

Экспрессный метод подготовки жидких и твердых проб органических веществ для изотопного анализа углерода

Т.А. Веливецкая*, А.В. Игнатъев, М.В. Рейзе, С.И. Кияшко

*Дальневосточный геологический институт РАН,
проспект 100-лет Владивостоку, 159, 690022 Владивосток, Россия.
E-mail: velivetskaya@mail.ru*

Поступила в редакцию 07.04.2006 г.

Представлен простой экспрессный метод конверсии органического углерода в диоксид углерода для анализа соотношений стабильных изотопов углерода ($\delta^{13}\text{C}$) на масс-спектрометре с двухканальной системой напуска. Метод применим к самому широкому спектру образцов: от осадочных горных пород с низким содержанием рассеянного органического углерода до легколетучих жидких органических соединений, включая их водные растворы. Конверсию углерода проводят при температуре 850 °С в кварцевых трубчатых реакторах, соединенных с вакуумной системой. Эффективность конверсии обеспечивает предварительно нагретая до 850 °С колонка из CuO. Время полной конверсии твердых образцов, содержащих 0.3–1.5 мг органического углерода, и проб жидких легколетучих органических веществ объемом 0.5–1.5 мкл составляет 10 и 3 мин соответственно. Точность определения $\delta^{13}\text{C}$ твердых и легколетучих жидких органических веществ составляет $\pm 0.1\text{‰}$ и $\pm 0.05\text{‰}$ соответственно.

Ключевые слова: *изотопная масс-спектрометрия, изотопы углерода, стабильные изотопы.*

A simple express method for the analysis of the carbon stable isotope ratio ($\delta^{13}\text{C}$) on a mass spectrometer with a dual inlet system is described. The method involves the conversion of the organic carbon into the carbon dioxide. This technique is being applied to a wide spectrum of samples: from sedimentary rocks with low content of dispersed organic carbon to volatile liquid organic compounds, and to their aqueous solutions as well. Conversion of carbon is carried out at 850 °C in quartz pipe reactors connected to the vacuum system. CuO column pre-heated up to 850 °C provides efficiency of the conversion. The time needed for the complete conversion of solid samples with 0.3–1.5 mg organic carbon content, and of 0.5–1.5 μl liquid volatile organic compound samples is 10 and 3 min, correspondingly. The accuracy of determination of $\delta^{13}\text{C}$ of solid and volatile liquid organic matters is $\pm 0.1\text{‰}$ and $\pm 0.05\text{‰}$, correspondingly.

Keywords: *isotopic mass spectrometry, carbon isotopes, stable isotopes.*

Введение

Анализ изотопных отношений углерода в различных органических веществах стал в настоящее время стандартной процедурой в исследовании природных процессов. Определение $\delta^{13}\text{C}$ является актуальным и востребованным методом во многих областях научных исследований, включая биохимию, палеоэкологию, археологию, медицину. В первых работах конверсию органического углерода в CO_2 для анализа $\delta^{13}\text{C}$ проводили в токе чистого молекулярного кислорода при температуре 900 °С [1, 2]. Альтернативный метод с использованием твердого окислителя, как источника кислорода для сжигания органического материала [3, 4], получил более широкое применение в практике изотопного анализа благодаря более высокой точности и производительности. Согласно этому методу, миллиграммовое количество образца вместе с окислителем (оксид меди) запаивают в откачанной кварцевой ампуле. Ампулы с образцами прокалывают при 850–900 °С длительное время (5–6 ч) и медленно охлаждают (~12 ч). Затем каждую ампулу индивидуально вскрывают в высоковакуумной линии при помощи специального устройства [5, 6] и прово-

