

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25550004

研究課題名(和文) 海水中の脱窒・窒素固定量の高精度同時見積り法の開発に関する研究

研究課題名(英文) Simultaneous estimation method of denitrification and nitrogen fixation in sea water

研究代表者

渡辺 豊 (WATANABE, Yutaka)

北海道大学・地球環境科学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：90333640

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：海水中の窒素とアルゴンの高精度化と同時測定化を図り、一気に海水中の脱窒・窒素過程量を求められる簡便で迅速な方法の開発を本研究の目的とした。このため、既存の分析法の改良を行うとともに、海水中の脱窒・窒素過程量の見積り法を開発した。この方法を用いた結果、オホーツク海においては、窒素固定はほとんど検出されなかったが、7micromole/kg/yearを越える著しい脱窒速度が沿岸部に存在し、これが北太平洋へ流れ出ていく空間分布を明瞭に描きだすことができ、北太平洋への影響を示唆できた。

研究成果の概要(英文)：The aims of this study were to develop the high precise and simultaneous method for dissolved nitrogen and argon in the ocean, and to evaluate the oceanic amount of denitrification and nitrogen fixation by using the new approach. Using the above approaches, we found that the generation rate of denitrification in the Sea of Okhotsk was over 7 micromole/kg/year despite no nitrogen fixation, and it significantly contributed to the oceanic nitrogen cycle in the North Pacific.

研究分野：化学海洋学

キーワード：海洋窒素循環

1. 研究開始当初の背景

海洋中の硝酸塩類（以後、簡易的に硝酸と呼ぶ）は全球規模で海洋の生物活動を制御する必須の栄養物質である。しかし、海洋表層のほとんどの海域では、その濃度は枯渇気味のため、海洋生物活動の律速段階となっている。この海洋の窒素収支を支配しているのは脱窒と窒素固定である。脱窒過程は海水の硝酸を窒素ガス(N<sub>2</sub>)として海洋から除去し、一方、窒素固定は大气からN<sub>2</sub>を取り込み、リン酸に対して過剰量の硝酸を増やすことで、海洋の窒素収支を制御している(図1)。しかし、この2つの過程で駆動されている海洋の窒素収支が平衡状態にあるのかどうか、未だ議論が続いている海洋物質循環システム解明の上での最大の謎である(Deutsch and Weber, 2012) (図2)。

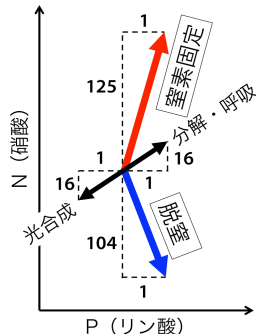


図1：窒素固定と脱窒のN/P比への影響

現在進んでいる地球温暖化によって海洋物質循環は変化しつつある(例えば、Watanabe et al., 2008)。この変化によりさらに海洋表層の硝酸は枯渇し、海洋の窒素収支はそのバランスが不明な現在の状態から、少なくとも非平衡状態へと移行し、海洋生物活動がさらに劇変する可能性がある。このように、現在の海洋の窒素収支の解明は海洋物質循環システムの将来予測をする上でも最大の鍵となる研究課題であることは間違いない(Deutsch and Weber, 2012)。

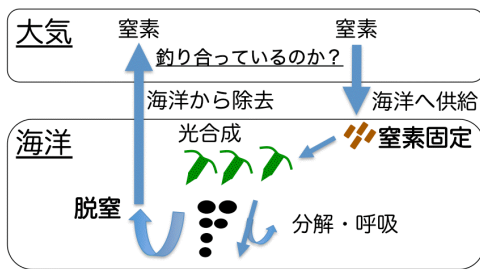


図2：大気海洋間の窒素循環の

海洋の窒素収支を制御しているのは脱窒過程と窒素固定過程である。脱窒見積り法と窒素固定見積り法の代表例としては、硝酸/リン酸の全海洋平均値 16 と観測値のずれによる窒素枯渇量から脱窒を求める方法([N]<sub>def</sub>法)(例えば、Gruber and Sarmiento, 1997)と、培養による方法(例えば、Devol et al., 2006)がある。しかし、脱窒と窒素固定の見積りはこれまで独立なさまざまな方法によって行われ、様々な異なる方法で求められた異なる時空間規模のデータに基づいて、海洋の窒素収支の議論がなされてきたのが現状である。このため、海洋中の脱窒・窒素固定

