

機関番号：37111
 研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20350040
 研究課題名（和文） 生体試料中軽金属元素の状態別 In-situ イメージング用軟 X 線分光システムの開発
 研究課題名（英文） Development of an In-situ soft X-ray absorption imaging system For the speciation of light elements in biological samples
 研究代表者
 脇田 久伸 （WAKITA HISANOBU）
 福岡大学・理学部・教授
 研究者番号：50078581

研究成果の概要（和文）：特注ポリキャピラリーレンズ、コリメータ、自動制御機構システムおよび試料ホルダーを付けた超軟 X 線分光スペクトル In-situ 測定装置を用い、九州の放射光研究施設で NaCl と MgCl₂ 水溶液の Na-K と Mg-K XANES スペクトル測定を行った。その結果、1/3 の He 量で、S/N 比の高い 0.1M 溶液の測定が可能となり、生体中軽金属元素の XANES イメージングスペクトルを得ることが可能となった。また、各種条件下でケイ素含有稲の栽培育成を行い、稲中ケイ素の Si-K XANES スペクトルを測定し、DV-X α 分子軌道法で解析した。

研究成果の概要（英文）：

Specially ordered, polycapillary lens, its collimator, automatic control system, and sample holder were installed on our ultra soft X-ray spectrometer, and measured Na-K and Mg-K XANES spectra of respective aqueous NaCl and MgCl₂ solutions at Kyushu Synchrotron Center. We could obtain clear and excellent S/N ratio spectra of 0.1 molar solutions. This tells our new spectrometer system is capable to In-situ Imaging measurement of light metal elements in biological samples. We cultivated rice under several soil conditions including Si element, and measured its Si-K XANES spectra analyzed by a DV-X α method.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
2009 年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2010 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
年度			
年度			
総計	8,500,000	2,550,000	11,050,000

研究分野：分析化学

科研費の分科・細目：化学・分析化学

キーワード：軟 X 線分光、XANES スペクトル、生体試料、ポリキャピラリー X 線レンズ、溶液、In-situ

1. 研究開始当初の背景

溶存化学種の構造解析は生体内化学種の挙動や役割を解明する上で非常に重要である。特にナトリウム(Na), アルミニウム(Al), ケイ素(Si)などの軽金属元素を含む溶液のin-situ 構造解析は生体内における軽金属元素イオンの役割や生化学反応機構の解明などで特に注目されている。例えばイネは茎, 葉, 籾殻などにシリカを蓄積するために, 根から特異的にケイ酸を吸収濃縮する。イネ導管溶液中ではほとんどのケイ酸は単量体で存在し, 必要な部位で重合し, シリカとして沈殿すると考えられている。このケイ酸の重合・沈殿コントロール機構を明らかにするためには, イネ中のケイ酸やシリカの配位状態別分析(以下, 状態分析)が不可欠である。ケイ酸にはSiのほかAlやNaが共存する。

今まで我々は軽元素の状態分析をめざして軽元素のX線吸収スペクトル測定装置の開発を行ってきた。まず, **1**, 溶液中の軽元素のX線吸収スペクトル測定法の開発とスペクトル解析法の確立をめざして試作した装置を米国Lawrence Berkeley 国立研究所ALSのBL6.3.1に設置し, 世界で初めて水溶液中のAl等のX線吸収スペクトル測定とそれら錯体の構造解析に成功した(例えば, Wakita et al., Adv. Quntum. Chem., 42, 403-407(2003).)。また, **2**, リチウム(Li)のK吸収端やNaから硫黄(S)にいたるL吸収端のX線吸収スペクトル測定を実験室で可能とする装置をALSのグループとの共同開発で成功させた(研究代表者: 脇田久伸, 試料水平型実験室超軟X線分光スペクトル測定装置の開発, 平成15年度~16年度科研費補助金基盤研究A研究成果報告 & H. Wakita et al. Adv. Quntum. Chem., (2007) in press.)。さらに, **3**, 米国に設置した**1**の装置を生体試料内軽元素のX線吸収スペクトル測定用に改良した軟X線分光装置を製作し, これを九州シンクロトロン光研究センターのBL12に設置し, 本邦で初めて4.9MNaCl水溶液中のNaイオンの測定に成功した(研究代表者: 脇田久伸, 生体溶液試料用軟X線分光測定システムの開発, 平成17年度~18年度科研費補助金基盤研究B研究成果報告, Fig.1およびFig.2)。

