,为合成低分子量的聚合物提供了新的方法。

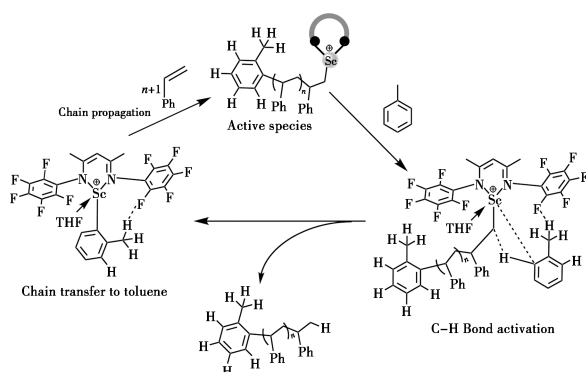


图 4 氟取代的 β -双亚胺钪催化剂催化苯乙烯聚合向甲苯转移的机理

Fig.4 Mechanism of chain transfer to toluene in styrene coordination polymerization catalyzed by F-containing β -diketimine scandium precursor

3 链转移反应影响聚合物拓扑结构的应用

在自由基聚合体系中,聚合过程中的链转移反应不仅可以控制聚合物的分子量,而且可以调控聚合物链的拓扑结构^[23]。在烯烃配位聚合过程中,链转移反应同样可以调控聚合物链的微观结构。1999 年, Guan 等^[24]首次提出“链行走”聚合方法,并利用该方法合成了超支化的聚乙烯。在利用后过渡金属催化剂催化乙烯聚合时,链增长反应的单体插入速率与 β -H 消除反应速率决定了聚合物的分子量,另一方面, β -H 消除反应是“链行走”的关键步骤,也就是说通过一系列连续的 β -H 消除和插入实现活性种中心在聚合物链上“行走”,得到超支化的聚合物,如图 5 所示。自此,“链行走”聚合方法成为合成超支化聚烯烃一种重要的方法^[25-27]。

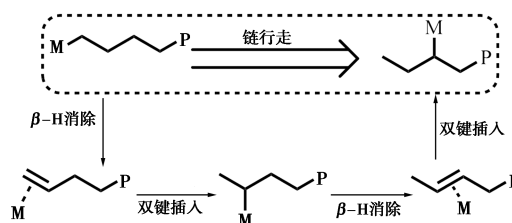


图 5 “链行走”聚合机理制备支化聚乙烯
Fig.5 Branched polyethylene prepared by chain walking polymerization

陶氏公司 2006 年提出了“链穿梭”的方法合成了乙烯/1-烯烃多嵌段聚合物,如图 6 所示^[28]。在该聚合体系中,采用两种催化剂,分别得到聚合物链中 1-烯烃含量少的硬段和得到聚合物链中 1-烯烃含量多的软段,助催化剂作为链转移剂实现硬段和软段在两种催化剂之间穿梭,得到多嵌

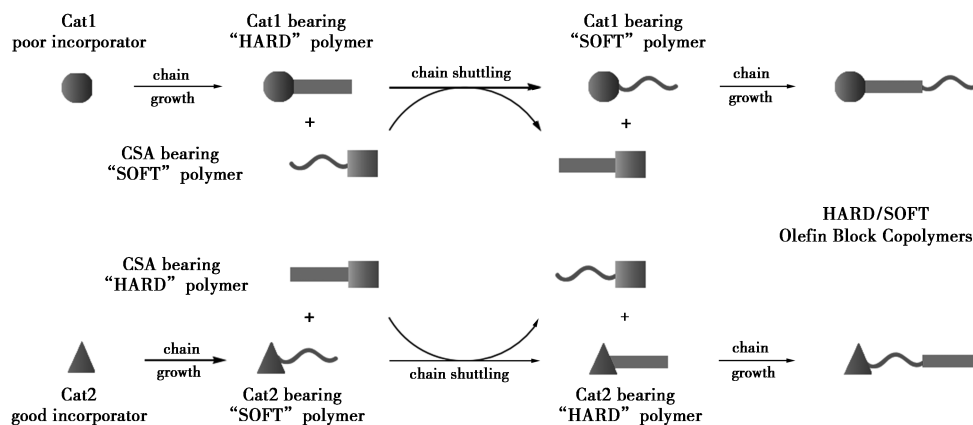


图 6 “链穿梭”聚合机理制备嵌段聚烯烃

Fig.6 Multi-block polyolefin obtained by chain shuttling polymerization

段的聚合物。该方法的关键是链转移剂可与两种催化剂发生快速链转移反应, 实现聚合物链在两种催化剂上的交换, 最终合成多嵌段聚合物。自此, 链穿梭聚合反应成为了一种合成多嵌段聚合物有效的方法, 如立构嵌段聚丙烯^[29-31]、对异戊二烯 1,4-选择性和 3,4-选择性聚合的嵌段聚合物^[32]等。

4 H_2 对非均相催化剂的影响

在烯烃聚合工业应用中常选用非均相催化剂, 常见的链转移反应和均相催化体系相似, 包括向助催化剂转移、 β -H 转移反应、向 H_2 转移, 其中催化剂催化烯烃聚合过程中聚合物链向 H_2 转移的难易程度也被称为催化剂的氢调性能。在工业应用中, 催化剂的氢调性能是控制聚合物分子量最重要的方式。 H_2 不仅可以作为链转移剂控制聚合物的分子量, 而且对乙烯聚合和丙烯聚合的活性也有重要的影响。

选用 ZN 催化剂催化乙烯聚合, 一些学者认为聚合物链向 H_2 发生链转移反应为一级反应动力学^[33-36], 但是也有一些学者认为为 0.5 级^[37]。通常, 在乙烯聚合过程中, H_2 通常会降低催化剂的催化活性^[38-41], 而不会改变催化乙烯聚合的动力学^[41,42]。值得注意的是, H_2 对催化剂聚合活性的影响是可逆的^[43,44], 从聚合体系移除 H_2 可使催化剂恢复到初始的催化活性。这些结论表明 H_2 不会影响催化剂活性种的稳定性。至于 H_2 降低 ZN 催化剂催化乙烯聚合活性的原因, Natta 等^[38]和 Grievson 等^[45]认为, 带有聚合物链的活性种向 H_2 发生链转移反应形成聚合物和含 Ti—H 键的活性种, 由于单体插入 Ti—H 键较慢, 降低了整个聚合的活性; 而 Kissin 等^[42,46,47]认为, 乙烯单体插入 Ti—H 键形成 Ti-CH₂-CH₃ 结构, 由于 Ti-CH₂-CH₃ 结构中的 Ti 与 β -H 相互作用, 致使该结构的活性种聚合活性很低甚至“休眠”, 因此表现出聚合活性降低。

而 H_2 对 ZN 催化剂催化丙烯聚合活性的影响与催化乙烯聚合活性影响不同, H_2 的存在会使丙烯聚合活性升高^[48-53]。而聚合活性的升高程度取决于催化剂的性质以及 H_2 的浓度。 H_2 对聚合活性的影响也是可逆的, 从聚合体系移除 H_2 , 聚合活性会降至初始水平^[52,53]。科学家们对于 H_2 升高丙烯聚合活性的原因提出猜想, 其中接受度最高的猜想是由于丙烯以 2,1-插入活性种形

成低活性甚至休眠的活性中心, 而 H_2 的存在会重新活化由于丙烯 2,1-插入形成的休眠种, 因此在 H_2 的条件下, 丙烯聚合表现出活性升高的现象。 H_2 存在的条件下, 丙烯聚合形成的聚合物链末端出现正丁基很好地支持这一猜想^[49,54-56]。另外一种猜测是由于带有聚合物链的活性种向丙烯发生 2,1-链转移反应, 或者丙烯单体以 2,1-方式插入 Ti—H 键形成没有聚合活性的 Ti-CH(CH₃)₂, H_2 可以重新活化 Ti-CH(CH₃)₂ 形成含有 Ti—H 键的活性种, 紧接着丙烯以 1,2-插入方式连续插入得到聚丙烯^[47]。还有一种猜测是由于 H_2 氧化了对丙烯没有聚合活性的 Ti²⁺ 离子^[57], 也就是说 H_2 的存在会使能催化丙烯聚合的活性种浓度极大地提高, 进而提高丙烯聚合的活性^[58]。

5 结论与展望

本综述概述了均相催化剂催化烯烃聚合反应中的链转移反应机制以及影响因素。在没有链转移剂存在的条件下, 常见的链转移反应主要包括 β -H 消除反应、向单体转移反应以及向助催化剂转移反应, 并且通常情况下在一个聚合反应体系中多种链转移反应共存。通过聚合物链末端分析以及聚合物分子量与单体浓度间的关系不仅可以确定聚合体系中存在的链转移反应, 还可以确定单体的插入方式。向聚合体系加入含有功能基团的链转移剂可以得到端基功能化的聚烯烃。这种通过链转移反应实现聚烯烃端基功能化的工艺具有操作简单、保持催化剂高活性、端基功能化聚烯烃产率高等优点, 并且可以通过后续的聚合反应制备双嵌段聚合物。聚烯烃的端基功能化提高了聚烯烃材料的共混等性能, 进一步拓宽了聚烯烃的应用。甲苯常作为配位聚合溶剂, 被认为是反应惰性的。然而, 学者们发现了聚合物链可以向溶剂甲苯的甲基或者甲基的邻位发生链转移反应, 在配位聚合中, 向溶剂甲苯的链转移反应是一种新颖的链转移反应, 为合成低分子量聚烯烃提供了一种简单有效的方法。聚合反应中的链转移反应不仅可以控制聚合物的分子量, 还可以调控聚合物的链结构。本综述分别从机理上解释了制备支化聚乙烯的“链行走”聚合方法和制备多嵌段聚合物的“链穿梭”聚合方法, 以及两种聚合方法中的关键链转移反应。在烯烃聚合工业应用中, 常选用 H_2 作为链转移剂调控聚合物的分子

量。然而 H_2 对不同单体的聚合活性影响不同,通常会降低乙烯聚合活性,而提高丙烯聚合活性。 H_2 降低乙烯聚合活性可能是由于乙烯插入 $Ti-H$ 键速率慢或者形成的 $Ti-CH_2-CH_3$ 结构存在 Ti 与 $\beta-H$ 相互作用使该活性种活性降低;而 H_2 提高丙烯聚合活性的可能原因是 H_2 可以活化由于丙烯单体 2,1-插入形成的休眠种,表现出丙烯聚合活性升高的现象。虽然学者们对链转移反应的研究相对较少,但是链转移反应在烯炔聚合中发挥的作用不容忽视,学者们利用链转移反应制备了多种端基功能化的聚烯炔,并且基于链转移反应提出了“链行走”和“链穿梭”聚合方法。因此,充分理解聚合反应中的链转移反应类型以及影响因素,可以为我们开发链转移反应新的应用提供基础。另外,在烯炔聚合的工业应用中,学者们依然投入了大量的精力研究具有不同氢调性能的非均相催化剂,因此对链转移反应更深入的研究不可或缺且刻不容缓。

参考文献:

- [1] KAMINSKY W. Olefin polymerization catalyzed by metallocenes [J]. *Adv. Catal.*, 2001, **46**: 89-159.
- [2] EWEN J A. Mechanisms of stereochemical control in propylene polymerizations with soluble group 4B metallocene/methylalumoxane catalysts [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, **106**: 6 355-6 364.
- [3] RESCONI L, CAVALLO L, FAIT A, et al. Selectivity in propene polymerization with metallocene catalysts [J]. *Chem. Rev.*, 2000, **100**: 1 253-1 346.
- [4] BYWATER S. Anionic polymerization [J]. *Prog. Polym. Sci.*, 1975, **4**: 27-69.
- [5] YAMAGISHI A, SZWARC M. Kinetics of styrene addition in benzene solution to living lithium polymers terminated by 1,1-diphenylethylene units [J]. *Macromolecules*, 1978, **11**: 504-506.
- [6] YASUDA H, FURO M, YAMAMOTO H, et al. New approach to block copolymerizations of ethylene with alkyl methacrylates and lactones by unique catalysis with organolanthanide complexes [J]. *Macromolecules*, 1992, **25**: 5 115-5 116.
- [7] BROOKHART M, DESIMONE J M, GRANT B E, et al. Cobalt (III)-catalyzed living polymerization of ethylene: Routes to end-capped polyethylene with a narrow molar mass distribution [J]. *Macromolecules*, 1995, **28**: 5 378-5 380.
- [8] SHEA K J, WALKER J W, ZHU H, et al. Polyhomologation. A living polymethylene synthesis [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **119**: 9 049-9 050.
- [9] COSSEE P. Ziegler-Natta catalysis. I. Mechanism of polymerization of α -olefins with Ziegler-Natta catalysts [J]. *J. Catal.*, 1964, **3**: 80-88.
- [10] ARLMAN E J, COSSEE P. Ziegler-Natta catalysis. III. Stereospecific polymerization of propene with the catalyst system $TiCl_3-AlEt_3$ [J]. *J. Catal.*, 1964, **3**: 99-104.
- [11] CHIEN J C W, SALAJKA Z. Syndiospecific polymerization of styrene. II. Monocyclopentadienyltributoxy titanium methylaluminoxane catalyst [J]. *J. Polym. Sci. A, Polym. Chem.*, 1991, **29**(9): 1 253-1 263.
- [12] CHUNG T C, XU G. Process for preparing polyolefin diblock copolymers involving borane chain transfer reaction in transition metal-mediated olefin polymerization: US 6 248 837B1 [P]. 2001-06-19.
- [13] FU P F, MARKS T J. Silanes as chain transfer agents in metallocene-mediated olefin polymerization. Facile in situ catalytic synthesis of silyl-terminated polyolefins [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**: 10 747-10 748.
- [14] KOO K, MARKS T J. Silanolytic chain transfer in Ziegler-Natta catalysis. Organotitanium-mediated formation of new silapolyolefins and polyolefin architectures [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, **120**: 4 019-4 020.
- [15] KOO K, MARKS T J. Silicon-modified ziegler-natta polymerization. Catalytic approaches to silyl-capped and silyl-linked polyolefins using “single-site” cationic Ziegler-Natta catalysts [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**: 8 791-8 802.
- [16] YAMAMOTO A, NISHIURA M, OYAMADA J, et al. Scandium-catalyzed syndiospecific chain-transfer polymerization of styrene using anisoles as a chain transfer agent [J]. *Macromolecules*, 2016, **49**(7): 2 458-2 466.
- [17] SHI X, NISHIURA M, HOU Z M. Simultaneous chain-growth and step-growth polymerization of methoxystyrenes by rare-earth catalysts [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2016, **55**(47): 14 812-14 817.
- [18] RESCONI L, CAVALLO L, FAIT A, et al. Selectivity in propene polymerization with metallocene catalysts [J]. *Chem. Rev.*, 2000, **100**: 1 253-1 346.
- [19] FUKUI Y, MURATA M, SOGA K. Living polymerization of propylene and 1-hexene using bis-Cp type metallocene catalysts [J]. *Macromol. Rapid. Commun.*, 1999, **20**: 637-640.
- [20] EHM C, CIPULLO R, PASSARO M, et al. Chain transfer to solvent in propene polymerization with Ti Cp-phos-

- phanimide catalysts: Evidence for chain termination via Ti-C bond homolysis [J]. *ACS Catal.*, 2016, **6**(11): 7 989-7 993.
- [21] LIN F, LIU Z H, WANG M Y, et al. Chain transfer to toluene in styrene coordination polymerization [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2020, **59**(11): 4 324-4 328.
- [22] LIU Z H, YAO C G, WU C J, et al. Additive-triggered chain transfer to a solvent in coordination polymerization [J]. *Macromolecules*, 2020, **53**(46): 1 205-1 211.
- [23] 陈晓梅, 王丽英, 孙俊民, 等. 胺基双酚钴在合成极性单体与苯乙烯嵌段共聚物中的应用 [J]. 化学试剂, 2021, **43**(8): 1 117-1 123.
- [24] GUAN Z B, COTTS P M, MCCORD E F, et al. Chain walking: A new strategy to control polymer topology [J]. *Science*, 1999, **283**(5 410): 2 059-2 062.
- [25] GUO L, DAI S, SUI X, et al. Palladium and nickel catalyzed chain walking olefin polymerization and copolymerization [J]. *ACS Catal.*, 2016, **6**: 428-441.
- [26] WIEDEMANN T, VOIT G, TCHERNOOK A, et al. Monofunctional hyperbranched ethylene oligomers [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2014, **136**: 2 078-2 085.
- [27] FALIVENE L, WIEDEMANN T, GÖTTKER-SCHNETMANN I, et al. Control of chain walking by weak neighboring group interactions in unsymmetrical catalysts [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2018, **140**: 1 305-1 312.
- [28] ARRIOLA D J, CARNAHAN E M, HUSTAD P D, et al. Catalytic production of olefin block copolymers via chain shuttling polymerization [J]. *Science*, 2006, **312**(5 774): 714-719.
- [29] CHIEN J C W, IWAMOTO Y, RAUSCH M D, et al. Homogeneous binary zirconocenium catalyst systems for propylene polymerization. I. Isotactic/atactic interfacial compatibilized polymers having thermoplastic elastomeric properties [J]. *Macromolecules*, 1997, **30**: 3 447-3 458.
- [30] THOMANN R, THOMANN Y, MUELHAUPT R, et al. Morphology of stereoblock polypropylene [J]. *J. Macromol. Sci., Phys.*, 2002, **B41**: 1 079-1 090.
- [31] LIEBER S, BRINTZINGER H H. Propene polymerization with catalyst mixtures containing different ansa-zirconocenes; Chain transfer to alkylaluminum cocatalysts and formation of stereoblock polymers [J]. *Macromolecules*, 2000, **33**: 9 192-9 199.
- [32] LIU B, CUI D M. Regioselective chain shuttling polymerization of isoprene: An approach to access new materials from single monomer [J]. *Macromolecules*, 2016, **49**(17): 6 226-6 231.
- [33] BÖHM L L. Ethylene polymerization process with a highly active Ziegler-Natta catalyst: I. Kinetics [J]. *Polymer*, 1978, **19**(5): 553-561.
- [34] ZAKHAROV V A, YECHEVSKAYA L G, MIKENAS T B. Study of the chain transfer with hydrogen in polymerization of ethylene on vanadium-magnesium and titanium-magnesium catalysts [J]. *Vysokomol. Soedin. B*, 1991, **33**(2): 102-104.
- [35] ECHEVSKAYA L G, MATSKO M A, MIKENAS T B, et al. Supported titanium-magnesium catalysts with different titanium content: Kinetic peculiarities at ethylene homopolymerization and copolymerization and molecular weight characteristics of polyethylene [J]. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2010, **102**(6): 5 436-5 442.
- [36] NIKOLAEVA M I, MIKENAS T B, MATSKO M A, et al. Ethylene polymerization over supported titanium-magnesium catalysts: Effect of polymerization parameters on the molecular weight distribution of polyethylene [J]. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2011, **122**(5): 3 092-3 101.
- [37] MARQUES M M V, NUNES C P, TAIT P J T, et al. Polymerization of ethylene using a high activity Ziegler-Natta catalyst. I. Kinetic studies [J]. *J. Polym. Sci. A. Polym. Chem.*, 1993, **31**(1): 209-218.
- [38] NATTA G, MAZZANTI P, LONGI P, et al. The influence of hydrogen on coordination anionic polymerization of propylene and ethylene, stereoregular polymers and stereospecific polymerizations [M]. Oxford: Pergamon Press, Ltd., 1967: 678-679.
- [39] ZAKHAROV V A, CHUMAYEVSKII N B, MAKHTARULIN S I, et al. Determination of the number of propagation centers and the propagation rate constant for ethylene polymerization on supported titanium catalysts [J]. *React. Kinet. Catal. Lett.*, 1975, **2**(4): 329-335.
- [40] ALBIZZATI E, GALIMBERTI M, GIANNINI U, et al. The chemistry of magnesium chloride supported catalysts for polypropylene [J]. *Macromol. Chem. Macromol. Symp.*, 1991, **48**(1): 223-238.
- [41] KISSIN Y V, MINK R I, NOWLIN T E. Ethylene polymerization reactions with Ziegler-Natta catalysts. I. Ethylene polymerization kinetics and kinetic mechanism [J]. *J. Polym. Sci. A. Polym. Chem.*, 1999, **37**(23): 4 255-4 272.
- [42] KISSIN Y V. Main kinetic features of ethylene polymerization reactions with heterogeneous Ziegler-Natta catalysts in the light of multi-center reaction mechanism [J]. *J. Polym. Sci. A. Polym. Chem.*, 2001, **39**(10): 1 681-1 695.
- [43] SPITZ R, PASQUET V, PATIN M, et al. The activation of supported vanadium catalysts in ethylene polymerization [M]. Berlin: Springer Berlin, 1995: 401-411.

- [44] BUKATOV G D, GONCHAROV V S, PANCHENKO V N, et al. Determination of the number of active centers and of the propagation rate constant for ethylene polymerization on supported Ni-containing catalysts by using ^{14}C [J]. *Macromol. Chem. Phys.*, 1998, **199**(11): 2 473-2 476.
- [45] GRIEVESON B M. Kinetics of the polymerization of ethylene with a Ziegler-Natta catalyst. II. Factors controlling molecular weight [J]. *Macromol. Chem.*, 1965, **84**(1): 93-107.
- [46] KISSIN Y V, MINK R I, NOWLIN T E, et al. Kinetics and mechanism of ethylene homopolymerization and copolymerization reactions with heterogeneous Ti-based Ziegler-Natta catalysts [J]. *Top Catal.*, 1999, **7**(1/4): 69-88.
- [47] KISSIN Y V, RISHINA L A. Kinetics of propylene and ethylene polymerization reactions with heterogeneous ziegler-natta catalysts; Recent results [J]. *Polym. Sci. A.*, 2008, **50**(11): 1 101-1 121.
- [48] GUASTALLA G, GIANNINI U. The influence of hydrogen on the polymerization of propylene and ethylene with an MgCl_2 supported catalyst [J]. *Macromol. Rapid Commun.*, 1983, **4**(8): 519-527.
- [49] TSUTSUI T, KASHIMARU N, MIZUNO A, et al. Propylene homo- and copolymerization with ethylene using an ethylenebis(1-indenyl) zirconium dichloride and methylaluminoxane catalyst system [J]. *Polymer*, 1989, **30**(7): 1 350-1 356.
- [50] ALBIZZATI E, GIANNINI U, MORINI G, et al. Recent advances in propylene polymerization with MgCl_2 supported catalysts [J]. *Macromol. Symp.*, 1995, **89**(1): 73-89.
- [51] SOARES J, HAMIELEC A E. Kinetics of propylene polymerization with a non-supported heterogeneous Ziegler-Natta catalyst-effect of hydrogen on rate of polymerization, stereoregularity, and molecular weight distribution [J]. *Polymer*, 1996, **37**(20): 4 607-4 614.
- [52] KIOKA M, KASHIWA N. Study of the activity enhancement caused by the addition of hydrogen in olefin polymerization [J]. *J. Macromol. Sci. Chem.*, 1991, **28**(9): 865-873.
- [53] JOHN C, CHADWICK. Advances in propene polymerization using MgCl_2 -supported catalysts. Fundamental aspects and the role of electron donors [J]. *Macromol. Symp.*, 2001, **173**(1): 21-36.
- [54] MORI H, TASHINO K, TERANO M. Study of the chain transfer reaction by hydrogen in the initial stage of propene polymerization [J]. *Macromol. Rapid Commun.*, 1995, **16**(9): 651-657.
- [55] CHADWICK J C, MIEDEMA A, RUISCH B J, et al. Effects of procatalyst composition on the stereospecificity of a Ziegler-Natta catalyst system [J]. *Makromol. Chem.*, 1992, **193**(6): 1 463-1 468.
- [56] BUSICO V, CIPULLO R, CORRADINI P. Hydroooligomerization of propene: A "fingerprint" of a Ziegler-Natta catalyst, 1. Preliminary results for MgCl_2 -supported systems [J]. *Macromol. Chem. Rapid Commun.*, 1992, **13**(1): 15-20.
- [57] CHIEN J C W, WEBER S, HU Y. Magnesium chloride supported catalysts for olefin polymerization. XIX. Titanium oxidation states, catalyst deactivation, and active site structure [J]. *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.*, 1989, **27**(5): 1 499-1 514.
- [58] PARSONS I W, AL-TURKI T M. On the mechanism of action of hydrogen added to propene polymerizations using supported Titanium chloride catalysts with a phthalate ester/silane stereo-regulating donor pair [J]. *Polym. Commun.*, 1989, **30**(3): 72-73.

生化与药用试剂

三萜类化合物结构修饰及活性研究进展

何诗能^a, 张清^a, 谭珍媛^b, 谢云峰^a, 邱莉^a, 谢集照^{*a}

(广西医科大学 a.药学院; b.高等职业技术学院, 广西 南宁 530021)

摘要:三萜类化合物在天然产物中广泛存在, 含量丰富, 是许多药用植物的主要活性成分之一。早在上世纪 30 年代就有关于三萜的研究, 该类物质以其显著的活性与广泛的药理作用受到研究者的青睐。近年来关于三萜及其衍生物的合成是受人关注的研究热点。三萜的结构修饰多以四环三萜及五环三萜为起始物, 针对四环三萜的修饰位点主要在 A 环 C-2、C-3 位及 D 环上的侧链, 多引入羟基、酯基或含氮基团等。针对五环三萜的修饰主要在 A 环 C-2、C-3 位及 C-28 位, 主要有酯化、酰胺化及引入含氮结构等修饰, 还有部分非常见的修饰位点同样对活性有重要影响。综述了三萜及其衍生物的结构修饰与活性变化研究进展, 为三萜的合成修饰与进一步开发利用提供参考。

关键词:四环三萜; 五环三萜; 结构修饰; 活性; 衍生物

中图分类号:R96 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2023)05-0041-10

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2022.0811

Research Progress on Structural Modification and Biological Activity of Triterpenes HE Shi-neng^a, ZHANG Qing^a, TAN Zhen-yuan^b, XIE Yun-feng^a, QIU Li^a, XIE Ji-zhao^{*a} (a. College of Pharmacy, b. Higher Vocational College, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract: Triterpenes are widely found in natural products and are abundant in content. They are one of the main active components of many medicinal plants. Studies on triterpenes have been started as early as the 1930s, which are favored by researchers because of their remarkable biological activity and extensive pharmacological effects. In recent years, the synthesis of triterpenoids and their derivatives has attracted much attention. Structural modification on triterpenes mainly begins with tetracyclic and pentacyclic triterpenes. The modification sites of tetracyclic triterpenes focus on the C-2, C-3 position of ring-A and the side chain of ring-D, mainly introducing hydroxyl, ester or nitrogen-containing groups. Modifications of pentacyclic triterpenes are C-2, C-3 position of ring-A and C-28 position, including esterification, amidation and introduction of nitrogen-containing structure. Besides, some unusual modification sites also show an important effect on biological activity. The progress of structural modification and changes in biological activity of triterpenes and their derivatives were reviewed, in order to provide references for the synthesis, modification and further development and utilization of triterpenes.

Key words: tetracyclic triterpenes; pentacyclic triterpenes; structural modification; activity; derivative

三萜类化合物是一类结构丰富、种类繁多的天然活性成分, 广泛存在于各类植物、菌类、藻类及海洋生物中, 因其显著的抗炎、抗肿瘤、抗病毒及免疫调节等药理活性^[1] 备受关注, 同时其结构与合成方面也是研究者们长期关注的热点。近年来对植物三萜的生物合成途径及其调控机制的研究已有较详细报道^[2], 相较之下其化学合成与结构修饰的相关综述尚不多见。已报道的相关研究主要为萜类与甾体的半合成方法^[3,4] 及三萜的抗癌活性^[5,6] 等。三萜类型多变、结构较为复杂, 目前大多是通过天然产物提取分离获得, 通过

化学全合成获取的尚为少数。从天然产物中提取的三萜类皂苷通常存在含量较低、活性不高、选择性差等特点, 适当的结构修饰可提高其生物活性及成药性, 因此开展三萜的合成及结构

收稿日期: 2022-11-03; 网络首发日期: 2023-02-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81560627)。

作者简介: 何诗能(1996-), 男, 广东湛江人, 硕士生, 主要研究方向为天然药物化学。

通讯作者: 谢集照, E-mail: xiejizhao@gxmu.edu.cn。

引用本文: 何诗能, 张清, 谭珍媛, 等. 三萜类化合物结构修饰及活性研究进展[J]. 化学试剂, 2023, 45(5): 41-50。

修饰研究十分必要。基于此,研究三萜皂苷的合成与结构修饰逐渐成为天然药物化学的热点。本文对三萜的结构修饰及其衍生物构效关系进行了综述,重点讨论了四环与五环三萜衍生物各修饰位点的改造对其生物活性的影响,以期对三萜的结构修饰与活性研究提供进一步的参考。

1 四环三萜结构衍生研究

以天然三萜为原型,通过开展局部的结构修饰制备衍生物,是获取具有良好生物活性化合物的重要方法之一。如对三萜骨架上的基团进行修饰^[7,8],在羟基、羧基或其他官能团上并入前药或类前药片段^[9,10],以及引入新的药效团或活性杂环^[7]等。四环三萜在自然界中广泛分布,具有抗炎、抗病毒及抗肿瘤等药理活性。其中羊毛脂烷型三萜及达玛烷型三萜是结构衍生最常见的研究对象。

1.1 羊毛脂烷型三萜衍生物

羊毛脂烷型四环三萜是一类富有潜力的抗癌药候选物,其衍生物已被证明具有细胞毒性和诱导细胞凋亡的作用^[11]。Ukiya 等^[12]首次报道了天然四环三萜羊毛甾醇的结构修饰,通过对 C-25 位进行改造合成了一系列羊毛脂甾烷型三萜 N-糖苷。该研究通过合成羊毛甾烷型三萜胺,后与 6 种 D 型单糖进行糖基化得到一系列终产物 1、2。活性方面,产物 1b、1c、1e 对白血病细胞株 HL-60 表现出较强的细胞毒性 (IC_{50} 分别为 9.4、

2.8 和 0.002 $\mu\text{mol/L}$),活性均优于其前体三萜胺 ($IC_{50} > 100 \mu\text{mol/L}$),产物 1e 的活性甚至优于参照物顺铂 ($IC_{50} = 1.3 \mu\text{mol/L}$)。产物 1b、1c 比产物 1a 具有更强的细胞毒性,表明 C-2' 位上羟基会使活性降低。相较于产物 1e,产物 1a、1d、1g 及 1f、1i 对 HL-60 无细胞毒作用,表明羊毛脂烷侧链 N-糖苷上 C-1'、C-2' 和 C-4' 位的立体空间构型以及 C-6' 位羟亚甲基是杀伤 HL-60 细胞的关键因素。同时相较于细胞毒性最强的产物 1e,产物 2 (C-3 位羟基化的产物 1e) 细胞毒作用大大降低,证明 C-3 位乙酰氧基有增强细胞毒性的作用。产物 1c 对 HL-60、A549、MKN45 等多个癌细胞系及人体肺细胞 WI-38 都具有细胞毒作用,而产物 1e 仅对 HL-60 及 MKN45 细胞有明显的细胞毒性,表现出特异性杀伤作用,这一特性来源于 C-4' 位羟基的立体构型以及 C-2' 位所连基团。

针对羊毛甾烷型三萜侧链糖苷上的修饰主要集中在 C-1'、C-2'、C-4' 和 C-6' 位, C-6' 位羟亚甲基是杀伤 HL-60 癌细胞的关键因素, C-1'、C-2' 和 C-4' 位的立体空间构型对细胞毒性有直接影响作用。其中 C-2'、C-4' 位的修饰及空间构型会直接影响衍生物的活性范围, C-2' 位为羟基时,细胞毒性的特异性更高。除此之外,四环骨架上 A 环 C-3 位乙酰氧基的存在对细胞毒性有增强作用,但该部位羟基化后活性会降低。这些结果将有助于其他四环三萜衍生物或固醇类 N-糖苷的合成研究,在增加细胞毒性和诱导凋亡活性方面具有一定的指导意义。

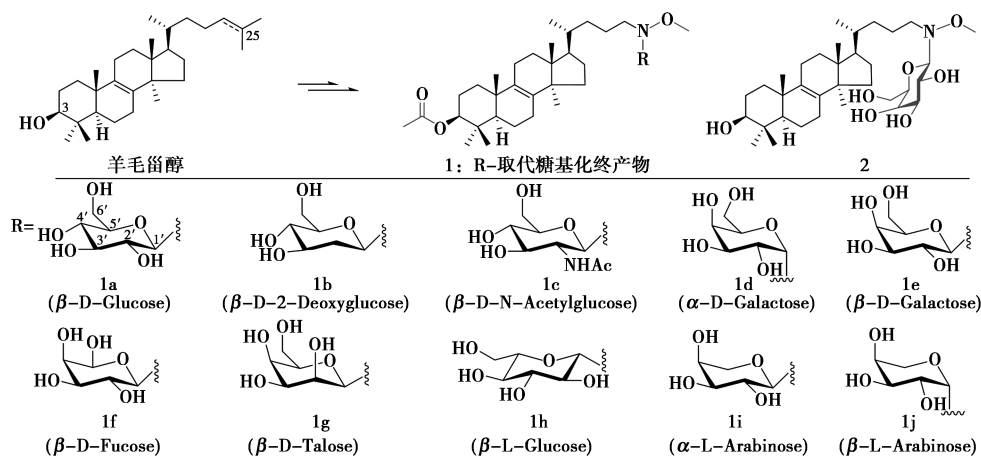


图 1 羊毛脂烷型三萜衍生物 1、2

Fig.1 Lanosterane triterpene N-glycosides derivatives 1 and 2

1.2 达玛烷型三萜衍生物

达玛烷型四环三萜也是一类常见的药用成

分,具有抗癌、抗疲劳、抗 HIV 和抗氧化等生物活性。AD-2(20(R)-dammarane-3 β ,12 β ,20,25-tetrol

(25-OH-PPD))是从人参(*Panax Ginseng*)中分离得到的一种达玛烷型人参皂苷,能抑制不同类型肿瘤细胞的增殖,但存在低浓度下活性不高的缺陷。研究表明三萜 C-2 或 C-3 位修饰的衍生物对癌细胞具有较强的细胞毒性,修饰部位多为吸电子、亲脂性基团或苯环、含氮杂环等大体积基团^[13]。Ma 等^[14]通过在 C-2 位引入亚苄基、通过酯键及酰胺键在 C-3 位引入含氮杂环,分别合成了两类 AD-2 衍生物(产物 3~5)。在亚苄基衍生物中,衍生物 3a~3e 比母体 AD-2 表现出更强的抗增殖活性,表明亚苄基部分在 C-3 位羟基被氧化后能使活性提高。间位取代的衍生物 3b、3d 比对位取代的衍生物 3a、3c 表现出更高的抗增殖活性,而邻位和对位双取代的衍生物 3e 对 5 种癌细胞的抑制作用更强,其活性是 AD-2 的 3~8 倍。C-3 位的变化使得衍生物 4a~4d 对大部分受试癌细胞株的抗细胞增殖活性均有不同程度的下降。对于 C-2 位取代的亚苄基衍生物,C-3 位含 α,β -不饱和羰基比含酮基的衍生物具有更好的细胞毒作用。衍生物中活性最强的是 AD-2 酯类衍生物 5c,活性为 AD-2 的 5~28 倍。衍生物 5c 对 5 种癌细胞株均具有较强的抑制活性,尤其对 A549 人癌细胞抗增殖活性最强 ($IC_{50} = (1.07 \pm 0.05) \mu\text{mol/L}$)。此外,含有吡啶甲酸的酯类衍生物

5a、5b 比含 N-BoC-哌啶酸的衍生物 5a、5b 的活性强,表明暴露的 NH 基团有助于提高生物活性。氨基在哌啶甲酸中的位置也能使活性产生变化,C-4 位对抗细胞增殖活性的影响大于 C-3 位(5c>5d)。

此外,Liao 等^[15]也报道了达玛烷型人参皂苷的结构修饰,另外还有对葫芦烷型四环三萜以及含氧杂环四环三萜进行修饰的研究^[16,17]。不难看出,对四环三萜的修饰主要集中在 D 环上的侧链,通过对其延长、酯化或引入含氮基团等,可增强其活性及改善脂水分配系数。C-2、C-3 位是碳环骨架上修饰的重要部位,对活性变化起着直接的影响,常在该部位引入羟基、亚苄基及含氮基团等。当 C-2 位为亚苄基时,其取代基在间位比对位表现出更好的活性,邻对位存在双取代基时比单取代拥有更高的活性。此外其相邻的 C-3 位羟基氧化后活性有所提高,且 C-3 位为不饱和酮基时活性优于酮基。C-2 位为酯基取代时得到的酯类衍生物多具有较强的活性,酯基上裸露的 NH 基团有助于提高生物活性,这一特性可能与其电子云密度较高有关。这些结果对于四环三萜类衍生物结构修饰位点的选择及其抗氧化、抗细胞增殖等作用机制的研究具有一定参考意义。

表 1 达玛烷型三萜衍生物 3~5

Tab.1 Damarane triterpenoid derivatives 3~5

Codes	R ²	R ³	Codes	R ²	R ³	Codes	R ²	R ³
3a			4a			5a		
3b			4b			5b		
3c			4c			5c		
3d			4d			5d		
3e								

2 五环三萜结构衍生研究

五环三萜类衍生物结构多样,活性丰富,多具有抗肿瘤、抗病毒、抗菌、抗炎、护肝及保护神经等

作用^[18]。对五环三萜类结构的修饰多以三萜酸为起始物,引入杂环^[19]、改造 A、E 环^[20],或引入一些活性药效基团等方式,改善脂水分配系数,实

现活性的显著提升。

2.1 三萜酸类衍生物

齐墩果酸、科罗索酸及积雪草酸等五环三萜酸具有广泛的药理活性。但天然三萜酸多存在活性较低及亲脂性差的缺陷,对其特定部位进行结构修饰是行之有效的活性改善方法。Xu 等^[21]发现三萜结构中甲氧基取代相较羟基取代具有更好的抗癌活性,据此对五环三萜酸进行酯化修饰,以化合物 4 为酯基来源,合成一系列三萜衍生物 5~7,修饰位置为 A 环 C-3、C-4 位及五元环 C-17 位。活性实验显示大部分衍生物的抗纤维化作用及抗增殖作用都得到增强。脂溶性的提高增强了药物透过细胞膜的能力,可见酯基的引入能提高三萜的抗癌活性。此外还有研究表明,在 C-28 位引入酰胺键、在 C-11 位引入羰基同样可提高三萜酸抗肿瘤活性^[22]。Heise 等^[23]对齐墩果酸衍生物进行改造得到了两种结构特殊的内酯类三萜(衍生

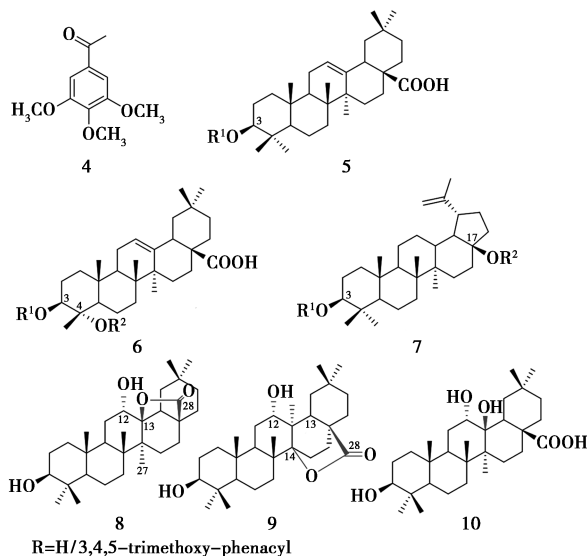


图 2 三萜酸衍生物 4~10

Fig.2 Triterpene acid derivatives 4~10

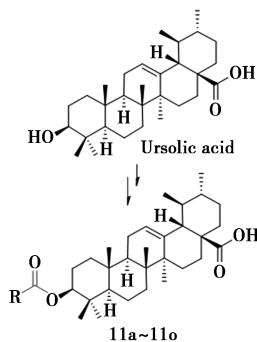
物 8~10) 及含三羟基的齐墩果酸衍生物(10)。其中衍生物 8 对所有细胞株均无细胞毒作用,而衍生物 9 对 MCF-7 和 FaDu 两种癌细胞有一定的选择性。三羟基化合物 10 对 MCF-7 细胞的毒作用最强,毒性约为对非恶性成纤维细胞的 5.5 倍。这类特殊结构为增强三萜抗癌活性及选择性研究提供了新的选择。

除上述,三萜酸还有降血脂、降血糖及消炎镇痛等生物活性。Chen 等^[24]合成了一系列熊果酸 3- β 酯类衍生物(11a~11o),活性实验表明含邻苯二甲酸酯或间苯二甲酸酯的化合物 11a、11b 对胆固醇酯转移蛋白酶(CETP)有中度抑制作用,含对苯二甲酸酯衍生物 11c 抑制作用消失。进一步比较衍生物 11b、11d、11e 可知骨架链上羧基是提高抑制活性的必需基团。与衍生物 11g 相比,含戊二酸酯的衍生物 11j 和 11k 对 CETP 的抑制作用完全丧失,可能原因来自甲基的空间位阻。含 1,2-环丙二羧酸酯的衍生物 11l 具有最强的 CETP 抑制活性,其 IC_{50} 达到 $2.4 \mu\text{mol/L}$ 。骨架链末端的羧基和骨架链的长度是维持或增强 CETP 抑制作用的关键因素,这类 3- β 酯类三萜酸衍生物(如衍生物 11l)有望设计为具有高效 CETP 酶抑制活性的先导化合物。Xu 等^[25]发现糖基化的科罗索酸衍生物具有一定的 α -葡萄糖苷酶抑制活性及较好的水溶性,其水溶性的改善与其结构中 C-2、C-3 位羟基的存在有关。该活性还与 C-28 位取代基密切相关^[26,27]。Rali 等^[28]的研究表明齐墩果酸的 C-3、C-28 位用醋酸酯修饰所得的三萜衍生物具有较好的镇痛作用。王璇等^[29]通过酯化及酰胺反应合成了具有良好抗肿瘤活性的新型齐墩果酸-川芎嗪衍生物,且对正常细胞几乎无毒。

表 2 三萜酸衍生物 11a~11o

Tab.2 Triterpene acid derivatives 11a~11o

Codes	R	Codes	R	Codes	R	Codes	R	Codes	R
a		c		f		j		m	
b		d		g		k		n	
		e		h		l		o	
				i					



上述众多研究表明,针对三萜酸的结构修饰主要集中在 A 环 C-3 位羟基及 C-28 位羧基上。对 C-3 位的修饰多有助于改善细胞毒性,其活性也因修饰基团的不同而产生不同的变化,主要有酯化、酰胺化、糖基化及氧化成酮等。部分三萜类衍生物 C-2 位引入羟基、醛基等基团可使活性提高。C-28 位羧基是活性必需基团,可进行酯化、酰胺化等修饰,该部位未被酯化的衍生物通常活性较高。此外,氨基酸或糖基的引入除了对活性有所影响外,还能在一定程度上改善药物水溶性及药代动力学性质。对五环三萜酸进行酯化修饰可增强抗癌活性,酯基的修饰位点多选择在 A 环 C-3 位、C-4 位、五元环 C-17 位及 C-30 位,其中 C-30 位酯化后对化合物极性有一定影响,酰胺化后可产生一定的靶向作用。部分三萜酸 C 环 C-9、C-11 位上也存在修饰位点,如甘草次酸 C-11 位 α,β -不饱和酮羰基。C-9 位引入双键、C-11 位脱氧后能提高抗溃疡、抗癌等活性,但针对 C 环的改造多作为辅助修饰出现。这些修饰位点与基团的选择对于三萜酸类乃至大部分五环三萜可能是普遍适用的。此外,针对三萜酸的强疏水性,可考虑将其制成钠盐,已有研究表明齐墩果酸钠盐能通过口服给药提高生物利用度^[30],且同样具有良好的降酶和保肝作用。天然三萜酸与适当的修饰分子连接可得到活性优良的半合成衍生物,这些衍生物多具有治疗癌症或病毒感染的潜力,且对于在分子水平上研究三萜类天然产物的作用机制意义重大。

2.2 含氮杂环类三萜衍生物

研究表明,在五环三萜中引入含氮杂环可以显著提高生物活性,与碳环类似物相比,杂环衍生物通常更稳定,更能抵抗代谢降解^[31]。芳香族杂环衍生物在紫外光照射下通常有明显的吸收带,更便于体内研究和临床试验中对它们的检测,也有助于药物生产中杂质的去除^[32]。杂环衍生物的诸多优点使其具有巨大的应用潜力,是三萜结构修饰的一个重要方向。

五元含氮杂环类三萜最为常见,多为芳香族化合物,杂环通常连接在 A 环 C-2、C-3 位上。Kumar 等^[33]以白桦酸为原料合成了一系列含五元含氮杂环的衍生物(12~14)。其中衍生物 12 活性几近消失,而 N-1 位未取代的吡啶衍生物 13a 对 SW620、PA-1 和 MIAPaCa 等癌细胞具有广

谱细胞毒作用,在 N-1 位引入给电子甲基后得到的衍生物 13b 对 MIAPaCa 癌细胞具有一定的选择性。此外在吡啶环上引入吸电子卤素基团可产生较强的细胞毒性,如衍生物 13c 对 3 种癌细胞均具有较强杀伤作用。当在 C-5'位用氟取代氯时,衍生物 13d 活性显著下降。在将吡啶环中卤原子的位置从 C-5'改变为 C-7'时,氯取代衍生物 13e 得到较为显著的抗癌活性。吡啶环上双卤素吸电子基团取代得到衍生物 13f,对 A549 癌细胞也出现选择性,而用给电子基团甲氧基取代吸电子基团没有使活性出现实质性变化(衍生物 13g)。C-28 位羧基被取代后活性完全丧失。但对氨基酸酯类衍生物进行水解后得到的衍生物 14 恢复了良好的活性。

针对三萜酸 C-3、C-8 位引入含氮基团也可得到活性衍生物,如具有良好糖原磷酸化酶抑制活性的含氮衍生物(15~17)^[34]。A 环羟基取代后的衍生物 15 相比母体科罗索酸活性降低,提示 A 环上羟基为活性必需基团。C-28 位引入脂肪族氨基酸的衍生物 17a 活性高于引入相应的氨基酸酯衍生物 16a,而引入芳香族氨基酸的衍生物 17c 和 17d 活性则弱于引入相应的氨基酸酯类衍生物 16c 和 16d。表明科罗索酸 C-28 位引入基团的体积、电性均会影响衍生物的活性。

含有 3 个以上杂原子的五元杂环三萜类衍生物也有报道,如以齐墩果酸为原料合成的噁二唑衍生物(18)和三唑衍生物(19)^[35,36]等。含六元杂环的三萜类衍生物也不多见,该类衍生物主要是吡嗪、嘧啶、三嗪和喹啉类,仅含单个 N 原子的吡啶或喹啉类杂环亦较为少见。六元杂环衍生物大多通过 C-2、C-3 位融合到 A 环上,少部分通过 C-1、C-2 位融合(如吡嗪),另有部分修饰部位在 E 环 C-21、C-22 位上(如吡嗪和喹啉)。含七元杂环或内酰胺的三萜类衍生物也较为罕见,七元杂环可通过腈类化合物在 A 环上的 Beckmann 重排反应得到,如衍生物 20^[37]。

三萜类天然产物普遍存在活性低、口服生物利用度不高的缺陷,含氮结构的加入可以提高其药物活性、改善药物的水溶性和稳定性。多数杂环三萜的修饰部位为 A 环 C-2、C-3 位,如卤代吡啶环、吡啶环等含氮杂环的取代可得到高效的细胞毒性衍生物。对于吡啶环上的修饰,一般卤素等吸电子基团优于给电子基团,可改善活性或产

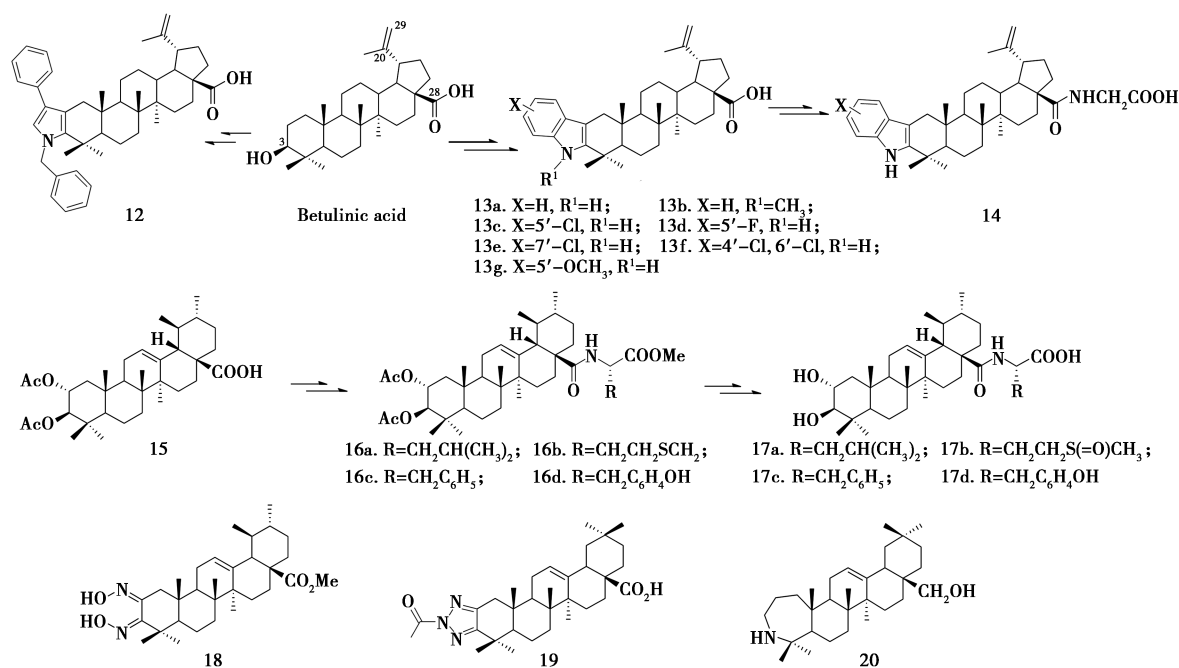


图 3 含氮杂环三萜衍生物 12~20

Fig.3 Nitrogen-containing heterocyclic triterpene derivatives 12~20

生一定的靶向作用。环上卤原子的位置及个数也会对活性产生影响。多数情况下, C-20 (29) 位双键的氢化会降低细胞毒性。C-28 位羧基是活性的必需基团, 羧基被酯或酰胺酯取代会产生非活性化合物, 而酰胺酯的水解可生成具有高效活性的化合物。经过结构改造的三萜类含氮衍生物是三萜类化学合成的重要对象, 同时也是一类潜力巨大的新药开发候选物。部分非常见部位修饰或含多元杂环的三萜衍生物虽不多见, 但其仍存在一定的生物活性, 这类衍生物的出现不仅拓宽了三萜结构修饰位点及修饰基团的选择, 也为三萜类潜在活性的研究提供了更多可能。

2.3 拼接活性分子的三萜类衍生物

拼合原理是将两种或两种以上活性物质组合在一种药物中, 这不仅可以用来发挥多种药物的协同作用, 克服耐药性, 提高药效, 还能减少不良反应的发生。这种策略同样被应用于三萜类衍生物的结构修饰中, 如五环三萜与活性分子的拼接产物可提高三萜母体的活性, 这类结构的出现可给三萜药物的合成开发提供新的选择。

Dang 等^[38,39] 将三萜酸与 AZT (叠氮胸苷) 相连合成一系列三萜类衍生物 (21a、21b), 对两种人肿瘤细胞系表现出良好的细胞毒性。Bori 等^[40] 依托三氮唑结构在白桦酸 C-3、C-28 位与 AZT 相连得到一系列三萜衍生物 (22、23), 衍生物

23 显示出很强的抗 HIV 活性。还有部分三萜类与氨基酸的拼接产物被发现具有抗 HIV 活性, 如白桦酸与氨基酸相连得到的衍生物 (24)^[41]。这类化合物在 C-28 位被取代, 氨基酸的引入不仅能增强活性, 还有改善水溶性以增加生物利用度的效果。拼接活性分子的三萜衍生物是一类非常具有潜力的抗 HIV 活性化合物。针对这一活性的衍生物主要改造位置在 C-3、C-28 位上, 如 C-28 位引入酰胺键或含氮侧链, C-3 位引入 O-酰基等。部分含异丙烯基团的三萜衍生物还可在 C-30 位上进行修饰, 这是提高抗 HIV 活性的一个潜在修饰位点。

除此之外, 三萜类化合物还能与一些活性小分子相连。如齐墩果酸与 β -环糊精相连的衍生物 (25), 这类新型的环糊精五环三萜衍生物具有抑制丙型肝炎病毒的活性, 且改善了三萜母体的亲水性, 同时还发现 β -环糊精的引入使得三萜苷元的溶血活性消失^[42,43], 这一特性使得 β -环糊精与三萜的衍生物在提高抗病毒活性、降低毒副作用方面拥有令人期待的前景。类似地, 与 L-抗坏血酸相连的三萜衍生物 (26)^[44] 被发现具有良好的抗流感病毒活性及选择性, 这与 L-抗坏血酸中加入 O-苄基取代基有关, O-苄基修饰增强了抗流感病毒的潜力, 且几乎没有细胞毒性, 是一类活性优良的抗流感病毒进入抑制剂。齐墩果酸 (OA)

AZT 相连,当 E 环为五元环时,修饰部位多在 C-3、C-11 位,C-3 位可为羟基或短碳链,C-11 位一般为羰基。E 环为六元环时,修饰部位多在 C-19、C-20 位,多为甲基取代。衍生物连接部位多选择 C-28 位,通过三氮唑、2,2-二甲基丁二酰基等结构相连接,所得衍生物多为 5'-叠氮基三萜衍生物。此外还有与氨基酸、环糊精、抗坏血酸及 HSA 等分子相连的例子,合成的大多数衍生物拥有更强的活性,同时可以改善母体亲水性差、代谢速度快等缺陷。通过合理设计,将三萜与修饰分子合成结合物,是研究潜在治疗药物的重要方法之一。同时,利用合成拼接活性分子的三萜类衍生物改善生物活性或制备探针等的研究正逐步受到重视,对于天然产物合成修饰及实际临床应用具有重大意义。

3 结论与展望

过去数十年对天然产物的广泛研究表明,三萜及其衍生物是一类潜力巨大的活性化合物,尤其是具有广泛药理活性的五环三萜,是进一步开发新型抗癌抗病毒药物最重要的先导化合物之一。三萜的合成与修饰在天然产物研究中占据着重要地位,目前已有上千个不同类型的三萜衍生物被合成,这些衍生物骨架上有着不同的结构修饰,表现出不同的生物活性,具有种类丰富及作用广泛的特点,但其同时存在的选择性低、活性不高及亲水性差等缺陷需要通过化学方法进行修饰改造。如三萜类分子普遍存在疏水性的刚性骨架,针对这一特性的改造多是引入亲水性基团。需要注意的是通过结合亲水基团改善疏水性的化合物进入体内后是否依然能发挥效果。此外,限制三萜活性研究潜力的因素还包括其 ADME 性质。通过已有的研究不难发现,针对三萜的结构改造大多在于如何提升分子活性与选择性,普遍忽略了其药代动力学性质。这一弊端可能导致结构改造后的衍生物只能停留在“活性化合物”阶段,距离成为“药物”依然有距离。在后续的结构改造中,三萜的 ADME 性质是不可忽视的一环。天然三萜类小分子独特的骨架结构及其众多修饰位点使其在多个领域表现出巨大潜力,如以三萜分子为材料的组装结构被证实拥有高效的抗癌活性及生物安全性^[55]。近年来,计算机辅助药物设计及合成生物学的兴起也进一步拓宽了人们对于三萜

结构修饰与合成途径的视野。相对于传统的分析方法及实验手段,这类新型的技术在很大程度上有助于发现三萜的重要作用靶点,对于结构改造中修饰基团的选择及受体连接位置具有重要指导意义,同时有着简便易控的流程及绿色高效的产出,这对探讨三萜类活性分子的作用机制及深入理解三萜的理化性质有很大帮助。三萜的半合成及改造有了很大的进步,活性研究也正蓬勃展开,各种新的合成方法路线及衍生物的出现大大推动了三萜的合成进展,但相关研究大多停滞在细胞水平,进入体外研究的仍为少数,距离其成药及进入临床依然有很长的路要走。

参考文献:

- [1]程晓华,熊玉卿.五环三萜皂苷的药理作用研究进展[J].中草药,2007,38(5):792-795.
- [2]谭贻,唐传红,冯杰,等.灵芝三萜生物合成及调控研究进展[J].食用菌学报,2019,26(3):125-140.
- [3]SUN J S, LIAO J X, HU Z N, et al. Advances in the semi-synthesis of triterpenoids [J]. *Synthesis*, 2021, 53(23): 4 389-4 4 08.
- [4]WANG Z, HUI C. Contemporary advancements in the semi-synthesis of bioactive terpenoids and steroids [J]. *Org. Biomol. Chem.*, 2021, 19(17): 3 791-3 812.
- [5]REN Y, KINGHORN A. Natural product triterpenoids and their semi-synthetic derivatives with potential anticancer activity [J]. *Planta. Med.*, 2019, 85(11/12): 802-814.
- [6]SALVADOR J, LEAL A, VALDEIRA A, et al. Oleanane-, ursane-, and quinone methide friedelane-type triterpenoid derivatives: Recent advances in cancer treatment [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2017, 142: 95-130.
- [7]KVASNICA M, URBAN M, DICKINSON N, et al. Pentacyclic triterpenoids with nitrogen- and sulfur-containing heterocycles: Synthesis and medicinal significance [J]. *Nat. Prod. Rep.*, 2015, 32(9): 1 303-1 330.
- [8]TOLMACHEVA I, IGOSHEVA E, VIKHAREV I, et al. Synthesis and biological activity of 2, 3-secotriterpene acid mono- and diamides [J]. *Bioorg. Khim.*, 2013, 39(2): 212-220.
- [9]URBAN M, KVASNICA M, DICKINSON N, et al. Biologically active triterpenoids usable as prodrugs [M]. New York: Nova Science Publishers, 2015.
- [10]ZHOU M, ZHANG R H, WANG M, et al. Prodrugs of triterpenoids and their derivatives [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2017, 131: 222-236.
- [11]O'KEEFFE R, KENNY O, BRUNTON N, et al. Synthesis

- of novel 24-amino-25, 26, 27-trinorlanost-8-enes: Cytotoxic and apoptotic potential in U937 cells [J]. *Bioorg. Med. Chem.*, 2015, **23**(9): 2 270-2 280.
- [12] UKIYA M, HAYAKAWA T, OKAZAKI K, et al. Synthesis of lanostane-type triterpenoid N-glycosides and their cytotoxicity against human cancer cell lines [J]. *Chem. Biodivers.*, 2018, **15**(7): e1 800 113.
- [13] GRISHKO V, TOLMACHEVA I, NEBOGATIKOV V, et al. Preparation of novel ring-A fused azole derivatives of betulin and evaluation of their cytotoxicity [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2017, **125**: 629-639.
- [14] MA L, WANG X, LI W, et al. Synthesis and anti-cancer activity studies of dammarane-type triterpenoid derivatives [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2020, **187**: 111 964.
- [15] LIAO J X, HU Z N, LIU H, et al. Advances in the semi-synthesis of triterpenoids [J]. *Synthesis*, 2021, **53**(23): 4 389-4 408.
- [16] WANG Z, HUI C. Contemporary advancements in the semi-synthesis of bioactive terpenoids and steroids [J]. *Org. Biomol. Chem.*, 2021, **19**(17): 3 791-3 812.
- [17] REN Y, KINGHORN A. Natural product triterpenoids and their semi-synthetic derivatives with potential anti-cancer activity [J]. *Planta. Med.*, 2019, **85**(11/12): 802-814.
- [18] 刘蒲, 王国权. 五环三萜类化合物的药理作用研究进展 [J]. *海峡药学*, 2018, **30**(10): 1-6.
- [19] KVASNICA M, URBAN M, DICKINSON N, et al. Pentacyclic triterpenoids with nitrogen- and sulfur-containing heterocycles: Synthesis and medicinal significance [J]. *Nat. Prod. Rep.*, 2015, **32**(9): 1 303-1 330.
- [20] BORKOVA L, HODON J, URBAN M. Synthesis of betulinic acid derivatives with modified A-rings and their application as potential drug candidates [J]. *Asian. J. Org. Chem.*, 2018, **7**(8): 1 542-1 560.
- [21] XU J, WANG X, ZHANG H, et al. Synthesis of triterpenoid derivatives and their anti-tumor and anti-hepatic fibrosis activities [J]. *Nat Prod Res.*, 2020, **34**(6): 766-772.
- [22] LI J F, HUANG R Z, YAO G Y, et al. Synthesis and biological evaluation of novel aniline-derived asiatic acid derivatives as potential anticancer agents [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2014, **86**: 175-188.
- [23] HEISE N, SIEWERT B, STRÖHL D, et al. A simple but unusual rearrangement of an oleanane to a taraxerane-28, 14 β -olide [J]. *Steroids*, 2021, **172**: 108 853.
- [24] CHEN C, SUN R, SUN Y, et al. Synthesis, biological evaluation and SAR studies of ursolic acid 3 β -ester derivatives as novel CETP inhibitors [J]. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2020, **30**(2): 126 824.
- [25] XU J, NIE X, HONG Y, et al. Synthesis of water soluble glycosides of pentacyclic dihydroxytriterpene carboxylic acids as inhibitors of α -glucosidase [J]. *Carbohydr Res.*, 2016, **424**: 42-53.
- [26] ZENG Z, YIN X, WANG X, et al. Synthesis of water soluble pentacyclic dihydroxyterpene carboxylic acid derivatives coupled amino acids and their inhibition activities on α -glucosidase [J]. *Bioorg. Chem.*, 2019, **86**: 277-287.
- [27] LIU X, ZANG X, YIN X, et al. Semi-synthesis of C28-modified triterpene acid derivatives from maslinic acid or corosolic acid as potential α -glucosidase inhibitors [J]. *Bioorg. Chem.*, 2020, **97**: 103 694.
- [28] RALI S, OYEDEJI OO, AREMU OO, et al. Semisynthesis of derivatives of oleanolic acid from syzygium aromaticum and their antinociceptive and anti-inflammatory properties [J]. *Mediators Inflamm.*, 2016, **2 016**: 8 401 843.
- [29] 王璇, 姜晓晔, 黎七雄. 齐墩果酸-川芎嗪衍生物的合成及抗肿瘤活性研究 [J]. *化学试剂*, 2022, **44**(2): 186-194.
- [30] 李志梅, 孙志勇, 刘华庆. 齐墩果酸钠盐对大鼠化学性肝损伤的保护作用 [J]. *贵州医药*, 2004, **28**(7): 582-583.
- [31] CUI H W, HE Y, WANG J, et al. Synthesis of heterocycle-modified betulinic acid derivatives as antitumor agents [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, **95**: 240-248.
- [32] KVASNICA M, URBAN M, DICKINSON N, et al. Pentacyclic triterpenoids with nitrogen- and sulfur-containing heterocycles: Synthesis and medicinal significance [J]. *Nat. Prod. Rep.*, 2015, **32**(9): 1 303-1 330.
- [33] KUMAR V, RANI N, AGGARWAL P, et al. Synthesis and cytotoxic activity of heterocyclicring-substituted betulinic acid derivatives [J]. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2008, **18**: 5 058-5 062.
- [34] 李晶, 靳晓婷, 张丽颖. 五环三萜含氮衍生物的合成及糖原磷酸化酶抑制活性 [J]. *中国药科大学学报*, 2016, **47**(4): 422-428.
- [35] LI H, ZOU H, GAO L, et al. Synthesis and biological evaluation of oleanolic acid derivatives as novel inhibitors of protein tyrosine phosphatase 1B [J]. *Heterocycles*, 2012, **85**: 1 117-1 139.
- [36] KANG X, HU J, GAO Z, et al. Synthesis, anti-proliferative and proapoptotic activity of novel oleanolic acid aza-heterocyclic derivatives [J]. *Med. Chem. Commun.*, 2012, **3**: 1 245-1 249.

- [37] KAZAKOVA O, GINIYATULLINA G, MEDVEDEVA N, et al. Synthesis and cytotoxicity of triterpene seven-membered cyclic amines [J]. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, 2014, **40**: 198-205.
- [38] DANG T T, KIM T N, PHAM T C, et al. Synthesis and cytotoxic evaluation of novel amide-triazole-linked triterpenoid-AZT conjugates [J]. *Tetrahedron Lett.*, 2015, **56**: 218-224.
- [39] DANG T T, KIM T N, PHAM T C, et al. Synthesis and cytotoxic evaluation of novel ester-triazole-linked triterpenoid-AZT conjugates [J]. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2014, **24**(22): 5 190-5 194.
- [40] BORI I, HUNG H, QIAN K, et al. Anti-AIDS agents 88. Anti-HIV conjugates of betulin and betulinic acid with AZT prepared via click chemistry [J]. *Tetrahedron Lett.*, 2012, **53**(15): 1 987-1 989.
- [41] DANG Z, QIAN K, HO P, et al. Synthesis of betulinic acid derivatives as entry inhibitors against HIV-1 and bevirimat-resistant HIV-1 variants [J]. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2012, **22**(16): 5 190-5 194.
- [42] XIAO S, WANG Q, SI L, et al. Synthesis and anti-HCV entry activity studies of β -cyclodextrin-pentacyclic triterpene conjugates [J]. *Chem. Med. Chem.*, 2014, **9**(5): 1 060-1 070.
- [43] XIAO S, WANG Q, SI L, et al. Synthesis and biological evaluation of novel pentacyclic triterpene α -cyclodextrin conjugates as HCV entry inhibitors [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2016, **124**: 1-9.
- [44] WANG H, XU R, SHI Y, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel L-ascorbic acid-conjugated pentacyclic triterpene derivatives as potential influenza virus entry inhibitors [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2016, **110**: 376-388.
- [45] YANG Y, HE H J, CHANG H, et al. Multivalent oleanolic acid human serum albumin conjugate as nonglycosylated neomucin for influenza virus capture and entry inhibition [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2018, **143**: 1 723-1 731.
- [46] TANG X L, YANG X Y, JUNG H J, et al. Asiatic acid induces colon cancer cell growth inhibition and apoptosis through mitochondrial death cascade [J]. *Biol. Pharm. Bull.*, 2009, **32**(8): 1 399-1 405.
- [47] SOMMERWERK S, HELLER L, KERZIG C, et al. Rhodamine B conjugates of triterpenic acids are cytotoxic mitocans even at nanomolar concentrations [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2017, **127**: 1-9.
- [48] KAHNT M, WIEMANN J, FISCHER L, et al. Transformation of asiatic acid into a mitocanic, bimodal-acting rhodamine B conjugate of nanomolar cytotoxicity [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2018, **159**: 143-148.
- [49] ZIELONKA J, JOSEPH J, SIKORA A, et al. Mitochondria-targeted triphenylphosphonium-based compounds: Syntheses, mechanisms of action, and therapeutic and diagnostic applications [J]. *Chem. Rev.*, 2017, **117**(15): 10 043-10 120.
- [50] GRYMEL M, ZAWOJAK M, ADAMEK J. Triphenylphosphonium analogues of betulin and betulinic acid with biological activity: A comprehensive review [J]. *J. Nat. Prod.*, 2019, **82**(6): 1 719-1 730.
- [51] EMMERICH D, VANCHANAGIRI K, BARATTO L, et al. Synthesis and studies of anticancer properties of lupane-type triterpenoid derivatives containing a cisplatin fragment [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2014, **75**: 460-466.
- [52] ACKERMANN A, KARAGÖZ AÇ, GHOOCHANI A, et al. Cytotoxic profiling of artesunic and betulinic acids and their synthetic hybrid compound on neurons and gliomas [J]. *Oncotarget*, 2017, **8**(37): 61 457-61 474.
- [53] TURKMEN Z, KLYMCHENKO A, ONCUL S, et al. A triterpene oleanolic acid conjugate with 3-hydroxyflavone derivative as a new membrane probe with two-color ratiometric response [J]. *J. Biochem. Biophys. Methods.*, 2005, **64**(1): 1-18.
- [54] KRAJCOVICOVA S, STANKOVA J, DZUBAK P, et al. A synthetic approach for the rapid preparation of BODIPY conjugates and their use in imaging of cellular drug uptake and distribution [J]. *Chemistry*, 2018, **24**(19): 4 957-4 966.
- [55] 程建军, 杨鑫. 三萜天然小分子自组装机制及其协同抗癌应用研究 [J]. *药学学报*, 2021, **56**(8): 2 102-2 111.

8-羟基喹啉衍生物镍(Ⅱ)配合物的合成、晶体结构、抗肿瘤活性及其与 BSA 作用研究

袁涛,覃姣兰*,黄如川,姚鹏飞,范歆晨,谢亚茹

(百色学院 化学与环境工程学院 广西城市水环境重点实验室,广西 百色 533000)

摘要:以 8-羟基喹啉-2-甲醛和 2-胍基-4,6-二甲基嘧啶缩合得到席夫碱配体 L,配体 L 与 $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 反应得到配合物 $[\text{Ni}(\text{L})\text{Cl}_2]$ (简称 L-Ni),X-单晶衍射表明配合物 L-Ni 属于三斜晶系,空间群 $P-1$ 。MTT 实验表明,配合物 L-Ni 对肿瘤细胞 MGC-803、NCI-H460、T-24、Skov-3 的生长均有抑制作用,对 T-24 的抑制作用最强, $\text{IC}_{50} = (16.65 \pm 0.18) \mu\text{mol/L}$,细胞毒性大于顺铂。从荧光光谱结果看,配合物 L-Ni 能使牛血清白蛋白(BSA)的荧光发生静态猝灭,两者间主要作用力为氢键和范德华力。配合物 L-Ni 与 BSA 间有一个结合位点,紫外-可见光谱、同步荧光光谱及位点竞争实验表明,配合物 L-Ni 与 BSA 亚结构域 II A 的位点 I 结合,使 BSA 微环境极性减小,而疏水性增加,推测配合物 L-Ni 使 BSA 的二级结构发生了改变。

关键词:镍配合物;抗肿瘤;光谱研究;静态猝灭;相互作用

中图分类号: O657 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)05-0051-08

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0028

Synthesis, Crystal Structure, Antitumor Activity and Interaction with BSA of Nickel(Ⅱ) Complex with 8-Hydroxyquinoline Derivative YUAN Tao, QIN Jiao-lan*, HUANG Ru-chuan, YAO Peng-fei, FAN Xin-chen, XIE Ya-ru (Guangxi Key Laboratory of Urban Water Environment, College of Chemistry and Environmental Engineering, Baise University, Baise 533000, China)

Abstract: The schiff base ligand L was synthesized by the condensation of 8-hydroxyquinoline-2-formaldehyde and 2-hydrazino-4,6-dimethylpyrimidine, L then reacted with $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ to obtain the complex $[\text{Ni}(\text{L})\text{Cl}_2]$ (L-Ni), X-single crystal diffraction showed that L-Ni belongs to the triclinic system, and the spatial group $P-1$. MTT tests showed that L-Ni could inhibit the growth of tumor cells (MGC-803, NCI-H460, T-24 and Skov-3), and have the strongest inhibition on T-24, $\text{IC}_{50} = (16.65 \pm 0.18) \mu\text{mol/L}$. Such cytotoxicity is greater than that of cisplatin. According to the fluorescence spectroscopy results, L-Ni can statically quench the fluorescence of bovine serum albumin (BSA), and the main binding forces between them are hydrogen bonding and Van der Waals force. The UV-Vis spectra, synchronous fluorescence spectra and site tests indicated there is a binding site between L-Ni and BSA, which is L-Ni binding to the site I of BSA subdomain II A. This binding force could cause the polarity decrease and thus the hydrophobicity increase of BSA microenvironment, inferring the secondary structure changes of BSA by L-Ni.

Key words: nickel complex; antitumor; spectral studies; static quenching; interaction

镍是生物体中必需的微量元素,在生物体内发挥重要的生物学功能,如参与核酸与蛋白的代谢、参与激素的调节,是许多酶的活性中心,在维持细胞膜的结构和功能中起一定作用等。研究表明,镍配合物对多种肿瘤细胞具有较好的抑制增殖作用,如文献[1]报道的 2-羟基-1-萘甲醛的双席夫碱 Ni(Ⅱ)配合物对 MGC80-3、HeLa、T-24、Hep-G2 等癌细胞具有良好毒性作用,其 IC_{50} 值均小于 $10 \mu\text{mol/L}$,高于顺铂的细胞毒性。1-吡啶- β -吡啉 Ni(Ⅱ)配合物对 MGC-803 细胞株的 IC_{50} 比相同条件下的顺铂高 6.5 倍,抗癌机理与细胞周期 S 期阻滞和 Akt-p27-CDK2 通路密切相关^[2];以 2-氨基-5-氯苯酚缩合 2-喹啉甲醛合成的席夫

碱 Ni(Ⅱ)配合物对肿瘤细胞 HepG2、BEL-7404、BEL-7402 等的抑制活性均比顺铂好^[3]。

8-羟基喹啉衍生物金属配合物具有很好的肿

收稿日期:2023-01-17;网络首发日期:2023-03-08

基金项目:广西省部共建药用资源化学与药物分子工程国家重点实验室开放课题项目(CMEMR2019-B11);广西自然科学基金项目(2018GXNSFBA281197);广西大学生创新创业训练计划项目(202110609138)。

作者简介:袁涛(1983-),男,山东菏泽人,硕士,讲师,主要研究方向为配合物的合成及活性研究。

通讯作者:覃姣兰, E-mail: 635328858@qq.com。

引用本文:袁涛,覃姣兰,黄如川,等.8-羟基喹啉衍生物镍(Ⅱ)配合物的合成、晶体结构、抗肿瘤活性及其与 BSA 作用研究[J].化学试剂,2023,45(5):51-58。

瘤细胞毒性,形成配合物后对肿瘤细胞的生长抑制相对于配体显著提高^[4,5]。8-羟基喹啉衍生物除了与铂^[6]、钌^[7]等贵金属形成的配合物具有显著的抗肿瘤活性外,与过渡金属形成的配合物也展现出很好的抑瘤活性。如 Liu 等^[8]合成的双溴代 8-羟基喹啉 Cu(II) 和 Zn(II) 配合物,对肿瘤细胞 NCI-H460、BEL-7404、SK-OV-3 表现出显著毒性,其抗肿瘤活性远远强于配体,甚至比顺铂对这 3 株肿瘤细胞的毒性还强。此外,该课题组合成的 3 个 8-羟基喹啉衍生物 Co(II) 配合物对受试肿瘤细胞株也表现出比配体强的细胞毒性,其中对 T-24 膀胱癌细胞毒性大于顺铂^[9]。由此可见,8-羟基喹啉衍生物金属配合物是一类具有潜在抗癌活性的金属基药物。

众所周知,血清白蛋白是血浆中最丰富的蛋白质,是药物运输的载体,在药物的吸收与分配中起重要作用,血浆中药物的浓度取决于其与血清白蛋白的结合能力。在正常情况下,血浆中游离药物的浓度应保持在一定的范围内,低水平会导致血浆中游离药物的浓度降低,高水平会阻碍有效的分配。因此,获得所研究的化合物与血清白蛋白的结合常数对新药的设计及与蛋白质结合的剂量筛选至关重要,这项工作具有重要的生物学意义。由于牛血清白蛋白便宜且容易获得,而且在结构上与人血清白蛋白(HSA)同源,许多研究使用 BSA 作为参考蛋白结合剂进行研究。

鉴于 8-羟基喹啉衍生物金属配合物的良好抗肿瘤活性,本文以 8-羟基喹啉-2-甲醛、2-胍基-4,6-二甲基嘧啶为原料合成席夫碱配体,进一步与 $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 反应生成配合物 L-Ni(合成路线见图 1),并研究配合物 L-Ni 体外抗肿瘤活性。用光谱法研究了配合物与 BSA 相互作用,为探索配合物抗肿瘤机制奠定基础。

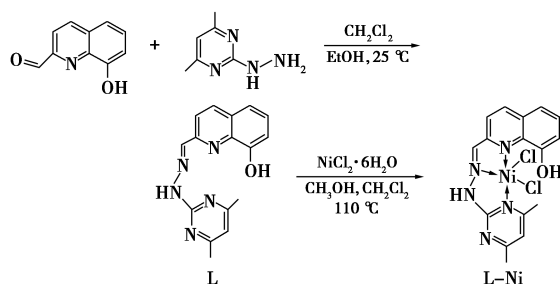


图 1 配体 L 和配合物 L-Ni 的合成路线

Fig.1 Synthetic routes for ligand L and compound L-Ni

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

APEXII 型 X-射线单晶衍射仪(美国 Rigaku 公司);UV-2700 型紫外-可见分光光度计、IRPresti-21 型傅里叶变换红外分析仪(日本岛津公司);F-7000 型荧光分光光度计(日本日立公司);EL×800 型多功能酶标仪(美国 Bio Tekinstruments 公司);Nikon TS100 型荧光倒置显微镜(日本尼康公司);MCO96 型二氧化碳恒温培养箱(日本 OSAKA 公司)。

羟基喹啉-2-甲醛、2-胍基-4,6-二甲基嘧啶、华法林钠、布洛芬(纯度 $\geq 98\%$, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司);Tris-HCl 缓冲溶液(DNA 级, pH 7.40, 上海麦克林生化科技有限公司);牛血清白蛋白(BSA)、溴化乙啶(EB)、胰酶、四甲基偶氮唑盐(MTT)(纯度 $\geq 98\%$, 美国 Sigma 公司);胎牛血清(赛默飞世尔科技公司);所用试剂均为分析纯,实验用的细胞株均购自于中国科学院上海细胞库。

1.2 实验方法

1.2.1 配体 L 与配合物 L-Ni 的合成

将 0.017 g(0.1 mmol) 8-羟基喹啉-2-甲醛用无水乙醇溶解,0.014 g(0.1 mmol) 2-胍基-4,6-二甲基嘧啶用 10 mL CH_2Cl_2 溶解,两者混合,于常温下反应 1 h 后,有浅黄色固体析出,过滤,乙醇洗涤 2~3 次,产率 78%,该固体产物为 8-羟基喹啉-2-甲醛缩 2-胍基-4,6-二甲基嘧啶席夫碱(L)。IR(KBr), ν , cm^{-1} : 3 515, 3 235, 3 150, 1 661, 1 606, 1 566, 1 459, 1 371, 1 326, 1 184, 1 169, 1 149, 929, 849, 754, 632, 539。

将 0.035 g(0.1 mmol) 配体 L 和 0.024 g(0.1 mmol) 的 $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 加入到一端封闭的 20 cm Pyrex 厚壁玻璃管中,加 15 滴 CH_3OH 和 15 滴 CH_2Cl_2 ,液氮冷冻后,在抽真空条件下将开口端熔封,混合均匀后置于 110 °C 烘箱中反应,3 d 后梯度降温,管内生成深绿色棒状晶体(L-Ni),产率约 46%。挑选合适单晶进行 X-射线单晶衍射分析。IR(KBr), ν , cm^{-1} : 3 492, 3 395, 1 609, 1 601, 1 554, 1 436, 1 376, 1 361, 1 269, 1 159, 1 242, 1 159, 924, 769, 594, 514。

1.2.2 MTT 实验

配合物 L-Ni 用 DMSO 溶解配成母液,然后用细胞培养液稀释到所需要的浓度,顺铂作阳性对照。所选细胞株均置于 37 °C、5% CO_2 的培养箱

中,采用含 10% 新生牛血清以及青链霉素各 100 U/mL 的 RPMI-1640 培养液或 DMEM 培养液培养。倒置显微镜观察细胞生长情况,0.25% 胰蛋白酶消化传代,取对数生长期细胞用于实验。在 MTT 实验中,受试细胞接种于 96 孔培养板中,待细胞贴壁后,每孔加入不同浓度的配合物,每个浓度设 5 个复孔,同时设定相应的空白对照,用酶标仪测定去除本底光吸收值后的吸光度(OD)值,计算细胞增殖抑制率。抑制率=(1-加药组 OD 值/对照组 OD 值)×100%。用 SPSS 法分别计算各化合物对各种肿瘤细胞株的 IC₅₀ 值

1.2.3 荧光光谱测定

(1)配合物 L-Ni 与 BSA 作用

配合物 L-Ni 配成 2.0×10⁻³ mol/L 的 DMSO 储备液,BSA 用 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲溶液(pH 7.40)配成 5.0×10⁻⁵ mol/L 储备液。在荧光光谱实验中,分别在 297、303、309 K 温度下,在比色管中加入适量 5.0×10⁻⁵ mol/L 的 BSA,逐步增加配合物 L-Ni 储备液的体积,再用缓冲溶液定容至 3.00 mL,使最终 BSA 浓度固定为 5×10⁻⁶ mol/L,配合物 L-Ni 的浓度变化范围为 0~2.4×10⁻⁵ mol/L。反应 10 min 后测其荧光光谱,激发波长为 280 nm,电压 480 V,狭缝宽度均为 5 nm。在同步荧光中,将激发和发射波长设置为 Δλ = 15 nm 和 Δλ = 60 nm 进行测定。

(2)位点竞争实验

华法林钠和布洛芬分别用水和 DMSO 配制 成 2.0×10⁻³ mol/L 溶液,固定 BSA 浓度为 5.0×10⁻⁶ mol/L,配合物 L-Ni 的浓度为 2.5×10⁻⁵ mol/L,即 n(BSA):n(L-Ni)=1:5,变化华法林钠或布洛芬的浓度为 0~1.2×10⁻⁵ mol/L,按照测荧光光谱条件测定体系荧光强度。

考虑到配合物 L-Ni 在 250~420 nm 处有紫外吸收,采用以下公式(式 1)对荧光内滤效应进行校正^[10]:

$$F_{\text{corr}} = F_{\text{obs}} \times 10^{(A_{\text{ex}}+A_{\text{em}})/2}$$
 (1)

式中: F_{corr} 为校正后的荧光强度; F_{obs} 为仪器测出的荧光强度; A_{ex} 和 A_{em} 分别为配合物 L-Ni 与 BSA 体系在激发波长和发射波长下的紫外吸收强度。

1.2.4 紫外-可见光谱测定

固定 BSA 溶液浓度为 5×10⁻⁶ mol/L,分别滴加浓度为 2.0×10⁻³ mol/L 的配合物 L-Ni,使其浓度变化范围为 0~2.4×10⁻⁵ mol/L,反应 10 min 后,在 200~500 nm 下进行光谱扫描。

2 结果与讨论

2.1 晶体结构

配合物 L-Ni 晶体结构如图 2 所示,相关晶体数据见表 1 和表 2。配合物 L-Ni 属于三斜晶系,

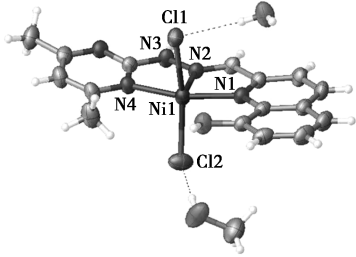


图 2 配合物 L-Ni 的晶体结构

Fig.2 Crystal structure of compound L-Ni

表 1 配合物 L-Ni 晶体学数据及结构修正参数

Tab.1 Crystal data and structure refinement of compound L-Ni

Parameters	L-Ni
Empirical formula	C ₁₇ H ₂₁ Cl ₂ N ₅ NiO ₃
Formula weight (<i>M</i>)	473.00
Crystal system	Triclinic
Space group	<i>P</i> -1
<i>a</i> /Å	9.067 0(7)
<i>b</i> /Å	9.478 3(9)
<i>c</i> /Å	14.175 8(10)
α /°	71.015(8)
β /°	71.808(7)
γ /°	62.744(9)
<i>V</i> /Å ³	1 004.60(14)
<i>Z</i>	2
$\rho_{\text{calc}}/(g \cdot cm^{-3})$	1.564
<i>F</i> (000)	488.0
2 θ range for data collection(°)	6.6 to 52.74
Reflections collected/unique	7 446
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.060
Final <i>R</i> indices[<i>I</i> >2 σ (<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ =0.035 4, ω <i>R</i> ₂ =0.078 0
<i>R</i> indices (all data)	<i>R</i> ₁ =0.044 3, ω <i>R</i> ₂ =0.083 2

表 2 配合物 L-Ni 的部分键长(Å)和键角(°)

Tab.2 Selected atomic distances (Å) and bond angles (°) of compound L-Ni

化学键	键长/Å	化学键	键长/Å
Ni1—Cl1	2.365 9(8)	Ni1—N2	1.994 5(18)
Ni1—Cl2	2.347 6(8)	Ni1—N4	2.100 3(19)
Ni1—N1	2.025 5(18)		
化学键	键角/(°)	化学键	键角/(°)
Cl2—Ni1—Cl1	165.10(3)	N2—Ni1—Cl2	99.45(6)
N1—Ni1—Cl1	93.93(6)	N2—Ni1—N1	78.69(7)
N1—Ni1—Cl2	93.28(6)	N2—Ni1—N4	77.33(7)
N1—Ni1—N4	156.00(7)	N4—Ni1—Cl1	87.00(6)
N2—Ni1—Cl1	94.75(6)	N4—Ni1—Cl2	91.68(6)

空间群为 $P-1$, Ni(II) 与席夫碱配体中的喹啉 N、席夫碱亚胺 ($C=N$) 上的 N 和一个嘧啶环 N 原子配位, 同时保留两个镍盐中的 Cl^- , 形成五配位结构。此外, 配合物 L-Ni 晶体结构还含有 1 个结晶水分子和 1 个甲醇分子, 水分子和甲醇分子的羟基 ($-OH$) 氢原子与氯原子形成氢键。

2.2 配合物 L-Ni 对细胞增殖的抑制作用

采用 MTT 法初步检测了配合物 L-Ni 在浓度为 1.25、2.5、5.0、10.0、20.0 $\mu\text{mol/L}$ 下对肿瘤细胞株 MGC-803、NCI-H460、T-24、Skov-3 和肝正常细胞 HL-7702 增殖抑制作用。如图 3 所示, 配合物 L-Ni 与细胞共孵育 48 h 后, 对细胞生长抑制作用均呈剂量依赖关系, 随配合物浓度的增加对细胞毒性增强。在浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 下, 配合物 L-Ni 对受试细胞增殖抑制大小为 T-24 (57.2%) > NCI-H460 (49.6%) > MGC-803 (48.24%) > Skov-3 (44.0%) > HL-7702 (26.27%)。运用 SPSS 法进一步计算出配合物 L-Ni 和顺铂对受试细胞的 IC_{50} 值, 见表 3。由表可知, 配合物 L-Ni 对受试的 4 种肿瘤细胞表现出一定的抑制作用, 对 T-24 肿瘤细胞毒性最强, $IC_{50} = (16.65 \pm 0.18) \mu\text{mol/L}$, 细胞毒性比顺铂大 ($IC_{50} = (28.62 \pm 1.68) \mu\text{mol/L}$), 比文献[1]报道的 2-羟基-1-萘甲醛的双席夫碱 Ni(II) 配合物毒性小 ($IC_{50} = (3.81 \pm 0.48) \mu\text{mol/L}$)。对 NCI-H460 肿瘤细胞, 配合物 L-Ni 的抑制作用

