

安定同位体比質量分析の基礎

炭素や窒素などの軽元素安定同位体比分析は、自動前処理装置の進化にともなってその利便性が大きく向上した。しかし分析の自動化によって装置の内部が見えにくくなり、機器を適切に維持・管理できる人材の確保や、データの信頼性確保が課題となりつつある。本稿では軽元素を対象とする安定同位体比質量分析計について、特に原理やハードウェアに関する基本について解説しつつ、ユーザー目線で注意すべきポイントにも触れる。

原 拓冶, 大堀 基己, 川西 伸明, 曾根 由実, 奥村 輔

1 はじめに

安定同位体比質量分析法は、炭素、窒素、硫黄、酸素、水素といった軽元素の同位体比変動を高精度に測定する分析手法であり、その応用範囲は多岐にわたる。このような分析システムは、1980年代には手作業による複雑な試料前処理を必要としていたものの、1990年代からは自動前処理装置の市販がスタートし、その利便性が飛躍的に向上した。特に2000年代以降はデジタル回路技術の普及により、装置の制御とデータ処理の性能が大幅に高まり、現在の市販製品は分析性能と操作性の点で、ほぼ完成の域に達したと考えてよい。これにより、幅広いユーザーがこの技術を利用できるようになった一方で、分析プロセスの自動化によって、装置の内部が見えにくくなってしまいう「ブラックボックス化」という側面も生み出した。安定同位体比質量分析システムは、汎用の質量分析装置と比べてやや異なる構造と原理を持ち、ユーザー母数もそれほど多くない理由から、和文の技術資料なども限られているのが実情である。したがって、装置の維持・管理を適切に行える人材確保や、得られたデータの信頼性を担保することが課題となっている。さらに近年、特にコロナ禍においては対面による技術指導等が難しくなったことや、いくつかの研究機関では同位体比分析を外部に委託するケースが増加しており、この課題に拍車をかけている。

同位体比質量分析計は、測定対象とする同位体や試料によってイオン化法や動作原理が異なるため、様々なタイプが存在する。これまで「ぶんせき」誌上においても、入門講座によって同位体比分析の基本解説やイントロダクションが精力的に解説されてきた^{1)~3)}。本稿ではこれまでの文献を踏まえ、軽元素安定同位体比質量分析システムについて、特にハードウェアや原理、およびユーザー目線で注意すべきポイントについて解説を行う。

なお、軽元素安定同位体比質量分析システムは Gas-IRMS (gas source - isotope ratio mass spectrometer) と呼ばれる。これは、特に有機物を代表とする高分子化合物において、各元素での同位体の種類と数の組み合わせが膨大となってしまい、直接的な同位体比測定がほぼ不可能であることから、無機ガスに変換して測定を行う理由にある。たとえば炭素ならびに窒素の同位体比測定では CO₂ または N₂ に変換し、それぞれ m/z 44, 45, 46 または 28, 29 を主に検出する。Gas-IRMS で分析対象となる元素と各同位体、測定を行うための無機ガス種、検出する m/z について、一覧形式で表 1 に示した。

表 1 主に安定同位体比を測定する元素および同位体比、変換する無機ガス種と、検出する m/z

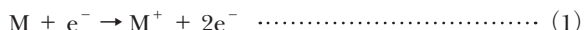
元素	安定同位体	同位体比	無機ガス種	同時検出する m/z
炭素	¹² C, ¹³ C	$\delta^{13}\text{C}$	CO ₂	44, 45, 46
窒素	¹⁴ N, ¹⁵ N	$\delta^{15}\text{N}$	N ₂	28, 29
硫黄	³² S, ³³ S, ³⁴ S, ³⁶ S	$\delta^{34}\text{S}$	SO ₂	64, 66
酸素	¹⁶ O, ¹⁷ O, ¹⁸ O	$\delta^{18}\text{O}$	CO	28, 29, 30
水素	¹ H, ² H(D)	$\delta^2\text{H}$	H ₂	2, 3
酸素	¹⁶ O, ¹⁷ O, ¹⁸ O	$\delta^{18}\text{O}$	CO ₂	44, 45, 46

2 Gas-IRMS

下記は、質量分析計本体 (IRMS) についての解説である。ここでは精製された各試料ガスについて、イオン化→イオンレンズによる収束→質量分離→多重検出器による同時検出を行う。制御およびデータ解析については各装置メーカーからソフトウェアが提供されており、本稿においては全般的な解説に留めるものとする。

2.1 電子イオン化法 (electron ionization, EI 法)

EI 法は、ガス種の質量分析において広く用いられる手法で、ガスクロマトグラフ質量分析計においても採用されている。イオン源の模式図および実際の写真をそれぞれ図1、図2に示した。EI 法はタングステンなどの金属フィラメントを真空中において通電・加熱し、熱励起によって放出された熱電子 (e^-) を利用する。加速された熱電子は一般的に 50~120 eV 程度の運動エネルギーを持ち、電子線の照射により気相試料分子から電子が剥ぎ取られ、一価またはそれ以上の価数を持つ正イオンとなる。



EI 法における単位時間あたりのイオン生成率は下記の式で与えられる⁴⁾。

$$\frac{n^+}{n} = \frac{I\sigma LD}{e} \dots\dots\dots (2)$$

ここで、 n は試料ガス種の分子数、 n^+ はイオン化した試料ガスの分子数、 I はエミッション電流値、 σ は気体分子と電子との反応断面積、 L はイオン化領域の長さ、 D は気体分子の密度、 e は電気素量をあらわす。イオンの生成率はイオン源の構造等によっても異なるが、エミッション電流値に依存して上昇する。しかし電流値を上げることでフィラメントの寿命は短命化してしまい、一定以上の電流値を流す場合にはフィラメントが切れて

