

微量な試料の同位体比を測定する

小 川 奈々子

（海洋研究開発機構）

1. 自然の中の小さな元素

自然とは、物質科学的に見れば、微量な粒子、多様な化合物、微生物などといった目に見えない小さな物質が多数集まった複雑な混合物ということができます。個々の物質は往々にして異なる起源をもち、異なるプロセスを経てそこにあるものとも言えるでしょう。そんな自然を同位体比によって理解する方法は広く利用されていますが、研究の目的によっては、複雑な自然の物質を「そのまま」測定するのではなく、あらかじめ個々の物質に分けてからそれぞれの同位体比を求めるほうが望ましい場合もあります。しかしそういった研究を行おうとすると、物質をいかにして分けるかということと同時に、いかに微量・微量な物質の同位体比を正確に測定するかという問題にも直面します。自然の中のほんの小さな画分を測ろうとするわけですから、これは当然のことです。

炭素・窒素・硫黄といった軽元素の安定同位体比の測定は、多くの場合、同位体比質量分析計（IRMS）と呼ばれる装置で行われます。この同位体比質量分析計の基本設計は 20 世紀前半に確立されました。試料は固体でも液体でもよいのですが、炭素同位体比なら二酸化炭素（ CO_2 ）、窒素同位体比なら窒素ガス（ N_2 ）、硫黄同位体比なら二酸化硫黄（ SO_2 ）の形に変えてから質量分析計のイオン源に導入します。イオン化されたそれらの気体は磁場を経由するときに同位体（質量数）に応じた軌跡を通るので、これを質量数に応じた複数の検出器で計数して測定します。これらの気体を同位体比質量分析計のイオン源へ導入する方法には、様々なものがありますが、現在、軽元素の同位体比を用いた環境学の研究で最も広く用いられている方法の一つが、元素分析計（EA）を

前処理装置としてオンライン（連続フロー式）で質量分析計につなげて使用する方法です。この方法は、元素分析計／同位体比質量分析計（EA/IRMS, Elemental Analyzer/Isotope-Ratio Mass Spectrometry）と呼ばれます。この方法では、真空にしたガラスラインで試料ガスを単離精製してから、改めて拡散によってイオン源に導入するオフライン法（デュアル・インレット法）に比べ、前処理の手間や測定までの時間が大幅に短縮されます。このため 1990 年代に EA/IRMS が市販されるようになると急速に広がり、標準的な同位体比測定法として研究者の間で受け入れられました。

筆者の研究室では、この EA/IRMS システムをさらに改造して、市販のものに比べて非常に少ない試料からでも同位体比を測定できるよう工夫してきました。少ない試料に含まれる元素量（炭素や窒素の量）を知りたい、それらの同位体比を測定したい、また、測定で消費する試料はなるべく少なく済ませたいという要望はしばしば筆者の耳にも届きます。以下では、そうした「微量で同位体比を測定する方法」について紹介します。

2. 装置を微量用に改造する

図 1 に EA/IRMS の原理を示してあります。固体や液体の試料はスズなどのカプセルに包んでおき、オートサンプラーで EA の酸化炉に導入されます。そこで試料は高温で酸素と反応して燃焼酸化し、試料中に含まれている炭素は CO_2 に、窒素は窒素酸化物に、硫黄は SO_2 に変化します。還元管では燃焼で生じた窒素酸化物を N_2 に還元し、さらにその後、燃焼によって生じる水を吸湿性のある物質で除去します。その後、EA に内蔵されているガスクロマトグラフィー（GC）で

