(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2016 年 9 月 9 日(09.09.2016)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2016/140254 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 21/3504 (2014.01) *G02F 1/37* (2006.01)
G01N 21/01 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2016/056390

(22) 国際出願日: 2016 年 3 月 2 日(02.03.2016)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2015-042749 2015 年 3 月 4 日(04.03.2015) JP

(71) 出願人: 国立大学法人名古屋大学 (NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION NAGOYA UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒4648601 愛知県名古屋市千種区不老町１番 Aichi (JP). 積水メディカル株式会社 (SEKISUI MEDICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1030027 東京都中央区日本橋三丁目１３番５号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 井口 哲夫(IGUCHI, Tetsuo); 〒4648601 愛知県名古屋市千種区不老町１番 国立大学法人名古屋大学内 Aichi (JP). 富田 英生(TOMITA, Hideki); 〒4648601 愛知県名古屋市千種区不老町１番 国立大学法人名古屋大学内 Aichi (JP). 西澤 典彦(NISHIZAWA, Norihiko); 〒4648601 愛知県名古屋市千種区不老町１番 国立大学法人名古屋大学内 Aichi (JP). 弘津 嵩大(HIROTSU, Takahiro); 〒4648601 愛知県名古屋市千種区不老町１番 国立大学法人名古屋大学内 Aichi (JP). 緩詰 聡士(YURUZUME, Satoshi); 〒4648601 愛知県名古屋市千種区不老町１番 国立大学法人名古屋大学内 Aichi (JP). 寺林 稜平(TERABAYASHI, Ryohei); 〒4648601 愛知県名古屋市千種区不老町１番 国立大学法人名古屋大学内 Aichi (JP). 大原 利成(OH-HARA, Toshinari); 〒1030027 東京都中央区日本橋三丁目１３番５号 積水メディカル株式会社内 Tokyo (JP). 井手野 晃(IDENO, Akira); 〒1030027 東京都中央区日本橋三丁目１３番５号 積水メディカル株式会社内 Tokyo (JP). 佐藤 淳史(SATO, Atsushi); 〒1030027 東京都中央区日本橋三丁目１３番５号 積水メディカル株式会社内 Tokyo (JP).

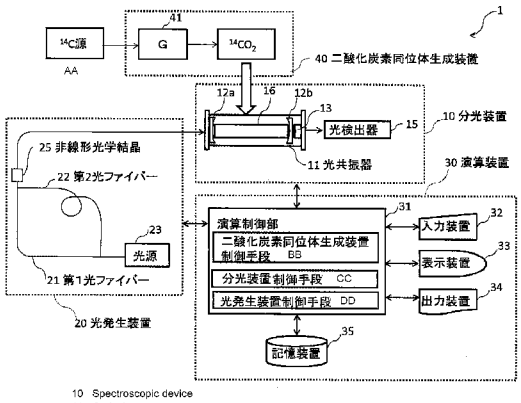
(74) 代理人: 特許業務法人 もえぎ特許事務所 (MOEGI PATENT OFFICE); 〒1050001 東京都港区虎ノ門二丁目７番７号 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,

[続葉有]

(54) **Title**: CARBON ISOTOPE ANALYSIS DEVICE AND CARBON ISOTOPE ANALYSIS METHOD

(54) 発明の名称 : 炭素同位体分析装置および炭素同位体分析方法



10 Spectroscopic device
11 Optical resonator
15 Optical detector
20 Light generation device
21 First optical fiber
22 Second optical fiber
23 Light source
25 Non-linear optical crystal
30 Calculation device
31 Calculation control unit
32 Input device
33 Display device
34 Output device
35 Storage device
40 Carbon dioxide isotope generation device
AA Carbon 14 source
BB Carbon dioxide isotope generation device control means
CC Spectroscopic device control means
DD Light generation device control means

(57) **Abstract**: A carbon isotope analysis device 1 is provided with the following: a carbon dioxide isotope generation device 40 provided with a combustion unit for generating a gas including carbon dioxide isotopes, from carbon isotopes, and a carbon dioxide isotope purification unit; a spectroscopic device 10 provided with an optical resonator 11 having one pair of mirrors and an optical detector 15 for detecting the intensity of transmission light from the optical resonator 11; and a light generation device 20 provided with one light source 23, a first optical fiber 21 for transmitting the light from the light source, a second optical fiber 22 for wavelength conversion that branches from the first optical fiber 21 and that merges at a merge point on the downstream side of the first optical fiber 21, and a non-linear optical crystal 25 that allows a plurality of light beams having different frequencies to pass, and due to such frequency differences, generates light of a wavelength that absorbs carbon dioxide isotopes. The carbon isotope analysis device 1 is simple, easy to use, and can also analyze carbon 14.

(57) 要約: 炭素同位体から二酸化炭素同位体を含むガスを生成する燃焼部、二酸化炭素同位体精製部を備える二酸化炭素同位体生成装置４０と；１対のミラーを有する光共振器１１、光共振器１１からの透過光の強度を検出する光検出器１５を備える分光装置１０と；１つの光源２３、光源からの光を伝送する第１光ファイバー２１、第１光ファイバー２１から分岐し第１光ファイバー２１の下流側の合流点で合流する波長変換用の第２光ファイバー２２、周波数が異なる複数の光を通過させることで周波数の差から二酸化炭素同位体の吸収波長の光を発生させる非線形光学結晶２５を備える光発生装置と２０；を備える炭素同位体分析装置１。炭素同位体分析装置１は簡易で使い易く ^{14}Cも分析可能である。

WO 2016/140254 A1

MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告（条約第 21 条(3)）

明　細　書

発明の名称 ： 炭素同位体分析装置および炭素同位体分析方法

技術分野

[0001] 本発明は、炭素同位体分析装置および炭素同位体分析方法に関する。より詳しくは、放射性炭素同位体^{14}Ｃ等の測定に有用な放射性炭素同位体分析装置および放射性炭素同位体分析方法に関する。

背景技術

[0002] 炭素同位体は、従来より炭素循環に基づく環境動態評価や年代測定による歴史学の実証研究など、文理に渡る広範な応用展開がなされている。炭素同位体は、地域・環境によりわずかに異なるものの、安定同位体元素である^{12}Ｃと^{13}Ｃはそれぞれ９８．８９％と１．１１％、放射性同位体^{14}Ｃは１×１０$^{-10}$％天然に存在している。同位体は重量の相違があるだけで、化学的には同じ挙動を示すため、存在比の低い同位体の濃度を人工的な操作により高くし、精度よく測定を行うことで様々な反応過程の観測が可能となる。

[0003] 特に、臨床の分野においては医薬品体内動態評価を行うために、標識化合物として、例えば放射性炭素同位体^{14}Ｃを生体に投与し分析することは極めて有用であり、例えばPhase Ｉ 、Phase IIａにおいて実際に分析されている。ヒトにおいて薬理作用を発現すると推定される投与量（薬効発現量）を超えない用量（以下「マイクロドーズ」ともいう）の標識化合物として、極微量の放射性炭素同位体^{14}Ｃ（以下、単に「^{14}Ｃ」ともいう）を人体に投与し、分析することは、体内動態の問題に起因する医薬品の薬効・毒性についての知見が得られるため、創薬プロセスにおける開発リードタイムを大幅に短縮するものとして期待されている。

[0004] 従来より提案されている^{14}Ｃ分析法としては、液体シンシチレーションカウンティング法（liquid Scintillation Counting、以下「ＬＳＣ」ともいう）と、加速器質量分析法（Accelerator Mass Spectrometry、以下「ＡＭＳ」ともいう）とが挙げられる。

ＬＳＣは、テーブルトップサイズの比較的小型な装置であるため簡便かつ迅速な分析が可能であるが、^{14}Ｃの検出限界濃度が１０ｄｐｍ／ｍＬと高いため臨床試験での使用に耐えうるものではなかった。一方、ＡＭＳは^{14}Ｃの検出限界濃度が０．００１ｄｐｍ／ｍＬと低く、ＬＳＣの^{14}Ｃの検出限界濃度の１０００倍以上低いため臨床試験での使用に耐えうるが、装置が大きくしかも高額であるためその利用が制限されていた。例えば日本国内にはＡＭＳは十数台しか設置されていないことより、試料分析の順番待の時間を考慮すると、１サンプルの分析に１週間程度の時間を要していた。そのため、簡易、かつ迅速な^{14}Ｃの分析法の開発が望まれていた。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：特許第３３９０７５５号公報

非特許文献

[0006] 非特許文献1：「I.Galli et al.,Phy. Rev. Lett.2011, 107, 270802」

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 上述の課題を解決する手段としていくつかの技術が提案されている（例えば、非特許文献１、特許文献１参照。）。

例えば非特許文献１では、I. Galliらにより、キャビティーリングダウン分光法（Cavity Ring-Down Spectroscopy、以下「ＣＲＤＳ」ともいう）による天然同位体存在比レベルの^{14}Ｃ分析の実証がなされ、その可能性が注目された。

しかしながら、ＣＲＤＳによる^{14}Ｃ分析が実証されたものの、利用された４．５μｍ帯レーザー光発生装置は極めて複雑な構造であった。そのため、より簡易で使い勝手のよい^{14}Ｃの分析装置及び分析方法が求められていた。

以上より、本発明は簡易で使い易く^{14}Ｃ分析可能な炭素同位体分析装置及び分析方法を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明は以下の内容に関する。

〈１〉炭素同位体から二酸化炭素同位体を含むガスを生成する燃焼部、二酸化炭素同位体精製部を備える二酸化炭素同位体生成装置と、１対のミラーを有する光共振器、光共振器からの透過光の強度を検出する光検出器を備える分光装置と、１つの光源、光源からの光を伝送する第１光ファイバー、第１光ファイバーから分岐し第１光ファイバーの下流側の合流点で合流する波長変換用の第２光ファイバー、周波数が異なる複数の光を通過させることで周波数の差から二酸化炭素同位体の吸収波長の光を発生させる非線形光学結晶を備える光発生装置と、を備える炭素同位体分析装置。

〈２〉二酸化炭素同位体精製部は、夾雑ガス分離部、二酸化炭素同位体の濃縮部の少なくとも一方を備える〈１〉記載の炭素同位体分析装置。

〈３〉炭素同位体は放射性炭素同位体^{14}Ｃであり、二酸化炭素同位体は放射性二酸化炭素同位体^{14}ＣＯ$_2$である〈１〉または〈２〉に記載の炭素同位体分析装置。

〈４〉光源は、光周波数コム光を発生する〈１〉～〈３〉に記載の炭素同位体分析装置。

〈５〉光源は、ファイバーレーザーである〈１〉～〈４〉のいずれか１つに記載の炭素同位体分析装置。

〈６〉二酸化炭素同位体の吸収波長を有する光は、４．５μｍ帯の光である〈１〉～〈５〉のいずれか１つに記載の炭素同位体分析装置。

〈７〉二酸化炭素同位体生成装置は、全有機炭素発生装置により炭素同位体から二酸化炭素同位体を生成するものである〈１〉～〈６〉のいずれか１つに記載の炭素同位体分析装置。

〈８〉第１光ファイバーは、光源から光共振器までつながる〈１〉～〈７〉のいずれか１つに記載の炭素同位体分析装置。

〈９〉第１光ファイバーは、光源から非線形光学結晶までつながる第１光ファイバーａと、非線形光学結晶から光共振器までつながる中赤外用の第１光

ファイバーｂと、を備える〈１〉～〈８〉のいずれか１つに記載の炭素同位体分析装置。

〈１０〉光発生装置は、非線形光学結晶から光共振器へ光を伝送する光伝送装置をさらに備える〈１〉～〈７〉，〈９〉のいずれか１つに記載の炭素同位体分析装置。

〈１１〉第１光ファイバーは、光源から非線形光学結晶までつながる第１光ファイバーａである〈１０〉に記載の炭素同位体分析装置。

〈１２〉光発生装置は、第１、第２光ファイバーの合流点と非線形光学結晶の間、および非線形光学結晶と光共振器の間、の少なくともいずれか一方、または両方に光学レンズをさらに備える〈１〉～〈７〉、〈９〉～〈１１〉のいずれか１つに記載の炭素同位体分析装置。

〈１３〉第１光ファイバーの下流側の他端は、ミラーに当接されている〈１〉～〈１２〉のいずれか１つに記載の炭素同位体分析装置。

〈１４〉第２光ファイバーは、非線形ファイバーで構成されている〈１〉～〈１３〉のいずれか１つに記載の炭素同位体分析装置。

〈１５〉分光装置は、光共振器を冷却する冷却装置をさらに備える〈１〉～〈１４〉のいずれか１つに記載の炭素同位体分析装置。

〈１６〉分光装置は、光共振器を収容する真空装置をさらに備える〈１〉～〈１５〉のいずれか１つに記載の炭素同位体分析装置。

〈１７〉分光装置は、振動吸収手段をさらに備える〈１〉～〈１６〉のいずれか１つに記載の炭素同位体分析装置。

〈１８〉分光装置は、透過光を分光する回折格子をさらに備え、光検出器は、それぞれ異なる波長の透過光を検出する、光検出器ａと、光検出器ｂと、を備える〈１〉～〈１７〉のいずれか１つに記載の炭素同位体分析装置。

〈１９〉非線形光学結晶は、ＰＰＭＧＳＬＴ結晶もしくはＰＰＬＮ結晶、またはＧａＳｅ結晶である〈１〉～〈１８〉のいずれか１つに記載の炭素同位体分析装置。

〈２０〉放射性炭素同位体^{14}Ｃに対する検出感度は、０．１ｄｐｍ／ｍｌ程

度である〈１〉～〈１９〉のいずれか１つに記載の炭素同位体分析装置。

〈２１〉炭素同位体から二酸化炭素同位体を含むガスを生成する燃焼部、二酸化炭素同位体精製部を備える二酸化炭素同位体生成装置と；１対のミラーを有する光共振器、前記光共振器からの透過光の強度を検出する光検出器を備える分光装置と；１つの光源、前記光源からの光を伝送しスペクトルを拡げる光ファイバー、周波数が異なる複数の光を通過させることで周波数の差から前記二酸化炭素同位体の吸収波長の光を発生させる非線形光学結晶を備える光発生装置と；を備える炭素同位体分析装置。

〈２２〉光源からの光を波長フィルタを用いて複数のスペクトル成分に分け、それぞれの時間差を調整した後に非線形結晶に集光させる分光手段をさらに備える〈２１〉に記載の炭素同位体分析装置。

〈２３〉光源からの光を波長フィルタを用いて複数のスペクトル成分に分け、それぞれの時間差を調整した後に非線形結晶に集光させるディレイラインをさらに備える〈２１〉に記載の炭素同位体分析装置。

〈２４〉１つの光源と；光源からの光を伝送しスペクトルを拡げる光ファイバーと；光ファイバーからの光を波長フィルタを用いて複数のスペクトル成分に分け、それぞれの時間差を調整した後に非線形結晶に集光させる分光手段と；周波数が異なる複数の光を通過させることで周波数の差から前記二酸化炭素同位体の吸収波長の光を発生させる非線形光学結晶と；を備える光発生装置。

〈２５〉分光手段として、前記光源からの光を時間差を用いて複数のスペクトル成分に分けるディレイラインを備える〈２４〉に記載の光発生装置。

〈２６〉炭素同位体から二酸化炭素同位体を生成する工程と、二酸化炭素同位体を１対のミラーを有する光共振器内に充填する工程と、１つの光源から周波数が異なる複数の光を発生させ、複数の光を非線形光学結晶に通過させることにより周波数の差から二酸化炭素同位体の吸収波長を有する照射光を発生させる工程と、二酸化炭素同位体に照射光を照射し共振させた際に得られる透過光の強度を測定する工程と、透過光の強度から炭素同位体濃度を計

算する工程と、を有する炭素同位体分析方法。

〈２７〉二酸化炭素同位体を生成する工程の前に、炭素同位体を含む生体試料から有機溶媒を用いて生体由来炭素源を除去し、得られた試料から有機溶媒由来の炭素源を取り除く工程を有する〈２６〉に記載の炭素同位体分析方法。

〈２８〉炭素同位体から二酸化炭素同位体を生成する工程において、夾雑ガスの除去、もしくは夾雑ガスからの二酸化炭素同位体の分離、および両工程を行う〈２６〉に記載の炭素同位体分析方法。

〈２９〉炭素同位体は放射性炭素同位体^{14}Ｃであり、二酸化炭素同位体は放射性二酸化炭素同位体^{14}ＣＯ$_2$である〈２６〉に記載の炭素同位体分析方法。

発明の効果

[0009] 本発明によれば、簡易で使い易く^{14}Ｃ分析可能な炭素同位体分析装置及び分析方法が提供される。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]図１は炭素同位体分析装置の概念図である。

[図2]図２は二酸化炭素同位体生成装置の実施態様ａを示す概念図である。

[図3]図３は二酸化炭素同位体生成装置の実施態様ｂを示す概念図である。

[図4]図４は^{14}ＣＯ$_2$と競合ガスの４．５μm帯吸収スペクトルを示す図である。

[図5]図５Ａ、図５Ｂはレーザー光を用いた高速走査型のキャビティーリングダウン吸収分光法の原理を示す図である。

[図6]図６はＣＲＤＳにおける^{13}ＣＯ$_2$と^{14}ＣＯ$_2$の吸収量Δβの温度依存性を示す図である。

[図7]図７は炭素同位体分析装置の変形例１の概念図である。

[図8]図８は、分析試料の吸収波長と吸収強度の関係を示す図である。

[図9]図９は光共振器の変形例の概念図である。

[図10]図１０は炭素同位体分析装置の変形例２の概念図である。

[図11]図１１は炭素同位体分析装置の変形例３の概念図である。

[図12]図１２は１本の光ファイバを用いた中赤外コム生成の原理を示す図である。

[図13]図１３は光発生装置の変形例の概念図である。

[図14]図１４Ａは波長シフトソリトン生成、図１４Ｂは中赤外コムのスペクトル波形を示す図である。

[図15]図１５ＡはＳＣ光のスペクトル、図１５Ｂは中赤外光のスペクトル、図１５Ｃは時間差と中赤外光の波長の関係を示す図である。

[図16]図１６ＡはＳＣ光のスペクトル、図１６Ｂは中赤外光のスペクトル、図１６Ｃは時間差と中赤外光の波長の関係を示す図である。

[図17]図１７は生体試料として血漿を用いた場合の処理方法の概要を示す図である。

[図18]図１８は生体試料として血漿、尿、糞ホモジネートを用いた場合の除タンパク質法による処理方法の概要を示す図である。

[図19]図１９は生体試料として血漿、尿、糞ホモジネートを用いた場合の液－液抽出法による処理方法の概要を示す図である。

[図20]図２０は生体試料として血漿、尿、糞ホモジネートを用いた場合の固相抽出法による処理方法の概要を示す図である。

[図21]図２１は生体試料として血漿、尿、糞ホモジネートを用いた場合の限外濾過法による処理方法の概要を示す図である。

発明を実施するための形態

[0011] 本発明は、炭素同位体から二酸化炭素同位体を含むガスを生成する燃焼部、二酸化炭素同位体精製部を備える二酸化炭素同位体生成装置と；１対のミラーを有する光共振器、光共振器からの透過光の強度を検出する光検出器を備える分光装置と；１つの光源、光源の光から周波数が異なる複数の光を発生する光路、周波数が異なる複数の光を通過させることで周波数の差から二酸化炭素同位体の吸収波長の光を発生させる非線形光学結晶を備える光発生装置と；を備える炭素同位体分析装置に関する。

光路としては、例えば、光源からの光を伝送する第１光ファイバーと、第

１光ファイバーから分岐し第１光ファイバーの下流側の合流点で合流する波長変換用の第２光ファイバーと、を備えるものを用いることができる。また光源からの光を伝送しスペクトルを拡げる光ファイバーと、光源からの光を複数のスペクトル成分に分け、所定のスペクトル成分を非線形結晶に集光させる分光手段と、を備えるものを用いることができる。

以下に、実施形態を挙げて本発明の説明を行うが、本発明は以下の実施形態に限定されるものではない。図中同一の機能又は類似の機能を有するものについては、同一又は類似の符号を付して説明を省略する。但し、図面は模式的なものである。したがって、具体的な寸法等は以下の説明を照らし合わせて判断するべきものである。また、図面相互間においても互いの寸法の関係や比率が異なる部分が含まれていることは勿論である。

[0012] （炭素同位体分析装置）

図１は、炭素同位体分析装置の概念図である。炭素同位体分析装置１は、二酸化炭素同位体生成装置４０と、光発生装置２０と、分光装置１０と、さらに演算装置３０とを備える。ここでは、分析対象として、炭素同位体である放射性同位体^{14}Ｃを例にあげて説明する。なお、放射性同位体^{14}Ｃから生成される二酸化炭素同位体^{14}Ｃ$Ｏ_2$の吸収波長を有する光は４．５μｍ帯の光である。詳細は後述するが、測定対象物質の吸収線、光発生装置、及び光共振器モードの複合による選択性により、高感度化を実現することが可能となる。

[0013] 本明細書において「炭素同位体」とは、特に断りのない限り安定炭素同位体^{12}Ｃ、^{13}Ｃ、及び放射性炭素同位体^{14}Ｃを意味する。また、単に元素記号「Ｃ」と表示される場合、天然存在比での炭素同位体混合物を意味する。

酸素の安定同位体は^{16}Ｏ、^{17}Ｏ及び^{18}Ｏが存在するが、元素記号「Ｏ」と表示される場合、天然存在比での酸素同位体混合物を意味する。

「二酸化炭素同位体」とは、特に断りのない限り^{12}Ｃ$Ｏ_2$、^{13}Ｃ$Ｏ_2$及び^{14}Ｃ$Ｏ_2$を意味する。また、単に「Ｃ$Ｏ_2$」と表示される場合、天然存在比の炭素及び酸素同位体により構成される二酸化炭素分子を意味する。

[0014] 本明細書において「生体試料」とは、血液、血漿、血清、尿、糞便、胆汁、唾液、その他の体液や分泌液、呼気ガス、口腔ガス、皮膚ガス、その他の生体ガス、さらには、肺、心臓、肝臓、腎臓、脳、皮膚などの各種臓器およびこれらの破砕物など、生体から採取し得るあらゆる試料を意味する。さらに、当該生体試料の由来は、動物、植物、微生物を含むあらゆる生物が挙げられ、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトの由来である。哺乳動物としては、ヒト、サル、マウス、ラット、モルモット、ウサギ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコなどが挙げられるが、これらに限定されない。

[0015] 〈二酸化炭素同位体生成装置〉

二酸化炭素同位体生成装置４０は、炭素同位体を二酸化炭素同位体に変換可能であれば特に制限されることなく種々の装置を用いることができる。二酸化炭素同位体生成装置４０としては、試料を酸化させ、試料中に含まれる炭素を二酸化炭素にする機能を有していることが好ましい。

