

炭酸塩の安定同位体レーザー吸収分光法の開拓

坂井 三郎

1 はじめに

私たち生命を育む地球を理解する上で、過去から現在に至る地球の地質試料（岩石や化石）や環境物質（大気や海洋など）を高い時間・空間分解能で高感度に計測することは不可欠である。それを支える高度な分析技術の進歩は欠かせない。地球惑星科学において、軽元素の同位体分子種は様々な分子の循環を推定する上で有効な指標であり、その分析技術は高分解能化・微量化が進んでいる。特に、地球や生物骨格を構成する炭酸塩（CaCO₃）の酸素・炭素安定同位体比（ $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{13}\text{C}$; 図1）は、地球表層の温度、海面変動、氷床量、炭素循環などを推定する上で代表的な指標であり、それを計測する磁場型質量分析計は1950年代以降、世界中の多くの研究機関に導入されている。分析対象は、地層中に保存された1 mmにも満たない微化石をはじめとして、鉱物中の縞状構造、鍾乳石やサンゴなどの成長稿などが挙げられ、それらの高時間・空間分解能分析による定量的な地球環境の解明が行われている。近年ではクロマグロをはじめ¹⁾、魚類の微小な耳石（直径数十 μm ）の成長稿に沿った μg 単位の微量試料の $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{13}\text{C}$ による回遊履歴（水温履歴）の解明など、水産資源科学の分野にも広が

りを見せている²⁾。

一方で「光技術」を応用した環境計測技術は、正確で高感度の可搬型（航空機、船舶、宇宙探査機などに搭載）の環境計測法として、近年、大気計測分野において飛躍的に発展してきた。とくに温室効果ガスの例で知られているように、中赤外域には分子内振動・回転運動に起因した強い光の吸収があり、気体の構成原子や分子構造によって吸収波長が異なるため「分子の指紋領域」と呼ばれている。そのため、中赤外域におけるレーザー吸収分光による同位体分子種の高感度計測のポテンシャルは大きく、通常の磁場型質量分析計では検出が困難な ppb レベルの微量の同位体分子種の高精度検出が展開されつつある³⁾。筆者は、この光計測技術に着目して、中赤外レーザーを用いた炭酸塩の同位体分子種の高感度吸収分光システムの開発を進めてきた。その結果、通常の磁場型質量分析計を上回る $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{13}\text{C}$ の高感度・高精度検出に成功し⁴⁾⁵⁾、質量分析法に代わる新しい安定同位体分析法としての有効性を証明した。

本稿では、炭酸塩の安定同位体レーザー分光法の特徴を解説したのち、開発した中赤外レーザー同位体吸収分光システムの草案から開発に至るまでのストーリーを紹介する。

2 炭酸塩の中赤外同位体レーザー吸収分光法

炭酸塩の酸素・炭素安定同位体比は、炭酸塩とリン酸を一定温度の条件で反応させて発生した二酸化炭素（CO₂）ガスに変換した形で計測する（CaCO₃ + H₃PO₄ = CaHPO₄ + CO₂ + H₂O）。この点は質量分析法もレーザー分光法も同じである。計測対象となる二酸化炭素（CO₂）の同位体分子種は、図1に示したように存在量の大きい上位3種で、存在量98.40%の¹⁶O¹²C¹⁶O（質量数44）を分母にして、¹⁸O/¹⁶O {¹⁸O¹²C¹⁶O（質量数46）/¹⁶O¹²C¹⁶O}・¹³C/¹²C {¹⁶O¹³C¹⁶O（質量数45）/¹⁶O¹²C¹⁶O} の比をとり、標準物質からの千分率で表わしたものが、文献等でよく目にする酸素・炭素安定同位体比「 $\delta^{18}\text{O}$ ・ $\delta^{13}\text{C}$ 」である。

