

白蛋白锌卟啉结合体光解水产氢性能

朱永峰, 何玉凤, 王荣民*, 李岩, 宋鹏飞

生态环境相关高分子材料教育部重点实验室, 甘肃省高分子材料重点实验室, 西北师范大学化学化工学院, 兰州 730070

* 联系人, E-mail: wangrm@nwnu.edu.cn

2010-11-01 收稿, 2011-01-14 接受

教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET-06-0909)、国家自然科学基金(20964002)和甘肃省科技支撑计划(1011GKCA017)资助项目

摘要 将难溶性的锌卟啉(ZnTpHPP)与牛血清白蛋白(BSA)结合, 制得一类新型水溶性生物高分子金属卟啉配合物(BSA-ZnTpHPP). 通过紫外可见光谱(UV-Vis)、圆二色谱(CD)及非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(Native-PAGE)对 BSA-ZnTpHPP 的结构进行了表征, 发现二者以配位键结合, BSA 与锌卟啉以较低比例结合时蛋白质二级结构保持. 考察了 BSA-ZnTpHPP 的光敏感性, 发现 BSA-ZnTpHPP 在光照条件下易变成三重激发态, 可以将电子转移给甲基紫精(MV²⁺). 以三乙醇胺(TEOA)为电子供体, 甲基紫精(MV²⁺)为电子中继体, 以 BSA-ZnTpHPP/MV²⁺/TEOA/胶体 Pt 四组分体系考察了 BSA-ZnTpHPP 的光诱导水解产氢性能, 结果表明, 这类水溶性生物高分子金属卟啉光敏剂具有良好的光解水产氢性能.

关键词

生物高分子
光敏剂
金属卟啉
白蛋白
电子转移反应
产氢

能源和环境是困扰当今及未来人类发展的关键问题, 传统的化石能源不可再生, 同时对环境造成很大的污染. 在新型能源中, 氢能^[1]因具有无污染、碳的零排放、可再生等特点, 被普遍认为是一种最有吸引力的替代能源^[2]. 在诸多制氢方法中^[3], 以太阳光为能源的光解水产氢体系是一种能量消耗较少^[4], 成本较低且无碳排放的高效产氢技术^[5,6]. 在此体系中光敏剂的选择至关重要. 典型的光敏剂有金属络合物与半导体材料两大类. 半导体材料包括 TiO₂ 及其修饰型^[7,8]、其他金属与金属氧化物的掺杂型^[9]、离子掺杂型^[10]等^[11,12]. 金属卟啉也是一种优良的光敏剂^[13], 如叶绿素中的镁卟啉是绿色植物光合作用中最有效的光能转换体系^[14]. 一些微生物也具有光解水产氢功能^[15,16]. 在模拟生物电子转移反应的光解水产氢^[17]体系中, 金属卟啉作为光敏剂表现出优异的性能. 然而, 在水相中进行的光诱导电子转移反应体系, 使用的金属卟啉光敏剂需要在水中可溶^[18]. 而大部分人工合成的金属卟啉难溶于水, 将其应用于光解水产氢体系中需要有机溶剂或采用胶束, 使得金属卟啉在电子转移反应中的应用受到很大的限

制^[19,20].

来源相对丰富且稳定性良好的水溶性白蛋白常被用作天然高分子载体, 其内部空腔可以与许多化合物结合^[21,22]. 将金属卟啉分子与白蛋白结合后, 所得白蛋白金属卟啉结合体在水中有较好的溶解性^[23], 从而在水溶液中金属卟啉能更好的发挥其功能特性^[24]. 本文将合成的水难溶性金属卟啉, 即中位-四(4-羟基苯基)卟啉锌配合物(ZnTpHPP)与水溶性牛血清白蛋白(BSA)结合, 制得了一类新型的水溶性生物高分子光敏剂, 并将其应用于光解水产氢体系.

1 实验

1.1 试剂与仪器

牛血清白蛋白(BSA, $M_w=67000$, 上海伯奥生物科技有限公司, AR); 吡咯(国药集团化学试剂有限公司, 使用前新蒸); 对羟基苯甲醛(AR); 甲基紫精(MV²⁺, 购自 Sigma-Aldrich); 聚乙烯醇(PVA, $M_w=13000\sim 23000$, 醇解度: 98%, 购自 Sigma-Aldrich); 氯铂酸($H_2PtCl_6 \cdot 6H_2O$); 三乙醇胺(TEOA)等均为 AR;

英文引用格式: Zhu Y F, He Y F, Wang R M, et al. Albumin/zinc porphyrin conjugates for photosensitized reduction of water to hydrogen(in Chinese). Chinese Sci Bull (Chinese Ver), 2011, 56: 1360-1366, doi: 10.1360/972010-1508

磷酸盐缓冲溶液(PBS: $[\text{PO}_4^{3-}] = 0.01 \text{ mol/L}$, pH 7.4).

