

李科, 张琳, 刘福亮, 等. 有机化学物质碳氮稳定同位素系列标准物质研制[J]. 岩矿测试, 2020, 39(5): 753 - 761.

LI Ke, ZHANG Lin, LIU Fu-liang, et al. Preparation of Reference Materials for Carbon and Nitrogen Isotopes of Organic Materials[J]. Rock and Mineral Analysis, 2020, 39(5): 753 - 761.

【DOI: 10.15898/j.cnki.11-2131/td.201905290074】

## 有机化学物质碳氮稳定同位素系列标准物质研制

李科, 张琳\*, 刘福亮, 贾艳琨

(自然资源部地下水科学与工程重点实验室, 中国地质科学院水文地质环境地质研究所, 河北 正定 050803)

**摘要:** 实验室和研究人员所使用的碳、氮同位素标准物质一般由国际原子能机构(IAEA)获得, 然而近年来, 随着碳氮同位素在实验室质量监控、方法评价、仪器校准等方面的广泛应用, 市场需求量不断增加, IAEA研制的碳、氮同位素标准物质的种类与数量逐渐不能满足科学研究快速发展的需求。我国急需研制适应当今分析技术水平的有机质碳氮同位素国家标准物质用以进行质量监控、方法评价、仪器校准。为保证量值传递精度, 本文研制了4个有机化学物质的碳氮稳定同位素标准物质, 其中3个为尿素样品, 1个为L-谷氨酸。经检验4种标准物质的均匀性通过F值检验, 标准物质的 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值经过一年的稳定性检验, 特征量值变化在测量方法允许的不确定度范围内, 由此判定 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值稳定性良好。由包括研制单位实验室在内的12家实验室协同定值, 采用高温燃烧-气体同位素质谱法测定了 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值, 系列标准物质 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 认定值区间呈梯度分布,  $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $-40\text{‰} \sim 0\text{‰}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ 值为 $-10\text{‰} \sim 30\text{‰}$ , 涵盖了我国天然样品中有机质碳氮稳定同位素组成范围; 研制的系列标准物质 $\delta^{13}\text{C}$ 的定值扩展不确定度不大于 $0.08\text{‰}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ 的定值扩展不确定度不大于 $0.09\text{‰}$ , 定值水平与国际标准物质相当。该系列标准物质已被国家质检总局批准为国家一级标准物质, 批准号为GBW04494~GBW04497。可被用于地质、生态、环境等多种样品 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 比值测定时的分析监控、仪器校准、方法评价、质量保证和质量监控。

**关键词:** 尿素; L-谷氨酸; 标准物质; 碳氮稳定同位素; 特征量值; 定值; 不确定度

**要点:**

- (1) 研制完成一组梯度范围大的有机质碳氮同位素国家一级标准物质 GBW04494 ~ GBW04497。
- (2) 联合国内外12家实验室使用同位素质谱仪, 采用国际标准物质作为溯源标准联合定值。
- (3) 扩展不确定度分别由测量不确定度、不均匀性不确定度、不稳定性不确定度合成计算得到。

中图分类号: O613.71; O613.61

文献标识码: A

碳、氮元素作为生物生存必须的元素, 是组成生态系统的骨架。天然体中存在着大量碳、氮元素及其化合物, 随着物理和化学作用等天然条件的改变, 引起它们的同位素比微量改变即同位素分馏, 这种微量变化是认识天然体中物质变化的最好信息。稳定碳同位素广泛应用于探讨各种生态环境中的物质来源和迁移规律<sup>[1-3]</sup>, 氮同位素则反映了不同物源的贡献<sup>[4-5]</sup>, 作为生态环境研

究的示踪剂, 碳、氮同位素可以提供非常重要的信息及人类活动记录, 在水中颗粒物、污泥、海洋沉积物、植物、土壤、第四纪等领域的研究愈加广泛<sup>[6-12]</sup>。碳、氮稳定同位素的分析已越来越广泛地用于同位素化学、生物化学、环境科学、地球化学、矿物学和宇宙化学等<sup>[13-17]</sup>。

碳、氮同位素国际标准物质由国际原子能机构(IAEA)研制并向世界范围内的相关实验室发放,

收稿日期: 2019-05-29; 修回日期: 2019-12-16; 接受日期: 2020-06-03

基金项目: 中国地质科学院基本科研业务费项目(SK201908)

作者简介: 李科, 硕士, 工程师, 水质分析专业。E-mail: 77906583@qq.com。

通讯作者: 张琳, 硕士, 研究员, 从事地下水同位素分析研究。E-mail: zhl5369@163.com。

因其制备数量有限,几种主要碳氮同位素国际标准物质现已耗尽,IAEA 倡导各国研制与国际标准相联系的自己国家的同位素标准物质,美国、日本<sup>[18]</sup>等很多国家都研制了与国际标准 VPDB 和 Air - N<sub>2</sub> 相联系的碳、氮同位素标准物质,满足本国科研需求。在我国有证标准物质中,20 世纪 80 年代末期由中国石油勘探开发科学研究院研制了炭黑国家一级标准物质(GBW04407、GBW04408),用于有机质碳同位素的测定。炭黑由近乎 100% 纯碳组成,更适用于石油等领域高碳含量样品测试。而环境中复杂成分的有机物质,由于其碳含量(如土壤、沉积物等样品)相对较低,之前的国家标准物质已经不能满足当前各实验室生态环境样品研究需求。随着实验仪器的发展进步,碳、氮同位素可以同时检出,而我国尚无氮同位素标准物质,研制与国际标准 VPDB 和 Air - N<sub>2</sub> 相联系的碳、氮同位素标准物质成为我国同位素技术应用工作所面临的一项紧迫任务。

