

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12184

研究課題名(和文) 宝石サンゴの色彩を担う鍵物質の化学構造と起源の解明

研究課題名(英文) Study on chemical structure and origin of pigment composition in skeletons of precious corals

研究代表者

長谷川 浩 (Hasegawa, Hiroshi)

金沢大学・物質化学系・教授

研究者番号：90253335

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：宝石サンゴの炭酸塩骨格に希少性が見出されるのは、極めて限られた海域に生息する天然資源であり、アカやモモの美しい光沢を有することに由来する。本研究では、世界の主要生息地より代表的な宝石サンゴ種を採取し、高速液体クロマトグラフ質量分析法を用いて骨軸中の色素成分であるカロテノイド色素を分析する手法を確立した。また色素成分と特に調和性の高い元素として有機色素の構成元素である硫黄・リン・窒素、及び骨軸の炭酸塩を構成するアルカリ土類元素に着目して、放射光 μ -XRF/XAFS(X線吸収端微細構造)分析により微細な二次元分布像をマイクロメートル単位で明らかにし、宝石サンゴの色彩を総合的に解析した。

研究成果の概要(英文)：Precious corals have been commercially exploited for many centuries all over the world. Skeletons of precious corals consist of calcium carbonate, and have been used as amulets or gemstones since ancient times. In this project, several *Corallium* species (*C. rubrum*, *C. elatus*, *C. konojoi*, and *P. japonicum*) were collected from the Mediterranean Sea and Pacific Ocean, and studied on chemical structure and origin of pigment composition in skeletons of precious corals. We established a new analytical method for carotenoids complexed with proteins in the skeletons of the Japanese corals using an ultra-performance liquid chromatography quadrupole time of flight mass spectrometry. This study also investigated the distribution of sulfur (S), phosphorus (P), nitrogen (N) and alkali earth elements using micro X-ray fluorescence, and the speciation of sulfur using X-ray absorption near edge spectroscopy (XANES) along the annual growth rings in the skeletons.

研究分野：水圏化学

キーワード：宝石サンゴ 微量元素 色彩 放射光 マッピング分析

1. 研究開始当初の背景

宝石サンゴとして利用されているのは、サンゴ科 30 数種のうち 8 種である。宝石サンゴは、熱帯や亜熱帯の浅海に分布する造礁サンゴとは異なる生物種であり、太陽光の届かない深海で長い年月をかけて成長する。珊瑚礁を形成する造礁サンゴとは亜網のレベルで別種であり、形状や生息域が全く異なる。造礁サンゴと混同されやすいことから、宝石サンゴの研究例は極めて少なく、研究対象として科学的に未解明の部分が多い。

2. 研究の目的

宝石サンゴは日本近海が主要生息地である数少ない天然生物資源で、その他には地中海産のベニサンゴ、ハワイ・ミッドウェー産の深海サンゴが産出される。宝石サンゴの色彩はアカ、モモ、シロに分類されるが、特に赤色サンゴ種の希少性が高い。宝石サンゴ炭酸塩骨格の色彩は、造礁サンゴよりも多様かつ繊細であり、科学的に注目すべき高度な発現メカニズムが存在すると考えられる。例えば、宝石サンゴの炭酸塩骨格の主成分はカルサイトの密な結晶質であるのに対し、造礁サンゴでは成分が同じ炭酸カルシウムであってもアラゴナイトで細かな隙間が多く脆い。また、造礁サンゴの骨格色は白をベースに黄、緑、青であるのに対して、宝石サンゴでは赤、ピンクで、両者の色素成分は明らかに異なる。従って、宝石サンゴ骨格の色彩の由来を解明するためには造礁サンゴとは異なる新しい分析手法の確立する必要がある。

本研究では、世界の主要な宝石サンゴ種を採取し、最新の化学的手法を駆使して炭酸塩骨格中における色素関連成分の化学形を同定するとともに、骨格中における微細な二次元分布像をマイクロメートル単位で求め、宝石サンゴ骨格の色彩を司る物質の化学構造と起源を総合的に明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 分析試料

