

来守军,贾天明,关晓琳,等.淀粉修饰荧光素材料测定三峡库区土壤和水体中的 Fe^{3+} 及其来源分析[J].江苏农业科学,2016,44(12):449-452.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.12.134

淀粉修饰荧光素材料测定三峡库区土壤和水体中的 Fe^{3+} 及其来源分析

来守军^{1,2},贾天明³,关晓琳³,林俊杰²,杨季冬²,陈星²,左波²

(1. 兰州文理学院,甘肃兰州 730000;2. 三峡库区水环境演变与污染防治重点实验室,重庆 404100;

3. 西北师范大学化学化工学院,甘肃兰州 730070)

摘要:基于金属离子的路易斯(Lewis)酸性和配位能力的差别,设计合成环保型修饰剂淀粉接枝的功能化荧光素。红外光谱和荧光光谱表征表明,该功能材料保持了荧光素的光学特性,利用材料的酸敏感特性建立了测定 Fe^{3+} 浓度的标准方法。采用光学探针方法测定三峡库区土壤和水体中的 Fe^{3+} 浓度,并根据测试结果分析库区的污染物来源,为控制污染提供了参考。

关键词:淀粉;荧光素;三峡库区; Fe^{3+} ;荧光;污染分析

中图分类号: X524;X502 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)12-0449-03

路易斯(Lewis)酸碱理论认为,化学反应中,能接受电子对的物质是酸,能给出电子对的物质是碱。因此,凡是分子中某原子有空轨道的都是 Lewis 酸,金属离子吸电子的能力越强,其酸性也越强^[1]。虽然该理论已经提出了近百年,但是利用金属离子自身的酸碱性差异性测定金属离子的报道非常少,主要原因在于,金属离子的酸碱性不仅取决于自身性质,例如电荷数、半径大小、元素周期表中的位置等,还与配体的结合能力有关。更为主要的是,很难找到合适的试剂指示金属离子酸度差异性。随着现代科技的发展,对于金属离子的分析测试不仅要求灵敏度高,同时还应具备环保型的要求,所以寻找一种环保、高效的试剂用于分析金属离子非常重要。目前对金属离子的分析主要采用原子吸收光谱法^[2-3]和电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)^[4]。荧光素是 1871 年由化学家 Bayer 合成的一类经典的荧光试剂,由于氧桥键把 2 个苯环固定在 1 个平面上,使得荧光素分子具有刚性共平面结构,在激发光的作用下能产生强烈的荧光,关键是荧光素具有无毒、成本低特性,虽然荧光素对 pH 值变化敏感,但是由于其水溶性差以及具有一定细胞毒性,导致应用受限^[5]。本研究采用共混方法合成淀粉修饰的荧光素,将其用于三峡库区土壤和水体中 Fe^{3+} 的测定,旨在提供一种基于 Lewis 酸的测定金属离子的新方法。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

主要试剂:碘化钾(分析纯,上海化学试剂总厂)、环氧氯

丙烷(分析纯,成都市科龙化工试剂厂)、无水乙醇(重庆西南化学试剂有限公司)、荧光素(分析纯,北京科华科技特种试剂联合开发中心)、氢氧化钠(分析纯,汕头西陇化工厂有限公司)、二甲基亚砷(DMSO,分析纯,成都市科龙化工试剂厂)、氯化钠(分析纯,成都市科龙化工试剂厂)、盐酸(分析纯,汕头西陇化工厂有限公司)、可溶性淀粉(四川省彭州市军乐化工厂)、无水甲醇[分析纯,重庆川东化工(集团)有限公司化学试剂厂]、硝酸铁(分析纯,上海化学试剂总厂)。

主要仪器:F-4500 荧光分光光度计(日本日立公司)、UV2450 紫外-可见分光光度计(日本岛津公司)、IR prestige-21 红外光谱仪(日本岛津公司)、FA1104N 电子天平(上海精密科学仪器有限公司)、TDL-40B 台式离心机(上海安亭科学仪器厂)、DHG-9070A 电热恒温鼓风干燥箱(上海齐欣科学仪器有限公司)、CL-2 恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司)。

