

Изотопы углерода в живом и неживом

Эта статья посвящена описанию одной недавно обнаруженной особенности поведения изотопов углерода в биологических системах, следствия и возможные применения которого, на наш взгляд, должны заинтересовать геологов, биологов, а может быть, и медиков. Речь пойдет о явлении термодинамически упорядоченного внутримолекулярного и межмолекулярного распределения стабильных изотопов углерода в биологических системах. Но прежде следует сказать несколько слов о том, что представляет собой современная геохимия изотопов, т. е. наука о закономерностях распространения и причинах фракционирования изотопов в природе.

Изотопы углерода в природе

Углерод, как и большинство других химических элементов, представляет собой смесь изотопов, т. е. атомов, содержащих при одинаковом числе протонов разное число нейтронов в ядре. Углерод состоит из двух стабильных (нерадиоактивных) изотопов: C^{12} и C^{13} , отношение распространенности которых составляет приблизительно 90:1, что отвечает атомному весу углерода 12,011.

Долгое время атомный вес считался константой, характеризующей данный элемент. В таблице Менделеева до сих пор принято указывать фиксированное значение атомного веса (следовательно, соотношение изотопов) каждого элемента.

В 30—40-е годы было выяснено, что изотопный состав химического элемента в разных природных объектах может быть различным. Правда, эти различия малы. Они не выходят за пределы нескольких процентов, а чаще составляют десятые и сотые доли процента. Существование природных вариаций изотопного состава углерода, как и ряда других элементов, было показано А. Ниром (*A. Hier*, США), внесшим в свое время существенные улучшения в технику масс-спектрометрического изотопного анализа.

Измерения изотопного состава элементов осуществляются на сложном физическом приборе — масс-спектрометре. При помощи масс-спектрометра, точнее, прибора, который послужил прообразом современного масс-спектрометра, У. Томсоном (*W. Tomson*, Англия) в 1913 г. было открыто само явление изотопии, и до сих пор масс-спектрометр, несмотря на развитие ряда новых методов изотопного анализа, например, так называемых нейтронно-активационного и спектрального, остается непревзойденным по точности инструментом для измерения изотопных отношений. Точность определения изотопного состава углерода на современных масс-спектрометрах составляет $\pm 0,01 - 0,02\%$. Из ряда методических соображений изотопный состав углерода

представляют не в форме отношения C^{13}/C^{12} , а в виде величины δC^{13} . Последняя представляет собой выраженное в процентах отклонение C^{13}/C^{12} углерода данного объекта от величины C^{13}/C^{12} условно принятого стандарта:

$$\delta C^{13} = [(C^{13}/C^{12})_0,0112372 - 1] \cdot 10^2(\%)$$

Увеличение величины δC^{13} соответствует обогащению углерода тяжелым изотопом C^{13} .

В начале 50-х годов появляется ряд работ Г. Юри (*H. Urey*, США), С. Эпштейна (*S. Epstein*, США), Г. Тодта (*H. Thode*, Канада), положивших начало стремительному развитию геохимии стабильных изотопов, в особенности кислорода, серы и углерода. Одновременно в СССР исследования в этой области были организованы А. П. Виноградовым в Институте геохимии и аналитической химии им. В. И. Вернадского (ГЕОХИ) АН СССР.

Скоро стало ясным, что существуют не просто вариации изотопного состава элементов в природе, но эти вариации имеют закономерный характер, они обусловлены определенными процессами фракционирования изотопов в природе, т. е. процессами, приводящими к их разделению.

Замечательная практическая ценность изотопных методов открылась в том, что по изотопному составу принципиально оказалось возможным определить происхождение и условия образования геохимически важных соединений и на этой основе реконструировать ход геологических событий, раскрыть механизм формирования залежей полезных ископаемых.

Обширные исследования в области геохимии изотопов углерода, значительная часть которых, кстати сказать, была выполнена в СССР, привели к тому, что сегодня мы располагаем достаточно подробными сведениями о распространенности стабильных изотопов углерода в природе. Основные черты геохимического поведения изотопов углерода показаны на схеме (рис. 1).

Кинетические и термодинамические изотопные эффекты

Большинство процессов природного фракционирования изотопов углерода обусловлено двумя типами изотопных эффектов: кинетическим и термодинамическим.

Кинетический изотопный эффект состоит в том, что связь $C^{12}-C^{12}$ в молекулах рвется несколько быстрее, чем связь $C^{12}-C^{13}$. Поэтому, например, продукты крекинга органических соединений относительно богаче изотопом C^{12} по сравнению с исходным соединением. Кроме того, так называемая изотопно-легкая (или изотопически легкая) форма молекулы более подвижна, чем изотопно-тяжелая форма той же молекулы. Поэтому более легкая $C^{12}O_2$ быстрее входит в

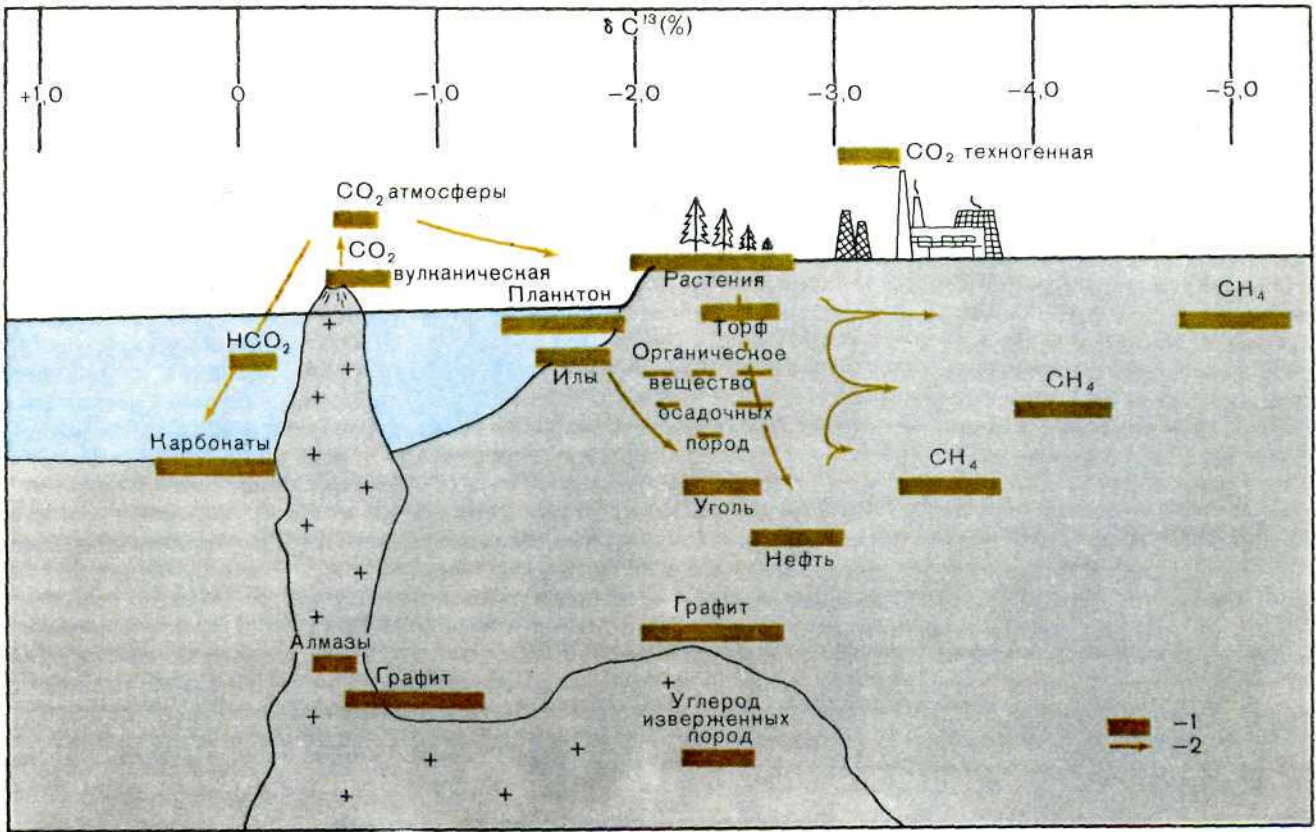


Рис 1. Схема распространения стабильных изотопов углерода в природе: 1 — диапазон вариаций δC^{13} в данном веществе (вправо от нуля идет уменьшение доли тяжелого изотопа C^{13}); 2 — процессы фракционирования

реакцию и быстрее растворяется, чем более тяжелая $C^{13}O_2$.

Несколько более сложно понятие термодинамического изотопного эффекта. Пусть имеются два соединения, например CO_2 и $CaCO_3$. Допустим, что атомы углерода, т. е. изотопы C^{12} и C^{13} могут свободно переходить из одного соединения в другое. Этот процесс называется изотопным обменом.

