

むつ研究所ICP-MSを用いたハマサングの Sr, Mg, Ca分析方法の検討

小俣 珠乃^{*1} 木元 克典^{*2} 山本 秀樹^{*3}

塊状サング骨格の成長方向に対して特定の元素含有量の測定を行うと、水温をはじめとする環境要因の復元を行うことができる。サング骨格中のSr/Ca比, Mg/Caは水温のみに依存するとされているものの、これらの元素含有量は微量のため、ICP-MSのような高精度の分析計を使用する必要がある。本研究ではサング骨格に関して、ICP-MSによる微量元素測定のための前処理方法の検討を行った。

キーワード：ICP-MS, サング骨格, Sr/Ca, Mg/Ca

Sr/Ca and Mg/Ca analysis using ICP-MS in MIO

Tamano OMATA^{*4} Katsunori KIMOTO^{*5} Hideki YAMAMOTO^{*6}

Elemental analysis on biogenic carbonate provide various information for reconstructing past oceanic environments. Trace elements (Sr/Ca, Mg/Ca), which are measured with ICP-MS, in coral skeleton fluctuate relating to sea surface temperature. In this study, chemical treatments of coral skeletal samples for ICP-MS analysis was examined.

Keywords : ICP-MS, coral skeleton, Sr/Ca, Mg/Ca

*1 海洋科学技術センター 海洋生態・環境研究部 第2研究グループ

*2 海洋科学技術センター むつ研究所 第1研究グループ

*3 マリンワークジャパン むつ海洋課

*4 Japan Marine Science and Technology Center, Marine Ecosystems Research Department

*5 Japan Marine Science and Technology Center, Mutsu Institute of Oceanology (MIO)

*6 Marine Works Japan LTD, Mutsu Marine Research Support Section

1. はじめに

1.1. サンゴ骨格の微量元素分析

塊状サンゴは成長軸方向に年輪を形成しており、成長方向に特定の元素含有量を測定することにより水温、塩分、日射量、水質変化などの環境要因の復元を行うことができる。サンゴ骨格はアラゴナイト結晶(CaCO_3)で形成されており、 CaCO_3 中に含まれるSr/Ca比およびMg/Ca比は水温の試料として報告されている⁽¹⁾⁽²⁾。同様に海水温の指標として知られている酸素同位体比は塩分に影響を与える降水や蒸発などにより変化してしまうが、Sr/Ca比は塩分に対する依存が小さく、ほぼ水温のみに依存するという利点を持つ。しかし、サンゴ骨格中のSr/Ca比は1000分の9.2~10.2程度、Mg/Ca比は1000分の4.5~5.7、と微量の状態では存在するため、ICP-MSのような非常に高精度の分析計を使用することが必要となる。また、Sr/CaおよびMg/Caを計測する場合、硝酸などの強酸を用いて試料を溶解する必要があるため、酸に溶解する全ての物質は処理の過程で不純物として取り込まれてしまう。そこで分析前の試料の前処理にもさまざまな工夫および検討が必要となる。本研究ではサンゴ骨格内の古環境指標の開発の目的で、ICP-MSによる微量元素測定のための予備計測を行い、同じく水温変動の指標である酸素同位体比計測結果との比較を行った。

1.2. ICP-MSについて

ICP-MSとはInductivity coupled plasma mass spectrometry (誘導結合プラズマ質量分析計)の通称である。ICP-MSは自然界に微量で存在している元素である微量元素(trace element)を精度良く分析を行うことのできるという利点を持つ。分析器自体は質量分析を行う質量分析(Mass)部分と、試料中の元素をイオン化して質量分析部分に送り込むための誘導結合プラズマ(ICP)部分からなる。ICP部分では、まず硝酸などの強酸により完全に分解された無機酸となった試料を、霧状に導入し試料をアルゴンガスの流れにのせた状態でプラズマ中に導入することにより試料のイオン化をおこす。一方、MS(質量分析)部分ではICPより導入されたイオン化された試料を、時間とともに変化する電圧と磁場をかけることにより元素の分離を行い、検出器で特定の元素を電荷として感知し、含有量に換算することができる。精度については測定を行う元素や分析器への試料の導入条件などにより異なるが微量元素については1ppt($\times 10^{-10}\%$)の検出能力を持つ(Fig.1)。

