

同位体とトレーサビリティ

大河内直彦

同位体とは？

化学の授業ではふつう、炭素の質量数は12と習う。質量数12の内訳は、6個の陽子に6個の中性子である。しかし天然中には、中性子を7個もつ風変わりな炭素原子核をもつ炭素もわずかながら存在する。つまり、質量数13の炭素である (^{13}C と左上付で質量数を記す)。この風変わりな原子核は自然界におよそ1.1%存在しており、放射壊変しないがゆえ「安定同位体 (stable isotope)」とよばれている。

こういった安定同位体は、フッ素やリンなどの一部の元素を除き、炭素以外の多くの元素に見られる (表)。たとえば、水素には重水素とよばれる安定な水素同位体 ^2H (あるいはD) の存在が知られている。窒素には ^{15}N 、酸素には ^{17}O と ^{18}O 、硫黄には ^{34}S などがある。さらに炭素については、質量数14の炭素原子核 (^{14}C) もよく知られている。中性子を8

個もつ炭素原子核である。この核種は半減期5700年あまりでベータ壊変する放射性同位体である。この放射性炭素は大気上層において、宇宙線によってつくられた中性子が窒素原子核に捕獲されることにより生成されている。ただし生成量はごくわずかで、現在大気中に存在する炭素原子核 (主として二酸化炭素分子の炭素) のわずか1兆分の1にすぎない。地球科学や考古学などではお馴染みの年代測定法となっているが、半減期が十分長い現代という時間断面での応用に限った場合、安定同位体と同じ視点で利用することができる。

天然中に分布するこういった同位体の組成を詳細に調べてみると、実際には細かく変動している。地球科学においては伝統的に、同位体組成の細かい変動のシグナルを捉えて、現在や過去の地球上で起こったさまざまなプロセスを理解する手段として長らく用いられてきた。また

生物学においては、こういった同位体は生化学研究のラベル化剤として利用される以外では、食物連鎖の研究に用いられてきた。これは代謝によって、 ^{13}C や ^{15}N などの「重い」同位体が濃縮されることを利用したものである。しかしこういった同位体は近年、食品のトレーサビリティなど私たちの暮らしにより密着した問題にも威力を発揮し始めている。そこで今回、「同位体の化学と食の安全」と題して、食の安全に主眼をおいた同位体の応用について5人の研究者に、その原理や応用例について語っていただくことにした。まずここでは、同位体についての基礎知識を簡単にまとめておくことにしよう。

同位体組成の表示方法

水素、炭素、窒素、酸素、硫黄といった生き物の身体を構成するほとんどの軽元素の同位体組成を表す方法として、 δ (デルタと読む) という指標が長年習慣的に用いられてきた。国際純正・応用化学連合 (IUPAC) によるその定義は以下の式で表される。

$$\delta = R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}} - 1$$

ここでRとは、 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ や $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ といった「同位体比」(δ 値が「同位体比」とよばれるケースもあるので混同しないように注意)を表している。つまり δ 値とは、試料中の同位体比 (R_{sample}) を標準

各元素の主たる同位体核種とその平均存在量、および測定時の標準物質

元 素	同位体種 (平均存在量, %)				標 準 物 質
水 素	^1H (99.9844)	^2H (0.0156)			SMOW
炭 素	^{12}C (98.89)	^{13}C (1.11)	^{14}C (0.0000000001) ^{†1}		PDB
窒 素	^{14}N (99.64)	^{15}N (0.36)			AIR
酸 素	^{16}O (99.763)	^{17}O (0.0735)	^{18}O (0.1995)		PDB, SMOW
硫 黄	^{32}S (95.02)	^{33}S (0.75)	^{34}S (4.21)	^{35}S (0.02)	CDT
ストロンチウム	^{84}Sr (0.56)	^{86}Sr (9.86)	^{87}Sr (7.0) ^{†2}	^{88}Sr (82.58)	—

^{†1} ^{14}C は放射性核種 (半減期5730年)で、標準物質としてHOX-1が用いられる。

^{†2} ^{87}Sr は放射性核種 (半減期4.88×1010年)。

物質の同位体比 (R_{standard}) で割り算して、そこから1を引き算したものである。しかし先に述べたとおり、天然中における同位体比の変動幅が小さいことを反映して、この δ 値は通常0近傍のかなり小さな絶対値をもつ数値になる。そこで慣習としてほとんどの場合、それを1000倍してパーミル (‰) 単位で表される。

$$\delta (\text{‰}) = 10^3 (R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}} - 1)$$

