

九州大学中央分析センター

52

センター
ニュース

平成 8 年 4 月

目 次

分析機器解説シリーズ (5 1)	1
安定同位体比測定用質量分析計	
トピックス	6
骨粗鬆症に対する骨梁形態評価	
お知らせ	12

分析機器解説シリーズ(51)
安定同位体比測定用質量分析計

理学部地球惑星科学科 千葉 仁

1. はじめに

安定同位体比測定用質量分析計は、その名が示すとおり質量分析計の一種である。特に、軽元素の安定同位体のわずかな存在比の違いを正確に測定するために、特殊な設計のされた質量分析計を示す。その歴史は、後に述べるように古く、Analytical Chemistry 誌に2年に1度掲載される Fundamental Review の中で Atomic Mass Spectrometry の分野で SIRMS (Stable Isotope Ratio Mass Spectrometer の略) という名前が付けられて、ICPMS や SIMS 等と一緒にレビューされていた(残念ながら、前回の1994年のレビューには、この分野がない)。このように分析化学の世界では略号と呼ばれて、市民権を獲得しているようにみえるが、Chemical Abstract 等で SIRMS という略号を使って機械検索しても、文献がヒットすることはほとんどないであろう。安定同位体比測定用質量分析計が使われる多くの分野において、同位体比の測定が余りに日常的なものになり、論文の表層やキーワードに質量分析計という言葉が登場しないためである。本解説では、軽元素の安定同位体比を測定することによって何が判るか、安定同位体比測定用質量分析計の原理、試料調製法の最近の進歩のトピックについて紹介する。

2. 軽元素の安定同位体

2.1 利用される安定同位体比

現在、様々な分野で利用されている軽元素の安定同位体比を表1に示す¹⁾。これらの元素の安定同位体比が、宇宙・地球化学、環境科学、水文学、生態学、考古学、医学、薬学などの広い分野で利用されている。表1に上げた元素の同位体はいくつかの共通した性質を持っている。

(1) いずれの元素の原子番号も16より小さい。そして、利用される同位体の相対的な質量差が6.25%以上である。原子番号が16より大きな元素では、天然で現在の質量分析法で測定にかかるほど大きな同位体分別が見られない。(2) どの元素も地球表層に多量に存在する。利用する立場から見ると利用できる分野が広いことを意味する。(3) これらの元素は、イオン性の結合から共有性の高い結合まで幅広い結合を作ることができる。重い同位体と軽い同位体の分別は、顕著に異なる結合のタイプ、あるいは、顕著に異なる結合の強さを持った相の間で最も大きくなる。したがって、これらの元素では、大きな同位体分別が期待できる。(4) 炭素、窒素、イ

オウは地球表層において酸化還元反応に関与している。酸化還元反応では、原子価が変化するので大きな同位体分別が起きる。

表 1 利用される軽元素の安定同位体

元素	利用される同位体比	標準物質* **
水素	$^2\text{H}/^1\text{H}$ (D/H) *	標準平均海水 (SMOW)
炭素	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	矢石化石 (PDB)
酸素	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ $^{17}\text{O}/^{16}\text{O}$	標準平均海水 (SMOW) および矢石化石 (PDB)
窒素	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	大気中の N_2
イオウ	$^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$	Canyon Diablo 隕鉄中の FeS (CDT)