例えば全有機炭素（total organic carbon 以下「ＴＯＣ」という）発生装置、ガスクロマトグラフィー用の試料ガス発生装置、燃焼イオンクロマトグラフィー用の試料ガス発生装置、元素分析装置（Elemental Analyzer：ＥＡ）等の二酸化炭素生成装置（Ｇ）４１を用いることができる。また別の実施態様として、後述の図２，３で示されるような二酸化炭素生成装置４０ａ、４０ｂを用いることができる。

図４に、２７３Ｋ、CO_2分圧２０％、ＣＯ分圧１．０×１０$^{-4}$％、N_2O分圧３．０×１０$^{-8}$％の条件下における$^{14}CO_2$と競合ガス$^{13}CO_2$，ＣＯ，及びN_2Oの４．５μm帯吸収スペクトルを示す。

前処理後の生体試料を燃焼させることにより、二酸化炭素同位体$^{14}CO_2$（以下、「$^{14}CO_2$」ともいう）を含むガスを生成できる。しかし、$^{14}CO_2$の発生と共に、ＣＯ、N_2Oといった夾雑ガスも発生する。これらＣＯ、N_2Oは、図４に示すように、それぞれ４．５μm帯の吸収スペクトルを有するので、$^{14}CO_2$が有する４．５μm帯の吸収スペクトルと競合する。そのため、分

析感度を向上させるために、ＣＯ、N_2Oを除去することが好ましい。

ＣＯ、N_2Oの除去方法としては、以下のように$^{14}CO_2$を捕集・分離する方法が挙げられる。また、酸化触媒や白金触媒により、ＣＯ、N_2Oを除去・低減する方法、及び前記捕集・分離方法との併用が挙げられる。

[0016] （ｉ）加熱脱着カラムによる$^{14}CO_2$の捕集・分離

図２は、二酸化炭素同位体生成装置の実施態様ａを示す概念図である。二酸化炭素同位体生成装置４０ａは、燃焼部４２と、二酸化炭素同位体精製部４３ａと、を備える。

加熱部としては、燃焼管を内部に配置可能とし燃焼管を加熱可能とする、管状電気炉といった電気炉が挙げられる。管状電気炉の例としては、ＡＲＦ－３０Ｍ（アサヒ理化製作所）が挙げられる。

また、燃焼管は、キャリアガス流路の下流側に、少なくとも一種類の触媒を充填させた酸化部及び／又は還元部を具備することが好ましい。酸化部及び／又は還元部は、燃焼管の一端に設けてもよいし、別部材として設けてもよい。酸化部に充填する触媒として、酸化銅、銀・酸化コバルト混合物が例示できる。酸化部において、試料の燃焼により発生したH_2、ＣＯをH_2O、CO_2に酸化することが期待できる。還元部に充填する触媒として、還元銅、白金触媒が例示できる。還元部において、N_2Oを含む窒素酸化物（NO_X）をN_2に還元することが期待できる。

二酸化炭素同位体精製部４３ａとしては、生体試料の燃焼により生じたガス中の$^{14}CO_2$を、ガスクロマトグラフィ（ＧＣ）で用いられるような、加熱脱着カラム（CO_2捕集カラム）を用いることができる。これにより$^{14}CO_2$を検出する段階でＣＯ、N_2Oの影響を軽減あるいは除去できる。またＧＣカラムに$^{14}CO_2$を含むCO_2ガスが一時捕集されることで、$^{14}CO_2$の濃縮が見込まれるので、$^{14}CO_2$の分圧の向上が期待できる。

（ｉｉ）$^{14}CO_2$吸着剤による$^{14}CO_2$のトラップ、再放出による$^{14}CO_2$の分離

図３は、二酸化炭素同位体生成装置の実施態様ｂを示す概念図である。二

酸化炭素同位体生成装置４０ｂは、燃焼部と、二酸化炭素同位体精製部と、を備える。

燃焼部は、図２と同様に構成することができる。

二酸化炭素同位体精製部としては、$^{14}CO_2$吸着剤、例えばソーダ石灰や水酸化カルシウム等を用いることができる。これにより、$^{14}CO_2$を炭酸塩の形で単離することで夾雑ガスの問題を解消できる。炭酸塩として$^{14}CO_2$を保持するので、サンプルを一時保存することも可能である。なお、再放出にはリン酸を用いることができる。

（ｉ），（ｉｉ）のいずれか、あるいは両構成を備えることで、夾雑ガスを除去できる。

（ｉｉｉ）$^{14}CO_2$の濃縮（分離）

生体試料の燃焼により発生した$^{14}CO_2$は配管内で拡散する。そのため、$^{14}CO_2$を吸着剤に吸着させ濃縮することにより、検出感度（強度）を向上させてもよい。かかる濃縮によりＣＯ、N_2Oから$^{14}CO_2$の分離も期待できる。

[0017] 〈分光装置〉

図１に示すように、分光装置１０は、光共振器１１と、光共振器１１からの透過光の強度を検出する光検出器１５とを備える。光共振器（Optical resonator or Optical cavity）１１は、分析対象の二酸化炭素同位体が封入される筒状の本体と、本体の内部の長手方向の一端と他端に凹面が向かい合うように配置された高反射率の１対のミラー１２ａ、１２ｂ（反射率：99.99％以上）と、本体内部の他端に配置されたミラー１２ａ、１２ｂ間隔を調整するピエゾ素子１３と、分析対象ガスが充填されるセル１６と、を備える。なお、ここでは図示を省略しているが、本体の側部に二酸化炭素同位体を注入するためのガス注入口や、本体内の気圧を調整する気圧調整口を設けておくことが好ましい。

光共振器内部１１にレーザー光を入射し閉じ込めると、レーザー光はミラーの反射率に対応した強度の光を出力しながら、数千回～一万回というオーダーで多重反射を繰り返す。そのため実効的な光路が数１０ｋｍにも及ぶた

め、光共振器内部に封入された分析対象のガスが極微量であっても大きな吸収量を得ることができる。

[0018] 図５Ａ、図５Ｂはレーザー光を用いた高速走査型のキャビティーリングダウン吸収分光法（Cavity Ring-Down Spectroscopy 以下「ＣＲＤＳ」ともいう）の原理を示す図である。

図５Ａに示すように、ミラー間隔が共鳴条件を満たしているときは、高強度の信号が光共振器から透過される。一方、ピエゾ素子１３を作動させてミラー間隔を変更し、非共鳴条件とすると、光の干渉効果により信号を検出することができなくなる。つまり、光共振器長を共鳴から非共鳴条件へとすばやく変化させることで、図５Ａに示すような指数関数的な減衰信号［リングダウン信号（Ringdown signal）］を観測することができる。リングダウン信号を観測する別の方法として、入力レーザー光を光学スイッチ２６（図７）にて素早く遮断する方法が例示できる。

光共振器の内部に吸収物質が充填されていない場合、透過してくる時間依存のリングダウン信号は図５Ｂの点線で示すような曲線となる。一方、光共振器内に吸光物質が充填されている場合、図５Ｂの実線で示すように、レーザー光が光共振器内で往復するごとに吸収されるため、光の減衰時間が短くなる。この光の減衰時間は、光共振器内の吸光物質濃度及び入射レーザー光の波長に依存しているため、Beer-Lambertの法則iiを適用することで吸収物質の絶対濃度を算出することができる。また光共振器内の吸収物質濃度と比例関係にある減衰率（リングダウンレート）の変化量を測定することにより、光共振器内の吸収物質濃度を測定することができる。

光共振器から漏れ出た透過光を光検出器により検知し、演算装置を用いて$^{14}CO_2$濃度を算出した後、$^{14}CO_2$濃度から^{14}C濃度を算出することができる。

なお、光検出器と併せて回折格子１４を用いて、所定の波長の光を検知する構成としてもよい（図１０）。詳細は光発生と併せて後述する。

[0019] 光共振器１１のミラー１２ａ、１２ｂ間隔、ミラー１２ａ、１２ｂの曲率

半径、本体の長手方向長さや幅等は、分析対象である二酸化炭素同位体が持つ吸収波長により変化させることが好ましい。想定される光共振器長は１ｍｍ～１０ｍが挙げられる。

二酸化炭素同位体^{14}Ｃの場合、光共振器長が長いことは光路長を確保するのに有効であるが、光共振器長が長くなるとガスセルの体積が増え、必要な試料量が増えるため、光共振器長は１０ｃｍ～６０ｃｍの間が好ましい。またミラー１２ａ、１２ｂの曲率半径は、光共振器長と同じか、長くすることが好ましい。

なおミラー間隔は、ピエゾ素子１３を駆動することにより、一例として数マイクロメートルから数十マイクロメートルのオーダーで調整することが可能である。最適な共鳴条件を作り出すために、ピエゾ素子１３による微調整を行うこともできる。

なお、１対のミラー１２ａ、１２ｂとしては、１対の凹面鏡を図示して説明してきたが、十分な光路が得られるのであれば、その他にも凹面鏡と平面鏡の組み合わせや、平面鏡同士の組み合わせであっても構わない。

ミラー１２ａ、１２ｂを構成する材料としては、サファイアガラスを用いることができる。

分析対象ガスを充填するセル１６は、容積がより小さいことが好ましい。少ない分析試料であっても効果的に光の共振効果を得ることができるからである。セル１６の容量は、８ｍＬ～１０００ｍＬが例示できる。セル容量は、例えば測定に供することができる^{14}Ｃ源の量に応じて適宜好ましい容量を選択でき、尿のように大量に入手できる^{14}Ｃ源では８０ｍＬ～１２０ｍＬのセルが好適であり、血液や涙液のように入手量が限られる^{14}Ｃ源では８ｍＬ～１２ｍＬのセルが好適である。

[0020] 光共振器の安定性条件の評価

ＣＲＤＳにおける$^{14}CO_2$吸収量と検出限界を評価するため、分光データに基づく計算を行った。$^{12}CO_2$、$^{13}CO_2$などに関する分光データは大気吸収線データベース（ＨＩＴＲＡＮ）を利用し、$^{14}CO_2$に関しては文献値（「S.

Dobos et al., Z. Naturforsch, 44a, 633-639 (1989)」）を使用した。

ここで、$^{14}CO_2$の吸収によるリングダウンレート（指数関数的減衰の割合）の変化量$\Delta\beta$（$=\beta-\beta_0$、β：試料有りの減衰率、β_0：試料なしの減衰率）は、$^{14}CO_2$の光吸収断面積σ_{14}、分子数密度N、光速cにより以下のように表せる。

$$\Delta\beta=\sigma_{14}(\lambda,T,P)N(T,P,X_{14})c$$

（式中、σ_{14}、Nは、レーザー光波長λ、温度T、圧力P、$X_{14}=^{14}C/^{Total}C$比の関数である。）

図６は、計算で求められた$^{13}CO_2$と$^{14}CO_2$の吸収による$\Delta\beta$の温度依存性を示す図である。図６より、$^{14}C/^{Total}C$が10^{-10}、10^{-11}、10^{-12}では、室温３００Ｋでの$^{13}CO_2$による吸収が$^{14}CO_2$の吸収量を超えるか同程度となるため、冷却を行う必要があることが分かった。

一方、光共振器由来のノイズ成分であるリングダウンレートのばらつき$\Delta\beta_0$～$10^1 s^{-1}$が実現できれば、$^{14}C/^{Total}C$比～10^{-11}の測定を実現できることが分かる。これにより、分析時の温度として摂氏－４０度程度の冷却が必要であることが明らかとなった。

例えば、定量下限として$^{14}C/^{Total}C$を10^{-11}とすると、CO_2ガスの濃縮によるCO_2ガス分圧の上昇（例えば２０％）と、前記温度条件とが必要であることが示唆される。

なお、冷却装置や冷却温度について、後述の炭素同位体分析装置の変形例１の欄においてより詳細に述べる。

[0021] 〈光発生装置〉

光発生装置２０としては、二酸化炭素同位体の吸収波長を有する光を発生できる装置であれば特に制限されることなく種々の装置を用いることができる。ここでは、放射性炭素同位体^{14}Cの吸収波長である４．５μｍ帯の光を簡易に発生させ、しかも装置サイズがコンパクトな光発生装置を例に挙げて説明する。光発生装置２０は、１つの光源２３と、光源２３から異なる複数の周波数の光を発生させる複数の光ファイバー（第１光ファイバー２１、第

２光ファイバー２２）と、得られた複数の光を通過させることにより光の周波数の差から二酸化炭素同位体の吸収波長を有する光を発生させる非線形光学結晶２５とを備える。

[0022] 光源２３としては、短波長のパルス波発生装置を用いることが好ましい。光源２３として短波長のパルス波発生装置を用いた場合、各波長の波長幅が均等な櫛状の光の束（以下「光コム」ともいう。）が得られるからである。なお、光源として連続波発生装置を用いた場合、光の束の中心部の光の波長幅が厚くなるため、波長幅が均等な櫛状の光の束が得られなくなる。

光源２３としては、例えばモード同期により短パルスを出力する固体レーザー，半導体レーザー，ファイバーレーザーを用いることができる。なかでもファイバーレーザーを用いることが好ましい。ファイバーレーザーは、コンパクトで対環境安定性にも優れた，実用的な光源であるからである。

ファイバーレーザーとしては、エルビウム（Ｅｒ）系（１．５５μｍ帯）またはイッテルビウム（Ｙｂ）系（１．０４μｍ帯）のファイバーレーザーを用いることができる。経済的な観点からは汎用されているＥｒ系ファイバーレーザーを用いることが好ましく、光吸収強度を高める観点からはＹｂ系ファイバーレーザーを用いることが好ましい。

[0023] 複数の光ファイバー２１、２２としては、光源からの光を伝送する第１光ファイバー２１と、第１光ファイバー２１から分岐し第１光ファイバー２１の下流側で合流する波長変換用の第２光ファイバー２２と、を用いることができる。第１光ファイバー２１としては、光源から光共振器までつながっているものを用いることができる。

第１光ファイバー２１の下流側の他端は、ミラー１２ａに当接されていることが好ましい。光共振器１１からの透過光が空気に触れることを防止することで、透過光の強度測定の精度を高めることができるからである。

第１光ファイバー２１としては、生成した高強度な超短パルス光の特性を劣化させずに伝送できる光ファイバーを用いることが好ましい。材料は、溶融石英でできたファイバーを用いることが好ましい。

第２光ファイバー２２としては、異常分散の特性を有し、誘導ラマン散乱とソリトン効果によって、効率良く所望の長波長側に超短パルスを生成できる光ファイバーを使用することが好ましい。具体的には、偏波保持ファイバーや単一モードファイバー、フォトニック結晶ファイバー、フォトニックバンドギャップファイバーなどがある。波長のシフト量に合わせて、数ｍから数百ｍまでの長さの光ファイバーを使用することが好ましい。材料は、溶融石英でできたファイバーを用いることが好ましい。

非線形光学結晶２５としては、例えばＰＰＭＧＳＬＴ（periodically poled MgO-dopedStoichiometric Lithium Tantalate（ＬｉＴａＯ$_3$））結晶もしくはＰＰＬＮ（periodically poled Lithium Niobate）結晶、またはＧａＳｅ（Gallium selenide）結晶を用いることができる。４．５μｍ帯の光を発生し易いからである。また、１つのファイバーレーザー光源を用いているため、後述の通り、差周波混合において、光周波数の揺らぎをキャンセルすることができるからである。

[0024] 差周波混合（Difference Frequency Generation 以下「ＤＦＧ」ともいう）によれば、第１、第２光ファイバー２１，２２が伝送する波長（周波数）が異なる複数の光を非線形光学結晶に通過させることで、この周波数の差から、差周波の光を得ることができる。つまり、１つの光源２３から、波長がλ_1、λ_2である２つの光を発生させ、２つの光を非線形光学結晶に通過させることにより、周波数の差から二酸化炭素同位体の吸収波長である４．５μｍ帯の光を発生させることができる。非線形光学結晶を用いるＤＦＧの変換効率は、元となる複数の波長（λ_1、λ_2、…λ_x）の光源の光子密度に依存する。そのため１つのパルスレーザー光源からＤＦＧにより差周波の光を発生することができる。

このようにして得られる４．５μｍ帯の光は１パルスが規則的な周波数間隔f_rの複数の周波数の光（モード）からなる光コム（周波数$f = f_{ceo} + N \cdot f_r$、Ｎ：モード数）である。光コムを用いてＣＲＤＳを行うためには、分析対象の吸収帯の光を取り出す必要がある。

[0025] 非特許文献１のI. Galliらに考案された炭素同位体分析装置の場合、波長の異なる２種類のレーザー装置を用意して、レーザー光の周波数の差から二酸化炭素同位体の吸収波長を有する照射光を発生させていた。そのため装置が大がかりで、操作が複雑になっていた。しかも２つの光源から光を発生させているため、２つの光の揺らぎ幅及び揺らぎのタイミングがそれぞれ異なり、２つの光を混合した際に光の揺らぎを抑えることが困難であった。そのため、光の揺らぎを制御する制御装置が必要となっていた。一方、本発明の実施形態に係る光発生装置は、１つのファイバーレーザー光源と、数ｍの光ファイバーと、非線形光学結晶とで構成されているため、コンパクトで搬送しやすく、しかも操作が簡単である。また１つの光源から複数の光を発生させているため、それぞれの光の揺らぎ幅及び揺らぎのタイミングが同一となる。そのため、制御装置を用いることなく、差周波混合を行うことで簡易に光周波数の揺らぎをキャンセルすることができる。

第１光ファイバーと第２光ファイバーの合流点から光共振器の間の光路について、空気中にレーザー光を伝送させる態様や、必要に応じてレンズによるレーザー光の集光及び／または拡大をする光学系を含む光伝送装置を構築してもよい。より好ましい態様として、光源から光共振器までの光路を全て光ファイバーで構築することで、空気によるレーザーの散乱及び吸収を起こさず、さらに光軸のずれを起こしにくい、より安定な装置構成をとることができる。

さらに、光共振器と検出器の間についても、光は空間を伝送させたり、あるいは光ファイバーを用いて伝送してもよく、様々な態様をとり得る。

[0026] 〈演算装置〉

演算装置３０としては、上述の減衰時間やリングダウンレートから光共振器内の吸収物質濃度を測定し、吸収物質濃度から炭素同位体濃度を測定できるものであれば特に制限されることなく種々の装置を用いることができる。

演算制御部３１としては、ＣＰＵ等の通常のコンピュータシステムで用いられる演算手段等で構成すればよい。入力装置３２としては、例えばキーボ

ード、マウス等のポインティングデバイスが挙げられる。表示装置３３としては、例えば液晶ディスプレイ、モニタ等の画像表示装置等が挙げられる。出力装置３４としては、例えばプリンタ等が挙げられる。記憶装置３５としてはＲＯＭ、ＲＡＭ、磁気ディスクなどの記憶装置が使用可能である。

〈冷却、除湿装置〉

図１に図示されてはいないが、冷却、除湿装置を設けてもよい。ペルチェ素子等の冷却手段により除湿してもよいし、フッ素系イオン交換樹脂膜といった水蒸気除去用高分子膜を使用した膜分離法によって除湿してもよい。これらについては、後述の変形例や分析方法の欄で説明する。

[0027] 上述の炭素同位体分析装置１をマイクロドーズに用いる場合、放射性炭素同位体^{14}Ｃに対する検出感度は「０．１ｄｐｍ／ｍｌ」程度が想定される。この検出感度「０．１ｄｐｍ／ｍｌ」を達成するためには、光源として「狭帯域レーザー」を用いるだけでは不十分であり、光源の波長（周波数）の安定性が求められる。即ち、吸収線の波長からずれないこと、線幅が狭いことが要件となる。この点、炭素同位体分析装置１では、「光周波数コム光」を用いた安定な光源をＣＲＤＳに用いることでこの課題を解決できる。炭素同位体分析装置１によれば、低濃度の放射性炭素同位体を含む検体に対しても測定が可能であるという有利な作用効果が奏される。

なお、先行文献（廣本　和郎等、「キャビティーリングダウン分光に基づく１４Ｃ連続モニタリングの設計検討」、日本原子力学会春の年会予稿集、2010年3月19日、Ｐ432）には、原子力発電関連の使用済み燃料の濃度モニタリングに関連して、ＣＲＤＳにより二酸化炭素中の^{14}Ｃ濃度を測定する旨が開示されている。しかし、先行文献に記載された、高速フーリエ変換（ＦＦＴ）を用いた信号処理方法は、データ処理が早くなるものの、ベースラインのゆらぎが大きくなるため、検出感度「０．１ｄｐｍ／ｍｌ」を達成することは困難である。

[0028] 以上、炭素同位体分析装置について実施形態を挙げて説明してきたが、炭素同位体分析装置は、上述の実施形態に係る装置に限定されることなく、種

々の変更を加えることができる。以下に炭素同位体分析装置の変形例について変更点を中心に説明する。

[0029] （炭素同位体分析装置の変形例１）

図７は、炭素同位体分析装置の変形例１の概念図である。図７に示すように、分光装置１ａは、光共振器１１を冷却するペルチェ素子１９と、光共振器１１を収納する真空装置１８と、をさらに備えてもよい。$^{14}CO_2$の光吸収は温度依存性を有するため、ペルチェ素子１９により光共振器１１内の設定温度を低くすることで、$^{14}CO_2$の吸収線と$^{13}CO_2$、$^{12}CO_2$の吸収線との区別が容易になり、$^{14}CO_2$の吸収強度が強くなるからである。また光共振器１１を真空装置１８内に配置して、光共振器１１が外気に晒されることを防止して外部温度の影響を軽減することで、分析精度が向上するからである。

光共振器１１を冷却する冷却装置としては、ペルチェ素子１９の他にも、例えば、液体窒素槽、ドライアイス槽などを用いることができる。分光装置１１を小型化できる観点からはペルチェ素子１９を用いることが好ましく、装置の製造コストを下げる観点からは液体窒素水槽もしくはドライアイス槽を用いることが好ましい。

真空装置１８としては、光共振器１１を収納でき、また光発生装置２０からの照射光を光共振器１１内に照射でき、透過光を光検出器に透過できるものであれば、特に制限なく様々な真空装置を用いることができる。

[0030] 図８（Applied Physics Vol.24, pp.381-386, 1981より引用）は、分析試料$^{12}C^{16}O_2$、$^{13}C^{18}O_2$、$^{13}C^{16}O_2$、$^{14}C^{16}O_2$の吸収波長と吸収強度の関係を示す。図８に示すように、それぞれの炭素同位体を含む二酸化炭素は、固有の吸収線を有している。実際の吸収では、各吸収線は試料の圧力や温度に起因する拡がりによって有限の幅を持つ。このため、試料の圧力は大気圧以下、温度は２７３Ｋ（０℃）以下にすることが好ましい。

[0031] 以上、$^{14}CO_2$の吸収強度は温度依存性があるため、光共振器１１内の設定温度を、できるだけ低く設定することが好ましい。具体的な光共振器１１内の設定温度は２７３Ｋ（０℃）以下が好ましい。下限値は特に制限はないが

