

Высокомолекулярные соединения

Серия Б

ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ, Серия Б, 1996, том 38, № 5, с. 891–895

УДК 541.64:539.199

НАНОСЕКУНДНЫЕ РЕЛАКСАЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ И МИКРОБРОУНОВСКОЕ ДВИЖЕНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛИМЕРОВ В МИЦЕЛЛЯРНЫХ СИСТЕМАХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЯХ

© 1996 г. Е. В. Ануфриева*, Т. Н. Некрасова*, А. В. Кабанов**, А. В. Левашов**

* Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук
199004 Санкт-Петербург, Большой пр., 31

** Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
119899 Москва, Воробьевы горы

Поступила в редакцию 01.03.95 г.

Методом поляризованной люминесценции изучены наносекундная динамика системы гидратированных обращенных мицелл ПАВ в органических растворителях и ее изменение при солюбилизации в мицеллярной системе водорастворимых полимеров и белков. В релаксационном спектре такой системы проявляются высокочастотный и низкочастотный релаксационные процессы. Показано, что высокочастотным движением в углеводородной среде в мицеллярной системе может быть движение одиночных молекул ПАВ. Вклад таких движений возрастает с увеличением степени гидратации мицелл. При включении полимера в мицеллярную систему в углеводородной среде обнаруживается перенос макромолекул, связанных с фрагментами мицелл. Вклад таких движений наблюдается при малых степенях гидратации мицелл и уменьшается с увеличением содержания воды в системе.

Известно, что взаимодействие ионов ПАВ в органических растворителях приводит к образованию ассоциатов – мицелл, стабилизованных межмолекулярными контактами полярных участков ПАВ. Неполярные углеводородные цепи ПАВ образуют внешний слой мицеллы. С полярными участками мицелл могут взаимодействовать молекулы воды, т.е. наличие полярного ядра мицеллы обусловливает способность мицеллы солюбилизовать воду и водные растворы, содержащие молекулы низко- и(или) высокомолекулярных соединений [1, 2].

Гидратированные мицеллы ПАВ в органических растворителях используют в качестве микропрессоров для модификации белковых макромолекул, для конструирования многокомпонентных белковых систем [3, 4], для проведения реакций в цепях водорастворимых полимеров.

Протекание реакций между молекулами, введенными в мицеллярную систему (в водную полость мицелл или в водную полость мицеллы и в

органический растворитель), связано с вероятностью их сближения, с обменными процессами в мицеллярной системе.

Для установления молекулярных механизмов, объясняющих перемещение и сближение в органической среде молекул водорастворимых полимеров, введенных в водную полость мицеллы, и молекул реагентов проводится настоящее исследование.

Задача работы – изучить подвижность компонентов мицеллярной системы ПАВ, содержащей в водной полости мицелл водорастворимый полимер и низкомолекулярное соединение, и получить данные, характеризующие не только подвижность мицелл в органической среде, но и подвижность солюбилизованных молекул как в водной полости мицелл, так и в органической среде.

Так как размер мицеллы определяется степенью ее гидратации, важной задачей является

установление роли степени гидратации мицеллы $W_0 = [\text{H}_2\text{O}] : [\text{ПАВ}]$ (концентрация в молях) в динамике мицеллярной системы.

Наибольший интерес представляет наносекундная подвижность компонентов мицеллярной системы ПАВ–водорастворимый полимер, так как ранее было показано, что именно с изменением наносекундной подвижности функциональных групп полимера связано протекание реакций в цепях полимера [5].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для изучения наносекундной подвижности компонентов мицеллярной системы ПАВ в органической среде использовали метод поляризованной люминесценции [5, 6], а в качестве люминесцирующих молекул (ЛМ) молекулы профлавина – водорастворимого низкомолекулярного соединения, вводимого в водную полость обращенной мицеллы ПАВ в органической среде. Использовали профлавин фирмы "Fluka".

Времена релаксации τ , характеризующие наносекундную подвижность компонентов системы, определяли с помощью известного соотношения

$$\tau = \frac{(1/P'_0 + 1/3)3\tau_f}{1/P - 1/P'_0}, \quad (1)$$

в котором P и τ_f – поляризация и длительность люминесценции соответственно. Для оценки параметра $1/P'_0$, характеризующего вклад высокочастотных движений в наносекундный релаксационный спектр системы f , измеряли зависимость $1/P$ от T/η (T – абсолютная температура, η – вязкость растворителя) и определяли величину отрезка, отсекаемого на оси ординат при экстраполяции линейного ($T/\eta > 100$) участка зависимости $1/P$ от T/η к $T/\eta = 0$. Величину вклада высокочастотных движений f вычисляли с помощью выражения

$$f = \frac{1/P'_0 + 1/P_0}{1/P_0 + 1/3}, \quad (2)$$

где $1/P_0$ – предельная поляризация люминесценции.

