

# 环境中光致生成自由基检测方法研究进展

黎怡洋,王丽娜,杨宸,文晓轩,王成俊\*

(中南民族大学 资源与环境学院,武汉 430074)

**摘要** 环境中光致生成的自由基在污染物迁移转化及降解去除等方面发挥着至关重要的作用,但由于其浓度极低和寿命短,对光致生成自由基的形态表征和浓度检测具有相当大的挑战.综述了目前环境光化学过程中生成的典型自由基的种类及其环境效应,评估了自由基检测方法,包括电子自旋/顺磁共振法、激光闪光光解法、淬灭法、化学探针-高效液相色谱法、紫外-可见分光光度法和荧光光谱法等优缺点,并对自由基检测技术的研究前景提出了建议和展望.

**关键词** 环境光化学;活性自由基;形态表征;浓度分析

中图分类号 X-1 文献标志码 A 文章编号 1672-4321(2025)05-0584-09

doi:10.20056/j.cnki.ZNMDZK.20250804

## Research progress on the detection of photo-generated free radicals in the environment

LI Yiyang, WANG Lina, YANG Chen, WEN Xiaoxuan, WANG Chengjun\*

(College of Resources and Environment, South-Central Minzu University, Wuhan 430074, China)

**Abstract** Photo-generated free radicals in the environment play a vital role in pollutant migration, transformation, degradation and removal. However, there is a challenge to characterize the transient species and monitor the concentrations of photo-generated free radicals due to their extremely low concentration and short life. The types of typical free radicals generated in environmental photochemical processes and their environmental effects were summarized. The free radical detection methods, including electron spin/paramagnetic resonance, laser flash photolysis, quenching method, chemical probe-high performance liquid chromatography, ultraviolet and visible spectrophotometry, and fluorescence spectrometry, were evaluated. Some suggestions and perspectives for future studies on the analysis of free radicals were proposed.

**Keywords** environmental photochemistry; reactive free radicals; species characterization; concentration analysis

自由基是一类极活泼、不稳定且寿命极短的活性物种,由于结构中含有未配对价电子的原子、原子团或分子,自由基易得失电子,在各种生物和化学过程中发生氧化还原反应<sup>[1-2]</sup>.大量文献报道,自由基不仅在天然环境条件下普遍存在,更因其高氧化还原电位而被广泛应用于去除难降解污染物<sup>[3-5]</sup>.为了深入了解环境污染物光化学转化及持久性有机污染物的光化学降解机制,对光化学反应过程中的自由基进行定性定量分析极为关键.然而,由于其环境浓度低及寿命短等

特性,对光化学过程中生成的自由基的形态表征和浓度检测具有相当大的挑战,例如最为活泼的 $\cdot\text{OH}$ 的半衰期为 $10^{-9}$  s,即使是与 $\cdot\text{OH}$ 相比较为稳定的硫酸根自由基( $\text{SO}_4^{\cdot-}$ )其半衰期也仅为 $(3\sim 4)\times 10^{-5}$  s<sup>[6]</sup>.为了能建立和发展准确可靠的自由基定性定量分析方法,本文综述了目前光化学反应中活性自由基的种类以及典型自由基的检测技术原理和应用,分析了各种检测技术优缺点,并对自由基检测的研究前景提出了建议和展望.

收稿日期 2024-03-29

\*通信作者 王成俊(1978-),男,教授,博士,研究方向:环境光化学, E-mail: cjiang@scuec.edu.cn

基金项目 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(YZZ18018)

## 1 光化学中自由基的种类及环境效应

通常情况下,化合物在强光照条件下吸收光能后容易发生化学键的断裂或者通过活化后光敏剂的能量转移、电子转移和质子转移等方式导致自由基的生成<sup>[7]</sup>。·OH是环境光化学反应中的主要活性自由基,其在自然环境物质组分地球化学循环或降解持久性有机污染物中起着重要作用。此外,环境光化学过程中产生的常见自由基还有超氧自由基(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)、脂氧自由基(RO·)、硫酸根自由基(SO<sub>4</sub><sup>-</sup>)和卤素自由基(RHS),包括氯自由基(Cl·)、二氯自由基(Cl<sub>2</sub><sup>-</sup>)、氯化物自由基(ClO·)、溴自由基(Br·)、二溴自由基(Br<sub>2</sub><sup>-</sup>)、溴氧化物自由基(BrO·)、碘自由基(I·)和二碘自由基(I<sub>2</sub><sup>-</sup>)等。

表1 环境中光化学生成自由基的氧化性及其产生

Tab. 1 Oxidative capabilities and photochemical generation of free radicals in environment

自由基	氧化还原电位	常用产生方法	探针化合物
·OH	1.8~2.7	UV <sub>254 nm</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	苯甲酸、硝基苯
SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	2.5~3.1	UV <sub>254 nm</sub> /PDS	对氯苯甲酸
Cl·	2.5	UV <sub>254 nm</sub> 光解氯丙酮	苯甲酸
Cl <sub>2</sub> <sup>-</sup>	2.2	过量Cl·与Cl·反应	2,4,6-三甲苯甲酸
Br·	2.0	1,2-二溴乙烷光解	苯甲酸
Br <sub>2</sub> <sup>-</sup>	1.7	过量Br·与Br·反应	糠醇
I·	1.1	UV <sub>254 nm</sub> 光解碘单质	未见报道
I <sub>2</sub> <sup>-</sup>	1.4	过量I·与I·反应	甲硫咪唑

从环境科学角度看,光化学反应过程中产生的这些自由基是大气和水体中化学反应的重要参与

物种。例如,污染物在自然环境中的迁移转化往往会受到的自由基的影响。研究发现,·OH在大气化学中起主要作用,在春夏季时,·OH的变化与大气污染中常见的臭氧(O<sub>3</sub>)、挥发性有机物(VOCs)、二氧化氮(NO<sub>2</sub>)和细颗粒物(PM<sub>2.5</sub>)这4种污染物中的臭氧浓度密切相关,而在秋季时,PM<sub>2.5</sub>与·OH的相关性在这4种观测污染物中最为密切<sup>[8]</sup>。RHS也会参与微量有机污染物(TrOCs)的转化,如药品、个人护理产品(PPCPs)和内分泌干扰化学物质(EDCs),并对其降解做出了重大贡献<sup>[9-10]</sup>。其中的Cl·和Cl<sub>2</sub><sup>-</sup>不仅在富含氯离子的河口和沿海水域的光化学反应中发挥重要作用,也在饮用水处理中的氯光解和废水处理中的高级氧化这类工程处理系统中发挥着重要作用<sup>[11-14]</sup>。

