

光谱法研究 3H 吡啶探针分子 与 Triton X-100 胶束间的相互作用 *

李健 沈兴海 * * 高宏成

叶建平

北京大学技术物理系, 100871 北京

中国科学院化学研究所分子科学中心, 100080 北京

摘要 用光谱法研究了荧光分子 2-(对-己基氨基)苯基-3,3-二甲基-5-乙酯基-3H-吡啶基-甲基二辛基碘化铵(A)与 Triton X-100 胶束间的相互作用。测定了 A 在不同浓度的 Triton X-100 溶液中的吸收光谱, 荧光光谱和荧光寿命。实验得到了 A 与胶束的结合常数 K_s , A 在胶束中所处环境的极性及其在胶束中发生的 pH 效应。结果表明: A 与胶束间存在较强的相互作用; A 在胶束中所处环境的极性接近于甲醇的极性; 并推测出了 A 的不同基团在胶束中所处的不同位置。同时发现: 在 Triton X-100 胶束中 A 可探测到两个位置, 但当 Triton X-100 的浓度过大时, A 却只能探测到一个位置。

关键词 3H 吡啶探针分子, Triton X-100 胶束, 光谱性质, pH 效应, 荧光寿命

水溶液胶束作为一种典型的、结构较简单的分子有序体, 成为人们最常用的膜模拟体系^[1]。根据探针分子的光化学和光物理性质, 研究其在水溶液胶束中所处的位置及该微环境的有关物理化学性质, 已经成为一个十分有意义的课题^[2~4]。

3H 吡啶类分子对周围环境的改变有很高的灵敏性, 是一类很好的用于研究微环境变化的探针^[5~15]。而作为它们中的一员, 分子 2-(对-己基氨基)苯基-3,3-二甲基-5-乙酯基-3H-吡啶基-甲基二辛基碘化铵(A) (结构见图 1) 又有其独特的性质。它不仅具有表面活性, 而且带有正电性, 故它与分子有序体之间的作用也与其他 3H 吡啶分子有所不同^[13,14]。我们曾首次报道了 A 与 CD 可形成 1:3 型包合物, 该包合物同时也是一种自发形成的新型轮烷 (Rotaxane)^[13]。A 与胶束和 AOT 微乳液的作用机理也十分复杂独特^[14]。由时间分辨荧光实验发现, A 在阴离子表面活性剂 SDS 胶束中只能识别一个位置; 而在阳离子表面活性剂 CTAB 胶束中却能识别两个位置。根据 A 特有的一些光谱特征, 我们还试图区分 A 的不同基团在 SDS 胶束中所处的位置^[14], 但由于 A 与 SDS 之间形成的絮凝结构 (Coacervate) 不利于此类研究^[14]。本文将研究 A 与中性表面活性剂 Triton X-100 胶束的作用机理, 具体目标是: (1) 得到 A 与 Triton X-100 胶束的结合常数, 由此定量地判断两者之间作用的强弱; (2) 通过紫外光谱和荧光光谱特征、pH 效应的研究等途径, 分析 A 的不同基团在 Triton X-100 胶束中的不同位置。文献^[2,3,6,14]中, 不同探针分子在同一微环境中探测到的有关物化性质常常是不一样的。原因是不同探针分子在同一微环境中的具体位置实际并不完全相同。可见, 研究探针分子在微环境中的位置是很重要的。而有关对一个探针

分子的不同基团在同一体系中所处不同位置的深入探讨, 在文献中尚未见报道; (3) 通过时间分辨荧光, 研究 A 在中性表面活性剂 Triton X-100 胶束所能探测到的位置数。

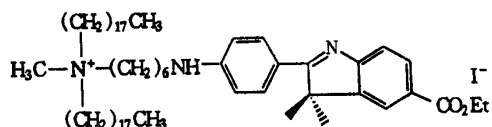


Fig. 1 The chemical structure of A

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

UV-3100 紫外-可见光谱仪 (岛津公司); FL-4500 荧光光谱仪 (日立公司); Naes-1100 时间分辨单光子荧光仪 (Horiba 公司)。

分子 A 由加拿大蒙特利尔大学化学系 Gilles Durocher 教授赠送。A 的合成和提纯方法已作过报道^[14]。Triton X-100 购自 Fluka 公司, NaOH、H₂SO₄ 和甲醇均为北京化工厂生产的分析纯试剂。实验用水均为用三次蒸馏水。

