



## 高感度安定同位体質量分析に基づく 海洋地球化学の革新

角 皆 潤\*

### 1. はじめに

炭素・酸素・水素・窒素・硫黄といった軽元素は、生物にとって必須の元素であり、また地球表層圏の主要構成元素でもあるため、地球惑星科学や環境科学の多方面で重要な役割を担う。たとえば、温室効果気体も、栄養塩も、酵素も、アミノ酸も、すべてこれら軽元素の化合物である。その生成や分解には、無機的な化学反応はもちろんだが、生物活動（酵素反応）や、多様な人間活動が関与するので、各元素（もしくはそれが構成する分子）の「起源」を解明したり、環境中における「挙動」を定量化したりすることは、地球惑星科学や環境科学を中心とした広範な学術分野で重要なテーマとなっている。しかし、濃度分布を計測しているだけでこれを実現するのは、容易では無い。

ただ幸いなことに、これらの軽元素には、複数の安定同位体が存在する（Table 1）。安定同位体なので、その相対存在度は基本的に一定であり、現に各元素の主要なリザーバー（炭素なら海水中の  $\text{HCO}_3^-$  や大気中の  $\text{CO}_2$ 、酸素や水素なら海水

$\text{H}_2\text{O}$  や大気中の  $\text{O}_2$ 、窒素なら大気中の  $\text{N}_2$ 、硫黄なら海水中の  $\text{SO}_4^{2-}$  など）の中の安定同位体比は、それぞれほぼ一定である。しかし、各元素が主要リザーバーから分離され、別のリザーバーに移行する化学反応や相変化反応に際して、同位体間に（より正確には各同位体を持つ分子種（アイソトポログ）間に）反応速度の僅かな違いが存在することが多い。その結果、リザーバーが変わると、同位体の相対存在度が微小に変化する。1950年代以降は、それなりの量（詳しくは後述）の試料さえあれば、専用の質量分析計を用いることで、このわずかな差異を定量化できるようになり、この相対存在度の差異の有無や大きさを利用することで、その生成経路（起源）を解明したり、挙動を定量化したりすることが出来るようになった。これが、筆者が専門とする「安定同位体地球化学」の基本原則である。

本論文は、海洋化学学術賞（石橋賞）の受賞記念論文として、筆者がこれまで従事して来た安定同位体地球化学に関する研究の中から、特にメタンの炭素同位体比と、硝酸の酸素同位体比に関する研究のいくつかを、その研究動機を含めてまとめたものである。文章の性質上、過去に自身らが執筆した日本語総説（角皆，2002；角皆・中川，2014；角皆・中川，2016）と内容の一部が重複していることを、予めお詫び申し上げます。

また、本論文中では、各試料の同位体比を、慣習に倣って、基準物質の同位体比との間の相対的なズレを表記した  $\delta$  値で表した。炭素の安定同位体比 ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  比) を例にとると、その  $\delta$  値 ( $\delta^{13}\text{C}$

Table 1. 軽元素 (H, C, N, O, S) の安定同位体と各安定同位体の平均的な相対存在度 (%)

H	$^1\text{H}$	99.9885	O	$^{16}\text{O}$	99.757
	$^2\text{H}$ (D)	0.0115		$^{17}\text{O}$	0.038
				$^{18}\text{O}$	0.205
C	$^{12}\text{C}$	98.93	S	$^{32}\text{S}$	94.93
	$^{13}\text{C}$	1.07		$^{33}\text{S}$	0.76
N	$^{14}\text{N}$	99.64		$^{34}\text{S}$	4.29
	$^{15}\text{N}$	0.36	$^{36}\text{S}$	0.02	

\*名古屋大学大学院環境学研究科教授

値) は、以下の式 [1] で定義される。

$$\delta^{13}\text{C} = R_x/R_{\text{STD}} - 1 \quad [1]$$

ここで、 $R_x$  は対象となっている物質の  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  比であり、また  $R_{\text{STD}}$  は基準物質の  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  比である。また、 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  比を表す  $\delta^{18}\text{O}$  値や  $^{17}\text{O}/^{16}\text{O}$  比を表す  $\delta^{17}\text{O}$  値も同様に定義される。本稿中では、敢えて断る場合を除いて、国際標準物質である VPDB の  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  比を  $R_{\text{STD}}$  に用いて  $\delta^{13}\text{C}$  値を、また VSMOW の  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  比および  $^{17}\text{O}/^{16}\text{O}$  比を  $R_{\text{STD}}$  に用いて  $\delta^{18}\text{O}$  値および  $\delta^{17}\text{O}$  値を表記している。 $\delta$  値はそのままでは、きわめて小さい数値となるため、慣習に倣って、数値に「‰ (パーミル, =  $10^{-3}$ )」を付記して、もしくは  $\delta^{13}\text{C}$  の方に「 $\times 10^3$ 」を付記して、1,000 倍に拡大した数値で表記している。

## 2. 冷湧水研究と連続フロー型質量分析

1991 年に東京大学の理学系研究科化学専攻の修士課程に進学した私は、海底冷湧水の研究に取り組むことになった。冷湧水とは、潜水調査船が海洋研究に広く利用されるようになった 1980 年代中頃から、大陸縁辺域の深海底で相次いで発見されるようになった海底湧水のことである (Kulm et al., 1986)。同じ海底湧水でも、マグマによって引き起こされる海底熱水とは異なり、湧出を目視によって確認することは出来ない。代わりに、海底面における変色域 (Fig. 1) や、あるいはシ



Fig. 1. 海底冷湧水の一例 (南海トラフ竜洋海底谷, 水深 1,093m 付近の変色域; Ashi et al., 1996) (海洋研究開発機構提供)。

ロウリガイと呼ばれる二枚貝をはじめとした化学合成型生物の高密度群集の存在で、初めて湧水が存在することが推定出来る。私が修士課程に進学した時点で、既に数多くの冷湧水が既に発見されていた。さらに冷湧水域直上の海水の分析から、冷湧水は、①メタン ( $\text{CH}_4$ ) に富む、②塩濃度が低いことがある、③温度が高いことがある、といった特徴も明らかになっていた。しかしその湧水の起源や、そもそもどうしてそこに湧水が存在するのかといった点は解明されていなかった。

指導教員の脇田宏教授から提示された私の研究テーマは、ヘリウム (He) の同位体比 (通常の  $^4\text{He}$  の他に  $^3\text{He}$  が 100 万分の 1 前後存在する) を指標に用いることで、この冷湧水の起源を解明するというものであった。He は、地殻・大気・マントルで全く異なる  $^3\text{He}/^4\text{He}$  比を示す。さらに、He は (軽元素と違って) 化学的に安定で、地殻内や海底堆積物中を移動する際に  $^3\text{He}/^4\text{He}$  比は変化しないと考えられるので、冷湧水の起源の指標に適していた。さらに冷湧水域の直上海水は、He をはじめとした希ガスに富んでいるという報告もあった (Igarashi et al., 1987)。

当時脇田研究室で助手だった石橋純一郎博士や、当時東大海洋研究所無機化学部門 (石橋博士の出身研究室) で助教授だった蒲生俊敬博士の指導の元、私は「しんかい 2000」や「しんかい 6500」といった海洋科学技術センター (当時) 所属の潜水調査船を利用して、冷湧水域の直上海水を多数採取し、中に含まれる He の濃度と  $^3\text{He}/^4\text{He}$  比を分析した。しかし、測っても測っても、海水と同じ He 濃度、同じ  $^3\text{He}/^4\text{He}$  比しか得られなかった。そこで博士課程も終盤が近づいた 1994 年になって、私は、冷湧水中のメタン ( $\text{CH}_4$ ) の  $\delta^{13}\text{C}$  値測定に、研究の軸を変更することにした。この  $\text{CH}_4$  の  $\delta^{13}\text{C}$  値への変更の理由は複数あるが、そのうちの 1 つが、その後の研究の展開に対して重要になるので、以下に詳述する。

先にも述べたように、 $\text{CH}_4$  は冷湧水における濃度異常が大きく、湧出域直上の海水に、通常の

100 倍以上の濃度の  $\text{CH}_4$  を湧出の痕跡として残す。さらに海底堆積物中の浅層では  $\delta^{13}\text{C}$  値は低く（海底下 10 m で  $\delta^{13}\text{C} = -70\%$  前後）、深くなるほど高くなっていく（海底下 1,200 m で  $\delta^{13}\text{C} = -45\%$  前後）ことが知られていた（Berner and Faber, 1993）。これは浅層では微生物（メタン生成菌）が有機物を分解して作る  $\delta^{13}\text{C}$  値の低い  $\text{CH}_4$  が卓越し、深層では有機物が熱分解して生成した  $\delta^{13}\text{C}$  値の高い  $\text{CH}_4$  が卓越することを反映している。つまり冷湧水中の  $\text{CH}_4$  の  $\delta^{13}\text{C}$  値を分析することで、 $\text{CH}_4$  の成因と由来する深度を明らかに出来るので、湧水の起源の考察に役に立つと考えた（1 番目の理由）。その数年前に、当時山形大学にいらした酒井均教授の研究室で海底熱水中の  $\text{CH}_4$  の  $\delta^{13}\text{C}$  値を分析させていただいており（Tsunogai et al., 1994）、 $\text{CH}_4$  の  $\delta^{13}\text{C}$  値指標には馴染みがあった（2 番目の理由）。

