



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 119080770 B

(45) 授权公告日 2025. 05. 13

(21) 申请号 202411245560.3

G01N 21/64 (2006.01)

(22) 申请日 2024.09.06

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 101781312 A, 2010.07.21

申请公布号 CN 119080770 A

Yu Hao et al..A water quality assessment model involving novel fluorescence technology.Journal of Environmental Management.2024,第358卷 120898.

(43) 申请公布日 2024.12.06

(73) 专利权人 云南大学

地址 650000 云南省昆明市翠湖北路2号

(72) 发明人 李润洁 李欣宇 刘勇 陈哲

审查员 陈曦

张越 王照民

(74) 专利代理机构 济南泉城专利商标事务所

37218

专利代理师 陈娟

(51) Int.Cl.

G07D 471/04 (2006.01)

G09K 11/06 (2006.01)

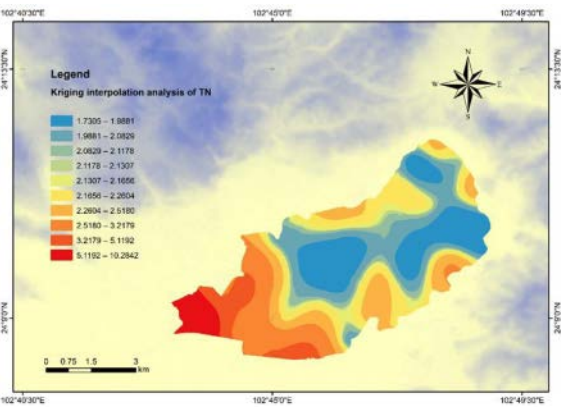
权利要求书2页 说明书6页 附图6页

(54) 发明名称

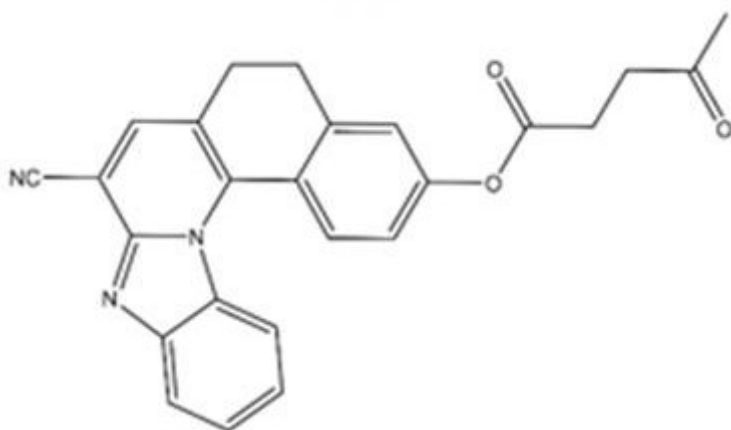
一种用于检测天然水体富营养化的荧光探针及其制备方法、应用

(57) 摘要

本发明提供了一种可以反应天然湖泊中总氮浓度分布的荧光探针及其制备方法和应用,属于化学和生态学的交叉技术领域。本发明提供的荧光探针(简称为化合物MT-BILA)是以酚类化合物为基础合成的新型探针,由于其荧光强度与水体中总氮含量呈现明显相关性,因此能够通过荧光检测方法反应天然湖泊水体中总氮浓度分布。采用本发明提供的化合物MT-BILA反应天然湖泊中总氮浓度分布,操作方法简单,具有广阔的应用前景。



1. 一种荧光探针, 其特征在于, 具有式IV所示结构:

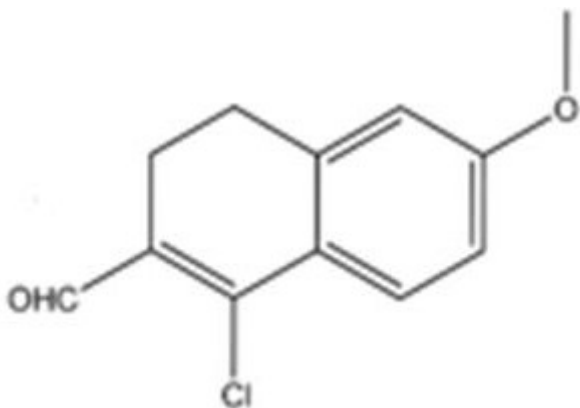


式IV。

2. 一种如权利要求1所述的荧光探针的制备方法, 其特征在于, 包括以下步骤:

(1) 将6-甲氧基-1-萘满酮和三氯氧磷在二甲基甲酰胺中进行硫酸化反应, 经二氯甲烷萃取, 干燥, 得到中间体化合物I;

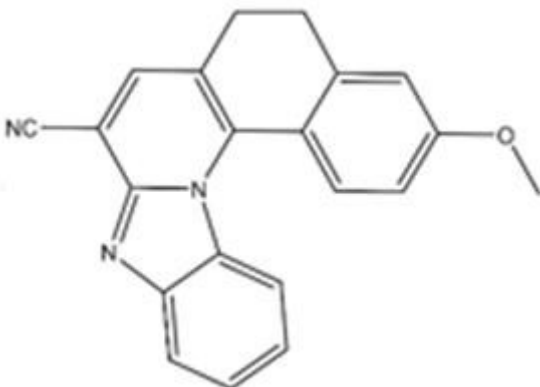
所述中间体化合物I, 具有式I所示结构:



式I;

(2) 中间体化合物I和2-氰甲基苯并咪唑、吡啶在二甲基甲酰胺中进行取代反应, 经二氯甲烷萃取, 干燥, 得到中间体化合物II;

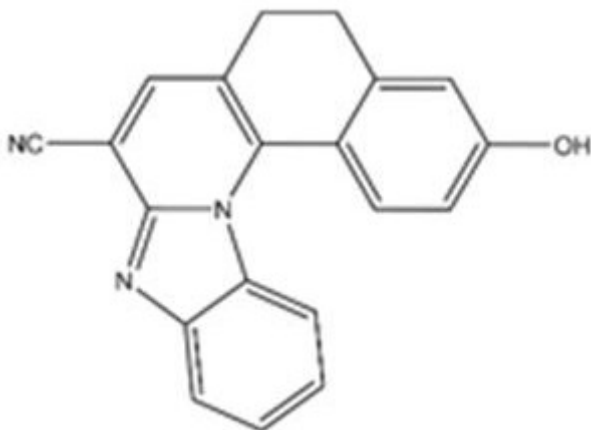
所述中间体化合物II, 具有式II所示结构:



