论文

基于Tb(III)配合物的“turn on”型荧光探针的制备及其对有机磷化合物的传感识别

全静苗[†], 雷海瑞[†], 刘峰毅, 严军林, 刘静*, 房喻

陕西师范大学化学化工学院, 应用表面与胶体化学教育部重点实验室, 西安 710119

[†]同等贡献*通讯作者, E-mail: jliu@snnu.edu.cn

收稿日期: 2016-09-14; 接受日期: 2017-01-10; 网络版发表日期: 2017-04-17

国家自然科学基金(编号: 21273143, 21573141)、教育部新世纪优秀人才支持计划(编号: NCET-13-0887)和全国优秀博士学位论文作者专项资金(编号: 201223)资助项目

摘要 有机磷化学武器的使用以及有机磷农药滥用给社会安全以及人类健康造成了极大危害. 因此, 发展能够高效检测有机磷化合物的方法对于防范和治理有机磷化合物污染至关重要. 本工作中合成了以1,4,7-三氮杂环壬烷衍生物为配体的Tb(III)配合物——**TbL**³⁺, 该配合物的分子结构中不含芳环结构, 故其发光效率很低. 当有机磷化合物杀螟腈和**TbL**³⁺络合后, 由于杀螟腈的T₁能级与Tb(III)的⁵D₄能级高度匹配, 前者作为能量给体可大幅敏化**TbL**³⁺的荧光, 且最大敏化效率为I/I₀=55, 对杀螟腈的检出限可达59 nmol/L. 高分辨质谱、荧光滴定实验和荧光寿命测试表明, **TbL**³⁺可络合2个杀螟腈分子和1个甲醇分子. 丙溴磷、毒死蜱、乐果、二嗪农、辛硫磷、倍硫磷、甲基对硫磷和敌敌畏8种有机磷化合物几乎不对**TbL**³⁺的荧光产生影响, 据此实现了对有机磷化合物杀螟腈的特异传感识别.

关键词 Tb(III)配合物, 荧光探针, 有机磷化合物

1 引言

有机磷化学武器的使用以及有机磷农药滥用给社会安全以及人类健康造成了极大危害. 有机磷化合物可与人体内的乙酰胆碱酯酶形成磷酸化乙酰胆碱酯酶, 抑制乙酰胆碱酯酶活性, 导致乙酰胆碱堆积, 持续刺激神经系统, 严重影响了人类健康^[1]. 因此, 发展能够高效检测有机磷化合物的方法对于防范和治理有机磷化合物污染至关重要. 目前, 有机磷化合物的检

测方法有酶联免疫法(ELISA)^[2]、气-质联用法(GC-MS)^[3]、酶抑制法、生物芯片技术、液-质联用法(LC-MS)^[4]、高效薄层检测法(HPTLC)^[5]、电化学法^[6]及荧光方法^[7]等.

相比于其他方法, 荧光方法具有灵敏度高、可采集信号丰富以及操作简便等优点, 已被广泛应用于有机磷化合物的传感识别. 目前, 已报道的有机磷化合物荧光探针有3类: 有机小分子化合物^[8]、荧光纳米颗粒^[9]以及镧系金属配合物^[10-18]. 镧系金属具有光化学

引用格式: 全静苗, 雷海瑞, 刘峰毅, 严军林, 刘静, 房喻. 基于Tb(III)配合物的“turn on”型荧光探针的制备及其对有机磷化合物的传感识别. 中国科学: 化学, 2017, 47: 876-881
Quan J, Lei H, Liu F, Yan J, Liu J, Fang Y. A “turn on” fluorescent probe based on Tb(III) complex for the detection of organophosphorus pesticides. *Sci Sin Chim*, 2017, 47: 876-881, doi: [10.1360/N032016-00181](https://doi.org/10.1360/N032016-00181)

