

文章编号: 1001-5914(2006)06-0552-04

酸性氧化电位水中羟自由基的顺磁共振测定法

杨敏, 龚泰石, 柯跃华, 王贺新

摘要: 目的 测定酸性氧化电位水中是否存在羟自由基($\cdot\text{OH}$)。方法 以 5,5-二甲基-吡咯啉-1-氧化物(DMPO)为羟基捕捉剂。电解产生的酸性氧化电位水分别放置不同时间(0~120 min)后采用电子顺磁共振(EPR)方法测定 $\cdot\text{OH}$ 的存在。结果 酸性氧化电位水放置 0 和 30 min 时 EPR 谱图信号是 7 条特征谱线组成的 DMPOX 的信号, 60 min 后出现由 4 条谱线组成的 DMPO-OH 的 EPR 信号, 120 min 则基本检测不到 EPR 信号。结论 酸性氧化电位水中存在 $\cdot\text{OH}$, 初期可能由于 HClO 和 Cl_2 等的干扰而无法检测到, 60 min 后 DMPO 捕捉到 $\cdot\text{OH}$, 推测电解过程结束后, 其自身含有的一些活性物质可能相互作用产生 $\cdot\text{OH}$ 。

关键词: 水; 消毒; 磁共振波谱学; 酸性氧化电位水

中图分类号: O657.2

文献标识码: A

Determination of OH Radicals in Acid Oxidation-Potential Water by Electron Paramagnetic Resonance YANG Min, GONG Tai-shi, KE Yue-hua, et al. Institute of Health and Environmental Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Tianjin 300050, China

Abstract: Objective To investigate whether $\cdot\text{OH}$ radical species present in the acid oxidation-potential water (AOW). Methods Electron paramagnetic resonance spectroscopy (EPR) coupled with the spin trapping technique was used for determination of $\cdot\text{OH}$ radicals. Results A seven-line spectrum characteristic of 5, 5-dimethyl-2-pyrroline-N-oxyl (DMPOX) was formed at first, at 60 min the spin adducted DMPO-OH with four-line spectrum characteristic and at 120 min, no spectrum was observed. Conclusion $\cdot\text{OH}$ can be detected in AOW at 60 min and it may come from the interaction of active substance in the AOW.

Key words: Water; Disinfection; Magnetic resonance spectroscopy; Acid oxidation-potential water

目前, 通过离子隔膜电解槽电解低浓度 NaCl 溶液产生的酸性氧化电位水(AOW)作为一种新型环保型消毒剂, 其安全、简便、高效、快速且无残留毒性的特点, 使其已经被广泛运用于食品加工、医疗卫生和环保产业等很多领域。对于酸性氧化电位水的消毒机制主要有以下几种观点: 一是电解产生氯消毒剂的作用^[1-5], 二是电解产生 H_2O_2 、 O_3 等强氧化性物质的作用^[6,7], 这 2 种观点较为普遍, 并为许多研究者所接受; 也有人认为其中的一些高活性短寿命的 $\cdot\text{OH}$ 等自由基发挥了重要作用^[7-9], 但此观点尚待证实。本研究采用电子顺磁共振(EPR)波谱仪技术, 选用 5,5-二甲基-吡咯啉-1-氧化物(DMPO)为自旋捕捉剂, 测定酸性氧化电位水放置不同时间后的 $\cdot\text{OH}$ 的 EPR 谱图; 向溶液中加入 $\cdot\text{OH}$ 的清除剂——甘露醇, 考察其对 EPR 信号强度的影响, 进一步证实酸性氧化电位水中 $\cdot\text{OH}$ 的存在。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

ESP300 顺磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司), UV-8500 型紫外可见分光光度计(上海天美科学仪器公司), 奥立龙 868 型酸度计(美国奥立龙公司), ORP 测

定仪(美国大普公司)。DMPO(Sigma 公司), 甘露醇(Sigma 公司), 四甲基联苯胺(Sigma 公司), 30% H_2O_2 , FeCl_2 , NaCl , 蒸馏水, 以上试剂均为分析纯。

