

УДК 541.64:535.37:539.199

**ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ В РАСТВОРАХ
ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТОВ И ИХ КООПЕРАТИВНЫХ КОМПЛЕКСОВ
МЕДОТОМ ТУШЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ**

Павлова Н.Р., Кирш Ю.Э., Кабанов В.А.

Методом тушения флуоресценции изучена молекулярная динамика растворов полиметакриловой кислоты, поли-4-винилпиридина, сополимеров 4-винилпиридина с N-метил-4-винилпиридинийметилсульфатом, а также поликомплексов, образуемых полиметакриловой кислотой с указанными сополимерами. Полиметакриловая кислота содержала флуоресцентные антрыльные метки, а четвертичные пиридиниевые кольца сополимеров выполняли функцию тушителей флуоресценции. Показано, что в полиметакриловой кислоте существует три типа меток — метки, недоступные для тушителей, метки, тушащиеся по динамическому и статическому механизмам. Существование нескольких типов флуорофоров, различающихся по характеру взаимодействия с тушащими звеньями, обнаружено также в полимер-полимерных комплексах, образованных полиметакриловой кислотой и сополимерами 4-винилпиридина с N-метил-4-винилпиридинийметилсульфатом; с ростом содержания кватеризованных колец в сополимерах доля подвижных звеньев в поликомплексе (динамическое тушение) уменьшается.

Вопрос о характере молекулярной подвижности в цепях полиэлектролитов различного состава и строения в растворах и о диффузии малых молекул в объеме полиэлектролитных клубков имеет важное значение для понимания механизмов взаимодействия полионов со средой, особенностей их реакционной способности и других физико-химических свойств. В работах [1, 2] было показано, что для его изучения может быть применен метод тушения флуоресценции. Можно надеяться, что этот метод окажется плодотворным и для получения информации о молекулярной подвижности в поликомплексах, образующихся при взаимодействии противоположно заряженных полионов в растворах. Такие комплексы в последние годы вызывают широкий интерес в первую очередь в связи с важными перспективами их практического применения [3—5]. Вместе с тем вопрос о динамике звеньев полионов, входящих в состав таких поликомплексов, пока остается открытым. Во всяком случае соображения, высказываемые на этот счет на основе косвенных данных, нуждаются в прямой экспериментальной проверке. В работах [6, 7] была предпринята успешная попытка изучения молекулярной подвижности полимер-полимерных комплексов методом поляризованной люминесценции, который, как известно, чувствителен к вращательной диффузии соответствующих меток. Метод тушения флуоресценции применительно к изучению взаимодействия цепей, в одной из которых некоторые звенья помечены флуорофором, а другая содержит звенья-тушители, открывает дополнительные возможности, так как он чувствителен к числу столкновений этих фрагментов в единицу времени, обусловленных их поступательной диффузией, а следовательно, позволяет судить о доступности друг для друга соответствующих участков макромолекул.

В настоящей статье описаны результаты изучения методов тушения флуоресценции молекулярной динамики водно-спиртовых растворов полиметакриловой кислоты (ПМАК), поли-4-винилпиридина, сополимеров 4-винилпиридина с N-метил-4-винилпиридинийметилсульфатом, а также поликомплексов, образуемых ПМАК с указанными сополимерами. ПМАК содержала флуоресцентные антрильные метки, а четвертичные пиридиневые кольца сополимеров выполняли функцию тушителей флуоресценции [1].

ПМАК, содержащая в среднем одно звено антрилметилметакрилата на 1000 метакриловых звеньев (ПМАК-Ф) с $M=5 \cdot 10^5$, была синтезирована* согласно методике [8].

Флуоресцентно-меченный поли-4-винилпиридин (ПВП-Ф) получали путем радиальной сополимеризации 4-винилпиридина с антрилметилметакрилатом, затем фракционировали из метанольного раствора этилацетатом. ПВП-Ф ($M_w=8 \cdot 10^4$) содержал 1 антрильную метку на 500 звеньев.