Люминесценцию возбуждали длиной волнны 436 нм. Поляризацию люминесценции измеряли на установке, описанной ранее [7]. Значения τ_f определяли на флуориметре ГОИ ИФ-39.

Для приготовления мицеллярной системы ПАВ в органических средах использовали натриевую соль ди-2-этилгексилового эфира сульфянтарной кислоты фирмы "Fluka" и углеводородные растворители (n -гептан, n -октан, n -декан). Концентрация ПАВ 0.1 моль/л.

Для солюбилизации водорастворимого полимера (белка) и профлавина в мицеллярной системе ПАВ в органической среде полимер (белок) растворяли в необходимом количестве водного раствора профлавина, добавляли рассчитанное количество 0.1 М раствора ПАВ в n -алкане и получали раствор со степенью гидратации мицелл $W_0 = 5$. Смесь встряхивали, чтобы образовался оптически прозрачный раствор. Образцы, используемые для измерения зависимости $1/P$ от W_0 получали следующим образом. К заранее приготовленному полимерсодержащему мицеллярному раствору при $W_0 = 5$ добавляли рассчитанные количества H_2O и встряхивали раствор. Измерения проводили через 15 мин.

В качестве водорастворимых высокомолекулярных соединений, вводимых в водную полость обращенных мицелл ПАВ в органической среде, использовали как синтетический полимер с высокой внутримолекулярной подвижностью ($\tau = 20$ нс) – полиметакрилоилупинин [8], так и белковые макромолекулы с заторможенной внутримолекулярной подвижностью – лизоцим, карбоангидраза В.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С помощью соотношения (1) и величины $1/P'_0$, определенной из зависимости $1/P$ от T/η водноглицериновых растворов про-флавина во внутренней полости мицеллы в одном и том же органическом растворителе, получены данные, показывающие, что движение ЛМ в водной полости мицеллы заторможено ($\tau > 1000$ нс) и в наносекундном интервале практически не проявляется, а движение тех же ЛМ в водном растворе характеризуется временами 0.1–0.3 нс.

Данные, характеризующие наносекундную динамику мицеллярных систем ПАВ в органических растворителях, получали с помощью соотношений (1) и (2) и величины $1/P'_0$. Последнюю определяли из зависимости $1/P$ исследуемого водного раствора профлавина, включенного в мицеллу, от T/η . При этом варьировали вязкость органических растворителей в ряду n -алканов, используемых для формирования мицелл.

Значения τ , характеризующие подвижность компонентов мицеллярной системы в углеводородной среде, и значения f , характеризующие вклад высокочастотных движений ЛМ в релаксационный спектр, определены при различном содержании воды в мицеллярной системе (при изменении степени гидратации мицеллы W_0). Из анализа полученных зависимостей $\tau(W_0)$ (таблица) и $f(W_0)$ (рис. 1) следует, что в релаксационном спектре мицеллярной системы проявляются низкочастотный и высокочастотный релаксационные процессы. Близость экспериментальных значе-

ний τ низкочастотного релаксационного процес-са к теоретическим значениям $\tau_{\text{цел}}^{\text{миц}}$, рассчитан-ным для вращательной подвижности мицеллы как целого (для сферической модели с малой степенью вытянутости) в среде с вязкостью η , озна-чает, что низкочастотный релаксационный про-цесс связан с подвижностью мицеллы как целого. Высокочастотным движением в углеводородной среде мицеллярной системы может быть движе-ние одиночных ПАВ, присоединивших ЛМ. В та-ком комплексе блокируются полярные группи-ровки ПАВ и ЛМ (из-за образования водородных связей между протоноакцепторными группами ПАВ и протонодонорными группами ЛМ). Это способствует их растворимости в углеводородной среде. Вклад высокочастотных движений ПАВ–ЛМ в релаксационный спектр системы определя-ется величиной f , которая характеризует участие одиночных ПАВ-носителей молекул низкомолекулярных соединений в обменных процессах в мицеллярной системе. Из анализа зависимостей $f(W_0)$ (рис. 1) следует, что обменные процессы в мицеллярной системе ПАВ в углеводородной среде (связанные с подвижностью одиночных ПАВ-носителей молекул низкомолекулярных со-единений) усиливаются с увеличением содержания воды в системе в интервале значений $W_0 = 5$ – 20 .

