

氨基苯硼酸修饰的聚联乙炔囊泡 对阳离子表面活性剂的显色检测

汤杰¹, 卢圣国², 段许佳², 罗芳², 韩毓旺^{1,*}

(1.南京工业大学理学院, 江苏南京 210009;

2.南京工业大学生物与制药工程学院, 江苏南京 210009)

摘要:以氨基苯硼酸修饰的 10,12-二十五碳二炔酸(PCDA)为单体,经囊泡组装、聚合制备了一种对阳离子表面活性剂特异性识别检测的聚联乙炔衍生物(APCDA-PBA)。采用傅里叶变换红外光谱(FT-IR)和扫描电子显微镜(SEM)对单体官能团和囊泡形貌进行了表征。结果表明:修饰后的聚联乙炔衍生物可特异性识别阳离子表面活性剂,不同种类的阳离子表面活性剂经刺激反应后显现不同的颜色,且 A_{650} 处吸光值与阳离子表面活性剂的浓度变化具有良好的线性关系。因此在食品安全快速检测领域具有广阔的发展空间和应用前景。

关键词:10,12-二十五碳二炔酸,聚联乙炔,特定响应,阳离子表面活性剂

Vesicles prepared with amino-phenylboronic acid modified diacetylenes and it's uses as colorimetric sensors for cationic surfactants detection

TANG Jie¹, LU Sheng-guo², DUAN Xu-jia², LUO Fang², HAN Yu-wang^{1,*}

(1.College of Sciences, Nanjing Tech University, Nanjing 210009, China;

2.College of Life Science and Pharmacy, Nanjing Tech University, Nanjing 210009, China)

Abstract: The monomer of a new polydiacetylene derivative bearing Amino-Phenylboronic Acid groups (APCDA-PBA) was prepared for sensing Cationic Surfactants by Vesicles assembly and polymerization. The functional groups and surface morphology of Vesicles were characterized by Fourier Transform infrared spectroscopy (FT-IR) and scanning electron microscope (SEM). Results indicated that the modified Polydiacetylenes could recognize Cationic Surfactants and showed diverse colorimetric changes for different kinds of Cationic Surfactants. Anionic surfactants and saccharides did not show any color change, and better linear relationship between absorbance of A_{650} and the concentration of Cationic Surfactants. So it had wide space for development and future prospects in the field of rapid detection for food security.

Key words: 10,12-pentacosadiynoic acid; polydiacetylene; specific response; cationic surfactants

中图分类号: TS207.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)15-0078-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.15.008

聚联乙炔(PDA)是一种常见的共轭聚合物,由联乙炔经紫外自发聚合形成,表现出肉眼可见的蓝色。当聚联乙炔在受到温度、pH、表面活性剂等外界刺激时,聚联乙炔囊泡(常用的聚联乙炔酸为双亲分子,分子中存在刚性结构,在水中可形成囊泡)会由蓝色变为红色,而单一的颜色变化也大大的限制了其应用范围。本文合成了一种氨基苯硼酸修饰的聚联乙炔衍生物,当其受到不同种类的阳离子表面活性剂刺激时,能够产生不同的颜色变化^[1-3]。

阳离子表面活性剂在日常生活中的应用十分广泛,例如许多水处理中所用的杀菌剂、乳化剂、柔滑

剂等均为阳离子表面活性剂。其大量使用后的残留物必然会在食品安全领域中造成巨大的污染^[4]。因此对阳离子表面活性剂的检测变得十分重要。目前传统的检测主要包括以下几类:分光光度法、气相质谱法、示波极谱滴定法等^[5-6],且这些传统方法都具有检测灵敏度高,选择性较好等优点。但这些检测方法较为复杂,需要借助精密仪器,检测时间漫长,结果易受干扰等缺点。

