

УДК 550.4.08

## ВЫСОКОТОЧНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИЗОТОПНОГО СОСТАВА И КОНЦЕНТРАЦИИ РАСТВОРЕННОГО НЕОРГАНИЧЕСКОГО УГЛЕРОДА В МОРСКИХ ВОДАХ

© 2024 г. Е. О. Дубинина<sup>a,\*</sup>, С. А. Коссова<sup>a</sup>, Ю. Н. Чижова<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Институт геологии рудных месторождений, петрографии, минералогии и геохимии Российской академии наук (ИГЕМ РАН), Старомонетный пер., 35, Москва, 119017 Россия

\*e-mail: elenadelta@gmail.com

Поступила в редакцию 18.05.2023 г.

После доработки 08.06.2023 г.

Принята к публикации 14.06.2023 г.

Определение изотопного состава и концентрации растворенного неорганического углерода (DIC) в морской воде требует не только высокой точности измерений, но и выработки единых подходов к стандартизации данных и сбору материала. В работе проведено изучение влияния методов отбора (“в контейнер” и “в вialу с кислотой”, с добавлением токсина и без него) на результаты определения величин  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  и  $[\text{DIC}]$  в морской воде. Детально описан аналитический протокол, основанный на многолетнем опыте отбора, измерений и стандартизации данных, полученных для большого количества образцов вод арктических морей. Согласно приведенному протоколу, величины  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  и  $[\text{DIC}]$  могут быть определены с ошибкой менее 0.05‰ (1σ) и 4.5 отн.% соответственно. Показано, что отбор проб “в вialу с кислотой” с их хранением в течение 4-х месяцев сопровождается значительной контаминацией углекислым газом атмосферы с занижением величин  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  в среднем на 0.3–0.8‰ и завышением величин  $[\text{DIC}]$  в среднем в два раза. Отсутствие токсина, останавливающего биологическую деятельность, не приводит к существенным сдвигам в концентрации DIC, но сильно влияет на величины  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$ , которые становятся заниженными в среднем на 1‰. При отборе проб “в контейнер” с использованием токсина и выполнением остальных рекомендаций образцы сохраняют изотопные и концентрационные параметры DIC как минимум в течение года.

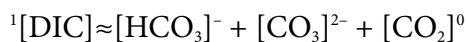
**Ключевые слова:** изотопы углерода, растворенный неорганический углерод, Арктика, масс-спектрометрический анализ в постоянном потоке гелия

DOI: 10.31857/S0016752524010048, EDN: MUSNRB

### ВВЕДЕНИЕ

Изучение изотопного состава и концентрации растворенного неорганического углерода ( $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$ ,  $[\text{DIC}]$ ) в морской воде необходимо для исследований процессов взаимодействия океан – атмосфера, биологической активности (первичной продукции, разложения органики, биогенного и абиогенного карбонатообразования) и других задач, связанных с поведением углерода в атмосфере и гидросфере Земли (Kroopnick, 1974; Ortiz et al., 2000; Quay et al., 2007; Brandes, 2009; Alling et al., 2012; Bauch et al., 2015; Humphreys et al., 2016). Разнообразные методы определения изотопного состава углерода DIC и его концентрации существуют более 50 лет (Gleason et al., 1969; Friedman 1970; Deines et al., 1974; Taylor, Fox, 1996; Tan et al., 1973; Atekwana, Krishnamurthy, 1998), при этом одна часть работ, как

правило, посвящена анализу изотопного состава углерода, а другая – анализу концентрации  $[\text{DIC}]$ . Одновременный анализ этих двух параметров обсуждается в очень небольшом числе работ (Graber, Aharon, 1991; Atekwana, Krishnamurthy, 2004; Laskar et al., 2014; Olack et al., 2018), несмотря на то, что именно изотопно-концентрационная систематика DIC в морской воде является высоко информативной для изучения вод Мирового океана (Дубинина и др., 2020, Anderson et al., 2009). Развитие методов изотопного анализа, проводимого online в постоянном потоке гелия (CF-IRMS), инициировало методический прогресс в изотопном анализе DIC начиная с конца прошлого столетия (Prosser et al., 1991; Salata, 2000; St-Jean, 2003; Capasso et al., 2005; Torres et al., 2005; Yang, Jiang, 2012; Levitt, 2014), примерно в то же время или чуть позднее появляются методические исследования одновременного определения концентрации и изотопного состава углерода DIC (Assayag, 2006; Waldron et al., 2014; Olack et al., 2018).



Несмотря на простоту химической стадии (обработка водных проб ортофосфорной кислотой), метод изотопного анализа DIC несвободен от проблем, которые можно разделить на две группы: (1) стандартизация получаемых данных и (2) обеспечение сохранности образца до и во время проведения анализа. Первая группа проблем связана с отсутствием аттестованных международных изотопно-концентрационных стандартов DIC (Cheng et al., 2019). Обычно при измерении величин  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  используют карбонатные стандарты с известным изотопным составом углерода, аттестованные относительно стандарта NBS-19 ( $\text{CaCO}_3$ ,  $\delta^{13}\text{C} = 1.95\text{‰}$ ; Torres, 2005; Gillikin 2007), либо сам стандарт NBS-19. Карбонатные стандарты, находящиеся в твердом состоянии, обрабатывают той же ортофосфорной кислотой, после чего анализируется изотопный состав углерода в выделенном газе  $\text{CO}_2$ . Однако соблюдение правила IT (identical technology) требует, чтобы стандарт находился в том же химическом состоянии, что и образец, поэтому в некоторых работах были использованы специально приготовленные стандартные растворы (насыщенный раствор  $\text{CaCO}_3$ , Assayag, 2006, р-р  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  или  $\text{NaHCO}_3$ , Gebbinck et al., 2014; Cheng et al., 2019; Olack et al., 2018) с известным изотопным составом растворенного неорганического углерода. Что же касается измерения концентраций DIC (далее [DIC]), то здесь стандартизация может быть проведена исключительно с применением набора растворов разных концентраций с точно установленным титром DIC, следовательно, применение насыщенного раствора  $\text{CaCO}_3$  (Assayag, 2006; Gebbinck et al., 2014; Olack et al., 2018) уже исключается. Основная сложность работы с готовыми стандартными растворами DIC заключается в том, что они очень плохо хранятся. Каждое открытие контейнера со стандартом приводит, с одной стороны, к его загрязнению углекислым газом атмосферы, а с другой стороны – частичной дегазации. И то и другое вызывает существенные искажения как [DIC], так и  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$ , поэтому распространение готовых аттестованных растворов, например, бикарбоната натрия, или законсервированных образцов морской воды (Cheng et al., 2019) имеет мало смысла.

Вторая группа проблем состоит в отсутствии общепринятого протокола отбора и хранения образцов природных вод, предназначенных для анализа DIC. В основном, используют два кардинально разных подхода. Первый (здесь он назван “отбор в контейнер”) заключается в том, что образец воды помещают в герметичный контейнер (пузырек, пробирку, виалу), куда заранее помещен токсин, предотвращающий биологическую активность. Контейнер полностью заполняется пробой и хранится до проведения анализа (как правило, не бо-

лее года). При проведении анализа из контейнера берется часть образца, которая обрабатывается кислотой, после чего в выделенном из пробы  $\text{CO}_2$  определяется изотопный состав углерода (Torres, 2005; Assayag, 2006; Gillikin, Bouillon, 2007). Второй подход подразумевает обработку пробы кислотой непосредственно при ее отборе в экспедиционных условиях, для чего стеклянный контейнер с необходимым количеством ортофосфорной кислоты предварительно заполняется инертным газом (Spotl, 2005; Gillikin, Bouillon, 2007; Alling, 2012; Waldron, 2014; Olack et al., 2018). Этот подход далее будет назван “отбор в виалу с кислотой”. Необходимое количество пробы (обычно 1–2 мл) вводится в контейнер с кислотой шприцем, после чего сразу же начинается выделение  $\text{CO}_2$  из пробы в пространство с инертным газом. Контейнер в таком состоянии хранится до проведения анализа. Как в первом, так и во втором подходах токсин добавляется предварительно либо в пустой контейнер, либо в контейнер с кислотой. Оба подхода используют при изучении DIC в природных водах, однако специального сравнения изотопных и концентрационных данных в пробах, отобранных разным способом, не проводилось. В настоящей работе мы провели это исследование экспериментально. К этой же группе проблем стоит отнести изучение эффектов, связанных с биологической активностью в отобранной пробе. В чистом виде проявление эффекта добавления токсина можно проверить при отборе проб “в контейнер”. В публикациях не всегда отмечается, добавлялся или нет в пробу токсин, поэтому одной из задач настоящей работы было изучение масштабов возможных изотопных сдвигов углерода и концентрации DIC, связанных с отсутствием токсина.

