

ガスクロマトグラフ燃焼質量分析計(GC/C/MS)による 有機化合物の炭素同位体比の測定と地球化学的応用

坂田 将¹⁾・金子 信行²⁾

1. はじめに

地質試料中の有機物の炭素同位体比は、有機物の起源を知るうえで、重要な手がかりとなる。例えば、堆積物中に含まれる陸源有機物と海洋起源有機物の混合の割合が炭素同位体比に反映されることは広く知られている。また原油と原油、あるいは原油と根源岩の対比の指標として、炭素同位体比の有効性が認められている。堆積物や原油などの地質試料中に含まれる有機物は非常に多くの成分が混合しており、従来、その炭素同位体比は、バルクで測定するか、液体クロマトグラフでいくつかのフラクションに分離して測定することが行われてきた。

近年、ガスクロマトグラフと同位体比測定用質量分析計を燃焼炉付きのインターフェースで直結した装置が開発され、ガスクロマトグラフのカラムで分離した有機化合物の炭素同位体比を個別に測定することが可能になってきた。この装置はガスクロマトグラフ燃焼質量分析計(Gas Chromatograph/Combustion/Mass Spectrometer)と呼ばれ、英語の頭

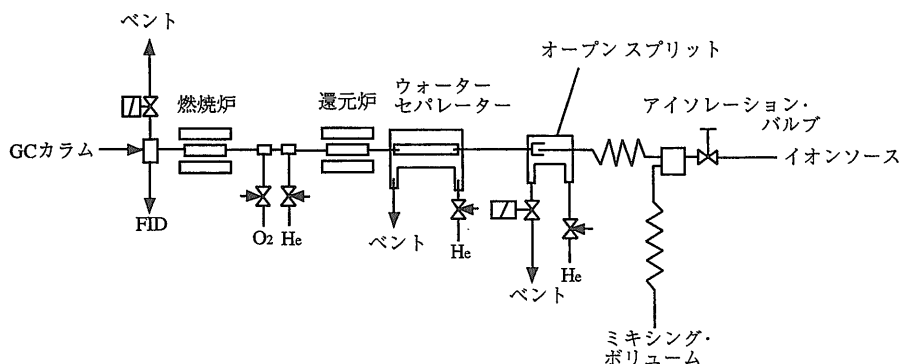
文字をとってGC/C/MSと略されている。本小論では、このGC/C/MSによる有機化合物の炭素同位体比測定法とその地球化学的応用に関する最近の研究を紹介する。

2. 測定法

2.1 GC/C/MSの装置の概要

GC/C/MSは、カラムで有機物を分離するガスクロマトグラフ、その有機物を燃焼して二酸化炭素と水に変換し、水を除くして二酸化炭素を質量分析計に導入する燃焼炉付きインターフェース、及び二酸化炭素の炭素の安定同位体比($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)を精密に測定する質量分析計からなる(口絵参照)。ガスクロマトグラフと燃焼炉付きインターフェースからなる部分及びその機能は、GC/Cと略して呼ばれる。以下に、地質調査所に導入されたGC/C/MS(フィニガン・マット社製MAT252 GC/C)を例として、装置の概要を説明する。

