

METROLOGIA DE ISÓTOPOS ESTABLES Y MATERIALES DE REFERENCIA UTILIZADOS PARA LA DETERMINACIÓN ISOTÓPICA DE CARBONO, NITRÓGENO, OXIGENO, HIDRÓGENO, Y AZUFRE.

Morales P. y Cienfuegos E.

Laboratorio de Espectrometría de Isótopos Estables, Instituto de Geología, UNAM.

Apartado Postal 70-296, 04510 México, D.F.

Tel: 56 22 43 25, Fax: 56 22 43 18, E-mail: mopuente@servidor.unam.mx, E-mail: edithca@servidor.unam.mx

RESUMEN: Durante la pasada década las aplicaciones que requieren las medidas de los isótopos estables de los elementos ligeros (C, N, O, H, S) ha tenido un gran desarrollo. Inicialmente los investigadores en geoquímica fueron los que desarrollaron este campo, especialmente en niveles de abundancia natural, sin embargo esta situación esta cambiando para dar cabida a una amplia y creciente cantidad de disciplinas que adaptan e incorporan las medidas de los isótopos estables para caracterizar las rutas fisicoquímicas o biológicas, reconocer orígenes y trazar flujos de materiales..

Las mejoras recientes en la espectrometría de masas de isótopos estables, permiten ahora la determinación simultánea de dos elementos y por otro lado ofrecen una gran capacidad de análisis tanto en cantidad de muestras como en diferentes elementos y matrices. La creación y uso de patrones isotópicos o materiales de referencia es crucial para comparar los resultados en un laboratorio con el objeto de compararlos o relacionarlos con otros laboratorios. En este trabajo se presentarán los materiales de referencia más comúnmente usados en el mundo y se tratará de alcanzar un acuerdo en como se reconocerían este tipo de metrología en México.

INTRODUCCIÓN

El agrupamiento de los átomos se realiza de varias formas, una de las más usadas está basada en el número de protones. Así todos los núcleos que tienen el mismo número de protones tienen el mismo número de cargas positivas y por lo tanto el mismo número de electrones en sus órbitas, lo cual los define como el mismo elemento químico.

Algunas veces los núcleos con el mismo número de protones tienen diferente número de neutrones. Sin embargo el número de protones caracteriza al mismo elemento químico y al tener un número diferente de neutrones estos átomos tendrán una masa atómica diferente. Los átomos del mismo elemento con diferente masa atómica se denominan isótopos del elemento. En la naturaleza cada elemento está compuesto por una mezcla de isótopos, los cuales pueden ser estables o radioactivos.

Por supuesto cada elemento puede tener uno o varios isótopos y los isótopos de un elemento no son igualmente abundantes; por ejemplo los isótopos estables del C tienen las masas 12 y 13 una (unidad de masa atómica) respectivamente y se describen como ^{12}C y ^{13}C , con abundancias relativas muy diferentes. Por otro lado el isótopo radioactivo del carbono es el ^{14}C , el cual tiene una muy baja abundancia en comparación de los

anteriores por lo que no afecta los cálculos de la masa atómica del carbono.

Las proporciones relativas de la existencia de los isótopos de un elemento se pueden expresar tanto como relaciones isotópicas ó en término de por ciento átomo. Cuando se conocen las masas isotópicas de un elemento, así como sus abundancias relativas se calcula el peso atómico del elemento. En la Tabla 1 [1] se presenta como ejemplo el cálculo la masa atómica del carbono.

Tabla 1. Ejemplo del Masa Atómica del Carbono

Isótopo	Masa * Abundancia	
^{12}C	$12,000000 * 0,989$	11,868
^{13}C	$13,003354839 * 0,011$	0,143
	Masa atómica	12,011

Uso de Deltas y Notación

La abundancia relativa de isótopos estables de los elementos ligeros en especial los elementos C, O, N, H y S en la naturaleza no es constante, esto es debido a que la pequeña diferencia en su masa atómica provocan que en las reacciones químicas donde participan ó que en las diferentes fases en que se encuentran, generen el enriquecimiento de un isótopo con respecto al otro. Este enriquecimiento de las abundancias isotópicas de los elementos ligeros permite que sean utilizadas, entre otros para la descripción de fenómenos

naturales, determinación de origen y aplicaciones de metrología química.

