小型マルチターン飛行時間型質量分析計を用いた土壌から発生するガスのリアルタイム計測技術の開発

大阪大学大学院理学研究科博士前期課程物理学専攻

豊田研究室

阿南貴大

2014 年 3 月

目 次

第 1 章　はじめに　2

第 2 章　土壌から発生するガスの分析手法　5

2.1　ガスクロマトグラフィー (gas chromatography : GC) 5

2.2　gas chromatography/mass spectrometry: GC/MS 7

第 3 章　実験装置　12

3.1　MULTUM-S II 12

3.1.1　飛行時間型質量分析計 14

3.1.2　EI イオン源 16

3.1.3　マルチターン飛行時間型質量分析計 18

3.2　ガスサンプリングシステム 21

第 4 章　開発したモニタリングシステムを用いたガスの測定　26

4.1　CO_2, N_2O, CH_4 の質量分離 26

4.2　最適イオン化電圧の検証 28

4.3　GC-MULTUM 31

4.3.1　低分解能での CO_2, N_2O の測定 31

4.3.2　高分解能での CO_2, N_2O の測定 35

4.3.3　CH_4 の測定 45

4.3.4　H_2O の測定 52

4.4　性能評価 53

4.4.1　定量に関して 53

4.4.2　連続測定に伴う m/z の変動 60

4.4.3　連続測定に伴うピーク面積の変動 62

4.5　まとめ 65

第 5 章　バクテリアの活動によって発生するガスのリアルタイム計測　66

5.1　実験概要 66

5.2　サンプル調整 66

5.3　N_2O 濃度変化の測定 67

5.4　長時間ガス測定 72

第 6 章　まとめと今後の課題　79

第1章　はじめに

質量分析 (mass spectrometry; MS) とは, 質量分析装置を用いて物質をイオン化し, イオンの質量電荷比 (m/z) を測定する分析手法である. 質量分析装置はイオン源, 質量分離部, 検出器で構成される. 質量分析は他の分析法と比較して, 微量測定を行うことができるという利点があり, 近年ではその利点を活かして医療・環境分析の分野でも利用されている. 特にこれらの分野では「現場 (オンサイト)」での測定による医療診断や環境計測が期待されている. しかしながら, 質量分析装置は一般的に大型であり, 現場で測定することは困難という現状がある. 現場での利用を目指し, 装置の小型化が行われており, 当研究室では小型マルチターン飛行時間型質量分析計 "MULTUM-S II" の開発が行われてきた [1].

本研究の目的は, 土壌中のバクテリアにより生成するガスの増減をリアルタイムに計測する技術開発を行うことである. 発生するガスは窒素 (N_2), 二酸化炭素 (CO_2), 亜酸化窒素 (N_2O), メタン (CH_4) などが挙げられる [2]. とりわけ N_2O は温室効果ガスの一つで, 気候変動に関する政府間パネル (IPCC: Intergovernmental Panel on Climate Change) によると, N_2O の温室効果は CO_2 の 298 倍あると言われており [3], さらにオゾン層破壊の原因となっている [4]. N_2O は主にバクテリアの活動による窒素固定によって生成され [5], 脱窒 [6] と硝化 [7] が主要なメカニズムとして挙げられる. 脱窒は嫌気条件下, 硝化は好気条件下で進行し, 図 1.1 に示す経路で生成される. また放出量は窒素肥料投与や環境要因 (降水, 気温, 風速) に影響されるため, オンサイトで 24 時間連続測定し, ガス発生メカニズムの解明と発生量の削減を行うことが必要である. この測定のために測定装置に要求されていることとして,

- 装置の持ち運びができ, 現場で測定できること
- 急激な天候変化に応じた高頻度なガス計測 (数分オーダー)
- 同時に複数のガスを一台の装置で測定でき, それらの相関を測定できること

が挙げられる. 従来行われているガスの検出方法では, 土壌中のバクテリアによって生じるガスを測定するために, 金属製の円筒チャンバーを土壌にかぶせ, 30 分から数

時間毎にサンプリングバッグに一定量のガスを捕集する必要があった (クローズドチャンバー法)[8]. 図 1.2 にガス捕集用チャンバーの写真を示す. サンプリングバッグは現場から研究室へと持ち帰られ, ガスクロマトグラフィー (gas chromatography; GC) で測定を行うのが一般的である. しかしガスをサンプリングバッグに捕集している際にガスが混入したり, 持ち帰っている間にガスが別のガスへと変化してしまったり, サンプリングバッグに吸着されてしまったりして, 正確に定量を行うことができなくなる恐れがあるため, ガスの捕集場所で直接測定することが望まれている. また複数のガスを測定する場合, 感度良く検出するために気体の種類によって検出器の使い分けが行われてきた [9][10][11]. 例えば N_2O を検出する手法としては, 電子捕獲検出器 (electron cupture detector; ECD) が用いられている. メタンは水素炎イオン化検出器 (flame ionization detector; FID) を用いている. CO_2 の場合は GC を用いず, 赤外線ガス分析計での測定を行うことが一般的である. このようにガス種ごとに異なる検出器を用いているために, 分析が複雑になったり, お互いのガスの相関が容易に得られなかったりする問題がある. さらに, ECD 検出器は放射線源 ^{63}Ni を必要とするため, 野外に持ち出すことは難しい. したがって, 現状では複数のガスを現場で直接測定することはできていない.

一方で, 質量分析計を用いると, 全てのガスを一台の装置で検出することができると期待される. 大気中のガスを測定する場合, 一般的にガスクロマトグラフィーと質量分析を組み合わせた GC/MS (gas chromatography/mass spectrometry) が用いられる [12][13]. その理由として, 質量分析計のイオン源に同時にガスを導入した場合, 大量の N_2, O_2 の影響で微量の CO_2, N_2O, CH_4 のイオン化が抑制されてしまうこと, 低質量分解能の小型質量分析計を用いた場合, 整数質量が 44 である CO_2 と N_2O を同時に測定できないこと, 同様に 16 の CH_4 と O を同時に測定することができないことなどが挙げられる. 以上の理由から, ガスクロマトグラフィーで複数のガスを単一成分に分離して, 質量分析計に検出する必要がある. 一方, 高質量分解能の質量分析計を用いて CO_2, N_2O, CH_4 を質量で分離できる場合, GC で分離を完全に行う必要はない. その結果, 測定時間の短縮につながり, より高頻度な測定を行うことができると期待される. 当研究室で開発した MULTUM-S II は質量分解能を達成できるため, これらのガスを質量で分離することが可能である.

本論文では, 第 2 章では GC と GC/MS の説明, それらの短所を改善した GC-MULTUM について説明する. 第 3 章では測定で用いた MULTUM-S II ならびに開発したガスサンプリングシステムの概要について説明する. 第 4 章では MULTUM-S

II を用いて複数ガスの同時検出, GC-MULTUM によるガスの計測, 開発したシステムの性能評価を行った. 第 5 章では実際に土壌から発生するガスをリアルタイムで計測した結果を報告する. 第 6 章ではまとめと今後の課題を述べる.

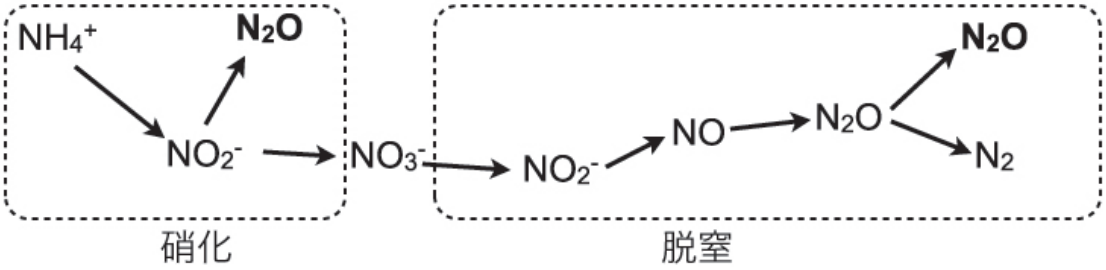

図 1.1: バクテリアによる N_2O 発生過程

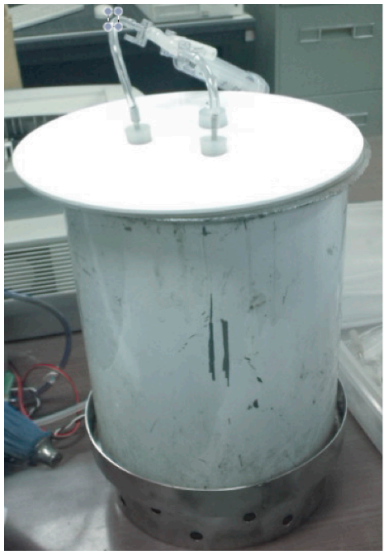

図 1.2: ガス捕集用チャンバーの写真

第2章　土壌から発生するガスの分析手法

本章では大気中に含まれるガスの測定に不可欠な装置構成, 分析手法, 得られる測定結果等について説明する.

2.1　ガスクロマトグラフィー (gas chromatography : GC)

クロマトグラフィーとは固定相と移動相からなる平衡の場で, 試料成分によって両相への相互作用に差があることを利用して, それぞれの成分を分離する方法である. クロマトグラフィーには多くの種類があり, ガスクロマトグラフィー, 液体クロマトグラフィー, イオン交換クロマトグラフィー等が挙げられ, 分析目的に応じて使い分けられている.

ガスクロマトグラフィーは気化されたサンプルをカラムに導入し, 分離する手法である. 装置 (ガスクロマトグラフ) は, 試料導入部とオーブン, カラム, 検出器, キャリアガス流量制御部から成り立っており, カラム内に導入されたガスはキャリアガスの流れによって検出器まで運ばれる. キャリアガスには主にヘリウム, 窒素, 水素などの化学的に不活性なものが用いられる. サンプルガスとカラム内の固定相との相互作用によって成分が分離され, キャリアガスと共に検出器に至る. その結果, 縦軸を信号強度, 横軸をカラムに試料が導入されてから検出器に到達されるまでの時間 (保持時間) としたクロマトグラム (TIC: total ion current) を得ることができ, クロマトグラムから得られたピーク面積を用いて成分の定量を行う. 図 2.1 に GC の基本構成, 図 2.2 に得られるクロマトグラムの概念図を示す.

本研究で測定対象としているガス種を測定する場合, 感度良く検出するために検出器の使い分けを行う必要がある. N_2O は電子捕獲検出器 (ECD: electron captured detector)[9], CH_4 は水素炎検出器 (FID: flame ionization detector)[11], N_2, O_2, CO_2 は熱伝導検出器 (TCD: thermal conductivity detector)[14] が一般的に用いられる. したがって, これらのガスを同時に測定するためには複雑なサンプリング系を構築する必要があった [15]. また ECD は放射線源を有するため, 本研究で目標としている野外での計測は困難である.

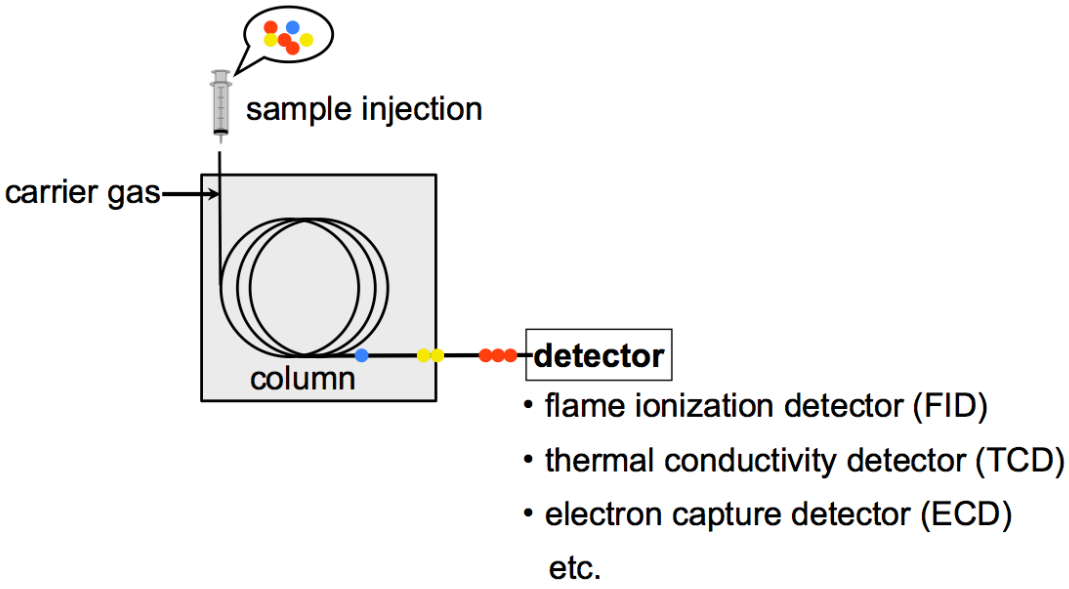

図 2.1: ガスクロマトグラフの基本構成

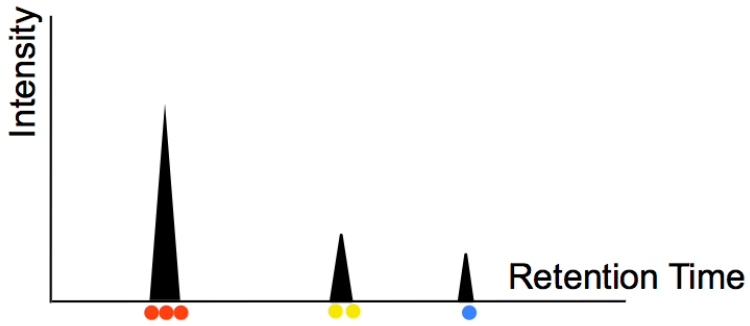

図 2.2: GC によって得られるクロマトグラムの概念図

2.2 gas chromatography/mass spectrometry: GC/MS

前節で述べたガス種に応じてガスクロマトグラフの検出器を使い分けるという問題点を改善するために, 検出器として質量分析計を用いた GC/MS が利用されている. 質量分析の利点として

- 複数のガスを測定できること
- 一度の測定に必要なサンプル量が少量で済むこと (μL $\sim$ mL)

が挙げられる. 特に後者はガスをチャンバーに貯める時間を短縮することが可能であり, 高頻度な測定に適していると言える. 現場での測定を想定した場合, 質量分析計の多くは四重極型, イオントラップ型などが用いられる. GC/MS で用いるカラムは一般的に Carbon-PLOT カラムである [12][13]. Carbon-PLOT カラムはカラム内壁に多孔質粒子が接着された厚膜がある. それぞれのガスはその多孔質粒子との相互作用によって異なる保持時間を持って溶出される. N_2, O_2, CH_4, CO_2, N_2O などのガスを測定した場合, PLOT カラムで極性の違いを利用して分離され, 質量分析計で検出される. GC/MS では一定の時間間隔でマススペクトルを測定し, コンピュータに記憶させた後で, 特定の m/z ごとのクロマトグラム (マスクロマトグラム) を得ることが可能である. 図 2.3 に GC/MS で N_2, O_2, CH_4, CO_2, N_2O を測定して得られるイメージ図を示す. 例えば, TIC 上では N_2, O_2 は重なっているが, m/z 28 と 32 を測定することによりそれぞれのマスクロマトグラムを得ることができる.

一方で GC の短所として, 複数のガスをクロマトグラム上で完全に分離するために 3~10 分と長い測定時間を要することが挙げられる. 本研究の目的である土壌から発生するガスをモニタリングする場合, 天候などの急激な変化に伴いガスの放出量が変化する可能性があるため, より短時間の測定が望まれる. 測定時間を短縮するには分析成分の保持時間 (t_R) を小さくすればよい. GC の理論に従えば, 保持時間 t_x は以下のようになる.

$$t_x = t_0(1 + k) \tag{2.1}$$

k は保持係数といい, 試料がカラムを通過する時間のうち, 固定相に存在した時間とキャリアガス中に存在する時間 t_0 の比である.

$$k = \frac{t_x - t_0}{t_0} \tag{2.2}$$

また, キャリアガスがカラム内を通過する時間 t_0 はキャリアガスの線速度 $\overline{u}$ とカラムの長さ L を用いて

$$t_0 = \frac{L}{\overline{u}} \tag{2.3}$$

と表すことができ, 式 (2.1) を書きかえると

$$t_x = \frac{L}{\overline{u}}(1+k) \tag{2.4}$$

と表すことができる. したがって, 式 (2.4) から t_x を小さくするためには L を小さくする (カラムの長さを短くする) か, $\overline{u}$ を大きくするか, もしくは保持係数 k を小さくする必要があることがわかる. 線速度を極端に速くすることはキャリアガスの流量を多くすることになり, イオン源へのキャリアガスの流入量が増えて, イオン源の真空度が悪くなるため好ましくない. また保持係数はカラムの昇温を行うことで小さくなるが, 本研究ではオンサイトでの簡便な測定を目指しており GC のオーブンは用いない系を構築したい.

次に, 保持時間を短縮することによるピークの分離度の変化について考える. ピークの分離度は図 2.5 に示す通り, 2 つのピークの保持時間の差 $t_2 - t_1$ とそれぞれのピーク幅 w_1, w_2 を用いて式 (2.5) で定義される.

$$R = \frac{2(t_2 - t_1)}{w_1 + w_2} \tag{2.5}$$

L を短くすることによって, 保持時間 t とピーク幅 w はそれぞれ小さくなる. L を短くすることにより式 (2.5) で定義された分離度が悪くなり, ピークが重なってしまう可能性がある. 例えば, CO_2, N_2O と O (O_2 のイオン化の際に生成されるフラグメントイオン O^+), CH_4 のピークが重なってしまう (図 2.4). CO_2 と N_2O の整数質量は 44, O と CH_4 は 16 であり, これらを低質量分解能しか得られない質量分析計では質量で分離することができない. 分離に必要な質量分解能は CO_2, N_2O が 8000, O と CH_4 が 2000 であり, もし仮に CO_2, N_2O とを質量で分離することが可能であるならば, 測定時間の短縮化につながる. 図 2.6 に m/z 15.990 と 16.040, 43.990 と 44.000 のピークを中心に $\pm$ 0.01 u の範囲でマスクロマトグラムの模式図を作成したものを示す. これにより, O, CH_4, CO_2, N_2O のマスクロマトグラムを別々に得ることが可能である.

現場で測定することを想定した小型質量分析計は一般的に質量分解能が数百程度であり, これらのガスを質量で分離することができない. したがって, この問題を解決す

るために小型であり, 高質量分解能の質量分析計が必要とされる. そのような小型でありながら高質量分解能である質量分析計として, 当研究室で開発された MULTUM-S II が挙げられる. MULTUM-S II と GC を組み合わせた応用例として, 環境分野での研究が行われており, ポリ塩化ビフェニル類 (PCB) を高感度かつ短時間に検出可能であることが報告されている [16]. 本研究では, PLOT カラムの長さを短くし, MULTUM-S II の高質量分解能を活かした複数ガスの短時間計測を試みた.