另一方面,苯硼酸衍生物能够与多元醇发生相互作用,可以特异性的识别和感知糖类。近年来苯硼酸常用来和荧光体结合,构建出一种荧光探针结

收稿日期:2014-09-09

作者简介:汤杰(1991-),男,硕士研究生,研究方向:无机纳米发光材料的制备, E-mail: tjnjut@163.com。

* 通讯作者:韩毓旺(1971-),男,博士,教授,研究方向:纳米材料的合成与表征, E-mail: hanyw@njtech.edu.cn。

基金项目:国家杰出青年科学基金(21225626);国家自然科学基金(21406112)。

构^[7]。本文以 10,12-二十五碳二炔酸为单体,通过对其改性,制备了一种氨基苯硼酸修饰的聚联乙炔衍生物,由于修饰后的聚联乙炔具有特殊的光学变色性质,当受到外界生物分子刺激时,会迅速的引起肉眼可见的变色响应,因此可以利用直接比色法以及荧光性质对阳离子表面活性剂特异性识别与检测,与传统的分光光度法等检测方法相比不需要借助精密的仪器且结果可靠等优点。在食品安全领域具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

10,12-二十五碳二炔酸(PCDA),纯度 97% (HPLC) 美国 Sigma 公司;三乙胺、N-羟基琥珀亚胺(NHS)、1-乙基-3-(3-二甲基苄基)-碳化二亚胺(EDC)、4-羧基苯硼酸,分析纯 上海安耐吉化学;乙二胺、四氢呋喃、亚硫酸氯,分析纯 上海凌峰化学试剂有限公司。

Avatar360 傅立叶变换红外光谱仪 美国 Nicolet 公司;SpectraMaxM3 微孔板检测系统 美谷分子仪器(上海)有限公司;Hitachi S-4800 型扫描电镜 日本 Hitachi 公司;PHS-3 精密 pH 计 上海雷磁仪器厂;752S 紫外可见分光光度计 上海棱光技术有限公司;5804R 台式冷冻离心机 德国 Eppendorf 公司;RE-2000 旋转蒸发仪 上海勒顿实业有限公司;Avance-III 600 核磁共振仪 德国 Bruker 公司;GA92-II 超声波细胞粉碎仪 无锡上佳生物科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 10,12-二十五烷基二炔酸 2-氨基乙基酰胺(APCDA)的合成 在 100 mL 单口圆底烧瓶中,加入 20 mL 二氯甲烷和 2.45 mmol PCDA,待 PCDA 完全溶解后,再依次加入 2.4 mmol NHS 和 2.45 mmol EDC,将混合溶液室温下避光搅拌(350 r/min)反应 24 h。反应结束后,30 °C 旋转蒸干,固体用 30 mL 氯仿溶解,并用 200 mL NaCl 水溶液洗涤 6 次,合并有机相,用无水硫酸镁干燥 12 h 后,过滤除去无水硫酸镁,旋蒸得到固体并将其溶于 60 mL 氯仿中,然后逐滴加入乙二胺(4 mmol,10 mL 二氯甲烷),用三乙胺调节 pH 至 9.0,室温避光反应 24h,转速为 300 r/min^[8]。待反应结束后,通过旋蒸获得粗品,经柱层析分离提纯(硅胶柱,V(氯仿):(甲醇)=5:1),获得目标产物 APCDA,产率为 83%~94%。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ:7.19(brs,1H),3.34(dd,2H),2.27(t,2H),2.16(t,3H),1.11-1.85(m,36H),0.81(t,3H)。具体合成路线如图 1 所示。

1.2.2 L-N-(10,12-二十五烷基二炔基羰基)-氨基-苯硼酸(APCDA-PBA)的合成 在 250 mL 二口圆底烧瓶中,加入 150 mL 亚硫酸氯和 10 g 烘干后的 4-羧基苯硼酸,通入 N₂,在 88 °C 下搅拌(350 r/min)回流 24h。待反应结束后,将溶剂蒸干,剩余固体溶于 60 mL 无水四氢呋喃中,冰浴,通 N₂,缓慢滴加 APCDA(3 mmol,20 mL 氯仿),反应 30 min 后,加入 1 滴 DMF,室温反应 20 h^[9]。旋蒸收集目标产物