つまり δ 値とは、標準物質の同位体比からの偏差の千分率ということになる。たとえば窒素同位体組成 ($\delta^{15}\text{N}$) の場合、 ^{15}N をまったく含まない試料は-1000‰であり、標準物質とまったく同じ濃度の ^{15}N を含む試料は0‰、標準物質より3%多くの ^{15}N を含む試料は+30‰となる。

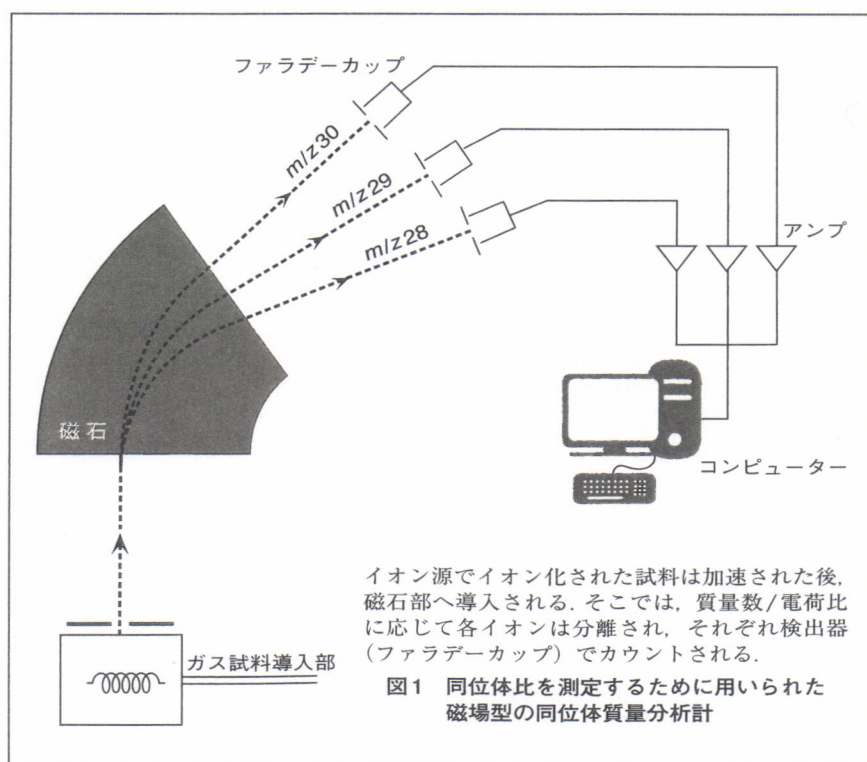
こういった回りくどい表記法を採用している理由は、歴史的な事情が深くかわっている。安定同位体の正確な存在度の測定が始まった1930年代、絶対存在比 (あるいはモル分率) を決めることは至難の技だったことに由来する。自然界における安定同位体組成の変動がかなり小さいうえに、電源のゆらぎや個々の機器が固有にもつクセに測定値が大きく影響を受けたからである。天然中でみられる同位体比の範囲が比較的小さいため、ハードにかかわる現象が測定結果に無視できない影響を与えたのである。そこで苦肉の策として、標準物質と試料とを交互に測定し、そのような影響をなるべく排除する手続きが取られた。現在では、技術の進歩によりこういったハード面に関する影響はかなり小さくなっているが、同位体組成の記述法として当時のしきたりが残ったままとっている。

いずれにせよ、試料の測定の際には、何らかの標準物質についても同時に測定する必要がある。安定同位体比の標準物質については、国際原子力機関 (IAEA) により核種ごとに決められている (前

ページの表)。たとえば ^{13}C の場合、その存在比は米国サウスカロライナ州のピーディー層から採取された矢石化石 (PDB: PeeDee Belemnite) と決められている。この物質は、かつてシカゴ大学で用いられていた標準物質であり、後に国際的な標準物質として採用された。しかし、当時シカゴ大学で用いられていたPDBそのものはすでに枯渇してしまっているため、ほかの物質を用いてPDB (より正確には、その後IAEAがPDBとほぼ同じ同位体比をもつVPDB) に較正するということが行われている。IAEAでは、PDBへの較正を行うための較正用標準物質を配布するとともに、較正の手続きを決めている。ただし現実的には、IAEAが配布する較正用標準物質も日常的に測定するには量が少ない。そのため、それぞれの研究室では、固有の二次標準物質を準備するか (文献1)、市販の二次標準物質を購入するなどして (たとえば、(株)SIサイエンスや(財)日本分析センターから販売されている)、それらを日常的に測定している。つまり測

