

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 15 日現在

機関番号：82101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12195

研究課題名(和文) 海水藻類由来分子マーカーIP25を用いた温暖期北極海における海水量変動の実態解明

研究課題名(英文) Reconstruction of sea ice variability using IP25 under Warming Arctic

研究代表者

内田 昌男(masao, uchida)

国立研究開発法人国立環境研究所・環境計測研究センター・主任研究員

研究者番号：50344289

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、北極海における過去の海水量の変動を復元するため、海水藻類由来のバイオマーカーであるアイスアルジーの分子マーカーであるIP25を用いた分析法の開発検討を行った。さらに、開発した手法を北極海チャクチ海のノースウインド海嶺より採取された堆積物試料に応用した結果、IP25濃度は、ベーリング海(北緯58.3度～63度)で、0～0.37ng/g-drysed.、チュクチ海(北緯66.6度～74.5度)で、0.69～7.25 ng/g-drysed.であった。

研究成果の概要(英文)：We developed the IP25 proxy to reconstruct past sea ice variability using biomarker of sea ice algae and applied to sediments from Bering Sea and Arctic Chukchi Sea. The amounts of IP25 from surface sediments in Bering Sea and Arctic Chukchi Sea were 0～0.37ng/g-drysed. and 0.69～7.25 ng/g-drysed., respectively. In this study, we had successful achievement to analyze IP25 from sediments and get more time resolution data set of IP25 in sediments core from the Arctic Ocean. Thus it is possible to investigate detailed sea ice variability during past warming Arctic environments, suggesting that we could get pictures of environments under future warming Arctic.

研究分野：地球化学

キーワード：北極海 海水 IP25 バイオマーカー 海水藻類

1. 研究開始当初の背景

北極海の海氷は、近年急速に減少しており、そのメカニズムは、海氷運動による力学的要因と精製・融解による熱力学的要因の理解に大きく依存している。海氷減少が大気と海洋に及ぼす影響としては、主に北半球高緯度帯の低気圧経路に移動に伴って、ユーラシアの降雪量の減少と北極海上の降雪量の増加が指摘されている。現在、これらのメカニズムの解明と実際の観測結果の解析が進められている。しかし、観測によるメカニズムの解明には、長期的観測データの蓄積が重要である。しかし、海氷に関する過去のデータは、衛星リモセンデータの存在するたかだか数十年であるため、トレンドの把握には限界がある。数十年-千年の時間スケールでの気候変動による北極海氷変動の実態を把握する必要がある。すなわち、現在、起きている海氷減少と過去にさかのぼって自然変動による温暖化との間の相互作用を明らかにすることは、現在の観測期間を大きく超えた時間スケールと環境変化のもとでの実態解明に寄与できるものと考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、北極海における過去の海氷量の変動を復元するため、海氷藻類由来のバイオマーカーである IP25 (図1) の分析法について開発検討を行うものである。

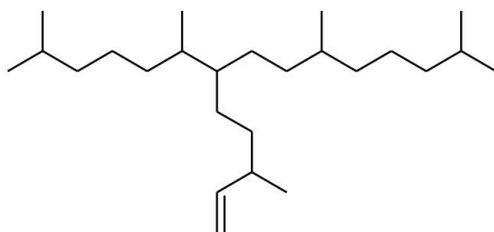


図1 IP25 分子構造式

3. 研究の方法

本研究では、IP25の分析法の開発を中心に進めながら、実施料への応用について検討を行った。

IP25の分析方法について、以下に詳細に記述する。

1) 抽出

凍結乾燥した堆積物試料中の炭化水素類を加圧溶媒抽出(PSE)法により抽出した。抽出セルに凍結乾燥試料(約10g)を秤取し、リカバリサロゲートとして5コレスタンをスパイク、ガラスビーズでデッドボリュームを充填した。これをDionex社製の高速溶媒抽出装置(ASE-200)にセットして、圧力1500psiにて5分間静置×3サイクルで抽出した。

抽出溶媒はジクロロメタン/メタノール(9:1 v/v)、各静置時間の後で抽出液を捕集バイアルに押し出すために送液する溶媒量(フラッシュ容量)は抽出セル体積の40%、抽出完了時のN₂パージ時間は1分とした。抽出液にIP25定量のためのクリーンアップスパイクとして9-octylheptadec-8-ene(9-OHD)を添加後、Büchi社製の多検体パラレルエバポレーター(マルチペーパー)で<3mlまで濃縮した。

2) アルカリ鹼化

濃縮した抽出液に1M KOH/メタノール溶液を5ml添加後80℃で2時間加熱してアルカリ鹼化を行った。放冷後、溶液をマルチペーパーで3mlまで濃縮し、超純水(18.2 MΩ/cm)12ml、*n*-ヘキサン/ジクロロメタン(10:1 v/v)10mlを添加して液液分配を行った。無水硫酸ナトリウムで脱水した有機相(中性画分)の溶媒をマルチペーパーで減圧濃縮した後、ガラス製ディスポ試験管に移し、窒素気流下で乾固させ、約0.5mlの*n*-ヘキサンに再溶解した。

3) シリカゲル分画

Biotage 社製 RpidTrace+SPE システムにシリカベース極性充填剤固相 (Biotage 社製 ISOLUTE SI, 500mg/3mL) を装着して中性画分試料の分画を行った。