1.2 实验方法

将微量的一定浓度的 A 的甲醇储备液分别加入到水和不同浓度的 Triton X-100 溶液中, 使其达到实验所需浓度。在紫外-可见、稳态荧光、时间分辨荧光测试中, A 的浓度分别为 $4 \sim 6 \times 10^{-6}$ 、 1×10^{-6} 和 3×10^{-6} mol L⁻¹。按文献^[10~14]中的方法, 不同 pH 值的溶液均通过加入 NaOH 和 H₂SO₄ 来调节, 未加入任何缓冲溶液。本实验中所用溶液均为新配制的

2001-01-09 收, 2001-04-22 接受; *国家自然科学基金(29901001)、教育部留学回国人员科研启动基金资助项目 * * 通讯联系人
李健, 女, 1970 年生, 北京大学技术物理系博士生

溶液。所有实验均在常温下进行。

在荧光寿命的测定过程中,对每个样品收集 5 000 个点而得到瞬间衰变曲线;然后通过用最小面积叠代卷积法、同时分析收集到的灯及样品的瞬间衰变曲线而得到荧光寿命^[4]。激发和发射波长分别为 385 和 485 nm;激发和发射的狭缝皆为 5 nm。荧光寿命测定的误差小于 10 %。

2 结果与讨论

2.1 结合常数 K_s

一种基质或探针分子与胶束的结合过程可用下式来表示^[12]:

$$S_w + D_m \xrightleftharpoons{K_s} S_m \quad (1)$$

其中 K_s 为结合常数,可表示为

$$K_s = \frac{[S_m]}{[S_w][D_m]} \quad (2)$$

其中 $[S_w]$ 和 $[S_m]$ 分别代表探针分子在水中和胶束相中的浓度。 $[D_m]$ 则为表面活性剂在胶束相中的浓度。探针分子及表面活性剂的总浓度 $[S_t]$ 和 $[D_t]$ 分别用 $[S_m] + [S_w]$ 和 $[S_m] + [D_m] + cmc$ 来表示。若用 $f = [S_m]/[S_t]$ 表示完全进入胶束中的探针分子所占的比例,则可得

$$f/(1-f) = K_s([D_t] - [S_t]f) - K_s cmc \quad (3)$$

f 值一般由探针分子在水中、在一定浓度的表面活性剂溶液中及完全进入胶束后的荧光强度 I_w 、 I 和 I_m 计算而得。 I 可以用 I_w 和 I_m 的平均权重来表示

$$I = I_w(1-f) + I_m f \quad (4)$$

由(4)式可得

$$f = \frac{I - I_w}{I_m - I_w} \quad (5)$$

根据(3)式,以 $f/(1-f)$ 对 $([D_t] - [S_t])f$ 作图,可得一直线(见图 2)。

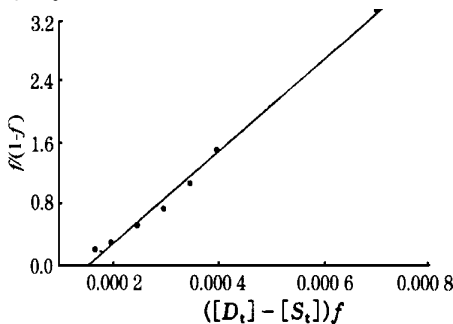


Fig. 2 $f/(1-f)$ vs $([D_t] - [S_t])f$ for A in its neutral form solubilized in Triton X100 micelle

由直线的斜率可得 A 与 Triton X-100 胶束的结合常数 K_s 为 $6\ 115\ \text{mol L}^{-1}$ 。较大的 K_s 值证实了 A 与 Triton X-100 胶束之间存在较强的相互作用。

