

③133-142

第2期
1998年6月无机化学学报
JOURNAL OF INORGANIC CHEMISTRYVol. 14, No. 2
June, 1998

进展与评述

时间分辨脉冲光声量热法及其应用

李刚 陈慧兰*

(南京大学配位化学国家重点实验室, 210093)

张淑仪 ✓

(南京大学近代声学国家重点实验室)

0644.1

光声量热法是一种研究快速光化学反应的新方法,已广泛应用于有机和有机金属化学中涉及自由基中间体以及生物体系中光诱导化学反应生成亚稳态物质的动力学和热力学性质的研究。本文介绍了光声量热的基本原理、实验装置和它在化学、生物体系中的应用。

关键词:

光声量热法

时间分辨

脉冲

光化学反应

近十几年来,随着激光技术和微弱信号探测技术的发展,光声测量方法及其在各方面的应用得到了迅速的发展。激光诱导时间分辨脉冲光声量热法简称光声量热法(photoacoustic calorimetry)是在纳秒至微秒时间量级上研究由分子吸收光能而引起的化学反应过程中的能量传递以及有关反应分子体积变化的新方法。光声量热法灵敏度相当高,可测量低浓度、低吸收系数介质中的快速动力学过程^[1]。

光声量热法已应用于化学、生物、物理等领域的研究,特别适用于有机和有机金属化学中涉及自由基中间体的快速反应动力学过程、能量变化过程以及生物体系中光诱导化学反应亚稳态物质的动力学信息和反应体积变化,如一氧化碳合肌红蛋白光致解离过程^[2,3],光合作用系统反应中心的电子传递过程^[4],细菌视紫质中质子传递动力学过程^[5],植物光敏染料和叶绿素的光物理和光化学反应^[6],视紫质蛋白脱色过程中生成反应中间体的能量变化过程以及涉及自由基、碳烯、碳炔、配位不饱和有机金属化合物的有机和有机金属化学反应^[7]等。

近期南京大学配位化学国家重点实验室与南京大学近代声学国家重点实验室合作建立了纳秒级脉冲光声量热装置,已初步开展了辅酶 B₁₂及其类似物光解反应的研究^[8]。本文在总结有关文献基础上结合我们的工作,介绍了光声量热的基本原理、实验装置和它在化学、生物体系中的应用。

1 时间分辨脉冲光声量热法的原理

由于激光具有高光密度和单色性,因而它可有效地用于研究因辐射和介质相互作用而引

收稿日期:1998-01-13。 收修改稿日期:1998-03-10。

国家自然科学基金资助项目。

* 通讯联系人。

第一作者:李刚,男,27岁,博士生,研究方向:生物无机。

起的各种变化过程。在激光的照射下,液体中的分子在极短的时间内吸收光能而形成亚稳态物质,经过无辐射失活过程,分子在介质中局部产生热量,进而产生热弹膨胀现象,由热弹膨胀引起的声波可由声传感器检测。设脉冲热源引起的声波在液体中是以双极型脉冲方式传播的,它呈现出相对强而窄的正脉冲和弱而宽的负脉冲形态。因此,对于 n 个同时发生的失活过程或寿命(弛豫时间) τ 不同的过程,换能器检测到的声压可用如下方程表示。

$$p(r, t) = K \sum_{i=1}^n \varphi_i \iint \frac{r' I(\vec{r}, R)}{\sqrt{V_s^2 (t-t')^2 - |\vec{r} - \vec{r}'|^2}} \frac{\partial T(t', \tau_{nk})}{\partial t'} dr' dt \quad (1)$$

式中 K 为系统常数,其他符号见文献[7],与热量释放有关的振幅因子 φ_i 及与中间产物寿命有关的非辐射弛豫时间 τ_{nk} 是光声量热法的重要参数,可以通过解卷积得到。但在进行解卷积之前必须对获得的光声信号的数据进行预处理,扣除每个波形的基线以得到净的光声波形,并将此波形上的每个点进行光吸收因子 $(1-10^{-A})$ 校正 (A 为溶液的吸光度)和激光脉冲能量归一化。实验检测到的光声信号 $S_{exp}(t)$ 是声压源函数 $p(r, t)$ 和检测系统的响应函数 $R(t)$ 的卷积。

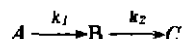
$$S_{exp}(t) = p(r, t) \otimes R(t) \quad (2)$$

而检测系统响应函数 $R(t)$ 可近似地由参比溶液产生的光声信号 $S_{ref}^{conv}(t)$ 获得。因此,样品的光声信号 $S_{conv}^{amp}(t)$ 为

$$S_{conv}^{amp}(t) = P_{amp}(r, t) \otimes S_{ref}^{conv}(t) \quad (3)$$

$P_{amp}(r, t)$ 是样品的声压信号。

解卷积需要先测定样品在一系列 φ_i, τ_{nk} 下的声压信号 $P_{amp}(r, t)$,再计算样品的声压信号和 $R(t)$ 的卷积信号。通过计算最小均方差的和,比较卷积波形和样品检测波形,使得参数 φ_i 和 τ_{nk} 逐渐趋于最小值而最终被测定。例如,如果一个反应经历两个失活过程,