日本近海における宝石サンゴの主要生息地である高知県室戸、五島列島、沖縄、小笠原諸島近辺でアカサンゴ (*Paracorallium japonicum*)、モモイロサンゴ (*Corallium elatius*)、シロサンゴ (*Corallium konojoi*) のサンプリング調査を実施して採取した。比較試料として、地中海産ベニサンゴ (*Corallium rubrum*)、ハワイ・ミッドウェー産深海サンゴ (*Corallium* sp.) を海外研究協力者から入手した。

(2) 骨軸中における色素成分の分析

宝石サンゴの原木試料より、直径約 5 mm の骨軸小片をダイヤモンドカッターで切り出して合計約 10 g を採取した。ガラス製試験管中で 1 M NaOH 5 ml を用いて 100 ・ 15 分間の洗浄を 2 回行った。0.2 M EDTA (pH 4.7)

10 ml を加え、10 の条件下で骨軸を溶解してゲル状の有機物試料を得た。トリプシン消化によりタンパク質を分解後、UPLC-QTOF-MS (Ultra 高速液体クロマトグラフ四重極・飛行時間型質量分析) に供して、色素成分を分析した。UPLC では、カラムに ACQUITY UPLC® BEH C18 (1.7 μm, 2.1 × 100 mm, Waters) 移動相に 0.1 % 酢酸/アセトニトリル混合溶液を用い、MS 測定にはポジティブイオン化モードで行った。

(3) 軟 X 線 μ-XRF/XAFS 法

μ-XRF/XAFS (X 線吸収端微細構造) 分析は大型放射光施設 SPring-8/BL27SU において実施した。リン・硫黄の分析は、二結晶分光器を備えた B ブランチで実施した。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 $\sim 15 \times 20 \mu\text{m}$ (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、ステージを操作しながら、入射 X 線の吸収により放出された蛍光 X 線信号を検出することで、試料面内の元素分布を測定した。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) を用いた。また、軟 X 線吸収スペクトルは、高い元素濃度が観測された試料位置で、励起エネルギーを変化させながら測定を行った。

窒素の分析は、軟 X 線の吸収効率を高めるため、低エネルギー軟 X 線を利用可能な同ビームラインの C ブランチで実施した。光源で発生した軟 X 線を回折格子型分光器で分光している以外、試料ならびに測定配置はリン・硫黄の分析と同じ条件で実施した。ただし、C ブランチでは X 線の集光サイズは $\sim 10 \times 200 \mu\text{m}$ (縦 × 横) 程度と扁平な形状であるため、元素分布はライン測定のみを行い、その情報を基に分析位置を選定して、吸収分光測定を実施した。

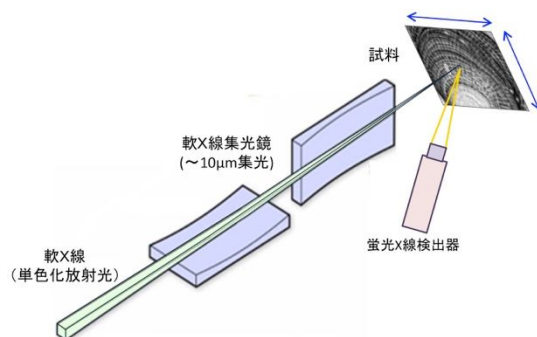


図 1: 放射光軟 X 線分析の測定レイアウト

4. 研究成果

(1) 炭酸塩骨軸中における色素成分の解析

宝石サンゴでは、ベニサンゴの骨軸における色素成分としてカロテノイド色素のカンタキサンチンを同定したことが報告されたが、その後、同じ国際誌で疑義が繰り返し提出されるなど議論が続いている。また日本近海から産出されるアカサンゴやモモイロサンゴについては色素成分の報告例はない。一方、他の動物の赤色について、フラミンゴや甲殻類等でカロテノイド色素がタンパク質と複合体を形成して赤色に発色することが明らかにされている。そこで本研究では、宝石サンゴの骨軸を脱灰後、トリプシンによりタンパク質を消化分解して、色素成分を分離・同定する新手法を検討した。図2にモモイロサンゴ、アカサンゴ試料を本法により解析した結果を示す。UPLC-QTOF-MS分析におけるマスクロマトグラム ($m/z=565.384-565.484$; カンタキサンチンの分子量に相当)において同じ色素成分であるカンタキサンチンがモモイロサンゴ、アカサンゴともに検出された。この色素成分はベニサンゴと同一の成分であり、その他のデータと併せて、タンパク質はカンタキサンチン類を保持する役割を果たしていると考えられる。

