A16
备案号：37269-2012

WW

中华人民共和国文物保护行业标准

WW/T 0045 — 2012

碳氮同位素食性分析
骨质样品采集及实验室操作规范

Diet analysis by carbon and nitrogen isotopes — Specification for bone sample collection and experiment

2012-07-31发布　　2012-08-01实施

中华人民共和国国家文物局　　发 布

中华人民共和国文物保护行业标准
碳氮同位素食性分析　骨质样品采集及实验室操作规范
Diet analysis by carbon and nitrogen isotopes - Specification for bone sample collection and experiment
WW/T 0045—2012
*
中华人民共和国国家文物局主编
文物出版社出版发行
（北京市东城区东直门内北小街2号楼）
http://www.wenwu.com
E-mail:web@wenwu.com
北京达利天成印刷公司印刷
新　华　书　店　经　销
*
开本：880毫米×1230毫米　1/16
印张：1
2012年12月第1版　2012年12月第1次印刷
统一书号：115010·1811　定价：10.00元

目　　次

前言 III
1　范围　1
2　规范性引用文件　1
3　术语和定义　1
4　人或动物骨质样品碳氮同位素食性分析依据　2
5　人骨和动物骨质样品采集　2
　5.1　样品采集要求 2
　5.2　样品采集信息记录 2
　5.3　样品包装 3
6　实验室分析操作规范　3
　6.1　收样登记 3
　6.2　样品处理 3
　6.3　样品骨胶原提取与明胶制备 3
　6.4　样品同位素质谱分析 3
7　样品处理等实验流程记录和同位素质谱分析报告　3
　7.1　样品处理等实验流程记录 3
　7.2　同位素质谱分析报告 3

附录A（规范性附录）碳氮同位素食性分析骨质样品信息记录 4
附录B（规范性附录）碳氮同位素食性分析骨质样品收样登记表　6
附录C（规范性附录）碳氮同位素食性分析骨质样品处理实验记录表　7
附录D（规范性附录）骨质样品碳氮同位素质谱分析报告单 8
参考文献9

前　　言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国国家文物局提出。

本标准由全国文物保护标准化技术委员会（SAC/TC289）归口。

本标准负责起草单位：中国社会科学院考古研究所。

本标准主要起草人：张雪莲、蔡莲珍、仇士华。

碳氮同位素食性分析　骨质样品采集及实验室操作规范

1　范围

本标准提供了考古出土人和动物骨骼碳氮同位素食性分析的依据并规定了样品采集、实验室分析操作规程、样品处理等实验流程记录和同位素质谱分析报告等内容与要求。

本标准适用于古代人与动物的食性分析。

2　规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

WW/T 0043—2012　碳十四年代测定骨质样品的处理方法

《田野考古工作规程》，国家文物局（编），北京：文物出版社，2009年

3　术语和定义

下列术语和定义适用于本文物。

3.1

同位素分馏　isotope fractionation

质子数相同而中子数不同的同位素在参与各种物理、化学或生物变化等过程中，由于原子质量不同而导致的同位素组成的变化。

3.2

$\delta^{13}C$值　$\delta^{13}C$ value

表达式为：

$$\delta^{13}C = \{[(^{13}C/^{12}C)_{样品} - (^{13}C/^{12}C)_{标准}]/(^{13}C/^{12}C)_{标准}\} \times 1000‰$$

标准为美国卡罗来纳州（Caroline）南部白垩纪庇地层中的箭石（Cretaceous Belemnite，Belemnitella Amercana），称为PDB标准（Peedee Belemnite Chicago Limestone Standard）。

3.3

$\delta^{15}N$值　$\delta^{15}N$ value

表达式为：

$$\delta^{15}N = \{[(^{15}N/^{14}N)_{样品} - (^{15}N/^{14}N)_{标准}]/(^{15}N/^{14}N)_{标准}\} \times 1000‰$$

标准为大气中的氮（AIR）。

3.4

C_3类植物　C_3 plants

通过卡尔文（Calvin）光合作用途径固碳的植物，该途径最初产物为3-磷酸甘油酸（3-PGA），其分子为三碳化合物。其$\delta^{13}C$值范围为-23‰~-30‰，平均值为-26‰。

