

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：82706

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26281018

研究課題名(和文) オンライン蛍光法とオフライン確定診断の複合による大気バイオエアロゾルの高度計測

研究課題名(英文) Improved detection of atmospheric bioaerosols by integrating online fluorescence method with offline measurements based on DNA staining

研究代表者

金谷 有剛 (KANAYA, Yugo)

国立研究開発法人海洋研究開発機構・地球表層物質循環研究分野・分野長代理

研究者番号：60344305

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：地球大気中のPM2.5エアロゾルでは、通常、有機物が2～5割の重量を占めるが、その大部分の起源は未知である。未把握部分の一群として注目されている生物起源一次粒子(バイオエアロゾル)について、オンライン蛍光法をオフライン分析法と比較検証し、他成分の干渉を受けない識別法を確立した。具体的には長崎県福江島、および海洋地球研究船「みらい」3航海において比較計測を実施し、判定条件を陸起源、海洋起源気団別に最適化した。森林火災由来のバイオエアロゾルが海域にも高濃度で輸送されること、大気中の細菌数濃度の変動は海水中の菌数に加え、風速の大小やSSTが重要な因子となることを見出した。

研究成果の概要(英文)：Organic particles consist 20-50% of PM2.5 aerosol mass concentrations in the Earth's atmosphere. However, their origins are mostly not well identified. In this study, criteria to identify bioaerosols, a possibly important class of unidentified organics, were established for an online sensor detecting autofluorescence (WIBS4), by comparison to a more reliable, offline measurement with DNA staining. Specifically, comparison measurements at Fukue Island, western Japan, and those during three research cruises on R/V Mirai were conducted and the results were comprehensively analyzed. Optimization of the criteria was made separately for terrestrial and marine origin air masses. We also found that bioaerosols from Siberian forest fires even reached open ocean on the Bering Sea, and also that marine atmospheric bioaerosol concentrations could depend on wind speed and SST, in addition to their corresponding concentrations in the surface seawater.

研究分野：大気化学

キーワード：大気現象 生物起源有機エアロゾル PM2.5 蛍光法 DNA

1. 研究開始当初の背景

大気中には自然起源・人為起源の両方のエアロゾル粒子が存在し、直接(日傘)効果・間接効果(雲生成)を通じて気候システムへ影響する。エアロゾル粒子の主要成分には、硫酸塩・硝酸塩や黒色炭素等が挙げられるが、有機物も通常 2~5 割の重量を占める。全有機物の質量濃度のうち、分子同定される割合は通常わずか 10%程度であり、モデルシミュレーションで包括的に二次的な生成物を扱っても 20%程度の濃度しか再現せず、発生源の理解は極めて乏しい。未把握部分の一群として生物起源一次粒子(生死を問わず、バクテリア・真菌胞子・花粉やそれらの分解生成物の総称。以下バイオエアロゾルと呼ぶ)が大きな寄与を持つ可能性が示唆されてきた。バイオエアロゾルの計測では、自家蛍光性に基づくオンライン型測定例が報告されてきたが、他成分(人為起源の PAH など)の干渉の可能性があり、十分な確度が担保されてこなかった。そのため、有機物に占める割合の理解や、環境中での変動要因の解析が阻まれ、気候・環境へ与える影響の解明が進んでこなかった。

2. 研究の目的

本研究では、大気中の有機エアロゾルに含まれるバイオエアロゾルに関し、計測を確実化することを目的とした。具体的には、従来用いてきた自家蛍光法に基づくバイオエアロゾルのオンライン測定基準を、DNA 保有性に基づくオフライン型染色蛍光法による「確定診断」で比較評価することにより、バイオエアロゾル計測の必要十分条件を明らかにし、改良された、確実な計測方法論を確立した。異なる環境での応答を把握するため、離島および海域において比較を実施した。野外実大気中のバイオエアロゾル計測結果に関して、その時間変動に関する解析を行い、濃度変動の要因を探ることを目的とした。

3. 研究の方法

オンライン型での自家蛍光計測には、WIBS4(Wideband Integrated Bioaerosol Sensor 4)を用いた。蛍光性物質と特性の関連性については、レーザー誘起蛍光法装置(Taketani et al., JAS., 2013)から得られた知見を活用し、必要となったレーザーを含む機器類を整備した。本装置では蛍光計測チャンバーへ導入された大気中の粒子(0.6 μ m 以上)が、まず赤色連続レーザー光の散乱により単一粒子として識別される。この散乱光をトリガーとして、波長 280nm, 370nm でのパルス励起光が時間