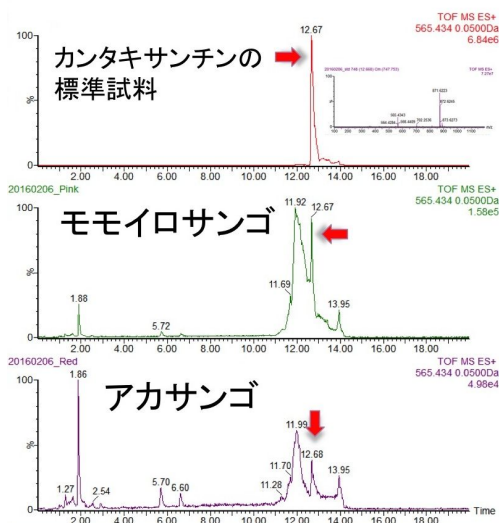


図2：UPLC-QTOF-MSによる宝石サンゴ骨軸における色素成分の分析

次に、宝石サンゴの色相・彩度の定量評価に取り組んだ。宝石サンゴの骨軸は白色から黒みがあった赤色までを呈し、同一種内でも色の変化は大きい。アカサンゴ、ベニサンゴ、モモイロサンゴ、シロサンゴ、深海サンゴの骨軸を分光式測色色差計で計測し、 $L^*a^*b^*$ 値を求めた。同一種内では色相、彩度には大きな差は見られなかったが、明度は異なった。主成分分析の結果、同一種内でも複数のグループに分かれた。肉眼による色の識別について100人にアンケート調査を行ったところ、 $L^*a^*b^*$ 値の差異と人の認識は必ずしも一致しなかった。

また、マイクロSCOPE-高精度色彩解析法により、宝石サンゴ骨軸を構成する炭酸塩鉱物の物理的な微細構造をマイクロメー

ル単位の二次元分布像として測定した(図3)。その結果、ベースとなる白色の骨軸上で、各宝石サンゴに特徴的な色素成分を含む10-100 μm オーダーのパーツが数百 μm の間隔で同心円状の帯を形成することが分かった。

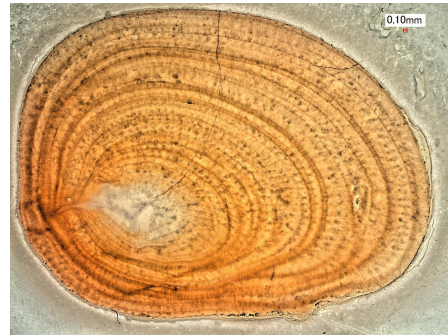


図3：マイクロSCOPEによるアカサンゴ骨軸の薄片試料の観察

以上より、宝石サンゴ骨軸では、骨軸の主要成分である炭酸カルシウムの白色をベースとし、赤色系の色素成分であるカンタキサンチン/タンパク質複合体の含有の程度やマイクロメートルオーダーの微細なパーツの配置により多種多様な色彩が発現すると考えられる。すなわち、宝石サンゴは種によらず同一の色素成分を有しており、宝石サンゴの色彩にアカ、モモ、ベニ等の多様性が生じるのは骨軸中タンパク質の種類と量に起因している可能性を高いことを明らかにした。

(2) 骨軸中における微量無機元素のマッピング分析とスペシエーション解析

宝石サンゴの色素成分を識別する指標として、骨軸中に含まれる微量元素の面内分布ならびに、その化学形態に着目した。特に、色素成分と調和性の高い元素として、有機色素の構成元素である硫黄・リン・窒素、及び骨軸の炭酸塩に比較的多く含まれるマグネシウム・アルカリ土類元素に注目し、これら元素の面内分布と色素が作り出す骨軸断面の模様を、放射光軟X線を用いて非破壊で分析した。さらに、軟X線吸収分光を用いることで、色素と相関を持つ元素の化学状態の分析を行い、宝石サンゴの色の起源物質を同定することを試みた。

