

科技报告编号

密级（公开）

400002574--YYWF201402/4

公开日期：2017 年 12 月

单环芳烃及含氯有机物稳定碳、氯同位素分析技术研究

Study on the stable carbon isotope analytical method of monocyclic aromatic hydrocarbons and chlorine isotope analytical method of chlorinated organic compounds

作 者：黄 毅，宋淑玲

作者单位：国家地质实验测试中心

完成日期：2017 年 6 月.

中国地质科学院中央级基本科研业务费专项

科技报告编号: 400002574--YYWF201402/4

公开

科技报告类型: 研究报告

科技报告

报 告 名 称: 单环芳烃及含氯有机物稳定碳、氯同位素分析技术研究

支 持 渠 道: 中央级公益性科研院所基本科研业务费

编 制 单 位: 国家地质实验测试中心

编 制 时 间: 2017年6月

摘要页（三号黑体）（必备）

1. 报告名称：单环芳烃及含氯有机物稳定碳、氯同位素分析技术研究 Study on the stable carbon isotope analytical method of monocyclic aromatic hydrocarbons and chlorine isotope analytical method of chlorinated organic compounds		
2. 黄毅——Huang Yi; 宋淑玲——Song Shuling; 国家地质实验测试中心——National Research Center for Geoanalysis		
3. 科技报告类型, 起止日期 研究报告 2014 年-2016.年	4. 摘要页密级 公开	5. 科技报告密级 公开
6. 科技报告编号 400002574--YYWF201402/4	7. 完成日期 2017-06-25	8. 总页数 35
9. 备注（须注明的特殊事项，如延期公开报告的查询权限、免责声明、报告与其它工作或成果的联系等）		
<p>10. 摘要</p> <p>中文摘要（一般 300-600 字，要围绕正文的论题，就研究工作的目的、方法、结果、结论等进行概括性介绍，其重点是方法和结论等信息。避免出现描述任务执行情况的语句）</p> <p>单体同位素分析技术是有机分析与同位素分析紧密结合的研究热点，是对环境中有机物进行溯源和示踪的重要手段。本研究采用绿色环保富集方法建立地下水中单环芳烃稳定单体碳固相微萃取同位素比值分析方法，灵敏度为 0.10μg/L，精密度小于 0.5‰；土壤中 DDE 的 SDME（SPME）-GC-qMS 稳定氯同位素比值在线分析方法，方法的灵敏度达到 1500pmol 级，精密度达到 2.0‰；地下水中 2 种氯代烃（四氯乙烯、三氯乙烯）的 P&T-GC-qMS 稳定氯同位素比值在线分析方法，分析方法的灵敏度达到 500 pmol 级，精密度达到 0.50-2.0‰。本研究有利于明确单环芳烃、氯代烃和有机氯农药的环境行为，为准确辨识其污染来源提供技术支持；有利于客观评价生态环境风险，也是修复治理中采取切实有效的应对措施和修复方法研究的科学基础。</p> <p>中文关键词（3-8 个，以分号隔开）： 单体稳定同位素；单环芳烃；含氯有机物；地下水；土壤</p> <p>英文摘要（英文，一般为实词 300 个左右）</p> <p>Compound-specific stable isotope technology is a powerful technique to trace and track the organic pollutants in environment by combining isotope analysis technology and various other technical means. In this study, the analytical method of carbon isotope for monocyclic aromatic hydrocarbons in groundwater was established. The sensitivity of SPME-GC-C-IRMS for $\delta^{13}\text{C}$ of monocyclic aromatic hydrocarbons in water was 0.10μg/L with 0.5‰ of accuracy. Another online compound isotope analytical method was build to detect the stable chlorine isotope value ($\delta^{37}\text{Cl}$) of organochlorine compounds in water or soil by the solid micro phase extraction (SPME) coupled with gas chromatography-quadrupole mass spectrum (GC-qMS). The sensitivity of SPME-GC-qMS for $\delta^{37}\text{Cl}$ of p,p'-DDE in soil was 1500pmol with 2.0‰ of accuracy. The sensitivity of purge-trap (P&T)-GC-qMS for $\delta^{37}\text{Cl}$ of trichloroethylene and tetrachloroethylene in water was 500pmol with 0.50-2.0‰ of accuracy. This study is helpful to clarify the environmental behavior of monocyclic aromatic hydrocarbons, chlorinated hydrocarbon and organochlorine pesticides, and provide technical support for the accurate identification of their sources of pollution. It is also helpful to</p>		

objectively evaluate the risks of ecological environment, and the scientific basis for the practical and effective countermeasures and methods
 英文关键词（3-8 个，以分号隔开）： compound-specific stable isotope; monocyclic aromatics; chlorinated organic compounds; groundwater; Soil

11. 支持渠道	项目（课题）名称		单环芳烃及含氯有机物稳定碳、氯同位素分析技术研究		
	承担单位		国家地质实验测试中心		
	项目（课题）负责人		黄毅 宋淑玲	项目（课题） 编号	YWF201402
	立项部门		有机分析研究室	计划名称	
12. 联系人	姓名	尚文郁	联系方式	010-68999770	

目次

引言.....	4
1.地下水中单环芳烃类有机物稳定碳同位素分析技术研究.....	6
1.1 单环芳烃化合物的理化性质.....	6
1.2 样品的采集与保存.....	6
1.3 仪器设备及试剂.....	6
1.4 实验原理.....	7
1.5 工作条件.....	7
1.6 固相微萃取条件.....	10
1.7 GC-IRMS 条件.....	15
1.8 不同源单环芳烃单体稳定碳同位素测定.....	17
1.9 检出限.....	17
1.10 地下水中单环芳烃稳定单体碳同位素分析方法的初步应用.....	18
2 土壤中 DDE 的气相色谱-四级杆质谱在线稳定氯同位素比值分析方法研究.....	21
2.1 p,p'-DDE 离线 Gasbench-IRMS 稳定氯同位素前处理方法优化.....	21
2.2 不同来源的三氯乙烯、四氯乙烯和 p,p'-DDE 的单体稳定氯和碳同位素 值.....	24
2.3 不同厂家 GC-qMS 测试 p,p'-DDE 稳定氯同位素比值的稳定性.....	25
2.4 目标物 p,p'-DDE 萃取头选择及萃取条件的优化.....	26
2.5 土壤中 p,p'-DDE 的 SPME-GC-qMS 稳定氯同位素比值测定.....	29
3 地下水中氯代烃的气相色谱-四级杆质谱在线稳定氯同位素比值分析方法研究.....	30
4 结论.....	32
参考文献.....	33

引言

项目为中国地质科学院基本科研业务费项目。起止年限从 2014 年到 2016 年。项目编码：YWF201402，研究经费三年共计 50 万元。项目负责人为：黄毅，宋淑玲。

项目主要研究任务是采用绿色环保富集方法分别对地下水中单环芳烃稳定单体碳同位素比值分析方法、地下水中氯代烃的气相色谱-四级杆质谱在线氯同位素比值分析方法、土壤中 DDE 的气相色谱-四级杆质谱在线氯同位素比值分析方法展开研究，并用实际样品进行验证。

根据任务书要求和目标物性质以及实际调查需要全面调研国内外文献，在文献调研基础上充分利用新技术、新方法提高分析灵敏度、准确度和分析效率分别建立了如下几类稳定同位素分析方法。

表 1.项目取得的研究成果与考核目标对比

序号	预期成果	取得的成果
1	建立地下水中单环芳烃稳定单体碳同位素比值分析方法，灵敏度达到 100~500 $\mu\text{g/L}$ ，精密度达到 2.0‰；	建立地下水中单环芳烃稳定单体碳同位素比值分析方法，灵敏度为 0.10 $\mu\text{g/L}$ ，精密度小于 0.5‰。
2	建立土壤中 DDE 的 SDME(SPME)-GC-qMS 稳定氯同位素比值在线分析方法，要求方法的灵敏度达到 1500 pmol 级，精密度达到 2.0‰；	建立土壤中 DDE 的 SDME (SPME) -GC-qMS 稳定氯同位素比值在线分析方法，要求方法的灵敏度达到 1500 pmol 级，精密度达到 2.0‰；
3	建立地下水中 2 种氯代烃（三氯乙烯和四氯乙烯）的 P&T-GC-qMS 稳定氯同位素比值在线分析方法，要求分析方法的灵敏度达到 600 pmol 级，精密度达到 0.50-2.0‰。	建立地下水中 2 种氯代烃（三氯乙烯和四氯乙烯）的 P&T-GC-qMS 稳定氯同位素比值在线分析方法，要求分析方法的灵敏度达到 500 pmol 级，精密度达到 0.50-2.0‰。
4	研究成果将以纸质和电子文档形式提交“单环芳烃及含氯有机物稳定碳氯同位素分析技术研究”研究报告一份；以学术论文形式在国内外刊物上发表 1-2 篇论文。	提交“单环芳烃及含氯有机物稳定碳氯同位素分析技术研究”研究报告一份； 发表学术论文 4 篇； (1) 生物样品母乳中有机氯农药类化合物近二十年研究进展，岩矿测试，2016,35,5: 449-457； (2) 2,2-双(对氯苯基)-1-氯乙烯稳定氯同位素组成测定的氧化脱氯前处理方法，农药学学报，2016.18(6): 772-777； (3) 分散固相萃取-高分辨气相色谱-质谱法检测农田土壤中典型含氯持久性有机污染物，分析实验室（增刊），2016（35）：145-147。 (4) Novel method to determine the lipid content of breast milk, Chemosphere 168 (2017) 279-283。

项目执行工作中得到很多老师和同事的支持和关怀，才能顺利完成项目中各项工作。特

别要感谢孙青研究员、饶竹研究员对我们工作中遇到的问题和困难给予的悉心指导，感谢条保处曹亚平老师对我们工作给予的大力支持，感谢科技处吴晓军老师，尚文郁老师给予我们的帮助，感谢王广老师在仪器使用上给予我们的帮助，感谢谢曼曼及各位同事，和你们的讨论学习，让我们开拓思路，收获良多。衷心感谢各位对我们项目工作的支持与关怀！

1.地下水中单环芳烃类有机物稳定碳同位素分析技术研究

1.1 单环芳烃化合物的理化性质

单环芳烃 (Monoaromatic Hydrocarbons), 属于挥发性有机物, 主要指含有一个苯环的芳香烃。包括支链饱和的, 如甲苯、乙苯等; 支链不饱和的, 如苯乙烯等。单环芳烃类化合物, 其沸点大都低于 240°C, 具有化学性质稳定、沸点低、密度大、黏度小的特性。单环芳烃类化合物对生物体具有毒性, 对人类健康能够产生直接危害。具有神经毒性 (引起神经衰弱、头痛、失眠、眩晕、下肢疲惫等症状) 和遗传毒性 (破坏 DNA), 长期接触可以导致人体患上贫血症和白血病。表 1 列出了所研究单环芳烃的主要理化参数。

1.2 样品的采集与保存

采集样品和现场空白: 慢慢将液体 40mLVOA 样品瓶至瓶口形成一向上弯月面 (不能溢出, 若溢出需换新瓶重采), 旋即拧紧瓶盖 (密封垫聚四氟乙烯膜一面对样品)。颠倒小瓶、轻敲, 检查是否有气泡。若有气泡, 须重新采样。在导入样品时应避免搅动过猛以免引起挥发性有机物逸出和空气气泡产生。样品检查合格后立刻贴上标签, 标明有关信息后放入带密封条的塑料袋 (同时采集平行样放在同一塑料袋中), 再迅速放入低温冷藏 (4°C 下) 设备中, 尽快送回实验室。现场空白样品需在样品采集前将空白水加入到 40mLVOA 小瓶中, 余下操作同样品采集。空白样品随同样品采集、储存直至分析全过程。样品和空白样品, 实验前转移至 60mLVOA 小瓶中 (预先加入搅拌子和 NaCl), 再按照优化方法进行实验操作。

样品储存在 4°C 左右冷藏设备直到分析, 样品区不能含待测组分。由于单环芳烃类化合物挥发性强, 样品采集后应尽快分析, 最长保存期不超过 14d。

1.3 仪器设备及试剂

仪器设备: 美国 MAT253 稳定同位素比值分析系统和 Trace GC Ultra 气相色谱分析仪组成同位素分析单元 (美国 Thermo Fisherscientific 公司), 气相色谱与稳定同位素质谱通过 GC Isolink 联接;

气相色谱柱: MEGA-WAX (0.25μm 膜厚, 0.25mm×30m), RTX-502.2 (1.8μm 膜厚, 0.32mm×60m。)