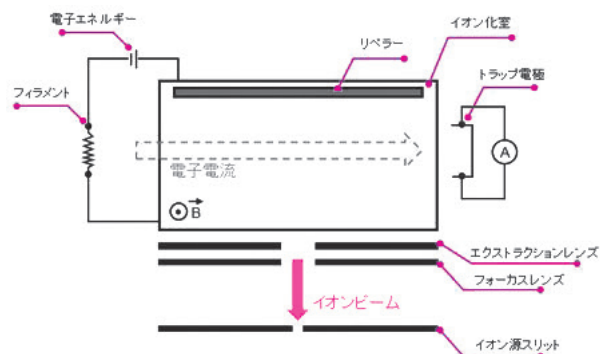


図1 EI イオン源の構造⁵⁾



図2 実際の EI イオン源
(海洋研究開発機構 松井洋平様ご提供)

しまう。また、電子電流の不安定化にも注意が必要であり、通常はトラップ電極により電流値がモニタされている。これとは別に「ボックス電流」という電流値もモニタされているが、これはトラップされずにイオン化室内に当たっている電子電流を計測している。両者の値や配分はガス種や試料ガスの量によって変動するものの、トラップ電流値とボックス電流値の和が、おおむねエミッション電流値となる。EI 法においては、イオン源に導入された試料ガス分子のうちイオン化するものは 0.1 % かそれ未満であり、残りの成分は真空ポンプによって排気される。

2.2 イオンレンズ

イオン化された試料 (M^+) は負の電圧を印加したエクストラクションレンズによって引き出される。装置メーカーによってはイオン化室 (またはイオン化箱とも呼ばれる) にリペラーを装備し、これに正の電圧を印加することで正イオンを押し出しているタイプのものも存在する。主なイオンレンズの模式図を図3に示す。エクストラクションおよび X-フォーカスの役割は、イオン化室からイオンを引き出し、スリットの位置に焦点を合わせることにある。これにより、スリット位置でのイオンビーム強度やその先において検出器に到達するまでのイオンビームの性質を決定する。X および Y-デフレクションは、ビーム全体を細かく調整するために使用されるが、上述のエクストラクションおよび X-フォーカスと比べると効果は小さく、イオンビームを動かすためにはより大きな印加電圧が必要となる。X-デフレクションは磁場においてイオンビームが曲がる方向、Y-デフレクションはそれに対して垂直の方向にイオンビームを偏向する。特に近年の装置では、イオンレンズに四重極を追加しイオンビームの収束性能を向上させたタイプも存在する。

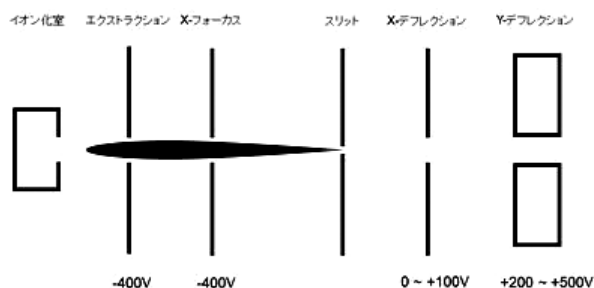


図3 イオンレンズの模式図

2.3 質量分離

IRMS では、イオン化した試料をイオンビームとして加速、質量分離したのち、後述する多重検出器により検出を行う。これは、異なる同位体信号を同時に取得する

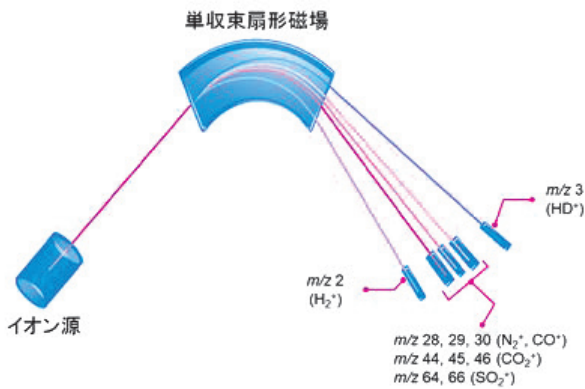


図4 単収束磁場型質量分析計の概略図

水素同位体比測定の際 (m/z 2 および 3 の計測) には磁場強度を下げてイオンの軌道を変えて測定する。そのため、専用の検出器が外側に配置されている。

ことで、イオンビームの揺らぎやドリフト等による感度変動が、比を取得したときに相殺されるため、質量走査を必須とする単一検出器タイプの装置と比べ、同位体比を高精度に測定することが可能になる。質量分離には一般的に扇形磁場 (電磁石) が用いられる。模式図を図4に示した。

