

激光光解研究焦脱镁叶绿酸-a 作为光活化农药的可能性

吴铁一 苗金玲 赵红卫 窦大营 王文锋 姚思德

(中国科学院上海原子核研究所辐射技术应用研究中心 上海 201800)

陈志龙

(中国人民解放军第二军医大学海军医学系 上海 200433)

摘要 利用激光光解时间分辨吸收方法,对蚕砂叶绿素中提取的焦脱镁叶绿酸-a 的光化学性质进行了初步的研究。发现,该化合物在实验检测的波长范围内都有较强的吸收,且能产生较高量子产额的三重激发态。进而讨论它作为光活化农药的可能性。

关键词 焦脱镁叶绿酸-a, 光活化农药, 激光光解

中图分类号 O644

光活化农药(也有称作光动力农药或绿色农药),尤其是从植物中提取的具有光诱导毒素化合物的光化学研究及其衍生物合成,是20世纪70年代以来新型农药研究和开发的一个热点。这类农药的特点是在有太阳光和氧气的条件下,能极大地提高其毒杀害虫的效果^[1]。这类农药在受光激发后形成毒素分子,同时这也是它的降解过程,因此对环境不会造成威胁。许多常规农药是在光下分解并失去活性,而光活化农药在光下激活、提高活性,是杀虫作用与生态因子结合的典型代表,因此受到国内外植保界的高度重视。同时,由于这类光活化农药催化产生的活性氧在细胞上的生物化学作用点多,所以害虫对它的抗药性发展很慢^[2,3]。

国外研究光活化农药并取得重大进展的主要国家是加拿大和美国,国内光活化农药的研究始于20世纪80年代,并取得了一些成果。文献[4]于1993年首先报道了猪毛蒿(*Artemisia scoparia*)精油中含有的茵陈二炔(Capilene)在光照条件下,对斜纹夜蛾(*Spodoptera litura*)的新陈代谢的影响有显著的增强效应。随后南开大学、华东理工大学等一些研究组也开始了这方面的研究。他们发现,许多植物次生物质如茵陈二炔、 α -三噻吩对蚊虫和鳞翅目昆虫具有显著光活毒杀作用,仿生合成的茵陈二炔类似物1-苯基-4-(3,4-亚甲基-二氧)苯基丁二炔对蚊子幼虫具有极显著的光活毒杀作用。

随着光活化农药研究取得重要进展,部分光活化农药已开始应用于田间,特别是在防治蚊子幼虫

方面获得成功。聚乙炔类化合物作为有害生物控制剂在加拿大取得了专利保护,并有商品化生产。赤藓红B已被Hilton-Davis化学公司注册。除了用于杀虫外,光活化农药也可用于杀灭病毒、病菌、线虫等。也正因为光活化农药具有高效、低毒、低残留、选择性强,对人畜安全等优点,作为一类新型无公害农药其开发前景十分巨大^[5]。

以往所报道的有关光活化农药的杀虫机理研究^[6,7],主要集中于宏观的光生物学效应,也有通过单线态氧研究光活化农药在光诱导下的光化学反应^[8,9]。本工作就焦脱镁叶绿酸-a 的光化学性质,开展了激光光解时间分辨吸收的研究,对其作为光活化农药的可能性进行了探讨。实验选定的化合物焦脱镁叶绿酸-a 的结构式如图1所示,它是由蚕砂叶绿素中提取的一类卟啉化合物,具有光敏活性,是一类光敏剂。

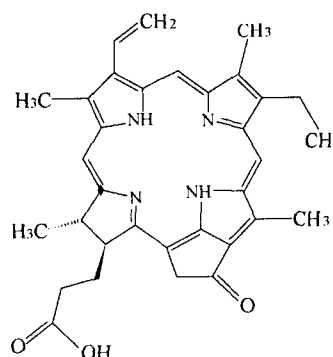


Fig.1 The structural expression of pyropheophorbide-a.

