

ヘッドスペース法による水試料の放射性炭素測定のための前処理法の検討  
Sample preparation system for radiocarbon analysis of dissolved inorganic carbon  
using a headspace-extraction method at GSJ

高橋 浩\*・半田宙子(産業技術総合研究所)

Hiroshi A. Takahashi, Hiroko Handa (Geological Survey of Japan, AIST)

\*Corresponding author: h.a.takahashi@aist.go.jp

Abstract

We have established a sample preparation system for radiocarbon analysis of dissolved inorganic carbon (DIC) in water samples using a headspace-extraction method. The system can be adapted for wide range of DIC concentrations. The water sample is injected to the vacuum vial by disposal syringe, and is acidified by  $H_3PO_4$ . Then,  $CO_2$  gas in the headspace flows out with He carrier gas to cryogenic trap. The purified  $CO_2$  yield is over 90% with He flow of 30-45 minutes. Extensive tests have shown that the extraction procedures do not introduce carbon isotopic fractionation and carbon contamination that can bias the  $^{14}C$  results.

**Keywords:** 水試料 ; 溶存炭素 ; 前処理手法の検討 ; ヘッドスペース法

1. はじめに

環境試料中の放射性炭素( $^{14}C$ )濃度は、年代測定や動態解析に利用されている。水試料の溶存無機炭素(DIC)の $^{14}C$ 濃度は、海洋学や水文学分野において重要なトレーサーであり、人為起源炭素の動態、炭素循環、海水や地下水の流動、地球深部からの流体供給などの解析に用いられる(e.g., McDuffee and Druffel, 2007; Östlund and Stuiver, 1980; Key et al., 1996; Trabelsi et al., 2012, Zigah et al., 2012)。 $^{14}C$ 分析法の軸足が液体シンチレーションカウンターから加速器質量分析計へ移ったことにより、測定に必要な試料量が減少したうえに、短時間で測定が可能になった。そのため、世界中でさまざまな試料の $^{14}C$ データが量産されつつあり、環境動態解析の指標として $^{14}C$ の利用も進んでいる。

水試料の $^{14}C$ 分析の前処理手法としては、試薬を添加して沈殿した炭酸塩として炭素成分を回収する方法(沈殿法)が古くから用いられてきた(e.g., Haynes and Haas, 1990; Drimmie et al., 1991)。沈殿法は、化学処理の過程が多いことや生成した沈殿の成長時間を要することから、処理に時間がかかる。また、試料の化学組成によっては、沈殿が生成せずに、炭素回収率が低いことがしばしば起こるといった問題点もある。そこで、これらの問題を解決するために、沈殿の生成を経ずに、水試料から $CO_2$ 成分を回収するための前処理手法を確立することとした。

水試料中のDICの $\delta^{13}C$ 分析の手法としては、水試料を導入する容器のヘッドスペースを利用したり(e.g.,

Miyajima et al., 1995; Salata et al., 2000), バブリングによって水試料中の  $\text{CO}_2$  を分離したりする手法が確立されているが (e.g., Johnson et al., 1993),  $^{14}\text{C}$  分析においては必要な試料量が数桁高いことから, 前処理条件の検討を行った. ここでは, ヘッドスペース法とバブリング法のどちらかの手法を採用して,  $^{14}\text{C}$  分析のための前処理手法として確立することを目指す. 海洋分野においては, グローバルな海洋循環に関する研究を実施するために, WOCE (World Ocean Circulation Experiment) 基準と呼ばれる国際標準手法として, バブリング法が採用されている. この手法は, 比較的 DIC 濃度が低い試料でないとバブリングをするだけの試料量が確保できない. また, DIC 濃度が数 100 倍以上変化する陸水試料では, 導入する試料の量を変化させるために, 様々なサイズの試料容器を用いることが望ましい. しかしながら, 試料容器の底までバブリングのための通気管を挿入する必要があることから, それぞれの容器に見合った採気管等の用具をいくつも準備する必要がある. これらのことから, バブリング法よりもヘッドスペース法の方が, 汎用性が高いと思われる.

前処理システムの必須条件として, ①外来炭素の汚染がないこと. ②数 mg/L から数千 mg/L 程度の炭素濃度の試料に対応できることが上げられる. 必須条件②を満たすために, 試料量を変更して, 処理する炭素量を一定にできることが求められ. そのためには, 試料容器のサイズが簡単に変更できた方が望ましい. また, その他の条件として, ③ $\text{CO}_2$  の回収率が高いこと. ④同位体分別がない (小さい) こと等が上げられる. 後者の2つの条件は,  $^{14}\text{C}$  分析のためには, 必須ではないものの達成した方が望ましいものである.

