

双分子膜上染料的吸附性质及对膜结构的影响*

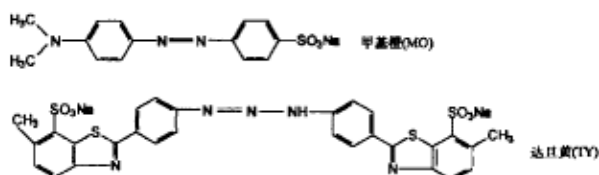
魏君华 吴立新 吴 英 李国文

(吉林大学超分子结构与谱学开放实验室, 长春 130023)

摘要 系统地研究了染料甲基橙 (MO) 和达旦黄 (TY) 在含席夫碱基囊泡双分子膜阳离子表面上的吸附和聚集, 以及由此产生的对膜聚集结构的影响. 染料的吸附和聚集可经电子吸收光谱和因吸附产生的沉淀证实, 并且 MO 的聚集结构为 H- 聚集, TY 的聚集结构为 J- 聚集. 改变 pH 的研究表明 MO 在变色 pH 值以下因形成阳离子而解聚, TY 在酸性条件下亦因离子化程度减弱和部分质子化而使聚集被削弱, 但在碱性条件下其聚集产生更大的红移. 温度变化的结果显示染料的聚集因囊泡聚集态的改变而逐步解聚. 示差扫描量热 (DSC) 和差减的吸收光谱得出染料的吸附和聚集减弱了囊泡双分子膜的聚集相互作用并导致相变温度降低.

关键词: 染料, 囊泡双分子膜, 聚集, 吸附

用合成的两亲性分子形成囊泡状双分子膜模拟生物膜, 因其特定的结构和微环境, 以及良好的功能和组装性质, 大大激发了人们的研究兴趣^[1]并发展成为超分子研究领域的一个重要方面. 通过合成或组装的办法, 功能基团被定位到膜的特定位置, 实现渗透、电子转移、电荷分离、连续能量转移以及相变和光异构化控制过程^[1,2]. 含联苯、偶氮等刚性共轭基团的单链两亲分子的成膜性质和聚集结构已详细研究^[3]. 刚性基团的引入既可起到骨架作用增加分子间作用力, 形成稳定囊泡双分子膜, 又可作为研究聚集结构的探针. 我们曾报导了含席夫碱基单链铵两亲分子的成膜性质^[4,5]和用膜内生色基作为给体, 以囊泡表面吸附的染料离子作为受体的光致能量转移过程^[6]. 虽然染料在胶束体系中的性质已有较详细的研究^[7,8], 但其在囊泡表面的组织化过程以及对囊泡聚集体系的作用仍有特别意义, 因为这些相互作用将影响到囊泡的结构和功能化, 相关研究还比较少. 本文的目的是研究囊泡体系中吸附染料间的相互作用, 以及染料对所吸附的囊泡聚集结构的影响. 所用的成膜分子和染料分子的结构为: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}-\text{O}-\text{Ph}-\text{N}=\text{CH}-\text{Ph}-\text{O}-(\text{CH}_2)_4\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Br}^-$ 缩写为: $\text{C}_{12}\text{SBC}_4\text{N}^+$



1997-02-21 收到初稿, 1997-05-14 收到修改稿. 联系人: 吴立新. * 国家自然科学基金重点基金资助项目

1 实验部分

1.1 样品的制备

成膜分子按文献^[4]合成, 染料达旦黄 TY 为德国产分析纯试剂, 甲基橙 MO 为日本产 BR 级生物染色剂, 使用前未经进一步纯化. 所用的蒸馏水为大于 10 MΩ 的高纯水. 溶液囊泡双分子膜是将成膜分子的水溶液用超声波发生器 (BSF-1 型, 上海超声仪器厂) 于 15 °C 振荡 45 分钟得到. 通过向囊泡双分子膜溶液中加入一定浓度的染料水溶液得到成膜分子与染料的混合溶液.

