

DISS. ETH NO. 26992

**ANALYSIS OF CLUMPED ISOTOPES IN NITROUS OXIDE:
METHOD DEVELOPMENT AND FIRST APPLICATIONS**

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

KRISTÝNA KANTNEROVÁ

Master in Analytical Chemistry and Quality Engineering
University of Chemistry and Technology, Prague

born on 30.10.1991

citizen of the Czech Republic

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Stefano M. BERNASCONI, examiner

Dr. Joachim MOHN, co-examiner

Dr. Lukas EMMENEGGER, co-examiner

Prof. Dr. Heather M. STOLL, co-examiner

Prof. Dr. Moritz F. LEHMANN, external co-examiner

2020

Abstract

Nitrous oxide (N_2O) is an important atmospheric trace gas as it contributes to human-induced global warming by 6% (P. Forster et al., 2007) and dominates stratospheric ozone depletion (Ravishankara et al., 2009). The abundance of N_2O has increased from a preindustrial value of $270 \text{ nmol} \cdot \text{mol}^{-1}$ (before the year 1750) to $(331.1 \pm 0.1) \text{ nmol} \cdot \text{mol}^{-1}$ in 2018 (WMO et al., 2019). In order to mitigate emissions of this long-lived greenhouse gas, its global budget and biogeochemical cycle need to be well-characterized. However, the sources of N_2O , e.g. natural emissions from the soil and the ocean, the use of fertilizers, or biomass burning, are disperse and exhibit high spatial and temporal variability. In spite of many extensive studies, mitigation of N_2O emissions still remains a great challenge.

This thesis presents a new technique to analyze doubly isotopically substituted molecules (isotopocules) of N_2O based on quantum cascade laser absorption spectroscopy (QCLAS). These so called clumped isotopocules are expected to offer new tracers for the characterization of the global N_2O budget and the biogeochemical cycle. In Chapter 1, an introduction to the field of nitrous oxide, its isotopic composition, the clumped isotopocules and their analysis is given. Chapter 2 describes the experimental setup that was developed for the clumped N_2O isotopocule analysis – a combination of a quantum cascade laser absorption spectrometer with an automated inlet system, both operated by the spectrometer software. Spectral simulations of N_2O absorption line positions and spectral interferences of other atmospheric trace gases are presented in Chapter 3. Based on these simulations, two spectral regions for the analysis of the eight most abundant isotopic species of N_2O were selected. Chapter 4 is focused on the thermal equilibrium behavior of N_2O with respect to isotope exchange reactions, the theoretical calculation of the isotopic composition as a function of temperature, and experimental work on thermal equilibration of N_2O .

Thereafter, the achievements within this thesis are presented in the form of already published manuscripts or material in preparation for publication. The manuscript "Quantifying isotopic signatures of N_2O using quantum cascade laser absorption spectroscopy" published in the journal *CHIMIA* serves as an easy introduction for readers without any prior knowledge about isotopic studies applying N_2O and measurements using QCLAS. This article was written after the author was awarded the SCS-Metrohm Award for the best oral presentation in the section Analytical Sciences at the Swiss Chemical Society (SCS) Fall Meeting 2018.

A manuscript on the development of the QCLAS technique with the title "First investigation and absolute calibration of clumped isotopes in N_2O by mid-IR laser spectroscopy" has recently been published in the journal *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. The article presents a new calibration scheme for clumped N_2O isotopocules that applies a combination of the thermal equilibration of a working standard gas and its high-accuracy gravimetric mixtures. The QCLAS technique with the new calibration scheme was validated at Empa for singly substituted isotopocules against a different QCLAS method that uses an established calibration approach. For doubly substituted isotopocules, the new technique was validated against recently established

high-resolution isotope-ratio mass spectrometry (IRMS). Based on this intercomparison, clear advantages of the QCLAS instrument in terms of required sample amount, the analysis time, and the obtained precision, repeatability, and accuracy, with respect to the site specificity of the isotopic substitution in the N₂O molecule were shown.

The submission draft "Microbial N₂O production" summarizes the results of a study on isotopic signatures of N₂O produced by the denitrifying bacteria *Pseudomonas aureofaciens*. The nitrifying bacteria *Nitrosococcus oceani* were cultivated as well but did not produce sufficient amounts of N₂O for the QCLAS analysis. Isotopic signatures suggest a *trans*-isomeric structure of the reaction intermediate of the enzymatically catalysed denitrification reaction. This part of the thesis was done in a collaboration with Prof. Sakae Toyoda and Prof. Naohiro Yoshida at Tokyo Institute of Technology (Yokohama, Japan) and supported by a 3-month research fellowship by the Japan Society for the Promotion of Science (JSPS).