## 2. ヘッドスペース法による前処理ラインの概要

構築した処理システムは, キャリヤーガスによる  $\text{CO}_2$  の回収を行うラインと回収した  $\text{CO}_2$  を精製する真空ラインからなる (図1). キャリヤーガスは純ヘリウムを用い, 導入前に液体窒素トラップを通過させている. 回収部は 1/8 インチのステンレスチューブを用いて作製してある. ヘッドスペース部へ刺す針は, 二重構造になっており, 一回の操作でキャリヤーガスを試料容器へ送り込むラインとヘッドスペース部のガスをキャリヤーガスとともに回収するラインの2つの系統のラインを確立できる. 本研究では, (株)八光製の八光モノリスノズルを用いて, 1/32 インチのステンレスチューブをチューブジョイントやエポキシ樹脂接着剤で固定している.

針を試料容器へ刺す前には, 針に接続された2つのラインのどちらからもキャリヤーガスが排出されるようにしておき, 針を試料容器へ刺した直後に4方切り替えバルブによって, キャリヤーガスを試料容器へ送り込むラインとヘッドスペース部のガスをキャリヤーガスとともに回収するラインに切り替える. この操作は迅速に行う必要があるため, エアー駆動型の2ポジションバルブを用いて, フットスイッチによって切替を行っている.

ヘッドスペース部の  $\text{CO}_2$  は, キャリヤーガスにより押し出されて, 回収ラインへ導入され, 液体窒素トラップにより捕集される. トラップ通過後のキャリヤーガスはライン外へ排出される. キャリヤーガスの流速のコントロールは流量調節バルブにて行うが, 厳密なコントロールはしていない. ベント部に設置した流量計は, キャリヤーガスが流れていることを確認するのみで, これは, 液体窒素トラップへ大気を捕集しないための措置である.