3.5

C_4类植物　C_4 plants

通过哈-斯（Hatch　and　Slack）光合作用途径固碳的植物，该途径的最初产物是苹果酸（Malic acid）和天冬氨酸（Aspartic acid）等，其分子为四碳化合物。其$\delta^{13}C$范围为-8‰~-14‰，平均值为-11‰。

3.6

CAM类植物　CAM plants

通过CAM（Crassulacean acid metabolism）光合作用固碳途径生成的多汁类植物。其$\delta^{13}C$范围为-12‰~-23‰，平均值为-17‰。

3.7

碳氮比　C/N ratio

样品中碳和氮含量的摩尔数之比。

3.8

碳氮同位素食性分析　diet analysis by carbon and nitrogen isotopes

通过人或动物骨骼中碳氮稳定同位素分析研究人或动物的食物组成。

3.9

营养级　trophic level

自然界人和动物的食物链高低的描述。

4　人或动物骨质样品碳氮同位素食性分析依据

人或动物进食后通过消化吸收过程中的同位素分馏效应，最终在其骨胶原中得到明确反映。通过骨胶原中的碳氮同位素分析可以反推其食物组成。

依据光合作用途径不同植物可以划分为三大类：C_3类植物，包括稻类，麦类等；C_4类植物，包括粟、黍、玉米等；CAM类植物，包括菠萝、甜菜等。

人或动物长期食用某一类植物，其骨胶原就会有对应的$\delta^{13}C$值。反过来，通过测定人或动物骨胶原的$\delta^{13}C$值，就可以推知其食物组成。

人或动物骨骼中的$\delta^{15}N$值，可以显示食物中蛋白质摄入状况，反映食物链上营养级的高低。一般海洋鱼类的$\delta^{15}N$值高于陆相动物，陆相动物高于植物。生物的食物链越长，则$\delta^{15}N$值越高，其营养级亦越高。

$\delta^{13}C$和$\delta^{15}N$分析相结合有可能区分出样品出自河海边、粟或稻作区，以及牧区等。

5　人骨和动物骨质样品采集

5.1　样品采集要求

采集考古出土人和动物骨质样品要求如下：

a）采集的人骨样品，应明确其性别和年龄；

b）采集的动物骨骼样品，应明确其种属；

c）宜采集骨骼致密部位；

d）应采集未石化或糟朽、保存较好的骨质样品，采集量至少为1cm^3。对于保存状况稍差的样品，采集量应适当增加。

5.2　样品采集信息记录

5.2.1　样品标签

采集的样品应附样品标签，具体内容应按《田野考古工作规程》规定填写。

5.2.2　送样清单

采集并送到实验室的样品应填写送样清单，详见附录A表A. 1。

5.2.3　样品采集信息记录表

由送样人填写样品采集信息表，其内容主要包括样品来源和样品说明，如送样单位、样品出土信息、人骨性别年龄和动物骨种属的鉴定信息以及样品采集量等采集信息,详见附录A表A. 2。

5.3 样品包装

样品包装要求如下：

a）样品应采用铝箔单独包装，内附样品标签；

b）将用铝箔包好的样品和样品标签各自装入塑料自封袋，再一同放入有盖的硬质盒如塑料盒、金属盒中；

c）运输过程中应避免破损、混杂。

6 实验室分析操作规范

6.1 收样登记

实验室收到样品应填写收样登记表，详见附录B。

6.2 样品处理

6.2.1 样品观察记录

样品处理前要置于显微镜下仔细观察，记录其现存状况，并照相留底，称重记录。

6.2.2 样品处理

去除有污染的部分及外表面，超声清洗，并适当破碎。

6.3 样品骨胶原提取与明胶制备

骨胶原提取与明胶制备具体操作详见WW/T 0043-2012。

6.4 样品同位素质谱分析

6.4.1 应用元素分析-质谱测定仪对制得的明胶样品进行质谱分析。

6.4.2 质谱分析主要步骤：

a）分析前，检测仪器真空系统的真空度，其应保持在10^{-6}mbar;

