

地球化学における マイクロサンプリング技術の進歩

坂 井 三 郎*

1. はじめに

地球惑星システムを科学的知見に基づいて精度よく 理解するためには、過去から現在に至る地球や惑星の 地質試料や環境物質を高い時間・空間分解能で分析す ることが必須である。それを支える高度な分析技術の 進歩は欠かせない。地球化学における分析技術は高分 解能化・微量化が進み、その中で分析試料の精密なマ イクロサンプリング技術は重要な位置を占めている。

化石試料や岩石試料などのマイクロメートル単位の 微小領域から、微量元素成分や同位体組成情報を得る ための分析法として、レーザーアブレーション-誘導 結合プラズマ (ICP) 質量分析方法, 二次イオン質量 分析計法、物理的なマイクロサンプリングによる試料 を各種分析装置で分析する方法が挙げられる。レー ザーアブレーション法は、レーザーにより固体試料表 面の局所部分を加熱・気化させて分析元素蒸気や試料 エアロゾルを取り出す方法である。レーザー光を絞り 込むことで数マイクロメートル単位の局所部分の試料 蒸発・微粒子化が可能であり、レーザーを利用したマ イクロサンプリング法と言える。生成した分析元素蒸 気や試料エアロゾルは、アルゴンまたはヘリウムガス とともにICP質量分析計のイオン源まで送り込まれ、 局所領域の成分が迅速に測定される(例えば、平田ほ か,2004)。レーザーアブレーション法の問題点は, アブレーション時における分析元素間の揮発性の違い や試料エアロゾルのレーザースポット周辺への再沈着 に起因する元素分別現象による分析精度の低減であ る。最近では、元素分別現象機構の理解が進み、レー

ザー波長の短波長化 (紫外線化)・超短パルス化 (フェムト秒) によって分析性能が格段に向上してい る (平田ほか、2011)。二次イオン質量分析計による 方法は、一次イオンビームを高真空下で固体試料に照 射し、試料表面からスパッタリング現象により放出さ れるイオン(二次イオン)を質量分離し検出すること により、試料表面の元素分析を行う。この方法は高い 質量分解能をもち、ナノ〜数ミクロン径の高空間分解 能であらゆる元素情報を得ることができる(例えば、 竹内, 2014)。レーザーアブレーション-ICP質量分 析法が試料サンプリングと分析元素のイオン化が独立 に行われるポストイオン化であるのに対して、二次イ オン質量分析計は試料表面からスパッタリング現象に より放出される二次イオンをそのまま質量分析計で分 析する方法であるため、独立した試料サンプリングと いう工程を必要としない。

一方. ドリルを用いて物理的に粉末試料を採取する マイクロサンプリング法は、レーザーアブレーション 法における元素分別現象などの問題がなく、各種の化 学分析に供することができるのが特徴である。例え ば、レーザーアブレーション法や二次イオン質量分析 法を炭酸カルシウムに用いた場合, 有機物などの炭素 源・酸素源の影響を強く受ける場合があるが (例え ば、Shiao et al., 2014), 物理的なマイクロサンプリン グとリン酸反応を用いた安定同位体分析では、そのよ うな影響を受けずに炭酸カルシウムそのものの安定同 位体組成を分析することができる。さらに、近年のマ イクロミリング装置は1μm単位での正確なサンプリ ングが可能であり、レーザーアブレーション法と同等 以上の空間分解能を持っている。したがって、マイク ロサンプリングによる局所分析の制限要素は、目的と する分析装置の最低必要試料量に依存していると言え る。マイクロサンプリング法と分析装置の微量化が有

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

^{*} E-mail: saburos@jamstec.go.jp (2015年5月8日受付, 2015年5月15日受理)

効にマッチングした例として, 物理的なマイクロミリ ングによる1µg以下の炭酸塩試料から酸素・炭素同位 体比を±0.1‰の分析精度で測定する方法が報告され ており、微小な魚類耳石の成長稿に沿った同位体分析 が可能となっている (Ishimura et al., 2004, 2008; 鐵 ほか、2015)。このような背景から、物理的なマイク ロサンプリング技術は、レーザーアブレーション法や 二次イオン質量分析計による分析技術と並んで、今後 も微小領域の化学分析において主要な位置を占めると 考えられる。これと同時に、マイクロサンプリングで 得られる試料は極微量であるため、これらを確実に回 収する技術も不可欠である。しかしながら、ドリルで 物理的にサンプリングして粉末試料を回収する、とい うシンプルな操作がゆえに、それ自体に焦点を当てた 解説は見当たらない。そこで、本稿では地球化学分野 におけるマイクロサンプリング技術と微量粉体試料の 回収技術の進歩と現状を概説する。近年、局所分析の 一翼を担っているレーザーアブレーション法について は、第3章において物理的なマイクロサンプリング技 術と比較して簡単に紹介する。

2. マイクロサンプリング技術の種類

マイクロサンプリングは、岩石や化石などから精密に環境記録を抽出するために必須であり、そのための技術が数多く試みられてきた。大局的にみると、これまで用いられてきた物理的なマイクロサンプリング技術は3つに分けられる。まず(1)歯科用等のマイクロドリルを用いて、肉眼および生物・実体顕微鏡下で観察しながら粉末試料を採取する方法、次に(2)所定の試料を短冊状に整形した後、スライス盤式ミリングマシーンおよび凍結マイクロトームを用いて一定間隔ごとに試料を採取する方法、そして(3)XYZ移動ステージ上に研磨試料を設置してCCDカメラ等の映像を介して、その上部に設置されたマイクロドリルで切削する方法、である。ここでは、上記(1)~(3)の物理的なマイクロサンプリング技術を概観する。

2.1 顕微鏡下におけるマイクロサンプリング

最も古くから開発されているのは、歯科用等の小型のモータードリルを用いて、生物・実体顕微鏡下で粉末試料を採取する方法である(Granigg, 1915; Moritz, 1929; Haycock, 1931; Russanow, 1937; Machairas, 1967; Verschure, 1978; Prezbindowski, 1979)。分析者の手による切削ではない正確なマイクロサンプリングとしての最初の記載は、Haycock (1931) によ