ただし、それまでの安定同位体比測定技術では、対象の分子を試料から単離する操作と、対象の分子中の測定対象元素を同位体比測定可能な気体分子に定量的に変換する操作（炭素なら  $\text{CO}_2$ 、酸素なら  $\text{CO}_2$  または  $\text{O}_2$ 、水素なら  $\text{H}_2$ 、窒素なら  $\text{N}_2$ 、硫黄なら  $\text{SO}_2$  または  $\text{SF}_6$  に変換）、さらにこの気体分子を精製し、質量分析計（拡散導入型、もしくは Dual Inlet 型と通称される、同位体比測定用の気体質量分析計）に拡散により導入し、同位体比を測定するという操作が不可欠であった。熱水試料中の  $\text{CH}_4$  の  $\delta^{13}\text{C}$  値を分析する場合を例に、具体的に説明すると、①熱水（ $\text{CH}_4$  濃度は 100  $\mu\text{mol/L}$  程度）を 500 mL 程度サンプリングし、この中の溶存ガス成分を気相に抽出する、②  $\text{CO}_2$  をはじめとした共存成分を除き、 $\text{CH}_4$  を単離する、③ 600 度に加熱した一酸化銅を用いて  $\text{CH}_4$  を燃焼し  $\text{CO}_2$  に変える、④燃焼に伴って発生する  $\text{H}_2\text{O}$  を除去し  $\text{CO}_2$  のみを単離する、⑤単離した  $\text{CO}_2$  を拡散導入型の質量分析計に導入し、質量数 44 ( $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+$ ) と質量数 45 (主に  $^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+$ ) のビーム出力比から  $\delta^{13}\text{C}$  値を算出する (Fig. 2 (a))。

この⑤の測定に際して、質量分析計内で  $\text{CO}_2^+$

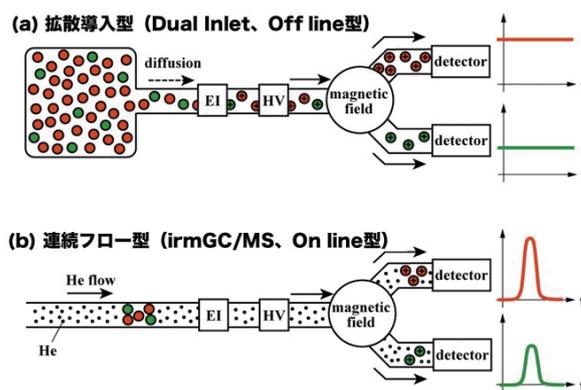


Fig. 2. 拡散導入型の同位体質量分析 (a) と連続フロー型の同位体質量分析 (b) の測定原理比較。

ビームを一定以上の時間（計 10 分前後）保持する必要があります。これを実現するのに、少なくとも数  $\mu\text{mol}$  程度の  $\text{CO}_2$ （元は  $\text{CH}_4$ ）が必要であった。冷湧水（冷湧水域の直上海水）は、深層の一般海水（ $\text{CH}_4$  濃度 = 1  $\text{nmol/L}$  程度）に比べれば  $\text{CH}_4$  に富んでいるが、その濃度は 100  $\text{nmol/L}$  程度である（例えば、Gamo et al., 1992）。潜水調査船で採取出来る冷湧水の量は最大でも 3 - 4 L 程度であり、本来なら冷湧水中の  $\text{CH}_4$  の  $\delta^{13}\text{C}$  値を定量するのは不可能なはずだった。

ところが 1994 年になって、後に「連続フロー型」と総称されるようになる新型の同位体質量分析計（Finnigan MAT 社製 Delta S）が、脇田先生のご尽力で研究室に導入された。この連続フロー型では、 $\text{CO}_2$  をイオン化ポテンシャルの高い He ガスの流れに乗せて質量分析計内に短時間導入し、この時の質量数 44 ( $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+$ ) と質量数 45 (主に  $^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+$ ) ビームの出力の時間変化から、 $\delta^{13}\text{C}$  値を算出することが出来る (Fig. 2 (b))。拡散導入型では、対象物質を単離してから質量分析計に導入する必要があったが、連続フロー型では、質量分析計内に導入されている時間が、他の共存成分と重複しなければ、同位体比が測定できる（詳細は、角皆（2007）を参照）。

この連続フロー型には、従来の拡散導入型には無い利点が数多くあったが、当時私が最も魅力的と感じたのは、その感度の高さだった。連続フロー型なら、拡散導入型の 1/1000 程度、およそ

1 nmol 程度で  $\delta^{13}\text{C}$  値が分析出来る。つまり、100 nmol/L の海底冷湧水試料 10–100 mL から  $\text{CH}_4$  を抽出し、これを  $\text{CO}_2$  に変換した上で連続フロー型の質量分析計に導入出来れば、 $\text{CH}_4$  の  $\delta^{13}\text{C}$  値が定量出来ることになる (3 番目で最大の理由)。

以上 3 つの理由により、私は冷湧水試料 (湧水域直上の海水試料) 中の  $\text{CH}_4$  の  $\delta^{13}\text{C}$  値を測定することを最終目標に、新しい高感度分析法の開発を始めた。具体的には、Fig. 3 に示すように、He ガスを用いて海水試料から  $\text{CH}_4$  をはじめとした溶存気体成分を抽出し、 $\text{CH}_4$  を粗精製してからキャピラリー・ガスクロマトグラフに導入して他成分と完全に分離し、酸化炉で  $\text{CH}_4$  を  $\text{CO}_2$  化した上で連続フロー型の質量分析計に導入して  $\delta^{13}\text{C}$  値を定量化する、新しい質量分析システムを製作した。また、この新システムについて各種基礎実験を実施して、問題があれば改良した。新しい分

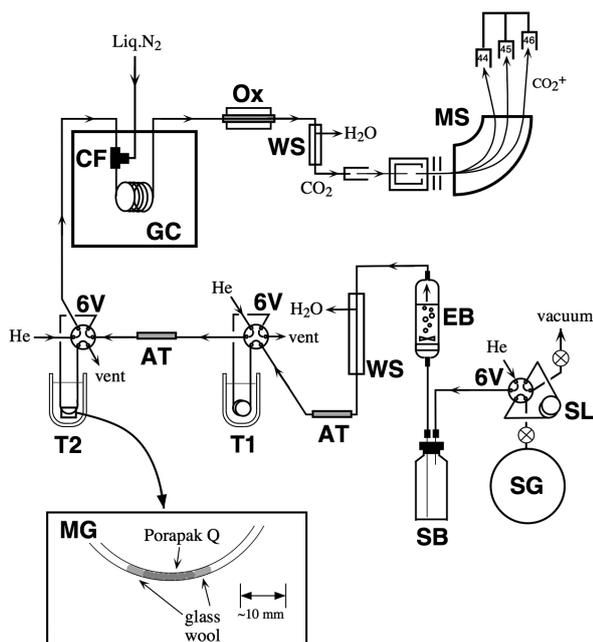
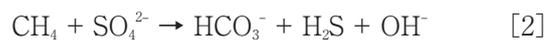


Fig. 3. 溶存  $\text{CH}_4$  の  $\delta^{13}\text{C}$  値測定システム (Tsunogai et al., 2000 を一部改変)。ガラス容器 (SB) 中に密封された海水試料を、抽出ボトル (EB) に移し、これを He でパージして  $\text{CH}_4$  を抽出し、ナフィオン膜 (WS) で水を除去、アルカリ性トラップ (AT) で  $\text{CO}_2$  を除去し、液体酸素温度の吸着剤 (Porapak Q; T2 の MG) に捕集した上で、ガスクロマトグラフ (GC) に導入する。ここで他成分と完全に分離された  $\text{CH}_4$  は、酸化炉 (Ox) で  $\text{CO}_2$  化されるので、これを He のフローに乗せたまま、連続フロー型の同位体質量分析計に導入し、 $\delta^{13}\text{C}$  値を測定する。

析法の開発研究に従事したことのある方ならわかると思うが、最終的な検出感度が 1,000 倍に上昇したとしても、すぐに必要試料量が 1/1000 に減らせることにはならない。理由はいくつかあるが、 $\text{CH}_4$  における最大の課題はブランクだった。 $\mu\text{mol}$  レベルの分析では問題にならなかったものが、 $\text{nmol}$  レベルの分析では、コンタミ源となる。また、測定対象元素を定量的に質量分析計まで導入しないと、途中で同位体比が変化してしまう。分析法開発は簡単にはいかなかったが、半年間の試行錯誤の結果、冷湧水域の直上海水試料 (各 120 mL) の分析に成功した。求めた冷湧水中の  $\text{CH}_4$  の  $\delta^{13}\text{C}$  値は、 $-60\%$  から  $-80\%$  程度で、冷湧水中の  $\text{CH}_4$  は浅層由来 (微生物起源) と結論した (Tsunogai et al., 1996 ほか)。

