

— 総 説 —

海水標準物質の現状と将来展望 — 栄養塩CRMをはじめとして —*

村田 昌彦^{1**}・青山 道夫^{1,2}・チョン 千香子³・三浦 勉³・藤井 武史⁴・光田 均⁴・
北尾 隆⁴・笹野 大輔⁵・中野 俊也⁶・永井 直樹⁵・児玉 武稔⁷・葛西 広海⁸・
清本 容子⁹・瀬藤 聡⁷・小埜 恒夫⁷・横川 真一郎¹⁰・有井 康博¹⁰・曾根 知実¹⁰・
石川 賀子¹⁰・芳村 毅¹¹・内田 裕¹・田中 辰弥¹⁰・粥川 洋平³・脇田 昌英¹²

要 旨

海洋の長期変動を捉えるためには、海水標準物質が不可欠である。例えば、栄養塩は19世紀末の海洋学の黎明期の頃から世界各海域で測定が行われており、海洋の環境変動を捉えるのにも十分なデータ量の蓄積がある。しかし、栄養塩データに基づいた長期変動の解析は皆無に近い。これは、データの比較可能性を保証する標準物質が無かったことに起因している。現在、日本発で日本初でもある海水標準物質である栄養塩認証標準物質 (Certified Reference Material, CRM) が世界の海洋コミュニティに普及しつつあり、実測値による長期変動の検出が可能となる段階にまできている。本総説では、栄養塩 CRM を中心にその開発に係わる科学的背景と現状、実際の使用例などを述べるとともに、海水標準物質の先行例である炭酸系 CRM、さらに他の溶存物質の海水標準物質について紹介し、今後の課題についても言及する。

キーワード：海水標準物質，栄養塩 CRM，比較可能性，追跡可能性，海洋環境変動

* 2019年9月24日受領 2020年8月3日受理

著作権：日本海洋学会，2020年

- 1 海洋研究開発機構 海洋観測研究センター 〒237-0061 神奈川県横須賀市夏島町2-15
- 2 筑波大学 アイソトープ環境動態研究センター 〒305-8577 茨城県つくば市天王台1-1-1
- 3 産業技術総合研究所 計量標準総合センター 〒305-8563 茨城県つくば市梅園1-1-1
- 4 株式会社環境総合テクノス (現：株式会社 KANSO テクノス) 計測分析所 〒576-0061 大阪府交野市東倉治3-1-1
- 5 気象庁地球環境・海洋部 〒100-8122 東京都千代田区大手町1-3-4
- 6 長崎地方気象台 〒850-0931 長崎県長崎市南山手町11-51
- 7 水産研究・教育機構 水産資源研究所 〒236-8648 神奈川県横浜市金沢区福浦2-12-4
- 8 水産研究・教育機構 水産資源研究所釧路拠点 〒085-0802 北海道釧路市桂恋116
- 9 水産研究・教育機構 水産技術研究所 〒851-2213 長崎県長崎市多以良町1551-8
- 10 株式会社マリン・ワーク・ジャパン 〒237-0063 神奈川県横須賀市追浜東町三丁目54番1号
- 11 北海道大学大学院水産科学研究院 〒060-0810 北海道札幌市北区北10条西5丁目 環境科学院
- 12 海洋研究開発機構むつ研究所 〒035-0022 青森県むつ市大字関根字北関根690番地

** 連絡著者：村田昌彦

e-mail : murataa@jamstec.go.jp

1. はじめに

海洋中の栄養塩は、海洋生物の活動に不可欠であるばかりでなく、海洋循環の指標としても有用であるため、科学的海洋観測の初期のころから幅広く測定が行われてきている。しかし、その測定値は分析者による違いが大きく、測定の長い歴史があるにも拘らず、海洋環境の中長期変動の検出や理解のために栄養塩データを用いることは困難であり、あるいは難しく、ほとんど行われてこなかった。現在のところ、IPCC第4次評価報告書 (<http://www.data.jma.go.jp/cpdinfo/ipcc/ar4/index.html>) にも記載があるように、この問題の解決には栄養塩の標準物質が必要であるとの認識に至っている。

日本の海洋学コミュニティでは、過去25年に亘り、本総説の著者の一人である青山の個別研究に始まり、その後の栄養塩測定国際比較実験の実施や、海洋研究開発機構(以下「JAMSTEC」)の海洋地球研究船「みらい」によるリポートハイドログラフィ航海での栄養塩標準を全測点で使用した測定などを通して、栄養塩標準物質の検討を世界に先駆けて行ってきた。その結果、現在、株式会社環境総合テクノス(現:株式会社KANSOテクノス、以下「KANSO」)が製作している標準物質が栄養塩データの比較可能性(コンパビリティ)を高めるためのものとして最適であることが分っている。この海水標準物質の一つである栄養塩認証標準物質(栄養塩 Certified Reference Material (CRM))を国際的な海洋学コミュニティで広く用いられるようにするために、JAMSTECでは2015年より Scientific Committee on Oceanic Research (SCOR)と共同で、SCOR-JAMSTEC CRMの頒布を開始した (<http://www.jamstec.go.jp/scor>)。この一連の活動と並行して、国家標準に相当するSIトレーサブルな栄養塩分析用の海水組成CRMの開発も行われた。

本総説では、栄養塩CRMの開発と普及の経過を振り返るとともに、栄養塩分析の現場での使用状況を紹介する。また、栄養塩CRMのために処理された海水は、他の溶存成分、例えば全炭酸、溶存酸素、溶存有機物、密度等のCRMにも応用可能と考えられるため、そのいくつかを展望する。最後に、日本発の海水標準物質の供給体制の維持や今後の課題について総括する。個々の記載

は2018年11月9日にJAMSTEC東京事務所で開催された「海水標準物質開発25周年記念シンポジウム」の内容に加筆・修正したものであるが、当日発表された「低濃度栄養塩測定用オートアナライザーの開発」(ビーエック株式会社西村氏による)については、別途報告する予定であるため割愛している。

本総説の構成は以下の通りである。まず第2章で、栄養塩CRMの開発について、その科学的背景と最近の国際共同実験の結果(2.1, 青山執筆)、主として海洋観測の現場で使用されることを目的として開発されたCRMの製造・認証方法とその頒布(2.2, 藤井, 光田, 北尾執筆)と国家標準に相当するSIトレーサブルなCRMの開発(2.3, チョン, 三浦執筆)について述べる。また、栄養塩CRMの国際的な普及を促進するため作製したSCOR-JAMSTEC CRMを紹介する(2.4, 村田執筆)。第3章では、栄養塩CRMの利用状況について、気象庁での各層観測での使用(3.1, 笹野, 中野, 永井, 青山執筆)、水産海洋研究における使用(3.2, 児玉, 葛西, 清本, 瀬藤, 小埜執筆)、JAMSTECのGlobal Ocean Ship-based Hydrographic Investigations Program (GO-SHIP)で行われている観測(3.3, 横川, 有井, 曾根, 石川, 村田, 青山執筆)について記載する。第4章では、将来必要となるCRMとして溶存有機物(4.1, 芳村執筆)、海水標準物質として既に広く使用されている炭酸系CRM(4.2, 村田執筆)を取り上げる。また、One bottleで複数のパラメータが認証されていることを目指す標準海水の開発(4.3, 内田執筆)を紹介する。第5章で今後の課題について総括する。

以下の章では、栄養塩の成分を海洋学で比較的多く用いられている「硝酸塩」、「亜硝酸塩」、「リン酸塩」、「ケイ酸塩」、「アンモニウム塩」の表記に統一している。また、標準物質を表す略語としてRM, RMNS, CRMを使用している。RM(Reference Material, 参照物質)は、個々の研究室や事業所で作製されたものであるが、まだ認証されていないものである。Certified RM(CRM)は、認証済みのRMを示している。RMNSはKANSOで販売されているRMの商品名であり(2.2節)、認証後も使用している。認証後は、KANSO-CRMとRMNSは同じものである。

2. 栄養塩 CRM の開発と現状

2.1. 科学的背景と最近の国際共同実験の結果

2.1.1. 海水中の栄養塩

海水中には窒素、リン、ケイ素といった生物には必須の元素が硝酸塩、リン酸塩、ケイ酸塩のいわゆる栄養塩として存在しており、その空間分布や時間変動が海洋の生産力を決定することから、栄養塩は海洋学の重要なパラメータとして測定されている。また、光合成や呼吸といった生物活動により炭素循環とも C:O:N:P モル比(注:比が一定であると主張しているわけではない)を介して密接に結びついていることから、地球温暖化や海洋酸性化の観点からも重要視されている。

さらに、最近注目されてきている海洋の貧酸素化についても、生物活動を介して密接に関連している。酸素は、栄養塩と同様に海洋中の生命にとって必須の存在であり、地球上の主な栄養塩や炭素の循環と、やはり C:O:N:P モル比を介して結びついている。過去 50 年間に、外洋における全量の 2% に相当する酸素が消失したという見積もりがなされ、外洋の水深 200 m で $70 \mu\text{mol/kg}$ 未満の溶存酸素極小域が広がっているとの報告もある (<https://www.ocean-oxygen.org/de/declaration>)。しかし、残念ながらこれらの海域での栄養塩の変動はどうなっているのか、また、酸素量の変動との関係はどうなっているのかという点について、十分に吟味された報告はまだなされていない。

栄養塩の分布は、海洋学においてトレーサーとしても重要な役割を果たしてきた。例えば海洋大循環の研究において、初期の海洋大循環像は空間的に濃度変動が大きい栄養塩の全球分布を利用して導き出されていた (Broecker, 1991)。また、最近青山が公表した栄養塩標準物質を基準として作られた全球の栄養塩データセット GND13 (http://www.godac.jamstec.go.jp/resource/data_catalog/GND13/GND13.zip) からは、海洋物理学のデータだけからでは得られない、太平洋中層の海洋大循環像を描ける可能性もある。

このように、栄養塩が海洋の環境変動を理解するために不可欠のものであることは議論を要しない。しかしな

がら、18 世紀末の科学的海洋観測の黎明期から測定が行われ、現代においても世界中で測定が行われているにも拘らず、環境標準物質が普及し始めたのはごく最近のことである。本章では、普及し始めた経緯について振り返るとともに、栄養塩測定に係る最近の状況について紹介する。

2.1.2. 科学的背景と歴史

地球環境の変動、特に海洋環境における栄養塩の変動の研究においては、栄養塩 CRM が確立する前は「差を見ること」はできるが「その差がほんとうの変動によるものであるかどうか」を見極めることは、標準物質と国際的な合意による定義とスケールの確立が遅れていたために、困難であった。もちろん、栄養塩のコミュニティは栄養塩分析の比較可能性を確立するための努力を怠っていたわけではなかった。栄養塩のコミュニティは栄養塩データの品質向上と比較可能性の向上を目指して、古くから国際共同実験、国内あるいは 2 国間共同実験などを行ってきた。また、いくつかの国やプロジェクトは比較可能性を確保するために栄養塩標準液を開発し、配布することも行ってきた。また、これらの共同実験と栄養塩標準液の開発は当然ながら密接に結びついていた。例えば、International Council for the Exploration of the Sea (ICES) が行った第 5 回の共同実験のために開発された栄養塩標準液の作製技術は、窒素系はガラス瓶、リン酸塩とケイ酸塩はプラスチック瓶入りの 2 系統かつ栄養塩濃度は 1 レベルである塩分 35 の VKI (Water Quality Institute) 認証標準として受け継がれ、使用されている (<https://www.eurofins.dk/miljoe/vores-ydelservki-certificerede-referencematerialer/information-in-english/certificates-in-english/> 2020 年 6 月 26 日 閲覧)。あるいは、2000 年および 2002 年に行われた米国 National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) とカナダ National Research Council of Canada (NRC) の国際共同実験は、共同実験による認証のために行われている (Clancy and Willie, 2004)。試料は、ケイ酸塩、リン酸塩、亜硝酸塩、および硝酸塩 + 亜硝酸塩の認証標準物質候補であった MOOS-1 であり、この共同実験の結果で認証された。古くは日本をはじめ 11 ヶ国が参加した Cooperative Study of the Kuroshio and Adjacent Regions (国際黒潮共同調査:1965 年～1977 年、

CSK)のために日本の相模中央化学研究所が作製したCSK標準液がある。純水ベースであったり塩化ナトリウム人工海水ベースで項目ごとに別々のボトルに入っているなど、製造について歴史的な制約はあったものの、栄養塩測定における比較可能性の向上に役に立っていたことは事実である。また、第3回ICES国際共同実験(1969-1970)では、主催者は生の海水を共同実験試料として配布することの不安定さに気が付き、日本のCSK標準液を共同実験の試料に採用している。これらの栄養塩標準液は、現在でも一部のラボで使用されていることは、2018年のInternational Ocean Carbon Coordination Project (IOCCP)とJAMSTECによる国際共同実験での各ラボからの報告で、参加ラボ69中6ラボがここに記した3種類の栄養塩標準液を使っていると回答していることから明らかである。

人為起源CO₂の海洋での蓄積量評価では、人為起源CO₂は直接測定できないため、計算で算出している。この計算過程において、酸素量から計算で生物による効果を見積ることが多いが、酸素量は大気海洋間でのガス交換や溶解度の変化等による不確かさが大きいという不利な点があり、栄養塩から生物効果を見積もることができれば、より不確かさの小さい見積もりが可能となる。しかし、過去の栄養塩データの比較可能性は相対的に低く、海洋内部の人為起源CO₂量を見積もるためには、もっと比較可能性を良くする必要があった。IPCCの2007年WG1 Chapter 5 Observations: Oceanic Climate Change and Sea Levelでは、海洋深層の栄養塩変動が研究できないのは比較可能性の欠如によると指摘されている(Bindoff *et al.*, 2007)。

栄養塩測定における比較可能性が良くない状況を根本から解決するために、栄養塩CRMの開発は始まった。1990年代に行われた国際観測プログラムであるWorld Ocean Circulation Experiment (WOCE)の時代にも栄養塩CRMは必要であるとの議論は行われていたが、実態として誰も供給できなかった。日本ではJAMSTECの1993年のWOCE航海において、JAMSTECの実験室で航海前に作製した試作品の栄養塩RMが初めて使われた。その後、栄養塩標準の開発の努力は続けられ、2000年作製のlot Kにおいて硝酸塩とケイ酸塩の均一性が0.4%より良くなり、過去のICESの国際共同実験で配布

