

「水の循環系モデリングと利用システム」

平成 15 年度採択研究代表者

永田 俊

京大大学生態学研究センター生態学研究部門・教授

各種安定同位体比に基づく流域生態系の健全性／持続可能性指標の構築

1. 研究実施の概要

本研究の目的は、各種安定同位体比を用いることで、流域生態系を総合的に診断する新たな指標を構築することにある。特に、流域の水循環と物質循環の総合的な評価と、生態系環境や生物群集の健全性査定に重点をおいた研究を展開している。H19年度は、硝酸イオンの窒素・酸素安定同位体比の高精度・微量分析手法を始めとする各種安定同位体比の精密測定技術を駆使した観測を、特に琵琶湖集水域とモンゴルの河川において継続的に推進するとともに、最終年度の成果統合にむけて、これまでに得られた観測結果の解析とモデリングを重点的に推進した。その結果、各種環境指標の開発が大きく進展した。成果の一端は、本研究チームの研究者を中心とする執筆陣により、「流域環境評価と安定同位体―水循環から生態系まで―」という書物にまとめられ、平成20年3月に京都大学学術出版会より出版された。本書は、安定同位体比を用いた流域環境評価の手法に関して総合的に議論した、国内外で初めての出版物である。その内容は、水循環、物質循環（環境負荷と除去プロセス）、生態系の健全性、のそれぞれについて、安定同位体比を用いた環境査定の原理と具体的な適用例を紹介したものであり、新しい流域環境診断手法の確立にむけての里程標となると考えている。また、国連機関である IAEA(国際原子力機関)が主催した「河川の水質評価と栄養管理における同位体手法の適用」に関する国際ワークショップ(平成19年10月8日～10日にウィーンで開催)に、日本を代表する研究グループとして招聘された。このワークショップでは、本 CREST 研究の主要な成果のひとつである、「集水域における窒素循環と窒素流出にかかわる安定同位体指標の適用」に関する先導的な提案を行った。ワークショップの成果はマニュアルとして公表される予定であるが、これにより、本 CREST 研究が提案する流域環境評価における安定同位体の利用が広く国際発信されるものと期待される。最終年度には、これらの成果に立脚し、安定同位体指標の総合化と、国内外での成果発信を推進する予定である。

2. 研究実施内容

＜琵琶湖および琵琶湖集水域における各種安定同位体比の分布と環境評価＞

前年度までに本 CREST 研究により立ち上げた、各種安定同位体比の微量高速測定システムなどを駆使して、琵琶湖および琵琶湖集水域における各種安定同位体比の分布の観測を継続的に実施するとともに、これまでに得られた成果の解析とモデル化を推進した。また、物質収支法や、従来型の環境指標・生物指標との比較検討を進めた。これらの成果を、「流域環境評価と安定同位体―水循環から生態系まで―」という書物にまとめ公表するとともに、国内外の学会やワークショップなどにおいて成果発信を行った。

本年度に重点的に推進した研究内容として、社会的に大きな問題になっている、「温暖化による琵琶湖の鉛直循環の弱化に伴う湖底の低酸素化現象」に関連したものを紹介する。本研究では、温暖化に伴う湖底の低酸素化が、生態系や物質循環系に与える影響を、本 CREST 研究が提案する安定同位体指標を利用した新しいアプローチを用いて査定する方法を検討した。これらの研究の結果、湖水中の溶存酸素の安定同位体比から、琵琶湖の湖内における酸素の循環（生成・消費・曝気）の実態や、低酸素化に伴う堆積物中での窒素循環の変動の様子が評価できることが示された。なお、この研究は琵琶湖をモデルシステムとして検討を進めているが、その方法論は、沿岸海洋などにおける低酸素・無酸素水塊（青潮）の発生と影響評価にも広く適用可能であると考えられる。

