

堆積物—水境界における現場測定技術の最前線

小 栗 一 将*

1. はじめに：堆積物—水境界における親生物物質の分布を測定する意義

海洋表層で生産された有機物は、分解を受けながら海底に到達する。水柱や堆積物表層では、微生物や底生生物の活動によって有機物の分解はさらに進む (Jahnke, 1996)。この結果、堆積物内部に保存される有機炭素の割合は有光層で生産される量の数%となるが (Walsh *et al.*, 1981; Buscail *et al.*, 1990; Biscaye and Anderson, 1994; Oguri *et al.*, 2003)、全球の海底表面における有機・無機炭素の埋没量は150 GtCと莫大であり、年間あたり実に0.2 GtCもの炭素が堆積していると見積もられる (IPCC, 2007)。これらの有機物は、堆積物表層部でさらに好気分解を受け無機化されるが、堆積物深部まで残存する有機物のいくらかは、地殻内微生物の活動によって、最終的にメタンに還元される。メタンは堆積物深部の間隙水中に溶存するが、ある温度圧力条件の下で包接水和物を形成、いわゆるメタンハイドレートとなる (たとえば Kvenvolden, 1995)。そして、これらメタンの一部は断層や泥火山のように透水率の高い場所から、再び海水中にもたらされる (Martin and Kastner, 1994; Toki *et al.*, 2004)。海底のメタンは気候にも影響を与えた。古第三紀暁新世末期には、海底下に分布するメタンハイドレートが海中を通して大気中に大量に放出、その結果温室効果が加速し、急激な温暖化が生じた (たとえば Bains *et al.*, 1999)。このように、堆積物—水境界は海水中と堆積物内部という物質の循環の輪が重なる場である。しかし、ここは従来想像されてきたような、静かで退屈な場では決してない。たとえ

ば有光層中で植物プランクトンのブルーミングが発生すると、海底には *phytodetritus* と呼ばれるマリンスノーの凝集物が一時的に堆積するが (Lampitt, 1985)、生物による分解が進み、海底面における酸素の消費も加速する (Moodley *et al.*, 2002; Witte *et al.*, 2003)。海底の長期時系列撮影装置 (Lampitt, 1985; Smith *et al.*, 1995)、深海観測ステーション (Momma *et al.*, 1998) や科学用途の海底ケーブルネットワーク (Friede *et al.*, 2003; Barnes *et al.*, 2007) などを用いた長期現場観の結果、海底面は底生生物の活動によって常に混合を受けていることも分かった。さらに、古典的な水槽実験の研究からは、透水率の高い砂質堆積物中では、間隙水も海水の流れによって移動し、親生物物質の分布は水平方向のみならず鉛直方向にも変動することが指摘された (Boudreau *et al.*, 2001; Precht *et al.*, 2004)。これらの事実は、堆積物—水境界では生物・化学・物理的なあらゆる現象が有機物の分解や無機化といった一連の炭素循環過程—すなわち分布や生産・消費過程—に大きな影響を与えていること、そこには常に時空間的なゆらぎが存在することを意味する。従って、堆積物—水境界における様々な現象が物質の循環過程へ及ぼす影響をより正しく議論し、海底とはどういう場なのか、という本質的な理解を進めるためには、物質の測定を海底の現場で行い、これらの結果を通したフラックスの算出を行った上で環境を理解することが不可欠である。しかしながら、海底面は非常に柔らかく、少しの力を加えるだけで圧縮を受けたり、堆積物表層部分が舞い上がってしまうという、厄介な場でもある。さらに、ここでは複雑で多岐にわたる反応が微小な空間で生じており、一般的な分析化学手法をそのまま適用することを難しくしていた。

近年ではエレクトロニクス・深海技術の発達に伴い、いわば“アンタッチャブルゾーン”として解析が

* 独立行政法人海洋研究開発機構 海洋・極限環境生物圏領域 海洋環境・生物圏変遷過程研究プログラム, 海洋工学センター 海洋技術開発部
〒237-0061 神奈川県横須賀市夏島町2-15

進んでいなかった、堆積物—水境界における生物地球化学過程の解明が進みつつある (Viollier *et al.*, 2003)。しかし、このような現象を扱う研究は、我が国ではあまり行われて来ておられず、紹介の機会も多いとは言えなかった。そこで本論では、実際の堆積物—水境界における新生物物質のプロファイルについての概論を述べた後に、測定装置を海底の現場に設置・回収するために用いられる自律型昇降装置について解説を行う。そして、海底面における生物化学的な現象—とくに酸素のプロファイル、フラックスや堆積物内での消費速度の測定法を解説する。さらに、これらの定量手法や測定・実験を通して得られた成果を紹介することによって、海底における親生物物質の測定およびその研究の流れを紹介する。

2. 堆積物—水境界における親生物物質の分布とセンサ

2.1 親生物物質のプロファイル

堆積物—水境界は、さまざまな物質の濃度やイオンの価数といった存在形態が深さ方向に極端に変化する場である。この勾配は、酸素をはじめとする間隙水中の酸化物が堆積物中の有機物の分解や微生物の代謝によって消費されることで生じている。堆積物表層付近では水柱から拡散した酸素は急激に減少し、一次生産の高い内湾、沿岸や半遠洋性の環境においては、表層からわずかに数 mm～数 cm の深さの間で無酸素となる (Gundersen and Jørgensen, 1990)。しかしながら、一次生産量が低く低層水の酸素濃度が高い深海平原や海溝・海淵の海底では、酸素が検出される深さは 10 cm 以上となる (Wenzhöfer *et al.*, 2001; Fischer *et al.*, 2009; Glud *et al.*, 2013)。一次生産量がさらに低く、かつ堆積物中の有機炭素含有量が非常に少ない central gyre 域に分布する赤色粘土堆積物では、酸素が検出される層の深さは数 m から数 10 m 以上に至り、海底下数 10 m においても好気的な代謝を行う微生物が生息する環境も存在する (Røy *et al.*, 2012)。酸素の存在下で有機炭素は好気分解を受け、二酸化炭素と水に酸化される。Fig. 1 に堆積物—水境界における親生物物質の分布の模式図を示す。堆積物中における有機物の分解や微生物の代謝によって最終電子受容体である酸素が消費されると、次に硝酸塩などを利用するバクテリアによる脱窒がはじまる。これより深くなると、マンガンや鉄酸化物が還元される (たとえば Canfield *et al.*, 1993)。海底から堆積物を採取する

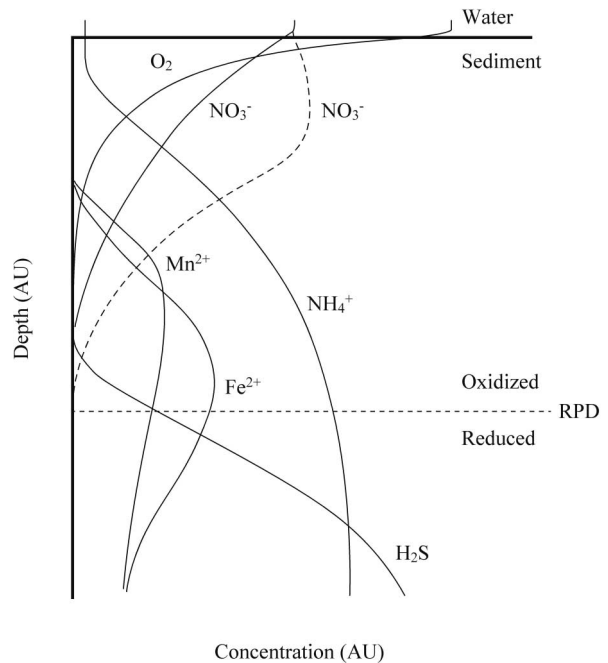


Fig. 1 Distribution patterns of oxygen, nutrients, ions and sulfide in sediment. The figure is redrawn from Jørgensen and Boudreau (2001). Nitrogen cycles are simplified only to show NO_3^- and NH_4^+ . NO_3^- sometimes builds up a maximum concentration by nitrification (dashed line). RPD (redox potential discontinuity) represents the polarity change horizon in redox potential.

と、酸化層と呼ばれる茶褐色層が堆積物の最表層から数 mm～数 cm の部分に見られることがあるが、この色はマンガン酸化物・鉄水酸化物の存在を反映しており、間隙水中に酸素が含まれる深さとは必ずしも一致しない。この深さでは、酸化還元電位がプラスからマイナスに転じる。この境界は酸化還元電位不連続面 (RPD: Redox potential discontinuity) と呼ばれる (Rhoads, 1974)。

酸素、硝酸塩、マンガン、鉄といった酸化物が還元されると、硫酸還元バクテリアの活動が活発になり、硫酸イオンが硫化水素へと還元される反応が主体となる。硫酸イオン濃度が減少すると、最終的にはメタン生成アーキアによる発酵によって、残存する有機物やその分解生成物である二酸化炭素はメタンに還元される (たとえば Barnes and Goldberg, 1976)。

これらの物質の分布、消費あるいは生産フラックスを明らかにするためには、絞り出しによる間隙水の採取、DGT (Diffusion Gradients in Thin-films) ゲル

を用いた物質の拡散を利用したサンプリング（たとえば Davison and Zhang, 1994; Zhang and Davison, 1995; Zhang *et al.*, 1998）、センサを用いた測定などの手法が用いられる。なかでもセンサによる現場測定は、正確な値を得られると期待できるが、センサで測定できる物質はごく一部に限られる。堆積物中における有機炭素の分解にはさまざまな過程が存在し、堆積物表層部において有機物の分解に最も寄与している物質は酸素である（Wenzhöfer and Glud, 2004）。酸素を測定するセンサは様々なものが開発されているが、炭素循環を理解する上で最も重要な二酸化炭素については、海底の現場で使える微小電極は製品化されていない。このため有機炭素の無機化速度は、酸素センサによって測定されたプロファイルを基に海底へ拡散する酸素の消費フラックスを計算、この値にレッドフィールド比（Redfield *et al.*, 1963）を適用することによって間接的に求められることが多い（たとえば Wenzhöfer and Glud, 2002）。そこで本論では、主に酸素センサ（微小酸素電極と二次元酸素オプトード）について詳しい解説を行い、他の親生物物質を測定するセンサについては概要の紹介に留めたい。

2.2 自律型昇降装置（ランダー）

酸素消費速度や有機炭素分解速度の見積りなど、堆積物—水境界における諸過程の解明のために、現場において化学成分を測定することの重要性は広く認識されてきた。しかしこのような測定を行うには、海底へ測定装置を設置し、測定終了後にデータも含めた装置そのものを回収する必要があるため、その実現には困難が伴った。そこで、ランダーと呼ばれる自律型昇降装置が開発された（Fig. 2）。ランダーはガラス球やマイクロガラス球を樹脂固定した浮力材（シntaxチックフォーム）などの浮力体を取り付けるフレーム部と、測定装置とバラストウエイトを取り付けるペイロード部、そして海底で自立するための脚部から構成される（Smith, 1978; Jahnke and Christiansen, 1989）。通常、浮力体はランダーの上部に取り付けられ、水中か海底で直立した姿勢を保つよう設計される。また、船から投入した後、降下速度が分速30 m程度となるようバラストの重量が計算される。降下速度はフレームの構造、すなわち水の抵抗によって若干変化するが、通常は、水中重量が40 kg程度になるよう浮力材の量とバラストの重量を調整する。ランダー

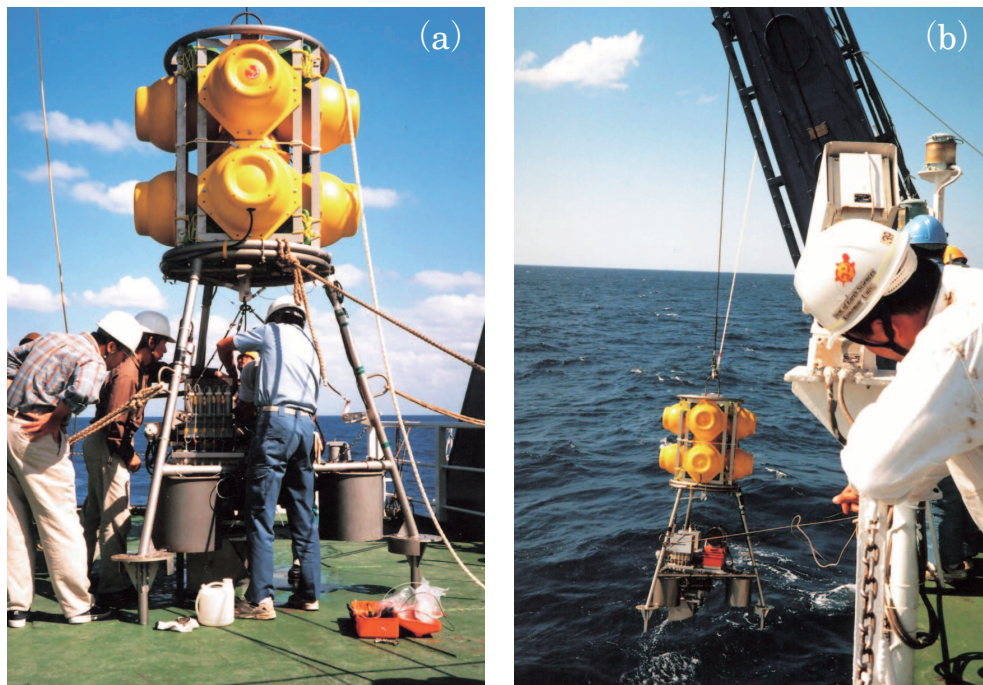


Fig. 2 An example of lander system: (a) The lander was constructed based on the design by Jahnke and Christiansen (1989). A benthic chamber with an automatic water sampling device was installed in the frame. (b) The deployment scene taken during R/V KAIYO K 95-09 cruise in MASFLEX (MArginal Sea FLux EXperiments in the West Pacific) project, at Okinawa Trough.

