

【综述与进展】

NO.1 稳定同位素比质谱仪



简述稳定同位素比质谱仪（IRMS）在环境领域中的应用

同位素是具有相同质子数，不同中子数的同一元素的不同核素，例如 ^{12}C 与 ^{13}C 、 ^{16}O 与 ^{18}O 等。其中，稳定同位素是一类无可测放射性的同位素，不会自发地产生衰变，与放射同位素相比具有更高的稳定性与安全性。目前，稳定同位素研究已大量深入到地球化学、农业、食品安全、环境与生态等领域。

自然界中含有天然的同位素分布，在实际研究中，研究者们更加关注样品中同位素比值的相对变化而不是绝对值。因此，样品的某种同位素组成常用同位素比值（ δ 值）来表示。 δ 值表示样品中两种同位素比值相对于某一标准对应比值的相对千分差，其公式为：

$$\delta = \left(\frac{R_{\text{样品}}}{R_{\text{标准}}} - 1 \right) \times 1000\text{‰}$$

其中，R 值为同位素比率，代表重同位素丰度与轻同位素丰度之比。

样品的同位素具有多种测定方法，其中最常用的是同位素比质谱仪（Isotope-ratio mass spectrometry, IRMS）分析法。IRMS 是一种利用离子光学和电磁原理，按照质荷比（ m/e ）进行分离从而测定同位素质量和相对含量的质谱仪，其工作原理可简述为：将样品转化为小分子气体（ CO_2 、 N_2 等），送入离子源后剥离一个电子，再利用电磁分析器将离子束分解为不同 m/e 比值的组分，利用检测器收集信息，最终得到元素的 δ 值。

同位素间存在质量不同，导致同位素之间在物理、化学性质上存在差异。轻同位素的原子间结合力要弱于重同位素的原子间结合力，它们在化学反应、扩散、挥发速率等方面有所不同。因此，同位素在不同物质或物相之间具有不同的分布，这种现象被称为同位素分馏（Isotope fractionation）。在环境研究中，通常利用这一现象研究污染物的溯源、污染物的迁移转化规律及污染物的生物降解等。本文将从水污染、大气污染、环境土壤、环境微生物等几个方向举例近年来国际上运用 IRMS 仪器做环境研究的文献，以简略介绍 IRMS 在环境研究中的前沿应用。

1. IRMS 在水污染研究中的应用

在水污染研究中, IRMS 多用于研究水体中污染物的来源、迁移转化、降解机制等, 所检测的同位素通常为 C、N、O、S 等。现将近年来使用 IRMS 研究水污染的部分文献举例如下:

Peng 等 [1] 将同位素分析与中间体检测相结合, 以研究天然海水中邻苯二甲酸二乙酯 (DEP) 在紫外光照射下的降解机制。DEP 的中间体通过 GC-MS 检测, 确定典型中间体为邻苯二甲酸单乙酯 (MEP) 和邻苯二甲酸酐。用 GC-C-IRMS 检测 DEP 在降解过程中 $\delta^{13}\text{C}$ 的变化, 发现了明显的 ^{13}C 富集现象, 可以此作为 DEP 发生了光解反应的依据; 结合反应点的同位素富集因子 ($\epsilon_{\text{reactive position}}$) 及表观动力学同位素效应 (AKIE) 分析, 可推断 DEP 的降解机制为: C-O 键断裂, 形成 MEP, MEP 再进行进一步降解形成邻苯二甲酸酐。该研究证明, 采用将 IRMS 与中间体检测相结合的技术, 可有效地研究污染物的降解机制。DEP 降解过程中碳同位素的分馏如图 1 所示。

