

香豆素衍生物的光谱性质研究及痕量 Fe^{3+} 的测定

李芳, 孙向英

华侨大学材料学院, 福建泉州 362021

摘要 对比考查了水与乙醇溶液中不同浓度下丁二酸(7-羟基香豆素)单酯(SCE)的荧光光谱特性, 基于溶剂本身的性质及 SCE 在氢键溶剂中的二聚作用对其光谱进行了讨论。同时基于不同 pH 值水溶液中荧光光谱的变化, 计算得到该试剂激发态分子的酸离解常数 $pK_a^* = 2.03$ 。研究发现在 pH 3.3 盐酸介质中, Fe^{3+} 可使 SCE 的荧光猝灭, 且其荧光猝灭程度与 Fe^{3+} 的加入量呈线性关系。该方法线性范围为 $0.66 \sim 6.59 \mu g \cdot L^{-1}$, 方法检测限为 $51 ng \cdot L^{-1}$, 对比母体 7-羟基香豆素对 Fe^{3+} 的检测, SCE 测定的灵敏度提高了 10^4 倍, 从而建立了荧光猝灭法测定痕量 Fe^{3+} 的新方法。

关键词 丁二酸(7-羟基香豆素)单酯; 荧光光谱; Fe^{3+} ; 荧光猝灭

中图分类号: O657.3 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2008)09-2165-04

引言

香豆素类化合物是一类用途广泛的精细化工产品, 有着重要的工业价值。它们不仅广泛地用作荧光增白剂、荧光染料和激光染料^[1], 还应用于电致发光材料和生物蛋白研究^[2,3]的荧光探针。通过在香豆素环上不同位置的取代基修饰, 可以得到具有不同范围荧光发射波长的、具有良好的荧光分析特性的衍生物。因此进一步研究和开发香豆素类衍生物具有重要意义。

本文用丁二酸酐和 7-羟基香豆素合成了含有羧基基团的丁二酸(7-羟基香豆素)单酯(SCE), 研究比较了 SCE 在水与不同浓度下的乙醇溶液中荧光光谱性质。发现其峰形和峰位不仅随溶剂而变。且随浓度而变, 我们认为在高浓度 SCE 溶液中存在二聚现象, 据此对其光谱性质进行了讨论。同时测定了其激发态分子的酸性常数。研究发现, 在盐酸介质中, Fe^{3+} 可使 SCE 的荧光发生猝灭, 从而建立了对痕量 Fe^{3+} 测定的新方法, 检测限达 $51 ng \cdot L^{-1}$ 。对比母体 7-羟基香豆素对 Fe^{3+} 的检测, 可以发现 SCE 测定的灵敏度提高了 10^4 倍。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

VARIAN 荧光光度分光光度计(美国), SHIMADZU 紫

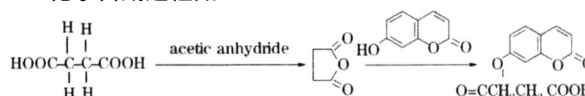
外可见光光度计(日本), NEXUS470 傅里叶变换红外光谱仪(美国), 奥立龙 828 型 pH 计(美国)。

Fe^{3+} 标准溶液用 $Fe_2(SO_4)_3$ 配成含 Fe^{3+} 浓度为 $33.05 mg \cdot L^{-1}$ 的储备液, 使用时逐级稀释; SCE 溶液为实验室自行合成, 实验时用不同溶剂配制所需浓度的溶液; $0.1 mol \cdot L^{-1}$ HCl 溶液; 所用试剂均为 AR 级, 水为二次水。

1.2 丁二酸(7-羟基香豆素)单酯(SCE)的合成

根据参考文献[4], 用丁二酸酐和 7-羟基香豆素合成了丁二酸(7-羟基香豆素)单酯(SCE), 熔点为 $235^\circ C$ 。

化学合成过程如 Scheme 1



Scheme 1 Chemical composition

用 KBr 压片测定合成物质 SCE 的红外吸收谱图(图 1), 分析结果为 (λ_{max}, cm^{-1}), $C=O = 1740$, $as CH_2 = 1414$,

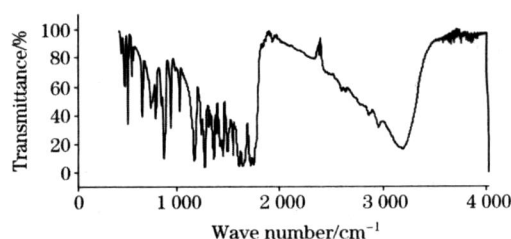


Fig 1 Infrared absorption spectrum of SCE

收稿日期: 2007-03-16, 修订日期: 2007-06-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(20575023)资助