式II;

(3) 中间体化合物 II 和三溴化硼在二氯甲烷中进行水解反应, 经二氯甲烷萃取及硅胶柱层析法纯化得到中间体化合物 III;

所述中间体化合物 III, 具有式 III 所示结构:



式 III;

(4) 中间体化合物 III 和乙酰丙酸, 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺, 4-二甲氨基吡啶在二氯甲烷中进行酯化反应, 经硅胶柱层析法纯化得到荧光探针。

3. 根据权利要求 2 所述的制备方法, 其特征在于, 步骤 (1) 中, 所述三氯氧磷, 6-甲氧基-1-萘满酮的摩尔比为 125:28.4; 所述硫酰化反应为在 120℃ 温度下, 反应 24h。

4. 根据权利要求 2 所述的制备方法, 其特征在于, 步骤 (2) 中, 所述中间体化合物 I、2-氰甲基苯并咪唑和吡啶的摩尔比为 4:5:37; 所述取代反应为在 120℃ 温度下, 反应 24h。

5. 根据权利要求 2 所述的制备方法, 其特征在于, 步骤 (3) 中, 所述中间体化合物 II 和三溴化硼的摩尔比为 1:5-5.1; 所述水解反应为在室温条件下, 反应 24h。

6. 根据权利要求 2-5 任一项所述的制备方法, 其特征在于, 所述中间体化合物 III、乙酰丙酸、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺、4-二甲氨基吡啶的摩尔比为 0.31:0.46:0.49:0.21; 所述酯化反应为在室温条件下, 反应 3h。

7. 一种如权利要求 1 所述的荧光探针检测水体中总氮浓度分布中的应用。

一种用于检测天然水体富营养化的荧光探针及其制备方法、应用

技术领域

[0001] 本发明涉及化学和生态学的交叉技术领域,涉及可以反应天然湖泊水体中总氮浓度分布的荧光探针,具体涉及一种用于检测天然水体富营养化的荧光探针及其制备方法、应用。

背景技术

[0002] 水是生命之源,对于人类社会的生存和发展至关重要。然而,随着工业化进程的加速和人类活动的日益频繁,水体污染问题日益严重,对生态环境和人类健康构成了巨大威胁。在众多的水体污染物中,氮元素的含量是一个关键的指标。

[0003] 总氮包括了水体中各种形态的氮化合物,如硝酸盐、亚硝酸盐、氨氮和有机氮等。水体中氮含量超标,可能导致水体富营养化,引发藻类大量繁殖,破坏水生态平衡,降低水体的溶解氧含量,甚至影响饮用水的质量。

[0004] 因此,准确、快速地检测水体中总氮的含量对于水质监测、环境保护和水资源管理具有极其重要的意义。传统的总氮检测方法,如凯氏定氮法、过硫酸钾氧化法等,存在操作繁琐、耗时较长、需要复杂的样品预处理以及使用大量化学试剂等缺点,难以满足现代环境监测对于快速、实时、在线检测的需求。

[0005] 近年来,荧光探针技术因其具有高灵敏度、高选择性、快速响应、操作简便以及可实现原位实时检测等优点得到了广泛的关注和应用。荧光探针能够与目标分析物发生特异性的相互作用,从而导致荧光信号的变化,通过检测荧光强度的改变即可实现对目标分析物的定量检测。

[0006] 将荧光探针技术应用于水体中总氮含量的检测,有望克服传统检测方法的不足,为水质监测提供一种新的、高效的手段。然而,目前用于检测水体中总氮含量的荧光探针仍面临着一些挑战,如选择性不够高、灵敏度有待提升、稳定性不足以及在复杂水样中的适用性有限等。因此,开展检测水体中总氮含量荧光探针的研究具有重要的科学意义和应用价值。

发明内容

[0007] 针对现有技术中存在的问题,本发明的目的在于提供一种荧光探针。本发明提供的荧光探针可以反应天然湖泊水体中总氮浓度分布,且操作方法简单,检测数据可靠,具有广阔的应用前景。

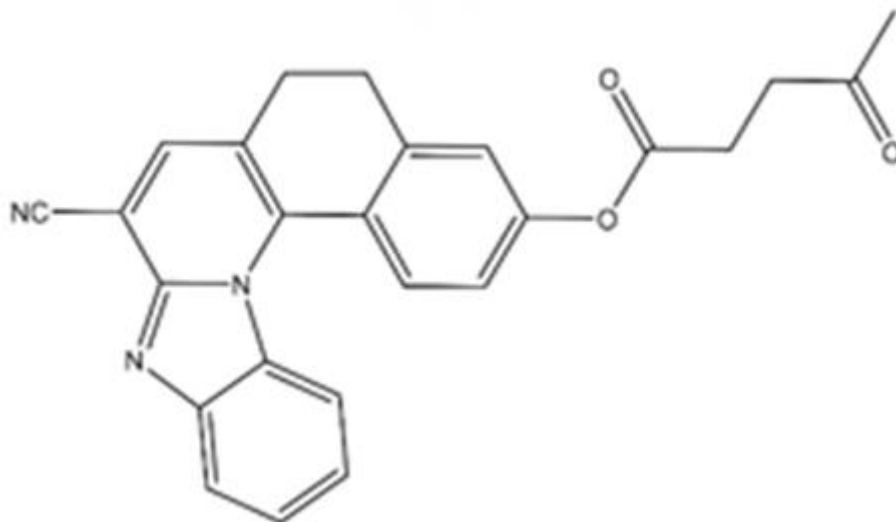
[0008] 本发明的另一目的为提供了上述荧光探针的制备方法。

[0009] 本发明还提供了上述荧光探针在检测天然湖泊水体中总氮浓度分布中的应用。

[0010] 为了实现上述发明目的,本发明提供以下技术方案:

[0011] 本发明提供了一种新型的荧光探针,具有式IV所示结构:

[0012]



