

螺吡喃衍生物在固相基质中的应用 ——锌离子 PVC 膜荧光传感器*

张莹 邵娜 杨荣华** 李克安 刘锋
陈永康 莫恬

(① 北京大学化学与分子工程学院, 北京 100871; ② 香港浸会大学化学系, 香港)

摘要 合成了一种新的螺吡喃衍生物, 将其应用到PVC膜固相基质中, 用于 Zn^{2+} 的荧光检测. 优化条件下, 该敏感膜对 Zn^{2+} 的响应范围为 $4.94 \times 10^{-7} \sim 4.15 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 检测限为 $1.51 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. 实验发现, 该敏感膜具有很好的光学稳定性、重现性和可逆性, 而且与其他过渡金属离子如 Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} 或碱金属和碱土金属离子相比, 该敏感膜对 Zn^{2+} 的荧光增强具有高选择性.

关键词 螺吡喃 传感器 PVC 膜 锌离子 荧光光谱

螺吡喃是一类被广泛而深入研究的功能型光致变色物质^[1]. 在紫外光照射下, 吡喃环C-O键断裂开环, 导致整个分子体系的 π 电子共轭程度加大, 形成有色开环体; 在可见光照射下有色开环体又重新生成闭环无色体. 这一特性使螺吡喃衍生物在光学数据存储、电极反应以及金属离子识别等应用中受到广泛关注^[2].

Phillips 等人曾报道在开环形式下, 螺吡喃的酚氧基可以与二价金属离子络合, 在可见光区产生强吸收^[3]. 通常, 紫外光照射将增大开环体浓度, 有利于金属离子络合; 可见光则促使闭环体形成, 释放出

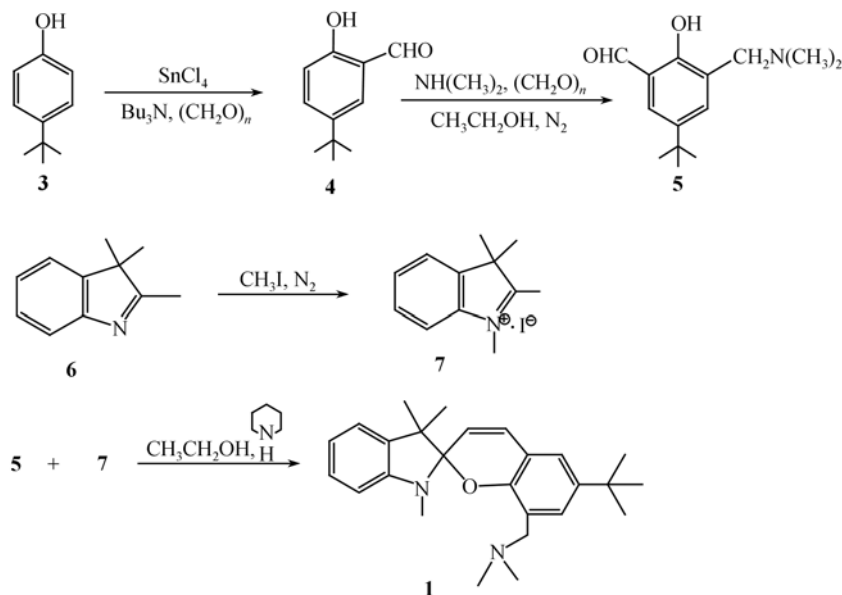
金属离子. 在过去的十几年里, 该体系已广泛应用于过渡金属以及碱金属或碱土金属的识别^[4,5]. 但目前为止尚未见到将螺吡喃用于固相传感器的文献报道.

光化学传感器有多种可供检测的响应信号(荧光、吸收、化学发光等), 但是, 荧光光谱是最有效的一种手段. 因为, 与吸收光谱相比, 荧光识别方法具有更高的灵敏度和更好的选择性; 作为金属离子常用的检测方法, 原子发射光谱虽然有很高的灵敏度, 但是, 原子发射光谱是一种破坏性的, 而采用荧光检测不仅操作简单, 而且, 能实现实时监测. 近年来, 功能化荧光敏感分子的设计及其荧光传感器的构建

2005-07-11 收稿, 2005-08-29 收修改稿

* 国家自然科学基金(批准号: 20475005)和国家杰出青年基金(批准号: 120525518)资助项目

** 联系人, E-mail: yangrh@pku.edu.cn



式1 螺吡喃1的合成路线

成为超分子化学的研究热点^[6,7]。为了构建有效的螺吡喃基质荧光传感器,我们设计合成了一种新的螺吡喃1(式1),并应用于聚氯乙烯膜(PVC)中。实验发现,该聚合膜对锌离子具有良好的荧光响应。当样品溶液中存在 Zn^{2+} 时,敏感膜在630 nm处产生荧光。其他重金属离子,如 Pb^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Fe^{3+} 等使得敏感膜荧光淬灭, Cd^{2+} 能使敏感膜在560 nm的荧光增强。与传统的液相化学传感器相比较,基于聚合膜的固相传感器能通过简单的清洗步骤使敏感试剂再生,而且能从分子角度提供相关底物在有机-水相界面结合的细节特征。据我们所知,本工作是首次关于螺吡喃1在膜相对金属离子进行荧光传感的报道。本文对于 Zn^{2+} 的测量原理、检测范围及传感器的响应特性等方面进行了讨论。该敏感膜不但对 Zn^{2+} 有极好的选择性和灵敏度,而且使用寿命长,具有潜在的实际应用价值^[8]。

