

УДК 541.64:535.37

**ИЗУЧЕНИЕ ВЗАЙМОДЕЙСТВИЯ ИОНОВ Cu(II)
С ПОЛИ-4-ВИНИЛПИРИДИНОМ МЕТОДОМ
ТУШЕНИЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ**

Полинский А.С., Изумрудов В.А., Кабанов В.А.

Методом тушения люминесценции исследовано взаимодействие ионов меди с поли-4-винилпироридином, меченным флуоресцентной меткой, в водно-метанольном растворе. Показано, что зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации тушителя (ионов меди) не подчиняется уравнению Штерна - Фольмера. На основе анализа этой экспериментальной зависимости сделан вывод о неравномерном распределении ионов металла между макромолекулами. Исследована кинетика обмена металлом между заполненными и свободными макромолекулами.

В последние годы при изучении комплексообразования ионов переходных металлов с полимерами были получены данные, указывающие на возможность кооперативного связывания металла [1-3]. Подробное исследование взаимодействия ионов меди и никеля с поли-4-винилпироридином (ПВП) и поли-1-винил-1,2,4-триазолом методом скоростной седиментации [4] показало, что в этих системах металл связывается с полисубстратами кооперативно, распределяясь неравномерно между макромолекулами. Это приводит к тому, что в растворе существуют две фракции полимерных молекул — мало заполненные металлом (фракция «свободного» полимера) и содержащие большое количество ионов металла (фракция комплекса). На седиментограммах фракциям соответствуют два пика. При концентрации полимера 0,05 моль/л комплекс представляет собой ассоциат заполненных медью макромолекул. Чтобы избежать ассоциации, усложняющей картину связывания металла, необходимо работать с меньшими концентрациями полимера.

Поэтому в настоящей работе изучено связывание ионов меди с ПВП, меченным флуоресцентной меткой (ПВП*), для которой ионы Cu^{2+} являются тушителем. Чувствительность метода тушения флуоресценции позволяет исследовать эту систему при достаточно малых концентрациях ПВП.

Синтез и характеристика ПВП с $M_w=26\,000$ описаны в работе [3]. ПВП, меченный антрацильной меткой, получали сополимеризацией ВП и антилметилметакрилата в условиях, идентичных синтезу немеченого ПВП. Полученный полимер содержал одну метку¹ на 350 звеньев. В качестве соли меди использовали $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ квалификации ч.д.а.

Измерение флуоресценции проводили на спектрофлуориметре «Hitachi MPF-4» в водно-метанольном (1:1) растворе. Кинетику затухания флуоресценции изучали на импульсном флуорометре².

На рис. 1 приведена зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации тушителя в координатах уравнения Штерна - Фольмера. Видно, что зависимость I_0/I от $[Cu^{2+}]_0$ нелинейна как для $[ПВП]=0,02$ осново-моль/л (рис. 1, а), так и для $[ПВП]=0,005$ осново-моль/л (рис. 1, б).

Хорошо известно, что для подавляющего большинства исследованных систем эта зависимость линейна [5]. Можно предположить, что наблю-

¹ Метка была любезно предоставлена М. Г. Краковяком (ИВС АН СССР).

² Данные по кинетике затухания флуоресценции были получены Н. А. Садовским на кафедре химической кинетики МГУ.

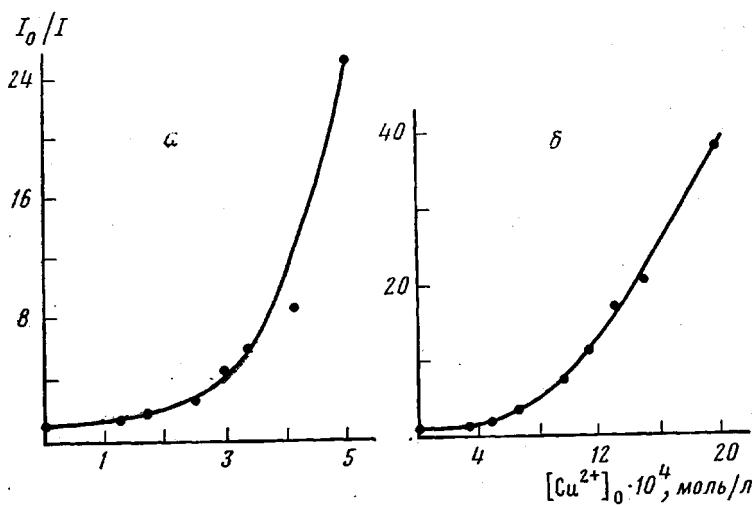


Рис. 1. Зависимость интенсивности флуоресценции водно-метанольного раствора ПВП* от концентрации тушителя (ионов меди) в координатах Штерна – Фольмера. $[PVP]_0=0,005$ (а) и 0,02 осново-моль/л (б)