При включении молекул высокомолекулярных соединений в водную полость мицеллы вероятность обмена отдельными ПАВ в углеводородной среде в мицеллярной системе уменьшается (рис. 1), т.е. взаимодействие макромолекул белка (полимера) с функциональными группами ПАВ стабилизирует мицеллу.

При исследовании белок(полимер)содержащей мицеллярной системы ПАВ в углеводородной среде обнаруживается еще одна особенность в наносекундной динамике системы: кроме дви-жений мицеллы как целого появляется новый низкочастотный релаксационный процесс при низком значении W_0 , уменьшающий наблюдае-

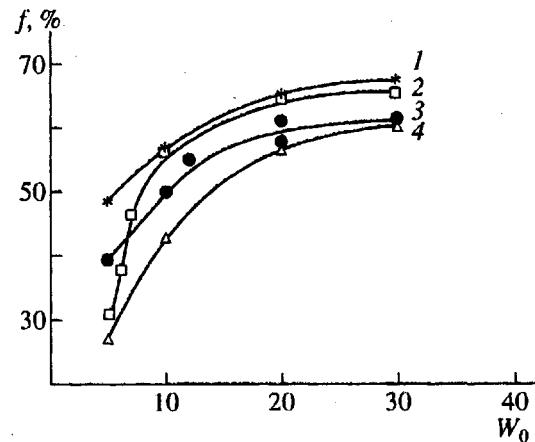


Рис. 1. Зависимость вклада f высокочастотных движений ПАВ в релаксационном спектре мицеллярной системы ПАВ в n -гептане от степени гидратации мицеллы W_0 до и после солюбилизации полимера (белка) в мицеллярной системе: 1 – до введения высокомолекулярных соединений, 2 – после введения полимера (полиметакрилоиллупинина), 3, 4 – после введения белка – карбоангидразы (3) и лизоцима (4). Концентрации ПАВ 0.1, профлавина 2×10^{-6} моль/л, белка 0.2, полимера 0.2 мг/мл. $T = 25^\circ\text{C}$.

мые значения τ по сравнению с величиной $\tau_{\text{цел}}^{\text{миц}}$, характеризующей подвижность мицеллы как це-лого (таблица). Появление второго низкочастот-ного релаксационного процесса может быть свя-зано с участием в обменных процессах не только комплексов одиночных ПАВ–ЛМ (ЛМ моделиру-ет низкомолекулярный реагент), но и ПАВ, или фрагментов мицелл, взаимодействующих с мак-ромолекулой (полимера, белка). Подвижность таких мицеллярных фрагментов-носителей мак-ромолекул характеризуется временами $\tau_{\text{ФР}}$ и оп-ределяется подвижностью макромолекулы как целого в компактной конформации, сформиро-

Времена релаксации, характеризующие подвижность компонентов мицеллярной системы ПАВ в n -гептане при изменении степени гидратации мицеллы W_0

W_0	$\tau_{\text{цел}}^{\text{миц}} = \frac{3\eta V}{kT}$, нс	Значения τ , нс			
		ПФ	ПФ + ПМЛ	ПФ + лизоцим	ПФ + карбоангидраза
5	19	39	21	28	17
8	31	45	22	28	26
10	43	53	24	68	41
12	57	65	37	–	67
20	140	140	53	143	160
30	320	370	84	143	160

Примечание. ПФ – профлавин; ПМЛ – полиметакрилоиллупинин. $V = p \times (4/3) \times \pi R^3$ для сферической модели мицеллы с малой степенью вытянутости, $p = 1.2$, R – наружный радиус мицеллы, $R = (R_{\text{внутр}} + 12)$; $R_{\text{внутр}} = (1.5W_0 + 4)$ Å [1].