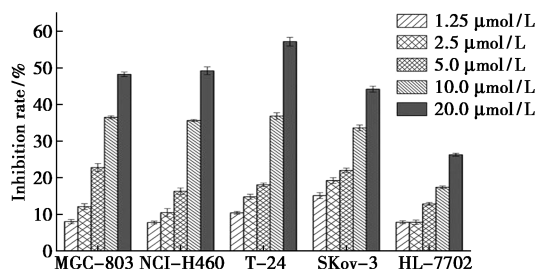


图 3 配合物 L-Ni 对 5 种细胞株的细胞毒性

Fig.3 Cytotoxic effects of compound L-Ni on five tested cells lines

表 3 配合物 L-Ni 和顺铂对正常人肿瘤细胞株和正常细胞的 IC_{50} 值

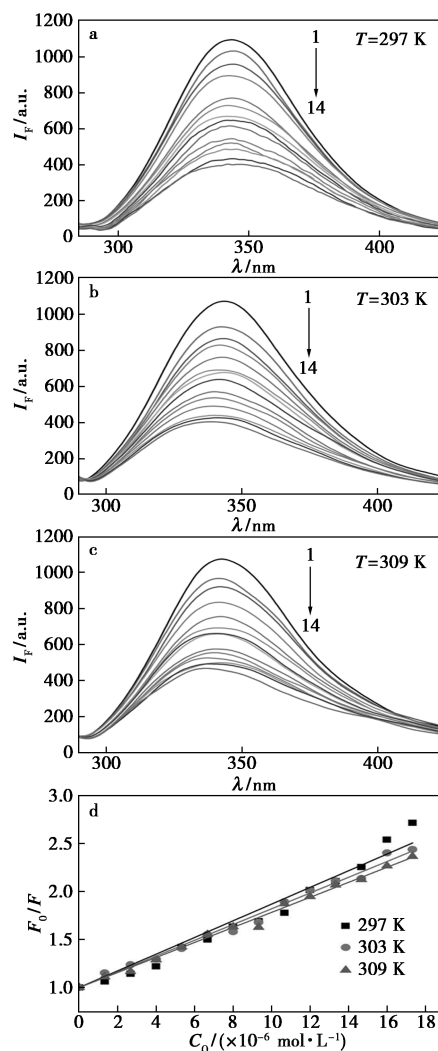
Tab.3 IC_{50} of compound L-Ni and cisplatin against different human cancer cell lines and normal cell ($\mu\text{mol/L}$)

	MGC-803	NCI-H460	T-24	Skov-3	HL-7702
L-Ni	20.4±0.33	20.06±0.28	16.65±0.18	22.89±0.16	43.32±0.7
Cisplatin	5.6±0.42	18.46±1.26	28.62±1.68	14.06±1.07	12.35±1.19

效果与顺铂接近, 比多吡啶类双核镍^[11] ($IC_{50} = (26.0 \pm 2.2)$ 、 $(31.3 \pm 2.7) \mu\text{mol/L}$) 的效果好。而对正常肝细胞, 配合物 L-Ni 的细胞毒性小于顺铂, 也比文献[3]报道的喹啉席夫碱 Ni(II) 配合物毒性小。

2.3 配合物 L-Ni 对 BSA 荧光猝灭作用

BSA 由于具有与人血清白蛋白较相似的结构, 常被用来作为模型研究药物与生物大分子的作用。BSA 的荧光基团主要来源于色氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸残基, 当激发波长为 280 nm 时, BSA 在 343 nm 附近出现强的荧光发射, 若 BSA



曲线 1~14 代表配合物 L-Ni 浓度分别为 0、1.33、2.67、4.0、5.33、6.67、8.00、9.33、10.67、12.00、13.33、14.67、16.00、17.33 ($\times 10^{-6} \text{ mol/L}$)

图 4 不同温度下配合物 L-Ni 与 BSA 作用的荧光光谱图 (a~c) 及 Stern-Volmer 曲线 (d)

Fig.4 Fluorescence spectra (a~c) and Stern-Volmer plots (d) of the interaction between compound L-Ni and BSA at different temperatures

与药物结合后,该处荧光强度下降。图 4 是在 297、303、309 K 和 pH 7.40 条件下,固定 BSA 浓度不变,测定随着配合物 L-Ni 浓度的变化对 BSA 荧光光谱的影响。结果显示,随着配合物 L-Ni 浓度的增加,BSA 荧光强度呈规律下降,当 $[L-Ni]/[BSA]$ 的浓度比从 0:1 到 3.5:1 变化时,在 297、303、309 K 下,配合物 L-Ni 使 BSA 荧光强度分别下降了 63.5%、62.6%、57.3%,发射峰的峰形和发射峰位置不变,此现象说明配合物 L-Ni 与 BSA 发生相互作用,引起 BSA 荧光有规律猝灭^[12]。

2.4 猝灭机理

小分子药物与 BSA 形成复合物引起的荧光猝灭被认为发生静态猝灭作用,若小分子药物与 BSA 发生碰撞而引起的猝灭被认为是动态猝灭作用。发生动态猝灭时,随着反应体系温度的升高,扩散速率增大,猝灭常数随之升高;当发生静态猝灭时,温度上升会影响复合物的稳定程度,使猝灭常数下降。假定配合物 L-Ni 与 BSA 作用的猝灭过程为动态猝灭,则由动态猝灭的 Stern-Volmer 方程^[13](式 2)来分析:

$$F_0/F = 1 + K_q \tau_0 C_Q = 1 + K_{SV} C_Q \quad (2)$$

式中: F_0 为无猝灭剂时的荧光强度; F 为存在猝灭剂时的荧光强度; K_q 为荧光猝灭速率常数, $L/(mol \cdot s)$,也叫扩散碰撞猝灭常数,最大值为 $2.0 \times 10^{10} L/(mol \cdot s)$ ^[14,15]; τ_0 为蛋白质分子的荧光平均寿命($\approx 10^{-8} s$)^[16]; K_{SV} 为 Stern-Volmer 猝灭常数, L/mol ; C_Q 为猝灭剂的浓度, mol/L 。

分别将温度 297、303、309 K 时配合物 L-Ni 对 BSA 荧光影响的 F_0/F 对 C_Q 进行线性拟合,得到不同温度下的 Stern-Volmer 图,如图 4d 所示。可见 3 个温度下的 Stern-Volmer 曲线具有较好的线性关系,斜率为 K_{SV} 值,再由 $K_{SV} = K_q \cdot \tau_0$ 计算得 K_q 值,结果见表 4。由图 4d 和表 4 可知, K_{SV} 随温度的升高逐渐降低,各温度下的 K_q 也都超过 $2.0 \times 10^{10} L/(mol \cdot s)$,因此可推断配合物 L-Ni 对 BSA 的猝灭机理是静态猝灭,在配合物与 BSA 相互作用过程中配合物与 BSA 形成了复合物。

表 4 配合物 L-Ni 在不同温度下对 BSA 的猝灭常数

Tab.4 Quenching constants at different temperatures for the binding of compound L-Ni to BSA separately

	T/K	$K_{SV}/(L \cdot mol^{-1})$	$K_q/(L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1})$	R^2
L-Ni	297	8.69×10^4	8.69×10^{12}	0.996 7
	303	8.21×10^4	8.21×10^{12}	0.999 2
	309	7.83×10^4	7.83×10^{12}	0.999 0

2.5 结合位点和结合常数

配合物 L-Ni 与 BSA 相互作用的荧光猝灭是

静态猝灭,两者的结合模式可以通过 Scatchard 方程^[17](式 3)计算出两者结合位点和结合常数。

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

式中: K_a 为小分子与 BSA 的结合常数; n 为结合位点数。

以 $\lg[(F_0 - F)/F]$ 为纵坐标, $\lg C_Q$ 为横坐标作图,结果如图 5 所示,由图得到截距为 $\lg K_a$,斜率为 n ,从而得出 K_a 值和 n 值,具体结果列于表 5。不同温度下配合物 L-Ni 与 BSA 的结合位点数 n 在 1.02~1.27 之间,推测配合物 L-Ni 在 BSA 上可能仅有一个结合位点。297、303、309 K 下两者相互作用的结合常数 K_a 分别为 1.87×10^6 、 1.04×10^5 、 $2.69 \times 10^5 L/mol$,与文献[18]报道的小分子药物与 BSA 作用的结合常数($6.02 \times 10^4 L/mol$)相比,说明配合物 L-Ni 与 BSA 相互作用比较强。

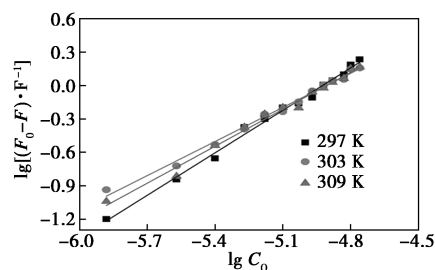


图 5 不同温度下配合物 L-Ni 对 BSA 荧光猝灭的双对数曲线图

Fig.5 Double logarithmic plots of the interaction between compound L-Ni and BSA at different temperatures

表 5 配合物 L-Ni 与 BSA 作用的结合常数(K_a)和结合位点数 n

Tab.5 Binding constant (K_a) and binding sites number (n) of the interaction between compound L-Ni with BSA

	T/K	$K_a/(L \cdot mol^{-1})$	n	R^2
L-Ni	297	1.87×10^6	1.27	0.993 5
	303	1.04×10^5	1.02	0.987 9
	309	2.69×10^5	1.11	0.988 5

在静态猝灭过程中,药物与 BSA 的结合常数随温度升高而降低,而在动态猝灭过程中,结合常数随着温度升高而升高。配合物 L-Ni 与 BSA 的结合常数随着温度先降低又升高,推测两者间存在静态猝灭和动态猝灭两种方式,这种现象在一些文献中也有报道^[19,20]。如 Shao 等^[21]合成的噻唑烷酮 Cu(Ⅱ)和 Fe(Ⅲ)配合物,研究发现两者与 BSA 结合形成复合物,致使 BSA 发生静态猝灭,然而随着温度升高两者与 BSA 的结合常数分别从 4.0×10^4 、 7.0×10^4 升高到 1.9×10^5 、 $9.0 \times$

10^4 , 推测配合物与 BSA 作用既有静态猝灭又含有动态猝灭。范金波等^[22]用荧光光谱法结合分子对接研究姜黄素、白藜芦醇、槲皮素和苋菜红与 β -乳球蛋白结合作用属于静态猝灭, 而它们的 K_s 值均随着温度升高而升高。可见, 很多情况下荧光体既可与猝灭剂形成复合物而发生静态猝灭, 也可与猝灭剂碰撞而发生动态猝灭。

2.6 热力学参数和作用力类型

药物小分子与生物大分子间结合力主要有静电作用力、范德华力、氢键或疏水作用力等。根据 Ross 等^[23]研究, 热力学参数的符号和大小可以用来确定配合物与 BSA 之间的结合模式。 ΔH 和 ΔS 受温度影响很小, 当温度变化不大时, 两者可看成是一个常数, 依据 Van't Hoff 方程式(式 4)和热力学方程式(式 5)计算小分子药物与生物大分子相互作用热力学参数, 由焓变 ΔH 、熵变 ΔS 和吉布斯自由能变化 ΔG 的符号和大小判断主要作用力类型。

$$\ln K_a = -\Delta H/RT + \Delta S/R \quad (4)$$

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

式中: K_a 为在温度 T 时的结合常数; R 为气体常数, $8.314 \text{ J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$; ΔG 为吉布斯自由能变, kJ/mol ; ΔH 为反应前后的热力学焓变, kJ/mol ; ΔS 为反应前后的热力学熵变, $\text{J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$; T 为热力学温度, K 。

配合物 L-Ni 与 BSA 作用的焓变 ΔH 、熵变 ΔS 和吉布斯自由能变化 ΔG 见表 6。根据 Ross 等^[23]总结的热力学参数与配合物和 BSA 之间的作用力类型可知, 配合物 L-Ni 与 BSA 反应的 $\Delta H < 0$ 、 $\Delta S < 0$, 可判断它们之间的相互作用力是典型的氢键和范德华作用力; $\Delta G < 0$, 说明配合物 L-Ni 与 BSA 之间的结合反应过程是自发地进行。

表 6 配合物 L-Ni 与 BSA 作用的热力学参数

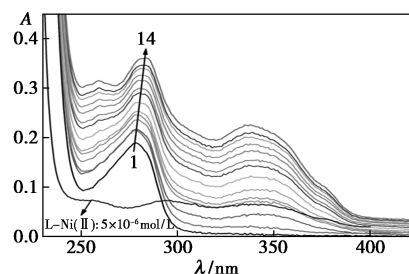
Tab.6 Thermodynamic parameters of the interaction between compound L-Ni with BSA

	T/K	$\Delta S/$ ($\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)	$\Delta H/$ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	$\Delta G/$ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)
L-Ni	297			-34.12
	303	-305.58	-124.88	-32.29
	309			-30.45

2.7 配合物 L-Ni 与 BSA 作用的紫外-可见光谱

紫外-可见吸收光谱是研究小分子药物与蛋白质形成复合物及判断蛋白质结构变化的有效方法之一^[24]。BSA 在 279 nm 处有一特征吸收峰, 归属为蛋白质中色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)因发生 $\pi-\pi^*$ 跃迁产生的吸收峰, 若与小分子药物结

合形成复合物, 其吸收峰增强^[25]。图 6 为配合物 L-Ni、BSA 及 L-Ni-BSA 体系的 UV-Vis 光谱图。可见, 配合物 L-Ni 的 UV-Vis 光谱图与 BSA 和 L-Ni-BSA 混合物的光谱图存在较大差异, 在浓度完全相同的条件下, L-Ni-BSA 混合物的吸收光谱图不等于 BSA 和药物分子的吸收光谱图的加和, 充分证明了配合物 L-Ni 与 BSA 混合之后形成了新的配合物, 且随着配合物 L-Ni 浓度的增加, BSA 在 279 nm 处的特征吸收峰强度增大, 最大吸收峰从 279 nm 处红移到 284 nm, 说明配合物 L-Ni 使 BSA 中的色氨酸和酪氨酸残基周围的微环境发生了变化, 使得蛋白质亲水性增加, 极性增大^[26], BSA 与配合物 L-Ni 之间形成了一种新的复合物。



曲线 1~14 代表配合物 L-Ni 浓度分别为 0、1.33、2.67、4.0、5.33、6.67、8.00、9.33、10.67、12.00、13.33、14.67、16.00、17.33 ($\times 10^{-6} \text{ mol/L}$)

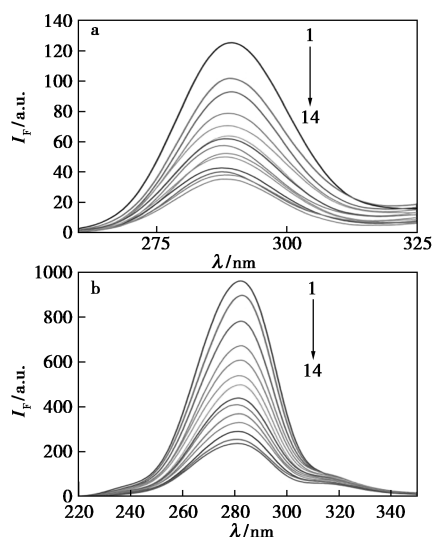
图 6 配合物 L-Ni 和 L-Ni-BSA 体系的 UV-Vis 光谱图

Fig.6 UV-Vis absorption spectra of compound L-Ni and L-Ni-BSA

2.8 同步荧光光谱

同步荧光光谱法常用来研究小分子药物对 BSA 构象微环境的变化^[27]。当激发和发射波长差 $\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$ 时, 同步荧光表现出酪氨酸(Tyr)的特征吸收峰, 当 $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$ 时提供的是色氨酸(Trp)残基的特征吸收峰。为研究配合物 L-Ni 对 BSA 构象的影响, 测定在不同浓度下 BSA 在 $\Delta\lambda = 15, 60 \text{ nm}$ 下的同步荧光光谱, 如图 7 所示。随着配合物 L-Ni 浓度增加至 $1.73 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, 酪氨酸(Tyr)和色氨酸(Trp)残基的荧光强度分别降低了 71.8% 和 77.6%, 说明配合物 L-Ni 与 BSA 发生紧密结合形成复合物, 导致其色氨酸和酪氨酸周围的微环境发生改变^[26]。酪氨酸(Tyr)最大发射波长蓝移 1.5 nm, Trp 残基最大发射波长蓝移 2.5 nm, 表明配合物 L-Ni 的加入使得 BSA 构象发生改变, 使 Tyr 和 Trp 残基周围微环境极性降低、疏水性增加, 且配合物 L-Ni 与 BSA 结合部位更靠近 Trp, 对 Trp 残基的微环境影响较

大^[28]。同步荧光结果与紫外-可见吸收光谱结果一致,均表明了配合物 L-Ni 与 BSA 结合成复合物,并改变蛋白质的构象。



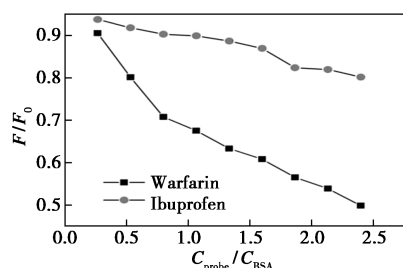
曲线 1~14 代表配合物 L-Ni 浓度分别为 0、1.33、2.67、4.0、5.33、6.67、8.00、9.33、10.67、12.00、13.33、14.67、16.00、17.33 ($\times 10^{-6}$ mol/L)
a. $\Delta\lambda = 15$ nm; b. $\Delta\lambda = 60$ nm

图 7 配合物 L-Ni 与 BSA 作用的同步荧光光谱

Fig.7 Synchronous fluorescence spectra of the interaction between compound L-Ni with BSA

2.9 竞争实验

BSA 有两个著名的配体结合位点,即结合位点 I (在 II A、Trp 和 Tyr 子域)和位点 II (在 III A、Tyr 子域)^[29],为了确定药物小分子与 BSA 的结合位点,目前常用华法林钠和布洛芬分别作为位点 I 和位点 II 的探针^[30-32]。由图 8 可知,为确定配合物 L-Ni 与 BSA 的结合位点,在固定 L-Ni-BSA 的浓度体系下,随着华法林钠的加入,L-Ni-BSA 体系的荧光强度显著降低,而布洛芬对 L-Ni-



$C_{BSA} = 5.0 \times 10^{-6}$ mol/L; $C_{L-Ni} = 2.5 \times 10^{-5}$ mol/L;
 $C_{probe} = 0 \sim 1.2 \times 10^{-5}$ mol/L

图 8 结合位点探针对 L-Ni-BSA 体系荧光强度的影响

Fig.8 Effect of binding site probe on fluorescence intensity of L-Ni-BSA system

BSA 体系的影响较小。这说明配合物 L-Ni 和华法林钠在位点 I 发生竞争,即配合物 L-Ni 结合主要在 BSA 的位点 I,与同步荧光结果配合物 L-Ni 对 Trp 残基的微环境影响较大结果一致。

3 结论

本文合成了 1 个未见报道的 8-羟基喹啉-2-甲醛席夫碱镍配合物 $[Ni(L)Cl_2]$ (L-Ni),并获得其晶体结构。MTT 实验表明配合物 L-Ni 对体外肿瘤细胞 MGC-803、NCI-H460、T-24、Skov-3 均具有一定的细胞毒性,其中对于 T-24 细胞毒性作用强。用荧光光谱/紫外光谱研究配合物 L-Ni 与 BSA 间的相互作用。结果表明,配合物 L-Ni 能猝灭 BSA 的荧光并遵循静态猝灭机制。热力学分析结果表明配合物 L-Ni 与 BSA 主要通过氢键和范德华力形成新的复合物而导致了 BSA 荧光发生静态猝灭,配合物 L-Ni 与 BSA 间存在 1 个结合位点。紫外-可见光谱、同步荧光光谱及位点竞争实验表明,配合物 L-Ni 结合在 BSA 亚结构域 II A 的位点 I,诱导 BSA 色氨酸 (Trp) 残基周围微环境的极性减小,疏水性增加,可以在一定程度上改变 BSA 的构象。该研究有助探讨 8-羟基喹啉类金属配合物的抗癌作用,同时从分子水平上探明该类金属配合物与大分子蛋白质相互作用机制,为金属类抗癌药物开发与研究奠定基础。

参考文献:

- [1] SHI S Z, YU S, QUAN L X, et al. Synthesis and antitumor activities of transition metal complexes of a bisSchiff base of 2-hydroxy-1-naphthalenecarboxaldehyde [J]. *J. Inorg. Biochem.*, 2020, **210**: 111-173.
- [2] 杨景枚. 1-吡啶- β -咔啉和 6-甲氧基-1-吡啶- β -咔啉及其 Ni 和 Cu 配合物抗肿瘤活性研究[D]. 桂林: 广西师范大学, 2017.
- [3] 江名, 盖爽爽, 蓝峻峰, 等. Cu(II)、Ni(II)配合物的合成、抗肿瘤作用及其对细胞周期分布的影响[J]. *化学通报*, 2020, **83**(3): 253-257.
- [4] 覃姣兰, 曹倩倩, 覃其品, 等. 8-羟基喹啉及其衍生物金属配合物抗肿瘤和抗菌活性研究进展[J]. *中国科学: 化学*, 2017, **47**(2): 172-182.
- [5] YANG Q Y, CAO Q Q, ZHANG Y L, et al. Synthesis, structural characterization and antitumor activity of six rare earth metal complexes with 8-hydroxyquinoline derivatives[J]. *J. Inorg. Biochem.*, 2020, **211**: 111-175.
- [6] QIN Q P, WANG S L, TAN M X, et al. Synthesis of two platinum(II) complexes with 2-methyl-8-quinolinol derivatives as ligands and study of their antitumor activities

- [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2019, **161**: 334-342.
- [7] ZHU L G, WANG Z F, GAO Y, et al. New 5-chloro-8-hydroxyquinoline derivatives organometallic Ru(II)-arene complexes as antitumor agents [J]. *Inorg. Chem. Commun.*, 2019, **108**: 107-117.
- [8] LIU Y C, WEI J H, CHEN Z F, et al. The antitumor activity of zinc(II) and copper(II) complexes with 5,7-dihalo-substituted-8-quinolinolines [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2013, **69**: 554-563.
- [9] ZHANG H R, HUANG K B, CHEN Z F, et al. Cobalt(II) 8-hydroxyquinoline complexes: Structure, cytotoxicity and action mechanism [J]. *Med. Chem. Commun.*, 2016, **7**: 806-812.
- [10] 梁雯洁, 蚁嘉颖, 张振轩, 等. 溴代苯酚与牛血清白蛋白的相互作用研究 [J]. *化学试剂*, 2023, **45**(1): 37-45.
- [11] 乔佩佩, 田玥玮, 贺卿, 等. 多吡啶类双核镍配合物的合成、晶体结构及抗癌活性 [J]. *无机化学学报*, 2021, **37**(10): 1738-1744.
- [12] 洪利明, 祝显虹, 周安西. 1-咪唑基苯基甲酮的合成及其与牛血清白蛋白相互作用的荧光分析 [J]. *化学世界*, 2019, **60**(2): 84-90.
- [13] SAMARI F, SHAMSIPUR M, HEMMATEENEJAD B, et al. Investigation of the interaction between amodiaquine and human serum albumin by fluorescence spectroscopy and molecular modeling [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2012, **54**: 255-263.
- [14] MEHRAN F D, EFFAT D, HASSAN M T. Synthesis and characterization of Pd(II) antitumor complex, DFT calculation and DNA/BSA binding insight through the combined experimental and theoretical aspects [J]. *J. Mol. Struct.*, 2021, **1240**: 130-135.
- [15] YANG J, LIAO G H, LIU X R, et al. Three water-soluble acylhydrazone tetranuclear transition metal complexes: Crystal structures, DNA/BSA interactions and cytotoxicity studies [J]. *J. Inorg. Biochem.*, 2022, **236**: 111-121.
- [16] EFTINK M R, GHIRON C A. Oxygen fluorescence quenching studies with single tryptophan-containing proteins [J]. *J. Fluoresc.*, 1994, **4**(2): 187-193.
- [17] DORAIJAY D P, LIN Y F, HARIBABU J, et al. Binding mode transformation and biological activity on the Ru(II)-DMSO complexes bearing heterocyclic pyrazolyl ligands [J]. *J. Inorg. Biochem.*, 2021, **223**: 111-121.
- [18] 彭程佳, 王克华, 陆为学, 等. 一个镍(II)配合物的合成、晶体结构及其与鲑鱼精 DNA/BSA 作用的光谱学研究 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2019, **39**(2): 559-564.
- [19] 吕艳芳, 张紫卿, 梁倩倩, 等. 光谱法和分子对接研究高儿茶酚与牛血清白蛋白的相互作用 [J]. *中国食品学报*, 2022, **22**(12): 72-81.
- [20] 陈建秋, 梁佳然, 钟文英, 等. 橙皮苷及其 4 种金属配合物与牛血清白蛋白结合作用的研究 [J]. *分析试验室*, 2010, **29**(1): 14-17.
- [21] SHAO J, ZHANG Q, WEI J, et al. Synthesis, crystal structures, anticancer activities and molecular docking studies of novel thiazolidinone Cu(II) and Fe(III) complexes targeting lysosomes: Special emphasis on their binding to DNA/BSA [J]. *Dalton Trans.*, 2021, **50**: 13387-13398.
- [22] 范金波, 麻奥, 周素珍, 等. 荧光光谱法结合分子对接研究多酚和苋菜红与 β -乳球蛋白结合的竞争作用 [J/OL]. *中国食品学报*, 2023, **23**(2): 14-26.
- [23] ROSS P D, SUBRAMANIAN S. Thermodynamics of macromolecular association reactions: Analysis of forces contributing to stabilization [J]. *Biophys. J.*, 1980, **32**(1): 79-81.
- [24] PATHAK M, MISHRA R, AGARWALA P K, et al. Binding of ethyl pyruvate to bovine serum albumin: Calorimetric, spectroscopic and molecular docking studies [J]. *Thermochim. Acta*, 2016, **633**(4): 140-148.
- [25] 袁彝, 何勇林. 邻苯二胺与牛血清白蛋白相互作用的研究 [J]. *化学研究与应用*, 2019, **31**(5): 894-901.
- [26] 韩永光, 寿先苗, 李晓飞. 光谱法研究胞磷胆碱钠与牛血清白蛋白的相互作用 [J]. *化学试剂*, 2019, **41**(4): 402-405.
- [27] ZAREI L, ASADI Z, DUSEK M, et al. Homodinuclear Ni(II) and Cu(II) Schiff base complexes derived from Ovanillin with a pyrazole bridge: Preparation, crystal structures, DNA and protein (BSA) binding, DNA cleavage, molecular docking and cytotoxicity study [J]. *J. Photoch. Photobio. A*, 2019, **374**: 145-160.
- [28] 侯利杰, 李梦媛, 申炳俊, 等. 分子模拟和光谱法研究华法林与人血清白蛋白的结合机制 [J]. *化学试剂*, 2021, **43**(2): 185-190.
- [29] MARUYAMA T, LIN C C, YAMASAKI K, et al. Binding of suprofen to human serum albumin: Role of the suprofen carboxyl group [J]. *Biochem. Pharm.*, 1993, **45**: 1017-1026.
- [30] 周玲玲, 吴春梅, 王晓芳, 等. 荧光光谱法研究胍黄与人血清白蛋白的结合性质 [J]. *药学研究*, 2018, **37**(12): 687-689; 704.
- [31] 赵刚, 胡雪健, 何茜, 等. 光谱法研究呋喃妥因与牛血清白蛋白的相互作用 [J]. *化学试剂*, 2020, **42**(6): 677-680.
- [32] 顾佳丽, 刘璐, 黄曦瑶, 等. 醋酸可的松及其代谢物与牛血清白蛋白相互作用机制的研究 [J]. *化学试剂*, 2021, **43**(6): 820-824.

2-苯基苯并咪唑诱导的线粒体功能障碍

焦元红^{*1a,1b}, 张晓卉^{1a}, 徐娟^{1a}, 潘凌立²

(1.湖北理工学院 a.化学与化工学院, b.矿区环境污染控制与修复湖北省重点实验室, 湖北 黄石 435003;

2.鄂东医疗集团黄石市中心医院 病案统计科, 湖北 黄石 435002)

摘要: 苯并咪唑及其衍生物因其优异的药用和药理特性而受到广泛关注。研究表明, 苯并咪唑具有很好的抗癌活性。然而到目前为止, 苯并咪唑与线粒体相互作用的机制还没有很好地阐明。以大鼠离体线粒体为研究对象, 系统研究了2-苯基苯并咪唑对离体线粒体功能和结构的影响。实验研究表明, 2-苯基苯并咪唑对线粒体肿胀、线粒体内膜对 H^+ 和 K^+ 的渗透性、线粒体膜电势、膜流动性、线粒体的呼吸产生强烈的影响。线粒体肿胀、跨膜电位下降和膜流动性下降是2-苯基苯并咪唑诱导线粒体MPTP打开的重要因素。这些发现有助于更多的理解2-苯基苯并咪唑在亚细胞水平上的活性, 对线粒体靶向药物的研究具有重要意义, 将有助于提高线粒体靶向抗癌药物的活性和选择性。

关键词: 2-苯基苯并咪唑; 线粒体; 线粒体膜渗透性转换; 膜流动性; 膜电势

中图分类号: Q5-33 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)05-0059-07

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0023

Dysfunction in Mitochondria Induced by 2-phenyl Benzimidazole JIAO Yuan-hong^{*1a,1b}, ZHANG Xiao-hui^{1a}, XU Juan^{1a}, PAN Ling-li² (1.Hubei Polytechnic University a.College of Chemistry and Chemical Engineering; b.Hubei Key Laboratory of Mine Environmental Pollution Control & Remediation, Huangshi 435003, China; 2.Medical Record Statistics Department, Huangshi Center Hospital, Edong Healthcare Group, Huangshi 435002, China)

Abstract: Benzimidazole and its derivatives have attracted the much attention for their remarkable medicinal and pharmacological properties. Multiple studies have shown that benzimidazole has very prominent anti-cancer activity. Until now, however, the mechanism of how benzimidazole interacts with mitochondria has not been well elucidated. Taking rat isolated mitochondria as the research object, the effect of 2-phenylbenzimidazole on the biological function and activity of isolated mitochondria was systematically studied. Through experimental studies, we found that 2-phenylbenzimidazole has strong effects on mitochondrial swelling, mitochondrial membrane permeability to H^+ and K^+ , mitochondrial membrane potential, membrane fluidity. Mitochondrial swelling, decreased transmembrane potential and decreased membrane fluidity were important factors for 2-phenylbenzimidazole-induced mitochondrial MPTP opening. These findings help to understand more about the activity of 2-phenylbenzimidazole at the subcellular level, which has great significance for the research of mitochondrial targeting drugs, and will help to improve the activity and selectivity of mitochondrial-targeted anticancer drugs.

Key words: 2-phenylbenzimidazole; mitochondrial; mitochondrial membrane permeability transition; membrane fluidity; membrane potential

苯并咪唑是一种重要的具有生物活性的杂环化合物, 其富电子氮杂环易于接受或给出质子, 形成各种弱相互作用, 为其与广谱治疗靶点结合提供了可能, 从而表现出广泛的药理活性^[1]。越来越多的研究表明苯并咪唑及其衍生物具有广泛的药理作用, 包括抗菌药物^[2]、抗结核药物^[3]、抗病毒药物^[4]、抗溃疡药物^[5]、抗炎症药物^[6]、抗糖尿病药物^[7]和抗疟疾药物^[8]。也有越来越多的实验结果强调苯并咪唑衍生物作为抗癌药物的前景, 特别是在精准医疗的发展中。在近年来发现的抗癌药物中, 各种苯并咪唑衍生物因其生物活性和临床应用的多样性, 而在抗癌药物开发中受到重视。苯并咪唑独特的核心结构和极小的毒性

使其成为抗癌药物开发的优良支架。苯并咪唑具有类似于嘌呤核苷酸的结构, 这使其能够容易与生命系统中的生物聚合物接触^[1]。然而对2-苯基苯并咪唑的药(毒)性几乎没有报道, 它是否能作为线粒体靶向药物是本文研究的重点。

收稿日期: 2023-01-13; 网络首发日期: 2023-02-23

基金项目: 矿区环境污染控制与修复湖北省重点实验室开放基金项目(2020104)。

作者简介: 焦元红(1970-), 女, 湖北黄石人, 硕士, 副教授, 研究方向为小分子药物与蛋白作用, E-mail: 495297882@qq.com。

引用本文: 焦元红, 张晓卉, 徐娟, 等. 2-苯基苯并咪唑诱导的线粒体功能障碍[J]. 化学试剂, 2023, 45(5): 59-65。

线粒体在生物能学和呼吸功能中起着关键作用,这对于支撑细胞活力的许多生化过程是非常重要的。随着研究的深入,科学家们发现人类的许多疾病都与线粒体有一定关系。多项研究表明线粒体功能障碍和细胞衰老是衰老的标志,且两者密切相关^[9]。线粒体功能障碍被证实与帕金森病、阿尔兹海默症等神经退行性病变相关已有 30 多年的历史^[10]。随着研究的深入,人们还发现包括心血管疾病和中枢神经系统疾病在内的多种疾病与线粒体功能障碍之间的关系^[11]。线粒体与疾病之间的联系越来越受到关注,但科研工作者最感兴趣的是线粒体与癌症之间的联系。

癌细胞中的线粒体以活性氧(ROS)过量产生为特征,通过诱导基因组不稳定、修改基因表达和参与信号通路来促进癌症的发展。线粒体的多重重要作用已被用于设计新的线粒体靶向抗癌药物。选择性药物靶向到线粒体有助于增加这些药物的特异性和降低毒性^[12]。此外,研究还表明化合物可以通过其潜在的抑制线粒体复合物相关己糖激酶作为癌症治疗的基础架构^[13]。尽管线粒体与人类健康的联系越来越紧密,但与此相关的新型药物的研发却相对落后,可见有许多相关的研究迫切需要取得突破。

线粒体通透性转变(Mitochondrial Permeability Transition, MPT)是线粒体调控细胞凋亡的关键机制^[14]。而 MPT 被认为是线粒体通透性过渡孔(Mitochondrial Permeability Transition pore, MPTP)打开的结果^[15]。在 MPT 过程中,线粒体中的有害蛋白质被释放到细胞质中,从而激活细胞凋亡^[16]。氧化应激、线粒体膜电位坍塌和基质 pH 值降低等多种因素已被证明可诱导 MPT^[17]。MPT 会造成线粒体膜电位降低、ATP 衰竭、氧化磷酸化去偶联、线粒体大幅度肿胀、外膜破裂、内外膜间促凋亡因子的释放等等,从而细胞发生凋亡或坏死^[18,19]。MPT 反映了线粒体功能的结构和完整,也是诱导细胞凋亡过程的关键^[20]。

对线粒体疾病的探索一直是线粒体研究的前沿领域,研究表明帕金森综合症、糖尿病、阿尔兹海默氏病,甚至连正常情况下的衰老都由线粒体功能缺失引起^[9,10]。从更广泛的范围来看,线粒体在细胞凋亡,以及发育生物学、癌症研究和机体衰老、死亡等众多领域的长远发展都发挥着重要作用^[21,22]。到目前为止,具有广泛药理活性的 2-苯基苯并咪唑对线粒体内膜通透性、氧化应激、超

结构和通透性转变的直接和间接影响的研究未见报道。为了更多地了解苯基苯并咪唑在亚细胞(线粒体)水平上的毒性机制,为线粒体靶向药物的设计提供参考,本文研究了其对离体大鼠肝线粒体功能的影响,并试图确定 2-苯基苯并咪唑对肝脏线粒体毒性的可能机制。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Dounce Tissue Grinder 型匀浆器(美国 Wheaton 公司);Unico 4820 型紫外-可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司);TGL 20M 型高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);带恒温装置的 Perkin Elmer LS55 型荧光光度计(美国 Perkin Elmer 公司);Hamilton 700 型微量进样器、AE 240 型分析天平(上海高鸽工贸有限公司)。

甘露醇、蔗糖、 $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 、EGTA、硝酸钾、氯化钾、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、六水合丁二酸钠、EDTA·2Na(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);BSA、HEPES、Tris-HCl、MOPS(分析纯,韩国 Biosharp 公司);2-苯基苯并咪唑(分析纯,阿法埃莎(中国)化学有限公司);缬氨霉素、鱼藤酮、寡霉素(分析纯,默克 Sigma Aldrich 公司);乙酸钾(分析纯,上海展云化工有限公司);Wistar 大鼠(SPF 级,湖北省实验动物研究中心)。

1.2 溶液配制

线粒体分离纯化缓冲液 a(MSBa):称取 40.077 4 g 甘露醇、23.961 0 g 蔗糖、4.766 2 g HEPES、0.312 5 g Tris-HCl、0.372 2 g EDTA·2Na 混合溶解后用 pH 计调至 pH 7.0~7.4,并定容至 1 L。

线粒体分离纯化缓冲液 b(MSBb):称取 20.038 7 g 甘露醇、11.980 1 g 蔗糖、0.788 0 g Tris-HCl、0.186 1 g EDTA·2Na,混合后调至 pH 7.0~7.2,并定容至 500 mL。

线粒体分离纯化缓冲液 c(MSBc):称取 20.038 7 g 甘露醇、11.980 1 g 蔗糖、0.186 1 g EDTA·2Na,混合溶解后并定容至 500 mL。

线粒体肿胀测试缓冲液(MAB):称取 34.229 0 g 蔗糖、0.605 7 g Tris、1.046 5 g MOPS、0.190 1 g $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 、0.001 9 g EGTA,混合溶解后调至 pH 7.0~7.4 并定容至 500 mL。

鱼藤酮乙醇溶液:称取 0.039 6 g 鱼藤酮,溶

解于 5 mL 乙醇中并混匀,于 4 ℃ 下储存待用。

缬氨霉素乙醇溶液:称取 25 mg 缬氨霉素,溶解于 2.5 mL 乙醇中并混匀,于 4 ℃ 下储存待用。

线粒体内膜对 H^+ 渗透性测试缓冲液 (MHPB):称取 6.624 4 g 乙酸钾、0.595 8 g HEPES、0.019 02 g EGTA、0.037 2 g EDTA·2Na,混合溶解后加入 50 μ L 缬氨霉素乙醇溶液、50 μ L 鱼藤酮乙醇溶液,混匀后调至 pH 7.0~7.4,并定容至 500 mL。

线粒体内膜对 K^+ 的渗透性测试缓冲溶液 (MKPB):称取 6.824 2 g 硝酸钾、0.595 8 g HEPES、0.019 02 g EGTA、0.037 2 g EDTA·2Na,混合溶解后加入 50 μ L 鱼藤酮溶液,混匀后调至 pH 7.0~7.4,并定容至 500 mL。

线粒体耗氧测试缓冲溶液 (MRB):称取 34.229 0 g 蔗糖、1.191 5 g HEPES、0.745 5 g 磷酸氢二钾、0.203 2 g $MgCl_2 \cdot 6H_2O$,混合溶解后加入 25 μ L 鱼藤酮乙醇溶液,混匀后调至 pH 7.0~7.4,并定容至 500 mL。

1.3 大鼠肝脏线粒体的提取

用颈椎脱臼法处理 150 g 左右的雌性 Wistar 大鼠并解剖,得到 3~4 g 大鼠肝脏,在冰水浴中用 MSBa 多次洗涤并剪碎。浆液中加入 0.16 g 液体体积 0.4% 的 BSA 后,将烧杯中的液体倒入匀浆器。在冰水浴中先用 Loose 匀浆棒破碎组织,上下拉动研磨 3 min,然后用匀浆棒破碎细胞,研磨 7 min。将肝脏悬浊液转移至离心管中。首次离心,转速 5 400 r/min,时间 3 min,弃沉淀。第 2 次离心,转速 13 100 r/min,时间 4 min。离心后弃去上清液,向沉降物中加入 MSBa。第 3 次离心设置不变,离心后弃去上清液,向沉降物中加入 MSBb。第 4 次离心时,离心机设置不变。离心后,弃去上清液,用 MSBc 收集沉降物并补加 MSBc 至体积数与原始肝脏质量相同。将收集到的溶液混匀后放入冰箱待用。

1.4 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体发生肿胀

正常线粒体吸光度在 540 nm 处保持稳定,若其结构发生破坏,水等小分子将进入线粒体基质,线粒体将发生肿胀。线粒体肿胀的程度可以通过线粒体悬浊液在 540 nm 处的吸光度的改变来表示,吸光度下降程度越大,线粒体肿胀程度越明显。紫外-可见分光光度计在 Time Drive 模式下设置波长 540 nm,时长 500 s,读数间隔 1.0 s。使用前校零,依次向比色池中加入 2 mL MAB、不同

浓度的 2-苯基苯并咪唑,混匀后,取一定体积的线粒体悬浊液,加入到比色皿中,再次混匀后放入紫外-可见分光光度计中,检测体系吸光度随时间的变化。

1.5 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体内膜对 H^+ 的渗透性改变

线粒体内膜对离子具有高度选择性,在线粒体功能完整情况下, H^+ 通过与缓冲液中 CH_3COO^- 结合形成 CH_3COOH 进入基质,导致吸光度缓慢减小,一旦线粒体结构完整遭到破坏, H^+ 摄入量增加吸光度将会大幅下降。紫外-可见分光光度计设置同上。设置 2-苯基苯并咪唑浓度梯度后,分别向比色皿中加入 2 mL MHPB、不同体积的 2-苯基苯并咪唑,混匀后加入 30 μ L 的线粒体悬浊液,再次混匀后放入到分光光度计中,检测体系吸光度随时间的变化。

1.6 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体内膜对 K^+ 的渗透性改变

在线粒体功能完整情况下, K^+ 不能自由进出线粒体内膜,需通过 K^+ 通道进入基质,会导致线粒体肿胀,吸光度缓慢减小,而在完整性遭到破坏的情况小, K^+ 渗透性增加,吸光度会显著下降。紫外-可见分光光度计设置不变。设置 2-苯基苯并咪唑浓度梯度后,分别向比色皿中加入 2 mL MKPB、不同体积的 2-苯基苯并咪唑,混匀后加入 30 μ L 的线粒体悬浊液,再次混匀后放入到分光光度计中,检测体系吸光度随时间的变化。

1.7 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体内膜膜电势改变

罗丹明 123(Rh123)是一种荧光染料,在电势差的驱动下,可以穿透线粒体内膜,进入基质中,罗丹明 123 进入线粒体基质后,溶液中的 Rh123 浓度降低,溶液体系的荧光强度下降。在检测体系中加入罗丹明 123,其进入线粒体后,浓度在线粒体内外达到平衡,荧光值保持稳定。当线粒体功能紊乱,不能维持其电势差时,荧光染料会从基质释放出来,溶液荧光强度会增强。荧光光度计在 Time Drive 模式下,设置激发波长 480 nm,激发狭缝 15 nm,发射波长 540 nm,发射狭缝宽 5 nm,时长 800 s,读数间隔 2.0 s。水浴温度设置 25 ℃。设置 2-苯基苯并咪唑浓度梯度后,向四通池中加入 2 mL MBA 及荧光探针罗丹明 123,混匀后放入荧光光度计中开始读数。待曲线稳定后,向四通池中加入 25 μ L 线粒体悬浊液并充分搅

拌。待曲线再次稳定后,向四通池中加入不同体积的 2-苯基苯并咪唑,扫描体系荧光强度随时间的变化。平行检测 3 次。

1.8 环孢菌素对 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体膜肿胀的抑制作用

紫外-可见分光光度计在 Time Drive 模式下设置波长 540 nm,时长 500 s,读数间隔 1.0 s。使用前校零,依次向比色池中加入 2 mL MAB,实验组中加入不同浓度的 2-苯基苯并咪唑和 10 $\mu\text{mol/L}$ 环孢菌素(CsA),对照组不加环孢菌素。混匀后,取 30 μL 线粒体悬浊液,加入到比色皿中,再次混匀后放入紫外-可见分光光度计中,扫描体系吸光度随时间的变化。

1.9 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体膜流动性的改变

通过检测体系的荧光值来表征线粒体内膜流动性的变化。荧光各向异性(r)的变化可以评价膜流动性的变化。为了研究 2-苯基苯并咪唑对膜流动性的影响,采用血卟啉(Hematoporphyrin, HP)荧光偏振值监测脂膜不同区域的流动性。荧光光度计在 Read 模式下,设置激发波长 520 nm,激发狭缝 10 nm,发射波长 626 nm,发射狭缝宽 5 nm,时长 800 s,读数间隔 1.0 s。利用磁子搅拌,水浴温度设置 25 $^{\circ}\text{C}$ 。设置 2-苯基苯并咪唑浓度梯度后,向四通池中加入 2 mL MBA、荧光偏振探针血卟啉(HP)以及 30 μL 线粒体悬浊液,混匀后放入荧光光度计进行校正,校正完后加入不同体积的 2-苯基苯并咪唑,测定体系荧光偏振值随时间的变化。

1.10 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体呼吸耗氧的改变

由高精度 DW1 Clark 氧电极测定线粒体呼吸耗氧,温度 25 $^{\circ}\text{C}$ 。1 mL 的 MRB 中加入 30 μL 线粒体悬浊液。State 4 是只加入呼吸底物 5 mmol/L 丁二酸钠时的耗氧量;State 3 是加入 5 mmol/L 丁二酸钠、0.25 mmol/L ADP 时的耗氧量。

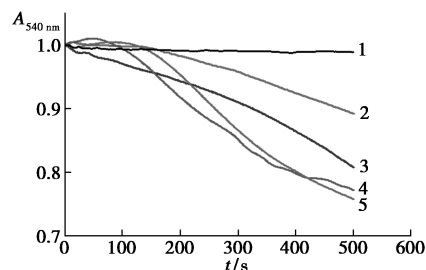
呼吸控制率(Respiratory Control Ratio, RCR),是表征线粒体功能和结构完整性、氧化磷酸化效率的重要指标^[23]。可通过检测加入 ADP 时(State 3)的呼吸速率与 ADP 耗尽后(State 4)的呼吸速率得到。

2 结果与讨论

2.1 2-苯基苯并咪唑对线粒体肿胀的影响

线粒体基质肿胀,是线粒体 MPTP 打开的重

要特征,也是线粒体功能受损的重要标志之一。离体线粒体基质肿胀的变化,可以通过线粒体悬浊液在 540 nm 处的吸光度的改变来表示,吸光度下降程度越大,线粒体肿胀程度越明显^[24]。如图 1 所示,在不同 2-苯基苯并咪唑浓度下的线粒体悬浊液在 540 nm 处的吸光度变化情况,溶液吸光度随着 2-苯基苯并咪唑浓度的升高而降低,表示线粒体肿胀的程度随着 2-苯基苯并咪唑浓度的增加而增大。结果表明,2-苯基苯并咪唑会干扰线粒体外膜通透功能,从而引发线粒体出现典型的 MPT 现象。



曲线 1~5 代表 2-苯基苯并咪唑浓度分别为 0、80、120、160、200 nmol/L

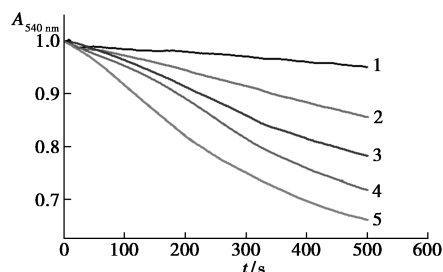
图 1 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体基质肿胀

Fig.1 2-Phenylbenzimidazole-induced swelling of mitochondrial matrix

2.2 2-苯基苯并咪唑对线粒体内膜对 H^+ 、 K^+ 的渗透性的影响

线粒体内膜对离子具有高度选择性,因此可通过检测其对质子和 K^+ 的透过能力,判断其功能完整性。实验中用了 MHPB 和 MKPB 两种缓冲液分别检测了线粒体内膜对 H^+ 和 K^+ 的通透性能。

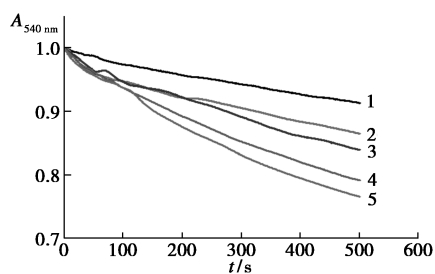
由图 2、3 可以看出,向缓冲液中加入 2-苯基苯并咪唑后,体系在 540 nm 处的吸光度减小,说明线粒体内膜对 H^+ 和 K^+ 的渗透性增大。为了维



曲线 1~5 代表 2-苯基苯并咪唑浓度为 0、80、120、160、200 nmol/L

图 2 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体内膜对 H^+ 的渗透性改变

Fig.2 2-Phenylbenzimidazole-induced permeability change of mitochondrial inner membrane to H^+



曲线 1~5 代表 2-苯基苯并咪唑浓度为 0、80、120、160、200 nmol/L

图 3 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体内膜对 K^+ 的渗透性改变

Fig.3 2-Phenylbenzimidazole-induced changes in K^+ permeability of mitochondrial inner membrane

持渗透压,线粒体从环境中摄取水,由此导致线粒体发生基质扩张,嵴去折叠,表现现象为体系吸光度下降。由图中曲线趋势可见,线粒体内膜对 H^+ 和 K^+ 的渗透性随着 2-苯基苯并咪唑浓度的增加而增加。

此外,有报道显示线粒体 K^+ 稳态与细胞凋亡密切相关。一方面,线粒体 K^+ 摄取增强导致线粒体肿胀、 K^+ 积累和细胞色素 c 释放。另一方面,细胞膜 K^+ 通透性的增加是线粒体对 H^+ 通透性增加的原因,导致细胞内酸化^[25]。

2.3 2-苯基苯并咪唑对线粒体呼吸耗氧的影响

加入丁二酸钠和 2-苯基苯并咪唑即 State 4 时,如图 4 所示,在没有 2-苯基苯并咪唑的情况下,高的 State 3 呼吸速率表示完整的呼吸链和 ATP 合成正常。同时,低的 State 4 说明线粒体内膜完好无损。随着 2-苯基苯并咪唑加入浓度的增大,State 3 速率显著下降,说明呼吸链的完整和 ATP 合成受到较大影响,State 4 呼吸速率也呈浓度依赖性下降,说明内膜完整性遭到破坏,这与 2-苯基苯并咪唑会增加线粒体内膜对 H^+ 的渗透性相吻合。这也进一步验证了图 1 观察到的结果,即 2-苯基苯并咪唑的加入会引起线粒体内膜的通透性增加,引起 MPT。

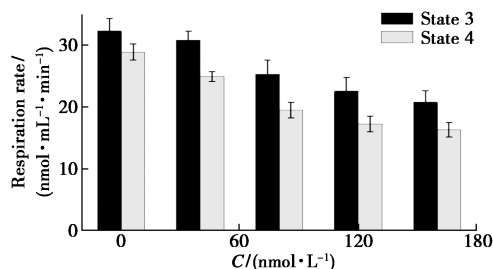
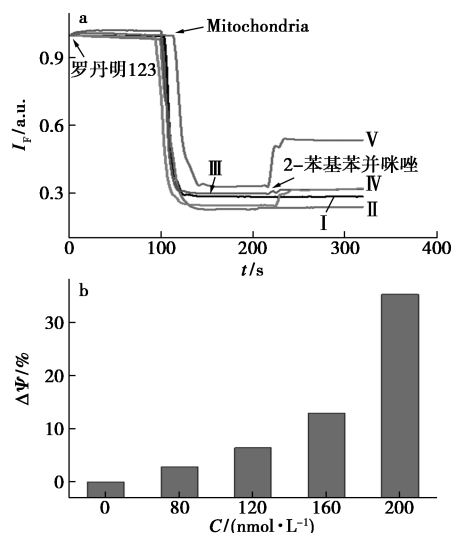


图 4 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体呼吸耗氧的改变
Fig.4 Changes of respiratory oxygen consumption in mitochondria induced by 2-phenylbenzimidazole

2.4 2-苯基苯并咪唑对线粒体膜电势的影响

如图 5 所示,体系中加入线粒体悬浊液后,荧光强度快速下降并保持不变,表明在一段时间内线粒体的电势差稳定,10 min 后荧光强度回升,并呈现出浓度依赖性,说明 2-苯基苯并咪唑引起了膜电势的坍塌。当 2-苯基苯并咪唑的浓度为 0 nmol/L 时,没有引起线粒体膜电势的坍塌。当 2-苯基苯并咪唑的浓度加大到 120 nmol/L 时,膜电势出现明显的坍塌。随着 2-苯基苯并咪唑浓度的增加,线粒体膜电势坍塌的程度有明显的增加。这说明 2-苯基苯并咪唑对线粒体膜电势的影响具有浓度效应。因此,2-苯基苯并咪唑能够诱导线粒体膜电势的坍塌,这与前面 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体肿胀的实验结果是吻合的。同时,线粒体膜电势的坍塌,将导致线粒体渗透转换孔的开放;而反过来,线粒体渗透转换孔的开放,也将导致线粒体膜电势的坍塌。



I ~ V 代表 2-苯基苯并咪唑浓度为 0、80、120、160、200 nmol/L

a. 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体膜电势改变的折线图;
b. 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体膜电势改变的柱状图

图 5 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体膜电势的改变

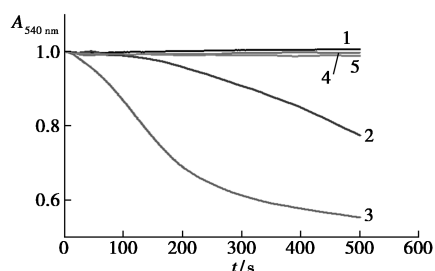
Fig.5 Change of membrane potential of 2-phenylbenzimidazole conductor

2.5 环孢菌素对 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体膜肿胀的抑制作用

线粒体渗透转换过程 (MPT) 是线粒体功能受损中一个非常重要的过程。许多研究表明,在细胞毒性、基质缺氧以及过氧化等各种形式的细胞损伤和凋亡过程中, MPT 的开放都是一个重要事件。尽管 MPT 的机理存在许多不同的观点,但是激活 MPT 的两种模式却已经得到普遍的认

同,即由亲环素(CypD)调控激活与失活。而亲环素的活性又会被环孢菌素(CsA)抑制。所以环孢菌素成为检验 PTP 是否参与线粒体受到药物诱导损伤、进入凋亡途径的标准工具^[13]。环孢菌素也被称为线粒体渗透转换孔蛋白的专属抑制剂^[14]。

为了检验 2-苯基苯并咪唑对线粒体的影响是否通过线粒体渗透转换孔进行,设计了对照组实验,用环孢菌素来抑制 2-苯基苯并咪唑的诱导作用。由图 2~7 中可以明显看出,加入 CsA 后,线粒体几乎不发生肿胀,这个结果说明,线粒体的损伤与线粒体渗透有关。



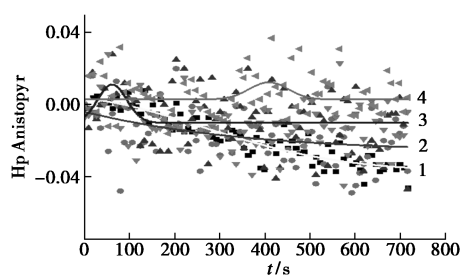
1. 0 nmol/L 2-苯基苯并咪唑; 2. 120 nmol/L 2-苯基苯并咪唑;
3. 200 nmol/L 2-苯基苯并咪唑; 4. 10 nmol/L CsA,
120 nmol/L 2-苯基苯并咪唑; 5. 10 nmol/L CsA,
200 nmol/L 2-苯基苯并咪唑

图 6 CsA 对 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体膜肿胀的抑制

Fig.6 Inhibition of CsA on mitochondrial membrane swelling induced by 2-phenylbenzimidazole

2.6 2-苯基苯并咪唑对线粒体膜流动性的影响

研究表明,线粒体膜在通透性转变伴随着线粒体膜流动性的显著增加,且专门定位于蛋白质位点,而脂质结构域不受影响。荧光偏振法是表征线粒体膜性质的另一种方法,通过检测不同浓度的 2-苯基苯并咪唑存在时体系的荧光值,来表征线粒体内膜流动性的变化。荧光各向异性(r)的变化可以评价膜流动性的变化。为了研究 2-苯基苯并咪唑对膜流动性的影响,采用血卟啉(Hematoporphyrin, HP)荧光偏振值监测脂膜不同区域的流动性。HP 主要积聚在磷脂双分子层的极性区域和内膜的蛋白质区域,如图 7 所示,随着 2-苯基苯并咪唑浓度的增加,荧光值逐渐升高,即线粒体的膜流动性在逐渐降低。结果表明 2-苯基苯并咪唑诱发的线粒体功能障碍伴随着 HP 相关区域(蛋白质区域)膜流动性的显著变化。本实验进一步验证了 2-苯基苯并咪唑能诱导线粒体膜结构发生改变。



曲线 1~4 代表 2-苯基苯并咪唑浓度为 0、80、120、160 nmol/L

图 7 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体膜流动性的改变

Fig.7 Changes of mitochondrial membrane fluidity induced by 2-phenylbenzimidazole

3 结论

本文系统研究了 2-苯基苯并咪唑对离体线粒体的功能和结构的影响。实验研究表明,2-苯基苯并咪唑不仅会诱导线粒体肿胀、增加线粒体内膜对 H^+ 和 K^+ 的渗透性、引起线粒体膜电势坍塌、增加膜流动性、抑制线粒体的呼吸作用,还会对线粒体的生物膜造成强烈干扰。线粒体肿胀、跨膜电位下降和膜流动性下降是 2-苯基苯并咪唑诱导线粒体 MPTP 打开的重要因素。CsA 的保护作用证实了高浓度 2-苯基苯并咪唑会触发 MPTP 开放。呼吸作用的抑制证实其对线粒体的结构和功能都有一定程度的破坏。这些发现增加了我们对苯并咪唑与线粒体相互作用机制的认识,为多角度全面理解 2-苯基苯并咪唑的生物活性提供了一些思路,并为研究线粒体靶向药物提供了有用的信息。

参考文献:

- [1] LEE Y T, TAN Y J, OON C E. Benzimidazole and its derivatives as cancer therapeutics; The potential role from traditional to precision medicine [J]. *Acta Pharm. Sin. B*, 2022, **13**(2): 478-491.
- [2] 赵明霞, 熊丽琴, 常进, 等. 苯并[d]咪唑基 $Zn(II)$ 配合物的晶体结构和热稳定 [J]. *化学试剂*, 2021, **43**(8): 1124-1129.
- [3] 李焱, 马会强, 王玉炉. 苯并咪唑及其衍生物合成与应用研究进展 [J]. *有机化学*, 2008, **28**(2): 210-217.
- [4] CHEN M, SU S, ZHOU Q, et al. Antibacterial and antiviral activities and action mechanism of flavonoid derivatives with a benzimidazole moiety [J]. *J. Saudi Chem. Soc.*, 2021, **25**(2): 101-194.
- [5] DE LÓCIO L L, DO NASCIMENTO A P S, SANTOS M B, et al. Application of heterocycles as an alternative for the discovery of new anti-ulcer compounds: A mini-review

- [J]. *Curr. Pharm. Design*, 2022, **28**(17): 1 373-1 388.
- [6] VEERASAMY R, ROY A, KARUNAKARAN R, et al. Structure-activity relationship analysis of benzimidazoles as emerging anti-inflammatory agents: An overview [J]. *Pharmaceuticals*, 2021, **14**(7): 663.
- [7] PATAGAR D N, BATAKURKI S R, KUSANUR R, et al. Synthesis, antioxidant and anti-diabetic potential of novel benzimidazole substituted coumarin-3-carboxamides [J]. *J. Mol. Struct.*, 2023, **1** 274: 134 589.
- [8] SOUSA C C, DZIWORNU G A, QUADROS H C, et al. Antimalarial pyrido [1,2-a] benzimidazoles exert strong parasitocidal effects by achieving high cellular uptake and suppressing heme detoxification [J]. *ACS Infect. Dis.*, 2022, **8**(8): 1 700-1 710.
- [9] MIWA S, KASHYAP S, CHINI E, et al. Mitochondrial dysfunction in cell senescence and aging [J]. *J. Clin. Invest.*, 2022, **132**(13): e158 447.
- [10] MALPARTIDA A B, WILLIAMSON M, NARENDRA D P, et al. Mitochondrial dysfunction and mitophagy in Parkinson's disease: From mechanism to therapy [J]. *Trends Biochem. Sci.*, 2021, **46**(4): 329-343.
- [11] MANOLIS A S, MANOLIS A A, MANOLIS T A, et al. Mitochondrial dysfunction in cardiovascular disease: Current status of translational research/clinical and therapeutic implications [J]. *Med. Res. Rev.*, 2021, **41**(1): 275-313.
- [12] DING M, SHI R, CHENG S, et al. Mfn2-mediated mitochondrial fusion alleviates doxorubicin-induced cardiotoxicity with enhancing its anticancer activity through metabolic switch [J]. *Redox Biol.*, 2022, **52**: 102 311.
- [13] NOSER A A, ABDELMONSEF A H, EL-NAGGAR M, et al. New amino acid Schiff bases as anticancer agents via potential mitochondrial complex I-associated hexokinase inhibition and targeting AMP-protein kinases/mTOR signaling pathway [J]. *Molecules*, 2021, **26**(17): 5 332.
- [14] BONORA M, GIORGI C, PINTON P. Molecular mechanisms and consequences of mitochondrial permeability transition [J]. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2022, **23**(4): 266-285.
- [15] BERNARDI P, CARRARO M, LIPPE G. The mitochondrial permeability transition: Recent progress and open questions [J]. *FEBS J.*, 2022, **289**(22): 7 051-7 074.
- [16] MORCIANO G, NAUMOVA N, KOPROWSKI P, et al. The mitochondrial permeability transition pore: An evolving concept critical for cell life and death [J]. *Biol. Rev.*, 2021, **96**(6): 2 489-2 521.
- [17] ROTTENBERG H, HOEK J B. The mitochondrial permeability transition: Nexus of aging, disease and longevity [J]. *Cells*, 2021, **10**(1): 79.
- [18] BERNARDI P, CARRARO M, LIPPE G. The mitochondrial permeability transition: Recent progress and open questions [J]. *FEBS J.*, 2022, **289**(22): 7 051-7 074.
- [19] YOON Y, LEE H, FEDERICO M, et al. Non-conventional mitochondrial permeability transition: Its regulation by mitochondrial dynamics [J]. *Biochim. Biophys. Acta*, 2023, **1864**(1): 148 914.
- [20] YANG Y, WANG W, TIAN Y, et al. Sirtuin 3 and mitochondrial permeability transition pore (mPTP): A systematic review [J]. *Mitochondrion*, 2022, **64**: 103-111.
- [21] JOHNSON J, MERCADO-AYON E, MERCADO-AYON Y, et al. Mitochondrial dysfunction in the development and progression of neurodegenerative diseases [J]. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2021, **702**: 108 698.
- [22] MERLINI E, COLEMAN M P, LORETO A. Mitochondrial dysfunction as a trigger of programmed axon death [J]. *Trends Neurosci.*, 2022, **45**(1): 53-63.
- [23] 章悦. 基于线粒体靶向的毒(药)物与线粒体和血清白蛋白的相互作用 [D]. 武汉: 武汉大学, 2011.
- [24] 李东巍. 线粒体靶向抗肿瘤药物的合成和生物活性及其机理 [D]. 武汉: 武汉大学, 2014.
- [25] KRABBENDAM I E, HONRATH B, CULMSEE C, et al. Mitochondrial Ca^{2+} -activated K^{+} channels and their role in cell life and death pathways [J]. *Cell Calcium*, 2018, **69**: 101-111.

功能材料

编者按:本期“生物质材料的化学制备及应用”专题由青年编委—安徽农业大学范世锁副教授组稿,共收录3篇论文,主要涉及生物炭的制备及改性、改性生物炭的理化性质表征,以及生物炭在水体污染物修复等内容。

生物炭具有较大的比表面积和发达的孔隙结构,表面含有大量官能团,还赋存矿物质组分,这些特性使得生物炭在水体污染物的处理方面具备广阔的发展前景。对生物炭进行设计、修饰、掺杂、改性等,赋予更多的吸附位点,进一步强化去除效果、扩大应用范围、借助现代科学技术手段揭示生物炭去除污染物的微观机制是未来的研究趋势。

生物炭对废水中铜离子吸附的研究进展:改性方法与吸附机制

刘丽¹,范世锁^{*2},梅杨璐²

(1.阜阳师范大学 物理与电子工程学院,安徽 阜阳 236037;

2.安徽农业大学 资源与环境学院,安徽 合肥 230036)

摘要:废水中的重金属铜离子($\text{Cu}(\text{II})$)会污染水体生态环境,并会通过食物链对人体健康造成潜在危害。生物炭可作为废水中 $\text{Cu}(\text{II})$ 去除的有效吸附剂。然而,原状生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附量有限,需要对生物炭进行定向改性以提升其去除效果。以废水中的 $\text{Cu}(\text{II})$ 为对象,重点论述生物炭的改性方法和吸附机制。结果表明,生物炭的主要改性方法包括化学改性(酸、碱、高分子聚合物改性)、物理改性(球磨和气体活化)、金属改性(铁、锰改性)、矿物质改性和高分子聚合物改性等。改性方法对 $\text{Cu}(\text{II})$ 去除效果的次序是:纳米羟基磷灰石改性>含氨基有机酸改性>锰改性>铁改性>碱改性。生物炭吸附 $\text{Cu}(\text{II})$ 的主要机制包括孔隙扩散、静电作用、沉淀作用、配位作用、阳离子- π 机制、离子交换和还原作用,具体的主导机制取决于生物炭的物化性质和溶液的性质。将来的研究方向包括:采取更为有效的改性方法提高对废水中痕量 $\text{Cu}(\text{II})$ 的去除效果;利用先进的仪器和模型计算揭示微观机制;开展动态吸附柱或固定床试验。

关键词:生物炭;铜离子;改性方法;吸附行为;机制

中图分类号:X703 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2023)05-0066-11

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2022.0643

Copper Ion Removal from Wastewater by Biochar: Modification Method and Adsorption Mechanism LIU Li¹, FAN Shisuo^{*2}, MEI Yang-lu² (1.School of Physics and Electronic Engineering, Fuyang Normal University, Fuyang 236037, China; 2.School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: Excessive copper ions in wastewater threaten the water ecological environment and cause potential harm to human health through the food chain. Biochar has been confirmed to be an effective adsorbent for Cu ion removal from wastewater. However, the adsorption capacity of the pristine biochar was limited. Modification can improve the adsorption amount of biochar. The modification method and adsorption mechanism of copper ions on biochars were summarized. The results showed that the main modification methods include chemical modification (acid and alkaline activation), physical modification (ball-milling and gas activation), metal modification (Fe and Mn), mineral modification, and high-molecular polymer modification. The order of removal effect of the modified methods on copper ions is as follows: nano-hydroxyapatite>amino-containing organic acid modification>manganese modification>iron modified>alkaline modification. The adsorption mechanisms of copper ion removal by biochar include pore-filling

收稿日期:2022-08-16;网络首发日期:2023-02-15

基金项目:国家自然科学基金项目(51809001);安徽省自然科学基金项目(2108085QD175);安徽省高校自然科学重点项目(KJ2021A0675)。

作者简介:刘丽(1986-),女,安徽芜湖人,博士,讲师,主要研究方向为生物炭制备及应用。

通讯作者:范世锁, E-mail: fanshisuo@ahau.edu.cn。

引用本文:刘丽,范世锁,梅杨璐.生物炭对废水中铜离子吸附的研究进展:改性方法与吸附机制[J].化学试剂,2023,45(5):66-76。

effect, electrostatic action, precipitation action, complexation, cation exchange, ion exchange and reduction. Specific dominant mechanisms highly depended on the physicochemical properties of biochar and experimental conditions. Future research should focus on precise modification methods to enhance the adsorption capacity of copper ions, reveal microscopic mechanisms through advanced instruments combined with theoretical calculations, and perform dynamic adsorption columns or fixed bed experiments.

Key words: biochar; Cu ions; modification approach; adsorption behavior; mechanisms

重金属是水体中重要的污染物,会污染环境,并通过食物链威胁人体健康,会对人体肝脏和大脑等器官造成损伤^[1]。铜是自然环境中广泛存在的重金属之一,已被美国 EPA 列入优先控制的污染物,允许的浓度是 1.3 mg/L。WHO 标准中饮用水 Cu(II) 的限制浓度为 2.0 mg/L。我国生活饮用水标准中总铜为 1.0 mg/L,我国污水综合排放标准中铜的允许最高排放质量浓度为 2.0 mg/L^[2,3]。铜污染的主要源头是铜锌矿的开采和冶炼、金属加工、机械制造和钢铁生产等行业^[4]。过量的重金属铜累积极易对身体内的脏器造成负担,特别是肠、胃、肝和胆。因此,为避免水体中重金属铜的污染,对废水中重金属 Cu(II) 的污染控制至关重要。

目前,水体中重金属的去除方法主要有化学沉淀法、离子交换法、膜分离法、吸附法等^[5]。其中,吸附法由于成本低、操作简便、工序简单、去除效果好和无二次污染等特点备受关注。吸附剂的选择是吸附法应用是否成功的关键。活性炭、分子筛、硅胶、活性氧化铝、高分子吸附剂和离子交换树脂吸附剂,但制备成本较高限制了上述吸附剂的广泛应用^[6]。因此,亟需寻找性价比高、来源广泛和效果良好的吸附剂。生物质基吸附剂受到了更多的研究和报道,其中碳材料是广泛应用的吸附剂,包括活性炭、石墨烯、碳纳米材料、高分子碳纤维和生物炭等^[7]。

近年来,生物炭作为吸附剂引起了环境、材料、农学和化学等领域的极大关注^[8-12]。生物炭是指由生物质在完全或部分缺氧状态下低温 (<700 °C) 热解生成的一类富含碳、高度芳香化的固态物质^[13],具有比表面积大、官能团丰富、孔隙度大、含有矿物质组分等特点。生物炭制备的原料来源广泛、制备工艺较为简易,因而其成本较为低廉,具有广泛应用的潜力。原状生物炭的制备原料包括秸秆、树木、草叶、畜禽粪便、花生壳和果皮类等废弃物,其中以农林废弃物为主。农林废弃物来源广泛,主要成分是纤维素、半纤维素和木质素,是制备生物炭的理想原料。然而,有限的

结合位点限制了原状生物炭对污染物的去除效果。为进一步提升生物炭对重金属的去除效果,可对生物炭进行定向改性。目前的改性方法涉及酸碱改性、金属改性、矿物质改性和物理改性(气体活化、球磨)等^[14,15]。改性处理可以有针对性和选择性的提升生物炭去除重金属离子的效果。

目前,关于生物炭对水中重金属离子去除的综述报道已经很多^[14-16],而专门综述改性生物炭对废水中 Cu(II) 的吸附却没有报道。因此,本综述以重金属 Cu(II) 为研究对象,重点综述了生物炭对 Cu(II) 去除的改性方法和吸附机制,并对未来的研究提出了展望,希冀为生物炭的应用及废水中 Cu(II) 的污染控制提供参考。

1 生物炭对 Cu(II) 吸附的改性方法

总体来说,原状生物炭对重金属 Cu(II) 的吸附量还是较低,因为热解过程导致了生物质中官能团的热分解,可对生物炭进行改性以提升其对废水中 Cu(II) 的去除能力。生物炭的制备与改性方法见图 1。改性生物炭对 Cu(II) 的吸附研究的改性方法涉及:化学改性(酸、碱、高分子聚合物改性)、物理改性(球磨和气体活化)、金属改

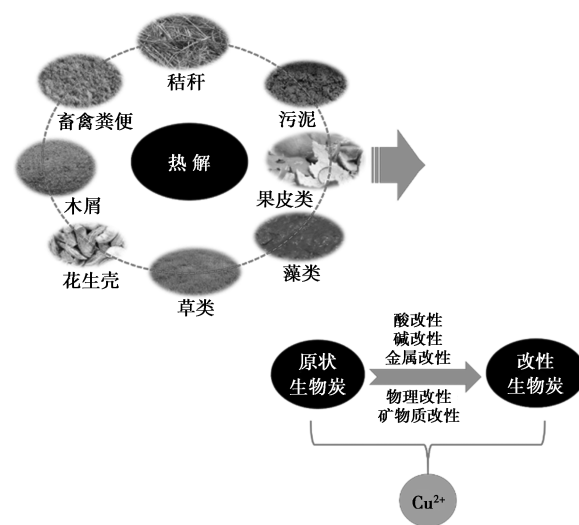


图 1 生物炭的制备与改性

Fig.1 Preparation and modification of biochars

性(铁、锰改性)和矿物质改性等。生物炭改性的目的主要是增大比表面积、创造生物炭的发达孔隙、引入更多的含氧官能团、有利于固液分离、负载矿物质组分增加吸附位点,从而提高对废水中 Cu(II) 的吸附效果。

1.1 酸改性

酸改性生物炭常用的改性剂是 H_3PO_4 、 H_2SO_4 、 H_2O_2 、 HNO_3 和 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 等。酸性表面官能团的引入能为生物炭提供更多的吸附位点,通过配位作用更多地吸附废水中的 Cu(II)。如 Peng 等^[17] 选择磷酸对生物炭进行改性,与原状生物炭相比,磷酸改性生物炭的比表面积明显增大,对 Cu(II) 的吸附能力明显增强。Hemavathy 等^[18] 发现硫酸改性生物炭对 Cu(II) 的最大吸附量可达 303.5 mg/g,因为硫酸改性可增加生物炭对 Cu(II) 的配位能力。Hadjittofi 等^[19] 研究了 HNO_3 改性生物炭对 Cu(II) 的吸附,通过 FT-IR 发现 HNO_3 改性之后出现了羧基官能团,酸碱滴定曲线发现生物炭的表面存在酸性官能团。在较低的 pH 值下,生物炭对 Cu(II) 离子仍具有较高的容量和化学亲和力,主要是由于生物炭表面的层状结构和羧基官能团。Yin 等^[20] 研究了 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 改性生物炭对水体中 Cu(II) 的去除,发现改性生物炭对 Cu(II) 的吸附量可达 185.0 mg/g,因为含硫官能团与 Cu(II) 之间的强力结合作用。

1.2 碱改性

碱改性常见的是 KOH 改性、NaOH 改性、氨基改性和氮改性等,其中 KOH 改性研究报道较多。碱改性的主要目的是增大比表面积、制造发达的孔隙结构和引入碱性基团。Jin 等^[21] 研究了 KOH 活化牛粪藻类沼渣生物炭对 Cu(II) 的吸附能力,发现 KOH 活化后生物炭对 Cu(II) 吸附量增加是因为活化增加了生物炭的比表面积和改变了表面官能团。Choudhary 等^[22] 研究了 NaOH 活化仙人掌生物炭对 Cu(II) 的去除,发现 NaOH 改性后生物炭的孔隙更加发达,酸性官能团含量更高,对 Cu(II) 的吸附量可达 49.36 mg/g,吸附机制涉及孔隙扩散、静电作用、离子交换和配位作用。Tang 等^[23] 研究了氨基改性污泥生物炭对 Cu(II) 的去除,发现污泥生物炭的氨基密度达到 1.34 mg/m^2 ,对 Cu(II) 的吸附量可达 37.458 mg/g,吸附机制是生物炭上的氨基与 Cu(II) 在水体中形成配合物。还有研究发现多氨聚合物改

性生物炭^[24]、氨水改性木屑生物炭^[25] 和尿素改性水稻秸秆生物炭^[26] 均可提高对 Cu(II) 的吸附效果,因为引入含氮官能团的配位作用。

1.3 物理改性

物理改性方法主要包括球磨技术和气体活化技术,改性的主要目的是增大生物炭的比表面积和孔隙结构。Xiao 等^[27] 采用球磨技术对含氮牛骨粉生物炭进行制备,发现球磨后生物炭的微孔面积和外比表面积都明显增加。原状生物炭的比表面积范围在 $2.76 \sim 52.78 \text{ m}^2/\text{g}$,球磨之后生物炭的比表面积增加至 $35.49 \sim 313.09 \text{ m}^2/\text{g}$ 。球磨后生物炭(600 °C 制备)对 Cu(II) 的吸附量为 287.58 mg/g,主要机制是表面配位、阳离子交换、化学沉淀、静电相互作用和阳离子- π 键合。Wen 等^[28] 研究了 CO_2 活化互米花草生物炭对 Cu(II) 的去除,发现最大吸附量可达 89.12 mg/g。 CO_2 活化之后生物炭的比表面积从 $29.04 \text{ m}^2/\text{g}$ 增加至 $744.94 \text{ m}^2/\text{g}$ 。 CO_2 活化优化了多孔结构;增加比表面积和羧基、羟基数量;抑制无机碳酸盐的热分解。生物炭去除 Cu(II) 的机制涉及沉淀作用和配位作用。

1.4 金属改性

金属改性主要包括铁和锰改性等,主要目的是引入磁性组分有利于固液分离,引入更多的吸附位点有利于 Cu(II) 的去除。如 Zhou 等^[29] 研究了锰铁改性生物炭对废水中 Cu(II) 的去除,发现对 Cu(II) 的吸附量可达 64.9 mg/g,FT-IR 和 XPS 证实吸附机制是生物炭与 Cu(II) 形成配合物,此外阳离子- π 机制也能发挥重要作用。Yu 等^[30] 发现生物炭负载零价铁对 Cu(II) 的最大吸附量为 169.49 mg/g,吸附机制涉及还原作用($\text{Cu(II)} \rightarrow \text{Cu}^0$) 和配位作用($\text{C}=\text{C}$ 、 $\text{C}-\text{O}-$ 、 $-\text{O}-\text{H}$ 和 Cu(II))。

锰改性可以引入含锰氧官能团,并增加生物炭的比表面积和孔隙结构,其中采用 KMnO_4 改性的研究报道最多。Song 等^[31] 制备了负载 MnOx 的生物炭,并研究对 Cu(II) 的去除,发现 10% KMnO_4 改性的生物炭对 Cu(II) 的吸附量可达 160.3 mg/g,是未改性生物炭吸附量的 8 倍,主要是因为生物炭上 MnOx 和含氧官能团与 Cu(II) 之间的配位作用。王旭峰等^[32] 发现 KMnO_4 改性可以增加生物炭的表面含氧官能团,增大比表面积,增加活性吸附位点,对 Cu(II) 的最大吸附量可达 88.5 mg/g。同样,余伟光等^[33] 采用 KMnO_4

改性香蕉秸秆生物炭,发现 KMnO_4 改性可以引入 MnOx 微粒,含有更多的含氧官能团和更大的表面积,对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的最大吸附量可达 81.36 mg/g 。Fu 等^[34]研究了 KMnO_4 改性橡胶种子壳生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附,对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的最大吸附量可达 200.59 mg/g ,因为含氧官能团和 MnOx 的存在。Zhao 等^[35]研究 KMnO_4 改性丝瓜生物炭负载 $\text{nano-Fe}_2\text{O}_3$ 纳米颗粒对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附量提高了 42.86% ,因为 MnOx 的内层配位和含氧官能团的作用。

此外,Wang 等^[36]研究了 K_2FeO_4 改性蟹壳生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附,发现最大吸附量可达 417.05 mg/g ,主要机制是离子交换、沉淀和配位作用。Huang 等^[37]研究发现 MnFe_2O_4 改性可以提高生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附能力。Wang 等^[38]研究生物炭/ MnAl 层状双金属氢氧化物复合材料对 $\text{Cu}(\text{II})$ 去除,发现该复合材料对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附量可达 74.07 mg/g ,吸附机制为沉淀作用和同晶替换($\text{Cu}(\text{II})$ 替换 $\text{Mn}(\text{II})$)。

1.5 矿物质改性

矿物质改性包括硅改性和纳米羟基磷灰石负载等,改性的主要目的是引入矿物质成分,增加生物炭的沉淀和配位能力。Wang 等^[39]制备了生物炭负载纳米羟基磷灰石($\text{nano-Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$),发现对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附量高达 833.33 mg/g 。Liu 等^[40]研究硅改性生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的去除,发现对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的最大吸附量可达 152.61 mg/g ,主要去除机制是沉淀作用和配位作用。朱司航等^[41]研究了纳米羟基磷灰石($\text{nano-Hydroxyapatite}$, nano-HAP)改性生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附性能研究,发现生物炭表面附着纳米羟基磷灰石可降低其疏水性,对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的最大吸附量分别为 32.65 、 57.01 mg/g 。 nano-HAP 的选择和用量,对合成生物炭纳米复合材料与提升其吸附能力至关

重要,该研究的最佳比例是 0.5% 。Wang 等^[42]发现方解石改性生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的高效最大吸附量可达 213.9 mg/g ,涉及机制是表面配位、沉淀和离子交换。

1.6 高分子聚合物改性

可以利用高分子聚合物对生物炭进行改性,如壳聚糖和 2-硫脲嘧啶等。Deng 等^[43]研究了壳聚糖-均苯四甲酸二酐改性对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附,发现改性之后生物炭的表面含有丰富的官能团,对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附量可达 96.11 mg/g ,因为羰基和含氮官能团的配位作用。Liatsoy 等^[44]研究发现 2-硫脲嘧啶改性可以大大提高生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附量,通过生物炭上含氮、硫的配位体与 $\text{Cu}(\text{II})$ 形成非常稳定的内层配合物。

在上述所有改性方法中,生物炭负载纳米羟基磷灰石对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附量高达 833.33 mg/g ,因为引入了矿物质,有利于对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的沉淀和配位作用;2-硫脲嘧啶改性生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的最大吸附量可达 486.9 mg/g ,因为含氮含硫官能团的引入大大提升了生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的配位能力;锰改性生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附能力也较强,最大吸附量可达 230.125 mg/g ,因为锰氧官能团能增加生物炭的配位能力;铁改性生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附能力在 $63.52 \sim 153.2 \text{ mg/g}$,可见在生物炭赋有磁性的同时,也能较好的去除 $\text{Cu}(\text{II})$ 。KOH 改性生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附量为 $5.831 \sim 137 \text{ mg/g}$ 。对比上述改性方法可知,对 $\text{Cu}(\text{II})$ 去除效果提升的次序是:纳米羟基磷灰石>含氨基有机酸改性>锰改性>铁改性>碱改性。因此,用含有氨基或含有氨基的有机酸或含钙含磷的矿物改性能明显提升生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的去除效果,主要是由于改性后的生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 具有的强配位能力或发生沉淀作用。生物炭各种改性方法的比较见表 1。

表 1 改性方法的比较

Tab.1 Comparison of different modification approaches

改性方法	改性目的	优点	缺点
酸改性	引入含氧官能团	强化配位作用	需要洗涤步骤,酸洗废水的处理
碱改性	增大比表面积、制造发达的孔隙结构和引入碱性基团	有利于增加吸附位点,强化配位作用	需要洗涤步骤,对设备有一定腐蚀作用
物理改性	增大生物炭的比表面积和孔隙结构	无需引入化学试剂	成本较高
金属改性	引入磁性组分有利于固液分离、引入更多的吸附位点	有利于回收和强化配位作用	额外引入金属元素,后续需要洗涤步骤
矿物质改性	引入矿物质组分	增加生物炭的离子交换、沉淀和配位能力	额外引入矿物质,需要考虑制备成本
高分子聚合物改性	引入高分子聚合物中的多种官能团	提高对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的配位能力	额外引入高分子聚合物,需要考虑制备步骤和制备成本

2 吸附机制

生物炭吸附 $\text{Cu}(\text{II})$ 的主要机制涉及孔隙扩散、静电作用、沉淀作用、配位作用、阳离子- π 机制、离子交换和还原作用。通常,生物炭去除 $\text{Cu}(\text{II})$ 是多种机制同时在发挥作用,具体的主导机制还与生物炭的物化性质和溶液的性质有关。生物炭吸附 $\text{Cu}(\text{II})$ 的主要机制汇总见图 2。生物炭吸附 $\text{Cu}(\text{II})$ 的机制主要以配位作用和静电作用为主,生物炭中丰富的官能团(如 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{OH}$)与 $\text{Cu}(\text{II})$ 之间发生配位反应,生物炭表面大多呈现负电荷,极易与正电荷的 $\text{Cu}(\text{II})$ 形成静电作用。当生物炭中含有丰富的矿物质时,离子交换和沉淀作用也会成为生物炭吸附 $\text{Cu}(\text{II})$ 的主导机制;当生物炭制备温度较高时,形成的芳香结构能与 $\text{Cu}(\text{II})$ 发生阳离子- π 机制;当生物炭孔隙结构发达时,也存在孔隙扩散作用;当生物炭上富含还原性官能团或负载 Fe^0 时, $\text{Cu}(\text{II})$ 被还原成 $\text{Cu}(\text{I})$ 或 Cu^0 。

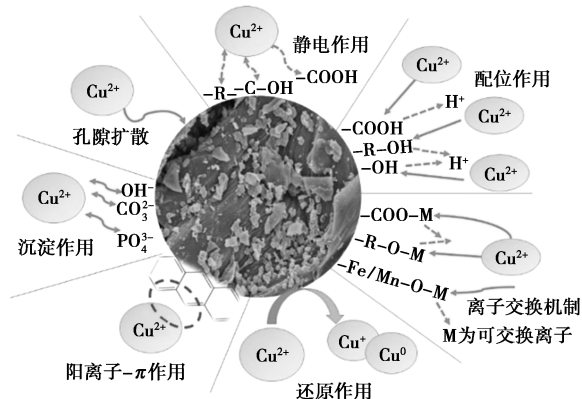


图 2 生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附机制

Fig.2 Adsorption mechanisms of Cu^{2+} ions on biochar

2.1 孔隙扩散

生物炭表面微孔($<2\text{ nm}$)和介孔($2\sim 50\text{ nm}$)的存在决定了孔填充机制是吸附重金属的重要机制。生物炭的比表面积和孔隙结构决定了孔隙扩散机制。通常,高比表面积和发达的孔隙结构可为生物炭吸附 $\text{Cu}(\text{II})$ 提供更多的位点。Choudhary 等^[22]研究发现孔隙扩散机制是生物炭去除 $\text{Cu}(\text{II})$ 的重要机制之一。孔隙扩散效应主要是物理吸附,物理吸附对污染物具有较宽的尺寸范围。生物炭的介孔特征使得其能降低空间位阻效应,从而有较高的物理吸附能力。Song 等^[45]研究发现生物炭的比表面积和孔径结构能解释其对重金属的物理吸附能力。生物炭上大量的气孔和通道,不仅加强了生物炭表面吸附位点与重金

属离子的接触,而且增强了生物炭表面吸附位点与重金属离子的接触,也有助于引进新的官能团。生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 吸附动力学和吸附等温线前期的快速吸附归因于孔隙扩散。Zhang 等^[46]研究发现生物炭的介孔结构有利于对重金属 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附,物理吸附也是生物炭去除重金属 $\text{Cu}(\text{II})$ 的机制之一。Deng 等^[47]在研究中也指出孔隙扩散是生物炭吸附 $\text{Cu}(\text{II})$ 的重要机制之一。磷酸改性导致生物炭具有更大的比表面积和更发达的孔隙结构,这也能解释磷酸改性生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 具有更大的吸附量。综上可知,当生物炭具有较大比表面积和发达孔隙结构时,孔隙扩散机制能在生物炭去除 $\text{Cu}(\text{II})$ 中发挥作用。