萃取装置: 固相微萃取手柄 (美国 Supelco 公司);

固相微萃取纤维头: 100μm PDMS (聚二甲基硅氧烷), 65μm PDMS/DVB (聚二甲基硅

氧烷/二乙烯基苯), 75 μ m Carboxen/PDMS (碳分子筛/聚二甲基硅氧烷), 50/30 μ m DVB/CAR/PDMS (二乙烯基苯/碳分子筛/二乙烯基苯), 85 μ m Polyacrylate (聚丙烯酸酯), 7 μ m PDMS (聚二甲基硅氧烷)(美国 Supelco 公司);

主要试剂: 苯、乙苯、间二甲苯、邻二甲苯、对二甲苯、苯乙烯、1,3,5-三甲苯、1,2,4-三甲苯、1,2,3-三甲苯均购自美国 AccuStandard 公司; 甲苯, 美国 ChemServer 公司标准物质或色谱级试剂。2000mg/L 的 9 种苯系物标准物质的甲醇溶液(苯、甲苯、乙苯、间-二甲苯、对-二甲苯、邻-二甲苯、1,2,3-三甲苯、1,2,4-三甲苯、1,3,5-三甲苯, 纯度 96.0%~100%, 美国 Supelco 公司。苯乙烯(1000mg/L, 国家标准物质中心), 甲醇(农残级, Thermo Fisherscientific 公司)。

1.4 实验原理

气相色谱稳定同位素质谱分析系统 GCIRMS 主要由气相色谱(GC)、同位素质谱(IRMS)及热转化/热裂解炉(TC)3 个部分组成。样品先经气相色谱分离成单个化合物, 接着进入氧化炉或裂解炉, 在高温条件下氧化为二氧化碳(CO₂)或者裂解/转化为氢气(H₂)和单质碳(C), 最后 CO₂ 或 H₂ 进入质谱分析化合物的同位素组成。

本研究采用固相微萃取技术富集地下水中痕量单环芳烃类化合物后, 在气相色谱进样口解析, 待测物进入气相色谱进行分离, 分离后的待测物先后进入 GC。Isolink 接口中的反应管(碳同位素测定使用燃烧管, 1mm 内径的 Al₂O₃ 陶瓷管, 内填充 NiO 管。CuO 和 NiO 线催化燃烧, 待测物在 940°C 高温下逐个反应生成 CO₂), 各组分的 CO₂ 按分离顺序先后进入稳定同位素质谱检测, 实现单组份挥发性单环芳烃类有机物的碳稳定同位素测定。

1.5 工作条件

固相微萃取条件: 使用 65 μ m PDMS/DVB (聚二甲基硅氧烷/二乙烯基苯), 萃取温度: 20°C, 萃取时间: 20 min, 搅拌速度 900rpm, 样品量: 40mL, 氯化钠用量: 8.0g, 脱附温度: 190°C, 脱附时间: 5 s。

气相色谱分析条件: 载气为高纯氮, 恒流模式, 流量: 2.0 mL/min; 升温程序: 初始温度: 35°C, 保持 2 min; 以 2°C/min 升至 50°C, 保持 2min; 以 4°C/min 升至 80°C, 保持 1 min; 以 15°C/min 升至 180°C, 保持 3 min; 不分流进样。

稳定同位素质谱分析条件: 氧化炉温度: 940°C, 还原炉温度: 650°C, 离子源真空: 6.9 \times 10⁹Pa, 离子源发射电流: 1.5 mA, 前级泵真空 5.0 \times 10⁻⁷MPa, 离子源真空 1.4 \times 10⁻¹⁰MPa, Trapp 66V, 电子能量 90V, 接收器为多接收法拉第杯。

文中碳同位素数据相对于标准气参考气表达:

$$\delta^{13}\text{C} = \left(\frac{R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}}} \right) \times 1000$$

其中 R_{sample} 和 R_{standard} 分别是样品和标准的同位素比值。

表 2 单环芳烃化合物理化参数

序号	化合物 Compounds	CAS No.	英文缩写	分子式 Formula	结构式 Structure	分子量 MW (g•mol ⁻¹)	沸点 (°C)	熔点 (°C)	相对 密度 Density (20°C)	水中溶解度 (mg/L)	蒸汽压 (mmHg /25°C)	辛醇/水分 配系数	致癌性
1	苯 Benzene	71-43-2	BNZ	C ₆ H ₆		78.12	80.1	5.5	0.88	1790	94.8	-	1
2	甲苯 Toluene	108-88-3	TOL	C ₇ H ₈		92.15	110.6	-94.9	0.87	526	28.4	2.73	2
3	乙苯 Ethylbenzene	100-41-4	EBZ	C ₈ H ₁₀		106.18	136.1	-94.9	0.86	169	9.60	3.15	3
4	对二甲苯 p-Xylene	106-42-3	PXY	C ₈ H ₁₀		106.18	144.4	-25.0	0.86	178	6.61	3.15	2
5	间二甲苯 m-Xylene	108-38-3	MXY	C ₈ H ₁₀		106.17	139.3	-47.4	0.86	162	8.29	3.20	2
6	邻二甲苯 o-Xylene	95-47-6	OXY	C ₈ H ₁₀		106.16	138.3	13.2	0.88	198	8.84	3.12	2
7	1,3,5-三甲苯 1,3,5-Trimethylbenzene	108-67-8	1,3,5-TMB	C ₉ H ₁₂		120.19	165	-45	0.88	48.2	2.48	3.42	2
8	苯乙烯 Styrene	100-42-5	STR	C ₈ H ₈		104.16	145.2	-30.6	0.90	320	6.45	2.95	3
9	1,2,4-三甲苯 1,2,4-Trimethylbenzene	95-63-6	1,2,4-TMB	C ₉ H ₁₂		120.19	168	-43.8	0.88	57	2.10	3.78	2
10	1,2,3-三甲苯 1,2,3-Trimethylbenzene	526-73-8	1,2,3-TMB	C ₉ H ₁₂		120.19	175	-25	0.89	不溶于水	3.40	3.70	2

注：1 为人体致癌剂（强致癌），2 为目前尚无对人体或动物致癌证据，3 为疑为人体致癌

1.6 固相微萃取条件

样品前处理是分析检测的关键步骤，固相微萃取利用涂层的吸附、吸收作用将组分从样品基质中萃取分离并富集，同时不影响样品体系的组成。涂层类型、萃取时间、萃取温度是影响其萃取效果的主要因素，在分析液态样品时还应考虑样品搅拌方式和盐效应等因素。

1.6.1 萃取纤维涂层

不同纤维涂层从样品中萃取目标化合物主要有两种机理，吸附（固体涂层）和吸收（液体涂层）。单一相的 PDMS（聚二甲基硅氧烷）和 Polyacrylate（聚丙烯酸酯）都属于吸收机理涂层，混合相 PDMS/DVB（聚二甲基硅氧烷/二乙烯基苯），Carboxen/PDMS（碳分子筛/聚二甲基硅氧烷）以及“三明治”涂层 DVB/CAR/PDMS（二乙烯基苯/碳分子筛/二乙烯基苯）都是属于用吸附机理萃取目标化合物。

选取 6 种不同类型纤维涂层比较对单环芳烃类化合物的萃取效率。统一在 20°C 萃取 40mL 样品 20min，样品中含浓度为 4 μ g/L 的苯、甲苯、乙苯、二甲苯和苯乙烯，萃取结果如图 1 所示。

实验结果表明，除 7 μ m PDMS（聚二甲基硅氧烷）因为涂层较薄，20min 时间萃取效率差，目标化合物基本无响应外，其余 5 种涂层对单环芳烃类化合物均有萃取。100 μ m PDMS（聚二甲基硅氧烷）和 65 μ m PDMS/DVB（聚二甲基硅氧烷/二乙烯基苯）两种涂层，随碳数的增大，萃取效率呈类正态分布，但以吸附机理为主的复合涂层，没有扩散步骤，同等萃取时间内萃取效率明显高于吸收机理的单一涂层；75 μ m Carboxen/PDMS（碳分子筛/聚二甲基硅氧烷）对沸点低的低碳数化合物有萃取效率高，沸点较高化合物也呈类正态分布，不过萃取效率较 65 μ m PDMS/DVB 低。综合考虑各种萃取涂层的萃取效率后，确定使用 65 μ m PDMS/DVB。

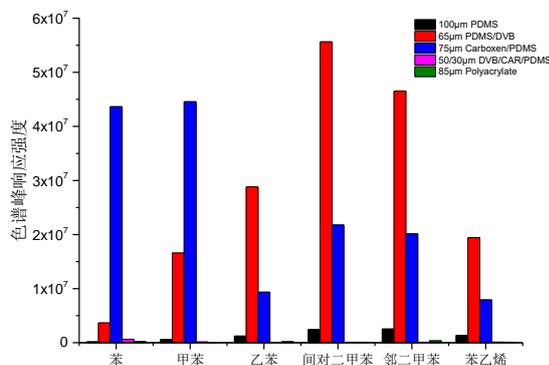


图 1 不同萃取涂层萃取单环芳烃类化合物效果

1.6.2 萃取方式

固相微萃取富集水中的有机物一般有两种方式，一种是浸入式萃取法，另一种是顶空萃取法。由于单环芳烃类化合物物理化学性质差异较大，比较了两种不同萃取方式对单环芳烃类化合物萃取效果和稳定碳同位素测定结果。实验结果如表 3 所示。

表 3 不同萃取方式稳定碳同位素比值及响应强度

化合物	浸入式萃取		顶空萃取		同位素 比值标准偏 差	响应强 度差异倍数
	同位素 比值 $\delta^{13}\text{C}$	响应强 度 mv	同位素 比值 $\delta^{13}\text{C}$	响应强 度 mv		
苯	-29.164	220	-29.266	1851	0.072	8.4
甲苯	-26.587	171	-26.659	2847	0.051	16.6
乙苯	-30.670	235	-30.377	4311	0.207	18.3
对二甲 苯	-28.596	224	-28.619	4252	0.016	19.0
间二甲 苯	-27.841	207	-27.479	4162	0.256	20.1
邻二甲 苯	-28.297	175	-28.241	4845	0.040	27.7
1,3,5-三 甲苯	-29.435	386	-28.938	10133	0.351	26.3
苯乙烯	-28.133	169	-28.748	5309	0.435	31.4
1,2,4-三 甲苯	-27.534	243	-28.089	8169	0.392	33.6
1,2,3-三 甲苯	-25.961	163	-25.702	6677	0.183	41.0

从实验结果看采用不同萃取方式并不会造成同位素分馏，但是由于各化合物物化性质的差异，萃取效率相差较大，响应强度相差 8.4~41 倍。水中溶解度最大的苯的两种萃取方式萃取效率相差最小；基本不溶于水的 1,2,3-三甲苯采用顶空萃取能得到较好效果。主要因为一是各化合物在水中溶解度有较大差异；二是气相中分析物的扩散系数要比液相中高出 4~5 个数量级。顶空萃取模式能有效缩短平衡时间或提高非平衡萃取效率，减少样品基体干扰，最终确定采用顶空萃取方式。

1.6.3 萃取温度

温度是固相微萃取中重要的参数，升高萃取温度可以显著缩短萃取平衡时间，加快分析流程，但也会带来两种截然相反的结果。从动力学角度分析，SPME 过程中温度升高可以加

大分析物的扩散系数，提高分析物想涂层纤维萃取头的传质速率。而从热力学的理论看，萃取过程是放热过程，取得分析物总量会随着温度升高而减小。因此比较 0°C~90°C之间不同萃取温度下单环芳烃类化合物萃取效果和稳定碳同位素测定结果。