b）分析测定仪配备的“空白”和“标准”样品，其应达到分析要求；

c）样品准备：明胶样品应为干燥状态，絮状或碾碎至0.2mm（80目）粉末;

d）样品称量：根据样品有机质含量称取适量样品，用锡纸包严，挤出空气;

e）分析过程中每10个样品附加测量重复样品以及空白和标准样品;

f ）分析过程中应随时注意和记录仪器电源电压、真空度、载气流量等各项指标。

6.4.3 每次分析应同时测量对照样品，以保证分析数据质量。

6.4.4 明胶样品通过元素分析-质谱测定仪分析得到$\delta^{13}C$值、$\delta^{15}N$值、碳质量分数（C%）、氮质量分数（N%）以及碳氮比（C/N）等。

6.4.5 按照碳氮比（C/N）判断骨样的保存状况。通常碳氮比为2.9～3.6的范围，数据可用。

7 样品处理等实验流程记录和同位素质谱分析报告

7.1 样品处理等实验流程记录

样品处理、骨胶原提取、明胶制备及同位素质谱分析等实验流程中应填写记录表，详见附录C。

7.2 同位素质谱分析报告

根据同位素质谱分析结果应填写样品分析报告单,详见附录D。

附　录　A
（规范性附录）
碳氮同位素食性分析骨质样品信息记录

表A.1规定了考古出土人或动物骨骼碳氮同位素食性分析样品的送样清单。

表A.1　碳氮同位素食性分析骨质样品送样清单

送样人		送测日期	
单位		电话号码	
地址		邮政编码	
E-mail		项目来源	

实验室编号	样品原编号	人骨/动物骨	出土地点 （墓地、遗址等）	备注

表A. 2规定了考古出土人或动物骨骼碳氮同位素食性分析样品采集信息表的格式。

表A. 2　碳氮同位素食性分析骨质样品采集信息表

实验室编号：

<table>
<tr><td rowspan="3">样品来源</td><td colspan="2">送样人</td><td></td><td>送测日期</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2">单位</td><td></td><td>电话号码</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2">地址</td><td></td><td>邮政编码</td><td></td></tr>
<tr><td rowspan="15">样品说明</td><td colspan="2">样品物质
（人骨/动物骨）</td><td></td><td>项目来源</td><td></td></tr>
<tr><td rowspan="7">出土情况</td><td colspan="2">出土地点（墓地、遗址及经纬度等）</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">出土单位（所在探方及层位，或灰坑、墓葬等遗迹）</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">原编号</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">发掘人</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">发掘日期</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">估计年代或文化性质（伴出遗物）</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">相关文献（发掘报告等）</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">骨架完整情况</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">性别年龄或种属</td><td colspan="3"></td></tr>
<tr><td colspan="2">鉴定人</td><td colspan="3"></td></tr>
<tr><td colspan="2">鉴定日期</td><td colspan="3"></td></tr>
<tr><td rowspan="6">采集情况</td><td colspan="2">现场采集/库房采集</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">采集部位</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">采集量</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">采集日期</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">采集人</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">采集部分保存状况的大致描述</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="5">采集样品照片</td></tr>
<tr><td colspan="5">其他说明</td></tr>
</table>

