

样品处理方法对海洋沉积物有机碳稳定同位素测定的影响

谭 扬¹, 吴学丽¹, 侯立杰²

(1. 中国科学院烟台海岸带研究所, 山东 烟台 264003; 2. 烟台大学, 山东 烟台 264005)

摘 要: 利用元素分析仪-稳定同位素质谱仪(EA-IRMS)联用技术测定海洋沉积物样品有机碳稳定同位素比值。样品的前处理方法会影响测定结果的准确性。本文选取两种常用前处理方法: 酸洗法和酸蒸法进行对比。通过对比, 酸洗法使用的最佳条件是 1 mol/L 的 HCl, 处理 8 h, 可较好去除沉积物样品中的无机碳; 酸蒸法的最佳反应条件是处理 12 ~ 18 h, 且应根据沉积物样品无机碳含量选取相适的处理时间。两种处理方法, 在最佳条件下所得测试数据标准偏差均满足测试要求, 证明两种方法均适用于沉积物样品的测试。

关键词: 沉积物; 碳稳定同位素比值; 酸洗法; 酸蒸法

中图分类号: X830.2 文献标识码: A 文章编号: 1007-6336(2018)05-0780-05

DOI:10.13634/j.cnki.mes.2018.05.023

The effects of sample treatment methods on marine sediment organic carbon stable isotope

TAN Yang¹, WU Xue-li¹, HOU Li-jie²

(1. Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China; 2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Yantai University, Yantai 264005, China)

Abstract: Sedimentary organic carbon stable isotopic ratios can be measured by coupled elemental analyzer and stable isotope mass spectrometer (EA-IRMS). The acidification pretreatment of the samples, however, can influence the accuracy of the results. In this paper, we presented the results of comparison of two most commonly used pretreatment methods: acid rinse and hydrogen chloride fumigation on the influence of the sedimentary organic carbon stable isotopic measurement. The best condition of acid rinse method was that the samples treated by 1 mol/L HCl for 8 h, then the sedimentary inorganic carbon could be removed absolutely. The best condition of acid fumigation method was that the samples treated for 12 h to 18 h, and the appropriate reaction time should be according to the concentration of the sedimentary inorganic carbon. At the best condition of the two methods, the standard deviation of the data could meet the requirements of IRMS, which proved that the two methods were suitable for sedimentary organic carbon measurement.

Key words: sediment; stable carbon isotope ratio; acid rinse method; hydrogen chloride fumigation method

海洋沉积物中有机碳同位素 $\delta^{13}\text{C}$ 能够确定有机质来源, 是区分海源和陆源有机质的敏感指标, 有助于获知碳循环沉积物循环的生物地球化学过程及其气候变化响应^[1-4]。海洋沉积物有机质来源非常复杂, 尤其是近岸海域有机质来源呈

高度混合状态^[5-7]。海洋沉积物包括自身产生的有机质如浮游植物, 该部分海洋有机质的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $-19\text{‰} \sim -22\text{‰}$; 还有陆源有机质如陆源高等植被, 陆生 C_3 植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值约为 $-26\text{‰} \sim -28\text{‰}$, C_4 植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值约为 $-10\text{‰} \sim -16\text{‰}$ 。

收稿日期: 2017-03-23, 修订日期: 2017-06-16

基金项目: 中科院仪器设备功能开发技术创新项目

作者简介: 谭 扬(1980-), 女, 山东烟台人, 博士, 主要从事稳定同位素质谱在环境检测方面的研究, E-mail: ytan@yic.ac.cn

大约有 10% ~ 20% 的陆源有机质通过河流输送至海洋,陆源碳在全球碳循环中扮演着重要角色^[8-11]。因此,识别海洋沉积物中有机质来源与迁移规律等对了解海洋碳元素的生物地球化学循环过程具有重要意义。沉积物中碳元素主要分为有机碳和无机碳两类,当需要分析测试沉积物中有机质 $\delta^{13}\text{C}$ 的值时,需要对沉积物进行酸化处理,以除去无机碳同位素对有机碳同位素的影响,而不恰当的酸化处理方法可能会影响沉积物中有机碳 $\delta^{13}\text{C}$ 的分析结果,对 $\delta^{13}\text{C}$ 的环境指示意义产生偏差^[12-13]。