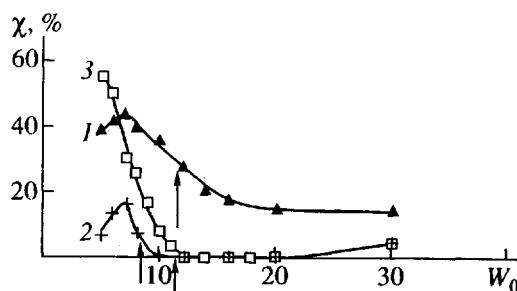


Рис. 2. Зависимость вклада низкочастотных движений мицеллярных фрагментов χ , связанных с макромолекулой солюбилизованного полимера (белка), в релаксационном спектре мицеллярной системы ПАВ в *n*-гептане от степени гидратации мицелл: 1 – полиметакрилоиллупинин, 2 – лизоцим, 3 – карбоангидраза. Стрелки на кривых – значения W_{kp} , при котором размеры макромолекулы и водной полости мицеллы совпадают [4].

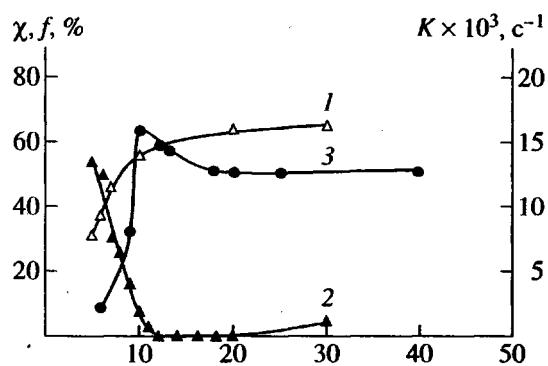


Рис. 3. Зависимости f от W_0 (1) и χ от W_0 (2) для мицеллярной системы ПАВ–карбоангидраза в *n*-гептане. 3 – зависимость каталитической активности K для фермента близкой ММ (α -химотрипсина) от степени гидратации мицелл [1]. Концентрации ПАВ 0.1, профлавина 2×10^{-6} моль/л, белка 0.2 мг/мл. $T = 25^\circ\text{C}$.

ванной в мицелле с радиусом $R_{kp}^6 = 0.7M^{1/3}$ и $R_{kp}^n = 0.9M^{1/3}$ для макромолекул белка и полимера соответственно [3].

На компактную конформацию полимера в этих условиях указывает также высокая внутримолекулярная заторможенность – времена релаксации $\tau_{\text{вмп}}$ возрастают от 50 до 400 нс. Молекулы водорастворимых полимеров (белков), не растворимых в углеводородах, в комплексе с ПАВ, в котором полярные участки ПАВ взаимодействуют с полярными группами макромолекулы, могут переходить в органический растворитель. Подвижностью этих образований ПАВ-макромолекула определяется фрагментарная подвижность мицелл.

Вклад релаксационного процесса, связанного с фрагментарной подвижностью мицелл – χ в релаксационный спектр мицеллярной системы, можно рассчитать с помощью соотношения [6]

$$1/\tau = \chi/\tau_{\text{фр}}^{\text{макр}} + (1-\chi)/\tau_{\text{цел}}^{\text{миц}}, \quad (3)$$

в котором τ – наблюдаемое время релаксации; $\tau_{\text{фр}} = \tau_{\text{цел}}^{\text{макр}}$ – время, характеризующее подвижность мицеллярного фрагмента ПАВ-макромолекула; оно определяется в основном подвижностью макромолекулы как целого в компактной конформации, сформированной в полости мицеллы; $\tau_{\text{цел}}^{\text{миц}}$ – время, характеризующее подвижность мицеллы как целого.

Таким образом, анализ подвижности компонентов мицеллярной системы ПАВ, содержащей молекулы низкомолекулярных и высокомолекулярных соединений в органических растворителях, позволяет обнаружить быстрый перенос низкомолекулярных соединений (с одиночными ионами ПАВ), характеризуемый временами ~ 1 нс, и более замедленный, характеризуемый большими временами релаксации. Последнее обусловлено переносом высокомолекулярных соединений, связанных с фрагментами мицелл.

