

令和元年6月20日現在

機関番号：84502

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H02950

研究課題名(和文) 生物炭酸塩中の有機態塩素分布から読み解く海洋の栄養塩長期動態

研究課題名(英文) Research of chlorine in biogenic carbonate as a novel proxy of nutrient.

研究代表者

為則 雄祐 (TAMENORI, Yusuke)

公益財団法人高輝度光科学研究センター・利用研究促進部門・主席研究員

研究者番号：10360819

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)： 海洋を中心に、環境中の栄養塩動態を追跡する新しい環境指標として、二枚貝殻中の微量な塩素に着目して研究を実施した。本課題ではウバガイ殻中の塩素濃度分布を解析し、殻には成長線と対応した濃度変化を記録していることを明らかにした。一方、塩素濃度の時間変化を解析したところ、ウバガイ殻中の塩素は貝の生態や生育の情報を反映している可能性が示唆された。

高精度な塩素同位体分析を目的として、液体クロマトグラフ装置によるイオン交換モードの分離を利用し、環境試料から複数元素を一括自動分離できる手法を開発した。従来の手法では数時間を要した処理を、10分程度で可能な新たな元素の単離方法の開発に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物が形成する代表的な炭酸塩鉱物である二枚貝の殻には、成長線と関連した微量元素濃度の変化として、貝の成長あるいは生育の履歴が記録されていることを見いだした。本成果を応用することにより、貝などの海産生物の成育記録を貝自身から読み解くことができる可能性が示唆され、今後、天然資源の管理や養殖などの水産業への応用が期待できる。

本研究の同位体分析研究で開発された高精度な元素単離法は、古気候・古環境分野にとどまらず、地球化学・海洋学・環境分析・惑星科学など、同位体組成を分析指標として利用している様々な研究分野に対して広く貢献するものと期待される。

研究成果の概要(英文)： For the purpose of novel proxy development to the research of nutrient dynamics in the sea, we investigated the chlorine (Cl) distribution in the shell of bivalve (*Pseudocardium sachalinense*) by synchrotron microscopy. The distribution of Cl was associated with the formation of growth lines, and it was enhanced in the early stage. Time scale analysis suggested that the Cl in the shell of bivalve was not an appropriate paleological proxy but the record of bivalve growth.

High-throughput purification technique with an ion chromatograph coupled to an automated fraction collector has been developed for complete separation of dissolved elements in environmental samples for isotopic measurements. The purification method enables multi-isotope analysis of a sample using various mass spectrometry techniques, such as multiple-collector inductively coupled plasma and thermal ionization mass spectrometry.

研究分野：古気候・古環境学

キーワード：生物炭酸塩 二枚貝 微量元素 環境指標 塩素 放射光軟X線 顕微分光測定

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

健全な生態系や地球表層システムを維持する上で、栄養塩の長期動態の理解は重要な課題の一つである。例えば、リン(リン酸:PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>)に代表される海洋中の栄養塩は、植物プランクトンの光合成を通じて海洋の一次生産を律速しており、大気-海洋システムの炭素収支と密接に関連することで地球表層の気候に大きな影響を与えている。また、身近なところでは、栄養塩の人為的な過供給は富栄養化による赤潮などの環境汚染を引き起こしてきた。産業革命以降の人為起源の環境影響を評価するためには、100年を超える栄養塩動態の情報が必要となる。しかしながら、測器による観測には時間的・空間的な制約があり、栄養塩動態の変遷に関する情報は限定的である。このような場合、年縞を有する堆積物や炭酸塩などに記録されている古環境記録が、栄養塩動態を理解する貴重な手掛かりとなる。このような背景のもと、栄養塩の長期動態を読み解くための古環境指標の開発が精力的に進められてきたが、決定的な環境指標は確立していない[1]。

### 2. 研究の目的

新しい栄養塩の古環境指標として、“塩素”の可能性を探索することを目的として研究を実施した。申請者らの近年の生物炭酸塩研究において、ある種の二枚貝殻中の塩素の分布は、栄養塩の指標と言われてきたリンや有機硫黄の分布と相関を持つことが明らかとなってきた。この結果は、生物炭酸塩中の塩素の濃度変化は、栄養塩の新しい環境指標となりうることを示唆している。そこで、本研究ではこの仮説を検証し、栄養塩の新しい古環境指標としての塩素の可能性を探究することを目的として研究を立案した。

