

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：32644

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26550007

研究課題名(和文) 硝酸の三酸素安定同位体組成定量法を応用した海洋における新生産定量方法の提案

研究課題名(英文) The oxygen isotope anomaly of nitrate as tracer of atmospheric nitrate in marine nitrogen cycling

研究代表者

小松 大祐 (Komatsu, Daisuke)

東海大学・海洋学部・講師

研究者番号：70422011

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：硝酸の窒素酸素安定同位体比を分析する際、カドミウム表面に銅を施すことで効率的に硝酸を亜硝酸に還元し、分析時間を短縮できた。また、既存設備であるガスクロマトグラフと同位体質量分析計を組み合わせ、連続フロー型質量分析法を応用し、硝酸から変換した亜酸化窒素について窒素酸素安定同位体比の自動定量システムを新たに自大学に構築した。酸素同位体比の決定に必要な標準物質について、日常的に使用する目的で、低い値を持つ酸素同位体標準物質を作成した。国際GEOTRACES計画に基づいてKH-14-6航海で採取された硝酸試料について分析作業を開始した。

研究成果の概要(英文)：The triple oxygen isotopic compositions of oceanic nitrate can be a useful tracer to quantify the mixing ratios of depositional nitrate within total nitrate in a water mass, because atmospheric nitrate shows large ^{17}O anomaly due to the contribution of atmospheric ozone having large anomaly, whereas re-mineralized nitrate produced biologically shows little ^{17}O anomaly. Determination on the triple oxygen isotopic compositions of nitrate allows us to estimate the mixing ratios of depositional nitrate within total nitrate. To determine oxygen isotopic compositions of nitrate, nitrate must be reduced to nitrous oxide following to nitrite. Using Cu-coated Cd for reduction to nitrite allow us to save analytical time. We developed new automated analytical system for oxygen isotopic compositions of nitrate at Tokai university. We started to analyze stable isotopic compositions of oceanic nitrate during KH-14-6 of GEOTRACES cruise.

研究分野：生物地球化学

キーワード：硝酸 安定同位体 三酸素同位体 化学海洋学

1. 研究開始当初の背景

海洋窒素循環の解明に NO_3^- の起源や挙動を把握することは重要である。硝化・同化・脱窒などの過程で複雑に変化する硝酸の動態解析を濃度だけで行うことは難しい。そこで窒素・酸素安定同位体指標を用いることによりその起源や反応の過程を把握できる可能性がある。海洋一次生産は窒素循環の観点から2つに分けられ、有光層内で再利用される NH_4^+ による再生生産と、有光層外から新しく供給された窒素(主に NO_3^-) による新生産とに区別される。従来法による新生産定量では ^{15}N 同位体をトレーサーとする NO_3^- 添加培養を実施し、有光層内における NO_3^- 同化速度を求める必要がある。この擬似現場培養では複数の深度から得た各試料にトレーサーを添加後、24時間後に NO_3^- から粒子状有機体窒素(PON)に移行した ^{15}N 量から NO_3^- 同化速度を見積もり、そのカラム量を新生産としている。しかしながら、培養法は現場環境に比べて物理化学環境や光環境の相違、ボトルからの汚染など様々な問題が指摘されていると同時に、観測に多くの労力と時間を必要とする。このため従来法では観測頻度が限られ別方法の開発が望まれている。さらに、従来法では培養に伴う問題以外にも2つの問題がある。従来法では溶存態有機体窒素への移行分を加味できておらず、過小評価の可能性がある。海洋における窒素の寿命を考慮すると、24時間の培養で得られる新生産は「瞬間値」であり、値の信頼性を欠く原因となっている。本申請では NO_3^- の $\Delta^{17}\text{O}$ 定量法を高感度化し、海洋の有光層における NO_3^- の $\Delta^{17}\text{O}$ 値を定量することによって、有光層の系外から供給される NO_3^- 量を推定する、培養を必要としない全く新しい方法を提案する。

2. 研究の目的

本申請は海洋の有光層における硝酸(NO_3^-)の三酸素安定同位体組成($\Delta^{17}\text{O}$ 値)を定量することによって、海洋の有光層内の NO_3^- に対する大気由来 NO_3^- の割合を定量し、系外から有光層に供給される NO_3^- 量を推定する、新しい新生産定量法を提案・実証する。広範囲の海域において本方法を適用し、従来法では不可能だった時空間的に高分解能な新生産の定量を目指す。