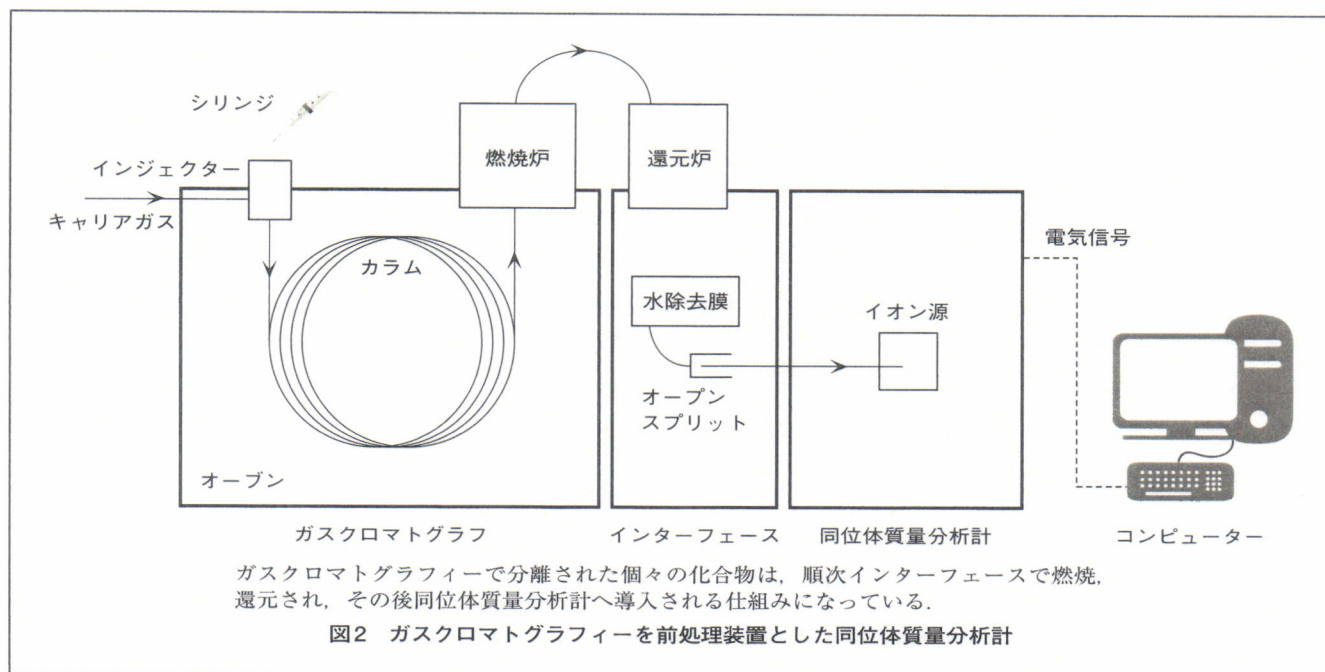
定値は、個々の研究室に固有の物質によってまずは比較され、その数値からIAEAの標品を経由してPDBに較正するという方法がとられている。

安定同位体比の測定には、検出器 (ファラデーカップ) を複数備えた磁場型の質量分析計が一般的に用いられてきた (図1)。試料はあらかじめガス化したうえで、同位体質量分析計に導入される。たとえば窒素同位体比を測定する場合は、窒素ガス (N_2) として導入される。イオン化室で電子衝撃によって生成される $^{14}\text{N}^{14}\text{N}^+$ 、 $^{14}\text{N}^{15}\text{N}^+$ 、 $^{15}\text{N}^{15}\text{N}^+$ という3種のイオン (質量数はそれぞれ28, 29, 30) は、磁石によって生み出された磁界の中を通過する際にローレンツ力を受けて異なる方向に進む。そして、あらかじめ設置されている複数のファラデーカップそれぞれにそれら三つのイオンが入るように磁場を調節し、三つのイオンを同時に測定する (ふつう m/z 30はきわめて微量なので無視される)。また炭素同位体比を測定する場合、試料をあらかじめ二酸化炭素に酸化して、この同位体質量



イオン源でイオン化された試料は加速された後、磁石部へ導入される。そこでは、質量数/電荷比に応じて各イオンは分離され、それぞれ検出器 (ファラデーカップ) でカウントされる。