には、バラスト切り離し機能の付いた音響トランスポンダが搭載され、降下中、あるいは着底後の位置を割り出せるようになっている。

ランダーに搭載される現場測定装置はタイマーによってスイッチが入る設計が多く、着底時とその後攪乱、すなわちランダーの脚が海底に突き刺さることで生じる堆積物の再懸濁が止み、視界が晴れる時間を見越した上で測定開始時間がセットされる。測定終了後、船上から音響コマンドを受けることによって切り離し装置がバラストを投棄し、得られた浮力によって海面まで浮上、回収される。

ランダーの開発によって、様々な装置を海底の現場に持込、酸素や有機炭素消費速度を見積る試みが数多く行われるようになった。我が国では1990年代なかば、海底における物質循環の研究の一環で、東シナ海においてベンシックチャンバーを搭載したランダーが使用された (Fig. 2, 伊藤ほか, 1996)。その後、潜水艇では潜れない水深7000 m 以深の海底をビデオ撮影し、海水や表層堆積物の不攪乱採泥を行うためのランダーが開発された (Murashima *et al.*, 2009)。

ランダーは有人・無人潜水艇の開発、運用に比べコストパフォーマンスが著しく高く、運用の手間を減らせる利点があるにも関わらず、我が国ではあまり普及していない。一方で、合理性を重んじる欧州ではランダーを使った海底の物質循環の研究事例は多く、これまでも内湾、フィヨルド、外洋、海水の発達する極域の海洋から海溝に至るまで、様々な場所で運用が行われてきた。現在では、デンマークやドイツの会社がランダーや関連部品の製品化も行なっている。ランダー開発の歴史、種類、特徴や方法については、Tengberg *et al.* (1995) や Jahnke (2009) などに詳しく紹介されている。

2.3 ベンシックチャンバー法

海底における酸素消費速度の測定には、海底にチャンバーと呼ばれる覆いを被せ、内部の溶存酸素濃度を時系列測定する手法が適用されてきた (たとえば Smith, 1978)。この手法はベンシックチャンバー法と呼ばれ、堆積物—水境界における酸素などのフラックス測定に古くから用いられてきた。ベンシックチャンバーにオートサンプラーを取り付けて海水の時系列サンプリングを行い、後から化学分析を行うことで、酸素の他にも全炭酸や栄養塩類のように、センサでは測定が難しい親生物物質の濃度、消費・生産速度も測定できる (Stahl *et al.*, 2004)。しかしながら、この

手法は海底をチャンバーで覆うため、生物による呼吸 (Glud *et al.*, 1994a)、海底面の攪乱 (バイオターベーション; Aller, 1994)、や棲管などを通して、底生生物が堆積物内部に新鮮な海水を引き入れる現象 (バイオイリゲーション; Rutgers van der Loeff *et al.*, 1984) などによって、チャンバー内部の環境は時間が経つに連れ現実の環境からかけはなれていく (Tengberg *et al.*, 2004)。チャンバー内に底生生物が存在する場合、呼吸によって酸素が消費されるため消費速度は高く見積もられる。また、この装置では堆積物—水境界における親生物物質の濃度プロファイルなどは測定できないため、堆積物内部への拡散や消費過程を測定することはできない。ベンシックチャンバー法によって得られる酸素消費速度は Total Oxygen Uptake (TOU) と呼ばれる。ベンシックチャンバー法による測定結果を評価する場合、閉鎖的な環境の値を測定していることに留意する必要がある (Archer and Devol, 1992; Glud *et al.*, 1994a)。

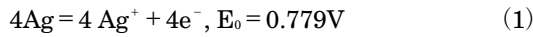
2.4 微小電極法

これまでも堆積物—水境界における親生物物質の濃度、消費・生産フラックスや、その時空間変動を明らかにするために様々な装置が開発され、海底直上の水中における物質の濃度変化が調べられてきた (たとえば Okamura *et al.*, 2004)。海洋環境に対する海底の役割、すなわち、物質の消費と生産、海水中への溶出や堆積物内部への保存過程を知るには、堆積物—水境界で消費、生産される物質のフラックスを測定する必要がある。しかし、これらの濃度勾配は非常に急なため、通常サイズの電極では十分な解像度のプロファイルを測ることができない。

近年では微小電極と呼ばれるセンサが発達し、海底の現場において親生物元素の高解像度プロファイル測定が可能になった。これにはデンマーク、オーフス大学の Niles Revsbech らによる微小電極の開発研究が大きく貢献している。彼らは医学分野で開発された酸素電極 (Clark *et al.*, 1953) を改良、先端径数10 μm の微小酸素電極を開発した (Revsbech, 1989)。微小電極は水処理やバイオマッ内の化学勾配の研究で注目を浴び、衛生工学分野で使用されてきたが (たとえば Okabe *et al.*, 1999)、生物地球化学分野にも適用されるようになり、現在では干潟から深海底に至るまで、あらゆる海域の現場測定に用いられている。

2.4.1 微小酸素電極の原理 Fig. 3に、微小酸素電極の構造と動作原理を示す。電極はガラス管 (パス

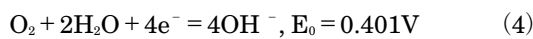
ツールピペット)を延ばして作られており、内部はアノード、ワーキングカソード、そしてガードカソードの各電極が組み込まれ、塩化カリウム溶液が充填されている。先端は厚さ数 μm のシリコン製の薄膜が張られ、電極内部と外部を隔てている。酸素分子はシリコン薄膜を通し、拡散によって電極内部に浸透する。アノードはカソードに対し -0.8 V の電圧が印加しており、酸素が電解液に溶存すると、アノードでは銀がイオン化して電子が生じ、塩化銀が生成する。



ここで、 E_0 は標準電極電位を示す。なお、塩化物イオンは電解液から供給される。



このとき、ワーキングカソード表面では酸素と水と電子の反応により、水酸化物イオンが生じる。



すなわち、酸素分子1個が電極内に入ると、アノードからカソードに4個の電子が移動する (Bai and Harremoes, 1998)。従って、カソードからアノードに流れる電流 (電流は電子の移動とは逆方向と定義される) は酸素濃度と比例することになるため、これを微小電流計で測定することによって酸素濃度を定量できる。なお、ガードカソードは反応そのものには関与しないが、酸素が電解液の内部まで拡散し、感度や安定度が低下することを防ぐ役割がある。

微小酸素電極の校正は無酸素と飽和の二点で行えばよいが、シリコン薄膜の酸素透過率や電解液の拡散係数には温度依存性があるため、校正と測定は同一温度、圧力条件で行う必要がある。微小電極メーカーのデンマーク、Unisense社のカタログによれば、微小酸素電極は90%値に達する時間が5秒未満、検出限界は $0.3\mu\text{M}$ 以下と通常の電極に比べ高い応答性と感度を持つが、先端が細いため破損しやすいという問題がある。このため微小電極を使用する研究を効率よく行うには、電極の製作環境を整え、研究者やテクニシャンが自ら製作するのが理想である。微小酸素電極の製作方法はLu and Yu (2002)に詳しいが、筆者が電極製作を経験した限り、実際に機能する電極を作るには熟練者の指導の下での練習が不可欠と考える。微小電極は魅力的なセンサだが、注意深く扱わないとすぐに折れてしまい、製品も安価ではない。デンマークやドイツの大学研究機関のラボを訪問する度に、微小電極技術を用いた環境の研究が進んでいる背景に、優秀なラボテクニシャンを含めた人材の配置と集中がうまく機能している実情を垣間見る。

2.4.2 酸素以外の親生物物質を測定できる微小電極 アンペロメトリー、すなわち化学反応で発生する電流を測定する原理に基づく微小電極には、酸素のほか硫化水素 (Jeroschewski *et al.*, 1996; Kühl *et al.*, 1998)、一酸化二窒素 (Andersen *et al.*, 2001)、水素を測定できるものなどが開発され、市販化もされている。また、基準電極との間の電位差を測定するボルタメトリーに基づく微小電極には、酸化還元電位センサのほか、イオン透過ガラスや薄膜を用いたpH電極

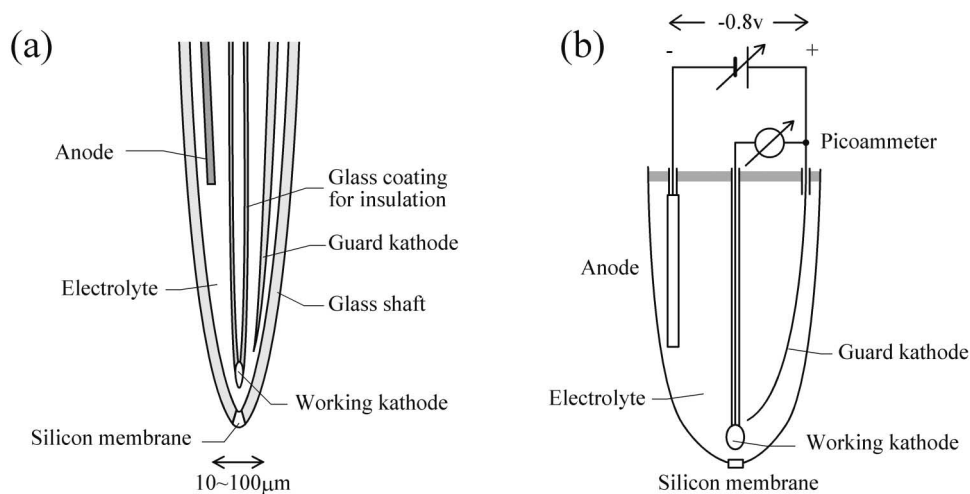


Fig. 3 (a) Schematic drawing and (b) diagram of oxygen microelectrode.