、冷却効果と経済的観点から、１７３Ｋ～２５３Ｋ（－１００℃～－２０℃）、特に２３３Ｋ（－４０℃）程度に冷却することが好ましい。

分光装置は、振動吸収手段をさらに備えてもよい。分光装置の外部からの振動によりミラー間隔がずれることを防止して、測定精度を上げることができるからである。振動吸収手段としては、例えば衝撃吸収剤（高分子ゲル）や免震装置を用いることができる。免震装置としては外部振動の逆位相の振動を分光装置に与えることができる装置を用いることができる。

[0032] 光共振器１１について説明したが、光共振器の具体的態様の概念図（一部切欠図）を図９に示す。図９に示すように、光共振器５１は、真空装置としての円筒状の断熱用チャンバー５８と、断熱用チャンバー５８内に配置された測定用ガスセル５６と、測定用ガスセル５６の両端に配置された１対の高反射率ミラー５２と、測定用ガスセル５６の一端に配置されたミラー駆動機構５５と、測定用ガスセル５６の他端に配置されたリングピエゾアクチュエーター５３と、測定用ガスセル５６を冷却するペルチェ素子５９と、循環冷却器（図示せず）に接続された冷却パイプ５４ａを有する水冷ヒートシンク５４と、を備える。

[0033] ＜光遮断装置＞

上述の実施形態においては、リングダウン信号の取得手段として、分光装置１０内においてピエゾ素子１３によるミラー間隔の調整を用いたが、リングダウン信号を得るために、光発生装置２０内において光共振器１１への光を遮断する光遮断装置を設けて光共振器に照射される照射光のオンオフ制御を行う構成としてもよい。光遮断装置としては、二酸化炭素同位体の吸収波長の光をすばやく遮断できる装置であれば特に制限されることなく種々の装置を用いることができ、図７に示すような光学スイッチ２６を例示できる。なお、光共振器内の光の減衰時間よりも十分にすばやく光を遮断する必要がある。

[0034] 上述の実施形態においては、第１光ファイバー２１は、光源２３から光共振器１１までつながる構成とした。しかし、第１光ファイバー２１は、光源

２３から非線形光学結晶２５までつながる第１光ファイバー２１ａと、非線形光学結晶２５から光共振器１１までつながる中赤外用の第１光ファイバー２１ｂと、を備える構成としてもよい。第１光ファイバー２１ｂとすることで、非線形光学結晶を通過して得られた４．５μｍ帯の光を効率より光共振器１１に伝送させることができるからである。

第１光ファイバー２１ａとしては、上述の第１光ファイバー２１と同様のファイバーを用いることができる。第１光ファイバー２１ｂとしては、４．５μｍ帯の光を吸収しずらい中赤外用の光ファイバーであれば特に制限なく様々な光ファイバーを用いることができ、フッ化物系ファイバーや中空ファイバーを用いることが好ましい。

なお、光発生装置２０は、図７に示す第１光ファイバー２１ｂに代えて、非線形光学結晶２５から光共振器１１へ光を伝送する光伝送装置を備えてもよい。光伝送装置としては１以上の光学レンズが例示でき、光学レンズを非線形光学結晶の上流、下流、あるいはその両方に配置した光路、さらにそれらをモジュール化した光学装置等を用いることができる。

[0035]（炭素同位体分析装置の変形例２）

図１０は、炭素同位体分析装置の変形例２の概念図である。図１０に示すように、分光装置１ｄは、透過光を分光する回折格子１４をさらに備えてもよい。その際、光検出器は、それぞれ異なる波長の透過光を検出する、光検出器１５ａと、光検出器１５ｂと、を備えることが好ましい。分光された波長の異なる透過光についてそれぞれ分析することで、測定精度を上げることができるからである。

光共振器を用いて所定の光を選択すると共に、通過後に回折格子を設置し、さらに波長選択を行うことで、必要な吸収線のみの透過光強度を得て測定試料ガス中の^{14}Ｃ濃度を測定してもよい。回折格子を設置することでより分析能が向上するからである。

[0036]（炭素同位体分析装置の変形例３）

光発生装置２０では、第１光ファイバー２１と第２光ファイバー２２から

の複数の光を非線形光学結晶２５に通過させることにより、周波数の差から二酸化炭素同位体の吸収波長を有する光を発生させた。しかし、差周波が取れるのであれば複数の光ファイバーを用いることに限定されることなく、１本の光ファイバーを用いて、二酸化炭素同位体の吸収波長光を発生させてもよい。

図１１は炭素同位体分析装置の変形例３の概念図である。図１２は１本の光ファイバを用いた中赤外コム生成の原理を示す図である。

図１１の炭素同位体分析装置１ｅは、光源２３と非線形光学結晶２５の間に、複数の波長フィルタからなるディレイライン２８を備える。第１光ファイバー２１により、光源２３からの光が伝送され、スペクトルが拡げられる（スペクトルの伸張）。そして、スペクトル成分が時間的にずれている場合、図１２に示されるように、ディレイライン２８（光路差調整器）により、スペクトル成分が分けられ、時間差の調整が行われる。そして、非線形結晶２５に集光させることで中赤外コムを生成することができる。

なお、分光手段としてディレイラインを挙げたが、それに限定されることなく、分散媒体を用いてもよい。

図１３は光発生装置の変形例を示す。図１３の光発生装置は、光源と、光源からの光を増幅する光ファイバー（Ｙｂ-ＤＣＦ）と、アイソレーターと、アイソレーターから伝送されたパルス光の分散（時間広がり）を補償する回折格子対と、広帯域光（スーパーコンティニューム（supercontinuum）、以下「ＳＣ」ともいう。）を生成するフォトニック結晶ファイバー（以下「ＰＣＦ」ともいう。）と、波長フィルタ（又は波長分岐器）を用いて光を複数のスペクトル成分に分けた後に，スペクトル成分間の時間差を調整し、所定のスペクトル成分を非線形結晶に集光させるディレイラインと、中赤外コム光を形成する非線形結晶（ＰＰＭＧＳＬＴ結晶）と、分光器とを備える。

図１３の光発生装置は、上述の構成を備えることより、光源からの光が複数のスペクトル成分からなり、各スペクトル成分が時間的にずれている場合、ディレイライン（光路差調整器）を用いることで、時間差調整を行なうこ

とにより所定のスペクトル成分を時間的に重ねて非線形結晶に集光させることで所望の波長の光を発生させることができる。

図１３の光発生装置の変形例の実施例として、波長１．０１４μｍ帯超短パルスファイバレーザー光源を用いたＳＣ光及び中赤外コム光の生成を行なった。実験条件は、光源として、非線形偏光回転によってモードロックされた、繰り返し率１８４ＭＨｚを有する、Ｙｂ添加ファイバーレーザーを用いた。光源のパルスを、８Ｗの出力を提供できるハイパワーパンプレーザーダイオードにより、Ｙｂ添加ダブルクラッドファイバーにおいて増幅した。増幅されたパルスは中心波長１０４０ｎｍ、平均出力３Ｗで高度にチャープされており、その後回折格子対により２００フェムト秒（ＦＷＨＭ）に圧縮された。光学結晶ファイバーに基づいて、ＳＣ光は、中赤外領域において差周波混合（ＤＦＧ）でサポートし得る、９００ｎｍから１２００ｎｍにまで拡げられた。ＰＣＦから出力する際にディレイラインを注意深く調整することにより、空間と時間が重複するそれぞれ９００ｎｍ～１０００ｎｍと１０００ｎｍ～１２００ｎｍの２つのシグナルを、４．５μｍへのＤＦＧを可能とする非線形光学結晶に集光させた。その際、異なる分散特性を備えるＰＣＦを用いて実験を行った。

[0037]（実施例１）

ゼロ分散波長が１００５ｎｍのＰＣＦである、フォトニック結晶ファイバ（NKT Photonics社製）２０ｃｍを使用し、二成分の時間差をディレイラインを用いて調整後、ＧａＳｅ結晶に集光させた。得られた結果を図１４Ａ、図１４Ｂに示す。

[0038]（実施例２）

１０４０ｎｍで正常分散のＰＣＦである、全正常分散フォトニック結晶ファイバ（NKT Photonics社製）２０ｃｍを用いて、ＰＰＭｇＳＬＴ結晶に集光させた実験結果を図１５Ａ～図１５Ｃに示す。なお、ＰＰＭｇＳＬＴ結晶をＰＰＬＮ結晶に置き換えて、同様の実験を行ったところ、同様の結果が得られた。

図１５ＡにＳＣスペクトラムを示す。ディレイラインを用いて光路差の違いを調節することにより、図１５Ｂに示すように、中赤外領域を２．９μｍ～４．７μｍに調整することができた。異なる色のスペクトルは、相対時間差の違いによる。ディレイラインの時間差と差周波混合（ＤＦＧ）により得られるスペクトルとの関係を図１５Ｃに示す。ＳＣが正常分散ＰＣＦにより生成されたため、中心波長は相対時間差に従い単調に増加した。上記機構から調整された平均出力は、１００μＷのオーダーであった。出力を上げるために、ＰＣＦにより拡張されたＳＣはＤＦＧを起こすように、特定の波長において充分高い必要があった。

[0039]（実施例３）

ゼロ分散波長が１０４０ｎｍのＰＣＦである、フォトニック結晶ファイバ（NKT Photonics社製）２０ｃｍを用いて、ＰＰＭｇＳＬＴ結晶に集光させた実験結果を図１６Ａ～図１６Ｃに示す。なお、ＰＰＭｇＳＬＴ結晶をＰＰＬＮ結晶に置き換えて、同様の実験を行ったところ、同様の結果が得られた。

図１６Ａに示すように、中赤外の高出力を得るのに関与する９５０ｎｍの波長にピークがあった。実験により、最大出力１．１２ｍＷが３．９μＷの波長において測定された。図１６Ｂ、図１６Ｃは時間差と差周波混合（ＤＦＧ）により得られた波長の関係を示す。ＳＣパルスがもはや線状にチャープされていないために、中心波長と時間差の間に線形の関係はなかった。長いレンジの中から時間差を調整したにも関わらず、スペクトルは綺麗に区別できなかった。しかしパルス幅は狭いため、高出力な中赤外光が得られた。

[0040]（炭素同位体分析装置の変形例４）

除湿条件は、ＣＲＤＳ分析セルを－４０℃以下(２３３Ｋ以下)に冷却した場合に、その温度条件下で結露・凍結しないガス条件(水分量)になることが好ましい。具体的には、二酸化炭素生成部(試料導入部ユニット)内に、吸湿剤もしくはガスドライヤーを配置することが好ましい。吸湿剤としては、例えば、CaH_2、$CaSO_4$、$Mg(ClO_4)_2$、モレキュラーシーブ、H_2SO_4、シカサイド（Sicacide）、五酸化リン、シカペント（Sicapent）（登録商

標）またはシリカゲルを用いることができる。なかでも、五酸化リン、シカペント（登録商標）、CaH_2、$Mg(ClO_4)_2$またはモレキュラーシーブが好ましく、シカペント（登録商標）がより好ましい。ガスドライヤーとしては、ナフィオン（登録商標）ドライヤー（Nafion dryers：Perma Pure Inc.製）が好ましい。吸湿剤とガスドライヤーはそれぞれ単独で用いてもよいし、併用してもよい。なお、前記「その温度条件下で結露・凍結しないガス条件(水分量)」は、露点を測定して確認した。言い換えると、－４０℃以下（２３３Ｋ以下）の露点となるように、除湿できることが好ましい。露点の表示は、瞬間露点であっても、単位時間当たりの平均露点であってもよい。露点の測定は、市販の露点センサーを用いて測定することができ、例えば、ゼントール露点センサーHTF Al203（登録商標）（三菱化学アナリテック社製）、ヴァイサラDRYCAP（登録商標）DM70ハンディタイプ露点計（ヴァイサラ社製）が使用できる。

[0041] 有機元素分析計を用いる場合のキャリアガスは、少なくとも炭素、窒素及び硫黄元素をできるだけ含まないガスが好ましく、ヘリウムガス（Ｈｅ）が例示できる。キャリアガスの流量は、５０ｍＬ／ｍｉｎから５００ｍＬ／ｍｉｎの範囲が好ましく、１００ｍＬ／ｍｉｎから３００ｍＬ／ｍｉｎの範囲がより好ましい。

[0042] 実施形態に係る炭素同位体分析装置の性能やサイズを挙げると概ね以下の通りとなる。

^{14}Ｃ分析装置として^{14}Ｃに対する検出感度０．１ｄｐｍ／ｍＬ

測定処理能力：４００サンプル／１日、

装置サイズ：２ｍ×１ｍ×１ｍ以下、である。

一方、ＬＳＣの性能やサイズを挙げると概ね以下の通りとなる。

^{14}Ｃに対する検出感度：１０ｄｐｍ／ｍＬ

測定処理能力：４００サンプル／１日、

装置サイズ：１ｍ×１ｍ×０．５ｍ、である。

またＡＭＳの性能やサイズを挙げると概ね以下の通りとなる。

^{14}Ｃに対する検出感度：０．００１ｄｐｍ／ｍＬ

測定処理能力：５サンプル／１日、

装置サイズ：１５ｍ×１０ｍ×３ｍ程度、である。

[0043] （生体試料の前処理）

生体試料の前処理は、広義には、生体由来の炭素源除去工程と、夾雑ガス除去（分離）工程とが含まれるが、ここでは、生体由来の炭素源除去工程を中心に説明する。

マイクロドーズ試験では極微量の^{14}Ｃ標識化合物が含まれる生体試料（例えば、血液、血漿、尿、糞、胆汁など）について分析が行われる。そのため、分析効率を上げるためには、生体試料の前処理を行うことが好ましい。ＣＲＤＳ装置の特性上、生体試料中^{14}Ｃと全炭素との比(^{14}Ｃ/^{Total}Ｃ)が測定の検出感度を決定する要素の一つであるため、生体試料中から生体由来の炭素源を除去することが好ましい。

[0044] ・^{14}C/^{Total}C比の試算

文献値（Tozuka et al., ”Microdose Study of 14C-Acetaminophen With Accelerator Mass Spectrometry to Examine Pharmacokinetics of Parent Drug.nd Metabolites in Healthy Subjects” Clinical Pharmacology & Therapeutics 88, 824, 2010)を参考に、^{14}Ｃ/^{Total}Ｃ比を算出した。測定試料ごとの、性状、試料、処理方法を、表１にまとめた。また生体試料として血漿を用いた場合の処理方法の概要を図１７に示す。

[表1]

表１ 測定試料ごとの実施可能な処理方法

性状	試料	放射能測定前に実施する処理				
		未処理	ホモジネート調製	ソルエン溶解	希釈	有機溶媒処理
液体	血漿	○	--	○	○	○
	尿	○	--	--	○	○
固体	糞	--	○	○	○	○
液体	HPLC 溶離液	○	--	--	--	--

文献における操作では血漿１ｍＬ、尿０．５ｍＬを用いて有機溶剤による除タンパク法を行っていた。測定試料中の^{14}Ｃ/^{Total}Ｃ比を算出すると、表２

に示すように１０$^{-11}$～$^{-14}$であった。これらの数値から、既存の前処理方法だけでは十分な検出感度を得られないことが推察された。また前処理に用いる有機溶媒や、高速液体クロマトグラフィ(ＨＰＬＣ)の移動相に用いられる有機溶媒による炭素持込みの影響が考えられた。

[表2]

表２ マイクロドーズ試験における測定試料中の $^{14}C/^{Total}C$ 比の推算

	試料 (S101)	除タンパク後上清 (S105)	HPLC 分画-1 (S110)	HPLC 分画-2 (S112)
Drug (dpm/mL)	12.78	12.53	0.017	0.194
Total C (mg/mL)	50.86	2964	1.55×10^{-1}	2.47×10^{-1}
$^{14}C/^{Total}C$	2.54×10^{-11}	4.27×10^{-13}	5.60×10^{-14}	6.37×10^{-13}

試料 (S101) : 50 mgC/mL Plasma, 上清 (S105) : EtOH 4mL
Drug: ^{14}C 濃度 1.01×10^{-13}
HPLC 分画 (S110, S112) : 移動相 A; 10 mmol/L 酢酸アンモニウム、移動相 B; MeOH として算出。

そこで、乾固により有機溶媒を除去して$^{14}C/^{Total}C$比の改善を検討した。

まず、タンパク除去率の高い有機溶媒の選定を行った。固体試料導入ユニットを用いて検討したところ、除タンパク率はメタノール（ＭｅＯＨ）で約４０%、アセトニトリル(ＭｅＣＮもしくはＡＣＮ)で約８０%であり、生体由来炭素源を高効率に除去する結果が得られた。アセトニトリルで処理したと仮定して、有機溶媒抽出乾固後の$^{14}C/^{Total}C$比を計算した結果、表３に示されるように最大４０倍程度の改善が見込めると考えられた。尿においても、同様の結果が得られた。この場合、ＣＲＤＳ装置に導入する炭素量としてヒト血漿１ｍＬあたりから０．７～１０ｍｇＣ得られることが推察された。なお、この炭素量は、固体試料導入ユニットの測定範囲と合致することより、０．１～２０ｍｇＣがＣＲＤＳ測定ガスセルの導入炭素量として好ましいことを確認した。

以上の結果から生体由来の炭素源を有機溶媒により取り除き、用いた溶媒を除去することでＣＲＤＳを用いた放射性炭素同位体測定に向けた基本的な前処理方法として利用できることを確認した。

[表3]

表３溶媒除去後の炭素量と$^{14}C/C$比（推算値）

		除タンパク後上清（S105）	HPLC分画-1（S110）	HPLC分画-2（S112）
ACN抽出乾固	Total C(mgC)	10.17	7.47×10^{-1}	1.12
	$^{14}C/^{Total}C$	1.24×10^{-10}	2.30×10^{-12}	1.75×10^{-11}

[0045] 加えて炭素の持ち込みを低減し、^{14}Cを濃縮するための前処理法を検討した。^{14}C濃縮の目標値は、$^{14}C/^{Total}C$比として10^{-11}以上に設定した。生体由来の炭素源除去工程及び有機溶媒の除去工程（乾固）を行い、^{14}C回収率及び除炭素率を算出した。表４に^{14}C回収率を、表５に除炭素率を示す。生体由来の炭素源除去工程として、除タンパク質法、液－液抽出法、固相抽出法、限外濾過法を比較検討した。図１８に除タンパク質法、図１９に液－液抽出法、図２０に固相抽出法、図２１に限外濾過法の処理工程を示す。^{14}C源として、^{14}C標識されたアセトアミノフェンを用いた。生体試料にはヒト血漿、ヒト尿、及びラット糞１０%ホモジネート溶液を用いた。ただし、限外濾過法はヒト血漿試料のみ実施した。

結果を以下に記載する。^{14}C回収率は、除タンパク質法、液－液抽出法、固相抽出法において、９１．４%以上であった。一方、限外濾過法においてヒト血漿試料での^{14}C回収率は２．６%であった。除炭素率は、固相抽出法のみ全ての試料で８８．５%以上であった。一方、除タンパク質法、液－液抽出法において、ヒト血漿試料の除炭素率が９３．０%以上、ラット糞１０%ホモジネート溶液が７９．１%以上であるのに対し、ヒト尿試料の除炭素率は、それぞれ２２．８%、４９．５%であった。これは、ヒト尿試料において、ある種の生体マトリックス由来の炭素源が固相抽出法では除去できる一方、除タンパク質法及び液－液抽出法では除去できないためと推察される。

以上より、ＣＲＤＳを用いた放射性炭素同位体測定において、固相抽出法がヒト血漿、ヒト尿、及びラット糞１０%ホモジネート溶液に好適であること

が確認された。また、除タンパク質法、液－液抽出法がヒト血漿及びラット糞１０%ホモジネート溶液前処理方法として適用できることが示唆された。

なお、本実施例においては^{14}C源となる化合物としてアセトアミノフェンを用いたため、固相にＯａｓｉｓ　ＨＬＢ（Ｗａｔｅｒｓ製）を使用した。前処理に用いる固相は、^{14}C源となる化合物に応じて適宜変更できる。

固相抽出法を用いた場合の^{14}C/^{Total}C比を文献値（Tozuka et al., ”Microdose Study of 14C-Acetaminophen With Accelerator Mass Spectrometry to Examine Pharmacokinetics of Parent Drug.nd Metabolites in Healthy Subjects” Clinical Pharmacology & Therapeutics 88, 824, 2010)をもとに試算したところ、ヒト血漿及びヒト尿試料において^{14}C/^{Total}C比が１０$^{-11}$以上であった。

[0046] [表4]

処理方法ごとの ^{14}C 回収率

^{14}C回収率(%)	除タンパク質法	液－液抽出法	固相抽出法	限外濾過法
ヒト血漿	98.5	91.4	91.6	2.6
ヒト尿	94.9	100.6	93.6	-
ラット糞	98.9	95.1	95.1	-

[表5]

処理方法ごとの除炭素率

除炭素率(%)	除タンパク質法	液－液抽出法	固相抽出法	限外濾過法
ヒト血漿	93.0	97.8	98.8	84.8
ヒト尿	22.8	49.5	89.7	-
ラット糞	79.7	79.1	88.5	-

[0047] 図２の有機元素分析計の基本性能の評価実験を以下の条件で行なった。

[操作手順]

１．試料秤量

炭素量と試料の炭素割合は以下の式を用いて算出した。

炭素量=試料の秤量値×試料の炭素割合

化合物の炭素割合＝試料分子量中の炭素分子量／試料の分子量

表６に、検討に用いた試料（化合物）、分子式、分子量、理論Ｃ割合（％）、及び試薬純度を示す。

[表6]

試料	分子式	分子量	Ｃ割合（％）	純度(%)
スルファニルアミド	$C_6H_8N_2O_2S$	172.2	41.8	99.7<
グルコース	$C_6H_{12}O_6$	180.16	40.0	98<
メチオニン	$C_5H_{11}NO_2S$	149.21	40.3	99.0<
グラファイト	C	12.01	100	99<
アセトアミノフェン	$C_8H_9NO_2$	151.16	63.6	97<

２．試料セット、測定

秤量した試料を、スズカプセルに内包した後、試料を有機元素分析計（以下「ＥＡ」ともいう。/elementar社製、商品名「Vario MICRO cube」）の円盤状オートサンプラにセットし、以下のＥＡ測定条件１または２で測定を行なった。なお、本操作手順及び後述の操作手順において、スズカプセルとしては、スズボート（もしくはフィルム）を用いた。

<ＥＡ測定条件１（ＣＮＳモード）>

燃焼温度:１１５０℃(瞬間最大１８００℃)

還元温度:７６０℃

キャリアガス:Ｈｅ

流量:２００ｍＬ/ｍｉｎ

酸素供給量：３０ｍＬ/ｍｉｎで７０～８０秒

酸化触媒:酸化コバルト

還元触媒:還元銅

ハロゲン除去触媒:銀

除湿剤：シカペント（Merk Millipore社製）

<ＥＡ測定条件２（ＣＮモード）>

燃焼温度:９５０℃(瞬間最大１８００℃)