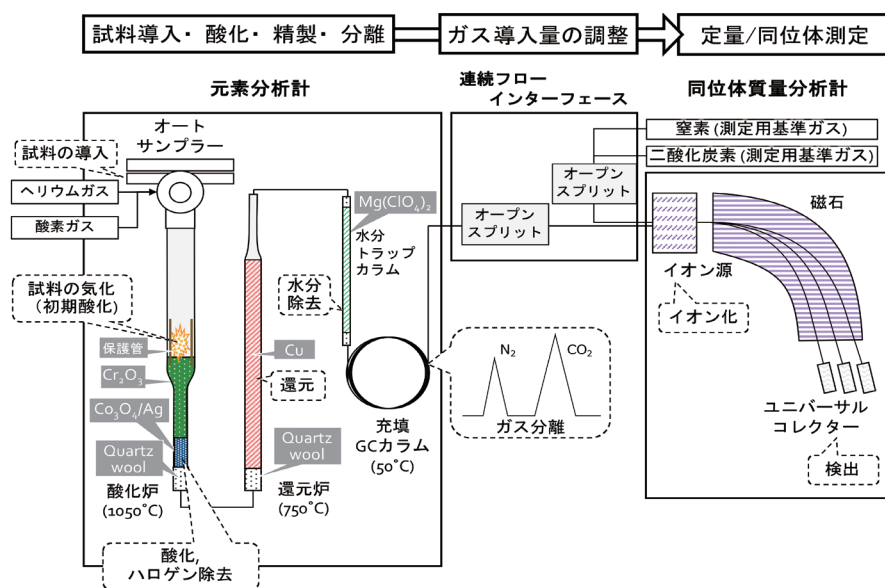


図1. 元素分析計／同位体比質量分析計（EA/IRMS）システムの仕組み

元素分析計で試料の気化から精製と分離までを担い、インターフェースを通して検出器である同位体比質量分析計に導入するシステムです。図中の酸化炉と還元炉は微量化したあとのシステムのものを示してあります。

N_2 、 CO_2 、 SO_2 を個々のピークに分離します。分離されたガスは順次キャリアガスであるヘリウムの流れに乗って、IRMSのイオン源へと導入され、各元素の同位体比が測定されます。市販の装置はメーカーや型式によっていくらか異なるものの、普通は $<0.3\%$ の精度をもって同位体比を測定するのに、炭素では $20\text{ }\mu\text{gC}$ （マイクログラム炭素）、窒素は $50\text{ }\mu\text{gN}$ 、硫黄では $60\text{ }\mu\text{gS}$ 程度がそれぞれ必要とされます。

こうした測定の必要下限値を小さくするためには、燃焼管および還元管を図2に示したような異径管に変えることが有効です。具体的には、燃焼管はふつう外径18mm（内径14mm）の同径管を用いるところを、下部を外径12mmあるいは10mm（内径は8mmおよび6mm）に絞った異径管を用います。また還元管も外径を12mmまたは10mm（内径8mmおよび6mm）に絞ったものを用います。こうすることによって、クロマトグラム上の各ガスのピーク形状が改善され（相対的に細く高いピークになる）、測定感度が向上します。このような改良を加えるだけで、通常の $1/20 \sim 1/50$ の試料量で同位体比が分析できるようになります（図3）。これらの異径管は既に製

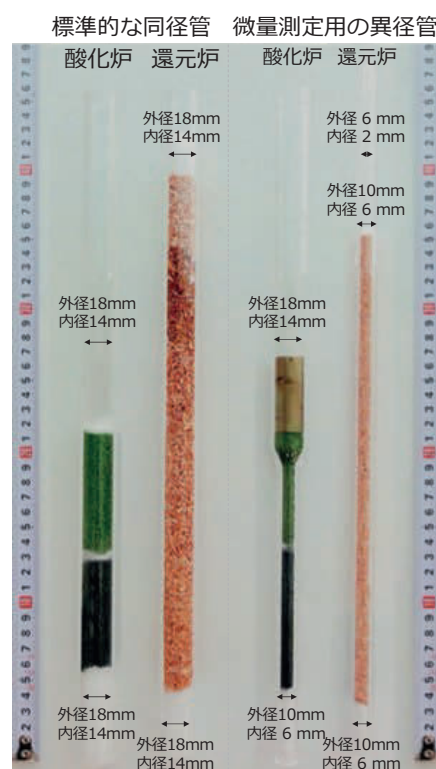


図2. 標準的に用いられる同径の酸化管・還元管と、微量測定用に用いられる異径の管の比較

元素分析計に導入された試料は、初期酸化の反応で一気に大量の水蒸気を含むガスとなります。このため試料導入直後には反応管は太いままにして十分なスペースを確保しておきます。一度気体になった試料は、クロマトグラフィー的に最適化された細い流路を通り、より濃縮された形で同位体質量分析計まで導かれます。

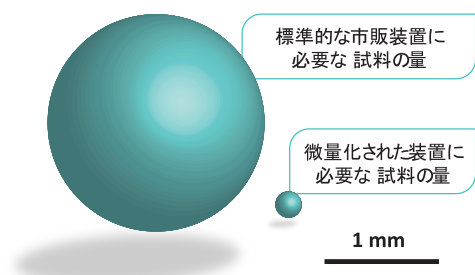


図 3. 標準的な装置と微量化された装置で必要な試料の量の比較

炭素 20%密度 1 の球状の有機物と仮定すると、それぞれ半径 0.94mm と 0.11mm のサイズになる。

品として市販されています。

窒素同位体比の場合は、大気窒素 (N_2) の混入を防ぐことは非常に重要です。したがって、あらゆる継ぎ目でのリークチェックは重要な手続きになります。また筆者の研究室では、EA と IRMS のインターフェース部でオープン・スプリットからイオン源までのキャピラリー・カラムを市販のものより少し太く短くして、イオン源へのガスの導入量を意図的に増やしています。これはイオン源の真空度を下げることにもなるので、注意深く行う必要があります。

