

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2018082906

赵力, 梁妮, 张绪超, 等. 不同热处理条件对亚麻酸中持久性自由基产生的影响[J]. 环境化学, 2019, 38(6): 1207-1213.

ZHAO Li, LIANG Ni, ZHANG Xuchao, et al. Effect of different heating treatment conditions on the generation of persistent free radicals in linolenic acid[J]. Environmental Chemistry, 2019, 38(6): 1207-1213.

## 不同热处理条件对亚麻酸中持久性自由基产生的影响\*

赵 力 梁 妮 张 绪 超 李 炎 净 婷 菲 段 文 焱 \*\*

(昆明理工大学, 云南省土壤固碳与污染控制重点实验室, 昆明, 650500)

**摘要** 本研究采用电子顺磁共振波谱仪和紫外分光光度计, 分别测定不同热处理方式和时间下, 亚麻酸中持久性自由基信号和化学结构特征, 以期探究亚麻酸结构变化及其自由基形成位点间的关系。结果表明, 亚麻酸在电炉加热和微波复热后均能产生自由基, 且复热后样品中的自由基信号强度明显增强, 并随微波复热时间的增加而增强。这归因于电炉加热对亚麻酸起到启动作用, 并提高其分子极性, 而后在氧气的引入和微波辐射的作用下, 导致其共轭双键断裂, 进而产生以氧为中心的自由基( $g$  因子值  $> 2.0040$ )。微波复热时间增加时, 衰减速率常数  $K$  随之增加, 相应的, 半衰期  $t_{1/2}$  随之减少。这是由于随着微波复热时间的增加, 产生的较短寿命、高自旋的自由基增多。亚麻酸样品的羟基自由基随微波加热时间的增加而增强, 这是因为微波加热有利于促进过氧化物的生成及其 O—O 键的断裂, 进而贡献羟基自由基的形成。

**关键词** 亚麻酸, 电炉加热, 微波复热, 持久性自由基。

## Effect of different heating treatment conditions on the generation of persistent free radicals in linolenic acid

ZHAO Li LIANG Ni ZHANG Xuchao LI Yan JING Tingfei DUAN Wenyan \*\*

(昆明理工大学, 云南省土壤固碳与污染控制重点实验室, 昆明, 650500, 中国)

**Abstract:** This study aims to investigate the relationship between the linolenic acid (LNA) structure alternation and generation of persistent free radicals (PFRs). In the experiments, LNA samples were heated by electric stove and microwave for different time. The structure of the treated samples and PFRs generation were characterized by (UV-Vis) spectroscopy and electron paramagnetic resonance (EPR) techniques. The results showed that both electric stove heating and microwave reheating of LNA generated PFRs. The intensity of the PFRs signal increased with the microwave reheating time. Breaking of chemical bonds in LNA with consequent rise in polarity initiated PFRs generation due to electric stove heating. In the presence of oxygen, destruction of the conjugated double bonds enabled growth of oxygen-centered free radicals ( $g$  factor value  $> 2.0040$ ). Increasing microwave reheating time elevated the decay rate constant  $K$  and reduced the half-life ( $t_{1/2}$ ). Significant rise in the number of short-lived high-spinning radicals with increasing microwave reheating time attributed to

2018年8月29日收稿 (Received: August 29, 2018).

\* 国家自然科学基金(41673098), 云南省应用基础研究计划(20137FZ004)和昆明理工大学高层次人才平台建设项目(20170038)资助。

Supported by the National Scientific Foundation of China (41673098), Applied Basic Research Program of Yunnan Province (20137FZ004) and Kunming University of Science and Technology High Level Talent Platform Construction Project (20170038).

\*\* 通讯联系人, Tel: 18064852987, E-mail: duanwenyan0405@qq.com

Corresponding author, Tel: 18064852987, E-mail: duanwenyan0405@qq.com

this phenomenon. The increasing concentration of hydroxyl radicals indicated that microwave heating led to the peroxide generation and subsequent breakage of O—O bonds during LNA degradation.

