

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：84502

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25281015

研究課題名(和文) 生物炭酸塩中微量元素の化学形態を指標とした、新しい古環境復元法の開発

研究課題名(英文) Chemical analysis of trace elements in biogenic carbonates: development of a novel proxy for nutrient reconstruction

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・副主席研究員

研究者番号：10360819

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、生物炭酸塩中の微量元素の空間分布を化学形態を区別して観察することにより、微量元素を環境指標とした古環境解析の精度向上と、新たな環境指標の開拓を目的として研究を実施した。ここでは硫黄に注目し、河川に生息する長寿淡水二枚貝を対象とした分析を行い、酸化硫黄と還元硫黄の空間分布を区別して観察し、化学形態毎に異なる空間分布を持つことを見いだすとともに、還元硫黄が成長線構造と対応していることを明らかにした。本研究課題により、生物炭酸塩骨格中の微量元素の化学形態を環境指標として利用し、新たな古気候・古環境復元へと広く展開するための足掛かりを築くことができた。

研究成果の概要(英文)：X-ray photoabsorption spectroscopy (XAS) is a nondestructive analytical technique for characterizing and identifying trace elements in compositionally complex natural materials. Furthermore, the combination of XAS and X-ray fluorescence analysis (XRF) using a micro-focused X-ray beam allow determination of both the chemical state of environmentally important trace elements and their spatial distribution in biogenic carbonates. A series of XRF/XAS mapping analyses clarified that the spatial distributions of sulfur compounds in Margaritifera Laevis depends on their chemical forms. The present research demonstrates that speciation analysis contributes to a more precise understanding of trace elements in biogenic carbonates for paleoclimatology.

研究分野：軟X線科学

キーワード：古環境 生物炭酸塩 化学形態 軟X線 マイクロビーム 軟X線吸収分光

1. 研究開始当初の背景

成長線を刻む生物炭酸塩骨格中の微量元素(Sr/Ca, Mg/Ca, U/Ca, etc)の分析は、これまでに海洋汚染の変遷や海洋環境変動の復元に重要な役割を果たしてきた。その重要性は、例えばIPCCの第4次評価報告書において、熱帯・亜熱帯域のサンゴ試料の分析による海洋環境復元研究の成果が数多く引用されていることから明白である[1]。

しかしながら、生物炭酸塩骨格中の微量元素の存在形態については諸説あり、未だ議論が続いている。例えば、一般的にMgは炭酸塩結晶格子中のCa部位を置換することで取り込まれると考えられ(無機形態)、Mgイオンの取り込み量を支配する平衡定数は温度の関数であることから、Mg/Ca比は水温の指標になると期待されている[2]。一方で、Fosterらは長寿二枚貝であるアイスランドガイ(*Arctica Islandica*)のMgをXANES法で分析した結果、Mgは有機物として取り込まれている可能性が高く、上述の様な無機炭酸塩への分配理論の適用は適切では無いとの見解を示している[3]。微量元素の存在形態、特に無機物/有機物の識別は、微量元素を環境指標として利用が出来るか否か、あるいはどのような環境指標を反映しているのか、といった環境復元の根幹にかかわる重要な問題であり、正確な環境復元を行うためにもその解明は喫緊の課題となっている。

2. 研究の目的

微量元素の存在形態に不明瞭な点が残る一つの理由として、申請者は、質量分析法やEPMAを用いる従来の古環境分析法では、主に微量元素の全量を分析している点に問題があると考えた。これまで、申請者らはサンゴや二枚貝を対象とし、軟X線吸収分光法(XAS)を用いて生物炭酸塩骨格中の微量な軽元素の化学状態分析を進めてきた。その結果、すでに知られているSrやMgに加えて、炭酸塩骨格中にはNa、P、S、Clなど多様な軽元素が存在するとともに、いずれも多様な化学形態を持つ元素が混在していることが明らかとなっていった。例えば、硫黄においては酸化的な硫黄(SO₄)²⁻が主成分であるものの、他にも有機硫黄に対応すると思われる還元的な硫黄分子等が含まれており、両者はXAS分析で明確に区別可能であることを見出した。この研究から、“化学形態を識別した微量元素の分布”と“成長線”の関係を直接読み解くことは可能であり、化学形態もまた環境指標として利用できるとの着想に至った。

本研究では、軟X線吸収分光法と蛍光X線分析法(XRF)を融合させ、化学形態を識別しながら微量元素(～ppm)の空間分布を抽出する手法を開発することを目的とした。それにより、化学形態毎に微量元素量の変動と成長線の関係を読み解き、古環境復元の精度を向上させるとともに、新しい古環境指標を開拓することを目指す。ここでは特に、炭酸塩殻中の硫黄に注目した。硫黄は+6価から-2価までの広範な価数をとることから、吸収スペクトルの変化が大きく化学形態変化を捉えやすい。この長所を利用し、硫黄を標的として本分析手法の基礎技術開発を行った。