* 重水素 (Deuterium) は、元素記号 (H) の代わりに D と通常書かれる。

** 何を標準物質として使っているかは、通常、略号で示される。

2.2 同位体比を測ると何がわかるか

物質の起源が分かる

異なる水素同位体からなる水の性質を表 2 で比べてみることにする。同じ水でも質量の大きい同位体からできている水の方が、質量の小さい同位体からできている水に比べて、蒸発しにくい (凝縮しやすい) し、融けにくいことが分かる。こうした性質が陸上に降ってくる雨の同位体比にどのような影響を与えるか考えてみる。陸上の降水のもととなる水蒸気は海水の蒸発によって供給されている。このとき、水蒸気と海水を比べると、水蒸気は海水に比べて蒸発しやすい軽い同位体からなる水をたくさん含んでいる。したがって、陸上の降水は、海水と比べて軽い同位体に富むものとなる。さらに、降水をもたらす気団が大陸の上を雨を降らしながら水平に移動したり山脈に沿って上昇すると、重い同位体を含む水のほうが凝縮しやすいので、気団は自分が持っている平均的な水蒸気よりも重い同位体を多く含んだ降水を落とし続ける。このため残っている水蒸気はどんどん重い同位体に欠乏するようになる。つまり、内陸の降水ほど、また、高度の高い所の降水ほど、重い同位体に欠乏することになる。言い換えると、海からの相対的な距離によって降水の同位体組成が異なる。このことを利用すると、地下水がどのような同位体組成を持っているかを測定することによって、その地下水がどこに降った雨をもとにしているかが推定できる。また、ほとんどの温泉水が地球のごく浅い部分で温められた降水を起源としているということも温泉

表 2 異なる水素同位体からなる水の物理的性質

水の同位体組成から明らかにされた。

これらの例は、水を構成して

た。これらの例は、水を構成して

いる酸素と水素の同位体が、 H_2O と

いう水分子自体の目印となり、ト

レーサーとして用いることのでき

表 2 異なる水素同位体からなる水の物理的性質

	H_2^{16}O	D_2^{16}O
分子量	18	20
100 における蒸気圧	760mmHg	722.2mmHg
沸点 (1 気圧)	100.00	101.43
融点 (1 気圧)	0.00	3.82

ることを示したものである。これ以外にも、天然では表 1 にあげた元素の同位体比を様々なケースでトレーサーとして用いることができる。

環境の温度が分かる

歴史的に見ると、安定同位体比の利用は、過去の環境の温度を測定するための温度計として始まった。重水素の発見によりノーベル化学賞を得た H.C.Urey は、1947 年に統計力学的計算により 2 つの相の間の酸素同位体交換反応の平衡定数に温度依存性があることを明らかにした。彼の結論は、炭酸カルシウムと水の酸素同位体比を精密に測定することができれば、炭酸カルシウムの生成温度を ± 0.1 の正確さで推定できることを示していた。Urey 達のグループは、この事を実証するために、安定同位体比測定用質量分析計を開発し、同位体温度計を実際に天然に適用してみせた。地球環境問題が現在大きな関心を集め、未来を予測するために過去の気候変動の解析が行われている。海洋底に堆積した炭酸カルシウム（もとは、生物の殻）や極域の氷の酸素同位体比の変動は、地質時代を通じて地球表層の気温がどのように変動してきたかを反映している。同位体温度計は、過去の環境の温度を知るため現在でも最もよく使われる温度計である。なお、温度計としての利用は、このような低温の環境だけに限られるものではない。重金属資源である鉛床の生成温度や岩石の生成温度の見積もりなどのために室温付近から 1000 を越える広い温度範囲で用いられている。

3 . 安定同位体比測定用質量分析計

3.1 原 理

元素や同位体の絶対濃度の測定は、一般的に言って極めて困難である。測定精度を上げるためには、ある同位体の絶対濃度を測定するのではなく、複数の同位体の相対存在比を測定するほうがはるかに有効である。安定同位体比測定用質量分析計の概念図を図 1 に示した。現在の安定同位体比測定用質量分析計は、複数のコレクター（通常 3 個以上）と 2 つの試料導入部を備えている。H₂ ガスを用いて水素同位体比を測定する場合を例にとりて考えてみよう。コレクターが複数あるので、質量数 2 の H₂ ガスが一つのコレクターに、質量数 3 の HD ガスをもう一つのコレクターに入るように磁場とイオン加速電圧を調整する（重水素の天然における存在度から考えて、D₂ というガスは無視できるほどしか存在しない）。あるガスを測定している間は、磁場もイオン加速電圧も固定のまま使う点が、質量分析計としては他の機械と異なっている点である。こうして 2 つのコレクターに入ってくるイオンビームの電流の比をとれば、それは試料の同位体比を反映したものになる。測定中にイオン源内部のコンディションが多少変化しても、2 つのイオンビームを同時に測定しているので、それぞれのイオンビームに対する影響が相殺され、