**Keywords:**linolenic acid, electric stove heating, microwave heating, persistent free radicals.

近年来,环境持久性自由基(environmental persistent free radicals, EPFRs)作为一种新型环境污染,引发了各国相关政府部门和环保科研人员的广泛关注<sup>[1-2]</sup>.由于EPFRs具有潜在生态毒性和环境风险,其毒性效应和风险评估已成为当前国际上的研究热点.文献表明,自由基在人体中过量积累会诱发哮喘<sup>[3-4]</sup>、癌症、白内障、类风湿性关节炎和心血管疾病<sup>[5]</sup>.众所周知,植物油是人们日常生活饮食中必不可少的组成部分,被广泛应用于日常烹饪及油炸过程中.文献表明不饱和脂肪酸是多数植物油的主要组成成分<sup>[6]</sup>,因其具有加速人体吸收脂溶性维他命等功效被视为人体健康的必需品<sup>[7]</sup>.亚麻酸(linolenic acid, LNA)是一类具有三个双键的多元不饱和脂肪酸,对维持人体健康具有重要作用.有文献报道,通过饮食摄取大量亚麻酸可以降低心血管疾病的死亡率<sup>[8]</sup>,减少2型糖尿病(T2DM)的发生率以及改善T2DM受试者的胰岛素反应能力<sup>[9]</sup>.亚麻酸作为人体健康必不可少的ω-3必需脂肪酸,在日常烹饪植物油中被广泛地添加,在菜籽油和大豆油中亚麻酸含量约占总脂肪酸含量的10%<sup>[10]</sup>.

当前,已有多数研究报道了食品制作/热处理方式(加热和辐射)会促进食品中持久性自由基信号的形成<sup>[11]</sup>,例如,Łabanowska等<sup>[12]</sup>研究支链淀粉和直链淀粉在电炉加热处理过程中的降解时,发现降解过程伴随着以碳为中心的稳定自由基的生成.Fan等<sup>[13]</sup>发现,大米蛋白在微波加热条件下,能检测到大量持久性自由基的信号.然而,仅有少数学者探究了热处理对植物油中自由基的影响.例如,Emma等<sup>[14]</sup>报道了微波辐射会增加植物油的自由基信号强度,然而在热处理条件下,食用油中自由基的形成机制还尚不清楚.此外,当前研究仅关注于热处理对食用油中持久性自由基生成的影响,而食用油中某一组分的自由基产生情况往往被忽略.相对于持久性自由基,羟基自由基是一种高反应性、强氧化性的短寿命自由基,可产生于多不饱和脂肪酸的热处理过程<sup>[15]</sup>.因此,解读不同热处理方式和时间下亚麻酸中持久性自由基的产生过程、形成机制及其衰减特征和羟基自由基的生成情况,有利于评估食用油中自由基的环境风险以及指导日常热处理的使用模式.

本研究在不同加热方式(电炉加热、微波加热、电炉微波复合加热)和不同加热时间(微波加热2 min,电炉加热2 min,电炉加热后微波复热1—4 min)条件下处理亚麻酸样品,并用电子顺磁共振波谱仪(EPR)和紫外可见分光光度计(UVS)分别测定了亚麻酸在不同热处理条件下的自由基信号强度、衰减趋势、羟基自由基的产生情况以及化学键变化特征,以期阐明不同热处理方式和加热时间对亚麻酸产生自由基的影响机制及潜在的生态风险.

## 1 材料与方法 (Materials and methods)

### 1.1 材料与设备

亚麻酸( $C_{18}H_{30}O_2$ , LNA),化学纯,其理化性质见表1;无水乙醇,分析纯;5,5-二甲基-1-吡咯啉-N-氧化物( $C_6H_{11}NO$ , DMPO),PBS缓冲溶液( $pH=7.4$ ),二水合磷酸二氢钠( $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ ),十二水合磷酸一氢钠( $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ ),氯化钠(NaCl)和氯化钾(KCl)均为化学纯.上述试剂均购于美国Aladdin公司.

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 亚麻酸的热处理

亚麻酸的初热处理:准确移取5 mL亚麻酸于20 mL玻璃瓶中,置于电炉中加热2 min(模拟日常烹饪温度,180±5 °C);同理,将5 mL亚麻酸置于微波炉中在2450 Hz,720 W条件下加热2 min.亚麻酸的复热处理:待电炉加热2 min后的亚麻酸冷却至室温后,置于微波炉(2450 Hz,720 W)中加热1—4 min.亚麻酸原样作为对照组.样品热处理后立即上机测定自由基信号.

