

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 29 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25620141

研究課題名(和文) 特定元素に対する生体濃縮現象の資源化学的応用

研究課題名(英文) Application of bio-accumulation for specific elements

研究代表者

沼子 千弥 (Numako, Chiya)

千葉大学・理学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：80284280

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ヒザラガイの歯舌に対する希土類元素濃集に関する検討を行った。PIXEとレーザーアブレーションMSにより、ヒザラガイの歯の元素分布、特にSrの蓄積が明らかとなった。また、ヒザラガイの歯への希土類元素の蓄積について調べるために、ICP-MSによる分析を行ったところ、ヒザラガイの歯に海水由来の希土類元素が海水と比較して10万倍近く濃集されていることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Accumulation of REEs into radular teeth of chiton was investigated with material scientific technique. Two dimensional distributions of elements in a tooth of chiton, especially Sr, a key element of environmental monitoring, were indicated with micro PIXE and laser ablation MS. Quantitative analyses with atomic absorption spectroscopy and ICP-MS were examined to the teeth of chiton and elucidated that the teeth of chiton accumulated REEs at high concentration in hundred thousand times of those of seawater.

研究分野：分析化学 環境化学

キーワード：ヒザラガイ 希土類元素 生体濃縮

1. 研究開始当初の背景

鉄とアルミニウムは地球表層での存在度が高く、また化学的性質が似ているため、鉱物においては固溶しながら広く分布し、また海水でも共に極微量元素となっている。しかし、生物界では鉄は必須元素として活用されるが、アルミニウムはほとんど確認されておらず、両者の挙動に大きな違いがみられる。生物がアルミニウムを利用しない理由として、海水中のアルミニウム濃度が低いことが通説となっているが、同じように低濃度の鉄をこれほど活用していることと矛盾する。申請者がこれまで研究を行ってきた軟体動物のヒザラガイは、海水から 10 億倍の濃度比で鉄を回収し、その歯を磁鉄鉱 (Fe_3O_4) を主成分として形成する、生物界で最強の鉄濃縮生物である。しかし、そのヒザラガイの歯からも微量成分としてさえもアルミニウムは検出されない。このような生物が持つ高い元素選択現象を非生物系で再現することができれば、低エネルギー・高効率で、鉄とアルミニウムのような化学的挙動が類似していた元素をほぼ完全に分離して回収することが期待される。本研究では、鉄を主成分として生体鉱物を形成する生物群の生体濃縮・生体鉱物化メカニズムを非生物系で再現し、それを鉄・アルミニウムと同様に 3 価のイオンとして地球表層に偏在する希土類元素の回収に応用することを試みる。

2. 研究の目的

まず、ヒザラガイ類が生息する潮間帯の岩石表層の物質と海水、そこに生息する生物を採集し、天然に存在する鉄・アルミニウムの化学状態と存在量の分析を行う。次いで、人工海水にこれら天然環境と同様の濃度の鉄・アルミニウムを添加した模擬試料液から、鉄の選択的回収を行う手法の開発を目指す。このとき、生物系での反応を想定しリン酸基を修飾させた素材を用いて比較を行い、両者において鉄・アルミニウムがどのような挙動を示すか、それらは天然試料と有意差があるかを検証し、生物における選択的要素回収のメカニズム解明と、非生物系での再現を試みる。

3. 研究の方法

(1) ヒザラガイ類が生息する潮間帯の岩石表層の物質と海水、そこに生息する生物を採集し、天然に存在する鉄・アルミニウムの化学状態と存在量の分析を行った。

採集は徳島県鳴門市の竜宮の磯において行った。ヒザラガイは岩に付いているものをヒザラガイと岩との間にマイナスイオンを差し込み採集を行った捕獲を行った。海水は現地で定性ろ紙を用いてろ過した後に硝酸を加え 0.1 mol dm^{-3} の硝酸溶液に整えた後に研究室に持ち帰り以後の実験に用いた。

(2) ヒザラガイの歯舌を摘出し、蒸留水で洗浄した後、実体顕微鏡下で歯冠部のみをカッターで摘出した。これをチタンのピンセットを用いて、5mmφ の穴を開けたアルミ板のホルダーにカー

