

声学学报创刊 40 周年纪念论文

脉冲光声方法研究液相光化学和光生物化学反应^{*}

张淑仪

(南京大学声学研究所 近代声学国家重点实验室 南京 210093)

2003 年 12 月 26 日收到

2004 年 3 月 8 日定稿

摘要 利用脉冲光声技术, 研究液相光化学和光生物化学反应过程, 在基本理论和实验技术两方面都有了重要的发展, 为直接测定其反应动力学和热力学参量提供有效的方法, 并广泛应用于测定各种有机化合物、配合物和动植物蛋白质分子在溶液中的光解反应, 对光解反应引起的焓变、结构体积变化以及瞬态中间产物的寿命和量子产率给出丰富的信息。本文对有关领域在国内外的主要进展作了简要的介绍, 并提出今后需要研究的一些问题。

PACS 数: 43.85

Applications of pulsed photoacoustic methods to study photoinduced chemical and biochemical reactions in solutions

ZHANG Shuyi

(Lab of Modern Acoustics, Institute of Acoustics, Nanjing University Nanjing 210093)

Received Dec. 26, 2003

Revised Mar. 8, 2004

Abstract Pulsed photoacoustic methods have been used to study photoinduced chemical and biochemical reactions in solutions. The important developments of the studies have been achieved in basic theories and experimental techniques, which provide direct measurements of the kinetic dynamics and thermodynamics processes of photoinduced chemical and biochemical reactions in solutions. The applications of the methods include the studies of the photoinduced reactions of organic compound, complex and protein molecules of human, animals and plants. The information on the enthalpy and conformational volume changes of the reactions, as well as the lifetimes and quantum yields of the transient intermediate species, has been obtained in rich. In this paper, the main progresses of the related fields are introduced briefly and some problems that need to be studied are indicated.

引言

一个多世纪以来, 科学家设计了多种光谱技术, 用以“看”各种分子的结构和反应动力学。而 50 多年来建立的各种脉冲光声技术, 可用以“听”化学反应及其过程。脉冲光声效应通常是指脉冲调制的光束照射物质时, 物质吸收光能产生热波, 并随之由热弹(膨胀)效应产生脉冲声波。因此, 脉冲光声信号可用以测定激光诱导瞬态物理、化学或生物等的变化过程。在 20 世纪 70 年代以前, 瞬态光声效应检测是由频闪光作为激发源, 接收系统则采用电容传声器, 形成时间分辨光声谱技术, 也称为闪光光声谱技术, 其时间分辨率一般在 ms 或亚 ms 范围。根据光声信号

随热弹参量(如体积膨胀系数)的变化关系, 成功地用于确定有机化合物、有机金属化合物和蛋白质分子等溶液中光诱导反应过程中发生的焓变、体积变化及量子产率等^[1-3]。20 世纪 70 年代以后, 应用 μs 或 ns 脉冲激光作为光源激发声波, 由于激光的高光子密度和高单色性, 有可能用于研究其与物质相互作用中产生的各种过程。同时, 利用压电换能器接收, 时间分辨率可达到 μs 至 ns 范围^[4-6]。20 世纪 80 年代, 形成以 ps 脉冲激光作为激发源的时间分辨光声谱技术, 应用于快速化学和生物化学反应热力学和动力学研究^[7,8]。至 20 世纪 90 年代, 形成以 fs 脉冲激光作为激发源的时间分辨光声谱技术^[9]。

实质上, 脉冲光声技术提供一种直接测定激光

^{*} 国家自然科学基金资助项目 (10174038)

诱导瞬态物理、化学或生物等变化过程所产生的热能, 所以也称为光声量热法。时间分辨光声量热法第一次为快速反应过程提供直接测定反应热焓的方法。近年来, 由于超短脉冲激光技术和微弱信号检测技术飞速发展, 以及压电换能器的高灵敏度和易于安装, 对光声量热法的研究及其应用, 引起越来越广泛兴趣和重视。人们开始对这类问题进行细致的实验测量和严格的理论预计, 并广泛应用于光诱导的化学和生物化学动力学和热力学方面的研究^[10-12]。有关研究所取得的信息和数据, 主要是关于光解反应过程中产生的焓变和体积变化等参量, 常常是其他方法所难以得到的, 甚至是不可能得到的。

在我国, 宋小清等曾研制光声量热装置, 并用以研究香豆素激光染料无辐射跃迁过程^[13], 南京大学光声科学实验室与配位化学实验室合作, 在激光超声技术的基础上, 发展光声量热技术, 并对具有生物活性的有机金属配合物以及氧化血红蛋白的光化学或光生物化学反应进行了研究, 包括对激光诱导瞬态产物引起的焓变、结构体积变化、中间瞬态产物的寿命及其量子产率等的测定^[14-17]。

1 原理

1.1 液体中的脉冲光声效应理论

自 20 世纪 60 年代以来, 液体的光声效应有过许多研究。Askar'yan 等首先利用脉冲激光在液体中激发超声波^[18]。Hu 则曾经对强吸收液体, 如高浓度的染料等, 在可见光范围内基本上是不透明的情况下产生的声场提出了理论计算^[19], 此时聚焦激光束引起的热源基本上为半球形。对于弱吸收的情形, 光束通过液体时激光束引起的热源基本上为圆柱形。Patel 等^[20]和 Lai 等^[21]曾分别对圆柱形热源产生的声场提出了严格的理论。随后, Heritier 又对圆柱形热源的情况发展了近似的理论分析^[22]。后面三种理论结果基本上是一致的。

