

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2020040101

胡新笑, 侯兴旺, 刘倩, 等. 氯/溴稳定同位素分析技术及其在环境科学研究中的应用[J]. 环境化学, 2021, 40(2): 331-342.

HU Xinxiao, HOU Xingwang, LIU Qian, et al. Techniques for stable chlorine/bromine isotope analysis and recent applications in environmental research[J]. Environmental Chemistry, 2021, 40(2): 331-342.

氯/溴稳定同位素分析技术及其在环境科学研究中的应用*

胡新笑^{1,2,3} 侯兴旺^{1,2,3} 刘倩^{1,2,3} 刘稷燕^{1,2,3**} 江桂斌^{1,2,3}

(1. 中国科学院生态环境研究中心, 环境化学与生态毒理学国家重点实验室, 北京, 100085;

2. 中国科学院大学资源与环境学院, 北京, 100049; 3. 中国科学院大学, 杭州高等研究院, 杭州, 310000)

摘要 稳定同位素分析被认为是环境污染物溯源和转化途径探究的有效工具. 针对氯/溴稳定同位素研究已经开发了一些较为可靠的分析技术, 被广泛应用于氯乙烯、氯苯、溴酚、多溴二苯醚和有机氯农药等有机污染物的研究. 本文综述了近年来氯/溴同位素分析技术的最新进展, 介绍了稳定同位素分析技术在含氯/溴有机污染物的溯源分析和降解途径识别等方面的应用实例, 分析了现有分析技术在仪器测定、分析策略、理论知识等方面的不足, 展望了该技术的发展方向及其在环境科学领域内的应用前景.

关键词 氯, 溴, 稳定同位素分析, 有机污染物.

Techniques for stable chlorine/bromine isotope analysis and recent applications in environmental research

HU Xinxiao^{1,2,3} HOU Xingwang^{1,2,3} LIU Qian^{1,2,3} LIU Jiyuan^{1,2,3**} JIANG Guibin^{1,2,3}

(1. State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100085, China; 2. College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049, China; 3. Advanced Research Institute of Hangzhou, University of Chinese Academy of Sciences, Hangzhou, 310000, China)

Abstract: Stable isotope analysis is an effective tool to characterize sources and transformation processes of environmental pollutants. A variety of reliable techniques have been developed for stable chlorine/bromine isotope analysis, which were applied in various organic pollutants, such as chlorinated ethenes, chlorobenzene, bromophenols, polybrominated diphenyl ethers and organic chlorinated pesticides. This paper reviewed the technologies for stable chlorine/bromine isotope analysis in recent years. The applications of those techniques to trace the sources of organic pollutants and identify the degradation pathways of organic pollutants were introduced. The problems of stable chlorine/bromine isotope analysis technologies in instrumental methods, analysis strategies, and theoretical knowledge were discussed, and their development and applications in the field of environmental science were prospected as well.

Keywords: chlorine, bromine, stable isotope analysis, organic pollutants.

随着社会的飞速发展和生活水平的不断提高, 与生产、生活密切相关的各种人为合成的化学品呈爆发式增长, 其中含氯(Cl)和溴(Br)的卤代化合物种类繁多, 应用广泛, 释放到环境中会危害生态环境与

2020年4月1日收稿(Received: April 1, 2020).

* 国家重点研发项目(2018YFC1800702)资助.

Supported by the National Key Research and Development Project (2018YFC1800702).

** 通讯联系人 Corresponding author, Tel: 86-10-62849124, E-mail: liujy@rcees.ac.cn

人体健康. 而值得关注的是, 很多已知的人为合成的卤代有机污染物具有持久性、生物累积性、高毒性和长距离迁移性, 危害大, 波及范围广, 在远离人类活动的偏远地区也有广泛检出, 如南极地区就发现了多氯联苯、多溴二苯醚和有机氯农药等多种卤代有机污染物^[1]. 除了人为生产、使用和无意排放, 一些卤代有机污染物还具有天然来源, 如羟基和甲氧基多溴二苯醚^[2]、溴酚^[3]和溴甲烷^[4]等. 由于这些污染物来源多样, 环境转化过程复杂, 因此, 为了正确评估其环境暴露和人体健康风险, 辨别其污染来源、明晰其转化过程十分重要. 传统的化学分析和检测方法, 仅能提供环境污染物的结构和含量等信息, 无法追溯其具体的来源和环境过程, 而同位素分析方法则提供了有效手段.

化合物经过挥发、冷凝、沉降、迁移、化学转化、生物吸收和转化、食物链传递等物理、化学和生物的过程之后, 其分子中同一元素的不同同位素因化学成键特性不同, 而在不同的过程和反应中消耗程度有所不同, 从而使其同位素组成在相应环境过程前后呈现差异性(如图 1 所示), 这就是同位素分馏(isotope fractionation, IF)效应. 通过同位素分析技术研究同位素的细微变化, 甄别污染物来源、识别其环境转化过程, 已经在多种元素中得到了广泛的应用, 如环境中铅(Pb)、镉(Cd)、铜(Cu)、锶(Sr)等金属元素, 均有通过同位素特征进行污染源解析的报道^[5-6], 针对有机污染物, 则有通过测定 C、H 和 N 等元素的同位素分馏效应进行环境来源和过程研究的相关报道^[7-9]. 对于卤代化合物而言, Cl 和 Br 是重要的特征性元素, 也是多种转化反应的活性中心, 并在某些反应中呈现出比 C 或 H 等元素更为显著的同位素分馏效应, 因此可特别针对卤代有机污染物中的 Cl 或 Br 元素进行同位素分析.

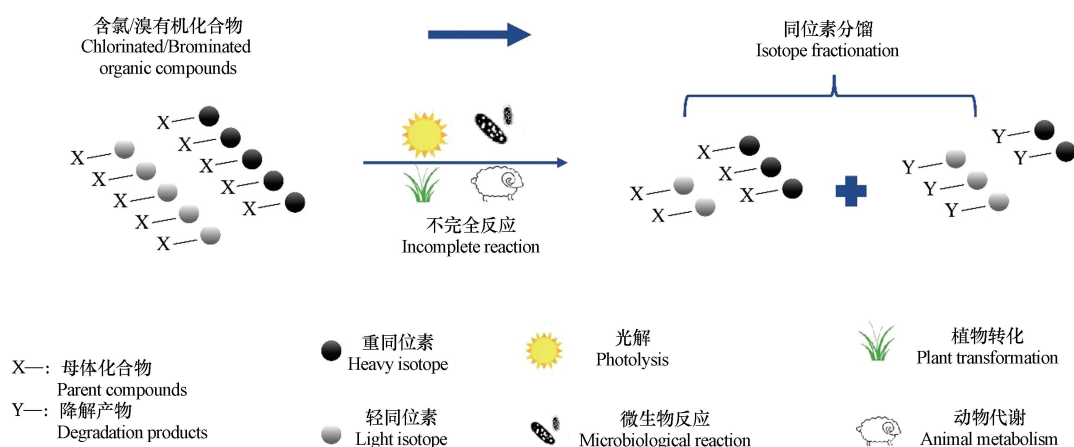


图 1 化合物经多种环境过程后发生同位素分馏效应

Fig. 1 Isotopic fractionation occurs after various environmental processes

自然界中, Cl 有两个稳定同位素³⁵Cl 和³⁷Cl, 相对丰度为 75.8% 和 24.2%; Br 也有两个稳定同位素⁷⁹Br 和⁸¹Br, 相对丰度分别为 50.7% 和 49.3%^[10]. 一般氯和溴各自稳定同位素的比值(isotope ratio, IR)用 R 表示, 同位素组成用 $\delta^{37}\text{Cl}$ ^[11] 和 $\delta^{81}\text{Br}$ ^[12] 表示, 由所测样品中化合物的同位素比值 R_{sample} 与标准同位素比值 R_{standard} 的相对偏差计算得出, 以千分比(‰)记, 公式分别为(1)和(2). 通常认为海洋中 Cl/Br 同位素的组成相对均一且稳定, 因此标准同位素比值一般采用标准平均海洋氯化物(standard mean ocean chloride, SMOC)^[11] 和标准平均海洋溴化物(standard mean ocean bromide, SMOB)^[12] 的同位素比值. 而同位素组成的变化, 即 $\Delta\delta^{37}\text{Cl}$ 和 $\Delta\delta^{81}\text{Br}$ 则用来表征污染物中的 Cl 或 Br 经过特定环境过程后的同位素分馏效应.