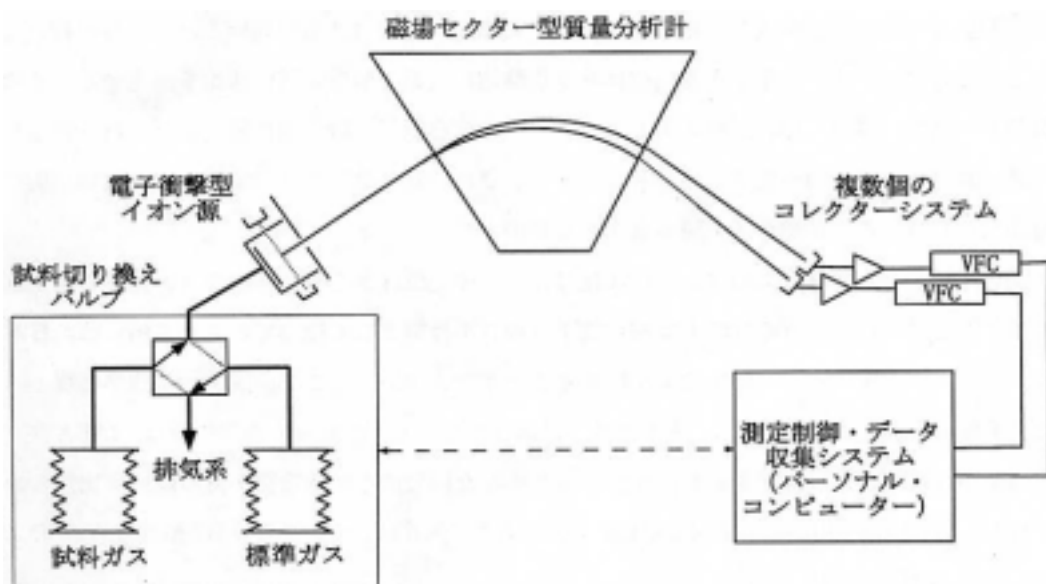


図1 安定同位体比測定用質量分析計概念図

イオン電流比は正確に測定できる。

イオン電流比を正確に測定できて、その比は同位体の存在比そのものではない可能性がある(例えば2つの増幅器の増幅率が異なる場合)。そうした場合にも正確に同位体比を測定するために試料導入部がペアでついている。同位体比が既知の気体試料を一つの試料導入部に入れ、測定したい気体試料をもう一つの試料導入部に入れる。試料導入部と電子衝撃型のイオン源との間は流れてくる気体分子の同位体比を一定に保つためにキャピラリーでつながれている。そして、2つの試料を交互に数回づつ測定する。測定していない側の試料も試料を切り換える時のノイズを避けるように常時排気系に流し続けられている。片方の試料の同位体比が既知であるので、未知試料の同位体比が何回かの測定の平均から計算される。

3.2 試料・同位体比の表現方法

安定同位体比測定用質量分析計の原理からわかるように、同位体比を測定したい元素が決まると、どういう気体を試料にするか自動的に決まる。水素の同位体比を測定するのであれば H_2 、炭素と酸素であれば通常 CO_2 、窒素であれば N_2 、そしてイオウであれば SO_2 が SF_6 である。水試料であろうと岩石試料であろうと、どうにかしてこうした気体にしなくては、同位体比を測定することができない。また、取り扱う試料を完全に気体に変換できないと、試料を処理する段階で同位体分別が起こって同位体比を正確に測定できないことになってしまう。気体試料の調製は、純粋な気体を必要とするため、真空系内で行われる。それぞれの試料に対応して、試

料調製装置を作るか、購入しなければならないため、測定のコストが高いことが一つの難点である。最近では、水の酸素と水素同位体比や炭酸塩の炭素と酸素の同位体比を測定するための試料を自動的に調製して、試料さえセットしておけば自動的に数十個の測定が行われる装置が開発されて大いに威力を発揮している。しかし、それ以外の試料では、まだまだ、試料調製に時間がかかり、それが測定数を決める主要な要因となっている。