微量分析でも試料の個数、分析時間、分析を行う元素の種類などの組み合わせにより使用に向いている分析器は異なるが、多元素を高精度で分析する場合においてICP-

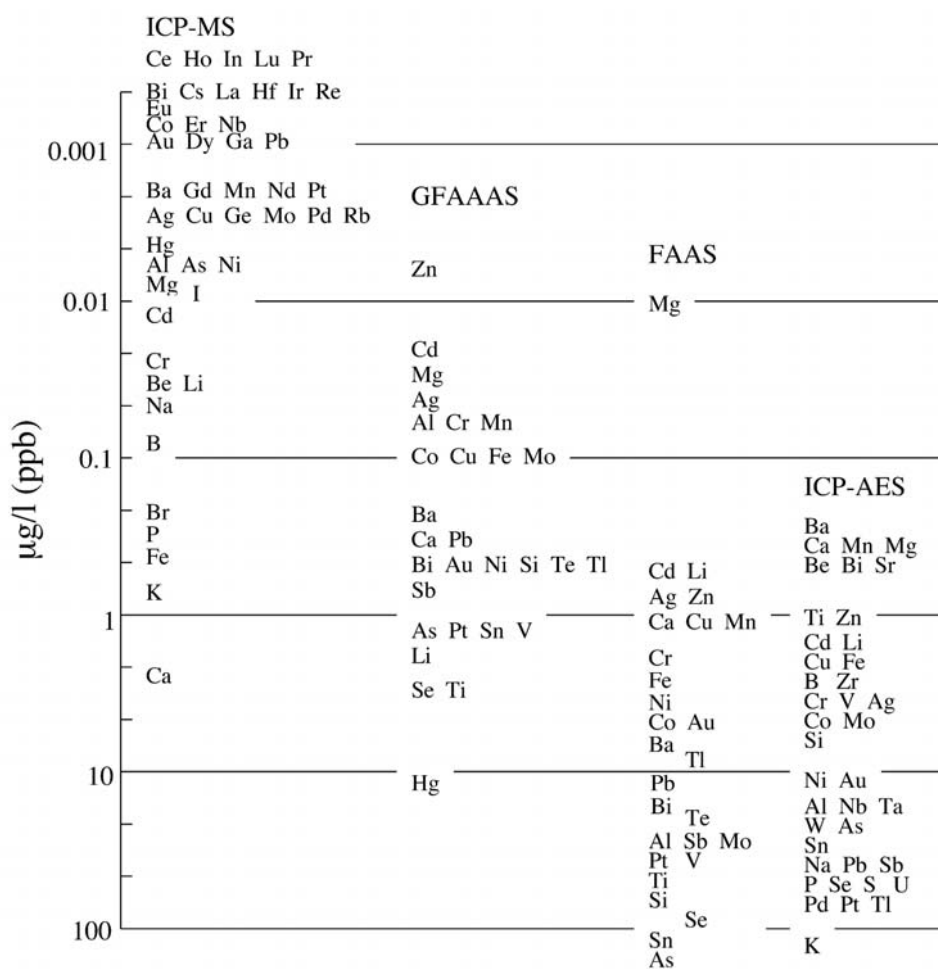


図1 様々な微量元素分析装置における検出限界の比較 ((3)より抜粋)

Fig. 1 Comparing the analytical detection limit.