イオンを加速電圧 U で加速するとき、下記の式が成り立つ。

$$zeU = \frac{1}{2} mv^2 \dots\dots\dots (3)$$

z はイオンの価数、 m はイオンの質量、 v はイオンの速度をあらわす。これを満たすイオンが磁場強度 B の磁場を通過するとき、イオンは曲率半径 r_m の弧を描いて飛行する (フレミングの左手の法則)。このとき、イオンの遠心力と磁場によって生じるローレンツ力が釣り合うため、下記の式が成立する。

$$r_m = \frac{v}{eB} \times \frac{m}{z} \dots\dots\dots (4)$$

ここから、イオンの軌道半径が m/z に依存していることがわかる。Gas-IRMS では一般的に、質量分離を磁場のみで行う単収束磁場型質量分析系が採用される。

2.4 検出器

検出器としてはファラデー検出器が用いられる。模式図を図5に示した。ファラデー検出器ではグラファイトを用いた箱型カップにイオンを入射させ、検出器の電位変化を計測する。正電荷を持つ粒子の流れは電流とみなせるため、検出器で取得した電流値または電圧値を計測すればイオン強度を測ることが可能である。グラファイトが用いられる理由は、材質の仕事関数が大きく、イオンが衝突した際の二次電子の生成率が低いことと、多孔質構造にすることで表面積を大きくし、入射イオンに

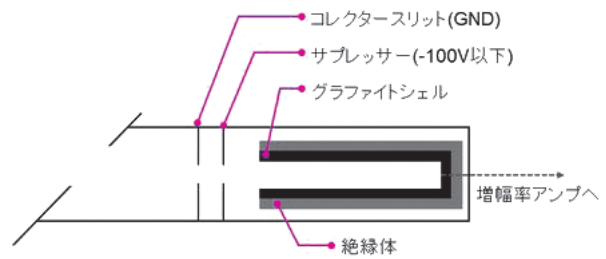


図5 ファラデー検出器の模式図

よるスパッタリングを低減できる点にある。ファラデー検出器の入口付近には負電位に保たれたサプレッサー電極 (-100 V 以下) が設置されており、二次電子の散逸を防ぐ構造にある。装置メーカーによっては検出器の上下に永久磁石を搭載し、ローレンツ力により二次電子をグラファイト壁面に再衝突させるタイプも存在する。

Gas-IRMS では多元素の同位体比測定に対応させるため、ファラデー検出器を焦点面上に複数搭載した検出器アセンブリが装置筐体に組み込まれる。イメージ図と実際の写真を図6に示した。特に、炭素・窒素・硫黄・酸素の同位体比測定は中央に位置する三つの検出器によって信号が取得され、ユニバーサルトリプルコレクタとも呼ばれる。これは中央に位置する検出器のみ幅が小さく、両隣にある検出器には幅が広いものを採用することで、質量分散の大小にかかわらず、多様な元素の同位体信号を同時取得できるような工夫が為されている。水素のみ、 m/z 2 および 3 を取得するため質量分散が非常に大きく (50 %)、安定した測定を行うために専用の検出器が必要である。

上述の通り、ファラデー検出器ではイオンビームを電流とみなして計測する。しかし、この電流は微弱であるため、増幅率の高い高抵抗アンプを用いて信号を増幅させ、式 (5) のように電圧値として読み取る必要がある。

$$V = RI \dots\dots\dots (5)$$

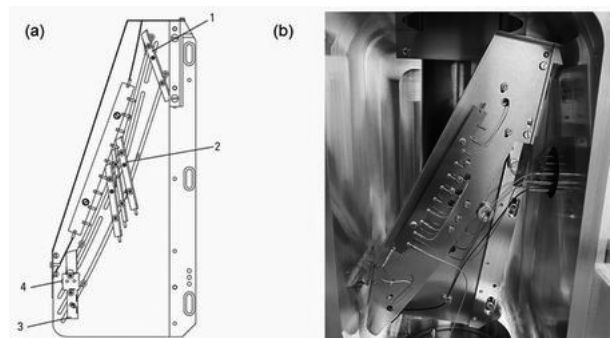


図6 検出器アセンブリのイメージ図と実際の写真

(a) の1では m/z 2 を取得、2はユニバーサルトリプルコレクタ、3は m/z 3 を取得する。図中の4は、 ${}^4\text{He}^+$ の散乱イオンが入射しないようリターディングレンズが搭載されている。

表2 検出器および増幅率アンプの組み合わせ

分子イオン	m/z	抵抗値 (Ω)
CO ₂ ⁺	44	3 × 10 ⁸
	45	3 × 10 ¹⁰
	46	1 × 10 ¹¹
N ₂ ⁺ CO ⁺	28	3 × 10 ⁸
	29	3 × 10 ¹⁰
	30	1 × 10 ¹¹
SO ₂ ⁺	64	3 × 10 ⁸
	66	1 × 10 ¹¹
H ₂ ⁺	2	1 × 10 ⁹
	3	1 × 10 ¹²

式(5)において、V=電圧値、R=高抵抗で、通常は10⁸Ω以上のものが用いられる。Iはイオンビームの電流値を指す。Gas-IRMSでは計測する分子種によって存在度が大きく異なるため、検出器ごとに異なる増幅率アンプが接続されている。すなわち、存在度の低い分子種を計測する場合には増幅率の高い抵抗付アンプが接続されている。代表的な組み合わせを表2に示した。基本的にアンプ増幅率は各装置メーカーにおいて汎用化されているが、特異的な試料や分子種に応じて増幅率を変更したり、あるいは基板上に抵抗を二つ以上装備し、ソフトウェア上から増幅率を切り替えられる場合もある。