ボン粘着テープを貼ったものの上に取り付けた。ヒザラガイの歯は成熟過程で外観や構成元素の異なる成熟ステージが 5 段階あるので、これに対応した歯冠を複数個試料ホルダーに乗せて、マイクロ PIXE の測定試料とした。

マイクロ PIXE は放射線医学総合研究所の静電加速器棟に既設の PIXE 分析用加速器システムを用いて行った。入射粒子線はプロトンを用い、試料表面の軽元素の特性 X 線の検出には SDD を、試料を透過した重元素の特性 X 線の検出には CdTe の半導体検出器を用いて検出を行った。試料表面にプロトンを走査し、1 時間データを積分して、2次元の元素マッピングを行った。マッピング領域ははじめは 500 マイクロメートル四方で、そこから試料の特徴的な箇所を 100 マイクロメートルから 50 マイクロメートル四方に絞って分析を行った。また、希土類元素については、レーザーアブレーション ICP-MS による検出を試みた。

(3) ヒザラガイの歯舌の分解・湿式分析をで行った。ヒザラガイの歯舌の主成分である Fe、Ca、Mg、P の四元素について測定を行った。P については歯を濃塩酸に溶解させたのち、 6 mol dm^{-3} 塩酸溶液にしてから陰イオン交換カラムに通して鉄を除去してからモリブデン・イエロー法を用いて測定を行った。残りの元素は濃塩酸 1.0 ml に歯を溶解させた後に 25 ml に定容し原子吸光計を用いて測定を行った。

ヒザラガイの歯における REE 濃度の定量は試料中から鉄をクロロ錯体として除くために次のようなスキームで行った。デシケーター中で乾燥させた歯を定量した後にピーカーに濃塩酸を加えて溶解した。溶解した後に、この溶液試料を 6 mol dm^{-3} 塩酸溶液とし、この溶液を陰イオン交換カラムに通し、さらに 6 mol dm^{-3} 塩酸 100 ml を流し、カラム中の試料溶液を洗い流した。この鉄を除去した試料溶液をホットプレート上で蒸発乾固させた後に 0.1 mol dm^{-3} 硝酸を加えて 25 ml に定容し ICP-MS で測定を行った。

海水中の REE 濃度は低いため、シュウ酸カルシウムを使用した共沈濃縮法を用いて分析を行った。海水 1 L を三角フラスコに入れ、ホットプレート上で 200 ml 程度になるまで予備濃縮を行った。この海水試料に 0.75 g の $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ と 1.2 g の $(\text{COOCH}_3)_2$ を加え一時間加熱をした後にアンモニア水を溶液中に白沈を生じるまで加え、沈殿が生じた後は一晩放置した。この沈殿物を $1.0 \mu\text{m}$ のメンブランフィルターを用いて吸引ろ過し、0.1 % のシュウ酸アンモニウム溶液 200 ml で洗浄を行った後に沈殿物をフィルターごとピーカーに移した。少量の水を加えてフィルターから洗い流し、これに濃硝酸 5 ml と過塩素酸 5 ml を加え一晩放置した。その後ホットプレート上で加熱、蒸発乾固させ、乾固物に 1 mol dm^{-3} 硝酸 10 ml を加えて溶解させた。この溶液から共沈に用いたカルシウムを REE から分離させるために陽イオン交換法を用いた。

1 mol dm^{-3} 硝酸酸性となっている試料溶液を陽イオン交換カラムに導入し、 1 mol dm^{-3} 硝酸を 50 ml、 2 mol dm^{-3} 硝酸を 100 ml、 6 mol

dm⁻³ 硝酸を 50 ml、8 mol dm⁻³ 硝酸を 100 ml の順に流し、REE を溶離させた。6、8 mol dm⁻³ の画分を回収し、ホットプレート上で蒸発乾固させた後に 0.1 mol dm⁻³ 硝酸を加えて 25 ml に定容し ICP-MS で測定を行った。