2.2 静电作用

静电作用是影响生物炭去除 $\text{Cu}(\text{II})$ 的主导机制之一。生物炭表面呈现的负电荷易与 $\text{Cu}(\text{II})$ 之间发生静电作用。生物炭表面的官能团是影响静电作用的重要因素,官能团在不同 pH 下呈现不同的化学形态,进而影响静电作用。生物炭的 Zeta 电位也会影响对重金属离子的静电作用。Zeta 值用来描述吸附剂的静电电位,这种电荷的密度吸引相反电荷的离子(反离子),并排斥似电荷的离子(副离子)。当溶液 pH 较低时,生物炭表明呈现的正电荷与 $\text{Cu}(\text{II})$ 之间发生静电斥力。生物炭的 Zeta 电位和 pH 值是静电作用的主要因素^[48]。带电荷的生物炭对重金属离子具有静电吸附作用,以限制重金属离子的游离状态。炭化温度是影响生物炭表面官能团静电作用的主要影响因素。研究表明,高温炭化可以获得更好的阳离子交换量并能提高土壤 pH,降低金属离子的有效性^[49]。佟雪娇^[50]研究发现制备的花生秸秆、大豆秸秆、油菜秸秆和稻草生物炭的 Zeta 电位均为负值,负电荷数量与溶液 pH 值呈正相关关系。在 pH 3.5~6.0 的范围内,生物炭对 $\text{Cu}(\text{II})$ 的吸附量随着溶液 pH 的升高而升高。Jiang 等^[51]发现水稻秸秆生物炭的 Zeta 电位为负值,有利于静电吸引,其吸附机制依旧是静电作用。Ahmad 等^[52]也研究发现静电引力是生物炭吸附 $\text{Cu}(\text{II})$ 的主导机制,由于生物炭具有较高的电负性。Rodríguez-Vila 等^[53]研究发现静电引力是生物炭吸附 $\text{Cu}(\text{II})$ 的主要机制,静电引力发生在带正电的 $\text{Cu}(\text{II})$ 与更大比表面积的生物炭上离域- π 电子之间。Tong 等^[54]也发现更大电负性的生物炭可以通过静电作用有效的去除 $\text{Cu}(\text{II})$ 。

综上可知,生物炭的 pH 值、Zeta 电位和官能团是影响静电作用的重要因素,特别是 Zeta 电位,生物炭的 Zeta 电负性越大,越有利于对 Cu(II) 的去除。

2.3 沉淀作用

沉淀作用也是生物炭去除 Cu(II) 的关键机制之一。沉淀作用常见于富含矿物质生物炭对 Cu(II) 的去除。生物炭中含有的矿物质离子,特别是 OH^- 、 CO_3^{2-} 、 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} 和 SiO_4^{4-} 等矿物质离子能与 Cu(II) 之间形成沉淀。对生物炭吸附 Cu(II) 后的 XRD、XPS、FT-IR 和 SEM-EDS 等表征都可以证实沉淀机制的发生。生物炭浸出液中矿物质离子的测定也可以证明沉淀作用的发生。Xu 等^[55] 在研究中发现沉淀机制是牛粪生物炭去除 Cu(II) 的关键机制。200 °C 制备的牛粪生物炭中的 CO_3^{2-} 、 PO_4^{3-} 与 Cu(II) 形成 $\text{Cu}_2(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$ 、 $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀,沉淀机制占到 Cu(II) 去除的 79.5%, 350 °C 制备的牛粪生物炭对 Cu(II) 的去除全部归因于沉淀机制。Wei 等^[56] 也发现沉淀机制是菊芋茎生物炭去除 Cu(II) 的重要机制。SEM-EDS 分析证实了 Cu(II) 与生物炭上无机组分之间的结合。生物炭在平衡时的 pH 会释放大量阴离子,如 OH^- 、 CO_3^{2-} 、 SO_4^{2-} 和 PO_4^{3-} ,从而和 Cu(II) 形成沉淀。FT-IR 分析也发现含 PO_4^{3-} 官能团与 Cu(II) 之间会发生作用。XRD 分析发现生物炭吸附 Cu(II) 后表面存在蓝铜矿晶体($\text{Cu}_4(\text{SO}_4)(\text{OH})_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。STXM 观察到的 Cu(II) 富集热点也证实了沉淀作用的发生。Mei 等^[57] 研究发现稻草生物炭中的可溶性矿物质能与 Cu(II) 之间发生沉淀作用。Wen 等^[28] 研究发现生物炭的内源无机矿物在生物炭去除中发挥重要作用,会通过沉淀机制形成 $\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$ (XRD 表征证实)。Xiao 等^[27] 通过研究发现沉淀机制是生物炭去除 Cu(II) 的重要机制,生物炭上的 PO_4^{3-} 和 CO_3^{2-} 可以与生物炭形成 $(\text{M}_x\text{Ca}_{1-x})_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ ($\text{M} = \text{Cu}$) 沉淀。综上可知,沉淀机制的发生可以使得生物炭能较为稳定的去除 Cu(II),特别是生物炭中的 OH^- 、 CO_3^{2-} 、 PO_4^{3-} 能促进沉淀机制的发生。

2.4 配位作用

配位作用是生物炭去除 Cu(II) 的主要机制,因为 Cu(II) 的配位能力较强,其能与生物炭中含有的羧基、氨基等官能团形成吸附位点,这些吸附位点与金属离子之间发生配位作用。对含有丰富

官能团的生物炭(低温生物炭)来说,配位作用是生物炭去除 Cu(II) 的主要机制。生物炭的酸改性、铁锰改性等就是为了引入官能团从而有效的配位 Cu(II)。Song 等^[31] 研究了 MnOx 改性生物炭对 Cu(II) 的吸附,FT-IR 分析显示在 Cu^{2+} 吸附过程中,羟基被大量消耗,形成强的单齿/多齿的内球配合物(如 Mn-O-Cu),导致了 $1\,385\text{ cm}^{-1}$ 处 O—H 信号的降低。 Cu^{2+} 和 MnOx 之间的强配位作用导致了 $1\,385\text{ cm}^{-1}$ 处峰的显著变化。Zhou 等^[58] 制备烟草梗生物炭吸附 Cu(II),发现富含有机质的低温热解生物炭对 Cu(II) 的吸附效果最佳,因为烟草梗生物炭中含有大量可促成配位作用的矿物质,然而高温却破坏这些矿物质的存在。Wang 等^[59] 研究发现生物炭上丰富的—COOH 官能团(FT-IR 分析)能通过配位作用结合 Cu(II)。Li 等^[60] 制备了 Polyaminocarboxylated 改性生物炭,发现改性后生物炭的表面富含大量的羟基、羧基和氨基,可以通过配位机制有效的去除废水中的 Cu(II)。Liu 等^[61] 制备了 Si-Mn 生物炭吸附 Cu(II),发现—OH/—COOH、Si—O 和 Mn—O 可以与 Cu(II) 形成—OCu/—COOCu、Si—O—Cu/Mn—O—Cu 配合物。可见,富含丰富官能团的生物炭可以通过配位作用有效的去除废水中的 Cu(II),特别是羧基和氨基。

2.5 阳离子- π 机制

重金属离子和生物炭的芳香基团之间的阳离子- π 键合可被定义为带正电荷的离子与芳香电子供体体系的平面表面之间非共价相互作用。在生物炭中,常见的电子给体为聚缩芳香结构,其供电子能力随着芳环数的增加而增强,阳离子- π 机制指阳离子与生物炭芳香体系内负静电区的非共价键吸引反应^[62]。所以高温制备的生物炭具有较为完备的芳香结构,易与 Cu(II) 之间形成阳离子- π 机制。因此,阳离子- π 机制也是生物炭去除 Cu(II) 的重要机制,特别是高温制备的生物炭。Wei 等^[56] 制备了菊芋茎生物炭用以吸附水中 Cu(II)。生物炭吸附 Cu(II) 之后的 FT-IR 出现 760 、 810 和 860 cm^{-1} 峰,表明为芳香族化合物的 C—H 弯曲,且随着热解温度增加这些峰会偏移 to 更高的波数,证实存在阳离子- π 机制。此外,生物炭吸附 Cu(II) 之后 C 的 X 射线吸收近边结构(XANES) 光谱呈现了更宽的总芳香炭特性($1s-\pi^*$ 转换),一直延伸到低能(284 、 286 eV) 附近的 $1s-\pi^*$ 特性,这些现象表明芳香结构的 π

电子云和 Cu d 轨道之间发生杂化。这种现象在 500、700 °C 生物炭中表现的更为明显,从而证实了阳离子- π 机制的发生。Yu 等^[63]研究了氮改性生物炭对 Cu(II) 的去除,通过 XPS 分析发现吸附 Cu(II) 之后生物炭的 graphitic-N 从 46.4% 降低到 16.8%,从而证实了阳离子- π 机制。Cu 的 XPS 分峰拟合显示 934.8 eV 和 941.9 eV 的峰为 Cu 2p_{3/2} 轨道,954.6 eV 的峰为 Cu 2p_{1/2} 轨道,Cu 2p_{3/2} 和 Cu 2p_{1/2} 分别为 Cu²⁺ 化合物和铜氧化物。Cu(II) 化合物出现在高能活性点位,高能活性点位主要是生物炭的石墨结构和 graphitic-N,说明确实存在阳离子- π 机制。Xiao 等^[27]研究了牛骨粉生物炭对 Cu(II) 的去除,通过 FT-IR 分析发现存在 Cu(II) 与生物炭上的 C=C 形成阳离子- π 机制。综上所述,阳离子- π 作用也是生物炭去除 Cu(II) 的重要机制,特别是对芳香结构比较完备的高温生物炭。

2.6 离子交换机制

生物炭上带阴阳离子能溶解并与 Cu(II) 之间发生离子交换作用,特别是对含矿物质离子丰富的生物炭。生物炭表面官能团性能、污染物电荷性质与污染物大小是生物炭离子交换机制中的重要影响因素^[64]。Park 等^[64]研究发现乙酸铵能从水蒸气活化生物炭中浸出大量的 Na⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺ 离子。水蒸气活化生物炭吸附 Cu(II) 之后释放了大量的 Na⁺、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺ 离子,从而证实了离子交换机制的作用。Yu 等^[65]通过 SEM-EDS、XPS 和 XRD 表征发现离子交换是生物炭去除 Cu(II) 的重要机制,离子交换发生在 Cu(II) 和 Ca(II) 之间。Zhou 等^[66]发现离子交换是生物炭吸附 Cu(II) 的主导机制,生物炭中灰分能在去除 Cu(II) 中发挥重要作用。对富含 PO₄³⁻、CO₃²⁻、OH⁻ 和 SO₄²⁻ 的生物炭,灰分能在去除 Cu(II) 中发挥重要作用。Zhang 等^[46]研究发现通草生物炭对 Cu(II) 的超高吸附量是因为存在离子交换机制。XPS 分析显示吸附 Cu(II) 之后,生物炭上的 Ca²⁺ 含量明显降低。生物炭吸附 Cu(II) 后上清液中 Ca²⁺ 离子浓度显著升高。对 400、700 °C 来说,生物炭吸附 Cu(II) 中离子交换机制的贡献率分别为 44%~61% 和 66%~80%,其中 Ca²⁺ 离子在离子交换中发挥重要作用。Chen 等^[67]研究发现羟基磷灰石改性的污泥生物炭可以高效的去除 Cu(II),XRD 和 XPS 证实主要是通过 Ca²⁺ 的离子交换。综上所述,离子交换也

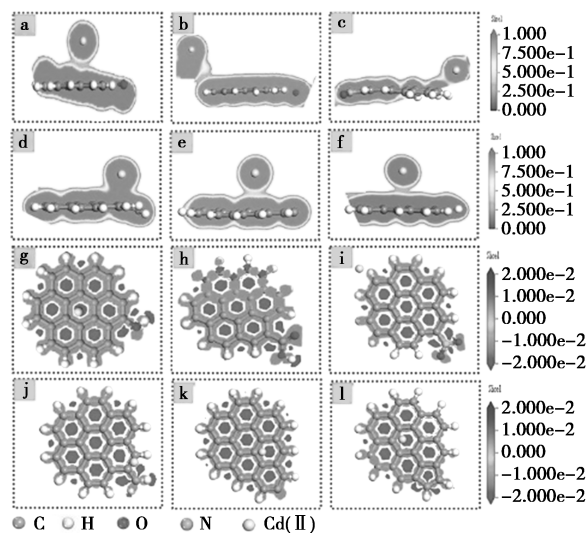
是生物炭去除 Cu(II) 的重要机制,特别是对钙、镁含量高的生物炭。

2.7 还原作用

还原作用也是生物炭去除 Cu(II) 不容忽视的机制。生物炭中的含氧官能团或是负载的还原性物质(Fe⁰) 能有效的还原废水中的 Cu(II)。研究显示,生物炭具有氧化还原能力,可以作为电子供体或电子受体。生物炭的比表面积对与电子受体和电子供体能力都至关重要,C—O 和 sp³ hybridized C 决定了生物炭的电子贡献能力,而 O—C=O 和 π - π^* 结构对电子供体和电子受体都有贡献^[68]。生物炭的供电子基团是酚类、醇类、醚类上的—C—O^[69]。生物炭中的电子供体和电子受体主要是以醌类、酚类化合物和 π -电子共轭的聚缩合芳香结构的形式存在^[70]。Yu 等^[30]研究了零价铁负载玉米芯生物炭对 Cu(II) 的去除,发现 Cu(II) 去除的机制包括还原作用,即 Cu(II) 能被生物炭上负载的 Fe⁰ 还原成 Cu⁰ 和 Cu₂O,生物炭吸附 Cu(II) 后的 XRD 分析检测到了 Cu⁰ 和 Cu₂O 的存在。Deng 等^[43]研究了壳聚糖-均苯四甲酸二酐改性生物炭对 Cu(II) 的去除,发现大量的羧基参与了 Cu(II) 的去除,将 Cu(II) 还原成 Cu(I) (XPS 证实)。Wei 等^[56]通过 STXM 测试发现菊芋茎生物炭表面存在 Cu(II) 和 Cu(I),证实了存在还原作用,而且这种还原作用在 500、700 °C 生物炭中表现的更为明显。FT-IR 和 C K-edge XANES 证实了 300 °C 生物炭含有丰富的含氧官能团,可以作为电子供体。随着热解温度增加,虽然含氧官能团消失了,但是高温生物炭形成的多聚芳香结构也有利于电子转移。Neeli 等^[71]研究发现负载铁生物炭吸附 Cu(II) 的机制包括还原作用,XPS 分析显示 Cu²⁺ 会被生物炭上铁还原成 Cu⁺/Cu⁰。综上所述,生物炭或改性生物炭具备的还原特性能将 Cu(II) 还原成 Cu(I) 和 Cu⁰。当生物炭具有强电子供体或是强还原组分时,对 Cu(II) 的还原作用更加显著。

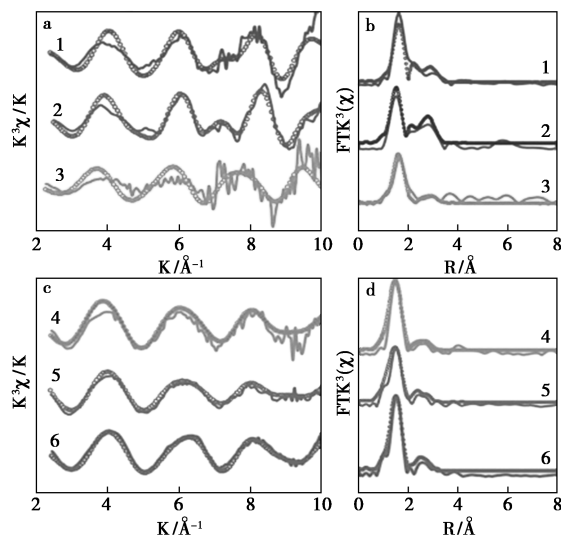
目前,关于生物炭吸附 Cu(II) 的机制研究方法包括对吸附 Cu(II) 后的生物炭进行 SEM-EDS、XRD、FT-IR 和 XPS 表征,测定吸附 Cu(II) 后上清液的 pH、离子浓度变化。此外,可采用密度泛函理论(DFT)或同步辐射等先进的仪器或模型从分子水平探究生物炭对 Cu(II) 去除的微观机制。例如,Zhu 等^[72]研究发现改性生物炭分子

结构中的 π 电子、孤对电子和电子给体基团是吸附 Cd 的位点基于密度泛函理论 (DFT) 计算, 吸附机制主要是化学吸附和颗粒内膜扩散, 含氧与含



a, g. H-MCB; b, h. COOH-MCB; c, i. NO₂-MCB;
d, j. NH₂-MCB; e, k. C₅H₅N-MCB; f, l. C₄H₅N-MCB
图 3 Cd(II) 吸附电荷密度和改性生物炭 (MBC)
官能团的差电荷图像^[73]

Fig. 3 Cd(II) adsorption charge density and differential charge images of functional groups modified MCB



曲线 1~6 分别代表 170 $\mu\text{mol/L}$ Ni、85 $\mu\text{mol/L}$ Ni、
17 $\mu\text{mol/L}$ Zn、170 $\mu\text{mol/L}$ Zn、85 $\mu\text{mol/L}$ Ni、17 $\mu\text{mol/L}$ Zn
a. Ni 的 k^3 谱; b. Ni 的 R 空间; c. Zn 的 k^3 谱; d. Zn 的 R 空间
图 4 Ni 和 Zn 吸附在麦秆炭上的 EXAFS 信号的
 k^3 光谱加权 R 空间曲线拟合结果^[74]

Fig. 4 EXAFS signals weighted by k^3 spectra and R space curve fitting results for Ni and Zn adsorbed to wheat straw biochar^[74]

氮官能团的静电势在吸附过程中起主导作用。Chen 等^[73]通过仪器表征和 DFT 计算, 证明在纤维素生物炭提供孤对电子和 π 电子在吸附 Cd 过程中发挥关键作用。其中, 氨基、吡啶、吡咯等官能团是生物炭吸附金属阳离子的主导基团, 促使生物炭与 Cd 发生电子交换 (见图 3)。Alam 等^[74]研究污泥生物炭去除水中重金属离子时用延伸 X 射线吸收精细结构 (EXAFS, 见图 4) 和 FT-IR 分析表明, 生物炭表面对 Ni(II) 和 Zn(II) 的吸附主要通过质子化的羧基 ($-\text{COOH}$) 和羟基 ($-\text{OH}$) 官能团。

3 结论与展望

本文以废水中重金属 Cu(II) 为研究对象, 综述了生物炭吸附 Cu(II) 的主要改性方法和吸附机制。改性生物炭中, 研究较为广泛的有化学改性 (酸、碱、高分子聚合物改性)、物理改性 (球磨和气体活化)、金属改性 (铁、锰改性) 和矿物质改性等。各种改性方法对 Cu(II) 去除效果提高的次序是: 纳米羟基磷灰石 > 含氨基有机酸改性 > 锰改性 > 铁改性 > 碱改性。生物炭吸附 Cu(II) 的主要机制包括孔隙扩散、静电作用、沉淀作用、配位作用、阳离子- π 机制、离子交换和还原作用, 具体的主导机制还与生物炭的物化性质和溶液的性质有关。

未来的研究方向包括: (1) 制备效果更优异的改性生物炭, 能更好的去除痕量污染的 Cu(II), 特别是用含有氨基或含有氨基的有机酸改性能明显提升生物炭对 Cu(II) 的吸附效果。(2) 采用密度泛函理论 (DFT) 或同步辐射等先进的仪器或模型从分子水平探究生物炭对 Cu(II) 去除的微观机制。(3) 开展生物炭对 Cu(II) 的动态吸附柱或固定床试验, 得到固定床高度、塔径、容积、炭量、液体流速、再生周期、相应技术、压力损失等技术参数, 从而为实际应用提供依据。

参考文献:

- [1] VARDHAN K H, KUMAR P S, PANDA R C. A review on heavy metal pollution, toxicity and remedial measures: Current trends and future perspectives [J]. *J. Mol. Liq.*, 2019, **290**: 111-197.
- [2] 顾平, 武耘羽, 刘阳, 等. 废水中除铜研究的最新进展 [J]. *工业水处理*, 2017, **37**(5): 1-5.
- [3] BANG S, CHOI J W, CHO K, et al. Simultaneous reduction of copper and toxicity in semiconductor wastewater

- using protonated alginate beads[J]. *Chem. Eng. J.*, 2016, **288**:525-531.
- [4] LI X, ZHANG J, GONG Y, et al. Status of copper accumulation in agricultural soils across China (1985—2016) [J]. *Chemosphere*, 2020, **244**:125-136.
- [5] FU F, WANG Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review [J]. *J. Environ. Manage.*, 2011, **92**(3):407-418.
- [6] MÉNDEZ-DÍAZ J D, PRADOS-JOYA G, RIVERA-UTRILLA J, et al. Kinetic study of the adsorption of nitroimidazole antibiotics on activated carbons in aqueous phase [J]. *J. Colloid Interf. Sci.*, 2010, **345**(2):481-490.
- [7] DUAN C, MA T, WANG J, et al. Removal of heavy metals from aqueous solution using carbon-based adsorbents: A review [J]. *J. Water Process Eng.*, 2020, **37**:101-139.
- [8] 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.
- [9] 迪力夏提·阿不力孜. 制备条件对针铁矿-生物炭复合物汞吸附性能的影响 [J]. *化学试剂*, 2021, **43**(5):590-597.
- [10] 何红艳, 邹思佳. 介孔生物炭的合成、改性及其对染料的吸附性能研究 [J]. *化学试剂*, 2020, **42**(10):1148-1153.
- [11] 梁峰, 毛艳丽, 刘雪平, 等. 柚子皮生物炭对 Cd^{2+} 的吸附性能研究 [J]. *化学试剂*, 2015, **37**(1):21-24.
- [12] 范世锁, 刘文浦, 王锦涛, 等. 茶渣生物炭制备及其对溶液中四环素的去除特性 [J]. *环境科学*, 2020, **41**(3):1308-1318.
- [13] LEHMANN J, RILLIG M C, THIES J, et al. Biochar effects on soil biota—A review [J]. *Soil Biol. Biochem.*, 2011, **43**(9):1812-1836.
- [14] AHMAD M, RAJAPAKSHA A U, LIM J E, et al. Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: A review [J]. *Chemosphere*, 2014, **99**:19-33.
- [15] RAJAPAKSHA A U, CHEN S S, TSANG D C W, et al. Engineered/designer biochar for contaminant removal/immobilization from soil and water: Potential and implication of biochar modification [J]. *Chemosphere*, 2016, **148**:276-291.
- [16] AMEN R, BASHIR H, BIBI I, et al. A critical review on arsenic removal from water using biochar-based sorbents: The significance of modification and redox reactions [J]. *Chem. Eng. J.*, 2020, **396**:125-195.
- [17] PENG H, GAO P, CHU G, et al. Enhanced adsorption of $\text{Cu}(\text{II})$ and $\text{Cd}(\text{II})$ by phosphoric acid-modified biochars [J]. *Environ. Pollut.*, 2017, **229**:846-853.
- [18] HEMAVATHY R V, KUMAR P S, KANMANI K, et al. Adsorptive separation of $\text{Cu}(\text{II})$ ions from aqueous medium using thermally/chemically treated *Cassia fistula* based biochar [J]. *J. Cleaner Prod.*, 2020, **249**:119-130.
- [19] HADJITTOFI L, PRODROMOU M, PASHALIDIS I. Activated biochar derived from cactus fibres—Preparation, characterization and application on $\text{Cu}(\text{II})$ removal from aqueous solutions [J]. *Bioresource Technol.*, 2014, **159**:460-464.
- [20] YIN M, BAI X, WU D, et al. Sulfur-functional group tuning on biochar through sodium thiosulfate modified molten salt process for efficient heavy metal adsorption [J]. *Chem. Eng. J.*, 2022, **433**:134-141.
- [21] JIN H, HANIF M U, CAPAREDA S, et al. Copper(II) removal potential from aqueous solution by pyrolysis biochar derived from anaerobically digested algae-dairy manure and effect of KOH activation [J]. *J. Environ. Chem. Eng.*, 2016, **4**(1):365-372.
- [22] CHOUDHARY M, KUMAR R, NEOGI S. Activated biochar derived from *Opuntia ficus-indica* for the efficient adsorption of malachite green dye, Cu^{+2} and Ni^{+2} from water [J]. *J. Hazard. Mater.*, 2020, **392**:122-141.
- [23] TANG S, SHAO N, ZHENG C, et al. Amino-functionalized sewage sludge-derived biochar as sustainable efficient adsorbent for $\text{Cu}(\text{II})$ removal [J]. *Waste Manage.*, 2019, **90**:17-28.
- [24] YIN Z, ZHU L, MO F, et al. Preparation of biochar grafted with amino-riched dendrimer by carbonization, magnetization and functional modification for enhanced copper removal [J]. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, 2021, **121**:349-359.
- [25] ELERYAN A, AIGBE U O, UKHUREBOR K E, et al. Copper(II) ion removal by chemically and physically modified sawdust biochar [J]. *Biomass Convers. Biorefin.*, 2022. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02918-y>.
- [26] 梅杨璐, 徐晋, 张寅, 等. 氮改性对生物炭理化性质的影响及其对废水中铜离子的吸附特性 [J]. *环境化学*, 2022, **41**(5):1796-1808.
- [27] XIAO J, HU R, CHEN G. Micro-nano-engineered nitrogenous bone biochar developed with a ball-milling technique for high-efficiency removal of aquatic $\text{Cd}(\text{II})$, $\text{Cu}(\text{II})$ and $\text{Pb}(\text{II})$ [J]. *J. Hazard. Mater.*, 2020, **387**:121-190.
- [28] WEN R, YUAN B, WANG Y, et al. Improving $\text{Cu}(\text{II})$ sorption by biochar via pyrolyzation under CO_2 : The importance of inherent inorganic species [J]. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2018, **25**(6):5105-5114.
- [29] ZHOU Q, LIAO B, LIN L, et al. Adsorption of $\text{Cu}(\text{II})$ and $\text{Cd}(\text{II})$ from aqueous solutions by ferromanganese binary oxide-biochar composites [J]. *Sci. Total Environ.*,

- 2018, **615**:115-122.
- [30] YU C, ZHANG D, DONG X, et al. Pyrolytic behavior of a zero-valent iron biochar composite and its Cu(II) removal mechanism[J]. *RSC Adv.*, 2018, **8**(59):34 151-34 160.
- [31] SONG Z, LIAN F, YU Z, et al. Synthesis and characterization of a novel MnOx-loaded biochar and its adsorption properties for Cu²⁺ in aqueous solution[J]. *Chem. Eng. J.*, 2014, **242**:36-42.
- [32] 王旭峰, 郑立安, 刘毛, 等. 改性玉米芯生物炭对废水中铜和氨氮的吸附[J]. *工业水处理*, 2017, **37**(1):37-41.
- [33] 余伟光, 黎吉辉, 王敦, 等. 香蕉茎秆生物炭的制备及其对铜离子的吸附特性[J]. *化工进展*, 2017, **36**(4):1 499-1 505.
- [34] FU Q, XU X, MIAO R, et al. Mn-embedded porous rubber seed shell biochar for enhanced removal of copper ions and catalytic efficacy of the used adsorbent for hydrogenation of furfural[J]. *Chem. Eng. J.*, 2022, **441**:136 065.
- [35] ZHAO F, SHAN R, GU J, et al. Magnetically recyclable loofah biochar by KMnO₄ modification for adsorption of Cu(II) from aqueous solutions[J]. *ACS Omega*, 2022, **7**(10):8 844-8 853.
- [36] WANG S, BIAN S, LIU J, et al. Highly adsorptive pristine and magnetic biochars prepared from crayfish shell for removal of Cu(II) and Pb(II)[J]. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, 2021, **127**:175-185.
- [37] HUANG W H, WU R M, CHANG J S, et al. Pristine and manganese ferrite modified biochars for copper ion adsorption: Type-wide comparison[J]. *Bioresource Technol.*, 2022, **360**:127 529.
- [38] WANG T, LI C, WANG C, et al. Biochar/MnAl-LDH composites for Cu(II) removal from aqueous solution[J]. *Colloids Surf. A*, 2018, **538**:443-450.
- [39] WANG Y Y, LIU Y X, LU H H, et al. Competitive adsorption of Pb(II), Cu(II), and Zn(II) ions onto hydroxyapatite-biochar nanocomposite in aqueous solutions[J]. *J. Solid State Chem.*, 2018, **261**:53-61.
- [40] LIU J, CHENG W, YANG X, et al. Modification of biochar with silicon by one-step sintering and understanding of adsorption mechanism on copper ions[J]. *Sci. Total Environ.*, 2020, **704**:135 252.
- [41] 朱司航, 赵晶晶, 楚龙港, 等. 纳米羟基磷灰石改性生物炭对铜的吸附性能研究[J]. *农业环境科学学报*, 2017, **36**(10):2 092-2 098.
- [42] WANG S, ZHONG S, ZHENG X, et al. Calcite modification of agricultural waste biochar highly improves the adsorption of Cu(II) from aqueous solutions[J]. *J. Environ. Chem. Eng.*, 2021, **9**(5):106 215.
- [43] DENG J, LIU Y, LIU S, et al. Competitive adsorption of Pb(II), Cd(II) and Cu(II) onto chitosan-pyromellitic dianhydride modified biochar[J]. *J. Colloid Interface Sci.*, 2017, **506**:355-364.
- [44] LIATSOU I, PASHALIDIS I, DOSCHE C. Cu(II) adsorption on 2-thiouracil-modified *Luffa cylindrica* biochar fibres from artificial and real samples, and competition reactions with U(VI)[J]. *J. Hazard. Mater.*, 2020, **383**:120 950.
- [45] SONG J, HE Q, HU X, et al. Highly efficient removal of Cr(VI) and Cu(II) by biochar derived from *Artemisia argyi* stem[J]. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2019, **26**(13):13 221-13 234.
- [46] ZHANG L, LI W, CAO H, et al. Ultra-efficient sorption of Cu²⁺ and Pb²⁺ ions by light biochar derived from *Medulla tetrapanax*[J]. *Bioresource Technol.*, 2019, **291**:121 818.
- [47] DENG J, LI X, WEI X, et al. Sulfamic acid modified hydrochar derived from sawdust for removal of benzotriazole and Cu(II) from aqueous solution: Adsorption behavior and mechanism[J]. *Bioresource Technol.*, 2019, **290**:121 765.
- [48] MUKHERJEE A, ZIMMERMAN A R, HARRIS W. Surface chemistry variations among a series of laboratory-produced biochars[J]. *Geoderma*, 2011, **163**(3):247-255.
- [49] 黄安香, 杨定云, 杨守禄, 等. 改性生物炭对土壤重金属污染修复研究进展[J]. *化工进展*, 2020, **39**(12):5 266-5 274.
- [50] 佟雪娇. 生物质炭对水体/红壤中 Cu(II) 的去除和固定作用[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- [51] JIANG J, PENG Y, YUAN M, et al. Rice straw-derived biochar properties and functions as Cu(II) and cyromazine sorbents as influenced by pyrolysis temperature[J]. *Pedosphere*, 2015, **25**(5):781-789.
- [52] AHMAD Z, GAO B, MOSA A, et al. Removal of Cu(II), Cd(II) and Pb(II) ions from aqueous solutions by biochars derived from potassium-rich biomass[J]. *J. Cleaner Prod.*, 2018, **180**:437-449.
- [53] RODRÍGUEZ-VILA A, SELWYN-SMITH H, ENUNWA L, et al. Predicting Cu and Zn sorption capacity of biochar from feedstock C/N ratio and pyrolysis temperature[J]. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2018, **25**(8):7 730-7 739.
- [54] TONG X J, LI J Y, YUAN J H, et al. Adsorption of Cu(II) by biochars generated from three crop straws

- [J]. *Chem. Eng. J.*, 2011, **172**(2): 828-834.
- [55] XU X, CAO X, ZHAO L, et al. Removal of Cu, Zn, and Cd from aqueous solutions by the dairy manure-derived biochar[J]. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2013, **20**(1): 358-368.
- [56] WEI J, TU C, YUAN G, et al. Assessing the effect of pyrolysis temperature on the molecular properties and copper sorption capacity of a halophyte biochar[J]. *Environ. Pollut.*, 2019, **251**: 56-65.
- [57] MEI Y, LI B, FAN S. Biochar from rice straw for Cu²⁺ removal from aqueous solutions: mechanism and contribution made by acid-soluble minerals[J]. *Water Air Soil Poll.*, 2020, **231**(8): 420.
- [58] ZHOU Z, XU Z, FENG Q, et al. Effect of pyrolysis condition on the adsorption mechanism of lead, cadmium and copper on tobacco stem biochar[J]. *J. Cleaner Prod.*, 2018, **187**: 996-1 005.
- [59] WANG S, KWAK J H, ISLAM M S, et al. Biochar surface complexation and Ni(II), Cu(II), and Cd(II) adsorption in aqueous solutions depend on feedstock type[J]. *Sci. Total Environ.*, 2020, **712**: 136 538.
- [60] LI B, LV J Q, GUO J Z, et al. The polyaminocarboxylated modified hydrochar for efficient capturing methylene blue and Cu(II) from water[J]. *Bioresour. Technol.*, 2019, **275**: 360-367.
- [61] LIU J, LIU H, YANG X, et al. Preparation of Si-Mn/biochar composite and discussions about characterizations, advances in application and adsorption mechanisms[J]. *Chemosphere*, 2021, **281**: 130 946.
- [62] KEILUWEIT M, KLEBER M. Molecular-level interactions in soils and sediments: The role of aromatic π -systems[J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2009, **43**(10): 3 421-3 429.
- [63] YU W, LIAN F, CUI G, et al. N-doping effectively enhances the adsorption capacity of biochar for heavy metal ions from aqueous solution[J]. *Chemosphere*, 2018, **193**: 8-16.
- [64] PARK S H, CHO H J, RYU C, et al. Removal of copper(II) in aqueous solution using pyrolytic biochars derived from red macroalga *Porphyra tenera*[J]. *J. Ind. Eng. Chem.*, 2016, **36**: 314-319.
- [65] YU C, WANG M, DONG X, et al. Removal of Cu(II) from aqueous solution using Fe₃O₄-alginate modified biochar microspheres[J]. *RSC Adv.*, 2017, **7**(84): 53 135-53 144.
- [66] ZHOU D, GHOSH S, ZHANG D, et al. Role of ash content in biochar for copper immobilization[J]. *Environ. Eng. Sci.*, 2016, **33**(12): 962-969.
- [67] CHEN Y, LI M, LI Y, et al. Hydroxyapatite modified sludge-based biochar for the adsorption of Cu²⁺ and Cd²⁺: Adsorption behavior and mechanisms[J]. *Biore-sour. Technol.*, 2021, **321**: 124 413.
- [68] LI S, SHAO L, ZHANG H, et al. Quantifying the contributions of surface area and redox-active moieties to electron exchange capacities of biochar[J]. *J. Hazard. Mater.*, 2020, **394**: 122 541.
- [69] XU Z, XU X, ZHANG Y, et al. Pyrolysis-temperature depended electron donating and mediating mechanisms of biochar for Cr(VI) reduction[J]. *J. Hazard. Mater.*, 2020, **388**: 121 794.
- [70] KLÜPFEL L, KEILUWEIT M, KLEBER M, et al. Redox properties of plant biomass-derived black carbon (biochar)[J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2014, **48**(10): 5 601-5 611.
- [71] NEELI S T, RAMSURN H, NG C Y, et al. Removal of Cr(VI), As(V), Cu(II), and Pb(II) using cellulose biochar supported iron nanoparticles: A kinetic and mechanistic study[J]. *J. Environ. Chem. Eng.*, 2020, **8**(5): 103 886.
- [72] ZHU L, TONG L, ZHAO N, et al. Key factors and microscopic mechanisms controlling adsorption of cadmium by surface oxidized and aminated biochars[J]. *J. Hazard. Mater.*, 2020, **382**: 121 002.
- [73] CHEN Q, ZHENG J, ZHENG L, et al. Classical theory and electron-scale view of exceptional Cd(II) adsorption onto mesoporous cellulose biochar via experimental analysis coupled with DFT calculations[J]. *Chem. Eng. J.*, 2018, **350**: 1 000-1 009.
- [74] ALAM M S, GORMAN-LEWIS D, CHEN N, et al. Thermodynamic analysis of nickel(II) and zinc(II) adsorption to biochar[J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2018, **52**(11): 6 246-6 255.

基于 AMD 回收的生物炭修饰 LDHs 降解土霉素研究

王新泉¹, 王进^{*1}, 邓锐¹, 许庆升¹, 揣新², 张凯², 岳正波¹

(1. 合肥工业大学 资源与环境工程学院 安徽省工业废水处理与资源化工程研究中心, 安徽 合肥 230000;

2. 安徽省马钢矿业资源集团南山矿业有限公司, 安徽 马鞍山 243000)

摘要:采用共沉淀法模拟酸性矿山废水(Acid Mine Drainage, AMD)的中和处理过程,利用生物炭优化调控中和过程,负载修饰获得层状双氢氧化物-生物炭复合材料(Recovered Layered Double Hydroxides, RLDH@BC),用于活化过一硫酸盐(PMS)降解水中土霉素(OTC)。各项表征结果证明,该方法可成功从 AMD 中回收 RLDH@BC。降解实验表明,RLDH@BC 可在广泛的 pH 范围(3~11)高效活化 PMS 降解 OTC,最高去除效率达到 88%;共存离子实验表明, NO_3^- 和 HCO_3^- 共存条件下 OTC 的去除率从 86.2% 分别降至 82.3%、82.2%,影响较小;而 Cl^- 和 H_2PO_4^- 共存时,OTC 的去除率分别降至 76.1%、68.7%,产生一定影响。猝灭实验表明,在 RLDH@BC/PMS 体系中,自由基和非自由基共同作用,其中自由基占主导作用。经过 5 个循环后,70% 的 OTC 在 20 min 内被去除,说明材料具有良好的循环利用性。该研究对拓展 AMD 的资源化处置以及抗生素废水的高效修复均具有重大意义。

关键词:层状双氢氧化物;生物炭;过一硫酸盐;土霉素;降解机制

中图分类号:X703 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2023)05-0077-08

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0117

Degradation of Oxytetracycline by Biochar-modified LDHs Based on AMD Recovery WANG Xin-quan¹, WANG Jin^{*1}, DENG Rui¹, XU Qing-sheng¹, CHUAI Xin², ZHANG Kai², YUE Zheng-bo¹ (1. Anhui Province Industrial Wastewater Treatment and Resourcefulness Engineering Research Center, School of Resource and Environmental Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230000, China; 2. Anhui Magang Mining Resources Group Nanshan Mining Co., Maanshan 243000, China)

Abstract: The co-precipitation method was used to simulate the neutralization process of acid mine drainage (AMD), and the biochar loading modification was used to obtain the layered double hydroxide-biochar (RLDH@BC) composite for the activated peroxymonosulfate (PMS) degradation of oxytetracycline (OTC) in water. Various characterization results demonstrated that the method can successfully recover RLDH@BC from AMD. Batch degradation experiments showed that RLDH@BC can efficiently activate PMS to degrade OTC in a wide pH range (3~11), with a maximum removal efficiency of 88%; coexistence ion experiment showed that the removal of OTC under the coexistence of NO_3^- and HCO_3^- decreased from 86.2% to 82.3% and 82.2%, respectively, with less effect, while the removal of OTC under the coexistence of Cl^- and H_2PO_4^- decreased to 76.1% and 68.7%, respectively, which had some effect. The bursting experiments showed that in the RLDH@BC/PMS system, free radicals and non-free radicals joined together to degrade OTC, with free radicals dominating. After 5 cycles, 70% of the OTC was removed within 20 min, indicating that the material has good recyclability. This study has significant implications for expanding the resource utilization of AMD as well as the efficient remediation of antibiotic wastewater.

Key words: layered double hydroxide; biochar; peroxymonosulfate; oxytetracycline; degradation mechanism

国家经济的发展依托于化工、矿山开采等各类重工业的支撑。矿产资源是人类社会赖以生存和发展的重要物质基础,然而矿产资源在开发利用过程中将产生严重的生态问题,其中尤以酸性矿山废水(Acid Mine Drainage, AMD)为甚。AMD 是重金属污染的主要来源之一,严重污染矿区周边流域水环境,威胁生态平衡和人类安全。目前,AMD 常用的处理方法有中和沉淀法、吸附法、微生物法和人工湿地法,其中中和沉淀法具有建设成本低、操作简单、能耗低等优点,是 AMD 处理常用的方法^[1]。

中和沉淀法主要利用酸碱中和原理,向废水中投加中和剂,与重金属离子反应生成难溶的氢

收稿日期:2023-02-23;网络首发日期:2023-03-29

基金项目:国家自然科学基金联合基金项目(U20A20325);安徽省重点研究与开发计划项目(2022107020015)。

作者简介:王新泉(1998-),男,安徽淮北人,硕士生,主要研究方向为环境功能材料和水污染处理。

通讯作者:王进, E-mail: sophia_wj@hfut.edu.cn。

引用本文:王新泉,王进,邓锐,等.基于 AMD 回收的生物炭修饰 LDHs 降解土霉素研究[J].化学试剂,2023,45(5):77-84。

氧化物沉淀。但这种方法处理后产生大量的污泥难以处理,是目前中和法处理亟待解决的瓶颈问题。AMD 废水中含有大量的二价/三价金属离子,研究者们发现在中和处理过程中形成的污泥结构和 LDHs 的类似^[2]。因此,通过调控 AMD 中和处理过程回收 LDHs 逐渐受到研究者的关注。已有研究证明在含多种金属的废水中可以实现 LDHs 的回收利用,但尚未关注到回收后 LDHs 的应用价值^[3]。

层状双氢氧化物(Layered Double Hydroxides, LDHs)是一种通式为 $[M_{1-x}^{2+}M_x^{3+}(OH)_2](A^{n-})_{x/n} \cdot mH_2O$ 的层状离子型粘土矿物,其中 M^{2+} 是二价金属(Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 等), M^{3+} 是三价金属(Al^{3+} 、 Fe^{3+} 等), x 是 $M^{3+}/(M^{3+}+M^{2+})$ 摩尔数比率,独特的结构使其在医学、催化和吸附方面具有广泛的应用价值^[4]。目前,LDHs 常用的合成方法包括共沉淀法、水热法、机械力法等,但通过共沉淀法合成的 LDHs 颗粒由于其紧密堆积可能会限制其性能^[5]。生物炭(BC)是一种具有高表面积、丰富的孔隙结构和表面官能团的多孔固体材料^[6],其可以作为支持 LDHs 颗粒的有效基底,为合成过程提供载体,防止 LDHs 颗粒的紧密堆积,通过增大层间距和比表面积,提高材料性能。因此,在 AMD 中合成以生物炭为载体的复合型材料是提高 LDHs 性能的有效途径。

土霉素(OTC)是四环素中应用最多的广谱抗菌药物之一,在世界各国的畜牧中广泛使用。环境中残留的 OTC 会污染食物和饮用水,并增加细菌耐药性。基于过硫酸盐的高级氧化技术因其去除率高、工艺简单而被广泛应用于处理水中的难降解污染物。过硫酸盐主要包括过一硫酸盐(PMS)和过二硫酸盐(PDS)两种氧化剂,与 PDS 相比,PMS 更容易被包括热、碱、紫外线照射及金属等活化方式激活,从而带来多种活性物种。这其中,金属活化因其成本低、效果显著且催化剂回收利用潜力大而备受关注^[7]。

本研究采用共沉淀法从模拟 AMD 中回收 RLDH@BC 复合材料,采用多种表征方法分析其理化性质。通过批量实验研究了 RLDH@BC 催化 PMS 降解土霉素的性能;通过自由基猝灭实验、表征和降解中间产物探讨降解机制;本文为 AMD 的资源化利用和抗生素的高级氧化处理提供参考。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Vanquish Q Exactive Plus 型液相色谱-四级杆静电场轨道阱质谱联用仪(德国 Thermo 有限公司);HJ-6B 型双数显恒温磁力搅拌器(金坛区新瑞仪器厂);PHS-3C 型 pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司);UV-1750 型紫外可见光光度计(日本 Shimadzu 有限公司);DX-2700 型 X 射线衍射仪(丹东浩元仪器有限公司);Vertex 70 型傅里叶红外光谱仪(德国 Bruker 公司);ESCALab 250 Xi 型 X 射线光电子能谱仪(美国 Thermo Fisher 公司);Gemini 500 型热场扫描电镜(德国 Carl Zeiss 公司)。

$MgSO_4$ 、 $MnSO_4 \cdot H_2O$ (分析纯,天津市致远化学试剂有限公司); $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ (分析纯,天津市凯通化学试剂有限公司); $Fe_2(SO_4)_3 \cdot xH_2O$ (分析纯,上海山海工学团实验二厂);L-组氨酸、土霉素、NaOH、 $Cu(NO_3)_2$ (分析纯,国药集团化学试剂有限公司); $CdSO_4$ (分析纯,上海金山亭新化工试剂厂);叔丁醇、对苯醌、过一硫酸氢钾复合盐(分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);甲醇(分析纯,上海振兴化工一厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 材料的制备

生物炭的制备:清洗且烘干后的板栗壳使用破碎机破碎(过 40 目),后置于管式炉中氮气保护气氛下进行热解,热解温度为 700 °C,升温速率为 10 °C/min⁻¹,达到设定温度后保温 2 h,冷却至室温,得到炭化产物板栗壳生物炭。

LDHs 的制备:准确称取定量药品溶于去离子水中,配制模拟 AMD(其中 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Al^{3+} 和 Fe^{3+} 浓度分别为 1 702、242、560 和 26 mg/L),后使用 10% NaOH(w/v)调节混合溶液至 pH 5 并持续搅拌 20 min,后调节混合溶液至 pH 9 并持续搅拌 60 min,搅拌结束后离心并用去离子水清洗沉淀 3~5 次,烘干,得到 LDHs 产物。

RLDH@BC 的制备:准确称取定量药品溶于去离子水中,模拟 AMD(同制备 LDHs 金属浓度配制一致),使用 10% NaOH 调节混合溶液至 pH 5 并持续搅拌 20 min,后加入定量生物炭,立即调节混合溶液至 pH 9 并持续搅拌 60 min,搅拌完成后离心并用去离子水清洗沉淀 3~5 次,烘干;再置于管式炉中氮气保护气氛下进行热解,热解温度为 500 °C,升温速率为 10 °C/min⁻¹,达到设定温

度后保温 2 h,冷却至室温,得到产物 RLDH@BC。

1.2.2 表征方法

运用 X 射线衍射仪(XRD)对 RLDH@BC、LDHs 以及 BC 进行物相分析(射线源是 Cu-K α ,扫描范围 5°~80°,扫描速度为 6°/min)。

通过傅里叶红外光谱仪(FT-IR)、X 射线光电子能谱仪(XPS)测定 RLDH@BC、LDHs 以及 BC 的官能团类型(在 400~4 000 cm⁻¹ 范围内进行扫描)。

运用热场扫描电镜(SEM)观测 LDHs、RLDH@BC 以及 BC 的表面形貌。

1.2.3 降解实验

分别探究了不同体系下、初始 pH、PMS 浓度、催化剂投加量以及共存离子对 RLDH@BC 催化 PMS 降解土霉素的影响。实验时先把土霉素加入 200 mL 锥形瓶,后同步把 PMS 和材料加入锥形瓶并计时(保持反应体系为 50 mL),在恒温磁力振荡器上反应 120 min。分别在预定时间(1、2、3、5、10、20、30、40、60、90、120 min)时取 2 mL 水样并立即加入 1 mL 无水乙醇对 PMS 进行猝灭。降解实验结束后,用 0.45 μ m 滤膜过滤剩余溶液并测定土霉素的浓度。

1.2.4 降解机制分析

自由基猝灭实验分别使用甲醇(MeOH)、叔丁醇(TBA)、L-组氨酸、对苯醌(BQ)作为猝灭剂,依次分别猝灭硫酸根自由基(SO₄ $\cdot^-$)和羟基自由基($\cdot$ OH)、羟基自由基、单线态氧(¹O₂)和超氧阴离子(O₂ $\cdot^-$)以确定 RLDH@BC/PMS 体系中产生的活性物种类型。为了保证活性物种的猝灭效果,根据 PMS 活化原理,体系中 $n(\text{PMS}):n(\text{猝灭剂})=1:100$ 。

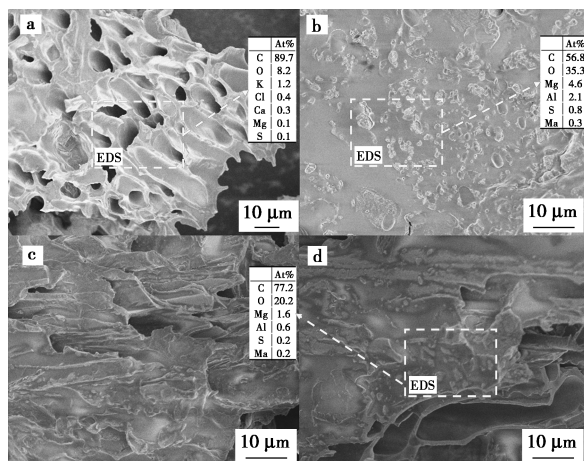
降解产物的鉴定使用液相色谱-四级杆静电场轨道阱质谱联用仪,并分析可能的降解路径。

2 结果与讨论

2.1 材料表征分析

用扫描电镜观察了 BC、LDHs、RLDH@BC 的表面形貌。图 1a 为 BC 的表面形貌图,可以看出 BC 表面光滑且呈多孔结构。图 1b 显示原始 LDHs 片状结构之间紧密堆积,降低了材料的表面积,从而影响材料的性能。图 1c、1d 为 RLDH@BC 的表面形貌图,与 LDHs 的片状结构不同,RLDH@BC 表面明显的粗糙且多孔,这是由于生物炭在合成过程中的分散效应所致,LDHs 负着

在生物炭表面或填充到孔隙中,说明 BC 作为 LDHs 的载体,减少了聚集^[8]。通过 BC、LDHs 和 LDH@BC 的 EDS 能谱图可以看出,复合材料的碳元素含量大于原始 LDHs,证明炭材料成功与 LDHs 复合。

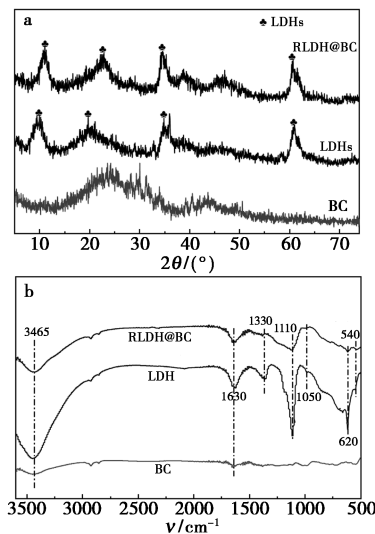


a. BC; b. LDHs; c. RLDH@BC; d. RLDH@BC

图 1 BC、LDHs 和 RLDH@BC 的 SEM、EDS 能谱图

Fig.1 SEM, EDS spectra of BC, LDHs and RLDH@BC

XRD 结果如图 2a 所示,BC 在 $2\theta=24^\circ$ 的衍射峰对应的是碳的无定形结构。 2θ 在 11.05° 、 22.7° 、 34.46° 、 60.7° 、 61.4° 分别对应于 LDHs 的 (003)、(006)、(012)、(110)、(113) 晶面特征峰。RLDH@BC 也显示出 LDHs 的所有特征峰,且由于 BC 的无定形衍射峰的影响使 (003)、(006) 晶面的衍射峰变宽,说明 RLDH@BC 的结晶度降



a. XRD 谱图; b. FT-IR 图谱

图 2 RLDH@BC、BC 和 LDHs 的 XRD 和 FT-IR 图谱

Fig.2 XRD and FT-IR patterns of RLDH@BC, BC and LDHs

低。根据公式 $a=2d(110)$ 和 $c=d(003)+2d(006)+3d(012)$ 计算得到 RLDH@BC 复合材料的晶格常数, $a=3.052\ 6\text{Å}$ 、 $c=23.578\ 5\text{Å}$, 其中 d 表示晶面的层间距, c 表示层状双氢氧化物的层间距, a 和 c 值与典型层状双氢氧化物相近^[4], 进一步说明 BC 的修饰并未改变原始 LDHs 材料的结构及 RLDH@BC 复合材料的成功制备。

FT-IR 结果如图 2b 所示, 在 $3\ 465\text{ cm}^{-1}$ 的峰可归因于—OH 的伸缩振动吸收峰, 在 $1\ 630\text{ cm}^{-1}$ 的峰可归因于金属氢氧化物的氢键和层间水 ($\delta\text{H—O—H}$) 的弯曲振动。与 BC 相比, LDHs 以及 RLDH@BC 在 $1\ 110\text{ cm}^{-1}$ 观察到 SO_4^{2-} 的峰值, 说明层板阴离子的成功插入, 此外在 $1\ 330\text{ cm}^{-1}$ 观察到 CO_3^{2-} 的伸缩振动吸收峰, 这可能由于持续搅拌导致空气中的 CO_2 进入水体中形成; 在 540 cm^{-1} 、 620 cm^{-1} 、 $1\ 050\text{ cm}^{-1}$ 观察到 M—O(O—M—O) 以及 Mg—OH 的峰值^[9]。结合 XRD 的分析, 均表明复合材料的成功制备。

2.2 RLDH@BC/PMS 体系对 OTC 的去除性能

图 3a 显示在不同体系下对 OTC 的去除效率的影响。单独投加 BC、LDHs、RLDH@BC 和 PMS 对于 OTC 的去除效率均不高, 在 120 min 内对于 OTC 的去除率仅分别为 17%、24%、22% 和 30%。当材料与 PMS 组合去除 OTC 时, 对于 OTC 的去除效率大幅度提升。BC+PMS 在 120 min 内可以去除 50% 的 OTC, LDHs+PMS 在 40 min 内可以去除 72% 的 OTC, RLDH@BC+PMS 在 30 min 内可以去除 86% 的 OTC; 根据反应速率常数公式^[10] (式 1) 计算出: RLDH@BC+PMS 体系中 OTC 的降解速率常数为 $0.064\ 5\text{ min}^{-1}$, 显著高于其他组的反应速率常数 (表 1)。因此, 在模拟 AMD 中即时的生物炭修饰 LDHs 复合材料表现出较佳的 PMS 活化性能, 是一种优异的催化剂。

表 1 不同体系实验反应速率常数

Tab.1 Experimental reaction rate constants for different systems

体系	$K_{\text{obs}}/\text{min}^{-1}$	体系	$K_{\text{obs}}/\text{min}^{-1}$
BC	0.003 97	BC+PMS	0.009 51
LDHs	0.006 58	LDHs+PMS	0.031 60
RLDH@BC	0.008 24	RLDH@BC+PMS	0.056 70

反应速率常数公式:

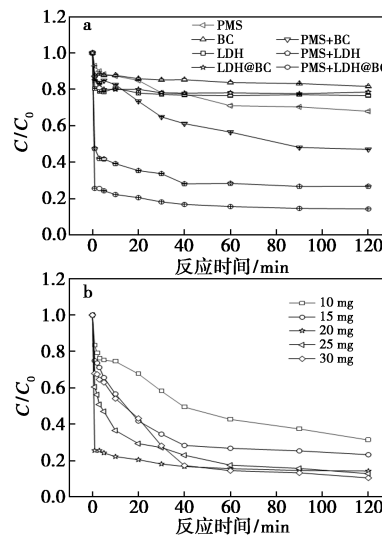
$$\ln(C_t/C_0) = -K_{\text{obs}}t \quad (1)$$

式中, C_t 、 C_0 分别为初始和 t 时刻的 OTC 浓度, mg/L; t 为反应时间, min; K_{obs} 为反应速率常数, min^{-1} 。

2.3 反应条件对 LDH@BC/PMS 降解 OTC 去除效能的影响

2.3.1 催化剂投加量的影响

不同催化剂投加量对 OTC 去除效率的影响结果如图 3b 所示。随着催化剂投加量从 10 mg 增加至 20 mg, OTC 的去除率从 62% 变为 86%,



a. 不同体系; b. 催化剂投加量

图 3 不同体系、不同催化剂投加量下 OTC 的去除效率 (PMS = 1 mmol/L, OTC = 50 mg/L)

Fig.3 Removal efficiency of OTC in different systems and with different catalyst dosages (PMS = 1 mmol/L, OTC = 50 mg/L)

这是由于催化剂量增加, 活性位点增加, 可最大限度的活化 PMS 产生活性物种, 提高 OTC 的去除率。而催化剂投加量由 20 mg 增至 30 mg, OTC 的去除率仅增加 5%, 这是由于溶液中含有定量的 PMS, 过多的催化剂致使活性位点的饱和^[11], 去除率的上升可能是由于吸附作用。

2.3.2 PMS 浓度的影响

不同 PMS 浓度对 OTC 去除效率的影响结果如图 4a 所示。当 PMS 浓度从 0.25 mmol/L 增加至 1 mmol/L, OTC 的去除率也从 63% 变为 86%, 反应速率常数也从 $0.023\ 3\text{ min}^{-1}$ 增至 $0.064\ 5\text{ min}^{-1}$, 增幅较大。然而当继续增大 PMS 浓度至 1.25 mmol/L 时, OTC 的去除效率反而下降至 79.5%。这是因为随着 PMS 浓度的逐渐变大, 过量的 PMS 可与溶液中的活性物种 ($\text{SO}_4^{\cdot-}$ 自由基) 发生反应, 从而消耗了反应体系中存在的活性物种, 降低去除率^[12]。

2.3.3 初始 pH 的影响

OTC 可存在于不同 pH 水体中, 因此需要研

究催化剂在不同 pH 下活化 PMS 降解 OTC 的性能,其结果如图 4b 所示。在 pH 3~11 范围内,OTC 均有较好的去除率,但也有较小的差别。当在 pH 7 和 pH 9 时,对 OTC 的去除率较高,分别为 87% 和 83%,当 pH 上升至 11 时,去除率下降是因为 OTC 分子结构受 pH 影响。当 pH>10 时,OTC 主要以双阴离子 OTC^{2-} 形式存在,这时材料表面呈现负电与 OTC 之间产生静电排斥力,此外在 pH 11 时,体系内活性物种消耗是此 pH 下 OTC 去除率下降的主要原因。当 pH<9 时,体系内自由基主要为 $\text{SO}_4 \cdot^-$,当为 pH 11 时, $\text{SO}_4 \cdot^-$ 与 OH^- 反应而被消耗,生成氧化性相对较弱、寿命相对更短的 $\cdot\text{OH}$ 。当 pH 3~5 时,OTC 去除率略低一点,原因是当 pH<3 时,OTC 主要为阳离子态 (OTCH_3^+),催化剂表面呈正电,因此存在一定的静电斥力。此外 pH 值过低,大量 H^+ 与 OTC 竞争消耗 $\text{SO}_4 \cdot^-$ 造成活性物种浓度降低,影响去除率^[13]。综上,得出催化剂在广泛的 pH 范围内对 OTC 均有较好的催化降解性能,但由于 OTC 的存在形态、催化剂表面的电荷情况和活性物种内耗的影响,在不同 pH 下对 OTC 的去除有较小的影响。

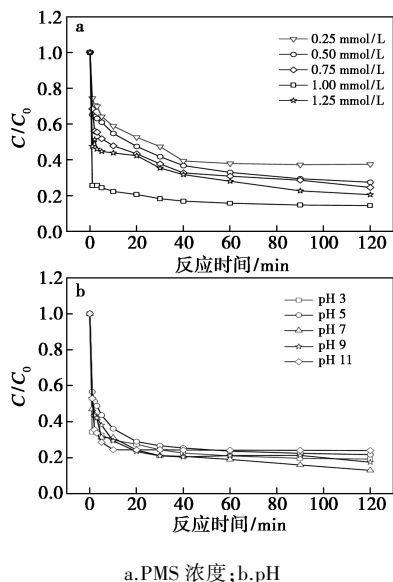


图 4 不同 PMS 浓度和 pH 下 OTC 的去除效率
Fig.4 Removal efficiency of OTC at different PMS concentrations and pH

2.3.4 不同浓度共存离子的影响

自然水体、生活和工业废水会含有很多干扰 OTC 降解或者影响活性物种的成分,因此考察了常见离子 Cl^- 、 H_2PO_4^- 、 HCO_3^- 和 NO_3^- 对 OTC 降解过程的影响,其结果如图 5 所示。 HCO_3^- 和 NO_3^-

对于催化 PMS 降解 OTC 的影响较小,当 HCO_3^- 浓度为 0、0.5、1.0 和 1.5 g/L 时,OTC 的去除率分别为 86%、84%、83% 和 82%,较小的影响可能是由于 HCO_3^- 会使溶液的 pH 上升,产生 OH^- 消耗反应体系内的活性物种。 NO_3^- 具有同样的结果,当 NO_3^- 浓度为 0、0.5、1.0 和 1.5 g/L 时,OTC 的去除率分别为 86%、83%、84% 和 83%^[14]。而 Cl^- 、 H_2PO_4^- 在不同的浓度下对于 OTC 去除率均产生一定的影响,当 Cl^- 浓度为 0.5 g/L 时,提高了 OTC 的去除率,这是由于当溶液中存在低浓度的 Cl^- 时会与 HSO_3^- 反应生成具有强氧化能力的

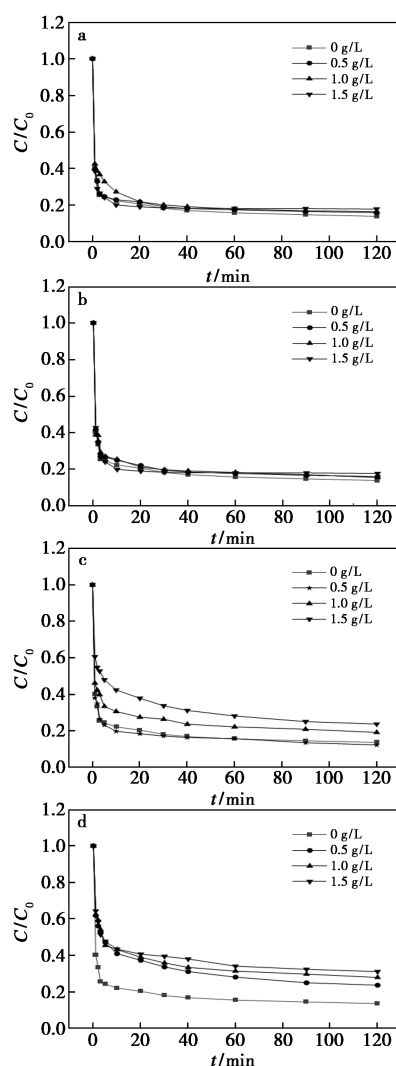


图 5 不同共存离子对 OTC 的去除效率影响
(PMS=1 mmol/L, OTC=50 mg/L, RLDH@BC=20 mg)
Fig.5 Effect of different coexisting ions on the removal efficiency of OTC (PMS=1 mmol/L, OTC=50 mg/L, RLDH@BC=20 mg)

HClO, 而当 Cl^- 浓度继续增加至 1.0、1.5 g/L 时, OTC 的去除率降低至 80% 和 76%, 这是由于较多的 Cl^- 会消耗溶液中的 $\text{SO}_4^{\cdot-}$, 产生具有较低活性的 Cl 活性物质 ($\text{Cl}\cdot$ 和 $\text{Cl}_2\cdot^-$)。溶液中共存的 H_2PO_4^- 对于 OTC 的去除率具有更大影响, 当 H_2PO_4^- 浓度为 0、0.5、1.0 和 1.5 g/L 时, OTC 的去除率分别为 86%、76%、71% 和 69%, 这是由于溶液中存在的 H_2PO_4^- 会与催化剂表面的活性位点螯合^[15], OTC 的降解途径被占据, 导致去除率的降低。

2.4 降解机制分析

为了探究 RLDH@BC/PMS 体系中的主要活性物种, 进行自由基猝灭实验, 结果如图 6 所示。对于 RLDH@BC/PMS 体系, 甲醇的加入显著抑制了 OTC 的去除率, 从 87% 降至 38%, 叔丁醇加入后, OTC 的去除率降至 70%, 因此体系内主导的活性物种为 $\text{SO}_4^{\cdot-}$, $\cdot\text{OH}$ 也存在一定的作用。加入 L-组氨酸后, OTC 的去除率降为 60%, OTC 的去除率降低了 26%, 说明体系中存在单线态氧的作用。加入对苯醌后, OTC 的去除率降低幅度小, 说明超氧阴离子的作用小^[16]。综上所述, RLDH@BC/PMS 体系中主要的活性物种为硫酸根自由基和超氧阴离子, 其次是羟基自由基、单线氧。

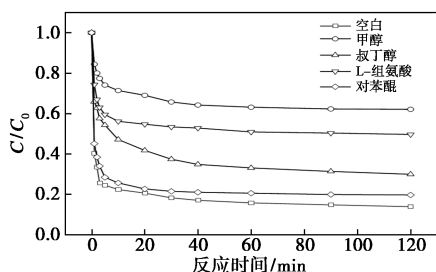
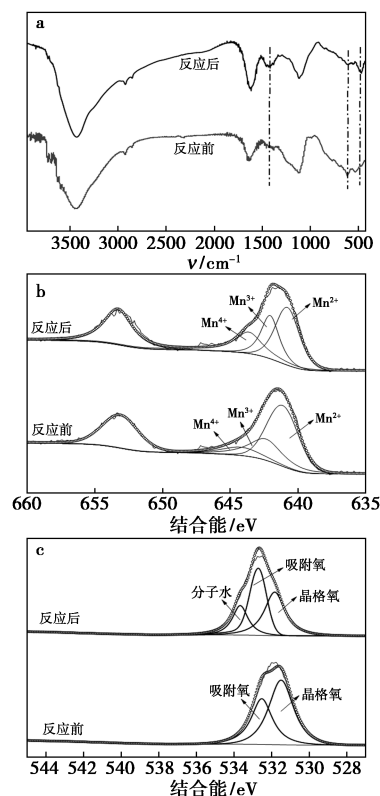


图 6 不同猝灭剂对 OTC 降解的影响

Fig.6 Effect of different bursting agents on the degradation of OTC

反应前后材料的 FT-IR 和 XPS 如图 7 所示。图 7a 为反应前后材料的 FT-IR 图谱, 反应后在 $1\,430\text{ cm}^{-1}$ 处新出现一个峰对应于 $-\text{NH}_2$, 这归因于被吸附的 OTC 以及被降解的成分聚在材料表面上。在 $450\sim 680\text{ cm}^{-1}$ 区间峰值的偏移归因于 $\text{M}-\text{O}$ 键的伸缩振动, 这表明 Mn 在降解过程中发生了氧化还原反应。图 7b 为反应前后 Mn 2p 分峰图, 代表 Mn(II)、Mn(III) 和 Mn(IV) 的峰分别在 641、642 和 644 eV 处出现。反应前 Mn(II)、Mn(III) 和 Mn(IV) 的相对含量分别为 54.01%、17.58% 和 8.09%, 在反应后分别变化为 47.36%、

21.94% 和 11.53%。Mn 的 XPS 谱峰向更高的结合能转移, 这表明在 PMS 激活过程中发生了不同 Mn 价的氧化还原转变^[17]。图 7c 为反应前后 O 1s 的变化图, 降解后晶格氧/M—O 键的含量下降, 吸附氧的含量提高, 这说明在降解过程中, 晶格氧被氧化为 O_2 。此外, 在 533.73 eV 处出现了一个新的峰, 这归因于吸附的分子水, 吸附的分子水可以促进自由基的生成^[18]。通过以上分析, 可以推理出 RLDH@BC 催化活化 PMS 的过程: 复合材料中的 Mn^{2+} 和 Mn^{3+} 通过电子转移活化 PMS 生成 $\text{SO}_4^{\cdot-}$, 而 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 可以与 OH^- 和 H_2O 反应生成 $\cdot\text{OH}$ 。第一步反应生成的高价态 Mn 可以在与 HSO_5^- 反应生成低价态的 Mn 、 $\cdot\text{SO}_5$ 和 $\text{O}_2\cdot^-$, $\text{O}_2\cdot^-$ 可以与 $\cdot\text{OH}$ 反应生成 $^1\text{O}_2$ 。溶液中的自由基和非自由基会和 OTC 反应达到去除作用^[19]。此外, 高价态的 Mn 也会得到电子变为低价态, 从而提高催化剂的循环利用效率。



a. FT-IR 图谱; b. Mn 2p 分峰图; c. O 1s 分峰图

图 7 反应前后材料的 XPS 和 FT-IR 谱图

Fig.7 XPS and FT-IR spectra of the materials before and after the reaction

2.5 降解路径分析

对液相质谱结果进行分析并推出 3 个可能降解路径, 其结果如图 8 所示。OTC 分解过程中识

别的主要中间体 m/z 分别为 461.1、432.1、433、446.2、416.6、361.9、391.2、315.2、279.3、257.4、101、115.1、159.9、114、159.3 和 77.01, 推出 3 个可能降解路径。OTC 的降解路径主要是由原始结构中苯环的开裂, 取代基的降解以及 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_3$ 和 $-\text{CONH}_2$ 等基团的陆续去除^[20]。首先是具有强氧化能力的活性自由基将 OTC 分别氧化为 m/z 432.1 (路径一)、433 (路径二) 和

446.2 (路径三) 的中间体^[21]。路径一主要通过原始结构脱氢以及 $-\text{CH}_3$, 路径二和路径三是通过 $-\text{OH}$ 的去除和脱羰基降解原始 OTC 分子, 其中路径二通过开环反应对中间体继续进行降解。路径三通过甲基的去除和开环反应进行降解, 最后得到分子量较小的脂肪族化合物, 这些化合物也可被氧化形成小的有机酸甚至是二氧化碳和水^[22], 达到对 OTC 的降解。

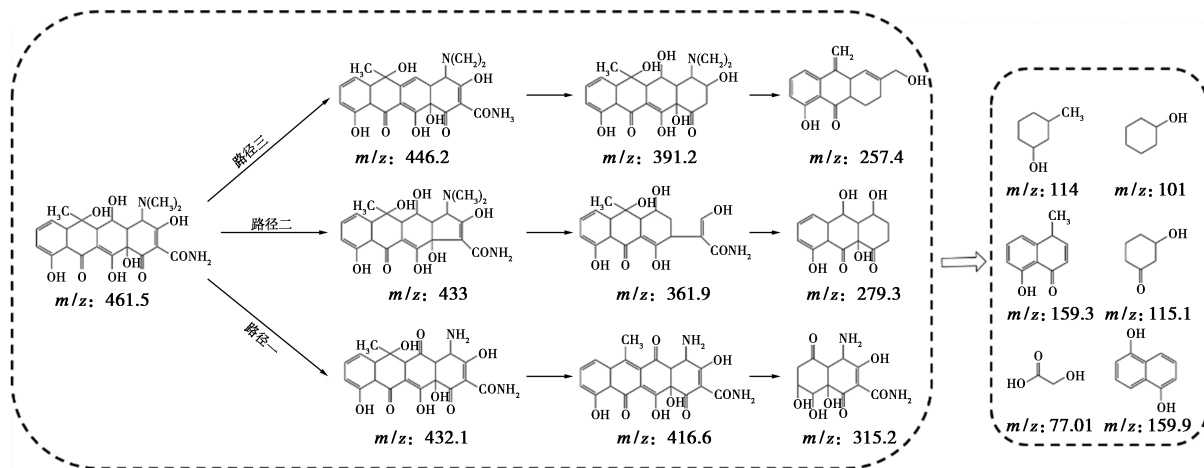


图 8 土霉素降解路径图

Fig.8 Oxytetracycline degradation pathway diagram

2.6 催化剂的循环利用

为了进一步评价 RLDH@BC 样品在 OTC 降解过程中的稳定性和可回收性, 本研究在 RLDH@BC+PMS 体系中进行了循环实验。如图 9 所示, 经过 5 个连续循环后, 70% 的 OTC 污染物仍能在 20 min 内被去除, 说明 RLDH@BC 样品具有良好的可重用性。对于去除率下降, 其原因可能是材料的层板部分被破坏或者部分 OTC 的中间产物堆积在材料表面阻碍催化剂与 PMS 之间的反应^[23]。

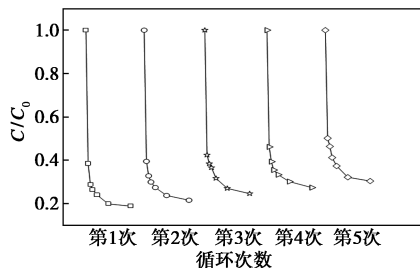


图 9 RLDH@BC 的循环利用性

Fig.9 Recyclability of RLDH@BC

3 结论

本研究首先在模拟 AMD 废水中合成 LDHs, 并且利用生物炭的物理化学性质成功对模拟

AMD 废水中合成的 LDHs 进行修饰, 后利用 XRD、FT-IR、XPS 和 SEM 证明复合材料成功制备。修饰后的材料表现出优异的活化 PMS 降解 OTC 的性能, 研究了不同体系、RLDH@BC 投加量、PMS 浓度、初始 pH、共存离子对 OTC 去除率的影响。结果表明在广泛的 pH 范围内 (3~11), RLDH@BC 均能有效地催化 PMS 降解 OTC, 当催化剂和 PMS 的添加分别为 20 mg 和 1 mmol/L 时, OTC 的去除效率最高; NO_3^- 和 HCO_3^- 共存条件下对于 RLDH@BC 催化 PMS 降解 OTC 的影响较小, 而 Cl^- 和 $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$ 共存条件下对于 RLDH@BC 催化 PMS 降解 OTC 均有影响。自由基猝灭实验表明在 RLDH@BC/PMS 体系中, 自由基和非自由基共同作用降解 OTC, 硫酸根自由基、单线氧和羟基自由基占据主导作用。降解产物分析结果显示 OTC 可能通过 3 种路径进行降解。经过 5 次循环, 材料依然具有良好的活化性能, 说明材料具有良好的循环利用价值。重要的是, 将废弃板栗壳物质与 AMD 中和产物相结合, 合成一种具有催化功能的复合材料, 达到了废物利用的理念。

参考文献:

- [1] 牛政, 贺铝, 肖伟, 等. 酸性矿山废水处理组合工艺的研究进展[J]. 中国资源综合利用, 2021, **39**(9): 188-190; 200.
- [2] DOUGLAS G B. Contaminant removal from acidic mine pit water via in situ hydrotalcite formation [J]. *Appl. Geochem.*, 2014, **51**: 15-22.
- [3] XU Y, ZHANG J, ZHOU J, et al. CN and heavy metal removal through formation of layered double hydroxides from mixed CN-containing electroplating wastewaters and pickle acid liquor [J]. *Chem. Eng. J.*, 2013, **215/216**: 411-417.
- [4] 刘炬, 张柏源, 王思阳, 等. 水滑石基苯酚选择性吸附材料的制备及再生研究[J]. 化学试剂, 2023, **45**(4): 128-135.
- [5] FANG Q, YE S, YANG H, et al. Application of layered double hydroxide-biochar composites in wastewater treatment: Recent trends, modification strategies, and outlook [J]. *J. Hazard. Mater.*, 2021, **420**: 126 569.
- [6] AMALINA F, RAZAK A S A, KRISHNAN S, et al. Biochar production techniques utilizing biomass waste-derived materials and environmental applications-A review [J]. *J. Hazard. Mater. Adv.*, 2022, **7**: 100 134.
- [7] 陈文凯, 曹宇, 赵焕新, 等. MnOOH@g-C₃N₄ 的制备及其活化 PMS 降解苯酚的研究[J]. 化学试剂, 2022, **44**(10): 1 491-1 499.
- [8] TAN X F, LIU Y G, GU Y L, et al. Biochar pyrolyzed from MgAl-layered double hydroxides pre-coated ramie biomass (*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.): Characterization and application for crystal violet removal [J]. *J. Environ. Manage.*, 2016, **184** (Pt 1): 85-93.
- [9] MA L, WANG Q, ISLAM S M, et al. Highly selective and efficient removal of heavy metals by layered double hydroxide intercalated with the MoS₄²⁻ ion [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2016, **138**(8): 2 858-2 866.
- [10] 苏冰琴, 温宇涛, 林昱廷, 等. 改性活性炭纤维活化过硫酸盐深度处理焦化废水及降解吡啶的反应机制研究[J]. 中国环境科学, 2023, **43**(2): 576-591.
- [11] LIU X, PEI Y, CAO M, et al. The simple preparation of robust mesoporous N/C co-doped Cu_{7.2}S₄ for effectively removal of oxytetracycline based on activating peroxymonosulfate [J]. *J. Environ. Chem. Eng.*, 2022, **10**(5): 108 340.
- [12] 朱建宇, 党清平, 杨帆, 等. MnFeCu-LDHs 活化 PMS 降解氯四环素的效能及机制[J]. 环境工程学报, 2022, **16**(12): 3 895-3 905.
- [13] 廖晓数, 朱成煜, 仇玥, 等. 纳米零价铁基生物炭活化过硫酸盐降解土霉素[J]. 环境工程, 2022, **40**(8): 118-124; 95.
- [14] 李小娟, 叶梓瑜, 谢书涵, 等. 氮氯共掺杂多孔碳活化过一硫酸盐降解苯酚的性能及机理研究[J]. 化学学报, 2022, **80**(9): 1 238-1 249.
- [15] MI X, MA R, PU X, et al. FeNi-layered double hydroxide (LDH)@ biochar composite for activation of peroxymonosulfate (PMS) towards enhanced degradation of doxycycline (DOX): Characterizations of the catalysts, catalytic performances, degradation pathways and mechanisms [J]. *J. Cleaner Prod.*, 2022, **378**: 134 514.
- [16] 谢金伶, 蒲佳兴, 李思域, 等. 钴锰硫化物活化过硫酸盐强化降解盐酸四环素[J]. 中国环境科学, 2023, **43**(2): 544-551.
- [17] HOU S, ZHANG H, WANG P, et al. Multiwall carbon nanotube decorated hemin/Mn-MOF towards BPA degradation through PMS activation [J]. *J. Environ. Chem. Eng.*, 2022, **10**(5): 108 426.
- [18] LI L, HUANG Z, LIU Y, et al. Novel porous Mn-Fe nanocubes toward peroxymonosulfate activation via non-radical/radical pathways for emerging contaminants degradation [J]. *Appl. Surf. Sci.*, 2022, **581**: 152 390.
- [19] ZHAO W, DUAN Z, ZHENG Z, et al. Efficient diclofenac removal by superoxide radical and singlet oxygen generated in surface Mn(II)/(III)/(IV) cycle dominated peroxymonosulfate activation system: Mechanism and product toxicity [J]. *Chem. Eng. J.*, 2022, **433**: 133 742.
- [20] REGULSKA E, BREZCKO J, BASA A, et al. Photocatalytic degradation of oxytetracycline with the REMs (Er, Tm, Yb)-doped nickel and copper aluminates [J]. *J. Mater. Sci. Eng. B*, 2022, **285**: 115 959.
- [21] SUN H, ZHOU T, KANG J, et al. High-efficient degradation of oxytetracycline by visible photo-Fenton process using MnFe₂O₄/g-C₃N₄: Performance and mechanisms [J]. *Sep. Purif. Technol.*, 2022, **299**: 121 771.
- [22] WANG L, RAN X, XIAO B, et al. Visible light assisted Fenton degradation of oxytetracycline over perovskite Er-FeO₃/porous g-C₃N₄ nanosheets p-n heterojunction [J]. *J. Environ. Chem. Eng.*, 2022, **10**(5): 108 330.
- [23] 陈雪文, 陈荣, 赵丹, 等. 聚偏二氟乙烯膜负载锰掺杂羟基氯化铁活化过一硫酸盐降解酸性红 B [J]. 化工环保, 2022, **42**(3): 325-330.

响应曲面法优化茶渣生物质炭对土壤氮磷吸附

钱婧^{1a,1b}, 蔡青松^{1a,1b}, 黄显怀^{*1a,1b}, 周肖瑜², 刘英超^{1a,1b}, 赵金金^{1a,1b}

(1.安徽建筑大学 a.环境与能源工程学院;b.环境污染控制与废弃物资源化利用安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230601;2.湖州市植保检疫与耕肥管理站,浙江 湖州 313000)

摘要:为了实现茶渣高效资源化利用,将 400 °C 热解制备的茶渣生物质炭(TD400)添加至土壤中,探究其对土壤中氮、磷等养分元素固持的影响。通过响应曲面分析法 Box-Behnken 实验设计原理分析生物质炭添加比、环境 pH 和反应温度对铵态氮和磷酸盐土壤吸附率的影响。通过模型优化铵态氮最佳吸附条件为:生物质炭添加比 1.0%、pH 10、反应温度为 15 °C;磷酸盐最佳吸附条件为:生物质炭添加配比为 1.0%、pH 10、溶液反应温度为 35 °C。各因素对铵态氮和磷酸盐吸附率的影响大小顺序为:添加土壤配比>溶液反应温度>溶液 pH,最佳吸附条件下铵态氮和磷酸盐吸附率分别为 60.74%、82.59%,与预测值 63.25%和 81.54%基本吻合。这表明茶渣生物炭可有效固持土壤或吸附水体中的氮磷,为茶渣资源化利用提供了新思路,研究成果具有一定的理论价值和指导意义。

关键词:茶渣生物质炭;吸附;响应曲面法;铵态氮;磷酸盐

中图分类号:S156.2 文献标识码:A 文章编号:0258-3283(2023)05-0085-08

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0062

Optimization of Soil Adsorption of Nitrogen and Phosphorus with Tea Residue Biochar by Response Surface Methodology QIAN Jing^{1a,1b}, CAI Qing-song^{1a,1b}, HUANG Xian-huai^{*1a,1b}, ZHOU Xiao-yu², LIU Ying-chao^{1a,1b}, ZHAO Jin-jin^{1a,1b} (1. Anhui Jianzhu University, a. School of Environment and Energy Engineering, b. Anhui Provincial Key of Environmental Pollution Control and Resource Reuse, Hefei 230601, China; 2. Plant Protection & Quarantine and Tillage & Fertilizer Management Station of Huzhou, Huzhou 313000, China)

Abstract: A biochar prepared by pyrolyzing the tea residue at 400 °C (TD400) was added into a tea garden soil in order to efficiently utilize the tea residue. The influence of TD400 on soil immobilization of nitrogen and phosphorus were studied. The effects of biochar addition ratio, environment pH and temperature on the soil adsorption efficiency of ammonium nitrogen and phosphate were analyzed based on the Box-Behnken experimental design principle in the response surface analysis method. The best adsorption condition for ammonium nitrogen was 1.0% TD400 addition, pH 10, and the temperature was 15 °C. The optimal condition for phosphate adsorption is 1.0% TD400 addition, pH 10, and the temperature was 35 °C. The influence of those three factors on soil ammonium nitrogen and phosphate adsorption efficiency varies; biochar addition ratio>environment temperature>pH. The best adsorption efficiency of ammonium nitrogen and phosphate were 60.74% and 82.59% respectively under the optimal adsorption condition, which were basically consistent with our predicted values, 63.25% and 81.54%. The results showed the tea residue biochar could effectively immobilization soil nutrients. This study provided a new idea for the utilization of tea residues and have certain theoretical value and practice significance.

