

一种基于喹啉酰肼的接力识别 Cu^{2+} 和草甘膦的荧光探针及其应用吴绵园^{a,b} 由君^{*,a} 喻艳超^{*,a} 武文菊^a^(a) 哈尔滨理工大学材料科学与化学工程学院 绿色化工技术黑龙江省高校重点实验室 哈尔滨 150080^(b) 黑龙江省科学院石油化学研究院 哈尔滨 150040

摘要 以喹啉-2-甲酸和 7-(二乙氨基)香豆素-3-甲醛为原料, 设计合成了一种喹啉酰肼类荧光探针 **L**, 并利用紫外/荧光分光光度法考察其光谱性能. 研究结果表明, 在四氢呋喃(THF)/ H_2O [$V:V=3:7$, 4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES) 10 mmol/L, pH=7.4] 溶液中, 探针 **L** 对 Cu^{2+} 表现出显著的荧光猝灭效应, 响应速度快, 特异性强, 灵敏度高, 并且它们之间的结合比为 1:1. 同时, 配合物 **L**- Cu^{2+} 对草甘膦表现出显著的荧光增强效应, 且不受其它有机磷农药、金属离子和阴离子的干扰, 其检测限可达 5.6×10^{-8} mol/L (即 9.5×10^{-3} mg/L). 此外, 配合物 **L**- Cu^{2+} 能够“裸眼”检测草甘膦, 并在实际水样中实现了草甘膦的定量检测.

关键词 喹啉酰肼; 荧光探针; Cu^{2+} ; 草甘膦; 接力识别

A Novel Quinoline Hydrazone-Based Fluorescent Probe for Sequential Determination of Cu^{2+} /Glyphosate and Its ApplicationsWu, Mianyuan^{a,b} You, Jun^{*,a} Yu, Yanchao^{*,a} Wu, Wenju^a^(a) Key Laboratory of Green Chemical Engineering and Technology of College of Heilongjiang Province, College of Materials Science and Chemical Engineering, Harbin University of Science and Technology, Harbin 150080^(b) Institute of Petrochemistry, Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin 150040

Abstract A novel quinoline hydrazone-based fluorescent probe **L** was designed and synthesized using quinoline-2-carboxylic acid and 7-(diethylamino)coumarin-3-carbaldehyde as raw materials. The spectral properties of probe **L** were studied by UV-Vis/fluorescence spectrophotometry. The results showed that probe **L** had obvious ON-OFF fluorescence response to Cu^{2+} in the tetrahydrofuran (THF)/ H_2O [$V:V=3:7$, 2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl]ethanesulfonic acid (HEPES) 10 mmol/L, pH=7.4] solution, and it displayed efficiency, high specificity and sensitivity. Job's plot and high resolution mass spectrometry showed that the stoichiometry of **L**- Cu^{2+} complex was estimated to be 1:1. Meanwhile, complex **L**- Cu^{2+} showed high selectivity and good anti-interference ability towards glyphosate through the significant fluorescence enhancement, and the detection limit of complex **L**- Cu^{2+} to glyphosate could reach 5.6×10^{-8} mol/L (9.5×10^{-3} mg/L). In addition, complex **L**- Cu^{2+} was able to sense glyphosate by “naked-eye” according to the color change, and applied to glyphosate detection in the actual water samples.

Keywords quinoline hydrazone; fluorescent probe; Cu^{2+} ; glyphosate; sequential recognition

铜是与人类关系非常密切的有色金属, 被广泛应用于冶炼、电镀及化工等领域^[1-3]. 然而, 由于铜矿的不合理开采, 含铜工业废水的排放, 高铜杀虫剂、杀菌剂及化肥等的不合理使用, 致使水体中铜含量急剧增加, 现已成为水体中重金属污染的主要元素之一^[4-5]. 水体铜污染(主要是 Cu^{2+})不仅导致水体中微生物群和动植物受到影响, 引起整个水生生态系统的失衡; 同时, 通过动

植物富集吸收进入食物链, 严重威胁生态系统的稳定和人类的安全^[6-10]. 我国生活饮用水卫生标准(GB5749-2006)中明确规定饮用水中铜的限量标准为 1.0 mg/L^[11]. 因此, 对于水体中 Cu^{2+} 的识别检测具有重要意义.

草甘膦(Glyphosate, GLY)是一种广谱非选择性除草剂, 由于其对哺乳动物的毒性相对较低, 除草活性高, 被广泛应用于农田、果园、茶园和林业等. 尤其是抗草

* Corresponding authors. E-mail: youjunjun@126.com; yychao136@163.com

Received March 2, 2022; revised March 28, 2022; published online April 22, 2022.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21908034) and the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province (No. LH2021H001).

国家自然科学基金(No. 21908034)和黑龙江省自然科学基金(No. LH2021H001)资助项目.

甘膦转基因大豆及玉米种植面积不断扩大,使得草甘膦使用量迅速增长,现已成为世界应用最广、生产量最大的除草剂^[12-14]。但是,由于草甘膦的滥用,导致水体中大量的草甘膦残留,严重威胁生态环境和人类健康^[15-16]。研究表明,草甘膦可能会损害中枢神经系统,导致呼吸、心肌及神经肌肉功能障碍等;另外,草甘膦具有致畸作用,对生物的遗传、发育和生殖都有一定的毒副作用^[13-20]。我国生活饮用水卫生标准(GB5749-2006)中明确规定饮用水中草甘膦最大残留量不超过 7 mg/L^[11]。

目前,已报道的草甘膦检测方法有气相色谱-质谱法、液相色谱-质谱法、酶联免疫吸附测定、毛细管电泳技术以及基于量子点的分子印迹聚合物法等^[21-25]。这些方法虽然能够检测草甘膦,但是需要专业的样品处理及设备操作人员,检测费用昂贵。因此,仍缺乏一种简单有效、即用型且低成本的草甘膦识别检测方法。

与其他方法相比,荧光传感器具有灵敏度高、选择性强、检测速度快和易于操作等优点,在草甘膦检测领域具有较高的应用潜力。2016年Wang等^[26]利用环境友好的碳点和草甘膦抗体制备了一种特异性鉴定草甘膦的荧光碳点标记抗体,并成功将其用于水体中草甘膦残留的检测。但其复杂的制备工艺和测试方法可能会限制其实际应用。喹啉衍生物具有良好的荧光性能、光学性能和生物相容性,被广泛用于构建荧光传感器^[27-30]。目前报道的喹啉类荧光探针大多针对检测某一种金属离子,但利用其金属离子配合物识别有机小分子或利用同一分子接力识别金属离子和有机小分子的报道较少^[31-32]。我们^[33]曾制备了一种香豆素衍生物,其在二甲基亚砜/水($V:V=7:3$, HEPES 10 mmol/L, pH=7.4)中与 Cu^{2+} 结合后发生荧光猝灭,继续向 Cu^{2+} 配合物中滴加草甘膦后,通过草甘膦对 Cu^{2+} 的置换引起荧光恢复,从而接力识别 Cu^{2+} 和草甘膦。本工作设计了一种更易于制备的基于喹啉酰肼的荧光探针 **L**, 利用相同的识别原理,

在四氢呋喃(THF)/ H_2O ($V:V=3:7$, HEPES 10 mmol/L, pH=7.4)中高选择性地识别 Cu^{2+} , 形成 1:1 配合物;同时,该配合物又可快速、灵敏地识别草甘膦,并具有较佳的“裸眼”识别效果,为农药残留检测提供了新方法。

