

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：82706

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K04048

研究課題名(和文) 硫化物・硫酸塩を含む試料中の微量有機物・軽元素同位体比分析法の確立

研究課題名(英文) Development of a method to measure trace organic matter content and N+C stable isotope ratios in samples containing low amounts of organic matter and high amounts of sulfur.

研究代表者

松井 洋平 (Matsui, Yohei)

国立研究開発法人海洋研究開発機構・地球環境部門(海洋生物環境影響研究センター)・准研究副主任

研究者番号：90756199

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：元素分析計を用いた炭素・窒素分析は広く利用されている分析法です。生体試料や原材料分析では、必要試料量が足りないことはまず起こりませんが、岩石・堆積物試料等是有機物含有量が少なく、十分なシグナル強度が得られずに分析が難しいことがあります。そのような場合、分析試料量を増加させるとともに、細径管を用いた高感度化で対応する手法があります。しかし、試料中に硫黄等の分析妨害成分を多く含む試料では、燃焼ガス中の硫黄酸化物が除去されきれず、分析が難しいことがあります。本研究では既存の元素分析計の流路内に硫黄除去反応炉を組み込むことによって、難分析性試料の安定的かつ継続的な高感度・高精度分析を目指しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果により、これまで分析が難しかった低有機物含有・高硫黄含有サンプルの有機物含有量と安定窒素・炭素同位体分析の安定的かつ継続的な高感度・高精度分析への道が開かれました。これまで重要ではあるが、分析が難しいことから分析を敬遠され、学術的に重要なデータが取れていなかったタイプのサンプルからも有用な情報がえられ、また分析妨害成分の影響で分析が度々中断され、分析時間が長大になっていた分析上の問題が解決されると期待されます。安定した分析が可能となることにより、分析時間が短縮されるのみならず、機器の故障率やダウンタイムの低減、オペレーターによらず安定したデータが取得できる社会的意義につながります。

研究成果の概要(英文)：Carbon and nitrogen analysis using an elemental analyzer is a widely used analysis method. When analyzing biological samples or raw materials, it is unlikely that the required amount of sample is insufficient, but rock and sediment samples have a low organic matter content, making analysis difficult because sufficient signal strength cannot be obtained. In such cases, there are methods to increase the amount of sample to be analyzed and increase sensitivity by using narrower diameter tubes. However, if the sample contains many components that interfere with analysis, such as sulfur, the sulfur oxides in the combustion gas may not be completely removed, making analysis difficult. In this research, we aimed for stable and continuous high-sensitivity and high-precision analysis of difficult-to-analyze samples by incorporating a sulfur removal reactor into the flow path of an existing elemental analyzer.

研究分野：Geochemistry

キーワード：硫黄 コバルト 二酸化硫黄 三酸化硫黄 銅 パナジウム 銀 同位体

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

本研究課題の申請時において、元素分析計-安定同位体比質量分析計を用いた窒素・炭素試料分析上の問題に悩まされていました。その問題とは、ある種の試料<sup>(a)</sup>を分析すると、二酸化硫黄と思われる妨害成分<sup>(b)</sup>が大量に発生してしまい、窒素・炭素の安定同位体比分析の精度が悪くなってしまふ事でした。二酸化硫黄は分析精度を悪化させるのみならず、腐食性ガスであることから、装置配管内部や検出器を劣化・破損させてしまう恐れがあります。そのため、分析途中で二酸化硫黄の発生を認めた場合、分析を一時中断し、燃烧炉・還元炉などの消耗品を交換した上で、元素分析計内部に配置されたガスクロマトグラフのカラムの焼きだし(～4時間)を行う必要があります。焼きだしによって分析装置内部の妨害成分を追い出し、コンディショニングした後に分析再開せねばならず、分析の一時停止に次ぐ一時停止で、なかなか思うように分析が進まずに困っていました。このような問題を解決し、分析を滞らせず精度の良いデータを安定して得たいということが研究申請当初の動機でした。

<sup>(a)</sup> 海底火山近傍の堆積物、海底熱水鉱床、パイライトを多く含む堆積物の試料等です。このような試料には、硫化物・硫酸塩・自然硫黄が大量に含まれていることがあります。

<sup>(b)</sup> 妨害成分の検出後に一旦分析を停止してマススペクトルをとると、二酸化硫黄イオン[ $m/z = 64, 66 (SO_2^+)$ ]とそのフラグメントイオン[ $m/z = 48, 50 (SO^+)$ ,  $m/z = 32, 34 (S^+, O_2^+)$ ]のピークが検出されたことから、分析装置内部の硫黄除去剤が飽和して、二酸化硫黄ガスが検出器まで到達していたと判断しました。