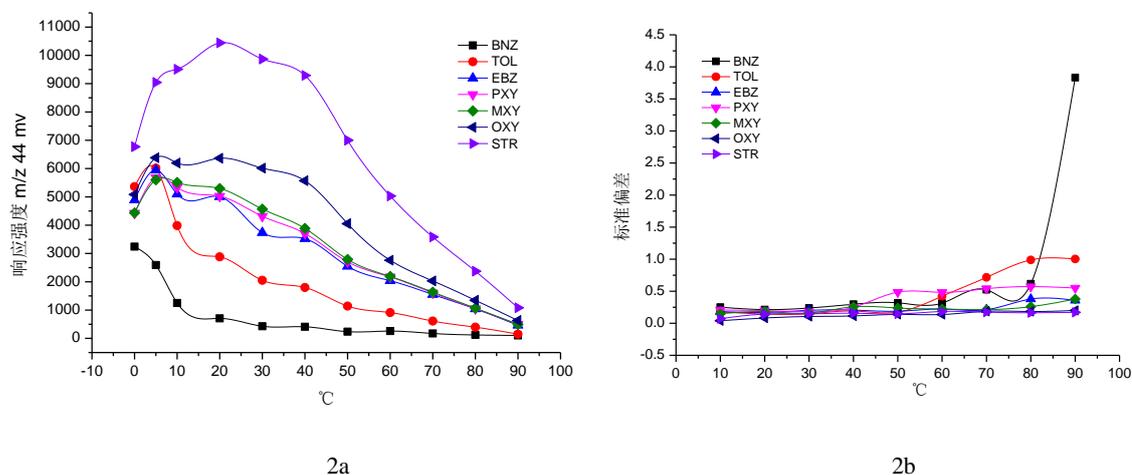


图 2 不同温度单环芳烃类化合物萃取效果及稳定碳同位素比值标准偏差对比

从结果看（图 2a）0°C萃取时分析物在顶空间分配系数较大，但温度低顶空间化合物整体浓度也低，挥发性最强苯在此时有最强响应，挥发性次之的甲苯的最强响应点为 5°C；萃取温度升高到 20°C时，进入顶空间目标物尤其是高沸点目标物浓度增大，在固相微萃取萃取头产生竞争吸附，苯和甲苯的响应强度下降，其余化合物达到峰值；随着萃取温度继续升高，热力学因素占主导，所有化合物萃取效率都有不同程度下降，高沸点化合物下降趋势高于低沸点化合物。

从图 2b 可以看出，萃取温度小于 60°C时 $\delta^{13}\text{C}$ 测定值标准偏差较小在仪器误差范围内，随着萃取温度升高，顶空间水气增多也引入更多杂质干扰测定结果，温度越高 $\delta^{13}\text{C}$ 测定值标准偏差越大，沸点越低化合物受到影响越大。最终选择响应强度较高，同位素测定值稳定，更接近室温的 20°C作为萃取温度。

1.6.4 萃取时间

固相微萃取是一种平衡萃取技术，可以测量样品中分析物的游离浓度。与完全萃取方法（例如液液萃取、索氏提取等）相比，平衡萃取技术操作更为简便，允许被分析物进行预富集且不需要净化步骤。萃取时间是整个固相萃取过程中重要的参数，平衡时间或者非平衡萃取时间关系到整个方法的灵敏度、重复性和分析效率。比较了 5min、10min、20min、30min、40min、50min、60min、80min 和 100min 不同萃取时间单环芳烃类化合物萃取效果和稳定碳同位素测定结果。

从实验结果看（图 3a），挥发性最强的苯在 5 分钟时已经达到平衡，甲苯次之在十分钟

左右达到平衡，其余化合物沸点略高，挥发性较弱基本在 30 分钟达到萃取平衡。萃取时间 5min 时，萃取头纤维和顶空间目标物未达到平衡，除苯外其余化合物 $\delta^{13}\text{C}$ 测定值标准偏差较大（图 3b）；萃取时间超过 50min 后， $\delta^{13}\text{C}$ 测定值在仪器误差范围内，但标准偏差明显高于 10min~40min 萃取时间 $\delta^{13}\text{C}$ 测定值。为提高分析效率，根据方法灵敏度，选择采用非平衡时间 20 分钟作为萃取时间。

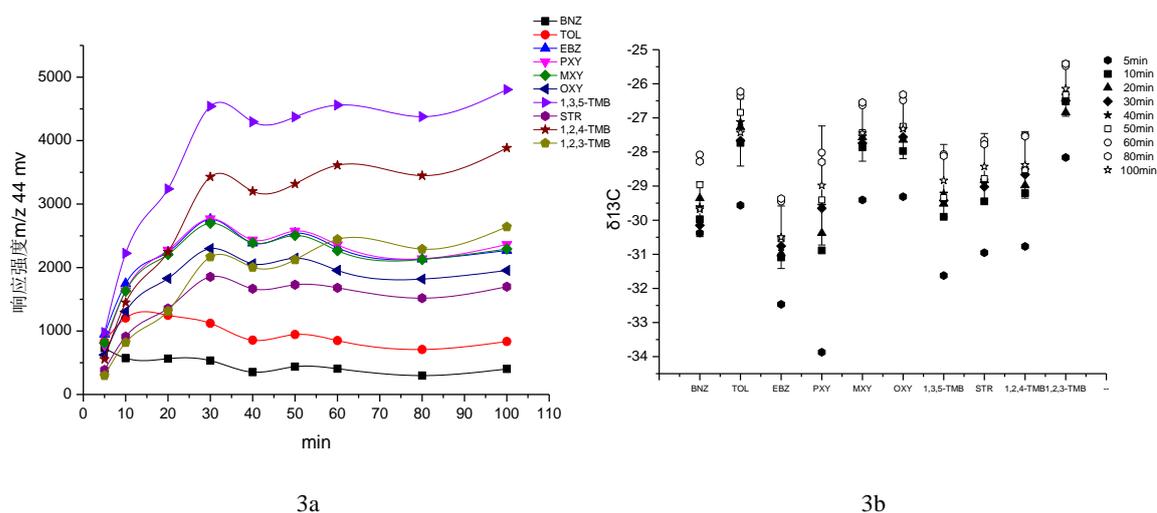


图 3 不同萃取时间单环芳烃类化合物萃取效果及稳定碳同位素比值

1.6.5 搅拌速率

搅拌有助于样品和涂层间的传质，能有效缩短平衡时间，并提高非平衡萃取的灵敏度。比较了每分钟 0、300、600、900、1200、1500 不同转速下的萃取效率和稳定单体碳同位素值变化。在搅拌速度每分钟 900 转时，各化合物有较佳响应（图 4a）。采用不同搅拌速度时， $\delta^{13}\text{C}$ 测定值变化在仪器误差范围内（图 4b），证明搅拌速率变化不会造成稳定碳同位素分馏。

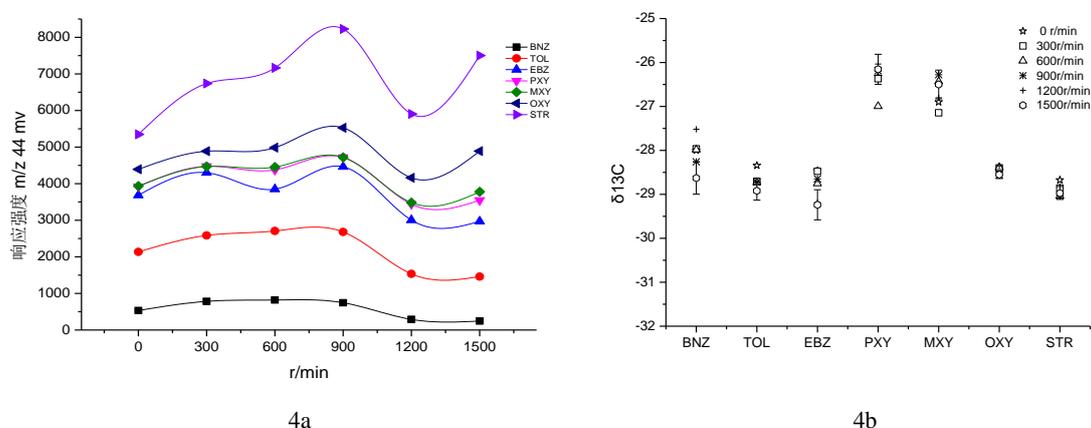


图 4 不同搅拌速度单环芳烃类化合物萃取效果及稳定碳同位素比值

1.6.6 样品体积

分析方法的灵敏度和萃取时从分析样品中得到物质的量直接相关，一定范围内分析物萃取的量随着样品体积的增大而增加。在样品体积选择上固相微萃取比其他自动进样的单环芳烃稳定碳同位素分析方法有更大优势，自动进样能提高工作效率，但通常受进样瓶大小、或定量环体积限制使得实验样品体积无法扩大，例如吹扫捕集最大进样量为 25mL。

比较在 60mL 样品瓶中分别添加 10mL、20mL、30mL、40mL、50mL 含有 4 μ g/L 目标化合物的水样时，单环芳烃类化合物萃取效果和稳定碳同位素测定结果。从图 5a 中可以看到，沸点最低两个化合物苯和甲苯相应强度随着样品体积增大缓慢增加，其余化合物基本在样品体积为 40mL 时出现峰值。推断主要原因是苯和甲苯在水中溶解度大，样品体积增加会增大其在顶空间浓度，同时在水中溶解量也相应增加，是一个动态平衡过程，相应的响应强度增加缓慢。而其余目标物在水中溶解度较小，挥发性较弱，在样品体积为 40mL 时，样品、顶空间和萃取头纤维三者之间的分配系数达到最优，得到响应峰值。不同样品体积目标物 $\delta^{13}\text{C}$ 测定值均在仪器误差范围内（图 5b），样品体积的变化不会造成稳定碳同位素分馏。

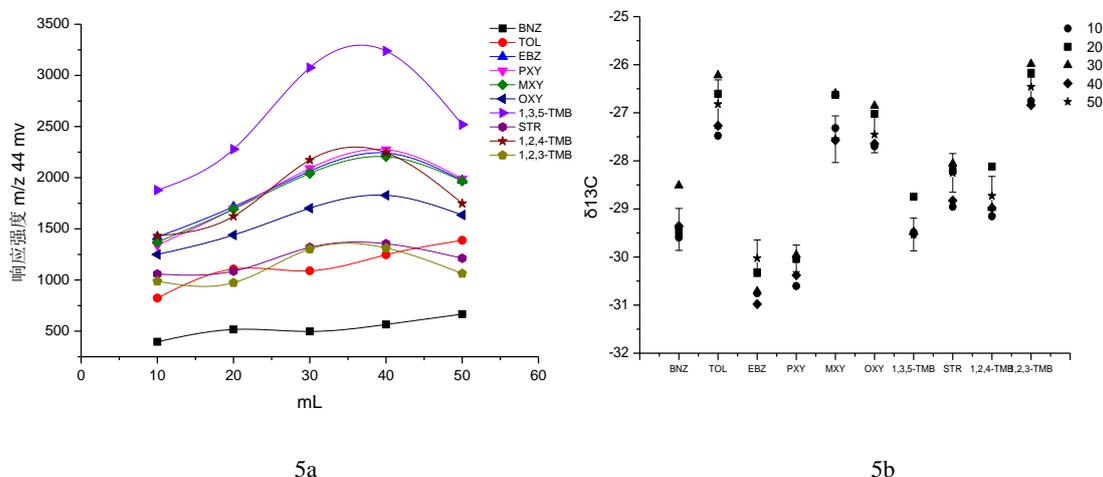


图 5 不同样品体积单环芳烃类化合物萃取效果及稳定碳同位素比值

1.6.7 离子强度

在样品中添加盐可以增加样品溶液的离子强度，增大目标物在顶空间分配系数，改善分析方法灵敏度。盐析效应可以加快目标物分子从样品基质到顶空间的传质速率，同时会减少其在水中溶解度，增加顶空间浓度，还能统一不同样品间盐度。NaCl 是最常被用来调节离子强度的盐，在 40mL 样品中分别添加 0g、1g、2g、4g、6g、8g、10g、15gNaCl，比较单环芳烃类化合物萃取效果和稳定碳同位素测定结果。

从图 6a 可以看出，沸点低的目标物苯、甲苯、乙苯在盐量较少时响应强度变化不显著，当添加量达到 4g 之后才有明显增长，可以看到三个响应平台。0g~3g 添加量时，响应强度相当；4g~6g 添加量时，响应强度相当；8g~10g 添加量时，响应强度相当；添加量达到 15g 时，样品中 NaCl 过饱和（20°C NaCl 溶解度为 36.0g/100g 水）此时目标物响应强度达到峰值。其余沸点较高化合物从添加 NaCl 起响应强度就有明显变化分别在 4g~6g 添加量和 8g~10g 添加量时有两个响应强度平台，添加 NaCl 过饱和时也出现响应强度峰值。添加不同量 NaCl 时，目标物 $\delta^{13}\text{C}$ 测定值均在仪器误差范围内（图 6b），离子效应化不会造成稳定碳同位素分馏。综合考虑添加 NaCl 会增加样品体积，减少顶空间，对目标物分配系数产生影响，最终确定采用添加 8gNaCl。