測定法のところで軽元素の安定同位体比は、既知の同位体比を持った物質との比較で測定されることを述べた。それぞれの実験室が勝手な物質を標準として使っていると、例えば、日本とアメリカの降水の水素同位体比を比較することができない。そこで、国際的に標準物質として何を使うかが決められており、それが表1に示されている。これらの標準物質は、IAEAなどから配布されている。軽元素の同位体比は、こうした国際的な標準物質が持つ同位体比からのずれを、千分偏差を用いた表現(単位、‰)で表す(例えば、水素なら D、酸素なら ^{18}O)。

$$= [(R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}}) / R_{\text{standard}}] \times 1000 \quad R = [\text{D/H}] \text{ や } [^{18}\text{O}/^{16}\text{O}] \text{ など}$$

4. 最近開発された微量試料調整法

軽元素の安定同位体比測定用試料調製で最近2つの新しい方法が開発され、試料調製時間の短縮や試料の微量化に威力を発揮しつつある。その2つを最後に紹介する。

4.1 レーザープローブ

岩石や鉱物試料を CO_2 や SO_2 といったガスに変換するためには、試料と薬品を混合して容器に入れ、それを外部から電気炉で加熱するという方法が従来行われてきた。このため、容器からのコンタミネーションなどで微量試料の同位体比を精密に分析することが困難な状態にあった。ここ数年、試料の加熱手段として YAG レーザーや CO_2 レーザーを用いることが一般的になりつつある²⁾。例えば、硫化鉱物を SO_2 ガスにするには、硫化鉱物をそのまま真空容器に入れて、いったん排気した後、酸素ガスを適当量満たし、YAG レーザーで試料を加熱する方法がとられるようになった。この方法により、従来行われていた複雑で時間のかかる前処理なしに、 SO_2 ガスを得ることができ、かつ、数十から数百マイクロメートルの空間分解能で同位体比を測定することができる。ケイ酸塩鉱物の酸素の同位体比測定でも、同様に、試料調製の化学反応の熱源として CO_2 レーザーが使われている。将来的には、二次イオン質量分析計(SIMS)によって、固体試料の軽元素の同位体比測定が可能になると思われるが、現時点では安定同位体比測定用質量分析計の測定精度 ($\pm 0.1\text{‰}$) に比べて、SIMS の測定精度 ($\pm n\text{‰}$) が 10 倍以上悪いために、天然物に対してはまだまだ適用できる段階ではない。SIMS による同位体比の測定精度が上がる

までのしばらくの間は、イオン化の手段ではないが、試料調製のための熱源としてのレーザープローブが大いに活躍するであろう。

4.2 GC / IRMS

この質量分析計は、ガスクロマトグラフ質量分析計に似たものではあるが、質量分析計の部分が安定同位体比測定用質量分析計になっているものである³⁾。既におわかりのように同位体比測定用質量分析計は、特定のガスでしか同位体比を分析することができない。そこで、ガスクロマトグラフの後ろに試料をガス化するための装置が間に組み込まれている。現在この装置は、天然の様々な有機物を分離し、有機物の分子種毎に炭素同位体比を測定するのに使われている。つまり、有機物を燃焼させてCO₂にし、燃焼の結果できた水を分離して質量分析計に導入する容積の非常に小さい装置が組み込まれている。この装置が出現したことによって、多量の試料から、特定の有機物を抽出し、燃焼させ、生じたCO₂を質量分析するという作業が、試料を機械に導入するだけになった。地球環境には、多種多様な起源を持つ有機物質が存在し、それぞれが特有の同位体組成を持っている。過去や現在の環境問題を論じる時、有機物をひとまとめにした同位体比の分析や有機物の組成のみのデータでは議論が不十分になることが多い。本格的に実用に使われるようになってまだ間がないが、今後、この装置が環境や生物に関連した分野で多く使われることになるだろう。

参考文献

- 1) 例えば、新実験化学講座 10 巻「宇宙地球化学」(丸善) 1976 .
- 2) Kelliley, S. P. and Fallick, A. E. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 54, 883 .(1990)
Sharp, Z. D. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 54, 1353 ,(1990)
- 3) Hayes, J. M et al. *Organic Geochemistry*. 16, 1115 ,(1990)

