

取代3H吲哚分子在 Triton X-100 反胶束中的 光谱性质和存在状态研究

罗军建, 李 健, 沈兴海*, 高宏成

北京大学化学与分子工程学院应用化学系, 北京 100871

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-吲哚基-甲基-二-十八烷基碘化铵(A)与 Triton X-100/正庚烷/正己醇/水反胶束间的相互作用。分别测定了 A 在 Triton X-100 反胶束体系中所处环境的微极性、各向异性参数和 pH 效应,此外还通过红外吸收光谱考察了水在反胶束中的状态。由以上实验结果得到了有关 Triton X-100 反胶束的结构信息,初步推测了 A 在该体系中的大致位置。

主题词 3H-吲哚探针分子; 光谱性质; Triton X-100 反胶束; 荧光各向异性; pH 效应

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2005)02-0177-04

引 言

取代 3H-吲哚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分子^[1-4]。2-(对-己基氨基)苯基-3,3-二甲基-5-乙酯基-3H-吲哚基-甲基-二-十八烷基碘化铵(A)是该类分子中的一个,但其结构独特(见图 1),具有典型阳离子表面活性剂特征^[1]。我们曾研究过 A 与几种胶束或反胶束的相互作用^[2-4],对 A 在相关体系中的位置进行了探讨;对 A 在多种分子有序体系中的 pH 效应也做了初步研究。本文旨在通过对 A 在 Triton X-100 反胶束中的紫外光谱和荧光光谱特征、介电常数 D 、各向异性参数 r 、pH 效应及相关红外吸收光谱的研究,得到有关 Triton X-100 反胶束结构方面的信息,探讨 A 在 Triton X-100 反胶束中存在状态。

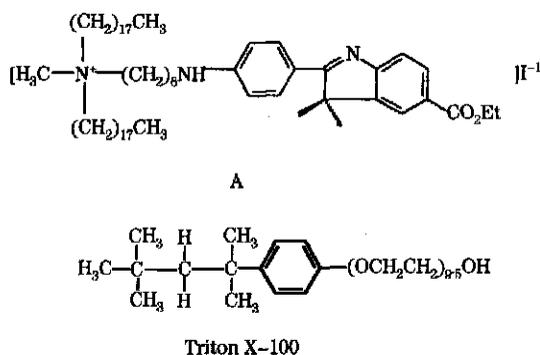


Fig. 1 Molecular structures of A and Triton X100

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

UV-3100 型紫外-可见吸收光谱仪(日本岛津公司); FL-4500 荧光光谱仪(日本日立公司,测稳态荧光光谱); RF-5301PC 荧光光谱仪(日本岛津公司,测各向异性); VECTOR22 傅里叶红外光谱仪(德国 Bruker); PHS-3B 精密 pH 计(上海雷磁)。

吲哚分子 A 由加拿大蒙特利尔大学化学系 Gilles Durocher 教授赠送,其合成和提纯方法已做过报道^[1]。Triton X-100(Acros 公司)、正庚烷(北京化工厂)和正己醇(北京金龙化学试剂有限公司)均为分析纯试剂, D_2O (D , 99.9%, Cambridge Isotope Laboratories 公司)。其中,正庚烷经压入钠丝,重新蒸馏。正己醇经干燥、重新分馏。实验用水为 3 次蒸馏水。所有实验均在室温下进行。

1.2 实验方法

将一定量的 Triton X-100 的正庚烷/正己醇 (v/v , 4/1) 的储备液加入到容量瓶中,然后加入微量 A 的甲醇储备液,使其达到实验所需浓度;再用微量注射器逐滴加入对应不同 R ($[水]/[表面活性剂]$) 值的一定量的水,最后用正庚烷/正己醇 (v/v , 4/1) 混合溶剂定容。用手摇震或稍微超声,确保液体澄清均匀。配制 A 在水和混合溶剂中的样品时,直接加入一定量 A 的甲醇储备液^[2-4]。

紫外和荧光测定中, A 的浓度分别为 $3 \sim 6 \times 10^{-6}$ 和 $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ 。激发和发射狭缝均为 5 nm,激发波长和发射波长分别为 380 和 485 nm,实验使用 1 cm 的石英比色皿。