2.2 在胶束中所在位置的极性

为了能够较定量地来判定 A 在不同微环境中的相对极性,我们实验得到了 A 的 Stokes 位移与其微环境的相对极性

(即有效介电常数) D 之间的关系(另文发表):

$$(\lambda_e - \lambda_s)(\text{cm}^{-1}) = 6.71D + 4\ 620(\text{cm}^{-1}) \quad (6)$$

实验测定了 A 在 $0.003\ \text{mol L}^{-1}$ Triton X-100 胶束中的 Stokes 位移值,将其代入(6)式,得到有效介电常数 D 为 29.4。这一值介于水($D = 78.5$)与典型的脂肪类烷烃($D = 2$)之间,与甲醇的值($D = 32.6$)相似。这一结果表明:在 Triton X-100 胶束中, A 所处平均位置的极性相对较小,与甲醇极性相似,水分子仍有可能接近它。

2.3 光谱性质

A 的紫外光谱和荧光光谱图分别见图 3 和图 4。

水分子作为氢键给予体,可以分别与 3H 吡啶分子的胺基 N 原子及吡啶环上的 N 原子的孤对电子形成氢键^[8,9]。当水与前者作用时,使得苯环与吡啶环的共轭程度减小,从而导致紫外光谱的蓝移,其相反过程是胺基 N 原子由水中进入胶束或微乳液的界面时,减少了水分子对它的进攻,从而引起紫外光谱的红移;当水与后者作用时,能使苯环与吡啶环的共轭程度增加,从而导致紫外光谱的红移,其反过程是吡啶环上的 N 原子由水中进入胶束或微乳液的界面,也可以在一定程度上使吡啶环上的 N 原子避开水分子的进攻,导致紫外光谱发生蓝移。但最终紫外光谱的变化趋势,则取决于以上两种作用的抗衡。

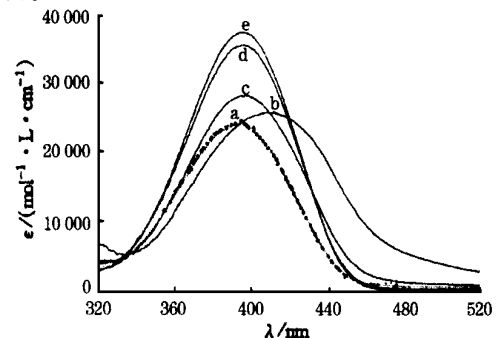


Fig. 3 Absorption spectra of A at different concentration of Triton X100 a, $0\ \text{mol L}^{-1}$ (dot); b, $1 \times 10^{-4}\ \text{mol L}^{-1}$; c, $2 \times 10^{-4}\ \text{mol L}^{-1}$; d, $1 \times 10^{-3}\ \text{mol L}^{-1}$; e, $3 \times 10^{-3}\ \text{mol L}^{-1}$

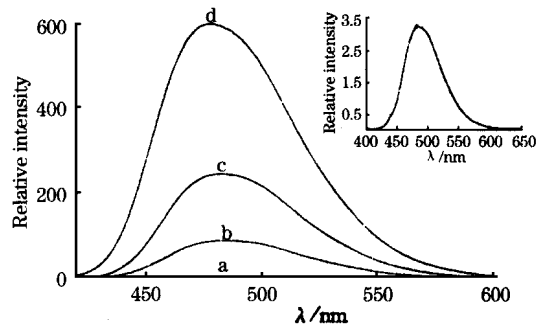


Fig. 4 Fluorescence spectra of A at different concentration of Triton X100 a, $0\ \text{mol L}^{-1}$ (dot); b, $1 \times 10^{-4}\ \text{mol L}^{-1}$; c, $4 \times 10^{-4}\ \text{mol L}^{-1}$; d, $3 \times 10^{-3}\ \text{mol L}^{-1}$

从图 3 可以看出:当 A 由水中进入 Triton X-100 溶液后,尤其在胶束形成前后,其紫外光谱的变化规律是不同的。在胶束形成之前,谱图的较大红移意味着此时 A 的胺基 N 原子

