

## 摘 要

汞被公认为自然界中的有毒元素，由于重金属的滥用使汞污染大大威胁着自然环境和人类的水源。一旦汞进入含水的环境，细菌便会将无机汞转化成甲基汞，甲基汞不易被分解，最终会随着食物链在人体中沉积，给人类健康造成巨大伤害。世界环境保护组织规定人类引用水的含汞量最高为 2ppb，因此，为了达到这一标准，科学家们都在致力寻找新的检测方法，以求达到汞离子识别的高灵敏度和高选择性。罗丹明类化合物由于其高量子产率，近些年来逐渐被科学家用作汞离子识别的理想探针。本文根据前人的工作总结，设计出一系列基于罗丹明衍生物的汞离子识别探针，并对其检测效果进行了测试。

合成了基于罗丹明 B 的  $\text{Hg}^{2+}$  离子识别探针，在表征其结构的基础上，对其性能进行了相应的测试，发现其对  $\text{Hg}^{2+}$  离子具有一定的选择性和灵敏度。

利用汞的亲硫性对所设计的探针进行结构优化，得到一种新型的  $\text{Hg}^{2+}$  离子识别探针，并对其性能进行了相应的测试，发现其能在纯水中对汞离子的识别效果可以达到 2ppb，证明其为较理想的汞离子识别探针。

在硫代探针的基础上考察推拉电子基团对识别效果的影响，验证了推电子基团将进一步提高探针的识别效果，为探针的进一步优化提供了理论依据。

对分子探针的材料化进行了研究，将得到的汞离子识别探针与分子筛结合，通过测试证明了分子筛可以吸附汞离子识别探针，为分子探针材料化提供了理论依据。

**关键词：** $\text{Hg}^{2+}$  离子；罗丹明 B；荧光探针；变色探针

## $\text{Hg}^{2+}$ Probes Based on Rhodamine Derivatives

### Abstract

Mercury is a highly toxic element and its contamination is widespread and occurs through a variety of nature and anthropogenic source. Once introduced into the marine environment, bacteria will convert inorganic mercury into methylmercury, which enters the food chain and accumulates in higher organisms. The EPA standard for the maximum allowable level of inorganic  $\text{Hg}(\text{II})$  in drinking water is 2ppb, to achieve this standard, the development of new or improved analytical methods for the sensitive and selective determination of  $\text{Hg}^{2+}$  is highly desirable. Because of high quantum yield of rhodamine, more and more scientists use it as ideal  $\text{Hg}^{2+}$  sensor. Under the summarization of former works, we designed a series of  $\text{Hg}^{2+}$  sensor based on rhodamine derivatives, and tested their effects.

We made a synthesis of  $\text{Hg}^{2+}$  sensor based on rhodamine derivatives, and confirmed its structure. We also tested its effects against  $\text{Hg}^{2+}$ , and made sure that it had considerably sensitivity and selectivity towards  $\text{Hg}^{2+}$ .

We used the sulfur preference characteristic of mercury to improve the synthesis of  $\text{Hg}^{2+}$  sensor, we got a new  $\text{Hg}^{2+}$  sensor. After the test of its effect, we found that it could make the criteria of 2ppb in water. So it is an ideal  $\text{Hg}^{2+}$  sensor.

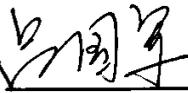
We induced push or pull electron compounds into optimized  $\text{Hg}^{2+}$  sensor, and we found that push electron compounds improved the effect of  $\text{Hg}^{2+}$  sensing. So we can use push electron compounds to make advanced  $\text{Hg}^{2+}$  sensor.

We put the  $\text{Hg}^{2+}$  sensor into molecular sieve MCM-48 in order to make a new material. Under the test of the new material against  $\text{Hg}^{2+}$ , we made sure the new material can be used to absorb  $\text{Hg}^{2+}$  in water. It made a new theory to make chemosensor into new materials.

**Keywords:**  $\text{Hg}^{2+}$  ion; Rhodamine; Fluorescence sensor; Colorimetric sensor

## 独创性说明

作者郑重声明：本硕士学位论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得大连理工大学或者其他单位的学位或证书所使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的贡献均已在论文中做了明确的说明并表示了谢意。

作者签名： 日期：2007.12.14

## 大连理工大学学位论文版权使用授权书

本学位论文作者及指导教师完全了解“大连理工大学硕士、博士学位论文版权使用规定”，同意大连理工大学保留并向国家有关部门或机构送交学位论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅。本人授权大连理工大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，也可采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编学位论文。

作者签名: 吕国军

导师签名: 张春迎

2007年12月14日

# 1 文献综述

## 1.1 化学体系中的离子识别

### 1.1.1 识别的定义

100年前E. Fisher曾以“锁与钥匙”的配合来描述分子间专一性结合，称之为识别。随着分子识别机制的深入研究，特别是随着超分子化学的发展<sup>[1,2]</sup>，它在合成化学、生命科学、材料科学及信息科学中起着愈来愈重要的作用。

分子识别可理解为底物与给定受体选择性地键合，并可能具有专一性功能的过程。相应于生物学中底物与受体的概念：人们也广义地把分子识别过程中相互作用的化学物种称为底物及受体，较小的分子称为底物，较大的分子称为受体。识别过程可能引起体系的电学、光学性质及构象的变化，也可能引起化学性质的变化。这些变化意味着化学信息的存储、传递及处理。因此，分子识别在信息处理及传递，分子及超分子器件制备过程中起着重要作用<sup>[3]</sup>。

互补性(complementarity)及预组织(preorganization)是决定分子识别过程的两个关键原则。前者决定识别过程的选择性，后者决定识别过程的键合能力。底物与受体的互补性包括空间结构及空间电学特性的互补性。空间结构互补性最早由Fisher的“锁钥关系”所描述。1958年Koshland提出了诱导配合(induced fit)<sup>[4]</sup>的概念弥补了Fisher概念的不足，指出在底物与受体相互结合时，受体将采取一个能同底物达到最佳结合的构象。这个过程也被称为识别过程的构象重组织<sup>[5]</sup>。

电学特性互补包括满足氢键的形成，静电相互作用(如盐桥的形成)， $\pi$ 堆积相互作用，疏水相互作用等<sup>[6]</sup>。这要求受体及底物的键合位点及电荷分布能很好的匹配。

分子识别的另一重要决定因素是预组织原则。它主要决定识别过程中的键合能力。预组织原则是指受体与底物分子在识别之前将受体中容纳底物的环境组织得愈好，其溶剂化能力愈低，则它们的识别效果愈佳，形成的络合物愈稳定。

### 1.1.2 受体的设计原理

受体结构模式的选择及设计对分子识别是至关重要的。受体的设计及合成称受体化学。设计多种类型的受体使之适合于过渡金属离子及其他阳离子，阴离子，中性的无机、有机及生物分子等各种类型的底物，需遵循一些基本原则，这方面的研究已掌握一些有指导意义的规律。

为了达到高的识别效果,受体与底物应有大的接触面积,受体应具有包容底物的空腔以产生较多的非共价相互作用,并与底物能很好互补。根据这个原则设计的受体包括各种大环及大多环化合物<sup>[7]</sup>,如冠醚类化合物,穴状配体(cryptands),开链配体(podands)及球状配体(spherands)等。这些受体都有能同底物匹配的空腔,并有不同数目的连接段、枝杈等使其具有某些动力学特性,具有合适的键位置及功能基团。

受体设计必须遵循刚性与柔性的平衡,它关系到受体及受体同底物识别过程的动力学特性。受体结构的稳定性需要刚性的分子结构,但是识别过程中的变换、调控、协同及变构过程需要一定的柔性。特别是对于生物体系,受体的柔性是非常重要的,因此受体设计应兼顾受体的动态及静态性质。

氢键的形成在分子识别过程中起非常重要的作用,许多键分子结构是通过氢键形成的。一般氢键是通过电负性强的原子(如 N 及 O)形成的,如在受体及底物的互补位置上的酰胺之间形成氢键。最近的研究结果表明<sup>[8]</sup>,在不存在空间阻力、电荷转移、堆积相互作用等其他效应时,络合能同氢键数目线性相关。在设计氢键键合位置时,应引入适当的空间效应阻止同溶剂形成氢键。实验结果表明<sup>[9]</sup>,当受体同溶剂形成氢键的能力稍有增加时,它同底物的络合能力将显著减少。

P 堆积相互作用提供了识别平面杂环底物(如核苷酸)的有利途径。根据P 堆积相互作用而设计的受体对生命科学研究有一定的意义与价值。对这类分子识别研究表明,受体与底物有关平面的相对取向是由电荷分布的互补性所决定的。当受体及底物有关平面有强的静电相互作用时,则这两个相应平面倾向于平行取向,即面对面取向。当不存在强的静电作用时,则倾向于边对边的取向。

### 1.1.3 重要分子的识别

#### (1) 球形分子识别

球形底物的分子识别是最简单的分子识别过程。碱金属、碱土金属、稀土等金属阳离子及卤素等阴离子都是常用的球形底物。对于这类底物,具有球形空腔的受体比平面大环有更高的识别能力。冠醚,穴状配体,球状配体等都能同相应的球形底物形成稳定的络合物,显示很高的识别能力。

在一般情况下,无机离子与大环配体选择性络合时,键的选择性是配合离子直径相对于大环孔径的函数。但除考虑空间因素外,还应考虑诱导及极化效应。当金属离子同柔性较大的大环配体络合时,由于形成强的给予接受键,同时由于金属场形成方向性的作用,使金属离子能诱导受体构象的变化。KojiAraki 等<sup>[10]</sup>设计合成了杯[n]芳基脂

( $n=4$ 及6)球形识别受体,它们识别碱金属离子时会引起构象变化。这涉及铁磁材料及铁磁器件研究中交换作用,磁功能基团在外界激励下的开关效应。

这类识别虽然简单,但在化学、材料、信息及生命科学中有重要意义,与分子及超分子器件的研制、分离纯化过程、分析化学过程、神经细胞的电感应过程、金属离子跨细胞膜传输等有密切的关系。

## (2) 四面体识别过程

四面体底物的选择键合要求受体分子具有四面体的识别位点。大多环穴状配体的四个氮原子处于四面体的顶点位置,能同 $\text{NH}_4^+$ 形成四条氢键而高选择性地识别 $\text{NH}_4^+$ ,形成稳定的络合物。这种受体同水分子也有类似的四面体识别过程。在生命过程中,某些酶同底物的识别,也是四面体识别过程。

## (3) 多重识别及线性识别过程

一个受体能同时识别两个或多个底物或同时识别一个底物上的两个或多个功能基团的程称多重识别过程。它同协同效应、变构、调控以及信号传输等过程有重要关联。

线性识别的受体分子的两端应分别具有成键的亚单元,它们分别同底物的相应的功能基团键合。底物功能基团间的距离应同受体两个亚单元间的距离相匹配。这就是受体识别底物分子长度过程的距离互补。 $\text{O}_2\text{C}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}_2$ 底物的长度是可以调节的,以满足最佳互补,达到最好的识别效果。许多生物分子如双羧酸化合物,双胺肽,氨基酸,多胺等都可以作为线性识别的底物。对这类识别过程动力学特征的研究有重要意义。

## (4) 某些生物体系中的分子识别过程

生命过程中各种分子识别过程,如酶与底物、激素与受体、抗原与抗体的识别等正是各种生物功能的分子机制及调控原理的重要基础。原核和真核细胞的基因表达非常精确地被蛋白质所调控。调节蛋白质对一定的DNA区域的专一性识别过程是这种调控作用的重要基础。

在乳糖操纵子中,乳糖操纵子阻遏蛋白能够选择性地识别并结合到操纵基团的20个碱基对区域,并防止RNA聚合酶结合到启动基因上,从而调控基因的表达。但这种识别过程的机制还不清楚。一种最近发表的观点认为阻遏蛋白是通过A螺旋区来识别操纵基因的碱基对序列。A螺旋通过氨基酸侧链或肽键和DNA碱基之间形成氢键或疏水键结合到B形DNA的主沟。另一种观点认为,这种识别是依赖于氨基酸链成环,例如调节蛋白Xenopus TF,形成9个环和DNA双螺旋结合。这些分子识别机制的研究对于我们认识转录水平的基因调控是很有意义的。S. L. Schreiber等设计并合成了T细胞受体,并把它们植入T细胞。这种T细胞的基因可以被由他们合成的小分子FK1012和FK2506M自由开关,首次实现用人工体系调控基因表达信号<sup>[10]</sup>。

P. G. Schulz<sup>[12]</sup>及R. A. Lerner 等利用这种生物体能产生与外来抗原识别抗体的机制开拓了一个催化抗体研究领域, 为化学工业开辟了一条绿色革命的新途径。催化抗体是用识别办法选择反应物及过渡态, 并在专一性结合中进行反应, 使过程的活化能低, 选择性高, 能催化某些常规的催化剂难以实现的反应, 已成为当前热门的研究领域。

分子印迹技术(molecular imprinting)是在催化抗体概念启发下发展的新技术<sup>[13]</sup>, 已成功用于DL 对映体分离。它相当于半抗原的模板分子与特定的小分子或生物大分子以非共价键结合。多重非共价相互作用的协同效应使之固定化。然后用溶剂洗去模板分子得到专一性空穴, 这些空穴可识别某些分子达到分离的目的。Tanabe 等利用分子印迹技术研究了巴比妥酸盐的分子识别过程<sup>[14]</sup>。

### (5) 有机合成中的分子识别

在分子识别指导下的有机分子设计、合成和组装, 是世纪交替时代及下个世纪有机化学发展的重要方向<sup>[15]</sup>。在反应试剂与底物的识别研究的基础上发展的对映选择性不对称合成已取得重大进展<sup>[16]</sup>。建立在高度控制分子间相互作用基础上的自组织(self-organizing)及自组装(self-assembly)有机合成化学已有长足进展。以D. J. Cram, J. M. Lehn 为代表的一批杰出的有机化学家对此作出了重大的贡献。

自组织及自组装合成是指分子通过氢键、范德华相互作用、静电相互作用、给体及受体效应等自发构筑成结构及功能确定的超分子体系。分子晶体、液晶、胶束、LB膜, 二维薄膜、三维骨架等都可通过自组织或自组装合成制备。自组织及自组装过程所必需的信息及过程所遵循的构筑原理必须贮存在组元之中, 而且通过分子选择性相互作用而运作, 故称为程序化的超分子体系。分子的自组织要遵循一些基本原则, 如分子形状要互补, 满足范德华接触, 接触面积要尽可能大, 形成多重或多种非共价键, 通过正协同效应达到较强的结合, 使结构稳定并克服不利的熵效应。

## 1.2 荧光化学传感器的原理及种类

化学传感器指的是有着分子尺寸或比分子尺寸较大一些的、在与被分析物相互作用时能够给出实时信号的一种分子器件<sup>[17]</sup>。

化学传感器主要组成部件有两个:(1)识别部件,能选择性地与被分析物相结合(一般形成络合物的形式),使传感器所处的化学环境发生改变;(2)报告部件,把识别基团与被分析物络合所引起的化学环境变化转变为容易观察到的输出信号(主要包括荧光、电流、电极电势等)。

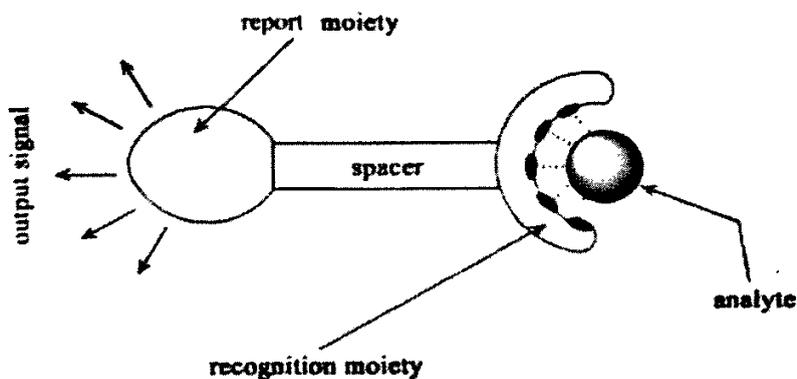


图1.1 化学传感器的结构示意图

Fig.1.1 structure of chemosensor

荧光化学传感器 (Fluorescence chemical sensor) 是建立在光谱化学和光学波导与测量技术基础上, 选择性地将分析对象的化学信息连续转变为分析仪器易测量的荧光信号的分析测量装置。经过多年的发展, 光导纤维端部修饰化学识别敏感层(即传感层) 形成的荧光化学传感器的研制取得了实质性的进展, 已成为各种分子、离子的重要检测手段。作为一种灵敏度高、选择性好、检出限低的微量分析技术, 荧光化学传感器可以对单(多)种对象进行实时、在线检测, 克服了传统环境分析与监测手段步骤繁琐冗长、耗费大量试剂、不能实时在线分析的缺点。针对上述问题, 笔者就荧光化学传感器的原理、制备及其该领域的发展状况进行综述。

### 1.2.1 荧光化学传感器的原理

荧光化学传感器主要由光源、检测器、信号处理系统等部分组成<sup>[10]</sup>。常用的荧光化学传感器检测部分构造如图 2.1 所示。

由图 2.1 可知, 荧光化学传感器是通过敏感膜与分析对象进行选择性的相互作用, 并伴随着易于识别的荧光光学信号变化来完成化学与荧光信号的识别。故敏感膜是荧光化学传感器设计和制备的核心部分, 而敏感膜的性能则取决于敏感载体的选择及其固定效果。

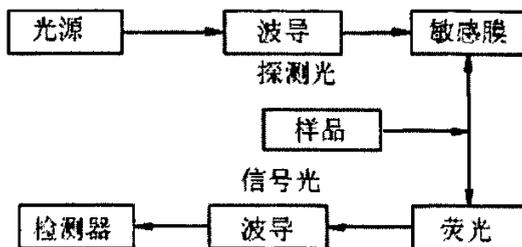


图1.2 荧光化学传感器检测体系示意图

Fig.1.2 test system of fluorescence chemical sensor

### 1.2.2 荧光化学传感器的种类

根据可应用于环境分析与监测的荧光化学传感器的检测对象,将其分为以下五类叙述。

#### (1) pH 荧光化学传感器

pH 荧光化学传感器是较早产生的荧光化学传感器之一。其识别原理主要在于敏感载体与溶液中的氢离子的质子化反应前后具有不同的荧光特性。该特性(多是荧光强度)与氢离子浓度即溶液的 pH 相关。

在其使用的敏感载体中,荧光素及其衍生物占了很大部分。如:氨基荧光素、异硫氰基荧光素等。除此之外,过渡金属配合物、萘酰亚胺类衍生物等也被用作敏感载体。

由于大多数 pH 荧光化学传感器多具有某一相对较窄的检测范围,而水环境质量标准中的 pH 范围为 6.5~8.5,因此只有具有适当检测范围的 pH 传感器才能应用于环境分析与监测。

#### (2) 溶解氧荧光化学传感器

溶解氧荧光化学传感器多是基于敏感载体(过渡金属有机络合物,四碘荧光素,苝衍生物与氧的相互作用时其荧光发生动态猝灭,由荧光的猝灭程度来确定氧的浓度。

过渡金属有机物具有激发波长较长、发射光强度较大和光学稳定性好等特点,常被作为敏感载体使用。McDonagh 等采用溶胶-凝胶的方法包埋钌配合物  $Ru(Phen)_3Cl_2$  制得了溶解氧传感器,并通过提高敏感膜中的甲基三乙氧基硅烷与乙基三乙氧基硅烷的比例,提高敏感膜的憎水性,使得水中的溶解氧便于脱离溶解状态形成气态与敏感膜作用,增强了氧对传感器的猝灭响应。Bailey 等将四碘荧光素 B 包埋在溶胶-凝胶中制备的溶解氧传感器,在溶解氧质量浓度 20mg/L 以下时的响应曲线呈线性,比较适合检测通常状

况下的水样中溶解氧浓度。Basu 等利用萘衍生物为敏感载体制成敏感膜,在溶解氧的测定中具有良好的可逆性和稳定性,可用于水中溶解氧在线监测。

### (3) 含氮化合物荧光化学传感器

含氮化合物是导致水体富营养化的重要因素,氨态氮、硝态氮、亚硝态氮等都是环境监测的对象。

Preininger等制备了一种以若丹明B作为敏感载体的氨荧光化学传感器,包埋在溶胶-凝胶和PVC中的罗丹明B可以在氨作用下转变成无色无荧光的内酯,将其荧光强度的降低与氨的浓度成比例关系,其检测限可至 $0.1\mu\text{g/mL}$ 。Mohr等将十八烷基嘧啶橙包埋固定在PVC中,制得的敏感膜在与 $\text{NO}_3^-$ 接触时,有明显的荧光增强效应,对溶液中的 $\text{NO}_3^-$ 具有很高的灵敏度。Chen等使用四甲氧基硅烷和二甲基二甲氧基硅烷作为基质,氨基荧光素为敏感载体,采用溶胶-凝胶的有机掺杂技术,得到的敏感膜具有较高的机械强度与柔韧性,对氨的响应受温度、盐度及常见金属离子( $\text{Pb}^{2+}$ 除外)的影响较小。最近,Jiao等利用 $\text{I}^-$ 与 $\text{NO}_2^-$ 反应生成的 $\text{I}_2$ 对9-甲基烯丙基氨基吡啶荧光猝灭效应,制备了一种可以测定NO的荧光化学传感器。

### (4) 重金属离子荧光化学传感器

重金属离子荧光化学传感器中的敏感载体多为大环化合物,如卟啉化合物、杯芳烃、冠醚等。

Ertas等利用 $\text{Cd}^{2+}$ 和 $\text{Zn}^{2+}$ 对9-(1',4',7',10',13'-五氮环十五烷基)甲基葱的络合荧光增强作用,并且 $\text{Cd}^{2+}$ 的络合物的荧光相对于 $\text{Zn}^{2+}$ 的络合物有明显的红移,可以同时在水溶液中的 $\text{Cd}^{2+}$ 和 $\text{Zn}^{2+}$ 进行检测。Métivier等在杯芳烃上一次引入4个萘磺酰胺基团,并将得到的化合物作为敏感载体制成 $\text{Pb}^{2+}$ 传感器,在 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Hg}^{2+}$ 等共存条件下,测定水溶液中的 $\text{Pb}^{2+}$ 具有非常高的选择性和灵敏度。