Band	FL1	FL2	FL3	FL12	FL23	FL13	FL123	nonFL
1	○			○		○	○	
2		○		○	○		○	
3			○		○	○	○	

表 1. WIBS4 で分類される粒子種。

別に粒子に照射され、粒子から得られる 310-400nm, 420-650nm の波長域毎の蛍光が計測される。励起光との組み合わせに基づき、3 バンドでの蛍光信号(バンド 1: 280nm 励起、310-400nm 蛍光、2: 280nm 励起 420-650nm 蛍光、3: 370nm 励起 420-650nm 蛍光)が記録された。3 つのバンドの組み合わせで蛍光性粒子を 7 種に分類できる。(命名は表 1 のとおり。)

独立の実時間型の微生物計測法として、加熱蛍光増大法に基づく菌類からの自家蛍光計測機能を備えた微生物センサ (BM-300C、SHARP) を利用した。加熱蛍光増大法とは、加熱に伴う還元糖(グルコースなど)とアミノ化合物(アミノ酸・タンパク質など)の糖化反応(アミノカルボニル反応もしくはメイラード反応)を利用して、生成された褐色の重合化合物であるメラノイジンの自家蛍光を検出する手法である。実際の菌数を計数するわけではなく、相対的な値付けとなる。

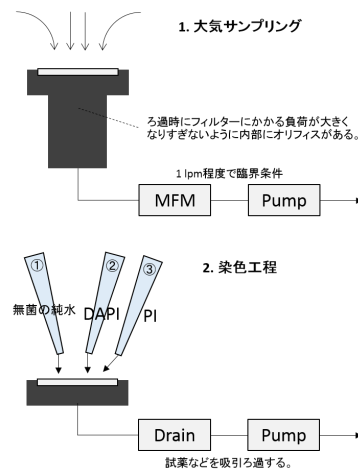


図 1. サンプリングから分析前処理の流れ。

一方、オフライン型の染色蛍光計測は、Bioplorer(Koyo)を用いて行った。メンブレンフィルター上に試料を捕集し、DAPI(4', 6-ジアミジノ-2-フェニルインドール)による染色を行う。紫外光(~375 nm)の照射に対して、蛍光を発する。核酸と結合することで染色する。専用の金をコートしたポリカーボネート製のフィルター上にエアロゾルを捕集し、染色を実施する。図 1 に簡単にその模式図を示す。陸上および海上におけるサンプリングともに、雨よけは用いるが、大気をそのままフィルターでろ過した。非バイオエアロゾル粒子も捕集されてしまう懸念がある。分析の前処理として、染色の前段階に、無菌の純水(例えば、Milli-Q 水)で事前にリンスする。1 ml 分の純水をろ過する。水溶性のある無機塩やポア径よりも小さい粒子は洗い流される。そのうえで、DAPI を含む染色液を添加し、染色時間として約 2 分間静置してろ過する。その後、別種の試薬を含んだ染色液を添加し、吸引ろ過する。最後に試薬の残存を最小限に抑えるために 0.1 ml 程度の純水を添加し、吸引ろ過する。染色済みの試料が載った専用の

フィルターをバイプロローラーにセットして、分析を行う。表層海水のサンプリングを行った研究航海においては、海水に関してもバイプロローラーによる菌数計数を実施した。(南太洋及び南太平洋域) この場合、海水中の大型の懸濁物 (> 10 μ m) を除去するために、プレフィルター(スクリーンメッシュ)を用いてろ過したのちに、1 ml を専用のフィルターに添加・ろ過したのちに、同じ染色工程を施した。基本的に、大気中の浮遊細菌と海水中の懸濁細菌に対して、整合性のある分析を実施したとみなせる。

4. 研究成果

オンライン法とオフライン法を併用した観測を、長崎県福江島(2015年春季)、ベーリング海(「みらい」MR16-06航海, 2016年9月)、インド洋東部(同MR15-05航海, 2015年12月)、および南大洋(同MR-16-09航海, 2017年2月)に実施した。観測で得られた蛍光性粒子タイプ・濃度の特徴や両方法での相関、蛍光性粒子の起源に関する解析について成果を記す。