По достижении равновесия изотопного обмена выявляется некоторое, вполне определенное различие в изотопном составе обменивающихся соединений. Это явление называют термодинамическим изотопным эффектом. Причина его заключается в энергетических различиях изотопных форм данного соединения. Мерой различия служит отношение так называемых энергетических статических сумм (статсумм) по состояниям изотопных форм — термодинамический изотопный фактор (β -фактор). Из статистической термодинамики следует, что содержание изотопа C^{13} будет несколько больше в том из обменивающихся соединений, которое обладает большей величиной β -фактора. Например, величина β -фактора CO_2 при температуре $25^\circ C$ равна 1,191, а для $CaCO_3$ она составляет 1,206. Теоретически ожидаемое различие в изотопном составе,

выраженное через величины δC^{13} определяется при этом из следующего простого соотношения:

$$\Delta C^{13}_{CaCO_3 - CO_2} = \delta C^{13}_{CaCO_3} + -\delta C^{13}_{CO_2} = (\beta_{CaCO_3} / \beta_{CO_2} - 1) \cdot 10^2 (\%) \quad (1)$$

В данном случае $\Delta C^{13} = +1,2\%$. Это означает, что в системе $CO_2 \rightleftharpoons CaCO_3$ при $25^\circ C$ углерод карбоната становится богаче на 1,2% изотопом C^{13} по сравнению с CO_2 . Кстати, именно такого рода термодинамическим изотопным эффектом объясняется обогащенность морских карбонатов тяжелым изотопом углерода сравнительно с атмосферной CO_2 (рис. 1).

Необходимо иметь в виду, что термодинамический изотопный эффект может проявиться только в том случае, если существует реальный изотопный обмен между компонентами системы. Иногда такой обмен протекает легко. Примером служит все та же система $CO_2 \rightleftharpoons CaCO_3$. В других случаях он практически отсутствует или протекает лишь при высоких температурах. Как правило, чем сложнее молекула, тем меньше вероятность достижения равновесия изотопного обмена. Даже в таких простых органических соединениях, как низкомолекулярные углеводороды, изотопный обмен углерода при нормальной температуре отсутствует. Экспериментальное изучение системы $CH_4 - C_2H_6 - C_3H_8 - C_4H_{10}$ показало, что признаки изотопного обмена углерода появляются лишь при температурах свыше $300^\circ C$. При нор-

мальной температуре никакого термодинамического изотопного эффекта нет.

В этой связи станет понятным необычность того явления, которое было встречено нами в биологических системах, когда выяснилось, что распределение изотопов углерода в сложных биомолекулах организма находится в тесной связи именно с термодинамическими изотопными эффектами.

Изотопный состав углерода живого существа

Давно уже было известно, что живые организмы обогащены изотопом C^{12} . При рассмотрении рис. 1. это сразу выявляется как одна из характерных особенностей геохимии изотопов углерода. Углерод наземных растений (δC^{13} от $-2,0$ до $-3,0\%$) содержит на $1,5-2\%$ больше изотопа C^{12} , чем углерод исходной для их биосинтеза атмосферной углекислоты ($\delta C^{13} = -0,7\%$). Такое же соотношение между изотопным составом углерода морского фитопланктона (δC^{13} от $-1,3$ до $-2,5\%$) и исходным для его биосинтеза углеродом морского бикарбоната с $\delta C^{13} = -0,2\%$. Обогащенность органического углерода легким изотопом с теми или иными отклонениями сохраняется и в продуктах его геохимического преобразования: в торфах, углях, ископаемом органическом веществе, углеводородах нефти и т. д.

На первых порах это явление рассматривалось как проявление способности живых организмов к преимущественному усвоению изотопически легкой формы исходной углекислоты ($C^{12}O_2$). Р. Парк (*R. Park*, США) и С. Эпштейн (1960) выдвинули так называемую двухстадийную модель, согласно которой «основное фракционирование изотопов осуществляется в две стадии. Первая стадия включает преимущественное потребление C^{12} из атмосферы, вторая — преимущественное превращение обогащенной изотопом C^{12} растворенной CO_2 в фосфоглицериновую кислоту, которая является первичным продуктом фотосинтеза».

В дальнейшем выяснилось, что углерод биомассы организма не единообразен в своем изотопном составе. Ф. Абельсон и Т. Хоринг (*Ph. Abelson, T. Hoering*, США, 1961) обнаружили, что разные аминокислоты в одном и том же организме отличаются по изотопному составу. В частности, лейцин, как правило, — наиболее изотопически легкая аминокислота, а аспарагиновая и глутаминовая — изотопически тяжелые. Более того, углерод карбоксильных групп аминокислот богаче тяжелым изотопом по сравнению с углеродом аминокислоты в целом. Оказалось также, что различные биохимические компоненты организма имеют неодинаковый изотопный состав углерода. Э. Дегенс (*E. Degens*, США, 1968) с сотрудниками установил, что содержание изотопа C^{12} последовательно уменьшается в ряду липиды—лигнин—белки—углеводы—пектин.

В связи с этим Э. Дегенс предположил, что су-

ществуют не два, а большее количество «барьеров» изотопного фракционирования углерода в организме. Подразумевалось, что физико-химической основой фракционирования на всех этапах являются разного рода кинетические изотопные эффекты. Так или иначе, складывалось представление, что в организме имеют место сложные и многообразные процессы фракционирования изотопов не вполне ясной природы.

Тем более неожиданным было открытие того факта, что распределение изотопов углерода в биологических системах подчиняется в своей основе относительно простому принципу, который является общим для всей системы биомолекул организма.

Термодинамические изотопные факторы

Этот принцип, сущность которого мы ниже подробно рассмотрим, был обнаружен благодаря разработке метода теоретической оценки термодинамических изотопных факторов сложных органических соединений. Следует вкратце остановиться на этом.

Существует классический метод расчета β -факторов, предложенный в свое время Юри. Он требует знания колебательных частот изотопных форм молекул. В свою очередь, для этого необходимо решать уравнение движения молекулы. Это сопряжено с громоздкими вычислениями на ЭВМ и обычно доступно, да и то с введением ряда допущений, для сравнительно простых молекул. К тому же спектральные данные для сложных соединений, как правило, не полны и не достаточно точны.

Для углерода положение усугубляется тем, что он образует бесчисленное множество соединений, так что если бы и удалось преодолеть математические затруднения, предстояла бы титаническая работа по расчету β -фактора огромного числа органических соединений. Требовался, следовательно, какой-то более общий подход к оценке β -факторов. Он был найден нами путем постулирования так называемого принципа аддитивности (суммирования связей), а реализован в виде метода изотопических чисел связей.

Несмотря на известные ограничения, которые содержит в себе принцип аддитивности, предложенный метод оказался весьма плодотворным для оценки β -факторов соединений углерода.

Прежде всего было показано, что β -фактор соединения, содержащего несколько атомов углерода, можно определить как среднее арифметическое из β -факторов, характеризующих каждый атом углерода в отдельности:

$$\beta_{\Sigma} = \frac{1}{n} \sum \beta_i \quad (2)$$

Здесь β_{Σ} — термодинамический изотопный фактор соединения в целом; β_i — термодинамический изотопный фактор, характеризующий углерод в данном структурном положении в молекуле; n — число атомов углерода в молекуле.

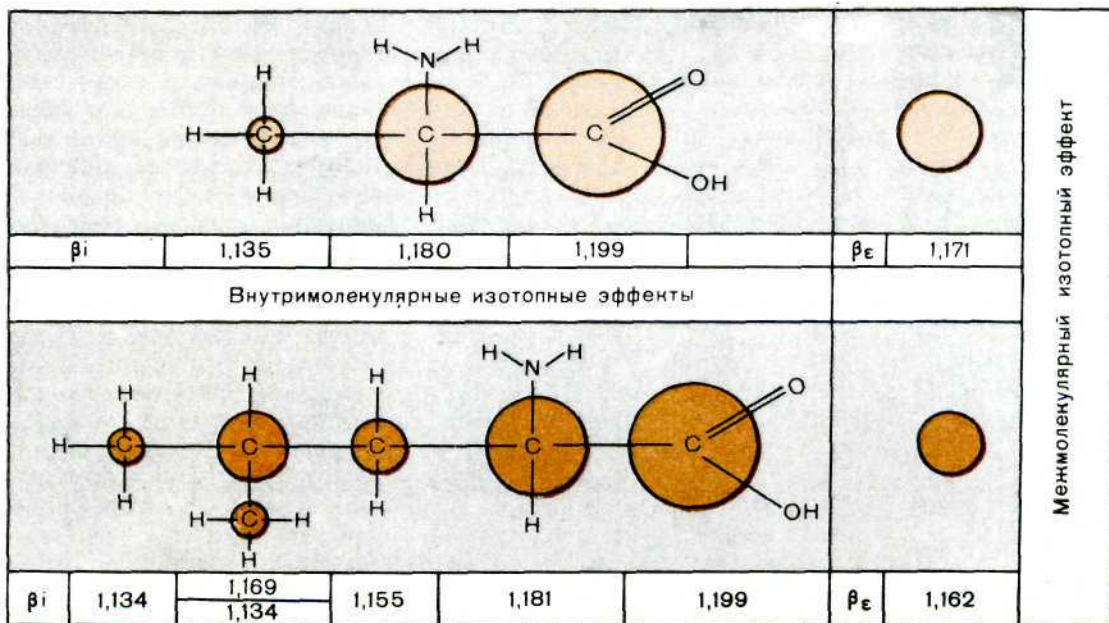


Рис. 2. Внутримолекулярные и межмолекулярные термодинамические изотопные эффекты в органических соединениях. На схеме большая величина круга