稳定性好、荧光寿命长、发射波长长以及斯托克斯位移大等光物理特征,可以避免体系自身荧光和杂散光的干扰,进而大幅提高传感器的灵敏度.因此,镧系金属配合物已被广泛应用于生物阴离子、金属离子以及氧化物的传感识别^[19].鉴于镧系金属特异的光物理性质,近年来,镧系金属配合物亦被用于有机磷化合物的检测,此类荧光探针主要是基于有机磷化合物取代镧系金属离子(Tb^{3+} 、 Eu^{3+})的配体,导致体系荧光被淬灭来实现对有机磷化合物的检测^[10-18],但“turn off”荧光探针易被干扰且因背景荧光强而导致其灵敏度较差.因此,在本工作中,制备了自身发光效率很低的镧系金属配合物(TbL^{3+} , 图1), TbL^{3+} 分子结构中因不含芳环结构(天线基团)且配位不饱和(配位数仅为6), Tb^{3+} 的电子f-f跃迁受阻,导致其摩尔吸光系数很低^[19].当含有芳环结构的有机磷化合物——杀螟腈,与 TbL^{3+} 配位后,杀螟腈的苯环结构可将其激发态能量转移给Tb(III),从而大幅敏化 TbL^{3+} 的荧光,实现了对杀螟腈的“turn on”传感(TbL^{3+} , 图1).

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

试剂: 1,4,7-三氮杂环壬烷购买于上海笛柏化学技术有限公司(中国); 溴乙酰胺和六水合氯化铽均购买于梯希爱(上海)化成工业发展有限公司(中国); 杀螟腈(97.2%)、倍硫磷(97.5%)、辛硫磷(98.0%)和二嗪农

(98.5%)均购自上海西格玛奥德里奇贸易有限公司(中国); 丙溴磷(98.6%)、毒死蜱(99.8%)、乐果(98.6%)、甲基对硫磷(100 $\mu\text{mol/mL}$ 甲醇标准溶液)和敌敌畏(100 $\mu\text{mol/mL}$ 甲醇标准溶液)均购买于北京百灵威科技有限公司(中国); 三乙胺、乙醇、无水乙醚、二氯甲烷和甲醇均为国药集团(中国)分析纯药品且使用前均按照标准方法进行纯化; 实验用水均为高纯水.

仪器: FLS 920时间相关单光子计数荧光光谱仪(Edinburgh Instruments Ltd., 英国); 傅里叶变换红外光谱仪(EQUINX55, Bruker, 德国), 红外光谱测试中, 将待测溶液滴在KBr压片上, 所得样品经真空干燥后进行测试; 超导傅里叶数字化核磁共振谱仪(400 MHz, AVANCE, Bruker, 瑞士); 液质联用(LC-MS, Bruker, 德国).

2.2 配合物 $[\text{TbL}]\text{Cl}_3$ 的合成

参考文献^[20]的实验方法合成配合物 $[\text{TbL}]\text{Cl}_3$. 将150 mg (0.5 mmol)配体(Ligand, L)^[21]溶于40 mL水中并常温搅拌. 将187 mg (0.5 mmol)六水合氯化铽溶于30 mL水中并缓慢滴加到上述溶液中, 继续常温搅拌24 h后减压蒸除溶剂, 将所得固体溶于3 mL甲醇, 并逐滴滴加到100 mL乙醚中, 有白色沉淀析出, 常温搅拌1 h后抽滤得白色固体, 按上述方法分别用乙醚(3次)和二氯甲烷(2次)作为沉淀剂纯化粗品, 得232 mg白色固体, 产率为82%. $[\text{TbL}]\text{Cl}_3$ 的表征结果如下: FTIR (KBr, $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$): 3370、3117(N-H)、1661、1593(C=O). MS(m/z , ESI^+) $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{Cl}_3\text{N}_6\text{O}_3\text{Tb}$, $m/z=529.0546$ ($[\text{M}-\text{Cl}]^+$), 247.0396 ($[\text{M}-2\text{Cl}]^{2+}$), 与理论值529.0541、247.0426基本一致.

