

# 水生パリノモルフの高分子を用いた有機地球化学的研究の可能性

○安藤 卓人 (島根大学・EsReC)・松岡 数充 (長崎大学)・

Karin Zonneveld (MARUM, Bremen Univ.)・Gerard Versteegh (Alfred-Wegener Institute)

New insight in organic geochemistry from macromolecules of aquatic palynomorphs.

○Takuto Ando (Estuary Research Center, Shimane Univ.), Kazumi Matsuoka (Nagasaki Univ.)

Karin Zonneveld (MARUM, Bremen Univ.)・Gerard Versteegh (Alfred-Wegener Institute)

堆積物・堆積岩中の有機物の大部分を占めるケロジェンのうち、形態から起源生物が特定可能な有機物 (Structural Organic Matter: SOM) は、パリノモルフ (palynomorph: 有機質微化石) と植物片などの有機物片からなるパリノデブリ (palynodebris) に区分できる。パリノモルフは抵抗性高分子から構成され、陸源パリノモルフとして花粉、孢子、菌糸などが、水生パリノモルフとしては、渦鞭毛藻シスト、繊毛虫シスト/ロリカ、有孔虫ライニング、プラシノ藻ファイコーマ、動物プランクトン休眠卵、緑藻・シアノバクテリア遺骸などがある。

花粉・孢子を構成する高分子はスポロポレニン (sporopollenin) とよばれ、代表格であるマツ科花粉については詳細な構造が明らかになっている (Li et al., 2019)。また、科ごとに異なった高分子組成であることが明らかになりつつある (Kendel and Zimmermann, 2020)。一方、水生パリノモルフは複数のタクサにまたがることもあり、詳細な検討があまり進んでいないが、アルジナン (algaenan) で構成される緑藻遺骸、ジノスポリン (dinosporin) で構成される渦鞭毛藻シストについては、熱分解分析や赤外分光分析が多くなされてきた (Versteegh and Blokker, 2004)。

渦鞭毛藻のうち、独立栄養種はセルロースに類似した高分子から構成される無色シストを、従属栄養種はキチン質の褐色シストを生活環の中で形成することが明らかになっている (Bogus et al., 2014)。しかし、これらの高分子構造がなぜ生態の違いによって異なるかはわかっていない。一方で、異なる堆積環境において同一種の渦鞭毛藻シストの高分子を測定し、続成過程における変成プロセスを理解する研究も行なわれつつある (Versteegh et al., 2020)。

発表者らは、大阪湾表層堆積物を用いて、これまで測定されてこなかった渦鞭毛藻 *Alexandrium catenella/pacificum* のシスト壁の赤外分光分析を行なった。*A.catenella/pacificum* シストは楕円形の無色シストであるが、スペクトルが他の無色シスト比べて、よりセルロースと類似していることがわかった。また、C-O 結合由来の  $1000-1200\text{cm}^{-1}$  の波数領域のピーク形状から、*A.catenella/pacificum* のシスト壁は分枝多糖を含む高分子で構成されている可能性が示された。

プレカンブリア時代の堆積岩中のアクリタークは、生命起源の研究の観点から、分光分析による検討が多くされている (e.g., El Albani et al., 2018)。アクリタークは、起源不明のパリノモルフの総称であり、定義上は現生種も存在する。近年、高分子分析と DNA 分析を組み合わせ、アクリタークに分類されていた *Halodinium verruatum*, *Hexasterias problematica* が繊毛虫由来のパリノモルフであることが明らかになった (Gurdebeke et al., 2018)。島根県・中海の堆積物中には、白亜系堆積岩中からも産する *Micrhystridium ariakense* が多産することが発表者らの研究で明らかになっている。DNA 分析と高分子分析を組み合わせることで起源生物の推定ができると期待される。

## 地衣類の生体試料における脂質分析:分子化石の可能性

○池田雅志・沢田健 (北海道大・理)・中村英人 (大阪市立大・理)

### Lipid analysis of biological lichen samples: Potential for molecular fossils

○Masashi A. Ikeda, Ken Sawada (Fac. Sci., Hokkaido Univ.), Hideto Nakamura (Osaka City Univ.)

【はじめに】コケ植物と共に先駆植物として挙げられる地衣類は分類学的には菌類に属し、栄養獲得形式として藻類と共生している特殊な菌類の生存形態とみなされている。この独特な生存戦略により、極域から熱帯域、砂漠から海岸までと幅広い環境での地衣類の繁茂を可能とし、現在では植生遷移や生態系において重要な役割を果たしていることが報告されている (e.g., Asplund and Wardle, 2017)。地衣類の出現年代は古いことが推察されている一方、化石記録の乏しさから地球史スケールでの地衣類の情報は断片的なものであった。近年、中性単糖類や分枝アルカンをバイオマーカーとして地衣類の寄与を推定する手法が試みられてきたが、その対象は近過去かつ特定の地域に限られた研究のみである。本研究では、より古い堆積層や指標性の高い地衣類バイオマーカー分子の探索を目的として、地衣類の生体試料の脂質成分を網羅的に分析した。

【試料と分析方法】試料には北海道および兵庫県で採取した 14 属 20 種の地衣類を用いた。凍結乾燥し、粉末にした各試料を有機溶媒で抽出し、シリカゲルカラムを用いて無極性～極性成分に分画・誘導体化して GC-MS および GC-FID を用いて分析した。また、不飽和炭化水素の構造決定にはジメチルジスルフィド (DMDS) 誘導体化法を用いた。

【結果と考察】地衣類試料からは炭素数  $C_{13}$  から  $C_{42}$  の  $n$ -アルカンが検出された他、diploptene や fernene 異性体が多くの試料から共通して検出された。一方、Huang et al. (2012) で地衣類バイオマーカーとして提唱された長鎖の分枝アルカン (3-methyl alkane) は一部の地衣類から微量のみ検出される結果となった。また、本研究では複数のアルケンが主要成分として検出された。特に多くの試料から  $C_{17}$  の 2 不飽和アルカジエン ( $n$ - $C_{17:2}$ ) が顕著に検出された。*Cladonia* 属と *Stereocaulon* 属を除く *Lecanorales*, *Teloschistales* および *Caliciales* 目に属する 9 属 11 種は heptadeca-1,8-diene が共通して検出され、*Cladonia* 属、*Stereocaulon* 属および *Lobaria* 属の 3 属 6 種は heptadeca-6,9-diene が検出された。これらの地衣類は緑藻と共生し、前者に含まれる *Ramalina* 属の一部および *Parmotrema* 属と *Xanthoria* 属は概して共生藻として *Trebouxia* 属を持ち、後者に含まれる *Cladonia* 属と *Stereocaulon* 属の多くは *Asterochloris* 属を共生藻として持つことが報告されている (Casano et al., 2011; Moya et al., 2015 など)。また、共生藻としてシアノバクテリア (*Nostoc* 属)を持つ *Collema* 属と *Peltigera* 属の 3 種は  $n$ - $C_{17:2}$  アルケンが検出されず、1-octadecene や 5-nonadecene が顕著に検出された。これらの結果から、地衣類のアルケン組成は共生藻の種に大きく影響を受けていることが推察された。現在報告されている地衣類の約 85% が緑藻を共生藻として持ち、その大部分が陸域環境ではほとんどが地衣類との共生状態でのみ報告されている *Trebouxia* 属と *Asterochloris* 属に属することから、特に heptadeca-1,8-diene と heptadeca-6,9-diene は地衣類バイオマーカーとして利用できる可能性がある。本講演ではこれらアルケンの他に、極性成分として検出されたアントラキノン類も含めて地質時代に適用可能な地衣類バイオマーカーの可能性を議論する。