された標準物質と同程度に達した。しかしこの時点ではリン酸塩の均一性は1%を超えており、さらに努力が必要であった。その後開発を続け、その結果、2002年のOcean Sciences Meetingで、4年の保存に耐え、均一性も良い天然海水から作製した栄養塩標準液ができたこと、1ロット300本供給可能であること等を報告した。また、我々はこの時点では認証できていなかったが、誰がどのように認証するかとの問題提起を行った(余談であるが天然海水から作った栄養塩標準物質ができたとの発表に対し“I can not believe”と言われたことを覚えている)。問題提起を行った理由は、栄養塩標準溶液は地球環境研究の観点から、最終的にSIトレーサブルであることが必須であると確信していたからである。何故ならば、窒素やリンの測定値と酸素や炭素の測定値との比較を行うためには、双方の測定値がともにSIトレーサブルであることが必須であるからである。また、過去のMOOS-1やVKI栄養塩標準液のように国際共同実験による認証は可能であるが、青山はその道を選ばず、国家レベルの計量標準センター(日本の場合は、(国研)産業技術総合技術研究所計量標準センターNational Metrology Institute of Japan: NMIJ)による認証標準物質として供給することでトレーサビリティ体系を構築するのが理論的に正しく正当な方法であることを確信していた。結果としてNMIJから認証標準として供給されるようになった。これらの栄養塩標準液作製の歴史や認証に関しては後段で詳しく述べられる。

その後、気象庁の複数の観測船に協力を依頼して、作製した栄養塩標準液を2003年と2004年に配布し、時間が経過しラボが異なっても比較可能性が確保されていることを確かめる実験を行い、また開発した栄養塩標準液を使った最初の国際共同実験を2003年に実施した。以降2006年、2008年、2012年、2014/2015年、2017/2018年と実施してきている(Aoyama *et al.*, 2007; 2008; 2010a; 2016; 2018)。

国際的には2009年に政府間海洋学委員会(Intergovernmental Oceanographic Commission: IOC)の下にAJOINT ICES-IOC STUDY GROUP ON NUTRIENT STANDARDS (SGONS)を立ち上げ、国際協力を進める体制を確立した。さらにより発展した協力関係を得るためSCORのWorking Groupを申請し、2015年から活

動し、つい最近一年期間の延長が認められ、2019年まで活動を継続することとなった (<https://scor-int.org/group/147/>)。また、JAMSTECによる「みらい」南半球世界一周航海(2003-2004)において、全測点で栄養塩標準を使い測点間の比較可能性を確保したデータセットを作成した。その後も「みらい」の航海では栄養塩標準を検量線として使用し、測点間および航海間の比較可能性を確保してきた。さらに栄養塩標準を組織だって使用することにより、栄養塩測定濃度に依存する不確かさの見積もりも可能となった(3.3節)。

2.1.3. 最近の国際共同実験結果

栄養塩の測定値(濃度)は、相対標準不確かさで1%以内の比較可能性を持つこと、また国際単位系のモルあるいは質量にトレーサブルであることが求められている。海水中の栄養塩のCRMは10年程前から入手可能になったばかりであり、この1%の目標を達成するためにはCRMの全世界での使用が不可欠である。全海洋規模での海水中栄養塩データの比較可能性の向上を目的として、IOCCPとJAMSTECは2014年と2018年の2回、共催で栄養塩CRMの国際共同実験を実施した(Aoyama *et al.*, 2016; 2018)。2018年の共同実験に参加した69のラボ中28のラボがCRMを使用していると回答しており、この4年間にCRMを使用するラボが急速に増加した。また、CRMを使用したラボから報告された測定結果は、期待通りに比較可能性が向上したものとなっていた。しかし、2014年の共同実験結果も2018年の共同実験結果も、いくつかのラボにおける栄養塩測定時の検量線の非線形性の取扱いが適切でないことも明らかになった。これらの結果は、世界中の海洋において栄養塩濃度の全範囲での比較可能性を保つには、栄養塩濃度の全測定範囲をカバーするCRMのセットを使用する必要があることを意味している。全海洋規模で比較可能性が確保された栄養塩データセットは、全球規模での海洋環境変動の検出を可能にすると期待されている。

2.1.4. 今後の展望

現在、日本発で日本初でもある海水標準物質である栄養塩CRMが世界の海洋コミュニティに普及しつつある。栄養塩CRMに基づいた測定値から海洋環境の長期変動が明らかにされる日も近いと思われる。今日のこの状況は過去25年に亘る日本国内を中心とした開発、国家認

証、国際的な普及活動実施と様々な方々の努力の成果であり、将来に亘って海洋環境のより確かな実態を把握するためには、現在の状況を継続発展させることが肝要である。

地球温暖化、海洋酸性化、海洋の貧酸素化の地球環境問題では「将来予測」が大切であり、そのためには生物を介して起こる生物地球化学による効果と、酸素やCO₂の溶解度や炭酸の電離平衡などの物理あるいは物理化学による効果を区別する必要がある。栄養塩の高精度データがあれば、C:O:N:P比を通して生物地球化学による効果を見積もることが可能となる。このためにも栄養塩CRMに基づいた全海洋規模での栄養塩濃度の高品質データが必要である。

2.2. 製造・認証方法とその頒布の進展

2.2.1. 開発の背景

KANSOは1990年代よりJAMSTECのWOCEをはじめとする外洋の海洋調査に携わってきた。そのなかで、実試料とマトリクスが同じである天然海水を利用した標準物質が、時間、場所、および測定者などが異なるデータを比較可能とするために、必要不可欠であることを認識した。しかしながら、1990年代まで栄養塩測定において海水ベースの標準物質は未整備であり、海洋における栄養塩の観測結果が地球規模の実際の変動を表しているのか、分析精度に起因するものであるのかを見極めることが困難な状態であった。

2.2.2. 栄養塩測定用海水標準物質(KANSO-CRM)の製造方法および認証方法

1993年より栄養塩測定用海水標準物質の開発を始めた。標準物質の要件として均質性と安定性が求められるが、これらの変化が生じる主な要因は、生物活動、蒸発及び吸脱着である。生物活動の停止には、オートクレーブによる高温高圧処理を用いた。高温高圧処理の工程において、栄養塩類濃度に変化が生じたため、高温高圧処理容器を検討した。その結果、内面を研磨したステンレス製容器(Fig. 1)を使用することにより濃度変化を抑えることが可能となった(Ota, *et al.*, 2006)。また、高温高圧処理後の生物・異物混入を防ぐため、容器、使用器具はすべて滅菌し、クリーンルーム内のクリーンベンチ内で海水を頒布用の容器(ポリプロピレン製, 100 mL)に



Fig. 1. Photograph showing a giant autoclave and stainless-steel reaction chamber—seawater is autoclaved twice at 120°C for 2 h.

分注した。さらにその容器をアルミ袋に入れ減圧密封し、水分蒸発を密封以前の10分の1に抑えることにより、均質性と安定性が確保できるようになった。2000年には栄養塩測定用海水標準物質 (Reference Materials for Nutrients in Seawater: RMNS) として製造、供給を開始し、2004年には本格的な製造施設が完成した (Ota *et al.*, 2010)。なお、KANSOでは「RMNS」を商品名として使用している。このようにして開発した標準物質の特徴は、次の通りである。(1) 原料は100%天然海水 (添加物なし)、(2) 1本の容器で海水の栄養塩類すべてを含有、(3) 希釈操作が不要で開封後、直ちに使用可能、(4) 原料海水の混合比により低濃度から高濃度まで製造可能 (Ota, 2003)、(5) 7年間にわたり均質性、安定性が保持、の5点である。これらの特徴は、すでに記した過去に開発されてきたいくつかの栄養塩標準液が満たしていなかった要件をすべて満たしたものとなっている。

2.2.3. KANSO-CRMの認証方法

後述するように、NMIJに対して、日本の栄養塩コミュニティで栄養塩標準を認証し、SIトレーサブルな体系を構築できるように要望していた。その一方で、KANSOが作製した栄養塩標準も明示的にSIトレーサブルであることが望ましく、環境変動や地球温暖化の研究に使うデータの比較可能性と追跡可能性 (トレーサビリティ) を

保持し、かつ不確かさも明示するという国際的な潮流に後押しされて、KANSOも2011年には Accreditation System of National Institute of Technology and Evaluation (ASNITE) 標準物質生産者認定 (International Organization for Standardization (ISO) Guide 34, ISO, 2009) を取得し、国内外にSIトレーサブルなCRMとして供給することとした。現在の追跡可能性については硝酸塩、亜硝酸塩およびリン酸塩は、計量法トレーサビリティ制度 (Japan Calibration Service System: JCSS) 認証を受けた標準液、ケイ酸塩はアメリカ国立標準技術研究所 (National Institute of Standards and Technology: NIST) が供給している標準物質にトレーサブルである Merck 社製の標準液を用いた (注: 2019年から JAMSTEC と KANSO が共同で製造し、NMIJ が値付けた新しいケイ素標準液に変更されている)。

2015年からは認証値の決定方法について JAMSTEC と KANSO による「共同認証システム」を構築した。両機関がそれぞれ独立に30本の試料を2回測定し、測定した結果が拡張不確かさ包含係数 ($k=2$) の範囲内で一致することを条件とした。最新3ロットの両機関の測定結果は包含係数 ($k=1$) の範囲でも一致している (Fig. 2)。測定の標準不確かさは、両機関が実験あるいは文献等により求めて合成して付与している。さらに測定時には妥当性確認のため、NMIJ が供給している認証標準物質および RMNS の既認証済ロットを併行測定し、測定値が認証値の拡張不確かさの範囲に入っていることを確認している (Table 1)。なお、ここで用いられている栄養塩濃度の測定方法は、両機関とも海洋コミュニティで通常用いられている方法 (青山, 2018) に基づいて行われている。これらの認証値決定における一連の方法は ISO Guide 35 (ISO, 2006) に基づいて実施しており、この共同認証システムの構築で、より信頼性が高い認証標準物質の供給ができることとなった。

2.2.4. RMNSの均質性

2000年に製造した lot K においては硝酸塩とケイ酸塩の均質性 (瓶間標準偏差の相対値) が0.4%より良くなったが、リン酸塩については均質性が1%を超えるものであった。2004年以降は高温高圧処理容器の改良によりリン酸塩も含めて均質性が0.4%より向上した。この製造上の改良に加えて、現在では測定精度の向上により0.2%よ

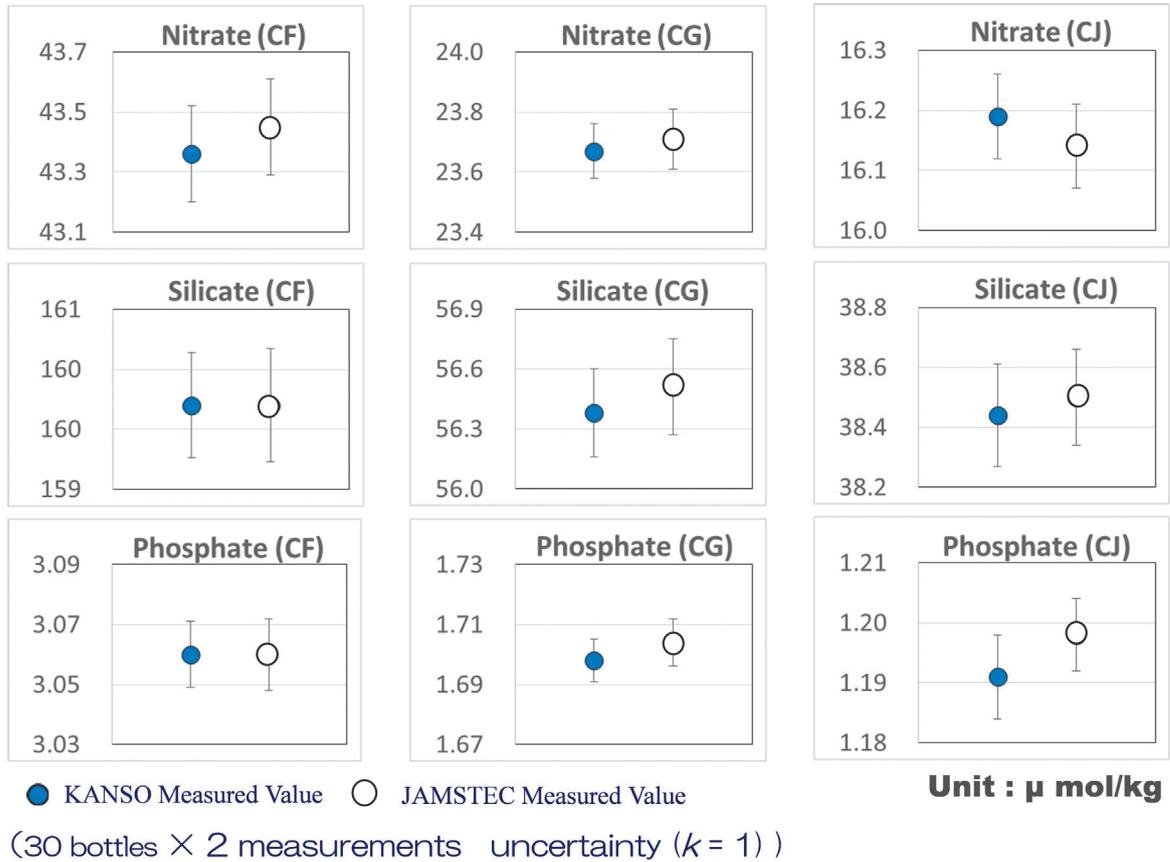


Fig. 2. Comparison of measured concentrations of nitrate, silicate, and phosphate for three lots of CRMs (CF, GG, and CJ) between KANSO and JAMSTEC

り良い結果が得られている (Fig. 3)。

2.2.5. RMNS の供給状況

RMNS の供給本数は国内外とも増加傾向にあり、2017年の供給機関数は国内 37 機関、海外 32 機関 (12 カ国) となった。特に海外については 2012 年に対し、供給機関数が 4 倍、供給本数が 6 倍に増加した。2005 年～2017 年の累計供給本数は 32,103 本に達した (Fig. 4)。