まず、溶存酸素の安定同位体比に関する研究では、3 年間にわたる琵琶湖北湖における溶存酸素濃度および溶存酸素同位体比の鉛直分布の年間変動を元に、琵琶湖における溶存酸素の生成・消失機構について検討した。近江舞子沖の定点では、循環期には例年溶存酸素同位体比はほぼ大気平衡に近い酸素同位体比になったが、年によってその値が達成される時期は異なっていた。また、ほぼ循環していると考えられる時期でも深度別の溶存酸素同位体比には小さな変異があり、溶存酸素動態を反映していると考えられた。一方、成層期には表水層と深水層で明瞭に異なるパターンを示した。琵琶湖湖水の酸素同位体比はおおよそ $\delta^{18}\text{O}_{\text{HLA}} = -30\text{‰}$ であるため、成層期における表水層の溶存酸素の $\delta^{18}\text{O}_{\text{HLA}}$ 値の減少は、光合成によるものだと考えられた。溶存酸素飽和度 (%) と $\delta^{18}\text{O}_{\text{HLA}}$ 値を 2 次元プロットすると、表水層では年ごとに異なる変動パターンを示した。湖沼のモデルにおいて用いられる呼吸における分別係数 $\alpha_r = 0.977 \sim 0.982$ を用いてモデル計算を行うと、年によって光合成と呼吸の比の年間変動パターンは異なることが明らかになった。一方深水層では、呼吸に伴う同位体分別のために、時系列に沿って酸素同位体比は上昇した。深水層において、溶存酸素飽和度 (%) と $\delta^{18}\text{O}_{\text{HLA}}$ 値を 2 次元プロットすると、溶存酸素同位体比は溶存酸素飽和度の減少に対応して上昇した。この関係から、見かけの酸素消費における分別係数 α を求めると、年によっての違いはほとんど見られず、 $\alpha = 0.990 \sim 0.991$ の値を示した。これは、酵素律速を仮定した呼吸における分別係数 α_r と異なり、拡散律速が支配する堆積物中の酸素消費の寄与を示唆した。

一方、低酸素化による影響を最も敏感に受ける、湖底堆積物における窒素循環の査定において、安定同位体法が有効に利用できることが示された。この研究では、主要な温暖化ガスのひとつである一酸化二窒素（以下 N_2O ）の安定同位体比（アイソトポマー）を用いることで、その生成・消滅機構を評価することを試みている。成層期である10月と循環期である2月における湖水および堆積物中の N_2O の安定同位体比の経年的な観測の結果から、堆積物中で生成する N_2O が主に硝化由来であり、脱窒による N_2O の生成は無視できるほど小さいことが示唆された。しかし、還元的な堆積物中では脱窒は活発に起きているはずであり、それに伴う N_2O の生成が本当に無視できるのかという点は疑問として残された。この疑問に答えるために、本年度は、微小電極を用いた堆積物中溶存 N_2O のマイクロプロファイルでの測定を試みた。その結果、溶存 N_2O は直上水 - 堆積物境界面で急激に濃度が減少しており、堆積物中では検出できないレベルにまで低下していることが明らかになった。これは、堆積物中での脱窒が N_2 まで完全に進行したために、脱窒による N_2O 生成が起きなかったことを示唆しており、安定同位体比から得られた結果と整合的であった。これらの成果は AGU（米国地球物理学連合）における招待講演などで公表された。

一方、前年度までの研究により、野洲川の中上流域において、約200地点で試料を採集し、硝酸イオン同位体比をはじめとした各種安定同位体比を総合的に調査した。この調査の結果、世界的にも例をみない高密度分布データを短期間に取得することに成功した。本年度は、これらのデータの解析を進め、GISを用いた土地利用や物質収支の解析結果とあわせた総合化を推進した。その結果、安定同位体比を用いて推定された硝酸イオンの起源（排水由来、大気由来）と、流下過程における循環のパターンが、土地利用や人間活動のパラメータと整合的であることが示された。これらの成果は、日本陸水学会大会などで公表され、最優秀ポスター賞を受賞した。また、野洲川高密度観測のデータについては、IAEA ワークショップ（前述）における招待講演で公表した。

<海外拠点（モンゴル・東南アジア）における総合的観測と指標の有効性の検証>

本サブ課題は、琵琶湖集水域を中心として構築を進めている安定同位体指標が、アジアの異なる気候帯でも適用可能であるかどうかを検討することを目的としている。モンゴルとマレーシアの海外拠点を中心とした国際共同研究を推進しているが、本年度は、これに加え、マレー半島における研究において、安定同位体比指標の適用可能性の検証が進んだ。