葱衍生物也可以用来检测 $\text{Pb}^{2+}$ 。Chan等合成了四甲基-N-(9-葱甲基)对二氨基联苯,并以其作为质子选择性荧光载体,包埋在PVC膜中,制得了基于离子交换机理的 $\text{Pb}^{2+}$ 传感器。

### (5) 有机污染物荧光化学传感器

常见有机污染物荧光化学传感器的检测对象有硝基芳香类化合物、多环芳烃等。Niu等使用甲基丙烯酸- $\beta$ -羟丙酯共价固定氨基萘酰亚胺制得的苦味酸传感器,检测线性范围为 $9.80\times 10^{-7}\sim 1.96\times 10^{-4}\text{mol/L}$ ,检测限 $7.1\times 10^{-7}\text{mol/L}$ 。Huang等基于具有分子导线效应的荧光共轭聚合物能对响应信号起放大作用,将聚2,5-二甲氧基-苯基丁二炔包埋于PVC膜中,设计了可用来对邻硝基酚进行痕量分析的荧光化学传感器。该传感器检测范围 $1.8\times 10^{-6}\sim 1.8\times 10^{-3}\text{mol/L}$ 。Fernández-Sánchez等利用XAD系列大孔吸附树脂对多

环芳烃的吸附作用制成了苯并(α) 芘荧光化学传感器,其检测范围为 3.0~250.0ng/L,检测限 3.0 ng/L。Sluszny 等则以氯乙烯和乙酸乙烯共聚膜片作为载体实现了腐殖质和泥浆中多环芳烃化合物含量的测定,结果令人满意。

除了芳香族化合物之外,表面活性剂、一些有机毒物如杀鼠灵、神经毒剂索曼水解产物等都可用荧光化学传感器进行检测。

### 1.3 汞离子识别的重要性

重金属离子(如Zn<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup>、Cr<sup>6+</sup>、Mn<sup>5+</sup>、As<sup>3+</sup>、Fe<sup>3+</sup>、Hg<sup>2+</sup>) 能对人体产生有害甚至是致命的影响,特别是对于中枢神经系统,能够引起神经紊乱。因此重金属的定量检测在药物、食品、临床和环境检测方面是非常重要的,而对于汞离子的检测是最重要的环节之一,众所周知,汞是一种危害人体健康的重金属,汞离子会沉积在脑、肝和其他器官中,产生慢性中毒,损害肾、脑胃和肠道,甚至引起死亡。另外,汞元素及其化合物能够通过皮肤被吸收,引起口腔炎、齿龈炎和神经紊乱等疾病。汞离子对人体含有S 原子的配合基显现出了很强的亲和力,能引起蛋白质、酶和膜的巯基(-SH) 块结。汞能够在海洋生物体内累积,通过食物链转移到人体内,最典型的例子就是在日本发生的水俣病,据报道很多人死亡<sup>[19]</sup>。汞中毒会对整个社会产生极其恶劣的影响,现在汞被优先列在全球环境监控系统(GEMS)清单上,全世界都花费大量的人力、物力和财力在开发和研究新型的检测汞离子方法。

### 1.4 汞离子识别遇到的挑战

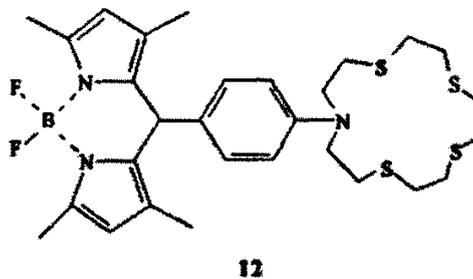
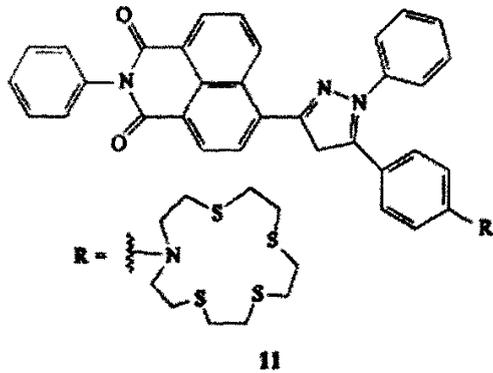
大量的论文介绍了检测汞元素的方法,其中最广泛使用的定量检测汞技术是原子吸收光谱和原子发射光谱,还有其他一些方法,如中子活化分析法、阳极溶出伏安法<sup>[20]</sup>、X 射线荧光光谱法、等离子体感应光谱、双硫脲比色法和用悬液计测量悬液法等<sup>[21]</sup>。这些方法一般都是成本比较高,需要复杂的仪器和熟练的操作人员,不能或不方便在户外使用,一般是在实验室进行,即现场采样后进行离线分析,存在耗时,分析步骤复杂,分析仪器昂贵,采样频率低以及样品不易保存等缺点。在有些情况下,需要及时知道环境污染情形,以便及时迅速制定相应的处理对策,因此现场环境检测方法、移动实验室和便携式检测仪器等概念被许多研究人员提出。在过去的二十多年间,科研人员发现大量的中性的离子载体对金属离子具有很高的选择性,因此制作的相应传感器广泛应用于环境和生物样品的金属离子的在线监测。

## 1.5 汞离子识别荧光传感器的研究进展

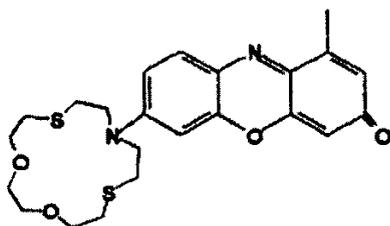
### 1.5.1 冠醚类 $\text{Hg}^{2+}$ 传感器

冠醚首先被人们选作  $\text{Hg}^{2+}$  传感器中的识别部件。Rurack 等人<sup>[22, 23]</sup> 以硫原子代替冠醚中氧原子, 使得其对  $\text{Hg}^{2+}$  等亲硫的重金属离子有着较好的选择性。以此为基础, 他们设计了一系列  $\text{Hg}^{2+}$  的化学传感器。

最初的冠醚类  $\text{Hg}^{2+}$  传感器(11) 以吡嗪作为荧光基团<sup>[24, 25]</sup>。测试的结果表明, 加入  $\text{Hg}^{2+}$  后 11 的荧光光谱位置没有发生改变, 但强度有所增加。该传感器有良好的选择性, 灵敏度很高, 最低检出限为  $5 \times 10^{-7} \text{M}$ 。后来, Rurack 等人<sup>[26]</sup> 又将类似的冠醚结构与另一种发光基团(硼化二吡咯甲基) 相连得到化合物 12 作为  $\text{Hg}^{2+}$  的化学传感器。这种硼化二吡咯甲基基团有好的光稳定性、高的荧光量子产率 ( $>0.15$ ) 以及能在较长波长下(约 500nm) 激发等优点。



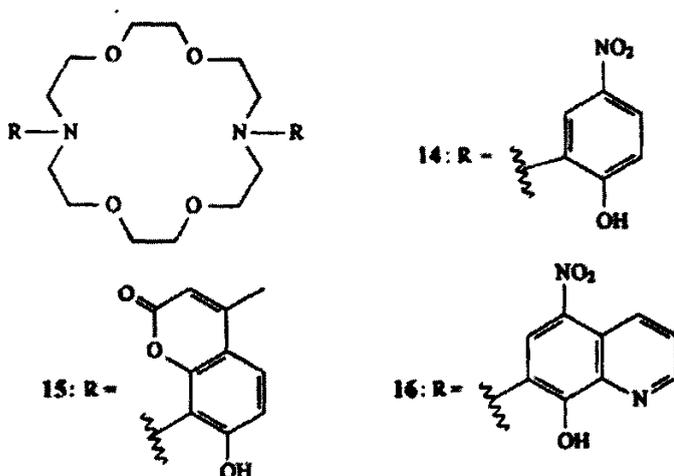
最近, Rurack 等人<sup>[27]</sup> 又报道了以吩噻嗪酮为骨架的化合物 13。吩噻嗪酮基团的使用保证了传感器的水溶性, 因而在实际应用有着重要性。同时该基团的荧光出现在可见光区, 从而增强了传感器的使用价值。为了保证对  $\text{Hg}^{2+}$  的选择性识别, 设计者同样应用了含有 N、S 的大环结构。



13

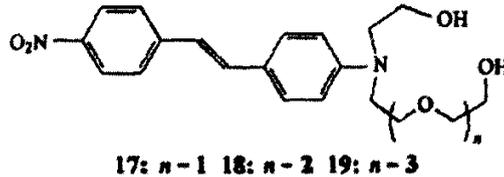
该传感器对 Hg<sup>2+</sup> 的选择性在水溶液中依然存在, 并对 Hg<sup>2+</sup> 的检出下限达到了 10<sup>-7</sup> M 级别。对比实验表明, Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup> 等离子不干扰检测。

除了含 S 的冠醚外, 含 N 的冠醚也被用于 Hg<sup>2+</sup> 化学传感器的设计。早在 1995 年, Porter 等人<sup>[28]</sup> 设计并合成了化合物 14 和 15 作为 Hg<sup>2+</sup> 的选择性提取剂, 并指出在 Hg<sup>2+</sup> 络合后, 14 和 15 的吸收光谱有红移。最近 Savage 等人<sup>[29]</sup> 在此基础上, 设计了化合物 16 作为 Hg<sup>2+</sup> 的化学传感器。在甲醇/水 (体积比 70/30) 溶液中, 化合物 16 只同 Hg<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup> 和 Cd<sup>2+</sup> 形成络合物, 而与其它离子的络合常数很小 (log K<sub>a</sub> < 215)。在同 Hg<sup>2+</sup> 络合后, 传感器 16 的荧光明显增强, 检出限为 10<sup>-8</sup> M。而 Cu<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup> 的络合物没有荧光。此外, Hg<sup>2+</sup> 能将 Cu<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup> 等离子从其络合物中取代出来, 形成有荧光的络合物。因此 Cu<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup> 等离子对 Hg<sup>2+</sup> 的检测并不产生干扰。

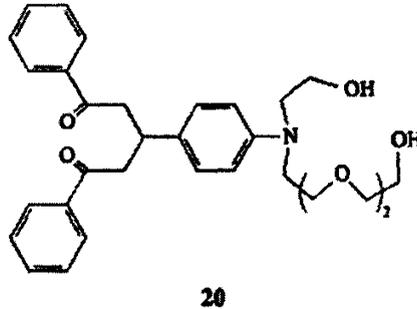


纯冠醚结构对 Hg<sup>2+</sup> 络合能力差。但 Sancenón 等人<sup>[30]</sup> 的研究表明, 开链多醚对 Hg<sup>2+</sup> 的结合较好, 并以此为基础设计合成了化合物 17、18 和 19 以期能找到合适的 Hg<sup>2+</sup> 化学传感器。这一系列化合物在可见光波段 (460nm) 有一强吸收, 其溶液呈橙黄色。在该 3 种

化合物溶液中加入 $\text{Li}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 等近20种离子,只有 $\text{Hg}^{2+}$ 使化合物18的吸收红移,从而溶液的颜色由橙黄色变为红色。这说明18对 $\text{Hg}^{2+}$ 有着很好的选择性。此外, $\text{Hg}^{2+}$ 对化合物17和19的影响较小,说明开链醚的链长对 $\text{Hg}^{2+}$ 的结合能力有很大影响。



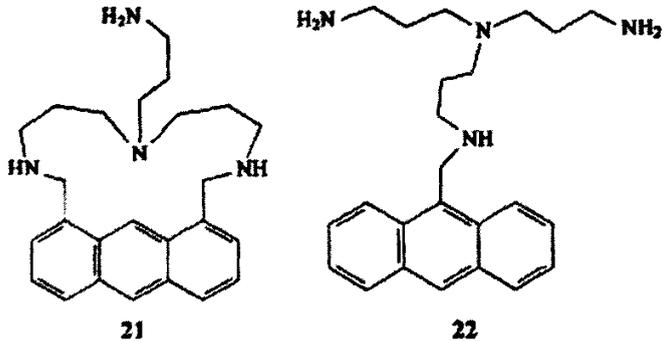
最近, Sancenón 等人<sup>[31]</sup>以开链多醚为基础又设计出化合物20。在二氧六环P水(体积比70P30)溶液中,加入 $\text{Hg}^{2+}$ 使得二酮结构发生关环反应,形成吡喃盐形式,吸收从380nm红移到550nm。由于采用了同传感器17的相同的识别基团,传感器20对 $\text{Hg}^{2+}$ 选择性也很高。另外传感器对 $\text{Hg}^{2+}$ 检测限达到了 $10^{-9}\text{M}$ 。



### 1.5.2 多胺类 $\text{Hg}^{2+}$ 传感器

多胺配体对过渡金属和重金属有着很好的结合性,因而在离子传感器的设计中有着重要价值。然而,由于多胺配体有着较强的结合能力,其选择性往往较低。因此如何提高多胺配体对离子的选择性是化学传感器研究中一个难点。Yoon 等人<sup>[32]</sup>将多胺配体固定在荧光基团上得一个 $\text{Hg}^{2+}$ 化学传感器21。

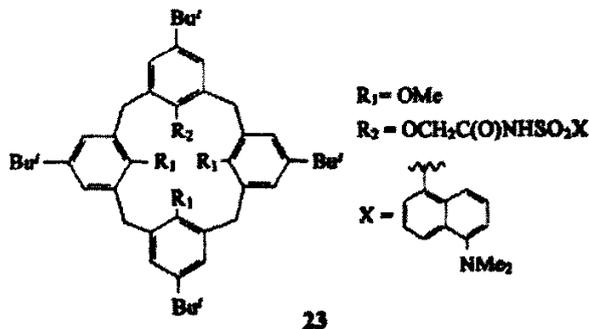
测试表明,在21的溶液中加入 $\text{Hg}^{2+}$ 其荧光强度降低了18倍。同时,在化合物21的溶液中加入 $8\mu\text{M}$ 的 $\text{Hg}^{2+}$ 以及 $1\text{mM}$ 的 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ ,所得到荧光强度同单独加入 $8\mu\text{M}$ 的 $\text{Hg}^{2+}$ 所得到的荧光强度是一样的。这说明了传感器21对 $\text{Hg}^{2+}$ 有着很好的选择性。相比之下,化合物22对 $\text{Hg}^{2+}$ 没有选择性。这说明将多胺配体固定在荧光基团上对提高选择性十分重要,因为在固定的情况下,络合机制影响分子内的电子转移反应。



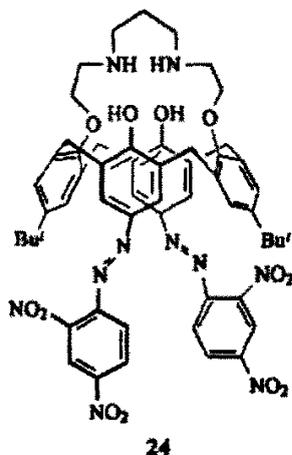
### 1.5.3 杯芳烃类 $\text{Hg}^{2+}$ 传感器

如前所述,杯芳烃常被用作后过渡金属及重金属离子的选择性载体。早期的研究只是将杯芳烃进行修饰,作为  $\text{Hg}^{2+}$  的选择性提取剂<sup>[33,34]</sup>。近几年,人们将杯芳烃与各种光敏基团相连接,得到了多种  $\text{Hg}^{2+}$  的化学传感器。

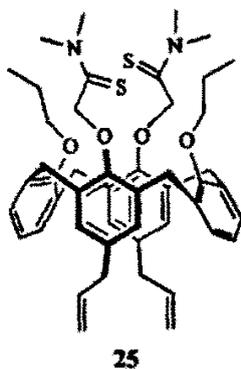
Talanova 等人<sup>[35]</sup>报道了第一个基于杯[4]芳烃的  $\text{Hg}^{2+}$  化学传感器。他们将萘磺酰胺的衍生物修饰在杯[4]芳烃上,得到化合物23。该化合物的氯仿溶液在520nm 处有强的荧光。加入  $\text{Hg}^{2+}$  后,其荧光强度大为减小,并随  $\text{Hg}^{2+}$  的增加呈线性变化,最低检出限为  $10^{-3}\text{M}$ 。作者认为这种荧光强度的变化是由于  $\text{Hg}^{2+}$  的配位诱发了从磺酰胺基团到  $\text{Hg}^{2+}$  之间的电子转移。



Choi 等人<sup>[36]</sup>将2,4-二硝基苯胺同杯[4]芳烃相连,得到另一种  $\text{Hg}^{2+}$  的化学传感器 24。在  $\text{pH} = 6$  的溶液中,加入  $\text{Hg}^{2+}$  后溶液由黄色 ( $\lambda_{\text{max}} = 424\text{nm}$ ) 变为红色 ( $\lambda_{\text{max}} = 500\text{nm}$ )。在对比实验中只有  $\text{Cd}^{2+}$  使溶液颜色发生变化,但  $\text{Cd}^{2+}$  使吸收峰裂分为两重峰,所以该传感器对  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Hg}^{2+}$  可以区分。



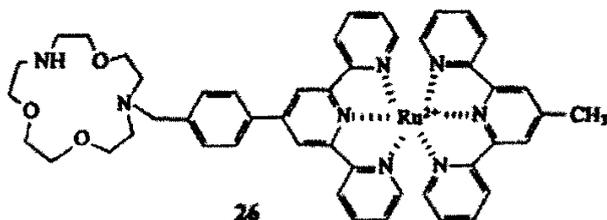
最近Arena 等<sup>[37]</sup> 也报道了类似的 $\text{Hg}^{2+}$  化学传感器25。化合物25 不与 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$  等离子络合。在溶液中这些金属离子与化合物25 的比例达到8000:1, 对25 的光学性质也没有影响。相反, 在溶液中加入 $\text{Hg}^{2+}$ , 25 的最大吸收由260nm 红移至290nm, 并且两峰的强度比随 $\text{Hg}^{2+}$  呈线性变化, 检出下限达到 $10^{-8}\text{M}$ 。 $^1\text{H-NMR}$  分析也得到同样的结果。在设计中, 作者在杯[4]芳烃中引入的烯丙基有助于将传感器固定于硅胶等固体支持物上, 以使得传感器更具实用性。



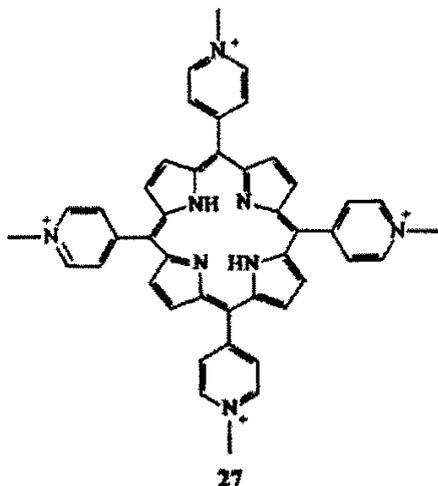
#### 1.5.4 其它类型 $\text{Hg}^{2+}$ 传感器

同 $\text{Pb}^{2+}$  一样, 很多人试图利用强荧光的过渡金属络合物来设计 $\text{Hg}^{2+}$  的化学传感器。最近, Soto 等人<sup>[38]</sup> 报道了 $\text{Ru}^{2+}$  的三吡啶络合物26 用作 $\text{Hg}^{2+}$  的荧光化学传感器。使用含有N 和O 的大环作为识别基团, 确保了传感器对 $\text{Hg}^{2+}$  的选择性。在 $\text{pH}=5-9$  之间,  $\text{Hg}^{2+}$  的加入使得该传感器的荧光增加60%, 其它的离子则没有较大影响。值得指

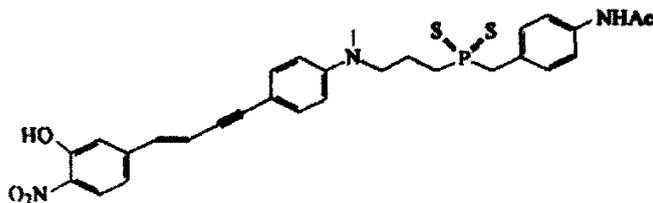
出的是,该传感器荧光的增加可能是由于传感器的识别基团同  $\text{Hg}^{2+}$  络合以后, N 原子上的孤对电子不再能够参与光诱导电子转移过程,从而使荧光增强。



卟啉化合物也被用作  $\text{Hg}^{2+}$  的识别基团。Delmarre 等人<sup>[39]</sup>和Zhang 等人<sup>[40]</sup>报道了这一类型的传感器。Delmarre 等人设计并合成了化合物27:在没有  $\text{Hg}^{2+}$  存在时,化合物27 在620—700nm 之间有强的荧光;加入  $\text{Hg}^{2+}$  后,荧光的位置没有变化,但强度随  $[\text{Hg}^{2+}]$  减弱。由于采用的是荧光猝灭机制,其它重金属离子有一定的干扰,限制了该传感器的应用。Zhang 等人在此基础上作了改进,用苯取代27中的甲基吡啶,并将得到的卟啉化合物与光纤设备相连,得到很好的选择性,灵敏度也大为提高,最低检出限为  $512 \times 10^{-7} \text{M}$ 。



最近, Janda<sup>[41]</sup> 报道了一种含硫化合物28 实现了对  $\text{Hg}^{2+}$  的比色检测。该传感器的原理是:利用配体中的硫原子同  $\text{Hg}^{2+}$  配位,配合后分子的空间构型发生改变,导致分子内的电子转移不能发生,因而溶液的颜色由黄色变为红色(检出下限为  $5 \times 10^{-6} \text{M}$ )。通过对 42 种离子的对比实验,作者显示化合物28对  $\text{Hg}^{2+}$  有着很好的选择性。



28

## 1.6 罗丹明类衍生物的合成与应用

罗丹明类荧光染料的典型制备方法是通过合适的氨基酚与各种苯甲酸、邻苯二甲酸、苯酚、磺基苯甲酸及其酸酐反应,用浓硫酸、无水氯化锌及其它Lewis酸作催化剂缩合<sup>[42]</sup>。由于分子结构中含共轭 $\pi$ 键和较活泼的助色基团,通过引入不同的官能团对罗丹明的结构进行修饰,可以设计合成出许多罗丹明类衍生物。这些修饰可以在缩合反应之后进行,也可以在合成之前对芳环或杂芳环修饰。经过修饰的罗丹明很好地弥补了亲脂性差、特异选择性不好、量子产率不能满足某些探针检测需要、发射波长较低等缺点。