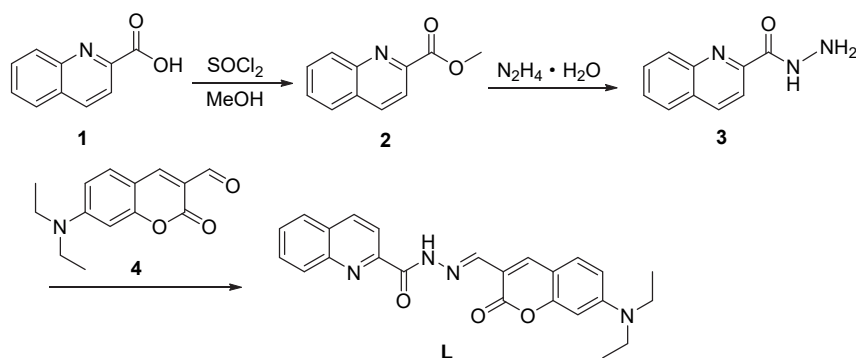
1 结果与讨论

1.1 探针 **L** 的合成

探针 **L** 的合成路线如 Scheme 1 所示。以喹啉-2-甲酸(**1**)为原料,经酯化、肼解反应得到中间体喹啉-2-甲酰肼(**3**),中间体 **3** 和 7-(二乙氨基)香豆素-3-甲醛(**4**)通过醛胺缩合反应得到探针 **L**。

1.2 探针 **L** 对 Cu^{2+} 的检测性能

选择性实验是评价荧光探针是否具有潜在应用价值的重要指标。将探针 **L** 用 THF/ H_2O ($V:V=3:7$, HEPES 10 mmol/L, pH=7.4)溶液稀释至 10 $\mu\text{mol/L}$, 分别加入 10 $\mu\text{mol/L}$ 的常见金属离子(Cu^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Cr^{3+} , K^+ , Ni^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Pb^{2+} , Na^+ , Sr^{3+} , Ce^{3+} , Ag^+ , Li^+ , Cd^{2+} , Hg^{2+})溶液和常见阴离子(SO_4^{2-} , F^- , SCN^- , Br^- , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , NO_2^- , I^- , HCO_3^- , CO_3^{2-} , Cl^- , CH_3COO^-)溶液,测试其光谱变化。在荧光光谱(图 1a)中,只有加入 Cu^{2+} 时,探针 **L** 溶液的荧光强度由 469 猝灭至 6.5,猝灭率可达 98.6%,荧光量子产率由 $\phi=0.53$ 降低至 $\phi=0.01$ (香豆素 6 的乙醇溶液 $\phi=0.78$ 为参比)^[34],其它离子的加入没有发生荧光猝灭现象。紫外-可见吸收光谱(图 1b)显示,只有在探针 **L** 加入 Cu^{2+} 的紫外吸收峰明显红移,其它离子加入后未见明显变化。另外,通过肉眼可直接观察到加入 Cu^{2+} 后,探针 **L** 溶液颜色由黄色变为红色,其它离子加入无显著的颜色变化,具有一定的“裸眼”识别效果。探针 **L** 对 Cu^{2+} 瞬时响应,其荧光强度随时间的延长未见明显衰减。这些结果说明,探针 **L** 对 Cu^{2+} 具有良好的选择性和稳定性。



图式 1 探针 **L** 的合成路线
Scheme 1 Synthetic route of probe **L**

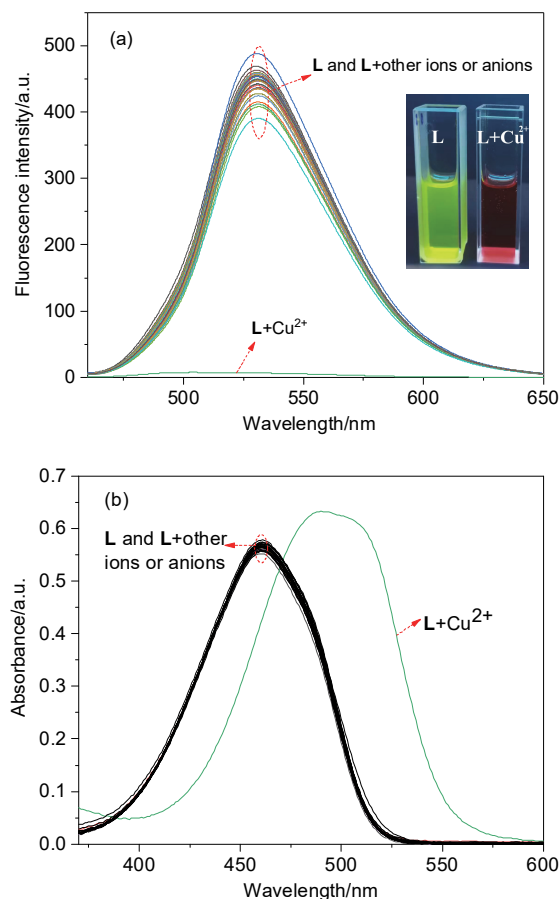


图1 探针 **L** (10 μmol/L)与不同离子(10 μmol/L)作用后的荧光光谱(a)和紫外-可见吸收光谱(b) ($\lambda_{\text{ex}}=450$ nm)

Figure 1 Fluorescence emission spectra (a) and UV-Vis absorption spectra (b) of probe **L** (10 μmol/L) interacted with different ions (10 μmol/L) ($\lambda_{\text{ex}}=450$ nm)

The fluorescence changes of probe **L** (100 μmol/L) without and with Cu²⁺ (100 μmol/L) under a portable UV lamp 365 nm

共存离子干扰是影响探针识别性能的重要因素,因此进行了离子共存干扰实验,结果如图2所示。在其它金属离子或阴离子存在下,探针**L**荧光强度和颜色均无明显变化;随后加入Cu²⁺,除S₂O₃²⁻有较弱影响外,其它共存离子的荧光几乎完全猝灭,并且其溶液颜色由黄色变为红色。这说明其它离子的存在,并未对探针**L**检测Cu²⁺产生明显干扰,具有良好的抗干扰能力。

灵敏度是评价探针优劣的重要标准,因此进行了荧光滴定实验,结果如图3所示。在探针**L** (10 μmol/L)溶液中加入不同浓度的Cu²⁺ (0~12 μmol/L),随着Cu²⁺浓度的增加,荧光强度逐渐降低。在0~7 μmol/L范围内,Cu²⁺浓度与探针**L**荧光强度具有良好的线性关系,线性回归方程为 $Y=425.8-55.9X$,线性相关系数 $R^2=0.9903$ 。根据检测限的计算公式: $DL=3\sigma/k$ (其中 σ 为探针**L**荧光强度的标准偏差, k 为荧光滴定过程中探针**L**

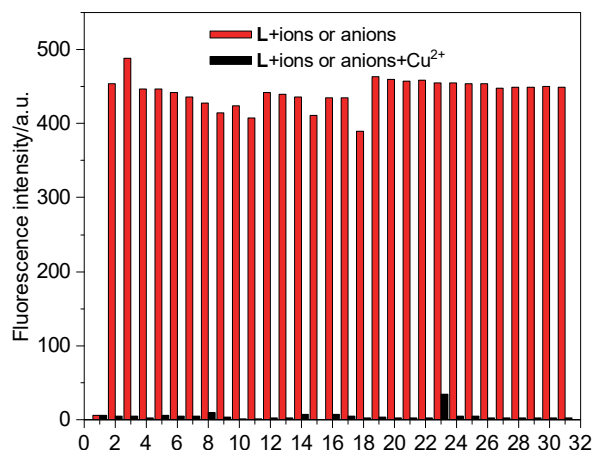


图2 在各种离子(10 μmol/L)存在下,Cu²⁺ (10 μmol/L)加入前后,探针 **L** (10 μmol/L)在530 nm处的荧光强度($\lambda_{\text{ex}}=450$ nm)