4. 研究成果

ヒザラガイ類とその生息環境の海水について、鉄とアルミニウムの存在量の分析を行った。レーザーアブレーション質量分析、マイクロ PIXE、ICP-MS を用いて特にヒザラガイの歯舌について鉄とアルミニウムの元素分析を行ったが、鉄が 70%もの濃縮を示すのに対し、その濃集箇所にはアルミニウムはほとんど検出することができなかった。そこで、研究の計画を修正し、ヒザラガイの歯舌に対する希土類元素濃集に関する基礎検討を行うこととした。

(1) PIXE によるヒザラガイの歯舌の元素分析の結果を図1に示す。ヒザラガイの歯は黒色から黄褐色に着色した摂餌面と透明な背面が外観として特徴的である。この歯はほぼ石灰化しており、電子顕微鏡でも前処理なしの非破壊でダメージ無く SEM 像を得ることができた。μ-PIXE で元素分析を行ったところ、摂餌面に鉄が、背面にカルシウムとリンが濃集していることがわかった。しかしアルミニウムはほとんど検出されず、やはり生体濃縮においてアルミニウムは選択的に濃集がかからないことが確認された。これまで、SEM や EPMA によりマッピングを行うときには薄片にして試料の厚みの違いによる元素コントラストの影響が出ないように試料調製を行う必要があったが、PIXE ではその影響が小さく、完全に

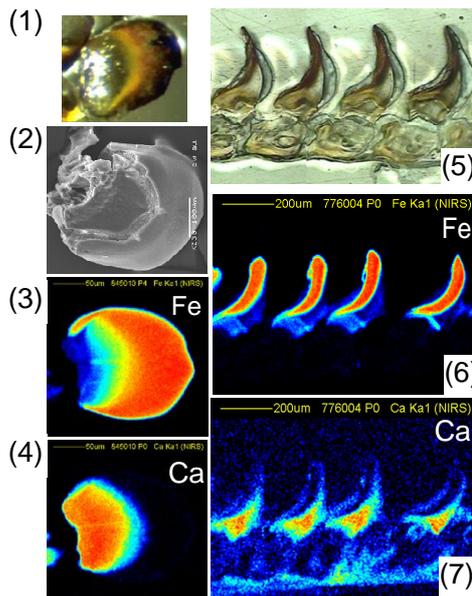


図 1. ヒザラガイの歯の (1)歯の背面の光学顕微鏡像、(2)歯の背面の SEM 像、(3)(4) μ-PIXE による歯の背面の2次元元素マッピング(Fe, Ca)、(5)歯の縦断切片の光学顕微鏡像、(6)(7) μ-PIXE による歯の縦断切片の2次元元素マッピング(Fe, Ca)

ヒザラガイの歯冠を非破壊で、特に摂餌面の背面の着色部から背面までの元素分布を求めることに成功した(図1(3),(4))。これにより、黒色で高濃度に鉄が蓄積した摂餌面から背面の表面にかぶるように薄く伸びるように背面にもまた鉄が分布しており、色も異なっていることから、摂餌面とはまた異なる化学種で有色部が形成されていることが推察された。

次にレーザーアブレーション MS により、ヒザラガイに歯に含まれる希土類元素の定性分析と2次元分布を求めた。μ-PIXEと同様に、摂餌面は鉄、背面はカルシウムとリンを主成分とすることが確認された。しかし、摂餌面には鉄しか存在しないのに対し、背面からはホウ素、マグネシウム、マンガン、ストロンチウムが含まれることが濃集することが明らかとなった。