соответствует большему содержанию C^{13} (слева — для отдельных атомов углерода, справа — для соединения в целом)

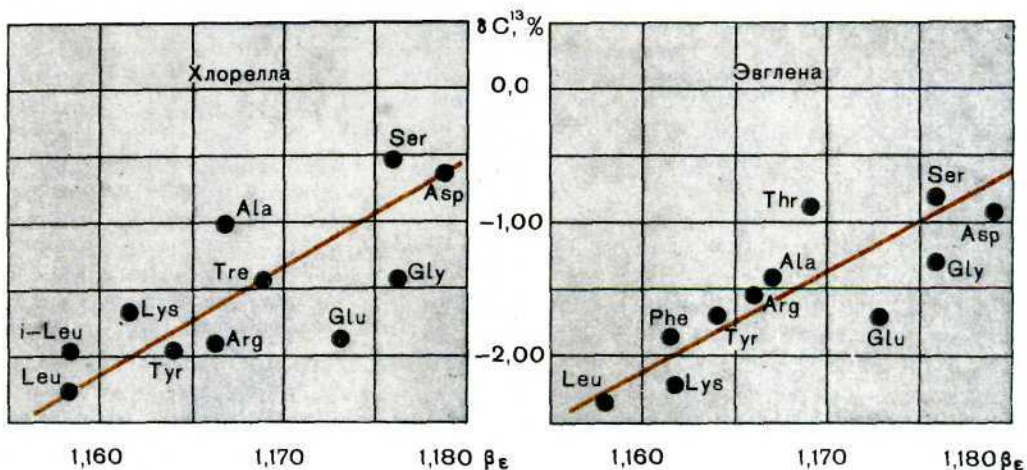


Рис. 3. Корреляция между изотопными составами и величинами термодинамических изотопных факторов аминокислот, выделенных из фотосинтезирующих организмов: а) хлорелла; б) эвглена (изотопный состав по Ф. Абельсону и Т. Хорингу, 1961)

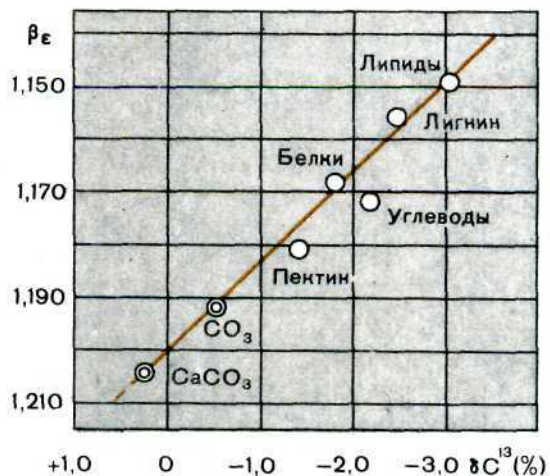


Рис. 4. Корреляция между изотопными составами углерода и величинами термодинамических изотопных факторов карбоната, CO_2 и биохимических компонентов планктона (изотопный состав по Э. Дегенсу, 1968)

В свою очередь, величину β_i -фактора можно оценить, учитывая характер химических связей, образуемых данным атомом углерода. Вклад каждого типа связи передается изотопическим числом связи L . Дальнее окружение оказывает гораздо меньшее влияние на величину β_i -фактора. Его можно учесть при помощи изотопических чисел l_k , характеризующих связи, образуемые соседними атомами углерода. Операция определения β_i -фактора сводится к суммированию изотопических чисел по формуле:

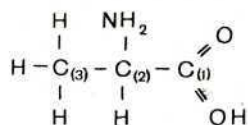
$$\beta_i = 1 + \sum L_j + \sum l_k \quad (3)$$

Значения изотопических чисел связей углерода были определены для 300 К (25°C). Они приведены в табл. 1.

Таблица 1. Изотопические числа связей соединений углерода

Тип связи	L_j	l_k
C—H	0,0285	0
C—C	0,0464	0,0013
C—N	0,052	0,0017
C—O	0,055	0,0019
C—F	0,056	0,0020
C=C	0,0785	0,0036
C≡C	0,088	0,0043
C≡N	0,091	0,0045
C=O	0,095	0,0049

Возьмем для примера молекулу аминокислоты аланина. Она имеет следующую структурную формулу:



Величину β_i -факторов, используя табл. 1, находим по формуле (3):

$$\begin{aligned} \beta_1 &= 1 + (L_{\text{C=O}} + L_{\text{C-O}} + L_{\text{C-C}}) + (l_{\text{C-N}} + \\ &+ l_{\text{C-H}} + l_{\text{C-C}}) = 1,199; \\ \beta_2 &= 1 + (2L_{\text{C-C}} + L_{\text{C-N}} + L_{\text{C-H}}) + (l_{\text{C=O}} + \\ &+ l_{\text{C-O}} + 3l_{\text{C-H}}) = 1,180; \\ \beta_3 &= 1 + (3L_{\text{C-H}} + L_{\text{C-C}}) + (l_{\text{C-N}} + \\ &+ l_{\text{C-C}} + l_{\text{C-H}}) = 1,135. \end{aligned}$$

Прежде всего выясняется, что β_i -факторы атомов углерода, занимающих различные структурные позиции в молекуле, неодинаковы. Это означает, что вероятность распределения разных изотопов углерода внутри молекулы термодинамически различна. Мы назвали это внутримолекулярным термодинамическим изотопным эффектом.

На рис. 2 изображена молекула аланина, атомы углерода которой показаны кружками разного диаметра. Диаметр кружка пропорционален β_i -

фактору соответствующего атома углерода. Большей величине β_i -фактора соответствует более высокая относительная концентрация изотопа C^{13} в данном положении. Это теоретически ожидаемое распределение. Реально внутримолекулярное распределение изотопов будет соответствовать β_i -факторам в том случае, если здесь или иным способом достигается равновесие изотопного обмена. Термодинамический изотопный фактор соединения в целом (β_Σ -фактор) определяется по формуле (2). Для молекулы аланина эта величина равна

$$\beta_\Sigma = \frac{1}{3} (1,199 + 1,180 + 1,135) = 1,171.$$

Тем же способом можно вычислить β_Σ -фактор для любого другого соединения. Например, для аминокислоты лейцина $\beta_\Sigma = 1,162$. Это означает в соответствии с формулой (1), что в системе, содержащей аланин и лейцин, аланин в целом будет на $\Delta\text{C}^{13} = 0,8\%$ богаче тяжелым изотопом углерода. Полученная величина характеризует межмолекулярный термодинамический изотопный эффект. Как и в случае внутримолекулярного изотопного эффекта, соответствующее распределение изотопов может быть реализовано только в случае, если имеется механизм изотопного обмена углерода в данной системе.

Явление термодинамической упорядоченности изотопов углерода в биомолекулах

а) **Корреляция между изотопным составом и β_Σ -фактором биомолекул.** При помощи изложенного метода термодинамические изотопные факторы были вычислены для самых разнообразных соединений, включая соединения, типичные для биологических систем.

Неожиданно выявилась довольно отчетливая корреляция между изотопным составом углерода биогенного соединения и величиной его β_Σ -фактора. Оказалось, что установленные ранее вариации в изотопном составе углерода аминокислот (рис. 3) и ряда других компонентов биомолекул (рис. 4) подчиняются определенной зависимости.

Количество экспериментальных данных, имевшихся к 1972 г., когда явление впервые было обнаружено, было крайне мало. Поэтому в лаборатории автора, в ГЕОХИ АН СССР, были предприняты исследования изотопного состава углерода большого числа биогенных соединений, выделенных из организмов.

Объекты исследования выбирались таким образом, чтобы охватить возможно более широкий экологический и видовой диапазон. Исследовались: морские растения (ламинария), речные водоросли (синезеленые), растения суши (люпин), животные (крыль), т. е. представители морской, пресноводной и наземной среды, примитивные и высокоорганизованные формы.

В результате трудоемкой и тщательной работы,

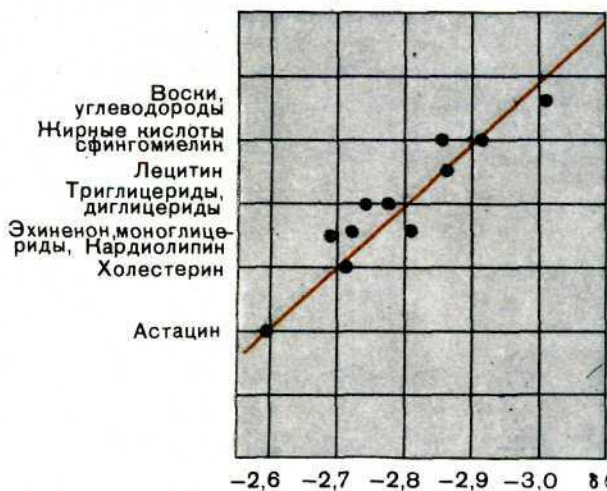
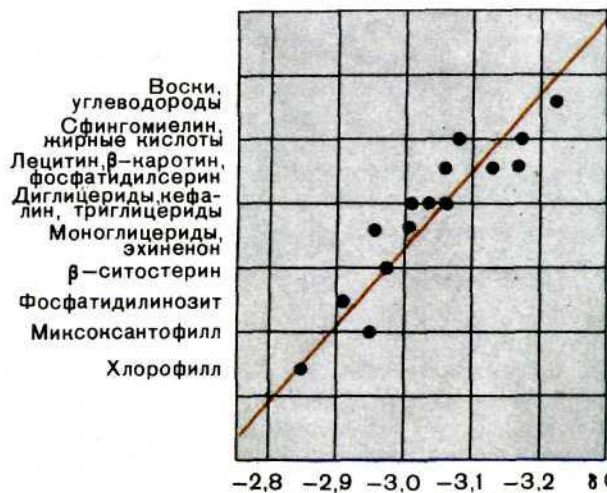