$$\delta^{37}\text{Cl} (\text{‰}) = \frac{R_{\text{Cl, sample}} - R_{\text{Cl, standard}}}{R_{\text{Cl, standard}}} \times 1000\text{‰} \quad (1)$$

$$\delta^{81}\text{Br} (\text{‰}) = \frac{R_{\text{Br, sample}} - R_{\text{Br, standard}}}{R_{\text{Br, standard}}} \times 1000\text{‰} \quad (2)$$

测定环境样品中卤代有机化合物的 Cl 或 Br 元素的同位素组成和分馏情况, 或分析卤元素与其他元素的复合同位素分馏效应, 已经被用于指示污染物的来源和降解途径, 而且应用同位素技术进行相关研究, 无需关注复杂的中间过程和产物, 就可以识别其在环境中的反应机制和降解途径^[13]. 例如三溴新

戊醇(tribromo-neopentyl alcohol, TBNPA)^[14]经过3种不同机制的转化途径降解之后,C和Br复合同位素分馏效应呈现显著差异($A_{C/Br}$ 分别为 25.2 ± 2.5 、 3.8 ± 0.5 和无限大 ∞),可用于指示其碱性降解、厌氧还原脱卤和氧化降解等不同过程。

总体而言,应用同位素分析技术针对卤代化合物Cl和Br元素开展的研究起步较晚,数量有限,在仪器分析和应用范围等方面都存在一定的局限性,有待深入研究。本文着眼于Cl/Br稳定同位素分析技术的近期发展,综述了该技术应用的仪器,列举了稳定同位素分析技术在卤代有机污染物溯源分析、降解程度评估和降解途径的识别等研究中应用的一些案例,探讨了具体应用过程中出现的问题和可能的改进方法,展望了未来的发展方向。

1 Cl/Br 稳定同位素分析仪器 (Instruments for chlorine/bromine stable isotope analysis)

总结文献报道中研究Cl和Br同位素分析所使用的仪器,主要包括同位素比值质谱仪(isotope ratio mass spectrometer, IRMS)、热离子质谱仪(thermal ionization mass spectrometry, TIMS)、多接收电感耦合等离子体质谱仪(multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry, MC-ICPMS)、色谱-有机质谱联用仪等,这些设备各具优缺点,如表1所示。

表1 Cl/Br 同位素分析所用仪器
Table 1 Instruments for chlorine/bromine isotope analysis

仪器 Instruments	化合物 Compounds	优点 Advantages	问题 Problems
同位素比值质谱仪	DCE, TCE, PCE ^[15] , Br ^{-[16]}	精密度较高	检出限较高
热离子质谱仪	TCE, PCE ^[17] , Br ^{-[18]}	引入Cs,降低仪器分析过程带来的同位素分馏干扰	检出限较高,重现性差
多接收电感耦合等离子体质谱仪	PCE, TCE ^[19-20]	可实现多种元素同位素的同时分析,背景值较低	精密度较低,成本高
其他质谱与气相色谱联用	PCE, TCE ^[19] , BPs, DDT ^[21] , HCHs ^[22]	常规仪器,成本较低	同位素在气相色谱上发生分馏干扰

1.1 同位素比值质谱仪(IRMS)

使用IRMS测定Cl或Br同位素有不同的策略。早期是将样品中的含Cl/Br化合物转化为甲基取代产物,再进行分析检测。利用双入口同位素比值质谱仪(dual-inlet ratio mass spectrometer, DI-IRMS)测定氯化脂肪烃中C和Cl的 $\delta^{13}C$ 和 $\delta^{37}Cl$ 的具体方法如下^[23]:将样品与CuO共加热,可生成CO₂和CuCl,去除燃烧管中多余的CuO,再通入CH₃I与CuCl反应生成CH₃Cl,对CO₂和CH₃Cl分别进行C和Cl同位素分析。该方法适用于液体(比如氯化有机溶剂^[24]和地下水样^[25])或室温下的气体^[23]。对于 $\delta^{81}Br$ 的分析,可以将Br转化为CH₃Br进行检测。无机溴化物与AgNO₃反应生成AgBr沉淀,再与CH₃I反应生成CH₃Br,采用连续流动-同位素比值质谱仪(continuous flow isotope ratio mass spectrometer, CF-IRMS)进行测定^[16]。以上方法需要对目标化合物进行衍生反应,才能利用IRMS进行同位素分析。当样品的化合物组成复杂时,还需要预先对目标化合物进行分离,较为费时、费力。

随着色谱和IRMS的发展,也发展出了无需经过衍生步骤,通过色谱和IRMS联用实现化合物分离及同位素分析的方法。有研究将含有四氯乙烯(perchloroethylene, PCE)、三氯乙烯(trichloroethene, TCE)和二氯乙烯(dichloroethene, DCE)的水样经固相微萃取(solid phase microextraction, SPME)方法富集后,采用气相色谱-连续流动-同位素比值质谱仪(CF-IRMS coupled with gas chromatography, GC-CF-IRMS)检测Cl同位素组成^[15]。气相色谱可对混合化合物进行有效分离,之后再进入IRMS进行检测,通过法拉第杯(Faraday cups)收集特定荷质比碎片,研究化合物的同位素组成,有效避免了衍生反应中可能发生的同位素分馏对检测结果的干扰。但应用该方法进行同位素分析时,需要针对不同目标化合物专门调节法拉第杯的位置,操作不便^[26]。

因此,为了进一步提高GC-IRMS对不同化合物的适用性,有研究者提出,采用气相色谱-氢气高温转化-同位素比值质谱联用(GC coupled with high-temperature conversion (HTC)-IRMS, GC-HTC-IRMS)方法^[27],化合物经色谱分离后,在高温氢气介导下转化为HCl或HBr,利用IRMS检测HCl或HBr的 $\delta^{37}Cl$

或 $\delta^{81}\text{Br}$, 这种方法提高了对目标化合物的适用性. 但是研究者发现高温反应器存在记忆效应, 并且在高温和盐酸的影响下陶瓷材质的反应器使用寿命较短, 由此造成的仪器的不稳定性导致方法重现性和灵敏度不高, 因此研究者认为在研发新材质反应器, 提高仪器性能和稳定性方面还需要开展更加深入的研究.

此外, 极性化合物不适合气相色谱分析, 因此也有液相色谱-IRMS 联用于极性卤代化合物的 C 同位素分析, 例如卤代苯甲酸^[28], 但目前尚鲜见液质联用方法用于极性或非极性化合物中 Cl 和 Br 元素同位素分析的报道, 这将是未来的研究重点之一^[13].

1.2 热离子质谱仪(TIMS)

采用 TIMS 测定 Cl 或 Br 的同位素组成需要将其转化为铯盐. Cs 是单同位素, 而且其相对原子质量较大, 通过适当增加检测目标的质量, 可以提高方法灵敏度, 降低仪器分析过程带来的同位素分馏干扰, 进而降低对样本浓缩的要求^[29]. 将二苯胺钠与含氯有机物反应, 可使 Cl 转化为氯离子^[30], 氯离子经 HNO_3 提取、 AgNO_3 沉淀、氨水溶解、镁粉置换后, 经过 Cs^+ 阳离子交换树脂, 使之转化为 CsCl , 用活性炭去除有机溶剂后, 利用 TIMS 将 CsCl 热电离为 Cs_2Cl^+ , 通过检测 $^{133}\text{Cs}_2^{35}\text{Cl}^+$ ($m/z = 301$) 和 $^{133}\text{Cs}_2^{37}\text{Cl}^+$ ($m/z = 303$), 获得 $\delta^{37}\text{Cl}$. 类似地, 采用两步树脂交换法, 将 NaBr 或 KBr 等无机溴化物先经 H^+ 阳离子交换树脂转化为 HBr , 再经 Cs^+ 阳离子交换树脂转化为 CsBr , 再利用 8 kV 加速电压的静态多接收 TIMS 可完成对 Br 同位素的高精度测定^[18]. 采用 TIMS 同样需要对 Cl 和 Br 进行形态转化, 前处理费时、费力, 而反应本身也可能带来同位素分馏效应的干扰.