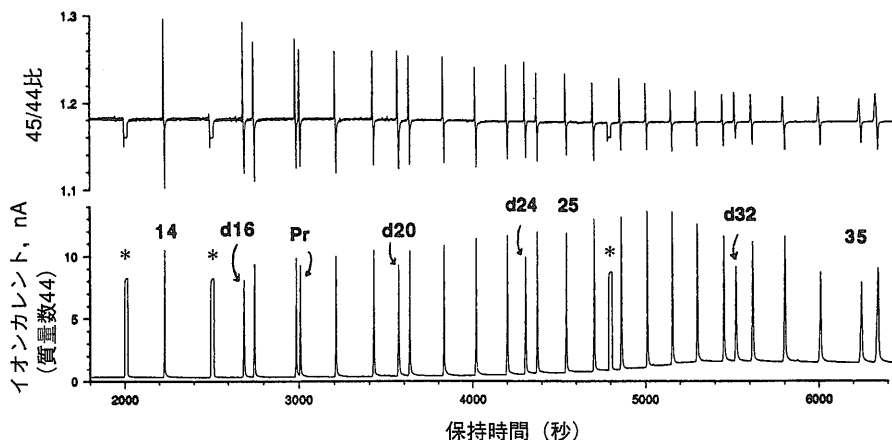
GC/C/MSを構成するガスクロマトグラフは、水



第1図 GC/C/MSの燃焼炉付きインターフェースの概念図。

1) 地質調査所 地殻化学部
2) 地質調査所 燃料資源部

キーワード：炭素同位体比, ガスクロマトグラフ燃焼質量分析計, 有機化合物, 地球化学



第2図 m/z 44のイオンカレント(下図), 及び質量数45と44のイオンカレントの比(上図)を保持時間に対してトレースしたチャート(Merritt et al., 1994). 星印の太いピークは二酸化炭素の標準ガス, 細いピークはn-アルカン同族体に対応する. また d₁₆ 等は C₁₆ 等の重水素化した標準 n-アルカン, Pr はプリスタンに対応する.

素炎イオン化検出器(FID)を搭載し, キャピラリーカラムに対応したものが用いられている. ガスクロマトグラフに注入された試料は, 注入口で気化された後, キャリアガスであるヘリウムとともにカラムに導入され, ここで成分ごとに分離される. カラムからの流出物は一部がFIDに送られて炭素量が測定され, 残りが燃焼炉付きインターフェースに送られる.

燃焼炉付きインターフェースの概念図を第1図に示す. ガスクロマトグラフのカラムから順次流出する有機化合物は, 燃焼炉において850°C前後に加熱された酸化銅(II)によって二酸化炭素と水に変換される. 化合物が窒素を含む場合, 燃焼により一酸化二窒素(N₂O)が生成すると, 二酸化炭素と同じ質量数44となるために, 炭素同位体比の分析に支障をきたす. このため, 燃焼炉の次に還元炉を設けることにより, 一酸化二窒素は窒素(N₂)に還元される. 有機物の燃焼により生成した水は, 管状のナフィオン膜からなるウォーターセパレーターによって除去され, 二酸化炭素はキャリアガスとともに, オープンスプリットに送られる. オープンスプリットでは, 二酸化炭素の一部がヘリウムとともに真空状態の質量分析計のイオンソースと接続したキャピラリーを通じて引き込まれ, 残りはベントから排出される. キャピラリーの長さはイオンソースの真空度が10⁻⁶ Torrのオーダーになるように設定されている. イオンソースにはこのガスクロマトグラフから

の流路のほかに, ミキシング・ボリュームからもキャピラリーを通じて標準ガスの二酸化炭素をヘリウムとともに導入できるようになっている.

質量分析計は, 軽元素の安定同位体比の測定に用いられる通常の動作動型質量分析計である. アイソレーション・バルブを閉じてGC/Cからの流路を断ち切れれば, 通常のデュアルインレットからの試料導入による質量分析が可能となる.

2.2 標準試料の導入法

一般に質量分析計によって炭素同位体比を測定する場合, 測定データをPDBスケール(国際標準物質の同位体比に対する千分偏差)に変換するためには, 炭素同位体比がPDBスケールで正確に求められている標準試料を測定試料と並行して測定することが必要である. GC/C/MSによって個別に有機化合物の炭素同位体比を測定する場合には, 標準試料としては, 二酸化炭素を外部標準として用いるか, もしくは水素原子をすべて重水素化した有機化合物を内部標準として用いる方法がある. 前者では, 二酸化炭素はGC/Cの部分を通さず, 一般にミキシング・ボリュームから質量分析計のイオンソースに直接導入されるのに対し, 後者では, 重水素化した有機化合物は測定試料中の成分と一緒に, GC/Cを通して二酸化炭素に変換し, 質量分析計に導入される.