1.2 淀粉修饰的荧光素材料合成与表征

1.2.1 材料合成 于 100 mL 圆底烧瓶中加入约 1.0 g 氢氧化钠,通入一定时间氩(Ar)气后,慢慢向瓶中滴加溶有 1.0 g 淀粉(ST)的二甲基亚砷溶液,搅拌直至体系中无 H_2 放出,加入溶有 1.5 g 3-环氧丙氧基荧光素(EPF)的 DMSO 溶液^[6],室温下(约 25 ℃)反应 10 h,用大量无水乙醇沉淀得到棕红色液体,离心后得到深黄色固体粉末。将该粉末溶于蒸馏水中,得到深棕色水溶液的 pH 值显示强碱性。用一定量盐酸中和至 pH 值为 3~4 后静置片刻,再用乙醇沉淀,得到亮黄色固体粉末。反复溶解沉淀 3~4 次后所得到的产品再用无水甲醇抽提直至抽提液无荧光为止。40 ℃左右恒温干燥,得到亮黄色固体粉末状产物:淀粉-3-环氧丙氧基荧光素(ST-EPF)。ST-EPF 具体合成路线见图 1。

1.2.2 材料表征 取 2 mg ST-EPF 在玛瑙研钵中研磨成细粉末,与干燥的溴化钾粉末(约 100 mg,粒度 200 目)混合均匀,装入模具内,在压片机上压制成片,之后在红外光谱仪上测试。取材料 10 mg,用二次蒸馏水溶解,定容至 1 L,浓度为

收稿日期:2015-11-04

基金项目:国家自然科学基金(编号:21475014、51363019、41301248);三峡库区水环境演变与污染防治重点实验室开放基金(编号:WEPKL2013MS-01)。

作者简介:来守军(1977—),男,吉林辽源人,博士,教授,主要从事污染物的荧光探针合成与应用研究。Tel:(0931)8685568;E-mail:shoujunlai@163.com。

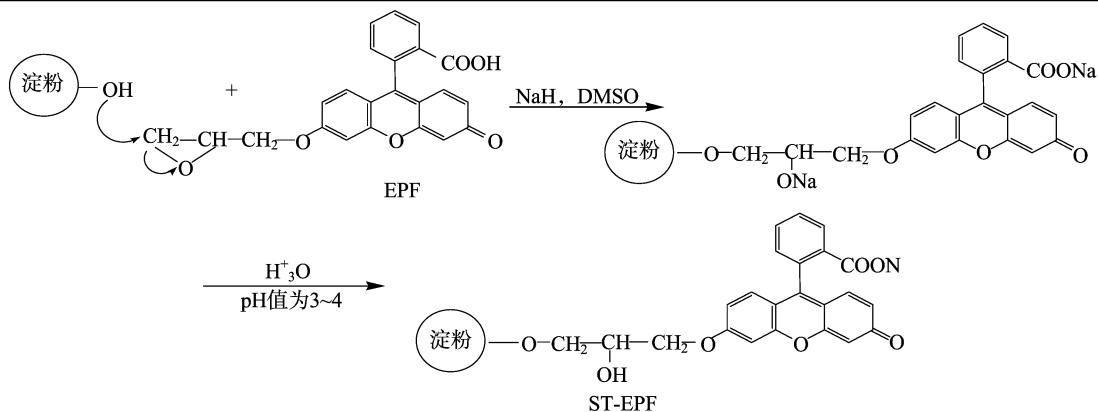


图1 ST-EPF 的合成路线

10.0 mg/L, 备用。设定激发波长为 460 nm, 发射波长范围为 480 ~ 650 nm, 扫描电压为 700 V, 狭缝宽度为 10 nm。取备用溶液, 稀释 10 倍, 测定其荧光光谱、紫外光谱。

1.3 合成材料对金属离子的响应分析

为了考察该材料对金属离子的响应选择性, 配制一系列金属离子水溶液, 包括 K^+ 、 Na^+ 、 Ag^+ 、 Ca^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Al^{3+} , 备用浓度均为 0.1 mmol/L, 试验操作条件与之前的荧光测试条件相同。

1.4 合成材料对 Fe^{3+} 的荧光光谱响应分析

基于材料对 Fe^{3+} 的特性响应, 配制 $1.0 \times 10^{-7} \sim 3.0 \times 10^{-5}$ mol/L 浓度的 Fe^{3+} 溶液, 基于标准曲线法建立标准曲线, 计算相关系数, 评价方法的实用性。