作者简介: 李芳, 女, 1973 年生, 华侨大学材料学院讲师 e-mail: lifangqz@hqu.edu.cn

$A_{r-O} = 1\ 513$, $s_{C=C} = 1\ 604$, $as_{C=O} = 1\ 681$, $as_{>CH_2} = 2\ 924$, 红外谱峰位置与文献[4]报道相符。

1.3 实验方法

1.3.1 光谱研究

在相同仪器参数条件下,用 1 cm 石英池测定各溶液的荧光激发和发射光谱。

1.3.2 Fe^{3+} 的测定

在 10 mL 比色皿中,依次加入 0.2 mL 盐酸,0.6 mL SCE 溶液,适量的 Fe^{3+} 标准溶液,用二次水定容,摇匀,在室温下放置 45 min 后,用 1 cm 石英皿,狭缝 $EX = EM = 2.5$ nm,在 $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 347/457$ nm 处检测溶液的荧光强度 F ,以对应试剂空白为 F_0 ,计算 $F = F_0 - F$ 值。

2 结果与讨论

2.1 SCE 荧光光谱

2.1.1 SCE 水溶液的荧光光谱

图 2 显示, SCE 水溶液的激发光谱随浓度变化有明显的改变,表明其有不同的吸光物种。高浓度 (1×10^{-3} mol \cdot L $^{-1}$) 时,激发光谱呈现两个相互分离的峰形,其峰值波长分别为主峰 $\lambda_{ex} = 367$ nm,次峰 $\lambda_{ex} = 258$ nm;随浓度的减小,两激发峰逐渐消失,而在 290 ~ 300 nm 间出现了新峰;浓度减低到小于 1×10^{-5} mol \cdot L $^{-1}$ 后,激发峰移至 325 nm 处。

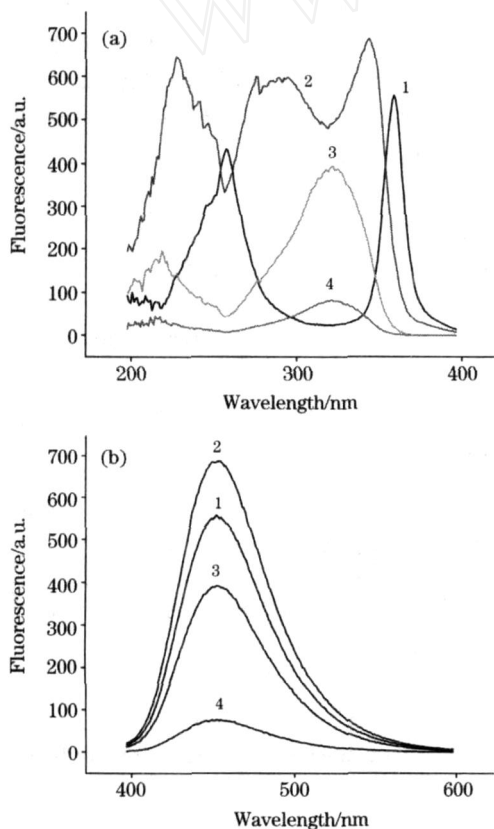


Fig 2 Fluorescence spectra of SCE in water

(a): Excitation spectra; (b): Emission spectra; SCE (mol \cdot L $^{-1}$): 1: 1×10^{-3} ; 2: 1×10^{-4} ; 3: 1×10^{-5} ; 4: 1×10^{-6}

且稳定出现。这与 SCE 的最大吸收波长相对应。尽管 SCE 水溶液的荧光激发谱随浓度改变有如此显著的变化,但其荧光发射光谱峰形和峰位始终保持稳定,呈 $\lambda_{em}^{max} = 457$ nm 的单峰状态,与浓度和激发波长的选择无关。

