

稳定同位素质谱法测定葡萄酒和葡萄汁中水的¹⁸O/¹⁶O 比值

(决议 OIV-Oeno 353/2009)

1 范围

本方法描述了用稳定同位素比值质谱仪(IRMS)测定葡萄酒和葡萄汁中的水与二氧化碳平衡后,其中¹⁸O/¹⁶O 同位素比值的方法。

2 引用标准

ISO 5725:1994 测定方法和结果的精度(真实性和精确性) 可重复性的基本测定方法[Accuracy(trueness and precision)of measurement methods and results;Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method.]

V-SMOW 标准 维也纳海水标准[Vienna-Standard Mean Ocean Water(¹⁸O/¹⁶O = RV-SMOW=0.0020052)]

GISP 标准 格陵兰冰盖降水标准(Greenland Ice Sheet Precipitation)

SLAP 标准 南极冰融水标准(Standard Light Antarctic Precipitation)

3 定义

¹⁸O/¹⁶O, 样品中氧同位素¹⁸O 与¹⁶O 的比值

$\delta^{18}O_{V-SMOW}$, 样品中氧同位素¹⁸O 与¹⁶O 的相对丰度。 $\delta^{18}O_{V-SMOW}$ 根据下列公式计算得出:

$$\delta^{18}O_{V-SMOW} = \left[\frac{\left(\frac{{}^{18}O}{{}^{16}O} \right)_{\text{样品}} - \left(\frac{{}^{18}O}{{}^{16}O} \right)_{\text{标准}}}{\left(\frac{{}^{18}O}{{}^{16}O} \right)_{\text{标准}}} \right] \times 1000 [‰]$$

其中相对丰度 δ 以 V-SMOW 作为基准和参照点。

BCR 欧洲共同体标准物质局

IAEA 国际原子能机构(奥地利,维也纳)

IRMM 欧洲参考物质与测量研究所

IRMS 同位素比值质谱仪

m/z 质荷比

NIST 美国国家标准与技术研究院

RM 参考物质

4 原理

葡萄酒或葡萄汁样品中的水与二氧化碳标准气体进行同位素交换反应并达到同位素平衡。反应如下: $C^{16}O_2 + H_2^{18}O \leftrightarrow C^{16}O^{18}O + H_2^{16}O$ 。

待反应达到平衡后,气相中的二氧化碳用同位素比值质谱仪(IRMS)进行分析,通过测定平衡后的二氧化碳得出水中¹⁸O/¹⁶O 比值。

5 试剂与材料

根据测定方法(见第6部分)选择材料及耗材。所有方法均基于葡萄酒或葡萄汁中的水与二氧化碳达到平衡。

5.1 相关参考物质(见表1)

表1

名称	来源	$\delta^{18}\text{O}$ 与 V-SMOW 比
V-SMOW, RM 8535	IAEA/NIST	0 ‰
BCR-659	IRMM	-7.18 ‰
GISP, RM 8536	IAEA/NIST	-24.78 ‰
SLAP, RM 8537	IAEA/NIST	-55.5 ‰

5.2 工作标准

5.2.1 测量中用作二级参考气体的二氧化碳。

5.2.2 用于平衡反应的二氧化碳气体(可与5.2.1为同一气体,或在连续气体发生系统中产生的氮气-二氧化碳混合气)。

5.2.3 已知 $\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}}$ 校准值的工作标准,可溯源至国际参考物质。

5.3 耗材

分析用氮气。

6 仪器

6.1 同位素比值质谱仪(IRMS)

同位素比值质谱仪(IRMS)可以测定二氧化碳气体中¹⁸O的相对含量,内部精度为0.05‰。这里的内部精度是指对同一二氧化碳样品连续测定两次的误差。

质谱仪用来测定二氧化碳气体的同位素组成,应配备三重捕集器,以便同时测定下述离子流强度:

—— $m/z=44(^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O})$

—— $m/z=45(^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$ 和 $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O})$

—— $m/z=46(^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$, $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{17}\text{O}$ 和 $^{13}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O})$