даемое отклонение от линейности объясняется особенностями изучаемой системы. Эти особенности обусловлены тем, что как метка, так и тушитель связаны с полимерной цепью (метка ковалентной связью, тушитель – координационной). В разбавленных растворах клубки изолированы друг от друга, т. е. локальная концентрация метки и тушителя больше, чем средняя по раствору. Поэтому тушение флуоресценции меток, связанных с данной макромолекулой, происходит только ионами меди, связавшимися с этой же макромолекулой. Эффективность тушения, следовательно, должна зависеть от характера распределения ионов металла между макромолекулами, поскольку этим определяются локальные концентрации метки и тушителя в полимерном клубке.

Чтобы объяснить наблюдаемую зависимость, прежде всего необходимо выяснить, по какому механизму (динамическому или статическому) происходит тушение.

На рис. 2 показана кинетика затухания флуоресценции для разных концентраций тушителя. При соотношениях $[PVP] : [Cu^{2+}] > 17$ практически все незатущенные метки характеризуются одним временем жизни. Следовательно, в этом диапазоне концентраций тушение происходит по статическому механизму. При больших концентрациях металла, когда в растворе возрастает количество свободной меди, появляется небольшой вклад динамического тушения (кривые 6–8).

Поэтому приведенные ниже рассуждения полностью справедливы для соотношений $[PVP] : [Cu^{2+}] > 17$, при которых тушение флуоресценции происходит внутри одного клубка по статическому механизму.

Рассмотрим, как должна выглядеть зависимость I_0/I от $[Cu^{2+}]_0$ для двух крайних случаев – равномерного распределения металла по всем макромолекулам и распределения металла по принципу «все или ничего».

Статический механизм тушения означает, что сблизившиеся вследствие микроброуновского движения цепи метка и тушитель не расходятся друг с другом в течение времени, существенно превышающего время жизни возбужденного состояния метки. Поэтому поведение метки можно описывать равновесием, относящимся к единичному клубку



где M – незатущенная метка, Q – тушитель, MQ – такое состояние пары метка – тушитель, в котором они находятся на расстоянии, обеспечивающем тушение метки.

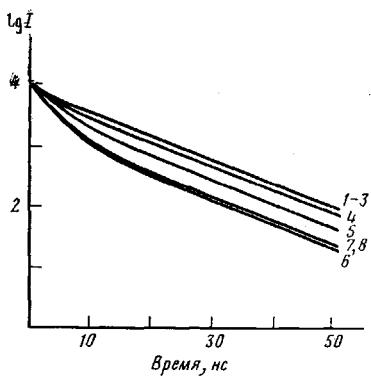


Рис. 2

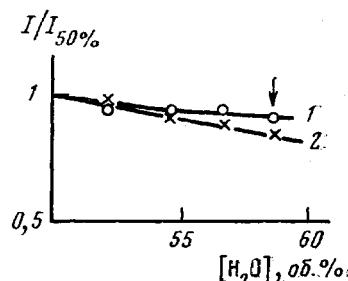


Рис. 3

Рис. 2. Кинетика затухания флуоресценции водно-метанольного раствора ПВП* в отсутствие (1) и в присутствии разных количеств ионов меди (2-8). $[PVP]^0 : [Cu^{2+}]_0 = 40$ (2), 30 (3), 20 (4), 17 (5), 15 (6), 13 (7) и 10 (8); $[PVP^*]^0 = 0,005$ осново-моль/л

Рис. 3. Зависимость отношения $I/I_{50\%}$ от содержания воды в водно-метанольной смеси в растворах ПВП*, не содержащего меди (1) и содержащего медь в соотношении $[PVP]^0 : [Cu^{2+}]_0 = 40$ (2); $[PVP^*]^0 = 0,005$ осново-моль/л. Стрелкой показана точка фазового разделения

Константа равновесия (1) записывается следующим образом:

$$K = \frac{[MQ]_{лок}}{mq}, \quad (2)$$

где m — локальная концентрация незатушенных меток, $[MQ]_{лок}$ — локальная концентрация затушенных меток, q — локальная концентрация тушителя, не вошедшего в контакт с меткой. Поскольку

$$q_0 = q + [MQ]_{лок} = q + Km, \quad (3)$$

где q_0 — общая локальная концентрация тушителя в клубке,

$$q = \frac{q_0}{1 + Km} \quad (3)$$

Аналогично

$$m_0 = m + [MQ]_{лок} = m + Km, \quad (4)$$

где m_0 — общая локальная концентрация метки.