(Hebert, 1974; Ammann, 1986), イオン透過膜と pH 電極との組み合わせによって構成される二酸化炭素電極 (Gollany *et al.*, 1993; Cai and Reimers, 1993; Cai *et al.*, 1995) などが存在する。しかしながら、これら特定のイオンを測定する電極は透過膜の劣化が速いため、製作後すぐに使わなければならないという問題がある。また、イオン透過膜を利用したセンサを海洋環境試料に適用した場合、溶存する塩化物イオンなどの妨害を受けることがある。その他の親生物物質を測定するセンサとして、硝酸還元バクテリアを封入したチャンバーと一酸化二窒素電極を組み合わせた硝酸・亜硝酸イオンセンサ (Larsen *et al.*, 1997; Larsen *et al.*, 2000; Revsbech and Glud, 2009; Glud *et al.*, 2009a) や、電極内にメタン酸化バクテリアのチャンバーと空気インレット取り付け、内部の酸素消費量を測定することで間接的にメタン濃度を測定するメタンセンサなど、いわゆるバイオ・電極複合センサも開発されている (Damgaard *et al.*, 1997)。しかしこれらの電極は安定性や寿命の短さに問題があるため、製品化には至っていない。現在実用化されているバイオ・電極複合センサは Unisense 社の硝酸・亜硝酸イオンセンサだけである。このセンサは劣化したチャンバーを交換できるため使いやすいが、センシング部分は太いため、微小環境測定への適用は難しい。様々な微小電極の種類、原理については Kühl and Revsbech (2001) のレビューに詳しい。

2.4.3 微小電極によって測定されたプロファイルから、親生物物質のフラックスや消費速度を求める方法 微小電極法は、ベンシックチャンバー法のように海底面を覆うことなく親生物物質のフラックスを測定できる方法のひとつである。この手法は、海底で使えるよう工夫された精密プロファイラに、水圧によって破損しないように絶縁油によって均圧処理を施した微小電極 (Reimers and Glud, 2000) を取り付け装置によって、堆積物最表層部より数 mm～数 cm 上部の水中から堆積物内部の酸素が検出されなくなる深さまで、50～100 μm 間隔という高分解能の鉛直プロファイルを測定する。このとき、堆積物最表層から数 100 μm ～1 mm 上部の水中において、酸素濃度の減少が見られるが、この層では、海底との摩擦によって水流が非常に遅くなるため、溶存物質の移動は拡散現象に支配されている。このため、この層は拡散境界層 (Diffusive Boundary Layer: DBL) と呼ばれる。

Fig. 4は、R/V 淡青丸 KT 09-26航海において相模湾

湾中央部、水深約1460 mの海底からマルチプルコーラーを用いて不攪乱採取した堆積物コアを用い、船内のラボで測定した100 μm 間隔の酸素濃度プロファイルである。コアは採取後すぐに現場と同じ水温と溶存酸素濃度に調整した培養装置に入れ、現場環境に等しい状態に保った。測定は、数時間の培養後、Unisense社のプロファイル測定装置 (OX-50微小酸素電極, PA-2000微小電流計, ADC-216 USB A/D コンバータ, Profix 制御・データ収集プログラム, MS-232モーターコントローラ) を用いて行った。水中における酸素濃度の減少は堆積物表層から400 μm 上から見られ、ここから堆積物表層までの部分が DBL であることが分かる。

拡散によって堆積物中に吸収される酸素のフラックス (Diffusive Oxygen Uptake: DOU と呼ばれ、TOU とは区別される) は、DBL の傾きから求められる。まず、物質の拡散フラックスは、フィックの第一法則に基づき、以下の式で表される。

$$f = -D_0 \cdot \frac{dC(z)}{dz} \approx D_0 \cdot \frac{C_0 - C_1}{z} \quad (5)$$

ここで $f = \text{DOU}$, D_0 = 水中における酸素の拡散係数, $dC(z)$ は深さ方向に対する酸素濃度変化, C_0 , C_1

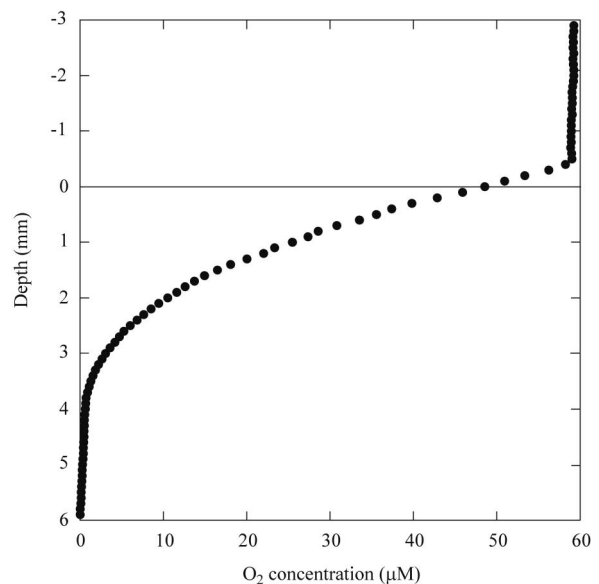


Fig. 4 Oxygen profile of an undisturbed sediment core taken from central Sagami Bay, water depth of 1460 m. The core was collected using with a multiple core sampler. The measurement was carried out after 8 hours incubation keeping the temperature at 3 degree centigrade with a chiller.

は、DBL 最上部と堆積物最表層部における濃度をそれぞれ示す。この式が成り立つ前提として、酸素濃度プロファイルは直上水の濃度、堆積物内部での有機物の分解や生物活動に伴う消費のバランスによって形成しており、定常状態にあるという条件が伴う (Berner, 1980; Rasmussen and Jørgensen, 1992; Glud *et al.*, 1994a; Berg *et al.*, 1998)。また、海底直上における水流の強さも、DBL の厚さを変化させ、これによって拡散フラックスも変化することに留意する必要がある (Gundersen and Jørgensen, 1990; Jørgensen and Des Marais, 1990; Glud, 2008)。

堆積物内部における酸素の消費速度についても、酸素濃度プロファイルにフィックの第二法則を当てはめることで求められる (Berner, 1980)。

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{1}{\phi(z)} \cdot \frac{\partial}{\partial z} \left\{ \phi(z) \cdot D_s(z) \cdot \frac{\partial C(z)}{\partial z} \right\} - R(z) \quad (6)$$

ここで、 $R(z)$ = 深さ z における単位体積あたりの酸素消費速度、 $\phi(z)$ = 間隙率、そして $D_s(z)$ = 酸素拡散係数である。この式は、堆積物内の酸素濃度は時間に関係なく一定、すなわち動的平衡状態にある、堆積物内の間隙率、拡散係数は一定である、そして、酸素が溶存する層内を細かく区分したとき、それぞれの層内では酸素消費速度は一定であるという前提を置くことで、上式は以下のように単純化できる。

$$R_i = D_i \cdot \frac{d^2 C(z)}{dz^2} \quad (7)$$

この式を層 i における濃度 C_i について解くと、以下の二次関数となる。

$$C_i = \left[\frac{R_i}{2 \cdot D_i} \right] \cdot z^2 + C_1 \cdot z + C_2 \quad (8)$$

C_1 , C_2 は積分定数である。このように、層 i における酸素消費速度 R_i は、プロファイルを式 (8) で近似することによって得ることができる (左山, 2000)。

Berg *et al.* (1998) は、この解法を元に、層内における堆積物中の間隙率、生物活動に伴う拡散係数、イリゲーションに関する係数などを考慮、さらに統計的な解析に基づいて堆積物内部に設定する層の位置と厚さを最適化した上で、各層内の酸素消費速度を計算する手法を開発、この手法に従って酸素消費速度を計算するプログラム “PROFILE” も同時に発表した。現在では、このプログラムは多くの研究者に利用されている。また、Defrandre and Duchene (2010) も同

様の手法に基づいて消費速度を計算するプログラム “PRO₂FLUX” を開発した。彼らのプログラムは視覚的に分かりやすいインターフェースを持ち、プロファイルや堆積物表層部の位置を確認ながら計算を進めることができる。これらのプログラムを利用したい場合、それぞれの著者にコンタクトを取ることで配布を受けることができる (Berg *et al.*, 1998; Deflandre and Duchene, 2010)。また、微小電極プロファイルシステムを販売する Unisense 社は、SensorTracePro という商用プログラムを供給している。このプログラムを同社のプロファイル測定装置と併用することで、プロファイルの自動測定と消費速度の計算を手軽に行うことができる。

微小電極法は、海底から採取した不攪乱表層堆積物を、現場と同じ温度、酸素濃度に制御したインキュベータに入れて数時間培養することによって、実験室などでも行うこともできる。しかし、堆積物試料は海底から採取した後、温度や圧力の変化に晒されるため、実際の現場の値とは異なるプロファイルを測定する可能性がある。とくに深海から採取した堆積物の場合、回収中における温度、圧力の変化によって微生物活性が低下し、酸素消費速度も低くなること、それによって DOU を低く見積もってしまう可能性もある。

この問題を解決するため、現在では海底の現場でもプロファイル測定が行われている。このような測定には、ランダーに微小電極プロファイラを搭載した装置を用いる (詳細は Jahnke, 2009 を参照のこと)。プロファイラは海底の現場において微小電極を 100 μm 以下という解像度で制御する装置であり、絶縁オイルによって均圧処理され、さらにバックラッシュ検出機構、回転角読み取り機構を取り付けた水中モーターと、電子回路を内蔵した耐圧容器からなる。微小電極も絶縁オイルによる均圧処理がなされ、耐圧容器の先端に取り付けられる。この耐圧容器はモーターによって上下移動するフレームにマウントされる (Reimers, 1987; Glud *et al.*, 1994a; Glud *et al.*, 2005; Jahnke, 2009)。

なお、先端径が非常に小さく、海底への影響を最低限に押さえられる微小電極といえども、先端が DBL に達すると、DBL を圧縮してしまう現象が報告されている (Glud *et al.*, 1994b; Glud *et al.*, 1998)。この効果は、見かけの酸素濃度勾配を大きくするため、拡散に伴うフラックスを過大評価する恐れがある。微小電極による DBL の変形はどのような物理的メカニズ

ムで生じ、これをどう補正するかは、今後解明されるべき課題といえる。

2.4.4 微小電極法を用いた研究 微小電極を用い、深海底における酸素や他の親生物物質プロファイルなどを現場測定し、フラックスを算出する研究のさきがけとなったのは、スクリプス海洋研究所（当時）のClare Reimersらによる研究である。彼女らは1980年代前半に、すでにランダーに微小電極プロファイルを取り付け、メキシコ沖から北太平洋沖にかけての海底において、酸素濃度プロファイルの測定とフラックスの算出を行なっている（Reimers *et al.*, 1984）。この技術はその後さらに発展し、湖、干潟、沿岸、フィヨルドから外洋に至る様々な環境で使われるようになった。外洋では、北大西洋（Sauter *et al.*, 2001）のほか、ナミビア沖（Brüchert *et al.*, 2003）をはじめとする海底において酸素や硫化水素微小電極を用いた現場測定が行われ、それぞれの消費・生産フラックスが測定されている。Wenzhöfer and Glud (2002) は、これまで大西洋の様々な環境で行われてきた測定データをまとめ、海底における物質循環をグローバルな視点にまで広げた。この研究では、とくにアフリカと南アメリカ沖で行われたベンシックチャンバー法や微小電極法による測定データに加え、海洋表層の一次生産量や堆積物中に酸素が検出される深さなどのデータを利用したフラックスモデルを作成し、南大西洋の海底全域における酸素フラックス（DOU, TOU）や、レッドフィールド比を用いた炭素の無機化フラックスをマッピングした。

微小電極法などを用いた酸素のフラックス測定は大西洋では多くの実績があるが、太平洋ではハワイ沖からアメリカ～メキシコ沿岸にかけての一連の研究（Reimers *et al.*, 1984; Reimers *et al.*, 1986; Reimers, 1987; Jahnke *et al.*, 1990; Cai *et al.*, 1995; Røy *et al.*, 2012）を除き報告が少なく、ほとんどの場所が未だ空白域である。堆積物—水境界の環境に対する役割を理解する上で、太平洋における測定データの積み上げは不可欠であるため、今後の研究の進展が望まれる。

日本近海では相模湾において、微小電極法による酸素プロファイル測定の現場測定が複数回行われており、現在ではこれまで研究されてきた相模湾海底の炭素循環過程（Kitazato *et al.*, 2003; Nakatsuka *et al.*, 2003a, 2003b）のデータと対比できるほどのデータセットが得られている（Glud *et al.*, 2005; Glud *et al.*,

2009b）。また、相模湾では微小電極プロファイルを横方向に移動させることで、同一線上のプロファイルを複数回測定できる装置を使った測定も行われた（Glud *et al.*, 2009b）。この結果、相模湾湾央部の堆積物内で酸素が検出される深さは2.6～17.8 mm、微地形の影響を考慮しない酸素の拡散フラックスは0.6～3.9 mmol m⁻² d⁻¹と非常に変動が大きいことが分かった。このことは、実際の深海底では酸素のフラックス、すなわち無機化速度の大きい場所が、海底面にモザイクのように点在していること、深海底がいかに生物・化学的に不均質で活性の高い場であることを強く示唆している。

2.5 二次元酸素オプトード

海底の現場で使える微小電極装置の出現によって、堆積物—水境界における高解像度の酸素プロファイルを測定できるようになった。しかし、堆積物中の酸素の分布およびフラックスや消費速度は、流れや微地形の存在による濃度勾配の形成（Huettel *et al.*, 1998）、バイオターベーションやバイオイリゲーション（Aller, 1980）、さらには間隙水の移動（Huettel *et al.*, 1996; Boudreau *et al.*, 2001; Precht *et al.*, 2004）などに伴い、時空間的に変動している。これらのことを調べるには、堆積物—水境界断面の酸素濃度分布を可視化し、さらにその時間的な変化を記録する必要がある。しかしながら、プロファイルの取得に時間がかかる微小電極では、このような変化を捉えることは難しい。