### 1.6.1 母环修饰的罗丹明荧光染料的合成与应用

罗丹明的基本骨架主要由带有 3,6 位取代氨基的氧杂蒽母体(以下简称顶环)和 9 位碳原子所连接的芳环(以下简称底环)两个片段组成。其中带氨基的氧杂蒽母体是最重要的一个结构片段,此类化合物的荧光特性与它的结构有着密切的关系。许多合成工作都围绕着顶环的修饰而展开。母环上引入不同的取代基如烷基、芳基、卤素、磺酸基等反应性基团,不仅可以影响这类化合物的最大吸收、发射波长,也直接影响它们的应用性能:氨基修饰包括添加水溶性基团使结构刚化以及不对称修饰,对增色及荧光效应都有较大的影响。

#### (1) 氧杂蒽环上的修饰

在罗丹明衍生物中,结构刚性弱是非发光失效的主要原因。Claudine 等合成出一种新型吨环上取代的罗丹明染料,它是罗丹明 575 和罗丹明 6G 的异构体。其关键中间体 3-乙氧-5-甲基酚是由 3-甲基-5-酮-2-己烯甲酯与 *N*-乙基苯甲氨制得,与苯酚类衍生物缩合后在顶环的 C1 和 C8 位各引入了一个甲基,减少了由于羧基苯环部分的自由旋转而引起的非放射过程,从而获得高的荧光产率。

Haugland对罗丹明的磺化进行了研究,在室温下用浓硫酸可以磺化母环上带有单侧链甲基,如果 4,5 位没有取代基,用发烟硫酸进行的磺化还可以发生在母环 4,5 位上。Denis 等<sup>[43]</sup>在Louis工作的基础上,将商品化的罗丹明衍生物如罗丹明110、罗丹明123等还原,然后经溴化、氧化得溴代产物,合成4位芳环取代的及2,7位卤代罗丹明衍生物:

变换反应条件还可以得到2-烷基取代及4,5-位卤代衍生物。这一类罗丹明制成的光学活性衍生物能够诱使细胞衰亡,而非活性衍生物对细胞无毒,用合适波长的光激发后破坏癌细胞或治疗白血病,可用于光动力学治疗。

除了对引入基团的吸电子能力进行控制外,人们还利用基团扭转受阻的方法来提高罗丹明的荧光强度,防止由于分子内电荷转移引起的TICT(扭曲的分子内电荷转移体系)现象出现<sup>[44]</sup>。

## (2) 母环上氨基的修饰

Drexhage发现罗丹明类染料末端氨基的扭转运动会使S<sub>1</sub>—S<sub>0</sub>内部转换加剧,氧杂蒽母环的刚性平面被破坏,导致它们的荧光量子产率降低。实验证明,罗丹明B的荧光量子产率与温度有关就是受氨基扭动影响,若将罗丹明类染料末端氨基固定,使TICT不能形成,则荧光量子产率与温度变化无关,可有效地提高分子的刚性,从而使荧光量子产率提高。所以特殊结构罗丹明的合成,尤其是结构刚化及不对称合成一直是化学家颇感兴趣的课题之一。Lee等发明了新型水溶性罗丹明类荧光染料,这些染料及标记连接物广泛用在细胞、蛋白质染色和核酸分析等方面。

Haugland通过扩展 $\pi$ 共轭体系用以增加刚性,设计并合成出新类型的强荧光罗丹明染料。这一系列染料在581—631nm处有较强吸收,量子产率在0.64—0.89之间,可以广泛用于生物分析领域。由于氧杂蒽环上氨基及其衍生物的引入,分子减少了酸性,增加了碱性。在3,6位上引入磺酸基可增加罗丹明分子的酸性及在水中的溶解性能。近年来文献中报道过这类酸性罗丹明品种有黄光红:R<sub>1</sub>=H、R<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>H,有荧光;蓝光红:R<sub>1</sub>=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、R<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>H,有荧光;红紫色:R<sub>1</sub>=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>,R<sub>2</sub>=Ph—SO<sub>3</sub>H,无荧光。氮上的氢被烷基替换后颜色加深,而芳环替换了烷乙基的结果是使颜色加深得更明显,但荧光削弱甚至消失。它们的合成大部分采用邻磺酸基苯甲醛与间苯二酚缩合得到3,6-二羟基取代的氧杂蒽衍生物,进一步氯化后再与相应的胺类反应而得。这类罗丹明衍生物在水中有很好的溶解性,弥补了大分子量的罗丹明在水中的溶解性很差、甚至不溶的缺点。作为激光染料时不需要加有机溶剂溶解,还可用在示踪剂、荧光标记、娱乐设施以及医疗诊断等一系列荧光物质可以应用的领域<sup>[45]</sup>。

### 1.6.2 底环修饰的罗丹明荧光染料的合成及应用

底环可通过活性基与蛋白质、核酸等生物大分子及组成单体分子中的—NH<sub>2</sub>、—OH、—SH等形成共价键,其荧光特性发生变化,得到的标记物具有稳定、选择性和灵敏度较好等优点,从而可反映有关大分子结构和性能的信息,为荧光分析和光度分析奠定了理论基础。所以修饰底环将对罗丹明类荧光染料的性能产生重大影响。

### (1) 底环上的修饰

在底环上引入不同的取代基会引起罗丹明的最大吸收波长的改变。一般引入卤素可加深颜色,引入愈多颜色愈深,可得到黄、红、蓝色。相应化合物颜色加深的程度取决于引到环上的卤素的原子量原子量越大色越深。选用多卤代苯酚及苯甲醛衍生物与间氨基酚缩合可得到底环上含卤代如2,3,4 卤代或全氯(氟)罗丹明衍生物,卤素被某些硫醇取代可以很便利地引入活性基团。Lee 等<sup>[46]</sup>报道的4,7-二氯罗丹明染料主要是用3,6-二氯偏苯三酸酐与间氨基酚衍生物在多聚磷酸(PPA)作用下缩合而成,特别用于多色荧光DNA 测序及碎片分析,其发射带宽比缺少4,7,2-二氯的罗丹明染料窄20%—30%,最大吸收发射波长比类似缺少4,7-二氯的罗丹明染料高10—30nm。它可以用来标记脱氧核苷酸、二脱氧核苷酸、多核苷酸,测定DNA 序列及碎片分析,是一类用于多重检测的荧光染料。

### (2) 底环上所带基团的修饰

将亲水性罗丹明类荧光染料联以脂肪长链,使之成为具有两亲性质的荧光探针化合物已引起人们的注意,并在某些方面如研究细胞融合过程等取得了成功的应用。Ramos 等<sup>[47]</sup>将已经商品化的罗丹明B、19、101、110 酯化,合成了罗丹明B、19101、110 的甲酯(乙酯)以及罗丹明B 的丙酯和丁酯。反应在Fisher 条件下进行:含3%硫酸的醇,50℃下反应1—6天,浓缩后制成溴、碘或高氯酸盐的形式,过滤即得。实验给出了这些酯的红外、紫外、氢谱和碳谱。酯化的罗丹明亲脂性显著提高,容易被细胞所吸收,更适于研究细胞特性及细胞内环境。可使缔合物的亲脂性和稳定性大为增加,实验证明憎水基团的亲脂性随其重量的增加而增加,即所谓的“加重效应”。吴世康等<sup>[48]</sup>将具有一定极性仅能溶解于较强极性溶剂中的罗丹明B 在连接了碳氢憎水长链后,如十六烷基罗丹明2B,提高了分子的两亲功能,除仍能溶解于极性溶剂包括溶于水中外,还能溶于非极性溶剂如甲苯中。但由于憎水长链的引入,大大提高了它在水溶液中二聚化的倾向,并同时使其在有机溶剂(包括非极性溶剂)中更易于以单体形式存在,能更有效、准确地反映所处环境的变化,灵敏度得到提高。Costela 等用罗丹明6G与2-[对-(氯甲基)-苯甲酸]-乙基-异丁烯酸酯(CI-Bz-MA)、对-(氯甲基)-苯甲酸乙酯(CI-Bz-Et)反应合成了Rh-Bz-MA、Rh-Bz-Et。这两种衍生物不但亲脂性有了显著提高,其荧光量子产率和最大吸收波长也基本保持不变。结构如图1.3所示。

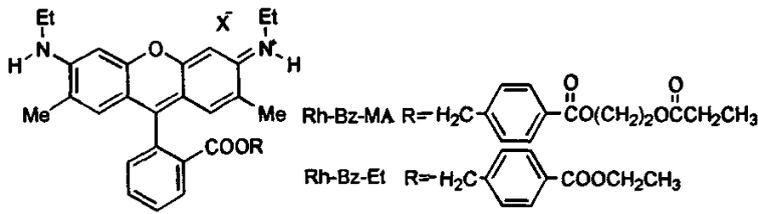


图1.3 Rh-Bz-MA和Rh-Bz-Et

Fig.1.3 Rh-Bz-MA and Rh-Bz-Et

早在1988年Arnost将生物活性组分(如8-羧基丙基茶碱)与吡嗪一端的N形成酰胺,然后将另一端与2'位是羧基或磺酸基的罗丹明相连,制成带有生物活性成分的罗丹明衍生物,用于生物诊断分析过程。最近,Nguyen等<sup>[49]</sup>将已经商品化的罗丹明B、罗丹明6G、罗丹明101转化成内酯形态,与吡嗪反应得到了一系列水溶性很好的罗丹明吡嗪胺衍生物:吡嗪另一端的N可以与琥珀酸酐、3-溴丙醇、氯乙酰氯等反应生成可以连接一些酶作用物的基团(图1.4)。

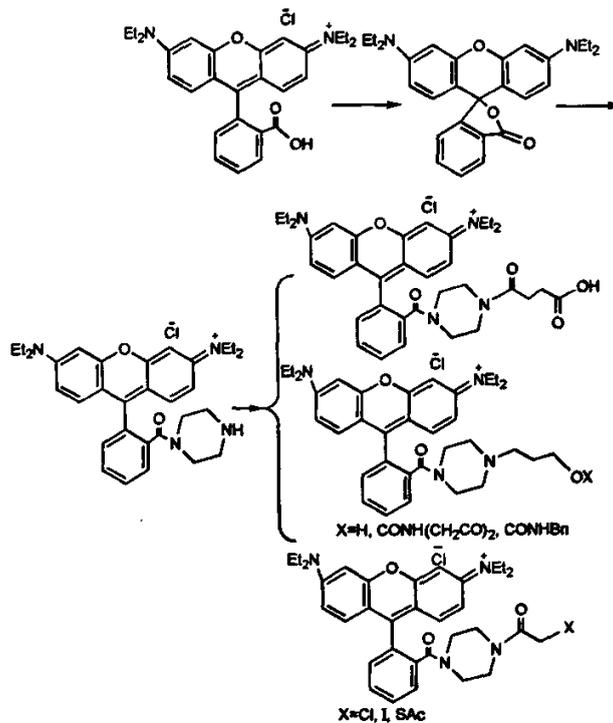


图1.4 罗丹明衍生物

Fig.1.4 derivatives of Rhodamine

一些罗丹明染料在荧光共振能量转移 (FRET) 技术中得到应用, 并用在研究生物分子结构及功能、核酸杂交分析和免疫分析等方面。Haugland<sup>[50]</sup> 利用芳环、杂芳环氮取代 3,6-二氯荧光素或 3,6-二氯磺基荧光素上的氯原子, 然后将底环上的磺基做成磺酰氯与 3-哌啶甲醇反应, 生成的带羟基罗丹明衍生物与 2-氰乙基二异丙基氯磷酰胺反应生成磷酰胺衍生物。该磺酰氯与 3-哌啶甲酸反应, 生成带羧基的罗丹明衍生物酯化后形成可与活性基团连接的琥珀酰亚胺酯。这一系列罗丹明衍生物 N 上被芳环或芳杂环所取代形成, 是一种新型高效的非荧光能量受体, 最大吸收在 530nm 以上, 荧光微弱甚至观察不到, 能够猝灭范围较宽的荧光。

### 1.7 本论文选题背景和主要设计思想

从上述的讨论可知, 研究阳离子识别具有极其重要的理论和实用价值。我们关注的焦点是汞离子的识别。关于汞离子识别方面, 虽然目前也有大量的研究工作着眼于颜色识别检测汞离子, 但是还没有关于应用于天然水方面的汞离子识别探针的相关报道, 我们拟设计一系列基于罗丹明衍生物的汞离子识别探针, 通过对其结构的修饰, 合成路线的优化, 最终得到能够有效应用于天然水中汞离子识别的变色荧光探针, 这一结果具有相当高的使用价值和社会意义。

- (1) 设计探针分子时, 一般要选择结构简单的分子, 合成方便。
- (2) 通过对探针分子的结构修饰, 使其能在纯水中具有很好的灵敏度。
- (3) 将其应用于分子筛中, 使其材料化, 最终能真正用于实际应用。

## 2 基于罗丹明 B 的 $\text{Hg}^{2+}$ 离子识别探针的合成及性能研究

### 2.1 引言

近年来汞离子识别的超分子化学研究逐渐引起人们的重视，并且出现了大量的有关汞离子识别以及汞离子受体的报道。在汞离子识别领域，当受体化合物与离子络合过程伴随有一个适当的光谱信号的改变（光学或电化学等等）时，则可称该受体为一个探针分子。关于如何将汞离子—化学传感器之间的相互作用转换为简单的易识别的信号，如颜色、荧光或氧化电势的改变，已经进行了大量的研究工作，从而为定性、定量地识别、测定汞离子奠定了基础。

开发汞离子化学传感器的基本方法是将两个具有不同作用的分子基团连接在一起，两分子基团分别起识别结合和产生信号的作用。前者扮演着与汞离子配位的角色，而后者则通过改变分子的荧光或者光学特性来标志配位过程的发生。这两种分子基团可以通过共价键相连的（识别结合部位—信号发生部位相连接的方法）也可以是没有共价键相连（竞争取代的方法）。光谱特性的改变是可逆的，因为汞离子与主体的相互作用是以络合作用为基础。

随着科研工作者的不断工作，罗丹明类化合物由于其非常高的量子产率逐渐被人们公认为较为理想的感应基团，并被广泛应用于阳离子识别领域。通常情况下，人们选择 O、N 等含有孤对电子的原子参与阳离子的配位作为识别基团，汞离子由于其特定的八面体配位方式，为人们设计其识别基团提供了一定的依据。

本章工作就是依据以上思想，设计出结构简单，易合成的罗丹明类  $\text{Hg}^{2+}$  离子识别探针，并对其识别效果进行了深入的研究。

### 2.2 实验部分

#### 2.2.1 实验仪器及试剂

##### (1) 实验仪器

表 2.1 实验仪器  
Tab.2.1 experiment instruments

仪器名称	仪器型号	生产厂家
超导核磁共振波谱仪	VarianINOVA 400M NMR	美国 Varian 公司
高效液相色谱/质谱联机 系统	HP 1100LC-MSD 型	美国惠普公司
旋转蒸发器	RE-52C 型	巩义市英峪予华仪器厂
电热恒温鼓风干燥箱	DHG-9240BD 型	上海森信实验仪器有限公司
循环水式真空泵	SHZ-D 型	巩义市峪华仪器厂
磁力搅拌	98-1 型	河南省巩义市英峪仪器厂
无级调速搅拌器	DW-2 型	巩义市英峪华仪器厂
电子节能控温仪	DKW-III型	巩义市英峪予华仪器厂
荧光寿命分析仪	PTI-700 型	美国惠普公司
紫外分光光度计	HP8453 型	美国惠普公司
三用紫外分析仪	WFH-203 型	上海精科实业有限公司
超声波清洗机	KQ3200E	昆山市超声仪器有限公司
真空干燥箱	DZG-6021	上海森信实验仪器有限公司
电子天平		梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司
元素分析仪	Perkin-Elmer 2400 II 型	

## (2) 实验试剂

表 2.2 实验试剂  
Tab.2.2 experiment reagents

药品	厂家	级别
无水乙醇	天津市天达净化材料精细化工厂	化学纯
N,N-二甲基甲酰胺	广东汕头西陇化工厂	化学纯
氢氧化钠	沈阳市新兴试剂厂	分析纯
无水硫酸钠	天津市科密欧化学试剂开发中心	分析纯
冰醋酸	沈阳市联邦试剂厂	分析纯
乙酸乙酯	广东汕头西陇化工厂	分析纯
石英砂	天津南开化工厂	分析纯
薄层层析硅胶	青岛关高化工有限公司	200-300 目
无水氯化钙	天津市科密欧化学试剂开发中心	分析纯
硫酸	哈尔滨化工化学试剂厂	优级纯
甲醇	天津市科密欧化学试剂有限公司	分析纯
无水乙醚	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯
无水氯化钙	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯
二氯甲烷	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯
五氧化二磷	天津市大茂化学试剂厂	分析纯
石油醚	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯
高氯酸汞	ARCOS	分析纯
乙腈	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
罗丹明 B	ACROS	分析纯
二苯甲酮	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯

## 2.2.2 基于罗丹明 B 的 $Hg^{2+}$ 离子识别探针的合成

### 罗丹明 B 肼化产物的合成

我们按照 Yang 的方法得到了罗丹明 B 的胍化产物。在 50ml 圆底烧瓶中，将罗丹明 B (18g, 37.58mmol) 溶解在 400ml 乙醇中，滴加入 58.6g (过量的) 水合肼 (85%) 并在室温下搅拌。滴加结束后，加热回流搅拌 2 小时后冷却过夜，随着溶液中深紫色的逐渐褪去，出现粉色沉淀。过滤出沉淀后，分别用乙醇和水每次 30ml 清洗沉淀 3 次。将沉淀在真空下用  $P_2O_5$

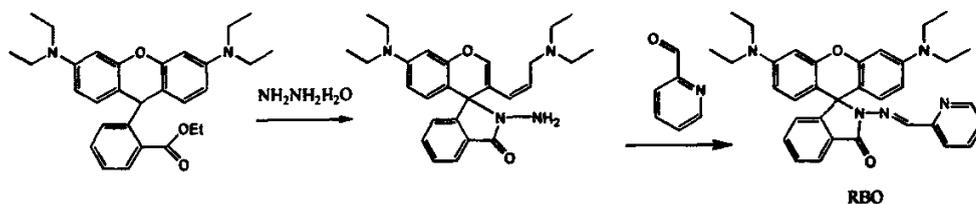
干燥，得到罗丹明 B 胍化产物 (15.6g, 产率: 86.7%)

### 2-吡啶甲醛与罗丹明 B 胍化产物合成探针 RBO

将罗丹明 B 的胍化产物 (0.746g, 1.63mmol) 与 2-吡啶甲醛 (0.349g, 3.26mmol) 溶解在沸腾的甲醇中并加入 3 滴冰醋酸作为催化剂。反应回流 2 小时后，过滤得到白色沉淀，用甲醇/乙醚 (1:1) 混合洗液清洗沉淀，然后在真空下用  $P_2O_5$  干燥沉淀。产率: 0.6732g, 75.5%

元素分析 ( $C_{34}H_{35}N_5O_2$ ): 理论值: H 6.47, C 74.84, N 12.83 测试值: H 6.47, C 74.93, N 12.97<sup>1</sup>H-NMR (DMSO- $d_6$ ) 8.58 (1H, d, py-H  $J=7.3$  Hz), 8.45 (1 H, s, CH=N), 8.02 (1 H, d, py-H,  $J=7.2$  Hz), 7.86 (1 H, t, py-H  $J=7.3$  Hz), 7.84 (1 H, d rh-H,  $J=10.5$  Hz), 7.71 (1 H, t, py-H  $J=7.30$  Hz), 7.68 (1 H, t, rh-H,  $J=10.25$  Hz), 7.40 (1H, t, rh-H,  $J=10.5$  Hz), 7.15 (1 H, d,  $J=10.35$  Hz), 6.58 (2 H, d, rh-H,  $J=12.05$ ), 6.24 (2 H, s, rh-H), 6.44 (2 H, d, rh-H,  $J=12.05$ ), 3.13 (8 H, t, N-CH<sub>2</sub>  $J=12.05$ ) 1.21 (12 H, t, -CH<sub>3</sub>  $J=13.8$ ). <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$  168.0 153.6 151.9 149.1 146.8 139.5 139.2 136.1 132.7 131.3 128.8 128.3 128.0 126.4 123.8 114.3 107.9 101.1 68.3 44.6 12.9

ESI-mass:  $m/z$  (positive ion mode) 545.3 ( $[M+H]^+$ , 100%).



图解 2.1: RBO 的合成路线  
Scheme2.1: the synthesis of RBO

### 2.3 探针 RBO 对 $Hg^{2+}$ 离子的紫外滴定实验

紫外滴定实验考察所设计的探针在识别过程中的紫外吸收变化特征，从另一个侧面反应出该探针的识别效果是否明显。该检测在 HP 8453 型紫外光谱仪上进行，测试所用到的石英池尺寸为 1cm 见方的底容积为 3.5ml。量子产率对比物为罗丹明 B ( $\phi=0.95$ )。对于每次的  $pK_a$  测试的体积变化都不超过 3%。RBO 用色谱纯乙腈溶解，用  $Hg(ClO_4)_2$

2 配制  $\text{Hg}^{2+}$  离子溶液待用。测试时将 RBO 的乙腈溶液溶解在 DMF/ $\text{H}_2\text{O}$  (1:1) 的溶液中，其中 RBO 的浓度为  $10\mu\text{M}$ ，向其中加入 30 倍当量的  $\text{Hg}^{2+}$  离子。

从  $^{13}\text{C}$ -NMR 图谱中的 66ppm 处的特征峰上，我们可以确定所得到的化合物 RBO 是以内酯形式存在的<sup>[51]</sup>，同时可以通过得到的化合物的颜色很淡并且溶解在酸性或有机溶剂中只发出微弱的荧光确定其是以内酯形式存在的<sup>[52]</sup>。在内酯存在形式下，化合物 RBO ( $10\mu\text{M}$ ) 在水中 570nm 处有一个非常弱的吸收带。随着逐渐增加  $\text{Hg}^{2+}$  浓度，该色带在 540nm 处出现一个很强的吸收峰，这证明了探针在与  $\text{Hg}^{2+}$  离子配位后出现了开环的形式。同时，随着  $\text{Hg}^{2+}$  的加入致使溶液出现明显的颜色变化，这证明该探针可以被用作“裸眼”识别  $\text{Hg}^{2+}$ ，这使我们可以期望该探针具有颜色变化和荧光变化双重识别性质。

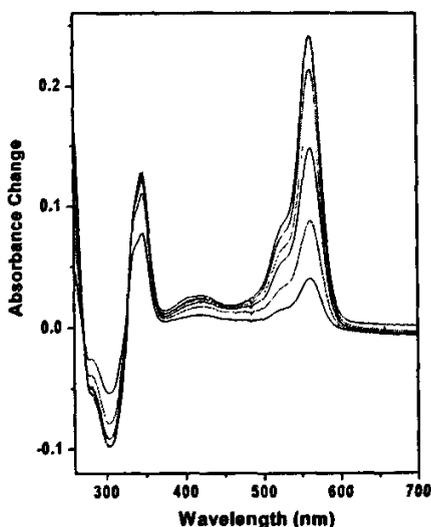


图 2.1 探针 RBO 相对于  $\text{Hg}(\text{II})$  的紫外吸收。探针浓度为  $10\mu\text{M}$ ，随着  $\text{Hg}(\text{II})$  的加入在 570nm 和 420nm 处吸收增强，在 240nm 处吸收下降

Fig.2.1 Difference spectra obtained from the addition of  $\text{Hg}(\text{II})$  to a solution of RBO at  $\text{pH} = 7.0$ . The concentrations of these probes are  $10\mu\text{M}$ . Absorption increase occur at ca 570nm and 420nm, a decrease occurs at 240nm about upon the  $\text{Hg}(\text{II})$  coordination.