の高精度な同時見積り法の確立とそれに基づく同時空間規模のデータでの議論が切望されているが、それには未だ至っていなかった。

2. 研究の目的

海洋の窒素収支は、海水からの除去源である脱窒過程と、海水への供給源である窒素固定過程によって制御されている。しかし、この2つの過程の見積り方法の不確かさは大きく、海洋の窒素収支がバランスしているのかどうかは未だ議論されている海洋物質循環研究上の最重要課題である。この解明は、海洋炭素循環の解明とともに、海洋生物活動の将来予測をするうえで必須であり、課題(1)：「脱窒と窒素固定の見積りを高精度に決められること」と、課題(2)：「脱窒と窒素固定を同時に同じ時空間規模で見積もれること」をともに満たす方法の実現が切望されている。そこで、本研究では、海水中の窒素ガスの過剰量[N]<sub>ex</sub>と、硝酸塩類濃度(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)の海洋平均値からのずれ[N]<sub>def</sub>を用いて、一気に海水中の脱窒・窒素固定量を求められる簡便でかつ迅速・高精度な方法の具体的実現を提案し、海洋の窒素収支の解明に向けての先駆的研究を目指す。

その基礎となる原理は以下の通りである。

近年、申請者は脱窒過程により海水中のN<sub>2</sub>濃度が飽和値に対して過剰になることに着目し、海水中のN<sub>2</sub>の過剰値から脱窒量を見積もることができる高精度な方法を開発した(Ito, Watanabe et al., 投稿中)。その概略は以下のとおりである。脱窒の最終生成物N<sub>2</sub>は海洋では他の供給源も除去源も持たないため、海水のアルゴンガス(Ar)に対するN<sub>2</sub>の過剰量([N]<sub>ex</sub>)とし以下のように表現できる。

$$[N]_{ex} = [(N_2/Ar)_{sample} - (N_2/Ar)_{bkg}] \cdot [N_2]_{(t, s)}, \text{ 式(1)}$$

ここで、(N<sub>2</sub>/Ar)<sub>sample</sub>は脱窒海域における海水試料水中のN<sub>2</sub>/Ar比、(N<sub>2</sub>/Ar)<sub>bkg</sub>は脱窒海域系外の海水のN<sub>2</sub>/Ar比、[N<sub>2</sub>]<sub>(t, s)</sub>は水温と塩分データから見積もられるN<sub>2</sub>の大气飽和量である。

一方、これまでに一般に用いられてきた脱窒見積り法([N]<sub>def</sub>)は以下のような式で表現できる。

$$[N]_{def} = (RN/P) \cdot [P]_{sample} - [NO_3^- + NO_2^- + NH_4^+]_{sample}, \text{ 式(2)}$$

ここで、RN/Pは全海洋平均の硝酸/リン酸の比、[P]<sub>sample</sub>と[NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + NH<sub>4</sub><sup>+</sup>]<sub>sample</sub>はそれぞれ海水試料中のリン酸濃度と全硝酸濃度である。

本申請前の予備的実験で、上記の式(1)と(2)を用いた脱窒量見積りの比較を行ったところ、常に、[N]<sub>ex</sub> ≥ [N]<sub>def</sub>となった。この理由として、[N]<sub>ex</sub>が脱窒によって生成した

$N_2$ のみを見積もっているのに対して、 $[N]_{def}$ が窒素固定量( $[N]_{fix}$ )もその見積りに含んでいることが示唆された。すなわち、海水中の $N_2$ 、Ar、硝酸、リン酸を同時に採取・測定し、式(1)と(2)に適用すること ( $[N]_{ex} - [N]_{def}$ 法)で、同じ時空間規模での海水中の脱窒と窒素固定の同時見積りが可能となることを意味する。