#### 1.2.2 自由基的测定

称量20±0.5 mg亚麻酸样品并置于内径1.0 mm的微量移液管中.移液管置于电子顺磁共振波谱仪

(EPR, Bruker, A300-6/1, X-band, Germany)内腔中进行亚麻酸样品的EPR光谱测定。EPR主要测定参数如下:共振频率为9.87—9.88 GHz,调制频率为100 kHz,调制幅度为1.00 G,扫描宽度为400 G,扫描时间为102.4 s,时间常数为20.48 ms,X轴分辨率为1024点,EPR微波功率为9 dB(或21 mW),扫描时间为20.48 ms.每个光谱的相对峰高度被估计为自由基信号的相对强度。

表1 亚麻酸的基本性质

Table 1 Physicochemical properties of LNA

化学式 Formula	摩尔质量 Molar mass/ (g·mol <sup>-1</sup> )	沸点 Boiling point/°C	化学结构 Structure
C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	278.430	443.4±0.0 °C (760 mmHg)	

### 1.2.3 紫外测定

亚麻酸的结构变化通过紫外可见分光光度计(Shimadzu UV-2006, Japan)测定,以期探究亚麻酸持久性自由基的产生位点。测定方法如下:50 μL加热后的亚麻酸置于微波炉中分别加热1、2、3、4 min,取上述20 μL样品加入适量乙醇并充分混合,取适量且等量溶液进行紫外全扫。取等量亚麻酸原样、微波加热2 min的亚麻酸、电炉加热2 min的亚麻酸作为对照组进行检测。

### 1.2.4 羟基自由基的捕获

使用DMPO(0.3 mol·L<sup>-1</sup> DMPO溶液溶于0.01 mol·L<sup>-1</sup> PBS缓冲溶液)捕获样品中的羟基自由基(·OH)。将100 μL加热2 min及微波复热1—4 min的热处理后的亚麻酸样品分别与100 μL DMPO溶液混合,置于振动器上振荡2 min,使溶液混合均匀。将50 μL混合物转移到微量移液管中,微量移液管的一端用真空油脂密封,移液管置于电子顺磁共振波谱仪内腔中进行自由基的测定。

### 1.3 数据处理

*g*因子值是判断自由基类型的重要参数,先前研究表明*g*因子值>2.0040代表以氧为中心的自由基,例如半醌自由基,*g*因子值<2.0030表示以碳为中心的自由基,如芳香族自由基<sup>[16-17]</sup>。使用Bruker的WINEPR程序和Microsoft Office Excel计算*g*因子值。*g*因子值公式如下:

$$hv = g_s \beta H_s = g_x \beta H_x \quad (1)$$

$$g_x = g_s H_s / H_x \quad (2)$$

式中,  $h$  ( $6.626 \times 10^{-34}$  Js) 表示普朗克常数;  $v$  (无量纲) 表示磁场的频率;  $\beta$  (无量纲) 表示玻尔磁子;  $g_s$  和  $g_x$  分别表示标准样品(Bruker公司的标准品,  $g=1.9800 \pm 0.0006$ ) 和待测样品的 *g* 因子值;  $H_s$  和  $H_x$  分别表示标准样品和待测样品的共振磁场强度。

采用拟一级动力学方程定量亚麻酸自由基的衰减特征,公式如下:

$$I_t = I_0 e^{-kt} \quad (3)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (4)$$

式中,  $I_0$  和  $I_t$  (spins·g<sup>-1</sup>) 分别是初始和  $t$  (d) 时间的自由基信号的强度;  $k$  (d<sup>-1</sup>) 为自由基衰减的速率常数;  $t_{1/2}$  (d) 为半衰期。

## 2 结果与讨论(Results and discussion)

### 2.1 不同热处理对亚麻酸自由基产生的影响

图1为亚麻酸在不同热处理条件下的自由基信号图谱。由图1可以看出,亚麻酸原样的自由基信号低于检测限,这与预期一致。值得注意的是,不同的热处理方式会显著影响亚麻酸自由基的形成。具体为:微波处理后的亚麻酸未检测出自由基信号(图1a),这说明微波辐射作用未能使亚麻酸结构发生改变从而产生自由基信号。然而,Inwati等<sup>[18]</sup>发现甘油在微波辐射条件下可以产生自由基。此结果与文献

