

天然水体中微量过氧化氢的测定方法

Measurement methods of hydrogen peroxide determination in natural waters

魏西会^{1,2}, 刘素美¹, 张 经^{1,3}, 任景玲¹, 张桂玲¹

(1. 中国海洋大学 化学化工学院, 山东 青岛 266003; 2. 青岛市环境保护局 城阳分局, 山东 青岛 266109; 3. 华东师范大学 河口海岸学国家重点实验室, 上海 200062)

中图分类号: S963

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2008)10-0096-05

自然环境中的 H_2O_2 与水体中的光化学反应、氧化还原反应有密切关系, 是影响化学物质(金属离子、腐殖质等)在水环境中的迁移、转化、归宿及生态效应的重要因素, 也是酸雨形成的主要原因之一。地表天然水中的 H_2O_2 主要来自表层水中可溶解有机物(DOM)的光化学反应, 它可以用来示踪表层水体的垂直交换以及人为污染源的排入^[1]。淡水体系中的 H_2O_2 浓度较海水中 H_2O_2 浓度高出约两个数量级, 所以 H_2O_2 是淡水进入海洋表层后混合过程中的非常有效的示踪物质之一^[2]。研究表明天然水体中的微量 H_2O_2 可以影响生物生长所必需的某些金属元素在水体中的价位形态从而对生物生长造成影响^[3]。由于天然水体中 H_2O_2 的重大意义, 近几十年来国内外学者对天然水体中 H_2O_2 含量、分布、生成机理及其对体系中其他元素存在的影响等方面进行了大量研究, 其中准确测定 H_2O_2 的含量一直是科研工作的热点之一。

1 天然环境中 H_2O_2 的源与汇

大气中的 H_2O_2 主要由挥发有机物光化学反应产生的过氧自由基结合生成的^[4]: $\text{HO}_2 \cdot + \text{HO}_2 \cdot = \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$ 。但是 Buckley 等^[5]证明大气中的 O_3 - H_2O_2 分子簇也可以反应生成 H_2O_2 。大气中 H_2O_2 的汇主要是 H_2O_2 光化学反应分解生成氢氧自由基, 空气干沉降和云、雨的洗脱^[4]。大气中的 NO 可以消耗过氧自由基, 所以大气中 H_2O_2 含量与 NO 有一定关系^[6]。由于 H_2O_2 的亨利系数相当大, 所以对大气中 H_2O_2 的洗脱作用是雨水中 H_2O_2 的主要来源^[7]。雨水中 H_2O_2 的另外一个源是云中自由基的自行形成。降水中 H_2O_2 的浓度主要受到环境温度、雨水的 pH 值、空气洁净度、太阳辐射强度、雷电等因素的影响, 当雨水中非海源硫酸根的浓度增大时, H_2O_2 的浓度

有降低的趋势。陆地上的大气污染物因可以消耗云、雨中的 H_2O_2 , 所以同一地区陆源雨水中 H_2O_2 的浓度远远低于海源雨水^[6]。海水中 H_2O_2 有 3 个主要来源: (1) 表层海水中 DOM 的光化学反应生成, 其中生成率最高的是腐殖质^[1]; (2) 大气干、湿沉降(影响可以持续 4 d)^[8]; (3) 海洋生物细胞的释放和海洋生物光合作用的释放^[9]。其中表层海水中 DOM 的光化学反应是海水中 H_2O_2 最主要的源。海水中 H_2O_2 可能的汇主要有: (1) 浮游植物和细菌释放的生物酶对 H_2O_2 分解; (2) 某些过渡金属离子对 H_2O_2 的催化分解, 如: Cu^+ , Fe^{2+} 。其中浮游植物和细菌的分解是最主要的汇, 分解速率与 H_2O_2 的浓度、细菌数量、环境温度等有关^[10]。

2 天然水体中 H_2O_2 的测定方法

根据方法原理的不同, 可以将天然水体中 H_2O_2 的分析方法分为 4 类: (1) 化学发光法; (2) 荧光法; (3) 分光光度法; (4) 过氧化氢传感法。

