

## 吡啶酮衍生物作为增强型荧光信号探针用于 8-羟基喹啉铜的检测

江信健<sup>1</sup>, 陈枝华<sup>1</sup>, 王友强<sup>1</sup>, 陈则通<sup>1</sup>, 郑荔<sup>1\*</sup>, 李小岗<sup>1</sup>, 范婷婷<sup>1</sup>, 张静<sup>2</sup>, 谢勇平<sup>2</sup>

(1. 福州出入境检验检疫局, 福建福州 350002; 2. 福建农林大学生命科学学院化学生物系, 福建福州 350002)

**摘要** [目的] 建立一种检测 8-羟基喹啉铜的方法。[方法] 采用自制合成的吡啶酮衍生物 10-甲基-3-硝基-吡啶酮(MAT) 作为增强型荧光信号探针, 建立 8-羟基喹啉铜的测定方法。[结果] 在最佳条件下荧光增强值与 8-羟基喹啉铜的浓度在  $5 \times 10^{-9}$  ~  $5 \times 10^{-5}$  mol/L 范围内成良好的线性关系, 检测限为  $6 \times 10^{-10}$  mol/L。[结论] 该方法灵敏度高、检测范围宽, 结果令人满意, 可用于实际样品中 8-羟基喹啉铜含量的直接测定。

**关键词** 8-羟基喹啉铜; 10-甲基-3-硝基-吡啶酮; 荧光; 增强

**中图分类号** S432 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)03-104-02

## Acridone Derivatives as an Enhanced Fluorescent Signal Probe for Detection of 8-hydroxyquinoline Copper

JIANG Xin-jian, CHEN Zhi-hua, WANG You-qiang, ZHENG Li\* et al (Fuzhou Entry-exit Inspection & Quarantine Bureau, Fuzhou, Fujian 350002)

**Abstract** [Objective] The aim was to establish a detection method for 8-hydroxyquinoline Copper. [Method] Using the self-made acridone derivative 10-methyl-3-nitro-acridone (MAT) as an enhanced fluorescence signal probe, a method for determination of 8-hydroxyquinoline copper was established. [Result] Under the optimal conditions, the value of fluorescence enhancement showed a good linear relationship with the concentration of 8-hydroxyquinoline copper in the range of  $5 \times 10^{-9}$  to  $5 \times 10^{-5}$  mol/L, and the detection limit was  $6 \times 10^{-10}$  mol/L. [Conclusion] The method has high sensitivity and wide detection range, so it can be used for direct determination of 8-hydroxyquinoline copper in real samples with satisfactory results.

**Key words** 8-hydroxyquinoline copper; MAT; Fluorescence; Enhanced

8-羟基喹啉铜由 8-羟基喹啉与硫酸铜作用而得, 农业上用作杀菌剂, 也用作竹木产品、绳索、线、皮革、乙烯基塑料的防霉剂。近年来研究表明, 8-羟基喹啉铜具有较强的生物活性, 有一定的致癌作用, 因此会给人类健康和生态环境带来很大危害<sup>[1-2]</sup>。目前 8-羟基喹啉铜的测定方法已报道的有高效液相色谱<sup>[3-4]</sup>等, 但是这些方法或是仪器昂贵、操作复杂, 或是检测限高、选择性低。荧光增强法是利用某些物质对荧光化合物的荧光增强作用, 通过测量荧光化合物的荧光增强值间接地实现对该物质的含量测定<sup>[5-7]</sup>。该法具有检出限低、灵敏度高、操作简单快速和稳定性好等特点, 目前已成功用于一些激素类药物的分析, 但利用该法测定 8-羟基喹啉铜的研究尚未见报道。为此, 笔者采用自制合成的吡啶酮衍生物 MAT 作为增强型荧光信号探针, 建立了一种测定 8-羟基喹啉铜的方法, 以期对 8-羟基喹啉铜的监测提供理论依据。