図4(a)に、シロサンゴ(ベトナム-1)の骨軸断面の写真を示した。試料断面において、中心部に赤い色素がヒトデ型に含まれていることが確認できる。一方で、その周辺を含めたシロサンゴの骨軸は、目視ではほぼ色素を確認できず、白色である。そこでまず、色素が沈着した部位とその周辺の白色部位を対象とし、色素が形成するヒトデ型模様と微量元素の面内分布を比較し、色素物質と微量元素の相関について知見を得ることを試みた。

図4(b-c)に、骨軸断面中のマグネシウム・リン・硫黄の面内分布を示した。これらの元

素は、いずれにおいても濃度に周期的な変動が見られた。また、リンと硫黄は正相関を示し、マグネシウムはこれらの元素に対して逆相関を示している。赤い色素が形成する中心部のヒトデ模様と元素分布を比較したところ、有機物と相関が強いと思われるリンや硫黄の濃度は、逆に中心部で低くなっていることが分かる。また、目視では赤い色素が確認できないヒトデ模様外周部においても、リンや硫黄は高い濃度で含有されているとともに、成長線と思われる周期的な構造を示している。色素がヒトデ模様を形成する中心で強度が大きく減少すること、逆に、色素を含まない部分において高濃度で観測されることから、リンや硫黄は宝石サンゴの色の基となっている色素物質とは、直接的には対応していない可能性が示唆された。

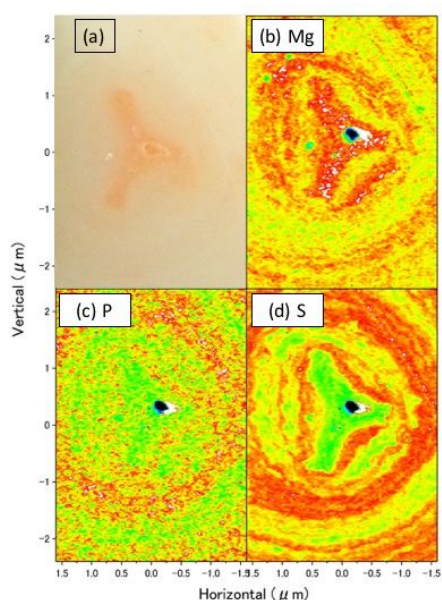


図4：(a)シロサンゴ骨軸断面のデジタル写真および、同じ部位を対象に測定した(b)マグネシウム、(c)リン、(d)硫黄の元素分布

一方で、マグネシウムは中心部のヒトデ模様と対応して、濃度が高くなっている。しかしながら、マグネシウムもリンや硫黄と同様に骨軸の白色部位においても高濃度な周期構造が観察され、その分布は一対一には対応していない。マグネシウム・リン・硫黄のいずれの元素分布においても、色素が形成するヒトデ型模様に対応する元素分布は観測されている。そのため、これらの元素は、骨軸中の色素による模様の形成とは相関を持つことが示唆される一方、色素物質との関係は薄いと考えられる。骨軸の形成過程を明らかにするために、マグネシウム及びアルカリ土類金属元素についてアカサンゴ骨軸断面の放射光を用いた蛍光X線マッピング分析を行った結果、骨軸中心部の白色分の周辺に特にバリウムについて高い値が検出された。骨軸中心部と周辺部の起源は異なるため、バリウムなどの微量元素が骨軸形成に関与していることが示唆された。

図5には、試料濃度が高い位置において測定した、硫黄の軟X線吸収スペクトルを示した。2480.9eV付近に見られるピークは、硫酸(SO_4^{2-})に特徴的なピークであり、宝石サンゴ骨軸中の硫黄は、主に硫酸塩の形態を持っていることが分かる。スペクトルの形状は、無機石膏と良い一致を示していることから、炭酸カルシウム中の炭酸イオンを硫酸イオンが置換していると推察される。いずれのサンゴにおいても硫黄のスペクトルはほぼ一致しており、これらの元素に対して、サンゴの種や色彩に依存した違い、さらには骨軸中の色模様による違いを観察することはできなかったことから、硫黄と色素物質の関係は薄いと考えられる。