当激光照射于液体时, 液体由于吸收光能而加热, 结合电致伸缩效应, 从而激发声波。在可见光波段, 液体通常是弱吸收, 因此热弹源常常是圆柱(光柱)形式。对于激发光的脉冲宽度小于 μs 范围时, 在激发脉冲时间内声波传播距离比液体的体积小很多, 所以在大部分情况下, 脉冲形状与边界反射无关, 即考虑液体为无限大, 如图 1 所示^[20-22]。

根据运动方程和热膨胀方程:

$$\rho \frac{\partial^2 u}{\partial t^2}(r, t) = -\nabla p(r, t), \quad (1)$$

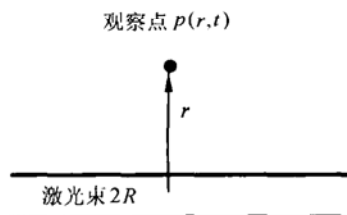


图 1 柱状光源激发声波的示意图

$$\nabla u(r, t) = -\frac{p(r, t)}{\rho v^2} + \beta T(r, t) - \frac{\gamma I(r, t)}{2nc_0 \rho v^2}, \quad (2)$$

式中 $u(r, t)$ 是液体的位移, $p(r, t)$ 是声压, $T(r, t)$ 是温度增量, ρ 是密度, v 是声速, β 是热体积膨胀系数, γ 是电致伸缩系数, n 是折射率, c_0 是真空中光速, $I(r, t)$ 是激光脉冲强度。由 (2) 式得到:

$$\frac{1}{\rho v^2} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2} + \nabla \cdot \frac{\partial^2 u}{\partial t^2} = \beta \frac{\partial^2 T}{\partial t^2} - \frac{\gamma}{2nc_0 \rho v^2} \frac{\partial^2 I}{\partial t^2}. \quad (3)$$

将 (1) 式代入 (3) 式, 且利用:

$$\frac{\partial^2 T}{\partial t^2} = \frac{\alpha}{\rho C_p} \frac{\partial I}{\partial t}, \quad (4)$$

式中 α 是光吸收系数, C_p 是定压比热。当激光脉冲宽度很小时, 其宽度远小于热扩散时间, 此时热扩散可忽略不计, 由此可得到声压表示式为:

$$\left(\frac{1}{v^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} - \nabla^2 \right) p = \left(\frac{\alpha \beta}{C_p} \frac{\partial}{\partial t} - \frac{\gamma}{2nc_0 v^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} \right) I. \quad (5)$$

对于一般液体, 在室温下, γ 很小, 即电致伸缩压力比热膨胀压力小很多, 因此电致伸缩效应可忽略不计, 于是 (5) 式可简化为^[23]:

$$\left(\frac{1}{v^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} - \nabla^2 \right) p = \frac{\alpha \beta}{C_p} \frac{\partial I}{\partial t}. \quad (6)$$

引入速度势函数 $\phi(r, t)$, 且 $p = \frac{\alpha \beta}{C_p} \frac{\partial \phi}{\partial t}$, (6) 式可简化为:

$$\left(\frac{1}{v^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} - \nabla^2 \right) \phi(r, t) = I(r, t). \quad (7)$$

设入射脉冲激光束在时间和空间上均为 Gauss 分布, 且半径为 R , 脉冲宽度为 τ_p , 则光强分布可表示为:

$$I(r, t) = \frac{E}{(2\pi)^{3/2} R^2 \tau_p} \exp \left(-\frac{r^2}{2R^2} - \frac{t^2}{2\tau_p^2} \right), \quad (8)$$

式中 E 为激光脉冲能量。

对于半无限长的窄脉冲激光束, 半径为 $R = R_n (R_n < v\tau_p)$, 由 (7) 和 (8) 式可解得:

$$\phi = K \tau_e^{-1/2} \phi_0(\xi), \quad (9)$$

式中 $K = (2\pi\sqrt{2})^{-1} E(v/r)^{1/2}$, $\tau_e = (\tau_p^2 + \tau_a^2)^{1/2}$ 为声源脉冲的宽度, τ_a 是声波通过光束的时间。

$$\phi_0(\xi) = \sqrt{\frac{\pi}{8}} |\xi|^{1/2} \exp(-\xi^2/4) \left[\frac{\sqrt{2}}{\pi} K_{1/4} \left(\frac{\xi^2}{4} \right) + 2\theta(\xi) I_{1/4} \left(\frac{\xi^2}{4} \right) \right], \quad (10)$$

式中 $\xi = (t - r/v)/\tau_e$, $\theta(\xi) = \frac{1}{2}[\text{sgn}(\xi) + 1]$ 是单位阶跃函数, $K_{1/4}$ 和 $I_{1/4}$ 是虚宗量的 Bessel 函数。于是窄脉冲激光束激发的声压脉冲 $p_n(r, t)$ 为:

$$p_n(r, t) = \left(\frac{\alpha\beta E}{8\pi^{1/2}C_p} \right) \left(\frac{v}{r} \right)^{1/2} \tau_e^{-3/2} \frac{d\phi_0(\xi)}{d\xi}, \quad (11)$$

将 $\phi_0(\xi)$ 及其导数对 ξ 作图, 可显示声压脉冲形状, 如图 2 所示。

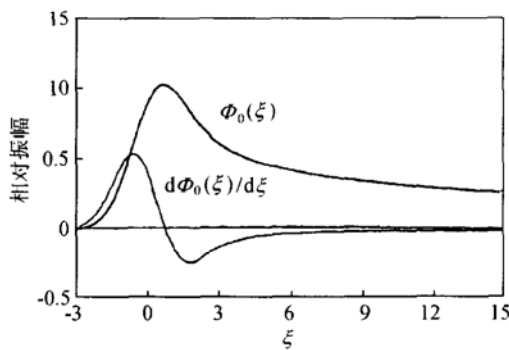


图 2 $\phi_0(\xi)$ 和 $d\phi_0(\xi)/d\xi$ 对 ξ 作图

根据以上理论, 声压脉冲的峰值 $p_{np}(r, t)$ 主要决定于以下因子:

$$p_{np}(r, t) \approx \pm \frac{\alpha\beta E}{8\pi^{1/2}C_p} \left[\frac{v}{r} \right]^{1/2} \tau_e^{-3/2}, \quad (12)$$