Сополимеры 4-винилпиридина и N-метил-4-винилпиридинийметилсульфата (ПВП-Т) получали кватернизацией поли-4-винилпиридина ($M_w=5 \cdot 10^4$) диметилсульфатом в метаноле при комнатной температуре. Степень кватернизации β , т. е. состав сополимеров, определяли методом ИК-спектроскопии, используя соотношение интенсивностей при $\nu=1600 \text{ см}^{-1}$ (пиридиновое кольцо) и $\nu=1640 \text{ см}^{-1}$ (пиридиниевое кольцо). Были синтезированы сополимеры ПВП-Т с $\beta=10, 28, 53$ и 67% .

В качестве низкомолекулярных аналогов звеньев с флуоресцентной и тушающей метками использовали 9-антрилметиловый спирт (Ф) и 4-этил-N-метилпиридинийметилсульфат (Т) соответственно.

Изменение интенсивности флуоресценции и времени жизни возбужденного состояния τ метки определяли с помощью спектрофлуориметра «Jobin Ivon» и импульсного наносекундного флуорометра [9].

Полученные экспериментальные данные обрабатывали в координатах уравнения Штерна – Фольмера: $I_0/I = 1 + K_s[T]$ и $\tau_0/\tau = 1 + K_s[T]$, где I и I_0 – интенсивность флуоресценции, а τ_0 и τ – средние времена жизни возбужденного состояния в отсутствие и в присутствии тушителя соответственно, $[T]$ – концентрация тушителя в растворе, K_s – константа Штерна – Фольмера, связанная с константой скорости двойных столкновений соотношением $K_s = \tau_0 k_d$.

При исследовании кинетики затухания флуоресценции для возбуждения флуоресценции использовали вспышку импульсной лампы с характеристическим временем жизни $\tau_{\text{вс}}=1,6 \text{ мсек}$ при $\lambda=365 \text{ нм}$. Влияние вспышки на измеряемое τ учитывали по формуле [9]

$$\tau = \sqrt{\tau_{\text{набл}}^2 - \tau_{\text{вс}}^2}$$

Для выявления особенностей молекулярной динамики в растворах полимеров прежде всего необходимо иметь данные о кинетике тушения низкомолекулярного флуорофора Ф низкомолекулярным тушителем Т в том же растворителе.

Измерение спектров флуоресценции (рис. 1, а) и кинетика затухания флуоресценции Ф (рис. 2, а) по мере добавления Т показывает, что он эффективно тушит флуоресценцию Ф. Затухание флуоресценции носит экспоненциальный характер как в отсутствие, так и в присутствии тушителя. При добавлении последнего изменяется наклон получаемой зависимости $I=f(t)$ в полулогарифмических координатах $\lg I$, t , т. е. меняется время жизни τ . Тангенсы углов наклона для полученных зависимостей I_0/I и τ_0/τ от $[T]$ оказались равными, что свидетельствует о динамическом характере тушения флуоресценции низкомолекулярного флуорофора низкомолекулярным тушителем (рис. 1, б). Значение k_d , полученное из этих зависимостей, составляет $(3,8 \pm 0,3) \cdot 10^9 \text{ л}/\text{моль} \cdot \text{сек}$.

Системы ПМАК+Т и ПВП-Ф+Т. На рис. 2, б приведена кинетика затухания флуоресценции ПМАК-Ф в отсутствие и в присутствии тушителя. Обращает на себя внимание тот факт, что линейная зависимость $\lg I$ от t имеет место только в отсутствие тушителя. Добавление последнего в раствор при концентрациях 10^{-2} – $7 \cdot 10^{-2} \text{ моль}/\text{л}$ приводит к появлению излома на зависимостях $\lg I$ от t , т. е. затухание флуоресценции не

* М. Г. Krakovjakom (ИВС АН СССР).

описывается одной экспонентой. Оказалось, что в данном случае кинетические кривые затухания флуоресценции могут быть удовлетворительно описаны двухэкспоненциальным законом. Примечательно, что угол наклона линейной аноморфозы одной из экспонент (область больших времен регистрации) не изменяется с добавлением тушителя: вычисленное время жизни τ_0' в этом случае составляет $(9,6 \pm 0,4)$ нсек при всех концентрациях. Полученное значение близко к $\tau_0 = 10,6 \pm 0,3$ нсек метки в ПМАК-Ф в отсутствие тушителя. Добавление последнего влияет на наклон зависимости $\lg I$ от t в области малых времен регистрации. Значение времени