A manuscript entitled "Photolytic fractionation of seven singly and doubly substituted nitrous oxide isotopocules measured by quantum cascade laser absorption spectroscopy", recently submitted to the journal *Atmospheric Environment: X* and currently under review, describes the application of the QCLAS technique to the most important N₂O destruction process – UV photolysis. The analyses were conducted on N₂O that was gradually photolyzed by UV light in a custom-made photoreactor at two wavelengths, 200 nm and 214 nm. The data were interpreted using a Rayleigh fractionation model, whereupon the extracted fractionation constants confirmed previous experimental results (for singly substituted isotopocules) and theoretical predictions (for singly and doubly substituted isotopocules). The project was done with equal contribution from Malte F. Jespersen, a PhD student from the University of Copenhagen.

Overall, this thesis presents the development of a new QCLAS technique to analyze the eight most abundant N₂O isotopocules with focus on three clumped isotopocules ¹⁴N¹⁵N¹⁸O, ¹⁵N¹⁴N¹⁸O, and ¹⁵N¹⁵N¹⁶O. Additionally, two applications of the technique are provided: the first one focused on a prominent N₂O source process (denitrification), while the second one on the major N₂O sink reaction (UV photolysis). These first, prototypical applications suggest that the clumped N₂O isotopocules have the potential to be independent tracers in the N₂O biogeochemical cycle.

Zusammenfassung

Distickstoffoxid (N_2O , Lachgas) ist ein wichtiges atmosphärisches Spurengas, welches einen Anteil von 6% an der globalen Erderwärmung hat (P. Forster et al., 2007) und einen wesentlichen Beitrag zur Zerstörung der stratosphärischen Ozonschicht leistet (Ravishankara et al., 2009). Seine mittlere Konzentration in der Erdatmosphäre ist von einem vorindustriellen Wert von $270 \text{ nmol} \cdot \text{mol}^{-1}$ (vor dem Jahr 1750) auf $(331,1 \pm 0,1) \text{ nmol} \cdot \text{mol}^{-1}$ im Jahr 2018 angestiegen (WMO et al., 2019). Um die Emissionen dieses langlebigen Treibhausgases zu reduzieren, müssen sein globales Budget und sein biogeochemischer Kreislauf bekannt sein. Die wesentlichen N_2O Quellen, insbesondere die natürliche Emission der Böden und Ozeane, der Düngemiteleinsetz und die Verbrennung von Biomasse, sind jedoch sehr verstreut und weisen eine hohe räumliche und zeitliche Variabilität auf. Aus diesen Gründen stellt die Reduktion von N_2O -Emissionen trotz umfangreicher Studien nach wie vor eine große Herausforderung dar.

In der vorliegenden Doktorarbeit wird eine neue Analysenmethode für die doppelt isotopensubstituierten N_2O -Molekülen (Isotopoküle) vorgestellt, welche auf der Quantenkaskadenlaser-Absorptionsspektroskopie (quantum-cascade laser absorption spectroscopy, QCLAS) basiert. Diese so genannten "clumped isotopocules" (verklumpten Isotopoküle) sollen neue Tracer zur Beschreibung des globalen N_2O -Budgets und des biogeochemischen Kreislaufs liefern. In Kapitel 1 wird eine Einführung in das Gebiet des Distickstoffoxids, seiner Isotopenzusammensetzung, der doppeltsubstituierten Isotopoküle und deren Analyse gegeben. Kapitel 2 beschreibt den experimentellen Aufbau, der für die Analyse der doppeltsubstituierten N_2O Isotopoküle entwickelt wurde – eine Kombination eines Quantenkaskadenlaser-Absorptionsspektrometers mit einem automatisierten Einlasssystem, die beide mit der Spektrometer-Software betrieben werden. Die Simulation der Absorptionsfrequenzen des N_2O -Spektrums und spektrale Interferenzen anderer atmosphärischer Spurengase werden in Kapitel 3 vorgestellt. Auf der Grundlage dieser Simulationen wurden zwei Spektralbereiche für die Analyse der acht am häufigsten vorkommenden Isotopenspezies von N_2O ausgewählt. Kapitel 4 beschäftigt sich mit dem thermischen Gleichgewicht von N_2O im Hinblick auf Isotopenaustauschreaktionen, die theoretische Berechnung der Isotopenzusammensetzung bei definierten Temperaturen und experimentelle Arbeiten zum thermischen Gleichgewicht von N_2O .

In den folgenden Kapiteln werden wesentliche Ergebnisse der Forschungsarbeit in Form von bereits veröffentlichten oder eingereichten Manuskripten oder Publikationsentwürfen präsentiert. Das in *CHIMIA* veröffentlichte Manuskript "Quantifying isotopic signatures of N_2O using quantum cascade laser absorption spectroscopy" (Quantifizierung der Isotopensignaturen von N_2O mit Hilfe der Quantenkaskadenlaser-Absorptionsspektroskopie) dient als einfacher Einstieg für Leser ohne Vorkenntnisse in N_2O -Isotopenstudien und QCLAS-Messtechnik. Dieser Text wurde nach der Verleihung des SCG-Metrohm-Preises für die beste Präsentation in der Sektion Analytik an der Herbsttagung 2018 der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft (SCG) an die Autorin verfasst.