ところが、冷湧水中の  $\text{CH}_4$  の  $\delta^{13}\text{C}$  値研究は、これで終わりとはならなかった。冷湧水域 (Fig. 1) の直下を数 10 cm ほど掘り返して、堆積物中の水 (間隙水) を抽出し、含まれる  $\text{CH}_4$  の濃度と  $\delta^{13}\text{C}$  値を測定してみたところ、 $-100\%$  近いものから  $-40\%$  前後まで、 $\delta^{13}\text{C}$  値が大きく変化していることが明らかになった。さらに、 $\text{CH}_4$  の濃度が低下するほど、 $\delta^{13}\text{C}$  値が上昇する傾向を発見した (Fig. 4)。これは下方から湧き上がってくる湧水中の  $\text{CH}_4$  と、上方からしみ込んだ海水中に豊富に含まれる硫酸イオン ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) を利用して、海底堆積物中で、微生物によるメタン酸化 (但し酸素の無い還元環境下における嫌氣的  $\text{CH}_4$  酸化) が進行していることを反映していた (Tsunogai et al., 2002)。



つまり [2] の嫌氣的  $\text{CH}_4$  酸化に際して、 $^{12}\text{CH}_4$  が  $^{13}\text{CH}_4$  に優先して酸化され、その結果、残った  $\text{CH}_4$  (残渣  $\text{CH}_4$ ) は  $^{13}\text{CH}_4$  が相対的に濃縮して  $\delta^{13}\text{C}$  値が上昇し、Fig. 4 に示すような  $\text{CH}_4$  濃度と  $\delta^{13}\text{C}$  値の関係が生み出されていた。[2] の反応は、冷湧水域に分布するシロウリガイが栄養源としている硫化水素 ( $\text{H}_2\text{S}$ ) の起源を説明するために提

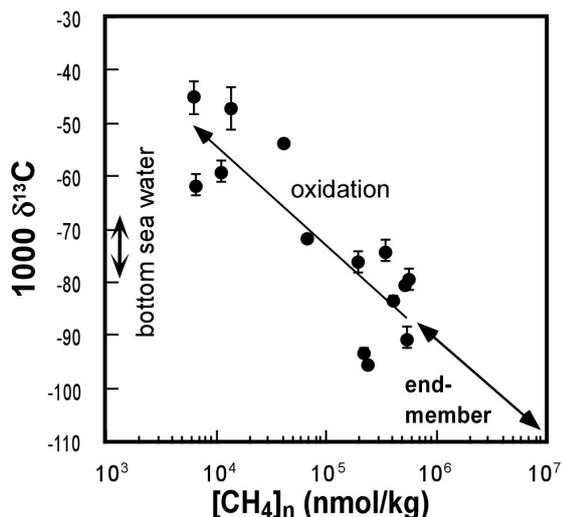


Fig. 4. 竜洋海底谷における冷湧水域直下の堆積物間隙水中の溶存CH<sub>4</sub>の濃度とδ<sup>13</sup>C値の関係 (Tsunogai et al., 2002を一部改変). CH<sub>4</sub>濃度は海水による希釈の効果を補正した値 ([CH<sub>4</sub>]<sub>n</sub>)を使用し、対数スケールで表示している.

案されていたが (Kulm et al., 1986), この反応が実際に進行していることを, CH<sub>4</sub>のδ<sup>13</sup>C値の不均一から証明することが出来た. またこの結果から, 先に得られた-60 ‰から-80 ‰程度という直上水中のCH<sub>4</sub>のδ<sup>13</sup>C値 (Fig. 4中に「bottom sea water」として範囲示す)は, 湧水中のCH<sub>4</sub>の本来のδ<sup>13</sup>C値とは異なり, 被酸化に伴う同位体分別が様々な程度に進行した残渣CH<sub>4</sub>のδ<sup>13</sup>C値の加重平均値だったことが明らかになった.

CH<sub>4</sub>のδ<sup>13</sup>C値は, 当初のねらいだった湧水の起源の解明にはあまり貢献しなかった. その代わりに, 微生物の代謝が進行した時に, その同位体比が大きく変動 (=同位体分別)する性質を利用することで, 海水や海底堆積物中, さらに海底熱水素や冷湧水素の中で進行する微生物活動について, 代謝過程の有無や, その代謝量の定量化が実現出来るようになった (Nishimura et al., 1999; Tsunogai et al., 2000). それから約10年間は, 微生物学系研究者との共同研究で面白いように論文が生まれた (Takai et al., 2004; Inagaki et al., 2004; Nakagawa et al., 2005; Arakawa et al., 2006等). 同位体分別と遺伝子解析と組み合わせた微生物生態の解明手法は, 今や関係分野では常法と

なっているが, これは連続フロー型による高感度化のおかげで, 低濃度の代謝残渣でも, 同位体比が分析出来るようになったことで生まれた成果と言える.

### 3. 大気中の微量気体の同位体異常

1996年に学位を取得した私は, 対象としていたCH<sub>4</sub>が大気中で温室効果気体として重要だった縁から, 東京工業大学総合理工学研究科の吉田尚弘教授が代表を務めるプロジェクトのポスドク研究員として雇用され, テーマの軸を海底から, 海洋や大気へ移した (Tsunogai et al., 1999等). さらに1999年には, 同じ東京工業大学総合理工学研究科の都市圏大気環境分野 (吉川邦夫教授)の専任講師に採用された.

その着任直後くらいの時期に, 当時同じ専攻で博士課程在学中だった中川書子さんから, 大気中の一酸化炭素 (CO)の酸素同位体比に関する興味深い論文をいくつか紹介された. その半年ほど前から, 彼女と私はCOの連続フロー型質量分析手法の開発に共同で取り組んでいたが難航していて, <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C比測定のみで見切り発車させて観測に軸を移すか (私の主張), 当初予定通り<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C比と<sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O比の同時測定に固執するか (中川さんの主張)で悩んでいた. 彼女が私に論文を紹介した主目的は, 私に対してCOの酸素同位体比測定の重要性を説くことだったが, 私は彼女の思惑通りに, あるいは思惑以上に, 酸素同位体比測定に強く惹かれた. 以下では, その背景となっていた, 安定同位体地球化学が抱える「本質的欠陥」と, 私が酸素同位体比測定に強く惹かれ, その後研究の軸を酸素同位体比に移した理由について, その後の研究の進展を含めて以下に詳解する.

#### 3.1 安定同位体地球化学の本質的欠陥

CH<sub>4</sub>の場合を例に説明する. δ<sup>13</sup>C値を測定することで, 微生物起源であるか, それとも熱分解起源であるか, 区別することが出来ることを第2章でご紹介した. しかしこれが可能になるのは, 微

生物もしくは熱分解により  $\text{CH}_4$  が生成してから、 $\delta^{13}\text{C}$  値を分析する迄の間に、 $\delta^{13}\text{C}$  値が変化するような過程が存在していないことが立証出来る場合に限られる。その理由も既に第2章でご紹介しており、生成後に  $\text{CH}_4$  が部分的に酸化分解されると、その被酸化残渣の  $\text{CH}_4$  の  $\delta^{13}\text{C}$  値は生成時とは異なるものに変化しているからである。つまり、元は微生物起源であった  $\text{CH}_4$  が部分的に酸化されることで  $\delta^{13}\text{C}$  値が上昇し、熱分解起源と区別できなくなっている可能性がある。

この例から明らかのように、安定同位体比は可逆的な一次元の指標であり、複数種の同位体分別過程が存在する可能性があるとして、指標としての信頼性は著しく低下する。同位体分別過程が特定のものだけに限定出来れば問題無いのだが、そもそも、科学的によくわからない対象であるが故に、わざわざ同位体を指標に用いて研究の対象としているので、そのよくわからない対象の系内に、想定外の同位体分別過程が存在しないことを証明することは、原理的に不可能であることが多い。論文を投稿する度に、論理性と非欧米人に厳しい査読者から、「想定していない同位体分別が起きていないことを証明せよ」という指摘を受けて苦しむのが常であった。この問題を私は、安定同位体地球化学の本質的欠陥と、自虐的に呼んでいた。

### 3.2 質量依存同位体分別と質量非依存同位体分別

ところが中川さんが紹介してくれた論文では、複数の安定同位体比を持つ軽元素、より具体的には、酸素 (O) や硫黄 (S) のように三種以上の安定同位体が存在する元素 (O は  $^{16}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$  の三種, S は  $^{32}\text{S}$ ,  $^{33}\text{S}$ ,  $^{34}\text{S}$ ,  $^{36}\text{S}$  の四種の安定同位体が存在) (Table 1) では、同一元素内の複数の安定同位体比を組み合わせることで、特定の同位体分別と、別の同位体分別を、区別することが出来る可能性が示されていた。その理由をきちんと説明するのは難しいが、酸素 (O) の場合に限定して、簡略化して説明する。