目前去除沉积物中无机碳的常用方法有酸洗法和酸蒸法两种^[14-16]。酸洗法是利用 HCl 去除土壤样品中的无机碳,再用超纯水洗掉 HCl。酸洗法不仅可有效去除无机碳,还可洗掉酸液中的 Cl^- 。 Cl^- 在测试中会形成 HCl 蒸汽,HCl 蒸汽会严重腐蚀仪器管路,对稳定同位素质谱仪的损害相当严重,可导致同位素数值不准确。酸洗法在洗酸过程中会损失部分有机碳,也可导致测试结果出现偏差。酸蒸法是利用酸蒸汽对样品进行原位处理,可避免有机碳损失,但 HCl 与无机碳反应后, Cl^- 以盐的形式存在于样品中,过多的 Cl^- 在测试过程中会形成酸蒸汽腐蚀仪器管路和离子源。

本文以 5 种沉积物样品为例,探讨沉积物样品在去除无机碳过程中,酸的浓度、酸处理时间以及是否洗酸对 $\delta^{13}\text{C}$ 值测定结果的影响。本文采用:酸洗法和酸蒸法处理沉积物样品,并对其有机碳同位素样品制备过程进行系统研究。

1 材料与方法

1.1 仪器及工作条件

Flash EA 2000 型元素分析仪, MAT253 稳定同位素比值质谱仪,连续流接口 ConFlo IV,以上仪器配制均为 Thermo Fisher 公司产品。元素分析仪工作条件:炉温 980℃,柱温 50℃,He 流量为 100 mL/min,氧气注入流量为 175 mL/min,通氧时间为 3 s; ConFlo IV 氦气压力为 120 kPa, CO_2 压力为 150 kPa; IRMS 真空度为 1.2×10^{-6} kPa,发射电流为 1.5 mA; 测定 $\delta^{13}\text{C}$ 时, IRMS 测试离子 (m/z) 为 44、45、46。 $\delta^{13}\text{C}$ 值的表达式为:

$$\delta^{13}\text{C} = \left(\frac{R_{\text{样品}}}{R_{\text{标准}}} - 1 \right) \times 1000\text{‰}$$

式中: $R_{\text{样品}}$ 、 $R_{\text{标准}}$ 分别为样品国际标准物质

PDB 中 ^{13}C 与 ^{12}C 的丰度比 ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)^[17]。

1.2 标准物质与沉积物样品

测定碳稳定同位素时使用的 4 种标样有:国际原子能提供的 IAEA-600, Elemental Microanalysis Ltd 提供的 High Organic Sediment Standard OAS (CatNo. B2151)、Sorghum Flour Standard OAS (CatNo. B2159)、Wheat Flour Standard OAS (CatNo. B2157)。所有结果通过上述标准样品溯源到国际通用标准值 $\delta^{13}\text{C}$ 溯源到 PDB (Peedee Belemnite)。

沉积物样品选取 5 种国家标准物质 GBW07431、GBW07432、GBW07433、GBW07434 和 GBW07435 土壤、沉积物成分分析标准物质(规格 50g/瓶,武汉综合岩矿测试中心)这 5 种标准物质的总碳、有机碳和无机碳含量如下表 1 所示。

表 1 五种标准沉积物样品的碳含量

Tab. 1 The carbon content of the 5 standard sediment samples

样品名称	总碳含量/ (%)	有机碳含量/ (%)	无机碳含量/ (%)
GBW07431	1.88	0.50	1.38
GBW07432	1.71	0.73	0.98
GBW07433	3.88	3.50	0.38
GBW07434	0.55	0.45	0.10
GBW07435	1.56	1.43	0.13

1.3 酸洗法处理样品

用 25% 的磷酸浸泡玻璃离心管,消除离心管内碳的影响,然后用超纯水洗净、烘干。称取 1 ~ 1.5 g 上述 5 种标准沉积物样品,置于处理好的玻璃离心管中备用。