Figure 2 Fluorescence intensity of probe **L** (10 μmol/L) without and with Cu²⁺ (10 μmol/L) in the presence of various ions (10 μmol/L) at 530 nm

1: Cu²⁺, 2: Co²⁺, 3: Zn²⁺, 4: Ca²⁺, 5: Cr³⁺, 6: K⁺, 7: Ni²⁺, 8: Al³⁺, 9: Fe³⁺, 10: Mg²⁺, 11: Pb²⁺, 12: Na⁺, 13: Sr³⁺, 14: Ce³⁺, 15: Ag⁺, 16: Li⁺, 17: Cd²⁺, 18: Hg²⁺, 19: SO₄²⁻, 20: F⁻, 21: SCN⁻, 22: Br⁻, 23: S₂O₃²⁻, 24: H₂PO₄⁻, 25: HPO₄²⁻, 26: NO₂⁻, 27: I⁻, 28: HCO₃⁻, 29: CO₃²⁻, 30: Cl⁻, 31: CH₃COO⁻

荧光强度与Cu²⁺浓度作直线的斜率),探针**L**对Cu²⁺的荧光检测限DL为 3.9×10^{-8} mol/L (即 2.5×10^{-3} mg/L),能够满足我国生活饮用水卫生标准(GB5749-2006)的检测需求。这说明,探针**L**具有较高的灵敏度。同时,紫外-可见吸收滴定实验明显观察到紫外吸收峰逐渐红移。另外,根据1:1的Benesi-Hildebrand方程^[29],探针**L**与Cu²⁺作用的络合常数为 $K_a=2.3 \times 10^5$ L/mol ($R^2=0.9989$)。探针**L**溶液加入不同浓度Cu²⁺后颜色变化明显,在Cu²⁺检测试剂盒领域具有潜在的应用价值。

为了深入研究探针**L**识别Cu²⁺的响应机理,测定了其Job's plot曲线,如图4所示。在 $[\text{Cu}^{2+}]/([\text{L}]+[\text{Cu}^{2+}])$ 0.48处出现交点,表明探针**L**与Cu²⁺之间的配比为1:1。同时,实验结果通过高分辨质谱验证,探针**L**与Cu²⁺配位后的离子峰 m/z 为478.1053,与理论值478.1061一致。另外,通过对比探针**L**和配合物**L**-Cu²⁺的红外光谱可知,探针**L**由酮式转化为烯醇式参与配位,探针**L**的振动吸收峰酯羰基(C=O, 1708 cm⁻¹)、酰胺羰基(C=O, 1679 cm⁻¹)、碳氮双键(C=N, 1618 cm⁻¹)和氮氢单键(N-H, 3431 cm⁻¹)在形成配合物后转移至酯羰基(C=O, 1665 cm⁻¹)、烯醇式碳氮双键(C=N, 1617 cm⁻¹)、碳氮双键(C=N, 1603 cm⁻¹)和烯醇式氧氢单键(O-H, 3197 cm⁻¹),证实了探针**L**的两个羰基和碳氮双键参与Cu²⁺配位^[32,35]。此外,探针**L**与Cu²⁺配位后荧光猝灭,这可能是由于探针**L**向Cu²⁺电荷转移导致的^[36]。

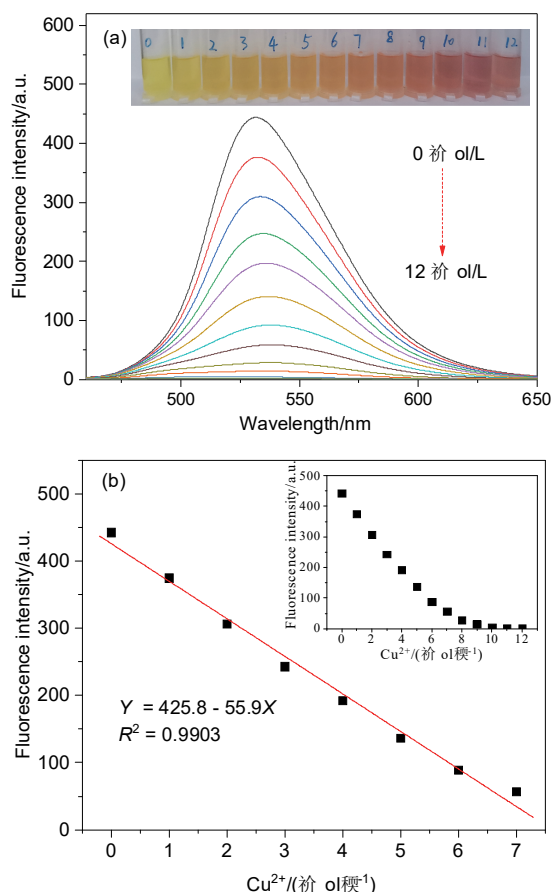


图3 探针 **L** (10 $\mu\text{mol/L}$) (a)对不同浓度 Cu^{2+} (0~12 $\mu\text{mol/L}$) 响应的荧光光谱和(b)在530 nm处荧光强度与 Cu^{2+} (0~7 $\mu\text{mol/L}$) 浓度的线性关系($\lambda_{\text{ex}}=450\text{ nm}$)

Figure 3 (a) Fluorescence spectra of probe **L** (10 $\mu\text{mol/L}$) toward varying concentrations of Cu^{2+} (0~12 $\mu\text{mol/L}$) and (b) linear relationship between the concentration of Cu^{2+} (0~8 $\mu\text{mol/L}$) and the fluorescence intensity at 530 nm of probe **L** (10 $\mu\text{mol/L}$). The photo shows the color change of probe **L** (10 $\mu\text{mol/L}$) with the addition of Cu^{2+} (0~12 $\mu\text{mol/L}$) under natural light; Dot diagram of the fluorescence responses of probe **L** (10 $\mu\text{mol/L}$) toward varying concentrations of Cu^{2+} (0~12 $\mu\text{mol/L}$) at 530 nm

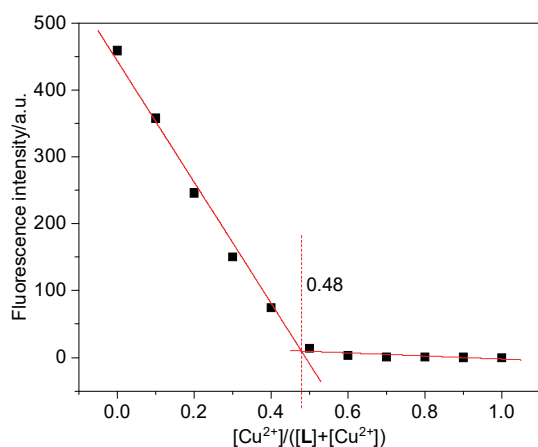


图4 探针 **L** 与 Cu^{2+} 的 Job's plot 图($[\text{L}]+[\text{Cu}^{2+}]=10\text{ }\mu\text{mol/L}$)
Figure 4 Job's plot of probe **L** and Cu^{2+} ($[\text{L}]+[\text{Cu}^{2+}]=10\text{ }\mu\text{mol/L}$)