3 同位体比の測定

3.1 窒素同位体比の測定

窒素は¹⁴Nと¹⁵Nの二つの同位体を持っており、有機物試料中の窒素をN₂態に変換して測定される。¹⁴Nと¹⁵Nの存在度をそれぞれa、bとすると、N₂分子の確率的同位体存在度は下記であらわされる。

$$^{28}\text{N}_2 : ^{29}\text{N}_2 : ^{30}\text{N}_2 = a^2 : 2ab : b^2$$

$$^{28}\text{N}_2 \text{ と } ^{29}\text{N}_2 \text{ の信号強度比} = 2ab/a^2 = 2b/a$$

ここから、²⁸N₂と²⁹N₂の信号強度比を取得することで窒素の同位体比(b/a)を測定することができる。

3.2 炭素同位体比の測定

炭素は¹²Cと¹³Cの二つの同位体を持っており、有機物試料中の炭素はCO₂態に変換して測定される。しかし、酸素が¹⁶O、¹⁷O、¹⁸Oの三つの同位体を持つために計算が複雑になる。

$$^{44}\text{CO}_2 = ^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$$

$$^{45}\text{CO}_2 = ^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O} + ^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O} + ^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{17}\text{O}$$

$$^{46}\text{CO}_2 = ^{13}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O} + ^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{17}\text{O} + ^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{17}\text{O} + ^{12}\text{C}^{18}\text{O}^{16}\text{O} + ^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$$

ここから、

$$45/44 \text{ 比} = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C} + 2(^{17}\text{O}/^{16}\text{O})$$

$$46/44 \text{ 比} = 2(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})(^{17}\text{O}/^{16}\text{O}) + (^{17}\text{O}/^{16}\text{O})^2 + 2(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})$$

となり、このままでは方程式を解くことができない。そこで、地球上における¹⁷O/¹⁶Oと¹⁸O/¹⁶Oの関係式として下記を使い、CO₂態から炭素同位体比および酸素同位体比を得る。

$$^{17}\text{O}/^{16}\text{O} = 0.0099235 \times (^{18}\text{O}/^{16}\text{O})^{0.5166}$$

実際には、ソフトウェア上から幾つかの代表的なパラメータからひとつを選択できるうえ、スタンダードによる補正を行うことが可能である。

3.3 実際の同位体比測定

軽元素安定同位体比測定は、同位体組成比のわかっている標準物質と未知試料を比較測定することで行われる。基準となる同位体標準物質は国際原子力機関(IAEA)やアメリカ国立標準技術研究所(NIST)、ベルギー標準物質計測研究所(IRMM)などが取り扱っている。しかし、これらの国際標準物質は非常に高価であり、量も限定的である理由から、測定のたびに使用することは現実的でない。そこで、国際標準物質をもちいて同位体比の値付けを行った二次標準物質が使われるケースが多い。二次標準物質としてはアミノ酸のスタンダードが多く、これは合成および精製が比較的容易であることと、長期間の安定性・保存性が優れていることによる。この場合、測定対象となる試料と物性や同位体比値ができるだけ近いものを選ぶと良い。未知試料と二次標準物質との間で物性が異なると、後述する自動前処理装置において、物性の違いによる系統誤差が生じるリスクがある。また、未知試料とスタンダードとの間で同位体比値が大幅に乖離している場合には、補正を行った際にスケール誤差が生じる可能性がある。また、実験操作などにおいて、同位体比値が同じ程度の有機物が偶発的にコンタミネーションすると、測定データへ影響を及ぼす可能性がある。検証を可能にするために、同位体比値の異なる2種類以上の標準物質を用意しておくことよい。

さらに低コストな手法としては、市販の高純度ガスボンベ(N₂、CO₂など)をシステムに接続し、標準物質をもちいて値付けを実施して活用する方法も推奨できる。高圧ガスボンベは、各装置メーカーから提供されているユニバーサルインターフェースを介してシステムに接続可能である。この場合、ガスボンベが持つ同位体比値を定期的に確認することと、配管にリークがないことを注意深く確認するとよい。リークがあると軽い同位体分子が優先的に散逸してしまい、標準となるべき値にズレが生じる可能性がある。市販のスヌープ剤などにより、

リーク箇所を特定することが可能である。

3.4 高精度な同位体比測定を行うために

3.4.1 マスキャリブレーション

すでに2.3項で述べたように、磁場型質量分析計におけるイオンの軌道半径は m/z に応じて一意に定まる。しかし実際には磁場強度の読み値などにおいてわずかな変動が生じ、これによって実際の m/z とのずれが生じる可能性がある。

マスキャリブレーションでは、加速電圧を固定したまま、磁場へ印加する電流値を変化させて磁場強度を変化させ、イオンビームを検出器に入射させる。最も信号強度が高くなり、かつ検出器においてフラットトップピークが取得できる印加電流値をソフトウェア上に記憶させる。フラットトップピークが取得できていない場合、計測値やバックグラウンドの経時的変動によって高精度な同位体比測定が実現できなくなる。実際のマスキャリブレーションの画面について、一例を図7と図8に示す。

