

土壤中における重水の挙動追跡法

誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
巻/号	603
掲載ページ	p. 197-202
発行年月	1989年6月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



土壌中における重水の挙動追跡法*

分析の精度と試料調整法

佐久間敏雄**・倉持寛太**・斉藤英樹**・増谷雪雄**
望月美千代***・森下諦三***

キーワード 安定同位体, 重水, トレーサー, 定量精度

1. はじめに

土壌-植物系における水の分配と循環は陸上のエネルギーと物質の循環を支配する重要な現象である。これを詳細に研究するためには、系内における水の挙動をよく再現するトレーサーが必要である。従来、 Cl^- やある種の色素がこの目的に広く用いられてきた。 $^3\text{H}_2\text{O}$ は優れたトレーサーとして室内実験にはしばしば用いられたが、 ^3H の放射性のために野外実験には不向きであった。

重水 (HDO) をこの目的に利用する試みは古くからあったが、分析精度・試料の必要量等に制約があり、広く用いられるには至らなかった。近年、少量の試料で重水濃度を迅速に精度よく測定する TCD-ガスクロマトグラフィー¹⁻³⁾ が実用化され、これを野外のトレーサー実験に利用する可能性が開かれた。この報告の目的は、自然存在率付近の低濃度域における TCD-ガスクロマトグラフィーの分析精度を明らかにするとともに、野外におけるトレーサー実験に重水を用いるための試料採集および精製法について検討することにある。

2. TCD-ガスクロマトグラフィーによる重水濃度の測定

この方法¹⁻³⁾ は、第 1 図の流れおよび条件に従って重水濃度を測定する。装置は、水素供給装置、自動試料注入部、本体部、データ処理部よりなる。本体部は TCD を検出器としたガスクロマトグラフに触媒カラム、感度を上げるための増幅器およびモレキュラシーブ分離カラムの再生用エージング・ボックスを付加した測定部で、自動試料注入部、データ処理部と組み合わせることによって D/H 比の自動分析を可能にしたものである。水素供給装置としては、通常、市販超高純度水素ガスボンベ

を用いる¹⁾ が、電気分解で発生した水素をパラジウム膜透過によって精製して高圧超高純度水素を供給する装置 (商品名ハイロン) を用いることもできる。ハイロンの原水として軽水を使用することにより、バックグラウンドを低めて自然存在率付近の低濃度の重水を定量できる。なお、本報告では D/H 比を ppm 表示した値を D 濃度の指標として用いた。

3. 低濃度域における TCD-ガスクロマトグラフィーの定量精度

実験 1：低濃度域の較正曲線

目的：低濃度域における較正曲線の性質と精度を検討する。

方法：キャリアーガスとして市販超高純度水素 (D/H = 28 ppm) と軽水 (D/H = 11 ppm) 電解水素を用いていろいろな濃度の重水試料を反復測定した (反復数 5 × 8 以上)。

結果：得られた較正曲線を第 2 図に示す。この結果から次のことが明らかである。すなわち、超高純度水素、軽水電解水素とも、100~1000 ppm の範囲で D/H を精度よく定量できる。また、キャリアーガスの D 濃度にかかわらず決定係数は 0.9999 以上で、較正曲線はよい直線性を示す。ピーク高の 95% 信頼区間幅はキャリアーガスの D 濃度が低いほうが狭く、精度が向上している。ピーク高の信頼区間から D/H 決定の信頼幅を求めると、最小 ± 0.9 ppm, 最大 ± 2.8 ppm である。とくに軽水電解水素をキャリアーガスとして使用した場合は、信頼幅は ± 0.9 ~ ± 1.2 ppm の範囲にあり、低濃度域における精度が高い。

実験 2：繰返し精度と再現精度

目的：低濃度域において、連続した反復測定と日を変えた測定の結果を比較し、長期間にわたる測定の安定性 (ここではこれを再現精度という) を明らかにする。

方法：D/H 約 150, 200, 250 ppm の 3 種の試料について、日を置いて 4 回、1 回 5 反復の測定を行い、HD

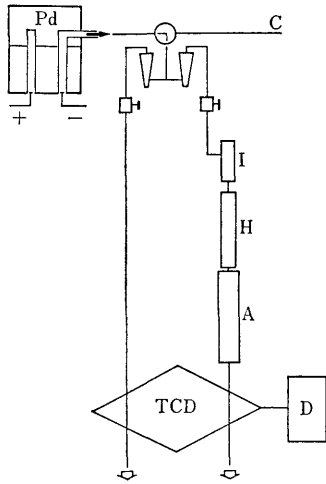
* 土壌中の水移動解析における重水の利用 (第 1 報)