2.2.6. RMNS の今後

開発をはじめてから 25 年、多くの関係者にご協力ご理解を頂き、トライアンドエラーを繰り返しながら製造方法、測定方法、認証方法等を進展させることができた。現在、1 ロットあたりの製造本数は 2,500 本となり、これまで全 60 ロット以上を製造した。今後は、未だ使用していない海外の機関への供給を視野に RMNS の持続可能なグローバル供給体制を堅持し、各国の機関において測

定された海水中栄養塩測定データの全球規模での比較可能性のさらなる向上に貢献したい。

2.3. NMIJ における海水組成 CRM の開発

2.3.1. 概要

全球における海水栄養塩の測定値の比較可能性の確保に向けて、栄養塩 CRM の需要が高まる一方、既存の国際単位系 (SI) にトレーサブルな栄養塩 CRM は、NRC によって開発された MOOS シリーズ (現行は MOOS-3) のみであった。MOOS は北大西洋海水の 1 水準のみで、太平洋等の栄養塩濃度が高い海域には対応していない。広い栄養塩濃度範囲に対応するために、NMIJ によって、高濃度 (太平洋深層)・中濃度 (大西洋中深層)・極低濃度 (亜熱帯表層) の栄養塩を含有する 3 濃度水準の SI トレーサブルな栄養塩 CRM (以下 NMIJ CRM) が開発さ

Table 1. Nitrate concentrations for new three lots of nutrients CRM, lot CF, CG and CJ, measured by KASNO and JAMSTEC together with nitrate concentrations of previous lots of CRM for validation of certification by KANSO and JAMSTEC, respectively. Certified values of previous lots of CRM are also shown (unit: $\mu\text{mol}/\text{kg}$).

laboratory	concentration	previous CRMs lot name							
		BY	7601-a	CD	7602-a	CC	CB	7603-a	BZ
lot CF certification									
KANSO	43.36	0.039	0.038	5.479	15.49	30.91	35.75	44.14	43.38
JAMSTEC	43.45	0.046	0.042	5.494	15.49	30.85	35.84	44.21	43.38
lot CG certification									
KANSO	23.67	0.033	0.035	5.484	15.48	30.90	35.76	44.12	43.31
JAMSTEC	23.71	0.002	-0.004	5.461	15.48	30.88	35.73	44.18	43.41
lot CJ certification									
KANSO	16.19	0.031	0.036	5.494	15.55	31.01	35.93	44.35	43.55
JAMSTEC	16.14	0.045	0.059	5.483	15.48	30.88	35.77	44.20	43.40
certified value and uncertainty ($k=2$) of previous lots of CRMs									
	<i>0.024*</i>	<i>0.021**</i>	5.498	15.30	30.88	35.79	44.50	43.35	
	<i>0.019*</i>		0.050	0.48	0.24	0.27	0.58	0.33	

The values with * are below quantifiable detection limit (QDL), thus these values as not certified and just for reference.

The value with ** is not certified and for information.

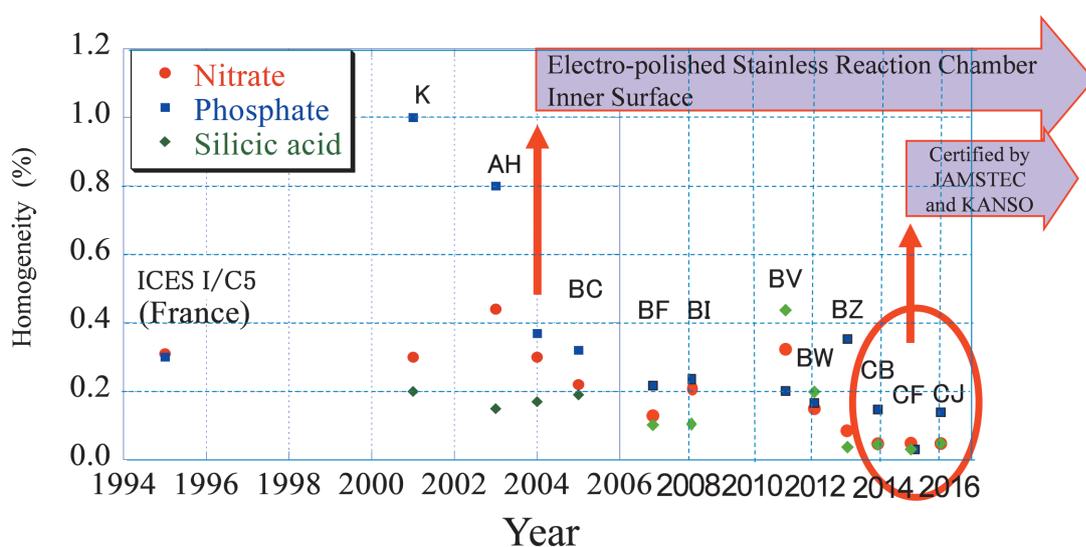


Fig. 3. Temporal changes in homogeneity for nitrate, phosphate, and silicate—ICES/C5 indicates the results of the 5th ICES intercomparison exercise for nutrients in seawater (Aminot and Kirkwood, 1995)—letters K, AH, BC, BF, BI, BV, BW, BZ, CB, CF, and CJ show the lot of RMNS

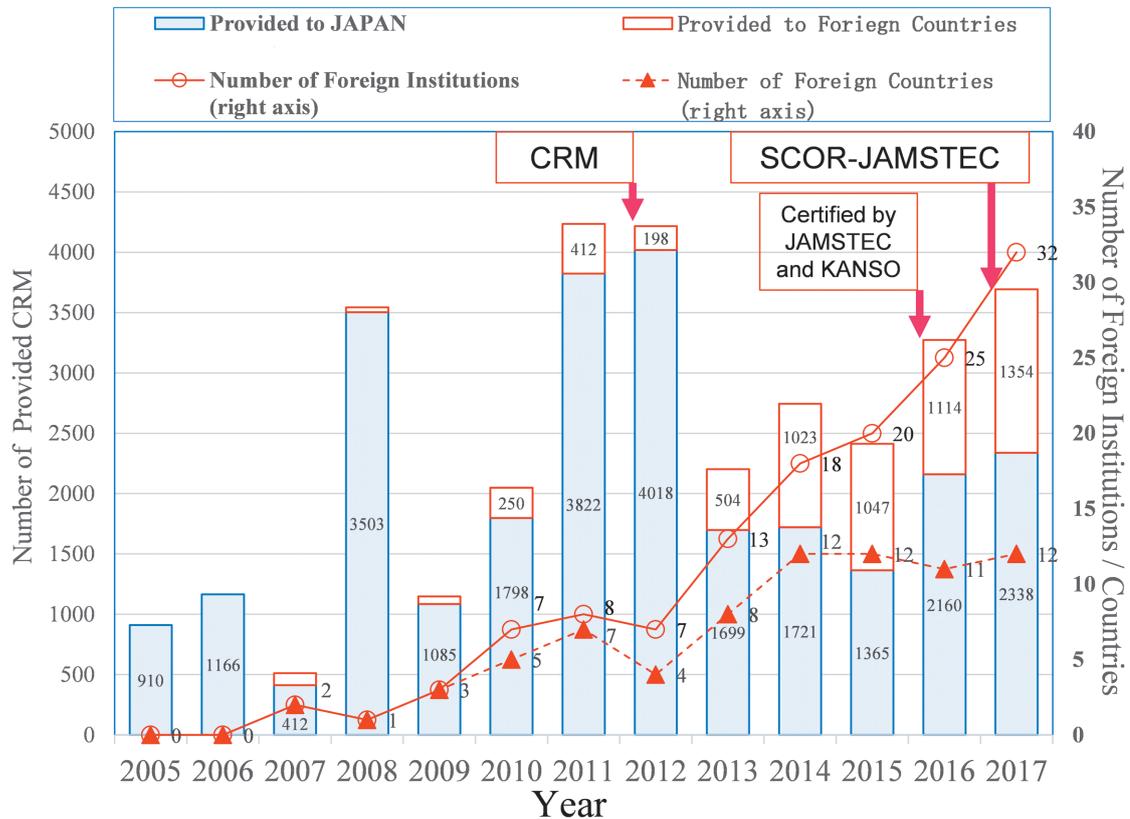


Fig. 4. Temporal changes in the number of bottles of RMNS (bar graph: open bar for foreign countries and meshed bar for within Japan), the number of foreign institutes (open circle), and the number of countries (solid triangle)

れた。本項では、NMIJ CRMの開発に際する、栄養塩4成分(亜硝酸塩、硝酸塩、リン酸塩、ケイ酸塩)の値付けの詳細について述べる。

2.3.2. NMIJ CRMの製造

NMIJ CRMの製造はKANSOにて行った。原料海水はMilliporeメンブレンフィルターでろ過し、オートクレーブで滅菌した後、ポリプロピレン製100 mL細口瓶(KANSO-CRMと同様)に約100 mLずつ小分け瓶詰めし、アルミラミネート袋に密封した。全ての作業はクリーンルーム内で行った。海水CRM3水準の原料海水をTable 2に、小分け瓶の外観をFig. 5に示す。この技術は、2.1.2項で述べた開発の歴史で培われたものである。

2.3.3. 栄養塩の定量

各栄養塩の濃度(質量分率)を認証するためには、一次標準測定法(Richter, 1997)もしくは正確さと精度が

確保された2種類以上の分析法による定量が推奨される。NMIJ CRMの各栄養塩の認証に当たり、栄養塩毎に、異なる分離または検出原理を持つ2つ以上の分析法による定量を行った。用いられた5つの分析法による定量の概要を下に述べる。なお、定量の際には、亜硝酸塩、硝酸塩、リン酸塩についてはNMIJ一次標準液を、ケイ酸塩についてはNIST SRM 3150 Silicon standard solutionを比較用標準液として用いた。ブランクには人工海水(3% NaClおよび1%未満のMgSO₄, NaHCO₃を含む、連続流れ分析法による定量時)または純水(それ以外の方法での定量時)を用いた。イオンクロマトグラフィー(IC)(亜硝酸塩および硝酸塩)、IC-誘導結合プラズマ質量分析法(IC-ICP-MS)(リン酸塩)、原子吸光度法(ケイ酸塩)にて、ブランク中の栄養塩存在量を確認した結果、いずれも検出限界以下(亜硝酸塩、硝酸塩、リン酸塩、ケ

Table 2. The raw seawater materials of NMIJ CRM.

Concentration level of nutrients	NMIJ CRM No.	Source of material
Extremely low	7601-a	Seawater from the surface layer in the Pacific Ocean
Middle	7602-a	Blended seawater of (1) 690 m depth one of the Arctic Sea, (2) 1500 m depth one of the Atlantic Ocean, and (3) 397 m depth one of the Suruga-wan Bay
High	7603-a	Seawater from the nutrient maximum layer (3000 m depth) in the Pacific Ocean

**Fig. 5.** Photograph of NMIJ CRMs—left: NMIJ CRM 7601-a (extremely low), center: NMIJ 7602-a (middle), right: NMIJ 7603-a (high)

イ酸塩の検出限界はそれぞれ $0.2 \mu\text{mol/kg}$, $0.09 \mu\text{mol/kg}$, $0.0004 \mu\text{mol/kg}$, $0.004 \mu\text{mol/kg}$ であった。

(a) 連続流れ分析法 (CFA)

連続流れ分析装置 (AACS-V (BLTEC)) を用いた吸光光度法によって、栄養塩 4 成分の定量を行った。亜硝酸塩の検出には、赤色のアゾ化合物を利用した Griess 反応を用いた。硝酸塩は、筒状の Cd カラムで還元したのち、亜硝酸塩との含量を Griess 反応で求めて、亜硝酸塩分を差し引くことで硝酸塩のみの濃度を算出した (Cheong *et al.*, 2020)。リン酸塩、ケイ酸塩

の検出にはモリブデンブルー法を用いた (Hydes *et al.*, 2010; Cheong *et al.*, 2014)。定量には、人工海水でマトリクスマッチングした標準液 (対象成分濃度 $\pm 5\%$) による二点挟み込み法を用いた。人工海水と試料海水のマトリクスの違いから生じる直線近似式の傾きの僅かな差は、不確かさとして見積もった。

(b) IC

陰イオン交換カラム (IonPac AS23 (Dionex/Thermo Fisher Scientific) または IonPac AS10 (Dionex)) で対象成分を分離したのち、電気伝導度または吸光度による検出を行った。本法に標準添加法を適用し、硝酸塩、亜硝酸塩およびリン酸塩の定量を行った (Hioki *et al.*, 2008)。

(c) 試料前処理カートリッジによる塩化物イオン除去を併用した IC

先に述べた (b) IC 直接注入法に加えて、硝酸塩については、OnGuard II Ag カートリッジ (Dionex) により、塩化物イオン等を除去した試料を注入する方法での定量も行った (Weiss, 2016)。IC 直接注入法とは分離方法が異なるため、ここでは異なる分析法として扱った。

(d) イオン排除クロマトグラフィー (IEC) ポストカラム吸光光度法

ケイ酸塩の定量のために、IEC ポストカラム吸光光度法を用いた (Cheong *et al.*, 2018)。IEC カラム (IonPac ICE-AS1 (Dionex)) でケイ酸塩を分離したのち、ポストカラムにてモリブデンイエロー法を適用して発色させ、吸光光度検出を行った。定量には標準添加法を採用した。

(e) IC- 同位体希釈-ICP-MS (IEC-ID-ICP-MS)

吸光光度検出以外の原理を用いてケイ酸塩を定量するために、IEC-ID-ICP-MS を用いた (Nonose *et al.*, 2014)。IEC カラム (IonPac ICE-AS1) でケイ酸塩を分離した後、高分解能 ICP 質量分析計 (Element2 (Thermo)) にて ^{28}Si と ^{29}Si の計数率を測定した。高分解能 ICP 質量分析計への海水塩の影響を軽減するために、IEC と高分解能 ICP 質量分析計の接続部に切り替えバルブを用い、ケイ酸塩のピーク部分のみを ICP 質量分析計に導入した。定量には、試料中に既知量の ^{29}Si 濃縮同位体を添加し、 ^{28}Si と ^{29}Si の計数率の比を用

