

— 2009 年度 日本海洋学会 岡田賞受賞記念論文 —

海洋における発色団含有溶存有機物の機能と動態に関する研究\*

山下 洋平†

要 旨

本稿では筆者がこれまでに行ってきた蛍光光度法及び吸光光度法を用いて得られた発色団含有溶存有機物 (Chromophoric Dissolved Organic Matter, CDOM) に関する研究成果を紹介する。発色団含有溶存有機物は、分光学的特徴によりタンパク質様 (protein-like) 蛍光などの生体構成成分由来および腐植様 (humic-like) 発色団含有有機物に区別する事ができる。タンパク質様蛍光は溶存有機物中に実際に存在する芳香族アミノ酸に由来する事を明らかにした。更に、タンパク質様蛍光特性とアミノ酸濃度・組成から、分子量 5000 以上の高分子画分におけるアミノ酸含有溶存有機物は、表層では長鎖ペプチド、深層では短鎖ペプチドと深度によって主要な化学形がそれぞれ異なることを示唆した。腐植様発色団含有有機物に関しては、それが有機物の分解過程で生成する事を観測的・実験的に示した。また、海洋自生性腐植様発色団含有有機物は少なくとも 900 年程度の時間スケールで生物学的難分解性である事を示した。

キーワード：溶存有機物, 発色団含有溶存有機物, 生体構成成分, 化学的実体, 生物学的難分解性

はじめに

海洋に存在する全溶存有機物量は、炭素量に換算して 680–700 PgC と見積もられており、海洋溶存有機物プー

ルは地球表層における最大級の還元型炭素プールである (Hedges and Kail, 1995)。従来、溶存有機物プールは地球表層炭素循環において不活性なプールであると考えられていた。しかし、1990 年代に溶存有機炭素濃度測定法が確立され、溶存有機炭素濃度が広範囲に測定された結果、その分布は時・空間変動を示す事、またタンジェンシャルフロー型の限外濾過法の導入により、高分子溶存有機物については比較的容易に脱塩・濃縮が可能になり、この画分の化学的研究が推進された結果、高分子溶存有機物の大部分は生体構成成分と類似した“新鮮な”化学的実体を示す事、等が明らかとなり、従来のパラダイムは転換された (Tanoue, 2000; Hansell and Carlson, 2002; Ogawa and Tanoue, 2003; 山下ら, 2005)。すなわち、溶存有機物プールはそれまで考えられてきたよりも炭素循環をはじめとした生物地球化学サ

\* 2009 年 9 月 8 日受領; 2009 年 10 月 8 日受理

著作権: 日本海洋学会, 2010

〒060-0810 札幌市北区北 10 条西 5 丁目

北海道大学大学院地球環境科学研究院

Tel: 011-706-2349

† フロリダ国際大学

Southeast Environmental Research Center, and Department of Chemistry and Biochemistry, Florida International University, University Park Campus, Miami, Florida, 33199, USA

Tel: +1-305-348-6085

Fax: +1-305-348-4096

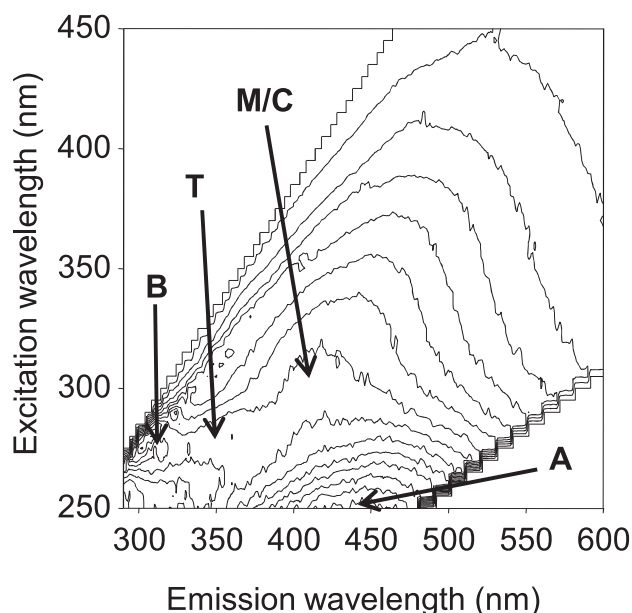


Fig. 1. Example of excitation-emission matrix (EEM) spectrum of marine dissolved organic matter (DOM). Peak assignment is according to Coble (1996); B: tyrosine-like (protein-like) fluorophore; T: tryptophan-like (protein-like) fluorophore; M: marine humic-like fluorophore; C: humic-like fluorophore; A: humic-like fluorophore.

イクルとより密接に関わっている事が示された。

自然界における有機物の挙動は有機物の種類によって異なるため、溶存有機物の動態をより良く理解しようとすれば、溶存有機物の量的評価に加え、質的評価が必須である。前述のように溶存有機物の一部を構成する高分子有機物画分の化学的特性に関する知見は飛躍的に増加した。しかし、限外濾過法は大容量の試料を必要とし、前処理に時間を要するために短時間に多数の試料処理ができず、本法では溶存有機物の質的側面についての時・空間変動に関する情報を得る事は困難である。また、低分子有機物を含む溶存有機物全体に関する情報が得られない欠点も有する。このような背景の中、筆者の研究グループでは溶存有機物の質的評価に蛍光光度法及び吸光光度法を用い研究を行ってきた。これらの方法は、簡便、高感度、ハイスループットな手法であるため、溶存有機物の時・空間変動を質的側面から評価するのに適している。また、本手法は試料を濃縮せず、非破壊で分析でき

るため溶存有機物全体の化学的特性の評価が可能である事も利点としてあげられる。本稿では、蛍光光度法及び吸光光度法を用いた溶存有機物研究に関して筆者の研究グループの成果を中心に述べる。

### 発色団含有溶存有機物 (Chromophoric Dissolved Organic Matter)

1949年、Kalleにより蛍光光度法が溶存有機物の質的評価に適用された (Kalle, 1949)。その後、陸域や海洋を問わず、溶存有機物の光学的特性に関する研究が行われ、分光学的に特徴づけることのできる溶存有機物について、humic substance, gelbstoff, yellow substance, gilvin, colored dissolved organic matter等の名称が与えられてきた (e.g., Coble *et al.*, 1990; Moran *et al.*, 2000)。近年ではそれらを総称して chromophoric dissolved organic matter (CDOM) と表現する事が定着している (Blough and Del Vecchio, 2002; Nelson and Siegel, 2002; Coble, 2007)。CDOM は日本語では発色団含有溶存有機物と訳す事が妥当であるが、本稿では便宜上 CDOM を用いる。従来の名称からも分かるように、CDOM は陸上土壌における腐植物質と同等に考えられており、多くの研究では沿岸域における陸起源有機物のトレーサとして用いられ、また陸起源有機物の変質作用の評価にも利用されている (Blough and Del Vecchio, 2002; Coble, 2007)。

1990年代に導入された3次元励起蛍光光度法により、溶存有機物中には腐植様 (humic-like) 蛍光に加え、タンパク質様 (protein-like) 蛍光が存在する事が明らかとなった (Fig. 1; Coble *et al.*, 1990; Mopper and Schultz, 1993)。3次元励起蛍光光度法は、腐植様およびタンパク質様有機物の2種類の溶存有機物を同時に評価できる利点から、近年では海洋を始めとした幅広いフィールドで用いられている (e.g., Coble, 2007; Jaffé *et al.*, 2008; Santín *et al.*, 2009)。このような溶存有機物中の蛍光物質については CDOM と区別して発蛍光団含有溶存有機物 (fluorescent dissolved organic matter, FDOM) と表現されることもあるが、本稿では CDOM として取り扱う。CDOM は海色衛星探査により評価できる溶存有機物パラメータであり、海色衛星探査による

CDOM の分布評価, 植物プランクトン現存量推定アルゴリズムに関連した研究も多く行われているが, 本稿では割愛する。

### タンパク質様蛍光など生体構成成分由来 CDOM に関する研究

1990 年代に溶存有機物の質的評価として導入された 3 次元励起蛍光光度法を用いた研究により, 沿岸域から外洋域に至るまで, タンパク質様蛍光を発する溶存有機物の存在が普遍的に確認された (Mopper and Schultz, 1993; Coble, 1996; Mayer *et al.*, 1999)。しかし, タンパク質様蛍光の特性や時・空間変動を用いて, 溶存有機物中のタンパク質様有機物 (アミノ酸含有有機物) の動態を評価するには至らなかった。これは, 溶存有機物中で確認されるタンパク質様蛍光は, その蛍光特性が, 芳香族アミノ酸であるチロシン及びトリプトファン分子の蛍光特性と類似している事より定義されているにすぎず, 実際に溶存有機物中に存在する芳香族アミノ酸ひいてはタンパク質に由来するかは明らかでなかった事による。

そこで筆者らは, 溶存有機物中のタンパク質様蛍光であるチロシン様及びトリプトファン様蛍光強度を測定し, 同一試料を加水分解し遊離したチロシン及びトリプトファンを高速液体クロマトグラフ法により分離・定量し, それらの濃度と対応する蛍光強度との関係性を評価した (Yamashita and Tanoue, 2003a)。その結果, 伊勢湾から黒潮沖外洋域 (0–400m) の広範な海域において, チロシン様蛍光強度とチロシン濃度の間に, トリプトファン様蛍光とトリプトファン濃度の間に直線関係がある事を見いだした (Fig. 2)。即ち, 溶存有機物中のチロシン様及びトリプトファン様蛍光は実際にチロシン及びトリプトファン含有有機物に由来する事を明らかとした。また同海域において, チロシン様及びトリプトファン様蛍光強度は加水分解後に得られる全溶存アミノ酸濃度とも直線関係にあることが分かり, タンパク質様蛍光強度はアミノ酸含有有機物の量的指標となる事を示した (Yamashita and Tanoue, 2003a)。