## 2 自由基的检测技术

在各种环境光化学反应中,捕获和测定反应过程中的活性自由基对了解其反应原理和污染物的降解机理至关重要。常见的自由基相关的检测方法如表2有:电子自旋/顺磁共振法(electron spin/paramagnetic resonance, ESR/EPR)、激光闪光光解技术(laser flash photolysis, LFP)、淬灭法(quenching method)、化学探针-高效液相色谱法(chemical probe - high performance liquid chromatography, CP-HPLC)、紫外-可见分光光度法(ultraviolet and visible spectrophotometry)和荧光光谱法(fluorescence spectrometry)等。

表2 常用自由基检测方法的优缺点对比

Tab. 2 Comparison of advantages and disadvantages of methods for determination of free radicals

检测方法	定性/定量	主要自由基	主要问题
电子自旋/顺磁共振法	定性/定量	绝大部分自由基	灵敏度不高
激光闪光光解技术	定性/定量	绝大部分自由基	仪器昂贵
淬灭法	定性	绝大部分自由基	基本假设难以成立
化学探针-高效液相色谱法	定量	绝大部分自由基	依赖动力学模型反算
紫外-分光光度法	定量	·OH, O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	依赖捕获剂的选择性
荧光光谱法	定性/定量	·OH	依赖捕获剂的选择性

### 2.1 电子自旋/顺磁共振法

电子自旋共振(ESR)最初被用来研究含有一个或多个不成对电子的磁性物质,如自由基和过渡金属离子,后来随着电子顺磁共振(EPR)的发展进一步提高了ESR的性能,ESR和EPR的发展为检测自由基提供了一种有效的方法<sup>[15]</sup>。但ESR/EPR波谱检测要求待测活性物种具有一定稳定性,自由基最重

要的特点是寿命短且不稳定,因此无法直接被波谱仪检测,需要在加入特定的捕获剂与待测自由基反应形成具有一定稳定性和浓度的自旋加合物后,再使用波谱仪检测生成的自旋加合物,然后根据谱图识别判断其特征峰的性质,最后确定待测自由基的类型和种类。

常用的自旋捕获剂有2,2,6,6-四甲基哌啶(2,

2, 6, 6-tetramethylpiperidine, TEMP) 和二甲基吡咯啉氮氧化物(5, 5-dimethyl-1-pyrroline-oxid, DMPO) 等. DMPO 通常被用作 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 的捕获剂, 其产生的自旋加合物 DMPO-OH 和 DMPO- $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的特征峰均为 4 条谱线, 特征强度比分别为 1:2:2:1 和 1:1:1:1. 其中, DMPO 与 $\cdot\text{OH}$  反应如图 1 所示. 自旋加合物 DMPO- $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 的特征峰通常与 DMPO-OH 在同一位置且其特征强度比为 1:2:1:2<sup>[16]</sup>.

TEMP 通常被用于捕获单线态氧( $^1\text{O}_2$ ), 其生成的自旋加合物 TEMP- $^1\text{O}_2$ 的特征峰为 3 条谱线, 强度为 1:1:1. 如图 2 所示, 可通过使用 ESR 检测 CuO/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -PMS, CuO-PMS,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -PMS 和 PMS 体系下

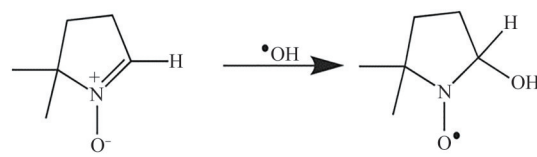
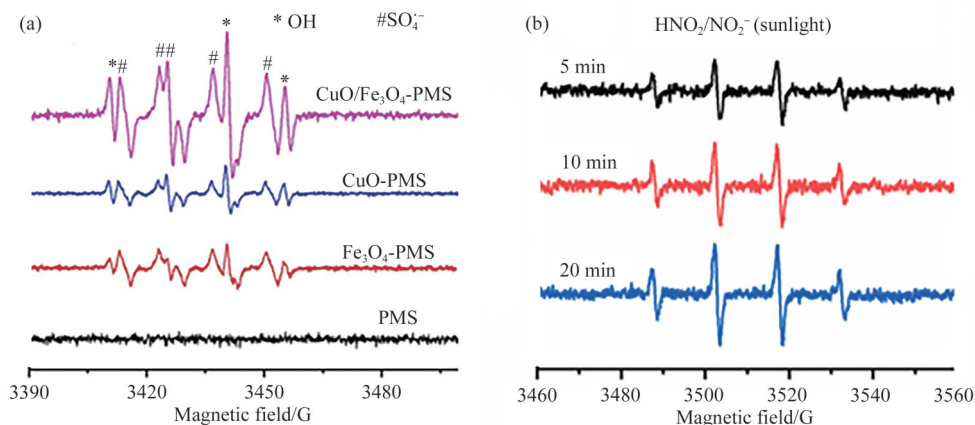


图 1 DMPO 与 $\cdot\text{OH}$  反应生成氮氧化物自由基

Fig. 1 DMPO reacts with a hydroxyl radical to form a nitroxide free radical

无 $\cdot\text{OH}$  和 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 的生成<sup>[17]</sup>. 也可验证 $\text{HNO}_2/\text{NO}_2^-$ 水溶液中 $\cdot\text{OH}$ 的光诱导生成, 使用 DMPO 作为 $\cdot\text{OH}$ 的自旋捕获剂, 并使用 ESR 波谱仪鉴定了 DMPO-OH 加合物, DMPO-OH 加合物的表观特征 ESR 信号证实了在太阳光照射下 $\text{HNO}_3$ 和 $\text{HNO}_2$ 溶液中都生成了 $\cdot\text{OH}$ <sup>[18]</sup>.