报道结果不一致,可能归因于甘油的碳链结构(C3)远短于亚麻酸的碳链结构(C18),且极性基团( $-\text{OH}$ )的数量是亚麻酸的3倍,即两者链长和极性的差异。另外,相对于亚麻酸原样,电炉加热2 min能显著增强亚麻酸的自由基信号强度( $P < 0.05$ ),其强度可达 $2.07 \times 10^3$ (图1b)。类似的,Tyagi等<sup>[19]</sup>在利用电炉加热不同种类的植物油时,发现富含多元不饱和脂肪酸的植物油更易被氧化从而生成持久性自由基。相对于电炉加热2 min后的样品,微波复热会增强亚麻酸样品的自由基信号强度,如图1c所示,亚麻酸的自由基信号强度从 $2.07 \times 10^3$ 增加到了 $2.56 \times 10^3$ ( $P < 0.05$ )。此外,亚麻酸的自由基信号强度随微波复热时间的增加而增强(图1d),且两者间存在正相关关系( $P < 0.05$ ,  $r = 0.96$ )。

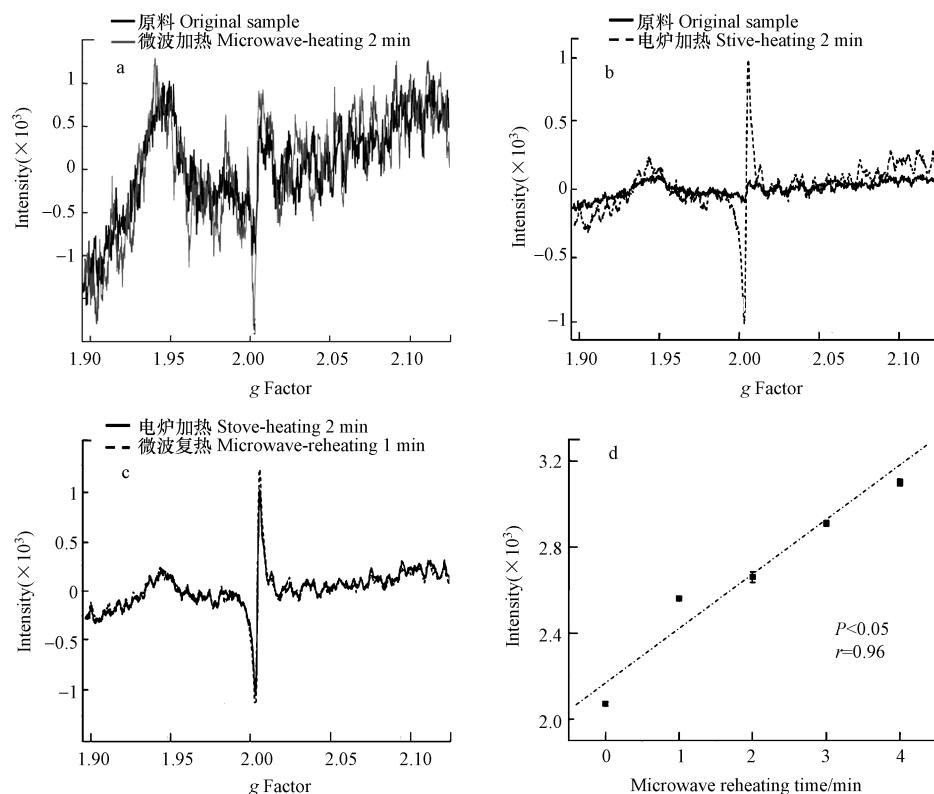


图1 亚麻酸在不同热处理条件下自由基信号强度图谱及相关性分析图谱

Fig.1 Intensities of free radical signal for LNA under different heating treatment and its relationship with microwave reheating time