## 風連湖の堆積有機物におけるアマモの寄与

○水野裕希子<sup>1</sup>・中國正寿<sup>1</sup>・山本修一<sup>1</sup>・渡辺謙太<sup>2</sup>・桑江朝比呂<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>創価大学, <sup>2</sup>港湾空港技術研究所)

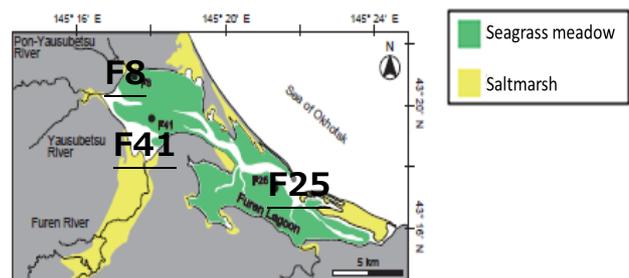
### Contribution of seagrass to sedimentary organic matter in Furen Lagoon.

○Y. Mizuno<sup>1</sup>, M. Nakakuni<sup>1</sup>, S. Yamamoto<sup>1</sup>, K. Watanabe<sup>2</sup>, T. Kuwae<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Soka Univ., <sup>2</sup>Port and Airport Research Institute)

沿岸生態系のなかで特にアマモなどの海草が繁茂する藻場では、CO<sub>2</sub> 放出よりも CO<sub>2</sub> 吸収が上回るため、CO<sub>2</sub> 吸収の場として注目されている[1]。そのため、沿岸生態系の保護や修復は気候変動を軽減するため重要であると考えられている。このような浅瀬の沿岸生態系では、複数の供給源からの有機炭素の一次産生と埋蔵率が高くなるが、それら有機炭素の動態と炭素貯留との関連性については十分に理解されていなかった。これに対し、Watanabe et al. (2015) [2]は、風連湖の水柱や堆積物中の懸濁態有機物と溶存有機物の起源(陸上由来、植物プランクトン由来、植物プランクトン由来)を元素・同位体比・光学的指標を用いて調査し、複数の供給源からの有機物が堆積物への貯留にどのように寄与しているかを調べた。この結果、湖内の有機物は、浅海沿岸の生態系が陸と海の間移行域としての役割を持つことを見出した。さらに、同湖内から得られた堆積物コアを用いて、それらの植生は、海水準の変動に伴い大きく変化し得る可能性があることを示唆している[3]。しかし、これらの結果は、バルク組成(i.e., 元素、同位体比、および光学的指標)を用いて、陸起源の植物、海草および藻類の寄与率を求めているが、これらの指標のみでは、詳細な植生解析は難しい。そこで、本研究では、風連湖の堆積物中の有機化合物の詳細な解析を行い、植生変化の解析を行った。

風連湖は北海道の道東に位置する汽水湖(塩分 1–30 ‰)で、平均水深 1 m、湖面積の約 70%はアマモ (*Zostera marina*) で覆われている。用いた試料は、図に示した F8、F41、および F25 の 3 地点において採取されたいずれも約 2 m の堆積物試料である。有機物分析は水酸化テトラメチルアンモニウム試薬 (TMAH) を用いた熱化学分解法による。発表では、風連湖堆積物中の詳細な有機組成の解析結果と炭素同位体比 ( $\delta^{13}\text{C}$ ) のデータと組み合わせて、堆積有機物におけるアマモの寄与率の変化についての結果も述べる。



[1] Tokoro, T. et al. (2014). Net uptake of atmospheric CO<sub>2</sub> by coastal submerged aquatic vegetation. *Global Change Biology*, 20, 1873-1884. [2] Watanabe, K., Kuwae, T., 2015. How organic carbon derived from multiple sources contributes to carbon sequestration processes in a shallow coastal system? *Global Change Biology* 21, 2612–2623. [3] Watanabe, K. et al. (2018). Relative sea-level change regulates organic carbon accumulation in coastal habitats. *Global Change Biology*, 25, 1063-1077.

# 津軽海峡および十勝沖における海洋表層の懸濁粒子の藻類バイオマーカー分析 ：古環境指標の検討

○鈴木朝子・沢田健（北海道大学・理）・桑田晃・奥西武（水産機構・資源研）

**Algal biomarker analysis of suspended particulate matter in sea surface waters  
from the Tsugaru Strait and North Pacific off the Tokachi area of Hokkaido, Japan  
： Examination for paleoenvironmental indicators**

○Asako Suzuki, Ken Sawada (Fac. Of Science, Hokkaido Univ.),  
Akira Kuwata, Takeshi Okunishi (National Fisheries Research Institute)

## 【はじめに】

海底堆積物中の長鎖アルケノンなどの藻類に由来するバイオマーカーは、古環境解析において広く使用される。近年、藻類バイオマーカーの一つである長鎖アルキルジオール（ジオール）は、長鎖アルケノンに続く古水温指標 (Rampen et al., 2012) としてのみならず、湧昇強度 (栄養塩状態; Rampen et al., 2007, 2008) や河川水流入の指標 (Lattaud et al., 2017) など、様々な古環境指標として注目されている。しかし、その起源となる藻種に関しては未だ不明であり、また、これまで大西洋やインド洋における研究例があるが、太平洋域ではほとんど報告例がない。そのため、ジオール指標が日本近海など北太平洋域の堆積物からの古環境復元に適用できるかについては検討が必要である。そこで、本研究では、日本近海の海洋表層から採取した懸濁粒子において藻類バイオマーカー分析を行い、栄養塩などの観測データと比較しながら、ジオール指標の適用性・信頼性を検討した。また、ジオールに加えてその他の藻類バイオマーカーの分析から、海洋表層における起源藻類の分布や生産などを評価することを試みた。

## 【試料と方法】

本研究では、東北区水産研究所主導で 2019 年 9 月に実施された若鷹丸の調査航海 (WK1909 航海) において、津軽海峡および十勝沖で採取した海水中の懸濁粒子試料を分析した。津軽海峡では津軽半島沖 (MO3b) と下北半島沖 (HO3) の 2 サイト、また十勝沖でも 1 サイト (L14) において海洋表層の複数の水深における採水を行った。さらに、十勝沖では海岸に沿ったトランセクトにおいて河口に近いサイトから離れたサイトにかけて採水した。採水した海水を GF/F で濾過し、懸濁粒子を回収した。その試料を有機溶媒で抽出し、シリカゲルクロマトグラフィーによって分画した無極性～極性成分を GC-MS 測定し、ケトン・エステル画分については GC-FID 測定を行った。