Обнаруженные релаксационные процессы в мицеллярной системе ПАВ с участием молекул низко- и высокомолекулярных соединений характеризуют лабильность мицеллы. Вклад высокочастотных релаксационных процессов, связанных с движением одиночных ПАВ-носителей молекул низкомолекулярных соединений, растет с увеличением степени гидратации мицеллы, наиболее значительно в интервале $W_0 = 5-20$ (рис. 1). Вклад низкочастотного релаксационного процесса, характеризующего подвижность мицеллярных фрагментов-носителей макромолекул, напротив, уменьшается с ростом W_0 (с увеличением содержания воды в мицеллярной системе). Наиболее значительное уменьшение вклада фрагментарной подвижности мицелл наблюдается при увеличении W_0 от малых значений ($W_0 \sim 5$) до значений W_{kp} , при котором объемы макромолекулы и водной полости мицеллы совпадают (рис. 2). Величина W_{kp} отвечает ситуации, в которой обмен мицеллярными фрагментами, несущими макромолекулы, прекращается или замедляется. Это очень интересный результат, который может объяснить колоколообразный характер зависимости каталитической активности ферментов от W_0 в мицеллярной системе (уменьшение каталитической активности при $W_0 > W_{kp}$), наблюдавшейся для большого числа исследованных ферментов (рис. 3, кривая 3) [1-4].

Каталитическая активность K фермента растет при значениях W_0 , при которых в обменных процессах участвуют носители реагирующих мо-

лекул, и понижается с уменьшением (прекращением) выхода в раствор подвижных мицеллярных фрагментов-носителей макромолекул (рис. 3).

Корреляция изменений катализитической активности фермента с изменением наносекундной динамики белоксодержащей мицеллярной системы ПАВ при изменении гидратации мицелл указывает на возможный механизм влияния гидратации мицелл ПАВ на протекание реакций в мицеллярной системе ПАВ-белок (полимер) и позволяет определить не только для белка, но и для синтетических полимеров тот интервал значений W_0 , при которых реакция с участием полимера протекает с наибольшим эффектом.

Авторы признательны Т.В. Веселовой и В.И. Широкову за определение τ_f и В.Е. Бычковой за любезно предоставленный образец карбонигидразы В.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Левашов А.В. Химические и ферментативные реакции в растворах поверхностно-активных ве-

ществ / Под ред. Березина И.В. М.: ВИНИТИ, 1988. С. 112.

- Khmelnitsky Yu.L., Kabanov A.V., Klyachko N.L., Levashov A.V., Martinek K. Structure and Reactivity in Reverse Micelles / Ed. by Pileni M.P. Amsterdam: Elsevier, 1989. P. 230.*
- Kabanov A.V. // Makromol. Chem., Macromol. Symp. 1991. V. 44. P. 253.*
- Klyachko N.L., Levashov A.V., Kabanov A.V., Khmelnitsky Yu.L., Martinek K. Kinetics and Catalysis in Microheterogenous Systems, Surfactant Science Series / Ed. by Gratzel M., Kalyanasundaram K. New York: Marcel Dekker, 1991. V. 38. P. 135.*
- Anufrieva E.B., Krakovjak M.G. // Высокомолек. соед. А. 1987. Т. 29. № 2. С. 211.*
- Anufrieva E.V., Gotlib Yu.Ya. // Adv. Polym. Sci. 1981. V. 40. P. 1.*
- Anufrieva E.B., Волькенштейн М.В., Шевелева Т.В. // Биофизика. 1962. Т. 7. № 5. С. 554.*
- Anufrieva E.B., Паутов В.Д., Лущик В.Б., Мирзахидов Х.А., Мусаев У.Н., Краковяк М.Г. // Высокомолек. соед. Б. 1989. Т. 31. № 10. С. 772.*

Nanosecond Relaxation Processes and Brownian Motion of Water-Soluble Polymers in Micellar Systems of Surface-Active Compounds in Organic Solvents

E. V. Anufrieva*, T. N. Nekrasova*, A. V. Kabanov**, and A. V. Levashov**

* Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences
Bol'shoi pr. 31, St. Petersburg, 199004 Russia

** Moscow State University
Vorob'evy Gory, Moscow, 119899 Russia

Abstract—Nanosecond dynamics of hydrated reversed surfactant micelles in organic solvents and its variation resulting from solubilization of water-soluble polymers and proteins in this micellar system were studied by polarized luminescence. The relaxation spectrum of such a system revealed the high-frequency and the low-frequency relaxation processes. The high-frequency motion in the hydrocarbon medium of the micellar system was associated with the mobility of individual surfactant molecules. The contribution due to that mobility increased with an increase in the degree of hydration of the micelles. When a polymer was incorporated into the micellar system, the transfer of macromolecules coupled to micellar fragments was observed in the hydrocarbon medium. This kind of motion was observed at low degrees of hydration of the micelles, and it became less significant as the content of water in the system increased.