Gas-IRMS のマスキャリブレーションにおいては CO_2

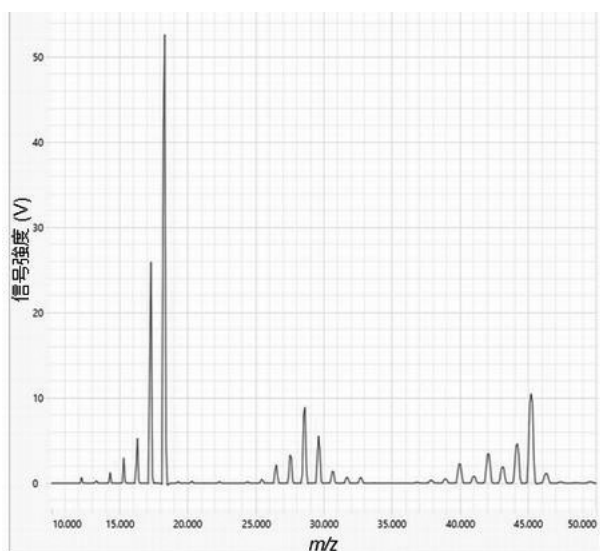


図7 マスキャリブレーション後のマススペクトルの一例

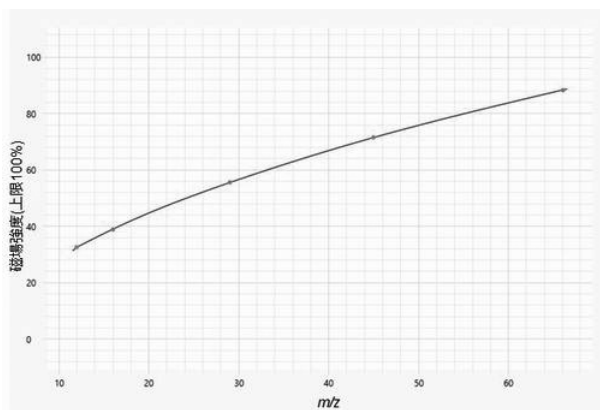


図8 質量校正曲線

横軸が m/z 、縦軸が磁場強度。なぜこのような曲線になるか考えてみてほしい

ガスが用いられる。ただし2.4で既に述べたように、実際にはファラデー検出器の幅が広く設定されている理由もあり、近年の装置では m/z 軸がずれることはほとんどない。そのため、新規納入時のテストのみとされているところが多いが、高精度測定を行う上では把握すべきポイントの一つである。

3.4.2 信号直線性のチェック

あらゆる質量分析計においても、真空系内の電荷密度に応じた電氣的反発が生じる。これを一般的に空間電荷効果といい、イオンビームを構成する荷電粒子が互いの運動に及ぼしあう影響のことを指す。一般的には重イオンの方が軽イオンよりも優先的に検出されやすい傾向にあり、この傾向は信号強度と直線的な関係にある。

そこで、ガス量を段階的に変化させながら CO_2 の m/z 44, 45, 46 を計測し、同位体比の変化率と信号強度の相関関係をチェックする。これにより直線性が担保される範囲、すなわち適切な信号強度のレンジ内で測定を行うことが望ましい。しかし、現実的にはリニアリティチェックを実際に行っている研究機関もそれほど多くはなく、二次標準物質を測定の合間に挟むなどの工夫で対処しているところが多い。

3.4.3 H_3^+ ファクターの補正

天然において、水素の同位体比はおおむね +200 % 程度から -800 % 程度まで幅広いバリエーションを持つ。これは、水素原子 (^1H) と重水素原子 (^2H) を比べたときの質量比が大きく、同位体分別を起こしやすいことが主な理由として挙げられる。そのため、分別が大きい水素の同位体比を測定する際には、機器的同位体分別においても細心の注意を払う必要がある。

水素同位体比の測定を行う際には H_3^+ ファクターの補正が必須である。 H_2 ガスをイオン化したときに生じる H_3^+ には量依存性があり、試料となる気体分子の量が多いほど H_3^+ が生じる傾向にある。この H_3^+ は、水素同位体比測定において検出する HD^+ に対して同重体干渉を起こす。そのため、リニアリティ補正と同様に、水素ガスの量 (すなわち、信号強度) に応じた H_3^+ ファクターをあらかじめ算出し、ソフトウェア上からの自動計算により補正を行う。補正のやり方は各社装置のマニュアルを参照すると良い。実際の H_3^+ ファクター補正の画面を図9に示した。

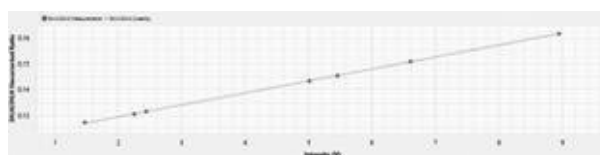


図9 H_3^+ ファクターの補正画面

横軸に信号強度、縦軸に水素同位体比のズレをプロットしている。

4 各種自動前処理装置

ここからは、ヘリウムをキャリアガスとして用いる連続フロー法をもちいる各種前処理装置について解説する。なお、装置メーカーによっては自社製品の機能や特徴についての解説記事も存在するため、本稿においては一般的な説明に留めつつ、ユーザーとして注意すべきポイントについて触れる。

4.1 元素分析計前処理装置-IRMS システム (EA-IRMS)

主に固体試料を燃焼・還元・熱分解によりガス化し、試料ガスを元素ごとに分離したのち、質量分析計へ導入するシステムである。概念図を図 10 に示した。試料の例としては、植物の根・葉・茎・実などの有機物試料や堆積物を含む土壌試料のほか、食品の産地判別などでは牛肉・ウナギといった生体試料も適用される。

固体試料は凍結乾燥によって出来る限り水分を除去し、ミル等により粉末化する。粉末化の際、サンプリング誤差を小さくするために、試料はできる限り均一にするのがよい。粉末化された試料はスズ箔製のサンプルカプセル (図 11) に封入して丸める。サンプルカプセルは径 5 mm × 高さ 8 mm 程度のものが標準的であるが、装置メーカーによって幾つかの取り揃えがある場合がある。スズ箔製のサンプルカプセルは製造過程でコークスが使用されるため、事前に有機溶媒 (例：特級メタノー