为探究亚麻酸的结构变化及自由基的形成位点,采用紫外分光光度计测定亚麻酸样品在不同热处理条件下的结构变化特征。如图2所示,波数230 nm处的吸收峰主要是共轭双键伸缩振动峰<sup>[20]</sup>,对应亚麻酸的共轭双键基团( $\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}$ )(表1)。相对于加热2 min的样品,微波复热后样品的共轭双键吸收峰降低,且随着复热时间的增加,共轭双键的吸光度随之降低(图2),说明微波复热会导致共轭双键的断裂,进而产生短链物质,且微波复热时间越长,断键效果越明显,自由基强度越高。Wakako等<sup>[21]</sup>指出短链脂肪酸极性较长链脂肪酸更强,而极性强的物质对微波辐射的吸收能力更强。微波辐射可将电磁能转化为物料内部分子间的动能,使分子间发生振动摩擦引起共价键或非共价键的断裂<sup>[22]</sup>,从而产生自由基。

从 $g$ 值(2.00455—2.00469)结果分析可知,亚麻酸样品的自由基类型均为以氧为中心的自由基。Maskos等<sup>[23]</sup>证实,在有氧气存在的情况下, $\text{C}-\text{C}$ 键的断裂可贡献以氧为中心的自由基的形成。结合上述结果也进一步证实了,共轭双键基团是自由基生成的位点,并在氧气引入下,生成了以氧为中心的自由基。因此,推测微波复热条件下,亚麻酸自由基的形成机制为:1)电炉加热对亚麻酸起到启动作用,导致亚麻酸结构的改变,提高了分子的极性,使其更易吸收微波辐射从而引起共轭双键结构的振动导致化学键断裂,进而产生以氧为中心的自由基;2)电炉加热2 min后的样品中存在的自由基可引发链式反应,在氧气存在下进一步促进自由基的生成。

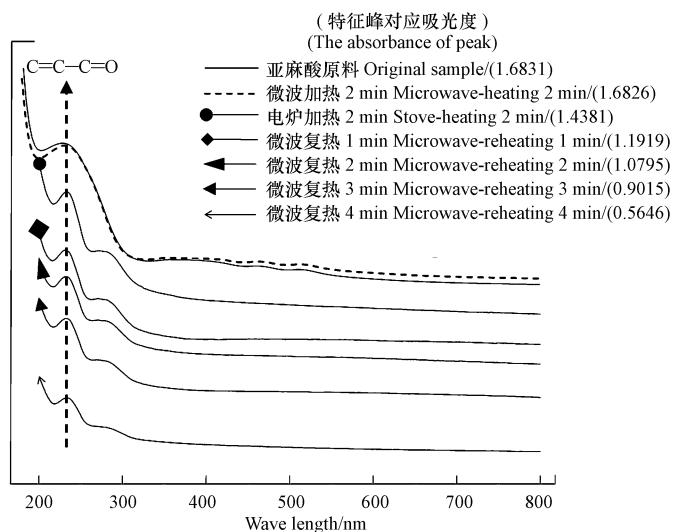


图2 电炉加热和微波复热的亚麻酸紫外吸收光谱

Fig.2 UV absorption spectrum of LNA treated by electric stove heating and microwave reheating

## 2.2 微波复热后对自由基衰减的影响

为了探究微波复热后样品中自由基的衰减情况,连续8 d进行自由基信号的原位监测.如图3a所示,微波复热不同时间下,样品的自由基衰减趋势大致相似.具体为:在1—2 d内,自由基信号强度衰减较快,2—6 d,自由基信号衰减速率减缓,并在第6天衰减至谷底(44.49%—50.34%).微波复热后,短时间内自由基信号衰减较快,这归因于一些较短寿命、高自旋自由基的产生,其具有不稳定、活性强等特性,可相互之间发生猝灭反应,进而导致自由基信号的降低.然而在6—7 d,自由基信号强度出现短暂增强的趋势,这可能是因为衰减至此阶段,体系中稳定自由基(即持久性自由基)的氧化启动作用产生的自由基足以抵消较短寿命自由基猝灭的影响,进而表观自由基信号强度出现了短暂性增强的现象.Fan等<sup>[13]</sup>研究大米蛋白质在微波加热后的衰减动力学时,发现大米蛋白质的自由基信号也出现了短暂性增强的现象,其也认为是稳定自由基的作用所致.