Key words: tea residue biochar; adsorption; response surface methodology; ammonium nitrogen; phosphate

茶树是我国主要的经济作物之一,我国是茶叶主要的产出国及出口国。据统计,我国的茶叶种植面积占全球茶园总面积的 63%,产量占世界茶叶总产量的 45.90%,仅 2016 年我国的茶叶种植面积就高达 $2.93 \times 10^{10} \text{ m}^2$,茶叶总产量达 243.2 万 t,且茶叶的种植面积和产量还在呈逐年上升的趋势^[1]。然而,近年来当地茶农为了提高土壤肥力及追求茶叶高产,大量频繁施肥,肥料的过量施用,导致茶园土壤酸化、土壤硬化及土壤质量变劣;同时,也导致大量氮磷养分流失降低肥料利用率及增加周边水环境的富营养化风险^[2]。如席运官等^[3]在对太湖流域茶园氮磷流失研究中发

现,氮流失量为 1.17 g/m^2 ,可溶性磷流失量达

收稿日期:2023-02-06;网络首发日期:2023-03-06

基金项目:安徽省高校省级自然科学基金项目-创新团队项目(2022AH010019);安徽省高校省级自然科学基金项目(KJ2019A0754);校招引进人才及博士启动基金项目(2018QD13)。

作者简介:钱婧(1982-),女,安徽合肥人,博士,讲师,主要研究方向水土保持与面源污染。

通讯作者:黄显怀,E-mail:ahjz202209@163.com。

引用本文:钱婧,蔡青松,黄显怀,等.响应曲面法优化茶渣生物质炭对土壤氮磷吸附[J].化学试剂,2023,45(5):85-92。

$1.3 \times 10^{-2} \text{ g/m}^2$; 李长嘉等^[4]在进行晋江西流域茶园野外模拟试验发现,当地茶园径流中氮流失量达 $373.28 \sim 747.16 \text{ mg/m}^2$,极易导致周边水体的富营养化。因此,采取有效的方式控制茶园氮磷流失及改善茶园土壤环境质量是当前亟待解决的环境问题。

目前,针对减少土壤氮磷养分流失的措施包括改善施肥技术、增加土壤改良剂、大量施用滴灌技术来严格精准控制水分和养分的施用比例等^[5]。虽然对固持土壤养分含量及改良土壤质量有一定的成效,但存在持续性较差,长期施用易导致土壤酸化或土壤板结等新的土壤环境问题,或者在坡地茶园难以推广应用^[6]。生物质炭作为一种新型的土壤改良剂,可有效的改良土壤结构,钝化土壤重金属污染^[7],改善土壤养分含量及减少土壤养分流失,起到有效促进农业可持续发展的目的。而由于茶叶种植或生产过程中会产生大量的茶渣,如不合理处置,随意丢弃,极易造成严重的环境污染问题;茶渣中含有大量组分包括:纤维素、半纤维素、蛋白质、木质素、维他命、氨基酸、茶多酚和微量元素等,具备资源化利用的潜力^[8]。大量研究表明茶渣生物质炭可作为良好的吸附剂或修复剂用于去除水体中的污染物^[9],然而将其用于改良土壤质量及固持土壤养分的相关研究并不多。因此,以茶渣为原料制备生物质炭用于水体吸附或土壤养分固持,可拓宽其资源化利用的范围。

响应曲面法 (Response Surface Methodology, RSM) 是将统计分析及数学相结合对过程产生的参数进行优化设计的实验方法^[10,11],其不仅可以分析单因素变量与实验结果之间的相互关系,也可评估多因素交互作用对实验结果的影响及两两因素与实验结果的关系,因此 RSM 是一种优化实验结果的最佳方法,将多个因素与实验结果建立联系,直观的将联系与影响权重通过数值呈现出来,并得到实验条件的最优解^[12]。在本研究中,采用响应曲面分析法中的 Box-Behnken 实验设计原理,分析茶渣生物质炭添加比,溶液 pH 及溶液反应温度对其添加后土壤对铵态氮和磷酸盐的吸附水平的影响及其之间的交互作用;同时通过比表面积及孔径分析、傅里叶变换红外光谱、扫描电镜等表征手段,探究其吸附铵态氮和磷酸盐的机理,为茶渣生物质炭的资源化利用探究新途径,为茶园酸性土壤养分固持研究提供理论参考。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

OTF-1200X 型真空管式炉 (合肥科晶材料技术有限公司); UV-T6 型紫外-可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); Meo-i204 型电子天平 (美国梅特勒托利多公司); ASAP2460 型全自动比表面积及孔隙度分析仪 (美国麦克仪器公司); pH30101 型多参数水质分析仪 (美国哈希公司); Vario MACRO cube 型元素分析仪 (德国艾力蒙塔贸易有限公司); SU8010 型扫描电子显微镜 (日本日立公司); Nicolet iS10 型傅里叶红外光谱仪 (美国赛默飞公司)。

硝酸钾 (KNO_3)、氯化钾 (KCl)、磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) (沪试化工股份有限公司); 所有试剂均为分析纯; 生物质炭原料采自安徽省黄山市茶厂的废弃茶渣。

1.2 实验土壤样品

本研究实验土壤样品取自安徽省安庆市桐城县双溪村茶园 0 ~ 20 cm 表层土 ($31^\circ 522' \text{ N}$, $116^\circ 533' \text{ E}$), 该区域位于安徽省中部, 地属亚热带季风性气候, 年平均气温 $14.5 \sim 16.6^\circ \text{ C}$, 年平均降雨量 $1300 \sim 1600 \text{ mm}$ (月最大降雨量平均可达约 243.1 mm)。采集土壤样品经人工去除根系和石块, 并过 2 mm 筛网贮存备用, 实验土壤的基本理化性质见表 1。

表 1 实验土壤理化性质

Tab.1 Physical and chemical properties of tested soil

土壤类型	pH/ (1:2.5 土水比)	有机质/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	阳离子交换量/ ($\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全氮/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
黄棕壤	5.14 ± 0.4	19.25 ± 1.3	19.94 ± 3.5	6.31 ± 1.2
土壤类型	全磷/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	有效磷/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	硝态氮/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	速效钾/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
黄棕壤	814.5 ± 10.3	3.1 ± 0.3	11.1 ± 0.4	261 ± 13

1.3 实验方法

1.3.1 茶渣生物质炭的制备

茶渣生物质炭 (TD) 制备: 将废弃茶渣洗净风干后粉碎, 取适量粉末于管式炉中, 通 N_2 条件下, 升温至 400° C (升温速度 10° C/min) 热解炭化 2 h, 待冷却后取出研磨至 100 目筛, 用蒸馏水反复清洗, 并置于 105° C 烘箱烘干至恒重, 密封保存待用。生物质炭记为 TD400。

1.3.2 表征/测试方法

生物质炭的得率是生物质炭的质量与炭化前生物质质量比值的百分比。生物质炭的 pH 以生

物质炭与蒸馏水的质量体积比为 $m(\text{炭}):V(\text{水})=1:10$ 提取,并通过分析仪测定;CEC 使用乙酸铵浸提法测定;元素分析仪测定生物质炭的 C、H、N、O 等元素;比表面积及孔径分布情况通过 BET 测定,测定时使用 N_2 吸附-脱附法,脱气温度设定为 $300\text{ }^\circ\text{C}$,脱气时间控制在 4 h 左右;生物质炭形貌表征与大小用 SEM 观察测定,生物质炭研磨过筛后进行干燥预处理,取适量生物质炭粉末用导电胶粘在样品台,将其进行喷金处理制样;通过 FT-IR 分析生物质炭表面官能团种类,测定时将其研磨过筛后,经溴化钾粉末混合后,再次混合压片测定,测定时扫描波段范围为 $4\text{ }000\sim400\text{ cm}^{-1}$ 。

溶液 pH 值采用分析仪测定;溶液中铵态氮含量采用纳氏试剂比色法在波长 420 nm 处紫外分光光度计比色测定;溶液中磷酸盐含量采用钼酸铵比色-分光光度法在波长 700 nm 处测定。

1.3.3 吸附率的测定

取 25 mL 固定浓度 100 mg/L 的铵态氮和磷酸盐溶液,加入 50 mL 离心管中,并投加 2 g 土壤及一定配比的生物质炭(质量比 0.2% 、 0.6% 和 1.0%),分别调至 pH 2.0 、 4.0 、 6.0 、 7.0 、 8.0 和 10.0 后,将离心管置于恒温振荡箱(15 、 20 、 25 、 30 和 $35\text{ }^\circ\text{C}$), 160 r/min 振荡 24 h ,取出离心管,以转速 $4\text{ }000\text{ r/min}$,离心 10 min ,过 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜后,取 10 mL 滤液用于测定水溶性铵态氮和磷酸盐的浓度,铵态氮含量用靛酚蓝分光光度法测定,磷酸盐采用钼酸铵分光光度法测定,并对每组进行 3 次重复试验。计算吸附后铵态氮和磷酸盐的浓度,由式(1)计算添加茶渣生物质炭的土壤对铵态氮和磷酸盐的去除率 $Y(\%)$ 。

$$Y = [(C_0 - C_e)/C_0] \times 100\% \quad (1)$$

式中: C_0 为溶液的初始浓度, mg/L ; C_e 为吸附平衡溶液的浓度, mg/L 。

1.3.4 响应面优化实验设计

为了更好的利用响应面优化实验条件,研究添加不同配比的茶渣生物质炭对水体铵态氮、磷酸盐的吸附行为,本文选取茶渣生物质炭添加比($0.2\%\sim1.0\%$)、溶液 pH ($2\sim12$) 和反应温度($25\sim35\text{ }^\circ\text{C}$) 3 个变量,分别进行单因素实验,以获取后续响应面吸附实验设计的参考范围;然后,选取吸附剂用量配比 0.6% ,反应温度 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 和溶液 pH 7 为响应面实验设计的中心点,并根据 Box-Behnken 实验原理,采用三因素三水平响应曲面法分析上述三因素影响茶渣生物质炭添加的土壤

吸附铵态氮和磷酸盐的主效应和交互作用。实验设计的编码和实验值见表 2。

表 2 茶渣生物质炭添加茶园土壤吸附氮磷体系各实验因素水平取值

Tab.2 Level of experimental factors in the nitrogen and phosphorus adsorption system

各元素水平 编码取值	生物质炭 添加比/%	pH	反应温度/ $^\circ\text{C}$
-1	0.2	4	15
0	0.6	7	25
1	1.0	10	35

1.3.5 数据处理和分析

采用响应面法 Design Expert 18 中的 Box-Behnken 方法进行试验处理设计及对不同环境条件下生物质炭对铵态氮和磷酸盐吸附率进行分析统计,方差分析(ANOVA)应用于表中所示的数据集;其中, $P<0.05$ (*) 具有统计学意义, $P<0.01$ (**) 具有高度统计学意义,文中所有图形绘制通过 Excel 2010 完成。

2 结果与讨论

2.1 茶渣生物质炭理化性质表征

本文中茶渣生物质炭基本理化性质如表 3 所示。

表 3 茶渣生物质炭基本理化性质

Tab.3 Basic physical and chemical properties of biochar

样品	得率/%	灰分/%	pH	CEC/($\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$)	
TD400	34.33	12.55	7.87	34.89	
样品	BET 表面积/($\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$)		C/%	H/%	N/%
TD400	1.156		63.94	2.32	4.73
样品	O/%	H/C	O/C	总孔容/($\text{cm}^3\cdot\text{g}^{-1}$)	
TD400	12.45	0.036	0.195	2.47	

如表 3 所示,茶渣生物质炭呈碱性,pH 7.87 ,阳离子交换量为 34.89 cmol/kg ,表明茶渣生物质炭中可用于吸附和交换正电荷的总容量较高^[13];其碳含量为 63.94% ,H/C 比值为 0.036 ,O/C 比值为 0.195 ,表明茶渣生物质炭存在较高稳定的芳香结构^[14];且其比表面积 $1.156\text{ m}^2/\text{g}$,这与茶渣生物质炭电镜结论相似(见图 1)。如图 1 所示, $400\text{ }^\circ\text{C}$ 下制备的茶渣生物质炭会出现破碎现象,并具有一定的孔隙结构。综上,茶渣生物质炭具有较高的含碳量,粗糙的表面,较大的比表面积,推断能够固持土壤中氮磷等养分^[15]。

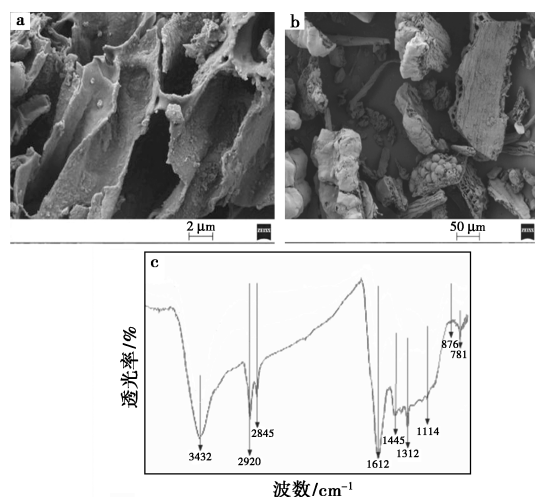


图 1 茶渣生物质炭 TD400 扫描电镜图(a,b)和
红外光谱图(c)

Fig.1 SEM images (a,b) and FT-IR spectra (c)
of biochar TD400

茶渣生物质炭 TD400 红外光谱如图 1c 所示,在波数为 3 432 和 1 312 cm^{-1} 处出现脂肪族不饱和 O—H、C—H 伸缩振动峰,在 2 920 ~ 2 845 cm^{-1} 处出现脂肪族饱和 C—H 伸缩振动吸收峰(脂肪族 CH_x),在 1 612 cm^{-1} 处出现不饱和双键 $\text{C}=\text{C}$ 芳香族类伸缩振动峰。在 1 114 ~ 1 312 cm^{-1} 内出现醇、醚类 C—O—C 伸缩振动和芳香酯 C—O 伸缩振动,在 781 ~ 876 cm^{-1} 内出现了 C—H 弯曲振动峰,此结果表明茶渣生物质炭是富含碳的芳香化合物,并含有—OH、—COOH 以及 R—O—R 等官能团^[16]。

2.2 茶渣生物质炭对氮磷去除的预测模型

在进行生物质炭或者其他功能材料对水体或

者土壤中的氮磷吸附实验时,多以吸附率作为吸附效果优劣的客观指标,可较为直观的反映生物质炭对水体或者土壤氮素及磷素的吸附效果^[17]。因此,本研究选择对铵态氮和磷酸盐的吸附率($Y_{\text{铵态氮}}$ 和 $Y_{\text{磷酸盐}}$)为响应值,通过 Box-Behnken 实验设计,来拟合响应面模型,呈现两两因素对吸附率的影响,并将结果列于表 4 和表 5。根据表 4,

表 4 铵态氮和磷酸盐吸附率的实验设计及结果

Tab.4 Experimental design and results of adsorption efficiency of ammonia nitrogen and phosphate

编号	变量编码 水平			铵态氮 吸附率/%		变量编码 水平			磷酸盐 吸附率/%	
	X ₁	X ₂	X ₃	试验值	预测值	X ₁	X ₂	X ₃	试验值	预测值
1	0.6	4	35	72.43	71.56	0.6	4	35	40.52	39.21
2	0.6	7	25	71.11	71.11	0.6	7	25	49.32	49.32
3	0.2	10	25	72.13	71.12	0.2	10	25	50.61	49.86
4	1.0	4	25	76.14	77.15	1.0	4	25	50.31	51.06
5	0.6	7	25	71.11	71.11	0.6	7	25	49.32	49.32
6	0.6	7	25	71.11	71.11	0.6	7	25	49.32	49.32
7	0.6	7	25	71.11	71.11	0.6	7	25	49.32	49.32
8	0.6	4	15	61.12	60.29	0.6	4	15	49.12	49.22
9	1.0	10	25	79.21	78.53	1.0	10	25	58.74	58.28
10	1.0	7	15	72.14	71.95	1.0	7	15	59.11	58.26
11	0.6	7	25	71.11	71.11	0.6	7	25	49.32	49.32
12	0.6	10	35	80.02	80.85	0.6	10	35	48.14	48.04
13	1.0	7	35	80.01	79.86	1.0	7	35	46.23	46.79
14	0.2	7	15	53.12	53.27	0.2	7	15	47.33	46.77
15	0.2	7	35	70.09	70.27	0.2	7	35	35.61	36.47
16	0.2	4	25	55.61	56.29	0.2	4	25	37.22	37.68
17	0.6	10	15	66.34	67.21	0.6	10	15	58.48	59.79

表 5 铵态氮和磷酸盐吸附率的方差分析结果

Tab.5 Analysis of variance of adsorption efficiency of ammonia nitrogen and phosphate

铵态氮吸附率							磷酸盐吸附率						
参数	平方和	自由度	均方	F	P	显著性	参数	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	921.70	9	102.41	120.08	<0.000 1	极显著	模型	684.39	9	76.04	74.90	<0.000 1	极显著
X ₁	399.74	1	399.74	468.71	<0.000 1	极显著	X ₁	237.84	1	237.84	234.27	<0.000 1	极显著
X ₂	131.22	1	131.22	153.86	<0.000 1	极显著	X ₂	188.18	1	188.18	185.35	<0.000 1	极显著
X ₃	310.38	1	310.38	363.93	<0.000 1	极显著	X ₃	236.97	1	236.97	233.41	<0.000 1	极显著
X ₁ X ₂	45.23	1	45.23	53.03	0.000 2	显著	X ₁ X ₂	6.15	1	6.15	6.06	0.043 4	显著
X ₁ X ₃	20.70	1	20.70	24.27	0.001 7	显著	X ₁ X ₃	0.336 4	1	0.336 4	0.331 3	0.582 9	
X ₂ X ₃	1.40	1	1.40	1.65	0.240 3		X ₂ X ₃	0.756 9	1	0.756 9	0.745 5	0.416 5	
X ₁ ²	2.29	1	2.29	2.69	0.145 3		X ₁ ²	4.62	1	4.62	4.55	0.070 3	
X ₂ ²	0.673 7	1	0.673 7	0.789 9	0.403 6		X ₂ ²	3.78	1	3.78	3.72	0.095 0	
X ₃ ²	9.89	1	9.89	11.59	0.011 4	显著	X ₃ ²	6.09	1	6.09	6.00	0.044 2	显著
残差	5.97	7	0.852 9				残差	7.11	7	1.02			
纯误差	0.000 0	4	0.000 0				纯误差	0.000 0	4	0.000 0			
总离差	927.67	16					总离差	691.50	16				

以 $Y_{\text{铵态氮}}$ 和 $Y_{\text{磷酸盐}}$ 吸附率为响应值,以茶渣生物质炭添加比、溶液 pH、反应温度为自变量建立响应面编码形成的二次多项式如下(公式 2、3):

$$Y_{\text{铵态氮}} = 49.32 + 5.45X_1 + 4.85X_2 - 5.44X_3 - 1.24X_1X_2 - 0.29X_1X_3 - 0.435X_2X_3 - 1.05X_1^2 + 0.95X_2^2 - 1.2X_3^2 \quad (2)$$

$$Y_{\text{磷酸盐}} = 71.11 + 7.07X_1 + 4.05X_2 + 6.23X_3 - 3.36X_1X_2 - 2.28X_2X_3 + 0.59X_2X_3 - 0.74X_1^2 + 0.40X_2^2 - 1.53X_3^2 \quad (3)$$

式中: X_1 是茶渣生物质炭添加土壤配比; X_2 为 pH; X_3 为溶液反应温度。

由公式(2)、(3)可知,3 个实验变量对吸附率响应值的影响是交互的,通过对响应曲面模型(2)、(3)的方差分析及显著性检验结果(表 4)可知,模型的拟合度 $R^2 = 0.9936$ (铵态氮)和 $R^2 = 0.9897$ (磷酸盐),表明铵态氮和磷酸盐拟合模型与实验结果拟合良好,实验的准确度高;校准判定系数(R^2_{adj})分别为 0.9853 (铵态氮)、0.9765 (磷酸盐),说明铵态氮拟合公式有 98.53%的响应值可以模拟该模型,磷酸盐拟合公式 97.65%的响应值可以模拟该模型^[18],铵态氮和磷酸盐的实测值和预测值比较见图 2,拟合直线斜率趋向于 1,说明铵态氮和磷酸盐的模型预测值和实测值高度吻合。

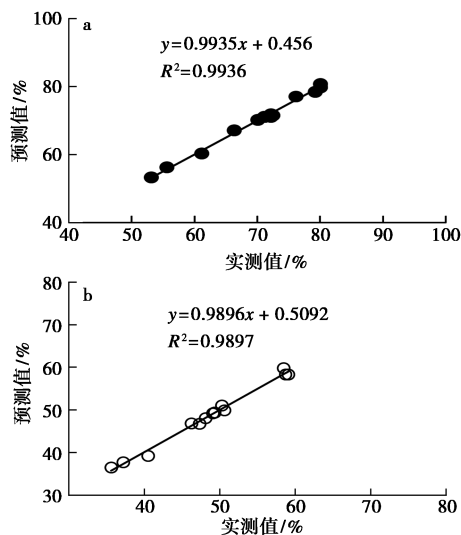


图 2 铵态氮(a)及磷酸盐(b)吸附率实测值和预测值比较

Fig.2 Comparison of experimental and predicted values of adsorption efficiency of ammonia nitrogen (a) and phosphate (b)

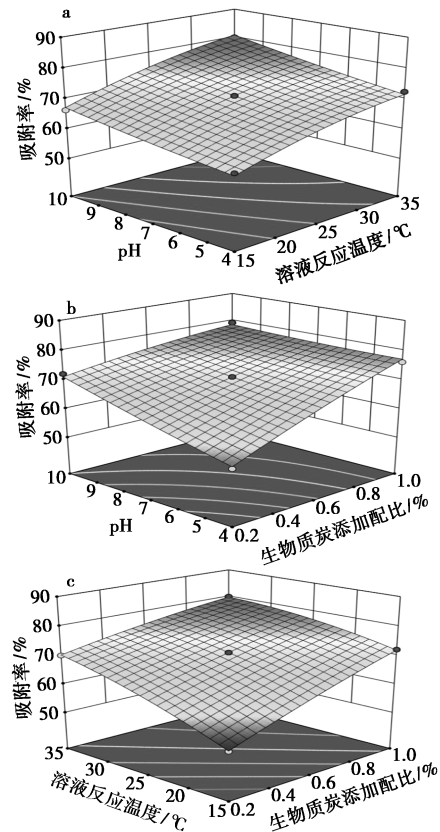
由表 5 可知,铵态氮吸附率的响应面 F 值为 120.08, $P < 0.01$;磷酸盐吸附率的响应面 F 值为 74.90, $P < 0.01$,说明回归方程描述的 3 种因素与

铵态氮和磷酸盐吸附率之间的拟和曲线是显著的。该模型可代替实验真实点对实验点结果进行分析。

由表 5 可知,在单因素条件下,生物质炭添加土壤配比、溶液 pH、溶液反应温度对土壤铵态氮和磷酸盐吸附率的影响呈极显著 ($P < 0.01$);同时,由 F 值可以得到各因素对铵态氮及磷酸盐吸附率的影响,大小顺序依次为生物质炭添加比 > 溶液反应温度 > 溶液 pH,这主要是因为生物质炭添加量的增加,富余的吸附点位增加了氮和磷的接触面积;在两两因素交互作用的响应面分析中,如生物质炭添加比与溶液反应温度两因素、溶液 pH 与茶渣生物质炭添加比两因素对铵态氮的吸附率呈显著影响;而在磷酸盐吸附的两两交互作用中,仅茶渣生物质炭添加土壤配比与溶液 pH 对其吸附率呈显著影响。

2.3 茶渣生物质炭氮磷交互作用的响应面分析

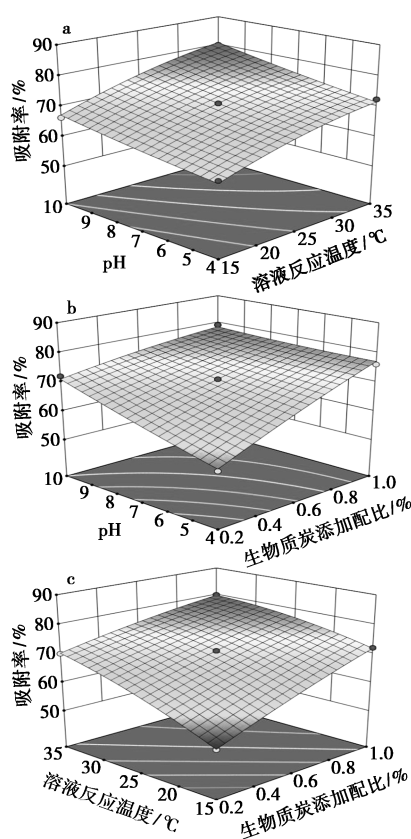
通过 Design Expert 18 以两两自变量为坐标轴的 3D 图像,可较为直观的将生物质炭添加比、溶液 pH 及溶液反应温度对铵态氮及磷酸盐的吸附率呈现出来,结果如图 3、4 所示。



a.pH 与溶液反应温度;b.pH 与生物质炭添加比;
c.溶液反应温度与生物质炭添加比

图 3 铵态氮的响应曲面图

Fig.3 Response surface map of ammonium nitrogen



a. pH 与溶液反应温度; b. pH 与生物质炭添加比;
c. 溶液反应温度与生物质炭添加比

图 4 磷酸盐的响应曲面图

Fig.4 Response surface map of phosphate

如图 3a 所示,以 0.6% 生物质炭添加比为中心点条件下,土壤对铵态氮吸附率随着溶液反应温度的增加或溶液 pH 降低逐渐下降;同时,从溶液反应温度的变化曲面斜率大于 pH 的变化曲面斜率可知,溶液反应温度对吸附率的影响强于 pH。由图 3b 可知,以溶液反应温度在中心点 25 °C 条件下,随着生物质炭添加配比的增加,溶液 pH 上升,铵态氮吸附率逐渐增大,这是由于增加生物质炭的添加量,其表面的吸附位点较为充足,并没有被完全占据,从而吸附率随之升高;而当溶液 pH 值增加时,生物质炭表面负电荷的吸附位点的比例增加,通过静电吸引作用变强,所以对铵态氮的吸附率也随之增加^[19]。由图 3c 所示,随着溶液反应温度的升高,其对铵态氮吸附率呈逐渐上升的趋势,并在 15 °C 达到最高。其原因可能是由于温度升高溶液中的离子扩散速度加快,促进生物质炭对铵态氮吸附反应。如饶本强等^[20]在进行 PVA 膨润土包埋固定化荒漠丝状蓝藻复合体对 Cu(II) 的吸附特性研究时发现,随着

温度的升高,复合体小球对 Cu²⁺ 的吸附量逐渐增加,并推断此吸附过程以化学吸附为主,温度升高有利于 Cu²⁺ 与小球表面的有效碰撞和吸附反应。倪浩等^[21]研究了白云石吸附水溶液中的 Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 时,也发现高温可促进单分子层吸附,其中对 Pb²⁺ 的吸附在低温下主要为物理吸附,但随着温度的升高,物理吸附和化学吸附同时发生,从而增加吸附量。刘桂凤等^[22]在分析溶液 pH、温度、初始浓度等环境条件下白果壳遗态复合材料对 Sb(III) 去除性能的影响时,也认为适当升高温度有利于吸附剂的吸附。

由表 4 可知,生物质炭添加配比与反应温度交互作用对铵态氮的吸附率影响不显著 ($F = 0.3313, P = 0.5829$)。如图 4a 所示,以生物质炭添加比 0.6% 为中心点条件下,随着溶液反应温度和 pH 的增加,磷酸盐的吸附率呈逐渐增大趋势,由 53.12% 增加至 81.54%;由图 4b 可知,以溶液反应温度在中心点 25 °C 条件下,生物质炭添加配比变化曲面斜率大于 pH 的变化曲面斜率,生物质炭的添加比对土壤中磷酸盐吸附率的影响大于 pH。生物质炭对磷酸盐的吸附率是随着 pH 的增加,呈先升后降变化趋势,其中,在 pH 7 达到较大吸附量,后逐渐减少,可能原因是在溶液 pH 4~11 范围内,磷酸根的主要形式为 $H_2PO_4^-$ 和 HPO_4^{2-} ,而 $H_2PO_4^-$ 的吸附自由能较低,更容易吸附^[23,24],因此随着溶液 pH 增加,吸附率增加,当溶液 pH 5.19 时,去质子化占主导地位,生物质炭表面携带负电荷,不利于磷酸根阴离子的吸附。此外,当溶液 pH 升高,溶液 OH⁻ 的反应会被抑制,导致生物质炭吸附磷的容量降低^[25]。如图 4c 所示,以溶液在中心点 pH 7 条件下,随着溶液反应温度的增加,生物质炭对磷酸盐吸附率呈逐渐增加的趋势,由于温度升高有利于磷酸盐由微孔向内部扩散,因而增加生物质炭对磷酸盐的吸附位点,有利于吸附进行^[26]。如谢发之等^[27]和赵桂瑜等^[28]研究盾构渣土基碳复合陶粒除磷性能时得出结论,陶粒对磷的吸附随温度升高吸附量逐渐增大,由于温度升高使溶液中的磷酸盐克服陶粒表面的液膜阻力增强,有利于磷酸盐由微孔向内部扩散,因而陶粒对磷的吸附位点增多,有利于陶粒对磷的吸附。Pan 等^[29]研究了秸秆生物质炭质对 Cr³⁺ 吸附,结果表明其吸附一般为吸热过程,并且温度升高,吸附能力随之增加。当温度在 35 °C 时,吸附率达到最高值 81.54%。由结

果可知,生物质炭添加配比 1.0% 和溶液反应温度为 35 ℃ 时,吸附率为最大值。

生物质炭吸附氮磷的作用机制主要包括沉淀作用、表面官能团、物理吸附、静电吸附以及离子交换。其中, NH_4^+ 主要通过表面官能团、物理吸附和离子交换 3 种方式去除,当生物炭表面带负电时还会伴随发生静电吸附;而生物炭表面带正电荷时则能够吸引带负电的 NO_3^- 和 HPO_4^{2-} 。磷酸根和铵态氮同时存在时,去除机制往往由吸附剂决定,对铵态氮主要是化学吸附过程,对磷酸根的吸附过程较为复杂,铵态氮不存在时,磷酸根离子主要依靠配位主导吸附,但是铵态氮与磷酸根离子同时存在时,静电引力占据主导地位^[30,31]。不同的环境条件也可能会因为某些因素的变化而改变整个吸附过程,如 pH 值的变化、生物质炭表面所带电荷也会因此发生变化^[32,33]。Li 等^[34]通过研究铁改性生物炭对氮磷的吸附特性,表明该吸附机制比较复杂,当生物炭零点电荷 pH_{PZC} 高于沼液(pH 8.3),导致其表面带正电荷,生物炭表面的 Fe^{3+} 与 PO_4^{3-} 相互结合而吸引带负电荷的磷;生物炭释放的 Fe^{3+} 和 Fe^{2+} 水解为 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 胶体,又会导致氮磷的絮凝。孟依柯等^[35]研究木屑生物炭对雨水径流中的氮磷吸附作用时,认为 NH_4^+ 的吸附主要是通过材料表面含氧官能团产生静电吸引或者依靠离子交换实现,木屑生物炭表面含有丰富的含氧官能团包括羧基和醚键^[36]等,这些官能团中的氧原子与 NH_4^+ 中的氢原子相互吸引,可形成稳定的氢键,故使其具有较优越的 NH_4^+ 吸附效果。 PO_4^{3-} 的吸附主要是通过金属离子(Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+} 和 Fe^{3+} 等)与 PO_4^{3-} 形成沉淀或者稳固的化合物来实现。

2.4 模型验证及优化

本文采用 Design Expert 18 软件对最佳实验条件进行预测,得到茶渣生物质炭添加土壤吸附铵态氮的最佳实验条件为:生物质炭添加比为 1.0%,pH 10.0,溶液反应温度为 15 ℃;此时,土壤对铵态氮的吸附量为 1 214.80 mg/kg,土壤对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 吸附率的平均值为 60.74%,与预测值(63.25%)相差 2.51%。对磷酸盐吸附的最佳条件为:生物质炭添加比为 1.0%,pH 10,溶液反应温度为 35 ℃,土壤对磷酸盐的吸附量为 825.90 mg/kg,吸附率的平均值为 82.59%,与预测值(81.54%)相差 0.65%,说明该计算模型具有较好的预测效果,利用响应曲面分析具有一定的指

导,可为实际应用提供依据。

3 结论

3.1 本文通过 Box-Behnken 曲面分析可以较好的拟合茶渣生物质炭对铵态氮和磷酸盐的吸附过程,通过单因素分析对吸附效果的作用大小顺序遵循:添加土壤配比>溶液反应温度>溶液 pH;预测模型的判定系数 $R^2=0.993\ 6$ (铵态氮)和 $R^2=0.989\ 7$ (磷酸盐);校准判定系数 $R_{\text{adj}}^2=0.985\ 3$ (铵态氮), $R_{\text{adj}}^2=0.976\ 5$ (磷酸盐),模型拟合度较好。

3.2 对茶渣生物质炭吸附铵态氮和磷酸盐的交互作用的响应面分析可知,适当地增加吸附剂添加配比及增加溶液 pH 或者提高溶液 pH 及降低溶液反应温度可以促进对铵态氮的吸附;同时,增加生物质炭添加配比及溶液 pH,可增加磷酸盐的吸附。

3.3 茶渣生物质炭添加至土壤后对铵态氮和磷酸盐最佳吸附条件分别为:当生物质炭添加比为 1.0%、pH 10.0、溶液反应温度为 15 ℃,对铵态氮吸附率为 60.74%;当生物质炭添加比为 1.0%、pH 10、溶液反应温度为 35 ℃,对磷酸盐吸附率为 82.59%,与预测值 63.25%(铵态氮)和 81.54%(磷酸盐)基本吻合。

参考文献:

- [1] 陈宗懋.新时代中国茶产业的创新与发展[J].农学学报,2018,8(1):89-92.
- [2] 叶宏萌,华伟平,吴星怡,等.土地利用对红壤丘陵区小流域土壤侵蚀和养分流失的影响[J].环境化学,2022,41(12):4 154-4 164.
- [3] 席运官,陈瑞冰,李国平,等.太湖流域坡地茶园径流流失规律[J].生态与农村环境学报,2010,26(4):381-385.
- [4] 李长嘉,潘成忠,滕彦国.晋江西流域茶园降雨径流产污特征[J].环境工程学报,2013,7(8):2 909-2 914.
- [5] 苏海燕.沼液配合滴灌技术在茶叶种植中的应用探索[J].福建茶叶,2020,42(3):8-10.
- [6] 李茜.生物质炭及减量施肥对茶园地表径流氮磷流失和土壤培肥效应的影响[D].杭州:浙江大学,2018.
- [7] 梁峰,毛峰丽,刘雪平,等.柚子皮生物炭对 Cd^{2+} 的吸附性能研究[J].化学试剂,2016,37(1):21-24.
- [8] 范世锁,刘文浦,王锦涛,等.茶渣生物炭制备及其对溶液中四环素的去除特性[J].环境科学,2020,3(41):1 308-1 318.
- [9] 李斌,梅杨璐,范世锁.茶渣生物炭制备及其在环境领

- 域的应用研究进展[J].环境科学与技术,2020,**43**(9):67-78.
- [10] KARIMIFARD S, MOGHADDAM M R A. Application of response surface methodology in physicochemical removal of dyes from wastewater: A critical review[J]. *Sci. Total Environ.*, 2018, **640/641**: 772-797.
- [11] 喻曼, 潘建清, 高敬文, 等. 受镉污染耕地小麦种植中安全利用措施优化研究[J]. 浙江农业科学, 2022, **63**(11): 2 503-2 507, 2 574.
- [12] 郑舒怡, 左佳昕, 戴鑫, 等. 响应面法优化酶法制备薏苡仁寡糖工艺研究[J]. 化学试剂, 2023, **45**(2): 90-97.
- [13] 李晓, 孙志高, 李亚瑾, 等. 闽江河口湿地土壤对痕量元素吸附-解吸特征及其对 pH 值变化的响应[J]. 环境科学学报, 2020, **40**(5): 1 807-1 820.
- [14] 刘长涛, 侯建伟, 索全义, 等. 玉米秸秆生物质炭基肥的结构与性质表征[J]. 土壤, 2019, **51**(3): 465-469.
- [15] BERGLUND L M, DELUCA T H, ZACKRISSON O. Activated carbon amendments of soil alters nitrification rates in Scots pine forests[J]. *Soil Biol. Biochem.*, 2004, **36**: 2 067-2 073.
- [16] 杨帆, 李欢, 王幼奇, 等. 四乙烯五胺改性生物质炭对水中锌(II)的吸附性能研究[J]. 环境科学学报, 2020, **40**(2): 527-535.
- [17] 李晓娜, 宋洋, 贾明云, 等. 生物质炭对有机污染物的吸附及机理研究进展[J]. 土壤学报, 2017, **54**(6): 1 313-1 325.
- [18] 王静, 唐艳花, 吴娜, 等. 响应面法优化巯基纤维素膜去除 Cr^{6+} 的吸附条件[J]. 环境科学与技术, 2015, **38**(6): 167-171.
- [19] 曹蕾, 张龙, 张效华, 等. 新型复合材料处理氮磷废水的性能研究[J]. 环境科学学报, 2020, **40**(11): 3 950-3 957.
- [20] 饶本强, 张少丽, 李勇, 等. PVA-膨润土包埋固定化荒漠丝状蓝藻复合体的制备及其对 Cu (II) 的吸附特性[J]. 环境科学学报, 2020, **40**(11): 3 939-3 949.
- [21] 倪浩, 李义连, 崔瑞萍, 等. 白云石矿物对水溶液中 Cu^{2+} 和 Pb^{2+} 吸附的动力学和热力学[J]. 环境工程学报, 2016, **10**(6): 3 077-3 083.
- [22] 刘桂凤, 莫超, 朱宗强, 等. 白果壳遗态 $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{C}$ 复合材料的制备及其对 Sb (III) 去除性能[J]. 桂林理工大学学报, 2020, **40**(1): 182-192.
- [23] LI R, WANG J J, ZHOU B, et al. Recovery of phosphate from aqueous solution by magnesium oxide decorated magnetic biochar and its potential as phosphate-based fertilizer substitute[J]. *Bioresource Technol.*, 2016, **215**: 209-214.
- [24] 付军, 范芳, 李海宁, 等. 铁锰复合氧化物/壳聚糖珠: 一种环境友好型除磷吸附剂[J]. 环境科学, 2016, **37**(12): 4 882-4 890.
- [25] WU Y, LI X, YANG Q, et al. Hydrated lanthanum oxide-modified diatomite as highly efficient adsorbent for low-concentration phosphate removal from secondary effluents[J]. *J. Environ. Manage.*, 2019, **231**: 370-379.
- [26] OLADOJA N A, OLOLADE I A, OLASENI S E, et al. Synthesis of nano calcium oxide from a gastropod shell and performance evaluation for Cr (VI) removal from aqua system[J]. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2011, **51**(2): 639-648.
- [27] 谢发之, 李海斌, 李国莲, 等. 盾构渣土基碳复合陶粒的制备及除磷性能[J]. 应用化学, 2017, **34**(2): 211-218.
- [28] 赵桂瑜, 周琪. 页岩陶粒对水体中磷的吸附作用及动力学[J]. 环境污染与防治, 2007, **3**(29): 182-185.
- [29] PAN J J, JIANG J, XU R K. Adsorption of Cr (III) from acidic solutions by crop straw derived biochars[J]. *J. Environ. Sci.*, 2013, **25**(10): 1 957-1 965.
- [30] CHENG N, WANG B, FENG Q W, et al. Co-adsorption performance and mechanism of nitrogen and phosphorus onto eupatorium adenophorum biochar in water[J]. *Bioresource Technol.*, 2021, **340**: 125 696.
- [31] 吴奇, 谭美涛, 迟道才. 生物炭吸附富营养化水体氮、磷的研究进展[J]. 沈阳农业大学学报, 2022, **53**(5): 620-629.
- [32] TAN X F, LIU Y G, GU Y L, et al. Biochar-based nanocomposites for the decontamination of wastewater: A review[J]. *Bioresource Technol.*, 2016, **212**: 318-333.
- [33] WANG T T, LI G L, YANG K Q, et al. Enhanced ammonium removal on biochar from a new forestry waste by ultrasonic activation: Characteristics, mechanisms and evaluation[J]. *Sci. Total Environ.*, 2021, **778**: 146 295.
- [34] LI B T, JING F Y, HU Z Q, et al. Simultaneous recovery of nitrogen and phosphorus from biogas slurry by Fe-modified biochar[J]. *J. Saudi Chem. Soc.*, 2021, **25**(4): 101 213.
- [35] 孟依柯, 王媛, 汪传跃. 木屑生物炭在雨水径流中的氮磷淋出和吸附特性[J]. 环境科学, 2021, **42**(9): 4 332-4 340.
- [36] MENG Y K, WANG Y, WANG C Y. Phosphorus release and adsorption properties of polyurethane-biochar crosslinked material as a filter additive in bioretention systems[J]. *Polymers*, 2021, **13**(2): 1-17.

喹啉羧酸酯与水合肼的反应性凝胶及专一性识别

靳清贤, 张广慧, 刘冬, 朱性堃, 靳清艳, 赵文阁, 肖元化, 方少明*

(郑州轻工业大学 材料与化学工程学院, 河南 郑州 450000)

摘要:合成了一类喹啉羧酸酯类及其酰肼类衍生物, 结构经 HNMR、MS、熔点表征确认。发现了喹啉羧酸酯醇溶液与水合肼反应成胶的特性, 对形成的凝胶进行 SEM 结构分析, 发现其主要形成了长纤维结构。考察了溶液浓度、水合肼用量等因素对成胶性的影响。同时研究了喹啉羧酸酯与氨水、甲胺、苯肼、甲基肼的成胶性, 发现喹啉羧酸酯仅对水合肼表现出反应成胶性, 而对氨水、甲胺、苯肼、甲基肼则保持溶液状态。喹啉羧酸酯与水合肼的快速、专一、定量地形成一种反应性小分子凝胶这一特性, 有望为水合肼的定性定量分析提供一种新思路。

关键词:喹啉羧酸酯; 酰肼; 水合肼; 凝胶; 识别; 反应性小分子凝胶

中图分类号: O626 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)05-0093-05

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022.0903

Reactive Organogels and Specificity Recognition of Quinoline Carboxylate and Hydrazine Hydrate JIN Qing-xian, ZHANG Guang-hui, LIU Dong, ZHU Xing-kun, JIN Qing-yan, ZHAO Wen-ge, XIAO Yuan-hua, FANG Shao-ming* (School of Materials and Chemical Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450000, China)

Abstract: A class of quinoline carboxylic acid esters and their hydrazide derivatives were synthesized, and their structures were confirmed by HNMR, MS, and melting point characterization. The reaction characteristics of quinoline carboxylate alcohol solution with hydrazine hydrate to form gels were found, and SEM structural analysis of the formed gels revealed that they mainly formed long fiber structures. The effects of solution concentration and the amount of hydrazine hydrate on gel forming properties were investigated. The gel-forming properties of quinoline carboxylic acid esters with ammonia, methylamine, phenyl hydrazine and methylhydrazine were also investigated, and it was found that quinoline carboxylic acid esters showed reactive gel forming properties only for hydrazine hydrate, while they remained in solution for ammonia, methylamine, phenyl hydrazine and methylhydrazine. The property that quinoline carboxylic acid esters form a small reactive molecule gel with hydrazine hydrate rapidly, specifically and quantitatively, is expected to provide a new idea for qualitative and quantitative analysis of hydrazine hydrate.

Key words: quinoline carboxylate ester; carbohydrazide; hydrazine hydrate; gel; recognition; reactive organogels

有机小分子凝胶是具有明确的结构和分子量的有机小分子, 在一定溶剂(有机溶剂、水、离子液等)中, 并在一定条件下(加热、冷却、超声或其他外力)形成的能够自支持的软物质, 微观上呈有序分子排列的空间网络结构^[1]。有机小分子凝胶大多为物理性凝胶, 即凝胶分子在溶剂中加热溶解, 然后冷却成胶, 而化学反应性的有机小分子凝胶的报道偏少。

喹啉羧酸酯类衍生物是一类常见的有机杂环小分子, 可以用来制备各种喹啉类衍生物, 如醇类^[2]、酰胺^[3]、酰肼^[4,5]或还原成哌啶类^[6-9]等, 用于配位^[10,11]、药物活性^[12,13]等方面的研究。近年来喹啉类衍生物也被用于超分子凝胶方面研究, 如王海霞^[14]报道了喹啉-2-甲醛与氨基酸衍生物形成的金属超分子凝胶对 Zn^{2+} 的识别研究, 符永鹏^[15]报道喹啉-2-甲醛脒类有机凝胶对 Cu^{2+} 的识

别研究, 蒋鹏蔚^[16]报道一类刺激响应性 2-氨基喹啉衍生物超分子凝胶, 羟基喹啉更被广泛应用于金属配位类凝胶方面的研究^[17,18]。纵观喹啉羧酸酯衍生物的各类研究发现, 对其与水合肼的反应性成胶及对水合肼的识别研究尚未见有文献报道。

本课题组一直从事杂环类有机分子的研究, 曾报道了一类异噁唑小分子的化学反应性凝胶,

收稿日期: 2022-12-22; 网络首发日期: 2023-02-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(52272243); 河南省重点研发专项项目(221111240600)。

作者简介: 靳清贤(1979-), 男, 河南封丘人, 博士, 副教授, 主要研究方向为有机合成及超分子凝胶。

通讯作者: 方少明, E-mail: 59854479@qq.com。

引用本文: 靳清贤, 张广慧, 刘冬, 等. 喹啉羧酸酯与水合肼的反应性凝胶及专一性识别[J]. 化学试剂, 2023, 45(5): 93-97。

及其对 Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ 的识别^[19,20]。课题组近期在制备喹啉甲酰肼类化合物时发现,向喹啉羧酸甲酯的甲醇溶液中加入适量的水合肼,体系快速形成凝胶,经深入研究,发现了一类喹啉羧酸甲酯的肼解反应性小分子凝胶,并进行了成胶性深入研究。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Avance-400 型超导核磁共振仪 (DMSO- d_6 /CDCl₃ 为溶剂, TMS 为内标, 德国 Bruker 公司); Finnigan LCQ Advantage MAX 型质谱仪 (美国 Thermo 公司); JJ-1 型磁力电动搅拌器 (郑州长城科工贸有限公司); JE303GE 型电子天平 (上海舜宇恒平科学仪器有限公司); WRS-1B 型数字熔点仪 (上海物光仪器有限公司)。

喹啉-2-羧酸、喹啉-3-羧酸 (97%, 上海毕得医药科技股份有限公司); 水合肼 (80%)、氨水 (25%)、苯肼 (97%)、甲基肼 (40%)、甲胺 (40%) (山东晨旭化工科技有限公司); 甲醇 (99%, 鑫安化工有限责任公司); 碳酸钠 (99%, 济南创通化学有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 喹啉-2-羧酸甲酯的合成

将 17.3 g (0.1 mol) 喹啉-2-羧酸溶于 120 mL 无水甲醇中, 然后滴加 11.9 g (0.1 mol) 氯化亚砷, 加毕, 将反应置于 90 °C 油浴中加热反应 1 h, 然后冷却, 减压旋蒸除去多余的溶剂, 残余倒入水中后, 加碳酸钠水溶液调 pH 到碱性, 抽滤得白色固体 18.5 g, 产率 99%, 纯度 98%, m. p. 80~81 °C (文献^[21]值: 79~80 °C)。HNMR (CDCl₃, 400 MHz), δ : 8.38~8.27 (m, 2H); 8.21 (dd, 1H, J = 8.5, 3.0 Hz); 7.89 (dd, 1H, J = 8.2, 1.4 Hz); 7.84~7.75 (m, 1H); 7.71~7.60 (m, 1H); 4.13~4.02 (m, 3H)。MS, m/z (%): 188.2 [M+1]⁺。

1.2.2 喹啉-2-甲酰肼的合成

将 1.87 g (0.01 mol) 喹啉-2-羧酸甲酯溶解于 20 mL 甲醇中得透明溶液; 然后将 0.62 g (0.01 mol) 水合肼滴入上述溶液中, 混合均匀后, 室温搅拌 20 min 后过滤, 干燥得 1.88 g 喹啉-2-甲酰肼, 类白色固体, 产率 100%, 纯度 98.2%, m. p. 135~136 °C (文献^[10]值: 136~137 °C)。HNMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 10.01 (s, 1H); 8.53 (d,

1H, J = 8.5 Hz); 8.06 (dd, 6H, J = 12.5, 8.3 Hz); 7.84 (ddd, 1H, J = 8.4, 6.9, 1.4 Hz); 7.68 (ddd, 1H, J = 8.1, 6.9, 1.1 Hz); 4.64 (s, 2H)。MS, m/z (%): 188.2 [M+1]⁺。

1.2.3 喹啉-3-羧酸甲酯的合成

将 17.3 g (0.1 mol) 喹啉-3-羧酸溶于 120 mL 无水甲醇中, 然后滴加 11.9 g (0.1 mol) 氯化亚砷, 加毕, 将反应置于 90 °C 油浴中加热反应 1 h, 然后冷却, 减压旋蒸除去多余的溶剂, 残余倒入水中后, 加碳酸钠水溶液调 pH 到碱性, 抽滤得 18.5 g 白色固体, 产率 99%, 纯度 97%, m. p. 76~77 °C (文献^[22]值: 74~77 °C)。HNMR (CDCl₃, 400 MHz), δ : 9.45 (d, 1H, J = 2.1 Hz); 8.86 (d, 1H, J = 1.9 Hz); 8.18 (d, 1H, J = 8.5 Hz); 7.94 (d, 1H, J = 8.2 Hz); 7.84 (ddd, 1H, J = 8.4, 6.9, 1.4 Hz); 7.70~7.59 (m, 1H); 4.02 (s, 3H)。MS, m/z (%): 188.2 [M+1]⁺。

1.2.4 喹啉-3-甲酰肼的合成

将 1.87 g (0.01 mol) 喹啉-3-羧酸甲酯溶解于 20 mL 甲醇中得透明溶液; 然后将 0.62 g (0.01 mol) 水合肼滴入上述溶液中, 混合均匀后, 常温搅拌 20 min 后过滤, 干燥得 1.88 g 喹啉-3-甲酰肼, 类白色固体, 产率 100%, 纯度 95%, m. p. 176~177 °C (文献^[10]值: 176~178 °C)。HNMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 10.09 (s, 1H); 9.23 (d, 1H, J = 2.2 Hz); 8.77 (d, 1H, J = 2.0 Hz); 8.06 (m, 2H); 7.84 (ddd, 1H, J = 8.5, 6.9, 1.4 Hz); 7.67 (ddd, 1H, J = 8.1, 6.9, 1.1 Hz); 4.64 (s, 2H)。MS, m/z (%): 188.2 [M+1]⁺。

1.3 成胶识别实验

1.3.1 喹啉-2-羧酸甲酯和喹啉-3-羧酸甲酯分别与 水合肼 的反应性成胶实验

将 0.187 g (0.001 mol) 喹啉-2-羧酸甲酯或喹

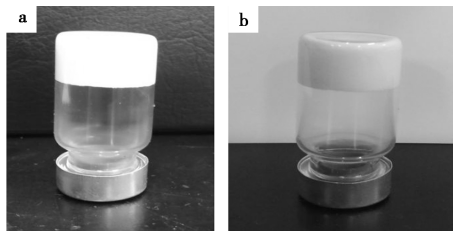


图 1 喹啉-2-羧酸甲酯(a)和喹啉-3-羧酸甲酯(b)的甲醇溶液与水合肼的反应性凝胶

Fig.1 Reactive gelation experiment of quinolin-2-carboxylate methyl ester (a) and quinolin-3-carboxylate methyl ester (b) with hydrazine hydrate

喹啉-3-羧酸甲酯置入白色试剂瓶中,加 2 mL 甲醇,超声溶解,然后将 0.062 g (0.001 mol) 水合肼滴入上述溶液中,混合均匀后,常温静置 25 min 得到凝胶,如图 1 所示。

1.3.2 喹啉-2-羧酸甲酯和喹啉-3-羧酸甲酯分别与苯肼的成胶实验

取一个 5 mL 螺口玻璃瓶,将 0.187 g (0.001 mol) 喹啉-2-羧酸甲酯或喹啉-3-羧酸甲酯溶解于 2 mL 甲醇中,超声将其溶解,得透明溶液;然后将 0.108 g (0.001 mol) 苯肼滴入上述溶液中,混合均匀,常温静置 3 h,体系呈溶液状态,且底部出现少许沉淀,不成胶。

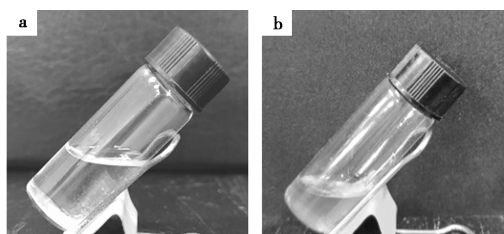


图 2 喹啉-2-羧酸甲酯(a)和喹啉-3-羧酸甲酯(b)的甲醇溶液与苯肼的反应性成胶实验

Fig.2 Reactive gelation experiment of quinolin-2-carboxylate methyl ester(a) and quinolin-3-carboxylate methyl ester(b) with phenyl hydrazine

1.3.3 喹啉-2-羧酸甲酯和喹啉-3-羧酸甲酯分别与氨水的成胶实验

取一个 5 mL 螺口玻璃瓶,将 0.187 g (0.001 mol) 喹啉-2-羧酸甲酯或喹啉-3-羧酸甲酯溶解于 2 mL 甲醇中,超声将其溶解,得透明溶液;然后将 0.078 g (0.001 mol) 氨水滴入上述溶液中,混合均匀,常温静置 3 h,体系呈浑浊液,不成胶。

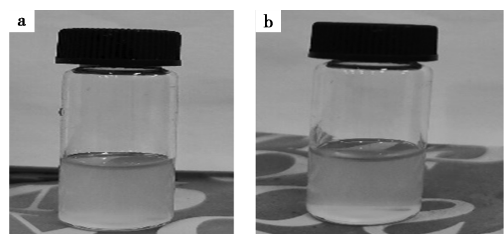


图 3 喹啉-2-羧酸甲酯(a)和喹啉-3-羧酸甲酯(b)的甲醇溶液与氨水的反应性成胶实验

Fig.3 Reactive gelation experiment of methanol solution of quinolin-2-carboxylate methyl ester(a) and quinolin-3-carboxylate methyl ester(b) with ammonia

1.3.4 喹啉-2-甲酰肼自身成胶实验

取一个 5 mL 螺口玻璃瓶,将 0.187 g (0.001

mol) 喹啉-2-甲酰肼溶解于 2 mL 甲醇中,加热将其溶解,得浅黄色溶液;然后常温静置 3 h,体系呈浅黄色溶液,出现沉淀,不成胶。



图 4 喹啉-2-甲酰肼的甲醇溶液加热溶解后冷却

Fig.4 Methanol solution of quinolin-2-formylhydrazine was heated and then cooled

2 结果与讨论

研究发现,喹啉-2-羧酸甲酯和喹啉-3-羧酸甲酯与水合肼等成胶性现象无太大差异,因此后续对各种因素对成胶性能影响研究,均选取喹啉-2-羧酸甲酯为研究对象。

2.1 喹啉-2-羧酸甲酯与水合肼形成凝胶的机理

喹啉-2-羧酸甲酯的甲醇溶液与水合肼混合后,在 30 min 内形成一种凝胶,经对其分析发现,其主要是因为喹啉-2-羧酸甲酯遇到水合肼之后,发生了快速的肼解反应,反应式如图 5 所示,对生成的凝胶物质进行核磁氢谱和质谱表征,均证实凝胶物质为喹啉-2-甲酰肼。

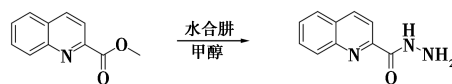


图 5 喹啉-2-甲酰肼的甲醇溶液与水合肼反应式

Fig.5 Reaction formula of quinolin-2-carboxylate methyl ester and hydrazine hydrate

其成胶机理主要是随着反应的进行,喹啉-2-羧酸甲酯逐渐转化为溶解性差一些的喹啉-2-甲酰肼,并因为喹啉-2-甲酰肼的分子间氢键作用,发生自组装形成凝胶。

2.2 喹啉-2-羧酸甲酯与水合肼形成凝胶的微观结构

喹啉-2-羧酸甲酯的甲醇与水合肼反应后所形成的反应性凝胶,运用扫描电子显微镜对其进行结构分析,表征发现该凝胶在微观结构上形成了一种长纤维结构,由于致密的纤维互相交织,形成了立体网络结构,因此能束缚住溶剂,阻止其自由流动,宏观上呈凝胶状态。

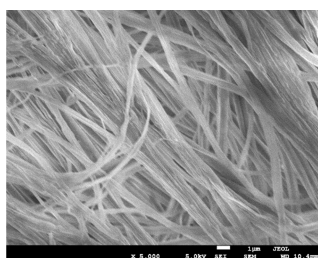


图 6 喹啉-2-羧酸甲酯与水合肼形成的凝胶 SEM 图

Fig.6 SEM image of gel of quinolin-2-carboxylate methyl ester with hydrazine hydrate

2.3 喹啉-2-羧酸甲酯与水合肼成胶的专一性研究

喹啉-2-羧酸甲酯的甲醇溶液遇到水合肼快速形成了凝胶,但其与苯肼、氨水、甲胺、甲基肼等类似胺类或肼类物质则均没有形成凝胶,如表 1 所示,仅仅表现为溶液,或只生成少量沉淀,这种独特的现象显示出喹啉-2-羧酸甲酯对水合肼具有专一识别效果。

表 1 不同胺类或肼与喹啉-2-羧酸甲酯甲醇溶液成胶性研究^注

Tab.1 Gelatinization of methanol solution of different amines or hydrazine and quinoline-2-carboxylate methyl ester

序号	胺或肼	成胶性
1	苯肼	溶液(少量沉淀)
2	甲胺	溶液
3	氨水	溶液(少量沉淀)
4	甲基肼	溶液

注:喹啉-2-羧酸甲酯的甲醇溶液浓度均为 187 mg/mL。

喹啉-2-羧酸甲酯与苯肼、氨水、甲胺、甲基肼等均没有形成凝胶,主要是苯肼、氨水、甲胺、甲基肼的化学活性不如水合肼,此外也因为反应后生成的酰胺或酰肼物性本身有较大差别。

2.4 喹啉-2-羧酸甲酯醇溶液的浓度对水合肼识别的影响

进一步对喹啉-2-羧酸甲酯与水合肼的成胶性研究发现,其成胶性与喹啉-2-羧酸甲酯醇溶液有一定关系,如表 2 所示,即喹啉-2-羧酸甲酯醇溶液最小成胶浓度为 46.8 mg/mL,低于这个浓度则只形成絮状悬浮沉淀或溶液。因为浓度较低时凝胶因子过少,不足以对溶剂产生束缚作用。

表 2 不同浓度的喹啉-2-羧酸甲酯甲醇溶液与水合肼成胶性研究^注

Tab.2 Effect of the concentrations of quinolin-2-carboxylate methyl ester methanol solution on gelatinization

序号	浓度/(mg·mL ⁻¹)	成胶性
1	187.0	成胶
2	93.5	成胶
3	46.8	成胶
4	30.0	沉淀
5	23.4	少量沉淀
6	15.0	溶液

注: $n(\text{水合肼}):n(\text{喹啉-2-羧酸甲酯})=1:1$ 。

2.5 水合肼的量对喹啉-2-羧酸甲酯醇溶液成胶性研究

进一步对喹啉-2-羧酸甲酯与水合肼专一识别性进行研究,发现其成胶快慢与水合肼的用量有密切相关,如表 3 所示,水合肼偏少时,则成胶时间延长,水合肼用量在 0.5 倍及以上时,成胶速度较快,当水合肼用量更少时,仅能生成沉淀。这是因为水合肼较少时,首先降低了肼解的速度,因此成胶时间延长;其次肼解产物也相应减少,因而逐渐不能形成凝胶。

表 3 水合肼的量对成胶性的影响^注

Tab.3 Effect of the amount of hydrazine hydrate on gelatinization

序号	水合肼的用量/g	成胶时间/min
1	0.250	15
2	0.124	19
3	0.062	25
4	0.030	45
5	0.015	仅为沉淀

注:喹啉-2-羧酸甲酯的甲醇溶液浓度均为 187 mg/mL,水合肼用量对应 1 mL 喹啉-2-羧酸甲酯的甲醇溶液。

3 结论

本文发现了一类喹啉羧酸酯与水合肼的快速专一性超分子凝胶,并对影响成胶的浓度、水合肼用量等因素进行了研究,其与水合肼形成的凝胶,可以过滤分离并称重鉴定。水合肼是常见的化工原料,易产生大量废水,我国将水合肼列为生活饮用水源地特定检测项目。目前,测定水合肼的方法主要有对二甲氨基苯甲醛、糠醛等化学衍生法。本文研究的喹啉羧酸酯类与水合肼的专一识别性凝胶,有望能对水合肼的定性定量鉴定提供一种新的方法和借鉴。

参考文献:

- [1] ABDALLAH D J, WEISS R G. Low molecular-mass organic gelators [J]. *Adv. Mater.*, 2000, **12** (17): 1 237-1 248.
- [2] WEITGENANT J A, MORTISON J D, HELQUIST P. Samarium-promoted coupling of pyridine-based heteroaryl analogues of benzylic acetates with carbonyl compounds [J]. *Org. Lett.*, 2005, **7** (17): 3 609-3 612.
- [3] XIE A M, CAO M P, LIU Y Y. The synthesis of tetrazoles in nanometer aqueous micelles at room temperature [J]. *Eur. J. Org. Chem.*, 2014, **2 014** (2): 436-441.
- [4] XU C, MAO H Y, ZHANG H Y. A novel coordination mode of 4, 5-diazafluorene-9-one quinaldinoylhydrazone (HL) to nickel and the crystal structure of $[\text{Ni}(\text{L})_2(\text{Py})_2](\text{H}_2\text{O})_2$ (Py = Pyridine) [J]. *J. Mol. Struct.*, 2003, **658** (1): 59-64.
- [5] MONGA V, NAYYAR A, VAITILINGAM B. Ring-substituted quinolines. Part 2: Synthesis and antimycobacterial activities of ring-substituted quinolinecarbohydrazide and ring-substituted quinolinecarboxamide analogues [J]. *Bioorgan. Med. Chem.*, 2004, **12** (24): 6 465-6 472.
- [6] HARDOUIN C, BAILLARD S, BARRIERE F. Multikilogram synthesis of a potent dual Bcl-2/Bcl-xL antagonist. 1. Manufacture of the acid moiety and development of some key reactions [J]. *Org. Process Res. Dev.*, 2020, **24** (5): 652-669.
- [7] SORRIBES I, LIU L, DOMENECH-CARBO A. Nanolayered cobalt-molybdenum sulfides as highly chemo- and regioselective catalysts for the hydrogenation of quinoline derivatives [J]. *ACS Catal.*, 2018, **8** (5): 4 545-4 557.
- [8] KANNENBERG A, ROST D, IBAUER S. A novel ligand for the enantioselective ruthenium-catalyzed olefin metathesis [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2011, **50** (14): 3 299-3 302.
- [9] HAN C F, ZHANG E, FENG X Q. $\text{B}(\text{C}_6\text{F}_5)_3$ -catalyzed metal-free hydrogenations of 2-quinolinecarboxylates [J]. *Tetrahedron Lett.*, 2018, **59** (14): 1 400-1 403.
- [10] YEOH K K, CHAN M C, THALHAMMER A. Dual-action inhibitors of HIF prolyl hydroxylases that induce binding of a second iron ion [J]. *Org. Biomol. Chem.*, 2013, **11** (5): 732-745.
- [11] 王海平. 新型喹啉-酰胺型配体稀土配合物及其杂化发光材料的研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2010.
- [12] FIORILLO B, SEPE V, CONFLITTI P. Structural basis for developing multitarget compounds acting on cysteinyl leukotriene receptor 1 and G-protein-coupled bile acid receptor [J]. *J. Med. Chem.*, 2021, **64** (22): 16 512-16 529.
- [13] PATEL S R, GANGWAL R, SANGAMWAR A T. Synthesis, biological evaluation and 3D QSAR study of 2, 4-disubstituted quinolines as anti-tuberculosis agents [J]. *Eur. J. Med. Chem.*, 2015, **93**: 511-522.
- [14] 王海霞. 氨基酸衍生物凝胶因子的合成及其荧光金属锌凝胶的构建和 Zn^{2+} 的检测 [D]. 衡阳: 南华大学, 2021.
- [15] 符永鹏. 长链烷氧基芳酰胺和芳胺类离子响应型超分子凝胶的合成及性能研究 [D]. 兰州: 西北师范大学, 2013.
- [16] 蒋膨蔚. 刺激响应型超分子有机凝胶的设计、组装及其应用研究 [D]. 兰州: 西北民族大学, 2022.
- [17] 贾钰. 基于喹啉、卡巴胺功能化柱 [5] 芳烃的超分子材料设计合成及性能研究 [D]. 兰州: 西北师范大学, 2022.
- [18] 曹志嘉. 香豆素类和喹啉类小分子有机凝胶因子的合成及性质研究 [D]. 石家庄: 河北师范大学, 2012.
- [19] JIN Q X, Li J, ZHANG L, FANG S M. Reactive organogels based on isoxazole esters: Alkali metal ions selective gelation and crystallization [J]. *Crystengcomm*, 2015, **17** (42): 8 058-8 063.
- [20] 靳清贤, 李郜里, 吴诗德, 等. 一种对氢氧化锂、氢氧化钠、氢氧化钾、可视化选择性识别的有机小分子: ZL201 510 120 045 [P]. 2017-12-01.
- [21] SAKAI N, TAMURA K, SHIMAMURA K. Copper-catalyzed [5+1] annulation of 2-ethynylanilines with an N, O-acetal leading to construction of quinoline derivatives [J]. *Org. Lett.*, 2012, **14** (3): 836-839.
- [22] BABJAK M, CALETKOVA O, ĎURISOVA D. Iron pentacarbonyl in alkoxy- and aminocarbonylation of aromatic halides [J]. *Synlett*, 2014, **25** (18): 2 579-2 584.

分离提取技术

微波协同离子液体 [BMIm]Br 提取茶皂素

喻冬秀^{*1,2}, 叶旅彬¹, 王秋怡¹, 黄淑莉¹, 钟建军¹

(1. 电子科技大学 中山学院 材料与食品学院, 广东 中山 528402; 2. 暨南大学 化学与材料学院, 广东 广州 510632)

摘要:采用微波协同离子液体 [BMIm]Br 对茶油饼中茶皂素进行提取, 利用单因素实验及 Box-Behnken 响应面法对离子液体种类、浓度、固液比、提取温度、提取时间和微波功率等因素进行优化, 得到基于 5.00 g 初料的最优条件为: 离子液体 [BMIm]Br 浓度为 1.13 mol/L、料液比 1:10 (g/g)、微波功率 300 W、提取时间 13 min、提取温度 68 °C, 得率为 (15.01±0.16)%, 提取率为 80.57%, 纯度为 83.06%。显色反应和 FT-IR 分析显示微波协同离子液体提取的茶皂素具有茶皂素的结构特征, 接触角结果显示本研究方法所提取的茶皂素润湿性优于市售茶皂素 (>95%), 临界胶束浓度 CMC 为 0.44 g/L, 略低于市售茶皂素 (>95%) 的 0.47 g/L。

关键词:离子液体; 微波技术; 茶皂素; 表面活性

中图分类号: O628.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283 (2023) 05-0098-08

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022.0825

Microwave Assisted Extraction of Tea Saponin by Ionic Liquid [BMIm]Br YU Dong-xiu^{*1,2}, YE Lu-bin¹, WANG Qiu-yi¹, HUANG Shu-li¹, ZHONG Jian-jun¹ (1. College of Material and Food, Zhongshan Institute, University of Electronic Science and Technology, Zhongshan 528402, China; 2. College of Chemistry and Materials Science, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: Tea saponin was extracted from camellia oil bran by microwave synergistic ionic liquid [BMIm]Br. The type and concentration of ionic liquid, solid-liquid ratio, extraction temperature, extraction time and microwave power were optimized by single factor experiment and Box-Behnken response surface method. The results showed that the optimal extraction conditions based on 5.00 g initial material were following the concentration of ionic liquid [BMIm]Br of 1.13 mol/L, solid-liquid ratio of 1:10 (g/g), the microwave power of 300 W, extraction time of 13 min, extraction temperature of 68 °C. Under these conditions, the yield of tea saponin was (15.01±0.16)%, the extraction rate was 80.57% and the purity of tea saponin was 83.06% were achieved. Color reaction and FT-IR analysis showed that it has the structural characteristics of tea saponin which was extracted by microwave synergistic ionic liquid was complete, and the contact angle results showed that its wettability of self-made tea saponin was better than that of commercial tea saponin (>95%), and its CMC (Critical micelle concentration) was 0.44 g/L, slightly lower than 0.47 g/L of commercially available tea saponin (>95%).

Key words: ionic liquid; microwave technique; tea saponin; surface activity

《中共中央国务院关于做好 2022 年全面推进乡村振兴重点工作的意见》中明确指示: 支持扩大油茶种植面积, 改造提升低产林^[1]。随着油茶产业的发展, 油茶经榨取后的滤渣—茶油饼必将随着茶油产量的增加而增加, 茶油饼中富含天然非离子表面活性剂—茶皂素, 具有优良的表面活性和生物活性^[2-4]。随着对天然产物消费需求的增加, 天然产物茶皂素备受关注, 相关研究和应用涉及到日化、食品、医药、农药等领域^[5-8]。

天然产物提取优化主要是通过改变外部条件, 如提取媒介、提取条件等手段, 增大提取目标物的溶解度、扩散速度等来达到增加其收率的目的。早期的茶皂素提取主要以水提和醇提为主,

存在提取率不高、提取时间长、能耗高等明显缺点。优化茶皂素提取的研究越来越受到关注^[9], 国内外对茶皂素提取技术的研究主要以有机溶剂(醇类)和辅助技术(超声、微波等)相结合^[10-12]以及利用超临界 CO₂ 萃取、超声耦合双水相体系、生物提取等方法^[13-15], 以达到提高提取率、缩短

收稿日期: 2022-11-11; 网络首发日期: 2023-02-16

基金项目: 广东省教育厅创新科技项目 (2019KTSCX212)。

作者简介: 喻冬秀 (1977-), 女, 湖南宁乡人, 博士, 副教授, 主要研究方向为精细化学品的绿色制备及技术, E-mail: 5532022@qq.com。

引用本文: 喻冬秀, 叶旅彬, 王秋怡, 等. 微波协同离子液体 [BMIm]Br 提取茶皂素 [J]. 化学试剂, 2023, 45(5): 98-105。

提取时间、降低能耗的目的。

离子液体因其毒性小、挥发性低、破细胞壁能力强成为广泛关注的生物质提取用绿色溶剂^[16-18],被应用于中草药、食品及日化等领域中人参多糖、丹皮酚、虾青素、茜草素、总皂苷、总黄酮等天然产物的提取,相对其他有机溶剂,离子液体提取技术呈现出萃取率高、性质稳定、溶剂用量小、易除、污染小等优势^[19-27],可减少在提取过程及提取结束后产生的环境问题、安全问题甚至生命健康等系列问题,可作为一种新型的天然产物萃取分离溶剂。本文在优选咪唑类离子液体水溶液为溶剂的基础上,结合微波萃取法,通过响应面试验法设计,探究应用咪唑溴盐离子液体水溶液从茶油饼中提取茶皂素的工艺条件。茶皂素作为一种天然非离子表面活性剂,其泡沫性能和表面张力是其重要性质^[2,28],本研究对比分析了离子液体提取后茶皂素的表面活性。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

A10 型研磨机、RV10 型数显型旋转蒸发仪(德国 IKA 集团);索氏提取器(上海锦幻仪器仪表有限公司);KDM 型电子控温电热套(新华电热仪器厂);AL104 型万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);XH-100A 型电脑微波催化合成萃取仪(北京祥鹤科技发展有限公司);NDJ-1S 型数字粘度计(上海奇立科学仪器有限公司);Labconco 型真空冷冻干燥箱(美国 Labconco 公司);UV-型紫外分光光度计(日本岛津公司);Spectrum TWO 型红外光谱仪(美国 PerkinElmer 公司);JCY-3 型接触角测试仪(上海方瑞仪器有限公司);BZY-1 型全自动表面张力仪(上海衡平仪器仪表厂);90Plus Zeta 型激光粒度分析仪(美国布鲁克海文仪器公司)。

石油醚、硫酸(分析纯,广州化学试剂厂);茶皂素、香草醛(分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);离子液体、1-乙基-3-甲基咪唑溴盐([EMIm]Br)、1-丁基-3-甲基咪唑溴盐([BMIm]Br)、1-辛基-3-甲基咪唑溴盐([OMIm]Br)、1-癸基-3-甲基咪唑溴盐([C₁₀MIm]Br)、1-丁基-3-甲基咪唑氯([BMIm]Cl)(上海麦克林生化科技有限公司);茶油饼来源于湖南省耒阳市;蒸馏水自制。

1.2 实验方法

1.2.1 茶皂素的提取工艺

脱脂预处理:将 1 000.00 g 市售茶油饼使用研磨机粉碎 1 min,得茶油饼粉末;然后用大滤纸将茶油饼粉末包裹好,置入索氏提取器底部,采用石油醚虹吸 6~7 次,60 ℃ 鼓风烘干,捣碎,得 911.23 g 脱脂茶油饼粉末,密封于塑料袋中,常温保存备用,记为初料。

提取:取 5.00 g 初料,按料液比向样品中加入提取溶剂,采用 XH-100A 型电脑微波催化合成萃取仪提取,再用布氏漏斗抽滤,经旋转蒸发浓缩后,用 75%乙醇溶解,再浓缩、冻干至恒重得茶皂素粗品,称重记为 m_0 mg。采用 80%乙醇溶解获茶皂素粗品溶液 25 mL,记为待测液。

1.2.2 茶皂素的测定方法

1.2.2.1 标准曲线的建立

利用香草醛-浓硫酸法对茶皂素标准品进行显色反应后,在紫外分光光度计上进行全波段扫描,得其最大吸收波长为 431.5 nm。然后将茶皂素标准样品配制为 0、2、4、6、8、10 mg/mL 的梯度浓度,显色反应后在最大吸收波长下测定吸光度,获得回归方程为 $y=0.051\ 21x+0.003\ 43$, y 为吸光度, x 为茶皂素的质量浓度(mg/mL), $R^2=0.999\ 81$ 。

1.2.2.2 待测液中茶皂素含量的测定

取 1 mL 待测液稀释 n 倍后,按照 1.2.2.1 中的方法测定吸光度 A 。

$$c = n(A - 0.003\ 43) / 0.051\ 21 \quad (1)$$

式中: c 为待测液中茶皂素的浓度,mg/mL; n 为稀释倍数。

$$Y = [(c \times 25) / m_0] \times 100\% \quad (2)$$

式中: Y 为茶皂素的纯度, %。

$$X = [(c \times 25 \times 911.23) / (5\ 000 \times 1\ 000)] \times 100\% \quad (3)$$

式中: X 为茶皂素的得率, %; 5 000 为初料重量,mg; 911.23/1 000 为市售茶油饼脱脂处理的初料收率。

1.2.2.3 茶油饼中茶皂素含量测定

采用索氏回流提取法^[29]对本实验用茶油饼中的茶皂素进行提取,按 1.2.2 方法测定茶皂素含量为 $(18.63 \pm 0.11)\%$ 。

$$s = (X / \text{油茶饼中茶皂素的含量}) \times 100\%$$

式中: s 为茶皂素的提取率, %。

1.2.3 单因素实验设计

取 5.0 g 初料,使用离子液体为提取溶剂,分别考察离子液体的种类、浓度(0.6、0.7、0.8、1.0、1.1、1.2、1.3 mol/L)、料液比(1:6、1:8、1:10、1:12、1:14、1:16、1:18(g/g))、微波提取的功率(200、250、300、350、400、450、500 W)、微波提取

时间(5、10、15、20、25 min)、微波提取温度(60、65、70、75、80 ℃)的条件对茶皂素提取的影响,确定最佳条件。特别说明,微波提取的条件在设备上设置好后,由设备自动按照设置条件完成。

1.2.4 响应面优化试验设计

在单因素试验的基础上,采用 Design-Expert 13.0.0 软件进行 Box-Behnken 响应面分析法,以离子液体浓度(A)、微波提取时间(B)、微波提取温度(C)为响应变量,茶皂素提取量为响应值,进行三因素三水平的响应面实验设计(见表 1),确定提取茶皂素的最优参数。

表 1 响应面法因素水平设计

Tab.1 Factors and levels in response surface design			
水平	A/(mol·L ⁻¹)	B/min	C/℃
-1	0.75	5	60
0	1.00	10	70
1	1.25	15	80

1.2.5 数据处理方法

采用 OriginPro 9.1 软件进行图表绘制;采用 Design-Expert 13.0.1 软件进行 Box-Behnken 响应面实验设计、数据回归分析;以上各组试验均进行 3 组平行试验,取平均值进行作图。

1.2.6 初步结构及表面活性的分析

1.2.6.1 初步结构分析

参照文献[30],采用醋酐-浓硫酸(Liebermann-Burchard)反应,通过显色情况判断茶皂素结构—三萜皂苷的存在,再结合傅里叶红外光谱进行初步结构分析。

1.2.6.2 Zeta 电位的测定

分别配制自制茶皂素和市售茶皂素(>95%)的 2 g/L 水溶液,测试其 Zeta 电位。

1.2.6.3 临界胶束浓度的测定

采用具塞量筒法测定 0.1 g/L 的茶皂素水溶液的泡沫性能,采用接触角法测定润湿性能,采用表面张力法测定临界胶束浓度 CMC。

2 结果与讨论

2.1 提取条件的优化

2.1.1 离子液体种类的影响

依据相似相溶原则,提取剂与被提取对象性质相似,具有良好溶解性是提取剂选择的基本原则,从茶皂素分子结构可知其具有—OH、—O—、—COO—、—COOH 等强电负性的含氧基团,是极性的,具有良好的亲水性,而常见的离子液体中咪唑

类离子液体比吡啶基、铵基的亲水性强^[31],故选择 5 种咪唑类离子液体作为辅助提取剂来优选。在料液比为 1:10(g/g)、微波时间 10 min、提取温度 70 ℃、微波功率 400 W、1.00 mol/L 离子液体水溶液条件下,考察离子液体种类对茶皂素提取量的影响,结果见表 2。

表 2 离子液体种类对茶皂素提取量的影响

Tab.2 Effect of ionic liquid type on the extraction amount of tea saponin

离子液体的种类	[EMIm]Br	[BMIm]Br	[OMIm]Br
提取剂粘度/(mPa·s)	31	125	402
茶皂素的提取量/(mg·mL ⁻¹)	36.12±0.03	36.02±0.05	27.53±0.10

离子液体的种类	[C ₁₀ MIm]Br	[BMIm]Cl
提取剂粘度/(mPa·s)	478	248
茶皂素的提取量/(mg·mL ⁻¹)	20.35±0.13	32.64±0.07

由实验结果可知,随着咪唑溴盐直碳链上碳原子数 n 的增加,茶皂素的提取量逐渐减少,说明阳离子结构对提取效果有着显著影响,主要是因为茶皂素是三萜类皂甙,自身空间结构较复杂,随着咪唑溴盐直碳链原子数的增加,导致两者间的空间位阻作用加剧,溶剂化作用下降引起溶解度下降,同时发现随着咪唑溴盐直碳链上碳原子数 n 的增加提取液黏度增大,导致传质阻力增大,引起茶皂素提取量下降。对比 [BMIm]Br 和 [BMIm]Cl,发现同阳离子的咪唑溴盐提取效果优于咪唑氯盐,主要是由于 Br⁻ 的离子半径大于 Cl⁻,受其诱导力影响,可极化度增大,溶解性增强。综合经济成本,选择 [BMIm]Br 离子液体水溶液为提取剂。

2.1.2 离子液体浓度的影响

在料液比为 1:10(g/g)、微波时间 10 min、提取温度 70 ℃、微波功率 400 W 条件下,考察 [BMIm]Br 离子液体水溶液浓度对茶皂素提取量的影响,结果见图 1。由图 1 可知,随着离子液体浓度的增大,茶皂素提取量呈现先增大后减少的

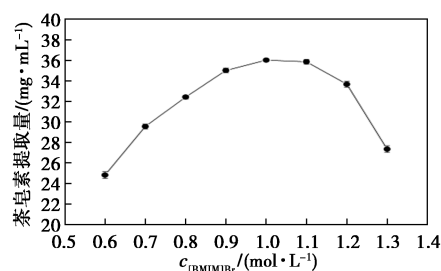


图 1 离子液体浓度对茶皂素提取量的影响

Fig.1 Effect of ionic liquid concentration on the extraction amount of tea saponin

趋势,在 $c_{[\text{BMIm}]\text{Br}} = 1.0 \text{ mol/L}$ 位置出现最大值。主要是因为随着[BMIm]Br 用量的增加,溶剂化作用增强,茶皂素在该提取剂的溶解度逐渐增大。故离子液体浓度选择 1.0 mol/L 为适宜浓度。

2.1.3 料液比对茶皂素提取的影响

在 1.00 mol/L [BMIm]Br 离子液体水溶液,微波时间 10 min 、提取温度 70°C 、微波功率 400 W 条件下,考察料液比对茶皂素提取量的影响,结果见图 2。由图 2 可知,随着料液比的增大,茶皂素提取量呈先增加后趋于平缓的趋势。在同等条件下,茶皂素在茶油饼与提取液中的浓度差随着料液比的增大是逐渐增大的,根据分子扩散理论可知,料液比的增大有利于茶皂素的提取,但料液比增大到一定程度时,浓度差的推动力优势逐渐减弱,再加大料液比,会出现提取剂消耗过多、后续回收难度加大、提取成本提高等问题,故选择 $1:10(\text{g/g})$ 为适宜料液比。

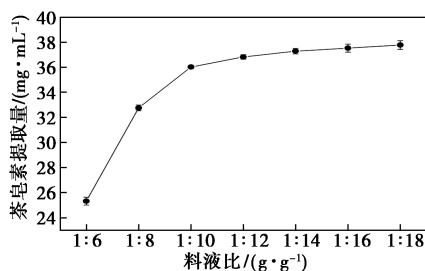


图 2 料液比对茶皂素的提取量影响

Fig.2 Effect of liquid-solid ratio on the extraction amount of tea saponin

2.1.4 提取温度对茶皂素提取量的影响

在 1.00 mol/L [BMIm]Br 离子液体水溶液,料液比 $1:10(\text{g/g})$ 、微波时间 10 min 、微波功率 400 W 条件下,考察微波提取温度对茶皂素提取量的影响,结果见图 3。由图 3 可知,随着提取温度升高,茶皂素提取量呈现先上升后降低的趋势。随着温度的升高,分子活化能增加,无规则热运动加剧,分子扩散速率的提升引起茶皂素溶解度增

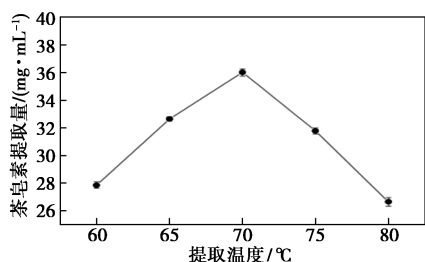


图 3 微波提取温度对茶皂素提取量的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on the extraction amount of tea saponin

大,导致茶皂素提取量增大,但也引起茶油饼中能与茶皂素产生复合物的蛋白、多糖等其他成分浸出,由于复合物水溶性低,导致提取液中茶皂素提取量反而下降。故微波提取温度为 70°C 。

2.1.5 提取时间对茶皂素提取量的影响

在 1.00 mol/L [BMIm]Br 离子液体水溶液,料液比 $1:10(\text{g/g})$ 、微波提取温度为 70°C 、微波功率 400 W 条件下,考察微波提取时间对茶皂素提取量的影响,结果见图 4。由图 4 可知,茶皂素提取量随着提取时间的增加呈现先上升后下降趋势,在 10 min 处出现最大值。可能原因是微波条件下,茶皂素溶出速率较快,但随着时间增加,物料与提取剂中茶皂素的浓度差减少,传质推动力减少,茶皂素提取值降速,但其他杂质物质的浸出率增加,且加剧了茶皂素与之形成不溶物,导致茶皂素提取量不升反降。故微波提取时间采用 10 min 。

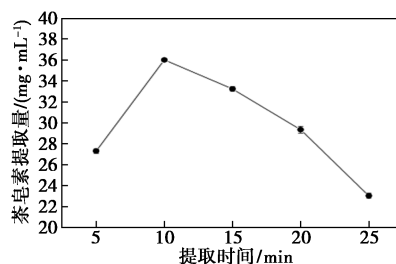


图 4 提取时间对茶皂素提取量的影响

Fig.4 Effect of extraction time on the extraction amount of tea saponin

2.1.6 微波功率对茶皂素提取量的影响

在 1.00 mol/L [BMIm]Br 离子液体水溶液,料液比 $1:10(\text{g/g})$ 、微波提取温度为 70°C 、微波时间为 10 min 条件下,考察微波功率对茶皂素提取量的影响,结果见图 5。由图 5 可知,茶皂素提取量随着微波功率增大呈现先增后减的趋势,在 300 W 处出现最大值。根据微波提取作用机制可知,在微波场的作用下分子能产生瞬时极化并迅速生成大量的热能,微波能量会导致细胞破裂,加

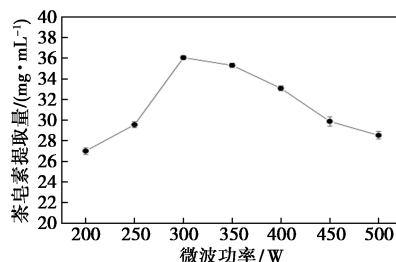


图 5 微波功率对茶皂素提取量的影响

Fig.5 Effect of microwave power on the extraction amount of tea saponin

快分子运动,有利于有效成分的溶解和释放,提高提取量;但微波辐射功率过高同时加速了茶油饼内其他杂质(蛋白和多糖等)的溶出,与茶皂素形成不溶性沉淀,降低茶皂素提取量。故微波功率采用 300 W。

2.2 Box-Behnken 响应面法优化实验

2.2.1 响应面法优化设计及结果

响应面实验结果见表 3。利用 Design-Expert 13.0.1 软件对表 3 中提取数据进行回归模型及方差分析结果拟合,得到相关的茶皂素提取量(Y)的线性回归方程: $Y=37.05-1.06A-1.02B-0.7675C+0.4325AB-1.77AC+0.3475BC-6.10A^2-4.09B^2-4.65C^2$,该回归方程的二次项系数均为负值,表明响应面具有极大值,可进行优化分析。

表 3 响应面法提取茶皂素的结果

Tab.3 Results for response surface method to extract tea saponin

序号	A	B	C	茶皂素提取量/($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
1	1	15	80	26.91±0.45
2	1	10	70	37.44±0.23
3	1	5	80	28.25±0.36
4	0.75	10	80	28.47±0.11
5	1	10	70	37.05±0.38
6	1.25	5	70	26.52±0.31
7	1.25	10	60	27.69±0.13
8	1.25	10	80	22.55±0.09
9	1	5	60	30.42±0.48
10	0.75	5	70	29.25±0.36
11	1	15	60	27.69±0.21
12	1	10	70	36.66±0.15
13	0.75	10	60	26.52±0.16
14	1.25	15	70	25.35±0.34
15	0.75	15	70	24.18±0.22
16	1	10	70	37.44±0.13
17	1	10	70	36.27±0.40

对回归方程进行方差分析,结果见表 4。由表可知,模型 $P<0.0001$ 显著,失拟项 $P=0.9442>0.05$ 不显著,表明建模成功,且未知因素对实验结果的干扰较小。调整决定系数 $R^2_{\text{adj}}=0.9957$,校正决定系数 $R^2=0.9902$,说明模型拟合度高,回归方程能够解释实验 99.02% 响应值的变化,且 $R^2_{\text{adj}}=R^2$ 两者数值相近,都接近于 1,表明该回归方程进行茶皂素提取量预测效果好。变异系数 $CV=1.63\%<5\%$,表明模型具有较高的信度和较好的重现性。 F 值的大小是评价各变量对响应值影响程度的重要指标, F 值越大,表明有关模型分量对响应影响贡献度越高,故各因素对茶皂素提

取量影响的次序为: $A>B>C$ 。

表 4 茶皂素提取工艺方差分析^注

Tab.4 Variance analysis of the extraction process of tea saponin

方差来源	平方和	自由度	方差	F 值	P 值	显著性
回归模型	389.46	9	43.27	180.96	<0.0001	**
A	8.99	1	8.99	37.59	0.0005	**
B	8.28	1	8.28	34.64	0.0006	**
C	4.71	1	4.71	19.71	0.0030	**
AB	0.7482	1	0.7482	3.13	0.1202	
AC	12.57	1	12.57	52.55	0.0002	**
BC	0.4830	1	0.4830	2.02	0.1982	
A^2	156.53	1	156.53	654.58	<0.0001	**
B^2	70.34	1	70.34	294.14	<0.0001	**
C^2	90.93	1	90.93	380.27	<0.0001	**
残差	1.67	7	0.2391			
失拟项	0.1372	3	0.0457	0.1191	0.9442	
纯误差	1.54	4	0.3842			
合计	391.13	16				
$R^2=0.9957, R^2_{\text{adj}}=0.9902, R^2_{\text{pred}}=0.9882$						

注: * 代表差异显著, $p<0.05$; ** 代表差异极显著, $p<0.01$ 。

2.2.2 各因素之间的交互作用分析

运用 Design-Expert 13.0.1 统计和分析获得不同因素交互作用的响应面图如图 6~8 所示。通过曲面的倾斜度和等高线可确定两者对响应值的影响程度,倾斜度越高,即坡度越陡,等高线图越接近椭圆,说明两者交互作用越显著,反之则表示因素之间的交互作用不显著^[26]。

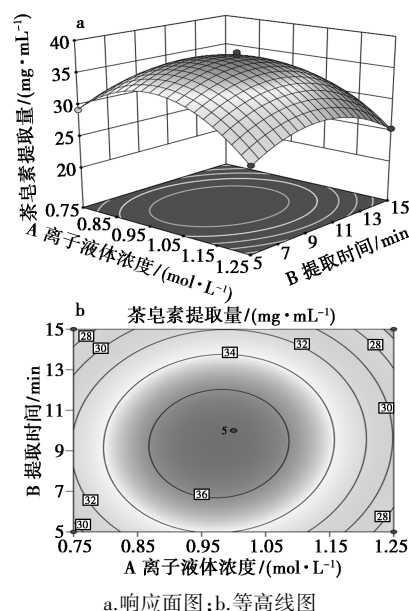


图 6 不同离子液体浓度和提取时间下茶皂素提取量响应面图

Fig.6 Response surface diagram of tea saponin extraction under different ionic liquid concentration and extraction time