酸素 (O) には、 $^{16}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$  の三種の安定同

位体が存在するので、その相対存在度は、2つの独立した同位体比 ( $\delta^{17}\text{O}$  値と  $\delta^{18}\text{O}$  値) で記述することが出来る。ただし、同位体分別を引き起こす各同位体分子種 (アイソトポログ) が、質量 (分子の場合は分子量) 以外に差がない (= 質量のみに依存して同位体分別している) 場合、 $\delta^{17}\text{O}$  値の変化に対する  $\delta^{18}\text{O}$  値の相対的な変化は、反応の種類や進行度合い、さらに関係する分子の種類に依らず、以下のような簡単な比例式で表されることが知られている。

$$\ln(1+\delta^{17}\text{O}) = \beta \times \ln(1+\delta^{18}\text{O}) \quad [3]$$

ここで  $\beta$  は比例定数を表し、あとで詳述するように 0.52 前後の値となる。また  $\delta^{17}\text{O}$  も  $\delta^{18}\text{O}$  も、1 に比べると極めて小さいので、式 [3] に対してテイラー展開の一次近似式を適応して簡略化すると、

$$\delta^{17}\text{O} = \beta \times \delta^{18}\text{O} \quad [4]$$

となる。このような単純な式で表現出来る理由を、まず  $\text{CO}_2$  の酸素同位体分別を例に説明する。

酸素 (O) には三種の安定同位体が存在するが、 $^{16}\text{O}$  の大部分は主要アイソトポログである  $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$  (分子量 = 44) の形で、また  $^{17}\text{O}$  と  $^{18}\text{O}$  の大部分は、それぞれ  $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{17}\text{O}$  (分子量 = 45) および  $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$  (分子量 = 46) の形で存在している。ある密閉系内に気体状態の  $\text{CO}_2$  が存在していて、その温度が系内で均一であれば、分子 1 個あたりの平均並進運動エネルギー ( $\frac{1}{2}mv^2$ ) はどのアイソトポログも等しいので、 $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$  の平均並進速度  $v_{44}$  を 1 とすると、 $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{17}\text{O}$  の平均並進速度  $v_{45}$  は  $\sqrt{44/45} = 0.9888$ ,  $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$  の平均並進速度  $v_{46}$  は  $\sqrt{44/46} = 0.9780$  となり、 $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$  と  $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{17}\text{O}$  (相互の質量差 = 1) の速度差が 0.0112 であるのに対して、 $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$  と  $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$  (相互の質量差 = 2) の速度差は、0.0220 である。つまり、質量差と速度差が比例関係にあることがわかる。

この気体状態の  $\text{CO}_2$  が関係する何らかの化学反応が進行して、 $\text{CO}_2$  中の O 原子の一部が、

別の分子に変化し、しかもこの反応の反応速度が、各 CO<sub>2</sub> アイソトポログの平均並進速度  $v$  に単純に比例する場合を考える。平均並進速度  $v$  に反応速度が比例するので、反応生成物側には、<sup>16</sup>O が相対的に濃縮し、<sup>18</sup>O が相対的に欠乏する（反応残渣側は逆に <sup>18</sup>O が相対的に濃縮し、<sup>16</sup>O が相対的に欠乏する）。ここで元の CO<sub>2</sub> の酸素同位体比に対する、反応生成物の酸素同位体比の相対変化を  $\delta$  値 ( $\delta^{17}\text{O}$  と  $\delta^{18}\text{O}$ ) で表すと、その  $\delta^{17}\text{O}$  や  $\delta^{18}\text{O}$  の絶対値は、反応の種類や反応の進行度によって変わるが、 $\ln(1+\delta^{18}\text{O})$  に対する  $\ln(1+\delta^{17}\text{O})$  の相対値は、速度差の相対値 ( $v_{44}-v_{46}$  に対する  $v_{44}-v_{45}$  の相対値) に比例するので、反応生成物の  $\delta^{17}\text{O}$  値と  $\delta^{18}\text{O}$  値（および反応残渣である CO<sub>2</sub> の  $\delta^{17}\text{O}$  値と  $\delta^{18}\text{O}$  値）の間に、式 [3]（および近似的に [4]）で示した比例関係が成立し、この時の  $\beta$  を CO<sub>2</sub> の各アイソトポログの分子量から計算すると、0.51 となる。実際の化学反応における同位体分別の場合は、質量（分子量）ではなく換算質量を使う必要があり、計算も複雑である。  $\beta$  も若干大きくなるが、それでも 0.52 程度である。

同位体分別を引き起こす含酸素分子が、CO<sub>2</sub> から別の分子（たとえば H<sub>2</sub>O, CO, O<sub>2</sub> など）に変わると、この  $\beta$  も変わる。しかし、各分子の  $\beta$  を計算すると、いずれも 0.51 から 0.53 程度で分子による差はほとんど無い。さらに、こうして質量に依存して同位体分別した O 原子と、同じく質量に依存して同位体分別した別の O 原子とが混合する場合も、この質量に依存した同位体分別で見られるのと同じく、式 [4] で表されるような直線的な関係が  $\delta^{17}\text{O}$  値と  $\delta^{18}\text{O}$  値の間に成立する（式 [3] も近似的に成立する）。従って、関係するアイソトポログが、常に質量（=分子量）以外に差がない（=質量のみに依存して同位体分別している）場合は、何度同位体分別が起きたとしても、 $\delta^{17}\text{O}$  値と  $\delta^{18}\text{O}$  値の間に常に式 [3] および式 [4] が成立する。式 [4] の関係を、 $\delta^{18}\text{O}$  値を x 軸に、 $\delta^{17}\text{O}$  値を y 軸にとったグラフ上にプロットすると、Fig. 5 中に黒い太線で示すような原点を通る直線

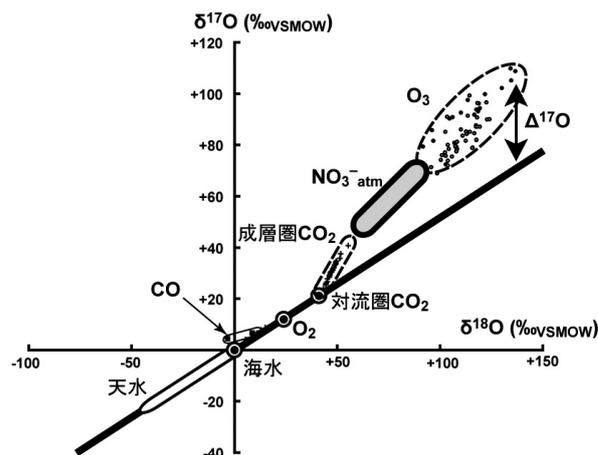


Fig. 5. 大気から沈着する HNO<sub>3</sub> (NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sub>atm</sub>) およびその他の地球上の含酸素化合物の三酸素同位体組成（角皆・中川, 2014 を一部改変）。

（式 [3] の場合は、原点を通る直線に近い曲線）となる。これは、「質量依存同位体分別線」と呼ばれ、海水や天水、珪酸塩、大気中の O<sub>2</sub> といった地球上の大部分の含酸素分子の  $\delta^{17}\text{O}$  値と  $\delta^{18}\text{O}$  値は、ほぼこの「質量依存同位体分別線」の線上に分布している。なお平均的な  $\beta$  として、式 [3] の場合は 0.5279 (Kaiser et al., 2007; Miller, 2002) を、また式 [4] の場合は 0.52 (Thiemens et al., 2001) を使用するのが一般的である。

ところが中川さんが持ってきた論文では、この質量依存則が成立しない同位体分別（質量非依存同位体分別）が、特定の気相反応に限って生じることが示されていた (Fig. 5)。代表的な反応が、オゾン (O<sub>3</sub>) の生成および分解反応である。O<sub>3</sub> の主要アイソトポログ (<sup>16</sup>O <sup>16</sup>O <sup>16</sup>O · <sup>16</sup>O <sup>16</sup>O <sup>17</sup>O · <sup>16</sup>O <sup>16</sup>O <sup>18</sup>O) のうち、<sup>16</sup>O <sup>16</sup>O <sup>16</sup>O が対称形であるのに対して、<sup>16</sup>O <sup>16</sup>O <sup>17</sup>O および <sup>16</sup>O <sup>16</sup>O <sup>18</sup>O は非対称形であり、これが質量以外の性質の差を O<sub>3</sub> のアイソトポログ間に発生させているのが原因と考えられている。その後の研究で、O<sub>3</sub> 以外に、対流圏大気中の CO や HNO<sub>3</sub> (Fig. 5 中に NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sub>atm</sub> として表す)、成層圏大気中の CO<sub>2</sub> などの  $\delta^{17}\text{O}$  値が、式 [3] および式 [4] の関係から正方向に、また大気中の O<sub>2</sub> の  $\delta^{17}\text{O}$  値がほんの僅かに負方向にずれていることが明らかになっており、このズレは、それぞれ「正の（三酸素）同位体異常」、 「負の（三酸