1.3 多接收电感耦合等离子体质谱仪(MC-ICPMS)

多接收器电感耦合等离子体质谱仪可以实现多种元素的同位素分析, 背景值较低, 还可以与多种色谱技术联用, 通过气相色谱或离子色谱等实现不同化合物或离子的分离后再以 MC-ICPMS 完成同位素组成的检测. 气相色谱-多接收电感耦合等离子体质谱(GC-MC-ICPMS)联用, 氮气和氩气混合气作为载气, 已被成功用于含氯脂肪族化合物的 Cl 同位素分析^[20], 以及三种溴苯(1-溴苯、1,4-二溴苯和 1,3,5-三溴苯)的 $\delta^{81}\text{Br}$ 测定, 结果显示当溴含量大于 0.3 nmol 时, 检测精密度为 0.3‰ (1σ), 低于 3 nmol 时, 精密度仅达到 4.6‰ (1σ)^[31]. 通过引入 $^{84}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ 外标, 可以将含溴有机物的溴同位素分析精密度提高至 0.1‰ (2σ)^[32]. 对于含有 Cl、Br、S 多种阴离子形态的样品, 经离子色谱(ion chromatography, IC)分离纯化得到的洗脱液雾化后, 由 MC-ICPMS 检测 $\delta^{37}\text{Cl}$ 、 $\delta^{81}\text{Br}$ 和 $\delta^{34}\text{S}$ ^[33]. 这种方法避免了繁琐的样品制备和衍生反应步骤, 环境样品的基质效应干扰比较低, 通过 IC 在线分离和 MC-ICPMS 联用可实现多种阴离子的同位素检测.

由于 Cl 第一电离能(first ionization potential)较高(13.01 eV, Br 为 11.8 eV), 因此在 ICP 电离源上的电离效率较低($< 1\%$), 而且仪器载气氩气产生的 $^{36}\text{Ar}^1\text{H}$ 会对 ^{37}Cl 测定带来干扰, 往往需要较高仪器分辨率(≥ 10000)和较大样品量(200 nmol Cl)才能完成 Cl 同位素分析, 所以一般认为与 Cl 相比, MC-ICPMS 更适用于 Br 同位素分析(< 0.3 nmol)^[31]. 此外由于仪器造价昂贵, 使 MC-ICPMS 应用范围受到一定限制.

1.4 色谱-有机质谱联用

作为有机分析实验室常规配备的仪器设备, 四极杆质谱(quadrupole mass spectrometry, qMS)也可应用于 Cl 或 Br 同位素分析, 与 GC 联用后可用于非极性和弱极性卤代有机化合物的研究, 是当前研究的重要方向. 质谱分析主要是在选择离子模式(selected ion monitoring, SIM)下, 根据目标碎片离子的峰面积计算得到 $\delta^{37}\text{Cl}$ 或 $\delta^{81}\text{Br}$. 对 PCE 和 TCE 进行同位素分析, 研究 TCE 非生物厌氧脱氯反应中的同位素分馏效应时^[26], 在 10—1000 pmol Cl 的检测范围内精密度最高达到 0.2‰—0.4‰ (1σ). 采用 GC-qMS 研究含 Br 化合物, 如三溴甲烷(bromoform)、3-溴苯酚(3-bromophenol)和 4-溴甲苯(4-bromotoluene)的同位素组成^[34], 在 10—1000 pmol Br 检测范围内, 方法精密度达到 0.2‰—0.3‰ (用相对标准偏差表示, relative standard deviation, RSD). 与 MC-ICPMS 方法比较, 含溴标准样品的 $\delta^{81}\text{Br}$ 分析结果呈现良好的相关性($R^2 > 0.98$), 验证了方法的可靠性.

原则上 GC-qMS 适用于可被 GC 分离的含 Cl 或 Br 的化合物, 但由于质谱对化合物同位素响应灵敏度的限制, 目前的应用还比较有限. 要想将 GC-qMS 应用于更多化合物的 Cl 或 Br 同位素分析, 有必要提

高方法的精密度和准确性,需要注意以下问题^[35]:1)对于不同的目标化合物,均须对色谱和质谱参数进行优化^[36],如质量扫描驻留时间影响质谱扫描的分辨率和灵敏度^[37];2)样品进样浓度影响测量准确度,较低浓度和较高浓度进样均会导致计算的同位素组成严重偏离“真值”^[37];3)选择适当的碎片离子,这直接影响方法的灵敏度和线性^[38];4)不同实验室间检测结果进行比较时,必须用参考物质进行校正^[36, 39].

此外,随着 GC-MS 在 Cl 或 Br 同位素分馏研究中的应用逐渐增多,也有研究关注到 GC 自身带来的同位素分馏效应,即同位素在气相色谱柱上的洗脱行为有差异(含较重同位素的分子与色谱柱作用力小,与含较轻同位素的分子相比更容易从色谱柱上洗脱),因而在色谱流出峰内发生相对的同位素分馏.研究表明,使用气相色谱耦合双聚焦磁区高分辨质谱(GC-double focus magnetic-sector high resolution MS, GC-DFS-HRMS)分析 30 余种卤代有机物的 Cl 和 Br 同位素组成时^[40],发现目标化合物在一个流出峰的不同位置同位素比值有差异,但是整个峰的平均同位素比值与实际值相等,因此研究者认为可以采用分段积分的方法保证结果的准确性,而是否分段积分则与色谱峰型有关,当峰型对称、分离效果良好时,则采用整个峰的平均数据;当峰型过宽、分离效果不好时,鉴于中段数据更接近平均数据,可以采用中段积分数据代替整体数据.采用色谱-高分辨质谱对化合物进行同位素分析时,色谱柱上发生相对同位素分馏效应是不同元素都会存在的共性问题,测定 4 种氯代物和 4 种溴苯在气相色谱上的 C、Cl 和 Br 同位素分馏效应^[41],结果显示 C、Cl 和 Br 均会在 GC 分离过程中发生同位素分馏,他们的柱上分馏效应呈现显著相关性,说明这 3 种元素的柱上分馏效应受到相同因素的共同作用.因此应用 GC-MS 方法测定同位素分馏时,应选取合理的峰面积积分策略以获取精确的同位素比值,并需要进一步开发相关技术以避免或排除柱上分馏效应的干扰.

2 Cl/Br 稳定同位素分析技术的应用 (Applications of chlorine/bromine stable isotope analysis technique)

2.1 分析化合物的来源

不同工业生产来源的化学品具有不同的同位素指纹,通过分析其同位素特征,可以实现对化合物的溯源.对四个厂家生产的 TCE、PCE、二氯甲烷、三氯甲烷和 1,1,1-三氯乙烷等有机试剂进行 Cl 同位素分析^[42], $\delta^{37}\text{Cl}$ 检测值在 -2.69‰ 到 $+4.00\text{‰}$ 之间,研究者推断同位素组成的差异与化学品的合成路径有关,比如有的烃类与氯气发生氯化反应,轻同位素反应较快,较多地生成 HCl(反应的副产物),而重同位素则会在氯化物产品中富集,这类化学品的 $\delta^{37}\text{Cl}$ 就会是正值,比如某工厂生产的三氯甲烷($+4.00\text{‰}$)和 TCE($+3.82\text{‰}$)就是通过这样的路径反应生成.而当此生产过程中的副产品 HCl 被当作生产原料与烃类进行加成反应合成其他氯化物时,获得的化学品的 $\delta^{37}\text{Cl}$ 就会体现原料的同位素特征,呈现负值,比如另一工厂生产的三氯甲烷(-2.69‰)就是采用其他生产过程中的副产品 HCl 作为原料的.由此可见生产原料和反应路径不同,会造成氯化物工业试剂的同位素组成呈现显著差异.类似地,测定不同生产商制备的 2,2',4,4'-四溴二苯醚(2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ethers, BDE-47)和十溴二苯醚(decabromodiphenyl ether, BDE-209)的 Br 同位素组成^[43],3 个 BDE-47 样品 $\delta^{81}\text{Br}$ 为负,2 个 BDE-209 样品 $\delta^{81}\text{Br}$ 为正,推断他们的合成路径不同导致了不同程度的同位素分馏效应,进而使产物的同位素组成具有差异性,BDE-47 显示了溴化原料 $\delta^{81}\text{Br}$ 为负的特征,而 BDE-209 则由二苯醚与溴气通过溴化反应合成, ^{81}Br 得以富集在产品中.因此对于来自不同供应商的有机试剂,前体的同位素特征和生产工艺都会导致产品的同位素分馏的差异,根据其同位素组成即可进行判别.

