

利用电子顺磁共振 (EPR) 波谱监测日常生活中光的影响

Kalina Ranguelova博士 (布鲁克拜厄斯宾公司EPR应用科学家)

通过吸收光形式的能量可触发光化学反应，该反应会涉及到自由基和瞬态激发态的形成，它们的化学和物理性质与原始分子差异很大。例如，全球广为人知的啤酒风味缺陷之一，是啤酒暴露于紫外光照射之后散发出的臭鼬味或“光臭味”。产生这种“光臭味”的原因是，啤酒花的主要风味成分——异萜草酮类物质通过自由基降解机制发生了光解。自由基和激发态的寿命往往很短，但在许多重要的光化学过程中扮演着关键的角色，如光氧化、光降解、光稳定性、光催化、光合成以及光聚合。

电子顺磁共振 (EPR) 波谱是唯一能够直接和非侵入式地检测含有自由基和瞬态激发态的物种的分析技术。该技术适用于大范围温度区间内的气体、液体或固体样品测试，因而用途非常广泛。它可以用来检测、量化和监测内在的光致产生的短寿命物种，因此对于聚合物科学、制药、环境等领域的光化学反应中的自由基检测极其有用。本文旨在概述EPR在光化学反应方面的应用的多样性。

一、EPR用于光降解研究

在考察物质的稳定性时，光是需要考虑的一个重要因素；如

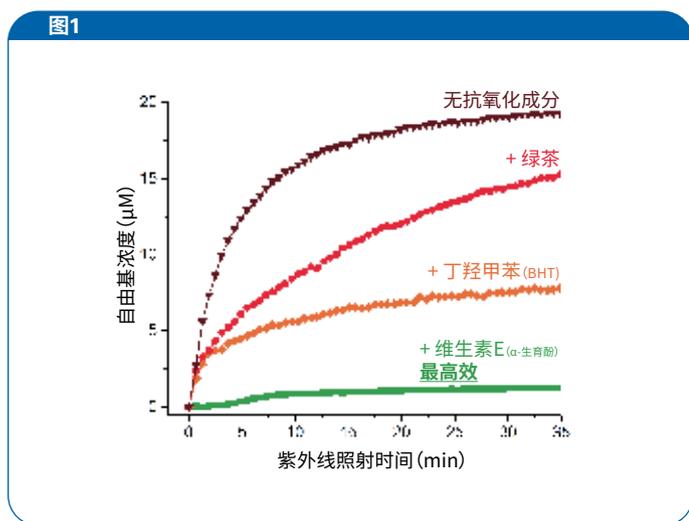
果光照会导致最终产品发生不可接受的变化，或影响其贮藏寿命，则研究和评估光的影响非常重要。例如，聚合物因为光照发生降解而导致颜色变化和机械性能（弹性、韧性等）下降。为了防止发生这种分解，通常会在聚合物中添加受阻胺类光稳定剂 (HALS)。当聚合物暴露于紫外光照射时，HALS通过形成基于HALS的硝酰自由基来抑制聚合物中的自由基损伤，也就是说，HALS通过牺牲自身来保护聚合物分子。EPR可检测HALS自由基，因此通过监测和量化EPR信号，可以评估HALS的有效性。基于这一应用，EPR在学术界和工业界都被成功地用于测定聚合物的光降解程度，以实现研究和质控目的。例如，福特汽车公司曾经发表了一项EPR研究，研究发现，汽车油漆系统（清漆或底漆）的长期耐候性，与气候暴露早期的HALS自由基浓度直接相关 (1)。

皮肤是很容易受光降解影响（光老化）的器官。紫外线是造成晒伤、早衰和光致癌等皮肤疾病的主要原因，这源自于紫外线诱导并由短寿命的自由基——活性氧自由基 (ROS) 介导的氧化应激作用。因此，防晒对于防止阳光照射造成的不利影响至关重要，防晒主要通过使用防晒霜，以及其他含有紫外线过滤成分和抗氧化成分的护肤品来实现。通过EPR波谱可以检测它们的自由基清除活性，并筛查它们的有效性和安全性。通常在



