

元素分析-同位素质谱联用测定 微量氮元素同位素方法研究

尹希杰¹, 刘维维¹, 王永涛^{1,2}, 苏 静¹, 李廷伟³

(1. 自然资源部第三海洋研究所, 信息与测试保障中心, 福建 厦门 361005;

2. 河南理工大学资源环境学院, 河南 焦作 454000; 3. 中国科学院青海盐湖研究所, 青海 西宁 810008)

摘要:在保证仪器正常出峰的情况下, 缩小元素分析仪氧化管、还原管的管径, 优化色谱柱条件, 降低载气流速, 进而减小载气对进入质谱仪的 N_2 稀释比, 降低元素分析-同位素质谱(EA-IRMS)测试固体样品中氮同位素的检出限。结果表明, 优化前元素分析仪载气流速为 80 mL/min, 大约 20 μg 氮元素在质谱检测器产生的峰面积约 3×10^{-8} , $\delta^{15}\text{N}$ 值标准偏差为 0.13‰ ($n=6$); 优化后载气流速降至 20 mL/min, 大约 4 μg 氮元素产生的峰面积达到约 2×10^{-8} , 其 $\delta^{15}\text{N}$ 值标准偏差为 0.18‰ ($n=6$), 满足仪器测试氮同位素的标准偏差须小于 0.2‰ 的要求。

关键词:元素分析-同位素质谱(EA-IRMS); 微量氮元素; 优化

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2021)03-0346-07

doi: 10.7538/zpxb.2020.0051

Determination of $\delta^{15}\text{N}$ on Microgram Amounts by Modified Element Analysis-Isotope Ratio Mass Spectrometry

YIN Xi-jie¹, LIU Wei-wei¹, WANG Yong-tao^{1,2}, SU Jing¹, LI Ting-wei³

(1. Information and Testing Support Center, Third Institute of Oceanography,
Ministry of Natural Resources, Xiamen 361005, China;

2. School of Resources & Environment, Henan Polytechnic University, Jiaozuo 454000, China;

3. Qinghai Institute of Salt Lakes, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China)

Abstract: Generally, to satisfy the requirement of the standard deviation of 0.2‰ ($n=6$) in testing $\delta^{15}\text{N}$ by element analysis-isotope ratio mass spectrometry (EA-IRMS), the quality of the absolute content of nitrogen is needed to more than 20 μg . However, solid sample packing quality exceeds 30 mg, nitrogen in sample is difficult to fully oxidation by moment in the combustion tube, it may result in obvious trailing phenomenon of the spectrogram, then lead to low test results of the nitrogen content and produce isotope fractionation. Therefore, it is difficult to obtain an ideal result in testing certain solid samples with low nitrogen content (less than 0.07‰) using the current EA-IRMS

收稿日期: 2020-04-30; 修回日期: 2020-11-12

基金项目: 水体溶解硝酸盐氮同位素测试方法及应用研究(海三科 2016046); 青海省科技厅应用基础(2016-ZJ-736)资助

作者简介: 尹希杰(1977—), 男(汉族), 山东潍坊人, 副研究员, 从事气体稳定同位素测试技术和方法研究。

E-mail: yinxijie@tio.org.cn

technique, such as rock powders, marine sediments and poor soil. In this study, to solve the difficulties in testing the nitrogen isotopes of sediments with low nitrogen content, the diameter of combustion tube, reduction tube and scrubber tube and the condition of chromatographic column were optimized on the basis of fully mastering elemental analyzer and the principle of mass spectrometry interface. In addition, the flow rate of the carrier gas was reduced and the peak type of nitrogen gas chromatogram was basically unchanged, eventually reduced the target gas dilution and improved the nitrogen detection limit of EA-IRMS. Before modification, the carrier gas flow rate of the elemental analyzer was 80 mL/min, and the peak area of about 20 μg nitrogen in mass spectrometer was about 3×10^{-8} , and the standard deviation of $\delta^{15}\text{N}$ was 0.13‰ ($n=6$). After modification, the gas flow rate was reduced to 20 mL/min, and the peak area of about 4 μg nitrogen reached about 2×10^{-8} , the standard deviation of $\delta^{15}\text{N}$ was 0.18‰ ($n=6$), which met the requirement that the standard deviation of $\delta^{15}\text{N}$ tested by this instrument should be less than 0.2‰. This modification will greatly extend the testing range of EA-IRMS for $\delta^{15}\text{N}$ in solid samples with low nitrogen content and will have significant application value.