1.2 测试

电子吸收光谱在日本岛津 UV-3100 型紫外可见分光光度计上完成, pH 值是用 pHs-2 型酸度计测定. 变温实验使用自制的控制装置, 温度误差为 ± 2 °C. DSC 测定在美国产 (DSC-2C, Perkin-Elmer) 量热仪上完成, 测定的温度范围为 5-80 °C, 升温速度为 10 °C·min⁻¹.

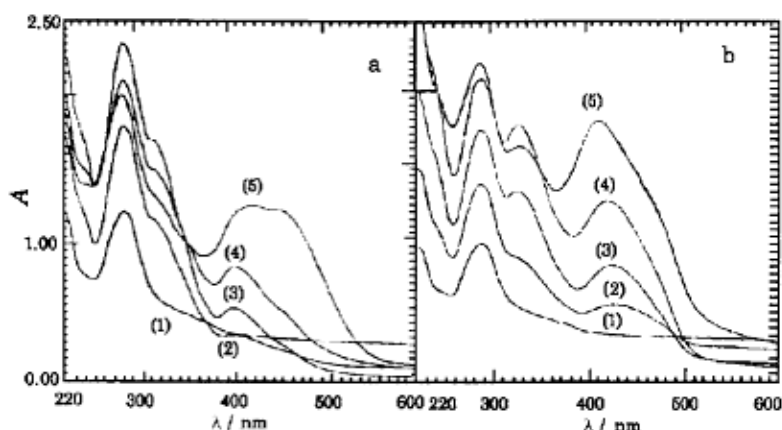


图 1 染料和囊泡双分子膜 $C_{12}SBC_4N^+$ 混合体系的电子吸收光谱

Fig.1 The absorption spectra of mixtures composed of $C_{12}SBC_4N^+$ vesicle ($1.21 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) and dye aqueous solution

(a) For MO at concentration ($\times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) of (1)0.00; (2)0.32; (3)0.65; (4)1.10; (5)1.37. (b) For TY at concentration ($\times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) of (1)0.00; (2)0.26; (3)0.63; (4)0.97; (5)1.49

2 结果和讨论

2.1 染料吸附的电子光谱

甲基橙在不同酸度下具有不同结构. 中性条件下, 溶液中存在形式为磺酸根负离子, 吸收为碱式结构特征, 最大吸收波长为 464 nm^[7]. 这一吸收带可归属为 $\pi-\pi^*$ 跃迁吸收. 在本文实验范围内, 增加甲基橙浓度只使其吸收强度增加, 最大吸收波长保持不变. 同样, 在 20-90 °C 范围内, 最大吸收波长随温度变化亦基本保持不变, 均显示出甲基橙在稀水溶液中处于均匀分散状态. $C_{12}SBC_4N^+$ 溶液聚集体系的吸收光谱已被详细地研究过^[4], 一个显著特征是吸收与温度有关. 由于存在状态具有温度相关性, 因此, 最大吸收波长的改变反映了存在状态的变化. $C_{12}SBC_4N^+$ 的最大吸收位于紫外区, 它的变化基本上不干扰染料在可见区的吸收. 图 1(a) 是保持 $C_{12}SBC_4N^+$ 囊泡双分子膜浓度不变的条件下加入甲基橙后的吸收光谱. 随着甲基橙的加入, 在 405 nm 出现明显的吸收峰, 并逐渐增强. 这一吸收较单纯甲基橙在水中的吸收产生了约 59 nm 的蓝移, 根据

