

〈特集〉

蛍光センサを用いた海洋溶存有機物の計測とその意義

山下 洋平

北海道大学 大学院地球環境科学研究院
(〒060-0810 北海道札幌市北区北10条西5丁目 E-mail: yamashiy@ees.hokudai.ac.jp)

概要

海洋は気候変動や炭素循環を制御し得る。従って、海洋環境の変化とそれに伴う炭素循環や生態系の変化を把握し、それらの将来変動を予測することが喫緊の課題である。海洋環境の変化を把握するためには、時空間的に密な観測が必要であり、水温や塩分の密な観測を可能とするプラットフォームも開発されている。このようなプラットフォームを用いた生物・化学パラメータを取得可能なセンサ計測技術の開発・改良も期待されている。本稿では、蛍光センサを用いた溶存有機物の計測の意義と現状、将来展望について紹介する。

キーワード：海洋、溶存有機物、蛍光、センサ観測
原稿受付 2024.2.29

EICA: 29(1) 6-10

1. はじめに

大気中のCO₂など温室効果ガス濃度の増加に伴い、地球は温暖化しており、それに伴う地球上のエネルギー増加量の90%以上は海洋に蓄積している。また、人為起源CO₂の1/4程度は海洋が吸収している。このように、海洋は地球表層の炭素循環や温暖化と深く関わっており、船舶をはじめとした様々なプラットフォームを用いた海洋観測が行われている。海水中の全無機炭素濃度など、海洋表面から深海までの海水試料を採取し、化学分析することで初めて分布が得られるパラメータもあれば、水温や塩分（電気伝導度）のようにセンサを用いて計測可能なパラメータもある。また、地球観測衛星を用いた外部からの海洋表層のモニタリングも行われている。刻々と変化する海洋の現状を理解し、その状況を診断するには、高精度・高確度な手法で時空間的に密な観測が必要不可欠であり、物理・化学・生物パラメータを取得可能な様々なセンサの開発・改良が進んでいる。本稿では、筆者が専門とする海水中に存在する非生物態有機物と炭素循環の関係、非生物態有機物である蛍光性溶存有機物のセンサ観測の現状と将来展望を述べたい。

2. 海洋の非生物態有機物

2.1 海水中の有機物の区分と炭素循環における役割

海水中の有機物は、プランクトンや魚類などの生物体有機物とそれらの死骸や排泄物により構成される非生物態有機物に区別される。全海洋における非生物態有機物の存在量(700×10¹⁵ gC)は、大気中CO₂の総

量や陸上植生の炭素量に匹敵し、地球表層で最大級の有機炭素貯蔵庫となる。また、その存在量は海洋生物の総量の200倍以上であり、海洋は生物よりも生命を持たない非生物態有機物が圧倒的に多い場と捉えることができる。

海水中の有機物は、サイズ分画（濾過）操作により区分および定義がなされ、孔径0.2-0.7 μmの濾紙に捕集されるものが粒子状有機物、濾紙を通過するものが溶存有機物と定義される。海洋における粒子状有機物の平均的な存在量は、溶存有機物の1/20程度である。海域や時期、水深によっては、粒子状有機物の多くが植物プランクトンなど生物によって構成されるが、通常は非生物態有機物が卓越する（非生物態：生物体=10:1）¹⁾。溶存有機物の一部には、海洋細菌やウイルスが含まれるが、その大部分は非生物態有機物である²⁾。これらのことから、海水中の非生物態有機物の95%以上は溶存有機物として存在することが分かる。

粒子状有機物と溶存有機物では、炭素循環や生態系における役割は異なる。粒子状有機物は自重で沈降する。密度やサイズの大きい粒子は速やかに沈降し、海洋表層で生産された有機物を光の届かない（光合成による有機物生産のない）深海へと効率的に輸送することで、深海生態系にとって重要なエネルギー・炭素を供給する。また、光合成による粒子状有機物の生成時には海洋表層水中のCO₂が消費され、消費された分のCO₂が大気から補われる。粒子状有機物は沈降中に従属栄養微生物によって分解されるが、一部は深層に到達し、深層水中で分解されCO₂が放出される。この深層水が海洋循環により海洋表面に達すると、CO₂の一部は大気へと放出される。しかし、深層水が

海洋表面に達するまでには～1000年の時間を要し、それまではCO₂が海洋内部に隔離される。このような粒子状有機物による大気CO₂の海洋内部への隔離過程は、生物ポンプと称される。