図1 同位体比を測定するために用いられた磁場型の同位体質量分析計



分析計に導入される。窒素の場合、標準物質には大気窒素ガス (AIR, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N} \approx 0.0036765$) が用いられる。たとえば、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N} = 0.0036802$ という窒素同位体比をもつ試料は、標準物質 (AIR) との $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ の差がわずか 0.0000037 にすぎない。しかし上述の δ 表記では $\delta^{15}\text{N} \approx +1.0\%$ となる。このようにして測定された同位体組成は、試料の種類や測定方法によりけりとはいえ、一般的には $0.1 \sim 0.2\%$ 以下の誤差で測定できる。たとえば誤差 0.2% とは、 ^{15}N 存在度が 0.004000 と 0.004008 というきわめてわずかな違いに対応し、その小さな差を捉えることができる超精密分析であることがわかる。

さらに、元素分析計やガスクロマトグラフィーとオンラインで接続された同位体質量分析計がデザインされ、販売されている。これら元素分析計やガスクロマトグラフィーは、同位体比測定の際に必要な試料のガス化を行う前処理装置という位置付けである。ガスクロマトグラフィーと接続された機器の場合、多成分が溶けた試料をガスクロマトグラフィーに導入し、分離された個々の成分は順次オンラインで同位体質量分析計に導入されていく。した

がって、試料中に含まれる複数の成分をいちいち分離することなしに、一度に測定できるというメリットがある。ガスクロマトグラフィーと同位体質量分析計の間には、化合物の燃焼 (炭素が CO_2 に、窒素が NO_x になる)、還元 (NO_x が N_2 になる)、水分の除去などの機能をもつインターフェースが付設されている (図2)。

なぜ同位体組成は変わるか？

ここでは、自然界において同位体分布にヘテロさを生み出す基礎的な物理化学プロセスについて概観しておこう。これには大きく分けて、原子や分子の質量に依存するものとししないものの両方が知られている。一般的に質量に依存するプロセスの方がより重要で、それはさらに動的同位体効果と同位体平衡に分けることができる。

同位体のように電子の配置が同じ原子核であっても、質量が異なると分子内振動が少々異なり、それゆえ化学結合の強さにも多少の違いが生じる。たとえば C-C 結合を開裂する化学反応を考えたとき、 $^{12}\text{C}-^{12}\text{C}$ 結合は、 $^{12}\text{C}-^{13}\text{C}$ 結合に比べて結合のゼロ点エネルギーの絶

対値は多少小さい。つまり原子どうしを結びつける結合エネルギーはその分小さくなり、統計的にみると開裂しやすい。一般に、軽い同位体どうしによる化学結合は、重い同位体を含む化学結合より弱い。結合エネルギーが少々異なるがゆえに、同位体間で化学反応のスピードに差が生まれる。このことは、反応生成物が生成後間もなく反応系から除去されるような場合、反応物と生成物の間に同位体比の差を生むことになる。つまり動的同位体効果とは、非可逆的な化学反応の反応速度が、その反応に関与する原子の質量に依存するような場合に起こる。

これと似た同位体比の変動は、蒸発・凝縮・凝固などの相転移や分子拡散といった物理現象でも生み出される。たとえば、 ^{12}C だけからなる二酸化炭素 ($^{12}\text{CO}_2$, 質量数 44) と、 ^{13}C だけからなる二酸化炭素 ($^{13}\text{CO}_2$, 質量数 45) を考えてみよう。分子運動論によると、分子の平均二乗速度は気体分子の質量の逆数に比例する。したがって、 $^{12}\text{CO}_2$ の平均速度は $^{13}\text{CO}_2$ のそれに比べ 1.1% あまり大きいことになる。化学反応において消費される反応物が周囲から反応場へ供給され



$$\begin{aligned} \text{同位体分別係数} &= \frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{HCO}_3^-}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{CO}_2}} \\ &= \frac{[^{12}\text{CO}_2(\text{gas})][\text{H}^{13}\text{CO}_3^-]}{[^{13}\text{CO}_2(\text{gas})][\text{H}^{12}\text{CO}_3^-]} (= \text{解離定数}) \\ &= 1.0092 (0^\circ\text{C}) \end{aligned}$$