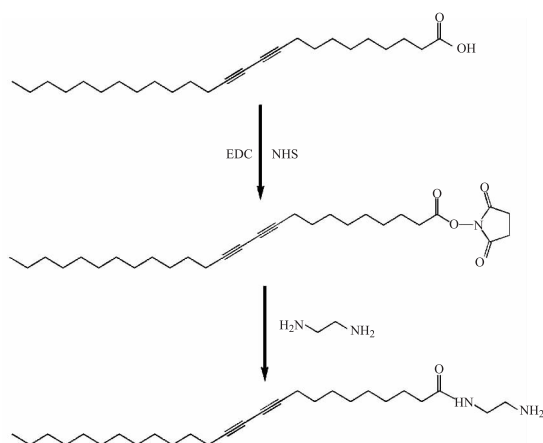


图1 APCDA 的合成路线

Fig.1 The synthetic route of APCDA

APCDA-PBA 的粗品,经柱层析分离提纯(硅胶柱,V(氯仿):(甲醇)=7:1),最终产物收率为 91%~94%。¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ:7.19 (brs, 2H), 7.05-7.65 (m, 4H), 2.94 (s, 1H), 2.87 (s, 1H), 2.37 (t, 2H), 2.17 (t, 4H), 0.81 (t, 3H), 1.18-1.58 (m, 36H)。具体合成路线如图 2 所示。

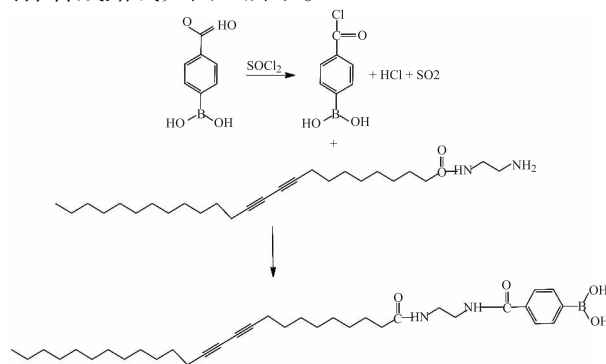


图2 APCDA-PBA 的合成路线

Fig.2 The synthetic route of APCDA-PBA

1.2.3 APCDA-PBA 的自组装与紫外聚合 称取 22.56 mg APCDA-PBA 溶于 4 mL 的 DMSO 超声静置 1 min,将溶液中少量的沉淀物经 0.45 μm 有机滤膜过滤。用 HEPES (10 mmol/L pH7.4) 定容至 1 mmol/L,于 80 °C 超声水合 15 min。待冷却后于 0 °C 保存过夜。单体在 254 nm (1 mW/cm²) 的紫外灯下自发聚合 30 s。APCDA-PBA 的紫外聚合示意图如图 3 所示^[10]。

1.2.4 不同类型表面活性剂的结构如图 4 所示 选择不同烷基链长度的阳离子表面活性剂、阴离子表面活性剂、非离子表面活性剂、糖类,做对比实验^[11]。分别取浓度为 250 μmol/L 的聚 APCDA-PBA 在 HEPES (10 mmol/L pH7.4) 的体系中观察对各种阳离子表面活性剂,阴离子表面活性剂,糖类,非离子性表面活性剂的显色反应。各取 200 μmol/L 的 CTAC、DTAB、HDBAC、SDS、SDC、SDP、Triton X-100、蔗糖、乳糖、麦芽糖、葡萄糖、鼠李糖作为分析物。