モンゴル国では、都市部への人口集中と急激な経済・社会構造の変化に伴う環境問題の激化が懸念されている。本研究では、モンゴル科学アカデミー地球生態学研究所と共同研究覚書を取り交わし、同研究所の水文・水生物部門の研究者をカウンターパートとして国際共同研究を実施している。本研究において特に注目したのは首都ウランバートル近郊を流れる大河川トール川である。この川はこの地域における重要な水資源であるが、近年の人口集中の影響から、急速な汚濁化が進んでいる。研究の第一段階として、トール川の最上流からオルホン川の合流地点にいたる約800kmの流程において、水質と生態系に関する流下変化の調査を行い、大域的な状況の把握を試みた（平成17年度）。この調査結果から市の西部に位置する下水処理場の排水流出地域

が重要な汚濁源であることが示された。前年度までの研究で、この強度汚濁域における集中調査を実施し、汚濁物質の流出経路や循環過程に関する情報を取得した。本年度は、これらのデータの解析を進め、各種安定同位体比を用いた物質循環や生態系の評価に関する研究を実施した。具体的には、溶存酸素の安定同位体比の顕著な昼夜変動に関するモデル解析を進め、対象水域における酸化還元環境の評価手法の検討を行った。48時間調査の酸素同位体比の変動を解析した結果、河川水中の溶存酸素の生産（光合成）、消費（呼吸）、曝気（大気との交換）のバランスは一日の間に劇的に変動することが示された。安定同位体法によるモデル計算の結果、一日単位の光合成：呼吸：ガス交換比=2.8:4.0:1と推定された。最終年度に向けてさらに複数のモデルを比較し、推定の精緻化を進める予定である。

一方、モンゴル国と同様に、東南アジアを含む熱帯地方の諸国でも、近年の急激な経済発展に伴う人間活動の激化によって、その流域環境は悪化と破壊の深刻な危機に直面している。特に流域における農地開発と人口増加による物質負荷の増大は、河川水質、ひいては下流の河口域・沿岸海域にまでも、富栄養化、有機汚濁負荷、元素バランスの改変、藻類異常繁殖等の影響を及ぼしつつあり、物質循環系を中心とする環境諸因子の改変・劣化を的確にモニタリングする体制の確立が急務となっている。本サブ課題ではマレー半島を流域とする、地質学的条件の対照的な二河川（花崗岩帯の Khura 川、石灰岩・堆積岩帯の Trang 川）を対象として、特にその下流域における人口増加に伴う河川水の富栄養化状況とその影響を把握するために、硝酸イオンの窒素($\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$)・酸素($\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$)安定同位体比、ならびに溶存全炭酸の炭素安定同位体比($\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$)を適用するケース・スタディを実施した。

Khura 川は富栄養化の進行度が低く、 NO_3^- 濃度が $10\ \mu\text{M}$ を越すことは稀であったが、Trang 川では NO_3^- が $40\ \mu\text{M}$ に達する場合があった。いずれも下流の人口集中部で濃度が最も高くなっていた。 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ と $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ の流程変化を比較すると、どちらの河川でも $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ が NO_3^- 濃度とともに上昇することが観察され、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ が富栄養化の指標として利用できることが確認された。このことは、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ と連動して変化することが本プロジェクトにおいて明らかにされている堆積物や河岸植物の $\delta^{15}\text{N}$ を利用して、過去の富栄養化の履歴を復元できる可能性を示唆しているため、重要な意味を持つ。一方 $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ は Khura 川においては $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ と連動して上昇しており、両者の上昇が主として河床における脱窒の効果に帰せられることが推測された。対照的に Trang 川の $\delta^{18}\text{O}_{\text{NO}_3}$ は流程を通して顕著な変化が見られなかったことから、Trang 川における $\delta^{15}\text{N}_{\text{NO}_3}$ の変化は河床の脱窒ではなく主として流域の富栄養化に帰せられることが推定された。 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ は Khura 川においては人口集中部において極小値を示し、集落からの有機汚濁負荷の影響が推定された。これに対し Trang 川では石灰岩帯を流域とするためにもともと DIC 濃度が高く、 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ には顕著な流程変化が現れなかった。両河川とも、河口域においては $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ は海水との混合から予測される値よりも有意に低下しており、河口域に分布するマングローブ湿地から $\delta^{13}\text{C}$ の低い CO_2 が大量に負荷されていることが示唆された。

