

オオモリ ユウコ
大森 裕子

共同研究者

谷本 浩志
(国立環境研究所 室長)

濱 健夫
(筑波大学 教授)

略 歴

2006年 3月 筑波大学第二学群生物学類
卒業
2011年 3月 筑波大学大学院
生命環境科学研究科
博士課程修了
2011年 4月 独立行政法人国立環境研究所
特別研究員
2015年 4月 筑波大学生命環境系 助教
現在に至る

モニタリング培養システムを用いた海洋表層における 揮発性有機化合物の生成プロセスの解明

酸素を含む揮発性有機化合物 (OVOCs: Oxygenated Volatile Organic Compounds) は、大気中に普遍的に存在し、メタノールやアセトン、アセトアルデヒドを主成分とする。これらの OVOC は、大気中の光分解によって HO_x を生成することで対流圏オゾン生成に寄与し、地球温暖化に関わっている。海洋は、大気中の OVOC 濃度分布に大きく影響を及ぼすが、各 OVOC の放出源なのか吸収源なのか未だ議論中である。そのため、海洋-大気間の収支に影響を及ぼす海水中の濃度分布やその支配要因の解明が求められている。特に、海水中の OVOC の生成・分解プロセスとして、微生物活動と光化学反応が知られているが、定量的な情報は非常にわずかである。そこで本研究では、OVOC の濃度分布を支配する海洋生物化学プロセスを明らかにするために、微生物活動による OVOC 生成・分解速度を測定する「モニタリング培養システム」を構築し、OVOC の生成・分解プロセスを定量評価することを目的とした。

海水 OVOC は低濃度であるうえ、大気からの汚染の影響を受けやすいため、濃度変化の定量が困難であった。そこで、大気に触れずに培養中の OVOC 濃度変化を連続測定するため、オンライン質量分析計 (PTR-MS) とバブリング式培養器を組み合わせた「モニタリング培養システム」を構築した。培養実験において最適な条件を検討した結果、250 mL のガラスビンに 120 sccm で VOC フリーな空気をバブリングすることで、試料中の OVOC 濃度の変動を捉えることが可能となった。

沿岸表層における微生物活動と光化学反応によるアセトンの生成・分解速度の定量評価を行うため、モニタリング培養システムを用いた培養実験と人工光照射装置を用いた光照射実験を実施した。その結果、微生物活動による生産および分解速度はそれぞれ 3.8、8.7 nM/d であった。また光照射実験により、8.4 nM/d の速度でアセトンが光生成されることが示された。以上より、沿岸表層におけるアセトンの濃度分布を支配するプロセスとして、生成プロセスは太陽光照射による光化学反応、分解プロセスは海洋微生物による代謝であることが示唆された。

1. はじめに

地球表層の大気中には多種の揮発性有機化合物 (VOC: Volatile Organic Compounds) が微量ながらも存在し、気候システムやエネルギー収支に大きな影響を及ぼしている。その中でも酸素を含む VOC (OVOC: Oxygenated Volatile Organic Compounds) であるメタノールやアセトン、アセトアルデヒドは、メタンを除く VOC の約 40~60% を占める主要な成分である (Heald et al., 2008)。これらの OVOC は、大気中の光分解による HOX 生成を介して、対流圏オゾンやエアロゾル生成に寄与する。例えば、対流圏上部におけるオゾン生成の約 20% がアセトン由来だと見積もられている (Müller and Brasseur, 1999)。第 3 の温室効果ガスとして知られる対流圏オゾンは地球温暖化を促すことから (IPCC, 2013)、地球環境の将来予測の精緻化に向けて OVOC の濃度の時空間変動や放出源および吸収源の収支の理解が必要となっている。

OVOC は、主に陸上生態系を発生源とし、近年は人間活動による放出量が増加し続けている (IPCC, 2013)。そのため、OVOC の地球環境への影響は増大していくことが予想される。海洋は、OVOC の吸収源および放出源として大気中の OVOC 濃度分布に大きい影響を及ぼす。しかし、観測的知見が圧倒的に不足しているため、OVOC の放出・吸収量の収支の定量評価について、未だ議論中である (Marandino et al., 2005; Fischer et al., 2012)。海洋表面における OVOC 濃度は海域や季節によって不均一な分布を示すことが報告されていることから (Omori et al., unpublished)、海洋—大気間の OVOC 収支の正確な定量には、海洋表層の OVOC 濃度分布とその分布を支配する生成および分解プロセスを理解する必要がある。