る研磨薄片におけるサンプリング法までさかのぼる。 Havcock (1931) は、顕微鏡サイズの微小な鉱物粒子 から化学分析のための粉末試料を得ることを目的とし て、生物顕微鏡のステージ上にXYZ軸方向に稼動す る手動ステージをおき、ステージ上の対物レンズの光 軸上にドリルビットの先端が位置するように、ステー ジ表面に対して60度の角度から電動モーターに取り 付けられたピンバイス(小型のハンドドリル)が固定 されている。まず目的の鉱物粒子を対物レンズの光軸 上にあるドリルビット先端の直下に移動させ、Z軸方 向の手動ステージを上部に移動させることで切削を行 う仕組みである (Fig. 1)。これにより金属鉱物粒子中 の約100 μm径の範囲から正確に粉末試料を得ること に成功している。また目的に応じてドリルビットの先 端形状を選択し、ドリルの回転数が200~300回転/分 (rpm) のときに粉末の飛散のないサンプリングが行 えると記述している(Fig. 1b)。

1970年代後半になると、モータードリルの性能が向上したことで、ドリル回転軸のぶれが改良され、さらに精度のよいマイクロサンプリングが可能となり(Verschure, 1978; Prezbindowski, 1979)、石灰岩中の異なる時代もしくは環境で生成したセメントごとの酸素・炭素安定同位体比の変動などが議論されるようになった(Moldovanyi and Lohmann, 1984)。しかしながら、1980年代に入ると、さらに微小スケールにおける炭酸塩の縞状構造や鉱物中の結晶成長構造に沿ったマイクロサンプリングによる研究が注目されるようになり、本技術ではそのような研究に十分に対応

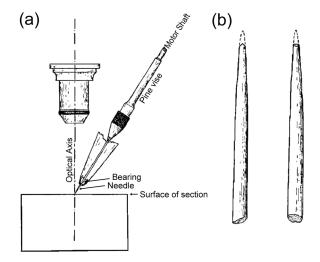


Fig. 1 Schematic drawing of micro-sampling apparatus(a) and drill tip used in drilling hard minerals(b) (modified after Haycock, 1931).

することが困難であった。

2.2 スライス盤方式のマイクロサンプリング

このような背景から、炭酸塩、鉱物、岩石などの地 質試料の縞状構造からマイクロメートルスケールの詳 細な地球化学情報の抽出を目的として、スライス盤方 式のミリング装置や冷凍マイクロトームを用いた方法 が登場した (Wada, 1988; Gagan et al., 1994; 渡邊・ 大場, 1998; 鈴木ほか, 1999)。試料を短冊状に成形 して一定間隔で切削・分割するしくみで、定量性が高 く50 μm以下の空間分解能をもつサンプリング方法 である。Wada (1988) は、脈状グラファイトに接触 する炭酸カルシウム結晶から、小型のダイヤモンド ソーを用いて約1 mm²の角柱状試料を作成したのち, 凍結マイクロトームにより20~50μm厚の平板状試 料を採取し、高い空間分解能で炭素・酸素同位体比の プロファイルを得た。その結果、脈状グラファイトと 炭酸カルシウム結晶の接触部から200~300 μmの範 囲において、両者の同位体交換の結果である顕著な炭 素・酸素同位体比の変動を見いだし、過去の環境記録 を精密に抽出するためにはマイクロメートル単位の各 部位による分析が重要であることを示した。

この技術によく適しているのは、比較的大型のサン ゴ・シャコガイなどの生物源炭酸塩の成長稿に沿った 高時間分解能サンプリングである。サンゴ骨格では, 週単位程度の高時間分解能で酸素・炭素同位体比や微 量元素の情報を得ることを目的として、スライス盤式 のマイクロサンプリング法が開発された (Gagan et al., 1994)。この方法は、スライス盤のXYステージに骨格 片を取り付けて、垂直に設置されたミリングビットの 側刃により成長方向に骨格を切削する仕組みで、サン ゴ骨格の成長方向に最小100 µm程の厚さで連続的な マイクロサンプリングを可能にした (例えば、Gagan et al., 1998; Suzuki et al., 2003; 鈴木·川幡, 2004) (Fig. 2)。渡邊·大場 (1998) は, 骨格が緻密で成長速 度が早いシャコガイを研究材料として、Wada (1988) と同様の凍結マイクロトーム法による高時間分解能の 古環境解析を試みた。Wada (1988) と異なるのは、 長さ12.4 mm, 幅1.0 mm, 奥行2.0 mmの短冊状試料 を氷詰め (1.5 cm×2 cm×13 cm) にして一定間隔で のスライスを容易にしている点で、約50 μm間隔で 削りだすことに成功しており、時間分解能にして1~ 2日という極めて高分解能での酸素・炭素同位体比の 解析を行っている。

このようにスライス盤方式のマイクロサンプリング

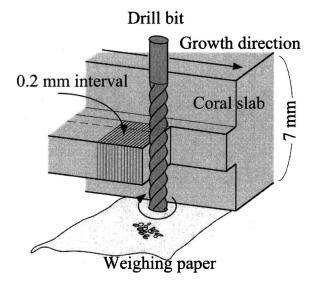


Fig. 2 Schematic drawing of a micro-sampling method for coral (adopted from Suzuki and Kawahata, 2004). This technique was originally developed by Gagan et~al.~(1994). The system is composed of a milling machine and X–Y positioning table. Micro-samples (at least $100~\mu m$ thick) are shaved by a drill bit in a continuous several centimeterlong trip.