Рис. 5. Корреляция между изотопными составами углерода и величинами термодинамических изотопных факторов биомолекул липидной фракции синезеленой водоросли

Рис. 6. Корреляция между изотопными составами углерода и величинами термодинамических изотопных факторов биомолекул липидной фракции одного из представителей морского зоопланктона — криля

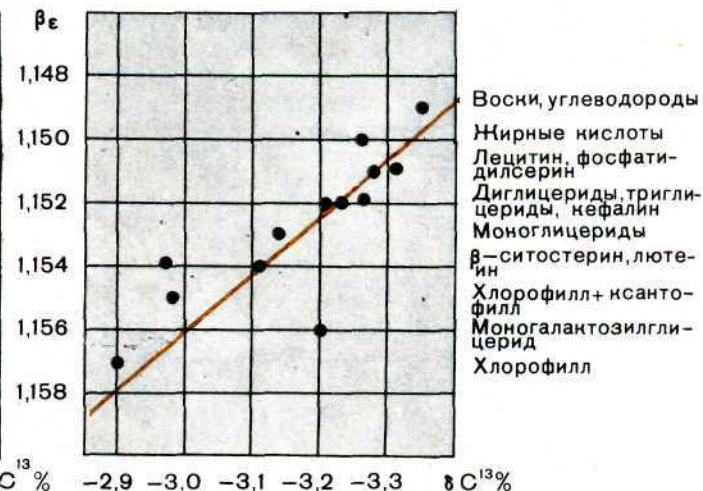
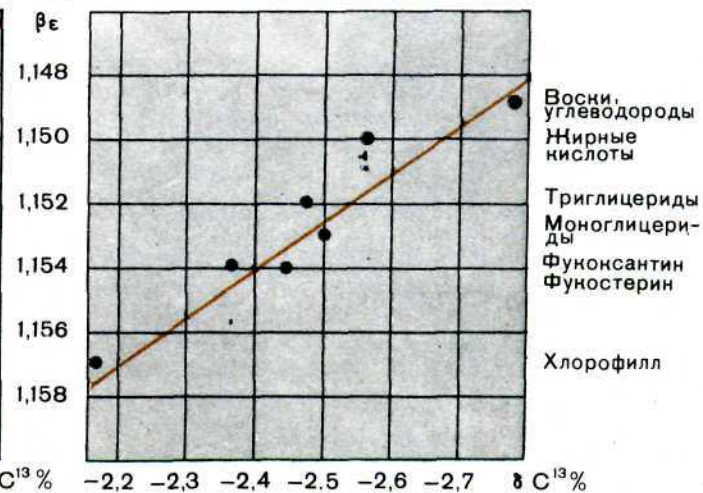
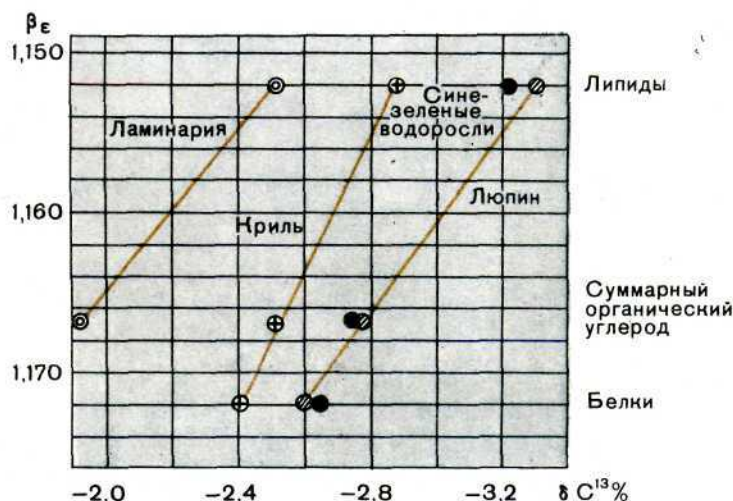


Рис. 7. Корреляция между изотопными составами углерода и величинами термодинамических изотопных факторов биомолекул липидной фракции морской водоросли ламинарии

Рис. 8. Корреляция между изотопными составами углерода и термодинамическими изотопными факторами биомолекул липидной фракции лугового растения люпина

Рис. 9. Корреляция между изотопными составами углерода и термодинамическими изотопными факторами липидов, белков и общего углерода ряда исследованных организмов



которую провел В. Г. Ширинский по выделению индивидуальных соединений, их идентификации и масс-спектрометрическому анализу изотопного состава, были получены зависимости, показанные на рис. 5—9.

Как видно из этих рисунков, для всех исследованных организмов по изученным соединениям наблюдается связь между величинами δC^{13} и β_{Σ} с высокими коэффициентами корреляции (от +0,87 до +0,95).

Хотя число исследованных соединений все еще остается ограниченным, очевидно, что это явление имеет не случайный и частный характер. Поскольку упорядоченное распределение изотопов проявляется независимо от видовой и экологической принадлежности организма, его следует отнести к свойствам биологических систем вообще. Надо полагать также, что упорядоченное распределение изотопов в биомолекулах связано именно с механизмом биосинтеза, поскольку охватывает соединения, весьма различные по своей биохимической природе.

б) Внутримолекулярные изотопные эффекты в биомолекулах. Тот факт, что распределение изотопов углерода в биомолекулах контролируется соотношением β -факторов, свидетельствует о том, что фракционирование изотопов в биологических системах в значительной степени имеет термодинамическую природу.

Если это так, то упорядоченное распределение изотопов должно иметь место не только на межмолекулярном, но и на внутримолекулярном уровне. В самом деле, термодинамический изотопный фактор, относящийся к соединению как целому (β_{Σ}), определяется через величину β_i -факторов (формула (2)). Поэтому если изотопные эффекты в биологических системах упорядочены термодинамически, то определенная корреляция должна существовать не только между β_{Σ} -фактором и величиной δC^{13} соединения в целом, но и между величинами β_i -факторов и изотопными составами углерода в разных положениях внутри данной молекулы.

Еще в 1960 г. американские исследователи Абельсон и Хоринг, изучая изотопный состав аминокислот, обнаружили, что карбоксильные группы аминокислот резко обогащены изотопом C^{13} . Теперь это стало понятным. Углерод карбоксильных групп обладает одним из наиболее высоких значений β_i -факторов (величины β_i -факторов ряда структурных групп приведены в табл. 2). Поэтому карбоксильная группа действительно должна содержать наиболее изотопически тяжелый углерод.

В ГЕОХИ АН СССР были предприняты целенаправленные экспериментальные исследования внутримолекулярных изотопных эффектов углерода.

Сложную работу по выделению органических соединений и анализу внутримолекулярного распределения изотопов углерода провели Л. А. Кодина и В. Н. Генералова.

Таблица 2. Термодинамические изотопные факторы углерода структурных групп (без поправок на дальнее окружение) для 300К

Структурная группа	β_i -фактор
Метильная —CH ₃	1,131
Метоксильная —OCH ₃	1,147
Формильная —CHO	1,170
Кето —CO—	1,187
Карбоксильная —COOH	1,197

Принципиальное значение имела проверка внутримолекулярного изотопного эффекта на метоксильной группе (—OCH₃). Метоксильная группа является кислородсодержащей, так же как карбоксильная. Но в отличие от последней она обладает относительно низким значением β_i -фактора ($\beta_i = 1,147$). Поэтому в противоположность карбоксильной группе углерод метоксильной группы должен быть изотопически относительно легким, если верна общая концепция термодинамического упорядочения внутримолекулярных изотопных эффектов. В результате исследования ряда ароматических альдегидов — производных фенилпропановых мономеров лигнина, выделенных из растений, было установлено, что углерод метоксильной группы действительно во всех случаях обеднен изотопом C^{13} по сравнению с углеродом ароматического кольца.

Итак, внутримолекулярное распределение изотопов углерода обнаруживает упорядоченность того же типа, что и межмолекулярное. В обоих случаях мерой упорядоченности служит соответствие изотопных составов величинам термодинамических изотопных факторов. Умея определять величины термодинамических изотопных факторов, мы можем представить распределение изотопов углерода как в различных компонентах живого организма, так и внутри отдельной молекулы. Пример — схема распределения изотопов в сложной молекуле хлорофилла на рис. 10.

Из сказанного не должно создаться впечатление, что термодинамические изотопные эффекты — единственная причина фракционирования изотопов в биологических системах и что распределение изотопов в биомолекулах полностью детерминировано на этой основе. Речь идет о принципиальной тенденции, на фоне которой возможны разнообразные вариации, обусловленные особенностями биосинтеза и условиями развития организма. Более того, именно отклонение от упорядоченного распределения, по-видимому, несет наибольшую информацию о характере данного конкретного процесса.