まずは通常の扇形磁場型質量分析計によるCO₂安定同位体比計測の特徴をみてみよう（図2a）。高真空に保

	同位体分子種	質量数	存在度
凝集同位体	¹⁶ O ¹² C ¹⁶ O	44	98.40%
	¹⁶ O ¹³ C ¹⁶ O	45	1.10%
	¹⁷ O ¹² C ¹⁶ O	45	730 ppm
	¹⁸ O ¹² C ¹⁶ O	46	0.40%
	¹⁷ O ¹³ C ¹⁶ O	46	8.19 ppm
	¹⁷ O ¹² C ¹⁷ O	46	135 ppb
	¹⁸ O ¹³ C ¹⁶ O	47	45 ppm
	¹⁷ O ¹² C ¹⁸ O	47	1.5 ppm
	¹⁷ O ¹³ C ¹⁷ O	47	1.5 ppb
	¹⁸ O ¹² C ¹⁸ O	48	4.1 ppm
	¹⁷ O ¹³ C ¹⁸ O	48	16.7 ppb
	¹⁸ O ¹³ C ¹⁸ O	49	46 ppb

図1 二酸化炭素（CO₂）の同位体分子種とその質量数および存在度

Development of a Novel Stable Isotope Laser Absorption Spectroscopic Technique for Carbonates.

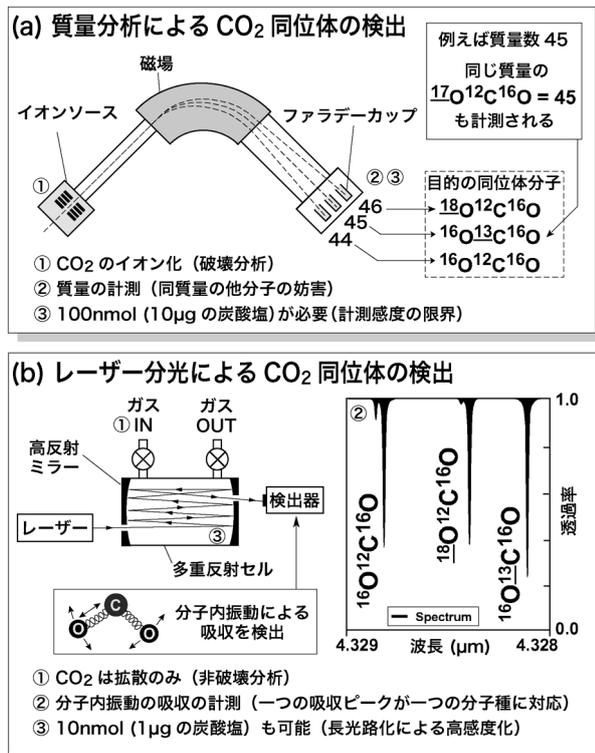


図2 質量分析とレーザー分光によるCO₂同位体検出の特徴

たれた質量分析計に導入されるCO₂ガスは、イオンソースでイオン化され、イオン化されたCO₂ガスは磁場を通して質量の違いにより経路を曲げられて、それぞれの質量数(44, 45, 46)に対応したファラデーカップで検出される。イオン化室に導入されるCO₂ガスは、前もってガス導入真空ラインで、イオン化効率や出力に変化を与え得る水分等の微量な不純ガスを除去し精製する。電子衝撃イオン化法によるイオン化では、フラグメントイオンへの分解が起こるため、厳密にいうと破壊分析である。ファラデーカップによる検出では、同質量の同位体分子種(例えば質量数45: ¹³C¹⁶O¹⁶Oと¹²C¹⁷O¹⁶O)の分離検出ができない。検出下限は約100 nmol(炭酸塩にして10 µg)である。