Подставляя в это уравнение q из соотношения (3) и учитывая, что $q_0 \gg m_0$ и $q_0 \gg m$, получим, что

$$m = \frac{m_0}{1 + Kq_0} \quad (4)$$

Далее необходимо связать локальные концентрации метки и тушителя со средними по раствору. Эта связь зависит от способа распределения тушителя между макромолекулами.

1. Пусть ионы меди (тушитель) при комплексообразовании распределяются равномерно по всем макромолекулам. Тогда

$$m = [M] \frac{V}{vN}, \quad m_0 = [M]_0 \frac{V}{vN}, \quad q_0 = [Q]_0 \frac{V}{vN},$$

где $[M]_0$, $[M]$, $[Q]_0$ — средние по раствору; общая концентрация метки, концентрация незатушенной метки и общая концентрация тушителя соответственно, V — объем раствора, v — объем одного клубка, N — число клубков в растворе.

Подставив эти величины в формулу (4), получим

$$[M] = \frac{[M]_0}{1 + \frac{KV}{vN} [Q]_0}$$

Следовательно

$$\frac{I_0}{I} = \frac{[M]_0}{[M]} = 1 + \frac{KV}{vN} [Q]_0 \quad (5)$$

Из уравнения (5) видно, что нелинейность зависимости I_0/I от $[Q]_0$ может быть обусловлена изменением v при изменении $[Q]_0$. Действительно, ионы меди, связываясь с удаленными друг от друга пиридиновыми остатками, «сшивают» полимерную цепь и уменьшают занимаемый ею объем. Чтобы проверить, влияет ли изменение объема макромолекул на эффективность тушения флуоресценции, к раствору с фиксированной концентрацией ионов меди $[Q]_0$ был добавлен осадитель — вода (рис. 3). Видно, что при добавлении осадителя интенсивность флуоресценции меняется незначительно вплоть до фазового разделения (кривая 2), аналогичная картина наблюдается и в растворе ПВП*, не содержащем меди (кривая 1). Это объясняется, по-видимому, тем, что тушение метки происходит в основном за счет не слишком удаленных от метки ионов меди.

Таким образом, эффективность тушения не зависит от объема полимерного клубка, поэтому предположение о равномерном распределении ионов меди между всеми макромолекулами не позволяет объяснить полученный вид зависимости I_0/I от $[Q]_0$.

2. Пусть ионы меди распределяются между макромолекулами по принципу «все или ничего». Это означает, что часть полимерных клубков γ заполнена металлом до некоего характеристического состава β (число звеньев полимера, приходящегося в клубке на один ион металла), а остальные клубки $(1-\gamma)$ свободны от металла. В этом случае средние концентрации метки и тушителя в растворе связаны с их локальными концентрациями в клубке следующим образом:

концентрация незатушенных меток $[M]_{\text{зап}}$ в заполненных клубках

$$[M]_{\text{зап}} = m \frac{vN}{V} \gamma;$$

общая концентрация метки в растворе

$$[M]_0 = m_0 \frac{vN}{V};$$

общая концентрация тушителя в растворе (в предположении, что весь тушитель связан с полимером)

$$[Q]_0 = q_0 \frac{vN}{V} \gamma$$

С учетом этих соотношений уравнение (4) преобразуется в

$$[M]_{\text{зап}} = \frac{[M]_0 \gamma^2}{\gamma + K_1 [Q]_0}, \quad (6)$$

где

$$K_1 = \frac{KV}{vN}.$$

Концентрация незатушенных меток в незаполненных тушителем клубках

$$[M]_{\text{незап}} = [M]_0 (1 - \gamma) \quad (7)$$

Общая концентрация незатущенных меток в растворе $[M] = [M]_{\text{зат}} + [M]_{\text{незат}}$ или с учетом формул (6) и (7)

$$[M] = [M]_0 \left(1 - \frac{K_1 \gamma [Q]_0}{\beta + K_1 [Q]_0} \right) \quad (8)$$

В диапазоне концентраций $0 < [Q]_0 \leq [P]_0/\beta$ величину γ можно выразить следующим образом:

$$\gamma = \frac{\beta}{[P]_0} [Q]_0,$$

где $[P]_0$ — общая концентрация полимерных звеньев в растворе.