## 【結果と考察】

ジオールにおいて、津軽海峡エリアでは C<sub>30</sub> 1, 15-ジオールが比較的多量に検出されたが、十勝沖ではジオール全般が微量であった。その中でも C<sub>32</sub> 1, 15-ジオールは十勝川河口に近いサイトで相対的に割合が大きくなる傾向を示した。これは、de Bar et al. (2016) で報告されているように C<sub>32</sub> 1, 15-ジオールが河川水流入の指標として適用できることを示していると考えられる。また、1, 14 ジオールは珪藻 *Proboacia* 属が主な起源種であることがわかっているが、同海水における珪藻群集解析で *P.alata* が確認された L14 サイトでその濃度が高くなることがわかった。ジオール濃度は HO3 では水深 0m、MO3b と L14 では水深 10～20m で最大であり、主に有光層の浅い水深において起源種が生産されていることが推察される。古水温指標である Long-chain Diol Index (LDI) のデータは観測水温とよく相関する結果が得られた (相関係数 0.66)。一方、*Proboacia* 属が作る 1, 14-ジオールの相対比で、湧昇または高栄養塩の指標とされている Diol Index (Willmott et al., 2020) は、本研究では実際の栄養塩濃度の挙動とほとんど相関がなかった。長鎖アルケノンの古水温指標である U<sub>K37</sub> から復元した水温は、ほとんどの試料において、実際に観測された水温よりも低い値を示したが、相関はある程度見られた (相関係数 0.58)。以上の結果から、ジオールは水温換算および河川水流入の指標としては本研究の調査海域でも適用され得ることが確認できたが、栄養塩指標の適用性は、海域によって限定される可能性が示された。

## 南大洋域の表層水中有機物の組成と分布

○山崎嘉美・中國正寿・竹原景子・山本修一（創価大学・理工学）

### Composition and distributions of organic matters in surface waters from Antarctic ocean

○Y. Yamasaki, M. Nakakuni, K. Takehara, S. Yamamoto (Soka Univ.)

南大洋（南極海）は、南極大陸を中心に周囲を同心円状に取り囲む海域であり、熱と二酸化炭素等の巨大な貯蓄源となっている。そのため、南大洋における南極周極流や表層水温、塩分の分布は、南大洋における熱塩循環や氷床分布に影響を与え、地球レベルの気候システムに重要な役割を果たしていると考えられている（Sigman et al., 2004）。南大洋の表層海水は、緯度方向に複数の前線で区切られており、南極側から、南極前線（南緯 50–55°）、亜南極前線（南緯 48–58°）、亜熱帯前線（南緯 40–45°）と並んでいる。これらの前線は、主に水温と塩分勾配によって特徴づけられ、それぞれの水塊に生息する動物・植物プランクトン群衆が異なることが報告されている（Orsi et al., 1995; Pollard et al., 2002; Whitworth and Nowlin., 1987; Cheah et al., 2017; Puigcorbe et al., 2017）。近年、地球温暖化に伴い、南極周極流が、暖水化・低塩化していることが確認されており、前線と南極周極流が極側に南下していることが示唆されている（Gille, 2008; Aoki et al., 2003）。このような前線を含む南極周極流の変動は、今後、海流変動を起点とした地球レベルの気候変動をもたらすことが懸念されており、これまでの気候変動に伴う前線変動の復元が求められている。過去の前線変動復元のためのトレーサーの検出には、現在の前線ごとの特徴的な化合物の組成情報を把握する必要がある。しかしながら、現在の南大洋域における生物由来有機化合物の組成や分布は、ほとんど把握されていない。そこで、本研究では、古環境解析のための有機物トレーサーを見つけるべく、現在の南大洋における各水塊中の有機物の組成と特徴を把握する。

本研究では、南大洋域の各水塊の有機物組成の特徴を調べるために、懸濁態有機物（POM）と溶解態有機物（DOM）を分析する。POM は、堆積物中有機物の主要な構成要素のひとつで、水域によってその濃度は異なるが、陸上植物や植物プランクトン由来の有機物によって構成されている。DOM は水圏生物の分解生成物や、それらがさらに光分解やバクテリアによる分解などを経た有機物によって構成されている。南大洋の場合、前線ごとで生息する動物・植物プランクトンや水質が異なるため、海水中の POM と DOM の有機物組成は、それぞれの前線で異なると期待される。

POM 試料は、2019 年 1 月に行われた南大洋航海 KH-19-1 にて、表層 3 m から採水された約 20–60 L の水を GF/F にてろ過して得られた。DOM 試料は、GF/F フィルターでろ過した海水に塩酸を加え pH 2 にした後、DAX8 樹脂に吸着し、メタノールで溶離した。この航海で、異なった緯度・経度において POM は合計 37 地点、DOM は合計 14 地点の試料を採取した。有機物分析は TMAH-GC-MS 法を用いた。本発表では、分析された有機物の組成とその分布について発表する。

# 北海道むかわ地域二風谷層の珪質泥岩中の炭酸塩コンクリーションの 有機地球化学的研究

○朝日啓泰・沢田健（北海道大・理）

Organic geochemical analysis of carbonate concretion in the Nibutani Formation (Mukawa, Hokkaido, Japan)

○Hiroyasu Asahi, Ken Sawada, (Faculty of Science, Hokkaido University)

【はじめに】演者らは、北海道むかわ町穂別地域に分布する中期中新統二風谷層の最下部付近から、珪質泥岩に挟まる炭酸塩コンクリーションを発見した。炭酸塩コンクリーションには堆積および続成作用で形成されるものとメタン由来の自生炭酸塩岩がある。これまで日本では中新世に形成された自生炭酸塩岩は複数例が報告されており（Maeyama et al., 2020；石村ほか, 2005）、いずれもメタン菌由来バイオマーカーや非常に低い炭素同位体比を示すことから、地下からメタンに富む流体が上昇した際に微生物が行う嫌氣的メタン酸化（AOM）によって形成されたと解釈されている。本研究では二風谷層で得られた炭酸塩コンクリーションと泥岩試料のバイオマーカー分析を行い、炭酸塩コンクリーションの成因と当時の堆積環境との関係性を検討する。