дят криогенную очистку CO_2 от остальных продуктов сжигания. Сойфер модифицировал этот метод [7], предложив использовать вместо дорогостоящих кварцевых ампул более экономичные ампулы из боросиликатного стекла (Pyrex). В этом случае прокалывание образца проводили при более низкой температуре 550–590 °С, что не всегда достаточно для количественного окисления углерода [8]. В недавней работе предложено использовать окислители пероксида сульфата калия и перманганат серебра для низкотемпературной (500 °С) конверсии [9]. Показано, что за 24 ч достигается полное окисление углерода газообразных, жидких и твердых органических веществ. Более точный и надежный метод сжигания в кварцевых ампулах после ряда усовершенствований [10, 11] нашел широкое применение в исследованиях изотопного состава углерода различных органических соединений [12–15] и рассеянных форм углерода в горных породах и осадках [16, 17]. В целом, метод сжигания углерода в ампулах обеспечивает высокую точность и воспроизводимость изотопных анализов $\delta^{13}\text{C}$, но, вместе с тем, является трудоемким, дорогостоящим и малопродуктивным.

В 1980-х годах был предложен метод измерения $\delta^{13}\text{C}$ в потоке гелия, основанный на применении CN-элементного анализатора, соединенного с масс-спектрометром с помощью интерфейса ConFlo (ConFlo-метод) [18–22]. Образцы органического вещества, упакованные в оловянные капсулы, сбрасывают в нагретый до 900–1050 °С реактор элементного анализатора, через который проходит непрерывный поток гелия. Сжигание образца происходит по методу «вспышки» при впрыске кислорода в поток гелия. Продукты сгорания последовательно проходят через серию колонок с окислительными и восстановительными реагентами. Для удаления воды используют ловушку с поглотителем (обычно перхлорат магния), CO_2 и N_2 разделяют на хроматографической колонке и подают с током гелия в масс-спектрометр через интерфейс ConFlo. В таких системах процессы конверсии, хроматографическое разделение продуктов реакции, поступление исследуемого газа в источник ионов масс-спектрометра и измерение $\delta^{13}\text{C}$ интегрированы в единый автоматизированный процесс, который занимает 8–10 мин для одного образца. Благодаря этому, значительно возросла производительность изотопного анализа углерода. Точность метода для рутинных анализов 0.1–0.5 ‰. Для выполнения анализа с такой точностью анализируемые образцы по своим характеристикам должны отвечать основному требованию метода — быстрое (в течение нескольких секунд) количественное окисление углерода. В частности, процентное содержание углерода в образце должно быть достаточно высоким, так как навеска сжигаемой пробы ограничена по объему. Наиболее выгодно применять этот метод для анализа растительных и животных тканей. Образцы такого материала содержат порядка 50% углерода и удовлетворяют условиям количественного окисления. Попытки применения этого метода для анализа рассеянного углерода в горных породах и осадках чаще всего не дают удовлетворительных результатов. Вследствие низкого содержания углерода (менее 1–2 %) в минеральной матрице таких образцов, размер анализируемой пробы превышает рекомендуемое методом количество. Сжигание больших проб сопряжено с неполной конверсией органического углерода в CO_2 , что обуславливает низкую точность и воспроизводимость результатов $\delta^{13}\text{C}$.

В данной работе предложен универсальный, экономичный и экспрессный метод подготовки разнообразных твердых и жидких органических веществ для изотопного анализа углерода. Конверсию проводят на колонке из гранулированной CuO в кварцевом реакторе при вакуумных условиях. Для этого нагревают колонку до температуры 850 °С, после чего начинают нагрев образца. Предварительно нагретая колонка обеспечивает доокисление продуктов горения и увеличивает эффективность полной конверсии углерода в CO_2 , благодаря чему время сжигания пробы составляет несколько минут. Стоимость пробоподготовки значительно снижается за счет многократного использования кварцевых реакторов. Точ-

ность метода для анализа 1.0 мкл легколетучих и 1–2 мг твердых органических соединений составляет ± 0.05 ‰ и ± 0.1 ‰ соответственно.