Key words: element analysis-isotope mass spectrometry (EA-IRMS); microgram amounts nitrogen element; modification

氮是生命活动的主要元素之一,对各类生命体、食物链、生态系统甚至整个生物圈功能的实现都起着不可或缺的作用。在科学探究全球氮循环方面,自然环境中存在的氮稳定同位素具有重要的地位和作用^[1],因同位素具有示踪、整合和指示等功能,以及检测快速、结果准确等特点,在自然科学研究中展现出日益广阔的应用前景,如生态学研究、植物生理分析和食品检测等^[2-6]。

目前,测定固体样品中总氮含量的常用方法有凯式蒸馏法和元素分析高温燃烧还原法^[7-8]。氮稳定同位素分析主要采用元素分析-同位素质谱(EA-IRMS)联用的高温氧化还原在线测定技术,与传统的真空热解法和次溴酸氧化离线法制样测定氮同位素相比,EA-IRMS具有高效、便捷的优点,简化了前处理过程,降低了人为操作误差,是测定固体样品总氮含量及其稳定同位素比值的通用方法^[9]。但元素分析仪载气流速通常大于 100 mL/min,而稳定同位素质谱通常需要真空度在 10^{-8} MPa 以上,进入质谱离子源的气体流速仅约 0.1 mL/min。EA-IRMS 联用技术需要对进入质谱的载气进行较大比例地稀释,导致样品检出限较高,极大地限制了该技术对低含氮量固体样品的测试。

EA-IRMS 测试氮同位素 $\delta^{15}\text{N}$ 值时,当标准偏差满足 0.2‰ ($n=6$) 的要求,氮元素的质量一般须大于 20 μg ,而当元素分析仪的固体包样量超过 30 mg,样品中氮元素在氧化管中难以被瞬间充分氧化,导致谱图存在明显拖尾现象,使氮含量的测试结果偏低并产生同位素分馏。一些固体样品(如岩石粉末、海洋沉积物和贫瘠的土壤)中的氮含量较低(低于 0.07%),采用 EA-IRMS 联用技术测试这些样品难以获得理想的结果。栗敏等^[10]发现在测试氮同位素时,尤其对低含氮量样品,进样量会直接影响实验结果,只有当进样量达到一定量以后,氮同位素的测试值才能接近准确值,最终数据表明,测试样品中绝对含氮量为 30~50 μg 时,结果偏差最小,所测得的氮同位素最可靠^[10]。受实验条件的限制,目前典型沉积环境中低含氮量的烃源岩及原油样品的测试数据极少,对沉积有机质的氮同位素研究较薄弱,关于氮同位素的测试条件和分析方法的报道较少。

为解决低含氮量样品难以测试氮同位素这一问题,本研究拟通过改变氧化管、还原管和除水管的管径,优化色谱柱条件,减小载气流速,并保持氮气色谱图峰形基本不变,实现降低目标气体的稀释度,进而提高 EA-IRMS 对氮气的检出限。

1 实验部分

1.1 仪器与装置

EA-IRMS 分析系统主要由 Sercon iso Earth 型元素分析仪和 Sercon HS20-22 同位素比值质谱仪组成;元素分析仪主要由 66 孔旋转木马式的气动自动进样装置、氧化柱、还原柱、吸水柱和分离柱等部分组成;氧化柱自上而下依次填充有氧化铬、氧化铜和镀银氧化钴;还原柱自上而下依次填充有石英碎屑和线状还原铜;吸水柱填充高氯酸镁;包裹固体样品用的锡杯为 5 mm×8 mm;梅特勒百万分之一电子天平;载气 He(纯度>99.999%),助燃气 O₂(纯度>99.999%),参考气 N₂(纯度>99.999%)。

1.2 样品与试剂

氮同位素的标准物质有 IAEA-600(咖啡因): $\delta^{15}\text{N}=1\text{‰}$;实验室标准乙酰苯胺(ACET): $\delta^{15}\text{N}=1.18\text{‰}$ 。

沉积物样品采自某市滨海湿地公园,首次测试后发现其含氮量低于 0.1%,属于低含氮量样品。

1.3 实验方法

用锡杯包好称重的样品,在 He 氛围下经自动进样器送入高温氧化管,1 000 ℃氧气氛围中瞬间氧化生成多种成分的混合气体,固体样品中的氮元素被氧化,随后在 600 ℃下氮的氧化物被还原铜还原成 N₂,生成的氮气和其他