2.1 化学发光法

一定条件下样品中的 H_2O_2 与发光剂反应生成激发态分子, 当激发态分子跃迁回基态时, 可以发出一定波长的光, 通过测定发光强度计算样品中 H_2O_2 的含量。常用于测定 H_2O_2 的发光剂有鲁米诺、草酸衍生物和光泽精。

收稿日期: 2006-04-27; 修回日期: 2006-07-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(40206017); 国家重点基础研究发展规划项目(2001CB409703, 2006CB400601); 新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-05-0593)

作者简介: 魏西会(1982-), 女, 山东郓城人, 硕士研究生, 主要从事天然水体中过氧化氢的测定研究, E-mail: xihuiwei@yahoo.com.cn; 刘素美, 通讯作者, E-mail: sumeiliu@mail.ouc.edu.cn, 电话: 0532-66782005

2.1.1 鲁米诺化学发光体系

鲁米诺-H₂O₂化学发光体系是发现最早的,也是应用最广的化学发光体系,它可以被一些金属离子催化,使发光增强。该体系最早应用于H₂O₂测定是1978年Kok等建立的鲁米诺-H₂O₂-Cu(II)体系。1984年Yoshizumi等对该方法进行了改进,检出限降低到2.94 nmol/L以下,灵敏度提高了10倍。出于研究的需要,Yuan等^[11]将流动注射分析技术和Co(II)-鲁米诺-H₂O₂化学发光体系联用,缩减了操作时间,提高了灵敏度。在常规浓度范围内,只有Fe²⁺对方法有干扰而且可以通过采样后将样品静置1h予以消除,检出限为0.42 nmol/L,可用于测定雨水、海水样品。Price等^[12]亦采用了流动注射技术,检出限为5 nmol/L,线性范围为 $5 \times 10^{-9} \sim 5 \times 10^{-7}$ mol/L,作者发现海水中H₂O₂的浓度随深度的增加迅速下降,到温跃层以下基本不再变化。说明表层海水中DOM的光化学反应可能是海水中H₂O₂主要的源。

2.1.2 草酸衍生物化学发光体系

草酸衍生物化学发光体系(POCL)最早由Chandross提出,用于测定H₂O₂的草酸衍生物主要是双(2,4-二硝基苯基)草酸脂和双(2,4,6-三氯苯基)草酸酯(TCPO)。

早期,Zoonen等^[13]采用TCPO固定化反应器与3-氨基荧光苾、二萘嵌苯反应器联合,测定了雨水中的H₂O₂。Stigbrand等^[14]在研究如何减小POCL的背景干扰时发现草酸咪唑在没有催化剂的情况下灵敏度是TCPO的10~100倍,用于测定H₂O₂时检出限达到10 nmol/L。Arnous等^[15]发现当9,10-二苯基苾作为发光试剂时可以测定 $9.0 \times 10^{-6} \sim 7.2 \times 10^{-5}$ mol/L范围内的H₂O₂。

2.1.3 光泽精化学发光体系

光泽精被H₂O₂氧化可以产生化学发光,反应过程中产生的吡啶酮不溶于水,需引入少量的十二烷基磺酸钠防止沉淀的产生。而且,在鲁米诺化学发光体系中没有催化作用的某些金属离子,如Bi³⁺却可以催化H₂O₂氧化光泽精的化学发光反应,这为提高分析灵敏度提供了条件^[16]。

近几年来,又有化学分析工作者提出了一些新的化学发光体系。2000年,Cooper等^[17]利用10-甲基-9-苯甲酸吡啶羧酸三氟代甲基磺酸脂与H₂O₂反应产生化学发光,相对标准偏差为4%,检出限为5 nmol/L,线性范围为 $5 \times 10^{-9} \sim 6 \times 10^{-5}$ mol/L。该方法最大的优点在于最佳测定波长为470 nm,这个波长在水体中有机质的吸收和荧光波长范围以外,避免了水体中有机质的干扰,Fe²⁺的干扰可以通