Экспериментальная часть

Аппаратура и материалы. Для подготовки образцов органических веществ на изотопный анализ углерода использована высоковакуумная установка (рис. 1). Установка включает блок высоковакуумной откачки, систему криогенного разделения газов, 6 параллельных портов (входов) для одновременного подсоединения 6 линий с реакторами. Каждая линия состоит из стеклянной U-образной ловушки, двух вакуумных вентилях и соответствующего реактора. Для сбора проб очищенного CO_2 использован пробоотборник, состоящий из 6 вентилях с ампулами. Вакуумные элементы соединены между собой металлическими переходниками с уплотнительными кольцами из фторкаучуковой резины.

Реакторы для сжигания твердых и легколетучих жидких органических веществ имеют разную конструкцию. Реактор для окисления твердых органических веществ изготовлен из кварцевой трубки длиной около 30 см и внутренним диаметром 0.6 см. Конец трубки запаян. К работе реактор готовят в следующем порядке. На дно реактора загружают пробу (1–2 мг), смешанную с порошком CuO в соотношении примерно 1:10 массовых частей, затем набивают тонкий слой кварцевой ваты (1–2 мм) и засыпают колонку гранулированной окисью меди (длина 15 см, фракция гранул 1–2 мм). Заполненный реактор соединяют с вакуумной линией. Нагрев реактора обеспечивают две трубчатых печи сопротивления.

Реактор для окисления легколетучих жидких органических веществ изготовлен из кварцевой трубки длиной 25 см и внутренним диаметром 0.6 см. Один конец трубки соединен с вакуумной линией, другой конец заглушен при помощи переходника с септой из бутиловой резины. В реактор помещена реакционная колонка из гранулированного оксида меди (фракция 1–2 мм) длиной 7–8 см. Нагрев реакционной колонки до рабочей температуры производится трубчатой печью сопротивления.

Сжигание образца в реакторе, сбор продуктов реакции и очистка CO_2 производится непосредственно на высоковакуумной установке. Измерения изотопного состава углерода проводятся на масс-спектрометре Finnigan MAT 252 с двойной системой напуска газа.

Сжигание твердых образцов. Реактор, подготовленный к работе, как описано выше, подсоединяют к U-образной ловушке (U-ловушка) и откачивают до 1×10^{-5} мм рт. ст. (рис. 1). После откачки включают нагреватель Н1 и поднимают температуру до 800–850 °С. Нагреватель Н1 расположен на реакторе так, что в зону нагрева входит только часть колонки, проба остается при комнатной температуре. Вентиль В2 между ловушкой и системой откачки закрывают, вентиль В1 оставляют открытым. U-ловушку охлаждают жидким азотом и включают нагреватель Н2. Этот нагреватель разогревает пробу и оставшуюся часть колонки до

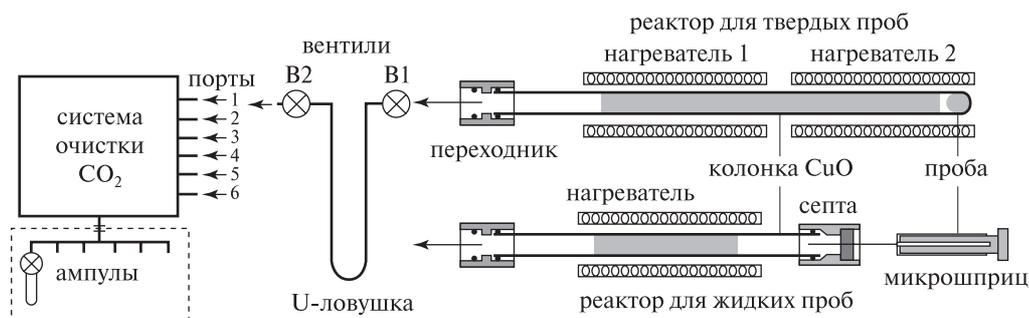


Рис. 1. Схема установки для сжигания органических веществ.