予備的結果ではあるが, 吸収スペクトルからも溶存有機物の質的情報が得られる可能性がある。Yamashita and Tanoue (2009) は, 北太平洋中央部の外洋域にお

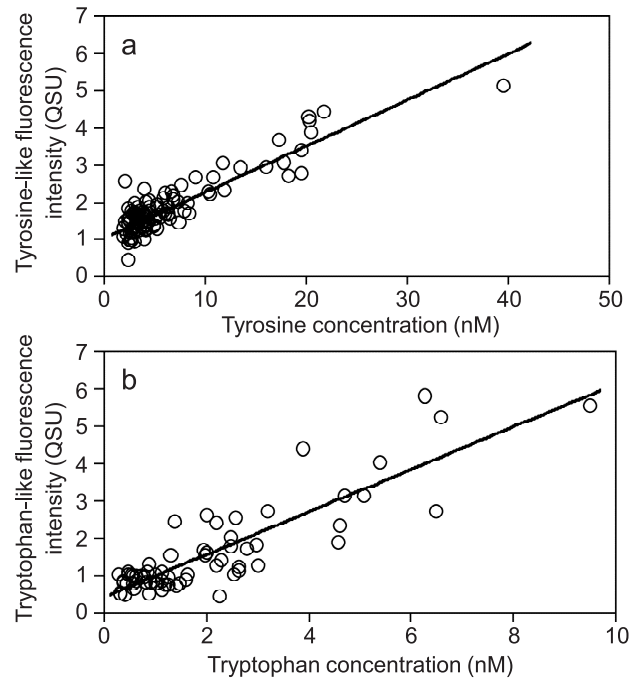


Fig. 2. Relationships between protein-like fluorescence intensity determined by EEM spectroscopy and concentrations of aromatic amino acids determined by high performance liquid chromatography. a: tyrosine-like fluorescence intensity vs tyrosine concentration; b: tryptophan-like fluorescence intensity vs tryptophan concentration (after Yamashita and Tanoue, 2003a).

いて深層と表層の吸収スペクトルが異なる事を見いだした。従来, CDOM はその吸収係数が紫外から可視領域において波長の増加に伴い指数的に減少する事から, 腐植様 CDOM とされてきた。事実, 深層水中の溶存有機物の吸収スペクトルでは, 吸収係数は波長の増加に伴い, 単調に減少している (Fig. 3)。しかし, 表層水中の溶存有機物の吸収スペクトルは, 深層に比べて紫外領域により強い吸収が認められる。チロシンやトリプトファンは, 励起されて蛍光を発するだけでなく, 紫外領域の光を吸収するという性質も持っている。また, 生体構成成分である核酸も紫外領域の光を吸収する。北太平洋中央部の表層でみられた紫外領域の吸収は, タンパク質や核酸の吸光波長帯と一致した。ここで, 表層水中に存在する腐植様 CDOM の吸収係数の対数は, 深層と同様に波長の増加に伴い, 直線的に減少すると仮定した。そして,

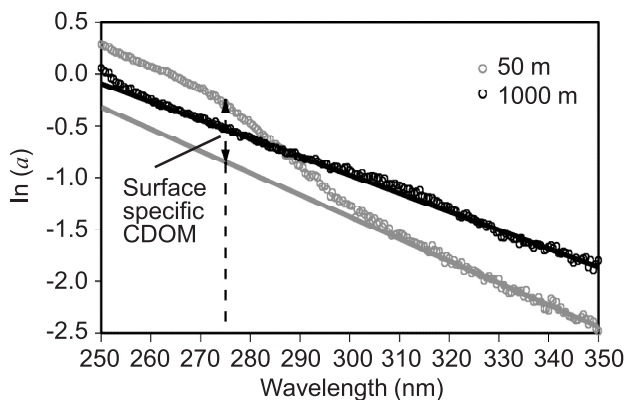


Fig. 3. Typical CDOM absorption spectra from the open ocean. Absorption coefficients ( $a$ ) were plotted against wavelength on a logarithmic scale. CDOM spectra were obtained from samples collected from 50 (grey circles) and 1000m (black circles) in the central North Pacific Ocean. Solid lines were determined by linear least-square fit at wavelength ranging from 320 to 350 nm, and were extrapolated to 250 nm. The absorption coefficient of the surface specific CDOM was calculated from the difference between the observed absorption coefficient at 275 nm and a possible absorption coefficient of the marine humic-like CDOM at 275 nm obtained from the linear least-square fit (after Yamashita and Tanoue, 2009).

タンパク質の最大吸光波長である 275nm の吸収係数から表層で特徴的なタンパク質等の生体構成成分に由来すると考えられる吸収係数を抽出し (surface specific CDOM; Fig. 3), その空間分布を評価した。深度 500m 以浅の溶存有機物から surface specific CDOM は検出され, その分布は海水密度の分布と一致した。即ち, surface specific CDOM の分布は, 表層海洋循環に強く支配されており, 年齢の若いモード水では高い値 ( $0.1\text{m}^{-1}$ 以上) であるのに対し, 比較的古い北太平洋中層水では低い値 ( $\sim 0.05\text{m}^{-1}$ ) であった (Yamashita and Tanoue, 2009)。これらの結果は, 生体構成成分に由来すると考えられる surface specific CDOM は準易分解性有機物の指標となりうる事を示唆している。

溶存アミノ酸の濃度や組成の時・空間変動及び暗所分解実験の結果から, 溶存アミノ酸の大部分は易分解性・準易分解性有機物である事が分かっており, 溶存有機物

の質的評価に有用なパラメータである (Yamashita and Tanoue, 2003b; Davis and Benner, 2007; Kaiser and Benner, 2009)。一方, 溶存アミノ酸分析は技術・時間を有するためルーチン的な分析には不向きである。近年, 陸域においてはタンパク質様蛍光と分解実験から見積もられた準易分解性溶存有機物量との関係も示されている (Fellman *et al.*, 2008; Balcarczyk *et al.*, 2009)。今後, 溶存アミノ酸測定代替として蛍光光度法及び吸光光度法をルーチン的な分析に用いる事は有用であると考えられる。しかし, 外洋域では, タンパク質様蛍光強度が低く, 腐植様蛍光の干渉を受けるため, タンパク質様蛍光強度と芳香族アミノ酸濃度の直線関係が見られなくなる (Yamashita and Tanoue, 2003a)。沿岸域では, マングローブ由来タンニン等のポリフェノールがタンパク質様蛍光と同波長域に蛍光を示す事 (Maie *et al.*, 2007; 2008) 等が指摘されている。タンパク質様蛍光強度を易分解性・準易分解性アミノ酸含有有機物の指標とするには更なる検討が必要である。

既に述べたように, 溶存有機物を濃縮せず非破壊で分析し, その化学的性質を評価できる技術は限られており, 溶存有機物の分子レベルでの実体 (化学形) 及びその存在状態に関する知見は乏しい。筆者らは蛍光分析法が非破壊分析である特徴を利用し, 溶存有機物を分子量分画し, 高分子画分及び低分子画分に存在するアミノ酸含有有機物の化学形評価を試みた (Yamashita and Tanoue, 2004a)。試料は相模湾中央部の深度 10m 及び 1000m から採取し, タンジェンシャルフロー型限外濾過法を用いて  $0.7\mu\text{m}$  (GF/F)  $-0.1\mu\text{m}$ ,  $0.1\mu\text{m}-10\text{kDa}$  (分子量 10000),  $10\text{kDa}-5\text{kDa}$  (分子量 5000),  $5\text{kDa}$  以下の画分に分画し, 溶存有機物の蛍光特性及びアミノ酸濃度・組成を明らかにした。Fig. 4 に各分子量画分の蛍光特性を示す。表層 (10m) の高分子画分 ( $0.7\mu\text{m}-0.1\mu\text{m}$ ,  $0.1\mu\text{m}-10\text{kDa}$ ,  $10\text{kDa}-5\text{kDa}$ ) ではタンパク質様蛍光特性中, トリプトファン様蛍光のみが確認された。一方, 低分子画分 ( $5\text{kDa}$  以下) ではチロシン様蛍光のみが確認された。深層 (1000m) においては全ての画分でチロシン様蛍光が確認された。高分子画分ではチロシン様蛍光が認められると共に, 表層と同様にトリプトファン様蛍光も確認された。このように, 表層と深層水中の高分子溶存有機物画分ではタンパ

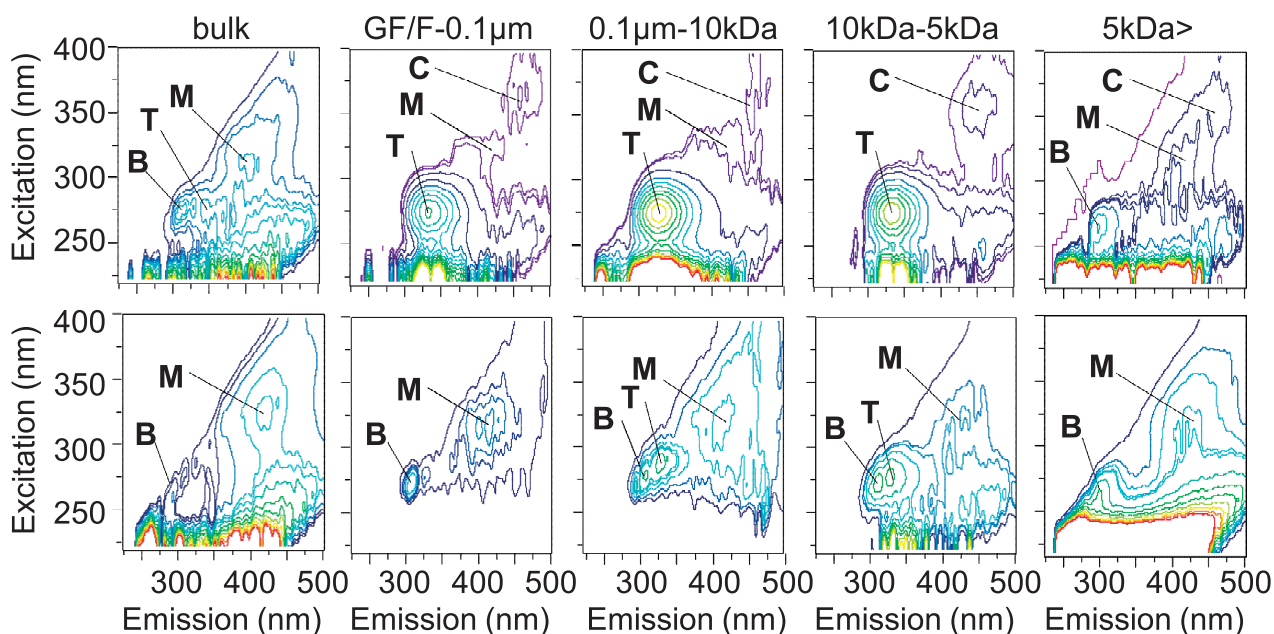


Fig. 4. EEM spectra of bulk water samples and each molecular mass fraction in surface (10m) and deep (1000m) waters of Sagami Bay. EEM spectra in upper and lower row are samples from surface and deep waters, respectively. Peak assignment is according to Coble (1996) ; B: tyrosine-like (protein-like) fluorophore; T: tryptophan-like (protein-like) fluorophore; M: marine humic-like fluorophore; C: humic-like fluorophore; (after Yamashita and Tanoue, 2004a).