MSは効力を発揮する。ICP-MSの場合、含有量の多い微量元素分析には向かないが、反対に1g/l以下の元素については効果的に分析を行うことができる⁽³⁾。

2. 方法

2.1. 試料採集およびミリングサンプルの作成

本研究の試料採集を行った太平洋地域においては、塊状のハマサンゴ属 (Genus *Porites*) が主に使用される。*Porites*属は世界中の熱帯水域に広範囲に分布していることと、また地史的に白亜紀から現世まで出現しており、化石試料の古水温推測の目的で多用されている⁽⁴⁾。ハマサンゴが多く用いられるのは、群体自体が成長軸方向に同心円状に成長するため、X線撮影により成長履歴の基礎調査となる年輪の観察が容易なこともあげられる。

分析に用いたハマサンゴ骨格試料は沖縄県石西礁で採集を行った (Fig.2)。サンゴ骨格試料は2000年10月8日および11月7日に採集を行った。採集にあたっては、マイクロボーリングマシンを使用している。ドリルにより採集したコア試料は縦3枚に切断し、厚さ3mm程度の板サンプルを作成した。年輪観察および年輪の分断の有無、成長軸の把握などを行うため、板サンプルにX線撮影装置で撮影を施した (Fig.3)⁽⁵⁾。X線撮影後、ミリQ水を用いて洗浄を行い、超音波洗浄により表面に付着した不純物の除去後、40℃にて乾燥させた。乾燥後、板サンプルに対して、成長

軸方向にマイクロサンプリングを行った。マイクロサンプリングは環境復元の時間分解能を向上させるために行った。ハマサンゴの成長速度は最大成長方向で、年間3ミリから12ミリ程度である。成長軸方向に細かく分析を行えば、その分高い時間分解能で解析を行うことができる。本研究ではGagan et al.⁽⁶⁾により開発され、Suzuki et al.⁽⁷⁾により改良された方法に従った。間隔200ミクロンでマイクロサンプリングを行い、分析は試料1つおきの400ミクロンごとに行ったマイクロサンプリングにはサカイマシンツール製、MM-140を用いた。この方法で作成したマイクロサンプルに対して、Sr/Ca比およびMg/Ca比の計測を行った。Sr/CaおよびMg/Ca分析はむつ研究所ICP-MS Element 2を用いた。

2.2. ミリングサンプルの分析方法

サンゴ骨格の微量元素分析を行うにあたり、骨格表面の付着物などを除去するため、クリーニング作業が必要となる。今回はクリーニングの影響についても確認を行うため、分析試料20試料について、クリーニングを行わないグループ (グループI) とクリーニングを行うグループ (グループII) に各試料それぞれを分けて分析を行った (Fig.4)。

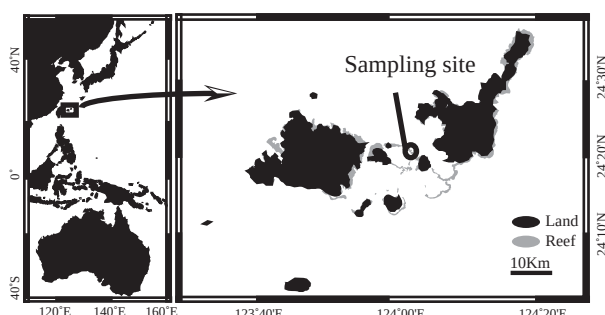


図2 試料採集地点
Fig. 2 Sampling site

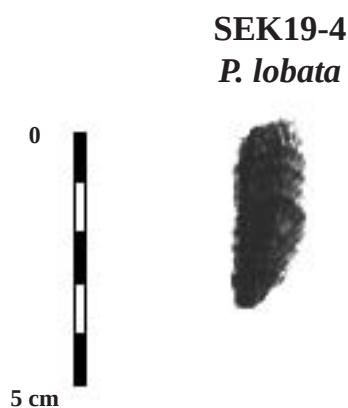


図3 分析試料のX線写真 (ポジ)
Fig. 3 X-ray positive photograph for *Porites* sample.