溶存有機物は、海洋の浅海から深海まで普遍的に存在し、炭素貯蔵庫の役割を有する。溶存有機物の放射性炭素年代は2000～6000年であることから、その大部分は従属栄養微生物に分解され難い難分解な成分であると考えられている。しかし、溶存有機物の起源、生成機構、維持機構はよく理解されておらず、巨大な溶存有機物の炭素貯蔵庫は定常状態にあるのか、もしくは非定常状態にあるのかは全く分かっていない³⁾。

2.2 蛍光を発する溶存有機物

溶存有機物の一部は紫外・可視領域の光を吸収する性質を有し、それらは有色溶存有機物 (Chromophoric Dissolved Organic Matter; CDOM) と称される。CDOMの一部は蛍光特性を示し、その画分は蛍光性溶存有機物 (Fluorescent Dissolved Organic Matter; FDOM) と称される。FDOMのスペクトルは、複数の化合物が混合した結果であるが、励起および蛍光波長の特徴から、タンパク質様蛍光と腐植様蛍光に大別される (Fig. 1)。タンパク質様蛍光はタンパク質 (芳香族アミノ酸)、腐植様蛍光は土壤腐植物質のスペクトルと、それぞれ類似していることから定義された⁴⁾。しかし、アミノ酸以外のタンパク質様蛍光の波長域に蛍光を有する芳香族化合物が溶存有機物中に存在すること、腐植様蛍光の波長域に蛍光を有する溶存有機物が海洋微生物により生成されることが明らかとなり、近年では蛍光波長を示す名称 (タンパク質様蛍光と腐植様蛍光は、それぞれUVA 蛍光および可視光蛍光) を用いることが推奨されている⁵⁾。

陸域で主要な芳香族化合物であるリグニンやタンニンを生成する生物が不在の海洋では、UVA 蛍光の蛍光強度と結合型チロシンとトリプトファン濃度の間に線形関係があることが分かり、UVA 蛍光は溶存有機

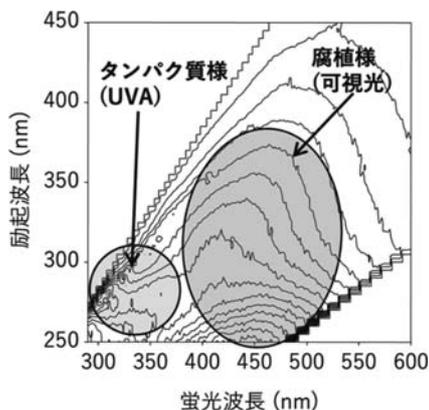


Fig. 1 Typical excitation-emission matrix (EEM) fluorescence of marine FDOM.

物の中でも従属栄養微生物に利用され易い芳香族アミノ酸を含むペプチドの指標となることが知られている⁶⁾。なお、ペプチドなどの易分解性成分は、微生物が主役の食物連鎖である微生物ループを駆動するため、低次生態系において重要な役割を有する。

可視光蛍光の起源は、沿岸域と外洋域で大きく異なる。沿岸域における可視光蛍光の主な起源は、河川由来の腐植物質 (土壤腐植物質の中で可溶化成分が河川に流出したもの) である。河川においては、可視光蛍光 (腐植物質) の蛍光強度と溶存有機炭素濃度との間に正の直線関係があることが多く、可視光蛍光は河川から沿岸域に供給される溶存有機炭素フラックスの見積もりに使用できる。また沿岸域では、塩分と可視光蛍光の蛍光強度の間には負の直線関係が、しばしば観測される。この塩分との負の関係は、河川由来の腐植物質は、淡水と海水の混合時に、分解・除去および生成・供給されずに保守的に挙動していることを示す。このことは、塩分と可視光蛍光を同時に観測することで、塩分では区別することのできない、腐植物質濃度の異なる河川水 (淡水) の寄与を定量的に区別可能なことを示す。この同時観測は、特に、腐植物質濃度の極めて低い淡水である海水融解水が分布する春季の北極海やオホーツク海において、河川水と海水融解水を区別する際に有効である⁷⁾。河川由来の他に、浅海堆積物由来の可視光蛍光物質の海水中への供給も観測されている⁸⁾。海水中への堆積物由来物質の寄与を水温や塩分の基本的な海洋パラメータから求めることは難しく、浅海堆積物由来の可視光蛍光物質の観測は、堆積物由来栄養塩の追跡を可能とすることが期待されている。