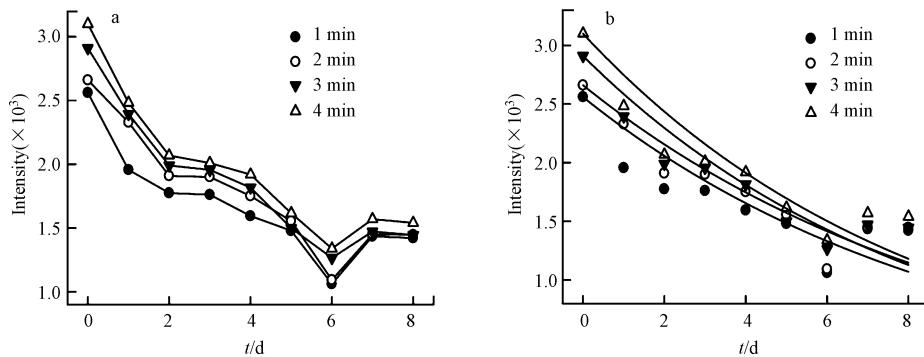


图3 微波复热1—4 min的样品自由基强度衰减信号图

Fig.3 Free radical intensity attenuation signal of samples reheated by microwave for 1—4 min

为了更直观理解微波复热时间对自由基信号衰减过程的影响,应用拟一级动力学进行数据的拟合.由图3b及表2可知,拟一级动力学可以很好地描述亚麻酸的自由基信号衰减过程( $P<0.01$ ;  $0.631 \leq R^2 \leq 0.857$ ).衰减速率常数 $K$ 随微波复热时间的增加而增加,相应的,半衰期 $t_{1/2}$ 随微波复热时间的增加而减少.例如,当微波复热时间从1 min增至4 min时, $K$ 从 $0.101 \text{ d}^{-1}$ 增至 $0.121 \text{ d}^{-1}$ ,而 $t_{1/2}$ 从6.84 d降至5.74 d,这说明,随着微波复热时间的增加,产生的短寿命、高自旋自由基越多,短寿命自由基的猝灭速率大于持久性自由基的启动氧化作用,因此,表观衰减速率越快,半衰期越短.

表2 微波复热1—4 min 样品的衰减速率  $K$  和半衰期  $t_{1/2}$ Table 2 The decay rate ( $K$ ) and half-life ( $t_{1/2}$ ) of LNA under microwave reheating at 1—4 min

$t/\text{min}$	$K/\text{d}^{-1}$	$t_{1/2}/\text{d}$	$R^2$	$P$
1	0.101	6.84	0.631	<0.01
2	0.105	6.60	0.842	<0.01
3	0.119	5.85	0.857	<0.01
4	0.121	5.74	0.816	<0.01

### 2.3 羟基自由基的捕获

羟基自由基的化学性质活泼,寿命极短,是超氧化物的质子化形式<sup>[24]</sup>,虽其寿命短,却是目前活性氧中对生物体危害最大的一种自由基<sup>[25]</sup>.如图4所示,电炉加热后的亚麻酸样品的EPR光谱为相对强度比例1:2:2:1的四线峰<sup>[26]</sup>,这证实热处理后的亚麻酸样品中有羟基自由基的存在.而微波复热后,持久性自由基的信号强度增强,对羟基自由基的捕获造成干扰,使得四线峰中第三峰峰值偏高,其中352 mT处的背景值为持久性自由基信号峰.由图4可知,亚麻酸样品的羟基自由基信号强度随微波加热时间的增加而增强.先前文献指出,自由基可与不饱和脂肪酸发生反应生成脂质过氧化物<sup>[27]</sup>,这些脂质过氧化物中的O—O键易于断裂生成以氧为中心的过氧自由基,即羟基自由基<sup>[28]</sup>.因此,可以推测微波加热有利于促进过氧化物生成,及其O—O键的断裂,进而贡献羟基自由基的形成,且微波加热时间越长,产生羟基自由基浓度的越高<sup>[19]</sup>.这也进一步表明植物油体系中持久性自由基的存在可诱发羟基自由基的生成,增加其潜在的生物毒性与环境风险.