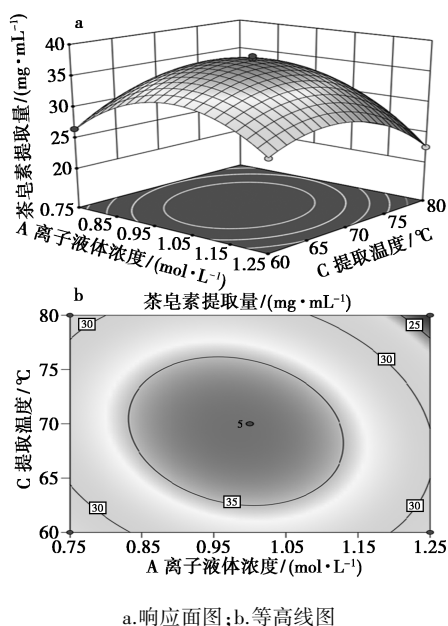


图 7 不同离子液体浓度和提取温度下茶皂素提取量响应面图

Fig.7 Response surface diagram of tea saponin extraction under different ionic liquid concentration and extraction temperature

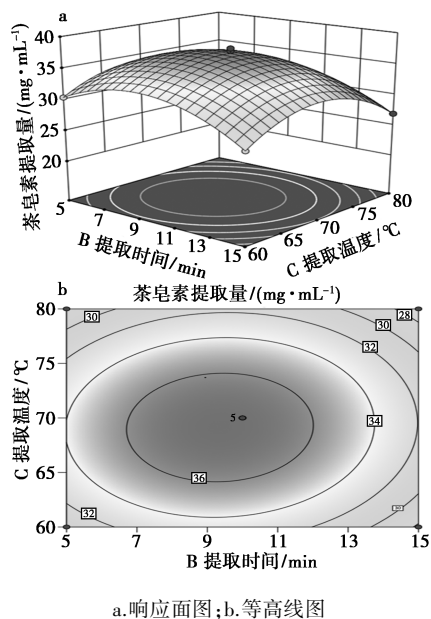


图 8 不同提取温度和提取时间下茶皂素提取量响应面图

Fig.8 Response surface diagram of tea saponin extraction under different extraction temperature and time

从图 6~8 可知,在料液比 1:10(g/g)、微波功率为 300 W 时,提取温度、微波提取时间和离子液体浓度 3D 曲面的倾斜度较高,且交互作用等高线呈现显著椭圆形,表明各因素间的交互作用显著,其中离子液体浓度与提取温度的交互作用

对茶皂素提取量影响最为显著。通过图 6 数据分析结果显示:微波提取温度以及离子液体浓度两者之间相互作用的结果模型是呈抛物面分布,即当微波提取温度不变时,随着离子液体浓度的增加,实验所提取的茶皂素提取量会先升高后降低。同理可知,当离子液体浓度不变时,随着微波提取温度的增加,实验所提取的茶皂素提取量也呈现出先增加后减小趋势。结合度离子液体浓度与微波提取时间两者交互作用下的最佳提取工艺组合为:离子液体浓度为 0.875~1.05 mol/L,提取时间为 7~11 min。同理,从图 7 可获得,结合度离子液体浓度与微波提取温度两者交互作用下的最佳提取工艺组合为:离子液体浓度为 0.875~1.05 mol/L,提取温度为 63~75 °C;从图 8 可获得,结合度离子液体浓度与微波提取温度两者交互作用下的最佳提取工艺组合为:提取时间为 7~11 min,提取温度为 63~75 °C。

2.2.3 最优工艺条件试验验证

采用 Design Expert 13.0.1 软件分析,茶皂素提取最佳的优化参数:料液比为 1:10(g/g)、微波功率 300 W、离子液体[BMIm]Br 浓度 1.13 mol/L、提取时间 13.26 min、提取温度 68.44 °C,预测茶皂素提取量为 32.77 mg/mL。实际操作中修正方案为料液比为 1:10(g/g)、微波功率 300 W、离子液体浓度 1.13 mol/L、提取时间 13 min、提取温度 68 °C,在此条件下进行 3 次验证实验,茶皂素提取量为 (32.95 ± 0.35) mg/mL,与理论预测值比较接近,因此采用该模型优化得到茶皂素提取的工艺参数是可靠的。在最佳工艺条件下,提取的茶皂素纯度为 83.06%。张雪莉等^[11]采用 75%乙醇多模式超声辅助提取茶皂素,提取时间为 20 min,茶皂素得率为 $(22.79 \pm 1.16)\%$ 。杜金婷等^[14]采用 27.05%乙醇超声耦合双水相体系提取茶皂素,提取时间为 32 min,茶皂素得率为 $(26.21 \pm 0.54)\%$,纯度为 $(66.09 \pm 0.04)\%$ 。胡福田等^[32]采用微波预处理超声协助水浸提茶皂素,提取时间为 30 min,茶皂素得率为 12.38%,纯度为 54.68%。本文采用微波协同离子液体[BMIm]Br 对茶油饼中茶皂素进行提取,在最佳工艺条件下,茶皂素提取量为 (32.95 ± 0.35) mg/mL,得率为 $(15.01 \pm 0.16)\%$,提取率为 80.57%,纯度为 83.06%。

2.3 初步结构分析及表面活性分析

2.3.1 茶皂素的初步结构分析

利用醋酐-浓硫酸(Liebermann-Burchard)反

应对自制的茶皂素粉体进行三萜皂苷结构初检:取 0.1 g 自制品溶于 10 mL 醋酸酐中,用玻璃棒搅拌直至完全溶解,此时溶液呈现橙黄色,接着在溶液中滴加 2~3 滴浓硫酸,待反应 30 min 后可以观察到溶液呈现分层现象,再次搅拌混匀后发现溶液颜色变成了棕红色,静置 30 min 后,发现溶液由棕红色变成了紫色,说明存在三萜皂苷结构。

对自制及市售>95%的茶皂素进行 FT-IR 分析,图谱见图 9。从图 9 可知,二者的图谱相似度高,都出现了茶皂苷结构式的一OH、C=O、C—O、C=C 等主要基团:3 400 cm^{-1} 为一OH 伸缩振动区域,2 930 cm^{-1} 是—CH₂ 和—CH₃ 伸缩振动,1 700 cm^{-1} 是碳碳双键(C=C)以及羰基(C=O)伸缩振动区,1 470 cm^{-1} 为亚乙烯基伸缩振动区,1 339 cm^{-1} 以及 1 321 cm^{-1} 属于 C—H 弯曲振动区,1 080 cm^{-1} 为 C—O 伸缩振动区。结合显色反应结果可知,采用离子液体提取的茶皂素结构保持完好。

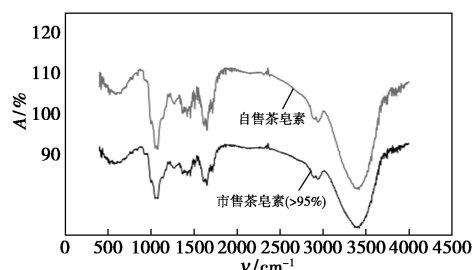


图 9 茶皂素粉体的红外光谱

Fig.9 FT-IR of tea saponin powders

2.3.2 茶皂素的表面活性分析

茶皂素作为一种天然非离子表面活性剂,在热水和含水乙醇中有良好的溶解性,在冷水中微溶,基本不溶于乙醇、苯等有机溶剂^[33],其乳化、起泡、润湿等表面活性是其应用的基础。对比探究了自制茶皂素和市售茶皂素(>95%)的表面活性,测试数据见表 5。

表 5 茶皂素表面活性测试数据

Tab.5 Surface activity data of tea saponin

茶皂素	CMC/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	表面张力/ ($\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$)	Zeta 电位/ mV	泡沫性能	
				初始泡沫 体积/mL	5 min 后泡沫 体积/mL
自制	0.44	39.35	+66.98	19.5	17.5
市售	0.47	40.53	+55.52	20.3	18.5

CMC 常用于衡量表面活性剂的表面活性,也是表面活性剂应用的一个重要物理量。采用表面张力法测得自制茶皂素和市售茶皂素(>95%)的

CMC 分别为 0.44、0.47 g/L ,此时对应的表面张力分别为 39.35、40.53 mN/m ,与文献[27]测试结果相近。

Zeta 电位是对颗粒之间相互排斥或吸引力强度的度量,Zeta 电位的绝对值较高,系统更稳定,反之亦然,Zeta 电势电位越低,则越倾向于凝聚,可用于衡量胶束稳定性。测得自制茶皂素和市售茶皂素(>95%)的 Zeta 电位分别为 +66.98、+55.52 mV,表明茶皂素形成的胶束是可稳定存在的。

起泡性能是茶皂素表面活性的一个重要指标,初始泡沫高度和 5 min 后的泡沫高度可以衡量泡沫的稳定性^[34]。具塞量筒测定 0.1 g/L 的茶皂素水溶液的泡沫性能试验结果显示,茶皂素溶解形成均匀溶液,经振荡后产生了大量细密的白色泡沫,有优异的起泡能力,自制茶皂素和市售茶皂素(>95%)的初始泡沫体积分别为 19.5、20.3 mL,5 min 后的泡沫体积降为 17.5、18.5 mL,下降比例在 10%左右,差别不大,泡沫较为稳定。

接触角可衡量表面活性剂对表面的润湿情况,测得 26 $^{\circ}\text{C}$ 下自制茶皂素和市售茶皂素(>95%)在 180 s 内的接触角情况如图 10 所示。可知,自制茶皂素的接触角从 42.5 $^{\circ}$ 降为 6.5 $^{\circ}$,市售茶皂素(>95%)的接触角从 47.0 $^{\circ}$ 降为 25.5 $^{\circ}$,接触角都出现了时间依赖性,但自制茶皂素的时间依赖性更为明显,说明其含有杂质,且该杂质对茶皂素的表面活性提升起到正向作用。

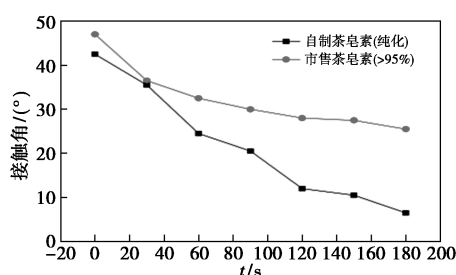


图 10 茶皂素接触角随时间的变化情况

Fig.10 Change of contact angle of tea saponin with time

3 结论

3.1 采用咪唑溴盐[BMIIm]Br 协同微波技术提取茶皂素是可行的,通过单因素试验和 Box-Behnken 响应面法获得最佳提取条件为:离子液体[BMIIm]Br 浓度 1.13 mol/L 、料液比 1:10 (g/g)、微波功率 300 W、提取时间 13 min、提取温度 68 $^{\circ}\text{C}$,茶皂素提取量为 (32.95 ± 0.35) mg/mL ,得

率为(15.01±0.16)%,提取率为80.57%,纯度为83.06%。

3.2 离子液体[BMIIm]Br 协同微波技术提取的茶皂素,通过显色反应和 FT-IR 分析可知具有茶皂素的结构特征,接触角和 CMC 值偏小于市售茶皂素(>95%),泡沫丰富,具有优异的表面活性。

参考文献:

- [1] 杨伊静.推动乡村振兴取得新进展、农业农村现代化迈出新步伐《中共中央国务院关于做好 2022 年全面推进乡村振兴重点工作的意见》解读[J].中国科技产业,2022,(3):32-34.
- [2] 毛雷霆,齐亚会,孙振东,等.茶皂素的提取及其溶液的表面性质[J].天津工业大学学报,2016,35(5):32-36.
- [3] 郭海阳,莫林兰,谭海生,等.茶皂素的美白功效及其抑菌和抗氧化活性研究[J].中国粮油学报,2020,35(6):83-89.
- [4] 苏巧玲,叶有明,朱甜甜.茶酒糟提取茶皂素的工艺优化及其抑菌研究[J].饲料研究,2022,45(13):83-87.
- [5] 王心蕊,韩鑫宇,张康,等.茶皂素的脱色研究及其在洗手液中的应用[J].应用化工,2021,50(5):1 178-1 182.
- [6] 郑蔚,代佳妮,严和琴,等.茶皂素处理对黄皮果实贮藏品质及生理活性的影响[J/OL].中国南方果树,2022,51(5):99-103.
- [7] 张旭敏,谢龙,赵雨芯,等.茶皂素稳定的芹菜素纳米乳制备及其体外释放研究[J].中草药,2022,53(17):5 348-5 355.
- [8] 张远聪,刘婷,王玫,等.茶皂素的活性在农药中的应用研究进展[J].江西农业学报,2022,34(4):70-74.
- [9] 刘思思,李昌珠,刘汝宽,等.国内外茶皂素研究的文献计量分析[J].生物质化学工程,2021,55(6):10-20.
- [10] 赵文净,吴明霞,蔡烈伟.超声波辅助乙醇提取油茶饼粕中茶皂素的工艺研究[J].中国茶叶,2022,44(5):49-53.
- [11] 张雪莉,洪晨,马海乐,等.多模式超声辅助提取茶皂素工艺条件研究[J].中国粮油学报,2022,37(5):123-127.
- [12] 张康,王心蕊,张颂培,等.响应面法优化茶籽油工艺水中茶皂素的提取工艺[J].应用化工,2020,49(7):1 670-1 672;1 678.
- [13] 王羚,方学智,杜孟浩,等.超临界 CO₂ 萃取对油茶饼中油脂品质及茶皂素理化特性影响的研究[J].中国油脂,2020,45(8):109-114.
- [14] 杜金婷,张雁,李雁,等.超声耦合双水相体系提取茶皂素的工艺优化与机制探讨[J].中国农业科学,2022,55(1):167-183.
- [15] 喻冬秀,李晓江,蔡斯琦,等.酶解法提取茶皂素的工艺研究[J].广东化工,2017,44(13):48-50.
- [16] 贾晓丽,王鑫,赵三虎.咪唑类离子液体在蒜素提取中的应用[J].化学试剂,2020,42(7):862-867.
- [17] 李晓严,郭蔚,刘鑫玉.响应面法优化超声辅助离子液体提取栀子中的西红花苷[J].化学试剂,2021,43(3):376-382.
- [18] KAUR G, KUMAR H, SINGLA M. Diverse applications of ionic liquids: A comprehensive review [J]. *J. Mol. Liq.*, 2022, 351: 118 556.
- [19] 黄冬婷,黄俊生,汤静洁,等.超声辅助离子液体提取人参多糖工艺及其抗氧化活性[J].精细化工,2022,39(9):1 851-1 857;1 871.
- [20] 唐一梅,秦蓓,张德柱,等.离子液体辅助提取牡丹皮中丹皮酚工艺的优化[J].中成药,2021,43(9):2 292-2 296.
- [21] 高红,张炜,甘文梅,等.离子液体协同超高压微射流萃取虾青素及其抗氧化性研究[J].现代化工,2022,42(6):171-177.
- [22] 张莉莉,温淑媚,高静.超声辅助双连续型离子液体微乳液提取南极磷虾壳中的虾青素[J].中国食品学报,2021,21(9):130-141.
- [23] 杨红帅,王菊,郭翠,等.超声辅助离子液体-反相液相色谱法同时测定茜草中茜草素和大叶茜草素的含量[J].中国中药杂志,2015,40(13):2 617-2 623.
- [24] 于德涵,苏适,王喜庆,等.响应曲面优化离子液体-微波辅助提取黑豆皮中花青素的工艺研究[J].食品研究与开发,2020,41(16):120-125.
- [25] 魏然,林萱,周凯旋,等.超声辅助离子液体提取藜麦麸皮总皂苷及其抑菌活性研究[J].食品科技,2021,46(11):203-209.
- [26] 卢连香,丁世磊,杨方方,等.甘蔗叶总黄酮超声辅助离子液体提取工艺及其纯化研究[J/OL].饲料研究,2022,(14):95-99.
- [27] 贾晓丽,肖江,赵鑫悦,等.超声辅助季磷离子液体提取艾草总黄酮的研究[J].化学试剂,2020,42(10):1 226-1 232.
- [28] 张瑶,李欣蓉,王承明.山茶油中茶皂素的分离及其性能分析[J].中国油脂,2017,42(10):126-129;145.
- [29] 金月庆.茶皂素提取、纯化及其抗菌活性的研究[D].武汉:武汉工业学院,2008.
- [30] 杜志欣,张崇坚,万端极.超声波辅助乙醇法提取茶皂素工艺优化[J].化学与生物工程,2015,32(3):56-59.
- [31] GAO J, FANG C, LIN Y, et al. Enhanced extraction of astaxanthin using aqueous biphasic systems composed of ionic liquids and potassium phosphate-science direct [J]. *Food Chem.*, 2020, 309(5): 125 672-125 680.
- [32] 胡福田,周红军,徐华,等.微波预处理超声波协助浸提茶皂素工艺条件研究[J].食品工业,2019,40(3):107-110.
- [33] 林梦婕.油茶果皂素的分离制备、表征及其应用性能评价[D].福州:福州大学,2016.
- [34] 王兰.茶籽粕中茶皂素的提取及性质表征[D].西安:陕西科技大学,2012.

超声-酶法辅助提取青叶胆多酚工艺优化及抗氧化性研究

李汝艳, 杨申明*, 张旗麟, 许斌彬, 王振吉
(楚雄师范学院 资源环境与化学学院, 云南 楚雄 675000)

摘要:以青叶胆为材料, 采用超声-酶法辅助提取青叶胆多酚(*Swertia leducii* Franch. polyphenols, SLP) 并研究其抗氧化性, 为开发利用 SLP 提供参考依据。在考察单因素试验基础上, 利用响应面法优化超声-酶法辅助提取 SLP 工艺条件, 并通过测定 SLP 对 DPPH 自由基(DPPH·)、羟自由基(·OH) 的清除率和总抗氧化能力来评价其多酚抗氧化性。结果表明, SLP 最佳提取条件为: 液料比 29:1 (mL/g)、乙醇体积分数 60%、超声温度 32 ℃、超声时间 29 min、超声功率 300 W、纤维素酶用量 7.0% (以青叶胆干粉质量为基准, 下同), 此时 SLP 提取量为(16.38±0.21) mg/g, 与模型预测值(16.42 mg/g) 接近; 在质量浓度为 0.007 mg/mL 时, SLP 对 DPPH·清除能力稍弱于药维生素 C 清除能力, SLP 对·OH 清除能力和总抗氧化能力均明显强于药维生素 C。超声-酶法辅助提取是一种有效提取 SLP 的方法; SLP 具有较强的抗氧化活性, 是一种具有开发潜力的抗氧化剂。

关键词: 青叶胆; 多酚; 超声-酶法辅助提取; 响应面法; 抗氧化性

中图分类号: O629.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)05-0106-07

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0010

Optimization and Antioxidant Activity of Polyphenols from *Swertia leducii* Franch. by Using Ultrasonic-Enzyme-Assisted Extraction Technology LI Ru-yan, YANG Shen-ming*, ZHANG Qi-lin, XU Bin-bin, WANG Zhen-ji (Department of Resources, Environment and Chemistry, Chuxiong Normal University, Chuxiong 675000, China)

Abstract: Polyphenols from *Swertia leducii* Franch. (SLP) were extracted by using ultrasonic-enzyme-assisted extraction technology, and investigation of antioxidant properties of SLP was performed, which provides reference for the development and utilization of SLP. On the basis of single factor test, response surface test was used to optimize the ultrasonic-enzyme-assisted extraction of SLP, and the antioxidant activity of polyphenols was evaluated by measuring the clearance rate and total antioxidant capacity of SLP against DPPH free radical and hydroxyl free radical. The results showed that the optimal extraction conditions for SLP were liquid-to-material ratio of 29:1 (mL/g), ethanol volume fraction of 60%, ultrasound temperature of 32 ℃, ultrasound time of 29 mins, ultrasound power of 300 W, cellulase usage of 7.0% (based on the mass of *S. leducii* dry powder, the same below), and the extraction amount of SLP was (16.38±0.21) mg/g under the above conditions, which was approximate to the model-predicted value (16.42 mg/g). At a mass concentration of 0.007 mg/mL, the DPPH· scavenging ability of SLP was slightly weaker than that of pharmaceutical vitamin C, SLP exhibited significantly stronger effects on both·OH scavenging capacity and total antioxidant capacity than that of the medicine vitamin C. Ultrasonic-enzyme-assisted extraction is an effective method for SLP extraction. SLP has strong antioxidant activity and is a potential antioxidant.

Key words: *Swertia leducii* Franch.; polyphenols; ultrasonic-enzyme-assisted extraction; response surface test; antioxidant properties

青叶胆(*Swertia leducii* Franch.) 为獐牙菜属(*Sweirta*) 植物中的一种, 在中国药典(1997~2005) 中均有收载, 其原植物为弥勒獐牙菜, 为云

南特有的传统中药^[1]。近年来研究者对青叶胆化学成分进行了研究, 其化学成分主要为环烯醚萜/咧环烯醚萜、黄酮以及三萜类化合物^[2,3]。药

收稿日期: 2023-01-06; 网络首发日期: 2023-03-03

基金项目: 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目(2019HB055); 云南省“高层次人才培养支持计划”青年拔尖人才项目(YNWR-QNBJ-2020-104); 云南省高校滇中林下特色生物资源研究与开发利用科技创新团队项目; “彝乡科技领军人才”项目; 云南省大学生创新训练项目。

作者简介: 李汝艳(2001-), 女, 云南曲靖人, 本科生, 主要研究方向为天然产物活性成分提取。

通讯作者: 杨申明, E-mail: ysm@cxnc.edu.cn。

引用本文: 李汝艳, 杨申明, 张旗麟, 等. 超声-酶法辅助提取青叶胆多酚工艺优化及抗氧化性研究[J]. 化学试剂, 2023, 45(5): 106-112。

理研究表明,青叶胆除具有抗 HBV 和保肝功效外,在抗菌、降血糖、促进肠道菌群生长等方面也具有 一定药效^[4]。

植物多酚(Plant Polyphenol)是一类多羟基酚类化合物,广泛存在于植物体内各个部位,是一种重要的生物活性成分^[5]。许多试验研究表明,多酚具有抑制细菌^[6]、抗炎^[7]、抗病毒^[8]、抗氧化^[9,10]和抗癌^[11]等生理活性。因此,多酚被广泛应用于食品、保健、医药等领域^[12,13]。传统的提取多酚方法主要是热水浸提法、有机溶剂回流法等,但存在提取率低、提取时间长等问题^[14]。超声辅助提取法具有提取率高、提取时间短、提取成本低和保护活性成分功效的优点,是一种比较好的用于天然产物活性成分领域的提取方法^[15,16]。

近年来,对青叶胆中活性成分研究正逐步引起人们的重视。邹桂华等^[17]优化青叶胆中总三萜提取工艺,庞国伟等^[18]制备高纯度獐牙菜苦苷,冯伟等^[19]优化青叶胆水提工艺,杨晓泉等^[20]建立多波长同时检测青叶胆中 7 种有效成分含量的 HPLC 方法,钟方丽等^[21]优化青叶胆中总黄酮提取工艺。但有关 SLP 提取及抗氧化性方面研究鲜见报道。因此,本研究采用超声-酶法辅助提取 SLP,并在单因素试验基础上利用响应面试验优化超声-酶法提取 SLP 工艺条件,同时就 SLP 抗氧化活性进行测定,旨在为 SLP 开发利用提供理论参考。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

UV-2100 型紫外-可见分光光度计(上海元析仪器有限公司);SK8210HP 型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);CP214C 型电子天平(奥豪斯仪器(上海)有限公司)。

青叶胆,产自云南楚雄,经楚雄师范学院徐成东教授鉴定为龙胆科(*Gentianaceae*)獐牙菜属(*Swertia*)青叶胆(*Swertia leducii* Franch.)的干燥全草;没食子酸标准品、福林酚、纤维素酶(北京紫莱宝科技有限公司);DPPH 自由基(梯希爱化成工业发展有限公司);维生素 C(西陇科学股份有限公司);其他所用试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 青叶胆试材处理

青叶胆→晒干→烘干(60℃)→粉碎→过目筛(60目)→青叶胆粉→石油醚(沸程 30~60℃)

浸泡 12 h→索氏回流提取 5 h(脱脂)→烘干(60℃)→得去除色素和油脂的青叶胆干粉(备用)。

1.2.2 标准曲线绘制

采用 Folin-Ciocalteu 法测定多酚含量^[22]。以没食子酸质量浓度(mg/mL)为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,回归方程 $y = 117.29x + 0.0149$,相关系数 $R^2 = 0.9991$ 。

1.2.3 提取量计算

$$Y = (C \times V \times N) / M$$

式中:Y 为多酚提取量,mg/g;C 为多酚质量浓度,mg/mL;V 为提取液体积,mL;N 为稀释倍数;M 为青叶胆干粉质量,g。

1.2.4 SLP 提取条件优化

1.2.4.1 单因素试验

主要探究了液料比、乙醇体积分数、超声温度、超声时间、超声功率和纤维素酶用量等因素对 SLP 提取量影响,考察影响因素的水平及其固定条件,如表 1 所示。

表 1 超声-酶法辅助提取 SLP 工艺单因素试验

Tab.1 Single factor test of ultrasonic enzymatic assisted extraction of SLP

因素	水平	固定条件
液料比/(mL·g ⁻¹)	10:1、15:1、20:1、25:1、30:1、35:1	60%、6%、200 W、30℃、30 min
乙醇体积分数/%	40、50、60、70、80	25:1(mL/g)、6%、200 W、30℃、30 min
超声温度/℃	20、30、40、50、60	60%、25:1(mL/g)、6%、200 W、30 min
超声时间/min	10、20、30、40、50、60	60%、25:1(mL/g)、6%、200 W、30℃
超声功率/W	200、250、300、350、400、450	60%、25:1(mL/g)、6%、30℃、30 min
纤维素酶用量/%	1、2、3、4、5、6、7	60%、25:1(mL/g)、30℃、300 W、30 min

1.2.4.2 响应面试验优化提取工艺

为优化 SLP 提取条件,根据单因素探究结果,选取影响提取量较为显著的超声时间(A)、超声温度(B)、液料比(C)、纤维素酶用量(D)为自

表 2 响应面试验因素与水平

Tab.2 Response surface test factors and levels

水平	因素			
	A 超声时间/ min	B 超声温度/ ℃	C 液料比/ (mL·g ⁻¹)	D 纤维素酶 用量/%
-1	20	20	20:1	5
0	30	30	25:1	6
1	40	40	30:1	7

变量,以 SLP 提取量为响应值,设计四因素三水平响应曲面试验,如表 2 所示。

1.2.5 SLP 抗氧化能力测定

将 SLP 配制成 7 种质量浓度(0.001、0.002、0.003、0.004、0.005、0.006、0.007 mg/mL),以维生素 C 为对照,研究 SLP 抗氧化性。SLP 对 DPPH·清除能力参考文献[23]、[24]方法测定,SLP 对·OH 清除能力参考文献[25]方法测定,SLP 总抗氧化能力参考文献[26]、[27]方法测定。

1.3 统计分析

每组试验平行测定 3 次,采用 origin 2019b 软件作图,用 Design-Expert 8.0 软件优化提取工艺参数。

2 结果与讨论

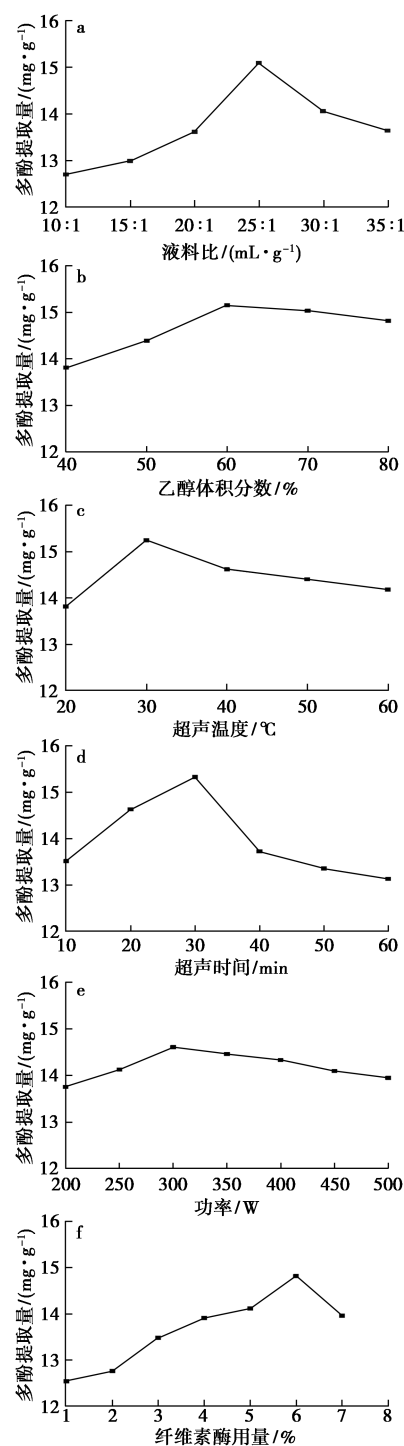
2.1 单因素对 SLP 提取量的影响

各单因素对 SLP 提取量的影响结果如图 1 所示。

从图 1a 可知,随着液料比增大,SLP 提取量先增大后减小。当液料比增大至 25:1 (mL/g) 时,提取量达到最大为 15.09 mg/g,之后继续增大液料比,多酚提取量呈下降趋势。出现这种现象可能是溶剂用量少时,青叶胆中酚类物质溶解不充分,多酚提取量少;当液料比超过 25:1 (mL/g) 时,可能是随着溶剂用量的增大,过多的乙醇在溶解多酚的同时还会溶出其他杂质导致多酚提取量下降。因此可将适宜的液料比确定为 25:1 (mL/g)。

从图 1b 可知,随着乙醇体积分数的增大,SLP 提取量呈现先增大后减小。当乙醇体积分数增大到 60% 时,SLP 提取量达到最大为 15.15 mg/g,之后继续增大乙醇体积分数,多酚提取量缓慢下降,这可能是由于青叶胆中弱极性的酚类物质含量较高,随着乙醇体积分数的增大,酚类物质与乙醇的结合作用逐渐增强,导致其溶出量逐渐增加,当乙醇体积分数高于 60% 后,由于提取溶剂的极性降低,使得水溶性多酚的溶解能力下降,导致多酚提取量降低。因此可将适宜的乙醇体积分数确定为 60%。

从图 1c 可知,当超声温度从 20 ℃ 升高至 30 ℃ 时,SLP 提取量由 13.82 mg/g 增大至 15.24 mg/g 并达到最大。之后继续升高超声温度,多酚提取量下降,这可能是开始时升高温度,酶的活性增大,加速细胞内多酚的溶出,但温度过高又会使



a. 液料比; b. 乙醇体积分数; c. 超声温度; d. 超声时间; e. 功率; f. 纤维素酶用量

图 1 各单因素对 SLP 提取量的影响

Fig.1 Effect of each single factor on the extraction amount of SLP

酶失去活性,导致多酚提取量下降。因此可将适宜的超声温度确定为 30 ℃。

由图 1d 可知,当超声时间从 10 min 增加至 30 min 时,SLP 提取量由 13.52 mg/g 增大至 15.33 mg/g 并达到最大。之后随着超声时间的

增加,多酚提取量明显下降,这可能是超声时间过长会破坏青叶胆多酚类物质中的邻二酚羟基等基团,从而导致多酚提取量下降^[28]。因此可将适宜的超声时间确定为 30 min。

由图 1e 可知,超声功率在 200~500 W 范围内,SLP 提取量先增大后减小。在 300 W 时,SLP 达到峰值为 14.60 mg/g。超声功率超过 300 W 时,SLP 提取量逐步降低。这可能是超声功率小,产生的机械及空化效应对细胞壁的破坏程度小,超声功率大,在强大机械振动作用下,提取剂流动加快导致超声波的停留时间减小,同时空化作用增强后产生的大量无用空化泡会增加超声波的散射衰减,导致提取量降低^[29]。因此可将适宜的超声功率确定为 300 W。

由图 1f 可知,纤维素酶用量在 1%~6% 范围内,随着酶用量增大,SLP 提取量显著增大。这可能是纤维素酶用量少时酶能全部参加反应,加快反应速度,在纤维素酶用量为 6% 时提取量达到最大值为 14.82 mg/g,纤维素酶用量大于 6% 后 SLP 提取量略下降。这可能是青叶胆细胞壁的纤维素能与酶分子结合的结合点有限,当结合点全部与纤维素酶分子结合后,再增加纤维素酶用量不会增加酶解作用,过多的纤维素酶可能使青叶胆酶解提取量略微下降^[30]。因此可将适宜的纤维素酶用量确定为 6%。

2.2 响应面试验结果与分析

2.2.1 响应面设计与结果分析

对响应面试验数据(表 3)进行分析,将各个数值与对应的各因素之间关系进行二元回归拟合,得到 SLP 提取量 Y 对超声时间(A)、超声温度(B)、液料比(C)、纤维素酶用量(D)的回归方程为:

$$Y = 16.171\,455\,367\,039 + 0.004\,513\,243\,527\,439\,5 \times A + 0.343\,937\,462\,699\,29 \times B + 0.502\,671\,441\,157\,24 \times C + 0.044\,094\,836\,161\,075 \times D - 0.386\,546\,807\,059\,42 \times AB - 0.357\,021\,058\,913\,82 \times AC - 0.069\,272\,742\,774\,325 \times AD + 0.149\,202\,830\,590\,82 \times BC - 0.286\,816\,011\,595\,17 \times BD + 0.724\,699\,462\,869\,82 \times CD - 0.975\,096\,626\,595\,07 \times A^2 - 0.799\,716\,585\,670\,84 \times B^2 - 0.760\,726\,582\,260\,49 \times C^2 - 0.324\,241\,587\,802\,32 \times D^2$$

将试验数据进行方差分析(表 4),检验该模型的显著性和有效性。模型 P 值 $<0.000\,1$,表示有高度显著性,相关系数 $R^2=0.963\,5$,失拟项 $P=0.198\,2>0.05$,表明该模型拟合度和试验误差小。由显著性检验可知,B、C、AB、AC、CD、 A^2 、 B^2 、 C^2 、

表 3 响应面试验设计与结果

Tab.3 Response surface test design and results

Run	A 超声时 间/min	B 超声温 度/℃	C 液料比/ (mL·g ⁻¹)	D 纤维素酶 用量/%	多酚 提取量/ (mg·g ⁻¹)
1	30	30	25	6	15.95
2	20	20	25	6	13.81
3	20	30	20	6	13.64
4	40	40	25	6	14.39
5	40	20	25	6	14.87
6	30	40	25	5	15.67
7	30	40	20	6	14.20
8	30	20	25	5	14.22
9	30	30	25	6	16.24
10	30	30	25	6	16.29
11	30	30	30	5	14.84
12	30	20	25	7	14.94
13	30	30	25	6	16.31
14	30	40	30	6	15.80
15	20	30	25	5	14.90
16	40	30	25	5	14.62
17	20	40	25	6	14.88
18	30	30	20	7	14.07
19	40	30	20	6	14.24
20	20	30	30	6	15.28
21	30	20	30	6	14.60
22	30	30	25	6	16.07
23	30	40	25	7	15.24
24	30	20	20	6	13.60
25	40	30	25	7	14.86
26	20	30	25	7	14.86
27	40	30	30	6	14.45
28	30	30	20	5	15.50
29	30	30	30	7	16.31

表 4 方差分析^注

Tab.4 Analysis of variance

来源	总方差	自由度	均方和	F 值	P 值	显著性
Model	18.42	14	1.32	26.39	<0.000 1	**
A-超声时间	0.000 3	1	0.000 3	0.006 0	0.939 3	
B-超声温度	1.43	1	1.43	28.59	0.000 1	**
C-液料比	3.03	1	3.03	60.66	<0.000 1	**
D-纤维素酶 用量	0.023 4	1	0.023 4	0.468 6	0.504 8	
AB	0.600 6	1	0.600 6	12.02	0.003 8	**
AC	0.511 2	1	0.511 2	10.23	0.006 4	**
AD	0.019 6	1	0.019 2	0.3924	0.541 1	
BC	0.090 0	1	0.090 0	1.80	0.200 9	
BD	0.330 6	1	0.330 6	6.62	0.022 2	*
CD	2.10	1	2.10	42.09	<0.000 1	**

续表

来源	总方差	自由度	均方和	F 值	P 值	显著性
A ²	6.19	1	6.19	124.01	<0.000 1	* *
B ²	4.15	1	4.15	83.06	<0.000 1	* *
C ²	3.76	1	3.76	75.20	<0.000 1	* *
D ²	0.678 8	1	0.678 8	13.59	0.002 4	* *
残差	0.699 3	14	0.050 0			
失拟项	0.602 0	10	0.060 2	2.48	0.198 2	
纯误差	0.097 3	4	0.024 3			
总误差	19.16	28				

注: $R^2=0.963\ 5$; $R^2_{Adj}=0.927\ 0$ 。* * $P<0.01$ 差异极显著;
* $P<0.05$ 差异显著; $P>0.05$ 差异不显著。

D² 对提取量具有极显著影响 ($P<0.01$), BD 对 SLP 提取量具有显著影响 ($P<0.05$), 其他项影响不显著。根据 F 值大小可知不同因素对 SLP 提取量影响的主次顺序为: 液料比 > 超声温度 > 纤维素酶用量 > 超声时间。其中液料比对 SLP 提取量的影响程度最大。

2.2.2 验证性试验

根据试验模型, 用软件 Design-Expert 8.0 进行分析, 预测得到 SLP 最佳提取条件为: 超声温度 31.69 °C, 超声时间 28.55 min, 液料比 28.97:1 (mL/g), 乙醇体积分数 60%, 超声功率 300 W, 纤维素酶用量 6.87%, 在此条件下, 多酚提取量为 16.42 mg/g。考虑到试验操作便捷性, 把工艺参数稍作调整为: 超声温度 32 °C, 超声时间 29 min, 液料比 29:1 (mL/g), 乙醇体积分数 60%, 超声功率 300 W, 纤维素酶用量 7%。在该条件下 (重复 3 次试验) 得到 SLP 提取量平均值为 (16.38 ± 0.21) mg/g, 与预测值接近, 相对误差 (0.24%) 较小。说明该回归模型优化的工艺条件用来提取 SLP 具有可行性。

2.3 SLP 抗氧化性测定结果

2.3.1 SLP 对 DPPH·清除能力

DPPH·是一种稳定的含氮自由基, 其醇溶液呈深紫色, 在波长 517 nm 处有强吸收。当向 DPPH·溶液中加入含有抗氧化物质时, 其 N 原子上的孤对电子被配对而褪色, 褪色程度与所接受的电子数量有量效关系, 因此可根据溶液褪色的程度来评价样品的抗氧化能力^[31]。由图 2 可知, 在 SLP 质量浓度 0.001~0.007 mg/mL 范围内, 清除 DPPH·能力随 SLP 质量浓度的增大而增强, 当 SLP 质量浓度达到 0.007 mg/mL 时, 对 DPPH·清除率为 90.80%, 与药维生素 C 的清除率

(97.78%) 相比稍弱, 但 SLP 对 DPPH·同样具有较强的清除能力。

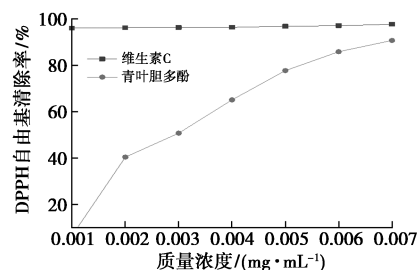


图 2 不同质量浓度 SLP 对 DPPH·的清除效果

Fig.2 Scavenging effect of SLP with different mass concentrations on DPPH·

2.3.2 SLP 对·OH 清除能力

·OH 是一类活性很强的自由基, 它能使糖类、蛋白质、氨基酸、核酸等物质的氧化性损伤, 若待测物能清除·OH, 则表示其具有抗体内物质氧化的能力^[32]。由图 3 可知, 在 SLP 质量浓度 0.001~0.007 mg/mL 范围内, 清除·OH 能力随 SLP 质量浓度的增大而增强, 当 SLP 质量浓度达到 0.007 mg/mL 时, 对·OH 清除率为 36.35%, 明显大于药维生素 C 清除率 (29.20%), 说明 SLP 具有较强的清除·OH 能力, 其抗氧化性强于药维生素 C。

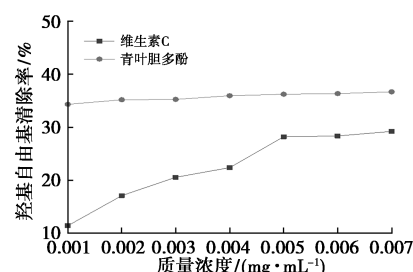


图 3 不同质量浓度 SLP 对·OH 的清除效果

Fig.3 Scavenging effect of SLP with different mass concentrations on ·OH

2.3.3 SLP 总抗氧化能力

用测定的吸光度值大小来评价 SLP 总抗氧化能力, 吸光度值越大, 表示总抗氧化能力越强^[33]。由图 4 可知, 在 SLP 质量浓度 0.001~0.007 mg/mL 范围内, SLP 总抗氧化能力随样品质量浓度的增大而增强, 且 SLP 总抗氧化能力强于药维生素 C 总抗氧化能力。当质量浓度为 0.007 mg/mL 时, SLP 和药维生素 C 总抗氧化能力的吸光度值分别为 0.384 和 0.321, 二者有显著区别。由此可知 SLP 是一种具有开发价值与潜力的植物天然抗氧化剂。

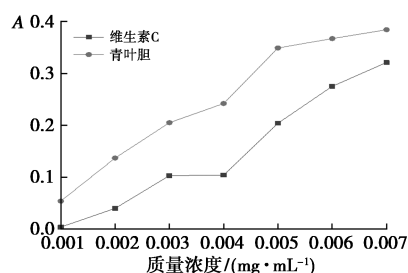


图 4 不同质量浓度 SLP 总抗氧化性

Fig.4 Total antioxidant activity of SLP at different mass concentrations

3 结论

3.1 采用超声-酶法辅助提取 SLP,在考察单因素试验基础上,利用响应面试验优化得到了 SLP 最佳提取工艺条件为:超声温度 32 ℃、超声时间 29 min、液料比 29:1 (mL/g)、乙醇体积分数 60%、超声功率 300 W、纤维素酶用量 7%。在该条件下得到 SLP 提取量平均值为(16.38±0.21)mg/g,与预测值相对误差较小(0.24%)。该工艺具有提取温度低、提取时间短、提取量高等优点,是一种较佳提取 SLP 的方法。

3.2 SLP 抗氧化性研究结果表明:SLP 质量浓度在 0.001~0.007 mg/mL 内,清除 DPPH·和·OH 的能力均随 SLP 质量浓度的增大而增大。当 SLP 质量浓度为 0.007 mg/mL 时,SLP 对 DPPH·清除率(90.80%)稍弱于药维生素 C 清除率(97.78%);SLP 对·OH 清除率(36.35%)明显强于药维生素 C 清除率(29.20%);SLP、药维生素 C 总抗氧化能力的吸光度值分别为 0.384、0.321,二者有显著区别。由此说明 SLP 具有较强的抗氧化性,有望开发成为天然抗氧化剂并应用于食品、医药等行业。

3.3 本研究可对 SLP 提取及抗氧化活性研究提供一定理论依据。但该研究仅对超声-酶法辅助提取 SLP 抗氧化性进行测定,而采用超声-酶法提取是否会影响 SLP 生物活性不知晓。因此,在后续研究中,可对不同提取方法与生物活性间关系进行研究,同时还可对 SLP 进行分离纯化,探究发挥抗氧化活性的主要成分。

参考文献:

- [1]唐浩然.青叶胆活性成分獐牙菜苦苷抗肝癌细胞增殖作用及机制研究[D].昆明:昆明医科大学,2020.
- [2]KAUR P,ROBIN,MEHTA R G.Development of aqueous-

- based multi-herbal combination using principal component analysis and its functional significance in HepG2 cells[J].*BMC Complement. Altern. Med.*,2019,**19**(1):18.
- [3]ZHANG Q, CHEN K, WU T. Swertiamarin ameliorates carbon tetrachloride-induced hepatic apoptosis via blocking the P13K/Akt pathway in rats[J].*Korean J. Physiol. Pharmacol.*,2019,**23**(1):21-28.
- [4]施宝盛,陈亚萍,陈丽君,等.青叶胆化学成分和药理作用研究进展[J].昆明医科大学学报,2017,**38**(11):122-126.
- [5]陈明威.霍山石斛多酚的分离纯化及其对益生菌和致病细菌作用研究[D].芜湖:安徽工程大学,2020.
- [6]左丽丽,王振宇,攀梓鸾,等.植物多酚类物质及其功能研究进展[J].中国林副特产,2012,**5**:39-43.
- [7]姚蓓,赵慧芳,吴文龙,等.蓝莓果实多酚提取物的抗炎活性研究[J].南京林业大学学报(自然科学版),2019,**43**(3):152-156.
- [8]袁莹,李乐,陈静霞,等.多酚类化合物的提取及功效研究进展[J].粮食与油脂,2018,**31**(7):15-17.
- [9]汪瑞敏,杨娜,李博岩,等.不同乳酸菌发酵的黄秋葵汁液在模拟体外消化过程中总多酚及抗氧化活性的变化[J].食品研究与开发,2021,**42**(21):13-21.
- [10]王汝华,李鹏飞,余倩倩,等.冬红海棠果实不同部位多酚含量及抗氧化能力的比较[J].食品科技,2021,**46**(3):31-38.
- [11]白晓琳,攀梓鸾,李璐,等.多酚类化合物与其他活性物质协同作用研究进展[J].食品工业科技,2019,**40**(6):308-311.
- [12]陈铁杨,胡文忠,侯梦阳,等.超声辅助提取金花茶叶多酚的工艺优化及其抗氧化活性研究[J].食品研究与开发,2022,**43**(6):25-31.
- [13]NING Y, LING J Q, WU C D. Synergistic effects of tea catechin epigallocatechin gallate and antimycotics against oral Candida species[J].*Arch. Oral Biol.*,2015,**60**(10):1565-1570.
- [14]CALDAS T W, MAZZA K E L, TELES A S C, et al. Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods[J].*Ind. Crop. Prod.*,2018,**111**:86-91.
- [15]ALTEMIMI A, CHOUDHARY R, WATSON D G, et al. Effects of ultrasonic treatments on the polyphenol and antioxidant content of spinach extracts[J].*Ultrason. Sonochem.*,2015,**24**:247-255.
- [16]CHATEL G. Ultrasound in combination with ionic liquids: Studied applications and perspectives[J].*Topics Curr. Chem.*,2016,**374**(4):1-21.
- [17]邹桂华,邹玉龙,徐红纳,等.响应面法优选青叶胆中总三萜提取工艺[J].实验室科学,2022,**25**(6):29-

- 32.
- [18] 庞国伟, 贺吉香, 贺灵剑, 等. 超声提取-高压液相色谱法制备高纯度獐牙菜苦苷[J]. 山东中医杂志, 2020, **39**(7): 732-737, 742.
- [19] 冯伟, 王东艳, 李守君. 正交工艺优化青叶胆水提工艺[J]. 广州化工, 2018, **46**(3): 54-55, 91.
- [20] 杨晓泉, 郭永强, 夏从龙. 青叶胆中 7 种主要活性成分超声提取工艺及 HPLC 含量测定[J]. 辽宁中医杂志, 2016, **43**(8): 1 692-1 695.
- [21] 钟方丽, 王慧竹, 祝波. 青叶胆中总黄酮的提取工艺研究[J]. 吉林化工学院学报, 2010, **27**(3): 11-13.
- [22] 杨申明, 宁娜, 杨潇, 等. 响应面法优化七叶莲多酚提取工艺及抗氧化性研究[J]. 北方园艺, 2022, **18**: 90-98.
- [23] 孔方南, 李文砚, 韦优, 等. 刺果番荔枝叶多酚提取工艺优化及其体外抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2020, **41**(20): 162-168.
- [24] 王诗瑶, 吴欣恬, 曹星星, 等. 响应面分析法优化啤酒花总多酚的提取工艺及抗氧化活性的研究[J]. 化学试剂, 2021, **43**(12): 1 743-1 748.
- [25] 曹稳根, 李梅梅, 王晴, 等. 王枣子叶总黄酮纤维素酶-超声辅助提取工艺的优化及其抗氧化活性[J]. 中成药, 2020, **42**(11): 2 840-2 845.
- [26] BERKER K, GÜCLÜ K, TOR İ, et al. Total antioxidant capacity assay using optimized Ferricyanide/Prussian blue method[J]. *Food Anal. Method.*, 2010, **3**(3): 154-168.
- [27] 王念, 李浚哲, 李鹏飞, 等. 浸提和超声辅助提取法对桑叶提取物抗氧化活性的影响[J]. 中国食品添加剂, 2021, **32**(6): 77-82.
- [28] 叶树才, 侯银臣, 闫东旭, 等. 超声辅助提取长根菇多酚及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2022, **43**(23): 104-109.
- [29] 刘智峰. 酶法-超声波辅助提取香椿叶中总黄酮及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, **36**(20): 314-319, 353.
- [30] 鲍青云, 韦敬柳乙, 姜泽东, 等. 响应面法优化纤维素酶辅助从泡叶藻中提取泡叶藻聚糖的工艺[J]. 过程工程学报, 2018, **18**(3): 632-638.
- [31] 李生茂, 李倩茹, 张馨予, 等. 益智总黄酮超声辅助提取工艺的响应面法优化及其抗氧化活性评价[J]. 保鲜与加工, 2021, **21**(8): 43-49.
- [32] MIRIAM R W, WINTÉ RHALTER P, ESATNEYOGLU T. Phenolic composition, radical scavenging activity and an approach for authentication of aronia melanocarpa berries, juice, and pomace [J]. *J. Food Sci.*, 2019, **84**(7): 1 791-1 798.
- [33] 王子涵, 向敏, 徐茂, 等. 响应面优化黑果腺肋花楸汁澄清工艺及其抗氧化活性评价[J]. 食品与发酵工业, 2021, **47**(8): 189-196.

电化学和新能源

Ni/CrN 高效电催化剂的制备及其析氢催化性能

胡骏^{1,3}, 梁书芹², 尹宏峰^{*3}

(1. 宁波大学 材料科学与化学工程学院, 浙江 宁波 315211; 2. 德州学院 化学化工学院, 山东 德州 253023; 3. 中国科学院宁波材料技术与工程研究所, 浙江 宁波 315201)

摘要:氢能是一种具有高能量密度的清洁能源, 如何有效的开发绿氢技术是当前社会首要解决的问题, 而研发高效稳定的电解水产氢技术的电催化剂是一种可行性的方式, 对促进氢能经济的发展具有重要的意义。通过水热-高温热解两步法合成了一种氮化铬支撑镍纳米颗粒的催化剂 (Ni/CrN)。利用 XRD、XPS、SEM 以及 TEM 等测试手段对催化剂的形貌及结构进行表征, 并在碱性环境下对催化剂进行电催化析氢性能的研究。结果表明, Ni/CrN 形成了具有珊瑚状的微观结构, 优化了电子结构, 并且表现出了优异的析氢反应 (HER) 催化性能, 在 10 mA/cm² 的电流密度下, Ni/CrN 催化剂仅有 66 mV 的过电位和 47 mV/dec 的 Tafel 斜率, 十分接近商业的 Pt/C 催化剂的析氢性能。在 10 mA/cm² 电流密度的循环稳定性测试中, Ni/CrN 表现出比商业 Pt/C 电极更优越的催化稳定性。

关键词:氢能; 析氢反应; 过渡金属氮化物; 镍; 电催化剂

中图分类号: O65 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)05-0113-07

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0026

Preparation of Ni/CrN High-Efficiency Electrocatalyst and its Catalytic Performance in Hydrogen Evolution Reaction

HU Jun^{1,3}, LIANG Shu-qin², YIN Hong-feng^{*3} (1. College of Material Science and Chemical Engineering, Ningbo University, Ningbo 315211, China; 2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Dezhou University, Dezhou 253023, China; 3. Ningbo Institute of Materials Technology & Engineering, Chinese Academy of Sciences, Ningbo 315201, China)

Abstract: Hydrogen energy is a kind of clean energy with a high energy density. It is a primary problem that how to effectively develop green hydrogen technology in the current society. This is a feasible method to study efficient and stable electrocatalysts, which is of great significance to promote the development of hydrogen economy. Nickel-supported chromium nitride catalyst (Ni/CrN) was synthesized by a two-step hydrothermal-ammoniolysis method. The morphology and structure of Ni/CrN were confirmed by XRD, XPS, SEM and TEM, respectively. The hydrogen evolution performance of Ni/CrN was studied in alkaline environments. The results showed that the HER overpotential of Ni/CrN catalyst was 66 mV and the Tafel slope is only 47 mV/dec at the current density of 10 mA/cm², which was very close to the performance of the commercial Pt/C catalyst. In the cycle stability test of current density of 10 mA/cm², Ni/CrN showed less voltage drop than commercial Pt/C electrodes, showing excellent stability.

Key words: hydrogen energy; hydrogen evolution reaction; transition metal nitrides; nickel; electrocatal

随着地球上化石燃料的不断开发和利用, 环境污染和能源危机问题日益严峻。为了实现碳达峰、碳中和的战略目标, 需要寻找一种新能源技术来代替传统的化石能源^[1-3]。其中, 氢能作为一种新型的清洁能源, 具有能量密度高、绿色、无污染和可回收等优点, 受到了科研研究人员的广泛关注^[4,5]。电解水制氢是一种高效、清洁低碳和低成本的制氢技术, 能够将间歇、不稳定的可再生能源 (如太阳能、风能) 转化储存于氢键中, 解决了可持续能源消纳以及能源供需平衡难题^[6]。然而, 电解水需要克服较高的能量势垒, 使用电催化剂可以大大降低析氢过电位, 提高电解水制氢的

效率。因此, 研发高活性和高稳定性电催化剂是

收稿日期: 2023-01-13; **网络首发日期:** 2023-02-23

基金项目: 德州学院校级基金项目 (2022xjrc401); 国家自然科学基金项目 (61971405); 宁波市科技创新 2025 项目 (2019B10041)。

作者简介: 胡骏 (1998-), 男, 江西上饶人, 硕士生, 主要研究方向为纳米材料合成和催化; 梁书芹 (1990-), 女, 山东德州人, 博士, 讲师, 主要研究方向为电催化催化剂的设计。

通讯作者: 尹宏峰, E-mail: yinhf@nimte.ac.cn。

引用本文: 胡骏, 梁书芹, 尹宏峰. Ni/CrN 高效电催化剂的制备及其析氢催化性能 [J]. 化学试剂, 2023, 45(5): 113-119。

解决问题的关键。目前, Pt 基贵金属催化剂具有低过电位、高交换电流密度和高电催化活性, 被认为是最具优势的电极材料, 但是贵金属的稀缺性和高成本是其难以广泛应用于工业的主要障碍^[7,8]。经济性和高效性是电解水制氢的核心要求, 因此寻找可替代 Pt 基电极材料的非贵金属催化剂, 解决电解水制氢工业化所面临的困境, 是一种可行的路径^[9]。

迄今为止, 大量文献报道金属氧化物^[10]、金属硫化物^[11-13]、金属磷化物^[14]、金属碳化物^[15]等过渡金属化合物都具有取代 Pt 基催化剂的潜力。其中, 过渡金属氮化物(TMN_s)是由较小半径的 N 原子占据过渡金属晶格间隙而形成的“间充化合物”, N 原子不会影响金属原子的堆叠, 因此具有优异的耐腐蚀性、导电性和催化活性, 可以作为良好的 HER 催化材料^[16,17]。例如, Qiang 等^[18]利用热氨解法制备了 Fe₃N 单相纳米颗粒, 在 10 mA/cm² 电流密度下, 具有 171 mV 的过电位。Yu 等^[19]通过热氨解法将 CoN 生长在泡沫镍上, 10 mA/cm² 电流密度下的过电位为 95 mV。Gao 等^[20]制备出了二维片状 Ni₃N 催化剂, Ni 和 N 的协同作用使催化剂拥有更多的活性位点和优异的 HER 性能, 在 10 mA/cm² 电流密度下, 仅有 59 mV 的过电位。然而, TMN_s 所体现出的优异性能相比于 Pt 基催化剂还有一定的差距。为进一步提高 TMN_s 的 HER 催化性能, 许多研究发现通过引入杂原子、构建异质结和缺陷工程等方法可以优化催化剂的电子结构, 提高活性位点的固有催化活性和增加活性位点的数量^[21]。Zhang 等^[22]通过简单的水热-氨解两步法制备了具有异质结构的 Ni₃N/Co₄N 催化剂, Ni₃N 与 Co₄N 的协同作用优化了电子结构和形貌, 充分将活性位点暴露, 提升了催化剂的 HER 活性。在 10 mA/cm² 电流密度下, 具有 58 mV 的过电位和 93 mV/dec 的 Tafel 斜率。Yao 等^[23]在碳布上合成了 Cr 掺杂的 Co₄N 纳米棒阵列, 表现出优越的 HER 性能, 仅 21 mV 的过电位可以获得 10 mA/cm² 的电流密度, Tafel 斜率为 38.1 mV/dec。Wu 等^[24]构筑了具有大量缺陷的 Ni-MoN 多孔催化剂, 极大增加了活性位点暴露, 10 mA/cm² 电流密度下的过电位仅为 24 mV, Tafel 斜率为 35.5 mV/dec, 在大电流密度下也表现出优越的析氢活性和稳定性。因此, 通过合理设计催化剂, 优化微观几何结构和调控电子结构, 可以显著提升 HER 催化

活性。

因此, 本文将基于 CrN 催化剂优越的电催化析氢性能, 同时结合 Ni 金属独特的电子结构和高导电性, 构建 Ni/CrN 支撑结构, 从而提高 HER 的析氢活性。本文利用水热法合成 NiCrO₄ 前驱体, 再通过热氨解法形成 Ni/CrN 支撑结构的电催化剂并应用于碱性 HER 反应中。Ni/CrN 的制备方法简单且表现出优异的 HER 活性和稳定性。本文开发出了一种易于制备的高性价比析氢催化剂, 为更多优异催化剂的结构设计和催化剂性能提升提供了新型的研究思路。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Rigaku Miniflex 600 型 X-射线粉末衍射仪、Thermo Fisher-Talos-F200x 型透射电子显微镜(美国 ThermoFisher 公司); S4800 型扫描电子显微镜(日本 Hitachi 公司); Axis Ultra DLD 型 X 射线光电子能谱仪(英国 Kratos 公司); SPECTRO ARCOS 型等离子体原子发射光谱仪(德国 SPECTRO 公司); CHI 760E 型电化学工作站(上海辰华仪器有限公司)。

六水硝酸镍、四水铬酸钠、乙二醇(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 实验用水为去离子水。

1.2 实验方法

1.2.1 Ni₂CrO₄ 前驱体的制备

称取 0.875 g (3.0 mmol) 六水硝酸镍和 0.239 g (1.0 mmol) 四水铬酸钠分别溶解于 40 mL V(乙二醇):V(水)=1:1 的混合溶液中。将上述溶液混合搅拌, 置于装有聚四氟乙烯内衬的高压反应釜内, 在 120 °C 下反应 12 h。待自然冷却后, 进行离心收集, 并用水和乙醇洗涤 2~3 次, 最后经 60 °C 的烘箱干燥 24 h 得到最终产品。

1.2.2 Ni/CrN 的制备

称取 Ni₂CrO₄ 前驱体于石英舟中, 在 30 mol/min 的氨气流下, 先以 5 °C/min 的升温速率升温至 350 °C, 在 350 °C 的温度下保持 2 h, 再以 5 °C/min 的升温速率升温至 500 °C 煅烧 2 h, 最后退火处理, 得到 Ni/CrN。

1.2.3 NiPs 和 CrN 的制备

在未引入 Cr 前驱体的条件下, 按上述 1.2.1 相同的制备方法制备后, 再利用 H₂ 还原前驱体制备得到单金属 Ni 样品; 在未引入 Ni 前驱体条

件下,采用 1.2.1 和 1.2.2 相同的制备方法得到 CrN 样品。

1.2.4 催化剂电极的制备

将 3.0 mg 催化剂分散在 300 μL 含有 0.1% Nafion 离子聚合物 (Sigma Aldrich) 的异丙醇水溶液 ($V(\text{异丙醇}):V(\text{水})=1:1$) 中,超声 0.5 h 得到均匀的油墨。然后,取 10 μL 油墨滴涂在工作电极 (玻璃碳, $\Phi=5.0\text{ mm}$) 上,待自然晾干后测试。

1.2.5 电催化产氢性能测试

电化学测试:在传统的三电极体系中,用 Ag/AgCl 电极作为参比电极,石墨棒作为对电极,制备的催化剂电极作为工作电极,所有测试均在 N_2 饱和的 1 mol/L KOH 电解液中进行。采用线性扫描伏安法 (LSV) 对 HER 的极化曲线进行记录,扫描电压为 $-0.8 \sim -1.2\text{ V vs Ag/AgCl}$,转速为 1 600 r/min,扫描速率为 10 mV/s;利用电化学阻抗谱 (EIS) 表征电极的导电率和电荷转移动力学;用恒定电流下的计时电压曲线 ($V-t$) 研究催化剂的稳定性。为了便于实验数据的对比,根据方程 $E_{\text{RHE}}(\text{V})=E_{\text{Ag/AgCl}}(\text{V})+1.006\text{ V}$,将所有电势值转换为可逆氢电极 (RHE)。

2 结果与讨论

2.1 XRD 分析

采用电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP-OES) 对 Ni/CrN 中含有 Ni 的含量进行了检测,其中 Ni 的含量为 58.71%,这符合制备时加入原料的比例。如图 1 所示,分别为 Ni、CrN 及 Ni/CrN 样品的 XRD 图。其中, Ni/CrN 对应的曲线分别在 37.5° 、 43.7° 、 63.5° 和 76.1° 出现的 4 个衍射峰与立方结构 CrN ($a=b=c=4.140\text{ \AA}$, PDF No. 03-1157) 的 (111)、(200)、(220) 和 (311) 晶面对应,同时 44.5° 、 51.8° 和 76.4° 出现的 3 个衍射峰分别与立方结构 Ni ($a=b=c=3.524\text{ \AA}$, PDF No. 04-0850) 的 (111)、(200) 和 (220) 晶面对应,尖锐的

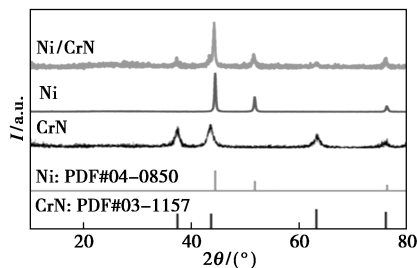


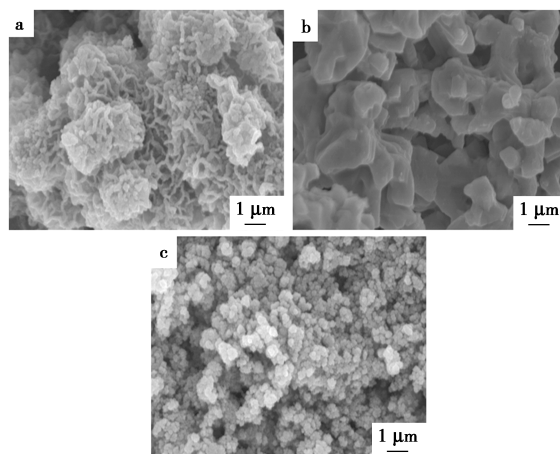
图 1 Ni、Ni/CrN 和 CrN 样品的 XRD 图

Fig.1 XRD patterns of Ni, Ni/CrN and CrN

XRD 峰谱说明样品具有良好的结晶性。由于 Ni 源的添加,前驱体在热氮解过程中会伴随 Ni 金属的形成。另外 Ni/CrN 仅出现 CrN 和 Ni 的峰,无其他杂峰出现,未出现 Ni 的氮化物峰,表明了 Ni/CrN 支撑结构的形成。

2.2 SEM 分析

采用扫描电子显微镜 (SEM) 对 Ni/CrN、Ni 和 CrN 样品的形貌进行观察。如图 2a 所示, Ni/CrN 催化剂表面有凸起条状纹路遍布,整体呈现出类珊瑚礁状结构。这种特殊结构的形成,减少了催化剂大规模团聚现象,有利于反应过程中离子的转移、电解质的渗透和 H_2 的释放,可以提高催化剂的催化活性和催化效率^[22]。从图 2b、2c 可以观察到,在相同的制备条件下, CrN 呈现出均匀的纳米颗粒状形貌, Ni 呈现出无规则的纳米片状形貌,但 CrN 和 Ni 都有大量团聚的现象出现,这不利于活性点位的分散。



a. Ni/CrN; b. Ni; c. CrN

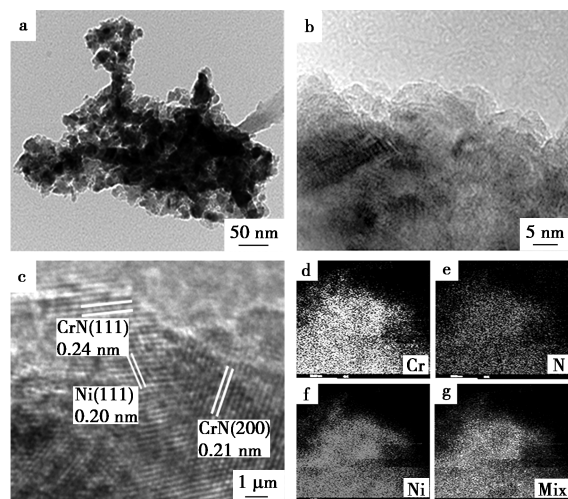
图 2 Ni/CrN、Ni 和 CrN 样品的 SEM 图

Fig.2 SEM images of Ni/CrN, CrN and Ni samples

2.3 TEM 和 EDX 分析

为了进一步研究催化剂的结构性质,用透射电子显微镜 (TEM) 对 Ni/CrN 的结构和组成进行表征,测试结果如图 3 所示。从图 3a 中可以明显的看出, Ni/CrN 边缘有较宽的薄层,这与 SEM 图观察的二维结构有关。通过高分辨透射电镜 (HRTEM) 图可以明显观察到不同取向的晶格条纹,如图 3c 所示,经过测量,其中晶格间距为 0.24、0.21 nm,可分别归属于 CrN 的 (111) 和 (200) 晶面,并且在 CrN 附存在明显的金属相,晶格间距为 0.20 nm,这对应 Ni 的 (111) 晶面。TEM 与 XRD 的结果都证明了 CrN 和 Ni 晶相的

存在,很好的形成了 Ni/CrN 支撑结构。由图 3d~3g 所示的 X 射线能量色散谱(EDS)方法探究 Ni/CrN 催化剂的元素分布,可以看出 Ni、Cr 和 N 3 种元素均匀分布,且重叠后有很好的 consistency,说明金属 Ni 与 CrN 均匀的分布在材料中。



a. Ni/CrN 的 TEM 图; b, c. Ni/CrN 的高分辨 TEM 图;

d~g. Ni/CrN 的 TEM-EDS 映射图

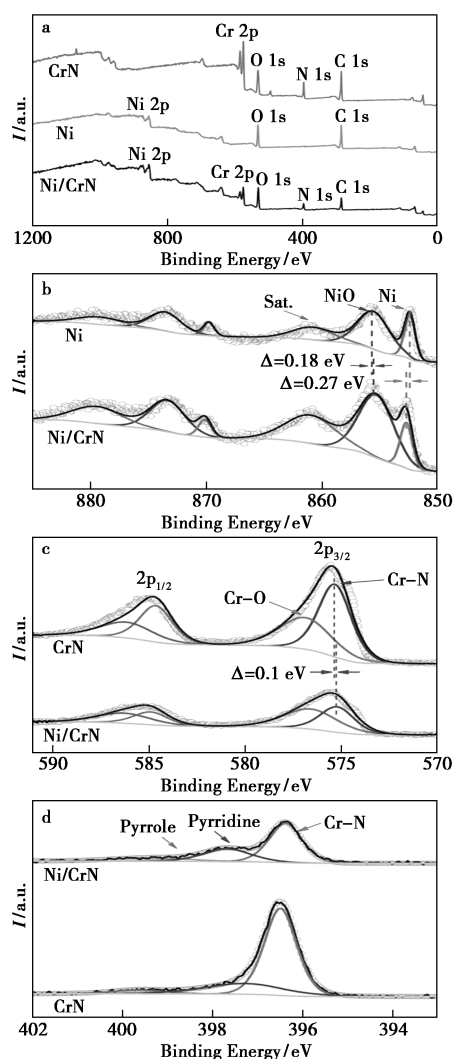
图 3 Ni/CrN 的 TEM 图和 TEM-EDS 图

Fig.3 TEM images of Ni/CrN and TEM-EDS images

2.4 XPS 分析

电化学的反应过程主要发生在催化剂的表面,因此可以通过 X 射线光电子能谱(XPS)分析催化剂表面的能级结构和化学组成。图 4a 为 Ni/CrN、Ni 和 CrN 的 XPS 全谱结果,清楚的显示了 Ni、Cr 和 N 元素的存在,这与 TEM-EDS 元素分布图结果一致。如图 4b 所示为 Ni 2p 的 XPS 图谱, Ni/CrN 催化剂呈现出 6 个特征峰,可分为 Ni 2p_{3/2} 和 Ni 2p_{1/2} 两组峰。其中,结合能处于 852.7 eV 位置的峰归属于 Ni⁰ 2p_{3/2} 轨道,对应于金属 Ni 物种,且相比于 Ni 的 Ni⁰ 2p_{3/2} 峰发生 0.3 eV 的正偏移;结合能处于 855.5 eV 位置的峰归属于 Ni²⁺ 2p_{3/2} 轨道,对应于 NiO 物种;而结合能为 861.2 eV 位置的峰对应于卫星峰^[25]。如图 4c 所示为 Cr 2p 的 XPS 图, Ni/CrN 曲线可分为 Cr 2p_{3/2} 和 Cr 2p_{1/2} 两组峰,其中结合能位于 575.2 eV 和 576.6 eV 的峰分别属于 Cr—N 键和 Cr—O 键^[16]。从 Ni 2p 和 Cr 2p 的精细谱中可以发现存在 Ni 和 Cr 的氧化物物种,而 XRD 呈现的结果中未发现氧化物物种的峰,这说明氧化物物种的出现是由于 Ni/CrN 催化剂暴露在空气中发生了部分的表面氧化。Ni/CrN 的 Ni 2p 轨道和 Cr 2p 轨道的结合能都发生一定

偏移,这是由于 Ni 与 CrN 组分之间的电子相互作用优化了催化剂的能级结构,进一步提升 Ni/CrN 电催化性能^[26]。如图 4d 所示的 N 1s 谱图, Ni/CrN 的曲线可拟合为 3 个特征峰,其中结合能位于 396.4 eV 的峰归属于催化剂的 Cr—N 键,相比于 CrN 发生了 0.1 eV 的负偏移;而位于 397.3、399.4 eV 的峰分别属于吡啶 N 和吡咯 N,这与催化剂的 HER 活性有关^[27]。在 Ni 2p 和 N 1s 图谱中,均未出现 Ni—N 键的特征峰。XPS 结果证明了 Ni/CrN 支撑结构的形成。



a. XPS 全谱; b. Ni 2p 谱图; c. Cr 2p 谱图; d. N 1s 谱图

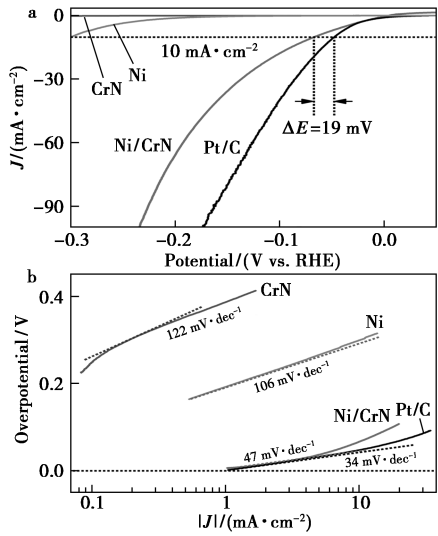
图 4 Ni/CrN、Ni 和 CrN 的 XPS 结果

Fig.4 XPS results of Ni/CrN, Ni and CrN

2.5 电催化析氢性能研究

采用三电极体系对各电极材料进行碱性(1.0 mol/L KOH) HER 性能的测试,并在相同条件下测试 Pt/C 电极的性能作为对照。如图 5a 所示为各电极材料的极化曲线,在 10 mA/cm² 电流

密度下, Ni/CrN 催化剂的过电位为 66 mV, 十分接近 Pt/C 催化剂的 47 mV, 并且远低于单纯的 Ni 和 CrN 催化剂, 证明了 Ni/CrN 具有优异的 HER 催化活性。Tafel 斜率能够为探究反应决速步骤和反应路径提供参考, 通常 Tafel 斜率越小意味着催化剂拥有更快的动力学过程和更好的催化活性^[28]。在碱性环境下, HER 过程包括三个基元反应, 分别是 Volmer 步骤 ($\text{H}_2\text{O} + \text{e}^- \longrightarrow \text{H}_{\text{ads}} + \text{OH}^-$)、Heyrovsky 步骤 ($\text{H}_{\text{ads}} + \text{H}_2\text{O} + \text{e}^- \longrightarrow \text{H}_2 + \text{OH}^-$) 和 Tafel 步骤 ($\text{H}_{\text{ads}} + \text{H}_{\text{ads}} \longrightarrow \text{H}_2$), 其理论上的 Tafel 斜率分别是 120、40 和 30 mV/dec^[29,30]。图 5b 为各电极材料的 Tafel 斜率图, 可以看出 Ni、CrN 和 Ni/CrN、Pt/C 的 Tafel 斜率分别为 106、122、47 和 34 mV/dec, 显然 Ni/CrN 催化剂的 HER 过程是 Volmer-Heyrovsky 机制作为控速步骤 (RDS), 其 Tafel 斜率远低于 CrN 和 Ni, 且十分接近 Pt/C 电极, 这有利于 HER 过程的进行。



a. 线性扫描伏安法 (LSV) 曲线图; b. Tafel 斜率图

图 5 Ni/CrN、Ni、CrN 和 Pt/C 的 HER 性能图

Fig.5 HER performance of Ni/CrN, Ni, CrN and Pt/C

为了进一步分析催化剂在 HER 过程中的动力学, 利用电化学交流阻抗 (EIS) 来评价催化剂电荷运输的能力。图 6 为各催化电极的 Nyquist 图及等效电路图 (R_s 为电解质电阻, R_1 为界面电阻, R_2 为电荷转移电阻, CPE 为常相位角元件), Ni/CrN 相比于 CrN 和 Ni 显示出一个最小的半圆, 拥有最小的电阻, 这意味着 Ni/CrN 电极拥有较小的荷电交换阻力, 有利于促进 HER 反应速率。因此, 可以说明镍的引入极大的减小了催化剂的电阻, 提高了催化剂的导电率, 使得 HER 过

程中的电子能够高效地运输, 提高了 HER 的催化活性。此外, 在 $10 \text{ mA}/\text{cm}^2$ 的恒流密度下, 对 Ni/CrN 和 Pt/C 电极进行了持续 10 h 的电化学耐久性实验。如图 7 结果所示, 经 10 h 持续电解后,

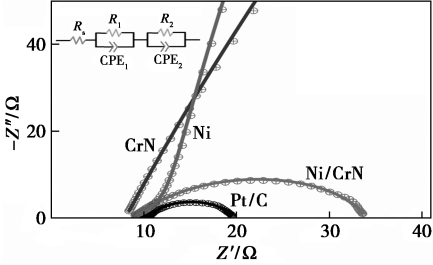


图 6 Ni/CrN、Ni、CrN 和 Pt/C 样品的交流阻抗 (EIS) 图及等效电路图

Fig.6 Electrochemical impedance spectroscopy and equivalent circuit models of Ni/CrN, Ni, CrN and Pt/C

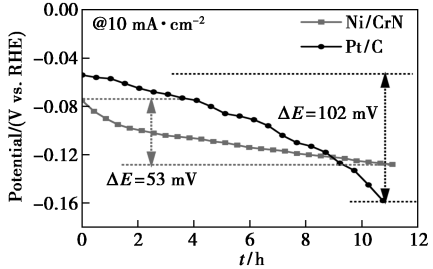


图 7 Ni/CrN 和 Pt/C 样品循环稳定性测试图

Fig.7 Chronopotentiometric curves of Ni/CrN and Pt/C

表 1 近些年报道的非贵金属催化剂 HER 性能比较^注

Tab.1 Comparison of HER performance for non-noble metal catalysts recently reported in literatures

Sample	η/mV	Tafel slop/ $(\text{mV} \cdot \text{dec}^{-1})$	Ref.
NiMoP ₂ NWs	87	66	[31]
Cr-NiNs	75	72	[32]
NiCr/rGO	473	195	[33]
CNN NPs	127	119	[34]
Cu/CuO@Co/Co ₃ O ₄ -300	82	48	[35]
Ni/WC	77	69	[15]
NC/NiCu/NiCuN	93	55	[36]
Ni ₂ P/MoS ₂	159	69	[37]
o-CoSe ₂ /c-CoSe ₂ /MoSe ₂	112	97	[38]
Ni/C ₃ N ₄	222	128	[6]
NiCoP/NF	99	65	[39]
Ni(OH) ₂ -WP/CP	77	71	[40]
3D Mo ₂ C	110	74	[41]
NiPs	300	106	This work
Pt/C (20 wt%)	48	34	
Ni/CrN	67	47	

注: 测试条件为 1 mol/L KOH 溶液, 电流密度为 $10 \text{ mA}/\text{cm}^2$ 。

Ni/CrN 的电压仅下降了 53 mV, 而 Pt/C 电压的下降值为 102 mV, 约为 Ni/CrN 的 2 倍, 这说明了 Ni/CrN 具有优异的 HER 催化稳定性。为了更直观的表现出 Ni/CrN 催化性能的优越性, 将其与近几年文献报道的 HER 催化剂进行对比, 如表 1 所示, 测试条件为 1 mol/L KOH 溶液和 10 mA/cm² 电流密度, 显然 Ni/CrN 的过电位和 Tafel 斜率低于许多已报道的非贵金属催化剂, 具有优越的 HER 析氢性能。

3 结论

3.1 采用水热法得到 NiCrO₄ 前驱体, 再通过热氨解法成功的制备了具有高分散性、高催化活性、高稳定性的 Ni/CrN 电催化剂。Ni 与 CrN 形成 Ni/CrN 支撑结构改变了催化剂的微观形貌。Ni 在催化剂表面规则的均匀分布, 形成具有条状凸起的类珊瑚礁结构, 在一定程度上提高了析氢性能。

3.2 Ni/CrN 在 1.0 mol/L KOH 溶液中表现出了最佳的析氢性能, Volmer-Heyrovsky 步骤作为反应的决速步骤, 在电流密度 10 mA/cm² 的条件下, 仅有 67 mV 过电位和 47 mV/dec 的 Tafel 斜率, 这与 Pt/C 催化剂已经十分接近。CrN 与 Ni 之间的相互作用, 优化了催化剂的电子结构, 提高了活性位点的固有催化活性, 提高了材料的导电性, 提升了 HER 催化活性。

3.3 CrN 载体的加入改善了 Ni 纳米颗粒大面积团聚的现象, 提高了 Ni 催化剂活性位点暴露的数量, 还获得了较好的析氢稳定性。在持续 10 h 的析氢反应后, 电压仅下降 53 mV, 稳定性已经超越了 Pt/C。

参考文献:

- [1] YE J, ZANG Y, WANG Q, et al. Nitrogen doped FeS₂ nanoparticles for efficient and stable hydrogen evolution reaction[J]. *J. Energy Chem.*, 2021, **56**: 283-289.
- [2] CAO S, PIAO L, CHEN X. Emerging photocatalysts for hydrogen evolution[J]. *Trends Chem.*, 2019, **2**(1): 57-70.
- [3] LU S, ZHUANG Z. Electrocatalysts for hydrogen oxidation and evolution reactions[J]. *Sci. China-Mater.*, 2016, **59**(3): 217-238.
- [4] TANG T, DING L, YAO Z C, et al. Synergistic electrocatalysts for alkaline hydrogen oxidation and evolution reactions[J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2022, **32**(2): 2107479.
- [5] CHEN L S, SHI J L. Chemical-assisted hydrogen electrocatalytic evolution reaction (CAHER)[J]. *J. Mater. Chem. A*, 2018, **6**: 13 538-13 548.
- [6] WANG L X, LI Y, YIN X C, et al. Coral-like-structured Ni/C₃N₄ composite coating: An active electrocatalyst for hydrogen evolution reaction in alkaline solution[J]. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 2017, **5**(9): 7 993-8 003.
- [7] CHENG N, STAMBULA S, WANG D, et al. Platinum single-atom and cluster catalysis of the hydrogen evolution reaction[J]. *Nat. Commun.*, 2016, **7**: 13 638.
- [8] LI Y, TAN X, HOCKING R K, et al. Implanting Ni-O-VO_x sites into Cu-doped Ni for low-overpotential alkaline hydrogen evolution[J]. *Nat. Commun.*, 2020, **11**: 2 720.
- [9] THEERTHAGIRI J, LEE S J, MURTHY A P, et al. Fundamental aspects and recent advances in transition metal nitrides as electrocatalysts for hydrogen evolution reaction: A review[J]. *Curr. Opin. Solid State Mat. Sci.*, 2020, **24**(1): 100 805.
- [10] JIN Y, WANG H, LI J, et al. Porous MoO₂ nanosheets as non-noble bifunctional electrocatalysts for overall water splitting[J]. *Adv. Mater.*, 2016, **28**(19): 3 785-3 790.
- [11] ZHANG Y, SHI M T, WANG C Z, et al. Vertically aligned NiS₂/CoS₂/MoS₂ nanosheet array as an efficient and low-cost electrocatalyst for hydrogen evolution reaction in alkaline[J]. *Sci. Bull.*, 2020, **65**(5): 359-366.
- [12] ZHU J Q, WANG Z C, DAI H J, et al. Boundary activated hydrogen evolution reaction on monolayer MoS₂[J]. *Nat. Commun.*, 2019, **10**: 1 348.
- [13] 覃彪, 郭芬岬, 黎挺挺. 金属有机骨架衍生的自支撑 Co₉S₈/Ni₃S₂ 纳米片阵列用于高效电催化分解水性能研究[J]. *化学试剂*, 2021, **43**(11): 1 480-1 485.
- [14] CHUNG Y H, GUPTA K, JANG J H, et al. Rationalization of electrocatalysis of nickel phosphide nanowires for efficient hydrogen production[J]. *Nano Energy*, 2016, **26**: 496-503.
- [15] MA Y Y, LANG Z L, YAN L K, et al. Highly efficient hydrogen evolution triggered by a multi-interfacial Ni/WC hybrid electrocatalyst[J]. *Energy Environ. Sci.*, 2018, **11**: 2 114.
- [16] MENG X J, QI W L, KUANG W D, et al. Chromium-titanium nitride as an efficient cocatalyst for photocatalytic hydrogen production[J]. *J. Mater. Chem. A*, 2020, **8**: 15 774.
- [17] HUA W, SUN H H, LIU H Y, et al. Interface engineered NiMoN/Ni₃N heterostructures for enhanced alkaline hydrogen evolution reaction[J]. *Appl. Surf. Sci.*, 2021, **540**: 148 407.
- [18] QIANG R, WANG H, XU K, et al. Available active sites on ε-Fe₃N nanoparticles synthesized by a facile route for hydrogen evolution reaction[J]. *Adv. Mater. Interfaces*,

- 2021, **8**(11): 2 100 070.
- [19] YU L, SONG S W, MCELHENNY B, et al. A universal synthesis strategy to make metal nitride electrocatalysts for hydrogen evolution reaction [J]. *J. Mater. Chem. A*, 2019, **7**: 19 728.
- [20] GAO D Q, ZHANG Z Y, WANG T T, et al. Metallic Ni₃N nanosheets with exposed active surface sites for efficient hydrogen evolution [J]. *J. Mater. Chem. A*, 2016, **4**: 17 363.
- [21] ZHONG W D, YAGN C F, WU J, et al. Oxygen vacancies induced by charge compensation tailoring Ni-doped Co₃O₄ nanoflakes for efficient hydrogen evolution [J]. *Chem. Eng. J.*, 2022, **436**: 134 813.
- [22] ZHANG L X, WEI H, JIU H F, et al. Ni₃N/Co₄N nanosheet heterojunction electrocatalyst for hydrogen evolution reaction in alkaline fresh water/simulated seawater [J]. *Dalton Trans.*, 2022, **51**: 16 733-16 739.
- [23] YAO N, LI P, ZHOU Z R, et al. Synergistically tuning water and hydrogen binding abilities over Co₄N by Cr doping for exceptional alkaline hydrogen evolution electrocatalysis [J]. *Adv. Energy Mater.*, 2019, **9**(41): 1 902 449.
- [24] WU L B, ZHANG F H, SONG S W, et al. Efficient alkaline aater/seawater hydrogen evolution by a nanorod-nanoparticle-structured Ni-MoN catalyst with fast water-dissociation kinetics [J]. *Adv. Mater.*, 2022, **34**: 2 201 774.
- [25] LI Y, MIN K A, HAN B C, et al. Ni nanoparticles on active (001) facet-exposed rutile TiO₂ nanopyramid arrays for efficient hydrogen evolution [J]. *Appl. Catal. B-Environ.*, 2021, **282**: 119 548.
- [26] QI Z B, ZENG Y, HOU Z, et al. Heterointerface engineering of Ni/Ni₃N hierarchical nanoarrays for efficient alkaline hydrogen evolution [J]. *Nano Res.*, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12274-022-5339-6>.
- [27] ZHANG R F, XU L D, WU Z H, et al. Nitrogen doped carbon encapsulated hierarchical NiMoN as highly active and durable HER electrode for repeated ON/OFF water electrolysis [J]. *Chem. Eng. J.*, 2022, **436**: 134 931.
- [28] ZHAO G Q, RUI K, DOU S X, et al. Heterostructures for electrochemical hydrogen evolution reaction: A review [J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2018, **28**(43): 1 803 291.
- [29] MMOHAMMED-IBRAHIM J, SUN X. Recent progress on earth abundant electrocatalysts for hydrogen evolution reaction (HER) in alkaline medium to achieve efficient water splitting-A review [J]. *J. Energy Chem.*, 2019, **34**: 111-160.
- [30] LAO M M, LI P, JIANG Y Z, et al. From fundamentals and theories to heterostructured electrocatalyst design: An in-depth understanding of alkaline hydrogen evolution reaction [J]. *Nano Energy*, 2022, **98**: 107 231.
- [31] HE X, HONG W T, JIAN C Y, et al. High-performance alkaline hydrogen evolution of NiMoP₂ nanowire boosted by bimetallic synergic effect [J]. *Int. J. Hydrog. Energy*, 2019, **44**(41): 23 066-23 073.
- [32] KIM J, JUNG H, JUNG S M, et al. Tailoring binding abilities by incorporating oxophilic transition metals on 3D nanostructured Ni arrays for accelerated alkaline hydrogen evolution reaction [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2021, **143**(3): 1 399-1 408.
- [33] KAMALI S, ZHIANI M, TAVAKOL H. Synergism effect of first row transition metals in experimental and theoretical activity of NiM/rGO alloys at hydrogen evolution reaction in alkaline electrolyzer [J]. *Renew. Energy*, 2020, **154**: 1 122-1 131.
- [34] YAN Y Q, MA Q H, CUI F, et al. Carbon onions coated Ni/NiO nanoparticles as catalysts for alkaline hydrogen evolution reaction [J]. *Electrochim. Acta*, 2022, **430**: 141 090.
- [35] CAI Z Y, LI A, ZHANG W, et al. Hierarchical Cu@Co-decorated CuO@Co₃O₄ nanostructure on Cu foam as efficient self-supported catalyst for hydrogen evolution reaction [J]. *J. Alloy. Compd.*, 2021, **882**(15): 160 749.
- [36] HOU J G, SUN Y Q, LI Z W, et al. Electrical behavior and electron transfer modulation of nickel-copper nanoalloys confined in nickel-copper nitrides nanowires array encapsulated in nitrogen-doped carbon framework as robust bifunctional electrocatalyst for overall water splitting [J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2018, **28**(37): 1 803 278.
- [37] KIM M, ANJUM M A R, LEE M, et al. Activating MoS₂ basal plane with Ni₂P nanoparticles for Pt-like hydrogen evolution reaction in acidic media [J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2019, **29**(10): 1 809 151.
- [38] JI Y, LOU W, LIU Y, et al. Bifunctional o-CoSe₂/c-CoSe₂/MoSe₂ heterostructures for enhanced electrocatalytic and photoelectrochemical hydrogen evolution reaction [J]. *Mater. Today Chem.*, 2022, **23**: 100 724.
- [39] YE F, YANG Y K, LIU P, et al. In-situ porous flake heterostructured NiCoP/Ni foam as electrocatalyst for hydrogen evolution reaction [J]. *Electrochim. Acta*, 2022, **423**: 140 578.
- [40] KIM D, PARK J, LEE J, et al. Ni(OH)₂-WP hybrid nanorod arrays for highly efficient and durable hydrogen evolution reactions in alkaline media [J]. *ChemSusChem*, 2018, **11**(20): 3 618-3 624.
- [41] YANG X, CHEGN J, YANG X, et al. Facet-tunable coral-like Mo₂C catalyst for electrocatalytic hydrogen evolution reaction [J]. *Chem. Eng. J.*, 2023, **451**: 138 977.