1 实验部分

1.1 实验原料

聚氯乙烯(PVC)、四对氯苯硼酸钾(KTpClPB)、癸二酸二异辛酯(DOS)、邻苯二甲酸丁酯、三-苯甲基磷

酸酯、邻苯二甲酸癸酸酯和四氢呋喃(THF)均为市售分析纯试剂。金属离子储备液均由分析纯硝酸盐溶于二次蒸馏水获得。不同浓度的金属离子溶液由 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HEPES ($\text{pH} = 7.4$, $I = 0.1$ (NaNO_3)))缓冲溶液稀释储备液得到。其他化学物质均为分析纯。

1.2 实验器材

Inova-400 核磁共振仪, Finnigan MAT SSQ-710 低分辨质谱仪, Q-Star Pulsar I (Applied Biosystem/PE Sciex) 高分辨质谱仪, Hitachi U-3010 紫外-可见分光光度计 (Kyoto, Japan), Hitachi F-4500 荧光分光光度计 (Kyoto, Japan), PHS-3C pH计, 自制流动测量池^[9]。

1.3 螺吡喃1的合成

螺吡喃1的合成路线如式1所示^[10]。反应产物均由 ^1H NMR, ^{13}C NMR和质谱进行表征。螺吡喃1的表征结果如下: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7.16 (m, 2H), 7.06 (d, $J = 6.8$, 1H), 6.95 (d, $J = 2.4$, 1H), 6.81 (m, 2H), 6.46 (d, $J = 7.6$, 1H), 5.66 (d, $J = 10$, 1H), 3.20 (q, $J = 13.2$, 2H), 2.66 (s, 3H), 2.07 (s, 6H), 1.29 (s, 12H), 1.18 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 149.8, 142.1, 136.9, 130.0, 127.9, 127.3, 122.3, 121.3, 118.8,

118.5, 117.7, 106.5, 56.2, 51.1, 45.3, 33.9, 31.5, 28.9, 25.7, 20.4. MS (M^+): 390.

1.4 敏感膜的制备

准确称取 1.8 mg 螺吡喃 **1**, 2.5 mg KTpCIPB, 50 mg PVC 和 100 mg 邻苯二甲酸二癸酸酯(表 1), 溶于 2.0 mL 新蒸的 THF, 得到清晰、均一的溶液. 在自制的铝合金旋转制膜装置中, 将直径为 35 mm 的洁净石英玻片置于饱和 THF 气氛中, 以~600 转/min 的频率旋转, 同时向石英玻片上注射 0.2 mL 上述膜溶液, 约旋转 5 s, 得到附着在石英玻片上厚约 4 μm 的薄膜.

1.5 测量步骤

将一片附有敏感膜的石英玻片和一片尺寸相同的 PVC 圆板装入流通池中(附有敏感膜的石英玻片朝着光源), 然后将测量池以特定位置装入荧光光度计的样品室^[11], 以保证进入检测器的发射荧光不受激发光源的影响. 注入约 3.4 mL 样品溶液, 在最大激发波长 540 nm 和最大发射波长 630 nm 处测量荧光强度. 每次测量前都通入 HEPES 空白缓冲液, 直到敏感膜荧光强度稳定. 用分别溶液法考察传感器的选择性^[12]. 选择性系数根据 $(1-\alpha) = 0.544$ 在响应方程(3)中的位置进行比较(见下文), 该点对应的 Zn^{2+} 浓度为 $1.2 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 属于人体正常浓度范畴^[13].

2 结果与讨论

2.1 螺吡喃分子的设计

主要从三方面考虑受体分子的设计: 首先, 螺吡喃必须识别某种金属离子. 为了增强受体分子与金属离子的特异性结合, 在螺吡喃的 8'-位引入氨基, 因为后者对于 d-和 f-元素有强的亲和作用^[14]. 其次, 为了得到稳定的光学信号, 螺吡喃的闭环体与开环体之间应当化学可逆而非光学可逆. 文献[4]报道, 6'-

位带有强的吸电子基团有利于光可逆转换, 而供电子基的存在使得开环体的酚氧基负离子不稳定, 不产生光可逆转换. 因此, 我们在 6'-位引入供电子的叔丁基代替硝基. 再次, 在分子中引入长链烷基以增强其疏水性, 提高敏感膜的使用寿命.

