

卢成龙,常红,孙福红.环境水体中自由基的检测技术研究进展[J].环境工程技术学报,2022,12(1):70-80.

LU C L,CHANG H,SUN F H.Progress on the detection technology of free radicals in waters[J].Journal of Environmental Engineering Technology, 2022, 12(1): 70-80.

# 环境水体中自由基的检测技术研究进展

卢成龙<sup>1</sup>,常红<sup>1\*</sup>,孙福红<sup>2\*</sup>

1.北京林业大学环境科学与工程学院

2.中国环境科学研究院

**摘要** 自由基化学性质高度活泼,极易发生得失电子的氧化还原反应,是环境水体中降解污染物的重要因素。自由基的环境鉴定和分析对揭示环境污染物降解转化机制具有重要意义。但由于自由基环境浓度极低、反应活性高、寿命短,再加上复杂环境基质的干扰效应,使其环境分析一直是研究的重点和难点。而且,目前的研究主要针对一些已知的自由基展开,对未知自由基的识别和鉴定研究较为匮乏。在系统总结典型自由基检测方法及其应用现状的基础上,阐述不同检测方法的优点和缺点,重点探讨适用于环境水体中羟基自由基等典型自由基的检测方法,并提出自旋捕获结合质谱分析技术具有特异性和高灵敏性的优点,可同时检测天然水体中多种自由基,并能够识别和鉴定未知自由基,是未来的研究方向。

**关键词** 自由基;羟基自由基;环境水体;检测方法;自旋捕获法;质谱法

中图分类号:X83 文章编号:1674-991X(2022)01-0070-11 doi:10.12153/j.issn.1674-991X.20210322

## Progress on the detection technology of free radicals in waters

LU Chenglong<sup>1</sup>, CHANG Hong<sup>1\*</sup>, SUN Fuhong<sup>2\*</sup>

1.College of Environmental Science and Engineering, Beijing Forestry University

2.Chinese Research Academy of Environmental Sciences

**Abstract** The chemical properties of free radicals are highly active and easy to cause redox reaction of gain and loss of electrons, which is an important factor for the degradation of pollutants in environmental waters. Environmental identification and analysis of free radicals are of great significance to reveal the degradation and transformation mechanism of pollutants in the environment. However, due to extremely low environmental concentration, high reactive activity and short life of free radicals, coupled with the interference of complex environmental matrices, their environmental analysis has been the focus and difficulty of the research. Meanwhile, most studies at present focus on some known free radicals, but there are few studies on the identification of unknown free radicals. In this study, on the basis of systematically summarizing the detection methods and application status of typical radicals, the advantages and disadvantages of different detection methods were expounded, especially for the detection methods suitable for typical free radicals such as hydroxyl free radicals in natural waters. It was proposed that spin capture combined with mass spectrometry, which could simultaneously detect many known radicals and identify unknown free radicals with high specificity and sensitivity, would be the research direction of radical detection in natural waters.

**Key words** free radical; hydroxyl radical; natural water; detection method; spin trapping; mass spectrometry

自由基(free radical),或称游离基,是一类化学活性高、浓度低、寿命短,具有未配对价电子(即外层轨道具有奇数电子)的原子、原子团或分子。环境中自由基广泛存在,且化学性质活泼、极易得失电子

发生氧化还原反应,参与各种生物和化学反应<sup>[1-6]</sup>。大量研究表明,自由基反应在天然环境介质中普遍存在<sup>[7-10]</sup>,也被广泛应用于高级氧化去除难降解污染物<sup>[11-17]</sup>。目前,对于自由基的研究,大多以自由基对

收稿日期:2021-07-14

基金项目:国家自然科学基金项目(42077306)

作者简介:卢成龙(1996—),男,硕士研究生,主要从事自由基检测技术研发研究,18631668877@163.com

\* 责任作者:1.常红(1977—),女,副教授,博士,主要从事新型污染物环境行为研究,changh@bjfu.edu.cn

2.孙福红(1980—),女,研究员,博士,主要从事污染物环境行为与风险评估,sunfhiae@126.com

污染物的降解效果为重点,对于自由基降解污染物的降解机制缺乏深入研究。其中一个主要的原因是环境介质中有效检测自由基的难度极大。环境中自由基的寿命极短(如 $\cdot\text{OH}$ 寿命大约仅为 $10^{-9}\text{ s}$ <sup>[18]</sup>),在天然水体中的浓度极低(如天然水体表层 $\cdot\text{OH}$ 稳态浓度一般为 $10^{-17}\sim 10^{-15}\text{ mol/L}$ <sup>[19]</sup>),因此,环境中自由基的检测分析一直是环境领域研究的一个热点和难点。笔者综述了目前典型自由基检测方法的技术原理及其应用现状,并从适用于环境水体自由基检测的研究角度出发,分析各检测技术的优势和缺点,并展望了天然水体中自由基检测技术研究新方向,旨在为进一步揭示环境污染物降解转化机制提供技术支持。

## 1 技术现状

自由基在各种环境介质中普遍存在,种类繁多,其中活性氧自由基因为强大的氧化能力受到最多关注,它主要包括 $\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{O}_2^-$ 、 $^1\text{O}_2$ 、 $\cdot\text{NO}$ 、 $\cdot\text{OOH}$ 等。很多研究也尝试利用不同的方法去检测这些自由基,如电子自旋共振法(electron spin resonance, ESR)、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、毛细管电泳法(capillary electrophoresis, CE)、分光光度法、化学发光法(chemiluminescence, CL)和气相色谱法(gas chromatography, GC)等。近年来,由于能够根据精确的质量数和特定的结构信息,特异、灵敏检测目标物质,质谱技术(mass spectrometry, MS)也被应用到自由基检测中来。

由于自由基的反应活性高,几乎无法直接检测。所以,目前的检测方法都是间接方法,主要分为2类。一类是化学反应法,其主要基于自由基降解转化特定化合物,结合 HPLC、CE、分光光度法、CL 等技术检测降解转化产物的种类和含量水平,从而识别并间接定量自由基的浓度。如研究 $\cdot\text{OH}$ 将水杨酸氧化成 2,3-二羟基苯甲酸和 2,5-二羟基苯甲酸,通过水杨酸的添加量和 HPLC 法测定 2 种氧化产物的量,间接计算 $\cdot\text{OH}$ 浓度<sup>[20-21]</sup>。该类方法主要适用于高级氧化等产生高浓度自由基体系,一般需预先已知或判断自由基种类,并选择该自由基能够降解转化的特定化合物。另一类是捕获法,利用自旋捕获剂间接延长自由基寿命,形成的自旋加合物进一步利用 ESR 等技术检测。ESR 是目前检测和分析自由基应用最广泛的方法,且根据检测原理能够同时检测几种自由基,但由于其波谱信息容易受样品基质干扰、特异性不强,很难特异、灵敏地检测实际环境水样中的自由基。相比之下,质谱技术根据精确的

质量数和特定的结构信息能够特异选择自旋加合物,可以很大程度上减少环境基质的影响;而且既可以检测目标自由基加合物,还可能筛查出非目标自由基加合物。但是无论是 ESR 还是质谱检测技术,都是基于合适的自由基捕获剂实现的,因此,寻找或研发合适的捕获剂是该类方法应用的关键。