Las variaciones en las relaciones de abundancia isotópica del hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre en una sustancia en particular no se reportan como números absolutos, o como por ciento atómico. Debido a las siguientes razones:

- i) Los espectrómetros de masas que se utilizan para detectar pequeñas variaciones en la abundancia isotópica no están diseñados para obtener relaciones absolutas de manera confiable.
- ii) El reportar relaciones isotópicas absolutas resulta en manejar consistentemente números con seis decimales o más.
- iii) Las relaciones absolutas de una muestra en particular es en principio menos relevante que los cambios ocurridos durante sus transiciones de fase o moleculares.

En 1995 la Comisión en Pesos Atómicos y Abundancias Isotópicas de la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) recomendó que los resultados de las variaciones isotópicas se deben expresar en escalas definidas en términos de patrones fijos de referencia de distribución internacional. Para lo cual se acordó que se emplee la nomenclatura delta (δ), la cual se expresa utilizando como superíndice la masa del isótopo, seguido del símbolo del elemento y como subíndice el material de referencia base de la escala de reporte. Ejemplo $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$.

Experimentalmente las diferencias entre el patrón y una muestra se determinan con un espectrómetro de masas de isótopos estables. Con esta metodología se pueden obtener datos de alta precisión sin la necesidad de trabajar con valores absolutos de las relaciones isotópicas.

Las relaciones isotópicas de un elemento en una muestra se reporta como la desviación de una muestra relativa a un patrón. El valor δ para un elemento se define como en la ecuación 1, donde R_x , representa la relación de isótopos de una muestra ($^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) y $R_{\text{patrón}}$ corresponde a la relación isotópica del mismo elemento en el patrón. El valor de δ se expresa en partes por mil (‰).

$$\delta x = \left[\frac{R_x}{R_{\text{patrón}}} - 1 \right] * 1000 \quad [1]$$

Como ejemplo para el ^{13}C la δ se calcula como en la ecuación 2.

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = \left[\frac{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{muestra}}}{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{VPDB}}} - 1 \right] * 1000 \quad [2]$$

La determinación simultánea en el espectrómetro de la muestra contra el patrón siempre ha sido la base de la precisión en las medidas de las relaciones isotópicas, ya que permiten no solo cuantificar la diferencia a un punto fijo de referencia en la escala de medidas (del patrón) sino además, permite la normalización de los resultados, ambos conceptos con el objeto de que los resultados puedan ser comparados fácilmente por los diferentes laboratorios. La normalización de los resultados provee las bases para establecer una escala de intercomparación libre de desviaciones instrumentales generadas por discriminación de masas en el proceso de ionización o efectos de no linealidad en los sistemas de detección.

En general los patrones isotópicos pueden ser divididos en dos clases o tipos, en la categoría más baja están los patrones de trabajo, éstos se elaboran a partir de un material estable y de fácil acceso para el laboratorio con el objeto de realizar la verificación diaria y de servir en tareas control de calidad. Los patrones de trabajo son derivados de una calibración cruzada contra algún patrón primario, el cual debe ser un material de referencia (MR).

Los MR que se utilizan no poseen valores isotópicos certificados, pero en su lugar tienen un valor asignado por consenso por un grupo de expertos a partir de resultados de los principales laboratorios del mundo. En general, una alícuota de MR es a menudo medida en forma concomitante con muestras de valor desconocido para las cuales el resultado del análisis de la muestra no se expresa en valores absolutos sino relativos a un patrón dado, usando la notación δ . Como ejemplo de este tipo de patrones, son los correspondientes a los isótopos de los elementos H, O, N, C, S, distribuidos por el Organismo Internacional de Energía Atómica (IAEA) y el National Institute of Standards and Technology (NIST). Para los elementos antes mencionados los valores δ se determinan en un espectrómetro de masas de isótopos estables que opera con materiales en forma gaseosa producidos cuantitativamente como los son CO_2 , SO_2 , N_2 , N_2O , O_2 , H_2 y CO , a partir de sustancias que contengan al elemento que se desea medir. Es decir hay que convertir cuantitativamente el contenido de los elementos C, H, O, N y S del material que se estudia a la forma gaseosa.