已经受到了 Triton X-100“预胶束”的保护;在胶束形成以后,谱图红移程度的减小,则说明此时不仅 A 的胺基 N 原子,同时吡啶环上的 N 原子都在一定程度上受到胶束界面的保护,从而减少了水分子对两者的进攻。图 4 中的荧光光谱的蓝移进一步证实了这一点。这一现象与 A 在 SDS 和 CTAB 胶束中是相似的^[14]。

2.4 pH 效应

图 5 给出了 A 在 Triton X-100 胶束中的 pH 效应。

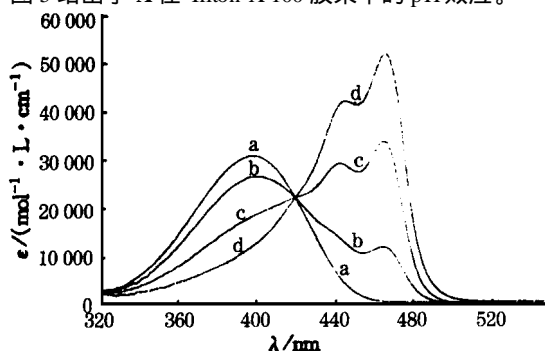


Fig. 5 Absorption spectra of A in $3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ Triton X-100 at various pH values a, 9.5; b, 6.5; c, 4.0; d, 2.4

对于 3H 吡啶探针分子在水、胶束和环糊精溶液中的 pH 效应已作过深入研究^[5,8,9,14], 研究结果表明:3H 吡啶类分子首先被质子化的位置是吡啶环上的 N 原子。由图 5 可看出:随着 pH 值的减小,A 的紫外谱图逐渐红移,并且出现了精细结构;同时在 418 nm 处有一明显的等吸光点。该 pH 效应的出现,表明在 Triton X-100 胶束中,A 的吡啶环上的 N 原子,虽然在一定程度上受到了胶束界面的保护,但仍能受到水分子的进攻而被质子化。这一结果与以上的推测相吻合。

综合以上几个方面的研究结果,我们可以推测出 A 的各个基团在 Triton X-100 胶束中位置的大致图像:由于疏水作用,两条长的烷烃链插入胶束的“栅栏”层,使带正电荷的胺基 N 离子应接近胶束的界面;这样位于胺基 N 原子与胺基 N 原子之间的六个亚甲基以及吡啶 N 原子左侧其余部分都应进

入胶束的界面,使胺基 N 原子受到胶束界面的保护;而吡啶 N 原子右侧部分必然处于胶束界面外的水环境中。

2.5 荧光寿命

A 在不同浓度的 Triton X-100 溶液中的荧光寿命见表 1。

从表 1 中可以看出:A 在不同浓度的 Triton X-100 溶液中的寿命衰变均遵循双指数衰变,但在胶束形成之前 ($[\text{Triton X-100}] = 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) 和 A 被完全胶束化以后 ($[\text{Triton X-100}] = 3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), 第二个组分所占的比例相当小,故此时可近似看作其荧光性质主要由第一个组分决定^[14]。至于第二个组分的出现,可能与样品的准备过程中带入的微量甲醇有关。因此,可以认为胶束形成前 A 主要处在水中;完全胶束化后,A 已经全部进入胶束中,且 A 只能识别 Triton X-100 胶束中的一个位置。当胶束形成后 ($[\text{Triton X-100}] = 4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), 第二个组分的比例达 0.25 时,A 在胶束中存在两个寿命。这一结果说明:在此种情况下,A 可以识别 Triton X-100 胶束中的两个位置。前文^[14]曾根据 A 与 SDS 的静电吸引和与 CTAB 的静电排斥,解释了 A 在 SDS 胶束中只能识别一个位置,而在 CTAB 胶束中却能识别两个位置。而 A 在 Triton X-100 胶束中从能识别两个位置到只能识别一个位置的变化,原因可能在于:在 Triton X-100 浓度变化的同时,A 与胶束的疏水作用的大小及胶束的形状可能都随之发生了改变;同时 $-(\text{CH}_2)_6-$ 基团对荧光分子在胶束中的位置应起较大调节作用。但更详细的机理在进一步的研究中。