利用同位素分析技术还可以鉴别和量化卤代化合物的自然和人为来源.除了人工合成来源以外,很多卤代有机化合物还具有天然来源,例如在水生生态系统中,羟基和甲氧基多溴二苯醚可以在海绵^[44]、藻类^[45]等生物的自身代谢活动中天然产生,2,4,6-三溴酚可以由藻类代谢产生,也可以被人为生产作为阻燃剂使用^[46].自然界中卤代化合物的 Cl/Br 同位素组成因工业生产和天然合成的反应途径不同而有所不同,此外,其在环境中的降解过程也影响着它的赋存情况,使其同位素组成发生变化,因此研究化合物的同位素组成可为追溯化合物的不同来源提供判断依据.有研究测定了多种工业和天然的含溴有机物的 $\delta^{81}\text{Br}$ ^[47],发现 6 种工业溴化有机物的 $\delta^{81}\text{Br}$ 分布在 -4.3‰ 至 0.4‰ 之间,其中工业合成的 2,4-二

溴酚 $\delta^{81}\text{Br}$ 为 $-1.1\text{‰}\pm 0.9\text{‰}$, 而天然来源的 2,4-二溴酚, 其 $\delta^{81}\text{Br}$ 为 $0.2\text{‰}\pm 1.6\text{‰}$, 二者具有显著差异 ($P < 0.05$). 还有学者发现灰海豹脂肪中存在的三(4-氯苯基)甲烷 (tris-(4-chlorophenyl) methane, TCPMe) 的 $\delta^{37}\text{Cl}$ 测定值为 $-3.5\text{‰}\pm 0.5\text{‰}$ ^[48], 与文献报道的 TCPMe 的工业生产前体物 DDT 的 $\delta^{37}\text{Cl}$ ($-3.5\text{‰}\pm 0.2\text{‰}$)^[49] 一致, 而与在实验室中经酶介导的体外生物合成产生的天然氯酚类化合物的 $\delta^{37}\text{Cl}$ (-12‰ — 11‰ 之间)^[50] 和非生物条件下产生的天然有机氯化物的 $\delta^{37}\text{Cl}$ (-0.2‰)^[51] 差异显著, 表明灰海豹脂肪存在的 TCPMe 并非来自生物或非生物天然来源, 而是来自人为工业来源^[48].

2.2 评价化合物的降解程度

含 Cl 或 Br 的污染物随着降解反应的进行, 较轻和较重的同位素在母体化合物分子中的消耗程度不同, 其同位素比值就会发生变化. 研究降解反应的动力学同位素效应 (kinetic isotope effects, KIE), 可以根据同位素比值 (R) 评价化合物的降解程度^[37], 具体方法如下: 利用同位素比值和化合物浓度, 通过瑞利公式 (rayleigh equation) 绘制瑞利散点图, 得到同位素富集因子 (isotope enrichment factor, ε), 用来表征特定降解过程的同位素分馏效应的方向和显著程度^[52-53], 如公式(3)所示:

$$\ln\left(\frac{R_t}{R_0}\right) = \varepsilon \times \ln\left(\frac{C_t}{C_0}\right) \quad (3)$$

其中, R_0 和 R_t 分别是反应起始和 t 时刻目标元素的同位素比值; C_0 和 C_t 代表在反应起始和 t 时刻的目标化合物的浓度. 由于 ε 的计算是基于整个分子的 Cl 或 Br 同位素组成, 因此得到的是分子整体的同位素富集因子 ($\varepsilon_{\text{bulk}}$), 在研究反应机制时还需要计算反应位点的同位素富集因子 (isotope enrichment factor at the reactive position, ε_{RP}), 计算公式如(4)所示.

$$\varepsilon_{\text{RP}} = \frac{n}{x} \times \varepsilon_{\text{bulk}} \quad (4)$$

其中, n 是目标化合物分子中待测元素的原子数, x 是反应位点的数量 (由反应可行性可知). 表观动力学同位素效应 (apparent kinetic isotope effects, AKIE), 用来表示降解反应的动力学过程导致的同位素效应, 计算公式如(5)所示:

$$\text{AKIE} = \frac{1}{1 + z \times \varepsilon_{\text{RP}}/1000} \quad (5)$$

其中, z 是进行分子内竞争的相同反应位点的个数, 一步反应机制时, $z = 1$; 分步反应机制时, $z = 2$. 利用 ε 和 AKIE 可以判断同位素分馏的方向, 当轻原子比重原子发生更多迁移或转化时, $\varepsilon < 0$, $\text{AKIE} > 1$, 称之为“正向” (normal) 同位素分馏效应; 当重原子比轻原子发生更多迁移或转化时, $\varepsilon > 0$, $\text{AKIE} < 1$, 称之为“逆向” (inverse) 同位素分馏效应; 当 $\varepsilon = 0$ 时, $\text{AKIE} = 1$ 则表示没有明显的同位素分馏^[14].

有研究分析了鲸鱼脂肪中二氯二苯三氯乙烷 (1,1,1-trichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl) ethane, *p*, *p'*-DDT) 和二氯二苯三氯乙烯 (1,1,1-trichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl) ethene, *p*, *p'*-DDE) 的 Cl 同位素组成, 发现二者的 $\delta^{37}\text{Cl}$ 分别为 $0.69\text{‰}\pm 0.21\text{‰}$ 和 $2.98\text{‰}\pm 0.57\text{‰}$, 作者将其他研究中对未经降解的 *p*, *p'*-DDT 和异构体混合物的 Cl 同位素组成的测定结果作为初始的同位素组成 (-4.34‰), 对比发现, 鲸鱼脂肪中更易富集 Cl 的重同位素. 经进一步计算同位素富集因子用以评估降解程度, 作者认为释放到环境中的 DDT 仍有 $7\% \pm 2\%$ 未被降解, 这一结果与通过 $\text{DDT}/(\text{DDT}+\text{DDE})$ 比值计算的降解程度 (10%) 相近^[54]. 还有研究测定了农药异丙甲草胺 (metolachlor, METO) 的碱性水解过程中 Cl 和 C 的同位素分馏效应, 发现当 98% 的 METO 发生碱性水解时, $\delta^{37}\text{Cl}$ 增加了 46‰, 而 $\delta^{13}\text{C}$ 仅增加了 17.3‰, 在 15%—25% 降解时可以观测到 $\delta^{37}\text{Cl}$ 增加了 2‰, 而只有当 32%—59% 发生降解时才能观测到 $\delta^{13}\text{C}$ 的变化, 因此作者认为在 METO 的碱性水解的同位素分馏研究中 $\delta^{37}\text{Cl}$ 是比 $\delta^{13}\text{C}$ 更为敏感的指标, 可以用来定量农药在实际农田中的降解过程^[55].

利用动力学同位素效应评估污染物的降解程度还存在一定的局限性. 除了受到检测方法不确定度与分馏显著程度的限制, 还需要注意的是, 同位素富集因子是基于瑞利方程计算得来, 当目标化合物是反应中间体, 同时存在降解和生成反应、无法确定反应起始和特定时刻的化合物浓度时, 则不能应用瑞利公式来计算 ε . 因此利用同位素分析技术评价污染物在环境中的降解程度时, 还可以通过模型研究来考虑环境的非均质性和反应的复杂性对污染物降解过程的影响, 从而提高结果的可靠性^[56].