加速条件（紫外线照射）下测试产品，以提高光降解速度；这些稳定性研究（压力测试）所产生的数据可转换为实时稳定性数据。

护肤品中抗氧化成分的功效，取决于它们的渗透动力学，与非自由基成分的反应性，以及光稳定性。例如，在加速紫外线照射条件下研究护肤品中常用的三种抗氧化成分（绿茶、丁羟甲苯和维生素E）的功效时，EPR数据显示，使用维生素E时自由基产生量降低近90%，而使用丁羟甲苯和绿茶时自由基产生量

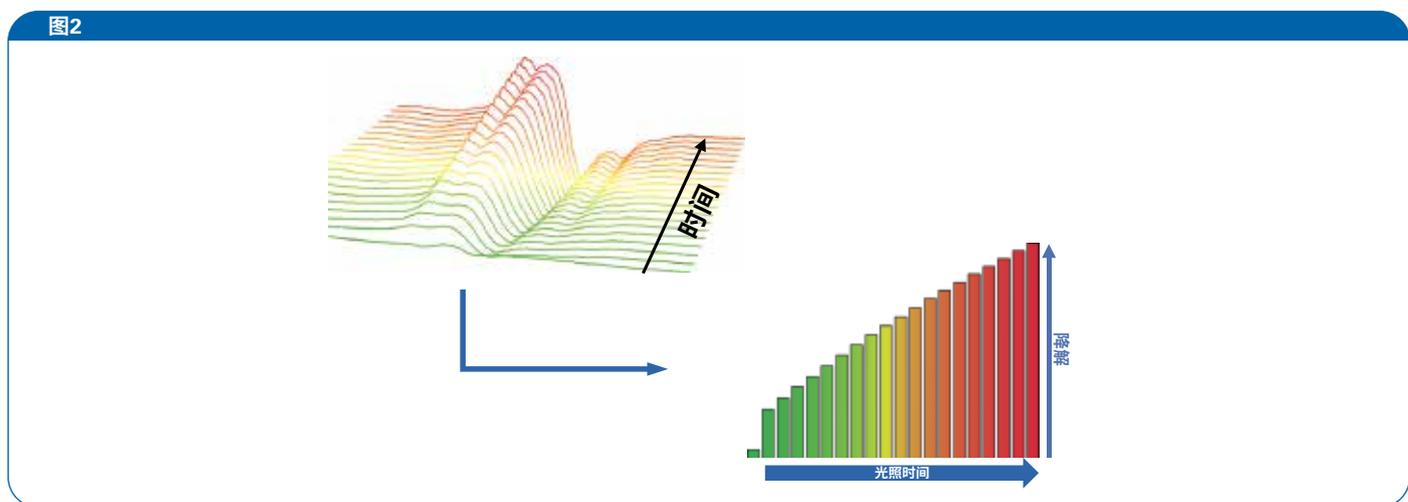


EPR方法评估护肤品中的抗氧化成分（绿茶、BHT和维生素E）在护肤品经受紫外线照射老化处理过程中的效能表现。

分别降低约60%和25%（图1）。这三种抗氧化成分和空白对照样品的EPR数据采集时间总计大约两小时，证明EPR能够作为一种快速评估护肤品质量的方法。

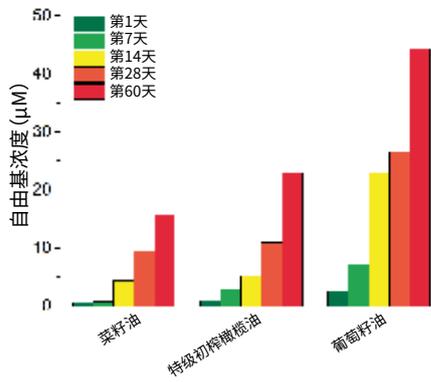
EPR波谱还成功地用于监测药品光降解过程中自由基的形成，鉴定自由基中间体，并帮助确定反应机理。光照会影响药品稳定性，并可能导致活性药物成分（API）、惰性物质（辅料）或最终药品（制剂）发生降解，从而导致药品丧失效力或生成有毒副产物。光降解过程通常会涉及到自由基和过渡金属，它们是导致药品变质最主要的原因。国际协调会议（ICH）发布的指南指出，应评估所有新API和药品内在的光稳定性，以证明光照不会导致不可接受的变化。该指南已在欧洲、美国和日本实施了20多年。EPR波谱可用于确定降解的根本原因，测定降解程度，并预测API、辅料和制剂的长期稳定性。