生物炭酸塩中の塩素の化学形態・同位体組成を分析し、塩素の取り込み起源を明らかにすることで栄養塩指標としての妥当性を検証する

二枚貝殻断面中の塩素の空間分布を測定し、リンなどや硫黄などの微量元素、および気象情報などとの相関を明らかにすることで、栄養塩指標としての利用法を探索する  
本研究では上記の2点に焦点を絞り、栄養塩指標としての塩素の可能性について検討を行った。

### 3. 研究の方法

本研究では、生物炭酸塩中の塩素の空間分布を放射光顕微分光測定によって高解像度で観察し、成長線と対比することで、塩素濃度の年変動の特徴を調査した。また、栄養塩指標と言われているリンや硫黄分布との相関を解析することで、塩素の栄養塩指標としての可能性を評価した。同時に、塩素の起源が海水中の塩素イオンか、あるいは他の塩化物かを判別するために、軟X線吸収分光測定を実施した。また、高精度で塩素の同位体組成を評価するために、新たな微量元素の単離方法の開発を行った。

#### (1) 分析試料

研究立案段階では、夏期に北海道沿岸地域においてフィールド調査を実施し、エゾイガイ(*Crenomytilus grayanus*)を採取して分析試料とする計画であった。しかしながら、当該時期は例年のない台風の当たり年となり、予定した調査を実施できなかった。そのため、入手できたウバガイ(*Pseudocardium sachalinense*)やエゾヒバリガイ(*Modiolus kurilensis*)などの二枚貝殻を対象とした予備な微量元素分析から研究を開始した。その結果、ウバガイ殻中には目的としている塩素をはじめとして、様々な微量元素が高濃度で含まれているとともに、塩素濃度が明瞭な成長線構造

を示すことが明らかとなった。そこで、研究計画を変更し、ウバガイを対象として研究を進めることとした。ウバガイ試料については2016年から2017年にかけて3回のフィールド調査を行い、鹿島(茨城)、磯浜(宮城)、三沢(青森)、苫小牧・根室(北海道)の各地に生息する試料を入手し、放射光分析を実施した。

## (2) 放射光分析

測定用の試料は、ダイヤモンドカッターで殻を切断して薄片を作成したのち、8,000番程度の研磨剤で分析面を研磨することで表面の凹凸を除去した。作成した薄片は、デジタルマイクロスコープを用いた観察によって年輪構造の分析を行い、放射光分析により得られた元素分布との解析に用いた。

放射光分析は大型放射光施設SPring-8/BL27SUにおいて実施した。アンジュレータ光源で発生した軟X線は、二結晶分光器によって単色化した後、Kirkpatrick-Baez配置された集光鏡によって試料位置に集光した(図1)。分光後の光子数は $\sim 1 \times 10^{11}$  photons/sであり、試料位置におけるX線の集光サイズは $\sim 12 \times 14 \mu\text{m}$ (縦 $\times$ 横)であった。分析試料はパルスモータ制御されたXYZステージ上に配置し、蛍光X線分析法による微量元素の空間分布測定は、ステップスキャン法によって行った。蛍光X線分析法による微量元素分析は、エネルギーが低い軟X線領域の蛍光X線を高感度で検出可能とするため、窒化ケイ素窓を搭載した半導体X線検出器を用いて実施した。ステップスキャンによる測定において、全ての測定点において蛍光X線スペクトル情報を保存し、励起エネルギーよりも低エネルギー領域に吸収端を持つ元素の情報を同時に取得した。元素分布データは、各スペクトルをピークフィッティングすることによって抽出した。

## (3) 同位体分析

地球化学試料の高精度同位体分析ではイオン交換樹脂やキレート樹脂を用いた手作業による分離操作が一般的である。一方で貝殻に代表されるバイオミネラルは多様な有機・無機化合物が混在しているため複数段階の分離操作を伴う場合が多く、より高度な分離手法の確立が必須であった。そこで本研究では、迅速・安定・高純度の元素単離技術を実現すべく、2種類の液体クロマトグラフ装置を組み合わせた、高効率な精製手法の開発に取り組んだ。イオンクロマトグラフ(メトローム社・930 Flex-IC)ならびに液体クロマトグラフ(アジレント社・1260-II Infinity)を導入し、塩素を含む各種陰イオンならびに陽イオンの自動単離精製システムを構築した(図2)。単離試料は多重検出器型誘導結合プラズマ質量分析装置(MC-ICP-MS)と元素分析/同位体質量分析装置(EA/IR-MS)によって各種同位体比を測定した。