国际上新近开展的同位素标准研制工作,皆使同位素组成形成系列,且差别更小,以提高量值传递精度。根据国际同位素研究学科发展趋势和有机质碳氮同位素标准物质研究现状,本项目组按照我国环境样品中碳氮稳定同位素含量范围<sup>[6-8]</sup>,完成了涵盖我国天然环境碳氮稳定同位素端值的呈梯度分布的 4 个有机质碳、氮同位素标准物质,采用目前国际广泛应用的高温燃烧 - 气体同位素质谱法在线连续流分析技术<sup>[19-21]</sup>,开展均匀性、稳定性检验及定值,以适应新方法新技术的需求,满足不同环境样品碳、氮稳定同位素分析研究需求。

## 1 实验部分

### 1.1 候选物的采集和制备

本次标准物质与国际标准相联系,所选的候选物包括了物理性质不同的易溶于水的尿素和微溶于水的 L - 谷氨酸,两种有机物在室温条件下非常稳定。选择的有机质稳定、均匀,有足够量,能够保证长期保存,两种有机物 C 与 N 摩尔比不同,可满足不同生态样品分析需求。

根据生态系统中碳、氮同位素值组成的区间值  $\delta^{13}\text{C}$  值为  $-40\text{‰} \sim 0\text{‰}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  值为  $-10\text{‰} \sim 30\text{‰}$ , 确定了本项目研制的系列碳氮同位素标准物质同位素值区间。通过对大量商用试剂候选物的测试,筛选出处于  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  负端值的尿素、L - 谷氨酸商用分析纯作为 2 个候选物(表 1),通过添加高富集的  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  尿素纯品,人工配制另两种尿素,由此组成

表 1 碳氮同位素标准物质候选物设计

Table 1 Design of candidates for carbon and nitrogen isotopes reference materials

候选物 编号	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ 值 区间(‰)	$\delta^{15}\text{N}_{\text{Air-N}_2}$ 值 区间(‰)	样品制备
CN-1 (尿素 1 <sup>#</sup> )	-46.0 ~ -45.0	-0.5 ~ 0.5	购置商用分析纯试剂。 样品经真空干燥、研磨,过筛后分装
CN-2 (尿素 2 <sup>#</sup> )	-27.0 ~ -26.0	33 ~ 34	人工配制。加入高富集 <sup>15</sup> N (98.5%)、 <sup>13</sup> C(99.%) 尿素标记物,通过重量法配制。配制过程包括混合、搅拌溶解、冷冻干燥、研磨,过筛后分装
CN-3 (尿素 3 <sup>#</sup> )	1.5 ~ 2.5	17 ~ 18	人工配制。加入高富集 <sup>15</sup> N (98.5%)、 <sup>13</sup> C(99.%) 尿素标记物,通过重量法配制。配制过程包括混合、搅拌溶解、冷冻干燥、研磨,过筛后分装
CN-4 (L - 谷氨酸)	-11.5 ~ -11.0	-8.0 ~ -7.0	购置商用分析纯试剂。 样品经真空干燥、研磨,过筛后分装

呈梯度分布、满足不同特征值需求的系列(4 个)有机物同位素标准品。

### 1.2 候选物分装

在分装标准前对小瓶进行洗涤(酸洗、水洗),烘干,灭菌。在尽可能短的时间内将样品分装于洁净的小玻璃瓶中,每瓶装 1g,每种标准样品分装 1000 瓶,从 001 ~ 1000 逐瓶编号。封口后全部样品放置在装有硅胶的干燥器中保存,干燥器放置于避光处长期保存。

## 2 候选物均匀性和稳定性检验

### 2.1 候选物均匀性检验

每种标准物质随机抽取 25 瓶的均匀性子样,包括子样中最可能产生污染的分装过程的前 5 瓶,然后再随机抽取子样 20 瓶,每份子样做双份分析。 $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  值选择经典的高温燃烧 - 气体同位素质谱法进行样品的均匀性检验,按照《标准物质定值的通用原则及统计学原理》(JJF 1343—2012)对测试结果进行方差(单因素  $F$  检验法)检验,4 种标准物质的均匀性检验得到的  $F$  值都小于相应的自由度的临界值,测试结果(表 2)显示 4 种标准物质候选物的均匀性良好。

表2 候选物 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值的均匀性检验方差分析结果Table 2 Variance analysis for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values homogeneity inspection of reference materials