3 结果与讨论

3.1 $[\text{TbL}]\text{Cl}_3$ 的传感性能

如图1所示, TbL^{3+} 分子结构不包含芳环结构, Tb^{3+} 的电子f-f跃迁受阻导致其摩尔吸光系数很小, 因而 TbL^{3+} 仅能发射非常微弱的荧光(图2). 有机磷化合物杀螟腈几乎不发出荧光(图2), 但其可以大幅敏化 TbL^{3+} 的荧光(图2). 荧光寿命测试表明, TbL^{3+} 在甲醇中的荧光寿命为1.09 ms, 当加入杀螟腈分子后, TbL^{3+} 的荧光寿命延长至1.55 ms(表1). 其原因为 TbL^{3+} 的配位数仅

图1 TbL^{3+} 对杀螟腈的传感机理(网络版彩图)

图2 [TbL]Cl₃、杀螟腈以及杀螟腈/[TbL]Cl₃的甲醇溶液的荧光光谱图。[TbL]Cl₃和杀螟腈的浓度分别为50和100 μmol/L。λ_{ex}=275 nm。插图为[TbL]Cl₃、杀螟腈以及杀螟腈/[TbL]Cl₃紫外灯下的照片(波长为254 nm)(网络版彩图)

为6, 而Tb³⁺的饱和配位数为8~9, 含有苯环结构的杀螟腈分子通过氧原子与Tb(III)配位, 促使激发态的苯环将能量转移给Tb(III)的激发态(⁵D₄轨道), 激发态衰减至基态(f轨道)时可发出Tb(III)的特征荧光(图1)。从图2中可以看出, 在450~650 nm波长范围内, 该体系的荧光光谱中共出现了4组峰: 489 (⁵D₄→⁷F₆)、547 (⁵D₄→⁷F₅)、586 (⁵D₄→⁷F₄)以及621 nm (⁵D₄→⁷F₃), 其中547 nm处的荧光强度最强^[19], 以547 nm作为检测波长测量TbL³⁺/杀螟腈的激发光谱, 其荧光最大激发波长为260 nm, 此波长恰为苯环的特征吸收, 进一步佐证了以上结论。

进一步研究发现, 随着体系中杀螟腈浓度的增加, 配合物TbL³⁺的荧光强度也随之增强(图3), 选取波长为547 nm处的荧光强度来分析杀螟腈与TbL³⁺的作用机理, 结果示于图3插图中。从图3中可以看出, TbL³⁺的荧光强度随着杀螟腈浓度的增加而线性增加, 当杀螟腈浓度增至100 μmol/L后, 体系的荧光强度基本保持不变, TbL³⁺的荧光强度被敏化了55倍(I/I₀)。考虑到TbL³⁺的浓度为50 μmol/L, 表明TbL³⁺与杀螟腈形成了1:2型络合物, 采用工作曲线法进一步验证了上述结论(图S1, 网络版补充材料), 利用Benesi-Hildebrand公式计算了杀螟腈/TbL³⁺络合物的结合常数为K=2.11×10⁴ L/mol(图S2, 补充材料)。TbL³⁺对杀螟腈的检出限可达59 nmol/L(图S3, 网络版补充材料)。

选择性是衡量荧光探针能否实际应用的标准之一。因此, 考察了丙溴磷、毒死蜱、乐果、二嗪农、辛硫磷、倍硫磷、甲基对硫磷和敌敌畏8种有机磷化

图3 配合物TbL³⁺在不同浓度杀螟腈存在下的荧光光谱。插图: I/I₀随杀螟腈浓度的变化关系图, 选取λ_{em}=547 nm处的荧光强度分析, λ_{ex}=275 nm(网络版彩图)