## 2.4 探针 RBO 对 $\text{Hg}^{2+}$ 的荧光滴定实验

所设计的探针 RBO 是具有荧光特性的分子探针，因此用荧光测试检测其对  $\text{Hg}^{2+}$  的荧光响应。该检测在 RF-5000 型荧光光谱仪上进行，测试所用到的石英池尺寸为 1cm 见

方的底容积为 3.5ml。测试时的激发与发射的狭缝宽度都为 3nm。量子产率对比物为罗丹明 B ( $\phi = 0.95$ )。对于每次的 pKa 测试的体积变化都不超过 3%。RBO 用色谱纯乙腈溶解, 用  $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$  配制  $\text{Hg}^{2+}$  离子溶液待用。测试时将 RBO 的乙腈溶液溶解在 DMF/ $\text{H}_2\text{O}$  (1:1) 的溶液中, 其中 RBO 的浓度为  $10\mu\text{M}$ , 向其中加入 30 倍当量的  $\text{Hg}^{2+}$  离子。测试的激发波长为 510nm, 随着  $\text{Hg}^{2+}$  离子的加入, 在 585nm 处出现一个新的发射带, 并逐渐增强(量子产率, 0.42)<sup>[53]</sup>, 这可能是由于罗丹明基团中的氧杂蒽基团发生位移引起的变化。这证明了探针 RBO 对  $\text{Hg}^{2+}$  离子有非常好的荧光响应。

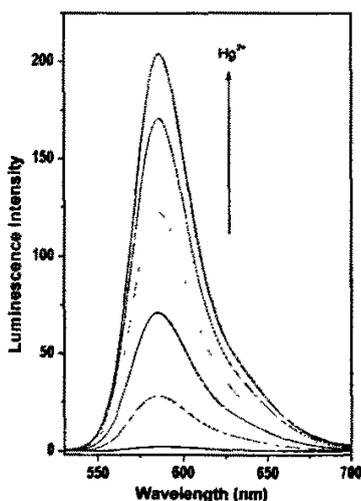


图 2.2 在含有 RBO $10\mu\text{M}$  的 1:1 DMF/ $\text{H}_2\text{O}$  的混合溶剂中加入 30 倍当量的 Hg(II) 时的荧光发射图谱。  
激发波长为 510nm

**Fig.2.2** The fluorescence response of  $10\mu\text{M}$  RBO (in 1:1 DMF/ $\text{H}_2\text{O}$  mixsolvent aqueous solution) to 30 equiv. of Hg(II) at pH 7. Excitation was provided at 510nm for these compounds.

RBO 的荧光强度增强的幅度与  $\text{Hg}^{2+}$  加入的量近似成比例, 其溶剂环境为 DMF/ $\text{H}_2\text{O}$  (1:1, v/v), RBO 同样在 ppb 级对于  $\text{Hg}^{2+}$  离子有非常好的响应<sup>[54]</sup>。这显示出探针 RBO 具有很高的灵敏度。

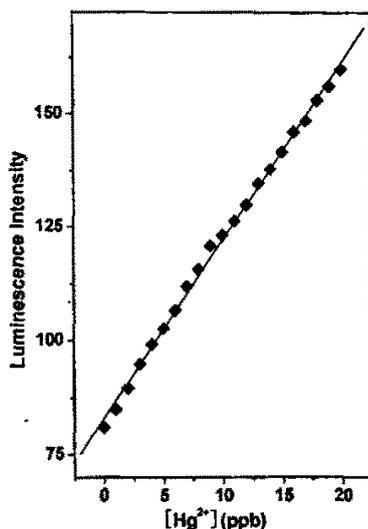


图 2.3 化合物 RBO 在 1:1 DMF/ $\text{H}_2\text{O}$  混合溶液中的荧光滴定, 每次加入相当于 1ppb 量的  $\text{Hg}(\text{II})$ 。在发射强度 556nm 处测试, 激发波长为 510nm。

Fig.2.3 Fluorescence emission changes of compound RBO (right picture 0.1 $\mu\text{M}$ ) upon addition additions of  $\text{Hg}(\text{II})$  (by 1 ppb) in 1:1 DMF/ $\text{H}_2\text{O}$  aqueous solution . The fluorescence intensities were measured at 556nm. Excitation at 510nm.

## 2.5 探针 RBO 对 $\text{Hg}^{2+}$ 离子的 pH 依赖实验

对于具有荧光团的配体, 一个最简单的途径去研究其配位过程对于 pH 值的依赖便是通过不同 pH 值下其构成的配合物的荧光发射强度的变化来研究。而在实际应用中, 化学传感器应该具有在一个相对宽泛的 pH 值下可以使用的性质。pH 依赖滴定测试显示化合物 RBO 在 pH 值范围为 4.0~10.0 中有较弱的荧光发射 (激发波长为 510nm), 证明化合物 RBO 受 pH 值变化影响不大。因此, 化合物 RBO 在没有溶剂效应情况下可以在一个较宽的 pH 值范围 (4.0~10.0) 中对  $\text{Hg}^{2+}$  离子进行检测。加入  $\text{Hg}^{2+}$  离子后, 在相同的 pH 值范围 (6.0~10.0) 中, 荧光强度明显增强, 最大值出现在 pH=6.5 处, 这充分证明了化合物 RBO 可以实际应用于对  $\text{Hg}^{2+}$  离子的检测。

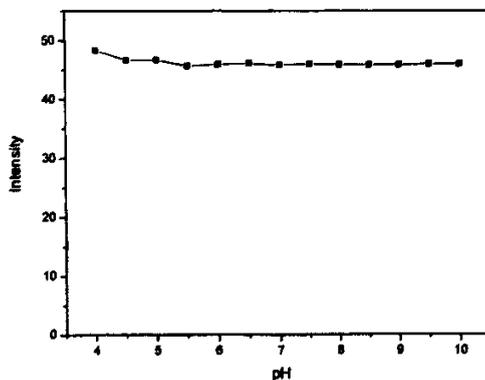


图 2.4 化合物 RBO 在 1:1 DMF/H<sub>2</sub>O 混合溶剂中的 pH 依赖测试。发射波长 556nm 处，激发波长 510nm

Fig.2.4 pH dependent fluorescence response of compound RBO in 1:1 DMF/H<sub>2</sub>O aqueous solution . The fluorescence intensities were measured at 556nm. Excitation at 510nm.

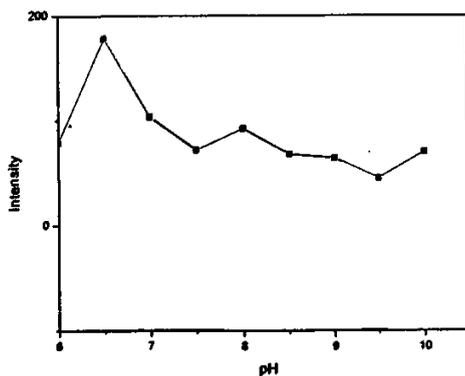


图 2.5 化合物 RBO 在 1:1 DMF/H<sub>2</sub>O 混合溶剂中加入 Hg(II)后的 pH 依赖测试，发射波长 556nm，激发波长 510nm

Fig.2.5 pH dependent fluorescence response of compound RBO (left 10 $\mu$ M) and upon addition of Hg(II) in 1:1 DMF/H<sub>2</sub>O aqueous solution . The fluorescence intensities were measured at 556nm. Excitation at 510nm.

## 2.6 探针 RBO 对不同阳离子的选择性实验

众所周知，一种高选择性的 Hg<sup>2+</sup> 离子识别探针对于阳离子是荧光增强响应要远远好于荧光淬灭，荧光增强将更好的提高探针的灵敏度。对于化合物 RBO 针对不同阳离子

的荧光响应测试在 pH=7.0 的溶液中进行, 其中激发波长为 510nm。化合物对于不同阳离子的选择性由图 2.6 给出; 化合物在不同的阳离子环境中其荧光强度没有明显的变化, 金属包括碱金属和碱土金属, 如 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, 和 Ca<sup>2+</sup>, 第一排的过度金属, 如 Mn<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, 和 Cu<sup>2+</sup>。而对于加入过量 25 倍的 12 族离子如 Zn<sup>2+</sup> 和 Cd<sup>2+</sup> 以及 Pb<sup>2+</sup> 的加入同样没有产生明显的荧光响应, 这都证明了化合物对 Hg<sup>2+</sup> 离子有非常好的选择性, 这可能是由于 N-N 的二齿配位点更符合 Hg<sup>2+</sup> 独特的配位空间结构, 对 Hg<sup>2+</sup> 的选择性大大提高。

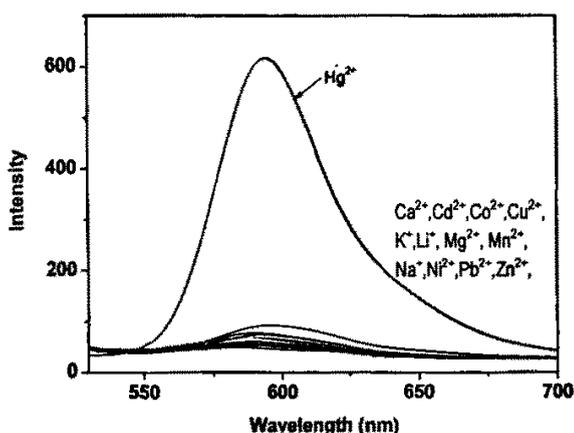


图 2.6 探针 RBO 在 1:1 DMF/H<sub>2</sub>O 的混合溶剂中, 在 50 $\mu$ M Hg<sup>2+</sup> 与 0.25mM Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> 共存情况下相对于 Hg<sup>2+</sup> 的选择性测试  
 Fig.2.6 Fluorescence spectra (excitation at 510nm) of RBO (10 $\mu$ M) in 1:1 DMF/H<sub>2</sub>O aqueous solution in the presence of 50 $\mu$ M Hg<sup>2+</sup>, 0.25mM of Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, and Ca<sup>2+</sup>, the first row transition metals Mn<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, and Cu<sup>2+</sup>, as well as its group 12 congeners Zn<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup>, and Pb<sup>2+</sup>

## 2.7 探针 RBO 在多种阳离子共存情况下的竞争实验

对于以配位方式检测分析物的传感器来说, 如何更好的避开竞争组分对检测的干扰是对传感器发展提出的一项挑战。图 2.7 显示出当 Hg(II) 与其它金属离子在天然水中共存的情况下, 化合物 RBS 对 Hg(II) 的荧光相应, 其它金属离子包括: 碱金属, 碱土金属, 以及元素周期表中第一行的过渡金属, 并且还有 Zn(II) 和 Cd(II)。对于 100 倍当量 (1mM) 的第一主族和第二主族的金属离子来说, 如 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, 和 Ca<sup>2+</sup>, 并不能影响化合物 RBS 与 Hg(II) 的配位, 不能导致荧光发射。同时 Cd(II) 和 Pb(II) 也不能阻止由 Hg(II) 引起的荧光增强。对于二价的第一排的过渡金属的存在, 如 Mn(II), Fe(II), 和 Co(II), RBO

对于 Hg(II) 同样具有很好的选择性。甚至在 Ni(II) 和 Cu(II) 存在的情况下，这两种离子通常在中性 pH 值条件下其配位性质强于 Hg(II)，RBO 同样对 Hg(II) 有很好的选择性。化合物 RBO 的测试环境是在 1:1 DMF/H<sub>2</sub>O 的混合溶剂中。这种传感器对 Cu(II) 都有一定的荧光相应，这是由于 N<sub>2</sub>O 配位基团的存在。与 MS1 MS4, MS2 和 MS3 一样，RBO 在同为第 12 族金属 Zn(II) 和 Cd(II) 存在的情况下，对 Hg(II) 都有很好的选择性。因此 RBO 在多种阳离子共存的情况下对 Hg(II) 有很好的选择性<sup>[55, 56]</sup>。

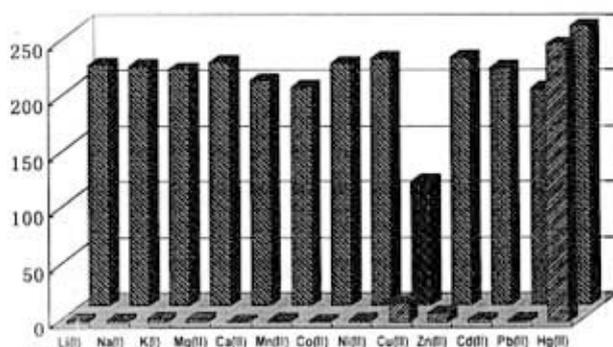


图 2.7 探针 RBO 在含有 DMF 的有机溶剂中，在 25 倍当量其它金属离子存在的情况下，2.5 倍当量的 Hg<sup>2+</sup> 离子相对于其它金属离子的竞争性测试，取 556nm 处数据作图，激发波长 510nm

Figure 2.7 Fluorescence responses of RBO (in a DMF aqueous solution 10 μM) to various cations and selectivity of RBO (bottom one in a DMF aqueous solution.) for Hg<sup>2+</sup> in the presence of other metal ions. The red bars represent the emission of RBO in the presence of 25 equiv of the cation of interest. The light bars represent the change of the emission that occurs upon the subsequent addition of 2.5 equiv of Hg<sup>2+</sup> to a solution containing RBO and 25 equiv of the cation of interest. The emission intensities were recorded at 556 nm, excitation at 510nm.

由图中数据我们可以看出，探针 RBO 对 Cu<sup>2+</sup> 有一定的响应，进一步的研究表明，只有在 RBO 溶液中加入 Cu<sup>2+</sup> 的时候，在相同的条件下，会在 540nm 处有一个吸收增强（图 2.8），并形成 1:2 金属/配体的滴定曲线，其平衡常数为  $8.2 \times 10^7 \text{ M}^{-2}$ 。同时，在荧光滴定中当 Cu<sup>2+</sup> 加入的量达到百万分子级时并没有明显的吸收出现；更进一步的研究表明，过量的 Cu<sup>2+</sup>（50 倍当量）加入并不能影响到 Hg 引起的荧光发射（2.5 倍当量的 Hg）。显然，在于大量高浓度金属离子共存的环境中探针 RBO 同样对 Hg(II) 有很出色的选择性。

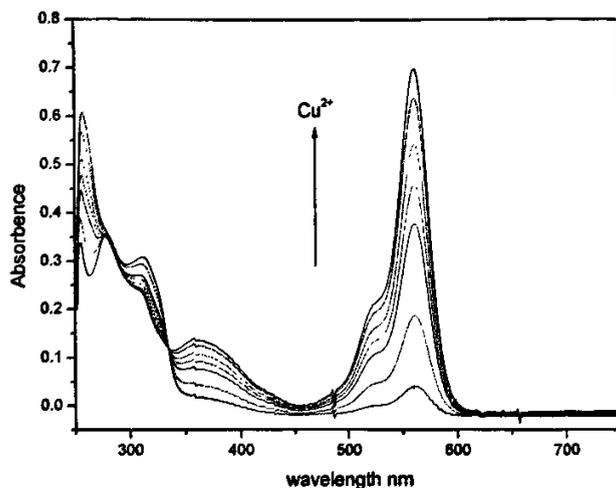


图 2.8 10  $\mu\text{M}$  的 RBO 相对于  $\text{Cu}(\text{II})$  的紫外吸收滴定, 激发波长 510nm

Fig.2.8 Difference spectra obtained from the addition of  $\text{Cu}(\text{II})$  to a solution of RBO at  $\text{pH} = 7.0$ . The concentrations of these probes are  $10\mu\text{M}$ . Absorption increase occur at ca 570nm, a decrease occurs at 240nm about upon the  $\text{Cu}(\text{II})$  coordination.

## 2.8 探针 RBO 对 $\text{Hg}^{2+}$ 离子的可逆性实验

可逆性也是评价一个传感器性能的一项重要标准, 因为对于传感器的重复使用在实际应用当中具有十分重要的意义<sup>[57, 58]</sup>。在我们测试阴离子效应的实验中, 我们发现在含有 100 mM KI 的缓冲溶液中 RBO 不能与  $\text{Hg}(\text{II})$  配位。紫外吸收光谱显示, 在这种缓冲溶液中逐渐加入  $\text{Hg}(\text{II})$  没有在 470nm 处出现特征吸收, 而分别在 265nm 和 321nm 处出现吸收, 这是由于溶液中形成  $[\text{HgL}_4]^{2-}$  的缘故。这一发现以及最近的一份报道中指出用 KI 洗涤吸收  $\text{Hg}(\text{II})$  的传感器可以使传感器重复使用, 这些给了我们一个重要的启迪, 让我们用 KI 洗涤已经与  $\text{Hg}(\text{II})$  配位的 RBS 探针, 使其可以重复使用。紫外吸收光谱测试显示在  $\text{RBS}:\text{Hg}(\text{II})$  配合物存在的溶液中加入过量的 KI 引起在 470nm 处  $\text{RBS} \pi-\pi^*$  转移的明显降低, 同时伴随着  $\text{Hg}(\text{II})$  的释放。正如我们期望的那样, 在 260-320nm 处出现一个新的吸收带, 证明了  $[\text{HgL}_4]^{2-}$  的形成。(图 2.10)

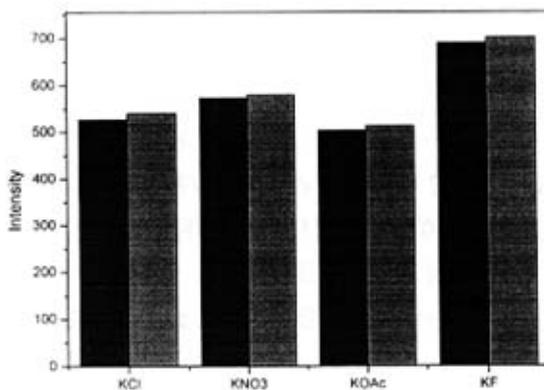


图 2.9 探针 RBO(10µM)在 1:1DMF/H<sub>2</sub>O 的混合溶剂中与不同阴离子竞争与 Hg<sup>2+</sup>离子结合的荧光响应

红柱: RBO+Hg<sup>2+</sup>; 绿柱: 在前述溶液中加入 100µM 不同的阴离子

Fig.2.9 Fluorescence responses of RBO (in a DMF aqueous solution 10µM) to various anions and selectivity of RBO (bottom one n a DMF aqueous solution.) for Hg<sup>2+</sup> in the presence of other anions. The red bar: RBO+Hg<sup>2+</sup>; the green bar: add 100µM different anion to the previous solution.

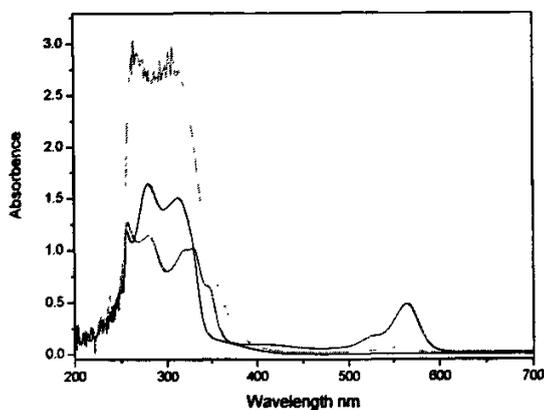


图 2.10 KI 可逆性测试。黑线: 探针 RBO 的紫外吸收; 蓝线: 加入 5 倍当量 Hg(II)后的紫外吸收; 绿线: 在前述溶液中加入 25 倍当量 KI 的紫外吸收

Figure10 Reversibility of Hg(II) binding to RBO following addition of KI. Addition of Hg(II)(5eq of RBO) to 10µM RBO (DMF/H<sub>2</sub>O=1:1), and then add 25seq KI into the previous solution. Black trace: absorption of RBO; blue trace: add Hg(II)(5eq) to the solution of RBO; green trace: add 25seq KI to previous solution. There is a decrease of absorbance at 556nm.