## 1 材料与方法

## 1.1 材料

**1.1.1 仪器。** Cary Eclipse 荧光光谱仪(Agilent 公司); 10 mm 石英比色皿; pHs-3B 型精密酸度计(上海雷磁仪器厂); BS110S 电子分析天平(德国 Sartorius 公司); 超声波清洗器(江苏昆山超声仪器有限公司); 超纯水系统(Millipore Milli-Q)。

**1.1.2 试剂。** MAT(自制合成); 8-羟基喹啉铜标准品(Sigma-Aldrich 公司); 其他试剂均为分析纯。

## 1.2 方法

**1.2.1 8-羟基喹啉铜标准溶液( $1.0 \times 10^{-3}$  mol/L)的配制。**

称 8-羟基喹啉铜标准品用无水乙醇溶解并定容, 摇匀即得, 用时再用相应缓冲液稀释至所需浓度。

**1.2.2 MAT 的合成。** 称取 1.0 g 吡啶酮于烧杯中, 加入 12.5 ml DMF, 加热至 160 °C, 在搅拌下加入碘甲烷反应 30 min。趁热将溶液倾入冰水中, 有固体沉淀物析出。将所得的固体滤出, 并用无水乙醇进一步重结晶纯化, 于 75 °C 烘箱中干燥, 得到黄色晶体。称取 0.6 g 上述晶体于干燥圆底烧瓶中, 加入 36% 醋酸 3 ml, 再依次滴加 0.36 ml 浓硝酸和 0.8 ml 冰醋酸, 搅拌加热。保持在 58 °C 反应 2 h。趁热倒入布氏漏斗中, 抽滤, 滤饼水洗后烘干, 得到黄色固体粗品, 无水乙醇重结晶后得到黄色针状粉末(MAT)。MAT 的表征数据如下: C, 66.22%; H, 4.12%; N, 11.02% (计算值: C, 66.14%; H, 3.94%; N, 11.02%); IR (KBr)  $\nu$ : 2970, 2860 ( $\nu$ CH<sub>3</sub>), 1584 ( $\nu$ C-C), 1650 ( $\nu$ C $\frac{1}{4}$ C), 1380 ( $\nu$ C-NO<sub>2</sub>)。MS:  $m/z$  255 ([M+1]<sup>+</sup>)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ) 7.82 (d, ArH), 7.64 (s, ArH), 7.62 (t, ArH), 7.48 (d, ArH), 6.92 (d, ArH), 6.76 (t, ArH), 6.50 (d, ArH), 及 2.72 (m, CH<sub>3</sub>)。

**1.2.3 试验方法。** 在量瓶中依次加入适量 MAT 溶液、8-羟基喹啉铜标准溶液, 用亚沸水稀释定容, 摇匀。以波长 341 nm 光激发, 在 422 nm 波长处测定荧光强度, 激发和发射光狭缝值分别为 10 和 5 nm, 同时测定试剂空白荧光强度值。考察荧光增强与浓度的关系。

## 2 结果与分析

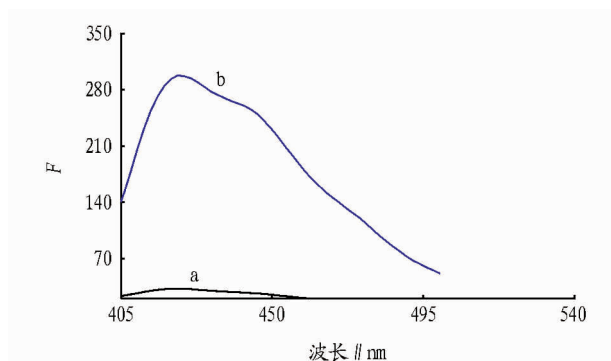
**2.1 通过荧光方法验证设计原则** 用荧光法验证传感器的可行性。MAT 在 422 nm 波长处发出较强的荧光(图 1), 加入 8-羟基喹啉铜后, 由于 8-羟基喹啉铜与 MAT 的静电作用, 从而发生能量共振转移, 荧光增强。且在一定浓度范围内随着浓度的增大而增强, 据此拟定了测定 8-羟基喹啉铜的