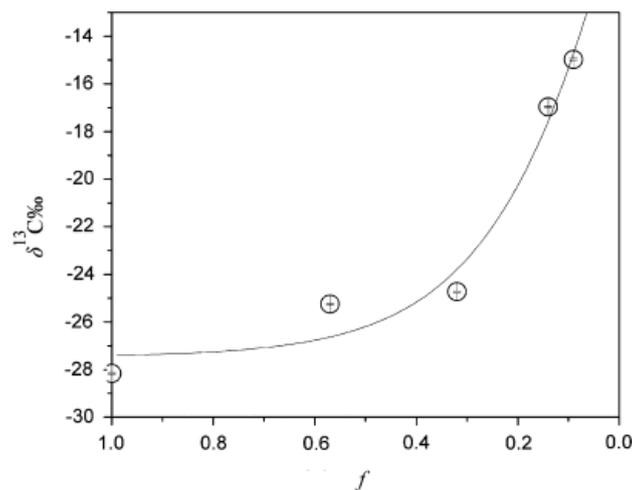


图 1 海水中 DEP 在光解过程中的 C 元素分馏

Stelmach 等 [2] 运用 IRMS 技术, 通过检测污水处理厂工艺线路的连续阶段中的碳和氮的同位素比的变化来研究污水处理过程。为研究这一变化, 从污水处理工艺的六个阶段 (进水、反硝化、硝化、二次反硝化、二次硝化、再循环) 中分别在同一连续采样点选取如下样品: (1) 污水和活性污泥的混合悬浊液; (2) 从混和悬浊液中抽取的气体; (3) 从混和悬浊液上方空气中采集的气体。用 IRMS 检测上述样品中的 $\delta^{13}\text{C}$ 及 $\delta^{15}\text{N}$ 值, 分析数值变化; 同时检测 TOC、IC 等数值辅助分析。分析结果表明, 上述

样品中 $\delta^{13}\text{C}$ 及 $\delta^{15}\text{N}$ 值互不相同, 且随着工艺阶段的变化而变化, IRMS 可以应用于污水处理过程的分析。混和悬浊液中气体及混和悬浊液上方气体的 $\delta^{13}\text{C}$ 变化图如图 2 所示。

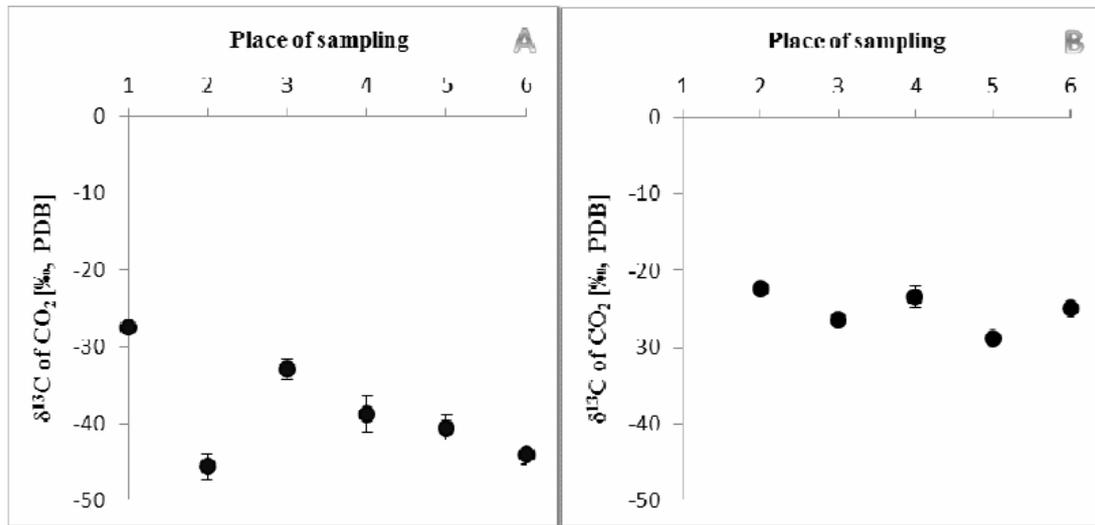


图 2 污水处理过程不同阶段的 $\delta^{13}\text{C}$ 值: (A) 混和悬浊液中抽取气体样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 值; (B) 混和悬浊液上方气体样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

Maier 等 [3] 通过检测碳元素和氮元素的同位素比来研究水体中双氯芬酸的降解。研究者们使用了气体同位素质谱 (GC-IRMS) 技术检测水中的双氯芬酸, 可同时满足在线和离线检测的需求。分析结果表明, 双氯芬酸在沉积物-水系统中的氧化降解呈现出明显的 $\delta^{15}\text{N}$ 差异 ($\epsilon\text{N} = -7.1\text{‰}$), 而双氯芬酸的脱氯还原则呈现出明显的 $\delta^{13}\text{C}$ 差异 ($\epsilon\text{C} = -2.0\text{‰}$)。因此, 通过检测 C、N 双同位素比率, 不仅可以检测到双氯芬酸的降解, 而且可区分发生何种转化。双氯芬酸氧化降解过程中的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 变化如图 3 所示。