透析膜(MWCO: 3500, 三光纯叶株式会社)使用前需处理; Agilent 8453 型紫外-可见分光光度计; DYY-12C 型电泳仪(北京六一仪器厂); J-810 型圆二色谱仪(日本 JASCO); MERCURY Plus 400 型超导核磁共振波谱仪(美国 VARIAN); LS-55 型荧光光谱仪(美国 PE 公司); GC-16 型 Shimadzu 气相色谱仪。

1.2 锌卟啉配合物的合成

中位-四(4-羟基苯基)卟啉配体(H_2TpHPP)按文献[25]方法合成。其锌配合物(ZnTpHPP)的合成是以 DMF 为溶剂, $\text{H}_2\text{TpHPP}/\text{Zn}(\text{OAc})_2$ 为 1/5(摩尔比), 120°C 反应 45 min 后加入两倍体积的冷水, 冰水浴过夜, 抽滤, 得紫色晶体, 用 200~300 目硅胶柱层析分离, 得锌卟啉 [ZnTpHPP]. H_2TpHPP 的 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 9.98(s, 4H, -OH), 8.86(s, 8H, pyrrole); 7.20~7.22, 7.99~8.01(16H, Ph-H), -2.89(s, 2H, -NH). ZnTpHPP 的 $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 9.85(s, 4H, -OH); 8.81(s, 8H, pyrrole); 7.16~7.18, 7.93~7.96(16H, Ph-H). 配体中吡咯 N-H 峰 δ 2.89(s, 2H, -NH) 在配合物 ZnTpHPP 中消失, 说明吡咯中的 2 个 H 已经被 Zn 置换, 从而证明 ZnTpHPP 已被成功合成。

1.3 BSA-ZnTpHPP 的制备

分别配制 BSA/PBS 与 $\text{ZnTpHPP}/\text{EtOH}$ 溶液。在结合瓶中制备牛血清白蛋白与锌卟啉的结合体, 即在 1 mL $\text{ZnTpHPP}/\text{EtOH}$ 溶液中加入一定量的 BSA/PBS 溶液, 使 ZnTpHPP 与 BSA 的分子数比例为 5:1, 避光条件下缓慢振荡 12 h。取 3 mL 反应混合物移入透析膜, 用 500 mL PBS 溶液透析 3 次除去 EtOH, 即得到牛血清白蛋白锌卟啉结合体(BSA-ZnTpHPP-5)溶液。其中, BSA 浓度为 0.091 mmol/L。同法, 改变 BSA 与 ZnTpHPP 物质的量之比(BSA: ZnTpHPP =1:1, 1:3, 1:10), 可分别得到锌卟啉/牛血清白蛋白结合比例不同的 BSA-锌卟啉结合体(BSA-ZnTpHPP- n , $n=1, 3, 10$)。

1.4 ZnTpHPP 与 BSA-ZnTpHPP 的结构表征

(1) 紫外可见光谱。分别测定了 ZnTpHPP 和 BSA-ZnTpHPP 在含有 0.4% 体积乙醇的 PBS(0.01 mmol/L) 中的 UV-Vis 光谱。

(2) 圆二色谱。以 PBS(0.01 mol/L) 为溶剂分别

配制蛋白浓度均为 $0.5 \mu\text{mol/L}$ 的 BSA, BSA-ZnTpHPP-1, BSA-ZnTpHPP-3, BSA-ZnTpHPP-5, BSA-ZnTpHPP-10 溶液, 分别测定其圆二色谱(CD)。

(3) 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(Native-PAGE)。对白蛋白及其结合体, 分离胶选择 8% 的丙烯酰胺溶液, 积层胶选择 5% 的丙烯酰胺溶液, 用考马斯亮蓝 R250 染色。在染色液中浸泡 4 h 后, 将凝胶从染色液中移出, 放入脱色液(约 100 mL)12 h, 进行脱色处理, 其间每隔 2~3 h 更换脱色液一次。得到白蛋白及其结合体的 Native-PAGE 结果。

