

淡水水体中氮污染源的识别 ——利用硝酸根中氮和氧同位素组成*

陈自祥^{1,2} 柳后起² 刘广^{1,2} 刘颖² 尹雪斌^{1,2**}

(1. 中国科学技术大学地球和空间科学学院, 合肥, 230001;

2. 中国科学技术大学香港城市大学联合高等研究中心, 环境科学技术联合实验室, 苏州, 215123)

摘要 氮营养盐污染在全球很多区域都是一个备受关注的环境问题, 尤其是以农业为主的区域和人口密集的区域, 因此, 关于水体中氮污染源识别技术尤为重要. 硝酸根离子中的氮、氧同位素组成在过去的十几年中频繁地应用于识别淡水水体中氮污染源的研究中. 本文总结了已知氮污染源中氮、氧同位素组成的特征变化区间, 阐述了影响氮、氧同位素组成的主要因素, 描述了3种氮、氧同位素组成主流的测试方法, 展望了未来定量测算各种氮污染源贡献比例的前景. 在实际研究中, 还将氮、氧同位素组成和水质化学特征结合, 则可以有效地识别淡水水体的氮污染源. 随着检测精度的不断提高, 各种代表性端元污染物同位素值经验区间也变得更加准确.

关键词 氮源, 硝酸盐, 氮同位素, 氧同位素, 地表水, 同位素分馏.

淡水系统由于氮营养盐的过量输入使得其受到污染, 从而严重威胁到饮用水供应的安全以及导致世界范围内发生地表水和地下水水体富营养化和季节性缺氧等环境问题^[1-2]. 并且过量的氮营养盐的输入同样严重危害了水生生态系统^[3]. 硝酸盐是氮污染物在淡水水体中主要存在形式. 近年来由于农业化肥的过量使用, 生活污水和动物粪便的大量排放, 使得淡水水体中的硝酸盐含量高于正常水平, 从而对人体产生潜在的健康威胁, 尤其是对婴儿, 可以感染高铁血红蛋白血症, 也被称为“蓝婴疾病”. 因此WHO(世界卫生组织)和EPA(美国环境保护局)将饮用水中的硝酸盐浓度标准定在 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

对一些污染严重的地区而言, 为了给水质的治理和改善提出一些科学的指导建议, 识别水体中硝酸盐的来源和了解氮循环的潜在过程较为重要. 传统的硝酸盐来源分析是由水体中硝酸盐浓度以及潜在的硝酸盐来源含量来完成的. 不过, 传统的分析方法有很多不足之处, 如硝酸盐多个来源的复杂性、或者硝酸盐在地表水和地下水水体的分布和流动路径、点源和非点源污染、以及一些潜在发生的生物地球化学过程而导致硝酸盐浓度的变化等等. 鉴于这些复杂的可能性, 引入硝酸盐的稳定同位素组成则是非常重要的. 因为稳定同位素可以依据不同氮污染源具有的特征氮和氧同位素组成, 能够对硝酸盐识别提供直接有效的手段. 最近, 利用氮和氧同位素组成来确定淡水水体中硝酸盐来源的技术已被广泛使用^[4-7].

1 硝酸根离子中的氮、氧同位素

氮元素在自然界有两种稳定同位素, 分别是 ^{14}N 和 ^{15}N , 相应的在氮原子中所占的比例分别是99.64%和0.36%^[8]. 由于氮元素在自然界存在多种化学价态, 因此存在许多不同种类的氮化合物, 如从正五价的硝酸根离子到负三价的铵根离子, 这也导致了其同位素组成在自然界中变化幅度很大. 氧元素在自然界中由3种稳定同位素组成, 分别是 ^{16}O 、 ^{17}O 和 ^{18}O , 对应的含量分别99.759‰、0.037‰和0.204‰^[9]. 稳定同位素组成一般用 δ 来表示, 单位是‰.

$$\delta_{\text{sample}}(\text{‰}) = \left[\left(R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}} \right) / R_{\text{standard}} \right] \times 1000$$

式中, R 代表样品和标样中的 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 或者 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 的比值, 即 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^{18}\text{O}$, 氮和氧同位素组成, 对应的标准分别是大气(N_2)和维也纳海洋水标准(VSMOW).

2012年3月1日收稿.

* 江苏省太湖水专项基金(BK2007736)资助.

** 通讯联系人, Tel: 0512-86669781; E-mail: xbyin@ustc.edu.cn

2 不同氮污染源的 $\delta^{15}\text{N}$

在淡水生态系统中,不同氮污染源的氮同位素值具有各自鲜明的特征. 总体而言,陆地上的硝酸盐来源的氮同位素值范围可以从 -20‰ 扩展到 $+30\text{‰}$. 关于 $\delta^{15}\text{N}$ 有着更加广泛的报道,一些过高或过低的 $\delta^{15}\text{N}$ 可能由于在硝酸盐生成过程中发生了不寻常的氮转化导致. 正是因为地面上硝酸盐的来源中 $\delta^{15}\text{N}$ 之间存在差异,利用硝酸盐来源的 $\delta^{15}\text{N}$ 差异可识别淡水系统中氮污染源.

2.1 大气沉降

大气沉降中氮同位素组成的变化范围很大,通常 $\delta^{15}\text{N}$ 是在 -15‰ — $+15\text{‰}$ 的区间内变化^[10]. 这种大范围的氮同位素值变化区间是由大气环境中复杂的化学反应控制的^[11]. 大气沉降中硝酸盐的来源也非常复杂. 自然界中的硝酸盐可能会来自土壤和动物排泄物中的氨挥发,也有可能来自在土壤和地表水环境里发生的硝化和反硝化过程,或者来自大气环境中的雷雨、暴雨天气等. 当然人类活动也会产生大量的硝酸盐,比如化石燃料的燃烧. 鉴于这种大气环境中相互作用和影响的复杂性,关于大气沉降中氮同位素值的全面研究几乎没有^[11]. 许多研究都表明^[2,5-6],大气沉降的氮同位素组成会随着季节变化而发生变化. 具体而言,较低的氮同位素值会出现在春季和夏季,而在冬季,大气沉降中的氮同位素值会比较高. 这种现象有两种可能的原因. 原因之一是温暖、潮湿的环境有利于含氮肥料硝化活动,另一方面则是在寒冷的季节里,大量化石燃料的燃烧可能导致氮同位素值的富集^[12].