合物对TbL³⁺光物理性能的调控作用, 结果如图4所示。从图4中可以看出, 除杀螟腈外, 其他有机磷化合物对TbL³⁺的光物理性质几乎不产生影响。为了探究TbL³⁺对上述有机磷分子传感差异的可能原因, 利用含时密度泛函理论TD-M06-2x/6-311G(d, p)方法计算了9种有机磷化合物的垂直激发能, 结果列于表S1中(网络版补充材料)。乐果、二嗪农和敌敌畏的T₁能级与Tb³⁺的⁵D₄能级(2.53 eV, 对应发射波长为490 nm)相比过高, 而辛硫磷和甲基对硫磷的T₁能级与Tb³⁺的⁵D₄能级的ΔE太小, 故这5种有机磷化合物均不是合适的能量给体^[19], 不影响TbL³⁺的光物理性质; 其他几种分子的S₁和T₁能级间隔适中, 理论上可以发生有效能量转移。但是, 丙溴磷和毒死蜱中的氧原子均带有较大的乙基, 阻碍了其TbL³⁺的相互作用, 故对TbL³⁺的敏化效率很低。对氧原子带有甲基的杀螟腈和倍硫磷进一步进行激发态结构优化发现, 杀螟腈的S₁和T₁能级分别为5.07和3.39 eV, 与基态间能隙分别为280和448 nm, 与Tb³⁺的T₁→⁵D₄的能级差匹配较好, 因此, 杀螟腈的激发态可通过系间窜跃至三线态并通过能量转移敏化Tb³⁺的荧光(图1)^[19]。而倍硫磷经结构优化后, 其S₁和T₁能级为4.45和2.43 eV, 其中T₁态的T₁/S₀能隙仅为1955 nm, 表明其T₁激发态极易经T₁→S₀系间窜跃失活, 故对TbL³⁺的敏化效率非常有限(图4(b))。

3.2 传感机理研究

为了研究杀螟腈和TbL³⁺的作用方式, 测试了

图4 (a) 9种有机磷化合物的结构示意图; (b) TbL^{3+} 对9种有机磷化合物的传感情况(网络版彩图)

TbL^{3+} 、杀螟腈以及 TbL^{3+} /杀螟腈混合物的红外光谱, 结果如图S4(网络版补充材料)所示. 杀螟腈的红外光谱中 928 和 1036 cm^{-1} 处的信号峰分别为P—O键的伸缩振动和弯曲振动峰^[22], 在 TbL^{3+} /杀螟腈混合物的红外光谱中该两组峰则分别移至 926 和 1032 cm^{-1} 处, 其原因为杀螟腈分子中的氧原子与Tb(III)配位, 导致P—O键的振动频率降低. 高分辨质谱测试也表明, TbL^{3+} 络合了2个杀螟腈分子(图S5, 网络版补充材料), 该实验结果与上述荧光性能研究结果完全一致(图2, 图S1, 网络版补充材料). Tb(III)的饱和配位数为8~9^[23], 为了探究 TbL^{3+} 中Tb(III)的配位状态, 利用荧光寿命测试手段研究了Tb(III)的配位溶剂分子数. 当甲醇分子被Tb(III)络合时, 甲醇分子中O—H键的快速振动可消耗激发态Tb(III)的能量, 导致Tb(III)的荧光寿命较短, 以 CH_3OD 替换甲醇分子, 由于O—D键的振动频率要低于O—H键, 故Tb(III)的荧光寿命增长, 通过分别测量 TbL^{3+} 在甲醇和氘代甲醇中的荧光寿命, 根据式(1)可以求得Tb(III)的配位溶剂分子数 m ^[24].

$$m = 8.4 \times \left(\frac{1}{\tau_{\text{CH}_3\text{OH}}} - \frac{1}{\tau_{\text{CH}_3\text{OD}}} - 0.03 \right) \quad (1)$$

其中, $\tau_{\text{CH}_3\text{OH}}$ 和 $\tau_{\text{CH}_3\text{OD}}$ 分别代表 TbL^{3+} 在 CH_3OH 和 CH_3OD 中的荧光寿命. 图S6(a, b)(网络版补充材料)分别为配合物 TbL^{3+} 和 TbL^{3+} /杀螟腈在 CH_3OH 和 CH_3OD 中的荧光衰减曲线. 通过拟合荧光衰减曲线可得 TbL^{3+} 在不同环境下的荧光寿命, 结果列于表1中. TbL^{3+} 在 CH_3OH 和 CH_3OD 中的荧光寿命分别为 1.09 和 1.35 ms ,