[0013] 式IV。

[0014] 本发明还提供了利用上述中间体化合物制备荧光探针的方法,包括以下步骤:

[0015] (1) 将6-甲氧基-1-萘满酮和 POCl_3 在二甲基甲酰胺(DMF)中进行硫酸化反应,经二氯甲烷(DCM)萃取,干燥,得到中间体化合物I;

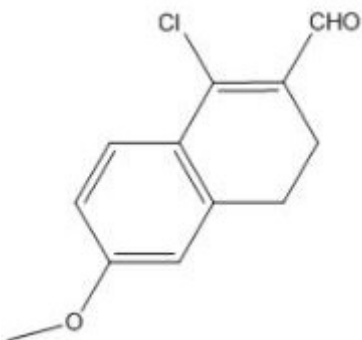
[0016] (2) 中间体化合物I和2-氰甲基苯并咪唑、吡啶在DMF中进行取代反应,经DCM萃取,干燥,得到中间体化合物II;

[0017] (3) 中间体化合物II和三溴化硼在DCM中进行水解反应,经DCM萃取及硅胶柱层析法纯化得到中间体化合物III;

[0018] (4) 中间体化合物III和乙酰丙酸,1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDCI),4-二甲氨基吡啶(DMAP)在DCM中进行酯化反应,经硅胶柱层析法纯化得到荧光探针。

[0019] 本发明合成荧光探针所使用的中间体化合物I,具有式I所示结构

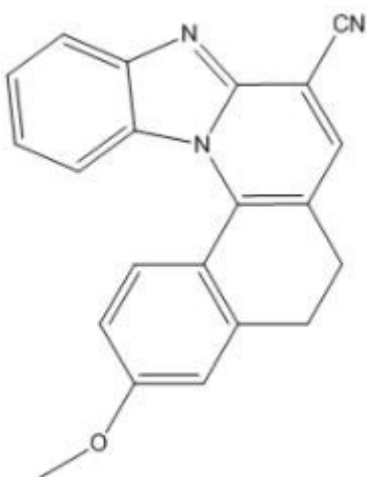
[0020]



[0021] 式I。

[0022] 本发明进一步的提供了一种中间体化合物II,具有式II所示结构:

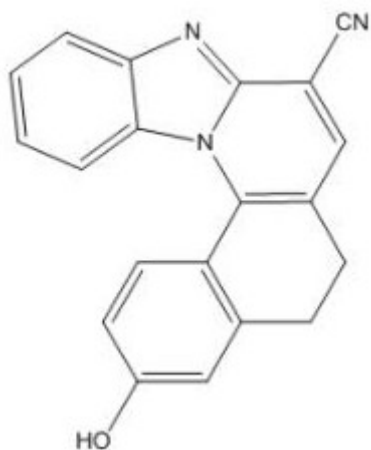
[0023]



[0024] 式 II。

[0025] 本发明进一步的提供了一种中间体化合物 III, 具有式 III 所示结构:

[0026]



[0027] 式 III。

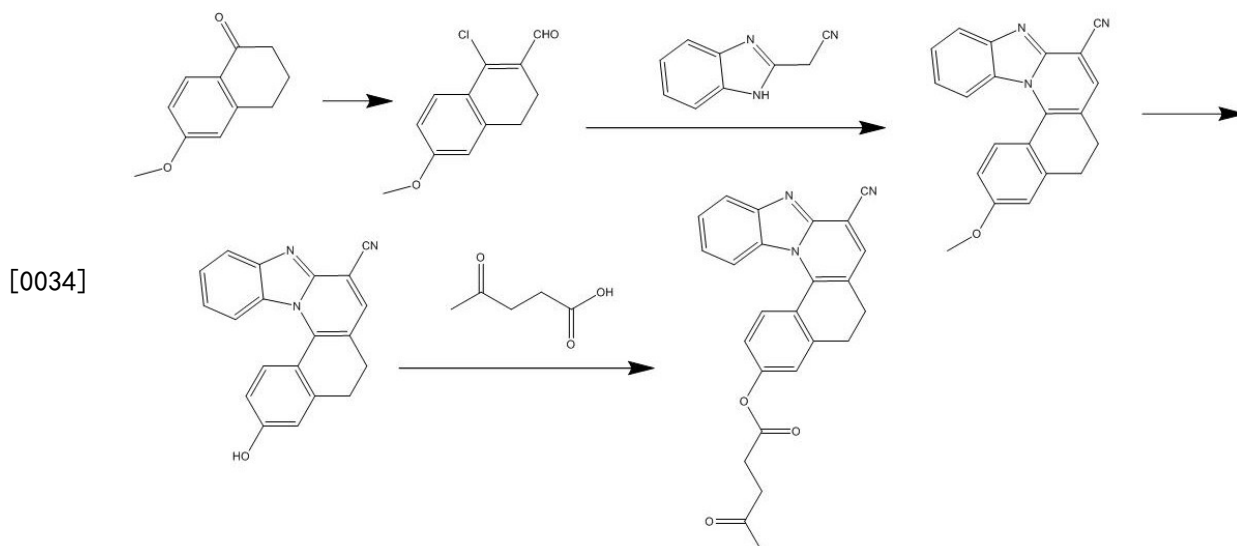
[0028] 进一步的, 步骤 (1) 中, 所述 POCl_3 , 6-甲氧基-1-萘满酮的摩尔比为 125:28.4; 所述硫酰化反应为在 120°C 温度下, 反应 24h。[0029] 进一步的, 步骤 (2) 中, 所述中间体化合物 I、2-氰甲基苯并咪唑和吡啶的摩尔比为 4:5:37; 所述取代反应为在 120°C 温度下, 反应 24h。

[0030] 进一步的, 步骤 (3) 中, 所述中间体化合物 II 和三溴化硼的摩尔比为 1:5-5.1; 所述水解反应为在室温条件下, 反应 24h。

[0031] 进一步的, 所述中间体化合物 III、乙酰丙酸、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳二亚胺、4-二甲氨基吡啶的摩尔比为 0.31:0.46:0.49:0.21; 所述酯化反应为在室温条件下, 反应 3h。

[0032] 本发明还提供了上述荧光探针在检测水体中总氮浓度分布中的应用。

[0033] 本发明合成荧光探针的反应路线图为:



[0035] 本发明的有益效果为：

[0036] (1) 本发明提供了一种新型的荧光探针,能够与目标分析物发生特异性的相互作用,从而导致荧光信号的变化,通过检测荧光强度的改变即可实现对目标分析物的定量检测;

[0037] (2) 本发明制备的荧光探针,具有较强的选择性、灵敏度及稳定性不足,能够适应不同的复杂水样,且能够有效的检测水体中总氮含量分布,具有重要的科学意义和应用价值;

[0038] (3) 本发明通过设计和合成新型的荧光探针,优化其性能,提高了检测的准确性和可靠性,并进一步的拓展其在实际水样中的应用,将为水体中总氮的监测和治理提供有力的技术支持,有助于保护水资源、维护生态平衡和保障人类健康。

[0039] (4) 本发明提供的制备方法,工艺简单,可操控性强。

附图说明

[0040] 图1为MT-BILA在DMSO-d₆中的¹H NMR光谱;

[0041] 图2为MT-BILA在DMSO-d₆中的¹³C NMR光谱;

[0042] 图3为水样采样点地图;

[0043] 图4为加入了MT-BILA的水样的荧光光谱;

[0044] 图5为MT-BILA和总氮的相关性拟合曲线;

[0045] 图6为MT-BILA的克里金插值分析;

[0046] 图7为总氮的克里金插值分析。

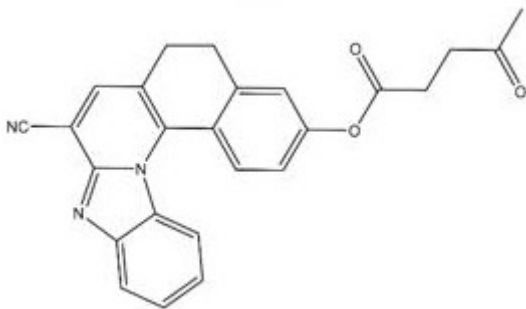
具体实施方式

[0047] 下面通过具体的实施例对本发明的技术方案作进一步的解释和说明。

[0048] 如无特别说明,本发明所使用的材料均为市售。

[0049] 本发明提供了一种荧光探针,具有式IV所示结构:

[0050]



[0051] 式IV

[0052] 总氮包括了水体中各种形态的氮化合物,如硝酸盐、亚硝酸盐、氨氮和有机氮等。荧光探针能够与目标分析物发生特异性的相互作用,从而导致荧光信号的变化,通过检测荧光强度的改变即可实现对目标分析物的定量检测。

[0053] 本发明提供了上述技术方案所述荧光探针的制备方法,包括以下步骤:

[0054] 第一步: 在100ml圆底烧瓶中加入DMF,冰浴条件下用恒压滴液漏斗缓慢滴加 POCl_3 ,混合反应液搅拌30min ($\text{DMF}:\text{POCl}_3=20\text{ml}:125\text{mmol}$);再将6-甲氧基-1-萘满酮(6-Methoxy-1-tetralone)溶解于DMF中待溶液完全溶解后加入反应液 ($\text{DMF}:\text{POCl}_3=20\text{ml}:125\text{mmol}$);加热反应24h。DCM萃取,干燥,得到中间体化合物I,直接用于下一步反应。

[0055] 第二步: 将中间体化合物I和2-氰甲基苯并咪唑投入装有10mL DMF的圆底烧瓶中,继续缓慢滴入吡啶,加热反应24h (中间体产物I:2-氰甲基苯并咪唑: $\text{DMF}:\text{吡啶}=25\text{mmol}:31.25\text{mmol}:10\text{ml}:231.25\text{mmol}$);DCM萃取,干燥,得到中间体化合物II。

[0056] 第三步: 将中间体化合物II加入到100 mL的圆底烧瓶中,再加入DCM将固体充分溶解,慢慢加入三溴化硼,室温下搅拌反应24h (中间体化合物II:DCM:三溴化硼= $12.21\text{mmol}:40\text{ml}:61.31\text{mmol}$);DCM萃取得粗产品,再用硅胶柱层析法纯化 ($\text{DCM}:\text{MeOH}=90:10$),得到中间体化合物III。

[0057] 第四步:将上一步得到的中间体化合物III加入到 100 mL 的圆底烧瓶中,再加入乙酰丙酸,EDCI,DMAP,再加入DCM将固体充分溶解。室温下搅拌反应 3h (中间体化合物III:乙酰丙酸:EDCI:DMAP:DCM= $0.31\text{mmol}:0.46\text{mmol}:0.49\text{mmol}:0.21\text{mmol}:20\text{ml}$)。所得粗产品用硅胶柱层析法纯化 (DCM),得到荧光探针产物。

[0058] 所述第一步硫酰化反应生成中间体产物I后,本发明使用DCM萃取,干燥,得到含醛基的棕色油状物为具有式I所示结构的中间体。

[0059] 所述第二步取代反应生成中间体产物II后,本发明使用DCM萃取,干燥,得到亮黄色固体为具有式II所示结构的中间体产物II。

[0060] 所述第三步水解反应生成中间体产物III后,本发明使用DCM萃取得粗产品,再用硅胶柱层析法纯化,得到黄色固体为具有式III所示结构的中间体产物III。在本发明中按体积比计,所述硅胶柱层析分离采用的试剂优选为DCM: MeOH=90:10。

[0061] 所述酯化反应后,本发明优选将所得粗产品用硅胶柱层析法纯化,最终得到黄色固体产物为具有式IV所示结构的荧光探针。在本发明中所述硅胶柱层析分离采用的试剂为DCM。

[0062] 本发明提供了上述技术方案所述荧光探针在检测水体中总氮含量中的应用。

[0063] 实施例1

[0064] 在100ml圆底烧瓶中加入20 mL DMF,冰浴条件下用恒压滴液漏斗缓慢滴加 POCl_3 (11.6 mL, 125 mmol), 混合反应液搅拌30min, 再将6-甲氧基-1-萘满酮(5 g, 28.4mmol)溶解于10 mL的DMF中, 待溶液完全后加入反应液, 加热反应24h。DCM萃取, 干燥, 得到含醛基的棕色油状物为式I所示化合物, 中间体化合物I。