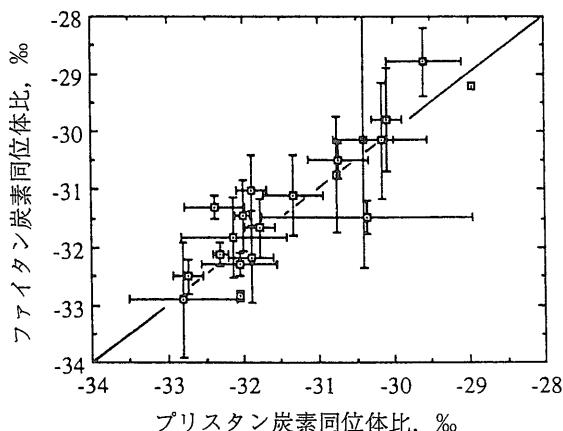
n-アルカンの試薬混合物(重水素化したものを含

む)をGC/C/MSで測定した場合に得られるチャートを第2図に示す。この図の下のチャートは、質量数44(二酸化炭素の最も強度の大きい質量数)のイオンカレントを保持時間に対してプロットしたものである。細いピークはいずれも個別のn-アルカンのシグナルであり、星印の太いピークは、バリアブル・ボリュームからイオンソースに直接導入した二酸化炭素のシグナルである。一方同図の上のチャートは、質量数45と44のイオンカレントの比を保持時間に対してプロットしたものである。ほぼ一定の比を示すバックグラウンドに比べて、二酸化炭素標準ガスの同位体比はマイナスの方向に頂部の平らなピークとして現われるのに対し、GC/Cを通したn-アルカンではいずれも、プラスからマイナスへと上下に振れるパターンを示す。後者のパターンは、ガスクロマトグラフのカラムをn-アルカンが通過する際、同じ化合物であっても ^{13}C に富む分子が ^{13}C に乏しい分子よりも早くカラムを通過するという同位体効果を反映しているものである。

重水素化したn-アルkanは、同じ炭素数のn-アルkan(重水素化していないもの)に比べて保持時間が短く、完全に独立したピークとして検出されるため、内部標準として有効である。重水素化試薬を内部標準とする方法は、仮にGC/Cのプロセスで同位体分別があっても、その効果は測定試料と標準試料の両方に同じ様に働くために、同位体比への影響が小さいというメリットがある。しかしながら、内部標準のピークが測定試料のピークと重なることにより誤差を生じる可能性がある。二酸化炭素を外部標準として用いる方法は、GC/Cのプロセスを試料と共有しない反面、保持時間による制約がないため、測定試料のピークと重ならないようにコントロールできるというメリットがある。このように内部標準法と外部標準法は互いに補完し合う関係にあり、両者を合わせて同位体比を測定することが現実的と考えられる。

2.3 測定試料の前処理(分離と誘導体化)

地質試料中の有機化合物の炭素同位体比をGC/C/MSで測定する場合、ガスクロマトグラム上で測定ピークが十分に分離されていなかったり、ハンプ(UCM: unresolved complex mixtures)が存在すると、正確な同位体比を得ることができない。例え



第3図 北米白亜系 Greenhorn 層から抽出されたプリスタンとファイタンの炭素同位体比の関係(Hayes et al., 1990)。両成分の同位体比が等しい場合の関係が直線で示されている。

ば、Sofer et al. (1991)は、原油の個別n-アルカンの炭素同位体比をGC/C/MSで測定するとき、ハンプの存在により2%の測定誤差を伴うことを指摘している。このような妨害成分による測定誤差を最小限にするためには、試料をGC/C/MSに注入する前に測定成分を分離・精製することが必要である。原油中のn-アルカンの炭素同位体比を測定する場合は、まずシリカゲル等を用いた液体クロマトグラフによって脂肪族炭化水素成分を分離し、モレキュラーシーブによりn-アルカンと分枝・環式炭化水素を分離しなければならない。山田ら(1994)は、この前処理法について検討し、この分離操作に伴うn-アルカンの回収率が低い場合にも、炭素同位体比の測定値に影響しないことを明らかにしている。