【試料と方法】北海道中央南部むかわ町穂別地域には中期～後期中新世にかけて日高海盆に堆積した砂泥互層が広く分布している。調査地域のホロカンベ沢は細粒砂泥互層から構成される二風谷層が露出しており、放散虫の分析から、堆積年代は 12.5 - 9.7Ma、堆積水深は数 100m 以深と推定されている（本山・川村, 2009）。炭酸塩コンクリーションは珪質泥岩に挟在しており、下部に層厚 20cm の炭酸塩コンクリーション、上部に層厚約 90cm の砂質泥岩が堆積する。二風谷層の炭酸塩コンクリーションは上田（2005）で示された五浦海岸の自生炭酸塩岩のうち、塊状不定形型と類似した形態を持つ。バイオマーカー分析は有機溶媒で抽出した後にシリカゲルで分画し、GC/MS 測定した。

【結果と考察】炭酸塩コンクリーションでは PMI やスクアラン、イソプレノイドケトンなどの複数のメタン菌由来成分が主に検出され、PMI/C<sub>27</sub>ステラン値はとても高い値を示し、メタン菌の寄与が高いことが推察される。ただし、二風谷層のすべての試料においても、PMI やスクアランが有意に高い濃度で検出される。このことは、日高堆積盆ではメタン菌が中期中新世を通じて活発に活動し、炭酸塩コンクリーション形成に深く関わっていたと考えられる。プリスタン/フィタン（Pr/Ph）比は、二風谷層を通して 0.6 ほどでほぼ一定した値を示し、持続的に貧酸素環境が広がっていたと考えられる。さらに、炭酸塩コンクリーションにおける Pr/Ph 比が 0.05 と極端に低い値を示した。これはメタン菌由来の C<sub>40</sub> ビフィタンの分解により生成するフィタンが大きく寄与している可能性があり、堆積当時の底層環境というより埋没後の堆積層中の酸化還元条件を反映していると考えられる。二風谷層の C<sub>27</sub>/C<sub>29</sub>ステラン比や珪藻バイオマーカーである高分枝鎖イソプレノイド（HBI）の濃度は比較的高く、半遠洋的な環境下で高い生物生産を示す。一方で、ジテルペノイドや *des-A* トリテルペノイドなどの陸上植物由来バイオマーカーも主要成分として検出されており、陸源有機物が海盆の深海底へ活発に輸送されていたことが推測できる。陸域と海洋表層の双方からの活発な有機物供給は微生物分解による溶存酸素の消費を促進し、AOM が起こるような貧酸素環境を形成したと考えられる。したがって、日高海盆（堆積盆）では中期中新世を通して多量の有機物供給が持続し、自生炭酸塩岩が形成される条件が整っていたと推測される。

# 先史時代人骨の化合物レベル同位体分析により古代文明以前の社会を探る

○板橋悠（筑波大・人社）

## Compound-specific isotopic analysis for prehistoric human skeletons to reveal the prehistoric societies.

○Yu Itahashi (Fac. Hum. Soc. Sci., Univ. Tsukuba)

### 【序論】

歴史研究において、遺跡から発掘された古人骨中の全窒素・炭素同位体分析による食性復元は普及した手法となっている。同じ遺跡から出土した家畜などの植物食動物骨と人骨の窒素同位体比の差に基づいて、ヒトの肉食率の推定が試みられている。この際に用いる食物と捕食者間の窒素の同位体分別 ( $\Delta^{15}\text{N}_{\text{diet-body}}$ ) は、+3~5 ‰が採用されることが多い (Hedges and Reynard 2007)。

近年、化合物レベル (アミノ酸) の窒素同位体分析による栄養段階の復元が開発され、歴史研究への応用も始まっている。この手法では、グルタミン酸 (Glu) と (Phe) フェニルアラニンの差 ( $\Delta^{15}\text{N}_{\text{Glu-Phe}}$ ) を利用して、栄養段階を推定する。また陸上の一次生産者である  $\text{C}_3$  植物 ( $-8.4 \pm 1.6$  ‰)、 $\text{C}_4$  植物 ( $0.4 \pm 1.7$  ‰)、水界の一次生産者 ( $3.4 \pm 0.9$  ‰) の間で  $\Delta^{15}\text{N}_{\text{Glu-Phe}}$  に違いがあることが報告されており (Chikaraishi et al. 2010)、ヒトのように異なる生態系の動植物を混合して消費する生物では  $\Delta^{15}\text{N}_{\text{Glu-Phe}}$  が寄与した食物を特定する情報となる。

### 【研究の背景】

中央アジアの初期遊牧民 (紀元前 1000 年~) は、従来の考古学・歴史学の議論では家畜のミルクや肉に頼った生活をしていると考えられてきた。しかし、古人骨の全窒素同位体分析によりヒト (約 14 ‰) が陸上植物食動物 (約 8 ‰) よりも非常に高い値を持つことが明らかにされ、遊牧民は家畜だけでなく窒素同位体比がより高い水産資源を食べていた可能性が提示された (O'Connell et al. 2003 など)。また一部の集団は全炭素同位体比が高く、アワなどの  $\text{C}_4$  植物を消費していたことも明らかとなった (Ananyevskaya et al., 2018 など)。

### 【研究の目的】

アミノ酸の窒素同位体分析によって中央アジアの遊牧民の様な複雑な食物利用を行う生物の食性復元を行うためには、 $\text{C}_3$  植物・ $\text{C}_4$  植物や水界生態系が混合した条件での栄養段階を推定する必要がある。そのために、本研究ではヒトが利用する食物 (穀物種子や家畜動物骨、魚骨) でアミノ酸の窒素同位体分析を行い、その結果に基づいて中央アジア遊牧民の食性の再検証を行った。

### 【結果】

本研究で分析された  $\text{C}_4$  植物可食部の  $\Delta^{15}\text{N}_{\text{Glu-Phe}}$  ( $-5.8 \pm 1.6$  ‰) は、Chikaraishi et al. (2010) ( $0.4 \pm 1.7$  ‰) とは異なる傾向を示した。また現代や遺跡出土の  $\text{C}_4$  植物食哺乳類の  $\Delta^{15}\text{N}_{\text{Glu-Phe}}$  は約 -1 ‰で、 $\text{C}_3$  植物食動物の理論値 ( $-0.8$  ‰) と差が認められなかった。したがって  $\text{C}_4$  植物生態系の動物やアワを食べたヒトも、 $\text{C}_3$  植物生態系と同様の計算式で栄養段階を推定できる可能性がある。

また、陸上植物食動物よりも非常に高い全窒素同位体比を持つことから水産資源の利用が示唆されていた中央アジアの初期遊牧民は、アミノ酸の窒素同位体分析では水産資源の寄与が認められなかった。 $\text{C}_3$  植物生態系の計算式では栄養段階が 2.5~2.7 と推定され、全窒素同位体比からの推定よりも植物の寄与が大きいことが示された。草原環境下での特殊な代謝などの理由によりヒトの  $\Delta^{15}\text{N}_{\text{diet-body}}$  が大きくなっており、遊牧民の全窒素同位体比の上昇を引き起こした可能性がある。

## 水酸化トリメチルスルホニウム試薬を用いた多不飽和脂肪酸分析法の検討

○吉武野々花・中國正寿・山本修一（創価大学）

### Analyses of polyunsaturated fatty acids by off-line TMSH method using trimethylsulfonium hydroxide.

○N. Yoshitake, M. Nakakuni, S. Yamamoto (Soka Univ.)