Изотопный обмен и биосинтез

Как уже говорилось, термодинамический характер упорядочения изотопов в биомолекулах — явление само по себе весьма нетривиальное. Напомним еще раз, что реальное распределение изотопов отвечает β -факторам молекул,

Рис. 10. Внутримолекулярное распределение изотопов углерода в хлорофилле (по β -факторам). Величина кругов означает то же, что на рис. 2

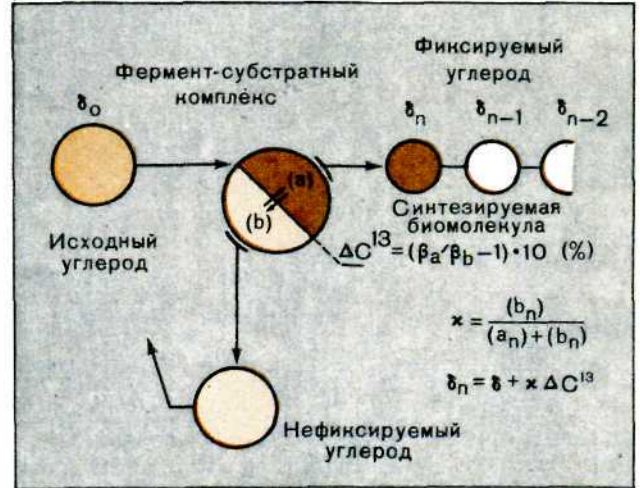
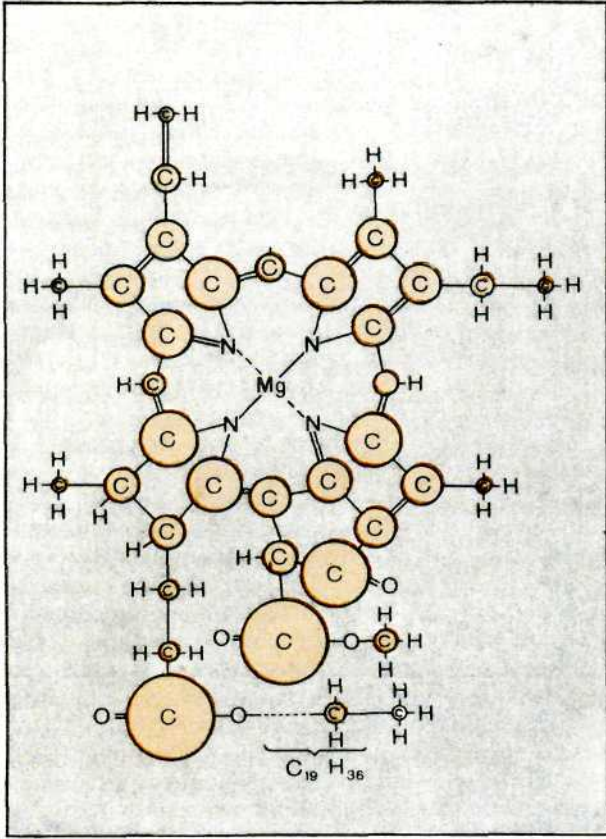


Рис. 11. Предполагаемая схема фракционирования изотопов углерода в процессе контролируемого ферментом синтеза биомолекулы. В фермент-субстратном комплексе (большой круг) осуществляется быстрый изотопный обмен (стрелки). Исходный углерод, вовлеченный в комплекс, лишь частично фиксируется в биомолекуле (а), частично же сбрасывается в исходный субстрат (в). Доля последнего составляет величину x . Между углеродом, находящимся в структурной позиции для включения в биомолекулу (густой цвет) и в позиции для сбрасывания в исходный субстрат происходит разделение изотопов (ΔC^{13}), определяемое отношение соответствующих β -факторов. В конечном счете в биомолекуле фиксируется углерод, изотопный состав которого (δ_n) отличается от исходного (δ_0) на величину $\delta_n = \delta_0 + x \Delta C^{13}$. Густота цвета условно передает соответствующие изменения изотопного состава

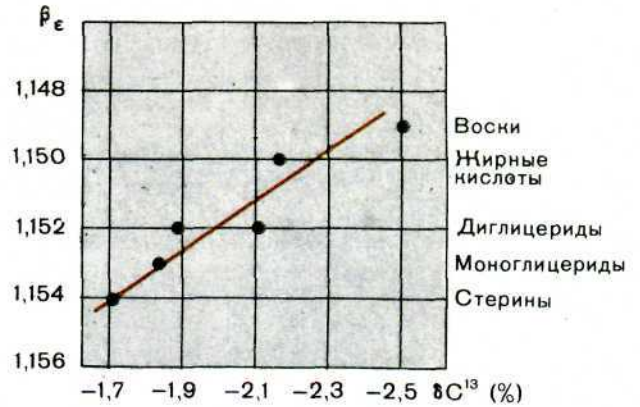


Рис. 12. Корреляция между изотопными составами углерода и величинами термодинамических изотопных факторов биомолекул различных частей липидной фракции кукурузы

когда между ними происходит изотопный обмен углерода, и что такой обмен между органическими соединениями в обычных химических системах практически не идет. Поэтому тот факт, что в организме мы все же наблюдаем распределение изотопов, связанное с термодинамическим эффектом, свидетельствует об уникальной способности биологических систем каким-то образом осуществлять быстрый изотопный обмен углерода.

С другой стороны, ясно, что изотопы углерода не могут обмениваться непосредственно между биомолекулами. В этом случае изотопному равновесию предшествовало бы химическое, чего нет в биологических системах. Кроме того, опыт работы с мечеными атомами, в частности с радиоуглеродом C^{14} показывает, что меченые атомы фиксируются во вполне определенных положениях биомолекул. Это было бы невозможно при наличии прямого изотопного обмена внутри или между молекулами.

Следовательно, осуществление изотопного обмена нужно отнести к моменту синтеза биомолекулы. Удовлетворительное объяснение получается, если предположить, что изотопный обмен происходит в фермент-субстратном комплексе на каждой элементарной стадии реакции биосинтеза, которая контролируется ферментом (рис. 11). Основанная на таком предположении модель непротиворечиво увязывает термодинамический характер внутримолекулярных изотопных эффектов с отсутствием изотопного обмена между биомолекулами и химической неравновесностью системы биомолекул. Больше того, количественный ее анализ показывает, что величина внутримолекулярного изотопного эффекта зависит от произведения двух величин: во-первых, от отношения β_i -факторов, что, собственно, и определяет термодинамический характер распределения изотопов, и, во-вторых, от того, какая доля углерода, мобилизованного в фермент-субстратный комплекс, фиксируется в конечном счете в биомолекуле. Эта доля выражается некоторой условной величиной, обозначаемой буквой α . В предельном случае, если углерод субстрата полностью включается в биомолекулу, величина $\alpha \approx 0$, термодинамические изотопные эффекты отсутствуют. При обычных же условиях по данным экспериментов $\alpha \approx 0,5$.

В последние годы было обнаружено, что так называемые C_4 -растения*, фиксирующие CO_2 посредством фосфоэнол пирувата (цикл Хетч-Слека — *Hetch-Slack*), изотопически тяжелее C_3 -

растений, фиксирующих углерод путем декарбонирования рибулозо-1:5-дифосфата (цикл Кальвина — *Calvin*). Отличительной особенностью первых является весьма эффективное усвоение атмосферной углекислоты. Можно предположить, что это как раз отвечает случаю, когда углерод субстрата полностью включается в биомолекулу. Тогда первичные продукты C_4 -фотосинтеза (малат, оксалоцетат, аспарагиновая кислота) должны мало отличаться по изотопному составу от исходной CO_2 ; т. е. они должны быть необычно изотопически тяжелыми (см. рис. 1). Это, в свою очередь, предопределяет относительную обедненность изотопом C^{12} углерода C_4 -растения в целом. Действительно, обогащенность изотопом C^{13} первичных продуктов фотосинтеза C_4 -растений была установлена экспериментальным путем.

Было интересно также проверить следующее. После образования в цикле Хетч-Слека трифосфоглицериновой кислоты дальнейшие пути биосинтеза C_4 - и C_3 -растений не отличаются. Поэтому, например, распределение изотопов углерода в соединениях последующей липидной фракции C_4 -растений должно иметь обычный характер, такой же, как и в исследованных C_3 -растениях. С целью проверки этого предположения в нашей лаборатории В. Г. Ширинским была выделена липидная фракция из кукурузы — типичного C_4 -растения и исследован изотопный состав углерода ряда его компонентов. Действительно, для липидной фракции наблюдается обычный тип корреляции между величинами β_{Σ} — и δC^{13} (рис. 12).

Таким образом, принятая модель пока объясняет и правильно предсказывает факты. Однако до понимания действительного механизма изотопного обмена, очевидно, далеко. Тем не менее здесь в перспективе открывается возможность изучения биохимических проблем в нескольких важных аспектах.

Прежде всего появляется новый подход к изучению путей биосинтеза и молекулярного механизма биосинтеза, поскольку, видимо, одни и те же факторы обеспечивают изотопный обмен в ферментсубстратном комплексе и собственно биокатализ.