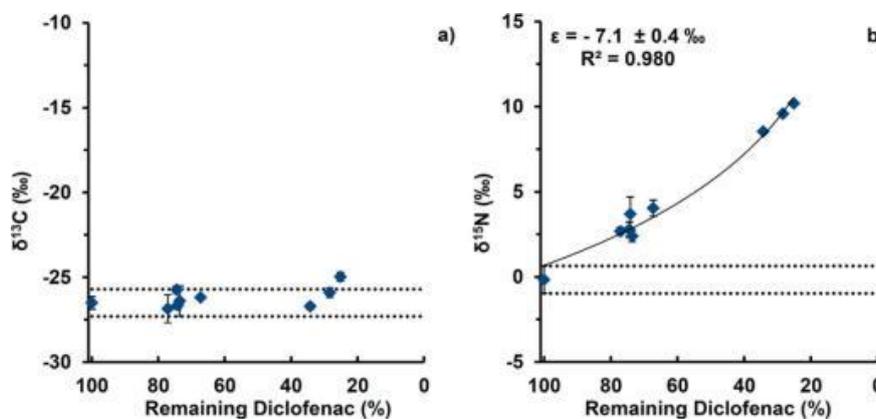


图 3 双氯芬酸氧化降解过程中碳同位素 (a) 和氮同位素 (b) 分馏图。

Fang 等 [4] 利用 GC-IRMS 分析中国滇池的沉积物中碳的同位素比, 以表征沉淀物

中正构烷烃和脂肪酸的来源。相同来源的有机物通常具有相似的 $\delta^{13}\text{C}$ 值，且在生物降解中 $\delta^{13}\text{C}$ 值变化十分微小。基于该原理，通过分析沉积物不同深度下长链和短链的正构烷烃和脂肪酸中 $\delta^{13}\text{C}$ 差异，得出结论：长链正构烷烃和长链游离脂肪酸（Free fatty acids, FFA）主要来源于陆地，而短链正构烷烃和短链脂肪酸主要来源于细菌或藻类；长链结合态脂肪酸（Bound fatty acids, BFA）主要来源于富营养化湖泊中的藻类。沉积物不同深度下 FFA 和 BFA 的碳同位素分馏如图 4 所示。

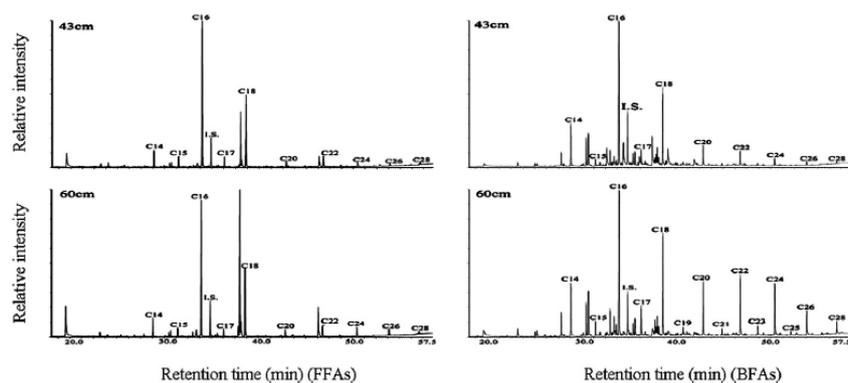


图 4 沉积物不同深度下 FFA 和 BFA 的 IRMS 碳同位素分馏图（SIM 模式），标示数字代表脂肪酸链的长度及内标

2. IRMS 在大气污染研究中的应用

与水污染研究相似，在大气污染研究中，IRMS 也常用于大气及颗粒物中物质的溯源与示踪，以外也可用于检测空气中某种有机物的分布等，所涉及的同位素通常为 C、S 等。现将近年来使用 IRMS 研究大气污染的部分文献举例如下：

Zhang 等 [5] 结合 GC-MS 手段，通过 GC-C-IRMS 检测烹调油烟 (cooking fume, CF) 和环境烟草烟雾 (environmental tobacco smoke, ETS) 两种室内来源的多环芳烃 (PAHs) 碳同位素值。被测 PAHs 共 18 种，分析结果表明 CF 中的 Flu、Pyr、Fluo，以及 ETS 中的 Flu、Phe、IP、BaA 碳同位素变化较小，可以作为室内 PAHs 来源的示踪物。ETS 中 PAHs 的 $\delta^{13}\text{C}$ 范围 (-21.76‰至-29.32‰) 比 CF 中 PAHs 的 $\delta^{13}\text{C}$ 范围 (-22.94‰至-28.39‰) 大，其中，两种来源的 Phe、BaA、BbFlu、BkFlu、IP 等污染物的 $\delta^{13}\text{C}$ 差异明显，可用于污染物的溯源。通过观察 $\delta^{13}\text{C}$ 与分子质量的关系，发现 Pyr (来源于 CF 和 ETS 的 $\delta^{13}\text{C}$ 分别为-25.53‰和-25.22‰) 可作为一个分水岭，CF 样品中 $\delta^{13}\text{C}$ 会随着分子质量的减小而富集，而 ETS 样品呈现相反的趋势。CF 样品中不同油类的多种 PAHs 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值如图 5 所示。