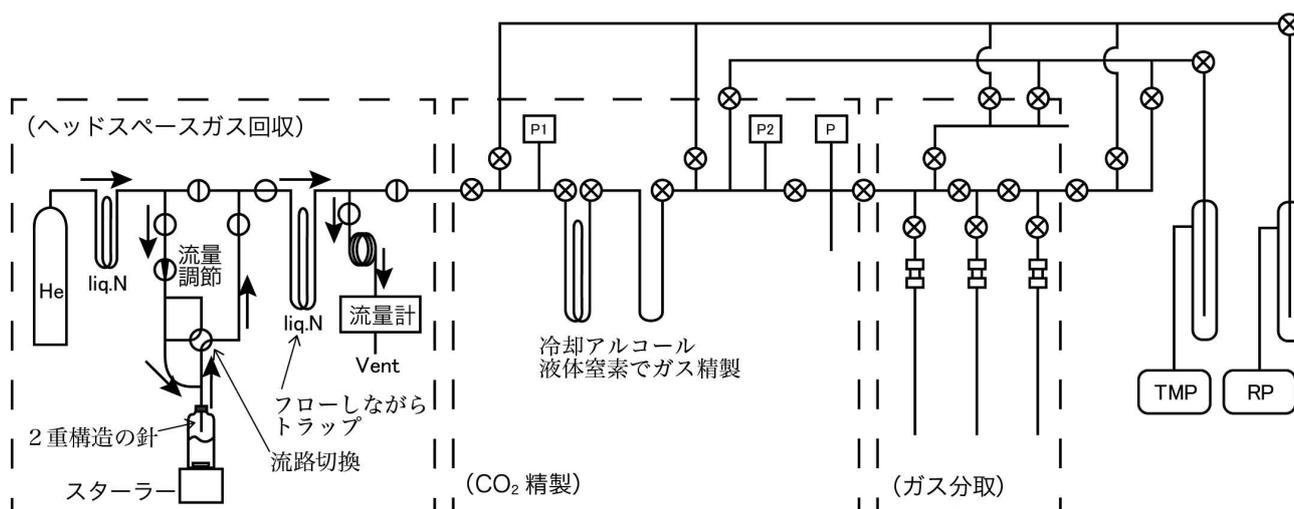


図1. ヘッドスペース法による CO<sub>2</sub> 回収用の真空ラインの概略図

### 3. 処理手順

試料処理の手順は以下の通りである。①リン酸と回転子を入れたバイアル瓶に、凍結乾燥用のプチルゴム栓を隙間ができるようにしてのせて、ドライチャンバーにて真空排気する。②数時間排気してから、ドライチャンバーを操作してゴム栓を密着させる。③ドライチャンバーから取り出して、アルミキャップにて密閉する。④炭素濃度に応じた量の試料をシリンジで注入する。ただし、試料の導入量はバイアル瓶の容量の半分程度までとする。⑤バイアル瓶を揺らして、試料とリン酸をなじませ1晩置く。⑥ラインでの処理の直前に、バイアル瓶にヘリウムを充填する。⑦回収ライン部をキャリアーガスで清浄化し、精製ライン部を真空排気する。⑧液体窒素トラップを設置して、針を刺して、試料ガスをラインへ導入する。スターラーを回す。スターラーは、ヘッドスペースのガスを混ぜて回収率の向上、時間短縮を狙って稼働させている。⑨針を刺した直後は一時的に flow 速度が速くなり、徐々に遅くなるため、flow 開始から5分で流量調節を行う。⑩バイアルサイズに応じた flow 時間をとり、CO<sub>2</sub> を液体窒素トラップで回収する。⑪冷却エタノールによるトラップを用いて水を除去して、試料ガスを精製する。⑫精製した CO<sub>2</sub> をガラス管に封入する。

この処理のポイントとしては、試料の炭素濃度によって、バイアルサイズと試料導入量が容易に変更できる点と減圧した状態で CO<sub>2</sub> を抽出できる点である。例えば、土屋・和田(2002)では、反応容器を採取容器として用いるために、反応容器内部にはアルゴンガスを充填している。試料容器内の内圧が高いために、試料水からの CO<sub>2</sub> の脱ガスが進まずに、真空ラインでの処理で内圧が低下したときに、超音波洗浄機をかけてガスを追い出す過程と、セプタムに針を刺した状態で減圧環境を維持することが必要となっている。特に後者の減圧環境の維持は、場合によっては、大気混入の可能性があることから、できれば避けるべきと思われることから、本システムでは、キャリアーガスによる押し出しによる CO<sub>2</sub> 回収を手法として採用した。

### 4. 必須条件の検証

システム構築の必須条件である外来炭素の汚染の有無について検証するために、ブランク試験を実施した。水試料を導入していない真空バイアルを用いて、試料処理中にブランクがどの程度上昇するのかを検

証した。ブランク試験の結果(表1)は、どれもバックグラウンドが十分に低いことを示している。ブランク値の中で最も数値が高い 0.006mg の現代炭素が、 $^{14}\text{C}$  を含まない炭素量 1mg の  $\text{CO}_2$  に混入したとしたら、 $^{14}\text{C}$  濃度は-999.4%となり(仮に、現代炭素の  $\Delta^{14}\text{C}$  を 100‰とする)、年代値では 59600yrBP に相当することから、本システムによる試料処理のブランクは十分に低いことがわかる。

もうひとつの必須条件である、広範囲の炭素濃度の試料に対応可能であるかを検証してみる。後述するが、本システムによる試料処理では、バイアルのサイズとして 100mL までを用いることとしており、バイアル容量の半分程度までの試料を導入することとしている。つまりは、1つのバイアルに導入できる試料量は 50~60mL 程度となる。 $^{14}\text{C}$  分析のために 1mg の炭素量を確保とした場合、試料量が 50mL なら DIC 濃度が 20mg/L に相当する。この濃度は海水と同程度であるが、地下水試料にはさらに低濃度のものが存在する。このような試料には、複数のバイアルを用いて、連続的に処理を実施することで対応することができる。ブランク試験において、4本のバイアルを連続して処理を実施したが、バックグラウンドに変化が見られていない。したがって、例えば、2本のバイアルを用いれば、DIC 濃度が 10mg/L までの試料の処理が可能であり、4本のバイアルにすれば、5mg/L までの試料が処理できる。しかしながら、4本のバイアルを同一のトラップを用いて連続処理をした場合、トラップのステンレス管が閉塞してしまうことがあったため、連続処理は2本、あるいは3本までにした方がよいようである。連続処理を何度も繰り返す必要があるような低濃度試料では、複数の処理を独立して実施して、グラファイト化の際に合わせる等するべきである。