2.2 含氮的肥料

含氮肥料也是淡水生态系统比较显著的硝酸盐来源. 如果淡水系统周围的农业用地过量使用含氮肥料,那么淡水系统中必然会产生硝酸盐污染. 因为大量的含氮肥料应用在农业作物的土壤里,过度的肥料使用导致硝酸盐污染更是不可避免. 所有含氮肥料都是通过人工合成和大气环境中的氮固定过程产生的,因为大气环境中的氮固定过程中基本上不会导致氮同位素发生分馏作用,因此含氮肥料的氮同位素比值变化区间比较小^[13]. 这些人造肥料的氮同位素值范围一般在 -6‰ — $+6\text{‰}$ 区间内变化. 有机肥料氮同位素比值(如覆盖作物、植物堆肥、液体和固体粪肥)的变化范围在 $+2\text{‰}$ — $+30\text{‰}$ 之间,其变化区间明显比无机肥料要高很多. 这可以归因于各自不同的来源. 另外需要注意的是这里讨论的含氮肥料的氮同位素组成,不同于土壤有机氮肥中氮同位素的组成.

2.3 污水和动物粪便

污水和动物粪便的排放也会加重淡水生态系统的硝酸盐污染,事实上,它们是地表水和地下水水体系统中的主导硝酸盐来源. 由于污水和动物粪便中的氮同位素值明显高于其它污染源的氮同位素值,因此淡水系统中的污水和动物粪便的污染容易被识别. 这些污水和动物粪便中的氮同位素值较高的原因主要是由于含有 ^{15}N 氮的挥发,未挥发的氨中氮同位素值较高,而随后被氧化成氮同位素值较高的硝酸盐. 因为这样系列的反应,动物粪便中的氮同位素值变化范围为 $+5\text{‰}$ — $+25\text{‰}$,而来自污水中氮同位素值变化范围是 $+4\text{‰}$ — $+19\text{‰}$ ^[14]. 在实际研究中,由于污水和动物粪便中的氮同位素值比较高的特征,可以直接作为人为污染源的指标.

2.4 土壤有机氮

氮循环的过程非常复杂,是大气、土壤、水和整个生物圈之间持续相互作用的结果. 因此许多因素都会对土壤有机氮中的氮同位素组成产生影响. 包括自然因素,如矿化和硝化过程,还有一些诸如土壤深度、植被类型、气候特点和地理环境历史,以及一些细菌的活动等,所有这些因素导致土壤有机氮的氮同位素比值在 0‰ — $+8\text{‰}$ 区间内变化. 硝酸盐是氮元素在土壤环境中存在的主要形式,并且土壤环境中硝酸盐的来源也非常多,如合成的硝酸铵化肥或粪便施肥,以及受到地表水和地下水污染的土壤. 这就很好地解释了合成的硝酸盐肥料和土壤有机氮中的氮同位素组成变化范围会存在重叠的部分,正因为这个原因,利用单一的氮同位素比值确定淡水系统中硝酸盐来源有很大的不足. 因为这些硝酸盐来源的氮同位素值在很大的范围内变化,在一个地方得到的硝酸盐来源平均氮同位素值不能代表其它地方情况,说明了硝酸盐中氮同位素组成的复杂性^[15].

2.5 淡水系统中氮污染源

在过去的 10 年中,硝酸盐污染物排放的持续累积已经导致了在世界许多地区的淡水生态系统(地表水和地下水)硝酸盐浓度达到了不可接受的水平. 这已引起全世界的关注. 此外,人类活动是这种地

表水和地下水质量恶化的一个主要因素^[10,16]。地表水和地下水中的硝酸盐污染主要是受水域周围土地使用情况的影响。例如,如果土地使用主要为农业用地,那么硝酸盐的污染主要来自化肥,动物粪肥和其它一些含氮有机物的广泛使用。如果土地使用主要为工业用地,土地的过度利用和高层次的人类活动将加重地表水和地下水硝酸盐的污染。淡水系统中氮污染源的氮同位素值变化范围是 $-4‰$ — $+15‰$ ^[14]。

3 不同氮污染源的 $\delta^{18}\text{O}$

由于不同硝酸盐来源的氮同位素比值变化范围有重叠的情况,因此使用单一的硝酸盐中氮同位素组成是无法准确确定淡水系统中硝酸盐的来源。淡水水体中溶解性硝酸盐中的氧同位素组成,作为额外的综合手段,已经被广泛使用在识别淡水系统中硝酸盐的污染源研究中^[14,17]。事实上,硝酸盐的 $\delta^{18}\text{O}$ 的测试,早在 20 世纪 80 年代就有很广泛的研究^[18]。然而,由于当时所用的方法比较耗费劳动力而且非常危险,从而导致硝酸盐的 $\delta^{18}\text{O}$ 不能被广泛使用。随着测定硝酸盐和氧同位素值技术的发展,双同位素研究在世界上许多地区开始被使用。举个例子来说,大气沉降中硝酸盐的 $\delta^{18}\text{O}$ 变化范围和微生物产生的土壤硝态氮的 $\delta^{18}\text{O}$ 范围之间有着较大的差异, $\delta^{18}\text{O}$ 变化范围分别是 $+52.5‰$ — $+60.9‰$ 和 $+0.8‰$ — $+5.8‰$ ^[19]。而这种明显的区别则有助于区分大气沉降的硝酸盐和由微生物作用产生的土壤硝态氮。此外,硝酸盐的 $\delta^{18}\text{O}$ 值也是其它硝酸盐来源(如合成硝酸磷肥)的一个良好指标^[19]。