このように硝酸イオンと全炭酸の安定同位体比は、熱帯河川を特徴づけ、人為負荷の影

響を推定するために極めて有力な手段となるポテンシャルを持っている。またそれらを環境指標として用いるに当たっては、地質条件を含めた流域環境の特性に留意する必要があることが本研究によって例証される。

<各種安定同位体比の測定技術の開発と高度化>

本サブ課題では、全研究グループの研究推進の基盤をなす分析技術の改良や発展のための技術革新を目指している。本年度は以下の点で進展がみられた。

本年度は、アミノ酸の窒素同位体比を用いた栄養段階推定法の確立を主に行った。まず数多くの生物試料を分析し、アミノ酸の代謝における窒素同位体分別のしくみに、以下に示す2つの明瞭な規則があることを明らかにした。

- (1) 不可欠（必須）アミノ酸の中でも、メチオニンとフェニルアラニンは、代謝反応にアミノ基が関わらないため、代謝されるアミノ酸と代謝されずに残るアミノ酸の間で窒素同位体比の分別が起きない。したがって、動物試料におけるこれら2つのアミノ酸の窒素同位体比は、餌の窒素同位体比を保存する。
- (2) メチオニンとフェニルアラニン以外の全てのアミノ酸は、その代謝反応がアミノ基の脱離反応であるため、代謝されるアミノ酸と代謝されずに体組織になるアミノ酸の間で同位体分別が起こる。すなわち、代謝により脱離するアミノ基は ^{14}N に富み、残るアミノ酸は ^{15}N に富む。特にグルタミン酸は、代謝における同位体分別が大きく、餌のアミノ酸の窒素同位体比よりも 7-8‰ 高い値を示す。

本年度に得た結果によると、海洋や湖沼といった水界中の生態系における生産者のアミノ酸の窒素同位体比は、生物の種類を問わずほぼ普遍的な分布パターンを示している。また、捕食に伴う ^{15}N の濃縮も生物の種類に関わらず非常に一定している。したがって私たちは、グルタミン酸とフェニルアラニンという2種類のアミノ酸の窒素同位体比を用いた以下の式が、動物試料の栄養段階の推定に有用であることを提唱した。

$$[\text{栄養段階}] = [\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}} - (\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}} + 4.2) / 7.6 + 1$$

ここで、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ と $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$ は、グルタミン酸とフェニルアラニンの窒素同位体比を示している。この新しい栄養段階推定法の長所は、動物の栄養段階が、動物自身がつもつ2つのアミノ酸の窒素同位体比から計算できることである。言い換えると、栄養段階の推定に一次生産者の試料を分析する必要がない。すなわち、生産者の窒素同位体比を得なければならないという、バルク窒素同位体比による従来の栄養段階推定法の問題点を解決することができる。

3. 研究実施体制

(1)「総括」グループ

- ①研究者名:永田 俊 (京大大学生態学研究センター)
- ②研究項目:各班の成果を統合化。海外拠点における指標の適用。

(2)「水循環・技術支援」グループ

- ①研究者名:大河内 直彦 (海洋研究開発機構地球内部変動研究センター)
- ②研究項目:水の安定同位体比を用いた新しい水循環指標の開発。各種安定同位体比の測定技術の開発と高度化。

(3)「物質循環」グループ

- ①研究者名:宮島 利宏 (東京大学海洋研究所生元素動態分野)
- ②研究項目:生元素の各種安定同位体比による流域物質循環指標の構築。

(4)「生態系」グループ

- ①研究者名:竹門 康弘 (京都大学防災研究所)
- ②研究項目:生物の安定同位体比による流域生態系の健全性指標の構築。

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表(原著論文)

(国内)

1. 大河内直彦 (2007) 赤潮の地球 ～クロロフィル分子化石と温室地球～. *Japan Geoscience Letters* 3(2): 4-6.
2. 力石嘉人, 小川奈々子, 柏山祐一郎, 大河内直彦 (2007) 生態学指標としての安定同位体:アミノ酸の窒素同位体分析による新展開. *Radioisotopes* 56: 463-477.