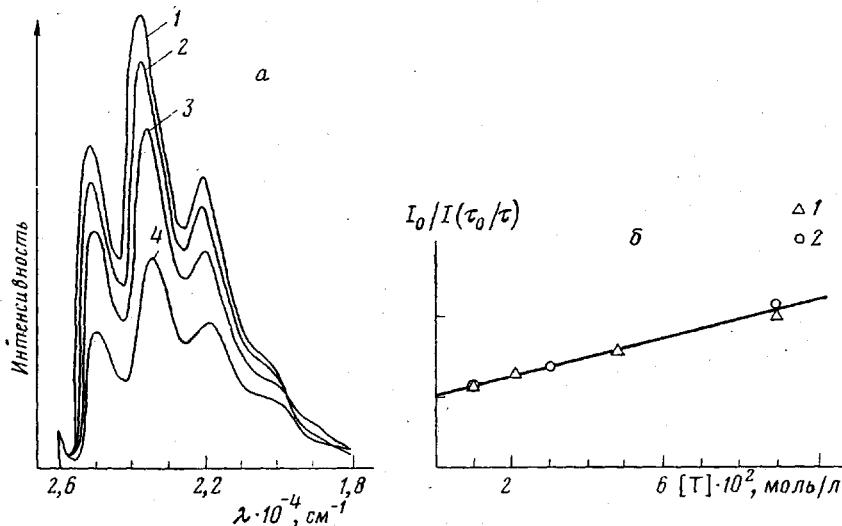


Рис. 1. а – Спектры флуоресценции растворов низкомолекулярного флуорофора при различной концентрации низкомолекулярного тушителя: 1 – 0, 2 – 10^{-2} , 3 – $3 \cdot 10^{-2}$ и 4 – $9 \cdot 10^{-2}$ моль/л; б – зависимость I_0/I (1) и τ_0/τ (2) для низкомолекулярного флуорофора от концентрации тушителя. $[\Phi] = 4 \cdot 10^{-6}$ моль/л

жизни в этой области τ_t уменьшается по мере увеличения концентрации тушителя. При этом зависимость τ_0/τ от $[T]$ (рис. 3) подчиняется уравнению Штерна – Фольмера и значение k_d составляет $(2,0 \pm 0,3) \cdot 10^9 \text{ л}/\text{моль} \cdot \text{сек}$, что в ~ 2 раза меньше k_d для низкомолекулярных флуорофора и тушителя. Основываясь на приведенных данных, естественно предположить, что в ПМАК-Ф существует два типа флуоресцентных меток, различающихся по своей доступности для столкновения с малыми молекулами Т. Метки первого типа тушатся при взаимодействии с молекулами Т по динамическому механизму с константой бимолекулярных столкновений, в 2 раза меньшей соответствующей константы для низкомолекулярных флуорофора и тушителя. Это можно объяснить тем, что метка присоединена к макромолекулярной матрице, имеющей коэффициент поступательной диффузии значительно меньший, чем низкомолекулярные частицы [10].

Метки второго типа оказываются практически недоступными для столкновения с тушителями за время жизни возбужденного состояния (10^{-8} сек.); поэтому удается наблюдать их на цепи с временем жизни τ_0' , близким к времени жизни метки в отсутствие тушителя.

Измерение интенсивности флуоресценции ПМАК-Ф при добавлении тушителя характеризует другую особенность механизма взаимодействия ПМАК-Ф и Т. Константа Штерна – Фольмера K_s , получаемая из зависимости $I_0/I = f[t]$, в этом случае превышает K_s для зависимости τ_0/τ от концентрации тушителя (рис. 3). Это различие можно объяснить только тем, что в ПМАК-Ф наряду с динамически тушащимися метками присут-