[0065] 实施例2

[0066] 将油状物中间体化合物I (25 mmol) 和2-氰甲基苯并咪唑(4911.88 mg, 31.25 mmol) 投入装有10mL DMF的圆底烧瓶中, 继续缓慢滴入吡啶(18.75 mL, 231.25 mmol), 加热反应24h, DCM萃取, 干燥, 得到亮黄色固体为II所示化合物, 中间体化合物II (3.8g), 收率为70%。

[0067] 实施例3

[0068] 将中间体化合物II (3.8g, 12.21 mmol) 加入100 mL的圆底烧瓶中, 再加入40 mL DCM将固体充分溶解, 慢慢加入三溴化硼(5.9 mL, 61.31 mmol), 室温下搅拌反应24h, DCM萃取得粗产品, 再用硅胶柱层析法纯化 (DCM: MeOH=90:10), 得到黄色固体为III所示化合物, 中间体化合物III (569.6 mg), 收率为15.2%。

[0069] 实施例4

[0070] 将黄色固体含羟基产物化合物III (95mg, 0.31 mmol) 加入 100 mL 的圆底烧瓶中, 再加入乙酰丙酸(63.76mg, 0.46 mmol), EDCI (94mg, 0.49mmol), DMAP (26mg, 0.21mmol), 再加入20 mL DCM将固体充分溶解。室温下搅拌反应 3h。所得粗产品用硅胶柱层析法纯化 (DCM), 得到黄色固体产物即为IV所示荧光探针MT-BILA, 约60mg。

[0071] 图1为MT-BILA在DMSO-d₆中的¹H NMR光谱, 图2为MT-BILA在DMSO-d₆中的¹³C NMR光谱。

[0072] 测试例

[0073] 将荧光探针MT-BILA(0.0409mg) 溶解在10ml二甲基亚砜(DMSO) 制成1mmol/L的溶液。分别取各份待测水样200u1于2ml离心管中, 再向其加入20u1的MT-BILA溶液, 准备好所有水样的样品; 用荧光分光光度计进行荧光光谱扫描, 得到荧光强度随波长变化的数据。

[0074] 将数据导入Origin, 绘制荧光强度与总氮含量的散点图, 对散点图进行线性拟合, 得到相关系数, 进而分析两者相关性。

[0075] 于ArcGIS软件中导入经整理完毕的数据。使用 ArcGIS 中的空间分析工具, 选择克里金插值方法, 分别对荧光强度和总氮含量进行插值计算, 继而生成荧光强度和总氮含量的插值图。

[0076] 图3为水样采样点地图, 图4为MT-BILA的荧光光谱, 图5为MT-BILA和总氮的相关性拟合曲线, 图6为MT-BILA的克里金插值分析, 图7为总氮的克里金插值分析。

[0077] 由以上测试例可知, 本发明提供的荧光探针能够反应天然湖泊水体中总氮浓度分布; 操作简单, 具有广阔的应用前景。

[0078] 以上所述仅是本发明的优选实施方式, 应当指出, 对于本技术领域的普通技术人员来说, 在不脱离本发明原理的前提下, 还可以做出若干改进和润饰, 这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