ク質様蛍光特性が異なる事が分かった。

試料間でチロシンとトリプトファン濃度が異なればタンパク質様蛍光特性の違いが生じる。しかし、両者の濃度は深度および分子量画分を問わずほぼ一定であり、チロシンとトリプトファン濃度比では、深度及び分子量画分間で認められる蛍光特性の違いを説明する事ができなかった (Yamashita and Tanoue, 2004a)。タンパク質の分光学的研究から、チロシンとトリプトファンの両者を分子内に有する一般的なタンパク質分子では、励起エネルギー移動が起こり、トリプトファンのみが蛍光を発する事が知られている (Lakowicz, 1999)。この励起エネルギー移動の概念を用いると、本研究で明らかになった溶存有機物中のタンパク質様蛍光特性の違いを説明できた。すなわち、トリプトファン様蛍光のみ確認された表層の高分子画分におけるアミノ酸含有有機物の主要な化学形はタンパク質などの長鎖ペプチドである事、チロシン様蛍光が確認された低分子画分におけるその化

学形はチロシンとトリプトファンを同一分子内に含まない短鎖ペプチドである事が分かった。これらの事はタンパク質様蛍光特性とそれらが確認された分子量画分から推定される分子サイズと矛盾しない。一方、注目すべき点は、トリプトファン様蛍光と共にチロシン様蛍光が確認された深層水中の高分子溶存有機物画分である。分子量5 kDa以上のポリペプチドはトリプトファンの蛍光のみ発する事が表層水中の高分子溶存有機物画分の蛍光特性から推察される。従って、深層水中の高分子溶存有機物画分には、その分子量画分よりも小さなペプチドが存在するという事になる。アミノ酸組成から比較的小さなペプチドが高分子画分に存在する理由を考察した結果、分子としては比較的小さなペプチドが、他分子との何らかの相互作用により高分子画分に画分されたと考えられた。

Yamashita and Jaffé (2008) は、陸起源腐植物質に豊むエバークレーズ沿岸域 (フロリダ州) から得られた

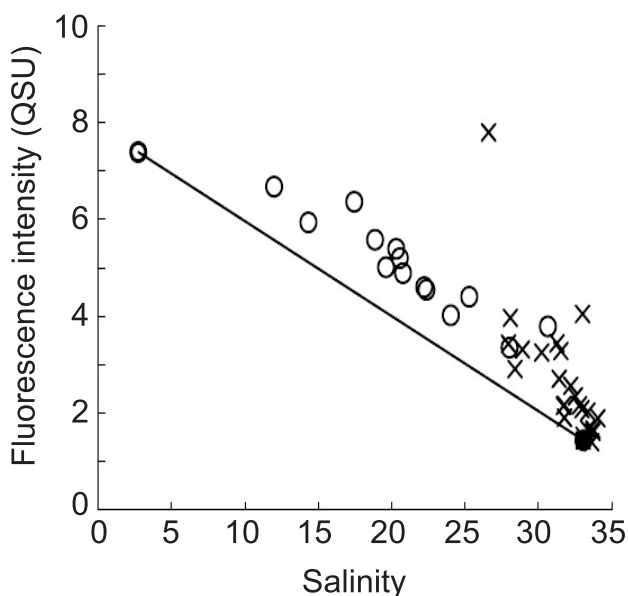


Fig. 5. Cross plot of humic-like fluorescence intensity (QSU) and salinity in Ise Bay. Open circles and crosses indicate samples from surface (0m) and deep (5–40m) waters, respectively. The line shows the mixing line of riverine terrestrial humic substance based on salinity, assuming conservative behavior of the terrestrial humic substance along the fresh-seawater mixing (after Yamashita and Tanoue, 2004b).

試水に銅イオンを添加した。その結果、溶存有機物中の腐植物質に由来する蛍光強度は添加銅イオン濃度増加に伴い減少した。このことは、腐植物質が銅イオンと錯形成した結果の消光（クエンチング）による。一方、タンパク質様蛍光強度は添加銅イオン濃度増加に伴い減少したが、終濃 25  $\mu\text{M}$  以上の添加では連続的な増加へと転じた。低銅イオン濃度下では、ペプチド等が銅イオンと錯形成する事によりタンパク質様蛍光が消光する。しかし、高銅イオン濃度下では錯形成による消光が起こるものの、銅イオンによりペプチド—腐植物質等の相互作用が銅イオン—腐植物質等に置換され、相互作用により消光していたペプチドが、相互作用から開放され、その結果蛍光を発したと解釈する事ができた。外洋と沿岸域では相互作用の対象が異なるかもしれないが、有機物間及び有機物—無機物間の相互作用はペプチド等のアミノ酸含有有機物の存在状態に重要であり、それらの相互作用

により生物学的分解性を支配している可能性がある。

### 沿岸域における腐植様 CDOM に関する研究

前述したように、沿岸域における腐植様 CDOM は、陸起源有機物動態解明に有効なパラメータとして多用されてきた。外洋域では、後述するが海洋自生性の海洋性腐植様 CDOM の存在が知られており、沿岸域と外洋域において腐植様 CDOM 動態の知見に大きなギャップがあった。そこで、筆者らは伊勢湾を対象に腐植様 CDOM の分布を 3 次元励起蛍光光度法を用いて評価した (Yamashita and Tanoue, 2004b)。伊勢湾は、全河川流量の 85% 程度が揖斐・木曾・長良川の近接した 3 河川から流入するために淡塩混合や陸起源有機物の負荷を比較的シンプルに考えることができる。一方、有機物の負荷の面からは、伊勢湾は陸起源だけでなく、富栄養化による自生性有機物の影響も顕著な環境にある。Fig. 5 に、伊勢湾における腐植様蛍光強度と塩分の関係を示す。最低及び最高塩分における蛍光強度を直線で結び、淡塩混合に伴う陸起源腐植物質の希釈直線を求めると、その他のプロットは全て希釈直線から期待される蛍光強度より高い値を示す事が分かった。更に、伊勢湾内で採取したプランクトンの暗所分解実験を行い、CDOM の変化をモニタリングした結果、プランクトンの分解に伴い短時間で腐植様 CDOM が生成する事が分かった (Yamashita and Tanoue, 2004b)。すなわち、伊勢湾における腐植様 CDOM の分布には、陸起源腐植物質の淡塩混合に伴う希釈に加え、湾内自生性である海洋性腐植様 CDOM が貢献している事が明らかとなった。

更に著者らは、3 次元励起蛍光スペクトルを多変量解析的に蛍光成分 (components) へと分解できる parallel factor analysis (PARAFAC) を用い、伊勢湾内における CDOM 動態に関して陸起源 CDOM と湾内起源 CDOM を区別する事を試みた (Yamashita *et al.*, 2008)。PARAFAC は近年、溶存有機物の 3 次元励起蛍光スペクトル解析に導入され、欧米ではスタンダードな手法になりつつある (Stedmon *et al.*, 2003; Cory and McKnight, 2005)。Fig. 6 に伊勢湾及び周辺環境から得られた溶存有機物 199 試料を用いて行った PARAFAC 解析の結果を示す。PARAFAC 解析の結果、7 つの蛍