地球表層に存在する元素は、その物質循環において鉄と挙動が類似する親鉄元素と、ケイ素やカルシウムなどの造岩元素と挙動が類似する親石元素に分類される。ヒザラガイの歯は鉄濃集部と、リン酸カルシウム濃集部に明確に分かれているために、一つの歯から、親鉄元素と親石元素の特異的な取り込みを観測・比較することが、特に親石元素である希土類元素やストロンチウムの濃集が起こることが期待されたが、この結果はその予測通りとなった。μ-PIXE でストロンチウムのピークを確認できなかった理由は、主成分の Fe のサムピークが妨害して Sr を適切に検出することが難しかったことが考えられる。またホウ素やマグネシウムのような軽元素についても μ-PIXE のこれらの元素に対する感度が十分でなかったことが理由として考えられた。さらに、μ-PIXE では鉄の濃集部にコバルトと思われるピークも検出されたが、レーザーアブレーション MS では検出されなかった。この結果より、μ-PIXE でえられたピークは鉄の Kβ線であり、質量分析の結果の方が正しいということがわかった。このようにレーザーアブレーション MS は試料を削って構成元素を MS に導入する破壊分析であるが、μ-PIXE のような非破壊分光法と相補的に用いることで非常に有用な情報を得ることが確認された。

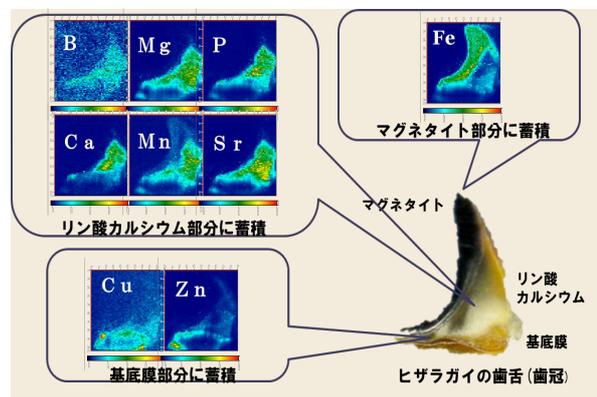


図 2. ヒザラガイの歯の縦断断面の光学顕微鏡像、とレーザーアブレーション MS 分析による2次元元素マッピング

さらに、基底膜と歯冠との境界に銅と亜鉛の蓄積が確認された。基底膜の質質はキチンで石灰化を受けていないことから、これらは有機物に結合した生体活性成分であると考えられた。

(2) 湿式の元素分析の結果、ヒザラガイの歯の主成分の元素濃度はそれぞれ Fe:478000 ppm, Ca: 59400 ppm, P: 54600 ppm, Mg: 943 ppm であることがわかった。希土類元素濃度の分析結果を表1に、希土類パターンを図3に、海水の希土類パターンを図4に、両者を同一にプロットし亜者を図5に、本研究の結果から算出したヒザラガイの歯へ希土類元素の濃縮係数を表2にそれぞれ示す。

ヒザラガイの歯舌からは、海水よりも高い濃度で希土類元素の蓄積が確認された(表 1)。希土類元素はその種類により環境での存在量が異なるために、その濃度のパターンが類似したものは地球表層での物質の移動に相関があることが示唆される。例えば鳴門海岸で採水した海水は Eu が多く Ce が少ないパターンを示したが、ヒザラガイの歯に含まれる希土類元素もまた同様のパターンを示した。

両者を比較するためにこの2つを重ねてプロットすると、全く重なることがわかった(図5)。このことから、ヒザラガイの歯に含まれる希土類元素は海水または海水の影響を多く受けている食物由来であるということが推察された。

さらにヒザラガイの歯への希土類元素の濃縮係数を見てみると、数万倍～10 万倍という、非常に高い濃縮を受けていることが明らかとなった。主成分の鉄では海水と比較して約 10 億倍の濃縮を受けているが、希土類元素についても予想以上の濃集を実現していることが明示された。

μ-PIXE やレーザーアブレーション MS ではこれらの希土類元素を検出することが困難であったため、これらの濃集が鉄とリン酸カルシウム形成のどちらに影響されたものかはまだ特定できていないが、今後、実験室系で磁鉄鉱やリン酸カルシウムの湿式での沈殿実験に希土類元素を共存させ、これを明らかにする予定である。