3. 研究の方法

(1) 分析工程の改良

従来の硝酸の同位体分析法では、塩化カドミウムを亜鉛棒状に析出させたスポンジ状の純カドミウムによって硝酸を亜硝酸に還元した後、アジ化水素によって亜酸化窒素(N_2O)に変換し、同位体分析を行っていた。しかし硝酸還元反応に12-24時間の時間を要することや亜硝酸ブランクが問題となっていた。そこでカドミウムの他に共存する金属イオンやpHを調整し、ブランクの低減と反応時間の短縮に取り組んだ。さらに亜硝酸を

N_2O に変換する際のpHに着目し、その収率、酸素同位体の交換率を調べ、最適なpH条件設定に取り組んだ。

(2) 設備の整備

所属変更に伴い、現所属機関において新たに硝酸の安定同位体比分析システムの構築を行った。自大学の既存設備を組み合わせ、連続フロー型質量分析法を応用した N_2O の安定同位体の自動定量システムの構築を目指した。

(3) 試料採取

国際 GEOTRACES 計画で行われた白鳳丸航海(KH-14-6)によって広範囲の南太平洋の海水試料を得るとともに、自大学の実習航海などを利用し、北太平洋亜熱帯海域における試料を採取することができた。また、2017年6月には同様に KH-17-3 次航海における北太平洋亜寒帯域における海水試料を得る予定である。

4. 研究成果

(1) 分析工程の改良

硝酸から亜硝酸への還元時の改良を試み、硝酸還元粒状カドミウムに銅コーティングを施すとともに、pHを細かく調整することによって、ブランクの低減と最大1/8程度に反応時間の短縮を達成できた。pH調整にはイミダゾール溶液と塩酸を用い、海水試料、淡水試料を問わず、試料のpHを一定にすることができた。従来法よりも反応時間を短縮し、還元率を高めることは確かめられたが、毎回同じ反応時間というわけではなく、同様の銅コーティング作業を行ってもカドミウム表面の状態によって反応時間が左右されることも分かった。カドミウム還元によって生じる亜硝酸の時間変化をナフチルエチレンジアミン法により比色定量し、実験ごとの反応進行程度を確認する必要があった。

亜硝酸から N_2O への還元時についてもpHを見直し、4.7から4.9であれば酸素交換率を90%以上に保持できることが分かった。

(2) 設備の整備

自大学で硝酸の同位体分析を可能にするため、設備の整備を進めた。既存設備であるガスクロマトグラフと同位体質量分析計(Isoprime 100)を組み合わせ、連続フロー型質量分析法を応用し N_2O の安定同位体の自動定量システムを構築した。システムは N_2O を濃縮するための真空ライン、ヘリウムキャリア中で液体窒素を用いて N_2O を濃縮するトラップ部、試料中に共存する同重体である CO_2 と完全分離を行うキャピラリーカラム、高真空の質量分析計との接続を可能にするオープンスプリット部分からなる。構築したシステムについて感度、精度、測定時間について最適な条件を整えた結果、窒素・酸素安定同位体比について従来法と同等の感

度、精度を得られることが分かった(図1)。6 nmol以上のN₂Oを導入した場合、 $\delta^{15}\text{N}$ を0.1‰、 $\delta^{18}\text{O}$ を0.2‰の精度で定量可能になった。しかし三酸素同位体に関しては、従来のFinnigan社MAT252に比べ、Isoprime社Isoprime100は測定精度が劣る結果となった。純酸素を使った繰り返しの $\Delta^{17}\text{O}$ 測定精度を比べると、前者は0.1‰を切るのに対し、後者は0.2‰程度にとどまった。これは電気信号を増幅する高抵抗の違いを反映していると考えられるが、現状では突き詰められていない。

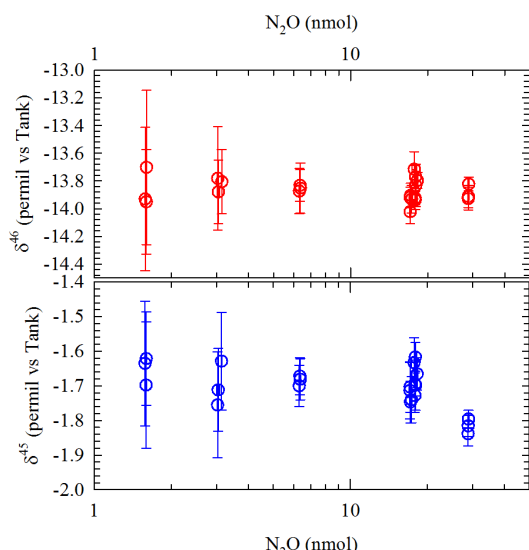


図1. N₂Oの導入量と δ^{45} ($\delta^{15}\text{N}$ 相当)、 δ^{46} ($\delta^{18}\text{O}$ 相当)の測定精度