素) 同位体異常」と呼ばれている。一方、気相反応以外で、自然界に‰レベルを超える三酸素同位体異常を生じさせる可能性のある反応は、見つかっていない。

今、ある分子中の O 原子が三酸素同位体異常を示す場合、その O 原子は、海水や珪酸塩といった地球上の主要 O 原子リザーバーから分離された後のどこかの段階で大気中の質量非依存同位体分別を経験し、その上でその分子に含有されるに至ったことになる。つまり、この三酸素同位体異常は、その O 原子（もしくはそれを含む分子）の起源や挙動を推定する指標（トレーサー）として利用出来る。そこで現在では、以下の式 [5]（もしくは文献によっては式 [6]）で定義される  $\Delta^{17}\text{O}$  値を用いてその大小を定量化し、指標として活用している。

$$\Delta^{17}\text{O} = \frac{1 + \delta^{17}\text{O}}{(1 + \delta^{18}\text{O})^\beta} - 1 \quad [5]$$

$$\Delta^{17}\text{O} = \delta^{17}\text{O} - \beta \times \delta^{18}\text{O} \quad [6]$$

以上まとめると、自然界には  $\Delta^{17}\text{O}$  値が変化する酸素同位体分別と、変化しない酸素同位体分別が存在し、一般的な化学反応や相変化反応に伴う酸素同位体分別では、 $\Delta^{17}\text{O}$  値は変化しない。先に例示した  $\text{CH}_4$  の  $\delta^{13}\text{C}$  値は、単純に異なる  $\delta^{13}\text{C}$  値を持つ  $\text{CH}_4$  間の混合比を反映する場合と、これにさらに被酸化に伴う同位体分別の影響が加わる場合を、区別することが出来なかった。一方、 $\Delta^{17}\text{O}$  値の場合は、異なる  $\Delta^{17}\text{O}$  値を持つ含酸素分子間の混合比のみを反映しており、一般的な化学反応や相変化反応に伴う同位体分別はすべて無視出来る。「本質的欠陥」に苦しんでいた私には、 $\Delta^{17}\text{O}$  値指標は救世主だった。

### 3.3 $\text{NO}_3^-$ の $\Delta^{17}\text{O}$ 値指標と陸域の窒素循環研究への応用

私は 2000 年に、北海道大学大学院理学研究科地球惑星科学専攻の助教授の公募に応募して採用され、先に異動することが内定していた蒲生俊敬

教授とともに、連続フロー型質量分析計 (ThermoQuest 社製 MAT 252) を備えた、新しい研究室を立ち上げた。3 年後には中川書子博士が助手で加わり、まず連続フロー法に基づいた  $\text{CO}_2$  の  $\Delta^{17}\text{O}$  値分析に取り組み (Kawagucci et al., 2005)、次に  $\text{N}_2\text{O}$  を経て、 $\text{NO}_3^-$  の  $\Delta^{17}\text{O}$  値分析に取り組んだ。 $\text{NO}_3^-$  は代表的な栄養塩であり、その供給量は陸上や海洋生態系の一次生産を律速することが多いので、当初から最重要視していた。しかし、 $\text{NO}_3^-$  や  $\text{N}_2\text{O}$  の  $\Delta^{17}\text{O}$  値分析法開発を進める中で、その実現には質量分析計本体の改造 (= ある程度大型の予算の獲得) が必要であることがわかり、なかなか実現出来なかった。2006 年になって環境省の地球環境研究総合推進費に採択され、ようやく実現することが出来た (Komatsu et al., 2008; Tsunogai et al., 2008; Tsunogai et al., 2010)。

Fig. 6 (c) に、利尻島 (45° N) に沈着する  $\text{HNO}_3$  ( $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$ ) の  $\Delta^{17}\text{O}$  値の時間変動を示した (Tsunogai et al., 2010)。 $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  は例外無く正の三酸素同位体異常 ( $\Delta^{17}\text{O} > 0$ ) を示しており、これは地表から放出された  $\text{NO}$  が、最終的に  $\text{HNO}_3$  ( $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$ ) となって地表に沈着するまでの光化学反応経路上で、 $\text{NO}$  に付加される O 原子の一部が、 $\text{O}_3$  由来であることを反映している (Michalski et al., 2003)。また夏季に減少し、冬季に増加する明瞭な季節変動を示しているが、これは  $\text{NO}$  から  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  に至る光化学反応経路が、季節変動することを反映している。Tsunogai et al. (2010) では、Fig. 6 に示した結果を用いて、沈着する  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  の年平均  $\Delta^{17}\text{O}$  値を +26.2 ‰と見積もった。この年平均  $\Delta^{17}\text{O}$  値は、日本の佐渡 (38° N) で観測した年平均  $\Delta^{17}\text{O}$  値 (+26.3 ‰) と驚くほど良く一致し (Tsunogai et al., 2016)、さらに米国西海岸の La Jolla (33° N; Michalski et al., 2003) や米国東海岸 Princeton (40° N; Kaiser et al., 2007) といった他の中緯度帯において報告された  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  の年平均  $\Delta^{17}\text{O}$  値ともほぼ一致した。これは中緯度であれば、場所に依らずほぼ同じ年平均

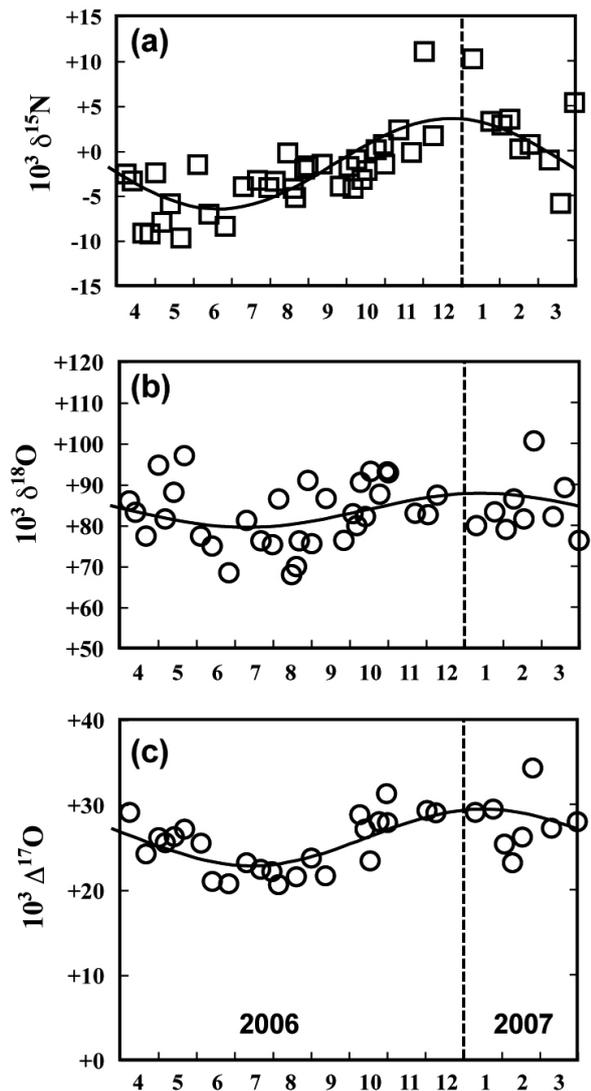


Fig. 6. 国設利尻酸性雨測定所で採取された湿性沈着試料中の  $\text{NO}_3^-$  の同位体組成の時間変動 (a:  $\delta^{15}\text{N}$  値, b:  $\delta^{18}\text{O}$  値, c:  $\Delta^{17}\text{O}$  値) (Tsunogai et al., 2010 を一部改変).