この問題に答えるため、オプトード（Lübbbers and Opitz, 1975による造語）と呼ばれるセンサ技術に基づいた、酸素濃度の可視化装置が実用化された。酸素オプトードの原理は第二次大戦前に発見されていたが（Kautsky, 1939）、センサとして利用されるようになったのは、半導体技術が発達した1990年代に入ってからである。オプトードによる酸素の可視化に最初に着目したのは航空宇宙分野であり（たとえばGregory *et al.*, 2007）、風洞実験における大気圧（すなわち酸素分圧）センシングの要求によって、実験模型に加わる圧力の可視化技術が実用の域に達した。同じ頃、生物地球化学分野においても酸素オプトードの技術が波及し、堆積物—水境界の酸素濃度分布を可視化する研究が始まった。工学と理学という一見関係のない分野で、ほぼ同時期に酸素濃度の可視化技術を利用した研究が始まった背景には、長年にわたりオプトードの基礎研究を推進した応用化学者達の存在が

あった。とりわけレーゲンスブルク大学の Otto Wolfbeis らのグループは、センサ色素の合成に関する研究で、様々な分野に多大な貢献を果たしている (Wolfbeis *et al.*, 1991; Wolfbeis, 2000; Wolfbeis, 2002; Wolfbeis, 2004; Wolfbeis, 2006; Wolfbeis, 2008; Wang and Wolfbeis, 2012)。このことは、最先端の研究ツールの開発が分野を超えた研究者のコラボレーションによって進められること、一度開花した技術は特定の分野の中だけに閉じることなく、様々な分野に波及することを示す典型であるといえる。なお、オプトードには酸素とは異なる蛍光指示薬と原理を用いて pH 分布を可視化するセンサも開発されており (Lin, 2000; Liesch, *et al.*, 2001; Hulth *et al.*, 2002; Zhu *et al.*, 2005; Stahl *et al.*, 2006; Larsen *et al.*, 2011; Schreml *et al.*, 2011), 二酸化炭素分布の可視化を試みた報告もある (Zhu *et al.*, 2006b)。さらに、酸素濃度と pH を同時測定するセンサ (Schröder *et al.*, 2007) も開発されている。オプトードセンサの原理と応用, 研究対象, そして酸素以外に測定可能な物質などに興味をお持ちの方は, 小栗 (2006) や Schäferling (2012) などのレビューも併せて参照されたい。

2.5.1 酸素オプトードの原理 酸素オプトードは, 光励起によって燐光を発する錯体有機物を用いて酸素濃度を測定するセンサである。白金やパラジウムを中心に持つポルフィリン化合物 (Amao *et al.*, 1999; Oguri *et al.*, 2006), ルテニウム錯体化合物 (Bacon and Demas, 1987; Glud *et al.*, 1996) やユーロピウム錯体化合物 (Amao *et al.*, 2000; Staal *et al.*, 2011; Borisov and Klimant, 2012) は, 光励起によってピコナノ秒オーダーの短い発光寿命を持つ蛍光と, マイクロ秒オーダーの長い寿命の燐光を同時に発するが, 燐光については酸素分子の衝突によってエネルギー転移が生じ消光するため, 燐光の発光寿命あるいは発光強度と酸素濃度の間には反比例の関係が存在する (Kautsky, 1939)。この関係は Stern-Volmer の式によって表される (Bacon and Demas, 1987; Holst *et al.*, 1998)。

$$\frac{\tau}{\tau_0} = \frac{I}{I_0} = \frac{\alpha}{1 + K_{SV} \cdot [O_2]} + (1 - \alpha) \quad (9)$$

ここで τ , τ_0 , I , I_0 は, ある酸素濃度 $[O_2]$ と無酸素状態における燐光の発光寿命と発光強度をそれぞれ表す。 K_{SV} は Stern-Volmer 定数と呼ばれる定数であり (Stern and Volmer, 1919), α は酸素濃度に依存

しない燐光の非消光成分を表す。酸素オプトードは, このような酸素消光性を持つ色素を利用することで濃度を定量するセンサである。このセンサは原理的に酸素分子を消費しないこと, 機械的に丈夫であること, センサ部分の劣化が起きにくいこと, 校正の頻度を減らせるという特徴がある。また, 温度・塩分・圧力の変化に対する補正技術の向上に伴い, 近年では酸素オプトードは海洋観測機器にも使われ始めており (Tengberg *et al.*, 2006; Uchida *et al.*, 2008), 経年変化が少ないという特徴も相まって, 電極では難しかった数年にわたる酸素濃度モニタリングも行われるようになった (Tengberg *et al.*, 2003)。

オプトードの最大の特徴は, 平面に加工したセンサ (センサホイル) と CCD (Charge Coupled Device) カメラを併用することによって, 物質の分布を可視化できることにある。従って二次元酸素オプトードを堆積物—水境界に適用すれば, 酸素濃度の二次元プロファイルとその時間変動の測定が可能になる。センサホイルは, ポリスチレンなど酸素透過性を持つ高分子膜に酸素消光性色素を含浸した薄膜を PET (polyethylene terephthalate) フィルム上に形成した後, 熱処理を施して作成する (Oguri *et al.*, 2006)。二次元酸素オプトードによる定量方法には, 燐光の強度測定法 (Glud *et al.*, 1996) と寿命測定法 (Holst *et al.*, 1998) がある。前者は燐光の強度から濃度を得るが, センサホイルを黒色のシリコン膜などでコーティングし, センサホイル背面の濃淡やその変化が燐光強度の測定に影響を与えないよう配慮する必要がある。後者は燐光の強度変化を測定し, この結果から酸素濃度を定量する手法である。この手法は燐光の取得方法と計算が若干複雑になるものの, センサ面に密着させた試料に濃淡の違いやその時間変化に関係なく, 酸素濃度を定量できるという特徴がある。したがって, 半透明のセンサホイルを用いることによって, 酸素濃度分布と実際の堆積物—水境界の画像を同時に取得することができる (Holst and Grunwald, 2001)。このことは, たとえば底生生物活動に伴う酸素濃度分布の変動を調べる際, 大きなメリットとなる。

燐光の発光寿命分布を測定するには, 電子冷却機能を持った高速積算 CCD カメラが用いられる。センサホイルが発する燐光は, 矩形波による LED (Light Emission Diode) 励起光源の点滅と, カメラのシャッター制御を同期させることで取得される。まず, 励起光源を点灯させてセンサ面を光励起する。光源の消灯

後、すぐにカメラのシャッターが切られる。CCD カメラの感度は燐光に対し低いため、燐光画像を得るためには、この操作を数 kHz～数10 kHz という周波数で繰り返し、カメラ内で数千回～数万回の多重露光を行う。次に、同じ励起条件、シャッター速度と積算回数で、シャッターを切るタイミングだけを遅らせ再び多重露光を行う。燐光強度の減少は指数関数に従うと見なせるため、燐光の発光寿命分布は、異なるシャッタータイミングで取得された二枚の燐光画像の各ピクセルに対して、以下の式を適用することで得られる (Liebsch *et al.*, 2000)。

$$\tau = \frac{t_2 - t_1}{\ln \frac{A_1}{A_2}} \quad (10)$$

燐光の発光寿命 τ は、発光強度が初期値の $1/e$ まで減少する時間と定義される。 A_1 は励起光オフ後の時間 t_1 において得られた燐光の強度を、そして A_2 は時間 t_2 において得られた強度をそれぞれ示す。酸素濃度分布は、得られた燐光の発光寿命分布画像の各ピクセルに対し、式 (9) を酸素濃度について解いた式を適用して計算される (Holst *et al.*, 1998)。

$$[O_2] = \frac{\tau_0 - \tau}{K_{sv} \{ \tau - \tau_0(1 - \alpha) \}} \quad (11)$$

二次元酸素オプトードセンサの校正は、原則として試料の測定前に行われる。水槽中の濃度分布を取得する場合、センサホイルを貼りつけた水槽、カメラ、光源などを固定した上で、空気・窒素混合ガスを用いて水槽内の濃度をゼロ、大気飽和濃度、そして任意の濃度に調節し、各濃度における発光寿命分布画像を作成する。これらの画像から K_{sv} と α の分布画像をそれぞれ求め、さらに τ_0 を加えたパラメータを式 (11) に代入することで校正式が完成する。濃度分布画像を得るまでの計算量は膨大なため、画像処理には MATLAB などの行列演算ソフトウェアが使われる。

Fig. 5 に実験室内にて構成した二次元酸素オプトードの構成図、この装置によって取得した水槽中の酸素濃度分布と、同時に取得されるモノクロ (燐光の強度) 画像を示す。二次元酸素オプトードの撮影領域は光学系の設計に依存するが、 100 cm^2 以上から顕微鏡レベルの範囲に至る様々なサイズに対応できる。燐光の取得時間は数秒から数10秒で行えるが、複数回の撮影を行ない、計算に画像の平均値を用いることによって測定精度を高められる。ただし精度と取得時間はトレードオフの関係にあるため、撮影回数は測定す

る対象と目的に応じて決定する。実際の精度は使用する酸素消光性色素と酸素濃度によって異なるが、発光寿命が短い高濃度領域において低くなる傾向がある。色素に白金オクタエチルポルフィリンを用いたセンサホイルを波長 385 nm の紫外線 LED 光源で励起、14 ビットの解像度を持つ高速積算 CCD カメラを用いて酸素濃度を8回測定、その平均値をとった場合、無酸素と $175 \mu\text{m}$ における精度はそれぞれ $\pm 0.4 \mu\text{m}$, $\pm 7.0 \mu\text{m}$ であった (Oguri *et al.*, 2006)。

二次元酸素オプトードを実際の海底現場で使う場合、微小電極システムと同様、プロファイラを用いる。まず、カメラと励起光源を耐圧窓の付いたシリンダー型容器に組込む。容器の窓の前部に、均圧処理のため蒸留水を満たした潜望鏡を取り付け、センサホイルを潜望鏡の前面窓に貼り付ける。この容器は潜望鏡部分を下に向けた状態でプロファイラにマウントされる。堆積物—水境界における酸素濃度分布を測定する際には、潜望鏡をゆっくりと海底に挿入し、堆積物表面がカメラ視野の中心に位置するようにプロファイラを下降させる (Glud *et al.*, 2001; Wenzhöfer and Glud, 2004; Glud *et al.*, 2005)。なお、潜望鏡を用いると画像の上下左右が反転するため、画像処理を行う際には事前にこれらの修正も行う。

二次元オプトードの欠点は、センサが平面であるためにセンサホイルの前面では DBL が変形することがあるため、フラックスや消費速度を計算する際、酸素濃度画像に拡散方程式を適用するには注意が必要であること、センサホイル内で燐光の乱反射が生じると濃度画像の解像度が若干低下すること (Fischer and Wenzhöfer, 2010)、装置が高価で構成が複雑なことである。しかしながら、近年、高速積算 CCD カメラの代わりに市販の安価なデジタル一眼レフカメラを用い、色素が発する蛍光と燐光を同時に取得して酸素濃度を可視化する技術が開発された (Larsen *et al.*, 2011; Oguri, 2012)。この手法は酸素消光成分である燐光に加え、酸素とは無関係に発する短寿命の蛍光も同時に取得することになるため、寿命測定法に比べ精度に劣り、また蛍光成分の温度依存性が大きく影響するが、Image J などフリーウェアの画像処理プログラム (Schneider *et al.*, 2012) と併用することで、装置開発にかかるコストを著しく抑えることができる。従ってこれは、多くの研究者にとってきわめて有用な技術であるといえる。