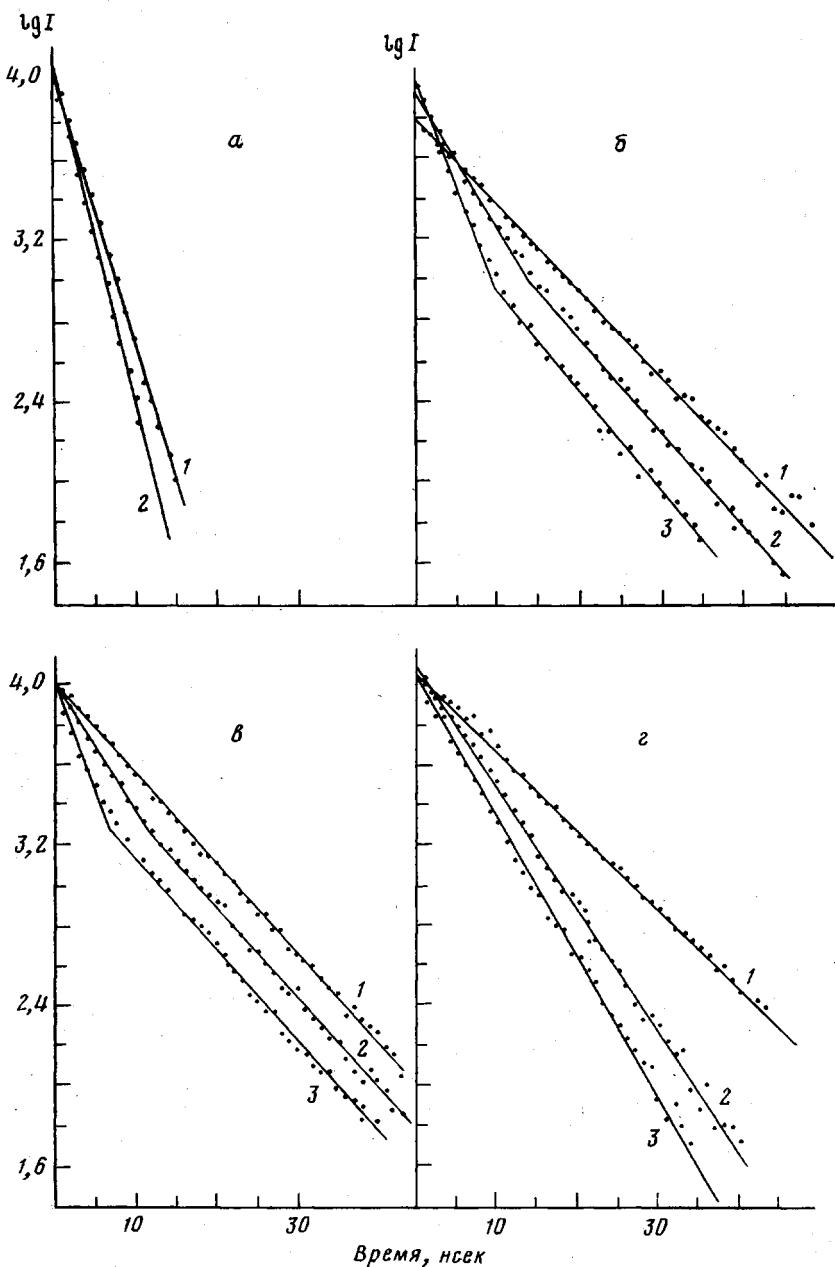


Рис. 2. Кинетика затухания флуоресценции низкомолекулярного флуорофора (а), ПМАК-Ф (б, в) и ПВП-Ф (с) в присутствии

а: $[T]=0$ (1) и $9 \cdot 10^{-2}$ моль/л (2); б: $[T]=0$ (1), $2 \cdot 10^{-2}$ (2) и $8 \cdot 10^{-2}$ моль/л (3); [ПМАК-Ф] = 10^{-3} моль/л; в: $[\text{ПВП-Т}]$ ($\beta=28\%$) = 0 (1), $4 \cdot 10^{-4}$ (2) и $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л (3); г: $[T]=0$ (1); $4 \cdot 10^{-2}$ (2) и $8 \cdot 10^{-2}$ моль/л (3); [ПВП-Ф] = $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л

ствуют метки, которые тушатся по статическому механизму. Иными словами, некоторые флуорофоры в полимере относительно прочно связываются с молекулами Т, образуя нефлуоресцирующий комплекс. Важно отметить, что явления такого рода не наблюдаются в случае низкомолекулярных флуорофора и тушителя.