过加入菲洛嗉消除。

2.2 荧光法

过氧化酶作用下荧光剂与H₂O₂反应产生荧光,根据荧光强度与H₂O₂浓度的定量关系确定H₂O₂浓度。常用的荧光剂有苾苳亭和对羟基苯乙酸。

2.2.1 苾苳亭-过氧化物酶荧光衰减法

在一定pH的磷酸缓冲溶液中加入待测样品和苾苳亭,测得其荧光信号。向此混合液中加入过氧化物酶,H₂O₂开始氧化苾苳亭使荧光信号减弱,减弱值与H₂O₂含量成线性关系。通过计算信号差值计算样品中H₂O₂的含量。方法检出限为20 nmol/L,相对标准偏差为2%,适用于雨水、海水、地下水及河口半咸水体系^[18]。Amouroux等^[19]在测定海水和河口半咸水中的H₂O₂时将此法与流动注射联用提高了分析速度,测定范围可达 $5 \times 10^{-9} \sim 7 \times 10^{-7}$ mol/L,相对标准偏差为10%。

这类方法最大优点在于它的检出限非常低,但是要求必须在样品采集后立即分析。早期学者曾经采用调解两个反应阶段的pH值来延迟荧光,操作麻烦,效果也不甚明显。Zhang等^[20]对该方法的保存、测定条件进行优化,调整了激发和发射波长和测定pH值,使灵敏度提高了3倍,样品可保存4d。

2.2.2 对羟基苯乙酸-过氧化物酶荧光法

对羟基苯乙酸与H₂O₂可以生成荧光二聚体,其荧光强度与H₂O₂的浓度有定量关系。由于对羟基苯乙酸与有机过氧化物也反应生成荧光物质,Lazrus等^[21]提出了双通道化学流动体系消除样品中的有机过氧化物的干扰。一个通入样品测定其中总过氧化物的浓度;另一个通入H₂O₂已被分解的样品,测定其他过氧化物的浓度。两个通道浓度之差即为样品中H₂O₂的浓度。测定前需要加入EDTA消除某些金属离子的干扰,检出限为12 nmol/L,测定范围为 $1.1 \times 10^{-8} \sim 1.5 \times 10^{-4}$ mol/L。后来,Miller和Kester^[22]将此法改进应用于海水中H₂O₂的测定。为了提高空白值的准确度,采用3份平行样品加入不同试剂的方法进行差减计算样品空白。检出限为4 nmol/L。雨水中H₂O₂的浓度较海水中的高,Hanson等^[23]将该方法用于雨水测定时增加了试剂浓度。该方法只需加入一次试剂,即可获得稳定的荧光信号,测量准确度高、检出限低,在国际上倍受认可和推崇。

2.2.3 乙酰氨基苯酚荧光法

Jie等^[24]发现酸性介质中H₂O₂与乙酰氨基苯酚可形成荧光络合物。该络合物的激发、发射波长为298 nm和333 nm,方法检出限15 nmol/L,线性范围为 $5.0 \times 10^{-8} \sim 2.8 \times 10^{-6}$ mol/L,回收率96%~

102%。可用于测定雨水中的 H_2O_2 。但需加入 EDTA 掩蔽 Fe^{3+} , Hg^{2+} 的干扰。

2.3 分光光度法

在一定条件下,试剂与 H_2O_2 生成吸光物质,通过分光方法测定样品中 H_2O_2 的含量。分光光度法测定 H_2O_2 主要有 3 类:(1) 催化剂存在情况下与供氢体发色团反应;(2) 金属离子的氧化;(3) 与复杂配体络合显色反应。其中与复杂配体络合显色反应应用最广泛。

2.3.1 与供氢体发色团反应

Zhu 等^[25]在过氧化物酶存在情况下,以铬黑 T 作供氢体发色团测定 H_2O_2 。在 pH 为 8.6 的情况下可以测定 $2.7 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ mol/L 范围内的 H_2O_2 。也有科学工作者尝试向样品中加入 N-乙基-N-(磺丙烷基)苯胺钠盐(ALPS)作供氢体测定雨水中的 H_2O_2 ,检出限为 140 nmol/L。后来 Pappas 等^[26]对该方法进行改进。他们向样品中加入 4-氨基吡啶啉酮的衍生物-4-氨基-5-(对-苯胺)-1-甲基-2-苯基-吡啶(DAP)作显色剂。在过氧化物酶的催化作用下,DAP, ALPS 和 H_2O_2 反应生成蓝色产物。方法检出限为 4 nmol/L,向样品中加入 EDTA 可以消除常规离子的干扰。也有分析工作者将停止流动(stopped-flow)技术与分光光度法联用测定雨水中的 H_2O_2 ^[27]。以卟啉催化邻苯二胺与 H_2O_2 反应生成 2,3-二胺吩嗪。检出限为 9.2 nmol/L,线性范围为 $5.0 \times 10^{-8} \sim 3.5 \times 10^{-6}$ mol/L,相对标准偏差 2.08%,回收率在 94.1%~111%之间。