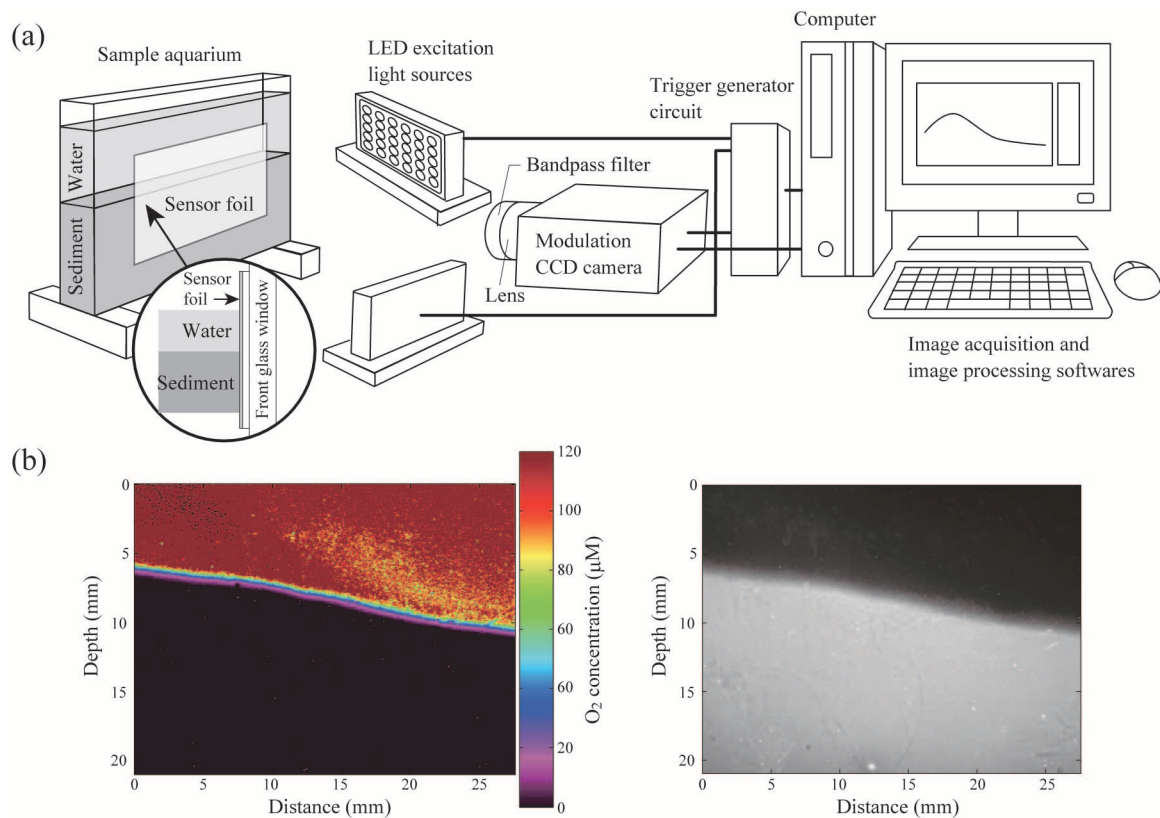


Fig. 5 (a) Schematic drawing of a set-up of planar oxygen optode for laboratory experiments. Sensor foil was placed inside of aquarium (at front glass window) containing sediment and water samples. A modulation CCD camera and LED excitation light sources were connected to a MS Windows-based computer. The LED excitation pulse and image acquisition trigger were generated by a handmade trigger generator circuit. (b) Example oxygen distribution and the corresponding profile images obtained by a planar oxygen optode system shown in (a). The sediment used for the experiment was collected from Hirakata bay, Yokosuka city.

2.5.2 二次元酸素オプトードを用いた、堆積物—水境界における酸素の時空間変動に関する研究 二次元酸素オプトードによる酸素濃度分布の可視化によって、これまでは推測の域を出なかった様々な現象を、実際に目で見る形で検証できるようになった。その中から興味深い研究を紹介する。

二次元酸素オプトードを用いて堆積物—水境界の酸素濃度分布を最初に可視化したのは、マックスプランク海洋微生物学研究所（当時）の Ronnie Glud らである。彼らは酸素消光性色素にルテニウム錯体を使用したセンサホイルを用い、定量方法の確立や精度確認の基礎実験を行った後、水槽中に作成した堆積物—水境界やバイオマットの酸素濃度分布を可視化した (Glud *et al.*, 1996; Glud *et al.*, 1999; Fischer and Wenzhöfer, 2010)。その後、光合成バイオマットが生成する酸素の面分布を可視化し、微小電極が酸素濃

度分布に与える影響を精査、電極が DBL を変形させる効果を確認した (Glud *et al.*, 1998)。また、二次元酸素オプトードを現場測定用にアレンジし、干潟堆積物の酸素濃度変動を現場時系列測定した結果、昼間は珪藻マットの光合成によって酸素が堆積物内部までもたらされ、夜間は堆積物表面と内部の酸素濃度は著しく減少すること、ゴカイなどのポンピングに伴って、バイオイリゲーションが海底に酸素をもたらすのに重要な役割を果たしていることを示した (Wenzhöfer and Glud, 2004; Volkenborn *et al.*, 2007)。また、半遠洋性の深海である相模湾湾央部においても、微小電極と二次元酸素オプトードの両方の手法によって、バイオイリゲーションの存在を確認した (Glud *et al.*, 2005)。相模湾では、初島沖に設置された海底観測ステーション (Momma *et al.*, 1998) を介した電力供給によって、海底における長期間の酸素濃度モニタリ

グの試みが行われている。これによって、深海底における生物活動や水流といった物理的な効果が酸素濃度分布にどのような影響を及ぼしていくか、という視点に基づいた解析が進められている (Oguri *et al.*, 2007)。

水槽に堆積物と底生生物 (ゴカイ) を入れ、ゴカイの周囲の酸素濃度分布を可視化、バイオイリゲーションによる酸素の供給速度を定量する研究も進んでいる (Polerecky *et al.*, 2006)。バイオイリゲーションは動物だけでなく、植物も行う。水中に生息する植物 (アマモ) が硫化水素を含む還元的な堆積物中に根を張る際、根から酸素を出しながら、周囲を酸化させ成長すること、そのためには一定以上の光量が必要であることが明らかになった (Jensen *et al.*, 2005; Frederiksen and Glud, 2006)。堆積物への酸素の供給は、拡散や生物活動だけでなく、物理的な現象も影響する。海底の直上には、水流によってリップルマークが形成されることがあるが、リップルの谷間では海水が堆積物中に浸透し、リップルの山では酸素に乏しい間隙水が堆積物上部にもたらされることが示された (Precht *et al.*, 2004)。さらに、リップルの谷間では増加する酸素のフラックスによって有機物の好気分解も促進することが示された (Franke *et al.*, 2006)。このような研究の結果は、三次元的 (鉛直方向と横方向の分布とその時間変化) な酸素濃度変化を可視化することによって明らかになったものであり、生物・化学、さらには物理的な現象が、海底の環境をどのように維持するかを示す重要な成果であるといえる。

2.6 渦相関法

渦相関法は、土壌や干潟などから大気へ放出される気体のフラックスを測定する目的などに使われてきたが (たとえば田中・滝川, 2006)、海底においては、Berg *et al.* (2003) によってはじめて、堆積物—水境界における酸素フラックスの測定に適用された。渦相関法の最大の特徴は、これまで説明した手法と異なり、構造物やセンサ類を海底面に触れることなく、非接触でフラックスを測定できることである。この手法は、超音波三次元ドップラー流向流速計の測定点に、90%の値に達する時間が0.2秒という高速応答性をもった微小酸素電極あるいはポイント型酸素オプトード (Chipman *et al.*, 2012) の先端を配置したセンサシステムを用いて、16~64 Hz のサンプリングレートで水中の流向・流速と酸素濃度変化を同時測定する (桑江ほか, 2008)。このとき、微小電極が酸素濃度

の瞬間的な減少を記録することがあるが、これはDBLの海水が水流によるせん断応力によって“ちぎれる”ことで生じた水の塊が鉛直渦拡散によって上昇し (Hunt and Morrison, 2000)、電極の先端をかすめたことを示している。DBLより上部の水中において、溶存物質の鉛直フラックスは以下のように表される。

$$J = w \cdot C \quad (12)$$

ここで、 J は瞬間のフラックス、 w は流速の鉛直成分、 C は測定される物質の濃度である。これらの値は、測定中で得られた値の平均に変動成分が重畳したものとする、以下のように表される。

$$w = w_{avg} + w', C = C_{avg} + C' \quad (13)$$

w_{avg} 、 C_{avg} は測定で得られた値の平均値をそれぞれ表し、 w' 、 C' はそれぞれの変動成分を表す。ここで、 $w_{avg} = 0$ と仮定すると (Anthoni *et al.*, 2004)、時間平均フラックス J_{avg} は以下のように表される。

$$J_{avg} = w_{avg}' \cdot C_{avg}' \quad (14)$$

すなわち、ある時間の間に測定された流速の鉛直成分と酸素濃度の変化に線形近似を施し、ここから外れた値を抽出、これらの平均値の積からフラックスを得ることができる (桑江ほか, 2008)。なお、堆積物表面におけるフラックスの被測定領域の面積 (フットプリント) は、酸素消費速度、底質、流速、センサの設置位置によって変わる。これらの関係については、Berg *et al.* (2007) によって理論的な検討がなされている。

渦相関法は、海底に人工的な影響を与えずにフラックスを測定できる理想的な手法であるが、そのためには、フレームの形状やセンサ類の取り付け方によって、流れを改変したり、渦を生じさせたりしない工夫も必要である。しかしながら、装置を人力で設置できるような浅海であれば、流向やフットプリントの形状と面積に注意を払った上で、市販の脚立を利用したフレームを設置して測定することもできる (Kuwaie *et al.*, 2006)。渦相関法で高い精度を得るには、水中の酸素濃度が高く、海底における酸素フラックスが大きい、すなわち有機炭素濃度の高い川、湖や内湾などで測定を行うことが望ましい。この点、酸素フラックスの小さい深海環境では渦相関法の適用例はまだ少ないが、相模湾湾央部の水深1450 mの海底において現場

測定に成功しており、同じ場所でベンシックチャンパーと微小電極法によってそれぞれ得られた TOU と DOU の 1.65 ± 0.33 ($n=2$), 1.43 ± 0.15 ($n=25$) $\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ に対し, $1.62 \pm 0.33 \text{ mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ($n=7$) という値が得られた (Berg *et al.*, 2009)。この結果からも、渦相関法による海底への酸素フラックス測定の妥当性が示唆される。海底における非接触フラックス測定は、人為的な環境の改変の影響から解放されるため、今後この手法が様々な環境で適用されると期待される。

3. おわりに

堆積物—水境界における、主に酸素のプロファイル、フラックス、そして濃度の時空間変化を測定する装置の原理と、これらを用いた現場測定によって、より明らかになりつつある海底環境の知見を紹介した。しかしなお、堆積物—水境界における親生物物質の分布や詳細な生産消費過程、さらには生物活動や環境に対する動的な変動について、まだまだ解明すべき事は多い。EU ではこの分野の重要性が広く認識されており、2003 年以来、環境負荷に対する堆積物—水境界のレスポンスの研究プロジェクト、たとえば COSA: Coastal Sands as Biocatalytical Filters (Huettel *et al.*, 2004) や HYPOX: *In situ* monitoring of oxygen depletion in hypoxic ecosystems of coastal and open seas, and land-locked water bodies (<http://www.hypox.net/>) が次々に立ち上がった。さらに2011年からは海洋におけるセンサの開発プロジェクト SENSEnet: International sensor development network (<http://www.eu-sensenet.net/>) が動き始め、多くの研究者が参加を始めている。とくにセンサ開発においては、生物地球化学分野だけでなく、沿岸工学、航空宇宙工学、分析・応用化学分野などの研究者達の連携が不可欠である。この点において、堆積物—水境界という研究対象、そして現場測定技術の開発は、既存の分野にとらわれない学際横断領域にあると言える。

膨大な研究結果を十分に整理・フォローできず、公平な引用ができなかった点もあるが、最先端の測定装置の仕組みや、海底環境の奥の深さを理解するための一助になれば幸いである。

謝 辞

本論文の執筆、センサ開発、現場測定の研究を進め

るにあたり、お世話になった方々に謝意を表します (敬称略、順不同)。北里洋、土屋正史、豊福高志、野牧秀隆、大河内直彦 (海洋研究開発機構)、R/V 淡青丸クルー (海洋研究開発機構、日本海洋事業株式会社) R/V なつしま・R/V よこすかクルー、ROV ハイパードルフィン・しんかい6500チーム (日本海洋事業株式会社)、大倉一郎 (東京工業大学)、浅井圭介 (東北大学大学院工学研究科機械系)、天尾豊 (大分大学)、井上徹教 (港湾空港技術研究所)、須藤肇 (株式会社マリンワークジャパン)、Ronnie N. Glud (Southern Denmark Univ., Scottish Marine Institute), Anni Glud (Southern Denmark Univ.), Frank Wenzhöfer (Max Planck Institute for Marine Microbiology, Alfred Wegener Institute for Polar and Marine Research), Lubos Polerecky (Max Planck Institute for Marine Microbiology), Henrik Stahl (Scottish Marine Institute), Mathias Middelboe, Lars F. Rickelt (Univ. Copenhagen), Christophe Fontanier (Univ. Angers), Bruno Defrandle (Univ. Bordeaux 1), Lennart J. de Nooijer (Utrecht Univ.), Lars H. Larsen, Thomas Rattenborg, Mikkel H. Andersen (Unisense A/S), Anders Tengberg (Göteborg Univ., Aanderaa Data Instruments A/S), 論文内容の向上のため建設的なコメントを頂いた査読者の方々。