Таким образом, при изучении закономерностей тушения в растворе ПМАК обнаруживается существование трех типов меток: 1) метки, не-

доступные для тушителя со средним временем жизни τ_0 (метки a); 2) метки, тушащиеся по динамическому механизму со средним временем жизни τ_t (метки b); 3) метки, которые тушатся по статическому механизму, т. е. для которых среднее время жизни в возбужденном состоянии τ_c может быть принято равным нулю (метки c). Очевидно, что

$$a+b+c=1, \quad (1)$$

где a , b и c — мольные доли меток каждого типа.

Для случая биэкспоненциального затухания флуоресценции из кинетической кривой затухания легко найти приближенное отношение

$$a/b=\gamma \quad (2)$$

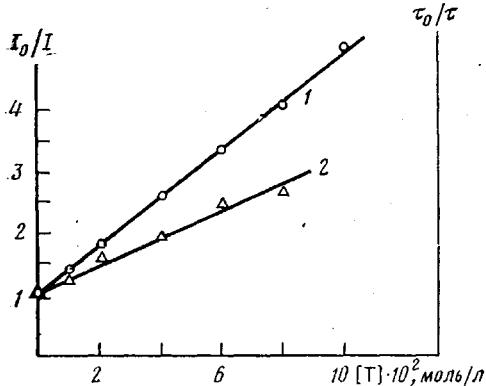


Рис. 3

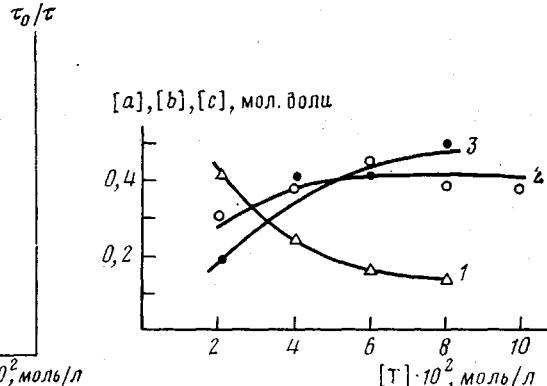


Рис. 4

Рис. 3. Зависимость I_0/I (1) и τ_0/τ (2) для флуорофора в ПМАК-Ф от концентрации низкомолекулярного тушителя $[\text{ПМАК-Ф}] = 10^{-3}$ моль/л

Рис. 4. Зависимость изменения содержания различных типов флуоресцентных меток в ПМАК-Ф от концентрации низкомолекулярного тушителя: 1 — a , 2 — b и 3 — c

Оно получается экстраполяцией долгоживущей компоненты флуоресценции к $t=0$, в предположении, что $t=0$ в максимуме кривой флуоресценции. (Ошибка в определении γ связана с конечной длительностью импульса света, возбуждающего флуоресценцию, из-за чего положение точки $t=0$ точно не определено.)

Для молекул, обладающих константой скорости испускания флуоресценции k_f , квантовый выход Φ в присутствии тушителя можно записать в общем виде

$$\Phi = k_f a \tau_0 + k_f b \tau_t + k_f c \tau_c$$

В отсутствие молекул тушителя все флуоресцентные центры обладают одинаковым временем жизни τ_0 , поэтому $\Phi_0 = k_f \tau_0$. Заменяя в выражении

$$\Phi/\Phi_0 = a + b \tau_t / \tau_0$$

Φ и Φ_0 на прямо пропорциональные им величины I и I_0 и учитывая, что метки c не флуоресцируют, можно записать

$$I/I_0 = a + b \tau_t / \tau_0 \quad (3)$$

Из уравнений (1) — (3) можно определить долю каждого из трех типов меток на цепи.

Расчет относительного содержания меток различных типов в системе ПМАК-Ф+Т показывает, что по мере увеличения концентрации тушителя существенно уменьшается доля меток на цепи, недоступных для столкновения с молекулами тушителя. Одновременно растет содержание меток, входящих в нефлуоресцирующие комплексы, и несколько увеличивается