いる同位体希釈分析法を採用した。

2.3.4. 均質性および保存安定性

CFA の測定値から均質性および保存安定性を見積もった。瓶間均質性については、ISO Guide 35 (ISO, 2006) に従って CFA の測定値を分散分析し、次の式によって瓶間均質性標準偏差 s_{bb} および瓶間均質性による標準不確かさ u_{bb} を求めた。

$$s_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{among} - MS_{within}}{n}} \quad (1)$$

$$u_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{within}^4}{n}} \sqrt{\frac{2}{vMS_{within}}} \quad (2)$$

ここで、 MS_{among} は瓶間平均平方、 MS_{within} は瓶内 (残差) 平均平方、 n は瓶内繰返し数、 vMS_{within} は瓶内変動の自由度を表す。 s_{bb} および u_{bb} のうち、いずれか大きい方を瓶間均質性に由来する標準不確かさとして採用した。

保存安定性については、ISO Guide 35 (ISO, 2006) に従い、安定性モニタリング開始時からの経過日数と CFA の測定値について勾配分析を行った。いずれの成分・水準においても勾配は有意でなく、安定性モニタリングを実施した 4 年間について、経時変化に伴う濃度の不安定性は見られなかった。保存安定性の標準不確かさは、安定性モニタリングの測定値の最大と最小の幅の半分の矩形分布から見積もった。

2.3.5. 特性値の決定

上述の分析法によって、3 濃度水準・4 栄養塩成分、計 12 項目についての定量値が得られた。複数の方法で定量値が得られた項目は、概ね測定の不確かさの範囲内で一致していた。特性値は、各方法の定量値の算術平均を採用し、一方法のみで定量値が得られた項目についてはその定量値を採用した。一例として、NMIJ CRM 7603-a (高濃度) のケイ酸塩について、各分析法の定量値と最終的な特性値を Fig. 6 に示す。

NMIJ CRM における特性値の定義には、認証値、参考値および参考情報がある。認証値 (certified value) は、一次標準測定法 (Richter, 1997) もしくは正確さと精度が確保された 2 種類以上の分析法で値付けされ、均質性、安定性を含む不確かさが評価された特性値である。参考値 (indicative value) は、値付けに 1 種類の分析法

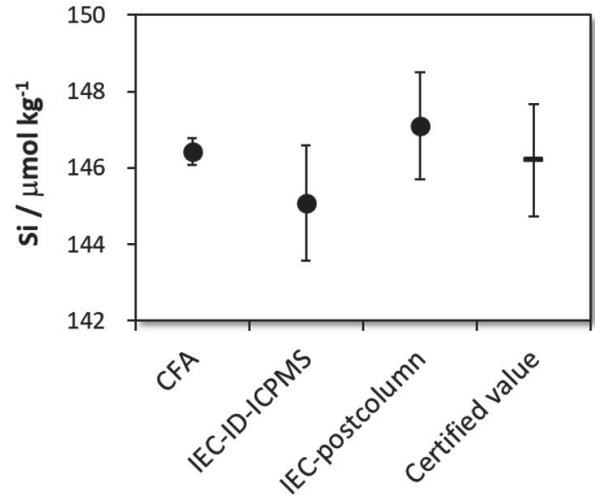


Fig. 6. Analytical results of dissolved silicate concentrations in NMIJ CRM 7603-a—the error bars indicate the extended uncertainty (U) associated with the coverage factor (k) of 2 for the confidence level of approximately 95%

しか採用できなかった等により、認証値の要件を満たしていない特性値である。参考情報 (information) は、1 種類の分析法によるその時点での定量値である。最終的な不確かさが大きく、特性値としての信頼性が十分でないと判断した (本 CRM の場合は不確かさが 20% 超で、かつ空白評価における検出限界よりも CFA 測定値が小さい場合) が、当該 CRM の使用に際し重要な情報となり得る特性値は、参考情報として提供している。12 項目の特性値のうち、複数の方法で定量値が得られた 6 項目は認証値、一方法のみで定量値が得られた 2 項目については参考値と位置付けられた。なお、NMIJ CRM 7601-a (極低濃度) の亜硝酸塩、硝酸塩、リン酸塩、および NMIJ CRM 7603-a (高濃度) の亜硝酸塩の 4 項目は、測定ばらつきや瓶間均質性に由来する不確かさが大きかったため、特性値としての信頼性を考慮して参考情報との位置付けとなった。

特性値に付随する不確かさは、(1) 各方法に由来する標準不確かさ (標準液の標準不確かさを含む)、(2) 方法間の標準不確かさ、(3) 瓶間均質性に由来する標準不確かさ、(4) 長期安定性に由来する標準不確かさの四つを考慮し、各標準不確かさの二乗和の平方根から合成不確

かさを算出した。栄養塩 CRM の全 12 項目の特性値を Table 3 に示す。NMIJ CRM 7603-a (高濃度) では、硝酸塩、ケイ酸塩で 1% 程度の拡張不確かさで認証値が得られた。一方、亜硝酸塩およびリン酸塩については、含有濃度が低いために CFA 以外の分析法での定量が難しく、多くは参考値または参考情報に留まった。NMIJ では、より正確かつ高精度で信頼性の高い栄養塩の定量に向けて、標準液および栄養塩分析法の両面から検討を継続している。一例として、現状 CFA でしか定量ができなかった ppb レベルのリン酸塩の定量に向けて、IC と ICP-MS を連結した分析法の開発を行っており、今後二つの分析法として利用できる可能性がある。

2.3.6. まとめ

NMIJ において実海水を用いた、安定かつ SI トレーサ

Table 3. Characteristic values of NMIJ CRM.

	Extremely low (7601-a) μmol/kg	Middle (7602-a) μmol/kg	High (7603-a) μmol/kg
NO ₂ ⁻	0.035	0.41 ± 0.04 (10 %)	0.026
NO ₃ ⁻	0.021	15.19 ± 0.44 (2.9 %)	44.27 ± 0.48 (1.1 %)
PO ₄ ³⁻	0.021	1.06 ± 0.05 (4.6 %)	3.03 ± 0.05 (1.7 %)
Dissolved Si	1.28 ± 0.14 (12 %)	29.80 ± 0.61 (2.0 %)	146.2 ± 1.5 (1.0 %)

Black figure: Certified values; blue figure: indicative values; red figure: information. The value following ± means an expanded uncertainty (U) with the coverage factor (k) of 2, for the level of confidence of approximately 95 %.

ブルな 3 濃度水準の栄養塩 CRM, NMIJ CRM を開発した。NMIJ CRM は、濃度水準により対応する栄養塩成分は限られるものの、太平洋深層の高栄養塩濃度域から、例えばブランク評価に用いるような、栄養塩濃度がゼロ近傍の表層水までの広い栄養塩濃度範囲に対応した世界初の栄養塩 CRM であり、海洋観測をはじめとした実海水中の栄養塩測定 of 精度管理に有用である。

2.4. SCOR-JAMSTEC CRM

2.4.1. 頒布の契機

日本発の海水標準物質である栄養塩 CRM を国際的に普及させるために、JAMSTEC は SCOR と共同で栄養塩 CRM の頒布を開始した。ロットが異なるだけで同種の栄養塩 CRM は既に KANSO から販売されていたが、今回の頒布は国際的な普及を目指し、より多くの海外の研究機関、特にヨーロッパ諸国での普及を期待して、大西洋水を基にした栄養塩 CRM も作製し頒布を行った。現在、大西洋水をベースにした CRM を含めて 5 ロットで頒布を行っているが (<http://www.jamstec.go.jp/scor/>), SCOR-JAMSTEC での頒布が終了した後も CRM の原料海水の調達には栄養塩 CRM の普及と維持において大きな課題となることから、その活動の内容と解決に向けた計画について紹介する。

2.4.2. 原料海水の取得

SCOR-JAMSTEC による栄養塩 CRM の頒布では、5 ロットの CRM のうち 3 ロットが大西洋水、2 ロットが太平洋水をベースにして作製されている (Table 4)。太平洋水の中濃度のロット (lot CG) については、その濃度の栄養塩をもつ海水が静岡県焼津市の深層水ミュージアムの施設で調達できたため、比較的容易に作製を行うこと

Table 4. List of lots available for SCOR-JAMSTEC CRM

Name	Lot	Resource seawater	Bottling	Certification
Low in Atlantic	CE	NIOZ	29th Oct. 2015	17th Nov. 2016
Middle in Atlantic	CI	PML	27th Dec. 2017	27th Jul. 2018
Middle in Pacific	CG	JAMSTEC/Yaizu	21th Apr. 2016	24th May 2017
High in Pacific	CF	JAMSTEC	15th Dec. 2015	17th Nov. 2016
High in Atlantic	CH	PML	19th Jan. 2018	27th Jul. 2018

ができた。しかし、太平洋水の高濃度のロットの場合 (Lot. CF), その海水は北太平洋北西部の 1,200 m 深付近にしか存在していないため、採水設備を有する船で採取するしかない。今回は JAMSTEC の海洋地球研究船「みらい」を利用し、2015 年 10 月に北緯 45.8 度、東経 166.5 度の水深 1,188 m で約 1,000 L の原料海水を採取し、船上で一時的な殺菌処理を行った。船上で殺菌処理した海水は、KANSO の計測分析所に搬送し、本格的な殺菌処理 (2.2 節参照) を実施するまでに栄養塩の濃度が低下してしまうのを防ぐためのもので、UV 照射もしくは熱処理 (~80°C) を行うものである。Lot. CF の作製には UV 照射を実施した。なお、UV 照射では有機物の分解による影響が懸念されるが、用いられた UV 照射の出力は 100 W 程度で、有機物の分解で通常用いられているもの (1 kW 程度) より弱いものである。また、UV 照射もしくは熱処理の後に高温高压処理 (2.2.2 項) を行っており、海水採取時の船上での測定値と比べて、亜硝酸塩で 0.20 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 程度の増加がある。しかしながら UV 照射と熱処理での違いはなく、有機物の分解の影響は無視し得るものと判断している。

大西洋水をベースにした低濃度のロットの作製では、オランダの王立海洋研究所 (Royal Netherlands Institute

for Sea Research: NIOZ) に採取を依頼し、採取した海水を日本に輸送してもらった。また、大西洋水を基にした中濃度と高濃度のロットはプリマウス海洋研究所 (Plymouth Marine Laboratory: PML) に大西洋の中・深層での海水採取を依頼し、船上での一時的な殺菌を施したのち、日本に輸送してもらった。

2.4.3. 今後の課題

栄養塩は海洋環境変動の指標として使われており、サイエンスとして重要なだけでなく社会にとっても重要な課題を解決するために、測定すべき基本的な項目 (Essential Ocean Variables, EOVs) の一つとして Global Ocean Observing System (GOOS, <https://www.goosocean.org>) によって指定されている。これはより多くの測定機関の参加と継続した測定が求められているものであり、異なった機関の測定であっても時間を隔てた測定であっても、相互に比較ができる測定値になっていなければならない。そのためには、栄養塩 CRM が国際的な海洋コミュニティで普及し、継続的に使用され続けることが不可欠である。Fig. 7 からわかるように、SCOR-JAMSTEC CRM は国際的に広く用いられるようになっている。あとは栄養塩 CRM が継続的に供給し続けられることが必要である。現在 JAMSTEC が行ってい

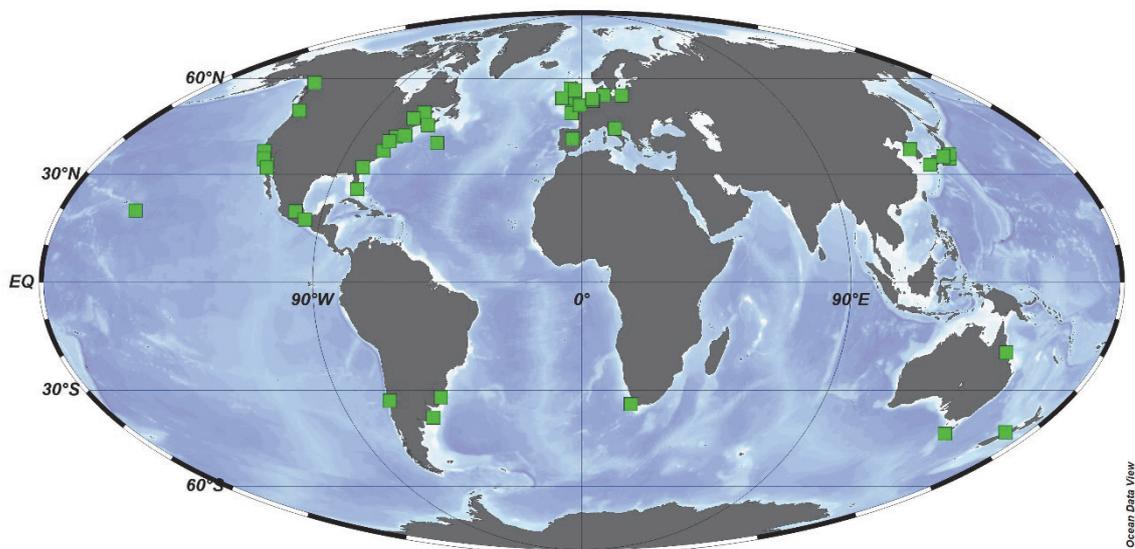


Fig. 7. Distribution of laboratories used for SCOR-JAMSTEC CRMs—the number of laboratories is 40 as of September 2019 (tentative)