## 2 自由基检测技术

### 2.1 分光光度法

分光光度法是一种应用广泛的光化学分析方法,其主要利用 $\cdot\text{OH}$ 等自由基的强氧化性,改变底物的结构、性质和颜色,从而可以改变待测液的光谱吸收,利用底物吸光度的改变间接测定自由基的浓度。目前,该方法大多应用于 $\cdot\text{OH}$ 的检测研究中,常用的底物主要包括坚牢蓝 BB 盐<sup>[22]</sup>、亚甲蓝(MB)<sup>[23]</sup>、水杨酸<sup>[24]</sup>、甲基紫<sup>[25]</sup>、邻二氮菲- $\text{Fe}^{2+}$ <sup>[26-27]</sup>、二甲基亚砜(DMSO)<sup>[28]</sup>等。Zhao 等<sup>[22]</sup>以坚牢蓝 BB 盐为底物利用分光光度法测定 Fenton 体系 $\cdot\text{OH}$ 的浓度。颜军等<sup>[24]</sup>基于水杨酸与 $\cdot\text{OH}$ 反应生成的 2,3-二羟基苯甲酸和 2,5-二羟基苯甲酸在波长 510 nm 处有最大光谱吸收的原理,建立了一种检测 Fenton 反应产生的 $\cdot\text{OH}$ 的分光光度法。王金刚等<sup>[23]</sup>根据亚甲蓝可被 $\cdot\text{OH}$ 氧化褪色的原理,研究了 Fenton 试剂与亚甲蓝的作用并证实体系中起作用的是 $\cdot\text{OH}$ ,从而建立了亚甲蓝分光光度法测定 $\cdot\text{OH}$ 浓度的方法。分光光度法所需仪器廉价、分析速度快、操作方便,因而应用比较广泛。但是该方法灵敏度较低,很难满足天然水体中检测自由基的要求,如 $\cdot\text{OH}$ 的分光光度法检出限通常在 $\mu\text{mol/L}$ 水平,而天然水体表层 $\cdot\text{OH}$ 稳态浓度一般为 $10^{-17}\sim 10^{-15}\text{ mol/L}$ ;测定过程中的干扰因素也较多,如环境水体本底颜色可能会造成光谱吸收,从而对测定的准确性和灵敏度造成影响,在实际环境水体自由基痕量分析过程中难以应用。

### 2.2 化学发光法

CL 是利用发光的相对强度对待测试样进行定量和定性的分析方法。通过利用 $\cdot\text{OH}$ 等活性氧自由基氧化发光试剂产生化学发光,依据待测自由基的浓度与体系的化学发光强度在一定条件下呈线性定量关系的原理测定自由基。与分光光度法相比,CL 的灵敏度明显提高,其检测限一般能达到 $1\times 10^{-9}\text{ mol/L}$ 。目前,常用的发光试剂主要有鲁米诺(氨基苯二酰一胍)<sup>[29]</sup>、酵母<sup>[30]</sup>和邻苯二甲酰胍<sup>[31]</sup>等。徐向荣等<sup>[32]</sup>以酵母为发光底物,利用 $\cdot\text{OH}$ 攻击酵母从酵母壁中获取电子产生化学发光,建立了测定 Fenton 反应中

产生的·OH的化学发光法,并确定了最佳反应物浓度使化学发光强度达到最大,该方法已用于模拟染料废水处理中·OH的测定。孙涛等<sup>[33]</sup>检测了由亚铁离子催化的Fenton体系产生的·OH、·O<sub>2</sub><sup>-</sup>,在碱性条件下以鲁米诺为发光试剂,利用·OH、·O<sub>2</sub><sup>-</sup>氧化鲁米诺产生的电子激发态二价阴离子氨基肽酸盐在返回基态时发出的化学发光强度,测定体系中的·OH、·O<sub>2</sub><sup>-</sup>浓度。Christopher等<sup>[31]</sup>利用邻苯二甲酰肼羟基化产物5-羟基-2,3-二氢-1,4-邻苯二氮二酮在碱性条件下氧化时产生化学发光的特性,通过化学发光法对日光照射下天然水体中产生的·OH进行简单的定量,其检测限为7.4 nmol/L。尽管CL比分光光度法检测自由基灵敏度有明显提高,但是由于可选择的发光试剂少,且专一性不足,使得该方法检测·OH等自由基的特异性不强。如鲁米诺在碱性条件下既可与·OH反应引起化学发光,也可以与过氧化氢<sup>[34]</sup>和超氧化物<sup>[35]</sup>反应产生化学发光,这就导致了测定选择性差的问题。而在实际环境样品分析过程中环境基质成分也可能与发光试剂反应增加化学发光强度,影响测定结果,如地表天然水中可能存在高锰酸钾、过氧化氢等具有强氧化性的化合物,可在Cu<sup>2+</sup>、Fe<sup>2+</sup>等过渡金属离子或者金属络合物的催化下氧化鲁米诺并产生化学发光<sup>[36]</sup>。另外,从检测原理上来讲,以发光相对强度对自由基进行间接定量,对浓度差别不大的样品很难进行准确定量,精密度较差。因此,对于天然水体中自由基的检测,CL只能作为自由基定量或者定性分析的辅助手段。

### 2.3 高效液相色谱法

HPLC是利用液体流动相将不同分析组分带入选柱,经分离进入检测器进行检测的方法。在应用HPLC过程中,首先要确定合适的探针化合物,该化合物能与·OH等自由基发生特异性反应,生成稳定产物;该产物进一步被分离后,根据探针化合物及其产物特性,利用紫外、荧光、电化学等检测器进行定量分析;最后根据自由基与探针化合物/产物的反应关系间接计算自由基浓度或反应贡献。目前,常用探针化合物有水杨酸<sup>[37]</sup>、4-氯苯甲酸<sup>[38]</sup>、DMSO<sup>[39-40]</sup>、糠醇<sup>[41]</sup>、苯酚<sup>[42]</sup>等。在研究地表水中<sup>1</sup>O<sub>2</sub>稳态浓度过程中,Braun等<sup>[43-44]</sup>利用对<sup>1</sup>O<sub>2</sub>具有高度反应性、特异性的糠醇与<sup>1</sup>O<sub>2</sub>反应,生成莫洛松,但由于莫洛松在水中不稳定,易迅速水解为其他产物,所以只能根据糠醇损失量间接计算<sup>1</sup>O<sub>2</sub>的稳态浓度。Tai等<sup>[39]</sup>利用DMSO捕获天然水在阳光照射下产生的·OH,产物甲醛经乙酰丙酮和铵盐衍生为3,5-二乙酰-1,4-二氢-2,6-二甲基吡啶,并用高效液相色谱荧光检测

器分析,研究了甲醛衍生化反应和·OH自由基捕集反应的影响因素,以及该方法在日光照射下测定典型地表水中·OH的适用性,该方法对·OH的检测限为0.067 μmol/L。Vaughan等<sup>[45]</sup>利用·OH与DMSO反应产生·CH<sub>3</sub>,然后与氨基氮氧化物生成稳定的邻甲基羟胺,经氟胺衍生后,最后通过反相HPLC分离邻甲基羟胺,并间接定量·OH浓度。HPLC一般具有很高的灵敏度,尤其是对活性氧自由基的检测,检测限可达1×10<sup>-9</sup>~1×10<sup>-11</sup> g。但在利用探针化合物被氧化来实现对天然水中光化学产生的·OH等自由基浓度的测定时,存在一些缺点:1)天然水中的光活性物质与探针化合物本身或羟基化产物(如苯酚<sup>[46]</sup>、醌<sup>[47]</sup>和水杨酸<sup>[48]</sup>)之间的光竞争吸收,这些物质在紫外线A(320~400 nm)或紫外线B(280~320 nm)波段具有强吸收性;2)羟基化产物<sup>[49]</sup>的进一步光降解或羟基化产物与·OH等自由基之间在长期辐照试验中发生反应<sup>[50-51]</sup>,这将低估·OH浓度;3)探针化合物和过渡金属离子之间形成的络合物会影响光芬顿或类光芬顿反应中·OH等自由基的产生<sup>[52]</sup>。所以,HPLC在检测天然水体中自由基的过程中干扰因素多、受环境基质影响大、合适的探针化合物少、检测效率低,并不能获得更加准确的结果,相比之下,灵敏度高、特异性强的质谱技术可能具有更好的技术优势。