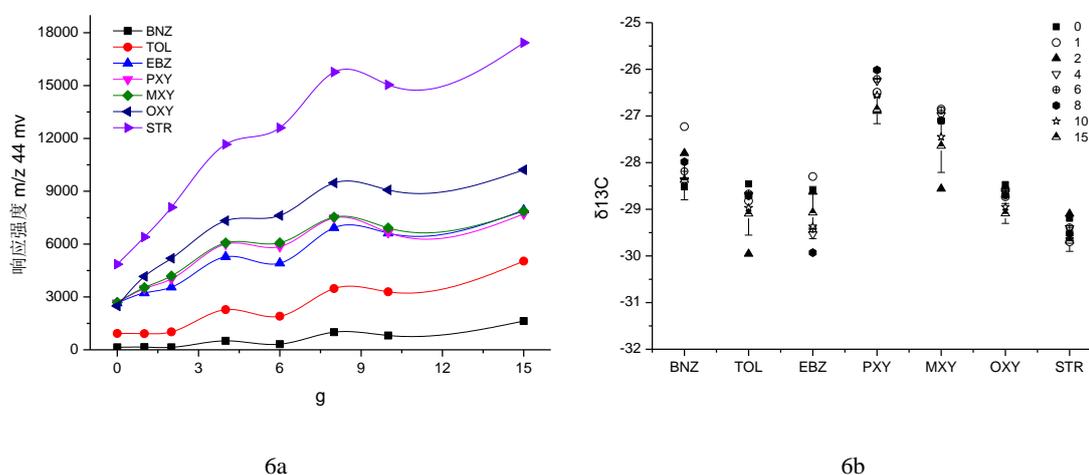


图 6 不同 NaCl 添加量单环芳烃类化合物萃取效果及稳定碳同位素比值

1.7 GC-IRMS 条件

1.7.1 色谱柱优化

对比了 MEGA-WAX（0.25 μm 膜厚，0.25mm \times 30m）和 Rtx $\text{\textcircled{R}}$ -502.2（1.8 μm 膜厚，0.32mm \times 60m）两根色谱柱对单环芳烃类化合物分离效果。Rtx $\text{\textcircled{R}}$ -502.2 柱子对于挥发性的有机污染物有独特的选择性，其固定相为二苯基/二甲基聚硅氧烷，柱流失较低，热稳定性高，能较好保留低沸点化合物，但是不能分离间对二甲苯这对同分异构体（如图 7b）。MEGA-WAX 柱是极性色谱柱，其固定相主要是聚乙二醇，对单环芳烃类化合物分离较好，能将 502 柱分离不开的间对二甲苯基本实现基线分离，同时因膜厚较薄，柱长短，整体分析时间更短，能显著提高分析效率（如图 7a）。选择 MEGA-WAX 柱作为分析柱。

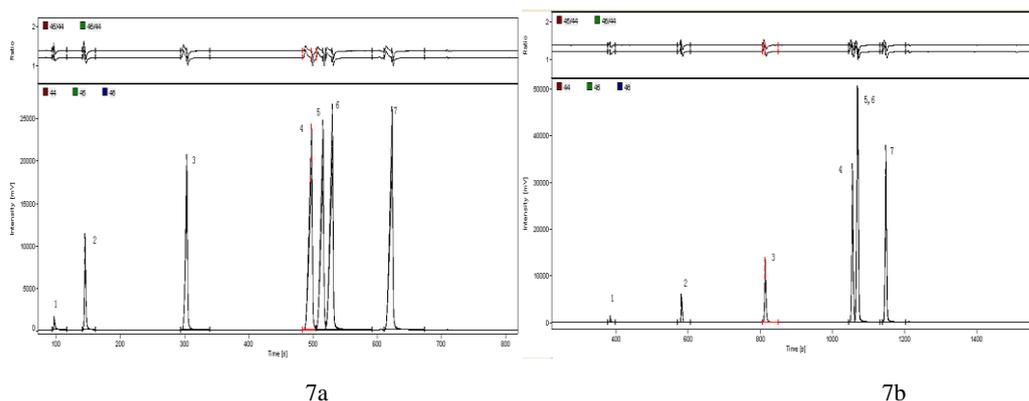


图 7 不同色谱柱分析单环芳烃类化合物稳定碳同位素比值

1.7.2 进样衬管

使用 SPME 和 GC-IRMS 联用测定单环芳烃类化合物单体碳同位素时，要在不完全萃取状态下满足同位素质谱对目标元素的绝对质量较大的要求，必须改善方法的灵敏度。选用 0.75mm 内径的进样衬管比普通 2mm 内径的进样衬管载气的线速度更快，能更快速将分析物传输到分析柱，形成较窄的扩散带，并得到更尖锐的峰，还可以减少样品损失或峰拖尾，有效提高方法灵敏度。

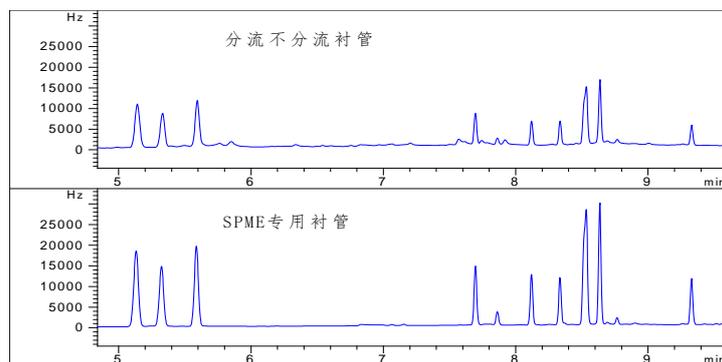


图 8 不同衬管对单环芳烃类化合物响应强度影响

1.7.3 气相色谱参数

气相色谱参数优化的过程中需要综合考虑分流比、升温程序、载气流量等多个参数。在 GC-IRMS 分析中需要尽量实现目标化合物基线分离。最终优化气相色谱分析条件：载气为高纯氮，恒流模式，流量: 2.0 mL/min; 升温程序: 初始温度: 35°C, 保持 2 min; 以 2°C/min 升至 50°C, 保持 2min; 以 4°C/min 升至 80°C, 保持 1 min; 以 15°C/min 升至 180°C, 保持 3 min; 不分流进样。

1.8 不同源单环芳烃单体稳定碳同位素测定

购买三家不同生产厂商的单环芳烃标准分别测试 3 次。因生产工艺、原材料的不同，所用单环芳烃标准有不同的同位素组成，具体数值如表 4 所示。

表 4 单环芳烃类化合物 SPME-GC-C-IRMS 方法检出限 $\delta^{13}\text{C}$

化合物	A 标准		B 标准		C 标准	
	测量均值 ($\delta^{13}\text{C}\%$)	精密度 $\delta(\text{‰})$	测量均值 ($\delta^{13}\text{C}\%$)	精密度 $\delta(\text{‰})$	测量均值 ($\delta^{13}\text{C}\%$)	精密度 $\delta(\text{‰})$
苯	-30.352	0.132	-30.530	0.014	-28.010	0.004
甲苯	-27.725	0.046	-28.511	0.089	-26.842	0.030
乙苯	-26.078	0.031	-26.172	0.112	-30.193	0.200
对二甲苯	-29.746	0.199	-30.147	0.048	-29.577	0.122
间二甲苯	-29.131	0.096	-30.545	0.024	-27.120	0.077
邻二甲苯	-26.583	0.050	-26.780	0.169	-27.673	0.105
1,3,5-三甲苯	-27.432	0.012	-27.978	0.234	-30.645	0.117
苯乙烯	-30.831	0.080	-31.629	0.369	-27.875	0.041
1,2,4-三甲苯	-28.755	0.029	-26.726	0.184	-29.574	0.080
1,2,3-三甲苯	-29.396	0.060	-29.746	0.215	-27.007	0.160

1.9 检出限

富集水中单环芳烃类的方法有液液萃取法、吹扫捕集法等，但这些方法中液液萃取富集效率较差，吹扫捕集样品量受限制且仪器设备昂贵。针对地下水中单环芳烃痕量或超痕量同位素分析要求，对所建立分析方法检出限进行测定，用空白地下水样品中配制浓度为 $0.10\mu\text{g/L}$ 单环芳烃标准，测定三次，具体结果见表 5，从测试结果可以看出在 $0.10\mu\text{g/L}$ 时重复测试 3 次结果稳定，精密度均小于 0.5‰ ，满足碳同位素测试要求。

表 5 单环芳烃类化合物 SPME-GC-C-IRMS 方法检出限 $\delta^{13}\text{C}$

化合物	测量值 ($\delta^{13}\text{C}\%$) 添加浓度 $0.10\mu\text{g/L}$			均值(‰)	精密度 $\delta(\text{‰})$
	1	2	3		
苯	-31.580	-30.935	-31.415	-31.310	0.335
甲苯	-27.470	-27.581	-27.365	-27.472	0.108
乙苯	-28.603	-28.096	-27.939	-28.213	0.347
对二甲苯	-30.106	-30.444	-30.097	-30.216	0.198
间二甲苯	-28.615	-28.887	-29.270	-28.924	0.329
邻二甲苯	-27.036	-27.422	-27.072	-27.177	0.213
1,3,5-三甲苯	-26.923	-27.058	-26.931	-26.971	0.076
苯乙烯	-30.039	-30.347	-30.040	-30.142	0.178
1,2,4-三甲苯	-27.558	-27.770	-27.591	-27.640	0.114
1,2,3-三甲苯	-29.671	-30.024	-29.619	-29.771	0.220

1.10 地下水中单环芳烃稳定单体碳同位素分析方法的初步应用

随着工业化进程的不断加速，土壤和地下水受到的威胁越来越大。单环芳烃类和氯代烃类化合物在工业上的大规模使用，土壤和地下水中都有不同程度检出。有机污染物可能存在多个污染源，且有机污染物的降解过程是非常复杂，近年来单体同位素分析技术越来越多地应用于环境污染物的源解析和归趋研究，对有机污染物进行溯源和环境行为描述。本研究尝试用优化后 SPME-GC-C-IRMS 分析方法分别进行了实际地下水样品分析和水中甲苯高级氧化过程中碳同位素变化测定。

1.10.1 实际样品分析

采集不同地区，单环芳烃污染样品对所建立分析方法进行验证，测定结果见表 6。

表 6 地下水中单环芳烃类化合物 SPME-GC-C-IRMS 方法 $\delta^{13}\text{C}$ 结果

化合物	A 样品		B 样品		C 样品	
	同位素均值 ($\delta^{13}\text{C}\%$)	浓度均值($\mu\text{g/L}$)	同位素均值 ($\delta^{13}\text{C}\%$)	浓度均值 ($\mu\text{g/L}$)	同位素均值 ($\delta^{13}\text{C}\%$)	浓度均值 ($\mu\text{g/L}$)
苯	-25.850	1.92	-26.850	1.17	-	-
甲苯	-27.368	2.09	-24.152	0.98	-28.183	3.61
乙苯	-30.916	1.48	-	-	-27.188	1.72
对二甲苯	-27.112	3.35	-	-	-	-
间二甲苯	-26.164	5.22	-	-	-	-
邻二甲苯	-27.425	0.89	-	-	-	-
1,3,5-三甲苯	-	-	-	-	-	-
苯乙烯	-	-	-28.772	4.32	-	-
1,2,4-三甲苯	-	-	-	-	-	-
1,2,3-三甲苯	-	-	-	-	-	-

从结果中看实际样品中单环芳烃类化合物由于来源不同，环境不同，碳同位素值差异较大，如需要对化合物进行溯源分析，还需要结合其他相关信息作进一步深入判定，单纯依靠同位素信息不能确保准确溯源。

1.10.2 甲苯的高级氧化降解

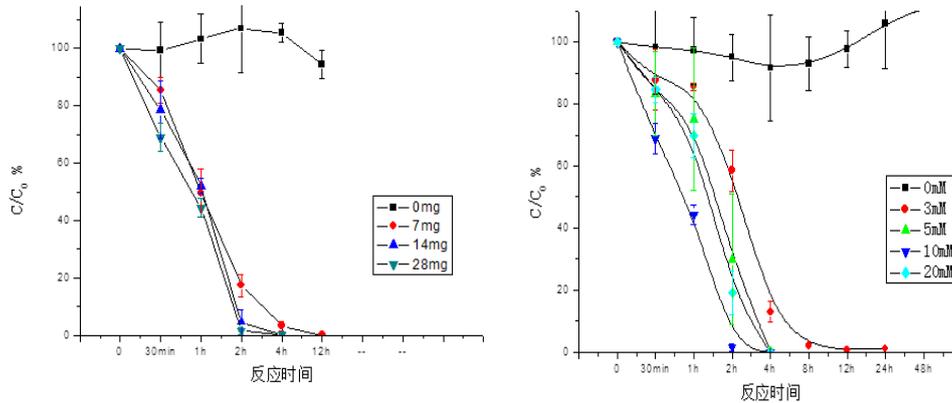


图 9 铁和过硫酸钠用量优化结果

分别对过硫酸钠和铁的用量进行优化,发现单一的铁的体系或者过硫酸钠体系不能降解甲苯,在过硫酸钠体系中零价铁催化过硫酸钠能有效降解甲苯,随着零价铁含量的增加,其降解速率增加。如图 9 所示。