**基金项目** 福建检验检疫局科技项目(FK2012-20)。

**作者简介** 江信健(1963-), 男, 福建福州人, 高级农艺师, 硕士, 从事植物检疫研究。\* 通讯作者, 硕士, 从事植物检疫研究。

**收稿日期** 2014-11-28

新方法。结果表明,该方法是可行的。



注:a. MAT;b. 8-羟基喹啉铜。

图1 MAT、8-羟基喹啉铜共存时的荧光光谱

**2.2 MAT 浓度变化对体系的影响** 以 8-羟基喹啉铜为测定对象,对体系的测定条件进行了选择,首先考察了溶液浓度变化对体系荧光增强  $\Delta F$  的影响,8-羟基喹啉铜浓度固定为  $10 \mu\text{mol/L}$ , MAT 溶液浓度从  $1.0 \mu\text{mol/L}$  变化到  $0.1 \text{mmol/L}$ 。结果表明,当体系中的 MAT 浓度为  $10.0 \mu\text{mol/L}$  时,荧光增强程度最大且处于一个较稳定的状态。因此,选取体系中 MAT 溶液的浓度为  $10.0 \mu\text{mol/L}$ 。

**2.3 pH 变化对体系的影响** 研究了不同 pH 条件对体系荧光增强  $\Delta F$  的影响。结果表明,在 pH  $6.0 \sim 7.0$  范围内,体系在 8-羟基喹啉铜存在前后,光强度增强程度较稳定。因此,试验体系选择 pH 为 6.5。

**2.4 溶液温度对体系的影响** 通过控制溶液的温度考察溶液温度对体系的影响。结果表明,温度从  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  变化到  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ ,体系的荧光强度在加入前后的变化值随着温度的升高而基本保持不变,故选择室温进行测定。

**2.5 干扰试验结果** 在 MAT 浓度为  $10.0 \mu\text{mol/L}$ 、8-羟基喹啉铜浓度为  $10.0 \mu\text{mol/L}$  的测定条件下(相对误差  $\pm 5\%$ )进行干扰试验。对于  $10.0 \mu\text{mol/L}$  的 8-羟基喹啉铜而言,1 000 倍量的  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  等金属离子,环糊精、葡萄糖以及饱和的淀粉水溶液不干扰测定。表面活性剂溴化十六烷基吡啶及十二烷基磺酸钠会使荧光强度稍微下降。

**2.6 线性关系考察** 按照试验方法,测定一系列不同浓度 8-羟基喹啉铜对 MAT 的荧光增强曲线(图 2)。结果表明,在  $5 \times 10^{-9} \sim 5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$  范围内,8-羟基喹啉铜素的浓度与荧光强度成良好的线性关系(图 3),线性回归方程为: $I_p = 1.91c + 4.95$ ,式中  $I_p$  单位为  $\mu\text{A}$ ,C 单位为  $10^{-9} \text{ mol/L}$ ,相关系数  $R = 0.9934$ ,检出限为  $6 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$ 。

**2.7 样品测定** 8-羟基喹啉铜在水中溶解度较低,是一种不易水解且难挥发的物质。大量使用的 8-羟基喹啉铜最终通过各种途径进入到人体中,而最近有报道表明 8-羟基喹啉铜对生物体具有一定毒性,并且在一定条件下会转化成强致癌物质。竹木产品对 8-羟基喹啉铜具有明显的吸附作用,且吸附在竹木产品中的 8-羟基喹啉铜降解十分缓慢,因此很有必要对竹木产品中吸附的 8-羟基喹啉铜的含量进行监测。所