1.2 试验装置与方法

1.2.1 酸性氧化电位水的制备 在微电解水处理器(本研究室自行研制)通入 0.05% NaCl 溶液, 经过电解制备酸性氧化电位水, 装瓶待用, 其制备工艺见图 1。对其主要理化指标进行分析测定。pH 值和氧化还原电位值(ORP)分别用奥立龙 pH 计和大普 ORP 仪测定, pH 值为 2.47, ORP 值为 1 135 mV; 采用碘量法^[10]测定有效氯为 40.5 mg/L; 活性氧(主要包括 H_2O_2 、 O_3 等)的测定方法为, 利用其与四甲基联苯胺的特异反应, 采用紫外分光光度法测定^[9], 测得其浓度为 12.2 mg/L。

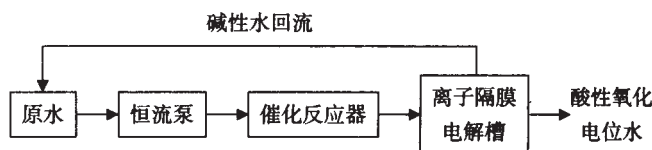


图 1 酸性氧化电位水制备流程图

1.2.2 EPR 实验测定样品的制备 配制 0.05% NaCl 溶液和 pH 值为 2.5 的 HCl 溶液分别作为空白和酸性对照; 芬顿(Fenton)反应产生 $\cdot\text{OH}$ 作为实验对照, Fe^{2+} 和 H_2O_2 浓度分别为 0.25 和 0.05 mmol/L, 加入 DMPO, 使其最终浓度为 125 mmol/L; 电解产生的酸性氧化电位水分别放置 0 (电解结束初期)、30、60、90、120 min

作者单位: 军事医学科学院卫生学环境医学研究所(天津 300050)

作者简介: 杨敏(1981-), 女, 硕士研究生, 从事水处理研究。

通讯作者: 龚泰石, Tel: (022) 84655498

后,向其中分别加入 DMPO,其在溶液中的浓度为 125 mmol/L;向含有 125 mmol/L DMPO 的且分别放置 0、30、60、90、120 min 的酸性氧化电位水中添加甘露醇,使其在溶液中的浓度为 50 mmol/L^[7,8]。

1.2.3 EPR 测定·OH 实验 将上述样品立即封入石英玻璃管中进行 EPR 谱图的测定^[8,9]。EPR 各项参数如下,测试条件为 X 波段,中心场为 3 480 G(地心引力单位),微波功率为 12.8 mW,调制频率为 100 kHz,微波频率为 9.77 GHz,所有谱图均为 7 次扫描信号的叠加图。

2 结果与讨论

2.1 0.05%NaCl 溶液和 HCl 溶液(pH=2.5)的 EPR 谱图

DMPO 是一种运用最广泛的羟基捕捉剂,·OH 的寿命很短(通常以 μs 计),因而极难被捕捉到,但是 DMPO 能够与·OH 形成较为稳定的 DMPO-OH,其寿命可达 5~10 min,因此可以采用 EPR 来测定。

本实验中,采用 2 组对照,一组为未电解的 0.05% NaCl 溶液,另一组为 pH=2.5 的 HCl 溶液,测定 2 种溶液的 EPR 谱图,主要是考察这 2 种溶液对 DMPO-OH 信号是否存在影响。结果如图 2 所示,两者均无明显的 EPR 谱图信号,说明其对后续 EPR 谱图的测定不会产生干扰。

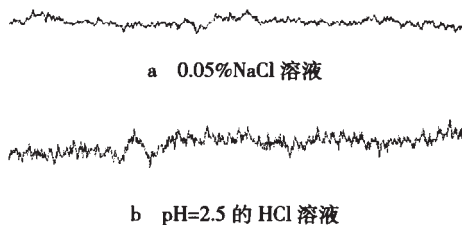
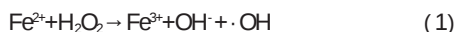