次に中赤外同位体レーザー吸収分光法を見てみよう(図2b)。構成は、量子カスケードレーザー、長光路の光吸収が可能な多重反射吸収セル、電子冷却光起電力型の検出器である。レーザー光源には、レーザー光の多重反射吸収セルにおける反射に伴う減衰に対応した出力の大きい、かつ、分光光源として理想的な発振線幅が細い(発振線幅約0.0002 cm⁻¹)連続発振の分布帰還型量子カスケードレーザーを用いている。多重反射吸収セルは一對の高反射ミラーから構成されており、入射するレーザー光がセル内で多数回反射して数十メートルの光路長を稼ぐことで高感度計測を可能にする⁴⁾⁵⁾。CO₂ガスは拡散によって多重反射セルに導入されるので非破壊であり、質量分析計におけるイオン化によるCO₂のフラグメンテーションの問題はない。本手法のアドバンテージ

は、分子内振動・回転運動に起因する光の吸収を用いるため、各吸収スペクトルは一つのCO₂同位体分子種に「一対一」で対応することである。つまり、通常の扇型磁場形質量分析計で問題となる同質量数の計測目的以外の分子イオンの干渉を考慮する必要がない。このことは、炭酸塩とリン酸の反応で生じる水などの不純物質が存在しても、その吸収ピーク位置が異なるので複雑なCO₂ガス精製・分離が不要であることを意味している。さらに、通常の扇型磁場形質量分析計と同等の計測精度を保ちつつ、検出下限は通常の扇型磁場形質量分析計の1/10以下を達成しており、CO₂約10 nmol(炭酸塩にして1 µg)以下の検出が可能である⁴⁾。現在では、炭酸塩試料の入ったバイアル瓶をセットすれば自動計測が行える。しかしながら、炭酸塩の安定同位体比計測において、質量分析法からの転換期とも言える高感度計測が可能でレーザー分光システムになるまでには、数々の試行錯誤を踏む必要があったことは言うまでもない。

3 草案と開発

3.1 微量分析へ

もともと筆者は「地質時代のサンゴ礁環境の復元」といった内容で、野外に出かけて地質図を作成し、採取した石灰岩(炭酸塩)の岩石薄片を顕微鏡で観察する、といったアナログ的な研究を進めていた。地質学的手法では古環境情報を数値の形で取り出せないで、サンゴ礁が発達した時の水温などの環境情報をデジタルに取り出すツールとして、代表的な手法である「安定同位体比δ¹⁸O・δ¹³C」を取り入れることにした。近年の分析機器の高感度化に伴って、必要サンプルの微量化が進む雰囲気を感じていたこともあり、硬い石灰岩に埋まっている直径数十µmの微化石(これまた炭酸塩)を取り出し、そのδ¹⁸O・δ¹³Cから精密に定量的な環境情報を取り出したい、と考えていた。そのアイデアは、幸い競争的研究資金の獲得という形で実在化する機会を得て、試行錯誤のすえ高精度マイクロサンプリング装置を開発し(図3a)、1 µm単位の微小領域から正確に粉末試料を採取することができるようになった(図3c, d)。マイクロ切削で得られる超微量な粉末試料は、同位体分析用の容器に移さなければならないが、微量であることに加えて静電気の影響などもあり、手作業では安定した粉末回収は困難である。そこで、高い回収率で任意のサンプル容器に回収できる微小粉末回収装置を開発し(図3b)⁶⁾、長時間・空間分解能の安定同位体比のマイクロサンプリング技術を完成させた⁷⁾。これらの技術は2008年に実用化し、現在では世界中の研究機関で採用されている。