$\Delta^{17}\text{O}$  値が適応出来ることを示している。

一方、海洋や陸水、土壌と言った地表環境中でも、硝化と呼ばれる微生物反応によって、アンモニアから  $\text{NO}_3^-$  ( $\text{NO}_{3\text{re}}^-$ ) が生成する (但しアンモニアの大部分は有機体窒素の再無機化反応で生成するので、 $\text{NO}_{3\text{re}}^-$  は有機物由来とも言える)。この  $\text{NO}_{3\text{re}}^-$  中の O 原子は、式 [3] および [4] で表される質量依存の関係が成立する  $\text{O}_2$  もしくは  $\text{H}_2\text{O}$  に由来し、さらにそれが生成する反応過程で起きる同位体分別は一般的な質量依存同位体分別なので、 $\Delta^{17}\text{O}$  値は 0‰ である (Fig. 7)。従って、 $\text{NO}_{3\text{atm}}^-$  が地表に沈着し、そこで  $\text{NO}_{3\text{re}}^-$  と混合す

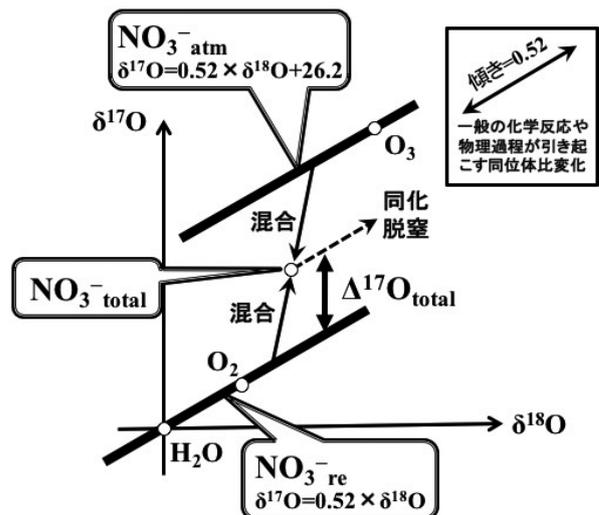


Fig. 7.  $\text{NO}_{3\text{atm}}^-$  と  $\text{NO}_{3\text{re}}^-$  (各々太線で領域を示した) の  $\delta^{17}\text{O}$  値と  $\delta^{18}\text{O}$  値の関係。一般の化学反応が引き起こす同位体分別は「質量依存同位体分別線」に対して平行な方向に進行するので、 $\Delta^{17}\text{O}$  値は変化しない。したがって両者の混合で生成する  $\text{NO}_{3\text{total}}^-$  の  $\Delta^{17}\text{O}$  値は、両者の混合比を反映する。

ると、Fig. 7 に模式的に示すように、その混合比に応じて  $\Delta^{17}\text{O}$  値は減少する。一方、 $\text{NO}_{3\text{atm}}^-$  と  $\text{NO}_{3\text{re}}^-$  が混合した  $\text{NO}_3^-$  (Fig. 7 中の  $\text{NO}_{3\text{total}}^-$ ) が、地表環境中で何らかの同位体分別を受けると、その  $\delta^{17}\text{O}$  値や  $\delta^{18}\text{O}$  値は変化してしまうが、 $\Delta^{17}\text{O}$  値は変化しない (Fig. 7)。つまり、同位体分別過程の有無に依らず、 $\text{NO}_{3\text{total}}^-$  の  $\Delta^{17}\text{O}$  値から、その中に含まれる  $\text{NO}_{3\text{atm}}^-$  と  $\text{NO}_{3\text{re}}^-$  の混合比を算出することが出来る。さらに、 $\text{NO}_3^-$  の濃度と  $\Delta^{17}\text{O}$  値から、 $\text{NO}_{3\text{atm}}^-$  の濃度を算出することも出来るので、地表環境中における  $\text{NO}_{3\text{atm}}^-$  濃度の空間分布から、地表環境に沈着した後の  $\text{NO}_{3\text{atm}}^-$  を追跡することが出来る。

そこで Tsunogai et al. (2010) では、利尻島の湧水や渓流水・河川水の試料 (いずれも地下水の湧出により形成されたものなので、まとめて地下水試料とする) を採取し、含まれる  $\text{NO}_3^-$  の濃度と  $\Delta^{17}\text{O}$  値を測定することで、大気から沈着した  $\text{NO}_{3\text{atm}}^-$  が、利尻島の陸上生態系内で吸収・分解されているのか、それとも地下水を経由して海洋に流出しているのか考察した。

$\text{NO}_3^-$  の  $\Delta^{17}\text{O}$  値分析の結果、すべての地下水試

料が  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  を有意に含んでおり、全  $\text{NO}_3^-$  に占める  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  の混合比は、平均 7.4 % と見積もった。つまり、大気から沈着した  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  の大部分は、利尻島の陸上生態系内で吸収、もしくは分解され、地下水を經由して流出する  $\text{NO}_3^-$  の大部分は、有機体窒素から再生した  $\text{NO}_3^-$  ( $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$ ) で占められていることが明らかになった。

求めた全  $\text{NO}_3^-$  に占める  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  の混合比（平均 7.4 %）が、利尻島特有のものか、それとも一般的なものかを検証するため、市販のミネラルウォーターが、各地の地下水を密封・保存したものであることに着目して、世界各地のミネラルウォーターを集め、検証した (Nakagawa et al., 2013)。その結果、全  $\text{NO}_3^-$  に占める  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  の混合比は、最小値が 0 %、最大値は 18 % となり、平均は 3.1 % であった。また植生の少ない露岩域や乾燥地、高地などで涵養されたと思われる地下水で  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  が増大し、森林域で涵養されたと思われる地下水では  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  が減少する傾向が明らかになった。つまり、森林を中心とした陸上生態系は効率的に  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  を吸収しており、これを  $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$  に置換した上で、系外に排出していることが明らかになった。また、この結果は、森林域が何らかの理由で衰退すると  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  の吸収効率が低下することを示唆している。そこで、これを検証するために実施した Tsunogai et al. (2014) では、森林や下草の伐採に伴って、そこから流出する渓流水中の  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  が著しく増大することを確認した。つまり、森林域から流出する  $\text{NO}_3^-$  の  $\Delta^{17}\text{O}$  値を観測することで、流域の森林の「健全度」を評価することができることを示しており、既に本格的な活用が始まっている (Rose et al., 2015)。

### 3.4 水環境中の窒素循環速度定量への応用

最後に、 $\text{NO}_3^-$  の  $\Delta^{17}\text{O}$  値指標を、水環境中の窒素循環定量化へ応用した例について紹介する。簡単のため、最初に発表した湖沼の場合を例に示すが、海洋にも応用出来る。

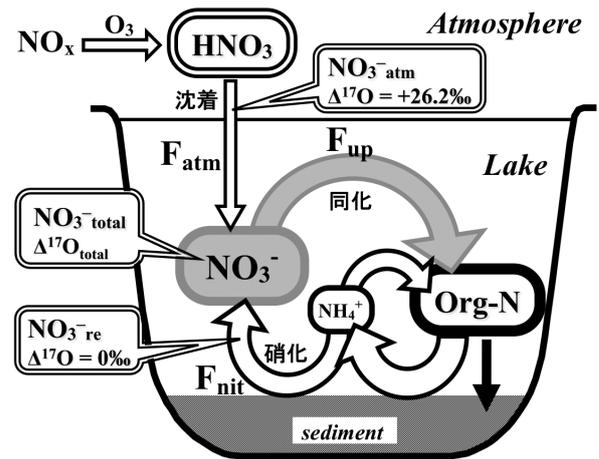


Fig. 8. 湖沼における  $\text{NO}_3^-$  を中心とした窒素循環系の模式図 (Tsunogai et al., 2011 を一部改変)。

Fig. 8 に湖沼（簡単のため、流入・流出河川による物質収支が無視出来るとする）における、 $\text{NO}_3^-$  を中心とした窒素循環系を模式的に示す。湖沼に溶存する  $\text{NO}_3^-$  の  $\Delta^{17}\text{O}$  値の平均値 ( $\Delta^{17}\text{O}_{\text{total}}$ ) は、この湖沼に対して大気沈着を経て供給される  $\text{NO}_3^-$  ( $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$ ) と、湖沼内部の硝化反応を経て供給される  $\text{NO}_3^-$  ( $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$ ) の供給速度比を反映するので、 $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  の沈着速度 (Fig. 8 中の  $F_{\text{atm}}$ ) を別法から求めることが出来れば、 $\text{NO}_3^-$  の  $\Delta^{17}\text{O}_{\text{total}}$  値から、湖内の総同化速度 (Fig. 8 中の  $F_{\text{up}}$ ) や総硝化速度 (Fig. 8 中の  $F_{\text{nit}}$ ) が定量化出来る。Tsunogai et al. (2011) はこのアイデアを実証するため、閉鎖的なカルデラ湖である北海道の摩周湖をフィールドに、 $\text{NO}_3^-$  の濃度と  $\Delta^{17}\text{O}$  値の鉛直分布を同一年に 2 度 (2007 年 6 月と 8 月) に渡って定量し、ここから湖内の  $F_{\text{up}}$  や  $F_{\text{nit}}$  を算出した。

まず湖水中の  $\text{NO}_3^-$  濃度とその  $\Delta^{17}\text{O}$  値の鉛直分布の観測から、湖水中の全  $\text{NO}_3^-$  量は観測インターバル間に 4.2 から 2.1 Mmol (Mmol =  $10^6$  mol) へと減少するが、 $\text{NO}_3^-$  の平均  $\Delta^{17}\text{O}$  値は、+2.5‰ で一定を保っていたことが明らかになった。これは、全溶存  $\text{NO}_3^-$  に占める  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  の混合比が、9.7 % でほぼ一定であったことを示している。

しかしこの約 2 ヶ月の観測インターバル間に、湖面への  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  の沈着量がゼロであったはずは無いので、全溶存  $\text{NO}_3^-$  に占める  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  の混合比がほぼ一定であったという観測結果は、この間の