Основной задачей работы является последовательное описание методов стандартизации и проведения измерений изотопного состава углерода и концентрации DIC в морской воде. Эта часть работы основана на оригинальном опыте измерений около 4000 проб морской воды, который позволил создать единый протокол отбора проб, проведения измерений и стандартизации результатов. Первоначально за его основу был принят методический протокол Assayag et al. (2006), который впоследствии был нами существенно модифицирован. Кроме описания полного алгоритма действий, мы предлагаем файл DIC\_template\_IGEM\_RAS.xlsx для обработки измерений в формате Excel (Приложение 1), содержащий полный алгоритм стандартизации измерений, проведенных с применением программного обеспечения Isodat (Thermo). Соблюдение предлагаемого протокола, по нашему мнению, обеспечит проведение высокоточного изотопно-концентрационного анализа DIC в природных водах.

## МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Материал для экспериментальных исследований был собран во время 72 и 84 рейсов НИС “Академик Мстислав Келдыш” в район Восточной Арктики и Северной Атлантики. Образцы морской воды отобраны вдоль вертикального профиля на станциях 5944, 5955 в Восточно-Сибирском море (рейс АМК-72) и станции 7047 в Норвежском море (рейс АМК-84) при помощи гидрофизического STD зонда и батометров комплекса SBE32. Образцы морской воды со станций 5944 и 5955 были отобраны для эксперимента по изучению подходов к отбору пробы (“в контейнер” и “в виалы с кислотой”). Образцы морской воды со станции 7047 были отобраны “в контейнер”, но при этом в параллельные пробы не добавляли токсин, в качестве которого мы применяли насыщенный раствор  $\text{HgCl}_2$ . Оба рейса проходили в августе – сентябре 2021 г., анализ образцов в лаборатории проведен в декабре 2021 г. – январе 2022 г.

Измерение изотопного состава углерода ( $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$ ) и концентраций DIC было выполнено методом масс-спектрометрии в постоянном потоке гелия (CF-IRMS) на масс-спектрометре Delta V+ Thermo Finnigan Scientific, сопряженном с периферийным устройством GasBench II и автосэмплером PAL. Ознакомиться с принципом работы GasBench II можно в работах (Torres, 2005; Yang, 2012; и других работах).

### *Отбор проб и проведение анализа*

**Подготовка тары и реактивов.** В результате многочисленных тестов было показано, что для сбора образцов, предназначенных для анализа DIC, необходима стеклянная тара с уплотнительными элементами, изготовленными из бутиловой резины (Nelson, 2000; Dickson et al., 2007; McNichol et al., 2010). Мы использовали стандартные виалы объемом 10 мл с навинчивающейся крышкой и септой из бутиловой резины (Labco Limited). Предварительно виалы тщательно отмываются от остатков органических веществ и карбонатных солей. Водорастворимые загрязнения удаляются трехкратным замачиванием виал в течение 1 часа в теплой ( $\approx 40^\circ\text{C}$ ) дистиллированной воде. Далее виалы обрабатываются горячим ( $\approx 80^\circ\text{C}$ ) 5%-ным водным раствором  $\text{H}_3\text{PO}_4$  в течение 30 минут, после чего виалы несколько раз промываются в дистиллированной воде и высушиваются в течение часа при температуре  $120^\circ\text{C}$  под слоем фольги. Просушенные виалы остивают под фольгой до комнатной температуры, после чего их убирают на хранение в герметично закрытый полипропиленовый контейнер. Каждая виала контролируется визуально на предмет отсутствия разводов или пятен.

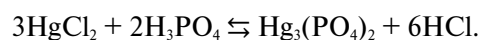
Непосредственно перед экспедиционными работами в виалы добавляли токсин, поскольку деятельность микроорганизмов, попадающих в виалу вместе с образцом, может оказывать существенное влияние на величины  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  и  $[\text{DIC}]$  (Campeau, 2017; Taipale, Sonninen, 2009; Argentino et al., 2023). В качестве токсина могут быть использованы хлориды разных металлов (Doctor et al., 2008), нами используется добавка  $20\mu\text{L}$  насыщенного раствора  $\text{HgCl}_2$ , приготовленного на декарбонизированной воде (Torres, 2005; Kroopnick, 1974; Gillikin, Bouillon, 2007; Salata et al., 2000), после добавки токсина виалы плотно закрывали крышкой с резиновой септой до момента отбора пробы.

Вода для приготовления калибровочных растворов соды и насыщенного раствора хлорида ртути (токсина) была лишена растворенного карбоната путем кипячения ( $\approx 4$  часа) под щелочным затвором ( $\approx 30\%$  раствор  $\text{KOH}$ ). Обычно кипячение воды проводили до уменьшения ее объема примерно вдвое.

Ортофосфорную кислоту, используемую для анализа, готовили из особо чистых (analytical grade) 85%-ной кислоты (Merk) и реактива  $\text{P}_2\text{O}_5$  (Merk), доведя содержание  $\text{P}_2\text{O}_5$  до 105% (плотность кислоты  $1.92\text{ г/см}^3$ ). Перед использованием небольшие порции готовой кислоты подвергали вакуумированию (48 часов при поддержании давления  $1\cdot 10^{-4}$  мбар), чтобы удалить возможные следы примесей газов и влаги.

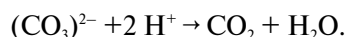
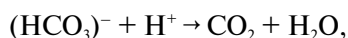
**Метод отбора проб.** Мы используем отбор проб “в контейнер”, когда проба консервируется на борту судна до проведения анализа в лаборатории. При работе с розеткой отбор проб для анализа DIC производится как можно быстрее, непосредственно после отбора проб на содержание растворенного кислорода. Порцию воды из батометра пропускали через фильтр  $0.22\mu\text{m}$  (Millex®GV by Merk Millipore), надетый на шприц, и заполняли подготовленную виалу до небольшого положительного мениска. Виалу уплотняли винтовой крышкой с септой из бутиловой резины, место соединения крышки и стекла плотно фиксировали при помощи пленки (Parafilm®). Упакованные образцы хранились в холодильнике до проведения анализа.

При проверке способа отбора проб часть образцов была отобрана “в виалу с кислотой” (Alling et al., 2012; Olack et al., 2018). В предварительно очищенную и высушенную виалу помещали  $20\mu\text{L}$  насыщенного раствора  $\text{HgCl}_2$  и 5 капель безводной  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (примерно 0.05 мл). Совмещение этих двух веществ в объеме виалы может привести к протеканию реакции с формированием белого плотного осадка фосфата ртути:



Однако эта реакция обратима и выпадение осадка не мешает дальнейшим операциям. После добавления раствора  $\text{HgCl}_2$  и кислоты виалу плотно закрывали навинчивающейся крышкой с резиновой септой и продували  $\text{He}$  (марка 6.0) при помощи специальной иглы (Thermo, Германия) автосемплера PAL в течение 5 минут. Во время отбора проб в такие виалы вводили пробу ( $1 \text{ см}^3$ ) при помощи инсулинового шприца, через фильтр  $0.22 \mu\text{m}$  (Millex®GV by Merck Millipore), контролируя отсутствие в шприце с пробой пузырьков воздуха. Непосредственно после введения пробы в виале начинается процесс выделения  $\text{CO}_2$  в пространство, заполненное гелием. Место прокола септы плотно фиксировали при помощи пленки (Parafilm®), а образец взбалтывали до полного растворения осадка фосфата рутит. Упакованные образцы хранили в холодильнике до проведения анализа.