候选物 编号	检验项目	单元间平方和 ( $SS_{\text{among}}$ )	单元内平方和 ( $SS_{\text{with}}$ )	单元间自由度 ( $\nu_{\text{among}}$ )	单元内自由度 ( $\nu_{\text{with}}$ )	检验统计值 ( $F_{\text{cal}}$ )	标准偏差 ( $\%o$ )	自由度临界值 ( $F_{\text{crit}}$ )
CN-1	$\delta^{13}\text{C}$	0.1557	0.1418	24	25	1.14	0.06	1.97
	$\delta^{15}\text{N}$	0.1609	0.1529	24	25	1.10	0.06	
CN-2	$\delta^{13}\text{C}$	0.1107	0.1115	24	25	1.03	0.05	1.97
	$\delta^{15}\text{N}$	0.1702	0.1705	24	25	1.04	0.06	
CN-3	$\delta^{13}\text{C}$	0.1797	0.1629	24	25	1.15	0.06	1.97
	$\delta^{15}\text{N}$	0.1384	0.1242	24	25	1.16	0.05	
CN-4	$\delta^{13}\text{C}$	0.1116	0.0871	24	25	1.33	0.05	1.97
	$\delta^{15}\text{N}$	0.1434	0.1443	24	25	1.04	0.05	

注:方差分析表均依据《标准物质定值的通用原则及统计学原理》(JJF 1343—2012)进行统计。

## 2.2 候选物稳定性检验

标准物质的稳定性包括短期稳定性和长期稳定性。为了获得具有良好稳定性的标准物质,本次研制的系列标准物质的初始阶段注意选择了具有稳定性材料作为标准物质的候选物<sup>[22-23]</sup>,《标准物质定值的通用原则及统计学原理》(JJF 1343—2012)中5.1短期稳定性评估通常在不同温度条件下进行,以考察温度对于标准物质待特性值的影响,此次选择将4种标准物质在不同温度(4℃、20℃、35℃、50℃、60℃)下,进行样品 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 测定。经检验,环境温度对 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值无影响,因此本次研制的标准物质可保证标准物质在温度、运输过程中的短期稳定性。

4种标准物质依据JJF 1343—2012中5.2要求,进行了长期稳定性的研究。在本项目实施的近两年过程中,结合定值采用高温燃烧-气体同位素质谱法进行了5次 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 稳定性检验,由稳定

性测试结果(表3)表明,本项目研制的标准物质候选物是稳定的。

## 3 特征量值分析及定值

### 3.1 定值溯源性

本次标准物质质量值的定值,采用多个实验室采用一种或多种准确、可靠的方法协作测定,强调每个环节的量值溯源性,并且利用一切技术手段及组织手段确保分析数据的准确度和可靠性。测量 $\delta^{13}\text{C}$ 值时,以国际标准IAEA-CH-6、USGS40、USGS41、L-SVEC为测量尺度。测量 $\delta^{15}\text{N}$ 值时,以国际标准USGS40、IAEA-N-1、IAEA-N-2、USGS41为测量尺度,采用线性校正<sup>[24-26]</sup>所定出的 $\delta$ 值就是相对于国际标准VPDB和Air-N<sub>2</sub>的值。

### 3.2 定值实验室

经过对行业代表性、实验室技术能力及设备条件等进行综合考虑,本次标准物质定值,经过前期的

表3 候选物 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 值的稳定性检验结果Table 3 Results of for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values stability inspection of standard materials

样品编号	特征量值	$T_1$ (0个月)	$T_2$ (3个月)	$T_3$ (6个月)	$T_4$ (12个月)	$T_5$ (19个月)
CN-1	$\delta^{13}\text{C}(\%o)$	-45.56 ( $n=4$ )	-45.61 ( $n=4$ )	-45.54 ( $n=4$ )	-45.60 ( $n=4$ )	-45.58 ( $n=4$ )
	$\delta^{15}\text{N}(\%o)$	-0.26 ( $n=4$ )	-0.22 ( $n=4$ )	-0.27 ( $n=4$ )	-0.25 ( $n=4$ )	-0.28 ( $n=4$ )
CN-2	$\delta^{13}\text{C}(\%o)$	-26.55 ( $n=4$ )	-26.52 ( $n=4$ )	-26.55 ( $n=4$ )	-26.57 ( $n=4$ )	-26.54 ( $n=4$ )
	$\delta^{15}\text{N}(\%o)$	33.79 ( $n=4$ )	33.77 ( $n=4$ )	33.87 ( $n=4$ )	33.85 ( $n=4$ )	33.88 ( $n=4$ )
CN-3	$\delta^{13}\text{C}(\%o)$	2.15 ( $n=4$ )	2.20 ( $n=4$ )	2.18 ( $n=4$ )	2.14 ( $n=4$ )	2.15 ( $n=4$ )
	$\delta^{15}\text{N}$	17.76 ( $n=4$ )	17.78 ( $n=4$ )	17.81 ( $n=4$ )	17.74 ( $n=4$ )	17.77 ( $n=4$ )
CN-4	$\delta^{13}\text{C}(\%o)$	-11.09 ( $n=4$ )	-11.06 ( $n=4$ )	-11.11 ( $n=4$ )	-11.08 ( $n=4$ )	-11.12 ( $n=4$ )
	$\delta^{15}\text{N}(\%o)$	-7.55 ( $n=4$ )	-7.48 ( $n=4$ )	-7.51 ( $n=4$ )	-7.53 ( $n=4$ )	-7.49 ( $n=4$ )