3.2 新しい安定同位体分析法の探索

しかし、そこから先に根本的な問題が生じた。マイクロ切削で得られる粉末試料は少ないものでは0.001 mg

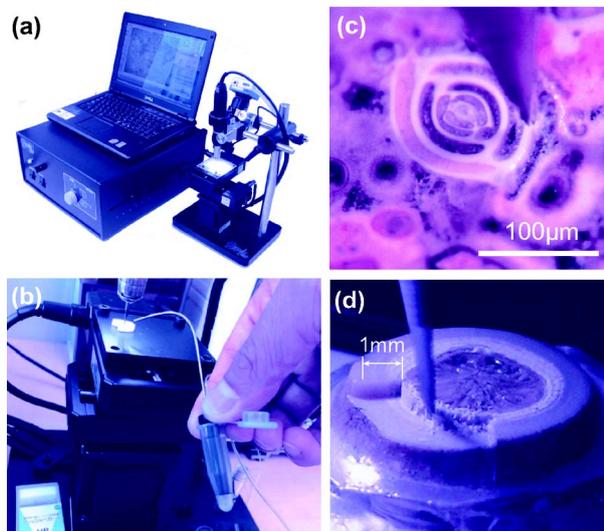


図3 μm単位のマイクロ切削によるサンプリング
 (a)高精度マイクロミル装置；(b)微小粉体回収装置による微量粉末の回収；(c)微化石のマイクロ切削；(d)炭酸塩の成長縞に沿ったマイクロ切削

程であるので、通常の質量分析計の最低必要サンプル量（約0.01 mg）（図2a）が追従しなかったのである。当時、微量試料を分析できるように質量分析計へのガス導入部に工夫をしている研究例は存在したが⁸⁾、筆者は新しい方法を開拓することにした。やることは単純。インターネット検索である。そこで見つけたのが、レーザーを用いたCO₂同位体の吸収分光に関する情報で、すべて大気や産業ガス計測の分野からの情報であった。検索結果の中で筆者の心にヒットしたのは「ppt～ppbレベルの検出が可能」という部分である。「質量分析計より高感度？」「しかも凝集同位体もいける？」と図1を眺めて思ったわけである。凝集同位体とは、重い同位体どうしの¹⁸O-¹³C結合（つまり凝集している）をもつ存在度45 ppmという微量の¹⁸O¹³C¹⁶Oで（図1）、当時、地球惑星科学分野では、これまでにない正確な古水温計（過去の地球表面温度を復元する指標）になりそうだと鮮烈デビューした同位体分子種である⁹⁾。このような淡い期待感をベースに、レーザー関連会社の担当の方々に問い合わせと質問攻めをして、パートナー兼師匠となっていていただいて調査を進めた。その甲斐もあり、分光計測の基礎ゼロの筆者であったが「レーザー分光による安定同位体比分析法を開発することで、質量分析法からの脱却が可能かもしれない」という内容で、2度目の挑戦で競争的研究資金を頂くことができ、炭酸塩分析用の中赤外レーザー同位体吸収分光計のプロトタイプを導入するに至った。今振り返ると申請書に間違いが多々見受けられるが、無知の勝利だったかと思う。

3.3 原石の中赤外レーザー分光計

プロトタイプ導入後に、まずは標準CO₂ガスの計測

を試みたが、すぐに問題が見つかった。同位体レーザー吸収分光法は、もっぱら野外などでのリアルタイム計測法として大気計測に用いられてきた³⁾。したがって、大量の大気を多重反射吸収セルに流して1秒単位でリアルタイムに計測することが目的であり、多重反射吸収セルに接続された配管は1/2インチの巨大な（少なくとも筆者らの分野からはそう思う）樹脂製ホースであった。多重反射セル自体が真空配管に対応するようなリークタイトな構造ではなく、セル内表面も分子吸着の影響を排除する表面加工はない。そもそも質量分析法による炭酸塩のCO₂同位体比計測では、学術的に貴重な炭酸塩から得られた一定量のCO₂を質量分析計に導入するバッチ法（一回ごとに区切って行う方法）であり、レーザー分光による大気計測のようなサンプルガスをフローさせながら計測することは前提にない。しかしながら、当初の期待感通りCO₂検出感度はppbレベルまで到達していたので、炭酸塩の安定同位体比分析法としてはとても有望であった。