甲基橙在溴代十六烷基三甲铵^[7]和其它表面活性剂胶束体系^[8]中的吸收光谱性质, 可把最大吸收峰的移动归结为形成了染料聚集体. 由于单纯甲基橙溶液在此浓度范围内不表现为聚集形式, 同时前人的工作也表明成膜分子单体的铵离子头基并不影响甲基橙的吸收^[7], 因此甲基橙的聚集应来自囊泡的表面电荷诱导作用, 即囊泡表面的正电荷吸附了带相反电荷的甲基橙负离子并使其在囊泡表面富集, 形成聚集态. 根据蓝移性质聚集结构应为 H- 聚体. 甲基橙在囊泡体系中产生的蓝移比在十六烷基三甲铵胶束体系中更大, 约多出 27 nm. 由于这两个体系中的表面活性剂分子含有相同亲水基团, 蓝移程度的不同显然来自这两个体系的表面差异. 胶束体系的表面是相当粗糙的^[9], 不利于染料的吸附有序聚集, 囊泡表面由于双分子层的有序排列而更规整, 从而更有利于染料离子在其表面的有序聚集. 进一步增加甲基橙的浓度, 位于 464 nm 附近的吸收明显增强并逐渐接近位于 405 nm 的吸收强度, 表明混合体系中存在吸附平衡. 囊泡表面覆盖度低时, 甲基橙主要呈吸附聚集, 表现在短波吸收较强. 因为囊泡聚集体的浓度是一定的, 随表面覆盖度增加, 继续升高甲基橙浓度则趋于以分散态存在, 表现在长波吸收增强. 所以, 吸收强度比也反映了甲基橙主要存在状态变化.

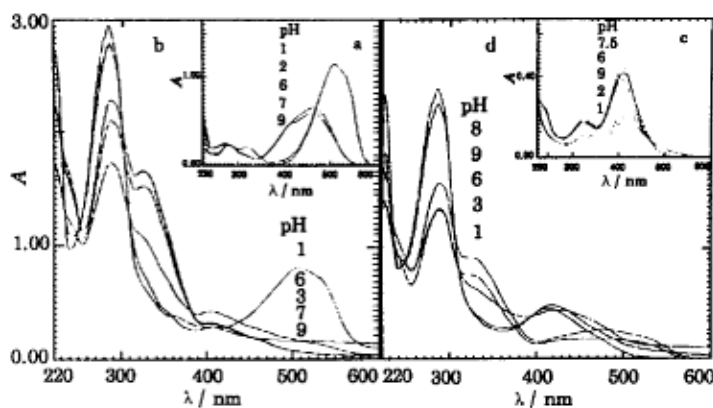


图 2 染料水溶液和染料囊泡双分子膜 $C_{12}SBC_4N^+$ 混合水溶液随 pH 值变化的电子吸收光谱
 Fig.2 pH dependence of absorption spectra of (a) $C_{12}SBC_4N^+$ ($1.21 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) vesicle and MO ($3.20 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) dye aqueous solution; (b) $C_{12}SBC_4N^+$ ($1.21 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) vesicle and TY ($3.30 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) dye aqueous solution; (c) pure MO ($3.20 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) aqueous solution; (d) pure TY ($2.60 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) aqueous solution

在中性水溶液中, 达旦黄的最大吸收波长位于 $\lambda_{\text{max}}=405 \text{ nm}$, 基本不随浓度增加和温度升高而改变, 同样, 在极稀的无水乙醇中, 升高温度时吸收峰亦不改变. 根据这一结果可以认为达旦黄在稀水溶液中呈均匀分散状态, 其吸收峰代表了处于分散态达旦黄的吸收特征. 图 1(b) 是达旦黄与囊泡混合体系的吸收光谱, 可以明显看出达旦黄的最大吸收波长产生的移动是与甲基橙不同的, 达旦黄吸收产生了红移, 最大红移约 25nm. 随着浓度增加, 红移逐渐减小. 考虑到达旦黄离子与 $C_{12}SBC_4N^+$ 的极性头基之间可能存在的相互作用, 对两亲分子和达旦黄无水乙醇混合溶液的光谱进行了比较. 若存在特殊离子对之间的相互作用, 它不应随聚集状态变化而改变. 这里达旦黄的吸收并未因分散状态 $C_{12}SBC_4N^+$ 存在而与其纯溶液中明显不同, 排除了达旦黄吸收光谱峰位变化来自相反离子特殊作用的影响. 实验中观察到囊泡水溶液会因达旦黄的加入而较快出现

沉淀, 这是表面电荷减小粒子增大的结果. 因此有理由把达旦黄的吸收红移归结为在囊泡表面形成了聚集体并可根绝激子态理论确定其聚集结构为 J- 聚集.