は飛躍的に時間分解能を向上させたが、大きく2つの問題点が残された。まず、試料を短冊状に成形する必要があるので、成形可能な大きさのサンプルであることが前提となり、比較的微小な貝殻や魚類耳石などをターゲットとするのは難しい。次に、貝殻、サンゴ骨格、鍾乳石、岩石鉱物などに認められる成長稿・縞状構造は必ずしも直線的な成長面を持つわけではないため、直線的な削ぎ落としであるスライス盤方式のマイクロサンプリングでは、厳密には目的とする同時間面の成長部位以外の部位も同時に切削されてしまうことは避けられない。

2.3 高空間分解能のマイクロミリング

このような微小で複雑な成長稿をもつ試料にも対応できるマイクロサンプリング技術として最も空間・時間分解能が高いのは、コンピュータ制御された精密モーター駆動ステージを用いたマイクロミリング装置による方法である。Dettman and Lohman (1993) は、3軸 (XYZ軸)のステッピングモータ駆動の可動式テーブルと、その上方に位置するよう固定して設置された回転切削ドリル、そして試料表面を観察するための実体顕微鏡から構成されるマイクロミル装置を開発した(Fig. 3a; Dettman and Lohmann, 1995)。まず切削対象(ここでは二枚貝)の写真を取得したのち写真上の成長稿に沿った座標点をデジタル化する (Fig. 3b)。

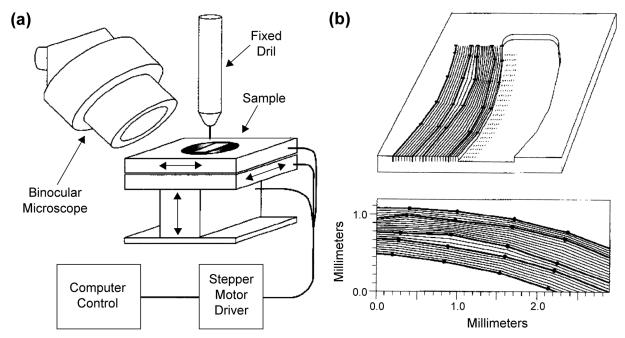


Fig. 3 Microdrill assembly (modified after Dettman and Lohmann, 1995). (a) Schematic diagram of microdrill. (b) Digitizing the coordinates of drilling paths along the growth bands of bivalve. The actual coordinates for drilling is determined based on the drilling coordinates on the photograph of bivalve. Thick lines are digitized curves, which follow visible growth bands on a the section. Fine lines are interpolated curves, which maintain equal spacing between any two adjacent digitized curves. The interpolated curves respond to variations in growth rate at any point along a curve (Dettman and Lohmann, 1993, 1995).

次に、デジタル化した座標点をコンピュータで可動式 テーブル上の実際の試料の座標へと直交座標系により 座標変換する。そして可動式テーブルのXY軸(水平 方向の切削) と Z軸(切削深度) を、1 μm の空間分 解能でコンピュータ制御することにより, 座標化した 成長線の1ラインごとに自動切削を行う。この技術の 登場により、鉱物粒子などの微小なスポットのサンプ リングはもとより、サンゴ・貝殻・耳石・石荀等の成 長稿や岩石・鉱物等の縞状構造に沿った数マイクロ メートル単位での自動切削が可能となった。さらに注 目すべきは、カソードルミネッセンス、蛍光観察や元 素マッピングにより得たサンプルの画像など、他の観 察装置で取得した画像をデジタル化に用いることで, マイクロミリングの際に可視化できない成長稿や累帯 構造などに沿ったマイクロミリングが可能なことであ る (Dettman and Lohmann, 1995; Pollington and Baxter, 2011)。例えばPollington and Baxter (2011) は、ざくろ石班状変晶中のサマリウム-ネオジム年代 測定のためのマイクロサンプリング法の検討を行い, 元素マッピングで得たざくろ石班状変晶中の累帯構造 の画像を利用して、累帯構造ごとのマイクロミリング を実施している。

このマイクロミリンング技術の有用性は、微小領域 の解析技術を必要とする地球化学分野に広く認識さ れ、とくに生物源炭酸塩の成長稿を用いた古気候・古 海洋研究の分野において適用された。サンゴ骨格を用 いた酸素・炭素同位体比や微量元素の研究では、熱 帯・亜熱帯域の月単位~年単位の環境記録が得られる ようになり (Quinn et al., 1996), 二枚貝を用いた同 様の研究からは高緯度および淡水域の週単位~年単位 の環境記録が得られるようになった(Weidman and Jones, 1994)。陸域の環境記録媒体として重要である 鍾乳石の酸素・炭素同位体比および微量元素分析にお いても, 本技術は広く利用されるようになり, 年単位 の高時間分解能の環境記録解読の一翼を担っている (例えば, Frappier et al., 2002; Spötl and Mattey, 2006; Watanabe et al., 2010)。本技術は、魚類の生 息環境履歴の解明に必須である耳石の成長稿に沿った 酸素・炭素同位体比分析のためのマイクロミリングに も用いられてきた (例えば、Patterson et al., 1993; Wurster et al., 1999; Høie et al., 2004)。 魚類の耳石 に関しては、Dettman and Lohmann (1993) の本技 術の確立を契機に、当時Dettmanの支援のもと同じ ミシガン大学に所属していたPattersonが淡水魚の耳

石に適用したのが始まりである (Patterson *et al.*, 1993)。

近年、多くの研究機関で導入されている高精度マイクロミル装置は、Dettman and Lohman(1993)によって開発された装置の基本構造がベースとなっている(Weidman and Jones, 1994; Wurster et al., 1999; Fouke and Rakovan, 2001; 坂井、2009)。坂井(2009)は、Dettman博士と共同で、市販品を含めたこれまでのマイクロミリング装置の問題点として、例えば、切削試料のデジタル画像取得・座標化の際の移動ステージ位置(光学軸の位置)と実際のミリングの際の移動ステージ位置が異なるためにミリングの位置精度が不安定なこと(Fig. 7a)、ドリルが垂直に固定され

ているためにドリルビットの先端形状に応じて切削角度を変更できないこと、などを洗い出し、これらの問題点を解決する簡素化かつ洗練化した高精度マイクロミル装置を開発した(坂井ほか、2008、2010)。その後、本装置は産学連携の成果として、2008年から高精度マイクロミル「Geomill326」という製品名で販売開始された(http://g326.com/, 2015年5月現在)。国内はもとより欧米の研究機関に多数導入され、ユーザーからのフィードバックを得ながら本装置の改良を進めている。Fig. 4にGeomill326によるマイクロミリングの例を示している。冷水サンゴ Lophelia pertusa の断面に見られる成長稿に沿ったマイクロミリングの例では(Fig. 4a-c)、CMOSカメラで得られた