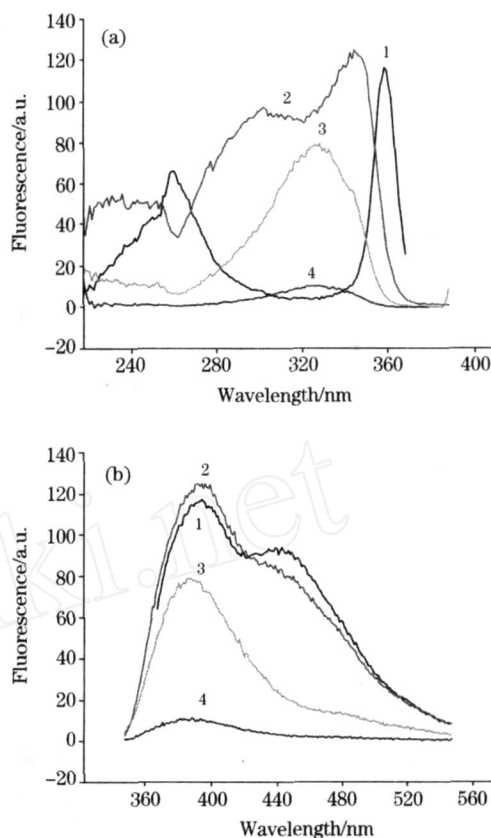


Fig 3 Fluorescence spectra of SCE in ethanol

(a): Excitation spectra; (b): Emission spectra; SCE (mol \cdot L $^{-1}$): 1: 1×10^{-3} ; 2: 1×10^{-4} ; 3: 1×10^{-5} ; 4: 1×10^{-6}

2.1.2 SCE 乙醇溶液的荧光光谱

SCE 的乙醇溶液与水溶液的激发光谱在变化上很相似(图 3),浓度为 1×10^{-3} mol \cdot L $^{-1}$ 时呈现分离的双峰,随着浓度的降低,也是两峰消失,最后稳定在 325 nm 单峰处。而发射光谱与水溶液相比,在高浓度时除了 392 nm 处的主峰外,还观察到与水溶液峰位相近的 452 nm 的肩峰。随浓度减小肩峰消失,主峰(392 nm)位置则不随浓度变化而变化。

由于 7-羟基香豆素可以借助于与溶剂间氢键的缔合作用形成二聚体,导致受激物基态能量增大,对应的最大激发波长向长波方向移动^[5]。SCE 在不同浓度水和乙醇溶液中的这种光谱行为,与其母体 7-羟基香豆素的光谱性质十分类似,我们推测在 SCE 中存在羧基,其也可借助于与溶剂间氢键的缔合作用形成二聚体。浓度越高,溶剂形成氢键的能力越强,有利于二聚体的形成,故 SCE 的荧光激发光谱主峰位置随浓度增高而红移。此外,由于水形成氢键的能力很强,所以其水溶液 456 nm 的荧光发射峰的峰形及峰位不随浓度变化而变化;对于乙醇溶液,由于其形成氢键的能力小于水,故在高浓度时,除了 392 nm 处的主峰外,还观察到与水溶液峰位相近的 452 nm 的肩峰,而在低浓度时,仅观察到

392 nm 的荧光峰。

2.2 SCE 激发态酸解离常数的测定

实验发现, SCE 的荧光光谱强烈依赖于体系的 pH 值, 如图 4(图中 d 为缝宽)。在 pH 小于 5 时, SCE 的荧光强度随 pH 增加而迅速增大; pH 大于 7 之后, SCE 荧光强度随 pH 增大而递减。

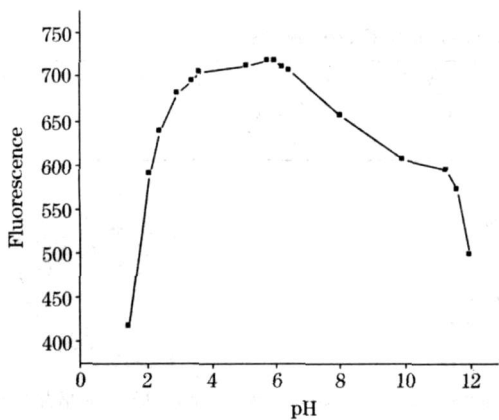


Fig 4 Effect of pH on the fluorescence intensity of SCE

SCE: $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 347/457 \text{ nm}$;
 $d_{\text{ex}} = d_{\text{em}} = 2.5 \text{ nm}$