气体通过化学阱除去水分,再经色谱柱分离,进入热导检测器(TCD)测定氮含量,少量氮气进入同位素比值质谱仪中,测定氮稳定同位素比值。

1.4 样品前处理及测试流程

用研钵研磨风干的固体样品,过 100 目筛,常温下干燥保存。根据样品中的含氮量,用百万分之一天平准确称量样品粉末,用锡箔杯紧密包裹成球状,并按样品编号依次放入 96 孔板中。将包裹好的标准物质和样品放入元素分析仪的自动进样器中,前 5 个孔不放(测量空白),然后按照合适的间隔放置标准品和样品。在开始、中间和末尾都要放置实验室标准品,用来校正仪器测试过程中的漂移。

2 元素分析仪优化改装

2.1 优化前元素分析仪配件规格

元素分析仪优化前,氧化管、还原管的石英玻璃管的规格一致,外径 20 mm,内径 16 mm,长 48 cm;除水阱内径 10 mm;色谱柱内径 4.8 mm,填料类型为 Carbosieve G,60~80 目,长 40 cm。具体配置示于图 1。

2.2 优化前测试条件

氧化柱温度 1 000 ℃,还原管温度 600 ℃,色谱柱温度 60 ℃;He 压力 117 kPa,流速 80 mL/min;O₂ 压力 124 kPa,流速 100 mL/min,加氧时间 20 s。

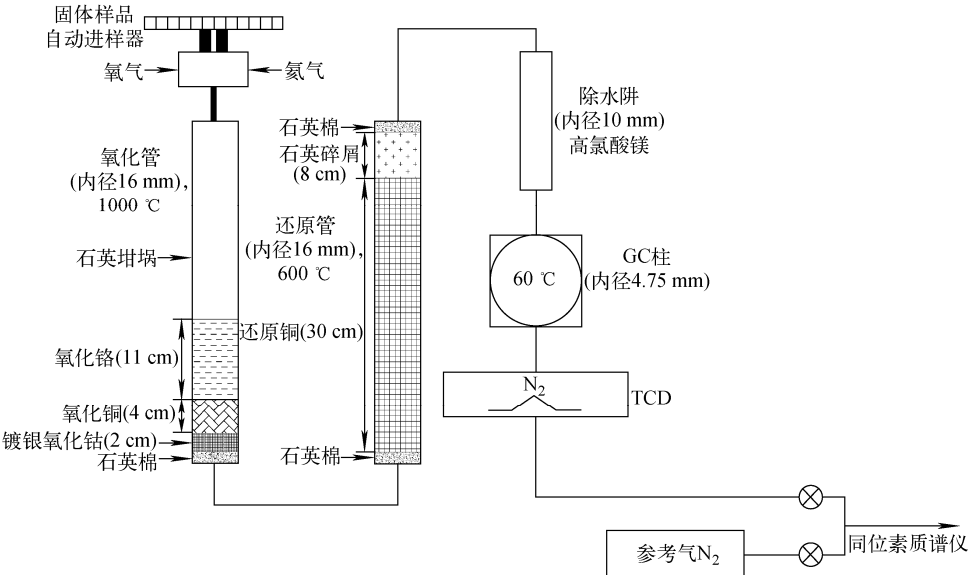


图 1 优化前元素分析仪的配置
Fig. 1 Element analyzer configuration before modified

2.3 优化后元素分析仪配件规格

氧化管上半部分和优化前用的石英玻璃管内径一致,内径 16 mm,长 24 cm,其中放置的灰分管规格与优化前的一样,下半部分管径变细,内径 8 mm,长 19 cm,用于填充氧化剂(Cr_2O_3 和 CuO)和镀银氧化钴($\text{Co}_3\text{O}_4\text{Ag}$);还原管外径 6 mm,内径 4 mm,长 48 cm;色谱柱内径

2 mm,填料类型为 Carbosieve G,60~80 目,长 50 cm。具体配置示于图 2。

2.4 优化后测试条件

氧化柱温度 1 050 $^{\circ}\text{C}$,还原柱温度 640 $^{\circ}\text{C}$,色谱柱温度 60 $^{\circ}\text{C}$;He 压力 207 kPa,He 流速 20 mL/min; O_2 压力 214 kPa, O_2 流速 40 mL/min,加氧时间 10 s。