る SCOR-JAMSTEC CRM の頒布は、2022 年 3 月で終了する予定である。その後は既存の栄養塩 CRM (例えば KANSO-CRM) に引き継がれる予定である。しかし、大きな課題がある。それは、如何にして原料海水を採取するかである。SCOR-JAMSTEC CRM では、SCOR のワーキンググループ 147 の研究活動であるということで、JAMSTEC の海洋地球研究船「みらい」を利用して原料海水の採取を行い、船上で一時的な殺菌処理も行った。ここで重要なことは、これが「研究活動」の一環であったということである。研究活動でなければ、公的機関のプラットフォームを利用した海水採取は実施が困難である。NIOZ と PML による大西洋水の採取も、SCOR のワーキンググループ 147 の活動として実施された。その一方で、研究機関の本来の活動の目的から考えると研究機関が栄養塩 CRM を供給し続けることには無理があり、化学分析に必要な試薬の供給を民間で行っているように、民間会社が利益を上げつつ、栄養塩 CRM の作製、頒布を行うのが継続性という点では望ましい。そこで、研究機関が民間会社と協力して栄養塩 CRM の供給を継続するための案として、Fig. 8 のような体制を考えている。JAMSTEC が中心となって、海洋観測を行っている機関と共同研究契約に基づくコンソーシアムのような協力体制を構築し、海水の採取及び船上での簡易殺菌を実施し、KANSO に海水を提供する。JAMSTEC と KANSO の間は、受託 / 委託業務の関係で海水を提供可能であろう。

加えて、海水の採取及び簡易殺菌に協力した機関には、何らかのメリットを付すことも必要かもしれない。

ここに示したのは一つの場合であるが、栄養塩 CRM が海洋コミュニティで必要であることは間違いないので、できるだけ早く実施体制を整えたい。

3. 栄養塩 CRM の利用状況

3.1. CRM を利用した栄養塩分析と分析結果の評価

3.1.1. 気象庁における各層観測での CRM 使用

気象庁では、各層観測の項目の一つとして栄養塩の測定を行っており、自家製 (in-house) 標準溶液を用いて値付けした濃度を報告している。2009 年度までは、濾過海水と自家製標準溶液の 2 点による 1 次検量線で濃度を算出してきたが、2010 年度以降は濃度に依存した系統誤差を小さくするため、5 点の自家製標準溶液液列を用いた 2 次検量線で濃度を算出している (ブランクには純水を使用)。また 2010 年度以降は、航海間と測点間の比較可能性を確保することを目的として、栄養塩 CRM (2 濃度以上) を全測点で分析している。分析の妥当性の確認として、測点毎に調製する自家製標準溶液で値付けした栄養塩 CRM 分析値が、栄養塩 CRM 認証値の不確かさの範囲内に含まれることを確認している。これに加え、航海間で 1 濃度以上の同じロットを継続して測定することで、

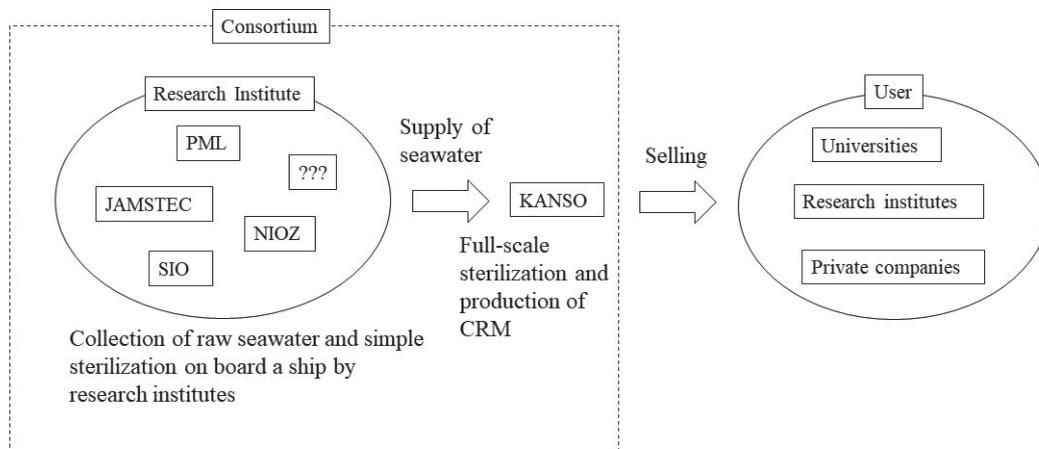


Fig. 8. A framework for the distribution of nutrient CRMs

航海間の比較可能性を維持している。しかし、自家製標準溶液で付けた値では比較可能性が確保されないため、測点間および航海間に分析値の差が見られても、その差が分析誤差と環境変動のどちらに依るものかを判断することは難しい。本項では、気象庁が観測を行っている東経 137 度線 (137E 線) の 1967 ~ 2017 年における亜硝酸 + 硝酸塩 (以後、硝酸塩)、リン酸塩およびケイ酸塩の空間変動および時間変動を例に、栄養塩 CRM を用いて自家製標準溶液で得られた値を補正することで、追跡可能性と比較可能性を確保した場合の効果について議論する。2010 年 4 月以降の栄養塩データについては、各測点で分析している 2 ~ 4 濃度の栄養塩 CRM 分析値とその認証値の直線関係から、自家製標準溶液で付けた値を CRM 基準の栄養塩濃度に補正して用いた。これにより、この期間内のデータに、比較可能性および追跡可能性を確保することができる。栄養塩および溶存酸素の不確かさ (包含係数 $k = 2$) は、Nakano (2010) により算出した。

3.1.2. 測点間の比較可能性

2016 年に行った P09 (137E 線) 再観測航海における N:P 比断面図を Fig. 9 に示す。測点毎に調製した自家製標準溶液基準の N:P 比は深度ごとに変動が少ないものの、緯度方向にわずかながら勾配があるが、測点間の比較可能性が確保された CRM 基準では勾配は見られない。このことは、自家製標準溶液基準での栄養塩濃度には測点間の系統的な誤差が含まれており、不確かさが小さい

分析を行っても (後述するように、2010 年以降の分析の不確かさは小さい)、それでは十分ではないことを示している。また、137E 線の深層において、N:P 比が緯度方向に均一に分布している観測事実は、CRM 基準の栄養塩濃度を用いることで、初めて検出できたものであり、追跡可能性と比較可能性を確保した結果得られた科学的知見である。

3.1.3. 航海間の比較可能性

137E 線の北緯 20 ~ 25 度の 2,000 m 深における時系列データを見ると、溶存酸素には経年変動がほとんど見られない (Fig. 10)。これは、2,000 m 深における自然変動が小さいと同時に、溶存酸素分析の比較可能性が古くから比較的良く確保されており、航海間の系統誤差が小さいことを示している。一方、栄養塩では相対的に大きな変動が見られ、1980 年代までのデータで特に変動が大きい。海洋における生物の平均的な化学成分組成比として知られるレッドフィールド比 ($N:P:O_2 = 16:1:-170$; Anderson and Sarmiento, 1994) を考えると、溶存酸素量の変動の大きさに対して栄養塩の時間変動の大きさは明らかに大きい。これは、栄養塩と酸素の関係を反映する NO や PO ($NO = O_2 + NO_3 \cdot 170/16$, $PO = O_2 + PO_4 \cdot 170$; Broecker, 1974; レッドフィールド比は Anderson and Sarmiento (1994) に修正) が、同期間で変動が大きいことからわかる。NO や PO は一般的な光合成や呼吸では変化しない準保存成分であるため、もし硝酸塩や

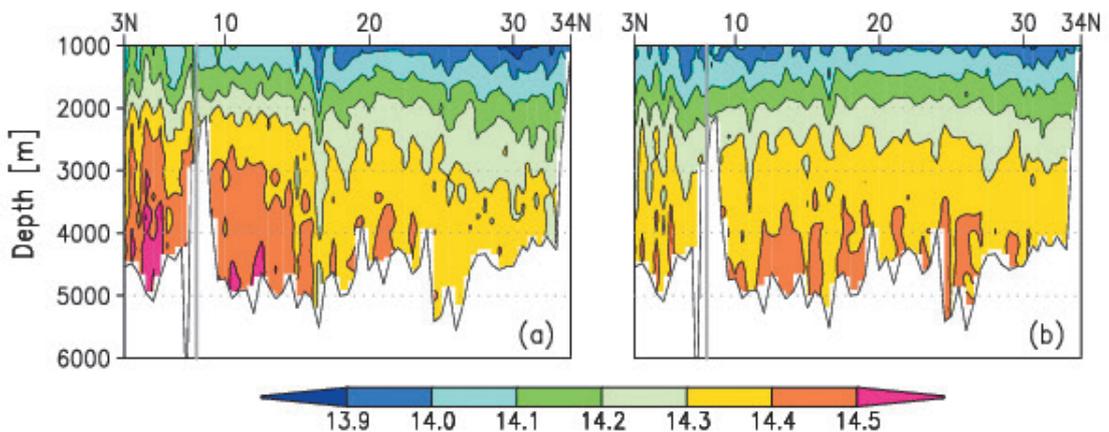


Fig. 9. Vertical sections of N:P ratio based on (a) an inhouse standard and (b) CRM at depths below 1,000 m along the 137°E section during July–August 2016; gray lines indicate boundaries of legs

リン酸塩の変動が、生物活動を通じた自然変動に依るものならば、酸素と相補的な変動を示し、これらの導出成分は変化しないと期待されるためである。他の可能性として、今回の対象海域でこの一般的なレッドフィールド比とずれがある、あるいはレッドフィールド比や起源水の NO と PO が時間的に変化していることもありえるが、溶存酸素に時間変動が見られないことを考慮すると、古い栄養塩データに見られる時間変動は、自然変動ではなく、分析誤差の大きさに依存する系統誤差と判断するのが妥当であろう。

3.1.4. 溶存酸素の不確かさ

ここで、溶存酸素の不確かさについて、簡単に言及しておきたい。溶存酸素の変動を細かく見ると、2010 年度以降のデータでも、わずかながら $\pm 5 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 程度の変動が見られる。酸素の不確かさは小さい (O_2 濃度 $120 \mu\text{mol}/\text{kg}$ に対し $0.5 \mu\text{mol}/\text{kg}$ ($k=2$) 程度) ため、この変動は統計的に有意な差となる。しかし、この不確かさは酸素分析の標準溶液である KIO_3 基準の値であり、 O_2 基準ではない。この O_2 の変動は、水温と有意な相関が見られるため、自然変動の寄与があることは確かだが、測点間および航海間の比較可能性が確保されていないことによる分析の系統誤差が寄与している可能性は否定できない。 O_2 基準の不確かさで評価するためにも、溶存酸素の認証標準物質の開発が待たれる。

3.1.5. CRM 基準の栄養塩データの活用

分析精度の視点から栄養塩時系列データを見ると、WOCE 観測を実施した 1990 年代から、分析の正確さが向上してきたとわかる (Fig. 10)。2000 年以降では、栄養塩の分析の正確さはさらに向上している。これは、栄養塩の時間的な変動の大きさが、溶存酸素の時間的な変動の大きさに近づいてきたことから明らかである。さらに、栄養塩 CRM で補正した 2010 年度以降では、全ての栄養塩成分が不確かさの範囲内で一致している。NO や PO などの準保存成分だけでなく、値がバラつきやすいケイ酸塩や N:P 比でも値が一致したことは、特筆すべきである。これらのことは、少なくともこの期間内で、栄養塩やその導出成分に有意な変化がなかったことを意味している。比較的分析の正確さが良い 1990 ~ 2000 年代の栄養塩変化を 2010 年度以降と比較してみると、導出成分も含めて経年変動があるように見える。しかし、栄

養塩 CRM を使用していない 2009 年以前は比較可能性が確保されていないため、実際に現実の変動であるか、あるいは分析誤差の大きさに依存するものであるかの区別は難しい。時間変動が比較的大きい表層から中層では、PACIFICA (Suzuki *et al.*, 2013) や GLODAP (Olsen *et al.*, 2016) といった国際的な統合データセットのように、深層に自然変動が無いと仮定し、その時間変動を分析のオフセットと見なして分析結果を補正し評価すれば、表層から中層での時間変動は議論可能だが、深層をターゲットにする解析ではこの解析手法は適用できない。さらに、この方法では、レッドフィールド比の評価も難しくなる。栄養塩 CRM 基準の値を用いれば、表層から深層までオフセット補正が必要無くなるだけでなく、追跡可能性と比較可能性が確保されることにより、レッドフィールド比の厳密な評価が可能になる。単独の化学成分だけでなく、レッドフィールド比を基に複数成分を組み合わせた導出成分 (NO などの準保存成分) も含めれば成分数が飛躍的に増加する。それらを組み合わせた多角的な解析を行うことにより、炭素循環に対する栄養塩の役割、さらに気候変動に関する新たな知見が得られると大いに期待できる。

3.2. 水産海洋研究における栄養塩測定と CRM の利活用

3.2.1. 水産研究・教育機構における栄養塩濃度モニタリング

海水中、特に表層の栄養塩濃度と組成は植物プランクトン増殖のポテンシャルを評価できるだけでなく、群集やサイズ組成に強く影響する (Glibert, 2016)。また、海洋の基礎生産力は、そこから得られる水産資源量と密接な関係がある (Ryther, 1969)。このことから、海洋表層の栄養塩濃度の時空間的な変動は、水産資源の変動要因の一因になりうるため、水産海洋研究においてもそのモニタリングが必要である。

水産研究・教育機構 (以後、水産機構) には、漁業調査船 8 隻、および練習船 2 隻が所属し、船舶を利用して日本近海域を中心に、漁業資源とその変動に関連した調査をしている。その調査の中で、栄養塩濃度測定用の試料は、日本沿岸・沖合域における複数の海洋観測定線を中心に採集されている。沖合域における主要な海洋観測定線としては、北海道区水産研究所および東北区水産研