3. 研究の方法

(1) 分析試料

本研究では、国内に生息する二枚貝の中でも特に長寿で知られる、カワシンジュガイ(*Margaritifera laevis*; イシガイ目・カワシンジュガイ科)を対象とした。今回注目する硫黄は、一般に栄養塩の指標とされている[4]。そこで、栄養塩状況が異なる複数の河川に生息するカワシンジュガイを対象に、その殻中の硫黄分布や化学形態と河川の栄養塩状況の対比から、その環境指標としての可能性とその利用法を検討した。



図1: 千歳川におけるカワシンジュガイのコロニー

2013年から2015年にかけて3回のフィールド調査を実施した。いずれも北海道の、石狩川水系・千歳川、尻別川、天塩川水系・音威子府川において、カワシンジュガイの採取ならびに河川水の採取を実施した(図1)。清流である千歳川ならびに音威子府川は河川水の透明度が高く、栄養塩濃度が低い河川であるのに対して、尻別川は懸濁物が多く富栄養化した河川である。そこで、これらの川に生息するカワシンジュガイ殻中の硫黄の濃度、あるいはその分布を比較検討することで、殻中の硫黄が生息河川の栄養塩状況を反映しているか検証するとともに、古環境指標としての利用可能性について検討を行うこととした。

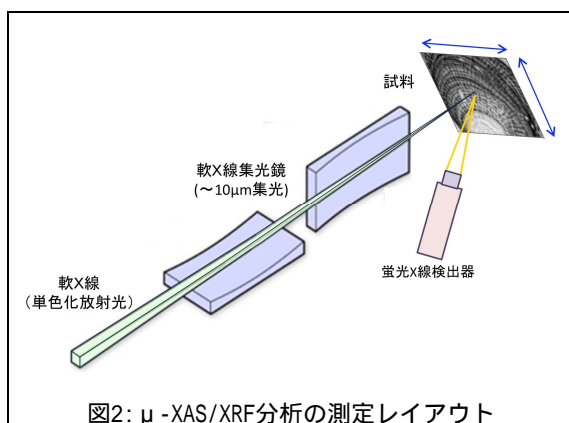
採取したカワシンジュガイ殻は、エポキシ樹脂に包埋して固定し、岩石カッターで蝶番から殻の先端部にわたって成長線と垂直な測線で切断した。切断した試料は、切断面を#3,000の研磨剤で研磨した後に超純水で洗浄し、分析試料とした。また、全ての試料断面は、トルイジン系の染色試薬であるMutvey's試薬を用いて染色し[5]、濃淡模様から殻の成長線を計数することで各成長線の年代を決定した。

試料の採取時には合わせて河川水を採取し、リン酸・硫酸濃度等を評価した。過去の河川水の環境データについては、国土交通省の河川データベースから入手した。

(2) 分析手法(XRF/XAS法)

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2)。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×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、XASならびにXRFスペクトルはともにステップスキャン法によって測定を行った。

蛍光X線信号は、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(Silicon-Drift Detector)を用いて検出した。XASと微量元素分布の両測定において、全ての測定点でXRFスペクトル情報を全て保存することで、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。XASならびに元素分布データは、各XRF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。