1.5 三峡库区土壤与水体中 Fe^{3+} 的测定

根据三峡库区的土壤和水体特点, 选取重庆市万州段土壤和水体作为分析对象。基于笔者所在课题组之前的工作基础^[7], 在长江万州段及其支流苕溪河分别选取 6 个土壤和水体取样点: (1) 桐园; (2) 盘盘石; (3) 东方广场; (4) 南门口; (5) 天仙湖; (6) 晒网坝 (图 2), 分别在枯水期和丰水期采样。采用王水提取法^[8]对样品进行预处理。

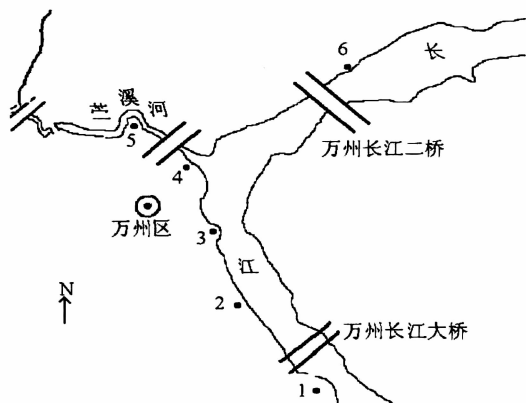


图2 土壤和水体取样点分布

2 结果与分析

2.1 合成样品的红外光谱分析

图 3 为 ST-EPF 的红外光谱, 图中处于 3500cm^{-1} 附近的峰为淀粉的—OH 峰, 说明反应后的淀粉仍有大量羟基存

在, 环氧基团只取代了其中的小部分。参考纯水溶性淀粉的红外光谱, 比较发现, 在 $1600 \sim 1700\text{cm}^{-1}$ 有明显变化, 当淀粉与 EPF 反应后, 在 1700 处出现 1 个明显的尖锐吸收峰, 归属于 EPF 上 $C=O$ 的吸收峰。该新峰的出现可以证明 EPF 分子上的环氧基团与 ST-EPF 上的羟基发生了反应, EPF 是以化学键合的方式连接在淀粉侧链上的^[5]。

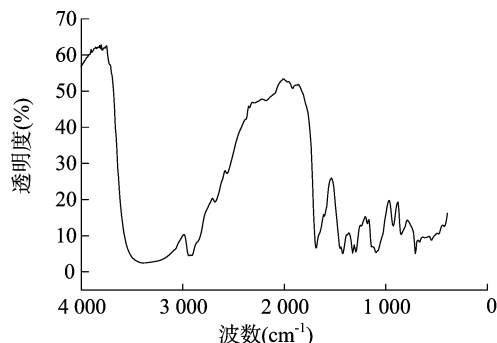


图3 ST-EPF 的 IR 光谱

2.2 合成样品的光学性质分析

图 4 显示该材料的光学性质, 紫外吸收光谱表明, 该材料的最大吸收波长在 460 ~ 480 nm, 荧光光谱发射峰在 524 nm, 与接枝淀粉之前的荧光素差别不大, 保留了荧光物质的基本光学性质。为了避免激发光谱对荧光光谱的干扰, 同时获得较佳的灵敏度, 荧光测定选定激发波长为 460 nm。

2.3 金属离子对合成样品的荧光光谱的影响

通过对比加入金属离子后材料的荧光强度, 可以看出只有 Fe^{3+} 能够高效猝灭材料的荧光强度 (图 5)。随着 pH 值的变化, 荧光素有不同解离形式, 其中只有 2 种阴离子形式的荧光素有较强的荧光发射^[9]。由之前的表征可以看出, EPF 成功修饰 ST 的同时, 表面还有大量的羟基 (3500cm^{-1} 附近的峰为—OH 峰), 是荧光的增色团, 同时可以充当金属离子的配体。当金属离子与材料发生化学反应后, 由于酸度增强和—OH 数量的减少, 从而使得荧光强度降低。作为 Lewis 酸的金属离子的配位能力和酸性由于金属离子的结构不同而不同, 所以材料的荧光强度降低程度也不同。 Fe^{3+} 是很强的 Lewis 酸, 电子构型为 $3d^5$, 不仅具有 $3d$ 、 $4s$ 、 $4p$ 轨道可以成键^[10-11], $K_{稳}$ 一般也较大, 远远高于其他金属离子, 所以对材料的猝灭效果较好。