アミノ酸や脂肪酸、アルコールのように、揮発性の低い成分の炭素同位体比をGC/C/MSで測定する場合、通常ガスクロマトグラフの分析と同様に誘導体化する必要がある。このとき、GC/C/MSで測定する成分中には誘導体化試薬に由来する炭素が加わるため、その同位体比を正確に評価しなければならない。そのためには、標準試薬について、誘導体化する前と後の炭素同位体比を各々従来法(封管燃焼法)で測定し、誘導体化試薬に由来する炭素の同位体比を実験的に求めることが行われている。こうして得られた同位体比は、もともとの誘導体化試薬の同位体比に、誘導体化反応に伴う同位体分別を

第1表 南ドイツの漸新統 Messel 頁岩の抽出性有機物に含まれる個別バイオマーカーの炭素同位体比(Freeman et al., 1990).

ピーク	保持時間 (秒)	含有量 (n mol C)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	化合物
1	1,679	1.1	-22.7±1.0	ノルプリスタン
2	1,722	1.0	-30.2±0.3	C ₁₉ 鎖式イソプレノイド
3	1,812	0.7	-25.4±1.0	プリスタン
4	2,040	2.0	-31.8±0.8	ファイタン
5	2,602	1.0	-29.1±0.6	C ₂₃ 鎖式イソプレノイド
6	3,161	1.3	-23.9±0.6	10β(H)-デス-A-ルパン
7	3,571	1.3	-24.9±1.0	炭化水素化合物 (複数)
8	3,688	2.6	-73.4±1.3	C ₃₂ 鎖式イソプレノイド
9	3,883	0.9	-24.2±1.2	イソプレノイドアルカン
10	3,957	6.8	-49.9±1.1	17β(H)-22,29,30-トリスノルホバン
11	3,977	2.0	-60.4±1.8	イソプレノイドアルカン
12	4,100	1.6	-43.5±1.0	17α(H),21β(H)-30-ノルホバン
13	4,156	2.0	~-45	17β(H),21α(H)-30-ノルホバン
14	4,210	2.9	~-34	17α(H),21β(H)-ホバン
15	4,256	6.2	-65.3±1.4	17β(H),21β(H)-30-ノルホバン
16	4,364	1.8	-39.4±0.8	17α(H),21β(H)-ホモホバン
17	4,392	1.3	-35.2±1.4	17β(H),21β(H)-ホバン
18	4,552	4.2	-36.6±0.5	17β(H),21β(H)-ホモホバン
19	4,692	15.4	-20.9±0.5	リコバン
20	5,010	0.5	-27.0±0.4	炭化水素化合物 (未同定)
21	5,408	0.8	-28.8±1.0	炭化水素化合物 (未同定)

加味したものであり、同位体分別が大きい場合には試薬の同位体比と一致しない。このような方法により、脂肪酸はメチルエステル化(Abrajano et al., 1994), アミノ酸はトリフロロアセチル・イソプロピルエステル化(Silfer et al., 1991), アルコールはトリメチルシリル化(松本ら, 1994)することで、GC/C/MSによる炭素同位体比の測定が可能となっている。