800–850 °С. Во время нагрева из пробы возгоняются легколетучие фракции. Полное сжигание этих фракций обеспечивает реакция колонки, предварительно нагретая нагревателем Н1. Продукты реакции непрерывно конденсируются в U-ловушке. Для полной конверсии углерода и конденсации продуктов реакции в U-ловушку достаточно 10 мин, затем вентиль В1 между реактором и ловушкой закрывают, вентиль В2 между U-ловушкой и вакуумной системой открывают для откачки несконденсированных газов. Далее CO₂ отделяют от остальных продуктов реакции методом криогенного разделения. Для этого заменяют на U-ловушке сосуд с жидким азотом на сосуд с охлажденным спиртом (–80 °С). При этой температуре CO₂ переходит в газообразное состояние, H₂O остается замороженным в U-ловушке. Чистый CO₂ конденсируют в одну из ампул пробоотборника.

Для проведения следующего анализа реактор отсоединяют от вакуумной линии, гранулированный оксид меди высыпают в чистую емкость (CuO пригоден для повторного использования) и механически очищают реактор. Очищенный реактор снова заполняют, как описано выше, и соединяют с вакуумной линией.

Для увеличения производительности к высоковакуумной установке подключают несколько вакуумных линий с реакторами (в используемой нами установке предусмотрено одновременное использование шести линий), что позволяет одновременно проводить с шестью разными образцами такие операции, как обезгаживание, нагрев и проведение реакции. Весь цикл работ от заправки шести образцов в реакторы до конденсации проб чистого CO₂ в пробоотборник занимает 2–2,5 ч.

Все указанные в методе значения температурного режима и длительности нагрева определены экспериментально. Для определения оптимальной температуры полного сжигания различных образцов был протестирован температурный диапазон 300–1000 °С при заданном времени реакции 20 мин. Полученные результаты показали, что при температуре от 300 до 550 °С окисляется менее 80 % углерода образца, значения δ¹³C имеют вариации более 2 ‰, что обусловлено неполным окислением углерода. При температуре сжигания от 600 °С и выше фиксируется количественное выделение CO₂ (98–99 % от расчетного) для таких образцов, как полиэтилен, сахароза, коммерческая целлюлоза. Значения измеренных величин δ¹³C воспроизводятся в пределах ±0,1 ‰. Для

некоторых природных образцов, таких как древесина, количественное выделение CO₂ происходит при более высокой температуре, начиная с 700 °С. Поэтому температурный диапазон 800–850 °С определен как оптимальный для полного сжигания образцов различной природы.

С целью определения минимального времени сжигания 1–2 мг образца протестирован временной диапазон от 3 до 20 мин при температуре окисления 850 °С. Установлено, что для полного сжигания образца и сбора всего количества CO₂ в ловушку (–196 °С) достаточно 10 мин.

Сжигание жидких образцов. Реактор с окислительной колонкой из оксида меди подсоединяют к U-ловушке (рис. 1) и откачивают до 1×10^{-5} мм рт. ст. Окислительную колонку нагревают до 800–850 °С. U-ловушку охлаждают жидким азотом. Вентиль В2 между ловушкой и линией откачки закрывают, вентиль В1 между ловушкой и реактором оставляют открытым. В микрошприц набирают 1 мкл пробы и вводят ее в реактор через септу. Пары образца сгорают на реакционной колонке, продукты реакции непрерывно конденсируются в ловушке. Для полной конверсии углерода и конденсации продуктов реакции в U-ловушку достаточно 3 мин, затем вентиль В1 закрывают, открывают вентиль В2 между ловушкой и вакуумной системой, откачивают несконденсированные газы. После этого откачку закрывают и производят криогенную очистку CO₂, как было описано выше. Очищенный CO₂ вымораживают в одну из ампул пробоотборника. После чего система готова для проведения следующей реакции.