2.2 金属离子对螺吡喃 **1** 吸收光谱的影响

图 1 是螺吡喃 **1** 在乙醇($5.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)溶液中的吸收光谱. 无金属离子时, 螺吡喃 **1** 在紫外区有最大吸收, 而在可见区几乎没有吸收 ($\epsilon = 120 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), 表明螺吡喃 **1** 主要以闭环体存在. 在 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 中, 螺吡喃 **1** 在 560 nm 处 ($\epsilon = 570 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) 出现弱的吸收峰, 表明螺吡喃质子化开环体的形成, 但溶液颜色没有明显的变化. 相反, 当存在不同的二价金属离子时, 螺吡喃 **1** 在 400~600 nm 会产生明显的吸收, 并伴随不同的颜色变化. Zn^{2+} 存在时, 溶液为粉红色 ($\lambda_{\text{max}} = 521 \text{ nm}$, $\epsilon = 2716 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$); Cd^{2+} 存在时, 溶液为黄绿色 ($\lambda_{\text{max}} = 417 \text{ nm}$, $\epsilon = 1316 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), 且各种有色溶液具有良好的光稳定性. 金属离子的存在导致螺吡喃 **1** 最大吸收峰的位移以及摩尔吸光系数的增大说明金属离子与基态配体之间通过强的相互作用而形成了开环体-金属离子复合物.

2.3 敏感膜对 Zn^{2+} 的荧光响应

图 2 为敏感膜 **M1** 与含有不同浓度 Zn^{2+} 的 HEPES 缓冲液作用的荧光激发和发射光谱. 从图中可以看出, 当 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 注入流通池中, 敏感膜仅发射微弱的荧光, 说明在没有金属离子存在下, 螺吡喃 **1** 主要以闭环体存在. 相反, 当注入含有不同浓度 Zn^{2+} 的缓冲液时, 敏感膜的激发(540 nm)和发射(630 nm)荧光强度都明显增强. 我们认为导致荧光强度增加的原因, 不仅源于螺吡喃开环体浓度的增大, 而且

表 1 不同组分的敏感膜在 $\text{pH} = 7.4^{\text{a}}$ 时的响应行为

敏感膜	增塑剂	动力学范围/ $10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$	响应时间/min	稳定时间 ^{b)} /h
M1	邻苯二甲酸癸酸酯	0.494~415	2~4	>24
M2	癸二酸二异辛酯	0.537~182	3~4	>12
M3	邻苯二甲酸二丁酯	0.713~202	3~5	8~12
M4	三-苯甲基磷酸酯	0.881~237	2~4	6~8

a) 敏感膜均含有 1.8 mg 螺吡喃 **1**, 2.5 mg KTpCIPB, 50 mg PVC 和 100 mg 增塑剂; b) 信号稳定时间指敏感膜在 630 nm 处的荧光强度变化小于 5% 的时间范围

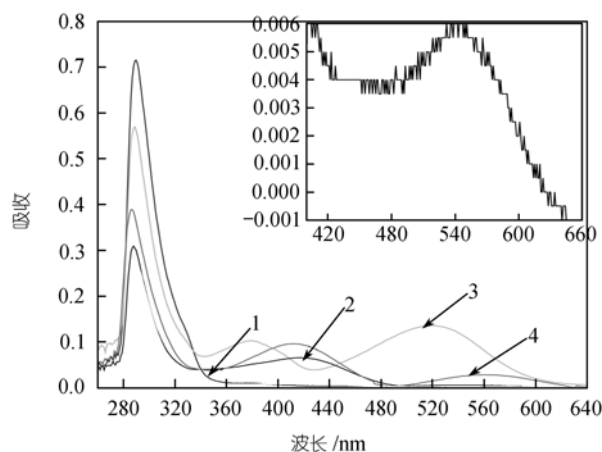


图1 螺吡喃 **1** ($5.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 在不同实验条件下的紫外-可见吸收图谱

1, 乙醇; 2, (1) + $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$; 3, (1) + $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Zn}^{2+}$; 4, (1) + $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HCl}$. 插图表明螺吡喃 **1** 在可见区吸收很弱

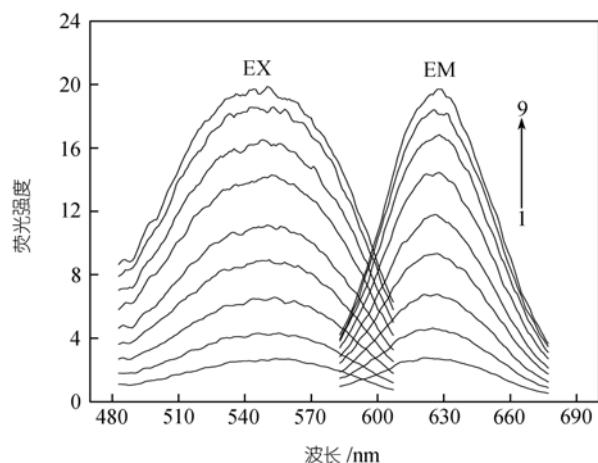
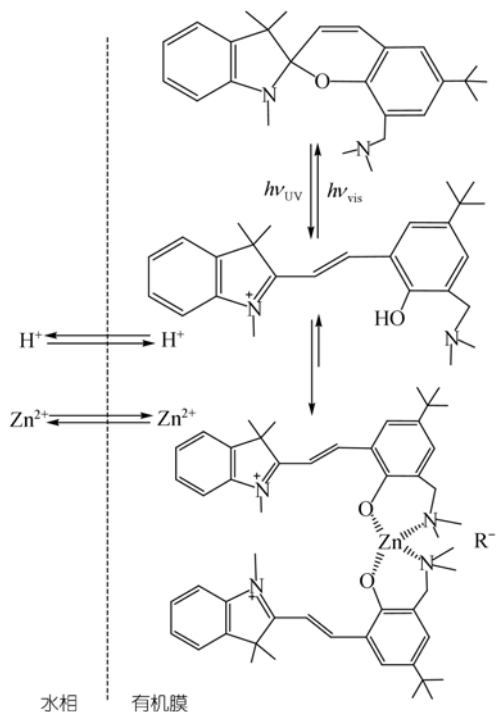