本研究は、この方法の確度の確認と併せて、迅速な測定法を確立することで、上記の課題(1)と(2)をともに満たす斬新な測定法の実現のための研究計画である。本申請が実現できれば、「海洋の窒素収支は果たして平衡状態にあるのかどうか」、それを明らかにする第一歩となる具体的かつ先駆的な提案となり、海洋の窒素循環研究ならびに海洋生物活動の将来予測研究に対してブレークスルーとなり得る。本研究期間内では、式(1)と(2)を用いた海水中の脱窒量・窒素固定量の迅速な同時見積り法を確立し、海盆規模への適用の妥当性の評価を行うことを目指す。

### 3. 研究の方法

本計画の目標を達成するために、次の3つの研究項目を実施した。

#### 研究項目(1) : $[N]_{ex}$ 法の高速処理の開発

①海水の窒素・アルゴン試料を用いて $[N]_{ex}$ を見積もるためには、理論上、窒素・アルゴンともに繰り返し精度0.05%以下の高精度で測定する必要がある。また、(ii)海洋の窒素循環収支を解明するためには、脱窒・窒素固定を海盆規模で広域的に観測するため、多量の窒素・アルゴン試料を迅速に測定する必要がある。

①については、申請者はこれまでに窒素・アルゴンの高精度測定の開発と測定で、60mlの少量試料で繰り返し精度0.05%以下の高精度測定に成功している (Tanaka and Watanabe, 2007)。しかし、②については、原理的には1試料につき10分程度で分析が終了するはずだが、現実には手動操作が煩雑なため、およそ30分程度かかってしまい、時空間分布を把握するための多量な試料に対する抽出・濃縮処理までには至っていない。そこで、これまでに開発した分析法をベースにその分析時間の短縮を図り、1試料辺り10分以内での処理が可能で繰り返し精度0.05%以下の窒素・アルゴンの高精度測定法の機器開発を実施した。

具体的には、1系統の抽出・濃縮系の手動操作で測定していたが、この条件では10分以内の測定時間を達成するのは難しい。そこで、この処理系の試料抽出・濃縮の自動化、特に、律速段階となる窒素・アルゴン冷却濃縮操作に自動化を組み込むことで時間を半減でき、また、2試料を並行して測定するプログラムの導入により、1試料10分以内での繰り返し精度0.05%以下の高精度測定法の確立を目指した。窒素・アルゴン抽出・濃縮系

は現在2つ保有しているため、液体窒素液面検出器とコントローラーの組み込みを行うことで、窒素・アルゴン冷却濃縮操作の自動化を進め、H25年9月末までに窒素・アルゴン高速抽出・濃縮処理の開発を終了した。

#### 研究項目(2) : $[N]_{ex} - [N]_{def}$ 法による脱窒・窒素固定量の基本原理の評価

海水中の脱窒・窒素固定量の測定は、 $N_{def}$ 法による脱窒見積り法以外は、煩雑であり多量のデータを測定することは困難なため、このことが海洋の窒素収支の見積りの不確かさを招く要因となってきた。しかし、これらの方法もデータ数を少量に限定すれば、微細な時空間スケール内での脱窒・窒素固定量の評価が可能ではある。脱窒量の評価には海水中の窒素安定同位体比による方法 (例えば、Yamagishi et al., 2005)、窒素固定量の評価には窒素安定同位体比の添加による培養実験法 (例えば、Devol et al., 2006) がある。

そこで、沿岸の脱窒・窒素固定が行われている可能性のある沿岸域に観測定点を設け、定期的に海水試料を採水し、その同一海水に対して、「 $[N]_{ex} - [N]_{def}$ 法」、「海水窒素安定同位体比法」、「培養法」の3つでそれぞれ海水中の脱窒・窒素固定量を測定・比較することによって、 $[N]_{ex} - [N]_{def}$ 法による脱窒・窒素固定量の妥当性を評価した。