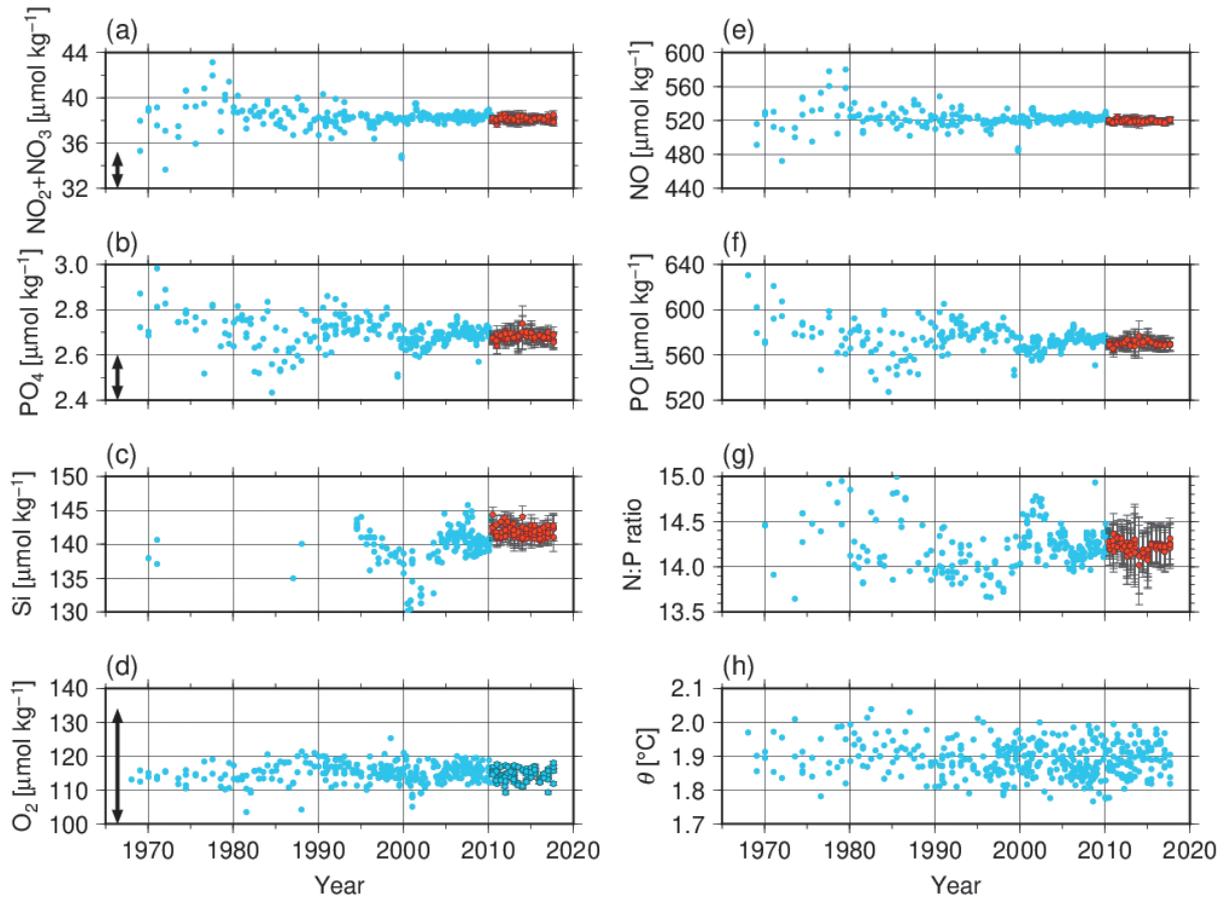


Fig. 10. Time series of (a) nitrite + nitrate, (b) phosphate, (c) silicate, (d) dissolved O_2 , (e) NO, (f) PO, (g) N:P ratio, and (h) potential temperature at the depth of 2,000 m at 20°N - 25°N in the 137°E section. The light blue and red plots indicate in-house-standard-based and CRM-based data, respectively. Error bars denote uncertainty ($k = 2$). Arrows indicate the range of values consistent with Redfield N:P: O_2 ratios (Anderson and Sarmiento, 1994).

究所が親潮域、親潮・黒潮混合域でおこなっている A-line, 中央水産研究所が黒潮域においておこなっている O-line, 西海区水産研究所が東シナ海でおこなっている CK-line, 日本海区水産研究所が日本海でおこなっている SI-line がある (Fig. 11)。この他にも複数の観測定線が存在し、さらに、水産資源の卵稚仔魚分布調査でも栄養塩試料が採集されることがある。

水産機構の栄養塩観測の全体像を把握するため、主に沖合域の観測をしている北海道区水産研究所、東北区水産研究所、中央水産研究所、西海区水産研究所、日本海区水産研究所、国際水産資源研究所の 6 研究所で 2017

年から 2018 年にかけて採集され、分析された栄養塩試料の測点位置・深度・日付のメタデータを集めたところ、1,048 測点、12,825 試料のデータが集まった (Fig. 12)。この 1,048 測点のうち、148 測点は海面のみの観測であり、鉛直分布は得られていないが、それを除いても水産機構全体で、毎年数百測点、何千試料もの日本近海域の栄養塩濃度データが得られていることがわかる。すなわち、水産機構は日本近海における栄養塩動態のモニタリングを進めている国内有数の機関であると言える。

この集まったメタデータについて、観測深度や季節性について、より詳しく見ていく。まず、深度別にデータ

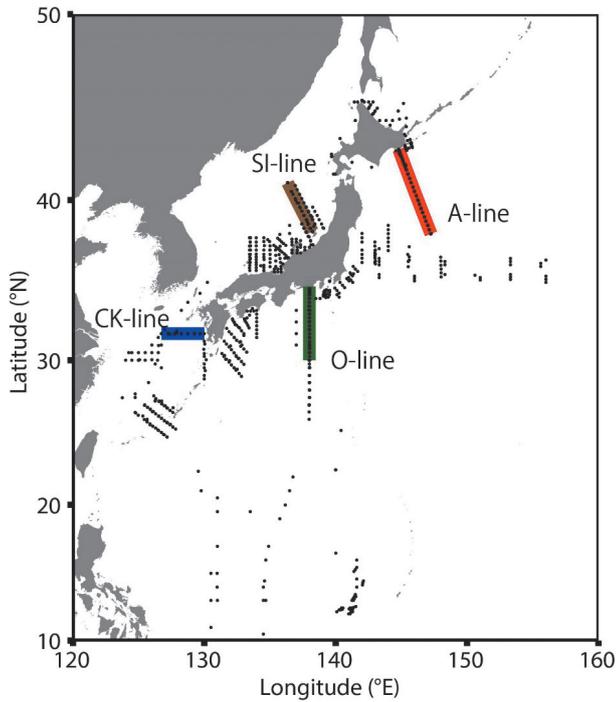


Fig. 11. Distributions of monitoring lines (red: A-line, green: O-line, blue: CK-line, and brown: SI-line) where observations were made and nutrient-sampling stations (closed circles) during the period 2017-2018 by the Japan Fisheries Research and Education Agency (FRA)

を見ると (Fig. 12), 栄養塩サンプルは 500 m 以浅で多く採集されており, 特に 100 m 以浅で 6,715 サンプルと全体の過半数を占める。一方で, 200 m から 1,000 m 深にかけての中層では 694 測点 (2,578 サンプル), 1,000 m から 3,000 m 深では 251 測点 (953 サンプル) と, 毎年 100 測点を超える測点数があり, 中層以浅の栄養塩動態についても多くの情報が得られる。一方で, 3,050 dbar 以深の試料はなく, 深層に至るまでの物質循環を明らかにすることは難しい。季節性については, 春季 (4-6 月) および夏季 (7-9 月) にかけて, それぞれ 397 測点 (4,894 サンプル), 380 測点 (7,040 サンプル) と観測が多く, また, 空間的にも広く観測されている一方で, 冬季と秋季の観測は, それぞれ 130 測点, 111 測点と少なく, また測点も, A-line, O-line, CK-line, SI-line 上がほとんどであっ

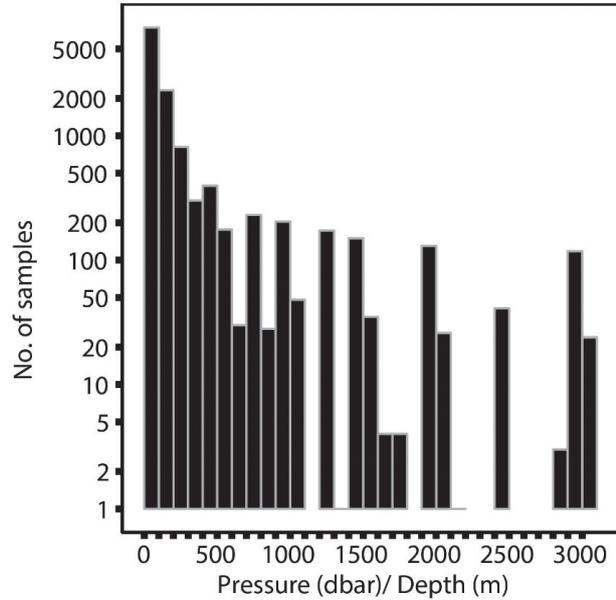


Fig. 12. Number of nutrient samples at 100-m-depth intervals during 2017-2018—the y-axis is a logarithmic scale

た (Fig. 13)。このことから, 季節的な栄養塩動態の解析には, 観測定線の栄養塩データが重要であることが分かる。

このように, 水産機構では, 多くの航海で栄養塩試料を採集しているものの, 一方で, 乗船する研究職員の数および船内の設備とスペースが限られているため, 栄養塩試料は採取後, 直ぐに凍結保存され, 陸上研究室で測定されている。陸上研究室では, 試料の解凍後, オートアナライザーによって硝酸塩+亜硝酸塩, 亜硝酸塩, リン酸塩, ケイ酸塩が測定され, それに加えて, アンモニウム塩の測定を行なっている研究所もある。冷凍保存された試料については, 特に, ケイ酸塩で取り扱いの注意が必要である。すなわち, 凍結の過程でポリケイ酸が形成され, ケイ酸塩濃度分析の常法であるモリブデンブルー法もしくはモリブデンイエロー法では, ポリケイ酸が反応しないため, 濃度の過小評価が起きる (Zhang and Ortner, 1998)。したがって, ケイ酸塩が高濃度 (数十 μM 以上) の試料については解凍後 24 時間以上経過した試料も測定し, 過小評価を最低限にするように取り組んでいる。

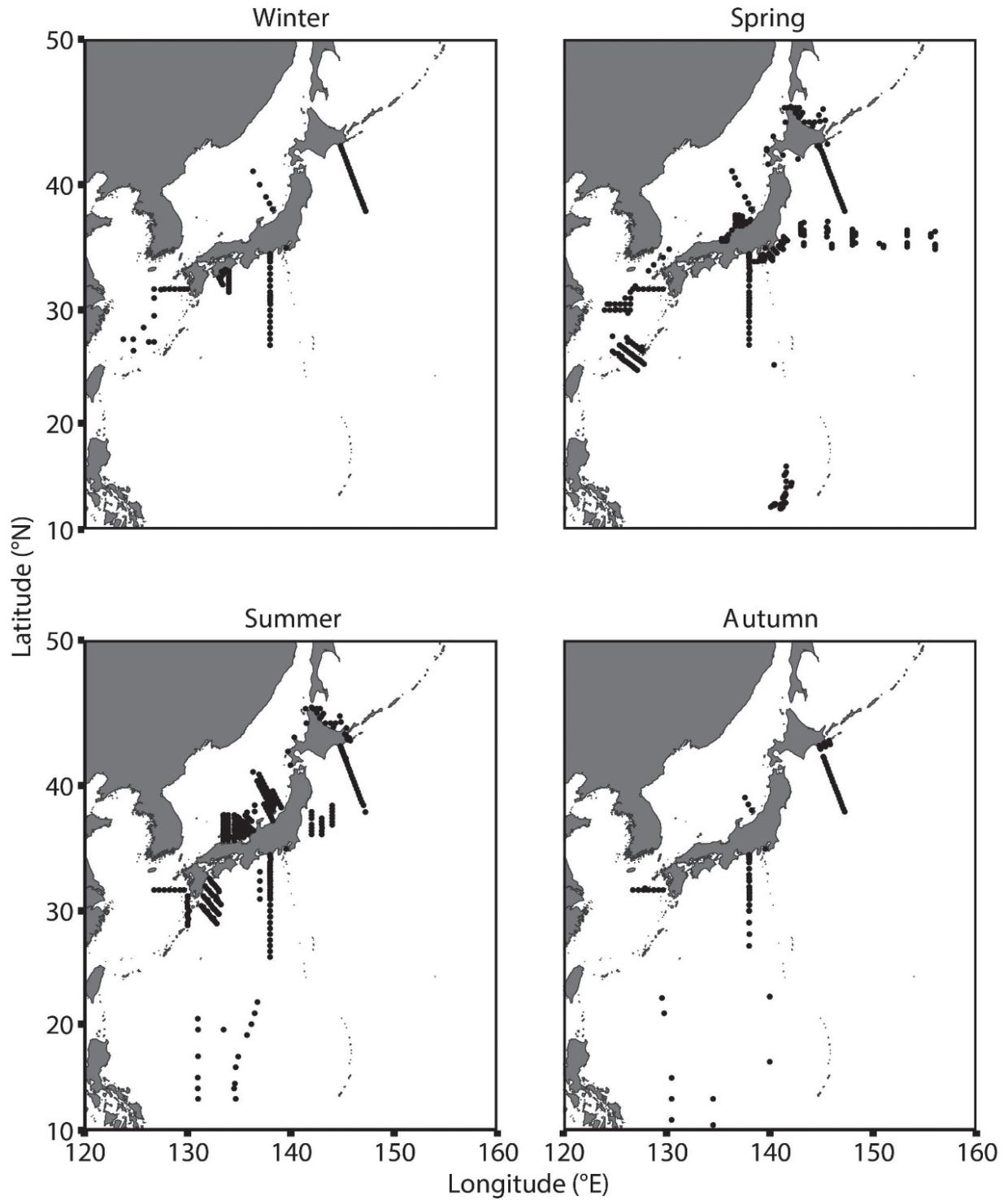


Fig. 13. Seasonal distributions of nutrient-sampling stations during the period of (a) winter (January–March), (b) spring (April–June), (c) summer (July–September), and (d) winter (October–December) of 2017–2018 by the Japan Fisheries Research and Education Agency (FRA)