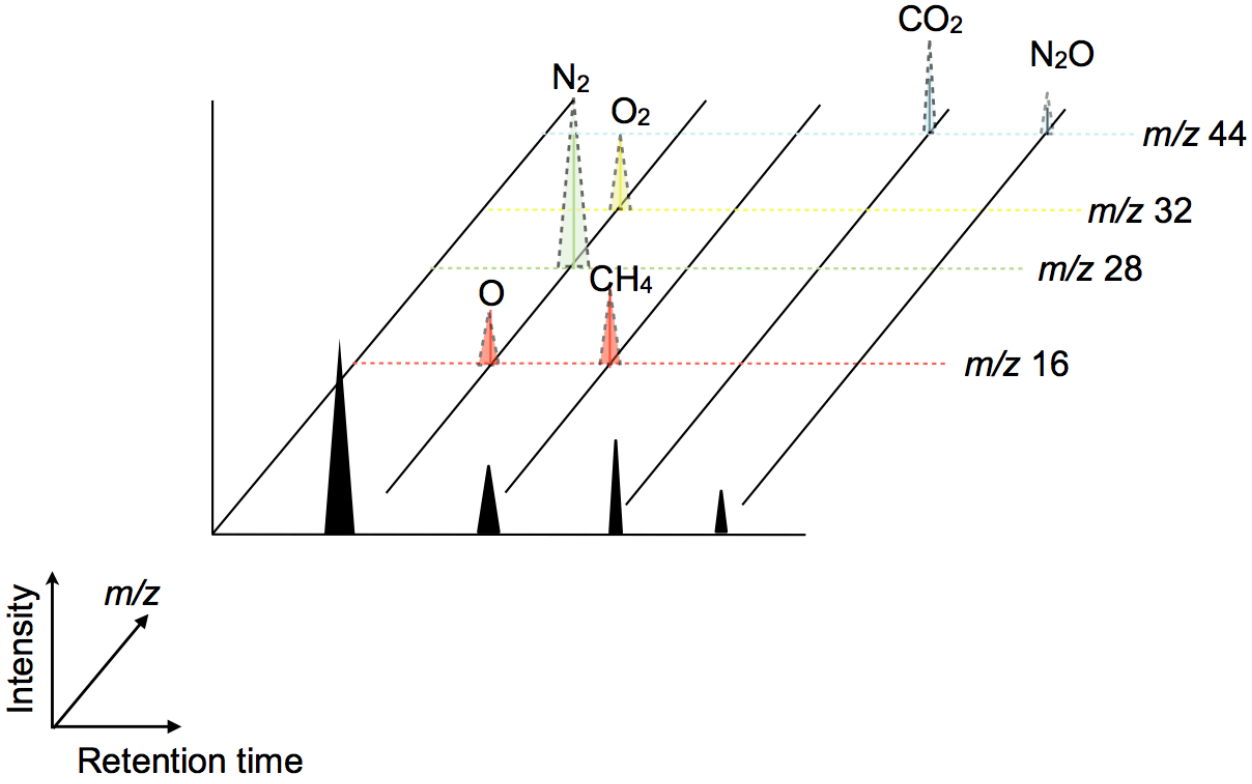

図 2.3: GC/MS によって得られるデータのイメージ図

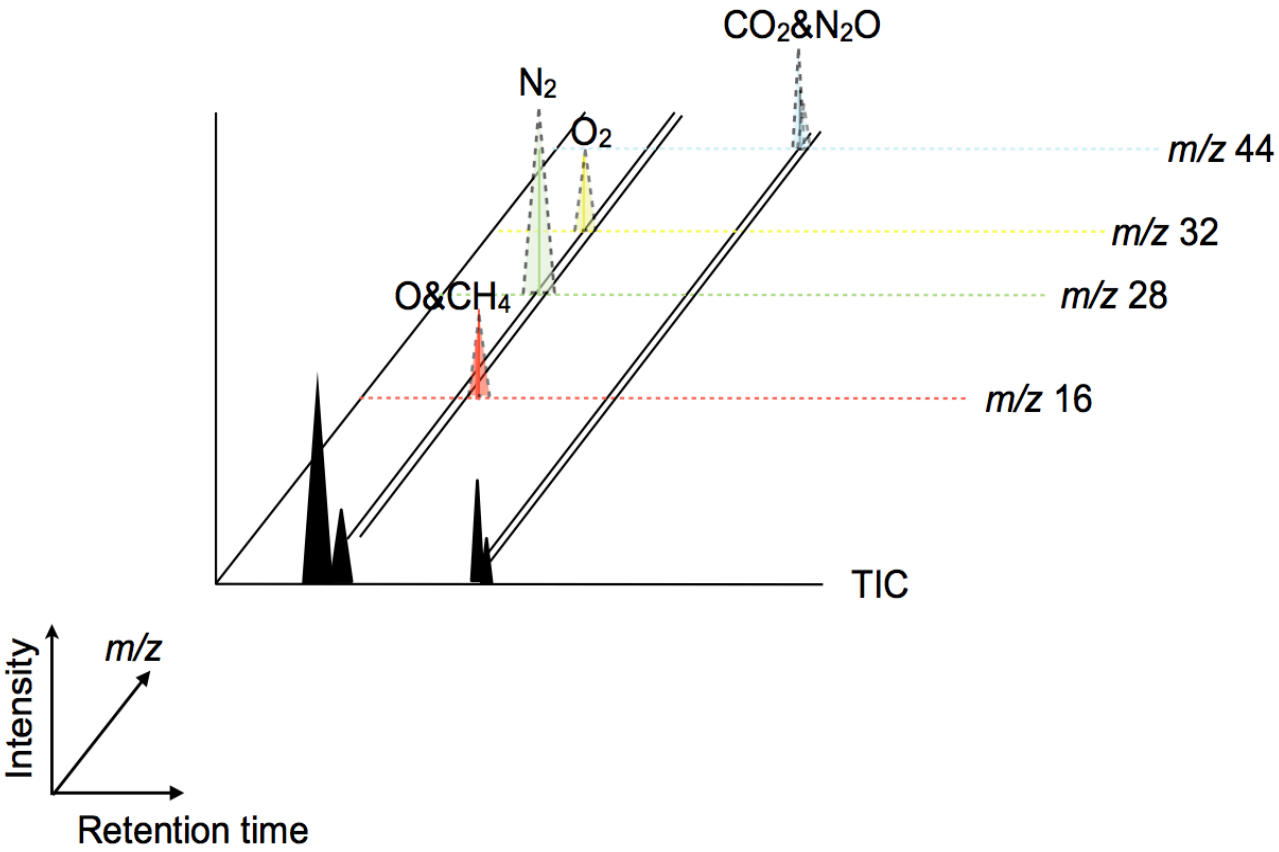

図 2.4: カラムを短くした場合の GC/MS で得られるデータのイメージ図

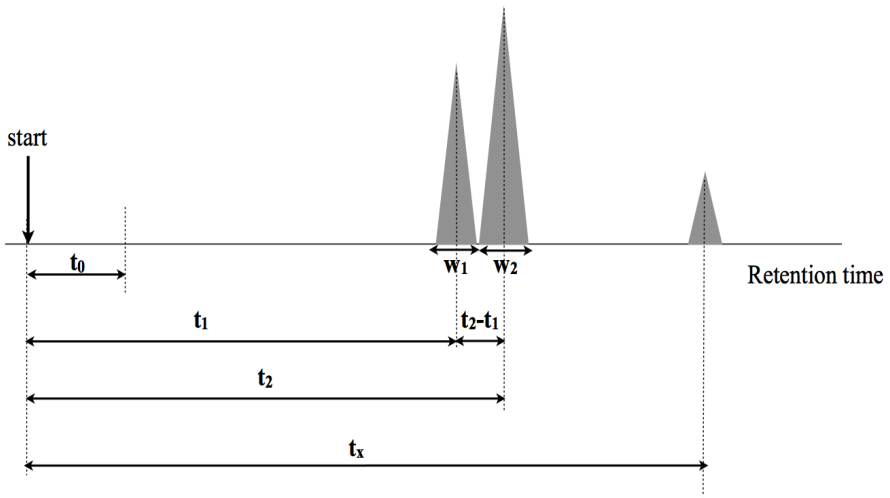

図 2.5: クロマトグラムと半値幅, 保持時間のイメージ図

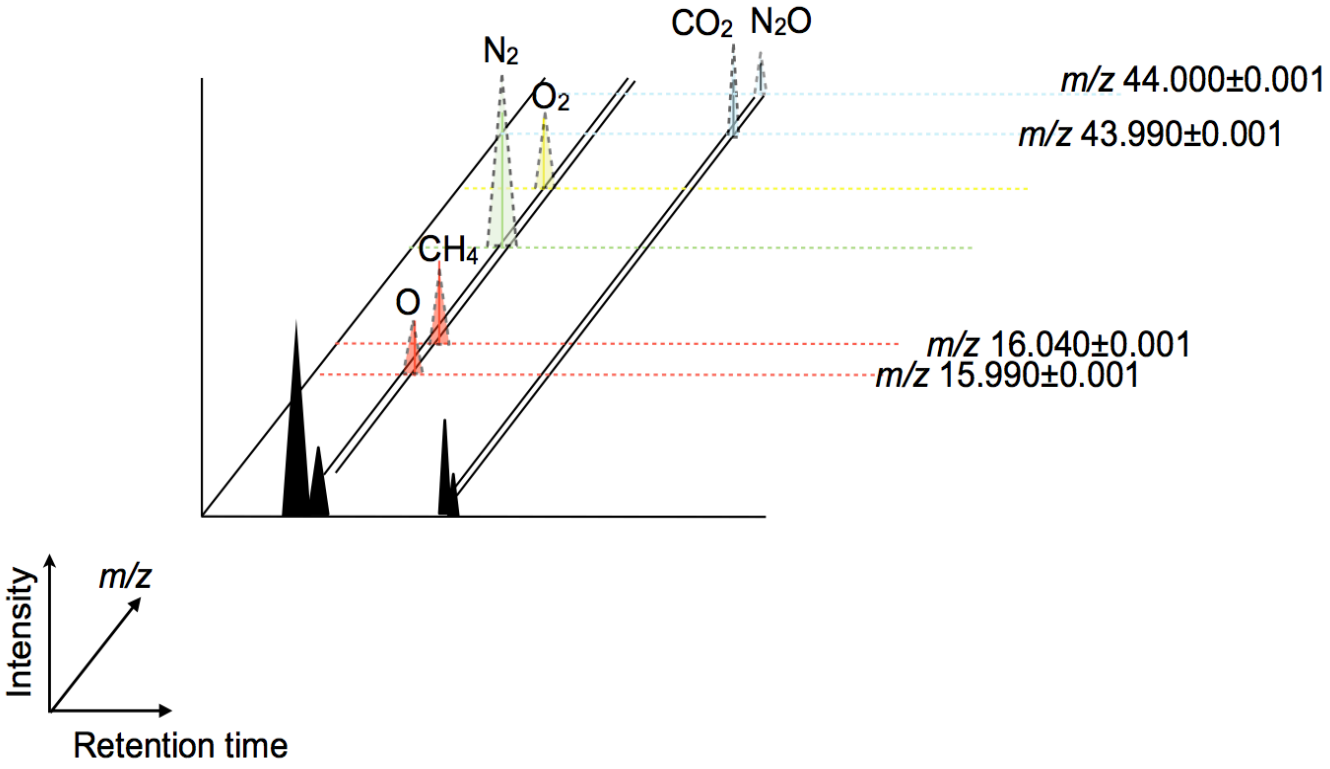

図 2.6: カラムを短くして高質量分解能を用いた GC/MS のイメージ図

第3章　実験装置

当研究室では, Poschenrieder によって提案されたマルチターン飛行時間型質量分析計 [17] のアイデアに着目し, マルチターン飛行時間型質量分析計の開発を行ってきた. 1 号機として, 彗星探査ロゼッタミッションのラボラトリーモデルとして製作された「MULTUM Linear plus」では, 飛行時間型の世界最高となる分解能 350000 を達成した [18]. その結果をもとに, 探査機への搭載のためにイオン光学系の簡略化を図った 2 号機の「MULTUM Ⅱ」が開発された [19]. 「MULTUM Ⅱ」では, マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI) と組み合わせることによって生体高分子の測定でも有用であることも示した [20]. その後,「MULTUM Ⅱ」のイオン光学系を 1/2 に縮小した「MULTUM-S」が製作され, 質量分解能 5000 以上を得ることができることを示した [21]. その後, イオン光学系の改良と加工, 組み立て精度を向上させた「MULTUM-S Ⅱ 」が開発された [1]. 本章では MULTUM-S II の概要ならびにガスサンプリングシステムについて説明する.

3.1　MULTUM-S II

MULTUM-S Ⅱ は電子イオン化 (EI: electron ionization) イオン源を有するマルチターン飛行時間型質量分析計である. 排気系, 質量分離部, 検出器, 検出器からの信号を読み出すデジタイザー, 電源全てを含めたサイズが 50 cm × 58 cm × 27 cm で, 重量は 35 kg と, 持ち運び可能なサイズであるにも関わらず, 30000 以上の高質量分解能を達成できる. 図 3.1 は MULTUM-S Ⅱ の全体写真で, 図 3.2 は MULTUM-S Ⅱ の周回部の内部写真である.

図 3.1: 装置全体の写真

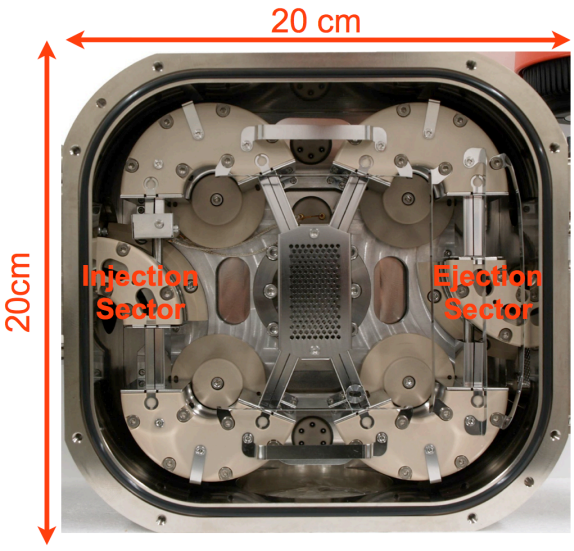

図 3.2: MULTUM-S II

3.1.1 飛行時間型質量分析計

飛行時間型質量分析計の原理について述べる. 図 3.3 のように, イオン源でイオン化された質量 m, 価数 z のイオンは, パルス電圧 V で加速され, 距離 L の空間を飛行する. 検出器に到達するまでの飛行時間 t は

$$t = L\sqrt{\frac{m}{2zeV}} \tag{3.1}$$

と表すことができる. e は素電荷である. (3.1) 式より t は質量電荷比 m/z に依存していることがわかる. したがって飛行時間の違いを利用して質量電荷比を求めることができる.

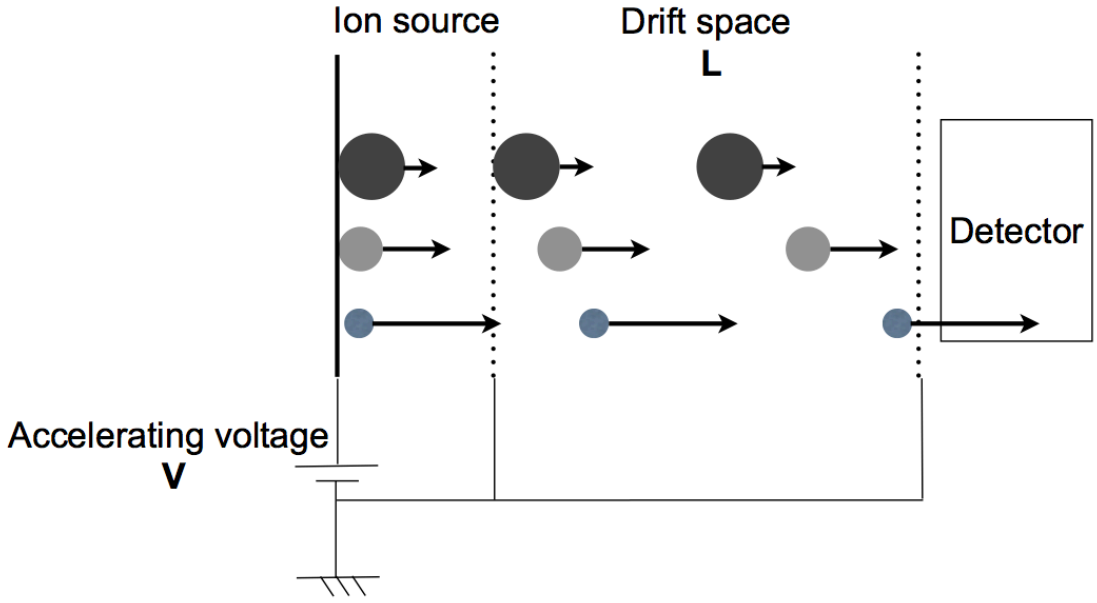

図 3.3: 飛行時間型質量分析計の模式図

質量分解能 R は飛行時間型の場合, 以下の様に定義される.

$$R = \frac{m}{\Delta m} = \frac{t}{2\Delta t} \tag{3.2}$$

ここで t は飛行時間であり, Δt は飛行時間スペクトルのピーク半値幅をとる. 質量分解能とはどれだけ近い質量のイオンを分けることができるかを示しており, 例えば質量分解能が 100 ならば m/z が 100 と 101 のピークを分けることができる. R を大きくするためには同じ m/z のイオンの飛行時間のずれ Δt を小さくするか, 飛行時間 t を大きくしなければならない. Δt を小さくする方法として, 静電界イオンミラー [23] や扇形電場 [17] を用いたエネルギー収束方法などが開発されている. これによりパルス幅は数 ns 以内に収まっている. しかし現在の回路技術, 検出器の応答時間の問題でそれ以上小さくすることはできない. 一方, t を大きくするには式 (2) より飛行距離 L を長くするか, 電圧 V を小さくすれば良い. しかし, L を長くすると, 装置を大きくしなければならない. 一方, V を小さくすると検出感度の低下につながる. よって, 飛行距離 L を長くする必要がある. この問題を解決し, 質量分解能を高めた装置が小型マルチターン飛行時間型質量分析計 MULTUM である.

3.1.2 EI イオン源

電子イオン化法 (EI: electronic ionization) の原理について説明する. 電子イオン化法 ではフィラメントから飛び出す熱電子を加速させ, 気体試料に衝突させてイオン化する. 測定対象はガスもしくは揮発性物質など, 気体として導入できるものに限られる. 数十 eV 程度の運動エネルギーを持つ電子が中性の気体分子に衝突すると, 電子が持つ運動エネルギーの一部を気体分子に受け渡す. その結果, 気体分子は自らの電子を放出し, 正の分子イオンとなる.

図 3.4 にイオン源の模式図を示す. イオン化されたイオンは初期位置のばらつきにより飛行時間の差が生じる. そこで, 本装置のイオン源は飛行時間の広がりを抑えるために Wiley-McLaren タイプの二段加速型イオン源を採用している [22]. 以下, 二段加速法の原理を説明する. イオン化領域から二段目領域までの飛行時間 t_1 は, 一段目の電極に印加する電圧を V_{push}, 二段目の電極に印加する電圧を V_{float}, イオンの初期位置を s, 質量を m, 電荷を q とすると,

$$t_1 = \sqrt{\frac{2md_1}{qV_{push}}}s \tag{3.3}$$

と表すことができる. d_1 と d_2 は図 3.4 中に示した電極間の距離である.
同様に, 二段目の領域での飛行時間 t_2 は

$$t_2 = \sqrt{\frac{2m}{q}}\frac{d_2}{V_{float}}(\sqrt{\frac{V_{push}}{d_1}s + V_{float}} - \sqrt{\frac{V_{push}}{d_1}}s) \tag{3.4}$$

と表すことができる.

自由空間での飛行時間 t_3 は

$$t_3 = L\sqrt{\frac{m}{2q}}\frac{1}{\sqrt{\frac{V_{push}}{d_1}s + V_{float}}} \tag{3.5}$$

と表すことができる. したがってイオンの全飛行時間 $t(s)$ は (3.2), (3,3), (3,4) 式より

$$t(s) = t_1 + t_2 + t_3 \tag{3.6}$$

ここで基準となる粒子の初期位置を s_0 として, $t(s)$ を $s = s_0$ の周りで級数展開し, 一

次近似部分を 0 とおく.

この条件となる収束距離 L は

$$L = 2d_1(\sqrt{\frac{d_1}{s_0}} - \frac{d_2}{\sqrt{s_0 d_1}}\frac{V_{push}}{V_{float}} + \frac{d_2}{d_1}\frac{1}{\frac{V_{float}}{V_{push}}\sqrt{\frac{s_0}{d_1} + \frac{V_{float}}{V_{push}}}})(\frac{s_0}{d_1} + \frac{V_{float}}{V_{push}})^{\frac{3}{2}} \tag{3.7}$$

となる. 空間収束する距離 L は装置固有の値であるため, 式 (3.7) より V_{push} と V_{float} の比を変化させることで飛行時間が収束するように調節する.

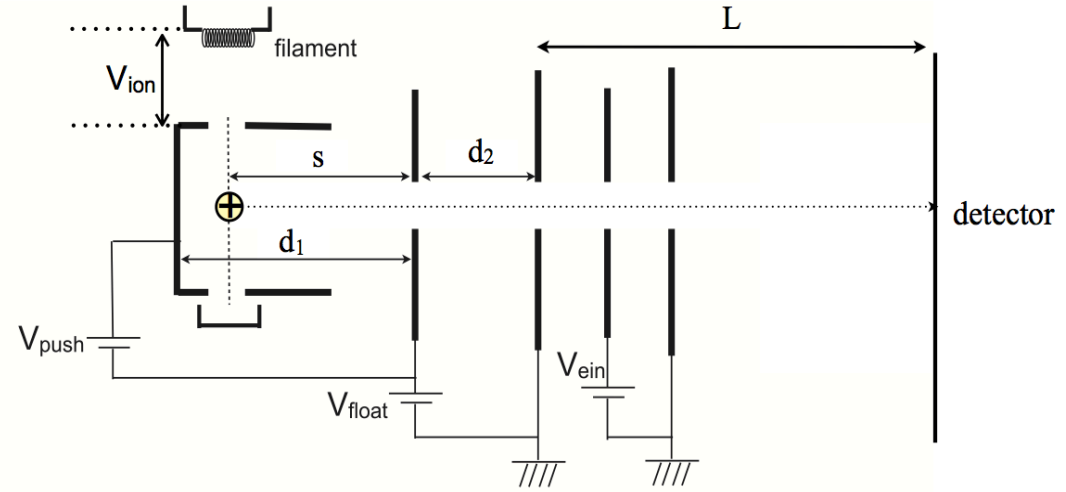

図 3.4: イオン源の模式図

3.1.3　マルチターン飛行時間型質量分析計

マルチターン飛行時間型質量分析計は, 同一軌道を複数回周回させることにより飛行距離を稼ぎ, 装置を大きくすることなく高分解能を達成できる装置である. 周回部の収差が大きい場合, 同一軌道を周回させていくにつれてイオンの空間と時間の広がりが大きくなってしまうが, MULTUM は完全時間, 空間収束を満たしたイオン光学系であるため [24], 多重周回させることによるイオン透過率の低下, 質量分解能の低下を抑えることができる. MULTUM-S Ⅱ は図 3.5 に示す 4 つの扇形電極, 入射・出射用の扇形電極が組み合わされている. MULTUM-S II では, 図 3.6 に示す半周回モードと周回モードの測定が可能となっている. 半周モードは MULTUM-S II に入射されたイオンを最短距離で出射させて検出し, 低分解能であるが高感度測定が可能である. 周回モードは MULTUM-S II の軌道を希望した回数だけ周回させることができるモードで, 半周モードと比べると透過率は低下するが, 高分解能測定が可能である.

イオン源でイオン化されたイオンは入射用扇形電極 (injection sector) を通り, 周回部へと入る. 半周モードでは出射用電極 (ejection sector) は常に電圧が印加されている. 周回モードでは ejection sector には電圧が印加されておらず, さらにイオンが周回し戻ってくるまでに injection sector をアース電位に落とす. 希望の周回数だけイオンを周回させた後で ejection sector に電圧を印加する. injection と ejection の電極に電圧を印加するタイミングを制御することで, 周回数を制御する. 図 3.7 にタイミングチャートを示す. 測定の繰り返しは 1 kHz である. 検出器 (14880, ETP Electron Multipliers, Ermington, Australia) からのシグナルはデジタイザー (D-Flex, MSITOKYO Inc., Tokyo, Japan) で取得する. デジタイザーのサンプリングレートは 2 GHzS で, デジタイザー上で 100 回加算した.

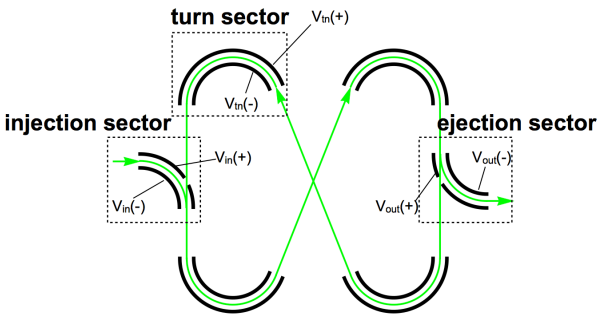

図 3.5: MULTUM-S II の模式図

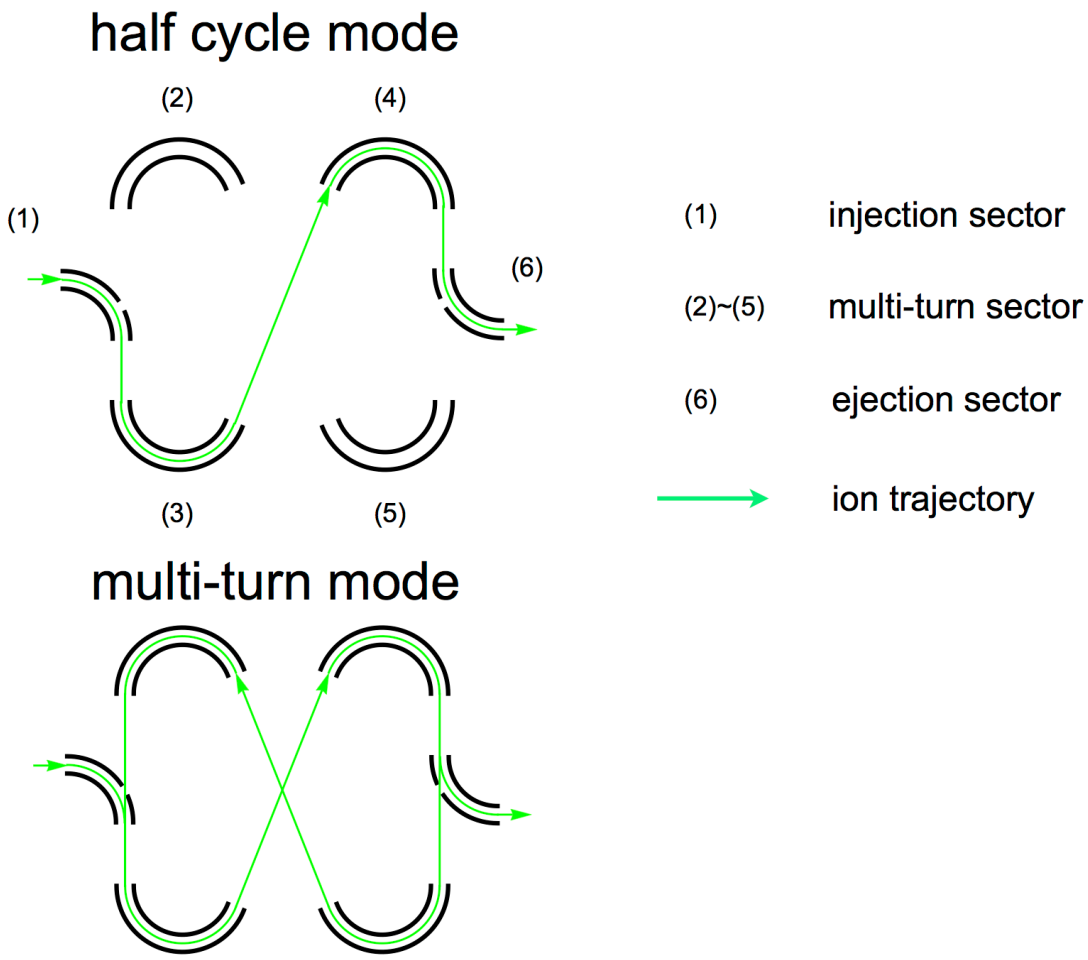

図 3.6: MULTUM-S II の測定モード

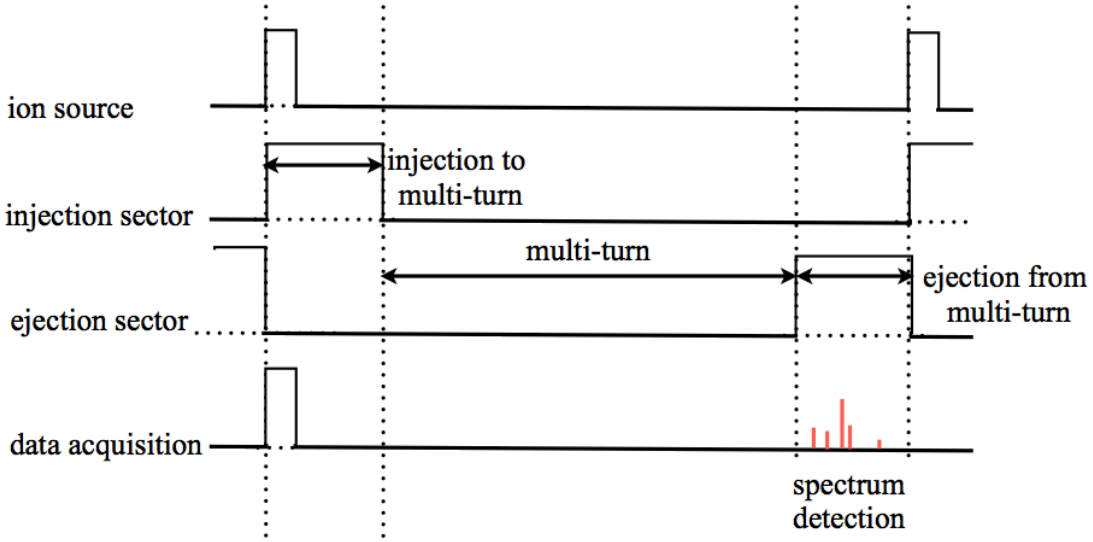

図 3.7: MULTUM-S II のタイミングチャート

3.2 ガスサンプリングシステム

次に MULTUM-S II のイオン源に一定量の試料ガスを間欠的に導入するガスサンプリングシステムを開発した. 図 3.8 にガスサンプリングシステムの概略図, 図 3.9 に写真を示す. 本システムは, 6 方弁 (AU-CF-6, GL Sciences Inc., Tokyo, Japan), 電磁弁 (USB 3-6-1, CKD Corporation, Aichi, Japan), マスフローコントローラー (SEC-E40, HORIBA STEC, Kyoto, Japan), 250 μL のサンプルループ (径: 1/16 インチ), ダイアフラムポンプ (N84.3ANDC, KNF Neuberger Inc., Trenton, NJ), PLOT カラム (GS-CARBONPLOT, 10 m $\times$ 0.32 mm i.d.; film thickness 3.00 μm, Agilent Technologies, Inc., CA, USA) から構成されている. 市販されているオートサンプラー [25] と同様の装置構成であるが, 本システムでは 1 回の測定に使用するガス量を最小限に抑えるように以下のような工夫を行った. 一般的なオートサンプラーではポンプで吸引してガスサンプルをサンプルループ内へと導入するが, この際にガスを大量に消費してしまうことや, 培養器や捕集チャンバー内が減圧され, 土壌から余分なガスが放出されてしまうことなど問題となる. 高頻度な測定を行う場合, 土壌からのガス発生量がわずかである可能性を考慮して, 試料ガスの消費量を最小限にする必要がある. そこで, ポンプで排気しながらガスを導入せず, 一度サンプルループ内をポンプで減圧させた後でサンプルを導入する手法を採用した. この手法の場合, 一度当たりのサンプル消費量は. サンプルループと接続された管を含めて 2 mL 程度である. ただし, 減圧を行うことによって 6 方弁の切り替え時に大量の大気が混入してしまうため, その影響を防ぐためにサンプルを導入した後で高純度 He を用いて加圧している.