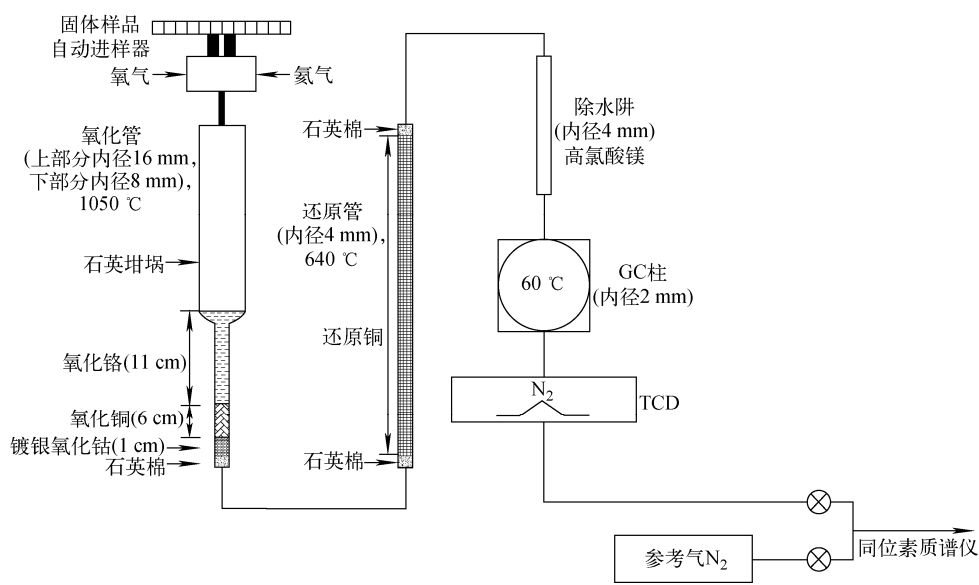


图 2 优化后元素分析仪的配置
Fig. 2 Element analyzer configuration after modified

2.5 方法评价

2.5.1 精密度 分别称取约 0.2 mg 和 0.04 mg 乙酰苯胺标准品各 6 份,紧密包裹于锡杯中,用优化前、后的仪器条件分别进行测试,对比 2 次测试结果,评估优化后 EA-IRMS 的稳定性。

2.5.2 氮含量和同位素线性 仪器优化前,分别称取约 0.03、0.06、0.1、0.2、0.4、0.8 和 1.2 mg 乙酰苯胺标准品各 3 份,根据热导检测器测定的积分面积与乙酰苯胺中氮元素的质量绘制相关曲线和氮同位素比值随氮元素质量变化的趋势图。优化后,分别称取约 0.01、0.02、0.03、0.04、0.06、0.1、0.2、0.3、0.4、0.6、0.8、1 mg 乙酰苯胺各 3 份,上机测试,根据测试结果绘制相关曲线和趋势图。

2.5.3 低含氮量沉积物氮同位素的测试 仪器优化后,选取某低含氮量(氮含量约 0.09%)的沉积物样品,分别称取 5、10 和 15 mg 样品各 4 份,紧密包裹于锡杯中,上机测试。

3 结果与讨论

3.1 优化前氮元素及同位素响应范围

乙酰苯胺质量(x)与仪器 TCD 检测器峰面积(y)的线性曲线示于图 3,氮元素在 2~120

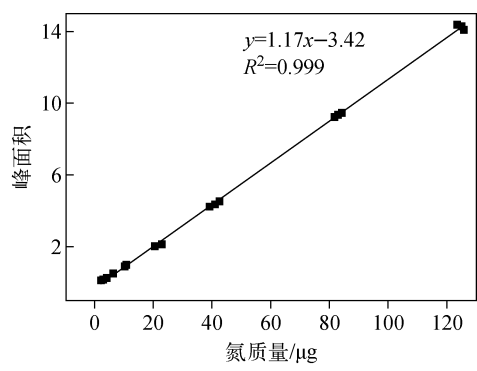


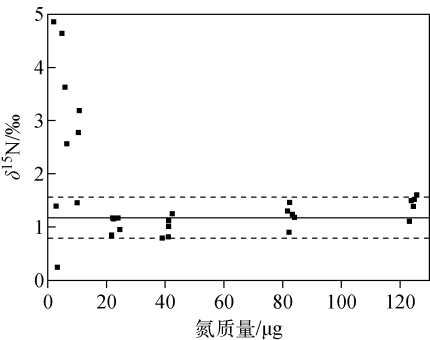
图 3 优化前乙酰苯胺中氮质量
与 TCD 峰面积的线性曲线
Fig. 3 Linear curve of nitrogen quality in acetanilide
and peak area detected by TCD before modified