2.3 识别化合物的降解途径

含氯/溴有机污染物在环境中发生的降解反应复杂多样,降解过程的同位素分馏效应取决于反应机制.因此研究不同转化过程的同位素分馏效应,测定并总结 ϵ 和 AKIE 的差异,可以有效识别化合物在环境中的不同转化途径和机制.该方法已被应用于氯甲烷^[57-60]、氯化乙烯^[61-62]、溴乙烯^[53]、六氯环己烷^[63-67]、甲苯^[68]、氯苯^[69]、溴酚^[70]、2,4-二硝基茴香醚^[71]、除草剂^[9, 72]等污染物的生物和非生物转化过程的研究.

2.3.1 判断限速步骤

化合物中同一元素的不同原子中,只有在参与了转化反应过程限速步骤中被破坏或新形成的化学键的原子中,才能观察到显著的同位素效应,而化合物的运输、挥发、吸附和解吸以及与酶的结合等过程导致的同位素分馏效应较小,因此认为同位素富集因子 ϵ 的数量级主要与元素是否参与反应的限速步骤有关^[52].这一理论已经被用于4-溴酚(4-bromophenol, 4-BP)^[70]、三溴乙烯^[73](tribromoethene, TBE)和1,2-二溴乙烷^[74]等化合物转化反应的机制研究中.以4-BP为例,好氧菌株嗜铬杆菌(*Ochrobactrum* sp. HI1)介导的好氧生物降解过程中^[70], ϵ_{Br} 为 $0.07‰ \pm 0.11‰$,同位素分馏并不明显(95%置信区间内, $P > 0.05$),基于上述理论,认为在4-BP的好氧生物降解过程中Br元素没有参与反应的限速步骤.与之相反的是,4-BP还原脱溴过程的 ϵ_{Br} 为 $-0.76‰ \pm 0.08‰$ (95%置信区间显著, $P < 0.05$),呈现明显的同位素分馏^[75].4-BP在水中光解的 ϵ_{Br} 为 $2.2‰ \pm 0.3‰$ ($R^2 = 0.94$),在乙醇中光解的 ϵ_{Br} 为 $3.2‰ \pm 0.5‰$ ($R^2 = 0.88$),Br元素均表现出显著同位素分馏,认为Br参与了光解反应的限速步骤^[76].

2.3.2 探究反应机制

利用同位素分馏情况的规律可以探究化合物反应过程的机制.但某些情况下,化合物中单一元素的同位素分馏在不同反应过程中造成的 ϵ 差异不够显著,无法识别转化途径,此时还可以针对化合物分子中的两种或更多元素进行复合同位素分析.利用复合同位素分析还可以有效避免传质、底物与酶的结合等因素对同位素分馏效应的干扰,因为在这些过程中不同元素具有相同比例的同位素分馏,没有元素歧视性^[77],当采用两种元素同位素效应的比值表征复合同位素效应时往往可以抵消这种干扰^[78].

以两种元素的复合同位素表征为例,首先分别计算两种元素的 ϵ_{X_1} 和 ϵ_{X_2} ,再进一步计算二者的比值(用 Λ_{X_1/X_2} 表示,其中 X_1 和 X_2 分别代表目标化合物中的两种元素),利用其显著的差异性,可以为污染物的转化机制提供更加准确的判断信息^[52, 76, 79-83].例如,研究TBNPA的碱性降解、厌氧还原脱卤和氧化降解3种转化途径^[14], ϵ_C 的差异(分别为 $-10.4‰ \pm 1.6‰$, $R^2 = 0.98$; $-7.6‰ \pm 0.7‰$, $R^2 = 0.99$; $-2.4‰ \pm 0.3‰$, $R^2 = 0.98$)不如 $\Lambda_{C/Br}$ 差异显著(分别为 $25.2‰ \pm 2.5‰$, $R^2 = 0.97$; $3.8‰ \pm 0.5‰$, $R^2 = 0.98$; 无限大 ∞),因此应用 $\Lambda_{C/Br}$ 可以更灵敏地识别不同的转化途径.顺式二氯乙烯(*cis*-1,2-dichloroethene, *cis*-1,2-DCE)和氯乙烯(vinyl chloride, VC)的好氧降解和还原脱氯过程中的同位素分馏效应也被发现有类似的现象^[61].此外,还有研究根据瑞利公式发现,通过绘制 δX_1 和 δX_2 散点图,得到的斜率值与 Λ_{X_1/X_2} 的计算值相近,因此 Λ_{X_1/X_2} 也可以用公式(6)进行计算^[84-85].

$$\Lambda_{X_1/X_2} = \frac{\epsilon_{X_1}}{\epsilon_{X_2}} \approx \frac{\Delta\delta X_1}{\Delta\delta X_2} \quad (6)$$

其中, $\Delta\delta X_1$ 和 $\Delta\delta X_2$ 分别为不同时刻化合物中 δX_1 和 δX_2 的变化值.

复合同位素分析方法已应用于溴酚^[76]、TBNPA^[14]、二溴乙烯^[53]和TCE^[81]等化合物的转化研究.研究4-BP好氧生物降解、还原脱溴和光解过程,单一元素同位素表征参数 ϵ_C 、 ϵ_{Br} 和复合同位素表征参数 $\Lambda_{Br/C}$ 如表2所示,根据 $\Lambda_{Br/C}$ 绘图(图2)发现,不同降解过程中Br和C复合同位素效应具有显著差异.还有研究发现,即便是都有微生物参与的污染物催化降解过程,菌株不同也可导致复合同位素分馏效应呈现显著差异.利用复合硫螺旋体(*Sulfurospirillum multivorans*, *S. multivorans*)和硫细菌(*Desulfitobacterium hafniense* PCE-S, *D. hafniense*)分别催化TBE发生脱卤反应降解为二溴乙烯(dibromoethene, DBE)^[73],针对不同的化合物,*S. multivorans*催化反应呈现出不同的复合同位素 $\Lambda_{C/Br}$ (TBE, 1.03 ± 0.2 ; *cis*-1,2-DBE, 17.9 ± 5.8 ; *trans*-1,2-DBE, 29.9 ± 11.0),而*D. hafniense*对不同底物并没有太大差异(针对以上3种底物 $\Lambda_{C/Br}$ 分别是 7.14 ± 1.6 、 8.27 ± 3.7 、 8.92 ± 2.4),研究者推断反应机制的不同可能导致了两种菌株催化降解反应的同位素分馏特征的显著差异.

表 2 还原脱溴、光解、好氧生物降解过程 4-BP 的 C 和 Br 同位素分馏特征

Table 2 C and Br isotopic fractionation characteristics of 4-BP during reduction debromination, photolysis and aerobic biodegradation

降解途径 Degradation pathway	反应介质 Reaction medium	$\varepsilon_C/\text{‰}$	$\varepsilon_{Br}/\text{‰}$	$A_{Br/C}$
还原脱溴 Reductive debromination ^[75]	微生物群落, 液体培养基	$0.93 \pm 0.32^{\text{a}[82]}$	-0.76 ± 0.08	-1.22
光解 Photolysis ^[76]	乙醇	-2.7 ± 0.4	3.2 ± 0.5	-0.84
	水	-2.1 ± 0.2	2.2 ± 0.3	-0.95
好氧降解 Aerobic degradation ^[70]	微生物 <i>Ochrobactrum</i> sp. H11, 液体培养基	-1.11 ± 0.09	0.07 ± 0.11	-15.86

注:^a4-BP 还原脱溴过程的 ε_C 在文献 74 中并未给出, 此处参考文献中关于多氯酚的 C 同位素数据^[82].

Note: ^a The ε_C of reduction debromination of 4-BP was not given in reference 74. Here refers to ε_C of polychlorinated phenols in other reference^[82].