图2 敏感膜在含有不同浓度 Zn^{2+} 的 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HCl}$ 和 HEPES 缓冲溶液中的荧光激发 ($\lambda_{\text{em}} = 630 \text{ nm}$) 和发射图谱 ($\lambda_{\text{ex}} = 540 \text{ nm}$)

Zn^{2+} 浓度: 1, 0; 2, 1.0×10^{-6} ; 3, 2.5×10^{-6} ; 4, 5.0×10^{-6} ; 5, 1.0×10^{-5} ; 6, 2.5×10^{-5} ; 7, 5.0×10^{-5} ; 8, 1.0×10^{-4} ; 9, $2.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

因为金属离子与开环体形成了配合物(式 2), 有效阻止了荧光团通过光诱导互变异构产生的非辐射失活^[15], 这与文献报道的关于 8-羟基对苯二酚螺吡喃衍生物与金属离子络合前后的数据变化相一致^[4]. 表 2 总结了敏感膜 **M1** 与不同金属离子相互作用后在 630 nm 处的荧光强度变化情况. 在特定介质中, 螺吡喃 **1** 对不同金属离子的荧光响应很大程度上取决于金属



式2 螺吡喃 **1** 与 Zn^{2+} 在水相-有机膜相界面的作用机理

离子的本质. 由于螺吡喃 **1** 的金属离子结合部位为 N, O-杂原子, 对于碱金属、碱土金属的亲合作用非常小, 因此这些金属离子对于螺吡喃 **1** 的荧光几乎没有影响. Cd^{2+} 使螺吡喃 **1** 在 560 nm 处的荧光增强, 但是, 荧光增强的幅度远小于相同条件下的 Zn^{2+} 的影响, 这可能与金属离子的直径有关. Cu^{2+} 是一种抗磁性金属离子, 当它与螺吡喃 **1** 螯合后, 会和配体的未成对电子发生自旋轨道耦合和系间窜越, 导致螺吡喃 **1** 的荧光淬灭^[16]. Hg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} 和 Co^{2+} 也会产生类似的现象. 不同金属离子对螺吡喃 **1** 的荧光强度造成的明显差异构成了此敏感膜选择性检测 Zn^{2+} 浓度的基础.

2.4 测量原理

本传感器的工作原理属于离子交换体系(式 2)^[12]. 敏感膜中, 螺吡喃 **1** 为离子结合基团和信号报告基团, KTPCIPB 为阴离子定域体 (R^-). H^+ 存在和紫外光照射下, 螺吡喃 **1** 转化成质子化开环体 (HME^+). 样品溶液中的 Zn^{2+} 被螺吡喃 **1** 萃取进入膜相, 形成金属配合物; 同时, 膜相中释放两个 H^+ 到水相, 以维持膜的电

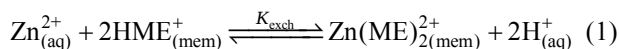
表 2 敏感膜 M1 在各种竞争离子存在下对 Zn^{2+} 的荧光响应

分析物	浓度/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	荧光强度 ^{a)}	分析物	浓度/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	荧光强度
HCl	10	$2.67 \pm 0.11^{\text{b)}$	Mn^{2+}	0.01	2.12 ± 0.09
Zn^{2+}	0.01	11.7 ± 0.21	$\text{Zn}^{2+} + \text{Mn}^{2+}$	$0.01 + 0.01$	10.84 ± 0.23
Ca^{2+}	50	2.71 ± 0.08	$\text{Zn}^{2+} + \text{Ca}^{2+}$	$0.01 + 50$	11.81 ± 0.27
Mg^{2+}	50	3.02 ± 0.13	$\text{Zn}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$	$0.01 + 50$	11.72 ± 0.17
Cd^{2+}	0.01	4.44 ± 0.12	$\text{Zn}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$	$0.01 + 0.01$	11.47 ± 0.24
Fe^{3+}	0.01	1.62 ± 0.14	$\text{Zn}^{2+} + \text{Fe}^{3+}$	$0.01 + 0.01$	10.86 ± 0.11
Cu^{2+}	0.01	1.74 ± 0.08	$\text{Zn}^{2+} + \text{Cu}^{2+}$	$0.01 + 0.01$	9.83 ± 0.22
Hg^{2+}	0.01	1.81 ± 0.10	$\text{Zn}^{2+} + \text{Hg}^{2+}$	$0.01 + 0.01$	10.51 ± 0.24
Pb^{2+}	0.01	2.04 ± 0.11	$\text{Zn}^{2+} + \text{Pb}^{2+}$	$0.01 + 0.01$	10.76 ± 0.19