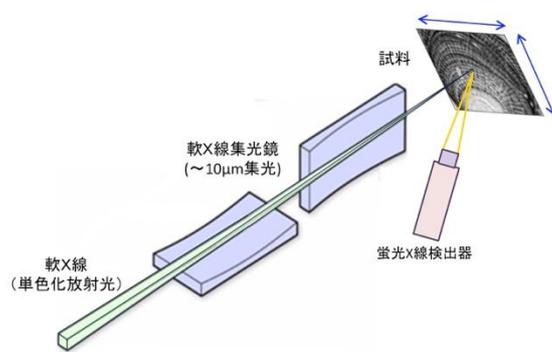


図1:放射光分析の測定レイアウト

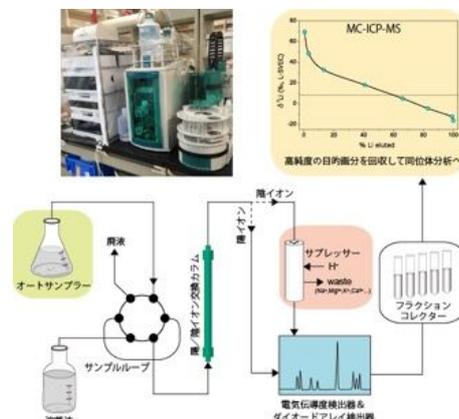


図2:開発した試料単離システムの概略

## 4. 研究成果

### (1) 蝶番部の微量元素分布

図3に、苫小牧で採取したウバガイ殻の蝶番部の元素分布を示す。測定では、2,900eVの軟X線で試料を励起した。炭素(C)や酸素(O)など炭酸カルシウムを構成する主要元素に加えて、ナトリウム(Na)・ストロンチウム(Sr)・硫黄(S)・塩素(Cl)などの元素が観測された。Cl, S, Sr, Naの濃度変化には、明確な周期構造が観察された。この周期構造は、光学顕微鏡で観察される濃淡模様とよく対応している。目視で判断可能な濃淡模様が成長線に対応することは、過去の文献から知られている[2]。従って、これらの元素分布に見られる濃淡は成長線と対応した季節変化であると結論した。成長線の計数により、分析した試料は12~13歳の貝であった。

ウバガイ殻はアラゴナイト構造をもつことから、Srは採取した貝が生息していた海域の表層水温と相関していると考えられる。各地で採取した試料中のストロンチウム濃度は、貝が生息していた地域の表層水温と比例関係を示したことから、ウバガイ中のストロンチウムは水温の指標となりうることが示唆された。元素間の相関においては、S, Srは正相関を示し、Clはこれらの元素に対して逆相関を示した。また、殻の途中(3~4歳あたり)で不連続に元素分布が変化していることが観察されており、何らかのイベントが生じていることが示唆される。硫黄やストロンチウム濃度はこれらを境として濃度が増加しており、逆に、塩素は殻の中心部、すなわち稚貝から幼少期において高い濃度で塩素を取り込んでいる。苫小牧で採取した3個体を比較したところ、全ての貝で類似の特徴が観察されたことから、この特徴は、周辺環境の変化もしくはウバガイの成長過程に特有な現象を反映していると考えられる。さらに、苫小牧以外の地域で採取した試料を分析したところ、苫小牧産の試料と同様の傾向が見られたことから、ウバガイ殻中の塩素は、貝の成長に起因している可能性が高く、環境情報よりもむしろ、成長に依存した生態情報として記録されている可能性が高いことが示唆された。