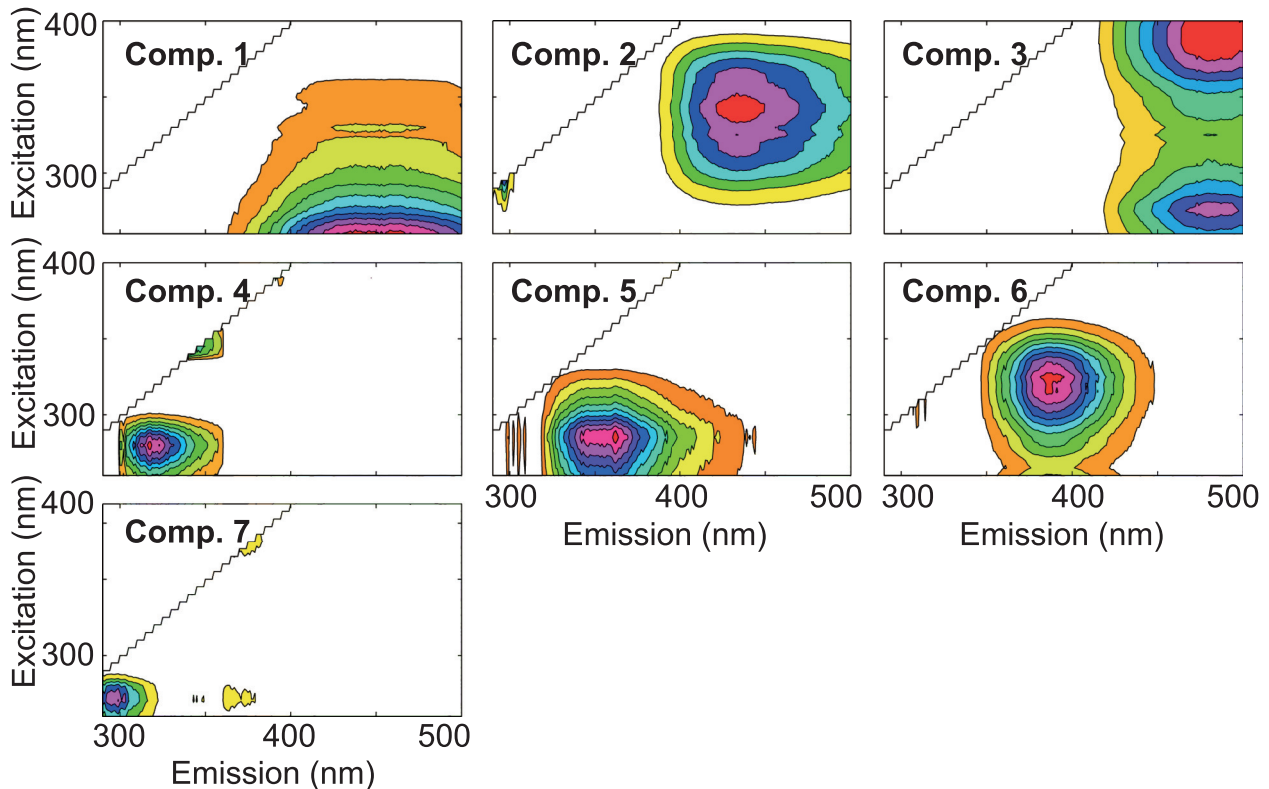


Fig. 6. EEM spectra of the seven fluorescent components identified by parallel factor analysis (PARAFAC). EEMs for PARAFAC were obtained from Ise Bay, adjacent area of the bay, and porewaters from the bay (after Yamasita *et al.*, 2008).

光成分を得る事ができた。すなわち伊勢湾で観測された3次元励起蛍光スペクトルは7つの蛍光成分の組み合わせで説明できるという事になる。Fig. 7にPARAFACで得られた蛍光成分の蛍光強度と塩分との関係を示す。蛍光強度と塩分の関係は4つのタイプに分類する事ができた。タイプIは蛍光強度と塩分間に負の直線関係がある蛍光成分である (component 1, 2; Fig. 7)。蛍光成分1と2の蛍光スペクトルは、報告されている陸起源腐植物質の蛍光スペクトルと類似していた。これらの事より、タイプIの蛍光成分は陸起源腐植物質に由来し、河川由来腐植物質が淡塩混合に従い希釈されていると解釈する事ができた。蛍光スペクトルの特徴から腐植様CDOMと考えられた他の2つの蛍光成分 (component 3, 6; Fig. 7) については、基本的には蛍光強度と塩分間に負の関係があるものの、伊勢湾内起源蛍光成分の貢献が顕著であると考えられた (タイプII)。蛍光成分

6の蛍光スペクトルは海洋性腐植様CDOMと類似しており、湾内において生成している事が考えられた。一方、蛍光成分3の蛍光スペクトルは陸起源腐植物質と類似しており、蛍光成分3は伊勢湾内において陸起源粒子からの溶出が貢献している事が推測された。

タンパク質様蛍光成分と塩分との関係は2つのタイプに区別する事ができた (component 4, 5, 7; Fig. 7)。タイプIIIに分類される蛍光成分4と5はトリプトファン様蛍光であり (Yamashita *et al.*, 2008), それらの蛍光強度は低塩分水塊で比較的高く、塩分20-25の水塊で最大値を示し、その後は塩分増加に伴い減少した。クロロフィルa濃度も塩分20-25の水塊において他塩分水塊と比べて高かった。これらの分布パターンより、タイプIIIの蛍光成分は河川由来及び湾内起源が混在するものの比較的新鮮なペプチド等に由来すると考えられた。前述のように、トリプトファン様蛍光の大部分は長鎖ペ

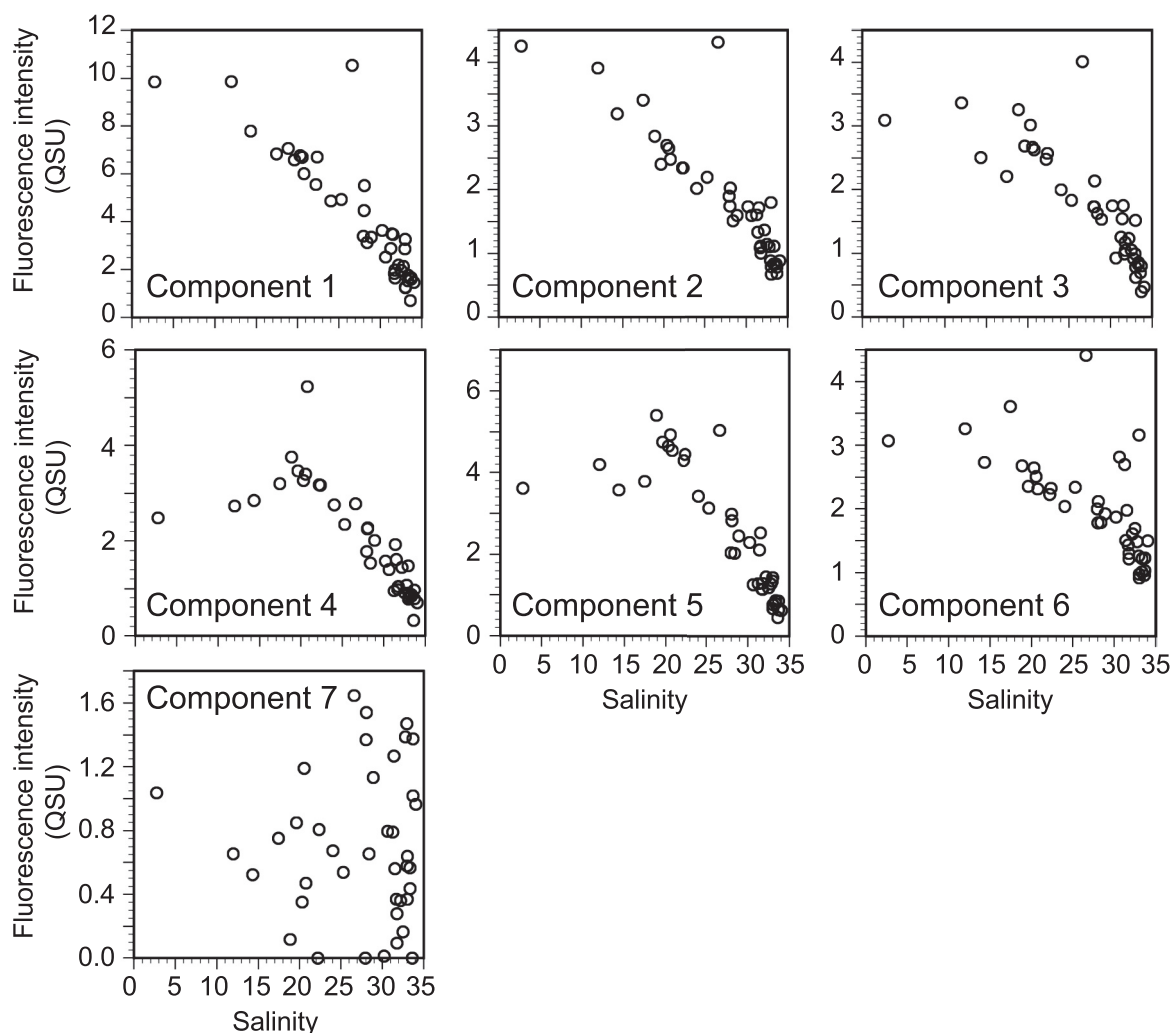


Fig. 7. Plots between salinity and fluorescence intensity of 7 fluorescent components identified by PARAFAC in Ise Bay (after Yamasita *et al.*, 2008).

プチドに由来する事が考えられる。高分子溶存有機物は低分子溶存有機物より、新鮮で分解されやすい事が示されており (Amon and Benner, 1996), タイプ III の蛍光成分の蛍光特性と分布パターンは矛盾しなかった。一方、蛍光成分 7 (タイプ IV) はチロシン様蛍光であり、分解が顕著に進行した短鎖ペプチドに由来すると考えられる。蛍光成分 7 の蛍光強度は他の成分と比べると顕著に低く、その分布は塩分に対して特徴を持った分布パターンを示さなかった (Fig. 7)。

## 外洋域における海洋性腐植様 CDOM に関する研究

外洋域では、溶存有機物中に陸上腐植物質と類似した蛍光特性を示す海洋性腐植様 CDOM の存在が知られており (Mopper and Schultz, 1993; Coble, 1996), その蛍光強度の鉛直分布が報告されていた (Hayase *et al.*, 1988; Chen and Bada, 1992; Mopper and Shultz, 1993; Hayase and Shinozuka, 1995)。蛍光強度の鉛直分布は海域を問わず、表層で最低値を示し、深度に伴い増加、