(a) $\cdot\text{OH}$  和 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ ; (b) $\cdot\text{OH}$

图 2 典型自由基的 DMPO 加合物的 ESR 光谱图<sup>[17-18]</sup>

Fig. 2 ESR spectra of DMPO-OH adducts of typical free radicals<sup>[17-18]</sup>

此外, ESR 检测技术广泛应用在研究污染物去除机理中自由基生成, 表 3 列举了典型 ESR 应用实例<sup>[19]</sup>.

可根据 ESR 特征谱图鉴别自由基种类并通过比对 ESR 信号强度的相对丰度, 半定量分析自由基的相对含量<sup>[16]</sup>.

表 3 不同污染物降解方法中 ESR 检测自由基的应用<sup>[19]</sup>

Tab. 3 Application of ESR methods to identify free radicals in various methods for pollutants degradation<sup>[19]</sup>

污染物去除或降解方法	目标污染物	自由基	捕获剂
三维-电 Fenton	煤气化废水	$\cdot\text{OH}$	DMPO
泡沫铁催化电 Fenton	叶酸	$\cdot\text{OH}$	DMPO
AlO-CNTs-Cu <sub>2</sub> O 催化 Fenton	磺胺嘧啶(SMR)	$\text{O}_2^{\cdot-}$	DMPO
自掺杂的 Bi <sub>2</sub> WO <sub>6</sub> 增强光催化氧化	五氯酚酸钠	$\text{O}_2^{\cdot-}$	DMPO
UV-高铁酸盐(VI)氧化	2,4-二氯酚	$\cdot\text{OH}, \text{O}_2^{\cdot-}$	DMPO
TiO <sub>2</sub> 光催化氧化	苯酚	$\cdot\text{OH}, ^1\text{O}_2$	DMPO, TEMP
CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> 活化过硫酸盐	双酚 A	$\cdot\text{OH}, \text{SO}_4^{\cdot-}$	DMPO
电化学激活过硫酸盐	邻苯二甲酸二丁酯	$\cdot\text{OH}, \text{SO}_4^{\cdot-}$	DMPO

ESR 技术具有灵敏度高可直接有效地不破坏样品地定性分析待测系统中存在的一种或多种自由基的显著优点, 但 ESR 局限性较大, 只能检测顺磁

性物质, 且由于波谱信息易受仪器灵敏度和样品基质等诸多因素的干扰, 使得很难特异、灵敏地定性分析实际复杂环境基质中光化学生成的自由基, 且

由 ESR 分析只能得到的自由基相对浓度<sup>[16]</sup>。

## 2.2 激光闪光光解技术

激光闪光光解-瞬态吸收光谱(LFP)技术,因其高时间分辨率和快速响应,被认为是一种高效可行的瞬态活性物种检测技术<sup>[20]</sup>。如图 3 所示,LFP 系统通常由激光装置(弧光灯脉冲和

激发激光器)、检测单元(检测光、单色器、光电倍增管和示波器)和采样室组成。LFP 通过比较光激发样品与非激发样品的光谱,可以提供活性瞬态物种形成和衰变的动力学特征,也可根据活性物种的特征瞬态吸收光谱定性活性物种。

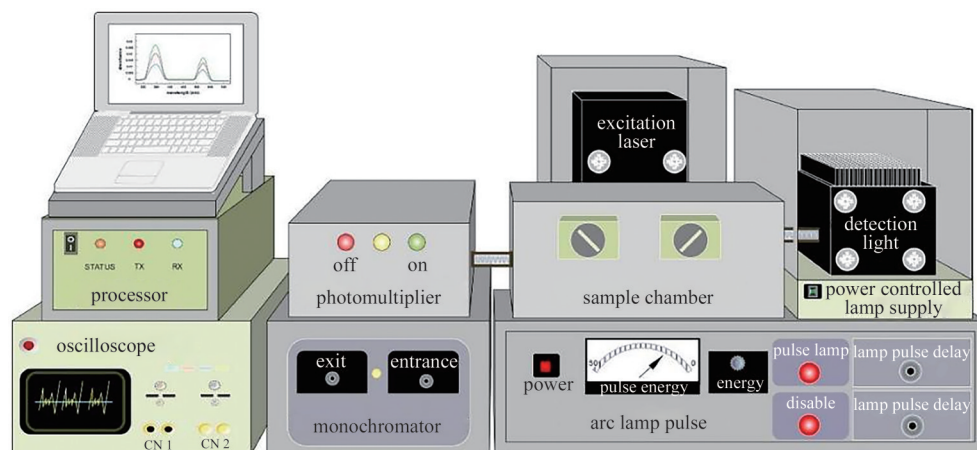


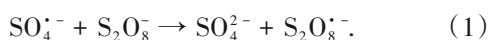
图 3 激光闪光光解系统仪器结构图<sup>[20]</sup>

Fig. 3 The schematic diagram of a laser flash photolysis system<sup>[20]</sup>

LFP 技术主要是利用纳秒激光器的超强激光脉冲(泵浦光)激发样品,生成短寿命的活性物种,如自由基和激发态有机质等。通过分析激发样品产生的这些高浓度中间态引发活性物种间的化学或物理相互作用或者直接观察其相应的吸收/发光特征的瞬态变化,从而可以识别鉴定光化学反应过程产生的活性物种。该技术有两种模式,一种是光谱模式:激光激发产生的中间瞬态物种在某一特定时间下的瞬态吸收光谱,可获得整个探测波长区间内的瞬态光谱变化;另一种是动力学模式:激光激发产生的中间瞬态物质在某一特定波长处的吸光度变化随时间的变化,可得到整个时间范围的衰减动力学。

LFP 可通过检测自由基与微量有机污染物反应过程中产生的中间体或其反应速率来研究环境光化学反应机理<sup>[21]</sup>。如文献报道利用 LFP 技术鉴定  $\text{SO}_4^{\cdot-}$  与苯酚反应的瞬态产物深入研究了其反应途径及微观机制,而  $\text{SO}_4^{\cdot-}$  的检测可通过直接监测其特征吸收光谱来实现<sup>[22]</sup>。