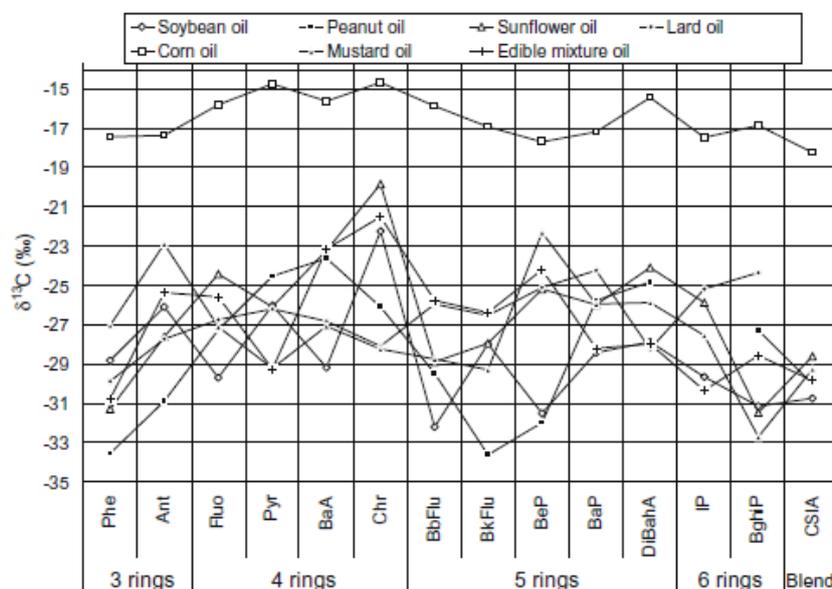


图 5 7类CF样品中不同PAHs的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

Yamada 等 [6] 将 IRMS 与固相萃取技术 (HS-SPME) 相结合, 检测大气中甲醇和乙醛的碳同位素比。利用 HS-SPME-GC-IRMS 技术, 可以精确检测 20mL 空气样品中 3-17ppm 的甲醇和 2-19ppm 乙醛的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, 其精度 (1 个标准差) 分别为 $\pm 0.6\%$ 和 $\pm 0.7\%$ 。该文章提出了一个检测大气中甲醇和乙醛同位素比的简单、快速的手段, 便于定量评估这两种物质在大气化学中的重要性。此外, 还证明了该方法可以检测植物叶片排放的甲醇和乙醛, 扩展了该技术的应用。TAcet-1 样品 (市售乙醛标准试剂) 中不同浓度的乙醛的 $\delta^{13}\text{C}$ 值和固相萃取提取效率如图 6 所示。

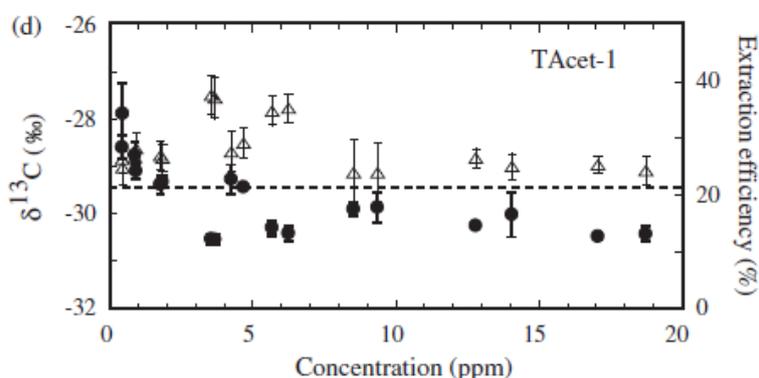


图 6 TAcet-1 样品中不同浓度乙醛含量的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 (以实心圆点表示) 和提取效率 (以空心三角表示)。虚线代表 $\delta^{13}\text{C}$ 的真实值, 误差以标准差表示。