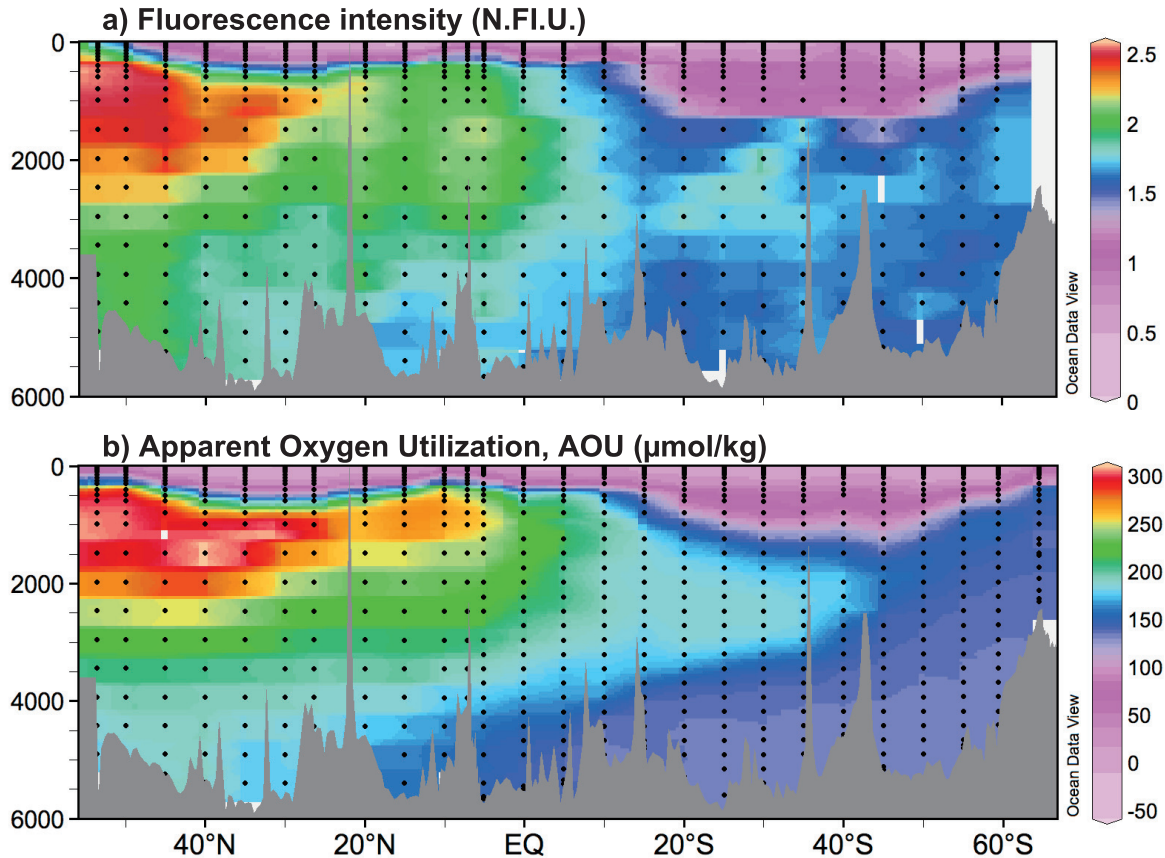


Fig. 8. Distributions of (a) marine humic-like fluorescence intensity at 320 nm excitation and 420 nm emission and (b) apparent oxygen utilization (AOU) along the Pacific transects at 160°W (South Pacific Ocean) and 170°W (North Pacific Ocean). Contour maps were illustrated using Ocean Data View (after Yamashita and Tanoue, 2008).

深層ではほぼ一定、もしくは深度に伴い若干減少するパターンであった。このような分布から、表層では太陽光による海洋性腐植様 CDOM の分解が考えられ、光分解による蛍光強度の減少は光分解実験により確認された (e.g., Mopper *et al.*, 1991; Chen and Bada, 1992)。一方、中・深層では栄養塩型の分布パターンを示すことから、海洋性腐植様 CDOM は沈降粒子の無機化過程において生成するとの仮説が提唱された (Hayase *et al.*, 1988; Chen and Bada, 1992; Mopper and Shultz, 1993; Hayase and Shinozuka, 1995)。しかし、分布パターンは栄養塩型であるものの、蛍光強度や深度に伴う蛍光強度の変化は海域により異なっており、仮説をそのまま受け入れる事は困難であった。この仮説を立証するには、

1) 暗所分解実験を用いた海洋性腐植様 CDOM 生成の確認、2) 広範な海域における観測による蛍光強度の鉛直及び水平分布の評価が必要であると考えられる。1) に関しては、近年の暗所分解実験結果により、微生物による分解過程において海洋性腐植様 CDOM が生成する事が示された (Parlanti *et al.*, 2000; Rochelle-Newall and Fisher, 2002; Nelson *et al.*, 2004; Yamashita and Tanoue, 2004b; Nieto-Cid *et al.*, 2006)。一方、2) に関しては、蛍光強度の単位や補正方法が著者により異なり論文間の比較が困難である事、また上記論文以降、外洋域における海洋性腐植様 CDOM 研究があまり精力的に行われなかった事により、外洋域における海洋性腐植様 CDOM 動態の理解は進まなかった。

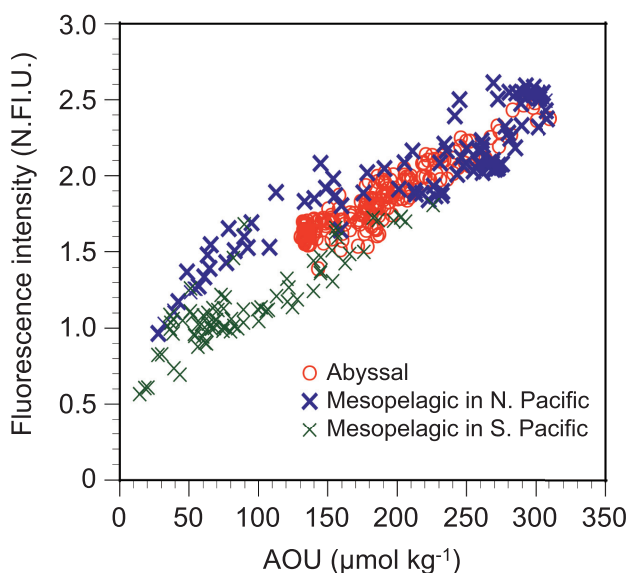


Fig. 9. Relationships between fluorescence intensity and AOU in the mesopelagic (200m–1000m) and abyssal (>1000m) layers along the Pacific transects at 160°W and 170°W (after Yamashita and Tanoue, 2008).

そこで、筆者らは太平洋における海洋性腐植様 CDOM の高解像度分布を蛍光光度法及び吸光光度法を用いて明らかにする事により、外洋域における海洋性腐植様 CDOM の動態評価を試みた (Yamashita and Tanoue, 2006; 2008; 2009; Yamashita *et al.*, 2007; 2010)。Fig. 8a に南大洋から北部北太平洋までの太平洋全域における海洋性腐植様 CDOM の蛍光強度の断面分布を示す。過去に報告された鉛直分布と同様に、太平洋全域において表層では蛍光強度が低い事が明らかになった。すなわち、表層では海域を問わず光分解が蛍光強度を決定づける重要な要因である事が分かった。中・深層水中において、蛍光強度は増加したが、その様子は海域によって大きく異なっていた。最も高い蛍光強度は北部北太平洋中層及び上部深層でみられた。また、亜熱帯域中層への低蛍光強度水塊の侵入は北太平洋よりも南太平洋のほうが深い事が分かった。同様な分布パターンは人為起源二酸化炭素においても確認されており (Sabine *et al.*, 2004)、これは南極中層水が北太平洋中層水よりも深く侵入する事による。一方、深層 (1000m 以深) では、周極深層水に伴って比較的低い蛍光強度が分布し、

蛍光強度の分布には南で低く、北で高い南北勾配がある事が分かった。Fig. 8b に見かけの酸素消費量 (apparent oxygen utilization, AOU) の断面分布を示すが、上述した蛍光強度の特徴をはじめとした蛍光強度の断面分布パターンは AOU のそれと非常に類似している事が分かった。

Fig. 8 の分布パターンから推測されるように、中・深層水中においては、海洋性腐植様 CDOM の蛍光強度と AOU の間に正の直線関係がある事が分かった (Fig. 9)。しかし、深層と中層の関係を比較してみると、南太平洋及び北太平洋中層ではプロットの多くは深層でみられる直線関係より、それぞれ下及び上に位置し、中層と深層では蛍光強度と AOU の関係が異なる事が分かった。表層から水塊が隔離される際の AOU が 0 に近い事を考えると、深層、北太平洋中層、南太平洋中層に分布する水塊の間では、水塊が沈み込む前に記憶していた海洋性腐植様 CDOM の蛍光強度 (preformed 蛍光強度) が異なる事になる。海水密度から中層の水塊を更に細かく区別すると、水塊間で蛍光強度と AOU の直線関係は異なる事が分かった (Yamashita and Tanoue, 2008)。例えば、北太平洋中層水と南極中層水を比べてみると、両者とも直線関係は蛍光強度に対して正の切片を示すが、切片は北太平洋中層水で高く (1.48 N.F.I.U.)、南極中層水 (0.57 N.F.I.U.) で低かった。これは、北太平洋中層水の方が南極中層水に比べて高い preformed 蛍光強度を記憶している事を示している。この高い北太平洋中層水の preformed 蛍光強度に関しては、その生成場所にオホーツク海が重要である事からアムール川による陸起源 CDOM の貢献が考えられた。北太平洋中層水が陸起源溶存有機物の水平輸送に関与している事は、陸起源有機物のマーカーであるリグニンフェノールが北太平洋中層水で高濃度分布する事からも指摘されており (Hernes and Benner, 2002)、北太平洋における海洋性腐植様 CDOM の質的パラメータの分布もこれを支持した (Yamashita and Tanoue, 2009)。

水塊混合が比較的シンプルな深層での海洋性腐植様 CDOM 動態を考えたい。太平洋全域を通して蛍光強度と AOU の間に直線関係があり (Fig. 9)、この直線関係より海洋性腐植様 CDOM の動態に関して 2 つの結論を得る事ができた。1 つ目はその生成プロセスに関する