锂离子电池硅基阳极预锂化研究进展

杨井玉, 侯果林, 静若盈, 荣峻峰*

(中石化石油化工科学研究院有限公司, 北京 100083)

摘要:硅基阳极材料具有超高的理论比容量,是替代石墨类材料、提高锂离子电池能量密度的有效途径。但与石墨类材料相比,硅基阳极材料在首次嵌锂过程中,会大量消耗来自正极的锂离子,造成活性锂损失,形成较大的初始不可逆容量,影响材料的首次库伦效率,严重降低了锂离子电池的能量密度。预锂化技术,通过使电极材料接触额外的锂源,可以补偿锂离子电池在首次循环过程中造成的活性锂损失,是目前提高锂离子电池首次库伦效率的最有效手段,可使锂离子电池获得更高的能量密度和更好的循环性能。对当前主要的预锂化手段进行了概述,总结了各种预锂化技术的优缺点,并提出预锂化技术未来面临的挑战,为预锂化策略的实际性应用提供方向。

关键词:锂离子电池;预锂化;阳极;硅;氧化亚硅

中图分类号:TM912 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2023)05-0120-10

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2022.0920

Research Progress on Pre-Lithiation of Silicon-Based Anode for Lithium-ion Batteries YANG Jing-yu, HOU Guo-lin, JING Ruo-ying, RONG Jun-feng* (Sinopec Research Institute of Petroleum Processing Co., Ltd., Beijing 100083, China)

Abstract: Silicon-based anode materials have ultra-high theoretical specific capacity, which is an effective way to replace graphite materials and improve the energy density of lithium-ion batteries. However, compared with graphite materials, silicon-based anode materials will consume a large amount of lithium ions from positive electrodes in the first lithium intercalation process, resulting in active lithium loss, forming a larger initial irreversible capacity, affecting the first Coulomb efficiency of the materials, and seriously reducing the energy density of lithium-ion batteries. The pre-lithiation technology, which can compensate for the active lithium loss caused by the first cycle of lithium-ion batteries by making the electrode material contact with additional lithium sources, is the most effective means to improve the first Coulomb efficiency of lithium-ion batteries at present, which can make lithium-ion batteries obtain higher energy density and better cycle performance. This review summarizes the main pre-lithiation methods at present, summarizes the advantages and disadvantages of various pre-lithiation technologies, and puts forward the challenges faced by pre-lithiation technology in the future, which provides a direction for the practical application of the pre-lithiation strategy.

Key words: lithium-ion batteries; prelithiation; anode; Si; SiO

随着消费类电子设备和电动汽车的蓬勃发展,人们对储能装置的能量密度提出了更高要求^[1],其中锂离子电池凭借着寿命长、输出电压高、无记忆效应等优点^[2],极大方便了能源的供应与使用,成为最常用的储能装置。锂离子电池的能量密度与正负极材料密切相关,而正极材料的容量正在接近其理论上限,阳极材料理论比容量较大,所以锂离子电池能量密度的提升更依赖于阳极材料^[3]。石墨作为目前最常用的商业化阳极材料,具有 372 mA·h/g 的比容量和约 90% 的首次库伦效率(简称首效)^[4-7],但其较低的能量密度满足不了人们对高能量密度电池的需求。硅基材料(Si 约 4 200 mA·h/g; SiO 约 2 100 mA·h/g)^[8]凭借较高的理论比容量、较低的嵌锂电位、丰富的储量、稳定的化学性质得到研究人员的广泛关注^[9]。

硅基材料 Si(首效约 80%)与 SiO(首效约 60%)因自身结构不同,具有不同的嵌锂原理, SiO 的首次库伦效率较低与其复杂的结构密切相关。Si 嵌锂方式较为简单,与锂离子接触后形成 Li_xSi 进行储锂^[10],由于储锂量较大,嵌锂后会产生巨大的体积膨胀(约 300%)^[11],且反复脱嵌锂的体积变化使得 Si 断裂和粉化、从极片上脱落、固体电解质界面膜(SEI)不断地破裂和再生^[12],降低了 Si 的循环性能。目前对 SiO 的结构有多种解

收稿日期:2022-12-12;网络首发日期:2023-02-14

作者简介:杨井玉(1994-),男,吉林长春人,硕士生,主要研究方向为锂离子电池硅氧阳极预锂化。

通讯作者:荣峻峰, E-mail:rongjf.ripp@sinopec.com。

引用本文:杨井玉,侯果林,静若盈,等.锂离子电池硅基阳极预锂化研究进展[J].化学试剂,2023,45(5):120-129。

读,包括“随机键合”模型^[13]、“随机混合”模型^[14]与“界面团簇混合模型”^[15],主流上认为 SiO 的结构更符合“界面团簇混合模型”,即非晶态 SiO 是由 Si 团簇分散在 SiO₂ 基体中组成,如图 1a 所示。SiO 中存在 5 种键合结构,如图 1b 所示,表明在 SiO 中,除了纯 Si 与 SiO₂ 以外,还存在其他的亚氧化物^[15],这就导致了 SiO 会发生复杂的嵌锂反应。SiO (膨胀率约为 120%) 接触锂离子后发生如下反应^[16]: $\text{SiO} + \text{Li}^+ + \text{e}^- \longrightarrow \text{Li}_x\text{Si} + \text{Li}_y\text{SiO}_2 + \text{Li}_2\text{O}$, 充满电后,40% 的锂被转变为 Li_xSi ($\text{Li}_{12}\text{Si}_7$ 、 Li_7Si_3 、 $\text{Li}_{13}\text{Si}_4$), 该合金在随后的循环过程中可充放电,60% 的锂转变为 Li_ySiO_2 (多数 Li_4SiO_4 、 $\text{Li}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 、 Li_2SiO_3 、 $\text{Li}_6\text{Si}_2\text{O}_7$) 和 Li_2O ^[17],起到离子导体与缓冲 Si 膨胀的作用^[18]。 Li_4SiO_4 、 Li_2SiO_3 、 $\text{Li}_6\text{Si}_2\text{O}_7$ 电化学上不活跃^[19],产生了不可逆容量,降低了 SiO 的首效。当 SiO 中的氧含量增加时,嵌锂后会产生更多的 Li_2O 与 Li_4SiO_4 ,可更好的缓冲硅的体积膨胀,但同时也会进一步降低材料的首效, SiO 内最佳的硅氧比为 1 : 1.06^[20]。硅基阳极较差的电导率、较低的首效、较差的循环性是阻碍其商业化的主要因素。

电极材料在首次嵌锂过程中会在表面生成固体电解质界面膜,对电极材料的首效产生较大影响。硅基阳极的 SEI 膜主要成分为 LiF 、 Li_2CO_3 、 Li_xPF_y ^[21]、 Li_xSiF_y 、 Li_xSiO_y 和 Li_2O ^[22] 等,形成 SEI 膜的过程中不可逆地消耗来自正极的锂离子,产生了部分“死锂”^[23]。SEI 膜形成所造成锂离子的损耗,降低了材料的可逆容量和首次库伦效率,导致全电池的能量密度降低^[24]。

不可逆 Li_xSiO_2 与 SEI 膜的生成降低了硅基阳极的首效,而首次库伦效率是影响锂离子电池能量密度的关键因素,为提高材料的首次库伦效率人们提出预锂化的方法。通过预锂化处理可使材料的首次库伦效率接近甚至超过 100%,对提高电池的能量密度具有重大意义。预锂化是指在锂离子电池工作之前,使电极极片或电极材料预先接触额外锂源,用来弥补在充放电过程中造成的锂损失^[25]。当预锂化达到最大容量时,高度均匀的 Li 分布将导致均匀的 Li_xSi 相的形成,并使硅基阳极的电势水平接近 Li 的电势水平,因此电池的开路电压可能接近 0 V^[26]。预锂化技术是提高硅基材料首次库伦效率、能量密度、循环性能的有效手段。本文主要从化学预锂化、电化学预锂化、添加剂预锂化、稳定金属锂粉 (SLMP) 等 4 个

方面综述了预锂化手段,总结了不同预锂化方法的优缺点,从预锂化方法上展望未来预锂化发展的方向,为提高锂离子电池硅基阳极材料的首次库伦效率与循环性能提供参考。

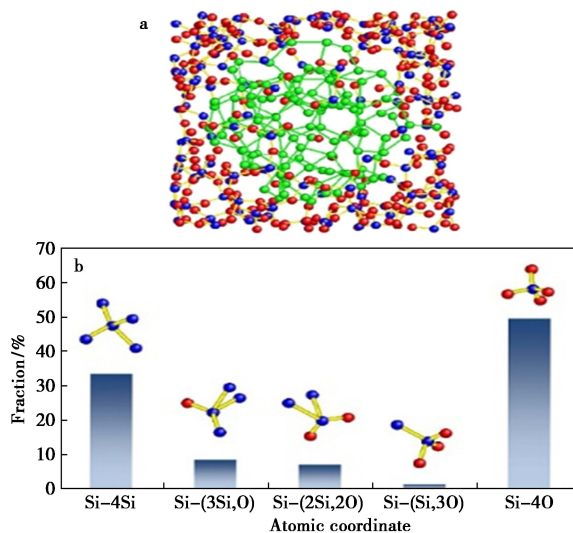


图 1 a.SiO 团簇结构示意图^[15];

b.SiO 中不同的键合结构与占比^[15]

Fig.1 a.Schematic diagram of cluster structure of SiO^[15]; b.Different bonding structures and proportions in SiO^[15]

1 化学预锂化

化学预锂化分为高温焙烧的热化学预锂化与普通温度的预锂化。热化学预锂化是将硅基材料与锂源高温焙烧,在高温条件下触发化学反应,另一种为将金属锂溶解于有机溶剂中配备具有较强还原性的含锂溶液,再通过氧化还原反应将溶液中的锂离子转移到活性材料上。化学预锂化的概念最早由 Scott 等提出^[27],他们使用正丁基锂对炭黑阳极进行预锂化,使锂离子电池的不可逆容量略有下降。

为提高预锂化后材料的导电性与电化学性能, Li 等^[28]使用 SiO、锂箔与 NH_3 ,制备了 LiNH_2 包覆的 SiO (Li-SiO),如图 2a 所示,将 Li-SiO 与 LiCl 研磨均匀后高温焙烧,制备了由 $\text{Li}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 、 SiO_2 和 Si 组成的壳层, SiO 为核心的石榴状的纳米团聚体 (M-Li-SiO)。壳层 $\text{Li}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 具有较好的 Li^+ 扩散性,降低了 SEI 膜的反应阻力与界面阻抗。在添加 $n(\text{SiO}) : n(\text{Li}) = 15 : 1$ 时,制备的 M-Li-SiO 的可逆容量为 1 013.3 $\text{mA} \cdot \text{h/g}$,首次库伦效率为 88.2% (注:文章所提及的首次库伦效率除特殊标注外,都为半电池首效)。

为提升预锂化过程中的安全性,避免金属锂的直接使用,Zhu 等^[29]将 Si@SiO 与 LiBH₄ 高温密闭焙烧,制备了 Li₂SiO₃ 包覆 Si(Si@Li₂SiO₃) 的阳极,如图 2b 所示。壳层材料 Li₂SiO₃ 热力学性质较为稳定,可减少第一次循环过程中对 Li⁺ 的消耗。制备的 Si@Li₂SiO₃ 阳极材料的首次充放电容量分别为 2 864、3 211 mA·h/g,首效为 89.1%,未添加 LiBH₄ 的 Si@SiO 阳极的首效仅为 66.3%,首次库伦效率的提高得益于原位形成的人造 SEI 膜(Li₂SiO₃) (如图 2c 所示)。

为进一步强化锂源的稳定性和更高的首效,Chung 等^[30]使用稳定性较好的 LiH 作为锂源对 SiO 进行热化学预锂化,当加热温度上升到

400~525 °C 时, LiH 脱氢释放 Li, 并与 SiO 反应生成 Li₂O, 温度高于 525 °C 时, Li₂O 与残留在 SiO 中的 SiO₂ 反应并生成热力学较稳定的 Li₂SiO₃, 调整了 SiO 内部的微观结构, 保留了活性硅相与非活性硅酸锂缓冲相组成的三维纳米结构。调整 Li/Si 比为 0.67 时的预锂化 SiO 阳极, 可逆容量为 1 203 mA·h/g, 首次库伦效率为 90.5% (如图 2d 所示), 高于未预锂化的 SiO 的 59.3% 的首效。

直接对硅基材料进行化学预锂化处理可避免对现有电池装配工艺的更改, 具有较大的商业化价值, 前提是要提高预锂化后材料的稳定性。Yan 等^[31]将联苯与金属锂在四氢呋喃中溶解配备了 Li-Bp/THF 溶液(如图 2e 所示), 在加热的

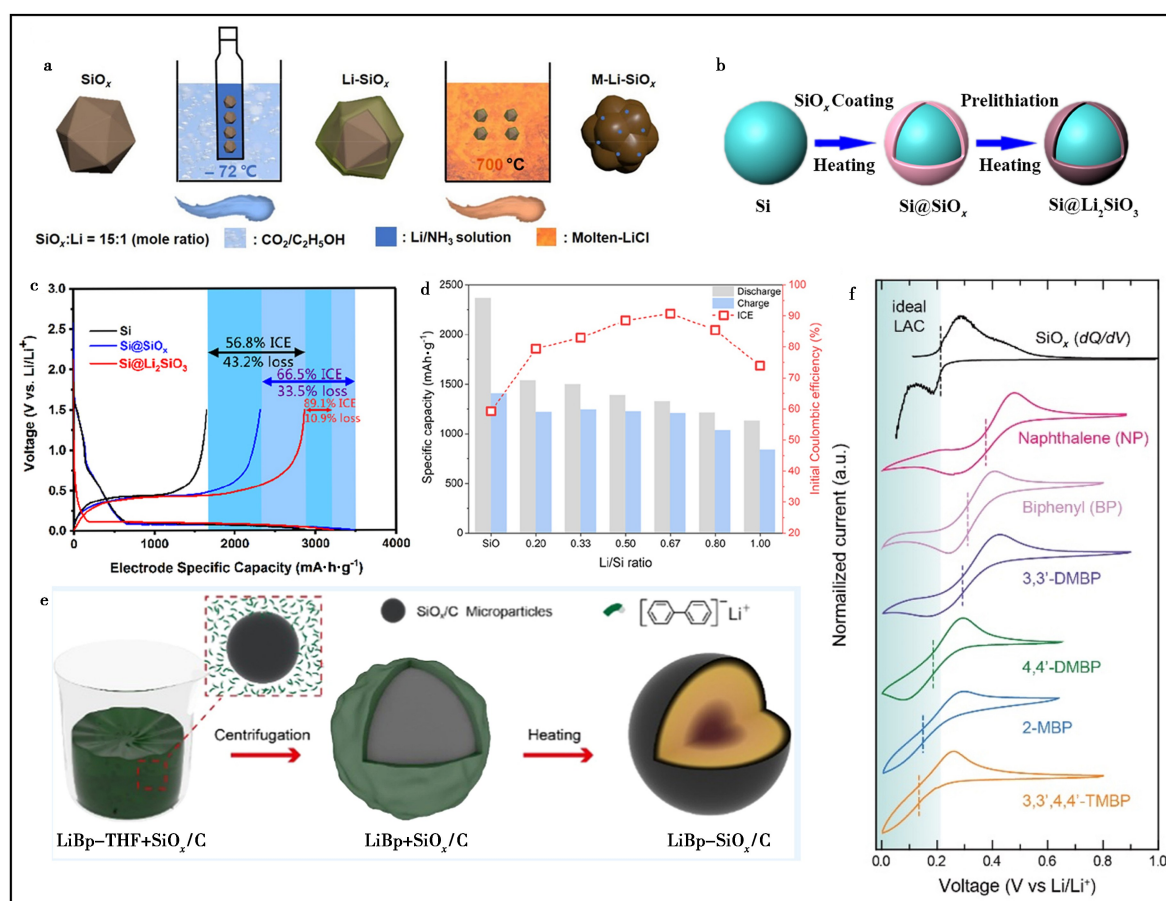


图 2 a.M-Li-SiO 合成工艺示意图^[28];b.Si@Li₂SiO₃ 合成工艺示意图^[29];c.Si、Si@SiO 和 Si@Li₂SiO₃ 电极在 0.3 A/g 下的初始循环充放电曲线^[29];d.不同硅氧比的 SiO 的首次充放电曲线与首次库伦效率^[30];e.LiBp 预锂化 SiO/C 工艺示意图^[31];f.萘、联苯和联苯衍生物的 CV 曲线及 SiO 阳极的微分电容曲线^[33,34]

Fig.2 a.Schematic picture of the synthesis process of M-Li-SiO^[28];b.Schematic diagram of the Si@Li₂SiO₃ preparation route^[29];c.Initial cycle charge/discharge curves of Si, Si@SiO_x, and Si@Li₂SiO₃ electrodes at 0.3 A/g^[29];d.First charge-discharge capacity and first Coulomb efficiency of SiO with different Si/O ratio^[30];e.Schematic illustration of the synthesis process for LiBp-SiO/C^[31];f.CV curves of naphthalene, BP, and BP derivatives, and the differential capacitance curve of SiO anode^[33,34]

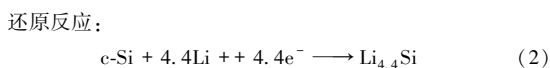
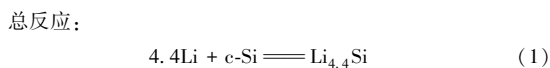
条件下对 Li-Bp/THF 试剂中的 SiO/C 材料进行预锂化,通过液相预锂化与高温煅烧相结合,在微粒外部生成了 SEI 膜,同时在 SiO/C 内原位形成了 Li_xSiO_y ,提高了 SiO/C 的首次库伦效率、结构完整性与循环稳定性,碳层的包覆可抑制内部材料膨胀,同时高温焙烧处理可提高预锂化后材料的稳定性。半电池测试中添加的金属锂与 SiO/C 的质量比为 1%、3%、5%、7%、9% 时可将 SiO/C 的首效由最初的 75.6% 提高到 78.0%、82.5%、87.3%、89.0%、90.0%。

Nap、Bp 制备成的含锂有机试剂的还原电位较高,对 SiO 预锂化后嵌入其中的活性锂不足,为对比还原电位对化学预锂化的影响,Zhang 等^[32]使用 Li-Nap(0.35 V vs Li/Li⁺)、Li-Bp(0.33 V vs Li/Li⁺)、Li-Flr(0.18 V vs Li/Li⁺) 等不同还原电位的金属锂有机溶剂,对 SiO/Gr 电极浸泡预锂化,预锂化效果顺序 Li-Flr>Li-Bp>Li-Nap,结果表明不同还原电位的预锂试剂会影响预锂的速度,试剂的还原电位越低,预锂化所需时间越短,预锂化程度越高。

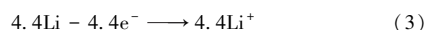
液相的化学预锂化具有较好的反应均匀性,但由于使用试剂的还原电位普遍较高,进行预锂化时只是在材料表面形成不致密的 SEI 膜,对首效和循环性能的提升有限。通过对使用的有机化合物引入甲基及其他种类的官能团^[33,34],可降低其还原电位(如图 2f 所示),加深对电极材料嵌锂程度。通过在电解液中添加更多的有助于成膜的添加剂^[35],在化学预锂化的同时能提高 SEI 膜的致密度。化学预锂化通常使用一些较为危险的试剂,存在较高的可燃性和毒性,反应时需要惰性气氛。提高化学预锂化的安全性,简化预锂化条件对推进化学预锂化的应用有较大的实际作用。

2 电化学预锂化

电化学预锂化,分为内部短路法与外部短路法。内部短路法是将阳极材料与金属锂箔直接接触进行预锂化,金属锂化学电位较低,锂箔与阳极材料接触时触发内部短路进行预锂化。内部短路法预锂化可自发的形成锂硅合金,如下式所示^[36]:



氧化反应:



$$\Delta G = -nEF \approx -4.4 \times 0.1 \times 96\,500 = -42 \text{ kJ/mol} \quad (4)$$

其中: ΔG 为总反应的吉布斯自由能; E 为总反应势; F 为法拉第常数,设 E 约为 0.1 V。

为增加硅基阳极材料预锂化后的循环性与导电性,Yao 等^[37]通过静电自组装法将 Si 纳米颗粒用氧化石墨烯包裹(GONRs),如图 3a 所示,用金属锂直接接触 GONRs 阳极进行预锂化,预锂化后的材料表现出了较好的倍率性能和循环性能。

但将锂金属与阳极材料直接接触很难精确调节预锂化的均匀性和预锂化程度。Meng 等^[38]在锂金属和阳极之间添加一个电阻缓冲层(RBL)来调节预锂化的速率(如图 3b 所示),RBL 为多孔结构同时具有较高的电导率,增加了 Li⁺ 的扩散性,RBL 柔软的结构特性使锂箔与阳极材料的接触较为紧密,优化了预锂的均匀性。添加 RBL 对 SiO_x 预锂化,使半电池首次库伦效率由未预锂化的 79.4% 提高到 89.2%。

然而这种在锂箔与阳极之间引入刚性电阻层的方法,虽然减缓了 Li⁺ 的扩散速率,但是对 Li⁺ 的扩散性提升不大,仍会产生局部过锂化,为提高锂离子的扩散性,提升预锂的均匀性。Wang 等^[39]对缓冲层中电子、离子的扩散性进行了设计,通过在锂箔与 Si-Gr 阳极之间插入中间缓冲层(IBL),增加了 Li⁺ 的分布均匀性,如图 3c 所示。对容量为 1 000 mA·h/g 的材料(Si/Gr-1000)接触锂箔 1、2、3、4 h 后首次库伦效率分别为 84.3%、99.6%、116.7%、135.4%,均匀的预锂化过程使得材料的首效与循环性能得到较大的提升(如图 3d 所示)。

为了进一步提高预锂化的均匀性、加大对预锂化程度的控制、降低不可逆容量、提高 Si 阳极的循环寿命。Kim 等^[40]通过真空热蒸发法,在惰性气氛下将金属锂蒸发在(Si-Gr)阳极表面,精确控制预沉积锂的厚度,增加了预锂的均匀性,预锂化后半电池首次库伦效率为 88.6%。当锂层的沉积厚度分别为 2、3.4、4.7、5.4 μm 时,首效分别为 94.5%、98%、102% 和 103.6%。

Kim 等^[41]将金属锂箔与阳极组装成通路,调控电流和电压精确控制预锂化程度(如图 3e 所示),对锂箔与碳包覆 SiO(C-SiO_x) 组装成通路,在外电阻的作用下控制预锂化的速率。预锂化 30 min 后首次充放电容量分别为 1 369.3、1 443.6 mA·h/g,100 圈后容量保持率为 74.3%。

他们还提出了电化学预锂化的商业化模型,但因为锂箔的高反应活性、电解液的蒸发,使这种工艺较难实现。

预锂化后的阳极极片表面具有较高的反应活性,在拆卸时容易自燃,为提高极片在电化学预锂化后的空气稳定性。Wang 等^[42]首先制备了碳包覆的 SiO 空心微球(如图 3f 所示),电化学预锂化后再进一步热处理钝化(Thermal passivation),热处理钝化后使暴露在表面的 Li_xSi 微粒内的 Li 向 SiO 内部转移,并在微粒表面留下 Li_2O ,使预锂化后的微粒具有良好的空气稳定性。将热处理钝化后的微粒在湿度 10%~20% 的空气中放置 48 h 后仍具有 99.2% 的首次库伦效率,1 000 次循环后容量保持率为 89.8%,并提出了可能商业化的制备流程,如图 3g 所示。

内部短路法预锂化操作相对简便,但目前对

干湿法预锂化^[43],短路时间、短路压力^[44]的控制一般基于经验来操作,显现出很多缺点,虽然仍能对电极材料进行嵌锂,但往往存在预锂化程度不可控与锂离子分布不均匀。研究人员通过在锂箔与阳极材料之间插入中间相的缓冲层,改善了预锂化的速率与锂离子的扩散性,为后面发展自放电预锂化拓展了思路。外加电路预锂化有着较好的预锂均匀性与精细可控的预锂程度,但在拓展方面避免不了电解液的使用并产生了电解液挥发的问题,而且预锂化过程中需要组装外电路、电极材料的拆卸,使操作流程复杂化,阻碍了商业化的推进。

3 添加试剂预锂化

研究人员将硅与金属锂直接加热,在高温下发生合金化反应制备了锂硅合金纳米颗粒(Li_xSi),

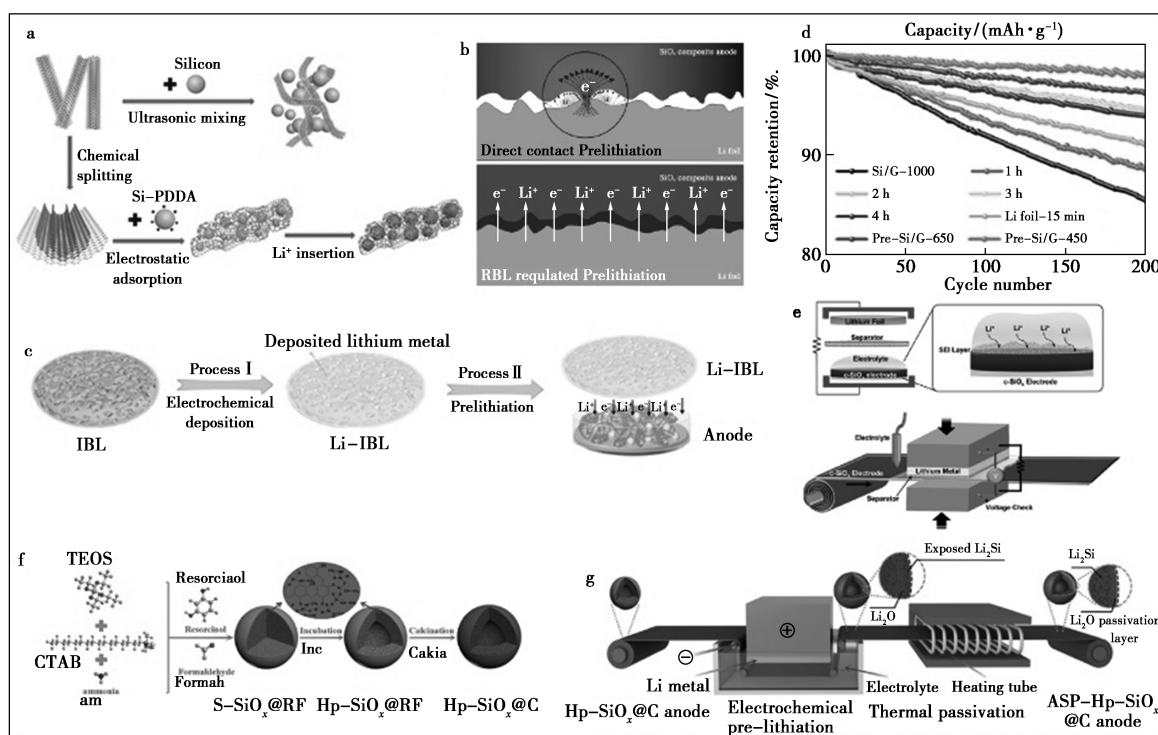


图 3 a.Si/GONRs 合成工艺示意图^[37]; b.直接接触预锂化过程(上)和 RBL 调节的预锂化过程(下)中锂离子和电子转移示意图^[38]; c.Li-IBL 制备和预锂化过程示意图^[39]; d.预锂化前后不同 Si/G 阳极的容量保持率^[39]; e.对 C-SiO 电化学预锂化及可能的商业化工示意图^[41]; f.Hp-SiO_x@C 制备工艺示意图^[42]; g.大规模制备 ASP-Hp-SiO_x@C 阳极示意图^[42]

Fig.3 a.Schematic illustration of Si/GONRs synthesis process^[37]; b.Illustration of Li-ion and electron transfer in the direct contact prelithiation process (up) and RBL-regulated prelithiation process (down)^[38]; c.Schematic illustration of the Li-IBL preparation and its direct prelithiation process^[39]; d.Capacity retention values of various Si/G anodes before and after the prelithiation process^[39]; e.Graphical illustration of prelithiation process of c-SiO_x electrode and its scalable roll-to-roll process scheme^[41]; f.Schematic illustration of the preparation procedure of Hp-SiO_x@C^[42]; g.Schematic diagram of the large-scale roll-to-roll preparation of ASP-Hp-SiO_x@C anode^[42]

具有较低的氧化还原电位和超高的比容量,可作为阳极材料直接使用,也可作为预锂添加剂,且作为预锂添加剂使用时不引入其他物质,不会引起能量密度的降低。但由于 Li_xSi 具有较高的反应活性,暴露于空气环境中容量会急剧削减,制备与保存过程都需要在无水环境中进行。为实现 Li_xSi 的实际应用,最重要的是提高 Li_xSi 的稳定性。

为提高锂硅合金的稳定性,Zhao 等^[45]先后采用 3 种不同方法对 Li_xSi 进行保护性包覆,如图 4a 所示。第一种方法是将 Li_xSi 纳米颗粒暴露于干燥空气中,在面上形成 Li_2O 保护层($\text{Li}_x\text{Si}/\text{Li}_2\text{O}$ 核壳结构),第二种方法是使用 1-氟癸烷(1-fluorodecane)对 Li_xSi 表面改性,在表面生成人造 SEI 涂层。两种方法制备的材料都有较好的干燥环境稳定性,但一旦暴露在环境空气中,容量会急剧下降。最后该课题组从结构设计上着手,使用 SiO 与金属锂进行合金化反应,制备了 Li_xSi 纳米颗粒均匀分布在高度结晶的 Li_2O 基质中的包埋结构($\text{Li}_x\text{Si}/\text{Li}_2\text{O}$ 包埋结构),具有较好的空气稳定性。在湿度 40% 的空气环境中具有较好的稳定性,如图 4b 所示,通过合理的结构设计提高了锂硅合金的稳定性。

其他研究人员也在提高锂硅合金稳定方面做出了研究,Wang 等^[46]首先在 Si 的表面包覆 TiO_2 ,再将包覆后的材料与金属锂进行合金化反应,制备了 $\text{Li}_x\text{Si}@ \text{Li}_2\text{O}/\text{Ti}_y\text{O}_z$ 纳米颗粒,具有较高的放电容量,在 0.5 C 电流密度下 500 圈后可逆容量为 $1\,300\text{ mA}\cdot\text{h/g}$,容量保持率为 77%。同样 Yang 等^[47]使用异丙醇铝对 Li_xSi 纳米颗粒进行包覆,通过异丙醇铝与 Li_xSi 之间的化学反应,在 Li_xSi 纳米颗粒表面生成约 10 nm 的 $\text{Li}_x\text{Al}_y\text{SiO}_z/\text{Li}_2\text{O}$ 包覆层,提高了 Li_xSi 在潮湿空气中的容量保持率。

同时一些添加含锂化合物在硅基材料表面预生成 SEI 膜的技术,也可提高阳极材料的电化学性能。Yu 等^[48]将 SiO 与 Li_2CO_3 以 6:1 的比例混合,通过磁控溅射技术制备成 Li_2CO_3 膜层包覆 SiO 的微粒,如图 4c 所示, Li_2CO_3 膜层分布于 SiO 的内部与表面(SiO-LSE)。惰性的 Li_2CO_3 是 SEI 膜的主要成分, Li_2CO_3 作为锂源可提供形成 SEI 膜的锂离子,诱导 SEI 的生成,嵌入型的 SEI 膜可有效缓解 SiO 的膨胀,增强了材料的循环性能,同时内部的 SEI 膜可促进锂离子的扩散,增加了材料的导电性。 SiO-LSE 的首效为 84.7% (如图 4d

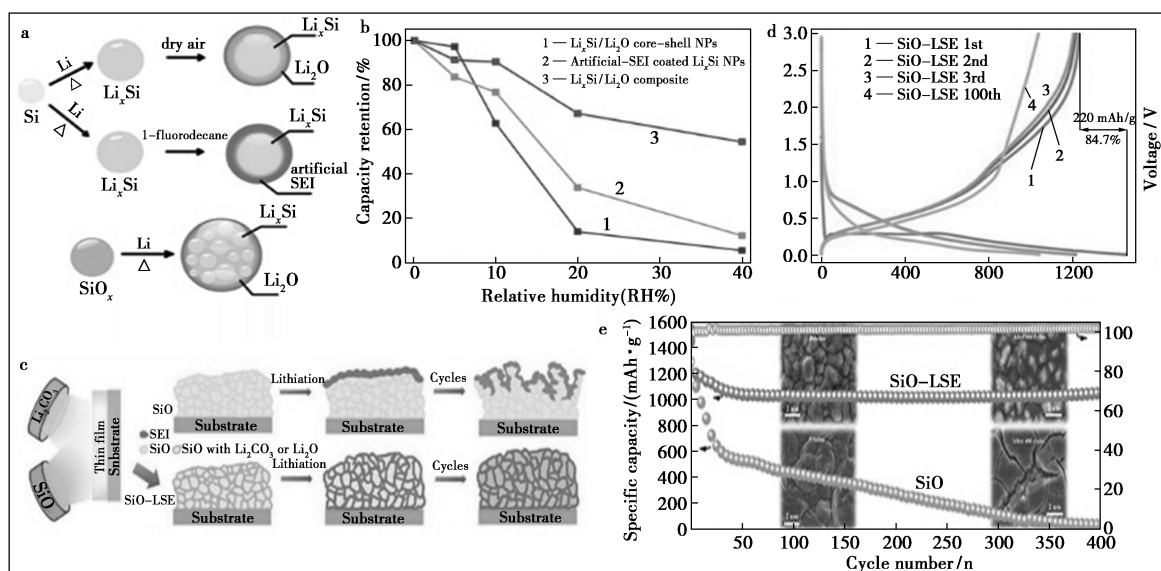


图 4 a.3 种方法制备稳定的 Li_xSi ^[45]; b.不同保护层在不同空气湿度中保存 6 h 后容量保持率^[44]; c.射频磁控溅射技术制备 SiO-LSE 的原理图及机制^[48]; d. SiO-LSE 薄膜前 3 次循环和第 100 次循环的充放电曲线^[48]; e. SiO-LSE 与 SiO 阳极 400 圈的循环性能及 SEM 形貌^[48]

Fig.4 a.Three approaches to stabilize reactive Li_xSi NPs^[45]; b.Capacity retention rate of different protective layers after 6 h storage in different air humidity^[45]; c.Principle Diagram and Mechanism of SiO-LSE prepared by RF Magnetron sputtering^[48]; d.Discharge/charge curves of the first three and the 100th cycles of the SiO-LSE film^[48]; e.Cycle performance of SiO-LSE and SiO anodes and surface morphology of SEM^[48]

所示), 400 圈循环后有较高的容量保持率(如图 4e 所示)。

锂硅合金预锂添加剂及其他手段预成膜技术, 通常都避免了在预锂时对金属锂的直接使用。但 Li_xSi 需较长的制备时间, 反应时存在一定的风险, 且反应活性较高, 空气环境的保存仍会产生容量的大幅度下降, 且与水系粘结剂不适用。下一步应主要提高锂硅合金在空气中的稳定性, 提高预锂化添加剂与现有的电池制备工艺相兼容。

4 稳定金属锂粉(SLMP)

稳定金属锂粉(SLMP)预锂化是目前最常用的预锂化方法, 金属锂的比容量为 $3\,860\text{ mA}\cdot\text{h/g}$, 具有超高的预锂容量。SLMP 目前主要由熔融分散和液滴乳化技术制备, 由外部 Li_2CO_3 保护层、内部金属锂组成, Li_2CO_3 微溶于水, 空气中不潮解, 能起到较好的保护作用。目前主要将 SLMP

分散于阳极上并加压活化, SLMP 预锂化只需要在添加锂粉之前计算好添加量, 预锂后无需清除残留物质, 简化了预锂步骤, 这对实际生产来说更具意义。

为提高使用 SLMP 预锂化硅基阳极的均匀性, 常将 SLMP 分散在正己烷中^[49]。Pan 等^[50]使用高温歧化后的 SiO、石墨与沥青通过球磨的方式制备了 SiO/G/C 复合材料(如图 5a 所示), 将商用 SLMP 加入到正己烷溶液中制备成悬浮液以提高 SLMP 分散均匀性, 再将 SLMP/正己烷滴到硅基阳极极片上, 通过辊压极片, 以打破 SLMP 保护壳。当涂敷 SLMP 的质量分数分别为 5 wt%、10 wt%、15 wt% 时, 首次库伦效率分别为 74.4%、85.0%、98.5%, 如图 5b 所示。通过控制 SLMP 的添加量, 可以有效控制首效的提升, 其中涂有 10 wt% SLMP 的电极初始可逆容量为 $947\text{ mA}\cdot\text{h/g}$, 200 圈后容量保持率为 95%。

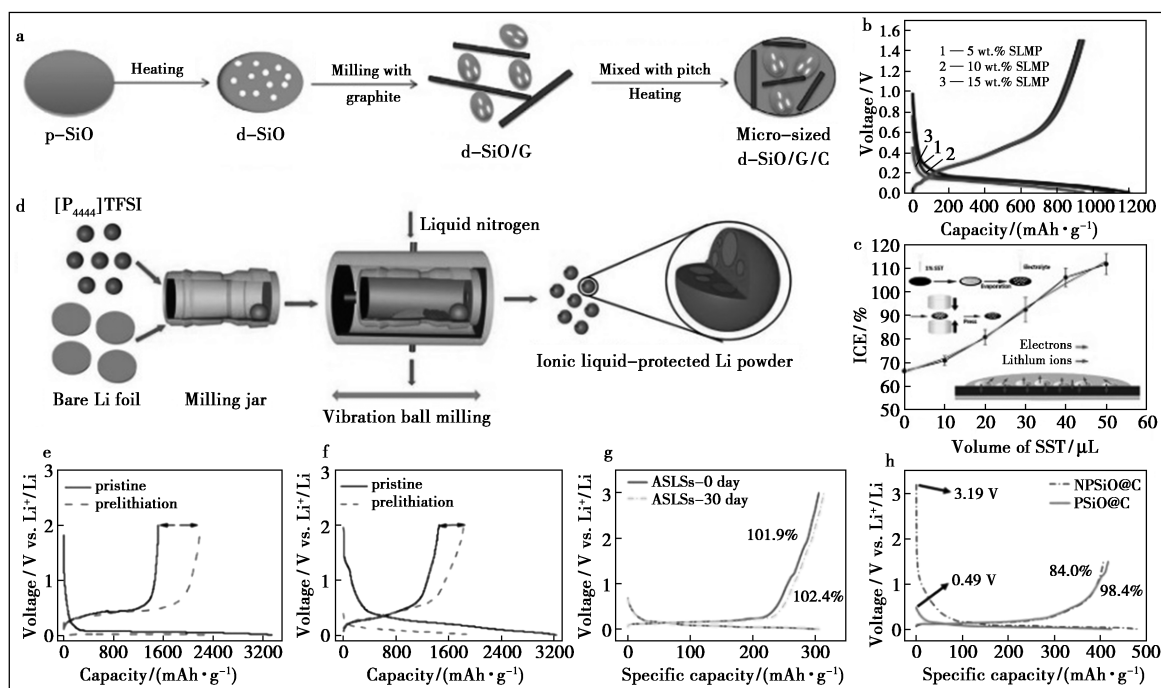


图 5 a.微米级 d-SiO/G/C 复合材料的制备^[50]; b.不同质量比 SLMP 预锂化 d-SiO/G/C 的首次充放电曲线^[50]; c.不同体积 SST 溶液预锂化 SiO 的首次库伦效率^[51]; d.纳米级金属锂粉末制备工艺^[52]; e,f.纳米级金属锂粉末对 Si、SiO 预锂化前后首次充放电曲线^[52]; g.ASLs 暴露 10% 湿度空气 30 d 与未暴露的 ASLSs 预锂化石墨电极对比预锂容量削减^[53]; h.ASLs 预锂化 SiO@C 前后首次充放电曲线^[53]

Fig.5 a.Preparation process of micro-sized d-SiO/G/C composite^[50]; b.Voltage profiles of d-SiO/G/C prelithiated by different amount of SLMP^[50]; c.Initial coulombic efficiency in different volumes (0~50 μL) of SST^[51]; d.Preparation technology of nanometer lithium metal powder^[52]; e,f.First discharge/charge voltage curves of Si, SiO, before and after prelithiation^[52]; g.ASLs exposure to 10% humidity air for 30 d compared with unexposed ASLSs pre-lithium fossil ink electrode pre-lithium capacity reduction^[53]; h.First charge-discharge curve of ASLSs pre-lithium SiO@C before and after pre-lithiation^[53]

由于 SLMP 的密度低于正己烷,颗粒容易浮到溶剂表面,将 SLMP 搭配正己烷使用仍避免不了 SLMP 分散不均匀的问题,为进一步提高 SLMP 的预锂均匀性,Huang 等^[51]先将 SLMP 分散在甲苯中,再添加丁苯橡胶配制成溶液(SST),SBR 的结构特征可为 SLMP 的分散提供良好的附着性,以改善预锂化效果,如图 5c 所示。

为提高金属锂粉预锂的均匀性,采用不同物质包覆金属锂、减小金属锂的粒径是行之有效的手段。Pu 等^[52]使用离子液体四丁基磷双($C_{18}H_{36}F_6NO_4PS_2$)与 5 mm 的锂片在 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下球磨,制备了离子液体包裹金属锂的稳定的纳米级金属锂粉末(500 nm),如图 5d 所示。低温下锂金属变硬变脆,避免了常温时较高的粘性与柔软性,提高了金属的可加工性。四丁基磷双离子液体在室温下呈固态,低温下是液体,是很好的助磨剂,可起到保护与分散的作用,有利于金属锂的球磨。同时离子液体包覆层具有较低的挥发性、较低的可燃性,具有良好的离子导电性与热稳定性。使用金属锂粉对 Si、SiO 预锂化,将首次库伦效率从 48.4%、44.2% 提高到 93.2%、93.7%,如图 5e~5f 所示。

金属锂粉在空气中的稳定性得益于壳层对于内部金属锂的保护,LiF 微溶于水,可用作干燥剂。为进一步提高金属锂粉的稳定性,Li 等^[53]分别以铝箔和铜箔电极,通过电化学沉积的方式制备了金属锂为内核、LiF/Li₂O 为壳层超细的空气稳定的锂球(ASLSs)。通过调节电沉积时间与电流密度,调整 ASLSs 尺寸在 0.5~3 μm 之间,为预锂化后的均匀性提供了保障。将 ASLSs 在 10% 湿度的空气中存放 30 d 后,预锂容量基本没有衰减,如图 5g 所示。将 ASLSs 滴加到 SiO@C 极片表面,加压进行预锂化。预锂化 SiO@C 与未预锂化 SiO@C 的半电池的比容量电压曲线如图 5h 所示。

稳定金属锂粉具有较高的预锂容量,对硅基材料预锂化确实使得首效得到了较大的提升,也提高了循环性能,但金属锂粉制备过程较为复杂,需要较高的成本,限制 SLMP 的应用。且机械加工的锂粉尺寸差异较大,导致预锂化后均匀性较差,致使局部过锂化,SEI 膜生成不均匀。将 SLMP 配制成悬浮液,滴加到极片表面,仍存在预锂均匀性较差的问题,下一步如何提高 SLMP 的预锂均匀性、降低生产成本、提高安全

性、提高空气环境稳定性仍是发展金属锂粉的主要方向。

5 总结与展望

过去的几年中,预锂化技术已经成为补偿高容量电极活性锂损失的最常用方法。为推动预锂化工艺的实际性发展,除了兼顾预锂化工艺与现有电池制备工艺的兼容性与可拓展性之外,还需提高对预锂化安全性的关注,需进一步对这些预锂化方法进行优化,以验证其工业化的可能性。

预锂化处理后对电极的性能带来了复杂的影响,为进一步推动预锂化技术的发展,应在如下方面提起重视:预锂化之后材料表面存有残锂以及其他惰性物质,可能会引起副反应;需对 SEI 膜的形成条件进行探索;应进一步加强对预锂反应机理的研究;应更好的优化预锂化过程,以控制形成的 SEI 膜的质量和不可逆的硅酸锂的形成条件;应控制预锂化后新增的相在电极材料中的均匀性;应开发与预锂化工艺相兼容的粘结剂,减少预锂化后粘结剂失效带来的影响。预锂化技术可补偿电极材料在首次循环过程中造成的锂损失,并大幅度提高电池的能量密度,因此大容量的硅基阳极具有光明的前景,但要实现硅基阳极的实际性应用,仍需众多科研人员不断努力。

参考文献:

- [1]SU Y S, CHANG J K. Polycyclic aromatic hydrocarbon-enabled wet chemical prelithiation and presodiation for batteries[J]. *Batteries*, 2022, **8**(8): 99.
- [2]BLOMGREN G E. The development and future of lithium ion batteries [J]. *J. Electrochem. Soc.*, 2016, **164**(1): A5 019.
- [3]CHOI J, JEONG H, JANG J, et al. Weakly solvating solution enables chemical prelithiation of graphite-SiO_x anodes for high-energy Li-ion batteries [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2021, **143**(24): 9 169-9 176.
- [4]LUO F, LIU B, ZHENG J, et al. Nano-silicon/carbon composite anode materials towards practical application for next generation Li-ion batteries [J]. *J. Electrochem. Soc.*, 2015, **162**(14): A2 509.
- [5]魏沁,周豪杰,李子坤,等.锂离子电池负极预锂化技术研究进展[J]. *炭素技术*, 2022, **41**(4): 20-23.
- [6]方自力,李蓉,刘志宽,等.锂离子电池硅氧负极预锂化研究进展[J]. *硅酸盐学报*, 2023, **51**(1): 248-259.
- [7]詹世英,何海平,张正,等.锂离子电池电极预锂化技术工程化进展[J]. *今日制造与升级*, 2022, **10**: 160-

- 162.
- [8] YAMAMURA H, NOBUHARA K, NAKANISHI S, et al. Investigation of the irreversible reaction mechanism on SiO anode material for Li-ion batteries [C]. *IOP Publishing*, 2012.
- [9] LIU Z, YU Q, ZHAO Y, et al. Silicon oxides: A promising family of anode materials for lithium-ion batteries [J]. *Chem. Soc. Rev.*, 2019, **48**(1): 285-309.
- [10] MCDOWELL M T, LEE S W, NIX W D, et al. 25th anniversary article: Understanding the lithiation of silicon and other alloying anodes for lithium-ion batteries [J]. *Adv. Mater.*, 2013, **25**(36): 4 966-4 985.
- [11] GUERFI A, CHAREST P, DONTIGNY M, et al. SiO_x-graphite as negative for high energy Li-ion batteries [J]. *J. Power Sources*, 2011, **196**(13): 5 667-5 673.
- [12] CHAE S, CHOI S H, KIM N, et al. Integration of graphite and silicon anodes for the commercialization of high-energy lithium-ion batteries [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2020, **59**(1): 110-135.
- [13] PHILIPP H R. Optical and bonding model for non-crystalline SiO_x and SiO_xN_y materials [J]. *J. Non-Cryst. Solids*, 1972, **8**: 627-632.
- [14] TEMKIN R J. An analysis of the radial distribution function of SiO_x [J]. *J. Non-Cryst. Solids*, 1975, **17**(2): 215-230.
- [15] HIRATA A, KOHARA S, ASADA T, et al. Atomic-scale disproportionation in amorphous silicon monoxide [J]. *Nat. Commun.*, 2016, **7**(1): 1-7.
- [16] TAKEZAWA H, IWAMOTO K, ITO S, et al. Electrochemical behaviors of nonstoichiometric silicon suboxides (SiO_x) film prepared by reactive evaporation for lithium rechargeable batteries [J]. *J. Power Sources*, 2013, **244**: 149-157.
- [17] MIYACHI M, YAMAMOTO H, KAWAI H, et al. Analysis of SiO anodes for lithium-ion batteries [J]. *J. Electrochem. Soc.*, 2005, **152**(10): A2 089.
- [18] CHEN T, WU J, ZHANG Q, et al. Recent advancement of SiO_x based anodes for lithium-ion batteries [J]. *J. Power Sources*, 2017, **363**: 126-144.
- [19] YU B, HWA Y, KIM J, et al. A new approach to synthesis of porous SiO_x anode for Li-ion batteries via chemical etching of Si crystallites [J]. *Electrochim. Acta*, 2014, **117**: 426-430.
- [20] SUH S, YOON W Y, KIM D H, et al. Electrochemical behavior of SiO_x anodes with variation of oxygen ratio for Li-ion batteries [J]. *Electrochim. Acta*, 2014, **148**: 111-117.
- [21] HEISKANEN S K, KIM J, LUCHT B L. Generation and evolution of the solid electrolyte interphase of lithium-ion batteries [J]. *Joule*, 2019, **3**(10): 2 322-2 333.
- [22] XIANG B, WANG L, LIU G, et al. Electromechanical probing of Li/Li₂CO₃ core/shell particles in a TEM [J]. *J. Electrochem. Soc.*, 2013, **160**(3): A415.
- [23] KITADA K, PECHER O, MAGUSIN P C, et al. Unraveling the reaction mechanisms of SiO anodes for Li-ion batteries by combining in situ ⁷Li and ex situ ⁷Li/²⁹Si solid-state NMR spectroscopy [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2019, **141**(17): 7 014-7 027.
- [24] HOLTSTIEGE F, WILKEN A, WINTER M, et al. Running out of lithium? A route to differentiate between capacity losses and active lithium losses in lithium-ion batteries [J]. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2017, **19**(38): 25 905-25 918.
- [25] HOLTSTIEGE F, BÄRMANN P, NÖLLE R, et al. Pre-lithiation strategies for rechargeable energy storage technologies: Concepts, promises and challenges [J]. *Batteries*, 2018, **4**(1): 4.
- [26] YAMADA M, INABA A, UEDA A, et al. Reaction mechanism of "SiO"-carbon composite-negative electrode for high-capacity lithium-ion batteries [J]. *J. Electrochem. Soc.*, 2012, **159**(10): A1 630-A1 635.
- [27] SCOTT M G, WHITEHEAD A H, OWEN J R. Chemical formation of a solid electrolyte interface on the carbon electrode of a Li-ion cell [J]. *J. Electrochem. Soc.*, 1998, **145**(5): 1 506.
- [28] LI Y, QIAN Y, ZHOU J, et al. Molten-LiCl induced thermochemical prelithiation of SiO_x: Regulating the active Si/O ratio for high initial Coulombic efficiency [J]. *Nano Res.*, 2022, **15**(1): 230-237.
- [29] ZHU Y, HU W, ZHOU J, et al. Prelithiated surface oxide layer enabled high-performance Si anode for lithium storage [J]. *ACS Appl. Mater. Interf.*, 2019, **11**(20): 18 305-18 312.
- [30] CHUNG D J, YOUN D, KIM S, et al. Dehydrogenation-driven Li metal-free prelithiation for high initial efficiency SiO-based lithium storage materials [J]. *Nano Energy*, 2021, **89**: 106 378.
- [31] YAN M, LI G, ZHANG J, et al. Enabling SiO_x/C anode with high initial coulombic efficiency through a chemical pre-lithiation strategy for high-energy-density lithium-ion batteries [J]. *ACS Appl. Mater. Interf.*, 2020, **12**(24): 27 202-27 209.
- [32] ZHANG X, QU H, JI W, et al. An electrode-level prelithiation of SiO anodes with organolithium compounds for lithium-ion batteries [J]. *J. Power Sources*, 2020, **478**: 229 067.

- [33] JANG J, KANG I, CHOI J, et al. Molecularly tailored Lithium-arene complex enables chemical prelithiation of high-capacity Lithium-ion battery anodes [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2020, **59**(34): 14 473-14 480.
- [34] LI Y, QIAN Y, ZHAO Y, et al. Revealing the interface-rectifying functions of a Li-cyanonaphthalene prelithiation system for SiO_x electrode [J]. *Sci. Bull.*, 2022, **67**(6): 636-645.
- [35] JIANG F, SUN Y, ZHANG K, et al. SiO_x/C anodes with high initial coulombic efficiency through the synergy effect of pre-lithiation and fluoroethylene carbonate for lithium-ion batteries [J]. *Electrochim. Acta*, 2021, **398**: 139 315.
- [36] LIU N, HU L, MCDOWELL M T, et al. Prelithiated silicon nanowires as an anode for lithium ion batteries [J]. *ACS Nano*, 2011, **5**(8): 6 487-6 493.
- [37] YAO C, LI X, DENG Y, et al. An efficient prelithiation of graphene oxide nanoribbons wrapping silicon nanoparticles for stable Li⁺ storage [J]. *Carbon*, 2020, **168**: 392-403.
- [38] MENG Q, LI G, YUE J, et al. High-performance lithiated SiO_x anode obtained by a controllable and efficient prelithiation strategy [J]. *ACS Appl. Mater. Interf.*, 2019, **11**(35): 32 062-32 068.
- [39] WANG H, ZHANG M, JIA Q, et al. Exploiting the capacity merits of Si anodes in the energy-dense prototypes via a homogeneous prelithiation therapy [J]. *Nano Energy*, 2022, **95**: 107 026.
- [40] KIM K H, SHON J, JEONG H, et al. Improving the cyclability of silicon anodes for lithium-ion batteries using a simple pre-lithiation method [J]. *J. Power Sources*, 2020, **459**: 228 066.
- [41] KIM H J, CHOI S, LEE S J, et al. Controlled prelithiation of silicon monoxide for high performance lithium-ion rechargeable full cells [J]. *Nano Lett.*, 2016, **16**(1): 282-288.
- [42] WANG F, WANG B, YU Z, et al. Construction of air-stable pre-lithiated SiO_x anodes for next-generation high-energy-density lithium-ion batteries [J]. *Cell Rep. Phys. Sci.*, 2022, **3**(5): 100 872.
- [43] ADHITAMA E, DIAS BRANDAO F, DIENWIEBEL I, et al. Pre-lithiation of silicon anodes by thermal evaporation of lithium for boosting the energy density of Lithium ion cells [J]. *Adv. Funct. Mater.*, 2022, **32**(22): 2 201 455.
- [44] GAUTAM M, MISHRA G K, AHUJA A, et al. Direct-contact prelithiation of Si-C anode study as a function of time, pressure, temperature, and the cell ideal time [J]. *ACS Appl. Mater. Interf.*, 2022, **14**(15): 17 208-17 220.
- [45] ZHAO J, LEE H, SUN J, et al. Metallurgically lithiated SiO_x anode with high capacity and ambient air compatibility [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2016, **113**(27): 7 408-7 413.
- [46] WANG C, HAN Y, LI S, et al. Thermal lithiated-TiO₂: A robust and electron-conducting protection layer for Li-Si alloy anode [J]. *ACS Appl. Mater. Interf.*, 2018, **10**(15): 12 750-12 758.
- [47] YANG Z, QIN X, LIN K, et al. Surface passivated Li_xSi with improved storage stability as a prelithiation reagent in anodes [J]. *Electrochem. Commun.*, 2022, **138**: 107 272.
- [48] YU Z, ZHOU L, CHENG Y, et al. Preset lithium source electrolyte boosts SiO anode performance for lithium-ion batteries [J]. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 2022, **10**(31): 10 351-10 360.
- [49] WANG H, WU W, JIA Q, et al. Scalable layer-by-layer stacking of the silicon-graphite composite; Prelithiation strategy of the high-capacity anode for energy/power-dense Li batteries [J]. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2022, **61**(22): 7 442-7 450.
- [50] PAN Q, ZUO P, MU T, et al. Improved electrochemical performance of micro-sized SiO-based composite anode by prelithiation of stabilized lithium metal powder [J]. *J. Power Sources*, 2017, **347**: 170-177.
- [51] HUANG B, HUANG T, WAN L, et al. Pre-lithiating SiO anodes for lithium-ion batteries by a simple, effective, and controllable strategy using stabilized lithium metal powder [J]. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 2021, **9**(2): 648-657.
- [52] PU K, QU X, ZHANG X, et al. Nanoscaled lithium powders with protection of ionic liquid for highly stable rechargeable lithium metal batteries [J]. *Adv. Sci.*, 2019, **6**(24): 1 901 776.
- [53] LI X, LI Y, TANG Y, et al. Air stable lithium microspheres prelithiation reagents for Li-ion batteries synthesized via electroplating [J]. *J. Power Sources*, 2021, **496**: 229 868.

均苯四酸钴铁 MOFs 衍生材料的制备及其锂离子电池性能研究

耿庆帅, 王丽英*, 侯亚平

(内蒙古工业大学 化工学院, 内蒙古 呼和浩特 010051)

摘要:利用均苯四酸、硝酸钴、氯化铁和活性炭,采用一步水热法制备双金属钴铁金属有机框架(CoFe-MOFs-C),通过在氩气条件下以 5 °C/min 的升温速度升到 500 °C,保温 2 h,自然降温后获得碳包覆金属氧化物(M-CoFe-C),并通过红外波谱分析、XRD、扫描电镜、XPS 和拉曼光谱等分析手段进行表征。该复合材料是碳紧紧包覆在钴铁氧化物的外层,作为锂离子负极材料,碳层提高电子在电极表面上的传输速度,并在充放电过程中抑制活性材料的体积膨胀。原位构造的包覆碳层,使复合物具有良好的循环稳定性。研究表明,在 200 mA/g 的电流密度下,第 100 个循环时的可逆容量达到 668.2 mA·h/g。

关键词:均苯四酸;金属有机框架;衍生材料;锂离子电池;负极材料

中图分类号: O65 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)05-0130-06

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022.0901

Preparation of Anode Materials Derived CoFe-MOFs Supported by Pyromellitic Acid and Study on the Performance of Lithium Ions Batteries GENG Qing-shuai, WANG Li-ying*, HOU Ya-ping (School of Chemical Engineering, Inner Mongolia University of Technology, Hohhot 010051, China)

Abstract: The organic bimetallic cobalt iron metal framework (CoFe-MOFs-C) was prepared by a one-step hydrothermal method using pyromellitic acid, cobalt nitrate, ferric chloride and activated carbon. The metal oxide coated carbon (M-CoFe-C) was obtained by raising the temperature to 500 °C at a rate of 5 °C/min under argon gas conditions, holding for 2 h, naturally cooling, and was characterized by infrared spectroscopy, XRD, scanning electron microscopy, XPS and Raman spectroscopy. The composite material was cobalt iron oxide tightly coated with a layer of carbon. As lithium ion anode material, the carbon layer improves the electron transport speed on the electrode surface, and inhibits the volume expansion of the active material during charging and discharging, so it has good cycle stability. The research showed that at the current density of 200 mA/g, the reversible capacity at the 100th cycle can reach 668.2 mA·h/g.

Key words: pyromellitic acid; metal organic framework; derivative materials; lithium ions battery; anode material

锂离子电池因其高能量密度^[1]、轻质量、低污染等优异性能,被广泛应用于手机、笔记本电脑、便携式电子设备、机器人、纯电动汽车和混合动力汽车等领域^[2-6]。金属有机框架(MOFs)具有多孔、大比表面积特性,其相应的衍生物相比传统电极材料,在提高锂离子扩散速率、缓解体积变化和保证循环稳定性方面具备更好的优势,因此 MOFs 及其衍生物是一种很有前途的锂离子电池电极材料^[7,8]。目前商用负极材料石墨具有低的理论比容量 372 mA·h/g,无法满足人们的需要^[9-12]。碳具有很好的导电性,碳与 MOFs 相结合的复合材料,可以提高 MOFs 在锂离子电池的导电性,从而提高材料的电化学性能。

负极材料是锂离子电池的重要组成部分之一。近些年来,研究以 MOFs 为模板的过渡金属氧化物作为负极材料在锂离子电池的应用越来越广泛,这源于 MOFs 的孔隙结构有利于 Li⁺ 的快速传输。

研究人员已经成功合成了很多高电化学性能的过渡金属氧化物负极材料^[13,14]。但过渡金属氧化物导电性差和锂离子在嵌入和脱出过程中的体积膨胀抑制着它作为负极材料在锂离子电池中的应用。为了解决这些问题,以 MOFs 为模板的过渡金属氧化物与碳材料相结合是个有效的方法。本文通过以 MOFs 为模板的过渡金属氧化物与碳材料相结合,研究对锂离子电池电化学性能

收稿日期:2022-12-15;网络首发日期:2023-02-14

基金项目:内蒙古自治区大学生创新训练计划项目(S202210128025)。

作者简介:耿庆帅(2001-),男,河南濮阳人,本科生,主要研究方向为有机合成。

通讯作者:王丽英, E-mail: wangliyong7704@163.com。

引用本文:耿庆帅,王丽英,侯亚平.均苯四酸钴铁 MOFs 衍生材料的制备及其锂离子电池性能研究[J].化学试剂,2023,45(5):130-135。

的影响。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

98-II-B 型磁力电动搅拌器(北京吉天仪器有限公司);DZ-1BCIV 型真空干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司);SKGL-1200 型管式炉(上海大恒光学精密机械有限公司);HITACHI-3400 型场发射扫描电子显微镜(日本日立公司);Nexus670 型红外检测器(美国 Nicolet 公司);Smartlab(9 KW)型 X 射线粉末衍射仪(日本理学株式会社);ESCALAB 250 Xi 型 X 射线光电子能谱仪(美国赛默飞世尔科技有限公司);InVia Reflex 型激光显微拉曼光谱仪(英国雷尼绍公司);CT2001A 型蓝电池测试系统(武汉市蓝电电子股份有限公司);CHI660D 型电化学工作站(上海辰华仪器有限公司)。

均苯四酸(PMA)、六水氯化铁(上海阿拉丁生化科技有限公司);四水乙酸钴(上海麦克林生化科技有限公司);无水乙醇(天津市风船化学试剂科技有限公司);DMF(天津市鑫铂特化工有限公司),所用试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 活性炭的处理

将商用的活性炭放入烧杯中,向其慢慢加入双氧水,至没过碳粉,同时用玻璃棒搅拌,使其均匀混合,放置 2 h,真空过滤,用蒸馏水洗至成中性,干燥即可。

1.2.2 CoFe-MOFs 的制备

CoFe-MOFs 的制备:将 381 mg(1.5 mmol)均苯四酸、374 mg(1.5 mmol)四水乙酸钴、1 212 mg(3 mmol)九水硝酸铁,分散于含 18 mL 水的烧杯中,磁力搅拌 10 min,加入 3 mL 异丙醇,磁力搅拌 10 min,然后将混合溶液倒入 100 mL 聚四氟乙烯不锈钢反应釜中,密封在不锈钢内衬中,将水热反应釜在 180 °C 条件下保持 6 h,随后冷却至室温,离心,用无水乙醇洗涤 3 次,60 °C 真空干燥,得到 CoFe-MOFs。

CoFe-MOFs-C 衍生物的制备:将 197 mg 活性炭置于有 18 mL 去离子水和 3 mL 异丙醇的烧杯中,超声 30 min,然后将 381 mg(1.5 mmol)均苯四酸、374 mg(1.5 mmol)四水乙酸钴、1 212 mg(3 mmol)九水硝酸铁加入其中,继续磁力搅拌 2 h,然后将混合溶液转入 100 mL 聚四氟乙烯反

应釜中,密封在不锈钢内衬中,将水热反应釜在 100 °C 条件下保持 12 h,随后冷却至室温,离心,用无水乙醇洗涤 3 次,在真空干燥箱中保持 60 °C 过夜,得到产物为 CoFe-MOFs-C。

1.2.3 M-CoFe-C 材料的制备

将 CoFe-MOFs、CoFe-MOFs-C 分别放入管式炉中,以 5 °C/min 的升温速度升温到 500 °C 煅烧 2 h,得到产物分别为 M-CoFe、M-CoFe-C。

2 结果与讨论

2.1 结构与性能表征

2.1.1 CoFe-MOFs-C 的红外光谱分析

利用傅里叶变换红外光谱对 CoFe-MOFs-C 的结构进行了表征,如图 1 所示。与均苯四酸相比,Fe-MOFs、CoFe-MOFs 和 CoFe-MOFs-C 在 3 300~2 500 cm^{-1} 处产生的羟基中—OH 伸缩振动峰消失,处于 1 706 cm^{-1} 的羰基峰向低波移动,说明 Fe-MOFs 中配体的羰基发生了配位。位于 767 cm^{-1} 的峰是 Co—O 的伸缩振动。而位于 1 387 cm^{-1} 的吸收峰归因于羧基 C—O 键的振动。在图 1 中可看出,加 C 后的 CoFe-MOFs-C 的红外光谱图跟 CoFe-MOFs 一样,说明 C 不影响 MOF 结构生成,位于 3 419 cm^{-1} 附近的大宽峰是水中羟基伸缩振动峰。

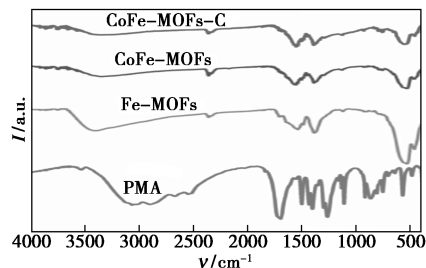


图 1 PMA、Fe-MOFs、CoFe-MOFs、CoFe-MOFs-C 红外光谱

Fig.1 Infrared spectra of PMA, Fe-MOFs, CoFe-MOFs, CoFe-MOFs-C

2.1.2 M-CoFe-C 材料的 X 射线粉末衍射分析

X 射线粉末衍射(XRD)如图 2 所示。从图 2a 可看出 Fe-MOF 和 CoFe-MOFs 的衍射峰基本一致,其中在 $2\theta = 10.1^\circ$ 处的衍射峰归因于 Fe-MOFs 中引入了 Co 原子。M-CoFe-C 在 $2\theta = 18.4^\circ$ 、 30.0° 、 35.4° 、 43.2° 、 53.6° 、 57.3° 、 62.4° 处的衍射峰分别对应着(111)、(220)、(311)、(400)、(422)、(511)、(440)晶面,如图 2b 所示,符合标准卡片 CoFe_2O_4 (PDF#22-1086) 的 XRD 图

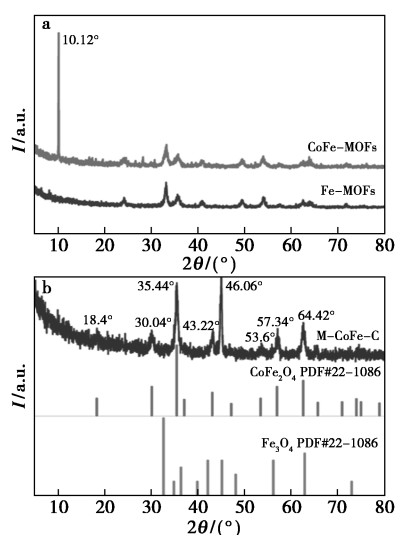
谱,并且在 46.06° 处的衍射峰对应着标准卡片 Fe_3O_4 (PDF#28-0491) 的 (210) 晶面。

2.1.3 M-CoFe-C 材料的拉曼分析

图 3 为 M-CoFe-C 复合材料的拉曼光谱。为了分析 M-CoFe-C 复合材料的石墨化及缺陷情况,对样品进行拉曼测试,激光器波长为 532 nm,扫描范围 $120 \sim 3\,200\text{ cm}^{-1}$ 。在图 3 中位于 $1\,382\text{ cm}^{-1}$ 的峰为石墨化的缺陷,用 D 来表示;位于 $1\,609\text{ cm}^{-1}$ 的峰为石墨化的碳,用 G 来表示。这些样品的 I_D/I_G 值为 0.95,说明该样品石墨化程度良好,提高了电子的转移速度^[15]。

2.1.4 M-CoFe-C 材料形貌结构及 EDS 元素分析

利用场发射扫描电镜和 EDS 元素分析对样品的形貌及结构进行了表征,图 4a 为 CoFe-MOFs 放大 5 000 倍的场发射电镜图,可看出该样品是一个约 $10\text{ }\mu\text{m}$ 的锥形体,表面较光滑;图 4b 分别是 CoFe-MOFs-C 放大 5 000 倍的场发射电镜图,表面比 CoFe-MOFs 的更加粗糙,活性炭包裹在 CoFe-MOFs 的外表面,形成具有导电性的碳结构,加速电子的运输。图 4c 是在 $500\text{ }^\circ\text{C}$ 下煅烧 CoFe-MOFs-C 所得 M-CoFe-C 的复合材料电镜图,保持了 CoFe-MOFs-C 的形貌,其表面包裹的碳层可以提高导电性和抑制电极在循环过程中体积膨胀引起的结构崩塌。



a. Fe-MOFs 和 CoFe-MOFs; b. M-CoFe-C 和标准卡片

图 2 不同材料的 XRD 图

Fig.2 XRD patterns of different materials

EDS 元素分析可看出元素的分布情况。如图 4d~4h 是 M-CoFe-C 和能谱图,存在碳、氮、氧、钴和铁,而且元素分布均匀。

2.1.5 M-CoFe-C 材料的 X 射线光电子能谱分析

X 射线光电子能谱分析 (XPS) 是典型的表面分析手段。图 5a 是 M-CoFe-C 的总谱图,从图中可看出样品中存在着 C、O、Co、Fe 元素;图 5b~5d 分别是 Co、Fe、O 元素的 XPS 分析图。在图 5a 总谱图中可看出,在 285.08 eV 处有一个非常明显的 C 1s 峰,在 400.08 eV 处有 O 1s 峰,在 711.08 eV 、 785.08 eV 附近分别有 Fe 2p 峰、Co 2p 峰。在图

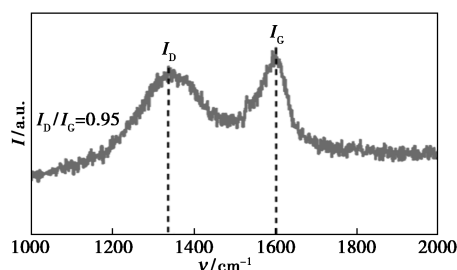
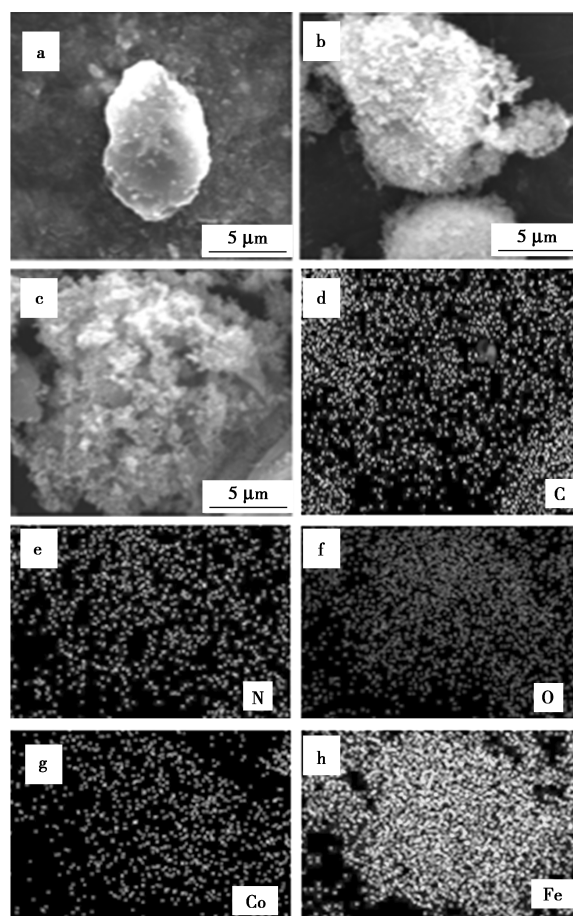


图 3 M-CoFe-C 复合材料的拉曼光谱

Fig.3 Raman spectrum of M-CoFe-C composites

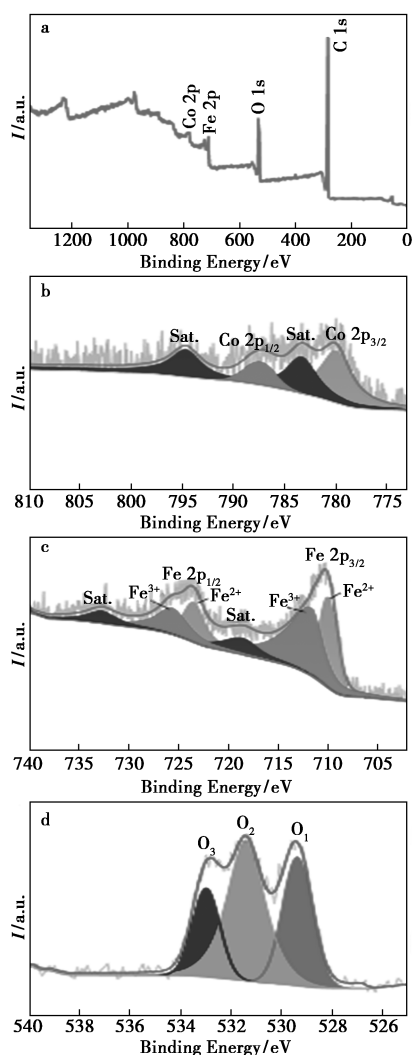


a. CoFe-MOF 扫描电镜图; b. CoFe-MOFs-C 扫描电镜图;

c. M-CoFe-C; d~h. M-CoFe-C 能谱图

图 4 不同材料的扫描电镜图

Fig.4 SEM of different materials



a. M-CoFe-C 总谱图; b. Co 2p; c. Fe 2p; d. O 1s

图 5 M-CoFe-C 的能量谱图

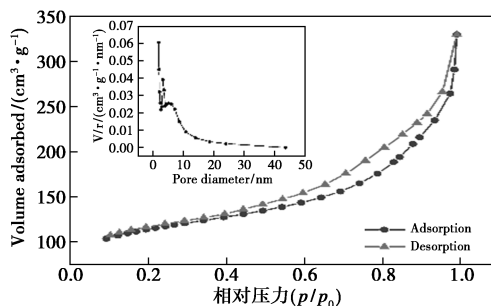
Fig.5 XPS spectra of M-CoFe-C

5b 中可看出,在 760~810 eV 区域中有 Co 2p_{3/2} 峰和 Co 2p_{1/2} 峰,在 779.73、794.38 eV 处对应着 Co²⁺ 峰,在 788.03、802.53 eV 处对应着非常明显的卫星峰。在图 5c 中可看出,结合能 710.13、723.28 eV 是 Fe²⁺ 峰,结合能 712.93、725.78 eV 是 Fe³⁺ 峰,在 718.63、732.43 eV 处对应着非常明显的卫星峰。图 5d 中可看出,529.38、531.38 和 532.98 eV 的峰分别为金属-氧键、配位晶格氧和多重物理/化学吸附水^[10,12]。样品具有的氧空位,可以有效的促进 Li⁺ 的快速运输,提高电化学性能^[16]。

2.1.6 M-CoFe-C 材料的比表面积和孔径分布分析

为了进一步研究 M-CoFe-C 复合材料的比表面积和孔隙率,对其进行 BET 比表面积测试,如

图 6 所示。M-CoFe-C 比表面积为 370.266 m²/g,总孔隙体积为 0.503 cm³/g。从图 6 中可以看出,该样品的孔径分布在 2~9 nm 之间,说明这些样品是介孔结构。介孔结构提供了很多的孔和反应活性位点,有利于锂离子和电子的脱出和嵌入和电解液的渗透,并且抑制电极材料在循环过程中的体积膨胀,从而使 M-CoFe-C 的电化学性能更好。



插图是 M-CoFe-C 材料的孔径分布

图 6 M-CoFe-C 材料的氮气吸脱附等温线

Fig.6 N₂ adsorption-desorption isotherm of as-prepared M-CoFe-C

2.2 CoFe-MOFs 衍生材料锂离子负极电化学性能研究

2.2.1 M-CoFe-C 材料的循环性能

从图 7a 可观察到, M-CoFe-C (668.2 mA·h/g) 在 200 mA/g、第 100 个循环时的比容量远高于 M-CoFe (185.5 mA·h/g), M-CoFe-C 首次放电容量为 1 225.3 mA·h/g, 充电容量为 943.9 mA·h/g, 库伦效率为 77.0%; 首圈库伦效率较低, 主要是因为第 1 次充放电过程中形成的 SEI 膜消耗了更多的锂离子^[17]。在第 2 个循环, 放电容量为 996.8 mA·h/g, 充电容量为 907.7 mA·h/g, 库伦效率提高到了 91.1%; 第 26 个循环的库伦效率为 96.4%。从图中可看出, 自 26 次循环后, 比容量趋于稳定状态, 在 100 个循环时放电容量稳定在 668.2 mA·h/g, 这归因于活性炭包裹在 CoFe-MOFs 表面, 抑制了 M-CoFe-C 在充放电过程中的体积膨胀, 使得有优异的循环性能。

2.2.2 M-CoFe-C 材料的恒流充放电性能

如图 7b 所示, 测试电压范围为 0.01~3.0 V vs. Li⁺/Li, 在 200 mA/g 的电流密度条件下所得的 M-CoFe-C 前 5 圈的恒流充放电性能图。首次放电过程中, 比容量为 1 225.3 mA·h/g, 电极电压急剧下降, 直到 0.8 V 出现电压平台, 对应于金属氧化物还原成金属, 后缓慢的降到 0.01 V。在图

7b 中可看出,在 0.8 V 和 1.5 V 出现了两个明显的平台,在接下来的循环中保持良好,表现出优异的循环稳定性^[18]。第 2 圈放/充电比容量分别为 996.8 和 943.9 mA·h/g,所得出的库伦效率为 94.7%,放电比容量明显下降,是因为产生了不可

逆的固体电解质膜,即 SEI 膜;第 3、4、5 圈放电比容量分别为 955、908.6 和 908.7 mA·h/g,放电比容量随着循环圈数的增加没有明显的变化,材料的反应活性和反应动力学得以提高,展现出良好的循环稳定性。

2.2.3 M-CoFe-C 材料的循环伏安性能

图 7c 是循环性能好的 M-CoFe-C 的前 5 次循环伏安图,电压是 0.01~3.0 V,扫描速度是 0.1 mV/s。在第 1 次阴极扫描中,出现 0.807 V 的明显尖峰和 1.371 V 的弱峰,这是由于 Co^{2+} 和 Fe^{3+} 还原为 Co 和 Fe,并形成了固体电解质界面(SEI)膜。两个明显的阳极峰分布在 1.581、1.791 V 处,对应于 Co 和 Fe 氧化转化为 Co^{2+} 和 Fe^{3+} 。在第 2 个循环中,氧化峰从 1.581 V 移动到 1.655 V,并有较小的向下移动。第 1 次扫描后,第 1 个还原峰的强度减弱,表明形成了稳定的 SEI 膜。在循环过程中,曲线重合良好,说明 M-CoFe-C 具有优异的电化学性能和循环稳定性。

2.2.4 M-CoFe-C 材料的倍率性能

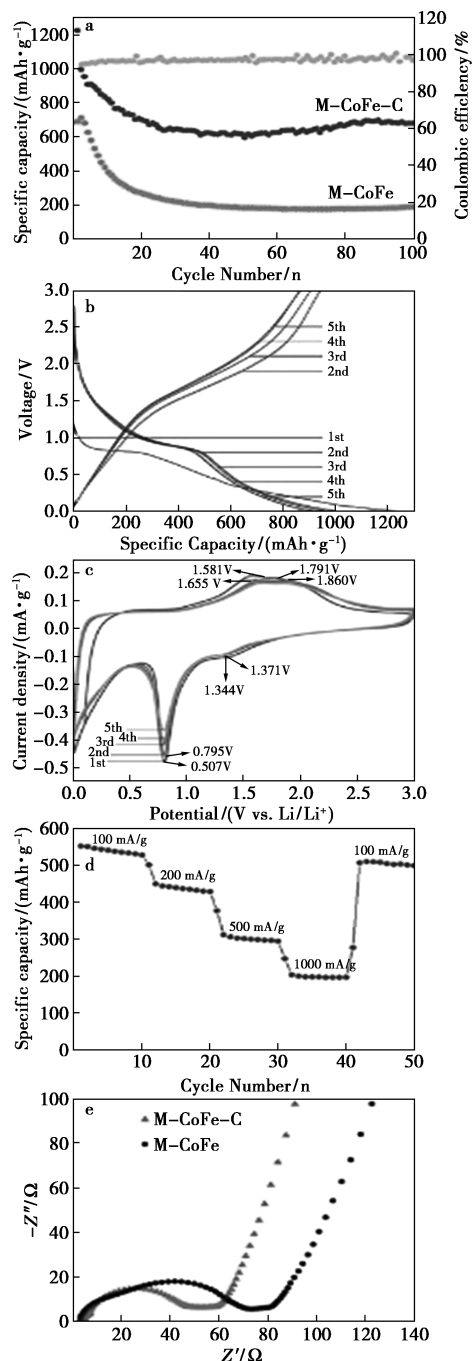
如图 7d 所示,对 M-CoFe-C 进行不同电流密度的倍率性能测试。电流密度分别为 100、200、500 和 1 000 mA/g,所测得的平均放电容量为 541.4、443.9、307.9 和 202.0 mA·h/g。当电流密度从 1 000 mA/g 降到 100 mA/g 时,放电容量从 202.0 mA·h/g 升到 482.1 mA·h/g,这与一开始 100 mA/g 的平均放电容量相差很小,说明 M-CoFe-C 作为锂离子负极材料具有很好的循环稳定性。

2.2.5 M-CoFe-C 材料的交流阻抗性能

为了进一步探究 M-CoFe 和 M-CoFe-C 电极界面的电荷转移电阻,对其进行了循环前的交流阻抗测试。如图 7e 所示,图是由半圆和对角线组成^[19],半圆主要是由于电极/电解质相互作用在电极表面形成的钝化膜(SEI 膜),半圆直径与锂离子在 SEI 膜中的迁移阻力有关。对角线与锂离子在大多数活性电极材料中的半无限扩散有关。显然,与 M-CoFe 相比,M-CoFe-C 具有更小的半圆直径,这意味着 Li^+ 扩散更好。

3 结论

本文使用水热法以均苯四酸为配体,以九水硝酸铁和四水乙酸钴作为铁源,与活性炭原位合成 CoFe-MOFs-C,通过在惰性气体 500 °C 条件下煅烧生成 M-CoFe-C 复合材料,将其作为锂离子



a. M-CoFe 与 M-CoFe-C 在电流密度为 200 mA/g 的性能循环对比图; b. M-CoFe-C 的前 5 个循环的恒流充放电图; c. M-CoFe-C 的前 5 次循环伏安图; d. M-CoFe-C 的倍率性能图; e. M-CoFe 和 M-CoFe-C 的循环前的交流阻抗性能对比图

图 7 电化学性能图

Fig.7 Electrochemical performance diagrams

电池负极材料。由碳层包覆金属氧化物的 M-CoFe-C 复合材料具有良好的可逆容量,碳层可以提高电子在电极表面的转移速度,抑制循环过程中电极材料的体积膨胀引起的结构崩塌。在 200 mA/g 的电流密度下,在 100 个循环时放电容量稳定在 668.2 mA·h/g。

参考文献:

- [1] TAN J Y, SU J T, WU Y J, et al. Hollow porous α -Fe₂O₃ nanoparticles as anode materials for high-performance lithium-ion capacitors[J]. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 2021, **9**(3): 1 180-1 192.
- [2] 刘贵龙, 赵运霞, 黄消消, 等. 锂离子电池用硅碳复合材料的进展[J]. 化学试剂, 2018, **40**(11): 1 067-1 071.
- [3] 朱红林, 郑岳青. 基于 Co(II) 配合物前驱体的微纳米 Co₃O₄ 功能材料的研究进展[J]. 化学试剂, 2017, **39**(6): 565-572.
- [4] ZHU J P, WANG X H, ZUO X X. The application of metal-organic frameworks in electrode materials for lithium-ion and lithium-sulfur batteries[J]. *R. Soc. Open Sci.*, 2019, **6**(7): 190 634.
- [5] BASKORO F, WONG H Q, LABASAN K B, et al. An efficient and reversible battery anode electrode derived from a lead-based metal-organic framework[J]. *Energ. Fuel.*, 2021, **35**(11): 9 669-9 682.
- [6] ZHANG J, CHU R, CHEN Y, et al. MOF-derived transition metal oxide encapsulated in carbon layer as stable lithium ion battery anodes[J]. *J. Alloy Compd.*, 2019, **797**: 83-91.
- [7] LI Z, WANG Z, ZHANG S, et al. Research progress of MOFs and its derivatives as electrode materials for lithium ion batteries[J]. *Energy Storage Sci. Technol.*, 2020, **9**(1): 18-24.
- [8] CHEN W, LIU S, SHEN J. A review of MOFs and its derivatives for lithium ion battery anodes[J]. *Earth Environ. Sci.*, 2021, **634**(1): 12 042.
- [9] LI X, HE C, ZHENG J, et al. Flocculent Cu caused by the Jahn-Teller effect improved the performance of Mg-MOF-74 as an anode material for lithium-ion batteries[J]. *ACS Appl. Mater. Interf.*, 2020, **12**(47): 52 864-52 872.
- [10] HAN Y, QI P, ZHOU J, et al. Metal-organic framework-ks (MOFs) as sandwich coating cushion for silicon anode in lithium ion batteries[J]. *ACS Appl. Mater. Interf.*, 2015, **7**(48): 26 608-26 613.
- [11] ZOU Y, GUO Z, YE L, et al. Co/La-doped NiO hollow nanocubes wrapped with reduced graphene oxide for lithium storage[J]. *ACS Appl. Nano Mater.*, 2021, **4**(3): 2 910-2 920.
- [12] CHU K, LI Z, XU S, et al. MOF-derived hollow NiCo₂O₄ nanowires as stable Li-ion battery anodes[J]. *Dalton Trans.*, 2020, **49**(31): 10 808-10 815.
- [13] 顾涛, 任晶, 郑建勇, 等. MOF 衍生多孔碳材料的制备以及在 LIBs 负极中的应用[J]. 功能材料, 2021, **1 052**: 1 001-1 007.
- [14] 王苏媚, 张福勤, 童汇, 等. MOF 衍生碳包覆硅纳米颗粒限制于石墨烯复合负极材料的制备及性能研究[J]. 矿冶工程, 2022, **42**(4): 159-163.
- [15] HUANG Y, YU R, MAO G, et al. Unique FeP@C with polyhedral structure in-situ coated with reduced graphene oxide as an anode material for lithium ion batteries[J]. *J. Alloy Compd.*, 2020, **841**: 925-8 388.
- [16] YUE H, REN C, WANG G, et al. Oxygen-vacancy-abundant ferrites on N-doped carbon nanosheets as high-performance Li-Ion battery anodes[J]. *Chem. Eur. J.*, 2020, **26**(46): 10 575-10 584.
- [17] ZHENG G, XING Z, GAO X, et al. Fabrication of 2D Cu-BDC MOF and its derived porous carbon as anode material for high-performance Li/K-ion batteries[J]. *Appl. Surf. Sci.*, 2021, **559**: 169-4 332.
- [18] SUN D, TANG Y, YE D, et al. Tuning the morphologies of MnO/C hybrids by space constraint assembly of Mn-MOFs for high performance Li Ion batteries[J]. *ACS Appl. Mater. Interf.*, 2017, **9**(6): 5 254-5 262.
- [19] FANG J, AN H, QIN F, et al. Simple glycerol-assisted and morphology-controllable solvothermal synthesis of lithium-ion battery-layered Li_{1.2}Mn_{0.54}Ni_{0.13}Co_{0.13}O₂ cathode materials[J]. *ACS Appl. Mater. Interf.*, 2020, **12**(50): 55 926-55 935.