そこで本研究では, 今までの機器開発を

ふまえ, X線集光素子であるポリキャピラリーX線レンズを用いて九州シンクロトロン光を集光し強力な軟X線微細ビームを得, 高感度軟X線検出器と7軸ステージを装着した3の装置をコンピュータコントロールし, イネを含む生体実試料中の軽金属元素の状態別in-situイメージング分析を世界で初めて行う。本研究を通じて生体試料中の軽元素のin-situ状態分析を行うための超軟X線スペクトル解析法の確立をめざす。

2. 研究の目的

明らかにすること: Na から Si にいたる軽金属元素は化合物も含めて呈色しないものが多く, また, 通常の蛍光 X 線分析法では状態分析し難い。しかし XPS に代表される軟 X 線分光法を用いれば固体試料に関してはその状態分析が実用化されてきており, 特に, 高輝度高強度軟 X 線光源が設置されるに伴い, これら軽金属元素の X 線吸収スペクトルも測定され状態分析が行えるようになった。さらに我々による溶液試料や生体試料中の軽元素の X 線吸収スペクトル測定装置の開発により溶液中の Na から Al や Si の X 線吸収スペクトルの測定が可能になった。生体内軽金属元素の挙動や役割を研究する上で生体実試料中の軽金属元素の状態別 in-situ イメージング分析が求められていることから, 本研究ではイネを代表とする生体実試料の Na から Si の軽金属元素の状態別 in-situ イメージング用軟 X 線吸収スペクトル測定システムの開発を行う。得られたスペクトル解析にモデルを用いる分子軌道法解析法を用い, 主にイネ中の Na, Al および Si の溶存化学種の構造解析を行い, イネ中でのケイ酸の挙動と役割を解明する。解析法の標準化もめざし, 分子モデルの構築からその最適化を行い, 得られたモデルによるクラスター分子軌道を一連に行えるシステムの構築も図る。

3. 研究の方法

軟 X 線は九州シンクロトロン光研究センター内 BL12 の XPS 分光器の右端から Fig.2 の右方向にある 2 つの差段バルブに入る。差段バルブで真空度を徐々に下げ, コリメータの先端から大気下にある試料室に軟 X 線を放出する。コリメータの先端は窒化ケイ素の薄膜

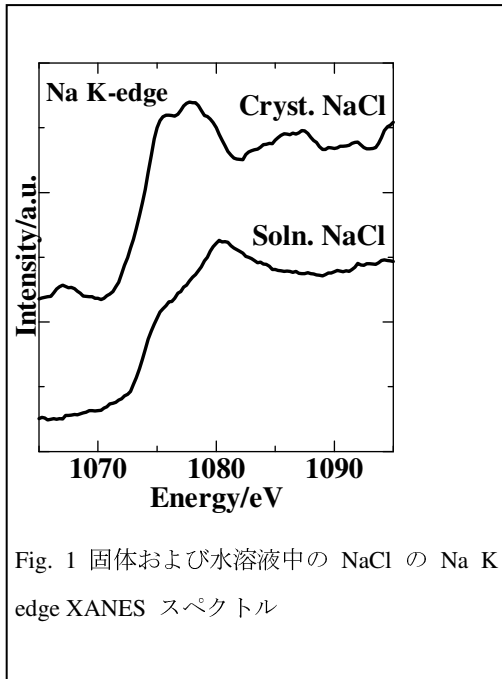


Fig. 1 固体および水溶液中の NaCl の Na K edge XANES スペクトル

がつけられている。

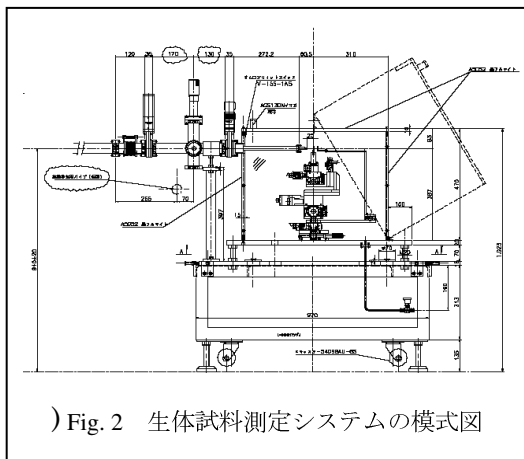


Fig. 2 生体試料測定システムの模式図

今回の研究ではこのコリメータの代わりに Fig. 3 のポリキャピラリー-X 線レンズを米国のエックスレイオプティカルシステム社の特注で製作し、軟 X 線の集光させることで