### 2.4 毛细管电泳法

CE是一类以毛细管为分离通道、以高压直流电场为驱动力的新型液相分离技术。与HPLC法相比,CE以微量(进样所需的样品体积为nL级)、高效和经济等优势在化学、生物、环境等领域得到了广泛应用。对于自由基的测定,CE常与电化学检测结合进一步提高灵敏度。Coolen等<sup>[53]</sup>通过CE紫外检测法,在200 nm紫外波长下检测水杨酸与·OH反应产物,间接测定·OH浓度,检测限可达2×10<sup>-7</sup> mol/L。而Wang等<sup>[54]</sup>采用CE安培检测法间接测定游离·OH浓度,通过向系统中加入与·OH反应的水杨酸产生具有电活性的2,3-二羟基苯甲酸和2,5-二羟基苯甲酸,从而经安培计检测。在最佳条件下,水杨酸、2,3-二羟基苯甲酸和2,5-二羟基苯甲酸能在15 min内完全分离,且检出限低至2×10<sup>-8</sup> mol/L。程宏英等<sup>[55]</sup>以对羟基苯甲酸为自由基捕捉剂,经CE安培检测法检测,对单一目标产物3,4-二羟基苯甲酸峰进行计算,测定了硫酸铜-维生素C反应体系(pH为7.4)中生成的·OH浓度。CE法分析速度快,分离效率高,且在直接分离检测自由基时由于毛细管内部是一个封闭的体系,可以隔绝外界的O<sub>2</sub>等自

由基淬灭剂, 利于自由基稳定存在和检测。但由于天然水环境样品中的自由基浓度水平极低, 且基体十分复杂, 干扰物质多, 所以可能存在其他具有电化学活性的化合物干扰电化学检测器对目标产物的测定<sup>[56]</sup>。另外, 探针化合物与自由基反应产物并非全部具有电化学活性, 那么常用的 CE-电化学检测技术在自由基检测范围上将大大缩小, 不利于某些未知自由基的鉴别。

## 2.5 电子自旋共振法

与前述方法利用自由基氧化还原探针化合物不同, ESR 是基于自由基不配对电子自旋产生磁矩的一种磁共振技术。因此可以选择合适的化合物与自由基的不配对电子相互作用, 改变自由基电子自旋性质, 即抗磁性的自由基捕获剂(在 ESR 中没有电子顺磁共振信号), 通过生成顺磁性自旋加合物(在 ESR 中会产生电子顺磁共振信号)增强自由基的环境稳定性或持久性。进一步通过对 ESR 图谱的线宽、线型、超精细耦合、g 因子等波谱参数的解析, 根据特征峰识别自由基的类型, 基于曲线积分面积确定自由基的浓度。目前, 氮氧化物是常用的抗磁性自旋捕获剂, 主要分为亚硝基类和硝酮类(表 1)。其中二甲吡啶氮氧化物(DMPO)是目前最常用的自旋捕获剂之一, 捕获速度相对较快, 针对不同自由基其自旋加合物的 ESR 参数变化较大, 易于区分不同自由基, 对以 O 为中心的自由基捕获效果好(尤其是·OH)。赵淑锐等<sup>[57]</sup>以 DMPO 为捕获剂, 利用 ESR 检测 Fe<sup>2+</sup>与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 构建的 Fenton 反应体系中·OH, 从 ESR 谱图中(图 1)可直接观察到·OH 的特征波谱。Feng 等<sup>[58]</sup>在过一硫酸盐与羟胺氧化体系中以 DMPO 为捕获剂在 ESR 上观察到·SO<sub>4</sub>的特征波谱。Cashman 等<sup>[59]</sup>在研究过硫酸盐氧化处理 1,4-二噁烷等污染物过程中的自由基时, 通过研究 DMPO 自旋加合物在 ESR 上的特征波谱确定·OH 的存在。尽管在实验室模拟高级氧化体系中 ESR 能够显示明显的自旋加合物特征波谱, 但是对复杂体系中自由基的检测(如在实际水样中共存多种自由基并有大量环境基质干扰), 往往看不到清晰的特征波谱。孙霞<sup>[60]</sup>在研究腐殖酸-铜络合物降解阿特拉津过程中, 利用 DMPO 捕获和 ESR 波谱信息检测自由基, 但是由于腐殖酸基质的干扰, 没有发现明显的自由基特征波谱(图 2), 从而未能鉴定体系中的自由基。Zhou 等<sup>[61]</sup>在研究黄铁矿活化过一硫酸盐降解邻苯二甲酸二乙酯过程中, 拟利用 ESR 证明·SO<sub>3</sub>到·SO<sub>4</sub>、·OH 的变化过程, 但是由于不同自由基加合物波谱混合叠加和样品基质背景波谱的掩盖和干扰, 无法

清晰观测到·SO<sub>3</sub>波谱信号, 从而不能根据 ESR 结果分析它们之间的变化关系。另外, DMPO 捕获自由基形成的自旋加合物还可能进一步反应, 如 DMPO 捕获·O<sub>2</sub>生成的自旋加合物(DMPO-·OOH)会进一步衰变生成 DMPO-·OH, 它同时也是 DMPO 捕获·OH 生成的自旋加合物。也就是说当反应体系中同时存在·O<sub>2</sub>和·OH 时, 二者会与 DMPO 通过不同的反应途径生成 DMPO-·OH, 不能清晰揭示反应过程和机理<sup>[62]</sup>。因此, 对于·O<sub>2</sub>的 ESR 分析, DMPO 并不是合适的捕获剂。相比之下, α-苯基-N-叔丁基氮氧化物(PBN)与·O<sub>2</sub>形成的自旋加合物稳定性显著提高, 但是该自旋加合物在 ESR 上的特征波谱不明显。除了 DMPO 和 PBN 之外, α-(4-吡啶基-1-氧)-N-叔丁基硝基酮(4-POBN)、四甲基哌啶酮氧化物(TMPO)、5-(乙氧羰基)-5-甲基-1-吡咯啉-N-氧化物(EMPO)、2,2,6,6-四甲基哌啶(TEMP)、2,2,6,6-四甲基哌啶氮氧化物(TEMPO)等自旋捕获剂也被用做自由基捕获剂进行 ESR 分析。如 Janzen 等<sup>[63]</sup>在研究 DMPO、PBN 和 4-POBN 3 种不同捕获剂对·OH 捕获效果时发现, 4-POBN 仅适用于检测 pH 为 6~7 溶液中的·OH; Hideg 等<sup>[64]</sup>分别利用 DMPO、TEMP 捕获光照类囊体过程中产生的<sup>1</sup>O<sub>2</sub>等自由基, 并经 ESR 检测对应的自旋加合物, 结果发现 TEMP 仅对<sup>1</sup>O<sub>2</sub>具有良好捕获效率, 且其加合物(TEMPO)稳定, 而对其他自由基捕获效率低。所以, 并非所有捕获剂都具有普适性, 对于不同的自由基捕获剂其适用范围也略有差异, 在使用前应充分考虑这些问题。

## 2.6 质谱法

MS 根据精确的质量数和特定的结构信息特异识别自由基自旋加合物, 因而能特异识别目标自由基。Podmore 等<sup>[76]</sup>利用 MALDI-TOF-MS 检测 Fenton 反应中 POBN 与·OH、·CH<sub>3</sub> 形成的自旋加合物, 通过分子质量和结构碎片等信息明确识别·OH、·CH<sub>3</sub>。同时, ESR 虽然可以根据与自由基结构相关的一系列常数(如 g 因子和超精细耦合常数等)对自由基进行简单的种类划分, 但超精细耦合常数提供的结构信息有限, 难以区分多种自由基, 而且在多种自由基共存时, 它们的波谱相互叠加、干扰, 导致 ESR 谱图较为复杂难以解析<sup>[77]</sup>。与 ESR 检测技术相比, MS 利用电场和磁场将运动的离子按质荷比分离后进行检测, 通过获得的精确分子质量区分捕获剂与不同自由基形成的自由基加合物, 从而实现对多种自由基的同时检测和分析<sup>[78]</sup>。Guo 等<sup>[79-80]</sup>在研究有机过氧化物与血红蛋白或 Fe<sup>2+</sup>反应过程中产生的·OH、过氧基、烷氧基和烷基等自由基时发现, 利用 ESR