盲样考核后确定了包括研制单位实验室在内的12家实验室分别参与协同定值,参加协同定值的实验室为(实验室编号依次为1~12):加拿大渥太华大学稳定同位素实验室(University of Ottawa G. G. Hatch Stable Isotope Laboratory),中国科学院地质与地球物理研究所,河海大学,国家海洋局杭州海洋二所,国家海洋局杭州海洋三所,中国地质科学院青岛海洋地质研究所,中国科学院东北地理与农业生态研究所,英国 Iso - Analytical 同位素分析研究中心(Iso - Analytical Stable Isotope Ratio Analysis Laboratory),英国苏格兰大学(Scottish Universities Environmental Research Centre),中国地质调查局南京地质调查中心,中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所。

### 3.3 定值元素 $\delta^{13}\text{C}$ 的测量方法及结果

本次  $\delta^{13}\text{C}$  值的定值测定是以经典的高温燃烧 - 气体同位素质谱法进行测试,各实验室的测试仪器不同。根据 Reference materials—General and statistical principles for certification(ISO Guide 35)和《标准物质定值的通用原则及统计学原理》(JJF 1343—2012)规定, $\delta^{13}\text{C}$  定值实验组数为10组(表4)。

表4 各实验室  $\delta^{13}\text{C}$  值的分析方法和分析数据

Table 4 Multiple measurement data of  $\delta^{13}\text{C}$  for the four reference materials

实验室编号	CN - 1	CN - 2	CN - 3	CN - 4
1	-45.62	-26.61	2.14	-11.09
2	-45.71	-26.55	2.25	-11.10
3	-45.52	-26.60	2.21	-11.06
4	-45.60	-26.57	2.18	-11.08
5	-45.63	-26.55	2.10	-11.09
6	-45.91	-26.62	2.10	-11.06
7	-45.60	-26.57	2.15	-11.10
8	-45.60	-26.62	2.23	-11.18
9	-45.60	-26.55	2.25	-11.11
10	-45.51	-26.60	2.01	-11.10
平均值( $\%e$ )	-45.60	-26.58	2.16	-11.09
标准偏差 $s(\%e)$	0.058	0.029	0.078	0.016
标准不确定度 $u_A$	0.0183	0.0089	0.0234	0.0050

### 3.4 定值元素 $\delta^{15}\text{N}$ 值的测量方法及结果

本次  $\delta^{15}\text{N}$  值的定值是采用经典的高温燃烧 - 气体同位素质谱法进行测试,各实验室的测试仪器不同。根据 ISO Guide 35 和 JJF 1343—2012 规定, $\delta^{15}\text{N}$  定值实验组数为12组(表5)。

表5 各实验室  $\delta^{15}\text{N}$  值的分析方法和分析数据

Table 5 Multiple measurement data of  $\delta^{15}\text{N}$  for the four reference materials

实验室编号	CN - 1	CN - 2	CN - 3	CN - 4
1	-0.25	33.79	17.67	-7.52
1	-0.25	33.81	17.76	-7.56
1	-0.24	33.78	17.77	-7.52
2	-0.25	33.80	17.72	-7.49
2	-0.29	33.71	17.69	-7.48
4	-0.21	33.62	17.64	-7.41
5	-0.24	33.78	17.74	-7.51
6	-0.20	33.90	17.84	-7.53
8	-0.25	33.78	17.62	-7.56
9	-0.25	33.61	17.64	-7.50
10	-0.16	33.77	17.76	-7.50
11	-0.31	33.63	17.64	-7.58
12	-0.25	33.79	17.67	-7.52
平均值( $\%e$ )	-0.24	33.75	17.71	-7.51
标准偏差 $s(\%e)$	0.039	0.088	0.068	0.053
标准不确定度 $u_A$	0.0114	0.0256	0.0192	0.0127

### 3.5 数据处理

本次标准物质以组均值为基础,整理各协作实验室报出的数据,按标准物质数据处理的模式<sup>[27-32]</sup>:①分别采用狄克逊法(Dixon)和格拉布斯法(Grubbs)同时进行离群值检验,两种方法检验均为离群值则予以剔除;②采用夏皮罗 - 威尔克法(Shapiro - Wilk)检验数据正态性;③采用科克伦法(Cochran)检验各组数据之间是否等精度。经检验研制的4个碳氮同位素标准物质正态检验值  $W$  均大于置信概率95%的列表值,剔除后的定值测试数据均呈正态分布。

### 3.6 不确定度计算与评估

《标准物质定值的通用原则及统计学原理》(JJF 1343—2012)明确了标准值的总不确定度由三部分组成。第一部分是标准物质定值过程带来的不确定度  $u_{\text{char}}$ ,包括:①定值数据平均值的不确定度  $u_A$ ,由定值实验室间的标准偏差、测量次数及所要求的置信水平按统计方法计算得出;②对测量的其他一些影响因素作出分析估算出其大小  $u_B$ 。第二部分是物质的不均匀性引起的不确定性估计  $u_{\text{inh}}$ ;第三部分是物质在有效期内的变动性所引起的误差  $u_S$ ;这三部分不确定度的合成不确定度为标准物质的总不确定度。现简要分析如下。