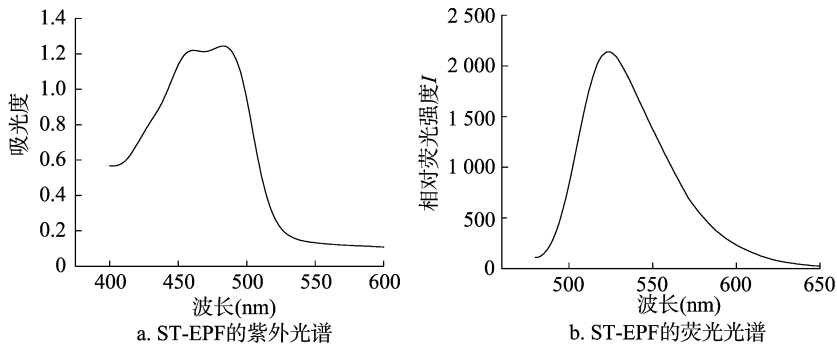


图4 ST-EPF 的紫外光谱图和荧光光谱

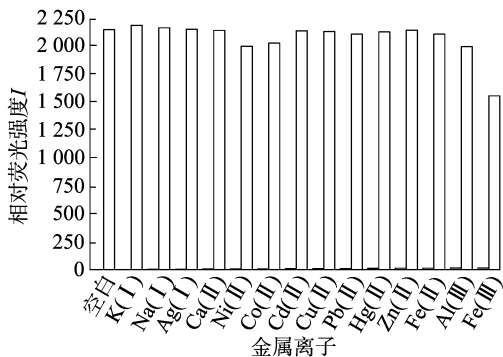
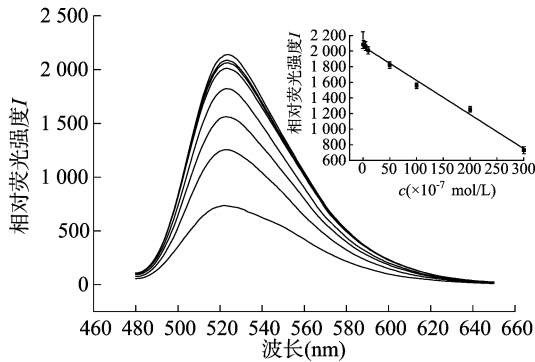


图5 加入不同金属离子后 ST-EPF 荧光强度变化情况

2.4 Fe^{3+} 对合成样品的线性响应

研究发现, Fe^{3+} 不仅对材料的荧光强度有猝灭作用,同时相对荧光强度(I)与浓度(c)在一定范围内满足线性关系(图6),线性方程为 $I = -4.3751c + 2062.5$,线性响应范围为 $1.0 \times 10^{-7} \sim 3.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$,相关系数为 0.992 6,加标回收率为 95.2% ~ 102.6%,暗示该光学材料可以作为测定 Fe^{3+} 的潜在探针。



Fe^{3+} 浓度由上往下分别为0、 1×10^{-7} 、 5×10^{-7} 、 1×10^{-6} 、 5×10^{-6} 、 1×10^{-5} 、 2×10^{-5} 、 $3 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$

图6 Fe^{3+} 的加入对 ST-EPF 荧光强度的影响

2.5 实际样品的测定结果

为了考察探针的实际应用效果,同时利用探针的分析结果,评价三峡库区重庆市万州段土壤和水体的 Fe^{3+} 含量。

由表 1 可以看出,枯水期土壤中 Fe^{3+} 检出浓度多在 $300 \mu\text{g/g}$ 以下,丰水期土壤中 Fe^{3+} 检出浓度大部分接近或超过 $300 \mu\text{g/g}$;枯水期水体中 Fe^{3+} 检出浓度多在 $20 \mu\text{mol/L}$ 以下,丰水期水体中 Fe^{3+} 检出浓度大部分接近或超过 $20 \mu\text{mol/L}$ 。1 号、6 号取样点土壤和水中 Fe^{3+} 浓度相对较小,因为这 2 个区域的污染物只来源于居民日常生活垃圾,经