则对于上述简单动力学过程,样品的声压信号 $P_{amp}(r, t)$ 可表示为

$$P_{amp}(r, t) = \varphi_1 \exp(-t/\tau_1) + [\varphi_2 k_1 / (k_2 - k_1)] [\exp(-t/\tau_1) - \exp(-t/\tau_2)] \quad (4)$$

$\tau = 1/k$, φ_1, φ_2 分别表示样品第一和第二动力学过程的体积变化和参比的体积变化之比。与此同时, φ_1 和 φ_2 都含有热体积变化和反应体积变化。为了得到 $\varphi_1, \tau_1, \varphi_2, \tau_2$ 的值,必须假设一系列四个参数的拟合值来计算 $P_{amp}(r, t)$,然后将 $P_{amp}(r, t)$ 和 $R(t)$ 卷积得到的计算波形 $S_{conv}^{amp}(t)$ 和实验波形相比较。通过分析,使得计算波形和实验波形一致,并由最小二乘法优化拟合得到 $\varphi_1, \tau_1, \varphi_2, \tau_2$ 四个参数。

光声技术在本质上是量热。当分子吸收光能(E_a)之后,与激发态有关的能量平衡关系可表示为

$$E_a = \Phi_f \times E_f + \alpha_{th} \times E_s + \Phi_n \times E_n \quad (5)$$

E_a 为每摩尔样品吸收的总能量,方程右边第一项表示以荧光的形式释放出来的能量,它是荧光量子产率 Φ_f 和摩尔荧光能量 E_f 的乘积;第二项表示分子在介质中以热量形式迅速释放出来的能量, α_{th} 为热转换系数;第三项表示被储存的能量,它是量子产率 Φ_n 和摩尔能量 E_n 的乘积。当其他过程(如磷光)发生,还须考虑这些过程涉及的能量分配。实验检测到的可以是稳定的产物,也可以是寿命比实验时间窗口长的反应中间体。所有失活寿命小于换能器时间窗口的过程对瞬态热量都有贡献,如激发单重态的振动失活,激发态回到基态,电荷转移,系间穿梭和其他化学过程。溶液分子吸收光能后引起体系膨胀或收缩导致体积变化 ΔV ,由此产生的光声

信号的第一个声波振幅 S 可以表示为

$$S = K\Delta V \quad (6)$$

K 为仪器常数, ΔV 为光致激发后体系中发生的总的体积变化, 由两部分体积变化组成: (1) 非辐射失活过程中光能转化为热能引起的体积收缩与膨胀, 称之为热体积变化, ΔV_{th} 。由于 $\beta = (1/V)(\partial V/\partial T)$, 故热体积变化可以表示为

$$\Delta V_{th} = \beta V \Delta T = \alpha_{th} E_{hv} (\beta/\rho C_p) \quad (7)$$

β 为溶液热膨胀系数, C_p 为定压比热容, ρ 为溶液密度, α_{th} 为吸收的总能量转变为热能的比例。(2) 体系中反应分子本身的结构或构型引起的体积变化, 称之为反应体积变化 ΔV_{con} 。故此, 我们观察到的声波振幅可以表示为

$$S_{samp} = K(\Delta V_{th} + \Delta V_{con}) = K(\alpha_{th} E_{hv} \beta/\rho C_p + \Delta V_{con}) \quad (8)$$

因为 $\beta/\rho C_p$ 与温度有关, 所以 ΔV_{th} 也与温度有关。通常认为 ΔV_{con} 在光声量热实验温度范围内与温度无关。而且在较小的温度范围内 $\alpha_{th} E_{hv}$ 也与温度无关。

实验中为了能够定量测量释放的热量和光声信号之间的关系就要使用量热参比。量热参比必须是一种没有荧光效应且吸收系数和样品一致的理想物质, 并在换能器响应时间内将吸收的光能全部转化为热量 ($\alpha_{th} = 1$), 故参比光声信号的声波振幅 S_{ref} 为

$$S_{ref} = K E_{hv} \beta/\rho C_p \quad (9)$$

样品与参比的信号振幅之比 φ 为

$$\varphi = \frac{S_{samp}}{S_{ref}} = \frac{K[(\beta/\rho C_p)\alpha_{th} E_{hv} + \Delta V_{con}]}{K(\beta/\rho C_p) E_{hv}} = \alpha_{th} + \frac{\Delta V_{con}}{(\beta/\rho C_p) E_{hv}} \quad (10)$$

$$\text{整理得} \quad \varphi E_{hv} = \alpha_{th} E_{hv} + \frac{\Delta V_{con}}{\beta/\rho C_p} \quad (11)$$