### 2. 研究の目的

本研究課題の申請時における当初の研究目的は、(1) 分析装置内部で発生する二酸化硫黄ガスを種々の化合物・種々の条件を用いて装置内部で除去し、検出器に到達させないことで、(2) 硫黄を大量に含み、有機物含有量の低い試料についても、安定して精度の良い窒素・炭素分析を行うことでした。この目的は当初予定した通りのまま、研究期間全体を通して維持されました。

### 3. 研究の方法

(1) 元素分析計の流路内部に硫黄除去反応炉の組み込みを行いました。まず燃烧管下部と還元管下部をつないでいる SUS 配管を取り除き、燃烧管下部と硫黄除去反応管の上流側を SUS 配管(外径 1/16 インチ、内径 1.0 mm) で接続しました。項目(2)以下に示す触媒類を充填するための反応管は異径接続石英管(外径 12 mm - 外径 6 mm)を用い、反応管は小型電気炉内部に設置し、室温付近から 1000 付近まで温度制御をしながら反応試験を行える構造としました。そして、硫黄除去反応炉の下流側から還元管の下部までを SUS 配管(外径 1/16 インチ、内径 1.0 mm) で接続しました。以降下流側は、脱水管(外径 6mm, 内径 4 mm のパイレックスガラスチューブに過塩素酸マグネシウムの顆粒を充填したもの)と GC カラム(元素分析計付属のオープンではなく、外部に GC-8A ガスクロマトグラフを設置して別途 GC カラムを取り付けました。Shincarbon, 外径 1/4 インチ、内径 4 mm, 長さ 1.5 m)を経由して、ヘリウムキャリアースプリッター経由でコンフロ IV インターフェイスと同位体マスに接続しました。また、酸素ガスパルス導入時のバルブ開閉による窒素ブランクの低減のために、酸素ガスパルスは、5mL のサンプルループ経由で自動切換バルブを用いて導入して分析を行いました。

(2) 分析装置内部で発生する二酸化硫黄ガスを種々の化合物・種々の条件を用いて装置内部で除去するために、下記の種々の試薬を用いて、硫黄除去反応を試みました。

オルトバナジン酸銀

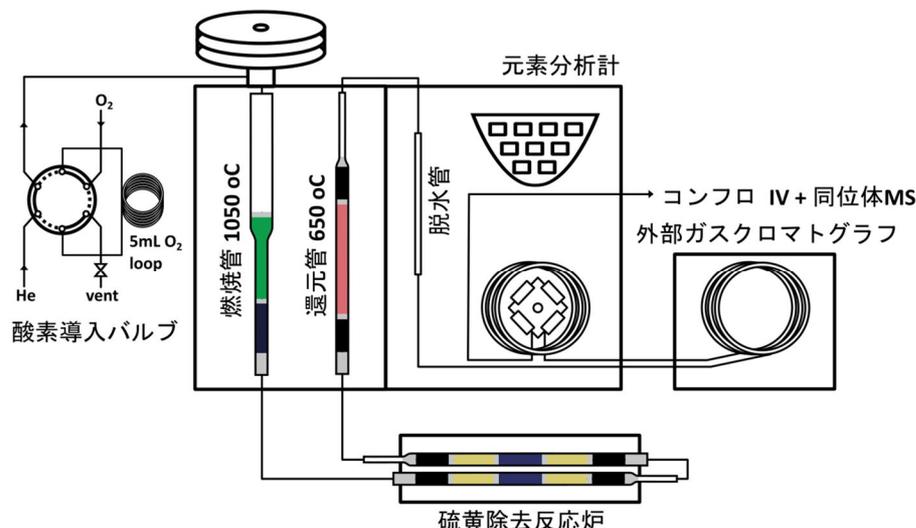
メタバナジン酸銀・酸化銅・還元銅・銀・酸化銀・酸化銀コバルトの種々の組み合わせ  
酸化銀コバルト

(2)- : 既往の研究例に従い、酸化銀およびメタバナジン酸銀を 1:1 のモル比で混合し、均質化したのちに、オープンで焼成(150 , 24 時間)しました。

(2)- : 各試薬の特性から、硫黄除去反応炉内での適切な温度位置となるように配置を考慮しました。(例えば、メタバナジン酸銀は、高温で石英管を痛めるとの知見から、適温部位に配置しました。)