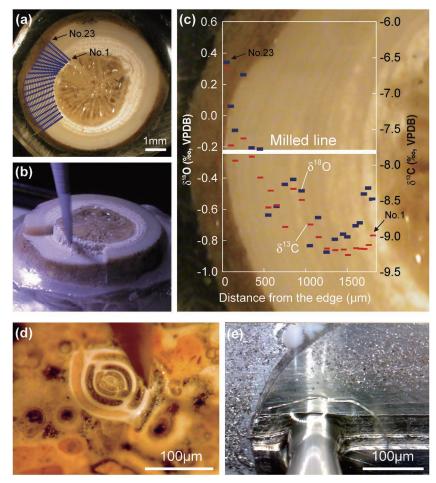


Fig. 4 Examples of micromilling technique developed by Sakai (2009) (Geomill 326 website: http://g326.com/). (a-c) Accretionary growth banding analyses of the fossil of cold-water coral Lophelia pertusa. A special software is used to set the coordinates of the growth line along which milling will take place (a), then start milling for each growth line (b). 23 samples were taken from 1.8-mm-thick accretionary growth. There is a general decreasing trend in both $\delta^{18}O$ and $\delta^{13}C$ from exterior to the interior of the calyx, which related to the isotopic equilibrium part with seawater and the metabolic fractionation zones (c). (d) Tests of the benthic foraminifer Pyrgo spp. is milled in a chamber on micrometer scale without mixing with adjacent areas. (e) 1 mm thick plate of Ti-Fe alloy is milled as a whole soaked in kerosene. Gemill326, thus, is a powerful tool for various geochemical materials.

サンプル画像を用いて切削ラインを座標化したのち, 専用ソフトウェア上で冷水サンゴ試料の実際の座標に 変換し (Fig. 4a), 1ラインごとに1μm単位の空間分 解能でミリンングを行う (Fig. 4b)。得られた微量の 粉体試料を専用の微量粉体回収装置(後述)で回収し たのち質量分析を行い、高空間分解能の酸素・炭素同 位体比情報を得る(Fig. 4c)。微小で複雑なサンプル の例として、約100 µm径の底性有孔虫殻のマイクロ ミリングを示した (Fig. 4d)。約10 μm厚の湾曲した 殻部分を個別(1チャンバーごと)に精密なマイクロ ミリングが行える。この例では、タングステンカーバ イド製のドリルビットを用いているが、先端形状が シャープで耐久性のある単結晶ダイヤモンドビットを 用いることで空間分解能を上げることも可能である。 さらに地球化学試料以外の適用例として金属切削も可 能にしており (Fig. 4e), 隕石などの固い試料にも適 用することができる。このように現在の高精度マイク ロミリング技術は高い空間分解能を持ち、応用性が高 いことがわかる。興味深いのは、本章で紹介したマイ クロミリング技術の基本構造が、2.1節で記述した Haycock (1931) による研磨薄片におけるサンプリン グ法とほぼ同じであることである。約80年前と同様 のアイデアであっても、それを支える技術の進歩が研 究の質を押し上げることを示すよい例と言える。

3. 高精度マイクロミリング法の特性

このように現在では数マイクロメートル単位の高空間分解能でのマイクロサンプリングが可能であるが、どのような戦略でマイクロサンプリングを実施するのかで得られる地球化学情報の質が異なってくる。ここではDettman and Lohman (1993) のマイクロミリング法による炭酸塩の酸素・炭素同位体比解析例を軸にして、サンプリングの解像度依存性、ドリルビット自体に関わる特性、レーザーアブレーション法との比較について紹介する。

高精度マイクロミリング法は、構造的に1 μm単位の制御が可能であるので数マイクロメートル単位の空間分解能でのサンプリングができる。しかし、マイクロミリング装置が持つ極限の空間分解能で採取したサンプルが、使用する分析装置の必要試料量を満たさないこともある。それを踏まえたうえで、最適の空間分解能を選択することは、例えば生物源炭酸塩の成長稿に沿った環境記録解析には重要である。Quinn et al. (1996) は、サンゴ骨格 Porites luteaを用いて、月単

位のマイクロミリンング試料から約20年分の酸素・炭素同位体比を計測し、サンプリング分解能による酸素同位体比記録への影響を評価した(Fig. 5)。その結果、1ヵ月単位の時間解像度を持つ酸素同位体比記録が20年間の表層水温をよくモニターしていることを示したうえで(r=0.88; Fig. 5a),2ヵ月および4ヵ月の解像度での酸素同位体比記録も同様の季節~十年スケールのシグナルを保持しているとし(Fig. 5b,c),目的によっては必ずしも高時間分解能でのマイクロミリングが必要ではないことを指摘した。成長稿を有する鍾乳石および魚類の耳石においても同様の検討がなされ、サンプリング解像度が低くなると酸素同位体比シグナルの振幅が減衰することを指摘し、目的に応じたサンプリング解像度を選択する重要性が示されている(Høie et al., 2004; Spötl and Mattey, 2006)。

マイクロミリング法で用いられるドリルビットには 試料に応じてさまざまな素材が用いられる。 固い鉱物 もしくは数マイクロメートル単位の極めて微小領域が 対象の場合は単結晶ダイヤモンドビットが有効である し、金属が対象の場合は超硬合金などの素材でできた ドリルビットが用いられる (http://g326.com/, 2015年5月現在)。炭酸塩が対象の場合は、タングステンカーバイド製のドリルビットが適している (例えば、坂井、2009)。ドリルビット素材に関わらず、準安定鉱物であるアラゴナイトのマイクロミリングには注意が必要

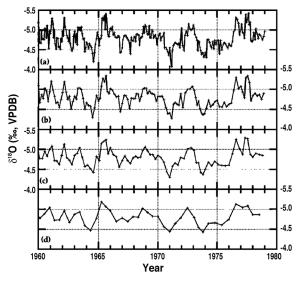


Fig. 5 Tawara coral (Porites lutea) oxygen isotope time series (modified after Quinn et al., 1996), sampled (a) monthly, (b) bimonthly, (c) quarterly, and (d) twice yearly. The signal characters of the monthly record are well preserved in the bimonthly and quarterly records.