3.1 大气沉降

大气沉降中硝酸盐的 $\delta^{18}\text{O}$ 有着很大的变化范围,由于大气环境的复杂性和大气中的相当大的空间或时间变异,导致其 $\delta^{18}\text{O}$ 有着较大的变化范围,这其中可能的原因包括以下几个因素。在硝酸生产过程中或者在雷雨暴风天气中发生的氧同位素分馏,化石燃料的不完全燃烧以及发电厂和汽车尾气的排放,以及大气中的光化学反应等。另一方面,大气中存在着不同的自然和人为的硝酸盐来源,这同样也影响大气沉降中硝酸盐的 $\delta^{18}\text{O}$ 。大气环境中氧气的 $\delta^{18}\text{O}$ 是 $+23‰$ 左右。当自然或人为的氮氧化物与空气中氧气发生反应生成硝酸盐时,在以上所述影响因素的基础上,同样会影响大气沉降中硝酸盐的 $\delta^{18}\text{O}$ 变化^[4,17]。大气沉降中硝酸盐的 $\delta^{18}\text{O}$ 变化范围很广,为 $+25‰$ — $+75‰$ ^[14]。

3.2 合成肥料

合成肥料的 $\delta^{18}\text{O}$ 范围几乎不变,基本上没有什么因素可以影响其氧同位素的组成。在 20 世纪 80 年代,合成肥料的 $\delta^{18}\text{O}$ 首次被 Amberger 和 Schmidt^[18] 确定,他们通过不同种类的人工硝酸肥料和合成肥料获得 $\delta^{18}\text{O}$,得到的结论是合成肥料的 $\delta^{18}\text{O}$ 变化范围是 $+17‰$ — $+25‰$,这个范围类似于大气中氧气的 $\delta^{18}\text{O}$ ($+23.5‰$)。

3.3 含氮有机物的硝化

硝化是所有含氮有机物(如大气沉降物,含氮肥料,污水和粪便,土壤有机氮)在硝化细菌作用下最终转化成硝酸盐的过程。从理论上讲,当硝化反应发生时,新形成的硝酸盐中两个氧原子来自周围环境中的水,另外一个氧原子是来自于大气中的氧气^[14,19,20]。根据这一理论,预计由硝化生成的硝酸盐中的 $\delta^{18}\text{O}$ 变化范围是 $-10‰$ — $+10‰$,因为周围环境中的水中氧同位素值的变化范围是 $-25‰$ — $4‰$,而大气中氧气的 $\delta^{18}\text{O}$ 值大约是 $+23.5‰$,根据硝化的理论能够推算^[4,19]。然而,一些研究报告表明由微生物硝化生成的硝酸盐中 $\delta^{18}\text{O}$ 的最大值为 $+15‰$ ^[4,14],比推算出的 $\delta^{18}\text{O}$ 最大值($+10‰$)高出 $+5‰$ 。导致这种差异原因可能是,周围环境中水的 $\delta^{18}\text{O}$ 由于蒸发和呼吸作用而发生了同位素分馏效应,使得其 $\delta^{18}\text{O}$ 值有所提高,或者在硝化反应过程中氧元素已经发生了同位素分馏。另外有一些研究表明,大气中的氧气能使硝化过程中硝化细菌使用量超过理论水平^[4]。这些假说提供了令人信服的解释,说明了由微生物作用产生的硝酸盐的 $\delta^{18}\text{O}$ 值高于理论推算的最高值。

4 氮、氧同位素的测试方法

使用硝酸盐中氮和氧同位素组成来示踪淡水系统中氮污染源的技术已经被广泛证明是有效可行的,但是,必须要保证测定氮和氧同位素组成的分析技术是准确、廉价和快速的。目前常用的测定淡水系统中溶解性硝酸盐中的氮和氧同位素组成主要有 3 种方法。

第一种方法叫做“硝酸银技术”,又称“离子交换法”,这是由 Chang 等^[21]和 Silva 等^[22]提出。主要步

骤是先浓缩和净化溶解在淡水样品中的硝酸盐,然后将水体中溶解硝酸盐转化成 AgNO_3 溶液,将 AgNO_3 溶液冷冻干燥^[22]或烤箱烘干^[23]成所需要的 AgNO_3 晶体,最后上机测试水样氮氧同位素的组成.传统的氮和氧同位素组成的测试方法是将制备好的 AgNO_3 晶体放在封管里高温燃烧进行测试,主要原理是将 AgNO_3 晶体转换成 N_2 和 CO_2 气体再分别通过 IRMS(同位素比值质谱)来测定相应的氮和氧同位素值^[24].虽然这种方法可行和有用,但是预处理的步骤过于繁琐,而且所需要的 AgNO_3 样品量也是相当高,所以并没有被广泛使用.最近,一种更加精确的氮和氧同位素值测定方法已被广泛使用.将制备好的 AgNO_3 晶体包在铝管和银管中,在元素分析仪里加热到 $1400\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下燃烧,分别转化成 N_2 和 CO 气体,再通过 IRMS 准确测定同位素值.这种方法的优点是有很高的精确度和灵敏度,并且整个实验过程中只出现轻微的同位素分馏.这种方法的缺点是,所需要采集的水样量非常大,制备过程中一些必要的化学试剂非常昂贵.这种技术非常适合淡水样品,近几年也被广泛使用,也是目前比较主流的一种方法^[16,23].

第二种方法叫做“反硝化细菌法”,近几年也已成功地应用在许多研究小组中^[25-27].这种方法的原理是使用一种不能够将 N_2O 催化还原成 N_2 的脱氮细菌,将水体中的硝酸盐转化成 N_2O ,再上 IRMS 分析测试.这种方法的特点是可以同时测定氮、氧同位素组成.这种方法的优点体现在:(1)准备时间很短,仅需要 2—3 d;(2)实验成本不高;(3)实验需要的水样量要比“离子交换法”少很多;(4)这种方法可以达到很高的精确性.这种方法也有一些缺点,主要体现在:(1)细菌的生长时间很长;(2)细菌的培养容易受到水样毒性的影响,如重金属和农药等;(3)水体中 NO_2^- 的出现会导致实验生成的 N_2O 中同位素组成发生变化;(4)所有的实验程序必须在无菌的环境中进行.