Для определения оптимальной температуры полного сжигания образца был протестирован температурный диапазон 450–950 °С при фиксированном времени реакции 10 мин. Минимальный диапазон вариаций δ¹³C наблюдается при осуществлении 100 % конверсии углерода при 650–950 °С. При температуре ниже 600 °С снижается процент конверсии и, соответственно, возрастает диапазон вариаций δ¹³C, что обусловлено фракционированием углерода при неполном сжигании образца.

Для определения минимального времени сжигания 1 мкл образца был протестирован временной диапазон от 0,5 до 10 мин для температур в области 650–950 °С. Установлено, что для полного сжигания образца и сбора всего количества CO₂ в ловушку (–196 °С) достаточно трех минут при температуре окисления 800 °С.

Таблица 1. Сравнение значений $\delta^{13}\text{C}$, полученных методом сжигания на окислительной колонке для стандартных образцов, с данными международного каталога [23]. Разница между значениями $\delta^{13}\text{C}$ обозначена как Δ .

Образец	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ (среднее $\pm 1\sigma$), ‰		Δ
	Сжигание на окислительной колонке	Значение по каталогу	
IAEA-CH-7	-31.78 ± 0.08 ($n = 12$)	-31.8 ± 0.2	0.02
IAEA-CH-6	-10.54 ± 0.07 ($n = 5$)	-10.4 ± 0.2	0.14
IAEA-C-6	-10.60 ± 0.21 ($n = 5$)	-10.8 ± 0.5	0.20
IAEA-C-3	-24.63 ± 0.06 ($n = 5$)	-24.9 ± 0.5	0.27

Результаты и обсуждение

Оценка точности и воспроизводимости результатов предлагаемого метода была проведена с использованием международных стандартов IAEA-CH-7 (polyethylene), IAEA-CH-6 (sucrose), IAEA-C-6 (sucrose), IAEA-C-3 (cellulose) (табл. 1). Полученные результаты для сертифицированных стандартов имеют воспроизводимость меньше 0.1 ‰. Расхождение между значениями $\delta^{13}\text{C}$ и соответствующими данными каталога IAEA [23] не превышает ошибку последних.

Достоверность результатов анализа $\delta^{13}\text{C}$ твердых органических соединений была проконтролирована с использованием стандарта IAEA-CH-7 (polyethylene), внутрилабораторных стандартов (целлюлоза, сахар, крахмал) и протестирована на природных образцах. Стандарты и образцы были также проанализированы методом сжигания в ампулах для сравнения результатов между двумя методами (табл. 2). Полученные результаты анализов методом сжигания на колонке и методом сжигания в ампулах имеют одинаково хорошую воспроизводимость ≤ 0.1 ‰ для стандартов. Значения величин $\delta^{13}\text{C}$ стандартов, полученные разными методами, совпадают в пределах ошибки и по-

Таблица 2. Сравнение анализов $\delta^{13}\text{C}$, полученных методом сжигания в ампулах и на окислительной колонке, для органических веществ и образцов углерода в современных морских донных отложениях. Разница между методами обозначена как Δ .

Образец	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ (среднее $\pm 1\sigma$), ‰		Δ
	Сжигание в ампулах	Сжигание на окислительной колонке	
IAEA-CH-7	-31.95 ± 0.08 ($n = 5$)	-31.78 ± 0.08 ($n = 12$)	0.17
Сахар (C_3)	-23.93 ± 0.12 ($n = 3$)	-23.90 ± 0.10 ($n = 5$)	0.03
Сахар (C_4)	-11.79 ± 0.05 ($n = 3$)	-11.88 ± 0.08 ($n = 11$)	0.09
Целлюлоза	-24.47 ± 0.02 ($n = 4$)	-24.48 ± 0.05 ($n = 20$)	0.01
Крахмал (C_4)	-10.76 ± 0.08 ($n = 4$)	-10.88 ± 0.05 ($n = 14$)	0.12
Отложения морские № 1	-22.43 ± 0.09 ($n = 3$)	-22.67 ± 0.11 ($n = 3$)	0.24
Отложения морские № 2	-24.77 ± 0.14 ($n = 3$)	-24.91 ± 0.10 ($n = 3$)	0.14

казывают расхождение между методами Δ в среднем меньше чем 0.1 ‰. Хорошая согласованность данных, полученных методом сжигания на колонке с традиционным методом сжигания в ампулах, свидетельствует о достоверности результатов предлагаемого метода.