1.3 配合物 L-Cu^{2+} 对草甘膦的检测性能

进一步研究了配合物 L-Cu^{2+} 对有机磷农药(OPs)选择性接力识别. 在原位生成的含有探针 **L** (10 $\mu\text{mol/L}$) 和 Cu^{2+} (10 $\mu\text{mol/L}$) 的配合物 L-Cu^{2+} 溶液中分别加入草甘膦、敌百虫、亚胺硫磷、敌敌畏、马拉硫磷、氧化乐果、乐果、灭线磷、杀螟硫磷、甲基对硫磷、对硫磷和草铵膦等有机磷农药以及常见阴离子(SO_4^{2-} , F^- , SCN^- , Br^- , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , NO_2^- , I^- , HCO_3^- , CO_3^{2-} , Cl^- , CH_3COO^-) 和常见金属离子(Co^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Cr^{3+} , K^+ , Ni^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Pb^{2+} , Na^+ , Sr^{3+} , Ce^{3+} , Ag^+ , Li^+ , Cd^{2+} , Hg^{2+}), 测试其光谱变化. 在荧光光谱(图 5a) 中, 只有加入草甘膦后, L-Cu^{2+} 溶液才呈现出明显的荧光恢复现象, 荧光强度恢复率可达 93.8%, 荧光量子产率由 $\phi=0.01$ 恢复至 $\phi=0.50$. 紫外-可见吸收光谱(图

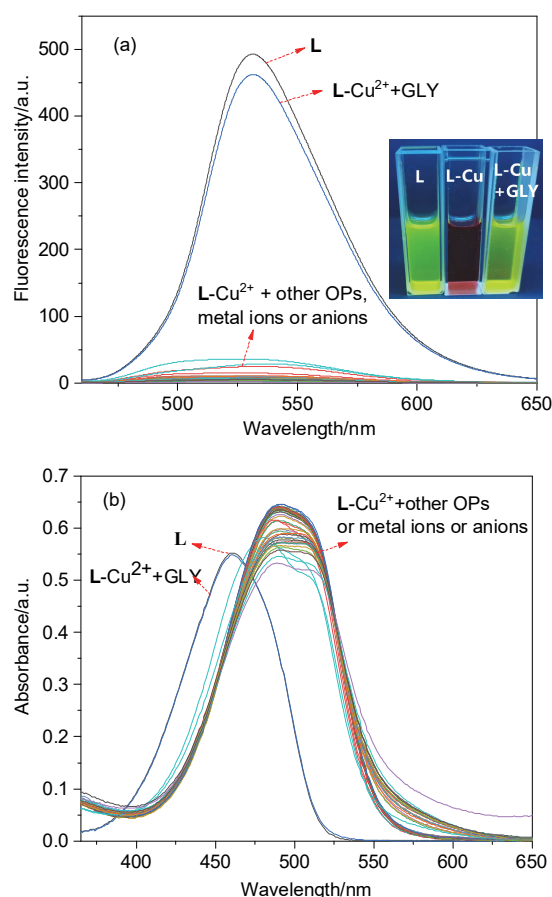


图5 配合物 L-Cu^{2+} (10 $\mu\text{mol/L}$) 与不同有机磷农药、金属离子和阴离子(10 $\mu\text{mol/L}$) 作用后的荧光光谱(a)和紫外-可见吸收光谱(b) ($\lambda_{\text{ex}}=450\text{ nm}$)

Figure 5 Fluorescence emission spectra (a) and UV-Vis absorption spectra (b) of complex L-Cu^{2+} (10 $\mu\text{mol/L}$) interacted with organophosphorus pesticides, metal ions or anions (10 $\mu\text{mol/L}$) ($\lambda_{\text{ex}}=450\text{ nm}$)

The fluorescence changes of probe **L** (100 $\mu\text{mol/L}$), complex L-Cu^{2+} (100 $\mu\text{mol/L}$) and complex L-Cu^{2+} (100 $\mu\text{mol/L}$) with GLY (100 $\mu\text{mol/L}$) under a portable UV lamp 365 nm

5b)显示, L-Cu^{2+} 溶液在加入草甘膦后, 紫外吸收峰明显蓝移, 与探针 **L** 紫外吸收峰基本一致, 加入其它有机磷农药、金属离子和阴离子后的紫外吸收峰无明显变化。此外, 配合物 L-Cu^{2+} 对草甘膦具有瞬时响应能力, 通过肉眼可直接观察到加入草甘膦后, 配合物 L-Cu^{2+} 溶液颜色由红色变为黄色, 而其它离子和有机磷农药加入后未见明显的颜色变化, 具有一定的“裸眼”识别效果。这些结果表明, 配合物 L-Cu^{2+} 对草甘膦具有良好的选择性。

通过共存干扰实验, 进一步研究了其它有机磷农药、金属离子和阴离子等 42 种干扰物的存在是否会影响配合物 L-Cu^{2+} 对草甘膦的识别检测, 结果如图 6 所示。在其它有机磷农药、金属离子或阴离子存在下, 只有加入草甘膦、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 和 Cr^{3+} 后配合物 L-Cu^{2+} 荧光稍有增强外, 其余的荧光和颜色均无明显变化; 随后加入草甘膦, 除 Co^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ag^+ 对配合物 L-Cu^{2+} 检测草甘膦有一定程度的影响外, 其余均呈现显著的荧光增强, 配合物 L-Cu^{2+} 溶液颜色由红色变为黄色。这说明其它有机磷农药、金属离子和阴离子的存在, 并未对配合物 L-Cu^{2+} 检测草甘膦产生明显干扰, 具有良好的抗干扰能力。

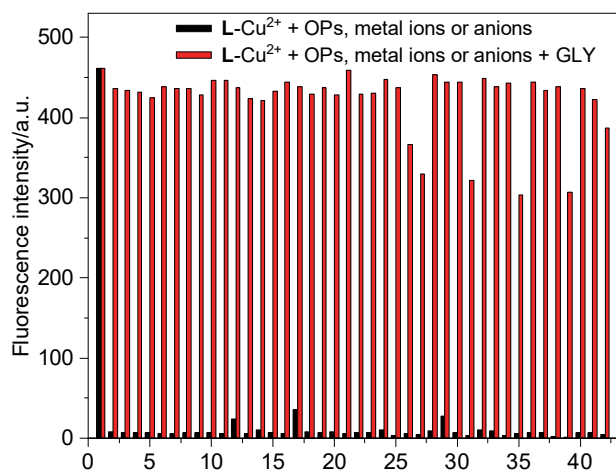


图 6 在其它有机磷农药、金属离子和阴离子(10 $\mu\text{mol/L}$)存在下, 草甘膦(10 $\mu\text{mol/L}$)加入前后, 配合物 L-Cu^{2+} (10 $\mu\text{mol/L}$) 在 530 nm 处的荧光强度($\lambda_{\text{ex}}=450\text{ nm}$)