1.2.5 APCDA, APCDA-PBA 的红外表征 取少量的待测样品过夜烘干,以 KBr 做为背景,将 KBr 与待测样品以 100:1 的比例混合研磨均匀,压片待用。使用

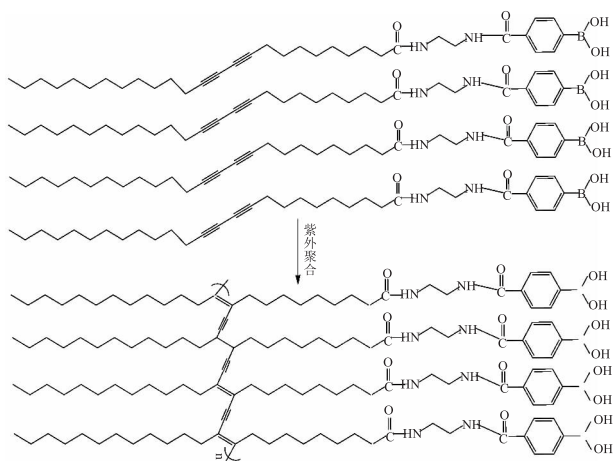


图3 APCDA-PBA 的紫外聚合

Fig.3 UV polymerization of APCDA-PBA

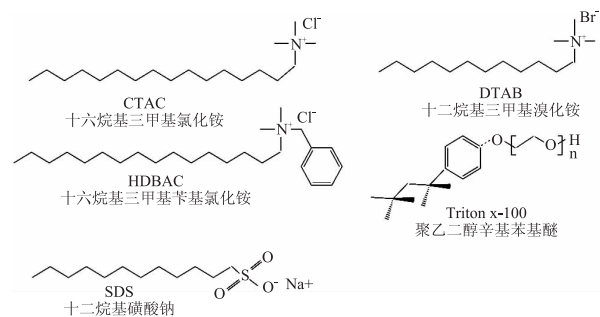


图4 表面活性剂的结构

Fig.4 Structures of the surfactants

Avatar360 傅立叶变换红外光谱仪进行光谱扫描。

1.2.6 APCDA, APCDA-PBA 的扫描电镜表征 各取 70 μL APCDA, APCDA-PBA 的水溶液分别滴至铜网上过夜烘干, 使用 Hitachi S-4800 型扫描电镜分析其结构形貌。

2 结果与讨论

2.1 APCDA-PBA 的红外光谱分析

如图 5 所示, 分别是 PCDA, APCDA, APCDA-PBA 的红外谱图, 从图中可以看出, 2928 cm^{-1} 和 2852 cm^{-1} 是联乙炔单体侧链烷基 C-H 的伸缩振动吸收峰, 2349 cm^{-1} 归属于联乙炔单体不饱和双键 =C-H 的伸缩振动吸收峰, 以上共性特征都出现于三个不同联乙炔衍生物中。APCDA 与 PCDA 对比发现在 3324 cm^{-1} 处出现酰胺中 N-H 的伸缩振动吸收峰, 同时 C=O 的吸收峰发生了由 1697 cm^{-1} 到 1632 cm^{-1} 的偏移, 1697 cm^{-1} 处的振动峰对应于氢键作用的羧基中羰基的伸缩振动吸收峰, 1632 cm^{-1} 处的振动峰对应于氢键作用的酰胺中羰基的伸缩振动峰, 另外新产生的 1070 cm^{-1} 归属于酰胺中的 C-N 键的伸缩振动吸收峰, 以上说明乙二胺成功的偶联在了单体 PCDA 上^[12]。与 APCDA 相比, 1656 cm^{-1} 处对应的酰胺中羰基的伸缩振动峰更加宽、强。1810、860、1551 cm^{-1} 处出现新的吸收峰, 分别归属于苯环内的不饱和键 C=C、C-H 和 B-O 键的特征峰。表明苯硼酸成功的偶联在了 APCDA 上^[13]。