Flow diagram of chemical procedures for analysis by ICP-MS

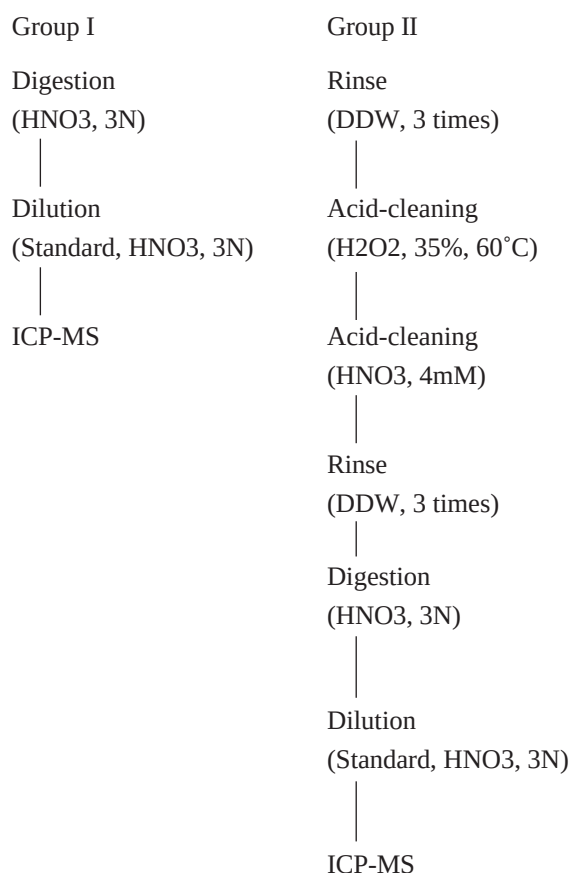


図4 ICP-MS分析試料前処理方法のフローチャート
Fig. 4 Flow diagram of chemical procedures for analysis by ICP-MS

グループIの粉末試料, 70~100 μg を目安に秤量を行い, 各々の試料をバイアルに移す。このバイアルに, 3規定(3N), 硝酸(HNO_3) 1ccを加える。その後, 超音波洗浄器に20分かけて試料を溶解させ, 次は遠心分離(12000回転, 15分)により HNO_3 に溶解しなかった碎屑物の分離を行った。遠心分離を行う理由は, 碎屑物分離をせずに試料をICP-MSに導入すると, ICP-MSの内部で碎屑物が目詰まりを起こすので, それを避けるためである。遠心分離による碎屑物除去後, 標準試料用のSc(スカンジウム)溶液と3規定の HNO_3 を用いて分析試料の希釈を行った。希釈作業はSc標準試料1(分析時: 0.03ml)に対して, 分析試料溶液10(0.3ml), さらに3規定の HNO_3 をくわえて10(3ml)の割合となるよう調合した。この希釈試料をICP-MSに導入して測定を行った。

一方, グループIIのクリーニングについてはMitsuguchi et al.⁽⁸⁾を参考にした。粉末試料にミリQ水を加え, 超音波洗浄機で1分洗浄し上澄みを取り除く作業を3回繰り返した。次に過酸化水素水による洗浄を行い, 試料表面に付着している不純物を除去した。35%濃度の過酸化水素水を60度に保ちながら試料に対して5分ひたし, その後ピペットを用いて上澄みの過酸化水素水を除去した。この過酸化水素水による試料洗浄を2回行った。次に硝酸(HNO_3)による試料洗浄を行った。4ミリ規定の HNO_3 を加え, 超音波洗浄器で1分間洗浄を行った。洗浄後, ピペットを用いて, 上澄み液である HNO_3 を取り除いた。 HNO_3 による試料洗浄を2回行い, HNO_3 によるリーチング終了後, ミリQ水を用いて試料の洗浄を行うことにより HNO_3 を取り除いた。試料の入ったバイアルにミリQ水を加え, ピペットを用いて上澄みを取り除いた。これを3回行った以上, 過酸化水素水および硝酸による洗浄が終了したらグループIと同じ作業である, HNO_3 による溶解および希釈を行い, ICP-MSに導入し測定を行った。