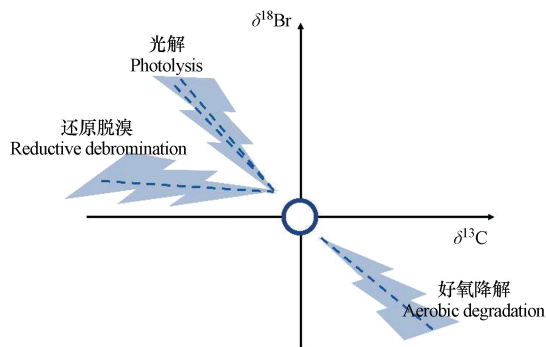


图 2 还原脱溴、光解、好氧生物降解过程 4-BP 的 C 和 Br 同位素分馏特征

Fig. 2 C and Br isotope fractionation characteristics of 4-BP during reduction debromination, photolysis and aerobic biodegradation

利用数学模拟方法研究反应物和降解产物的同位素比值, 是同位素分析技术研究新的发展趋势, 对于多级过程中不能直接应用瑞利公式的中间体反应机制研究很有意义^[86]. 建模需要对同位素分馏机理进行假设, 从而建立不同降解过程的数学模拟. 对于多氯代乙烯 (polychlorinated ethenes) 的多级脱氯反应建模, 氯同位素变化趋势可以通过再现轻、重同位素的平均行为来模拟, 也可以通过推演含有不同重同位素数量的分子的同位素变化来模拟. 研究发现, 数学模拟的方式对于断键机制不同的反应得到的 Cl 和 C 复合同位素分馏变化趋势也有所差异, 可见建模结果能够为反应机制的研究提供一定的理论支持^[87]. 此外, 基于 1,2-二溴乙烷双溴消除 (两个 C—Br 键同时断裂) 和 S_N2 亲核取代 (C—Br 键逐步断裂) 两种断键机制, 通过 MATLAB 模拟研究好氧和厌氧生物转化、Zn(0) 双溴消除和碱性水解反应过程中母体化合物浓度以及 C 和 Br 同位素比值的变化, 能够与实验数据相吻合, 说明模型计算能够很好地实现对不同反应途径的识别^[74].

3 结论与展望 (Conclusion and perspectives)

Cl/Br 稳定同位素分析克服了传统浓度定量分析的不足, 可以用来追溯环境中含 Cl 或 Br 化合物的来源, 评估降解反应的性质和程度, 了解并识别污染物的降解机制, 为含 Cl 或 Br 污染物的环境科学研究提供了有效手段. Cl 和 Br 同位素分析方法研究具有重要意义, 其在环境科学中的应用具有良好前景, 但仍有很多问题亟需改善. 总体而言, Cl/Br 稳定同位素分析技术在以下 3 个方面还有待深入研究.

(1) 改进同位素分析方法. 除了专门用于同位素分析的仪器方法, 较为普适的分析方法还有待发展, 以便于一般分析实验室应用. 目前 GC-MS 联用技术在国际多数实验室广泛配备, 基于这类方法的同位素分析技术拥有广阔的应用前景, 但有学者认为色谱柱上发生的同位素分馏会对检测结果造成干扰, 因此需要优化仪器参数和计算方法, 从而有效降低或避免这种柱上分馏. 目前已有的 Cl 和 Br 同位素分

析技术还需提高方法灵敏度和精密度,降低方法的不确定度,以保证较低的同位素分馏程度也能够被检测出.分析方法的改进将有助于促进同位素指纹在污染物溯源分析方面的应用,推动污染物环境行为和归趋研究的发展.

(2)发展复合同位素分析.在污染物的降解反应过程中,一些物理因素也会对同位素分馏效应产生影响,如吸收、转运以及酶与底物的结合等,从而导致同位素组成发生变化,因此利用二维或多维的同位素富集因子的比值来进行复合同位素分析能够避免这种干扰,增加降解途径识别的可信度,而且利用其在不同转化途径之间的显著差异,可促进污染物在真实环境中降解和转化等过程机制研究.因此复合同位素分析是未来的重要发展趋势之一.

(3)复杂机制有待深入研究.同位素分析技术在环境过程研究中的应用尚处在发展中,还需要分子建模的方法对实验数据加以辅助说明,尤其是对于涉及到反应中间体的多级降解反应,通过数学建模方法开展研究是非常重要的方向.对于复杂的同位素特征可以利用机器学习的方法判别其潜在规律,为污染物的环境来源和归趋研究提供可靠信息.

参考文献 (References)

- [1] HAO Y F, LI Y M, HAN X, et al. Air monitoring of polychlorinated biphenyls, polybrominated diphenyl ethers and organochlorine pesticides in West Antarctica during 2011-2017: Concentrations, temporal trends and potential sources [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 249:381-389.
- [2] TEUTEN E L, XU L, REDDY C M. Two abundant bioaccumulated halogenated compounds are natural products [J]. *Science*, 2005, 307 (5711):917-920.
- [3] UNSON M D, HOLLAND N D, FAULKNER D J. A brominated secondary metabolite synthesized by the cyanobacterial symbiont of a marine sponge and accumulation of the crystalline metabolite in the sponge tissue [J]. *Marine Biology*, 1994, 119(1):1-11.
- [4] HORST A, HOLMSTRAND H, ANDERSSON P, et al. Stable bromine isotopic composition of methyl bromide released from plant matter [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2014, 125:186-195.
- [5] ZHAO L, HU G, YAN Y, et al. Source apportionment of heavy metals in urban road dust in a continental city of eastern China: Using Pb and Sr isotopes combined with multivariate statistical analysis [J]. *Atmospheric Environment*, 2019, 201:201-211.
- [6] LI Y, ZHANG H, SHAO L, et al. Impact of municipal solid waste incineration on heavy metals in the surrounding soils by multivariate analysis and lead isotope analysis [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2019, 82:47-56.
- [7] MASBOU J, DROUIN G, PAYRAUDEAU S, et al. Carbon and nitrogen stable isotope fractionation during abiotic hydrolysis of pesticides [J]. *Chemosphere*, 2018, 213:368-376.
- [8] VOGT C, DORER C, MUSAT F, et al. Multi-element isotope fractionation concepts to characterize the biodegradation of hydrocarbons-from enzymes to the environment [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2016, 41:90-98.
- [9] CHEVALLIER M L, COOPER M, KUEMMEL S, et al. Distinct carbon isotope fractionation signatures during biotic and abiotic reductive transformation of chlordecone [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(6):3615-3624.
- [10] CINCINELLI A, PIERI F, ZHANG Y, et al. Compound specific isotope analysis (CSIA) for chlorine and bromine: A review of techniques and applications to elucidate environmental sources and processes [J]. *Environmental Pollution*, 2012, 169:112-127.
- [11] KAUFMANN R, LONG A, BENTLEY H, et al. Natural chlorine isotope variations [J]. *Nature*, 1984, 309(5966):338-340.
- [12] EGGENKAMP H G M, COLEMAN M L. Rediscovery of classical methods and their application to the measurement of stable bromine isotopes in natural samples [J]. *Chemical Geology*, 2000, 167:393-402.
- [13] ELSNER M, JOCHMANN M A, HOFSTETTER T B, et al. Current challenges in compound-specific stable isotope analysis of environmental organic contaminants [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 403(9):2471-2491.
- [14] KOZELL A, YECHESKEL Y, BALABAN N, et al. Application of dual carbon-bromine isotope analysis for investigating abiotic transformations of tribromoneopentyl alcohol (TBNPA) [J]. *Environmental Science and Technology*, 2015, 49(7):4433-4440.
- [15] SHOUAKAR-STASH O, DRIMMIE R J, ZHANG M, et al. Compound-specific chlorine isotope ratios of TCE, PCE and DCE isomers by direct injection using CF-IRMS [J]. *Applied Geochemistry*, 2006, 21(5):766-781.
- [16] SHOUAKAR-STASH O, FRAPE S K, DRIMMIE R J. Determination of bromine stable isotopes using continuous-flow isotope ratio mass spectrometry [J]. *Analytical Chemistry*, 2005, 77(13):4027-4033.
- [17] NUMATA M, NAKAMURA N, KOSHIKAWA H, et al. Chlorine isotope fractionation during reductive dechlorination of chlorinated ethenes by anaerobic bacteria [J]. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(20):4389-4394.
- [18] MA Y Q, PENG Z K, CHEN Y J, et al. High precise determination of bromine isotopic ratios by positive thermal ionization mass spectrometry using static multicollection based on Cs_2Br^+ Ions [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2016, 44(2):186-191.