次に、栄養塩濃度モニタリングでは、測定ごと・航海ごとの比較可能性を担保する必要がある。そのためには高品質の標準液を作成することが求められるが、作業効率を高めるため、また外部機関との比較可能性を担保するためにKANSOのCRM (Aoyama *et al.*, 2012) を各研究所で購入、利用している。CRMについては、開封直後にしかその栄養塩濃度は保証されないため、分析日ごとに複数のロットのCRMを開封し、自家製の標準液とともに測定することで濃度決定するのが理想的である。しかし、それでは、金銭的な負担が大きいいため、例えば週初めに複数ロット開封し、自前の標準液の濃度決定に利用するなどしている。また、経験的に、CRMについては蓋を締め、冷蔵保存をしている限り微生物の発生はほとんど起きず、前週に開封したCRMとの濃度差が認められないため、開封後のCRMを週内は持続的に利用し続け、自家製の標準液を含めた検量線を作成したり、CRMのみを用いて二次校正をおこなったりし、最終的な栄養塩濃度決定に利用している。

CRMを使った測定の利点として、比較可能性を担保するだけでなく、より確からしい栄養塩比が得られるようになってきたことがあげられる。植物プランクトンのN:P:Si比、いわゆるレッドフィールド比は16:1:15とされることから、海水中の栄養塩比は海域の制限栄養塩を議論する上で重要である。しかし、海水中の栄養塩比は硝酸塩、亜硝酸塩、リン酸塩、ケイ酸塩の4種類の割り算であり、標準液の作製の失敗などを通じて、調査ごとの値がずれてしまう可能性が単純な濃度測定よりも高い。実際に、日本海中深層は、気象庁の長年の観測結果の中には硝酸塩、リン酸塩に長期的な濃度の変動傾向はないにも関わらず (Kodama *et al.*, 2016)、そのN:P比について報告値は14.7から12.4まで変動している (Lee and Rho, 2015)。その点、CRMは1つの試料で硝酸塩、亜硝酸塩、リン酸塩、ケイ酸塩濃度が認証された状態で希釈不要のため、標準液の作製エラーなどを最低限にすることができ、より確からしい栄養塩比が得られるようになってきている。

それを利用して、水産機構の観測網を用いて日本近海のN:P比について調べると、東シナ海からそこに接続する日本海や黒潮域に潜在的にリン制限となる水塊が流出している様子が明らかになってきた (Kodama *et al.*,

2015b; Kodama *et al.*, 2017)。Kodama *et al.* (2015b) では、国際水産資源研究所所属の後鷹丸を用いて、2013年6月に東シナ海南東部 (30°N-31°N, 128°E-130°E) をクロマグロ稚魚分布調査の一環で集中的に観測した。そのCTD観測から黒潮北縁で低塩分水の貫入が水深数十m付近に認められ、この低塩分水中のN:P比は16を超えていた。この低塩分水については、粒子の逆追跡実験から、長江の水を起源とする可能性が示されており、長江由来の水が1,000 km近く輸送され、窒素が制限栄養塩である黒潮域に、硝酸塩を供給していることが示唆される。

次に、同様の硝酸塩供給機構が日本海にも生じているかを検証するために、対馬海峡における栄養塩データについても、2007年から2014年にかけての夏季の水産機構所属の船舶 (水産大学校・天鷹丸、西海区水産研究所・陽光丸) を利用した観測結果を解析した (Kodama *et al.*, 2017)。この研究では、複数の機関で測定されたデータを利用して解析を進めたが、いずれの測定でもCRMを利用していたため、標準液同士の比較やそれに合わせた濃度の再計算が不要であった。解析の結果、N:P比で16を超える硝酸塩過剰水が対馬海峡の亜表層にも度々出現することが分かり、日本海にも水平移流によって東シナ海から硝酸塩の供給があることが明らかになった。

以上のように、水産機構では、充実した観測網とともにCRMを利用した栄養塩分析を進め、データの蓄積が進んできたことで、日本近海の栄養塩動態の研究が飛躍的に進んできている。今後、さらにデータを蓄積することで、10年規模もしくはそれ以上の長期的、かつ季節的な栄養塩変動が明らかになることが期待され、漁業資源との関係性や温暖化にともなう変動が解明されていくことが期待される。

3.2.2. 課題と展望

一方で、水産機構における栄養塩分析については、今後も継続的に分析結果の質の向上の取り組みを進める必要がある。分析の質の向上には、1) サンプルング、2) 保存、3) 測定、4) 濃度計算の4つの過程それぞれに課題がある。まず、サンプルングにおいて、質の低下が生じている場合が散見される。上述の通り、乗船する研究職員数は限られており、さらに機構内でも栄養塩分析を行ったことのある職員は少数のため、サンプルング時の注意事項が不徹底となりやすい。例えば、容器の蓋の締

めが甘かったり、容器を海水で満たしてから凍結し溢れさせたり、凍結時に立てて凍結しなかったり、試料が汚染されている状態で保管されていることがある。また、容器に海水がついたまま保管されるのを防ぐために、海水を拭きとったり、超純水で洗浄したりすることを依頼すると、栄養塩が多量に含まれている水道水で洗浄されることがある。これらについては、サンプリングに対する継続的な啓蒙が必要であり、採取・保管の簡易マニュアルを採集容器とともに渡したり、水産機構が出版・配布している海洋観測調査指針に栄養塩サンプリングのマニュアルを掲載したりしているものの、今後、さらなる取り組みが必要である。

次に、冷凍保存も測定のを低下させる。冷凍保存はもっとも推奨されている保存方法であるが、先にも述べた通り、ケイ酸塩濃度の過小評価がおきることがある。冷凍によるケイ酸塩濃度の過小評価は、比較的よく知られた現象であるものの、定量的な評価が乏しい。Hydes *et al.* (2010) による GO-SHIP の栄養塩測定マニュアルには $40 \mu\text{M}$ 以上の場合、解凍後 24 時間保存することで高精度な分析が可能となっているが、Kawagucci *et al.* (2018) において、伊豆・小笠原海溝の 2 測点について、冷蔵保存された試料と冷凍保存された試料を比較したところ、解凍後 24 時間以上経過した時点でも、冷凍保存試料では最大 10% の濃度低下がおきており、冷蔵保存と冷凍保存の試料間の濃度差は最大 $10 \mu\text{M}$ 以上に達している (Fig. 14)。このケイ酸塩の冷凍試料については、GO-SHIP から 2019 年に出版された栄養塩測定マニュアルの改訂版 (Becker *et al.*, 2019) で議論されており、Sakamoto *et al.* (1990) が報告している、 50°C の湯浴を 40 分おこなう方法で、ケイ酸塩濃度が最も回復するという結果が報告されている。一方で、湯浴については汚染の可能性を高めるため避けた方が良いという意見もある (Hydes *et al.*, 2010)。筆者の経験では、冷凍中の試料の膨張や運搬中の物理的衝撃による容器のわずかな破損に気付かず湯浴にて溶解、測定してしまい、当該試料の汚染だけでなく、反応系・フローセルを汚してしまい、同時に測定した全ての試料の分析を再測定することになったこともあった。湯浴は比熱の関係でドライな環境よりも迅速に溶解および試料の温度上昇が期待できるが、今後、恒温乾燥機などの利用を試すなど、よりよい解凍

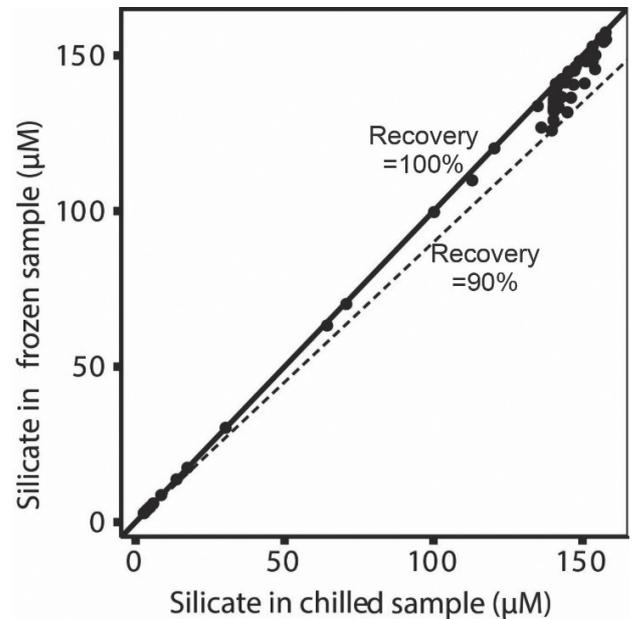


Fig. 14. Comparison of silicate concentrations in chilled and frozen samples collected from the North Pacific Ocean (Kawagucci *et al.*, 2018)—the solid and dashed lines denote recovery rates of 100% and 90%, respectively

方法を引き続き検討する必要がある。また、分析でも精度向上の取り組みを進める必要がある。1 航海で 1,000 本近い栄養塩試料が採取され、特に春季と夏季のサンプル数は多い。比較的長期保存可能な冷凍保存でも、半年後にはリン酸塩が容器に吸着し減少し始め (Dore *et al.*, 1996)、また、海水試料が保管できる冷凍庫の容量も限られることから、冷凍保存でも速やかに分析をする必要がある。1 航海の試料を 1 週間で測定するとした場合、ケイ酸塩のための再分析を考慮すると、1 日の測定本数を 200 本近くにする必要があり、そのトレードオフで 1 本あたりの分析時間が短くなる。したがって、試料の吸引時間を短くせざる得ないため、オートアナライザーの状態によってはピーク形状が不安定になったり、キャリアオーバーの割合が高くなったりすることがあり、分析精度がさがってしまう。また、吸光度やベースラインの系時変化の把握は分析精度の管理に必須であり、ブランクや標準液を度々流して吸光度の変化をチェックする必要があるが、その間隔も広がってしまう。この点について

ては、分析本数とのトレードオフの関係である以上解決が難しいものの、よりバランスの良い分析プロトコルを目指す必要がある。

そして、水産機構内の研究所間での比較可能性を高め、分析の質の向上を図っていく上で、各研究所の栄養塩分析手法についての統一や、研究所を超えた枠組みでのデータのチェックと蓄積を進めていく必要がある。現状では、CRMの利用によって、比較可能性が担保されているものの、冷凍試料の取り扱いや標準液からの濃度変換式については、各研究所、更には、分析者によって異なっている。これらを統一していくことにより、より研究所間の比較可能性が保たれ、高品質のデータを蓄積可能になることが期待される。そのためには、積極的な情報交換やマニュアルの公開が必要であり、特にマニュアルの公開については、各研究所の分析担当者の交替とともに精度が大きく変化してしまうことを未然に防ぐにも役立つと考えられる。また、2017年から2018年にかけて行われたCRMのInter-laboratory Calibration Exercise (Aoyama *et al.*, 2018)には、北海道区、西海区、日本海区の各研究所が参加したが、その参加を増やす努力をするとともに、児玉ら(2017)がクロロフィル *a* の分析で行ったような、機構内での比較検証の機会を充実させることも必要であり、相互でデータ品質の確認、管理ができる枠組みを構築することで、データの品質の向上が促進されると考えられる。

以上のような、分析の質に対する課題がある一方で、水産機構の船舶を利用する観測網については、幅広い範囲・季節をカバーすることができ、日本近海における栄養塩動態の研究を進める上での長所である。栄養塩では、アンモニウム塩および亜硝酸塩については、近年、太平洋表面における時空間変動について報告されているものの (Yasunaka *et al.*, 2018)、その鉛直分布も含めた動態研究はあまり進んでいない。特に、アンモニウム塩はこれまで国内でのモニタリング実績が少なく、高精度な分析を水産機構のモニタリングに導入できれば、亜熱帯・亜寒帯域の時空間的な変動パターンの解明が可能になる。

水産機構で栄養塩モニタリングの拡充を進めるには、少なくとも2つの課題が残されている。まずは、CRMでは現在は認証されていないアンモニウム塩への拡充や、

認証されているものの濃度範囲が他の栄養塩と比較して狭い亜硝酸塩の広範囲化は、高品質な亜硝酸塩、アンモニウム塩のモニタリング実現に必須である。もう一つは、なるべく簡便な測定法の導入である。特に、アンモニウム塩については、冷凍保存は推奨されていないため、船上測定が必要である。Kodama *et al.* (2015a)では、長光路キャピラリーセルを利用したアンモニウム塩濃度の連続フロー分析手法を開発し、O-lineの観測に適用したが、船上の栄養塩分析ができないのと同じ理由で、モニタリングは進んでいない。このような事情を考えると、よりシンプルで小型の分析計が必要であり、例えば、小型の蛍光光度計でも分析可能なオルトフェニルアラニンを利用した蛍光法 (Holmes *et al.*, 1999)などを検討し、実現の可能性を探る取り組みが必要である。

3.3. RMNSを用いた高精度観測

3.3.1. 「みらい」による高精度観測

全海洋の物理・化学パラメータの高精度なデータを得るために、1980年代から1990年代にかけて国際的な海洋観測研究プログラムであるWOCEが実施された。この時に得られた高精度データを基に、10年スケール以上の海洋環境変動を知るためにWOCE以降、WOCE再観測、Climate Variability and Predictability (CLIVAR)-CO₂、GO-SHIP航海といった高精度観測プログラムが継続して実施されてきた。化学パラメータの一つである栄養塩は、この一連の観測プログラムにおいて測定されているが、IPCC2007レポートではその比較可能性の欠如のため、測定結果から海洋環境変動を見出すことが困難であると指摘されている (Bindoff *et al.*, 2007)。そのため、JAMSTECで実施している「みらい」による高精度観測航海では、2003年から栄養塩サンプルの測定時に同時にRMNSを測定することにより、測点間および航海間のデータに対して比較可能性を確保することを目指してきた。ここでは、海洋地球研究船「みらい」の高精度観測航海でのRMNSの使用の実際と測定値の品質評価について紹介する。

3.3.2. RMNSの使用

2003年以降、「みらい」の高精度観測航海で用いたRMNSをTable 5に示す。観測海域毎に、栄養塩濃度範囲をカバーする低濃度から高濃度のRMNS 5ロットを使

Table 5. List of RMNS used for WOCE-revisit cruises by R/V *Mirai*.