このような改良を通して、筆者の研究室では最も微量な場合では、炭素同位体比は $0.5 \mu\text{gC}$ 、窒素同位体比は $0.08 \mu\text{gN}$ 、硫黄同位体比は $1.5 \mu\text{gS}$ 、と市販装置での場合と比べて 2-3 桁少ない量で測定出来るように装置を調整しています。

3. 微量化することの長所と短所

この微量化はさまざまな長所を持っています。その一つは当然ながら、ほんの少しの試料で測定できることです。たとえば土壌の中の特定の粒子や化合物、生き物の各器官など小さな試料、もともと目的となる生元素の含有量の少ない環境試料（たとえば、樹木のリグニン中の窒素、化石の中の有機物、隕石など）などの同位体比がうまくいけば測定できるようになります。同位体比分析のように、測定すると元の試料が無くなってしまふ分析を破壊分析と呼ぶのですが、こうした破壊分析で使う試料の量が少なくてすむことは、貴重な

試料の場合、その毀損を最小限に抑えることに繋がります。量が少なくて測定できることはとても重要な条件になるのです。そういったことだけではありません。元素濃度が低い試料などでは、必然的に EA に導入する試料量が多くなるため、今度は燃焼管内での燃焼効率が悪くなり、測定がうまくいかないことがあります。微量化により導入する試料量を減らすことができれば、このような燃焼効率の問題を防ぐこともできます。また酸化炉や還元炉に充填する高価な反応試薬（酸化クロム、酸化銀コバルト、酸化タングステン、還元銅など）の使用量が減ると測定のコストも下がります。IRMS にとっても、導入される試料ガスが少ないことは負担が小さくなり、メンテナンスの頻度を減らすことにつながります。

一方、長所と同時に、微量化することによる短所もあります。例えば、窒素の場合では配管のつなぎ目などからのほんの少しの漏れ、炭素の場合では測定時に試料を包むカプセルのスズに含まれる炭素というように、「これまで見ていなかった（無視できた）バックグラウンド」が顕在化して分析に干渉してきます。特にスズカプセルは精製時にスズに微量な炭素が含まれるため取り除くことが難しく、試料が微量になるほどその分の補正が必要になります。また、小さな試料を計るため今までよりも下の桁まで秤量できる天秤が必要になりますし、逆に大きな量の試料が測定しにくくなることもあります。同位体比測定では、比較のために標準物質も同時に測定しなければなりません、あまり小さくなると小さな粒子同士の間での同位体比の違いまで見えてくることもあります。そのような場合は、固体標品をいったん溶媒に溶かして均質化する必要があります。

このように長所と短所がありますが、うまく見極めて目的に合わせて使い分けことが出来れば、より多様な試料について、微量で正確な同位体比測定ができます。

筆者らが開発した方法は、パーツをその時々に合わせて組み替えるだけで、時に応じて簡単に微

量化できるものです。いくつかの研究室では実際に部分的な改造による微量化を汎用測定にも活用しています。皆さんも是非お試しください。

文献

Ogawa NO, Nagata T, Kitazato H, Ohkouchi N (2010) Ultra-sensitive elemental analyzer/isotope ratio mass spectrometer for stable nitrogen and carbon isotopic analyses. in *Earth, Life, and Isotopes* (Eds. Ohkouchi N, Tayasu I, Koba K), Kyoto University Press, p. 339-353.

小川奈々子、王曉水、篠原宏文、大河内直彦 (2013) 「安定同位体比精密測定のためのマニュアル」(財) 日本分析センター

木庭啓介、木下桂、大西雄二、福島慶太郎、尾坂兼一、松尾奈緒子、舟川一穂、瀬古祐吾、目戸綾乃、平澤理世、小川奈々子、兵藤不二夫、由水千景 (2021) 元素分析計連結型安定同位体比質量分析計の簡易改造による微量試料炭

素窒素安定同位体比測定. RADIOISOTOPES, 70 : 291-299.

<https://doi.org/10.3769/radioisotopes.70.291>

微量同位体比分析用パーツの販売情報

<http://www.koshin-rs.co.jp/products/>

著者情報



小川奈々子 (海洋研究開発機構生物地球化学センター 生元素動態研究グループ グループリーダー) 東京農工大学農学部環境保護学科で土壌水界環境学を専攻後、京大大学生態学研究センターで博士。水と生物が好きで、有機汚染物質

や有機物の安定同位体比を軸に堆積物や生物標本を使って近過去の水界環境と生態系変動の復元研究をしてきました。ウッズホール海洋研究所を経て海洋研究開発機構に着任後は「大切なものは目に見えない」をモットーに、微量同位体分析技術の改良に着手。深海から宇宙まであらゆる環境の試料を対象に研究を楽しんでいます。

(2022 年 3 月 31 日掲載)