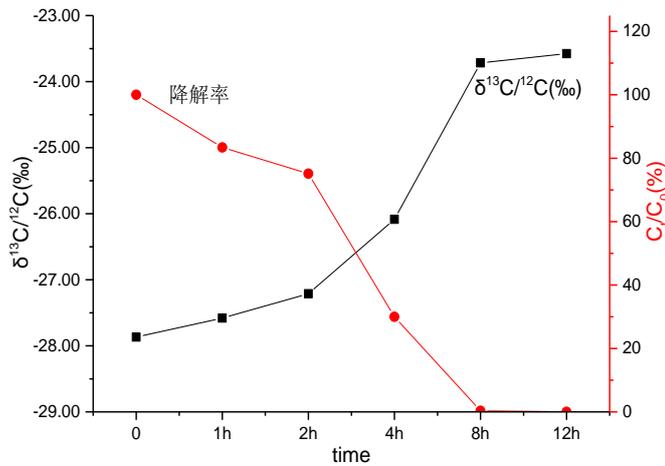


图 10 甲苯降解率和碳同位素变化曲线

选择适当铁和过硫酸钠配比,在反应的前两个小时中,甲苯的降解速率较慢,而在 2h 到 8h,甲苯被迅速降解,反应 8h 后,甲苯基本降解完全,浓度从 100mg/L 降解为 3.42mg/L。降解过程中甲苯的碳同位素值也相应变化,反应前两小时,甲苯的碳同位素值缓慢增大,2h 到 8h 急剧增大,8h 后甲苯基本降解完全,其碳同位素值趋于稳定,整个降解过程碳同位素从-27.8673 升高到-23.577,详见图 10。

经过降解以后,甲苯的浓度和单体碳同位素值都发生了变化,通过测定甲苯的浓度和单体碳同位素的初始值和终点值,即可根据 Rayleigh 方程求得甲苯中 C 的富集系数 ϵ 。

Rayleigh 方程如下:

$$\ln\left(\frac{1000+\delta_t}{1000+\delta_0}\right) = \frac{\epsilon}{1000} \ln f \quad (1)$$

式(1)中: δ_t 为 t 时刻目标物的同位素组成, δ_0 为目标物的初始同位素组成, $f=C_t/C_0$, 表示 t 时刻目标物的残留比例, C_t 为 t 时刻目标物的浓度, C_0 为目标物的初始浓度。

为了量化降解过程中碳同位素的分馏, 利用 Rayleigh 方程对降解过程中浓度和碳同位素值进行拟合, 如图 11 所示。 $\ln[(R+1000)/(R_0+1000)]$ 和 $\ln f$ 拟合的 R^2 大于 0.99, 表明降解过程中甲苯的碳同位素分馏遵循 Rayleigh 分馏模型。根据方程可知, 拟合直线的斜率即为富集系数 $\epsilon/1000$, 降解甲苯的富集系数为-1.3, 甲苯的降解率为 97%。

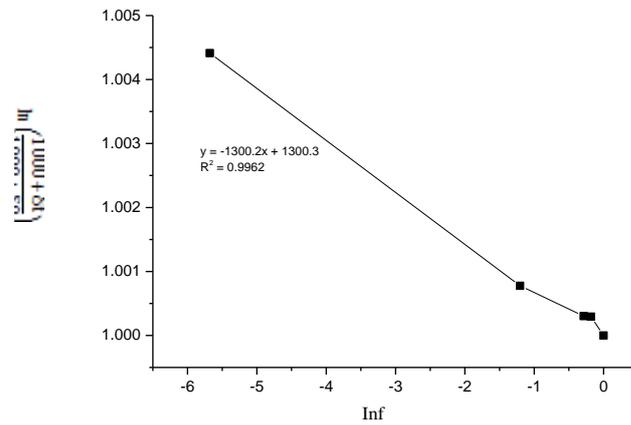


图 11 甲苯降解过程中浓度与碳同位素的拟合

2 土壤中 DDE 的气相色谱-四级杆质谱在线稳定氯同位素比值分析方法研究

2.1 p,p'-DDE 离线 Gasbench-IRMS 稳定氯同位素前处理方法优化

p,p'-DDE 是有机氯农药 p,p'-DDT 的主要一级降解产物 (见图 12), 在环境中几乎不能被生物所降解, 因此残留期非常长。通过测定化合物的 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值, 可以揭示不同降解途径下氯元素的分馏规律和特征, 有利于监测含氯化合物的迁移和降解过程, 评价环境体系中含氯有机物的污染和防治措施的有效性。

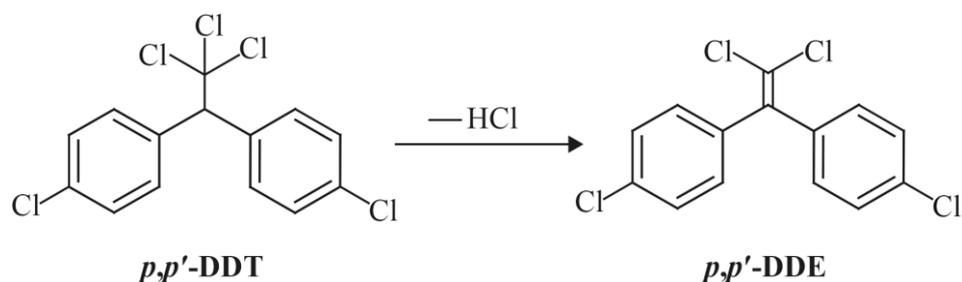


图 12 p,p'-DDT 与 p,p'-DDE 的关系式

目前, 含氯有机物中 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值的分析技术, 即 CSIA (compound specific isotope analysis) 技术, 以离线测定法为主。采用离线法测定含氯挥发性有机物, 如二氯甲烷、三氯乙烯、四氯乙烯和四氯化碳等化合物中 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值的前处理方法以氧化脱氯法为主, 且已有诸多报道。含氯半挥发性有机物 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值测定的氧化脱氯样品前处理方法也有报道, 如 Holmstrand 等报道了 p,p'-DDT 和 p,p'-DDE 的 CuO 氧化脱氯方法, 但仅研究了 p,p'-DDT 前处理的实验条件, 最终确定反应条件为 630 °C 和 2.0 h。而对 p,p'-DDE 氧化脱氯反应条件, 脱氯产物 Cl^- 与其 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值的相关性以及方法的准确度和精密度尚未见报道。鉴于此, 本研究以 CuO 为氧化剂, 以含氯半挥发性有机污染物 p,p'-DDE 为目标研究物, 借鉴半挥发性有机氯化物离线法测定 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值的样品制备技术, 开展适用于测定 p,p'-DDE $\delta^{37}\text{Cl}$ 值的氧化脱氯样品制备方法的研究 (见图 13~图 15), 测定 p,p'-DDE 氯产率方法。

原理及方法简介: 高温、真空密闭条件下, p,p'-DDE(约 0.002-0.003g, 精确到 0.00001g) 与过量的氧化剂 CuO (约 1.0g, 精确到 0.0001g) 充分反应, 生成 CuCl、 CO_2 和 H_2O 。生成的 CuCl 的水溶液加入显示剂 KCrO_4 , 经 AgNO_3 滴定, 先生成 AgCl 白色沉淀, 当 AgNO_3

过量时生成砖红色 AgCrO_4 沉淀，记录 AgNO_3 消耗体积，可计算出 Cl^- 离子浓度、摩尔量，并推算出 p,p' -DDE 的质量及产率。



图 13

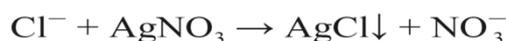


图 14



图 15

项目参考已报道的 p,p' -DDT 等反应温度 720°C ，反应时间 2.0h，氧化剂为 1.0g CuO ，0.0022g p,p' -DDE [$\text{Cl}(44.65\%)$] 为参考，先保持反应时间和氧化剂用量不变，然后分别考察不同反应温度、真空条件和反应时间对产物 CuCl 的产率的影响，以及最终产物 CH_3Cl 的稳定率同位素值准确度的影响。

首先考察了真空度对 Cl^- 的影响。 p,p' -DDE 的氧化脱氯反应须在真空条件下完成。为考察真空度对 p,p' -DDE 氧化脱氯反应的影响，分别在 720°C 、 820°C 以及反应 1 h 的条件下，于反应前准备 3 个平行样品，在液氮中抽真空至约 30 Pa，2 个平行样品未抽真空，据公式 (2) 采用离子色谱法计算 Cl^- 浓度及产率，采用 GasBench-IRMS 离线法，并依据公式 (3) 计算 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值。

$$\text{Cl}^-/\% = (\text{C}_{\text{Cl}^-} \times V) \div (m \times A) \times 100\% \quad (2)$$

式 (2) 中， V 、 m 和 A 分别表示样品定容体积、 p,p' -DDE 质量和 p,p' -DDE 中 Cl 的质量分数。

$$\delta^{37}\text{Cl}_{\text{sample}}(\%) = \left(\frac{R_{\text{sample}}}{R_{\text{reference}}} - 1 \right) \times 1000 \quad (3)$$

(3) 式中， R_{sample} 、 $R_{\text{reference}}$ 分别表示样品和参考标准物质的氯同位素比值，当参考标准物质为平均海洋氯 (standard mean ocean chloride, SMOC) 时， $\delta^{37}\text{Cl}_{\text{sample}}(\%)$ 也写作 $\delta^{37}\text{Cl}_{\text{sample SMOC}}\%$ 。

结果(表 7)表明：在两个温度条件下，未抽真空处理组 Cl^- 的产率 ($\leq 80\%$) 均低于抽真空处理组的 Cl^- 产率，且温度越高， $\delta^{37}\text{Cl}$ 值越偏正。其原因可能是：一方面由于高温及未抽真空反应管中大量的水气与 Cl^- 发生反应，产生了易挥发的 HCl ，从而造成 Cl^- 产率降低。另一方

面，根据同位素动力学分馏原理，较轻的 ^{35}Cl 先发生副反应，故收集到的 Cl^- 的 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值偏正。因此，为提高产物中 Cl^- 的产率并避免副反应的发生，高温反应前需将真空值抽至 30Pa 左右。

表 7 真空度对 Cl^- 产率及 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值的影响

编号	温度 (°C)	时间	压力 (Pa)	$\delta^{37}\text{Cl}_{\text{productSMOC}}/\text{‰}$	Cl^- 产率(%)
1	720	1.0	24	-3.09	95
2	720	1.0	20	-3.05	98
3	720	1.0	23	-2.99	93
4	720	1.0	未抽真空	-2.36	72
5	720	1.0	未抽真空	-2.12	77
6	820	1.0	36	-2.43	100
7	820	1.0	25	-2.64	98
8	820	1.0	29	-2.72	97
9	820	1.0	未抽真空	-1.63	69
10	820	1.0	未抽真空	-1.79	66

其次，考察了反应温度和时间对产率和稳定氯同位素值的影响。

为确定 p,p'-DDE 氧化脱氯的最佳反应温度和时间，在 p,p'-DDE 和氧化剂 CuO 用量不变的条件下，分别设置了不同反应温度 (520、620、720、820 和 900°C) 以及不同反应时间 (0.5 和 1 h) 对 Cl^- 产率和 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值测定结果精密度的影响。通过测定并计算不同反应条件下 Cl^- 产率和 $\delta^{37}\text{Cl}_{\text{productSOMC}}$ 值，得出离线法测试 p,p'-DDE $\delta^{37}\text{Cl}$ 值的最适氧化脱氯条件。重复 3~5 次。