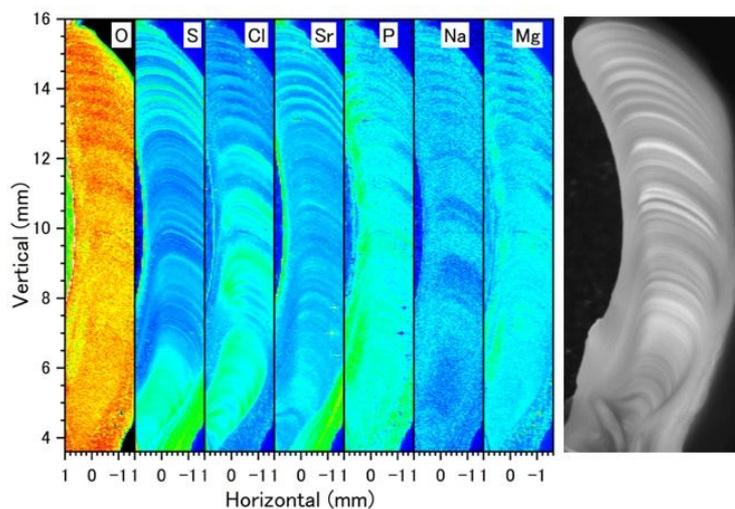


図3, (左)苫小牧で採取したウバガイ殻断面中の微量元素分布ならびに、(右)デジタルマイクロスコップで観察した同じ試料断面写真

### (2) 塩素の起源解析\_軟 X 線吸収分光

殻断面のいくつかの代表点を選定し、塩素の化学形態を軟 X 線吸収分光法により評価した。ウバガイは海洋生物であるため、塩素の起源として海水中の塩分が考えられるが、得られたスペクトルは塩化ナトリウムとは異なる形状を示した。このことは、元素分布測定において、塩素の元素分布がナトリウムと一致していないという結果と整合する。入手した標準試薬の中で、試料のスペクトルと完全に一致するものは見つからなかったが、スペクトルの類似性から推測して、塩素は塩化カルシウムの様な無機態と有機態が混合したものである可能性が示唆された。

### (3) 同位体測定

無機的に沈殿した炭酸カルシウムの微量元素濃度は母液と鉱物間の分配則に依存する。二枚貝殻のように生物が介在する場合、無機的に取り込まれる微量元素に加えて有機化合物に由来する成分が混在する。加えて、微量元素を細胞や石灰化母液へ輸送する際に濃度変化(分別)が起こるため、分別効果の定量化が必要である。二枚貝殻に含まれる安定同位体比は、元素の起源を反映するだけでなく、その後の生化学プロセスでも変化するため、元素の供給源と化学反応の履歴を解明することができる。本研究では生物硬組織への微量元素の取り込み機構を解明するために、新しい安定同位体比の分析手法の開発に取り組んだ。ここでは、迅速・安定・高純度の元素単離技術を実現すべく、2種類の液体クロマトグラフ装置を組み合わせた精製手法の開発に取り組み、従来は1~2日間を要した分離作業を10分程度で完了する画期的なシステムを構築した。その結果、分離純度の逐次モニタリングが可能となるとともに分離度が向上し、高純度の同位体比測定が可能となった。Liなど極微量元素の測定に適用も可能であり、世界初の成果である。この手法を用いて二枚貝を含む石灰化生物の測定を行ったところ、代表的な海生単細胞生物では海水と似た同位体組成の石灰化母液をもつものに対して、二枚貝殻では微量元素取り込み時の分別効果が大きいことを明らかにした[論文発表の③]。

### (4) まとめ

本研究課題では、放射光を光源とした蛍光 X 線分析によって、ウバガイ殻中の微量元素の空間分布の解析を行った。特に、これまで注目されていなかった塩素に着目し、新たな古環境指標としての塩素の可能性を評価した。ウバガイ殻中の塩素濃度は、成長線と対応した濃淡分布を示す一方、塩素濃度は貝の幼少期に高く、3~4歳を境として急激に濃度が減少するという特徴を示した。この特徴は産地に依存せずに観測されたことから、ウバガイ殻中の塩素は環境変化よりも貝の成長との相関が高く、栄養塩の古環境指標としては適切で無い可能性が高いことが示唆された。しかしながら、過去に測定したエゾイガイの様に、リンと塩素が強く相関している種の貝も存在することから、貝の種類に依存して塩素の取り込み・蓄積形態が異なる可能性も残っており、環境指標としての塩素の普遍性についてはさらに検証を進める必要がある。一方で、ウバガイにおいては殻中の塩素濃度が何らかの成長因子と相関している可能性が高く、塩素を中心に古環境解析手法を、生物や水産など分野に応用できる可能性が示唆された。