如图 4 所示,过硫酸盐(PS)辐照后在 330 nm 和 450 nm 处有两个吸收带,其中 450 nm 特征吸收归因于  $\text{SO}_4^{\cdot-}$  自由基;330 nm 特征吸收归因于 PS 自由基( $\text{S}_2\text{O}_8^{\cdot-}$ ),它是由  $\text{SO}_4^{\cdot-}$  和 PS 按下列反应式(1)生成<sup>[23]</sup>。



对于光化学反应中一些常见的卤素自由基,LFP 也可以做到对其有效的检测。如图 5 所示为  $\text{Cl}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{Br}_2^{\cdot-}$  和  $\text{I}_2^{\cdot-}$  的 LFP 瞬态吸收光谱图。

常见卤素自由基的最大吸收波长见表 4。活性

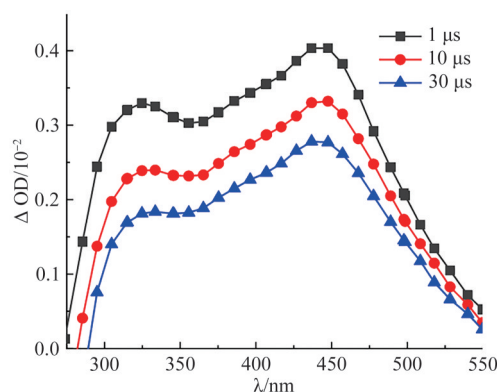


图 4 266 nm 激光闪光光解  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  溶液在  $\text{N}_2$  饱和和水介质中的瞬态吸收光谱<sup>[23]</sup>

Fig. 4 Transient absorption spectra following 266 nm laser flash photolysis of  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  solution in  $\text{N}_2$ -saturated aqueous solution<sup>[23]</sup>

氯自由基,包括  $\text{Cl}^{\cdot}$ 、 $\text{Cl}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{ClOH}^{\cdot-}$ 、 $\text{HClOH}^{\cdot}$  和  $\text{ClO}^{\cdot}$  等,可以在阳光照射的地表水和含有高卤素浓度的自由基基水处理过程中产生<sup>[14, 24]</sup>。其中  $\text{Cl}^{\cdot}$  和  $\text{Cl}_2^{\cdot-}$  的最大吸收波长分别为 320 nm 和 340 nm<sup>[25]</sup>。值得注意的是,  $\text{Cl}_2^{\cdot-}$  的生成总伴随着  $\text{Cl}^{\cdot}$  的生成,且  $\text{Cl}^{\cdot}$  和  $\text{Cl}_2^{\cdot-}$  的吸收光谱有明显重叠,在系统中加入高浓度的  $\text{Cl}^-$  可以避免这个问题,当  $\text{Cl}^-$  的浓度大于  $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时可以忽略  $\text{Cl}^{\cdot}$  的浓度<sup>[26]</sup>。其他常见卤素自由基如  $\text{Br}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{I}_2^{\cdot-}$  还有  $\text{BrCl}^{\cdot-}$  的最大吸收波长则分别为 360、380、350 nm<sup>[11]</sup>。同样,在波长为 500、530、635 nm 处的吸光度变化可以分别用于测定过氧磷酸盐自由基、磷酸盐自由基和硝酸盐自由基<sup>[27-29]</sup>。

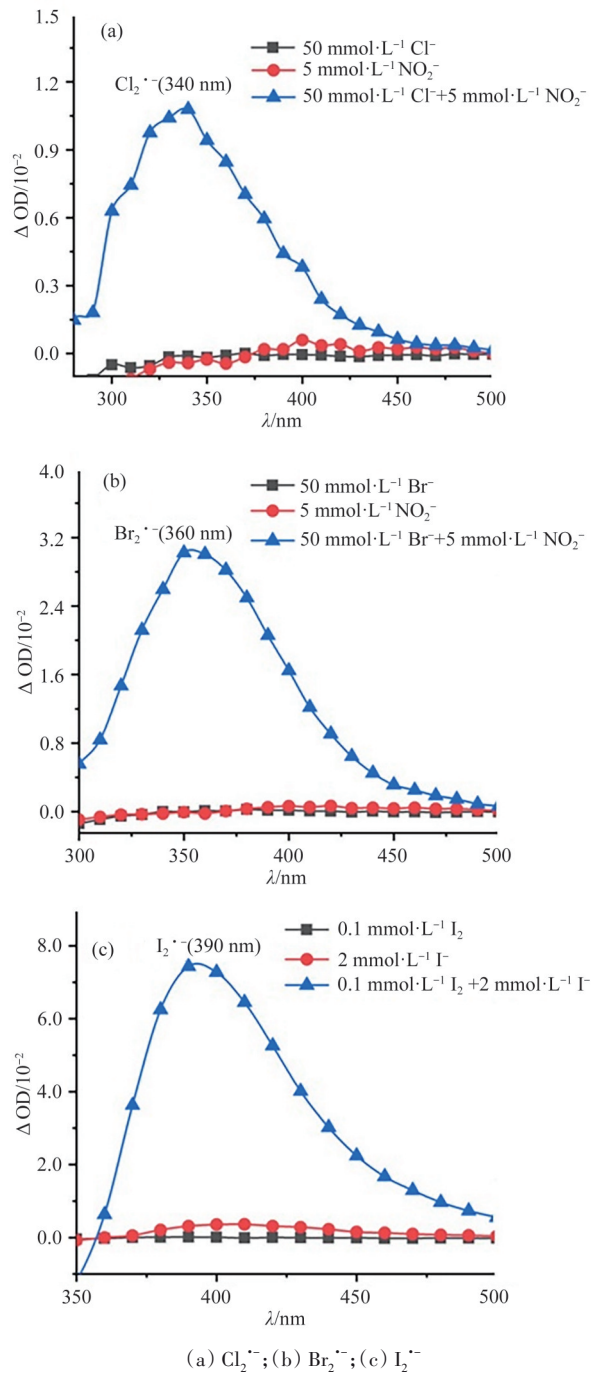
图 5  $\text{Cl}_2^{\bullet-}$ 、 $\text{Br}_2^{\bullet-}$ 和  $\text{I}_2^{\bullet-}$ 的瞬态吸收光谱Fig. 5 Transient absorption spectra of  $\text{Cl}_2^{\bullet-}$ ,  $\text{Br}_2^{\bullet-}$ , and  $\text{I}_2^{\bullet-}$ 