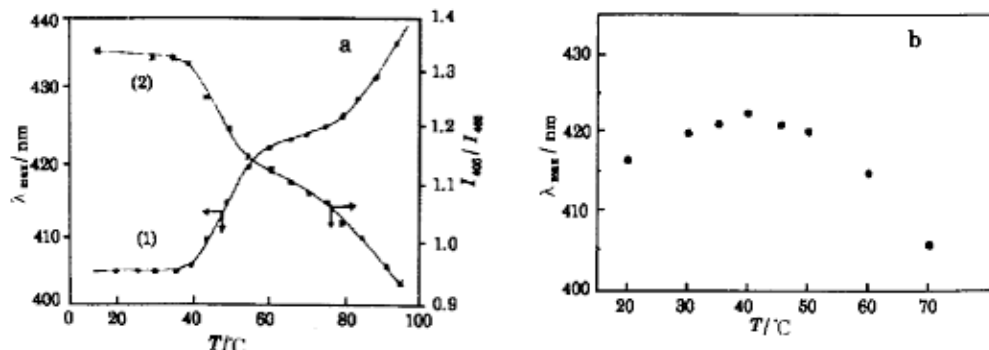


图 3 染料和囊泡 $C_{12}SBC_4N^+$ 混合体系最大吸收 λ_{max} —温度曲线

Fig.3 Plots of temperature dependence of λ_{max} of aqueous $C_{12}SBC_4N^+$ vesicle mixed with MO (a), as well as absorbance ratio I_{405}/I_{465} and mixed with TY (b) at pH=6 respectively

The concentrations of $C_{12}SBC_4N^+$, MO and TY are 1.1×10^{-4} , 6.4×10^{-4} and $6.9 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ respectively

2.2 染料吸附与 pH 的关系

图 2(a) 和 (b) 给出了甲基橙及其与囊泡混合溶液在不同 pH 值时的电子吸收光谱. 中性条件下, 甲基橙的吸收因在囊泡表面吸附聚集显示出蓝移. 增加溶液酸度, 产生的蓝移减弱并在约 500 nm 出现新的吸收并随酸性增加而增强. 这是典型的酸性条件下的吸收特征. 在 pH 接近 1 时, 混合体系中甲基橙的最大吸收波长与其相同 pH 值分散态水溶液的吸收相同. 甲基橙作为酸碱指示剂, 不同 pH 条件下吸收光谱的显著变化来自结构的改变. 酸性增强使甲基橙由负离子变成正离子, 减弱了与囊泡间的离子对相互作用而离开囊泡表面. 因此, 这一光谱变化证实吸附聚集已被瓦解掉. 如果甲基橙正离子也形成聚集, 将会产生相对于单体吸收波长移动, 但 pH=3 时混合体系的光谱显示长波吸收与其相同 pH 单纯水溶液光谱一致, 同时在此条件下不易形成沉淀, 表明形成的甲基橙酞式正离子并未重新在囊泡表面形成聚集, 其原因显然可归结为正电荷的排斥作用. 另外, 从 pH = 1 时的吸收可进一步看出瓦解作用的存在. 由于强酸性条件下, 囊泡双分子膜会由于席夫碱基的质子化而部分被瓦解^[5], 促使甲基橙聚集产生解离, 使位于 500 nm 的吸收加强. 与酸性条件下相反, pH=9 时, 甲基橙的吸收与中性条件下相同, 显示出甲基橙在碱性条件下吸附与聚集的稳定性. 从吸收波长与 pH 变化关系可以得出, 产生聚集与解聚的 pH 与甲基橙的 pH 变色点相符, 证实只有碱式结构的甲基橙能够在膜表面产生吸附聚集作用.