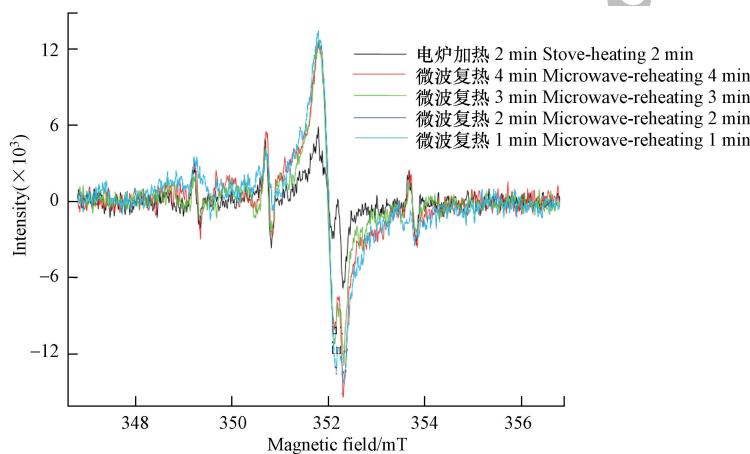


图4 电炉加热和微波复热的亚麻酸的羟基自由基捕获图

Fig.4 Hydroxyl radical capture of LNA treated by electric stove heating and microwave reheating

### 3 结论(Conclusion)

亚麻酸在电炉加热和微波复热后均能产生自由基,且复热后样品中的自由基信号强度与微波复热时间呈正比,而共轭双键的吸光度随微波复热时间的增加而降低.因此推测电炉加热对亚麻酸起到启动作用,并提高其分子极性,而后在氧气的引入和微波辐射的作用下,导致其共轭双键断裂,进而产生以氧为中心的自由基( $g$ 因子值 $> 2.0040$ ).

随微波复热时间的增加,衰减速率常数  $K$  和半衰期  $t_{1/2}$  分别呈现增大和减小的趋势.这是由于随着微波复热时间的增加,产生的较短寿命、高自旋的自由基增多.

亚麻酸样品的羟基自由基信号强度随微波加热时间的增加而增强,可以推测是由于微波加热有利于促进过氧化物的生成及其O—O键的断裂,进而导致羟基自由基的形成.