1.5 BSA-ZnTpHPP 的光解水产氢性能

(1) BSA-ZnTpHPP 的光敏性。以 TEOA 为还原剂, BSA-ZnTpHPP 为光敏剂, 采用荧光法考察甲基紫精(MV^{2+})对 BSA-ZnTpHPP 的荧光猝灭及二者之间的电子转移情况。

(2) BSA-ZnTpHPP 光解水产氢性能。以 BSA-ZnTpHPP 为光敏剂、 MV^{2+} 为电子中继物、TEOA 为电子供体、胶体 Pt 为催化剂考察 BSA-ZnTpHPP/ MV^{2+} /TEOA/胶体 Pt 四组分体系的光诱导水解产氢性能; 其中, 胶体 Pt(PVA-Pt) 自制^[26]。光解水产氢实验步骤: 在特制的密封石英比色皿反应器中, 依次加入 BSA-ZnTpHPP-1($10 \mu\text{mol/L}$), $[\text{MV}^{2+}]$ (4 mmol/L), TEOA (1.7 mol/L), 胶体 Pt(20 $\mu\text{mol/L}$), PBS(10 mmol/L)。向密封体系中通氩气 1~2 h 以除去氧气, 用 450 W 高压汞灯作为光源, 每间隔一定时间, 用进样器抽取反应器中的气体, 并进行气相色谱分析, 测定 H_2 的含量。

2 结果与讨论

2.1 BSA-ZnTpHPP 的表征

首先考察了 ZnTpHPP 结合量对 BSA-ZnTpHPP 结合体溶解性的影响。即将不同配比的 ZnTpHPP 与 BSA 结合, 制得水溶性锌卟啉结合比例不同的白蛋白锌卟啉结合体(BSA-ZnTpHPP- n , $n=1, 3, 5, 10$)。其中, 锌卟啉与 BSA 以低比例结合时(BSA-ZnTpHPP- n , $n=1, 3$)较为稳定, 能室温静置(避光)较长时间。溶液放置数日后发现析出沉淀的次序是 BSA-ZnTpHPP-10 > BSA-ZnTpHPP-5。这说明水溶性生物高分子金属卟啉配合物中 BSA 有特定的结合方式。当二者比例过大时, 金属卟啉会破坏其二级结构, 导致沉淀生成。

其次, 分别用 UV-Vis, CD, Native-PAGE 考察了 ZnTpHPP 与 BSA 的结合方式.

(1) 紫外可见光谱(UV-Vis). H_2TpHPP , ZnTpHPP, BSA-ZnTpHPP-1 的 UV-Vis 如图 1 所示. 其中, 因小分子卟啉配体(H_2TpHPP)及其锌配合物(ZnTpHPP)在水中难溶, 所以采用 EtOH 作溶剂; 水溶性白蛋白锌卟啉结合体(BSA-ZnTpHPP)以 PBS 为溶剂. 从图中可以看出, H_2TpHPP 与 Zn 发生配位后, 卟啉特征吸收峰 Soret 带红移, Q 带由 4 个减为 2 个, 表明形成了金属卟啉配合物. 当 ZnTpHPP 与 BSA 结合后, Soret 带与 Q 带也有红移, 这是因为 BSA 中的咪唑基与 ZnTpHPP 发生了轴向配位.

为了验证 BSA 中咪唑基与锌卟啉发生轴向配位反应, 实验中考察了模型化合物间的配位性能, 即轴向配体 1-甲基咪唑(MeIm)与锌卟啉(ZnTpHPP)的轴向配位情况. 实验中选择极性较小的丙酮为溶剂, 测定了 ZnTpHPP 与 MeIm 配位前后的 UV-Vis 吸收光谱. 从图 2 可以看出, MeIm 可使锌配合物(ZnTpHPP)

的 Soret 带与 Q 带发生明显的红移, 但 MeIm 对配体 (H_2TpHPP)的 UV-Vis 光谱没有影响, 表明锌配合物 (ZnTpHPP)的中心金属与咪唑基团上的 N 原子发生了轴向配位作用.

由于 BSA 中有组氨酸残基, 因此, 根据上述实验结果, 我们认为, ZnTpHPP 与 BSA 结合时, 首先进入了 BSA 的子域疏水空腔中, 然后与空腔中组氨酸残基咪唑环上的 N 发生轴向配位, 结合方式如图 3 所示.