Следует отметить, что для тестирования метода были использованы природные образцы с низким содержанием рассеянного органического углерода. Это пробы современных морских донных отложений (табл. 2), состоящих в основном из минеральных частиц с содержанием органического углерода от 0.02 до 1.4 ‰. Результаты, полученные методом сжигания на окислительной колонке, согласуются с соответствующими данными ампульного метода. Воспроизводимость результатов для обоих методов в среднем ± 0.11 ‰, расхождение величин $\delta^{13}\text{C}$ между методами порядка 0.2 ‰. Предлагаемый метод не вызывает сомнений в достоверности результатов анализа применительно к образцам с низким содержанием рассеянного углерода.

Для сравнения результатов с методом сжигания на окислительной колонке образцы морских донных отложений были проанализированы методом ConFlo с использованием CN-элементного анализатора Flash1112 (табл. 3). Навеска анализируемых проб составляла от 300 до 1000 мг для метода сжигания на окислительной колонке и от 1 до 4 мг для метода ConFlo. Сравнение анализов показало значительное расхождение между методами. Результаты, полученные методом ConFlo, имеют низкую воспроизводимость порядка 1 ‰. Значения $\delta^{13}\text{C}$ в среднем на 3 ‰ легче по сравнению с соответствующими результатами метода сжигания на колонке (табл. 3). Данное обстоятельство обусловлено неполным окислением органического углерода в методе ConFlo. Поэтому метод ConFlo непригоден для анализа рассеянного углерода в таких образцах, как горные породы, почвы и морские осадки.

Метод сжигания на окислительной колонке был опробован для анализа органического углерода легколетучих жидких соединений. Апробация метода проведена на 96 % этиловом спирте (этанол), некоторых образцах органических растворителей и алкогольных изделий промышленного производства (табл. 4). Объем анализируемых проб составлял 0.5–1.5 мкл. Этого объема достаточно для получения CO_2 в оптимальном количестве для измерения изотопного состава по стандартной методике на масс-спектрометре MAT-252 с двухканальной системой напуска. Воспроизводимость результатов составила ± 0.05 ‰.

Проведено тестирование метода на наличие «памяти». Для этого были поочередно проанализированы серии из образцов этилового спирта с контрастными величинами $\delta^{13}\text{C}$ (-23.8 ‰ и -12.5 ‰). Измеренные величины $\delta^{13}\text{C}$ имели отклонение от среднего значения в пределах ошибки метода, что указывает на отсутствие «памяти».

Таким образом, предлагаемый метод конверсии углерода демонстрирует высокую точность анализа $\delta^{13}\text{C}$ твердых и жидких органических веществ. Пра-

Таблица 3. Сравнение анализов $\delta^{13}\text{C}$, полученных методом сжигания на окислительной колонке и методом ConFlo с элементным анализатором, для образцов органического углерода в современных морских донных осадках. Разница между методами обозначена как Δ .