トピックス

骨粗鬆症に対する骨梁形態評価

工学部 日垣 秀彦

医学部 三浦 裕正

生体の器官や組織は与えられた条件に対し、その物性や形態を変化させることにより適応する最適システムの一つと考えられる。バイオメカニクス分野では各臓器や骨形態に対し、成長あるいは退行性因子の条件を与え最適化リモデリングをシミュレーションすることにより、病因の推定や人工臓器の設計を行っている。骨粗鬆症の動物モデルがギプス固定や卵巣摘出等の退行リモデリングにより作製されるように、骨形態の恒常性因子はおおよそ推定されているが、その詳細なメカニズムに対する実験的アプローチにおいては、不思議な挙動に遭遇する。

従来、骨粗鬆症の診断にはレ線診断や骨塩定量が行われるが、近年では骨梁形態の直接評価において peripheral QCT、micro-CT、micro-MRI および quantitative ultrasound 等の手法が報告されている。Peripheral QCT のみが臨床応用されているが、その分解能は $200\ \mu\text{m}/\text{pixel}$ 程度で組織標本写真と比べ詳細な形態情報に関し不満が残る。

著者らは micro-線 CT を用い、卵巣摘出による骨粗鬆症モデルラットの骨梁評価を行っている。micro-線 CT とは、通常の CT の空間分解能が $0.5\sim 1\text{mm}$ 程度であるのに対し、その 10 倍以上の解像度を有し、骨梁の 3 次元評価が可能な次世代診断装置である。Fig.1 にラット大腿骨遠位部におけるマイクロ線 CT 撮像例とスライス位置を示すレ線像を示す。分解能は $35\ \mu\text{m}/\text{pixel}$ で、滑らかな骨梁形態が描出されていることがわかる。Fig.2 に正常および卵巣摘出による骨粗鬆症モデルラットの脛骨骨梁 3 次元再構成像を示す。コントロールと比較して骨