3. 地球化学的応用

3.1 堆積有機物と生体有機物の炭素同位体比の関係

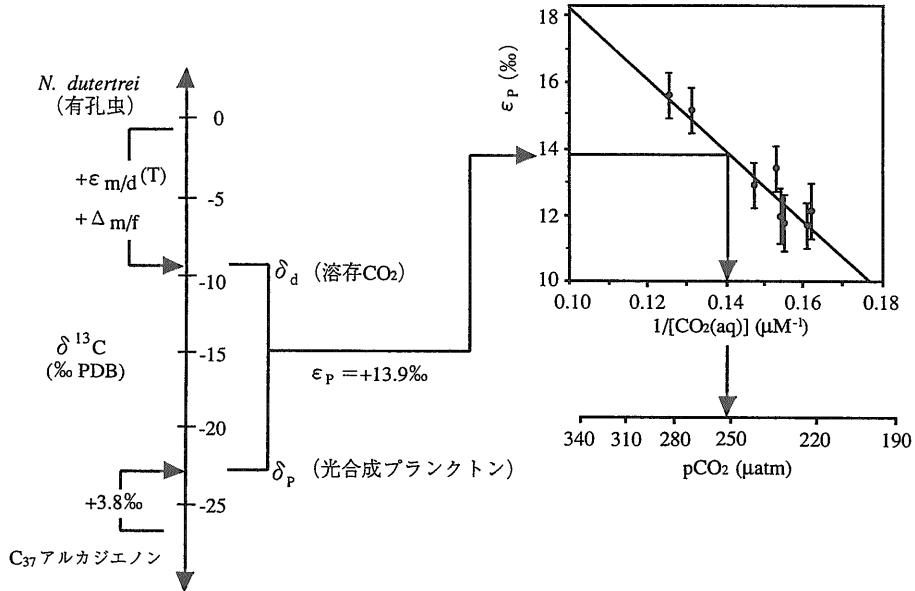
堆積有機物の起源を炭素同位体比によって評価する場合、その同位体比は続成過程でほとんど変化せず、生体有機物の同位体比をそのまま保存していることを前提としている。このことは北米白亜系 Greenhorn 層の事例研究(Hayes et al., 1990)において検証されている。第3図は Greenhorn 層の頁岩中のプリスタンとファイタンの炭素同位体比の関係を示したものであり、両者はきわめてよく一致して

いる。一般に、プリスタンとファイタンは共通の生体有機物(クロロフィルのフィチル側鎖)に由来すると考えられており、第3図は両成分の炭素同位体比が続成過程で維持されているのか、もしくは同じように変化していることを示している。

また同じ頁岩について、ポーフィリンの炭素同位体比も測定されており、プリスタンとファイタンの同位体比の平均値はこれに比べて3-5%低いことが見いだされている(Hayes et al., 1990)。この関係は、ちょうど生体中のクロロフィルを構成するポーフィン核とフィチル側鎖の同位体比の関係と一致している。ヘテロ環式化合物であるポーフィンと飽和炭化水素であるプリスタン、ファイタンの炭素同位体比が続成過程で同じように変化するとは考えにくいことから、Hayes et al. (1990)は、生体有機物の炭素同位体比が、ほとんど変化せず、堆積有機物に保存されているものと解釈している。

3.2 堆積有機物の起源評価

Freeman et al. (1990)は、南ドイツの漸新統 Messel 頁岩の抽出性有機物に含まれるバイオマーカー



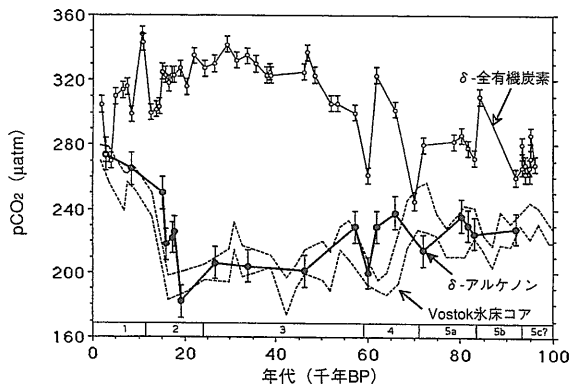
第4図 光合成に伴う同位体分別(ε_p)から、古海洋の溶存二酸化炭素濃度[CO₂(aq)], 及びこれと平衡状態にある古大気中の二酸化炭素濃度(pCO₂)を評価する方法の概念図(Jasper and Hayes, 1994).