## 4. 研究成果

(1) 元素分析装置の流路内部に硫黄除去反応炉を組み込んだ様子を下図に示します。



### (2)- オルトバナジン酸銀

先行研究の手法によれば、焼成作業によりオルトバナジン酸銀が生成されるはずでしたが、XRDでの観察の結果、非晶質のスペクトルおよび、メタバナジン酸銀のスペクトルが得られました。オルトバナジン酸銀を得るために、焼成温度および、焼成時間の試行錯誤を行いました。XRDのスペクトルからは、オルトバナジン酸銀が生成されていないことが分かりました。そこで、オルトバナジン酸銀の触媒作成は一度取り止めとし、市販の元素分析試薬の組み合わせによる硫黄除去の試みを開始しました。

### (2)- メタバナジン酸銀・酸化銅・還元銅・銀・酸化銀・酸化銀コバルトの組み込み

主な発見として、酸化銅は500-800程度の設定温度帯で三酸化硫黄ガスと反応して一部が硫酸銅となりますが、その後、徐々に熱分解して三酸化硫黄と二酸化硫黄を再放出してしまうことが分かりました。高温側では、硫酸銅の熱分解反応が比較的すみやかに行われるのに対し、500-600の温度帯では、熱分解反応が少しずつ起こり4時間以上に渡って放出されることもありました。このことから、酸化銅は、二酸化硫黄・三酸化硫黄の除去剤として用いるよりも、バナジン酸銀や酸化銀コバルトの手前に配置することによる利点があると考えられました。その利点とは、酸化銅が配置されていない場合は、大量の硫酸化物が一気にバナジン酸銀や酸化銀コバルトに突入してしまい、除去しきれずに取りこぼしがでてくることが考えられます。しかし、手前に酸化銅があることにより、硫酸化物の一部が硫酸銅となり、再び緩やかに硫酸化物として放出されます。この現象を利用することにより、酸化銅を用いた硫酸化物の遅延分散効果が期待されました。様々な硫黄除去反応炉を作成した中で、酸化銅+銀粒：バナジン酸銀：酸化銀コバルト+銀粒：バナジン酸銀：酸化銅+銀粒の配置による硫黄除去の結果が良いことが分かり、二酸化硫黄の吸収能が通常の酸化銀コバルト単体での硫黄除去量よりも、3-8倍程度改善することが確かめられました。

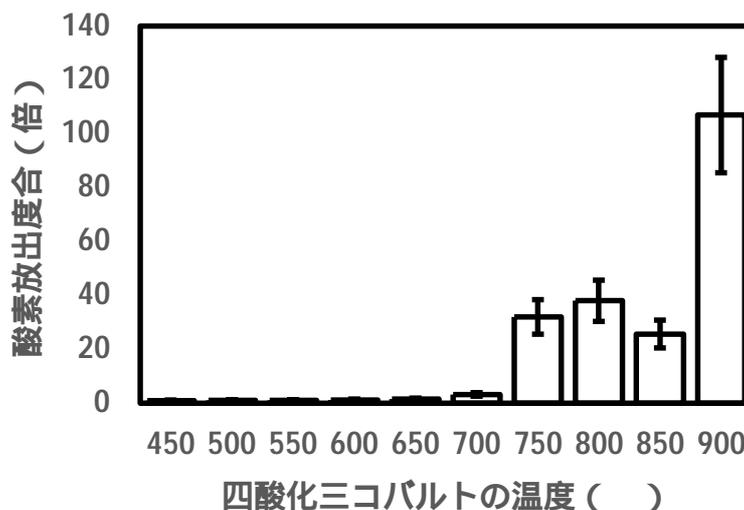
### (2)- 酸化銀コバルト

上記(2)-よりも更に除去効率の良い配置と組み合わせを探索するために、それぞれの試薬の特性について、より深く調べ始めました。まずは酸化銀コバルトについて、温度による特性の変化について調べることにしました。まず燃焼炉内での酸化銀コバルト配置部分の温度について熱電対を用いて実際の温度を計測したところ、およそ400-900の範囲にありました。酸化銀コバルトは、あまり高温では触媒機能を発揮できないとされていることから、炉の中心部分から少し外れた、下流の温度が少し下がった部分に配置されることが標準的です。500-600が最適な温度帯であるというのが一般的ですが、実際の酸化銀コバルトは400-900の範囲にあることから、最適とされる温度帯よりも高温部分、低温部分が存在していることが分かりました。最適とされる温度域よりも高温域があることが硫黄除去効率にとって重要であるのか？もしくは低温域があることが重要であるのか？または、高温域・適温域・低温域の温度勾配が存在することが重要であるのかを確かめるために、まずは上流の温度域である800-900での酸化銀コバルトの挙動を調べました。