海洋表層における OVOC の生成プロセスとして、植物プランクトンやバクテリアといった微生物による代謝活動 (Dixon et al., 2014) と太陽光照射による有機物の光化学反応が知られている (Zhou and Mopper, 1997)。一方、分解プロセスとしてはバクテリアによる分解が主要な要因といわれているが、各プロセスを定量的に評価した例は非常に乏しい (Dixon et al., 2013, 2014)。海洋における OVOC 研究が滞っている要因に、海水中の OVOC 濃度が低いこと (~ nM レベル)、室内大気中の OVOC 濃度が高く比較的水に溶けやすいために試料が汚染されやすいことが挙げられる。近年、低濃度の VOC を高感度かつ高時間分解能で測定可能な陽子移動反応質量分析計 (PTR-MS: Proton Transfer Reaction–Mass Spectrometry) が、広く使われている (Beale et al., 2015)。そこで本研究では、海洋表層における OVOC の濃度分布を支配する海洋生物化学プロセスの解明に向けて、OVOC 生成・分解速度を定量するための PTR-MS を用いた「モニタリング培養システム」を構築し、培養実験によって海洋表層における OVOC の生成・分解速度の定量評価を可能にすることを目的とした。

2. 方法

2.1. モニタリング培養システムの構築

本研究で構築したモニタリング培養システムの概要を図 1 に示す。ボトルに入れた試料を、VOC を含まないゼロエアでバブリングすることで、試料中に含まれる VOC をゼロエア中に気液平衡によって抽出し、抽出された VOC 濃度を PTR-MS (PTR-MS-500, Ionicon) で測定した。ゼロエアの流量は

マスフローコントローラー（HORIBA TEC）を用いて一定にし、テフロン製電磁弁を用いて各ボトルへのゼロエアの切り替えを行った。OVOC 濃度の検出限界を最適になるよう検討した結果、ゼロエアの流量 120 sccm、培養用ボトルサイズ 250-1000 mL、ボトルの切り替え時間 2 分、各 VOC の PTR-MS の検出時間 5 秒とした。

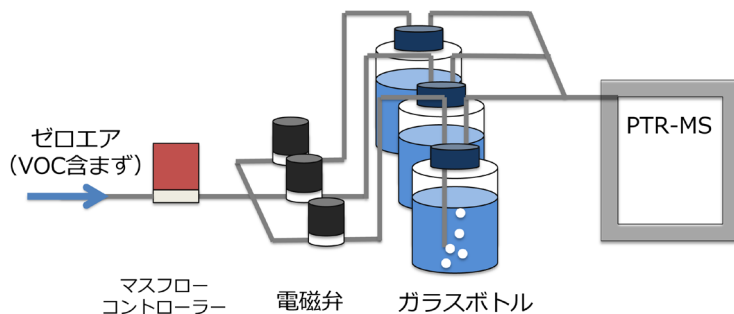


図1. モニタリング培養システムの概要

2.2. ハプト藻単離株を用いた培養実験

植物プランクトンによる OVOC 生成の有無を確認するため、海洋の主要な一次生産者として知られるハプト藻を用いた培養実験を実施した。ハプト藻単離株は、筑波大学下田臨海実験センターから提供された *Chrysochromulina* sp. を用いた。250 mL の密閉されたガラスボトル (n = 2) に入れた培養液 150 mL に、単離株を添加し、20 °C、12 時間明暗周期として 4 日間の培養を行った。培養期間中、明期終了時と暗期終了時に各ボトル 20 分間ずつゼロエアでバブリングし、培養液から抽出された VOC 濃度を PTR-MS で測定した。バブリング時に、各ボトルから 3 mL ずつ試料を採取し、フローサイトメーター (FACSCalibur、BD) を用いてハプト藻の細胞数の計測を行った。

2.3. 沿岸表層水を用いた培養実験

海洋表層における OVOC 濃度の増減を支配する要因を明らかにするため、室内培養実験による微生物による生産・分解速度の定量と、人工光照射装置を用いた光生成速度の定量を実施した。本実験では、最も精度良く測定可能なアセトンに着目した。