脂肪酸は生体内の膜脂質，ワックス成分，貯蔵性エネルギー源として主要な有機物である。なかでも多不飽和脂肪酸は特定の生物に多く含まれることから，地球化学的には重要なバイオマーカーになっている。脂肪酸の GC あるいは GC-MS 分析においては，従来の溶媒抽出法では基本的に抽出，加水分解および誘導体化等のいくつかの過程からなる。そのための試薬としては，抽出のための有機溶媒，加水分解のための塩酸や硫酸の酸溶液あるいは水酸化カリウムなどの塩基溶液が用いられ，さらに誘導体化過程としてトリメチルシリル(TMS)化試薬による TMS 化やトランスメチレーションする三フッ化ホウ素(BF<sub>3</sub>)によるメチル誘導体化が必要である。この溶媒抽出法は脂肪酸分析の定評のある主要な方法であるが，多くの試薬の使用と廃液処理，また分析までの前処理工程が多く，サンプル処理に 1 試料当たり数時間を必要とする。

TMSH（水酸化トリメチルスルホニル）試薬を用いた熱化学分解法は，エステルの加水分解とメチル誘導体化を同時に行うことができるため，少ない工程で多不飽和脂肪酸を含む脂肪酸の分析が可能である[1-3]。その前処理に必要とする時間は，1 試料 1 時間程度で，従来法と比較し，分析時間の大幅な短縮が可能となる。TMSH と並んで，一般的に用いられている熱化学分解試薬に水酸化テトラメチルアンモニウム (TMAH) があるが，これは多不飽和脂肪酸では異性化や分解が起こることから，多不飽和脂肪酸の分析には適さないことが明らかになっている[3]。一方，TMSH 試薬による脂肪酸の分析は，EPA や DHA をほとんど異性化なく分析することが可能である[3]。

TMSH 試薬を用いた分析法では，これまでパイロライザーを GC や GC-MS に直結した(on-line 法)を用いて行われてきた[1-4]。しかしながら，on-line 法では使用できる試料量が少なく，そのため有機物量の少ない試料には不向きであり，またパイロライザーを常設する必要性から利便性が失われる。そこで，本研究では TMSH 反応における加熱処理を online ではなく，真空下のガラスサンプル管内で加熱反応させる手法 (off-line TMSH 法) を検討した。検討項目としては，試薬量，加熱温度および加熱時間の反応条件であり，さらにその条件を用いた応用例を示す。

[1] Ishida et al. (1999) J. Anal. Appl. Pyrol. 49, 267-276.

[2] Nakanishi et al. (2003) J. Anal. Appl. Pyrol. 68/69, 187.

[3] Ishida et al. (2009) J. Chromatogr. A, 1216, 3296-3299.

[4] Gómez-Brandón et al. (2010) Bioresource technology 101, 1348-1354.

## 第四紀植物化石の TMAH および HMDS を用いた熱化学分解分析

○中村仁哉・沢田健（北海道大学・理）・塚腰実（大阪市立自然史博物館）

### Thermochemolysis using TMAH and HMDS of Quaternary plant fossils.

○Jinya Nakamura, Ken Sawada (Fac. Sci., Hokkaido Univ.), Minoru Tsukagoshi (Osaka Museum of Natural History)

【はじめに】陸上植物は植物体の物理的強度の付与や外的要因に対する防御のためにリグニンやクチンといった抵抗性高分子を発達させるが、これは微生物分解や続成作用にも抵抗性を持ちよく保存されるため、植物化石や堆積物中の植物由来有機物を構成する主要部を成すと考えられている。そのような地質試料中の抵抗性高分子を分析する際に、熱分解 Pyrolysis や熱化学分解分析 Thermochemolysis が有効な方法であり、広く応用されている。特にリグニンの分析として、メチル化剤を誘導体化試薬とした熱化学分解が一般的に用いられる。しかし、生成物のメトキシ基がメチル化によって生成されたものか元々高分子構造として存在するのかの区別ができないという問題などがある。一方、シリル化剤も一部の熱化学分解分析で用いられているが、植物高分子の分析結果を比較した研究はほとんどない。そこで本研究では、未熟成の植物化石に対してメチル化剤とシリル化剤を用いた熱化学分解分析を行い、化学分類や続成過程の研究への応用を検討した。

【試料と方法】本研究では兵庫県西宮市広田山の大阪層群で採取された 40 万年前の虫こぶ化石 (Tsukagoshi et al., 2019) と、化石と種類を同じくする現生種の虫こぶを試料として用いた。虫こぶは寄生生物の影響により宿主植物体で特異的な形態で形成されるものであり、没食子酸 (3 つの OH 基をもつ芳香族カルボン酸) を主成分に持つ特徴がある。また、滋賀県湖南市にある野洲川化石林 (古琵琶湖層群; 約 270 万年前) から採取された樹幹化石も用いた。遊離態成分を有機溶媒で抽出除去した試料にメチル化剤およびシリル化剤として Tetramethylammonium hydroxide (TMAH) と Hexamethyldisilazane (HMDS) を各々添加し、Curie point pyrolyzer を搭載した GC-MS を用いて 590°C の熱分解温度で分析した。

【結果と考察】虫こぶ化石において、TMAH 熱化学分解により被子植物のリグニン由来とされる成分 S が顕著に得られた。一方、HMDS 熱化学分解においてはシリル化した成分 S (成分 SS) が得られるとともに、脱炭酸し側鎖がすべてシリル化したような成分 G が得られた (Fig. 1)。現生種の虫こぶにおいては、TMAH 熱化学分解では化石の結果と同様の傾向が見られ、HMDS 熱化学分解では成分 G が特に顕著に得られた。TMAH 熱化学分解では没食子酸型とシリルフェノール型の区別ができず、HMDS 熱化学分解と併せて分析を行うことで識別できるようになった。また樹幹化石においては、両方の熱化学分解でリグニンに普遍的に見られるバニルフェノール型のユニットが主として得られるほか、成分 G も得られた。化石・現生種の虫こぶの結果から、特に現生種の成分 G は没食子酸の脱炭酸によって得られたように思えるが、高等植物の高分子にもこれが含まれており、タンニン様の構造が化石リグニンの構成要素として普遍的に存在している可能性も示唆される。

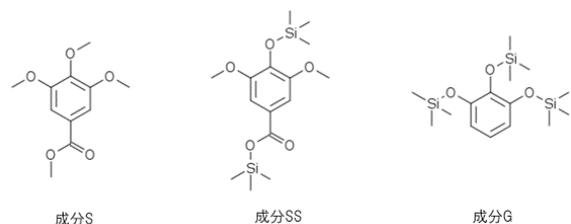


Fig. 1 熱化学分解で得られた特徴的な成分

## Horizontal variability in biomarker compositions of turbiditic sequences in the Miocene Kawabata Formation (Hokkaido, Japan)

○Muhammad Adam bin Ismail, Ken Sawada (Faculty of Science, Hokkaido University)

Kawabata Formation distributed in Yubari area, central Hokkaido, is formed by basin-filled and slope-apron turbidite systems with sandstones and mudstones of turbiditic sequences. Distinctive plant-fragment concentrated (PFC) sandstones were discovered and their sedimentological and biomarker analyses suggests that these sediments were deposited by hyperpycnal flow (Furota et al., 2014; 2020). In the present study, we conducted biomarker analysis on the sandstones, mudstones and PFC-sandstones in three different sets of samples taken from the same horizons at 15 m – 20 m apart to evaluate the sedimentological processes and to compare with the PFC-sandstones in hyperpycnite.