Tab. 1 Lifetime and fraction f^a associated with the decay of A in Triton X-100 solutions (pH=9.5)

$[\text{Triton X-100}]/(\text{mol L}^{-1})$	τ/ns	f_1	τ/ns	f_2	2
1×10^{-4}	0.59	0.93	4.55	0.07	1.09
4×10^{-4}	1.59	0.75	3.53	0.25	1.26
3×10^{-3}	2.29	0.96	6.05	0.04	1.33

^a f is the fractional contribution from one species at one particular wavelength to the total fluorescence intensity defined as $f_1 = (B_i \tau_i) / (\sum B_i \tau_i)$, where B is the pre-exponential factor and τ is the associated lifetime where $\sum f_i = 1$

参 考 文 献

- 1 J H Fendler. Membrane Mimetic Chemistry, New York: Wiley-Interscience, 1982
- 2 R Zana. *J. Phys. Chem.*, B, 1999, **103**:9117
- 3 Y Rharbi, V Kitaev, M A Winnik and K G Hahn. *Langmuir*, 1999, **15**:2259
- 4 A M Song, J H Zhang, M H Zhang, T Shen and J A Tang. *Colloids Surf.*, A, 2000, **167**:253
- 5 S Nigam and G Durocher. *J. Phys. Chem.*, 1996, **100**:7135
- 6 R S Sarpal, M Bellet \hat{e} and G Durocher. *Chem. Phys. Lett.*, 1994, **221**:1
- 7 M Bellet \hat{e} , M Lachapelle and G Durocher. *J. Phys. Chem.*, 1990, **94**:7642
- 8 M Bellet \hat{e} , R S Sarpal and G Durocher. *Can. J. Chem.*, 1993, **72**:2239
- 9 R S Sarpal, M Bellet \hat{e} and G Durocher. *Can. J. Chem.*, 1993, **71**:1570
- 10 X Shen, M Bellet \hat{e} and G Durocher. *J. Phys. Chem.*, B, 1998, **102**:1877
- 11 X Shen, M Bellet \hat{e} and D Durocher. *Langmuir*, 1997, **13**:5830
- 12 X Shen, M Bellet \hat{e} and D Durocher. *J. Phys. Chem.*, B, 1997, **101**:8212
- 13 X Shen, M Bellet \hat{e} G Durocher. *Chem. Phys. Lett.*, 1999, **301**:193
- 14 X Shen, M Bellet \hat{e} and G Durocher. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, 1998, **94**:3649

15 Xinghai SHEN et al(沈兴海等). *Spectroscopy and Spectral Analysis* (光谱学与光谱分析), 1998, **18**(4):143

Study on the Interactions between a 3H Indole Probe Molecule and Triton X-100 Micelles by Spectral Methods

Jian LI, Xinghai SHEN and Hongcheng GAO

Department of Technical Physics, Peking University, 100871 Beijing

Jianping YE

Center of Molecular Science, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, 100080 Beijing

Abstract The interactions between a fluorescent molecule, [2-(p-hexylamino) phenyl-3,3-dimethyl-5-ethoxycarbonyl-3H-indole] methyl-dioc-tadecylammonium iodide (A), with Triton X-100 micelle are investigated by absorption and fluorescence spectra. The relatively large binding constant K_s shows that strong interactions between A and micelles do exist. The polarity parameter confirms that the polarity of the environment of A in the micelle is similar to that of methanol. According to the spectral characteristics and pH effects, the various sites of different groups of A in micelles are suggested. Lifetime measurements indicate that A can recognize two sites with Triton X-100 micelle at lower surfactant concentration. However, in the Triton X-100 micelle at higher surfactant concentration, A can only recognize one site.

Keywords 3H-indole probe molecule, Triton X-100 micelles, Spectral characteristics, pH effects, Fluorescence lifetime

(Received Jan. 9, 2001; accepted April, 22, 2001)