在水溶液中, 水的热膨胀系数 β 随温度变化很大, 在 3.9°C 时 β 值为 0; 25°C 时的 β 值为 $2.57 \times 10^{-4} \text{K}^{-1}$ 。所以, 对于水溶液中发生的光化学反应, 其 $\beta/\rho C_p$ 值在温度范围 10°C ~ 30°C 之间变化很大。因而可以用变温法来测量 ΔV_{con} , 即设 $f(T) = \rho C_p/\beta$, 则由方程 (11) 得

$$\varphi E_{hv} = \alpha_{th} E_{hv} + \Delta V_{con} f(T) \quad (12)$$

对相应的 φ 和 $f(T)$ 作图, 经拟合得一条直线, 其斜率为 ΔV_{con} , 截距为 $\alpha_{th} E_{hv}$ 。对于有机溶液, β 值约为 $(10 \sim 14) \times 10^{-4} \text{K}^{-1}$, 且随温度变化不大, 不适合用变温法来测量 ΔV_{con} 。此时可使用混合溶剂, 通过改变混合溶剂的比例而改变 β 值来测量 ΔV_{con} 。

通常, 激发态经历一个光化学反应, 其量子产率为 Φ , 则反应的焓变 ΔH_R 和每摩尔反应体积变化 ΔV_R 分别为

$$\Delta H_R = (1 - \alpha_{th}) E_{hv} / \Phi \quad (13)$$

$$\Delta V_R = \Delta V_{con} / \Phi \quad (14)$$

2 光声量热的实验装置和参比

时间分辨脉冲光声量热实验装置(图 1)主要包括脉冲激光器、光声信号检测部分和数据处理部分。通常激光束经聚焦后穿过恒温的样品池, 产生的光声信号由换能器检测并经前置放大器放大后输入数字示波器, 计算机用于数据处理。常用的激光器有 Nd:YAG 脉冲激光和染料激光, 其激光脉冲宽度为 0.5 ~ 10 ns, 频率为 1 ~ 10 Hz, 激发能量为 10 ~ 40 μJ , 激光束直径为 1 mm 左右。激发能量可由滤光片或衰减器调节光通量而改变, 并由能量计记录能量的变

化。溶液经过通氩气除氧,并在整个实验过程中维持氩气氛。溶液的吸光度 A 一般在 0.08~0.30 之间,样品和参比的吸光度必须保持一致。

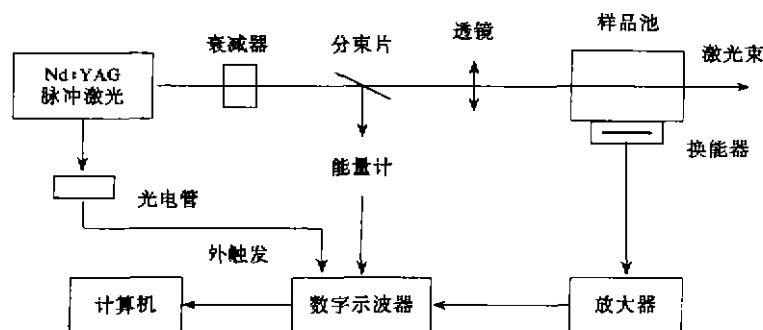


图 1 光声量热的实验装置

Fig. 1 Experimental setup of photoacoustic calorimetry

实验的光声信号采用换能器来检测,换能器的性能和式样对光声信号有着直接的影响,常见的有片状和管状两种^[9]。

片状换能器有垂直接收和平行接收两种方式,平行接收方式换能器通常由面积为 $1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$ 石英池构成,与入射激光束平行的池壁外侧粘有压电陶瓷(PZT)元件或聚二氟乙烯(PVDF)薄膜。这种接收方式的装置简单,信号振幅变化清晰,但信号灵敏度和时间分辨率不高。垂直接收方式光声信号强,时间分辨率高,但由于激光能直接照射于 PZT,使背景噪声较大,尽管用了反射镜可大大减少背景噪声,但在获得信号源信息方面仍需适当进行信号处理,才可以得到样品热释放率。此过程较为复杂,目前人们大多采用平行接收方式。

管状换能器是由圆管状 PZT 元件构成,激光束穿过圆管中心,在光路上的溶液分子吸收光能发生非辐射弛豫过程。溶液中的热源在圆管轴线沿径向向外发射声波,由管状 PZT 元件测得此光声信号。这种接收方式增加了换能器的声信号接收面积,具有较高的灵敏度和清晰的波形,其缺点是时间分辨率较低,且光路调节较困难。