图 2 0.05%NaCl 溶液和 HCl 溶液的 EPR 谱图

2.2 测定 Fenton 反应中产生·OH 的 EPR 谱图

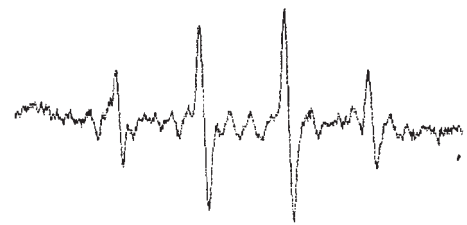
Fenton 反应可以产生大量羟基,见反应式(1):



如图 3a 所示,EPR 谱图为 4 条典型谱线,各条谱线所围成的峰面积之比为 1 2 2 1,且氮原子、氢原子的自旋裂分常数(A_N, A_H)均为 14.9 G,此谱图即为 DMPO-OH 的典型谱图^[8,9]。由图 3b 可以看出,加入甘露醇的 Fenton 试剂的 EPR 谱图几乎没有 DMPO-OH 信号,说明作为·OH 清除剂的甘露醇加入后对 EPR 信号产生影响,进一步证实了 Fenton 体系中·OH 的存在。所以此图一方面证明 Fenton 反应确实产生了大量的羟自由基,另外也为后续 EPR 谱图的测定提供了参照。

2.3 酸性氧化电位水的 EPR 谱图

在酸性氧化电位水中加入 DMPO,测定·OH 的 EPR 谱图,以考察其中是否含有·OH,分别放置 0、30、60、90、120 min 后测定,得到图 4 的谱图。

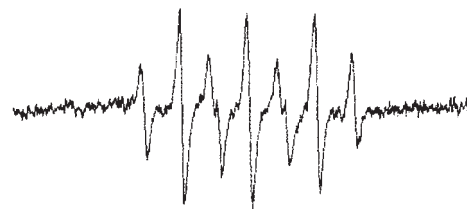


a 未添加甘露醇

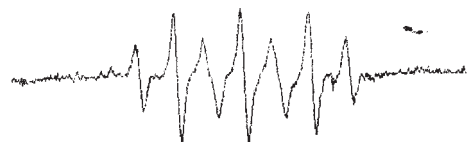


b 添加甘露醇

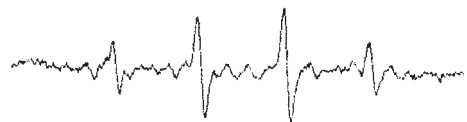
图 3 Fenton 反应产生的·OH 的 EPR 谱图



a 0 min



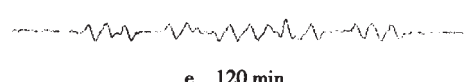
b 30 min



c 60 min



d 90 min



e 120 min



f 50 mmol/L 甘露醇加入后 60 min

图 4 酸性氧化电位水中加入 DMPO 后 0~120 min 的 EPR 谱图

由图 4a 可以看出,电解过程结束初期(0 min)的 EPR 谱图由 7 条典型谱线组成,各条谱线所围成的峰面积之比为 1 2 1 2 1 2 1,且氮原子、氢原子的自旋裂分常数(A_N, A_H)分别为 4.0 G 和 7.25 G,此为典型的由 HClO 和 Cl_2 等有效氯与 DMPO 反应生成的 DMPOX 的 EPR 信号谱图^[11,12]。可能是由于 HClO 和 Cl_2 等有效氯的标准电极电位较低,因此电解时有效氯优先大量生成,并立即被 DMPO 捕捉到生成 DMPOX,结构式如下:

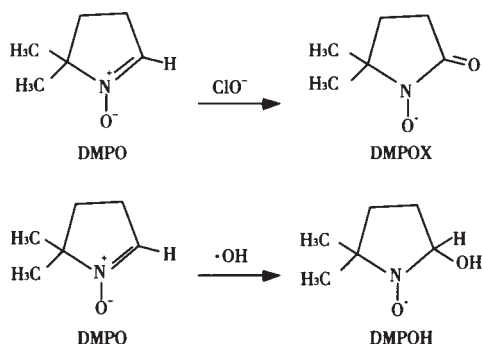


图 4 表明电解过程结束后, 酸性氧化电位水中的 $\cdot\text{OH}$ 的 EPR 信号随时间的衰减情况。随着酸性氧化电位水放置时间的延长, DMPOX 的 7 条典型谱线逐渐变弱而转变为 4 条典型谱线, 各条谱线所围成的峰面积之比为 1 2 2 1, 且氮原子、氢原子的自旋裂分常数 A_N, A_H 分别为 14.92 G, 此为典型的 $\cdot\text{OH}$ 与 DMPO 反应生成的 DMPO-OH 的 EPR 信号图谱^[12, 13]。具体表现为放置 30 min 后的酸性氧化电位水的 DMPOX 信号比电解过程结束后立即进行 (0 min) EPR 检测的样品信号减弱了 1/4, 60 min 时的样品出现了较强的 DMPO-OH 信号, 但到 90 min 时其信号减弱为 60 min 时的 1/2, 到 120 min 时 DMPO-OH 的 EPR 信号几乎完全消失。总之在这 2 h 内, DMPOX 的信号呈缓慢下降趋势, 而 DMPO-OH 的信号则在 60 min 时出现, 而后逐渐减弱。通过此 EPR 实验, DMPO 捕捉到了 $\cdot\text{OH}$, 由此说明酸性氧化电位水中确有 $\cdot\text{OH}$ 产生。刁惠芳等^[7]也测出了 $\cdot\text{OH}$ 的 EPR 谱图, 但是没有发现 DMPOX 的特征信号, 通过分析他们的 EPR 谱图, 发现谱线较为混乱, 并非 DMPO-OH 的典型谱图, 可能因此而漏掉了 DMPOX 的 EPR 信号。本实验结论与 Silvia 等^[14]的观点也存在较大差异, 可能是由于他们实验中所采用的 NaCl 溶液浓度过高 (13.6%) 所致。

电解过程能够产生 $\cdot\text{OH}$, 但是 $\cdot\text{OH}$ 的寿命极短 (通常在 μs 级), 那么外加电场结束后的酸性氧化水中何以存在 $\cdot\text{OH}$? 笔者对 $\cdot\text{OH}$ 的产生过程有如下的推测, 见反应式 (2) ~ (11)。



电解过程中, 通过反应式 (2) ~ (6) 可以产生 H_2O_2 和 O_3 , 特别是在阴极, O_2 很容易被还原而大量生成 H_2O_2 , 如反应式 (6) 所示, 本实验制备酸性氧化电位水

时有一个碱性水回流装置, 这样更增加了酸性氧化电位水中 H_2O_2 的产量; 当外加电流消失后, H_2O_2 或 O_3 在外界条件 (温度、pH 值和光照等) 的影响或催化下, 推测由反应式 (7) ~ (10) 不断产生 $\cdot\text{OH}$; 或者 H_2O_2 也可能与电极板涂层溶于水中的微量过渡金属元素 Fe、Ti 等发生 Fenton 反应产生 $\cdot\text{OH}$, 如反应式 (11) 所示。

Saran 等^[8]提出, 当 $\cdot\text{OH}$ 与 Cl^- 共存时, Cl^- 能够参与或催化以下的一系列自由基反应, 如反应式 (12) ~ (14)。 $\cdot\text{OH}$ 被转化为 HOCl 存在, 使得 $\cdot\text{OH}$ 的寿命得以延长 1~2 个数量级, 这样在消毒过程中, 细菌与自由基接触的可能性增加, 杀菌率得以大幅提高。