国家自然科学基金(30070862)资助

第一作者:吴铁一,女,1978年12月出生,2000年毕业于内蒙古大学,生物技术专业,现为中国科学院上海原子核研究所无机化学专业,在读硕士研究生

收稿日期:初稿 2003-01-03,修回 2003-02-25

焦脱镁叶绿素-a 来自于天然的蚕砂, 来源广泛, 制备工艺成熟, 样品纯度较高 (98%以上)^[10] 而且又可以进行“变废为宝”的废物利用。由于光活化农药又名绿色农药, 所以此样品用作光活化农药, 更具“绿色”意义。另外, 卟啉类化合物应用于光活化农药研究的可行性已得到证明^[6]。

1 材料和方法

1.1 试剂

焦脱镁叶绿素-a 是由上海第二军医大学陈志龙教授从蚕砂叶绿素中提取的卟啉类化合物经改造获得的^[10]。鉴于该化合物微溶于水, 故如无特别指出, 文中所用溶液为乙腈与水体积比为 1:1 的混合体系。所用的乙腈为色谱纯, 水为新鲜的 3 次重蒸馏水。

1.2 仪器和方法

本研究采用的是纳秒级激光光解瞬态吸收光谱装置, 激光器为 N₂ 分子和 XeCl 准分子激光器, 脉冲宽度为 20ns, 输出激光波长分别为 308nm, 单脉冲激光能量分别为 4 和 40mJ。分析光源为 500W 氙灯, 在检测瞬态产物吸收时可以加亮 100 倍以提高信噪比。激光光束与分析光束垂直通过 10mm 的石英样品池。光激发前后溶液的光信号改变经单色仪分光、R955 光电倍增管检测, 然后由 HP54510B 300MHz 数字示波器记录数字信号, 并储存于 PC-486 微机, 最后用本室自己编制的软件进行瞬态吸收谱和动力学数据处理。

紫外-可见分光光度仪为北京普析通用仪器有限公司的产品 TU-1800SPC。

实验所用溶液均为实验开始前新鲜配制。根据需要, 样品在实验前用 99.99% 的氮气或氧气鼓泡 20min, 实验在室温下 (约 15℃) 进行。

2 结果和讨论

2.1 焦脱镁叶绿素-a 的紫外-可见吸收光谱及其摩尔吸光系数的测定

首先利用 TU-1800SPC 紫外-可见分光光度仪对焦脱镁叶绿素-a 的光吸收情况进行了测定。如图 2 所示, 焦脱镁叶绿素-a 分光光度吸收谱在 409nm 和 664nm 处有两个特征吸收峰。尤其是在可见红光区 ($\lambda=664\text{nm}$) 的特征吸收, 使得该样

品对太阳光有很大的吸收截面, 符合理想光敏剂的基本条件^[11], 即在 650nm 以上有强吸收。分别测定 409nm 和 664nm 处的光吸收与样品浓度的关系, 计算出样品在此两处的摩尔吸光系数, 分别为 $3260000\text{dm}^3\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ 和 $1245000\text{dm}^3\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ 。

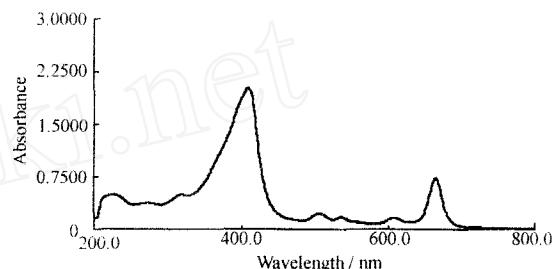


Fig.2 The UV-visible absorption spectrum of pyropheophorbide-a.