次に詳細な制御方法について説明する. 弁とポンプの ON/OFF 制御は Digital I/O(USB-6501, National Instruments, TX, USA) で行った. 制御プログラムは LabVIEW(LabVIEW 2010, version 10.0f2 (32-bit)) を用いて作成した. 制御のタイミングチャートを図 3.10, LabVIEW のブロックダイアグラムとフロントパネルを図 3.11, 3.12 に示す. 測定を行う場合, 電磁弁 B を開けてサンプリング管内の残留ガスをダイアフラムポンプで排気する. 続いて電磁弁 B を閉じ, 電磁弁 A を開ける. この際にサンプルループへと 250 μL のガスが導入される. その後電磁弁 C を開けるとともに高純度 He(99.9995 %, Neriki Valve Co., Ltd, Hyogo, Japan) で加圧 (1.02×10^5 Pa) を行い, 減圧に伴う大気の混入を防ぐ. 最後に 6 方弁の流路を変えることによって, Carbon-PLOT カラムへとサンプリングしたガスを流す. 超高純度 He(99.99995 %, Neriki Valve Co., Ltd, Hyogo, Japan) をキャリアガスとして用い, 流量はマスフロー

コントローラーで 7.0 cc/min に設定した. カラムで分離を行った後, MULTUM-S II で測定を行う. これら一連の動作の繰り返しを行うことで連続測定を行った.

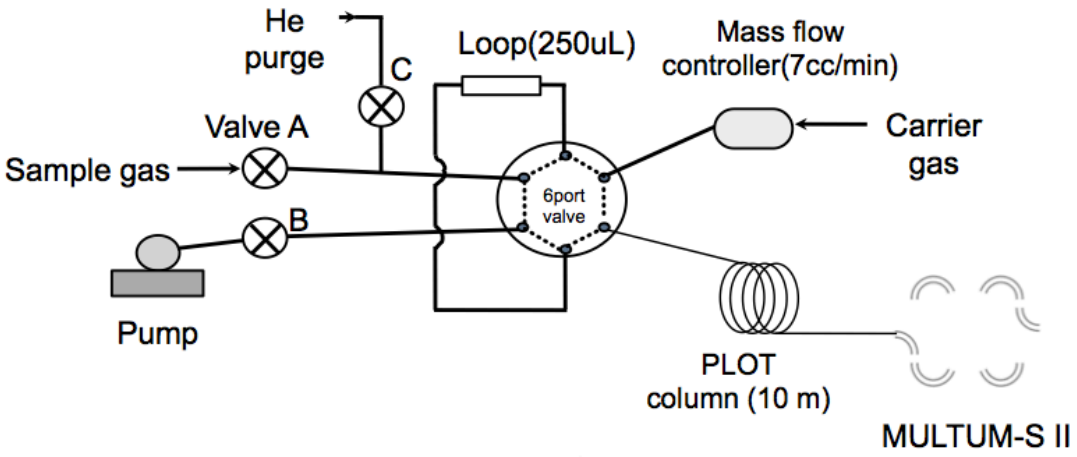

図 3.8: ガスオートサンプラーの概略図

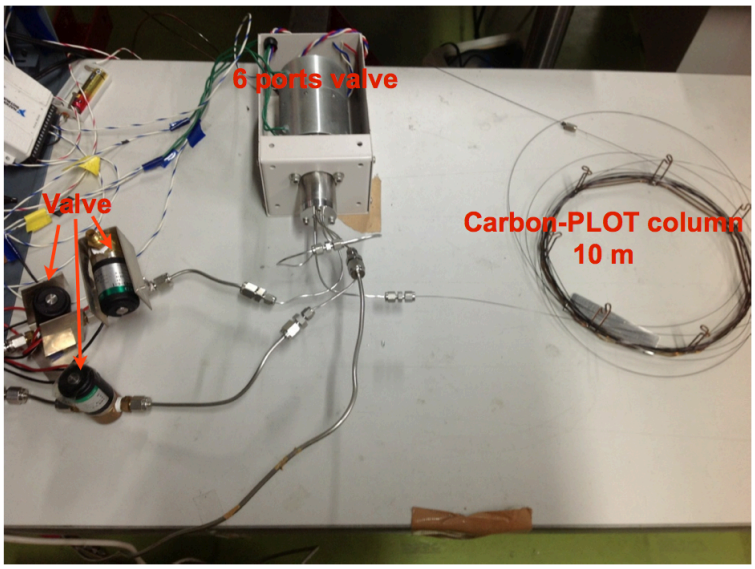

図 3.9: ガスオートサンプラーの写真

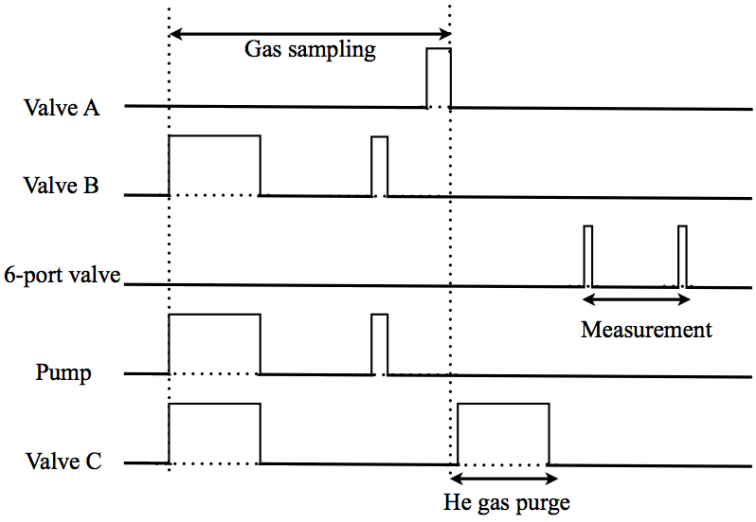

図 3.10: ガスオートサンプラーの ON/OFF タイミングチャート

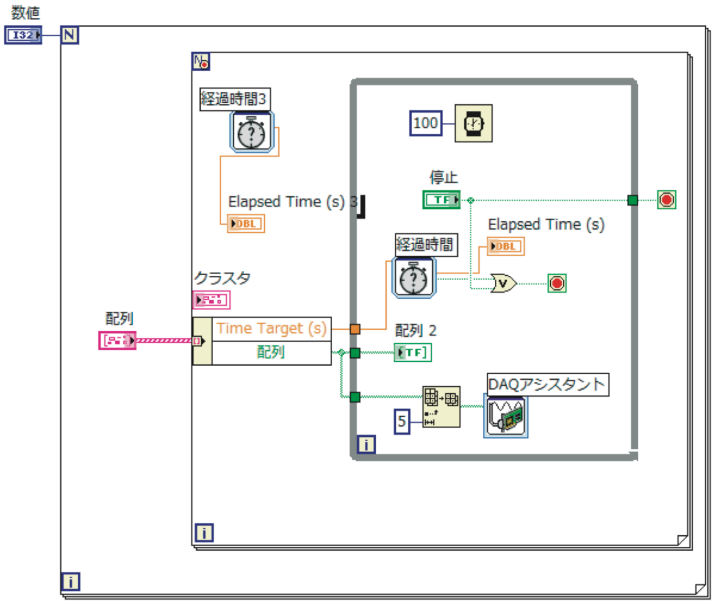

図 3.11: LabVIEW のブロックダイアグラム

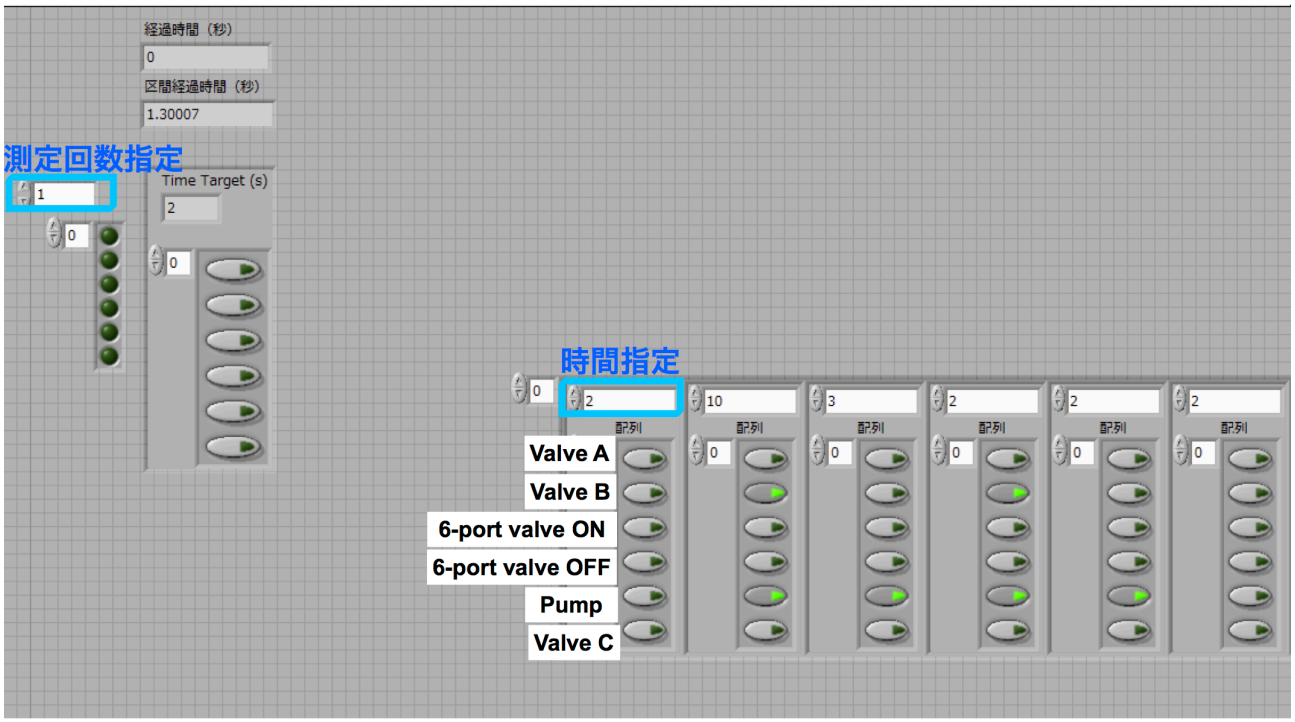

図 3.12: LabVIEW のフロントパネル

第4章　開発したモニタリングシステムを用いたガスの測定

4.1　CO_2, N_2O, CH_4 の質量分離

表 4.1 に示す複数のガスを MULTUM-S II の高質量分解能を利用して検出することを試みた. 試料ガス (CO_2:N_2O = 49.6 %: 50.6 %, DAIHO SANGYO Inc., Tokyo, Japan) はニードルバルブ (SS-OGS2, Swagelok Co., OH, USA) を介してイオン源に導入した. 図 4.1 に周回数を変えることによって得られた CO_2, N_2O, CH_4, O のマススペクトルを示す. 特に, CO_2 と N_2O はそれぞれ整数質量が 44 であり, 分離するために必要とされる分解能は 8000 である. 同様に CH_4, O を分離するためには 2000 必要である. 図 4.1 は, CO_2 と N_2O の混合ガスを (A) は 2 周, (B) は 50 周回させたマススペクトル, (C) は CH_4 と O を 10 周回させたマススペクトルである. 2 周回後 (A) で得られた質量分解能は 400 程度であるためこれらのダブレットを分離することができていない. 50 周回後 (B) には, 質量分解能 15000 が得られ, CO_2 と N_2O のピークは完全に分離されている. 同様に 10 周回後 (C) には, 質量分解能 2000 が得られ, O と CH_4 のピークは完全に分離されている. MULTUM-S II を用いることで, 2 章で述べたように, GC のカラムを短くすることによって保持時間が重なって溶出する整数質量が同じガスを質量で分離することが可能である.

分子式	精密質量
CO_2	44.0095
N_2O	44.0128
O	15.9994
CH_4	16.0425

表 4.1: ガス種の精密質量 (NIST2002 より引用)

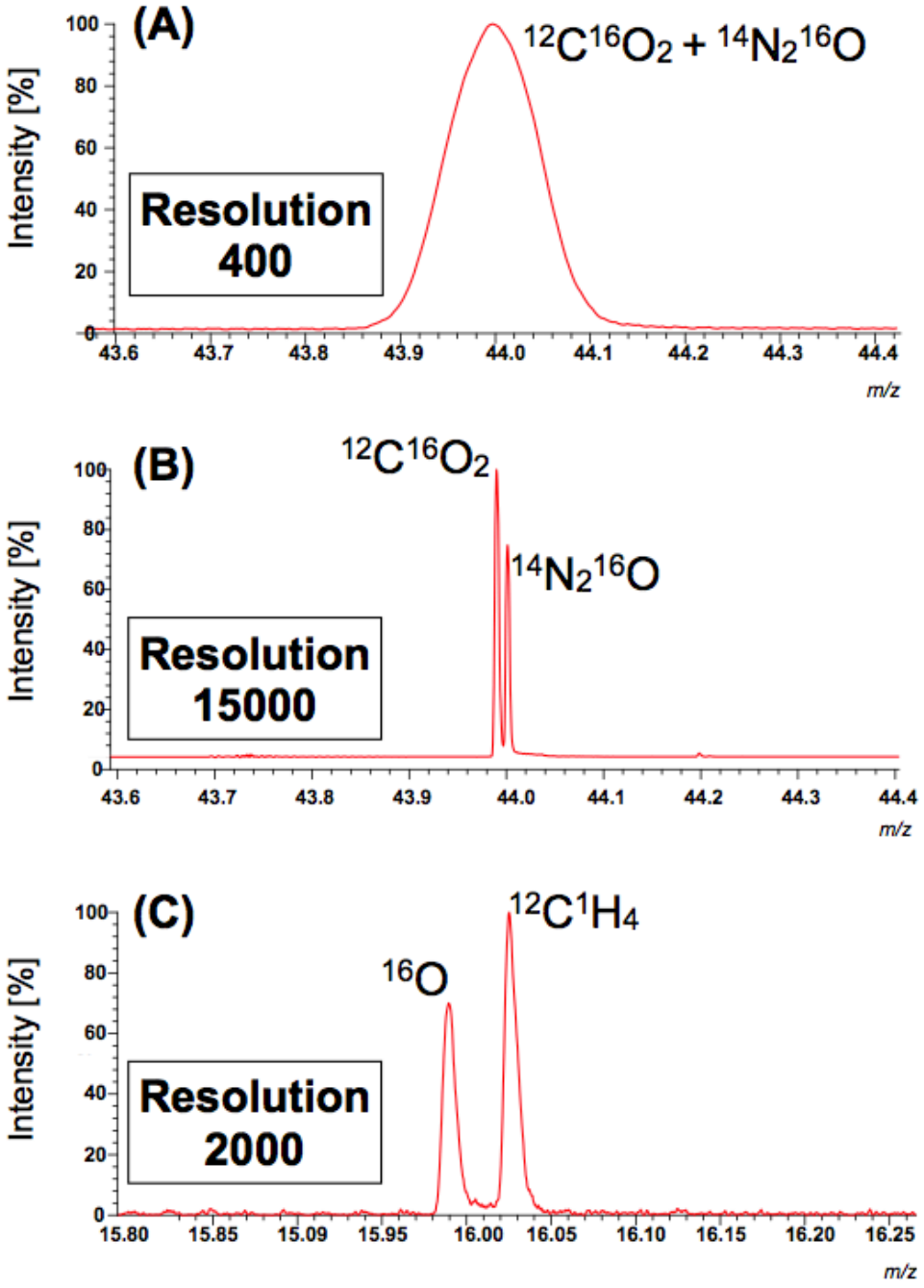

図 4.1: CO_2 と N_2O を 2 周回, 50 周回させた時のマススペクトル (A)(B), O と CH_4 を 10 周回させた時のマススペクトル (C)

4.2 最適イオン化電圧の検証

イオン化エネルギーは中性分子をイオン化する際に必要な最小エネルギーであり, 表 4.2 に示す通り, 大気中の気体原子, 分子のイオン化エネルギーは 10∼25 eV 程度である [27]. 市販の GC-MS では電子エネルギーを 70 eV に設定して測定されることが多いが, キャリアガスとして用いられる He のイオン化エネルギーとの兼ね合いでイオン化電圧を変えて測定することもある. MULTUM-S II ではイオン化電圧を 70 V よりも低い値に設定し, 高感度測定を行ったという報告がある [16]. 本研究でもイオン化電圧の値を変化させることによってピーク強度の最適値を探した. 測定に使用する試料はガスオートサンプラーを用いて MULTUM-S II へと導入し, 得られたクロマトグラムのピーク面積とイオン化電圧の関係をプロットした. 試料ガスとして大気 N_2 (78 %), O_2 (21 %), CO_2 (380 ppm), N_2O は濃度 30 ppm の標準ガス (N_2 ベース, DAIHO SANGYO Inc., Tokyo, Japan) を選択した. 図 4.2 に N_2 と O_2, 4.3 に CO_2 と N_2O を測定した結果を示す. イオン化電圧は 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 23, 24, 25, 30, 60, 70 V と変化させた. 縦軸はピーク面積の最大値を 1 として比を取った. N_2 と O_2, CO_2 のピーク面積は 70 V で最大となった. N_2O のピーク面積は 60 V で最大となった. 特徴的な点として, 図 4.2 と 4.3 でピーク強度の変化が異なることが挙げられる. MULTUM-S II のイオン源は一般的な装置のイオン源よりも小さいため, キャリアガスとして使用している大量の He のイオンによってイオン源内が飽和してしまい, 微量ガス (CO_2, N_2O) のイオン化が阻害されてしまうからであると考えられる. したがって, He のイオン化エネルギーより小さい 23 V に設定すると He がイオン化しないため, イオン化の抑制が起こらず, イオン強度が増えた. ただしこの測定結果は再現性を得ることができていない. 例えばイオン源のフィラメントの取り付け精度により最適なイオン化電圧は変化してしまう. また, カラムのイオン化室までの長さ, キャリアガスのイオン化室への流入量なども影響を及ぼすと考えられる. したがって, 測定を行う毎に最適なイオン化電圧を選択する必要がある.

ガス種	イオン化エネルギー [eV]
He	24.6
Ar	15.8
N_2	15.6
H_2	15.4
CO_2	13.8
CH_4	12.6
O_2	12.1

表 4.2: イオン化エネルギー [27] より引用

	N_2, O_2	CO_2, N_2O
フィラメント電流	3.6 A	4.2 A
検出器電圧	2700 V	3000 V
V_{push}	1713 V	1713 V
V_{float}	1695 V	1695 V
質量範囲	21.6∼31.4	43.58∼44.42
積算数	100 回	100 回
周回数	2	50

表 4.3: MULTUM-S II のパラメータ

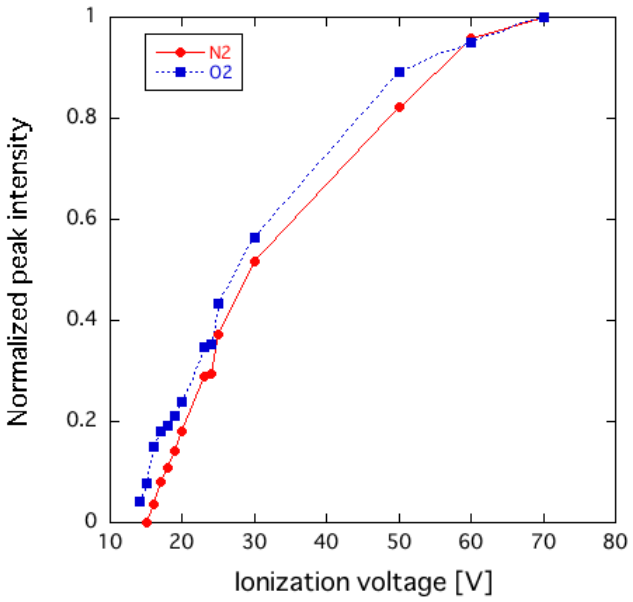

図 4.2: イオン化電圧に対する N_2, O_2 の強度変化

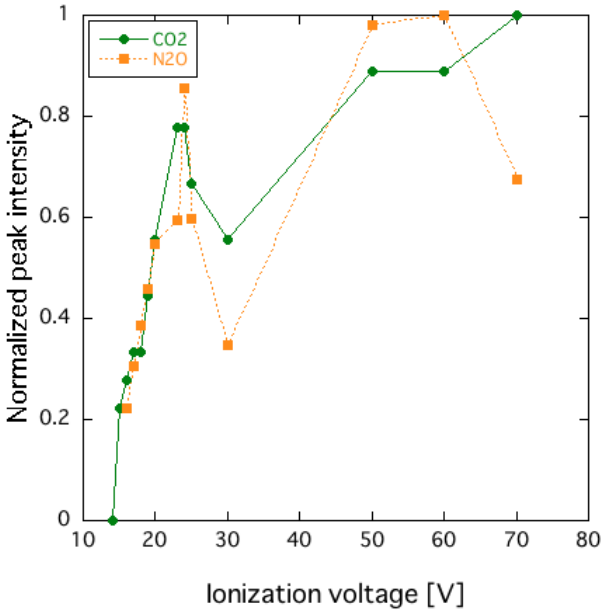

図 4.3: イオン化電圧に対する CO_2, N_2O の強度変化

4.3 GC-MULTUM

4.3.1 低分解能での CO_2, N_2O の測定

ガスクロマトグラフ (Agilent 6890N GC) と MULTUM-S II を組み合わせて CH_4, CO_2, N_2O の混合ガスの測定を行った. 使用した PLOT カラムの長さは 30 m とし, 試料ガスの導入はガスタイトシリンジ (HAMILTON,Gastight Syringes 1001, 1mL) を用いた. 測定条件は表 4.4, 4.5 の通りとし, 測定によって得られた TIC を図 4.4, マススペクトルを図 4.5 に示す. 図 4.5 のマススペクトルは図 4.4 のスキャン番号の 100 から 800 で得られるマススペクトルを平均して表したものである.