事である。海洋内部における AOU は有機物の分解量を示すパラメータである。従って、AOU と蛍光強度が正の直線関係にあるという事実は、海洋内部において海洋性腐植様 CDOM が有機物の分解過程において生成する事を示す。本研究から得られた結論は、過去の蛍光強度の鉛直分布の研究から提唱された仮説 (Hayase *et al.*, 1988; Chen and Bada, 1992; Hayase and Shinozuka, 1995) を支持すると共に、鉛直分布からは説明できなかった蛍光強度の海域間の相違が、中・深層水循環に起因することも明らかにした。また、著者らは南大洋のみの比較的小規模海域において、海洋性腐植様 CDOM の蛍光強度と AOU、栄養塩 ( $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ) との関係と比較した (Yamashita *et al.*, 2007)。その結果、亜南極モード水中では蛍光強度と AOU の間には正の直線関係があるものの、蛍光強度と栄養塩の間には直線関係がない事を見いだした。亜南極モード水中では溶存有機物の分解が AOU の増加に貢献しているとの報告があり (Doval and Hansell, 2000)、亜南極モード水中でみられた蛍光強度と AOU 及び栄養塩の関係の違いは、分解される沈降粒子と溶存有機物の炭素：窒素：リン比の違いを反映しているものと考えられた。すなわち、海洋性腐植様 CDOM は沈降粒子のみならず溶存有機物の分解過程においても生成する事を示唆した。

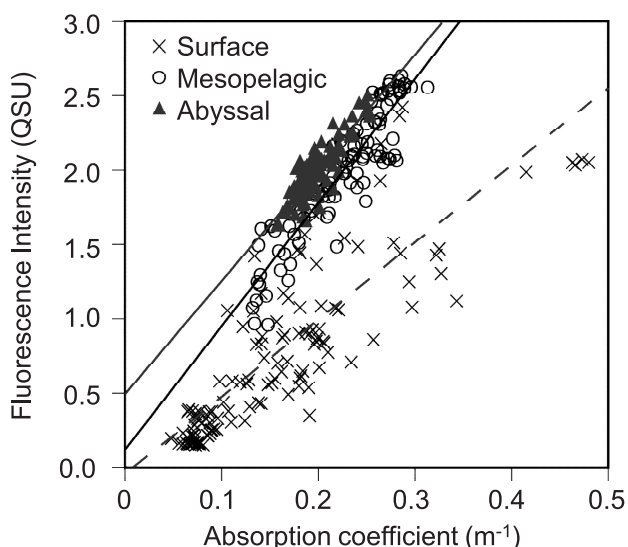
2 つ目の結論は海洋性腐植様 CDOM 動態の時間スケールに関する事である。本研究で対象とした海域における水塊の年齢差はおよそ 900 年と見積もられている (Roussenov *et al.*, 2004)。すなわち、深層で確認された海洋性腐植様 CDOM の蛍光強度と AOU の直線関係 (Fig. 9) は少なくとも 900 年は維持されるという事になる。ここでは、深層水中における海洋性腐植様 CDOM の蛍光強度と AOU の関係を対象としているので、光分解の影響は無視できる。また、微生物により海洋性腐植様 CDOM が無機化されるのであれば、無機化過程で酸素を消費するため海洋性腐植様 CDOM の蛍光強度と AOU の直線関係は維持できない。従って、海洋性腐植様 CDOM は分解しない、もしくはその分解速度は極めて遅い事が考えられた。すなわち、太平洋深層における蛍光強度と AOU の直線関係から、海洋性腐植様 CDOM は少なくとも 900 年程度は生物学的難分解な有機物であると結論づける事ができた。実験系においては、

微生物が難分解かつ分子的に同定できない溶存有機物を生成する事が示唆されており (Ogawa *et al.*, 2001)、本研究成果はそれと矛盾しない。溶存有機物の  $^{14}\text{C}$  年齢等から海洋における溶存有機物の大部分は難分解であると考えられていたが、その生成・維持機構については良く理解されていない。本研究成果は生物学的難分解性腐植様 CDOM が海洋において有機物の分解過程で生成するというプロセスを示した点において海洋溶存有機物動態理解の進歩に大きく貢献した。

更に、Yamashita and Tanoue (2008) は、深層水中における蛍光強度と AOU の直線関係の傾き (Fig. 9) 及び海洋内部における年間呼吸量 (del Giorgio and Duarte, 2002) から、深度 200m 以深の海洋内部における海洋性腐植様 CDOM の年間生成量を蛍光強度単位で見積もった。その結果、海洋内部における海洋性腐植様 CDOM の年間生成量は  $13 - 17 \times 10^{18} \mu\text{g QS eq.}$  ( $\mu\text{g QS eq.}$  は蛍光強度に相当) と見積もられ、この値は河川から海洋へと供給される陸上腐植物質の年間輸送量 ( $3.1 \pm 2.1 \times 10^{18} \mu\text{g QS eq.}$ ) を大きく上回るものであった。

赤道域から北部北太平洋の深層に関しては、蛍光強度のみでなく、腐植様 CDOM の吸収帯である 320nm の吸収係数と AOU の間にも正の直線関係が確認された (Yamashita and Tanoue, 2009)。一方、北大西洋においては 325nm の吸収係数と AOU の間には直線関係が確認されなかった (Nelson *et al.*, 2007)。陸起源バイオマーカーの研究から、北大西洋は太平洋と比較して、陸起源有機物の影響が大きい事が指摘されている (Opsahl and Benner, 1997)。太平洋と大西洋での相違について、北大西洋では、海洋起源 CDOM に対する陸起源 CDOM の割合が太平洋に比べて高い事や、北大西洋の水塊混合がより複雑な事、等の理由が考えられるが、その説明は今後の課題である。

上述のように筆者らは、海洋性腐植様 CDOM は生物学的難分解性であるとの結論を導きだしたが、実は結論づけるには問題が残されていた。Fig. 8 で示した海洋性腐植様 CDOM の分布は単一励起波長 (320nm) 及び蛍光波長 (420nm) の蛍光強度である。陸域及び沿岸域において CDOM の吸収及び蛍光スペクトルは光分解に伴い変化する事は知られており、海洋性腐植様 CDOM の



**Fig. 10.** Relationships between CDOM fluorescence intensity at 320 nm excitation and 420 nm emission and CDOM absorption coefficient at 320 nm. Samples were obtained from equatorial to subarctic regions along the 170°W transect. Dashed, grey solid, and black solid lines are relationships determined by regression analysis in the surface (<200m), mesopelagic (200m–1000m), and abyssal (>1000m) layers, respectively (after Yamashita and Tanoue, 2009).

変性に伴う蛍光強度の増加（CDOMの光学的性質の変化）を考慮しなければならない。そこで Yamashita and Tanoue (2009) は、蛍光強度と吸収係数の比（量子収率に相当）について検討した。Fig. 10 に赤道域から北部北太平洋の断面観測から得られた吸収係数と蛍光強度の関係を示す。表層（200m 以浅）のプロットは中層（200m–1000m）及び深層（1000m 以深）のプロットと比べて下側に位置し、表層水中の腐植様 CDOM は、中・深層中のそれらと比べると吸収係数に比べて蛍光強度が低い事が分かる。光分解実験より、光分解過程における蛍光強度の減少は吸収係数の減少よりも大きい事が分かっており（Yamashita and Tanoue, unpublished）、表層と中・深層水中の腐植様 CDOM の吸収係数と蛍光強度との関係の違いは、光分解の結果であると考え事ができる。一方、中・深層では吸収係数と蛍光強度の間に正の直線関係がみられ、それらの傾きは中層と深層で異なる事が分かった。以上の観測結果は、中・深層

水中において上記波長帯での腐植様 CDOM の吸収係数と蛍光強度は一定の比率で増加する事を示している。すなわち、海洋内部で生成する海洋性腐植様 CDOM の量子収率は一定であり、生成後変化しない事を示している。

更に筆者らは、オホーツク海及び北西部北太平洋の4観測点から得られた試料を対象に3次元励起蛍光光度法とPARAFACを用い、CDOMの蛍光スペクトルを評価した（Yamashita *et al.*, 2010）。PARAFACにより2つの腐植様蛍光成分を得る事ができた（Fig. 11）。両蛍光成分の蛍光強度は表層で低く、深度に伴い増加し、深層では深度に伴い若干減少した（Fig. 11）。このような鉛直分布パターンは、北部北太平洋で観測された鉛直分布（Fig. 8）と同様であった。深層においては両蛍光成分の蛍光強度はAOUと直線関係にあり、2つの腐植様蛍光成分は共に有機物の分解過程で生成する事が分かった（Yamashita *et al.*, 2010）。しかし、腐植様蛍光成分1および2の蛍光強度の比（成分1/成分2）は表層で低く、腐植様蛍光成分1は成分2に比べ光分解され易い事が示唆された（Fig. 11）。一方、深層においてはこれらの比はほぼ一定であり（Fig. 11）、更に蛍光強度の比とAOUの間に直線関係は確認されなかった（Yamashita *et al.*, 2010）。これらの事より、海洋内部では3次元励起蛍光スペクトル的に同様な海洋性腐植様 CDOM が生成し、生成後その蛍光スペクトルは変化しない事が示唆された。これらのCDOMの質的評価より、海洋内部で生物学的難分解性腐植様 CDOM が生成し、生成後は少なくとも本研究で採用した分光学的特性は変化しないと結論づける事ができた。

## おわりに

CDOMの分析に用いられる蛍光光度法・吸光光度法はハイスループットな手法であり、近年多く用いられている。PARAFACをはじめとする新しい解析法や指標が提案され、蛍光光度法・吸光光度法はルーチン的な溶存有機物の質的評価法として期待できる。本稿ではあまり触れなかったが、腐植様 CDOM は微量金属との錯形成能を有し（Yamashita and Jaffé, 2008）、中・深層水中ではFe(III)との錯形成により、溶存鉄濃度をコントロールする一要因である事も指摘されている