** 北海道大学農学部 (060 札幌市北区北 9 条西 9 丁目)

*** 昭光通商 (株) 電子材料部 (105 東京都港区西新橋 3-8-3)

1988 年 10 月 20 日受理

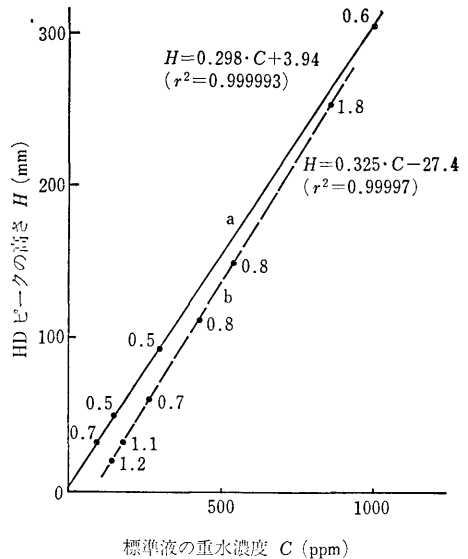
日本土壤肥科学雑誌 第 60 巻 第 3 号 p.197~202 (1989)



第1図 重水分析計のフローダイアグラム
Pd, 水素供給装置 (パラジウム透過・電解); I, インジェクタ (オートサンプラ); H, "Hokko pac" 触媒カラム; A, 水蒸気分離カラム; TCD, TCD 検出器; D, データ処理装置; C, コンプレッサまたは高圧ガスボンベ.

ピークの高さについて分散を調べた。

結果：第1表に示したこの実験の結果から、次のことがわかる。キャリアーガスのD濃度が28 ppmの場合、反復の l.s.d. は ±0.5 ~ 1.8 mm で、平均値間の差は濃度156, 254 ppm で有意である。これに対し、軽水電解水素を用いたときは、反復の l.s.d. は ±1.2 mm 以下で、



第2図 低濃度域における TCD-ガスクロマトグラフィーの較正曲線

H, HD ピークの高さ; C, 標準液の重水濃度; a, キャリアーガスとして市販超純度水素ガス (D/H=28 ppm) を用いた; b, キャリアーガスとして軽水電解水素 (原水 D/H=11ppm) を用いた。a, b の各測点に付した数値は $t_{0.05}$ 信頼区間幅 (両側) である。

平均値間の差は確率95% でいずれも有意ではない。このピーク高の変動から計算すると、濃度決定の精度は前

第1表 低濃度域の反復精度と再現性

C (ppm) ^a	HDピーク高 (mm) ^b						平均平方 ^c	分散比 ^d
	1	2	3	4	総平均			
キャリアーガス：超純度水素ガス								
156	平均	22.3	23.6	23.3	22.3	22.9	2.28	5.17*
	l.s.d.	0.69	0.69	0.67	1.15		0.441	
204	平均	38.3	37.9	38.3	39.2	38.4	1.51	1.65
	l.s.d.	1.76	0.82	1.14	0.75		0.915	
254	平均	54.8	56.1	54.5	55.5	55.2	2.57	7.18**
	l.s.d.	0.69	1.08	0.50	0.57		0.359	
キャリアーガス：軽水電解水素ガス								
156	平均	50.3	50.3	50.2	50.7	50.4	0.246	1.05
	l.s.d.	0.79	0.41	0.32	0.84		0.259	
204	平均	66.1	65.2	65.4	65.0	65.4	1.15	2.71
	l.s.d.	0.39	0.99	1.10	0.52		0.423	
254	平均	79.6	80.0	80.0	78.9	79.6	1.35	3.16
	l.s.d.	0.29	0.58	1.20	0.87		0.425	

^a C : D/H(ppm), HD ピークの総平均から第2図により求めた。

^b 数字1~4は日を変えた測定番号, 各濃度に対応する平均および l.s.d. は5反復の平均および確率95%の片側信頼幅, 総平均の項は5反復×4回の平均値を示す。