由于具备固有的高灵敏度，EPR测试可以很快速地完成，且只需使用少量API或药物制剂作为样品，这使得该技术可以用于药物开发的早期阶段（2）。例如，高血压药硝苯地平在光照下发生的光降解过程产生了自由基（图2）。自由基随时间的演化过程借由EPR追踪监测，且其信号经鉴定为API光降解产生的N基自由基。通过EPR测定的不断增加的自由基含量，揭示了API的降解程度，并能用于预测药品的光稳定性。

自由基光化学反应在食品饮料中很常见，是导致食品发生光降解的主要原因。此外，大量有力的证据证明，自由基是造成许多疾病的根本原因。但也有研究表明，在食品加工过程中产生的自由基，可能在织构化、风味形成和其他贡献食品特性和品质的反应中发挥重要功能和作用。因此，鉴定和理解食品饮料中由自由基介导的光化学反应，并学习控制这些影响食品品质和贮藏稳定性的反应，为我们致力于通过EPR检测和研究食品饮料中的自由基提供了充分的



硝苯地平的光降解 - 通过EPR监测API中形成的氮基自由基随时间的演化

图3



利用EPR对暴露于窗口光照60天的食用油进行自由基定量分析。

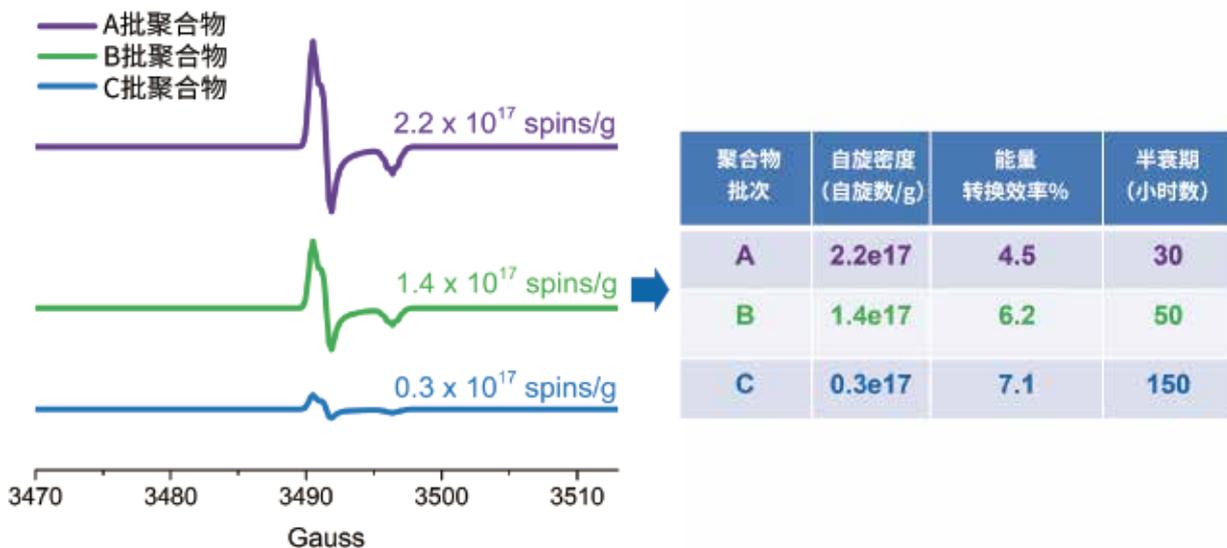
理由。在本文的开篇，我们就提到紫外线对啤酒的影响，即使啤酒出现“光臭味”。食用油酸败是另一个食品光降解的例子。它发生在贮存或运输过程中，由不饱和脂肪酸发生自由基介导的光氧化作用所致，不仅影响食用油品质，且在很多情况下还决定了食用油的保质期。脂肪酸的光降解过程可明确地分为三个阶段：（1）起始，（2）扩展，（3）终止。在光降解过程的最后产生的氧化产物使油散发出难闻的气味。在EPR压力测试的帮助下，通过氧化曲线