具体的には、研究項目(1)終了後のH25年10月からH26年3月までの期間、札幌近郊の北海道石狩湾小樽沖約1kmに観測定点(水深約50m) (図3)を設けて、毎月1回、鉛直採水(0m, 5m, 10m, 20m, 30m, 40m, 海底直上)で海水試料を採取し、「 $[N]_{ex} - [N]_{def}$ 法」、「海水窒素安定同位体比法」、「培養法」の3つの方法で海水中の脱窒・窒素固定量を測定・比較し、 $[N]_{ex} - [N]_{def}$ 法による脱窒・窒素固定量の同時見積りの基本原理の評価のための現場試験を行った。併せて、水塊に時間軸を持たせることができる化学トレーサー $SF_6$ を同時に測定し、上記で見積もった脱窒・窒素固定量に時間軸を与え、脱窒・窒素固定速度の定量化も行った。この際、沿岸部であるため、H26年1月から3月にかけては冬季鉛直混合による海底からの脱窒過程の影響が大きくなることを考慮して、2週間のより短い時間間隔で観測を行った。



図3 : 石狩湾小樽沖の観測定点

### 研究項目(3)：現場実証試験：オホーツク海大陸棚での実証試験

H26年夏季(6月～8月)にロシア極東水文気象局所属・耐氷海洋研究観測船・プロフェッサー・クロモフ号(図4)を用いて、オホーツク海大陸棚部で広範囲にわたる多量の海水試料を採取し、研究項目(1)と(2)を基盤に、 $[N]_{ex}-[N]_{def}$ 法を用いた海水中の脱窒・窒素固定量の高精度な同時見積りを行う。併せて、化学トレーサー $SF_6$ を同時に測定し、上記で見積もった脱窒・窒素固定量に時間軸を与え、脱窒・窒素固定速度の定量化を行った。

具体的には、図5に示す現場実証試験予定海域内の広い範囲の観測点30点で、表層0m～海底(水深200m)までの鉛直12層の採水を行い、 $N_2$ 、Ar、硝酸、リン酸を同時測定し、式(1)と(2)に適用すること( $[N]_{ex}-[N]_{def}$ 法)で、同じ時空間規模でのオホーツク海大陸棚部における海水中の脱窒と窒素固定の同時見積りを実施した。



図4：ロシア耐氷海洋研究観測船：プロフェッサー・クロモフ号(1764トン)

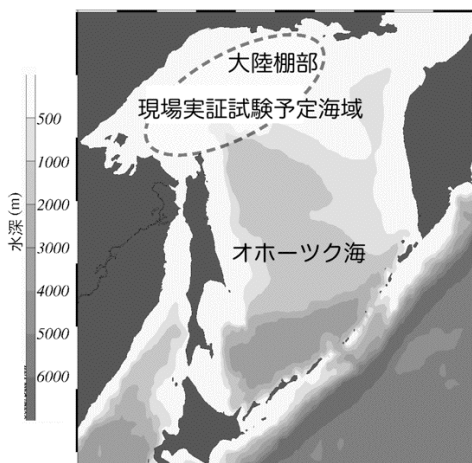


図5：オホーツク海における現場実証試験

## 4. 研究成果

本研究における主な成果としては、

(1) これまでに開発した分析法をベースに海水の窒素・アルゴンの分析時間の短縮を図

り、1試料辺り10分以内での処理が可能で繰り返し精度0.05%以下の窒素・アルゴンの高精度測定法の機器開発を実現したこと、(2) 沿岸の脱窒・窒素固定が行われている可能性のある沿岸域に観測点を設け、定期的に海水試料を採水し、その同一海水に対して、「 $[N]_{ex}-[N]_{def}$ 法」、「海水窒素安定同位体比法」、「培養法」の3つでそれぞれ海水中の脱窒・窒素固定量を測定・比較を実施し、 $[N]_{ex}-[N]_{def}$ 法による脱窒・窒素固定の見積りが妥当性であることを評価したこと、(3) ロシア極東水文気象局所属・耐氷海洋研究観測船・プロフェッサー・マルタノフスキー号(当初予定は、プロフェッサー・クロモフ号)を用いて、現場実証試験として、オホーツク海大陸棚部で広範囲にわたる多量の海水試料を採取し、研究項目(1)と研究項目(2)を基盤に、同海域の脱窒・窒素固定量の高精度な同時見積りを行い、この海域では著しい脱窒速度があることを空間分布として明瞭に描きだすことができ、北太平洋への影響を定量化できたことである。