^c 上段：標本平均の平均平方, 下段：反復の平均平方。

^d * 確率95%で平均値間に有意差あり, ** 確率99%で平均値間に有意差あり, 他は有意差なし。

者で $\pm 1.5 \sim 5.5$ ppm, 後者では $\pm 1.0 \sim 4.0$ ppm となる。とくに, 後者は天然存在率付近での変動が小さく, この領域における定量精度を高めるうえで有利である。

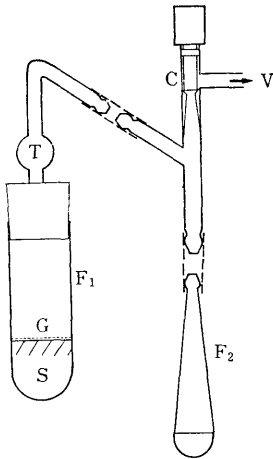
4. 試水の分離・精製

実験3：減圧蒸留法の検討

目的：土壌水の D/H を精度よく測定するためには, 土粒子から水を分離するとともに, 溶存塩類やその他の狭雑物を除去する必要がある, このために減圧蒸留による試水の精製が行われる。この実験の目的は, 森下・野田¹⁾, 鈴木ら²⁾の減圧蒸留による試水の分離・精製法を検討し, 多数・多量の試料を迅速に処理できるように改良することにある。

方法：森下・野田の原法による真空蒸留装置を用いた精製法と第3図のように改良した装置による精製法を比較して, 主として効率面から検討を加えた。

結果：原法では F_1 , F_2 として同じ細首丸底フラスコを用いているが, 次の点で能率が悪かった。すなわち, F_1 の細首フラスコは容量が不十分で, 蒸発面積が小さいために蒸留に時間がかかった。また, F_1 の頸部が狭いため, 粒状あるいは塊状構造の湿潤な試料を用いる場合は, サンプルの細片化に予想外に時間を要し, またその過程における蒸発損失も無視できなかつた。さらに, 頸部を狭くすることによって, 突沸による土粒子の F_2 側への移行を防止することは不可能であった。蒸



第3図 真空蒸留装置

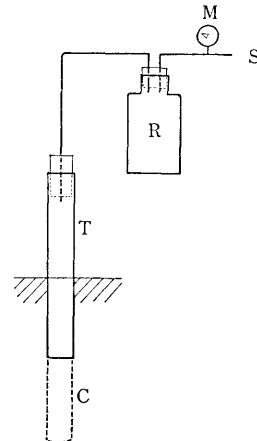
S, サンプル (土壌または土壌溶液); F_1 , サンプル用フラスコ (内径 35 mm, 容積 45 mL); G, ガーゼまたは脱脂綿フィルタ; T, トラップ (グラスウール); C, テフロン真空コック; F_2 , 精製水用フラスコ (最大径 27 mm, 長さ 116 mm); V, 真空ポンプ。

留の過程で水蒸気の一部が F_1 の頸部に結霜し, 昇華・蒸留の能率を低下させた。 F_1 を大きくすることによって上記の欠点がなくなり, フラスコと土粒子の接触面積, 蒸発面積が増加して効率は著しく改善された。一方, 蒸発過程における土粒子の F_2 への移行は著しくなった。これを防止するためにグラスウールを充填したトラップ T を設けたが, 不十分であった。現在では, F_1 内のサンプル表面を乾いたガーゼで薄く覆って蒸留する方法を採用してよい結果を得ている。

実験4：野外における試水の採取 (テンションライシメータ法)

目的：添加した重水の挙動を野外で継続観測するための試料採取法として, 土壌サンプルを採取し, これから直接真空蒸留することによって分析用水試料を得る。土壌中に集水盤等を埋設して重力水を採取する。テンションライシメータを用いて重力水・低吸引圧毛管水を採取する, 吸湿材を土中に埋設しておき, 定期的に取り出して真空蒸留法によって試料を調整するなどの方法が考えられる。

土壌サンプルを採取する方法は, 確実な方法ではあるが³⁾, 土壌を乱す結果, 同一箇所から試料を採取できないこと, このためにかなり大きなサンプリング誤差が生ずると予想されることなどのために, 長期間にわたる野外実験には不相当である。吸湿材を用いる方法については, シリカゲルと吸湿性樹脂 (ポリアクリル酸塩など) を供試した予備実験の結果, 吸湿材と土壌の接触の保持, 吸湿材からの試水の分離等に難点があることがわか