a) 荧光强度在 630 nm 处测量, 激发波长为 540 nm; b) 3 次测量平均值 $\pm$ 标准偏差

中性.

若 HME^+ 和 Zn^{2+} 以 2:1 的配比形成配合物^[8], 膜相和水相的总平衡反应如式(1)所示:



交换常数为:

$$K_{\text{exch}} = k_d \times \beta = \frac{a_{\text{H}^+}^2 [\text{Zn}(\text{ME})_2^{2+}]}{a_{\text{Zn}^{2+}} [\text{HME}^+]^2}, \quad (2)$$

式中 k_d 和 β 分别表示分配系数和化合物的形成常数. α 定义为膜相中游离的 HME^+ 和总的 HME^+ 的浓度比, 则式(2)可以简化为式(3):

$$\frac{a_{\text{Zn}^{2+}}}{a_{\text{H}^+}^2} = \frac{1-\alpha}{K'_{\text{exch}} \cdot \alpha^2}. \quad (3)$$

α 可以通过测量敏感膜的荧光强度而得到:

$$\alpha = \frac{F_0 - F}{F_0 - F_1}, \quad (4)$$

式(4)中, F 表示在给定 Zn^{2+} 浓度下, 敏感膜的荧光强度; F_1 和 F_0 分别表示为 $\alpha = 1$ (敏感膜中螺吡喃 **1** 全部以游离状态存在) 和 $\alpha = 0$ (敏感膜中螺吡喃 **1** 全部以复合物形式存在) 时敏感膜的荧光强度. 结合式(3)和(4), 考虑到敏感膜的荧光强度取决于样品溶液中金属离子的浓度, 传感器的响应选择性可以根据待测金属离子浓度计算. 通过比较各种金属离子响应曲线在 $(1-\alpha) = 0.544$ 位置之间的水平距离(此时对应 Zn^{2+} 浓度为 $1.2 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 属于人体正常浓度水平^[13]), 可以得到不同金属离子的相对选择常数. 图 3 表示了各种金属离子的实验响应点和理论拟合曲线的比较. 实验点和拟合曲线良好的相关性证实了式(1)中假设的正确性. 敏感膜对 Zn^{2+} 浓度的动力学响应范围为

$4.94 \times 10^{-7} \sim 4.15 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($0.1 \leq (1-\alpha) \leq 0.9$)^[17], 检测限为 $1.51 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($(1-\alpha) = 0.05$).

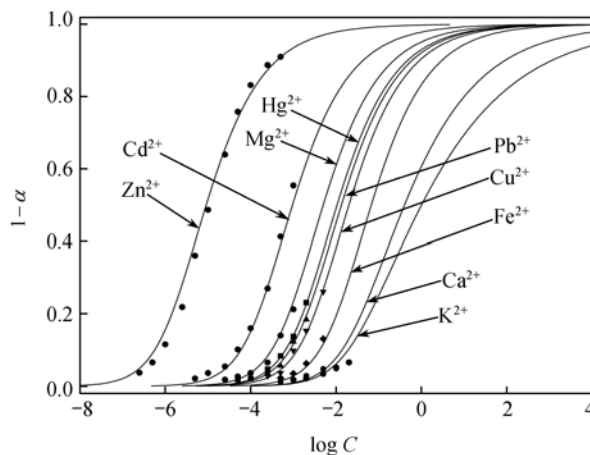


图 3 响应参数 $(1-\alpha)$ 对 $\log[\text{Zn}^{2+}]$ 和 $\log[\text{M}^{n+}]$ 的方程

实线是根据方程(3)得到的理论预测曲线, 通过调整 K'_{exch} 使实验点与理论预测曲线相符合. pH = 7.4. C 的单位为 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

2.5 增塑剂的选择

作为敏感物质的支持介质, 必须选择合适的增塑剂, 以保证螺吡喃 **1** 与 Zn^{2+} 发生作用时能得到稳定的荧光响应信号. 螺吡喃质子化开环体光学稳定性随着溶液极性的增加而显著增加^[2]. 另外, 增塑剂在水相中的溶解度以及对可见光的透光率也可能影响敏感膜的响应行为. 为了得到透明、均一且能与 Zn^{2+} 有稳定荧光响应的敏感膜, 我们考察了几种增塑剂的影响, 表 1 总结了敏感物质在不同增塑剂中的响应特征指标. 通过比较动力学范围和敏感膜的使用寿命, 邻苯二甲酸癸酸酯作为增塑剂时, 敏感膜对 Zn^{2+}