表 1 用于 ESR 分析的自由基捕获剂

Table 1 Free radical trapping agents for ESR analysis

捕获剂	结构	加合物结构	优点	缺点	数据来源
DMPO			捕获速度较快, 针对不同自由基其自旋加合物的 ESR 参数变化较大, 易于区分不同自由基, 对以 O 为中心的自由基(尤其是·OH)捕获效果好	自旋加合物寿命较短, 易分解, 易与微量金属离子反应	文献[62,65-67]
PBN			易与 C 或 O 为中心的基团形成相对稳定的自旋加合物, 寿命较长	加合物在 ESR 谱图表达不清晰	文献[62,68]
4-POBN			水溶性较好	仅适用于检测 pH 为 6~7 条件下的·OH	文献[63,69]
TMPO			捕获速度较快, 其波谱对自由基识别敏感(尤其是·OH)	相比 DMPO 少 1 个 pH, 自旋加合物提供信息有限	文献[70]
EMPO			常用于生物体系内可与氨基酸结合形成捕获效率更高的捕获体	自旋加合物不稳定, 易分解	文献[71]
TEMP			对 <sup>1</sup> O <sub>2</sub> 具有良好捕获效率, 其加合物稳定	对除 <sup>1</sup> O <sub>2</sub> 以外自由基捕获效率低, 自旋加合物不稳定	文献[64,72]
TEMPO			对过氧自由基、烷基自由基有良好捕获效率	对 <sup>1</sup> O <sub>2</sub> 有猝灭作用, 不适用于捕获 <sup>1</sup> O <sub>2</sub>	文献[64,72]
4-氰基-2,2-二甲基-2H-咪唑-1-氧化物 (CDI)			对以 C 为中心自由基、亚硫酸盐自由基有良好捕获效率	不适用于捕获·O <sub>2</sub>	文献[73]
2,2,4-三甲基-2H-咪唑-1-氧化物 (TMI)			对以 C 为中心和以 S 为中心的自由基具有良好捕获效率	不适用于捕获·O <sub>2</sub>	文献[73]
3-吡啶基-N-叔丁基硝酮 (3-PyBN)			pH 为 6 条件下, 与 PBN 相比, 其加合物稳定性更好	加合物的寿命随着酸碱度的增加而缩短	文献[74-75]

难以检测区分多种自由基, 而利用 ESI-MS 和 MS/MS 检测体系中自由基, 通过其质谱图便可清晰、明确地鉴别 DMPO 与·OH(图 3)、过氧基、烷氧基和烷基等自由基形成的自旋加合物。此外, MS 不仅可以检测目标自由基, 还可根据自旋加合物在质谱中裂

解时特定的中性丢失等详尽的结构信息进一步检测能与捕获剂结合的非目标自由基<sup>[81]</sup>。Domingues 等<sup>[82]</sup>在双氧水处理氨基酸、甘油磷酸胆碱、棕榈酸等物质过程中, 利用 DMPO 捕获生成的新自由基后直接进行质谱分析, 从而确认了多种自由基的结构。但

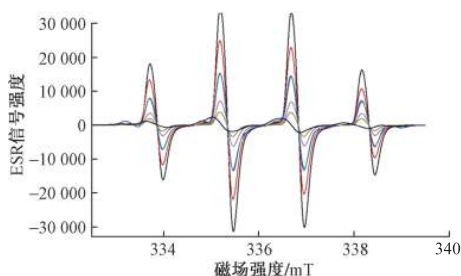


图 1 芬顿反应体系中·OH 的 ESR 谱图<sup>[57]</sup>

Fig.1 ESR spectrum of ·OH in Fenton reaction system<sup>[57]</sup>

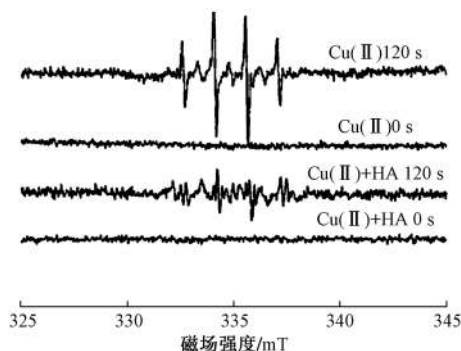


图 2 Cu(II) 溶液和腐殖酸-Cu(II) 络合物溶液在光照 0 和 120 s 时的 ESR 谱图<sup>[60]</sup>

Fig.2 ESR spectrum of Cu(II) solution and humic acid-Cu(II) complex solution under illumination for 0 and 120 s<sup>[60]</sup>

是在鉴定过程中发现, 仅利用质谱质核比差异区分不同自旋加合物, 仍然存在很大的干扰, 对于这种现象, 可通过色谱分离等技术进行改善。Jurva 等<sup>[83]</sup> 在质谱检测之前利用 HPLC 对复杂混合物进行有效分离, 降低背景干扰, 通过对 MS/MS 检测后得到的清

晰谱图进行解析, 在观察到 DMPO-OH 加合物的同时还发现了羟甲基、羟乙基等二次自由基与 DMPO 的加合物。Wang 等<sup>[84]</sup> 使用 PBN 捕获烟气中的自由基并利用超高效合相色谱-四级杆飞行时间质谱 (UPC<sup>2</sup>/Q-TOF-MS) 对其进行检测、分析, 根据 PBN 自由基捕捉机理鉴别出卷烟主流烟气中存在的·C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>O、·C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>O、·C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>O 等 14 种自由基的分子式和化学结构。因此, MS 在检测环境中自由基方面具有天然的优势。但是值得注意的是, 捕获剂是决定其检测应用的重要环节。目前文献报道的捕获剂有 DMPO、POBN、TMPO、TEMP、PBN、CDI 等, 其中 DMPO、POBN、TMPO 对以氧为中心的自由基具有良好的捕获效果, TEMP 对·O<sub>2</sub> 具有良好捕获效果, PBN 易与 C 或 O 为中心的自由基形成相对稳定的自旋加合物, 而 CDI 对以 C 为中心自由基、亚硫酸盐自由基有良好捕获效果。另外, 理想的捕获剂与自由基应该形成单一的加合物, 具有足够的环境持久性、稳定的母离子/特征离子且质谱响应信号高。Domingues 等<sup>[85]</sup> 在利用 FAB-MS 对 DMPO 与·OH 自旋加合物进行质谱检测和鉴定过程中除了发现 [DMPO+O+H]<sup>+</sup>, 还发现 [2DMPO+3H]<sup>+</sup>、[2DMPO-O+H]<sup>+</sup>、[2DMPO+2O-2H+H]<sup>+</sup> 等多聚体及多聚体加合物, 对·OH 的相对定量产生干扰。DMPO 在与·OH 形成自旋加合物的同时还会与·O<sub>2</sub> 形成 DMPO·OOH, 该加合物会进一步衰变生成 DMPO·OH, 干扰·OH 的定量。而 PBN 与·OH 加合