第4図 テンションライシメータ概略図

C, テンシオメータ用 ポーラスカップ; T, テンシオメータ; R, リザーバ (500 mL 肉厚ガラス瓶); M, 真空計; S, 吸引装置 (Nalgene 手動式または電動式)。

第 2 表 テンションライシメータ法による土壤水の採取とその際の同位体効果

吸 引 圧 (mmHg)	D/H S ^a (ppm)	水 分 率 (cm ³ /cm ³)	抽 出 速 度 (cm ³ /h)	D/H(A) ^b (ppm)	D/H(B) ^c (ppm)	A/B ^d	
610	142	0.550	16.3	142.3±2.8	144.8±2.1	0.982	
	142	0.504	9.3	142.0±1.4	144.1±1.4	0.985	
	142	0.436	1.0	142.1±2.1	143.9±1.6	0.987	
	188	0.534	16.0	188.2±1.3	190.6±2.5	0.987	
	188	0.497	6.0	188.8±2.8	192.1±2.2	0.983	
	189	0.480	8.0	189.4±1.7	192.4±1.0	0.984*	
	190	0.462	2.0	190.9±1.0	196.3±2.0	0.972*	
	188	0.438	3.0	188.0±1.1	195.4±2.2	0.962*	
	185	0.407	0.1	185.0±1.0	185.8±1.6	0.996	
	185	0.371	0.2	185.2±2.0	188.2±1.9	0.984	
	>750	670	0.459	40	669±2.9	676±1.4	0.990*
		725	0.367	40	725±2.9	732±1.9	0.990*
		600	0.354	24	608±2.2	661±2.2	0.920*
600		0.303	4	588±1.6	644±2.4	0.913*	

^a 添加時の D/H(ppm) 計算値.

^b 土壤サンプルを直接真空蒸留して得た土壤溶液の D/H(ppm) およびその95%信頼幅.

^c テンションライシメータ抽出水の D/H(ppm) およびその95%信頼幅.

^d * 95%水準で有意差あり.

った。したがって、現段階では、重力水採取法とテンションライシメータ法の併用が最適と判断した。

重力水採取法は、自然流出水を採集するので問題はないが、テンションライシメータ法については、一定箇所に埋設した多孔質カップを通して減圧下で試水を分離するため、1)高吸引圧水を採取できないことによりサンプルに偏りが生じないか、2)長時間の高減圧下の抽出では、蒸発に伴う同位体効果⁶⁾が偏りをもたらすおそれはないか、3)多孔質カップの濾過に際しての同位体効果は問題ないか、4)サンプリングエリアは十分広いかなどの問題がある。したがって、その適用限界および適用の際の同位体効果を明らかにしておく必要がある。

方法：第4図の装置によって土壤水を採取した。テンションライシメータのポーラスカップとしてはテンシオメータ用カップを用いた。

土壤試料(豊平壇壤土⁴⁾)の水分率が pF 2.6~1.4 相当になるように調整した後、容積約 1 l (内径 12cm) のポットに均一に充填し、これにポーラスカップを埋設した。ポット上部をアルミフイルで覆い、テンションライシメータ系を減圧にして放置し、必要量の水がポーラスカップ内に取り込まれた後、抽出された試水(以下単に抽出水という)を採取した。所要時間、抽出水量を記録し、同時にポット内の土壤試料を内径約 10 mm のコルクボーラーを用いて3反復で採集した。採取した抽出水および土壤サンプルは第3図の装置によって真空蒸留して D/H 比の分析に供した。

結果：結果を第2表に示した。この結果から次のことがわかる。抽出水の D/H は土壤サンプルを直接蒸留して得られた土壤溶液の D/H よりわずかに高い値を示す。両者の差は 95% 水準で有意なこともあるが、有意差が認められない場合も多い。この差は土壤溶液 D/H のレベルとは無関係で、土壤溶液 D/H : 抽出水 D/H の比は、水分率約 0.37cm³/cm³ (pF=2.5 相当) 以上の場合については、0.98 以上であり、水分率に依存しない。また、テンションライシメータ作動限界付近の水分率 (pF>2.5) では、抽出に長時間を要し、濃度比が著しく低下することがある。テンションライシメータの内部圧を低くすれば、抽出速度は早くなるが、測定結果の変動が著しくなる。