(2) 圆二色谱. 圆二色谱(CD)是观察生物大分子(尤其是蛋白质)构象变化的敏锐工具^[27]. 为了考察金属卟啉结合比对 BSA 结构的影响, 分别测定了不同结合比的 BSA 金属卟啉结合体及 BSA 的 CD 谱(图 4).

从图中可知, 208 和 221 nm 处是 BSA 分子典型的 α -螺旋结构, 208 nm 处是由 α -螺旋肽键 π - π^* 跃迁引起的, 221 nm 峰为 n - π^* 跃迁所致^[28]. BSA 结合 ZnTpHPP 分子后, 随着结合比的增大, 208 和 221 nm

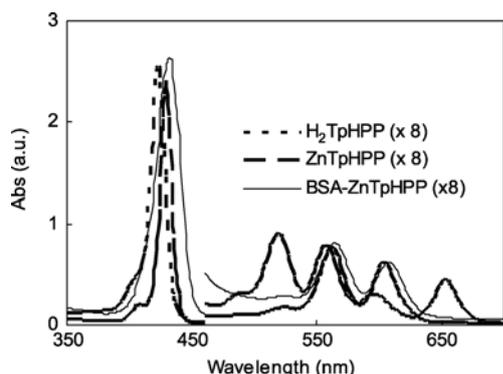


图 1 卟啉配体、卟啉锌配合物及其与 BSA 结合体的 UV-Vis 光谱图

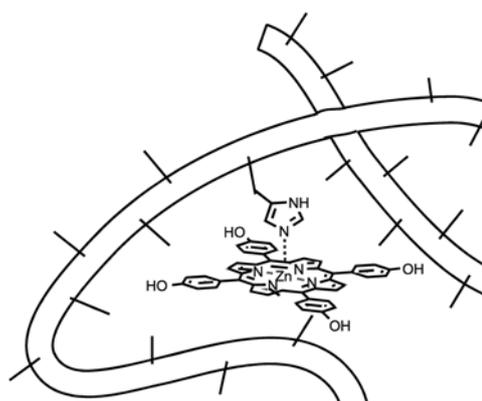


图 3 BSA 与 ZnTpHPP 轴向配位结构示意图

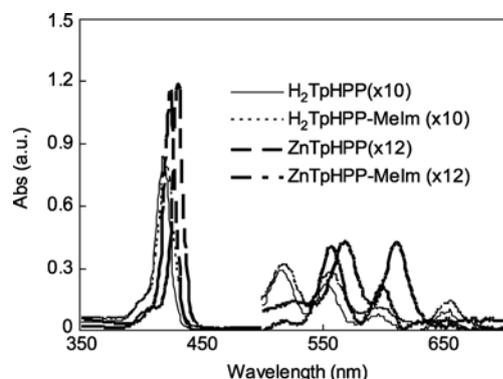


图 2 小分子配体和配合物与 MeIm 配位前后的 UV-Vis 光谱图

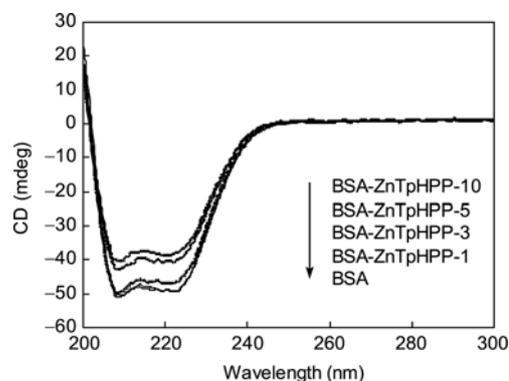


图 4 BSA-ZnTpHPP 与 BSA 的 CD 谱图

处的强度减弱,说明二者结合后使 BSA 肽链伸展,导致 α -螺旋结构减少^[29],改变了 BSA 的二级结构,即 BSA 结合体中二级结构的含量减少.而在体系 BSA-ZnTpHPP-1, BSA-ZnTpHPP-3 中,蛋白质的结构基本保持.

(3) 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳. 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(Native-PAGE)是分析蛋白质结构的另一重要工具. 实验中选择 pH 8.3 的电泳缓冲液,根据所测蛋白的分子量,选择最佳的丙烯酰胺电泳分离胶、积层胶浓度,结果如图 5 所示. 可以看出,BSA-ZnTpHPP-10 的电泳图与原料及低比例结合体不同,有脱尾现象,这是因为当 BSA 结合金属配合物(ZnTpHPP)的比例过高时,会影响 BSA 的二级结构,但在 BSA-ZnTpHPP-1, BSA-ZnTpHPP-3, BSA-ZnTpHPP-5 中,BSA 结合金属配合物前后的电泳性能未发生明显变化,说明结合后蛋白质原有的二级结构继续保持,这与 CD 结果一致.