表 4.5 に示す電圧印加する電極の名称は図 3.4, 図 3.5 の定義の通りである. また $V_{matsuda}$ とはマツダプレート [26] に印加する電圧のことである.

サンプル量	25 μL
キャリアガス流量	2.5 cc/min
カラムの長さ	30 m

表 4.4: GC のパラメータ

イオン化電圧	60 V
フィラメント電流	3.6 A
$V_{in}(+)$	1230 V
V_{in}(-)	-988 V
$V_{tn}(+)$	1230 V
V_{tn}(-)	-988 V
$V_{out}(+)$	1000 V
V_{out}(-)	-1000 V
$V_{Matsuda}$	730 V
V_{Einzel}	2269 V
検出器電圧	2500 V
V_{push}	1446 V
V_{float}	2550 V
質量範囲	20∼50
積算数	100 回
周回数	半周

表 4.5: MULTUM-S II のパラメータ

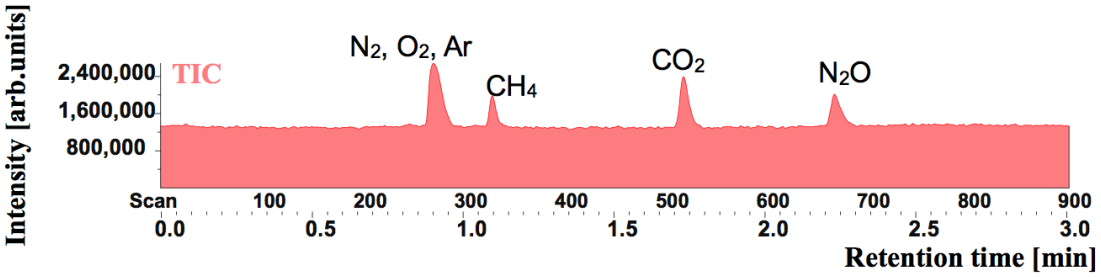

図 4.4: 30 m のカラムを使用して得られた TIC

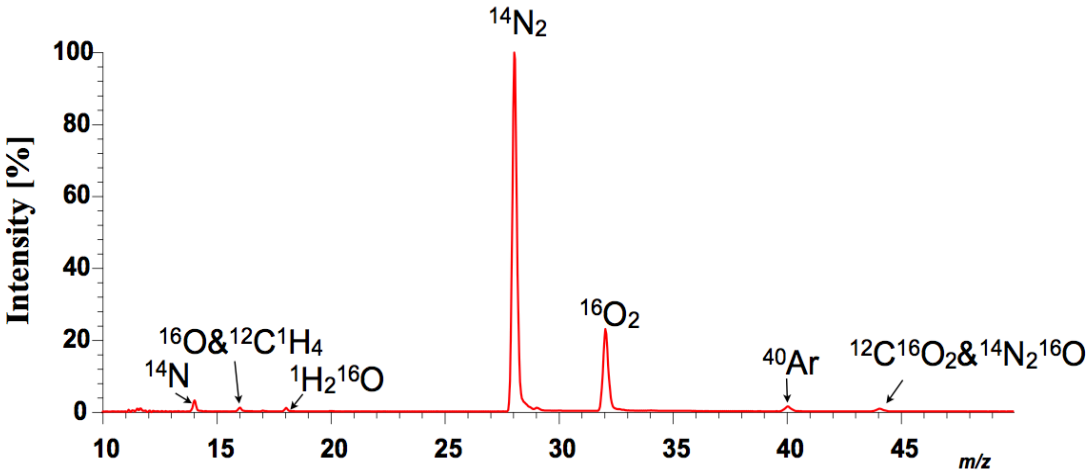

図 4.5: TIC を平均して得られたマススペクトル

図 4.4 に示すように, 大気主成分 (N_2, O_2), CH_4, CO_2, N_2O が TIC 上で分離されており, これらの測定に 3 分を要した. 図 4.5 のマススペクトルの m/z 28.0 と 44.1 のピークを中心にそれぞれ± 0.1 u の範囲で抽出したマスクロマトグラムを, 図 4.6 に表示した.

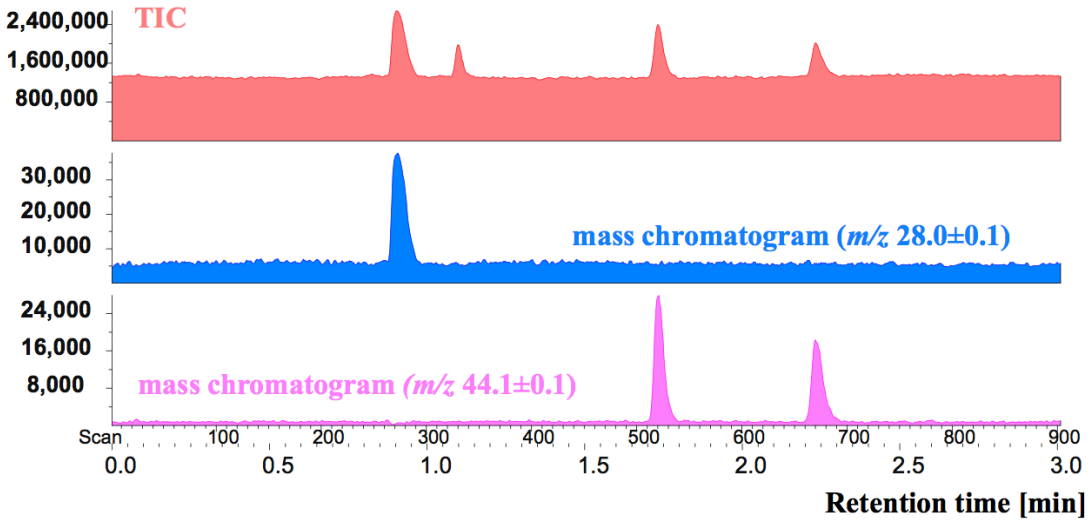

図 4.6: TIC と m/z 28.0 と 44.1 のピークについて± 0.1u の範囲で作成したマスクロマトグラム

次にカラムの長さを 5 m として, 測定時間の短縮を図った. 測定に使用したガスは CO_2 と N_2O の混合ガス (CO_2:N_2O = 49.6 %: 50.6 %, DAIHO SANGYO Inc., Tokyo, Japan) である. 測定条件は表 4.6 の通りとし, 測定によって得られたクロマトグラムを図 4.7 に示す. 保持時間の短縮により, 測定時間の短縮は行うことができたが, m/z 43.9 のピークを中心に ± 0.1 u の範囲で抽出したマスクロマトグラム上では CO_2 と N_2O を分離することができていない.

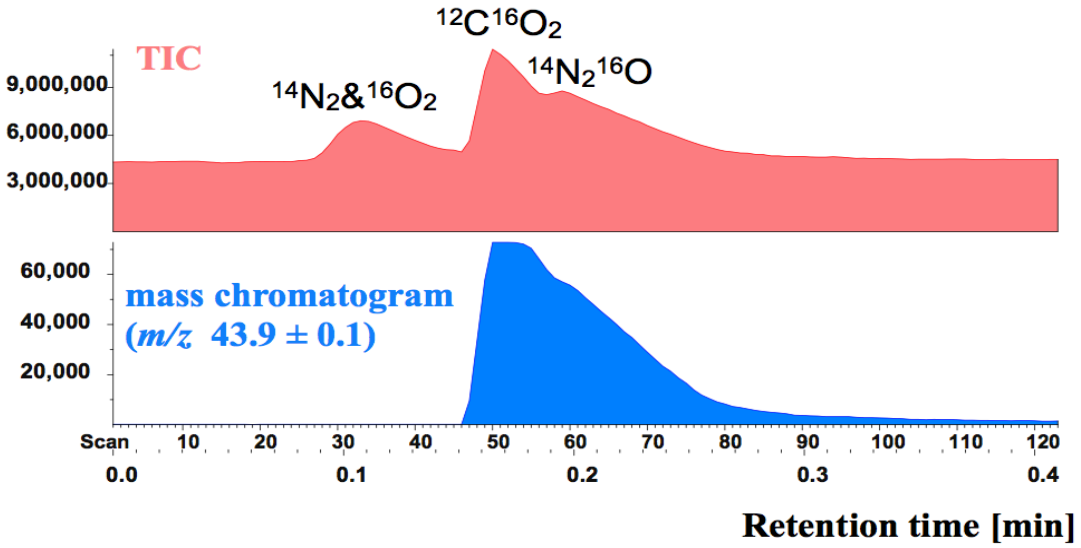

図 4.7: 5 m のカラムを使用して得られた TIC

サンプル量	50 μL
キャリアガス流量	2.5 cc/min
カラムの長さ	5 m

表 4.6: GC のパラメータ

4.3.2 高分解能での CO_2, N_2O の測定

カラムを短くすることでGCの測定時間を短くし, クロマトグラム上で重なっている CO_2 と N_2O を高質量分解能で分離する手法を試みた. しかしCarbon-PLOTカラムを短くし過ぎた場合, イオン源内へのガスの流量が多くなり過ぎる. その結果, イオン源内の真空を保つことができず, 放電が起きる危険性がある. そこで, 真空を保つことのできるぎりぎりの長さのCarbon-PLOTカラムを使用する必要がある. カラムの入口圧 (p_1) と出口圧 (p_2) の差はハーゲン・ポアズイユの式より

$$p_1 - p_2 = \frac{8\mu Q}{\pi r^4} L \tag{4.1}$$

と表すことができる. μ はキャリアガスの粘性度, Q はキャリアガスの流量, r はカラムの半径, L はカラムの長さである. 差圧 $p_1 - p_2$ は式 (4.1) より L に比例して大きくなるため, イオン源での真空を保つためにはカラムが長い方がよいことがわかる. カラムの長さを0.1倍にした場合, 真空度は一桁程度悪くなることが考えられる. 実際にカラムの長さを短くしていき, 一定量のサンプルガスを導入した場合のイオン源の真空度を調べた結果を表4.7に示す.

	5 m	10 m	15 m	30 m
イオン源真空度 (キャリアガスのみ)	4.2×10^{-2} Pa	3.2×10^{-2} Pa	2.7×10^{-2} Pa	2.1×10^{-2} Pa
イオン源真空度 (サンプル導入時)	1.1×10^{-1} Pa	7.0×10^{-2} Pa	6.0×10^{-2} Pa	9.0×10^{-3}Pa

表 4.7: カラムの長さとイオン源の真空度

表4.7よりイオン源内の真空度を放電が起こらない 10^{-2} Paオーダーに収めるために, カラムの長さは10 mが最適であると判断した. イオン源のヒーター温度は200 ℃に設定した. 温度が上昇することに伴い, カラムやイオン源内に吸着されたガスが脱離されて, ピーク強度の変化を防ぐためである. GCインターフェースとはガスクロマトグラフとMULTUM-S IIをカラムを介して接続する部分のことである. 本研究ではガスクロマトグラフのオーブンを用いないため, カラムと同様に常温である. 表4.8にGCの条件, 表4.9にMULTUMに印加した電圧条件を記す. 以降の実験では表4.8, 4.9の条件で測定を行った. また, フィラメント電流, イオン化電圧, 検出器電圧の値は実験に応じて変えてあるため, 各実験毎に分けて記してある.

イオン源ヒーター温度	200 ℃
GC インターフェース温度	常温
キャリアガス流量	7 cc/min
カラムの長さ	10 m
イオン源真空度	1.7×10^{-2} Pa

表 4.8: GC のパラメータ

$V_{in}(+)$	912 V
$V_{in}(-)$	-1077 V
$V_{tn}(+)$	855 V
$V_{tn}(-)$	-1128 V
$V_{out}(+)$	835 V
$V_{out}(-)$	-1060 V
$V_{Matsuda}$	600 V
V_{Einzel}	1700 V

表 4.9: MULTUM-S II のパラメータ

測定に使用したサンプルは濃度 30 ppm の N_2O 標準ガス (DAIHO SANGYO Inc., Tokyo, Japan) で, 表 4.10 の測定条件で行った. 図 4.8 に得られた TIC を示す. TIC 上では CO_2 と N_2O は分離できていないが, スキャン番号 490 から 560 までを平均して得られるマススペクトル (図 4.9) では m/z 44.013 と 44.025 の CO_2 と N_2O のピークが分離できている. さらに m/z 44.013 と 44.025 のピークを中心にそれぞれ± 0.1, 0.01, 0.001, 0.0005 u の範囲で作成したマスクロマトグラムを図 4.10, 4.11, 4.12, 4.13 にそれぞれ示す. 範囲が± 0.1, 0.01 u の場合は CO_2 と N_2O のクロマトグラムが重っており, 相互のマススペクトルの干渉を排除できていない. 一方範囲が± 0.001, 0.0005 u の場合は CO_2 と N_2O を分離して表示することができている. CO_2 と N_2O の質量差は 0.0113 で, 得られる質量分解能が 10000 であるとすると, 互いのマススペクトルの干渉を受けない範囲は± 0.005 u 以下であると考えられ, 今回の測定では± 0.001 u 以下の範囲で抽出する必要があった.

イオン化電圧	23 V
フィラメント電流	4.0 A
検出器電圧	3000 V
V_{push}	1713 V
V_{float}	1740 V
質量範囲	43.48~44.52
積算数	100 回
周回数	40 周

表 4.10: 実験装置のパラメータ

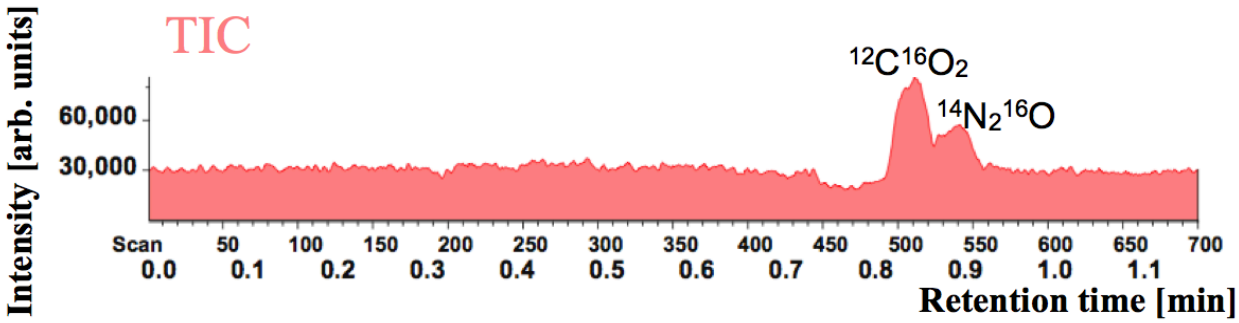

図 4.8: 10 m のカラムを使用して得られた TIC

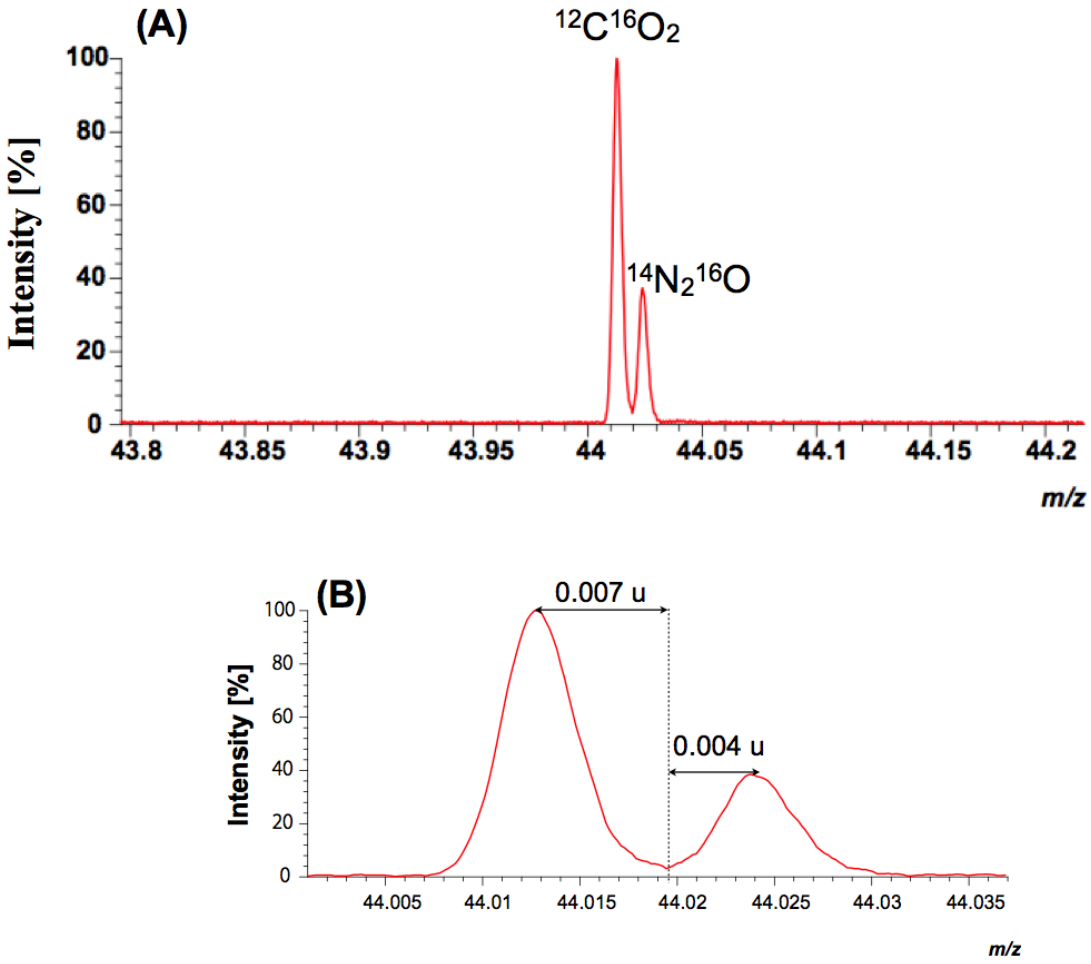

図 4.9: TIC のスキャン 490 番から 560 番までを平均して得られたマススペクトル (A) と拡大したマススペクトル (B)