(国際)

1. Anzai, K., Sasada, H., Yoshida, N. (2007) Best pair of 3.3- μ m band transitions for isotopomer abundance ratio measurements of $^{13}\text{CH}_4$ to $^{12}\text{CH}_4$. *Japanese Journal of Applied Physics* 46: 1717-1721.
2. Charpentier, J., Farias, L., Yoshida, N., Boontanon, N., Raimbault, P. (2007) Nitrous oxide distribution and its origin in the central and eastern South Pacific Subtropical Gyre. *Biogeosciences Discussions* 4: 1673-1702.
3. Chikaraishi, Y., Kashiyama, Y., Ogawa, N. O., Kitazato, H., Ohkouchi, N. (2007) Metabolic

control of nitrogen isotopic composition of amino acids in macroalgae and gastropods: implications for aquatic food web studies. *Marine Ecology Progress Series* 342: 85–90.

4. Danielache, S.O., Johnson, M.S., Nanbu, S., Grage, M.M., McLinden, C., Yoshida, N. (2008) Ab initio study of sulfur isotope fractionation in the reaction of OCS with OH. *Chemical Physics Letters* 450: 214–220.
5. Fujimoto, M., Ohte, N., Tani, M. Effects of hillslope topography on hydrological responses in a weathered granite mountain, Japan: comparison of the runoff response between the valley-head and the side slope. *Hydrological Processes* (in press)
6. Ishikawa, T., Ueno, Y., Komiya, T., Sawaki, Y., Han, J., Shu, D., Li, Y., Maruyama, S., Yoshida, N. Carbon isotope chemostratigraphy of a Precambrian/Cambrian boundary section in the Three Gorge area, South China: prominent global-scale isotope excursions just before the Cambrian Explosion. *Gondwana Research* (in press)
7. Kashiyama, Y., Kitazato, H., Ohkouchi, N. (2007) An improved method for isolation and purification of sedimentary porphyrins by high-performance liquid chromatography for compound-specific isotopic analysis. *Journal of Chromatography A* 1138: 73–83.
8. Kim, C., Nishimura, Y., Nagata, T. (2007) High potential activity of alkaline phosphatase in the benthic nepheloid layer of a large mesotrophic lake: Implications for phosphorus regeneration in oxygenated hypolimnion. *Aquatic Microbial Ecology* 49: 303–311.
9. Kohshima, S., Takeuchi, N., Uetake, J., Shiraiwa, T., Uemura, R., Yoshida, N., Matoba, S., Godoi, A. (2007) Estimation of net accumulation rate at a Patagonian glacier by ice core analyses using snow algae. *Global and Planetary Change* 59: 236–244.
10. Kohzu, A., Miyajima, T., Tateishi, T., Watanabe, T., Takahashi, M., Wada, E. (2007) Dynamics of ^{15}N natural abundance in wood decomposing fungi and their ecophysiological implications. *Isotopes in Environmental and Health Studies* 43(2): 83–94.
11. Kohzu, A., Tayasu, I., Yoshimizu, C., Maruyama, A., Kohmatsu, Y., Hyodo, F., Onoda, Y., Igeta, A., Matsui, K., Nakano, T., Wada, E., Nagata, T., Takemon, Y. Nitrogen stable isotopic signatures of basal food items, primary consumers and omnivores in rivers with different levels of human impact. *Ecological Research* (accepted)
12. Nakamura, Y., Horinouchi, M., Shibuno, T., Tanaka, Y., Miyajima, T., Koike, I., Kurokura, H., Sano, M. (2008) Evidence of ontogenic migration from mangroves to coral reefs by black tail snapper *Lutjanus fulvus*: a stable isotope approach. *Marine Ecology Progress Series* 355: 257–266.
13. Nara, H., Toyoda, S., Yoshida, N. (2007) Measurements of stable carbon isotopic composition of ethane and propane over the western North Pacific and eastern Indian Ocean: a useful indicator of atmospheric transport process. *Journal of Atmospheric Chemistry* 56(3): 293–314, doi: 10.1007/s10874-006-9057-3.