Измерение биологических изотопных эффектов, по-видимому, может обеспечить некоторую интегральную характеристику состояния биохимических процессов в организме. Приспособление к неблагоприятным внешним условиям, сопровождающееся мобилизацией ресурсов организма, должно приводить к уменьшению величины биологических изотопных эффектов. В одном из экспериментов мы наблюдали, что бактерии, развитие которых угнетено, дают меньший изотопный эффект, чем быстро развивающиеся представители той же культуры.

Если изотопный обмен связан с интимным механизмом деятельности ферментов, то внутримолекулярное распределение изотопов должно

* По типу фотосинтеза растения можно разделить на две основные группы: в одной группе фотосинтетические превращения углерода идут по схеме М. Кальвина, начинаясь с трехуглеродных продуктов (C_3 -растения), а в другой — с четырехуглеродных продуктов (C_4 -растения). Первый тип фотосинтеза более древний. Подробнее об этом см. в статье А. А. Ничипоровича «Фотосинтез и «сумма жизни» на Земле», опубликованной в седьмом выпуске международного ежегодника «Будущее науки» (1974 г.). — Ред.

быть чувствительно к любым отклонениям процесса биосинтеза от нормы. Отсюда вытекают очевидные диагностические возможности, а также возможности изучения различного рода патологий.

Распознавание биогенных и абиогенных соединений

Многие органические соединения, присущие биологическим системам, могут быть синтезированы химически, без участия организмов. Так, могут быть абиогенно синтезированы как в лаборатории, так и в природе различные оксикислоты, аминокислоты и другие более сложные соединения. В химическом отношении они не отличимы от своих биогенных аналогов. Каким будет в них внутримолекулярное распределение изотопов?

Биологическая специфичность механизма термодинамически упорядоченного распределения изотопов углерода в биомолекулах предполагает, что в абиогенных органических соединениях такое упорядоченное распределение не должно иметь места.

С целью экспериментальной проверки этого положения мы провели исследование внутримолекулярного распределения изотопов углерода в ряде биологических соединений и их абиогенно синтезированных аналогах.

Исследовался ряд соединений, выделенных из живых организмов и содержащих одну и ту же группу — метоксильную ($-\text{OCH}_3$). Те же соединения были синтезированы в технических условиях. При этом метоксильная группа присоединялась путем обработки соответствующего фенольного предшественника диметилсульфатом, в свою очередь, полученным из метилового спирта.

Эксперимент состоял в том, что от каждого соединения отщеплялась его метоксильная группа и затем измерялся ее изотопный состав и изотопный состав углерода соединения в целом. Иначе говоря, все соединения сопоставлялись по величине внутримолекулярного изотопного эффекта на метоксильной группе.

Результаты этого опыта даны в табл. 3.

Оказалось, что в биогенных соединениях наблюдается небольшая разница в изотопном составе, приблизительно одинаковая для различных соединений в целом и их метоксильных групп, которая отвечает небольшому различию β_i -фактора OCH_3 -группы ($\beta_i = 1,141$, табл. 2) по сравнению с β_{Σ} -факторами соответствующих соединений. Последние составляют приблизительно 1,155—1,160.

В синтетических аналогах углерод метоксильной группы резко обогащен изотопом C^{12} , в существенно различной степени в отдельных соединениях и без всякой связи с величинами β -факторов. Исходный для углерода метоксильных групп синтетических соединений углерод метилового спирта имел $\delta\text{C}^{13} = -3,45\%$. Углерод OCH_3 -группы обогащен изотопом C^{12} сверх этой

величины. Вероятнее всего, это связано с кинетическим изотопным эффектом на метиловом спирте или диметилсульфате.

В общем случае в процессе абиогенного синтеза из кинетических соображений следует ожидать обогащения легким изотопом углерода структурной группы, присоединяемой к органической молекуле, в то время как в биомолекулах углерод любой структурной группы может быть как обогащен, так и обеднен легким изотопом в зависимости от соотношения величин термодинамических изотопных факторов (β_i -факторов) углеродных структур, входящих в состав молекулы.

Эта зависимость наглядно проявилась при сравнении биогенной и технической уксусной кислоты (CH_3COOH). Уксусная кислота содержит два атома углерода, в метильной и карбоксильной группах. Величина β_i -фактора метильной группы (1,131), как уже говорилось, значительно меньше, чем карбоксильной (1,197). (Напомним: большей величине этого фактора соответствует больший процент изотопа C^{13} .) Поэтому в биогенной уксусной кислоте в соответствии с принципом термодинамического упорядочения изотопов карбоксильный углерод должен быть изотопно тяжелее метильного.

Эксперимент подтвердил это предсказание. Измерения, проведенные американским исследователем Дж. Хейсом (J. Hayes) показали, что в уксусной кислоте, выделенной из яблочного сидра, карбоксильная группа приблизительно на 2% богаче изотопом C^{13} , чем метоксильная. Такой же результат был получен и в нашей лаборатории.

Совершенно противоположным оказалось внутримолекулярное распределение изотопов в технической уксусной кислоте. Ее получают путем окисления углеводородов, в частности этилена. В этом случае в карбоксильной группе оказалось больше изотопа C^{12} , чем в метильной. Причем степень обогащения была различной в зависимости от способа получения уксусной кислоты и варьировала от 0,1 до 2%. Обогащенность карбоксильной группы технической уксусной кислоты изотопом C^{12} объясняется здесь кинетическим изотопным эффектом, т. е. преимущественным реагированием C^{12} -углерода в процессе окисления.

Важно проверить, произойдет ли вообще какое-либо внутримолекулярное разделение изотопов в абиогенном соединении, если предотвратить кинетический изотопный эффект. С этой целью нами была синтезирована абиогенным путем аминокислота глицин ($\text{CH}_3\text{NH}_2\text{COOH}$).

Синтез производился из моноуглеродного соединения (CH_3NO_2) с тем, чтобы как карбоксильная, так и метильная группа глицина имела один и тот же углерод в качестве исходного. Путь синтеза был выбран таким образом, чтобы по возможности не возникло каких-либо кинетических преимуществ по отношению к разделению изото-

Таблица 3. Внутримолекулярное распределение изотопов углерода в биогенных соединениях и их синтетических аналогах

Название	Структура	Разница в изотопном составе соединения в целом и его метоксильной группы:	
		$C_{OCH_3}^{13} - \delta C^{13}$	В целом
		Синтетическое соединение	Биогенное соединение
Транс-анетол		-3,65	-0,29
Изо-эвгенол		-2,20	-0,32
Ванилин		-1,54	-0,28
Анисовая кислота		-6,26	

пов в процессе синтеза одной из углеродных структур.

Когда полученная в конечном счете аминокислота была проанализирована, оказалось, что изотопный состав углерода обеих ее структурных групп идентичен. Отсюда можно заключить, что в отсутствии кинетического изотопного эффекта распределение изотопов углерода в абиогенном соединении равновероятно, поскольку изотопный обмен и, следовательно, термодинамический изотопный эффект отсутствуют.

Итак, выявляется принципиальное различие во внутримолекулярном распределении изотопов углерода в биологических и абиогенно синтезированных органических соединениях. В первом случае имеется тенденция к упорядоченному распределению изотопов в соответствии с величинами термодинамических изотопных факторов. Во втором случае изотопные эффекты не упорядочены по величине и знаку. Они зависят от частных условий и способа синтеза данного соединения.

Отсюда возникает практически ценный метод распознавания природы органических соединений.

В горных породах часто встречаются органические соединения, происхождение которых вызывает споры. Особенно это касается органических соединений, обнаруживаемых в магматических породах, гидротермах, вулканических пеплах. От того, являются ли они биогенными или абиогенными, зависит правильное понимание существа важных геологических процессов. С проблемой установления происхождения органического вещества исследователи встречаются также при попытках установить геологическую границу возникновения жизни в наиболее древних осадочных отложениях. Достаточно сложные органические соединения встречены в метеоритах, особенно в одной из разновидностей каменных метеоритов — углистых хондритах. Наконец, мы должны быть готовы к тому, чтобы распознавать при помощи аналитических методов следы внеземных форм жизни.

Известные до сих пор признаки отличия органических соединений биологического и небиологического происхождения (оптическая активность, характерные структуры) недостаточно устойчивы и однозначны.

Использование в качестве диагностического критерия внутримолекулярного распределения

Петербург. О происхождении алмаза имеются лишь одни смутные догадки. Он образовался, вероятно, среди первобытных пород, но его находят исключительно среди наносных камней и в речном песке новейшего образования. Поэтому нет возможности определить, каким путем образовался алмаз: сухим, мокрым или органическим. Делались даже опыты плавить углерод, но это не удавалось и при сильнейшей жаре, которой только можно достигнуть. Так как жидкая углекислота растворяет углерод в избытке, то думали, что можно получать алмазы при испарении такого раствора. Наконец, известнейший химик нашего времени Либих даже предполагал, что алмазы — продукты гниения, это было бы удивительнейшим актом творчества природы, если бы продуктом смерти и разложения являлся как феникс ярко блистающий алмаз. Но все это лишь предположения. Природа еще бережет здесь про себя свою тайну, но, конечно, лишь временно.

«Кругозор», №6, 1877 г.