市販品の酸化銀コバルトは、黒色の顆粒(四酸化三コバルト)上に銀の微粒子が担持されてい

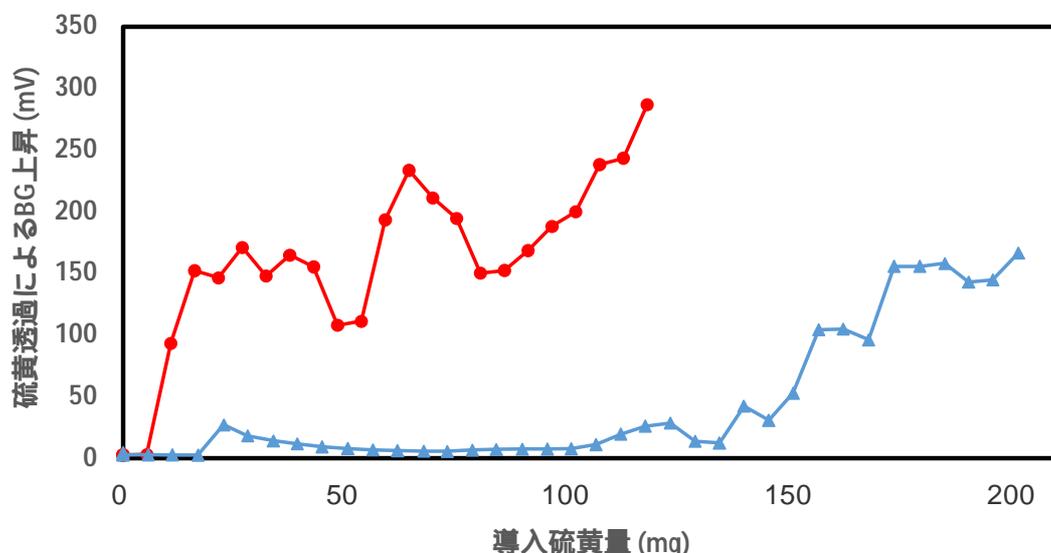
る顆粒で、黒色の濃い顆粒、銀の微粒子が少し多く付いていて白っぽく見える顆粒が混在している試薬ですが、ヘリウム気流下で 800-900 に昇温すると、時間経過とともに茶褐色の顆粒に変化することが分かりました。これは、四酸化三コバルト熱分解して酸素を失い、酸化コバルト(II)になったためだと考えられます( $2\text{Co}_3\text{O}_4 \rightarrow 6\text{CoO} + \text{O}_2$ )。次に酸素を失って生成した酸化コバルト(II)を 400-500 に昇温して、ヘリウム気流下で 5mL の酸素パルスで 20 回導入したところ、茶褐色の顆粒が再び黒色の顆粒に戻りました。この操作(900 付近での熱分解と 500 付近での再酸化)を複数回繰り返した結果、毎回同様の色合いの変化が見られました。このことから、本研究で用いた四酸化三コバルトは、昇温に伴い酸素を失うとともに、400-500 で酸素ガスを反応させることで再び酸化されることが分かりました。また、本研究で用いた四酸化三コバルトは、昇温に伴い熱膨張し、酸素の放出とともに収縮することが分かりました。この知見は重要で、酸化銀コバルトの配置を適切な位置にしないと、試薬が収縮して、デッドボリュームが生まれてピークがブロードになったり、割れたりする原因になります。また、顆粒間の隙間が多くなることで妨害成分のすり抜けが起きる原因になってしまいます。また、酸化銀コバルトの作用機構として、四酸化三コバルトが二酸化硫黄を三酸化硫黄に変換する触媒として機能し、銀微粒子が三酸化硫黄を硫酸銀として固定するのですが、炉の温度が高すぎると四酸化三コバルトが酸化コバルト(II)となり、触媒機能が失われてしまいます。その結果、二酸化硫黄は銀微粒子と反応することなく、二酸化硫黄は固定されないまま下流に流され、検出器に到達してしまうことが予想されました。