の炭素同位体比を GC/C/MS で測定し、その起源に関して重要な知見を得ている(第1表)。まず、プリスタン(-25.4‰)とファイタン(-31.6‰)の炭素同位体比が6‰以上異なっており、両者は起源が異なる(プリスタンは藻類起源、ファイタンはメタン生成バクテリア(methanogenic bacteria)起源)ことを見いだした。これは両成分が起源は共通で、組成変化の反応メカニズムが異なる(酸化反応と還元反応)という従来の一般的解釈を覆すものである。また、17β(H), 21β(H)-30-ノルホパン等の3化合物について炭素同位体比が-60‰よりも軽いことを指摘し、これらのバイオマーカーが¹³Cに乏しい微生物起源のメタンを栄養源とするバクテリア(methanotrophic bacteria)に由来するものと推定している。17β(H), 21β(H)-30-ノルホパン(-65.3‰)が17α(H), 21β(H)-30-ノルホパン(-43.5‰)や17β(H), 21α(H)-30-ノルホパン(〜-45‰)と炭素同位体比が大きく異なっている点も、これらを同一起源(17β(H), 21β(H)体が異性化して17α(H), 21β(H)体と17β(H), 21α(H)体ができた)とみなす従来の一般的解釈を否定するものである。Freeman et al. (1990)は、この点について、もともと2種類(化学独立栄養バクテリア起源とメタン栄養バクテリア起源)の生体ホパノイドが

あって、両者は炭素同位体比が相違し、異性化反応のし易さも異なることから、このような結果が得られたものと解釈している。

3.3 古環境評価

海洋に棲息するプランクトンが、海水中の二酸化炭素を取り込んで、光合成によって有機物をつくる場合、二酸化炭素の濃度が高いほど同位体分別(二酸化炭素と有機物の炭素同位体比の差)が大きくなり、その結果有機物の同位体比が低くなることから、野外観察や培養実験から明らかにされている(De-gens et al., 1968; Pardue et al., 1976など)。Jasper and Hayes (1990)は、堆積有機物の中で、プランクトンに由来することが知られている特定の成分について、GC/C/MSで炭素同位体比を測定することにより、過去の海水と大気中の二酸化炭素濃度を評価する方法を提案している。その詳細を示したのが第4図であり、彼らは、プランクトン由来の有機物として、アルケノン(より具体的にはC₃₇アルカジエノン)を選んでいる。これは、同成分が特定のプランクトン(プリムネシウム藻類)にのみ由来し、しかも同成分の海洋堆積物における含有量は一般に高く、GC/C/MSの測定が比較的容易なためである。培養実験の結果、アルケノンはプランクトンの細胞全体



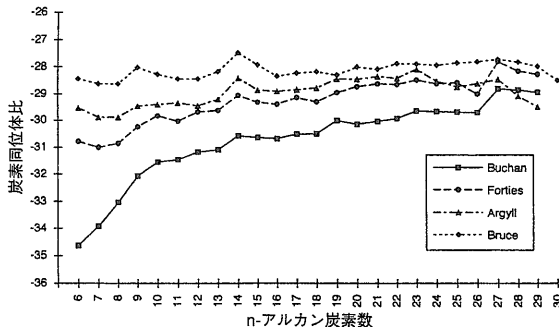
第5図 メキシコ湾の Pigmy Basin 海底堆積物中のアルケノン及び全有機炭素の炭素同位体比から見積もられる古大気中の二酸化炭素濃度の年代変化 (Jasper and Hayes, 1994). 比較のために南極大陸の Vostok 氷床コアの pCO₂ の記録が点線で示されている。