本論文は、以下の資金で行った研究の成果を基にしています。JAMSTEC 運営費交付金、JAMSTEC 最先端技術開発促進アワード (2005~2007年度)、財団法人クリタ水・環境科学振興財団萌芽的研究 (2006~2007年度)、文部科学省科学研究費補助金若手研究 (B) 課題番号18710021, 21710024, 基盤研究 (C) 課題番号23510022, 基盤研究 (A) 課題番号17204046, 21244079, 科学技術振興調整費 (縁辺海における物質循環機構の解明に関する国際共同研究)、東北マリンサイエンス拠点形成事業—海洋生態系の調査研究—。

引用文献

- Aller, R. C. (1980) Quantifying solute distributions in the bioturbated zone of marine sediments by defining an average microenvironment. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **44**, 1955–1965.
- Aller, R. C. (1994) Bioturbation and remineralization of sedimentary organic matter: effects of redox oscillation. *Chemical Geology*, **114**, 331–345.
- Amao, Y., Asai, K. and Okura, I. (1999) Oxygen sensor based

- on luminescence lifetime of platinum octaethylporphyrin immobilized in polystyrene film. *Porphyryns*, **8**, 119–122.
- Amao, Y., Asai, K., Miyakawa, K. and Okura, I. (2000) Oxygen sensing using palladium porphyrin with long alkyl chain self-assembled film. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, **4**, 19–22.
- Ammann, D. (1986) Ion-selective microelectrodes. Principles, design and applications. *Springer-Verlag*, ISBN 3-540-16222-4.
- Andersen, K., Kjær, T. and Revsbech, N. P. (2001) An oxygen insensitive microsensor for nitrous oxide. *Sensors and Actuators B*, **81**, 42–48.
- Anthoni, P. M., Freibauer, A., Kolle, O. and Schulze, E. D. (2004) Winter wheat carbon exchange in Thuringia, Germany. *Agricultural and Forest Meteorology*, **121**, 55–67.
- Archer, D. and Devo, A. (1992) Benthic oxygen fluxes on the Washington shelf and slope: A comparison of *in situ* microelectrode and chamber flux measurements. *Limnology and Oceanography*, **37**, 614–629.
- Bacon, J. R. and Demas, J. N. (1987) Determination of oxygen concentrations by luminescence quenching of a polymer-immobilized transition-metal complex. *Analytical Chemistry*, **59**, 2780–2785.
- Bai, P. and Harremoes, P. (1998) A new O_2 -microelectrode and its application. *Journal of Environment Sciences*, **10**, 197–202.
- Bains, S., Corfield, R. M. and Norris, R. D. (1999) Mechanisms of climate warming at the end of the Paleocene. *Science*, **285**, 724–727.
- Barnes, C. R., Best, M. M. R., Bornhold, B. D., Juniper, S. K., Pirenne, B. and Phibbs, P. (2007) The NEPTUNE Project - a cabled ocean observatory in the NE Pacific: Overview, challenges and scientific objectives for the installation and operation of Stage I in Canadian waters. *Underwater technology and workshop on scientific use of submarine cables and related technologies 2007*, 308–313.
- Barnes, R. O. and Goldberg, E. D. (1976) Methane production and consumption in anoxic marine sediments. *Geology*, **4**, 297–300.
- Berg, P., Risgaard-Petersen, N. and Rysgaard, S. (1998) Interpretation of measured concentration profiles in sediment pore water. *Limnology and Oceanography*, **43**, 1500–1510.
- Berg, P., Røy, H., Janssen, F., Meyer, V., Jørgensen, B. B., Huettel, M. and de Beer, D. (2003) Oxygen uptake by aquatic sediments measured with a novel non-invasive eddy correlation technique. *Marine Ecology Progress Series*, **261**, 75–83.
- Berg, P., Røy, H. and Wiberg, P. L. (2007) Eddy correlation flux measurements: The sediment surface area that contributes to the flux. *Limnology and Oceanography*, **52**, 1672–2684.
- Berg, P., Glud, R. N., Hume, A., Stahl, H., Oguri, K., Meyer, V. and Kitazato, H. (2009) Eddy correlation measurements of oxygen uptake in deep ocean sediments. *Limnology and Oceanography: Methods*, **7**, 576–584.
- Berner, R. A. (1980) Early diagenesis. A theoretical approach. *Princeton University Press*, pp. 241. ISBN 0-691-08260-x.
- Biscaye, P. E. and Anderson, R. F. (1994) Fluxes of particulate matter on the slope of the southern Middle Atlantic Bight: SEEP-II. *Deep-Sea Research II*, **41**, 459–509.
- Boudreau, B. P., Huettel, M., Foster, S., Jahnke, R. A., McLachlan, A., Middelburg, J. J., Nielsen, P., Sansone, F., Taghon, G., Raaphorst, W. V., Webster, I., Weslawski, J. M., Wiberg, P. and Sundby, B. (2001) Permeable marine sediments: Overturning an old paradigm. *EOS, Transactions American Geophysical Union*, **8**, 133.
- Borisov, S. and Klimant, I. (2012) New luminescent oxygen-sensing and temperature-sensing materials based on gadolinium (III) and europium (III) complexes embedded in an acridone-polystyrene conjugate. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **404**, 2797–2806.
- Brüchert, V., Jørgensen, B. B., Neumann, K., Richmann, D., Schlösser, M. and Schulz, H. (2003) Regulation of bacterial sulfate reduction and hydrogen sulfide fluxes in the central Namibian coastal upwelling zone. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **67**, 4505–4518.
- Buscail, R., Pocklington, R., Daumas, R. and Guidi, L. (1990) Fluxes and budget of organic matter in the benthic boundary layer over the northwestern Mediterranean margin. *Continental Shelf Research*, **10**, 1089–1122.
- Cai, W. J. and Reimers, C. E. (1993) The development of pH and pCO_2 microelectrodes for studying the carbonate chemistry of pore waters near the sediment-water interface. *Limnology and Oceanography*, **38**, 1762–1773.
- Cai, W. J., Reimers, C. E. and Shaw, T. (1995) Microelectrode studies of organic carbon degradation and calcite dissolution at a California Continental rise site. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **59**, 497–511.
- Canfield, D. E., Jørgensen, B. B., Fossing, H., Glud, R. N., Gundersen, J., Ramsing, N. B., Thamdrup, B., Hansen, J. W., Nielsen, L. P. and Hall, P. O. J. (1993) Pathways of organic carbon oxidation in three continental margin sediments. *Marine Geology*, **113**, 27–40.
- Chipman, L., Huettel, M., Berg, P., Meyer, V., Klimant, I., Glud, R. N. and Wenzhöfer, F. (2012) Oxygen optodes as fast sensors for eddy correlation measurements in aquatic systems. *Limnology and Oceanography: Methods*, **10**, 304–316.
- Clark, L. C., Wolf, R., Granger, D. and Taylor, Z. (1953) Continuous recording of blood oxygen tensions by polarography. *Journal of Applied Physiology*, **6**, 189–193.
- Damgaard, L. R. and Revsbech, N. P. (1997) A microscale biosensor for methane containing methanotrophic bacteria and an internal oxygen reservoir. *Analytical Chemistry*, **69**, 2262–2267.
- Davison, W. and Zhang, H. (1994) *In situ* speciation measurements of trace components in natural waters using thin-

- film gels. *Nature*, **367**, 545–548.
- Deflandre, B. and Duchene, J. C. (2010) PRO₂FLUX - A software program for profile quantification and diffusive O₂ flux calculations. *Environmental Modeling & Software*, **25**, 1059–1061.
- Fischer, J. P., Ferdelman, T. D., Hondt, S., Røy, H. and Wenzhöfer, F. (2009) Oxygen penetration deep into the sediment of the South Pacific gyre. *Biogeosciences*, **6**, 1467–1478.
- Fischer, J. P. and Wenzhöfer, F. (2010) A novel planar Optode setup for concurrent oxygen and light field imaging: Application to a benthic phototrophic community. *Limnology and Oceanography: Methods*, **8**, 254–268.
- Franke, U., Polerecky, L., Precht, E. and Huettel, M. (2006) Wave tank study of particulate organic matter degradation in permeable sediments. *Limnology and Oceanography*, **51**, 1084–1096.
- Friede, I. G., Mienet, J., Person, R., van Weering, T. C. E., Pfannkuche, O., O'Neill, N., Tselepidis, A., Thomsen, L., Favali, P., Gasparoni, F., Zitellini, N., Millot, C., Gerber, H. W. and de Mirandam, J. M. A. (2003) ESONET- European sea floor observatory network. In: *Building the European Capacity in Operational Oceanography, Volume 69: Proceedings 3rd EuroGOOS Conference* (eds. H. Dahlin, N. C. Flemming, K. Nittis and S. E. Petersson), Elsevier Oceanography Series, pp. 291–294.
- Frederiksen, M. S. and Glud, R. N. (2006) Oxygen dynamics in the rhizosphere of *Zostera marina*: A two-dimensional planar optode study. *Limnology and Oceanography*, **51**, 1072–1083.
- Gollany, H. T., Schumacher, T. E., Rue, R. R. and Liu, S. Y. (1993) A carbon dioxide microelectrode for *in situ* pCO₂ measurement. *Microchemical Journal*, **48**, 42–49.
- Glud, R. N. (2008) Oxygen dynamics of marine sediments. *Marine Biology Research*, **4**, 243–289.
- Glud, R. N., Gundersen, J. K., Jørgensen, B. B., Revsbeck, N. P. and Schulz, H. D. (1994a) Diffusive and total oxygen uptake of deep-sea sediments in the eastern South Atlantic Ocean: *in situ* and laboratory measurements. *Deep-Sea Research I*, **41**, 1767–1788.
- Glud, R. N., Gundersen, J. K., Revsbeck, N. P. and Jørgensen, B. B. (1994b) Effects on the benthic diffusive boundary layer imposed by microelectrodes. *Limnology and Oceanography*, **39**, 462–467.
- Glud, R. N., Ramsing, N. B., Gundersen, J. K. and Klimant, I. (1996) Planar optodes: a new tool for fine scale measurements of two-dimensional O₂ distribution in benthic communities. *Marine Ecology Progress Series*, **140**, 217–226.
- Glud, R. N., Santegoeds, C. M., De Beer, D., Kohls, O. and Ramsing, N. B. (1998) Oxygen dynamics at the base of a biofilm studied with planar optodes. *Aquatic Microbial Ecology*, **14**, 223–233.
- Glud, R. N., Köhl, M., Kohls, O. and Ramsing, N. B. (1999) Heterogeneity of oxygen production and consumption in a photosynthetic microbial mat as studied by planar optodes. *Journal of Phycology*, **35**, 270–279.
- Glud, R. N., Tengberg, A., Köhl, M., Hall, P. O. J., Klimant, I. and Holst, G. (2001) An *in situ* instrument for planar O₂ optode measurements at benthic interfaces. *Limnology and Oceanography*, **46**, 2073–2080.
- Glud, R. N., Wenzhöfer, F., Tengberg, A., Middelboe, M., Oguri, K. and Kitazato, H. (2005) Distribution of oxygen in surface sediments from central Sagami Bay, Japan: *In situ* measurements by microelectrodes and planar optodes. *Deep-Sea Research I*, **52**, 1974–1987.
- Glud, R. N., Thamdrup, B., Stahl, H., Wenzhöfer, F., Glud, A., Nomaki, H., Oguri, K., Revsbeck, N. P. and Kitazato, H. (2009a) Nitrogen cycling in a deep ocean margin sediment (Sagami Bay, Japan). *Limnology and Oceanography*, **54**, 723–734.
- Glud, R. N., Stahl, H., Berg, P., Wenzhöfer, F., Oguri, K. and Kitazato, H. (2009b) *In situ* microscale variation in distribution and consumption of O₂: A case study from a deep ocean margin sediment (Sagami Bay, Japan). *Limnology and Oceanography*, **54**, 1–12.
- Glud, R. N., Wenzhöfer, F., Middelboe, M., Oguri, K., Turnewitsch, R., Canfield, D. E. and Kitazato, H. (2013) High rates of microbial carbon turnover in sediments in the deepest oceanic trench on Earth. *Nature Geoscience*, DOI:10.1038/NGEO 1773.
- Gregory, J. W., Asai, K., Kameda, M., Liu, T. and Sullivan, J. P. (2007) A review of pressure-sensitive paint for high-speed and unsteady aerodynamics. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part G, Journal of Aerospace Engineering*, **222**, 249–290.
- Gundersen, J. and Jørgensen, B. B. (1990) Microstructure of diffusive boundary layers and the oxygen uptake of the sea floor. *Nature*, **345**, 604–607.
- Hebert, N. C. (1974) Glass microelectrodes for pH. In: *Advances in experimental medicine and biology volume 50* (eds. H. J. Berman and N. C. Herbert). Plenum Press, pp. 23–38.
- Holst, G. and Grunwald, B. (2001) Luminescence lifetime imaging with transparent oxygen optodes. *Sensors and Actuators B*, **74**, 78–90.
- Holst, G., Kohls, O., Klimant, I., König, B., Köhl, M. and Richter, T. (1998) A modular luminescence lifetime imaging system for mapping oxygen distribution in biological samples. *Sensors and Actuators B*, **51**, 163–170.
- Huettel, M., Ziebis, W. and Forster, S. (1996) Flow-induced uptake of particulate matter in permeable sediments. *Limnology and Oceanography*, **41**, 309–322.
- Huettel, M., Ziebis, W., Forster, S. and Luther, G. (1998) Advective transport affecting metal and nutrient distribution and interfacial fluxes in permeable sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **62**, 613–631.
- Huettel, M., Cook, O., Draezek, J. M. and COSA participants (2004) COSA: Coastal sands as biocatalytical filters.