表 4 自由基的特征波长和摩尔吸光系数

Tab. 4 Characteristic wavelength and molar absorption of radicals

自由基	特征吸收波长 $\lambda/\text{nm}$	摩尔吸光系数 $\epsilon_{\lambda}/[\text{L}\cdot(\text{mol}\cdot\text{cm})^{-1}]$
$\text{Cl}^{\bullet}$	320	4500
$\text{Cl}_2^{\bullet-}$	340	8800
$\text{Br}^{\bullet}$	275	2800~3500
$\text{Br}_2^{\bullet-}$	360	9900, 12000
$\text{I}^{\bullet}$	255(在水中)	1040
$\text{I}_2^{\bullet-}$	380	9400

### 2.3 淬灭法

淬灭法定性自由基以及与污染物反应的原理是基于活性自由基与特定淬灭剂之间的选择性反应或更快反应速率,在加入一定量高浓度淬灭剂淬灭目标活性自由基后,通过污染物的去除率的降低情况,以评估自由基对污染物的去除贡献<sup>[30]</sup>.在淬灭实验中,淬灭剂的选择非常重要,常见的淬灭剂有甲醇、乙醇、异丙醇、苯醌和叔丁醇等<sup>[31-34]</sup>.考虑到淬灭剂与目标有机污染物的共存,淬灭剂的浓度应足够高,以完全淬灭产生的活性自由基,淬灭剂与自由基的摩尔比至少为 500:1. 常见的淬灭剂如下表 5.

表 5 淬灭剂及相应的目标自由基

Tab. 5 The common quenching agents and their target free radicals

自由基	淬灭剂
$\cdot\text{OH}/\text{SO}_4^{\bullet-}$	甲醇(MeOH)、乙醇(EtOH)
	异丙醇(IPA)、亚硝酸钠( $\text{NaNO}_2$ )
	叔丁醇(TBA)、抗坏血酸(AA)
$\cdot\text{O}_2$	叠氮化钠( $\text{NaN}_3$ )
$\text{O}_2^{\bullet-}$	糠醇(FFA)、L-组氨酸(L-histidine)
	氯仿(CF)、苯醌(BQ)

淬灭法是目前最常使用的评估高级氧化技术中活性自由基的方法,其广泛应用于自由基参与的污染物降解机理研究中.如  $\text{SO}_4^{\bullet-}$ 、 $\cdot\text{OH}$  和  $\text{O}_2^{\bullet-}$  等活性物种通常被认为是 PS 工艺中污染物减排的主要物质,它们的相对重要性通常通过淬灭法来评估<sup>[35-37]</sup>.普遍研究认为可以使用高浓度的叔丁醇来淬灭  $\cdot\text{OH}$ ,对苯醌来淬灭  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ,叠氮化钠来淬灭  $\cdot\text{O}_2$ .

但有研究表明,高浓度的淬灭剂除了会淬灭目标活性自由基物种外,可能还会产生非常复杂和难以预测的影响<sup>[30]</sup>.如:改变催化臭氧、过硫酸盐、UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$ 、UV/ $\text{Cl}_2$  等高级氧化系统中  $\text{O}_3$ 、PMS/PDS、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{Cl}_2$  等物种生成  $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{SO}_4^{\bullet-}$ 、 $\text{Cl}^{\bullet}$  的反应过程;淬灭其他非目标活性物种;改变各种活性物种相互转化的系统,从而改变系统中各活性物种的浓度分布;在非均相催化系统中,与  $\text{O}_3$ /PMS/PDS、污染物等竞争吸附,改变催化剂表面反应机理,干扰活化过程或降解过程等<sup>[38-39]</sup>.

淬灭法具有操作简单能够快速定性分析自由基的优点,同时其缺点也十分明显,在具体的反应过程中多为多种自由基的协同作用,而实际应用中添加的自由基淬灭剂的选择性较低,不仅会淬灭非目标自由基,还可能改变反应机理.在实际的应用中建议和其他的分析方法结合使用更为可靠.

## 2.4 化学探针-高效液相色谱法

化学探针-高效液相色谱(CP-HPLC)法广泛应用于光化学反应或光降解污染物中自由基稳态浓度的测定<sup>[40-41]</sup>.该方法基本原理基于反应动力学,反应系统中同时存在活性物种可与特定探针化合物反应,再采用HPLC分析探针化合物的浓度变化并建立动力学模型模拟探针化合物的减少后按公式(2)计算<sup>[42]</sup>:

$$-\frac{d[p]}{dt} = \sum_{i=1}^n K_{\text{ROSi}}[\text{ROSi}][p] + k_d[t], \quad (2)$$