次に、温度帯による四酸化三コバルトからの酸素放出の程度を調べました。調査は、450-900 の温度帯で 50 刻みに行いました。下図には、450 における四酸化三コバルトからの酸素放出量を 1 として、各温度帯でその何倍の酸素を放出するかが示してあります。500-650 の範囲では、450 における酸素放出量とほぼ同じ(1-2 倍)でした。700 では、酸素放出量が約 3 倍、750-850 においては約 30 倍、900 においては約 100 倍という結果になりました。このことから、元素分析計内部の加圧ヘリウム雰囲気においては、標準状態における四酸化三コバルトの熱分解温度(895 )より低温であっても、四酸化三コバルトが次第に熱分解されるという知見が得られました。特に 750-850 の温度帯は、酸素の放出量が通常使用される温度帯よりも多いことから、分析上で有利な点・不利な点があり大変興味深いのですが、まずは基準となる通常酸素放出量の温度帯(1-2 倍)での実験を行いました。

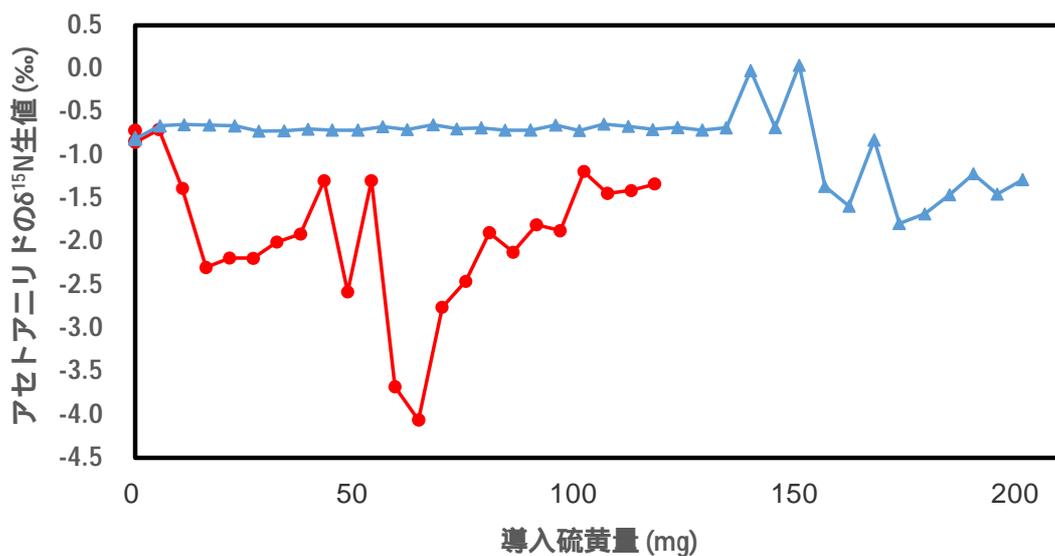


装置改良前後の硫黄除去可能量の違い、および硫黄突破による安定同位体比分析への影響を調べるために、装置に少量ずつ硫黄を導入・燃焼させつつ、元素分析用の標準物質(アセトアニリド)の繰り返し分析を行いました。

下図は、横軸に導入硫黄量、縦軸に検出器までたどりついてしまった二酸化硫黄による  $m/z = 46$  のバックグラウンド(BG)の上昇(mV)を示しています。赤丸のデータポイントが改良前のデータです。青三角のデータポイントが改良後のデータです。装置改良前では、導入硫黄量が 15 mg 程から検出器へ硫黄が透過しはじめ、BG 上昇が起きています。その後、硫黄導入量が増えるに従い BG も次第に上昇する結果になりました。改良後では、硫黄導入量が 25mg を越えるあたりで一時的に BG が上昇し、その後 BG の上昇は小康状態を保ち、硫黄導入量が 110mg を越えるあたりから本格的に BG が上昇する結果となりました。本改良により、本格的に硫黄が透過しはじめてしまう導入硫黄量が、15 mg から 110 mg と約 7 倍増加しました。