## 2.9 探针 RBO 对 Hg<sup>2+</sup> 离子的 Job 曲线实验

应化合物 RBO 的设计是基于与金属离子以 2:1 的配位方式构成配合物的, 我们通过紫外可见光和荧光光谱对其进行了测试。Job 曲线从紫外吸收光谱测试得到, 测试环境总浓度为 100 μM, 向 RBO 中逐渐加入 Hg(II), 特征点都出现在 0.6~0.7 之间, 这说明在溶液中 RBO:Hg(II) 都以 1:2 的形式存在。非线性拟合得到 RBO/Hg<sup>2+</sup> 的配位关系为 2:1, 并且其平衡常数  $K_a$  为  $2.4 \times 10^9 \text{ M}^{-2}$ 。固体数据证明是通过电喷物质谱得到的, 其用于测试的溶液是 RBO 与 Hg<sup>2+</sup> 的混合溶液 (图 2.11)。在质谱中  $m/z$  654.99 处的特征峰证明了 [Hg(RBO)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> 的存在, 这是在 RBO 溶液中加入 1.2 倍当量的 Hg<sup>2+</sup> 得到的数据, 而在没有 Hg<sup>2+</sup> 存在的情况下, RBO 的特征峰在  $m/z$  545.3 处, 其存在形式为 [RBO+H]<sup>+</sup>[<sup>50</sup>]。

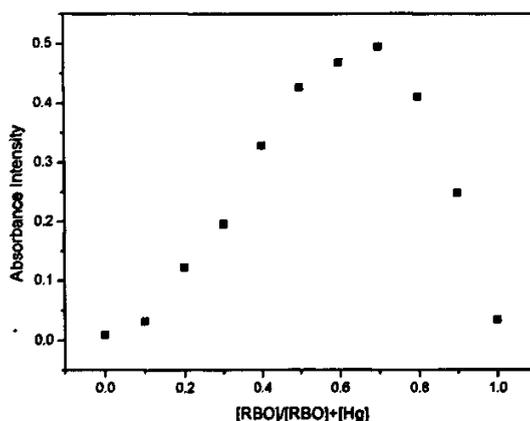


图 2.11 探针 RBO 的 Job 曲线

Fig.2.11 Job's-plot of RBO

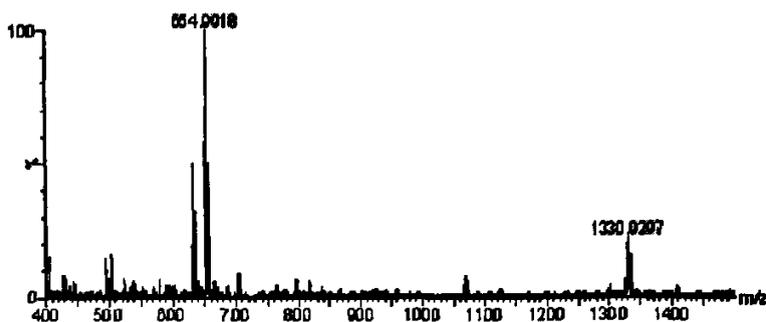


图 2.12 配合物 [Hg(RBO)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> 的质谱图

Fig.2.12 ESI-MS of [Hg(RBO)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>

我们同样可以从探针 RBO 与 Hg (II) 配位前后的核磁谱图的变化看出探针 RBO 与 Hg (II) 进行了配位, 致使 H 的位移发生了响应的变化。从图 2.13 中的两个核磁谱图中我们可以看到明显的不同, 上图为只有 RBO 时候的核磁谱图, 下图为加入 Hg (II) 后的核磁谱图, 化学位移在 6.6 与 9.0 处都出现了新的峰, 这些都从另一个侧面证明了配合物的形成。

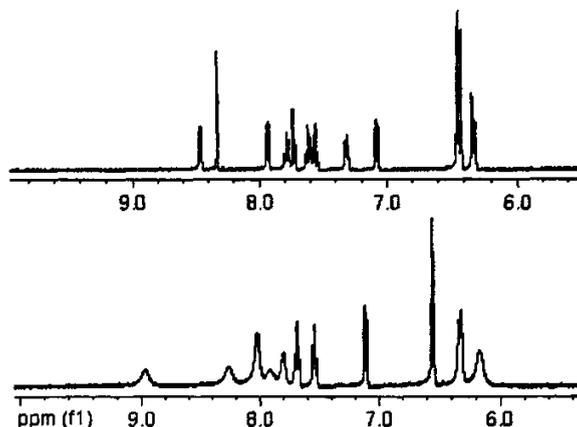


图 2.13 上图: 探针 RBO 的核磁谱图; 下图: 配合物 $[\text{Hg}(\text{RBO})_2]^{2+}$ 的核磁谱图

Fig.2.13 up: NMR of RBO; down: NMR of  $[\text{Hg}(\text{RBO})_2]^{2+}$

## 2.10 本章小结

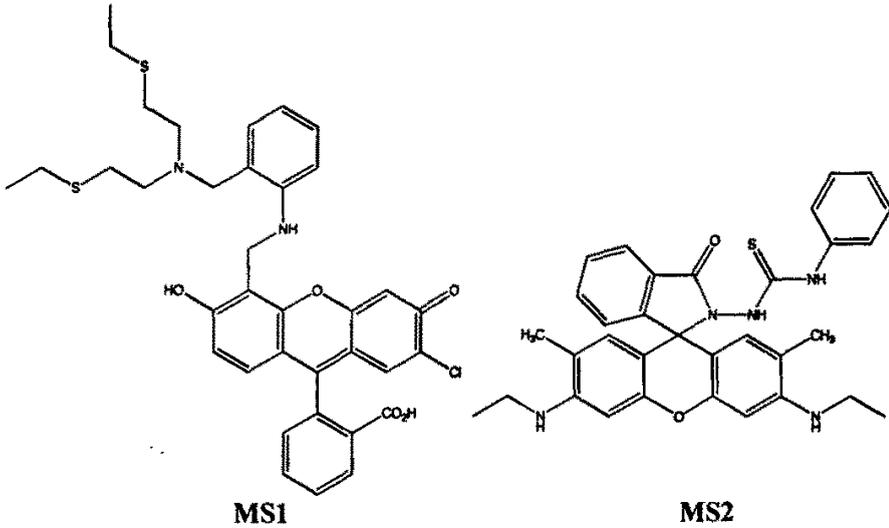
综上所述, 我们得到一种结构简单并易于制备的罗丹明衍生物的 Hg(II) 识别探针, 并对其结构及性质进行了大量的相应测试。这种探针利用荧光性质对 Hg(II) 进行有选择性的识别, 并在 DMF 溶液中其检测低限达到了 ppb 级。由于其配位能力较强, 因此在  $\text{Cu}^{2+}$  存在的情况下, 其对  $\text{Hg}^{2+}$  的识别效果可能会受到一定影响, 同时其只能在 DMF 的混合溶液中使用, 限制了其应用范围, 并不能在纯水中进行很好的识别, 这是由于水对罗丹明基团有影响, 会使其开环, 影响其荧光识别的效果, 这些都是我们改善该类探针所要克服的困难, 在接下来的工作中, 我们特别针对这些问题, 优化探针的结构, 希望能够得到真正能够应用于纯水的探针。

### 3 优化条件下基于罗丹明 B 的汞离子识别探针的合成及性能研究

#### 3.1 引言

大量的论文介绍了检测汞元素的方法,其中最广泛使用的定量检测汞技术是原子吸收光谱和原子发射光谱,还有其他一些方法,如中子活化分析法、阳极溶出伏安法<sup>[60]</sup>、X射线荧光光谱法、等离子体感应光谱、双硫脲比色法和用悬液计测量悬液法等<sup>[61]</sup>。这些方法一般都是成本比较高,需要复杂的仪器和熟练的操作人员,不能或不方便在户外使用,一般是在实验室进行,即现场采样后进行离线分析,存在耗时,分析步骤复杂,分析仪器昂贵,采样频率低以及样品不易保存等缺点。在有些情况下,需要及时知道环境污染情形,以便及时迅速制定相应的处理对策,因此现场环境检测方法、移动实验室和便携式检测仪器等概念被许多研究人员提出。

由于汞具有其独特的化学性质,在实际情况中若汞不慎倒翻在地,立即用硫磺粉洒在汞粒表面混合,使之变成硫化汞,使之不再蒸发。随着人们科学研究水平的提高,人们发现汞离子对人体含有S原子的配合基显现出了很强的亲和力,能引起蛋白质、酶和膜的巯基(-SH) 块结。这些都给科研工作者们一个启示,汞具有亲硫的特性,这一特性也被科学家引入了对汞离子识别探针的设计当中。Lippard的科研小组早在2003年就在JACS上发表了利用汞的亲硫特性设计出的一种汞离子识别探针MS1<sup>[62]</sup>。紧接着在2005年的JACS上, Jinsung Tae等人又报道了一种新的汞离子识别探针MS2<sup>[63]</sup>, MS2是利用化学反应,得到HgS实现汞离子识别的作用。这两份报道给了我们很大的启迪,由于罗丹明易于在其结构上修饰的特点,我们试图在我们设计的探针RBO上进行修饰,试图达到优化其性能的功效。通过前人的工作总结我们发现,前人在使用汞的亲硫性的时候,其设计的探针并没有在罗丹明主体结构上进行修饰,因此我们设计在罗丹明B的羰基上进行修饰<sup>[64]</sup>,用S取代O,从而使罗丹明主体具有含硫的特性,这样实现了在罗丹明主体上既有识别基团又有感应基团的双重功效,从而达到提高探针选择性和灵敏度的目的。



### 3.2 实验部分

#### 3.2.1 实验仪器及试剂

##### (1) 实验仪器

表 3.1 实验仪器  
Tab.3.1 experiment instruments

仪器名称	仪器型号	生产厂家
超导核磁共振波谱仪	VarianNOVA 400M NMR	美国 Varian 公司
高效液相色谱/质谱联机 系统	HP 1100LC-MSD 型	美国惠普公司
旋转蒸发器	RE-52C 型	巩义市英峪予华仪器厂
电热恒温鼓风干燥箱	DHG-9240BD 型	上海森信实验仪器有限公司
循环水式真空泵	SHZ-D 型	巩义市峪华仪器厂
磁力搅拌	98-1 型	河南省巩义市英峪仪器厂
无级调速搅拌器	DW-2 型	巩义市英峪华仪器厂
电子节能控温仪	DKW-III型	巩义市英峪予华仪器厂
荧光寿命分析仪	PTI-700 型	美国惠普公司

紫外分光光度计	HP8453 型	美国惠普公司
三用紫外分析仪	WFH-203 型	上海精科实业有限公司
超声波清洗机	KQ3200E	昆山市超声仪器有限公司
真空干燥箱	DZG-6021	上海森信实验仪器有限公司
电子天平		梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司
元素分析仪	Perkin-Elmer 2400 II 型	

(2) 实验试剂

表 2.1 试剂  
Tab.3.2 experiment reagents

药品	厂家	级别
无水乙醇	天津市天达净化材料精细化工厂	化学纯
N,N-二甲基甲酰胺	广东汕头西陇化工厂	化学纯
二氯甲烷	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯
氢氧化钠	沈阳市新兴试剂厂	分析纯
无水硫酸钠	天津市科密欧化学试剂开发中心	分析纯
冰醋酸	沈阳市联邦试剂厂	分析纯
乙酸乙酯	广东汕头西陇化工厂	分析纯
石英砂	天津南开化工厂	分析纯
薄层层析硅胶	青岛关高化工有限公司	200-300 目
无水氯化钙	天津市科密欧化学试剂开发中心	分析纯
硫酸	哈尔滨化工化学试剂厂	优级纯
甲醇	天津市科密欧化学试剂有限公司	分析纯
无水乙醚	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯
三氧化二铝(中性)	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯

五氧化二磷	天津市大茂化学试剂厂	分析纯
石油醚	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯
高氯酸汞	ARCOS	分析纯
乙腈	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
罗丹明 B	ACROS	分析纯
二苯甲酮	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯

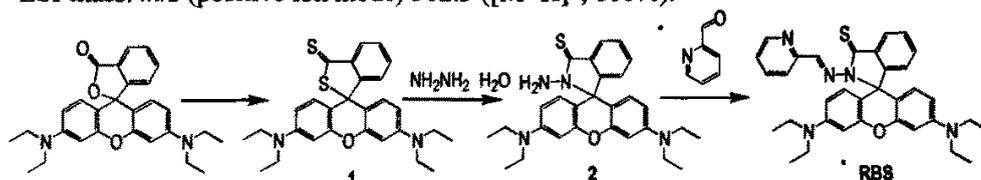
### 3.2.2 优化条件下基于罗丹明 B 的汞离子识别探针的合成

罗丹明 B 的硫代产物的合成 (1)：罗丹明 B (3.02g, 6.3mmol) 与劳伦斯试剂 (2.59g, 6.3mmol) 溶解在纯化过的苯中，在  $N_2$  保护的情况下反应回流 24 小时，然后将苯蒸出，得到固体残留物，加入 KOH 饱和溶液在常温下搅拌反应 24 小时，然后用  $CH_2Cl_2$  萃取，取  $CH_2Cl_2$  相，旋蒸出多余的  $CH_2Cl_2$ ，将浓缩过的残留物经过中性  $Al_2O_3$  色谱柱分离，淋洗液为  $CH_2Cl_2$ ，旋蒸出淋洗液，得到固体产物 Rh-BS (0.346g, 产率：12%)。

罗丹明 B 的硫代产物的胍化产物 (2)：将罗丹明 B 的硫代产物 (300mg, 0.63mmol) 溶于甲醇 (20ml) 中，加入水合胍 (0.10ml, 1.89mmol)。反应回流 6 小时，然后用乙酸乙酯 (30ml) 萃取。取乙酸乙酯相分别用水 (10ml) 和饱和 NaOH 溶液 (10ml) 洗乙酸乙酯相，然后用无水  $MgSO_4$  干燥有机相，浓缩有机相，经过硅胶柱分离 (淋洗液：正己烷： $CH_2Cl_2$ :MeOH=10:2:1) 得到 256mg(95%) 的罗丹明 B 的硫代胍化产物。(产率：0.80g, 54.0%)

2-吡啶甲醛罗丹明 B 硫代胍化产物 (RHS)：将罗丹明 B 的硫代胍化产物 (1.28mmol, 0.6079g) 与 2-吡啶甲醛 (3.18mmol, 0.341g) 混合于沸腾的甲醇中并加入 3 滴冰醋酸。反应 2 小时后，得到黄色的沉淀，过滤后用甲醇/乙醚 (1:1) 的混合液洗涤固体沉淀，然后用  $P_2O_5$  真空干燥。产率：0.415g, 57.2%。元素分析：  
( $C_{34}H_{35}N_5OS$ ) :H6.28,C72.70,N12.47 测试结果：H6.34,C71.89,N12.19。  
1H-NMR(DMSO- $d_6$ ) :8.58 (1H, d, py-H  $J$  = 7.3 Hz), 8.45 (1 H, s, CH=N), 8.02 (1 H, d, py-H,  $J$  = 7.2 Hz), 7.86 (1 H, t, py-H  $J$  = 7.3 Hz), 7.84 (1 H, d rh-H,  $J$  = 10.5 Hz), 7.71 (1 H, t, py-H  $J$  = 7.30 Hz), 7.68(1 H, t, rh-H,  $J$  = 10.25 Hz), 7.40 (1H, t, rh-H,  $J$  = 10.5 Hz), 7.15 (1 H, d,  $J$  = 10.35 Hz), 6.58 (2 H, d, rh-H,  $J$  = 12.05), 6.24 (2 H, s, rh-H), 6.44 (2 H, d, rh-H,  $J$  = 12.05), 3.13 (8 H, t,  $N-CH_2$   $J$  = 12.05) 1.21 (12 H, t,  $-CH_3$   $J$  = 13.8);  $^{13}C$ -NMR:  $\delta$  168.0 153.6 151.9 149.1 146.8 139.5 139.2 136.1 132.7 131.3 128.8 128.3 128.0 126.4 123.8 114.3 107.9 101.1 68.3 44.6 12.9

ESI-mass:  $m/z$  (positive ion mode) 562.3 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100%).



图解 3.1: RBS 的合成路线  
Scheme3.1: the synthesis of RBS

### 3.3 探针 RBS 对 $\text{Hg}^{2+}$ 离子的紫外滴定实验

紫外滴定实验考察所设计的探针在识别过程中的紫外吸收变化特征，从另一个侧面反应出该探针的识别效果是否明显。该检测在 HP 8453 型紫外光谱仪上进行，测试所用到的石英池尺寸为 1cm 见方的底容积为 3.5ml。量子产率对比物为罗丹明 B ( $\phi = 0.95$ )。对于每次的  $\text{pK}_a$  测试的体积变化都不超过 3%。RBS 用色谱纯乙腈溶解，用  $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$  配制  $\text{Hg}^{2+}$  离子溶液待用。测试时将 RBS 的乙腈溶液溶解在纯水中，其中 RBS 的浓度为  $10\mu\text{M}$ ，向其中加入 30 倍当量的  $\text{Hg}^{2+}$  离子。

从  $^{13}\text{C-NMR}$  图谱中的 66ppm 处的特征峰上，我们可以确定所得到的化合物 RBS 是以内酯形式存在的，同时可以通过得到的化合物的颜色很淡并且溶解在酸性或有机溶剂中只发出微弱的荧光确定其是以内酯形式存在的。在内酯存在形式下，化合物 RBS 在水中 570nm 处有一个非常弱的吸收带。随着逐渐增加  $\text{Hg}^{2+}$  浓度，该色带在 540nm 处出现一个很强的吸收峰，这证明了探针在与  $\text{Hg}^{2+}$  离子配位后出现了开环的形式。同时，随着  $\text{Hg}^{2+}$  的加入致使溶液出现明显的颜色变化，这证明该探针可以被用作“裸眼”识别  $\text{Hg}^{2+}$ ，这使我们可以期望该探针具有颜色变化和荧光变化双重识别性质。

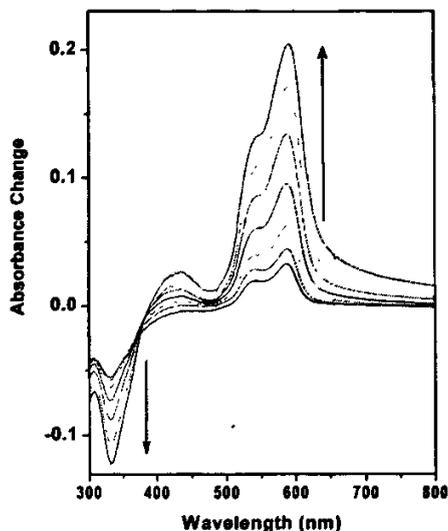


图 3.1 探针 RBS 相对于 Hg (II) 的紫外吸收。探针浓度为  $10\mu\text{M}$ ，随着 Hg(II) 的加入在 570nm 和 420nm 处吸收增强，在 240nm 处吸收下降

Fig.3.1 Difference spectra obtained from the addition of Hg(II) to a solution of RBS at pH = 7.0. The concentrations of these probes are  $10\mu\text{M}$ . Absorption increase occur at ca 570nm and 420nm, a decrease occurs at 240nm about upon the Hg(II) coordination.

### 3.4 探针 RBS 对 $\text{Hg}^{2+}$ 离子的荧光滴定实验

对于化合物 RBS 引入了一个硫原子，光谱测试是在纯水中进行的。pH 值依赖滴定测试显示其在 pH 范围是 4.0~10.0 之间没有明显的荧光变化（激发波长为 510nm），这证明 RBS 不受 pH 值变化的影响。随着 Hg(II) 的加入，在 585nm 处出现一个新的发射谱带，并逐渐增强（量子产率，0.42）（图 3.2），这说明 RBS 可以在天然水的 pH 范围中作为化学传感器探测 Hg (II)。RBS 的荧光滴定曲线显示其可以在 ppb 级对 Hg (II) 有非常好的响应，其中 RBS 浓度为  $1\mu\text{M}$ 。同时，在优化的条件下，RBS 的荧光强度增强的幅度与  $\text{Hg}^{2+}$  加入的量近似成比例。因为世界环境保护组织规定的人类引用水的含 Hg (II) 量最大为 2ppb，因此 RBS 可以被用作实际环境中的 Hg (II) 检测。

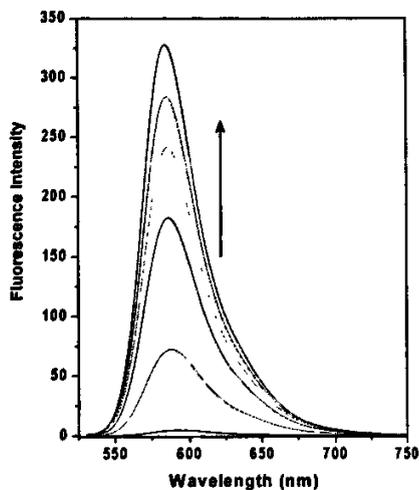


图 3.2 在含有 RBS  $10\mu\text{M}$  的纯水中加入 30 倍当量的  $\text{Hg}(\text{II})$  时的荧光发射图谱。激发波长为  $510\text{nm}$

Fig.3.2 The fluorescence response of  $10\mu\text{M}$  RBS (in water) to 30 equiv. of  $\text{Hg}(\text{II})$  at pH 7. Excitation was provided at  $510\text{nm}$  for these compounds.

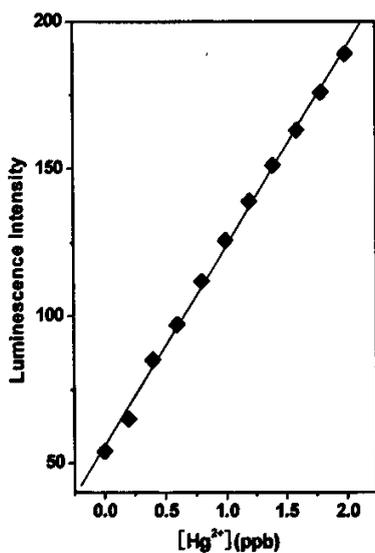


图 3.3 化合物 RBS 在水中的荧光滴定，每次加入相当于  $0.4\text{ppb}$  量的  $\text{Hg}(\text{II})$ 。在发射强度  $556\text{nm}$  处测试，激发波长为  $510\text{nm}$ 。

Fig.3.3 Fluorescence emission changes of compound RBS ( $0.1\mu\text{M}$ ) upon addition additions of  $\text{Hg}(\text{II})$  (by  $0.4\text{ppb}$ ) in water . The fluorescence intensities were measured at  $556\text{nm}$ . Excitation at  $510\text{nm}$ .