2.2 APCDA-PBA 的 SEM 分析

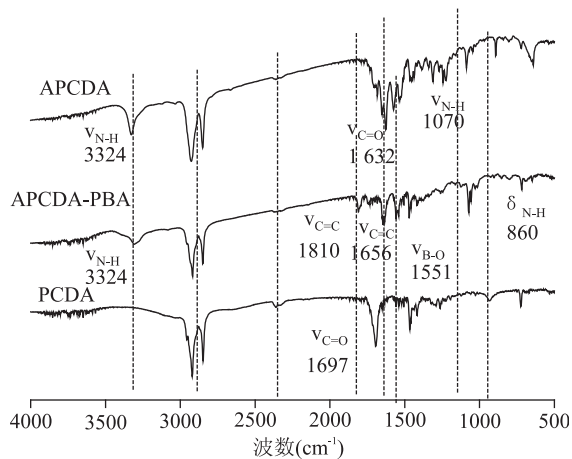
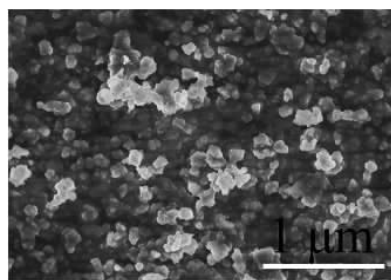


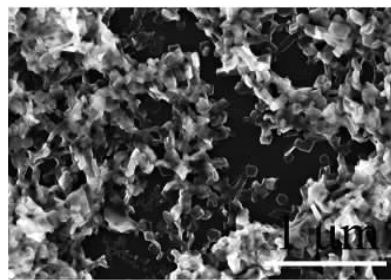
图5 PCDA, APCDA 和 APCDA-PBA 的 FTIR 图谱

Fig.5 FTIR spectra of PCDA, APCDA and APCDA-PBA

聚联乙炔囊泡 (Poly-PCDA) 和氨基苯硼酸衍生物的聚联乙炔囊泡 (poly-APCDA-PBA) 的扫描电镜表征结果如图 6 所示。二者形成的囊泡形貌与结构存在显著差异, Poly-PCDA 囊泡大部分呈球状, 体型较大; poly-APCDA-PBA 囊泡则呈杆状或方块状, 体形明显比 Poly-PCDA 囊泡小。囊泡的形貌改变通常会影响到囊泡的检测灵敏性和稳定性^[14-15]。囊泡体形越小, 产生颜色变化所需的囊泡表面结合点要求越少, 所需的目标检测物也越少, 因此检测灵敏度越高^[16]。



a: poly-PCDA



b: poly-PCDA-PBA

图6 poly-PCDA 囊泡和 poly-APCDA-PBA 的 SEM 图片

Fig.6 SEM images of poly-PCDA vesicles and poly-APCDA-PBA vesicles

2.3 对各种表面活性剂的显色变化分析

如表 1 所示: 在众多分析物中仅仅阳离子表面活性剂发生显著的颜色变化, 在众多分析物中仅仅阳离子表面活性剂发生显著的颜色变化, 非离子表面活性剂呈现出微弱的颜色变化, 阴离子表面活性剂 (SDS、SDC、SDP) 无任何颜色变化。CTAC 改变为

表1 表面活性剂对 APCDA-PBA 的显色

Table 1 Colorimetric responses of APCDA-PBA for cationic surfactants

空白对照及 各种表面活性剂	空白	SDS	SDP	SDC	TritonX-100	CTAC	DTAB	HDBAC
颜色变化	无变化 (蓝色)	无变化 (蓝色)	无变化 (蓝色)	无变化 (蓝色)	蓝色变为 暗蓝色	蓝色变为 深红色	蓝色变为 暗橘色	蓝色改变为 暗紫色

表2 糖类对 APCDA-PBA 的显色

Table 2 Colorimetric responses of APCDA-PBA for saccharides

各种糖类	空白	葡萄糖	果糖	鼠李糖	麦芽糖	乳糖
颜色变化	无变化(蓝色)	无变化(蓝色)	无变化(蓝色)	无变化(蓝色)	无变化(蓝色)	无变化(蓝色)

深红色, DTAB 改变为暗橘色, HDBAC 改变为暗紫色, Triton X-100 改变为暗蓝色。如表 2 所示:对于各种糖类没有任何的颜色变化依然显现为蓝色,且不同浓度的阴离子表面活性剂、糖类均无任何颜色响应。进一步的证明氨基苯硼酸修饰的聚联乙炔囊泡仅仅能够识别阳离子表面活性剂。