доля меток, вступающих в динамическое тушение (рис. 4). Эти данные можно попытаться объяснить следующим образом. Неполярная антрильная метка в водно-спиртовом растворе стремится по возможности создать вокруг себя неполярное окружение. Такое окружение, в частности, может быть построено в виде небольшого кластера из нескольких мономерных звеньев ПМАК, содержащих неполярные метильные группы. В результате часть флуорофоров, оказавшихся внутри таких кластеров, как бы экранируются от случайных столкновений с катионами низкомолекулярного тушителя, по крайней мере, за времена ~ 10 нсек. Вместе с тем эти же кластеры могут служить и центрами сорбции дифильных катионов 4-этил-N-метилпиридиния. Поэтому при увеличении концентрации тушителя катионы оказываются иммобилизованы там в непосредственной близости от

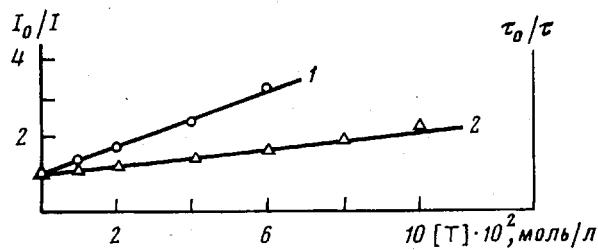


Рис. 5. Зависимость I_0/I (1) и τ_0/τ (2) для флуорофора в ПВП-Ф от концентрации низкомолекулярного тушителя.
[ПВП-Ф] = $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л

флуорофоров: так образуются нефлуоресцирующие комплексы, содержание которых растет с увеличением концентрации тушителя в основном за счет уменьшения доли недоступных меток.

На рис. 5 приведены зависимости I_0/I и τ_0/τ для ПВП-Ф от $[T]$. Видно, что константа K_s , определенная из зависимости $I_0/I = f[T]$, превышает K_c , зависимости $\tau_0/\tau = f[T]$, т. е. для ПВП-Ф обнаружены нефлуоресцирующие комплексы, что также свидетельствует о сорбции N-метилэтилпиридиниевых катионов на макромолекулах, содержащих флуорофор, в непосредственной близости от меченых звеньев. Характерно, что в отличие от ПМАК-Ф в ПВП-Ф не обнаруживается меток, недоступных для низкомолекулярного тушителя (кинетические кривые затухания флуоресценции описываются моноэкспоненциальной зависимостью (рис. 2, г)).

Система ПМАК-Ф+ПВП-Т. Известно, что макромолекулы ПМАК и ПВП (а также кватернированного ПВП) в водно-спиртовых растворах образуют двухтяжные интерполимерные комплексы [11]. Естественно, что подобные комплексы в аналогичных условиях должны образовываться и при взаимодействии ПМАК-Ф с ПВП-Т. Ниже описаны результаты исследования особенностей тушения флуоресценции в этих комплексах.

Во всех случаях концентрация звеньев ПМАК-Ф составляет 10^{-3} моль/л. В качестве тушащего макромолекулярного компонента поликомплекса были использованы ПВП-Т различной степени кватернизации β (10, 28, 53 и 67%). Кватернизованные звенья выполняют роль тушителей в исследуемой системе. Их содержание существенно влияет и на взаимное средство компонентов поликомплекса.

На рис. 2, в представлены кинетические кривые затухания флуоресценции меток в растворе ПМАК-Ф при различных концентрациях добавленного ПВП-Т. Как и в случае ПМАК-Ф+Т, кинетика затухания флуоресценции ПМАК-Ф в присутствии тушителя ПВП-Т может быть описана двумя экспонентами. Одна из них характеризуется временем жизни τ_t , изменяющимся при добавлении тушителя, другая — временем жизни, совпадающим по величине с τ_0 (метка ПМАК-Ф в отсутствие тушителя). Однако существенно, что в данном случае падение τ_t и интенсивности

флуоресценции ПМАК-Ф уже наблюдается при концентрациях полимерного тушителя, на три порядка меньших ($\sim 10^{-4}$ моль/л), чем его низкомолекулярного аналога. Другими словами, в результате образования полимер-полимерного комплекса флуоресцентные звенья макромолекул ПМАК-Ф эффективно сближаются с тушащими звеньями макромолекул ПВП-Т уже в очень разбавленном растворе.