我们认为, 如果液体存在非辐射弛豫, 且弛豫时间为 τ_r , 则:

$$\tau_e^2 = (\tau_p^2 + \tau_a^2 + \tau_r^2)^{1/2}. \quad (13)$$

可以看出, 声压脉冲的幅值与激发激光脉冲宽度、光半径、溶液声速和弛豫时间有关, 脉冲宽度越小, 声压脉冲幅值越高, 光声压力波形随弛豫时间的变化如图 3 所示。显然, 声压脉冲的宽度是决定脉冲光声方法时间分辨率的关键因素之一, 为提高其时间分辨率, 激光脉冲宽度和光束半径都要尽量减小, 而声速和弛豫时间则决定于溶液的特性, 因此不同的溶液有不同的时间分辨率。

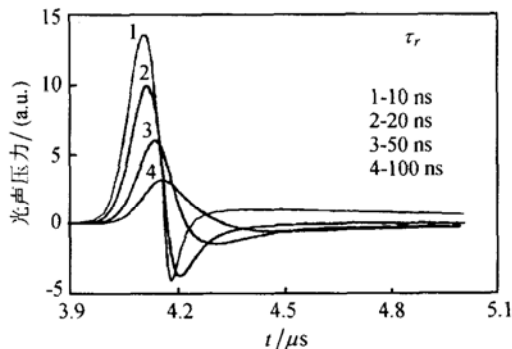


图 3 不同弛豫时间的光声压力波形

对于宽脉冲激光束, 光束半径 $R = R_w (R_w > v\tau_p)$, 声压脉冲峰值 $p_{wp}(r, t)$ 可表示为:

$$p_{wp} = \frac{\beta v^2 E \alpha}{\pi R_w^{3/2} C_p r^{1/2}}. \quad (14)$$

从式 (12) 和 (14) 得知, 声压峰值与激发光的能量成正比, 且有宽脉冲激光束的声压峰值与窄脉冲声压峰值之比为:

$$\frac{p_{wp}(r, t)}{p_{np}(r, t)} \sim \left(\frac{v\tau_e}{R_w} \right)^{3/2} < 1. \quad (15)$$

1.2 脉冲光声量热法原理

通常, 当溶液吸收光能受激发以后, 产生多种效应, 主要有三个方面: 产生辐射跃迁 (如发射荧光, 磷光), 通过非辐射跃迁释放热量, 以及产生化学反应产物 (包括中间态), 即光诱导化学或生物化学反应。根据能量守恒原理, 能量的分配可表示为^[10]:

$$E_a = \phi_f E_f + \alpha_{th} E_a + \phi_{st} E_{st}, \quad (16)$$

式中 E_a 是吸收的光能。在等号右边, 第 1 项代表荧光发射, ϕ_f 是荧光量子产率, E_f 是荧光能级的能量; 第 2 项代表无辐射去激励产生的热能, α_{th} 是光热转换系数; 第 3 项代表储存在长寿命产物 (包括中间产物) 中的能量, ϕ_{st} 是长寿命产物的量子产率, E_{st} 是长寿命产物的能量。

1.2.1 焓变与结构体积变化

在脉冲光声实验中, 一般认为溶液吸收光能后, 引起溶液体积变化, 产生声波, 因此光声信号可表示为^[24]:

$$S = K \Delta V, \quad (17)$$

式中 S 为光声信号, K 为实验系统决定的常数, ΔV 为体积变化。

当溶液在光照之下发生化学变化时, 则通常认为体积变化由两个因素引起: 式 (16) 中第 2 项所代表的热效应, 即无辐射去激励过程引起热胀冷缩体积变化; 以及其第 3 项所代表的光诱导化学反应, 即化学结构变化引起的体积变化。因此 (17) 式可改为:

$$S = K(\Delta V_{th} + \Delta V_{con}), \quad (18)$$

式中 ΔV_{th} 为无辐射去激励过程引起热胀冷缩体积变化 (主要由溶剂引起):

$$\Delta V_{th} = \alpha_{th} E_a (\beta / \rho C_p), \quad (19)$$

而 ΔV_{con} 则为化学结构体积变化 (主要由溶质引起)。因此, 所测试的溶液 (样品) 的光声信号表示为 S_{samp} :

$$S_{samp} = K(\alpha_{th} E_a \beta / \rho C_p + \Delta V_{con}), \quad (20)$$

为消除 K 的影响,用一种参比溶液进行校正,要求具有与所测试的溶液相同的溶剂和光吸收系数,且无化学反应产生,即 $\alpha_{th} = 1$ 。则有参比溶液的光声信号 S_{ref} :

$$S_{ref} = KE_a\beta/\rho C_p, \quad (21)$$

所测试的溶液的光声信号与参比溶液的光声信号之比为 φ :

$$\varphi = \alpha_{th} + \frac{\Delta V_{con}}{(\beta/\rho C_p)E_a}. \quad (22)$$