化学品与环境

席夫碱荧光探针的合成及其对三价金属的识别

聂梅^{1,2}, 汤静洁^{1,2}, 黎鹏^{1,2}, 温慈恩³, 秦健南^{1,2}, 黄冬婷^{*1,2}

(1.广东省科学院生物与医学工程研究所, 广东 广州 510316; 2.广东省绿色制糖工程技术研究中心, 广东 广州 510316; 3.广东第二师范学院 生物与食品工程学院, 广东 广州 510303)

摘要: Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Ce^{3+} 对环境和生物体有重要影响, 能同时检测这 4 种三价金属离子的荧光探针较为少见。以 2-氨基蒽和对苯基苯甲醛制备了一种席夫碱类荧光探针 I, 通过 $^1\text{HNMR}$ 、HRMS 和元素分析对其结构进行了表征。光谱分析实验结果表明, 探针 I 在四氢呋喃/水 ($V(\text{THF}):V(\text{水})=1:1$) 溶液中对三价金属 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Ce^{3+} 具有较强荧光响应, 有较高选择性和快速响应, 且不受其他金属离子或阴离子影响, 抗干扰能力强, 检测的最适 pH 范围为 5~9。结合高分辨质谱检测、紫外测试和理论计算, 证实探针与三价金属的作用机理为: 探针与三价金属作用后, 分解生成 2-氨基蒽, 发出荧光。进一步将荧光探针负载于试纸条, 成功实现对三价金属的试纸检测。

关键词: 2-氨基蒽; 席夫碱; 荧光探针; 三价金属离子; 试纸检测

中图分类号: O621 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)05-0136-06

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0021

Synthesis of a Schiff Base Fluorescent Probe and Its Selective Detection of Trivalent Metallic Ions NIE Mei^{1,2}, TANG Jing-jie^{1,2}, LI Peng^{1,2}, WEN Ci-en³, QIN Jian-nan^{1,2}, HUANG Dong-ting^{*1,2} (1. Institute of Biological and Medical Engineering, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510316, China; 2. Guangdong Province Engineering Research Center for Green Technology of Sugar Industry, Guangzhou 510316, China; 3. College of Biology and Food Engineering, Guangdong University of Education, Guangzhou 510303, China)

Abstract: Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Ce^{3+} have important effects on the environment and organisms, fluorescent probes that can simultaneously detect these four trivalent metal ions are rare. A fluorescent probe I was synthesized by Schiff base condensation of 2-aminoanthracene with biphenyl-4-carboxaldehyde, which had been carefully characterized by $^1\text{HNMR}$, HRMS and elemental analysis. The experimental results of spectroscopic analysis showed that probe I has a high fluorescence response to trivalent metals Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} and Ce^{3+} in THF/ H_2O ($V(\text{THF}):V(\text{H}_2\text{O})=1:1$). The probe I was highly selective and rapid response to trivalent ions over other metal ions or anions and had a strong anti-interference ability. The optimum range of probe I was pH 5~9. Based on high resolution mass spectrometry detection, ultraviolet detection and theoretical calculation results, probe I proposed decomposition into 2-aminoanthracene and emit fluorescence after interaction with the trivalent metal. Further, the fluorescent probe I was loaded on the test strip to successfully detect the trivalent metal.

Key words: 2-aminoanthracene; Schiff base; fluorescent probe; trivalent metal ions; strips test

三价金属离子 M^{3+} (Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Ce^{3+}) 对环境和生物体有重要影响, 与人类健康息息相关。铝作为地壳中第三丰富的金属元素, 应用广泛, 然而, 过量的铝可能被排放到生态系统中, 有潜在毒性。据世界卫生组织 (WHO) 的报告^[1], 人体每日可接受的铝摄入量上限在 10 mg 左右。摄入过量的 Al^{3+} 可能引发阿尔茨海默氏症、肌萎缩性侧索硬化症、贫血、帕金森病和骨质疏松症等^[2]。铬广泛用于电镀、染料、合金等行业, 大量 Cr^{3+} 的排放会造成严重的环境污染, 同时, 高含量的 Cr^{3+} 会

使细胞结构发生不利变化导致突变和恶化, 对人类健康造成较大危害^[3]。铁是最丰富和用途最

收稿日期: 2023-01-12; 网络首发日期: 2023-03-02

基金项目: 广东省科学院发展专项资金项目 (2020GDASYL-20200103070)。

作者简介: 聂梅 (1970-), 女, 重庆云阳人, 学士, 工程师, 主要研究方向为新型功能材料的研发合成。

通讯作者: 黄冬婷, E-mail: 719584029@qq.com。

引用本文: 聂梅, 汤静洁, 黎鹏, 等. 席夫碱荧光探针的合成及其对三价金属的识别 [J]. 化学试剂, 2023, 45(5): 136-141。

广的过渡金属之一,在氧传输、氧化反应、电子转移等生命过程发挥重要作用。 Fe^{3+} 失衡会导致人的生理疾病,特别是贫血、帕金森病、亨廷顿病、阿尔茨海默病等^[4-6]。铈是一种稀土金属元素,是镧系中最丰富的元素,农业、医疗和工业等领域都有重要应用^[7]。 Ce^{3+} 会引起热敏感、血液异常、结肠直肠癌和肝癌细胞株^[8],此外, Ce^{3+} 还被证明会引起细胞膜损伤,破坏其生殖系统和神经系统的功能^[9]。鉴于三价金属的广泛使用以及其对环境的影响,建立可靠的方法检测生物和自然环境中的 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Ce^{3+} 非常必要。

用于金属离子检测的方法有 X 射线光电子能谱(XPS)、原子吸收光谱法、电感耦合等离子体发射光谱(ICP)等^[10-12],但这些检测方法需要使用大型设备,前处理较为繁琐,不可用于活体分析。荧光分子探针因具有操作简便、选择性好、成本低、可现场检测、可用于生物体内分析等优点而被广泛应用于各种金属离子的检测^[13-15]。目前,检测 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 这 3 种金属离子的一般为基于罗丹明、苯并噻唑等结构的荧光探针^[16,17],发光机理均为探针与检测金属配位后发出荧光。能同时检测 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Ce^{3+} 4 种三价金属离子的荧光探针较少。

席夫碱因其简单的一步或两步合成而常被用作不同金属离子的荧光传感器。席夫碱化合物种类繁多,结构中含有一 $\text{C}=\text{N}$ —双键,N 原子上的孤对电子营造富电子环境,为金属离子提供良好的配合位点,可设计为不同金属离子的荧光传感器^[18-23],具有很好的研究价值。

本研究以 2-氨基蒽和对苯基苯甲醛为原料,通过一步反应制备出席夫碱荧光探针,该探针可识别 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Ce^{3+} 4 种三价金属离子,具有选择性高、pH 值使用范围宽等特点,通过质谱、紫外检测和理论计算研究得到探针的发光机理为三价金属离子将荧光探针催化分解为可发荧光的 2-氨基蒽,作用机理新颖。此外,该探针可负载于试纸条,实现对三价金属的试纸检测,具有较好的应用前景。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

1290-6545XT 型高分辨质谱(美国 Agilent 公司);F-4700 型荧光分光光度计(日本日立公司);

AVANCE NEO 400 MHz 型核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司);TU-1901 型双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);vario EL cube 型元素分析仪(德国 Elementar 公司)。

2-氨基蒽、对苯基苯甲醛、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、甲醇、四氢呋喃(THF)(安徽泽升科技有限公司); $\text{Ce}_2(\text{SO}_4)_3$ (上海麦克林生化科技股份有限公司);无水 Na_2SO_4 、无水 K_2SO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、无水 MnSO_4 、 $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ 以及配制阴离子水溶液的盐:无水 Na_2SO_3 、 NaNO_2 、 NaNO_3 、 NaHCO_3 、 $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、 NaCl 、无水 Na_2SiO_3 、 $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 、 KBr 、无水 K_3PO_4 (天津市大茂化学试剂厂);所用试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 荧光探针(I)的合成

将 96.62 mg (0.5 mmol) 2-氨基蒽和 91.11 mg (0.5 mmol) 对苯基苯甲醛置于 Schlenk 瓶,氮气保护下加入干燥的 1.5 mL DMF,升温至 120 °C,加热搅拌 5 h。反应结束后,加入 10 mL MeOH 沉降 0.5 h,抽滤得灰色固体,自然干燥后得到 127.45 mg 的黄色粉末,产率为 71.3%。¹H NMR (CDCl_3 , 400 MHz), δ : 8.71 (s, 1H, C—H); 8.44 (s, 2H, Ar—H), 8.11 ~ 8.03 (m, 3H, Ar—H); 8.01 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, Ar—H); 7.81 ~ 7.72 (m, 3H, Ar—H); 7.68 (d, 2H, $J = 7.1$ Hz, Ar—H); 7.53 ~ 7.46 (m, 5H, Ar—H); 7.41 (d, 1H, $J = 7.3$ Hz, Ar—H)。HRMS (APCI⁺), $\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{N}$ [M + H]⁺, 实测值(计算值), m/z : 358.159 5 (358.159 6)。元素分析, $\text{C}_{27}\text{H}_{19}\text{N} \cdot 0.25\text{H}_2\text{O}$, 实测值(计算值), %: C 89.64 (89.59); H 5.47 (5.43); N 3.73 (3.87)。

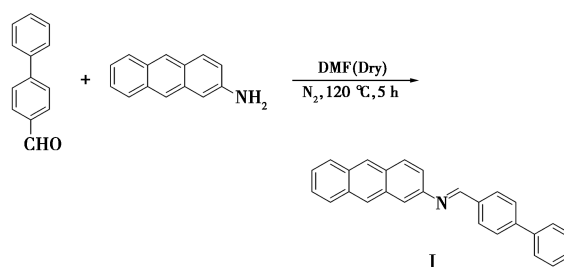


图 1 荧光探针 I 的合成路线

Fig.1 Synthesis route of probe I

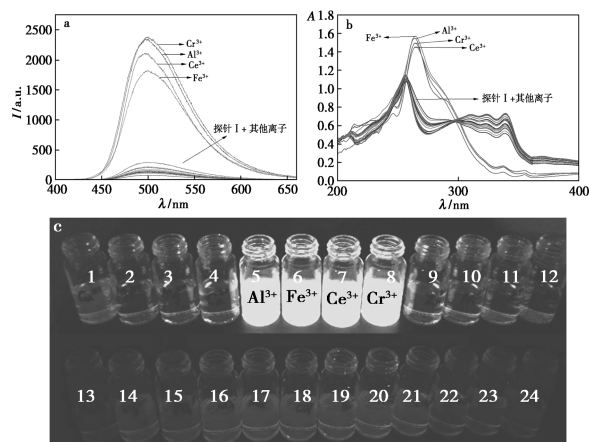
1.2.2 荧光光谱性能测试

荧光光谱测试条件:室温,石英比色皿,狭缝宽度为 2.5 nm,激发波长 λ_{ex} 为 337 nm,扫描波长范围为 400~660 nm。

2 结果与讨论

2.1 荧光探针 I 对离子的选择性识别

为了探讨荧光探针 I 对离子的识别性能,选择 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Ce^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Ni^{2+} 、 K^{+} 、 Na^{+} 、 $\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$ 、 SO_3^{2-} 、 PO_4^{3-} 、 NO_3^- 、 NO_2^- 、 CO_3^{2-} 、 Br^- 、 HCO_3^- 、 CH_3COO^- 、 HPO_4^{2-} 、 Cl^- 、 SiO_3^{2-} 为研究对象,在 3 mL (50 $\mu\text{mol/L}$) 探针溶液 ($V(\text{THF}):V(\text{水})=1:1$) 中,分别加入 30 μL (10 mmol/L) 上述离子水溶液(测试体系中离子浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$),10 min 后,在激发波长 337 nm 下,测定荧光光谱。图 2a 显示,探针 I 的荧光强度很弱,加入三价金属 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Ce^{3+} 后,探针在 500 nm 处荧光强度显著增强,其他离子的加入没有引起荧光强度的明显变化。在浓度为



1~24 代表: Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Ce^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Ni^{2+} 、 K^{+} 、 Na^{+} 、 $\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$ 、 SO_3^{2-} 、 PO_4^{3-} 、 NO_3^- 、 NO_2^- 、 CO_3^{2-} 、 Br^- 、 HCO_3^- 、 CH_3COO^- 、 HPO_4^{2-} 、 Cl^- 、 SiO_3^{2-}

图 2 a. 荧光探针 I (50 $\mu\text{mol/L}$) 加入不同阴阳离子 (100 $\mu\text{mol/L}$) 的荧光光谱; b. 荧光探针 I (20 $\mu\text{mol/L}$) 加入不同阴阳离子 (40 $\mu\text{mol/L}$) 的紫外光谱; c. 探针 (50 $\mu\text{mol/L}$) 加入不同离子 (100 $\mu\text{mol/L}$) 在紫外灯 (365 nm) 照射下的照片

Fig.2 a. Fluorescence spectra of probe I (50 $\mu\text{mol/L}$) upon addition of different ions (100 $\mu\text{mol/L}$); b. Absorbance of probe I (20 $\mu\text{mol/L}$) upon addition of different ions (40 $\mu\text{mol/L}$); c. Photograph of probe I (50 $\mu\text{mol/L}$) in the presence of different ions (100 $\mu\text{mol/L}$) taken under UV light

20 $\mu\text{mol/L}$ 的探针溶液 ($V(\text{THF}):V(\text{水})=1:1$) 中,分别加入 12 μL (10 mmol/L) 上述离子水溶液(测试体系中离子浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$),测定紫外光谱。如图 2b 所示,荧光探针 I 在 256 nm 处显示出紫外吸收峰,随着 M^{3+} (Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Ce^{3+}) 的加入,溶液在 256 nm 处的吸收峰消失,在 264 nm 处出现紫外吸收峰,其他离子的加入无明显变化。说明探针 I 可作为检测 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Ce^{3+} 的荧光探针,具有较高选择性。

此外,如图 2c 所示,探针加入 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Ce^{3+} 后,在 365 nm 的紫外灯照射下,测试体系由无荧光变成黄绿色荧光,而加入其他离子无明显变化,说明探针对 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Ce^{3+} 具有一定的“裸眼”识别效果。

2.2 荧光探针 I 的荧光选择性

进一步考察共存离子对探针识别 M^{3+} (Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Ce^{3+}) 性能的影响,结果如图 3 所示。在 50 $\mu\text{mol/L}$ 的探针 I 溶液 ($V(\text{THF}):V(\text{水})=1:1$) 中,分别加入不同离子溶液(在体系中浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$),再加入同样浓度的 Cr^{3+} 溶液,分别测定加入 Cr^{3+} 前后其体系在 500 nm 处的荧光吸收强度。结果显示,共存离子的存在对探针 I 和 Cr^{3+} 的荧光强度几乎没有影响。同样,加入相同于 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 和 Ce^{3+} 浓度的共存离子,只有 $\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$ 、 SiO_3^{2-} 和 CO_3^{2-} 与 Ce^{3+} 共存时,荧光强度有降低,但仍表现出荧光增强效应;其他共存离子对探针 I 与 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 和 Ce^{3+} 的荧光强度几乎没有影响。说明探针 I 对三价金属离子 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Ce^{3+} 的识别具有较强的抗干扰能力。

2.3 溶液 pH 对探针 I 检测 M^{3+} 的影响

为研究检测过程的最适 pH 范围,考察了溶液 pH 对探针 I 检测 M^{3+} (Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Ce^{3+}) 的影响:测试不同 pH 值溶液 ($V(\text{THF}):V(\text{不同 pH 的盐酸溶液})=1:1$) 对探针 (50 $\mu\text{mol/L}$) 及探针 (50 $\mu\text{mol/L}$) 加入 M^{3+} (100 $\mu\text{mol/L}$) 荧光强度变化。图 4 为探针及探针加 M^{3+} 在 500 nm 处荧光强度与 pH 关系曲线图。结果显示, pH 2~4 时,探针本身有较强荧光, pH 5~13 时,探针荧光很弱;加入 M^{3+} 后, pH 5~9 时,荧光强度大幅度增强。由此可见,探针 I 在 pH 5~9 下可实现对 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Ce^{3+} 的检测。

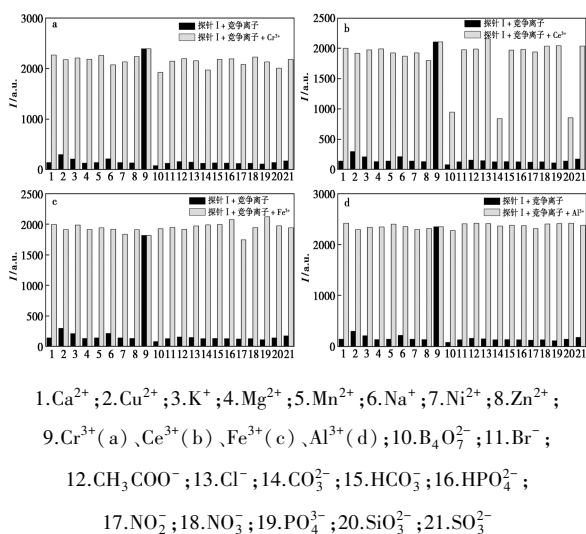


图 3 竞争离子存在下探针 I 识别 Cr^{3+} (a)、 Ce^{3+} (b)、 Fe^{3+} (c)、 Al^{3+} (d) 的荧光响应

Fig.3 Fluorescence response of probe I to Cr^{3+} (a), Ce^{3+} (b), Fe^{3+} (c), Al^{3+} (d) with competition ions

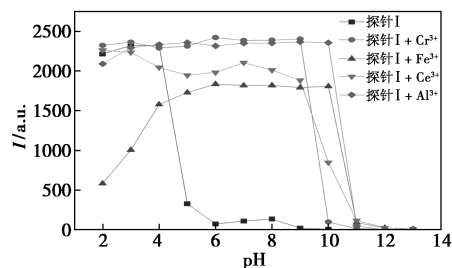


图 4 探针 I 与加入三价金属离子后在不同 pH 值时荧光强度的变化

Fig.4 Change in fluorescence intensity of probe I measured in the absence and presence of trivalent metals

2.4 探针 I 检测 M^{3+} 的响应时间测试分析

为探究探针 I 对 M^{3+} 的响应时间,在浓度为 $50 \mu\text{mol/L}$ 的探针溶液 ($V(\text{THF}) : V(\text{水}) = 1 : 1$) 中,分别加入 M^{3+} ($100 \mu\text{mol/L}$),观察其在 500 nm 处吸收强度随时间的变化情况。结果如图 5 所示。

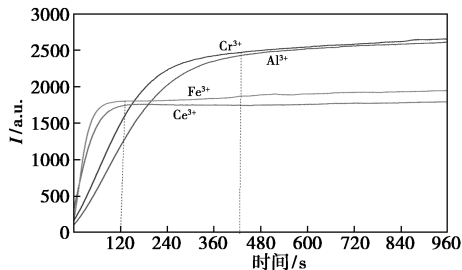


图 5 探针 I ($50 \mu\text{mol/L}$) 检测 M^{3+} ($100 \mu\text{mol/L}$) 的响应时间光谱

Fig.5 Response time spectrum of probe I ($50 \mu\text{mol/L}$) to M^{3+} ($100 \mu\text{mol/L}$)

示:加入 M^{3+} 后荧光强度均迅速增强, Fe^{3+} 和 Ce^{3+} 响应较快,在 120 s 左右荧光强度达到最大, Al^{3+} 和 Cr^{3+} 响应相对迟缓,在 420 s 左右趋于平稳。因此,探针 I 对三价金属的响应时间较快。

2.5 探针 I 试纸测试

为了实现探针检测的便捷应用,将滤纸裁剪成条状,放入 0.5 mmol/L 探针溶液 (THF 溶液) 中浸泡 5 min ,取出自然风干,得到负载探针 I 的试纸条。金属 (阴) 离子在 $V(\text{THF}) : V(\text{水}) = 1 : 1$ 溶液中浓度为 $500 \mu\text{mol/L}$,分别将试纸在金属 (阴) 离子溶液中展开 10 min ,取出后在紫外灯 (254 nm) 下拍摄滤纸条。如图 6 所示,在无三价金属离子溶液中展开的滤纸无荧光,滤纸在三价金属离子 (Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Ce^{3+}) 溶液中展开时,发出黄绿色荧光。表明该试纸可用于三价金属的检测,为三价金属便捷、快速检测提供了新方法。

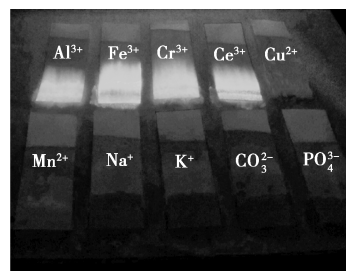


图 6 负载了探针 I 的试纸在不同离子溶液中展开后在紫外灯 (254 nm) 下的照片

Fig.6 Photo of the test strips loaded with probe I under UV lamp (254 nm) after unfolding in different ionic solutions

2.6 探针 I 对 M^{3+} 的识别机理

为了研究探针 I 对三价金属的识别机理,对探针 I + M^{3+} 进行了质谱和紫外测试。通过液质联用对反应进行监测,高分辨质谱图为图 7a, m/z 194.0961 的峰归属于 2-氨基蒽加氢产物 [$\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N} + \text{H}$] $^{+}$ (理论值为 194.0970), m/z 183.0806 的峰归属于对苯基苯甲醛加氢产物 [$\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O} + \text{H}$] $^{+}$ (理论值为 183.0810)。由此可知,探针 I 在三价金属的催化作用下,分解成 2-氨基蒽和对苯基苯甲醛。

由 2.1 已知,荧光探针 I 在 256 nm 处显示紫外吸收峰,随着 M^{3+} (Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Ce^{3+}) 的加入, 256 nm 处的吸收峰消失,在 264 nm 处出现紫外吸收峰。由图 7b 紫外光谱图可知, 264 nm 处出现的紫外吸收峰为 2-氨基蒽,在 286 nm 处出现

不明显的峰为对苯基苯甲醛。进一步确定荧光探针 I 与 M^{3+} (Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Ce^{3+}) 作用后, 分解成 2-氨基蒽和对苯基苯甲醛。

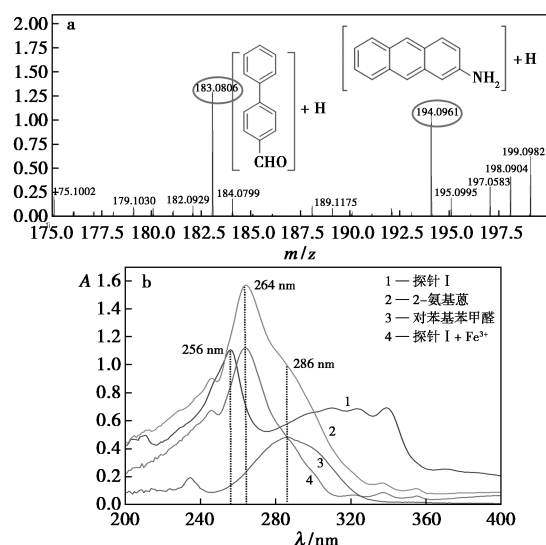


图 7 a. 探针 I 与 M^{3+} 作用后的高分辨质谱图;
b. 探针 I、探针 I + Fe^{3+} 、2-氨基蒽、对苯基苯甲醛的紫外光谱

Fig.7 a. HRMS of probe I with M^{3+} ;
b. Absorbance of probe I, probe I + Fe^{3+} ,
2-aminoanthracene and biphenyl-4-carboxaldehyde

参考文献[24]的方法对 2-氨基蒽、对苯基苯甲醛、探针 I 进行了单重态激发态与三重态激发态的旋轨耦合分析。常见化合物的磷光/荧光都遵守 Kasha 规则, 即磷光由 T_1 激发态决定, 荧光由 S_1 激发态决定。首先, 计算 2-氨基蒽、对苯基苯甲醛、探针 I 的 S_0 、 S_1 、 T_1 能量, 得知它们的基态是单重态 S_0 , 能量最低的激发态是 T_1 。因此, 体系受激发后, 从单重态基态 S_0 跃迁至高能态 S_n , 若旋轨耦合允许, 则形成 T_1 产生磷光回到基态 S_0 ; 若旋轨耦合禁阻, 则形成 S_1 产生荧光回到基态 S_0 。旋轨耦合矩阵元数值大小与旋轨耦合的强度相关。

如图 8 所示, 2-氨基蒽的 $T_1 \rightarrow S_0$ 旋轨耦合矩阵元数值为 0, 禁阻, 无法通过 T_1 回到 S_0 , 因此无磷光; $S_1 \rightarrow T_1$ 旋轨耦合矩阵元数值也为 0, 禁阻, 因此无法通过 $S_1 \rightarrow T_1$ 形成 T_1 激发态, 只能通过 $S_1 \rightarrow S_0$, 发射荧光, 即 2-氨基蒽可发射荧光。对苯基苯甲醛的 $T_1 \rightarrow S_0$ 旋轨耦合矩阵元数值为 0, 无法形成磷光, 但是 $S_1 \rightarrow T_1$ 旋轨耦合矩阵元数值为 295 cm^{-1} , 因此 S_1 容易转化为 T_1 , 无法通过 $S_1 \rightarrow S_0$ 形成荧光, 激发态 T_1 通过非辐射跃迁转

化为基态 S_0 , 即对苯基苯甲醛既无荧光也无磷光。探针 I 的 $T_1 \rightarrow S_0$ 旋轨耦合矩阵元数值很小, 因此通过 T_1 回到 S_0 效率不高; 但是, 其 $S_1 \rightarrow T_1$ 旋轨耦合矩阵元数值不为 0, S_1 通过旋轨耦合转化为更稳定的 T_1 , 由于 T_1 无法通过高效率的磷光发射回到基态, 因此高能态 T_1 的能量以非辐射跃迁损耗, 即探针 I 无荧光也无磷光。

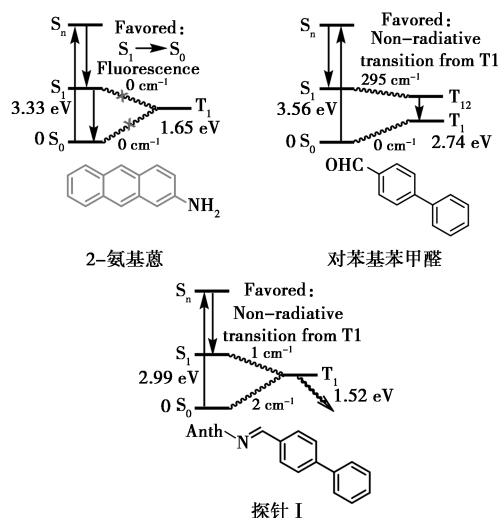


图 8 2-氨基蒽、对苯基苯甲醛、探针 I 的旋轨耦合分析

Fig.8 Spiral rail coupling analysis of 2-aminoanthracene,
biphenyl-4-carboxaldehyde and probe I

由此得出探针 I 与 M^{3+} (Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Ce^{3+}) 的荧光响应机理: 荧光探针 I 在 M^{3+} 的催化作用下, 分解成 2-氨基蒽和对苯基苯甲醛, 2-氨基蒽发射荧光, 从而达到识别 M^{3+} 的效果 (见图 9)。

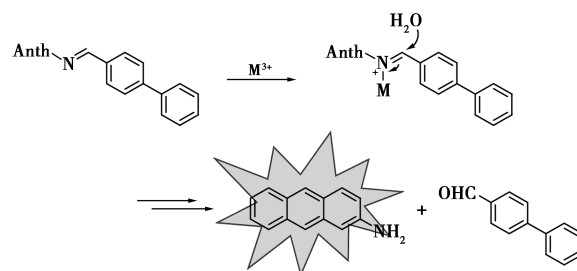


图 9 探针 I 与 M^{3+} 反应的机理

Fig.9 Proposed reaction mechanism of probe I with M^{3+}

3 结论

以 2-氨基蒽和对苯基苯甲醛为原料, 通过一步反应合成了席夫碱荧光探针 I, 合成步骤简单。该探针对三价金属 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 和 Ce^{3+} 具有良好的识别效果, pH 适用范围宽 (5~9), 受其他离

子干扰较小,只有 $\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$ 、 SiO_3^{2-} 和 CO_3^{2-} 与 Ce^{3+} 共存时,荧光强度有降低,但仍表现出荧光增强效应。有别于传统金属探针配合机制,该探针的识别机理是席夫碱的亚胺结构在 M^{3+} 催化作用下分解成可发射荧光的 2-氨基蒽,并通过高分辨质谱和紫外光谱进行验证,同时利用模拟计算的方式,详细分析了探针及响应产物的激发能级变化和旋轨耦合情况,对探针识别响应机制进行了深入探讨。此外,该探针可负载于试纸条,实现环境中三价金属离子的高选择性测试。所制备的席夫碱探针 I 合成简单,可检测多种三价金属离子,选择性好,抗干扰能力强,具有较好的应用前景。

参考文献:

- [1] PENG H N, LIU Y Q, HUANG J Q, et al. A simple fluorescent probe for selective detection of Al^{3+} based on furan Schiff base and its crystal structure[J]. *J. Mol. Struct.*, 2021, **1** 229: 129-866.
- [2] ZHU J L, ZHANG Y H, WANG L, et al. A simple turn-on Schiff base fluorescence sensor for aluminum ion[J]. *Tetrahedron Lett.*, 2016, **57**(31): 3 535-3 539.
- [3] 张莹莹, 黄译文, 赵冰, 等. Cr^{3+} 比色荧光探针的合成及细胞成像应用[J]. 高等学校化学学报, 2019, **40**(12): 2 486-2 493.
- [4] CHEN X B, QI C X, LI H, et al. Highly sensitive and selective Fe^{3+} detection by a water-stable Tb^{3+} -doped nickel coordination polymer-based turn-off fluorescence sensor[J]. *J. Solid. State Chem.*, 2020, **281**: 121 030.
- [5] SAGIRLI A, BOZKURT E. Rhodamine-based arylprope-none azo dyes as dual chemosensor for $\text{Cu}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ detection[J]. *J. Photochem. Photobiol. A*, 2020, **403**: 112-836.
- [6] CAO X R, ZHANG F F, BAI Y J, et al. A highly selective "turn-on" fluorescent probe for detection of Fe^{3+} in cells[J]. *J. Fluoresce.*, 2019, **29**(2): 425-434.
- [7] HEDRICK J B, SINHA S P. Cerium-based polishing compounds: Discovery to manufacture[J]. *J. Alloys Compd.*, 1994, **207**: 377-382.
- [8] BENEDETTO A, BOCCA C, BRIZIO P, et al. Effects of the rare elements lanthanum and cerium on the growth of colorectal and hepatic cancer cell lines[J]. *Toxicol. In Vitro.*, 2018, **46**: 9-18.
- [9] LI Y, LI P, YU H, et al. Recent advances (2010—2015) in studies of cerium oxide nanoparticles' health effects[J]. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 2016, **44**: 25-29.
- [10] KALAIARASI G, RANJANI M, PRABHAKARAN R, et al. A novel coumarin based probe for $\text{Al}(\text{III})$: Synthesis, spectral characterization, photophysical properties, DFT calculations and fluorescence cellular bio-imaging[J]. *Inorg. Chim. Acta.*, 2022, **535**: 120 846.
- [11] 史砚春. 原子吸收光谱仪检测矿区周边水体中的金属离子实验研究[J]. 世界有色金属, 2020, **34**(23): 121-122.
- [12] 郭宏杰, 李辉, 张庸. 电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)法测定稀土钢中微量镧、铈[J]. 中国无机分析化学, 2021, **11**(3): 75-78.
- [13] 喻艳超, 陈心仪, 巴新宇, 等. 连续识别 Zn^{2+} 和草甘膦荧光探针的合成与应用[J]. 精细化工, 2023, **40**(1): 56-62.
- [14] 唐宏伟, 王超, 钟克利, 等. 一种裸眼和荧光双通道快速检测 Hg^{2+} 的探针及其多种应用(英文)[J/OL]. 有机化学, 2023. DOI:10.6023/cjoc202206007.
- [15] 侯淑华, 李仕琦, 汤立军. 新型水溶性罗丹明类荧光探针的合成及其对游离 3 价金属离子的识别[J]. 应用化学, 2022, **39**(2): 241-246.
- [16] 黄诚, 张帅帅, 权一鸣, 等. 基于碳纳米点荧光试纸可视化探针的构建及应用[J]. 化学试剂, 2022, **44**(2): 212-218.
- [17] 元慧娟, 梁倩, 周满, 等. 基于苯并噻唑类螺吡喃检测三价金属离子铁、铬、铝的比色和荧光化学传感器[J]. 化工新型材料, 2021, **49**(3): 197-201.
- [18] 刘玉村, 于晓凡, 赵妍, 等. 基于萘酚席夫碱的荧光增强型铝离子探针[J]. 化学试剂, 2022, **44**(2): 219-223.
- [19] 王迪, 钟克利, 汤立军, 等. 席夫碱共价有机框架的合成及对 I^- 的识别[J]. 高等学校化学学报, 2022, **43**(10): 128-135.
- [20] 李中燕, 覃海波, 朱洪宇, 等. 三种水杨醛席夫碱荧光探针的合成及对 Zn^{2+} 的识别[J]. 无机化学学报, 2022, **38**(7): 1 291-1 298.
- [21] 鞠立鑫, 邵琦, 陆临川, 等. 基于噻吩席夫碱荧光探针检测 Al^{3+} 及细胞实验应用(英文)[J]. 有机化学, 2022, **42**(6): 1 706-1 712.
- [22] 孙洁. 作为荧光探针的苯并色酮席夫碱的合成、表征及检测 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Cr^{3+} 性能研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2022.
- [23] 王慧, 崔光伟, 曹文, 等. 萘酚醛席夫碱铜配合物的合成、表征及荧光性质[J]. 杭州师范大学学报(自然科学版), 2022, **21**(2): 119-123.
- [24] ZHU G X, CHEN Z P, SONG H C, et al. A theoretical study on the on-off phosphorescence of novel $\text{Pt}(\text{II})/\text{Pt}(\text{IV})$ -bisphenylpyridinylmethane complexes[J]. *RSC Adv.*, 2022, **12**(28): 18 238-18 244.

磁性聚吡咯基材料制备及对印染废水中 Cr(VI) 吸附特性研究

陶冶^{*1}, 周文涛²

(1.重庆财经职业学院,重庆 402100;2.重庆大学 化学化工学院,重庆 400044)

摘要:首先通过原位氧化聚合法制备富氮聚合物(PPy),然后以 PPy 前体和磁性金属粉末在高温条件下成功制备出两性吸附剂 CN@Co₃Fe₇。利用扫描电镜(SEM)、红外光谱(IR)、X 射线衍射仪(XRD)和透射电镜(TEM)等多种手段对合成吸附材料进行了形貌和结构表征,并系统考察了其对于纺织印染废水中 Cr(VI) 的吸附性能。试验结果表明:制备出的纳米吸附材料呈六方块结构,粒径为 150 nm,饱和磁化强度约 49.1 emu/g,对 Cr(VI) 具有良好的吸附能力,在吸附剂用量为 4 mg/L、pH 1.7、Cr(VI) 初始浓度为 200 mg/L 的条件下吸附 1 h,对 Cr(VI) 去除率可达 99.48%,3 次再生后去除率仍可维持在 83.41%。吸附动力学规律遵循准一级动力学模型,而吸附等温线符合 Freundlich 等温吸附模型,说明吸附是一个多层不均匀吸附。

关键词:吸附;磁性聚吡咯基;热力学;吸附动力学;Cr(VI)

中图分类号:TQ352 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2023)05-0142-06

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0037

Preparation of Magnetic Polypyrrole Based Material and Its Adsorption Characteristics for Cr(VI) in Textile Wastewater TAO Ye^{*1}, ZHOU Wen-tao² (1.Chongqing College of Finance and Economics, Chongqing 402100, China; 2.School of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract: Nitrogen-rich polymer (PPy) was firstly prepared by in-situ oxidation polymerization and then amphoteric adsorbent CN@Co₃Fe₇ was successfully prepared from PPy precursor and magnetic metal powder. Morphology and structure of the synthesized adsorbent were characterized by scanning electron microscopy (SEM), infrared spectroscopy (IR), X-ray diffractometer (XRD) and transmission electron microscope (TEM). Its adsorption properties for Cr(VI) in textile printing and dyeing wastewater were systematically investigated. The test results showed that the prepared nano adsorbent had a hexagonal structure with a particle size of about 150 nm. Saturated magnetization was about 49.1 emu/g. It had good adsorption capacity for Cr(VI). Removal rate of Cr(VI) could reach 99.48% after 1 h adsorption under the conditions that the amount of adsorbent was 4 mg/L, pH 1.7 and the initial concentration of Cr(VI) was 200 mg/L, and the removal rate could still be maintained at 83.41% after three regenerations. The adsorption kinetics followed the quasi first order kinetic model. The adsorption isotherm showed that the adsorption law conforms to the Freundlich isotherm adsorption model, indicating that the adsorption was a multi-layer heterogeneous adsorption.

Key words: adsorption; magnetic polypyrrole group; thermodynamics; adsorption kinetics; Cr(VI)

纺织印染废水成分复杂,包含多种重金属和染料等有毒有害污染物^[1,2],其中铬(Cr)作为缓蚀剂被广泛应用于纺织和印染等领域^[3]。Cr 在自然界中主要以 Cr(VI) 和 Cr(III) 的形式存在,尤其 Cr(VI) 在水体中溶解度高、扩散速度快,且具有强烈的致畸致癌作用,如不经处理直接排放到河流湖泊中,会对生态环境、水生生物及人类健康产生严重的负面影响^[4-6]。因此快速高效处理印染废水中的 Cr(VI) 对绿色生态有着重大意义。

当前针对纺织印染废水中的 Cr(VI) 主要处理方法包括化学沉淀法^[7]、膜过滤法和吸附法^[8]等,其中吸附法因兼具高效、环保、低成本等优点

成为目前最具吸引力的纺织废水处理方案^[9-11]。在各种类型的吸附材料中,具有多级孔隙、高导电性和稳定结构的碳纳米材料倍受科研人员的关注。Long 等^[12]制备了负载 Fe₃O₄ 的功能化碳材料,并将其用于石工废水中 Cr(VI) 的吸附,结果

收稿日期:2023-01-27;网络首发日期:2023-03-07

基金项目:中国环境监测总站基金资助项目(GA21P0575)。

作者简介:陶冶(1988-),女,重庆人,硕士,讲师,研究方向为化工新材料合成及水污染控制与治理, E-mail: taoye198808@sina.com。

引用本文:陶冶,周文涛.磁性聚吡咯基材料制备及对印染废水中 Cr(VI) 吸附特性研究[J].化学试剂,2023,45(5): 142-147。

表明该吸附剂吸附容量和去除率可达 132.80 mg/g 和 99.60%。Almujaybil 等^[13]利用零价铁与活性炭制备了一种新型吸附材料 Fe(0)@AC, 使用浓度为 0.8 g/mL 时对于 Cr(VI) 的去除率为 95%, 可使用 Langmuir 吸附模型成功描述该吸附过程。Liang 等^[14]以葡萄糖为碳源, 尿素为氮源, 采用水热法合成了高性能的氮掺杂多孔碳材料, 其对 Cr(VI) 的最大吸附量为 402.9 mg/g, 吸附过程符合伪二级动力学模型和 Freundlich 模型。但目前碳材料仍存在三个缺陷: 一是比表面积偏小, 限制了材料的吸附能力; 二是孔径过大或过小, 都会阻碍离子/分子扩散或被吸附物易脱落, 导致吸附性能受损; 三是亲水性弱, 使得对溶液中重金属离子的吸附亲和力低。另外, 从废水溶液中分离碳材料的常规分离方法, 如高速离心或过滤, 效率低、耗时长。因此, 开发一种具有良好吸附性能且能快速分离的廉价吸附剂是目前需要迫切解决的问题。研究表明, 在碳材料中引入杂原子如氧或氮可以提高其吸附效率和选择性。如将富含电子的氮原子引入到碳材料中后, 碳材料中的 p 电子可以被来自 N 的孤对电子激活^[15], 碳基质中的 N 和 O 原子主要以吡咯、吡啶和呋喃的形式存在。聚吡咯(PPy)因其易于合成、导电率高、环境稳定和良好的生物相容性已在电化学电容器、二氧化碳吸附等多个领域获得了广泛应用^[16-18], 但吸附重金属离子尤其是 Cr(VI) 方面还鲜有报道。

本文选择 PPy 作为生产 N 掺杂多孔碳的前体, 通过用活化剂 ZnCl₂ 将其活化, 再结合高温环境中卓越的稳定性和能够有效地消散电磁波的合金金属粉末 Co₃Fe₇ 来减少分离的成本和时间, 成功制备了吸附剂 CN@Co₃Fe₇, 对其结构进行了表征, 进而探讨了其对 Cr(VI) 的吸附机理。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

GSL-1800X-KS 型真空高温管式炉(北京科易通达科技发展有限公司); S-4700 型扫描电子显微镜(日本日立公司); Mana-IR550 型傅里叶变换红外光谱仪(美国 Nicolet 公司); D8 ADVANCE 型 X 射线衍射仪(德国布鲁克公司); 7304 型振动样品磁强针(美国 Lake Shore 公司); DNP-9016 型电热恒温箱(上海铂温仪器有限公司)等。

吡咯(99.7%)、七水合硫酸亚铁(99%)(上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 六水合硝酸

钴(99%)、乙二醇(99%)、六水合氯化铁(99%)、氯化锌(98%)、氨水(99%)(成都市科龙试剂有限公司)。

1.2 CN@Co₃Fe₇ 的制备

室温下在 FeCl₃ 氧化剂存在下通过原位氧化聚合制备 PPy。按照吡咯和 FeCl₃ 氧化剂 1:2 比例制备得到 PPy, 然后将一定量的 FeSO₄·7H₂O 和 Co(NO₃)₂·6H₂O 按照物质的量比为 2:1 的比例置于 100 mL 的圆底烧瓶中, 加入 50 mL 60% 乙二醇水溶液为溶剂, 搅拌 30 min 以得到均一稳定的溶液, 向里面加入一定量的 PPy 混合均匀, 升温至 60 °C 搅拌 1 h。冷却至室温后向混合液中缓慢加入 2 mL 氨水继续调节溶液的 pH, 在室温下继续搅拌 1 h。将混合液倒入反应釜中 110 °C 条件下水热反应 2 h。黑色沉淀物用去离子水冲洗直到滤液大致呈中性, 在 80 °C 下干燥得到产物 PPy/CoFe₂O₄。按照质量比 1:3 将 PPy 与 ZnCl₂ 混合在一起研磨成均匀的混合物, 干燥后转移混合物到氮气保护的真空高温管式炉中进行活化(氮气流率为 100 mL/min, 升温速度为 5 °C/min), 800 °C 下煅烧 2 h, 当冷却到室温时取出, 得到黑色产物 CN@Co₃Fe₇, 研磨过 200 目筛网备用。同时, 按照同样的方法合成了不含 Co₃Fe₇ 的纯聚吡咯活化的产品记为 CN。CN@Co₃Fe₇ 的合成路线如图 1 所示。

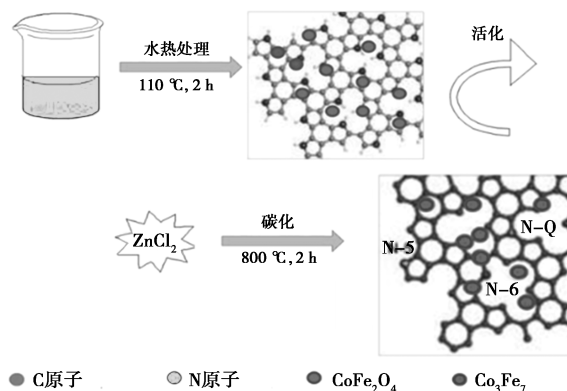


图 1 CN@Co₃Fe₇ 合成路线图

Fig.1 Synthesis route of CN@Co₃Fe₇

1.3 CN@Co₃Fe₇ 结构与性能表征

分别使用扫描电镜和透射电镜对制备的磁性复合材料 CN@Co₃Fe₇ 进行形貌表征, 利用傅里叶红外光谱仪分析样品的官能团结构, 样品的晶体结构通过 X 射线衍射仪测试, 样品的磁化性能使用振动样品磁强针进行表征。

1.4 吸附性能实验

1.4.1 吸附性能评价

进行批次吸附实验以评价吸附材料对 Cr(VI) 的吸附性能,并深入研究吸附机理。将 CN@Co₃Fe₇ 分散在不同浓度的 Cr(VI) 溶液中,通过 HCl 或 NaOH 调节溶液 pH 值。在特定温度条件下搅拌吸附一定时间,通过原子吸收光谱仪测量溶液中 Cr(VI) 的浓度变化。通过式(1)计算吸附量,通过式(2)计算去除率:

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

$$\text{Re}(\%) = [(C_0 - C_t)/C_0] \times 100\% \quad (2)$$

式中: q_t 为 t 时吸附在单位质量 CN@Co₃Fe₇ 上的 Cr(VI) 量,mg/g; C_0 和 C_t 为吸附初始和时间 t 时的浓度,mg/L; m 为吸附剂 CN@Co₃Fe₇ 的质量,mg; V 为溶液的体积,mL;Re 为 Cr(VI) 去除率,%。

1.4.2 吸附机理研究

分别在 298、308 和 318 K 下进行吸附实验,将吸附平衡浓度 C_e 与平衡吸附量 q_e 作图得吸附等温线图,用 Langmuir 和 Freundlich 两个经典等温线方程来拟合实验数据并描述吸附剂与 Cr(VI) 之间的相互作用以及吸附性能,其非线性表达式如下:

Langmuir 等温吸附模型表达式如下:

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

Freundlich 等温吸附方程如下:

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (4)$$

式中: q_m 为计算的理论最大吸附量,mg/g; C_e 为吸附达到平衡时溶液的浓度,mg/L; K_L 与 K_F 分别为 Langmuir 和 Freundlich 等温吸附方程的相关系数; $1/n$ 为吸附方程的非均质影响因素。

为研究吸附剂对 Cr(VI) 的吸附动力学规律,分别利用准一级动力学模型和准二级动力学模型对实验数据进行拟合。两种模型的表达式如式(5)和式(6)所示:

$$\log(Q_e - Q_t) = \log Q_e - kt / (2.303) \quad (5)$$

$$t/Q_t = 1/(kQ_e^2) + t/Q_e \quad (6)$$

式中: Q_e 为最大吸附量,mg/g; Q_t 为 t 时的吸附量,mg/g; t 为吸附时间; k 为平衡吸附常数。

2 结果与讨论

2.1 表征结果

2.1.1 吸附剂 CN@Co₃Fe₇ 的形貌分析

图 2a、2b 展示的是 Co₃Fe₇ 的低分辨率和高分辨率的扫描电镜图,从图中可以看出材料类似于海绵结构,表面非常蓬松。图 2c、2d 分别显示的是 CN@Co₃Fe₇ 低分辨率和高分辨率的扫描电镜图,合成的 CN@Co₃Fe₇ 并没有维持 Co₃Fe₇ 原

本的形貌,呈现出均匀分布、尺寸大小一致的纳米六方块结构,粒径为 150 nm 左右,这种结构为吸附 Cr(VI) 提供了较多的活性位点。样品的 Mapping 图如图 2e~2h 所示,从图中看出 C 元素含量相对较多,N、Co、Fe 元素呈现相对均匀的分布,这与合成的预期相同。从表 2 进一步可知,氮元素的重量百分比含量为 29.76%,为后面的吸附提供有利的条件。

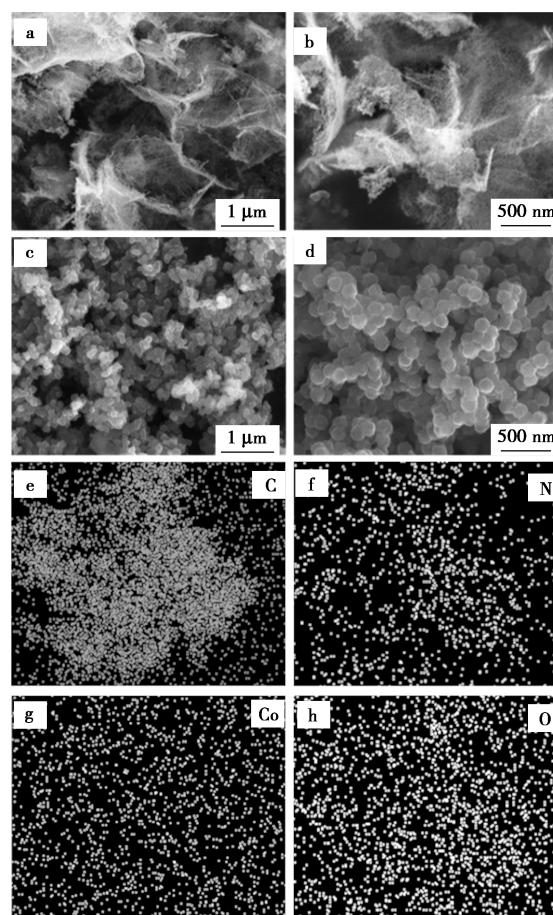


图 2 a、b.Co₃Fe₇ 的扫描电镜图;

c、d.CN@Co₃Fe₇ 的扫描电镜图;

e~h.CN@Co₃Fe₇ 的 Mapping 图

Fig.2 a,b.SEM images for Co₃Fe₇;

c,d.CN@Co₃Fe₇; e~h.Mapping images of CN@Co₃Fe₇

表 2 吸附剂的元素相对含量分析表

Tab.2 Analysis of relative content of elements in adsorbent

Element	Wt/%	At/%
CK	60.18	68.62
NK	29.76	29.01
CoL	3.15	0.73
FeL	6.90	1.64
Matrix	Correction	ZAF

2.1.2 吸附剂 CN@Co₃Fe₇ 的红外分析

Co₃O₄ 和 PPy/PAN@Co₃O₄ 傅里叶红外光谱如图 3 所示,在 CN@Co₃Fe₇ 磁性复合材料中,1 638、1 388、1 056 和 940 cm⁻¹处观察到的特征峰证实 CN 的存在,1 230 和 1 137 cm⁻¹处的特征峰证实 Co₃Fe₇ 的存在。

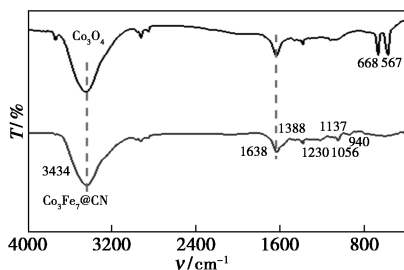


图 3 反应物的红外光谱图

Fig.3 FT-IR of different materials

2.1.3 吸附剂 CN@Co₃Fe₇ 的 XRD 测试

如图 4 所示,在 $2\theta = 31.3^\circ$ 、 36.9° 、 44.9° 、 59.5° 和 65.3° 处的衍射峰分别对应于 Co₃Fe₇ 的 (220)、(311)、(400)、(511) 和 (440) 晶面,说明成功合成 Co₃Fe₇。在 CN@Co₃Fe₇ 的图谱中观察到一个宽峰存在,属于微弱的 Co₃Fe₇ 衍射峰,证明在吸附剂中成功引入 Co₃Fe₇,但聚合物 CN 的引入使其峰强度减弱程度较大,可能是由于含量相对较低以及 CN 和 Co₃Fe₇ 之间的界面相互作用导致。

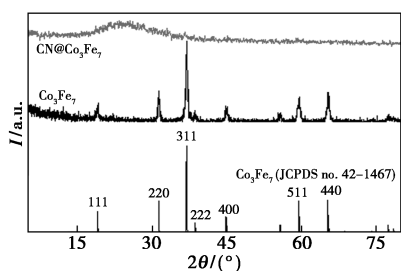


图 4 反应物的 XRD 图

Fig.4 XRD of different materials

为进一步考察 CN@Co₃Fe₇ 的微观结构,利用透射电镜(TEM)对制备的吸附剂进行了表征。从图 5 中可观察到 PPy 涂层的存在,且 PPy 与 Co₃Fe₇ 间存在较为清晰边界,表明成功合成了 CN@Co₃Fe₇ 复合材料。

2.1.4 吸附剂 CN@Co₃Fe₇ 的磁性分析

图 6 为吸附剂 CN@Co₃Fe₇ 的磁化性能曲线。从图中可以看出,制备的 CN@Co₃Fe₇ 饱和磁化强度约为 49.1 emu/g,具有较强的磁性,进一步证明成功合成出 CN@Co₃Fe₇。

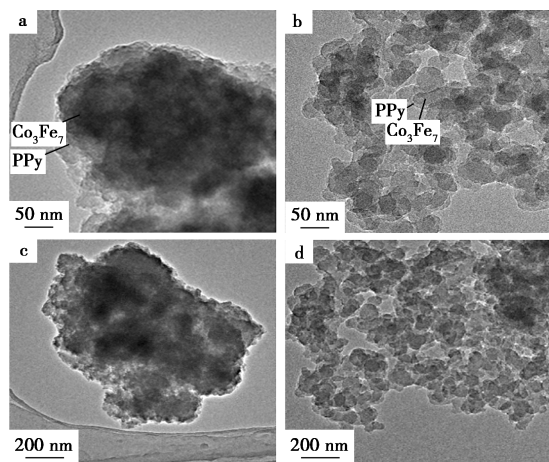


图 5 CN@Co₃Fe₇ 的透射电镜图

Fig.5 TEM images of CN@Co₃Fe₇

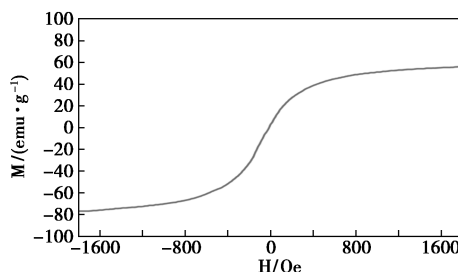


图 6 反应物的磁性分析图

Fig.6 Magnetic analysis image of different materials

2.2 吸附性能影响因素研究

2.2.1 pH 值

为了评估 pH 值对 Cr(VI) 吸附性能的影响,固定吸附温度为 25 ℃,吸附时间为 1 h,吸附剂用量为 2 mg/L、Cr(VI) 初始浓度为 200 mg/L,选择在很宽的 pH 范围内进行(1.78~7.60)测试,pH 值利用 HCl 和 NaOH 进行调节,实验结果如图 7 所示。从图中可以看出,Cr(VI) 的吸附量随着溶液 pH 值的增大而降低,主要是因为 CN@Co₃Fe₇ 在酸性条件下质子化程度提高,使得吸附材料表面被正电荷包围,阴离子可通过静电吸引明显的吸附在带正电的表面上^[19];还有一个因素是不同

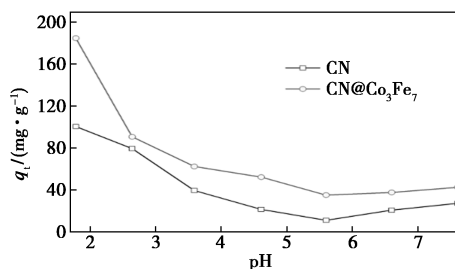


图 7 pH 值对吸附的影响

Fig.7 pH influence to adsorption capacity

pH 值下各种铬根的吸附自由能不同, HCrO_4^- 和 CrO_4^{2-} 的吸附自由能分别为 $-2.5 \sim 0.6 \text{ kcal/mol}$ 和 $-2.1 \sim 0.3 \text{ kcal/mol}$, HCrO_4^- 比 CrO_4^{2-} 更易吸附, 随着 pH 值升高, HCrO_4^- 向 CrO_4^{2-} 转化, 因此吸附量下降^[20]。在后续实验中选择 pH 1.78 用于 Cr(VI) 的吸附试验。从图中还可以观察到, 在 pH 1.78 时, $\text{CN@Co}_3\text{Fe}_7$ 吸附容量远远大于 CN, 但在 pH 2.5 后吸附量只比 CN 材料略大。

2.2.2 吸附剂用量

本实验固定吸附温度为 25°C , 吸附时间为 1 h, pH 1.7、Cr(VI) 初始浓度为 200 mg/L , 考察了 $\text{CN@Co}_3\text{Fe}_7$ 在不同用量 ($2 \sim 10 \text{ mg/L}$) 下对 Cr(VI) 吸附容量和去除率的影响, 实验结果见图 8。从图中可以看出, 吸附率随着吸附剂的用量增加, 最高可达 99.56%, 并且样品用量超过 4 mg/L 后再增加吸附剂用量去除率增幅显著减缓。这是因为吸附剂的用量决定了吸附剂和被吸附物之间的接触面积, 达到吸附饱和后增加的 $\text{CN@Co}_3\text{Fe}_7$ 只是增加了未被利用的表面积, 因此去除率不再显著增加。从图中还可以看出, 随着吸附剂增加, 吸附容量逐渐降低, 这主要是因为低吸附剂用量下各吸附位点可以被 Cr(VI) 有效占据, 故吸附容量较高, 进一步增加吸附剂用量可获得更多的表面积和可被利用的吸附位点, 但 Cr(VI) 总量一定, 导致部分增加的吸附点位无 Cr(VI) 占据, 因此吸附容量随吸附剂用量增加而降低。

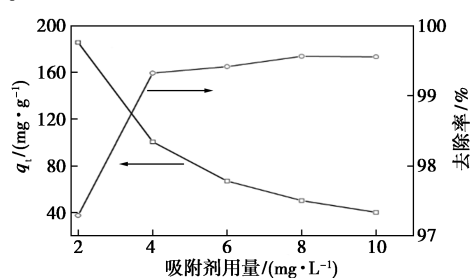


图 8 吸附剂用量对吸附容量和去除率的影响

Fig.8 Effect of adsorbent dosage on adsorption capacity and removal rate

2.2.3 吸附剂再生吸附性能

将吸附实验后的吸附剂通过磁分离回收, 依次进行碱洗、水洗、干燥后开展循环吸附测试, 考察样品的再生吸附性能, 实验结果见图 9。从图中可以看出, 样品吸附率随再生次数增加逐渐下降, 经过 3 次再生实验后吸附率仍保持在 83.41%, 表明合成的样品再生吸附能力较好, 可

以多次循环利用。

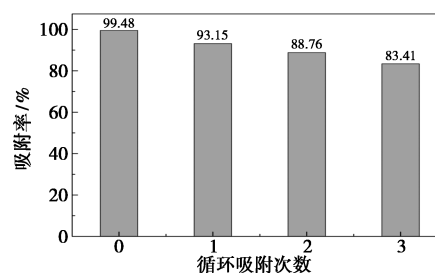


图 9 吸附剂再生吸附性能

Fig.9 Regeneration adsorption performance of adsorbent

2.2.4 吸附动力学

为了研究 $\text{CN@Co}_3\text{Fe}_7$ 对于 Cr(VI) 的吸附动力学规律, 本文对实验数据分别利用准一级动力学模型和准二级动力学模型进行拟合, 实验结果如图 10 所示。从图中可以看出, 平衡吸附量约为 51.5 mg/g , 吸附规律更接近于准一级动力学模型。

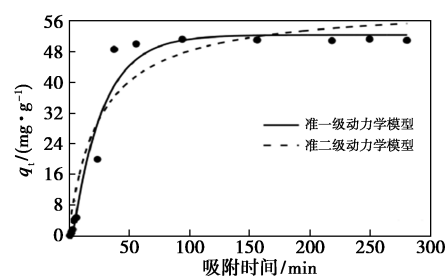


图 10 吸附动力学模拟结果

Fig.10 Simulation results of adsorption kinetics

2.2.5 吸附等温线

分别用 Langmuir 和 Freundlich 等温线方程对实验数据进行拟合, 如图 11 所示, 实验数据与 Freundlich 模型拟合度明显高于 Langmuir 模型, 且 Freundlich 常数 (KF) 值很高, 说明在 $\text{CN@Co}_3\text{Fe}_7$ 对 Cr(VI) 吸附过程属于多层不均匀吸附, 且具有较高的亲和力。从图中还可以看出, $\text{CN@Co}_3\text{Fe}_7$ 对 Cr(VI) 的吸附属于自发吸热过程, 高温对吸附更有利。

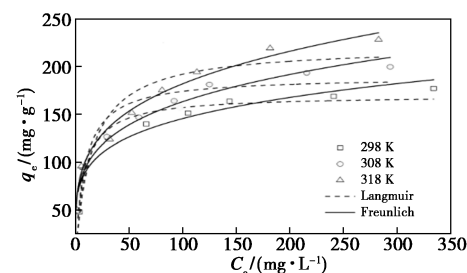


图 11 等温吸附曲线

Fig.11 Adsorption isotherm

3 结论

3.1 采用简单无机活化成功制备出磁性碳掺杂氮纳米粒子 CN@Co₃Fe₇, 并采用多种手段对 CN@Co₃Fe₇ 进行形貌、结构和性能进行表征。SEM 形貌发现合成的 CN@Co₃Fe₇ 呈现出均匀分布、尺寸大小一致的纳米六方块结构;红外光谱发现 CN@Co₃Fe₇ 材料中存在于 1 638、1 388、1 050、940 cm⁻¹和 1 230、1 137 cm⁻¹处的 IR 峰,证实存在 CN 和 Co₃Fe₇;XRD 测试发现吸附剂中成功引入 Co₃Fe₇;TEM 表明复合材料中同时存在 PPy 和 Co₃Fe₇;VSM 测试结果显示吸附剂饱和磁化强度达到 49.1 emu/g。

3.2 通过吸附性能试验评价了 CN@Co₃Fe₇ 从纺织印染废水中吸附 Cr(VI) 的规律和原理。评价结果表明,在吸附剂用量为 4 mg/L、pH 1.7、Cr(VI) 初始浓度为 200 mg/L 的条件下去除率可达 99.48%,3 次再生后去除率仍可维持在 83.41%。

3.3 CN@Co₃Fe₇ 对 Cr(VI) 的吸附动力学规律遵循准一级动力学模型,而吸附等温线则符合 Freundlich 等温吸附模型,说明吸附是一个多层不均匀吸附,高温对吸附更有利。

参考文献:

- [1] 薛昱. 印染废水治理技术进展[J]. 工业水处理, 2021, **41**(9): 10-17.
- [2] 左国强, 苏小莉, 刘改云, 等. 纳米零价铁吸附法去除废水中的 Pb²⁺ [J]. 化学试剂, 2022, **44**(6): 828-834.
- [3] 施可, 李庆, 陈灵辉, 等. MOFs 光催化降解染料和还原 Cr(VI) 的研究进展[J]. 印染, 2021, **47**(10): 67-72.
- [4] 狄惠琴, 张沂頔, 王洪涛. 化纤纺织染整废水中锑污染控制策略[J]. 工业水处理, 2021, **41**(12): 22-28.
- [5] NAUSHAD M, AHAMAD T, SHARMA G, et al. Synthesis and characterization of a new starch/SnO₂ nanocomposite for efficient adsorption of toxic Hg²⁺ metal ion[J]. *Chem. Eng. J.*, 2016, **300**: 306-316.
- [6] 高卫民, 程寒飞, 詹茂华, 等. 磁性纳米 Fe-S 复合材料的制备及其对 Cr(VI) 的处理性能研究[J]. 化学试剂, 2020, **42**(3): 238-243.
- [7] SIS H, UYSAL T. Removal of heavy metal ions from aqueous medium using Kuluncak (Malatya) vermiculites and effect of precipitation on removal [J]. *Appl. Clay Sci.*, 2014, **95**: 1-8.
- [8] 唐彬, 彭英湘, 胡立琼, 等. 重金属废水处理技术的原理综述[J]. 化工管理, 2014, (23): 279-281.
- [9] 邹照华, 何素芳, 韩彩芸, 等. 吸附法处理重金属废水研究进展[J]. 环境保护科学, 2010, **36**(3): 22-24; 108.
- [10] 姜立萍. 新型聚合物—无机复合微凝胶及其对重金属离子的选择性吸附性能研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2014.
- [11] BARCZAK M, MICHALAK-ZWIERZ K, GDULA K, et al. Ordered mesoporous carbons as effective sorbents for removal of heavy metal ions[J]. *Micropor. Mesopor. Mat.*, 2015, **211**: 162-173.
- [12] LONG W. Investigation of the adsorption process of chromium(VI) ions from petrochemical wastewater using nanomagnetic carbon materials [J]. *Nanomaterials*, 2022, **12**(21): 3 815-3 815.
- [13] ALMUJAYBIL M J. Facile synthesis of Fe(0)@activated carbon material as an active adsorbent towards the removal of Cr(VI) from aqueous media [J]. *Catalysts*, 2022, **12**(5): 515-515.
- [14] LIANG H X. Preparation of nitrogen-doped porous carbon material by a hydrothermal-activation two-step method and its high-efficiency adsorption of Cr(VI) [J]. *J. Hazard Mater.*, 2020, **387**(C): 121 987.
- [15] YADAV D K, SRIVASTAVA S. Carbon nanotubes as adsorbent to remove heavy metal ion (Mn⁷⁺) in wastewater treatment [J]. *Mater. Today*, 2017, **4**: 4 089-4 094.
- [16] HUONG P T L, HUUY L T, LAN H, et al. Magnetic iron oxide-carbon nanocomposites: Impacts of carbon coating on the As(V) adsorption and inductive heating responses [J]. *J. Alloy Compd.*, 2018, **739**: 139-148.
- [17] ZHAO Y, YANG L, CHEN S, et al. Can boron and nitrogen Co-doping improve oxygen reduction reaction activity of carbon nanotubes [J]. *ACS*, 2013, **135**: 1 201-1 204.
- [18] LIAO Y, LI X, KANER R B. Facile synthesis of water-dispersible conducting polymer nanospheres [J]. *ACS Nano*, 2010, **4**(9): 5 193-5 202.
- [19] 李佳轩. 聚吡咯纳米复合材料的制备与光电、吸附性能研究[D]. 苏州: 苏州科技学院, 2015.
- [20] 王海兵, 孙宁杰, 张越非, 等. 基于密度泛函理论研究六价铬的形态及其相互转变规律[J]. 武汉工程大学学报, 2018, **40**(5): 500-505.

己二酸/硫酸掺杂聚苯胺对 Cr(VI) 的吸附行为

蔡雨晴¹, 章东雪¹, 周娇¹, 周进康^{*1}, 孔垂灿¹, 李玉驳¹, 刘应科²

(1. 贵州师范学院 化学与材料学院, 贵州 贵阳 550018; 2. 贵阳神迪化工有限公司, 贵州 贵阳 550018)

摘要: 为了研究己二酸掺杂聚苯胺对重铬酸钾溶液的吸附行为, 以己二酸(AA)、硫酸为混合掺杂剂, 采用化学氧化聚合法合成了己二酸/硫酸掺杂聚苯胺(PANI@H/AA)。采用 FT-IR、SEM 及 EDS 方法对其结构进行了表征, 考察了苯胺与己二酸物质的量比、吸附液初始浓度、吸附时间、pH 值对 Cr(VI) 吸附行为的影响。分析了 PANI@H/AA 对 Cr(VI) 的吸附行为特征。结果表明, $n(\text{苯胺}):n(\text{己二酸})=5:2$ 时, PANI@H/AA 显示出优异的吸附效果, 其对 Cr(VI) 的吸附行为符合 Langmuir 单分子层和准二级动力学吸附模型。对 Cr(VI) 的吸附行为主要是掺杂聚苯胺中的 $-N^+=$ 正离子以及酸性条件下质子化的亚氨基对 HCrO_4^- 、 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 的静电吸引作用。PANI@H/AA 能够对废水中 Cr(VI) 进行有效去除, 并具有良好的重复使用性能。

关键词: 己二酸; 掺杂; 聚苯胺; 吸附; Cr(VI)

中图分类号: TQ028.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283(2023)05-0148-07

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2022.0854

Adsorption Behavior of Adipic/sulfuric Acid Doped Polyaniline for Cr(VI) CAI Yu-qing¹, ZHANG Dong-xue¹, ZHOU Jiao¹, ZHOU Jin-kang^{*1}, KONG Chui-can¹, LI Yu-bo¹, LIU Ying-ke² (1. College of Chemistry and materials, Guizhou Normal University, Guiyang 550018, China; 2. Guiyang Shendi Chemical Co., Ltd., Guiyang 550018, China)

Abstract: In order to study the adsorption behavior of adipic acid doped polyaniline on potassium dichromate solution, adipic acid doped polyaniline was prepared by oxidative polymerization using aniline as raw materials, adipic acid/sulfuric acid doped polyaniline (PANI@H/AA) was synthesized by chemical oxidation polymerization by using adipic acid (AA) and sulfuric acid as mixed dopants. The Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), scanning electron microscope (SEM) and EDS were used to determine that AA was effectively doped on PANI structure was formed. The effects of aniline/adipic acid molar ratio, initial concentration of adsorbent, adsorption time and pH on Cr(VI) adsorption behavior were investigated. The characteristics of the adsorption behavior of adipic acid doped polyaniline (PANI@H/AA) on potassium dichromate solution was investigated, and the relevant mechanism were analyzed. The results showed that when the molar ratio of aniline to adipic acid was 5:2, the PANI@H/AA showed outstanding adsorption effect. The adsorption behavior of Cr(VI) was consistent with the Langmuir monolayer and second-order kinetic adsorption model. The adsorption behavior of Cr(VI) was mainly due to the doping of $-N^+=$ positive ions in polyaniline and the electrostatic attraction of proton-induced imino to HCrO_4^- and $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ under acidic conditions. PANI@H/AA can effectively remove Cr(VI) from wastewater and had a good reuse performance.

Key words: adipic acid; doping; polyaniline; adsorption; Cr(VI)

印染、电镀、电池等化工生产中会产生大量重金属废水^[1-3], 需进行无害化处理, 否则会引起严重的环境污染。其中, 重金属铬具有很强的毒性和致癌性, 六价铬对消化道、骨骼、组织细胞、肝脏等均有影响^[4], 工业废水处理对保护生态环境和人类的健康具有重大意义^[5,6]。去除水体重金属的方法有沉淀法、电化学法和吸附法等^[7-10], 吸附法工艺流程简单、成本较低、条件温和, 吸附材料的研制是关键。聚苯胺(PANI)是一种高聚物, 原料易得、生产简单、稳定性好, 聚苯胺结构中具有大量亚氨基、氨基, 对金属离子具有配位螯合作用, 具有成为良好吸附材料的潜能^[11,12]。但其本征态分子链容易团聚, 致使比表面积减小, 活性基团被遮盖, 吸附性能受影响^[13,14]。质子酸掺杂进

入聚苯胺分子链可以改善其团聚现象得到多孔, 形成结构多样的微粒产品, 在重金属污染处理中, 引起人们极大关注^[15-17]。无机酸、有机酸复合掺杂聚苯胺可获得较大孔容、孔径结构材料, 有利于吸附作用^[18-22], 硫酸掺杂聚苯胺结构为晶态纳米

收稿日期: 2022-11-22; 网络首发日期: 2023-03-02

基金项目: 贵州省科技计划项目((2019)1252, ZK(2021)一般254); 黔研合平台人才项目((2019)5778-08)。

作者简介: 蔡雨晴(1999-), 女, 贵州遵义人, 本科生, 主要研究方向为高分子合成与应用研究。

通讯作者: 周进康, E-mail: jinkangzhou@126.com。

引用本文: 蔡雨晴, 章东雪, 周娇, 等. 己二酸/硫酸掺杂聚苯胺对 Cr(VI) 的吸附行为[J]. 化学试剂, 2023, 45(5): 148-154。

结构^[23,24],己二酸是有两个羧酸基团的链状分子有机酸,两者复合掺杂聚苯胺分子链可能更好改善其团聚现象,产生更多孔隙和活性基团位点,进而提高聚苯胺材料的吸附性能。

以苯胺为原料,己二酸、硫酸为混合掺杂剂,过硫酸铵为引发剂,经溶液聚合反应得到了己二酸/硫酸掺杂聚苯胺(PANI@H/AA),采用红外、电子扫描电镜及EDS等进行表征;在合成过程考察了己二酸用量对产量、掺杂率及吸附性能的影响,通过吸附实验考察了初始浓度、吸附时间、吸附液 pH 等吸附工艺参数,探讨了 PANI@H/AA 的吸附机理。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Tensor2 型傅里叶红外光谱仪、LS12320XR 型纳米激光粒度仪(德国布鲁克有限公司);ZEISS sigma 500 型电子扫描电镜(英国蔡司公司);752N 型紫外-可见分光光度计(上海佑科仪器仪表有限公司);SHA-C 型水浴恒温振荡器(江苏盛蓝仪器制造有限公司)。

苯胺(天津博迪化工股份有限公司);过硫酸铵(重庆川东化工有限公司);己二酸(上海化学试剂总厂);其他试剂均为分析纯。

1.2 聚苯胺的制备

将 100 mL (1 mol/L) 硫酸溶液置于容量为 250 mL 的烧杯中,加入 11.4 g (0.05 mol) 过硫酸铵,搅拌溶解,得到引发剂过硫酸铵溶液。称取一定量的 AA 加入 50% 乙醇水溶解配制成 100 mL 溶液备用。

将容量为 250 mL 的夹套烧杯放在磁力搅拌器上,将其进水、出水管口分别与低温恒温槽相应端口相连,调节槽温为 5 ℃,加入上述 AA 溶液、4.65 g (0.05 mol) 重蒸过的苯胺液体,搅拌分散,滴加上述引发剂过硫酸铵溶液,约 30 min 滴完,在 5 ℃ 的温度下反应 4 h;过滤,无水乙醇洗去未反应的有机物,蒸馏水反复洗涤至滤液为中性。60 ℃ 真空干燥,得到硫酸/AA 掺杂态聚苯胺 PANI@H/AA。

1.3 吸附实验

称量 0.02 g PANI@H/AA 吸附材料于 100 mL 锥形瓶中,加入 20 mL 浓度为 10~100 mg/L Cr(VI) 溶液。25 ℃ 下,在水浴恒温振荡器中振荡吸附一定时间。振荡结束后,静置 10 min,量取上层澄清

液,按文献[25]的方法测定 Cr(VI) 浓度,用公式(1)、(2)计算其吸附率(η)和吸附量(q)。考察吸附液初始浓度、吸附时间、吸附 pH 等因素对 PANI@H/AA 吸附性能的影响,以及其重复使用性能。

$$\eta = [(c_0 - c_t)/c_0] \times 100\% \quad (1)$$

$$q = [(c_0 - c_t) \times V]/m \quad (2)$$

式中: η 为吸附率,%; c_0 , c_t 分别为吸附前后吸附液中 Cr(VI) 的质量浓度,mg/L; V 为吸附液体积,L; q 为吸附量,mg/g。

2 结果与讨论

2.1 聚苯胺的表征

2.1.1 聚苯胺的红外光谱

AA 掺杂态聚苯胺样品 PANI@H/AA 吸附前后的红外光谱如图 1 所示。

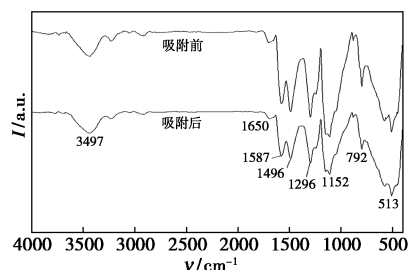


图 1 PANI@H/AA 吸附前后的红外光谱图

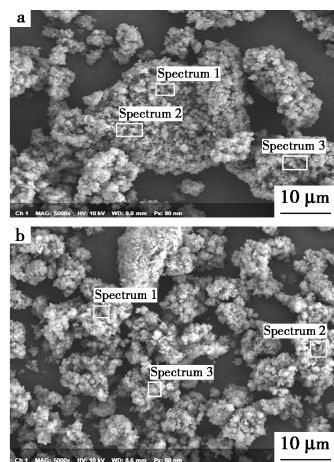
Fig.1 Infrared spectra before and after adsorption of PANI@H/AA

从图 1 可见,PANI@H/AA 在吸附前和吸附后的红外光谱曲线上,吸附峰出现位置基本相同,在 513、792 cm^{-1} 处吸附峰为二取代苯的 C—H 面内弯曲振动和 C—H 面外弯曲振动;1 152 cm^{-1} 处为苯的醌式结构的仲胺特征吸收峰;1 296 cm^{-1} 处为仲胺与苯环直接相连形成 $p-\pi$ 共轭时,C—N 键带有双键的性质,其伸缩振动频率向高频移动,吸收强度比较强;1 496 cm^{-1} 处对应醌式结构 $\text{N}=\text{Q}=\text{N}$ (Q 为醌环) 的伸缩振动;1 630 cm^{-1} 处是 N—H 键的变形振动,1 650 cm^{-1} 处为 C=O 的键伸缩振动;3 240 cm^{-1} 为 OH 的伸缩振动^[26-28]。在 1 100~1 650 cm^{-1} 之间,吸附 Cr(VI) 后 N—H、C=O 等的吸收峰强度都有一定的减弱,可能是吸附 Cr(VI) 后使其电子云密度降低。这与於黄中等^[29]的描述“当在—N=上的 N 原子上发生质子化反应时,其产物中原子所带的正电荷可以通过共轭作用沿分子链分散到邻近原子上,从而增加了体系的稳定性”一致,以上吸收峰的存在和变化证实 AA 掺杂成功并发生了吸附现象。

2.1.2 掺杂态聚苯胺的形貌分析

从图 2 可以看出,吸附前表面呈现为颗粒形

状,聚苯胺本为链状分子,说明团聚严重^[29],颗粒间还有很强聚集现象,整体为较大的块状;吸附后颗粒聚集有明显减弱,这是 PANI@H/AA 由于掺杂表面带上正电荷或有极性,吸附 Cr(VI) 后极性减弱,对其他微粒的吸引作用降低,改善了微粒间聚集现象,导致颗粒体积减小。



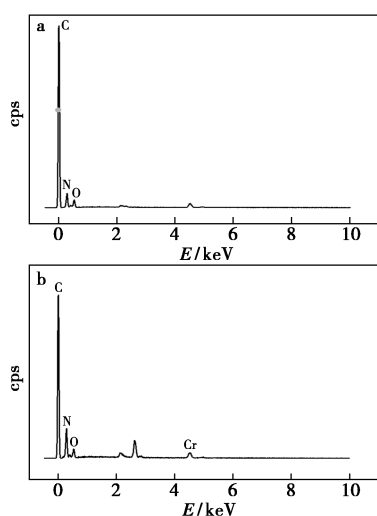
a. 吸附前 PANI@H/AA; b. 吸附后 PANI@H/AA

图 2 PANI@H/AA 的外观形貌

Fig.2 Appearance of PANI@H/AA

2.1.3 掺杂态聚苯胺的 EDS 图

PANI@H/AA 吸附 Cr(VI) 前后的 EDS 图,如图 3 所示。从图 3 可以看出,吸附前 PANI@H/AA 结构中主要出现了 C、N、O 元素特征峰。吸附后,C、N、O 均有一定的降低,出现了 Cr 特征峰,说明 PANI@H/AA 对 Cr(VI) 有一定的吸附作用。各元素所占质量分数如表 1 所示。从表 1



a. 吸附前; b. 吸附后

图 3 PANI@H/AA 吸附前后的 EDS 分析

Fig.3 EDS diagram of PANI@H/AA before and after adsorption

可知,吸附前 PANI@H/AA 结构中 C、N、O 的质量分数分别为 56.51%、22.36% 和 21.13%。吸附后,C、N、O 的质量分数分别降低为 54.71%、21.92% 和 20.85%,Cr 的质量分数,达到 2.52%。各元素在吸附前后质量分数的变化,说明 PANI@H/AA 产生了吸附行为。

表 1 吸附前后 PANI@H/AA 的元素含量

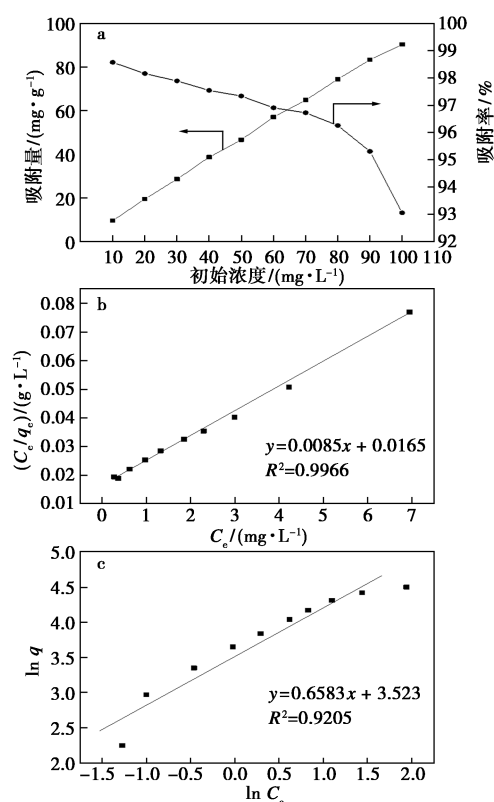
Tab.1 Element content of PANI@H/AA resin before and after adsorption

PANI@H/AA	Element	Content/%
Before adsorption	C	56.51
	N	22.36
	O	21.13
	Total	100
After adsorption	C	54.71
	N	21.92
	O	20.85
	Cr	2.52
	Total	100

2.2 AA 掺杂聚苯胺吸附行为

2.2.1 等温吸附模型

在 25 °C 下,取 20 mL 不同浓度的 Cr(VI) 溶液,加入 0.020 g 吸附材料,振荡吸附 4 h,探究吸



a. PANI@H/AA 吸附量、吸附率; b. Langmuir 拟合曲线; c. Freundlich 拟合曲线

图 4 PANI@H/AA 对 Cr(VI) 的等温吸附

Fig.4 Isothermal adsorption of Cr(VI) by PANI@H/AA

附材料对不同浓度的 Cr(VI) 溶液的吸附行为, PANI@H/AA 的吸附性能随 Cr(VI) 初始浓度变化趋势,如图 4 所示。由图 4a 可见,Cr(VI) 初始质量浓度在 10~100 mg/L 范围变化时,PANI@H/AA 的吸附量随着浓度的增加而增大,而吸附率则呈下降趋势,在 10~50 mg/L 之间下降较慢,初始浓度为 50 mg/L 时,吸附量为 46.57 mg/g,吸附率保持在 97.33% 以上,之后,吸附率快速下降。所以,在 50 mg/L 浓度下进行后续研究。

为了考察吸附机理,分别以 Langmuir 等温方程(3)和 Freundlich 等温方程(4)对吸附数据进行线性拟合^[24],拟合参数如表 2 所示。

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

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

式中: q_e 、 q_m 分别为吸附平衡和最大饱和吸附量,mg/g; K_L 、 K_F 分别为 Langmuir、Freundlich 吸附平衡解离常数; n 为 Freundlich 吸附常数。

表 2 Langmuir、Freundlich 吸附模型拟合

Tab.2 Langmuir and Freundlich adsorption model fitting						
Mondl		Langmuir		Freundlich		
$q_e/$ (mg·g ⁻¹)	R^2	K_L	$Q_m/$ (mg·g ⁻¹)	R^2	n	K_F
46.57	0.9966	0.52	54.05	0.9205	1.52	37.4

从图 4 和表 2 可知,Langmuir 吸附模型拟合的线性方程为 $C_e/q_e = 0.0185C_e + 0.0165$,相关系数 R^2 达到 0.9966,较高(图 4b),其饱和和吸附量为 54.05 mg/g,接近实测值 46.57 mg/g,说明该吸附材料对 Cr(VI) 的吸附过程主要为 Langmuir 吸附模型控制的单分子层吸附^[30]。而 Freundlich 方程为 $\ln q_e = 0.6583 \ln C_e + 3.523$,相关系数 R^2 为 0.9205,较低(图 4c)。 q_m 、 K_L 可由拟合方程的斜率和截距计算得到,常数 K_L 为 0.52,在 $0 < K_L < 1$ 区间,表明为有益吸附^[24],呈现出一定的物理吸附现象;可见,PANI@H/AA 对 Cr(VI) 吸附表现为化学吸附为主,伴有物理吸附的混合吸附过程。