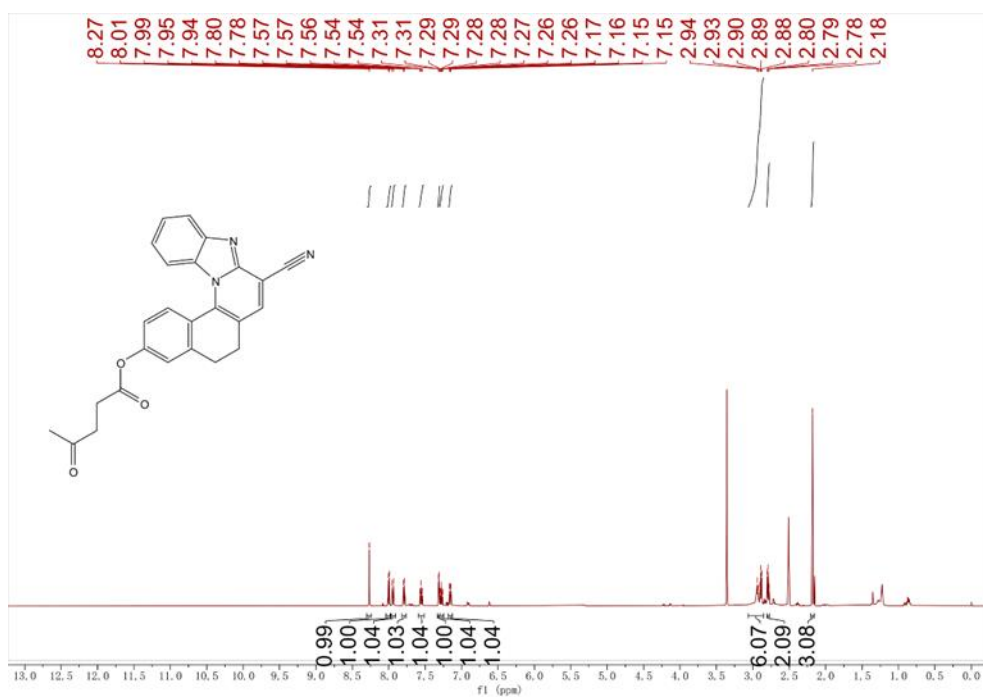


图1

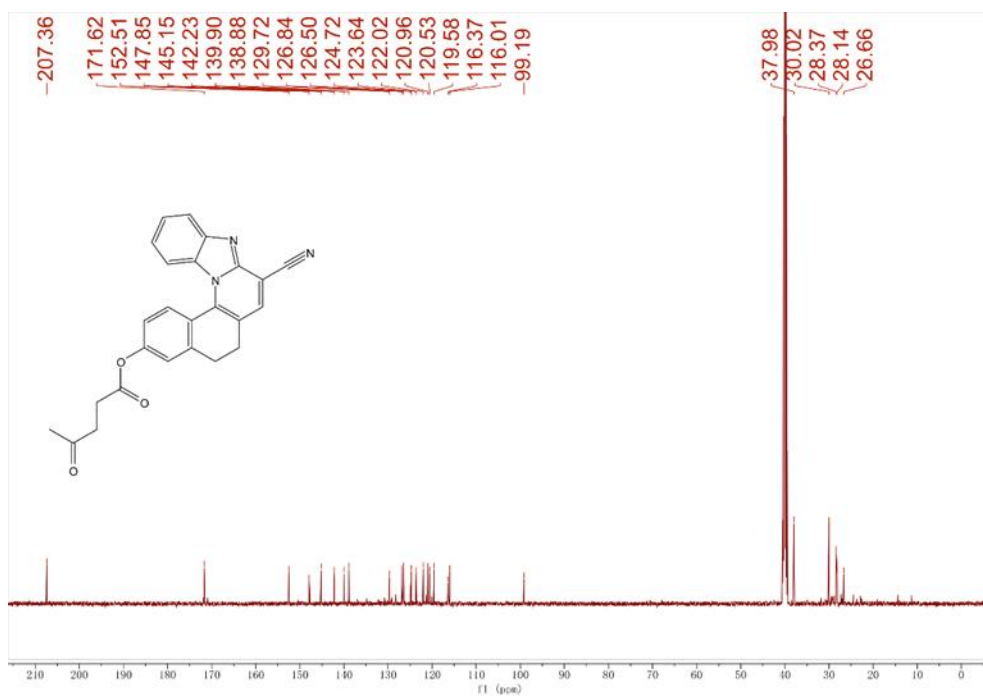


图2