的测绘和自由基浓度的精准计算，可以度量生产过程每个阶段的抗氧化性（图3）。这使得生产厂家可以做出快速且明智的过程控制决策，从而提高产品的贮藏寿命。

EPR波谱已成功地应用于材料科学领域，用于太阳能电池、燃料电池、蓄电池等产品的光降解反应研究。顺磁性的缺陷、空位和自由基等，会对这些材料的性能和特性有影响。因此，检测并鉴别这些物种是必须且至关重要的；使用EPR法可以洞悉对于开发出稳固耐用的产品至关重要的材料稳定性“软肋”。例如，Susarova等人将EPR作为一种高灵敏度的分析技术，用于有机太阳能电池中共轭聚合物的质量及其性能评估（3）。结果表明，同一聚合物的不同批次呈现出不同的光伏性能，且与各自的自由基浓度密切相关。EPR数据显示，这与具有未成对电子的结构缺陷或杂质有关（图4）。这些自由基被认为是可移动载流子的深阱，因而会影响太阳能电池中的共轭聚合物性能。

光降解是一把双刃剑。光降解在废水处理——尤其是含少量难降解有机物（如药物残留）的废水处理方面日益受到重视。在世界各地的地表水和饮用水中已检出大量药物残留，这表明它们难以通过传统处理工艺从水和废水中去除。药物残留对公众健康和水

图4



利用EPR对（太阳能电池中使用的）共轭聚合物的自由基缺陷进行的定量分析，结果用自旋数/g来表示。缺陷数目与太阳能电池的效率和稳定性有关。

生环境的潜在不利影响已经引起关注。在不同的处理技术选择中，光化学高级氧化技术（光-AOP），在高效降解水和废水中的药物残留及其他有机污染物方面，有着光明的应用前景。一般而言，AOP是基于羟基自由基（ $\cdot\text{OH}$ ）的化学反应，它是一种非选择性的活性氧物种，能将水中的污染物氧化成失活的最终产物。与光-AOP有关的例子包括：臭氧/紫外线辐射， H_2O_2 /紫外线辐射，光-芬顿工艺，以及用 TiO_2 作为光催化剂的非均相光催化降解。有文章基于去除有机污染物的效力这一角度比较了不同的AOP，度量标准为特定物种的累积浓度——如天然有机质和总有机碳，但不包括 $\cdot\text{OH}$ 浓度；结果显示，氧化效率严格依赖于AOP条件，使得不同方法的性能比较与单一变量无关，而是依赖于大量无法对结果进行合理化的参数。检测、鉴定和量化光-AOP中产生的羟基自由基的唯一技术是EPR，因此它可以用于支持目标AOP的设计和优化，以便实现最有效的处理并降低经营成本（4）。