式中: $K_{\text{ROSi}}$ 表示探针化合物与 $\text{ROSi}$ 反应的二级速率常数; $k_d$ 表示探针化合物减少的拟一级动力学速率常数.其中各反应速率常数可以通过各种实验方法测定,也有大量的文献报道.CP-HPLC广泛应用于活性物种稳态浓度的测定.如通过构建催化臭氧去除污染物动力学模型,定量计算得出催化臭氧去除污染物过程中参与的活性物种如 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2\cdot^-$ 和 $^1\text{O}_2$ 的稳态浓度<sup>[43]</sup>.SHAO等利用萘普生作为探针化合物,实现实时定量测定 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 的稳态浓度<sup>[44]</sup>.ZHANG等建立了一个基于探针化合物的动力学模型,用于预测紫外/氯工艺在各种水体中的微塑料去除,并通过三种探针化合物(布洛芬、普里米酮和二甲硝唑)在水体中的消耗量,测定了紫外/氯处理过程中主要活性物种如 $\text{Cl}^\cdot$ 、 $\text{Cl}_2^\cdot$ 、 $\text{ClO}^\cdot$ 和 $\cdot\text{OH}$ 对微塑料减排的相对贡献<sup>[45]</sup>.CP-HPLC方法在色谱分析前,需选用特定的探针捕获剂与待测活性自由基发生特异性反应生成具有一定稳定性和浓度的加合产物,然后利用HPLC对产物分离分析,再根据产物的浓度,间接计算出目标活性自由基的浓度<sup>[46]</sup>.常用的探针捕获剂有二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)、水杨酸(salicylic acid, SA)、4-氯苯甲酸(4-chlorobenzoic acid, 4-CBA)和苯酚等<sup>[47-50]</sup>.其中SA和DMSO对 $\cdot\text{OH}$ 都具有强选择性,且反应速率分别是 $2.7 \times 10^{10} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 和 $6.6 \times 10^9 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ .值得注意的是,SA的羟基化产物不止一种,会使 $\cdot\text{OH}$ 的定量分析变得更为复杂从而影响准确性.例如,在Fenton-光化学反应的有关文献中,SA会与铁离子发生反应形成络合物,且在反应过程中SA可能会因为 $\cdot\text{OH}$ 的快速产生而过度矿化,从而影响测定的 $\cdot\text{OH}$ 的准确性<sup>[51]</sup>.DMSO具有高溶解性和低挥发性,且与SA相比,不会与铁或其他金属离子反应形成络合物,常被用于Fenton和类Fenton中的 $\cdot\text{OH}$ 浓度的检测<sup>[52]</sup>.如,有研究利用 $\cdot\text{OH}$ 与DMSO反应产生的 $\cdot\text{CH}_3$ ,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,并间接定量检测 $\cdot\text{OH}$ 的浓度<sup>[53]</sup>.

CP-HPLC对活性自由基的检测灵敏度高,特别是对于ROS的检测,检测限低.然而该方法受多种因素的影响,特别是在检测自然水体等复杂系统中的自由基时存在检测效率低和环境基质干扰等缺点,分析结果准确度及精密度有待进一步提高.

## 2.5 光谱法

### 2.5.1 紫外-分光光度法

紫外-分光光度法的基本检测原理与HPLC法类似,主要利用 $\cdot\text{OH}$ 等活性自由基的强氧化性,自由基与捕获剂发生反应,生成稳定的加合产物后,由于反应底物颜色、性质和结构等改变,使待测液的光谱吸收发生改变,利用底物反应前后吸光度产生的变化差值可间接定量分析待测活性自由基的浓度.该方法主要用于分析研究 $\cdot\text{OH}$ ,常用的底物有硝基四氮唑蓝(nitrotetrazolium blue chloride, NBT)、固蓝BB盐(fast blue BB salt, FMP)、孔雀绿显色剂、结晶紫(crystal violet, CV)、亮绿显色剂、亚甲基蓝及邻二氮菲等<sup>[54-58]</sup>.如ZHAO等利用紫外-分光光度法以固蓝BB盐为底物测定了Fenton体系中 $\cdot\text{OH}$ 的浓度<sup>[54]</sup>.有研究基于铂电极电化学氧化过程中产生的 $\cdot\text{OH}$ ,通过吸光度的变化定量分析了 $\cdot\text{OH}$ <sup>[59]</sup>.紫外-分光光度法因具有测定速度快、实验操作简单及试剂仪器成本低等特点而被广泛应用,但该方法的灵敏度较低,测定过程中的干扰因素较多.

### 2.5.2 荧光光谱法

荧光光谱法检测原理与紫外-分光光度法相似,也需要使用特定的捕获剂,当待测自由基与捕获剂发生反应后,诱导捕获剂发光或发光减弱,通过发光强度的差值可定量分析待测自由基的量.如,测定 $\cdot\text{OH}$ 可选用具有强选择性的香豆素(coumarin, COU)和对苯二甲酸(*p*-phthalic acid, PTA)作为捕获剂,测定光照条件下所研究光敏物质(如 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{HNO}_2/\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NaNO}_3$ 及 $\text{Fe}(\text{III})$ -FA络合物)的水溶液中 $\cdot\text{OH}$ 的生成<sup>[60]</sup>.由于COU与 $\cdot\text{OH}$ 反应后产生的7-羟基香豆素(7-hydroxycoumarin)具有强荧光特性,可通过荧光分光光度计对香豆素与 $\cdot\text{OH}$ 反应生成的7-羟基香豆素进行定性定量分析,从而间接推算出 $\cdot\text{OH}$ 自由基的浓度.也可通过下列公式计算 $\cdot\text{OH}$ 的总浓度( $[\cdot\text{OH}]_t$ )和 $\cdot\text{OH}$ 的生成率( $R_{\cdot\text{OH}}$ ).



$$[\cdot\text{OH}]_t = [7\text{-hydroxycoumarin}] \times \left( \frac{2}{0.29} \right), \quad (4)$$

$$R_{\cdot\text{OH}} = \frac{[\cdot\text{OH}]_t}{\text{irradiation time (s)}} \quad (5)$$

### 3 结论与展望

活性自由基具有稳定性差、环境浓度低、反应活性高和寿命较短等特性,当前常用的环境光化学反应中自由基检测的相关方法虽然已经得到了广泛应用,但仍然存在不少无法忽视的问题,例如操作步骤繁琐、选择性有限、精准度较差等。另外,在光化学反应过程往往是多种活性自由基共同参与下的协同作用,甚至还可能存在由于寿命短不稳定等特性而未被发现参与了光化学反应的自由基<sup>[42]</sup>。因此,自由基定性定量分析可以在以下方向开展更深入的探索和研究:

(1)开发新型捕获剂。不仅要进一步提高捕获剂与自由基反应后生成产物的稳定性,提高其抗干扰能力,还要提高捕获剂的选择性。使得现有的HPLC法、分光光度法、荧光光谱法等依赖于捕获剂选择性的方法能做到更精准、精确的定性定量分析和测定。

(2)改进已有的检测方法。例如针对多种自由基,LFP还无法捕获其瞬态吸收光谱。未来应在原有的基础上,简化实验操作步骤提高反应的检出限和准确性,使定性定量分析更加精确精准。