图 2(c) 给出了纯达旦黄溶液的吸收谱. 中性和碱性条件下吸收谱基本不变, 酸性条件下最大吸收波长只有很小的红移. 因此, 可利用吸收峰的变化明确比较混合体系中酸度对吸附聚集的影响. 如图 2(d) 所示, 达旦黄的吸收谱在酸性条件下, 因聚集产生的红移由于形成磺酸和质子化作用而减小 ($\lambda_{max} = \sim 420 \text{ nm}$) 并接近于纯达旦黄水溶液在此 pH 条件下的吸收, 清楚表明吸附聚集作用被削弱, 来自单体的吸收增强. 与此相反, 碱性条件下其吸收红移因达旦黄离子吸附能力增大而大大加强, 最大吸收值甚至红移到 480 nm. 这也说明强吸附产生更强的聚集作用.

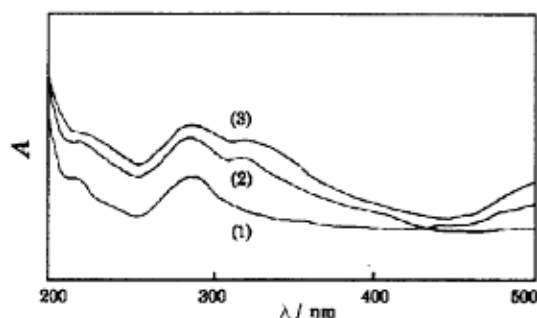


图4 甲基橙和囊泡 $C_{12}SBC_4N^+$ 混合溶液相对于纯甲基橙水溶液的差减电子吸收光谱

Fig.4 The difference spectra of $C_{12}SBC_4N^+$ vesicle and MO aqueous mixture to pure MO aqueous solution with the same concentration ($\times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
(1)0.0; (2)1.6; (3)4.7

2.3 染料吸附与温度的关系

如果染料的聚集是由于在囊泡表面的离子吸附产生,这种聚集作用将会因囊泡聚集结构的变化而改变.图 3a(1) 给出了囊泡体系中甲基橙吸收峰值波长与温度的关系.低于 40°C 时, $C_{12}SBC_4N^+$ 囊泡双分子膜处于凝胶相,此时甲基橙的最大吸收波长基本保持在 405 nm 不变.当温度升到 $40\text{--}55^\circ\text{C}$ 时,出现约 20 nm 的红移.这一显著变化的温度范围与囊泡的相变温度 47.5°C 相近,显示出甲基橙的聚集依赖于囊泡的聚集有序性.在 $55\text{--}75^\circ\text{C}$, 囊泡双分子膜处于液晶态,这时甲基橙的聚集吸收基本保持在 $420\text{--}425 \text{ nm}$, 接近其在胶束体系中的吸收^[8,9], 表明二者对甲基橙聚集作用有相近的性质.在更高的温度,随着囊泡双分子膜被瓦解, λ_{max} 红移进一步加大,

而接近其分散体系的吸收,说明甲基橙的聚集也随之瓦解.温度对甲基橙聚集的解聚作用还表现在 464 nm 处的吸收逐渐增强.因此,甲基橙的吸收红移既表明其聚集结构变化,也表明其聚集的解聚.以 405 nm 和 465 nm 处吸收强度比值 I_{405}/I_{465} 对温度作图如图 3a(2), 可以看出在 $40\text{--}50^\circ\text{C}$ 强度比发生显著变化.若把此比值看作是甲基橙聚集体和单体之间平衡分布,则在突变温度时甲基橙之间的聚集相互作用被大大削弱.根据囊泡体系的相变模型,在相变温度以上,双分子层排列并不改变,只是分子间的流动性增大,形成松散的液晶态双层.由于这种结构状态仅使其表面变得粗糙,表面电荷仍然存在,使甲基橙并未完全分散到溶液中去,而是与胶束体系相似,仍以相对松散的形式聚集在膜表面.