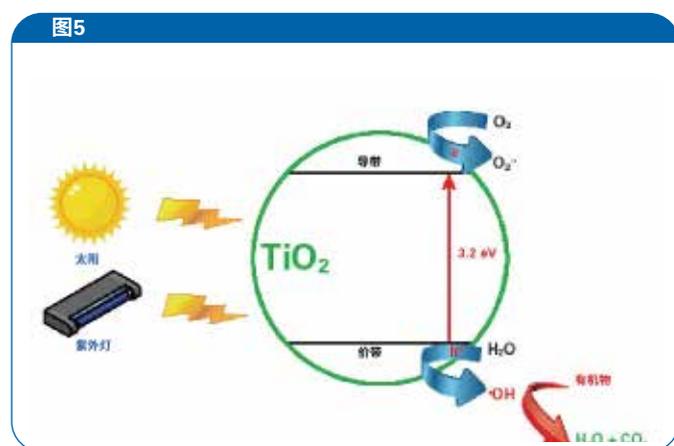


图5 光催化原理图（来自参考文献（5））

EPR在光催化中的另一项应用是，检测纳米材料光催化过程中的顺磁性活性氧自由基（ROS）。例如，Vankayala等人报道称，金纳米粒子经过光照可产生单线态氧，而单线态氧可以作为光热介质用于治疗恶性肿瘤（6）。许多微纳米材料都能在不同的实验条件下引发ROS产生，这可被视作特定纳米材料的一个固有特性，就像粒径、形态等其他物理化学性质一样。EPR被用于为特定应用开发合适的ROS活性纳米材料，因为它们的光催化和光生物活性与通过该共振技术测定的ROS浓度相关（7）。

二、EPR用于光催化研究

稳定性、低成本、无毒和合适的光催化活性，是判断光催化剂是否优质的一些标准。在众多光催化剂中，二氧化钛（ TiO_2 ）符合这些工业规模应用的标准，可以适用于各领域的众多不同应用，如光催化剂、太阳能电池、薄膜电容器、气体传感器、自清洁表面等。一般而言， TiO_2 的光活性取决于电子/空穴对的产生、重组和界面转移过程，以及这些载流子与吸附在光催化剂表面的物种之间发生的表面反应。 TiO_2 所具有的活性源自于，当特定波长的光子入射到它的表面时，电子从价带跃升出来，迁移至导带。这在价带上留下了带正电的空穴，它们与羟基化的表面反应产生 $\cdot\text{OH}$ 自由基，而正如我们在前面已经提到的， $\cdot\text{OH}$ 是一种最强效的氧化剂（图5）。

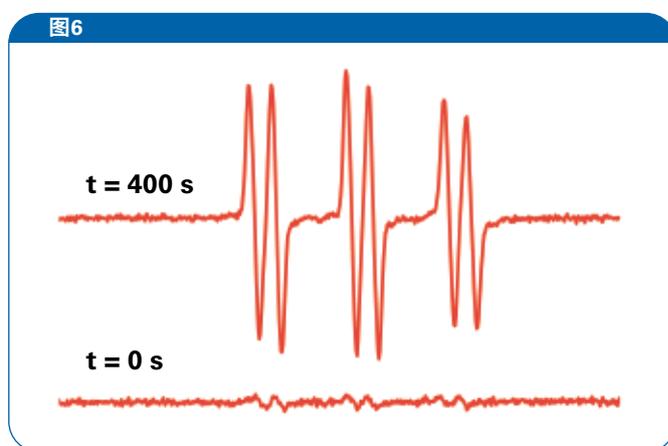
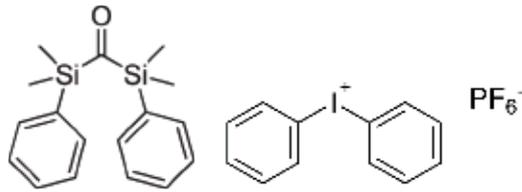


图6 通过EPR检测经紫外线照射0秒和400秒后的 TiO_2 中的羟基自由基。自旋捕获技术捕获自由基。

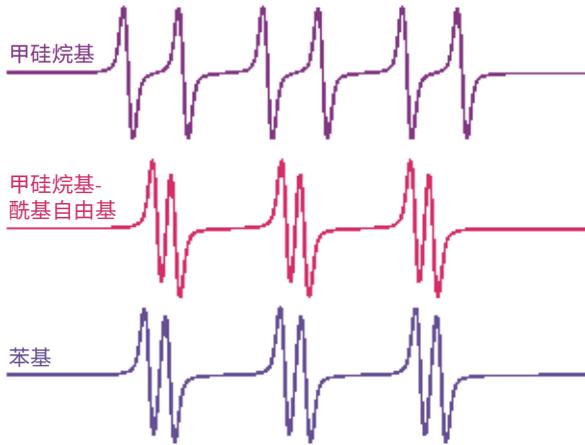
三、EPR用于光聚合研究

自由基光聚合是目前最广泛的一种应用，现代技术不断在寻找新的、高效的自由基型光引发剂。吸收光能后，光引发剂诱导发生自由基化学反应，导致适用制剂的溶解度和物理性质发生显著变化。EPR波谱用于检测和监测自由基中间体，从而揭示潜在机制。例如，EPR方法已被成功地用于开发一类新型的可产生甲硅烷基自由基的光引发剂，