(3)开发更多的非传统自由基的检测技术。相比于已得到广泛研究和应用的 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 等自由基,高活性的卤素自由基(RHS)在光化学反应中也起到重要作用,但对其定性定量检测一直被忽视。

(4)开发新型直接测定方法。目前普遍应用的检测方法均为间接测定,有着实验操作步骤繁琐,干扰因素多等缺点,未来的研究方向应该为开发用于直接测定自由基含量的方法,减少实验误差。

#### 参 考 文 献

- [1] WANG G, IRADUKUNDA Y, SHI G, et al. Hydroxyl, hydroperoxyl free radicals determination methods in atmosphere and troposphere[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2021, 99: 324-335.
- [2] WANG G, JIA S, NIU X, 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.
- [3] 熊希瑶,贺聪聪,焦啸宇,等.水生态环境中邻苯二甲酸酯(PAEs)塑化剂的赋存及行为归趋[J].*中南民族大学学报(自然科学版)*, 2021, 40(3): 238-245.
- [4] WANG X N, BRIGANTE M, DONG W B, et al. Degradation of Acetaminophen via UVA-induced advanced oxidation processes (AOPs). Involvement of different radical species:  $\text{HO}^{\cdot}$ ,  $\text{SO}_4^{\cdot-}$  and  $\text{HO}_2^{\cdot}/\text{O}_2^{\cdot-}$  [J]. *Chemosphere*, 2020, 258: 127268.
- [5] DIAO Z H, QIAN W, ZHANG Z W, et al. Removals of Cr(VI) and Cd(II) by a novel nanoscale zero valent iron/peroxydisulfate process and its Fenton-like oxidation of pesticide atrazine: Coexisting effect, products and mechanism [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 397: 125382.
- [6] ZHOU L, ZHAO Q, YANG X, et al. Sulfate radical mediated degradation of 5-halogenosalicylic acids: Phenoxy radical transformation pathways [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 394: 124839.
- [7] 王庆良,李倩倩,童东革,等.光化学反应中自由基的作用及反应影响因素的研究进展[J].*环境化学*, 2020, 39(2): 301-316.
- [8] WANG G, JIA S, LI R, et al. Seasonal variation characteristics of hydroxyl radical pollution and its potential formation mechanism during the daytime in Lanzhou [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2020, 95: 58-64.
- [9] ZHANG R, MENG T, HUANG C H, et al. PPCP degradation by chlorine-UV processes in ammoniacal water: New reaction insights, kinetic modeling, and DBP formation [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(14): 7833-7841.
- [10] KONG X, WU Z, REN Z, et al. Degradation of lipid regulators by the UV/chlorine process: Radical mechanisms, chlorine oxide radical ( $\text{ClO}^{\cdot}$ )-mediated transformation pathways and toxicity changes [J]. *Water Research*, 2018, 137: 242-250.
- [11] ZHANG K, PARKER K M. Halogen radical oxidants in natural and engineered aquatic systems [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(17): 9579-9594.
- [12] LERI A C, MAYER L M, THORNTON K R, et al. A marine sink for chlorine in natural organic matter [J]. *Nature Geoscience*, 2015, 8: 620-624.
- [13] PARKER K M, MITCH W A. Halogen radicals contribute to photooxidation in coastal and estuarine waters [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(21): 5868-5873.
- [14] CHENG S, ZHANG X, YANG X, et al. The multiple role of bromide ion in PPCPs degradation under UV/chlorine treatment [J]. *Environmental Science &*

- Technology, 2018, 52(4): 1806-1816.
- [15] SWARTZ H M. *Electron spin resonance: A comprehensive treatise on experimental techniques* by C. P. Poole, Jr [J]. Medical Physics, 1984, 11(4): 568-569.
- [16] LI R, CAI M, LIU H, et al. Thermo-activated peroxydisulfate oxidation of indomethacin: Kinetics study and influences of co-existing substances [J]. Chemosphere, 2018, 212: 1067-1075.
- [17] DING Y, PAN C, PENG X, et al. Deep mineralization of bisphenol A by catalytic peroxymonosulfate activation with nano CuO/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> with strong Cu-Fe interaction [J]. Chemical Engineering Journal, 2020, 384: 123378.
- [18] JIAO X, HE C, YU H, et al. Photo-generated hydroxyl radicals contribute to the formation of halogen radicals leading to ozone depletion on and within polar stratospheric clouds surface [J]. Chemosphere, 2022, 291: 132816.
- [19] 白格, 陈茂清, 蔡楠, 等. 高级氧化技术中自由基的检测技术和方法研究进展 [J]. 分析测试学报, 2021, 40(7): 1109-1118.
- [20] CHU C, YAN Y, MA J, et al. Implementation of laser flash photolysis for radical-induced reactions and environmental implications [J]. Water Research, 2023, 244: 120526.
- [21] LI D D, HAN R M, LIANG R, et al. Hydroxyl radical reaction with *trans*-resveratrol: Initial carbon radical adduct formation followed by rearrangement to phenoxyl radical [J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2012, 116(24): 7154-7161.
- [22] CHEN C, WU Z, ZHENG S, et al. Comparative study for interactions of sulfate radical and hydroxyl radical with phenol in the presence of nitrite [J]. Environmental Science & Technology, 2020, 54(13): 8455-8463.
- [23] ZHU M Y, LU J, HU Y D, et al. Photochemical reactions between 1, 4-benzoquinone and O<sub>2</sub><sup>•-</sup> [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2020, 27(25): 31289-31299.
- [24] LIAN L, YAO B, HOU S, et al. Kinetic study of hydroxyl and sulfate radical-mediated oxidation of pharmaceuticals in wastewater effluents [J]. Environmental Science & Technology, 2017, 51(5): 2954-2962.
- [25] LEI Y, CHENG S, LUO N, et al. Rate constants and mechanisms of the reactions of Cl<sup>•</sup> and Cl<sub>2</sub><sup>•-</sup> with trace organic contaminants [J]. Environmental Science & Technology, 2019, 53(19): 11170-11182.
- [26] CAREGNATO P, GARA P D, BOSIO G N, et al. Reactions of Cl<sup>•</sup>/Cl<sub>2</sub><sup>•-</sup> radicals with the nanoparticle silica surface and with humic acids: Model reactions for the aqueous phase chemistry of the atmosphere [J]. Photochemistry and Photobiology, 2007, 83(4): 944-951.
- [27] HUBER J R, HAYON E. Flash photolysis in the vacuum ultraviolet region of the phosphate anions H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, and P<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>4-</sup> in aqueous solutions [J]. The Journal of Physical Chemistry, 1968, 72 (11): 3820-3827.
- [28] MORIMOTO S, ITO T, FUJITA S I, et al. A pulse radiolysis study on the reactions of hydroxyl radical and sulfate radical anion with guanidine derivatives in aqueous solution [J]. Chemical Physics Letters, 2008, 461(4/6): 300-304.
- [29] WINE P H, MAULDIN R L III, THORN R P. Kinetics and spectroscopy of the nitrogen oxide radical (NO<sub>3</sub>) in aqueous ceric nitrate-nitric acid solutions [J]. The Journal of Physical Chemistry, 1988, 92 (5): 1156-1162.
- [30] GAO L, GUO Y, ZHAN J, et al. Assessment of the validity of the quenching method for evaluating the role of reactive species in pollutant abatement during the persulfate-based process [J]. Water Research, 2022, 221: 118730.
- [31] QI F, CHU W, XU B. Catalytic degradation of caffeine in aqueous solutions by cobalt-MCM41 activation of peroxymonosulfate [J]. Applied Catalysis B-Environmental, 2013, 134/135: 324-332.
- [32] YAO Y, 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.
- [33] 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 (•OH/•O<sup>-</sup> in Aqueous Solution [J]. Journal of Physical and Chemical Reference Data, 1988, 17(2): 513-886.
- [34] 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.
- [35] WACŁAWEK S, LUTZE H V, GRÜBEL K, et al. Chemistry of persulfates in water and wastewater treatment: A review [J]. Chemical Engineering Journal, 2017, 330: 44-62.
- [36] MATZEK L W, CARTER K E. Activated persulfate for organic chemical degradation: A review [J]. Chemosphere, 2016, 151: 178-188.
- [37] WANG J, WANG S. Activation of persulfate (PS) and peroxymonosulfate (PMS) and application for the degradation of emerging contaminants [J]. Chemical