3 结论

由 EPR 实验可知, 电解过程结束初期的酸性氧化电位水主要检测到 HClO 和 Cl_2 等, 放置 1 h 后, DMPO 捕捉到 $\cdot\text{OH}$ 。因而推测, 电解制备的酸性氧化电位水在初期其中很可能也含有 $\cdot\text{OH}$, 但是由于 HClO 和 Cl_2 等有效氯的干扰而无法检测到; 而 EPR 测定放置 1 h 后的酸性氧化电位水中存在 $\cdot\text{OH}$, 推断可能是在外加电场结束后, 其自身含有的活性物质, 比如 H_2O_2 、 HClO 、 $\text{Cl} \cdot$ 等相互反应从而产生 $\cdot\text{OH}$ 。但是, 这里始终存有一个疑问, 外加电场结束初期, DMPOX 的信号何以会衰减? 这个问题还有待于进一步实验研究。即使这样, 酸性氧化电位水中存在 $\cdot\text{OH}$ 是肯定的, 而且这也间接说明了 $\cdot\text{OH}$ 在酸性氧化电位水的高效灭菌过程中的重要作用。

参考文献:

- [1] Patemaraxis G, Fountoukidis E. Disinfection of water by electrochemical treatment[J]. Water Res, 1990, 24:1491-1496.
- [2] Karlt A, Stanelmann M, Blaschke M, et al. Hypochlorite production from very dilute chlorine solution[J]. Supplied Electrochemistry, 1999, 29:861-868.
- [3] Li XY, Ding F, Lo PSY, et al. Electrochemical disinfection of saline effluent[J]. Environmental Engineering, 2002, 128:697-704.
- [4] Bergmann H, Koparal S. The formation of chlorine dioxide in the electrochemical treatment of drinking water for disinfection[J]. Electrochemical Acta, 2005, 50:5218-5228.
- [5] Drogul P, Elmaleh S, Rumeau M, et al. Hydrogen peroxide production by water electrolysis: application to disinfection[J]. Supplied Electrochemistry, 2001, 31:877-882.
- [6] Guo DM, Panakezhum D, Mark J. Oxidation of spin trap 5,5-dimethyl-1-pyrroline-1-oxide in an electron paramagnetic resonance study of the reaction of methemoglobin with hydrogen peroxide[J]. Free Radic Biol Med, 1994, 16:493-500.
- [7] 刁惠芳, 白玮, 李晓岩, 等. 电化学消毒中羟基自由基的测定[J]. 给水排水, 2004, 30(9):59-62.
- [8] Saran M, Beck I, Fellerhoff B. Phagocytic killing of microorganisms by radical processes: consequences of the reaction of hydroxyl radicals with chloride yielding chlorine atoms[J]. Free Radic Biol Med, 1999, 26:482-490.
- [9] Hase H, Harada K. ESR detection of OH and H radicals generated by

文章编号: 1001-5914(2006)06-0555-02

作业场所空气中锡的微波消解-氢化物发生原子荧光光度测定法

赵飞蓉, 彭谦, 陈忆文, 陈惠珠

摘要: 目的 建立作业场所空气中锡的微波消解-原子荧光光度测定法。方法 将采样完毕的微孔滤膜按微波消解程序处理后, 将消解液进一步处理, 以原子荧光光度法测定锡。结果 方法的线性范围为 0.3~100.0 $\mu\text{g/L}$, 检出限为 0.3 $\mu\text{g/L}$, 最低检出浓度为 0.000 1 mg/m^3 (以采集 75 L 空气样品计), 测定相对标准偏差为 2.7%~3.5%, 样品加标回收率为 96.5%~104.7%。结论 该方法具有快速准确、灵敏度高、精密度好等优点, 可用于作业场所空气中锡的测定。

关键词: 分光光度法; 空气污染; 锡; 原子荧光光度法; 微波消解

中图分类号: O657.3

文献标识码: A

Determination of Tin in Air by Microwave Digestion-HG-AFS ZHAO Fei-rong, PENG Qian, CHEN Yi-wen, et al. Jiading District Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 201800, China

Abstract: Objective To develop a method for determination of tin in the air of workplace by microwave digestion-HG-AFS. Methods The air samples were collected and the concentration of tin was determined by microwave digestion-HG-AFS and the parameters of atomic fluorescence spectrometry were studied. Results In the optimum condition, the detection limit of tin was 0.3 $\mu\text{g/L}$, the lowest detected concentration of tin in the samples was 0.000 1 mg/m^3 (based on 75 L air sample), the RSD was 2.7%-3.5%, the rate of recovery was in the range of 96.5%-104.7%. Conclusion The method is rapid, convenient, accurate, sensitive and suitable for determination of tin in the air of workplace.