A continuación presentaremos los materiales de referencia más utilizados en las determinaciones de relaciones isotópicas de los elementos C, N, O, H y

S, ya que consideramos importante dar a conocer en México esta clase de Metrología así como los materiales de referencia utilizados por su creciente aplicación tanto en investigaciones geológicas y ambientales como en aplicaciones como trazadores de adulteración de productos naturales como lo es en jugos, néctares, vinos, miel, etc. La forma de presentación para cada elemento, incluirá el valor absoluto de la relación del material escogido como punto de referencia (patrón) así como los diferentes patrones de referencia más utilizados para cubrir el intervalo de variación que se encuentra comúnmente en la naturaleza.

Materiales de Referencia para Nitrógeno.

Las medidas de relaciones isotópicas de nitrógeno se expresan en partes por mil con respecto a un patrón de referencia. Para este punto de referencia

se escogió el nitrógeno atmosférico, por ser éste la fuente principal de nitrógeno en la tropósfera. Por definición la delta para el aire es $\delta^{15}\text{N}_{\text{aire}} = 0 \text{‰}$. El valor internacionalmente aceptado de la relación isotópica absoluta de nitrógeno en aire, se tomó del mejor valor reportado entre varias determinaciones, el cual fue realizado por Junk y Svec en 1958 [2], y su valor es: $^{14}\text{N}/^{15}\text{N} = 272,0 \pm 0,3$.

Este valor absoluto fue revisado por la Comisión de Pesos Atómicos y Abundancias Isotópicas de la IUPAC quienes recomendaron el uso del valor de la relación igual a 272,0 para la relación $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ en aire que se utilizan para el cálculo de por ciento atómico de ^{15}N . Coplen et.al. en 1992. [3]. En la Tabla 2 se presentan los materiales de referencia aceptados para nitrógeno.

Tabla 2 Materiales de Referencia Isotópico para Nitrógeno.

Identificación ^a	Material	$\delta^{15}\text{N}_{\text{aire}} \text{‰}^b$	Referencia
IAEA-N1 (8547)	Sulfato de amonio	+0,4 ± 0,2	[4], [5]
IAEA-N2 (8548)	Sulfato de amonio	+20,3 ± 0,2	[4], [5]
IAEA-N3 (8549)	Nitrato de Potasio	+2,0 a +5	[6]
USGS25 (8550)	Sulfato de Amonio	-30,4 ± 0,5	[6], [5]
USGS26 (8551)	Sulfato de Amonio	+53,5 ± 0,5	[6], [5]
NSVEC (8552)	Nitrógeno Gaseoso	-2,81	[6]
USGS32	Nitrato de Potasio	+179,9 ± 0,5	[5]
^a -Nombre común para el patrón y en paréntesis la referencia del catálogo del NIST.		^b - Promedio o valor reportado en $\delta^{15}\text{N}$ en partes por mil de la desviación con respecto al N_2 atmosférico	

Materiales de Referencia de Azufre.