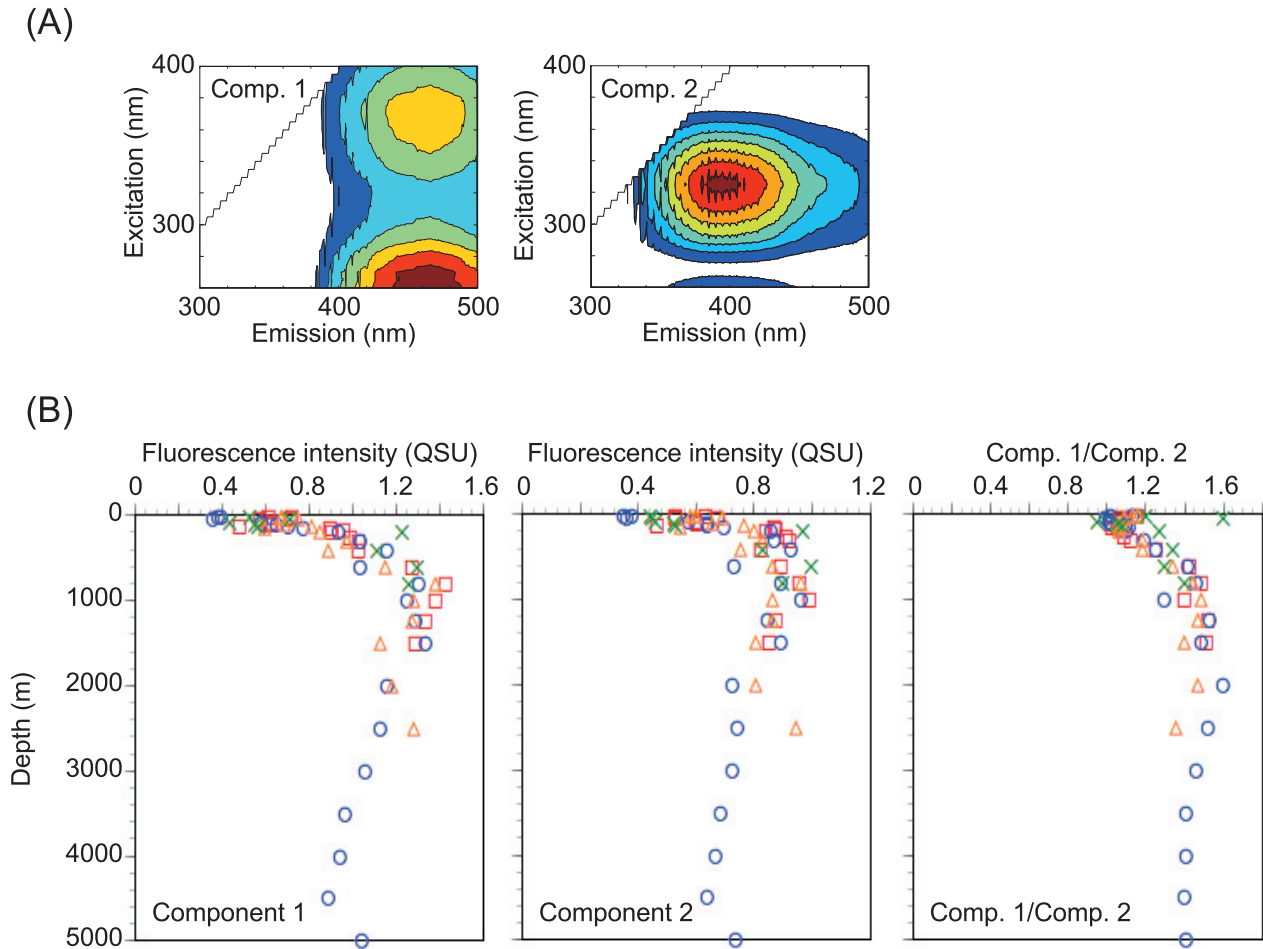


Fig. 11. (A) EEM spectra of two humic-like components (component 1 and 2) identified by 4 components PARAFAC model using samples from the Okhotsk Sea and the northwestern North Pacific Ocean. (B) Vertical profiles of two humic-like components and ratio of two humic-like components (component 1/component 2) at two stations in the Okhotsk Sea (squares and triangles) and two stations in the northwestern North Pacific Ocean (circles and crosses). (after Yamashita *et al.*, 2010).

(Tani *et al.*, 2003; Takata *et al.*, 2004; 2005; Kitayama *et al.*, 2009)。今後は、有機成分のみならず、無機成分も含めた生物地球化学サイクルの中での CDOM の機能についても理解を深めていく必要がある。一方、CDOM の有機化合物としての実体（化学像）に関する知見は非常に乏しい。CDOM ひいては溶存有機物動態を明らかにするには、化学像に関する情報が極めて重要になってくると思われる。そのためには現状の分析・解析方法に加え、新たな視点からブレイクスルーを図る必要があり、今後はより精力的に研究を展開していきたい。

## 謝 辞

このたび荣誉ある日本海洋学会岡田賞を頂いた事は、大変光栄であり、選考・承認して頂いた賞選考委員会の方々および学会員の皆様に深く感謝致します。このような伝統ある賞を頂いたのは、研究を実施した名古屋大学ならびにフロリダ国際大学に所属されるの方々をはじめとした多くの方々のご指導、ご助力のおかげです。名古屋大学・田上英一郎先生には、博士課程（前期課程）以来長年にわたりご指導、励まし、ご協力を頂いております。

フロリダ国際大学・Rudolf Jaffé教授には、様々なフィールド調査の機会を与えて頂くと共に、ポストクの受け入れ教員また良き友人としてご指導、ご助力、ご理解を頂いております。また、観測・実験・議論するにあたっては田上研究室ならびに R. Jafféグループの方々、共同研究者の方々、観測を実施した勢水丸・淡青丸・白鳳丸航海の乗組員、乗船された研究者ならびに学生の方々のご助力なしでは行えませんでした。この場をお借りして厚くお礼申し上げます。

## References

- Amon, R.M.W., and R. Benner (1996): Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.*, **41**, 41–51.
- Balcarczyk, K.L., J.B. Jones Jr., R. Jaffé, and N. Maie (2009): Stream dissolved organic matter bioavailability and composition in watersheds underlain with discontinuous permafrost. *Biogeochem.*, **94**, 255–270.
- Blough N.V., and R. Del Vecchio (2002): Chapter 10, Chromophoric DOM in the coastal environment, p. 509–546. In: *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*, edited by D.A. Hansell, and C.A. Carlson, Academic Press, San Diego.
- Chen, R.F., and J.L. Bada (1992): The fluorescence of dissolved organic matter in seawater. *Mar. Chem.*, **37**, 191–221.
- Coble, P.G., Green, S.A., N.V. Blough, and R.B. Gagosian (1990): Characterization of dissolved organic matter in the Black Sea by fluorescence spectroscopy. *Nature*, **348**, 432–435.
- Coble, P.G. (1996): Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Mar. Chem.*, **51**, 325–346.
- Coble, P.G. (2007): Marine optical biogeochemistry: The chemistry of ocean color. *Chem. Rev.*, **107**, 402–418.
- Cory, R.M., and D. M. McKnight (2005): Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinines in dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 8142–8149.
- Davis, J., and R. Benner (2007): Quantitative estimates of labile and semi-labile DOC in the western Arctic Ocean: A molecular approach. *Limnol. Oceanogr.*, **52**, 2434–2444.
- del Giorgio, P.A., and C.M. Duarte (2002): Respiration in the ocean. *Science*, **420**, 379–384.
- Doval, M.D., and D.A. Hansell (2000): Organic carbon and apparent oxygen utilization in the western South Pacific and the central Indian Oceans. *Mar. Chem.*, **68**, 249–264.
- Fellman, J.B., D.V. D'Amore, E. Hood, and R.D. Boone (2008): Fluorescence characteristics and biodegradability of dissolved organic matter in forest and wetland soils from coastal temperate watersheds in southeast Alaska. *Biogeochem.*, **88**, 169–184.
- Hansell D.A., and C.A., Carlson (2002): *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*. Academic Press, San Diego, 774 pp.
- Hayase, K., H. Tsubota, I. Sunada, S. Goda, H. Yamazaki (1988): Vertical distribution of fluorescent organic matter in the North Pacific. *Mar. Chem.*, **25**, 373–381.
- Hayase, K., and N. Shinozuka (1995): Vertical distribution of fluorescent organic matter along with AOU and nutrients in the equatorial Central Pacific. *Mar. Chem.*, **48**, 283–290.
- Hedges, J.I., and R.G. Keil (1995): Sedimentary organic matter preservation: an assessment and speculative synthesis. *Mar. Chem.*, **49**, 81–115.
- Hernes, P.J., and R. Benner (2002): Transport and diagenesis of dissolved and particulate terrigenous organic matter in the North Pacific Ocean. *Deep-Sea Res. I*, **49**, 2119–2132.
- Jaffé, R., D. McKnight, N. Maie, R. Cory, W.H. McDowell, J.L. Cambell (2008): Spatial and temporal variations in DOM composition in ecosystems: The importance of long-term monitoring of optical properties. *J. Geophys. Res.*, **113**, G04032.
- Kaiser, K., and R. Benner (2009): Biochemical composition and size distribution of organic matter at the Pacific and Atlantic Time-Series Stations. *Mar. Chem.*, **113**, 63–77.
- Kalle, K. (1949): Fluoreszenz und gelbstoff in Bottnishen und Finnischen Meerbusen. *Dtsch. Hydrogr. Z.*, **2**, 117–124.
- Kitayama, S., K. Kuma, E. Manabe, K. Sugie, H. Takata, Y. Isoda, K. Toya, S. Saitoh, S. Takagi, Y. Kamei, and K. Sakaoka (2009): Controls on iron distribution in the deep-water column of the North Pacific Ocean: Iron (III) hydroxide solubility and marine humic-type dissolved organic matter. *J. Geophys. Res.*, **114**, C08019.
- Lakowicz, J.R. (1999): *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 695 pp.
- Maie, N., N.M. Scully, O. Pisani, and R. Jaffé (2007): Composition of a protein-like fluorophore of dissolved organic matter in coastal wetland and estuarine ecosystems. *Water Res.*, **41**, 563–570.
- Maie, N., O. Pisani, and R. Jaffé (2008): Mangrove tannins in aquatic ecosystems: Their fate and possible influence on dissolved organic carbon and nitrogen cycling. *Limnol. Oceanogr.*, **53**, 160–171.
- Mayer, L.M., L.L. Schik, and T.C. Loder (1999): Dissolved protein fluorescence in two Maine estuaries. *Mar. Chem.*, **64**, 171–179.
- Mopper, K., X. Zhou, R.J. Kieber, D.J. Kieber, R.J. Sikorski, and R.D. Jones (1991): Photochemical degradation of dissolved organic carbon and its impact on the oceanic carbon cycle. *Nature*, **353**, 60–62.
- Mopper, K., and C.A. Schultz (1993): Fluorescence as a possible tool for studying the nature and water column distribution of DOC components. *Mar. Chem.*, **41**, 229–238.
- Moran, M.A., W.M. Sheldon Jr., and R.G. Zepp (2000): Carbon loss and optical property changes during long-term photochemical and biological degradation of estuarine dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.*, **45**, 1254–1264.
- Nelson, N.B., and D.A. Siegel (2002): Chapter 11, Chromophoric DOM in the open ocean, p. 547–578. In: *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*, edited by D.A. Hansell, and C.A. Carlson, Academic Press, San Diego.
- Nelson, N.B., C.A., Carlson, and D.K. Steinberg (2004): Production of chromophoric dissolved organic matter by Sargasso Sea microbes. *Mar. Chem.*, **89**, 273–287.
- Nelson, N.B., D.A. Siegel, C.A. Carlson, C. Swan, W.M. Smethie Jr., and S. Khatiwala (2007): Hydrography of chromophoric dissolved organic matter in the North Atlantic. *Deep-Sea Res. I*, **54**, 710–