である。Foster et al. (2008) は、100%アラゴナイト の鉱物組成をもつ魚類の耳石からマイクロミリングで 得た粉末試料をX回折装置で計測した。その結果、ド リル回転時の熱に起因すると考えられる方解石への相 転移が約6%あることを明らかにした。また酸素同位 体比に与える影響を調べるために、(1) マイクロミリ ング時のドリル回転スピードによる比較(7,500~ 17,000 rpm), (2) ドライ環境とウェット環境でのマ イクロミリングの比較、(3) 手作業によるマイクロ サンプリング (剥離) との比較、を行った。その結 果、それぞれの酸素同位体値には有意な差が認められ ず、ドリル回転に起因する同位体分析への影響はない と結論づけている。しかしながら、ドリルビットから の試料への異物混入は常に注意を払わなければならな い。後藤ほか(2012)は、鉄-マンガンクラストのオ スミウム同位体比層序に必須のドリリングによる粉末 試料作成法を検討し、粉末試料作成時のドリリングに よる金属製ドリルからのレニウムとオスミウム混入量 を評価した。ダイヤモンドドリル、コバルトドリル、 タングステンカーバイドドリルの3種類の材質の金属 ドリルを用いてドリリングを行った結果、いずれの材 質のドリルでも最大で50 pgのレニウムが混入するこ と、タングステンカーバイドドリルを使用した場合の みオスミウムの混入が起きないことを明らかにした。 このように、目的に応じたドリルビットの選択が重要 である。

Spötl and Mattey (2006) は、同一の鍾乳石試料を 用いてマイクロミリンング法(空間分解能100 μm)と レーザーアブレーション法 (空間分解能 340 μm) によ る酸素・炭素同位体比記録の比較を行った。その結果、 空間分解能が低いレーザーアブレーション法では酸素・ 炭素同位体比変動の極大・極小値の振幅がスムージン グされているものの、両者はよい一致を示した(Fig. 6)。レーザーアブレーション法による分析精度・空 間分解能は、マイクロミリング法による質量分析計法 に劣るものの、粉末試料を作成する必要がなく、レー ザーを試料に照射して気化・エアロゾル化した試料を 直接分析装置に送り込むことができるため、短時間で 効率的に多数の分析を行える。両者はトレードオフ関 係にあり、研究目的に応じた使い分けが必要である。 Hoffmann et al. (2009) は、炭酸塩のウラン非平衡年 代測定のサンプリング法として、マイクロミリンング 法とレーザーアブレーション法を比較し、Spötl and Mattey (2006) と同様の結論を導いている。

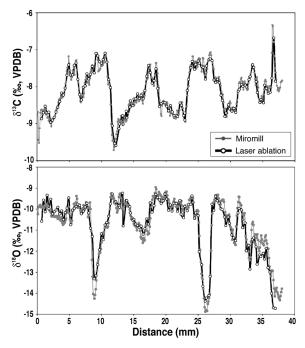


Fig. 6 Comparison of carbon and oxygen isotope data obtained by micromilling (100 $\mu \rm m$ resolution) and by laser ablation (338 $\mu \rm m$ resolution) of flowstone (modified after Spötl and Mattey, 2006). The overall consistency of the results is high. Although the laser abration involves slightly lower precision than the micromilling, its rapid acquisition renders laser ablation a useful reconnaissance technique for analyzing long sections of speleothems

4. 微量試料の回収技術

1900年代初頭に0.5~1 mm程の空間分解能のマイクロサンプリング法が考案されて以来、現在ではマイクロメートル単位の正確なマイクロサンプリングが可能になった。一方で、マイクロサンプリングにより得られた微量の粉体試料をいかに高い回収率で効率よく回収するかという課題が残されていた。これはレーザーアブレーション法や二次イオン質量分析計法にはない問題点である。ここでは、これまで考案されてきた微量粉体回収法を紹介する。

4.1 液体を利用した微量粉体回収

Verschure (1978) は、2.1節で記述した顕微鏡下でのマイクロサンプリングにより得た微量の粉末試料を効率よく回収する方法として、薄片中のターゲットとなる鉱物粒子上を液体に浸した状態でドリリングを行うことで、粉末化する鉱物粒子の飛散を最小限にしている。使用する液体には、顕微鏡の光学イメージが歪まないように表面張力が小さい(薄片上面に薄く広

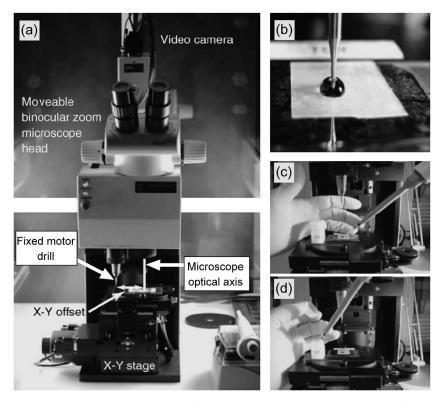


Fig. 7 Recovery procedure of milled samples (modified after Charlier *et al.*, 2006). (a) New Wave InstrumentsTM MicromillTM. (b) Milling of the sample surface taking place within the droplet of Milli-Q water, constrained by the lab film. (c) Transferal of the sample slurry from the sample surface directly to the digestion vessel using a micropipette.

がりやすい) シリコンオイルを用いる工夫がされてい る。粉末試料を含んだ液体試料の回収には、リンデマ ンガラス製のマイクロキャピラリーチューブによる吸 引法が用いられている。Charlier et al. (2006) は, 超純水とパラフィルムを用いた粉体回収法を単結晶ス ケールのストロンチウム同位体分析を目的として考案 した (Fig. 7)。 手順は, (1) ターゲットとなる単結晶 がドリルビットの直下に位置するように薄片を設置 し、(2) 中央に4 mm程の穴を開けた温めたパラフィ ルムを薄片に密着させる (Fig. 7b), (3) パラフィル ムの中央部の穴の部分に超純水を滴下し、表面張力で 超純水をFig. 7bのような状態にする, (4) ドリルを 回転させると, 粉末試料が超純水中で懸濁液の状態に なる、(5) マイクロピペットで任意の容器に回収する (Fig. 7c, d), となる。この方法による回収率は約80~ 85%であるが、超純水中でドリリングを行うために ドリルビットを冷却することができると共に、粉末試 料が飛散することを防ぐことができる利点がある。