Анализ спектров и кинетики затухания флуоресценции показывает, что в полимер-полимерных комплексах также могут существовать по крайней мере три типа флуорофоров, различающихся по характеру взаимодействия с тушащими звеньями. Рис. 6 отражает изменение содержания соответствующих меток в зависимости от средней концентрации звеньев

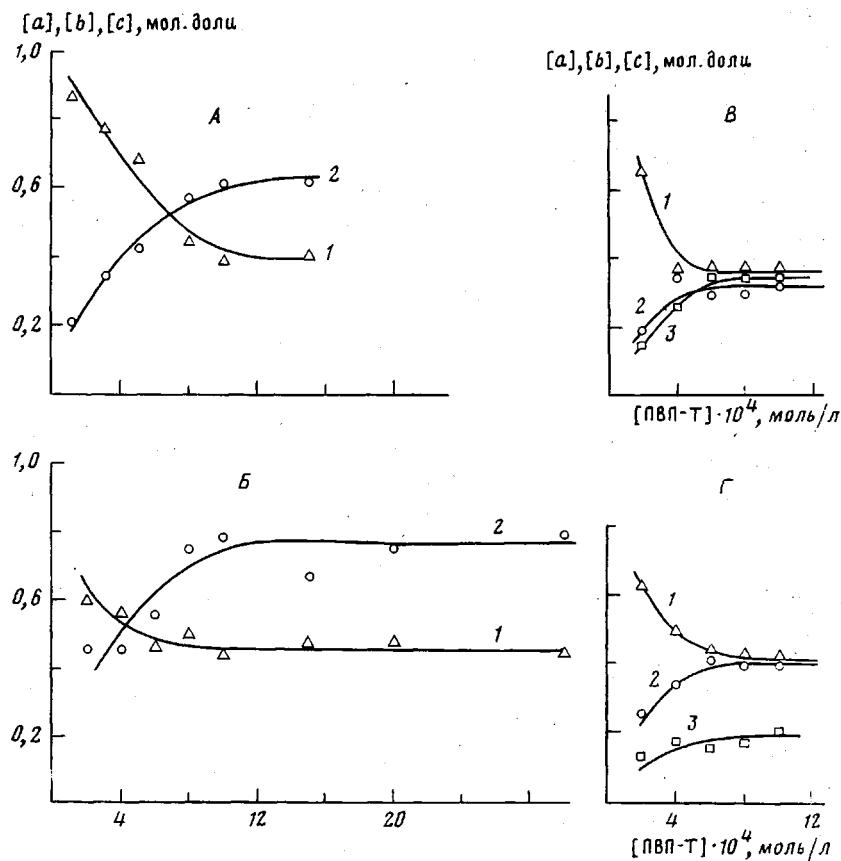


Рис. 6. Зависимость изменения доли различных типов флуоресцентных меток a (1), b (2) и c (3) в ПМАК-Ф от концентрации ПВП-Т ($\beta=10$ (A), 28 (B), 53 (B) и 67% (Г))

ПВП-Т с различной степенью кватернизации β . Видно, что все полученные кривые имеют тенденцию к насыщению. Расчет показывает, что в комплексах ПМАК-Ф с ПВП-Т, характеризующихся малыми β (10 и 28%), т. е. сравнительно низкой плотностью положительных зарядов на цепи, существуют два типа флуорофоров: одни из них тушатся по динамическому механизму, другие недоступны для столкновения с тушителем (рис. 6, А, Б). Изменение содержания меток « a » и « b » прекращается при концентрациях ПВП-Т $\sim 10^{-3}$ моль/л. Доля динамически тушащихся меток, которая характеризует содержание подвижных звеньев в поликомплексе, в пределе достигает 60—70%. При концентрациях ПВП-Т, превышающих 10^{-3} моль/л, все макромолекулы ПМАК-Ф уже связаны с макромолекула-

ми ПВП-Т и дальнейшее добавление последних не изменяет картину тушения.