如前所述,当使用光声量热法定量测定体系无辐射失活过程所释放的热量和产生的信号之间的关系时,需要使用量热参比。量热参比必须是能够将吸收的光子能量在极短的时间内 ($\tau < 1\text{ ns}$) 全部 (>99%) 以热量的形式释放出来的物质,而且在较宽光通量范围内必须严格排除多光子激发过程,其测量条件和样品的测量条件还需完全一致(包括几何参数),这就除去了系统常数 K 。不同的波长范围和实验体系应选用不同的参比。在极性溶液体系中,尤其是水溶液中,一些没有荧光效应和光化学反应的有色离子,如 M_2CrO_4 , MnO_4^- ($\text{M}=\text{Na}$ 或 K) 在可见区波长范围内非常适合做量热参比。在乙醇-水混合溶剂中用波长为 355 nm 的激光激发时, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 可作为量热参比;而在水溶液中当激光波长大于 450 nm 时, $\text{Cu}(\text{I})$ 和 $\text{Co}(\text{I})$ 盐则是很好的量热参比。孔雀石绿在水溶液中的 pH 值在 1.8~13 范围内 ($\lambda_{\text{exc}}=624\text{ nm}$) 可作为量热参比。在有机溶剂中,如在激光波长为 308 nm 的乙醇溶液中,葱、茛酮、占吨酮等可作为量热参比,它们能够将吸收的全部光能迅速转化为热量。胡萝卜素 ($\lambda_{\text{exc}}=400\sim 800\text{ nm}$)、四苯吡吩合钴 ($\lambda_{\text{exc}}=530\sim 560\text{ nm}$) 和碘 ($\lambda_{\text{exc}}=450\sim 550\text{ nm}$) 是可见区和长波长区很好的量热参比。而二茂

铁($\lambda_{exc}=300\sim 550\text{ nm}$)和 α -羟基二苯酮($\lambda_{exc}=300\sim 370\text{ nm}$)在各自的吸收区内可作为广谱的量热参比^[7]。

3 光声量热法的应用

利用时间分辨脉冲光声量热法,不仅能够获得有关光化学反应分子的动力学信息,而且可通过改变溶液的热膨胀系数或改变测量时溶液的温度,同时测量快速光化学反应的反应焓变及反应分子体积变化。光声量热法可应用于水溶液、有机溶剂和生物体内的快速光化学反应的研究。

3.1 自由基反应

Rothberg 和 Peters 等最早运用光声量热方法研究自由基反应^[10]。他们研究了二苯甲酮从苯胺中夺取氢原子的反应。该反应在激光诱导下先生成自由基离子对,然后在仪器响应时间内衰变为二苯甲酮-苯亚胺自由基对。实验测得生成自由基对反应的焓变为 $192\pm 21\text{ kJ/mol}$, 与通过热力学循环计算所得的反应焓变值 188 kJ/mol 相一致。文中还首次对光声量热法进行了完整的理论推导。Peters 等测定了苯戊酮分子内氢转移生成三重态 1,4-双自由基苯戊醇反应的焓变($272\pm 12\text{ kJ/mol}$)和该自由基的寿命($85\pm 10\text{ ns}$)以及苯戊酮 Narrish I 型光解生成苯乙酮和丙烯的反应焓变($75\pm 25\text{ kJ/mol}$)^[11]。该工作首次提出解卷积方法,将实验波形从换能器响应函数解卷积就得到了瞬态物质的寿命。

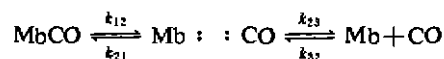
Griller 及其合作者运用光声量热法测量一系列对位取代的苯酚中 O-H 键离解能,研究了键均裂离解能的 Hammett 取代效应^[12]。实验结果表明对位取代苯酚 O-H 键离解能与取代基的电负性有关,而且键离解能与取代常数 σ^+ 和叔丁基氧夺氢反应的速率常数成正比。

Burkey 等人运用光声量热法测得了 CCl_4 中叔丁基过氧化物光解生成叔丁基氧自由基的量子产率为 0.71^[13]。在此基础上,他们还进一步测量了三正丁基锡的氢化物中 Sn-H 键的键能($308\pm 8\text{ kJ/mol}$),1,4-环己二烯中叔碳的 C-H 键的键能($305\pm 8\text{ kJ/mol}$)和乙醚中仲碳的 C-H 键的键能($387\pm 8\text{ kJ/mol}$)以及叔丁基氧-三苯基磷自由基的生成热(130 kJ/mol)。这为了解叔丁基氧自由基和三正丁基锡、环己二烯、乙醚、三苯基磷反应的焓变和键强提供了有价值的信息^[13]。

3.2 生物体系

光声量热法的建立和应用使人们能够在生理条件下直接测量蛋白质体系光诱导快速化学反应的焓变和体积变化。

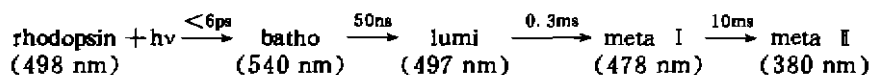
肌红蛋白与一氧化碳的结合与解离已得到广泛研究。X-衍射晶体结构分析、时间分辨的各种光谱方法以及分子模型计算等已提供了蛋白质结构以及光解动力学的各种信息。如激光闪光光解法研究表明一氧化碳合肌红蛋白(MbCO)在光解反应中 Fe-CO 键在 350 fs 内完全断裂,产生自由基对,随后自由基对在 180 ns 内衰变,其中 4% 重新生成 MbCO,96% 扩散出血红素袋生成 Mb 和 CO^[14],其光解的动力学反应过程如下:



实验测得 $k_{21}=2.3\times 10^5\text{ s}^{-1}$, $k_{23}=5.2\times 10^6\text{ s}^{-1}$ 。Peters 等运用光声量热法研究抹香鲸^[2]、马^[3]的 MbCO 的光解反应以期深入了解配体解离的反应机理和测定有关的能量变化和热力学性质。

通过分析实验数据,揭示在仪器响应时间内出现两个动力学过程。第一个过程在 50 ns 内完成,第二个过程的半衰期在 20℃ 时为 702 ± 31 ns。基于过去的研究,第一个动力学过程是由于激发态 MbCO 生成 Mb:CO 自由基对,第二个过程的半衰期明显比闪光光解法(180 ns)长,可能反映了 CO 扩散出蛋白质引起蛋白结构的重组。对于抹香鲸肌红蛋白,反应总的焓变为 61 ± 14 kJ/mol,与微量量热法在 pH=8, Tris-HCl 缓冲溶液中的结果(74 ± 2 kJ/mol)一致。值得注意的是第一步生成自由基对放热 9 kJ/mol 并伴随着负的体积变化(-10.0 ± 1.0 ml/mol)。由 MbCO 和 Mb 的晶体结构数据表明抹香鲸肌红蛋白结构紧凑,血红素袋与溶剂之间无通道联结,分子模型计算也证实若蛋白构型不发生改变,配体扩散所需能量较高(376 kJ/mol),因此推测 CO 解离过程可能涉及 Arg-45 与血红素铁吡咯环上丙酸脂之间盐桥的断裂,有利于生成一个 CO 扩散的通道。为证实上述假定,Peters 等通过基因突变法将 Gly 或 Asn 取代 Arg-45 后进行光声量热研究,发现第一步生成自由基对中间体的焓变增加约 33 kJ/mol,体积减小约 5 ml/mol,说明过程中发生 Arg-45 盐桥断裂产生一个正电荷和一个负电荷,从而增强了溶剂化效应,放出热量。此外该过程还伴随着因电荷周围溶剂的电致收缩引起的体系收缩,因此体积变化为负值。当 Arg-45 被取代后,上述作用减弱,导致焓变增大及体积收缩减小。

视紫质(rhodopsin)是位于视网膜柱突部分的圆盘膜上完整的膜蛋白,它吸收一个光子后,经历了以下过程,产生不同光谱的各种视紫质,该过程称为脱色。



由于室温下从深视紫质(bathorhodopsin)衰变成发光视紫质(lumirhodopsin)的动力学过程在 50 ns 内完成,小于仪器的时间窗口(100 ns),故无法分辨;而发光视紫质继续衰变成亚视紫质 I (metarhodopsin)的时间为 300 μ s,超出换能器的响应时间很多,同样也观察不到该过程的光声信号,因此时间分辨光声量热法适合于测量视紫质吸收光子生成发光视紫质的焓变和体积变化。Peters 等运用此方法测得了该过程的焓变和体积变化分别为 16 kJ/mol 和 29.1 ± 0.8 ml/mol^[15]。这和用低温光热法测得的焓变值(110 ± 17 kJ/mol)^[16]截然不同,一种解释认为两者实验条件不同或低温下蛋白质基质有干扰,影响数据的准确性,低温时作为溶剂的甘油-水已固化,可能阻止蛋白质基质中异构化的视网膜发色团进行重组,这就导致发光视紫质生成焓的增加。此外,反应过程伴随了蛋白构型的变化,使蛋白表面的电荷增加或减少,导致盐桥的断裂或生成,固化的基质由于电荷改变而发生重组,这也是焓增加的原因之一。此例说明光声量热法可在接近生理条件下测定生物体系的焓变和体积变化,所得数据比其他方法应更准确可靠。

光合作用反应中心吸收的能量可分为三部分:(a)大部分转化为短寿命自由基对的电化学能,(b)小部分以荧光形式发射,(c)以热的形式储存。过去已用时间分辨荧光吸收光谱技术研究了与第一个过程有关的激发捕获、电荷分离以及电荷在反应中心稳定的动力学和机理,但上述三部分的能量分布无法确定。Braslavsky 等用光声量热法研究光合作用体系 I(PSI)和光合作用体系 II(PSII)吸收脉冲激光能量之后生成离子对的过程,并测量因离子对寿命比热积聚时间长而储存起来的能量。在这个时间内生成的光产物(如 $P^+ - 700A_1$ 和 $Z^+ P - 680IQ_A$)的能量储存比例分别为 0.83 ± 0.08 和 0.65 ± 0.07 ^[17]。这就意味在 1.4 μ s 时间内吸收的光能约有 2/3 以上被体系储存。

PSI 的反应中心(D1-D2-cyt b-559)由与叶绿素 a、脱镁叶绿素 a 和 β -胡萝卜素分子相连的 D1 和 D2 多肽构成,其 α, β -辅基为细胞色素 b-559,其光化学反应过程的第一步产生自由基