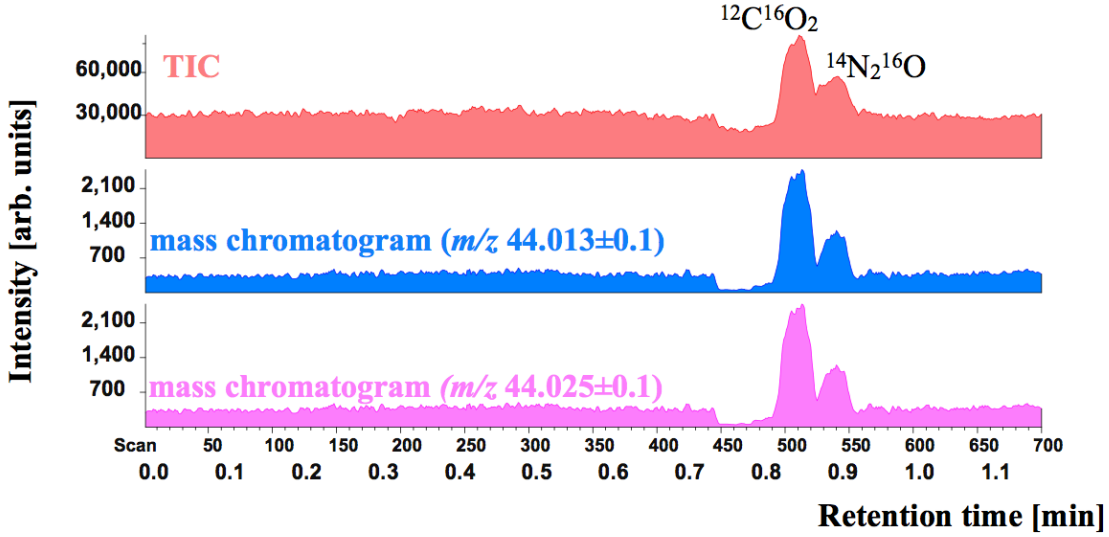

図 4.10: TIC と m/z 44.013, 44.025 のピークについて± 0.1 u の範囲で作成したマスクロマトグラム

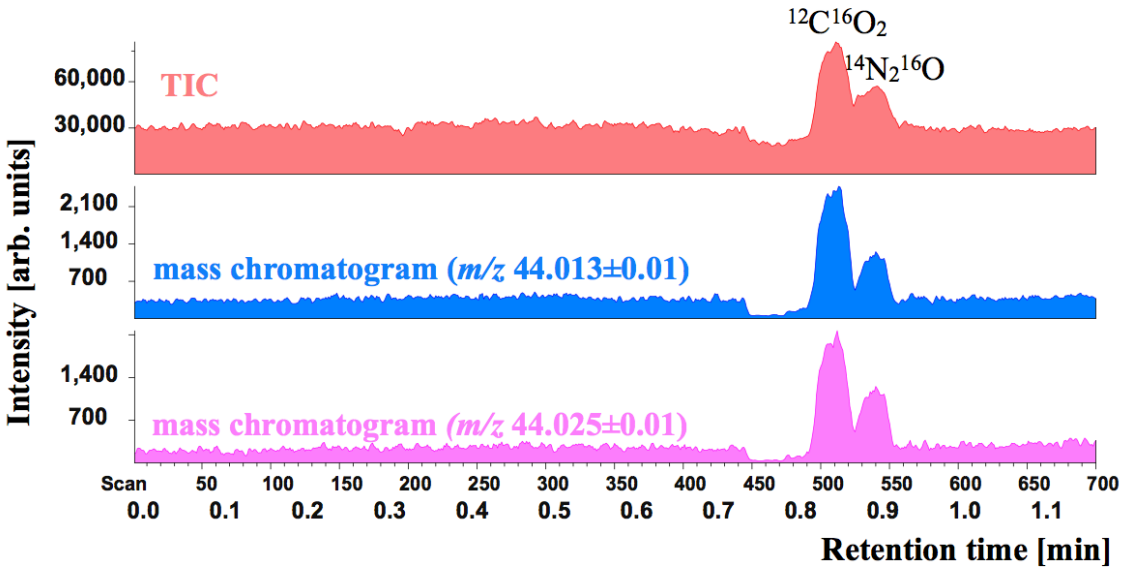

図 4.11: TIC と m/z 44.013, 44.025 のピークについて± 0.01 u の範囲で作成したマスクロマトグラム

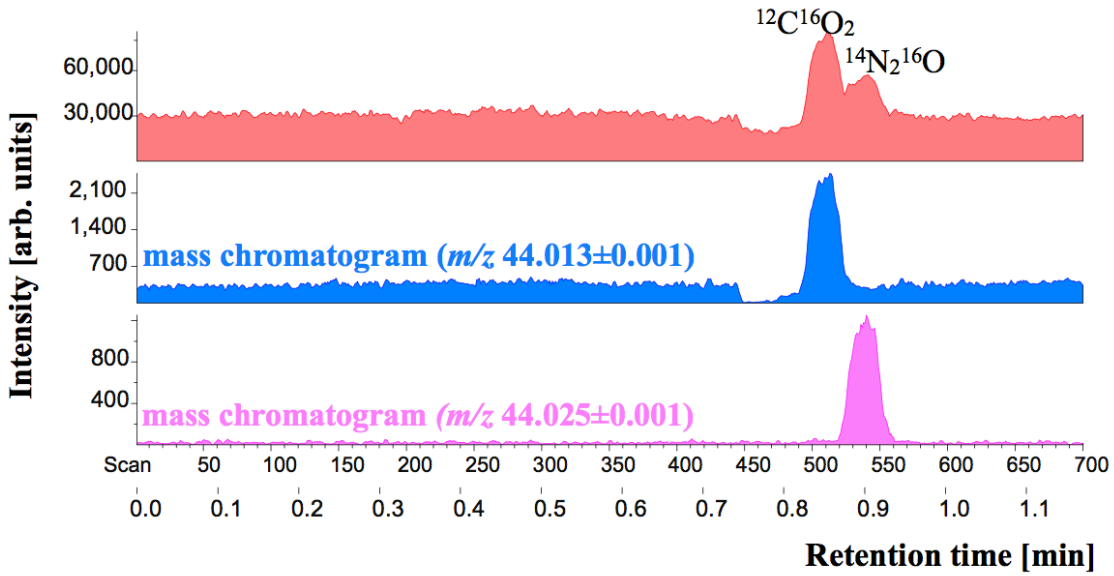

図 4.12: TIC と m/z 44.013, 44.025 のピークについて± 0.001 u の範囲で作成したマスクロマトグラム

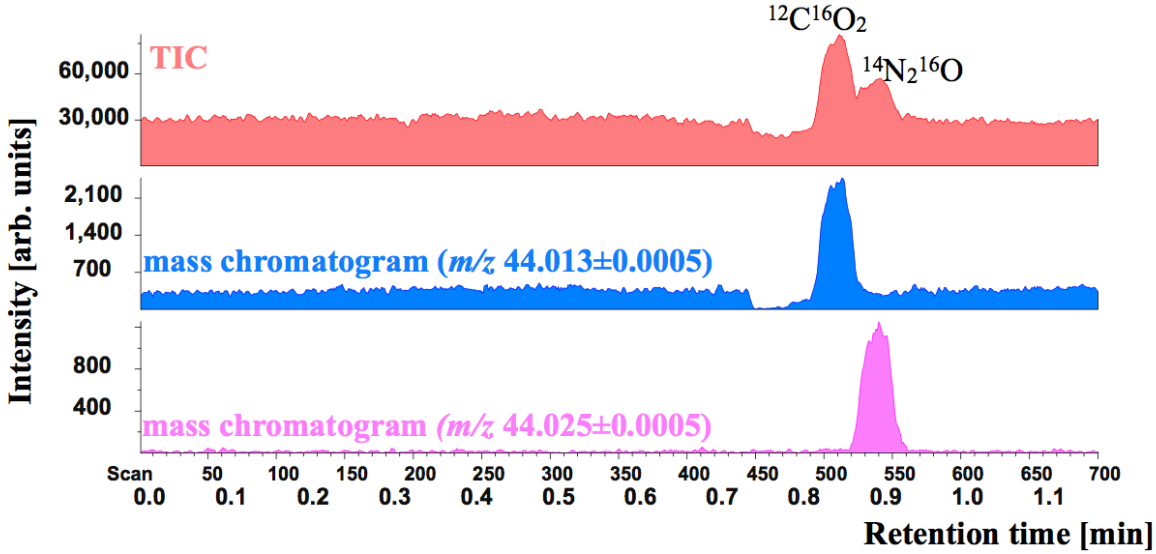

図 4.13: TIC と m/z 44.013, 44.025 のピークについて± 0.0005 u の範囲で作成したマスクロマトグラム

濃度 30 ppm の N_2O を検出できたため, 大気中に含まれる N_2O (314 ppb) の検出を目指した. 測定条件を表 4.11 に示す. 図 4.14 に得られた TIC, 図 4.15 に TIC のスキャン番号 350 から 375 までを平均したマススペクトルを図 4.15 に示す. 図 4.15 より m/z 43.995 の CO_2, m/z 44.007 の N_2O を検出できた. マスクロマトグラムは m/z 43.995, 44.007 のピークを中心に ± 0.01, 0.001, 0.0005 u の範囲で作成し比較した. 得られたマスクロマトグラムを図 4.16, 4.17, 4.18 に示す. 濃度 30 ppm の N_2O の場合は ± 0.001 u の範囲でマススペクトルの抽出を行い, 定量するに十分な分離ができていたが, 図 4.17 より, 濃度 314 ppb の N_2O の場合は完全には分離できていないことがわかる. これは, 図 4.17 に示す TIC のスキャン番号 330 から 350 までを平均して, CO_2 付近を拡大した図 4.19 のマススペクトルを見ると, N_2O が検出されるべき 44.0070 付近まで CO_2 のテーリングが干渉しているからである. この影響によって, 図 4.17 の N_2O のマスクロマトグラムは完全に分離できていない. 一方で図 4.18 より ± 0.0005 u の範囲では分離することが可能であった. これは N_2O の中心値付近のみを取り出しており, テーリングの影響を受けないためであると考えられる. したがって, CO_2 と N_2O のマスクロマトグラムを抽出するための質量範囲は CO_2 ピークのテーリングの影響を考えながら決定する必要がある.

イオン化電圧	15 V
フィラメント電流	4.4 A
検出器電圧	3500 V
V_{push}	1713 V
V_{float}	1742 V
質量範囲	43.48 ∼44.52
積算数	100 回
周回数	50 周

表 4.11: 実験装置のパラメータ

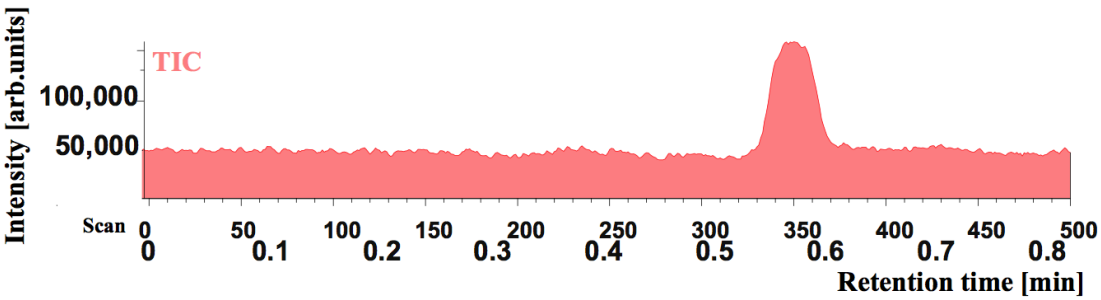

図 4.14: 大気を測定して得られた TIC

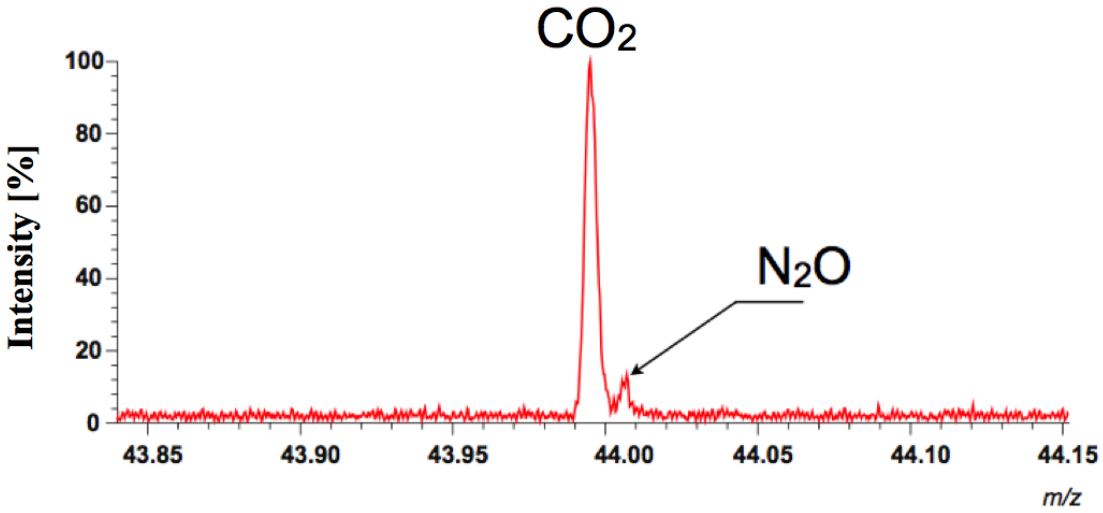

図 4.15: TIC のスキャン 350 番から 375 番までを平均して得られたマススペクトル

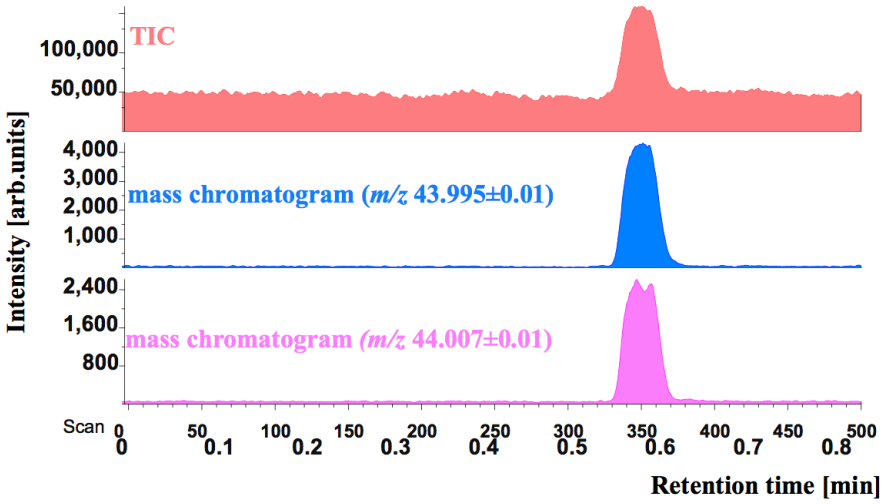

図 4.16: TIC と m/z 43.995, 44.007 のピークについて ± 0.01 u の範囲で作成したマスクロマトグラム

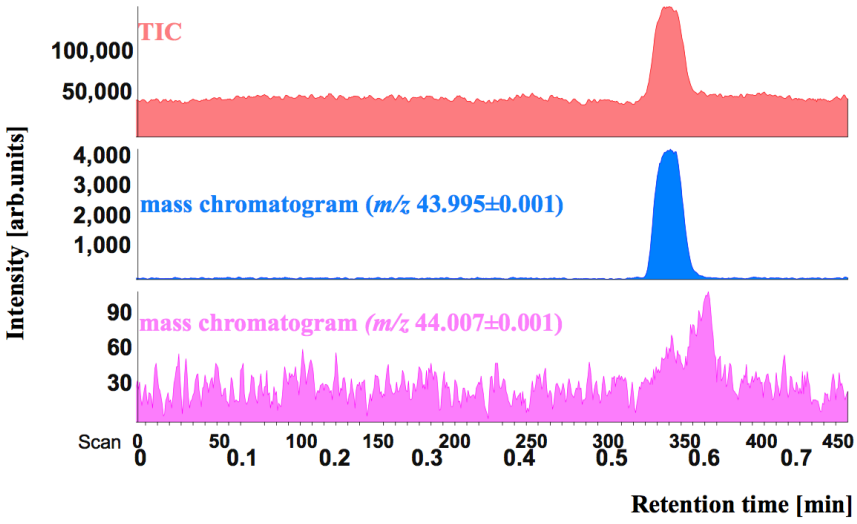

図 4.17: TIC と m/z 43.995, 44.007 のピークについて± 0.001 u の範囲で作成したマスクロマトグラム

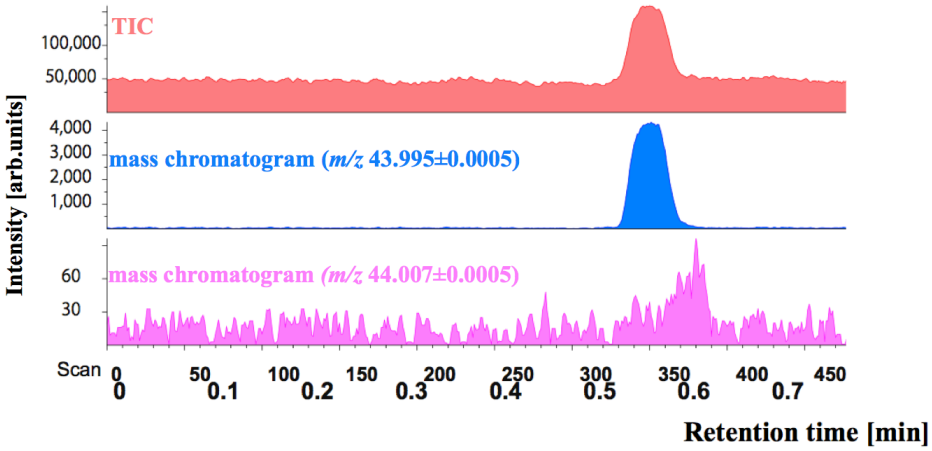

図 4.18: TIC と m/z 43.995, 44.007 のピークについて± 0.0005 u の範囲で作成したマスクロマトグラム

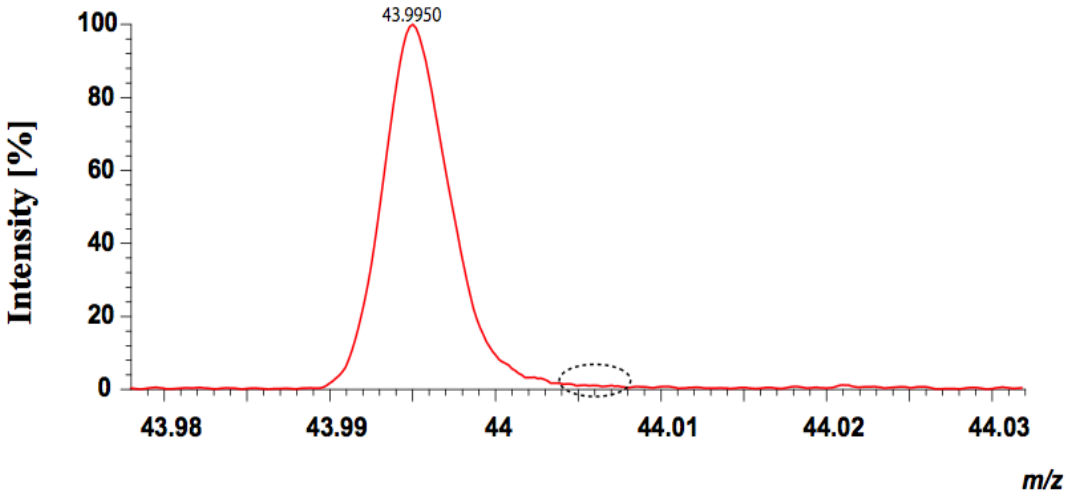

図 4.19: TIC のスキャン 330 番から 350 番までを平均して得られたマススペクトル (CO_2 付近を拡大)

4.3.3 CH_4 の測定

短いカラムを用いた場合, CH_4 は O_2 と保持時間が重なって溶出する. この場合, イオン化の際に生成される O_2^+ のフラグメントイオン O^+ が CH_4 の測定の妨げになる. そこで高質量分解能で CH_4 と O を質量分離することを試みた. 実験に用いた CH_4 の濃度は 2 %で, Ar ベースである. O_2 はサンプルガスの入ったテドラーバッグをオートサンプラーに接続する際に混入した大気由来のものである. 実験条件は表 4.12 に示す. 図 4.20 に得られた TIC を示す. 図 4.21 のマススペクトルは図 4.20 のスキャン番号 70 から 100 の間で得られるマススペクトルを平均したものである. 得られた質量分解能と O, CH_4 の質量差を考えると, 互いのマススペクトルの干渉を受けない範囲は ± 0.01 u 以下にする必要がある. マスクロマトグラムは m/z 16.05 と 16.02 のピークを中心に ± 0.1, 0.01, 0.001 u の範囲で作成し比較した. 得られたクロマトグラムを図 4.22, 4.23, 4.24 にそれぞれ示す. 図 4.22 のマスクロマトグラムでは CH_4 と O を十分に分離できていなかった. 一方で図 4.23, 4.23 を図 4.22 と比較すると CH_4 と O のマスクロマトグラムを分離することができ, 質量幅は ± 0.01 u 以下でマスクロマトグラムを抽出すればよいことがわかった.

イオン化電圧	23 V
フィラメント電流	3.6 A
検出器電圧	2700 V
V_{push}	1713 V
V_{float}	1740 V
質量範囲	15.25~16.75
積算数	100 回
周回数	10 周

表 4.12: 実験装置のパラメータ

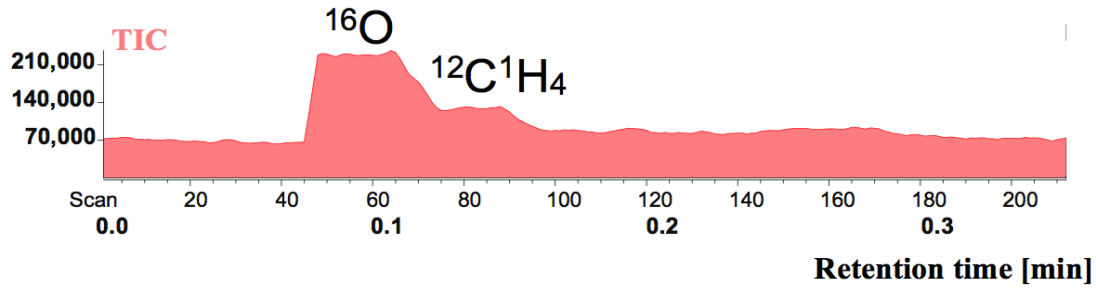

図 4.20: 濃度 2 %の CH_4 を測定して得られた TIC

大気をサンプルとして, 濃度 1.8 ppm の CH_4 を測定した場合, マススペクトル上で O^+ のピークがテーリングを起こしており, 微量の CH_4^+ は O^+ のテールに埋もれていた (図 4.25). O^+ のテーリングは 0.1 u 程度あり, 微量濃度の CH_4 は検出することができない.

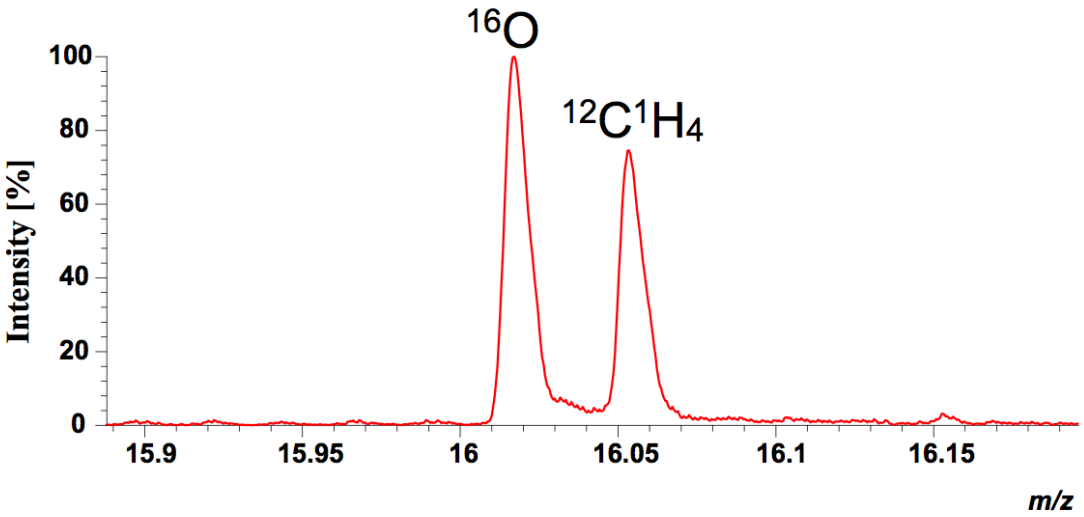

図 4.21: TIC のスキャン 70 番から 100 番までを平均して得られたマススペクトル

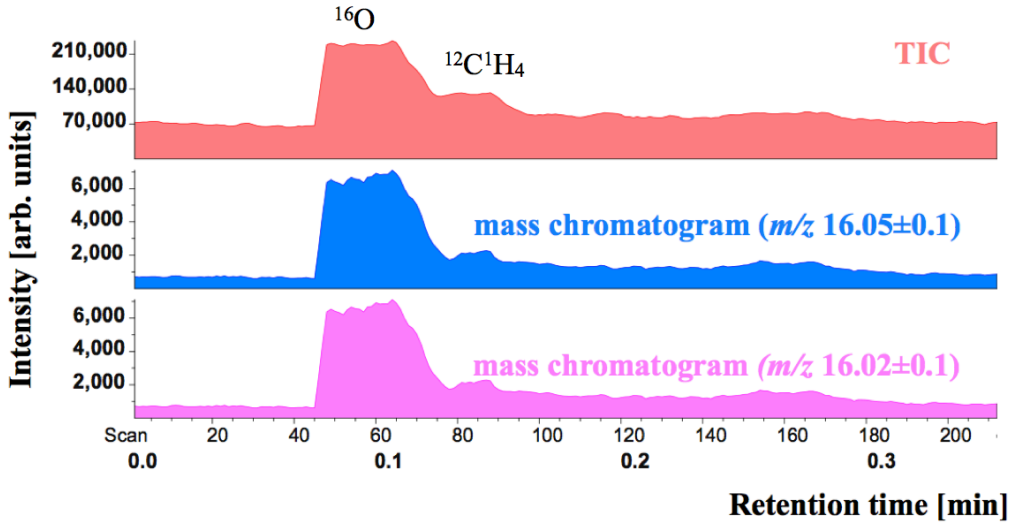

図 4.22: TIC と m/z 16.05 と 16.02 のピークについて ± 0.1 u の範囲で作成したマスクロマトグラム

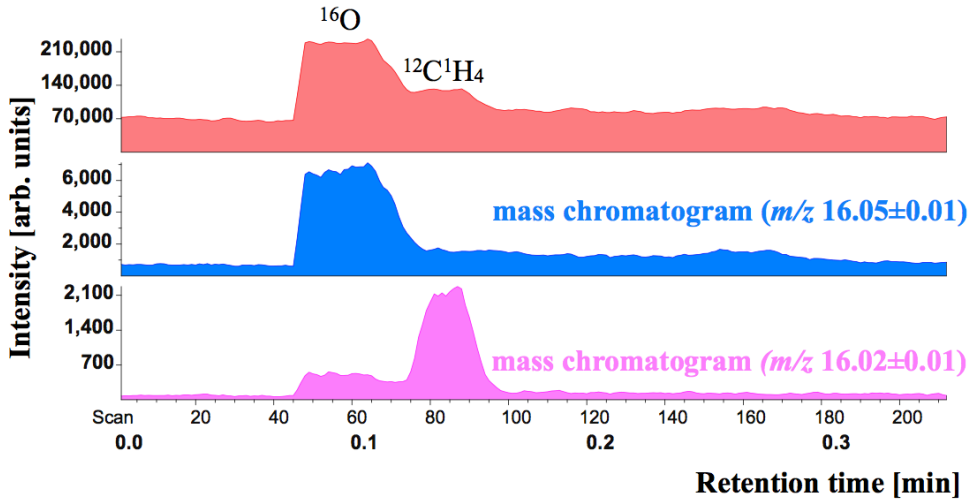

図 4.23: TIC と m/z 16.05 と 16.02 のピークについて± 0.01 u の範囲で作成したマスクロマトグラム

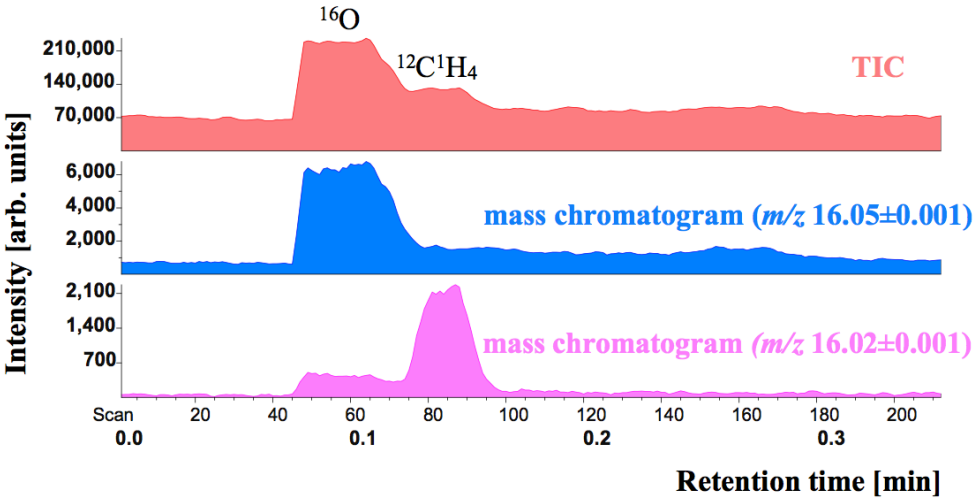

図 4.24: TIC と m/z 16.05 と 16.02 のピークについて± 0.001 u の範囲で作成したマスクロマトグラム

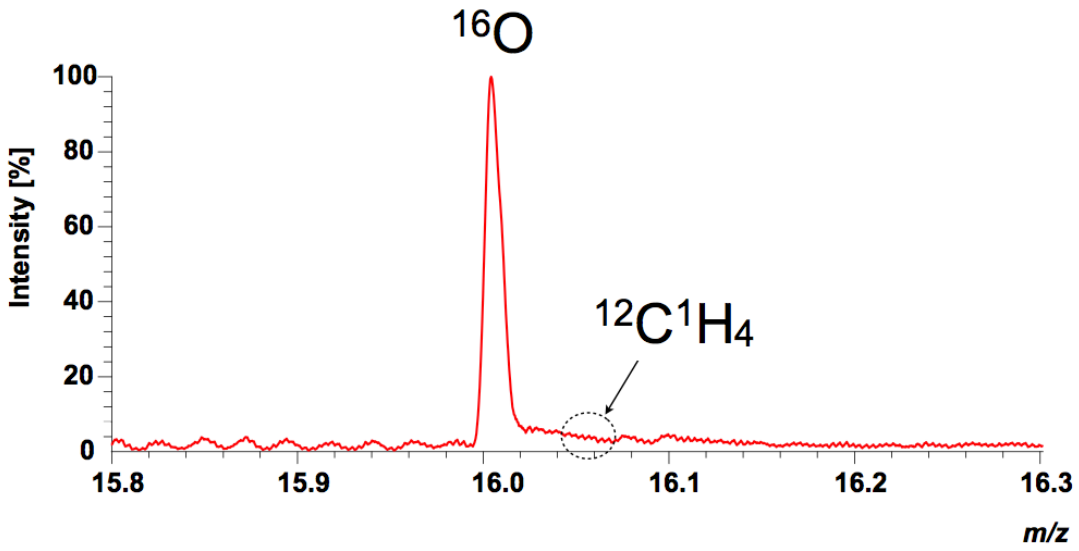

図 4.25: 大気を測定して得られた $^{16}O^+$ のマススペクトル (CH_4^+ は O^+ のテーリングで検出不可)