この場合（交換する炭素が1組の場合）、解離定数は同位体分別係数と一致する。

図3 二酸化炭素と重炭酸イオンの間での同位体平衡

る際、この速さの違いが反応物の同位体比に影響を与え、ひいてはそれが生成物の同位体比にも影響を与えると予測される。常に代謝され、新しい物質に次から次へと入替わっている生物では、その同位体組成の変動はこういった同位体効果によって生み出されることが多い。たとえば光合成の暗反応では、基質である二酸化炭素に比べ有機物として固定される炭素は、最大30%ほど ^{13}C が少ない。反応場が閉鎖系の場合、こういった同位体比の変動はレイリー効果あるいはレイリー蒸留とよばれる原理によって数学的に記述される（たとえば、文献2）。

一方、2種類の物質が共存する系が平衡状態にある場合について考えてみよう。同位体は両物質の間で均等に分配されるのではなく、統計的に見るとその原子にかかわる結合の強さに依存して分配される。言い換えると、共存している二つの物質は必ずしも同じ同位体組成をもつのではなく、多少なりとも異なる同位体組成をもつことになる。一例として、水に溶けている二酸化炭素と、それが解離してできる重炭酸イオンが平衡状態にある系について考えてみよう（図3）。この際、 ^{13}C は二酸化炭素と重炭酸イオンとの間で分配されるが、両者の同位体比にはわずかな違いがみられる。水温が 0°C のとき、 ^{13}C は重炭酸イオン側により多く分配され、重炭酸中の ^{13}C の存在比は、二酸化炭素中のそれより0.92%多い。つまり図3において、右辺の方が左

辺に比べ熱力学的にみて少々安定なのである。このような同位体平衡では、より強い結合をもつ物質に重い同位体が濃縮する（文献3）。こういった同位体比を変化させるプロセスの理論的詳細について知りたい方は、文献4を参照されるとよい。

トレーサビリティへの応用

上述のようなミクロなプロセスを反映して、天然・人工に限らず地球上に分布するあらゆる物質は、化学的に同一試料といえどもほとんどの場合、異なる同位体組成をもっている。起源やプロセスの違いを反映して生まれる同位体組成の違いは、多くの場合、同位体質量分析計による精密測定に引かかるほどの十分な大きさをもっている（とはいえ、常識的にはかなり小さいものだが）。安定同位体比とは、言うなれば、物質がもつ「指紋」のようなものである。したがって、指紋を調べることによって比較すべき試料が同一の物質を起源とするか、あるいは元来異なった由来のものなのかを識別しようという試みは理にかなっている。もちろん、化学的に（あるいは遺伝子的にも）同一物質である試料Aと試料Bの違いを正確に見極めるためには、同位体組成の違いを説明する科学的な根拠と十分なデータ・アーカイブが必要となる。これまで半世紀以上にわたって行われてきた同位体にかかわる科学研究は、多くの場合においてこの両者を与える。この

ような方法論は実際に、ドラッグの起源や入手ルートの推定といった一部の犯罪捜査や、スポーツにおけるドーピング検査などにおいて以前から威力を発揮してきた。しかし、一般的な手法として広く認知され、用いられてきたとは言い難いのも事実である。

同位体は、長らく科学研究の対象あるいはツールとして用いられてきた（たとえば、文献5）。しかし、その潜在的応用範囲は広く、特に近年に見られるようになった食品偽装問題をはじめとする食の安全を監視するツールとして、今後さらなる発展が期待できる。実際、私の研究室では最近になって、食品会社などから個別に相談を受けることが多くなっている。また近年、日本分析化学会の傘下の懇談会として「起源と表示に関する分析技術懇談会」が発足し、安定同位体比など多様な分析法を応用した食の安全にかかわる問題の解決法の紹介や意見交換を行う場として機能し始めている。このような意識の高まりのなかで、本誌において特集「同位体の化学と食の安全」を組むことに至った次第である。本特集によって同位体が、上述のさまざまな社会問題の解決手段として広く認知されるきっかけになれば幸いである。

参考文献

1. I. Tayasuほか, *Limnology*, 12, 261 (2011).
2. N. Ohkouchiほか, *Progress in Earth and Planetary Science*, DOI 10.1186/s40645-015-0032-y.
3. J. Bigeleisen, *Science*, 147, 463 (1965).
4. 酒井 均, 松久幸敬 著, 『安定同位体地球化学』, 東京大学出版会 (1996).
5. 和田英太郎, 神松幸弘 編, 『安定同位体というメガネ: 人と環境のつながりを診る』, 昭和堂 (2010).
6. <http://www.jsac.or.jp/~kigen/greeting.html>
7. J. M. Hayesほか, *Organic Geochemistry*, 16, 1115 (1990).