分别将 6 mol/L、1 mol/L 和 0.5 mol/L 的 HCl 滴加至装有样品的离心管内,为防止样品产生的气泡溢出离心管,HCl 应逐滴加入。其中为保证彻底去除无机碳,HCl 应过量,且反应过程中应每隔 2 ~ 3 h 搅拌一次,6 mol/L HCl 与样品反应 6 h, 1 mol/L HCl 与样品反应 8 h, 0.5 mol/L HCl 与样品反应 24 h。

将盐酸处理完的样品置于离心机中,离心,倒掉上层酸液,用超纯水搅拌清洗,继续离心,倒掉上层清液,重复上述操作 2 ~ 3 次直至上清液 pH 为中性。清洗好的样品冷冻干燥后混合均匀磨制 100 目备用。

准确称量上述制备好的样品(精确至 0.001 mg),每个样品质量约 1 ~ 3 mg,样品质量根据含碳量而定,应保证每个样品送入仪器检测时所含

碳的质量为 20 ~ 40 μg 。样品用 $\Phi 6 \times 11 \text{ mm}$ 的锡杯包装压严,防止样品漏出或进入空气,从而影响测量结果。

1.4 酸蒸法处理样品

准确称取(精确至 0.001 mg)上述 5 种标准沉积物样品约 3 mg(应保证每个样品送入仪器检测时所含碳的质量为 20 ~ 40 μg)将样品置于 $\Phi 6 \times 11 \text{ mm}$ 的银杯中,每个样品称取 4 个平行样。称量好的银杯按顺序放置在 96 孔的细胞培养板中,并用移液器向每个银杯中滴加 50 μL 超纯水,浸润样品,以使样品能够充分接触酸蒸汽。

将细胞培养板放入规格为 5 L 的玻璃干燥器内,干燥器内放置 1 个 150 mL 的烧杯(烧杯内装有 12 mol/L 的 HCl 100 mL),干燥器盖子密封,并将整个干燥器置于通风橱内。样品与酸蒸汽接触的时间分别为 6 h、12 h、18 h、24 h 和 30 h。

样品经酸蒸汽处理好后,置于烘箱内 60 $^{\circ}\text{C}$,烘 4 h 至除尽 HCl。烘干好的样品银杯用规格为 35 mm \times 35 mm 的锡箔和压样器包成 $\Phi 6 \text{ mm}$ 的圆片,尽量压紧样品防止漏样。

2 结果与讨论

2.1 仪器稳定性的测定

在上述仪器工作条件下,通入 10 组 CO_2 参考气,把参考气 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值设定为 0,重复进行 on/off 检测,计算 EA-IRMS 系统的稳定性,测定值及计算结果见表 2。表 2 的数据可知,参考气 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值标准偏差为 0.009‰,满足仪器 < 0.06‰ 的要求,因而 EA-IRMS 稳定可靠。

表 2 EA-IRMS 的稳定性

Tab. 2 The stability of EA-IRMS

CO_2 峰数	44 信号强度/mV	CO_2 标准气的 $\delta^{13}\text{C}$ 值/(‰)
1	4303	0.01
2	4297	0.00
3	4304	-0.02
4	4302	0.00
5	4303	-0.02
6	4296	-0.01
7	4307	-0.01
8	4303	-0.02
9	4309	-0.01
10	4301	-0.02
平均值	4302.5	-0.01
标准偏差	3.95	0.01

2.2 标准曲线的建立

分别称取适量的 4 种标样:国际原子能提供的 IAEA-600,Elemental Microanalysis Ltd 提供的 sediment、sorghum flour、wheat flour,用锡纸包样,然后放入到 EA-IRMS 内进行测试。每种标样测试 6 次,取平均值可获得标准样品的测量值,如表 3 所示,建立标样的测量值与标样证书所示参考值的线性方程(如图 1),由方程(1)可知标样的测量值和参考值存在下列线性关系:

$$y = 1.0422x + 0.782 \quad (1)$$

式中: x 为测量值; y 为参考值。待测未知样品也可用此方程将测量值溯源至国际标准物质 PDB。

表 3 标准样品 $\delta^{13}\text{C}$ 的测量值与参考值

Tab. 3 The measured value and the reference value of the standards

标准样品	测量值 $\delta^{13}\text{C}/(\text{‰})$	参考值 $\delta^{13}\text{C}/(\text{‰})$
IAEA-600	-27.3	-27.771
sediment	-26.1	-26.27
sorghum	-13.9	-13.68
wheat	-26.8	-27.21