**Подготовка проб к измерениям в лаборатории.** В сухие и чистые виалы помещали по 5 капель ( $\approx 0.05 \text{ мл}$ ) подготовленной ортофосфорной кислоты, после чего виалы плотно закрывали винтовой крышкой с резиновой септой и продували гелием (марка 6.0) при потоке  $180 \text{ мл/мин}$  в течение 5 минут. Из виалы с образцом отбирали  $1 \text{ мл}$  пробы с помощью одноразового инсулинового шприца под потоком аргона, который вводился в виалу через дополнительную иглу. При отборе под потоком аргона остаток образца не контаминирован воздухом и пригоден для повторного исследования. Принципиальный вид установки для отбора пробы под током аргона можно найти в работе Assayag et al. (2006). При отборе контролируется постоянство объема пробы ( $1 \text{ мл}$ ), т.к. это влияет на точность определения концентрации DIC в пробе. Параллельно с образцами морской воды таким же образом (под потоком аргона) отбирали пробы из виал, заполненных калибровочными растворами соды с известной концентрацией DIC. При контакте пробы с кислотой происходят химические реакции разложения бикарбонат- и карбонат-ионов с выделением углекислого газа:



Пробы выдерживались в термостате при  $32^\circ\text{C}$  в течение 48 часов. По результатам экспериментальных калибровок, эти параметры позволяют максимально полно извлечь  $\text{CO}_2$  из образцов, избегая изотопного фракционирования между  $\text{CO}_2$  и небольшой порцией DIC, остающегося в растворе. Вместе с образцами в термостат помещали все стандарты — калибровочные растворы и сухие карбонатные стандарты, находящиеся в продутых гелием виалах с добавленной ортофосфорной кис-

лотой ( $0.05 \text{ мл}$ ). Каждая измерительная серия включала в себя 16 стандартов (навески NBS-18, NBS-19, ATC-1, сухой соды и калибровочные растворы) и 24 анализируемых образца, т.е. в общей сложности серия рассчитана на 40 измеряемых позиций. По окончании реакции все 40 виал переносили из термостата в держатель автосемплера, нагретого до  $32^\circ\text{C}$ , и начинали масс-спектрометрические измерения.

При анализе экспериментальных проб, отобранных “в виалу с кислотой” были соблюдены условия идентичности манипуляций (IT): перед анализом эти образцы в сопровождении точно такого же набора стандартов выдерживались в термостате 48 часов при  $32^\circ\text{C}$ .

**Стандарты.** В каждой измерительной серии мы используем три вида стандартов, выполняющих разную функцию. Для калибровки измеренных величин  $\delta^{13}\text{C}$  относительно международного стандарта V-PDB использовался метод трехточечной калибровки, для чего применялся анализ двух международных стандартов NBS-18 (кальцит,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}} = -5.014\text{‰}$ ), NBS-19 (известняк,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}} = +1.95\text{‰}$ ) и одного аттестованного лабораторного стандарта ATC-1 (криогенный кальцит,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}} = -9.3\text{‰}$ ). Свежеприготовленные растворы  $\text{NaHCO}_3$  в диапазоне концентраций от  $1000$  до  $3000 \mu\text{M}$  с шагом  $500 \mu\text{M}$  применялись для измерения концентраций DIC по площади хроматографического пика. Измерения величины  $\delta^{13}\text{C}$  сухого реактива  $\text{NaHCO}_3$  (MERK), из которого готовились калибровочные растворы, необходимы для контроля полноты извлечения DIC из пробы и оценки изотопного равновесия углерода между газообразной  $\text{CO}_2$  и порцией DIC, которая осталась в растворе в соответствии с установившимся равновесием.

**Стандартизация измерений и контроль правильности анализа изотопного состава и концентрации DIC.** В отсутствие единой системы стандартизации измерений изотопного состава углерода DIC общепринятым является анализ обычных карбонатных стандартов вместе с образцами. Однако такой подход противоречит принципу идентичности химических манипуляций (IT) и может лишь отчасти считаться корректным. С одной стороны, карбонатные стандарты могут и должны использоваться для выражения результатов измерений в международной шкале VPDB, но с другой стороны, они не обеспечивают контроля правильности анализа DIC в целом. Для устранения данного противоречия мы предлагаем использовать дополнительный стандарт — бикарбонат натрия, который анализируется как в сухом виде, так и в виде растворов. Для успешной стандартизации, не только анализа изотопного состава, но и концентрации DIC в природных растворах, необходимо приготовить серию растворов

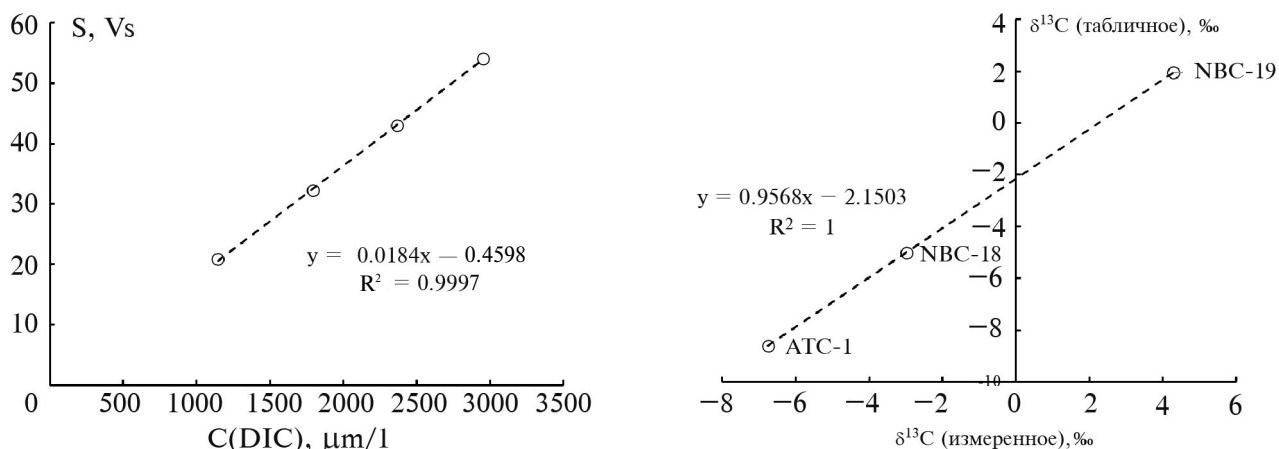
$\text{NaHCO}_3$  на бескарбонатной воде непосредственно перед проведением анализа. Диапазон концентраций растворов должен охватывать диапазон ожидаемых концентраций DIC. Как правило, готовится не менее 4-х растворов, чтобы пользоваться статистически достоверной зависимостью площади выбранного пика от концентрации раствора. Следуя принципу ИТ, сразу после приготовления растворов их разливают “под крышку” в такие же виалы, что и образцы, виалы герметизируются так же, как образцы DIC, и также хранятся в холодильнике, но не более 2–3-х недель. Отбор порции стандартного раствора для анализа также проводится в потоке аргона, как и отбор порций образцов. Опыт показывает, что из одной виалы может быть отобрано не более 4–5 порций раствора без потери точности определения величин  $\delta^{13}\text{C}$  и концентраций DIC. После этого используется новая виала с раствором.