### 研究項目(1)： $[N]_{ex}$ 法の高速度処理の開発

海水中の窒素・アルゴンの抽出・濃縮系の手動操作で、特に、律速段階となる窒素・アルゴン冷却濃縮操作にPC制御による自動化を組み込んだ。さらに、2試料を並行して測定できるプログラム導入を行った。この結果、当初の目標である10分以内での繰り返し精度0.05%以内の窒素・アルゴン測定を行うことを確立した。

### 研究項目(2)： $[N]_{ex}-[N]_{def}$ 法による脱窒・窒素固定量の基本原理の評価

H25年10月からH26年3月までの期間、札幌近郊の北海道石狩湾小樽沖約1kmに観測点を設けて、ほぼ毎月1回、鉛直採水で海水試料を採取し、「 $[N]_{ex}-[N]_{def}$ 法」、「海水窒素安定同位体比法」、「培養法」の3つの方法で海水中の脱窒・窒素固定量を測定・比較し、 $[N]_{ex}-[N]_{def}$ 法による脱窒・窒素固定量の同時見積りの基本原理の評価のための現場試験を行った。

その結果、期間を通して、水柱内での窒素固定は有意には検出されなかった。一方、脱窒については、10月に最大値として $5 \mu\text{mol/kg/year}$ が最沿岸部で見られ、上記3つの方法で $\pm 2 \mu\text{mol/kg/year}$ の良い一致であり、本研究の $[N]_{ex}-[N]_{def}$ 法の妥当性が明らかとなった。このため、さらに窒素固定の起こる可能性が高く、また、生物生産性が高い海域に、本研究の $[N]_{ex}-[N]_{def}$ 法の適用することで、広域的な脱窒・窒素固定の同時見積りが可能となることが示唆された。

### 研究項目(3)：現場実証試験：オホーツク海大陸棚での実証試験

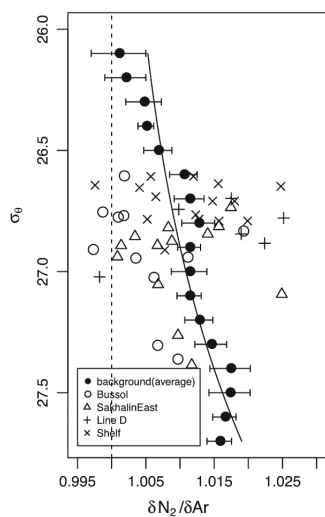


図 6：オホーツク海内の窒素・アルゴン

研究項目(1)に基づき測定した(図6)。さらに、研究項目(2)を基盤に海水中の脱窒・窒素固定量の高精度な同時見積りを行った。この際、海水中の $[N]_{ex}$ に寄与する成分として、同

H26 年夏季(6月～8月)にロシア極東水文気象局所属・耐氷海洋研究観測船・プロフェッサー・マルタノフスキー号を用いて、オホーツク海大陸棚部を中心に海水中の窒素・アルゴン試料を計300層採取し、

海域のような強風帯においては、海洋表面で荒天となるため、脱窒・窒素固定に加えて、大気からの気泡の貫入を考慮した。

その結果、オホーツク海では、 $[N]_{ex} - [N]_{def}$ の値に有意な差はなく、窒素固定量が行われていないことが明らかになった。さらに、 $[N]_{ex}$ が脱窒と気泡貫入に寄って構成されていると仮定することで、オホーツク海内の脱窒と気泡貫入量の断面を世界で初めて描き出すことが出来た(図7)。具体的には、オホーツク海大陸棚部において脱窒が $7 \mu\text{mol}/\text{kg}/\text{year}$ 以上もあり、それが水平的に北太平洋方向へ流れ出ているのが描き出された。これはこの海域が強力な脱窒海域で北太平洋へ大きな影響を与えていることを明らかに示していた。