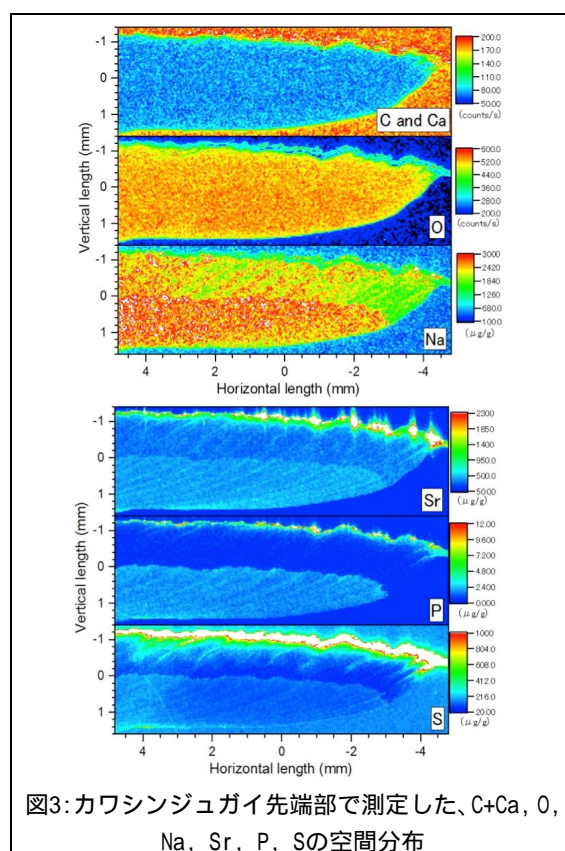


4. 研究成果

(1) 殻先端部の微量元素分布

図3に、千歳川で採取したカワシンジュガイ殻の先端部に対して、2540.0eVの軟X線で励起して測定した元素分布を示す。CやOなど炭酸カルシウムを構成する主要元素に加えて、Na, Sr, P, Sなどの元素が観測された。各元素の空間分布測定では、外層よりも内層においてSr, P, Sが高い濃度で観測された。また、特に内層において、Sr, P, Sの空間分布に成長線と対応する明瞭な周期構造が観測された。

殻表面の殻皮においては、PやSが特に高濃度で検出された。殻表面は炭酸カルシウムの溶解を防ぐために有機物(殻皮)で覆われていることから、殻皮で観測されたPやSは、そのような有機物に由来する成分であると考えられる。そこで、殻中の様々な部位において、硫黄の化学形態を μ -XAS分析により評価したところ、内層や外層では6+の硫黄が卓越する一方で、殻皮においては2-、6+の硫黄がともに高濃度で観測された。2-の硫黄のXASスペクトルは、S-C結合やS-H結合を持つ有機硫黄分子の特徴を示し、6+の硫黄は硫酸イオンの特徴を示したことから、殻皮中のSやPは有機物に由来するものであることがXAS分析からも支持された。



(2) 蝶番部の元素分布解析

蝶番部においても同様に、2540.0eVの軟X線で試料を励起することで、元素の空間分布分析を行った(図4)。この個体では、試料表面の染色により約27本の成長線を計数することができ、リンや硫黄の分布と成長線構造の間には良い対応が観測された。また、硫黄においては、5から10年の周期で、通常の10倍近くの濃度で取り込まれている層の存在が確認された。この層は、染色試料上でも明確な暗線として観察されており、ある時期に特異的に硫黄が取り込まれる現象が生じていることが明らかとなった。

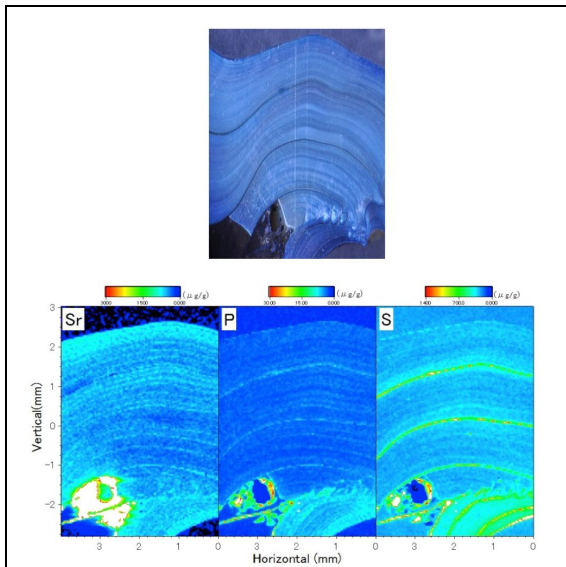


図4: 染色液で染色されたカワシンジュガイ蝶番部の断面写真(左) ならびに、同じ領域に対するX線分析において観察されたSr, P, Sの空間分布

(3) 硫黄の高濃度層の起源解析

2-、6+の硫黄に特徴的な2471.5eVならびに2480.5eVに励起エネルギーを固定し、蝶番部を対象として、化学成分を分離した硫黄の空間分布測定を行った(図5)。図5は、各成分の硫黄強度分布を試料断面に沿って計測したものである。分析の結果、2-の還元的な硫黄には成長線との良い対応が観測された。トリルジン系の染色液は炭酸塩中にとりこまれた有機物を染色していることから、有機硫黄に特徴的な2-の硫黄の分布と、染色した試料の成長線が一致することは整合的である。

一方で、6+の硫黄には5~10年周期の特異的な硫黄濃度の増大と良い対応が見られた。この結果から、全硫黄に見られる周期構造は、還元的な2-の硫黄が形成する年変動構造と、6+硫黄が形成する5~10年の長周期構造が重なって生じていることが明らかとなった。