Для оценки содержания DIC оценивается площадь одного из хроматографических пиков образца. В качестве опорного может быть выбран любой пик хроматограммы, в нашем случае использовался 8-й пик, который соответствовал пятому импульсу газа образца в измерительном методе. В расчетах фигурирует общая площадь пика (Area All в программном обеспечении Isodat 3.0). Калибровка соответствия площадей пиков определенному количеству  $\text{CO}_2$  в анализируемом газе проводится по результатам анализа четырех калибровочных растворов с известной концентрацией  $\text{NaHCO}_3$ . Использование 4-х растворов позволяет контролировать их состояние, поскольку при частичной потере  $\text{CO}_2$  или контаминации растворов у калибровочной линии ухудшаются статистические параметры. Объем помещаемых в виалу растворов и образцов выдержи-

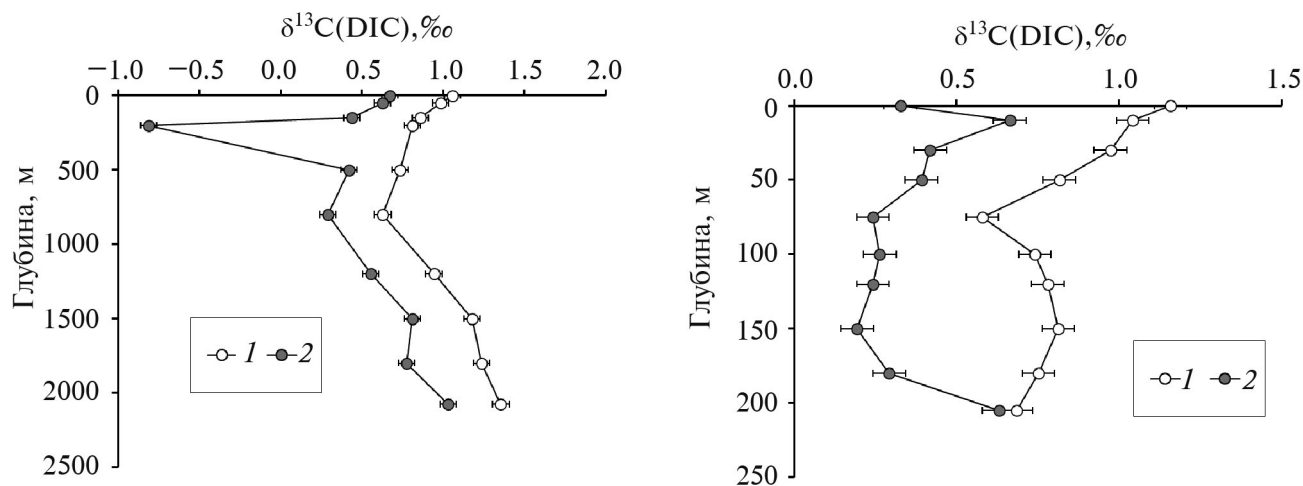
вается строго одинаковым, как и объем добавляемой кислоты. Вид калибровочной линии, получаемой в каждой измерительной серии, приведен на рис. 1а.

Алгоритм обработки результатов подразумевает построение еще одной калибровочной линии – по “сухим” карбонатным стандартам – для калибровки измеряемых величин  $\delta^{13}\text{C}$  в международную шкалу VPDB. Для этого в измерительной серии размещаются по одному или несколько раз (в нашем случае дважды) карбонатные стандарты (в нашем случае – NBS-19, NBS-18 и внутренний стандарт ATC-1). Калибровочная линия строится по результатам измерения трех стандартов (трехточечная калибровка, рис. 1б).

Последний этап стандартизации – проверка полноты выхода измеряемого газа и отсутствия кинетического фракционирования между  $(\text{CO}_2)_g$ , выделившемся из образца, и  $(\text{CO}_2)_a$ , растворенным в оставшейся пробе. При недостаточном времени экстракции  $(\text{CO}_2)_g$  может выделяться не полностью или не прийти в равновесие с небольшой порцией  $(\text{CO}_2)_a$ . Фракционирование между  $(\text{CO}_2)_g$  и  $(\text{CO}_2)_a$  зависит от ионной силы раствора, и эта величина для растворов фосфорной кислоты не является хорошо известной (Vogel et al., 1970; Mook et al., 1974). Однако применение постоянных соотношений объемов пробы, кислоты и постоянных параметров проведения реакции (Т, длительность) для образцов и растворов соды с известным изотопным составом углерода позволяет отказаться от введения поправки на данный эффект (Assayag et al., 2006). Авторы показали, что при использовании виал, объем которых обеспечивает высокое соотношение объема, заполненного газом, к объему,



**Рис. 1.** Калибровочные линии для определения концентрации и изотопного состава DIC: (а) зависимость площади опорного пика  $S$  ( $Vs$  – вольт\*секунд) от концентрации калибровочного раствора  $\text{NaHCO}_3$ ; (б) трехточечная калибровка величин  $\delta^{13}\text{C}$  по карбонатным стандартам. Параметры калибровочных уравнений используются для расчета концентрации DIC и величин  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  в образцах, проанализированных в той же измерительной серии.



**Рис. 2.** Величины  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  в образцах морской воды, отобранной на станциях 5955 (а) и 5944 (б): 1 – отбор “в контейнер”, 2 – отбор “в вialsу с кислотой”. Пояснения в тексте.

занятому жидкой пробой (например, при объеме пробы 1 мл, помещенной в вialу объемом более 10 мл), равенство  $\delta^{13}\text{C}(\text{CO}_2) \text{ g} \approx \delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  выполняется в пределах точности изотопного анализа. При соблюдении этого условия индикатором полноты протекания реакции и установления изотопного равновесия между  $(\text{CO}_2) \text{ g}$  и  $(\text{CO}_2) \text{ aq}$  будет равенство величин  $\delta^{13}\text{C}$ , определенных для сухой навески  $\text{NaHCO}_3$  и  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  калибровочных растворов в пределах точности изотопного анализа углерода. В нашем случае, если при анализе измерительной серии расхождение превышало величину  $2\sigma$  от аналитической погрешности, вся серия повторялась после кондиционирования системы GasBenchII и масс-спектрометра.

В результате выполнения всех указанных калибровок для серии образцов можно получить результаты, отвечающие современному уровню высокоточного анализа DIC, как в отношении изотопного состава углерода, так и в отношении его концентраций. В совокупности с применением описанных подходов к отбору исследуемого материала и его хранению величины  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  могут быть определены с точностью  $\pm 0.05\text{‰}$  и лучше, а величины [DIC] – с относительной погрешностью 4.5% и менее.

#### *Экспериментальная проверка методов отбора проб для анализа DIC*

##### **Отбор проб “в контейнер” и “в вialsу с кислотой”.**

В таблице 1 приведены данные об изотопном составе и концентрации растворенного неорганического углерода, полученные для образцов морских вод, отобранных “в контейнер” и “в вialsу с кислотой”. На обеих изученных станциях (5944 и 5955) в образцах морской воды, отобранных “в контейнер”, характерны более высокие значения величины

$\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$ , чем в образцах, отобранных “в вialsу с кислотой”. Эти величины согласуются с диапазоном, установленным для арктического региона (Дубинина и др., 2020; Bauch et al., 2004).

В среднем разница между величинами  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  для двух групп образцов, отобранных разными способами, составляет  $\approx 0.5\text{‰}$ , что превышает точность изотопного анализа углерода DIC в 10 раз (рис. 2). Образцы этих групп отличаются и по содержанию DIC – для проб, отобранных “в контейнер”, характерны более низкие значения [DIC], близкие к установленным для этого региона ранее ( $2200 \mu\text{mole/l}$ , Anderson et al., 1998). Для образцов, отобранных “в вialsу с кислотой”, характерны концентрации DIC, почти вдвое превышающие  $2200 \mu\text{mole/l}$  (рис. 3).