高強度化・高輝度化をはかる (表 1 参照, 実際は受注生産なので特性値はいくらか変化する)。なお、ポリキャピラリー-X 線レンズの先端には 0.3mm 内径の円錐状 Mo 製アパーチャーを用いる。このアパーチャーはできるだけ試料に接近させて測定する (K. Tuji et al., J. At. Spectrom., 2003)。

4. 研究成果

平成 20 年度にはポリキャピラリー集光レンズを設計特注し、アメリカから直接購入した。このポリキャピラリー集光レンズを内蔵するコリメータならびに自動制御機構システ

ムを平成 21 年度に設計作成し、超軟 X 線分光スペクトル測定装置用生体試料測定システムへの取り付けを行った。また、平成 22 年度には測定の際に使用するヘリウムガスの使用量を削減するために試料周りにアクリル板で作成した円筒形のホルダーの取り付けを行った。これらの改良を加えた装置を用いて九州シンクロトロン光研究センター-BL-12 で塩化ナトリウムおよび塩化マグネシウム水溶液の Na-K および Mg-K XANES スペクトルの測定を行った。その結果、ポリキャピラリー集光レンズを導入しない場合、測定限界濃度は 1M であったのに対し、ポリキャピラリー集光レンズを導入

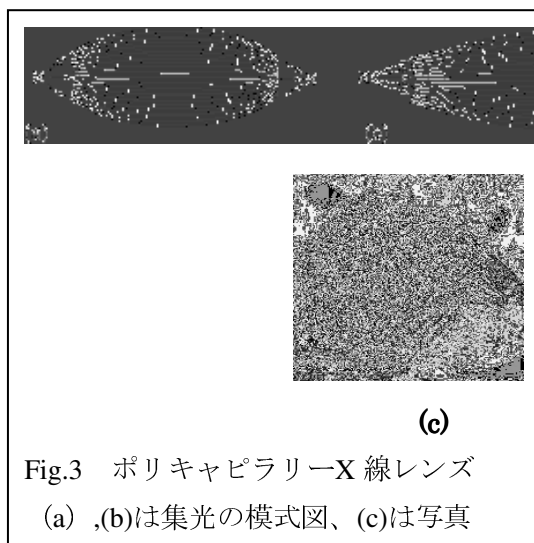


Fig.3 ポリキャピラリー-X 線レンズ
(a) ,(b)は集光の模式図、(c)は写真

し今回の改良を加えた装置では測定限界濃度 0.1M の濃度の溶液でも測定が可能であることが示された。また使用するヘリウムガスも改良前と比較して使用量が 1/3 程度に減らすことが可能となった。Fig. 4 に塩化ナトリウム水溶液の実測と計算の Na K XANES スペクトルを示す。測定の結果得られたスペクトルは、ポリキャピラリー集光レンズを導入したことにより、S/N 比の向上が見られ Aziz らによって測定されたスペクトルと同等以上の XANES スペクトルを得ることが可能となった。また、塩化ナトリウム水溶液中の Na K XANES スペクトルは低濃度と高濃度でスペクトルの形状が異なっていることが示された。そこで、 $[\text{Na}(\text{H}_2\text{O})_4]^+$ と $[\text{Na}(\text{H}_2\text{O})_6]^+$ の 2 種類の水和錯体モデルを構築し理論 XANES スペクトルの計算を行った。得られた計算結果と

実測スペクトルを比較したところ、塩化ナトリウム水溶液中では4水和錯体と6水和錯体が平衡状態で存在していることが示された。濃度が濃い場合は、4水和錯体が多く生成する方に平衡が傾き、低濃度の場合は主に6水和錯体が生成していることが明らかとなった。以上のことから生体試料内で濃度が異

表1. ポリキャピラリーX線レンズの特性値

- ・ 獲得強度 $10^1 \sim 10^3$ 倍
- ・ スポットサイズ 15~50 μ m
- ・ X線を広角 (30°まで) コントロール
- ・ 広域 (X線で0.2-30KeV) に渡って集光
- ・ 高効率 10-30%