固相は使用前にジクロロメタン/メタノール (7:3 v/v), ジクロロメタン, *n*-ヘキサン/ジクロロメタン (3:1 v/v), *n*-ヘキサンで洗浄・コンディショニングを行い, プリードを低減させた。コンディショニングした固相にディスボ試験管から吸引した中性画分をロードし, *n*-ヘキサン 3 ml を流して脂肪族炭化水素画分 (N1) を溶離させた。これを 1.2 ml 濃縮バイアルに移して窒素気流下で溶媒を乾固させ, *n*-ヘキサンで定容して GC-MS 測定試料とした。

N1 を溶離させた後の固相にさらに *n*-ヘキサン/ジクロロメタン (3:1 v/v) 3 ml, ジクロロメタン 3 ml, ジクロロメタン/メタノール (7:3 v/v) 4 ml で芳香族炭化水素画分 (N2), エステル・ケトン画分 (N3), ステロール・アルコール画分 (N4) をそれぞれ溶離させた。これらの画分は溶離溶媒に溶解させた状態で保存した。

4) GC-MS 測定

調整した N1 画分から一部を GC-MS に注入して *n*-アルカンおよび IP25 を測定した。*n*-アルカンの測定時は定容した試料の 1/400 量, IP25 の測定時は 1/10 量を注入した。GC-MS は Agilent 製 7890GC に質量分析計 5975C inert を接続したシステムを用い, これに HP-5ms キャピラリーカラム (長さ 30 m, 内径 250 μ m, 膜厚 0.25 μ m : Agilent 製) を取付け, 成分分離を行った。オープン温度は初期温度 50 (1.0 分保持) から 30 /min で 150 まで昇温し (0 分保持), 続いて 5.0 /min で最終温度 315 まで昇温した (10 分保持)。注入口温度は 280 に設定し, キャリアーガスとしてヘリウムを 1.0 ml/min の定流量モードで用いた。試料の注入はパルスドスプリットレスモードで行った。質量分析は,

EI 法により 70 eV でイオン化を行い, 質量電荷比 (m/z) 50~550 の範囲のスキャンモード及び SIM モードで測定を行った。

IP25 の定量は 9-OHD を内部標準とした GC/MS-SIM 法により行った。SIM の感度を高感度設定 ($P_w = 0.6$) とし, m/z 350.4 のフラグメントグラムで IP25 9-OHD を検出した。また, m/z 99.1 で *n*-アルカンのピークを検出した。*n*-アルカンのピークは, 9-OHD とともに IP25 ピークの相対保持指標を算出し, ピーク同定を確実なものとする目的から検出を行なった。

環境試料や起源物質試料から抽出, 精製した芳香族フラクションを GC や GC-MS で分析すると多くの場合, ベースラインの盛り上がり (ハンプ) が観測される。このハンプは環状や分岐型炭化水素類の複雑な混合物によるもので, キャピラリーGC で分離できないことから Unresolved Complex Mixture (UCM) と呼称される。海底堆積物の N1 画分を分析すると, IP25 のピークは多量の UCM ハンプの中に埋没している。したがって, マススペクトルから IP25 ピークを同定することは不可能で, 相対保持指標によってピーク位置を特定する必要があった。

4. 研究成果

大量の夾雑成分の UCM ハンプに埋もれた IP25 有機分子を高感度に検出する条件を確立した。これらの条件を考慮しない場合の IP25 濃度は, 上記のピストンコア試料では, 濃度が最大 4.31.6 ng/g-drysed. となり, 処理した場合に比べ, その値は, 約 2.5 倍の結果となることがわかった。このように, 堆積物からの抽出における大量の夾雑成分の存在は, UCM ハンプに埋もれた IP25 濃度の検出の際の大きな誤差を生じさせることがわかった。これにより, 北極海の海水が自然変動の中で, どのような歴史的変遷をしてきたかどうか

を明らかにすることが可能となった。本研究では、さらにこれらの分析技術を下に、ベーリング海、チャクチ海の表層堆積物試料の分析を進めた。表層堆積物の IP25 濃度は、ベーリング海（北緯 58.3 度～63 度）で、0～0.37ng/g-drysed.、チュクチ海（北緯 66.6 度～74.5 度）で、0.69～7.25 ng/g-drysed. の結果が得られた。

5．主な発表論文等（計 1 件）
（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

(1)内田昌男、熊田英峰 (2016) 小型加速器質量分析装置の進歩と環境・地球化学研究への応用. ぶんせき 500, 310-317.

〔学会発表〕(計 1 件)

(1)尾村 宏美, 青木 元秀, 内田 達也, 梅村 知也, 熊田 英峰, 2015 堆積物試料中のバクテリア細胞膜由来ホパノイドの抽出方法の検討, 第 22 回クロマトグラフィーシンポジウム, 近畿大学(東大阪), 2015/5/28-30

6．研究組織

(1)研究代表者

内田 昌男 (MASAO UCHIDA)

国立環境研究所・環境計測研究センター

・主任研究員

研究者番号：50344289

(2)研究分担者

熊田 英峰 (KUMATA HIDETOSHI)

東京薬科大学・生命科学部・講師

研究者番号：60318194