如参比溶液的光声信号随温度的变化函数为 $f(T)$, 即 $f(T) = (\rho C_p/\beta)T$, 则有:

$$\varphi E_a = \alpha_{th}E_a + \Delta V_{con}f(T). \quad (23)$$

由式(23)可知, φE_a 随 $f(T)$ 成线性关系。将 φE_a 对 $f(T)$ 作图, 如图4所示。图4中斜线的截距为 $\alpha_{th}E_a$, 即为样品中光能转换为热能部分, 而化学反应产生的瞬态物质相对于反应物质的相对焓变 $\Delta H_R = (1 - \alpha_{th})E_a$, 即可由此截距求得。其斜率 ΔV_R 即为相对结构体积变化。

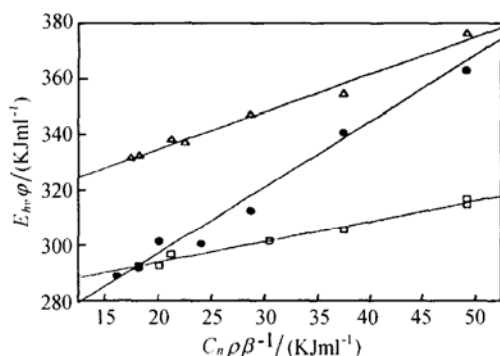


图4 $E_a\varphi$ 对 $C_p\rho\beta^{-1}$ 作图: 中性水溶液中 Adobl(Δ) 和 $CH_3Cbl(\cdot)$ 以及 0.05 克分子 HCl 水溶液中 $CH_3Cbl(\square)$ (溶液浓度都是 1.5×10^{-5} 克分子)

考虑光诱导瞬态产物的量子产率为 Q , 则反应焓变 ΔH 和结构体积变化 ΔV_{con} 分别为:

$$\Delta H = (1 - \alpha_{th})E_a/Q, \quad (24)$$

$$\Delta V_{con} = \Delta V_R/Q. \quad (25)$$

因此, 当量子产率 Q 测定以后, 从图4中斜线的截距和斜率即可求出反应的焓变和体积变化。

1.2.2 量子产率

对于简单的光解反应过程, 当光强比较弱, 光解反应满足线性关系, 则反应速率常数可写为^[25]:

$$R_l = R_0 + QI\varepsilon, \quad (26)$$

式中 R_0 为无光照时的系统常数, ε 为摩尔消光系数。利用光学或光声方法可测得光诱导产物的反应速率常数 R_l 随光强 I 的变化, 则将 R_l 对光强作图,

其截距即为 R_0 , 而根据直线的斜率即可求得量子产率 Q 。

1.2.3 瞬态(中间)产物寿命

对于单一过程的瞬态产物而言, 其产生的声信号 $P(t)$ 可近似地写为:

$$P(t) = \frac{A}{\tau}e^{-t/\tau}, \quad (27)$$

式中 A 为声压幅值, τ 为瞬态产物的寿命。

当测试系统的时间分辨率与瞬态反应的时间范围相适应时, 根据实验得到的光声信号 $S(t)$ 是声压函数 $P(t)$ 和实验系统的响应函数 $H(t)$ 的卷积^[8], 则有:

$$S(t) = P(t) \otimes H(t). \quad (28)$$

由于参比溶液无化学反应产生, 其光声信号 $S_{ref}(t)$ 即代表实验系统的响应函数 $H(t)$, 因此, $H(t)$ 可近似的由 $S_{ref}(t)$ 代替。于是, 样品的光声信号 $S_{samp}(t)$ 可改写为:

$$S_{samp}(t) = P_{samp}(t) \otimes S_{ref}(t). \quad (29)$$

因此, 样品中的声压 $P_{samp}(t)$ 可以通过解卷积算法从(29)式求得, 解卷积步骤包括确定 A 和 τ 。

对于同时或相继发生的多个反应过程, 则得到的声压为各个瞬态过程产生的声压之和:

$$P(t) = \sum_i (A_i/\tau_i)e^{-t/\tau_i}, \quad (30)$$

式中 A_i 和 τ_i 分别为第 i 个过程或产物的声压幅值和寿命。根据相似的运算, 即可求得各单个瞬态产物的寿命。

2 实验方法

用以研究液相光化学和光生物化学反应的光声量热法有多种方案, 近年来比较典型的实验方法如图5所示^[26,27]。

在我们的实验系统方框图[图5(a)]中, 激发光源为 Nd:YAG 激光器, 发射脉冲宽度为 8 ns、重复频率为 10 Hz 和波长为 1064 nm 的脉冲光, 经信频晶体产生二倍频波长为 532 nm 或三倍频波长为 355 nm 的光束, 可根据溶液吸收系数选用不同的波长。通过中性滤波器或可调衰减器, 使光能量减为 μJ 量级, 以保证光声效应在线性范围, 避免饱和或非线性现象。经分束镜后, 由透镜聚焦于溶液小槽中。作为接收换能器, PZT 压电陶瓷圆片, 带宽为 MHz 范围, 粘于液槽的侧面接收脉冲声波。也可用 PVDF 压电薄膜接收, 可得到带宽更宽、时间分辨率更高的响应。换能器输出电信号经前置放大器输入宽带数字示波

器。同时,脉冲激光器输出信号触发示波器。最后,示波器输出光声信号至计算机进行数据处理。显然,实验系统的时间分辨率主要决定于激发脉冲宽度以及换能器的带宽。为了提高信噪比,接收的光声信号常常重复 100 次以上求平均值。