2.3. 分析値の補正と誤差

ICP-MSによる分析では, 分析試料5サンプルに対して標準試料1サンプルの割合で測定しており, 標準試料の分析結果と本来の値について比較を行うと, 標準試料(STD2-1~3)と本来の値の間には若干のずれが生じている。標準試料同士のばらつき具合の標準偏差をとると0.5~2%以内に収まり再現性は保証されるが, 本来の値からややずれる場合がある。そのため, 標準試料の本来の値と分析値との差について補正を行う必要がある。補正方法は標準試料の分析値の平均と本来の値の比をとり, 実際に分析した試料の分析にかけた値を最終的な濃度比としている。分析試料の測定結果のばらつきについては最小二乗法により算出し, これを誤差とした。

3. 分析結果

クリーニングを行わないグループIおよびクリーニングを行ったグループIIについて, Sr/CaおよびMg/Caの分析結果のグラフをFig.5に示す。Sr/Caについて, グループIは8.6~9.7(± 0.1) (mmol/mol)の間の変動を示した。一方, グループIIについては9.2~10.0(± 0.01) (mmol/mol)の変動を示した。特にグループIIについては, 群体表面からの距離にし

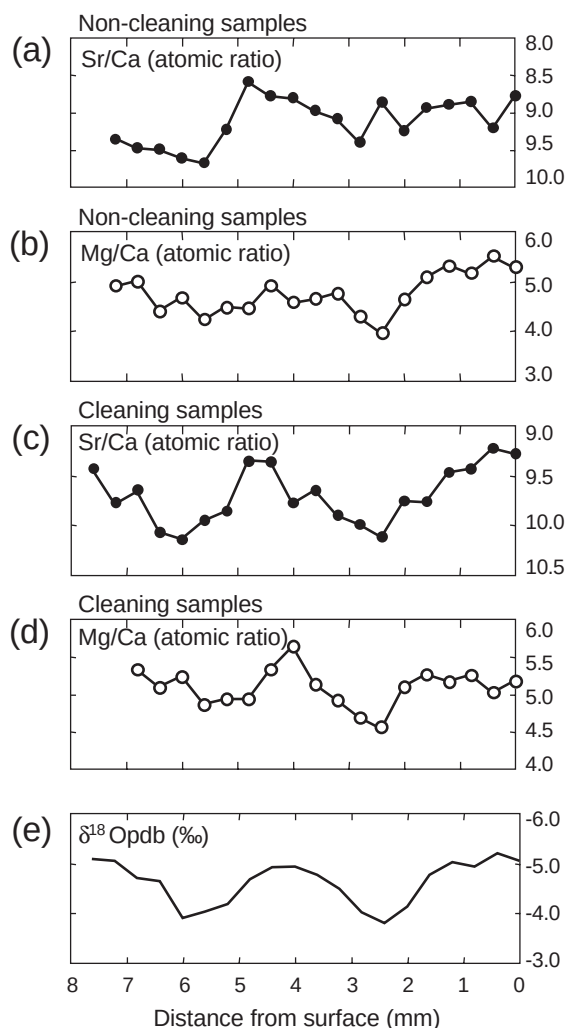


図5 試料分析結果。(a) 非クリーニング試料のSr/Ca比 (b) 非クリーニング試料のMg/Ca (c) クリーニング試料のSr/Ca比 (d) クリーニング試料のMg/Ca比 (e) 同じ試料の酸素同位体比

Fig. 5 Profiles of the analytical results. (a) Sr/Ca ratio for non-cleaning samples (b) Mg/Ca ratio for non-cleaning samples (c) Sr/Ca ratio for cleaning samples (d) Mg/Ca ratio for cleaning samples (e) d18O profiles for same samples