一种新的方法称为“镉还原法”或“叠氮法”被提出并使用^[28-30].这种方法采用化学还原法,完成 NO_3^- 到 N_2O 的转换.采用两步还原法,首先是用镉将 NO_3^- 还原成 NO_2^- ,然后使用叠氮化钠将 NO_2^- 还原成 N_2O 再进行 IRMS 分析,以与“细菌反硝化法”同样的测试方法同时测定氮氧同位素值.这种方法的优点体现在:(1)实验准备时间很短,实验结果可以在 1 d 内得到;(2)需要很少的水样量;(3)水体中其它一些高浓度的离子以及一些毒性物质对实验结果没有干扰.这种方法的主要缺点是实验中一些必要化学试剂具有毒性,以及水体中 NO_2^- 的出现同样会导致实验生成的 N_2O 中同位素组成发生变化.

上面所讨论的近年来在全球广泛使用的 3 种方法,也是目前测定淡水样品中硝酸盐中氮、氧同位素值的代表性方法.然而,任何实验方法都有其不同的优点和缺点,因此这些方法都需要得到进一步的发展和完善,以便可以进一步提高效率,并尽量减少和避免其缺点.

5 影响硝酸盐中氮、氧同位素组成的因素

在淡水系统中使用氮、氧同位素组成来识别氮污染源来源的技术时,了解一些影响氮、氧同位素组成的因素也是非常重要的.自然水体中有许多不同种类的氮污染源是来自人群密度高的城市和农业活动,这些人为的活动同时给地表水和地下水带来了硝酸盐的污染.一般来说,硝酸盐的污染是由硝酸盐积累引起的.在硝酸盐转化的过程中,复杂的同位素分馏时常会发生,这些分馏过程是由不同种类的氮循环过程导致的,从而最终改变硝酸盐中氮和氧同位素组成^[31].因此,这些不同种类的氮循环过程应该被深入研究,从而能够更加精确地了解硝酸盐中的氮氧同位素组成的变化.在过去的十多年中,关于这个问题,许多研究和评论都已经出版^[14,32].

5.1 混合作用

地表水体和地下水不同种类的硝酸盐,来源的氮、氧同位素组成都是不同的,当它们混合在一起,就会导致硝酸盐中氮同位素和氧同位素发生改变和偏差,从而会影响水体中硝酸盐来源的识别.当混合作用发生时,水样中某点的硝酸盐中氮同位素值和氧同位素值都不是恒定不变.除此之外,在混合作用发生前后,这些水体中不同氮污染源初始的氮氧同位素值也会受到同位素分馏的活动而发生改变^[32].因此,这种混合作用会造成地表水和地下水中硝酸盐来源的识别过程中的不准确性^[4].在实际研究中,应考虑到当地发生混合作用的类型,以便更加有效地追溯淡水系统中的硝酸盐来源.

5.2 氨化作用

氨化作用,有时也被称为矿化,主要是指土壤中有有机氮物质向氨转化的过程(有机 $\text{N} \rightarrow \text{NH}_4^+$).当氨

化发生时,土壤有机质和土壤铵之间会发生相当有限的同位素分馏(约 $\pm 1\%$)。一些研究人员推测,硝酸盐的整个生成过程是由有机氮物质氨化过程中一系列反应组成,其中某一反应就是速率限制^[33]。然而,同位素分馏是由氨的硝化导致,而不是有机氮转化为氨的过程(氨化)引起的^[34]。因此,在实验研究中,应避免对这些过程的混淆而对氮和氧同位素组成的影响。

5.3 氨挥发

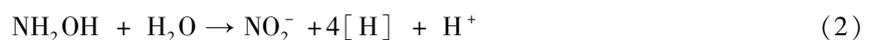
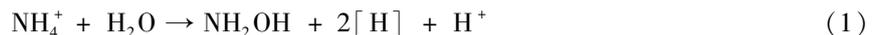
氨挥发是指氨气从土壤中挥发到大气的过程。在氨挥发过程中,残留在土壤中铵氮的氮同位素比值将高于挥发到大气中氨气的氮同位素比值。由氨挥发造成的同位素分馏通过两个步骤完成。第一,步骤是可逆的,分馏平衡发生在溶液相中铵和氨之间,同样也发生水相氨和气相氨之间。第二,步骤是不可逆的,同位素分馏的发生是由动力学反应导致,同样也是由于大气中的氨耗尽,其氮同位素组成损失造成。两个进程都会引起氮同位素值的增加。在氨挥发过程中,环境的 pH 值是主导影响因素。农业生产中主要使用尿素和有机肥,而尿素也是动物粪便中氮元素的主要存在形式。尿素和氨肥先水解为氨,再通过硝化作用氧化成硝酸盐^[12],这个过程为: $\text{CO}(\text{NH}_2)_2 \rightarrow \text{NH}_3 \leftrightarrow \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_3^-$ 。这种反应会导致环境 pH 值的临时增加。在氨挥发损失过程中,环境 pH 值将会保持酸性,剩余未挥发的氨将有着较高的氮同位素值^[4]。也会有一些其它的自然因素影响氮同位素组成,如 pH 值、土壤湿润程度和温度。

5.4 吸收

吸收主要是指一些主要含氮的无机化合物,特别是铵、亚硝酸盐和硝酸盐,纳入到生物体的生物反应过程。氮化合物通过吸收的过程可以影响氮同位素组成的变化,¹⁵N 和¹⁴N 相比,吸收的过程更倾向吸收¹⁴N。目前已有许多研究报道了吸收过程中的氮同位素组成和同位素分馏比例^[11],吸收过程中所造成的同位素分馏会略微影响到残余肥料或土壤有机质中的氮同位素组成。Fogel 和 Cifuentes^[35]研究水产领域中藻类对氨和硝酸盐的吸收,导致同位素分馏过程产生氮同位素值的变化范围很广,通过现场试验和实验室模拟得到的范围是从 -27% 到 0。造成如此大范围的分馏主要原因被认为是与一些动力学的反应和同位素平衡有关,而这些因素会显著影响自然环境的条件。

5.5 硝化

硝化是一个多步骤的氧化过程,主要是指铵逐渐被氧化并最终转换成硝酸盐的过程,这个反应中间产物有很多种,如 NO_2 、 NO 、 N_2O 。整个过程也伴随着不同的氮同位素分馏,从而诱发硝酸盐中氮同位素组成相对于初始铵中氮同位素组成出现衰减的过程,而残留铵氮中同位素组成将会进一步富集^[36]。整个硝化过程中可以用一系列的氧化反应来说明,如下所示:



式(1)的氧化反应是在氨单加氧酶的作用下完成,式(2)的氧化反应是在羟胺氧化还原酶的作用下完成,式(3)的氧化反应是在亚硝酸还原酶的作用下完成。在这个反应中,水中的氧气被吸收参加反应,因为这一步是可逆的,所以氧元素在水和硝酸盐或亚硝酸盐之间发生氧原子的交换也是显而易见的^[37]。整个硝化过程中氮同位素分馏的过程目前也已经得到了非常广泛的研究^[4,11]。由硝化生成的硝酸盐中氮同位素值的变化范围是 -12% — -29% ^[4]。

这些硝化反应中新产生的硝酸盐中氧原子的来源得到很广泛的研究^[4,20],即新生成的硝酸盐中其中两个氧原子来自周围环境中的水,另外一个来自大气。因此,新形成的硝酸盐中氧同位素值是周围的水和大气中的氧气决定的,而不是由已转化成铵的有机物中氧同位素组成决定。整个硝化过程是由上述 3 个反应组成,因此正确认识哪一步反应是限速反应非常重要。这也直接影响到硝化过程造成的同位素分馏。在硝化反应之前,从有机物转化成氨并不是导致同位素分馏的主导因素,同样也由于在自然界中亚硝酸盐转化成硝酸盐的速度非常快。因此,决定整个反应进程的速度是铵转化成亚硝酸根。由硝化过程引起的同位素分馏程度取决于反应中可利用的铵量。如果环境中只有小部分的铵,同位素分馏可能呈现出一个很小的范围。相反,当环境中的铵到达一定水平后,硝化就会频繁的发生。在这种情况下,铵被氧化肯定是决定整个反应速度的重要一步,并可能会造成相当大的同位素分馏。地表水和地下水的研究表明,硝化过程中的氮、氧同位素值并不能由水体上某点的氮氧同位素值来决定。因此为了更加准确地

识别硝化过程,必须同时要考虑水化学的参数,这将在下面详细讨论.

5.6 反硝化

反硝化是一种多步骤的化学或生物还原反应过程,将硝酸盐转化为 N_2 ,并产生各种中间化合物,如 N_2O 和 NO 等.这个过程同样会改变剩余的硝酸盐中氮和氧同位素比值.两个因素可以导致微生物反硝化活动的发生,一种是厌氧或缺氧的有限的环境中,另一种是存在一些有机碳的环境中^[38].微生物反硝化过程,通常是将同位素组成较轻的 ^{14}N 和 ^{16}O 分别转化成 N_2 和 N_2O .因此这个过程肯定会导致残留的硝酸盐中氮和氧同位素组成的富集^[11,23].在反硝化过程中,硝酸盐的浓度会逐渐降低,相反残留硝酸盐中氮同位素和氧同位素会发生富集作用.这种特征趋势可以在地表水和地下水的研究中来判断反硝化是否发生.此外,氮和氧同位素比值与反硝化相关的富集系数目前已有许多研究.氮同位素比值的富集系数变化范围为 $-40‰$ — $-5‰$ ^[39-40],而氧同位素比值的富集系数变化范围是 $-18‰$ — $-8‰$ ^[41].氮氧同位素的组成与反硝化相关富集因素可以使用下面简化的公式进行评估.

$$\delta_s = \delta_{s0} + \varepsilon \ln(f) \quad (4)$$

式(4)中, δ_{s0} 表示底物中的初始的同位素值, ε 表示富集系数, f 为底物浓度除以初始底物浓度的比值^[4].这个方程已被广泛用于反硝化过程中并且提供非常有用的信息^[23].一些研究还表明,如果氮同位素值和氧同位素的比值变化区间是1.3—2.1,并且两者存在线性关系,就能够判断反硝化活动的发生^[41].当然确定反硝化过程的发生和程度也有其它几种方法,如不同种类的酶阻法(乙炔阻法)、 ^{15}N 示踪法^[42]、及利用天然同位素比值的一些方法.

6 利用双同位素和水化学方法识别水中氮来源

最近,利用水体中可溶性硝酸盐中 $\delta^{15}N$ 和 $\delta^{18}O$ 的方法,以及结合研究水体的水化学特征来精确识别氮污染源的方法已经成功使用.最初的研究是利用单个同位素工具来鉴别氮来源,利用单个稳定氮同位素,氮同位素组成的差别可直接用来识别不同的氮污染源,污水和动物粪便中 $\delta^{15}N$ 非常高,在实际研究中很容易被辨别出来.目前关于单个使用 $\delta^{15}N$ 应用于淡水系统中氮污染源的识别研究也有很多报道^[2,4].使用单一的氮同位素组成来识别相对简单环境体系中的氮污染源是可行的,但是,当水中存在很多影响同位素值的因素时,如淡水系统中存在氨挥发、硝化和反硝化等作用,这些氮循环过程都会对 $\delta^{15}N$ 产生很大的影响,因此不建议将这一方法用于比较复杂的淡水环境.由于淡水系统中存在种类繁多的点源和非点源氮来源,单独采用 $\delta^{15}N$ 法识别氮来源更为困难.联合硝酸盐中 $\delta^{15}N$ 和 $\delta^{18}O$ 的方法能为示踪氮污染源和了解氮循环过程提供更有价值和准确的线索,两同位素之间存在较好的互补作用.同时存在合成肥料和土壤有机氮情况下,两者之间的 $\delta^{15}N$ 的范围有重叠,因此只能利用两者的 $\delta^{18}O$ 区分这两种硝酸盐来源.双同位素研究已被广泛应用于地下水和地表水系统,证明了双同位素法的成功^[2,6,16,43].

了解地表土壤类型对地下水中硝酸盐来源识别有非常重要的作用. Choi等^[44]对地下水系统中不同类型土壤的 $\delta^{15}N$ 范围进行研究,使用矿物肥料的农业用地的 $\delta^{15}N$ 范围是 $+4.5‰$ — $+8.5‰$,使用动物粪便的农田的 $\delta^{15}N$ 范围是 $+8.7‰$ — $+17.6‰$.不同利用类型土地中 $\delta^{15}N$ 的范围几乎都与不同的硝酸盐来源分别对应,为硝酸盐的识别提供了更多的判断依据,类似的研究同样被用于地表水系统^[2,16].与其它区域相比,以城市活动和农业用地为主导的区域一般具有较高的 $\delta^{15}N$.此外,这些区域的硝酸盐中 $\delta^{15}N$ 一般与硝酸盐浓度呈正相关,这完全归咎于人为输入^[45].