图16中总结了实验结果。图16中给出了不同反应温度 (520、620、720、820、900 °C) 及不同反应时间 (0.5、1.0、2.0 h) 条件下，氧化脱氯反应中 Cl^- 的产率及产物的 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值。从图中可看出，随反应温度的升高和反应时间的延长，总体上， Cl^- 产率逐渐提高，氧化脱氯反应越完全、 $\delta^{37}\text{Cl}$ 的值不断偏正。当反应时间为 1h 时，在 520~820°C 范围内，其 Cl^- 产率从62%提高到98%， $\delta^{37}\text{Cl}$ 值从 $-3.52\pm 0.04\text{‰}$ 增加到 $-2.64\pm 0.12\text{‰}$ ；当反应温度为720°C时，反应时间由 0.5h 增加到1.0 h 时，其 Cl^- 产率则从91%提高到96%。以上结果可用瑞利分馏模型解释： ^{35}Cl 比 ^{37}Cl 先发生反应，因此反应温度越低， Cl^- 产率越低，产物的 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值越偏负，分馏程度越大。故本研究反应温度为 520°C 时， Cl^- 产率最低，产物的 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值最偏负。随着反应温度继续升高， $\delta^{37}\text{Cl}$ 值偏正趋势增强，而 Cl^- 产率表现出下降趋势。当反应时间为1 h 时，反应温度从 720°C 升至900°C， $\delta^{37}\text{Cl}$ 值从 $-3.04\pm 0.04\text{‰}$ 增加到 $-0.98\pm 0.09\text{‰}$ ，而 Cl^- 产率从 96% 降低到85%。反应温度为820和900°C 时，虽然 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值明显偏正，但其增加趋势和幅度比 520~720°C 条件下更显著。该结果可能是由于高温促进了氧化反应产物中 Cl^- 与少量的水气发生副反应，较轻的 ^{35}Cl 优先与水气发生反应产生 HCl，导致收集到的 Cl^- 富含 ^{37}Cl ，

而 $\delta^{37}\text{Cl}$ 偏正。同理，在900°C条件下，当反应时间从 0.5 h 延长至1 h 时，由于副反应造成 Cl^- 产率继续降低， $\delta^{37}\text{Cl}$ 持续偏正的现象更加显著。因此，为了避免p,p'-DDE氧化脱氯过程中产物 Cl^- 和 H_2O 发生副反应，影响 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值测定结果的准确性，建议反应温度应不高于720°C。此外，本研究结果还表明：在520~720°C 和反应1 h 的条件下，p,p'-DDE氧化脱氯反应中 Cl^- 的产率和 $\delta^{37}\text{Cl}_{\text{product}}$ 值呈正相关关系，即满足线性方程 $y=1.44x-4.41$ (x 为 Cl^- 产率)， $R^2=0.96$ 。

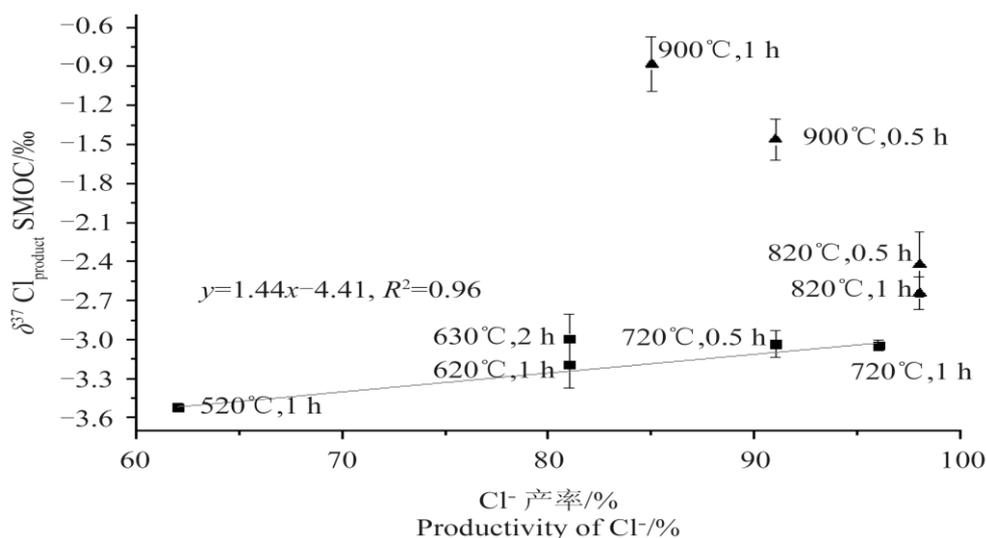


图 16 反应温度、时间对产率及待测物的稳定氯同位素值的影响

因此，本研究最终采用 720°C 条件下反应 1 h 为氧化脱氯反应条件，为不同来源的 p,p'-DDE 离线法稳定氯同位素测定的前处理方法。

2.2 不同来源的三氯乙烯、四氯乙烯和 p,p'-DDE 的单体稳定氯和碳同位素值

根据项目设计，需要通过不同来源的目标物的标准品，并测试其稳定氯同位素值，然后选定作为标准品，继而建立在线 GC-qMS 方法测定含氯有机污染物同位素比值或值。

项目选购了两种来源的三氯乙烯、四氯乙烯和三种 p,p'-DDE，采用 GC-C-IRMS 方法测试了不同来源目标物的碳同位素组成($\delta^{13}\text{C}$)，并采用离线 Gasbench-IRMS 分析了不同来源的目标物的稳定氯同位素比值 ($\delta^{37}\text{Cl}$)。

目标物的 GC-C-IRMS 分析方法的具体实验条件和参数包括：气相色谱 Thermo Trace 2000 与 MT253 连用；色谱柱为 DB-5MS，60m*0.32mm*1.0 μm ；进样口温度：190°C。

目标物的 DI-IRMS 分析方法的具体实验条件和参数包括：气体稳定同位素比值质谱仪

GasbenchII-MAT253；国际原子能机构标准物质，ISL354。根据以上实验方法测试了六种目标物的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值，具体结果见表 8。

三种目标物的 GasbenchII-MAT253 测定稳定氯同位素值的前处理方法均是采用氧化脱氯法。其中三氯乙烯和四氯乙烯的方法是采用合作实验室武汉地质大学生物地质与环境地质国家重点实验室已报到的方法，而 p,p'-DDE 采用 2.2 中最后确定的方法。

通过确定的和已报到的三种目标物的离线法稳定氯同位素前处理和仪器分析方法，测定了不同来源的标准品的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{37}\text{Cl}$ ，结果见表 8。

表 8 不同来源目标物的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{37}\text{Cl}$ 测定值

化合物	来源	$\delta^{13}\text{C}$		$\delta^{37}\text{Cl}$	
		测量值‰	精密度‰	测量值‰	精密度‰
三氯乙烯	供应 商 A	-41.31	0.14	3.94	0.12
三氯乙烯	供应 商 B	-40.79	0.18	4.17	0.20
四氯乙烯	供应 商 C	-44.26	0.13	1.28	0.21
四氯乙烯	供应 商 D	-42.45	0.18	-0.35	0.12
P,p'-DDE	供应 商 E	-39.75	0.29	-3.05	0.20
P,p'-DDE	供应 商 F	-36.59	0.47	-2.94	0.16
P,p'-DDE	供应 商 G	-	-	-2.60	0.11

根据表 8 中的结果可初步判断，四氯乙烯和 DDE 的 $\delta^{13}\text{C}$ 有较明显的区别，但两种三氯乙烯 $\delta^{13}\text{C}$ 差异极小，无法区分来源。利用 $\delta^{37}\text{Cl}$ 能有效区分两种四氯乙烯的来源。三种来源的 p,p'-DDE，可利用 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值区分来源 F 与 G，或 E 与 G，但无法区分 E 和 F 的来源，且 A 和 C 的 $\delta^{37}\text{Cl}$ 差异显著。

2.3 不同厂家 GC-qMS 测试 p,p'-DDE 稳定氯同位素比值的稳定性

购置了国产 p,p'-DDE 溶液标准，采用 Thermo 和 Simazhu 的 GC-qMS 分别测试了 p,p'-DDE。

研究中分别考察了色谱条件（如进样口温度、色谱柱程序温度）、质谱条件和扫描方式对 p,p'-DDE 的 RCI 稳定性的影响。结果表明，不同仪器对 p,p'-DDE 的灵敏度和同位素离子质荷比值稳定性没有显著影响。但离子源温度升高和选择离子扫描方式，相比于低温以及全扫描方

式分别有助于提高化合物响应的灵敏度和 RCI 的稳定性。实验数据统计结果表明采用全扫描方式时，相同浓度的 p,p'-DDE 的稳定同位素离子对的比值的相对标准偏差范围在 3-5%，而采用选择离子扫描方式时相对标准偏差可达到 2-5%。

在确定了色谱和质谱分析条件后，采用 GC-qMS 仪器分别测试了三个供应商和国产 p,p'-DDE 的稳定氯同位素碎片离子质荷比的比值（RCI）。用两种仪器分析了 0.2 μg/mL、1.0 μg/mL、2.0 μg/mL 和 5.0 μg/mL 的标准溶液，结果表明随着浓度的增加 p,p'-DDE 的 RCI 及 RSD% 值越来越稳定。图 8 给出了不同浓度 p,p'-DDE 的 RCI 及 RSD% 的变化趋势（n=10）。

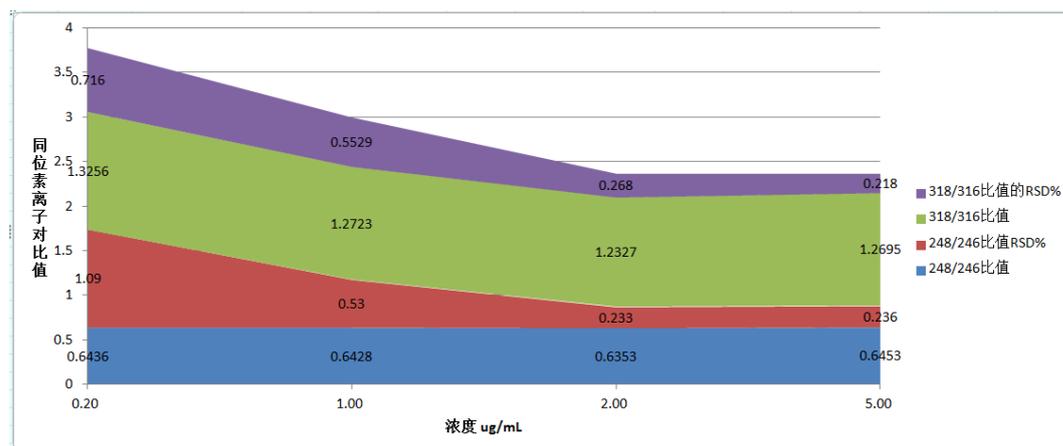


图 17 p,p'-DDE 的同位素离子对质荷比比值及 RSD 变化趋势

根据图 17 可知，随着 p,p'-DDE 浓度的增加两对同位素离子（m/z 248,246,316 和 318）RCI 及 RSD% 值逐渐稳定和降低，p,p'-DDE 的 RCI 稳定的线性范围（自动进样 10 针求均值，1.0 μL）区间基本在 1.0-10 μg/mL，此时方法的精密度可以达到 2-5%，灵敏度为 800 pmol，达到了项目任务书的要求和指标。同时，通过建立的方法测试了供应商 E、F 和 G 的 p,p'-DDE 的氯同位素比值。考虑到同位素离子对丰度和最终方法灵敏度，研究最后选择 m/z 248 和 246 一对离子进行同位素比值结果结算。结果表明，在线测试结果与离线法 Gasbench-IRMS 结果相同，即供应商 E 和 G 的 p,p'-DDE 的稳定氯同位素比值（RCI 等于 m/z 248 与 246 峰面积之比）有显著差异，分别为 0.6455±2.3% 和 0.6459±5.0%。

2.4 目标物 p,p'-DDE 萃取头选择及萃取条件的优化

比较 2 种固相萃取头 PEG 和 PDMS 对水中 p,p'-DDE 吸附特性，并考察了不同温度、样品基体性质、富集时间和富集效率对 p,p'-DDE 的 GC-qMS 分析时，同位素离子对质量比值的影响。实验结果表明分别采用不同萃取头富集模拟样品中的 p,p'-DDE 时，当萃取时间不同时对萃取效率有显著的影响，但 GC-qMS 测定 p,p'-DDE 的同位素离子对强度比值不变，即萃取头对目标物进行吸附时没有发生同位素分馏作用。例如表 9 是采用 PEG 萃取头对模拟样品中 p,p'-DDE 富集不同萃取时间后，采用 GC-qMS 分析后 p,p'-DDE 同位素离子对响应（色谱峰面积）的比值。

表 9 不同萃取条件 p,p'-DDE 同位素离子对响应值比较

萃取头	时间(h)	测量值			均值和 RSD(%)
		1	2	3	
PEG	0.5	0.6478	0.6488	0.6487	0.6484 ;0.5
	1.0	0.6490	0.6484	0.6488	0.6487 ;0.3
	1.5	0.6492	0.6493	0.6483	0.6489 ;0.5