ヒザラガイの歯の形成メカニズムを模倣することで、鉄や希土類元素に対する回収システムを確立することができる可能性が示された。

表 1 ヒザラガイの歯に含まれる希土類元素の濃度

Table 8.Rare earth elements concentrations of tooth of chiton								
(ppm)	sample1	RSD (%)	sample2	RSD (%)	sample3	RSD (%)	sample4	RSD (%)
Y	2.609	0.83	2.622	6.64	2.592	0.64	2.455	0.61
La	1.709	0.34	1.652	0.07	1.868	0.38	1.779	0.62
Ce	1.694	0.36	1.270	0.64	1.280	0.34	1.219	0.73
Pr	0.225	1.31	0.216	1.21	0.250	2.14	0.235	1.12
Nd	0.871	0.51	0.851	0.95	0.967	0.82	0.913	1.00
Sm	0.184	2.34	0.181	2.46	0.204	2.43	0.184	1.70
Eu	0.0606	4.76	0.0520	1.86	0.0618	8.72	0.0539	1.21
Gd	0.294	1.38	0.275	2.09	0.323	2.76	0.289	0.81
Tb	0.0397	2.43	0.0396	1.97	0.0444	3.36	0.0397	1.77
Dy	0.219	2.43	0.219	2.13	0.260	2.31	0.236	1.29
Ho	0.0496	1.61	0.0486	1.63	0.0562	0.82	0.0522	2.04
Er	0.195	1.61	0.169	1.95	0.204	2.86	0.194	1.73
Tm	0.0170	3.47	0.0166	3.77	0.0203	4.95	0.0161	0.77
Yb	0.0883	1.28	0.0895	3.51	0.1164	2.71	0.0898	3.63
Lu	0.0152	2.20	0.0149	1.68	0.0193	6.30	0.0137	2.19
total REE	8.270		7.715		8.266		7.769	

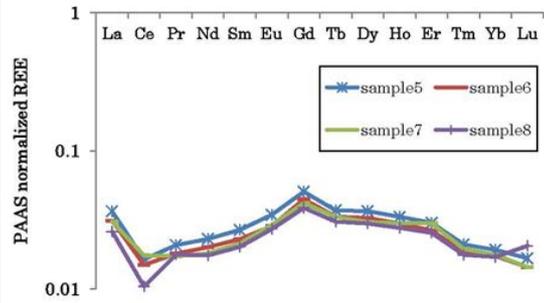


Fig.6 REE pattern of tooth of Chiton (sampled in 2012)

図 3 . ヒザラガイの歯に含まれる希土類元素の希土類パターン

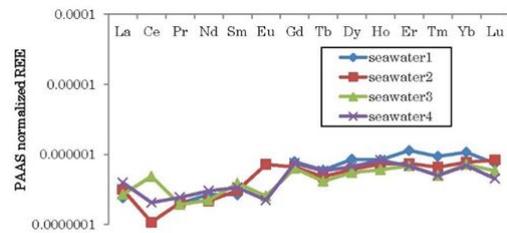


Fig.7 REE pattern of Seawater at Naruto

図 4 . 鳴門海岸の海水の希土類パターン

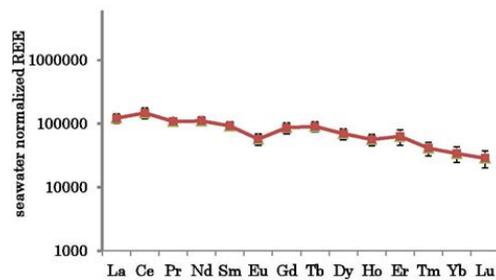


図 5 . ヒザラガイと海水の希土類パターン

表 2 ヒザラガイの歯に対する希土類元素の濃縮係数

La	120000	Tb	90000
Ce	150000	Dy	70000
Pr	110000	Ho	56000
Nd	110000	Er	63000
Sm	92000	Tm	41000
Eu	57000	Yb	34000
Gd	86000	Lu	29000

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

Chiya Numako, Characterization for bio-inorganic materials composing a radural teeth of Chiton using X-ray analyses and several material scientific method, BIOMIN12, 2013/8/27-8/30 Freiberg, Germany

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

沼子 千弥 (NUMAKO, Chiya)

千葉大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：80284280

(2) 協力研究者

横山 拓史 (YOKOYAMA, Takushi)

九州大学・大学院理学府・教授

田中 哲博 (TANAKA, Tetsuhiro)

九州大学・大学院理学府・大学院生