5. 考 察

重水を野外実験のトレーサーとして用いる場合、既存の土壤水や雨水による希釈が著しく、トレーサーの重水濃度は短時間で自然存在率に近づく。また、土層内分布を経時的に調べるために、多数のサンプルを同じ精度で分析する必要がある。泥炭地における圃場実験例によれば、添加重水の D/H が 2500 ppm のとき、試水のピーク濃度は 170~304 ppm で、土壤水の自然存在率 (143 ppm) に比べて十分高い値であったが、ピーク以外の分析値の多くは 147~170 ppm の範囲にあり、その下限濃度と自然存在率との差は 5~25 ppm にすぎなかった。したがって、この例では、室内分析の D/H 測定精度は

± 2 ppm 程度以内であるのが望ましい。また、土壌水の D/H は降雨のその変化などを反映して 140~155 ppm 程度の幅で変動する⁷⁾。この自然変動に着目して土壌水の挙動を追跡するとすれば、D/H の変動幅はさらに小さくなり、± 1 ppm 以内の分析精度を必要とする。実験 2, 3 の結果からみて、この精度を長期間にわたって維持するためには、慎重な分析管理を必要とする。軽水電解水素をキャリアガスとして用いた分析の繰返し精度は、ほぼ ± 1.2 ppm であり、分析日の違いによる結果の変動を抑えれば、上記の精度を実現できると推定される。泥炭地の圃場実験で得られたサンプルの分析に際しては、1 ロット (20 サンプル) について D/H 既知の標準サンプル 2 点 (143, 300 ppm) を加えた分析を行って変動を補正し、ほぼ満足すべき結果を得た。

テンションライシメータ法は、野外における土壌水の採取法として優れた方法である。これに関する実験結果は次のことを示している。すなわち、 $pF=1.4\sim 2.5$ の低吸引圧毛管水を主とする水分の多い状態では、抽出水と土壌溶液の D/H 差は小さかった。したがって、低吸引圧水を採取することによる誤差、試料の一部から試水を採取することによる誤差は大きくないと推定された。また、多孔質カップによる濾過効果も無視できる程度であった。なお、この点については自由水からの抽出実験によっても確認された。しかし、高吸引圧状態で長時間抽出する際には、D/H を高く見積もる系統的な誤差を生ずると考えられ、テンションライシメータ作動限界付近の土壌水分吸引圧 ($pF>2.5$) のときはこの影響がとくに顕著であった。このような条件下では、テンションライシメータ法は採水能率も悪く、実用的ではない。 $pF<2.5$ の条件でも、蒸発の同位体効果による誤差は生じていると考えられ、適当な係数を乗じて補正するほうがよい。今回の実験結果では、第 2 表の比 A/B の平均値は 0.982 となり、これを補正係数として用いるのが適当と思われる。この値は抽出条件によって変化しうるので、それぞれの条件に合った値をあらかじめ求めておく必要がある。

6. 要 約

以上の実験結果および考察はつぎのように要約できる。

- 1) 軽水電解水素ガスをキャリアガスとして用いることにより、検出下限を低く維持し、繰返し精度および再現精度を向上することができ、天然存在率以下の D/H を精度よく測定できる。
- 2) この場合、較正曲線は良好な直線性を示し、D/H

測定の信頼幅は、反復数 40 以上で 3 ppm 以内 (100~1000 ppm の範囲)、反復数 5 でも 8 ppm 以内 (100~260 ppm の範囲) であった。

3) 市販超高純度水素をキャリアガスとして用いる場合、較正曲線の直線性には問題はないが、繰返し精度・再現精度は、軽水電解水素ガスをキャリアガスとして用いたときよりやや悪かった。

4) 土壌サンプルを用いた直接真空蒸留にはサンプルフラスコを大容量にするのが効率的であり、精度を損うこともなかった。

5) テンションライシメータ法は土壌水の継続サンプリングに適しており、 $pF=2.5$ 相当程度以上の水分率で有用であった。抽出に伴う同位体効果はわずかではあるが認められ、補正の必要があった。