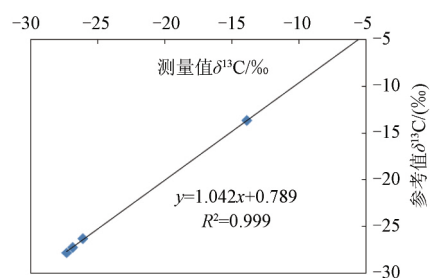


图 1 标准样品测量值与参考值的线性关系

Fig. 1 The linear of the measured value and the reference value

2.3 样品分析的精密度和准确度

将 5 种国家标准物质 GBW07431、GBW07432、GBW07433、GBW07434 和 GBW07435 土壤、沉积物成分分析标准物质,分别按照上述酸洗法和酸蒸法进行处理,处理后的样品称取适量,保证样品进样量符合仪器要求的 20 μg ~ 40 μg 碳,分别测定它们的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,每个样品重复测试 6 次,取其平均值进行比较,且平行样的标准偏差应在 0.2‰ 以内,保证仪器测量精度。这 5 种样品的测量值还应带入图 1 的线性方程,换算成其真实值。

2.4 酸洗法对沉积物样品的影响

利用上述酸洗法处理样品,并通过 EA-IRMS 对其 $\delta^{13}C$ 进行测试,所得测量值通过方程式(1)溯源至国际标准物质 PDB,如表 4 所示。3 种处理方式:6 mol/L HCl 处理 6 h、1 mol/L HCl 处理 8 h 和 0.5 mol/L HCl 处理 24 h,土壤样品中的有机碳 $\delta^{13}C_{VPDB}‰$ 值变化不大,说明 3 种浓度的酸都有效去除沉积物中的无机碳,且 HCl 的浓度对测试结果影响不大。为保护仪器、减少 Cl^- 离子等卤素对仪器的腐蚀,且兼顾实验效率,可采用浓度为 1 mol/L HCl 处理 8 h 的方法处理沉积物样品中的无机碳。

表 4 三种浓度的 HCl 处理后样品的 $\delta^{13}C_{VPDB}$ 值

Tab.4 The $\delta^{13}C_{VPDB}$ value of the samples treated by three different concentrations of hydrochloric acid

样品名称	$\delta^{13}C_{VPDB} / (‰)$		
	6 mol/L HCl 处理 6 h	1 mol/L HCl 处理 8 h	0.5 mol/L HCl 处理 24 h
GBW07431	-24.6	-24.7	-24.7
GBW07432	-24.7	-24.7	-24.6
GBW07433	-27.5	-27.6	-27.6
GBW07434	-21.1	-21.2	-21.1
GBW07435	-25.4	-25.3	-25.3

2.5 酸蒸法对沉积物样品的影响

利用上述酸蒸法处理样品,并通过 EA-IRMS 对其 $\delta^{13}C$ 进行测试,所得测量值通过方程式(1)溯源至国际标准物质 PDB,如表 5 所示。表 5 是酸蒸法处理 6 h、12 h、18 h 和 24 h 的结果。从表中可看出:随着处理时间的延长,样品的 $\delta^{13}C_{VPDB}‰$ 数据趋于平稳。如酸蒸时间较短,酸蒸汽无法完全去除样品中残留的无机碳。无机碳可致使样品的 $\delta^{13}C_{VPDB}‰$ 数值偏正。

无机碳含量较高的 GBW07431(无机碳含量为 1.38%) 和 GBW07432(无机碳含量为 0.98%)