(1) 陸域起源

福江島

中緯度の大陸を起源とするバイオエアロゾルの観測例として、長崎県福江島における観測結果を示す。(図2) 期間中には数回の越境汚染事例が観測された。その期間においては、ブラックカーボン(BC)や酸化炭素(CO)といった陸域起源のトレーサーとなる物質の濃度上昇が観測され、同時期に蛍光性粒子及び細菌の個数濃度も増加していた。一部の期間を除き、FL123タイプの蛍光性粒子と細菌は絶対値も変動もよく類似していた。また、個数濃度の加熱蛍光増大法の信号強度もFL123タイプの蛍光性粒子と類似した時間

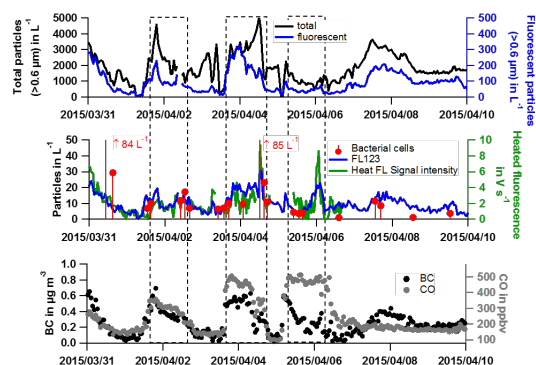


図2. 長崎県福江島における大気観測で得られた観測地の時間変動。(上) WIBS4により観測された全粒子(黒)および蛍光性粒子(青)の個数濃度の時間変動。(中) WIBS4により計測されたFL123(青実線)および細菌(赤丸)の個数濃度と加熱増大の光有機蛍光の信号強度の時間変動。(下) BC(黒丸)とCO(灰丸)の濃度の時間変動。破線の領域はおもに中国から気塊が飛来した時間帯。

変動を示していた。このような独立した手法の相互比較から、手法の整合性が確認された。これまで、黄砂などがバイオエアロゾルのキャリアーになる可能性などが Iwasaka et al. (AQAH., 2009) により示唆されてきたが、本研究の結果からは、必ずしも黄砂だけでなく、汚染空気塊とともにバイオエアロゾルが越境輸送されうることを示した。

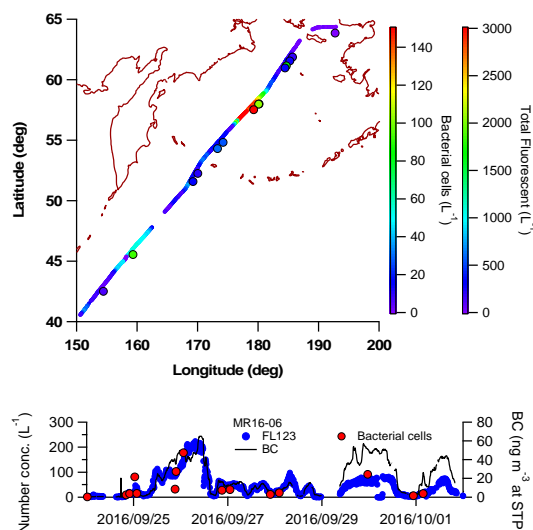


図3. (上) MR16-06 航海中の2016年9月24日-2016年10月2日における航路上の蛍光性粒子、細菌の数濃度(表示のため、意図的に航路から少しずらしている。以下同じ)(下) 同期間の蛍光性粒子および細菌数濃度とBC質量濃度の時間変動。

ベーリング海

日本-北極海を航行する研究航海(MR16-06)における結果であるが、陸域に近接しており、実質的に陸域起源の影響が強い海域であった。中高緯度における陸域起源に焦点を絞ってデータ解析を実施した。2016年9月25日-10月2日まで、研究船みらいでは高濃度のブラックカーボン濃度が観測され、東シベリアの森林火災の長距離輸送の影響が示唆された。この期間において、蛍光性粒子と細菌の粒子数の濃度の上昇が観測された。(図3) WIBS4の粒子タイプ別の蛍光性粒子と細菌の濃度変動の比較を行ったところ、FL123タイプの粒子がもっとも相関性と濃度レベルの一致度が高い。(図3) Rajput et al. (Environ. Pollut., 2017)は、インド・ヒンドゥスタン平野における通年の大気サンプリングを行い、バイオエアロゾル(グラム陽性/陰性細菌)濃度が、バイオマス燃焼が活発になる冬季に上昇することを示し、起源を共有している可能性を示唆した。本研究の結果もこれを支持するものとなっており、世界的に見て、まだ未解明な部分も多いバイオエアロゾルの起源に関する新しい知見である。