4.2 直接的な微量粉体回収

マイクロサンプリングで得られた微量粉末試料の直 接的な回収は、スパチュラなどを用いた手作業が一般 的であり, 正確な切削が行えても回収率が低く, 長尺 の成長稿分析では相当な時間を要していた。凍結マイ クロトーム法では、短冊状試料を氷詰めにすることで 切削試料が飛散しない、という工夫がなされている が、短冊状に成形できる試料にしか適用できないとい う制限がある。Fouke and Rakovan (2001) は, グ ラスフィルター $(0.2\sim0.6\,\mu\mathrm{m})$ を取り付けたマイクロ ピペットチップの根本側を真空ポンプに接続し、ピ ペットチップをマニピュレータに固定することで、ピ ペットチップ先端から微量粉末を回収した。しかし. 本手法では1サンプルごとにグラスフィルターに付着 した粉末試料の回収が必要で、手間がかかるうえに回 収率の安定性にばらつきがある。最近では、マニピュ レータを緻密にモーションコントロールすることで. 直径数マイクロメートルの微細な対象物の採取ができ るマイクロマニピュレータシステムが市販されている ((株)マイクロサポート: http://microsupport.co.jp; 2015年5月現在)。マイクロマニピュレータに取り付 けるサンプリングツールも多彩で、薄片などの微小領 域における安定したサンプル回収が可能である。しか しながら、生物骨格の成長線や鉱物の累帯構造などの

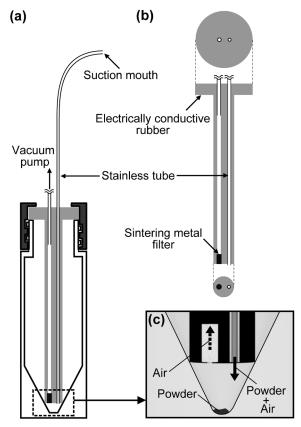


Fig. 8 Structure and handling procedure of the apparatus for recovering powder sample for isotope analysis (modified after Sakai and Kodan, 2011). The cap of the glass vial is screwed down (a) until the bottom of the electric conductive rubber touches the inside of the vial (b). Thereby, an airtight space is made at the bottom of the vial (c). Powder from suction mouth is transported to the airtight space with the air, and the sintering metal filter (c) prevents the sample loss through the evacuation tube.

不定形のサンプル回収には適していない。

このような問題点を解決する微量粉末回収装置が Sakai and Kodan (2011) によって報告された (Fig. 8)。本装置は真空ポンプによる吸引法で、金属フィルター、導電性ゴム性の本体、ステンレス製の吸引管、そして同位体比分析用の容器、で構成される (Fig. 8a-c)。容器の蓋をしめることによって、容器のテーパー部と伝導性ゴム本体底面の円周部が接触して閉鎖空間を作ることで、吸入管から吸入される粉末試料が容器底部の閉鎖空間に集積する仕組みになっている (Fig. 8c) (坂井、2012)。冷水サンゴ骨格の成長稿に沿ってマイクロミリング装置による切削を行った後、微量粉体回収装置で粉末試料を回収した結果、5~100 μgで90%以上の高い回収率が安定して得られている (Sakai and Kodan, 2011)。ただし試料間の混

入を防ぐために、回収ごとのエアダスターによる洗浄など、目的に応じた洗浄が必要である。本回収装置は2010年に製品化され、高精度マイクロミル装置Geomill326と同様に、国内および欧米の研究機関に多数導入されている(http://g326.com/, 2015年5月現在)。この微量粉体回収の技術は、目的の分析容器に直接回収でき、短時間で安定した回収が可能である。これに加えて、テーパー部をもつ容器であれば適用できるため(市販のマイクロチューブなど)、例えば生物源炭酸塩の成長稿に沿った多数のマイクロサンプリングの効率と再現性を格段に向上する有効な方法といえる。

5. おわりに

現在のマイクロサンプリング技術、とくに高精度マ イクロミリング装置は、約80年前にHaycock (1931) が考案したマイクロサンプリングの基本構造を応用 し、技術進歩によって1μm単位の精密なサンプリン グが可能なものとなった。本稿の最初に触れたが、高 精度マイクロミリング法と分析装置の微量化が有効に マッチングした例として、物理的なマイクロミリング により得られた1 µg以下の炭酸塩試料(従来の安定同 位体比分析法に比べて1/100程度に相当)から酸素・ 炭素同位体比を±0.1‰の分析精度で測定する方法が 報告されており、微小な魚類耳石の成長稿に沿った同 位体分析が可能となっている (Ishimura et al., 2004, 2008; 坂井, 2009; 鐵ほか, 2015)。このような背景 から, 高精度マイクロミリング法は, レーザーアブ レーション法や二次イオン質量分析計よる分析技術と 並行して、今後も地球化学における微小領域分析法の 主要な位置を占めると考えられる。とくに鉱物中の 累帯構造や炭酸塩の成長稿を用いた高空間分解能分析 に活躍の場が広がるであろう。例えば近年、炭酸塩鉱 物から抽出したCO2中の重い同位体どうしの結合度 (¹³C-¹⁸O結合)が炭酸塩を形成するときの正確な温 度指標になることが報告され (clumped isotope温 度計; Ghosh et al., 2006), ¹³C-¹⁸O結合をもつ微量 ¹³C-¹⁸O¹⁶O(存在度45 ppm)の質量分析計による高 感度検出および微量化の努力がなされている。今後, 高精度マイクロミリング法とのカップリングによる新 展開が期待できる。さらに、Sakai et al. (2014) は、 微量同位体分子種の新しい超高感度検出法として、質 量分析法から脱却し、分子内振動に起因する中赤外領 域の光吸収に着目し、最新のレーザー分光技術を駆使

して¹³C¹⁸O¹⁶Oおよび¹²C¹⁷O¹⁶Oの直接検出により、clumped isotopeに加えてδ¹⁷O情報の高感度同時検出(安定同位体比分析法の1/10以下の微量化)に成功している。高精度マイクロミリング技術と新しい高感度レーザー同位体分光技術のカップリングは、さまざまな地球化学試料の微小領域研究において新たな戦略となることが期待される。質のよいサイエンスのためには、それを支える計測の技術開発の弛まない努力が大事である。