- [19] SAKAGUCHI-SOEDER K, JAGER J, GRUND H, et al. Monitoring and evaluation of dechlorination processes using compound-specific chlorine isotope analysis[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2007, 21(18):3077-3084.
- [20] VAN ACKER M R M D, SHAHAR A, YOUNG E D, et al. GC/multiple collector-ICPMS method for chlorine stable isotope analysis of chlorinated aliphatic hydrocarbons[J]. *Analytical Chemistry*, 2006, 78(13):4663-4667.
- [21] 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[J]. *Analytical Chemistry*, 2010, 82(1):420-426.
- [22] 刘威德,李莉,池逸,等.气相色谱-高分辨飞行时间质谱法测定大气中六氯苯的氯同位素丰度比值[J]. *质谱学报*,2016,37(1):10-16.
- LIU X D, LI L, CHI Y, et al. Chlorine isotope analysis of hexachlorobenzene in air using high resolution time-of-flight mass spectrometry [J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2016, 37(1): 10-16 (in Chinese).
- [23] HOLT B D, STURCHIO N C, ABRAJANO T A, et al. Conversion of chlorinated volatile organic compounds to carbon dioxide and methyl chloride for isotopic analysis of carbon and chlorine[J]. *Analytical Chemistry*, 1997, 69(14):2727-2733.
- [24] JENDRZEJEWSKI N, EGGENKAMP H G M, COLEMAN M L. Sequential determination of chlorine and carbon isotopic composition in single microliter samples of chlorinated solvent[J]. *Analytical Chemistry*, 1997, 69(20):4259-4266.
- [25] HOLT B D, HERATY L J, STURCHIO N C. Extraction of chlorinated aliphatic hydrocarbons from groundwater at micromolar concentrations for isotopic analysis of chlorine[J]. *Environmental Pollution*, 2001, 113(3):263-269.
- [26] HITZFELD K L, GEHRE M, RICHNOW H H. A novel online approach to the determination of isotopic ratios for organically bound chlorine, bromine and sulphur[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2011, 25(20):3114-3122.
- [27] RENPENNING J, HITZFELD K L, GILEVSKA T, et al. Development and validation of an universal interface for compound-specific stable isotope analysis of chlorine ($^{37}\text{Cl}/^{35}\text{Cl}$) by GC-high-temperature conversion (HTC)-MS/IRMS[J]. *Analytical Chemistry*, 2015, 87(5):2832-2839.
- [28] FRANKE S, KUEMMEL S, NIJENHUIS I. Liquid chromatography/isotope ratio mass spectrometry analysis of halogenated benzoates for characterization of the underlying degradation reaction in *Thauera chlorobenzoica* CB-1^T[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2018, 32(11):906-912.
- [29] HOLMSTRAND H, ANDERSSON P, GUSTAFSSON O. Chlorine isotope analysis of submicromole organochlorine samples by sealed tube combustion and thermal ionization mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2004, 76(8):2336-2342.
- [30] NUMATA M, NAKAMURA N, KOSHIKAWA H, et al. Chlorine stable isotope measurements of chlorinated aliphatic hydrocarbons by thermal ionization mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2002, 455(1):1-9.
- [31] SYLVA S P, BALL L, NELSON R K, et al. Compound-specific $^{81}\text{Br}/^{79}\text{Br}$ analysis by capillary gas chromatography/multicollector inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2007, 21(20):3301-3305.
- [32] GELMAN F, HALICZ L. High precision determination of bromine isotope ratio by GC-MC-ICPMS [J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2010, 289(2/3):167-169.
- [33] ZAKON Y, HALICZ L, GELMAN F. Isotope analysis of sulfur, bromine, and chlorine in individual anionic species by ion chromatography/multicollector-ICPMS[J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(13):6495-6500.
- [34] ZAKON Y, HALICZ L, LEV O, et al. Compound-specific bromine isotope ratio analysis using gas chromatography/quadrupole mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2016, 30(17):1951-1956.
- [35] HECKEL B, RODRIGUEZ-FERNANDEZ D, TORRENTO C, et al. Compound-specific chlorine isotope analysis of tetrachloromethane and trichloromethane by gas chromatography-isotope ratio mass spectrometry vs gas chromatography-quadrupole mass spectrometry: method development and evaluation of precision and trueness[J]. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(6):3411-3420.
- [36] BERNSTEIN A, SHOAKAR-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 [J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(20):7624-7634.
- [37] 陈柳竹. 典型多溴联苯醚单体碳溴同位素效应研究[D]. 北京:中国地质大学,2017.
- CHEN L Z. Study on carbon and bromine isotopic effects of typical PBDEs congeners[D] Beijing: China University of Geosciences, 2017 (in Chinese).
- [38] 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[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(12):5279-5286.
- [39] SCHIMMELRNANN A, QI H, COPLEN T B, et al. Organic reference materials for hydrogen, carbon, and nitrogen stable isotope-ratio measurements: caffeine, *n*-alkanes, fatty acid methyl esters, glycines, L-valines, polyethylenes, and oils [J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(8):4294-4302.
- [40] TANG C M, TAN J H, XIONG S S, et al. Chlorine and bromine isotope fractionation of halogenated organic pollutants on gas chromatography columns[J]. *Journal of Chromatography A*, 2017, 1514:103-109.
- [41] TANG C M, TAN J H. Simultaneous observation of concurrent two-dimensional carbon and chlorine/bromine isotope fractionations of halogenated organic compounds on gas[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2018, 1039:172-182.