2.2 焦脱镁叶绿素-a 激发三重激发态的生成

考虑到样品受到不同波长的光激发后生成单线态, 经系间窜跃转换成三线态的能量都是相同的。同时本课题组不具备 400nm 和 650nm 波长的激光, 以 308nm 激光作为激发光对焦脱镁叶绿素-a 激发三线态所做研究, 在本质上可以代表其光化学性质。

图 3 为 $0.08\times 10^{-3}\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ 焦脱镁叶绿素-a 的乙腈水混合溶液, 经 308nm 激光光解后于 0.1 μs 和 10 μs 记录到的瞬态吸收谱, 由此可以看出焦脱镁叶绿素-a 经 308nm 激光激发后产生的瞬态产物, 在实验检测的波长范围内都有较强的吸收, 同时在 410nm 附近观察到焦脱镁叶绿素-a 的光漂白。通常化合物在激光作用下会产生单重激发态或被光电离, 单重态可经辐射跃迁回到基态放出荧光, 或经系间窜跃转换成寿命较长的三重态。本实验中未能

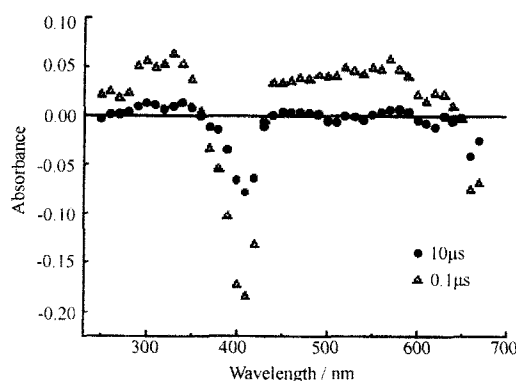


Fig.3 Transient absorption spectra in laser flash photolysis of pyropheophorbide-a solution ($0.08\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$) with laser pulses of 0.1 or 10 microseconds, respectively.

在 660nm 左右观察到水合电子的特征吸收, 故可基本排除焦脱镁叶绿酸-a 在 308nm 激光作用下的光电离。同时, 由于单线态的寿命通常在纳秒量级, 在所使用的 20ns 脉宽的准分子激光光解条件下很难观察到单线态, 所以本实验中记录到的瞬态特征吸收可能来源于焦脱镁叶绿酸-a 的激发三重态或自由基。如在溶液中加入三重态的有效猝灭剂 O_2 或富马腈, 如图 4 和图 5 所示, 在 460nm 记录到的该瞬态产物的衰减明显加快, 在富马腈的浓度达到 $0.4 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 时, 在仪器时间分辨范围内观察不到任何焦脱镁叶绿酸-a 激发中间产物的瞬态吸收。由此可以确定此中间产物为焦脱镁叶绿酸-a 的三重激发态。其产生机理可归纳如下:

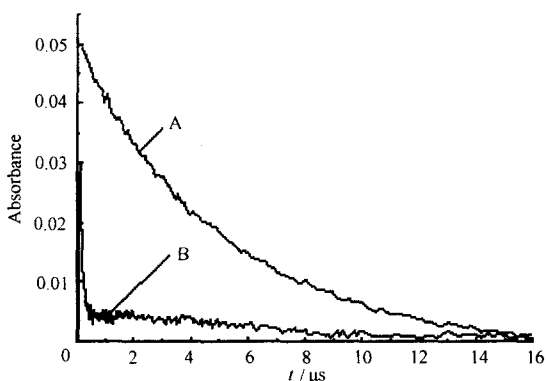


Fig.4 Quenching effects of oxygen on excited triplet of pyropheophorbide-a. The spectra were obtained from transient absorption at 460nm of $0.08 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ pyropheophorbide-a solutions. In Spectrum A, the solution had been deaerated by bubbling with high purity nitrogen (99.99%) for 20min, and in Spectrum B, by bubbling with high purity oxygen.

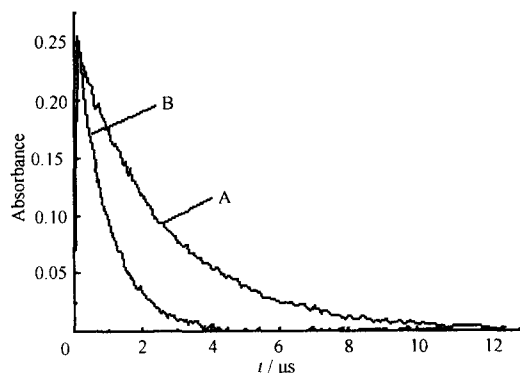
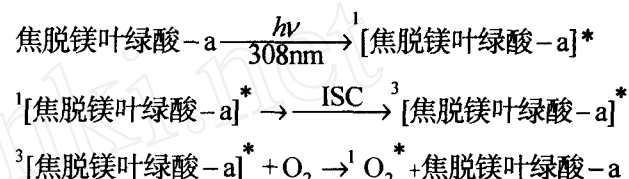