将硝酸盐中 $\delta^{15}N$ 和 $\delta^{18}O$ 结合,为地表水和地下水中的硝酸盐来源、硝化及反硝化等过程提供有用线索^[2,4].早期学者认为^[14,22],当污水和动物粪肥是淡水系统的主要硝酸盐来源时,可溶性硝酸盐的浓度和氮同位素组成会较高,可溶性硝酸盐的浓度与氮同位素组成必然存在正相关的关系.这一结论仅能证实单一硝酸盐污染源的情况.在实际环境中,当判定是否发生了硝化或者反硝化时,硝酸盐的浓度和 $\delta^{15}N$ 都非常重要.从地表水系统采集一部分连续水样,根据实验步骤分别测定其硝酸盐浓度和 $\delta^{15}N$,如果两个指标存在显著负相关性时,说明区域的硝酸盐分布可能是反硝化作用所致.如果 $\delta^{15}N$ 值和 $\delta^{18}O$ 两者富集系数的线性关系在1.3至2.1范围内,也能证实反硝化的发生.硝酸盐中的 $\delta^{15}N$ 值和 $\delta^{18}O$ 值都可以用来示踪不同硝酸盐来源混合过程,而且 $\delta^{18}O$ 可为硝酸盐来源提供更加准确的信息,因为在反硝

化过程中硝酸盐中氧同位素的组成通常会随着氮同位素组成的变化而发生变化。

在淡水系统中,特征阳离子和阴离子的浓度同样是非常重要的水质因素,利用离子浓度和硝酸盐中 $\delta^{15}\text{N}$ 联合,可为鉴别硝酸盐来源提供有用信息,因为淡水系统中的阴阳离子都可能是自然来源的指示因子^[6]。研究发现,对主要阳离子(Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 K^{+} 、 Na^{+})和阴离子(Cl^{-} 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^{-} 、 NO_2^{-} 、 PO_4^{3-})浓度进行测定,如果淡水系统中 Ca^{2+} 和 Na^{+} 是优势阳离子,那么 Cl^{-} 和 SO_4^{2-} 就是优势阴离子。如太湖是中国五大淡水湖之一,根据计量分析可将其定义为 $\text{SO}_4\cdot\text{Cl}-\text{Na}\cdot\text{Ca}$ 类型湖泊。Lang等^[46]研究认为 Na^{+} 、 SO_4^{2-} 及 Cl^{-} 主要来自工业和农业污染的排放。由于地表水中的氯化物非常稳定且不受物理、化学和微生物的影响,因此,水体中 $\text{NO}_3^{-}/\text{Cl}^{-}$ 比值可以用来识别由反硝化而引起的水体中氮去除过程。如果 NO_3^{-} 和 Cl^{-} 两者之间存在较好的正相关性,同样可以证明混合过程可能对硝酸盐转移产生了重要的影响。

地表水和地下水研究表明,生态系统中存在多种潜在的硝酸盐来源,但这些硝酸盐来源的同位素组成却很少是恒定不变的,且起初的同位素组成在混合前后已被多种类型的同位素分馏过程所改变。因此,对不同来源硝酸盐的同位素组成进行量化显得非常关键。Deutsch等^[47]成功应用了氮氧同位素技术定量3种硝酸盐来源,即大气沉降、地下水硝酸盐来源和人为排水的农业土壤,并测定了3种硝酸盐来源分别占总输入的3%、11%和86%。Voss等^[45]同样应用双重同位素技术定量3种硝酸盐来源,即废水输入、大气沉降和原始土壤对12条Baltic河流硝酸盐的贡献。这两个成功量化硝酸盐来源的案例是基于质量平衡混合模型^[48]。利用 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^{18}\text{O}$ 值来量化各种硝酸盐来源,质量平衡混合模型基本表示如下:

$$\delta^{15}\text{N}_M = f_1\delta^{15}\text{N}_1 + f_2\delta^{15}\text{N}_2 + f_3\delta^{15}\text{N}_3 \quad (5)$$

$$\delta^{18}\text{O}_M = f_1\delta^{18}\text{O}_1 + f_2\delta^{18}\text{O}_2 + f_3\delta^{18}\text{O}_3 \quad (6)$$

$$f_1 + f_2 + f_3 = 1 \quad (7)$$

式(5)和(6)中的 $\delta^{15}\text{N}_M$ 和 $\delta^{18}\text{O}_M$ 表示为混合硝酸盐来源中同位素比值,下标的1、2和3表示任意3种硝酸盐来源, f 表示某种形式硝酸盐来源占总硝酸盐来源的比例。根据 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^{18}\text{O}$ 值,很容易对3种硝酸盐来源的贡献值进行量化,但混合模型也存在一些局限性^[49],其中最突出的就是一些不能确定的硝酸盐来源可能被忽略,例如,硝酸盐的 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^{18}\text{O}$ 存在时空差异。此外,一些同位素分馏可能同样也改变了硝酸盐同位素的组成。更重要的局限是这一模型仅能用于3种硝酸盐来源情况,实际研究中可能存在其它不能被准确量化的硝酸盐来源。尽管存在这些局限,但这一模型还是非常重要,能用于相对简单的水体模型。

7 结论

在过去的几十年中,利用氮和氧同位素组成来示踪氮污染源和了解氮循环过程的技术已被广泛应用于淡水系统。由于硝酸盐污染在全球范围内引起了很大的关注,只要确定其污染源,就能够科学有效地治理淡水系统中的硝酸盐污染。在克服早期测定氮和氧同位素组成的不足和缺点,关于它们的测定方法也变得更加精确和快捷,并且淡水系统中每一种硝酸盐来源以及其涉及到的同位素分馏过程目前也已经得到很好的研究,所有这些因素在使用同位素工具来示踪氮污染源的研究中发挥着非常重要的作用。将双同位素与相应水体的水化学特征结合起来同样可以为氮污染源识别提供科学有效的依据。虽然双同位素工具已成功地用于世界一些地区淡水生态系统中硝酸盐污染源的识别,但到目前为止,仍然有很多问题没有得到很好的解决,如不同硝酸盐来源的精确量化、硝酸盐转化程度的量化等,现有的一些方法和手段仍需要进一步改善。