外洋域における可視光蛍光の鉛直分布は、表層混合層内で低く、水温躍層では水深の増加に伴い増加し、

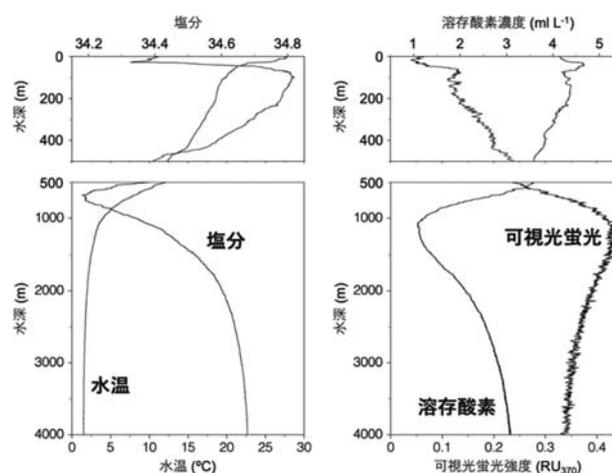


Fig. 2 Vertical profiles of salinity, temperature, dissolved oxygen (DO) concentration, and fluorescence intensity of visible fluorescent dissolved organic matter (visible FDOM) determined by *in situ* sensors in the subtropical North Pacific.

水温躍層以深では一定もしくは水深の増加に伴い緩やかに減少するのが一般的である (Fig. 2)。この可視光蛍光の鉛直分布は、溶存酸素濃度と反対の分布型であり、栄養塩濃度と同様な分布型である。表層混合層における各成分の濃度を制御する要因は異なり、低い可視光蛍光は太陽光による可視光蛍光物質の光分解の結果、低い栄養塩濃度は植物プランクトンによる光合成、高い溶存酸素濃度は大気とのガス交換と光合成の結果である。一方、光の届かない深海においては、表層から沈降してきた粒子状有機物の従属栄養微生物による分解に伴い、溶存酸素が消費、栄養塩が再無機化された結果、それぞれの濃度が低く、高くなる。可視光蛍光は栄養塩型の鉛直分布を示すことから、従属栄養微生物が粒子状有機物を分解する過程で生成されると考えられており、その生成過程は微生物培養実験により確認されている。また深海においては、深層循環が進むにつれ、可視光蛍光物質の蛍光強度が増加し、その蛍光強度は見かけの酸素消費量 (飽和濃度から実測濃度を差し引くことで求め、微生物による酸素消費量に相当する) と正の直線関係にあることが分かっている⁹⁾。深海において、従属栄養微生物により生成された可視光蛍光物質が、従属栄養微生物により分解されるのであれば酸素を消費する。すなわち、深海で観測された可視光蛍光と見かけの酸素消費量との間の直線関係は、可視光蛍光物質が生物分解に対して非分解性であることを示す⁹⁾。海洋微生物が難分解な有機物を生成する過程は、CO₂を難分解性有機物として隔離することに相当するため、微生物炭素ポンプと称されている。微生物炭素ポンプの詳細な機構や速度はよく理解されていないが、可視光蛍光物質は微生物炭素ポンプの鍵生成物であることは間違いない。

3. センサを用いた蛍光性溶存有機物の計測

3.1 蛍光センサを用いた観測

前章で述べたように、FDOM を観測することで、海洋の生態系や炭素循環に関する

- ・微生物ループを駆動する易分解性成分の挙動
- ・河川由来の溶存有機炭素フラックス
- ・淡水および堆積物の影響を受けた水塊の分布
- ・CO₂隔離機構である微生物炭素ポンプ

の解析や推定が可能となるため、蛍光センサを用いた時空間的に高解像度な FDOM の計測が望まれる。

ハンディタイプや水中に沈下、設置させるタイプの FDOM センサが市販されており、様々なプラットフォームでの観測に用いることが出来る。また、UVA 蛍光、可視光蛍光のそれぞれの波長域を対象としたセンサが市販されており (ただし、可視光蛍光の波長域を対象としたセンサが主流である)、目的に応

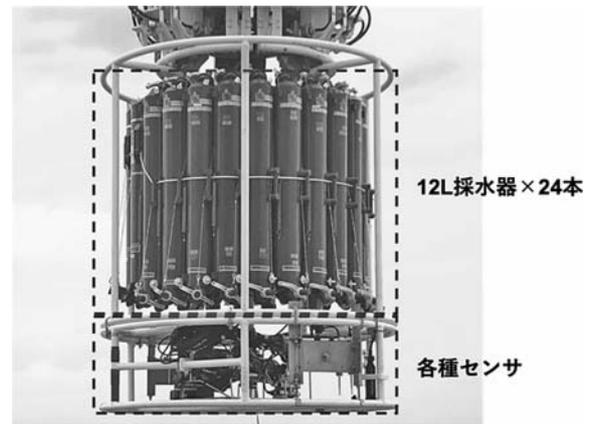


Fig. 3 CTD-Carousel water sampler system.