Причина таких существенных различий в изотопном составе и концентрации DIC очевидна – это контаминация углекислым газом атмосферы. Согласно литературным данным, величина  $\delta^{13}\text{C}(\text{CO}_2)$  в атмосфере составляет около  $-9\text{‰}$  (Keeling et al., 1979; Xu et al., 2017), что приводит к сдвигу наблюдаемых величин  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  в сторону более низких значений в образцах, отобранных “в вialsу с кислотой”. Поступление воздуха в образцы могло произойти через отверстия в септах, через которые вводился образец. После отбора пробы до момента проведения анализа проходит несколько месяцев, что, по-видимому, достаточно для заметной контаминации проб.

Для образцов, отобранных в “контейнер”, этот эффект отсутствует, т.к. крышки вials при отборе проб не прокалываются. О присутствии дополнительного  $\text{CO}_2$  в образцах, отобранных “в вialsу с кислотой”, свидетельствуют и нереально высокие концентрации DIC (рис. 3).

**Таблица 1.** Изотопный состав и концентрация растворенного неорганического углерода в параллельных пробах, отобранных разными способами (72-й рейс НИС “Мстислав Келдыш”, станции 5955 и 5944)

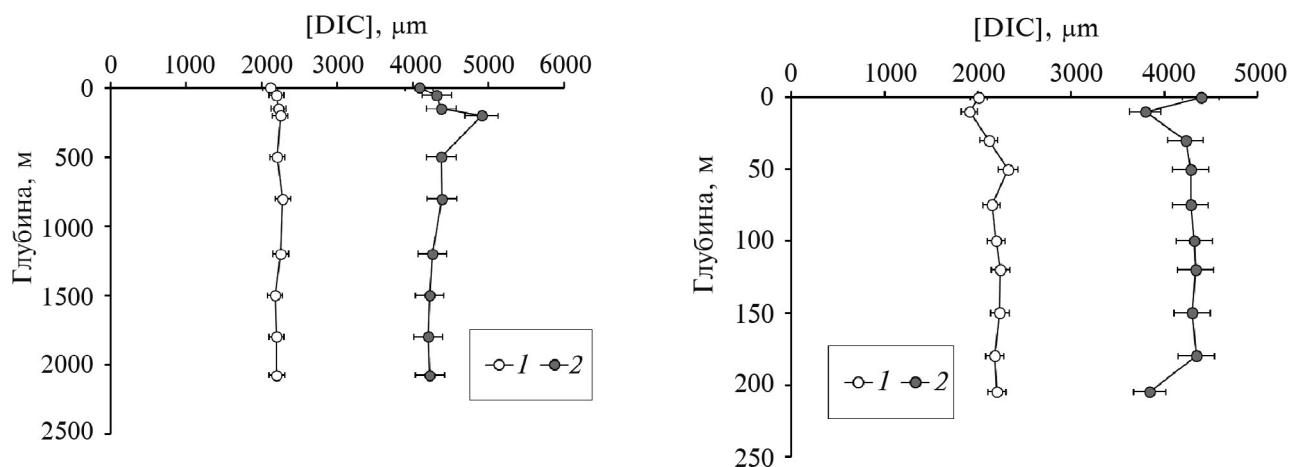
| Станция | Горизонт | Пробы, отобранные<br>“в виалу с кислотой” |                           | Пробы, отобранные<br>“в контейнер”    |                           |
|---------|----------|-------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------------|---------------------------|
|         |          | $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$ , ‰     | [DIC], $\mu\text{mole/l}$ | $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$ , ‰ | [DIC], $\mu\text{mole/l}$ |
| 5955    | 0        | 0.67                                      | 4088                      | 1.05                                  | 2116                      |
| 5955    | 50       | 0.62                                      | 4316                      | 0.98                                  | 2195                      |
| 5955    | 150      | 0.44                                      | 4378                      | 0.86                                  | 2221                      |
| 5955    | 200      | −0.81                                     | 4912                      | 0.81                                  | 2249                      |
| 5955    | 500      | 0.42                                      | 4376                      | 0.73                                  | 2204                      |
| 5955    | 800      | 0.29                                      | 4389                      | 0.63                                  | 2280                      |
| 5955    | 1200     | 0.55                                      | 4259                      | 0.94                                  | 2253                      |
| 5955    | 1500     | 0.81                                      | 4226                      | 1.18                                  | 2178                      |
| 5955    | 1800     | 0.77                                      | 4206                      | 1.24                                  | 2199                      |
| 5955    | 2076     | 1.03                                      | 4227                      | 1.35                                  | 2201                      |
| 5944    | 0        | 0.33                                      | 4396                      | 1.16                                  | 2009                      |
| 5944    | 10       | 0.66                                      | 3794                      | 1.04                                  | 1909                      |
| 5944    | 30       | 0.42                                      | 4230                      | 0.97                                  | 2118                      |
| 5944    | 50       | 0.39                                      | 4284                      | 0.82                                  | 2320                      |
| 5944    | 75       | 0.24                                      | 4280                      | 0.58                                  | 2148                      |
| 5944    | 100      | 0.26                                      | 4319                      | 0.74                                  | 2195                      |
| 5944    | 120      | 0.24                                      | 4335                      | 0.78                                  | 2244                      |
| 5944    | 150      | 0.19                                      | 4298                      | 0.81                                  | 2236                      |
| 5944    | 180      | 0.29                                      | 4345                      | 0.75                                  | 2184                      |
| 5944    | 205      | 0.63                                      | 3841                      | 0.68                                  | 2204                      |

Образец, взятый на глубине 200 м со станции 5955, показывает аномально высокую степень контаминации. По-видимому, септа у виалы с этим образцом была повреждена сильнее, чем у других. Более высокая, чем в других образцах, концентрация DIC сопровождается значительно более низкой величиной  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$ , полученной для этой пробы. По результатам этого эксперимента можно однозначно заключить, что метод отбора пробы “в виалу с кислотой” дает ошибочные результаты – величины  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  оказываются заниженными (если речь идет о морской воде), а величины [DIC] – завышенными в результате контаминации пробы углекислым газом атмосферы.

Безусловно, степень контаминации проб должна зависеть от времени их хранения. В нашем случае оно составило около 4-х месяцев. При тестировании метода отбора “в виалу с кислотой”, сопровождавшемся хранением проб около полугода (Olack

et al., 2018), утверждалось, что при введении корректировок на бланк и использовании стандартов, отбираемых параллельно с образцами, можно получать данные с погрешностью не хуже  $\pm 0.1\%$ . Однако наши данные показывают отсутствие строгих закономерностей в изотопном сдвиге углерода DIC при отборе “в виалу с кислотой”, что ставит под сомнение возможность введения каких-либо корректировок и поправок на стандарт (рис. 3).

**Проверка необходимости добавления токсина.** Целью этого эксперимента являлась проверка необходимости добавления токсинов при отборе проб для анализа изотопного состава и концентрации DIC. Эта проблема возникает, когда в полевых условиях нет возможности работать с токсинами и обсуждается вопрос об их опасности и влиянии на окружающую среду. Кроме того, утверждается, что применение хлорида ртути к фиксации образцов вод метановых сипов, содержащих метан и рас-



**Рис. 3.** Концентрации DIC в образцах морской воды, отобранной на станциях 5955 (а) и 5944 (б) (рейс АИ-58): 1 – отбор “в контейнер”, 2 – отбор “в вialsу с кислотой”.

творенный сероводород, может влиять на результаты изотопного и концентрационного анализа DIC (Argentino et al., 2023). Ответы на вопросы, насколько данный эффект может быть проявлен для обычных морских вод и насколько критичным является применение или неприменение токсинов, являются очень актуальными для геохимических и океанографических исследований.