过丰水期到枯水期的过渡,大多数 Fe^{3+} 已经被冲刷到库区下游;2 号取样点土壤和水中 Fe^{3+} 浓度相对最高,主要是因为 2 号取样点上游有化工园区、码头等,为面源污染;4 号、5 号取样点位于苕溪河下游,目前苕溪河污染严重,所以污染物浓度也相对较高;3 号取样点位于长江转弯处,水体对于污染物的自净功能较差,所以 3 号取样点污染物浓度比 4 号、5 号取样点高。总体来说,丰水期各取样点土壤和水中 Fe^{3+} 浓度高于枯水期,这可能是由于江水对沉积物的冲刷以及江水对岸边垃圾的浸泡,使污染物来源得到了加强^[12-14]。

表 1 三峡库区重庆市万州段土壤和水中 Fe^{3+} 浓度

取样点	土壤中 Fe^{3+} 浓度($\mu\text{g/g}$)		水体中 Fe^{3+} 浓度($\mu\text{mol/L}$)	
	丰水期	枯水期	丰水期	枯水期
1	8.3	5.6	5.6	4.3
2	461.5	354.8	28.5	18.2
3	320.6	286.3	22.4	12.5
4	300.5	263.2	21.8	11.6
5	263.5	198.2	16.2	10.7
6	10.2	7.3	7.3	6.3

3 结论

本研究表明,利用环保修饰剂淀粉化学键合合成淀粉修饰的荧光素(ST-EPF),拓展了荧光素在环保领域的应用。修饰合成的 ST-EPF 对于金属离子 Fe^{3+} 具有很好的响应效果,归结于 Fe^{3+} 是强的 Lewis 酸。将荧光探针用于分析三峡库区土壤和水中 Fe^{3+} 浓度,方法简单环保。本研究还分析了重庆市万州段的污染状况及污染物来源,为污染控制研究提供了参考。

参考文献:

[1] 许家胜,张杰,钱建华. 酸碱理论的发展[J]. 化学世界,2010, 51(6):381-384.
[2] 刘水英,江海,李新生,等. 火焰原子吸收光谱法测定彩色甘薯及其土壤中 6 种微量元素[J]. 江苏农业科学,2014,42(11): 344-347.
[3] 倪英萍,荆森. Agilent AA240FS 火焰原子吸收法快速测定饮用水及水源水中低含量 Cu、Mn、Fe、Zn[J]. 环境化学,2012,31(9):1460-1461.
[4] 全继宏,刘真贞,郑明明,等. 碰撞池 ICP-MS 测定土壤中的 V、Cr、Mn、Fe[J]. 环境科学与技术,2015,38(6P):524-526.
[5] Guan X L, Liu X Y, Su Z X, et al. The preparation and photophysical behaviors of temperature/pH-sensitive polymer materials bearing

高雁琳,李钧敏,闫明.接种AMF对煤矿废弃物上高丹草根系生长及抗氧化酶系统的影响[J].江苏农业科学,2016,44(12):452-456.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.12.135

接种 AMF 对煤矿废弃物上高丹草根系生长及抗氧化酶系统的影响

高雁琳¹,李钧敏^{2,3},闫明¹

(1. 山西师范大学生命科学学院,山西临汾 041004; 2. 浙江省植物进化生态学与保护重点实验室,浙江台州 318000;

3. 台州学院生态研究所,浙江台州 318000)

摘要:采用盆栽试验方法,以高丹草为研究对象,选用摩西球囊霉(*Glomus mosseae*)和地表球囊霉(*Glomus versiforme*),分别研究单接种和混合接种对粉煤灰(S1)、煤矸石(S2)和粉煤灰与煤矸石混合物(S3)3种基质上高丹草(*Sorghum bicolor* × *S. sudanense*)根系形态及抗氧化酶系统的影响,并以正常沙土(S4)作为对照。结果表明:煤矿区废弃物基质上高丹草根系的生长受到抑制,接种AM真菌减缓了高丹草根系生长受抑制的程度,促进根长、根表面积、根体积、根生物量的显著增加;高丹草根系SOD、POD、CAT活性显著提高,MDA含量降低。AM真菌可通过调节高丹草根系形态,提高根系抗氧化酶活性,增强高丹草在煤矿废弃物复合逆境中的抗逆性,并且接种摩西球囊霉对粉煤灰以及粉煤灰和煤矸石混合基质上高丹草根系的促进作用最佳,而接种地表球囊霉更适于煤矸石基质上高丹草根系的生长。