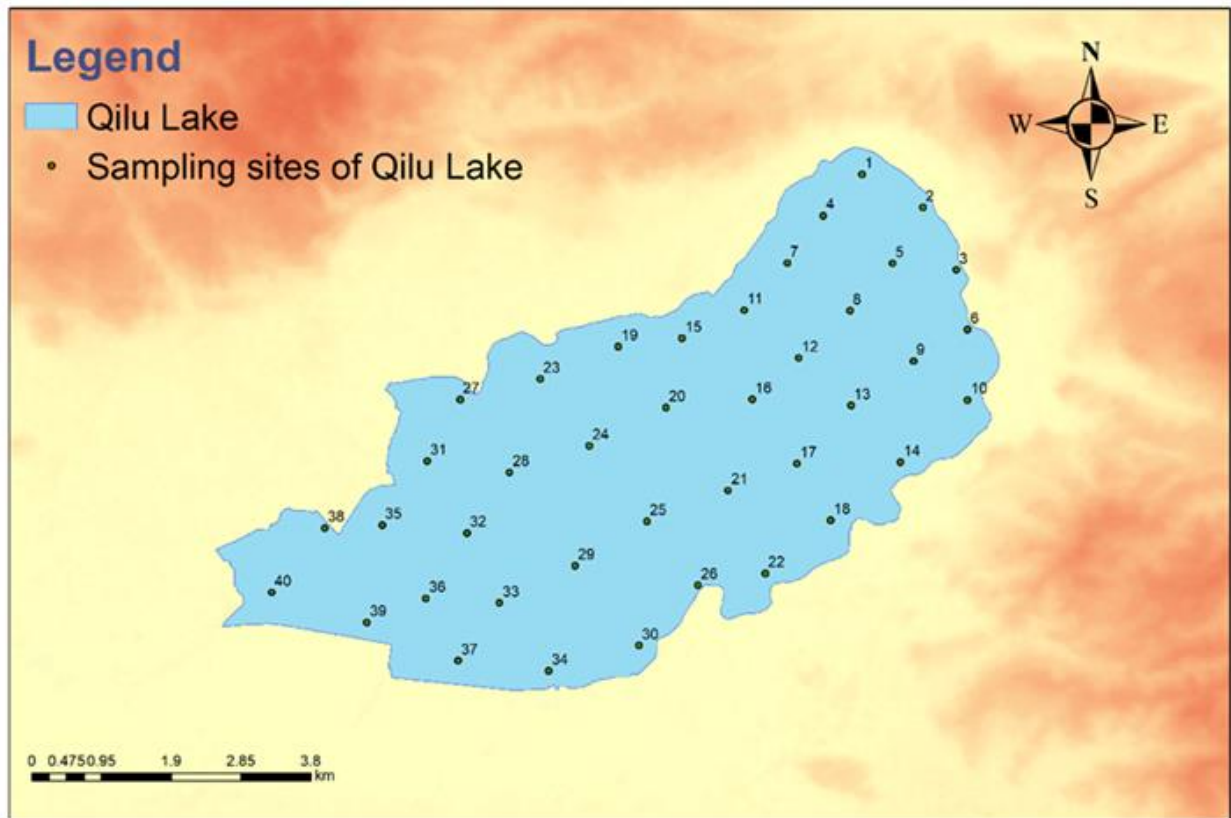


图3

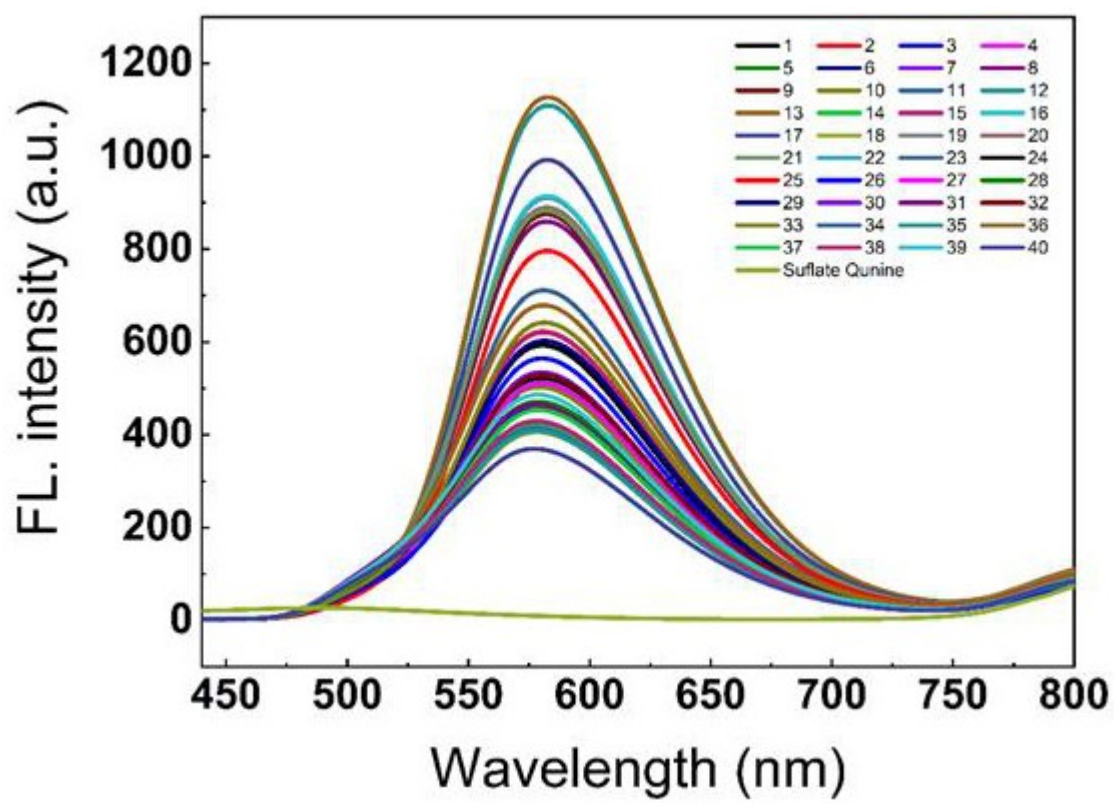


图4

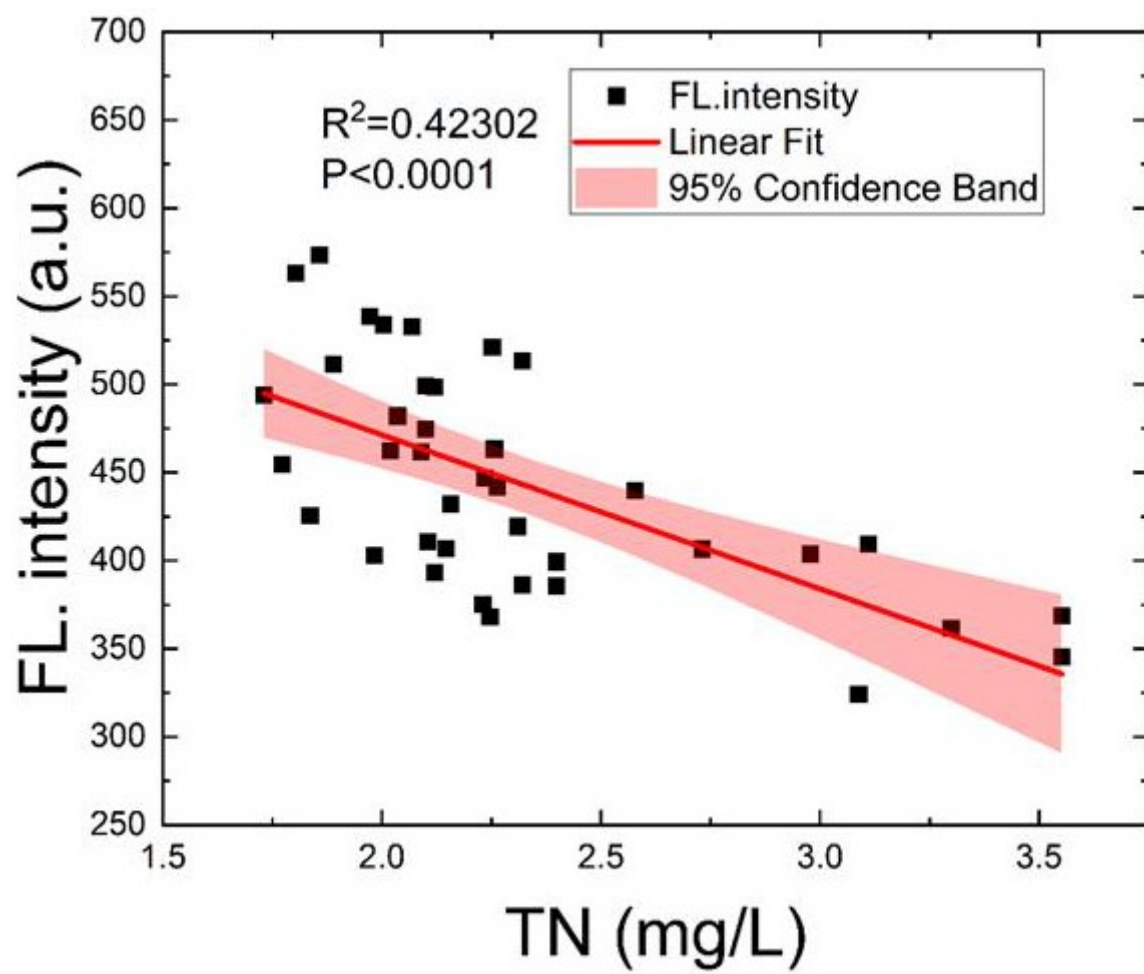