Для проверки роли токсинов нами были отобраны параллельные пробы с фиксацией биологической активности хлоридом ртути и без нее (таблица 2). Отбор всех проб проведен “в контейнер”, что исключает контаминацию проб углекислотой атмосферы.

Пробы отобраны на станции 7077 в ходе 84-го рейса НИС “Академик Мстислав Келдыш” в районе Норвежского моря (73.323 СШ, 10.657 ВД). Станция находится напротив выхода из Медвежинского желоба в акваторию Атлантического океана, между континентальным склоном Баренцева моря и Срединно-Атлантическим хребтом. В этом рай-

оне биопродуктивность верхних горизонтов вод является высокой, на всех глубинах воды активно вентилируются, т.е. в них достаточно растворенного кислорода и отсутствует сероводород. Образцы с фиксацией хлоридом ртути были ритмично отобраны в интервале глубин от 1 до 2053 м (24 пробы), к пяти из них были отобраны параллельные пробы без фиксации хлоридом ртути (на глубинах 20, 400, 1750, 1900 и 2053 м). Образцы одинаково хранились и анализировались в единой измерительной серии.

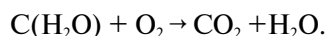
Результаты измерений показывают, что фиксация биологической активности проб является *строго обязательной*. В образцах без добавления токсина величины  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  варьируют от  $-0.25$  до  $0.51\text{‰}$ , в то время как на тех же глубинах параллельные пробы с фиксацией токсином показывают более высокие величины  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  (рис. 4). Пробы без фиксации токсином принадлежат к разным биогеохимическим зонам (их примерное положение показано пунктиром на рис. 4). На горизонте 20 м биологическая активность является высокой. Здесь преобладают процессы первичной продукции, за

**Таблица 2.** Изотопный состав и концентрация растворенного неорганического углерода в параллельных пробах, отобранных с добавлением и без добавления токсина (84-й рейс НИС “Академик Мстислав Келдыш”, станция 7047)

| Глубина, м | С добавлением токсина                 |                           | Без добавления токсина                |                           |
|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------------------------|---------------------------|
|            | $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$ , ‰ | [DIC], $\mu\text{mole/l}$ | $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$ , ‰ | [DIC], $\mu\text{mole/l}$ |
| 20         | 1.12                                  | 2142                      | 0.51                                  | 2296                      |
| 400        | 0.69                                  | 2191                      | $-0.25$                               | 2363                      |
| 1750       | 1.09                                  | 2276                      | 0.36                                  | 2258                      |
| 1900       | 1.09                                  | 2178                      | 0.04                                  | 2326                      |
| 2053       | 1.07                                  | 2277                      | 0.09                                  | 2292                      |

счет чего углерод DIC обогащается изотопом  $^{13}\text{C}$ . На глубине 400 м на данной станции наблюдается так называемый “кислородный минимум”, где происходит массовое окисление органического вещества, что сопровождается появлением минимума величин  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$ . На глубинах 1500 м и ниже величины  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  являются стабильными, имеющими характерные значения для глубинных вод Северной Атлантики, движущихся в данной точке океана с юга на север.

Изотопные параметры всех образцов вод, отобранных без добавления токсина, показали не только более низкие величины  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$ , но и значительный их разброс, что видно по трем пробам с глубоких горизонтов. Поскольку фактор контаминации образцов углекислым газом атмосферы может быть исключен, наиболее вероятной причиной наблюдаемого изотопного сдвига является процесс окисления органического вещества, медиатором которого являются микроорганизмы:

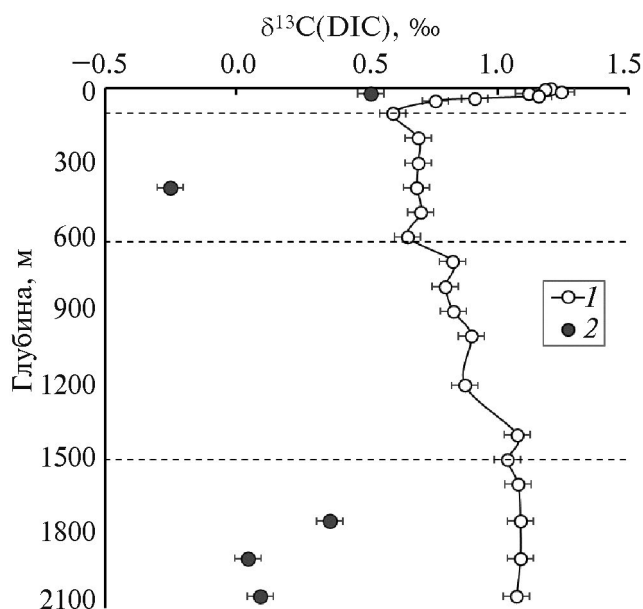


Поскольку органическое вещество обеднено изотопом  $^{13}\text{C}$ , его разложение будет приводить к снижению величин  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  (Campeau, 2017; Taipale, 2009). Изотопный состав углерода органического вещества морского происхождения характеризуется низкими величинами  $\delta^{13}\text{C}$ , например, для фитопланктона Карского моря они составляют  $-29...-35\text{‰}$  (Galimov et al., 2004). Если исходить из этих значений, окисление около 2–3% органогенного углерода и его вклад в общий DIC может привести к наблюдаемым сдвигам величины  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$ . Если предположить, что величины  $\delta^{13}\text{C}$  органического вещества являются более высокими, например  $-20\text{‰}$ , то прибавка “органогенного” DIC не превысит 5%, т.е. будет находиться в пределах точности анализа содержаний DIC методом калибровки площадей хроматографического пика.

Вероятно, по этой причине мы не увидели закономерных сдвигов в концентрации DIC, как в предыдущем эксперименте (табл. 2). Интересно, что вне зависимости от глубины отбора (т.е. от биогеохимической зоны) изотопный сдвиг, вызванный микробиально-индуцированным окислением органики, примерно одинаков (около 1‰). Несколько меньше (0.6‰) он оказался в верхнем горизонте (20 м), что, по-видимому, связано с меньшим количеством микроорганизмов, окисляющих органику, в зоне активной первичной продукции.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предлагаемые подходы к проведению изотопного анализа углерода и концентраций DIC не требуют использования каких-либо готовых стан-



**Рис. 4.** Изотопный состав растворенного неорганического углерода в образцах, отобранных на ст. 7047 (рейс АМК 84): 1 – отбор с добавлением токсина, 2 – отбор без токсина.

дартов в виде водных растворов, как это предлагалось, например, в работе Cheng et al. (2019). Более того, использование готовых растворов соды может привести к появлению ошибочных измерений, поскольку такие стандарты невозможно сохранить в принципе. В качестве стандарта достаточно применять обычный реактив двууглекислого натрия, изотопный состав углерода в котором должен быть предварительно аттестован относительно международных стандартов. Очень важно проводить изотопный анализ соды как в “сухом” состоянии, так и в виде растворов. Если не стоит задача определения концентраций DIC, можно отказаться от калибровочной серии растворов, но для проверки правильности изотопного анализа DIC раствор, хотя бы одного концентрационного уровня, необходим. Совпадение величин  $\delta^{13}\text{C}$ , определенных для сухой навески  $\text{NaHCO}_3$  и  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  в калибровочном растворе в пределах точности изотопного анализа углерода является критерием правильности проведения всей измерительной серии.

Представленные результаты однозначно показывают, что следует отказаться от метода отбора проб “в вialsу с кислотой”, поскольку контаминация проб при таком отборе неизбежна. Кроме того, нельзя пренебрегать и добавлением токсинов, даже если работы проводятся с водами, в которых мало органики и микроорганизмов. Предлагаемый методический протокол охватывает все стадии изучения DIC в природных растворах – от подготовки тары

и реактивов до детального описания трехуровневой стандартизации результатов. Выполнение предложенных рекомендаций гарантирует получение надежных высокоточных данных по концентрации и изотопному составу растворенного неорганического углерода в морской воде.