下図では、同じ実験で得られた標準物質(アセトアニリド)の安定窒素同位体比の生値( $^{15}\text{N}$ )が示されています。横軸に硫黄導入量、縦軸に安定窒素同位体比の生値( $^{15}\text{N}$ )が示されています。赤丸のデータポイントが装置改良前のデータです。青三角のデータポイントが改良後のデータです。装置改良前は、硫黄導入量約 15 mg で BG が上昇し始めるとともに、 $^{15}\text{N}$  値が大きく影響されはじめ、その影響は硫黄導入量約 70 mg の時点で最大となりました。その後、BG の上昇は増加し続ける一方で、 $^{15}\text{N}$  値は真の値に近づいていく結果となりました。装置改良後は、硫黄導入量 130 mg 程度までは、再現性の良いデータ (S.D.  $1 < 0.2 \text{ ‰}$ ) が得られました。その後、導入硫黄量の増加とともに  $^{15}\text{N}$  値は真の値から大きく外れていく様子が観察されました。これらの事から、二酸化硫黄が検出器にたどり着いてしまっても、少量であれば安定同位体比分析の値に影響を及ぼさない場合もあることがわかりました。



しかし、二酸化硫黄が少量でも検出器に到達した場合の更なる分析上の影響は未知であることから、今後追試を行い、導入硫黄量 300 mg を越えるまで検出器に二酸化硫黄がたどり着かない硫黄除去反応炉の開発を行う予定です。本研究では、既存の元素分析計の流路内に硫黄除去反応炉を組み込むことにより、従来の改善前の装置に比べて 3-8 倍の硫黄除去率を実現し、高感度で安定した同位体比分析への道筋をつけることができました。今後、更に改良した硫黄除去反応炉を用いて、これまで分析が困難であった試料(硫黄含有量が高く、有機物含有量の低い海底熱水鉱床や地質学的な試料)を安定的かつ継続的に高感度・高精度分析できるようになると期待されます。そして地球化学を含む様々な学術分野での応用が実現されると考えています。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Fujisaki Wataru, Matsui Yohei, Ueda Hisahiro, Sawaki Yusuke, Suzuki Katsuhiko, Maruoka Teruyuki	4. 巻 46
2. 論文標題 Pre treatment Methods for Accurate Determination of Total Nitrogen and Organic Carbon Contents and their Stable Isotopic Compositions: Re evaluation from Geological Reference Materials	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Geostandards and Geoanalytical Research	6. 最初と最後の頁 5~19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ggr.12410	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Matsui Yohei, Fujisaki Wataru, Torimoto Junji, Tanaka Keiko, Nishizawa Manabu, Yamamoto Masahiro, Kawagucci Shinsuke, Shimane Yasuhiro, Tei Mika, Uematsu Katsuyuki, Tame Akihiro, Kawahito Yosuke, Kameda Toshihiro	4. 巻 55
2. 論文標題 Gold-coated silver capsule for elemental analyzer-isotope ratio mass spectrometer: Robust against pretreatment of rock material for organic carbon and <sup>13</sup> C analyses	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 GEOCHEMICAL JOURNAL	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2343/geochemj.2.0626	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yohei Matsui, Wataru Fujisaki, Junji Torimoto, Keiko Tanaka, Manabu Nishizawa, Masahiro Yamamoto, Shinsuke Kawagucci, Yasuhiro Shimane, Mika Tei, Katsuyuki Uematsu, Akihiro Tame, Yosuke Kawahito, and Toshihiro Kameda	4. 巻 55
2. 論文標題 Gold-coated silver capsule for elemental analyzer-isotope ratio mass spectrometer: Robust against pretreatment of rock material for organic carbon and <sup>13</sup> C analyses	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Geochemical Journal	6. 最初と最後の頁 e1-e8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2343/geochemj.2.0626	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Fujisaki Wataru, Fukami Yusuke, Matsui Yohei, Sato Tomoki, Sawaki Yusuke, Suzuki Katsuhiko	4. 巻 204
2. 論文標題 Redox conditions and nitrogen cycling during the Triassic-Jurassic transition: A new perspective from the mid-Panthalassa	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Earth-Science Reviews	6. 最初と最後の頁 103173 ~ 103173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.earscirev.2020.103173	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hiraoka Satoshi, Hirai Miho, Matsui Yohei, Makabe Akiko, Minegishi Hiroaki, Tsuda Miwako, Juliarni, Rastelli Eugenio, Danovaro Roberto, Corinaldesi Cinzia, Kitahashi Tomo, Tasumi Eiji, Nishizawa Manabu, Takai Ken, Nomaki Hidetaka, Nunoura Takuro	4. 巻 14
2. 論文標題 Microbial community and geochemical analyses of trans-trench sediments for understanding the roles of hadal environments	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The ISME Journal	6. 最初と最後の頁 740 ~ 756
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41396-019-0564-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

#### 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	藤崎 渉 (Fujisaki Wataru) (80815192)	筑波大学・生命環境系・助教  (12102)	

#### 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

#### 8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関