Образец	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ (среднее $\pm 1\sigma$), ‰		Δ
	Сжигание на окислительной колонке	Сжигание методом ConFlo	
Отложения морские № 3	-24.73 ± 0.24 ($n = 3$)	-27.29 ± 0.84 ($n = 3$)	2.56
Отложения морские № 4	-26.26 ± 0.19 ($n = 3$)	-29.51 ± 1.22 ($n = 3$)	3.25
Отложения морские № 5	-26.66 ± 0.08 ($n = 3$)	-29.93 ± 1.04 ($n = 3$)	3.27

вильность результатов оценена путем сравнения с данными, полученными общепринятым ампульным методом. Хорошая согласованность результатов между методами свидетельствует о достоверности получаемых результатов, что также подтверждено анализом стандартных международных образцов. Воспроизводимость получаемых результатов $\delta^{13}\text{C}$ не хуже по сравнению с общепризнанным ампульным методом. По аналитическим характеристикам метод сжигания на колонке равноценен методу сжигания в кварцевых ампулах, но существенно дешевле и проще для использования в повседневной практике изотопного анализа углерода твердых и, в особенности, жидких легколетучих органических веществ. В сравнении с методом ConFlo, данный метод уступает в производительности анализов, но позволяет получать достоверные результаты и хорошую воспроизводимость для анализа образцов рассеянного органического углерода в осадочных породах и почвах.

Заключение

Идея сжигания образцов на предварительно нагретой окислительной колонке позволила предложить универсальный, экономичный, простой и экспрессный метод пробоподготовки органических веществ для измерения $\delta^{13}\text{C}$ с высокой точностью. Метод позволяет проводить анализ любых форм органического материала, в том числе жидких, а также рассеянных форм углерода в горных породах. По сравнению с ампульным методом снижена трудоемкость и

Таблица 4. Значения $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ (среднее $\pm 1\sigma$) легколетучих органических образцов.

Образец	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$, ‰
Этанол	-23.89 ± 0.02 ($n = 19$)
Этанол-40%	-23.90 ± 0.04 ($n = 4$)
Ацетон	-26.97 ± 0.04 ($n = 5$)
Гексан	-29.21 ± 0.03 ($n = 5$)
Водка «Татарстан»	-25.86 ± 0.04 ($n = 3$)
Настойка «Уссурийская»	-23.47 ± 0.05 ($n = 3$)
Спирт «люкс»	-24.15 ± 0.03 ($n = 3$)
Виски	-13.47 ± 0.04 ($n = 3$)
Спирт, производство Китай	-12.45 ± 0.03 ($n = 6$)

повышена производительность выполнения рутинных анализов. За счет эффективного окисления органических веществ на колонке время полной конверсии углерода занимает 10 мин вместо 5–6 ч в ампульном методе. Упрощена процедура подготовки образцов к сжиганию за счет использования реакторов вместо запаиваемых ампул. Многократное использование реакторов значительно сокращает расход дорогостоящего кварцевого материала. Подключение в работу сразу нескольких реакторов повышает экспрессность и производительность метода. Точность предложенного метода не уступает методу сжигания в кварцевых ампулах и составляет ± 0.05 ‰ для анализа 1.0 мкл жидких органических соединений и ± 0.1 ‰ для анализа 1–2 мг твердых органических веществ. Реализация метода проста, доступна и не требует привлечения специализированной, дорогостоящей техники.