(1)分析测量的引起的A类不确定度和B类不确定度

本次标准物质是由多个实验室使用一种准确可

靠的方法协同进行定值。测量数据经正态分布检验分析得出各组数据呈正态分布。因此以算术平均值作为最佳估计值(标准值);A类不确定度为平均值的不确定度,以各实验室定值数据平均值的标准偏差、测量次数及95%的置信水平算得,作为第一部分不确定度的估算值(包含了样品分馏、测量全过程的误差)。按照算术平均值的不确定度公式(1)进行计算:

$$\mu_A = s/\sqrt{n} \quad (1)$$

式中: $s$ —实验室平均值数据间的标准偏差; $n$ —实验室平均值数据个数。

标准不确定度B类评定是通过借助可利用的相关信息,进行科学分析判断而得到的标准偏差,经分析判断得到的标准偏差,得出不确定度的B类判定分量。本次定值过程中样品和国际标准物质均使用相同原理方法及仪器进行测量,样品通过线性校正得到定值结果。本次B类不确定度来源主要来自两方面:由国际标准物质本身不确定度引入的不确定度和标准曲线拟合中数据对非线性的不确定度。

#### (2) 不均匀性引起的不确定度

前已述及,通过均匀性检验证明4种标准物质均匀性良好,这里应用ISO35导则中数学统计方法进一步对不均匀性引起的不确定度进行分析。样品组间不均匀性引起的标准偏差为 $MS_{\text{among}}$ ,组内不均匀性引起的标准偏差为 $MS_{\text{within}}$ ,样品不均匀性引起的不确定度( $u_{\text{hom}}$ )由公式(2)进行计算。

$$u_{\text{hom}} = \sqrt{\frac{MS_{\text{among}}}{MS_{\text{within}}}} \quad (2)$$

#### (3) 不稳定性引起的不确定度

4种标准物质的特征量值稳定性数据中无可观察到的趋势。按照导则ISO35中8.5方法,选择了通过斜率为零的回归直线的不确定度估计稳定性的不确定度 $u_{\text{ls}}$ ,在给定的时间 $t$ 内没有显著降解的情况下,采用公式(3)计算由于样品不稳定引起的不确定度:

$$u_{\text{ls}} = s_b \times t \quad (3)$$

#### (4) 扩展不确定度

标准物质测量的扩展不确定度 $U_{\text{CRM}}$ 为定值测量不确定度 $u_{\text{char}}$ 、均匀性引起的不确定度 $u_{\text{bb}}$ 、稳定性引起的不确定度 $u_{\text{ls}}$ 对特征值总不确定度的贡献来计算,见公式(4)。当对应的置信水平为95%时,包含因子 $k=2$ ,不确定度的修约是只进不舍。最终的定值结果列于表6。

$$U_{\text{CRM}} = k \sqrt{u_{\text{char}}^2 + u_{\text{bb}}^2 + u_{\text{ls}}^2} \\ = k \sqrt{u_A^2 + u_B^2 + u_{\text{bb}}^2 + u_{\text{ls}}^2} \quad (4)$$

表6 定值元素 $\delta^{13}\text{C}$ 和 $\delta^{15}\text{N}$ 认定值及扩展不确定度

Table 6  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  certified values for materials GBW04494 to GBW04497 and their associated expanded uncertainties ( $k=2$ )

同位素比值	认定值及扩展不确定度(‰)			
	GBW04494	GBW04495	GBW04496	GBW04497
$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$	-45.60 ± 0.08	-26.58 ± 0.06	2.16 ± 0.10	-11.09 ± 0.09
$\delta^{15}\text{N}_{\text{Air-N}_2}$	-0.24 ± 0.13	33.75 ± 0.09	17.71 ± 0.09	-7.51 ± 0.06

## 4 结论

本文报道了获批的有机质碳氮同位素国家一级标准物质(GBW04494~GBW04497)研制过程。本次研制的标准物质是基于研制单位多年实验积累的数据和天然环境样品中碳、氮同位素含量组成,参照国际已研制的稳定碳氮同位素标准物质,研制完成的呈梯度分布、认定值区间范围大的系列标准物质,其 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $-45.60\text{‰} \sim 2.16\text{‰}$ , $\delta^{15}\text{N}$ 值为 $-7.51\text{‰} \sim 33.75\text{‰}$ , $\delta^{13}\text{C}$ 的定值扩展不确定度 $\leq 0.08\text{‰}$ , $\delta^{15}\text{N}$ 的定值扩展不确定度 $\leq 0.09\text{‰}$ ,定值水平与国际标准物质相当。

该系列标准物质已供地质及环境部门分析监控、仪器校准、方法评价、质量保证和质量监控,为我国多家实验室提供了测试溯源保障,为地质调查工作提供了技术支撑。同时该系列标准物质推动了同位素水文、环境学等相关学科研究工作的进展,也为本项目组后期进行其他稳定同位素标准物质的研制积累了宝贵的经验。

## 5 参考文献

- [1] Clark I D, Fritz P. Environmental isotopes in hydrogeology [M]. Boca Raton: CRC Press, 1997.
- [2] 陈锦石, 陈文正. 碳同位素地质学概论 [M]. 北京: 地质出版社, 1983: 1-5.  
Chen J S, Chen W Z. Introduction to carbon isotope geochemistry [M]. Beijing: Geological Publishing House, 1983: 1-5.
- [3] Lambert T, Catherine A, Wickmann P, et al. Carbon isotopes as tracers of dissolved organic carbon sources and water pathways in headwater catchments [J]. Journal of Hydrology, 2011, 402(3): 228-238.