Fig.5 Quenching effects of fumaroid nitrile on excited triplet of pyropheophorbide-a. The spectra were obtained from transient absorption at 460 nm of $0.08 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ pyropheophorbide-a solutions. In Spectrum A, the solution had been deaerated by bubbling with high purity nitrogen (99.99%) for 20min, and in Spectrum B, fumaroid nitrile of $0.4 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ had been added to the solution.

在有氧情况下, 焦脱镁叶绿酸-a 的激发三重态

会被氧猝灭生成对生物靶分子损伤的单线态氧, 这就是它作为光动力活化农药的最基本原理。但由于在所使用的 20ns 脉宽的准分子激光光解条件下很难观察到单线态氧, 故此产生单线态氧的机理有赖于通过其他实验手段的进一步的验证。



2.3 焦脱镁叶绿酸-a 三重激发态在苯体系中的光物理参数的测定

2.3.1 自猝灭速率常数(k) 考虑到焦脱镁叶绿酸-a 在乙腈水混合溶液中的浓度变化范围有限, 故以苯为溶剂, 在脱氧条件下, 改变焦脱镁叶绿酸-a 溶液的浓度, 以 308nm 激光进行光解实验, 测得一系列焦脱镁叶绿酸-a 激发三重态在 460nm 处的瞬态吸收随时间变化的曲线, 如图 6 所示。结果发现, 焦脱镁叶绿酸-a 三重激发态的衰减情况与焦脱镁叶绿酸-a 的浓度有一定的相关性。随着样品浓度的增加, 衰减状况加剧。对其衰减曲线进行动力学拟合, 读取一系列表观衰减速率常数 k_{obs} , 以 k_{obs} 对相应焦脱镁叶绿酸-a 的浓度 ($[S]$) 作图得到一条直线, 如图 7 所示。其斜率 $k (=k_{\text{obs}}/[S])$ 即为焦脱镁叶绿酸-a 的自猝灭速率常数, 截距为焦脱镁叶绿酸-a 三重态的自衰减速率常数。本实验中测得的焦脱镁叶绿酸-a 三重态的自猝灭和自衰减速率常数分别为

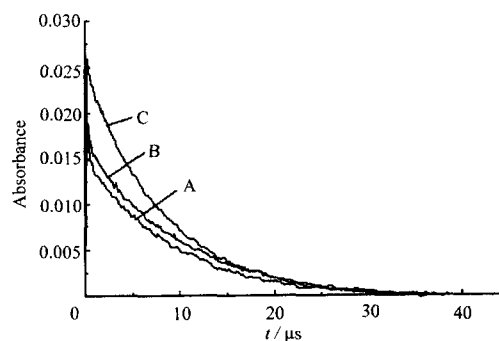


Fig.6 Attenuation curves of absorption spectra at 460nm of excited triplet in pyropheophorbide-a solutions of different concentrations. The concentrations of Spectra A, B and C were 0.03, 0.05 and $0.07 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$, respectively.

$3.57 \times 10^7 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 和 $8.64 \times 10^6 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。这可能是由于基态焦脱镁叶绿酸-a 分子与焦脱镁叶绿酸-a 三重激发态发生了物理碰撞造成的, 反应

机理如下:

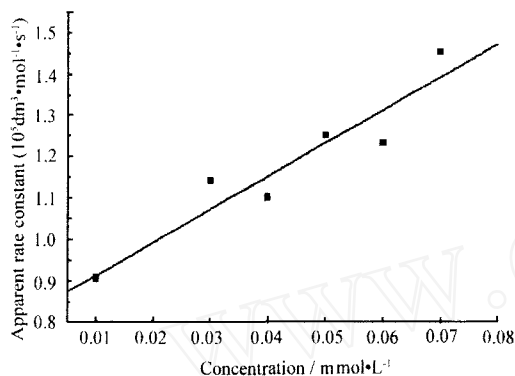
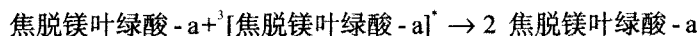


Fig.7 Apparent rate constants k_{obs} versus corresponding concentrations of pyropheophorbide-a. The data were obtained by dynamic fitting of the attenuation curves.