表1 $[\text{TbL}]\text{Cl}_3$ 在不同溶剂中的荧光寿命、衰减速率常数及配位甲醇分子数

样品	τ (ms)	K (ms^{-1})	m
$[\text{TbL}]\text{Cl}_3 + (\text{CH}_3\text{OH})$	1.09	0.92	1.3
$[\text{TbL}]\text{Cl}_3 + (\text{CH}_3\text{OD})$	1.35	0.74	
$[\text{TbL}]\text{Cl}_3 + \text{Cyanophos} (\text{CH}_3\text{OH})$	1.55	0.64	1.3
$[\text{TbL}]\text{Cl}_3 + \text{Cyanophos} (\text{CH}_3\text{OD})$	2.17	0.46	

络合杀螟腈后, TbL^{3+} 在 CH_3OH 和 CH_3OD 中的荧光寿命分别增至 1.55 和 2.17 ms . 根据式(1)计算可知, TbL^{3+} 络合了一个甲醇分子($m = 1.3$), 而杀螟腈与 TbL^{3+} 配位并没有取代络合态的甲醇分子($m = 1.3$). 综上所述, TbL^{3+} 对杀螟腈的配位以及传感过程可用图1描述.

4 结论

本工作中, 设计合成了以1,4,7-三氮杂环壬烷衍生物为配体的Tb(III)配合物—— $[\text{TbL}]\text{Cl}_3$. TbL^{3+} 结构中不含芳环结构且配位数仅为6, 故其自身发光效率很低. TbL^{3+} 可络合两个杀螟腈分子而大幅敏化 TbL^{3+} 的荧光($I/I_0 = 55$), 据此实现了对杀螟腈的“turn on”传感. 该荧光探针对杀螟腈的检出限为 59 nmol/L . 然而丙溴磷、毒死蜱、乐果、二嗪农、辛硫磷、倍硫磷、甲基对硫磷和敌敌畏8种有机磷化合物对 TbL^{3+} 的光物理性质几乎不产生影响. 因此, 该荧光探针实现了对杀螟腈的高选择性、高灵敏识别. 尽管基于镧系金属配合物的有机磷荧光探针已有报道, 然而目前报道的此类荧光探针均是基于有机磷化合物取代镧系金属

离子(Tb^{3+} 、 Eu^{3+})的配体导致体系荧光被淬灭来实现对有机磷化合物的检测^[10-18], 但“turn off”荧光探针易

被干扰且因背景荧光强而导致其灵敏度较差, 因此, 本工作为设计制备新型有机磷荧光探针提供了新思路.