Figure 6 Fluorescence intensity of complex L-Cu^{2+} (10 $\mu\text{mol/L}$) without and with GLY (10 $\mu\text{mol/L}$) in the presence of various OPs, metal ions or anions (10 $\mu\text{mol/L}$) at 530 nm
1: GLY, 2: Trichlorfon, 3: Phosmet, 4: Dichlorvos, 5: Malathion, 6: Omethoate, 7: Dimethoate, 8: Ethoprophos, 9: Fenitrothion, 10: Parathion methyl, 11: Parathion, 12: Glufosinate, 13: SO_4^{2-} , 14: F^- , 15: SCN^- , 16: Br^- , 17: $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 18: HPO_4^{2-} , 19: H_2PO_4^- , 20: NO_2^- , 21: I^- , 22: HCO_3^- , 23: CO_3^{2-} , 24: Cl^- , 25: CH_3COO^- , 26: Co^{2+} , 27: Zn^{2+} , 28: Ca^{2+} , 29: Cr^{3+} , 30: K^+ , 31: Ni^{2+} , 32: Al^{3+} , 33: Fe^{3+} , 34: Mg^{2+} , 35: Pb^{2+} , 36: Na^+ , 37: Sr^{2+} , 38: Ce^{3+} , 39: Ag^+ , 40: Li^+ , 41: Cd^{2+} , 42: Hg^{2+}

通过荧光滴定实验, 研究了配合物 L-Cu^{2+} 荧光强

度与草甘膦浓度之间的关系, 结果如图 7 所示。在原位生成的含有探针 **L** (10 $\mu\text{mol/L}$) 和 Cu^{2+} (10 $\mu\text{mol/L}$) 的 L-Cu^{2+} (10 $\mu\text{mol/L}$) 溶液中加入不同浓度的草甘膦 (0~18 $\mu\text{mol/L}$), 随着草甘膦浓度的增加, 荧光强度逐渐增强。在 2~12 $\mu\text{mol/L}$ 范围内, 配合物 L-Cu^{2+} 荧光强度与草甘膦浓度具有良好的线性关系, 线性回归方程 $Y=38.3X-52.7$, 线性相关系数 $R^2=0.9962$ 。根据检测限的计算公式: $\text{DL}=3\sigma/k$, 计算出配合物 L-Cu^{2+} 对草甘膦的荧光检测限 DL 为 $5.6\times 10^{-8}\text{ mol/L}$ (即 $9.5\times 10^{-3}\text{ mg/L}$),

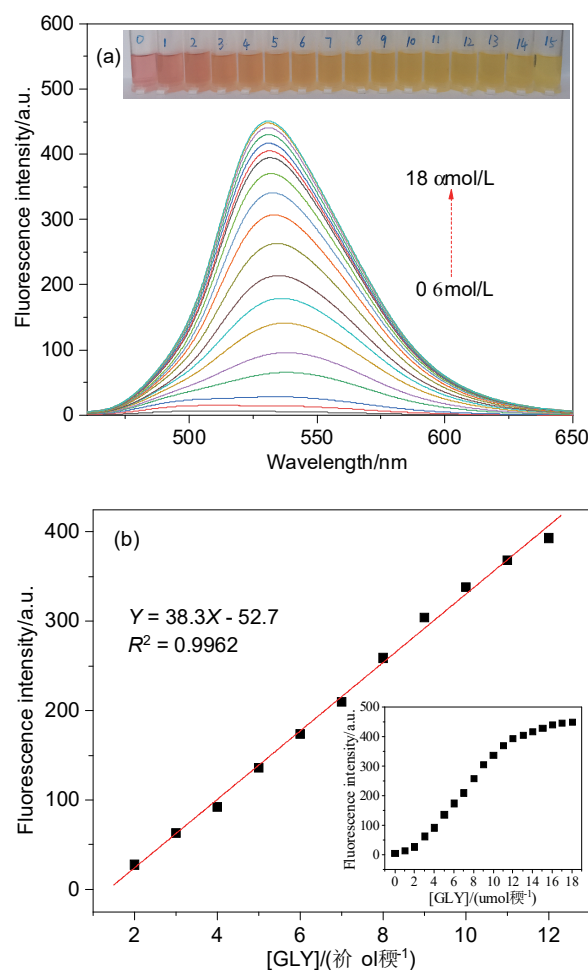


图 7 配合物 L-Cu^{2+} (10 $\mu\text{mol/L}$) (a) 对不同浓度 GLY (0~18 $\mu\text{mol/L}$) 响应的荧光光谱和 (b) 配合物 L-Cu^{2+} (10 $\mu\text{mol/L}$) 在 530 nm 处荧光强度与 GLY (2~12 $\mu\text{mol/L}$) 浓度的线性关系 ($\lambda_{\text{ex}}=450\text{ nm}$)

Figure 7 (a) Fluorescence spectra of complex L-Cu^{2+} (10 $\mu\text{mol/L}$) toward varying concentrations of GLY (0~18 $\mu\text{mol/L}$) and (b) linear relationship between the concentration of GLY (2~12 $\mu\text{mol/L}$) and the fluorescence intensity at 530 nm ($\lambda_{\text{ex}}=450\text{ nm}$) of complex L-Cu^{2+} (10 $\mu\text{mol/L}$)

The photo shows the color change of complex L-Cu^{2+} (10 $\mu\text{mol/L}$) with the addition of GLY (0~15 $\mu\text{mol/L}$) under natural light; Dot diagram of the fluorescence responses of complex L-Cu^{2+} (10 $\mu\text{mol/L}$) toward varying concentrations of GLY (0~18 $\mu\text{mol/L}$) at 530 nm

能够满足我国生活饮用水卫生标准(GB5749-2006)的检测需求. 这说明, 探针 **L** 具有较高的灵敏度. 紫外-可见吸收滴定实验明显观察到紫外吸收峰逐渐蓝移, 最终与探针 **L** 的紫外吸收峰基本一致. 同时, 配合物 **L**-Cu²⁺ 溶液加入不同浓度草甘膦后颜色变化明显, 可用于制作草甘膦检测试剂盒.

为了进一步研究配合物 **L**-Cu²⁺ 识别草甘膦的响应机理, 测定其 Job's plot 曲线, 如图 8 所示. 在 [GLY]/([L-Cu²⁺]+[GLY]) 0.52 处出现交点, 表明配合物 **L**-Cu²⁺ 与草甘膦之间的配比为 1:1. 另外, 草甘膦通过夺取配合物 **L**-Cu²⁺ 的 Cu²⁺, 释放配体 **L**, 从而使荧光恢复. 由此推测, 草甘膦与 Cu²⁺ 之间以 1:1 的比例进行配位. 此外, 配合物 **L**-Cu²⁺ 与草甘膦作用后进行高分辨质谱检测, 发现 GLY-Cu²⁺ 的离子峰 *m/z* 为 231.9442, 与理论值 231.9431 一致; 探针 **L** 的离子峰 *m/z* 为 415.1752, 与理论值 415.1765 一致, 进一步证实了配合物 **L**-Cu²⁺ 识别草甘膦的作用机制. 因此, 推测了探针 **L** 接力识别 Cu²⁺ 和草甘膦的响应机理, 如 Scheme 2 所示.