μg 质量范围内与积分面积呈线性关系,线性方程为 $y=1.17x-3.42$, 相关系数 $R^2=0.999$ 。氮同位素 $\delta^{15}\text{N}$ 值随氮元素质量变化的测定结果示于图 4。当氮元素质量 $\geq 20\ \mu\text{g}$ 时, $\delta^{15}\text{N}$ 测试值基本处于虚线范围内,即 $\delta^{15}\text{N}$ 值的标准偏差范围在 0.2‰ 以内;当氮质量 $< 20\ \mu\text{g}$ 时,其 $\delta^{15}\text{N}$ 测试值大部分处于虚线范围外,标准偏差范围扩大至 $0.9\text{‰}\sim 1.83\text{‰}$ 之间。由此表明,样品中氮元素的绝对质量大于 $20\ \mu\text{g}$ 时,才能得到准确结果。

3.2 优化前的精密度

称取约 $0.2\ \text{mg}$ 乙酰苯胺,连续测定 6 次,结果列于表 1, 6 次测试结果的标准偏差(STD)为 0.133‰ , 表明仪器精密度良好。乙酰苯胺 $\delta^{15}\text{N}$ 的真实值为 1.18‰ , 6 个平行样的测试值和

真实值的标准偏差均小于 0.2‰ , 符合测试标准。



注:实线表示乙酰苯胺中氮同位素的真实值;
虚线表示 $\pm$ 标准偏差 0.2‰ 的值

图 4 优化前 $\delta^{15}\text{N}$ 值随氮质量变化趋势
Fig. 4 Variation trend of $\delta^{15}\text{N}$ with nitrogen quality before modified

表 1 乙酰苯胺精密度测试结果
Table 1 Precision test results of acetanilide

序号 No.	称样量 Weight/mg	峰面积 Peak area/ $\times 10^{-8}$	氮质量 Nitrogen quality/mg	真实值 Reference value/ ‰	测得值 Measured value/ ‰	标准偏差 STD/ ‰
1	0.219	3.02	21.01	1.18	1.00	0.133
2	0.21	3.12	21.58		0.85	
3	0.212	3.20	22.08		1.17	
4	0.217	3.24	22.28		1.14	
5	0.231	3.41	23.34		1.17	
6	0.238	3.51	23.91		0.95	

3.3 优化后氮元素及同位素响应范围

优化后乙酰苯胺氮质量(x)与仪器 TCD 检测器测定峰面积(y)的线性曲线示于图 5。可见,氮元素在 $1\sim 120\ \mu\text{g}$ 质量范围内与积分面积呈线性关系,线性方程为 $y=3.99x+0.36$, 相关

系数 $R^2=1$ 。氮同位素 $\delta^{15}\text{N}$ 值随氮元素质量变化的测定结果示于图 6。当氮元素质量小于 $4\ \mu\text{g}$ 时, $\delta^{15}\text{N}$ 测试值有部分落在虚线范围外,标准偏

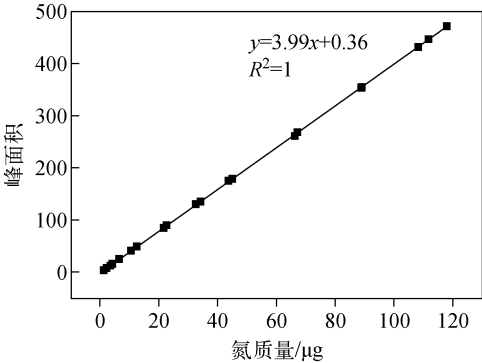
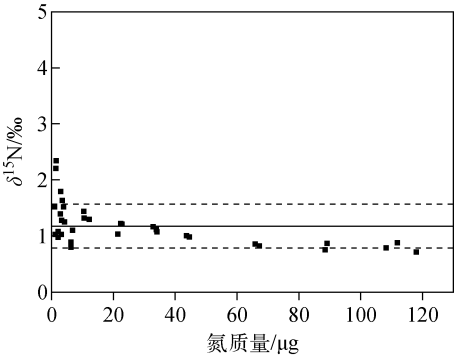