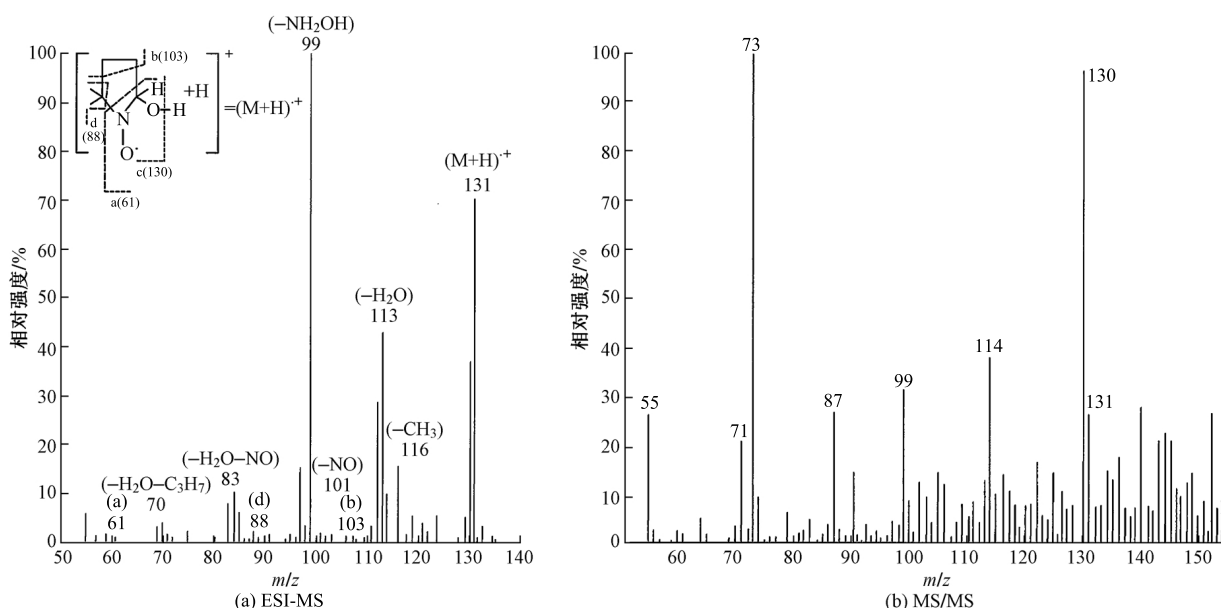


图 3 Fe<sup>2+</sup> 与异丙苯过氧化氢反应中 DMPO·OH 的 ESI-MS 谱图和 MS/MS 谱图<sup>[79]</sup>

Fig.3 ESI-MS and MS/MS spectra of DMPO·OH in the reaction of Fe<sup>2+</sup> with cumene hydroperoxide<sup>[79]</sup>

物虽然在 ESR 上波谱信息不明显,但在质谱检测过程中可清晰观察到高灵敏的单一加合物 PBN·OH。另外与 DMPO 相比,PBN 对以 C 为中心的自由基具有良好的捕获效果。Imaram 等<sup>[86]</sup>利用 PBN 捕获过氧亚硝酸盐和尿素反应过程中生成以 C 为中心的自由基,依据 LC-MS 质谱图鉴别出·CH<sub>2</sub>NO 和·C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>。此外,捕获剂与自由基形成的加合物在质谱中形成的特征碎片离子(来源于捕获剂)有助于可疑筛查和非靶向鉴定其他自由基。

### 2.7 其他方法

除了分光光度法、CL、HPLC、CE、ESR、MS 等常用自由基检测方法(表 2)外,还有一些分析技术也被用于自由基的检测,如淬灭法、气相色谱法等。其中淬灭法,即通过投加一定量的淬灭剂去除体系内目标自由基,根据对体系的影响评估某一种自由基的存在及贡献。通常影响程度越大,表明目标自由

基存在且越重要。目前,常见的淬灭剂有乙醇<sup>[87]</sup>、甲醇<sup>[88]</sup>、异丙醇<sup>[89]</sup>、苯醌<sup>[90]</sup>和叔丁醇<sup>[87]</sup>等(表 3),其中叔丁醇淬灭·OH 的能力较强,而异丙醇、乙醇、甲醇可同时淬灭·SO<sub>4</sub><sup>-</sup>和·OH<sup>[91]</sup>。所以,当系统中同时存在几种自由基时,要注意淬灭剂的选择性,考虑所选淬灭剂与多种自由基的相互作用,避免产生误判<sup>[90-92]</sup>。同时,试验过程中也要注意淬灭剂的浓度以保证淬灭所有目标自由基,且对降解系统没有显著的干扰。淬灭法作为自由基检测的初步判断方法,该方法操作简单,常用于高级氧化降解有机污染物过程中主要自由基的初步鉴定,但准确性差,无法对其他未知自由基进行有效检测。若想获得更加准确的结果,还需利用 ESR、HPLC、MS 等其他方法进一步检测、分析。

气相色谱法(GC)是通过载气(流动相)将自由基与捕获剂的加合物带入色谱柱进行分离经检测器检

表 2 常用自由基检测方法对比

Table 2 Comparison of common free radicals detection methods

检测方法	原理	特点
分光光度法	利用部分自由基强氧化性改变底物的结构、性质和颜色,从而根据待测液光谱吸收的改变测定自由基浓度	经济,操作方便,分析迅速,准确性、灵敏度较低,实际环境样品中自由基的检测需考虑本底颜色带来的光谱吸收,检测限达 1×10 <sup>-6</sup> mol/L
化学发光法 (CL)	利用自由基与化学发光试剂反应产生化学发光,依据待测自由基的浓度与体系的化学发光强度在一定条件下呈线性定量关系的原理测定自由基浓度	灵敏度较高,检测速度快,操作简单,精度和选择性较差,检测限达 1×10 <sup>-9</sup> mol/L
高效液相色谱法 (HPLC)	以液体为流动相,自由基与捕获剂反应产物经色谱柱分离,进入检测器进行检测	灵敏度较高,快速,高效,反应过程复杂,干扰因素较多,检测限达 10 <sup>-11</sup> ~10 <sup>-9</sup> g
毛细管电泳法 (CE)	以弹性石英毛细管为分离通道,以高压直流电场为驱动力分离检测自由基与捕获剂反应产物	采样体积小,分离效率高,线性范围宽,选择性好,灵敏度较高,重现性差,检测限达 2×10 <sup>-8</sup> mol/L
电子自旋共振法 (ESR)	利用自旋捕获剂与自由基形成稳定性更高、寿命更长的自旋加合物,经电子自旋共振法检测自旋加合物,间接测定自由基浓度	简单有效,波谱信息易受样品基质干扰、特异性不强,结构信息有限,定量分析不够精确,检测限达 10 <sup>-8</sup> mol/L
质谱法 (MS)	自由基与自旋捕获剂形成的自旋加合物经电场和磁场作用后,按质荷比分离后进行准确鉴定、检测	高灵敏度,高特异性,样品用量少,分析速度快,可提供丰富结构信息,检测限可达 10 <sup>-13</sup> mol/L

表 3 淬灭剂及其目标自由基

Table 3 Quenchers and their target free radicals

淬灭剂	目标自由基
甲醇(MeOH)	·OH/·SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
乙醇(EtOH)	·OH/·SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
异丙醇(IPA)	·OH/·SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
亚硝酸钠(NaNO <sub>2</sub> )	·OH/·SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
叔丁醇(TBA)	·OH(√)/·SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
抗坏血酸(AA)	·OH/·SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> (√)
叠氮化钠(NaN <sub>3</sub> )	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>
L-组氨酸(L-histidine)	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>
糠醇(FFA)	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>
苯醌(BQ)	·O <sub>2</sub> <sup>-</sup>
氯仿(CF)	·O <sub>2</sub> <sup>-</sup>

注:√表示主要目标自由基。

测,通过测定加合物峰面积来间接测定对应自由基浓度的一种方法。目前在自由基的检测中,GC 主要用于测定·OH 浓度。Manzoor 等<sup>[93]</sup>利用自旋捕获剂 PBN 捕获通过 Fenton 反应生成的·OH,并对反应瓶顶部空间中产生的挥发性化合物通过热解吸进行收集,经气相色谱-质谱分析。该方法可在几分钟甚至几秒钟内完成对挥发性的自由基加合物的检测、识别,但对于挥发性较差的自旋加合物并不适用。Mistry 等<sup>[94]</sup>将·OH 与 DMSO 反应转化为甲基,经自旋捕获剂 POBN 捕获生成一种新的二甲基产物(POBNMe<sub>2</sub>),通过气相色谱鉴定该产物,从而间接测定·OH,该方法操作繁琐,灵敏度和重复性较差。

### 3 结论与展望

(1)由于自由基的高活性、低浓度以及短寿命的

特性,几乎无法对其进行直接检测。目前采用的间接检测方法主要分为化学反应法和捕获法。其中,化学反应法包括分光光度法、CL、HPLC、CE、GC等;捕获法包括ESR、MS等。

(2)在天然水体的自由基研究中,ESR、HPLC、CE、CL、分光光度法等方法并不能消除环境基质的干扰同时检测多种自由基,而自旋捕获结合质谱分析技术以高灵敏性、高特异性的技术优势为天然水体中的自由基提供了新的检测和识别手段。选择或研发具有捕获效率高、加合物单一且稳定性好、质谱中母离子/特征离子稳定且响应高、易于保存等特点的高性能捕获剂是该方法应用的关键。