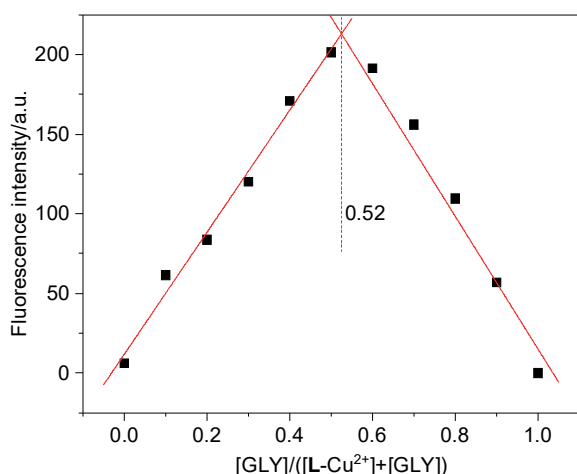
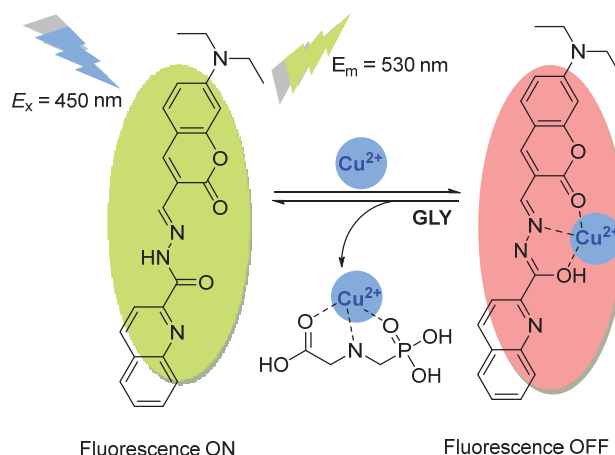


图 8 配合物 **L**-Cu²⁺ 与草甘膦的 Job's plot 图([L-Cu²⁺]+[GLY]=10 μmol/L)

Figure 8 Job's plot of complex **L**-Cu²⁺ and GLY ([L-Cu²⁺]+[GLY]=10 μmol/L)

1.4 pH 对探针 **L** 接力识别 Cu²⁺ 和草甘膦的影响

测试体系的酸碱度大多通过破坏探针分子结构或干扰配位等方式, 影响探针的识别性能, 甚至导致探针失效. 为此, 测试了不同 pH 环境下探针 **L** 接力识别 Cu²⁺ 和草甘膦的性能, 结果如图 9 所示. 在强酸性条件下, 加入 Cu²⁺ 后无明显的荧光变化, 说明探针 **L** 与 Cu²⁺ 的配位能力消失; 在强碱性条件下, 探针 **L** 的荧光强度明显降低, 这可能是由于探针 **L** 分子结构被破坏导致的. pH 在 4~10 范围内, 探针 **L** 荧光性能稳定, 加入 Cu²⁺ 后具有显著的荧光猝灭, 继续加入草甘膦后荧光恢



图式 2 探针 **L** 接力识别 Cu²⁺ 和草甘膦可能的作用机理
Scheme 2 Possible sequential recognition mechanism of probe **L** with Cu²⁺ and glyphosate

复响应效果更佳. 这些结果表明, 在 pH 4~10 范围内, 探针 **L** 对 Cu²⁺ 和草甘膦的接力识别具有良好的稳定性. 此外, 生物体内的 pH 约为 7.4, 说明探针 **L** 具备生物体内检测 Cu²⁺ 和草甘膦的应用潜力.

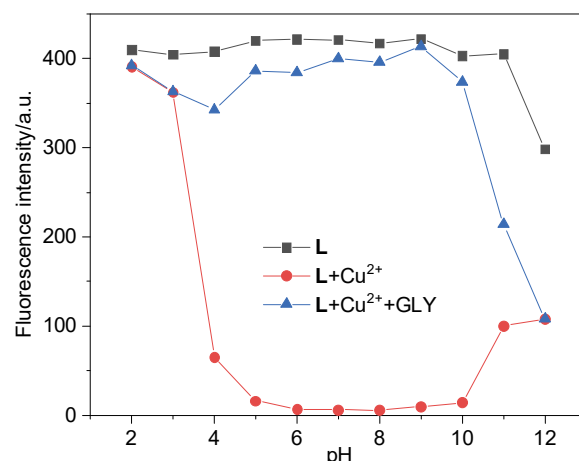


图 9 不同 pH 环境下探针 **L** (10 μmol/L) 对 Cu²⁺ (10 μmol/L) 和草甘膦 (10 μmol/L) 的荧光响应 (λ_{ex}=450 nm)

Figure 9 Fluorescence response of probe **L** (10 μmol/L) to Cu²⁺ (10 μmol/L) and GLY (10 μmol/L) at various pH

1.5 探针 **L** 的应用

为评估探针 **L** 在实际水样中的实用性, 选取自来水和松花江水为待测水样, 测定配合物 **L**-Cu²⁺ 在实际水样中检测草甘膦的性能. 在 2~12 μmol/L 范围内, 草甘膦浓度与配合物 **L**-Cu²⁺ 荧光强度具有良好的线性关系. 因此, 采用标准物质加入法, 分别向水样 (水样在转速 12000 r/min 条件下离心 10 min, 经 0.45 μm 过滤器处理过滤, 除去水样中的固体颗粒) 中加入 3, 5, 7, 9, 11 μmol/L 浓度的草甘膦, 通过荧光光谱测定水样中草甘

磷的浓度, 结果如表 1 所示. 在实际水样测定过程中, 草甘膦加标回收率 90.67%~123.33%, 相对标准偏差 0.16%~6.37%. 这说明配合物 **L**-Cu²⁺对草甘膦的检测性能稳定, 准确度高, 具有良好的实用性能. 此外, 采用比色管试剂盒法, 在配合物 **L**-Cu²⁺标准溶液中加入草甘膦试样, 通过对比标准溶液与检测体系溶液的颜色, 即可快速确定草甘膦的浓度范围, 实现了草甘膦的“裸眼”检测, 具有良好的实用性.

2 结论

设计并合成了一种基于喹啉酰肼的荧光探针 **L**, 在 THF/H₂O (*V*:*V*=3:7, HEPES 10 mmol/L, pH=7.4) 溶液中能够特异性识别 Cu²⁺, 荧光猝灭率达 98.6%, 探针 **L** 与 Cu²⁺以 1:1 的比例形成配合物; 同时配合物 **L**-Cu²⁺可有效识别草甘膦, 荧光恢复率达 93.8%, 不受其它有机磷农药和阴离子的干扰, 瞬时响应, 灵敏度高, 检测限达 5.6×10⁻⁸ mol/L(即 9.5×10⁻³ mg/L). 探针 **L** 具有良好的 Cu²⁺和草甘膦接力识别能力、较高的稳定性和较宽的 pH 适用范围. 同时, 配合物 **L**-Cu²⁺在加入草甘膦后, 颜色由红色逐渐转变为黄色, 具备良好的“裸眼”识别效果, 能够通过简单比色确定草甘膦的浓度范围, 可用于制备草甘膦检测试剂盒. 此外, 应用研究表明配合物 **L**-Cu²⁺能够准确测定实际水样中的草甘膦, 为草甘膦残留检测提供了新方法, 具有较高的实用价值.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

Bruker AV-300 MHz 型核磁共振波谱仪(德国布鲁克公司); Nicolet IN10 型傅里叶变换显微红外光谱仪(美国赛默飞世尔科技公司); Bruker Solarix 70FT-MS 型高分辨质谱仪(德国布鲁克公司); Hitachi F-7000 型荧光光谱仪(日本日立公司); Shimadzu UV-2450 型紫外-可见光吸

收光谱仪(日本岛津公司).

喹啉-2-甲酸和氯化亚砷购于北京偶合科技有限公司; 7-(二乙氨基)香豆素-3-甲醛及 4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)购于安耐吉试剂公司; 有机磷农药标准溶液均来自于上海安谱实验科技股份有限公司; 所用溶剂均为市售分析纯, 需干燥后使用.