能得到最好的响应。

2.6 pH 的影响

敏感膜的荧光响应会受到溶液酸度的影响。如式(3)所示,检测动力学范围能很容易地通过调节 H^+ 的浓度而改变。控制溶液的pH在7.0~9.0之间,能够得到不同离子的浓度检测范围。图4表明了不同pH对敏感膜响应的影响。pH = 7.0,敏感膜对 Zn^{2+} 的最佳检测范围为 $2.05 \times 10^{-7} \sim 1.41 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。pH = 8.0,检测范围扩大到 $5.61 \times 10^{-7} \sim 3.55 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。而且,pH每降低一个单位,敏感膜的响应信号($1-\alpha$)就增加0.1个单位。因此,我们可以通过调节溶液的pH,利用敏感膜实现对样品中阳离子浓度的检测,使样品的检测在灵敏度最高的响应范围内。这也是光化学方法优于离子选择电极的一点。

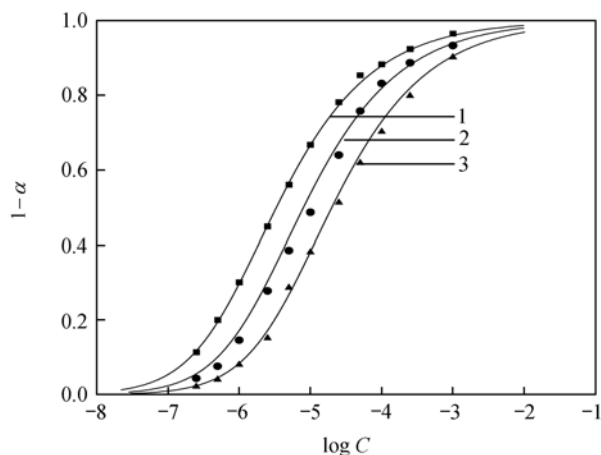


图4 敏感膜M1在不同pH条件下的响应参数($1-\alpha$)对 $\log a_{Zn^{2+}}$ 作图

1, pH 7.0; 2, pH 8.0; 3, pH 9.0. $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 540 \text{ nm}/630 \text{ nm}$. 拟合曲线根据方程3得到

2.7 敏感膜对 Zn^{2+} 的响应特性

考虑到质子化开环体与金属离子形成的复合物具有光学可逆转换结构,研究了不同浓度 Zn^{2+} 对螺吡喃1在630 nm处的荧光影响。如图5所示,开环体-金属离子复合物在短时间内形成,并伴随着荧光发射强度的逐渐增大。膜的响应时间取决于 Zn^{2+} 浓度的变化,在 Zn^{2+} 检测范围内,响应时间为2~4 min并且敏感膜被可见光照射后并不会释放金属离子而重新以

螺吡喃闭环形式存在。但是,在HEPES缓冲液中加入 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA可以使 Zn^{2+} 从膜中被重新释放,整个可逆响应的时间约为2~3 min。表明金属离子与螺吡喃的键合是化学可逆,而非光学可逆。我们认为,这是因为苯环6'-叔丁基的供电子效应不利于开环体酚氧基的稳定性。另一方面,受体部分含N官能团的存在形成的2个热力学稳定的六元环,阻止了开环体-金属复合物发生热力学异构化。

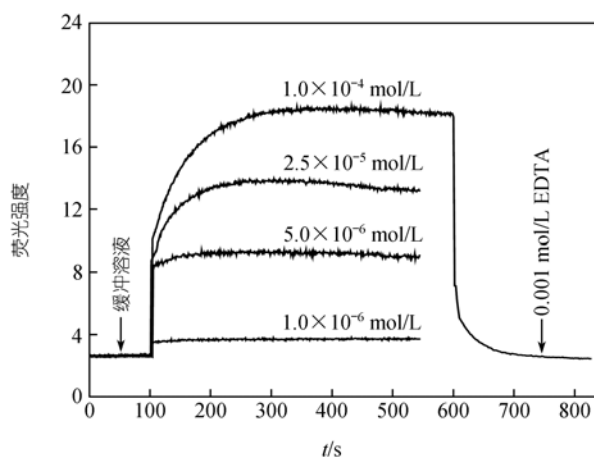


图5 螺吡喃1和不同浓度的 Zn^{2+} 在pH = 7.4时的动力学特点
 $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 540 \text{ nm}/630 \text{ nm}$

用 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn^{2+} 溶液和HEPES缓冲液考察了敏感膜的重现性。在置信区间内,荧光强度平均值为 10.81 ± 0.37 ($n = 5$, $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn^{2+})和 2.75 ± 0.11 ($n = 5$, HEPES buffer)。每30 min检测一次敏感膜M1对 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn^{2+} 的荧光响应,共进行8 h,荧光强度平均值和标准偏差为 11.3 ± 0.97 ($n = 17$)。实验表明,在较短时间内存感器具有良好的稳定性。该敏感膜不用时干放保存,3周后在相同实验条件下测同一样品,荧光强度响应变化仅下降15%。荧光强度下降可能源于敏感膜在较强可见光的照射下的光漂白和光分解作用。对于连续分析检测而言,该传感器的使用寿命可以接受。