3.4 中赤外レーザー吸収分光システムの構築

最終目標は、炭酸塩の計測において通常の扇型磁場形質量分析計よりも少量で精度よく計測可能なレーザー分光装置を構築することである。そのためには、1) 多重反射吸収セルの耐真空構造の制作、2) 炭酸塩とリン酸の反応装置の制作、3) 精密CO₂前処理真空ラインの制作、が必要である。多重反射吸収セルの耐真空構造については、質量分析計による炭酸塩の安定同位体計測で培った真空技術により、高真空用ステンレス継手、高真空用フィードスルー（セル内温度センサ）、高真空用Oリング等を使用することで約150 ccの多重反射吸収セル内の低リーク構造（～0.001 Torr/hr）を達成した。サンプルガス導入部と排出部には、超低リークのダイアフラムバルブを採用してバッチ分析を可能にした。さらに分光装置全体のハウジングと冷却ユニットにより、精密な温度制御ができる。2)と3)の炭酸塩とリン酸の反応装置と精密CO₂前処理真空ラインについては1/16～1/4インチ径のステンレス配管をベースに、分光装置に導入するガス量を0.01 Torr単位で調節できるベローズ機構（ベローズの伸縮により真空ラインの内容積を調整できる機構）を有する前処理真空ラインを制作した（図4a）⁴⁾。これによって、分光計の多重反射吸収セルに精密に任意のCO₂ガス量を導入できるようになり、定量的な吸収スペクトル取得が可能となった。同時に、ステンレス配管内のパーキングや任意濃度のCO₂ガス生成のための窒素ガス導入系を備え、高精度計測に重要な役割を果たしている。例えば、窒素ガスの加圧による吸収スペクトルの圧力広がりを利用して、レーザーのスキャン点数を増やすことで、より高精度なデータ取得が可能である。

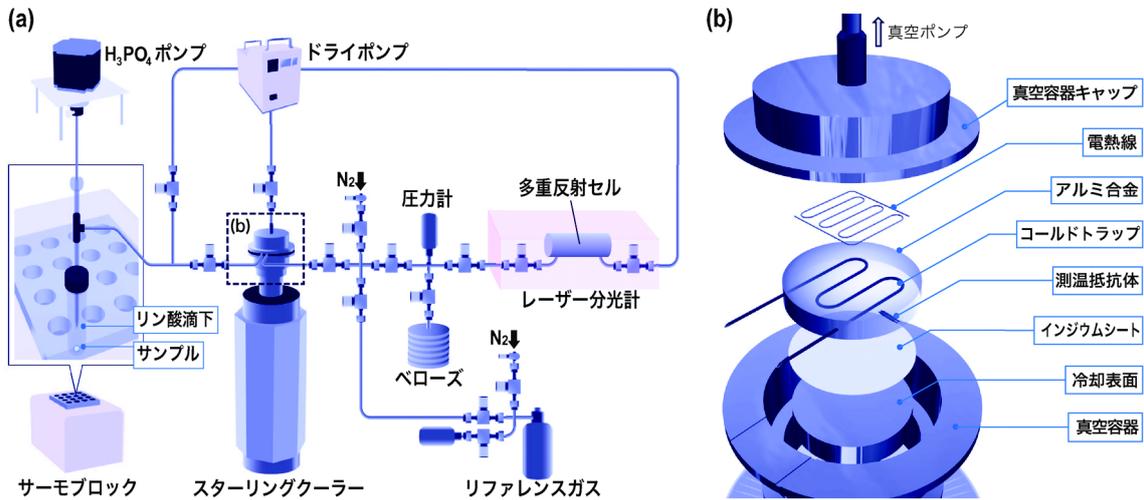


図4 炭酸塩の酸素・炭素同位体比分析のためのレーザー分光システム
 (a) 炭酸塩とリン酸の反応によるCO₂生成とレーザー分光へのガス導入ライン
 (b) スターリングクーラーによる液体窒素温度(−196℃)への電子冷却の構造