收稿日期: 2003-03-18, 修订日期: 2003-07-28

基金项目: 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

作者简介: 罗军建, 1973 年生, 北京大学化学学院硕士研究生 *通讯联系人

各向异性参数 r 值根据以下公式求得^[5]:

$$r = (I_{VV} - GI_{VH}) / (I_{VV} + 2GI_{VH}) \quad (1)$$

式中, $G = I_{HV} / I_{HH}$ 为仪器矫正因子, 与发射波长有关。公式中的下标 H 是指平行入射或激发, 下标 V 是指垂直发射或激发, 例如 I_{VH} 是指垂直激发平行发射时测得的荧光强度, 其他类推。

实验中使用 H_2SO_4 和 $NaOH$ 调节 pH 值, 未使用任何缓冲溶液。

红外光谱测定时, 直接将不含 A 的反胶束液体涂在 KCl 晶片上测试。用 D_2O 代替普通水配制反胶束, 以去除 H_2O 分子内的羟基偶合振动, 简化光谱解析。

2 实验结果

2.1 Triton X-100 反胶束中 A 的光谱性质

A 在 Triton X-100 反胶束中的吸收光谱和荧光光谱见图 2。从图 2 中可以看出: 与 A 在水中的情况相比, A 进入反胶束以后, 其吸收光谱和荧光光谱都发生蓝移; R 增大时, 蓝移程度减小, 吸收和发射强度也随之有所减弱。比较而言, 当 R 值在 0~5 时^[6], 谱图峰位和强度变化稍明显一些。

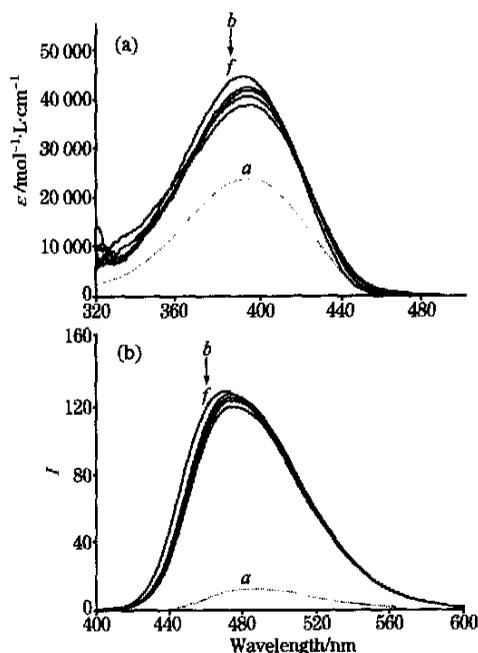


Fig. 2 Absorption (a) and fluorescence (b) spectra of A in water (a, dash) and Triton X100 (0.2 mol L^{-1}) reverse micelles at $R = 0$ (b); 5 (c); 10 (d); 20 (e); 30 (f)

2.2 在反胶束中 A 所处位置的极性

为了能够较定量地来判定 A 所处不同微环境的相对极性, 可以根据 Stokes 位移与其微环境的相对极性之间的关系^[3]

$$(A - F) / \text{cm}^{-1} = 6.71D + 4620 \quad (2)$$

求得有效介电常数 D 。为便于比较, 在表 1 中也列入 AOT 反胶束中相应的 D 值^[3]。

Table 1 Dielectric constants (D) in Triton X100 (0.2 mol L^{-1}) and AOT (0.1 mol L^{-1}) reverse micelles at various R values sensed by A

R	D (Triton X-100)	D (AOT)
0	3.0	3.8
5	16.8	18.8
8	26.8	27.4
10	26.8	29.1
15	26.8	30.6
20	26.8	31.1

由表 1 可以看出, 随着 R 的增加, A 在 Triton X-100 反胶束中所处环境的介电常数开始变化明显, $R = 8$ 以后基本不变; 相同 R 值时, 介电常数比在 AOT 反胶束中的小; 当 $R = 8$, 有效介电常数 D 为 26.8, 这一值介于水 ($D = 78.5$) 与典型的脂肪类烷烃 ($D = 2$) 之间, 与乙醇的值 ($D = 24.3$) 相近, 但该值仍小于 A 在 Triton X-100 水溶液胶束中的值 ($D = 29.4$)^[4]。

2.3 各向异性参数 r

稳态荧光各向异性参数 r 是一个反映荧光分子周围环境微粘度大小的参数, 已被广泛地应用于测定胶束或膜中的碳氢链部分的微粘度。当荧光分子周围环境的微粘度增大, 荧光分子的旋转扩散就降低, 表现为 r 值增大; 反之, r 值减小^[5]。