SCE 为有机弱酸, 在酸性条件下其主要存在的物种为酸性型体 HL。根据参考文献[6]。

$$[\text{H}^+] \cdot E = K_a^* (B - E) \quad (1)$$

式中 B 为常数; $E = E_s - E$, E_s 为该荧光物质在酸性条件的荧光值, E 为任一 pH 时的体系平均摩尔荧光发射强度, E 即为任一 pH 时的体系荧光强度的变化。用 E 对 $[\text{H}^+]$ 作图, 由斜率即可得 SCE 激发态酸解离常数 K_a^* 。

在 pH 1.54 ~ 5.21 范围内, 图 4 所得数据按(1)式作图, 由图 5 得 $[\text{H}^+] E = -2.73 - 0.00933 E$, $r = -0.997$, 计算得到 SCE 激发态酸解离常数 $\text{p}K_a^* = 2.03$ 。

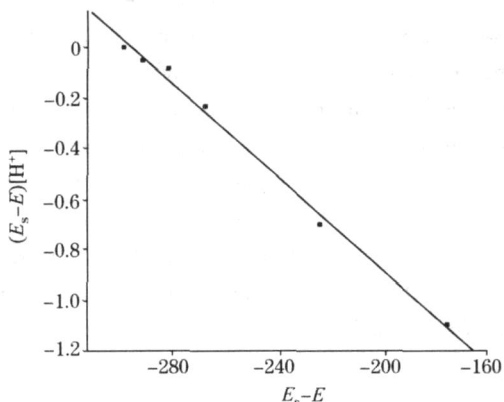


Fig 5 Determinations of $\text{p}K_a^*$ of SCE aqueous solution

SCE: $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

2.3 Fe^{3+} 的测定

实验中我们发现在 SCE 中加入 Fe^{3+} 后, SCE 的荧光强度显著下降, 且荧光猝灭程度在一定范围内与 Fe^{3+} 的含量呈线性关系, 据此我们建立了对痕量 Fe^{3+} 测定的新方法。

2.3.1 SCE 浓度对荧光强度的影响

当 SCE 浓度在 $4.02 \sim 8.03 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, F 达到最大且稳定。故本实验采用 $6.02 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SCE。如上所述, 不同浓度下 SCE 的激发光谱差异较大, $6.02 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SCE 对应的最大激发波长为 347 nm, 最大发射波长为 457 nm, 故在 $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 347/457 \text{ nm}$ 处检测溶液的荧光强度。

2.3.2 酸度的影响

在酸性介质中 Fe^{3+} 使 SCE 荧光猝灭的现象最为显著。以 HCl 为介质, 在 pH 1.5 ~ 5.6 的范围内实验了不同 pH 对反应的影响。结果表明, 反应适宜的 pH 为 3.0 ~ 3.5。本实验选择 pH 3.3 的 HCl 介质中进行测定。

2.3.3 加入顺序的影响

分别改变 SCE 溶液、HCl 溶液、 Fe^{3+} 溶液的加入顺序, 结果发现按先加 HCl, 再加 SCE, 最后加 Fe^{3+} 的顺序配制溶液时, F 最大, 故实验按上述顺序配制。

2.3.4 放置时间的影响

实验发现在室温条件下, 反应 45 min 后, 体系荧光差值变化趋于平稳, 随时间延长变化不大, 故实验采用溶液配制好后, 放置 45 min(见图 6), 再进行测定。

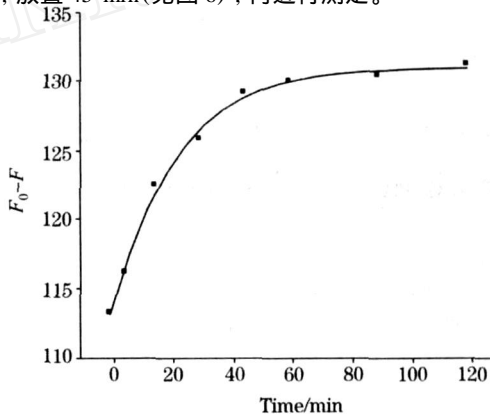


Fig. 6 Effect of time

SCE: $6.02 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; HCl; pH 3.3; Fe^{3+} : $3.31 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