本題から少しそれるが、本システムの電子冷却について触れる。炭酸塩の $\delta^{18}\text{O}$ ・ $\delta^{13}\text{C}$ のための真空ラインにおけるCO₂ガスの精製では、CO₂をトラップするための寒剤として液体窒素(−196℃)が用いられる。デュワー瓶に液体窒素を汲み取り、それを真空ラインの一部に浸してCO₂をトラップするのであるが、本分光システムでは、−200℃まで冷却可能なスターリングクーラーの冷却部にコールドトラップを取り付けることにより、液体窒素を必要としない電子冷却によるCO₂のトラップを実現している(図4b)¹⁰⁾。これにより、炭酸塩の前処理ラインにおいて液体窒素が不要となり、大幅に小型化され、デスクトップ型の自動計測システムが運用可能となった。

3.5 精密ガス前処理ラインとレーザー分光の相乗効果

分子の吸収線はエネルギー状態間の遷移の結果なので、温度によって吸収強度が異なり、また圧力が上昇すると分子間の衝突に転化するため吸収線の幅が広がる。したがって、吸収スペクトルは計測時の温度と圧力が変化すれば、同じCO₂ガスを計測しても得られる安定同位体比は違ってしまふ。すでに述べたように、分光装置自体の耐真空構造とバッチ方式による定量的なCO₂ガス(+窒素ガス)導入システムが実現したことで、一定量のCO₂ガスを任意の圧力(温度)条件下で計測することが可能となり、温度(圧力)のみを変化させた時の吸収スペクトルの特性を抽出することができるようになった⁴⁾。このことが、CO₂ガス中の各同位体分子種(図1, 図2b)の温度・圧力・装置ノイズに対する挙動を精密に評価できるという効果をもたらして、計測結果の補正も可能となり、通常の質量分析と同等もしくはそ

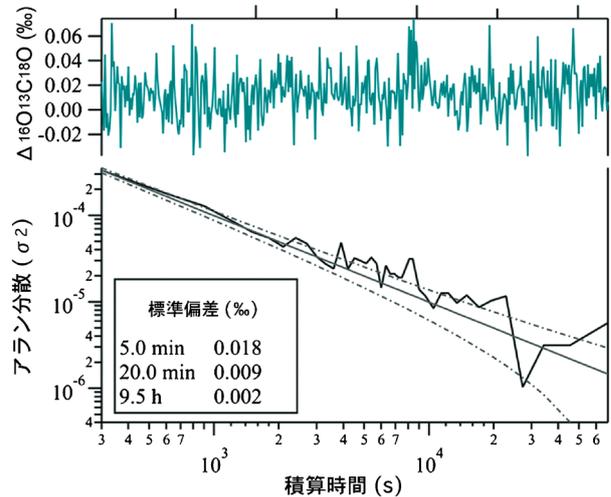


図5 レーザー分光による凝集同位体(Δ¹⁶O¹³C¹⁸Oはリファレンスガスに対する値)の計測例⁵⁾

れ以上の高精度分析が実現した。

本システムの性能がわかる一例として、先に述べた凝集同位体(存在度45ppm:図1)の計測例を図5に示す⁵⁾。一定濃度の二酸化炭素標準ガスを計測して、ランダムノイズ変動(σ²)を積算時間(s)に対してLog-LogでプロットしたAllan分散プロット(他の要因による系統ドリフトが加わるまでは傾き負の直線に乗る)は、20分間の計測で0.009%が達成されている。一方、現行の磁場型質量分析計で0.01%を達成するには、より多くの炭酸塩量と数時間の計測時間を要する。中赤外レーザー吸収分光が有望なことがお分かりいただけるかと思う。