5~10年周期で増大する6+の硫黄の化学状態を、高分解能の μ -XAS分析により解析したところ、プロタミンなどに代表される有機的な硫酸イオンの特徴が見られた。また、5~10年周期構造もまた、染色試料においても明確に観察されていることから、この硫黄は、有機的な硫酸イオンであると考えられることができる。高濃度での硫黄の取り込みは、殻の蝶番部において特異的に見られること、ならびに、スペクトルの特徴が殻皮と類似していたことから、5~10年周期構造は、砂地との接触により殻が破損し、殻中の炭酸塩が河川中に溶解することを防ぐことを目的として、カワシンジュガイが定期的に形成しているものであると考えている。

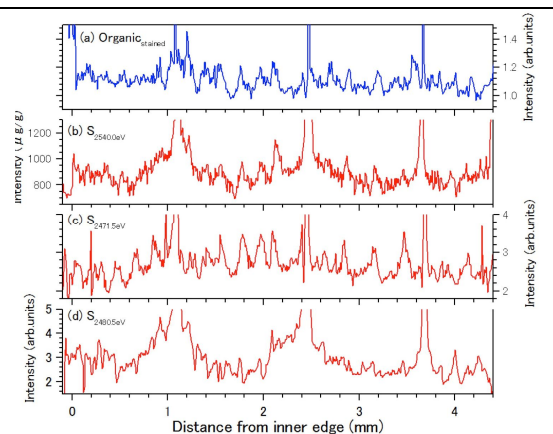


図5: カワシンジュガイ殻蝶番部における、化学形態を区別した硫黄の空間分布。(a)は染色した試料のデジタル写真から抽出した濃淡模様の強度変化。(b)-(d)は、それぞれ2540.0eV, 2471.5eV, 2480.5eVで測定した硫黄分布。各データは、全硫黄、-2価硫黄、+6価硫黄の分布に対応する。

一方で、高濃度の硫酸層の生成は、何らかの生息環境の変化がトリガとなっていることも考えられることから、全ての試料の染色分析による年代特定と、放射光分析結果を総合して解析を行った。しかしながら、同一地域から採取した試料においても明確な形成時期の相関は見られず、広域的な環境変動よりも各生物個体の活性や生息環境の影響が強いとの結論が得られた。

さらに、各河川から採取した試料中の硫黄やリンの濃度を比較したが、河川の栄養塩濃度の違いと硫黄・リンの含有量には直接的な相関を見いだすことはできなかった。これらの元素の分布には成長線に対応した明確な構造が見られることから、季節変動が記録されていることは確かであるものの、生物的影響が強く栄養塩との直接的な相関は低いとの結果が得られた。

(4) 二枚貝殻中微量元素の網羅解析

カワシンジュガイ以外にも、エゾイガイ・クロチョウガイ・ホタテなど、さまざまな二枚貝殻中の微量元素分布についても網羅的な分析を行った。その結果、微量元素濃度が低い河川に生息する二枚貝では殻中の微量元素量も少量であるのに対して、塩分が高い海洋に生息する種においては、殻中に高濃度の微量元素を検出できた。また、これまでに知られている元素に加えて、塩素が高濃度で含有されている個体が多く、さらに塩素分布はリンや硫黄と良い対応を示すことが明らかとなり、塩素もまた栄養塩導体の良い環境指標となる可能性が示唆された。

まとめ

本研究課題では、放射光を光源としたXAS/XRF分析によって、生物炭酸塩中の微量元素の空間分布を、化学形態を区別して観察することに成功した。それにより、同じ元素であっても化学形態ごとに異なる空間分布を持つことを示すとともに、生物炭酸塩中の微量元素を環境指標とした古環境解析においては、微量元素の化学形態の区別と空間分布の測定が重要であることを示した。

河川に生息する淡水二枚貝(カワシンジュガイ)を対象とした分析からは、酸化的な硫黄と還元的な硫黄の空間分布を区別して観察し、酸化的な硫黄が成長線構造と対応していることを明らかにした。一方で、栄養塩状態が異なる複数の河川で採取した試料について比較検討をおこなったものの、河川中の栄養塩との直接的な相関を見いだすことはできなかった。

その一方で、これまで注目されていなかった塩素など、新たな環境指標となる可能性を持つ元素を発掘することに成功し、本研究課題により、生物炭酸塩骨格中の微量元素の化学形態を環境指標として利用し、新たな古気候・古環境復元へと広く展開するための足掛かりを築くことができた。

参考文献

- [1] 例えば、IPCC第4次報告書; E. Jansen, et al., Paleoclimate, In: "Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group 1 to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change" 433-497 (2007).
- [2] 例えば、川幡穂高, "海洋地球環境学",

東京大学出版、(2008)

- [3] L. C. Foster et al., *Chemical Geology*, 113, 254 (2008).
- [4] Y. Dauphin and J.-P. Cuif, *Ann. Sci. Nat. Zool. Biol. Anim.* 20,73-85(1999)
- [5] B. R. Scohne, E. Dunca, J. Fiebig and M. Pfeiffer, *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 228 149 (2005).