2.2 BSA-ZnTpHPP 的光解水产氢性能

(1) 光诱导电子转移反应. 以甲基紫精(MV²⁺)为电子受体,考察了水溶性 BSA-ZnTpHPP 的光诱导电子转移反应活性. 首先,在 BSA-ZnTpHPP-1 水溶液中,依次加入不同量的 MV²⁺溶液,考察 MV²⁺对 BSA-ZnTpHPP 的荧光猝灭程度. 结果表明,在激发波长(E_x)为 430 nm 时,BSA-ZnTpHPP 的最强发射波长(E_m)为 618 nm. 随 MV²⁺浓度的增大,BSA-ZnTpHPP-1 的荧光强度逐渐降低,说明 MV²⁺对 BSA-ZnTpHPP-1 的荧光有猝灭作用.

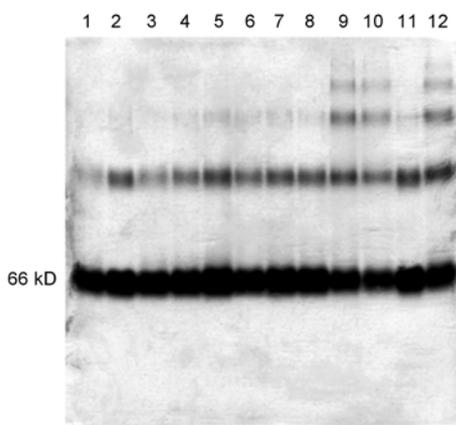


图 5 BSA 结合 ZnTpHPP 后的 Native-PAGE 图
2, 11 为 BSA; 1, 3 为 BSA-ZnTpHPP-1; 4, 5 为 BSA-ZnTpHPP-3;
6, 7, 8 为 BSA-ZnTpHPP-5; 9, 10, 12 为 BSA-ZnTpHPP-10

其次,根据 Stern-Volmer 公式(式(1)),利用实验所得数据,以 F_0/F 对 C 做 Stern-Volmer 曲线(图 6),得到 Stern-Volmer 猝灭常数为 0.596×10^3 , 曲线的相关系数为 0.9921, 说明 MV²⁺对 BSA-ZnTpHPP-1 的荧光猝灭属于动态猝灭.

$$F_0/F = 1 + K_q \tau_0 C = 1 + K_{sv} C, \quad (1)$$

式中, K_q 为 Stern-Volmer 双分子猝灭过程速率常数; τ_0 为无猝灭剂存在下荧光分子的平均寿命; K_{sv} 为猝灭常数, C 为猝灭剂浓度, 即 MV²⁺的浓度.

为了进一步考察 BSA-ZnTpHPP-1 在光照下对 MV²⁺的电子转移反应, 实验中测定了 BSA-ZnTpHPP-1/MV²⁺/TEOA 体系中 MV²⁺还原态(MV⁺)吸收峰强度随光照时间的变化, 结果如图 7 所示. MV⁺的特征吸收峰(605 nm)强度随光照时间的延长而增强, 3 h 后,