为了估计 A 在 Triton X-100 反胶束中所处环境的微粘度, 测定了 A 在该体系中的各向异性参数 r 。图 3 给出了 A 在 0.1 和 0.2 mol L^{-1} Triton X-100 反胶束中的各向异性参数 r 与 R 值间的关系图。从图中可以看出: 在实验范围内, 随着含水量的增大, A 所处环境的微粘度在逐渐增大, 然后变得平缓; 当 R 值相同时, A 在 Triton X-100 浓度大的反胶束中的微环境粘度较大。

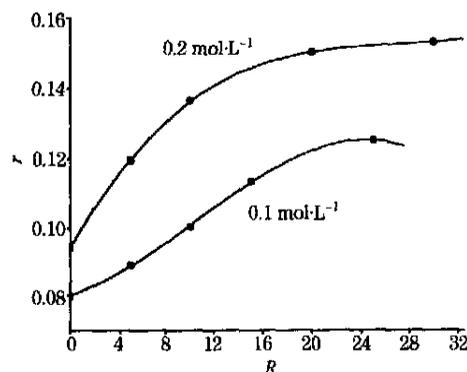


Fig. 3 Plot of fluorescence anisotropy (r) of A in Triton X100 ($0.1, 0.2 \text{ mol L}^{-1}$) / heptane/ hexanol/ water reverse micelles as a function of R

2.4 pH 效应

图 4 显示了 0.2 mol L^{-1} Triton X-100 反胶束中 $R = 5, 20$ 时的 pH 效应, 研究发现 $R = 5$, pH 在 1.35~1.90 和 $R = 20$, pH 在 1.70~2.16 可以观察到明显的 pH 效应。随着 pH

值减小, A 的紫外吸收逐渐红移, 出现精细结构, 在 420 nm 附近有一明显的等吸光点。

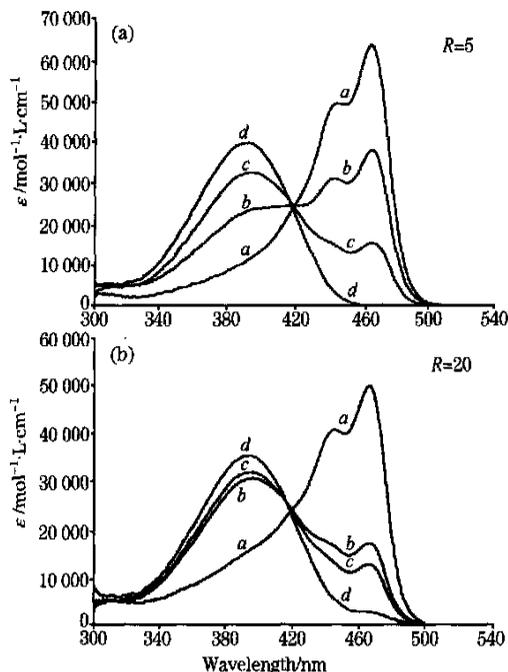


Fig. 4 Absorption spectra of A in Triton X100 ($0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) reverse micelles [$R = 5$ (a), $R = 20$ (b)] at various pH values: (a) a, 1.35; b, 1.43; c, 1.49; d, 1.90; (b) a, 1.70; b, 2.03; c, 2.10; d, 2.16

2.5 Triton X100/正庚烷/正己醇/水反胶束体系中水的红外吸收光谱

红外光谱作为分子的振动吸收光谱, 能很好地反映水分子的结构和成键状态。当 $R = 5$ (c), 10 (d), 20 (e), 30 (f) 时, 出现两类吸收峰, 即 $3375 \sim 3425 \text{ cm}^{-1}$ 的 O—H 基伸缩振动吸收峰和 $2497 \sim 2520 \text{ cm}^{-1}$ 的 O—D 基伸缩振动吸收峰 (见图 5)。随着 D_2O 的加入, 两种振动吸收峰位都有所蓝移; O—D 吸收峰的相对强度逐渐增强而 O—H 吸收峰的强度逐渐减弱。

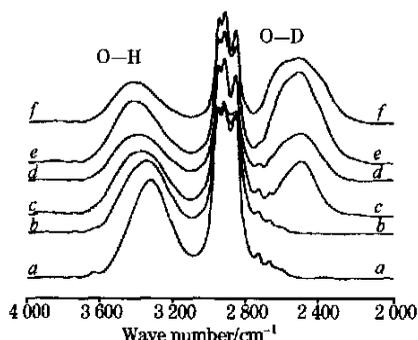


Fig. 5 FTIR spectra of the O—H and O—D in Triton X100 ($0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)/heptane/hexanol/water reverse micelles at $R = 0$ (b), 5 (c), 10 (d), 20 (e), 30 (f) and in the mixed solvent (r heptane/r hexanol, 4/1) (a)