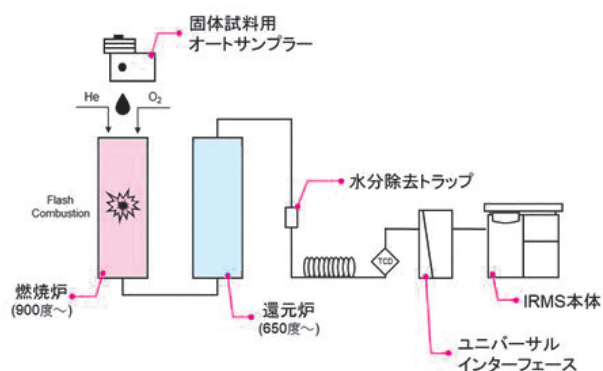


図 10 EA-IRMS の概念図



図 11 EA-IRMS で使用するスズカプセル

ル/特級ジクロロメタン 1:1 混合溶媒) によって洗浄、乾燥させたものを使うのがよい。

炭素・窒素・硫黄の同位体比測定においては、試料はヘリウムキャリアガスおよび酸素ガスと同時に燃焼炉 (酸化炉) へ導入される。それぞれの元素は閃光燃焼によって CO_2 、 N_2 、 SO_2 に変換されるが、この中でも窒素は窒素酸化物 (NO_x) に変化しやすい。したがって、次の還元炉に還元銅などを充填して N_2 態に還元させる必要がある。

試料に含まれるハロゲンは測定に影響を与えることがあるため、炉の後部に酸化銀コバルト試薬 ($\text{Co}_3\text{O}_4/\text{Ag}$) を充填し除去する。わずかに生成される H_2O も分析を阻害する可能性があるため、過塩素酸マグネシウム試薬 ($\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$) によって除去される。EA-IRMS においては多くの消耗品を使用するため、ランニングコストについても事前に把握しておくのがよい。

酸素および水素の同位体比測定においては、試料はヘリウムキャリアガスとともに熱分解炉へ導入される。熱分解炉は一般的に 1400°C 以上にも達し、コーティングされた炭素質の顆粒 (カーボングラニュール) が充填されているため、酸素は C と結合して CO となる。水素は H_2 として生成する。

生成したこれらのガスは元素ごとに分離され、ユニバーサルインターフェースを介して質量分析計に導入される。各元素の分離方式は装置メーカーによって幾つかのタイプがあるが、大まかに吸脱着方式か、クロマトグラム方式の 2 タイプに分けられる。前者はガスを一旦トラップさせ、熱によって脱離させることができるため、測定を任意のタイミングで行うことができる点がメリットである。後者は従来ながらの元素分離カラム (パックドカラム) を用いた方式で、分離はカラム温度に依存する。しかしながら、カラム上において試料ガスを相対的に濃縮する手法や、炉の石英リアクターの径を細くすることで、通常の EA-IRMS と比べて 20~1000 倍にも達する感度で同位体比測定を行う「nano-EA/IRMS」も浸透しつつある⁷⁾。

1 回の測定において使用する有機物試料は 0.1~1 mg であるが、厳密には試料に含まれる元素の量による。たとえば、堆積物や土壌などの試料ではケイ素成分などが多く、相対的に炭素・窒素濃度は低い傾向にある。炭素の量に換算したときに $30\ \mu\text{gC}$ 、窒素の場合に $80\ \mu\text{gN}$ 程度が測定の目安である。

4.1.1 EA 前処理装置において注意すべきポイント

EA 前処理装置は本稿において最も汎用的な前処理装置であるが、ユーザーにとって注意すべきポイントがいくつか存在する。

試料前処理においては、特に凍結乾燥における水分の除去が重要である。水分が残ったままの試料を燃焼炉に

投入すると、水蒸気となり体積が爆発的に増加する。これによって、試薬を充填した石英管が割れてしまうおそれがある。

また、石英管に入れる試薬はできるだけ均一になるよう、密に充填する必要がある。不十分な場合には測定の不均質化を招くリスクがある。慣れればそれほど難しくないが、慣れないうちは経験者からレクチャーしてもらうか、あらかじめ試薬が充填されたリアクターが装置メーカーから提供できる場合があるため、それを参考にするのが良い。

前処理装置の維持管理にあたって、クロマトグラム方式を採用している場合には、定期的に焼き出し（カラムベーキング）を実施すると良い。基本的には無機ガス分離であるため、カラムへの吸着はほとんど発生しないものの、吸着が完全にゼロというわけではない。焼き出しの際には測定を停止のうえ、カラム温度を100~120度に昇温して一晩静置する。焼き出しの際、ヘリウムガス流量を10 mL/min程度で流しておくが良い。翌朝に焼き出しを停止し、その日は測定を行わず、休日の間に降温させてカラム温度を安定化させる。

4.2 ガスクロマトグラフ前処理装置-IRMS システム (GC-IRMS)

揮発性があり、熱に対して安定な有機化合物に対して化合物単位での同位体比測定が可能である。たとえばアルカン混合物試料ではメタン・エタン・プロパンといったように、炭素数ごとの化合物単位での同位体比測定が可能である。このような分析は Compound Specific Isotope Analysis とも呼ばれ、日本語では化合物レベル同位体比分析または分子レベル同位体比分析とも呼ばれる。

