

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：82706

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K03673

研究課題名（和文）プログラミング可能なマイクロ法を用いた船上分析法の開発

研究課題名（英文）Development of shipboard analysis using programmable flow injection

研究代表者

八田 真理子 (Hatta, Mariko)

国立研究開発法人海洋研究開発機構・地球環境部門(北極環境変動総合研究センター)・副主任研究員

研究者番号：00896110

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：北極海の水循環や物質輸送は、近年の気候変動、急激な海氷の後退によって、大きく変化している。これによる物質循環や生物生産の変化を捉えるために、化学成分、特に栄養塩や微量金属のより広範囲かつ高頻度の試料採取および分析が求められる。しかし、現行の船上・陸上の分析手法は煩雑で、高精度・高品質のデータベースの拡大は難しい。本研究では、マイクロ法によるケイ酸濃度測定法の開発・改良を行った。本研究を通して、北極航海や国際共同プロジェクト航海へ参加し、データベースの構築に大きく貢献した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新しい分析手法の開発を通して、本法で使用している分析装置を用いることで、複雑な化学反応を理解でき、またその最適化を効率的に行うことが可能となった。そのため、現在までに使用されているフロー法では、その煩雑さと測定に要する分析時間の長さ、またその変動のために、最適化が難しかった化学分析手法においても、本法を応用することで、最適化が可能となる。今後、吸光法や蛍光法を主とする分析法への応用によって、船上において汚染が少なく、またコンピュータ制御が可能な化学分析の大きな発展が期待できる。

研究成果の概要（英文）：The surface Arctic Ocean is subject to rapidly changing the sea ice distribution as well as the freshwater inputs, from increasing ice melt and riverine inputs. Close monitoring of the variation of chemical components, essential nutrients and trace metals in the vast areas is essential for understanding the geochemical cycles and making future predictions in the Arctic. However, current on-board and land-based analysis methods are complicated, making it difficult to expand a high-precision, high-quality database. In this study, the silicate micro-flow method has been improved significantly. This new analytical platform is highly capable of optimizing and enhancing our understanding of chemistry. Furthermore, this study significantly expanded silicate database and contribute to constraining and quantifying geochemical processes and budgets in the Arctic Ocean.

研究分野：海洋化学

キーワード：フロー法の改良 北極海

1. 研究開始当初の背景

栄養塩は生物の成長において必須な栄養素である。そのひとつであるケイ酸塩濃度は、北極海において、太平洋や大西洋起源の水塊を特徴づけるための有効なパラメータである。近年の研究では、ベーリング海峡と東シベリアやラプティフ海の陸棚付近で高く、この高濃度ケイ酸塩水塊は北極海中央部を経て、ファーム海峡まで帯状のように到達している。これは、トランス・ポーラー・ドリフトと呼ばれる世界最大級の水流系によって、海水下に閉じ込められた沿岸水が海水と共に輸送されたためである。さらに、北極海からのケイ酸塩放出量は、北大西洋のケイ酸塩収支のおよそ 12%にも及ぶことが見積もられている(Torres-Valdes et al., 2013)。GEOTRACES 国際プロジェクトでは、生物生産に重要な鉄、コバルト、ニッケルなどの微量金属も同様に高濃度であることが観測されており、ファーム海峡を経て、北大西洋への放出が指摘された(Charette et al., 2020)。しかし、海水後退により表層の生物活動が活発化し、鉄がより積極的に消費され、北極海東部のナンセン海盆での鉄不足も指摘されている(Rijkenberg et al., 2018)。この大規模な環境変化は、北極海の沿岸域からの物質輸送量、経路とその変動、さらには、北大西洋の生物活動へ強く影響を与えることが懸念される。今後の生態系、物質循環の変動を知るには、より広範囲かつ高頻度な栄養塩や微量金属のモニタリングが急務である。