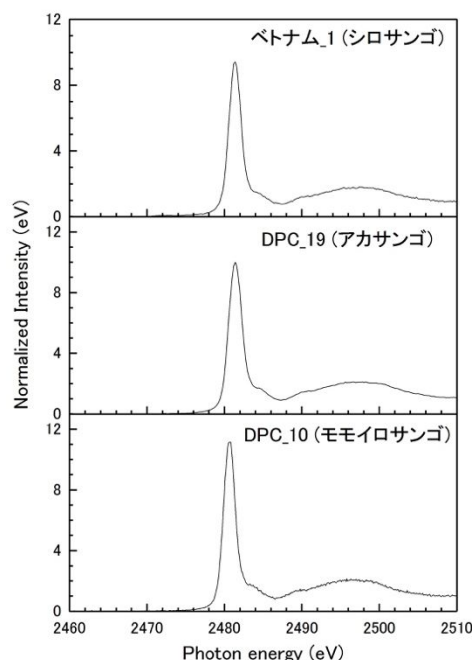


図5：各宝石サンゴ骨軸断面の、硫黄の軟X線吸収スペクトル

宝石サンゴの色素物質を識別する他の指標候補として、骨軸中に含まれる有機物の構成元素の一つである窒素についても分析を行った。しかしながら、いくつかの宝石サンゴ試料について窒素の分析を実施したものの、明瞭な窒素の信号を検出することができなかった。イガイなど他の生物炭酸塩骨格では窒素の吸収スペクトルが得られた生物も存在したことから、宝石サンゴ骨軸中の窒素の含有量は、現在の放射光分析の検出下限(100ppm程度)以下であると予想される。

今回の分析で対象とした硫黄・リン・窒素の空間分布は化学形態の分析では、明確な窒素の違いとの相関を得ることは出来なかった。その他、シロサンゴを対象として、塩素やナトリウムなど、他の微量元素についても化学形態などの分析を実施したが、いずれの元素においても、色素が形成する模様との明瞭な相関を観察することはできなかった。

軟X線を光源とした非破壊分析では、骨軸

を形成する主成分である炭素・酸素の視点から有機物を分析することができなかった。今回の分析結果は、今後は炭素や酸素の視点から色を支配している物質の研究を進める重要性を示唆していると思われる。この推察は、これまでに唯一同定されている宝石サンゴ中の色素がカロテノイド色素のカンタキサンチンであることも整合的であると考えられる。

(3) 骨軸中色素成分の起源

宝石サンゴ骨軸の赤色成分と想定されるカンタキサンチンは、アカサンゴ、モモイロサンゴ、シロサンゴの有機組織からも検出された。一般に動物はカロテノイドを自ら合成できないため、宝石サンゴも色素成分の前駆体を餌から摂取していると考えられる。そこで色素成分の起源を明らかにするために、宝石サンゴの食性を炭素・窒素安定同位体比を用いて明らかにすることを試みた。分析試料として自然から採取されたものと人工飼育環境下で餌を選択投与されたものを用いて比較した結果、小笠原近海に生息するアカサンゴとシロサンゴは POM を含む植物プランクトンを起源とする有機物を摂食していることが明らかになった。摂食する餌を特定するために、鹿児島産のシロサンゴをテトラセルミス(プラシノ藻類)とL型ワムシを餌として用い人工飼育を行った。しかし、炭素及び窒素の安定同位体組成においてシロサンゴはそれらを直接摂食していることを示す結果は得られなかった。今後、餌料を変えて人工飼育を行い、色素成分の前駆物質を直接植物プランクトンから取り込んでいるのか、動物プランクトンを経由して取り込んでいるのか等について明らかにする予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 12 件)

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

A. Maeda, K. Fujita, K. Horikawa, A. Suzuki, T. Yoshimura, Y. Tamenori, H. Kawahata, Oxygen isotope and Mg/Ca ratio of high magnesium calcite of benthic foraminifera as a proxy for water temperature, *J. Geophysical Res.*, **122**, 185-199 (2017), 査読有, DOI:10.1002/2016JG003587