(2) 海洋起源

インド洋東部

MR15-05 航海は、インドネシア・ジャカルタを出港し、オーストラリア西岸沖までインド洋東部を航行し、再び北上して同バリに入港した研究航海である。(図 4) 観測期間はジャカルタからオーストラリア西岸沖までと、そこからバリまでに大きく区分できる。前者では、インド洋から、後者では、オーストラリア北部ないしは海大陸からの風が卓越していた。衛星から導出された 2015 年 12 月—2016 年 1 月の平均クロロフィル濃度の分布から、インド洋東部では必ずしも高濃度ではない ($<0.1 \text{ mg m}^{-3}$) ことが分かるが、海洋性大気を観測時に細菌および蛍光性粒子の濃度上昇が認められた。また、バリ近傍でも濃度変化を示しており、陸域起源のバイオエアロゾルを観測した可能性を示唆している。バイオプロローラーのための大気サンプリングがそれほど高頻度を実施できなかったため、情報が限られるが、バリ島付近のデータを除けば、蛍光性粒子と細菌の個数濃度は正相関していることがわかった。(図 4)

南大洋/南太平洋-海洋起源

MR16-09 航海はチリ・プンタアレナスを出港し、南緯 67 度付近まで南下し、そこから北上/西進してニュージーランド・オークランドに入港した研究航海である。(図 5) 観測期間の一部を除き、海洋性の空気塊が観測さ

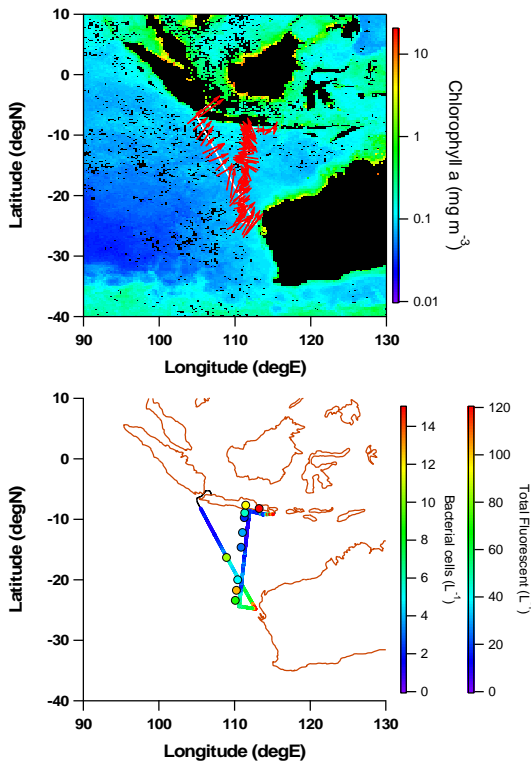


図 4. MR15-05 (Leg1)の航路。(上) 2015 年 12 月-2016 年 1 月の表層海水クロロフィルの平均濃度と航路上の海表面付近の風系、(下) 航路上の蛍光性粒子及び細菌数濃度。