参 考 文 献

- [1] Widory D, Petelet-Giraud E, Negrel P, et al. Tracking the source of nitrate in groundwater using coupled nitrogen and boron isotopes: A synthesis[J]. Environmental Science and Technology, 2005, 39: 539-548
- [2] Li S L, Liu C Q, Li J, et al. Assessment of the sources of nitrate in the Changjiang River, China using a nitrogen and oxygen isotopic approach[J]. Environmental Science and Technology, 2010, 44(5): 1573-1578
- [3] Wu C, Maurer C, Wang Y, et al. Water pollution and human health in China[J]. Environmental Health Perspectives, 1999, 107(4):

251-256

- [4] Kendall C. Tracing sources and cycling of nitrate in catchments//Kendall C, McDonnell J J (Eds.). Isotope tracers in catchment hydrology[M]. Amsterdam Elsevier, 1998: 519-576
- [5] Silva S R, Lee P B, Ebbert R W, et al. Forensic applications of nitrogen and oxygen isotopes of nitrate in an urban environment[J]. Environmental Forensics, 2002, 3: 125-130
- [6] Liu C Q, LI S L, Lang Y C, et al. Using delta N-15 and delta O-18 values to identify nitrate sources in karst ground water, Guiyang, Southwest China[J]. Environmental Science and Technology, 2006, 40(22): 6928-6933
- [7] Seiler R L. Combined use of ^{15}N and ^{18}O of nitrate and ^{11}B to evaluate nitrate contamination in groundwater[J]. Applied Geochemistry, 2005, 20: 1626-1636
- [8] Faure G. Principles of Isotope Geology[M]. New York: Wiley and Sons Publishers, 1986
- [9] Cook G A, Lauer C M. Oxygen//Clifford, Hampel A (Ed). The encyclopedia of the chemical elements[M]. New York: Wiley and Sons Publishers, 1968: 499-512
- [10] Kendall C, Elliott E M, Wankel S D. Tracing anthropogenic inputs of nitrogen to ecosystems// Michener R, Lajtha K (Eds). Stable isotopes in ecology and environmental science(Second Edition)[M]. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, 2007: 375-449
- [11] Hübner H. Isotope effects of nitrogen in the soil and biosphere//Fritz P, Fontes J C P (Eds). Handbook of Environmental Isotope Geochemistry[M]. Amsterdam: Elsevier, 1986: 361-425
- [12] Heaton T H E. Isotopic studies of nitrogen pollution in the hydrosphere and atmosphere: a review[J]. Chemical Geology, 1986, 59: 87-102
- [13] Flipse W J, Bonner F T. Nitrogen-isotope ratios of nitrate in ground water under fertilized fields, Long Island, New York[J]. Ground Water, 1985, 23: 59-67
- [14] Xue D M, Botte J, Baets B D, et al. Present limitations and future prospects of stable isotope methods for nitrate source identification in surface and groundwater[J]. Water Research, 2009, 43(5): 1159-1170
- [15] Fogg G E, Rolston D E, Decker D L, et al. Spatial variation in nitrogen isotope values beneath nitrate contamination sources[J]. Ground Water, 1998, 36: 418-426
- [16] Lee K S, Bong Y S, Lee D H, et al. Tracking the sources of nitrate in the Han River watershed in Korea, using $\delta^{15}\text{N}\text{-NO}_3^-$ and $\delta^{18}\text{O}\text{-NO}_3^-$ values[J]. Science of the Total Environment, 2008, 395(23): 117-124
- [17] Pardo L H, Kendall C, Pett-Ridge J, et al. Evaluating the source of stream water nitrate using ^{15}N and ^{18}O in nitrate in two watersheds in New Hampshire, USA[J]. Hydrological Process, 2004, 18: 2699-2712
- [18] Amberger A, Schmid H L. Natürliche isotopengehalte von nitrat als indikatoren für dessen herkunft[J]. Geochim et Cosmochim Acta, 1987, 51: 2699-2705
- [19] Durka W, Schulze E D, Gabauer G, et al. Effects of forest decline on uptake and leaching of deposited nitrate determined from ^{15}N and ^{18}O measurements[J]. Nature, 1994, 372: 765-767
- [20] Hollocher T C. Source of the oxygen atoms of nitrate in the oxidation of nitrite by Nitrobacter agilis and evidence against a P-O-N anhydride mechanism in oxidative phosphorylation[J]. Arch Biochem Biophys, 1984, 233: 721-727
- [21] Chang C C Y, Langston J, Riggss M, et al. Method for nitrate collection for ^{15}N and ^{18}O analysis from waters with low nitrate concentrations [J]. Can J Fish Aquat Sci, 1999, 56: 1856-1864
- [22] Silva S R, Kendall C, Wilkson D H, et al. A new method for collection of nitrate from fresh water and the analysis of nitrogen and oxygen isotope ratios[J]. J Hydrol, 2000, 228: 22-36
- [23] Fukada T, Hiscock K M, Dennis P F, et al. A dual isotope approach to identify denitrification in ground water at a river bank infiltration site[J]. Water Resources, 2003, 37: 3070-3078
- [24] Kendall C, Grim E. Combustion tube method for measurement of nitrogen isotope ratios using calcium oxide for total removal of carbon dioxide and water[J]. Anal Chem, 1990, 62: 526-529
- [25] Sigman D M, Casciotti K L, Andreani M, et al. A bacterial method for the nitrogen isotopic analysis of nitrate in seawater and freshwater [J]. Anal Chem, 2001, 73: 4145-4153
- [26] Rock L, Ellert B H. Nitrogen-15 and oxygen-18 natural abundance of potassium chloride extractable soil nitrate using the denitrifier method [J]. Soil Sci Soc Am J, 2007, 71: 355-361
- [27] Casiotti K L, Sigman D M, GlanterHastings M, et al. Measurement of the oxygen isotopic composition of nitrate in seawater and freshwater using the denitrifier method[J]. Anal Chem, 2002, 74: 4905-4912