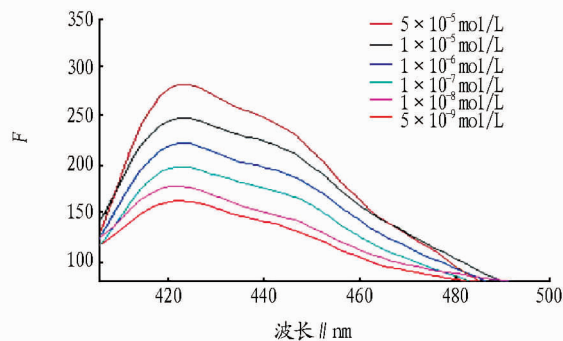


图2 不同浓度 8-羟基喹啉铜标准溶液加入后体系的荧光光谱曲线

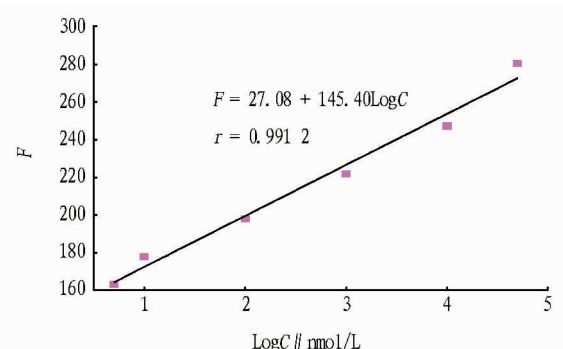


图3 MAT 的荧光强度与 8-羟基喹啉铜浓度的对数值线性关系

有竹木产品样品均采自福建省。使用前转移适量样品置于锥形瓶中,加入萃取溶剂,常温下超声萃取,过滤,滤液旋转蒸发,用流动相定容,用滤膜过滤后作为供试液进行加标回收试验。在空白样品中分别添加  $1 \times 10^{-8}$ 、 $5 \times 10^{-8}$ 、 $10 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$  3 个浓度水平的 8-羟基喹啉铜标准溶液,测定其回收率,结果表明方法的平均回收率为 97.6%、111.2%、108.6%。3 个添加浓度水平下精密度试验的相对标准偏差(RSD)均小于 5%。回收率试验结果令人满意。

### 3 结论

建立了 8-羟基喹啉铜含量测定的荧光法,并对其测定条件进行了优化。与同类方法相比,该方法具有所用样品量少、灵敏度高、检出限较低、反应快速、稳定性好和操作简单等特点。该方法可用于实际样品的分析,结果令人满意。

### 参考文献

- [1] 邓忠明,曾繁添. 防霉型电子元器件用聚氨酯密封胶的研究[J]. 粘接, 2001, 22(2): 7-11.
- [2] 傅岩,梅毓华. 二(8-羟基喹啉)铜的固相合成及其反应的研究[J]. 化工时刊, 1998, 12(4): 19-21.
- [3] 张培志,吴军,刘继东. 高效液相色谱法分离检测 8-羟基喹啉和 8-羟基喹啉铜[J]. 分析化学, 2003, 31(9): 1150.
- [4] 章新,朱惠贤,王林,等. 微柱高效液相色谱法测定  $\text{Cu}(\text{HQ})_2\text{HQ}$ [J]. 云南民族大学学报:自然科学版, 2005, 14(2): 123-124.
- [5] 潘祖亭,刘义庆,颜承农. 醋酸甲地孕酮的荧光分析法研究[J]. 武汉大学学报学报, 2001, 47(6): 663.
- [6] 刘义庆,马勇,张曙盛. 醋酸泼尼松龙的荧光分析法研究环[J]. 武汉大学学报, 2003, 49(4): 663.
- [7] 刘义庆,刘丽江,周炜. 增效荧光法测药物中醋酸氢化泼尼松的含量[J]. 江汉大学学报:自然科学版, 2004, 32(2): 71.