Kawashima 等 [7] 利用 IRMS 检测了日本秋田县 2008 年 4 月到 2010 年 1 月间的悬浮颗粒物 (suspended particulate matter, SPM) 和 PM_{2.5} 样品中元素碳 (elemental carbon,

EC) 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, 以研究季节变化及颗粒物的溯源。为辅助数据分析, 另外用 IRMS 检测了可能的来源物 (汽车尾气, 土壤, 木炭燃烧, 煤燃烧等) 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, 以及 SPM 和 PM2.5 的浓度及离子成分。监测数据表明, SPM 及 PM2.5 中元素碳的 $\delta^{13}\text{C}$ 值相近 (分别为 -25.9‰ 至 -23.1‰, -25.0‰ 至 -23.4‰), SPM 在冬天的 $\delta^{13}\text{C}$ 值比夏天高, 相比之下 PM2.5 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值随季节变化不甚明显。结合来源物的检测数据, 可知 SPM 和 PM2.5 的 $\delta^{13}\text{C}$ 在冬天的富集长期受从海外飘过来的燃烧物 (例如煤) 颗粒影响, 其中 SPM 颗粒有一定含量的 Cl^- 和 Mg^{2+} , 表明受到了海盐的影响。SPM 和 PM2.5 样品中元素碳的 $\delta^{13}\text{C}$ 随时间变化曲线如图 7 所示。

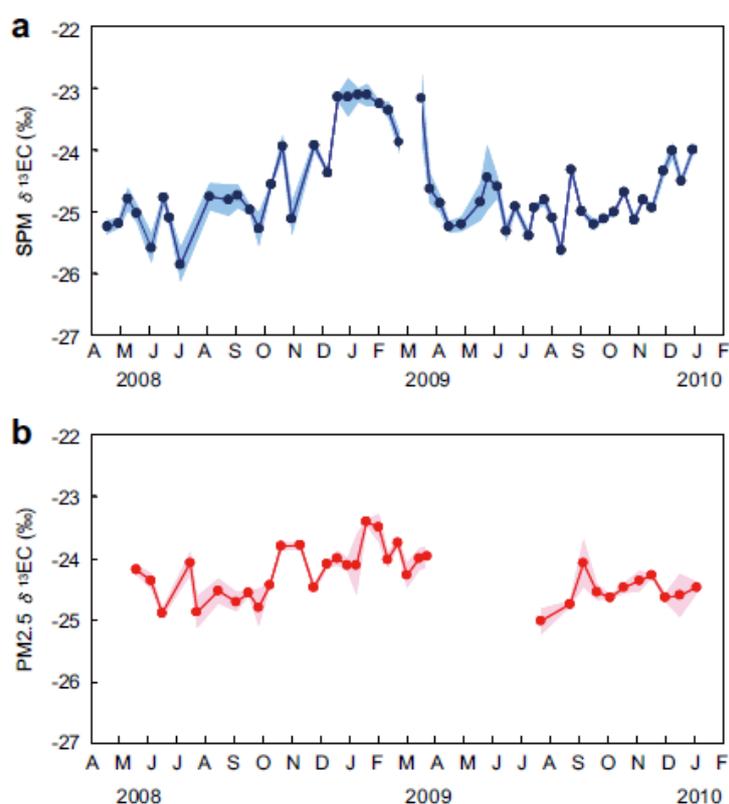


图 7 2008 年 4 月至 2010 年 1 月间 SPM (a) 和 PM2.5 (b) 的 $\delta^{13}\text{C}$ 随时间变化曲线。

3. IRMS 在环境土壤研究中的应用

IRMS 在环境土壤研究中的应用相对水、气而言较少, 针对污染物而言, 主要通过 C、N 等同位素检测 PAHs 等有机污染物。但近年来利用 IRMS 研究土壤有机污染物的溯源的外文文献较少。更多情况下, 研究者将 IRMS 应用于土壤碳循环等研究, 由于植物和土壤是陆地生态系统的重要碳库, 土壤中的碳同位素研究对于研究生态系统碳循环具有重要的意义。