しかし、現在使用されている船上・陸上での栄養塩や微量金属の分析手法は、その煩雑性に加え、特に微量金属はクリーン採水用の設備投資と人員確保が不可欠である。また、船上で使用されている栄養塩分析法は、60 年前に開発されたエアークセグメント形式のフロー法を採用しており、装置のサイズが大きい。さらに、試料塩分によって分析感度が異なり、塩分が異なる河口域や融解水を含む試料は、試料塩分に合わせた標準溶液の調整や分析値の補正が必要となり、北極海などの様々な水塊の影響をうける海域での分析には適しておらず、また装置のサイズや手法の煩雑性という点から、完全自動化は難しい。これらの問題を解決する自動分析が可能な船上分析手法を開発できるか、が本研究の「問い」である。

2. 研究の目的

本研究は、野外調査・分析への適応力の高い船上自動分析手法を開発することを目的とする。近年着手してきたマイクロ法は、微量(100-300 μ L)の試料と試薬を 2 つのポンプの同時稼働によって、完全に混合し、既存フロー法の問題点となる試料の光屈折率の違いによる塩分の影響を克服できる(Hatta et al., 2018; 2019; 2020)。この手法をケイ酸塩分析へと応用し、現場分析の 3 つの重要パラメータ(装置の小型・簡略化、作業時間の短縮・簡素化、廃液を減らすグリーンケミストリー)を念頭に置き、1) 塩分の影響をうけない自動分析手法の開発を目指す。従来法では、低栄養塩海水を用いて標準溶液を調整するのが一般的だが、本研究は塩分の影響をうけない手法という利点から、純水を用いた標準溶液を使用することが可能となる。現在使用されている低栄養塩海水は、その準備に莫大な時間と費用を要する。例えば、熱帯域の表面海水(低栄養塩水)を採取後、屋外にて植物プランクトンによる余剰の栄養塩を除去させ、その後濾過した海水を“低栄養塩海水”として使用している。この低栄養塩海水が不必要になれば、一連の作業・費用の削減のみならず、常に一定の“ゼロ”栄養塩水(純水)を基準とすることが可能になり、データの品質管理が簡素化できる。また、ひとつの分析装置で、塩分濃度の異なる沿岸水、河川水、雨水、邑海水、排水など様々な試料分析が可能となる。加えて、2) 単一溶液の自動希釈法の開発・導入により、人的希釈ではなく、標準溶液や試料の希釈倍率をコンピュータのソフトウェア上で変更するだけで可能となり、海水、間隙水や河川水など濃度が大きく異なる試料も同一の分析手法で行うことができる。これは、海水分析のみならず、陸水モニタリング手法としても活躍できる。本研究により得られた知見は、他の栄養塩分析、また微量金属分析法の開発へも応用でき、今後、気候変動などによる急激に変化する物質輸送や水循環を評価するための自動表層システムの開発、また係留系への搭載への足掛かりとして期待できる。

3. 研究の方法

単一の標準溶液をキャリア(純水)溶液で希釈する「単一標準溶液希釈法」の開発・検討を行う。一般的に海洋研究において広く使用されているモリブデン法を応用したケイ酸濃度測定を用いて、以下の実験を行う。

- (1) 純水と人工海水(3.5%塩化ナトリウム水)の標準溶液を用いて検量線を作成し、測定溶液のマトリックスの違いを評価する。
- (2) 高濃度のケイ酸濃度を添加した 3.5%塩化ナトリウム水を用いて、バルブ自体に搭載された「合流点」を通して、標準溶液を試薬と混合する直前に、標準溶液をキャリア溶液

- (純水)と混合するステップを導入し、自動希釈の有効性を評価する。
- (3) 開発した分析手法を現在使用されている船上分析手法と比較して、新しい手法の有用性を評価する。

4. 研究成果

(1) ケイ酸塩濃度分析における塩分(マトリックス)の違いによる影響の評価

標準溶液のマトリックス効果を調べるために、純水(DI water, Deionized water)と塩化ナトリウムを溶かして調製した人工海水(3.5% NaCl 水)を用いて、ケイ酸塩濃度の測定を行い、検量線を作成した。その結果、傾きの比(=純水/人工海水)は0.99となり、分析精度(3%)以内であることから、これらのマトリックス間での優位の差はないことがわかった(図1)。これにより、塩分が0-3.5%以内であれば、純水を用いて調製した標準溶液により得られた検量線から、海水試料のケイ酸塩濃度を計算できることがわかった。