参考文献

- 1 Delfino RT, Ribeiro TS, Figueroa-Villar JD. *J Braz Chem Soc*, 2009, 20: 407–428
- 2 Zhang L, Wang Z, Wen Y, Shi J, Wang J. *Anal Methods*, 2015, 7: 205–210
- 3 Acosta-Tejada GM, Medina-Peralta S, Moguel-Ordóñez YB, Muñoz-Rodríguez D. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 400: 885–891
- 4 Sharma D, Nagpal A, Pakade YB, Katnoria JK. *Talanta*, 2010, 82: 1077–1089
- 5 Nagaraju PM, Bhargavi SM, Praveen US, Kemparaju K. *J Chem Pharm Res*, 2013, 5: 231–239
- 6 Khan MAK, Long YT, Schatte G, Kraatz HB. *Anal Chem*, 2007, 79: 2877–2884
- 7 Aragay G, Pino F, Merkoçi A. *Chem Rev*, 2012, 112: 5317–5338
- 8 Walton I, Davis M, Munro L, Catalano VJ, Cragg PJ, Huggins MT, Wallace KJ. *Org Lett*, 2012, 14: 2686–2689
- 9 Zhang K, Yu T, Liu F, Sun M, Yu H, Liu B, Zhang Z, Jiang H, Wang S. *Anal Chem*, 2014, 86: 11727–11733
- 10 Knapton D, Burnworth M, Rowan SJ, Weder C. *Angew Chem Int Ed*, 2006, 45: 5825–5829
- 11 Zhang H, Hua X, Tuo X, Chen C, Wang X. *J Rare Earths*, 2012, 30: 1203–1207
- 12 Zhang H, Hua X, Tuo X, Wang X. *J Rare Earths*, 2012, 30: 705–708
- 13 Zhang HX, Wei RB, Chen CZ, Tuo XL, Wang XG. *Chin Chem Lett*, 2015, 26: 39–42
- 14 Shunmugam R, Tew GN. *Chem Eur J*, 2008, 14: 5409–5412
- 15 Sarkar S, Mondal A, Tiwari AK, Shunmugam R. *Chem Commun*, 2012, 48: 4223–4225
- 16 Dennison GH, Sambrook MR, Johnston MR. *Chem Commun*, 2014, 50: 195–197
- 17 Dennison GH, Sambrook MR, Johnston MR. *RSC Adv*, 2014, 4: 55524–55528
- 18 Barba-Bon A, Costero AM, Gil S, Sancenón F, Martínez-Mañez R. *Chem Commun*, 2014, 50: 13289–13291
- 19 Heffern MC, Matosziuk LM, Meade TJ. *Chem Rev*, 2014, 114: 4496–4539
- 20 Amin S, Morrow JR, Lake CH, Churchill MR. *Angew Chem Int Ed Engl*, 1994, 33: 773–775
- 21 Amin S, Marks C, Toomey LM, Churchill MR, Morrow JR. *Inorg Chim Acta*, 1996, 246: 99–107
- 22 Lin-Vien D, Colthup NB, Fatelley WG, Grasselli JG. *The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules*. San Diego: Academic Press, 1991
- 23 Feng J, Zhang H. *Chem Soc Rev*, 2013, 42: 387–410
- 24 Klink SI, Grave L, Reinhoudt DN, Veggel FCJM, Werts MHV, Geurts FAJ, Hofstraat J W. *J Phys Chem A*, 2000, 104: 5457–5468

A “turn on” fluorescent probe based on Tb(III) complex for the detection of organophosphorus pesticides

Jingmiao Quan[†], Hairui Lei[†], Fengyi Liu, Junlin Yan, Jing Liu^{*}, Yu Fang

Key Laboratory of Applied Surface and Colloid Chemistry, Ministry of Education, School of Chemistry & Chemical Engineering, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China

^{*}Corresponding author (email: jliu@snnu.edu.cn)

[†]Contributed equally to this work.

Abstract: The abuse of organophosphate pesticides and chemical-warfare agents has made severe effects on human and animal health. Consequently, it is vital to develop sensitive and selective strategies for the detection of organophosphates. In this work, the Tb(III) complex—**TbL**³⁺, consisting of a 1,4,7-triazacyclononane derivative as ligand was synthesized. As **TbL**³⁺ contains no aromatic groups (function as an antenna), its intrinsic luminescence is thus minimized. The coordination of cyanophos to **TbL**³⁺ could largely sensitize its luminescence ($I/I_0=55$) because the energy of the triplet state of benzene is slightly higher in energy than the ⁵D₄ of Tb(III). The detection limit for cyanophos was determined as 59 nmol/L. High resolution mass spectrum measurements, luminescence titration experiment and luminescence lifetime measurements reveal that **TbL**³⁺ is bound with two cyanophos molecules and one methanol molecule. However, other organophosphates such as profenofos, chlorpyrifos, dimethoate, diazinon, phoxim, fenthion, methyl parathion and dichlorvos almost did not induce any changes on luminescence intensity under the same conditions. By this work, we prepared a new luminescence probe for cyanophos with good selectivity and sensitivity.

Keywords: Tb(III) complex, fluorescent probes, organophosphate

doi: [10.1360/N032016-00181](https://doi.org/10.1360/N032016-00181)