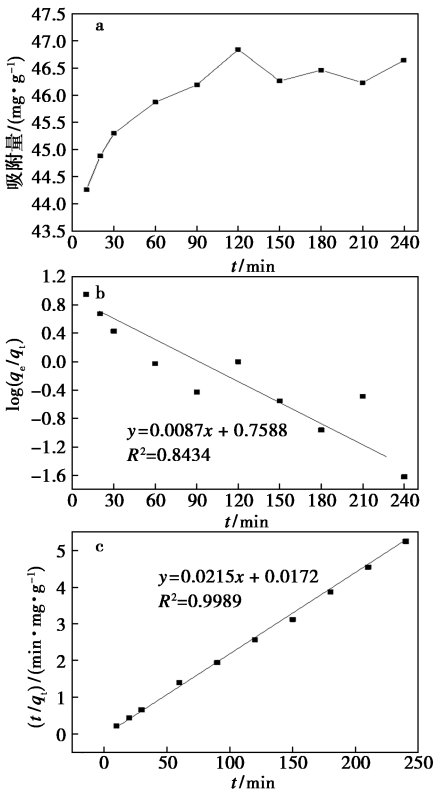
2.2.2 吸附动力学

室温下,在 100 mL 锥形瓶中,称量 0.020 g 的 PANI@H/AA,加入 20 mL(50 mg/L)的 Cr(VI) 溶液,振荡吸附不同的时间,同前测得相应的吸光度,计算吸附量,其吸附量随振荡时间变化趋势,如图 5 所示。由图 5a 可见,当吸附时间为 120 min 时,吸附量达到 46.84 mg/g,吸附率为 97.42%。实验表明,吸附时间为 120 min 时吸附效果良好。以准一级和准二级动力学模型对吸附动力学数据进行拟合^[25],拟合曲线如图 5b、5c,参数如表 3 所示。

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t \quad (5)$$

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

式中: q_e 、 q_t 分别为吸附平衡和吸附时间为 t 时的吸附量,mg/g; t 为吸附时间,min; k_1 、 k_2 分别为准一级、准二级吸附速率常数,min⁻¹、mg/(g·min)。



a. 吸附量随着时间变化曲线;b. 准一级动力学拟合曲线;
c. 准二级动力学拟合曲线

图 5 PANI@H/AA 对 Cr(VI) 的吸附动力学

Fig.5 Adsorption kinetics of Cr(VI) by PANI@H/AA

从图 5b、5c 和表 3 可知,二级动力学拟合的结果比一级更好,其拟合方程: $Y = 0.0215x - 0.0172$,相关系数较高($R^2 = 0.9989$),其理论饱和和吸附量 q_e 为 46.51 mg/g 与实测吸附量 46.84 mg/g 更接近,吸附参数 k_2 : $0 < k_2 < 1$ 为有益吸附^[26]。PANI@H/AA 对 Cr(VI) 的吸附过程更符合准二级动力学反应模型,即吸附行为主要由吸附位点呈正电性的质子化的亚氨基数量和吸附质浓度控制,化学吸附起主导作用。

表 3 吸附动力学拟合参数

Tab.3 Fitting parameters of adsorption kinetics						
$Q_m/$ (mg·g ⁻¹)	准一级动力学			准二级动力学		
	$y = -0.0087x + 0.7588$			$y = 0.0215x - 0.0172$		
	$q_e/$ (mg·g ⁻¹)	$k_1/$ min ⁻¹	R^2	$q_e/$ (mg·g ⁻¹)	$k_2/$ (mg·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	R^2
46.84	2.14	-0.0087	0.8434	46.51	0.0269	0.9989

2.2.3 pH 值对吸附行为的影响

在 100 mL 锥形瓶中,加入 20 mL (50 mg/L) 的 Cr(VI) 溶液,用硫酸或氨水调节至 pH 1.5~6.5,然后,加入 0.02 g 吸附材料 PANI@H/AA,振荡吸附 120 min,其吸附量变化如图 6 所示。

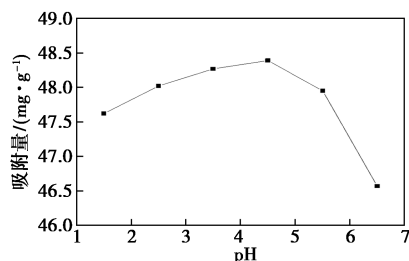


图 6 pH 对 Cr(VI) 吸附效果的影响

Fig.6 Effect of pH on adsorption of Cr(VI)

由图 6 可知,在 pH 1.5~4.5,吸附量呈上升趋势,当 pH 4.5 时,Cr(VI) 吸附量达到 48.39 mg/g,吸附率达到 99.19%,在 pH>4.5 后吸附量快速下降。pH<4.5 时,材料分子链上氨基质子化带正电荷,从 Zeta 电位变化可证实,Cr(VI) 以 HCrO_4^- 和 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 阴离子形式存在,如图 7 及 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 的电离方程所示。

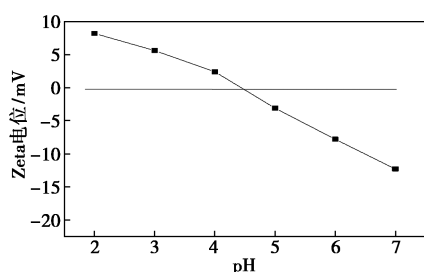
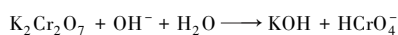
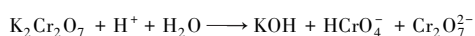


图 7 不同 pH 下 PANI@H/AA 表面 Zeta 电位变化

Fig.7 Zeta potential changes on PANI@H/AA surface at different pH values

此时,材料对 HCrO_4^- 、 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 具有强的静电吸引作用;同时,在酸性条件下,Cr(VI) 氧化电位较高,PANI@H/AA 上的亚氨基可将其还原为 Cr(III) [27],图 7 中 pH<4.5 时,Zeta 电位为正值,说明氧化电位确实较高,于 Cr(VI) 的去除有利;所以,pH 在 1.5~4.5 时吸附量逐渐增加。当 pH>4.5 后,溶液中 OH^- 增加,质子化减弱,材料表面呈现更多负电荷,与图 7 中 Zeta 电位变化一致,PANI@H/AA 与 Cr 相互排斥。Cr(VI) 主要以 CrO_4^{2-} 形式存在,其氧化电势较低 [31],吸附材料与 CrO_4^{2-} 相互排斥, OH^- 与 CrO_4^{2-} 竞争材料的吸

附位点,所以导致吸附效果明显下降。

2.2.4 AA 掺杂率对吸附的影响

固定取 4.65 g 苯胺,以 $n(\text{苯胺}):n(\text{AA})=5:0, 5:1, 5:2, 5:3, 5:4$ 合成 PANI@H/AA,各取其产品 0.02 g 对 20 mL (50 mg/L) $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 溶液进行吸附,其产量、掺杂率、吸附量、吸附率数据如表 4 所示。AA 掺杂率按下式估算计算。

$$\text{掺杂率} = \left[\frac{(\text{AA/硫酸掺杂聚苯胺} - \text{硫酸掺杂聚苯胺})}{(\text{AA/硫酸掺杂聚苯胺})} \right] \times 100\%$$

表 4 AA 用量对吸附量的影响^注

Tab.4 Effect of AA dosage on the adsorption capacity

物质的量比	产量/g	掺杂率/%	吸附量/(mg·g ⁻¹)	吸附率/%
5:0	5.85	—	18.51	37.02
5:1	6.51	10.14	39.24	78.48
5:2	7.15	18.18	49.58	99.16
5:3	8.12	27.96	44.21	88.24
5:4	8.54	31.50	40.03	80.06

注:物质的量比代表 $n(\text{苯胺}):n(\text{AA})$ 。

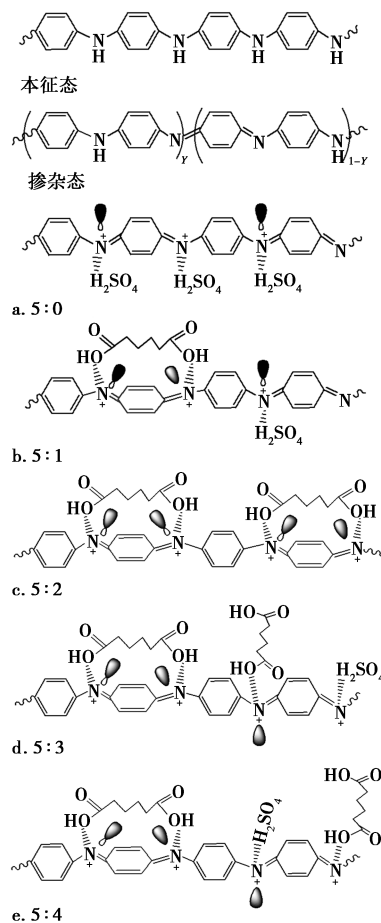


图 8 AA 掺杂聚苯胺的吸附机理

Fig.8 Adsorption mechanism by AA doped polyaniline

从表 4 可知, $n(\text{苯胺}):n(\text{AA})=5:0$ 至 $5:4$, PANI@H/AA 的产量和 AA 掺杂率均呈增加趋

势,比值从 5:0 至 5:2 增加较快,物质的量比为 5:2 后增加较慢,这是 AA 与 H_2SO_4 存在竞争掺杂位点,影响聚苯胺团聚所致。吸附量和吸附率开始快速增加,物质的量比为 5:2 时,吸附率最高达到 99.16%,之后则呈现下降趋势,这可能是 AA 掺杂聚苯胺吸附性能较掺杂硫酸强。AA 掺杂率高聚苯胺的结构随着掺杂率增加而变化,可能出现了一端羧基掺杂的枝形和双羧基同时掺杂的环形结构,如图 8 所示,可能环形结构对聚苯胺团聚改善更佳,可使其结构多样,形成多孔的微粒,吸附性能更强。因为物质的量比为 5:1 时,AA 量不足量,环形结构较少,5:2 时用量最佳,环形结构最多,吸附效果最好,物质的量比为 5:3 之后,AA 用量再增加,掺杂可能形成枝形结构较多,所以吸附性能减弱。

2.2.5 重复性

将吸附后的 PANI@H/AA 材料,用质量分数为 5% 的硫酸溶液在酸式滴定管中进行解吸,用量为 100 mL/g,流速为 2 mL/min,处理至洗脱液无 Cr(VI),60 °C 真空干燥即可实现再生。如此循环吸附试验 5 次,其吸附率分别是 99.19%、95.39%、93.03%、90.68%、88.08%,结果表明 PANI@H/AA 对 Cr(VI) 的吸附重复性能良好。这说明其在吸附过程中掺杂状态或环形结构没有改变。

3 结论

采用氧化聚合法制备了己二酸掺杂聚苯胺,FT-IR、SEM 及 EDS 等分析表明掺杂成功。 $n(\text{苯胺}):n(\text{己二酸})=5:2$ 时,吸附效果较好。其对 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 溶液中 HCrO_4^- 、 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 的吸附过程符合 Langmuir 和准二级动力学吸附模型,主要表现为单分子层化学吸附行为。常温下,在 Cr(VI) 初始浓度为 50 mg/L、pH 4.5;吸附 120 min 达到平衡,吸附率可达到 99.19%,可以实现 Cr(VI) 的有效去除,且具有较好的重复使用性。

参考文献:

- [1] 李远征,郝赫.华东地区印染企业废水中总铬和六价铬污染现状评估及原因分析[J].染料与染色,2021,58(2):59-62.
- [2] 韩明君,孙伟,岳彤,等.含铬电镀废水处理技术研究进展[J].中南大学学报(自然科学版),2022,53(8):2 819-2 832.
- [3] 姚培,李树白,张启蒙,等.PDMAAC 功能化二氧化钛复合材料对金属离子吸附研究[J].化学试剂,2022,44(12):1 804-1 809.
- [4] 刘攀,文永林,汤琪.生物吸附材料处理含六价铬废水的研究进展[J].电镀与涂饰,2016,35(4):215-221.
- [5] 谢文强.六价铬对人体急性与慢性危害探究[J].资源节约与环保,2016,7:131-135.
- [6] 刘义,张淑琴,任大军,等.不同官能团改性壳聚糖吸附重金属的研究进展[J].化学试剂,2022,44(4):495-503.
- [7] 白俊宾,江晓玲,杨红健.几种常用还原剂在铬污染土壤中的应用探讨[J].化学试剂,2021,43(2):127-135.
- [8] 杨海,黄新,林子增,等.离子交换法处理重金属废水的研究进展[J].应用化工,2019,48(7):1 675-1 680.
- [9] 曾毅夫,刘君,邱敬贤,等.电化学法处理含重金属电镀废水研究[J].再生资源与循环经济,2018,11(6):42-44.
- [10] JIN K H, SUNG J I, CHAN K J, et al. Phytic acid doped polyaniline nanofibers for enhanced aqueous copper (II) adsorption capability [J]. ACS Sustain. Chem. Eng., 2017, 5(8): 6 654-6 664.
- [11] MO X, YANG Z H, XU H Y, et al. Combination of cathodic reduction with adsorption for accelerated removal of Cr(VI) through reticulated vitreous carbon electrodes modified with sulfuric acid-glycine co-doped polyaniline [J]. J. Hazard. Mater., 2015, 286: 493-502.
- [12] KUMAR R, ANSARI M O, BARAKAT M A. DBSA doped polyaniline/multi-walled carbon nanotubes composite for high efficiency removal of Cr(VI) from aqueous solution [J]. Chem. Eng. J., 2013, 228: 748-755.
- [13] LINGESWARI U D, VIMALA T. Isotherm, kinetics and thermodynamic study of adsorption of phthalocyanine and azo dyes by CoCl_2 doped polyaniline [J]. Asian. J. Chem., 2020, 32(4): 746-752.
- [14] 徐惠,张宝骞,陈泳,等.复合酸掺杂的聚苯胺对 Cr(VI) 的吸附性能 [J]. 功能材料, 2014, 45(22): 22 046-22 050.
- [15] SHENJ J, SALMAN S, AMURA I, et al. Enhanced adsorption of cationic and anionic dyes from aqueous solutions by polyacid doped polyaniline [J]. Synthetic. Met., 2018, 245: 151-159.
- [16] ANSARI M O, KUMAR R, ANSARI S A, et al. Anion selective pTSA doped polyaniline@ graphene oxide multi-walled carbon nanotube composite for Cr(VI) and Congo red adsorption [J]. J. Colloid. Interf. Sci., 2017, 496: 407-415.
- [17] 魏民.二次掺杂聚苯胺纳米材料的制备及其性能研

- 究[D].青岛:青岛科技大学,2018.
- [18]曹慧,庞智,高肖汉,等.有机酸掺杂聚苯胺的研究进展[J].化工进展,2016,**35**(10):3 226-3 235.
- [19]高云芳,应婕,徐新,等.不同酸掺杂聚苯胺炭化产物的制备及其电化学性能[J].高校化学工程学报,2019,**33**(1):193-198.
- [20]KARIMOVA D A,UMAROVA J K,SOIBOVA F S,et al.Study of rheological properties of polyaniline compositions with polyacids[J].*Inter. Multidi. Res. J.*, 2021, **11**(11):223-226.
- [21]魏治洋,邹飞林,赖竹林,等.植酸掺杂聚苯胺对水中Cr(VI)的去除研究[J].环境科研,2021,**34**(2):337-345.
- [22]周进康,龙攀峰,雷静,等.单宁酸/硫酸掺杂聚邻甲氧基苯胺的吸附性能[J].精细化工,2018,**35**(10):1 731-1 737.
- [23]曹彤,封磊,蒋巧姣,等.硫酸掺杂聚苯胺制备及对Cu²⁺吸附性能研究[J].安徽科技学院学报,2018,**32**(1):72-77.
- [24]王莉,郜二芬,杨小刚,等.复合酸掺杂聚苯胺纳米纤维的制备及其性能研究[J].功能材料,2013,**44**(S2):307-310.
- [25]程海燕,杨鹏,韦宇颖.二苯氨基脲分光光度法测定饮水机热罐中六价铬含量[J].净水技术,2022,**41**(0):162-165.
- [26]LI R J,LIU L F,YANG F L.Removal of aqueous Hg(II) and Cr(VI) using phytic acid doped polyaniline/cellulose acetate composite membrane[J].*J.Hazard.Mater.*,2014,**280**:20-30.
- [27]TAN W S,FU R J,JI H,et al.Comparison of supercapacitive behaviors of polyaniline doped with two lowmolecular-weight organic acids: D-tartaric acid and citric acid[J].*Adv.Polym.Tech.*,2018,**37**(8):3 038-3 044.
- [28]何丽红,林婷婷,凌艺辉,等.聚苯胺-木质素纳米复合物的制备及对银离子的吸附性能[J].高分子学报,2013,**3**:320-326.
- [29]於黄中,陈明光,黄河.不同类型的酸掺杂对聚苯胺结构和电导率的影响[J].华南理工大学学报(自然科学版),2003,**31**(5):21-24.
- [30]PATRA B N,MAJHI D.Removal of anionic dyes from water by potash alum doped polyaniline:Investigation of kinetics and thermodynamic parameters of adsorption[J].*J.Phys.Chem.B*,2015,**119**(25):8 154-8 164.
- [31]WANI A A,KHAN A M,MANEA Y K,et al.Selective adsorption and ultrafast fluorescent detection of Cr(VI) in wastewater using neodymium doped polyaniline supported layered double hydroxide nanocomposite[J].*J.Hazard.Mater.*,2021,**416**:125 754-125 754.

分析与测试

碳纳米点荧光探针高效检测 α -葡萄糖苷酶

赵丹, 黄晶晶*, 王燕敏, 马逍

(洛阳理工学院 环境工程与化学学院, 河南 洛阳 471023)

摘要:基于 α -葡萄糖苷酶(α -Glu)催化底物 2-O- α -D-吡喃葡萄糖基-L-抗坏血酸(AA2G)水解和银纳米粒子(AgNPs)在碳纳米点(CNDs)表面的原位生成过程,建立了一种简单、高效的荧光分析方法用于 α -Glu 活性的检测。 α -Glu 催化 AA2G 水解产生具有强还原性的抗坏血酸(AA); Ag^+ 通过静电相互作用附着在 CNDs 表面,并被 AA 还原在 CNDs 表面原位生成 AgNPs,同时由于二者之间的荧光共振能量转移效应,CNDs 的荧光猝灭;荧光猝灭的程度与 α -Glu 的活性有关,由此可对 α -Glu 活性进行定量检测。在最优实验条件下,检测 α -Glu 的线性范围为 0.1~2 U/mL 和 2.5~6 U/mL,检出限($S/N=3$)为 0.018 U/mL。常见的蛋白和生物酶对 α -Glu 检测无明显干扰,该荧光探针的选择性良好,在复杂样品中具有一定的应用潜力,为与 α -Glu 相关疾病的诊断与治疗提供了理论基础。

关键词: α -葡萄糖苷酶;碳纳米点;荧光探针;银纳米粒子;原位生成

中图分类号:O65 **文献标识码:**A **文章编号:**0258-3283(2023)05-0155-07

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0029

Efficient Detection of α -Glucosidase Activity Based on the Carbon Nanodots Fluorescent Probes ZHAO Dan, HUANG Jing-jing*, WANG Yan-min, MA Xiao (College of Environmental Engineering and Chemistry, Luoyang Institute of Science and Technology, Luoyang 471023, China)

Abstract: By using α -Glucosidase (α -Glu)-catalyzed hydrolysis of 2-O- α -D-Glucopyranyl-L-ascorbic acid (AA2G) and in-situ growth of silver nanoparticles on the surface of carbon nanodots (CNDs), a simple yet efficient fluorescent probe has been designed for the detection of α -Glu activity. α -Glu can catalyze the hydrolysis of AA2G to produce ascorbic acid (AA) with high reducibility. Silver ions could be attached to the surface of CNDs through electrostatic interaction and could be reduced to AgNPs, which in situ grow on the surface of CNDs. Simultaneously, the fluorescence resonance energy transfer from CNDs (donor) to AgNPs (acceptor) could lead to obvious fluorescence quenching of CNDs and the quenching degree was related to α -Glu activity, and thus α -Glu activity can be quantitatively detected. Under optimized conditions, the developed method showed a good linear relationship in the activity range of 0.1~2 and 2.5~6 U/mL, and provided an inspiring detection limit as low as 0.018 U/mL. Other proteins and enzymes had no obvious interference with α -Glu detection, indicating good selectivity for α -Glu activity detection, which demonstrates great potential in complex samples. Such an approach can provide a theoretical basis for the diagnosis and treatment of α -Glu-related diseases.

Key words: α -Glucosidase; carbon nanodots; fluorescent probe; silver nanoparticles; in-situ growth

糖尿病是一种以高血糖为特征的慢性代谢性疾病,血液中过量的葡萄糖可引起心脏病、中风、慢性肾衰竭和心血管疾病等并发症,是全世界发病率最高的疾病之一^[1,2]。 α -葡萄糖苷酶(α -Glu)是一种小肠上皮细胞的膜结合酶,在人体碳水化合物消化过程中起着非常重要的作用,可作为药物作用靶点来治疗糖尿病,为抗糖尿病药物的研发提供新途径^[3]。此外, α -葡萄糖苷酶抑制剂可以抑制肠粘膜上的 α -Glu 的活性,减少和延缓肠道对葡萄糖的吸收,显著降低人体血糖值,减少并发症的发生^[4]。因此,发展实时、简便、高选择性和高灵敏度的分析技术用于 α -Glu 活性的

测定,对于糖尿病的精确诊断、临床研究和药物研发都具有十分重要的理论和现实意义。

研究人员已经开发了多种检测 α -Glu 活性的

收稿日期:2023-01-17;网络首发日期:2023-02-21

基金项目:国家自然科学基金资助项目(22104046);河南省科技攻关计划项目(212102210122);河南省教育厅重点项目(23A150056)。

作者简介:赵丹(1988-),女,河南新乡人,博士,讲师,主要研究方向为纳米材料的合成及传感应用。

通讯作者:黄晶晶, E-mail:huangjingjingvip@163.com。

引用本文:赵丹,黄晶晶,王燕敏,等.碳纳米点荧光探针高效检测 α -葡萄糖苷酶[J].化学试剂,2023,45(5):155-161。

方法,如电化学方法^[5]、比色法^[6,7]、表面等离子体共振法^[8]和荧光法^[9-11]等。然而,电化学法和表面等离子体共振法繁琐耗时、操作复杂且需要昂贵的仪器;比色法是测定 α -Glu 活性的一种较传统的方法,但是具有灵敏度低、选择性差等缺点。近年来,荧光分析方法因其独特的优势如灵敏度高、信号稳定、成本低、简单以及响应速度快等,被广泛用于 α -Glu 活性的分析检测。以半导体量子点^[12]、碳量子点^[13,14]、含硅纳米粒子^[15,16]、金属纳米簇^[17,18]等作为荧光探针,已经发展了一些检测 α -Glu 活性的分析方法。但是,半导体量子点的制备较为繁琐,且引入了毒性较高的成分,而其他荧光纳米材料制备的时间较长、量子产率较低,限制了其在实际检测中的进一步应用。因此,设计简单、灵敏的荧光探针有效检测 α -Glu 活性势在必行。

作为一种新型荧光碳材料,碳纳米点(CNDs)具有毒性低、稳定性高、荧光量子产率高且生物相容性好的优势,在化学和生物传感中有广泛的应用前景^[19,20]。利用其优异的荧光性能,开发了多种荧光方法用于蛋白酶的检测,如酪氨酸酶^[21]、碱性磷酸酶(ALP)^[22]、胰蛋白酶(Try)^[23]和乙酰胆碱酯酶(AChE)^[24]等。然而,基于CNDs检测 α -Glu 活性的方法鲜有报道。此外,利用银纳米粒子(AgNPs)独特的光学性质以及较高的吸光系数,可以作为CNDs的荧光猝灭剂用于许多离子、生物小分子、蛋白质和DNA等重要目标物的检测^[25-27]。但是,由于AgNPs的稳定性较差,容易发生团聚,限制了其进一步应用。而CNDs不仅具有优异的荧光性能,还可以作为金属纳米粒子生长的稳定剂^[28]。因此,在CNDs表面原位生长AgNPs的原位生成检测 α -Glu 活性仍具有一定挑战。

本文以柠檬酸(CA)和半胱氨酸(Cys)作为碳源和掺杂剂,利用一步热解法制备了具有蓝色荧光的CNDs,并对其光学性质进行了研究。基于抗坏血酸(AA)还原 Ag^+ 在CNDs表面原位生成AgNPs的过程,以2-O- α -D-吡喃葡萄糖基-L-抗坏血酸(AA2G)为底物,实现了对 α -Glu 活性的荧光检测,方法的灵敏度较高,选择性较好。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

UV-1000 型紫外-可见分光光度计(上海龙尼

柯仪器有限公司);FS-5 型荧光分光光度计(英国爱丁堡仪器公司)。

α -Glu、AA2G(上海源叶生物科技有限公司);Cys、AA、硝酸银、CA、ALP、酸性磷酸酶(ACP)、Try、葡萄糖氧化酶(GOx)、胃蛋白酶(Pep)、乙酰胆碱酯酶(AChE)和牛血清白蛋白(BSA)(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);所用试剂均为分析纯。实验用水为超纯水(电阻率为 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$)。

1.2 实验方法

1.2.1 CNDs 的制备

CNDs 通过一步热解 CA 和 Cys 进行制备^[25]。称取 1.00 g CA 和 0.30 g Cys 置于 50 mL 烧杯中混合均匀后,用磁力加热搅拌器加热至 240°C ,该固体混合物能够在 2 min 内溶解为无色液体,并于 10 min 内逐渐由无色经浅黄色变为棕色,形成CNDs。制备的CNDs用15 mL超纯水溶解,室温下继续搅拌 10 min,并用截留分子量为 500 的透析袋透析 24 h,得到的CNDs溶液在 4°C 冰箱保存。

1.2.2 AA 的定量分析

在一系列离心管中加入 110 μL (20 mmol/L) Ag^+ 、100 μL 不同浓度的 AA 溶液以及 740 μL (20 mmol/L, pH 7.4) 的 PBS 缓冲溶液,最后加入 50 μL (1/2000) CNDs 溶液,室温下孵育 5 min 后进行荧光测试。激发波长 $\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$,出射和入射狭缝宽度均为 2.5 nm。

1.2.3 α -Glu 活性的测定

向一系列 1.5 mL 离心管中加入 640 μL (20 mmol/L, pH 7.4) PBS 缓冲溶液和 100 μL (10 mmol/L) AA2G 溶液,之后加入 100 μL 不同浓度的 α -Glu 溶液,混合均匀后于 37°C 水浴锅内孵育 30 min。随后,向离心管中加入 110 μL 的 (20 mmol/L) Ag^+ 和 50 μL (1/2000) CNDs 溶液,室温下反应 5 min 后测定在 340 nm 波长激发下的荧光发射光谱。

2 结果与讨论

2.1 CNDs 的光学性能

通过紫外-可见吸收光谱和荧光光谱对CNDs的光学性质进行表征。如图1a所示,CNDs在350 nm处有较强的紫外特征吸收峰,并于240 nm处有一个小的伴随吸收峰。240 nm处的峰对应于 $\text{C}=\text{C}$ 的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁,它并不能导致材料产生荧光发射。而表面态俘获激发能产生的带隙跃迁

在 350 nm 处有对应的特征峰,能够产生强烈的荧光^[29]。纯化后的 CNDs 水溶液在自然光下为无色透明的液体,在 365 nm 紫外灯照射下发射出强烈的蓝色荧光(如图 1a 所示)。而荧光光谱实验显示,CNDs 的最大激发波长和最大发射波长分别为 340、420 nm(曲线 2、3)。如图 1b 所示,随着激发波长的改变,CNDs 发射峰的位置未发生明显变化,说明 CNDs 的发射行为具有激发波长不依赖性。

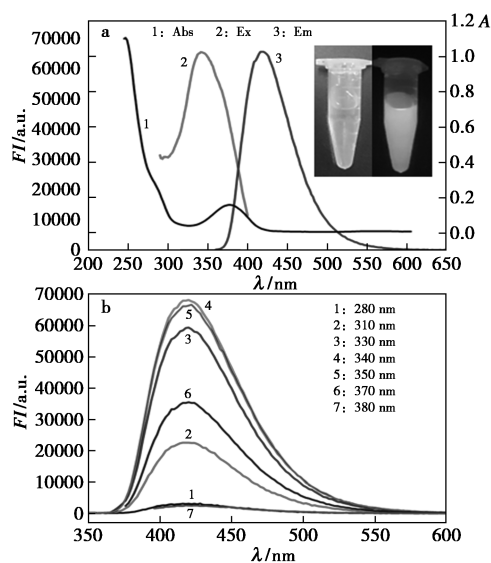


图 1 a.CNDs 的紫外-可见吸收光谱、激发和发射光谱(插图显示了 CNDs 在自然光下(左)和 365 nm 紫外灯下(右)的图);b.CNDs 在不同激发波长下荧光发射光谱

Fig.1 a.UV-Vis absorption spectrum, fluorescence excitation and emission spectra of CNDs(The inset shows the photograph of the CNDs under visible light (left) and 365 nm UV light (right)); b.Fluorescence emission spectra of CNDs under different excitation wavelengths

为了验证 CNDs 的稳定性,测定了 pH、NaCl 以及放置时间对 CNDs 荧光稳定性的影响。CNDs 表面含有羧基、羟基和氨基等官能团,pH 值会影响其表面官能团的存在状态,进而影响其荧光发射强度。实验考查了 pH 3~12 的范围内 CNDs 在 340 nm 激发下的荧光强度,实验结果如图 2 所示。如图 2a 所示,在酸性条件下(pH 3~5),CNDs 的荧光强度比较弱,pH 值为 6~12 的范围内,荧光强度较强,且不发生明显的变化。说明 CNDs 在中性和碱性条件下具有较好的荧光稳定性。酸性条件下,CNDs 表面的官能团之间的氢键作用会导致其发生团聚,荧光猝灭;而碱性条件下,官能团因去质子化过程会使其表面带负电荷

CNDs 呈现分散状态,故而荧光强度较高。如图 2b 所示,在不同浓度 NaCl 存在的条件下,CNDs 的荧光强度几乎未发生变化,表明 CNDs 在不同浓度的 NaCl 溶液中具有较高的稳定性,具有在复杂体系中应用的潜力。此外,CNDs 在室温空气条件下保存 3 个月,其外观依然清澈透明,无明显沉淀,且荧光强度无明显变化(图 2c)。这为 CNDs 进一步应用于 α -Glu 活性的检测奠定了良好的基础。

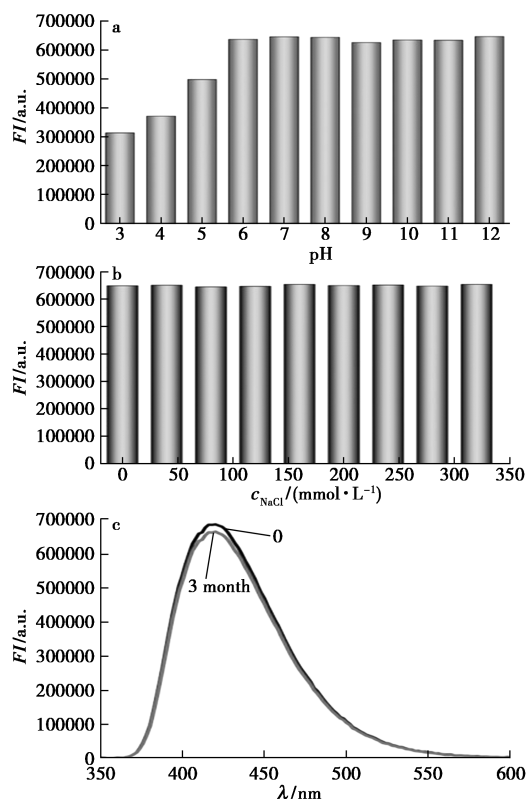


图 2 CNDs 在不同 pH(a)、不同浓度的 NaCl 溶液中(b)以及放置 3 个月的荧光稳定性(c)

Fig.2 Fluorescence stability of the CNDs solution under different pH values (a), various concentrations of NaCl aqueous solution (b) and at ambient conditions for 3 months (c)

2.2 α -Glu 的检测机理

图 3a 显示了基于 CNDs 表面原位生成 AgNPs 检测 α -Glu 的原理示意图。AgNPs 消光系数极高,且在可见光谱区有较宽的能量吸收带宽,能作为许多荧光团的理想淬灭剂。据文献[30]报道,以 AA 作为还原剂可以生成 AgNPs。 α -Glu 存在时,催化 AA2G 水解产生 AA。体系中加入 Ag^+ 和 CNDs 后,AA 还原 Ag^+ 在 CNDs 表面原位生成 AgNPs,同时猝灭 CNDs 的荧光,AA 的浓度越大,CNDs 的荧光猝灭程度越强。固定底物 AA2G

的含量时,AA 的产生量取决于 α -Glu 的量,CNDs 的荧光猝灭程度与 α -Glu 的浓度密切相关,从而实现了 α -Glu 的定量检测。

为了确认方法的可行性,实验考察了不同体系的荧光响应情况,结果如图 3b 所示。340 nm 波长激发下,CNDs 在 420 nm 处具有很强的荧光(曲线 1)。CNDs 的荧光光谱在加入 Ag^+ 前(曲线 1)后(曲线 2)基本一致,说明单独的 Ag^+ 与 CNDs 没有直接的相互作用。向 CNDs- Ag^+ 体系中单独加入 AA2G 或 α -Glu 时,体系的荧光几乎没有改变(曲线 3 和 4)。只有向 CNDs- Ag^+ 体系中同时加入 AA2G 和 α -Glu,体系的荧光强度才会发生显著的降低(曲线 5),这是由于 α -Glu 催化底物 AA2G 水解产生的 AA 能够还原 Ag^+ 生成 AgNPs,从而猝灭 CNDs 的荧光。此外,体系中没有 Ag^+ 存在时,向单独的 CNDs 溶液中加入 AA2G、 α -Glu 或 AA2G 与 α -Glu 的混合溶液(曲线 6、7 和 8),体系的荧光强度和单独的 CNDs 的荧光强度几乎没有区别,说明这些物质和 CNDs 之间没有直接

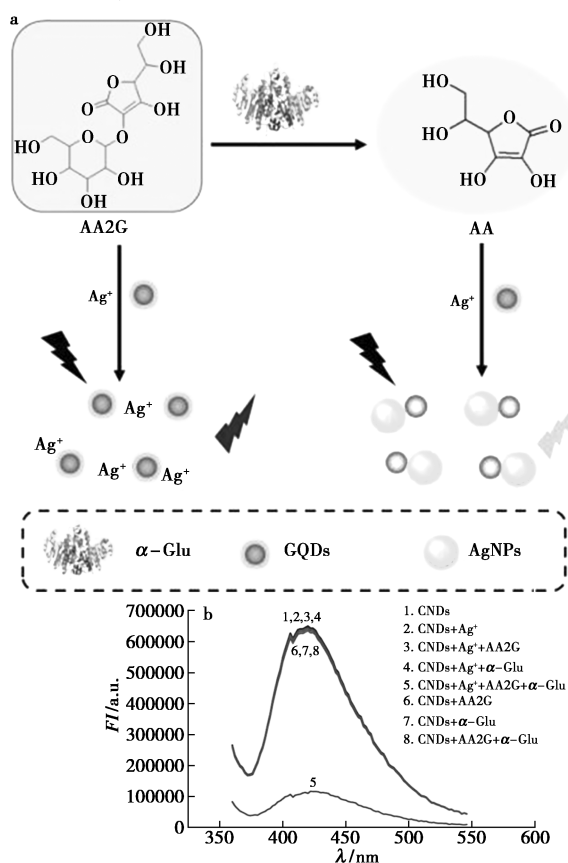


图 3 a. 荧光检测 α -Glu 活性的原理示意图;
b. 不同反应溶液的荧光发射光谱图

Fig.3 a. Schematic illustration of fluorescent detection of α -Glu activity; b. Fluorescence emission spectra of different solutions

的相互作用。结果说明,酶解产物 AA 引起的 AgNPs 的原位生成是猝灭 CNDs 荧光的主要原因。

为了进一步确定荧光猝灭机理,进行了 Zeta 电位和荧光光谱的表征。分散在缓冲溶液中的 CNDs 的 Zeta 电位为 -16.0 mV(图 4a),而 Ag^+ 可以通过静电相互作用附着在 CNDs 表面,并被 AA 还原在 CNDs 表面原位生成 AgNPs。此外,AgNPs 的吸收光谱与 CNDs 的激发和发射光谱都具有较大程度的重叠(图 4b),因而 AgNPs 可以作为荧光猝灭剂,通过从 CNDs(供体)到 AgNPs(受体)的荧光共振能量转移过程(FRET)来猝灭 CNDs 的荧光。综上所述,CNDs 荧光强度的减弱主要是由于原位生成的 AgNPs 和 CNDs 之间的 FRET 产生的。

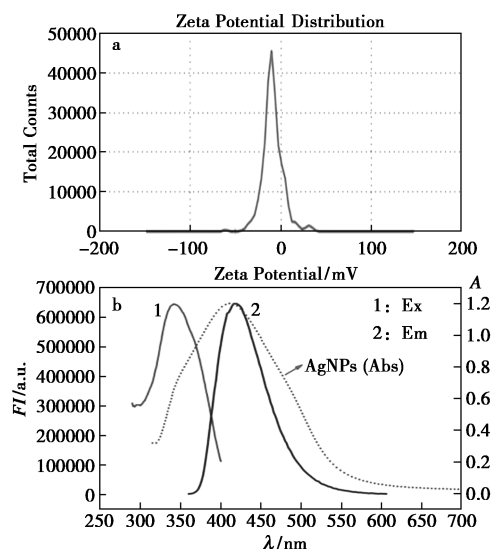


图 4 a. CNDs 在 pH 7.4 的缓冲溶液中的 Zeta 电位图; b. CNDs 的荧光光谱图以及 AgNPs 的紫外-可见吸收光谱

Fig.4 a. Zeta potential of CNDs dispersed in buffer solution (pH 7.4); b. Fluorescence spectra of the prepared CNDs and UV-Vis absorption spectrum of AgNPs

2.3 AA 的定量分析

AA 能够还原 Ag^+ 原位生成 AgNPs,在 CNDs 中加入 Ag^+ 和 AA 后,随着 AA 浓度的增加,原位生成的 AgNPs 的浓度增强,CNDs 和 AgNPs 之间的 FRET 效应增强,CNDs 的荧光强度逐渐降低。以荧光猝灭因子 $(F_0 - F)/F_0$ 表示荧光猝灭程度,其中 F_0 和 F 分别表示体系在不加入 AA 和加入 AA 后的荧光强度。如图 5 所示,当 AA 浓度在 $0 \sim 100$ $\mu\text{mol/L}$ 时,荧光猝灭因子 $(F_0 - F)/F_0$ 逐

渐增加。在 AA 浓度为 4~40 $\mu\text{mol/L}$ 范围内, $(F_0-F)/F_0$ 值与 AA 浓度之间呈良好的线性关系。CNDs 所具有的依赖于 AA 浓度的光学性能为后续 α -Glu 活力测定奠定了良好的基础。

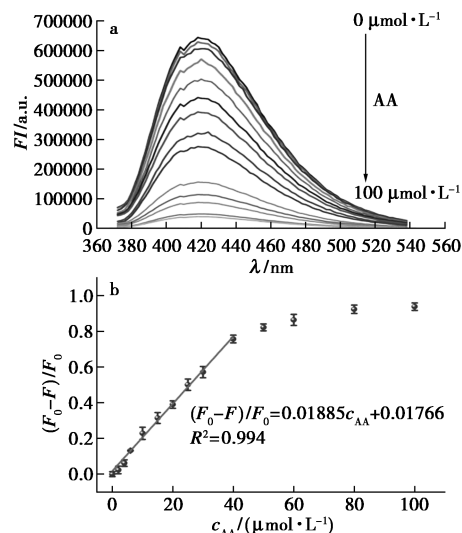


图 5 a.不同浓度的 AA 存在时传感体系的荧光发射光谱;b.荧光猝灭因子 $(F_0-F)/F_0$ 与 AA 浓度之间的关系示意图

Fig.5 a.Fluorescence emission spectra of the proposed sensing system toward different concentrations of AA; b.Plots of $(F_0-F)/F_0$ as a function of the concentrations of AA

2.4 α -Glu 的检测条件优化

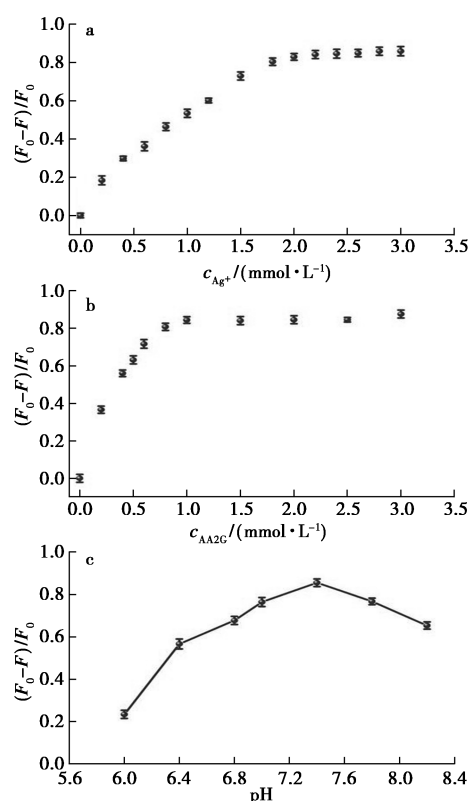
α -Glu 可催化 AA2G 水解,脱掉葡萄糖释放出 AA,还原 Ag^+ 在 CNDs 表面原位生成 AgNPs,进而猝灭 CNDs 的荧光。为了获得最优的 α -Glu 检测性能,对 Ag^+ 和 AA2G 的浓度以及 pH 值进行了优化,以荧光猝灭因子 $(F_0-F)/F_0$ 作为衡量荧光传感性能的标准。

Ag^+ 的浓度决定了生成的 AgNPs 的量从而极大地影响了 α -Glu 的响应情况,直接影响检测的灵敏度和线性范围。如图 6a 所示,随着 Ag^+ 浓度的增加,荧光猝灭因子逐渐增加, Ag^+ 浓度为 2.2 mmol/L 时,体系达到平稳状态,继续增加 Ag^+ 的浓度,荧光猝灭因子 $(F_0-F)/F_0$ 未发生明显改变。因此,实验选取 2.2 mmol/L 的 Ag^+ 浓度用于后续 α -Glu 的测定。

酶底物 AA2G 的浓度在检测中具有重要的作用,增加 AA2G 的浓度可以产生更多 AA 与 Ag^+ 发生反应,从而引起体系荧光的猝灭。但是底物浓度太大时,会引起空白信号的增加,降低灵敏度。因此,实验考查了 AA2G 浓度为 0~3 mmol/L 对

体系的影响。如图 6b 所示,随着 AA2G 浓度从 0.2 mmol/L 增加到 1 mmol/L, CNDs 荧光猝灭程度具有较明显的增强,继续增加 AA2G 的用量,荧光猝灭未发生明显的变化,所以选取底物 AA2G 浓度为 1 mmol/L。

pH 不仅会影响 CNDs 的荧光强度以及其与 AgNPs 之间的相互作用,而且会影响 α -Glu 的催化反应,因此有必要对 α -Glu 检测的 pH 进行探究。如图 6c 所示, $(F_0-F)/F_0$ 先增强后降低,在 pH 为 7.4 具有最大值,检测 α -Glu 的灵敏度最高。因此,实验选择 pH 7.4 作为最佳 pH 值。



a. Ag^+ 的浓度; b. AA2G 的浓度; c. 反应 pH

图 6 不同因素对体系检测 α -Glu 的影响

Fig.6 Effects of different factors on the α -Glu detection of the proposed system

2.5 方法的分析性能

在最佳实验条件下,考察 CNDs- Ag^+ 传感体系的线性范围和灵敏度,结果如图 7 所示。随着 α -Glu 活性从 0 U/mL 增加到 15 U/mL,检测体系在 420 nm 处的荧光强度逐渐降低(图 7a),荧光猝灭因子 $(F_0-F)/F_0$ 逐渐增加,在 α -Glu 活性为 8 U/mL 时趋于平稳(图 7b)。这是由于随着 α -Glu 活性的增大,AA2G 水解产生的 AA 逐渐增加,生成的 AgNPs 的量逐渐增加,与 CNDs 之间的

FRET 效应逐渐增强。此外,在 $0.1 \sim 2$ 、 $2.5 \sim 6$ U/mL 的范围内, $(F_0 - F)/F_0$ 与 $\alpha\text{-Glu}$ 活性之间呈现良好的线性关系,线性方程分别为 $(F_0 - F)/F_0 = 0.018\ 05 + 0.0.255\ 9c_{\alpha\text{-Glu}}$ 和 $(F_0 - F)/F_0 = 0.358\ 5 + 0.081\ 96\ c_{\alpha\text{-Glu}}$,检出限为 $0.018\ \text{U/mL}$ 。与文献报道的 $\alpha\text{-Glu}$ 活性检测方法相比,本方法具有相当或者更低的检出限(表 1)。

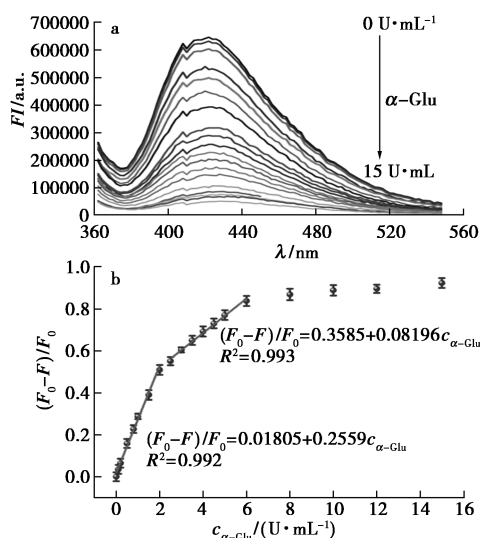


图 7 a.不同浓度的 $\alpha\text{-Glu}$ 存在时传感体系的荧光发射光谱;b.荧光猝灭因子 $(F_0 - F)/F_0$ 与 $\alpha\text{-Glu}$ 浓度之间的关系示意图

Fig.7 a.Fluorescence emission spectra of the proposed sensing system toward different concentrations of $\alpha\text{-Glu}$;b.Plots of $(F_0 - F)/F_0$ as a function of the concentrations of $\alpha\text{-Glu}$

表 1 荧光法检测 $\alpha\text{-Glu}$ 活性的性能比较

Tab.1 Comparison of fluorescent methods for detection of $\alpha\text{-Glu}$ activity

Probes	Detection range/ ($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)	LOD/ ($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Ref.
Magnetic nanospheres	0.4~1.7	0.023	[9]
SiQDs-MnO ₂	0.02~2.5	0.007	[10]
CDs-TMB	0~5.5	0.02	[11]
AgInZnS QDs	0.01~0.16	0.007 3	[12]
Fe ³⁺ /bCDs/yCDs	0.13~6.7	0.036	[13]
CDs/NGP	0.2~20	0.01	[14]
Si CNPs	0.01~0.14	0.000 42	[15]
MnO ₂ /OPD/AgNCs	0.2~8	0.030	[17]
CNDs-Ag ⁺	0.1~2, 2.5~6	0.018	This work

为了评估实验的专一识别性能,选择常见的酶包括 ALP、ACP、Try、GOx、Pep、AChE 和 BSA 等对 $\alpha\text{-Glu}$ 检测的选择性进行考察,结果如图 8 所示。这些干扰物质均不能使 CNDs 的荧光强度发生明显变化,表明该体系对 $\alpha\text{-Glu}$ 活性检测具有

较好的选择性。此外,当这些干扰物质与 $\alpha\text{-Glu}$ 共存时,体系的荧光强度与 $\alpha\text{-Glu}$ 单独存在时相当。传感体系较好的选择性源于只有 $\alpha\text{-Glu}$ 可以催化 AA2G 的过程,而其他蛋白或酶既不能水解 AA2G 产生 AA,也不能直接还原 Ag⁺ 原位产生 AgNPs。

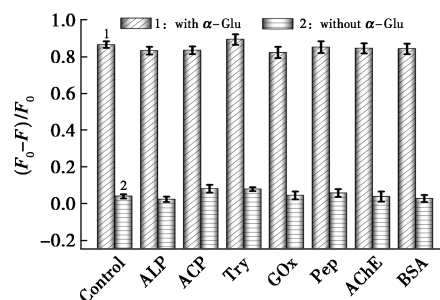


图 8 干扰物质 ($20\ \mu\text{g/mL}$) 对 $\alpha\text{-Glu}$ ($6\ \text{U/mL}$) 活性检测的影响

Fig.8 Effects of interfering substances ($20\ \mu\text{g/mL}$) on detection of $\alpha\text{-Glu}$ ($6\ \text{U/mL}$)

3 结论

基于 $\alpha\text{-Glu}$ 水解 AA2G 生成 AA、AA 还原 Ag⁺ 在 CNDs 原位生成 AgNPs 以及 AgNPs 对 CNDs 的 FRET 效应构建了一种简单、灵敏的荧光探针用于 $\alpha\text{-Glu}$ 活性的检测。该方法有效避免了 AgNPs 在实际检测中不稳定且容易发生团聚的问题,对 $\alpha\text{-Glu}$ 活性的检测限为 $0.018\ \text{U/mL}$,选择性好、抗干扰能力强,具有在复杂体系中应用的潜力。此方法在与 $\alpha\text{-Glu}$ 相关的疾病诊断与治疗方面具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] PARK S, HAN E J, OH I. Cardiovascular safety of evogliptin in patients with type 2 diabetes: A nationwide cohort study[J]. *Diabetes Obes. Metab.*, 2021, **23**(2): 1 232-1 241.
- [2] 孙家莉, 褚婕, 丁晓琴. 酶底物对硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷的合成[J]. *化学试剂*, 2005, **27**(2): 97-98.
- [3] PAPOUTSIS K, ZHANG J, BOWYER M C. Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with α -amylase and α -Glucosidase inhibition properties: A review[J]. *Food Chem.*, 2021, **338**(11): 128 119.
- [4] KANG G, LIU W D, LIU F N, et al. Single-atom Pt catalysts as oxidase mimic for *p*-benzoquinone and α -Glucosidase activity detection[J]. *Chem. Eng. J.*, 2022, **449**: 137 855.
- [5] LI J, HE G, WANG B, et al. Fabrication of reusable electrochemical biosensor and its application for the assay of

- α -Glucosidase activity [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2018, **1** 026: 140-146.
- [6] LIU D, DONG C, MA R. A colorimetric method for screening α -Glucosidase inhibitors from flavonoids using 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine as a chromogenic probe [J]. *Colloids Surf. B Biointerf.*, 2021, **197**: 111 400.
- [7] ZHANG C H, CHEN C X, ZHAO D, et al. Multienzyme cascades based on highly efficient metal-nitrogen-carbon nanozymes for construction of versatile bioassays [J]. *Anal. Chem.*, 2022, **94**(8): 3 485-3 493.
- [8] KONG W, WU D, HU N, et al. Robust hybrid enzyme nanoreactor mediated plasmonic sensing strategy for ultra-sensitive screening of anti-diabetic drug [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2018, **99**: 653-659.
- [9] YUE X Q, SU L H, CHEN X, et al. A new method for the in situ assay of α -Glucosidase activity and inhibitor screening through an enzyme substrate-mediated DNA hybridization chain reaction [J]. *New J. Chem.*, 2019, **43**(24): 9 458-9 465.
- [10] LIU J, DUAN X, WANG M, et al. A label-free fluorescent sensor based on silicon quantum dots-MnO₂ nanosheets for the detection of α -Glucosidase and its inhibitor [J]. *Analyst*, 2019, **144**(24): 7 398-7 405.
- [11] LIU J, WU F, LIU C, et al. Turn-on fluorometric probe for α -glucosidase activity using red fluorescent carbon dots and 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine [J]. *Microchim. Acta*, 2020, **187**(9): 498.
- [12] ZHANG J B, LIU J Y, WANG M K, et al. A fluorometric assay for α -Glucosidase activity based on quaternary Ag-InZnS QDs [J]. *Microchim. Acta*, 2021, **227**: 188.
- [13] CHENG X, XU J, WANG L, et al. A redox modulated ratiometric fluorometric method based on the use of dual-color carbon dots for determination of the activity of enzymes participating in ascorbic acid-related reactions [J]. *Microchim. Acta*, 2018, **186**: 818.
- [14] KONG W, WU D, XIA L, et al. Carbon dots for fluorescent detection of α -Glucosidase activity using enzyme activated inner filter effect and its application to anti-diabetic drug discovery [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2017, **973**: 91-99.
- [15] ZHAO Q L, WANG Y, ZHANG M Q, et al. A fluorescence turn-on biosensor utilizing silicon-containing nanoparticles: Ultra-sensitive sensing for α -Glucosidase activity and screening for its potential inhibitors [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2022, **214**: 114 504.
- [16] NSANZAMAHORO S, WANG W F, ZHANG Y, et al. α -Glucosidase-triggered reaction for fluorometric and colorimetric assays based on the formation of silicon-containing nanoparticles [J]. *Anal. Chem.*, 2021, **93**(46): 15 412-15 419.
- [17] SHI M L, CEN Y, XU G H, et al. Ratiometric fluorescence monitoring of α -Glucosidase activity based on oxidase-like property of MnO₂ nanosheet and its application for inhibitor screening [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2019, **1** 077: 225-231.
- [18] LI C, ZI Y Q, XU D W, et al. A fluorescence strategy for monitoring α -Glucosidase activity and screening its inhibitors from Chinese herbal medicines based on Cu nanoclusters with aggregation-induced emission [J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2021, **413**: 2 553-2 563.
- [19] 黄湘, 周莉佳, 粟小燕, 等. 基于甘草酸的荧光纳米碳点的合成及性能研究 [J]. *化学试剂*, 2022, **44**(8): 1 142-1 147.
- [20] 黄诚, 张帅帅, 权一鸣, 等. 基于碳纳米点荧光试纸可视化探针的构建及应用 [J]. *化学试剂*, 2022, **44**(2): 212-218.
- [21] ZHAO X E, LEI C H, WANG Y H, et al. A fluorometric assay for tyrosinase activity and its inhibitor screening based on graphene quantum dots [J]. *RSC Adv.*, 2016, **6**(76): 72 670-72 675.
- [22] 黄珊, 姚建东, 宁淦, 等. 石墨烯量子点荧光探针针对碱性磷酸酶活性的高效检测 [J]. *高等学校化学学报*, 2021, **42**(8): 2 412-2 421.
- [23] XU S M, ZHANG F M, XU L B, et al. A fluorescence resonance energy transfer biosensor based on carbon dots and gold nanoparticles for the detection of trypsin [J]. *Sens. Actuators B*, 2018, **273**: 1 015-1 021.
- [24] HE T, QI L, ZHANG J, et al. Enhanced graphene quantum dot fluorescence nanosensor for highly sensitive acetylcholinesterase assay and inhibitor screening [J]. *Sens. Actuators B*, 2015, **215**: 24-29.
- [25] CHEN C X, ZHAO D, SUN J, et al. Highly fluorescent nitrogen and sulfur co-doped graphene quantum dots for an inner filter effect-based cyanide sensor [J]. *Sens. Actuators B*, 2017, **241**: 779-788.
- [26] LU H F, ZHANG M M, WU D, et al. Colorimetric and fluorescent dual-mode sensing of alkaline phosphatase activity in L-02 cells and its application in living cell imaging based on in-situ growth of silver nanoparticles on graphene quantum dots [J]. *Sens. Actuators B*, 2018, **258**: 461-469.
- [27] HAI X, LI Y W, YU K X, et al. Synergistic in-situ growth of silver nanoparticles with nanozyme activity for dual-mode biosensing and cancer theranostics [J]. *Chin. Chem. Lett.*, 2021, **32**(3): 1 215-1 219.
- [28] CHEN S, HAI X, CHEN X W, et al. In situ growth of silver nanoparticles on graphene quantum dots for ultrasensitive colorimetric detection of H₂O₂ and glucose [J]. *Anal. Chem.*, 2014, **86**(13): 6 689-6 694.
- [29] WANG X, CAO L, YANG S T, et al. Bandgap-like strong fluorescence in functionalized carbon nanoparticles [J]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2010, **49**(31): 5 310-5 314.
- [30] QIN Y Q, JI X H, JING J, et al. Size control over spherical silver nanoparticles by ascorbic acid reduction [J]. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.*, 2010, **372**(1/3): 172-176.

正丁醇-盐酸法测定花生红衣中原花青素的方法优化

何晓勇^{*a,b}, 王璇^{a,b}, 郭楠楠^{a,b}, 尚雪可^a

(郑州科技学院 a.食品科学与工程学院, b.郑州市食品安全快速检测重点实验室, 河南 郑州 450064)

摘要:以花生红衣为原料,以原花青素含量为指标,采用优化后的正丁醇-盐酸法测定花生红衣提取物中原花青素的含量。通过单因素试验确定液料比、烘箱温度、保温时间对原花青素含量的影响。采用响应面软件,以单因素试验为基础,设计三因素三水平的响应面实验,并对试验结果进行分析。结果表明,影响花生红衣中原花青素含量的因素顺序为液料比>烘箱温度>保温时间,根据实际试验可行性,优化后的正丁醇-盐酸法的最佳条件分别为液料比 65:1 (mL/g)、烘箱温度 90 ℃、保温时间 60 min,在此条件下原花青素的含量达到最高为 135.003 mg/g。该方法的加标回收率为 97.48%~98.78%,相对标准偏差为 0.4%~1.1%。优化后的正丁醇-盐酸法具有较高的准确度和精密度,可为原花青素含量的测定方法优化提供参考。

关键词:花生红衣;原花青素;正丁醇-盐酸法;方法优化

中图分类号:O657.32 文献标识码:A 文章编号:0258-3283(2023)05-0162-06

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2022.0869

Optimization of n-Butyl Alcohol-Hydrochloric Acid Method for Determination of Proanthocyanidins in Peanut Testa

HE Xiao-yong^{*a,b}, WANG Xuan^{a,b}, GUO Nan-nan^{a,b}, SHANG Xue-ke^a (a.College of Food Science and Engineering, b.Zhengzhou City Food Safety Rapid Test Key Laboratory, Zhengzhou University of Science and Technology, Zhengzhou 450064, China)

Abstract: Using peanut red coat as raw material and proanthocyanidin content as index, the content of proanthocyanidins in peanut testa was determined by optimized n-butyl alcohol-hydrochloric acid method. The effects of liquid feed ratio, oven temperature and oven time on the content of procyanidins were determined by a single factor test. Using response surface software, based on single factor, three factor and three level response surface tests were designed, and the test results were analyzed. The results showed that the factors affecting the proanthocyanidins content in peanut testa were liquid-material ratio>oven temperature>holding time. According to the actual test situation, the optimum conditions of the optimized n-butyl alcohol-hydrochloric acid method were material ratio liquid 65:1 (mL/g), oven temperature 90 ℃ and oven time 60 min. Under these conditions, proanthocyanidins reached a maximum content of 135.003 mg/g. The standard addition recovery of this method was 97.48% to 98.78%, and the relative standard deviation was 0.4%~1.1%. The optimized n-butanol-hydrochloric acid method has high accuracy and precision, which can provide reference for the optimization of method of determination procyanidins content.

Key words: peanut testa; procyanidins; n-butyl alcohol-hydrochloric acid method; method optimization

在世界范围内,花生是获取油脂以及蛋白质的主要来源。花生皮作为花生工业的副产品,每年生产数十万吨,其功效常常被忽略^[1]。花生红衣即花生种皮,因为绝大多数的花生品种的种皮为红色而得名。花生红衣中含有的黄烷醇及花色素苷等黄酮类物质被称为“第七大营养素”^[2],具有保护和强化心血管的作用^[3]。

1947年, Masquiere 在花生红衣中首次发现并提取了低聚原花青素^[4]。从结构上来看,原花青素是由不同数量的儿茶素或者表儿茶素组成的,原花青素可以在水中和大部分的有机溶剂中溶解,它是一种具有强大体内活性的新型高效抗氧化剂。

目前原花青素含量的主要测定方法有:香草

醛-盐酸法^[5,6]、高效液相色谱法^[7-9]、pH 示差法^[10-12]、正丁醇-盐酸法^[13,14]等。杨磊等^[15]采用香草醛盐酸法和正丁醇-盐酸法,分别测定了落叶松树皮中低聚原花青素的含量,并比较分析了这两种测定方法的不同反应原理,研究显示,正丁醇-盐酸法更有助于产品质量控制。董鹏等^[16]探

收稿日期:2022-11-30;网络首发日期:2023-02-20

基金项目:河南省高等学校重点科研项目(21B550008)。

作者简介:何晓勇(1990-),男,河南漯河人,硕士,助教,主要研究方向为食品分析与检测, E-mail: hexy1990@126.com。

引用本文:何晓勇,王璇,郭楠楠,等.正丁醇-盐酸法测定花生红衣中原花青素的方法优化[J].化学试剂,2023,45(5):162-167。

讨论了葡萄籽中原花青素的测定方法,探讨结果表明,采用盐酸-正丁醇法测定葡萄籽中原花青素的含量,具有较高的准确度和精密度。但正丁醇-盐酸法在实际操作中水浴冷凝回流步骤比较复杂^[17],因此,本课题采用响应面法优化花生红中原花青素的提取及检测条件,为花生红中原花青素含量的测定提供便捷有效的测定方法^[18]。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

KQ5200DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);DZKW-S-4 型电热恒温水浴锅(北京市永光明医疗仪器有限公司);TDL-50B 型低速离心机(上海安亭科学仪器厂);JA2003A 型分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司);UV-2800H 型紫外-可见分光光度计(尤尼柯(上海)仪器有限公司);DZF 型真空干燥箱(北京中兴伟业仪器有限公司)。

花生红衣(网购,产地为安徽省,色泽自然鲜红,无虫蛀或发霉);原花青素标准品(色谱纯,润友化学有限公司);甲醇、正丁醇、浓盐酸、无水乙醇、硫酸铁铵(国药集团化学试剂有限公司),以上均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液的配制

精准称取 10 mg 原花青素标准品于比色管中,用甲醇溶解并定容至 10 mL。精确吸取 0、0.10、0.25、0.50、1.00、1.50、2.00 mL 置于 10 mL 比色管中,加甲醇至刻度线,配成浓度为 0.000、0.010、0.025、0.050、0.100、0.150、0.200 mg/mL 的标准溶液,分别吸取 1 mL 各浓度标准溶液于比色管中,然后依次加入 6 mL 配制好的正丁醇-盐酸溶液和 0.2 mL 硫酸铁铵溶液,摇匀密封后放入 100 ℃ 烘箱中保温 40 min,用冰水冷却 15 min,最后用紫外-可见分光光度计在 546 nm 波长处测定吸光值,并绘制标准曲线。

1.2.2 标准曲线绘制

依据原花青素标准品测得的结果得到标准曲线如图 1 所示。原花青素标准曲线函数为: $y = 0.7392x + 0.0054$,式中: x 为样品中原花青素的质量浓度,mg/mL; y 为吸光度。相关系数 $R^2 = 0.9928$,表明样品浓度在 0~0.2 mg/mL 范围内与吸光度线性关系良好。

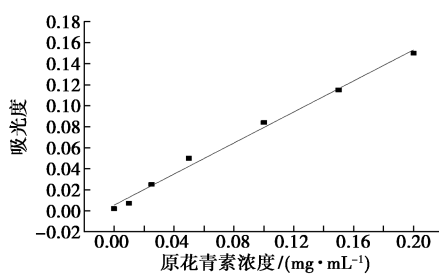


图 1 原花青素标准曲线

Fig.1 Standard curve of procyanidins

1.2.3 样品中原花青素的提取

将干燥的花生红衣粉碎,准确称取 0.5 g 花生红衣粉末与 65%乙醇溶液按 1:40(g/mL)比例混合,在 30 ℃、100 W 功率下超声处理 10 min,将超声处理后的样品溶液放入 60 ℃ 电热恒温水浴锅中水浴浸提 30 min。然后将得到的样品溶液在 3 000 r/min 条件下离心 10 min,得到上清液。

1.2.4 原花青素的测定

取 0.1 mL 上清液用甲醇稀释 200 倍,吸取 1 mL 稀释后的待测样品溶液移入 25 mL 比色管中,然后依次加入 0.2 mL 的硫酸铁铵溶液和 6 mL 正丁醇-盐酸溶液($V(\text{正丁醇}):V(\text{浓盐酸}) = 95:5$)摇匀,比色管密封后在 100 ℃ 烘箱中保温 40 min,然后立即置于冷水中冷却,15 min 之后在 546 nm 波长处测定其吸光度。以甲醇代替样品溶液作为空白对照,按下式计算出样品中的原花青素含量。

样品中原花青素含量计算公式:

$$W = (C \times 0.1V \times n) / m$$

式中: W 为样品中原花青素含量,mg/g; V 为提取液的体积,mL; C 为上清液中原花青素浓度,mg/mL; n 为稀释的倍数; m 为花生红衣质量,g。

1.2.5 单因素试验

1.2.5.1 液料比对原花青素含量的影响

取 0.5 g 样品,分别加入 65% 不同液料比(30:1、40:1、50:1、60:1、70:1)(mL/g)的乙醇溶液,按照 1.2.3 和 1.2.4 对样品进行处理和测定,考察液料比对测定原花青素含量的影响。

1.2.5.2 烘箱温度对原花青素含量的影响

取 0.5 g 样品,加入液料比 30:1(mL/g)的 65% 的乙醇溶液,其他条件固定不变,在烘箱温度(70、80、90、100、110 ℃)条件下保温 30 min,按照 1.2.4 对样品进行测定,考察烘箱温度对测定原花青素含量的影响。

1.2.5.3 保温时间对原花青素含量的影响

取 0.5 g 样品,加入液料比 30:1(mL/g)的

65%的乙醇溶液,其他条件固定不变,在烘箱温度 100 ℃ 的条件下保温 (20、30、40、50、60 min),按照 1.2.4 对样品进行测定,考察保温时间对测定原花青素含量的影响。

1.2.6 响应面实验设计

在单因素试验基础上,以液料比、烘箱温度、保温时间为自变量,以原花青素含量为响应值,设计三因素三水平的响应面试验,响应面试验设计如表 1 所示。

表 1 响应面试验设计表

Tab.1 Response surface test design

因素		-1	1
A	液料比/(mL·g ⁻¹)	50	70
B	烘箱温度/℃	80	100
C	保温时间/min	40	60

1.2.7 数据分析

单因素试验数据使用 Excel 2007 分析并制作图表;Box-Beheken 试验数据使用 Design-Expert 12.0.3 软件分析。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验结果与分析

从图 2 中可以看出,原花青素的含量随液料比的增加呈现先增后减的变化趋势。当液料比为 60:1(mL/g)时,其含量最高。这是因为乙醇能让花青素与蛋白质、多糖结合的氢键断裂^[19],随着乙醇用量的增加,更多的花青素释放出来,从而使花青素提取量增加。当乙醇用量过大时,又会导致成本过高以及试剂的浪费,同时会使花生红衣中各种杂质析出,造成原花青素含量降低^[20]。因此,液料比 60:1(mL/g)较为合适。

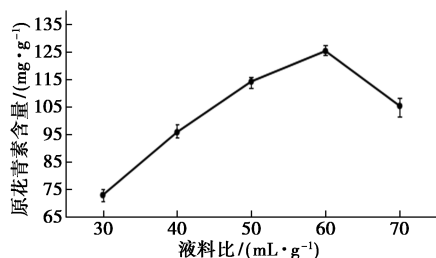


图 2 不同液料比对花生红中原花青素含量的影响

Fig.2 Effect of different feed liquid ratio on proanthocyanidins content in peanut red coat

由图 3 可知,在一定条件下原花青素含量随着保温时间的增加而增加,可见合适的保温时长有利于花青素的充分溶出,但长时间的加热保温

又会使其氧化,氧化程度越大,有效成分损失就越多^[21],且较高温度还会增加能耗,所以 50 min 保温时间较为合适。

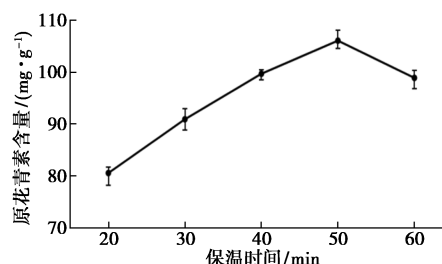


图 3 不同保温时间对花生红中原花青素含量的影响

Fig.3 Effect of different holding time on proanthocyanidins content in peanut red coat

由图 4 可以看出,原花青素的含量随着烘箱温度的升高先增加后降低,当烘箱温度达到 90 ℃ 时,原花青素含量达到最高。这是因为原花青素在热酸条件下转化成红色的花青素^[22],再升高温度花青素的内部结构会被破坏。此外,温度越高,乙醇的挥发量越大,也会造成原花青素的溶出量减少。因此,烘箱温度定为 90 ℃ 为宜。

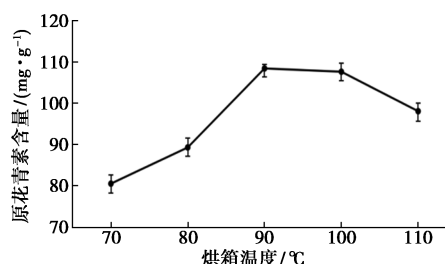


图 4 不同烘箱温度对花生红中原花青素含量的影响

Fig.4 Effects of different oven temperatures on proanthocyanidins content in peanut red coat

2.2 响应面试验结果与分析

2.2.1 响应面试验设计及结果分析

根据响应面试验设计 17 个优化组合进行试验,以液料比、烘箱温度和保温时间为自变量,以原花青素含量为响应值,试验设计组合与结果见表 2。

表 2 响应面试验设计及其数据表

Tab.2 Response surface test design and data table

编号	液料比/(mL·g ⁻¹)	烘箱温度/℃	保温时间/min	原花青素含量/(mg·g ⁻¹)
1	70	100	50	126.72
2	60	80	60	126.47
3	50	100	50	111.60

续表				
编号	液料比/ (mL·g ⁻¹)	烘箱温度/ ℃	保温时间/ min	原花青素含量/ (mg·g ⁻¹)
4	60	100	40	128.85
5	60	90	50	133.62
6	60	90	50	133.62
7	60	100	60	130.05
8	50	90	60	112.59
9	60	80	40	121.69
10	50	90	40	107.61
11	50	80	50	100.63
12	60	90	50	131.24
13	70	90	60	129.50
14	60	90	50	130.05
15	60	90	50	133.62
16	70	80	50	119.75
17	70	90	40	121.15

经过对试验结果数据的多元回归分析,建立液料比、烘箱温度和保温时间三个因素与原花青素含量的回归模型。原花青素含量回归方程如下列所示: $Y = +132.43 + 8.09A + 3.59B + 2.41C - 1.00AB + 0.84AC - 0.89BC - 13.40A^2 - 4.35B^2 - 1.31C^2$, 方差分析结果见表 3 所示。

表 3 响应面试验方差分析表

Tab.3 Analysis of variance of response surface test					
来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1 569.41	9	174.38	46.31	<0.000 1 (significant)
A-液料比	523.10	1	523.10	138.93	<0.000 1
B-烘箱温度	102.82	1	102.82	27.31	0.001 2
C-保温时间	46.61	1	46.61	12.38	0.009 7
AB	4.00	1	4.00	1.06	0.337 0
AC	2.84	1	2.84	0.75	0.414 0
BC	3.20	1	3.20	0.85	0.387 0
A ²	756.47	1	756.47	200.90	<0.000 1
B ²	79.72	1	79.72	21.17	0.002 5
C ²	7.27	1	7.27	1.93	0.207 3
残差	26.36	7	3.77		
失拟项	15.03	3	5.01	1.77	0.291 9 (not significant)
净误差	11.33	4	2.83		
总离差	1 595.76	16			

当 $P < 0.05$ 时为显著性影响,当 $P < 0.01$ 时则为极显著影响。从表 3 可以看出,在本次试验中,

该回归模型 $P < 0.000 1$,这意味着模型达到极显著水平,表明此次建模有意义;模型失拟项的 P 值为 0.291 9,大于 0.05,即失拟项不显著,说明试验结果误差较小;模型的决定系数 $R^2 = 0.983 5$, $R^2_{Adj} = 0.962 2$,说明模型试验值和预测值有很好的相关性且有较好的拟合度;模型变异系数 $C.V. = 1.57\%$,显示试验统计数据可靠,能很好地预测响应面。分析模型中各因素的 P 值,A-液料比、 A^2 对原花青素含量的影响为极显著影响 (P 值 $< 0.000 1$);B-烘箱温度、C-保温时间的影响为显著影响 (P 值 < 0.05);AB、AC 和 BC 三项均不显著 (P 值 > 0.05)。根据 F 值可知, F 值越大,说明该因素对原花青素含量的影响越大,液料比、烘箱温度、保温时间的 F 值分别为 138.93、27.31、12.38,所以影响花生红衣中原花青素含量的因素排序为液料比 (A) $>$ 烘箱温度 (B) $>$ 保温时间 (C),表明试验因素对原花青素含量的影响是一种非线性关系。

2.2.2 交互响应面分析

各试验因素之间的交互作用的 3D 响应面图与等高线图见图 5~图 7,等高线的形状可以看出两个因素之间的交互作用是否显著,如果图形接近于圆形,则表明这两个因素之间不显著,若是椭圆则表明显著^[23]。

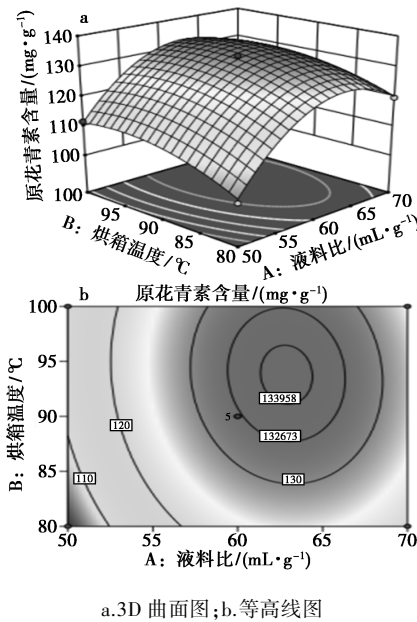


图 5 液料比与烘箱温度对原花青素含量影响的 3D 曲面图与等高线图

Fig.5 3D surface diagram and contour line of the effect of liquid material ratio and oven temperature on procyanidin content

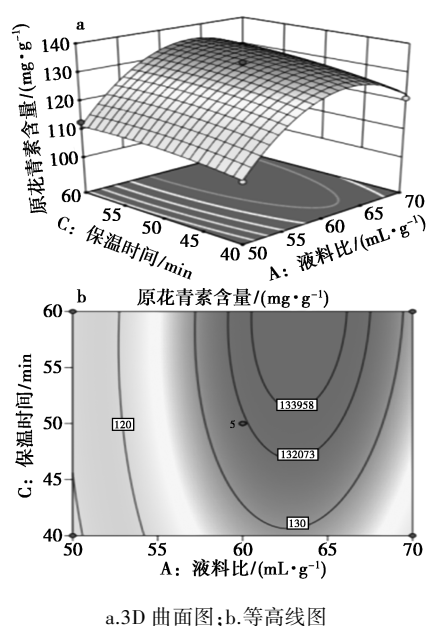


图 6 液料比与保温时间对原花青素含量影响的 3D 曲面图与等高线图

Fig.6 3D surface diagram and contour of the effect of liquid material ratio and holding time on procyanidin content

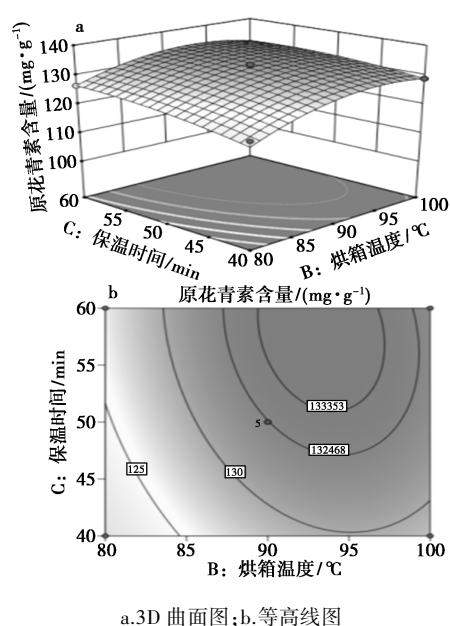


图 7 保温时间与烘箱温度对原花青素含量影响的 3D 曲面图与等高线图

Fig.7 3D surface diagram and contour of the effect of holding time and oven temperature on procyanidin content

由图 5 可知,随着液料比的增加和烘箱温度的升高,原花青素含量呈现先上升后降低的趋势。在液料比 60:1 (mL/g)、烘箱温度为 90 °C 时,原花青素含量达到最高。响应面曲面比较陡峭,说

明液料比与烘箱温度对花生红衣中原花青素含量的影响比较大。等高线呈现圆形,说明液料比和烘箱温度对原花青素含量的交互作用不显著。

由图 6 可知,在其他条件一定的情况下,随着液料比和保温时间的增加,原花青素含量先上升后降低。液料比与保温时间相比曲面图坡度较大,所以液料比对原花青素含量有较大的影响。当液料比 60:1 (mL/g)、保温时间 50 min 时,原花青素含量达到峰值。可以看出等高线接近于圆形,表明液料比和烘箱时间的交互作用不显著。

由图 7 可知,在其他条件一定的情况下,保持烘箱温度不变,随着保温时间的增加,原花青素含量增加,但保温时间增加到一定值时,原花青素含量会降低;保温时间一定时,原花青素含量随着烘箱温度的升高先增加后下降。因此,适当的烘箱温度和保温时间将有利于花生红衣中原花青素的提取。从等高线图中可以看出保温时间与烘箱温度之间的交互作用并不显著,与表 3 得出的结果一致。

使用分析软件 Design-Expert. V12. 0. 3 对试验进行优化,在其他条件一定的情况下,优化得到的最佳条件为液料比为 64. 13:1 (mL/g),烘箱温度为 90. 37 °C,保温时间为 59. 60 min,考虑到试验的现实可行性,将试验条件调整为液料比为 65:1 (mL/g),烘箱温度为 90 °C,保温时间为 60 min,在此条件下原花青素的含量达到最高为 135. 003 mg/g。

2.3 方法的准确度及精密度实验结果

称取 0. 5 g 花生红衣样品,按照最佳条件进行试验,同时加入原花青素标准物质,进行 2 个浓度的加标回收试验,每个浓度做 3 次平行试验,并计算出相对标准偏差,方法的准确度和精密度结果见表 4。从表 4 中的加标回收率和相对标准偏差可以看出优化后的测定条件具有比较高的准确度和精密度,试验重复性较好。

表 4 样品测定结果

Tab.4 Determination results of samples

样品 编号	原花青素含量/(mg·g ⁻¹)			加标 回收率/%	相对标准 偏差/%
	1	2	3		
A	131. 91	130. 62	134. 50	97. 48	1. 1
B	116. 39	117. 69	117. 69	98. 78	0. 4

3 结论

本文分别考察了液料比、烘箱温度、保温时间

对原花青素含量测定的影响,得到了原花青素含量最优的单因素条件为液料比 60:1 (mL/g)、保温时间 50 min、烘箱温度 90 ℃。以此为基础设计了以原花青素含量为响应值,三因素三水平的响应面分析试验,试验数据分析结果表明液料比对原花青素含量有极显著影响,烘箱温度和保温时间的影响为显著。最后利用响应面分析预测了用正丁醇-盐酸法测定花生红衣中原花青素的最佳的液料比 65:1 (mL/g),烘箱温度 90 ℃,保温时间 60 min。优化后的方法其相对标准偏差为 0.4%~1.1%,加标回收率为 97.48%~98.78%,优化后的方法用于测定花生红衣提取物中原花青素含量,简单快捷,简化了测定的步骤,具有较高的精密度和准确度,且重复性较好。

参考文献:

- [1] VICTOR S S, RICHARD J C. Note on utilisation of peanut seed testa [J]. *J. Sci. Food Agric.*, 2004, **84**(1): 105-111.
- [2] 凌天庭. 有“第七类营养素”之称的多酚类物质 [J]. *中国食品添加剂*, 2000, **1**: 28-37.
- [3] 白欢欢. 花生红衣原花青素的纯化工艺及性质研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- [4] 王士超. 蓝莓利口酒中原花青素稳定性的技术研究 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2018.
- [5] 李智卉, 李岩, 顾杰瑞, 等. 多酚废酒花低聚原花青素提取工艺的响应面法优化及其对神经细胞氧化损伤的保护作用 [J]. *食品科技*, 2019, **44**(11): 238-244.
- [6] 黄武, 李亚杰, 亢帅, 等. 超声辅助提取花生红衣中原花青素 [J]. *食品研究与开发*, 2021, **42**(10): 112-117.
- [7] 贺润丽, 韩毅丽, 王亚丽, 等. UPLC-PDA 法测定不同茎色黄芪中花青素的含量及变化 [J]. *化学试剂*, 2020, **42**(7): 813-817.
- [8] 张念, 彭怡霖, 陈细羽, 等. 超高效液相色谱法检测植物源性食品中花青素 [J]. *分析科学学报*, 2022, **38**(1): 17-23.
- [9] SHI L, LV Y K, WANG J W, et al. A novel thiolysis-HPLC method for the determination of proanthocyanidins in grape seeds [J]. *J. Sep. Sci.*, 2022, **45**(11): 1 874-1 883.
- [10] 杨萍, 李哲. pH 示差法测定黑枸杞花青素技术的研究 [J]. *中国食品添加剂*, 2017, **10**: 107-111.
- [11] 杨兆艳. pH 示差法测定桑椹红色素中花青素含量的研究 [J]. *食品科技*, 2007, **4**: 201-203.
- [12] BENNETT C, SOOKWONG P, JAKMUNEE J, et al. Smartphone digital image colorimetric determination of the total monomeric anthocyanin content in black rice via the pH differential method [J]. *Anal. Methods*, 2021, **13**(30): 3 348-3 358.
- [13] 闫高颖, 张必荣, 曹文娟, 等. 温浸法提取黑米中原花青素工艺的研究 [J]. *现代食品*, 2021, **8**: 78-80; 86.
- [14] GRABBER J H, ZELLER W E, MUELLER H I. Acetone enhances the direct analysis of procyanidin and prodelphinidin-based condensed tannins in lotus species by the butanol-HCl-iron assay [J]. *J. Agri. Food Chem.*, 2013, **61**(11): 2 669-2 678.
- [15] 杨磊, 苏文强, 汪振洋, 等. 落叶松树皮提取物中低聚原花青素含量测定方法的研究 [J]. *林产化学与工业*, 2004, **24**(S1): 111-114.
- [16] 董鹏, 王伟伟, 王东双, 等. 葡萄籽提取物中原花青素含量研究 [J]. *安徽农业科学*, 2011, **39**(16): 9 829-9 830.
- [17] PORTER L J, HRSTICH J N, CHAN B G. The conversion of proanthocyanidins and prodelphinidins to cyanidins and delphinidins [J]. *Phytochemistry*, 1986, **25**: 223-230.
- [18] 吕品, 桑田, 李朋伟. 响应面法优化香草醛法测定莽吉柿果壳原花青素 [J]. *食品研究与开发*, 2021, **42**(2): 160-166.
- [19] 薛菲, 阴新负, 彭效明, 等. 葡萄籽原花青素溶剂提取工艺研究 [J]. *农业科学研究*, 2015, **36**(6): 30-36.
- [20] 王菲, 张聪聪, 山显彤, 等. 花生红衣中原花青素的提取 [J]. *辽宁石油化工大学学报*, 2016, **36**(6): 14-19.
- [21] 汪志慧, 孙智达, 谢笔钧. 莲房原花青素的稳定性及热降解动力学研究 [J]. *食品科学*, 2011, **32**(7): 77-82.
- [22] 肖付才, 李华, 王华. 葡萄籽原花青素的提取和检测方法 [J]. *食品研究与开发*, 2007, **6**: 165-169.
- [23] 孙伟, 蔡静, 叶润, 等. 响应面法优化花椒叶多糖提取工艺及抑菌活性研究 [J]. *化学试剂*, 2021, **43**(1): 109-114.

《化学试剂》期刊栏目介绍

《化学试剂》创刊于 1979 年，是有关化学试剂及相关领域的专业性刊物。主要报道国内外化学试剂、精细化学品、专用化学品及相关领域的创新成果、先进技术和发展水平等。

本刊设立了特约专题、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、电子化学品等栏目。

1 特约专题

主要针对当前研究热点和某一领域突出创新成果进行组稿，要求稿件质量好，研究价值大。

2 综述与专论

主要报道化学试剂、精细化学品、专用化学品、绿色化学品等应用领域的研究成果整理、分析与前景预测。

3 生化与药用试剂

主要报道生物材料、抗癌药物、诊断试剂、生化试剂等新方向的研究进展和成果展示。

4 功能材料

主要报道光催化材料、荧光探针、晶体配合物、吸附材料、纳米材料等方向的研究进展。

5 分离提取技术

主要报道与天然产物、精细化学品、化学试剂等成分分析相关的分离提取技术。

6 电化学和新能源

主要报道电极材料、电化学传感、生物质能等领域的创新成果。

7 化学品与环境

主要报道与环境相关的化学品应用研究，包括空气、土壤、水、食品等方面的化学物质检测。

8 分析与测试

主要报道分析方法、仪器检测、成分分析等方面的新技术、新工艺、新设备。

9 标准物质与标准品

主要报道标准物质与标准品的制备过程及发展现状、标准物质的纯度分析及评价。

10 合成与工艺技术

主要报道与化学试剂、精细化学品、专用化学品生产和研制有关的新成果和创新成果。

11 电子化学品

主要报道电子工业中常用的专用化学品，包括高纯试剂、特种气体、电镀化学品、PCB 化学品等。

《化学试剂》期刊 2022 年度“优秀论文”“优秀作者”评选结果

《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,进一步提高我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“优秀作者”和“优秀论文”的评选活动,并向获奖者颁奖及赠刊。

2022 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 2021 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 2021 年出版的 253 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。

2022 年度“优秀论文”名单

编号	论文题目	作者	作者单位	卷(期)号
1	傅里叶变换红外光谱技术的应用及进展	周枫然, 韩桥, 张体强, 吴海, 曾武, 王德发	中国计量科学研究院	43(8)
2	壳聚糖纳米粒子的制备方法及其作为药物递送载体的应用	贤凤, 程婉婷, 高静	广东药科大学	43(12)
3	几种常用还原剂在铬污染土壤中的应用探讨	白俊宾, 江晓玲, 杨红健	河北工业大学	43(2)
4	新型冠状病毒核酸标准物质现状分析	杨雪, 梁文, 杨镇州, 徐勤, 李妍, 闻艳丽, 刘刚, 许丽	上海市计量测试技术研究院	43(6)
5	药用辅料的管理及其研究新进展	潘波, 顾小焱, 刘征宙	国药集团化学试剂有限公司	43(1)

2022 年度“优秀作者”名单

编号	作者	单位
1	付海燕	中南民族大学
2	孙国辉	北京工业大学
3	宋金链	天津市康科德科技有限公司
4	朱红林	宁波大学
5	张学军	沈阳化工大学

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
2023 年 4 月

2023 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之一。

《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)	天津市康科德科技有限公司	QC5(彩色)
国药集团化学试剂有限公司	封二(彩色)	南京化学试剂股份有限公司	QC6(彩色)
天津市永大化学试剂有限公司	QC1(彩色)	天津市科密欧化学试剂有限公司	QC7(彩色)
上海阿拉丁生化科技股份有限公司	QC2(彩色)	广东光华科技股份有限公司	QC8(彩色)
江苏强盛功能化学股份有限公司	QC3(彩色)	北化试剂	封三(彩色)
上海馨晟试化工科技有限公司	QC4(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