达旦黄在囊泡混合体系中的吸收光谱随温度变化呈现另外一种情形,如图 3(b),随温度的增加,达旦黄的 λ_{max} 首先产生一定的向红移动并在接近 40°C 时达到最大,继续升温则向蓝移动并在约 70°C 时移到与分散状态吸收值相近的位置.红移应发生在囊泡的相变前,而蓝移应发生在相变后,但转变的温度较之纯囊泡双分子膜的相变温度低一些.鉴于达旦黄是比甲基橙大得多的分子,且分子内存在可导致共轭基团构象变化的单键,在低于囊泡相变温度时,升高温度有利于增强有序聚集.但是在相变温度以上时达旦黄的聚集同样会因为囊泡表面的粗糙化和被瓦解而解聚.

2.4 染料离子吸附对囊泡双分子层聚集结构的影响

考虑到金属离子吸附对磷脂类脂质体的聚集结构有较强的作用^[10],染料离子在表面活性剂囊泡表面的强烈吸附亦应会影响到膜的聚集结构.表 1 给出了 $C_{12}SBC_4N^+$ 囊泡双分子膜水溶液及其分别与甲基橙和达旦黄混合溶液的 DSC 测定结果.吸附了染料的囊泡双分子膜,其相变温度明显低于纯囊泡溶液的相变温度.这一结果与前述混合体系变温吸收谱给出的转变温度相符,

表明染料的吸附对囊泡双分子膜聚集结构确有较强的作用. 由于甲基橙和达旦黄均为大的共轭阴离子, 而 $C_{12}SBC_4N^+$ 的离子头基相对较小, 如果吸附为强离子对结合, 则囊泡表面会因形成离子对变得松散, 从而降低了相变温度. 达旦黄的共轭基团更大, 相变温度也更低. 为了证实这一推测, 图 4 是利用相同染料浓度的纯染料水溶液差减囊泡染料混合体系的结果. 从图中可看到, 吸附了甲基橙后 $C_{12}SBC_4N^+$ 的吸收明显不同于纯囊泡溶液在相同温度 (20 °C) 的吸收, 而是接近于其在相变点时的吸收. 已经知道, 囊泡中席夫碱生色基随条件不同最大吸收位于 $\lambda_{max}=280$ nm 和 330 nm, 并因构象异构化作用对环境的变化非常敏感, 在从凝胶态向液晶态转变时将会在特征吸收区间由单峰变为双峰^[4]. 这里双峰表明 $C_{12}SBC_4N^+$ 已不同于 20 °C 的凝胶态, 聚集紧密性降低, 但其波长和强度比又说明它比相变时的结构更紧密一些. 囊泡达旦黄混合溶液和纯达旦黄的差谱与这一现象类似, 进一步支持了 DSC 结果和上述推测.

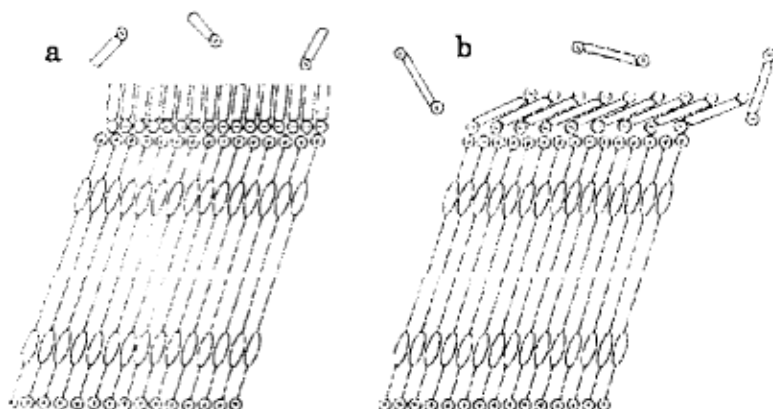


图 5 染料甲基橙和达旦黄阴离子静电吸附在囊泡 $C_{12}SBC_4N^+$ 表面的示意图
 Fig.5 The schematic pictures of dye anions MO and TY attracted electrostatically on the $C_{12}SBC_4N^+$ vesicle in aqueous solution
 (a) for MO; (b) for TY