なることにより Na イオンの水和状態が

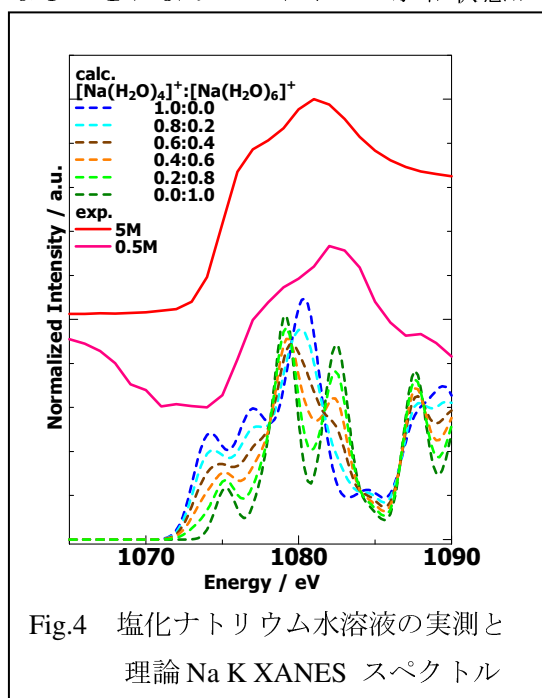


Fig.4 塩化ナトリウム水溶液の実測と理論 Na K XANES スペクトル

異なるような僅かな状態の識別、即ち状態別のイメージング測定が可能であることが示された。

次に、クロロフィル中の Mg K XANES スペクトルの測定結果を Fig. 5 に示す。比較として塩化マグネシウム水溶液中の Mg K XANES スペクトルを示す。得られた結果はクロロフィル中の Mg は水溶液中の Mg とは構造が異なっていることを示している。以上の結果、本システムにより生体試料の軽元素である Mg の状態別識別

の In-situ イメージング測定が可能でありことが示された。また、各種条件下で生体試料であるケイ素含有稲の栽培育成を行い、これらの試料を用いてケイ素の Si-K XANES スペクトルの測定を行った。得られた Si-K XANES スペクトルは DV-X・分子軌道法などを用いて解析を行った。各年度において得られた結果を国内外の学会等で成果報告を行い、かつ、論文誌に投稿した (下記参照)。

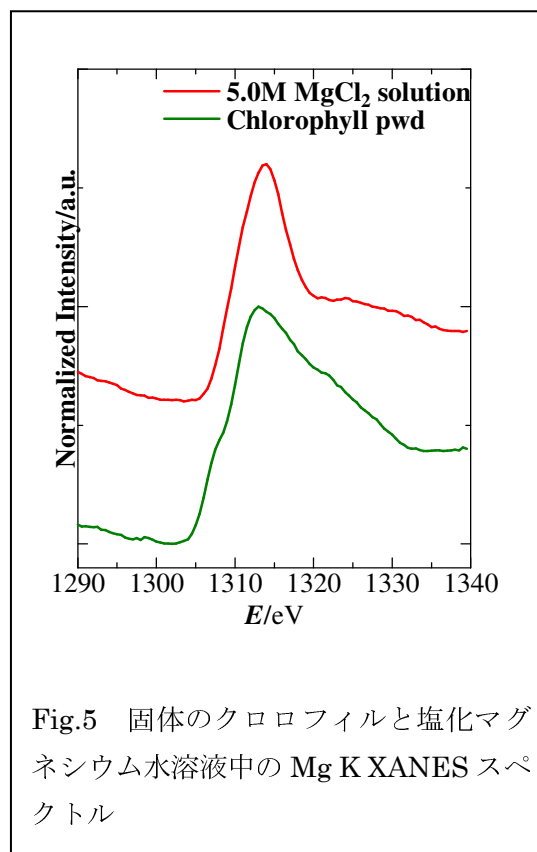


Fig.5 固体のクロロフィルと塩化マグネシウム水溶液中の Mg K XANES スペクトル

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 10 件)

① 栗崎 敏, 三木祐典, 南 慧多, 横山尚平, 國分伸一郎, 岩瀬元希, 迫川泰幸, 松尾修司, 脇田久伸, 軟 X 線吸収分光法による個体および溶液中の軽元素の状態分析, X 線分析の進歩, 査読有, 42 巻, 2011, 281-290.

② 岩瀬元希, 藤尾侑輝, 長濱 俊, 山田啓二, 栗崎 敏, 脇田久伸, 新規リンドープ酸化チタンの XRD・XPS による解析, X 線分

析の進歩, 査読有, 42 卷, 2011, 213-219.

③ 江藤由美、西田育子、白淑琴、岡上吉広、横山拓史、土壌溶液中のケイ酸濃度に及ぼす有機物の影響に関するモデル実験-ピロリドン系モノマーとポリマーの比較、分析化学, 査読有, 60 卷, 2011, 97-102.