- Translating scientific results to the general audience and policy makers. In: *Coastline Reports 2, Managing the Baltic Sea* (eds. G. Schernewski and N. Löser), pp. 149–154, ISSN 0928-2734.
- Hulth, S., Aller, R. C., Engström, P. and Selander, E. (2002) A pH plate fluorosensor (optode) for early diagenetic studies of marine sediments. *Limnology and Oceanography*, **47**, 212–220.
- Hunt, J. C. R. and Morrison, J. F. (2000) Eddy structure in turbulent boundary layers. *European Journal of Mechanics - B/Fluids*, **19**, 673–694.
- IPCC (2007) The carbon cycle and the climate system. In: *Contribution of working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007* (eds. S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K. B. Averyt, M. Tignor and H. L. Miller). Cambridge University Press. pp. 511–538, ISBN: 978 0 521 70596 7.
- 伊藤信夫・豊田孝義・加藤聡 (1996) 海底表層における有機物分解量の研究。縁辺海における物質循環機構の解明に関する国際共同研究, (第2期 平成7～8年度) 成果報告書, 科学技術庁研究開発局。
- Jahnke, R. A. (1996) The global ocean flux of particulate organic carbon: Areal distribution and magnitude. *Global Biogeochemical Cycles*, **10**, 71–88.
- Jahnke, R. A. (1999) Early diagenesis and recycling of biogenic debris at the sea floor, Santa Monica Basin, California. *Journal of Marine Research*, **48**, 413–436.
- Jahnke, R. A. (2009) Platforms: benthic flux landers. In: *Encyclopedia of ocean sciences, 2nd edition* (eds. J. H. Steele, S. A. Thorpe and K. K. Turekian), Academic Press 485–493, ISBN: 9780123750440.
- Jahnke, R. A. and Christiansen, M. B. (1989) A free-vehicle benthic chamber instrument for sea floor studies. *Deep-Sea Research Part A*, **36**, 625–637.
- Jahnke, R. A., Reimers, C. E. and Craven, D. B. (1990) Intensification of recycling of organic matter at the sea floor near ocean margins. *Nature*, **348**, 50–54.
- Jensen, S. I., Kühl, M., Glud, R. N., Jørgensen, L. B. and Priemé, A. (2005) Oxic microzones and radial oxygen loss from roots of *Zostera marina*. *Marine Ecology Progress Series*, **293**, 49–58.
- Jeroschewski, P., Steuckart, C. and Kühl, M. (1996) An Amperometric Microsensor for the Determination of H_2S in Aquatic Environments. *Analytical Chemistry*, **68**, 4351–4357.
- Jørgensen, B. B. and Des Marais, D. J. (1990) The Diffusive Boundary Layer of Sediments: Oxygen Microgradients Over a Microbial Mat. *Limnology and Oceanography*, **35**, 1343–1355.
- Jørgensen, B. B. and Boudreau, B. P. (2001) Diagenesis and sediment-water exchange. In: *The Benthic Boundary Layer. Transport Processes and Biogeochemistry* (eds. B. P. Boudreau and B. B. Jørgensen), Oxford University Press, pp. 211–244, ISBN 13: 978-0-19-511881-0.
- Kautsky, H. (1939) Quenching of luminescence by oxygen. *Transactions of the Faraday Society*, **35**, 216–219.
- Kitazato, H., Nakatsuka, T., Shimanaga, M., Kanda, J., Soh, W., Kato, Y., Okada, Y., Yamaoka, A., Masuzawa, T., Suzuki, K. and Shirayama, Y. (2003) Long-term monitoring of the sedimentary processes in the central part of Sagami Bay, Japan: rationale, logistics and overview of results. *Progress in Oceanography*, **57**, 3–16.
- Kühl, M., Steuckart, C., Eickert, G. and Jeroschewski, P. (1998) A H_2S microsensor for profiling biofilms and sediments: application in an acidic lake sediment. *Aquatic Microbial Ecology*, **15**, 201–209.
- Kühl, M. and Revsbech, N. P. (2001) Biogeochemical microsensors for boundary layer studies. In: *The Benthic Boundary Layer. Transport Processes and Biogeochemistry* (eds. B. P. Boudreau and B. B. Jørgensen), Oxford University Press, pp. 180–210, ISBN: 978 0 19 511881 0.
- Kuwae, T., Kamio K., Inoue, T., Miyoshi, E. and Uchiyama, Y. (2006) Oxygen exchange flux between sediment and water in an intertidal sandflat, measured *in situ* by the eddy correlation method. *Marine Ecology Progress Series*, **307**, 59–68.
- 桑江朝比呂・中川康之・三好栄一 (2008) 海底境界面における酸素消費速度—渦相関法による現地連続観測。海岸工学論文集, **55**, 2, 1001–1005.
- Kvenvolden, K. A. (1995) A review of the geochemistry of methane in natural gas hydrate. *Organic Geochemistry*, **23**, 997–1008.
- Lampitt, R. S. (1985) Evidence for the seasonal deposition of detritus to the Deep-Sea floor and its subsequent resuspension. *Deep-Sea Research Part A*, **32**, 885–897.
- Larsen, L. H., Kjær, T. and Revsbech, N. P. (1997) A microscale NO_3^- biosensor for environmental applications. *Analytical Chemistry*, **69**, 3527–3531.
- Larsen, L. H., Damgaard, L. R., Kjær, T., Stenstrom, T., Lynggaard-Jensen, A. and Revsbech, N. P. (2000) Fast responding biosensor for on-line determination of nitrate/nitrite in activated sludge. *Water Research*, **34**, 2463–2468.
- Larsen, M., Borisov, S. M., Grunwald, B., Klimant, I. and Glud, R. N. (2011) A simple and inexpensive high resolution color radiometric planar optode imaging approach: application to oxygen and pH sensing. *Limnology and Oceanography: Methods*, **9**, 348–360.
- Liebsch, G., Klimant, I., Frank, B., Holst, G. and Wolfbeis, O. S. (2000) Luminescence lifetime imaging of oxygen, pH and carbon dioxide distribution using optical sensors. *Applied Spectroscopy*, **54**, 548–559.
- Liebsch, G., Klimant, I., Krause, C. and Wolfbeis, O. S. (2001) Fluorescent imaging of pH with optical sensors using time domain dual lifetime referencing. *Analytical Chemistry*, **73**, 4354–4363.
- Lin, J. (2000) Recent development and applications of optical

- and fiber-optic pH sensors. *Trends in Analytical Chemistry*, **19**, 541–552.
- Lübbbers, D. W. and Optiz, N. (1975) Optical sensor for gases. U.S. Patent 4,003,707.
- Lu, R. and Yu, T. (2002) Fabrication and evaluation of an oxygen microelectrode applicable to environmental engineering and science. *Journal of Environmental Engineering and Science*, **1**, 225–235.
- Martin, J. B. and Kastner, M. (1994) Chemical and isotopic evidence for sources of fluids in a mud volcano field seaward of the Barbados accretionary wedge. *Journal of Geophysical Research: Solid Earth*, **101**, 20325–20345.
- Momma, H., Iwase, R., Mitsuzawa, K., Kaiho, Y. and Fujiwara, Y. (1998) Preliminary results of a three-year continuous observation by a deep-sea floor observatory in Sagami Bay, central Japan. *Physics of the Earth and Planetary Interiors*, **108**, 263–274.
- Moodley, L., Middelburg, J. J., Boschker, H. T. S., Duineveld, G. C. A., Pel, R., Herman, P. M. J. and Heip, C. H. R. (2002) Bacteria and foraminifera: key players in a short-term deep-sea benthic response to phytodetritus. *Marine Ecology Progress Series*, **236**, 23–29.
- Murashima, T., Nakajoh, H., Takami, H., Yamauchi, N., Miura, A. and Ishizuka, T. (2009) 11,000 m class free fall mooring system. *OCEANS 2009-EUROPE*, 1–5.
- Nakatsuka, T., Masuzawa, T., Kanda, J., Kitazato, H., Shirayama, Y., Shimanaga, M. and Yamaoka, Y. (2003a) Particle dynamics in the deep water column of Sagami Bay, Japan I: origins of apparent flux of sinking particles. *Progress in Oceanography*, **57**, 31–45.
- Nakatsuka, T., Kanda, J. and Kitazato, H. (2003b) Particle dynamics in the deep water column of Sagami Bay, Japan II: seasonal change in profiles of suspended phytodetritus. *Progress in Oceanography*, **57**, 47–57.
- 小栗一将 (2006) 二次元酸素オプトードセンサ. 月刊海洋, **438**, 883–890.
- Oguri, K. (2012) Observation apparatus. U.S. Patent 8,202,478.
- Oguri, K., Matsumoto, E., Yamada, M., Saito, Y. and Iseki, K. (2003) Sediment accumulation rates and budgets of depositing particles of the East China Sea. *Deep-Sea Research II*, **50**, 513–528.
- Oguri, K., Kitazato, H. and Glud, R. N. (2006) Platinum octaethylporphyrin based planar optodes combined with an UV-LED excitation light source: an ideal tool for high-resolution O₂ imaging in O₂ depleted environment. *Marine Chemistry*, **100**, 95–106.
- Oguri, K., Kitazato, H., Glud, R. N., Stahl, H., Wenzhöfer, F., Asakawa, K., Iwase, R., Sakai, S., Nomaki, H. and Fujikura, K. (2007) *In situ* measurement of time-series two dimensional O₂ distributions at sediment-water interface using a planar O₂ optode system connected with a submarine cable. *Proceedings of International Workshop on Scientific Use of Submarine Cables and Related Technologies*, 367–370.
- Okabe, S., Satoh, H. and Watanabe, Y. (1999) *In situ* analysis of nitrifying biofilms as determined by *in situ* hybridization and the use of microelectrodes. *Applied and Environmental Microbiology*, **65**, 3182–3191.
- Okamura, K., Hatanaka, H., Kimoto, H., Suzuki, M., Sohrin, Y., Nakayama, E., Gamo, T. and Ishibashi, J. (2004) Development of an *in situ* manganese analyzer using microdiaphragm pumps and its application to time-series observations in a hydrothermal field at the Suiyo seamount. *Geochemical Journal*, **38**, 635–642.
- Polerecky, L., Volkenborn, N. and Stief, P. (2006) High temporal resolution oxygen imaging in bioirrigated sediments. *Environmental Science & Technology*, **40**, 5763–5769.
- Precht, E., Franke, U., Polerecky, L. and Huettel, M. (2004) Oxygen dynamics in permeable sediments with wave-driven pore water exchange. *Limnology and Oceanography*, **49**, 693–705.
- Rasmussen, H. and Jørgensen, B. B. (1992) Microelectrode studies of seasonal oxygen uptake in a coastal sediment: role of molecular diffusion. *Marine Ecology Progress Series*, **81**, 289–303.
- Redfield, A. C., Ketchum, B. H. and Richards, F. A. (1963) The influence of organisms on the composition of seawater. In: *The Sea. Interscience* (ed. M. M. Hil), New York, pp. 26–77.
- Reimers, C. E. (1987) An *in situ* microprofiling instrument for measuring interfacial pore water gradients: methods and oxygen profiles from the North Pacific Ocean. *Deep-Sea Research*, **34**, 2019–2035.
- Reimers, C. E. and Glud, R. N. (2000) *In situ* chemical sensor measurements at the sediment-water interface. In: Varney, M. (Ed.), *Chemical Sensors in Oceanography*. Gordon and Breach Publishing, pp. 249–282.
- Reimers, C. E., Kalhorn, S., Emerson, S. R. and Neilson, K. H. (1984) Oxygen consumption rates in pelagic sediments from the Central Pacific: First estimates from microelectrode profiles. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **48**, 903–911.
- Reimers, C. E., Fischer, K. M., Mereether, R., Smith, K. L. and Jahake, R. A. (1986) Oxygen microprofiles measured *in situ* in deep ocean sediments. *Nature*, **320**, 741–744.
- Revsbech, N. P. (1989) An oxygen microsensor with a guard cathode. *Limnology and Oceanography*, **34**, 474–478.
- Revsbech, N. P. and Glud, R. N. (2009) Biosensor for laboratory and lander-based analysis of benthic nitrate plus nitrite distribution in marine environments. *Limnology and Oceanography: Methods*, 761–770.
- Rhoads, D. C. (1974) Organism-sediment relations on the muddy sea floor. *Oceanography and Marine Biology - An Annual Review*, **12**, 263–300.
- Røy, H., Kallmeyer, J., Adhikari, R. R., Poekalny, R., Jørgensen, B. B. and D'Hondt, S. (2012) Aerobic microbial