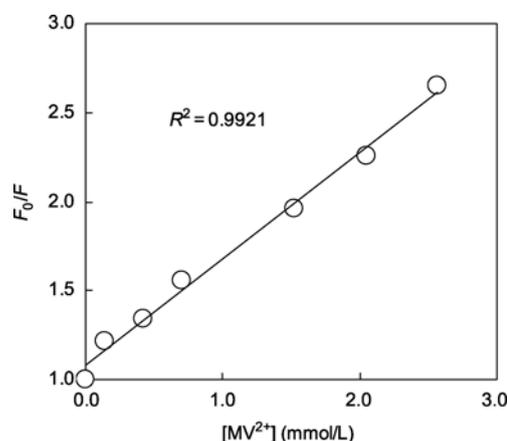


图 6 MV²⁺对 BSA-ZnTpHPP-1 荧光猝灭的 Stern-Volmer 曲线

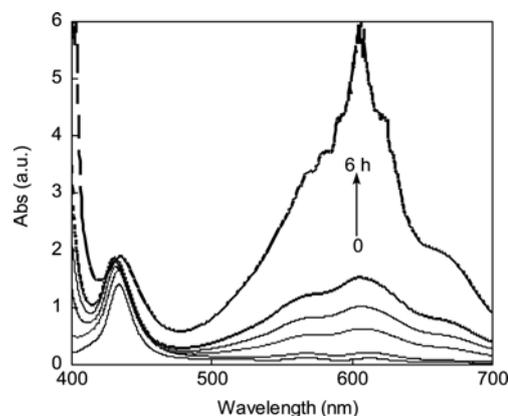


图 7 持续光照下 BSA-ZnTpHPP-1/MV²⁺/TEOA 体系的 UV-Vis 光谱图
光照时间分别为 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 6 h

其吸收强度可达到未光照时的 60 倍。

另一方面, BSA-ZnTpHPP 中金属卟啉的特征吸收峰, 即 Soret 带(432 nm)的强度没有减弱, 表明光敏剂 BSA-ZnTpHPP 没有被光降解. 而 MV^{2+} 的特征吸收峰吸强度在 605 nm 处呈线性增强, 表明体系中发生了光诱导电子转移反应. 这说明 BSA-TpHPPZn 在光照下, 很容易被激发为三重态后将电子传递给 MV^{2+} , 表现出了良好的光敏性质.

结合文献[30]结果, 我们认为, 金属卟啉结合蛋白质后, 其氧化还原中心位于蛋白质疏水腔内, 电子不是经蛋白质的主链转移, 而是通过金属卟啉环、芳香环等共轭体系转移.

(2) BSA-ZnTpHPP 光诱导水解产氢性能. 任何一个光解水产氢体系, 总需要光敏剂吸收光能来驱动一个电子传递系统, 使 H^+ 还原为 H_2 . 本文以 BSA-ZnTpHPP-1 为光敏剂、 MV^{2+} 为电子中继物、TEOA 为电子给体、胶体 Pt 为催化剂考察了 BSA-ZnTpHPP-1/ MV^{2+} /TEOA/胶体 Pt 四组分体系的光诱导水解产氢性能, 体系在连续光照过程中, H_2 的产量同光照时间的关系如图 8 所示. 从图中可知, 在光照 5 h 后体系产氢量达到 1.73 mL (H_2)/L. 计算得生物高分子光敏剂(BSA-ZnTpHPP)转化数(TON)为 7.7, 且在 5 h 内, 光诱导还原水产氢活性未减弱.

光解水产氢反应机理推测如图 9 所示. 在可见光照射下, 光敏剂 BSA-ZnTpHPP 将电子转移给 MV^{2+} 生成 MV^+ , 在催化剂胶体 Pt 存在下, MV^+ 可以驱动水中的 H^+ 质子还原产生 H_2 , 而氧化态的光敏剂(BSA-ZnTpHPP $^+$)被 TEOA 所还原, 最后, 氧化态的 TEOA 留在了反应体系中.