④ S. Bai, Y. Tsuji, Y. Okaue, T. Yokoyama: Complexation of silicic acid with tiron in aqueous solution under near natural condition, J. Solution Chem., 査読有, 40 卷, 2011, 348-356.

⑤ 栗崎 敏, 迫川泰幸, 松尾修司, 脇田久伸、軟 X 線分光スペクトル測定装置用生体試料測定システムの設計・開発・性能評価, X 線分析の進歩, 査読有, 41 卷, 2010, 165-170.

⑥ T. Kurisaki, H. Yamashige, Y. Tazawa, H. Wakita, Local Structure around Iron(III) Ion in Lamprey Hemoglobin, Fukuoka Uni. Sci. Rep., 査読有, 40 卷, 2010, 39-44.

⑦ M. Isa, S. Bai, T. Yokoyama, J. F. Ma, Y. Ishibashi, T. Yusa, M. I. Inoue: Silicon enhances growth independent of silica deposition in a low-silica rice mutant, lsil, Plant Soil, 査読有, 331 卷, 2010, 361-375.

⑧ T. Kurisaki, S. Matsuo, I. Toth, and H. Wakita, Recent development of the XANES spectral analysis methods for the structure characterization of metal complexes in solution, *Anal. Sci.*, 査読有, 24, 2008, 1985-1392.

⑨ T. Kurisaki, Y. Nakazono, S. Matsuo, R. C. C. Perera, J. H. Underwood and H. Wakita, Evaluation of laboratory ultra soft x-ray absorption spectrometer by

Li-K XANES measurements and their DV-X α calculations, *Adv. Quantum Chem.*, 査読有, 54 卷, 2008, 315-323

⑩ 栗崎 敏, 松尾修司, Rupert C. C. Perera, James H. Underwood, 脇田久伸, 試料水平型実験室超軟 X 線分光スペクトル分光装置の開発とその評価, X 線分析の進歩, 査読有, 39 卷, 2008, 189-198

[学会発表] (計 6 件)

① T. Kurisaki, S. Matsuo, Ruper C. C. Perera, J. Underwood, H. Wakita (Keynote lecture), Recent new soft X-ray spectrometers developed for the analysis of biochemical samples, Pacificchem 2010, Hawaii convention center (Honolulu, USA), December, 18, 2010.

② T. Kurisaki, Y. Sakogawa, H. Wakita (Invited Lecture), The Characterization of Light Element Ions in Aqueous Solution by Soft X-ray Absorption Spectroscopy using Liquid Cell System, The 6th International Conference on DV-X α and the 23rd DV-X α Annual Meeting, Korea Basic Science Institute(Taejon, South Korea), August, 4, 2010.

③ 栗崎 敏, 迫川泰幸、脇田久伸, 軟 X 線吸収分光スペクトル測定用生体試料測定システムを用いた水溶液中の軽元素イオンの溶存構造解析, 第 45 回 X 線分析討論会, 大阪市立大学杉本キャンパス(大阪市), 2009 年, 11 月 6 日,

④ T. Kurisaki and H. Wakita (Keynote Lecture), Rcent development of two new soft X-ray Absorption spectrometric systems, 10th Asian Conference on Analytical Sciences, Putra World Trade Centre (Kuala Lumpur, Malaysia), August 13, 2009.

⑤ T. Kurisaki and H. Wakita (Invited Lecture), Structure analysis of sodium cation in aqueous solution by soft X-ray absorption spectra and their molecular

orbital calculation, 58th Denver X-ray Conference, Crowne Plaza Hotel (Colorado Springs, USA), July 28, 2009.

⑥ 迫川泰幸, 栗崎 敏, 脇田久伸,
超軟X線分光スペクトル測定装置用生体
試料測定システムの設計・開発および性
能評価, 第44回X線分析討論会, 日本女
子大学新泉山館 (東京), 2008年, 10月18
日.

○出願状況 (計 1 件)

名称: 非金属元素ドーブ酸化チタン光触媒の
製造方法

発明者: 脇田久伸, 山田啓二, 岩瀬元希

権利者: 学校法人福岡大学

種類: 特許

番号: 出願番号 2009-161632

出願年月日: 平成 21 年 7 月 8 日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

脇田 久伸 (WAKITA HISANOBU)

福岡大学・理学部・教授

研究者番号: 50078581

(2) 研究分担者

横山 拓史 (YOKOYAMA TAKUSHI)

九州大学・大学院理学院・教授

研究者番号: 20136419

栗崎 敏 (KURISAKI TSUTOMU)

福岡大学・理学部・助教

研究者番号: 20268973