表 6 两种方法在最佳处理条件下的测试结果对比

Tab.6 The comparison of the two methods under optimal processing conditions

样品名称	酸洗法最佳处理条件	$\delta^{13}C_{VPDB} / (‰)$	酸蒸法最佳处理条件/h	$\delta^{13}C_{VPDB} / (‰)$	标准偏差/(‰)
GBW07431	1mol/L HCl 处理 8 h	-24.7	18	-24.7	0.04
GBW07432		-24.7		-24.7	0.01
GBW07433		-27.6		-27.7	0.08
GBW07434		-21.2	12	-21.1	0.04
GBW07435		-25.3		-25.4	0.03

样品,处理 18 h 酸蒸汽才能将无机碳去除干净,测得的 $\delta^{13}C_{VPDB}‰$ 值才能趋于平稳;而无机碳含量相对较低的样品 GBW07433、GBW07434 和 GBW07435,只需酸蒸处理 12 h,测得的 $\delta^{13}C_{VPDB}‰$ 值即趋于平稳。因而,对无机碳含量较高的样品应适当延长酸蒸处理时间。然而样品过长时间接触酸蒸汽,会致使样品中残存酸增加,测量会对仪器造成一定损害。

所以,为兼顾充分去除无机碳并减少仪器损害,酸蒸法处理样品应在 12 ~ 18 h 为宜;沉积物样品无机碳含量较高的可处理 18 h,无机碳含量较低的适当缩短时间。

表 5 酸蒸法处理 6 h、12 h、18 h、24 h 的 $\delta^{13}C_{VPDB}$ 数据

Tab.5 The $\delta^{13}C_{VPDB}$ value of sample processing time for 6 h、12 h、18 h and 24 h

样品名称	$\delta^{13}C_{VPDB} / (‰)$			
	处理 6 h	处理 12 h	处理 18 h	处理 24 h
GBW07431	-23.5	-23.1	-24.7	-24.6
GBW07432	-23.4	-23.9	-24.7	-24.8
GBW07433	-26.7	-27.6	-27.7	-27.7
GBW07434	-19.9	-21.1	-21.1	-21.1
GBW07435	-25.2	-25.4	-25.4	-25.4

2.6 两种处理方法的比较

根据上述实验结果,可看出对于沉积物样品酸洗法的最佳反应条件是:1 mol/L 的 HCl,处理 8 h,可较好去除沉积物样品中的无机碳;酸蒸法的最佳反应条件是:处理 12 ~ 18 h 为宜,根据沉积物样品无机碳含量选取适当处理时间。从表 6 中还可看出,两种处理方法在最佳反应条件下所得数据差异较小,均符合仪器标准偏差应在 0.2‰ 以内的要求,说明在最佳条件下,两种方法处理样品所得测试结果是一样的。

3 结 论

(1) 综合比较两种方法,酸洗法处理步骤较为繁琐,需反复清洗离心样品,如处理不当会造成样品损失,且处理完毕还需冻干或 60℃ 烘干样品。但酸洗法在洗酸的过程中,也同时洗去了样品中的 Cl^- 离子,特别是海洋沉积物中 Cl^- 离子含量较高,

(2) 酸蒸法处理步骤简单,但需根据无机碳含量确定处理时间,如样品处理时间过长,样品中会残存大量酸蒸汽,测试中腐蚀仪器且消耗元素分析仪耗材较快。而且酸蒸法属于原位处理方法,样品中会含有大量 Cl^- 离子,与酸洗法相比,无法洗去过量的 Cl^- 离子,测试过程中对仪器损害较大,为避免腐蚀仪器,元素分析仪的填料中应适量添加去除卤素的镀银氧化钴和银丝。

(3) 通过对比发现,酸洗法使用的最佳条件为: 1 mol/L 的 HCl,处理 8 h,可较好去除沉积物样品中的无机碳;而酸蒸法的最佳反应条件为:处理 12 h ~ 18 h 为宜,且应根据沉积物样品无机碳含量选取适当的处理时间;两种处理方法,在最佳条件下所得测试数据标准偏差均满足测试要求,说明两种方法都适用于沉积物样品的测试。

参考文献:

[1] DEAN W E, ARTHUR M A, CLAYPOOL G E. Depletion of ^{13}C in Cretaceous marine organic matter: source, diagenetic, or environmental signal? [J]. *Marine Geology*, 1986, 70 (1/2): 119-157.