還元温度:６００℃

キャリアガス:Ｈｅ

流量:２００ｍＬ/ｍｉｎ

酸素供給量：３０ｍＬ／ｍｉｎで７０～８０秒

酸化触媒:酸化銅

還元触媒:還元銅

ハロゲン除去触媒:銀

除湿剤:シカペント

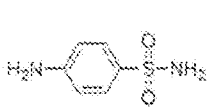
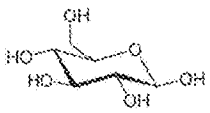
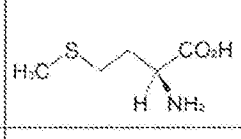
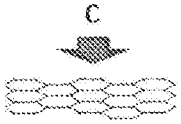
[0048] ［実験１］　固体試料の燃焼

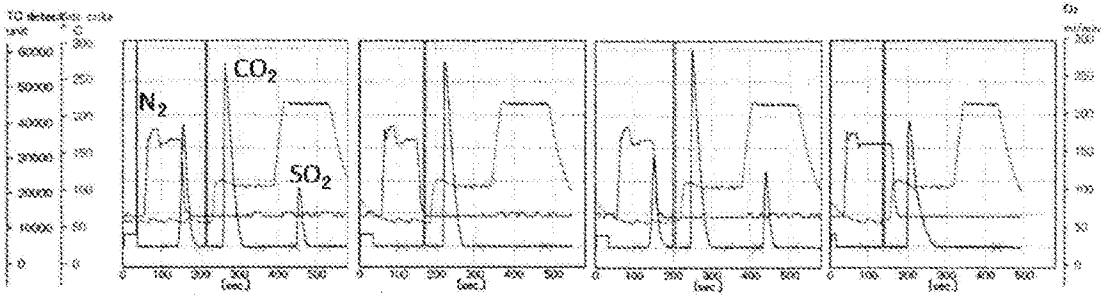
ＥＡを用いて試料を燃焼（酸化）させ、得られたクロマトグラムからCO_2の分離測定が可能か確認した。クロマトグラム得られたエリア値から炭素割合（各試料の炭素含有率）を算出し、燃焼程度（燃焼率）を検討した。

[0049] 結果１

約４ｍｇＣとなるように、スルファニルアミド、グルコース、メチオニン、グラファイトをセミミクロ天秤で秤量し、ＥＡ測定条件１で測定を行なった。表７に各試料の構造式、分子式、クロマトグラムを示す。

[表7]

試料	スルファニルアミド	グルコース	メチオニン	グラファイト
構造式				
分子式	$C_6H_8N_2O_2S$	$C_6H_{12}O_6$	$C_5H_{11}NO_2S$	C



[0050] 試料中に含まれるＣ、Ｎ、Ｓの各元素は、燃焼により酸化物(ただしNO_Xは還元されてN_2)となり、加熱脱着カラムによりそれぞれ分離されたのち、ＴＣＤ（Thermal Conductivity Detector）により、それぞれの元素をCO_2

、N_2、及びSO_2ガスとして検出した。表８に、得られたクロマトグラムのピークエリア値を用いて算出されたＣ割合（％）を示す。

[表8]

	ｽﾙﾌｧﾆﾙｱﾐﾄﾞ	ｸﾞﾙｺｰｽ	L-ﾒﾁｵﾆﾝ	ｸﾞﾗﾌｧｲﾄ
秤量値(mg)	10.0	10.2	10.7	4.35
炭素量(mgC)	4.14	4.06	4.38	4.31
エリア値	123025	128250	128989	126452
C割合(%)	41.7	39.8	40.7	98.0

[0051] 理論Ｃ割合（％）と算出されたＣ割合（％）との差（絶対値）は、スルファニルアミドで０．Ｉ％、グルコースで０．２％、メチオニンで０．４％、難燃性物質であるグラファイトで２．０％であった。結果として、難燃性物質であるグラファイトも含め、全ての試料で９８．０％以上が燃焼(酸化)されていると考えられた。

[0052] ［実験２］ 水分量の影響、及び炭酸ガス化率の評価

水分による酸化燃焼に与える影響を確認した。

・グルコース水溶液試料調製

グルコース標準溶液として２．５gのグルコースを量りとり、試験用水で５ｍＬにメスアップした。

２．５ｇ×０．４＝１．０ｇＣ

１．０ｇＣ/５ｍＬ＝０．２ｇＣ/ｍＬ ・・・Ｇｌｃ－１溶液

Ｇｌｃ－１溶液を用いて表９に示す希釈溶液を調製した。

[0053]

[表9]

試料	gC/mL	希釈溶液(mL)		試験用水(mL)
Glc-1	0.2	-	-	-
Glc-2	0.1	Glc-1	0.5	0.5
Glc-3	0.05		0.25	0.75
Glc-4	0.04		0.2	0.8
Glc-5	0.025		0.125	0.875
Glc-6	0.02		0.1	0.9
Glc-7	0.01	Glc-2		
Glc-8	0.005	Glc-3		
Glc-9	0.004	Glc-4		
Glc-10	0.0025	Glc-5		
Glc-11	0.002	Glc-6		
Glc-12	0.001	Glc-7		
Glc-13	0.0005	Glc-8		
Glc-14	0.0004	Glc-9		
Glc-15	0.0002	Glc-11		

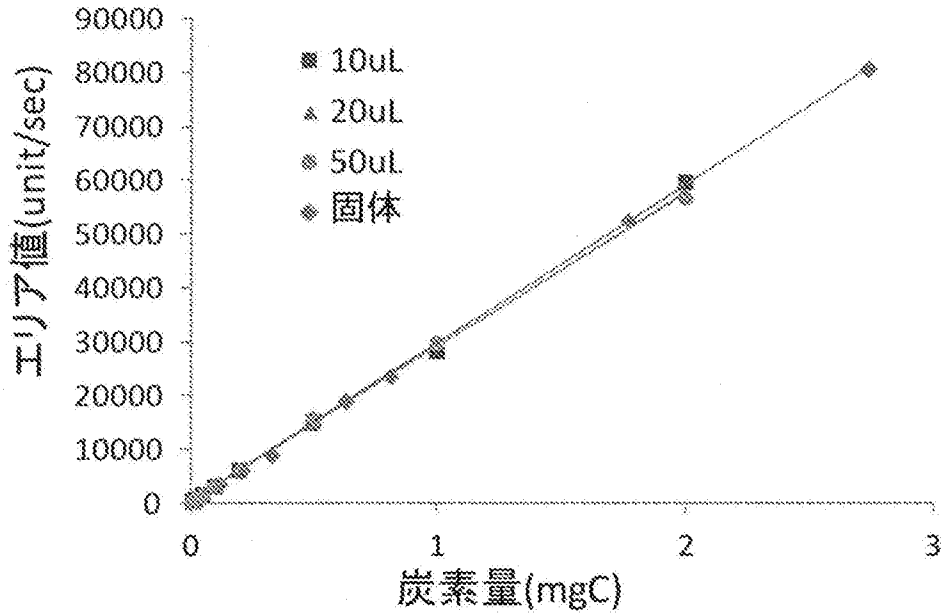
[0054] 水分量１０、２０、５０μＬ、炭素量０．０１～２．０ｍｇＣとなるようにグルコース水溶液を表１０のように調製し、スズカプセルに内包して、ＥＡ測定条件１で測定した。表１１にＥＡ測定条件１での炭素量とピークエリア値のプロット、回帰式及び傾き比を示す。

[0055] [表10]

	水分量(uL)		
炭素量(mgC)	10uL	20uL	50uL
2	Glc-1	Glc-2	Glc-4
1	Glc-2	Glc-3	Glc-6
0.5	Glc-3	Glc-5	Glc-7
0.2	Glc-6	Glc-7	Glc-9
0.1	Glc-7	Glc-8	Glc-11
0.05	Glc-8	Glc-10	Glc-12
0.02	Glc-11	Glc-12	Glc-14
0.01	Glc-12	Glc-13	Glc-15

[0056] [表11]

結果２



	回帰式	傾き比(%)
固体	y=29647x +20.2	100
10μL	y=29455x +188	99.4
20μL	y=28679x +408	96.7
50μL	y=28481x +586	96.1

[0057] 得られた回帰式の傾きで燃焼率を比較した。固体試料グルコースの傾きを１００％とした時、水分５０μＬ含有時の傾き比は９６．１％であった。このことから水分量５０μＬでも９５％以上燃焼していると考えられた。さらにこの時、燃焼率と炭酸ガス化率は同等と考えられるため、水分量１０～５０μＬの範囲であれば炭酸ガス化率９０％以上を達成していると判断した。

[0058] ［実験３］ ダイナミックレンジの評価

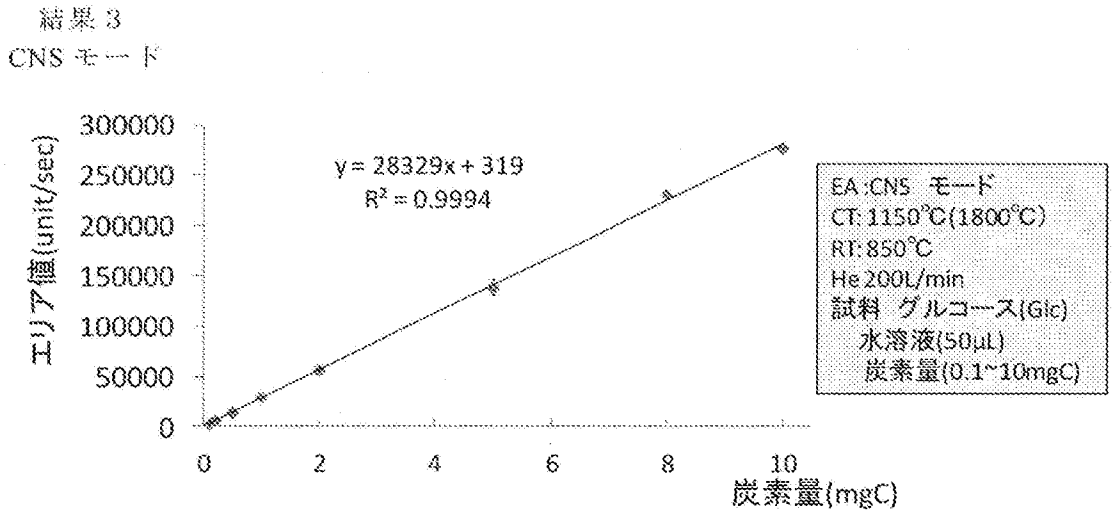
水分量５０μＬまで問題なく試料を燃焼できると考えられたため、水分量５０μＬにて、炭素量０．０５～１０ｍｇＣの範囲でグルコース水溶液を燃焼し、ＥＡ測定条件1、ＥＡ測定条件２にて測定した。得られたエリア値と試料の理論炭素量から検量線を作成し、ダイナミックレンジの評価をＥＡ測定

条件1、ＥＡ測定条件２それぞれで行った。

＜試料セット及び測定＞

炭素量０．１～１０ｍｇＣとなるようにグルコース水溶液を調製し、ＥＡ測定条件１及びＥＡ測定条件２にて測定した。表１２にＥＡ測定条件１での炭素量とピークエリア値のプロットを示す。表１３にＥＡ測定条件１での変動係数（ＣＶ）及び相対誤差（ＲＥ）を示す。表１４ＥＡ測定条件２での炭素量とピークエリア値のプロットを示す。表１５にＥＡ測定条件２での変動係数（ＣＶ）及び相対誤差（ＲＥ）を示す。

[0059] [表12]

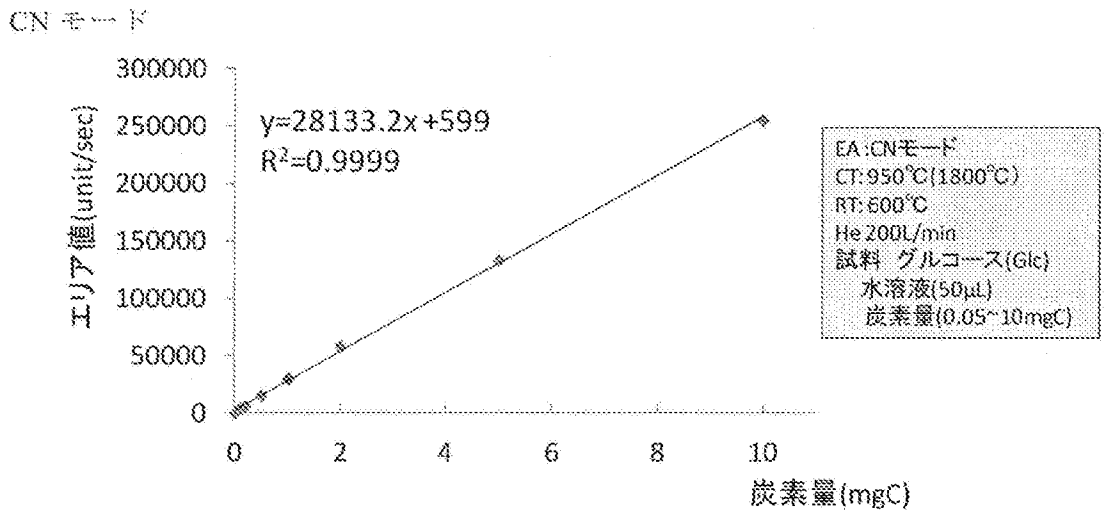


[0060] [表13]

炭素量(mgC)	炭素量 (mmol)	エリア値平均	標準 偏差	CV (%)	RE (%)
0.1	0.01	3091	59.0	1.9	-2.5
0.2	0.02	6256	84.2	1.3	5.1
0.5	0.04	14170	384.7	2.7	-1.6
1	0.08	29476	140.6	0.5	3.7
2	0.17	56711	3394.5	6.0	0.4
5	0.42	138734	7781.3	5.6	-1.4
8	0.67	230590	1341.6	0.6	2.5
10	0.83	277491	625.1	0.2	-1.3

[0061]

[表14]



[0062] [表15]

炭素量(mgC)	炭素量(mmol)	エリア値平均	標準偏差	CV (%)	RE (%)
0.05	0.004	1965	49.8	2.5	-2.9
0.1	0.01	3496	43.5	1.2	3.0
0.2	0.02	6389	120.2	1.9	2.9
0.5	0.04	15380	220.0	1.4	5.1
1	0.08	29806	721.1	2.4	3.8
2	0.17	58463	592.1	1.0	2.8
5	0.42	133748	1828.3	1.4	-5.3
10	0.83	255550	1462.6	0.6	-9.4

[0063] ＥＡ測定条件１において、導入試料用量０．１～１０ｍｇＣの範囲で、変動係数（ＣＶ）０．２～６．０％、相対誤差（ＲＥ）－２．５～５．１％、及び決定係数（R^2：相関係数Ｒの二乗）０．９９９４を示し、ダイナミックレンジ１００倍であることを確認した。ＥＡ測定条件２では、導入試料用量０．０５～１０ｍｇＣの範囲で、変動係数（ＣＶ）０．６～２．５％、相対誤差（ＲＥ）－９．４～５．１％、及び決定係数（R^2：相関係数Ｒの二乗）０．９９９９を示し、ダイナミックレンジ２００倍であることを確認した。

[0064] ［実験４］ 生体試料の燃焼

小目的:未処理の生体試料の燃焼評価を行った。なお、医薬品の体内動態評価においては、高精度に測定するため、前処理を行った試料を導入することが望ましいが、実験４では生体マトリックスの影響確認も含め評価するため

、１０～５０μＬの血漿および尿試料を燃焼させて評価した。

１．試料準備

ヒト血漿:白人男性血漿(マーシャルバイオリソーシスジャパン株式会社より購入)１０ｍＬ×４を混合したもの。

ヒト尿:所内ボランティアより採取したもの(２０～５０代男性、混合なし)。

２．スズカプセル内包

試料をそれぞれ１０～５０μＬ量りとり、スズカプセルに内包した。

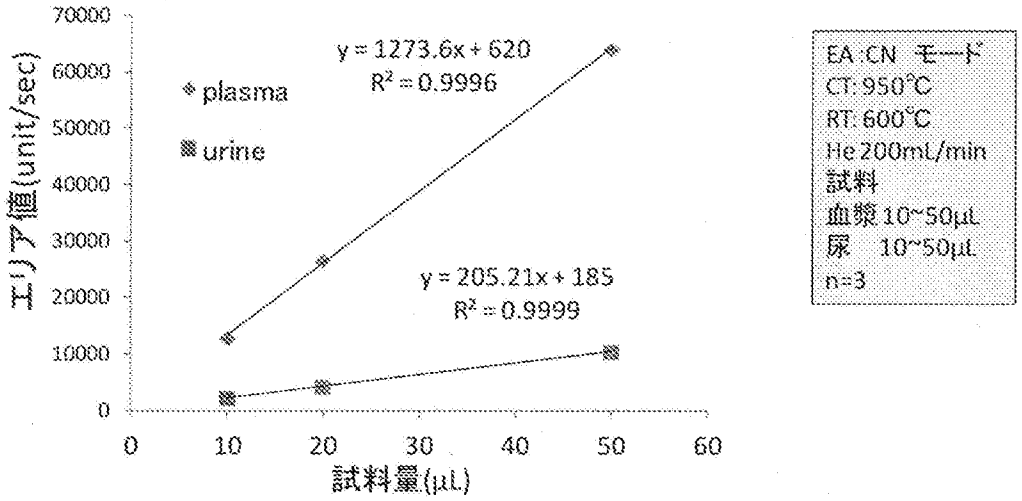
３．試料セット、測定

封入した試料をＥＡにセットし上述のＥＡ測定条件２で測定を行なった。

表１６に試料量とピークエリア値のプロット（結果４）を示す。表１７に得られたクロマトグラムを示す。

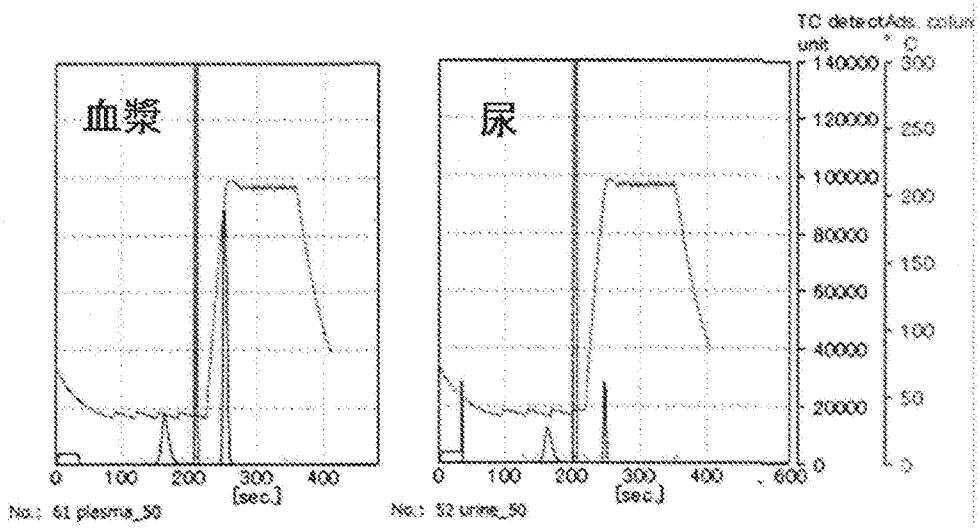
[0065] [表16]

結果４



[0066]

[表17]



[0067] 血漿、尿ともに決定係数が０．９９９６以上であり、試料量に応じて良好な直線性が確認された。クロマトグラムにも問題は見られず未処理生体試料も燃焼できることが確認された。このとき５０μＬ導入量の測定結果から生体試料中の炭素量を算出すると表１８の通りとなった。

[表18]

	炭素量 (mgC/mL)
plasma	47.5
urine	7.74

[0068] ＥＡの試料燃焼性能を確認した結果、固体試料および水分量５０μＬまでの水溶液試料について、問題無く酸化燃焼できることが確認できた。固体試料の検量線傾きを炭酸ガス化率１００％と考えた時、最も酸化燃焼しにくいと考えられる水分量５０μＬを含む試料の検量線傾きは９６．１％であった。また、この時のダイナミックレンジは１００倍以上であると考えられた。以上より、ＥＡはＣＲＤＳ装置の試料導入部の目標設定を達成したことから、試料導入部に適用出来ることが確認できた。

[0069] ［実験５］

^{14}C試料を燃焼して生成した$^{14}CO_2$を回収、測定することにより、試料導

入部における炭酸ガス化率が９０％以上であることを確認した。^{14}Ｃ標識化合物としてアセトアミノフェンを用いた。実験５の結果（結果５）を表１９に示す。

[表19]

結果５

試料	C 量(mgC)	^{14}C 回収率(%)
sample1-1	4.1	99.95
sample1-2	9.1	99.26
sample1-3	14.1	96.90

[0070] 導入する^{14}Ｃ量を一定とし、総Ｃ量を変えて測定を行った。その結果Ｃ量１４．１ｍｇＣでも^{14}Ｃ回収率９０％以上であることを確認した。以上から化合物中の^{14}ＣはほとんどＣ全て$^{14}CO_2$となっていると考えられ、^{14}Ｃ回収率を炭酸ガス化率として９０％以上であると考えられた。

[0071] 本発明以前の放射性炭素同位体測定の代表例であるＡＭＳにおける前処理法を挙げ、本発明において二酸化炭素同位体生成装置４０に、図２で示される原理を用いた場合の前処理法を例として比較する。

ＡＭＳにおける前処理法は、測定試料の洗浄や希釈をなどの調整、前処理後の生体試料を二酸化炭素化する工程、還元工程、プレス工程からなる。１００検体を測定する場合、ＡＭＳでは人員２名を要し、日数は最低６～７日である。また、測定費用は４００万円である。（１検体当たり4万円、加速器分析センターの資料を参考）。

一方、本願のＣＲＤＳを用いた前処理法は、生体試料から生体由来炭素を除去する工程、前処理後の生体試料を二酸化炭素化する工程、精製（濃縮,夾雑ガス除去）工程、除湿冷却工程からなる。１００検体を測定する場合、生体試料を二酸化炭素化する工程以降は自動化できるため、人員１名で1～2日での処理が可能である。なお測定費用は１００万円以下を想定している。（1検体数百～数千を設定）

なお、ＡＭＳを用いた装置はテニスコートの半面程度の設置面積の特別な

建屋が必要になるが、ＣＲＤＳを用いた装置は、デスクトップサイズまで設置面積を縮小化でき、また配置自由度を高めることができる。

[0072] 本発明以前の放射性炭素同位体測定の代表例であるＬＳＣ及びＡＭＳにおける前処理法を挙げ、本発明において二酸化炭素同位体生成装置４０に、図２で示される原理を用いた場合の前処理法を例として比較する。