謝辞

本稿執筆の機会を与えて頂いた高野淑識博士に感謝の意を表します。狩野彰宏教授,石村豊穂准教授には,本総説への丁寧なご助言・ご指摘を頂きました。高精度マイクロミル装置のアイデアの着想から製品化に至るまで,David Dettman博士,高安克己博士,合資会社いずもWebの松田新一代表には惜しみないサポートを頂きました。本総説で述べた一連の研究開発を遂行するにあたり,海洋研究開発機構の皆様,マイクロ・ダイヤモンド株式会社の皆様,中央精機株式会社の皆様,小段金属株式会社の皆様,アドレス・サービス株式会社の皆様には多大な支援を頂きました。ここに謝意を表します。

引用文献

- Charlier, B. L. A., Ginibre, C., Morgan, D., Nowell, G. M., Person, D. G, Davidson, J. P. and Ottley, C. J. (2006) Methods for the microsampling and high-precision analysis of strontium and rubidium isotopes at single crystal scale for petrological and geochronological applications. Chemical Geology, 232, 114-133.
- Dettman, D. L. and Lohmann, K. C. (1993) Seasonal change in Paleogne surface water δ¹⁸O: Fresh-water bivalves of western North America. In: *Climate Changes in Continental Isotopic Records, Geophysical Monograph Series* 78. (eds. P. Swart, K. C. Lohman, J. McKenzie, and S. Savin), American Geophysical Union, pp. 153–163
- Dettman, D. L. and Lohmann, K. C. (1995) Microsampling carbonates for stable isotope and minor element analyses: Physical separation of samples on a 20 micrometer scale. *Journal of Sedimentary Research*, A65, 566–569.
- Foster, L. C., Andersson, C., Høie, H., Allison, N., Finch, A. A. and Johansen, T. (2008) Effects of micromilling on d18O in biogenic aragonite. *Geochemistry Geo*physics Geosystems, 9, doi: 10.1029/2007GC001911.
- Fouke, B. W. and Rakovan, J. (2001) An integrated cathodoluminescence video-capture microsampling system. *Journal of Sedimentary Research*, **71**, 509–513.
- Frappier, A. B., Sahagian, D., González, L. A. and Car-

- penter, S. J. (2002) El Niño events recorded by Stalagmite Carbon Isotopes, *Science*, **298**, 565.
- Gagan, M. K., Schivas, A. R. and Isdale, P. J. (1994) Highresolution isotopic records from corals using ocean temperature and mass-spawing chronometers. *Earth* and *Planetary Science Letters*, 121, 549-558.
- Gagan, M. K., Ayliffe, L. K., Hopley, D., Cali, J. A., Mortimer, G. E., Chappell, J., McCulloch, M. T. and Head, M. J. (1998) Temperature and surface-oecean water balance of the mid-Holocene tropical western Pacific. Science, 279, 1014–1018.
- Ghosh, P., Adkins, J., Affeck, H., Balta, B., Guo, W., Schauble, E. A., Schrag, D. and Eiler, J. M. (2006) ¹³C-¹⁸O bonds in carbonate minerals: A new kind of paleothermometer. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 70, 1439-1456.
- 後藤孝介・野崎達夫・鈴木勝彦・常青・木村純一 (2012) ド リルを用いた微小サンプリングと酸分解に伴う Re-Os ブランク:Fe-Mn クラストの Os 同位体比層序に向け て. JAMSTEC Report of Research and Development, 15, 13-25.
- Granigg, B. (1915) Zur Anwendung metallographischer Methoden auf die mikroskopische Untersuchung von Erzlagerstaätten. Metall und Erz, 12, 189–200.
- Haycock, M. (1931) A method for sampling minerals in polished sections. *Economic Geology*, 26, 415-420.
- 平田岳史・浅田陽一・Tunheng, A.・大野剛・飯塚毅・早野 由美子・谷水雅治・折橋裕二 (2004) レーザーアブ レーション-誘導結合プラズマ質量分析法による地球化 学試料の微量元素分析. 分析化学, **53**, 491-501.
- 平田岳史・横山隆臣・牧賢志・岡林識起・鈴木敏弘・昆慶明 (2011) レーザーアブレーション-ICP質量分析法による ジルコン年代測定. フィッション・トラック・ニュースレター, 24,79-86.
- Hoffmann, D. L., Spötl, C. and Mangini, A. (2009) Micromill and in situ laser ablation sampling techniques for high spatial resolution MC-ICPMS U-Th dating of carbonates. *Chemical Geology*, **259**, 253–261.
- Høie, H., Anderson, C., Folkvord, A. and Karlsen, Ø. (2004) Precision and accuracy of stable isotope signals in otoliths of pen-reared cod (*Gadus morhua*) when sampled with a high-resolution. *Marine Biology*, 144, 1039–1049.
- Ishimura, T., Tsunogai, U. and Gamo, T. (2004) Stable carbon and oxygen isotopic determination of sub-microgram quantities of CaCO₃ to analyze individual foraminiferal shells. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **18**, 2883–2888.
- Ishimura, T., Tsunogai, U. and Nakagawa, F. (2008) Grain-scale heterogeneities in the stable carbon and oxygen isotopic compositions of the international standard calcite materials (NBS 19, NBS 18, IAEA-CO-1, and IAEA-CO-8). Rapid Communications in Mass Spectrometry, 22, 1925–1932.
- Machairas, G. (1967) Description d'un appareillage nouveau permettant des microprélévements ponctuels sur lame mince et section polie. Bulletin de la Société Française de Minéralogie et de Crystallographie, 90, 269-270.
- Moldovanyi, E. P. and Lohman, K. C. (1984) Isotopic and petrographic record of phreatic diagenesis: Lower