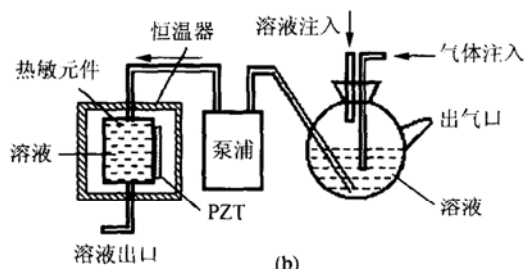
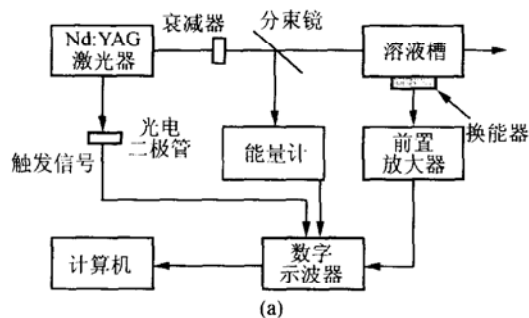


图 5 光声量热法实验框图

另一方面,分束镜反射一小束激光至能量计,并输入至示波器的第二通道,用以监测脉冲激光的稳定性。为测定光声信号随溶液温度的变化关系,溶液温度可在 $0^{\circ}\text{C}\sim 30^{\circ}\text{C}$ 范围内变化,因此测定时间比较长,保持激光功率稳定是很重要的。

有关溶液的制备,根据所测的溶液特性,采用不同的方法对溶液进行制备和处理。通常,为保证测试溶液的化学成分,配置好的溶液在测试之前需经过除(充)气等处理。试验时溶液温度要进行调控,可采用图 5(b) 所示的设备及流程。

其实验结果如图 6 所示,从图 6 可看出检测的声波脉冲的宽度和波形,通常其宽度比理论预计要宽得多,因为宽度和波形很大程度上决定于换能器和实验系统的响应,所以实验系统的响应是决定脉冲光声技术的时间分辨率的另一重要因素。

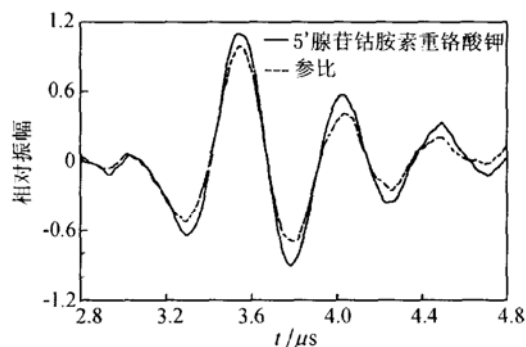


图 6 光声实验波形

对于声信号接收装置,存在几种不同的方案。为了改善时间分辨率,将小尺寸的 PVDF 压电薄膜圆片直接浸在液体中^[6],其时间分辨率可达 25 ns,但灵敏度下降。为改进灵敏度,可采用圆管形压电陶瓷,溶液直接置于其中^[28],避免换能器与容器壁之间耦合不佳的问题,缺点是不能用以测定与换能器陶瓷可能发生化学反应的溶液。亦可用石英圆管外围绕压电薄膜组成液槽,虽然同样存在薄膜与石英管的声耦合问题,但是声能的利用率比较高,因此灵敏度相对较高。有关圆管形换能器接收液体中轴向光声激发源产生声波的波形,曾做过详细的实验和理论研究^[29,30]。

曾利用光学方法检测光声信号,由于光学方法通常具有宽动态范围且为非接触式,可改善接收系统的时间分辨率。我们利用激光外差干涉仪(光探针)探测溶液中光声信号,实验方法如图 7 所示^[31],并对多种有机和有机金属化合物的光解反应动力学过程进行了研究。

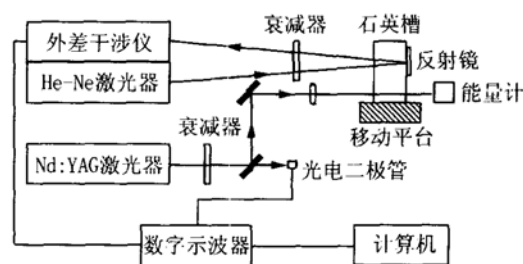


图 7 激光外差干涉仪检测瞬态光解反应实验框图

3 应用结果与讨论

3.1 有机化合物光反应

有机化合物反应的中间产物常常认为是自由基或自由基对,因此估计自由基和自由基对的生成热是很重要的。然而在脉冲光声量热法发展之前,几乎没有自由基的准确热化学资料。Rothberg 等最早利用光声量热法研究二苯酮的光致还原中形成的自由基对的反应热^[8],是光声量热法在有机化学中最早的应用之一。

另外,Platz 等对于碳烯活性的研究,虽然发展了多种方法,但进展甚微。直到光声量热法发展以后,才能测量各种碳烯生成及其反应的焓变^[32]。

近来,由于嘌呤的三重态的高产率,在光生物学和光化学中有重要作用,但用传统方法难以检测。Gensch 等对此问题进行了研究^[27],得到其三重态的焓变,体积变化和量子产率的数据。这是第一次获得

有关的数据,为了解光损伤和光合成的动力学机制及电子转移过程等提供具有重要价值的资料。

此外,许多工作对 O-H 键、C-H 键和 C-C 键等的离解能和分子共振应变能等进行定量测定,这些都依赖于脉冲光声量热法特有的功能^[33,34]。

3.2 有机金属配合物光反应

在有机金属化学中,测定金属-配体、金属-金属和金属-氢等的键解离能是很重要的。例如由于难以得到精确的金属-配体键强度,妨碍对金属团簇的反应率和稳定性的预计。光声量热技术为测定金属-配体键能和量子产率作出了许多重要贡献^[16,35]。