高濃度試料については、試料量を少なくすることで適切な炭素量の処理を行える。これまでの全国の温泉水調査で、最も DIC 濃度が高かったものは、およそ 5000mg/L である。この場合、0.2mL の試料を導入すれば、炭素量として 1mgC となる。シリンジによる分取では、さらに1桁から2桁少ない量を扱うことが出来る。したがって、天然の陸水試料のほぼ全ての濃度領域をカバーすることが可能であり、必須条件はクリアされている。

表1. ブランク試験の結果. flow 時間はバイアルへ針を刺してから、トラップのためにキャリアーガスを流した時間である。( \*: 50mL バイアルを4本準備して、連続して導入した. )

バイアルサイズ (mL)	導入	flow 時間 (min.)	回収炭素量 (mgC)
200	リン酸入り	120	0.006
50	リン酸入り	60	0.005
50	リン酸入り	60 × 4*	0.004
100	空バイアル	90	0.002

## 5. 前処理条件の検証

必須条件以外の達成した方がよい条件は、高い回収率と同位体分別が起こらないことである。回収率の向上のために、ヘッドスペース部のガス回収のための flow 時間(図2)、バイアルサイズ(図2)、スターラーの効果(図3)について検証を行った。

30~45分のflowを行えば、回収率が90%を超えることが示された。バイアルサイズによって、高い回収率を維持するために必要なflow時間が異なり、サイズの大きなバイアルほど必要なflow時間が長くなる。また、200mLバイアルを用いた場合、120分のflowでも回収率が90%を下回った。使用するバイアルサイズが大きくなると、トラップされる水の量が増えるようである。このことが回収率にも影響するのかもしれない。導入する試料の量は、バイアル瓶の容量の半分以下になるように設定しているが、どの程度まで増やしても問題ないのかについては未確認である。バイアル瓶の容量が100mLより大きくなると回収率が下がる。図2の結果を受けて、ルーチンでの処理では、30mLバイアルならflow時間を30分、50mLなら50分とバイアルサイズをflow時間とすることとした。