## 参考文献(References)

- [1] 赵力, 陈建, 李浩, 等. 裂解温度和酸处理对生物炭中持久性自由基产生的影响 [J]. 环境化学, 2017, 30(11): 2472-2478.  
ZHAO L, CHEN J, LI H, et al. Effect of pyrolysis temperature and acid treatment on the generation of free radicals in biochars [J]. Environmental Chemistry, 2017, 30(11): 2472-2478 (in Chinese).
- [2] VEJERANO E W, RAO G, KHACHATRYAN L, et al. Environmentally persistent free radicals: Insights on a new class of pollutants [J]. Environmental Science & Technology, 2018, 52(5): 2468-2481.
- [3] SCHULTZ E S, LITONJUA A A, MELEN E. Effects of long-term exposure to traffic-related air pollution on lung function in children [J]. Current Allergy & Asthma Reports, 2017, 17(6): 41-54.
- [4] LEE A, LEON H H H, MATHILDA C Y H, et al. Prenatal fine particulate exposure and early childhood asthma: Effect of maternal stress and fetal gender [J]. Journal of Allergy & Clinical Immunology, 2017, 141(5): 1880-1886.
- [5] AI P H L, HUA H, CHUONG P H. Free radicals, antioxidants in disease and health [J]. International Journal of Biomedical Science Ijbs, 2008, 4(2): 89-96.
- [6] GUI M M, LEE K T, BHATIA S. Feasibility of edible oil vs. non-edible oil vs. waste edible oil as biodiesel feedstock [J]. Energy, 2008, 33(11): 1646-1653.
- [7] AOYAMA T, NOSAKA N, KASAI M. Research on the nutritional characteristics of medium-chain fatty acids [J]. J Med Invest, 2007, 54 (3-4): 385-388.
- [8] DJOUSSEL, ARNETT D K, CARR J J, et al. Dietary linolenic acid is inversely associated with calcified atherosclerotic plaque in the coronary arteries: The national heart, lung, and blood institute family heart study [J]. Circulation, 2005, 111(22): 2921-2926.
- [9] JOVANOVSKI E, LI D, THANH HO H V, et al. The effect of alpha-linolenic acid on glycemic control in individuals with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials [J]. Medicine, 2017, 96(21): 6531-6542.
- [10] BURDGE G C, CALDER P C. Conversion of alpha-linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults [J]. Reproduction Nutrition Development, 2005, 45(5): 581-597.
- [11] RAFFI J, YORDANOV N D, CHABANE S, et al. Identification of irradiation treatment of aromatic herbs, spices and fruits by electron paramagnetic resonance and thermoluminescence [J]. Spectrochimica Acta Part A Molecular & Biomolecular Spectroscopy, 2000, 56(2): 409-416.
- [12] LABANOWSKA, M, WESELUCHA-BIRZCZYNKA A, KURDZIEL M, et al. The mechanism of thermal activated radical formation in potato starch studied by electron paramagnetic resonance and Raman spectroscopies [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 91(1): 339-347.
- [13] FAN D M, HU B, LIN L F, et al. Rice protein radicals: growth and stability under microwave treatment [J]. Rsc Advances, 2016, 6 (100): 97825-97831.
- [14] EMMA C, MARIATERATERESA R E, ELENA V, et al. Microwave heating of different vegetable oils: Relation between chemical and thermal parameters [J]. LWT-Food Science and Technology, 2010, 43(7): 1104-1112.
- [15] TASCA J, LAVAT A, NESPRIAS K, et al. Cyclic organic peroxides thermal decomposition in the presence of  $\text{CuFe}_2\text{O}_4$ , magnetic nanoparticles [J]. Journal of Molecular Catalysis A Chemical, 2012, 363-364(11): 166-170.
- [16] HALES B J, CASE E E. Immobilized radicals. IV. Biological semiquinone anions and neutral semiquinones [J]. BBA-Bioenergetics, 1981, 637(2): 291-302.
- [17] DI V C, NEYMAN K M, RISSE T, et al. Density-functional model cluster studies of EPR g tensors of  $\text{Fe}^{2+}$  centers on the surface of  $\text{MgO}$  [J]. Journal of Chemical Physics, 2006, 124(4): 1-7.
- [18] INWATI G K, RAO Y, SINGH S. In situ free radical growth mechanism of platinum nanoparticles by microwave irradiation and electrocatalytic properties [J]. Nanoscale Research Letters, 2016, 11(1): 458-466.
- [19] TYAGI V K, VASISHTHA A K. Changes in the characteristics and composition of oils during deep-fat frying [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1996, 73(4): 499-506.
- [20] 王冬梅, 郭书贤, 刘凤霞, 等. 共轭双键对脂肪酸紫外吸收的影响 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35(20): 5999-6000.  
WANG D M, GUO S X, LIU F X, et al. Influence of conjugated double bond on ultraviolet absorption of fatty acid [J]. Anhui Agricultural Sciences, 2007, 35(20): 5999-6000 (in Chinese).
- [21] WAKAKO T, AKIKO M, KAORI U. Formation of trans fatty acids in edible oils during the frying and heating process [J]. Food Chemistry, 2010, 123(4): 976-982.
- [22] THOSTENSON E T, CHOU T W. Microwave processing: fundamentals and applications [J]. Composites Part A Applied Science & Manufacturing, 1999, 30(9): 1055-1071.
- [23] MASKOS Z, LAVRENT K A, DELLINGER B. Precursors of Radicals in tobacco smoke and the role of particulate matter in forming and stabilizing radicals [J]. Energy Fuels, 2005, 19(6): 2466-2473.
- [24] KUMAR S. Free radicals and antioxidants: human and food system [J]. Advances in Applied Science Research, 2011, 2(1): 129-135.
- [25] FENN J A P, KNIGHT J A. The value of graduate education in clinical laboratory science [J]. Laboratory Medicine, 1995, 26(8): 537-541.
- [26] LI Y, ZHAO J, SHANG E, et al. Effects of chloride ions on dissolution, ROS generation, and toxicity of silver nanoparticles under UV irradiation [J]. Environmental Science & Technology, 2018, 52(8): 4842-4849.
- [27] BARRETO G P, ALVAREZ E E, EYLER G N, et al. Thermal decomposition of diethylketone cyclic triperoxide in polar solvents [J]. Australian Journal of Chemistry, 2014, 67(6): 881-886.
- [28] NESPRIAS R, EYLER G. Mono, di and trifunctional cyclic organic peroxides; the effect of substituents and ring size on their thermolysis in 1,4-dioxan [J]. Australian Journal of Chemistry, 2013, 66(9): 1080-1087.