- [4] 袁红朝,葛体达,陈晓娟,等. 稳定同位素质谱技术在生态系统氮素循环中的应用[J]. 质谱学报,2015,36(1):91-96.  
Yuan H C, Ge T D, Chen X J, et al. Application of stable isotope mass spectrometry in the ecology of nitrogen cycle [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2015, 36(1):91-96.
- [5] 侯伟,孙韶华,古滨河,等. 浮游动物稳定碳、氮同位素特征及其在水生态系统研究中的应用[J]. 应用生态学报,2019,30(6):1807-1814.  
Hou W, Sun S H, Gu B H, et al. Stable isotopes of zooplankton and their applications in the research of aquatic ecosystems [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(6):1807-1814.
- [6] 罗绪强,张桂玲,王世杰,等. 喀斯特高原黄壤区退化植物群落常见植物叶片氮同位素组成[J]. 地球与环境,2019,47(2):113-120.  
Luo X Q, Zhang G L, Wang S J, et al. Nitrogen isotope ratios in leaves from degraded plant communities in a yellow soil region of the Karst Plateau [J]. Earth and Environment, 2019, 47(2):113-120.
- [7] 丁喜桂,叶思源,王吉松,等. 黄河三角洲湿地土壤、植物碳氮稳定同位素的组成特征[J]. 海洋前沿地质, 2011, 27(2):66-70.  
Ding X G, Ye S Y, Wang J S, et al. Stable carbon and nitrogen isotopes in the Yellow River Delta wetland [J]. Marine Geology Frontiers, 2011, 27(2):66-70.
- [8] Kendall C, Silva S R, Kelly V J. Carbon and nitrogen isotopic compositions of particulate organic matter in four large river systems across the United States [J]. Hydrological Processes, 2001, 15(7):1301-1346.
- [9] Andrews J E, Greenaway A M, Dennis P F. Combined carbon isotope and C/N ratios as indicators of source and fate of organic matter in a poorly flushed, tropical estuary: Hunts Bay, Kingston Harbour, Jamaica [J]. Coastal and Shelf Science, 1998, 46:743-756.
- [10] 李红燕. 稳定碳、氮同位素在生态系统中的应用研究——以无定河、黄东海生态系统为例[D]. 青岛:中国海洋大学,2003.  
Li H Y. The application of stable carbon and nitrogen isotopes to ecosystems—Such as the Wuding River and the Yellow Sea and East China Sea [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2003.
- [11] 魏秀国,卓慕宁,郭治兴,等. 西江水体悬浮物颗粒有机碳稳定同位素组成及时空变化[J]. 生态环境, 2008, 17(6):2127-2131.  
Wei X G, Zhuo M N, Guo Z X, et al. Particulate organic carbon - isotope composition and its spatio - temporal variability of suspended sediment in the Xijiang River, South China [J]. Ecology and Environment, 2008, 17(6):2127-2131.
- [12] 蔡德陵,张淑芳,张经. 天然存在的碳、氮稳定同位素在生态系统研究中的应用[J]. 质谱学报,2003,24(3):434-440.  
Cai D L, Zhang S F, Zhang J. Ecosystem trophic dynamics studies as traced by natural carbon and nitrogen stable isotopes [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2003, 24(3):434-440.
- [13] 秦德谛,贺行良,张媛媛,等. 渤海东海海洋沉积物中碳氮稳定同位素标准物质研制[J]. 岩矿测试,2017,36(1):75-81.  
Qin D D, He X L, Zhang Y Y, et al. The preparation of carbon and nitrogen stable isotopes reference materials using sediments from the Bohai and East China seas [J]. Rock and Mineral Analysis, 2017, 36(1):75-81.
- [14] 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.  
Qin D D. Development of carbon and nitrogen ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) stable isotope in sediments [D]. Qingdao: Qingdao University, 2017.
- [15] 刘微,吕豪豪,陈英旭,等. 稳定碳同位素技术在土壤-植物系统碳循环中的应用[J]. 应用生态学报,2008(3):674-680.  
Liu W, Lü H H, Chen Y X, et al. Application of stable carbon isotope technique in the research of carbon cycling in soil - plant system [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008(3):674-680.
- [16] 袁红朝,王久荣,刘守龙,等. 稳定碳同位素技术在土壤根际激发效应研究中的应用[J]. 同位素,2018,31(1):57-63.  
Yuan H C, Wang J R, Liu S L, et al. Application of stable carbon isotope technique in the research of soil rhizosphere priming effect [J]. Journal of Isotopes, 2018, 31(1):57-63.
- [17] 袁红朝,李春勇,简燕,等. 稳定同位素分析技术在农田生态系统土壤碳循环中的应用[J]. 同位素,2014,27(3):170-178.  
Yuan H C, Li C Y, Jian Y, et al. Stable isotope technique in the soil carbon cycling research of agricultural ecosystems [J]. Journal of Isotopes, 2014, 27(3):170-178.
- [18] Ichiro T, Riyo H, Nanako O, et al. New organic reference materials for carbon - and nitrogen - stable isotope ratio measurements provided by center for ecological research, Kyoto University, and Institute of Biogeosciences, Japan Agency for Marine - Earth Science and Technology [J].