Graham 等 [8] 为了评估城市污染土壤中 PAHs 的萃取和清洗方法, 对污染土壤样

品采用了四种萃取技术，分别为：索氏提取，soxtherm 自动索氏提取，超声提取，加速溶剂萃取（ASE）；索氏提取及 ASE 的提取物再各经过硅胶/二氯甲烷及氧化铝/己烷/甲苯清洗，利用 GC-C-IRMS 检测萃取后及清洗后 16 种主要 PAHs 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。结果表明，萃取后不同方法甚至相同方法之间， $\delta^{13}\text{C}$ 会呈现较大差异；而经过清洗后，ASE 法的 $\delta^{13}\text{C}$ 呈现出了较好的稳定可重复性。说明萃取的方法会影响结果的重复性，而 ASE 相比传统的索氏法稳定性和重复性更好。该结果可能也适用于土壤中其它有机污染物。污染土壤样品经过四种萃取方法后不同 PAHs 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值如图 8 所示。

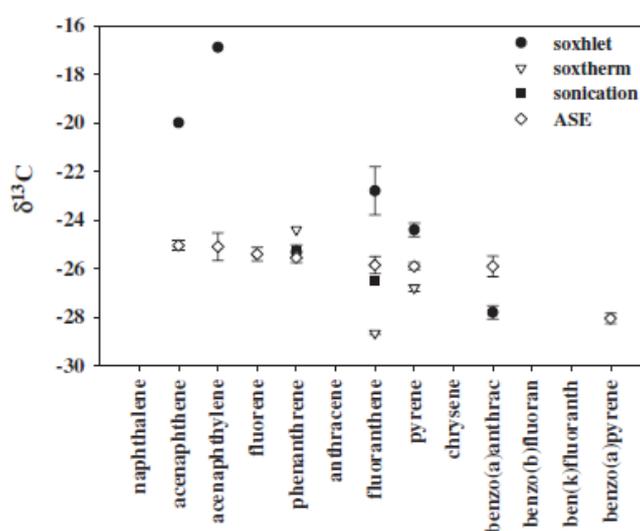


图 8 污染土壤样品分别经过索氏提取、soxtherm 自动索氏提取、超声提取、ASE 四种方法提取后，不同 PAHs 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

Dorodnikov 等 [9] 利用 IRMS 检测土壤中的 $\delta^{13}\text{C}$ 及 $\delta^{15}\text{N}$ 值，以研究土壤有机质 (soil organic matter, SOM) 在开放式二氧化碳浓度增高 (Free-air carbon dioxide enrichment, FACE) 实验中的转化和周转时间。研究者在 FACE 平台分别选取了高浓度 CO_2 和环境 CO_2 下的土壤样品，之后分别对两类土壤样品施加 100%氮肥 (180k/ha) 和 50%氮肥 (90k/ha) 处理。将施加过氮肥的样品进行加热，分为 20-200 $^{\circ}\text{C}$ 、200-360 $^{\circ}\text{C}$ 、360-500 $^{\circ}\text{C}$ 、500-1000 $^{\circ}\text{C}$ 四个阶段，以评估 SOM 库 (SOM pool) 的热稳定性；每个阶段加热后的剩余样品进行 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 的测定。实验结果表明，在所有加热阶段，高浓度 CO_2 样品中 SOM 库的 $\delta^{13}\text{C}$ 都显著低于环境 CO_2 样品中 SOM 库的 $\delta^{13}\text{C}$ 值，新进入 SOM 库中的碳元素与其热稳定性不成负相关；50%氮肥土壤样品在热不稳定 SOM 库 (200-360 $^{\circ}\text{C}$) 中有较高的 C 交换，而 100%氮肥样品在热稳定 SOM 库 (360-500 $^{\circ}\text{C}$ ，500-1000 $^{\circ}\text{C}$) 中有较高的 C 周转。综合分析得出，尚不足以利用 SOM 周转时间不同的

特点,用加热的方式分离土壤中的 SOM 库。土壤样品 SOM 库在加热不同阶段下的 $\delta^{13}\text{C}$ 值如图 9 所示。

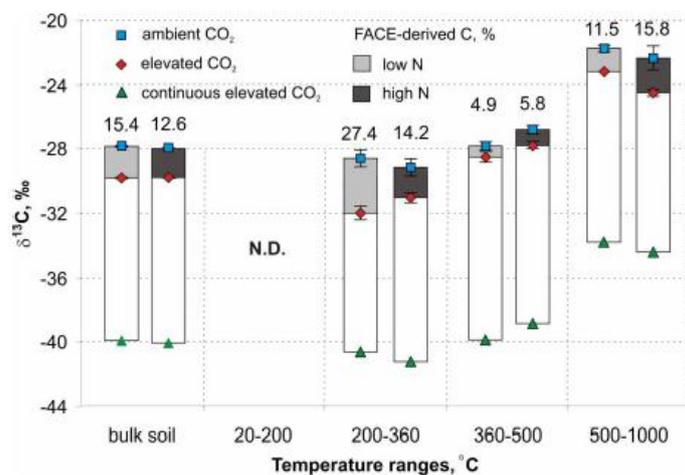


图 9 经过高浓度/环境 CO_2 及 50%/100%氮肥处理的土壤样品中 SOM 库在不同加热阶段的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