Тогда уравнение (8) записывается в виде

$$[M] = [M]_0 \left(1 - \frac{K_1 \beta}{\beta + K_1 [P]_0} [Q]_0 \right)^{-1}.$$

Следовательно, при условии $0 < [Q]_0 \leq [P]_0/\beta$

$$\frac{I_0}{I} = \frac{[M]_0}{[M]} = \left(1 - \frac{K_1 \beta}{\beta + K_1 [P]_0} [Q]_0 \right)^{-1} \quad (9)$$

Для $[Q]_0 > [P]_0/\beta$ зависимость I_0/I от $[Q]_0$ описывается уравнением (5), поскольку здесь все клубки уже заполнены ионами меди.

Итак, в случае распределения ионов меди между макромолекулами по принципу «все или ничего» на зависимости I_0/I от $[Q]_0$ должна быть «особая» точка, до которой эта зависимость подчиняется уравнению (9), а после которой — уравнению (5). Эта точка будет более заметна на зависимости I_0/I от $[Q]_0$, так как из уравнения (9) следует, что эта зависимость линейна при $0 < [Q]_0 \leq [P]_0/\beta$

$$\frac{I_0}{I} = 1 - \frac{K_1 \beta}{\beta + K_1 [P]_0} [Q]_0 \quad (10)$$

На рис. 4 представлены данные рис. 1 в координатах $I/I_0 - [Q]_0$. Видно, что в этих координатах на экспериментальной кривой имеется излом. До точки излома зависимость линейна, что согласуется с уравнением (10).

Таким образом, вид экспериментальной зависимости I/I_0 от $[Q]_0$ качественно совпадает с зависимостью, которая получена в предположении о неравномерном распределении ионов металла между макромолекулами.

После точки излома, когда все клубки уже имеют характеристический состав β , идет дополнительное связывание вводимых ионов меди всеми макромолекулами. Однако анализ формы кривой в этой области концентраций тушителя затруднен, поскольку здесь уже необходимо учитывать вклад динамического тушения свободными ионами меди (рис. 2).

В точке излома должно, очевидно, выполняться соотношение $\gamma = 1$, откуда $\beta = [P]_0 : [Q]_0$. Характеристические составы, рассчитанные из рис. 4, а и б, по положению точки излома, равны 17,3 и 18,9 соответственно и практически совпадают с характеристическим составом, полученным для этой системы методом скоростной седиментации [3, 4].

Данные настоящей работы, а также результаты работы [4], позволяют сделать вывод о том, что в достаточно широком интервале концентраций полимера (0,005–0,05 осново-моль/л) комплексообразование ионов меди с ПВП имеет кооперативный характер. Вводимые в раствор ПВП ионы меди при соотношениях $[P]_0 : [Cu^{2+}]_0 > \beta$ заполняют часть макромолекул до соотношения β , тогда как остальные макромолекулы содержат существенно меньше связанной меди.

Не является ли такое неравномерное распределение металла следствием заторможенности обмена макромолекул ионами меди? Обнаружен-

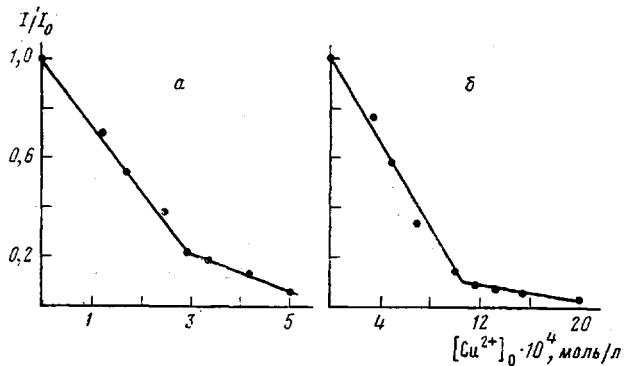


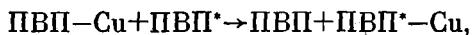
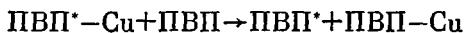
Рис. 4

Рис. 4. Данные рис. 1, представленные в координатах I/I_0 от $[\text{Cu}^{2+}]_0$. Пояснение в тексте

Рис. 5. Кинетика изменения интенсивности флуоресценции после смешения равных объемов растворов PVP^*-Cu ($[\text{PVP}^*]_0 : [\text{Cu}^{2+}] = 20$) и PVP . Исходные концентрации PVP^* и PVP равны 0,05 осново-моль/л. Стрелкой показано равновесное значение интенсивности флуоресценции

ная в работах [3, 4] ассоциация макромолекул в комплексе свидетельствует в пользу такого предположения.