Авторы благодарят команду НИС “Академик Мстислав Келдыш” и руководителей экспедиций М.В. Флинта и М.Д. Кравчишину за предоставленную возможность сбора материала. Авторы благодарны редактору О.В. Кузнецовой и рецензентам данной работы Т.А. Веливецкой и Б.Г. Покровскому за конструктивные замечания, которые помогли улучшить статью.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-17-00001, <https://rscf.ru/project/23-17-00001/>.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Дубинина Е.О., Коссова С.А., Мирошников А.Ю., Авдеенко А.С., Чижова Ю.Н. (2020) Растворенный неорганический углерод ([DIC],  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$ ) в водах восточной части Восточно-Сибирского моря. *Геохимия*. **65**(8), 731–751.
- Dubinina E.O., Kossova S.A., Miroshnikov A.Yu., Avdeenko A.S., Chizhova Yu.N. (2020) Dissolved Inorganic Carbon ([DIC],  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$ ) in Waters of the Eastern East Siberian Sea. *Geochem. Int.*, **58**(8). 867–886.
- Alling V., Porcelli D., Morth C.M., Anderson L.G., Sanchez-Garcia L., Gustafsson O., Andersson P.S., Humborg C. (2012) Degradation of terrestrial organic carbon, primary production and out-gassing of CO<sub>2</sub> in the Laptev and East Siberian Seas as inferred from  $\delta^{13}\text{C}$  values of DIC. *Geochim Cosmochim. Acta*. **95**, 143–159.
- Anderson L.G., Jutterström S., Hjalmarsson S., Wählström I., Semiletov I.P. (2009) Outgassing of CO<sub>2</sub> from Siberian Shelf seas by terrestrial organic matter decomposition. *Geophys. Res. Lett.* **36**(20), L20601.
- Argentino C., Kalenitchenko D., M. Lindgren, G. Panieri. (2023) HgCl<sub>2</sub> addition to pore water samples from cold seeps can affect the geochemistry of dissolved inorganic carbon ([DIC],  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ ). *Mar. Chem.* **251**, 104236.
- Assayag N., Rive K., Ader M., Jezequel D., Agrinier P. (2006) Improved method for isotopic and quantitative analysis of dissolved inorganic carbon in natural water samples. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **20**, 2243–2251.
- Atekwana E.A., Krishnamurthy R.V. (1998) Seasonal variations of dissolved inorganic carbon and  $^{13}\text{C}$  of surface waters: application of a modified gas evolution technique. *Jour. Hydrol.* **205**, 265–278.
- Atekwana E.A., Krishnamurthy R.V. (2004) Extraction of Dissolved Inorganic Carbon (DIC) in Natural Waters for Isotopic Analyses. *Handbook of Stable Isotope Analytical Techniques*. **1**, 203–228.
- Bauch D., Polyak L., Ortiz J. (2015) A baseline for the vertical distribution of the stable carbon isotopes of dissolved inorganic carbon ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ ) in the Arctic Ocean. *Arktos*. **1**, 1–13.
- Bauch H.A., Erlenkeuser H., Bauch D., Mueller-Lupp T., Taldenkova E. (2004) Stable oxygen and carbon isotopes in modern benthic foraminifera from the Laptev Sea shelf: implications for reconstructing proglacial and profluvial environments in the Arctic. *Mar. Micropaleont.* **51**, 285–300.
- Brandes J.A. (2009) Rapid and precise  $\delta^{13}\text{C}$  measurement of dissolved inorganic carbon in natural waters using liquid chromatography coupled to an isotope-ratio mass spectrometer. *Limnol. Oceanogr., Methods*. **7**, 730–739.
- Campeau A., Wallin M.B., Giesler R., Lofgren S., Morth C.M., Schiff S., Venkiteswarwn J.J., Bishop K. (2017) Multiple sources and sinks of dissolved inorganic carbon across Swedish streams, refocusing the lens of stable C isotopes. *Sci Rep*. **7**, 9158. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09049-9>.
- Capasso G., Favara R., Grassa F., Inguaggiato S., Longo M. (2005) Online technique for preparing and measuring stable carbon isotope of total dissolved inorganic carbon in water samples ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{TDIC}}$ ). *Ann. Geophys.* **48**(1), 159–166.
- Cheng L., Normandeau C., Bowden R., Doucett R., Gallagher B., Gillikin D. P., Kumamoto Y., McKay J.L., Middlestead P., Ninnemann U., Nothaft D., Dubinina E.O., Quay P., Reverdin G., Shirai K., Mørkved P.T., Theiling B.P., van Geldern R., Wallace D.W.R. (2019) An international intercomparison of stable carbon isotope composition measurements of dissolved inorganic carbon in seawater. *Limnol. Oceanogr., Methods*. **17**(3), 200–209.
- Deines P., Langmoir D., Harmon R.S. (1974) Stable carbon isotope ratios and the existence of a gas phase in the evolution of carbonate ground waters. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1074** (38), 1147–1164.
- Dickson A.G., Sabine, C.L. and Christian J.R. (Eds.) 2007. Guide to Best Practices for Ocean CO<sub>2</sub> Measurements. PICES Special Publication. 3, 191 pp.
- Doctor D.H., Kendall C., Sebestyen S.D., Shanley J.B., Ohte N., Boyer E.W. (2008) Carbon isotope fractionation of dissolved inorganic carbon (DIC) due to outgassing of carbon dioxide from a headwater stream. *Hydrol. Proc.* **22**, 2410–2423.
- Friedman I. (1970) Some investigations of the deposition of travertine from hot springs. *Geochim. Cosmochim. Acta*. **34**, 1003–1315.
- Galimov E.M. (2004) The pattern of  $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$  versus HI/OI relation in recent sediments as an indicator of geochemical regime in marine basins: comparison of the Black Sea, Kara Sea, and Cariaco Trench. *Chem. Geol.* **204**, 287–301.
- Gebbinck C.D.K., Sang-Tae K., Knyf M., Wyman J. (2014). A new online technique for the simultaneous measurement of the  $\delta^{13}\text{C}$  value of dissolved inorganic carbon and the  $\delta^{18}\text{O}$  value of water from a single solution sample using continuous-flow isotope ratio mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **28**, 553–562. [10.1002/rcm.6812](https://doi.org/10.1002/rcm.6812).
- Gillikin D.P., Bouillon S. (2007) Determination of  $\delta^{18}\text{O}$  of water and  $\delta^{13}\text{C}$  of dissolved inorganic carbon using a simple modification of an elemental analyzer-isotope ratio mass spectrometer: an evaluation. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **21**, 1475–1478.