同时比较了萃取温度对富集效率的影响。分别比较了 40°C, 50°C 和 60°C 下 PEG 萃取头对目标物的萃取和富集效率, 实验结果表明随着温度的升高, SPME 萃取头对目标物的富集效率逐渐增强, 且同位素比值没有显著差异, 最后确定 60°C 为萃取温度。其主要原因可能是温度的提高, 有效提高了目标物在水介质中的运动速度和活动熵值, 有利于水介质中目标物的均匀分配以及快速达到平衡。

最后, 考察了商用 PDMS 和自制 PEG 萃取头富集目标物时含盐量对目标萃取效率及富集重现性。结果表明样品中加入 15% 的 NaCl 有助于目标物的富集。在确定的试验条件下, 两种萃取头的富集稳定性良好。图 7 是采用 PEG 萃取头富集模拟样品盐水 (15%) 中目标物 3 次平行样品的 GC-qMS 色谱图。

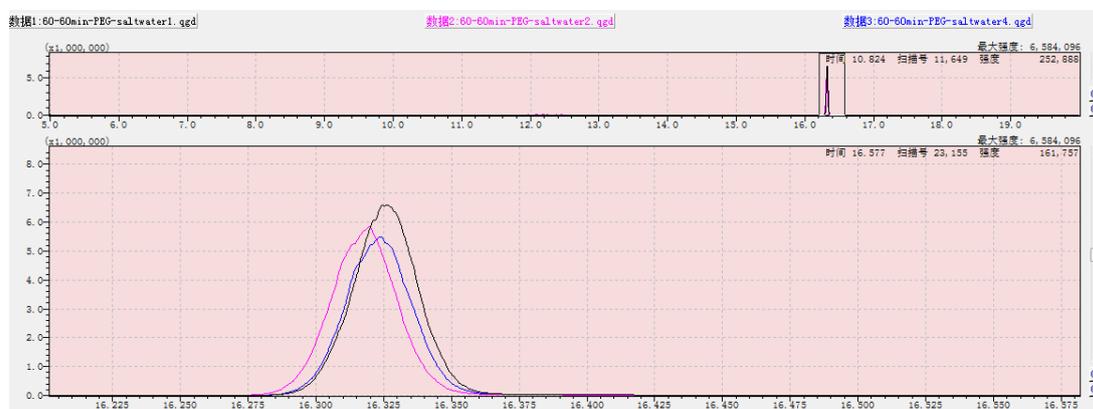


图 18 PEG 萃取头对模拟样品中 p,p'-DDE 萃取实验的重复性

同时实验结果发现, 萃取头的老化时间对目标物萃取效率的重现性有显著影响。例如分别考察了萃取头不老化, 老化 30min 和老化 60min 对下一个样品萃取效率的影响。图 18 是采用 PDMS 萃取头时, 萃取头的老化对下一个平行处理样品中 p,p'-DDE 富集效果的的对照色谱图。如图可以看出, 萃取头的老化对重复使用萃取头时, 目标物萃取效率及萃取重现性非常重要。

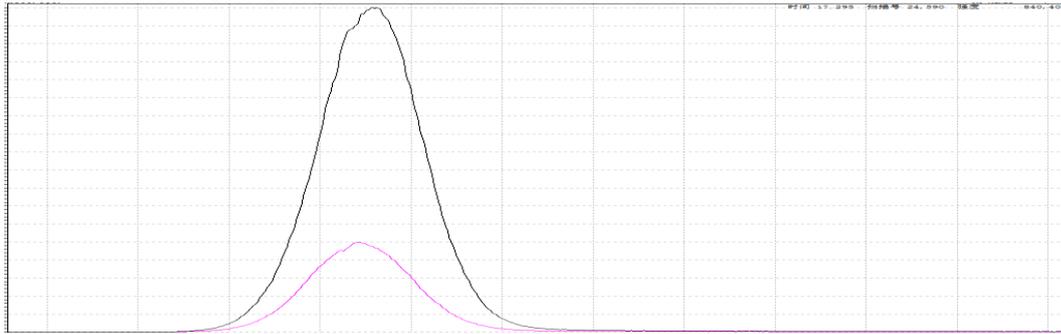


图 19 萃取头老化对目标物富集效率的影响 (黑色: 老化后色谱图)

根据以上确定的各种试验最佳条件或参数, 采用 PEG 和 PDMS 萃取头分别测试了 SPME-GC-qMS 方法测定水相体系中 p,p'-DDE 的稳定氯同位素比值的灵敏度和准确度。模拟样品为 20mL 的 15% 含盐水溶液, 然后加入不同体积的浓度为 1.0 μ g/mL 的 p,p'-DDE 的标准溶液, 测试方法的灵敏度和精密度。3.3 中已经确定了 GC-qMS 方法测定 p,p'-DDE 稳定氯同位素比值的最小浓度为 1.0 μ g/mL, 因此这里以自动进样时 1.0 μ g/mL 的 p,p'-DDE 的色谱响应值为标准, 衡量 SPME-GC-qMS 测试方法的灵敏度和精密度。根据实验结果, 最后确定的 SPME-GC-qMS 方法的线性范围是 1.0ng/mL-6.0ng/mL, 图 20 是 1.0ng/mL-6.0ng/mL 模拟样品中 p,p'-DDE 与自动进样 1.0ng/mL 的 SPME-GC-qMS 富集色谱图对比。

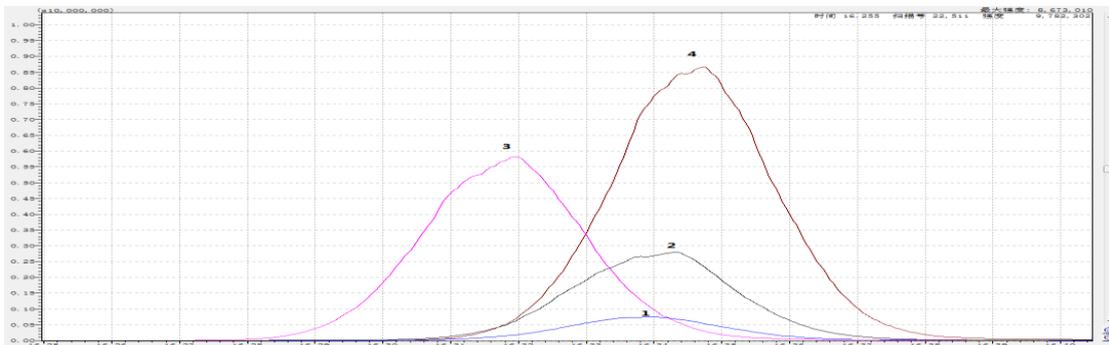


图 20 不同浓度待测物的 SPME-GC-qMS 色谱图对比(1-4 分别是自动进样和 1.0-6.0ng/mL 的色谱图)

以供应商 E 的 p,p'-DDE 为标准, 采用建立的方法计算供应商 G 的 $\delta^{37}\text{Cl}$ 值和方法的灵敏度、精密度(见表 10)。根据表 10 可计算出方法的灵敏度可达到 20pmol 的氯, 精密度 <1%, 达到了任务书的要求。

表 10 模拟样品中 p,p'-DDE 不同浓度 SPME-GC-qMS 法计算的 $\delta^{37}\text{Cl}$

样品浓度	测量值 ($\delta^{37}\text{Cl}$ %)			均值(%)	精密度 δ (%)
	1	2	3		
1.0ng/mL	-2.75	-2.313	-3.030	-2.89	0.36
2.0ng/mL	-2.90	-2.28	-4.01	-3.07	0.87
3.0ng/mL	-2.93	-2.468	-2.159	-2.52	0.39

2.5 土壤中 p,p'-DDE 的 SPME-GC-qMS 稳定氯同位素比值测定

土壤样品中的 p,p'-DDE 通常是采用索氏抽提、加速溶剂萃取或超声波萃取等方法提取。提取溶剂通常为有机试剂，如丙酮、正己烷、二氯甲烷和甲醇等。由于选用的 PDMS 固相萃取头必须萃取水相中的目标物，因此需要将提取的土壤溶液中的正相体系转化成反相的水相溶液。

本研究中选择了丙酮/正己烷 (1:1) 提取体系，采用超声波提取法提取土壤中的 p,p'-DDE，然后将萃取液浓缩近干，并用弱的氮气流吹干有机溶剂，最后向样品中加入含 15%NaCl 的水溶液，充分振摇均匀。最后采用建立的 SPME-GC-qMS (方法参数见表 11) 方法测试样品中 p,p'-DDE 的稳定氯同位素比值。

表 11 土壤中 p,p'-DDE 稳定氯同位素比值的 SPME-GC-qMS 方法参数

操作步骤	技术	技术参数	备注
p,p'-DDE 的提取	超声波提取	5g 土壤，加 30ml 提取溶剂 (丙酮/正己烷,1/1)，20°C 提取 15min； 然后将提取液过滤、浓缩、氮吹干后加 20mL 的 15%NaCl 的盐水溶液。	注意超声波温度不可太高
p,p'-DDE 的富集	SPME	温度：60°C 时间：60min 搅拌速度：250r/min 萃取头：PDME 样品体积：20mL	萃取头需要在 250°C GC 气相进样口或汽化室惰化 60min；
p,p'-DDE 同位素比值	GC-qMS	进样口：250°C； 解析时间：2.5min； 扫描：SIM，m/z246,248,316,318	计算 R_{cl} 时需要固定积峰的时间范围。

采用以上实验技术和建立的 p,p'-DDE 的 SPME-GC-qMS 稳定氯同位素比值方法，测定了两个南京土壤样品和一个北京土壤样品中 p,p'-DDE 的稳定氯同位素比值。测定结果显示供应商 E 的标准 p,p'-DDE 的 R_{cl} 为 0.6484，两个南京土壤样品中 p,p'-DDE 的 R_{cl} 分别为 0.6478 (n=5) 和 0.6489 (n=5)，而北京土壤样品中的 p,p'-DDE 的 R_{cl} 为 0.6472。根据单体稳定氯同位素同位素值的计算方法，三个土壤样品中 p,p'-DDE 的 $\delta^{37}Cl$ 分别是 -3.79‰，-2.27‰ 和 -4.90‰，三者之间有显著差异，不同土壤样品中 p,p'-DDE 稳定氯同位素比值差异的原因，需要进一步研究。这可能是土壤样品中 p,p'-DDE 的来源、母体施用时间或降解途径不同造成的。

3 地下水中氯代烃的气相色谱-四级杆质谱在线稳定氯同位素比值分析方法研究

三氯乙烯和四氯乙烯是两种典型的挥发性氯代有机污染物。

研究中分别采用了 GC-MS 和 P&T-GC-qMS 两种方法测定目标物稳定氯同位素比值方法的研究。通过色谱条件、质谱条件和吹扫捕集参数的选择和优化确定了最佳的实验条件，并测试了不同浓度范围内两种分析方法目标物的氯同位素比值的灵敏度和稳定性，每个浓度重复测定 10 次。实验结果表明采用 GC-qMS 直接进样及 P&T-GC-qMS 分析目标物时，目标物的两对稳定氯同位素离子对峰面积的比值没有区别，但采用 P&T-GC-qMS 方法分析目标物时，能够显著提高分析的灵敏度，所以后续采用 P&T-GC-MS 技术建立水体中三氯乙烯和四氯乙烯的稳定氯同位素比值分析方法。

随后采用 P&T-GC-qMS 方法分析了不同来源三氯乙烯和四氯乙烯稳定氯同位素比值，并考察了该比值与进样浓度的关系。实验结果表明，随着目标物进样浓度的增加，两种三氯乙烯和四氯乙烯的稳定氯同位素比值的稳定性和精密度都显著提高，并趋于稳定的值或区间。图 10 展现了 P&T-GC-qMS 条件下不同浓度目标物的稳定氯同位素碎片离子 $m/z166$ 与 164 ，以及 $m/z134$ 与 132 质荷比（色谱峰面积）的均值及 RSD 值（%）。