对 $[P680^+Pheo^-]$, 若不存在电子受体来稳定分离的电荷, 则该自由基对可生成激发单重态或三重态, 也可能直接重组回复到基态。光声量热法研究了在无氧条件下上述电荷分离过程伴随的分子体积变化, 测定出在脉冲宽度为 8 ns 的激光作用后三重态自由基对 $^3[P680^+Pheo^-]$ 重组产生 $^3[P680Pheo]$ (其寿命相对较长, 约为 1 ms) 的体积膨胀为 4.4 ± 1.0 ml/mol ($\Phi=0.5$), 相当于 7×10^{-3} nm³/molecule^[18], 如此小的变化是其他方法如闪光光解法所不能测定的。此体积膨胀是位于自由基对周围的蛋白质重组引起的, 且持续时间超过 1 μ s, 这说明蛋白质经历了一次较慢的弛豫回到原来的结构, 也就是处于三重态结构的蛋白质对自由基对状态有记忆效应, 并排除了溶剂重组的可能, 因为溶剂偶极弛豫时间应大大短于 1 ns。

辅酶 B₁₂ 是具有生物活性的天然有机金属化合物, 其 Co-C 键均裂产生 Co(II) 配合物和 5'-脱氧腺苷自由基是酶催化反应的关键步骤。我们研究了天然辅酶 B₁₂ 的光解 Co-C 键均裂反应, 测得了反应的焓变 (114.3 kJ/mol) 和体积变化 (6.4 ml/mol)^[8], 该反应体积变化与 Co-C 键断裂伴随的柔性咕啉环构象变化有关。

3.3 电子传递反应

最近十多年来有关电子传递反应的研究越来越受到重视, 借助于光声方法, 这一领域的研究取得了很大进展。

由于溶液中的电子传递反应可产生两种类型的体积变化: 1. 由产物和反应物之间键长或键角的变化引起的内部体积变化, 2. 由于电荷重新分布诱导的溶质溶剂化重组效应导致的体积变化。Braslavsky 等人应用光声量热方法研究了分子间和分子内的光诱导电子传递反应^[19,20]。在 $Ru(bpy)_3^{2+}$ 和 $Fe(H_2O)_6^{3+}$ 的光诱导电子传递反应中, 产物 $Ru(bpy)_3^{3+}$ 和 $Fe(H_2O)_6^{2+}$ 返回到初始状态的时间超过 14 ms, 故可认为它们就是实验窗口 (600 ns) 检测到的最终产物。为了避免多光子过程, 在光声量热实验中使用了低能量密度的激光脉冲 ($<0.7 \mu$ J)。在各个温度点 $Ru(bpy)_3^{2+}/Fe(H_2O)_6^{3+}$ 的光声信号都与参比的光声信号振幅相反, 这表明反应体系发生收缩。最后得到 $\alpha=0.56 \pm 0.15$, 及吸收每爱因斯坦光子所产生的体积变化为 -10.8 ± 1 ml/Einstein。这相对较大的体积收缩并不是由简单的键长变化引起的, 因为电子传递使 $Fe(H_2O)_6^{3+}$ 还原成 $Fe(H_2O)_6^{2+}$ 而导致体积膨胀, 同时使 $Ru(bpy)_3^{2+}$ 氧化成 $Ru(bpy)_3^{3+}$ 导致 Ru 离子周围的配体收缩。因此, 负的体积变化可以认为是溶剂重组引起的。该实验得到反应储存的能量为 -114.5 kJ/mol, 与 Marcus 和 Sutin 等的研究结果 ($\Delta H=-112.0$ kJ/mol) 一致^[21]。而在占吨染料 (Xanthene Dyes) 与金属氧化物的反应中, 反应体积变化的绝对值相对较小 (约 0~5 ml/Einstein), 实验结果表明电子从染料分子转移到金属氧化物 (光氧化过程) 体系收缩, 电子从金属氧化物转移到染料分子 (光还原过程) 体系膨胀。

为了分析内部体积变化和介质重组在分子内电子 (荷) 转移反应中的相对重要性, 他们还研究了一系列钌-氰联吡啶配合物的金属-配体电荷转移 (MLCT) 过程^[20]。实验表明反应体积变化和氰基数目有关, 随着 $Ru(bpy)(CN)_n$ 中氰基被异甲腈取代, 反应体积变化越来越小, 对应 $Ru(bpy)(CN)_4^{2-}$ 、 $Ru(bpy)(CN)_3(CNCH_3)^-$ 和 $Ru(bpy)(CN)_2(CNCH_3)_2$ 的 ΔV_R 分别等于 15, 10 和 0 ml/mol。Braslavsky 认为该体积变化主要与光诱导的溶剂重组效应有关。溶剂化效应不仅与第一溶剂层有关, 而且涉及了氰基配体 (给体) 和溶剂 (受体) 之间的外层给-受体相互作用。在水溶液中, 第一溶剂层的水分子和氰基的 N 之间形成较强的氢键作用, 在 MLCT 激发过程中, Ru^I 被氧化成 Ru^II , 反馈 π 键明显减弱, 电子云密度从氰基配体转移到金属, 因此第一溶剂层的水分子与氰基之间的氢键明显减弱, 导致整个体系膨胀。这在 $Ru(bpy)(CN)_4^{2-}$ 配合物