海水試料は、太平洋に面した静岡県下田市鍋田湾の沿岸から採取した表面水を用いた。室内培養実験は、250 mL ガラスボトルに海水試料を 150 mL 入れ、20 °C、12 時間明暗周期として 24 時間の培養を行った。純生産速度 (= 総生産速度 - 分解速度) を定量するため、自然海水のみを入れた系 (n = 2) と、分解速度を定量するために重水素でラベルされたアセトン (アセトン-d6) を自然海水に添加した系 (n = 2) の 2 系統の実験を同時に実施した。暗期培養開始時と明期培養中に 2 時間おきにゼロエアをバブリングし、各ボトル中のアセトン濃度およびアセトン-d6 濃度を PTR-MS で測定した。

人工光照射実験には、培養実験終了後の海水試料を用いた。試料中から微生物を除去するため、孔径 0.2 μm フィルターでろ過したろ液を回収し、紫外線を透過する 30 mL 石英バイアルに入れ密閉した。バイアルを人工光照射装置 (SUNTEST XLS+, ATLAS) に設置し、照射強度 710 W m⁻² 下で 0、1.5、3 時間の照射 (n = 3) を行った。人工照射装置による 24 時間の照射量は、日本の夏季における自然光 1 週間分の照射に相当することから、3 時間の照射によって約 1 日間の照射を行ったことになる。各照射時間のバイアル中のアセトン濃度を PTR-MS で測定した。

3. 結果と考察

3.1. ハプト藻によるVOC生成

ハプト藻は、全球スケールで広く分布する主要な海洋の一次生産者であることが知られている (Liu et al., 2009)。また、亜寒帯域や南極海において局所的なブルームを生じるため、海洋および大気間の物質循環の時空間変動に大きく影響を及ぼす種のひとつである。したがって、ハプト藻が直接生成するVOCの定性・定量評価およびその生成プロセスの解明は、海洋-大気間のVOC収支の本研究において必要不可欠である。

培養期間中に、ハプト藻は指数関数的に増加した (図2)。この間に試料中で増加を示したVOCは、硫化ジメチル (DMS: Dimethyl Sulfide)、メタンチオール、アセトン、アセトアルデヒドであった (図3)。DMSおよびメタンチオール濃度は、増殖期 (0-2日目)

はそれぞれ1.2-23、0.3-0.8 nMを示していたが、増殖期終期 (3-4日目) において140、9.7 nMまで急激に増加した (図3a)。これまでの研究において、DMSは植物プランクトンの増殖期よりも死滅期に急激に生成されることが知られている (Stefels et al., 2007)。本実験においても同様な現象を確認することができた。

OVOCの主成分であるアセトンおよびアセトアルデヒドは、培養期間中に増加を示したことから、ハプト藻の代謝活動によって生成されたと考えられる (図3b)。これまでに植物プランクトンからのOVOCの生成についての報告例はなく、本実験によって初めてハプト藻による直接的なOVOC生成を確認することができた。明期と暗期の両方で濃度増加が確認できたことから、OVOCは光合成時に