附　录　B
（规范性附录）
碳氮同位素食性分析骨质样品收样登记表

表B.1规定了考古出土人或动物骨骼碳氮同位素食性分析收样登记表的格式。

表B.1　碳氮同位素食性分析骨质样品收样登记表

送样人/单位	送样日期	人骨/动物骨	出土地点 （墓地、遗址等）	原编号	实验室编号	收样人

附　录　C
（规范性附录）
碳氮同位素食性分析骨质样品处理实验记录表

表C. 1规定了考古出土人或动物骨骼碳氮同位素食性分析样品处理实验室记录表的格式。

表C. 1　碳氮同位素食性分析骨质样品处理实验记录表

实验室编号：

原编号：　　样品物质：

日期	实验流程		实验记录
	样品观察	现存状况（是否糟朽，是否经过保护处理）	
		取样重量	
		操作人	
	样品处理	去污	
		超声清洗	
		适当破碎	
		操作人	
	骨胶原提取	稀盐酸浸泡	
		碱液浸泡	
		稀盐酸浸泡	
		去离子水清洗	
		操作人	
	明胶制备	水解	
		离心或过滤	
		冷冻干燥	
		表面观察	
		称重	
		包装	
		操作人	
	质谱分析及结果	分析单位	
		仪器型号	
		进样量	
		分析结果 $\delta^{13}C$值	
		分析结果 $\delta^{15}N$值	
		分析结果 碳质量分数（C%）	
		分析结果 氮质量分数（N%）	
		分析结果 碳氮比（C/N）	
		操作人	

附　录　D
（规范性附录）
骨质样品碳氮同位素质谱分析报告单

表D. 1规定了考古出土人或动物骨骼碳氮同位素质谱分析报告单填写格式。

表D. 1　骨质样品碳氮同位素质谱分析报告单

实验室编号：

<table>
<tr><td colspan="2">送样人</td><td></td><td>送测日期</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2">单位</td><td></td><td>电话号码</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2">地址</td><td></td><td>邮政编码</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2">样品物质
（人骨/动物骨）</td><td></td><td>出土地点
（遗址名称、经纬度）</td><td></td></tr>
<tr><td rowspan="4">分析结果</td><td>$\delta^{13}C$值</td><td colspan="3"></td></tr>
<tr><td>$\delta^{15}N$值</td><td colspan="3"></td></tr>
<tr><td>碳质量分数（C%）</td><td colspan="3"></td></tr>
<tr><td>氮质量分数（N%）</td><td colspan="3"></td></tr>
<tr><td>碳氮比（C/N）</td><td colspan="3"></td></tr>
<tr><td colspan="5">仪器型号
分析日期
分析单位（签章）</td></tr>
</table>

参 考 文 献

[1] Craig，H.，1957，Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide，Geochimica et Cosmochimica Acta，12:133-140.

[2] Calvin，M. and Benson，A.A.，1962，The path of carbon in photosyntesis，Science，107:476-480.

[3] Calvin，M. and Basshan，J. A.，1962，The photosynthesic of carbon compounds，New york，Benjamin.

[4] Kortschack，H. P.，Hart，C. E. and Burr，C. O. ，1965，Carbon dioxide fixation in sugarcane leaves，Plant Physiology，40:209-213.

[5] Hatch，M. D. and Slack，C. R.，1966，Photosynthesis by sugar-cane leaves，Biochemical Journal，101:103-111.

Hatch，M. D.，Slack，C. R. and Johnson，H. S.，1976，Further studies on a new pathway of photosyhthetic carbon dioxide fixation in sugarcane，and its occurrence in other species，Biochemical Journal，102:417-422.

[6] Hatch，M. D. and Slack，C. R.，1970，photosynthesic of carbon dioxide fixation pathways，Annual Review of Plant Physiology，21:141-142.

[7] Osmond，C. B.，1978，Crssulacean acid metabolism: a curiosity in context，Annual Review of Plant Physiology，29:379-414.

[8] 蔡莲珍，仇士华，1984年10月，碳十三测定和古代食谱研究，考古，949-955。

[9] DeNiro M J.，1985，Post-mortem preservation of alteration of in vivo bone collagen isotope ration in relation to palaeodietary reconstruction，Nature，317:806-809.

[10] DeNiro M. J. and Epstein S.，1981，Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals，Geochim，Cosmochim，Acta，45，341-351.

[11] Schoeninger M. J.，DeNiro M. J. and Tauber H.，1983，Stable nitrogen isotope ratios of bone collagen reflect marine and terrestrial components of prehistoric human diet，Science，220，1381-1383.

[12] Mariotti，A.，1983，Atmospheric nitrogen is a reliable standard for natural ^{15}N abundance measurement. Nature 303，685-687.

[13] Heaton T. E.，Vogel J. C.，von la Chevallerie G. and Collett G.，1986，Climatic influence on the isotopic composition of bone nitrogen. Nature 322，823-824.

WW/T 0045—2012

统一书号：115010·1811
定价：10.00元