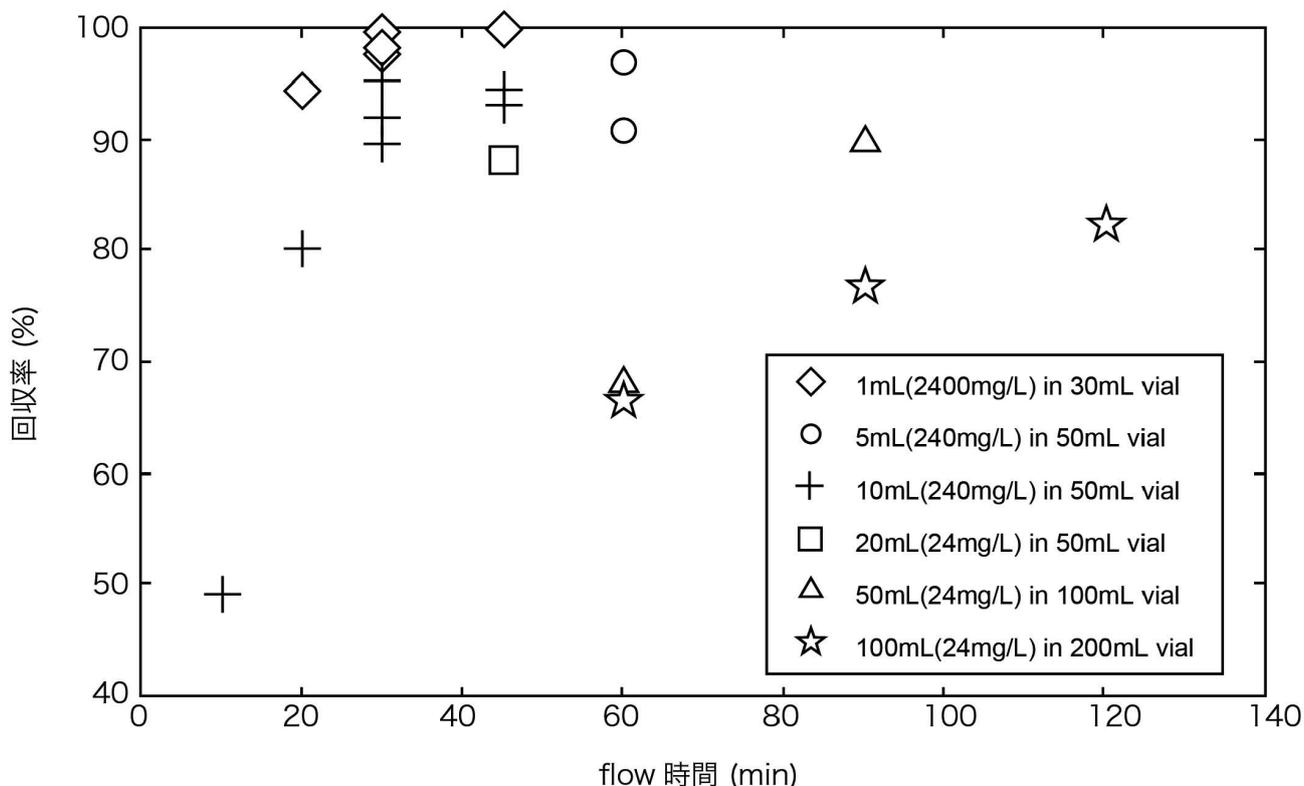


図2 NaHCO<sub>3</sub>溶液を用いたDIC濃度およびバイアルサイズごとのflow時間と炭素回収率の変化

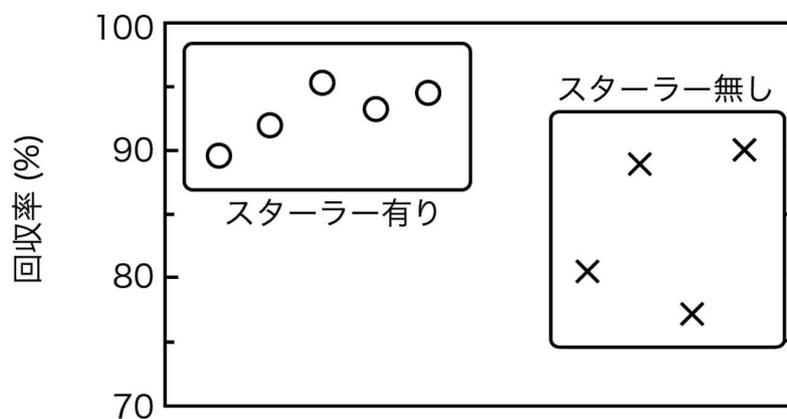


図3 スターラーの有無による回収率の違い。

バイアル瓶に導入しているキャリアガスはヘリウムを用いており、針をバイアル瓶の上面のセプタムから刺している。軽いガスであるヘリウムがヘッドスペース部の上方へ貯まってしまうと、flow 時間を長くしてもヘッドスペース部の  $\text{CO}_2$  が回収しきれないかもしれない。そこで、ヘッドスペース部のガス回収を行っている間、ヘッドスペース部の気相部分を混合させることを期待して、スターラーによる攪拌を実施して、その効果を検証した。図3にその結果を示す。スターラーによる攪拌が無い場合、回収率が低下するものがある。ただし、スターラー無しで回収率が高いものは、スターラー有りのものと回収率に大きな違いは見られない。ここでは、回収率の低下を防止するために、スターラーによる攪拌を実施した方が良いとの結論に達した。

## 6. 同位体分別の検証

処理により同位体分別が起きているのかを確認するために、水試料と処理ラインにより回収した  $\text{CO}_2$  ガスの  $\delta^{13}\text{C}$  を比較した(図4)。水試料の  $\delta^{13}\text{C}$  は、ガスクロカラムを接続した連続フロー型の質量分析計 (Delta-V Advantage and GasBench II, Thermo Fisher Scientific Inc.) により測定し、回収したガス試料はガラス管に封入して、デュアルインレット式の質量分析計 (Delta-V Advantage, Thermo Fisher Scientific Inc.) により測定した。それぞれの分析精度は  $0.1\text{‰}$  よりも良い。処理ラインにより回収した  $\text{CO}_2$  の  $\delta^{13}\text{C}$  値は、回収率が低いほど低くなる傾向があるが、その変化はもとの水試料の  $\delta^{13}\text{C}$  とほぼ一致しており、大きくても  $0.15\text{‰}$  程度の変化である。したがって、処理による同位体分別は問題が無いレベルである判断できる。実際の試料を分析するときには、念のために元の水試料の  $\delta^{13}\text{C}$  を独立に分析して、同位体分別の補正を行うようにすれば、問題ないと考えられる。