В поликомплексах ПМАК-Ф с ПВП-Т, характеризующихся высокой плотностью зарядов на цепи и соответственно с высокой концентрацией тушащих звеньев ($\beta=53$ и 67%) появляется и третий тип меток, включенных в нефлуоресцирующие ассоциаты со звеньями-тушителями (рис. 6, B, Г). Последнее обусловлено общим увеличением содержания плотно контактирующих комплементных звеньев в структуре поликомплекса. В соответствии с этим и доля экспериментально определяемых динамически тушащихся меток в пределе падает до ~30%. Картина тушения в таких системах перестает зависеть от концентрации ПВП-Т уже при концентрации $5-6 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

На основании приведенных данных можно прийти к выводу, что описанные поликомплексы содержат достаточно большое число дефектных участков типа петель, в которых звенья макромолекул, образующих комплекс, случайным образом сталкиваются друг с другом (динамическое тушение). Такая картина вполне согласуется с выводом, сделанным на основании других измерений [12, 13]. Существенно подчеркнуть, однако, что петли поликомплексов недоступны для проникновения макромолекул ПВП-Т, которым не хватило места в структуре поликомплекса. Об этом свидетельствует насыщение кривых (рис. 6, A, Б). По всей вероятности, частица поликомплекса представляет собой взвешенное в растворе рыхлое образование типа микрогеля, непроницаемое или относительно трудно проницаемое для других макромолекул, не вошедших в ее состав.

Полученные здесь конкретные результаты исследования молекулярной динамики в растворах полиэлектролитов методом тушения флуоресценции могут иметь общее значение и для растворов полимеров другой природы.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию
1 VIII 1978

ЛИТЕРАТУРА

1. Ю. Э. Кирш, Н. Р. Павлова, В. А. Кабанов, Докл. АН СССР, 218, 863, 1974.
2. Yu. E. Kirsh, N. R. Pavlova, V. A. Kabanov, Europ. Polymer J., 11, 495, 1975.
3. V. A. Kabanov, Makromolek. Chem., 8, 121, 1972.
4. А. Б. Зезин, В. Б. Рогачева, Сб. Успехи химии и физики полимеров, «Химия», 1973.
5. А. Б. Зезин, Б. С. Эльцефон, Сб. Химия и технология высокомолекулярных соединений, т. 10, 1976, стр. 96.
6. Е. В. Ануфриева, Докторская диссертация, Ленинград, ИВС АН СССР, 1973.
7. Е. В. Ануфриева, В. Д. Паутов, И. М. Паписов, В. А. Кабанов, Докл. АН СССР, 232, 1096, 1977.
8. М. Г. Краковяк, Е. В. Ануфриева, С. С. Скороходов, Высокомолек. соед., A11, 2499, 1969.
9. М. Г. Кузьмин, Н. А. Садовский, Химия высоких энергий, 9, 291, 1975.
10. K. Brown, J. Soutar, Europ. Polymer J., 10, 433, 1974.
11. В. А. Изумрудов, А. Б. Зезин, Высокомолек. соед., A18, 2488, 1976.
12. А. Б. Зезин, В. В. Луценко, В. Б. Рогачева, О. А. Алексина, Р. И. Калюжная, В. А. Кабанов, В. А. Каргин, Высокомолек. соед., A14, 772, 1972.
13. А. Б. Зезин, В. Б. Рогачева, В. С. Комаров, Е. Ф. Развадовский, Высокомолек. соед., A17, 2637, 1975.

THE STUDY OF MOLECULAR DYNAMICS IN SOLUTIONS
OF POLYELECTROLYTES AND THEIR COOPERATIVE COMPLEXES
BY THE METHOD OF QUENCHING FLUORESCENCE

Pavlova N. P., Kirsh Yu. E., Kabanov V. A.

S u m m a r y

The molecular dynamics of the solutions of polymethacrylic acid, poly-4-vinyl pyridine, copolymers of 4-vinyl pyridine with N-methyl-4-vinylpyridine methylsulfate as well as polycomplexes formed by polymethacrylic acid with the mentioned copolymers has been studied by the method of quenching fluorescence. Polymethacrylic acid has fluorescent antrilic marks, and the quarternary pyridine nuclei of copolymers perform the function of fluorescence quenchers. It is shown that there are three types of marks in polymethacrylic acid: the marks unreachable for quenchers, the marks being quenched via dynamical and statical mechanisms. The existence of certain types of luminofors that differ in the character of interaction with the quenching units, has also been found in polymer-polymeric complexes formed by polymethacrylic acid and copolymers of 4-vinyl pyridine with N-methyl-4-vinylpyridine methylsulfate; by increase of the content of the quartenized rings in the copolymers the part of mobile units in a polycomplex (the dynamical quenching) decreases.