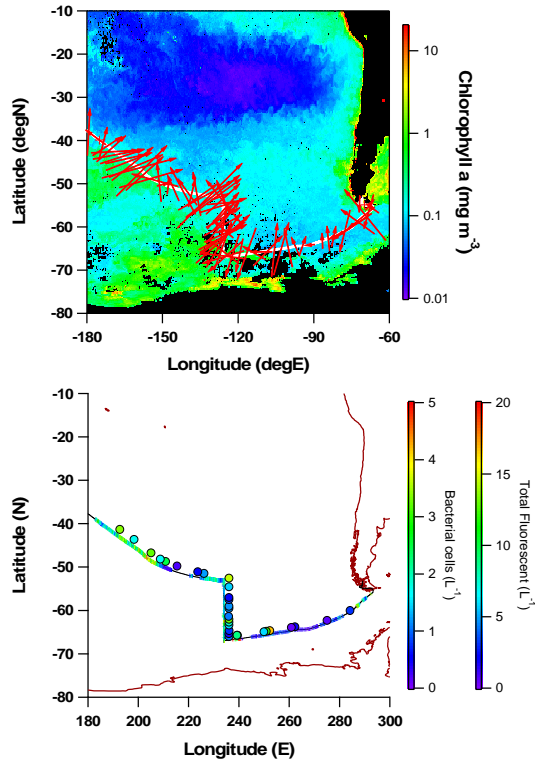


図 5. MR16-09 (Leg3)の航路。(上) 2017 年 2 月の表層海水クロロフィルの平均濃度と航路上の海表面付近の風系、(下) 航路上の蛍光性粒子および細菌数濃度。

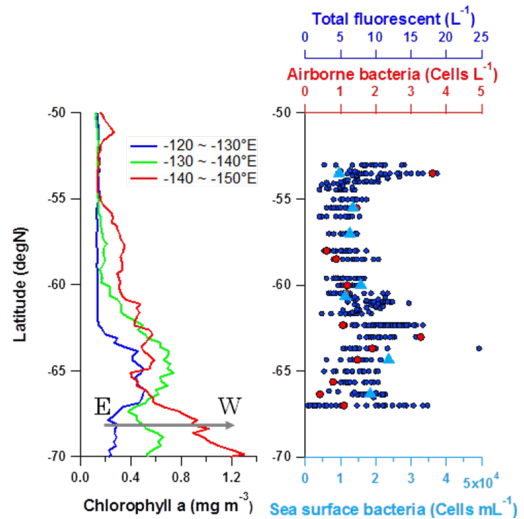


図 6. MR16-09 (Leg3) の西経 126 度・南緯 67-53 度の測線上の観測結果。(左) 2017 年 2 月の表層海水クロロフィルの濃度の指定経度帯における緯度分布 (青 西経 120-130 度; 緑 西経 130-140 度; 赤 西経 140-150 度)、(右) 大気蛍光性粒子の数濃度 (青) および大気 (赤)・表層海水中 (水色) の細菌数濃度の緯度分布。

れた。風速が非常に速いことが他の観測域と比べて明確である。この陸域影響は南極大陸とニュージーランドに由来する。このデータを除くと、蛍光性粒子と細菌濃度は良く相関している。(図 5) 2017 年 2 月の平均クロロフ

イル濃度から、観測期間のうち、南緯 67 度の最南端に達してから観測終了間際までは、クロロフィル濃度が高い海域 ($>1 \text{ mg m}^{-3}$) を通過している気塊を観測している。陸域影響を受けたデータを除くと、細菌及び蛍光性粒子の濃度は変動し、風速の強弱が関係していた。海洋の波しぶきが駆動源となったバイオエアロゾル放出を示唆している。

観測期間中は、表層海水のサンプリングを、西経 126 度・南緯 67-53 度の測線上において実施し、海水中の細菌数の計数も実施した。図 6 には、測線上での大気中の蛍光性粒子および大気・海水中細菌濃度、風速の緯度分布を示した。また各経度帯における月平均クロロフィル濃度の緯度分布も合わせて示した。測線上では、海水中の細菌数濃度はゆるやかな南北差があり、同経度帯のクロロフィル濃度でも同様である。測線よりも西側（風上側）では北側まで高濃度帯が張り出している。一方で、大気中の細菌数濃度の変動は海水中の菌数だけでは決まらず、風速の大小が大きく寄与していることが分かる。

海洋起源の蛍光性粒子と細菌の関係

海洋起源の蛍光性粒子においては、その内訳として、FL3 が細菌の個数濃度に対して、相関性と絶対値の一致度がもっとも良かった。(図 7) このことを利用し、特に海洋起源の顕著な影響の見られた南大洋/南太平洋で得られた WIBS4 のデータを用いて、風速との関係性を再考した。(細菌数濃度の観測値は少ないため) 図 8 に粒子総個数濃度および FL3 の個数濃度と風速の関係を示した。海表面温度 (SST) との対応性が見えてきた。低温