2.3.2 金属离子的氧化

涉及到金属离子的氧化作用的分光光度法,主要采用 Ti(IV)和 V(V)的螯合物来测定 H_2O_2 。将样品通入 $TiCl_4$ -HCl 溶液,即可生成稳定的 $TiCl_4$ - H_2O_2 络合物,检出限为 294 nmol/L^[28]。由于检测大气及降水时,固体颗粒及溶液中生成的 TiO_2 干扰可见光的通过,影响准确率,故该法不适于测定大气样品。

2.3.3 与复杂配体络合显色反应

目前应用最广的是金属离子与 H_2O_2 及有机显色剂形成的三元体系,已经用于 H_2O_2 测定的金属离子有 Ti(IV), V(V), Zr(IV), Nb(V), Mo(VI), Hf(IV), Ta(V), W(VI)和 U(VI),选用的有机显色剂主要是 2-(5-溴-2-吡啶偶氮)-5-二胺基苯酚(5-Br-PADAP)^[29]。白林山等^[30,31]建立了 Ti(IV)- H_2O_2 -5-Br-PADAP 体系和 V(V)- H_2O_2 -5-Br-PADAP 体系。两种物质都有很高的摩尔吸光系数,两种体系都有很好的线性范围和检出限。Tanner 等^[32]向样品中加入嘧啶-2,6-二羧酸和钒酸盐(PDV),pH < 1 条件下与 H_2O_2 形成含氧-过氧-嘧啶-2,6-二羧酸钒

酯(OPDV),线性范围 $1.47 \times 10^{-6} \sim 1.47 \times 10^{-3}$ mol/L,检出限 5.8 nmol/L,和对羟基苯乙酸荧光法相关性好。方法使用的络合试剂 PDV 非常稳定,与空气中的 HCHO, SO_2 , NO_2 , O_3 等不反应,可以直接放置在样品采集器中待降雨发生立即生成 OPDV,避免样品储存、转移过程中 H_2O_2 分解带来的误差。尽管雨水样品中含有的有机过氧化物也和 PDV 反应,但是生成物质的最大吸收峰和 OPDV 的不同,所以测定时不需考虑有机过氧化物带来的干扰。

2.4 过氧化氢传感法

传统的电化学方法测定 H_2O_2 一般采用铂、金电极作工作电极,利用工作电极上氧化电流和 H_2O_2 浓度的相关性进行测定,例如极谱法、电流滴定法、衡电位法等,但是很多易被氧化的物质对其造成干扰。近二十多年来,利用酶催化反应的高度专一性和电化学信号检测的高灵敏度相结合制成的电化学传感器得到了迅速发展。过氧化物酶等作为催化剂固定在电化学仪器的工作电极上,电化学分析仪器检测 H_2O_2 在催化剂的作用下发生的化学变化并将其转换成电信号,进而测定样品中 H_2O_2 的浓度。主要的过氧化氢传感器有 3 种:安培型过氧化氢传感器、伏特型过氧化氢传感器和生物传感器。

2.4.1 安培型过氧化氢传感器

为了减少电化学分析仪器测定 H_2O_2 过程中酶的流失,Matos 等^[33]用 IRA-743 离子交换树脂将酶固定于镀金铂质微电极上,检出限为 290 nmol/L。Oungpipat 等^[34]将芦笋组织和二茂铁固定在碳电极上制成一种新型传感器。其中芦笋组织可产生过氧化物酶,二茂铁在电极表面和 H_2O_2 之间传递电子。传感器检出限为 400 nmol/L,连续使用 30 d 后灵敏度会下降 50%。