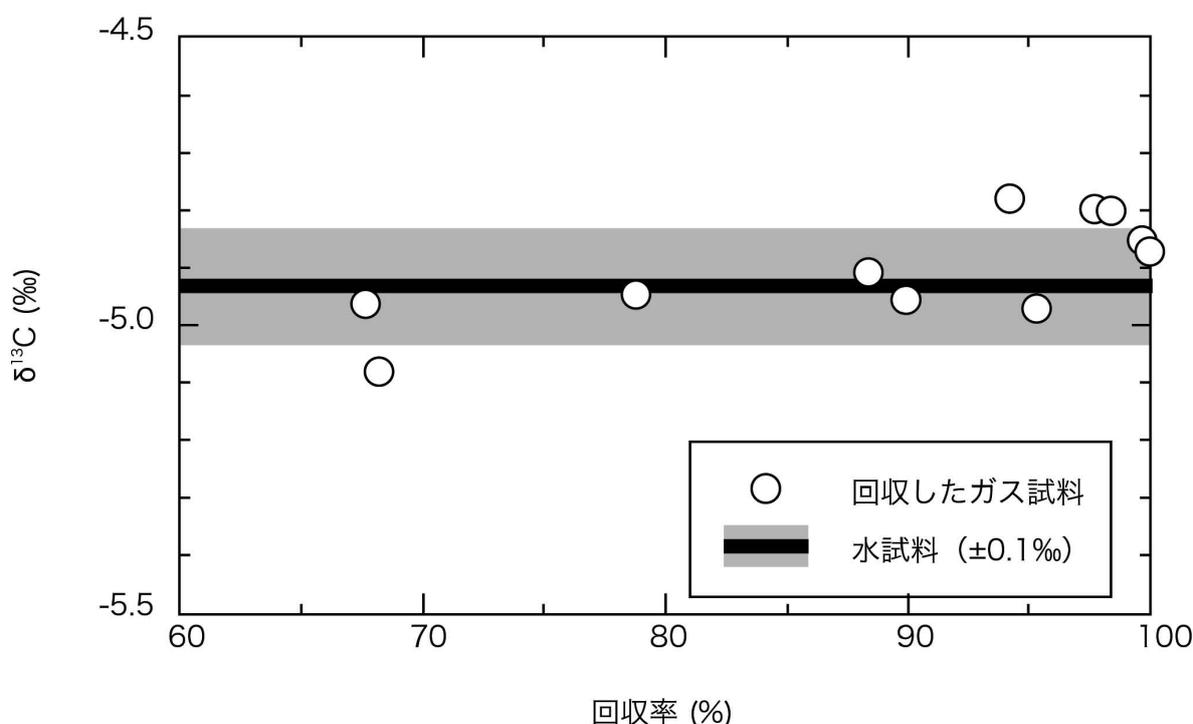


図4 処理前後での  $\delta^{13}\text{C}$  の変化. 処理前の水試料の  $\delta^{13}\text{C}$  を  $\pm 0.1\text{‰}$  の幅で示している.

## 7. まとめ

水試料の放射性炭素分析のためのヘッドスペース法による処理システムを構築し、処理の条件設定を検証することができた。今後は安定同位体や回収率、炭素量による検証のみではなく、放射性炭素の分析を実施した検証が望まれる。そのために RICE-W (Radiocarbon Intercomparison on Chemical Experiments, Water series) プロジェクト(南ほか, 2014)に参加予定である。また、処理時間を短縮することが可能であると考えられるが、現状の測定(処理)個数を考慮した場合、敢えて処理時間を短縮することは必要ないと思われる。それよりも、個々の試料を確実に処理していく方に注力したい。