て0.4mm, 4.4mm, 7.6mmに極小値を示し, 2.4mm, 6.0mmに極大値を示し, 周期性が見られる。また, Mg/Caについて, グループIは4.0~5.5(± 0.1) (mmol/mol)の間の変動を示した。一方, グループIIについては4.5~5.6(± 0.01) (mmol/mol)の変動を示した。Sr/CaおよびMg/Ca比は海水温変動と良い相関を示すことが指摘されている(1)。クリーニングと行わないことの違いが出ることから, 海水温変動と相関を示すSr/Ca比変動は骨格表面ではなく, 骨格内部のSr/Ca比であることを示唆している。Mg/Ca比について, Sr/Ca比に比べてクリーニングによる変化は少なく, 表面の付着物の影響はSrに比べて少ないことを示唆している。Mg/Ca比も水温変動の指標と指摘されているが, Sr/Ca比に比べて酸素同位体比の相関は劣っておりSr/CaおよびMg/Ca変動の比較による挙動の違いが認められる。

4. 考察

4.1. クリーニングによるSr/CaおよびMg/Caの変化について

クリーニングを行わない試料 (I) および行った試料 (II) について, Sr/Ca比およびMg/Ca比の変化をFig.6に示す。硝酸および過酸化水素水によるクリーニングの本来の目的は試料表面等に付着している不純物の除去を行い, 試料本来の値を評価するためのものであるが, 一方でこの過程により試料本体も酸に溶解することにより本来の値からずれてしまうということがおこる。この時, サンゴ骨格表面と内側ではA (分析対象となる2価のアルカリ元素)/Caが違いため, クリーニングにより本来の値と分析値のA/Ca比がずれてしまう現象が起こる。これはHeterogeneity effectと言われている⁽⁸⁾。これらクリーニングによるMg/CaおよびSr/Ca比の上昇は次のように説明される。(1) MgおよびSr含有量は骨格表面より骨格内部で高いため(2) 骨格内部での元素含有量の分布がそもそも不均質分布しており, 粉末サンプルにした所で不均質が均質にまでならないため(3) DDWがMgおよびSrにたいして吸着効果をもっているため。特に, MgおよびSrなどはサンゴ骨格の一番内側に相対的には一番濃集しているため表面が溶解するごとにMg/CaおよびSr/Ca比は上昇する。Mitsuguchi⁽⁸⁾によると, 酸処理を行うことにより, サンゴ骨格試料のMg/Ca比は上昇する傾向にある。試料により若干傾

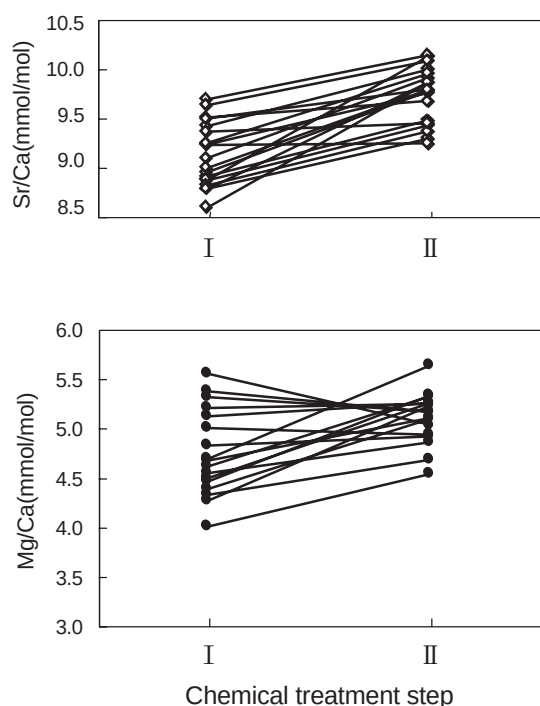


図6 クリーニングによるSr/Ca比およびMg/Ca比の変化。

グラフ横軸のIはクリーニングを行わない試料の分析値を示す。IIは過酸化水素水および硝酸によるクリーニングを行った試料の分析値を示す。

Fig. 6 Variations in Sr/Ca and Mg/Ca ratios with chemical treatment for *Porites* samples.

The treatment steps are shown as I (untreated) and II (treated with H₂O₂ and HNO₃).