3 结论

将易合成但水难溶性的锌卟啉(ZnTpHPP)与生

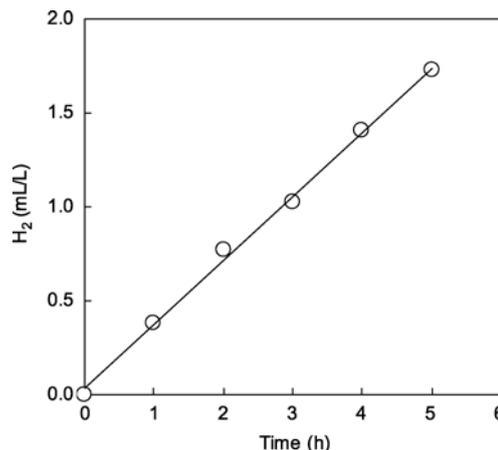


图 8 BSA-ZnTpHPP-1/ MV^{2+} /TEOA/胶体 Pt 四组分体系连续光照下 H_2 的产量与光照时间的关系

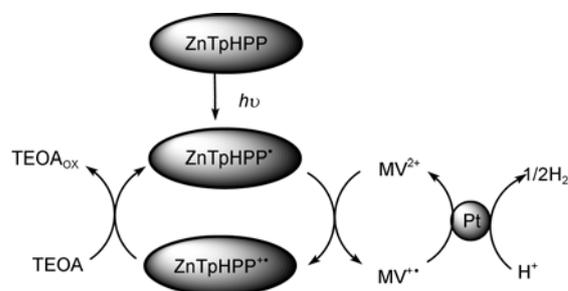


图 9 BSA-ZnTpHPP/ MV^{2+} /TEOA/胶体 Pt 四组分体系的光解水产氢反应机理示意图

物高分子 BSA 结合, 制得一类新的水溶性生物高分子光敏剂. 白蛋白结合少量锌卟啉不会改变蛋白质的二级结构、水溶性与稳定性; 这类生物高分子金属卟啉光敏剂具有良好的光解水产氢性能, 在光照 5 h 后体系产氢率达到 1.73 mL(H_2)/L, 光敏剂转化数达到 7.7. 研究结果为太阳能的利用提供了新型的水溶性光敏剂, 从而拓宽了光敏剂的选择范围.

参考文献

- 1 Navarro R M, Pena M A, Fierro J L G. Hydrogen production reactions from carbon feedstocks: fossil fuels and biomass. Chem Rev, 2007, 107: 3952–3991
- 2 Lubitz W, Tumas W. Hydrogen: An overview. Chem Rev, 2007, 107: 3900–3903
- 3 Haryanto A, Fernando S, Murali N, et al. Current status of hydrogen production techniques by steam reforming of ethanol: A review. Energy Fuels, 2005, 19: 2098–2106
- 4 Navarro R M, Sánchez-Sánchez M C, Alvarez-Galvan M C, et al. Hydrogen production from renewable sources: Biomass and photocatalytic opportunities. Energy Environ Sci, 2009, 2: 35–54
- 5 Kudo A, Miseki Y. Heterogeneous photocatalyst materials for water splitting. Chem Soc Rev, 2009, 38: 253–258