2.8 敏感膜的选择性

对分析对象的选择性响应是传感器最重要的特征之一。实验发现,敏感膜对 Zn^{2+} 的荧光响应增强远

大于其他相关金属离子(表 2), 如 K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} 和 Hg^{2+} 等. 在 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 的干扰下, 敏感膜对 Zn^{2+} 仍然表现出良好的选择性, 而后者常常是活体中潜在的干扰离子. 尽管 Cd^{2+} 也能使螺吡喃 **1** 的荧光增强, 但是, 它的最大发射波长在 560 nm. 而在实际测量中, Cd^{2+} 不会显著影响 Zn^{2+} 的测定. 其他离子如 Pb^{2+} , Hg^{2+} , Cu^{2+} 和 Fe^{3+} , 会造成螺吡喃 **1** 的荧光淬灭. 在混合物体系中, 1000 倍过量的碱金属离子或其他阴离子对 Zn^{2+} 的测定无干扰.

为了进一步确定敏感膜对不同离子的响应行为, 聚合膜 **M1** 分别与不同的金属离子溶液(Zn^{2+} , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{3+} 和 Hg^{2+}) 接触 5 min, 再进行实验. 在 $pH = 7.4$ 的实验条件下, 利用膜响应系数 α , 分别对 $\log[Zn^{2+}]$ 和 $\log[M^{n+}]$ 作图(图 3). 假设形成的复合物的配比为 1:2, 根据式(4), 得到实验点的拟

合曲线. 表 3 列出了交换常数 K_{exch} 和相应的光选择系数 $\log K'_{\text{Zn,M}}^{\text{Opt}}$ [12]. 如图 3 和表 3 所示, 敏感膜对 Zn^{2+} 的响应已经达到在生理溶液中对金属离子的检测要求.

2.9 作用机理初探

螺吡喃 **1** 与 Zn^{2+} 的作用机理通过核磁图谱被进一步证实(图 6). 当有 Zn^{2+} 存在时, 螺吡喃 **1** 由闭环形式转换成开环形式, 以酚氧基的负电荷和苄胺基氮上的孤对电子分别和 Zn^{2+} 发生配位, 导致 $N(\text{CH}_3)$ 和 $N(\text{CH}_3)_2$ 的化学位移往高场移动; 而 (CH_2) 的化学位移则因为电子云密度的降低而往低场移动; 并且, 由于螺吡喃 **1** 与 Zn^{2+} 发生配位后, $N(\text{CH}_3)_2$ 的二面角结构灵活性受到抑制, 原本为单峰的 $N(\text{CH}_3)_2$ 裂分为双峰.

表 3 敏感膜 **M1** 对竞争离子和 Zn^{2+} 解离常数 (K'_{exch}) 和选择系数 ($\log K'_{\text{Zn,M}}^{\text{Opt}}$)^{a)} 的比较

分析对象	K'_{exch}	$\log K'_{\text{Zn,M}}^{\text{Opt}}$
Zn^{2+}	8.3×10^4	—
K^+	50	-4.72
Ca^{2+}	80	-4.68
Mg^{2+}	1.4×10^3	-2.74
Cd^{2+}	2.1×10^3	-2.01
Fe^{3+}	300	-3.86
Cu^{2+}	1.1×10^3	-3.34
Hg^{2+}	1.9×10^3	-3.06
Pb^{2+}	1.3×10^3	-3.17

a) $\log K'_{\text{Zn,M}}^{\text{Opt}}$ 通过计算不同金属离子的响应曲线在 $(1-\alpha) = 0.544$ 之间的水平距离得到