表 1 囊泡 $C_{12}SBC_4N^+$ 在不同体系中的相转变温度

Table 1 The temperatures of phase transition of vesicle under different condition

Sample	Vesicle	Vesicle+MO	Vesicle+TY
$T_c / ^\circ C$	47.5	44.9	35.0

3 结论

根据上述结果和讨论可以得出, 染料离子通过静电相互作用吸附在囊泡双分子膜的表面并形成有序聚集, 如图 5 所示, 对不同的染料, 吸附聚集结构可以是 H- 聚体或 J- 聚体. 增强静电相互作用促进聚集, 反之则削弱聚集甚至解聚. 染料的聚集依赖于囊泡双分子膜的聚集态, 凝胶态双分子膜因具有更为规整的外表面而有利于染料离子的聚集并产生比胶束体系更大的激子态效应. 染料离子的大小和聚集对双分子膜的聚集结构有明显的相互作用, 离子面积大, 使成膜分子间相互作用减弱并导致相变温度降低.

参 考 文 献

- 1 Fendler J H. in *Membrane Mimetic Chemistry*, New York: John Wiley & Sons, 1982
- 2 Robinson J N, Cole-Hamilton D J. *Chem. Review*, 1991, 49
- 3 Shimomura M, Ando R, Kunitake T. *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, 1983, 87:1134
- 4 Liang Yingqiu, Wu Lixin, Tian Yongchi, et al. *J. Colloid and Interface Sci.*, 1996, 178:703
- 5 Liang Yingqiu, Zhang Zhiqiang, Wu Lixin, et al. *J. Colloid and Interface Sci.*, 1996, 178:714
- 6 Li Guowen, Tian Yongchi, Liang Yingqiu. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 1993,
- 7 Gehlen M H, Ferreira M, Neumann M G. *J. Photochem. Photobiol., A: Chem.*, 1995, 87:55
- 8 Bak-Kwang K, Akira K, Yutaka S, et al., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1975, 48(5): 1394
- 9 Menger F M. *Acc. Chem. Res.* 1979, 12:111
- 10 Yuan Chunbo(袁春波), Zhao Daqing(赵大庆), Wu Yijie(吴亦杰), et al. *Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao(高等学校化学学报)*, 1996, 17(1): 10

Adsorption, Aggregation of Dye Anions on the Surface of Aqueous Vesicle Bilayer and their Influence on Membrane Structure

Wei Junhua Wu Lixin Wu Ying Li Guowen

(¹Key Laboratory for Supramolecular Structure & Spectroscopy, Jilin University, Changchun 130023)

Abstract Adsorption, aggregation and membrane structure of dye anions such as methyl orange(MO) and titan yellow(TY) on the cationic surface of vesicle bilayers containing schiff base were studied systemetically. The adsorption and aggregation were revealed through the wavelength shift of absorption maximum and precipitation produced in binary mixture. Blue shift and red shift showed that the aggregate structure was H-aggregate for MO and J-aggregation for TY respectively. pH dependences of dyes in mixture systems indicated that the MO aggregates formed at high pH would be destroyed under low pH, which resulted from the cationic structure formation. TY aggregates were also disaggregated in considerable scale at low pH because of partial protonation, but strong red shift occurred at high pH. With temperature increasing, the aggregation of dyes would gradually be disintegrated following the change states of vesicle bilayer from gel to liquid crystal and finally to molecular dispersion. Differential Scanning Calorimetry(DSC) showed that the adsorption of dyes had an action to decrease the phase transition temperature of vesicle and the differential spectra confirmed that the aggregate interaction of vesicle bilayer was weakened.

Keywords: Dye, Vesicle bilayer, Aggregation and absorption

Received 1997-02-21, revised 1997-05-14. Correspondent: Wu Lixin.