- Limnology, 2011(12):261-266.
- [19] Benson S J, Lennard C J, Hill D M, et al. Forensic analysis of explosives using isotope ratio mass spectrometry (IRMS)—Part 1: Instrument validation of the Delta XP IRMS for bulk nitrogen isotope ratio measurements[J]. Journal of Forensic Sciences, 2010, 55(1):193-204.
- [20] Benson S J, Lennard C J, Maynard P, et al. Forensic analysis of explosives using isotope ratio mass spectrometry (IRMS)—Part 2: Forensic inter-laboratory trial: Bulk carbon and nitrogen stable isotopes in a range of chemical compounds (Australia and New Zealand) [J]. Forensic Science International, 2010(55):205-212.
- [21] Schindler F V, Knighton R E. Sample preparation for total nitrogen and  $^{15}\text{N}$  ratio analysis by the automated Dumas combustion method[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 1999, 30(9-10):1315-1324.
- [22] Linsinger T P J, Gawlik B M, Trapmann S, et al. Preservation of sensitive CRMs and monitoring their stability at IRMM [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2004(378):1168-1174.
- [23] 陈亚飞, 肖新月, 何平, 等. 标准物质稳定性考察规范解读和有效期管理方式的研究[J]. 中国药事, 2018(3):317-322.  
Chen Y F, Xiao X Y, He P, et al. Interpretation of reference material stability investigation requirements and study on expiry date management methods[J]. Chinese Pharmaceutical Affairs, 2018(3):317-322.
- [24] 徐丽, 邢蓝田, 王鑫, 等. 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 L, Xing L T, Wang X, et al. Study on the optimal reaction temperature and sampling weight for measurement of carbon and nitrogen isotope ratio by elemental analyzer-isotope ratio mass spectrometer[J]. Rock and Mineral Analysis, 2018, 37(1):15-20.
- [25] 张媛媛, 贺行良, 孙书文, 等. 元素分析仪-同位素比值质谱仪测定海洋沉积物有机碳稳定同位素方法初探[J]. 岩矿测试, 2012, 31(4):627-631.  
Zhang Y Y, He X L, Sun S W, et al. A preliminary study on the determination of organic carbon stable isotope of marine sediment by element analyzer-isotope ratio mass spectrometer [J]. Rock and Mineral Analysis, 2012, 31(4):627-631.
- [26] Paul D, Skrzypek G, Fórizs I. Normalization of measured stable isotopic compositions to isotope reference scales—A review [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2007(21):3006-3014.
- [27] Skrzypek G, Sadler R, Paul D, et al. Error propagation in normalization of stable isotope data: A Monte Carlo analysis [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2010(24):2697-2705.
- [28] Coplen T B. Guidelines and recommended terms for expression of stable-isotope-ratio and gas-ratio measurement results[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2011(25):2538-2560.
- [29] 中国实验室国家认可委员会. 化学分析中不确定度的评估指南[M]. 北京:中国计量出版社, 2002.  
China National Accreditation Committee for Laboratories. Guidance on evaluating the uncertainty in chemical analysis [M]. Beijing: China Metrology Publishing House, 2002.
- [30] 韩永志. 标准物质的定值[J]. 化学分析计量, 2001, 10(5):38-39.  
Han Y Z. Certification of certified reference materials [J]. Chemical Analysis and Meterage, 2001, 10(5):38-39.
- [31] 鄢明才. 地球化学标准物质标准值不确定度估算探讨[J]. 岩矿测试, 2001, 20(4):287-293.  
Yan M C. Discussion on estimation of uncertainty of certified values from geochemical standard reference materials[J]. Rock and Mineral Analysis, 2001, 20(4):287-293.
- [32] 程志中, 刘妹, 张勤, 等. 水系沉积物标准物质研制[J]. 岩矿测试, 2011, 30(6):714-722.  
Cheng Z Z, Liu M, Zhang Q, et al. Preparation of geochemical reference materials of stream sediments[J]. Rock and Mineral Analysis, 2011, 30(6):714-722.