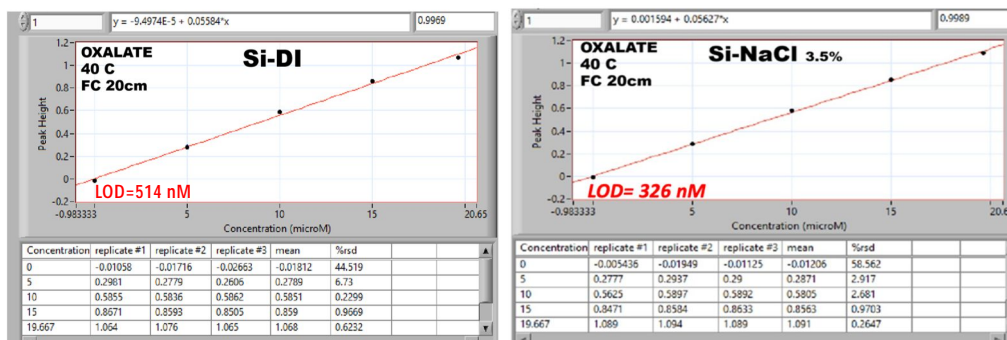


図1 マイクロフロー法を用いたケイ酸塩濃度の検量線(左:純水、右:人工海水)

(2) 自動希釈の有効性の評価

図2の赤枠の部分の Pump2 の押し出し量を変化させることで、標準溶液に混合するキャリア水の量を調製し、2、4、8、10倍希釈を行った。この結果、自動希釈した標準溶液の濃度が20μM程度の場合、回収率および測定精度が最も高いことがわかった。つまり、試料水の濃度に応じて2、4、8倍まで自動希釈が可能であることを示している。また、10倍希釈はエラーが大きいことも確認できた。

表 自動希釈の精度と正確性

手動調製標準溶液(μM)	分析結果(μM)	回収率(%)	測定精度(%)	希釈倍率	希釈後の濃度
39.92	38.96	98%	2.3%	2	19.96
39.92	39.74	100%	4.8%	4	9.98
79.43	77.06	97%	3.9%	4	19.86
39.92	42.71	107%	8.9%	8	4.99
79.43	77.82	98%	5.7%	8	9.93
159.95	158.58	99%	1.8%	8	19.99
39.92	35.36	89%	23%	10	3.99
79.43	67.39	85%	43%	10	7.94
159.95	147.83	92%	17%	10	16.00

SILICATE_UNKNOWN				3
FLOWCELL	COV		port #	2
Pump 1 dispense	Pump 1		volume (μL), flow rate (μL/s),	1000,500,1
Pump2 dispense	Pump2		volume (μL), flow rate (μL/s),	1000,500,1
wait	System		time (s)	15
Spec get reference spect	Spec		N/A	N/A
Spec start acquire	Spec		request period (seconds)	0.5
SAMPLE	COV		port #	4
Pump 1 aspirate	Pump 1		volume (μL), flow rate (μL/s),	600,120,0
Pump2 dispense	Pump2		volume (μL), flow rate (μL/s),	450,90,1
REAGENT 1	COV		port #	3
Pump 1 dispense	Pump 1		volume (μL), flow rate (μL/s),	200,20,0
Pump2 aspirate	Pump2		volume (μL), flow rate (μL/s),	600,60,1
REAGENT 2	COV		port #	5
Pump2 dispense	Pump2		volume (μL), flow rate (μL/s),	300,30,0
Pump 1 aspirate	Pump 1		volume (μL), flow rate (μL/s),	600,60,1
FLOWCELL	COV		port #	2
Pump 1 dispense	Pump 1		volume (μL), flow rate (μL/s),	300,50,1
wait	System		time (s)	20
Spec get spectrum	Spec		N/A	N/A
save data to file	Data	sample	N/A	N/A
Pump 1 dispense	Pump 1		volume (μL), flow rate (μL/s),	750,250,1
Pump2 dispense	Pump2		volume (μL), flow rate (μL/s),	1000,250,1
Spec stop acquire	Spec		N/A	N/A
DATA				
set data window	Data		min time (s), max time (s)	68,72,1
subtract baseline	Data		at time (s), data index (optional)	20
calc peak height	Data	PK810	data index (optional), feature	1
add to table and meta	Data		'entry name', entry value	'PK810_PK540', PK810
activate table by num	Data		table number	35
calc value	Data	conc	dilution factor	1
add to table and meta	Data		'entry name', entry value	'conc', conc
save data to file	Data		N/A	N/A