图 5 优化后乙酰苯胺中氮质量与 TCD 峰面积线性曲线
Fig. 5 Linear curve of nitrogen quality in acetanilide and beam area detected by TCD after modified



注:实线表示乙酰苯胺中氮同位素的真实值;
虚线表示 $\pm$ 标准偏差 0.2‰ 的值

图 6 优化后 $\delta^{15}\text{N}$ 值随氮元素质量变化的趋势
Fig. 6 Variation trend of $\delta^{15}\text{N}$ with nitrogen quality after modified

差范围增加至 0.39‰~0.76‰之间;当氮元素质量处于 4~80 μg 时,δ¹⁵N 测试值基本处于虚线范围内,即δ¹⁵N 值的标准偏差范围在 0.2‰以内,其中当氮元素在4~40 μg 质量范围内时,氮同位素测试的平行性及准确性都能达到仪器测试要求,当氮质量大于 40 μg 时,虽然平行性能满足 0.2‰的要求,但由于固体样品中氮元素氧化还原效率较低或色谱柱过载等因素,导致氮同位素产生分馏,测试结果趋于贫化,准确度降低。所以,优化后 EA-IRMS 仪器测定固体样品中氮元素质量最好处于 4~40 μg 之间。

3.4 优化后的精密度

称取约 0.04 mg 乙酰苯胺,连续测定 6 次,结果列于表 2,STD 为 0.184‰,表明优化后仪

器的精密度良好。乙酰苯胺δ¹⁵N 的真实值为 1.18‰,6 个平行样的测试值和真实值的标准偏差均小于 0.2‰,符合测试标准。

3.5 沉积物样品中氮同位素δ¹⁵N值测试结果

分别称取 5、10、15 mg 低含氮量的沉积物样品(氮含量约 0.09‰),用优化后的 EA-IRMS 检测,每种质量的样品平行测定 4 次,结果列于表 3。A1、A2、A3 和 A4 样品的氮同位素δ¹⁵N值的 STD 小于 0.2‰;同时,3 组不同质量沉积物样品中氮同位素δ¹⁵N平均值 STD 为 0.15‰(n=3),小于 0.2‰。表明 EA-IRMS 优化后,测试含氮质量大于 4 μg 的固体样品时,其样品氮含量和氮同位素测试结果的平行性和准确度都能满足仪器测试要求。

表 2 乙酰苯胺精密度测试结果
Table 2 Precision test results of acetanilide

序号 No.	称样量 Weight/mg	峰面积 Peak area/×10 ⁻⁸	氮的质量 Nitrogen quality/mg	真实值 Reference value/‰	测得值 Measured value/‰	标准偏差 STD/‰
1	0.043	2.13	4.17	1.18	0.88	0.184
2	0.041	2.07	4.06		1.19	
3	0.044	2.19	4.45		1.20	
4	0.042	2.11	4.22		1.29	
5	0.043	2.12	4.32		1.38	
6	0.045	2.28	4.44		1.00	

表 3 沉积物的测定结果
Table 3 Test results of sediment

序号 No.	质量 Weight/ mg	峰面积 Peak area/ ×10 ⁻⁸	氮含量 Nitrogen content/‰	氮质量 Nitrogen quality/mg	测定值 Measured value/‰	标准偏差 STD/‰	平均值 Average/ ‰	平均值 标准偏差 Average STD/‰
A1	5.04	2.04	0.09	4.54	6.15	0.09	6.29	0.15
A2	5.07	1.96	0.09	4.56	6.32			
A3	5.01	1.93	0.09	4.51	6.35			
A4	5.1	1.98	0.09	4.59	6.33			
A5	10.108	3.72	0.09	9.10	6.09	0.14	5.99	
A6	10.186	3.64	0.09	9.17	6.12			
A7	10.302	3.58	0.09	9.27	5.82			
A8	10.05	3.08	0.08	8.04	5.94			
A9	15.32	6.15	0.11	16.85	5.83	0.19	6.06	
A10	15.62	6.33	0.11	17.18	6.24			
A11	15.35	6.03	0.10	15.35	6.19			
A12	15.21	6.12	0.10	15.21	5.97			