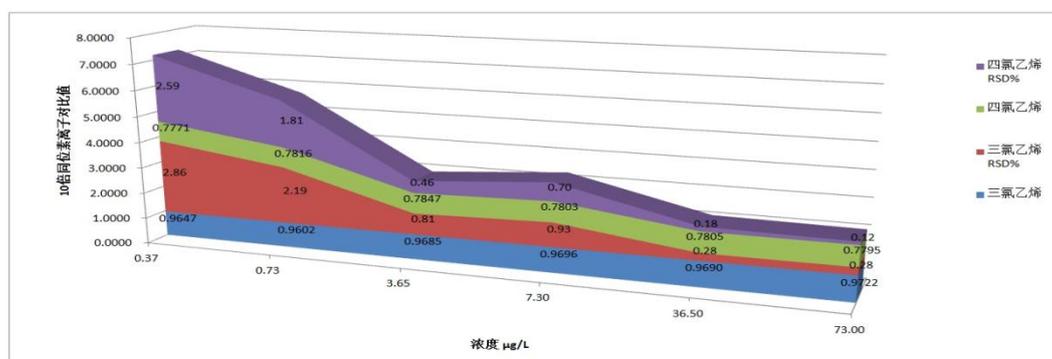


图 21 2 种氯代烃的 P&T-GC-qMS 测定 Rcl 值及 RSD 和浓度关系

根据实验数据及图 21 所示，两种目标物在 $7.3 \mu\text{g/L}$ - $80 \mu\text{g/L}$ 范围内 Rcl 值的 RSD% 可以达到 3-5%，目标物的检测灵敏度可达到 500pmol 。

采用建立的 P&T-GC-qMS 方法，以供应商 A 和 C 的三氯乙烯和四氯乙烯标准建立了三氯乙烯和四氯乙烯的 P&T-GC-qMS 稳定氯同位素比值分析法，方法的具体参数和线性区间等见表 12。

表 12 三氯乙烯和四氯乙烯的 P&T-GC-qMS 稳定氯同位素方法参数

吹扫条件	吹扫体积: 5mL; 捕集时间: 吹扫流量: 40 mL/min, 吹扫 11min。 解析预热 180°C, 解析 190°C, 烘焙 220°C。解析 2min, 烘焙 10min。
GC-qMS 条件	仪器: 岛津 GC-QP2010 色谱柱: Rtx-voc60m×0.32mm×1.8μm; 色谱柱温: 100°C; 气化室温度: 190°C, 采用分流进样, 分流比为 20; 接口温度 220°C。 电离模式: EI 离子源温度: 190°C
三氯乙烯	线性范围: 7.3-73.0 μg/L; Rcl=A ₁₃₄ /A ₁₃₂
四氯乙烯	线性范围: 8.15-81.5 μg/L; Rcl=A ₁₆₆ /A ₁₆₄

由于购置的两个三氯乙烯的稳定氯同位素比值没有显著差异, 只是采用供应商 A 的三氯乙烯建立了表 4 中的在线稳定氯同位素值测定方法, 对于四氯乙烯采用供应商 C 和 D 的四氯乙烯测定了模拟水样中的四氯乙烯的 $\delta^{37}\text{Cl}$ 。以供应商 D 的四氯乙烯为标准, C 为模拟样品中添加的四氯乙烯, 供应商 C 的四氯乙烯 8.15-81.5 μg/L 的 $\delta^{37}\text{Cl}$ 测定值分别均值为 1.40‰。结果表明, 四氯乙烯的 P&T-GC-qMS 的稳定氯同位素的灵敏度为 300 pmol, 精密度为 0.74‰, 达到了任务书灵敏度 600 pmol 和精密度 0.5-2‰的要求。

采用建立的在线三氯乙烯和四氯乙烯 P&T-GC-qMS 方法测试了六个实际水样品, 这些水样品中的三氯乙烯和四氯乙烯的浓度均太低 (范围在 2~4 μg/L), 达不到方法的检出限 7.3 μg/L (三氯乙烯) 和 8.15 μg/L (四氯乙烯), 无法测试 $\delta^{37}\text{Cl}$ 。故研究中重新购置了一种来源的三氯乙烯, 开展了样品中 $\delta^{37}\text{Cl}$ 的测定。表 6 给出了三氯乙烯待测物的 Rcl 和最终的 $\delta^{37}\text{Cl}$ 测定值。

表 13 模拟地下水样品中三氯乙烯和四氯乙烯的 $\delta^{37}\text{Cl}$

模拟样品	R _{cl}	R _{cl} 均值和 SD%	$\delta^{37}\text{Cl}$	$\delta^{37}\text{Cl}$ 均值和 SD%
三氯乙烯	0.9754	0.9751; 2.4	4.00	4.01; 0.08
	0.9751		4.01	
	0.9748		4.02	
	0.9732		4.07	
	0.9735		4.06	
	0.9736		4.06	
	0.9723		4.10	
	0.9779		3.91	
	0.9799		3.85	

4 结论

项目采用绿色环保富集方法分别对地下水中单环芳烃稳定单体碳同位素比值分析方法、地下水中氯代烃的气相色谱-四级杆质谱在线氯同位素比值分析方法、土壤中 DDE 的气相色谱-四级杆质谱在线氯同位素比值分析方法展开研究，旨在提高稳定同位素测定的灵敏度和减少样品的前处理步骤，提高整个分析方法的效率，通过研究得到以下主要结论：

1) 确立了水中单环芳固相微萃取方法、在线分离气相色谱条件以及稳定碳同位素分析所需的同位素比值质谱条件，在平衡状态下固相微萃取不会引起目标物的碳同位素分馏，可作为单体同位素分析前处理方法，在优化条件基础上建立了 SPME-GC-C-IRMS 分析方法，方法检出限为 0.01 $\mu\text{g/L}$ ，方法灵敏度高，稳定性好能适用于地下水中痕量超痕量单环芳烃类化合物碳同位素测定；

2) 以甲苯为例对水中单环芳烃化合物的高级氧化降解规律及稳定碳同位素变化开展初步应用研究，室内降解实验证明甲苯降解过程在 8h 左右进入稳定状态，经过降解甲苯的单体碳同位素值从-27.8673 升高到-23.577，其富集系数为-1.3；

3) 通过 SPME 和 P&T 样品前处理或富集技术，将目标物进行富集，提高样品的直接进样浓度和方法的最终分析灵敏度。建立的方法的灵敏度达到了 pmol 级，一般情况下能满足环境样品中氯代有机污染物的稳定氯同位素分析需求；

4) 优化了当前半挥发性氯代有机污染物的氧化脱氯前处理技术，考察了氧化脱氯过程中氯产率和稳定氯同位素之间的线性相关，确保了离线法分析稳定氯同位素时测量值的准确性。

参考文献

- [1]高存荣, 王俊桃. 我国69个城市地下水有机污染特征研究 [J]. 地球学报, 2011, 32(5): 581-591.
- [2]李先国, 彭学伟, 张庆红. 单体同位素分析在有机污染物研究中的应用进展 [J]. 中国海洋大学学报, 2009, 36(6): 1251-1256.
- [3]刘国卿, 张干, 彭先芝. 单体同位素技术在有机环境污染中的研究进展 [J]. 地球与环境, 2004, 32(1): 23-27.
- [4]刘国卿, 张干, 黄世卿, 彭先芝, 陈鸿汉. 水体中痕量挥发性有机物单体碳同位素组成分析 [J]. 色谱, 2004, 22(4): 439-441.
- [5]杨杰, 马腾, 刘玲, 刘存富, 单慧媚, 陈柳竹. Gas Bench II-IRMS测定地下水中溴同位素新技术[J]. 地球科学与环境学报, 2011, (4).
- [6]Abrajano T A, O'Malley V P, Hellou J, et al. Compound - specific carbon isotope analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons from estuarine [A]. In: Oysgard, K. Org geochem[M]. Norway, Falch Hurtugrykk Pub, 1993, 664~668.
- [7]Aeppli C., Holmstrand H., Andersson P. et al. Direct compound-specific stable chlorine isotope analysis of organic compounds with quadrupole GC/MS using standard isotope bracketing. Anal. Chem. 2010, 82: 420-426
- [8]Ahad J M E, Sherwood L B, Edwards E A, et al. Carbon Isotope Fractionation during Anaerobic Biodegradation of Toluene: Implications for Intrinsic Biodegradation [J]. Environ Sci Technol, 2000, 34: 892 -896.
- [9]Bernstein A., Shouakar-Stash O., Ebert K. et al. Compound-specific chlorine isotope analysis: A comparison of gas chromatography/isotope ratio mass spectrometry and gas chromatography/quadrupole mass spectrometry methods in an interlaboratory study. Anal. Chem. 2011, 83: 7624-7634.
- [10]Brand WA High precision isotope ratio monitoring techniques in mass spectrometry. J Mass Spectrom, 1996, 31: 225-235
- [10]Burgoyne T W, Hayes J M. Quantitative Production of H₂ by Pyrolysis of Gas Chromatographic Effluents [J]. Anal Chem, 1998, 70: 5136 - 5141.
- [12]Dempster H, Sherwood L B, Eeenstra S. Tracing Organic Contaminants in Groundwater: A New Methodology Using Compound Specific Isotopic Analysis[J]. Environ Sci Technol, 1997, 31: 3193 - 3197.
- [13]Freeman K H, Hayes J M, Trendel J M, et al. Evidence from carbon - isotope measurements for diverse origins of sedimentary hydrocarbons [J]. Nature, 1990, 343: 254~256.
- [14]Harrington R R, Poulson S R, Drever J I, et al. Carbon Isotope Systematics of Monoaromatic Hydrocarbons: Vaporization and Adsorption Experiments [J]. Organic Geochem, 1999, 30: 765 -775.
- [15]Hayes J M, Freeman K H, Popp B N, et al. Compound - specific isotopic analyses: A novel tool for reconstruction of ancient biogeochemical processes [J]. Org geochem, 1990, 16: 1115~1128.

- [16]Hofstetter T.B., Berg M, Assessing transformation processes of organic contaminants by compound-specific stable isotope analysis. *Trends Anal Chem*, 2011, 30:618–627
- [17]Hofstetter T. B., Schwarzenbach R. P., Bernasconi S. M. Assessing transformation processes of organic compounds using stable isotope fractionation. *Environ. Sci. Technol.* 2008 ,42 (21):7737–7743.
- [18]Hunkeler D., Van Breukelen B. M.,Elsner M. Modeling Chlorine Isotope Trends during Sequential Transformation of Chlorinated Ethenes.*Environ. Sci. Technol.* 2009, 43, 6750–6756.
- [19]Hutchins S R, Downs W C, Wilson J T. Effect of nitrate addition on bioremediation of fuel-contaminated aquifer: field demonstration. *Ground Water*, 1991, 29(4): 571–580.
- [20]Jin B., Laskov C., Rolle M. et al. Chlorine Isotope Analysis of Organic Contaminants Using GC-qMS: Method Optimization and Comparison of Different Evaluation Schemes.*Environ. Sci. Technol.* 2011,45: 5279-5286
- [21]Katrin A, Matthias M, Adolf E, et al. Microcosms experiments to assess the potential for natural attenuation of contaminated groundwater. *Water Research*, 2001, 35(3): 720~728 .
- [22]Lee J Y, Lee K K. Viability of natural attenuation in a petroleum contaminated shallow sandy aquifer. *Environmental Pollution*, 2003, 126(2): 201~212 .
- [23]Mancini S A, Lacrampe couloume G, Jonker H , et al . Hydrogen Isotopic Enrichment: An Indicator of Biodegradation at A Petroleum Hydrocarb on Contaminated Field Site [J] .*Environ Sci Technol*, 2002, 36: 2464 -2470.
- [24]Meier-Augenstein W Applied gas chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry. *J Chromatogr A* , 1996,842:351–371
- [25]O'Malley V P , Abrajano T A , Hellou J. Stable carbon isotope apportionment of individual poly cyclic aromatic hydrocarbons in St. John's Harbour , New foundland [J] . *Environ Sci Technol* , 1996 , 30 : 634~639.
- [26]Sakaguchi-Soder K. , Jager J. , Grund H.et al. Monitoring and evaluation of dechlorination processes using compound-specific chlorine isotope analysis. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*2001,21: 3077-3084
- [27]Schmidt T C , Zwank L , Elsner M , et al . Compound specific stable isotope analysis of organic contaminants in natural environments : A critical review of the state of the art , prospects ,and future challenge[J] . *Analytical and Bioanalytical Chemistry* ,2004 ,378 : 283 - 300.
- [28]Slater G F, Ahad J M E, Sherwood L B, et al. Carbon Isotope Effects Resulting from Equilibrium Sorption of Dissolved VOCs [J] . *Anal Chem*, 2000, 72: 5669 -5672.
- [29]Sherwood L B, Slater G F, Ahad J, et al. Contrasting Carbon Isotope Fractionation during Biodegradation of Trichloroethylene and Toluene: Implications for Intrinsic Bioremediation [J] . *Organic Geochem*, 1999, 30: 813 -820.
- [30]Van Acker, M.R.M.D., Shahar, A., Young, E.D., Coleman, M.L. GC/multiple collector e ICPMS method for chlorine stable isotope analysis of chlorinated aliphatic hydrocarbons. *Analytical Chemistry* , 2006. 78 (13):4663-4667.