2.4.2 伏特型过氧化氢传感器

安培型过氧化氢传感器测定 H_2O_2 速度快,但是电极氧化 H_2O_2 时需要高的工作电位易受到一些电活性物质(例如尿酸、抗坏血酸)的干扰,限制了方法的灵敏度。为了提高传感器的灵敏度采用恒电流法。该传感器通过测定 H_2O_2 反应时常效应晶体管电活性触点工作参数的变化测定待测样品中 H_2O_2 的浓度。其中 Os-PVP 作为过氧化物酶的电子传递体,催化还原 H_2O_2 。为了避免抗坏血酸的干扰在电活性物质上附一层 Nafion 膜^[35]。Zheng 等^[36]尝试将不同的物质(MnO_2 , NiO, Co_2O_3 , TiO_2)涂于石墨电极上,发现将 MnO_2 用石蜡油固定在石墨电极上制成的传感器响应信号最敏锐,检出限 120 nmol/L。测定结果与化学发光法结果一致,但是测定过程中 Co^{2+} 和 PO_4^{3-} 对测定结果有干扰。

2.4.3 生物传感器

将过氧化氢酶与含硅有机物混合成凝胶涂于碳电极上制成一种新型传感器,制备凝胶的过程中加入六环高铁酸盐作为供电子体。该传感器的响应速度在 10 s 以内,线性范围是 $2.5 \times 10^{-4} \sim 4.0 \times 10^{-3}$ mol/L^[37]。将鲁米诺固定在阴离子交换树脂上置于玻璃管内,把辣根过氧化物酶固定在生物相容性壳聚糖膜上固定于玻璃卷上制成一个透明的传感线圈,然后将二者结合在一起制成流动试剂生物传感器,检出限为 40 nmol/L,该传感器在正常情况下可以使用 3 个月^[38]。也有学者将过氧化氢酶固定于用戊二醛制成的凝胶上,然后固定在聚四氟乙烯膜上结合在溶氧电极上制成酶电极。当电极放入待测样品中时过氧化氢酶将样品中的 H_2O_2 分解成 O_2 ,用溶氧电极测定生成 O_2 的量从而计算样品中 H_2O_2 的含量^[39]。

3 不同分析方法的对比及小结

化学发光法和荧光法是应用最广泛的两类方法,它们均可以用于测定大气、淡水及海水样品。相对荧光法而言,化学发光法不需要光源及单色器,设备简单,没有散射光及杂散光引起的背景值干扰,线性范围广,灵敏度高,检出限低。而且,POCL 测定在 pH 为 7 的情况下进行,这是大多数酶的最佳酸度。但是,雨水样品中含有的 Mn^{2+} 和 Fe^{3+} 会减弱鲁米诺的发光信号。荧光法检出限低,可以用于较低浓度 H_2O_2 的测定。但是生成的荧光物质与水体中某些腐殖质的荧光重叠,影响方法准确度,富有机质环境下更为严重,可用标准加入法校正。方法所用过氧化物酶价格昂贵,在溶液中不稳定而且对实验条件要求严格。分光法操作简便、直接,但是方法检出限较高,只适用雨水体系。过氧化氢传感法将实验所需的试剂都固定在生物膜上,价格昂贵的试剂可以重复使用,克服了酶分析法试剂昂贵和化学分析繁琐复杂的缺点。专一性强,受介质环境影响小,分析速度快,准确度高,操作简便,容易实现自动分析。不过,该类方法对实验条件要求严格,检出限高,所以只适用于测定雨水和工业废水。

各种 H_2O_2 方法分析中,电化学分析法有待进一步提高灵敏度和消除干扰;分光光度法,方法简单,选择性好,但需要寻找更好的、高摩尔吸光系数的物质;化学发光法和荧光法,灵敏度高,但仪器设备昂贵,酶の利用提高了灵敏度和选择性,流动技术的应用提高了测定速度,今后发现新的化学发光和荧光试剂用于 H_2O_2 的测定将会成为研究的重点;在电化学传感器的研制中,研究新型酶固定技术,以维持酶的高生物活性及延长传感器的使用寿命将会是今后

研究的重点。随着实验仪器的不断发展,方法的不断改进,试剂的不断开发和新体系的不断出现, H_2O_2 的分析测定方法将不断的完善和发展。

参考文献:

- [1] Herut B, Shoham-Frider E, Kress N, *et al.* Hydrogen peroxide production rates in clean and polluted coastal marine water of the Mediterranean, Red and Baltic Seas [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 1998, 36(12): 994-1003.
- [2] Miller W L, Kester D R. Peroxide variation in the Sargasso Sea [J]. *Marine Chemistry*, 1994, 48: 17-29.
- [3] Croot P L, Laan P, Nishioka J, *et al.* Spatial and temporal distribution of Fe (II) and H_2O_2 during EisenEx, an open ocean mesoscale iron enrichment [J]. *Marine Chemistry*, 2005, 95: 65-88.
- [4] Sauer F, Limbach S, Moortgat G K. Measurement of hydrogen peroxide and individual organic peroxides in the marine troposphere [J]. *Atmospheric Environment*, 1997, 31(8): 1173-1184.
- [5] Buckley P T, Birks J W. Evaluation of visible-light photolysis of ozone-water cluster molecules as a source of atmospheric hydroxyl radical and hydrogen peroxide [J]. *Atmospheric Environment*, 1995, 29(18): 2409-2415.
- [6] Deng Y W, Zuo Y G. Factor affecting the levels of hydrogen peroxide in rainwater [J]. *Atmospheric Environment*, 1999, 33: 1469-1478.
- [7] Tanner R L, Markovita G Y, Ferreri E M, *et al.* Sampling and determination of gas-phase hydrogen peroxide following removal of ozone by gas-phase reaction with nitric oxide [J]. *Analytical Chemistry*, 1986, 58: 1857-1865.
- [8] Yuan J C, Shiller A M. The variation of hydrogen peroxide in rainwater over the South and Central Atlantic Ocean [J]. *Atmospheric Environment*, 2000, 34: 3973-3980.
- [9] Collen J, Del Rio M J, Garcia-Reina G, *et al.* Photosynthetic production of hydrogen peroxide by *Ulva rigida* C. Ag. (Chlorophyta) [J]. *Planta*, 1995, 196: 225-230.
- [10] Moffett J W, Zafiriou O C. An investigation of hydrogen peroxide chemistry in surface waters of Vineyard Sound with $H_2^{18}O_2$ and $^{18}O_2$ [J]. *Limnology and Oceanography*, 1990, 35: 1221-1229.
- [11] 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: 1975-1980.
- [12] Price D, Mantoura R F C, Worsfold, P J. Shipboard determination of hydrogen peroxide in the western Mediterranean Sea using flow injection with chemilu-