The sandstones and mudstones analyzed were collected from the outcrops of the Takinoue Park, Yubari, Hokkaido. For the biomarker analysis, lipids were extracted with dichloromethane/methanol, and separated to aliphatic, aromatic and polar fractions. These lipids were identified and quantified by GC-MS.

Three sets of samples were taken from the same 145cm thick profile and were classified as turbidites with the Bouma sequences. The sandstones range from a thickness of 7cm to 60cm and are classified as Ta, Tb and Tc, while Te mudstones (some with sandy intercalations) are about 12.5 cm thick. PFC-sandstone layers are found in Tc sandstones or as hyperpycnite.

The *n*-alkane concentrations in the turbiditic sequence are of minimal values in the Ta units. The concentrations increase in Tb and Tc, and then decrease in Te units. This trend is also shown in variations in the concentrations of plant-derived terpenoids. The *n*-alkane concentrations are lower than the turbiditic sandstone units than the mudstone units. Pristane / phytane (Pr/Ph) ratios range from 1.38 to 5.69, with lower values in mudstone and higher values in PFC-sandstones. This indicates nearly anoxic to highly oxic environments respectively. Low concentrations of higher branched isoprenoid (HBI) alkane were found in most of sediments. Steranes for  $C_{27}/(C_{27}+C_{29})$  ratios range from 0.03 to 0.52, with lower values (higher terrigenous matter content) reported in PFC-sandstones. Triterpenoids such as lupane and oleanane (derived from angiosperms) were found in all layers. However, PFC-sandstones contain a remarkably higher concentration of the triterpenoids, including A-ring degraded triterpenoid (*des*-A triterpenoids), as well as monoaromatic and diaromatic *des*-A triterpenoids. The *des*-A triterpenoids are thought to be generated by microbial degradation during early diagenesis. The *des*-A triterpenoid compositions are also nearly constant as are the results of diterpenoids and non-degraded triterpenoids. However, the ratios of *des*-A triterpenoid/pentacyclic (non-degraded) triterpenoid are higher in PFC-sandstones than mudstones. Furota et al. (2014) reported that the *des*-A/pentacyclic triterpenoid ratios in sandstone units were clearly lower than mudstone units in the hyperpycnite, suggesting that more fresh terrigenous organic matter was rapidly transported by the hyperpycnal flow. Our results imply that the organic matter in the current study is mostly of terrestrial origin and rapidly transported by an efficient delivering system.

## 北海道白亜系堆積岩の花粉・パリノモルフおよびバイオマーカー分析による古植生復元

○早川 万穂・池田 雅志・沢田 健(北海道大・理)・高嶋 礼詩(東北大)・西 弘嗣(福井県立大)

Reconstruction of palaeovegetation by pollen, palynomorph and biomarker analyses in the Cretaceous sedimentary rocks from Hokkaido, Japan

Maho Hayakawa, Masashi Ikeda, Ken Sawada (Fac. Sci., Hokkaido Univ.), Reishi Takashima (Tohoku Univ.), Hiroshi Nishi (Fukui Prefectural Univ.)

【はじめに】地質時代スケールの古植生を復元する手法として大～小型植物化石が用いられるが、その産出はかなり限られている。また、中生代などでは花粉化石を古植生復元のために使うことができるが、第四紀など近過去に比べると産出する個数・多様性がかなり乏しい。近年、植物由来の分子化石(バイオマーカー)が中生代のような古代堆積物に対しても新しい古植生指標として応用されるようになってきた。しかし、バイオマーカーで推定される古植生データが本当に当時の植生を反映したものなのか、その信頼性を検討した研究は行われていない。そこで本研究では、白亜紀の堆積岩を対象に、同じ試料において顕微鏡観察による花粉および有機質微化石(パリノモルフ)分析と植物由来バイオマーカー分析を行い、それらから推定される古植生データを直接比較し、各々の古植生指標の適用性・信頼性を検討した。

【試料と方法】本研究では、北海道苫前地域古丹別川に分布する上部白亜系蝦夷層群・羽幌川層の Coniacian–Santonian 堆積岩(古丹別試料)と、北海道東部茂川流布川に分布する根室層群・活平層の白亜紀-古第三紀境界層と考えられている境界粘土層を含む Maastrichtian–Danian 堆積岩(川流布試料)を用いて花粉・パリノモルフ分析を実施した。また、ビジュアルケロジェン分析(パリノファシス分析)も行った。同試料の植物由来バイオマーカー分析では、試料を有機溶媒で抽出し、シリカゲルカラムによって分画した成分を GC-MS 測定した。顕微鏡観察とバイオマーカー分析は別の人間によって行い、各々の結果を伝えない状態でデータを比較した。

【結果と考察】古丹別試料の裸子/被子植物の花粉組成から、Coniacian から Santonian にかけては裸子植生が優勢になり、Santonian を通して再び被子植生が増加する傾向が見られた。この傾向はバイオマーカー分析による ar-AGI 指標が示す被子/裸子植物比の変動傾向と大まかに一致していた。川流布試料においては、検出された花粉が非常に乏しくパリノモルフ組成データは得られなかったが、ar-AGI の値は境界層で低下し被子植生が減少する傾向が見られた。また、ケロジェン組成のうち、植物のクチクラ(Cuticle)およびそれに由来する蛍光性無定形有機物(FA)と、木片(Wood)およびそれに由来する無蛍光性無定形有機物(NFA)の比 $((\text{Cuticle} + \text{FA})/(\text{Wood} + \text{NFA}))$ を設定し、これを木本/草本植生比の指標とした。古丹別試料では、この値は一度減少した後に元の値まで回復した。一方、川流布試料でも境界層で一時的に値が減少する傾向を示した。これに対して、第四紀試料などで木本/草本植生比のバイオマーカー指標として使われる *n*-アルカンの平均鎖長(ACL)を同試料で分析すると、古丹別試料では層準を通して値に変動はなくケロジェン組成とは異なる。川流布試料では境界層で ACL 値が大きく減少したが、アルカン濃度自体も著しく減少したことからその影響を受けていると考えられる。白亜系堆積層における ACL の適用性そのものを検討する必要があるが、パリノモルフ・ケロジェンとは異なる結果を示すことになった。花粉・ケロジェンとバイオマーカー分子の起源(植物部位)・堆積・続成過程の違いが植生記録の相違をもたらす要因と考えられる。

## 白亜紀海洋無酸素事変層準におけるケロジェンの熱分解および熱化学分解分析

○佐久川 玄 (北海道大・理)、安藤 卓人 (島根大・エスチュアリー研)、沢田 健 (北海道大・理)、高嶋 礼詩、西 弘嗣 (東北大・総合学術博)

### Pyrolysis and thermochemolysis of kerogens in sediments deposited during the Cretaceous Oceanic Anoxic Event (OAE)

Gen Sakugawa (Fac. Sci., Hokkaido Univ.), Takuto Ando (Shimane Univ.), Ken Sawada (Fac. Sci., Hokkaido Univ.), Reishi Takashima, Hiroshi Nishi (Tohoku Univ.)