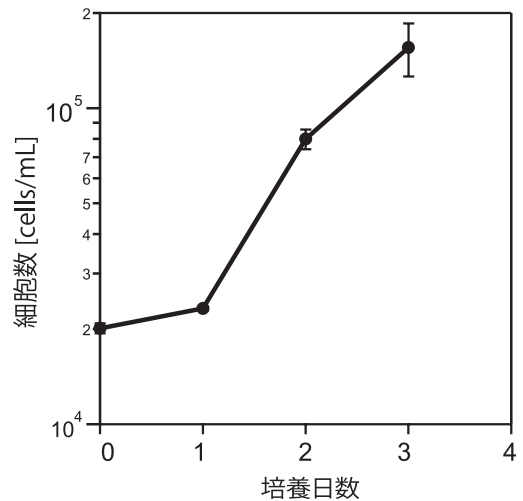


図2. ハプト藻の細胞数の変化

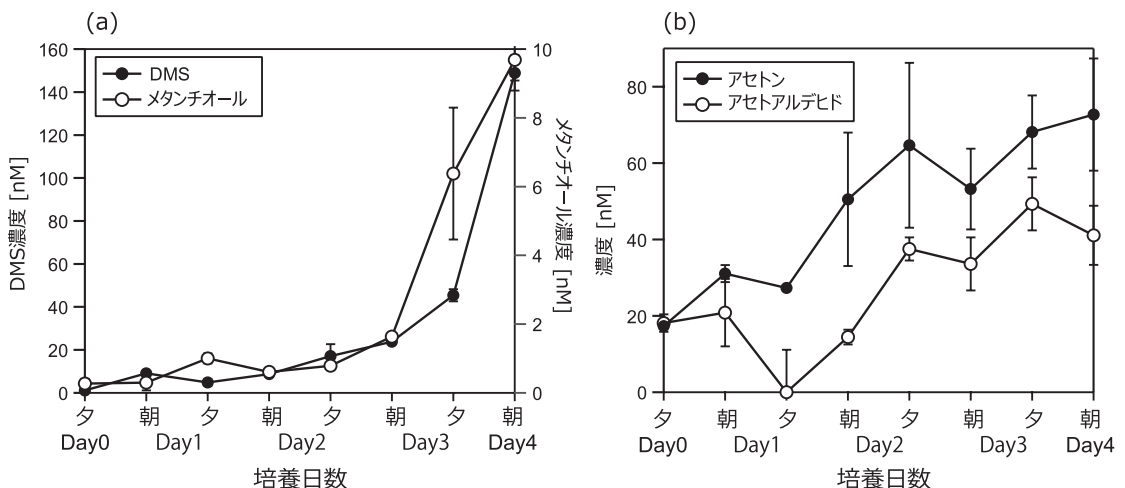


図3. ハプト藻の培養実験における (a) DMS、メタンチオールおよび (b) アセトン、アセトアルデヒドの濃度変化

生成されるのではなく、明暗期で行われる代謝活動によって生成されている可能性がある。今後、より短い時間間隔で濃度変化を測定することで、明暗期それぞれにおけるOVOC生産速度の差の有無を明らかにし、植物プランクトンによるOVOC生成メカニズムの解明を進めていきたい。

3.2. 沿岸表層水中におけるアセトン生産・分解速度の定量評価

植物プランクトンやバクテリアといった微生物を含む自然海水中のアセトン濃度の変化は、微生物活動による純生産速度（総生産速度と分解速度の差分）を示す。24時間の培養期間中、自然海水中的のアセトン濃度は減少し続けた（図4）。このことは、微生物分解が生産よりも卓越していたことを意味し、1日当たりの純生産速度は -4.9 nM/dであった。また、アセトンの分解速度を定量するためにアセトン-d6を添加した系において、アセトン-d6濃度は指数関数的に減少を示した（図4）。その近似曲線における反応速度定数から、試料中のアセトン分解速度は 8.7 nM/dと見積もられた。上記の純生産速度と分解速度の和から、アセトンの総生産速度は 3.8 nM/dと算出された。さらに、人工照射装置による光照射実験の結果、試料中のアセトン濃度は直線的に増加し、真夏1日間の太陽光照射による生成速度は 8.4 nM/dであった。

以上のように、本研究において構築したモニタリング培養システムによって、アセトンの微生物活動による生成・分解プロセスを定量的に評価することができた。沿岸表層水中のアセトンの微生物活動による生産、分解速度と光照射による光生成速度はそれぞれ 3.8 、 8.7 および 8.4 nM/dと見積もられた。したがって、沿岸表層におけるアセトンの主要な生成プロセスは太陽光照射による光生成であり、分解は主に微生物代謝によることが示唆された。大西洋およびイギリス沿岸域においても、同様な結果が示されている（Dixon et al., 2013, 2014）。本研究の手法はOVOC動態に関する各プロセスの定量評価に有効であり、今後様々な海域における主要なOVOCの生成・分解プロセスの解明につながると考えられる。