GC-IRMS の概念図を図12に示す。GC-IRMS は液体試料または気体試料に適用される。液体試料の場合にはマイクロシリンジ・気体試料の場合には主にガスタイトシリンジにより試料注入口から導入される。導入された試料はキャピラリー GC カラムにおいて化合物ごとに分離され、炭素・窒素成分は燃焼還元炉によって CO_2 と N_2 に、酸素と水素成分は熱分解炉によって CO と H_2 に無機ガス化され、IRMS により計測される。

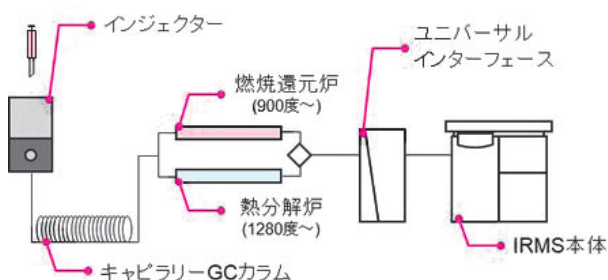


図12 GC-IRMS の概念図

標準ガスを導入するタイミングは EA-IRMS と異なる。上述のとおり、GC-IRMS ではキャピラリーカラムによって化合物分離をおこなうため、化合物の種類や量によっては1試料あたりの測定が30分を超える場合もある。後述するように、スタンダード測定を未知試料の測定間を実施し、結果に外挿することも良い。

なお、GC-IRMS については試料注入法、キャピラリーカラムの選択性、オプション等の選択肢が多岐に渡るため、本稿では全般的な解説にのみ留める。

4.2.1 GC 前処理装置において注意すべきポイント

GC によって試料成分を分離する際にカラムを昇温する場合には、昇温に伴って溶脱する微量成分の影響でベースラインが大きく上昇し、測定精度に影響するため、カラムのエージングが必要になる場合がある。

また炭素、窒素の同位体比の測定の場合には、カラムにおいて分離した試料の各成分を燃焼させる際に、セラミックチューブに Ni, Cu などの金属ワイヤーが充填されている燃焼還元炉を使用する。この炉はあらかじめ酸素を流してワイヤーを酸化させておく必要がある。分析を重ねていくと試料の燃焼によって酸素が徐々に消費されていくため、炉の再酸化が必要になる。測定される試料や測定方法によって酸素の消費量は変わるため、再酸化を実施する頻度について事前に検討する必要がある。

同様に、熱分解炉によって酸素、水素の同位体比を測定する場合、熱分解炉には中空のセラミックチューブを用いる。試料の測定を重ねていくと、試料中に含まれていた炭素などが炉の内部に蓄積していく。セラミックチューブの内部に炭素のコーティングが出来ることで、安定した熱分解が可能になる。そのため新しい炉を取り付けた場合などに、炉の内部の炭素コーティングの状態を整えるためにコンディショニングが必要になる。炭素の蓄積によりキャリアガスが流れにくくなった場合には、熱分解炉のセラミックチューブの交換が必要になる。

また、GC-IRMS での同位体比測定においては、リファレンスガスとの単なる比較を行うだけでなく、測定間に国際標準試料を挟む等の工夫すると良い。これは、注入口条件やカラム温度、燃焼還元・熱分解温度などの様々なパラメータによって同位体比のズレが生じ得ることが主な理由である。分析装置の状態を反映した「値の確からしさ」を担保するための工夫である。

4.3 汎用前処理装置-IRMS システム

ループインジェクション機構、3軸制御型ロボティクスオートサンプラー、セプタム付きサンプルバイアル、サンプルトレイから構成される、自由度の高い前処理装置である。主要なアプリケーションは複数あるが、本稿ではユーザー数が比較的多いと思われる二つの分析用途

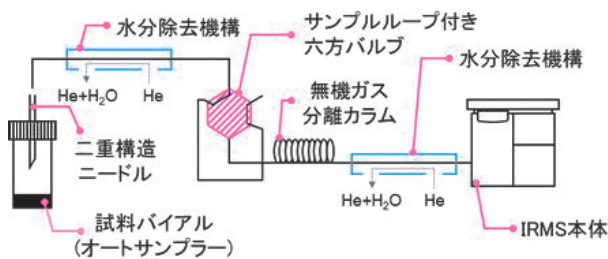


図 13 汎用型前処理装置-IRMS の概念図

に絞って解説する。装置外観および概念図を図 13 に示した。

4.3.1 炭酸塩試料の炭素・酸素同位体比測定

炭酸塩を含む粉末試料などをセプタム付きのガラスバイアルに封入し、一定温度に保たれた恒温型サンプルトレイにバイアルをセットする。トレイは 70 度に設定されることが一般的である。温度が変化してしまうと、試料ごとに CO₂ の生成状態が異なり、同位体比の値に系統誤差が生じてしまうことがある。二重針構造のニードルによりバイアル内部の空気を高純度ヘリウムに置換したのち、濃リン酸 (>95 %) を注入して試料を酸分解する。生じた試料由来の CO₂ ガスは高純度ヘリウムでのフラッシュによってバイアルから採取され、ニードルとキャピラリーを通じて本体に導入される。酸分解において生じた水分は分析値に影響を与えるため、前処理装置本体内で除去されることが多い。その後、サンプルループから複数回にわたってパルス状にガスが切り出され、無機ガス分離カラムにおいて CO₂ が分離・精製されたのち、IRMS へ導入される。m/z 44, 45, 46 の信号強度比から、炭素および酸素同位体比が測定される。