4. IRMS 在环境微生物研究中的应用

在环境微生物研究中, IRMS 在大多数情况下用于研究污染物在水体或固体废物等介质中的生物降解效果及机制,有时也用于研究目标有机物在生物体内的富集情况等。在这些研究中,所检测的元素通常为 C、N、O 等。现将近年来使用 IRMS 研究环境微生物的部分文献举例如下:

Bernstein 等 [10] 用 IRMS 研究爆炸污染物 RDX 在好氧和厌氧条件下的生物降解。RDX 首先利用薄层色谱法提纯,之后利用元素分析仪与 IRMS 结合的方式(EA-IRMS)检测 RDX 在好氧和厌氧条件下生物降解过程中的 $\delta^{15}\text{N}$ 及 $\delta^{18}\text{O}$ 并计算富集系数。分析得知, RDX 在好氧条件下 $\delta^{15}\text{N}$ 及 $\delta^{18}\text{O}$ 的富集系数分别为-2.1‰和-1.7‰,而厌氧条件下的富集系数分别为-5.0‰和-5.3‰。这一结果有助于研究 RDX 在环境中的自然降解。RDX 在好氧生物降解和厌氧生物降解过程中的 $\delta^{15}\text{N}$ 及 $\delta^{18}\text{O}$ 变化如图 10 所示。

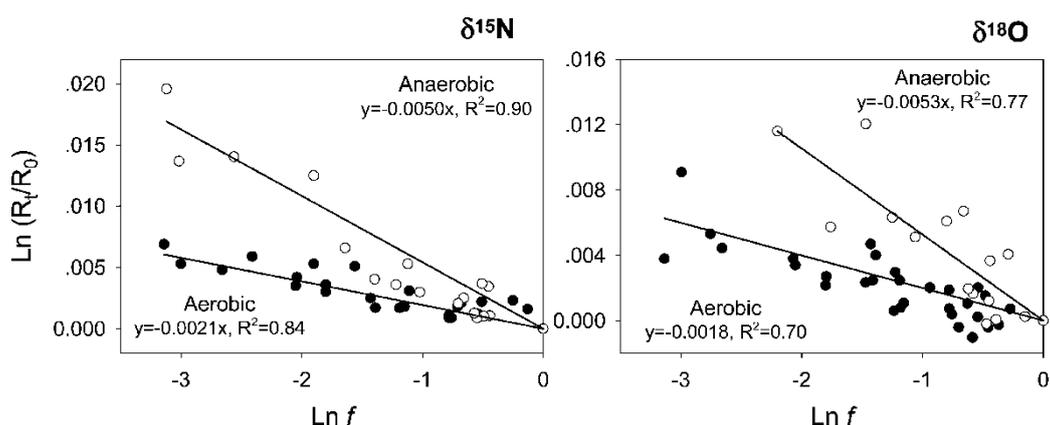


图 10 RDX 在好氧和厌氧过程中 $\delta^{15}\text{N}$ 及 $\delta^{18}\text{O}$ 变化, 其中空心圆代表厌氧降解, 实心圆代表好氧降解。f 为降解程度, R_t 与 R_0 分别代表时间为 t 与时间为 0 时的同位素比率。

Limam 等 [11] 采用 GC-IRMS 检测被 ^{13}C 完全标记的苯酚和双酚 A (BPA), 以研究城市生活垃圾中的苯酚和 BPA 在常温 (35°C) 和高温 (55°C) 厌氧条件下的生物降解情况。除 IRMS 之外, 还使用了 GC-MS 及 ^{13}C 核磁共振波谱仪 (^{13}C -NMR) 检测产物。研究发现, 城市生活垃圾中的苯酚在常温及高温厌氧条件下均能生物降解。其中, 在常温条件下, 苯酚通过苯甲酸途径进行生物降解; 在高温条件下, 没有观察到除醋酸之外的代谢产物, 推测反应是瞬间完成的。BPA 在厌氧条件下不发生生物降解。