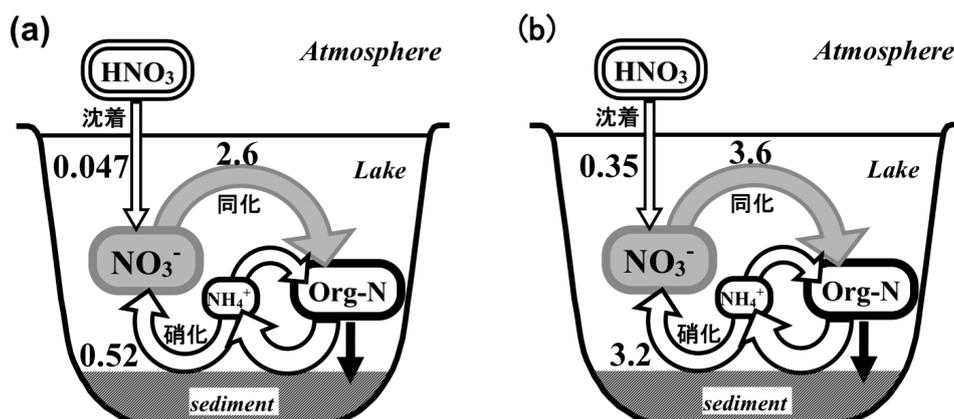


Fig. 9.  $\text{NO}_3^-$  の三酸素同位体異常を用いて推定された湖水中の  $\text{NO}_3^-$  を中心とした窒素循環量 (単位 Mmol) (Tsunogai et al., 2011 を一部改変). (a) は観測インターバル間 (= 夏季 2ヶ月間) のみの循環量を示し, (b) は 1 年間の循環量を示す.

$\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  の沈着量に見合うだけの  $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$  が湖水中に供給され, 結果的に全溶存  $\text{NO}_3^-$  に占める  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  混合比が一定に保たれていたことを示している. 実際, 8月の観測時の湖水中の鉛直分布を6月と比較すると, 表層では  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  が相対的に増大する一方, 深層では  $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$  が相対的に増大し, 整合的である. 観測インターバル間の2ヶ月間に湖面に沈着した  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  量の推定値 ( $F_{\text{atm}}$ ) は 0.047 Mmol 程度なので, 観測インターバル間の2ヶ月間に 0.52 Mmol の  $\text{NO}_3^-$  が硝化によって水中で再生 ( $F_{\text{nit}}$ ) する一方で, 同時に 2.6 Mmol の  $\text{NO}_3^-$  が同化で水中から除去 ( $F_{\text{up}}$ ) されていたことが明らかになった (Fig. 9 (a)). 一方, 観測インターバル間の2ヶ月間に全溶存  $\text{NO}_3^-$  に占める  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  混合比の有意な変化は見られなかったことから, 摩周湖では, 1年を通じて同じ  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  混合比と考えて良いだろう. そこで湖面への年間の  $\text{NO}_3^-_{\text{atm}}$  沈着量推定値 ( $F_{\text{atm}} = 0.35$  Mmol) をもとに, 定常状態を仮定して求めた年間の  $F_{\text{up}}$  と  $F_{\text{nit}}$  を Fig. 9 (b) に示した. 夏季2ヶ月の  $F_{\text{up}}$  (2.6 Mmol) と1年間の  $F_{\text{up}}$  (3.6 Mmol) を比較すると, 夏季2ヶ月だけで年間の7割以上の  $F_{\text{up}}$  (同化) が進行しており, 摩周湖における  $\text{NO}_3^-$  の同化は夏季に集中していることが明らかになった. また年間の  $F_{\text{up}}$  (同化) は, 6月時点で有光層内にあった総  $\text{NO}_3^-$  量とほぼ等しく, 有光層内の  $\text{NO}_3^-$  がほ

ぼ完全に除去されるまで同化が続き, それが枯渇した時点で同化が終了したと思われる. 一方, 夏季2ヶ月のみの  $F_{\text{nit}}$  (0.52 Mmol) と年間の  $F_{\text{nit}}$  (3.2 Mmol) を比較すると, 年間の  $F_{\text{nit}}$  (硝化) は, 夏季2ヶ月のちょうど6倍となっており, 硝化の方は, 季節によらず, 連続的に  $\text{NO}_3^-_{\text{re}}$  を湖水中に供給していることも明らかになった.

この Tsunogai et al. (2011) が提案した新手法は, 培養を利用しない点が従来法と大きく異なる. これまで  $F_{\text{up}}$  や  $F_{\text{nit}}$  は人工  $^{15}\text{N}$  トレーサーを用いた培養法で測定されてきたが, これは煩雑な作業を伴う. さらにこうして求められた  $F_{\text{up}}$  や  $F_{\text{nit}}$  は, 特定水塊における特定時期の瞬間値に過ぎないので, 対象とする湖沼全体の年間平均値が必要となる場合には, 観測点や深度や時刻や季節を変えた試料採取と培養, そしてその  $^{15}\text{N}$  移行速度定量作業を繰り返した上で, 得られた速度を平均化する必要があった. また, こうして得られた速度は, 容器への隔離に伴う物理・化学・生物環境変化とか, 逆反応の同時進行とかいった点に関して不正確であった. これに対して新手法は, 現存量を測定するのみで培養はしない. さらに観測の実施されていないインターバル間の情報が加味されることになるので, 従来法の問題点の大部分が解消される. 今後は, この  $\Delta^{17}\text{O}$  値を指標に用いて定量化される水環境中の  $F_{\text{up}}$  や  $F_{\text{nit}}$  が, 水環境の

変動・変化の鋭敏な指標として広く活用されることになることを期待している。

#### 4 おわりに

研究には流行りや廃りはあるが、炭素・酸素・水素・窒素・硫黄と言った軽元素（およびそれを含む分子）の起源の解明や挙動の定量化は、地球惑星科学や環境科学を中心とするあらゆる分野で、永遠に最重要の研究テーマとして君臨し続けるだろう。また、軽元素の安定同位体比指標は、このような研究を進める際に、最も有用な実測指標であり続けることも間違い無いと思っている。2012年に名古屋大学の大学院環境学研究科に移動し、新しい研究室を立ち上げたが、ここでは、これまで培って来た軽元素の安定同位体分析技術を軸に、これをさらに発展させる形で、「本質的欠陥」の無い新しい安定同位体地球化学の確立を目指して、研究と教育を進めている。

いわゆる理学部の化学教室から、地球惑星物質や自然環境物質の分析法開発を志向する研究室の多くが消滅し、その結果、筆者のように、化学出身で地球惑星科学や環境科学に携わる者（＝分析法開発に重点を置いて地球惑星科学分野や環境科学分野の研究に従事する者）は、今ではかなり少なくなってしまった。「nmol/LレベルのCH<sub>4</sub>の $\delta^{13}\text{C}$ 値が分析出来るようになった（＝高感度で分析が可能になった）」とか、「 $\delta^{18}\text{O}$ だけでなく $\delta^{17}\text{O}$ 値も分析出来るようになった（＝分析出来る項目が増えた）」とう結論だけを見ると、科学的にインパクトの小さい、枝葉末節の測定が可能になったという印象を与えてしまうからかも知れない。確かに、連続フロー型の質量分析計本体の基本的な構造は、従来の拡散導入型とほぼ同じで、分析技術的には、それほど大きな進歩は無かったとも言える。しかし拙稿で強調したいのは、分析技術の進歩は応用先分野における必要性・有用性こそが重要で、その方向性を間違えなければ地球惑星科学や環境科学等の応用先に全く新しい発展をもたらしている点である。徒労も多いこの裏方的

な努力の必要性や重要性が、拙稿を通じて僅かでも伝わると嬉しいです。

#### 5 謝辞

この度石橋賞を受賞するにあたって、ご推薦いただいた和田英太郎先生と、選考委員の皆様はじめ海洋化学研究所関係者の皆様に大変お世話になりました。海洋化学研究所のますますのご発展を祈念するとともに、深くお礼申し上げます。一連の研究成果は、そこに小職を導いて下さった先輩研究者の皆様の先見性と、多くの共同研究者の皆様の努力の賜です。また共同研究者の中でも、蒲生教授が北大から転出した後から、研究室の名大への移動と再立ち上げに至るまでの時期に、共に研究室を支え、共に名古屋大への移動に尽力して下さいました。中川書子博士（現、名古屋大学）や小松大祐博士（現、東海大）をはじめとした、スタッフや学生の皆様には特に感謝しております。この場をお借りして、深くお礼申し上げます。

#### 参考文献

- Arakawa, S., T. Sato, R. Sato, J. Zhang, T. Gamo, U. Tsunogai, A. Hirota, Y. Yoshida, R. Usami, F. Inagaki and C. Kato (2006) Molecular phylogenetic and chemical analyses of the microbial mats in deep-sea cold seep sediments at the northeastern Japan Sea. *Extremophiles* **10**, 311-319.
- Ashi, J., Segawa, J., Pichon, X. L., Lallemand, S., Kobayashi, K., Hattori, M., Mazzotti, S. and Aoike, K. (1996) Distribution of cold seepage at the Ryuyo Canyon off Tokai: The 1995 KAIKO-Tokai "Shinkai 2000" Dives. *JAMSTEC Journal of Deep Sea Research*, **12**, 159-166.
- Berner U. and Faber E. (1993) Light hydrocarbons in sediments of the Nankai accretionary prism (Leg 131, Site 808). In: *Proc. ODP, Sci. Results*, Vol. 131, pp. 185-