Для ответа на этот вопрос в настоящей работе были исследованы обменные реакции



где PVP^*-Cu и $\text{PVP}-\text{Cu}$ — комплексы меди с меченным и немеченным полимерами соответственно при соотношении $[\text{PVP}] : [\text{Cu}^{2+}] = 20$. Задом реакций можно следить по изменению интенсивности флуоресценции во времени.

Как показал эксперимент, при добавлении PVP к такому же количеству комплекса PVP^*-Cu , где большая часть меток потушена, интенсивность флуоресценции возрастает до некоторого значения I_{cp} . Это означает, что ионы меди частично переходят на немеченный полимер. Наоборот, добавление комплекса $\text{PVP}-\text{Cu}$ к такому же количеству PVP^* , где все метки флуоресцируют, приводит к уменьшению интенсивности флуоресценции до значения I_{cp} , что также указывает на происходящий обмен медью.

Более того, для всех трех исследованных концентраций полимера (0,005, 0,02 и 0,05 осново-моль/л) значения I_{cp} совпали независимо от способа приготовления раствора. Это свидетельствует о том, что обмен происходит до тех пор, пока не достигается состояние равновесия.

Время достижения равновесия различно для разных концентраций полимера. На рис. 5 приведена кинетика изменения интенсивности флуоресценции при смешении PVP^*-Cu с PVP (суммарная концентрация полимера 0,05 осново-моль/л). Эти данные говорят о достаточно медленном обмене макромолекул ионами меди: время установления равновесия составляет несколько минут. Малая скорость обмена является, по-видимому, следствием ассоциации макромолекул, обнаруженной именно при этой концентрации полимера.

Уменьшение концентрации полимера (0,02 и 0,005 осново-моль/л) должно было бы привести к еще более медленному обмену, если бы его скорость определялась концентрацией макромолекул и ионов меди в растворе. На опыте, однако, был получен противоположный результат: значение интенсивности флуоресценции I_{cp} устанавливается уже за время смешения реагентов. Поэтому детальное изучение кинетики обмена для малых концентраций полимера требует привлечения методов, развитых для исследования быстрых реакций. Столь существенное увеличение скоп-

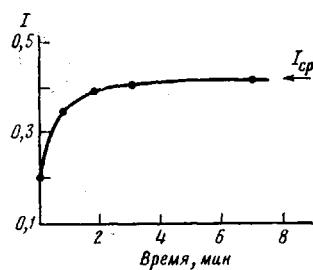


Рис. 5

рости обмена при уменьшении концентрации полимера всего в 2,5 раза свидетельствует о том, что в этих условиях ассоциаты, по-видимому, не образуются и обмен медью происходит на уровне отдельных макромолекул.

Таким образом, при малых концентрациях полимера (менее 0,02 осново-моль/л) равновесным для изученной системы является состояние с неравномерным распределением металла между отдельными макромолекулами. Увеличение концентрации полимера приводит к объединению уже заполненных металлом макромолекул в ассоциаты.

Авторы признательны М. Г. Кузьмину и Н. А. Садовскому за помощь в проведении флуорометрических измерений и плодотворное обсуждение результатов эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Strauss U. P., Begala A. J. Polymer Preprints, 1978, v. 19, № 2, p. 255.
2. Пацевич И. В., Огородников И. А., Жук Д. С. Высокомолек. соед. Б, 1979, т. 21, № 11, с. 803.
3. Полинский А. С., Пшежецкий В. С., Кабанов В. А. Докл. АН СССР, 1981, т. 256, № 1, с. 129.
4. Полинский А. С., Пшежецкий В. С., Кабанов В. А. Высокомолек. соед. А, 1983, т. 25, № 1, с. 72.
5. Экспериментальные методы химической кинетики/Под ред. Эмануэля Н. М., Сергеева Г. Б. М.: Высшая школа, 1980, с. 61.

Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию:
7.IX.1983

STUDY OF INTERACTION OF Cu(II) IONS WITH POLY-4-VINYLPYRIDINE BY LUMINESCENCE QUENCHING METHOD

POLINSKII A. S., IZUMRUDOV V. A., KABANOV V. A.

Summary

The interaction of copper ions with poly-4-vinylpyridine labeled by fluorescent label in water-methanol solution has been studied by luminescence quenching method. The dependence of intensity of fluorescence on the concentration of the quenching agent (copper ions) was shown not to obey the Stern-Folmer equation. On the basis of analysis of this experimental dependence the nonequal distribution of metal ions between macromolecules was concluded. The kinetics of the metal exchange between filled and free macromolecules was studied.