- Engineering Journal, 2018, 334: 1502-1517.
- [38] GUO Y, LONG J, HUANG J, et al. Can the commonly used quenching method really evaluate the role of reactive oxygen species in pollutant abatement during catalytic ozonation [J]. Water Research, 2022, 215: 118275.
- [39] GUO Y, ZHANG Y, YU G, et al. Revisiting the role of reactive oxygen species for pollutant abatement during catalytic ozonation: The probe approach versus the scavenger approach [J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2021, 280: 119418.
- [40] GUO Y, ZHAN J, YU G, et al. Evaluation of the concentration and contribution of superoxide radical for micropollutant abatement during ozonation [J]. Water Research, 2021, 194: 116927.
- [41] LEE Y, GERRITY D, LEE M, et al. Prediction of micropollutant elimination during ozonation of municipal wastewater effluents: Use of kinetic and water specific information [J]. Environmental Science & Technology, 2013, 47(11): 5872-5881.
- [42] GAO L, GUO Y, HUANG J, et al. Simulating micropollutant abatement during cobalt mediated peroxymonosulfate process by probe-based kinetic models [J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 441: 135970.
- [43] GUO Y, ZHU S, WANG B, et al. Modelling of emerging contaminant removal during heterogeneous catalytic ozonation using chemical kinetic approaches [J]. Journal of Hazardous Materials, 2019, 380: 120888.
- [44] SHAO H, CHEN J, XU J, et al. Naproxen as a turn-on chemiluminescent probe for real-time quantification of sulfate radicals [J]. Environmental Science & Technology, 2023, 57(23): 8818-8827.
- [45] ZHANG Y, GUO Y, FANG J, et al. Characterization of UV/chlorine process for micropollutant abatement by probe compound-based kinetic models [J]. Water Research, 2023, 237: 119985.
- [46] FERNÁNDEZ-CASTRO P, VALLEJO M, ROMÁN M FSAN, et al. Insight on the fundamentals of advanced oxidation processes. Role and review of the determination methods of reactive oxygen species [J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2015, 90(5): 796-820.
- [47] SHIMIZU N, OGINO C, DADJOUR M F, et al. Sonocatalytic facilitation of hydroxyl radical generation in the presence of TiO<sub>2</sub> [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2008, 15(6): 988-994.
- [48] TAI C, XIAO C, ZHAO T, 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.
- [49] 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.
- [50] 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.
- [51] RABAAOUI N, ALLAGUI M S. Anodic oxidation of salicylic acid on BDD electrode: Variable effects and mechanisms of degradation [J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 243: 187-192.
- [52] TAI C, PENG J F, LIU J F, et al. Determination of hydroxyl radicals in advanced oxidation processes with dimethyl sulfoxide trapping and liquid chromatography [J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 527(1): 73-80.
- [53] 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.
- [54] ZHAO H, GAO J, ZHOU W, et al. Quantitative detection of hydroxyl radicals in Fenton system by UV-vis spectrophotometry [J]. Analytical Methods, 2015, 7(13): 5447-5453.
- [55] 王金刚, 王西奎, 国伟林, 等. 亚甲蓝光度法测定羟自由基 [J]. 理化检验-化学分册, 2007, 43(6): 495-497.
- [56] 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.
- [57] 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.
- [58] 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.
- [59] PERALTA E, ROA G, HERNANDEZ-SERVIN J A, et al. Hydroxyl radicals quantification by UV spectrophotometry [J]. Electrochimica Acta, 2014, 129: 137-141.
- [60] WATTS M J, LINDEN K G. Chlorine photolysis and subsequent OH radical production during UV treatment of chlorinated water [J]. Water Research, 2007, 41(13): 2871-2878.

(责编&校对 刘钊)