对于具有生物活性的天然有机金属配合物辅酶 B₁₂,作为新陈代谢以及 DNA 合成有关的一系列酶反应的天然辅因子,在生物的多种分子内结构重排及核苷酸还原反应中起重要作用。我们利用时间分辨脉冲光声量热法,对辅酶 B₁₂ 及其模型化合物(包括 5'-钴胺素辅酶,甲基钴胺素(维生素 B₁₂)等)的光解反应热力学和动力学进行了研究,测定其反应焓变、体积变化、量子产率及其反应速率等等,并由此计算可得到 Co-C 键离解能^[26,36-39]。其中许多数据属于首次得到,为进一步理解辅酶 B₁₂ 的生物功能和酶反应机理提供新的资料。

同时,对不同有机金属配合物的金属-金属和金属-氢的键解离能的研究也有许多重要结果^[33,40]。

3.3 生物光敏色素光反应

视紫素是生物的光传感器,其光敏反应过程的探索引起广泛的重视。Braslavsky 小组利用光声量热法对细菌视紫素的研究,曾有相当多论文发表,主要测定其焓变和体积变化,以及量子产率等,并将光致变色与其电荷重组和蛋白质结构改变相联系^[9,41,42]。Rohr 等采用 fs 脉冲激光研究视紫素,这是第一次采用 fs 脉冲激光研究生物分子,并建立适合于 fs 激光脉冲诱导光反应的动力学和热力学理论^[9]。由于视紫素的光解体积变化很小,只有光声量热法才能检测得到。

植物光敏色素和叶绿素的光诱导瞬态产物的焓变、结构体积变化和量子产率的测定,同样引起人们的重视,从量子产率可以确定分子能量耦合和损耗情况^[43,44]。

3.4 蛋白质光反应

为了解蛋白质的分子运动与其功能之间的关系,主要是要发展酶活动模型。然而,如果不了解参与蛋白质反应的瞬态中间物质的特征,结构模型是不完全的。为了解蛋白质中间物的信息,已采用了

许多方法,但缺少焓变动力学的资料。利用光声量热法研究蛋白质光反应,可以得到其焓变等光解动力学信息。过去 10 多年来,主要的工作是利用脉冲光声技术研究肌红蛋白-一氧化碳配合物(MbCO)和血红蛋白-一氧化碳配合物(HbCO),为蛋白质动力学的研究提供直接测量。

MbCO 包含着生命的许多基本过程,研究 MbCO 的光解和再复合是为了了解驱使各种生物活动的分子机制的基本步骤^[45]。从一系列不同温度、浓度、PH 值的条件下得到的光解信息,建立了光解动力学模型和 MbCO 光解 CO 的途径等等。Leung 等和 Peters 曾对人、马和鲸鱼等的 MbCO 及光解去 CO 的肌红蛋白进行了相关的研究^[46-49]。

近年,我们研究了人和牛的氧合血红蛋白配合物(HbO₂)的焓变、体积变化和量子产率^[17,50]。观察到人的和牛的 HbO₂ 的光解反应特征值(焓变和体积变化)很相近,这可能是由于人和牛的基因序列非常相似。但人的 HbO₂ 和 HbCO 的光解反应特征值相差很大, HbCO 的焓变是 HbO₂ 的焓变的一半左右,而前者的体积变化是后者的四倍多。追究其原因,可能是由于在 ns-μs 实验中, HbCO 光解时, CO 约有一半扩散出蛋白质分子进入溶剂中,因此,体积变化要大得多。而 HbO₂ 光解时,大部分 O₂ 分子又重新与血红蛋白相结合,因而体积变化较小^[50]。同样,由于两者光解过程差别较大,故而焓变也有大的差异。

4 结束语

为了检测和研究时间分辨的光化学和光生物学反应过程,已经发展了多种方法和技术。其中,时间分辨光声量热法以其能直接测定光解反应中释放的热量等特有的功能,将溶液的焓变和体积变化分别测定,同时,还测定量子产率和瞬态产物寿命。应用光声量热法已对有机化合物、有机金属配合物、生物光敏物质和血红素蛋白质等多种溶液进行了测定和分析。由此研究了反应过程及反应物质寿命与其结构及其重组等的关系。为了解光化学和光生物学瞬态反应动力学和热力学过程的机制及作用,提供具有重要意义的数据。

但是,为了进一步研究溶液中短寿命的中间瞬态物质反应过程,光声量热法还需改进和提高,主要是换能器的材料和结构需进一步改进,以提高其接收灵敏度和时间分辨率。同时,对于有极性的有机溶剂,荷电物质无疑受溶剂的影响,必须发展新方法来测定其焓变和体积变化。

另一方面,在目前的光声效应理论中,对溶液的电致伸缩效应忽略不计。实际上,对于极性溶剂,电致伸缩效应对声波的贡献是不可忽略的。并且,对于不同的物质,不同的实验条件,光声量热理论也需要根据具体情况进行改进。

总之,光声量热技术已取得了丰富而重要的成果,为了在光化学和光生物学反应过程研究中发挥更大作用,在实验和理论两方面都还需要努力改进和发展。与光声技术密切相关的光热技术具有与光声技术相似的功能,引起了很大重视,已取得许多成果。虽然光热技术实验系统相对比较复杂,在时间分辨率与灵敏度两方面具有一些优势,同样是值得发展的方向。