### 3.5 探针 RBS 对 $\text{Hg}^{2+}$ 离子的 pH 依赖实验

对于具有荧光团的配体, 一个最简单的途径去研究其配位过程对于 pH 值的依赖便是通过不同 pH 值下其构成的配合物的荧光发射强度的变化来研究。而在实际应用中, 化学传感器应该具有在一个相对宽泛的 pH 值下可以使用的性质。pH 依赖滴定测试显示化合物 RBS 在 pH 值范围为 4.0~10.0 中有较弱的荧光发射(激发波长为 510nm), 证明化合物 RBS 受 pH 值变化影响不大。因此, 化合物 RBS 在没有溶剂效应情况下可以在一个较宽的 pH 值范围(4.0~10.0)中对  $\text{Hg}^{2+}$  离子进行检测。加入  $\text{Hg}^{2+}$  离子后, 在相同的 pH 值范围(4.0~10.0)中, 荧光强度明显增强, 最大值出现在 pH=6.5 处, 这充分证明了化合物 RBS 可以实际应用于对  $\text{Hg}^{2+}$  离子的检测。

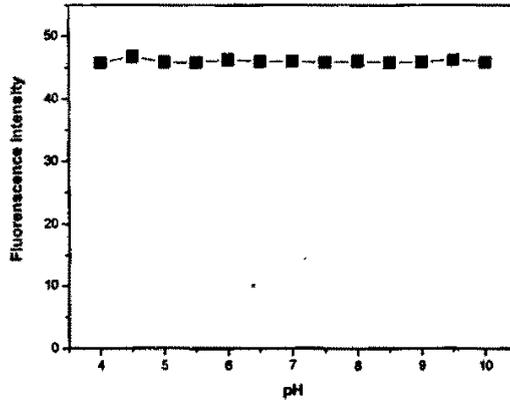


图 3.4 化合物 RBS 在水中的 pH 依赖测试。发射波长 556nm 处, 激发波长 510nm

Fig.3.4 pH dependent fluorescence response of compound RBS in water . The fluorescence intensities were measured at 556nm. Excitation at 510nm.

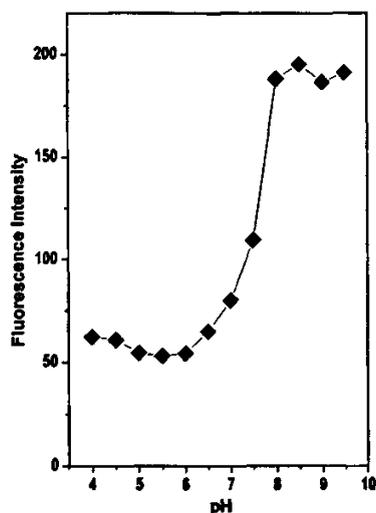


图 3.5 化合物 RBS 在水中加入 Hg(II) 后的 pH 依赖测试，发射波长 556nm，激发波长 510nm  
 Fig.3.5 pH dependent fluorescence response of compound RBS (10 $\mu$ M) and upon addition of Hg(II) in water . The fluorescence intensities were measured at 556nm. Excitation at 510nm.

### 3.6 探针 RBS 对不同阳离子的选择性实验

众所周知，一种高选择性的 Hg<sup>2+</sup> 离子识别探针对于阳离子是荧光增强响应要远远好于荧光淬灭，荧光增强将更好的提高探针的灵敏度。对于 RBS 和 RBO 两种化合物针对不同阳离子的荧光响应测试在 pH=7.0 的溶液中进行，其中激发波长为 500nm。化合物 RBS 对于不同阳离子的选择性由图 5 给出；化合物 RBS 在不同的阳离子环境中其荧光强度没有明显的变化，金属包括碱金属和碱土金属，如 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, 和 Ca<sup>2+</sup>, 第一排的过渡金属，如 Mn<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, 和 Cu<sup>2+</sup>。而对于加入过量 25 倍的 12 族离子如 Zn<sup>2+</sup> 和 Cd<sup>2+</sup> 以及 Pb<sup>2+</sup> 的加入同样没有产生明显的荧光响应，这都证明了两种化合物对 Hg<sup>2+</sup> 离子有非常好的选择性，这可能是由于 N<sub>2</sub>S 的三齿配位点更符合 Hg<sup>2+</sup> 独特的配位空间结构，对 Hg<sup>2+</sup> 的选择性大大提高。

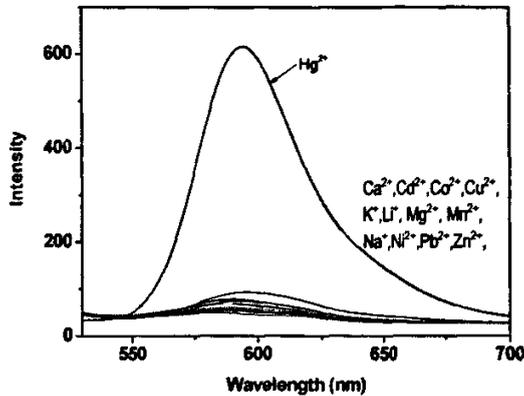


图 3.6 探针 RBS 在水中, 在  $50\mu\text{M Hg}^{2+}$  与  $0.25\text{mM Li}^+, \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{Mg}^{2+}$

$\text{Ca}^{2+}, \text{Mn}^{2+}, \text{Fe}^{2+}, \text{Co}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Zn}^{2+}, \text{Cd}^{2+}, \text{Pb}^{2+}$  共存情况下相对于  $\text{Hg}^{2+}$  的选择性测试

Fig.3.6 Fluorescence spectra (excitation at 510nm) of RBS ( $10\mu\text{M}$ ) in water in the presence of  $50\mu\text{M Hg}^{2+}$ ,  $0.25\text{mM}$  of  $\text{Li}^+, \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{Mg}^{2+}$ , and  $\text{Ca}^{2+}$ , the first row transition metals  $\text{Mn}^{2+}, \text{Fe}^{2+}, \text{Co}^{2+}, \text{Ni}^{2+}$ , and  $\text{Cu}^{2+}$ , as well as its group 12 congeners  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$ , and  $\text{Pb}^{2+}$

### 3.7 探针 RBS 在多种阳离子共存情况下的竞争实验

对于以配位方式检测分析物的传感器来说, 如何更好的避开竞争组分对检测的干扰是对传感器发展提出的一项挑战。图 3.7 显示出当  $\text{Hg(II)}$  与其它金属离子在天然水中共存的情况下, 化合物 RBS 对  $\text{Hg(II)}$  的荧光相应, 其它金属离子包括: 碱金属, 碱土金属, 以及元素周期表中第一行的过渡金属, 并且还有  $\text{Zn(II)}$  和  $\text{Cd(II)}$ 。对于 100 倍当量 ( $1\text{mM}$ ) 的第一主族和第二主族的金属离子来说, 如  $\text{Na}^+, \text{K}^+, \text{Mg}^{2+}$ , 和  $\text{Ca}^{2+}$ , 并不能影响化合物 RBS 与  $\text{Hg(II)}$  的配位, 不能导致荧光发射。同时  $\text{Cd(II)}$  和  $\text{Pb(II)}$  也不能阻止由  $\text{Hg(II)}$  引起的荧光增强。对于二价的第一排的过渡金属的存在, 如  $\text{Mn(II)}, \text{Fe(II)}$ , 和  $\text{Co(II)}$ , RBS 对于  $\text{Hg(II)}$  同样具有很好的选择性。甚至在  $\text{Ni(II)}$  和  $\text{Cu(II)}$  存在的情况下, 这两种离子通常在中性 pH 值条件下其配位性质强于  $\text{Hg(II)}$ , RBS 同样对  $\text{Hg(II)}$  有很好的选择性, 这都是由于一个硫原子和一个吡啶上的氮原子共同作用的结果。这种传感器对  $\text{Cu(II)}$  都有一定的荧光相应, 这是由于  $\text{N}_2\text{S}$  配位基团对于元素周期表中的“铜三角区域”中的金属都有很好的配位性质。与  $\text{MS1 MS4}, \text{MS2}$  和  $\text{MS3}$  一样, RBS 在同为第 12 族金属  $\text{Zn(II)}$  和  $\text{Cd(II)}$  存在的情况下, 对  $\text{Hg(II)}$  都有很好的选择性。因此 RBS 在多种阳离子共存的情况下对  $\text{Hg(II)}$  有很好的选择性。

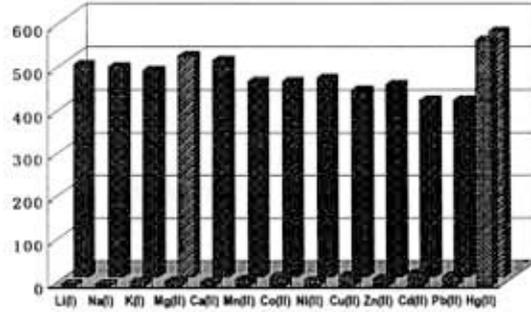


图 3.7 探针 RBS 在纯水中，在 25 倍当量其它金属离子存在的情况下，2.5 倍当量的 Hg<sup>2+</sup> 离子相对于其它金属离子的竞争性测试。取 556nm 处数据作图，激发波长 510nm。

Figure 3.7 Fluorescence responses of RBS (in water 10 μM) to various cations and selectivity for Hg<sup>2+</sup> in the presence of other metal ions. The red bars represent the emission of RBS in the presence of 25 equiv of the cation of interest. The light bars represent the change of the emission that occurs upon the subsequent addition of 2.5 equiv of Hg<sup>2+</sup> to a solution containing RBS and 25 equiv of the cation of interest.. The emission intensities were recorded at 556 nm, excitation at 510nm.

### 3.8 探针 RBS 对 Hg<sup>2+</sup> 离子的可逆性实验

可逆性也是评价一个传感器性能的一项重要标准，因为对于传感器的重复使用在实际应用当中具有十分重要的意义。在我们测试阴离子效应的实验中，我们发现在含有 100 mM KI 的缓冲溶液中 RBS 和 RBO 不能与 Hg(II) 配位。紫外吸收光谱显示，在这种缓冲溶液中逐渐加入 Hg(II) 没有在 470nm 处出现特征吸收，而分别在 265nm 和 321nm 处出现吸收，这是由于溶液中形成 [HgI<sub>4</sub>]<sup>2-</sup> 的缘故。这一发现以及最近的一份报道中指出用 KI 洗涤吸收 Hg(II) 的传感器可以使传感器重复使用，这些给了我们一个重要的启迪，让我们用 KI 洗涤已经与 Hg(II) 配位的 RBS 探针，使其可以重复使用。而在实际测试中，我们选择使用与 Hg(II) 结合能力更强的 2-巯基乙醇作为可逆实验的试剂。紫外吸收光谱测试显示在 RBS:Hg(II) 配合物存在的溶液中加入过量的 2-巯基乙醇引起在 556nm 处 RBS π-π\* 转移的明显降低，同时伴随着 Hg(II) 的释放。

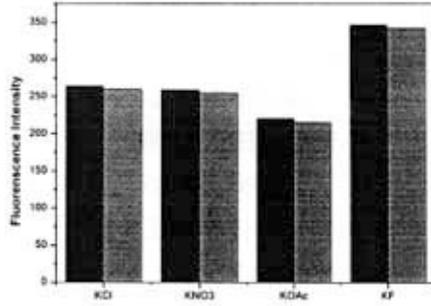


图 3.8 探针 RBS(10µM)在纯水剂中与不同阴离子竞争与 Hg<sup>2+</sup> 离子结合的荧光响应  
 红柱: RBS+Hg<sup>2+</sup>; 绿柱: 在前述溶液中加入 100µM 不同的阴离子 (Cl<sup>-</sup>,NO<sub>3</sub><sup>-</sup>,Ac<sup>-</sup>,F<sup>-</sup>)  
 Fig.3.8 Fluorescence responses of RBS (in water 10µM) to various anions and selectivity for Hg<sup>2+</sup> in the presence of other anions. The red bar: RBS+Hg<sup>2+</sup>; the green bar: add 100µM different anion (Cl<sup>-</sup>,NO<sub>3</sub><sup>-</sup>,Ac<sup>-</sup>,F<sup>-</sup>) to the previous solution.

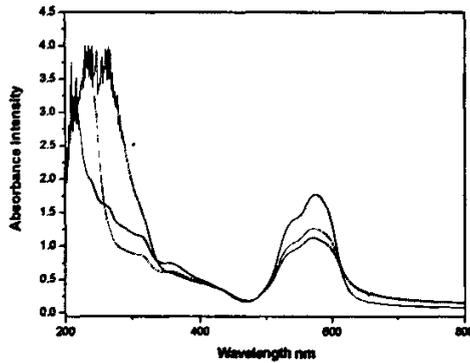


图 3.9 2-巯基乙醇可逆性测试。向含有 10µM RBS 的纯水中加入 5 倍当量的 Hg(II)，在次基础上加入 30 倍当量的 2-巯基乙醇。黑线: 在含有 10µM RBS 的纯水中加入 5 倍当量的 Hg(II)后的紫外吸收; 红线: 向其中加入 10 倍当量 2-巯基乙醇后的紫外吸收; 蓝线: 向其中加入 20 倍当量 2-巯基乙醇后的紫外吸收。在 556nm 处吸收强度减弱。

Fig.3.9 Reversibility of Hg(II) binding to RBS following addition of 2-Mercaptoethanol. Addition of Hg(II)(5eq of RBS) to 10µM RBS, and then add 30eq 2-Mercaptoethanol into the previous solution. Black trace: absorption of Addition of Hg(II) to 10µM RBS; red trace: add 2-Mercaptoethanol (10eq) to the solution of RBS+Hg<sup>2+</sup>; blue trace: add 20eq 2-Mercaptoethanol to previous solution. There is a decrease of absorbance at 556nm.

### 3.9 探针 RBS 对 $\text{Hg}^{2+}$ 离子的 Job 曲线实验

正如化合物 RBS 的设计是基于与金属离子以 1:2 的配位方式构成配合物的, 我们通过紫外可见光和荧光光谱对其进行了测试。Job 曲线从紫外吸收光谱测试得到, 测试环境总浓度为  $100\mu\text{M}$ , 向 RBS 中逐渐加入  $\text{Hg}(\text{II})$ , 特征点都出现在 0.5 左右, 这说明在溶液中 RBS: $\text{Hg}(\text{II})$  都以 1:1 的形式存在。非线性拟合得到  $\text{RBS}/\text{Hg}^{2+}$  的配位关系为 2:1, 并且其平衡常数  $K_a$  分别为  $2.4 \times 10^{11} \text{ M}^{-2}$ 。固体数据证明是通过电喷物质谱得到的, 其用于测试的溶液是 RBS 与  $\text{Hg}^{2+}$  的混合溶液 (图 7)。在质谱中  $m/z$  622.08 处的特征峰证明了  $[\text{Hg}(\text{RBS})_2]^{2+}$  的存在, 这是在 RBS 溶液中加入 1.2 倍当量的  $\text{Hg}^{2+}$  得到的数据, 而在没有  $\text{Hg}^{2+}$  存在的情况下, RBS 的特征峰在  $m/z$  562.3 处, 其存在形式为  $[\text{RBS} + \text{H}]^+$ 。

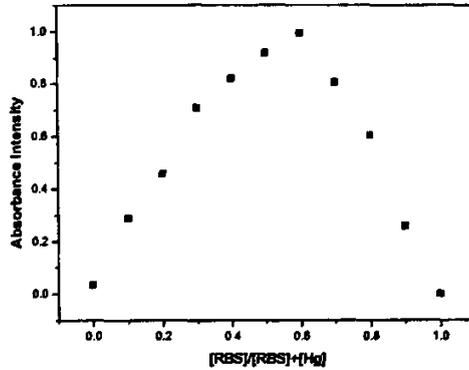


图 3.10 探针 RBS 的 Job 曲线

Fig.3.10 Job's-plot of RBS

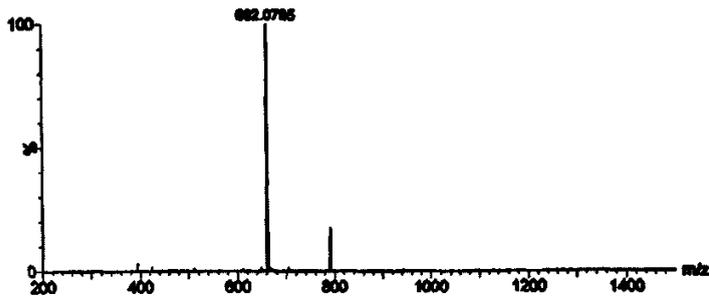


图 3.11 配合物  $[\text{Hg}(\text{RBS})_2]^{2+}$  的质谱图

Fig.3.11 ESI-MS of  $[\text{Hg}(\text{RBS})_2]^{2+}$

我们同样可以从探针 RBS 与 Hg (II) 配位前后的核磁谱图的变化看出探针 RBS 与 Hg (II) 进行了配位, 致使 H 的位移发生了响应的变化。从图 14 中的两个核磁谱图中我们可以看到明显的不同, 上图为只有 RBS 时候的核磁谱图, 下图为加入 Hg (II) 后的核磁谱图, 化学位移在 6.5 和 8.5 处的核磁峰加入 Hg (II) 后消失了, 这些都从另一个侧面证明了配合物的形成。

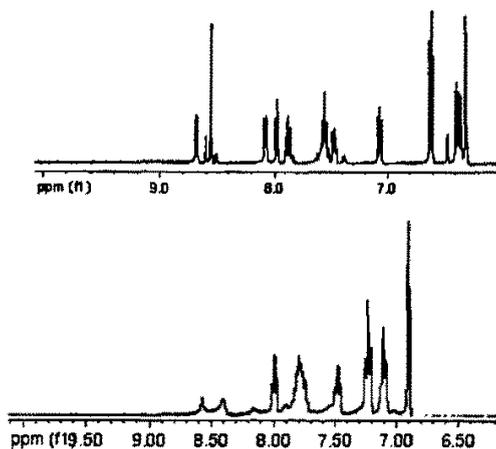


图 3.12 上图: 探针 RBS 的核磁谱图; 下图: 配合物 $[\text{Hg}(\text{RBS})_2]^{2+}$ 的核磁谱图  
Fig.3.12 up: NMR of RBS; down: NMR of  $[\text{Hg}(\text{RBS})_2]^{2+}$

### 3.10 本章小结

综上所述, 我们通过优化条件得到另一种结构简单并易于制备的罗丹明衍生物的 Hg(II) 识别探针, 并对其结构及性质进行了大量的相应测试。这种探针利用荧光性质对 Hg(II) 进行有选择性的识别, 并在纯水中其检测低限达到了世界环境保护组织规定的人类饮用水含汞标准 2ppb。这说明, 硫代对于探针的灵敏度和选择性都有非常大的提高。

## 4 不同推拉电子基团对 Hg<sup>2+</sup>离子识别探针识别效果的影响

### 4.1 引言

所设计的 Hg<sup>2+</sup>离子识别探针是基于配位化学理论, 通过探针与 Hg<sup>2+</sup>配位形成配合物最终实现识别的过程。因此, 探针识别效果的好坏取决于其与 Hg<sup>2+</sup>离子的配位常数  $K_a$  的大小。而探针本身的配位能力取决于其配位原子周围的电子云密度, 当配位原子周围的电子云密度增大时, 其配位能力也随之增强, 反之则减弱。因此, 在探针的配位原子周围接上不同的推拉电子基团可以改变配位原子的配位能力, 从而改变探针的识别效果。在我们引入硫原子成功改善了 Hg<sup>2+</sup>离子识别探针的识别效果以后, 我们继续寻求通过引入不同的推拉电子基团进一步改善该系列 Hg<sup>2+</sup>离子识别探针的识别效果。

从我们对识别效果的测试中我们发现, 基于 N<sub>2</sub>O 三个配位点的三齿配体的配位能力过强, 这从 Cu<sup>2+</sup>离子存在的竞争效果中就可以看出, 这主要是由于吡啶 N 的配位能力强的缘故, 在我们成功将 N<sub>2</sub>O 配位体系中的 O 用 S 取代以后, 我们发现探针的识别效果大大提高, 这都是引入 S 后利用 Hg (II) 的亲疏性的结果, 这使我们下定决心果断将配位能力较强的吡啶 N 去掉, 只保留 NS 两个配位点, 通过减少配位点, 使其配位能力相对减弱, 从而达到避免与非 Hg (II) 金属离子配位的目的。在这一想法的基础之上, 我们进一步引入不同的推拉电子基团, 试图进一步改善探针的识别效果。在这里我们分别引入对硝基苯甲醛、苯甲醛、4-(二甲氨基)苯甲醛, 它们分别代表拉电子基团、不推不拉电子基团和推电子基团, 然后我们考察不同的推拉电子基团对探针识别效果的影响。

### 4.2 实验仪器和试剂

#### 4.2.1 实验仪器

表 4.1 实验仪器

Tab.4.1 experiment instruments

仪器名称	仪器型号	生产厂家
超导核磁共振波谱仪	VarianINOVA 400M NMR	美国 Varian 公司

高效液相色谱/质谱联机系统	HP 1100LC-MSD 型	美国惠普公司
旋转蒸发器	RE-52C 型	巩义市英峪予华仪器厂
电热恒温鼓风干燥箱	DHG-9240BD 型	上海森信实验仪器有限公司
循环水式真空泵	SHZ-D 型	巩义市峪华仪器厂
磁力搅拌	98-1 型	河南省巩义市英峪仪器厂
无级调速搅拌机	DW-2 型	巩义市英峪华仪器厂
电子节能控温仪	DKW-III型	巩义市英峪予华仪器厂
荧光寿命分析仪	PTI—700 型	美国惠普公司
紫外分光光度计	HP8453 型	美国惠普公司
三用紫外分析仪	WFH-203 型	上海精科实业有限公司
超声波清洗机	KQ3200E	昆山市超声仪器有限公司
真空干燥箱	DZG-6021	上海森信实验仪器有限公司
电子天平		梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司
元素分析仪	Perkin-Elmer 2400 II 型	

## 4.2.2 实验试剂

表 4.2 实验试剂  
Tab.4.2 experiment reagents

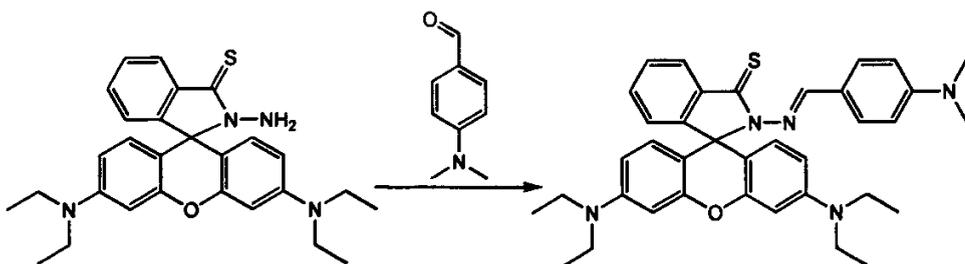
药品	厂家	级别
无水乙醇	天津市天达净化材料精细化工厂	化学纯
N,N-二甲基甲酰胺	广东汕头西陇化工厂	化学纯
二氯甲烷	沈阳试剂五厂	分析纯
氢氧化钠	沈阳市新兴试剂厂	分析纯