Las medidas de relaciones isotópicas de azufre se expresan en partes por mil con respecto al patrón de referencia, que es el azufre contenido en la fase troilita del meteorito del Cañón del Diablo (CDT), Arizona. Se tomó como referencia al azufre del meteorito por considerar que este valor representa al valor inalterado del azufre en la naturaleza. Por definición, $\delta^{34}\text{S}_{\text{CDT}}$ es 0 ‰ y con un valor internacionalmente aceptado de $R_{32/34} = 22,21$. Usando este valor, Chang (1989) [7] calculó los valores de las abundancias isotópicas de azufre en CDT y del NBS-123, los cuales se presentan en la Tabla 3. Además en la Tabla 4 se presentan los materiales de referencia isotópicos para azufre con los

valores aceptados por la Comisión de Pesos Atómicos y Abundancias Isotópicas de la IUPAC:

Tabla 3. Valores de abundancias isotópicas de azufre en el patrón de referencia CDT

CDT	NBS 123
94,958 atom % ^{32}S	94,8871 atom % ^{32}S
0,750 atom % ^{33}S	0,7563 atom % ^{33}S
4,275 Atom % ^{34}S	4,3463 atom % ^{34}S
0,017 atom % ^{36}S	0.0103 atom % ^{36}S

Para valores isotópicos del azufre y del oxígeno del NBS-127 (Sulfato de Bario). Se toman los valores delta siguientes $\delta^{34}\text{S}_{\text{CDT}} = 20,32$ y $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} = +9,33$. Hut en 1987[8]

Tabla 4 Materiales de Referencia Isotópico para Azufre.

Identificación ^a	Material	$\delta^{34}\text{S}_{\text{CDT}} \text{‰}^b$	Referencia
NBS-123 (8556)	Sulfuro de Zinc	+17,44 +17,09 ± 0,31	[7], [8]
NBS-127 (8557)	Sulfato de bario	+20,32 ± 0,36	[8]
Soufre de Lacq (8553)	Azufre Elemental	+17,3	[7],
NZ1 (8554)	Sulfuro de Plata	-0,3	[9]
NZ2 (8555)	Sulfuro de Plata	21,0	[9]
^a - Nombre común para el patrón		^b - Composición isotópica de azufre relativa a CDT.	

Materiales de Referencia para Carbono

Tradicionalmente las medidas de relaciones isotópicas de carbono expresadas en partes por mil (‰) son referidas a la Belemnitelite Americana, la cual fue tomada de la formación Cretaceous Peedee in South Carolina USA. Por definición la delta $^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ es 0 ‰ Craig (1957) [10]. La relación de abundancia absoluta de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ en PDB es 0,0112372 que corresponde a 1,111 de átomo por ciento de ^{13}C , con lo cual se calcula la masa atómica del carbono en el PDB de 12,01115 uma.

Se tomó como patrón de referencia un carbonato de origen marino porque se consideró que los carbonatos de origen marino, contienen la mayor cantidad de carbono y de oxígeno de la tropósfera. Desde hace algunos años se agotó la reserva física del PDB por lo que ya no se puede conseguir más, por lo cual para calibrar las medidas contra la escala PDB (VPDB), se debe utilizar el material de referencia NBS-19 asignándole el valor de:

$$^{13}\text{C}_{\text{NBS19/VPDB}} = +1,95 \text{‰}$$

Cuando se calibra utilizando NBS-19 se debe mencionar que está referido a la escala VPDB. Las escalas basadas en PDB y NBS19 (escala VPDB) son virtualmente idénticas, por lo que el uso del VPDB como referencia implica que las medidas se tienen que calibrar con NBS-19. Hut (1987).

Las determinaciones de las abundancias absolutas en carbono para el NBS-19 y el NBS18 fueron tomadas como las mejores por la Comisión de Pesos Atómicos y Abundancias Isotópicas de la IUPAC fueron realizadas por Chang en 1990 con los resultados siguientes .

$$\begin{aligned} &\text{NBS-18 (8543)} \\ &98,8998 \pm 0,0028 \text{ atom percent } ^{12}\text{C} \\ &1,1002 \pm 0,0028 \text{ atom percent } ^{13}\text{C} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &\text{NBS-19 (8544)} \\ &98,8922 \pm 0,0028 \text{ atom percent } ^{12}\text{C} \\ &0,1078 \pm 0,0028 \text{ atom percent } ^{13}\text{C} \end{aligned}$$

Usando estos valores se calcula que la $\delta^{13}\text{C}_{\text{NBS-18/NBS-19}} = -6,96 \text{‰}$. Se recomienda que el NBS-18 se utilice solo como material de Inter comparación, y el NBS-19 se debe usar como el patrón de referencia para las medidas de ^{13}C . En la Tabla 5 se presentan otros materiales de referencia.