Key words: Spectrophotometry; Air pollution; Tin; Atomic fluorescence spectrometry; Microwave digestion

在车间作业时若因防护不当、设备故障等而致作业人员大量接触过量锡及其化合物, 可引起锡中毒。因此监测车间空气中锡的浓度非常有必要。目前, 国家职业卫生标准中测定总锡的方法是火焰原子吸收分光光度法、栎精分光光度法、双硫脲分光光度法。这些方法灵敏度相对较低, 操作步骤也较为繁琐^[1]。而氢化物发生原子荧光光度法(AFS)具有灵敏度高, 干扰少, 线性范围宽等特点, 应用于生物材料及水样中锡的测定方法的文献已有较多报道^[2,3]。笔者探讨了含锡的作业场所空气样品前处理的微波消解法, 联用氢化物发生原子荧光光度法进行测定。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

AFS-230E 型双道原子荧光光度计, 附断续流动全自动进样器 (北京海光仪器公司); Mars5 型微波消解系统, 附 XP-1500 Plus 密闭消解罐 (美国 CEM 公司); AS-2 型锡高性能空心阴极灯 (北京有色金属研究总院); BFC-35E 型双粉头粉尘采样仪 (江苏建湖电子仪器厂); 屏蔽气及载气均为高纯氩气。盐酸 (优级纯)、硝酸 (优级纯)、过氧化氢 (分析纯); 本法所用试剂皆用超纯水 (美国 Millipore 公司) 配制, 实验所用玻璃器皿均用 20% 硝酸浸泡过夜处理; 100 mg/L 锡标准储备液 [GBW(E)080546, 国家标准物质研究中心]; 1 000 $\mu\text{g/L}$ 锡标准使用液; 其余试剂为优级纯或分析纯。5 g/L 氢氧化钠溶液, 20 g/L 硼氢化钠溶液 (称取 2 g 硼氢化钠溶解于 5 g/L 氢氧化钠溶液中, 并稀释至 100 mL), 100 g/L 硫脲-抗坏血酸溶液 (称取硫脲及抗坏血酸各

基金项目: 上海市嘉定区科委科研基金资助项目 (2004JKK023); 上海市嘉定区卫生局科研基金资助项目 (KYXM-2004-11-3)

作者单位: 上海市嘉定区疾病预防控制中心理化检验科 (上海 201800)

作者简介: 赵飞蓉 (1972-), 女, 主管技师, 从事仪器分析。

通讯作者: 彭谦, E-mail: peng59991569@163.com

contact glow discharge in aqueous solutions J]. Vica Origino, 2001, 29: 61-62.

[10] 魏复盛, 齐文启, 毕彤, 等. 水和废水检测分析手册 (M). 第 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 170-176.

[11] Ozawa T, Miura Y, Ueda J. Oxidation of spin-traps by chlorine dioxide radicals in aqueous solutions: first ESR evidence of formation of new nitroxide radicals J]. Free Radical Biol Med, 1996, 20: 837-841.

[12] Carl B, Rathnyake B, Oscar H. Electron spin resonance studies of the reaction of hypochlorite with 5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide J]. Free Radical Biol Med, 1990, 8: 231-239.

[13] Silvia DS, James S, Daeschel MA. Investigation of the presence of OH radicals in electrolyzed NaCl solution by electron spin resonance spectroscopy J]. Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53: 4901-4905.

[14] Silvia DS, Daeschel MA. 5,5-Dimethyl-2-pyrroline-N-oxyl formation in electron spin resonance studies of electrolyzed NaCl solution using 5,5-Dimethyl-1-pyrroline-N-oxide as a spin trapping agent J]. Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53: 4906-4910.

(收稿日期: 2006-05-20)

(本文编辑: 董子珍)