图5

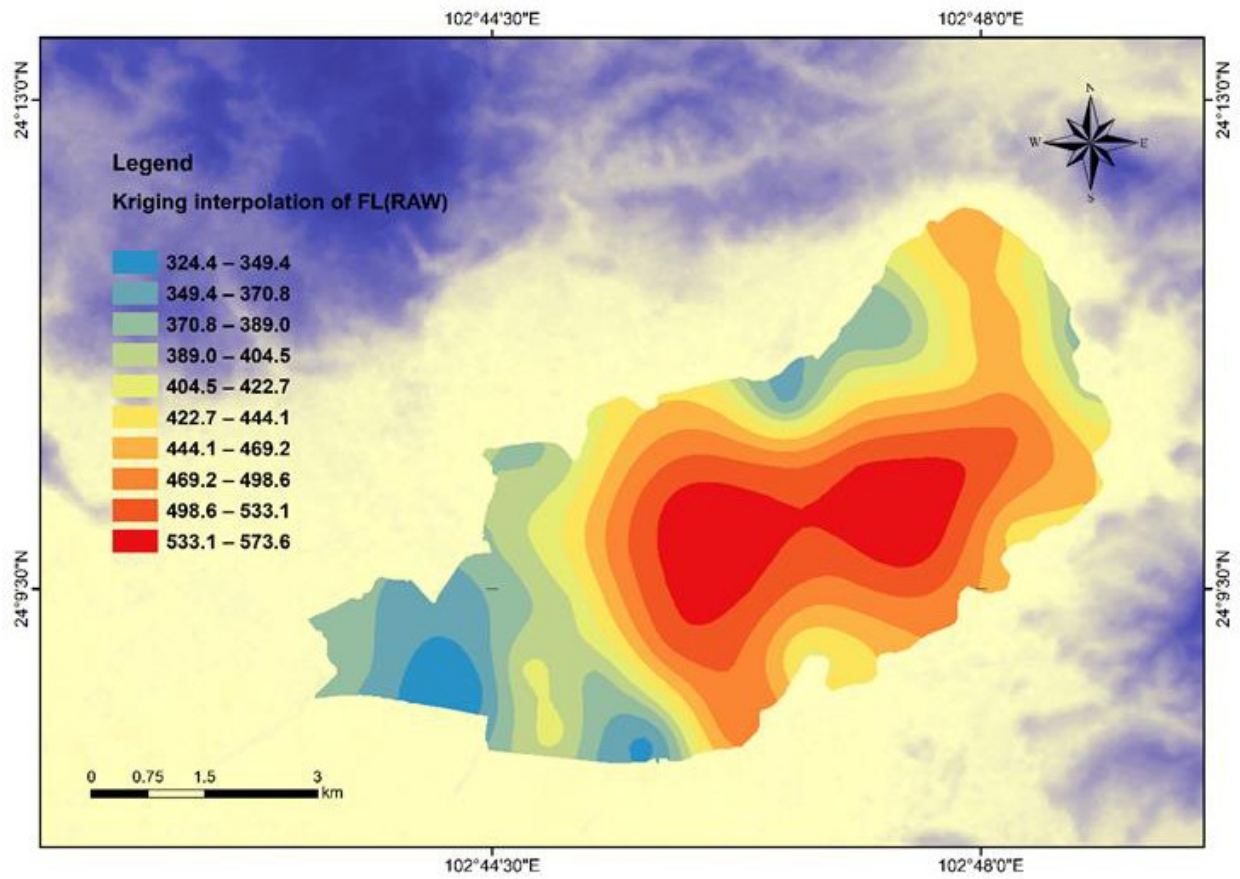


图6

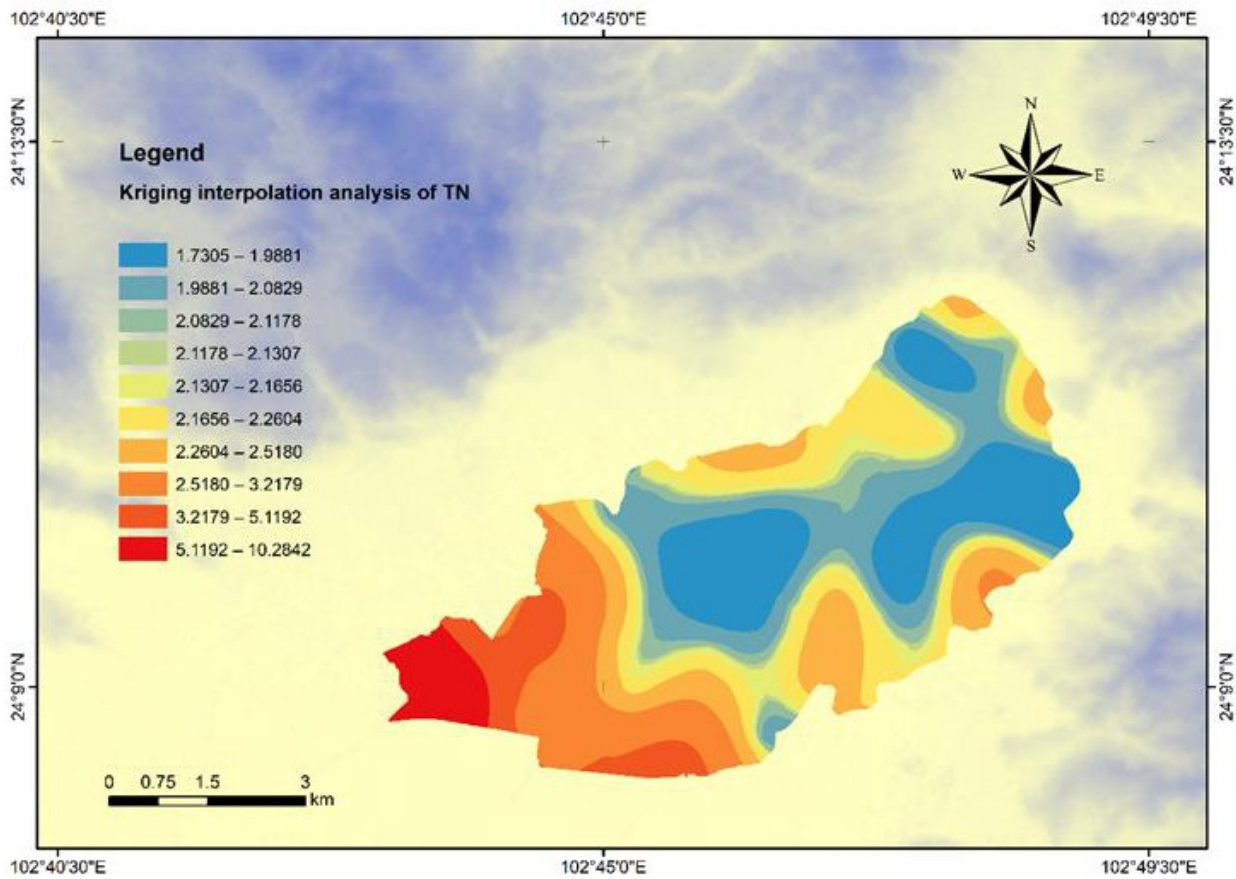


图7