СВЯТО АЗУРА
НАЗАР

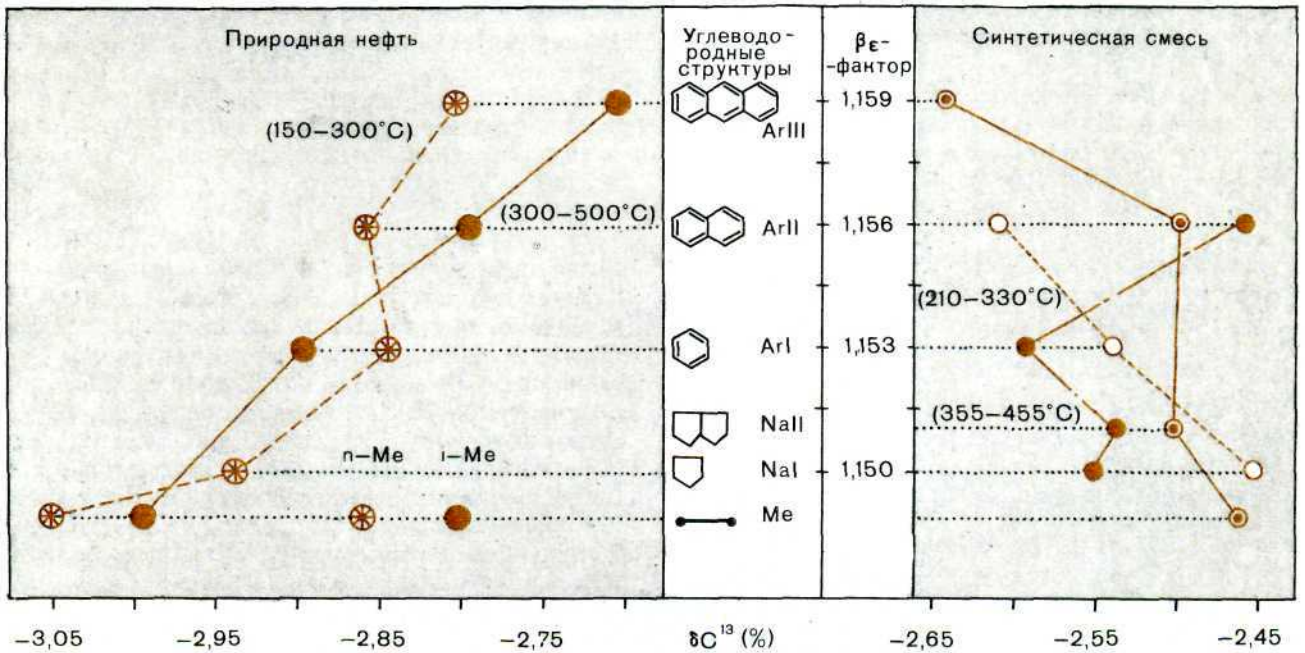


Рис. 13. Сопоставления зависимостей типа $\delta C^{13} - \beta_E$ для углеводородов природной нефти (левая часть) и углеводородной смеси, полученной синтетически в процессе термокатализа олеиновой кислоты ($T = 200^\circ C$, катализатор Al_2O_3). Обозначения: n-Me — нормальные парафиновые углеводороды; i-Me — изопарафиновые углеводороды; NaI — нафтеновые моноциклические углеводороды; NaII — нафтеновые бициклические углеводороды; ArI — ароматические моноциклические углеводороды; ArII — ароматические бициклические углеводороды; ArIII — ароматические полициклические углеводороды. В скобках указан температурный интервал выкипания углеводородной фракции, служащий характеристикой ее молекулярного веса

изотопов имеет два существенных преимущества:

во-первых, из геохимии и химии изотопов углерода известно, что изотопный состав может сохраняться при глубоких превращениях вещества, когда первоначальный химический облик соединения бывает в значительной степени утрачен;

во-вторых, упорядоченное внутримолекулярное распределение изотопов принципиально свойственно всем биомолекулам независимо от их состава, стереохимии и т. п.

Поэтому внутримолекулярное распределение изотопов представляется наиболее универсальным признаком, который может быть положен в основу распознавания биологических и небιологических соединений.

Происхождение нефти

Если в биохимическом аспекте наиболее интересные возможности использования явления термодинамически упорядоченного распределения изотопов в биомолекулах связаны с решением вопроса о причинах и механизме этого эффекта,

то для большинства геохимических применений важен сам факт упорядоченного распределения изотопов независимо от того, как мы его можем объяснить. Этот факт означает, что каждое биогенное соединение имеет свою характерную метку — своеобразный внутренний рисунок распределения изотопов углерода. Этот «рисунок» сохраняется и тогда, когда организм отмирает и биогенная молекула, попавшая в среду осадка, изменяясь в ходе геологического времени, постепенно теряет черты своего первоначального химического облика.

Так, углеводородные молекулы нефти уже совсем не похожи на те биомолекулы, которые явились их предшественниками. Поэтому геохимики затрудняются определить — и это одна из основных проблем органической геохимии, — как произошло данное органическое соединение, встреченное в горных породах, из каких предшествующих соединений, каков был путь его химической эволюции. Но будучи снабжено, как мы теперь знаем, меткой упорядоченного внутримолекулярного распределения изотопов углерода, оно становится принципиально идентифицируемым вплоть до конкретной исходной биомолекулы.

Проблема происхождения нефти по традиции включает вопрос о том, является ли нефть результатом преобразования органических остатков или углеводороды нефти синтезированы в эндогенных условиях (неорганическая гипотеза происхождения нефти). Если нефть органического происхождения, то вопрос заключается в том, образовались ли различные классы углеводородов (парафиновые, нафтеновые, ароматические) из общего исходного материала или они имели в качестве предшественников различные биохими-

ческие компоненты (унаследованный характер углеводородных структур). С точки зрения понимания условий нефтеобразования, важно знать, каково соотношение в разных образцах нефти унаследованных и новообразованных структур.

Очевидно, что по «рисунку» внутримолекулярного распределения изотопов углерода в различных ископаемых органических соединениях принципиально можно определить исходные биогенные соединения и раскрыть подробности эволюции органического вещества в породах, в том числе процесса нефтеобразования.

Пока еще нет экспериментальных данных по внутримолекулярному распределению изотопов углерода в углеводородах и других ископаемых органических соединениях. Подобные исследования сопряжены с известными экспериментальными трудностями.

Однако можно использовать более простой подход. Явление упорядоченного распределения изотопов позволяет сформулировать следующий принцип: если имеется соответствие между изотопными составами углеводородов и характеризующими их β_{Σ} -факторами, то это свидетельствует о биологическом происхождении и одновременно об унаследованности данных углеводородных структур от соответствующих структурных форм биомолекул. Если такого соответствия нет, то данные углеводородные структуры следует рассматривать как новообразования.

Этот подход был положен в основу соответствующих экспериментов. Из образца природной нефти одного из месторождений Советского Союза (Краснокамского) был выделен ряд фракций углеводородов, отличающихся по молекулярному весу (т. е. выкипающих при различном интервале температур). Из этих фракций извлекались нормальные парафиновые, изопарафиновые, нафтеновые и ароматические углеводороды разной степени цикличности. Изотопный состав их углерода измерялся на масс-спектрометре. Затем измеренные величины δC^{13} сопоставлялись с вычисленными значениями β_{Σ} -факторов (рис. 13).

С другой стороны, был изучен изотопный состав углерода углеводородных фракций, полученных синтетически, путем термокатализа при 200°C. Источником для всех углеводородов в этом случае служило одно исходное соединение — олеиновая кислота (результаты представлены в правой части рис. 13).

Можно сделать ряд полезных и важных геохимических выводов, интерпретируя результаты экспериментов в рамках концепции внутримолекулярных изотопных эффектов.

Для углеводородов природной нефти в целом наблюдается корреляция между величинами δC^{13} и β_{Σ} того же типа, что и в биомолекулах. В синтетических углеводородах подобная связь отсутствует. Это указывает на органическое происхождение нефти. Наличие корреляции свидетельствует также об унаследованном характере по

крайней мере части углеводородных структур нефти.

Изопарафиновые углеводороды в обеих фракциях природной нефти выпадают из зависимости $\delta C^{13} - \beta$. Следовательно, они представляют собой в соответствии с принципом, сформулированным выше, новообразования. Действительно, их тип строения, исключая так называемые изопреноиды, не свойствен биомолекулам.

Условия образования природного газа

Важнейший компонент природного газа — метан (CH_4). Он образуется в результате распада органических соединений. Существует определенная последовательность отщепления структур, за счет которых может образовываться метан. Сначала, на ранних стадиях преобразования органического вещества, CH_4 образуется преимущественно за счет богатых водородом структур, т. е. CH_3 -групп. По мере того как CH_3 -группы исчерпываются, наступает очередь CH_2 -группы, CH -групп и т. д.

Поскольку углерод этих структурных групп характеризуется разными β_i -факторами ($\beta_{CH_3} \sim 1,130$, $\beta_{CH_2} \sim 1,150$, $\beta_{CH} \sim 1,168$), то метан на разных стадиях преобразования органического вещества должен обладать разным изотопным составом.

Довольно наглядно это можно представить на примере фрагментации молекулы хлорофилла, изображенной на рис. 10. Сначала отщепляются изотопически легкие периферийные CH_3 -группы, потом находящиеся более глубоко в структуре молекулы и в то же время изотопически более тяжелые CH_2 - и CH -группы.