- [28] McIlvin M R, Altabet M A. Chemical conversion of nitrate and nitrite to nitrous oxide for nitrogen and oxygen isotopic analysis in freshwater and seawater[J]. *Anal Chem*, 2005, 77: 589-595
- [29] Wood E D, Armstrong F A J, Richards F A. Determination of nitrate in seawater by cadmium-copper reduction to nitrite[J]. *J Mar Biol Assoc*, 1967, 47: 23-31
- [30] Margeson J H, Suggs J C, Midett M R. Reduction of nitrate to nitrite with cadmium[J]. *Anal Chem*, 1980, 52: 1955-1957
- [31] Kellman L M. A study of tile drain nitrate- δ N-15 values as a tool for assessing nitrate sources in an agricultural region[J]. *Nutr Cycle Agroecosyst*, 2005, 71: 131-137
- [32] Griffiths H. Stable Isotopes: Integration of Biological, Ecological and Geochemical Processes[M]. BIOS Scientific Publishers, 1998
- [33] Feigin A, Shearea G, Kohl D H, et al. The amount and nitrogen-15 content of nitrate in soil profiles from two central Illinois fields in a corn-soybean rotation[J]. *Soil Sci Soc Amer Proc*, 1974, 38: 465-471
- [34] Glibert P M, Capone D G. Mineralization and assimilation in aquatic, sediment, and wetland systems//Knowles R, Blackburn T H (Eds). *Nitrogen Isotope Techniques*[M]. New York: Academic Press, 1993: 243-272
- [35] Fogel M L, Cifuentes L A. Isotope fractionation during primary production//Engel M H, Macko S A. *Organic Geochemistry*[M]. New York: Plenum Press, 1993: 73-98
- [36] Macko S A, Ostrom N E. Molecular and pollution studies using stable isotope//Lajtha K, Michner R (Eds). *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*[M]. Oxford, UK: Blackwell Scientific, 1994: 45-62
- [37] Kool D M, Wrage N, Oenema O, et al. Oxygen exchange between (de)nitrification intermediates and H₂O and its implication for source determination of NO₃⁻ and N₂O: a review[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21: 3569-3578
- [38] Koba K, Tokuchi N, Wada E, et al. Intermittent denitrification: The application of a ¹⁵N natural abundance method to a forested ecosystem[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1997, 61: 5043-5050
- [39] Smith V H, Tilman G D, Nekola J C. Eutrophication: Impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems [J]. *Environmental Pollution*, 1999, 100: 179-196
- [40] Sebilio M, Billen G, Mayer B, et al. Assessing nitrification and denitrification in the Seine River and estuary using chemical and isotopic techniques[J]. *Ecosystems*, 2006, 9: 564-577
- [41] Mengis M, Schiff S L, Harris M, et al. Multiple geochemical and isotopic approaches for assessing ground water NO₃⁻ elimination in a riparian zone[J]. *Ground Water*, 1999, 37: 448-457
- [42] Mosier A R, Schimel D S. Nitrification and denitrification//Knowles R, Blackburn T H (Eds). *Nitrogen Isotope Techniques*[M]. San Diego: Academic Press, 1993: 181-208
- [43] Townsend A, McCarthy M J, Brandes J A, et al. Stable isotopic composition of nitrate in Lake Taihu, China, and major inflow rivers[J]. *Hydrobiologia*, 2007, 194(3): 135-140
- [44] Choi W J, Han G H, Lee S M, et al. Impact of land-use types on nitrate concentration and δ^{15} N in unconfined ground water in rural areas of Korea[J]. *Agric Ecosyst Environ*, 2007, 120: 259-268
- [45] Voss M, Deutsch B, Elmgren R, et al. Sources identification of nitrate by means of isotopic tracers in the Baltic Sea catchments[J]. *Biogeosciences*, 2006, 3: 663-676
- [46] Lang Y C, Liu C Q, Zhao Z Q, et al. Geochemistry of surface and ground water in Guiyang city, China: Water/rock interaction and pollution in karst hydrological system[J]. *Applied Geochemistry*, 2006, 21: 887-903
- [47] Deutsch B, Kohle P, Voss M. Assessing the source of nitrate pollution in water using stable N and O isotopes[J]. *Agron Sustain Dev*, 2006, 26: 263-267
- [48] Philips D L, Koch P L. Incorporating concentration dependence in stable isotope mixing models[J]. *Oecologia*, 2002, 130: 114-125
- [49] Moore J W, Semmens B X. Incorporating uncertainty and prior information into stable isotope mixing models[J]. *Ecol Lett*, 2008, 11: 470-480

Tracing nitrogen sources and cycle in freshwater system using nitrogen and oxygen isotopic values in nitrate

CHEN Zixiang^{1,2} LIU Houqi² LIU Guang^{1,2} LIU Ying² YIN Xuebin^{1,2*}

(1. School of Earth and Space Science, University of Science and Technology of China (USTC), Hefei, 230001, China;

2. Advanced Laboratory for Environmental Research and Technology, Joint Advanced Research Center, USTC-CityU, Suzhou, 215123, China)

ABSTRACT

Nitrogen nutrient pollution is an environmental issue in many regions of the world, which attracts numerous concerns, especially in predominantly agricultural areas and densely populated areas. Hence, the identification of nitrogen pollution sources is particularly important. Nitrogen and oxygen isotopic compositions in nitrate have been frequently applied to identify nitrogen sources in freshwater systems during the past ten years. This article summarizes the range of nitrogen and oxygen isotopic compositions in known nitrogen pollution sources, elaborates the main factors to impact nitrogen and oxygen isotopic compositions, describes three mainstream testing methods to determine nitrogen and oxygen isotopic compositions, and proposes how to quantify the contributions of various nitrogen sources. The joint use of dual isotopic compositions and hydrochemistry can effectively identify the nitrogen sources in freshwater systems. With the continuous improvement of detection accuracy, the empirical range of isotopic values in representative endmember pollutants becomes more accurate.

Keywords: nitrate sources, nitrate, nitrogen isotope, oxygen isotope, freshwater, isotopic fractionation.