含有不同官能团以及烷基链长度的阳离子表面活性剂可以被 APCDA-PBA 通过显现不同的颜色识别出来,这是由于阳离子表面活性剂带正电的氮离子与 APCDA-PBA 中的带负电的硼酸基团之间电荷的相互作用所引起^[17-19]。CTAC 和 DTAB 含有相同的官能团但链长不同,而 CTAC 由蓝色变为深红色,DTAB 由蓝色变为暗橘色。造成这种不同颜色变化的原因主要是由于不同链长的 CTAC 和 DTAB 对于聚合物烷基链的扰动程度不同所导致^[20]。

虽然苯硼酸衍生物能与多元醇发生相互作用,但 APCDA-PBA 与糖类作用并没有产生任何颜色变化。这是由于 APCDA-PBA 中存在着 B-OH 分子间氢键、苯环中的 $\pi-\pi$ 键、酰胺键几种合力,作用力较大,导致糖类无法插入 APCDA-PBA 中的侧链,因此无法引起烷基链骨架的变化^[21],所以无法引起颜色的变化。

2.4 APCDA-PBA 的紫外可见光(UV-vis)谱图与线性曲线图

如图 7a、图 7b 所示:在 HEPES 缓冲液中(10 mmol/L, pH7.4)不同浓度梯度的 CTAC, DTAB 在 APCDA-PBA 中的紫外可见光谱图。当未添加阳离子表面活性剂时,APCDA-PBA 在 640 nm 处有强烈的吸收峰,在 590 nm 处有一个肩峰。随着 CTAC 浓度的递增,APCDA-PBA 在 640 nm 处的吸收值逐渐减弱,同时在 520 nm 处有新的吸收峰,体系的颜色也从蓝色逐渐变成深红色。DTAB 有着同样变化。

为了精确定量聚联乙炔囊泡的变色程度与对应的阳离子表面活性剂的浓度之间的关系,在 650 nm “蓝相特征吸收峰”处建立吸光度与阳离子表面活性剂浓度的线性曲线,如图 7c、图 7d 所示: A_{650} 处的吸光值与 CTAC 和 DTAB 的浓度之间存在着较好的线性关系,二者检测最小浓度均为 30 $\mu\text{mol/L}$ 。随着表面活性剂浓度的递增,吸光值呈线性递减的趋势。