ＬＳＣで生体試料を測定する場合の前処理工程について、生体試料の種類により処理時間に差はあるものの、数分から約２８時間を要する。尿と血液の前処理法の例を挙げる。

尿をＬＳＣ測定に供する場合、尿試料を必要に応じて蒸留水で希釈すればよい。当該前処理に要する時間は、数分である。

ＬＳＣは，試料から発する放射線とシンチレーターにより発する蛍光を検出し，放射線量を計測するが血液をＬＳＣ測定に供する場合、血液由来の色素が蛍光の検出を妨害し，正しく測定できない場合がある。このような場合，血液試料に組織溶解剤Ｓｏｌｕｅｎｅ－３５０（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ社）などを添加し、数時間４０℃から６０℃に加温し、さらに３０％過酸化水素を添加して血液色素を脱色させる必要がある場合がある。当該前処理に要する時間は、約４～２４時間である。また別の前処理方法としては、血液試料を乾燥させたのち、試料中の炭素を二酸化炭素に燃焼酸化させ、生成した二酸化炭素をアミンなどでトラップする方法が挙げられる。

当該前処理に要する時間は、約４～２４時間である。

[0073] ＡＭＳで生体試料を測定する場合の前処理工程は、第１の工程～第５の工程からなる。以下に各工程の概略を記載する。なお、生体試料の例としては、血液、血漿、尿、糞、胆汁などが挙げられる。

第１の工程は、測定に供する生体試料を、必要に応じて希釈溶媒で希釈し、分取する工程である。希釈溶媒として、超純水またはブランク試料等が好適に用いられる。

第２の工程は、上記分取した試料を酸化させ、試料中に含まれる炭素を二酸化炭素にする工程である。

第３の工程は、水や窒素などから二酸化炭素を単離・精製する工程である。精製後の二酸化炭素について、炭素量を定量する。

第４の工程は、精製された二酸化炭素を還元反応によりグラファイトにする工程である。還元反応の例として、還元剤である鉄粉末と水素ガスを混合し電気炉で加熱しグラファイトを作製する方法が挙げられる。

第５の工程は、調製したグラファイトをプレスする工程である。

上記前処理工程に要する時間は約６日間である。

[0074] ＬＳＣの前処理にかかる時間が数分～約２８時間、ＡＭＳの前処理にかかる時間が約６日間であるのに対して、本実施形態における図２で示される原理を用いた二酸化炭素を生成する工程にかかる時間は、数分～約２８時間である。前処理例として希釈、抽出、濃縮などが挙げられる。原理的に、測定に供する試料に含まれる炭素が完全燃焼して二酸化炭素に変換されればよく、本実施形態によれば前処理時間を検体あたり数分～約１．５時間程度まで短縮できる。例えば血液試料をＬＳＣで測定する場合に必要な組織溶解工程や脱色工程が、ＣＲＤＳで測定する場合には不要となる。そのため図１８～２１で示す前処理工程にかかる時間は、１検体あたり数分～約１．５時間である。

[0075] （炭素同位体分析方法）

分析対象として放射性同位体^{14}Ｃを例にあげて説明する。

[0076] （イ）まず図１に示すような炭素同位体分析装置１を用意する。また放射性同位体^{14}Ｃ源として、^{14}Ｃを含む生体試料、例えば、血液、血漿、尿、糞、胆汁などを用意する。

（ロ）生体試料の前処理として除タンパクを行うことにより、生体由来炭素源を除去する。除タンパクの方法としては、酸や有機溶媒によりタンパク質の不溶化させる除タンパク法、分子サイズの違いを利用する限外濾過または透析による除タンパク法、固相抽出による除タンパク法等が例示できる。後述するように、^{14}Ｃ標識化合物の抽出が行えることや、有機溶媒自身の除去が容易であることから、有機溶媒による除タンパク法が好ましい。

有機溶媒を用いた除タンパク法の場合、まず生体試料に有機溶媒を添加し、タンパク質を不溶化する。このとき、タンパク質に吸着している^{14}Ｃ標識化合物が、有機溶媒含有溶液へ抽出される。^{14}Ｃ標識化合物の回収率を高めるために、前記有機溶媒含有溶液を別の容器に採取後、残差にさらに有機溶媒を添加し、抽出する操作を行ってもよい。前記抽出操作は複数回繰り返してもよい。なお、生体試料が糞である場合、肺など臓器である場合等、有機溶媒と均一に混合しにくい形態の場合には、該生体試料をホモジネートする等、生体試料と有機溶媒とが均一に混合されるための処理をすることが好ましい。また必要に応じて、不溶化したタンパク質を、遠心操作、フィルターによるろ過等により除去してもよい。

その後、有機溶媒を蒸発させることにより^{14}Ｃ標識化合物を含む抽出物を乾固させ、有機溶媒由来の炭素源を取り除く。前記有機溶媒は、メタノール（ＭｅＯＨ）、エタノール（ＥｔＯＨ）、またはアセトニトリル(ＡＣＮ)が好ましく、アセトニトリルがさらに好ましい。

[0077] （ハ）前処理後の生体試料を加熱・燃焼させて、放射性同位体^{14}Ｃ源から二酸化炭素同位体$^{14}Ｃ Ｏ_2$を含むガスを生成する。そして、得られたガスから$Ｎ_2Ｏ$、ＣＯを除去する。具体的には、図２，図３の装置を用いて$^{14}Ｃ Ｏ_2$を分離することが好ましい。

[0078] （ニ）得られた$^{14}Ｃ Ｏ_2$から水分を取り除いておくことが好ましい。例えば二酸化炭素同位体生成装置４０内にて、$^{14}Ｃ Ｏ_2$を炭酸カルシウム等の乾燥剤上を通過させたり、$^{14}Ｃ Ｏ_2$を冷却して水分を結露させることにより水分を除去することが好ましい。$^{14}Ｃ Ｏ_2$に含まれる水分に起因する光共振器１１の着氷・着霜によるミラー反射率低下が検出感度を低下させるため、水分を除去しておくことで分析精度が上がるからである。なお、分光工程を考慮すると、分光装置１０へ$^{14}Ｃ Ｏ_2$を導入する前に、$^{14}Ｃ Ｏ_2$を冷却しておくことが好ましい。室温の$^{14}Ｃ Ｏ_2$を導入すると、共振器の温度が大きく変化し、分析精度が低下するためである。

[0079] （ホ）$^{14}Ｃ Ｏ_2$を、図１に示すような１対のミラー１２ａ、１２ｂを有する光

共振器１１内に充填する。そして$^{14}CO_2$を２７３Ｋ（０℃）以下に冷却することが好ましい。照射光の吸収強度が高まるからである。また光共振器１１を真空雰囲気に保つことが好ましい。外部温度の影響を軽減させることで、測定精度が高まるからである。

[0080] （へ）１つの光源２３から第１光として光周波数コム光を発生させる。得られた第１光を第１光ファイバー２１に伝送する。また第１光ファイバー２１から分岐する波長変換用の第２光ファイバー２２に第１光を伝送させ第１光とは異なる波長の第２光を発生させる。次に第２光を第１光ファイバー２１の下流側で合流させ、第１光と第２光を非線形光学結晶２５に通過させ、周波数の差から二酸化炭素同位体$^{14}CO_2$の吸収波長の４．５μｍ帯の光を照射光として発生させる。

[0081] （ト）二酸化炭素同位体$^{14}CO_2$に照射光を照射し共振させる。その際、測定精度を上げるためには、光共振器１１の外部からの振動を吸収し、ミラー１２ａ、１２ｂ間隔にずれが生じないようにすることが好ましい。また照射光が空気に触れないように、第１光ファイバー２１の下流側の他端をミラー１２ａに当接させながら照射することが好ましい。そして光共振器１１からの透過光の強度を測定する。図５に示すように透過光を分光し、分光されたそれぞれの透過光について強度を測定してもよい。

[0082] （チ）透過光の強度から炭素同位体^{14}C濃度を計算する。

[0083] （その他の実施形態）

上記のように、本発明は実施形態によって記載したが、この開示の一部をなす論述及び図面はこの発明を限定するものであると理解すべきではない。この開示から当業者には様々な代替実施の形態、実施例及び運用技術が明らかとなろう。

実施形態に係る炭素同位体分析装置においては、分析対象である炭素同位体として放射性同位体^{14}Cを中心に説明した。放射性同位体^{14}Cの他にも、安定同位体元素である^{12}C、^{13}Cを分析することができる。その場合の照射光としては、例えば、^{12}C及び^{13}C 分析を$^{12}CO_2$及び$^{13}CO_2$の吸収線分

析として行う場合は、２μｍ帯や１．６μｍ帯の光を用いることが好ましい。

$^{12}CO_2$、及び$^{13}CO_2$の吸収線分析を行う場合、ミラー間隔は１０～６０ｃｍ、ミラーの曲率半径はミラー間隔と同じかそれ以上、とすることが好ましい。

なお、^{12}C、^{13}C、^{14}Cはそれぞれ化学的には同じ挙動を示すが、安定同位体元素^{12}C、^{13}Cよりも放射性同位体^{14}Cの天然存在比が低いことから、放射性同位体^{14}Cはその濃度を人工的な操作により高くし、精度よく測定を行うことで様々な反応過程の観測が可能となる。

実施形態に係る炭素同位体分析装置は、第１光ファイバーから分岐し分岐点より下流側で第１光ファイバーに合流する非線形ファイバーで構成された第３の光ファイバーをさらに備えてもよい。第１～第３の光ファイバーを組み合わせることで２種以上の様々な周波数の光を発生することが可能になるからである。

その他にも、例えば、実施形態において説明した構成を一部に含む医療診断装置、環境測定装置も同様に製造することができる。また実施形態において説明した光発生装置を測定装置として用いることができる。

このように、本発明はここでは記載していない様々な実施の形態等を含むことは勿論である。したがって、本発明の技術的範囲は上記の説明から妥当な特許請求の範囲に係る発明特定事項によってのみ定められるものである。

符号の説明

[0084] １　炭素同位体分析装置

１０　分光装置

１１　光共振器

１２　ミラー

１３　ピエゾ素子

１４　回折格子

１５　光検出器

１６　セル

１８　真空装置

１９　ペルチェ素子

２０　光発生装置

２１　第１光ファイバー

２２　第２光ファイバー

２３　光源

２５　非線形光学結晶

２６　光学スイッチ

２８　ディレイライン

３０　演算装置

４０　二酸化炭素同位体生成装置

請求の範囲

[請求項1] 炭素同位体から二酸化炭素同位体を含むガスを生成する燃焼部、二酸化炭素同位体精製部を備える二酸化炭素同位体生成装置と、

１対のミラーを有する光共振器、前記光共振器からの透過光の強度を検出する光検出器を備える分光装置と、

１つの光源、前記光源からの光を伝送する第１光ファイバー、前記第１光ファイバーから分岐し前記第１光ファイバーの下流側の合流点で合流する波長変換用の第２光ファイバー、周波数が異なる複数の光を通過させることで周波数の差から前記二酸化炭素同位体の吸収波長の光を発生させる非線形光学結晶を備える光発生装置と

を備えることを特徴とする炭素同位体分析装置。

[請求項2] 前記二酸化炭素同位体精製部は、夾雑ガス分離部、前記二酸化炭素同位体の濃縮部の少なくとも一方を備えることを特徴とする請求項１記載の炭素同位体分析装置。

[請求項3] 前記炭素同位体は放射性炭素同位体^{14}Ｃであり、前記二酸化炭素同位体は放射性二酸化炭素同位体$^{14}CO_2$であることを特徴とする請求項１または２に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項4] 前記光源は、光周波数コム光を発生することを特徴とする請求項１～３に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項5] 前記光源は、ファイバーレーザーであることを特徴とする請求項１～４のいずれか１項に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項6] 前記二酸化炭素同位体の吸収波長を有する光は、４．５μｍ帯の光であることを特徴とする請求項１～５のいずれか１項に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項7] 前記二酸化炭素同位体生成装置は、全有機炭素発生装置により前記炭素同位体から前記二酸化炭素同位体を生成するものであることを特徴とする請求項１～６のいずれか１項に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項8] 前記第１光ファイバーは、前記光源から前記光共振器までつながる

ことを特徴とする請求項１～７のいずれか１項に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項9] 前記第１光ファイバーは、前記光源から前記非線形光学結晶までつながる第１光ファイバーａと、前記非線形光学結晶から前記光共振器までつながる中赤外用の第１光ファイバーｂと、を備えることを特徴とする請求項１～８のいずれか１項に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項10] 前記光発生装置は、前記非線形光学結晶から前記光共振器へ光を伝送する光伝送装置をさらに備えることを特徴とする請求項１～７，９のいずれか１項に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項11] 前記第１光ファイバーは、前記光源から前記非線形光学結晶までつながる第１光ファイバーａであることを特徴とする請求項１０に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項12] 前記光発生装置は、

前記第１、第２光ファイバーの合流点と前記非線形光学結晶の間、および

前記非線形光学結晶と前記光共振器の間、の少なくともいずれか一方、または両方に光学レンズをさらに備えることを特徴とする請求項１～７、９～１１のいずれか１項に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項13] 前記第１光ファイバーの下流側の他端は、前記ミラーに当接されていることを特徴とする請求項１～１２のいずれか１項に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項14] 前記第２光ファイバーは、非線形ファイバーで構成されていることを特徴とする請求項１～１３のいずれか１項に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項15] 前記分光装置は、前記光共振器を冷却する冷却装置をさらに備えることを特徴とする請求項１～１４のいずれか１項に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項16] 前記分光装置は、前記光共振器を収容する真空装置をさらに備える

ことを特徴とする請求項１～１５のいずれか１項に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項17] 前記分光装置は、振動吸収手段をさらに備えることを特徴とする請求項１～１６のいずれか１項に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項18] 前記分光装置は、前記透過光を分光する回折格子をさらに備え、

前記光検出器は、それぞれ異なる波長の透過光を検出する、光検出器ａと、光検出器ｂと、を備えることを特徴とする請求項１～１７のいずれか１項に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項19] 前記非線形光学結晶は、ＰＰＭＧＳＬＴ結晶もしくはＰＰＬＮ結晶、またはＧａＳｅ結晶であることを特徴とする請求項１～１８のいずれか１項に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項20] 前記放射性炭素同位体^{14}Ｃに対する検出感度は、０．１ｄｐｍ／ｍｌ程度であることを特徴とする請求項１～１９のいずれか１項に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項21] 炭素同位体から二酸化炭素同位体を含むガスを生成する燃焼部、二酸化炭素同位体精製部を備える二酸化炭素同位体生成装置と、

１対のミラーを有する光共振器、前記光共振器からの透過光の強度を検出する光検出器を備える分光装置と、

１つの光源、前記光源からの光を伝送しスペクトルを拡げる光ファイバー、周波数が異なる複数の光を通過させることで周波数の差から前記二酸化炭素同位体の吸収波長の光を発生させる非線形光学結晶を備える光発生装置と

を備えることを特徴とする炭素同位体分析装置。

[請求項22] 前記光源からの光を波長フィルタを用いて複数のスペクトル成分に分け、それぞれの時間差を調整した後に前記非線形結晶に集光させる分光手段をさらに備えることを特徴とする請求項２１に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項23] 前記光源からの光を波長フィルタを用いて複数のスペクトル成分に

分け、それぞれの時間差を調整した後に前記非線形結晶に集光させるディレイラインをさらに備えることを特徴とする請求項２１に記載の炭素同位体分析装置。

[請求項24] １つの光源と、

前記光源からの光を伝送しスペクトルを拡げる光ファイバーと、

前記光ファイバーからの光を波長フィルタを用いて複数のスペクトル成分に分け、それぞれの時間差を調整した後に非線形結晶に集光させる分光手段と、

周波数が異なる複数の光を通過させることで周波数の差から前記二酸化炭素同位体の吸収波長の光を発生させる非線形光学結晶と、

を備えることを特徴とする光発生装置。

[請求項25] 前記分光手段として、前記光源からの光を時間差を用いて複数のスペクトル成分に分けるディレイラインを備えることを特徴とする請求項２４に記載の光発生装置。

[請求項26] 炭素同位体から二酸化炭素同位体を生成する工程と、

前記二酸化炭素同位体を１対のミラーを有する光共振器内に充填する工程と、

１つの光源から周波数が異なる複数の光を発生させ、前記複数の光を非線形光学結晶に通過させることにより周波数の差から前記二酸化炭素同位体の吸収波長を有する照射光を発生させる工程と、

前記二酸化炭素同位体に前記照射光を照射し共振させた際に得られる透過光の強度を測定する工程と、

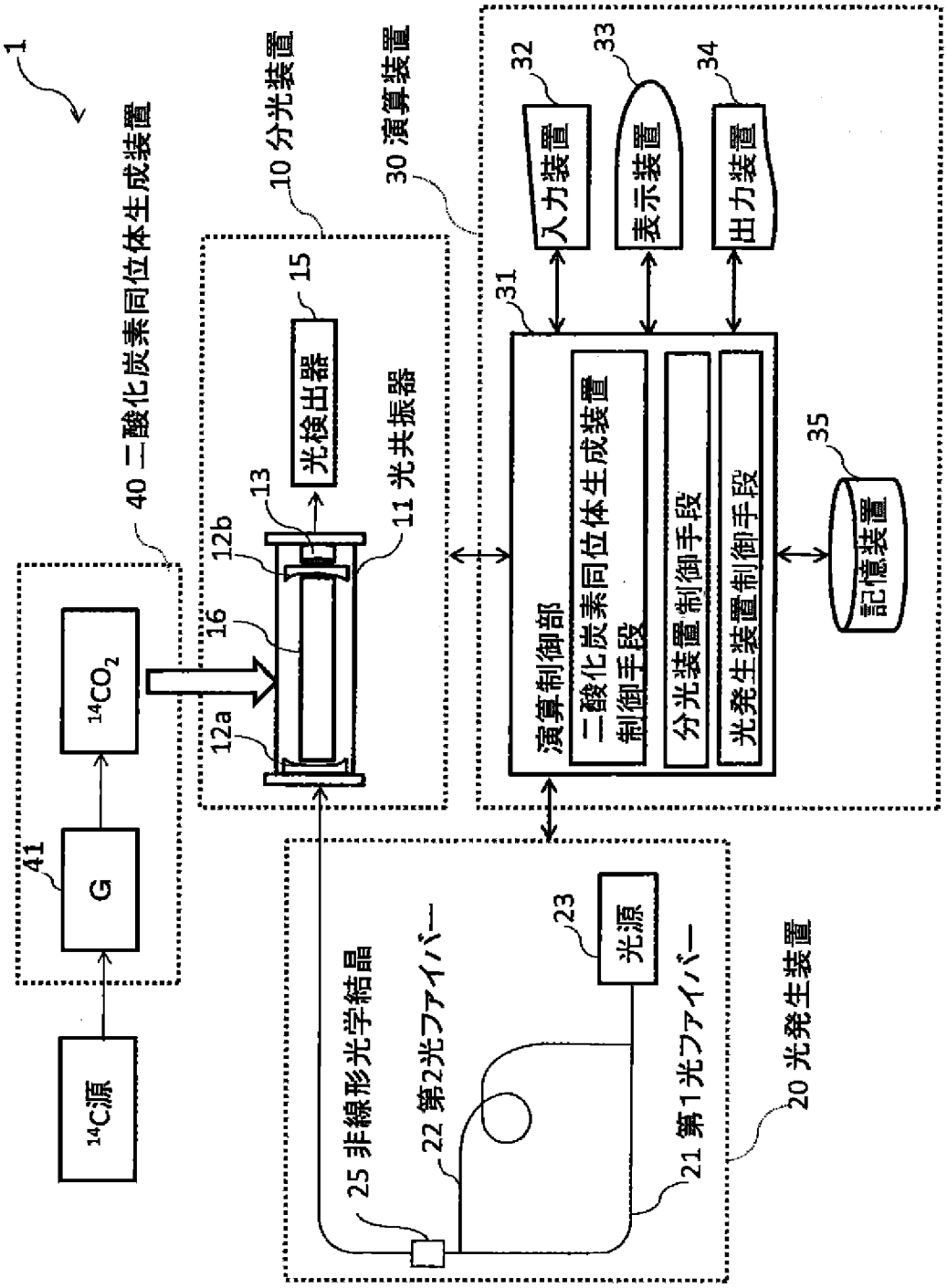
前記透過光の強度から炭素同位体濃度を計算する工程と、を有することを特徴とする炭素同位体分析方法。

[請求項27] 前記二酸化炭素同位体を生成する工程の前に、炭素同位体を含む生体試料から有機溶媒を用いて生体由来炭素源を除去し、得られた試料から有機溶媒由来の炭素源を取り除く工程を有することを特徴とする請求項２６に記載の炭素同位体分析方法。

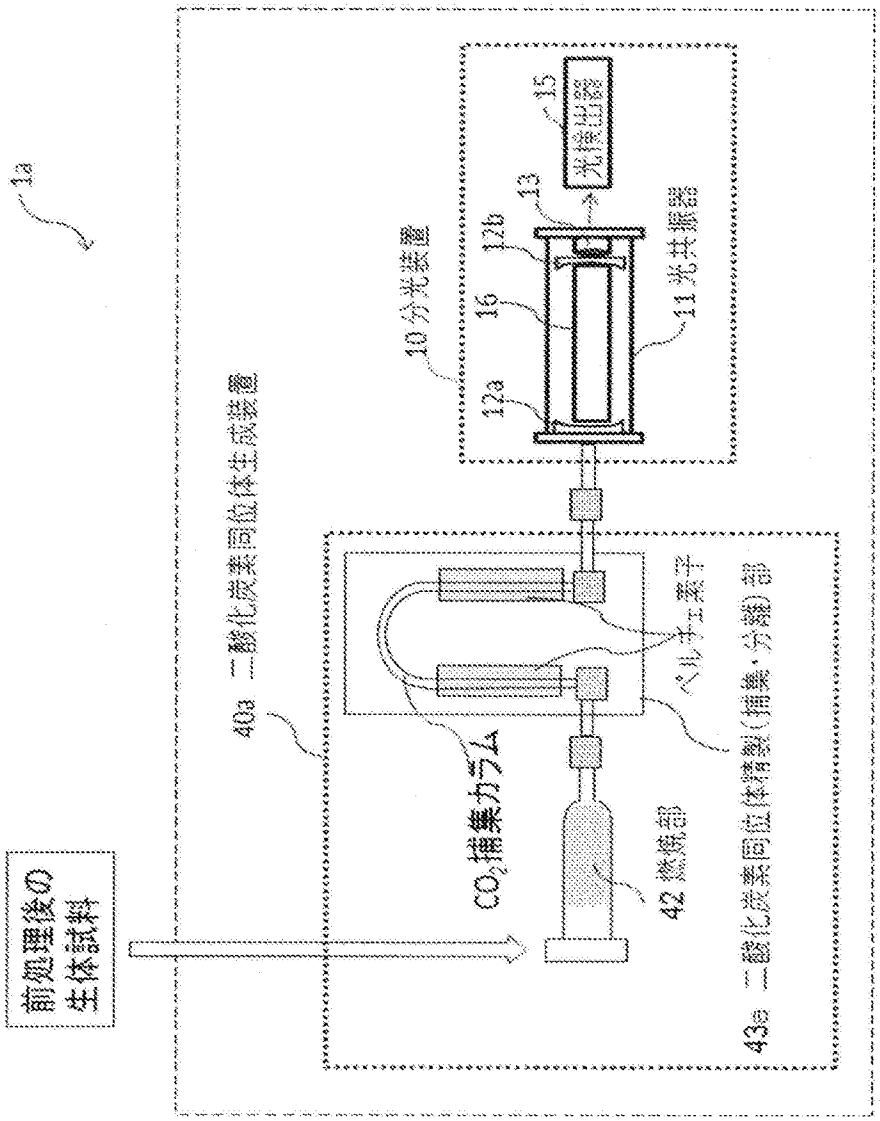
[請求項28] 前記炭素同位体から二酸化炭素同位体を生成する工程において、夾雑ガスの除去、もしくは夾雑ガスからの前記二酸化炭素同位体の分離、および両工程を行うことを特徴とする請求項２６に記載の炭素同位体分析方法。