14. Nishimura, Y. and Nagata, T. (2007) Alpha-proteobacterial dominance in a large mesotrophic lake (Lake Biwa, Japan). *Aquatic Microbial Ecology* 48: 231–240.
15. Parrenin, F., Dreyfus, G., Durand, G., Fujita, S., Gagliardini, O., Gillet, F., Jouzel, J., Kawamura, K., Lhomme, N., Masson-Delmotte, V., Ritz, C., Schwander, J., Shoji, H., Uemura, R., Watanabe, O., Yoshida, N. (2007) 1-D-ice flow modelling at EPICA Dome C and Dome Fuji, East Antarctica. *Climate of the Past* 3: 243–259.
16. Sorai, M., Yoshida, N., Ishikawa, M. (2007) Biogeochemical simulation of nitrous oxide cycle based on the major nitrogen processes. *Journal of Geophysical Research*, 112: G01006, doi:10.1029/2005JG000109.
17. Sugimoto, R., Kasai, A., Miyajima, T., Fujita, K. (2008) Temporal variation in natural isotopic composition of nitrate during the development of hypoxia in a coastal marine environment. *Journal of Oceanography* 64: 39–48.
18. Tanaka, Y., Miyajima, T., Koike, I., Hayashibara, T., Ogawa, H. (2007) Imbalanced coral growth between organic tissue and carbonate skeleton brought by nutrient enrichment. *Limnology and Oceanography* 52: 1139–1146.
19. Tanaka, Y., Miyajima, T., Koike, I., Hayashibara, T., Ogawa, H. (2008) Production of dissolved and particulate organic matter by the reef-building corals *Porites cylindrica* and *Acropora pulchra*. *Bulletin of Marine Science* 82: 237–245.
20. Tanaka, Y., Miyajima, T., Yamada, K., Hori, M., Hasegawa, N., Umezawa, Y., Koike, I. Specific growth rate as a determinant of carbon isotopic composition of a temperate seagrass *Zostera marina*. *Aquatic Botany* (in press)
21. Toyoda, S., Yamamoto, S., Arai, S., Nara, H., Yoshida, N., Kashiwakura, K., Akiyama, K. (2008) Isotopomeric characterization of N₂O produced, consumed, and emitted by automobiles. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 22: 603–612, doi: 10.1002/rcm.3400.
22. Uemura, R., Matsui, Y., Motoyama, H., Yoshida, N. (2007) Deuterium and oxygen-18 determination of microliter quantities of a water sample using an automated equilibrator. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 21: 1783–1790, doi: 10.1002/rcm.3022.
23. Umezawa, Y., Ishitobi, T., Rungsupa, S., Onodera, S., Yamanaka, T., Yoshimizu, C., Tayasu, I., Nagata, T., Wattayakorn, G., Taniguchi, M. (2007) Evaluation of fresh groundwater contributions to the nutrient dynamics at shallow subtidal areas adjacent to metro-Bangkok. *IAHS Publications* 312: 169–179.
24. Umezawa, Y., Hosono, T., Onodera, S., Siringan, F., Buapeng, S., Delinom, R., Yoshimizu, C., Tayasu, I., Nagata, T., Taniguchi, M. The source and mechanisms controlling nitrate and ammonium contaminations in groundwater at developing Asian-Mega cities, Metro Manila, Bangkok and Jakarta. *Science of the Total Environment* (accepted)

25. Umezawa, Y., Miyajima, T., Tanaka, Y., Koike, I. (2007) Variation in internal $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ distributions and their bulk values in the brown macroalgae *Padina australis* growing in subtropical oligotrophic waters. *Journal of Phycology* 43: 437–448.
26. Yamada, K., Yoshida, N., Calderone, G., Guillou, C. (2007) Determination of hydrogen, carbon and oxygen isotope ratios of ethanol in water at millimole levels. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 21: 1431–1437, doi 10.1002/rcm2977.
27. Yamagishi H., Westley, M. B., Popp, B. N., Toyoda, S., Yoshida, N., Watanabe, S., Koba, K., Yamanaka, Y. (2007) Role of nitrification and denitrification on the nitrous oxide cycle in the eastern tropical North Pacific and Gulf of California. *Journal of Geophysical Research -Biogeosciences*, 112: G02015, doi:10.1029/2006JG000227.

(2) 特許出願

平成 19 年度 国内特許出願件数:0 件 (CREST 研究期間累積件数:1 件)