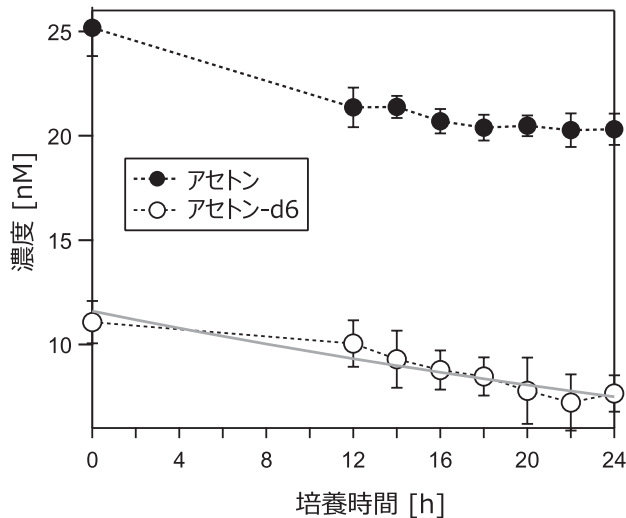


図4. 沿岸表面水を用いた培養実験におけるアセトンとアセトン-d6の濃度変化
灰色の線はアセトン-d6濃度変化の近似曲線を示す

4. まとめと今後の展望

海洋表層水中のOVOCの生成と分解過程を定量的に把握するための「モニタリング培養システム」を、構築および確立することができた。沿岸表層水を用いた室内培養実験により、光化学反応による生成、微生物による分解がアセトン濃度を支配する主要なプロセスであることを定量的に示すことができた。今後、アセトン以外のOVOCについても定量的な評価を進めていく予定である。また、季節ごとに屋外での培養実験を実施し、現場環境におけるOVOC生成分解速度の定量を行うことで、実海洋におけるOVOC濃度の季節変動を引き起こす要因の解明を目指す。

単離株を用いた培養実験によって、ハプト藻がDMS以外のアセトンやアセトアルデヒドといったOVOCを生成することが示された。今後、異なる種の植物プランクトン単離株を用いた培養実験を実施することで、種によるOVOC生成速度の比較やOVOC濃度分布に影響を及ぼす種の特長などが可能になる。さらに、溶存酸素やpH、栄養塩などの環境パラメーターを変化させた培養実験を組み立てることで、OVOC生成分解速度に影響を及ぼす環境要因の解明が可能となる。地球環境が大きく変化する今、海洋環境におけるOVOCの挙動、ならびに大気環境へのOVOCの影響評価の将来予測に貢献できると期待される。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、助成金を賜りました公益財団法人アサヒグループ学術振興財団に心から御礼を申し上げます。本研究において、多大なご協力いただきました谷本浩志室長（国立環境研究所地球環境研究センター）、濱健夫教授、和田茂樹助教（筑波大学生命環境系）に深く感謝致します。

参考文献

- Beale, R., J. L. Dixon, T. J. Smith, and P. D. Nightingale (2015), Annual study of oxygenated volatile organic compounds in UK shelf waters, *Mar. Chem.*, 171, 96–106.
- Dixon, J. L., R. Beale, and P. D. Nightingale (2013), Production of methanol, acetaldehyde, and acetone in the Atlantic Ocean, *Geophys. Res. Lett.*, 40, 4700–4705.
- Dixon, J. L., R. Beale, S. L. Sargeant, G. A. Tarran, and P. D. Nightingale (2014), Microbial acetone oxidation in coastal seawater, *Front. Microbiol.*, 5, 243.
- Fischer, E. V., D. J. Jacob, D. B. Millet, R. M. Yantosca, and J. Mao (2012), The role of the ocean in the global budget of acetone, *Geophys. Res. Lett.*, 39, L01807.
- Heald, C. L. et al. (2008), Total observed organic carbon (TOOC) in the atmosphere: a synthesis of North American observations, *Atmos. Chem. Phys.*, 8, 2007–2025.

- IPCC (2013), *Climate Change 2013: The physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Stocker, T. F. et al. (eds), Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA: 1535 pp.
- Liu, H., I. Probert, J. Uitz, H. Claustre, S. Aris-Brosou, M. Frada, F. Not, and C. Vargas (2009), Extreme diversity in noncalcifying haptophytes explains a major pigment paradox in open oceans, *PANS*, 106, 12803–12808.
- Marandino, C. A., W. J. De Bruyn, S. D. Miller, M. J. Prather, and E. S. Saltzman (2005), Oceanic uptake and the global atmospheric acetone budget, *Geophys. Res. Lett.*, 32, L15806.
- Müller, J. F., and G. Brasseur (1999), Sources of upper tropospheric HO_x: A three-dimensional study, *J. Geophys. Res.*, 104, 1705–1715.
- Stefels, J., M. Steinke, S. Turner, G. Malin, and S. Belviso (2007), Environmental constraints on the production and removal of the climatically active gas dimethylsulphide (DMS) and implications for ecosystem modelling, *Biogeochemistry*, 83, 245–275.
- Zhou, X., and K. Mopper (1997), Photochemical production of low molecular-weight carbonyl compounds in seawater and surface microlayer and their air–sea exchange, *Mar. Chem.*, 56, 201–213.