今後は、さらに解析を進めて、北太平洋高度海域へのオホーツク海の窒素循環の寄与の詳細な定量化を進め、炭素循環と合わせて物質循環像をまとめる予定である。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

1. Watanabe Y. W., Shigemitsu M., Ujiie T., Minami H. (2014): Decadal shift of biogenic sinking particle flux in the western North Pacific subpolar region. *Geophysical Research Letters*, 41, 513-518, DOI: 10.1002/2013GL058142. (査読有)

2. Watanabe Y. W., Yasuda I., Tsurushima N. (2014): Long-term changes of greenhouse gases in the ocean and their feedback effects on the climate. In: *Linkages in Biogeochemical Cycles Between Surface Ocean and Lower Atmosphere*. Eds. M. Uematsu, et al., 123-150, TERAPUB, Tokyo, Japan. doi: 10.5047/w-pass.a02.003. (査読無)

3. Ito M., Watanabe Y.W., Shigemitsu M., Tanaka S. S., Nishioka J. (2014): Application of chemical tracers to estimate denitrification in the Okhotsk Sea. *Journal of Oceanography*, 70, 415-424, DOI: 10.1007/s10872-014-0241-9. 3. (査読有)

4. 渡辺豊 (2013): 分析化学的アプローチによる海洋炭素窒素循環の時空間変動の把握. *分析化学*, 62, 1049-1056. (査読有)

5. Nishioka J., Nakatsuka T., Watanabe Y. W., Kuma K., Ogawa H., Ebuchi N., Scherbinin A., Volkov Y. N., Shiraiwa T., Wakatsuchi M. (2013): Global Biogeochemical Cycles, 27, 1-10, DOI: 10.1002/gbc.20088. (査読有)

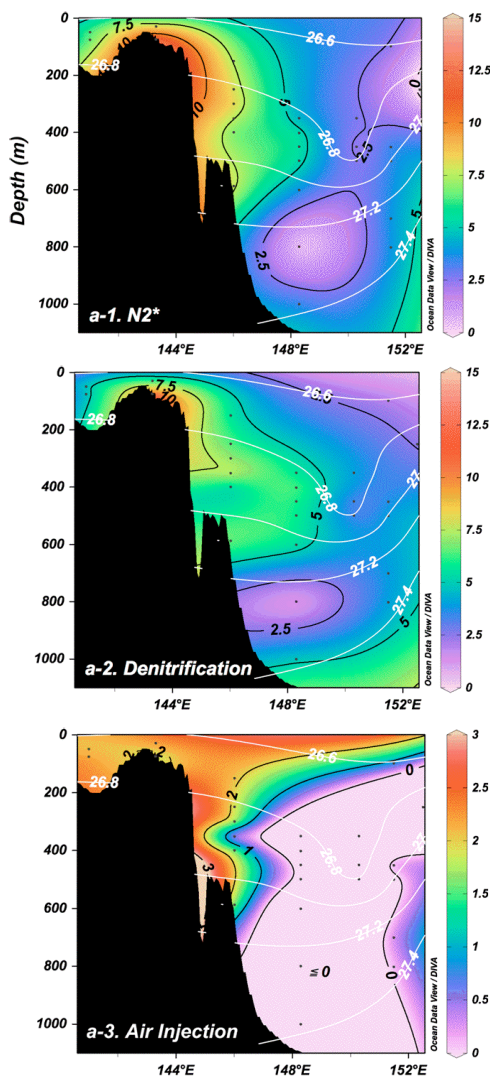


図 7:オホーツク海中の  $N_{ex}$  断面図。上段:  $N_{ex}$ , 中段: 脱窒, 下段: 気泡貫入。単位は  $\mu\text{mol}/\text{kg}/\text{year}$ 。

〔学会発表〕（計 1 件）

1. 渡辺豊、重光雅仁（2015）：オホーツク海における人間活動起源窒素の変動. 日本海洋学会 2015 春季大会. 東京海洋大学、東京、2015.03.25.

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

渡辺 豊 (WATANABE YUTAKA)

北海道大学・大学院地球環境科学研究所・

准教授

研究者番号：90333640

### (2) 研究分担者

なし