3 结论

以 10,12-二十五碳二炔酸为单体,合成出了一

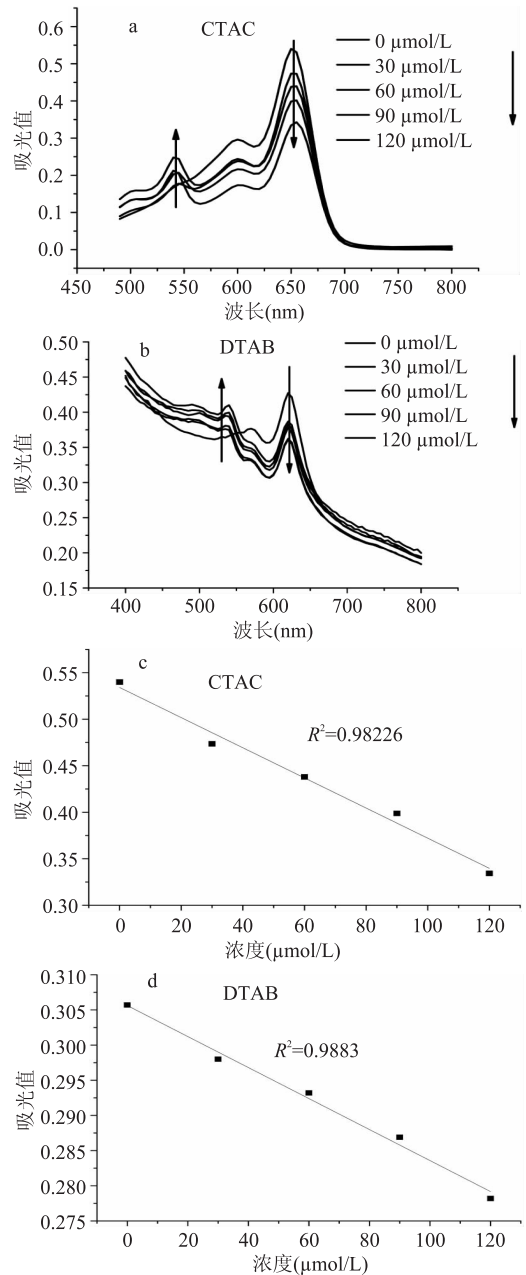


图7 不同浓度梯度的 CTAC,DTAB 的紫外可见光谱图

Fig.7 UV-vis spectra of different amounts of CTAC,DTAB

注:a、b 分别为不同浓度的 CTAC、DTAB 的紫外可见光谱图, c、d 分别为 CTAC、DTAB 的吸光度与浓度的线性曲线。

种氨基苯硼酸修饰化的聚联乙炔囊泡,修饰后的聚联乙炔囊泡在加入不同的阳离子表面活性剂时显现出明显的颜色变化。CTAC 由蓝色变为深红色,DTAB 由蓝色变为暗橘色,HDBAC 由蓝色变为暗紫色。当加入阴离子表面活性剂和糖类时没有任何颜色变化,非离子表面活性剂表现出很弱的颜色变化,从而成功的实现了这种氨基苯硼酸修饰的聚联乙炔囊泡对阳离子表面活性剂的特异性选择,在食品安全领域中对阳离子表面活性剂的快速检测展现出了良好的应用前景。

参考文献

- [1] Ryu S, Yoo I, Song S, et al. A thermoresponsive fluorogenic conjugated polymer for a temperature sensor in microfluidic devices[J]. Journal of the American Chemical Society, 2009, 131(11):3800-3801.
- [2] Sun X M, Chen T, Huang S Q, et al. Chromatic polydiacetylene with novel sensitivity [J]. Chemical Society Reviews, 2010, 39(11):4244-4257.
- [3] Chen X Q, Zhou G D, Peng X J, et al. Biosensors and chemosensors based on the optical responses of polydiacetylenes [J]. Chemical Society Reviews, 2012, 41(13):4610-4630.
- [4] 张玉新, 高希青. 表面活性剂在食品工业中的应用 [J]. 食品工业科技, 1985(2):29-34
- [5] 李涛, 魏福祥. 水体中阳离子表面活性剂测定方法的研究进展 [J]. 河北工业科技, 2006, 23(5):321-324.
- [6] 郭讯枝, 何剪太, 张阳德, 等. 聚丁二炔纳米粒对大肠埃希氏菌的免疫检测 [J]. 中国组织工程研究, 2011, 38(15):7105-7108.
- [7] 安媛媛, 徐祖顺, 吴水林. 苯硼酸类糖敏感材料的研究进展 [J]. 高分子通报, 2012(3):98-106
- [8] Gill I, Billeteros A. Immunoglobulin-polydiacetylene sol-gel nanocomposites as solid-state chromatic biosensors [J]. Angewandte Chemie - International Edition, 2003, 42(28):3264-3267.
- [9] Torchilin V P, Weissig V. In Liposomes: A practical approach. Second Edition [M]. 2003:1-396
- [10] Cheng Q, Yamamoto M, Stevens R C. Amino acid terminated polydiacetylene lipid microstructures: Morphology and chromatic transition [J]. Langmuir, 2000, 16(12):5333-5342.