向の差は見られるものの, おおまかには, 本研究試料も同様の傾向を示しているものと思われる。反対に下降している試料については再試が必要である。全体的には, 変化の安定していない試料も存在しているため, 今後分析数を増やして一定の傾向を把握することが一番重要である。

4.2. Sr/Ca, Mg/Caおよび $\delta^{18}\text{O}$ (酸素同位体比) 値との相関について

クリーニング試料について, Sr/Ca, Mg/Caおよび $\delta^{18}\text{O}$ 値どれも海水温に依存して変動するため, 理論上ではおのおの1次式の相関を示す (Beck, 1992; Mitsuguchi, 2000)。Fig.7に各々の相関を示した。Sr/Ca比と $\delta^{18}\text{O}$ 値は正相関

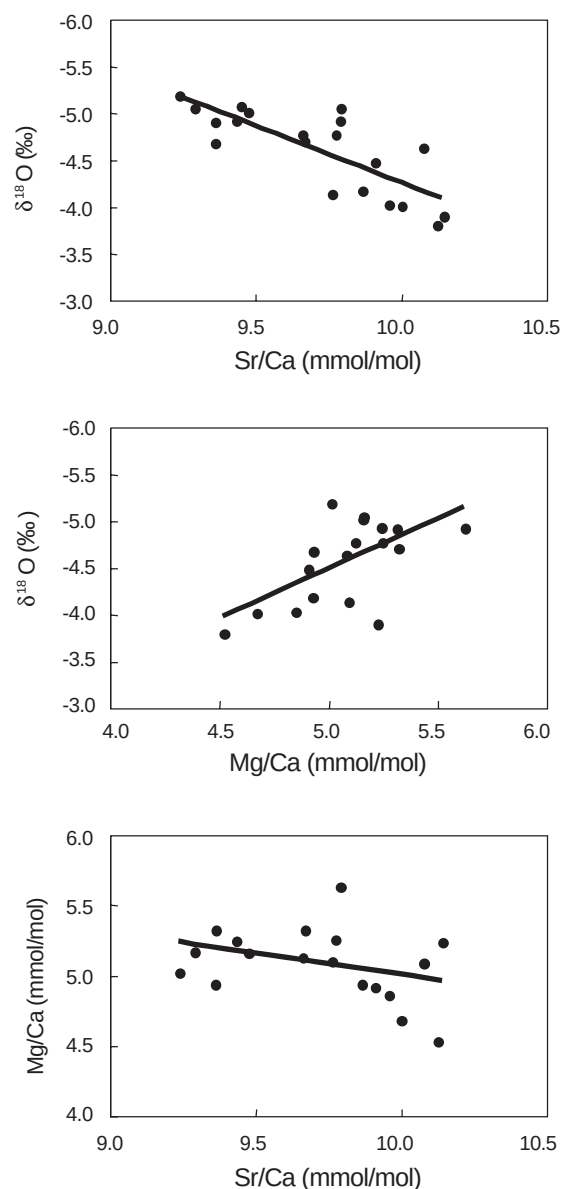


図7 Sr/Ca, Mg/Caおよび $\delta^{18}\text{O}$ 値の相関関係。 $\delta^{18}\text{O}$ 値は(10)より抜粋。

Fig. 7 Comparison in coral Sr/Ca, Mg/Ca and $\delta^{18}\text{O}$ plots. $\delta^{18}\text{O}$ analysis is shown in (10).

Regression lines are also shown.