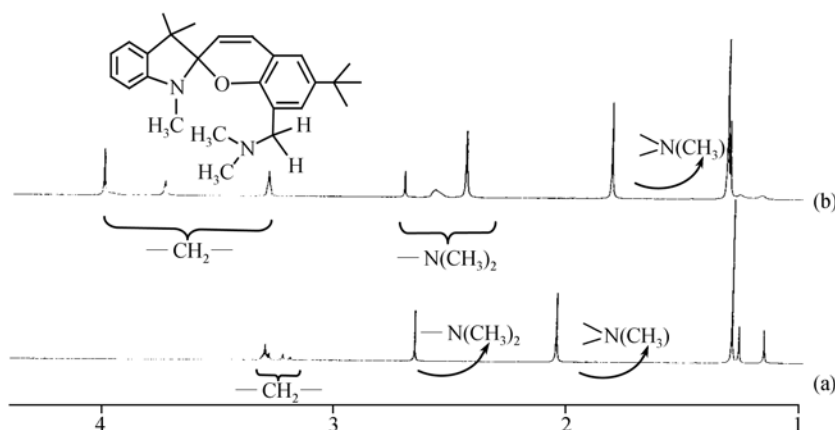


图 6 螺吡喃 **1** 与 Zn^{2+} 相互作用的部分核磁图谱

3 结论

本文将螺吡喃衍生物应用于聚合膜中并发展为锌离子荧光传感器. PVC膜中对热力学稳定的开环体可根据样品溶液中 Zn^{2+} 的浓度变化而连续调整并产生荧光变化. 合适的增塑剂和适当量的亲脂阴离子定域体将有利于膜相中螺吡喃-金属复合物的稳定生成, 从而得到最佳选择性和较长的使用寿命. 敏感膜对 Zn^{2+} 的响应完全是化学可逆的, 当缓冲溶液中含有 EDTA 时, Zn^{2+} 可以从螺吡喃-金属复合物中得到释放. 比较其他具有生理意义的重要阴、阳离子, 该传感器对 Zn^{2+} 具有很好的专一性, 达到了在生理溶液中检测 Zn^{2+} 浓度的选择性要求.

参 考 文 献

- 1 Bertelson R C. Photochromic process involving heterolytic cleavage. In: Brown G H. ed. Photochromism. New York: Wiley Interscience, 1971. 45~431, and references therein.
- 2 Berkovic G, Krongauz V, Weiss V. Spiropyran and spirooxazines for memories and switches. Chem Rev, 2000, 100(5): 1741~1753[DOI]
- 3 Phillips J, Mueller A, Przystal F. Possible evidence for a two-step Diels-Alder reaction. J Am Chem Soc, 1965, 87(17): 4020~4022
- 4 Winkler J D, Bowen C M, Michelet V. Photodynamic fluorescent metal ion sensors with parts per billion sensitivity. J Am Chem Soc, 1998, 120(13): 3237~3242[DOI]
- 5 Kimura K, Utsumi T, Teranishi T, et al. High La(III) affinity of a bis(spirobenzopyran) azacrown ether and photoinduced switching of its ion selectivity between multivalent and monovalent metal ions. Angew Chem Int Ed, 1997, 36(22): 2452~2454[DOI]
- 6 Yang R H, Chan W H, Lee A W M, et al. A ratiometric fluorescent sensor for Ag(I) with high selectivity and sensitivity. J Am Chem Soc, 2003, 125(10): 2884~2885[DOI]
- 7 Zhang Y, Yang R H, Liu F, et al. Fluorescent sensor for imidazole derivatives based on monomer-dimer equilibrium of a zinc porphyrin complex in a polymeric film. Anal Chem, 2004, 76(24): 7336~7345[DOI]
- 8 Kimura E, Koike T. Recent development of zinc-fluorophores. Chem Soc Rev, 1998, 27(3): 179~184[DOI]
- 9 Wang K M, Seiler K, Rusterholz B, et al. Characterization of an optode membrane for zinc(II) incorporating a lipophilized analogue of the dye 4-(2-pyridylzao) resorcinol. Analyst, 1992, 117(1): 57~60[DOI]
- 10 Larrow J F, Jacobsen E N, Cao Y, et al. A practical method for the large-scale preparation of [N,N'-bis(3,5-di-tertbutylsalicylidene)-1,2-cyclohexanediaminato(2-)]manganese(III) chloride, a highly enantioselective epoxidation catalyst. J Org Chem, 1994, 59(7): 1939~1942[DOI]
- 11 Yang R H, Wang K M, Xiao D, et al. A selective optical chemical sensor for the determination of Tween-60 based on fluorescence enhancement of tetraphenylporphyrin. Anal Chim Acta, 2000, 404(2): 205~211[DOI]
- 12 Bakker E, Simon W. Selectivity of ion-sensitive bulk optodes. Anal Chem, 1992, 64(17): 1805~1812[DOI]
- 13 Ohta K, Closs G C, Morkuma K, et al. Stereoelectronic effects in intramolecular long-distance electron transfer in radical anions as predicted by *ab-initio* MO calculations. J Am Chem Soc, 1986, 108(6): 1319~1320[DOI]
- 14 Tong H, Wang L X, Ting X B, et al. Highly selective fluorescent chemosensor for silver(I) ion based on amplified fluorescence quenching of conjugated polyquinoline. Macromolecules, 2002, 35(19): 7169~7171[DOI]
- 15 Bardez E, Devol I, Larrey B, et al. Excited-state processes in 8-hydroxyquinoline: photoinduced tautomerization and solvation effects. J Phys Chem B, 1997, 101(39): 7786~7793[DOI]
- 16 Ghosh P, Bharadwaj P K, Roy J, et al. Transition metal(II)/(III), Eu(III), and Tb(III) ions induced molecular photonic OR gates using trianthryl cryptands of varying cavity dimension. J Am Chem Soc, 1997, 119(49): 11903~11909[DOI]
- 17 Choi M M F, Wu X J, Li Y R. Optode membrane for determination of nicotine via generation of its bromoethane derivative. Anal Chem, 1999, 71(7): 1342~1349[DOI]