S. Sekida, N. Iwasaki, K. Okuda, Gonadal morphology and gametogenesis in the Japanese red coral *Corallium japonicum* (Octocorallia: Alcyonacea) collected off Cape Ashizuri, Japan, *Zoological Science*, **33**, 320-336 (2017), 査読あり, DOI: 10.2108/zs150140

岩崎望, 長谷川浩, 宝石サンゴの化学, 化

学と教育, **64**, 口絵 4, 34-35 (2016), 査読あり, オープンアクセス,

<http://ci.nii.ac.jp/naid/110010041822>

Y. Urushihara, H. Hasegawa, N. Iwasaki, X-ray micro-CT observation of the apical skeleton of Japanese white coral *Corallium konojoi*., *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **475**, 124-128 (2016), 査読あり, DOI:10.1016/j.jembe.2015.11.01

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), 査読有, DOI:10.1016/j.epsl.2015.03.048

〔学会発表〕(計 14 件)

為則雄祐, 軟 X 線分光は高圧材料科学の役に立つのか?, Workshop on Materials science under ultra-high pressure MATSUYAMA 2017, 松山市, 2017 年 3 月 2-3 日, 依頼講演

岩崎望, 珊瑚その未知なるもの、生き物文化誌学会 日伊国交 150 周年記念事業特別シンポジウム「宝石珊瑚 生き物と文化の多様性を探る」、立正大学品川キャンパス, 2017 年 2 月 25 日, 依頼講演

長谷川浩, 宝石サンゴの色の多様性、生き物文化誌学会 日伊国交 150 周年記念事業特別シンポジウム「宝石珊瑚 生き物と文化の多様性を探る」、立正大学品川キャンパス, 2017 年 2 月 25 日, 依頼講演

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」、同志社大学 (京都府京田辺市), 2016 年 3 月 24-28 日, 依頼講演

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、淡路夢舞台国際会議場 (兵庫県洲本市), 2015 年 12 月 21-22 日, 依頼講演

K. Kudo, H. Sawai, T. Maki, Y. Tamenori, T. Yoshimura, N. Iwasaki, H. Hasegawa, Diversity analysis of trace elements in precious coral using μ -XRF, The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, ANYL 365, Hawaii, USA, 2015.12.15-20.

〔図書〕(計 5 件)

DVD「宝石サンゴ 科学調査の現場から」、26 分、企画・制作・著作: 岩崎望・東京シネマ新社、発行: 東京シネマ新社 (2016)

岩崎望, 日本産寶石珊瑚之生物學與永續利用、鄭明修編・太平洋産寶石珊瑚國際研討會結案報告 2014、臺灣區珠寶工業同業公會、臺北, 318 頁 (pp.38-43) (2015)

張水鑑、楊雅清、岩崎望、西北太平洋寶石珊瑚漁獲數據迷思與適當保育管理建議、鄭明

修編・太平洋産寶石珊瑚国際研討會結案報告
2014、臺灣區珠寶工業同業公會、臺北、318
頁 (pp.79-86) (2015)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)
取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

研究成果ホームページ「宝石サンゴ その
持続的利用を目指して」、岩崎望

<http://es.ris.ac.jp/~iwasaki/sango/>

アウトリーチ活動「深海のサンタクロース
小笠原の宝石サンゴ」展の実施、岩崎望、2016
年 10 月 1 日 ~ 29 日、立正大学博物館 (埼玉
県熊谷市)

日伊国交 150 周年事業「宝石珊瑚 生き
物と文化の多様性を探る」の実施、生き物文
化誌学会宝石珊瑚例会、岩崎望、2017 年 2 月
25 日、立正大学 (東京都品川区)

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

長谷川 浩 (HASEGAWA, Hiroshi)
金沢大学・物質化学系・教授
研究者番号 : 9 0 2 5 3 3 3 5

(2) 研究分担者

岩崎 望 (IWASAKI, Nozomu)
金沢大学・物質化学系・教授
研究者番号 : 9 0 2 5 3 3 3 5

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 : 1 0 3 6 0 8 1 9