Скорость преобразования органического вещества в недрах зависит от разных причин. Но в целом чем глубже захоронено органическое вещество в толще осадочных пород, тем оно более преобразовано.

Уже давно было установлено, что углерод метана в осадочных отложениях изотопически значительно легче углерода органического вещества. С глубиной эта разница уменьшается, т. е. чем глубже находится залежь, тем, как правило, более изотопически тяжелый метан она содержит (см. рис. 1).

Объяснение было такое. Метан изотопически легче органического вещества потому, что связь $C^{12} - C^{12}$ рвется быстрее, чем связь $C^{12} - C^{13}$. Иначе говоря, вследствие кинетического изотопного эффекта. Кинетический изотопный эффект зависит от температуры. Он уменьшается с увеличением температуры. А температура в недрах нарастает с глубиной. В этом причина зависимости изотопного состава метана от глубины, увеличения содержания C^{12} .

Такое объяснение было дано в книге автора «Геохимия стабильных изотопов углерода» в 1968 г. В этом же году американский исследователь У. Саккет (W. Sackett, 1968) указал на

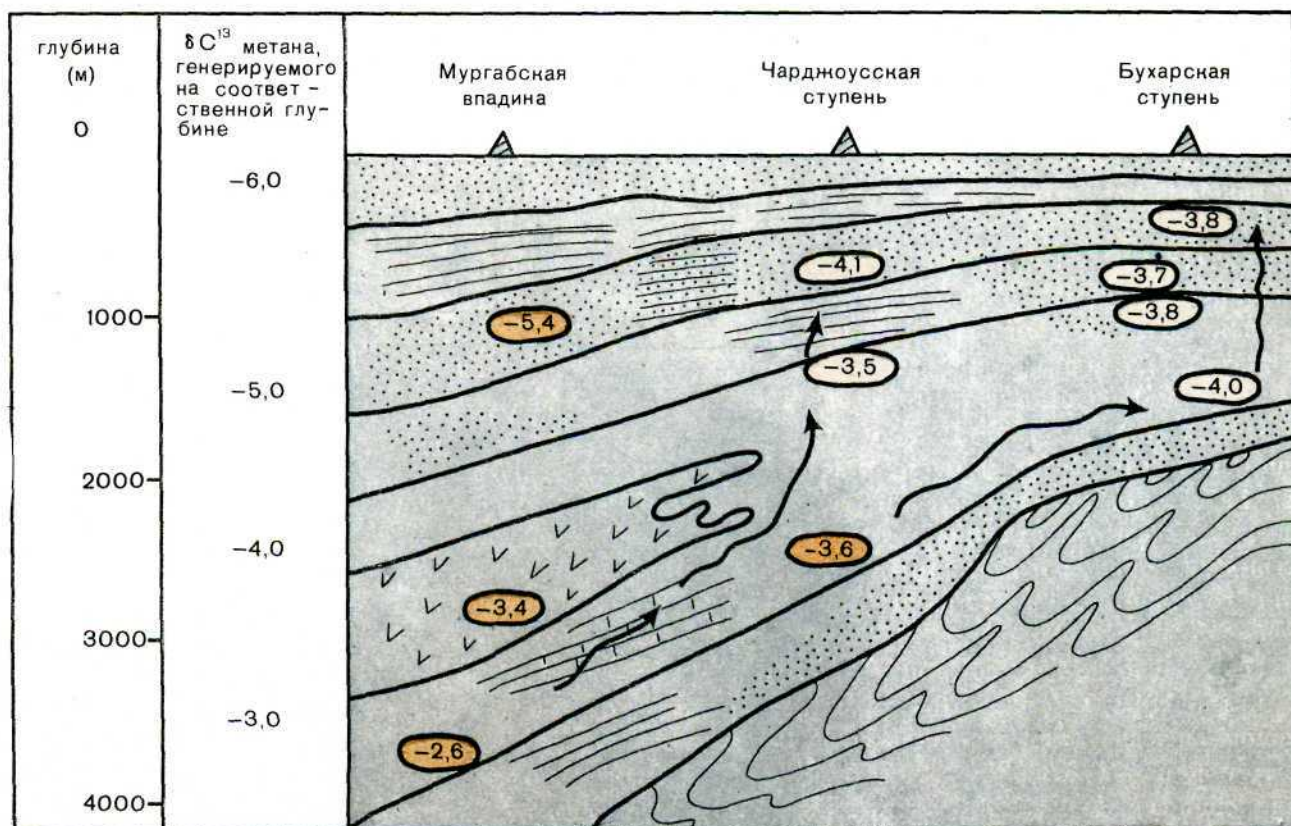


Рис. 14. Схема формирования газовых залежей Мургабской впадины на основе применения концепции внутримолекулярных изотопных эффектов к данным изотопного анализа углерода природных газов на этой территории

существование той же зависимости и точно так же объяснил ее.

Но потом выяснилось, что в тех случаях, когда метан присутствует в ассоциации с очень глубоко преобразованным органическим веществом (антрацитовым углем) или на большой глубине, изотопный состав углерода может почти не отличаться от углерода органического вещества или даже может быть изотопически тяжелее его. Кинетическим изотопным эффектом этого объяснить нельзя. Он всегда приводит к обогащению продукта легким изотопом.

Концепция внутримолекулярных изотопных эффектов позволила объяснить всю совокупность фактов. Обогащенность метана легким изотопом обусловлена тем, что этот газ образуется вообще за счет наиболее изотопически легких структурных групп органического вещества. Переход газогенерирующей роли от CH_3 -групп на ранней стадии к изотопически более тяжелым структурным группам на более поздних стадиях преобразования органического вещества объясняет наблюдаемую зависимость изотопного состава углерода метана от глубины его залегания. Таково новое объяснение. На самых поздних стадиях этого процесса углерод метана по изотоп-

ному составу может не отличаться или даже быть тяжелее исходного органического вещества. Заметим, что β_{Σ} -фактор органического вещества в целом можно охарактеризовать приблизительно величиной $\beta_{\Sigma} = 1,165$.

Таким образом, изотопный состав углерода метана оказался в тесной связи с историей преобразования исходного органического вещества. Практически изотопный состав метана зависит и от химического состава органического вещества, и от температуры, и от ряда других факторов, определяющих условия его генерации и залегания в недрах. Но применение концепции упорядоченного внутримолекулярного распределения изотопов в биомолекулах к проблеме происхождения метана и других углеводородов создало основу, на которой уже гораздо легче разобраться в разных сторонах геохимии природных газов.

Миграция газа

Следует упомянуть еще об одной проблеме, возможность решения которой открылась вслед за пониманием причин, определяющих изотопный состав метана.

Для геологов-нефтяников, занимающихся исследованием условий формирования залежей, всегда очень важно определить, образовались ли углеводороды в непосредственной близости от района скопления залежей или они мигрировали

издалека. Это сложный вопрос, требующий обычно глубокого анализа всей геологической обстановки. Тем не менее далеко не всегда удастся на него ответить. А ответить важно потому, что от этого зависят дальнейшее направление геолого-поисковых работ на данной территории, оценка перспективных запасов и многое другое.

Сказанное выше относительно зависимости изотопного состава метана от степени преобразования органического вещества позволяет выработать критерий для такой оценки. Сущность его поясним на примере крупной газоносной провинции в Средней Азии, где он был нами практически применен.

На рис. 14, представляющем собой схематический разрез толщи осадочных пород этой территории, овалами обведены измеренные на масс-спектрометре значения изотопного состава метана газовых залежей, находящихся в отложениях разного геологического возраста. На шкале слева указаны величины δC^{13} , которые теоретически соответствуют той степени преобразования органического вещества, которая возможна на соответствующей глубине.

Если реальный изотопный состав метана газовых залежей находится в диапазоне значений δC^{13} , отвечающих степени преобразования органического вещества на этой глубине, то можно допустить, что метан образовался в пространственной близости от места его скопления (заштрихованные овалы). Если же изотопный состав метана не соответствует степени преоб-

разования органического вещества в соответствующих отложениях, то следует сделать вывод, что газ мигрировал со стороны (заштрихованные овалы).

В данном случае очевидно, что газовые залежи Чарджоуской и Бухарской ступеней (в том числе одно из богатейших месторождений в Советском Союзе — Газли на Бухарской ступени) образовались за счет притока газа из более погруженных отложений Мургабской впадины.

Отсюда следуют соответствующие рекомендации в отношении направления геологоразведочных работ на этой территории.

Можно было бы привести и другие примеры геологических и биологических задач, которые принципиально поддаются решению на основе использования явления термодинамически упорядоченного внутримолекулярного распределения изотопов углерода в биологических системах. Но дело не в отдельных примерах. Главное, на наш взгляд, заключается в том, что возникает новый подход к изучению разнообразного круга явлений, так или иначе связанных с деятельностью живого, касается ли это процессов, происходящих в самом живом организме или в неживой природе.

В заключение следует сказать, что, по-видимому, не только изотопы углерода, но и изотопы других элементов, входящих в состав живых организмов, например O, S, N, испытывают тенденцию к термодинамически упорядоченному распределению в биомолекулах. Доказательства этого уже имеются.