- Cretaceous Sligo and Cupido Formations. *Journal of Sedimentary Petrology*, **54**, 972–985.
- Moritz, H. (1929) Eine Vorrichtung zum Ausbohren analysenreiner Mineralteilchen aus Anschliffen unter dem Erzmikroskop. Zentralbl. Mineral, 7, 251–254.
- Patterson, W. P., Smith, G. R. and Lohmann, K. C. (1993)
 Continental paleothermometry and seasonality using
 the isotopic composition of aragonitic otoliths of
 freshwater fishes. In: *American Geophysical Union Monograph*, 78 (eds. P. Swart, K. C. Lohmann, J. S.
 McKenzie), Climate Change in Continental Isotopic
 Records, pp.153–163.
- Pollington, A. D. and Baxter, E. F. (2011) High precision microsampling and preparation of zoned garnet porphyroblasts for Sm-Nd geochronology. *Chemical Geology*, 281, 270-282.
- Prezbindowski, D. (1979) Microsampling technique for stable isotopic analyses of carbonates. *Journal of Sedimentary Petrology*, 50, 643-644.
- Quinn, T. N., Taylor, F. W., Crowley, T. J. and Link, S. M. (1996) Evaluation of sampling resolution in coral stable isotope records: A case study using records from New Caledonia and Tawara. *Paleoceanography*, 11, 529–542.
- Russanow, A. K. (1937) Über eine Mikro-Bohrmaschine zur Abscheidung der Einschlüsse in den Schliffen. *Mikrochem*, 2, 98–101.
- 坂井三郎(2009)高精度マイクロミル「GEOMILL326」による微小領域切削と極微量粉末回収法. *JAMSTEC* Report of Research and Development, IFREE Special Issue, 35-40.
- 坂井三郎 (2012) 微粒体回収装置. 特許第5009688号, 登 録日2012年6月8日.
- Sakai, S. and Kodan, T. (2011) Micropowder collecting technique for stable isotope analysis of carbonates. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 25, 1205–1208.
- 坂井三郎・高安克己・Dettman, D. L. (2008) マイクロミリングシステムおよびその制御方法. 特許第4203860号,登録日2008年10月24日.
- 坂井三郎・高安克己・Dettman, D. L. (2010) 試料採取用マイクロミル. 特許第 4608370号, 登録日 2010年 10月 15日.
- Sakai, S., Shimono, A., Hikita, T., McManus, J. B., Zahniser M., Nelson, D. and Dettman, D. L. (2014) ${\rm CO_2}$ isotoplogue measurements of carbonates by tunable mid-infrared laser spectroscopy. The 7th International Symposium on Isotopmers, Abstract.
- Shiao, J. C., Itoh, S., Yurimoto, H., Iizuka, Y. and Liao, Y. C. (2014) Oxygen isotopic distribution along the otolith growth axis by secondary ion mass spectrometry:

- Applications for studying ontogenetic change in the depth inhabited by deep-sea fishes. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, **84**, 50–58.
- Spötl, C. and Mattey, D. (2006) Stable isotope microsampling of speleothems for paleoenvironmental studies: A comparison of microdrill, micromill and laser ablation techniques. *Chemical Geology*, 235, 48–58.
- 鈴木淳・川幡穂高 (2004) 骨格の酸素・炭素同位体比にみられるサンゴ白化現象の記録. 地球化学, 38, 265-260.
- 鈴木淳・谷本陽一・川幡穂高(1999) サンゴ年輪記録:過去 数百年間の古海洋学的情報の復元.地球化学, **33**, 23-44.
- Suzuki, A., Gagan, M. K., Fabricius, K., Isdale, P. J., Yukino, I. and Kawahata, H. (2003) Skeletal isotope microprofiles of growth perturbations in Porites corals during the 1997–1998 mass bleaching event. Coral Reefs, 22, 357–369.
- 竹内美由紀(2014)二次元高分解能二次イオン質量分析装置 (NanoSIMS)を用いた生体試料の元素イメージング. Plant Morphology, **26**, 19-23.
- 鐵智美・石村豊穂・尾田昌紀・坂井三郎 (2015) 炭酸塩の高 精度・高解像度環境解析の進展〜魚類耳石の安定同位 体比を用いた環境履歴解析を例に〜. 日本地球惑星科 学連合2015年大会予稿集, SGL39-P05.
- Verschure, R.H. (1978) A microscope-mounted drill to isolate microgram quantities of mineral material from thin and polished sections. *Mineralogical Magagine*, 42, 499–503.
- Wada, H. (1988) Microscale isotopic zoning in calcite and graphite crystals in marble. *Nature*, **331**, 61–63.
- Watanabe, Y., Matsuoka, H., et al. (2010) Comparison of stable isotope time series of stalagmite and meteorological data from West Java, Indonesia. Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology, 293, 90-97.
- 渡邊剛・大場忠道(1998)冷凍マイクロトーム法による現生 シャコガイ殻の酸素同位体比分析より推定される詳細 な水温変化. 地球化学, **32**, 87-95.
- Weidman, C. R. and Jones, G. A. (1994) The long-lived mollusk Arctica islandica: A new paleoceanographic tool foo the reconstruction of bottom temperatures for the continental sheves of the northern North Atlantic Ocean. Journal of Geophysical Research, 99, 18305– 18314
- Wurster, C. M., Patterson, W. P. and Cheatham, M. M. (1999) Advances in micromilling techniques: a new apparatus for acquiring high-resolution oxygen and carbon stable values and major/minor elemental ratios from accretionary carbonate. Computers & Geosciences, 25, 1159-1166.

Progress in micro-sampling technique in geochemistry

Saburo Sakai*

Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology 2–15 Natsushima-cho, Yokosuka-shi, Kanagawa 237–0061, Japan *E-mail: saburos@jamstec.go.jp

Micro-sampling techniques in geochemistry are indispensable in analysis of the elemental and isotopic composition of geochemical materials, which improves the spatial resolution of sample collection for analysis. Techniques of physical sample separation on micrometer scale, so-called micromilling, have been developed as a useful tool for micro-sampling, together with the laser ablation techniques. Micromilling is equivalent to or better than the laser ablation in terms of the spatial resolution, and avoids the chemical alternation, isotopic fractionation and interference of organic matter that have often reported during the laser ablating. The latest micromilling equipment is able to collect micro-samples of irregular geometry. Improvement was also seen in the recovery ratio of the milled sample, which is one of the problems regarding micromilling techniques. Technological innovations in the physical micro-sampling will expand the application of high-resolution geochemistry.

Key words: Micro-sampling, Micro-region, High-precision micromill technique, Micro-powder collecting technique