关键词:丛枝菌根真菌(AMF);煤矿废弃物;高丹草;根系形态;抗氧化酶

中图分类号: X171.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)12-0452-05

煤矿开采对环境造成极大扰动,引发了一系列亟待解决的生态环境问题,如水土流失、土地贫瘠化、盐碱化等。采煤沉陷区是煤矿废弃地复垦的主要类型之一,其治理也是目前矿区生态修复的重大难题。充填复垦是采煤沉陷区植被重建的主要方式之一,而煤矸石和粉煤灰是目前充填复垦的主要材料^[1],然而,其具有物理结构不良、保水保肥能力差、营养元素缺乏、重金属浓度高、盐分含量过高、极端pH值以及微生物区系稀少且活性极低等许多不利因子^[2],可引起植物生长及其生理活性的降低,最终导致植被退化,因此,增强煤矿

废弃地植被抗逆性、提高植物成活率具有实际意义。丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)存在于几乎所有类型的土壤中,可以与陆地上绝大部分的高等植物物种形成互惠共生体^[3],改善植物对水分和矿质营养的吸收,增强植物对高盐度及重金属等不利因子的耐性^[4-5],提高植物存活率,促进植物生长。

目前,煤矿区AM真菌的研究,一方面集中在对煤矿区AM真菌的调查、分类以及优势AM真菌的筛选^[6-7],另一方面集中在通过接种AM真菌对煤矿区土壤进行改良(如土壤肥力、土壤酶活性^[8-9]等)以及对植物进行修复(如促进矿质营养的吸收^[10-11]和对重金属的吸收与转移^[12]等方面)。植物根系是吸收水分和养分并进行物质转化的重要器官,其生长发育及形态特征直接影响地上部的形态建成和物质积累,同时也是AM真菌侵染和最先感受煤矿废弃物不利因子复合胁迫信号的部位^[13]。AM真菌如何影响煤矿废弃物在复合逆境中植物根系的形态及抗氧化酶系统,能否促进根系的生长、

收稿日期:2015-10-08

基金项目:国家自然科学基金(编号:30800133,31270461);山西师范大学基金(编号:ZR1211)。

作者简介:高雁琳(1988—),女,山西朔州人,硕士,主要从事菌根生态学。E-mail:cgssayll@126.com。

通信作者:闫明,博士,副教授,硕士生导师,主要从事植被生态学研究。E-mail:mycorrhiza@sina.com。

fluorescein[J]. Reactive and Functional Polymers, 2006, 66(11): 1227-1239.

[6] 李小花,马会民,董素英,等.一种新的荧光素类荧光探针的设计合成及其在血清中组氨酸的选择性标记[J].高等化学学报,2003,24(11):1984-1986.

[7] 付川,郭劲松,祁俊生,等.长江(万州段)水体溶解性有机物的荧光光谱分析[J].长江流域资源与环境,2009,18(9):856-859.

[8] 李海峰,王庆仁,朱永官.土壤重金属测定两种前处理方法的比较[J].环境化学,2006,25(1):108-109.

[9] Sjöback R, Nygren J, Kubista M. Absorption and fluorescence properties of fluorescein[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular Biomolecular Spectroscopy, 1995, 51(6): L7-L21.

[10] 赵雅萍,王军锋,陈甫华.载铁(Ⅲ)-配位体交换棉纤维素吸附剂对饮用水中砷(V)和氟联合去除的研究[J].高等学校化学学报,2003,24(4):643-647.

[11] 高洪苓,张虹,康怀萍,等. Fe(Ⅲ)与两种4-羟基吡啶二酸形成的配合物的合成与晶体结构[J].无机化学学报,2007,23(6):1099-1102.

[12] 王丽平,章明奎.不同来源重金属污染土壤中重金属的释放行为[J].环境科学研究,2007,20(4):134-138.

[13] 林建伟,王里奥,赵建夫,等.三峡库区生活垃圾的重金属污染程度评价[J].长江流域资源与环境,2005,14(1):104-108.

[14] 杨清伟,丁蔚,王图锦,等.小江回水区水体重金属污染状况调查与评价[J].重庆第二师范学院学报,2015,28(1):164-167.