じた観測が可能である。

最も一般的な海洋観測は、船舶を用いた観測である。船舶観測では、船底から連続的に海水が船内に供給されており、その表層海水 (~7 m 程度) のモニタリングを様々なセンサを用いて行うことができる。また船舶観測では、センサ等に電源を供給し、データ等の通信を可能とするアーマードケーブルに繋いだ CTD (Conductivity-Temperature-Depth) センサを海中に沈下させ、水深に対する塩分と水温の連続計測を行うが、CTD センサにクロロフィル蛍光センサ、溶存酸素センサ、FDOM センサ等を接続した観測を行うことも可能である (Fig. 2)。なお、CTD センサは 12-36 本の採水器を搭載したシステムに組込まれるのが一般的であり、センサ観測と同時に、センサ校正用の試料など、様々な用途に使われる海水を目的水深から採取することが可能である (Fig. 3)。

特定の海域の特定的水深に各種センサを設置し、水温、塩分、水質、流速などを連続的にモニタリングする係留観測に FDOM センサを用いることも出来る。河口に設置された FDOM センサを用いて河川から供給される FDOM フラックスの季節および経年変化を観測した例もある¹⁰⁾。係留観測の場合、太陽光パネルを用いて電源を確保する手段もあるが、多くの場合は電池を用いるため、FDOM センサを電源供給可能なデータロガーに接続して観測を行う。

水温や塩分を密に観測し海洋内部の情報を収集する国際プロジェクトであるアルゴ計画においても、一部ではあるが、FDOM センサを用いた観測がある。アルゴ計画では、海流に乗って漂流し、表層から水深 2,000 m を上下するアルゴフロート (自動海洋観測機器) を用いて水温と塩分を観測し、現在では 3,500 台のフロートが稼働している。バイオアルゴと呼ばれる一部のフロートには、クロロフィル蛍光、溶存酸素濃度、後方散乱光、硝酸塩濃度など生物・化学パラメータを観測可能なセンサ類が搭載されており、FDOM センサが搭載されたフロートを用いた観測もある¹¹⁾。

また、自走能力を有する自動海洋観測機器である水中グライダーにも FDOM センサを搭載可能である¹²⁾。

3.2 センサを用いた FDOM 計測における注意点

前述したように、様々な観測プラットフォームにおいて蛍光センサにより FDOM の時空間変動を観測することが出来るが、出力される結果にはいくつかの注意が必要である¹³⁾。

本稿では、FDOM の計測とその意義について述べてきたが、センサを用いた観測では、基本的には濾紙を通過させない天然水を対象とする。従って、粒子が多い環境においては計測値に影響が生じる。外洋域においては、粒子数がそれほど多くないので、センサで計測する可視光蛍光は FDOM に由来すると考えて良い¹⁴⁾。ただし、粒子数の多い環境においては、粒子から可視光蛍光が発せられる可能性があり、さらに粒子が光を遮るため FDOM に由来する蛍光強度が過小評価となる点にも注意が必要である。UVA 蛍光に関しては、生物体内のタンパク質にも由来するため⁶⁾、微生物が多い環境では注意を要する。CDOM 濃度が高い環境では、CDOM が励起光および蛍光を吸収する(内部遮蔽効果)ため、FDOM に由来する蛍光強度が過小評価となる。

有機物に由来する蛍光強度には温度依存性があり、FDOM に関しても例外ではない。また、センサ自体にも水温依存性がある可能性があるため、観測前にセンサ+FDOM の温度補正関数を作成するのが望ましい。深海までセンサを沈下させる場合は、圧力ヒステリシスの影響を考慮する必要があることが指摘されている¹⁵⁾。また、長期間の係留を行う際には、バイオフィルムの影響や、出力値のドリフトを考慮しなければならない。

FDOM センサの出力値は硫酸キニーネ単位 (QSU) へ変換できるようにキャリブレーションされている場合が多い。ただし、FDOM センサの安定性を評価した例は少ないため、現時点では、FDOM センサによる観測と同時に海水試料を採取し、卓上型蛍光光度計を用いて海水試料の FDOM を分析し、観測毎に FDOM センサをキャリブレーションすることが望ましいと思われる。