図2 ケイ酸塩分析のプログラミング (赤枠の部分が希釈倍率) Pump1 は吸引全量、Pump 2 の体積を変えることで希釈倍率を調製する。

(3) 既存法との比較

図3 に示す通り、既存法と新法それぞれにおいて得られた結果を比較した結果から、新法で得られた海水試料分析結果が、既存法と一致することが確認できた。

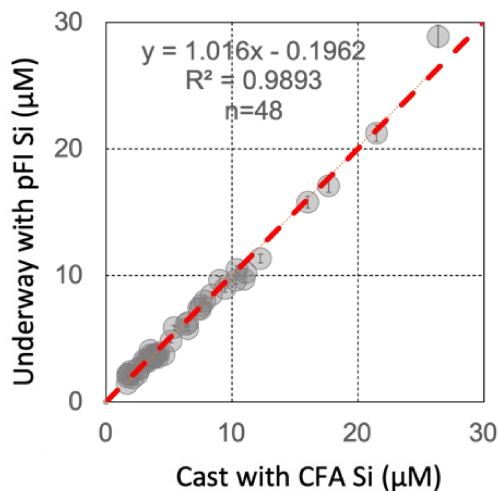


図3 北極航海 (MR21-05C) における既存法 (CFA) と新法 (pFI) によるケイ酸塩濃度の比較

< 引用文献 >

Torres-Valdes et al. (2013) Export of nutrients from the Arctic Ocean, *J. Geophys. Res. Oceans*, 118, 1625–1644, doi:10.1002/jgrc.20063.

Charette et al. (2020) The Transpolar Drift as a Source of Riverine and Shelf Derived Trace Elements to the Central Arctic Ocean. *JGR. Ocean.* 125. e2019JC015920, doi: 10.1029/2019JC015920.

Rijkenberg et al. (2018) Dissolved Fe in the Deep and Upper Arctic Ocean With a Focus on Fe Limitation in the Nansen Basin. *Front. Mar. Sci.* 5:88. doi: 10.3389/fmars.2018.00088.

Hatta et al. (2018) Programmable Flow Injection. Principle, methodology and application for trace analysis of iron in a sea water matrix. *Talanta* 178. 698-703. 2018. doi: 10.1016/j.talanta.2017.10.007.

Hatta et al. (2019) Determination of traces of phosphate in sea water is automated by programmable flow injection, and optimized by means of novel information on kinetics of formation and spectra of phosphomolybdenum blue. *Talanta*. 191. 333-341. doi: 10.1016/j.talanta.2018.08.045.

Hatta et al. (2020) The performance of a new linear light path flow cell is compared with a liquid core waveguide and the linear cell is used for spectrophotometric determination of nitrite in sea water at nanomolar concentrations. *Talanta*. Volume 219, 121240. doi: 10.1016/j.talanta.2020.121240.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hatta M., Ruzicka J., Measures C., Davis M.	4. 巻 253
2. 論文標題 Automated calibration by a single standard solution prepared in deionized water by flow programming eliminates the schlieren and salinity effects and is applied to the determination of phosphate in sea water of different salinities	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Talanta	6. 最初と最後の頁 124041 ~ 124041
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.talanta.2022.124041	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Mariko Hatta, Jaromir Ruzicka, Christopher I. Measures
2. 発表標題 Programmable flow injection with a long light path flow cell enhances sensitivity for spectrophotometric determination.
3. 学会等名 Pachifichem 2021（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------