そこで, O^+ の影響を受けずに測定を行うために, CH_4^+ のイオン化の際に CH_3^+ が CH_4^+ の約 80 %程度生成されることを利用し, m/z 15 をモニタリングすることを試みた. 表 4.13 に測定条件, 図 4.26 に大気を測定した TIC を示す. 図 4.27 のマススペクトルは図 4.26 のスキャン番号 440 から 450 の間で得られるマススペクトルを平均して表示した. 図 4.28, 4.29 のマスクロマトグラムは m/z 15.01 と 15.97 のピークを中心に ± 0.1, ± 0.01 u の範囲で作成した. 図 4.28, 4.29 より, O と CH_3 を分離して検出できていることがわかる. また, 質量数が 15 である ^{15}N と CH_3 の質量差は 0.03 程度であり, 本来であれば m/z 15.01 ± 0.1, 0.01 u の範囲でクロマトグラムを抽出した場合, それぞれのピークが重なってしまうため, 周回数を増やす必要がある. 今回 ^{15}N が検出されなかった理由として, 存在率の低さ, イオン化電圧を 23 V と低くしたため, N_2 のフラグメントが生成されにくかったことが考えられる.

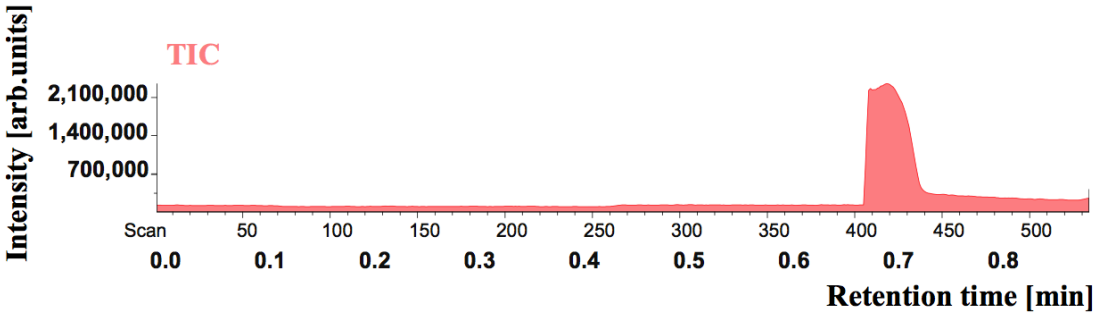

図 4.26: 大気を測定して得られた m/z13.2~16.8 の範囲のクロマトグラム

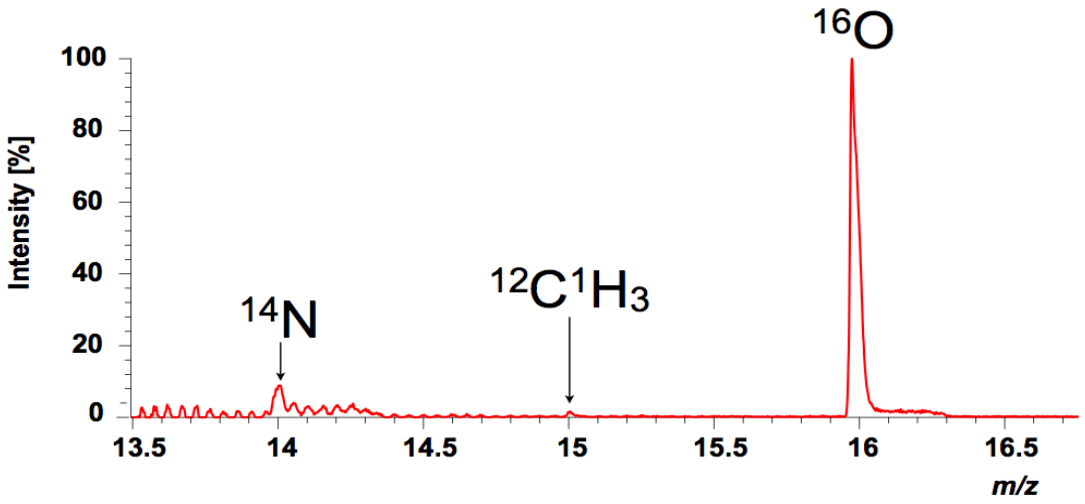

図 4.27: TIC のスキャン 440 番から 450 番までを平均して得たマススペクトル

イオン化電圧	23 V
フィラメント電流	4.0 A
検出器電圧	2900 V
V_{push}	1713 V
V_{float}	1695 V
質量範囲	13.2~16.8
積算数	100 回
周回数	4 周

表 4.13: 実験装置のパラメータ

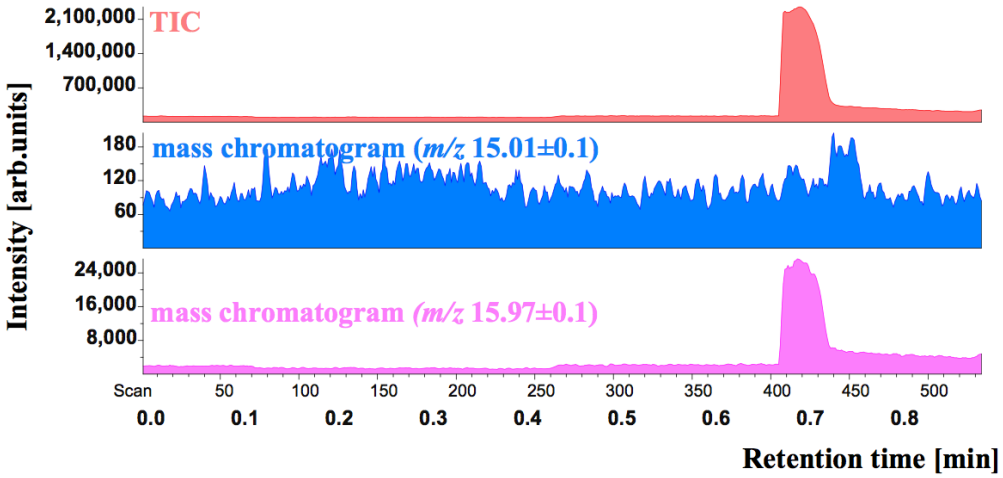

図 4.28: TIC と m/z 15.01, 15.97 のピークについて± 0.1 u の範囲で作成したマスクロマトグラム

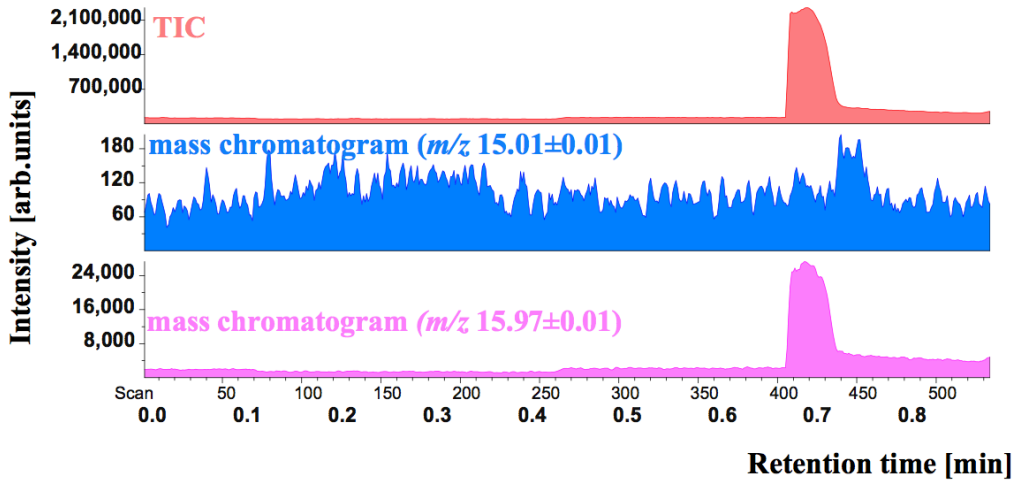

図 4.29: TIC と m/z 15.01, 15.97 のピークについて ± 0.01 u の範囲で作成したマスクロマトグラム

4.3.4 H_2O の測定

H_2O を EI でイオン化した場合, フラグメントイオンとして OH^+ と O^+ が生成される. 図 4.30 に m/z 16 を多重周回させ, 得られたマスクロマトグラムを示す. 測定条件は表 4.14 に示す通りである. 図 4.30 の TIC より H_2O は極性が大きいため, CO_2 よりも遅くピークが現れている. m/z 16 のマスクロマトグラムを見ると, O_2 由来, CO_2 由来, H_2O 由来の O^+ がそれぞれピークとして検出された. 共通のフラグメントイオンをモニタリングすることで, 電圧条件を変えることなく複数のガス種を測定可能である.

イオン化電圧	60 V
フィラメント電流	3.6 A
検出器電圧	2600 V
V_{push}	1713 V
V_{float}	1695 V
質量範囲	15.25~16.75
積算数	100 回
周回数	10 周

表 4.14: 実験装置のパラメータ

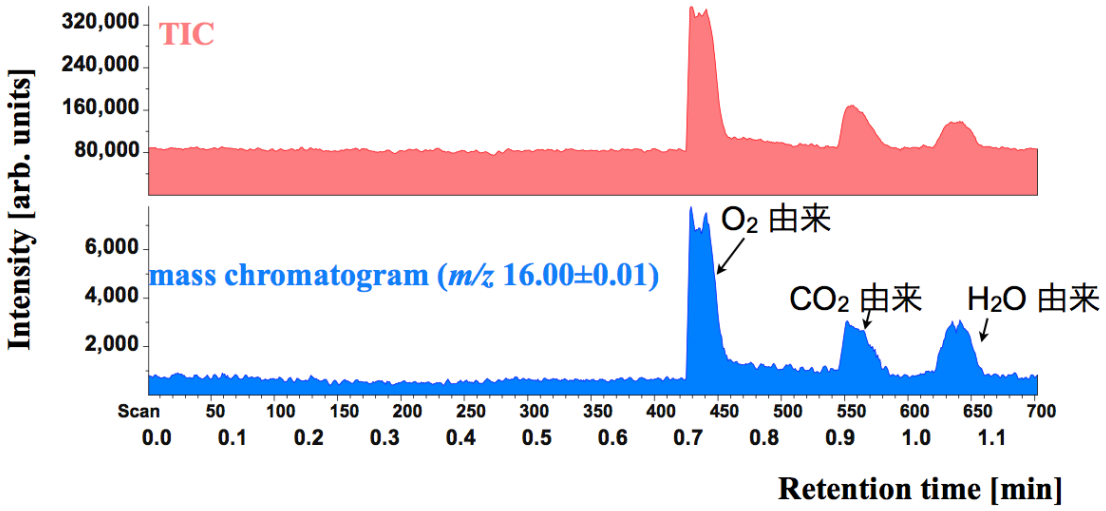

図 4.30: 大気を測定して得られたクロマトグラム (上から順に TIC, m/z 16 のマスクロマトグラム)

4.4 性能評価

4.4.1 定量に関して

ガスを定量するため, ピーク面積と濃度の対応関係 (検量線) を得る必要がある. 開発したガスモニタリングシステムの性能評価として, N_2O, N_2, O_2 の定量測定を行った. まず N_2O の検量線を作成するために 30 ppm 濃度の N_2O (N_2 ベース, DAIHO SANGYO Inc., Tokyo, Japan) を用い, 高純度 He (99.9995 %, Neriki Valve Co., Ltd, Hyogo, Japan) で希釈を行い, 順に 10 ppm, 3 ppm, 0.3 ppm (大気レベル) のサンプルを作成した. 希釈を行うために図 4.31 のシリンジ (ニプロシリンジ 50 mL), 三方向コック (ディスポ・ルアーストップコック, VXB1062), テドラーバッグ (F2(PVDFs) バッグ 1 L) を用いた. 測定条件は表 4.15 の通りとした. 図 4.32 に測定して得られた検量線を示す. R^2 とは決定係数であり, 以下のように定義される.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_i (y_i - f_i)^2}{\sum_i (y_i - \overline{y})^2} \tag{4.2}$$

ここで y_i はピーク面積値, $\overline{y}$ はピーク面積の平均値, f_i は回帰直線上の値である. (4.2) 式に従うと, 図 5.8 の検量線の決定係数は R^2=0.999 であり, 大気レベルの 0.3 ppm から 30 ppm の間で非常に高い線形性が保たれていることがわかった.

イオン化電圧	15 V
フィラメント電流	4.4 A
検出器電圧	3500 V
V_{push}	1713 V
V_{float}	1740 V
質量範囲	43.48~44.52
積算数	100 回
周回数	50 周

表 4.15: 実験装置のパラメータ

図 4.31: 希釈器の写真

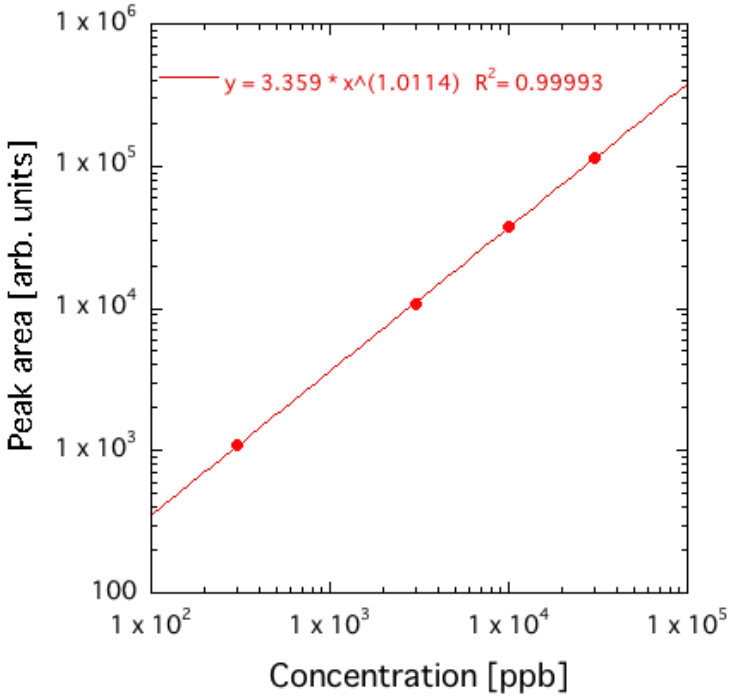

図 4.32: N_2O の検量線

図 4.31 の希釈器を用いたガスの希釈方法について説明する. 濃度 3 ppm の N_2O を作成する場合, 図 4.33 より, 希釈用の高純度 He と 30 ppm 濃度の N_2O をそれぞれテドラーバッグに入れ, 希釈器に接続する. まず 3 方コック 3 を A の位置にして, シリンジでテドラーバッグ内を排気する. 次に 3 方コック 3 を元の位置に戻して, 3 方コック 1 を A の位置にする. シリンジで高純度 He を吸引し, 管内を高純度 He で置換する. 3 方コック 2 を A の位置にして, 30 ppm N_2O をシリンジで 50 mL 吸引する. さらに 3 方コック 3 を A の位置にして, 50 mL の 30 ppm N_2O を空のテドラーバッグに導入する. 3 方コック 2 と 3 をそれぞれ始めの位置に戻し, 3 方コック 1 を A の位置にする. シリンジで高純度 He を 50 mL 吸引した後で 3 方コック 3 を A の位置にしてテドラーバッグへと導入する. 3 方向コック 3 は元の位置に戻し, 高純度 He を再び 50 mL 吸引する. 同様の動作を 8 回繰り返すことで濃度 3 ppm の希釈ガスを作成することが可能である.

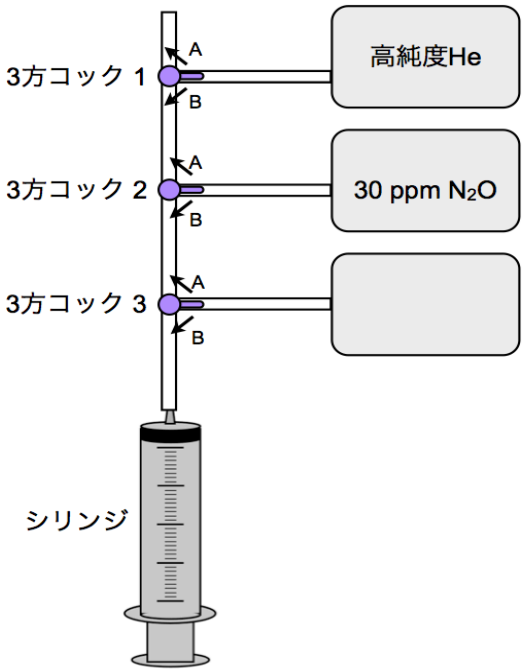

図 4.33: 希釈ガス作成方法の図

次に N_2 の測定結果について述べる. 100 %, 78 %, 10 %, 1 %濃度のサンプルを測定に使用した. 濃度 78 %のサンプルは大気を使用した. 濃度 10 %, 1 %のサンプルは濃度 100%の N_2 と高純度 He (99.9995 %, Neriki Valve Co., Ltd, Hyogo, Japan) を用いて希釈器で作成した. 測定条件は表 4.16 の通りである. 図 4.34 に測定結果を示す. 図 4.34 より, 濃度 10 %, 1 %の N_2 が多めに検出されているため, 0.1 %, 1 %の点は直線に乗っていない. これは, N_2, O_2 の希釈サンプルを作成する際に大気の混入が起きたと考えられる.

イオン化電圧	60 V
フィラメント電流	3.6 A
検出器電圧	2600 V
V_{push}	1794 V
V_{float}	1895 V
質量範囲	20~50
積算数	100 回
周回数	半周

表 4.16: 実験装置のパラメータ

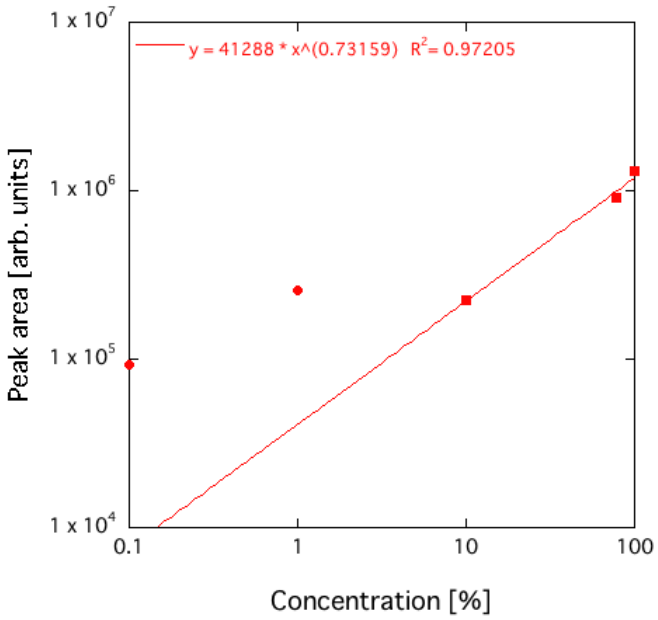

図 4.34: 大気混入の影響を受けた N_2 の検量線

そこで, 大気の混入を無くした希釈方法として次のような方法を考えた. 10 mL のバイアル瓶を用意し, その中を真空引きし, さらに高純度 He (99.9995 %, Neriki Valve Co., Ltd, Hyogo, Japan) で置換する. この動作は図 3.8 に示すダイアフラムポンプを駆動, 電磁弁 B を開けて, その後で電磁弁 C を開けることで行った. その後ガスタイトシリンジ (HAMILTON,Gastight Syringes 1001, 1mL) を用いて一定量の大気を手動でバイアル瓶に導入し, 目標とするガス濃度へと希釈することを試みた. バイアル瓶に導入した大気の量は 100 μL, 200 μL, 500 μL, 1000 μL である. この手法で希釈した N_2 ならびに O_2 の定量測定を行った. サンプル濃度は N_2 が 78 % (大気レベル), 7.1 %, 5.78 %, 3.00 %, 1.53 %, 0.77 %で, O_2 が 21 % (大気レベル), 1.91 %, 1.56 %, 0.81 %, 0.41 %, 0.21 %である. 測定条件は表 4.16 に示す通りである. 図 4.35, 4.36 に得られた検量線を示す. R^2 は共に 0.999 であり, 数百 ppm から数十%間で非常に高い線形性が保たれていることがわかった.