**はじめに：**堆積物中に多く含まれるケロジェンは酸・塩基・有機溶媒に不溶な巨大分子である。その複雑な巨大分子を熱分解することにより検出される分子ユニットからケロジェンの化学構造や結合態バイオマーカーを分析することができる。それらは、特に熱熟成が進んだ堆積岩を用いた古環境の復元や古生物関連の研究において重要な情報源である。従来のケロジェンの地球化学分析においては熱分解分析 *pyrolysis* が広く行われている。一方、誘導体化試薬を添加・加熱し、瞬時に熱分解と誘導体化を行うことで官能基など易分解性部分の情報も得られる熱化学分解分析 *thermochemolysis* が生物試料などでよく使われているが、ケロジェンに応用された例は少ない。演者らは白亜紀中期の海洋無酸素事変(OAE)時に堆積した黒色頁岩のバイオマーカー分析を行ってきたが、特に OAE1a の黒色頁岩においてシアノバクテリアまたは  $\alpha$  プロテオバクテリア由来の 2-メチルホパンが比較的多量に含まれていることがわかり、この層準の試料を研究することにより、それらバクテリアの寄与率の高いケロジェンのデータが得られると考えている。本研究では OAE1a 層準の黒色頁岩中のケロジェンの熱分解および熱化学分解分析の結果を報告する。

**試料と方法：**南東フランスのボコンティアン堆積盆から採集した OAE1a に相当する Goguel 層準の黒色頁岩および泥灰岩を用いた。Sawada et al.(2012)に従ってケロジェンに分離し、黄鉄鉱やフッ化物の除去などのために比重分離を行った。熱分解および熱化学分解は Curie-point pyrolyzer を搭載した GC/MS を用いて、590°C の熱分解温度で行った。メチル化剤である 5%TMAH(水酸化テトラメチルアンモニウム)メタノール溶液をケロジェンに添加し、同様に 590°C で測定を行った。

**結果と考察：**Goguel 層準のケロジェンは主に弱蛍光無定形有機物 (WFA)から構成されていた。熱分解からすべての試料で *n*-アルカン/アルケン、分枝アルケンや芳香族化合物が検出された。また、すべての層で炭素数  $12(C_{12})\sim C_{28}$  のアルキル鎖が検出され、特に  $C_{12}\sim C_{18}$  の短鎖アルキル鎖が卓越していた。減成された  $C_{27}\sim C_{29}$  ホパンやシアノバクテリア由来の 2-メチルホパンが比較的多量に検出され、それらはケロジェンに非共有結合的に取りこまれていることが示唆される。一方、真核生物由来のステランは全層準でほとんど検出されなかった。TMAH 熱化学分解からは *n*-アルカン/アルケンおよび脂肪酸メチルエステルが検出された。ケロジェンの高分子にエステル結合で取りこまれていたことが考えられる。2-MHI が高い値を示す層準から得られたケロジェンの熱分解生成物において、*n*-アルカンなどの直鎖アルキル化合物の組成が異なることがわかった。また、短鎖アルキル鎖や分枝アルカンが他の層準より卓越していた。これらの結果から、Goguel 層準においてシアノバクテリアの寄与の高いケロジェンに特徴的な構造が残されている可能性を指摘する。

## グリーンランド北西部中原生界堆積岩のバイオマーカー分析による古生態系の復元

○原 勇貴 (北海道大学・理)・安藤 卓人 (島根大学 エスチュアリー研)・沢田 健 (北海道大学・理)

Reconstruction of paleoecosystem by biomarker analysis of the Mesoproterozoic sedimentary rocks from the northwestern Greenland

○Yuki Hara (Facul. Sci., Hokkaido Univ.), Takuto Ando (Estuary Research Center, Shimane Univ.), Ken Sawada (Facul. Sci., Hokkaido Univ.)

【はじめに】 中原生界は、大規模な火山活動による長期の温暖環境で特徴づけられ、湖や浅海域においてシアノバクテリアや藻類が繁茂した可能性が指摘されている(平、2007)。特に中原生界末の造山運動で形成された大規模なデルタ―海底扇状地システムの堆積物を用いた研究が多く行われている。また 20~12 億年前には、分子生物学的な検討から真核生物の大規模な放散が起こったとされ、10 以上の生物群を含む多様な真核生物群 (クラウン生物群) が分岐したと考えられている (ビッグバン仮説; Knoll, 2005)。このことから、中原生代は真核生物の進化や生態系を知る上で重要な時代である。原生代の古生物研究には、パリノモルフを用いた形態学的研究とバイオマーカーや同位体を用いた地球化学的研究が行われている。産出するパリノモルフは起源生物が不明なアクリタークである一方、地球化学的分析では、2 $\alpha$ -メチルホパンのような生物種の推定が可能なバイオマーカーの検出が報告されており、堆積当時の生態系の復元が期待される。そこで演者らは、アクリタークが多産する Qaanaaq 層の試料を用いて、バイオマーカーの分析と評価を行い、古生態系を復元することを目指して研究を行った。

【試料と方法】 本研究では、2018 年および 2019 年の 7~8 月に北極域研究推進プロジェクト(ArCS) 事業の一環で採取された、グリーンランド中原生界 Qaanaaq 層の暗灰色頁岩を用いた。試料外物質による汚染を防ぐため試料表面全体を削って新鮮な面を出した後、粉碎した。粉末試料を有機溶媒で抽出し、還元銅処理を行った後にカラムクロマトグラフィーによって分画し GC-MS で分析した。