无水硫酸钠	天津市科密欧化学试剂开发中心	分析纯
冰醋酸	沈阳市联邦试剂厂	分析纯
乙酸乙酯	广东汕头西陇化工厂	分析纯
石英砂	天津南开化工厂	分析纯
薄层层析硅胶	青岛关高化工有限公司	200-300 目
对硝基苯甲醛	江苏仪征市鼎信化工有限公司	化学纯
苯甲醛	扬州市恒生化工有限公司	化学纯
4-(二甲氨基)苯甲醛	北京中泰天盟化工产品有限公司	化学纯
硫酸	哈尔滨化工化学试剂厂	优级纯
甲醇	天津市科密欧化学试剂有限公司	分析纯
无水氯化钙	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯
五氧化二磷	天津市大茂化学试剂厂	分析纯
石油醚	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯
无水乙醚	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯
高氯酸汞	ACROS	分析纯
乙腈	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
罗丹明 B	ACROS	分析纯
二苯甲酮	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯

### 4.3 含有不同推拉电子基团 $\text{Hg}^{2+}$ 离子识别探针的合成

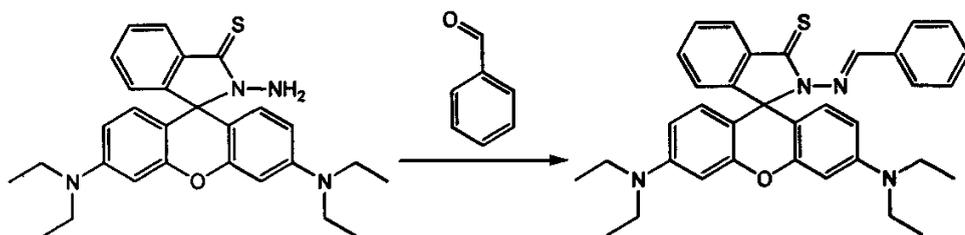
#### 罗丹明 B 的硫代胍化产物与 4-(二甲氨基)苯甲醛的合成

将罗丹明 B 的硫代胍化产物 (0.1g) 溶解于 25ml 甲醇中并开始搅拌, 慢慢加入 4-(二甲氨基)苯甲醛 (0.033g), 继续搅拌 10 分钟, 开始加热, 当反应开始回流时加入 3 滴冰醋酸, 回流反应 3 小时, 冷却得到橘黄色沉淀 0.067g, 产率: 58.4% (核磁表征见附录)



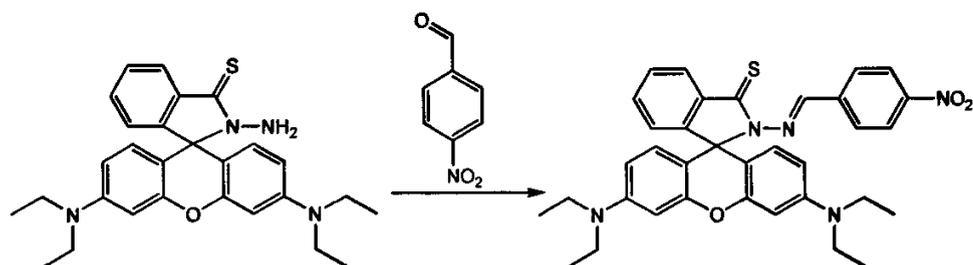
#### 罗丹明 B 的硫代胍化产物与苯甲醛的合成

将罗丹明 B 的硫代胍化产物 (0.1g) 溶解于 25ml 甲醇中并开始搅拌, 慢慢加入苯甲醛 (0.023g), 继续搅拌 10 分钟, 开始加热, 当反应开始回流时加入 3 滴冰醋酸, 回流反应 3 小时, 冷却得到橘黄色沉淀 0.046g, 产率: 39.7% (核磁表征见附录)



#### 罗丹明 B 的硫代胍化产物与对硝基苯甲醛的合成

将罗丹明 B 的硫代胍化产物 (0.1g) 溶解于 25ml 甲醇中并开始搅拌, 慢慢加入对硝基苯甲醛 (0.034g), 继续搅拌 10 分钟, 开始加热, 当反应开始回流时加入 3 滴冰醋酸, 回流反应 3 小时, 冷却得到橘黄色沉淀 0.072g, 产率: 65.2% (核磁表征见附录)



## 4.4 结果与讨论

我们考察三种探针相对于  $\text{Hg}^{2+}$  离子的紫外吸收, 首先从三个紫外吸收谱图上我们发现, 三种探针的最大吸收峰的位置不同, 4-(二甲氨基)苯甲醛的最大吸收峰出现在 566nm

处苯甲醛的最大吸收峰出现在 560nm 处，而对硝基苯甲醛的最大吸收峰出现在 556nm 处，取代基团随着推电子能力的增强，其最大吸收峰的位置产生了一定的红移。通过计算三种探针的平衡常数  $Ka$  我们得到如下结果，4-（二甲氨基）苯甲醛的平衡常数  $Ka=7.8\times 10^7 \text{ M}^{-2}$ ，苯甲醛的平衡常数  $Ka=5.4\times 10^7 \text{ M}^{-2}$ ，而对硝基苯甲醛的平衡常数  $Ka=4.0\times 10^7 \text{ M}^{-2}$ 。从平衡常数的计算我们可以直观的看出随着取代基推电子能力的增强，其平衡常数增大，也就是其配位能力增强，这充分验证了推电子基团有利于探针与  $\text{Hg}^{2+}$  离子配位，当探针引入推电子基团的时候将会对其识别效果起到促进的作用。

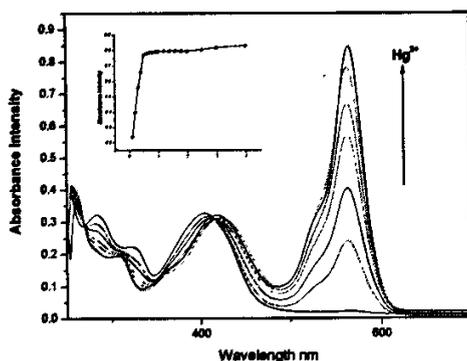


图 4.1 4-（二甲氨基）苯甲醛取代产物（ $10\mu\text{M}$ ）在 1:1 DMF/ $\text{H}_2\text{O}$  中对  $\text{Hg}^{2+}$  离子的紫外滴定曲线。

Fig.4.1 Absorption spectra of 4-(twomethyl)benzaldehyde substituted compound ( $10\mu\text{M}$ ) against different  $\text{Hg}^{2+}$  in 1:1 DMF/ $\text{H}_2\text{O}$  aqueous solution

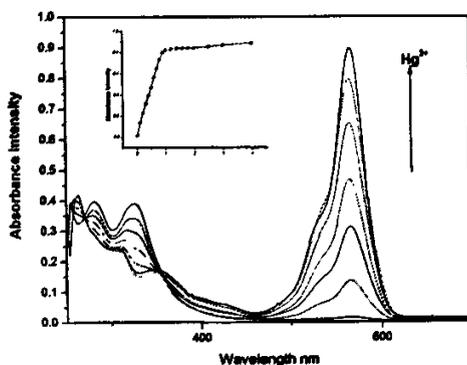


图 4.2 苯甲醛取代产物（ $10\mu\text{M}$ ）在 1:1 DMF/ $\text{H}_2\text{O}$  中对  $\text{Hg}^{2+}$  离子的紫外滴定曲线

Fig.4.2 Absorption spectra of benzaldehyde substituted compound ( $10\mu\text{M}$ ) against different  $\text{Hg}^{2+}$  in 1:1 DMF/ $\text{H}_2\text{O}$  aqueous solution

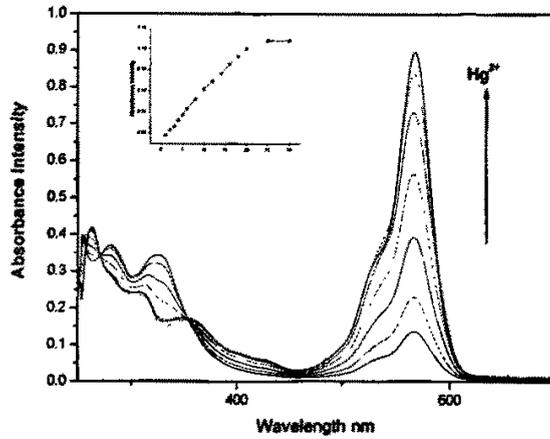


图 4.3 对硝基苯甲醛取代产物 (10 $\mu$ M) 在 1:1 DMF/H<sub>2</sub>O 中对 Hg<sup>2+</sup> 离子的紫外滴定曲线

Fig.4.3 Absorption spectra of iso-nitrylbenzaldehyde substituted compound(10 $\mu$ M) against different Hg<sup>2+</sup> in 1:1 DMF/H<sub>2</sub>O aqueous solution

#### 4.5 本章小结

通过对不同推拉电子基团对 Hg<sup>2+</sup> 离子识别探针识别效果的影响的研究我们发现, 推电子基团将大大提高探针的配位能力, 使其识别效果得到提高, 因此, 在硫代产物的基础上, 可以通过引入推电子基团进一步提高该系列探针的识别效果。

## 5 基于罗丹明衍生物 $\text{Hg}^{2+}$ 识别探针的材料化研究

### 5.1 引言

汞离子识别探针只能在分子水平上进行应用,并不能用于大量的吸附作用,因此,如何将所设计出的离子识别探针材料化成为当今的科学家所面临的又一新的课题。在2006年,我国南京大学科研小组报道过将所设计的  $\text{Zn}^{2+}$  离子识别探针SC与分子筛SBA-15结合<sup>[66]</sup>,形成具有吸附  $\text{Zn}^{2+}$  离子的分子材料,这给了我们巨大的启迪,因为介孔分子筛(mesoporous molecular sieve)具有2~10nm 可调的孔径、大的比表面和较高的热稳定性等优点,正好可以用作识别探针的载体,达到识别探针材料化的目的。南京大学科研小组使用的是桶状分子筛SBA-15,这种分子筛结构相对简单,吸附的  $\text{Zn}^{2+}$  离子识别探针的量相对有限,因此其实现的吸附效果相对有限。我们认为应该采用孔道结构复杂的分子筛来吸附探针分子,从而提高对探针分子的吸附量,致使对响应金属离子的吸附量才能大大提高。

我们选用分子筛MCM-48作为载体吸附汞离子识别探针。1992年Mobil公司成功地开发出MCM-41型的介孔材料,得到国际物理学、化学与材料学界的高度重视<sup>[66, 67]</sup>。M41S系列分子筛包括MCM-41分子筛(六方相)、MCM-48分子筛(立方相)、MCM-50分子筛(层状相)等。其中MCM-48分子筛具有2~3nm的均一孔径和良好的长程有序性,特别是其三维孔道结构有优良的传输性能,且满足最小面螺旋结构,不易造成吸附分子移动的障碍,从吸附剂和催化剂角度着眼,MCM-48材料更具有发展潜力,在主客体化学中可作为吸附剂、催化材料和主体材料来合成新型的电子迁移光敏剂、半导体材料、碳纤维、非线性光学材料以及量子团簇等,因而倍受关注<sup>[68-71]</sup>。MCM-48合成条件比较苛刻、相区比较窄。据Beck等人的研究,如果仅以十六烷基三甲基溴化铵做模板剂,只有在  $\text{CTAB}/\text{Si} > 1$  的条件下才能制备出MCM-48<sup>[72]</sup>。

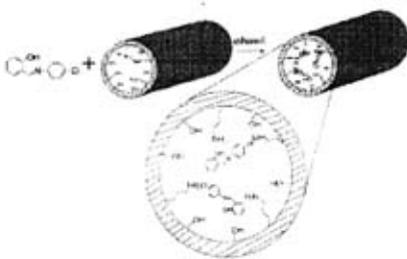


图5.1 SBA-15的结构模型  
Fig5.1 model of SBA-15

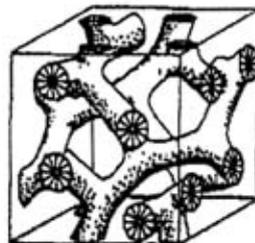


图5.2 MCM-48的结构模型  
Fig5.2 model of MCM-48

## 5.2 实验仪器及试剂

### 5.2.1 实验仪器

表 5.1 实验仪器  
Tab.5.1 experiment instruments

仪器名称	仪器型号	生产厂家
旋转蒸发器	RE-52C 型	巩义市英峪予华仪器厂
电热恒温鼓风干燥箱	DHG-9240BD 型	上海森信实验仪器有限公司
循环水式真空泵	SHZ-D 型	巩义市峪华仪器厂
磁力搅拌	98-1 型	河南省巩义市英峪仪器厂
无级调速搅拌器	DW-2 型	巩义市英峪华仪器厂
电子节能控温仪	DKW-III 型	巩义市英峪予华仪器厂
荧光寿命分析仪	PTI-700 型	美国惠普公司
三用紫外分析仪	WFH-203 型	上海精科实业有限公司
超声波清洗机	KQ3200E	昆山市超声仪器有限公司
真空干燥箱	DZG-6021	上海森信实验仪器有限公司
电子天平		梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司

### 5.2.2 实验试剂

表 5.2 实验试剂  
Tab.5.2 experiment reagents

药品	厂家	级别
无水乙醇	天津市天达净化材料精细化工厂	化学纯
N,N-二甲基甲酰胺	广东汕头西陇化工厂	化学纯
盐酸	沈阳试剂五厂	分析纯
氢氧化钠	沈阳市新兴试剂厂	分析纯

无水硫酸钠	天津市科密欧化学试剂开发中心	分析纯
冰醋酸	沈阳市联邦试剂厂	分析纯
乙酸乙酯	广东汕头西陇化工厂	分析纯
石英砂	天津南开化工厂	分析纯
薄层层析硅胶	青岛关高化工有限公司	200-300 目
硫酸	哈尔滨化工化学试剂厂	优级纯
甲醇	天津市科密欧化学试剂有限公司	分析纯
无水乙醚	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯
无水氯化钙	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯
五氧化二磷	天津市大茂化学试剂厂	分析纯
石油醚	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯
无水乙醚	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯
硝酸汞	贵州省铜仁化工试剂厂	分析纯
乙腈	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
罗丹明 B	ACROS	分析纯
MCM-48		分析纯
二苯甲酮	天津市富宇精细化工有限公司	分析纯

### 5.3 实验方法

将制备好的汞离子探针RBS25mg溶解于38ml乙醇中,然后加入0.5g分子筛MCM-48,在常温下搅拌反应24小时。用离心分离机将多余的乙醇转移出去,然后用无水乙醇洗涤分子筛MCM-48的表面。当表面的无水乙醇蒸发出去以后,得到淡黄色固体产物即吸附了汞离子识别探针RBS的分子筛MCM-48。

## 5.4 结果与讨论

为了更好的考察客体探针RBS与主体分子筛的关系，我们通过考察吸附了汞离子识别探针RBS的分子筛MCM-48识别汞的效果考察二者关系。我们将吸附了汞离子识别探针RBS的分子筛MCM-48在pH值为7.0的时候溶解于乙醇/水(9:1, v:v)的混合溶剂中，其中吸附了汞离子识别探针RBS的分子筛MCM-48的浓度为0.1g/L。然后我们考察其对 $Hg^{2+}$ 离子的荧光滴定。我们发现只有汞离子识别探针RBS存在的情况下，对汞离子识别的发射峰出现在580nm，其中激发波长为510nm；而当用吸附了汞离子识别探针RBS的分子筛MCM-48做滴定测试的时候，其对汞离子的发射峰出现在550nm，而激发波长为350nm。随着 $Hg(II)$ 的增加，其吸收强度逐渐升高，而其发射峰的位置发生了明显的蓝移，这充分证明了分子筛MCM-48已经吸附了汞离子识别探针RBS。同时，加入的汞离子的浓度不断降低，目前达到在汞离子浓度为 $0.1\mu M$ 的时候分子筛同样有响应。这说明材料化的汞离子识别探针同样可以在较低的汞离子浓度情况下，对汞离子具有一定的响应。

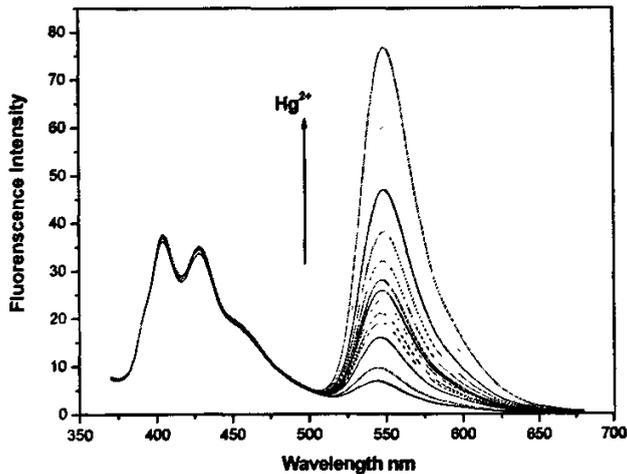


图 5.1 0.1g/L 的 RBS/MCM-48 相对于  $Hg(II)$  在 pH=7 的情况下的荧光响应。激发波长 350nm。

Fig.5.1 The fluorescence response of 0.1g/L RBS/ MCM-48 to  $Hg(II)$  at pH=7. Excitation was provided at 350nm for these compounds.

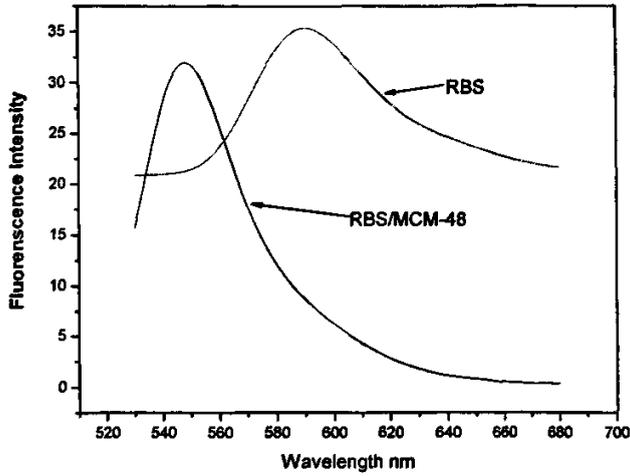


图5.2 在乙醇/水 (9:1, v:v) 混合溶剂中的荧光响应。红线: RBS 10 $\mu$ M (激发波长510nm); 黑线: RBS/MCM-48 0.1g/L (激发波长350nm)

Fig.5.2 Red trace:Fluorescence spectra of RBS, 10 $\mu$ M (excited at 510nm);Black trace:Fluorescence spectra of RBS/MCM-48, 0.1 g/L (excited at 510 nm), dissolved or suspended in an ethanol/water solution (9:1, v/v).

## 5.5 本章小结

通过分子筛吸附实验我们发现分子筛MCM-48能够很好的吸附汞离子识别探针RBS从而形成分子材料,从而使汞离子识别探针RBS材料化,为其真正用于净化水提供了一定的理论依据,同时,分子筛MCM-48具体吸附的汞离子识别探针RBS的量以及其吸附汞离子的量都需要在以后的工作中做进一步的研究,从而真正实现分子识别探针的材料化生产。

## 结 论

- (1) 设计并得到了一种能在 ppb 级识别汞离子的基于罗丹明衍生物的汞离子识别变色荧光探针，并对其识别效果进行研究。通过测试发现该汞离子识别探针具有结构简单、灵敏度高、选择性强的特点。但其只能在有机溶剂中对汞离子有很好的响应，而在纯水中其识别效果并不理想，同时，在  $\text{Cu}^{2+}$  离子存在的情况下，其识别效果会受到一定的干扰。
- (2) 通过对合成条件的优化，得到了结构改进的汞离子识别探针，并对其识别效果进行了研究。利用汞的亲硫特性，并根据罗丹明其特定的结构，对罗丹明主体上的羰基 O 进行硫代，从而得到羰基 S 产物，这一优化大大提高了探针的灵敏度和选择性，使其能在纯水中对汞离子具有良好的响应，同时其检测水平达到了世界环境保护组织规定的人类引用水含汞量不超过 2ppb 的标准，使其具有了一定的使用价值。
- (3) 对于高性能的汞离子识别探针材料化进行了研究。通过使用分子筛 MCM-48 吸附高性能的汞离子识别探针 RBS，根据其对汞离子的荧光滴定测试判断汞离子识别探针 RBS 已经吸附到分子筛 MCM-48 上，为分子探针的材料化提供了理论依据，但分子筛具体的吸附量以及重复使用率还需要进一步的研究。
- (4) 通过研究推拉电子基团对探针识别效果的影响，验证了推电子基团的引入有利于探针与  $\text{Hg}^{2+}$  离子配位，这将有效地提高探针的识别效果，为在硫代基础上进一步改进探针提供了理论依据。