を示し、Mg/Ca比と $\delta^{18}\text{O}$ 値は逆相関を示す。この傾向はMitsuguchi⁽⁹⁾とも同様の傾向を示している。

それぞれの相関関係は棄却率5%で信頼性を持っているものの、他分析結果と比較するともう少し精度の向上が可能であると思われる⁽¹⁾⁽⁸⁾。この方法については今後検討を要する所ではあるが、今回の分析では1年の成長量が3mm程度のサンゴ骨格試料を使用していることがあげられる。年間成長速度が遅いサンプルの使用については、1年周期の変動が見やすいという分析手続き上の利点を考慮したためであるが、今回の結果をふまえ他論文報告などにあげられている年間成長速度1cm以上のサンゴ骨格試料についても検討を行う必要がある。

5. まとめ

- ・石西礁湖にて採集したハマサンゴ骨格について、むつ研究所、ICP-MS ELEMENT2を用い、Sr/CaおよびMg/Ca分析を行った所、Sr/Ca比については年輪幅に対応した周期性を示す変動が確認された。
- ・分析前処理に関して、硝酸および過酸化水素水によるクリーニングを行わないサンプルと行うサンプルの比較を行ったところ、クリーニングを行うことにより、Sr/Ca比およびMg/Ca比双方に上昇傾向が見られた。
- ・クリーニング試料のSr/Ca比およびMg/Ca比、酸素同位体比($\delta^{18}\text{O}$)を比較した所、Sr/Caと酸素同位体比は正相関を示し、Mg/Caと酸素同位体比の相関係数は逆相関を示した。

謝辞

本原稿を書くにあたり、国立環境研究所、三ツ口丈裕博士には多くの有用なコメントを頂戴した。また、むつ研究所、第一研究グループ阿波根直一博士はじめスタッフの皆様には様々な点においてお力添えを頂いた。ミリングサンプルの作成については、産業総合技術研究所の川幡穂高グループリーダーおよび鈴木淳主任研究員にお世話になった。サンゴ骨格サンプルの採集および種の同定は東京水産大学、岡本峰雄助教授による。以上の方々にご場を御借りして謝意を表する。

参考文献

- 1) Beck, J. W., Edwards, R. L., Ito, E., Taylor, F. W., Recy, J., Rougerie, F., Joannot, P. and Henin, C., "Sea-surface temperature from coral skeletal strontium/calcium ratio," Science, 257, 644-647 (1992).
- 2) Mitsuguchi, T., Matsumoto, E., Abe, O., Uchida, T. and Isdale, P., "Mg/Ca thermometry in coral skeletons," Science, 274, 961-963 (1996).
- 3) 原口紘子, 寺前紀夫, 古田直紀, 猿渡英之共訳, "微量元素分析の実態", 丸善, 301p (1995). (Original: Vandecasteele, C. and Block, C. B., 1993, Modern methods for trace element determination. John Wiley & Sons, Ltd.,)
- 4) Veron, J., "Corals of the world. I," Australian Institute of Marine Science, 463p (2000).
- 5) Omata, T., Okamoto, M. and Furushima, Y., "Skeletal growth history of modern corals in Sekisei Lagoon as a bio-indicator," JAMSTECR, 45, 17-30 (2002).
- 6) Gagan, M. K., Chivas, A. R. and Isdale, P. J., "High-resolution isotopic records from corals using ocean temperature and mass-spawning chronometers," Earth Planet. Sci. Lett., 121, 549-558 (1994).
- 7) Suzuki, A., Yukino, I. and Kawahata, H., "Temperature-skeletal $\delta^{18}\text{O}$ relationship of *Porites australiensis* from Ishigaki Island, the Ryukyus, Japan," Geochim. J., 33, 419-428 (1999).
- 8) Mitsuguchi, T., Uchida, T., Matsumoto, E., Isdale, P. and Kawana, T., "Variations in Mg/Ca, Na/Ca, and Sr/Ca ratios of coral skeletons with chemical treatments: Implications for carbonate geochemistry," Geochim. Cosmochim. Acta., 65, 2865-2874 (2001).
- 9) Mitsuguchi, T., "Reconstruction of paleoceanic environment from multi-elemental analysis of annually-banded coral skeletons," Ph.D thesis, Nagoya Univ (2000).
- 10) Omata, T., Suzuki, A., Kawahata, H. and Okamoto, M., "Annual fluctuation in stable carbon and oxygen isotope of coral skeletons: The relative intensities of kinetic and metabolic isotope effects," In submission.

(原稿受理: 2003年8月7日)