Ein Manuskript zur Entwicklung der QCLAS-Messtechnik wurde kürzlich in der Zeitschrift *Rapid Communications in Mass Spectrometry* mit dem Titel "First investigation and absolute calibration of clumped isotopes in N₂O by mid-IR laser spectroscopy" (Erste Untersuchung und absolute Kalibrierung doppelsubstituierter N₂O Isotope durch Laser-Spektroskopie im mittleren IR-Bereich) publiziert. Der Artikel präsentiert eine neue Kalibrierungsstrategie für doppelsubstituierte N₂O-Isotopoküle, welche aus einer Kombination von thermischer Äquilibrierung eines Arbeitsstandards und hochgenauen gravimetrischen Gasgemischen desselben Gases besteht. Die QCLAS-Messtechnik wurde zusammen mit der neuen Kalibrierungsstrategie an der Empa für die einfachsubstituierten N₂O-Isotopenverbindungen gegenüber einer anderen QCLAS-Messmethode validiert, welche einen etablierten Kalibrierungsansatz verwendet. Für die doppelsubstituierten N₂O-Isotopoküle wurde die entwickelte Messtechnik gegenüber der hochauflösenden Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (isotope-ratio mass spectrometry, IRMS) validiert. Auf der Grundlage dieses Vergleichs konnten klare Vorteile der QCLAS-basierten Messmethode hinsichtlich der erforderlichen Probenmenge, der Analysezeit und der erzielten Präzision, Wiederholbarkeit und Genauigkeit in Bezug auf die Spezifität für positionsabhängige Isotopensubstituierungen aufgezeigt werden.

Der Publikationsentwurf "Microbial N₂O production" (Mikrobielle N₂O-Produktion) präsentiert Ergebnisse einer Studie zur Bestimmung der N₂O-Isotopensignatur eines denitrifizierenden Bakteriums *Pseudomonas aureofaciens*. Das nitrifizierende Bakterium *Nitrosococcus oceani* wurde ebenfalls kultiviert, aber ergab keine ausreichende N₂O-Gasmenge für eine QCLAS-Analyse. Die ermittelten N₂O-Isotopensignaturen legen nahe, dass das Reaktionszwischenprodukt der enzymatisch katalysierten Denitrifikationsreaktion eine *trans*-isomere Struktur aufweist. Dieser Teil der Doktorarbeit wurde im Rahmen einer Zusammenarbeit mit Prof. Sakae Toyoda und Prof. Naohiro Yoshida am Tokyo Institute of Technology (Yokohama, Japan) durchgeführt und durch ein dreimonatiges Forschungsstipendium der Japan Society for the Promotion of Science (JSPS) unterstützt.

Ein Manuskript mit dem Titel "Photolytic fractionation of seven singly and doubly substituted nitrous oxide isotopocules measured by quantum cascade laser absorption spectroscopy" (Photolytische Fraktionierung von sieben einfach- und doppelsubstituierten Lachgasisotopoküle, gemessen durch Quantenkaskadenlaser-Absorptionsspektroskopie), das kürzlich bei der Zeitschrift *Atmospheric Environment: X* eingereicht wurde, beschreibt die Anwendung der QCLAS-Messtechnik auf den wichtigsten N₂O-Senkenprozess – UV Photolyse. Die Analysen wurden an N₂O durchgeführt, welches schrittweise in einem für das Projekt angefertigten Photoreaktor bei 200 nm und 214 nm zersetzt wurde. Die Daten wurden mit einem Rayleigh-Fraktionierungsmodell interpretiert, wobei die ermittelten Fraktionierungskonstanten vorhandene experimentelle Daten (für die einfachsubstituierten Isotopoküle) und theoretische Modellvorhersagen (für die einfach- und doppelsubstituierten Isotopoküle) bestätigten. Das Projekt wurde in Zusammenarbeit mit Malte F. Jepsen, einem Doktoranden der Universität Kopenhagen, durchgeführt.

Zusammenfassend wird in der vorliegenden Doktorarbeit eine neue QCLAS-Messtechnik zur Analyse der acht häufigsten N₂O-Isotopoküle mit Schwerpunkt auf drei doppelsubstituierten Isotopoküle ¹⁴N¹⁵N¹⁸O, ¹⁵N¹⁴N¹⁸O und ¹⁵N¹⁵N¹⁶O eingeführt. Ausserdem wurden zwei Anwendungen der neuen Messmethode realisiert: die erste konzentrierte sich auf einen wichtigen N₂O-Entstehungsprozess (Denitrifikation), die zweite auf den bedeutendsten N₂O-Senkenprozess (UV Photolyse). Diese ersten, prototypischen Anwendungen legen nahe, dass die doppelsubstituierten N₂O-Isotopoküle das Potenzial haben, unabhängige Indikatoren im biogeochemischen N₂O-Kreislauf zu sein.