[請求項29] 前記炭素同位体は放射性炭素同位体^{14}Ｃであり、前記二酸化炭素同位体は放射性二酸化炭素同位体^{14}ＣＯ$_2$であることを特徴とする請求項２６に記載の炭素同位体分析方法。

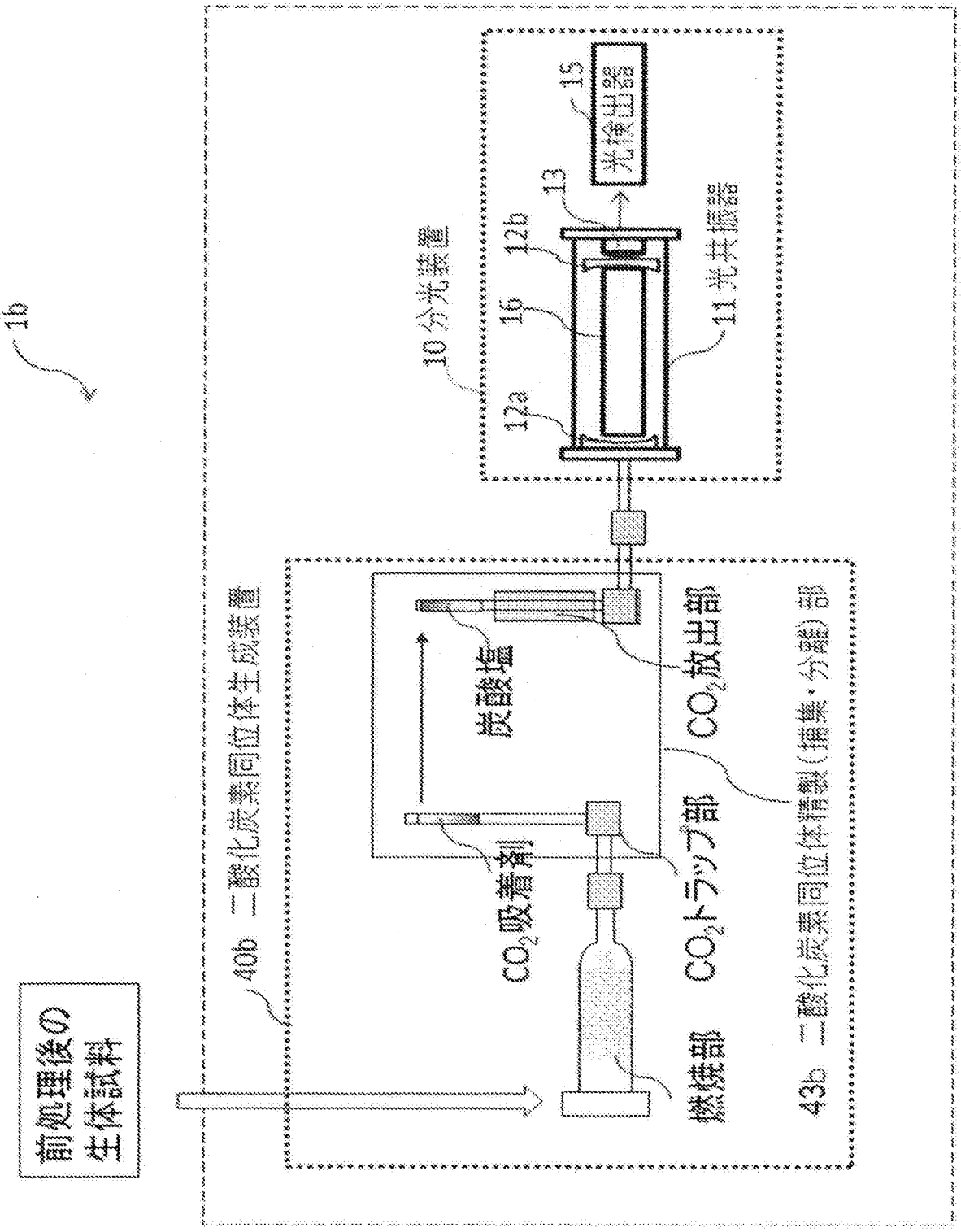
[図1]


1
40 二酸化炭素同位体生成装置
10 分光装置
30 演算装置
32
33
34
入力装置
表示装置
出力装置
15
光検出器
31
13
11 光共振器
12b
35
記憶装置
16
演算制御部
二酸化炭素同位体生成装置制御手段
分光装置制御手段
光発生装置制御手段
12a
$^{14}CO_2$
41
G
^{14}C源
25 非線形光学結晶
22 第2光ファイバー
23
光源
21 第1光ファイバー
20 光発生装置

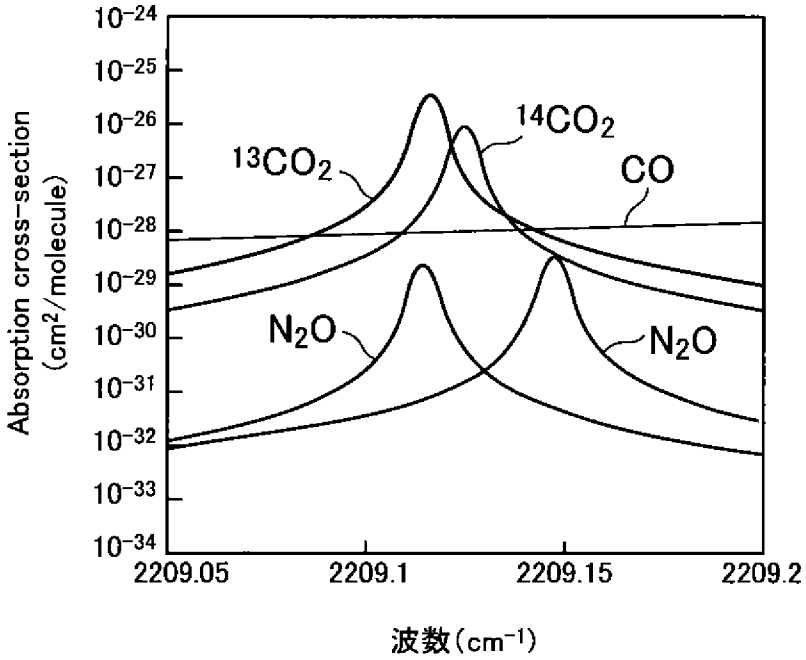
[図2]


1a
10 分光装置
15 光検出器
13
12b
16
11 光共振器
12a
40a 二酸化炭素同位体生成装置
ペルチェ素子
CO_2捕集カラム
42 燃焼部
43a 二酸化炭素同位体精製(捕集・分離)部
前処理後の
生体試料

[図3]


1b
前処理後の生体試料
40b 二酸化炭素同位体生成装置
43b 二酸化炭素同位体精製(捕集・分離)部
燃焼部
CO2トラップ部
CO2放出部
CO2吸着剤
炭酸塩
10 分光装置
11 光共振器
12a
12b
13
15 光検出器
16

[図4]


Absorption cross-section (cm²/molecule)
10⁻²⁴
10⁻²⁵
10⁻²⁶
10⁻²⁷
10⁻²⁸
10⁻²⁹
10⁻³⁰
10⁻³¹
10⁻³²
10⁻³³
10⁻³⁴
2209.05
2209.1
2209.15
2209.2
波数(cm⁻¹)
¹³CO₂
¹⁴CO₂
CO
N₂O
N₂O

[図5]

図５Ａ

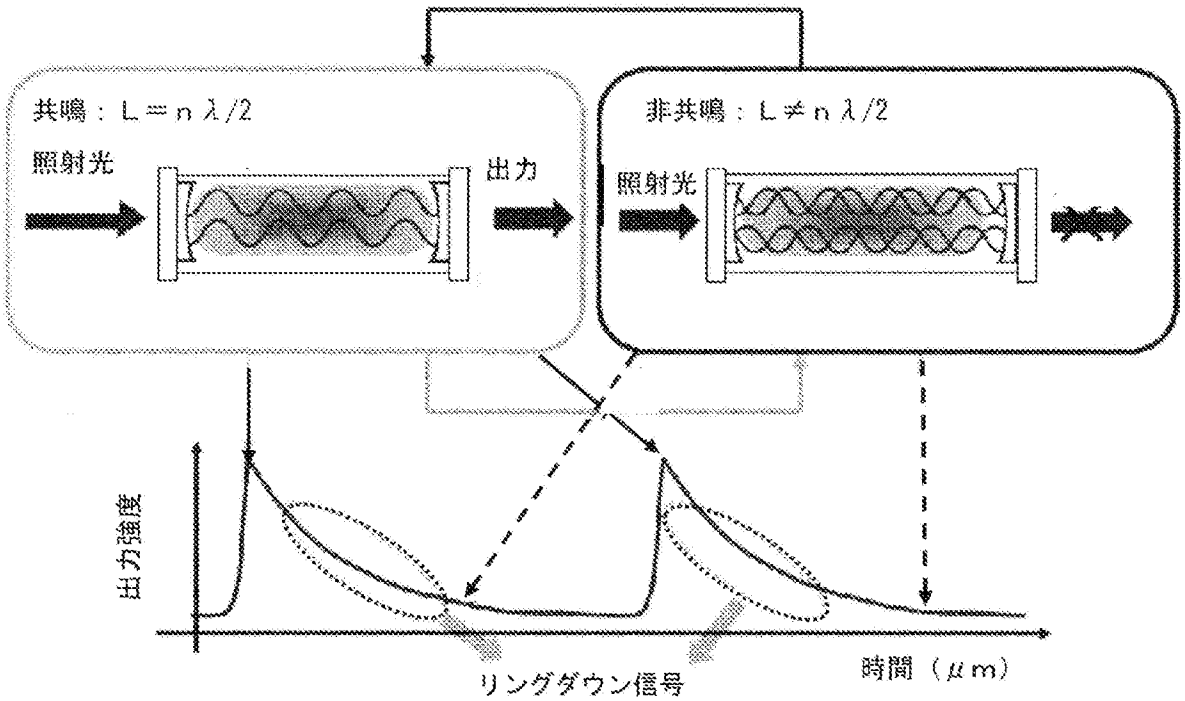
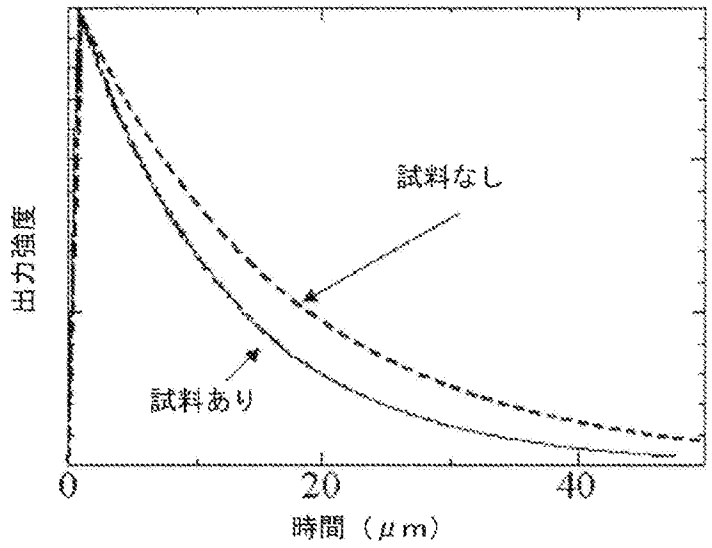
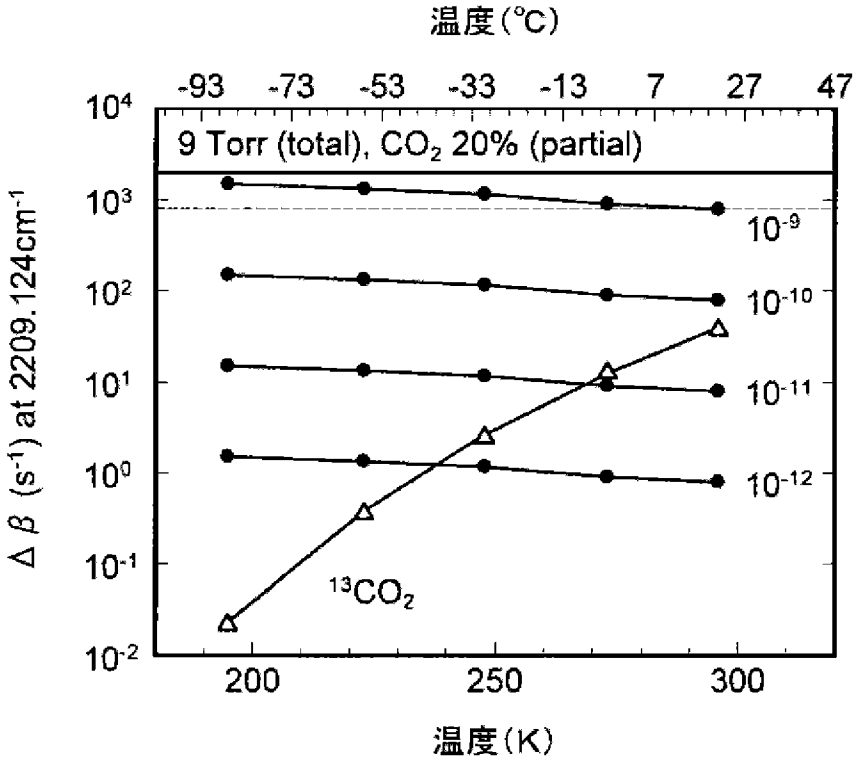

共鳴：Ｌ＝ｎλ/2
照射光
出力
非共鳴：Ｌ≠ｎλ/2
照射光
出力強度
リングダウン信号
時間（μｍ）

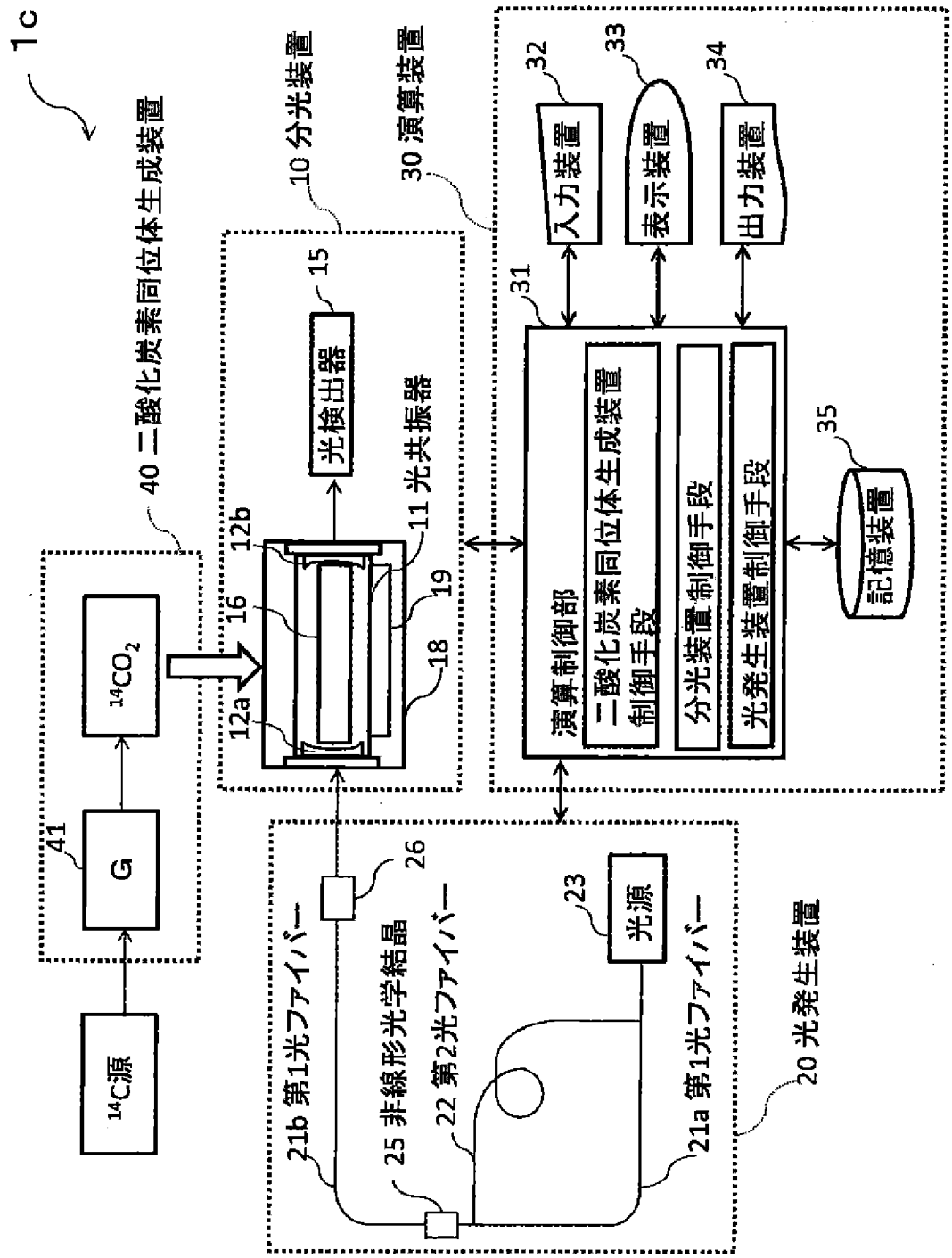
図５Ｂ


出力強度
試料なし
試料あり
0
20
40
時間（μｍ）

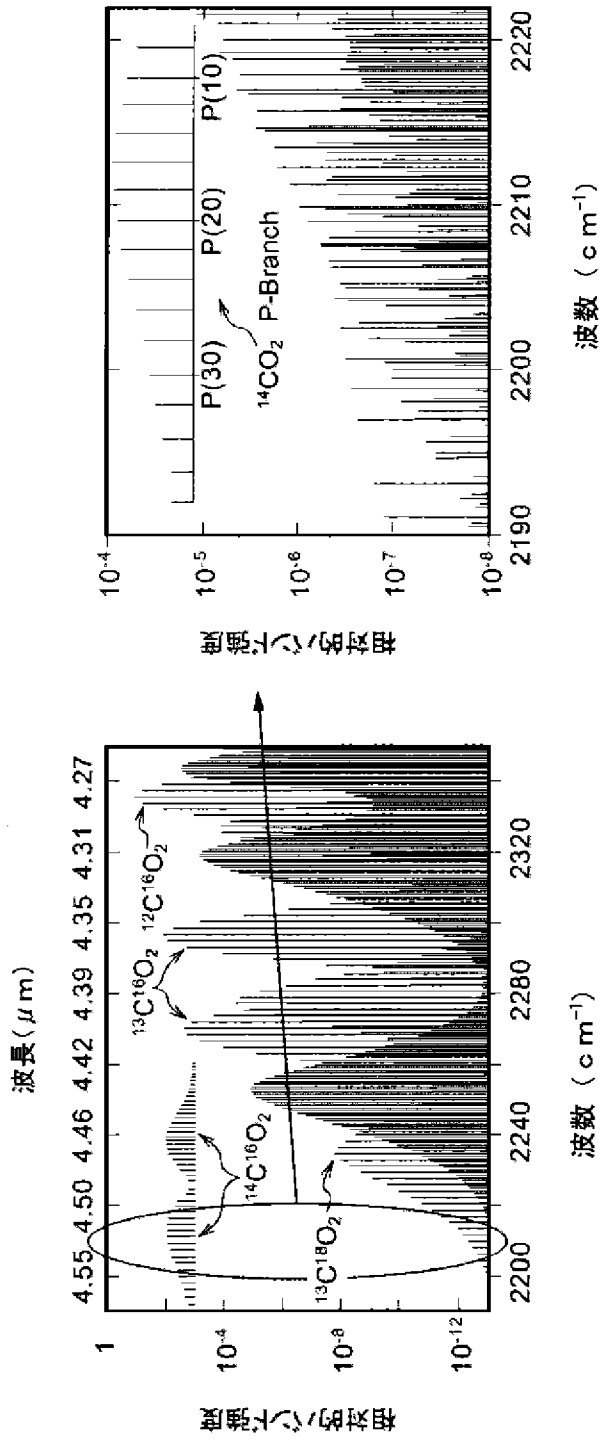
[図6]


温度(℃)
-93
-73
-53
-33
-13
7
27
47
9 Torr (total), CO2 20% (partial)
10-9
10-10
10-11
10-12
13CO2
Δβ (s-1) at 2209.124cm-1
10-2
10-1
100
101
102
103
104
200
250
300
温度(K)

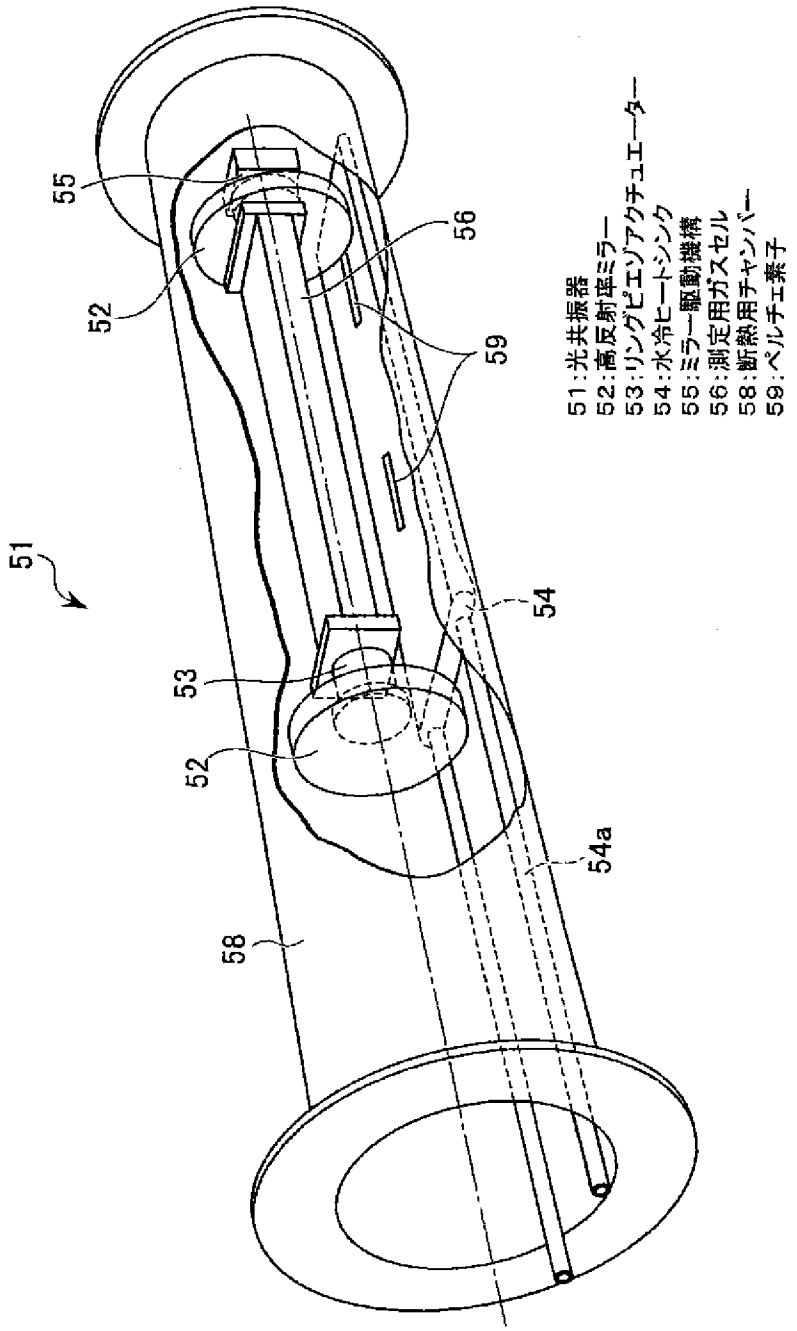
[図7]