に比べて ¹³C が 3.8% 乏しいこと (Jasper and Hayes, 1990) が分かっているので、過去のプランクトンの炭素同位体比 δ_p をアルケノンの測定データから評価できる。一方当時の海水溶存二酸化炭素の炭素同位体比 δ_d は、同じ堆積物中の浮遊性有孔虫の炭酸塩殻の同位体比から見積もることができる。δ_d と δ_p の差 ε_p が光合成における同位体分別の値であり、これから海水中の溶存二酸化炭素の濃度 [CO₂ (aq)] を評価することができる。さらに当時の海水温度を有孔虫の殻の酸素同位体比等によって評価すれば、海水と平衡状態にあった大気中の二酸化炭素濃度も計算できる。

Pigmy Basin (メキシコ湾) の海底コア試料をもとに、上記の方法で古大気中の二酸化炭素濃度を評価した結果を示したのが第5図である。アルケノンの炭素同位体比から計算される二酸化炭素濃度は、南極大陸の Vostok 氷床コア中の古大気中の二酸化炭素濃度の測定値 (Barnola et al., 1987) と近いトレンドが得られている。もしアルケノンの代わりに全有機炭素の同位体比を用いて二酸化炭素濃度を評価すると、全く異なった高い濃度のトレンドが得られることになり、陸源有機物の混入がこのトレンドの違いをもたらす原因と解釈している。

3.4 石油地化学的応用

Sofer et al. (1991) は陸成原油 (コンゴ堆積盆) と海成原油 (北海油田) について、n-アルカン (C₁₃~



第6図 北海油田の4フィールドから採取した原油の個別n-アルカンの炭素同位体比 (Clayton and Bjorøy, 1994). Buchanの原油の熟成度が最も高く、Forties, Argyll, Bruceの順に熟成度が低くなる。メチルフェナントレン指標等の分析データから推定されている。

C₃₁) の個別炭素同位体比を測定し、両者に明瞭な違いがあることを指摘している。すなわち陸成原油のn-アルカンでは、低分子量のものが高分子量のものに比べて5%程度高い炭素同位体比を示すのに対し、海成原油では炭素数に関わらず炭素同位体比はほぼ一定である。また、海成原油試料には、微生物による変質 (biodegradation) を受けたものも含まれており、n-アルカンの炭素同位体比がそのような二次的変質の影響を受けにくいとし、原油どうしの対比の指標として優れているとしている。

ところが、Clayton and Bjorøy (1994) は北海の4つの油ガス田から採取した熟成度の異なる原油のn-アルカンの炭素同位体比を測定し、熟成度とともに、炭素同位体比が高くなる傾向があることを指摘した (第6図)。石渡ら (1994) も、日本の原油 (秋田・山形、新潟産) について同様の傾向を見いだしている。このように、原油のn-アルカンの炭素同位体比は、起源有機物と熟成度の両ファクターに影響されることが明らかであり、対比の指標として用いる場合、熟成度に関する情報をバイオマーカー等で補うことが重要と考えられる。

4. ま と め

GC/C/MS (ガスクロマトグラフ燃焼質量分析計) の開発により、地質試料中の有機物の炭素同位体比を化合物単位で測定することが可能になった。

本測定は、通常ガスクロマトグラフ分析と同様に、標準試料の導入や試料の前処理(分離・精製、誘導体化)の方法を検討することが、正確なデータを得るために不可欠である。個別有機化合物の炭素同位体比は、バイオマーカー等の起源(生物種)を評価する上で、非常に明確な制約を与えるものであり、従来、分子の骨格構造から推定されてきた有機化合物の起源に関する解釈を見直す必要性が指摘されている。堆積有機物の中で、光合成に直接由来することが確実な特定成分の炭素同位体比を測ることにより、過去の二酸化炭素濃度を定量的に評価できることも分かってきた。原油中の有機化合物の炭素同位体比は、原油の起源と熟成度に関する情報を包含しており、今後の研究の進展によって、両者を判別する方法が確立されれば、従来のバルクの同位体比に基づくよりも、精度よく原油の対比を行うことが可能になると期待される。

参考文献

Abrajano, T. A. Jr., Murphy, D. E., Fang, J., Comet, P. and Brooks, J. M. (1994): $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in individual fatty acids of marine mytilids with and without bacterial symbionts. *Org. Geochem.*, **21**, 611-617.