6) 圃場実験に際しては、土壌水による希釈が著しく、天然存在率付近から 300 ppm 程度までの D/H 範囲における測定が多くなり、高い再現精度が要求される。軽水電解水素ガスをキャリアガスとして用い、一連の測定ごとに 2 点較正することによって、測定日の違いによる誤差を補正して満足すべき結果を得た。

謝 辞 この研究は文部省科学研究費補助金 (試験研究 2) によって行ったものである。記して謝意を表する。

文 献

- 1) 森下諦三・野田茂行：ガスクロマトグラフ利用による重水の分析法とトレーサ利用、ライフサイエンスのための安定同位体利用技術、丸尾文治編、p.115~123、日本アイソトープ協会、東京 (1983)
- 2) 鈴木大助・寿松木章・栗原 淳：重水利用による土壌中の物質移動の解析、土肥誌、**53**, 467~470 (1982)
- 3) 森下諦三・野田茂行・丹 務・野口宏史：水-水素間同位体交換反応におけるステレンジビニルベンゼン系触媒の開発、重水素およびトリチウムの分離、中根良平・磯村昌平・清水正巳編、p.55~66、学会出版センター、東京 (1982)
- 4) 佐久間敏雄・飯塚文男・岡島秀夫：畑土壌における水分と無機塩類の挙動(第 1 報)、カラム中の水と塩素イオンの移動、土肥誌、**46**, 126~132 (1975)
- 5) ZIMMERMANN, U., EHHALT, D. and MUNNICH, K. O.: Soil water movement and evaporation: Changes in the isotopic composition of water. Proc. Symp. Isotopes in Hydrology, Vienna, p.567~584, IAEA (1967)
- 6) ALLISON, G. B., BARNES, C. J. and HUGHES, M. W.: The distribution of deuterium and ^{18}O in dry soils. 2. Experimental. *J. Hydrol.*, **64**, 377~397 (1983)
- 7) 佐久間敏雄・増谷雪雄・倉持寛太：天然水の重水天然存在率、土肥誌、**60**, 203~209 (1989)

Studies on the Methods for Tracing D₂O in Soils
Precision of Analysis and Methods for Sample Preparation

Toshio SAKUMA, Kanta KURAMOCHI, Hideki SAITO, Yukio MASUYA,
Michiyo MOCHIZUKI* and Taizo MORISHITA*
(*Fac. Agric., Hokkaido Univ., *Inst. Tech., Shoko Tsusyo Co., Ltd.*)

A series of experiments were conducted to ascertain the accuracy of D/H determination by applying a TCD-gas chromatography and to improve the methods of sample preparation for the determination. The sensitivity, repeatability, and reproducibility of D/H determination by the TCD-gas chromatography was significantly improved when low D/H hydrogen (LDH), which is supplied from a hydrogen generator fed by water of low deuterium content, was used as the carrier gas. The calibration curve was fitted very well by a straight line in the range of D/H from 100 to 1000 ppm and the least significant difference at confidence level of 0.05 was less than 3 ppm and 8 ppm in the cases of more than 40 and 5 replications, respectively. The reproducibility of D/H determination was also satisfactory, especially in the cases of low D/H samples near natural abundance. When commercial high-quality hydrogen was used as the carrier gas, the linearity of the calibration curve was satisfactory, but both repeatability and reproducibility were somewhat inferior compared with those obtained by using LDH.

In the direct distillation of soil samples to prepare water sample for the analysis, the efficiency of vacuum distillation apparatuses, which were proposed previously, was not satisfactory. The efficiency was improved significantly by using a larger distillation flask of more than 30 mm in inner diameter and the accuracy of determination was not influenced by the alteration. A tension lysimeter system was devised and tested to extract soil solution in the field experiments. It was concluded that the system was suitable when the soil water suction was less than about 0.3 bar. The isotope effect together with the extraction was not so significant, but some correction was recommended to compensate the reduction of D/H caused by the isotope effect.

In field experiments, tracer solution is diluted rapidly by soil water. The determinations, therefore, have to be performed in the low range of D/H from natural abundance to about 300 ppm and, moreover, high reproducibility is required to evaluate the time series of D/H change in soils. The reduction of background by using LDH as the carrier gas and frequent calibration (two standard samples for a lot of determinations) were recommended to maintain a satisfactory accuracy and reproducibility.

Key words stable isotopes, deuterium water, tracer, analytical accuracy

(Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr., 60, 197-202, 1989)