### 参考文献

- [ 1 ] WANG G Y, IRADUKUNDA Y, SHI G F, et al. Hydroxyl, hydroperoxyl free radicals determination methods in atmosphere and troposphere[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2021, 99: 324-335.
- [ 2 ] FUCHS H, DORN H P, BACHNER M, et al. Comparison of OH concentration measurements by DOAS and LIF during SAPHIR chamber experiments at high OH reactivity and low NO concentration[J]. *Atmospheric Measurement Techniques*, 2012, 5(7): 1611-1626.
- [ 3 ] SCHLOSSER E, BOHN B, BRAUERS T, et al. Intercomparison of two hydroxyl radical measurement techniques at the atmosphere simulation chamber SAPHIR[J]. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 2007, 56(2): 187-205.
- [ 4 ] WANG G Y, JIA S M, NIU X L, et al. Detection of peroxy radicals from polluted air by free radical reaction combined with liquid chromatography signal amplification technique[J]. *Journal of Separation Science*, 2018, 41(9): 1930-1937.
- [ 5 ] LIANG C J, CHEN Y J, CHANG K J. Evaluation of persulfate oxidative wet scrubber for removing BTEX gases[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 164(2/3): 571-579.
- [ 6 ] QIU Q, LI G X, DAI Y, et al. Removal of antibiotic resistant microbes by Fe(II)-activated persulfate oxidation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 396: 122733.
- [ 7 ] CANONICA S, KOHN T, MAC M, et al. Photosensitizer method to determine rate constants for the reaction of carbonate radical with organic compounds[J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(23): 9182-9188.
- [ 8 ] SHAKED Y, ROSE A. Seas of superoxide[J]. *Science*, 2013, 340(6137): 1176-1177.
- [ 9 ] HAO Z Y, MA J Z, MIAO C Y, et al. Carbonate radical oxidation of cylindrospermopsin (cyanotoxin): kinetic studies and mechanistic consideration[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(16): 10118-10127.
- [ 10 ] LIU Y Z, SUN H W, ZHANG L Q, et al. Photodegradation behaviors of 17 $\beta$ -estradiol in different water matrixes[J]. *Process Safety and Environmental Protection*, 2017, 112: 335-341.
- [ 11 ] WANG Y F, GENG Q J, YANG J M, et al. Hybrid system of flocculation-photocatalysis for the decolorization of crystal violet, reactive red X-3B, and acid orange II dye[J]. *ACS Omega*, 2020, 5(48): 31137-31145.
- [ 12 ] KANG J, DUAN X G, ZHOU L, et al. Carbocatalytic activation of persulfate for removal of antibiotics in water solutions[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2016, 288: 399-405.
- [ 13 ] WANG M W, ZHAO Z Q, ZHANG Y B. Sustainable strategy for enhancing anaerobic digestion of waste activated sludge: driving dissimilatory iron reduction with Fenton sludge[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2018, 6(2): 2220-2230.
- [ 14 ] COMNINELLIS C, KAPALKA A, MALATO S, et al. Advanced oxidation processes for water treatment: advances and trends for R&D[J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2008, 83(6): 769-776.
- [ 15 ] 许若梦, 吴桐, 锁瑞娟, 等. 基于不同自由基的高级氧化技术对水中诺氟沙星的去除效果[J]. *环境工程技术学报*, 2020, 10(3): 433-439.
- [ 16 ] 安继斌, 夏春秋, 陈红宇, 等. UVA/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>活化过硫酸盐降解阿特拉津[J]. *环境科学研究*, 2018, 31(1): 130-135.
- [ 17 ] 王一凡, 李小蝶, 侯美茹, 等. 锰氧化物活化过硫酸盐降解水中有机污染物的研究进展[J]. *环境科学研究*, 2021, 34(8): 1899-1908.
- [ 18 ] WANG Y F, LI X D, HOU M R, et al. Activation of persulfate with Mn-based oxides for degradation of organic pollutants in water: a review[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2021, 34(8): 1899-1908.
- [ 19 ] CHENG F C, JEN J F, TSAI T H. Hydroxyl radical in living systems and its separation methods[J]. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 2002, 781(1/2): 481-496.
- [ 20 ] VIONE D, FALLETTI G, MAURINO V, et al. Sources and sinks of hydroxyl radicals upon irradiation of natural water samples[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(12): 3775-3781.
- [ 21 ] 吴建林, 袁莉, 毛学锋, 等. 用水杨酸为捕获剂测定辉光放电等离子体中产生的羟基自由基[J]. *西北师范大学学报(自然科学版)*, 2007, 43(3): 53-56.
- [ 22 ] WU J L, YUAN L, MAO X F, et al. Determination of hydroxyl radical produced by glow discharge plasma with salicylic acid trapping[J]. *Journal of Northwest Normal University (Natural Science)*, 2007, 43(3): 53-56.
- [ 23 ] YANG X, ZHAN M J, KONG L R, et al. Determination of hydroxyl radicals with salicylic acid in aqueous nitrate and nitrite solutions[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2004, 16(4): 687-689.
- [ 24 ] ZHAO H Q, GAO J H, ZHOU W, et al. Quantitative detection of