4 结论

传统 EA-IRMS 检测固体样品中的氮同位素组成时,要求其氮含量大于 $20\ \mu\text{g}$ 才能获得相对准确的数据。对于低含氮量固体样品,包样质量较大,在燃烧管中不能被瞬间充分氧化,使氮同位素测试结果存在较大误差。仪器优化后,氮同位素的检出限降低 5 倍($4\ \mu\text{g}$)以上,常规的低含氮量固体样品包样质量可以控制在 $5\sim 20\ \text{mg}$ 之间,很大程度上避免了因为燃烧不充分而导致的同位素分馏现象。本研究对 EA-IRMS 的优化改造能满足检测低含氮量固体样品的技术需求,同时对设计其他低含氮量样品的检测仪器具有借鉴意义。

参考文献:

- [1] 秦德谛. 海洋沉积物中碳、氮稳定同位素($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$)标准物质研制[D]. 青岛:青岛大学,2017.
- [2] 张硕,高世科,于雯雯,李士虎. 碳、氮稳定同位素在构建海洋食物网及生态系统群落结构中的研究进展[J]. 水产养殖,2019,40(7):6-10.
ZHANG Shuo, GAO Shike, YU Wenwen, LI Shihu. Research progress of stable carbon and nitrogen isotopes in the construction of marine food web and ecosystem community structure [J]. Journal of Aquaculture, 2019, 40(7): 6-10 (in Chinese).
- [3] 曾芳,毛治超. 稳定碳同位素分析技术及其在地球化学中的应用[J]. 石油天然气学报,2010(2): 246-249.
ZENG Fang, MAO Zhichao. Stable carbon isotope analysis technology and its application in geochemistry[J]. Journal of Oil and Gas Technology, 2010(2): 246-249(in Chinese).
- [4] 刘慧杰,田蕴,郑天凌. 稳定同位素技术在污染环境生物修复研究中的应用[J]. 应用与环境生物学报,2007(3):157-162.
LIU Huijie, TIAN Yun, ZHENG Tianling. Application of stable isotope probing in bioremediation of polluted environment[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2007 (3): 157-162(in Chinese).
- [5] 白志鹏,张利文,彭林,朱坦,冯银厂. 稳定同位素在污染物溯源与示踪中的应用[J]. 城市环境与城市生态,2006(4):33-36.
BAI Zhipeng, ZHANG Liwen, PENG Lin, ZHU Tan, FENG Yinchang. Application of stable isotope to trace to the sources and trail pollutants [J]. Urban Environment & Urban Ecology, 2006 (4): 33-36(in Chinese).
- [6] 余婕,刘敏,许世远,侯立军,欧冬妮,程书波. 长江口潮滩有机质稳定碳同位素时空分布与来源分析[J]. 地理研究,2008,27(4):847-854.
YU Jie, LIU Min, XU Shiyuan, HOU Lijun, OU Dongni, CHENG Shubo. Spatiotemporal distribution and source analysis of stable carbon isotopes in organic matter of tidal flats in the Yangtze Estuary[J]. Geographical Research, 2008, 27(4): 847-854(in Chinese).
- [7] 王旭,张福松,丁仲礼. EA-Conflo-IRMS 联机系统的燃烧转化率漂移及其对碳、氮同位素测定的影响[J]. 质谱学报,2006,27(2):104-109.
WANG Xun, ZHANG Fusong, DING Zhongli. Changes of the combustion transformation capability for EA-Conflo-IRMS and their impacts on carbon and nitrogen isotope ratio measurement [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2006, 27(2): 104-109(in Chinese).
- [8] 王政,刘卫国,文启彬. 土壤样品中氮同位素组成的元素分析仪-同位素质谱分析方法[J]. 质谱学报,2005,26(2):71-75.
WANG Zheng, LIU Weiguo, WEN Qibin. Measurement of nitrogen isotopic composition of soil samples by element analysis-isotope mass spectrometry[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2005, 26(2): 71-75 (in Chinese).
- [9] 徐丽,邢蓝田,王鑫,李中平,毛俊丽. 元素分析仪-同位素比值质谱测量碳氮同位素比值最佳反应温度和进样量的确定[J]. 岩矿测试,2018,37(1):15-20.
XU Li, XING Lantian, WANG Xin, LI Zhongping, MAO Junli. Study on the optimal reaction temperature and sampling weight for measurement of carbon and nitrogen isotope ratio by elemental analysis-isotope ratio mass spectrometer [J]. Rock and Mineral Analysis, 2018, 37(1): 15-20(in Chinese).
- [10] 栗敏. 典型沉积环境中沉积有机质氮同位素组成特征及地质意义[D]. 北京:中国石油大学,2018.