2.3.2 三重激发态的摩尔吸光系数 (ϵ) 测定 β -胡萝卜素激发能较低, 是一个非常好的激发能转移剂, 且它的激发三重态的摩尔吸光系数已知, 所以常被用作激发三重态的参比。设计一个实验体系, 使焦脱镁叶绿酸-a 的三重激发态与 β -胡萝卜素基态之间发生有效的激发能转移, 最终生成 β -胡萝卜素三重激发态。苯体系中, β -胡萝卜素的三重激发态的吸收位于 515nm, 相应的摩尔吸光系数为 $(130000 \pm 10000) \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。配制一定浓度的焦脱镁叶绿酸-a 溶液 ($0.4 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$), 实验前通高纯氮气 (99.99%) 20min 脱氧, 在体系中加入不同浓度的 β -胡萝卜素, 纪录 515nm 处 β -胡萝卜素三重激发态的生成和衰减时间分辨曲线和 460nm 处焦脱镁叶绿酸-a 的三重激发态的衰减曲线, 并对 515nm 和 460nm 曲线进行动力学拟合, 读取相应的吸光度值 (A_0) 及 k_{obs} 值, 可根据下式求得焦脱镁叶绿酸-a 三重激发态的摩尔吸光系数

$$\epsilon_{\text{T 测}}' = A_{\text{m 参比}}' \epsilon_{\text{T 参比}}' k_{\text{obs 参比}}' / (k_{\text{obs 参比}}' + k_{\text{s 测}}' [S]_{\text{测}}) A_{0 \text{ 测}}$$

在上式中, $A_{\text{m 参比}}'$ 、 $A_{0 \text{ 测}}$ 分别表示 β -胡萝卜素三重激发态在 515nm 处的最大吸光度值和焦脱镁叶绿酸-a 的三重激发态在 460nm 的零时刻吸光度值; $k_{\text{obs 参比}}'$ 、 $k_{\text{s 测}}'$ 分别表示 β -胡萝卜素三重激发态在 515nm 处测得的表观生成速率常数和焦脱镁叶绿酸-a 的三重激发态在 460nm 测得的自猝灭速率常数; $[S]_{\text{测}}$ 表示焦脱镁叶绿酸-a 的浓度; $\epsilon_{\text{T 参比}}'$ 、 $\epsilon_{\text{T 测}}'$ 分别是 β -胡萝卜素三重激发态在 515nm 的摩尔吸光系数和待测焦脱镁叶绿酸-a 三重激发态在 460nm 的摩尔吸光系数。可见这一计算充分考虑到了两种瞬

态产物的动态变化过程。

利用以上方法求得的焦脱镁叶绿酸-a 三重激发态的摩尔吸光系数为 $25000 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。

2.3.3 三重激发态的量子产额 (Φ) 测定 三重态的量子产额一般采用标准规定法求得, 这种物质在某种溶液中的三重激发态特征吸收波长和该波长下的摩尔吸光系数已知, 并且它的量子产额也已知。用相同强度激光去分别激发待测光敏剂 (已知其三重激发态摩尔吸光系数) 和标定光敏剂, 根据

$$\Phi_{\text{待测}} = A_{\text{待测}} (\epsilon M \Phi)_{\text{标}} / A_{\text{标}} (\epsilon M)_{\text{待测}}$$

式中的 M 表示对于吸收的光量子数, 实验前调整两样品的浓度使得在 308nm 下的吸光度相等, 也就是说式中的 M 项可以约除。根据实验中分别测得的三重激发态的吸光度 $A_{\text{待测}}$ 和 $A_{\text{标}}$ 及已知的相关数据, 就可以求出 $\Phi_{\text{待测}}$ 。