## 謝辞

本研究は、原子力規制委員会原子力規制庁「平成 25 年度地層処分に係る地質評価手法等の整備(地質関連情報の整備)」として実施した。

## 引用文献

- Drimmie RJ, Aravena R, Wassenaar LI, Fritz P, Hendry MJ, Hut G. 1991. Radiocarbon and stable isotopes in water and dissolved constituents, Milk River aquifer, Alberta, Canada. *Applied Geochemistry*, **6**, 381-392.
- Haynes CV, Haas H. 1990. Radiocarbon evidence for Holocene recharge of groundwater, western desert, Egypt. *Radiocarbon*, **22**, 705-717.
- Johnson KM, Wills KD, Butler DB, Johnson WK, Wong CS. 1993. Coulometric total carbon dioxide analysis for marine studies: maximizing the performance of an automated gas extraction system and coulometric detector. *Marine Chemistry*, **44**, 167-187.
- Key RM, Quay PD, Jone GA, McNichol AP, von Reden KF, Schneider RJ. 1996. WOCE AMS radiocarbon I: Pacific Ocean results; P6, P16 & P17. *Radiocarbon*, **38**, 425-518.
- McDuffee K, Druffel ERM. 2007. Daily variability of dissolved inorganic radiocarbon in Sargasso Sea surface water. *Marine Chemistry*, **106**, 510-515.
- 南 雅代・高橋 浩・荒巻能史・太田友子・中村俊夫. 2014. 水試料の放射性炭素分析のための前処理法の比較検討. 名古屋大学加速器質量分析計業績報告書, **25**, 171-179.
- Miyajima T, Yamada Y, Hanba YT, Yoshii K, Koitabashi T, Wada E. 1995. Determining the stable isotope ratio of total dissolved inorganic carbon in lake water by GC/C/IRMS. *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 994-1000. DOI: 10.4319/lo.1995.40.5.0994.
- Östlund GH, Stuiver M. 1980. GEOSECS Pacific radio-carbon. *Radiocarbon*, **22**, 25-53.
- Salata GG, Roelke LA, Cifuentes LA. 2000. A rapid and precise method for measuring stable carbon isotope ratios of dissolved inorganic carbon. *Marine Chemistry*, **69**, 153-161.
- Trabelsi R, Abid K, Zouari, K. 2012. Geochemistry processes of the Djefara palaeogroundwater

(Southeastern Tunisia). *Quaternary International*, **257**, 43-55.

土屋理恵・和田秀樹(2002)加速器質量分析計による  $^{14}\text{C}$  測定のための海水溶存無機炭素真空抽出法.

静岡大学地球科学研究報告, **29**, 113-118.

Zigah PK, Minor EC, Werne JP. 2012. Radiocarbon and stable-isotope geochemistry of organic and inorganic carbon in Lake Superior. *Global Biogeochem. Cycles*, **26**, GB1023, doi:10.1029/2011GB004132.

## 日本語要旨

水試料の  $^{14}\text{C}$  分析の前処理手法としては、試薬を添加して炭酸塩を沈殿させて炭素成分を回収する手法や、水試料を導入する容器のヘッドスペースを利用したり、バブリングによって水試料中の  $\text{CO}_2$  を分離したりする手法がある。今回、ヘッドスペース法による前処理を構築したので、処理システムの紹介と、前処理条件の検討結果について報告する。

前処理システムは、キャリアーガス(ヘリウムガス)による  $\text{CO}_2$  の回収を行うラインと回収した  $\text{CO}_2$  を精製する真空ラインからなる。処理の概要は以下の通りである。リン酸を入れたセブタム付きバイアル瓶を真空排気した後、シリンジで試料を導入する。ヘッドスペースに遊離した  $\text{CO}_2$  ガスをキャリアーガスによってラインへ導入し、液体窒素トラップにおいて回収する。同様のシステムは、安定同位体分析において採用されているが、 $^{14}\text{C}$  分析では、より多くの試料が必要であるため、抽出条件についての検討を実施した。

検討項目としては、容器の容量、回収のためのフロー時間と流速などで、回収率と  $\text{d}^{13}\text{C}$  を指標とした。 $^{14}\text{C}$  分析をターゲットとしているため、必ずしも高い回収率や  $\text{d}^{13}\text{C}$  の保存性は重要でないが、まずは、高回収率を実現するための条件について検討した。

導入する試料の量は、バイアル瓶の容量の半分以下になるように設定しているが、どの程度まで増やしても問題ないのかについては未確認である。バイアル瓶の容量が 100mL より大きくなると回収率が下がる。50mL 以下であれば、30~45 分間の回収時間で安定して  $\text{CO}_2$  が回収できることがわかった。回収した  $\text{CO}_2$  と水試料の  $\delta^{13}\text{C}$  を比較すると、ほぼ同じ値が得られている。今後、RICE-W (Radiocarbon Intercomparison on Chemical Experiments, Water series) プロジェクト(南ほか, 2014)による多機関による相互比較を行い、 $^{14}\text{C}$  濃度についての検証を行う予定である。