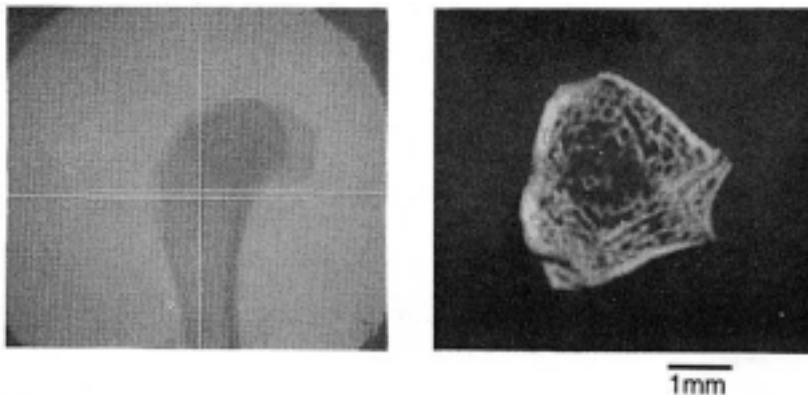


Fig.1 micro-X線 CT によるラット大腿骨遠位部のスライス像

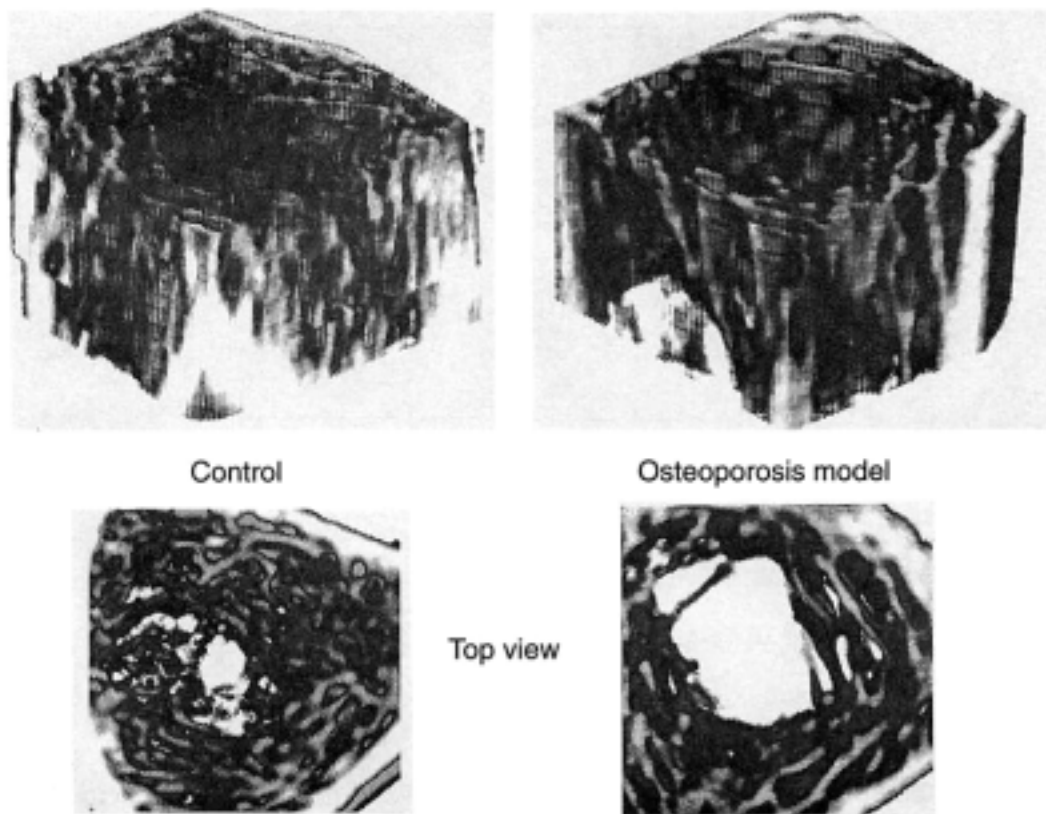


Fig.2 正常及び骨粗鬆症モデルラットの骨梁の3次元再構成像

髓腔が拡大し、明らかな骨体積の減少が認められる。骨梁形態の評価としてのパラメータは、骨密度分布や大腿頸部骨折の危険度指標としての断面二次モーメント等が考えられるが、三浦ら [1] はフラクタル次元の概念を導入した。フラクタルとは自己相似性を持つ構造のことであり、自然の対称性の一つである。その次元は整数値しかとらないトポロジカルな次元を拡張したもので、複雑度を数学的に定義してくれるものといえる。Talcum (珪酸マグネシウム) 注入による骨粗鬆症モデルマウスにおいて、Box counting 法によるフラクタル次数は、Fig.3 に示すように骨塩量と高い相関を示しながら減少する。これは形態パラメータであるフラクタル次元が、骨粗鬆症モデルにおいて Axial 断面方向に走向する微細な構造が消失し荷重方向の太い梁だけが残る現象を、定量的に代表する結果となっている。つまり、骨梁を樹の枝にたとえると、荷重方向に太い幹を配し、その垂直方向には細い枝が存在し連続している構造とみなせる。骨吸収の優位な代謝 (退行性変化) が進むと骨体積は一様に減少し、細い枝の部分が先に消失することになる。骨の形成は骨壁に層板状に発達することが指摘されており、樹木が枝を伸ばすようには成長しないと考えられている。すると、一旦吸収され喪失した微細な骨梁構造は再形成されず、その後、骨成長を促しても荷重方向の太い幹だけが、さらに太くなることになる。