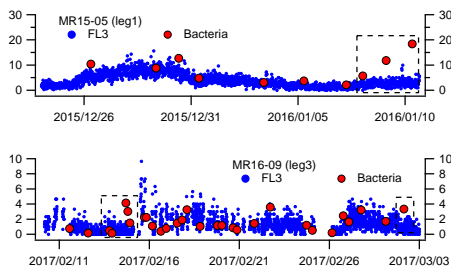


図 7. FL3 粒子 (青) の数濃度と細菌の濃度 (赤) の比較。単位はすべて、1L あたりの粒子数もしくは細菌数。破線で囲われたデータは陸域影響を受けたデータ。

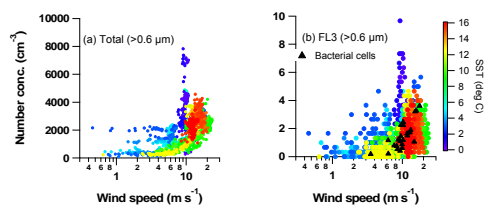


図 8. WIBS4 が計測した全粒子 (左) および FL3 粒子 (右) の個数濃度と風速の関係。海表面温度 (SST) で色つけしてある。マーカーはバイオプロローラーにより計数された細菌のデータである。

であるほど、同じ風速に対しても高濃度を示している傾向にある。SST の高低が海水中の気泡の形成に影響を及ぼし、波しぶき由来のエアロゾルの発生に影響を及ぼすことが室内実験 (Salter et al., JGR, 2014) からは知られていたが、それを観測的に裏付ける結果が得られたと考えられる。

(5)まとめ

本研究では、長崎県福江島での陸域起源の影響を受けた空気塊、および船舶観測 (3 航海) での陸起源・海洋起源空気塊について、自家蛍光性大気エアロゾル粒子のオンライン観測を、オフライン染色蛍光法と比較し、バイオエアロゾル計測の判定条件に関する結果を得て、横断的に解析した。陸域の影響を受けた場合には FL123 タイプを、また海洋起源の空気塊については FL3 タイプを選別するのが最適であることが示された。共通するバンド 3 がバイオエアロゾル判定に有効かつ必須であることが示唆された。森林火災由来のバイオエアロゾルが海域にも高濃度で輸送されること、大気中の細菌数濃度の変動は海水中の菌数に加え、風速の大小や SST が重要な因子となることを見出した。

<引用文献>

- Iwasaka, Y. G.-Y. Shi, M. Yamada, F. Kobayashi, M. Kakikawa, T. Maki, T. Naganuma, B. Chen, Y. Tobo, and C. S. Hong, Mixture of Kosa (Asian Dust) and bioaerosols detected in the atmosphere over tge Kosa particles source regions with balloon-borne measurements: possibility of long-range transport, *Air Qual. Atmos. Health*, 2, 29-38, 2009, doi:10.1007/s11869-009-0031-5.
- Rajput, P. M. Hussain Anjum, and T. Gupta, One year record of bioaerosols and particles concentration in Indo-Gangetic Plain: Implications of biomass burning emissions to high-level of endotoxin exposure, *Environ. Pollut.*, 224, 98-106, 2017, doi:10.1016/j.envpol.2017.01.045.
- Salter, M. E., E. D. Nilsson, A. Butcher, and M. Bilde, On the seawater temperature dependence of the sea spray aerosol generated by a continuous plunging jet, *J. Geophys. Res. Atmos.*, 119, 9052-9072, 2014, doi:10.1002/2013JD021376.
- Taketani, F., Y. Kanaya, T. Nakamura, K. Koizumi, N. Moteki, N. Takegawa. Measurement of Fluorescence Spectra from Atmospheric Single Submicron Particle Using Laser-induced Fluorescence Technique. *J. Aerosol Sci.*, 2013, 58, 1-8. doi:10.1016/j.jaerosci.2012.12.002.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

Taketani, F.(10人中1番目) et al., Analysis of Mixing state of airborne particles using a tandem combination of laser-induced fluorescence and incandescence techniques, *J. Aerosol Sci.*, 査読有, 87, 102-110, 2015.

doi:10.1016/j.jaerosci.2015.05.002

Miyakawa, T.(7人中1番目) et al., Intercomparison between a single particle soot photometer and evolved gas analysis in an industrial area in Japan: Implications for the consistency of soot aerosol mass concentration measurements, *Atmos. Environ.*, 査読有, 127, 14-21, 2015.

doi:10.1016/j.atmosenv.2015.12.018

〔学会発表〕(計13件)

金谷有剛, 観測とモデルから PM2.5 越境大気汚染の実像に迫る、福井県衛生環境研究センター研修会、福井県衛生環境研究センター、福井県福井市、2017-02-27.