中最为明显。随着氰基被异甲腈取代,上述效应的影响越来越小(因为甲基是疏水基团)。当平面上的两个氰基配体全部被异甲腈取代时,即 $\text{Ru}(\text{bpy})(\text{CN})(\text{CNCH}_3)_2$ 的 $\Delta V_{\text{R}} = 0$, 平面氰基配体对上述效应贡献最大。

3.3 金属-配体键能

金属-配体键离解能是有机金属化合物的重要性质之一,根据键离解能可以预测有机金属化合物或金属簇合物的反应性和稳定性,但是现有数据很不完整。对于已知反应机理和量子产率的体系,光声量热法可测量光化学反应过程的焓变。许多情况下,整个反应的焓变只与特定键的断裂和生成有关。例如,对于下面的反应,



M 为金属离子, A、B 为配体。则反应焓变的数值就是 M-A 键离解能。

由于 $\text{M}(\text{CO})_6$ (M=Cr, Mo, W) 中 M-CO 键的离解,和随后发生的 $\text{M}(\text{CO})_5$ 与烷烃溶剂之间反应的时间都小于 25 ps, Peters 等人用光声量热法测定了在乙醇和环己烷溶剂中羰基从 Cr, Mo, W 的六羰基配合物中离解的金属-碳键离解能^[22],但由于使用了高激光通量,实验结果误差较大。随后发表的论文修正了 Cr-CO 键离解能(113 kJ/mol, 溶剂为庚烷)和其他几个经典的 Cr-L 键离解能,并考虑了立体效应对表观活化焓和庚烷取代焓的影响^[23]。在深入了解 $\text{Mn}_2(\text{CO})_{10}$ 光解反应机理的基础上,他们还测定了 Mn-Mn 键离解能。该反应包括 Mn-Mn 键和 Mn-Co 键的断裂,这两个过程都在 25 ps 内完成,且量子产率分别为 0.3 和 0.1,最后测得 Mn-Mn 键离解能为 159 ± 21 kJ/mol^[24]。

Burkey 等测量了 Cr, Mo, W 的六羰基配合物及其两个含芳烃混配羰基配合物中羰基被三乙基硅烷取代的焓变。该工作首次测量了金属-硅烷的键焓,发现金属与三乙基硅烷键合的焓变为 88~118 kJ/mol,而与烷烃键合的焓变为 38~55 kJ/mol^[25]。和金属-羰基键焓变化范围(76 kJ/mol)相比,金属-三乙基硅烷的键焓变化范围较小,说明金属-硅烷的键合过程更类似于金属-烷基相互作用而不是金属-羰基相互作用。

Belt 等用光声量热法测量了 M-H 和 M-L (L=CO, N₂) 键离解能,由于 $\text{Ru}(\text{dmpe})_2\text{H}_2$ 光解反应中量子产率 $\phi = 0.85 \pm 0.05$, 因此该化合物在环己烷溶液中 Ru-H 键离解能为 265.4 ± 10 kJ/mol^[26]。溶液中若存在 CO 或 N₂, 由于生成 $\text{Ru}(\text{dmpe})_2\text{CO}$ 或 $\text{Ru}(\text{dmpe})_2\text{N}_2$ 的时间小于换能器的响应时间,因而分别得到了 Ru-CO (180 ± 10 kJ/mol) 和 Ru-N₂ (78.6 ± 10 kJ/mol) 键离解能。这是首次用直接的方法测得了 M-H 的键离解能,其值与以前的报道相一致。尽管文献中有关 M-N₂ 键能的报道很少,很难详细讨论其键能值,但值得一提的是 M-N₂ 键能只有 78.6 kJ/mol,说明 N₂ 和金属的配位作用相对较弱。此外,Goodman 等还测得了 $\text{Pt}_2(\text{P}_2\text{O}_5\text{H}_2)_4^{4-} \cdot \text{X}$ 中 Pt-Cl 键的离解能为 445 kJ/mol, Pt-Br 键的离解能为 370 kJ/mol^[27]。

4 结 论

时间分辨脉冲光声量热法为研究配体光致离解的机理和亚稳态物种的能量变化过程以及直接测量生理条件下生物体系的热力学和动力学性质等提供了新的思路和方法。尽管目前光声量热法研究的生化体系有限,如光合作用反应中心、肌红蛋白和视紫质等,但是这种技术具有很大的潜力。随着皮秒时间量级声波检测技术的发展,光声量热法的时间分辨率和测量精度