4 おわりに

質量分析法からの転換期ともなり得る炭酸塩の中赤外

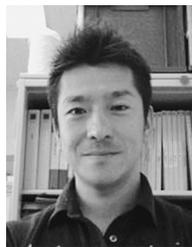
レーザー同位体吸収分光法的一端を紹介した。今後、炭酸塩における中赤外レーザー吸収分析法は、高精度マイクロミリング法と効果的にマッチングして、微小領域研究をはじめとして活躍の場が広がると予想される。また、凝集同位体の例のように、微量の同位体分子種の高感度検出においても新展開が期待できる。目標があれば自分の専門分野でなくても挑戦できる。質のよいサイエンスを支える固定概念に捉われない技術開発の努力を続けたい。

本稿で述べた一連の研究開発を遂行するにあたり、狩野彰宏博士、David Dettman 博士、高安克己博士、松田新一氏、小段剛氏、下野章雄博士、David Nelson 博士、Danzhou Yang 博士、大河内直彦博士、平朝彦博士には惜しめないサポートを頂いた。海洋研究開発機構の皆様には多大な支援を頂いた。ここに謝意を表します。

文 献

- 1) M. Kawazu, A. Tawa, T. Ishikawa, Y. Uematsu, S. Sakai : *Marine Biology*, **167**, 110 (2020).
- 2) 尾田昌紀, 鐵 智美, 坂井三郎, 石村豊徳 : 水産海洋研究, **80**, 48 (2015).
- 3) D. D. Nelson, J. B. McManus, S. C. Herdon, B. Tuzson, L.

- Emmenegger : *Appl. Phys. B*, **90**, 301 (2008).
- 4) S. Sakai, S. Matsuda, T. Hikita, A. Shimono, J.B. McManus, M. Zahniser, D. Nelson, D.L. Dettman, D. Yang, N. Ohkouchi : *Anal. Chem.*, **89**, 11846 (2017).
- 5) Z. Wang, D. D. Nelson, D. L. Dettman, J. B. McManus, J. Quade, K. W. Huntington, A. J. Schauer, S. Sakai : *Anal. Chem.*, **92**, 2034 (2020).
- 6) S. Sakai, G. Kodan : *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **25**, 1205 (2011).
- 7) 坂井三郎 : 地球化学, **49**, 99 (2015).
- 8) T. Ishimura, T. Tsunogai, T. Gamo : *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **18**, 2883 (2004).
- 9) P. Ghosh, J. Adkins, H. Affeck, B. Balta, W. Guo, E. A. Schauble, D. Schrag, J. M. Eiler : *Geochim. Cosmochim. Acta*, **70**, 1439 (2006).
- 10) S. Sakai, S. Matsuda : *Anal. Chem.*, **89**, 4409 (2017).



坂井三郎 (Saburo SAKAI)

国立研究開発法人海洋研究開発機構 (〒237-0061 神奈川県横須賀市夏島町2-15)。広島大学大学院理学研究科博士課程後期地球惑星システム学専攻。博士 (理学)。《現在の研究テーマ》レーザー分光法による地球惑星物質の新規分析法の開拓。《趣味》バドミントン、茶道 (不味流)、バイク、お酒。

E-mail : saburos@jamstec.go.jp

原 稿 募 集

創案と開発欄の原稿を募集しています

内容：新しい分析方法・技術を創案したときの着想、新しい発見のきっかけ、新装置開発上の苦心と問題点解決の経緯などを述べたもの。但し、他誌に未発表のものに限ります。

執筆上の注意：1) 会員の研究活動、技術の展開に参考になるよう、体験をなるべく具体的に述べる。物語風でもよい。2) 従来の分析方法や装置の問題点に触れ、記事中の創案や開発の意義、すなわち主題の背景を分かりやすく説明する。3) 図や表、当時のスケッチなどを用いて理解しやす

くすることが望ましい。4) 原稿は図表を含めて4000~8000字 (図・表は1枚500字に換算) とする。

◇採用の可否は編集委員会にご一任ください。原稿の送付および問い合わせは下記へお願いします。

〒141-0031 東京都品川区五反田1-26-2

五反田サンハイツ 304号

(公社)日本分析化学会「ぶんせき」編集委員会

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