(上接第 77 页)

2009, 19(8):467-475

- [8] 李爽, 陈启, 蔡明明, 等. 液相色谱法与氨基酸分析仪法测定人乳中水解氨基酸的比较研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(7):2073-2079
- [9] Leclercq - Perlat MN, Corrieu G, Spinnler HE. Controlled production of camembert-type cheeses: Part III role of the ripening microflora on free fatty acid concentrations [J]. Journal of Dairy Research, 2007, 74(2):218-225
- [10] Drancourt M, Bollet C, Carlizot A, et al. 16S Ribosomal DNA Sequence Analysis of a Large Collection of Environmental and Clinical Unidentifiable Bacterial Isolates [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2000, 38(10):3623-3630
- [11] 李艳逢, 杜垒, 高菲菲, 等. 盐水鸭卤水中游离氨基酸含

[11] Lee S, Lee K M, Lee M. Polydiacetylenes bearing boronic acid groups as colorimetric and fluorescence sensors for cationic surfactants [J]. ACS applied materials & interfaces, 2013, 5(11):4521-4526.

[12] Ahn D J, Chae E H, Lee G S. Colorimetric reversibility of polydiacetylene supramolecules having enhanced hydrogen-bonding under thermal and pH stimuli [J]. Journal of the American Chemical Society, 2003, 125(30):8976-8977.

[13] Zhang H Y, Yao G P, Deng C H, et al. Facile Synthesis of Boronic Acid-Functionalized Magnetic Mesoporous Silica Nanocomposites for Highly Specific Enrichment of Glycopeptides [J]. Chinese Journal of Chemistry, 2011, 29(4):835-839.

[14] Lee J, Jeong E J, Kim J. Selective and sensitive detection of melamine by intra/inter liposomal interaction of polydiacetylene liposomes [J]. Chemical Communications, 2011, 47(1):358-360.

[15] Guo C X, Boullanger P, Liu T, et al. Size effect of polydiacetylene vesicles functionalized with glycolipids on their colorimetric detection ability [J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2005, 109(40):18765-18771.

[16] Cheng X Q, Kang S, Kim M J, et al. Thin-film formation of imidazolium-based conjugated polydiacetylenes and their application for sensing anionic surfactants [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2010, 49(8):1422-1425.

[17] Won S H, Lee J U, Sim S J. Fluorogenic pH-sensitive polydiacetylene (PDA) liposomes as a drug carrier [J]. Journal of nanoscience and nanotechnology, 2013, 13(6):3792-3800.

[18] Pan X J, Wang Y L, Jiang H, et al. Benzo-15-crown-5 functionalized polydiacetylene-based colorimetric self-assembled vesicular receptors for lead ion recognition [J]. Journal of Materials Chemistry, 2011, 21(11):3604-3610.

[19] Babcock L, Pizer R. Dynamics of boron acid complexation reactions. Formation of 1:1 boron acid-ligand complexes [J]. Inorganic Chemistry, 1980, 19(1):56-61.

[20] Reppy M A, Pindzola B A. Biosensing with polydiacetylene materials: structures, optical properties and applications [J]. Chemical Communications, 2007(42):4317-4338.

[21] Jelinek R, Kolusheva S. Biomolecular sensing with colorimetric vesicles [M]. Springer Berlin Heidelberg, 2007:155-180.

量的变化 [J]. 江苏农业学报, 2010, 26(3):607-612.

[12] Wong Kam Huey, Abdul Aziz Suraini, Mohamed Suhaila. Sensory aroma from Maillard reaction of individual and combinations of amino acids with glucose in acidic conditions [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2008, 43(9):1512-1519

[13] 陈银基, 鞠兴荣, 周光宏. 饱和脂肪酸分类与生理功能 [J]. 中国油脂, 2008, 33(3):35-39.

[14] 肖会敏, 何悦, 杨倩, 等. GC 法测定椒目仁油中油酸、亚油酸及 α -亚麻酸 [J]. 中成药, 2011, 33(8):1361-1364.

[15] 李明雄, 李妮, 李征, 等. 动物乳杆菌的分离鉴定及其抑菌蛋白的特性分析 [J]. 微生物学通报, 2009, 36(7):1001-1007.