[2] BOUTTON T W, ARCHER S R, MIDWOOD A J, et al. $\delta^{13}\text{C}$ values of soil organic carbon and their use in documenting vegetation change in a subtropical savanna ecosystem [J]. *Geoderma*, 1998, 82(1/2/3): 5-41.

[3] SHARP Z. Principles of stable isotope geochemistry [M]. Upper Saddle River, NJ, USA: Pearson Education, 2007.

[4] MAMPUKU M, YAMANAKA T, UCHIDA M, et al. Changes in C_3/C_4 vegetation in the continental interior of the Central Himalayas associated with monsoonal paleoclimatic changes during the last 600 kyr [J]. *Climate of the Past*, 2008, 4(1): 1-9.

[5] MEYERS P A. Applications of organic geochemistry to paleolimnological reconstructions: a summary of examples from the Laurentian Great Lakes [J]. *Organic Geochemistry*, 2003, 34(2): 261-289.

[6] SCHOLZ C A, TALBOT M R, BROWN E T, et al. Lithostratigra-

phy, physical properties and organic matter variability in Lake Malawi Drillcore sediments over the past 145,000 years [J]. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 2011, 303(1/2/3/4): 38-50.

[7] BRODIE C R, LENG M J, CASFORD J S L, et al. Evidence for bias in C and N concentrations and $\delta^{13}\text{C}$ composition of terrestrial and aquatic organic materials due to pre-analysis acid preparation methods [J]. *Chemical Geology*, 2011, 282(3/4): 67-83.

[8] LI Y, ZHANG H B, TU C, et al. Sources and fate of organic carbon and nitrogen from land to ocean: identified by coupling stable isotopes with C/N ratio [J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2016, 181: 114-122.

[9] WANG X, CUI L L, XIAO J L, et al. Stable carbon isotope of black carbon in lake sediments as an indicator of terrestrial environmental changes: an evaluation on paleorecord from Daihai Lake, Inner Mongolia, China [J]. *Chemical Geology*, 2013, 347: 123-134.

[10] QUP, WANG Q X, PANG M, et al. Trophic structure of common marine species in the Bohai Strait, North China Sea, based on carbon and nitrogen stable isotope ratios [J]. *Ecological Indicators*, 2016, 66: 405-415.

[11] HEDGES J I, KEIL R G, BENNER R. What happens to terrestrial organic matter in the ocean? [J]. *Organic Geochemistry*, 1997, 27(5/6): 195-212.

[12] HOPMANS E C, WEIJERS J W H, SCHEFUBE, et al. A novel proxy for terrestrial organic matter in sediments based on branched and isoprenoid tetraether lipids [J]. *Earth and Planetary Science Letters*, 2004, 224(1/2): 107-116.

[13] OGRINC N, FONTOLAN G, FAGANELI J, et al. Carbon and nitrogen isotope compositions of organic matter in coastal marine sediments (the Gulf of Trieste, N Adriatic Sea): indicators of sources and preservation [J]. *Marine Chemistry*, 2005, 95(3/4): 163-181.

[14] SHULTZ D J, CALDER J A. Organic carbon ^{13}C ^{12}C variations in estuarine sediments [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1976, 40(4): 381-385.

[15] VERARDO D J, FROELICH P N, MCINTYRE A. Determination of organic carbon and nitrogen in marine sediments using the Carlo Erba NA-1500 analyzer [J]. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 1990, 37(1): 157-165.

[16] BRODIE C R, CASFORD J S L, LLOYD J M, et al. Evidence for bias in C/N $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of bulk organic matter, and on environmental interpretation, from a lake sedimentary sequence by pre-analysis acid treatment methods [J]. *Quaternary Science Reviews*, 2011, 30(21/22): 3076-3087.

[17] 郑永飞, 陈江峰. 稳定同位素地球化学 [M]. 北京: 科学出版社, 2000.