(3) 標準試料の作成

硝酸の窒素酸素同位体比の決定に必要な標準物質はUSGS32、USGS34、USGS35、IAEA-N3の4種類が市販されている。しかしいずれも高価で購入できる量は5年間で0.5g程度に限られる。そこで市販の純試薬とは異なる安定同位体比の硝酸塩物質を得る目的で、南極氷の低い酸素同位体比を持つ水と酸素同位体交換させ、日常的に使用可能な量の標準物質を作成した。

(4) 試料採取・分析

定量法を海水、陸水試料に応用し、硝酸の安定同位体比の定量を行った。また国際GEOTRACES計画に基づいてKH-14-6航海で採取された南太平洋の硝酸試料について分析作業を開始した。

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2件)

Tsunogai, U., T. Miyauchi, T. Ohyama, D.D. Komatsu, F. Nakagawa, Y. Obata, K. Sato, and T. Ohizumi (2016) Accurate and precise

quantification of atmospheric nitrate in streams draining land of various uses by using triple oxygen isotopes as tracers. *Biogeosciences*, 13, 3441-3459.

Tsunogai, U., Komatsu, D. D., Ohyama, T., Suzuki, A., Nakagawa, F., Noguchi, I., Takagi, K., Nomura, M., Fukuzawa, K., and Shibata, H. (2014) Quantifying the effects of clear-cutting and strip-cutting on nitrate dynamics in a forested watershed using triple oxygen isotopes as tracers. *Biogeosciences*, 11, 5411-5424.

[学会発表](計8件)

小松大祐, 成田尚史 (2017) 窒素・酸素同位体比を用いた硝酸の動態把握, 海洋地球化学フォーラム, 高知大学, 2017年3月27-28日.

角皆潤, 宮内貴規, 大山拓也, 小松大祐, 中川書子, 小幡祐介 (2016) 三酸素同位体比を指標に加えることで河川水中の硝酸の起源とその挙動に関する理解を深める. 1D14, 2016年度日本地球化学会第63回年会, 大阪市立大学杉本キャンパス, 2016年9月14-16日.

Tsunogai, U., Miyauchi, T., Ohyama, T., Komatsu, D.D., Obata, Y., and Nakagawa, F. (2016) Quantifying Nitrate Dynamics in Lakes Using Triple Oxygen Isotopes as Tracers. 19b/11:15/Th, 2016 Goldschmidt Conference, 26 June - 01 July 2016, Yokohama, Japan.

大山拓也, 角皆潤, 小松大祐, 中川書子, 野口泉, 山口高志 (2015) 乾性沈着する硝酸と湿性沈着する硝酸の三酸素同位体組成を比較する. K-3-4, 第21回大気化学討論会, 東京工業大学大岡山キャンパス, 2015年10月19-21日.

中川書子, 小幡祐介, 角皆潤, 小松大祐, 田中敦, 梅田信 (2015) 自然同位体トレーサーを用いた新生産・再生生産速度の定量: 人工同位体トレーサー添加培養法との比較. 3P13, 2015年度日本地球化学会第62回年会, 横浜国立大学, 2015年9月16-18日.

中川書子, 角皆潤, 小松大祐, 大山拓也, 宮内貴規, 佐久間博基, 南翔, 蓼沼雪衣, 梅田信, 田中敦 (2015) 三酸素同位体組成を用いた湖沼における新生産量および再生生産量の定量. MIS26-P01, 日本地球惑星科学連合2015年大会, 幕張メッセ国際会議場, 2015年5月24-28日.

中川書子, 大山拓也, 角皆潤, 小松大祐, 梅田信 (2014) 富栄養化湖沼における窒素循環速度の定量: 硝酸の天然同位体トレーサーを用いた解析. 1P36, 2014年度日本地球化学会第61回年会, 富山大学, 2014年9月16-18日.

宮内貴規, 大山拓也, 角皆潤, 中川

書子, 小松 大祐 (2014) 硝酸の三酸素同位体組成を指標に用いた中栄養湖沼における窒素循環解析, 1B07, 2014 年度日本地球化学会第 61 回年会, 富山大学, 2014 年 9 月 16-18 日.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小松 大祐 (KOMATSU DASISUKE)

東海大学・海洋学部・講師

研究者番号: 70422011