本实验中以二苯甲酮为标定物, 已知二苯甲酮在苯溶液中的量子产额为 1, 并且已知它在 533nm 处的摩尔吸光系数 $\epsilon_{\text{T}} = 7100 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 可求得焦脱镁叶绿酸-a 的三重态量子产额为 0.5。在同类光敏剂中焦脱镁叶绿酸-a 的三重态量子产额是比较高的, 说明该化合物具有较高的光敏效率。

3 结论

本文从焦脱镁叶绿酸-a 的光物理和化学性质着手, 以激光光解时间分辨手段研究了它的激发三重态基本特性, 测定了其激发三重态的摩尔吸光系数和量子产额。焦脱镁叶绿酸-a 来自天然蚕砂, 制备工艺较成熟且纯度较高, 更具“绿色”意义。发现, 样品在 600—800nm 有强吸收 ($\lambda=664\text{nm}$), 具备了理想光敏剂所必需的性质。该光敏剂具有较高的三重态量子产额 ($\Phi=0.5$)^[12], 经激发能转移可产生单线态氧, 所以焦脱镁叶绿酸-a 有可能作为一个较好的光动力活化农药加以使用。

参考文献

- 1 徐汉虹, 陈立, 赵善欢. 广东农业科学, 1997, (5): 31-33
XU H H, CHEN L, ZHAO S H. Guangdong Agric Sci, 1997, (5): 31-33
- 2 Heitz J R. Chemtech, 1988, 8: 484-488
- 3 Heitz J R, ACS Symp Ser. Light Activated Pesticides

- Control, 1995, 1-16
- 4 徐汉虹. 华南农业大学博士论文, 1992
XU H H. Doctoral Thesis of South China Agricultural University, 1992
- 5 徐汉虹, 安玉兴. 农药科学与管理, 2001, 22(1): 32-34
XU H H, AN Y X. Pesticide Science and Administration, 2001, 22(1): 32-34
- 6 Rebeiz C A, Gut L J, Lee k *et al.* Crit Rev Plant Sci, 1995, 14(4): 329-366
- 7 Rebeiz C A, Montazer Z A, Hopen H J *et al.* Enzyme Microbiol Technol, 1984, 6: 390-401
- 8 Tronchin M, Jori G, Neumann M *et al.* Internet Journal of Science, 1997, 3: c37
- 9 Arnason J T, Swain T, Wat C K *et al.* Biochem Syst Ecol, 1981, 9(1): 63-68
- 10 陈志龙, 陈静蓉. 化学学报, 2001, 59(1):1310-1316
CHEN Z L, CHEN J R, Acta Chimica Sin, 2002, 59 (8): 1310-1316
- 11 董润安. 清华大学博士学位论文, 1996
DONG R A. Doctoral Thesis of Tsinghua University, 1996
- 12 马金石, 成昊, 张驿等. 化学进展, 1999, 11(4): 341-347
MA J S, CHENG H, ZHANG Y *et al.* Chem Ind Eng Prog, 1999, 11(4): 341-347

LASER FLASH PHOTOLYSIS OF PYROPHAEOPHORBIIDE-A AND ITS POSSIBLE APPLICATION AS A PHOTOACTIVATED PESTICIDE

WU Tieyi MIAO Jinling ZHAO Hongwei DOU Daying WANG Wenfeng YAO Side

(Radiation Application Center, Shanghai Institute of Nuclear Research, the Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800)

CHEN Zhilong

(Faculty of Naval Medicine, No.2 Military Medical University, Shanghai 200433)

ABSTRACT By use of time-resolved laser flash photolysis techniques, a preliminary study of the photochemical characters of pyropheophorbide-a derived from chlorophyll in silkworm excrement has been completed. It is found that these compounds have strong absorbance in all wavelength ranges under investigation, and produce excited triplet state with high quantum yields. Discussions were made on possible applications of the pyropheophorbide-a as photoactivated pesticide.

KEYWORDS Pyropheophorbide-a, Photoactivated pesticide, Laser flash photolysis

CLC O644