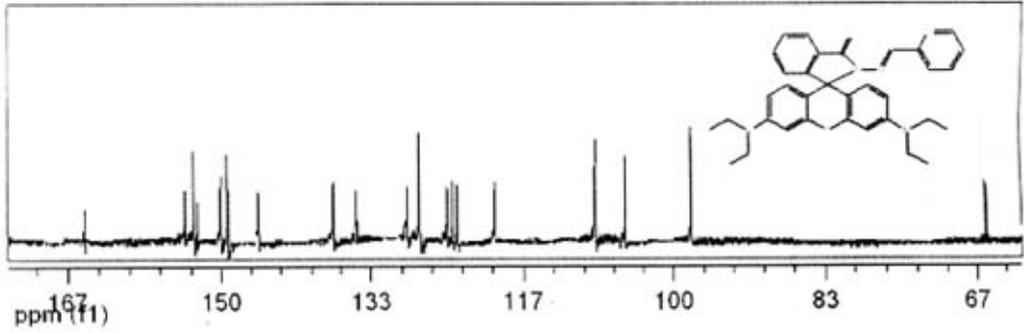
## 参 考 文 献

- [1] Cram D J, *Angew. Chem. Int. E d. Eng l.*, 1988, 27, 1009~ 1020.
- [2] Lehn J 2M , *Angew. Chem. Int. E d. Eng l.* , 1988, 27, 90~ 112.
- [3] Lehn J 2M , *Angew. Chem. Int. E d. Eng l.* , 1990, 29, 1304.
- [4] Kosh land D E, *Proc. Natl. A cad. Sci.*, 1958, 44, 98.
- [5] Cram D J, *Angew. Chem. Int. E d. Eng l.* , 1986, 25, 1039~ 1057.
- [6] Balzani V , De Co la L , *Supramolecular Chemistry* , Kluwer Academic Publishers, The N etherlands, 1992, p. 137.
- [7] Vogt le F, *Supramolecular Chemistry*, John Wiley & Sons L td. , Chichester, 1991, p. 27.
- [8] Schneider H J etal. , *Frontiers in Supramolecular Organic Chemistry and Photochemistry*, VCH Pub21ishers, 1991, p. 29.
- [9] Chang S K, Engen D V, Fan E, Hamilton A D, *J. A m. Chem. S oc.* , 1991, 113, 7640~ 7645.
- [10] Araki K, Nakamura R, Otsuka H, Shinkai S, *J. Chem. S oc. Chem. Comm un.* , 1995, 2121~ 2122.
- [11] Spencer D M , Wandless J T , *Science*, 1993, 262, 1019.
- [12] Jacobs J , Schultz P G, Sugawara R, PowellM , *J. A m. Chem. S oc.* , 1987, 109, 2174.
- [13] Mosbach K, *T rend s Biochem. Sci.* , 1994, 19, 9.
- [14] Tanabe K, Takeuchi T , Matsui J , Ikebukuro K, Yano K, Karube I, *J. Chem. S oc. Chem. Comm un.* 1995, 2303~ 2304.
- [15] 吴毓林, 陈耀全, *化学进展*, 1994, 6 (4) , 294.
- [16] Crosby J, *Tetrahedron*, 1991, 47, 4789.
- [17] de Silva A P, Gunaratne H Q N, Gunlaugson T, Huxley A J M, McCoy C P, Rademacher T T, Rice T E. *Chem. Rev.* , 1997, 97: 1515 —1566
- [18] 王柯敏. *光化学传感器理论与方法*[M]. 长沙:湖南教育出版社, 1995 :1229.
- [19] Tiina Petanen, Martin Romantschuk. Use of bioluminescent bacterial sensors as an alternative method for measuring heavy metals in soil extracts [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2002, 456:55 - 61.
- [20] Stevan B Saban , Robert B Darlĭng , *Multi2element heavy metal ion sensors for aqueous solutions* , *Sensors and Actuators B* , 1999 , 61 :128 - 137.
- [21] Ruys Denise P , Andrade Jose F , Guimaraes Orlinay M. Mercury detection in air using a coated piezoelectric sensor [J] .*Analytica Chimica Acta* 2002 , 404 :95 - 100.
- [22] Rurack K, Bricks J L, Schulz B , Maus M, Reck G, Resch2Genger U. *J. Phys. Chem. A* , 2000 , 104 : 6171 —6188

- [23] Rurack K, Bricks J L, Reck G, Redeglia R, Resch2Genger U. *J. Phys. Chem. A*, 2000, 104 : 3087 —3109
- [24] Rurack K, Resch2Genger U, Bricks J L, Spieles M. *Chem. Commun.*, 2000, 2103 —2104
- [25] Rurack K, Resch2Genger U. *Chem. Soc. Rev.*, 2002, 31:116 —127
- [26] Rurack K, Kollmannsberger M, Resch2Genger U, Daub J. *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, 122: 968 —969
- [27] Descalzo A B, Martínez2Móñez R, Radechia R, Rurack K, Soto J. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125: 3418 —3419
- [28] Vaidya B, Zak J, Bastiaans G J, Porter M D. *Anal. Chem.*, 1995, 67 : 4101 —4111
- [29] Prodi L, Bargossi C, Montali M, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, 122 : 6769 —6770
- [30] Sancenón F, Martínez2Móñez R, Soto J. *Tetrahedron Lett.*, 2001, 42 : 4321 —4323
- [31] Sancenón F, Martínez2Móñez R, Soto J. *Chem. Commun.*, 2001, (21) : 2262 —2263
- [32] Yoon J, Ohler N E, Vance D H, et al. *Tetrahedron Lett.*, 1997, 38 : 3845 —3848
- [33] Yordanov A T, Falana O M, Koch H F, et al. *Inorg. Chem.*, 1997, 36 : 6468 —6471
- [34] Lerchl M, Reltter E, Slmon W, Retsch E. *Anal. Chem.*, 1994, 66 : 1713 —1717
- [35] Talanova G G, Elkarim N S A, Talanov V S, et al. *Anal. Chem.*, 1999, 71 : 3106 —3109
- [36] Choi M J, Kim M Y, Chang S K. *Chem. Commun.*, 2001, (17) : 1664 —1665
- [37] Arena G, Contino A, Longo E, et al. *J. Chem. Soc., PerkinTrans. 2*, 2001, (12) : 2287 —2291
- [38] Padilla2Tosta M E, Lloris J M, Soto J, et al. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2001, (6) : 1475 —1482
- [39] Delmarre D, Méallet R, Bied2Charreton C, et al. *J. Photochem. Photobio. A: Chemistry*, 1999, 124 : 23 —28
- [40] Zhang X B, Guo C C, Li Z Z, Shen G L, Yu R Q. *Anal. Chem.*, 2002, 74 : 821 —825
- [41] Bummer O, La Clair J J, Janada K D. *Org. Lett.*, 1999, 1 : 415 —418
- [42] Smith GA. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II*, 1993, 1195
- [43] Denis G, Abdelkrim H. US 0 212 126, 2003
- [44] 吴世康(Wu S K). *化学进展(Progress in Chemistry)*, 2005, 17(1) : 15 —39
- [45] 颜范勇, 陈立功, 闫喜龙等. 罗丹明类染料的合成及应用. *化学进展*. 2006, 18(2/3):252~261.
- [46] Lee L, Benson S C, Rosenblum B B, et al. US 5 847 162, 1998
- [47] Pozzi D, Lisi A, de Ros I, et al. *Photochem. Photobiol.*, 1993, 57(3) :426 —430
- [48] 顾新华(Gu X H), 戴光松(Dai G S), 吴世康(Wu S K). *感光科学与光化学(Photograph. Sci. Photochem.)*, 1995, 13(1) : 78 —82
- [49] Nguyen T, FrancisMB. *Organic Letters.*, 2003, 5(18): 3245 —3248
- [50] Haugland R P, Szalecki W. US 5 798 276, 1998

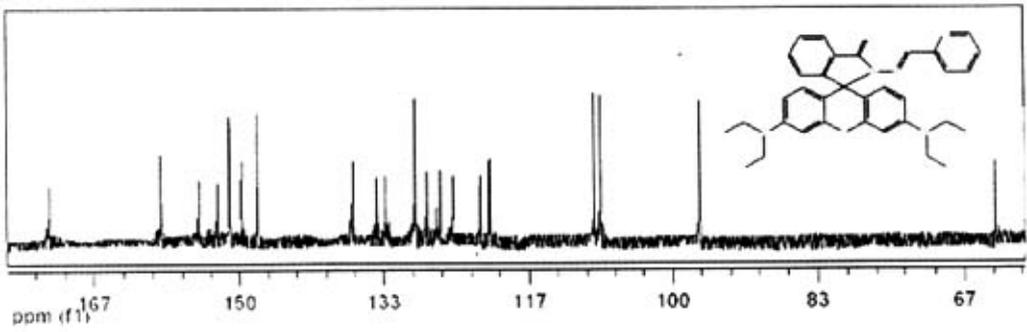
- [51] Anthoni, U.; Christophersen, C.; Nielsen, P.; Puschl, A.; Schaumburg, K. *Struct. Chem.* 1995, 3, 161.
- [52] Zheng, H.; Qian, Z.-H.; Xu, L.; Yuan, F.-F.; Lan, L.-D.; Xu, J.-G. *Org. Lett.* 2006, 8, 859.
- [53] (a) Ru(2,2-bpy)<sub>3</sub>(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> was selected as the reference in spectroscopic grade CH<sub>3</sub>CN (¼) 0.059) at an excitation wavelength of 450 nm. (b) Juris, A.; Balzani, V. *Coord. Chem. Rev.* 1988, 84, 85.
- [54] Mercury Update: Impact on Fish Advisories. EPA Fact Sheet EPA-823-F-01-011; EPA, Office of Water: Washington, DC, 2001.
- [55] Watton, S. P.; Wright, J. G.; MacDonnell, F. M.; Bryson, J. W.; Sabat, M.; O' Halloran, T. V. *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 2824-2826.
- [56] Fleissner, G.; Kozłowski, P. M.; Vargek, M.; Bryson, J. W.; O' Halloran, T. V.; Spiro, T. G. *Inorg. Chem.* 1999, 38, 3523-3528.
- [57] Griffiths, T. R.; Symons, M. C. R. *J. Chem. Soc. Trans. Farady Soc.* 1960, 56, 1752-1760.
- [58] Griffiths, T. R.; Anderson, R. A. *Can. J. Chem.* 1991, 69, 451-457.
- [59] Vosburgh, W. C.; Cooper, G. R. *J. Am. Chem. Soc.* 1941, 63, 437.
- [60] Stevan B Saban, Robert B Darling, Multielement heavy metal ion sensors for aqueous solutions, *Sensors and Actuators B*, 1999, 61 :128 - 137.
- [61] Ruys Denise P, Andrade Jose F, Guimaraes Orliney M. Mercury detection in air using a coated piezoelectric sensor [J]. *Analytica Chimica Acta* 2002, 404 :95 - 100.
- [62] Elizabeth M. Nolan and Stephen J. Lippard\* *J. AM. CHEM. SOC.* 2003, 125, 14270-14271
- [63] Young-Keun Yang, Keun-Jeong Yook, and Jinsung Tae *J. AM. CHEM. SOC.* 2005, 127, 16760-16761
- [64] Hong Zheng\*, Zhen-Hua Qian, Lei Xu, Fang-Fang Yuan, Li-Dan Lan and Jin-Gou Xu\* *Org. Lett.* : 2006; 8, 859
- [65] Ling Gao, † Ying Wang, \*, † Jianqiang Wang, † Li Huang, Liying Shi, † Xiaoxing Fan, ‡ Zhigang Zou, \*, ‡ Tao Yu, ‡ Mei Zhu, ‡ and Zhaosheng Li ‡, *Inorg. chem.* 2006, 45, 6844-6850
- [66] Avrami M, Kinetics of phase change. II transformation- time relation for random distribution of nuclei, *J Chem Phys*, 1939, 8:212-224.
- [67] Avrami M, Kinetics of phase change III. granulation, phase change and microstructure, *J Chem Phys*, 1941, 9:17718.
- [68] Kosslick H, Lischke G, Landmesser H, et al. [J]. *J Catal*, 1998, 176, 102 -114.
- [69] Chen F G, Huang L M, Li Q Z. [J]. *Chem mater*, 1997, 9, 2685- 2686.
- [70] Schumacher K, Grun M, Unger K. [J]. *Microporous Mesoporous Mater*, 1999, 27, 201- 206.
- [71] 蔡强, 张慧波, 林文勇, 等. [J]. *高等学校化学学报*, 1999, 20( 5) , 675-679.
- [72] Beck J. S., Vartuli J. C. et al *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, 114, 10834.

### 附录 A 目标化合物的相关谱图



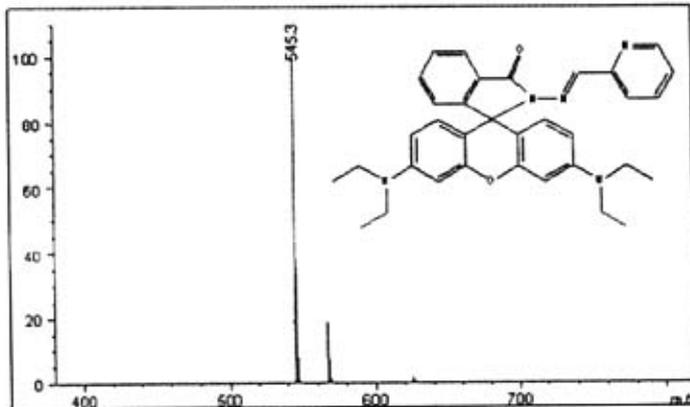
附图 1 化合物 RBO 的  $^{13}\text{C-NMR}$  谱

Fig.1  $^{13}\text{C-NMR}$  of RBO



附图 2 化合物 RBS 的  $^{13}\text{C-NMR}$  谱

Fig.2  $^{13}\text{C-NMR}$  of RBS



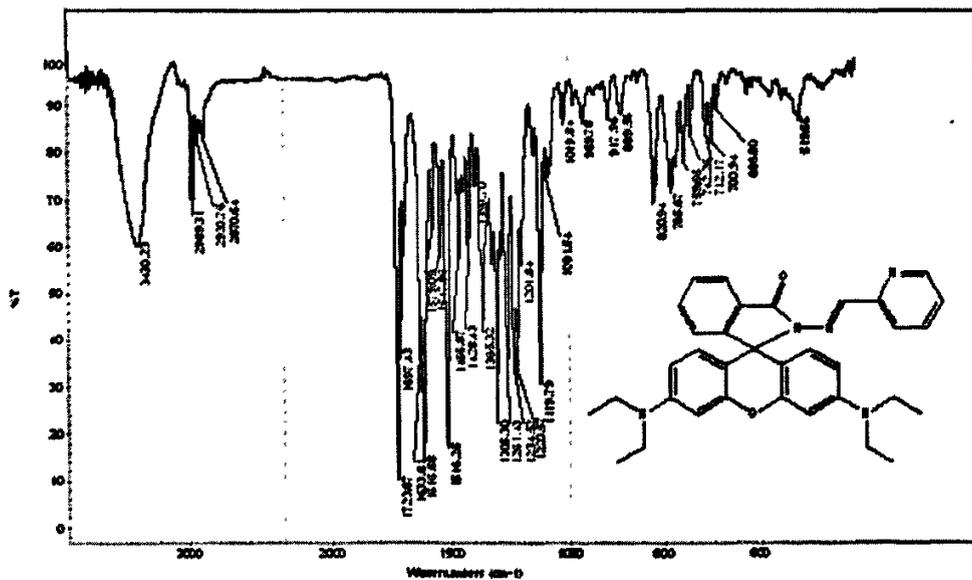
附图 3 化合物 RBO 的 ESI-MS 质谱

Fig.3 ESI-MS of RBO.



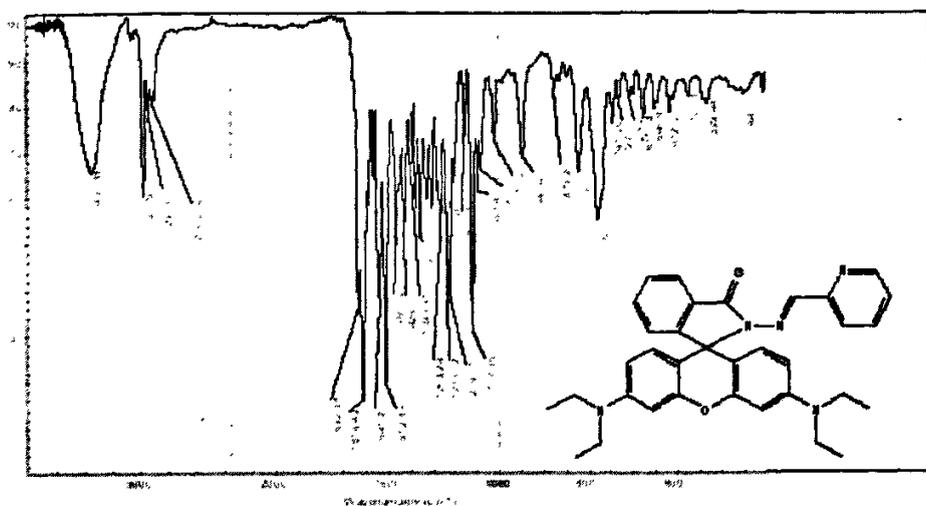
附图 4 化合物 RBS 的 ESI-MS 质谱

Fig.4 ESI-MS of RBS



附图 5 化合物 RBO 的红外图谱

Fig.5 infrared spectrum of RBO



附图 6 化合物 RBS 的红外图谱

Fig.6 infrared spectrum of RBS

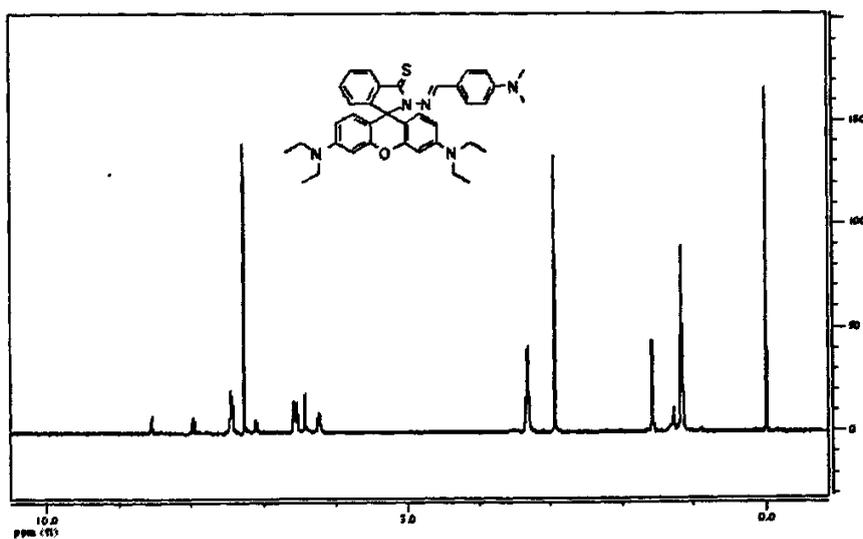


图 7 4-(二甲氨基)苯甲醛取代产物的氢核磁谱图

Fig.7 <sup>1</sup>H-NMR of 4-(twomethyl)benzaldehyde substituted compound

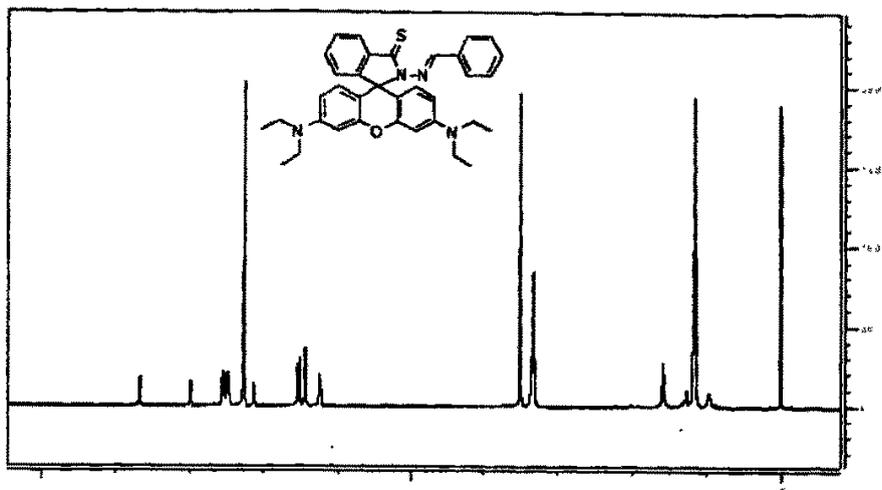


图 8 苯甲醛取代产物的氢核磁谱图

Fig.8 <sup>1</sup>H-NMR of benzaldehyde substituted compound

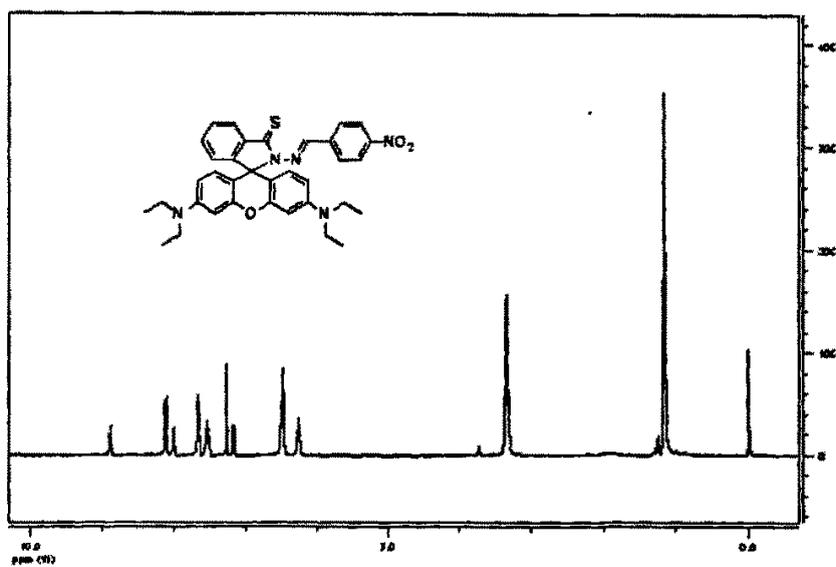


图 9 对硝基苯甲醛取代产物苯甲醛取代产物的氢核磁谱图

Fig.9 <sup>1</sup>H-NMR of iso-nitrylbenzaldehyde substituted compound

## 攻读硕士学位期间发表学术论文情况

吕国军, 周硼, 何成\*

具有高灵敏度和高选择性的水中  $\text{Hg}^{2+}$  识别荧光探针的研究

大连理工大学网络学刊, (本硕士学位论文第三章)

## 致 谢

本论文是在导师段春迎教授，何成副教授的精心指导下完成的，论文的点滴都渗透着老师的心血。两位老师渊博的学识，严谨的治学，对学术问题的敏锐把握，一丝不苟的科研态度都深深的影响着我，这必将成为潜在的财富，影响我的一生。特别感谢段春迎教授对我实验工作的指导，为我提供了良好的实验条件和科研氛围，而且在生活上处处关心着我，他忘我的工作精神激励着我，使我能够顺利的完成这篇论文。

同时，在三年的学习中，张红兵，靳焜，张蓉，付新梅等老师给予了大量的科研和分析上的帮助，在此对他们表示由衷的感谢！

感谢段春迎课题组的所有师兄师姐在实验方面对我的无私帮助和热心指导，感谢师妹胡晓月、宋春霞在科研工作上的帮助，感谢课题组的所有师弟师妹，谢谢他们给我的无私帮助和支持！

感谢国家自然科学基金、教育部留学回国人员基金以及大连理工大学的资助。