参 考 文 献

- 1 Callis J B, Gouterman M, Danielson J D S. Flash calorimeter for measuring triplet yields, *Rev. Sci. Instrum.*, 1969; **40**(12): 1599—1605
- 2 Callis J B, Parson W W. Gouterman, Fast changes of enthalpy and volume on Flash excitation of chromatium chromatophores. *Biochim. et Biophys. Acta*, 1972; **267**: 348—362
- 3 Ort D R, Parson W W. Flash-induced volume changes of bacteriorhodopsin-containing membrane fragments and their relationship to proton movements and absorbance transients. *J. Biol. Chem.*, 1978; **253**(17): 6158—6164
- 4 Ort D R, Parson W W. Enthalpy changes during the photochemical cycle of bacteriorhodopsin. *J. Biophys. Soc.*, 1979; **25**: 355—364
- 5 Tam A C, Patel C K N. Two-photon absorption spectra and cross-section measurements in liquids. *Nature(London)*, 1979; **280**: 304—306
- 6 Komorowski S J, Eyring E M. Pulse shapes of nanosecond photoacoustic signals in liquids detected by piezoelectric foil. *J Appl. Phys.*, 1987; **62**(7): 3066—3068
- 7 Bernstein M, Rothberg L J, Peters K S. Time-resolved photoacoustic spectroscopy in the picosecond regime. *Chem. Phys. Lett.*, 1982; **91**(4): 315—318
- 8 Rothberg L J, Simon J D, Bernstein M, Peters K S. Pulsed laser photoacoustic calorimetry of metastable species. *J. Am. Chem. Soc.*, 1983; **105**(11): 3464—3468
- 9 Rohr M, Gartner W, Schweitzer G, Holzwarth A R, Braslavsky S E. Quantum yields of the photochromic equilibrium between bacteriorhodopsin and its bathointermediate K. femto- and nanosecond optoacoustic spectroscopy. *J. Phys. Chem.*, 1992; **96**(14): 6055—6061
- 10 Braslavsky S E, Heibel G E. Time-resolved photothermal and photoacoustic methods applied to photoinduced processes in solution. *Chem. Rev.*, 1992; **92**(6): 1381—1410
- 11 Peters K S. Time-resolved photoacoustic calorimetry: from carbenes to Proteins. *Angew. Chem. Ed. Engl.*, 1994; **33**: 294—302
- 12 李 刚, 陈慧兰, 张淑仪. 时间分辨脉冲光声量热法及其应用. *无机化学学报*, 1998; **14**(2): 133—141
- 13 宋小清, 陈建新, 张兴康, 徐广智, 唐有祺. 脉冲光声量热装置的研制及用之对香豆素激光染料无辐射跃迁过程的研究. *物理化学学报*, 1989; **5**(4): 463—467
- 14 Zhang S Y, Wu Z S, Fu S W. Time-resolved photoacoustic investigation of fast chemical reactions. *Acustica (united with Acta Acustica)*, 1996; **82**(Suppl.1): S123
- 15 Fu S W, Zhang S Y, Li G, Luo L B, Chen H L. Determination of reaction enthalpy and conformational volume changes by photoacoustic spectroscopy. *Spectro. Lett.*, 1997; **30**(7): 1395—1404
- 16 Luo L B, Li G, Chen H L, Fu S W, Zhang S Y. Laser-induced photoacoustic calorimetric determination of enthalpy and volume changes in photolysis of 5'-deoxyadenosylcobalamin and methylcobalamin. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1998: 2103—2107
- 17 Sun L, Zhang S Y, Chen H, Chen H L. Preliminary study of oxy-hemoglobin by time-resolved photoacoustic calorimeter method. In: *Proc. 15th Symposium on Thermophysical Properties*, eds. D. Friend & A. Mandelis, Boulder, Co. USA, Boulder, NIST/ASME, USA, 2003: 396—402
- 18 Askar'yan, Prokhorov G A, Chanturiya G F, Shipulo G P. The effect of a laser beam in a liquids. *Sov. Phys.-JETP*, 1963; **17**(6): 1463—1465
- 19 Hu C L. Spherical model of an acoustical wave generated by rapid laser heating in a liquid. *J. Acoust. Soc. Am.*, 1969; **46**(3, part 2): 728—736
- 20 Patel C K N, Tam A C. Pulsed optoacoustic spectroscopy of condensed matter. *Rev. Mod. Phys.*, 1981; **53**(3): 517—550
- 21 Lai H M, Young K. Theory of the pulsed optoacoustic technique. *J. Acoust. Soc. Am.*, 1982; **72**(6): 2000—2007
- 22 Heritier J M. Electrostrictive limit and focusing effects in pulsed photoacoustic detection. *Opt. Commu.*, 1983; **44**(4): 267—272
- 23 Tam A C. Application of photoacoustic sensing techniques. *Rev. Mod. Phys.*, 1986; **58**(2): 381—431
- 24 Herman M S, Goodman J L. Determination of the enthalpy and reaction volume changes of organic photoreactions using photoacoustic calorimetry. *J. Am. Chem. Soc.*, 1989; **111**(5): 1849—1854
- 25 Noble R W, Brunori M, Wyman J, Antonini E. Studies on the quantum yields of the photodissociation of carbon monoxide from hemoglobin and myoglobin. *Biochemistry*, 1967; **6**(4): 1216—1222
- 26 傅少伟, 罗来斌, 陈慧兰, 吴宗森, 张淑仪. 光声量热法测定辅酶 B₁₂ 的光解量子产率. *物理化学学报*, 1997; **13**(3): 193—195
- 27 Gensch T, Viappiani C, Braslavsky S E. Laser induced optoacoustic spectroscopy. In: *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, Ed. Lindon, J. C. (Academic Press, N.Y., 1999): 1124—1132
- 28 Fu S W, Zhang S Y, Wu Z S, Luo L B, Zhang Z, Chen H L. Photoacoustic investigation of chemical reactions by piezoelectric cylindrical tube trasducer. *Prog. Nat. Sci.*, 1996; **6**(Suppl.): 54—57
- 29 Fu S W, Wu Z S, Zhang X R, Zhang S Y. Ultrasonic transducer study for photoacoustic calorimetry. *IEEE Ultras. Sym.*, 1995: 859—862
- 30 Cheng J C, Du Y X, Fu S W, Zhang S Y. Theoretical anal-