Orias 等 [12] 为研究药物化合物 (pharmaceutical compounds, PC) 在水生生态系统中的生物富集现象, 将 ^{15}N 标记的不同浓度 (1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{L}$) 抗癌药物他莫昔芬作用于单细胞藻类 *Pseudokirchneriella subcapitata* 上, 暴露 7 天, 利用 EA-IRMS 检测过程中的氮同位素。结果表明, *P. subcapitata* 在接触他莫昔芬不久后即检测到较高的生物富集, 生物富集系数最高可达到 26500, 48 小时后被全部吸收; 此外, *P. subcapitata* 的生物富集与药物浓度不相关。该研究首次将同位素应用于检测 PC 在水生生物中的富集, 该方法相比于其它方法具有很多优点, 将来可用于其它 PC 或水生生物体的研究。

自然界中含有天然的稳定同位素, 它们的比率在不同的物质或介质中存在差异, 是一类精确、稳定且安全的示踪物质。IRMS 可广泛应用于环境科学的各个领域, 是一种很有潜力的分析方法, 对于研究污染物的来源、去向、分析污染物去除效果、研究生态系统循环及生物富集等诸多方面均是一类有效的分析手段。(文/朱迪)

参考文献

- [1] Peng X W, Feng L J, Li X G. Pathway of diethyl phthalate photolysis in sea-water determined by gas chromatography-mass spectrometry and compound-specific isotope analysis[J]. *Chemosphere*, 2013, 90(2): 220-226.
- [2] Stelmach W, Szarlip P, Trembaczowski A. Changes of isotopic composition in gases emitted from wastewater treatment plant - preliminary study[J]. *Ecological Chemistry And Engineering S-Chemia I Inzynieria Ekologiczna S*, 2014, 21(2): 245-254.
- [3] Maier M P, De Corte S, Nitsche S, et al. C & N Isotope Analysis of Diclofenac to Distinguish Oxidative and Reductive Transformation and to Track Commercial Products[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(4): 2312-2320.
- [4] Fang J D, Wu F C, Xiong Y Q, et al. Source characterization of sedimentary organic matter using molecular and stable carbon isotopic composition of n-alkanes and fatty acids in sediment core from Lake Dianchi, China[J]. *Science Of the Total Environment*, 2014, 473: 410-421.
- [5] Zhang L W, Bai Z P, You Y, et al. Chemical and stable carbon isotopic characterization for PAHs in aerosol emitted from two indoor sources[J]. *Chemosphere*, 2009, 75(4): 453-461.
- [6] Yamada K, Hattori R, Ito Y, et al. Determination of carbon isotope ratios of methanol and acetaldehyde in air samples by gas chromatography-isotope ratio mass spectrometry combined with headspace solid-phase microextraction[J]. *Isotopes In Environmental And Health Studies*, 2010, 46(3): 392-399.
- [7] Kawashima H, Haneishi Y. Effects of combustion emissions from the Eurasian continent in winter on seasonal delta C-13 of elemental carbon in aerosols in Japan[J]. *Atmospheric Environment*, 2012, 46: 568-579.
- [8] Graham M C, Allan R, Fallick A E, et al. Investigation of extraction and clean-up procedures used in the quantification and stable isotopic characterisation of PAHs in contaminated urban soils[J]. *Science Of the Total Environment*, 2006, 360(1-3): 81-89.
- [9] Dorodnikov M, Fangmeier A, Giesemann A, et al. Thermal stability of soil organic matter pools and their turnover times calculated by ¹³C under elevated CO₂ and two levels of N fertilisation[J]. *Isotopes In Environmental And Health Studies*, 2008, 44(4): 365-376.
- [10] Bernstein A, Ronen Z, Adar E, et al. Compound-Specific Isotope Analysis of RDX and Stable Isotope Fractionation during Aerobic and Anaerobic Biodegradation[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008,

42(21): 7772-7777.

[11] Limam I, Mezni M, Guenne A, et al. Evaluation of biodegradability of phenol and bisphenol A during mesophilic and thermophilic municipal solid waste anaerobic digestion using C-13-labeled contaminants[J]. Chemosphere, 2013, 90(2): 512-520.

[12] Orias F, Simon L, Ferrodin Y. Experimental assessment of the bioconcentration of N-15-tamoxifen in *Pseudokirchneriella subcapitata*[J]. Chemosphere, 2015, 122: 251-256.

主编：邱勇

责任编辑：陈莹

电话：010-62772046

电子邮箱：SOE_Platform@163.com

网站：<http://www.166.111.42.5>