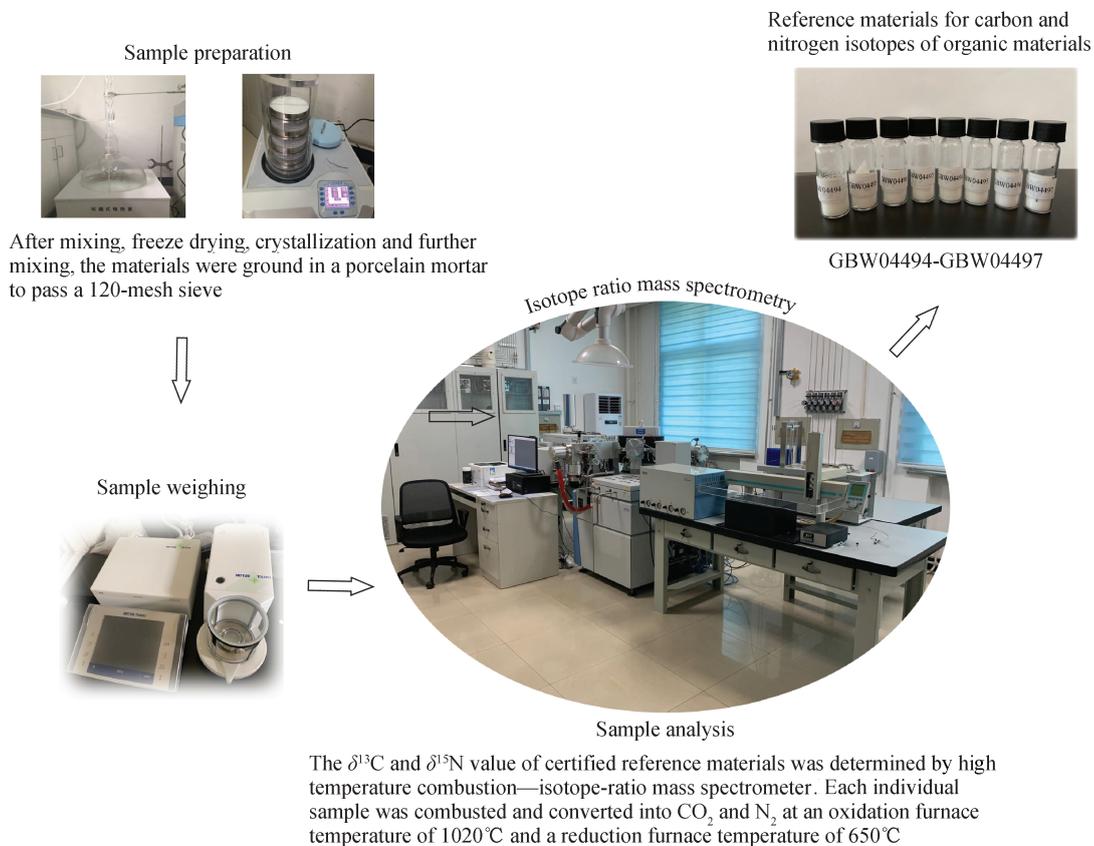
# Preparation of Reference Materials for Carbon and Nitrogen Isotopes of Organic Materials

LI Ke, ZHANG Lin\*, LIU Fu-liang, JIA Yan-kun

(Key Laboratory of Groundwater Sciences and Engineering, Ministry of Natural Resources; Institute of Hydrogeology and Environmental Geology, Chinese Academy of Geological Science, Zhengding 050803, China)

## HIGHLIGHTS

- (1) A series of national first – level standard materials from GBW04494 to GBW04497 were prepared for carbon and nitrogen isotope analysis in organic materials.
- (2) The certified values of reference materials were determined by 12 participating laboratories, using isotope ratio mass spectrometry and national reference material as the traceability standard.
- (3) Expanded uncertainties were a combination of uncertainties in analysis, inhomogeneity and instability.



**ABSTRACT**

**BACKGROUND:** The carbon and nitrogen isotope reference materials used by laboratories and researchers are generally obtained by the International Atomic Energy Agency (IAEA). However, in recent years, with the widespread use of carbon and nitrogen isotopes in laboratory quality control, method evaluation, and instrument calibration, the market demand continues to increase, and the types and quantities of carbon and nitrogen isotope reference materials developed by IAEA are gradually unable to meet the rapid development of scientific research. The development of national standard materials for carbon and nitrogen isotopes of organic matter that are suitable for the current analytical technology level for quality control, method evaluation, and instrument calibration are urgently needed in China.

**OBJECTIVES:** To prepare carbon and nitrogen isotope reference materials for organic matter.

**METHODS:** In order to ensure the accuracy of the transmission of the value, 4 stable carbon and nitrogen isotope reference materials of organic chemical materials were developed, of which 3 were urea samples and 1 was *L* - glutamic acid.

**RESULTS:** According to the homogeneity test results, no statistically significant heterogeneity was found based on *F* test. The verified results by variance analysis for four samples showed very good homogeneity for the series. Nearly one - year stability analysis of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values confirmed that no statistically significant instability was found. The certified values of the reference materials were determined by an interlaboratory comparison of 12 participating laboratories. Carbon and nitrogen stable isotope ratios were measured using an elemental analyzer coupled with an isotope ratio mass spectrometer. The  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values of the series of reference materials had a gradient distribution. The  $\delta^{13}\text{C}$  values ranged from  $-40\text{‰}$  to  $0\text{‰}$ , and the  $\delta^{15}\text{N}$  value from  $-10\text{‰}$  to  $30\text{‰}$ , covering the range of organic carbon and nitrogen stable isotope composition in natural samples in China. The extended uncertainty of the series of standard materials was not greater than  $0.08\text{‰}$  for  $\delta^{13}\text{C}$  and not greater than  $0.09\text{‰}$  for  $\delta^{15}\text{N}$ , and the fixed value level was equivalent to that of the international standard materials. This series of reference materials had been approved by the General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China as the national first - level reference materials (GBW04494 - GBW04497).

**CONCLUSIONS:** The series of reference materials can be used for analysis and monitoring, instrument calibration, method evaluation, quality assurance and quality monitoring in the determination of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  ratios of various samples in geology, ecology and environment.

**KEY WORDS:** urea; *L* - glutamic acid; reference materials; carbon and nitrogen stable isotopes; characteristic values; certified values; uncertainty