3.2 合成方法

3.2.1 中间体喹啉-2-甲酸甲酯(**2**)的合成

在 250 mL 三颈瓶中, 加入喹啉-2-甲酸(**1**, 8.66 g, 50 mmol)和无水甲醇 100 mL, 冷却并保温 0 °C, 缓慢滴加氯化亚砷(6.55 g, 55 mmol), 加入完毕后保温 0.5 h. 升温回流反应 2.0 h, 薄层色谱检测原料喹啉-2-甲酸完全反应. 冷却至室温后, 滴加质量分数为 10%的氢氧化钠溶液调节溶液 pH 至中性, 有大量白色固体析出; 过滤, 水洗, 烘干得到 7.22 g 白色固体 **2**, 产率 77.13%^[37-38]. m.p. 81.9~82.7 °C (lit.^[37] 82~83 °C); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.33 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 8.22 (d, *J*=8.5 Hz, 1H), 7.90 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 7.81 (t, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.67 (t, *J*=7.5 Hz, 1H), 4.10 (s, 3H).

3.2.2 中间体喹啉-2-甲酰肼(**3**)的合成

在 250 mL 三颈瓶中, 加入 **2** (5.62 g, 30 mmol)、质量分数为 80%的水合肼(3.06 g, 50 mmol)和乙醇 50 mL, 回流反应 3 h. 薄层色谱检测原料 **2** 完全反应, 减压浓缩至干, 乙醇重结晶, 得 4.13 g 白色固体 **3**, 产率 73.49%^[39-40]. m.p. 138.2~139.8 °C (lit.^[39] 136~137 °C); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 9.26 (s, 1H), 8.32 (d, *J*=8.5 Hz, 1H), 8.26 (d, *J*=8.5 Hz, 1H), 8.07 (d, *J*=8.5 Hz, 1H), 7.87 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 7.77 (ddd, *J*=8.4, 6.9, 1.5 Hz, 1H), 7.63 (ddd, *J*=8.1, 6.9, 1.2 Hz, 1H), 4.18 (s, 2H).

3.2.3 探针 **L** 的合成

氮气气氛下, 100 mL 三颈瓶中加入喹啉-2-甲酰肼(**3**, 0.39 g, 2.1 mmol)、7-(二乙氨基)香豆素-3-甲醛 **4** (0.49 g,

表 1 实际水样中草甘膦的测定
Table 1 Determination of GLY in actual water samples

Sample	Add/(μmol·L ⁻¹)	Found/(μmol·L ⁻¹)	Recovery/%	RSD/% (<i>n</i> =3)
City water	3.00	2.72	90.67	0.92
	5.00	5.79	115.80	2.14
	7.00	7.27	103.86	2.31
	9.00	9.46	105.11	6.37
	11.00	11.14	101.27	2.42
Songhua River water	3.00	3.70	123.23	0.16
	5.00	5.16	103.20	1.06
	7.00	7.09	101.29	2.82
	9.00	9.43	104.78	0.78
	11.00	11.15	101.36	1.70

2.0 mmol)和无水乙醇 50 mL, 再加入 5 滴乙酸, 进行醛胺缩合反应; 回流反应 6 h, 冷却至室温后, 过滤, 乙醇洗涤, 干燥, 得到 0.56 g 黄色固体 **L**, 产率 67.47%. m.p. 234.1~236.7 °C; ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 12.37 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.61 (d, $J=8.5$ Hz, 1H), 8.43 (s, 1H), 8.21 (dd, $J=8.3, 4.5$ Hz, 2H), 8.12 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.92 (ddd, $J=8.4, 6.9, 1.3$ Hz, 1H), 7.76 (ddd, $J=8.0, 7.0, 1.0$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 6.78 (dd, $J=9.0, 2.3$ Hz, 1H), 6.60 (d, $J=2.1$ Hz, 1H), 3.48 (q, $J=7.0$ Hz, 4H), 1.15 (t, $J=7.0$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 160.85, 160.58, 156.67, 151.41, 149.87, 146.03, 143.96, 138.96, 138.03, 131.02, 130.70, 129.31, 128.94, 128.38, 128.22, 119.16, 112.66, 109.78, 108.12, 96.42, 44.30, 12.43; IR (KBr) ν : 3431, 3251, 2972, 1708, 1679, 1618, 1599, 1577, 1524, 1377, 1354, 1134, 845, 772 cm^{-1} ; HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_3$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 413.1619, found 413.1628.

3.3 光谱测定方法

以二次蒸馏水为溶剂, 配制 Co^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Cr^{3+} , K^+ , Ni^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Pb^{2+} , Na^+ , Sr^{3+} , Ce^{3+} , Ag^+ , Li^+ , Cd^{2+} , Hg^{2+} 的硝酸盐储备液(0.01 mol/L)和 SO_4^{2-} , F^- , SCN^- , Br^- , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , NO_2^- , I^- , HCO_3^- , CO_3^{2-} , Cl^- , CH_3COO^- 的钠盐储备液(0.01 mol/L). 探针 **L** 以 THF 为溶剂配制成 1.0×10^{-3} mol/L 储备液, 在光谱测量前, 将其稀释至 1.0×10^{-5} mol/L (THF/ H_2O , $V:V=3:7$, HEPES 10 mmol/L, pH=7.4). 紫外-可见吸收光谱和荧光光谱均在室温下进行测定; 荧光光谱激发波长 λ_{ex} 均为 450 nm, 灵敏度 1, 狭缝宽度 2.5 nm.