- ysis of pulsed photoacoustic response of piezoelectric cylindrical tube transducer. *Prog. Nat. Sci.*, 1996; **6**(Suppl.): 747—750
- 31 Fu S W, Wu Z S, Zhang S Y, Gan C M, Zhang Z, Chen H L. Time-resolved measurement of nonradiative processes by using laser interferometry. *Chin. Phys. Lett.*, 1996; **13**(4): 313—316
 - 32 Platz M S. *Kinetics and Spectroscopy of carbenes and biradicals.* (Plenum, New York), 1990
 - 33 Nolan S P, Hoff C D, Stoutland P O, Newman L J, Buchanan J M, Bergman, R G, Yang G K, Peters K S. Heats of reaction of $\text{Cp}^*(\text{Pme}_3)\text{Ir}(\text{R})(\text{H})$ ($\text{R}=\text{C}_6\text{H}_5, \text{C}_6\text{H}_{11}$ and H) with HCl , CCl_4 , CBr_4 and CH_3I , a solution thermochemical study of C-H insertion reaction. *J. Am. Chem. Soc.*, 1987; **109**(10): 3143—3145
 - 34 Klessen, J K, Yang G K. Contribution of olefinic ring strain to $(\text{CO})_5$ Cr-cyclooctene bond strengths. *Organometallics*, 1990; **9**(3): 874—876
 - 35 Hester D M, Sun J, Harper A W, Yang G K. Characterization of the energy surface for oxidative addition of silences to $\text{CpMn}(\text{CO})_2$ (heptance), *J. Am. Chem. Soc.*, 1992; **114**(13): 5234—5240
 - 36 Li G, Chen H L, Zhang F F, Shui X J, Zhang S Y. An optical probe detection method to study photolysis of methylpyridinocobaloxime in aqueous solution. *Spectro. Lett.*, 1999; **32**(4): 639—647
 - 37 张飞飞, 李 刚, 尹宏峰, 陈慧兰, 张淑仪. 脉冲光声量热法测量 $n\text{-C}_4\text{H}_9\text{Co}(\text{salen})\text{H}_2\text{O}$ 的 Co-C 键离解能. *无机化学学报*, 2000; **16**(1): 144—146
 - 38 Zhang F F, Li G, Yin H F, Zhang S Y, Chen H L. Photoacoustic studies on radical kinetics and enthalpy change for photolysis of methylcobalamin. *Prog. Nat. Sci.*, 2001; **11**(Suppl.): 330—333
 - 39 Li G, Zhang F F, Chen H, Yin H F, Chen H L, Zhang S Y. Determination of Co-C bond dissociation energies for organocobalt complexes related to coenzyme B_{12} using photoacoustic calorimetry. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2002: 105—110
 - 40 Goodman G L, Peters K S, Vaida V. The determination of the Mn-Mn bond strength in $\text{Mn}_2(\text{CO})_{10}$ using pulsed time-resolved photoacoustic calorimetry. *Organometallics*, 1986; **5**(4): 815—816
 - 41 Strassburger J M, Gartner W, Braslavsky S E. Volume and enthalpy changes after photoexcitation of bovine rhodopsin: laser-induced optoacoustic studies. *Biophys. J.*, 1997; **72**: 2294—2303
 - 42 Losi A, Wegener A A, Engelhard M, Braslavsky S K. Entropy compensation in a photocycle: the K-to-L transition in sensory rhodopsin II from *Natronbacterium pharaonis*. *J. Am. Chem. Soc.*, 2001; **123**(8): 1766—1767
 - 43 Braslavsky S E, Ellul R M, Weiss R G, Al-Ekabi H, Schaffner K. Photoprocesses on biliverdin dimethyl ester in ethanol studied by laser-induced optoacoustic spectroscopy. *Tetrahedron*, 1983; **39**(11): 1909—1913
 - 44 Jabben M, Garcia N A, Braslavsky S E, Schaffner K. Photophysical parameters of chlorophylls a and b fluorescence and laser-induced optoacoustic measurements, *photochem. Photobiol.*, 1986; **43**(2): 127—131
 - 45 Angelond L, Feis A. Protein relaxation in the photodissociation of myoglobin-CO complexes. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2003; **2**: 730—740
 - 46 Leung W P, Cho K C, Chau S K, Choy C L. Measurement of the protein-ligand bond energy of carboxymyoglobin by pulsed photoacoustic calorimetry. *Chem. Phys. Lett.*, 1987; **141**(3): 220—224
 - 47 Westrick J A, Peters K S, Ropp J D, Sligar S G. Role of the arginine-45 salt bridge in ligand dissociation from sperm whale carboxymyoglobin as probed by photoacoustic calorimetry. *Biochemistry*, 1990; **29**(28): 6741—6746
 - 48 Peters K S, Watson T, Logan T. Photoacoustic calorimetry study of human carboxyhemoglobin. *J. Am. Chem. Soc.*, 1992; **114**(11): 4276—4278
 - 49 Norris C L, Peters K S. A Horse Photoacoustic calorimetry study of carboxymyoglobin on the 10-nanosecond time scale. *Biophys. J.*, 1993; **65**: 1660—1665
 - 50 Chen H, Sun L, Li G, Zhang S Y, Chen H L. Laser-induced time-resolved photoacoustic calorimetry study of human and bovine oxyhemoglobin. 2003; *submitted to Biochem. Biophys. Res. Commun.*,