Con respecto al análisis isotópico del carbono e Hidrógeno en material orgánico, se deben utilizar los materiales de referencia NBS-22 (8539), PEFI (8540) y Sacarosa ANU (8542). En la Tabla 6 se presentan los valores isotópicos correspondientes a estos materiales.

Tabla 5. Materiales de Referencia Isotópico para Carbono y Oxígeno.

Identificación ^a	Material	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}^b$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$	Referencia
NBS-18 (8543)	Carbonatita	-5,04 ± 0,06	+7,16 ± 0,19	[8]
NBS-19 (8544)	Carbonato de Calcio en roca caliza	+1,95	+28,65	[8]
LSVEC (8545)	Carbonato de Litio	-46,7 ± 0,3		[6]
^a - Nombre común para el patrón y en paréntesis la referencia del catálogo del NIST		^b La composición isotópica del carbono en estos MR están referidos a VPDB usando $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = 1,95 \text{‰}$ relativos al NBS-19 (8544). La composición isotópica del oxígeno están referidas a VSMOW.		

Tabla 6. Materiales de Referencia Isotópico para Carbono y Deuterio.

Identificación ^a	Material	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}^{\text{b}}$	$\delta\text{D}_{\text{VSMOW}}$	Referencia
NBS-22 (8539)	Aceite	-29,73 ± 0,09	-118,5 ± 2,8	[8]
USGS-24 (8541)	Grafito	-15,9 ± 0,25		[6]
PEFI (8540)	Polietileno	-31,77 ± 0,08	-100,3 ± 2.	[8]
Sucrose ANU (8542)	Sacarosa	-10,47 ± 0,13		[8]
^a - Nombre común para el patrón y en paréntesis la referencia del catálogo del NIST		^b La composición isotópica del carbono en estos MR están referidos a VPDB usando $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = 1,95 \text{‰}$ relativos al NBS-19 (8544). La composición isotópica del hidrógeno y oxígeno están referidas a VSMOW.		

Materiales de referencia para Hidrógeno y Oxígeno

Para las medidas de las relaciones isotópicas de hidrógeno y oxígeno, éstas se expresan utilizando la nomenclatura delta en partes por mil. Ambas medidas son referidas al agua del mar promedio, ya que este, es el que posee la mayor concentración de ambos elementos en la tropósfera. Debido a que el agua de mar presenta variaciones isotópicas que son debidas a condiciones geográficas, de salinidad y otros factores, Craig en 1961 [11] propuso definir un patrón para hidrógeno y oxígeno derivado de la composición promedio del mar al cual le llamó SMOW (Standard Mean Ocean Water) y para preparar esta agua de composición promedio marina tomó agua destilada de mar a la cual se le agregaron otras aguas para ajustar los valores de hidrógeno y oxígeno lo más cercanamente posible al promedio de la composición marina reportada.

La abundancia Isotópica absoluta del Hidrógeno [12] en VSMOW es:

99,984426 átomo por ciento de ^1H
 0,015574 átomo por ciento de ^2H

La abundancia Isotópica absoluta del oxígeno [13] en VSMOW es:

99,76206 átomo por ciento de ^{16}O
 0,03790 átomo por ciento de ^{17}O
 0,20004 átomo por ciento de ^{18}O

Para mayor precisión, en las escalas de las relaciones isotópicas de hidrógeno y oxígeno, se emplea el procedimiento de normalización de la escala. Este procedimiento se realiza en términos de los valores extremos de composición isotópica que se encuentran en la naturaleza, para ambos elementos los puntos para esta escala están definidos por un lado el promedio del agua de mar VSMOW y por otro por la composición del agua más ligera isotópicamente hablando conocida como SLAP (Standard Ligth Antarctic Precipitation).