Barnola, J. M., Raynaud, D., Korotkevich, D. W. S. and Lorius, C. (1987): Vostok ice core provides 160,000-year record of atmospheric CO_2 . *Nature*, **329**, 408-414.

Clayton, C. J. and Bjorøy, M. (1994): Effect of maturity on $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of individual compounds in North Sea oils. *Org. Geochem.*, **21**, 737-750.

Degens, E. T., Behrendt, M., Gotthardt, B. and Reppmann, E. (1968): Metabolic fractionation of carbon isotopes in marine plankton. *Deep-Sea Res.*, **15**, 11-20.

Freeman, K. H., Hayes, J. M., Trendel, J. M. and Albrecht, P. (1990): Evidence from carbon isotope measurements for diverse origins of sedimentary hydrocarbons. *Nature*, **343**, 254-256.

Hayes, J. M., Freeman, K. H., Popp, B. N. and Hoham, C. H. (1990): Compound-specific isotope analyses: a novel tool for reconstruction of ancient biogeochemical processes. *Org. Geochem.*, **16**, 1115-1128.

石渡良志・今 亮人・山田桂太・奈良岡浩・町原 勉(1994): 日本産原油の個別 n-アルカンの安定炭素同位体比に見られる規則性. 1994年度日本地球化学会講演要旨集, p. 279.

Jasper, J. P. and Hayes, J. M. (1990): A carbon isotope record of CO_2 levels during the late Quaternary. *Nature*, **347**, 462-464.

Jasper, J. P. and Hayes, J. M. (1994): Reconstruction of paleoceanic pCO_2 levels from carbon isotopic compositions of sedimentary biogenic components. In *Carbon Cycling in the Glacial Ocean: Constraints on the Ocean's Role in Global Change* (Edited by Kamenski, M., Laberyrie, L. D., Pedersen, T. F. and Zahn, R.), Springer-Verlag (in press).

松本公平・奈良岡浩・山田桂太・石渡良志(1994): 堆積物中の個々の脂肪酸アルコールの安定同位体比測定法の検討. 1994年度日本地球化学会講演要旨集, p. 282.

Merritt, D. A., Brand, W. A. and Hayes, J. M. (1994): Isotope-ratio-monitoring gas chromatography-mass spectrometry: methods for isotope calibration. *Org. Geochem.*, **21**, 573-583.

Pardue, J. W., Scanlan, R. S., van Baalen, C. B. and Parker, P. L. (1976): Maximum carbon isotope fractionation in photosynthesis by blue-green alga. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **40**, 309-312.

Silfer, J. A., Engel, M. H., Macko, S. A. and Jumeau, E. J. (1991): Stable carbon isotope analysis of amino acid enantiomers by conventional isotope ratio mass spectrometry and combined gas chromatography/isotope ratio mass spectrometry. *Anal. Chem.*, **63**, 370-374.

Sofer, Z., Bjorøy, M. and Hustad, E. (1991): Isotopic composition of individual n-alkanes in oils. In *Organic Geochemistry. Advances and Applications in Energy and Natural Environment* (Edited by Manning, D. A. C.), pp. 207-211. Manchester University Press.

山田桂太・鶴崎 実・今 亮人・奈良岡浩・石渡良志(1994): 原油中の個別長鎖 n-アルカンの安定炭素同位体分析のためのモレキュラーシーブ分離法の検討. *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **42**, 237-246.

SAKATA Susumu and KANEKO Nobuyuki (1995): Compound-specific carbon isotopic analysis by gas chromatograph/combustion/mass spectrometer and its geochemical applications.

〈受付: 1994年11月9日〉