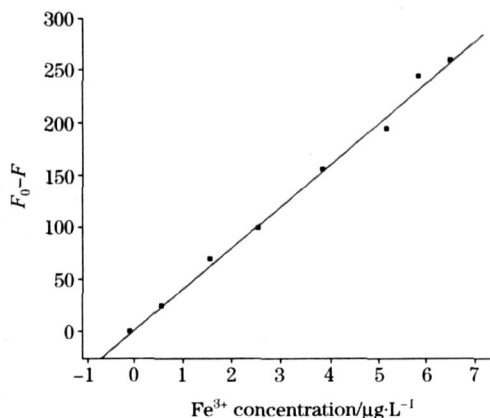


Fig. 7 Calibration curve

SCE: $6.02 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; HCl; pH 3.3

2.3.5 工作曲线及检出限

实验表明 Fe^{3+} 含量在 $0.66 \sim 6.59 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, F 与 Fe^{3+} 含量呈良好的线性关系, 其线性回归方程 $F = F_0 - F = -0.90 + 39.37 \times c_{\text{Fe}^{3+}} (\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$, 相关系数 $r = 0.9975$ 。根据 $\text{CL} = 3S_b / K$ 可算出本法的检出限 $\text{CL} = 51 \text{ ng} \cdot \text{M}^{-1}$ 。对 Fe^{3+} 含量为 $3.31 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准溶液进行 8 平行测定, 其相

对标准偏差为 0.11% (见图 7)。

我们同时对比了母体 7-羟基香豆素对 Fe^{3+} 的检测, 可以发现 SCE 测定的灵敏度提高了 10^4 倍。推测灵敏度的提高是由于 SCE 含有羧基团, 其与 Fe^{3+} 的络合能力远大于 7-羟基香豆素所含的羟基 (见表 1)。

Table 1 Contrast between SCE and 7-hydroxy-coumarin to determine Fe^{3+}

荧光试剂	ex/ em/ nm	酸度	线性范围/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	检测限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
7-羟基香豆素	339/ 455	pH 8.0	$1.27 \times 10^3 \sim 11.39 \times 10^3$	210
SCE	347/ 457	pH 3.3	0.66 ~ 6.59	0.051

参 考 文 献

- [1] Lamansky Sergey, Djurovich Peter, Murphy Drew, et al. J. Am. Chem. Soc., 2001, 123(18): 4304.
- [2] Ahobini J, Mishra A K, Sandhya K, et al. Spectrochim. Acta, Part A, 2001, 57: 1133.
- [3] Corrie J E T, Munasinghe V R N, Retting W. J. Heterocyclic Chem., 2000, 37(6): 1447.
- [4] PENG Zeng-hui, YU Tao, HU Li-fa, et al (彭增辉, 于涛, 胡立发, 等). Chinese Journal of Liquid Crystals and Displays (液晶与显示), 2004, 19(3): 157.
- [5] LI Long-di, ZHANG De-qiang, YANG Shi-zhong (李隆弟, 张德强, 杨世忠). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 1996, 16(2), 95.
- [6] WU Ying-guang, LI Long-di, TONG Ai-jun (吴应光, 李隆弟, 童爱军). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 1999, 19(6): 781.

Study on Fluorescent Properties of Coumarin Derivatives and Determination of Trace Iron

LI Fang, SUN Xiang-ying

College of Material Science and Engineering, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China

Abstract The fluorescence spectra of the succinic acid (7-hydroxy-coumarin) ester (SCE) of different concentration in water and ethanol solvents were studied. It was found that the peak wavelength changes not only with solvent, but also with the concentration. These phenomena of spectra have been discussed on the basis of solvent properties and dimerisation of SCE in hydrogen bonding solvents. The author thought that there are dimerisation phenomena in the SCE solutions at high concentration. The formation of dimer was caused by the aid of hydrogen bonding between SCE and solvent or between SCE themselves. Its acidic dissociation constant at excited state was determined based on the changes of the fluorescence spectra in water. And a simple and sensitive fluorescence quenching method for the determination of trace iron was developed. The method is based on the reaction of SCE with iron in hydrochloric acid medium. The fluorescence intensity was measured with excitation and emission wavelengths of 347 and 457 nm, respectively. The linear range for the determination of iron was $0.66 \sim 6.59 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. The detection limit was $51 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$. The author contrasted SCE with 7-hydroxy-coumarin to determine Fe^{3+} , and found the sensitivity of SCE is 10^4 higher than that of 7-hydroxy-coumarin. To our thinking there is a carboxylate group in SCE, whose coordinate force with iron is stronger than hydroxide radical in 7-hydroxy-coumarin.

Keywords Succinic acid (7-hydroxy-coumarin) ester (SCE); Fluorescence spectra; Iron; Fluorescence quenching

(Received Mar. 16, 2007; accepted Jun. 18, 2007)