- 731.
- Nieto-Cid, M., X.A., Álvarez-Salgado, and F.F. Pérez (2006): Microbial and photochemical reactivity of fluorescent dissolved organic matter in a coastal upwelling system. *Limnol. Oceanogr.*, **51**, 1391–1400.
- Ogawa, H., and E. Tanoue (2003): Dissolved organic matter in oceanic waters. *J. Oceanogr.*, **59**, 129–147.
- Ogawa, H., Y. Amagai, I. Koike, K. Kaiser, and R. Benner (2001): Production of refractory dissolved organic matter by bacteria. *Science*, **292**, 917–920.
- Opsahl, S., and R. Benner (1997): Distribution and cycling of terrigenous dissolved organic matter in the ocean. *Nature*, **386**, 480–482.
- Parlanti, E., K. Wörz, L. Geoffroy, and M. Lamotte (2000): Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Org. Geochem.*, **31**, 1765–1781.
- Rochelle-Newall, E.J., and T.R. Fisher (2002): Production of chromophoric dissolved organic matter fluorescence in marine and estuarine environments: an investigation into the role of phytoplankton. *Mar. Chem.*, **77**, 7–21.
- Roussenov, V., R.G. Williams, M.J. Follows, and R.M. Key (2004): Role of bottom water transport and diapycnic mixing in determining the radiocarbon distribution in the Pacific. *J. Geophys. Res.*, **109**, C06015.
- Sabine, C.L., R.A. Feely, N. Gruber, R.M. Key, K. Lee, J.L. Bullister, R. Wanninkhof, C.S. Wong, D.W.R. Wallace, B. Tilbrook, F.J. Millero, T.-H. Peng, A. Kozyr, T. Ono, and A.F. Rios (2004): The Oceanic Sink for Anthropogenic CO<sub>2</sub>. *Science*, **305**, 367–371.
- Santín, C., Y. Yamashita, X.L. Otero, M.Á. Álvarez, and R. Jaffé (2009): Characterizing humic substances from estuarine soils and sediments by excitation-emission matrix spectroscopy and parallel factor analysis. *Biogeochem.*, **96**, 131–147.
- Stedmon, C.A., S. Markager, and R. Bro (2003): Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. *Mar. Chem.*, **82**, 239–254.
- Takata, H., K. Kuma, S. Iwade, Y. Yamajoh, A. Yamaguchi, S. Takagi, K. Sakaoka, Y. Yamashita, E. Tanoue, T. Midorikawa, K. Kimura, and J. Nishioka (2004): Spatial variability of iron in the surface water of the northwestern North Pacific Ocean. *Mar. Chem.*, **86**, 139–157.
- Takata, H., K. Kuma, S. Iwade, Y. Isoda, H. Kuroda, and T. Senjyu (2005): Comparative vertical distribution of iron in the Japan Sea, the Bering Sea, and the western North Pacific Ocean. *J. Geophys. Res.*, **110**, C07004.
- Tani, H., J. Nishioka, K. Kuma, H. Takata, Y. Yamashita, E. Tanoue, and T. Midorikawa (2003): Iron (III) hydroxide solubility and humic-type fluorescent organic matter in the deep water column of the Okhotsk Sea and the northwestern North Pacific Ocean. *Deep-Sea Res. I*, **50**, 1063–1078.
- Tanoue, E. (2000): Protein in the sea-Synthesis, p. 383–463. In *Dynamics and Characterization of Marine Organic Matter*, edited by N. Handa, E. Tanoue, and T. Hama, Terra Scientific Publishing Company, Tokyo.
- Yamashita, Y., and E. Tanoue (2003a): Chemical characterization of protein-like fluorophores in DOM in relation to aromatic amino acids. *Mar. Chem.*, **82**, 255–271.
- Yamashita, Y., and E. Tanoue (2003b): Distribution and alternation of amino acids in bulk DOM along a transect from bay to oceanic waters. *Mar. Chem.*, **82**, 145–160.
- Yamashita, Y., and E. Tanoue (2004a): Chemical characteristics of amino acid-containing dissolved organic matter in seawater. *Org. Geochem.*, **35**, 679–692.
- Yamashita, Y., and E. Tanoue (2004b): In situ production of chromophoric dissolved organic matter in coastal environments. *Geophys. Res. Lett.*, **31**, L14302.
- 山下洋平, 山田奈美葉, 田上英一郎 (2005): 第14章, 海洋における有機物の代謝—生物体有機物から非生物態有機物へ—, p. 266–281. In 海洋生命系のダイナミクス第三巻「海洋生物の連鎖—生命は海でそう連鎖しているか」, 木暮一啓編, 東海大学出版会.
- Yamashita, Y., and E. Tanoue (2006): Quantitative and qualitative characteristics of chromophoric dissolved organic matter in Pacific subarctic and subtropical surface waters. *Res. Org. Geochem.*, **21**, 13–22.
- Yamashita, Y., A. Tsukasaki, T. Nishida, and E. Tanoue (2007): Vertical and horizontal distribution of fluorescent dissolved organic matter in the Southern Ocean. *Mar. Chem.*, **106**, 498–509.
- Yamashita, Y., and R. Jaffé (2008): Characterizing the interactions between trace metals and dissolved organic matter using excitation-emission matrix and parallel factor analysis. *Environ. Sci. and Technol.*, **42**, 7374–7379.
- Yamashita, Y., R. Jaffé, N. Maie, and E. Tanoue (2008): Assessing the dynamics of dissolved organic matter (DOM) in coastal environments by excitation and emission matrix fluorescence and parallel factor analysis (EEM-PARAFAC). *Limnol. Oceanogr.*, **53**, 1900–1908.
- Yamashita, Y., and E. Tanoue (2008): Production of bio-refractory fluorescent dissolved organic matter in the ocean interior. *Nature Geosci.*, **1**, 579–582.
- Yamashita, Y., and E. Tanoue (2009): Basin scale distribution of chromophoric dissolved organic matter in the Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.*, **54**, 598–609.
- Yamashita, Y., R.M. Cory, J. Nishioka, K. Kuma, E. Tanoue, and R. Jaffé (2010): Fluorescence characteristics of dissolved organic matter in the deep waters of the Okhotsk Sea and the northwestern North Pacific Ocean. *Deep Sea Res. II*, in press.

# Studies on Characteristics and Dynamics of Chromophoric Dissolved Organic Matter (CDOM) in the Ocean

Youhei Yamashita †

## Abstract

This article summarizes the results of my study on the characterization and dynamics of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in the ocean based on both observational and experimental approaches. CDOM can be separated into bio-components (e.g., protein-like fluorophores) and humic-like substances. In regards to the bio-components in CDOM, protein-like fluorophores were first suggested to derive from aromatic amino acids in DOM. Furthermore, using fluorescence properties and amino acid composition, chemical forms of amino acid-containing DOM in high molecular weight fractions were identified as long-chain peptides in surface waters and relatively small peptides in deep waters, respectively. In regards to the humic-like substances in CDOM, the spatial distribution of both quantitative and qualitative parameters of marine humic-like CDOM as well as apparent oxygen utilization (AOU) indicated that marine humic-like CDOM is produced as organic matter is biologically oxidized, and that this material is bio-refractory on centennial to millennium time scales.

**Key words:** Dissolved organic matter (CDOM), Chromophoric dissolved organic matter (CDOM), Bio-components, Chemical forms, Refractory

(Corresponding author's e-mail address: yamashiy@ees.hokudai.ac.jp)

(Received 8 September 2009; accepted 8 October 2009)

(Copyright by the Oceanographic Society of Japan, 2010)

---

† Southeast Environmental Research Center, and Department of Chemistry and Biochemistry, Florida International University, University Park Campus, Miami, Florida, 33199, USA

Tel: +1-305-348-6085

Fax: +1-305-348-4096

Faculty of Environmental Earth Science, Hokkaido University, N10W5, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 060-0810, Japan

Tel: 011-706-2349