4. おわりに

本稿では、海洋の炭素循環や生態系における非生物態有機物である溶存有機物の役割について概説し、その役割を評価する上で、蛍光センサを用いた FDOM 計測が有用であることを述べた。3.2 で述べたように、センサ計測から得られる結果を解釈する際には、十分な注意が必要な場合もある。従って、センサ計測を行

う際は、計測する環境を十分に理解し、必要に応じて出力値の補正を行うことが望ましい。また、FDOM の定量値は蛍光強度であり、炭素濃度ではないため、炭素循環や生態系における FDOM の役割を定量的に表現することが困難である。今後は、特定の環境に限定的であっても構わないので、FDOM の蛍光強度と炭素濃度の経験的な換算式を作成することが望まれる。この換算式が出来ると、センサを用いた FDOM 計測の意義が格段に大きくなるであろう。

参考文献

- 1) J. K. Volkman and E. Tanoue: Chemical and biological studies of particulate organic matter in the ocean, *Journal of Oceanography*, Vol. 58, pp. 265–279 (2002)
- 2) H. Ogawa and E. Tanoue: Dissolved organic matter in oceanic waters, *Journal of Oceanography*, Vol. 59, pp. 129–147 (2003)
- 3) 山下洋平: 暗黒な海に存在する溶存有機物, *日本地球惑星科学連合ニュースレター*, Vol. 20, No. 1, pp. 18–19 (2024)
- 4) P. G. Coble: Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy, *Marine Chemistry*, Vol. 51, pp. 325–346 (1996)
- 5) C. A. Stedmon and Y. Yamashita: Tracing DOM in the Ocean with UV-Visible Spectroscopy, in D. A. Hansell and C. A. Hansell (eds) *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*, 3rd edition (in press)
- 6) Y. Yamashita and E. Tanoue: Chemical characterization of protein-like fluorophores in DOM in relation to aromatic amino acids, *Marine Chemistry*, Vol. 582 pp. 255–271 (2003)
- 7) Y. Mizuno, J. Nishioka, T. Tanaka, Y. Tada, K. Suzuki, Y. Tsuzuki, A. Sugimoto and Y. Yamashita: Determination of the freshwater origin of Coastal Oyashio Water using humic-like fluorescence in dissolved organic matter, *Journal of Oceanography*, Vol. 74, pp. 509–521 (2018)
- 8) Y. Yamashita, Y. Yagi, H. Ueno, A. Ooki and T. Hirawake: Characterization of the water masses in the shelf region of the Bering and Chukchi Seas with fluorescent organic matter, *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 124, 7545–7556 (2019)
- 9) Y. Yamashita and E. Tanoue: Production of bio-refractory fluorescent dissolved organic matter in the ocean interior, *Nature Geoscience*, 1, 579–582 (2008)
- 10) L. Qu, Y. Wu, Y. Li, A. Stubbins, R. A. Dahlgren, N. Chen and W. Guo: El Niño-driven dry season flushing enhances dissolved organic matter export from a subtropical watershed, *Geophysical Research Letters*, 47, e2020GL089877 (2020)
- 11) X. Xing, H. Claustre, H. Wang, A. Poteau and F. D'Ortenzio: Seasonal dynamics in colored dissolved organic matter in the Mediterranean Sea: Patterns and drivers, *Deep-Sea Research I*, Vol. 183, pp. 93–101 (2014)
- 12) A. N. Loginova, S. Thomsen and A. Engel: Chromophoric and fluorescent dissolved organic matter in and above the oxygen minimum zone off Peru, *Journal of Geophysical Research: Oceans*, Vol. 121, pp. 7973–7990 (2016)
- 13) R. N. Conmy, C. E. Del Castillo, B. D. Downing and R. F. Chen: Experimental design and quality assurance: In situ fluorescence instrumentation, in P. G. Coble, J. Lead, A. Baker, D. M. Reynolds and R. G. M. Spencer (eds) *Aquatic organic matter*

- fluorescence, pp. 190–230 (2014)
- 14) Y. Yamashita, T. Tosaka, R. Bamba, R. Kamezaki, S. Goto, J. Nishioka, I. Yasuda, T. Hirawake, J. Oida, H. Obata and H. Ogawa: Widespread distribution of allochthonous fluorescent dissolved organic matter in the intermediate water of the North Pacific, *Progress in Oceanography*, Vol. 191, 102510 (2021)
- 15) M. Shigemitsu, H. Uchida, T. Yokokawa, K. Arulanathan and A. Murata: Determining the distribution of fluorescent organic matter in the Indian Ocean using in situ fluorometry, *Frontiers in Microbiology*, Vol. 11, 589262 (2020)