195. Ocean Drilling Program.
- Gamo T., Sakai H., Ishibashi J., Shitashima K., and Boulègue J. (1992) Methane, ethane and total inorganic carbon in fluid samples taken during the 1989 Kaiko-Nankai project. *Earth Planet. Sci. Lett.* **109**, 383-390.
- Igarashi, G., M. Kodera, M. Ozima, Y. Sano, H. Wakita, J. Boulègue (1987) Noble gas elemental and isotopic abundances in deep-sea trenches in the western Pacific. *Earth Planet. Sci. Lett.*, **86**, 1, 77-84.
- Inagaki, F., U. Tsunogai, M. Suzuki, A. Kosaka, H. Machiyama, K. Takai, T. Nunoura, K.H. Nealson, and K. Horikoshi (2004) Characterization of Cl-metabolizing Prokaryotic communities by pmoA, mmoX, mxaF, mcrA and 16S rRNA genes in methane seep habitats at the Kuroshima Knoll, the Southern Ryukyu Arc. *Applied and Environmental Microbiology* **70**, 7445-7455.
- Kaiser, J., Hastings, M. G., Houlton, B. Z., Röckmann, T., and Sigman, D. M. (2007) Triple oxygen isotope analysis of nitrate using the denitrifier method and thermal decomposition of N<sub>2</sub>O. *Anal. Chem.*, **79**, 599-607.
- Kawagucci, S., U. Tsunogai, S. Kudo, F. Nakagawa, H. Honda, S. Aoki, T. Nakazawa and T. Gamo (2005) An analytical system for determining  $\delta^{17}\text{O}$  in CO<sub>2</sub> using continuous flow-isotope ratio MS. *Anal. Chem.*, **77**, 4509-4514.
- Komatsu, D. D., Ishimura, T., Nakagawa, F., and Tsunogai, U. (2008) Determination of the <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N, <sup>17</sup>O/<sup>16</sup>O, and <sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O ratios of nitrous oxide by using continuous-flow isotope-ratio mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **22**, 1587-159.
- Kulm L. D., Suess E., Moore J. C., Carson B., Lewis B. T., Ritger S. D., Kadko D. C., Thornburg T. M., Embley R. W., Rugh W. D., Massoth G. J., Langseth M. G., Cochrane G. R., and Scamman R. L. (1986) Oregon subduction zone: venting, fauna, and carbonates. *Science* **231**, 561-566.
- Michalski, G., Scott, Z., Kabling, M., and Thiemens, M. H. (2003) First measurements and modeling of  $\Delta^{17}\text{O}$  in atmospheric nitrate. *Geophys. Res. Lett.*, **30**, doi:10.1029/2003GL017015.
- Miller, M. F. (2002) Isotopic fractionation and the quantification of <sup>17</sup>O anomalies in the oxygen three-isotope system: an appraisal and geochemical significance. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **66**, 1881-1889.
- Nakagawa, F., Suzuki, A., Daita, S., Ohyama, T., Komatsu, D. D., and Tsunogai, U. (2013) Tracing atmospheric nitrate in groundwater using triple oxygen isotopes: Evaluation based on bottled drinking water. *Biogeosciences*, **10**, 3547-3558.
- Nakagawa, T., K. Takai, Y. Suzuki, H. Hirayama, U. Konno, U. Tsunogai and K. Horikoshi (2005) Geomicrobiological exploration and characterization of a novel deep-sea hydrothermal system at the TOTO caldera in the Mariana Volcanic Arc. *Environ. Microbiol.* **8**, 37-49.
- Nishimura, R., U. Tsunogai, J. Ishibashi, H. Wakita and Y. Nojiri (1999) Origin of <sup>13</sup>C-enriched methane in the crater lake Towada, Japan. *Geochemical Journal* **33**, 277-283.
- Rose, L. A., E. M. Elliott, and M. B. Adams (2015), Triple Nitrate Isotopes Indicate Differing Nitrate Source Contributions to Streams Across a Nitrogen Saturation Gradient.

- Ecosystems*, **18**, 1209-1223.
- Takai, K., T. Gamo, U. Tsunogai, N. Nakayama, H. Hirayama, K. Nealson, and K. Horikoshi (2004) Evidence for a hydrogen-based hyperthermophilic subsurface lithoautotrophic microbial ecosystem (HyperSLiME) beneath an active deep-sea hydrothermal field. *Extremophiles* **8**, 269-282.
- Thiemens, M. H., Savarino, J., Farquhar, J., and Bao, H. (2001) Mass-Independent Isotopic Compositions in Terrestrial and Extraterrestrial Solids and Their Applications. *Acc. Chem. Res.*, **34**, 645-652.
- Tsunogai U., Ishibashi J., Wakita H., Gamo T., Watanabe K., Kajimura T., Kanayama S., and Sakai H. (1994) Peculiar features of Suiyo Seamount hydrothermal fluids, Izu-Bonin Arc: Differences from subaerial volcanism. *Earth Planet. Sci. Lett.* **126**, 289-301.
- Tsunogai U., Ishibashi J., Wakita H., Gamo T., Masuzawa T., Nakatsuka T., Nojiri Y., and Nakamura T. (1996) Fresh water seepage and pore water recycling on the seafloor: Sagami Trough Subduction Zone, Japan. *Earth Planet. Sci. Lett.* **138**, 157-168.
- Tsunogai, U., Yoshida, N., and Gamo, T. (1999) Carbon isotopic compositions of C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub> hydrocarbons and methyl chloride in urban, coastal and maritime atmosphere over western-North Pacific. *J. Geophys. Res.*, **104**, 16,033-016,039.
- Tsunogai, U., N. Yoshida, J. Ishibashi and T. Gamo (2000) Carbon isotopic distribution of methane in deep-sea hydrothermal plume, Myojin Knoll Caldera, Izu-Bonin arc: Implications for microbial methane oxidation in ocean and applications to heat flux estimation. *Geochim. Cosmochim. Acta* **64**, 2439-2452.
- 角皆潤 (2002) 超微量の炭素同位体比測定による海底熱水・冷湧水溶存気体に関する研究 (日本地球化学会奨励賞受賞記念論文). *地球化学*, **36**, 51-63.
- Tsunogai U., Yoshida N., and Gamo T. (2002) Carbon isotopic evidence of methane oxidation through sulfate reduction in sediment beneath seafloor cold seep vents on the seafloor at Nankai Trough. *Marine Geol.*, **187**, 145-160.
- 角皆潤 (2007) 同位体比測定 a, 第5版実験化学講座第20-2巻「環境化学」, 日本化学会編, pp. 256-265, 丸善.
- Tsunogai, U., T. Kido, A. Hirota, S.B. Ohkubo, D.D. Komatsu, F. Nakagawa (2008) Sensitive determinations of stable nitrogen isotopic composition of organic nitrogen through chemical conversion to N<sub>2</sub>O. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **22**, 345-354.
- Tsunogai, U., Komatsu, D. D., Daita, S., Kazemi, G. A., Nakagawa, F., Noguchi, I., and Zhang, J. (2010) Tracing the fate of atmospheric nitrate deposited onto a forest ecosystem in eastern Asia using  $\Delta^{17}\text{O}$ . *Atmos. Chem. Phys.*, **10**, 1809-1820.
- Tsunogai, U., Daita, S., Komatsu, D. D., Nakagawa, F., and Tanaka, A. (2011) Quantifying nitrate dynamics in an oligotrophic lake using  $\Delta^{17}\text{O}$ . *Biogeosciences*, **8**, 687-702.
- 角皆潤, 中川書子 (2014) 同位体環境科学第3講: 安定同位体比によるプロセス解析. *大気環境学会誌*, 第49巻, 第5号, A63-A72.
- Tsunogai, U., Komatsu, D. D., Ohyama, T., Suzuki, A., Nakagawa, F., Noguchi, I., Takagi, K., Nomura, M., Fukuzawa, K., and Shibata, H. (2014) Quantifying the effects of

clear-cutting and strip-cutting on nitrate dynamics in a forested watershed using triple oxygen isotopes as tracers. *Biogeosciences*, **11**, 5411-5424.

Tsunogai, U., T. Miyauchi, T. Ohyama, D.D. Komatsu, F. Nakagawa, Y. Obata, K. Sato, and T. Ohizumi (2016) Accurate and precise quantification of atmospheric nitrate in

streams draining land of various uses by using triple oxygen isotopes as tracers. *Biogeosciences*, **13**, 3441-3459.

角皆潤, 中川書子 (2016) 安定同位体組成を指標に用いた窒素酸化物の起源解析と窒素循環定量への応用. エアロゾル研究, 第 31 巻, 第 1 号, p. 5-14.