通过测量相对强度,根据 $m/z=46$ 和 $m/z=44$ 的强度比值度,经校正后,通过质荷比 $m/z=45$ 的信号强度以及¹³C和¹⁷O在自然界的同位素含量计算出后两种离子对(¹²C¹⁷O¹⁷O和¹³C¹⁷O¹⁶O)的贡献度,得出¹⁸O/¹⁶O同位素比值。

同位素比值质谱仪应有如下配置:

——双路进样系统:交替测定未知样品及参考标准物质。

——连续流动进样系统:将样品瓶中达到平衡状态的二氧化碳气体或二氧化碳标准气体定量转移到IRMS中测定。

- [10] Epstein. S. and Mayeda. T. (1953) Variations of the ¹⁸O/¹⁶O ratio in natural waters. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 4, 213 .
- [11] Forstel. H. (1992) Projet de description d'une méthode : variation naturelle du rapport des isotopes ¹⁶O et ¹⁸O dans l'eau comme méthode d'analyse physique du vin en vue du contrôle de l'origine et de l'addition d'eau. *OIV, FV n° 919, 1955/220792*.
- [12] Gonfiantini. R. , (1978) Standards for stable isotope measurements in natural compounds. *Nature*, 271, 534-536.
- [13] Gonfiantini. R. , (1987) Report on an advisory group meeting on stable isotope reference samples for geochemical and hydrochemical investigations. IAEA, Vienna, Austria.
- [14] Gonfiantini. R. , Stichler. W. and Rozanski. K. . (1995) Standards and Intercomparison Materials distributed by the IAEA for Stable Isotopes Measurements. Proceedings of a consultants meeting held in Vienna, 1-3. Dec. 1993, *IAEA-TECDOC-825, 13-29* Vienna. Austria.
- [15] Guidelines for Collaborative Study Procedures (1989) *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* , 72, 694-704.
- [16] Martin. G. J. . Zhang. B. L. , Day. M. and Lees. M. . (1993) Authentification des vins et des produits de la vigne par utilisation conjointe des analyses élémentaire et isotopique. *OIV, F. V.* , n°917, 1953/220792.
- [17] Martin. G. J. , Förstel. H. and Moussa, I. (1995) La recherche du mouillage des vins par analyse isotopique ²H et ¹⁸O. *OIV, FV n° 1006, 2268/240595*.
- [18] Martin. G. J. (1996) Recherche du mouillage des vins par la mesure de la teneur en ¹⁸O de l'eau des vins. *OIV, FV n° 1018, 2325/300196*.
- [19] Martin, G. J. and Lees. M. , (1997) Détection de l'enrichissement des vins par concentration des moûts au moyen de l'analyse isotopique ²H et ¹⁸O de l'eau des vins. *OIV, FV n° 1019, 2326/300196*.
- [20] Moussa, I. , (1992) Recherche du mouillage dans les vins par spectrométrie de masse des rapports isotopiques (SMRI). *OIV, FV n° 915, 1937/130592*.
- [21] Werner. R. A. and Brand. W. , (2001) Reference Strategies and techniques in stable isotope ratio analysis. *Rap. Comm. Mass Spectrom.* , 15, 501-519.
- [22] Zhang, B. L. , Fourel. F. , Naulet. N. and Martin. G. J. , (1992) Influence de l'expérimentation et du traitement de l'échantillon sur la précision et la justesse des mesures des rapports isotopiques (D/H) et (¹⁸O/¹⁶O). *OIV, F. V. n° 918, 1954/220792*.

表2 统计结果汇总表

样品		测定平均值/ ‰	重复性标准/ 偏差 S_r / ‰	重复性限 r / ‰	再现性标准 偏差 S_R / ‰	再现性 限 R / ‰
水	样品 1	-8.20	0.068	0.19	0.171	0.48
	样品 2	-8.22	0.096	0.27	0.136	0.38
葡萄酒 1	样品 5	6.87	0.098	0.27	0.220	0.62
	样品 8	6.02	0.074	0.21	0.167	0.47
	样品 9	5.19	0.094	0.26	0.194	0.54
	样品 4	3.59	0.106	0.30	0.205	0.57
葡萄酒 2	样品 3	-1.54	0.065	0.18	0.165	0.46
	样品 6	-1.79	0.078	0.22	0.141	0.40
	样品 7	-2.04	0.089	0.25	0.173	0.49
	样品 10	-2.61	0.103	0.29	0.200	0.56

11 实验室间比对实验

Bulletin de l'O. I. V. janvier-février 1997, 791-792, p. 53-65.