1c
40 二酸化炭素同位体生成装置
10 分光装置
30 演算装置
32
入力装置
33
表示装置
34
出力装置
15
光検出器
31
11 光共振器
12b
16
19
18
12a
35
記憶装置
演算制御部
二酸化炭素同位体生成装置制御手段
分光装置制御手段
光発生装置制御手段
$^{14}CO_2$
41
G
^{14}C源
21b 第1光ファイバー
26
25 非線形光学結晶
22 第2光ファイバー
23
光源
21a 第1光ファイバー
20 光発生装置

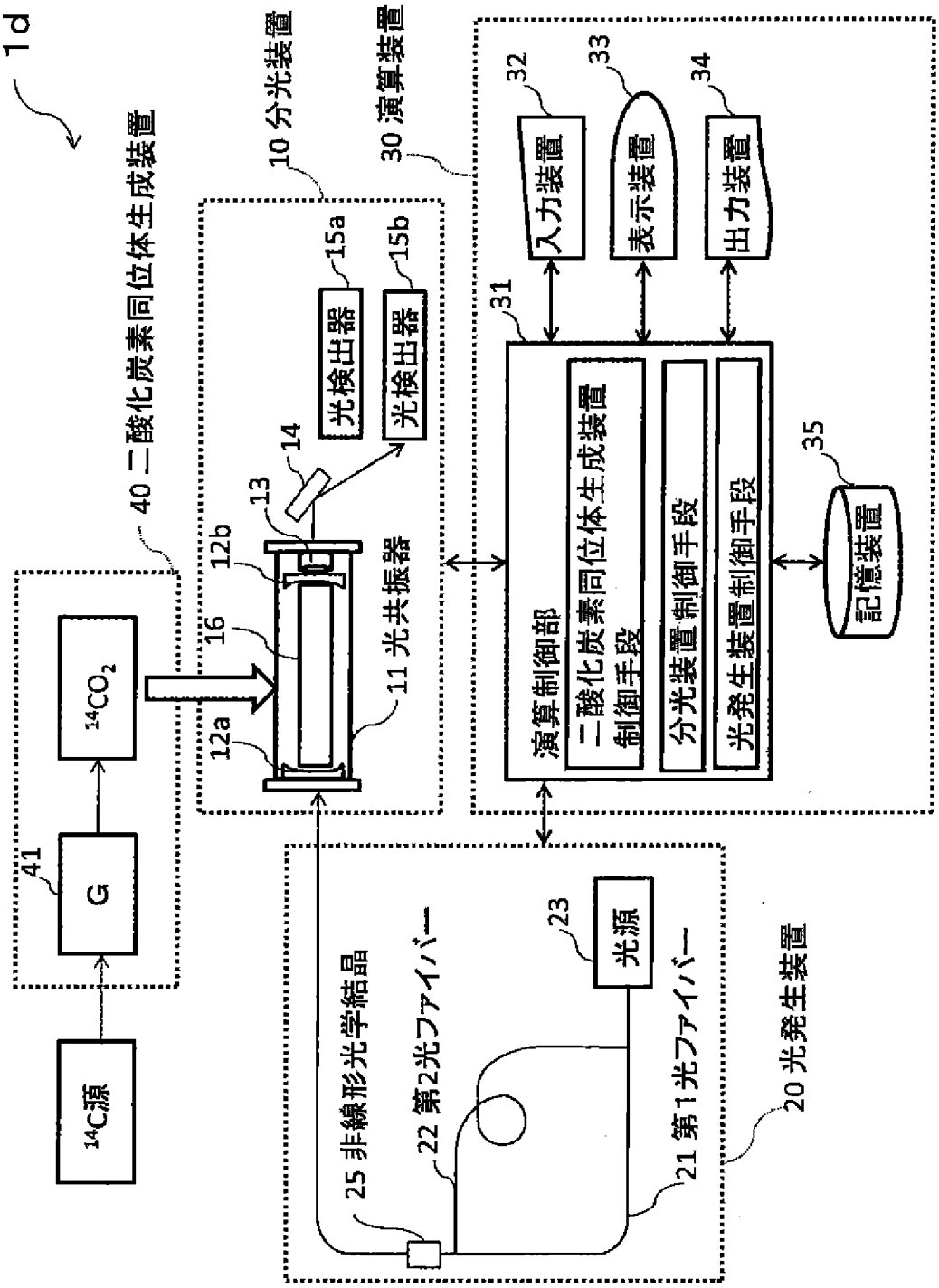
[図8]


P(30)
P(20)
P(10)
$^{14}CO_2$ P-Branch
$^{13}C^{18}O_2$
$^{14}C^{16}O_2$
$^{13}C^{18}O_2$
$^{12}C^{16}O_2$
波長（μm）
波数（cm^{-1}）
相対的な強度

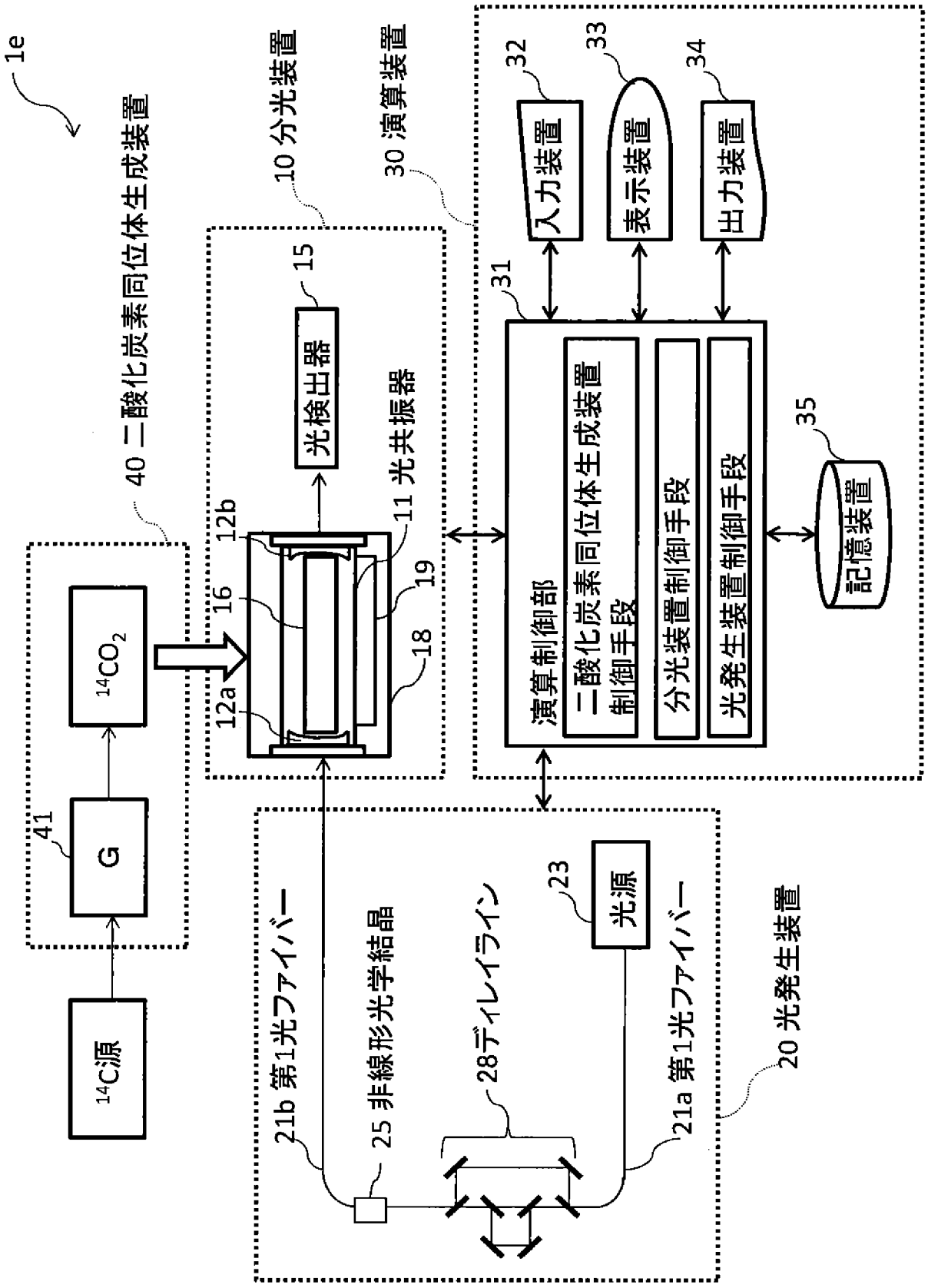
[図9]


51
52
53
54
54a
55
56
58
59
51:光共振器
52:高反射率ミラー
53:リングピエゾアクチュエーター
54:水冷ヒートシンク
55:ミラー駆動機構
56:測定用ガスセル
58:断熱用チャンバー
59:ペルチェ素子

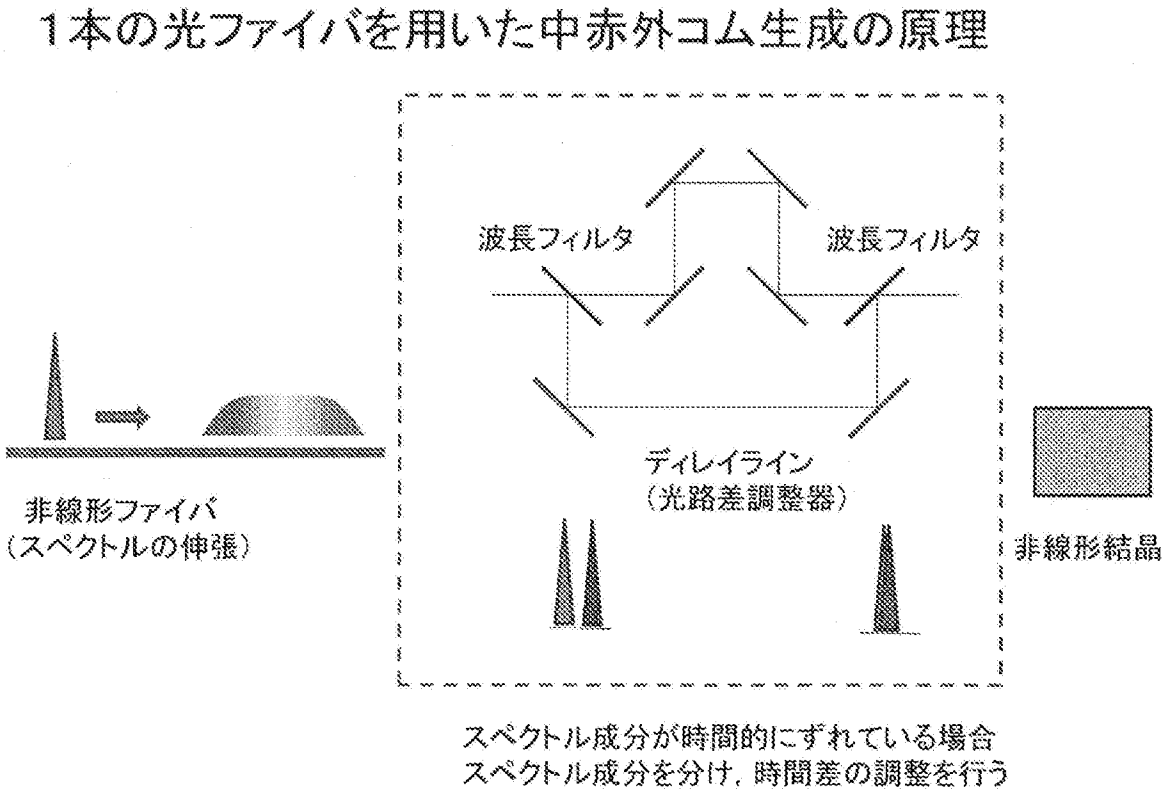
[図10]


1d
40 二酸化炭素同位体生成装置
10 分光装置
30 演算装置
$^{14}CO_2$
^{14}C源
G
41
16
12a
12b
13
14
11 光共振器
光検出器
15a
光検出器
15b
32
入力装置
33
表示装置
34
出力装置
31
演算制御部
二酸化炭素同位体生成装置制御手段
分光装置制御手段
光発生装置制御手段
35
記憶装置
25 非線形光学結晶
22 第2光ファイバー
23
光源
21 第1光ファイバー
20 光発生装置

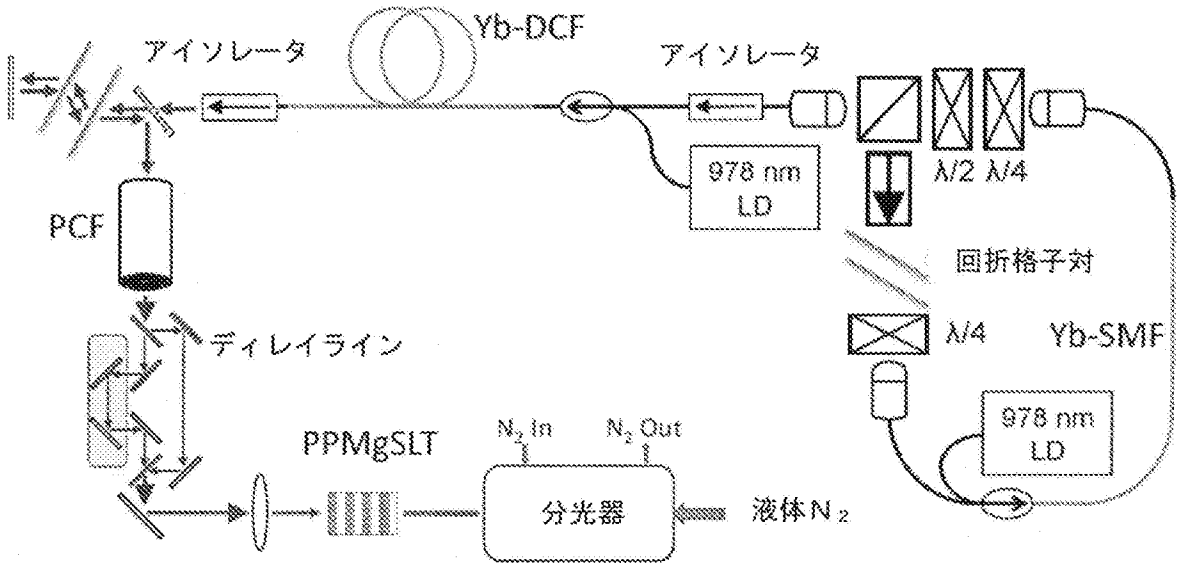
[図11]


1e
40 二酸化炭素同位体生成装置
10 分光装置
30 演算装置
32
33
34
入力装置
表示装置
出力装置
15
光検出器
31
11 光共振器
12b
16
19
18
12a
演算制御部
二酸化炭素同位体生成装置制御手段
分光装置制御手段
光発生装置制御手段
35
記憶装置
$^{14}CO_2$
41
G
^{14}C源
21b 第1光ファイバー
25 非線形光学結晶
28ディレイライン
23
光源
21a 第1光ファイバー
20 光発生装置

[図12]


1本の光ファイバを用いた中赤外コム生成の原理
波長フィルタ
波長フィルタ
ディレイライン
（光路差調整器）
非線形ファイバ
（スペクトルの伸張）
非線形結晶
スペクトル成分が時間的にずれている場合
スペクトル成分を分け，時間差の調整を行う

[図13]


Yb-DCF
アイソレータ
アイソレータ
978 nm
LD
λ/2 λ/4
PCF
回折格子対
ディレイライン
λ/4
Yb-SMF
978 nm
LD
PPMgSLT
N2 In
N2 Out
分光器
液体N2

[図14]

図１４Ａ

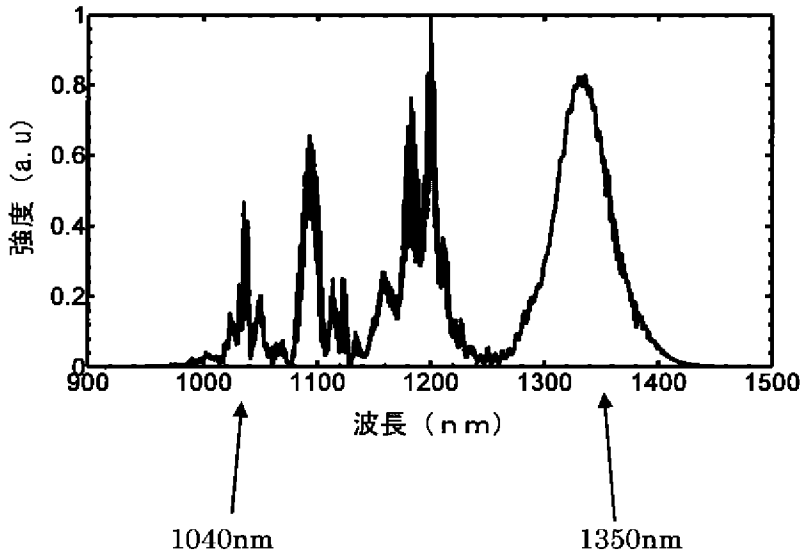
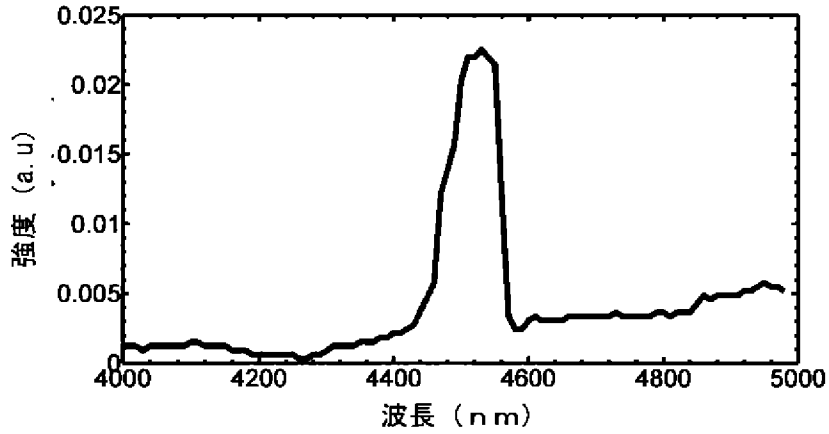


図１４Ｂ



[図15]

図15A

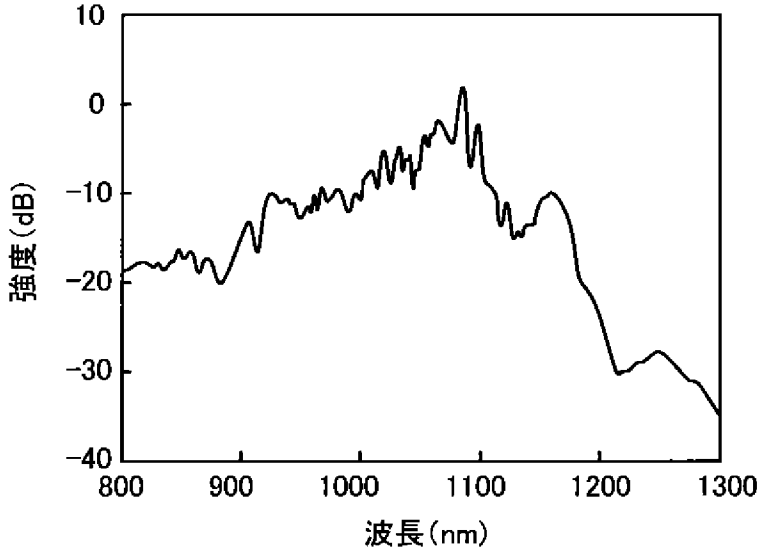


図15B

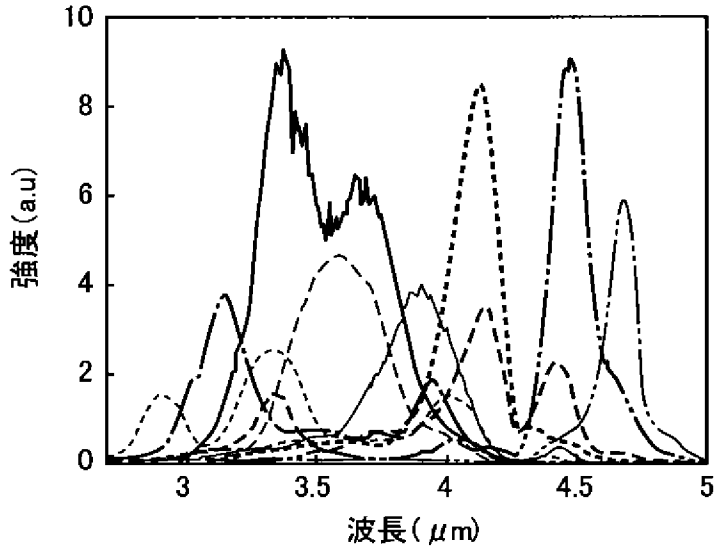
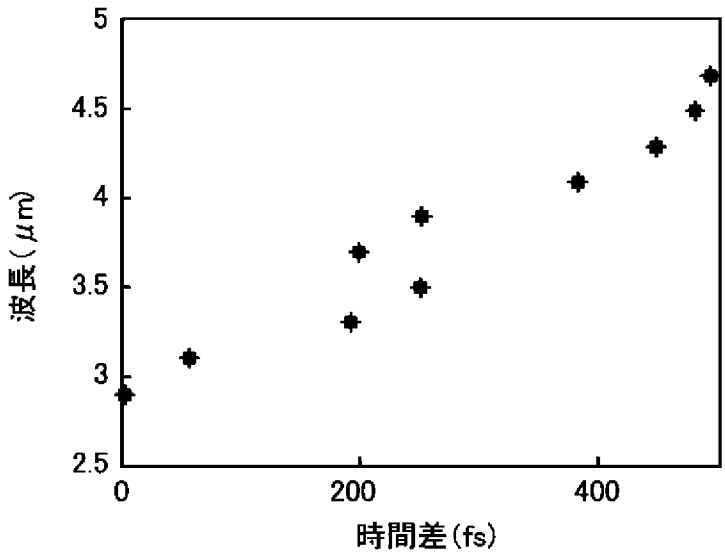