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

- (1) T. Yoshimura, Y. Tamenori, O. Takahashi, L. T. Nguyen, H. Hasegawa, N. Iwasaki, A. Kuroyanagi, A. Suzuki and H. Kawahata, "Mg coordination in biogenic carbonates constrained by theoretical and experimental XANES" *Earth Plan. Sci. Lett.* 421, 68-74 (2015); DOI:10.1016/j.epsl.2015.03.048, 査読有
- (2) T. Yoshimura, Y. Tamenori, H. Kawahata, and A. Suzuki, "Fluctuations of sulfate, S-bearing amino acids and magnesium in a giant clam shell" *Biogeosciences*, 11, 3881-3886, (2014); DOI: 10.5194/bg-11-3881-2014, 査読有
- (3) Y. Tamenori, T. Yoshimura, N. T. Luan, H. Hasegawa, A. Suzuki, H. Kawahata, and N. Iwasaki, "Identification of the chemical form of sulfur compounds in the Japanese pink coral skeleton (*Corallium elatius*) using μ -XRF/XAS speciation mapping" *J. Structural Biol*, 186, 214-223 (2014); DOI:10.1016/j.jsb.2014.04.001, 査読有
- (4) T. Yoshimura, Y. Tamenori, N. Iwasaki, H. Hasegawa, A. Suzuki and H. Kawahata, "Magnesium K-edge XANES spectroscopy of geologic standards" *J. Synchrotron Rad.* 20, 734-740 (2013), DOI: 10.1107/S0909049513016099, 査読有
- (5) T. Yoshimura, Y. Tamenori, A. Suzuki, R. Nakashima, N. Iwasaki, H. Hasegawa and H. Kawahata, "Element profile and chemical environment of sulfur in a giant clam

shell: insights from micro X-ray fluorescence and X-ray absorption near edge structure." *Chem. Geology*, 352, 170-175(2013), DOI:10.1016/j.chemgeo.2013.05.035, 査読有

〔学会発表〕(計 7 件)

(1) 為則雄祐、" 軟X線領域のXAFS: 何が観えて何がわかるのか?" 第93回日本化学会年会 特別企画「化学者のための放射光ことはじめ - XAFS解析 基礎理論と測定の実際」、(2016年3月24-28日, 同志社大学・京都府京田辺) 依頼講演

(2) 為則雄祐、" 高輝度放射光軟X線を利用したその場観察実験の現状" 応用物理学会励起ナノプロセス研究会・第11回励起ナノプロセス研究会、(2015年12月21-22日, 淡路夢舞台・兵庫県洲本市) 依頼講演

(3) 為則雄祐、" 高輝度軟X線を利用したその場観察実験と軽元素解析" 第36回広大サステナブル科学セミナー、(2015年8月11日, 広島大学、広島県東広島市) 依頼講演

(4) 為則雄祐、" 軟X線領域のXAFS分析の現状と今後の展開" 第28回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム・特別企画「XAFS関連研究の現状と今後の展望」、(2015年1月10日-12日、立命館大学びわこくさつキャンパス、滋賀県草津市) 依頼講演

(5) 為則雄祐、吉村寿紘、" カワシンジュガイ殻中の微量な軽元素の濃度分布解析と古環境指標としての応用" 2014年度日本地球化学会 (2014年9月16-18日、富山大学、富山県富山市)

(6) 為則雄祐、吉村寿紘、" 生物炭酸塩中微量元素の化学形態分析と古環境指標への応用" 第17回XAFS討論会 (2014年9月1-3日、徳島大学、徳島県徳島市)

(7) 為則雄祐、吉村寿紘、Luan Trong Nguyen、長谷川浩、鈴木淳、川幡穂高、岩崎望、" スペシエーションマッピングによる化学形態を区別した生物炭酸塩中硫黄化合物の分布測定" 2013年度日本地球化学会 (2013年9月11-13日、筑波大学、茨城県筑波市)

(1) 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・副主席研究員
研究者番号: 10360819

(2) 研究分担者

吉村 寿紘 (Yoshimura Toshihiro)
国立大学法人東京大学・大気海洋研究所
・助教
研究者番号: 90710070

6. 研究組織