参考文献

- [1] Allison, C. E., Francey, R. J. and Meijer, H. A., (1995) Recommendations for the Reporting of Stable Isotopes Measurements of carbon and oxygen. Proceedings of a consultants meeting held in Vienna, 1-3. Dec. 1993, IAEA-TECDOC-825, 155-162, Vienna, Austria.
- [2] Baertschi, P., (1976) Absolute ^{18}O Content of Standard Mean Ocean Water. *Earth and Planetary Science Letters*, 31, 341-344.
- [3] Breas, O., Reniero, F. and Serrini, G., (1994) Isotope Ratio Mass Spectrometry: Analysis of wines from different European Countries. *Rap. Comm. Mass Spectrom.*, 8, 967-987.
- [4] Craig, H., (1957) Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 12, 133-149.
- [5] Craig, H., (1961) Isotopic Variations in Meteoric Waters. *Science*, 133, 1702-1703.
- [6] Craig, H., (1961) Standard for reporting concentrations of deuterium and oxygen-18 in natural waters. *Science*, 133, 1833-1834.
- [7] Coplen, T., (1988) Normalization of oxygen and hydrogen data. *Chemical Geology (Isotope Geoscience Section)*, 72, 293-297.
- [8] Coplen, T. and Hopple, J., (1995) Audit of V-SMOW distributed by the US National Institute of Standards and Technology. Proceedings of a consultants meeting held in Vienna, 1-3. Dec. 1993, IAEA-TECDOC-825, 35-38 IAEA, Vienna, Austria.
- [9] Dunbar, J., (1982) Detection of added water and sugar in New Zealand commercial wines. Elsevier Scientific Publishing Corp. Edts. Amsterdam, 1495-501.



的形状、温度、搅拌……),需经实验确定。

水-二氧化碳交换反应达到平衡后,反应产生的二氧化碳从反应瓶转移至双路进样系统的样品仓内。多次交替测定双路进样系统中样品仓和标准仓内的 CO₂ 标准气体。该测定过程持续至该批样品测定完毕。

8.3 手动/自动平衡联用双路进样 IRMS

用移液管向反应瓶中加入一定体积(如 200 μL)的样品或标准品。将开口反应瓶放置在充满用于平衡反应(5.2.2)的纯二氧化碳气体的密闭腔体中。排除痕量空气,密封反应瓶瓶口并置于样品转换器的恒温盘中。40℃时需至少 8 h 才能达到平衡。达到平衡后,反应瓶中的二氧化碳气体经干燥后转移至双路进样系统的样品仓。多次交替测定双路进样系统中样品仓和标准仓内的二氧化碳标准气体,直至该批样品测定完毕。

8.4 自动平衡仪和连续流动进样系统联用

用移液管向反应瓶中加入一定体积的样品或标准品。反应瓶置于温控盘中。用一根气体进样针向反应瓶中充入氮-二氧化碳混合气。反应瓶顶部空间中的二氧化碳用于进行交换反应。

一般在温度 30℃±1℃条件下最少经 18 h 达到交换平衡。

交换反应达到完全平衡后,将反应瓶中的二氧化碳经连续流动系统转移至质谱仪的离子源中进行分析。二氧化碳参考气体也经由连续流动系统导入到 IRMS 中。

9 计算

IRMS 自动记录每个样品气或参考气中 m/z 分别为 44、45、46 离子的信号强度并根据 6.1 中的原理由 IRMS 仪器所带的软件自动计算出样品气¹⁸O/¹⁶O 同位素比值。在实际测定过程中 IRMS 给出一个以工作标准(事先经 V-SMOW 标定)为基准的样品¹⁸O/¹⁶O 比值。

测定过程中可能由于仪器条件差异而导致测定结果发生微小变化。在这种情况下样品中的 δ¹⁸O 必须根据工作标准的实测值与给定值的差异进行校正。工作标准必须在测定序列的开始和结束进行测定,然后根据前后两次测定值(工作标准的给定值和实测值)用线性内插法进行校正。