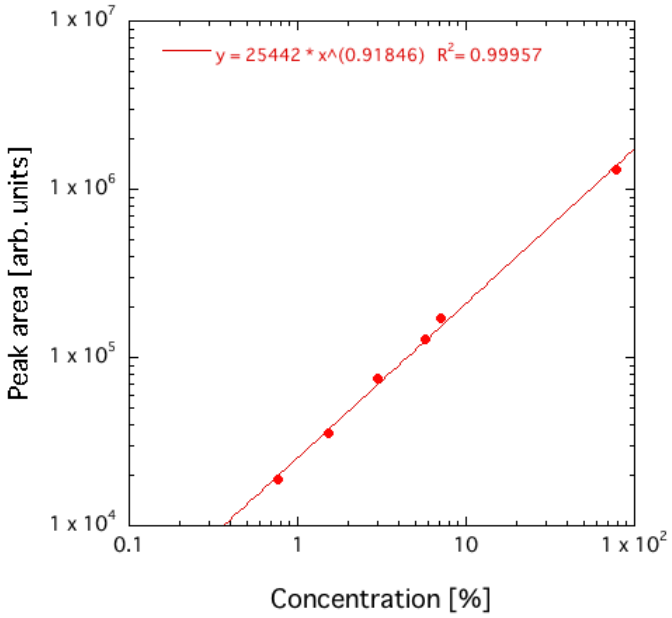

図 4.35: N_2 の検量線

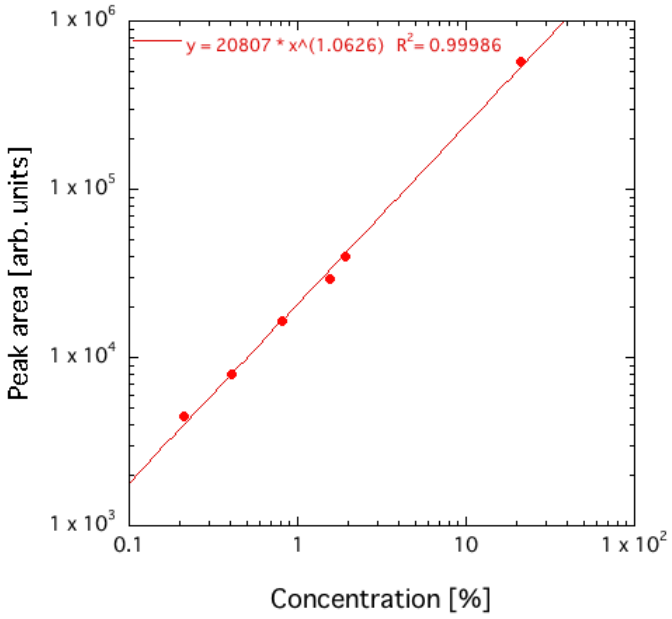

図 4.36: O_2 の検量線

本実験では N_2O と N_2, O_2 の検量線を作成し, 線形性があることを確認した. しかし定量できるだけのピーク強度を得るためには, 濃度に応じて適切なフィラメント電流, イオン化電圧, 検出器電圧, 周回数を選び, 測定を行う必要がある. 連続測定を行う場合, N_2O と N_2, O_2 を同時に測定することができず, %オーダーの N_2, O_2 と ppb, ppm オーダーの N_2O, CO_2 の電圧条件を交互に変えなければならない.

4.4.2 連続測定に伴う m/z の変動

連続測定に伴う m/z の変動について評価した. 測定条件は表 4.17 に示す通りとし, サンプルは濃度 30 ppm の N_2O とそれに含まれている CO_2 で, オートサンプラーを用いて 40 秒おきに MULTUM-S II へと導入し, 60 回測定を行った. m/z の平均と各測定値との差を図 4.37 にそれぞれプロットした. 図 4.37 より, 周期的に m/z のずれが変動することがわかった. ずれは最大で 0.003 u 程度あり, 4.3 で述べたマスクロマトグラムを作成する際の m/z の抽出する範囲に大きく影響してしまう. これは, 電源の温度変化による影響であることが考えられ, 温度を一定にする必要がある.

イオン化電圧	20 V
フィラメント電流	4.0 A
検出器電圧	2800 V
V_{push}	1713 V
V_{float}	1740 V
質量範囲	43.58~44.42
積算数	100 回
周回数	40 周

表 4.17: 実験装置のパラメータ

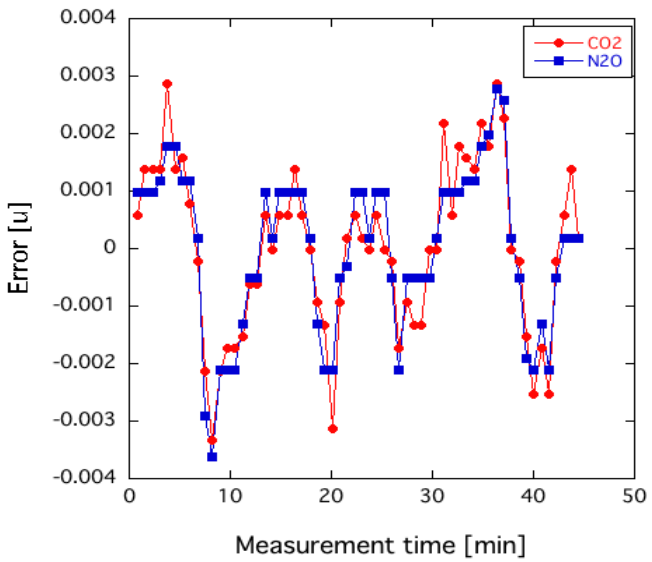

図 4.37: 電源温度が不安定な場合における N_2O と CO_2 の m/z のずれ

そこで電源の温度を一定にするために, 電源基板に一定時間の送風を行った. 送風を行うことで電源の温度変化をなくすことができると考えた. 測定条件は表 4.17 に示す通りである. 測定開始 30 分間は送風を行わず, 30 分後から 60 分後までは送風を行った. m/z の平均と各測定値との差を図 4.38 にプロットした. 図 4.38 より, 測定開始から 30 分までは図 4.37 と同様に m/z のずれが大きい. 一方で, 30 分から 60 分の間では CO_2 と N_2O 共にずれが 0.001 u 程度となっており, 温度変化に大きく依存することがわかった. 解決方法として, ロックマス [28] による再キャリブレーションを行うことが挙げられる.

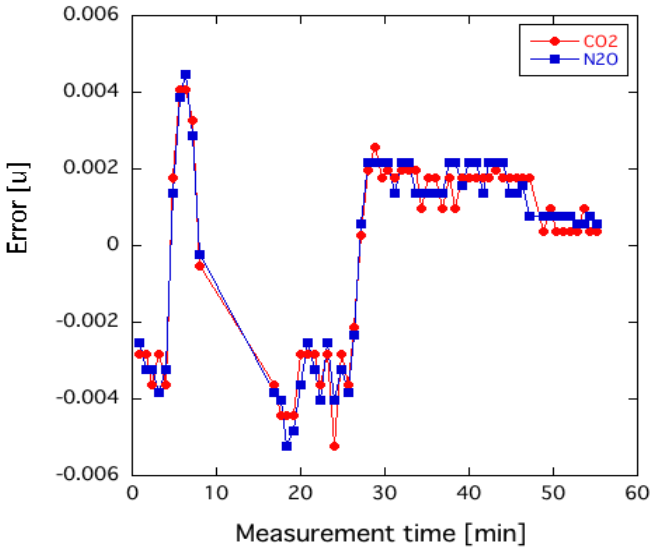

図 4.38: 電源温度が不安定な場合 (0~30 分) と安定な場合 (30~60 分) における N_2O と CO_2 の m/z のずれ

4.4.3　連続測定に伴うピーク面積の変動

前節で, m/z のずれについて評価を行い, ずれをできる限りなくすためには電源の温度変化を一定にする必要があった. 同様に, 電源の温度変化がある状態でガスの測定を連続的に行った場合, ピーク面積の変化がみられた. これは長時間のモニタリング計測を行う上で支障となり, 一定濃度のガスを連続して導入していた場合でも異なる濃度として検出されてしまう. したがって, m/z と同様に温度変化によるピーク面積の変動を評価した. 測定条件は表 4.17 に示す通りとし, サンプルは濃度 30 ppm の N_2O で, オートサンプラーを用いて 40 秒おきに MULTUM-S II へと導入し, 60 回測定を行った. 電源の温度が不安定な場合での N_2O のピーク面積の変化について図 4.39 に示す. 図 4.39 より, ピーク面積も m/z と同様に周期的に変動している.

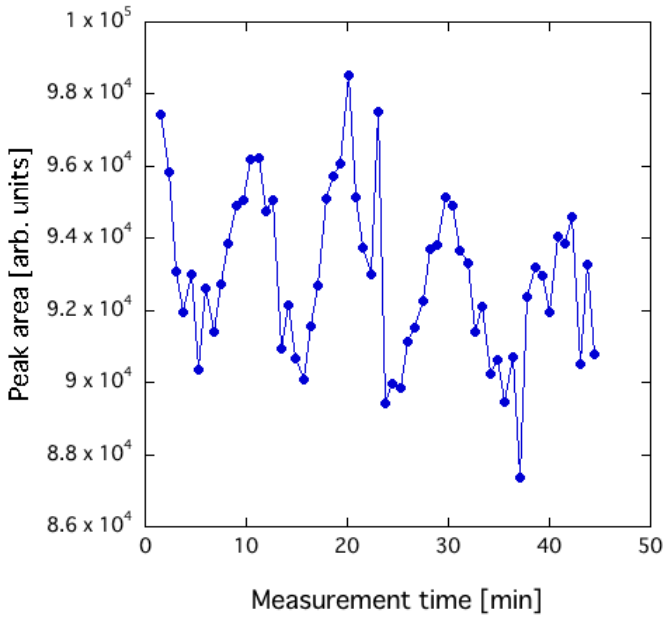

図 4.39: 電源温度が不安定な場合の N_2O ピーク面積の変化

続いて電源の温度が一定な場合の結果を図 4.40 に示す. 送風を行う前の開始 0 分から 30 分までは変動が大きいが, 送風開始 30 分からは変動が小さくなっていることがわかった. また, ピーク面積が時間と共に減少していた.

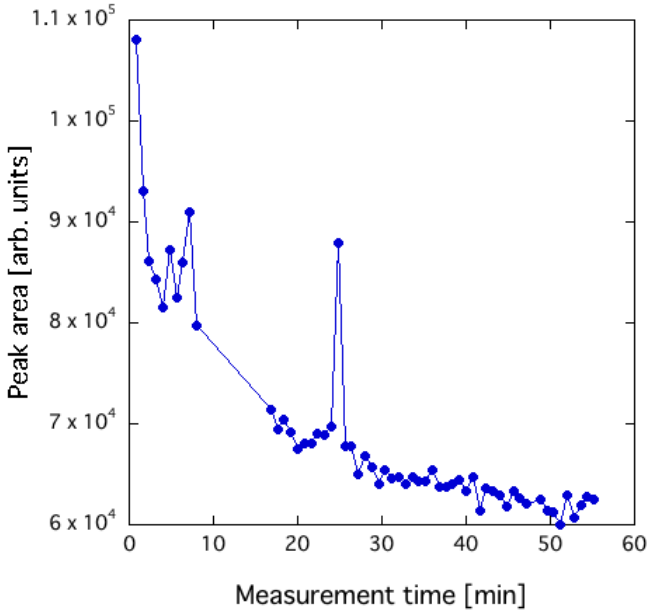

図 4.40: 電源温度が不安定な場合 (0~30 分) と安定な場合 (30~60 分) の N_2O ピーク面積の変化

次に電源の温度が安定した状態と不安定な状態でガスオートサンプラーを用いて一定濃度のガスを連続して測定し, どの程度の再現性があるのかを評価した. 評価として測定結果の相対標準偏差 (RSD: relative standard diviation) を調べた. n を測定回数, x を測定で得られたピーク面積とすると, ピーク面積の標準偏差 σ は

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{x=1}^{i}(x_i - \overline{x})^2}{n-1}} \tag{4.3}$$

と表すことができる. $\overline{x}$ はピーク面積の平均である. σ と $\overline{x}$ を用いて RSD は

$$\mathrm{RSD} = \frac{\sigma}{\overline{\mathrm{x}}} \times 100 \tag{4.4}$$

と定義できる. 測定条件は表 4.18 とし, 大気をオートサンプラーを用いて導入し, 5 回 N_2 のピーク面積を求めた. 測定間隔は 1 分おきとした. MULTUM-S II の電源に送風を行った場合と行わない場合でのピーク面積の RSD を表 4.19 に示す.

イオン化電圧	60 V
フィラメント電流	3.6 A
検出器電圧	2600 V
V_{push}	1713 V
V_{float}	1695 V
質量範囲	21.6~31.4
積算数	100 回
周回数	2 周

表 4.18: 実験装置のパラメータ

	ピーク面積の RSD
温度不安定	7.8 %
温度安定	0.8 %

表 4.19: 電源の温度変化によるピーク面積の RSD について

表 4.19 より, 電源の温度を一定に保った場合, ピーク面積の RSD は 0.8 %に抑えることができ, 測定精度が向上することがわかった. 同様にして電源の温度を一定に保ち, 濃度 30 ppm の N_2O を 1 分間隔で 30 回測定した場合の RSD を求めた. 実験条件は表 4.15 の通り行った. 測定結果から求めた RSD は 2.3 %であり, 微量濃度のガスを精度よく連続測定することができると言える.

4.5 まとめ

本章では MULTUM-S II を用いて N_2O, CO_2, CH_4 を検出可能であることを述べた．MULTUM-S II の高質量分解能を活かした複数ガスの短時間計測を行い, 感度良く検出するために最適な測定条件を調査した．その結果, 大気レベル濃度の CO_2, N_2O, CH_4 を 1 分以内に検出することができた．また, 連続測定を行う上で重要なモニタリングシステムの定量評価を行い, さらに連続的な測定を行う際に重要である m/z, ピーク強度のずれについて検証した．

第5章　バクテリアの活動によって発生するガスのリアルタイム計測

5.1　実験概要

本節では開発したガスモニタリングシステムを用いて, 実際に土壌から放出されるガスのモニタリングを試みた. 採取した土壌をフラスコ内で培養し, 一定時間毎に測定を行い, ガスの濃度変化を調べた.

5.2　サンプル調整

測定に使用する土壌試料は大阪大学内 (バンデグラフ実験室隣の針葉樹林) で採取した. 土壌はふるいにかけ, できるだけ均等な粒にしておく. 採取した土壌 40 g を 300 mL のフラスコ内で培養した. 土壌試料に硝酸や水を加えることで N_2O の放出量が増加することが知られており [29], 本実験でも培養のために硝酸あるいは蒸留水 20 mL を使用した. 用意した硝酸濃度は 0.05 %で, pH 濃度は 4 付近とし, アンモニア溶液で調整を行った. 培養を行い始めてすぐ, もしくは 1 日後からフラスコ内のヘッドスペースをガスオートサンプラーで一定量捕集し, 測定を行った.

5.3 N_2O 濃度変化の測定

まず初めに, 採取した土壌に硝酸を添加してすぐに測定を行ったが, ガスの大きな濃度変化は見られなかった. 一方で土壌試料を 1 日培養した後で測定を行った場合, ガスの濃度変化が観測された. そこで 1 日培養した試料を大気開放し, フラスコのヘッドスペース内を大気で満たした. 大気開放を行ってからすぐに測定を開始し, ガス濃度変化を調べた. 図 5.1 に異なる日時に土壌を採取・測定した結果を示す. 測定条件は表 5.1 の通りに設定した. 測定頻度は 2 分おきとした. N_2O の濃度は時間に比例して増加していることがわかった. また, ガス濃度の増加量が異なるのは, 異なる日時 (7 月 28 日, 9 月 29 日, 9 月 30 日, 10 月 15 日) に異なる土壌を採取したために, バクテリアの種類や数が異なるためであると考えられる. 特に 9 月 29 日と 30 日に土壌をそれぞれ採取・ガス濃度測定を行った際の濃度増加を比較すると, 測定開始 60 分後で濃度変化は約 5 倍の差がある. よって, 今後の測定では同じ日にまとめて採取した土壌を使用する必要がある. 本実験では, 硝酸を加えた後バクテリアによってガスが顕著に増加し始めるまでには 1 日程度の時間を要することもわかった.

イオン化電圧	20 V
フィラメント電流	4.0 A
検出器電圧	2900 V
V_{push}	1713 V
V_{float}	1740 V
質量範囲	43.58~44.42
積算数	100 回
周回数	50 周

表 5.1: 実験装置のパラメータ

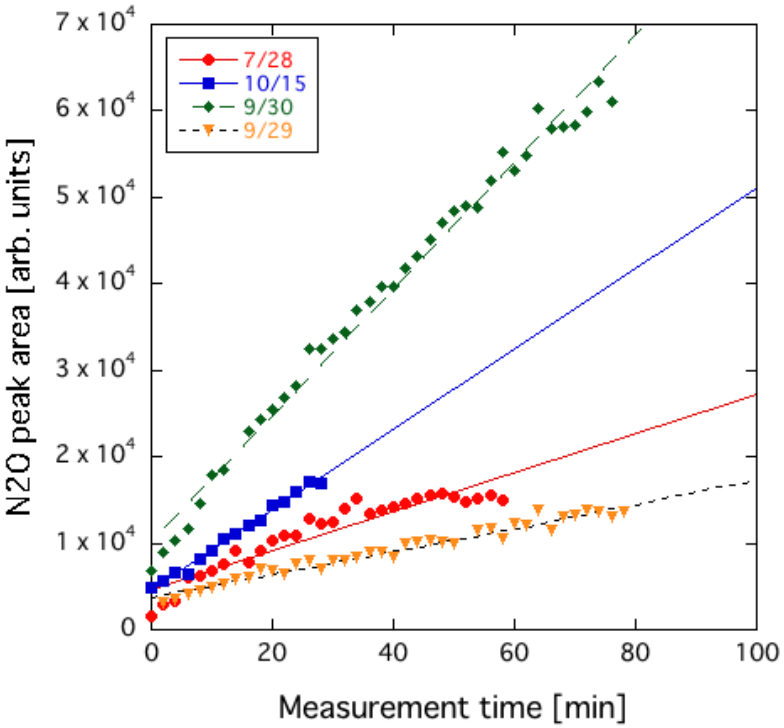

図 5.1: 異なる日に土壌試料を採取し, 測定した場合の N_2O 発生量の違い

図 5.1 の結果では測定回数が増加するにつれてガス放出量も比例して増加していた. 高頻度なガスサンプリングを行うことでフラスコ内が真空になり, 土壌サンプルから余分なガスが放出され, 正確な量を知ることができない可能性がある. そこで, 図 5.1 における N_2O の放出量の増加がフラスコ内の減圧による影響であるかを調査した. 測定条件は表 5.1 の通りとし, 2 分間隔で 150 分間測定を行った. ただし測定開始 30 分から 120 分の間は測定を行わず, 120 分後から再び 30 分間測定を行った. 測定結果を図 5.2 に示す. 図 5.2 より, 測定開始から 120 分後には測定開始 30 分後に測定して得られた放出量よりも増加しており, 増加割合には線形性があった. 測定を行わなかった 90 分間は減圧され続けていなかったため, その間では土壌から余分なガスが放出されなかったと考えられる. よって, 放出量の増加はバクテリア由来であることが示唆された.

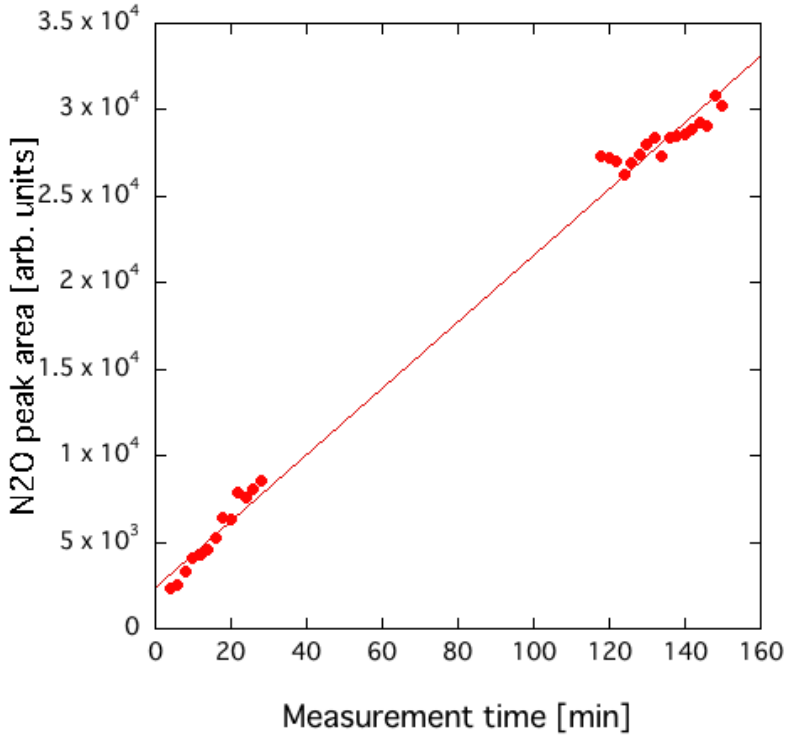

図 5.2: バクテリアの活動による N_2O 放出量上昇の様子

次に, バクテリアの活動が硝酸の添加によって活発になるかどうかについて評価した. 比較として, 硝酸を添加しない土壌を試料として用い, 硝酸を加えた場合と同様に N_2O が発生するかどうかを調べた. サンプルは土壌を入れたフラスコを一晩培養したものと, 土壌に 0.05 %硝酸を加えて一晩培養したものである. 図 5.3 に硝酸を加えた場合と硝酸を加えない場合の N_2O 濃度変化の違いを示す. 測定条件は表 5.1 の通りとし, 測定時間は 2 分間隔に 30 分間とした.

硝酸を加えた場合のガス濃度変化は, 図 5.1 で得られた結果と同様に直線性のある増加を示した. 一方, 硝酸を加えなかった土壌からは N_2O の増加は見られず, 一定であった. これは, 硝酸を加えた土壌試料内では NO_3^- を利用した脱窒が活発に起きており, N_2O が生成されるためであると考えられる [30]. 従来の測定では 30 分間隔程度の濃度変化しか得ることができなかったが, 本システムを用いることで数分間隔で N_2O の濃度変化を測定することが可能になった.

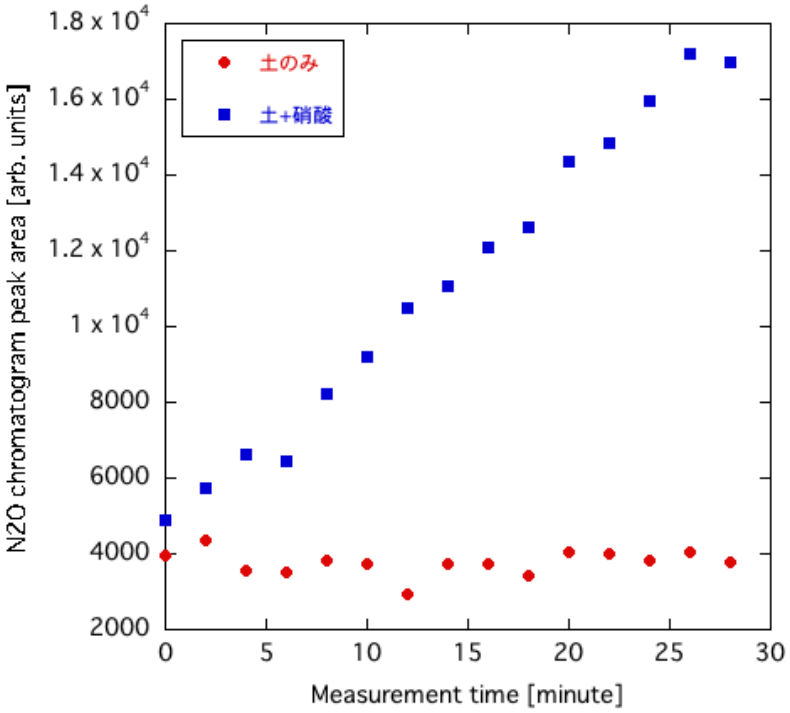

図 5.3: 硝酸添加の有無による N_2O 発生量の違い

N_2O が増加するその他の要因として降水や農地の灌漑が挙げられる [31]. そこで土壌試料に蒸留水を添加し, 濃度変化を調べた. 突然の降水を想定し, 測定開始 20 分後に蒸留水を添加して N_2O の濃度変化を測定した. 測定条件は表 5.1 の通りとし, 測定時間は 4 分間隔で 90 分間とした.

図 5.4 に測定結果を示す. 水を添加する前の 20 分間は濃度が一定であるが, 蒸留水を添加した直後から濃度が急激に増加した. 蒸留水添加によって土の隙間が水で満たされ, 嫌気状態の部位が生じ, 脱窒が進んだ可能性がある [32].