- respiration in 86-million-year-old deep-sea red clay. *Science*, **336**, 922–925.
- Rutgers van der Loeff, M. M., Anderson, L. G., Hall, P. O. J., Iverfeldt, A., Josefson, A. B., Sundby, B. and Westerlund, S. F. G. (1984) The asphyxiation technique: An approach to distinguishing between molecular diffusion and biologically mediated transport at the sediment-water interface. *Limnology and Oceanography*, **29**, 675–686.
- Sauter, E. J., Schuter, M. and Suess, E. (2001) Organic carbon flux and remineralization in surface sediments from the northern North Atlantic derived from pore-water oxygen microprofiles. *Deep-Sea Research I*, **48**, 529–553.
- 左山幹雄 (2000) 海底境界層における有機物の分解・無機化と栄養塩のフラックス, 小池勲夫編 海底境界層における窒素循環の解析手法とその実際. 社団法人産業環境管理協会, 丸善, pp. 51–103.
- Schäferling, M. (2012) The art of fluorescence imaging with chemical sensors. *Angewandte Chemie International Edition*, **51**, 3532–3554.
- Schreml, S., Meier, R. J., Wolfbeis, O. S., Landthaler, M., Szeimies, R.-M. and Babilas, P. (2011) 2D luminescence imaging of pH in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**, 2432–2437.
- Schneider, C. A., Rasband, W. S. and Eliceiri, K. W. (2012) NIH Image to Image J: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, **9**, 671–675.
- Schröder, C., Polerecky, L. and Klimant, I. (2007) Time-resolved pH/pO₂ mapping with luminescent hybrid sensors. *Analytical Chemistry*, **79**, 60–70.
- Smith, C. R., Hoover, D. J., Doan, S. E., Pope, R. H., Demaster, D. J., Dobbs, F. C. and Altabet, M. A. (1995) Phytodetritus at the abyssal seafloor across 10° of latitude in the central equatorial Pacific. *Deep-Sea Research II*, **43**, 1309–1338.
- Smith, K. L. (1978) Benthic community respiration in the N. W. Atlantic Ocean: *in situ* measurements from 40 to 5200 m. *Marine Biology*, **47**, 337–347.
- Staal, M., Borisov, S. M., Rickelt, L. F., Klimant, I. and Kühl, M. (2011) Ultrabright planar optodes for luminescence life-time based microscopic imaging of O₂ dynamics in biofilms. *Journal of Microbiological Methods*, **85**, 67–74.
- Stahl, H., Tengberg, A., Brunnegard, J. and Hall, P. O. J. (2004) Recycling and burial of organic carbon in sediments of the Porcupine Abyssal Plain, NE Atlantic. *Deep-Sea Research I*, **51**, 777–791.
- Stahl, H., Glud, A., Schröder, C. R., Klimant, I., Tengberg, A. and Glud, R. N. (2006) Time-resolved pH imaging in marine sediments with a luminescent planar optode. *Limnology and Oceanography: Methods*, **4**, 336–345.
- Stern, O. and Volmer, M. (1919) Über die Abklingungszeit der Fluoreszenz. *Physikalische Zeitschrift*, **20**, 183–188. In German.
- 田中健路・滝川清 (2006) 有明海干潟上における二酸化炭素フラックス観測. 海岸工学論文集, **53**, 1136–1140.
- Tengberg, A., De Bovee, F., Hall, P., W. Berelson, W., D. Chadwick, D., G. Ciceri, G., P. Crassous, P., A. Devol, A., S. Emerson, S., J. Gage, J., R. Glud, R., F. Graziottini, F., J. Gundersen, J., D. Hammond, D., W. Helder, W., K. Hinga, K., O. Holby, O., R. Jahnke, R., A. Khrpounoff, A., S. Lieberman, S., V. Nuppenau, V., O. Pfannkuche, O., C. Reimers, C., G. Rowe, G., A. Sahami, A., F. Sayles, F., M. Schurter, M., D. Smallman, D., Wehrli, B. and De Wilde, P. (1995) Benthic chamber and profiling landers in oceanography - A review of design, technical solutions and functioning. *Progress in Oceanography*, **35**, 253–294.
- Tengberg, A., Hovdenes, J., Barranger, D., Brocandel, O., Diaz, R., Sarkkula, J. Huber, C. and Stangelmayer, A. (2003) Optodes to measure oxygen in the aquatic environment. *Sea Technology*, **44**, 10–15.
- Tengberg, A., Stahl, H., Gust, G., Müller, V., Arming, U., Andersson, H. and Hall, P. O. J. (2004) Intercalibration of benthic flux chambers I. Accuracy of flux measurements and influence of chamber hydrodynamics. *Progress in Oceanography*, **60**, 1–28.
- Tengberg, A., Hovdenes, J., Andersson, H. J., Brocandel, O., Diaz, R., Hebert, D., Arnerich, T., Huber, C., Körtzinger, A., Khrpounoff, A., Rey, F., Rönning, C., Schimanski, J., Sommer, D. and Stangelmayer, S. (2006) Evaluation of a lifetime-based optode to measure oxygen in aquatic systems. *Limnology and Oceanography: Methods*, **4**, 7–17.
- Toki, T., Tsunogai, U., Gamo, T., Kuramoto, S. and Ashi, J. (2004) Detection of low-chloride fluids beneath a cold seep field on the Nankai accretionary wedge off Kumano, south of Japan. *Earth and Planetary Science Letters*, **228**, 37–47.
- Uchida, H., Kawano, T., Kaneko, I. and Fukasawa, M. (2008) *In situ* calibration of optode-based oxygen sensors. *Journal of Atmospheric and oceanic Technology*, **25**, 2271–2281.
- Viollier, E., Rabluelle, C., Apitz, S. E., Breuer, E., Chaillou, G., Dedieu, K., Furukawa, Y., Grenz, C., Hall, P., Janssen, F., Morford, J. L., Poggiale, J. -C., Roberts, S., Shimmield, T., Tallefert, M., Tengberg, A., Wenzhöfer, F. and Witte, U. (2003) Benthic biogeochemistry: state of the art technologies and guidelines for the future of *in situ* survey. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **285–286**, 5–31.
- Volkenborn, N., Polerecky, L., Hedtkamp, S. I. C., van Beusekom, J. E. E. and de Beer, D. (2007) Bioturbation and bioirrigation extend the open exchange regions in permeable sediments. *Limnology and Oceanography*, **52**, 1898–1909.
- Walsh, J. J., Rowe, G. T., Iverson, R. L. and McRoy, C. P. (1981) Biological export of shelf carbon is a sink of the global CO₂ cycle. *Nature*, **291**, 196–201.
- Wang, X. -D. and Wolfbeis, O. S. (2012) Fiber-optic chemical sensors and biosensors (2008–2012). *Analytical Chemistry*

- try. doi: 10.1021/ac.303159b.
- Wenzhöfer, F. and Glud, R. N. (2002) Benthic carbon mineralization in the Atlantic: a synthesis based on in situ data from the last decade. *Deep-Sea Research I*, **49**, 1255–1279.
- Wenzhöfer, F. and Glud, R. N. (2004) Small-scale spatial and temporal variability in coastal benthic O₂ dynamics: Effects of fauna activity. *Limnology and Oceanography*, **49**, 1471–1481.
- Wenzhöfer, F., Holby, O. and Kohls, O. (2001) Deep penetrating benthic oxygen profiles measured in situ by oxygen optodes. *Deep-Sea Research I*, **48**, 1741–1755.
- Witte, U., Wenzhöfer, F., Sommer, S., Boetius, A., Heinz, P., Aberle, N., Sand, M., Cremer, A., Abraham, W. -R., Jørgensen, B. B. and Pfannkuche, O. (2003) *In situ* experimental evidence of the fate of a phytodetritus pulse at the abyssal sea floor. *Nature*, **424**, 763–765.
- Wolfbeis, O. S. ed. (1991) Fiber optic chemical sensors and biosensors Volumes I and II, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Wolfbeis, O. S. (2000) Fiber-optic chemical sensors and biosensors. *Analytical Chemistry*, **72**, 81–90.
- Wolfbeis, O. S. (2002) Fiber-optic chemical sensors and biosensors. *Analytical Chemistry*, **74**, 2663–2678.
- Wolfbeis, O. S. (2004) Fiber-optic chemical sensors and biosensors. *Analytical Chemistry*, **76**, 3269–3284.
- Wolfbeis, O. S. (2006) Fiber-optic chemical sensors and biosensors. *Analytical Chemistry*, **78**, 3859–3874.
- Wolfbeis, O. S. (2008) Fiber-optic chemical sensors and biosensors. *Analytical Chemistry*, **80**, 4269–4283.
- Zhang, H. and Davison, W. (1995) Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the *in situ* measurement of trace metals in aqueous solution. *Analytical Chemistry*, **67**, 3391–3400.
- Zhang, H., Davison, W., Knight, B. and McGrath, S. (1998). *In situ* measurement of solution concentrations and fluxes of trace metals in soils using DGT. *Environmental Science and Technology*, **32**, 704–710.
- Zhu, Q., Aller, R. C. and Fan, Y. (2005) High-performance planar pH fluorosensor for two-dimensional pH measurements in marine sediment and water. *Environmental Science and Technology*, **39**, 8906–8911.
- Zhu, Q., Aller, R. C. and Fan, Y. (2006a) Two-dimensional pH distributions and dynamics in bioturbated marine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **70**, 4933–4949.
- Zhu, Q., Aller, R. C. and Fan, Y. (2006b) A new ratiometric, planar fluorosensor for measuring high resolution, two-dimensional pCO₂ distributions in marine sediments. *Marine Chemistry*, **101**, 40–53.

The state of the art technologies for *in situ* measurements at sediment-water interface

Kazumasa OGURI*

* Earth and Life History Research Program, Institute of Biogeosciences
Advanced Marine Technology Research Program,
Marine Technology and Engineering Center
Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology
2-15 Natsushima, Yokosuka, Kanagawa 237-0061, Japan

Sediment-water interface is a conjunction of two elemental cycles, from water to sediment, and sediment to water. This place plays significant role on carbon storage, remineralization and respirations by benthic organisms as well as bacterial activities. Recently, new chemical sensors and deep-sea technologies have been improved by interdisciplinary collaborations, and *in situ* measurements at sediment-water interface are getting increasing especially in European scientists. This review focuses on the sensor technologies for *in situ* measurements of oxygen dynamics. Basics and applications of microelectrode techniques, planar oxygen optodes and eddy correlation systems are introduced to explore and understand the nature of sediment-water interface, which is an “untouchable zone” because of existences of chemical and biological complexities in a small space.

Key words: Sediment-water interface, Oxygen, Microelectrode, Planar optode, *in situ* measurement