図15C



[図16]

図16A

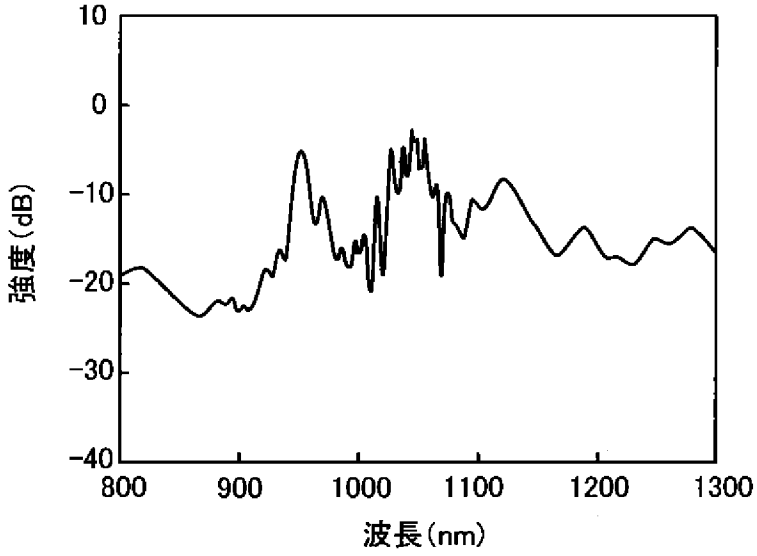


図16B

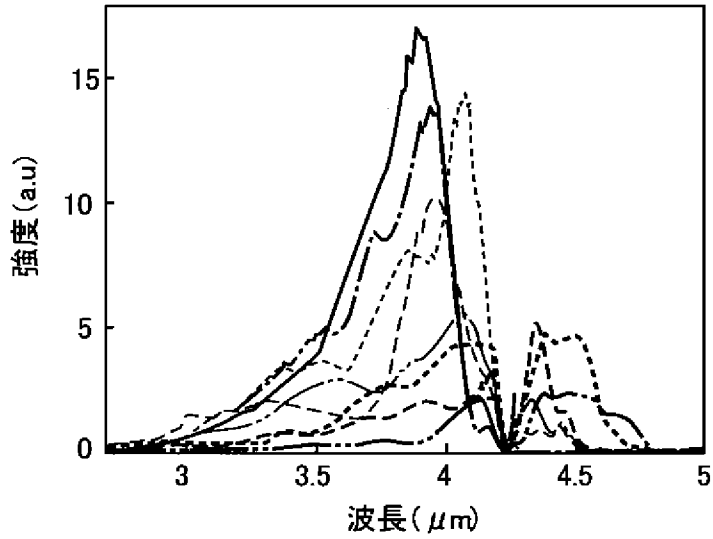
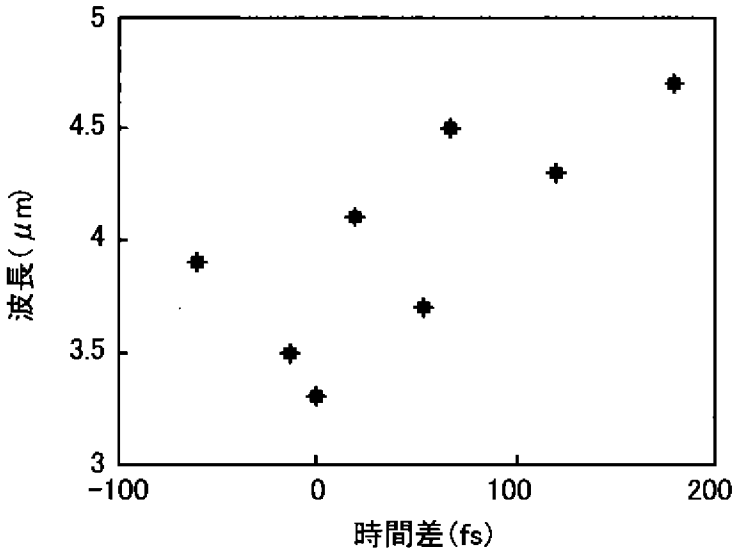
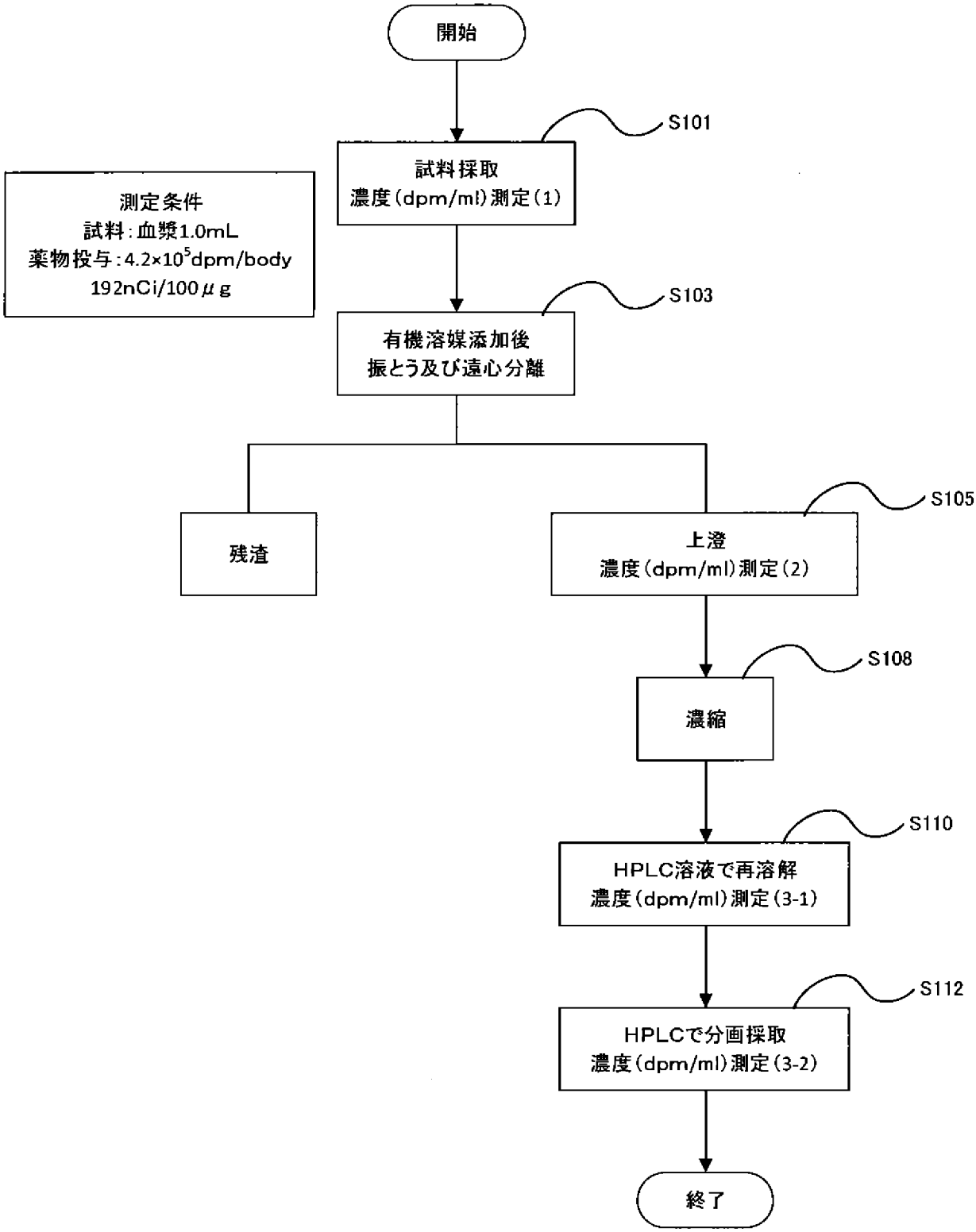


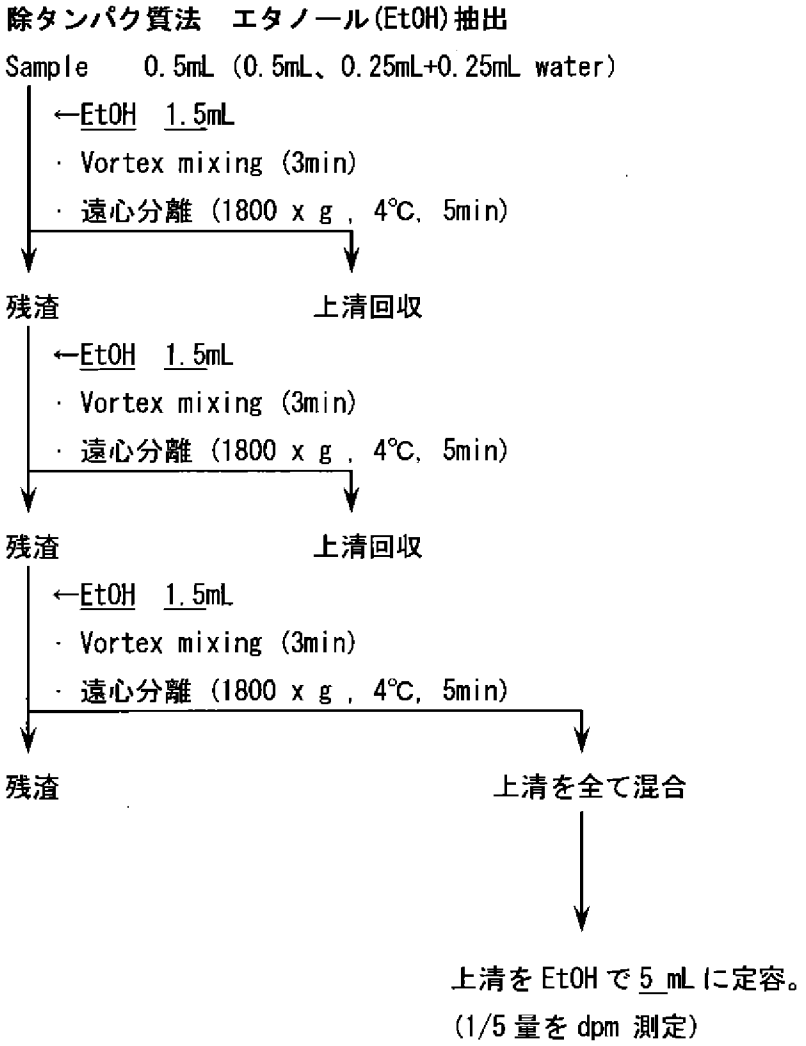
図16C



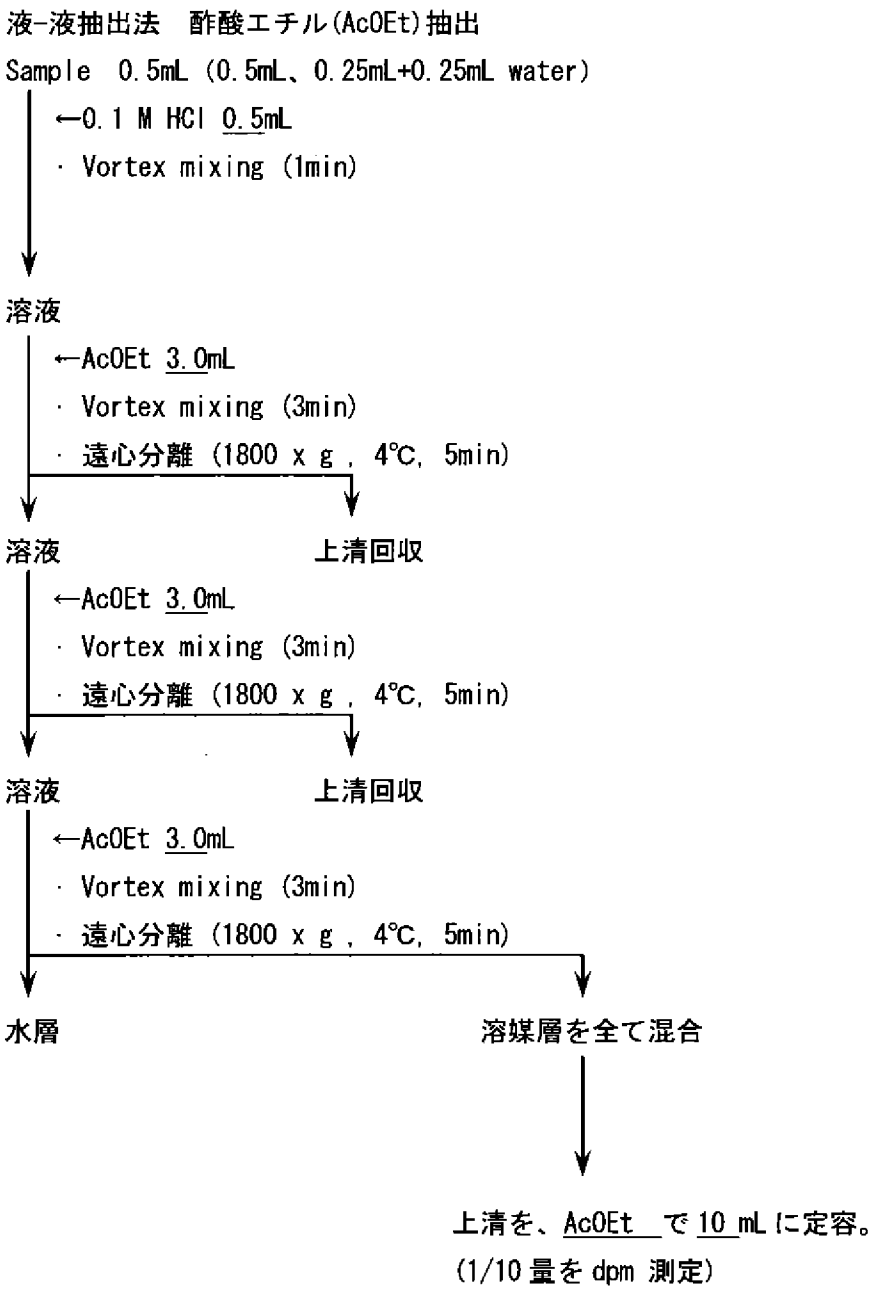
[図17]


開始
S101
試料採取
濃度(dpm/ml)測定(1)
測定条件
試料:血漿1.0mL
薬物投与:4.2×10^5dpm/body
192nCi/100μg
S103
有機溶媒添加後
振とう及び遠心分離
残渣
S105
上澄
濃度(dpm/ml)測定(2)
S108
濃縮
S110
HPLC溶液で再溶解
濃度(dpm/ml)測定(3-1)
S112
HPLCで分画採取
濃度(dpm/ml)測定(3-2)
終了

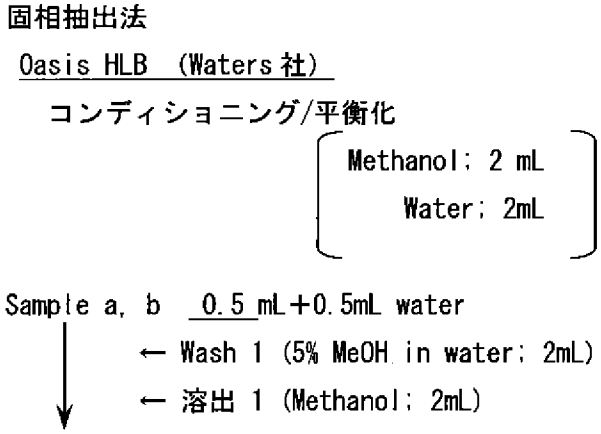
[図18]


除タンパク質法　エタノール(EtOH)抽出
Sample　0.5mL (0.5mL、0.25mL+0.25mL water)
←EtOH 1.5mL
· Vortex mixing (3min)
· 遠心分離 (1800 x g , 4℃, 5min)
残渣
上清回収
←EtOH 1.5mL
· Vortex mixing (3min)
· 遠心分離 (1800 x g , 4℃, 5min)
残渣
上清回収
←EtOH 1.5mL
· Vortex mixing (3min)
· 遠心分離 (1800 x g , 4℃, 5min)
残渣
上清を全て混合
上清をEtOHで5 mLに定容。
(1/5量をdpm 測定)

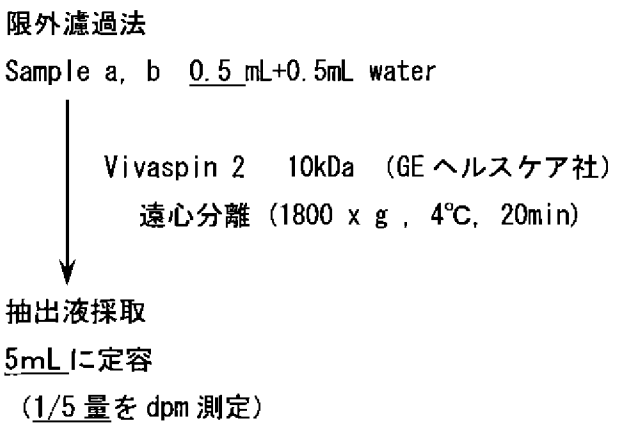
[図19]


液-液抽出法　酢酸エチル(AcOEt)抽出
Sample　0.5mL (0.5mL、0.25mL+0.25mL water)
←0.1 M HCl 0.5mL
· Vortex mixing (1min)
溶液
←AcOEt 3.0mL
· Vortex mixing (3min)
· 遠心分離 (1800 x g , 4℃, 5min)
溶液
上清回収
←AcOEt 3.0mL
· Vortex mixing (3min)
· 遠心分離 (1800 x g , 4℃, 5min)
溶液
上清回収
←AcOEt 3.0mL
· Vortex mixing (3min)
· 遠心分離 (1800 x g , 4℃, 5min)
水層
溶媒層を全て混合
上清を、AcOEt で 10 mL に定容。
(1/10 量を dpm 測定)

[図20]


固相抽出法
Oasis HLB (Waters 社)
コンディショニング/平衡化
Methanol; 2 mL
Water; 2mL
Sample a, b 0.5 mL+0.5mL water
← Wash 1 (5% MeOH in water; 2mL)
← 溶出 1 (Methanol; 2mL)
抽出液採取、5mL に定容
(1/5 量を dpm 測定)

[図21]


限外濾過法
Sample a, b 0.5 mL+0.5mL water
Vivaspin 2 10kDa (GE ヘルスケア社)
遠心分離 (1800 x g , 4℃, 20min)
抽出液採取
5mL に定容
(1/5 量を dpm 測定)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/056390

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G01N21/3504(2014.01)i, *G01N21/01*(2006.01)i, *G02F1/37*(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N21/3504, G01N21/01, G02F1/37

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2016
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2016 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2016

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X P,Y	WO 2015/122475 A1 (Sekisui Medical Co., Ltd.), 20 August 2015 (20.08.2015), paragraphs [0025], [0041]; fig. 1 (Family: none)	1-18,20,26, 28-29 21-23
Y	I.Galli, et al., Molecular Gas Sensing Below Parts Per Trillion: Radiocarbon-Dioxide Optical Detection, Physical Review Letters, 2011, Vol.107, 270802-1 - 270802-4	1-23,26-29
Y	JP 2014-504380 A (Imra America, Inc.), 20 February 2014 (20.02.2014), fig. 4 to 5 & US 2012/0162748 A1 fig. 4 to 5 & WO 2012/087710 A1 & EP 2656455 A	1-21,26-29

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
16 May 2016 (16.05.16)	24 May 2016 (24.05.16)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3,Kasumigaseki,Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915,Japan	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/056390

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2007-85874 A (Idemitsu Kosan Co., Ltd.), 05 April 2007 (05.04.2007), paragraphs [0010] to [0011] & US 2009/0233371 A paragraphs [0028] to [0034] & WO 2007/034663 A1 & EP 1927857 A1	1-23,26-29
Y	JP 2004-287074 A (National Institute of Information and Communications Technology), 14 October 2004 (14.10.2004), paragraph [0027]; fig. 3 to 4 (Family: none)	21-25
Y	Atsushi Ishizawa, et al., Demonstration of carrier envelope offset locking with low pulse energy, OPTICS EXPRESS, 2008, Vol. 16, No. 7, 4706-4712	21-25
Y	JP 2005-537490 A (Neuronova AB.), 08 December 2005 (08.12.2005), paragraphs [0072] to [0074] & US 2004/0235000 A1 paragraphs [0079] to [0081] & WO 2004/021857 A2 & EP 1539999 A	27

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１６／０５６３９０

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G01N21/3504(2014.01)i, G01N21/01(2006.01)i, G02F1/37(2006.01)i

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G01N21/3504, G01N21/01, G02F1/37

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０１６年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１６年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１６年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Ｐ，Ｘ	WO 2015/122475 A1（積水メディカル株式会社）2015.08.20,［００２５］、［００４１］、図１ （ファミリーなし）	１－１８、２０、２６、２８－２９
Ｐ，Ｙ		２１－２３
Ｙ	I.Galli, et al., Molecular Gas Sensing Below Parts Per Trillion: Radiocarbon-Dioxide Optical Detection, Physical Review Letters, 2011, Vol.107, 270802-1 ～ 270802-4	１－２３、２６－２９

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。　　☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「＆」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
１６．０５．２０１６	２４．０５．２０１６

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
郵便番号１００－８９１５
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

特許庁審査官（権限のある職員）　２Ｗ　３６１５
奥田　雄介
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３２５８

Ｃ（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	JP 2014-504380 A (イムラ　アメリカ　インコーポレイテッド) 2014.02.20, 図４－５ & US 2012/0162748 A1, FIG.4-5 & WO 2012/087710 A1 & EP 2656455 A	１－２１、２６－２９
Y	JP 2007-85874 A (出光興産株式会社) 2007.04.05, ［００１０］－［００１１］ & US 2009/0233371 A, [0028]-[0034] & WO 2007/034663 A1 & EP 1927857 A1	１－２３、２６－２９
Y	JP 2004-287074 A (独立行政法人情報通信研究機構) 2004.10.14, ［００２７］、図３－４ (ファミリーなし)	２１－２５
Y	Atsushi Ishizawa, et al., Demonstration of carrier envelope offset locking with low pulse energy, OPTICS EXPRESS, 2008, Vol. 16, No. 7, 4706-4712	２１－２５
Y	JP 2005-537490 A (ニューロノバ　エービー) 2005.12.08, ［００７２］－［００７４］ & US 2004/0235000 A1, [0079]-[0081] & WO 2004/021857 A2 & EP 1539999 A	２７