Kanaya, Y., Ozone and aerosol studies over Japan: Perspectives of continental outflow and megacity pollution, Topical workshop TEAM: Transport and transformation of pollutants from European and Asian Major Population Centres, Univ. Bremen, Bremen, Germany, 2017-02-14.

竹谷文一(5人中1番目)ほか、北極海、ベーリング海、西部北太平洋上でのオンライン計測による蛍光性粒子解析、第22回大気化学討論会、北海道大学、北海道札幌市、2016-10-12.

金谷有剛(3人中1番目)ほか、有機粒子の未把握起源に関する研究：蛍光性バイオエアロゾルなど、北海道大学低温研究集会：有機エアロゾルに関する大気科学的研究：組成、起源、および光化学的変質、北海道大学、北海道札幌市、2016-08-01.

竹谷文一(10人中1番目)ほか、レーザー誘起蛍光-白熱法を利用した大気粒子の混合状態解析、日本地球惑星科学連合2016年大会、幕張メッセ、千葉県千葉市、2016-05-25.

竹谷文一(5人中1番目)ほか、北極海、ベーリング海、西部北太平洋上における蛍光性粒子測定、ブルーアース2016、東京海洋大学、東京都品川区、2016-03-08

Taketani, F.(3人中1番目) et al., Online measurements of fluorescent airborne particles at Fukue Island in fall 2011, American Association for Aerosol Research (AAAR) 34th Annual Conference, Hyatt Regency Minneapolis, Minneapolis, Minnesota, USA, 2015-10-15.

竹谷文一(3人中1番目)ほか、2011年秋季における長崎県福江島における蛍光性粒子のオンライン測定、第56回大気環境学会年会、早稲田大学、東京都新宿区、2015-09-15

Kanaya, Y.(14人中1番目) et al., Synthesis of observations of atmospheric black carbon,

organics, and PM2.5 aerosols over Japan, Korea, and China with numerical simulations to better constrain their emission rates and origins, AOGS 12th Annual Meeting, Suntec Conference, Singapore, 2015-08-07.

金谷有剛、グリオキザール(CHOCHO, GLY) 経路の SOA 生成に関する知見、日本における地球大気化学の将来検討会～不均一反応研究の現状と今後～、KKR 熱海、静岡県熱海市、2015-01-17

金谷有剛、植生起源イソプレンの放出量と大気酸化反応と生成物に関する知見、研究集会「寒冷圏陸域植生と大気微粒子・気体成分を介した大気環境の相互作用」、北海道大学低温科学研究所、北海道札幌市、2014-12-05.

金谷有剛(13人中1番目) ほか、日中韓広域大気汚染集中観測における有機エアロゾル・PM2.5 濃度のモデル再現性評価：VBSアプローチによる改善、第20回大気化学討論会、府中グリーンプラザ、東京都府中市、2014-10-28

Kanaya, Y.(13人中1番目) et al., Mass concentrations of organic aerosol and PM2.5 in East Asia reproduced by using volatility base-set approach in the WRF-Chem model, 13th Quadrennial ICACGP Symposium & 13th IGAC Science Conference on Atmospheric Chemistry, Natal Convention Center, Natal, Brazil, 2014-09-25

6 . 研究組織

(1)研究代表者

金谷 有剛 (KANAYA, Yugo)
国立研究開発法人海洋研究開発機構・地球表層物質循環研究分野・分野長代理
研究者番号：60344305

(2)研究分担者

宮川 拓真 (MIYAKAWA, Takuma)
国立研究開発法人海洋研究開発機構・地球表層物質循環研究分野・研究員
研究者番号：30707568

竹谷 文一 (TAKETANI, Fumikazu)
国立研究開発法人海洋研究開発機構・地球表層物質循環研究分野・主任研究員
研究者番号：50377785