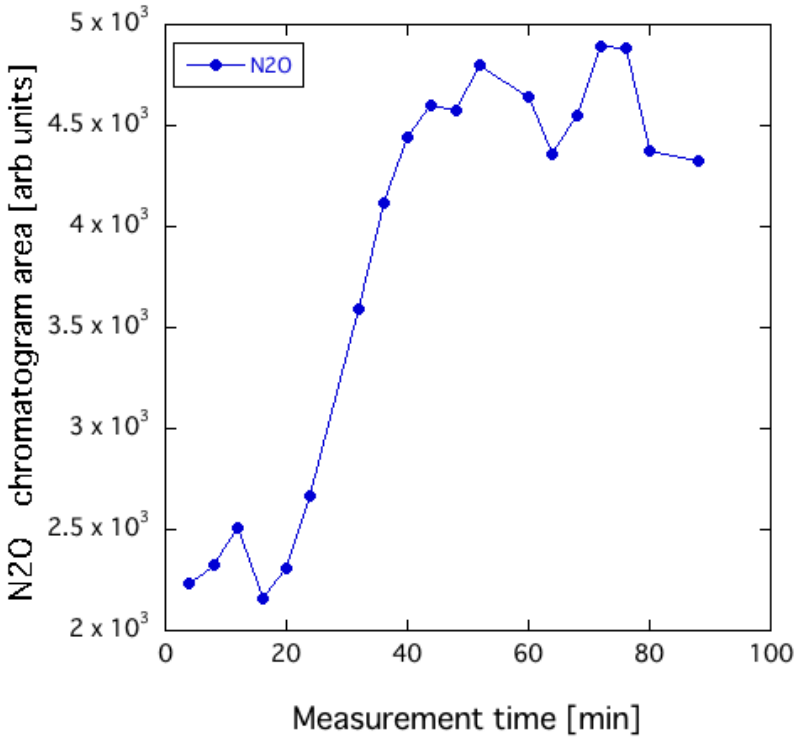

図 5.4: 測定開始 20 分後に水を添加した際の N_2O 濃度変化

5.4 長時間ガス測定

5.3 で行った実験の測定時間は最長でも 2 時間程度であった. 本節ではより長時間の測定, ならびに複数ガスの測定を行い, これまでよりも詳細なデータを得ることを試みた. 土壌サンプルとして, 北海道大学農学研究院で実際に使用されている土壌を用いて計測を行った.

土壌試料 3 g に蒸留水 2.1 mL を加えて培養した. また測定対象としたガスは CO_2, N_2O , N_2, O_2 で, 蒸留水を添加する前に 4 時間おきに 6 回, 添加前 30 分間は 5 分おきに 6 回, 添加後 90 分間は 5 分おきに 16 回, その後 1, 2, 3, 6, 10, 22, 26, 30, 34, 49 時間後にそれぞれ 1 回ずつ計 75 時間計測を行った. フラスコ内はサンプル採取に伴い減圧されるため, 採取された量だけ大気を導入し, 常に大気圧を保つ仕組みとなっている. フラスコはガス採取口, 大気導入口, 水導入口から構成されており, 使用したフラスコを図 5.5 に示す. 実験条件を表 5.2 に記す. 条件が異なるため, N_2, O_2 と CO_2, N_2O を交互に測定した.

	N_2, O_2	CO_2, N_2O
イオン化電圧	60 V	60 V
フィラメント電流	3.6 A	4.2 A
検出器電圧	2700 V	3300 V
V_{push}	1713 V	1713 V
V_{float}	1695 V	1695 V
質量範囲	21.6~31.4	43.58~44.42
積算数	100 回	100 回
周回数	2	50

表 5.2: MULTUM-S II のパラメータ

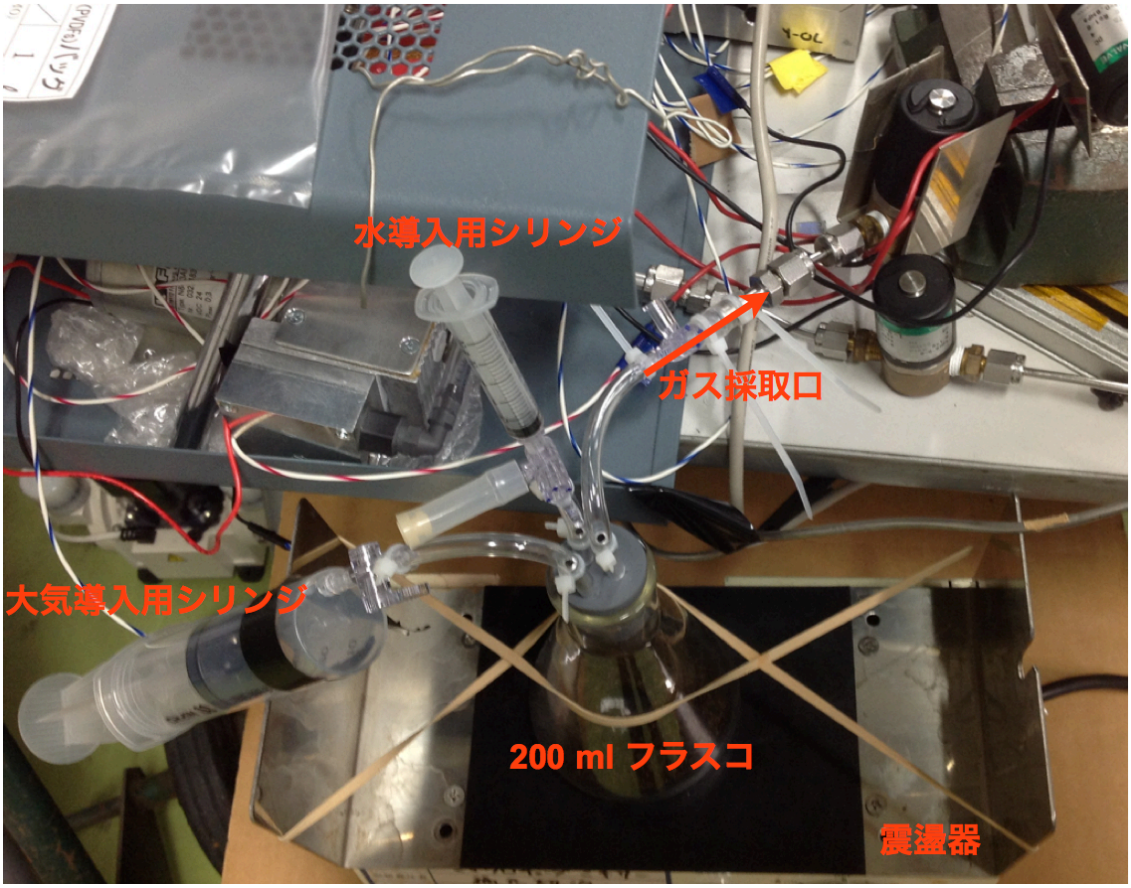

図 5.5: 測定に使用した培養器の写真

3 日間の測定で得られた N_2, O_2 の濃度変化についての結果を図 5.6 に, CO_2, N_2O の濃度変化についての結果を図 5.7, 5.8 にそれぞれ示す. 縦軸は既知濃度の試料 (大気, 30 ppm N_2O, 及びそれらを高純度 He を用いて 10 分の 1 希釈したもの) を用いてピーク面積から濃度へと変換して表している. 図 5.6 より, 水を加えた直後は N_2, O_2 濃度が大きく変動していることがわかった. これは, 水へ気体が溶解したことが原因であると考えられる. 一方で水添加後 2 時間 (26.5 時間) 以降は濃度変動が安定していることがわかった. 図 5.7 は CO_2 の濃度変化を表しており, 図 5.6 の結果と同様に水添加直後の濃度変動が大きい. しかし, 26 時間 (水添加後 1.5 時間) から 48 時間までは顕著なガス濃度の増加が見られ, その後 48 時間から 75 時間の間で濃度が一定となっていることがわかった. 図 5.8 は N_2O の濃度変化を表しており, 水添加後から 11.5 時間後には 10 ppm 程度まで急激に増加していた. この間で脱窒が進んだと考えられる. その後は CO_2 と同様に濃度の増加は一定となっている.

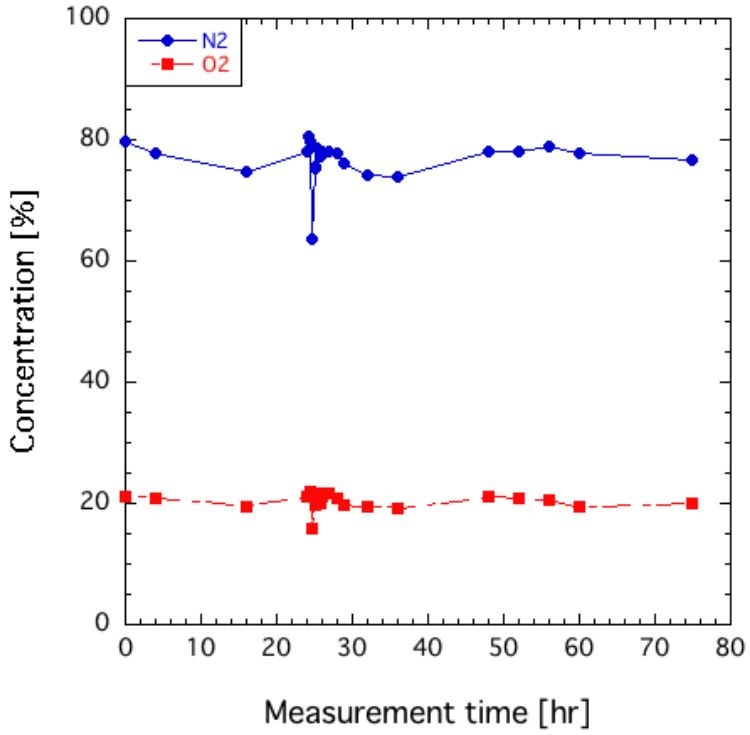

図 5.6: N_2 と O_2 の長時間計測結果

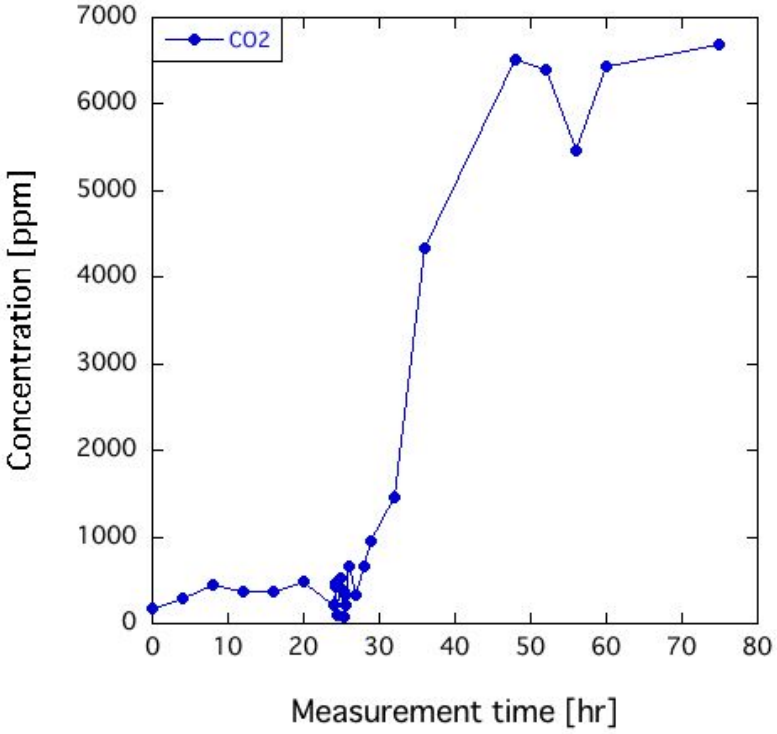

図 5.7: CO_2 の長時間計測結果

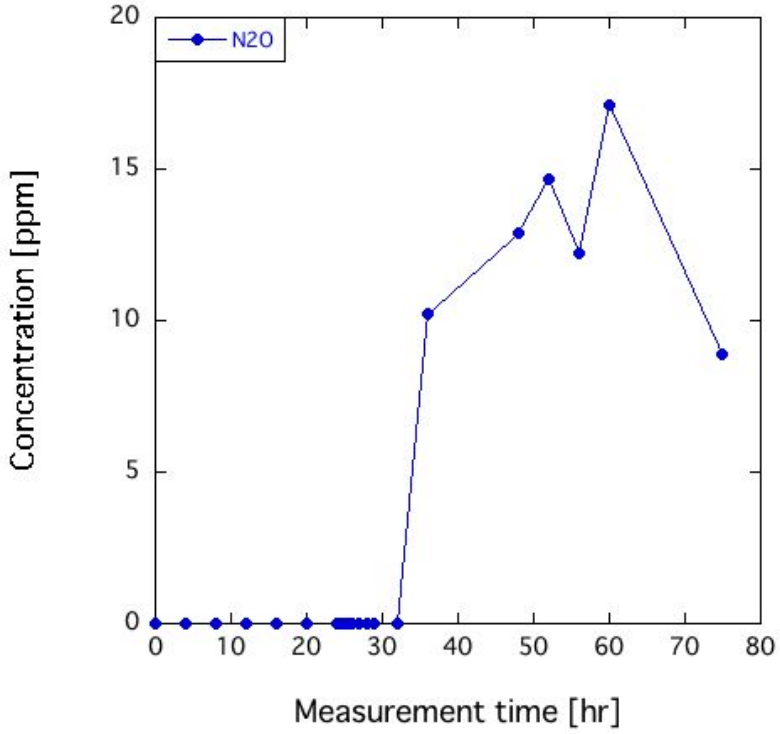

図 5.8: N_2O の長時間計測結果

土壌から発生するガスの量を表すためにフラックスと呼ばれる単位を用いる．フラックスは土壌表面にチャンバーをかぶせ, 一定時間毎のチャンバー内部の濃度変化を測定して求めるものである [8]．フラックスの式は以下のように定義できる．

$$F = \rho \times \frac{V}{S} \times \frac{\Delta c}{\Delta t} \times \frac{273}{T} \tag{5.1}$$

ρ はガスの密度 (kg/m^3), V はチャンバー内の容積 (m^3), S はチャンバーの底面積 (m^2), Δt は測定間隔 (hr), Δc は濃度変化 (ppm), T はチャンバー内の温度 (K) である．図 5.7, 5.8 の濃度変化を利用し, 実際に CO_2 と N_2O のガスフラックスを計算した．計算に用いた値は CO_2 中に含まれる C の密度を 1.258×10^{-6}, N_2O に含まれる N の密度を 1.258×10^{-6}, $\frac{V}{S}$=0.04, T=297 とし, $\frac{\Delta c}{\Delta t}$ は図 5.7, 5.8 の測定結果から計算した．図 5.9 に測定開始 32 時間後から 75 時間後までの CO_2 のフラックスを x 軸, N_2O のフラックスを y 軸に計 6 点プロットしたグラフを示す．

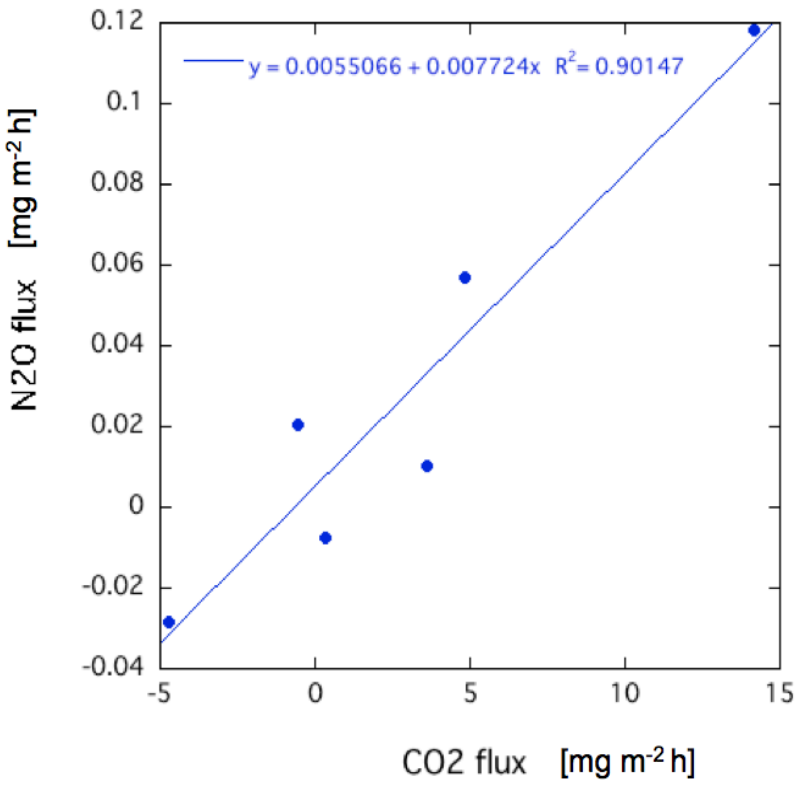

図 5.9: CO_2 と N_2O フラックスの関係

図 5.9 より, CO_2 と N_2O の放出量には正の相関が見られた. CO_2 と N_2O の放出量の相関については正になることが報告されており, 降水量や気温とガス放出量の相関についても調査が行われている [33].

現状の問題点として, 長時間の測定を行うことで, 4.4.3 で述べたピーク強度の減少が見られた. それを防ぐために定期的に既知濃度ガスを MULTUM-S II へと導入し, 濃度のキャリブレーションを行う必要がある. キャリブレーションを行うことでより精度の良い測定を行い, より詳細なガス相関を得ることが可能になると期待できる. 今後は現場での測定を視野に入れた装置の安定性の評価を行い, 制御システムの自動化を行う必要があると考える.

第6章　まとめと今後の課題

大気分析を必要とする現場で測定を行うことが要求されている. 装置に必要とされる性能は小型であり, 一つの装置で複数のガスを高頻度に計測し, それらの相関を得ることである. 当研究室で開発された小型マルチターン飛行時間型質量分析計はこれらの要求を満たしているため, 本研究では MULTUM-S II を用いた土壌から発生するガスの増減をリアルタイムに計測する技術開発を行った.

第2章では, ガス分析を行う上で必要なガスクロマトグラフィー/質量分析 (GC/MS) の概要ならびに高質量分解能を活かした新たな分析手法を提案した. 従来の GC/MS よりも測定時間を短縮することができ, 高頻度な測定につながる.

第3章では小型マルチターン飛行時間型質量分析計 MULTUM-S II の説明ならびに, 試料ガスを連続的に導入するためのガスオートサンプラーの製作を行い, ガスモニタリングシステムを構築した.

第4章では, 第3章で開発したモニタリングシステムを用いて試料ガス (CO_2, N_2O, CH_4, N_2, O_2) の定量と性能評価を行った. 今回開発したモニタリングシステムでは1分以内に複数のガスを ppb から ppm レベルの濃度で検出することができた.

第5章では, モニタリングシステムを用いて土壌から発生するガスの長時間計測を行った. 結果として, 複数のガス濃度変化を得ることができ, ガス発生メカニズムの解明を行う上で有用であることを示した. 一方, 長時間の測定に伴う装置の安定性の評価, 電圧条件の自動制御化などの課題も生じた. これらの課題を解決することにより, 実際に現場でのリアルタイム計測を行うことができると考えられる.

参考文献

[1] S. Shimma, H. Nagao, J. Aoki, K. Takahashi, S. Miki, M. Toyoda, *Anal.Chem.*, **82**, 8456 (2010).

[2] R. Conrad, *Microbiol.Rev.*, **60** 609 (1996)

[3] IPCC (intergovernmental Panel on climate Change), (2001). The Schientific Basis. Cambridge: Cambridge University Press.

[4] A. R. Ravishankara, John S. Daniel, Robert W. Portmann, *Science*, **123** 326, 123 (2009).

[5] M. Hayatsu, K. Tago, M. Saito, *SoilSci.PlantNutr.*, **54** 33 (2008).

[6] J. Wijler, C. C. Delwiche, *PlantSoil*, **5** 155 (1954).

[7] J. M. Bremner, A. M. Blackmer, *Science*, **198** 4326, 295 (1978).

[8] Y. Toma, R. Hatano, *SoilSci.PlantNutr.*, **53** 198 (2007).

[9] H. Akiyama, H. Tsuruta, T. Watanabe, *Chemosphere.*, **2** 313 (2000).

[10] J. Kim, S. B. Verma, *Biogeochemistry.*, **18** 37 (1992).

[11] P. Ineson, P. A. Coward, U. A. Hartwig, *PlantSoil.*, **198** 89 (1998).

[12] K. Isobe, K. Koba, S. Ueda, K. Senoo, S. Harayama and Y. Suwa, *J.Microbiol.Methods*, **84**, 46 (2011).

[13] D. Ekeberg, G. Ogner, M. Fongen, E. J. Joner and T. Wickstrom, *JEnvironMonit*, **6**, 621 (2004).

[14] L. Molstad, P. Dorsch, L R. Bakken, *J.Microbiol.Methods*, **71**, 202 (2007).

[15] W. Yuesi, W. Yinghong, *Adv.Atmos.Sci.*, **20**, 842 (2003).

[16] S. Shimma, S. Miki and M. Toyoda, *JEnvironMonit*, **14**, 1664 (2012).

[17] W. P. Poschenrieder, *J.MassSpectrom.andIonPhys.*, **9**, 357 (1972).

[18] M. Toyoda, M. Ishihara, S. Yamaguchi, H. Ito, T. Matsuo, R. Roll and H. Rosenbauer, *J.MassSpectrom.*, **35**, 163 (2000).

[19] M. Toyoda, D. Okumura, M. Ishihara and I. Katakuse, *J.MassSpectrom.*, **38**, 1125 (2003).

[20] D. Okumura, M. Toyoda, M. Ishihara and I. Katakuse, *J.MassSpectrom.*, **39**, 86 (2004).

[21] T. Ichihara, S. Uchida, M. Ishihara, I. Katakuse, and M. Toyoda, *J.MassSpectrom.Soc.Jpn.*, **55**, 363 (2007).

[22] W. C. Wiley, I. H. McLaren, *Rev.Instr.*, **26**, 1150 (1955).

[23] B. A. Mamyrin, V. I. Karataev, D. V. Shmikk, and V. A. Zahulin, *ZhurnalEksperimental'noiiTeoreticheskoiFiziki*, **64**, 82 (1973).

[24] M. Ishihara, M. Toyoda, T. Matsuo, *IntJMassSpectrom*, **197**, 179 (2000).

[25] http://www.gls.co.jp/product/gc_devices/00041.html

[26] H.Matsuda, *RevSciInstrum*, **32**, 850 (1961).

[27] *NISTChemistryWebBook* (http://webbook.nist.gov/chemistry/)

[28] W. Schänzzer, P. Delahaut, H. Geyer, M. Machnic, S. Horning, *J.Chromatogr.B*, *Biomed.Appl.* **687**, 93 (1996).

[29] Y. Hashidoko, F. Takakai, Y. Toma, U. Darung, L. Melling, S. Tahara, R. Hatano, *SoilBiol.Biochem.*, **40**, 116 (2008).

[30] J. Jo, S. Yoshida, R. Kayama, *J.Japan.Grassl.Sci.*, **30**, 343 (1985).

[31] C. Liu, X. Zheng, Z. Zhou, S. Han, Y. Wang, K. Wang, W. Liang, M. Li, D. Chen, Z. Yang, *PlantSoil*, **332**, 123 (2010).

[32] J. R. Freney, O. T. Denmead, J. R. Simpson, *SoilBiol.Biochem.*, **11**, 167 (1979).

[33] Y. Toma, D.Kimura, H. Yamada, Y. Hirose, K. Fujiwara, K. Kusa, R. Hatano, *SoilSci.PlantNutr.*, **56** 663 (2010).

謝辞

本研究を行うにあたって, 多くの方々から多大なるご支援, ご指導を頂きました. 心より感謝致します. 指導教員の豊田岐聡先生には本研究テーマを与えて頂き, 質量分析の基礎から論文執筆に至るまで終始懇切丁寧なご指導を賜りました. 石原盛男先生と青木順先生には実験結果に関する多くの助言を頂きました. 研究室の皆さまには毎日の研究生活でお世話になりました.

また, 国立がん研究センターの新間秀一先生には実験結果に関する助言を頂き, 学部時代は装置ならびに実験方針に関することでご指導をして頂きました. 北海道大学農学研究院の波多野隆介先生には N_2O ガス測定の際に土壌試料を提供して下さりました. 愛媛大学農学部の当真要先生には土壌培養に関することをはじめ, 土壌学に関するあらゆる知識を教えて頂きました.

最後に, 本研究内容で質量分析総合討論会, シンポジウムで発表する機会を与えて下さったことに深く感謝致します.