最终结果是相对 δ¹⁸O_{V-SMOW} 值(‰)的形式表示,δ¹⁸O_{V-SMOW} 按如下公式计算得出:

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}} = \left[\frac{\left(\frac{{}^{18}\text{O}}{{}^{16}\text{O}}_{\text{样品}} \right) - \left(\frac{{}^{18}\text{O}}{{}^{16}\text{O}}_{\text{V-SMOW}} \right)}{\left(\frac{{}^{18}\text{O}}{{}^{16}\text{O}}_{\text{V-SMOW}} \right)} \right] \times 1000 [\text{‰}]$$

应用下述公式对样品测定结果以 V-SMOW/SLAP 方式进行归一化处理:

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW/SLAP}} = \left[\frac{\delta^{18}\text{O}_{\text{样品}} - \delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}}}{\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}} - \delta^{18}\text{O}_{\text{SLAP}}} \right] \times 55.5 [\text{‰}]$$

SLAP 承认的 δ¹⁸O_{V-SMOW} 为 -55.5‰(见 5.1)。

10 精密度

重复性限(r)等于 0.24‰。

再现性限(R)等于 0.50‰。

6.2 设备和材料

- 6.2.1 所选系统与配套的反应瓶和隔垫。
- 6.2.2 合适的移液管。
- 6.2.3 恒定平衡反应时温度控制系统,控温精度为 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。
- 6.2.4 真空泵(根据所用方法,可选)。
- 6.2.5 自动进样器(根据所用方法,可选)。
- 6.2.6 进样针(根据所用方法,可选)。
- 6.2.7 分离二氧化碳及其他气体的气相色谱柱(根据所用方法,可选)。
- 6.2.8 除水装置(如低温冷阱、选择性渗透膜)。

7 取样

葡萄酒和葡萄汁样品,及相关参考物质不需任何预处理可直接测定。为防止样品发酵,可添加苯甲酸(或其他发酵抑制剂)或用 $0.22\ \mu\text{m}$ 孔径的滤膜过滤。

参考物质用于校准和漂移校正,在测试开始及最后均需测定参考物质,另外每隔10个样品最好插入一个参考物质测定。

8 步骤

下述步骤仅适用于利用水二氧化碳平衡原理,用IRMS测定水中 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 同位素比值的方法。这些步骤可根据所使用的仪器、设备的实际情况进行相应调整。进样装置选择双路进样系统或连续流动进样系统,这两种技术手段都可以作为二氧化碳的进样方法。这些技术以及相应的操作条件在此不一一描述。

注:所有给定的参数诸如体积、温度、压力和时间仅是推荐值,具体参数需根据仪器特点和(或)实验条件确定。

8.1 手动平衡

用移液管将一定体积的样品/标准加入到反应瓶中,然后将反应瓶紧密连接在歧管上。将歧管放在 -80°C 的冷液中冻结样品(若歧管上配有毛细管道则不需该冷冻步骤);然后整个系统开始抽真空;当真空度达到稳定状态后,向各反应瓶中导入二氧化碳工作标准气体;在平衡过程中将歧管置于 25°C (温控精度为 $\pm 1^{\circ}\text{C}$)水浴中12 h(过夜),须保证水浴温度恒定、均匀。

水-二氧化碳交换反应达到平衡后,反应产生的二氧化碳从反应瓶转移至双路进样系统的样品仓内。多次交替测定双路进样系统中样品仓和标准仓内的二氧化碳标准气体。该测定过程持续至所有样品都测定完毕。

8.2 自动平衡仪

用移液管向反应瓶中加入一定体积的样品/标准品。将装有样品的反应瓶连在平衡系统上,在冷液(-80°C)中冻结样品(若系统上配有毛细管道则不需此冷冻步骤);然后整个系统抽真空。

当真空度达到稳定状态后,向各反应瓶中导入二氧化碳工作标准气体。反应一般在 $22^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 经适度搅拌至少5 h后可达到平衡。达到平衡的时间取决于很多因素(如反应瓶