- [42] JENDRZEJEWSKI N, EGGENKAMP H G M, COLEMAN M L. Characterisation of chlorinated hydrocarbons from chlorine and carbon isotopic compositions: scope of application to environmental problems[J]. *Applied Geochemistry*, 2001, 16(9/10):1021-1031.
- [43] CHEN L Z, SHOUAKAR-STASH O, MA T, et al. Significance of stable carbon and bromine isotopes in the source identification of PBDEs[J]. *Chemosphere*, 2017, 186:160-166.
- [44] BOWDEN B F, TOWERZEY L, JUNK P C. A new brominated diphenyl ether from the marine sponge *Dysidea herbacea*[J]. *Australian Journal of Chemistry*, 2000, 53(4):299-301.
- [45] KUNIYOSHI M, YAMADA K, HIGA T. A biologically active diphenyl ether from the green alga *Cladophora fascicularis*[J]. *Experientia*, 1985, 41(4):523-524.
- [46] CHUNG H Y, MA W C J, ANG P O, et al. Seasonal variations of bromophenols in brown algae (*Padina arborescens*, *Sargassum siliquastrum*, and *Lobophora variegata*) collected in Hong Kong[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(9):2619-2624.
- [47] CARRIZO D, UNGER M, HOLMSTRAND H, et al. Compound-specific bromine isotope compositions of one natural and six industrially synthesised organobromine substances[J]. *Environmental Chemistry*, 2011, 8(2):127-132.
- [48] HOLMSTRAND H, ZENCAK Z, MANDALAKIS M, et al. Chlorine isotope evidence for the anthropogenic origin of tris-(4-chlorophenyl) methane[J]. *Applied Geochemistry*, 2010, 25(9):1301-1306.
- [49] DRENZEK N J, TARR C H, EGLINTON T I, et al. Stable chlorine and carbon isotopic compositions of selected semi-volatile organochlorine compounds[J]. *Organic Geochemistry*, 2002, 33(4):437-444.
- [50] REDDY C M, XU L, DRENZEK N J, et al. A chlorine isotope effect for enzyme-catalyzed chlorination[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2002, 124(49):14526-14527.
- [51] HOLMSTRAND H, GADOMSKI D, MANDALAKIS M, et al. Origin of PCDDs in ball clay assessed with compound-specific chlorine isotope analysis and radiocarbon dating[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(12):3730-3735.
- [52] ELSNER M, ZWANK L, HUNKELER D, et al. A new concept linking observable stable isotope fractionation to transformation pathways of organic pollutants[J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(18):6896-6916.
- [53] KUNTZE K, KOZELL A, RICHNOW H H, et al. Dual carbon-bromine stable isotope analysis allows distinguishing transformation pathways of ethylene dibromide[J]. *Environmental Science and Technology*, 2016, 50(18):9855-9863.
- [54] HOLMSTRAND H, MANDALAKIS M, ZENCAK Z, et al. First compound-specific chlorine-isotope analysis of environmentally-bioaccumulated organochlorines indicates a degradation-relatable kinetic isotope effect for DDT[J]. *Chemosphere*, 2007, 69(10):1533-1539.
- [55] PONSIN V, TORRENTO C, LIHL C, et al. Compound-specific chlorine isotope analysis of the herbicides atrazine, acetochlor, and metolachlor[J]. *Analytical Chemistry*, 2019, 91(22):14290-14298.
- [56] HOEYNG D, PROMMER H, BLUM P, et al. Evolution of carbon isotope signatures during reactive transport of hydrocarbons in heterogeneous aquifers[J]. *Journal of Contaminant Hydrology*, 2015, 174:10-27.
- [57] ROSELL M, PALAU J, HATIHAH MORTAN S, et al. Dual carbon-chlorine isotope fractionation during dichloroelimination of 1,1,2-trichloroethane by an enrichment culture containing *Dehalogenimonas* sp[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 648:422-429.
- [58] RODRIGUEZ-FERNANDEZ D, TORRENTO C, PALAU J, et al. Unravelling long-term source removal effects and chlorinated methanes natural attenuation processes by C and Cl stable isotopic patterns at a complex field site[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 645:286-296.
- [59] HERMON L, DENONFOUX J, HELLAL J, et al. Dichloromethane biodegradation in multi-contaminated groundwater: Insights from biomolecular and compound-specific isotope analyses[J]. *Water Research*, 2018, 142:217-226.
- [60] RODRIGUEZ-FERNANDEZ D, TORRENTO C, GUIVERNAU M, et al. Vitamin B₁₂ effects on chlorinated methanes-degrading microcosms: Dual isotope and metabolically active microbial populations assessment[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 621:1615-1625.
- [61] ABE Y, ARAVENA R, ZOPFI J, et al. Carbon and chlorine isotope fractionation during aerobic oxidation and reductive dechlorination of vinyl chloride and *cis*-1,2-dichloroethene[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(1):101-107.
- [62] MURRAY A M, OTTOSEN C B, MAILLARD J, et al. Chlorinated ethene plume evolution after source thermal remediation: Determination of degradation rates and mechanisms[J]. *Journal of Contaminant Hydrology*, 2019, 227, DOI: 10.1016/j.jconhyd.2019.103551.
- [63] QIAN Y G, CHEN K, LIU Y Q, et al. Assessment of hexachlorocyclohexane biodegradation in contaminated soil by compound-specific stable isotope analysis[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 254, DOI: 10.1016/j.envpol.2019.113008.
- [64] WU L P, MOSES S Y, LIU Y Q, et al. A concept for studying the transformation reaction of hexachlorocyclohexanes in food webs using multi-element compound-specific isotope analysis[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2019, 1064:56-64.
- [65] SCHILLING I E, BOPP C E, LAL R, et al. Assessing aerobic biotransformation of hexachlorocyclohexane isomers by compound-specific isotope analysis[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(13):7419-7431.
- [66] SCHILLING I E, HESS R, BOLOTIN J, et al. Kinetic isotope effects of the enzymatic transformation of γ -hexachlorocyclohexane by the lindane dehydrochlorinase variants LinA1 and LinA2[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(5):2353-2363.

- [67] BASHIR S, KUNTZE K, VOGT C, et al. Anaerobic biotransformation of hexachlorocyclohexane isomers by *Dehalococcoides* species and an enrichment culture[J]. *Biodegradation*, 2018, 29(4):409-418.
- [68] BENISRAEL M, WANNER P, ARAVENA R, et al. Toluene biodegradation in the vadose zone of a poplar phytoremediation system identified using metagenomics and toluene-specific stable carbon isotope analysis[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2019, 21(1):60-69.
- [69] MARCHESI M, ALBERTI L, SHOUAKAR-STASH O, et al. ³⁷Cl-compound specific isotope analysis and assessment of functional genes for monitoring monochlorobenzene (MCB) biodegradation under aerobic conditions[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 619:784-793.
- [70] GOLAN R, GELMAN F, KUDER T, et al. Degradation of 4-bromophenol by *Ochrobactrum* sp. H11 isolated from desert soil: pathway and isotope effects[J]. *Biodegradation*, 2019, 30(1):37-46.
- [71] BERENS M J, ULRICH B A, STREHLAU J H, et al. Mineral identity, natural organic matter, and repeated contaminant exposures do not affect the carbon and nitrogen isotope fractionation of 2,4-dinitroanisole during abiotic reduction[J]. *Environmental Science-Processes & Impacts*, 2019, 21(1):51-62.
- [72] EHRL B N, GHARASOO M, ELSNER M. Isotope fractionation pinpoints membrane permeability as a barrier to atrazine biodegradation in Gram-negative *Polaromonas* sp. Nea-C[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(7):4137-4144.
- [73] WOODS A, KUNTZE K, GELMAN F, et al. Variable dual carbon-bromine stable isotope fractionation during enzyme-catalyzed reductive dehalogenation of brominated ethenes[J]. *Chemosphere*, 2018, 190:211-217.
- [74] JIN B, NIJENHUIS I, ROLLE M. Simulation of dual carbon-bromine stable isotope fractionation during 1,2-dibromoethane degradation[J]. *Isotopes in Environmental and Health Studies*, 2018, 54(4):418-434.
- [75] BERNSTEIN A, RONEN Z, LEVIN E, et al. Kinetic bromine isotope effect: example from the microbial debromination of brominated phenols[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2013, 405(9):2923-2929.
- [76] ZAKON Y, HALICZ L, GELMAN F. Bromine and carbon isotope effects during photolysis of brominated phenols[J]. *Environmental Science and Technology*, 2013, 47(24):14147-14153.
- [77] ELSNER M. Stable isotope fractionation to investigate natural transformation mechanisms of organic contaminants: Principles, prospects and limitations[J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2010, 12(11):2005-2031.
- [78] CRETNIK S, THORESON K A, BERNSTEIN A, et al. Reductive dechlorination of TCE by chemical model systems in comparison to dehalogenating bacteria; Insights from dual element isotope analysis (¹³C/¹²C, ³⁷Cl/³⁵Cl)[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(13):6855-6863.
- [79] RENPENNING J, KELLER S, CRETNIK S, et al. Combined C and Cl isotope effects indicate differences between corrinoids and enzyme (*Sulfurospirillum multivorans* PccA) in reductive dehalogenation of tetrachloroethene, but not trichloroethene[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(20):11837-11845.
- [80] WIEGERT C, AEPPLI C, KNOWLES T, et al. Dual carbon-chlorine stable isotope investigation of sources and fate of chlorinated ethenes in contaminated groundwater[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(20):10918-10925.
- [81] KUDER T, VAN BREUKELEN B M, VANDERFORD M, et al. 3D-CSIA: Carbon, chlorine, and hydrogen isotope fractionation in transformation of TCE to ethene by a dehalococcoides culture[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(17):9668-9677.
- [82] AEPPLI C, TYSKLIND M, HOLMSTRAND H, et al. Use of Cl and C isotopic fractionation to identify degradation and sources of polychlorinated phenols: mechanistic study and field application[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(2):790-797.
- [83] BERGMANN F D, ABU LABAN N M F H, MEYER A H, et al. Dual (C, H) isotope fractionation in anaerobic low molecular weight (Poly)aromatic hydrocarbon (PAH) degradation: Potential for field studies and mechanistic implications[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(16):6947-6953.
- [84] KUDER T, WILSON J T, KAISER P, et al. Enrichment of stable carbon and hydrogen isotopes during anaerobic biodegradation of MTBE: Microcosm and field evidence[J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(1):213-220.
- [85] MARIOTTI A, GERMON J C, HUBERT P, et al. Experimental determination of nitrogen kinetic isotope fractionation: some principles; illustration for the denitrification and nitrification processes[J]. *Plant and Soil*, 1981, 62(3):413-430.
- [86] VAN BREUKELEN B M, HUNKELER D, VOLKERING F. Quantification of sequential chlorinated ethene degradation by use of a reactive transport model incorporating isotope fractionation[J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(11):4189-4197.
- [87] HUNKELER D, VAN BREUKELEN B M, ELSNER M. Modeling chlorine isotope trends during sequential transformation of chlorinated ethenes[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(17):6750-6756.