同位体分析においては液体クロマトグラフ装置を導入し、イオン交換モードの分離を用いることで、炭酸カルシウムを含む環境試料から複数元素を一括自動分離できる手法を開発した。分離純度の逐次モニタリングも可能となり、分離度の向上によって高純度の同位体比測定を実現した世界初の成果である。本研究により、生物炭酸塩骨格中の微量元素を高感度で分析可能としたことで、従来は観測対象とならなかった多様な微量元素の同位体組成を、古気候・古環境研究の新たな対象として研究を進めるための足掛かりを築くことができた。

### <引用文献>

- Montagna *et al.*, *Science*, **312**, 1788 (2006); E. Anagnostou *et al.*, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **75**, 2529 (2011); LaVigne *et al.*, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **74**, 1282 (2011), など  
杉浦大介、他、”青森県太平洋沿岸におけるウバガイ(ホッキガイ)の年齢と成長” 青産技セ水研研報、10, 1-7 (2017)

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 13 件)

Y. Tamenori and T. Yoshimura “Sulfur speciation in growth layers of shell cross section of the long-lived bivalve *Margaritifera laevis* using synchrotron spectromicroscopy analysis”

*Geochim. Cosmochim. Acta* **237**, 357-369 (2018), DOI: 10.1016/j.gca.2018.07.002, 査読有

T Yoshimura, D. Araoka, Y. Tamenori, J. Kuroda, H. Kawahata and N. Ohkouchi “Lithium, magnesium and sulfur purification from seawater using an ion chromatograph with a fraction collector system for stable isotope measurements” *J. Chromatogr. A*, **1531**, 157-162 (2018), DOI: 10.1016/j.chroma.2017.11.052, 査読有

DOI: 10.1016/j.chroma.2017.11.052, 査読有

T. Yoshimura, Y. Tamenori, A. Suzuki, H. Kawahata, N. Iwasaki, H. Hasegawa, L. T Nguyen, A. Kuroyanagi, T. Yamazaki, J. Kuroda, and N. Ohkouchi “Altrivalent substitution of sodium for calcium in biogenic calcite and aragonite” *Geochim. Cosmochim. Acta* **202**, 21–38 (2017), DOI:10.1016/j.gca.2016.12.003, 査読有

DOI:10.1016/j.gca.2016.12.003, 査読有

T. Yoshimura, J. Kuroda, S. Lugli, Y. Tamenori, N. O. Ogawa, F. J. Jiménez-Espejo, Y. Isaji, M. Roveri, V. Manzi, H. Kawahata, and N. Ohkouchi, “An X-ray spectroscopic perspective on Messinian evaporite from Sicily: Sedimentary fabrics, element distributions, and chemical environments of S and Mg.” *Geochemistry Geophysics Geosystems*, **17**, 1383-1400. (2016), DOI:10.1002/2015GC006233, 査読有

DOI:10.1002/2015GC006233, 査読有

〔学会発表〕(計 7 件)

前田 歩, 吉村 寿紘, 荒岡 大輔, 鈴木 淳, 為則 雄祐, 藤田 和彦, 豊福 高志, 大河内 直彦, 川幡 穂高, “大型底生有孔虫の Mg 同位体比と代替指標としての可能性” 日本古生物学会第 168 回例会 2019 年

T. Yoshimura, D. Araoka, Y. Tamenori, J. Kuroda, H. Kawahata, and N. Ohkouchi

“Li, Mg, and S Purification from Seawater Using an Ion Chromatograph with a Fraction Collector System for Stable Isotope Measurements” 15th Annual Meeting of Asia Oceania Geosciences Society(国際学会) 2018 年

〔図書〕(計 2 件)

“XAFS の基礎と応用” 日本 XAFS 研究会編(第 4 章分担執筆), 講談社, 341 頁, 2017 年

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：吉村 寿紘

ローマ字氏名：YOSHIMURA Toshihiro

所属研究機関名：国立研究開発法人海洋研究開発機構

部局名：生物地球化学研究分野

職名：研究員

研究者番号(8桁)：90710070

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。