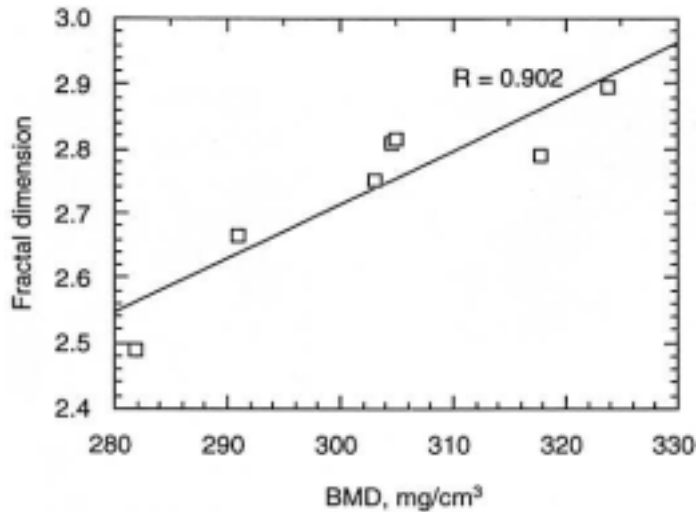


Fig.3 骨粗鬆症モデルラットの骨梁における骨塩量とフラクタル次数の関係

長時間宇宙に滞在する宇宙飛行士はかなりの骨体積が減少することが指摘されている。彼らは帰還後運動等により骨成長を促しても、無重力の時間に依存して、宇宙飛行前とは根本的に異なる骨梁形態となると予想され、骨や骨髄の代謝に影響を及ぼすことが考えられる。これらの過程を確認するには実験モデルにおいて経時的に形態観察を行う必要があり、micro-X線CTによる形態評価は最も有効な手法の一つと考えられる。さらに、フラクタル評価は一見無秩序で評価が難しいとされる生体の微細構造の変化を定量化でき、非侵襲において微細な骨梁形態等を3次元再構成できるmicro-X線CTと組み合わせることにより、整形外科領域等の診断に貢献することが期待される。

なお、本研究に使用したmicro-X線CTは(株)日立メディコテクノロジーの開発によるもので、撮像に御協力いただいた関係各位に謝意を表す。

文 献

- [1] 三浦裕正・津村 弘・川村秀哉・杉岡洋一, 整形外科と災害外科, 43 - 4, 1994, 1309 .

お 知 ら せ

1. 新設装置の紹介

* 新規登録装置

- (1) 装置名 : 線回折計 (RINT)
型 式 : リガク (株) RINT2500KS
設置場所 : 旧生研 338 号室
管理講座 : 応化 (機能) 機能物質工学講座
装置管理者 : 諸岡成治
装置責任者 : 草壁克己
利用料金 : 依頼者が利用 1 件当たり 3,000 円
装置の性能 : 線発生部 + 広角ゴニオメータ部
許容負荷 18kW
ターゲット ローターゲット Cu (CuK 線)
ゴニオメータ半径 185mm
小角ゴニオメータ部
測定角度範囲 - 18 ~ + 18 °
光学系 3 スリット方式
コンピュータ部
HP9000、20 インチカラーディスプレイ、レーザプリンタ
循環水送水装置
登録開始時期 : 1996 年 4 月 1 日

- (2) 装置名 : レーザラマン分光光度計
型 式 : 日本分光 (株) NRS - 2000
設置場所 : 中央分析センター工学分室 118 号室
管理講座 : 応化 (機能) 機能物質工学講座
装置管理者 : 諸岡成治
装置責任者 : 草壁克己
利用料金 : 依頼者が利用 1 件当たり 2,000 円
装置の性能 : 励起レーザ光源 1W アルゴンレーザ
試料室 マクロ・ミクロ測定両方可

分光器

ツェルニターナ収差補正トリプルモノクロメータ

測定波数範囲 $\sim 5 \text{ cm}^{-1}$

波数精度 $+ 1.0 \text{ cm}^{-1}$

波数再現性 $+ 0.1 \text{ cm}^{-1}$

波数走査機構 コセカントバー方式

検出器 CCD 検出器 (液体窒素冷却)

その他 TV モニタ観察装備、防振台装備、データ処理部

登録開始時期： 1996 年 4 月 1 日

詳細は直接管理講座 (内線 5606) にお問い合わせ下さい。

* 新規所管装置

既設の走査型電子顕微鏡 (箱崎地区; ABT - 32) にエネルギー分散型 線分析装置 (検出可能元素: B~U) が追加されます。詳細は次号でお知らせします。

2. 第 14 回中央分析センター講演会報告

第 14 回中央分析センター講演会が平成 8 年 3 月 7 日、筑紫地区共通管理棟大会議室にて、午後 2 時より開催され、農学部・桑野栄一助教授が「昆虫の変態：休眠制御物質の合成と作用特性」について、機能物質科学研究所・和田英治助教授が「ヘテロ Diels - Alder 反応の不斉触媒化」について講演されました。

講演会は山添センター長による挨拶に始まり、坂下助教授 (中央分析センター) を座長として桑野助教授、加藤助手 (機能研) を座長として和田助教授の講演が行われました。両先生にはご専門のテーマにつき該博なる講演をなされ、引き続き活発な質疑応答があり、多数の来聴者に深い感銘を与え盛会裡に終了しました。