- hydroxyl radicals in Fenton system by UV-vis spectrophotometry[J]. *Analytical Methods*, 2015, 7(13): 5447-5453.
- [23] 王金刚, 王西奎, 国伟林, 等. 亚甲基蓝光度法测定羟自由基[J]. 理化检验-化学分册, 2007, 43(6): 495-497.  
WANG J G, WANG X K, GUO W L, et al. Photometric determination of hydroxyl free radical by its reaction with methylene blue[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis)*, 2007, 43(6): 495-497.
- [24] 颜军, 苟小军, 邹全付, 等. 分光光度法测定Fenton反应产生的羟基自由基[J]. 成都大学学报(自然科学版), 2009, 28(2): 91-93, 103.  
YAN J, GOU X J, ZOU Q F, et al. Determination of hydroxyl radical generating from Fenton reaction by spectrophotometry[J]. *Journal of Chengdu University (Natural Science Edition)*, 2009, 28(2): 91-93, 103.
- [25] 张乃东, 郑威, 彭永臻. 褪色光度法测定芬顿体系中产生的羟自由基[J]. *分析化学*, 2003, 31(5): 552-554.  
ZHANG N D, ZHENG W, PENG Y Z. Determination of hydroxyl radical in Fenton system by decoloring spectrophotometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2003, 31(5): 552-554.
- [26] 付燕, 王爱香, 马东平, 等.  $\text{Fe}(\text{phen})_3^{2+}$ 光度法测定辉光放电等离子体中产生的羟基自由基[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2007, 43(3): 49-52.  
FU Y, WANG A X, MA D P, et al. Determination of hydroxyl radical in glow discharge plasma by  $\text{Fe}(\text{phen})_3^{2+}$  spectrophotometry[J]. *Journal of Northwest Normal University (Natural Science)*, 2007, 43(3): 49-52.
- [27] 姜艳丽, 刘惠玲, 姜兆华, 等.  $\text{TiO}_2/\text{Ti}$ 光电催化体系中羟自由基的测定[J]. *材料科学与工艺*, 2006, 14(2): 162-164, 170.  
JIANG Y L, LIU H L, JIANG Z H, et al. Determination of hydroxyl radicals in the  $\text{TiO}_2/\text{Ti}$  photoelectrocatalytic oxidation system[J]. *Materials Science and Technology*, 2006, 14(2): 162-164, 170.
- [28] 潘光建, 张曾, 黄干强. 过氧化氢漂白过程中羟自由基定量分析的研究[J]. *中国造纸学报*, 2006, 21(3): 41-47.  
PAN G J, ZHANG Z, HUANG G Q. Quantitative analysis of hydroxyl radicals in high temperature/alkali hydrogen peroxide system[J]. *Transactions of China Pulp and Paper*, 2006, 21(3): 41-47.
- [29] YLDZ G, DEMIRYÜREK A T. Ferrous iron-induced luminol chemiluminescence: a method for hydroxyl radical study[J]. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 1998, 39(3): 179-184.
- [30] SUN T, JIA Z S, de XU Z. Different hydroxyl radical scavenging activity of water-soluble  $\beta$ -alanine C60 adducts[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2004, 14(7): 1779-1781.
- [31] MILLER C J, ROSE A L, WAITE T D. Phthalhydrazide chemiluminescence method for determination of hydroxyl radical production: modifications and adaptations for use in natural systems[J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(1): 261-268.
- [32] 徐向荣, 王文华, 李华斌. 化学发光法测定Fenton反应中的羟自由基及其应用[J]. *环境科学*, 1998, 19(2): 53-56.
- XU X R, WANG W H, LI H B. Determination of hydroxyl radicals in Fenton reaction by chemiluminescent method and its application[J]. *Chinese Journal of Environmental Science*, 1998, 19(2): 53-56.
- [33] 孙涛, 周冬香, 毛芳, 等. 流动注射化学发光法对超氧阴离子自由基 $\text{O}_2^-$ 和羟基自由基 $\cdot\text{OH}$ 的检测[J]. *食品工业科技*, 2006, 27(11): 182-184, 187.  
SUN T, ZHOU D X, MAO F, et al. Analysis of superoxide anion radical  $\text{O}_2^-$  and hydroxyl radical  $\cdot\text{OH}$  by flow injection chemiluminescence[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2006, 27(11): 182-184, 187.
- [34] YUAN J C, SHILLER A M. Determination of subnanomolar levels of hydrogen peroxide in seawater by reagent-injection chemiluminescence detection[J]. *Analytical Chemistry*, 1999, 71(10): 1975-1980.
- [35] FUJIWARA K, KUMATA H, KANDO N, et al. Flow injection analysis to measure the production ability of superoxide with chemiluminescence detection in natural waters[J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2006, 86(5): 337-346.
- [36] 何超. 氧自由基化学发光体系的研究及其应用[D]. 重庆: 西南大学, 2006.
- [37] 焦昕倩.  $\text{O}_3/\text{UV}$ 方法自由基的产生规律及对苯酚废水的处理[D]. 长春: 吉林大学, 2006.
- [38] 冯楚楚, 潘水红, 史文霞. 活性氧测定分析方法的建立以及应用[J]. *辽宁化工*, 2016, 45(8): 1106-1108.  
FENG C C, PAN S H, SHI W X. Establishment and application of analytical method for determination of reactive oxygen species[J]. *Liaoning Chemical Industry*, 2016, 45(8): 1106-1108.
- [39] TAI C, XIAO C Y, ZHAO T Q, et al. Determination of hydroxyl radicals photochemically generated in surface waters under sunlight by high performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. *Analytical Methods*, 2014, 6(20): 8193-8199.
- [40] 胡筱敏, 孙兆楠, 董嫦娥, 等. 周期换向电解过程中羟基自由基的产生及测定[J]. *东北大学学报(自然科学版)*, 2012, 33(12): 1774-1777.  
HU X M, SUN Z N, DONG C E, et al. Generation and determination of hydroxyl radicals from electrolytic process with periodically reversing[J]. *Journal of Northeastern University (Natural Science)*, 2012, 33(12): 1774-1777.
- [41] 董楠娅. 五元杂环类添加剂对铝酸钠溶液种分过程的影响[D]. 长沙: 中南大学, 2008.
- [42] KILINC E. Determination of the hydroxyl radical by its adduct formation with phenol and liquid chromatography/electrochemical detection[J]. *Talanta*, 2005, 65(4): 876-881.
- [43] BRAUN A M, FRIMMEL F H, HOIGNÉ J. Singlet oxygen analysis in irradiated surface waters[J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1986, 27(1/2): 137-149.
- [44] HAAG W R, HOIGNE' J, GASSMAN E, et al. Singlet oxygen in surface waters: Part I. furfuryl alcohol as a trapping agent[J]. *Chemosphere*, 1984, 13(5/6): 631-640.
- [45] VAUGHAN P P, BLOUGH N V. Photochemical formation of hydroxyl radical by constituents of natural waters[J].

- Environmental Science & Technology, 1998, 32(19): 2947-2953.
- [46] BARRERA A, TZOMPANTZI F, PADILLA J M, et al. Reusable PdO/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Nd<sub>2</sub>O<sub>3</sub> photocatalysts in the UV photodegradation of phenol[J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2014, 144: 362-368.
- [47] SANDER W W. P-Benzoquinone O-oxide[J]. *The Journal of Organic Chemistry*, 1988, 53(9): 2091-2093.
- [48] MATYASOVSKY N, TIAN M, CHEN A C. Kinetic study of the electrochemical oxidation of salicylic acid and salicylaldehyde using UV/vis spectroscopy and multivariate calibration[J]. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2009, 113(33): 9348-9353.
- [49] WOLS B A, HOFMAN-CARIS C H M. Review of photochemical reaction constants of organic micropollutants required for UV advanced oxidation processes in water[J]. *Water Research*, 2012, 46(9): 2815-2827.
- [50] MORALES-ROQUEJ, CARRILLO-CÁRDENAS M, JAYANTHI N, et al. Theoretical and experimental interpretations of phenol oxidation by the hydroxyl radical[J]. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 2009, 910(1/2/3): 74-79.
- [51] SUN L, CHEN H, ABDULLA H A, et al. Estimating hydroxyl radical photochemical formation rates in natural waters during long-term laboratory irradiation experiments[J]. *Environmental Science Processes & Impacts*, 2014, 16(4): 757-763.
- [52] ÁGREN A, REICHARD P, BONNICHSEN R, et al. The complex formation between iron(III) ion and some phenols. II: salicylic acid and p-amino salicylic acid[J]. *Acta Chemica Scandinavica*, 1954, 8: 1059-1072.
- [53] COOLEN S A J, HUF F A, REIJENGA J C. Determination of free radical reaction products and metabolites of salicylic acid using capillary electrophoresis and micellar electrokinetic chromatography[J]. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 1998, 717(1/2): 119-124.
- [54] WANG Q J, DING F, ZHU N N, et al. Determination of hydroxyl radical by capillary zone electrophoresis with amperometric detection[J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 1016(1): 123-128.
- [55] 程宏英, 曹玉华. 毛细管电泳-电化学检测法测定硫酸铜-维生素 C 反应体系中的羟基自由基和菊花的抗氧化活性[J]. *色谱*, 2007, 25(5): 681-685.
- CHENG H Y, CAO Y H. Determination of hydroxyl radical in CuSO<sub>4</sub>-vitamin C reaction system and scavenging activities of *Chrysanthemum* using capillary electrophoresis with electrochemical detection[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2007, 25(5): 681-685.
- [56] 张卫东. 毛细管电泳—电化学检测在环境和药物分析中的应用研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2007.
- [57] 赵淑锐, 杨源, 郑美青, 等. 基于Fenton反应产生的羟自由基检测方法比较[J]. *实验技术与管理*, 2020, 37(12): 67-71.
- ZHAO S R, YANG Y, ZHENG M Q, et al. Comparison of detection methods of hydroxyl radicals based on Fenton reaction[J]. *Experimental Technology and Management*, 2020, 37(12): 67-71.
- [58] FENG Y, WU D L, ZHOU Y, et al. A metal-free method of generating sulfate radicals through direct interaction of hydroxylamine and peroxydisulfate: mechanisms, kinetics, and implications[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 330: 906-913.
- [59] CASHMAN M A, KIRSCHENBAUM L, HOLOWACHUK J, et al. Identification of hydroxyl and sulfate free radicals involved in the reaction of 1, 4-dioxane with peroxone activated persulfate oxidant[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 380: 120875.
- [60] 孙霞. 铜、铁对水体中阿特拉津光降解影响的研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2010.
- [61] ZHOU Y, WANG X L, ZHU C Y, et al. New insight into the mechanism of peroxydisulfate activation by sulfur-containing minerals: role of sulfur conversion in sulfate radical generation[J]. *Water Research*, 2018, 142: 208-216.
- [62] SUEISHI Y, MIYAZONO K, KOZAI K. Effects of substituent and external pressure on spin trapping rates of carbon dioxide anion, sulfur trioxide anion, hydroxyl, and ethyl radicals with various PBN- and DMPO-type spin traps[J]. *Zeitschrift Für Physikalische Chemie*, 2014, 228(9): 927-938.
- [63] JANZEN E G, WANG Y Y, SHETTY R V. ChemInform abstract: spin trapping with  $\alpha$ -pyridyl 1-OXIDE n-tert-butyl nitrones in aqueous solutions. a unique electron spin resonance spectrum for the hydroxyl radical adduct[J]. *Chemischer Informationsdienst*, 1978, 9(33): 2923-2935.
- [64] HIDEG É, SPETEA C, VASS I. Singlet oxygen and free radical production during acceptor- and donor-side-induced photoinhibition: studies with spin trapping EPR spectroscopy[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) : Bioenergetics*, 1994, 1186(3): 143-152.
- [65] ZAMORA P L, VILLAMENA F A. Theoretical and experimental studies of the spin trapping of inorganic radicals by 5, 5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide (DMPO): 3. sulfur dioxide, sulfite, and sulfate radical anions[J]. *Journal of Physical Chemistry A*, 2012, 116(26): 7210-7218.
- [66] VILLAMENA F A, LOCIGNO E J, ROCKENBAUER A, et al. Theoretical and experimental studies of the spin trapping of inorganic radicals by 5, 5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide (DMPO): 2. carbonate radical anion[J]. *Journal of Physical Chemistry A*, 2007, 111(2): 384-391.
- [67] BONINI M G, RADI R, FERRER-SUETA G, et al. Direct EPR detection of the carbonate radical anion produced from peroxydinitrite and carbon dioxide[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(16): 10802-10806.
- [68] CARNEY J M, FLOYD R A. PBN, DMPO, and POBN compositions and method of use thereof for inhibition of age-associated oxidation: US5405874[P]. 1995-04-11.
- [69] POU S, RAMOS C L, GLADWELL T, et al. A kinetic approach to the selection of a sensitive spin trapping system for the detection of hydroxyl radical[J]. *Analytical Biochemistry*, 1994, 217(1): 76-83.
- [70] BURNS J M, COOPER W J, FERRY J L, et al. Methods for reactive oxygen species (ROS) detection in aqueous environments[J]. *Aquatic Sciences*, 2012, 74(4): 683-734.
- [71] STOLZE K, UDILOVA N, ROSENAU T, et al. Spin adduct