4.3.2 平衡法による水の酸素・水素同位体比測定

バイアルをセプタム付きキャップで封じたのち、内部の空気を He-CO₂ 混合ガス (99~1 %) でパージし、シリンジで水試料 500 μL を注入してから静置する。この間、混合ガスの CO₂ と水試料の H₂O との間で酸素原子の同位体交換が発生し、一定時間後に同位体平衡となる。それ以降は気相と水試料いずれも同位体比が変化しない状態となる。その後、気相成分にある CO₂ を測定することで、水試料の H₂O がもともと持っていた酸素同位体比を計算によって求めることができる。水素の同位体比測定を行う際には混合ガスを He-H₂ (98~2 %) とし、水試料の量も 200 μL に変更する。同位体平衡に要する時間は、酸素同位体比測定において約 20 時間、水素同位体比測定において約 1 時間以内である。本手法は、たとえば海水試料や地下水の試料などで微粒子や有機物が含まれていたとしても、同位体交換反応を示す H₂O 成分のみの酸素・水素同位体比測定ができる点が

ユニークな特徴である。

4.3.3 汎用前処理装置において注意すべきポイント

炭酸塩試料分析においては、濃リン酸が固化してしまい、リン酸注入用のニードルが詰まってしまうことがあるため、定期的なメンテナンスが必要である。もしくは、濃リン酸の注入だけ使い捨てのシリンジで実施することも可能である。ほか、サンプルトレイの嵩上げを行い、メーカー標準のバイアル (基本的に 12 mL) よりも小さなバイアルで実施し、相対的に CO₂ 濃度を高くして分析を行っている研究機関もある。

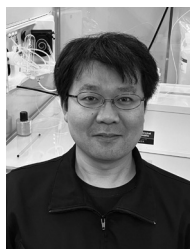
水試料の水素同位体比分析に関しては、平衡を促進するための白金触媒が不可欠であるが、昨今の世界情勢によって輸出入に規制が掛かっている場合がある。基本的には半永久消耗品であるため、交換頻度はそれほど高くないものであるが、最新情報については各装置メーカーへ問い合わせるのがよい。

5 おわりに

安定同位体比質量分析装置は、他の汎用装置と比べるとやや敷居が高くなっていることは事実である。たとえば昔の装置ではイオンビームが「見えない」ことで頭を抱えることも良くあり、マニュアルでの調整によって、ようやく検出器へイオンを入れられることもあった。しかしながら、近年の装置においては利便性が格段に向上し、ある程度の慣れと経験を積めば誰しもが活用できるものになっている。本稿によって興味を持っていただければ幸いである。

文 献

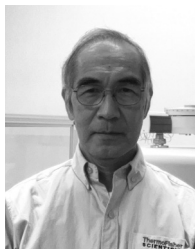
- 1) 中野考教：ぶんせき (*Bunseki*), **2016**, 2.
- 2) 佐々木聡, 金澤延行：ぶんせき (*Bunseki*), **2016**, 46.
- 3) 日高洋, 赤木右：ぶんせき (*Bunseki*), **2002**, 2.
- 4) 早川滋雄： *Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **57**, 345 (2009).
- 5) P. Burnard, L. Zimmermann, Y. Sano: "The Noble Gases as Geochemical Tracers", Edited by P. Burnard, p.6 (2013), (Springer-Verlag, Berlin).
- 6) H. Craig: *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **12**, 133 (1957).
- 7) N. O. Ogawa, T. Nagata, H. Kitazato, N. Ohkouchi: "Earth, Life, and Isotopes", Edited by N. Ohkouchi, I. Tayasu, K. Koba, p.339 (2010), (Kyoto University Press).



原 拓治 (HARA Takuya)

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社 (〒221-0022 神奈川県横浜市神奈川区守屋町 3-9).

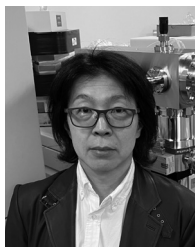
E-mail: takuya.hara@thermofisher.com



大堀 基己 (OHORI Motoki)
サーモフィッシャーサイエンティフィック
株式会社 (〒221-0022 神奈川県横浜市神
奈川区守屋町 3-9).



曾根 由実 (SONE Yumi)
サーモフィッシャーサイエンティフィック
株式会社 (〒221-0022 神奈川県横浜市神
奈川区守屋町 3-9).



川西 伸明 (KAWANISHI Nobuaki)
サーモフィッシャーサイエンティフィック
株式会社 (〒221-0022 神奈川県横浜市神
奈川区守屋町 3-9).



奥村 輔 (OKUMURA Tasuku)
サーモフィッシャーサイエンティフィック
株式会社 (〒221-0022 神奈川県横浜市神
奈川区守屋町 3-9).



原 稿 募 集

「技術紹介」の原稿を募集しています

対象：以下のような分析機器、分析手法に関する紹介・解説記事

- 1) 分析機器の特徴や性能および機器開発に関わる技術、
- 2) 分析手法の特徴および手法開発に関わる技術、
- 3) 分析機器および分析手法の応用例、
- 4) 分析に必要な試薬や水および雰囲気などに関する情報・解説、
- 5) 前処理や試料の取扱い等に関する情報・解説・注意事項、
- 6) その他、分析機器の性能を十分に引き出すために有用な情報など

報など

新規性：本記事の内容に関しては、新規性は一切問いません。新規の装置や技術である必要はなく、既存の装置や技術に関わるもので構いません。また、社会的要求が高いテーマや関連技術については、データや知見の追加などにより繰り返し紹介していただいても構いません。

お問い合わせ先：

日本分析化学会『ぶんせき』編集委員会

[E-mail : bunseki@jsac.or.jp]