3 讨论

3.1 紫外和荧光光谱

研究表明^[2-4]: 水分子作为氢键给予体, 可以分别与取代 3H 吡啶分子的胺基 N 原子及吡啶环上 N 原子上的孤对电子形成氢键。当水与胺基 N 原子形成氢键时, 苯环与吡啶环的共轭程度减小, 将导致紫外谱图蓝移; 而当胺基 N 原子由水中进入极性相对较小的环境中 (如胶束或微乳液的界面以及环糊精的内腔等) 时, 水分子对它的进攻减少, 将导致紫外谱图红移; 与胺基 N 原子的情况相反, 水与吡啶环上 N 原子形成氢键时, 苯环与吡啶环的共轭程度增加, 将导致紫外谱图红移; 而吡啶环上 N 原子由水中进入胶束或微乳液的界面时, 将导致紫外谱图蓝移。因此当 3H 吡啶分子所在环境改变时, 它的紫外光谱到底是蓝移还是红移, 将最终取决于以上两种作用中何者占主导地位。

相对于 A 在水中的吸收峰位, 图 2 中谱图的蓝移趋势说明在上述两种因素中, 涉及到吡啶 N 原子的因素占主导。随着水的加入, 当 R 值增大到 30 时, 与在水中相比谱图的变化仍是蓝移, 只是蓝移的程度有所减小。根据此结果, 并结合 A 在 AOT 反胶束中的情形^[3], 可以推知 A 进入了反胶束的界面层, 其芳香主链部分大致定位于反胶束头基聚氧乙烯 (EO) 链区域, 使吡啶 N 原子和末端胺基 N 原子受到保护。水分子与正己醇对 EO 链都有亲和性, 但随着水的不断加入, 水分子不断排斥正己醇, 使反胶束半径减小, 刚性增加^[7], 从而使 A 在胶束中所处的环境发生了变化。

3.2 介电常数、各向异性 and 红外光谱

以上讨论还可以从 A 在 Triton X-100 反胶束体系中的介电常数 D 的变化规律 (见表 1) 得到证明。在水池形成之前 ($R < 8$), 开始加入的那一部分水完全用来水合 Triton X-100 的 EO 链, 使 A 所处环境的极性迅速增大; 水池形成以后 ($R > 8$), A 所处环境的极性基本不变。由此可以进一步推断, A 中主导其荧光特性的基团 (即胺基 N 原子右侧的部分) 应位于 Triton X-100 的 EO 链附近。

红外光谱的变化也说明了随着水的加入, Triton X-100 的 EO 链与水分子发生水合作用。从图 5 可以看到, 加水过程中随着 R 增大, O—H 伸缩振动吸收峰明显从 3375 cm^{-1} 蓝移到 3425 cm^{-1} 。推断 EO 链确实与水发生了水合作用, 使 O—H 伸缩振动吸收峰处于较低波数。随着水的加入, EO 链结合的水在增多。 R 从 0 增大到 20 时, 蓝移比较明显; 待到水池形成后, 蓝移不再明显。

图 3 中 A 在 Triton X-100 反胶束中的各向异性参数 r 的变化规律说明, 随着水的加入 Triton X-100 反胶束层经历了一个微粘度明显增大的结构变化, 使该体系 Triton X-100 的 EO 链和水的流动性明显降低。这可能是由于在水池形成之前, Triton X-100 的 EO 链并没有完全伸展或者说是无序排列的, 随着水的不断加入, 使得 Triton X-100 的 EO 链完全伸展排列更加有序, 从而导致 A 所在的 EO 链层的微粘度增大^[7]。另外, A 与 Triton X-100 之间不存在明显的静电作用时, 水的加入对 A 所处环境的影响另一可能的因素是: 随着