- minescence [J]. **Analytica chimica Acta**, 1998, 71: 205-215.
- [13] Zoonen P V, Kamminga D A, Gooijer C, *et al.* Flow injection determination of hydrogen peroxide by means of solid-state peroxyoxalate chemiluminescence reaction [J]. **Analytica Chimica Acta**, 1985, 167: 249-256.
- [14] Stigbrand M, Ponten E, Irgum K. 1,1'-oxalyldiimidazole as chemiluminescence reagent in the determination of low hydrogen peroxide concentration by flow injection analysis [J]. **Analytical Chemistry**, 1994, 66: 1 766-1 770.
- [15] Arnous A, Petrakis C, Makris D P, *et al.* A peroxyoxalate chemiluminescence-based assay for the evaluation of hydrogen peroxide scavenging activity employing 9, 10-diphenylanthracene as the fluorophore [J]. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, 2002, 48: 171-177.
- [16] Klopf L L, Nieman T A. Use of surfactants to improve analytical performance of lucigenin chemiluminescence [J]. **Analytical Chemistry**, 1984, 56: 1 539-1 542.
- [17] Cooper W J, Moegling J K, Kieber R J, *et al.* A chemiluminescence method for the analysis of H₂O₂ in natural water [J]. **Marine Chemistry**, 2000, 70: 191-200.
- [18] Kieter R J, Helz G R. Two-method verification of hydrogen peroxide determination in natural water [J]. **Analytical Chemistry**, 1986, 58: 2 312-2 315.
- [19] Amouroux D, Donard O F X. Hydrogen peroxide determination in estuarine and marine waters by flow injection with fluorescence detection [J]. **Oceanologica Acta**, 1995, 18(3): 353-361.
- [20] Zhang L S, Wong G T F. Optimal condition and sample storage for the determination of H₂O₂ in marine waters by the Scopoletin-horseradish peroxidase fluorometric method [J]. **Talanta**, 1999, 48: 1 031-1 038.
- [21] Lazrus A L, Kok G L, Gitlin S N, *et al.* Automated fluorometric method for hydrogen peroxide in atmospheric precipitation [J]. **Analytical Chemistry**, 1985, 57: 917-922.
- [22] Miller W L, Kester D R. Hydrogen peroxide measurement in seawater by (p-hydroxyl phenyl) acetic acid dimerization [J]. **Analytical Chemistry**, 1988, 60: 2 711-2 715.
- [23] Hanson A K, Tindale N W, Abdel-Moati M A R. An equatorial Pacific rain event: influence on the distribution of iron and hydrogen peroxide in surface water [J]. **Marine Chemistry**, 2001, 75: 69-88.
- [24] Jie N Q, Yang J H, Zhang R, *et al.* Fluorimetric determination of hydrogen peroxide in water using acetaminophen [J]. **Talanta**, 1995, 42: 1 575-1 579.
- [25] Zhu M, Huang X M, Liu L Z, *et al.* Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide by using the cleavage of Eriochrome blank T in the presence of peroxidase [J]. **Talanta**, 1997, 44: 1 407-1 412.
- [26] Pappas A C, Stalikas D C, Fiamegos M I. Determination of hydrogen peroxide by using a flow injection system with immobilized peroxidase and long path-length capillary spectrophotometry [J]. **Analytica chimica Acta**, 2002, 455: 305-313.
- [27] Zhang K, Mao L Y, Cai R X. Stopped-flow spectrophotometric determination of hydrogen peroxide with hemoglobin as catalyst [J]. **Talanta**, 2000, 51: 179-186.
- [28] Kok G L. Ambient air measurement of hydrogen peroxide in the California South coast air basin [J]. **Environmental Science and Technology**, 1978, 12(9): 1 077-1 080.
- [29] Oszwaldowski S, Lipka R, Jrosz M. Sensitive reversed-phase liquid chromatographic determination of hydrogen peroxide and glucose based on ternary vanadium(V)-hydrogen peroxide-2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol system [J]. **Analytica Chimica Acta**, 2000, 421: 35-43.
- [30] 白林山, 陈庆. 5-Br-PADAP 分光光度法测定雨水中微量的过氧化氢 [J]. **环境科学与技术**, 1996, 4: 19-21.
- [31] 白林山, 李隆玉. 分光光度法测定雨水中微量过氧化氢的研究 [J]. **环境工程**, 1996, 14(3): 43-45.
- [32] Tanner P A, Wong A Y S. Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide in rainwater [J]. **Analytica Chimica Acta**, 1998, 370: 279-287.
- [33] Matos R C, Pesrotti J J, Angnes L. Flow-injection system with enzyme reactor for differential amperometric determination of hydrogen peroxide in rainwater [J]. **Analytica chimica Acta**, 2001, 441: 73-79.
- [34] Oungpipat W, Alexander P W. Reagentless amperometric biosensor for hydrogen peroxide determination [J]. **Analytica Chimica Acta**, 1995, 309: 35-45.
- [35] Aah D T V, Olthuis W, Bergveld P. Hydrogen peroxide detection with improved selectivity and sensitivity using constant current potentiometry [J]. **Sensors and Actuators B**, 2003, 91: 1-4.
- [36] Zheng X W, Guo Z H. Potentiometric determination of hydrogen peroxide at MnO₂-doped carbon paste electrode [J]. **Talanta**, 2000, 50: 1 157-1 162.
- [37] Miao Y, Tan S N. Amperometric hydrogen peroxide biosensor with silica [J]. **Analytica Chimica Acta**, 2001, 437: 87-93.
- [38] Zhou G J, Wang G, Xu J J, *et al.* Reagentless chemiluminescence biosensor for determination of hydrogen peroxide based on biocompatible chitosan membrane [J]. **Sensors and Actuators B**, 2002, 81: 334-339.
- [39] Akgol S D, Dinckaya E. A novel biosensor for specific determination of hydrogen peroxide: catalase enzyme electrode based on dissolved oxygen probe [J]. **Talanta**, 1999, 48: 363-367. (本文编辑: 张培新)