- formation from lipophilic EMPO-derived spin traps with various oxygen- and carbon-centered radicals[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2005, 69(2): 297-305.
- [ 72 ] HIDEG É, SPETEA C, VASS I. Singlet oxygen production in thylakoid membranes during photoinhibition as detected by EPR spectroscopy[J]. *Photosynthesis Research*, 1994, 39(2): 191-199.
- [ 73 ] KLAUSCHENZ E, HASELOFF R F, VOLODARSKII L B, et al. Spin trapping using 2, 2-dimethyl-2H-imidazole-1-oxides[J]. *Free Radical Research*, 1994, 20(2): 103-111.
- [ 74 ] ROUBAUD V, LAURICELLA R, TUCCIO B, et al. Decay of superoxide spin adducts of new PBN-type phosphorylated nitrones[J]. *Research on Chemical Intermediates*, 1996, 22(4): 405-416.
- [ 75 ] TUCCIO B, ZEGHDAOUI A, FINET J P, et al. Use of new  $\beta$ -phosphorylated nitrones for the spin trapping of free radicals[J]. *Research on Chemical Intermediates*, 1996, 22(4): 393-404.
- [ 76 ] PODMORE I, CUNLIFFE L, HESHMATI M. Rapid detection of free radicals using spin trapping and MALDI-TOF mass spectrometry[J]. *Journal of Chemical Research*, 2013, 37(1): 45-47.
- [ 77 ] BARTALIS J, ZHAO Y L, FLORA J W, et al. Carbon-centered radicals in cigarette smoke: acyl and alkylaminocarbonyl radicals[J]. *Analytical Chemistry*, 2009, 81(2): 631-641.
- [ 78 ] REIS A, DOMINGUES M R M, OLIVEIRA M M, et al. Identification of free radicals by spin trapping with DEPMPO and MCPIO using tandem mass spectrometry[J]. *European Journal of Mass Spectrometry (Chichester, England)*, 2009, 15(6): 689-703.
- [ 79 ] GUO Q, QIAN S Y, MASON R P. Separation and identification of DMPO adducts of oxygen-centered radicals formed from organic hydroperoxides by HPLC-ESR, ESI-MS and MS/MS[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2003, 14(8): 862-871.
- [ 80 ] SIMÕES C, DOMINGUES P, DOMINGUES M R M. Identification of free radicals in oxidized and glycoxidized phosphatidylethanolamines by spin trapping combined with tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2012, 26(8): 931-939.
- [ 81 ] LU P N, KU D L, HUANG X W, et al. A sensitive method for the determination of ultra trace levels of reactive bromine species in water using LC-MS/MS[J]. *Talanta*, 2019, 199: 567-572.
- [ 82 ] DOMINGUES M R M, DOMINGUES P, REIS A, et al. Identification of oxidation products and free radicals of tryptophan by mass spectrometry[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2003, 14(4): 406-416.
- [ 83 ] JURVA U, WIKSTRÖM H V, BRUINS A P. Electrochemically assisted Fenton reaction: reaction of hydroxyl radicals with xenobiotics followed by on-line analysis with high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2002, 16(20): 1934-1940.
- [ 84 ] WANG Y, LIU M S, ZHU Y J, et al. Identifying the tobacco related free radicals by UPCC-QTOF-MS with radical trapping method in mainstream cigarette smoke[J]. *Talanta*, 2016, 160: 106-112.
- [ 85 ] DOMINGUES P, DOMINGUES M R M, AMADO F M L, et al. Detection and characterization of hydroxyl radical adducts by mass spectrometry[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2001, 12(11): 1214-1219.
- [ 86 ] IMARAM W, GERSCH C, KIM K M, et al. Radicals in the reaction between peroxynitrite and uric acid identified by electron spin resonance spectroscopy and liquid chromatography mass spectrometry[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2010, 49(2): 275-281.
- [ 87 ] QI F, CHU W, XU B B. Catalytic degradation of caffeine in aqueous solutions by cobalt-MCM41 activation of peroxymonosulfate[J]. *Applied Catalysis B:Environmental*, 2013, 134/135: 324-332.
- [ 88 ] YAO Y J, CHEN H, LIAN C, et al. Fe, Co, Ni nanocrystals encapsulated in nitrogen-doped carbon nanotubes as Fenton-like catalysts for organic pollutant removal[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 314: 129-139.
- [ 89 ] BUXTON G V, GREENSTOCK C L, HELMAN W P, et al. Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals ( $\cdot\text{OH}/\cdot\text{O}$ ) in aqueous solution[J]. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 1988, 17(2): 513-886.
- [ 90 ] ZHOU Y, JIANG J, GAO Y, et al. Activation of peroxymonosulfate by benzoquinone: a novel nonradical oxidation process[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(21): 12941-12950.
- [ 91 ] LIU Y, GUO H G, ZHANG Y L, et al. Fe@C carbonized resin for peroxymonosulfate activation and bisphenol S degradation[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 252: 1042-1050.
- [ 92 ] WANG J L, WANG S Z. Reactive species in advanced oxidation processes: formation, identification and reaction mechanism[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 401: 126158.
- [ 93 ] MANZOOR K, MISHRA S K, PODMORE I D. Detection and identification of ethanal-derived spin-trapped free radicals using headspace thermal desorption gas chromatography-mass spectrometry (TD-GC-MS)[J]. *Free Radical Research*, 2020, 54(10): 745-755.
- [ 94 ] MISTRY P, NAJIM N, PURDIE A, et al. Indirect detection of hydroxyl radicals using spin trapping and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Chemical Research Synopses*, 2008(7): 395-397. □