La IUPAC reconoce como los valores para la composición isotópica del hidrógeno y del oxígeno para el SLAP relativa al VSMOW es $\delta\text{D}_{\text{VSMOW}} = -428 \text{‰}$ y $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} = -55,5 \text{‰}$. Para efectos de comprobación de esta escala se utiliza el material de referencia conocido como GISP (Greenland Ice Sheet Precipitation) el cual tiene los siguientes valores de $\delta\text{D}_{\text{VSMOW}} = -189,8 \text{‰}$ y $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} = -24,85 \text{‰}$ en la escala normalizada SMOW - SLAP[14]. En la Tabla 7 se muestran los valores de los materiales de referencia VSMOW, SLAP y GISP.

Tabla 7. Materiales de Referencia Isotópico para Hidrógeno y Oxígeno.

Identificación ^a	Material	$\delta\text{D}_{\text{VSMOW}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$	Referencia
VSMOW (8535)	Agua	0,0	0,0	[11], [8]
SLAP (8537)	Agua	-428,0	-55,5	[11], [8]
GISP (8536)	Agua	-189,8	-24,85	[11], [8]
^a - Nombre común para el patrón y en paréntesis la referencia del catálogo del NIST		Composición isotópica de Deuterio y Oxígeno está referida a VSMOW.		

REFERENCIAS

1. International Union of Pure and Applied Chemistry. Element by Element, Review of their Atomic Weights. Pergamon. Pure & Appl. Chem., Vol. 56, No, 6, pp. 695-768, 1984.
2. Junk, G., and Svec, H.J.(1958). The absolute abundance of nitrogen isotopes in the atmosphere and compressed gas from various sources, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, vol. 14,234-243.
3. Coplen, T.B., Krouse, H.R., Böhlke, J.K. (1992). Reporting of Nitrogen Isotope Abundances. (Technical Report). *Pure & Appl. Chem.*, Vol. 64, No.6, pp. 907-908.
4. Gonfiantini, R. (1984). Advisory group meeting on stable isotope reference samples for geochemical and hydrological investigations. Report to the Director General, IAEA, Vienna, 77p.
5. Böhlke, J.K. Gwinn, C.J.and Coplen, T.B.(1993). New Reference Materials for nitrogen-Isotope-Ratio Measurements. *Geostandards Newsletter* Vol.17, N°1 April, 159-164.
6. NIST (1992): Report of Investigation: Reference Materials: 8547-8552. Standard Reference Material Program. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, Maryland.
7. Chang, T.L. and Ding, T., (1989). Analysis of the reference material NBS-123 and the atomic weight of sulfur, *Chinese Science Bulletin*, vol. 34, no.13, 1086-1089.
8. Hut, G. (1987): Consultants group meeting on stable isotope reference samples for geochemical and hydrological investigations. Report to the Director General, IAEA, Vienna, 42 p.
9. Stichler,W., International Atomic Energy Agency, Vienna, oral communication, 1991
10. Craig Harmon (1957). Isotopic Standards for Carbon and Oxygen and correction factors for mass – spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, Vol. 12, pp 133 – 149.
11. Craig H (1961). Standard for reporting concentrations of deuterium and oxygen-18 in natural waters, *Science*, vol 133, 1833-1834.
12. Hagemann R, Nief G, Roth E, (1970) Absolute isotopic Scale for deuterium analysis of natural waters. Absolute D/H ratio for SMOW. *Tellus*, 22, 712-715.
13. Baertschi P. (1976). Absolute ^{18}O content of Standard Mean Ocean Water. *Earth Plan. Sci. Letters*, 31, 341.
14. Coplen, Tyler, (1988) "Normalization of oxygen and hydrogen isotope data" *Chemical Geology (Isotope Geoscience Section)*, 72 pp 293-297.