- 6 Milczarek G, Kasuya A, Mamykin S, et al. Optimization of a two-compartment photoelectrochemical cell for solar hydrogen production. *Int J Hydrogen Energy*, 2003, 28: 919–926
- 7 Li Y X, Guo M M, Peng S Q. Formation of multilayer-Eosin Y-sensitized TiO₂ via Fe³⁺ coupling for efficient visible-light photocatalytic hydrogen evolution. *Int J Hydrogen Energy*, 2009, 34: 5629–5636
- 8 Liu Y, Xie L, Li Y, et al. Synthesis and high photocatalytic hydrogen production of SrTiO₃ nanoparticles from water splitting under UV irradiation. *J Power Sources*, 2008, 183: 701–707
- 9 黄柏标, 王朋, 张晓阳, 等. 可见光光催化研究新进展. *科学通报*, 2009, 54: 847
- 10 Zhang X H, Jing D W, Guo L J. Effects of anions on the photocatalytic H₂ production performance of hydrothermally synthesized Ni-doped Cd_{0.1}Zn_{0.9}S photocatalysts. *Int J Hydrogen Energy*, 2010, 35: 7051–7057
- 11 Yan J H, Yang H H, Tang Y G, et al. Synthesis and photocatalytic activity of CuY_yFe_{2-y}O₄-CuCo₂O₄ nanocomposites for H₂ evolution under visible light irradiation. *Renewable Energy*, 2009, 34: 2399–2403
- 12 Huang B S, Chang F Y, Wey M Y. Photocatalytic properties of redox-treated Pt/TiO₂ photocatalysts for H₂ production from an aqueous methanol solution. *Int J Hydrogen Energy*, 2010, 35: 7699–7705
- 13 An W, Jiao Y, Dong C, et al. Spectroscopic and molecular modeling of the binding of meso-tetrakis(4-hydroxyphenyl) porphyrin to human serum albumin. *Dyes Pigments*, 2009, 81: 1–9
- 14 Erkoç A, Erkoç F. Structural and electronic properties of porphyrin skeleton of chlorophyll. *J Mol Struct(Theochem)*, 2002, 579: 41–44
- 15 Mathews J, Wang G Y. Metabolic pathway engineering for enhanced biohydrogen production. *Int J Hydrogen Energy*, 2009, 34: 7404–7416
- 16 Laura L B, Eric S B, John W P, et al. Engineering algae for biohydrogen and biofuel production. *Curr Opin Biotech*, 2009, 20: 264–271
- 17 Yoshinobu S, Yutaka A. Bio-mimetic hydrogen production from polysaccharide using the visible light sensitization of zinc porphyrin. *Biotechnol Bioeng*, 2003, 82: 710–714
- 18 Ogoshi H, Mizutani T, Hayashi T, et al. Porphyrins and metalloporphyrins as receptors models in molecular recognition. In: Ogoshi H, Mizutani T, Hayashi T, et al. eds. *The Porphyrin Handbook*. Vol 6 Chapter 46, Applications: Past, Present and Future. San Diego, USA: Academic Press, 2000. 279
- 19 Yutaka A, Yumiko T, Ichiro O. Highly efficient photochemical hydrogen production system using zinc porphyrin and hydrogenase in CTAB micellar system. *So Energ Mat Sol C*, 2003, 79: 103–111
- 20 Myles A J, Branda N R. Controlling photoinduced electron transfer within a hydrogen-bonded porphyrin phenoxynaphthacene-quinone photochromic system. *J Am Chem Soc*, 2001, 123, 177–178
- 21 Theodore P. All about Albumin. *Biochemistry, Genetics, and Medical Applications*. New York: Academic Press, 1996
- 22 Ghuman J, Zunsain P A, Petitpas I, et al. Structural basis of the drug-binding specificity of human serum albumin. *J Mol Bio*, 2005, 353: 38–52
- 23 Wang R M, Song J F, He Y F, et al. Conjugation of chitooligosaccharide-5-fluorouracil with bovine serum albumin. *Chin Chem Lett*, 2006, 17: 1495–1498
- 24 王荣民, 朱永峰, 何玉凤, 等. 金属卟啉蛋白质结合体的结构与功能. *化学进展*, 2010, 22: 1952–1963
- 25 童沈阳, 赵凤林, 孙国斌. Meso-四(对羟基苯)卟啉的合成及其酸碱平衡的研究. *分析化学*, 1987, 15: 1067–1070
- 26 Komatsu T, Wang R M, Zunsain P A, et al. Photosensitized reduction of water to hydrogen using human serum albumin complexed with zinc-protoporphyrin IX. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 16297–16301
- 27 Berova N, Nakanishi K, Woody R W. *Circular Dichroism: Principles and Applications*. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 2004
- 28 Whitmore L, Wallace B A. Protein secondary structure analyses from CD Spectroscopy, Inc. *Biopolymers*, 2008, 89: 392–400
- 29 Kelly S M, Price N C. The application of circular dichroism to studies of protein folding and unfolding. *Biochem Biophys Acta*, 1997, 1338: 161–185
- 30 Fukuzumi S. Electron transfer chemistry of porphyrins and metalloporphyrins. In: Kadish K M, Smith K M, Guillard R, eds. *The Porphyrin Handbook*. Vol 8. Electron Transfer, Chapter 56. New York: Academic Press, 2000. 115

Albumin/zinc porphyrin conjugates for photosensitized reduction of water to hydrogen

ZHU YongFeng, HE YuFeng, WANG RongMin, LI Yan & SONG PengFei

Key Laboratory of Eco-Environment-Related Polymer Materials of Ministry of Education, Key Laboratory of Polymer Materials of Gansu Province, College of Chemistry and Chemical Engineering, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China

A novel water soluble biopolymer metalloporphyrin complex (BSA-ZnTpHPP) was prepared by combination of insoluble meso-tetra(4-hydroxyphenyl) porphyrin zinc complex (ZnTpHPP) and bovine serum albumin (BSA). The complex was characterized by UV-Vis spectroscopy, circular dichroism, and native polyacrylamide gel electrophoresis. The secondary structure of BSA was maintained after coordination of the metalloporphyrin complex at a low ratio. The photosensitivity of BSA-ZnTpHPP was also investigated. Its fluorescence was quenched by methyl viologen (MV^{2+}), which suggests that photo-induced electron transfer occurs from BSA-ZnTpHPP to MV^{2+} in the BSA-ZnTpHPP/ MV^{2+} /triethanolamine (TEOA) system. Under light, BSA-ZnTpHPP was easily excited to the triplet state, and then transferred an electron to MV^{2+} . The BSA-ZnTpHPP/ MV^{2+} /TEOA/colloidal Pt system was applied to photosensitized reduction of water for preparation of hydrogen. The water-soluble biopolymer metalloporphyrin complex was an excellent biopolymer photosensitizer.

biopolymer photosensitizer, albumin, metalloporphyrins, photoinduced electron transfer reaction, hydrogen production

doi: 10.1360/972010-1508