【結果と考察】 飽和炭化水素画分からは、まず炭素数 14(C<sub>14</sub>)~C<sub>30</sub> の *n*-アルカンとプリスタン(Pr)、フィタン(Ph)が検出された。*n*-アルカンは短鎖側(C<sub>14</sub>~C<sub>20</sub>)が非常に卓越していた。Pr/Ph 比は、層準内で変化(1~2.8)し、一部で高い値 (>2) をとるものの全体的に低い値 (<1.5) であり、還元的な堆積盆の環境変化を示していると考えられる。また、ホパンやステランが微量に検出された。特にホパンでは、シアノバクテリア起源であるとされる 2 $\alpha$ -メチルホパンが確認された。芳香族画分からは、2 環のナフタレンから 7 環のコロネンまでの多環芳香族炭化水素(PAHs)が検出された。この PAHs による熟成度は、ビトリナイト反射率(Ro)で 1.5~2.0%に相当し、かなり高いことがわかった。その他、テルペノイドであるカダレンが多く検出されたが、レテンは検出されなかった。カダレンは被子植物由来とされる一方、藻類由来であるとの報告もされている(Elias et al., 1997)。藻類由来のカダレンの相対量が多いことは、アクリタークの存在と一致する。これら分子化石を用いて、堆積環境や生物相といった古生態系について議論する。

## マイクロプラスチックの熱分解-GC-MS 分析における ポータブルパイロライザーの検討

○千葉祐生・大早晃平・中國正寿・山本修一（創価大学）

### Examination of Portable Pyrolyzer for Pyrolysis-GC-MS Analysis of Microplastics

○Y. Chiba, K. Ohohaya, M. Nakakuni, S. Yamamoto (Soka Univ.)

昨今、陸上から海洋などへ流出したプラスチックによる環境汚染が問題視されている[1]。特に、環境中へ流出したプラスチックごみが砕かれ細分化され、小さな破片となったマイクロプラスチック(< 5 mm, 以下 MPs) は、生物への誤飲による摂食障害・成長阻害だけでなく[1]、生態系や人体に有害な残留性有機汚染物質(POPs)を吸着及び濃縮する危険性が指摘されている[2]。中でもアジア圏は降水量や人口が多いため、海洋へのプラスチックの放出量が最も多い地域になっており、身近な問題である[3]。したがって、現在、MPs の分布の調査が MPs 汚染対策のために急務になっている。現在、MPs の主要な分析方法として、フーリエ変換赤外分光光度計 (FTIR) が用いられている。FTIR 法は、試料中から MPs を分離・選別した後に分析することで種類の同定及び試料中の個数による評価を行うことができるが、MPs の視覚的選別や取り出し作業が必要となるほか、細かな微粒子の同定・選別が困難である上に、試料中の濃度評価ができないといったデメリットがある。そこで近年、MPs の分析法として、ガスクロマトグラフィー質量分析機 (GC-MS) と熱分解装置 (パイロライザー) を用いた分析手法(Pry-GC-MS) が注目されている[4]。この手法は、これまでの手法では難しかったより細かな MPs の濃度単位の評価を可能とする。

本研究室ではこれまで、GC-MS とパイロライザー（日本分析工業製、JHP-3）を直結した Pry-GC-MS によって MPs の分析を行ってきたが、直結型のパイロライザーは大型である上に、GC 上部に直接取り付けられるため、GC-MS の汎用・利便性が失われてしまう。そこで、ポータブルパイロライザー（日本分析工業製、JCI-55）に着目した。この機器は、小型のパイロライザーシステムにインジェクション用シリンジが取り付けられており、GC-MS の汎用・利便性を失うことなく運用できる。この装置を用いても、MPs の Pry-GC-MS 分析が可能であると期待されるが、ポータブルパイロライザーを用いた MPs 分析の前例はなく、温度条件などの再検討が必要となる。

そこで、本研究では、ポータブルパイロライザーを用いた Pry-GC-MS における最適な分析条件の検討として、いくつかの異なった温度条件で反応させ、最適熱分解温度の検討を行うことを目的とする。検討条件は、製品等での使用頻度も高く、自然界の試料中からもよく見出される代表的な MPs 試料として、PP (ポリプロピレン) と PE (ポリエチレン) を用い、熱分解温度条件として 315°C, 445°C, 500°C, 590°C, および 670°C の 5 条件で行った。

[1] Cole et al. (2011) Mar Pollut Bull 62, 2588–2597. [2] Mato et al. (2001) ES&T 35, 318–324.

[3] Jambeck et al. (2015) Science 347, 768–771. [4] Fischer et al. (2017) ES&T 51, 5052–5060.

## 遺伝子改変藍藻株を用いた細胞内窒素同位体分布の検証

○伊左治雄太・小川奈々子・塚谷祐介・大河内直彦（海洋研究開発機構）

### Investigation into the cause of intracellular nitrogen isotopic heterogeneity using a cyanobacterial mutant strain

○Yuta Isaji, Nanako O. Ogawa, Yusuke Tsukatani, Naohiko Ohkouchi (JAMSTEC)

水圏の懸濁粒子や堆積物の窒素同位体比( $\delta^{15}\text{N}$ )は、窒素循環の動態を反映する指標として広く用いられる。光合成生物に特有の色素化合物であるクロロフィルの  $\delta^{15}\text{N}$  は、起源となる光合成生物細胞の  $\delta^{15}\text{N}$  を反映するため、窒素循環の詳細な議論を可能にしてきた。細胞に対するクロロフィルの  $\delta^{15}\text{N}$  の値は( $\delta^{15}\text{N}_{\text{chl-cell}}$ )、クロロフィルの生合成過程で生じる窒素同位体分別によって決まる。紅色細菌を除く全ての光合成生物は、グルタミン酸由来の  $\delta$ -アミノレブリン酸を始点とする C5 経路を通じてクロロフィルの骨格であるテトラピロールを合成する。それにもかかわらず、真核藻類、海洋シアノバクテリア、淡水シアノバクテリアの間で  $\delta^{15}\text{N}_{\text{chl-cell}}$  が大きく異なることが培養実験により明らかになってきた(真核藻類:  $-4.7 \pm 1.7\text{‰}$ , 海洋シアノバクテリア:  $1.3 \pm 2.3\text{‰}$ , 淡水シアノバクテリア:  $11.0 \pm 2.6\text{‰}$ ; Sachs et al., 1999; Higgins et al., 2011; Ohkouchi et al., unpub.). 真核藻類と淡水・海洋シアノバクテリアの  $\delta^{15}\text{N}_{\text{chl-cell}}$  が異なる原因を明らかにすべく、本研究ではシアノバクテリアに特有の窒素貯蔵物質であるフィコビリソームとシアノフィシンに着目し、検証を行った。フィコビリソームは全てのシアノバクテリアが有する集光性アンテナ色素タンパク質複合体であるが、窒素欠乏下では分解されて細胞の窒素源となることが知られる(Wyman et al., 1985)。シアノフィシンは、アスパラギン酸とアルギニンで構成される窒素貯蔵に特化したポリペプチドである(Flores et al., 2019)。それぞれが細胞内全窒素量の 5-20%程度を占めるこれらの窒素貯蔵物質の同位体収支への寄与を明らかにすべく、淡水シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC6803 の遺伝子改変を行い、フィコビリソーム・シアノフィシン欠損株を作成した。発表では、野生株および遺伝子改変株の  $\delta^{15}\text{N}_{\text{chl-cell}}$  を報告する。