Список литературы

1. Н. Craig, «The geochemistry of the stable carbon isotopes», *Geochim. Cosmochim. Acta* **3**, 53–92 (1953).
2. Э.М. Галимов, *Геохимия стабильных изотопов углерода*, Недра, Москва, 1968.
3. D.L. Buchanan, B.J. Corcoran, «Sealed tube combustions for the determination of carbon-14 and total carbon», *Anal. Chem.* **31**, 1635–1638 (1959).
4. J.W. Frazer, «Simultaneous determination of carbon, hydrogen, and nitrogen. Part II. An improved method for solid organic compounds», *Mikrochim. Acta.* 993–999 (1962).
5. D.J. DesMarais, J.M. Hayes, «Tube cracker for opening glass-sealed ampoules under vacuum», *Anal. Chem.* **48**, 1651–1652 (1976).
6. D.D. Coleman, «Tube cracker for opening samples sealed in glass tubing», *Anal. Chem.* **53**, 1962–1963 (1981).
7. Z. Sofer, «Preparation of carbon dioxide for stable carbon isotope analysis of petroleum fractions», *Anal. Chem.* **52**, 1389–1391 (1980).
8. T.W. Boutton, W.W. Wong, D.L. Hachey, L.S. Lee, M.P. Cabrera, P.D. Klein, «Comparison of quartz and Pyrex tubes for combustion of organic samples for stable carbon isotope analysis», *Anal. Chem.* **55**, 1832–1833 (1983).
9. S. Ertl, A. Spitz, «Low-temperature sealed tube combustion of gaseous, liquid and solid organic compounds for $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and ^{14}C analysis», *Isotop. Environ. Health Stud.* **40**, 163–170 (2004).
10. R.P. Le Feuvre, R.J. Jones, «Static combustion of biological samples sealed in glass tubes as a preparation for delta ^{13}C determination», *Analyst* **113**, 817–823 (1988).
11. S.A. Macko, W.Y. Lee, P.L. Parker, «Nitrogen and carbon isotope fractionation by two species of marine amphipods: laboratory and field studies», *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **63**, 145–149 (1982).
12. D.H. Stuermer, K.E. Peters, I.R. Kaplan, «Source indicators of humic substances and proto-kerosen: stable isotope ratios, elemental compositions and electron spin resonance spectra», *Geochim. Cosmochim. Acta* **42**, 989–997 (1978).
13. A.P. Murray, D. Edwards, J.M. Hope, C.J. Boreham, W.E. Booth, R.A. Alexander, R.E. Summons, «Carbon isotope

- biogeochemistry of plant resins and derived hydrocarbons», *Org. Geochem.* **29**, 1199–1214 (1998).
14. G.H. Schleser, R. Pohling, « $\delta^{13}\text{C}$ -record in forest soil using a rapid method for preparing carbon dioxide samples», *Int. J. Appl. Rad. and Isotopes* **31**, 768–773 (1980).
 15. L.A. Martinelli, S. Almedia, I.F. Brown, M.Z. Moreira, R.L. Victoria, L.S.L. Sternberg, C.A.C. Ferreira, W.W. Thomas, «Stable carbon isotope ratio of tree leaves, boles and fine litter in a tropical forest in Rondonia, Brazil», *Oecologia* **114**, 170–179 (1998).
 16. Л.А. Кодина, М.П. Богачева, Л.Н. Власова, Э.М. Галимов, «Органическое вещество водной взвеси в эстуарии Енисея: изотопный состав, закономерности распределения, генезис», *Геохимия* **11**, 1206–1217 (1999).
 17. В.И. Киселев, А.В. Игнатъев, С.И. Кияшко, И.П. Семилетов, И.И. Пипко, «Терригенное органическое вещество в отложениях шельфа восточного сектора Арктики», *Докл. РАН* **371**, 220–222 (2000).
 18. D.E. Matthews, J.M. Hayes, «Isotope-ratio-monitoring gas chromatography-mass spectrometry», *Anal. Chem.* **50**, 1465–1473 (1978).
 19. T. Preston, N.J.P. Owens, «Interfacing an automatic elemental analyzer with an isotope ratio mass-spectrometer-the potential for fully automated total nitrogen and ^{15}N analysis», *Analyst* **108**, 971–977 (1983).
 20. T. Preston, N.J.P. Owens, «Preliminary ^{13}C measurement using a gas chromatograph interfaced to an isotope ratio mass spectrometer», *Biomed. Mass Spectrom.* **12**, 510–513 (1985).
 21. P. Ghosh, W.A. Brand, «Stable isotope ratio mass spectrometry in global climate change research», *Int. J. Mass Spectrom.* **228**, 1–33 (2003).
 22. M. Gehre, G. Strauch, «High-temperature elemental analysis and pyrolysis techniques for stable isotope analysis», *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **17**, 1497–1503 (2003).
 23. <http://www-naweb.iaea.org/nahu/nmrm/nmrm2003/browse.htm>