图7



光引发剂



光引发剂双甲硅烷酮（用于牙科材料用甲基丙烯酸酯的光聚合）中产生的自由基的EPR谱图。

它适用于牙科材料用甲基丙烯酸酯的光聚合（8）。通过EPR已检测和鉴别出三种不同的自由基中间体（图7）。此外，EPR定量分析还提供与自由基活性和光聚合效率有关的信息。这些数据可为开发本系列中的其他光引发体系提供思路。

总之，理解光化学反应对于科技领域的许多应用至关重要。EPR是直接测定在这些反应中发挥作用的自由基的唯一方法。通过检测、鉴定、监测和量化自由基中间体，EPR可用于更好地理解自由基光化学反应，从而帮助提升产品性能和延长贮藏寿命。



参考文献

- [1] Gerlock J.L. et al., Determination of active HALS in automotive paint systems II: HALS distribution in weathered clearcoat/basecoat paint systems, Polym. Degrad. Stab. (2001) 73 201
- [2] Williams H. et. al., Predicting the photostability characteristics of active pharmaceutical ingredients using electron paramagnetic resonance spectroscopy, Drug Dev. Ind. Pharm. (2012) 38(2) 200
- [3] Susarova D. et al., ESR spectroscopy as a powerful tool for probing the quality of conjugated polymers designed for photovoltaic applications, Chem Commun. (2015) 51 2239
- [4] Brame J. et al., Trading oxidation power for efficiency: Differential inhibition of photo-generated hydroxyl radicals versus singlet oxygen, Water Res. (2014) 60 259
- [5] Saracino M. et al., Water remediation 2.0: Advanced oxidation processes, La Chimica & l'Industria, October (2015)
- [6] Vankayala R. et al., Morphology dependent photosensitization and formation of singlet oxygen ($^1\Delta_g$) by gold and silver nanoparticles and its application in cancer treatment, J. Mater. Chem. B (2013) 1 4379
- [7] He W. et al., Composition directed generation of reactive oxygen species in irradiated mixed metal sulfides correlated with their photocatalytic activities, ACS Appl. Mater. Interfaces (2015) 7 16440
- [8] (8) Graff B. et al., Development of novel photoinitiators as substitutes of camphorquinone for the LED induced polymerization of methacrylates: a bis-silyl ketone, Macromol. Rapid Commun. (2017) 38 1600470

关于布鲁克公司 (NASDAQ: BRKR)

近六十年来，布鲁克致力于让科学家能够取得突破性发现，并开发新的应用以提高人类生活质量。布鲁克的高性能科学仪器和高价值的分析及诊断解决方案使科学家能够在分子、细胞和微观层面探索生命和材料。

凭借与客户的密切合作，布鲁克在生命科学分子研究、应用和制药应用以及显微学、纳米分析和工业应用等领域实现了创新突破和生产提升，并创造了诸多客户成功案例。近年来，布鲁克也成为细胞生物学、临床前成像、临床表型组学和蛋白质组学研究、临床微生物学和分子病理学研究所所需的高性能系统的提供者。

如欲了解更多信息，请访问：

www.bruker.com/epr



布鲁克磁共振微信公众号

● 布鲁克 (北京) 科技有限公司

网址: www.bruker.com
E-mail: sales.bb10.cn@bruker.com
布鲁克应用技术咨询:
400-898-5858
布鲁克售后技术支持:
400-898-1088

布鲁克 (北京) 科技有限公司
北京市海淀区西小口路66号
中关村东升科技园B-6号楼C座8层
邮编: 100192
电话: (010) 58333000
传真: (010) 58333299

上海办公室
上海市闵行区合川路
2570号1号楼9楼
邮编: 200233
电话: (021) 51720800
传真: (021) 51720810

广州办公室
广州市海珠区新港东路
618号南丰汇6楼A12单元
电话: (020) 22365885/
(020) 22365886