辅助材料(Supporting Information) 实验中部分光谱图、中间体和探针 **L** 的结构表征等数据. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] Salem, I. A.; Shaltout, M. H.; Zaki, A. B. *Spectrochim. Acta, Part A* **2019**, 227, 117618.
- [2] Inkinen, J.; Mäkinen, R.; Keinänen-Toivola, M. M.; Nordström, K.; Ahonen, M. *Lett. Appl. Microbiol.* **2016**, 64, 19.
- [3] Mitrea, S.; Oprina, G.; Radu, E.; Marinescu, V.; Voina, A.; Lingvay, I. *Rev. Chim. (Bucharest)* **2016**, 67, 1707.
- [4] Izydorczyk, G.; Mikula, K.; Skrzypczak, D.; Moustakas, K.; Witek-Krowiak, A.; Chojnacka, K. *Environ. Res.* **2021**, 197, 111050.
- [5] Pu, Q. Q.; Sun, J. Q.; Zhang, F. F.; Wen, X. Y.; Liu, W. H.; Huang, C. M. *Acta Geochim.* **2019**, 38, 753.
- [6] Malhotra, N.; Ger, T. R.; Uapipatanakul, B.; Huang, J. C.; Chen, K. H.-C.; Hsiao, C. D. *Nanomaterials* **2020**, 10, 1126.
- [7] Padrilah, S. N.; Sabullah, M. K.; Shukor, M. Y. A.; Yasid, N. A.; Shamaan, N. A.; Ahmad, S. A. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci.* **2018**, 41, 519.
- [8] Pramudya, M.; Hayati, A.; Armando, D. S.; Wulansari, E.; Faridah, N.; Susilo, R. J. K. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* **2021**, 718, 012019.
- [9] He, J. W.; Xie, Z. F.; Xue, S. S.; Liu, Y. C.; Shi, W.; Chen, X. *Chin. J. Org. Chem.* **2021**, 41, 2839 (in Chinese). (何佳伟, 解正峰, 薛松松, 刘宇程, 石伟, 陈鑫, 有机化学, **2021**, 41, 2839.)
- [10] Yi, W. G.; Zhang, R.; Gu, Z.; Li, J. Z.; Deng, Q.; Xiang, J. N. *Acta Chim. Sinica* **2011**, 69, 1024 (in Chinese). (易卫国, 张荣, 顾峥, 李瑞娟, 邓琴, 向建南, 化学学报, **2011**, 69, 1024.)
- [11] GB/T 5749-2006 *Standards of Drinking Water Quality*, National Standards of the People's Republic of China. (GB/T 5749-2006. 生活饮用水标准, 中华人民共和国国家标准.)
- [12] Heymann, A. K.; Schnabel, K.; Billenkamp, F.; Bühler, S.; Frahm, J.; Kersten, S.; Hüther, L.; Meyer, U.; Soosten, D. V.; Trakooljul, N.; Teifke, J. P.; Dänicke, S. *PLoS One* **2021**, 16, e0246679.
- [13] Peillex, C.; Pelletier, M. *J. Immunotoxicol.* **2020**, 17, 163.
- [14] Van Bruggen, A. H. C.; He, M. M.; Shin, K.; Mai, V.; Jeong, K. C.; Finckh, M. R.; Morris, J. G. *Sci. Total Environ.* **2018**, 616~617, 255.
- [15] Gandhi, K.; Khan, S.; Patrikar, M.; Markad, A.; Kumar, N.; Choudhari, A.; Sagar, P.; Indurkar, S. *Environ. Challenges* **2021**, 4, 100149.
- [16] Brovini, E. M.; Cardoso, S. J.; Quadra, G. R.; Vilas-Boas, J. A.; Paranaíba, J. R.; Pereira, R. D. O.; Mendonça, R. F. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2021**, 28, 60635.
- [17] Zhang, L. P.; Rana, L.; Shaffer, R. M.; Taioli, E.; Sheppard, L. *Mutat. Res.-Rev. Mutat.* **2019**, 781, 186.
- [18] Gill, J. P. K.; Sethi, N.; Mohan, A.; Datta, S.; Girdhar, M. *Environ. Chem. Lett.* **2018**, 16, 401.
- [19] Ingaramo, P.; Alarcón, R.; Muñoz-de-Toro, M.; Luque, E. H. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2020**, 518, 110934.
- [20] Andreotti, G.; Koutros, S.; Hofmann, J. N.; Sandler, D. P.; Lubin, J. H.; Lynch, C. F.; Lerro, C. C.; Roos, A. J. D.; Parks, C. G.; Alavanja, M. C.; Silverman, D. T. *J. Natl. Cancer Inst.* **2018**, 110, 509.
- [21] Tseng, S. H.; Lo, Y. W.; Chang, P. C.; Chou, S. S.; Chang, H. M. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 4057.
- [22] Wang, S.; Liu, B. M.; Yuan, D. X.; Ma, J. *Talanta* **2016**, 161, 700.
- [23] Liao, Y.; Berthion, J. M.; Colet, I.; Merlo, M.; Nougadere, A.; Hu, R. *J. Chromatogr. A* **2018**, 1549, 31.
- [24] Wumbei, A.; Goeteyn, L.; Lopez, E.; Houbraken, M.; Spanoghe, P. *Food Addit. Contam., Part B* **2019**, 12, 231.
- [25] Gendy, K. E.; Mosallam, E.; Ahmed, N.; Aly, N. *Anal. Biochem.* **2018**, 557, 1.
- [26] Wang, D.; Lin, B. X.; Cao, Y. J.; Guo, M. L.; Yu, Y. J. *J. Agric. Food Chem.* **2016**, 64, 6042.
- [27] Xia, Z. Q.; Shao, A. D.; Li, Q.; Zhu, S. Q.; Zhu, W. H. *Acta Chim. Sinica* **2016**, 74, 351 (in Chinese). (夏志清, 邵安东, 李强, 朱世琴, 朱为宏, 化学学报, **2016**, 74, 351.)
- [28] Elbatrawy, A. A.; Hyeon, S. J.; Yue, N.; Osman, E. E. A.; Choi, S. H.; Lim, S.; Kim, Y. K.; Ryu, H.; Cui, M. C.; Nam, G. *ACS Sens.* **2021**, 6, 2281.
- [29] Wang, J. T.; Pei, Y. Y.; Yan, M. Y.; Li, Y. G.; Yang, G. G.; Qu, C. H.; Luo, M.; Wang, J.; Li, Q. F. *Microchem. J.* **2021**, 160, 105776.
- [30] Chang, Y. X.; Li, B.; Gao, Y. F.; Xu, K. X. *Chin. J. Org. Chem.* **2019**, 39, 1023 (in Chinese). (常永新, 李白, 高云帆, 徐括喜, 有机化学, **2019**, 39, 1023.)
- [31] Chang, Y. X.; Li, B.; Guo, M.; Cai, Y. H.; Xu, K. X. *Chin. J. Org. Chem.* **2019**, 39, 2485 (in Chinese). (常永新, 李白, 郭淼, 蔡永红, 徐括喜, 有机化学, **2019**, 39, 2485.)
- [32] Yan, X. J.; Wang, Z. G.; Wang, Y.; Huang, Y. Y.; Liu, H. B.; Xie, C. Z.; Li, Q. Z.; Xu, J. Y. *Spectrochim. Acta, Part A* **2020**, 243, 118797.
- [33] Wu, M. Y.; Yu, Y. C.; Liu, Y.; You, J.; Wu, W. J.; Liu, B. *Chin. J.*

- Org. Chem.* **2022**, *42*, 803 (in Chinese).
(吴绵园, 喻艳超, 刘洋, 由君, 武文菊, 刘波, 有机化学, **2022**, *42*, 803.)
- [34] Liu, H. Y.; Dong, Y. S.; Zhang, B. B.; Liu, F.; Tan, C. Y.; Tan, Y.; Jiang, Y. Y. *Sens. Actuators, B* **2016**, *234*, 616.
- [35] Huang, L.; Cheng, J.; Xie, K. F.; Xi, P. X.; Hou, F. P.; Li, Z. P.; Xie, G. Q.; Shi, Y. J.; Liu, H. Y.; Bai, D. C.; Zeng, Z. Z. *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 10815.
- [36] Zhong, K.; Zhou, X.; Hou, R.; Zhou, P.; Hou, S.; Bian, Y.; Zhang, G.; Tang, L.; Shang, X. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 16612.
- [37] Abramova, E. O.; Paderina, A. V.; Slavova, S. O.; Kostenko, E. A.; Eliseenkov, E. V.; Petrovskii, S. K.; Gitlina, A. Y.; Boyarskiy, V. P.; Grachova, E. V. *Inorg. Chem.* **2021**, *60*, 18715.
- [38] Jia, J.; Jiang, Q.; Zhao, A.; Xu, B.; Liu, Q.; Luo, W. P.; Guo, C. C. *Synthesis* **2016**, *48*, 421.
- [39] Yeoh, K. K.; Chan, M. C.; Thalhammer, A.; Demetriades, M.; Chowdhury, R.; Tian, Y. M.; Stolze, I.; McNeill, L. A.; Lee, M. K.; Woon, E. C. Y.; Mackeen, M. M.; Kawamura, A.; Ratcliffe, P. J.; Mecinović, J.; Schofield, C. J. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 732.
- [40] Zhou, F. F.; Wang, H. Q.; Liu, P. Y.; Hu, Q. H.; Wang, Y. Y.; Liu, C.; Hu, J. K. *Spectrochim. Acta, Part A* **2018**, *190*, 104.

(Zhao, C.)