水的不断加入引起反胶束的形状、大小及结构的变化^[7], 导致了 A 与反胶束之间疏水相互作用大小的改变。

3.3 pH 效应

对于吲哚探针分子在水、胶束和环糊精中的 pH 效应已做过很多研究, 结果表明大多数取代 3H 吲哚分子都会出现 pH 效应^[2-5]。在质子化环境中, 这些分子中优先被质子化的位置是吲哚环上的 N 原子^[2]。随着 pH 值的减小, 原来中性分子的吸收峰强度逐渐变小, 一个强度逐渐增大的新吸收峰出现, 该新的吸收峰为一价阳离子峰。同时, 谱图中出现了等吸光点, 这也就是通常所说的 pH 效应。分子 A 的 pH 效应较特殊, 在水中, 由于铵基 N⁺ 极性头周围的水化层很大, 整个把 A 包裹住, 使得 H⁺ 因氮阳离子的排斥作用而不能接近吲哚 N 原子, 所以 A 在水中不出现 pH 效应^[2]。同理, 当 A 与由阳离子表面活性剂 CTAB 组成的胶束和反胶束作用时, H⁺ 同时受到 A 中的氮阳离子和 CTAB 的阳离子极性头的排斥, 因而均不出现 pH 效应。相反, A 在由阴离子表面活性剂组成的 AOT 反胶束和 SDS 水溶液胶束中都出现了 pH 效应, 原因是氮阳离子与阴离子表面活性剂之间存在的较强的静电

吸引作用, 使得 H⁺ 可以自由地靠近 A 上的吲哚 N 原子^[2-4]。

研究中发现, A 在 Triton X-100 水溶液胶束中有比较明显的 pH 效应 (pH 7 左右可以观察到)^[5], 而在 Triton X-100 反胶束中, pH 效应要在较低 pH 值时才出现 (如图 4 所示)。结合以上讨论可以推断 A 的芳香主链吲哚部分处在了 Triton X-100 反胶束界面中亲水的 EO 链附近, 两条长的十八烷基脂肪链和六个亚甲基部分因疏水作用大致位于 Triton X-100 的疏水部分, 甚至延伸到油相中。这样的话, 一方面处于亲水部分的吲哚 N 原子可以接触到氢离子, 所以有 pH 效应; 另一方面吲哚 N 原子受到了反胶束更有效的保护, 并且铵基 N⁺ 虽然进入了反胶束界面, 但其正电荷可能对 H⁺ 的排斥作用依然存在, 这两个因素使得氢离子接近吲哚 N 原子的难度增大。这也正好说明了 A 质子化相对困难, 要在较高质子化条件下才有所体现。实验还发现 R 值较大的体系较易体现出 pH 效应, 这可以解释为: R 值大的体系有较多的水进入反胶束层与 EO 链进行水合, 从而使质子更容易进入 A 所处的环境, 实现质子化。

参 考 文 献

- [1] Shen X, Bellet \hat{e} M, Durocher G. J. Phys. Chem. B, 1998, 102: 1877.
- [2] Shen X, Bellet \hat{e} M, Durocher G. J. Chem. Soc., Faraday Trans., 1998, 94: 3649.
- [3] Li J, Shen X, Gao H. Chem. Phys. Lett., 2001, 342: 529.
- [4] LI Jian, SHEN Xing-hai, GAO Hong-cheng, YE Jiar-ping (李 健, 沈兴海, 高宏成, 叶建平). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2001, 21(4): 508.
- [5] Lakowicz J R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. New York: Plenum Press, 1983.
- [6] Qi L, Ma J. J. Colloid Interface Sci., 1998, 197: 36.
- [7] Andrade S M, Costa S M B, Pansu R. J. Colloid Interface Sci., 2000, 226: 260.

Investigation on the Spectral Characteristics and Existing State of a Substituted 3H Indole Molecular Probe in Triton X-100 Reverse Micelle

LUO Jun-jian, LI Jian, SHEN Xing-hai*, GAO Hong-cheng

Department of Applied Chemistry, College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, China

Abstract The interactions between a fluorescent molecular probe, i. e., [2-(*p*-hexylamino) phenyl-3, 3-dimethyl-5-ethoxycarbonyl-3H-indole] methyl dioctadecyl ammonium iodide (A) and Triton X-100/heptane/hexanol/water reverse micelle have been investigated by spectroscopy. Micropolarity of the environment, fluorescence anisotropy parameter and the pH effect of A in Triton X-100 reverse micelle were determined. Furthermore, the state of water in reverse micellar systems was studied by FTIR. According to the above experimental results, some information on the structure of Triton X-100 reverse micelle was obtained and the probable site of A in this system was discussed.

Keywords 3H indole molecular probe; Spectral characteristics; Triton X-100 reverse micelle; Fluorescence anisotropy; pH effect

(Received March 18, 2003; accepted July 28, 2003)