- Gleason J.D., Friedman I., Hanshaw B.B. (1969) Extraction of dissolved carbonate species from natural water for carbon-isotope analysis. US Geological Survey Prof. Pap., 650-D: D248–250.
- Graber E.R., Aharon P. (1991) An improved microextraction technique for measuring dissolved inorganic carbon (DIC),  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  and  $\delta^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$  from milliliter-size water samples. *Chem. Geol.* **94**, 137–144.
- Holt B.D., Sturchio N.C., Arehart G.B., Bakel A.J. (1995) Ultrasonic vacuum extraction of gases from water for chemical and isotopic analysis. *Chem. Geol.* **122**, 275–284.
- Humphreys M.P., Greatrix F.M., Tynan E., Achterberg E.P., Griffiths A.M., Fry C.H., Garley R., McDonald A., Boyce A. (2016) Stable carbon isotopes of dissolved inorganic carbon for a zonal transect across the subpolar North Atlantic Ocean in summer 2014. *Earth System Sci. Data*. **8**, 221–233.
- Keeling C.D., Mook W.G., Tans P.P. (1979) Recent trends in the  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratio of atmospheric carbon dioxide. *Nature*. **277**, 121–123.
- Kroopnick P. (1974) The dissolved  $\text{O}_2$ - $\text{CO}_2$ - $^{13}\text{C}$  system in the eastern equatorial Pacific. *Deep-Sea Res.* **21**(3), 211–227.
- Laskar A.H., Gandhi N., Thirumalai K., Yadava M.G., Ramesh R., Mahajan R.R., Kumar D. (2014) Stable carbon isotopes in dissolved inorganic carbon: extraction and implications for quantifying the contributions from silicate and carbonate weathering in the Krishna River system during peak discharge. *Isotopes in Environ. Health Stud.* **50**(2), 156–168.
- Levitt N.P. (2014) Sample matrix effects on measured carbon and oxygen isotope ratios during continuous-flow isotope-ratio mass spectrometry. *Rapid Comm. Mass Spec.* **28**, 2259–2274.
- McNichol A.P., Quay P.D., Gagnon A.R., Burton J.R. (2010) Collection and measurement of carbon isotopes in seawater DIC. The GO-SHIP Repeat Hydrography Manual: A Collection of Expert Reports and Guidelines IOCCP Report No 14, ICPO Publication Series No. 134, Version 1.
- Mook W.G., Bommerson J.C., Staverman W.H. (1974) Carbon isotope fractionation between dissolved bicarbonate and gaseous carbon dioxide. *Earth Planet. Sci. Lett.* **22**, 169.
- Nelson S.T. (2000) Sample vial influences on the accuracy and precision of carbon and oxygen isotope ratio analysis in continuous flow mass spectrometric applications. *Rapid Comm. Mass Spec.* **14**, 293–297.
- Olack G.A., Colman A.S., Pfister C.A., Wootton J.T. (2018) Seawater DIC analysis: The effects of blanks and long-term storage on measurements of concentration and stable isotope composition. *Limnol. Oceanogr., Methods*. **16**(3), 160–179.
- Ortiz J.D., Mix A.C., Wheeler P.A., Key R.M. (2000) Anthropogenic  $\text{CO}_2$  invasion into the northeast Pacific based on concurrent  $\delta^{13}\text{C}$  and nutrient profiles from the California Current. *Glob. Biogeochem. Cycles*. **14**(3), 917–929.
- Prosser S.J., Brookes S.T., Linton A., Preston T. (1991) Rapid, Automated Analysis of  $^{13}\text{C}$  and  $^{18}\text{O}$  of  $\text{CO}_2$  in Gas Samples by Continuous-flow, Isotope Ratio Mass Spectrometry. *Biol. Mass Spec.* **20**, 724–730.
- Quay P., Sonnerup R., Stutsman J., Maurer J., Kortzinger A., Padin X. A., Robinson C. (2007) Anthropogenic  $\text{CO}_2$  accumulation rates in the North Atlantic Ocean from changes in the  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  of dissolved inorganic carbon. *Global Biogeochem. Cycles*. **21**, GB1009.
- Salata G.G., Roelke L.A., Cifuentes L.A. (2000) A rapid and precise method for measuring stable carbon isotope ratios of dissolved inorganic carbon. *Mar. Chem.* **69**, 153–161.
- Spötl C. (2006) A robust and fast method of sampling and analysis of  $\delta^{13}\text{C}$  of dissolved inorganic carbon in ground waters. *Isotopes in Environ. Health Studies*. **41**(3), 217–221.
- St-Jean G. (2003) Automated quantitative and isotopic ( $^{13}\text{C}$ ) analysis of dissolved inorganic carbon and dissolved organic carbon in continuous-flow using a total organic carbon analyser. *Rapid Comm. Mass Spec.* **(17)**, 419–428.
- Taipale S.J., Sonninen E. (2009) The influence of preservation method and time on the  $\delta^{13}\text{C}$  value of dissolved inorganic carbon in water samples. *Rapid Comm. Mass Spec.* **23**, 2507–2510.
- Tan T.C., Pearson G.J., Walker R.W. (1973) Sampling extraction and  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  analysis of total dissolved  $\text{CO}_2$  in marine environments. Bedford Institute of Oceanography, Canada. Rep. Series BI-R-73-16.
- Taylor C.B., Fox V.J. (1996) An isotopic study of dissolved inorganic carbon in the catchment of the Waimakariri River and deep ground water of the North Canterbury Plains, New Zealand. *Journ. Hydrol.* **186**, 161–190.
- Torres M.E., Mix A.C., Rugh W.D. (2005) Precise  $\delta^{13}\text{C}$  analysis of dissolved inorganic carbon in natural waters using automated headspace sampling and continuous-flow mass spectrometry. *Limnol. Oceanogr., Methods*. **3**, 349–360.
- Vogel J.C., Grootes P.M., Mook W.G. (1970) Isotopic Fractionation between Gaseous and Dissolved Carbon Dioxide. *Z. Phys.* **230**(3), 225–238.
- Waldron S., Scott E.M., Vihermaa L.E., Newton J. (2014) Quantifying precision and accuracy of measurements of dissolved inorganic carbon stable isotopic composition using continuous-flow isotope-ratio mass spectrometry. *Rapid Comm. Mass Spec.* **28**, 1117–1126.
- Xu J., Lee X., Xiao W., Cao C., Liu S., Wen X., Xu J., Zhang Z., Zhao J. (2016). Interpreting the  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratio of carbon dioxide in an urban airshed in the Yangtze River Delta, China. *Atm. Chem. Phys. Discuss.* **17**(5), 3385–3391.
- Yang T., Jiang S.Y. (2012) A new method to determine carbon isotopic composition of dissolved inorganic carbon in seawater and pore waters by  $\text{CO}_2$ -water equilibrium. *Rapid Comm. Mass Spec.* **26**, 805–810.

# HIGH PRECISION DETERMINATION OF CARBON ISOTOPE COMPOSITION AND CONCENTRATION OF DISSOLVED INORGANIC CARBON IN SEAWATERS

E. Dubinina<sup>a, \*</sup>, S. Kossova<sup>a</sup>, Y. Chizhova<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Institute of Geology of Ore Deposits, Petrography, Mineralogy, and Geochemistry, Russian Academy of Sciences (IGEM RAS), Starominetny, 35, Moscow, 119017 Russia*

*\*e-mail: elenadelta@gmail.com*

Determination of the isotopic composition and concentration of dissolved inorganic carbon (DIC) in sea water requires not only high measurement accuracy, but also the development of unified approaches to data standardization and material collection. In this work, we studied the effect of sampling methods (“in a container” and “in a vial with acid”, with and without the toxin) on the results of determining the values of  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  and the concentration of DIC in sea water. The analytical protocol was described in detail, based on many years of experience in the selection, measurement and standardization of data obtained for a large number of water samples of the Arctic seas. According to this protocol, the values of  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  and  $[\text{DIC}]$  can be determined with an error of less than 0.05‰ (1 $\sigma$ ) and 4.5 rel.% respectively. It has been shown that sampling “in a vial with acid” with their storage for 4 months is accompanied by significant contamination by atmospheric carbon dioxide with an underestimation of  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  values by an average of 0.3–0.8‰ and an overestimation of  $[\text{DIC}]$  values by an average of two times. The absence of the toxin that stops biological activity does not lead to significant shifts in the DIC concentration, but it strongly affects the  $\delta^{13}\text{C}(\text{DIC})$  values, which become underestimated by an average of 1‰. Using sampling “in a container”, with toxin addition, and following other recommendations, the samples retain the isotope and concentration parameters of DIC for at least year.

**Keywords:** carbon isotopes, dissolved inorganic carbon, DIC, Arctic, mass-spectrometry, CF IRMS

**Funding** (The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 23-17-00001, <https://rscf.ru/project/23-17-00001/>)