将得到进一步的提高,从而获得更多更精确的数据和信息。理论上,它可用于研究药物或激素与受体相互作用焓变的动力学过程,蛋白质构型变化引起的体积变化等。总之,光声量热法将因其高灵敏度、高时间分辨率而广泛应用于生化和化学体系。

参 考 文 献

- [1] Peters, K. S. ; Snyder, G. J. *Science*, **1966**, **241**, 1053.
- [2] Westrick, J. A. ; Peters, K. S. ; Ropp, J. D. ; Sligar, S. G. ; *Biochemistry*, **1990**, **29**, 6741.
Westrick, J. A. ; Goodman, J. L. ; Peters, K. S. *Biochemistry*, **1987**, **26**, 8313.
- [3] Westrick, J. A. ; Peters, K. S. *Biophys. Chem.*, **1990**, **37**, 73.
- [4] Yruela, I. ; Churio, M. S. ; Gensch, T. ; Braslavsky, S. E. ; Holzwarth, A. R. *J. Phys. Chem.*, **1994**, **98**, 12789
- [5] Schulenberg, P. J. ; Garther, W. ; Braslavsky, S. E. *J. Phys. Chem.*, **1995**, **99**, 9617.
- [6] Hehoff, K. ; Braslavsky, S. E. ; Schaffner, K. *Biochemistry*, **1987**, **26**, 1422.
- [7] Braslavsky, S. E. ; Heibel, G. E. *Chem. Rev.* **1992**, **92**, 1381.
- [8] Fu, S. W. ; Zhang, S. Y. ; Li, G. ; Luo, L. L. ; Chen, H. L. *Spectroscopy Letters*, **1997**, **30**(7), 1395.
- [9] Fu, S. W. ; Zhang, S. Y. ; Chen, H. L. et al. *IEEE Ultrasonics Symposium Proceeding*, **1995**, 859.
- [10] Rothberg, L. J. ; Simon, J. D. ; Bernstein, M. ; Peters, K. S. *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, **105**, 3464.
- [11] Rudzki, J. E. ; Goodman, J. L. ; Peters, K. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, **107**, 7849.
- [12] Mulder, P. ; Saastad, O. W. ; Griller, D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, **110**, 4090.
- [13] Burkey, T. J. ; Majewski, M. ; Griller, D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, **108**, 2218.
- [14] Henry, E. R. ; Siommer, J. H. ; Hofrichter, J. ; Eaton, W. *J. Mol. Biol.*, **1983**, **166**, 443.
- [15] Peters, K. S. ; Watson, T. ; Marr, K. *Annu. Rev. Biophys. Chem.*, **1991**, **20**, 355.
- [16] Schuck, G. A. ; Cooper, T. M. ; Holloway, R. A. ; Birge, L. P. *Biochemistry*, **1967**, **26**, 2556.
- [17] Nitsch, C. ; Braslavsky, S. E. ; Schatz, G. H. *Biochimica Biophysica Acta*, **1966**, **934**, 201.
- [18] Yruela, I. ; Churio, M. S. ; Gensch, T. ; Braslavsky, S. E. ; Holzwarth, A. R. *J. Phys. Chem.* **1994**, **98**, 12789.
- [19] Jiwan, J. H. ; Chubisov, A. K. ; Braslavsky, S. E. *J. Phys. Chem.* **1995**, **99**, 10246.
- [20] Jiwan, J. H. ; Wegewijs, B. ; Indelli, M. T. ; Scandola, F. ; Braslavsky, S. E. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **1995**, **114**, 542.
- [21] Marcus, R. A. ; Sutin, N. *Inorg. Chem.* **1975**, **14**, 213.
- [22] Bernstein, M. ; Simon, J. D. ; Peters, K. S. *Chem. Phys. Lett.* **1963**, **100**, 241.
- [23] Yang, G. K. ; Vaida, V. ; Peters, K. S. *Chem. Phys. Lett.*, **1988**, **7**, 1619.
- [24] Goodman, J. L. ; Peters, K. S. ; Vaida, V. *Organometallics*, **1989**, **8**, 2471.
- [25] Burkey, T. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, **112**, 8329.
- [26] Belt, S. T. ; Scaliano, J. C. ; Whittlesey, M. K. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, **115**, 1921.
- [27] Herman, M. S. ; Goodman, J. L. ; *Inorg. Chem.*, **1991**, **30**, 1147.

TIME-RESOLVED PULSE PHOTOACOUSTIC CALORIMETRY AND ITS APPLICATIONS

Li Gang Chen Huilan

(Department of Chemistry, State Key Laboratory of Coordination Chemistry, Nanjing University, 210093)

Zhang Shuyi

(Laboratory of Modern Acoustics, Nanjing University, 210093)

Photoacoustic calorimetry is a new method to investigate fast photochemical reaction. It has been applied to study the kinetics and the thermodynamics of reactive intermediates in organic and organometallic chemistry involving radicals, and of metastable species for laserinduced chemical reaction in biologicals system. In this paper, we introduce its basic theory, experimental setup and applications in chemical and biological systems.

Keywords: photoacoustic calorimetry