Cruise	Year	WOCE line	RMNS
MR03-K04	2003/2004	P06, A10, I03/I04	T, AN, AK, AM, O, AH
MR05-02	2005	P10	BA, AY, AX, AV, BC, AZ*
MR05-05	2005/2006	P03	BA, AY, AX, AV, BC, AZ*
MR07-04	2007	P01	BA, AY, AX, AV, BC*, BF
MR07-06	2007	P01, P14	BA, AY, AX, AV, BC*, BF
MR09-01	2009	P21	AS, BJ, AX, AV*, BE, AZ
MR11-08	2011/2012	P10	BS, BU, BT, BD, BE*, BF
MR12-05	2012/2013	S04I, P14S	BS, BU, BT, BD, BV*, BF
MR14-04	2014	P01	BY, BU, CA, BW, BV*, BZ
MR15-05	2015/2016	I10	BY, BU, CA, BW, BV*, BZ
MR16-09	2017	P17E	BY, CD, CA, BW, CC*, BZ

*: The RMNS was measured at every runs of nutrient measurement in each cruise to monitor comparability.

用したほか、各航海での比較可能性を維持するために、もう1種類のRMNSを各航海のすべての観測地点で測定した。結果として、各航海で計6ロットのRMNSの測定を行った。2003年から2017年の15年間に亘る観測では、当然のことながらロットを変更する必要がある。その場合、航海前に変更前後のRMNSを比較測定することにより、航海間の比較可能性が維持できるように努めた。2005年以降はRMNSを検量線に使用することにより、比較可能性の確保に加えて、自家製標準溶液を調製する労力を大幅に軽減させた。さらに、異なるロットのRMNSの測定結果から、経験式により不確かさを見積もり、各測定データに対して不確かさを付与した(3.3.3項参照)。これにより、時間的な変動の議論が可能となった。

2015年からKANSOとのRMNS共同認証を開始した(2.2.3項参照)。RMNSが認証物質(CRM)となったことで、SI単位系の追跡可能性を確保することが可能となった。また、RMNSの測定値をCRMに付与された不確かさと比較し、断続的にモニタリングすることにより測定精度の向上につながった。

3.3.3. RMNSによる不確かさの見積もり

各航海における測定値の不確かさは、RMNSを用いて行った。Fig. 15は、MR15-05航海で測定したケイ酸塩

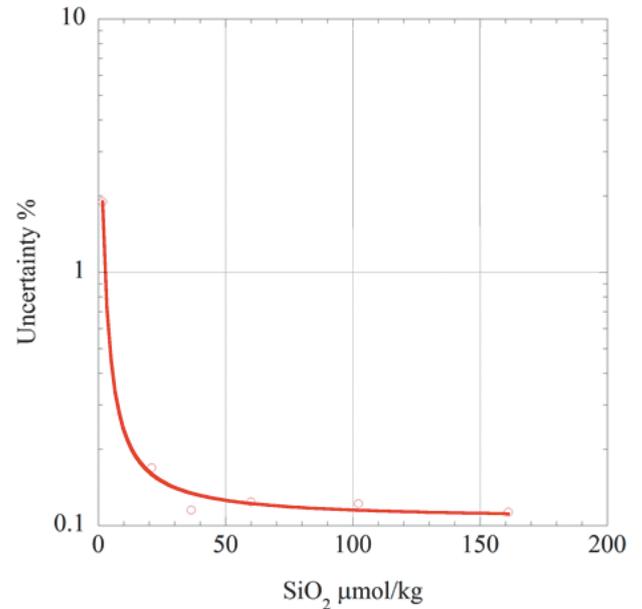


Fig. 15. Estimate of the uncertainty of silicate concentrations measured during the cruise MR15-05 of R/V *Mirai*—the curve was obtained by fitting the data of six RMNS (Table 5) to

$y = a + b \times \left(\frac{1}{C_{Si}}\right) + c \times \left(\frac{1}{C_{Si}}\right)^2$, where y and C_{Si} are the uncertainty and concentration of silicate, respectively, and a , b , and c are parameters determined using least squares

のデータに対して、横軸に RMNS のケイ酸塩の濃度 ($\mu\text{mol}/\text{kg}$)、縦軸に測定値の平均と標準偏差から求めた相対標準不確かさ (%) をプロットしたものである。回帰曲線をフィッティングさせ求められた回帰式を使うことで、個々の試料濃度に対する不確かさを見積もることが可能となった。この図から、ケイ酸塩濃度が $20 \mu\text{mol}/\text{kg}$ より薄い試料の場合、相対標準不確かさが急激に上昇することがわかる。他の測定項目に対しても同様のプロットを作成し、データの品質管理を行う際には、この方法で得られた不確かさを基に、データの良し悪しの判断をしている。

2005 年から 2015 年までの航海で測定したケイ酸塩の不確かさをまとめたものを Fig. 16 に示す。各航海で同程度の精度で測定できていることが確認できる。ケイ酸塩の最も不確かさの大きかった「みらい」MR11-08 航海で

も、濃度が $11.93 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 以上では不確かさが 1% 以内に入っており、低濃度のサンプルでも小さな不確かさで測定できていることが分かる。毎測定時に RMNS を測定してきた成果である。

3.3.4. 今後の課題

2003 年以降、「みらい」での高精度観測航海では、常に RMNS を用いて栄養塩の測定を実施してきた。その結果、少なくとも「みらい」で取得したデータについてはその比較可能性が確保されており、栄養塩データに基づく海洋環境の時間変化が検出可能な段階にまで達している。この RMNS がより多くの機関で使用されることになれば、海洋大循環スケールでの海洋環境変動も明らかにすることが可能となるであろう。そのためには RMNS の普及を急ぐ必要がある。

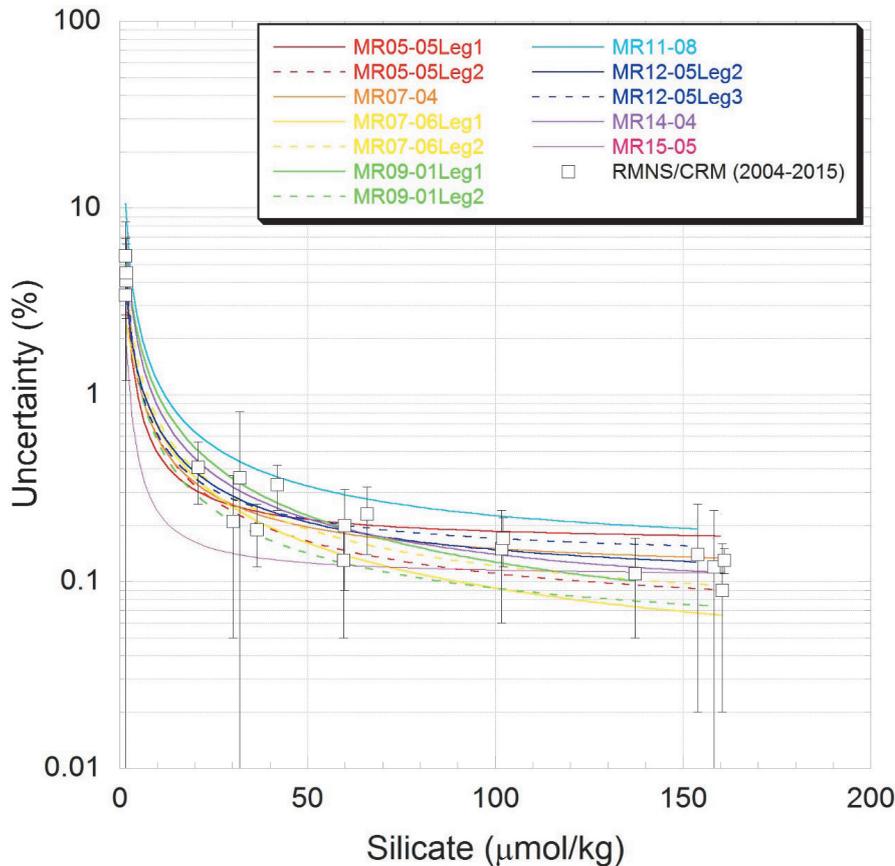


Fig. 16. Estimate of the uncertainty of silicate concentrations during the 12 cruises of R/V *Mirai*

4. 将来、必要となる CRM

4.1. 溶存態有機物（炭素、窒素、リン）への拡張

4.1.1. 溶存態有機物標準物質の必要性

溶存態有機物（DOM）は生元素である炭素、窒素、リンの循環に深く関わっている。植物プランクトンが光合成により生産した粒子態有機物の一部は、自らによる細胞外排出や食物連鎖網での捕食者の代謝過程で DOM として海水中に放出される（Nagata, 2000）。DOM は炭素骨格を有するとともに窒素およびリンを含有している。海洋の DOM の炭素（DOC）量は大気中の CO₂ 量に匹敵すると見積もられている（Hansell, 2005）。また、窒素（DON）およびリン（DOP）は貧栄養海域の表層水では無機態栄養塩を上回る濃度で存在する（Karl *et al.*, 2001）。さらに、DOM は生物的または非生物的に分解されることで二酸化炭素、アンモニウム塩、リン酸塩を生成する。このように DOM は海洋における生元素の現存量と再生循環過程の両面で大きな役割を果たしている。

ただし、海洋観測での DOM の測定は無機態栄養塩に比べて限られている。DOM の測定には多くの労力を要することが一因である。DOC は酸性化した海水を曝気して溶存態無機炭素を除去することで直接測定することが可能であるが、DON および DOP は分解処理を経て全溶存態窒素およびリン（TDN および TDP）を測定するとともに、栄養塩（硝酸塩、亜硝酸塩、アンモニウム塩およびリン酸塩）を測定して差し引きにより間接的に濃度を求める必要がある（小川, 2018）。

DOM 測定のための標準物質（RM）の開発は DOC を中心に進められた。海洋の炭素現存量の把握の重要性から、1990 年代に DOC の RM が開発された（Sharp *et al.*, 2002a）。酸性化した海水を 10 mL（その後 20 mL）のガラスアンプルに封入したものである。この RM は全有機体炭素・窒素計を用いた高温燃焼法を主な対象としており、DOC と TDN について値付けされたものがマイアミ大学 Hansell 研究室により有償で配布されている（Hansell, 2005）。最新の DOC-RM は分析計のオートサンプラーで使用できるスクリュウキャップ付ガラスビンで供給されている。ただし、これまでの DOC-RM は窒

素態栄養塩である硝酸塩、亜硝酸塩、およびアンモニウム塩については値付けされていないため、DON 標準物質としての役割は果たしていない。DON の分析においては、TDN の測定はもちろん、窒素態栄養塩の分析の善し悪しが DON 値のバラツキを生み出すことがわかっている（Sharp *et al.*, 2002b）。一方、DOP に関する同様の研究はいまだ実施されておらず、早期に DOP-RM が開発されることが望ましい。

本論文で示されたように、栄養塩 RM は栄養塩濃度がボトル間でばらつきなく、長期に安定していることから、DOP-RM としても利用できる期待される。また、DOC および DON-RM としても利用可能であれば、栄養塩 RM の有用性が大きく広がる。そこで、栄養塩 RM に関して DOM-RM としての性能評価を行った。

4.1.2. 既存の栄養塩 RM の利用可能性の評価

栄養塩 RM の DOM-RM としての利用可能性を評価するため、2009 年時点で入手可能だった栄養塩 RM の複数ロットについて、DOC、DON、および DOP 濃度が測定されている（Yoshimura and Sharp, 2010）。これらの測定では、超純水（Milli-Q 水、18.2 M Ω · cm 以上）がブランク水として使用されている。その結果、いずれの項目においても、原料海水から想定される濃度よりも高く、同一ロットの複数ボトル間で大きくばらつくことがわかっている（Table 6）。したがって、現状の栄養塩 RM は DOM-RM としては適していないことがわかった。

4.1.3. DOM-RM の作成の試み

栄養塩 RM が DOM に汚染されている原因は容器自体からの溶出であると想定し、適切な保存容器を選定するための実験が行われている（Yoshimura, 2013）。種々のプラスチック製およびガラス製容器（Table 7）は、洗浄済みの製品か、もしくはアルカリ性洗剤と 1 N 塩酸で洗浄したものが主に用いられた。これらの容器に、孔径 0.22 μ m のカプセルフィルターでろ過滅菌した自然海水（無機栄養塩の枯渇した亜熱帯表層水）を満たして 25°C、暗所において一定期間保存し、DOC および DOP 濃度が測定されている。これらの測定では、超純水（Milli-Q 水、18.2 M Ω · cm 以上）がブランク水として使用されている。その結果、DOC はほとんどの素材で、DOP は HDPE、LDPE、PAN で汚染することがわかった。DOC および DOP 濃度ともに変化しなかったのはガラスおよ

Table 6. Selected analytical results of dissolved organic carbon, nitrogen, and phosphorus with total dissolved nitrogen and phosphorus (TDN and TDP) in some lots of RMs for Nutrients reported in Yoshimura and Sharp (2010).

	Lot	No. of replication	Mean ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Standard deviation ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Coefficient of variance (%)
DOC	BF	4	77.8	21.6	28
	BG	3	89.4	13.3	15
DON	BF	4	6.6 (TDN = 48.0)	2.5 (TDN = 2.5)	38 (TDN = 5.2)
	BG	3	7.4 (TDN = 44.2)	0.45 (TDN = 0.45)	6 (TDN = 1.0)
DOP	AU	6	0.07 (TDP = 2.27)	0.05 (TDP = 0.04)	70 (TDP = 2)
	BD	9	0.10 (TDP = 2.30)	0.03 (TDP = 0.05)	26 (TDP = 2)

Table 7. Plastic materials of sample bottle for which stabilities of dissolved organic carbon and phosphorus concentrations were examined in Yoshimura (2013).

Bottle material	Abbreviation
Fluorinated High-Density Polyethylene	FLPE
High-Density Polyethylene	HDPE
Low-Density Polyethylene	LDPE
Polyacrylonitrile	PAN
Polycarbonate	PC
Polyethylene Terephthalate	PET
Perfluoroalkoxy	PFA
Polypropylene	PP
Polyvinyl Chloride	PVC
Polymethylpentene	TPX

び PFA のみだった。

この結果を参考に、KANSO において栄養塩 RM と同じ製造工程で DOM-RM の作製が試みられている (芳村, 未発表)。DOM-RM#1 として、PC, PFA, PP の 3 種のボトルを使用し、亜熱帯表層水と沿岸深層水を用いた RM をそれぞれ約 80 本試作し (2011 年 1 月)、栄養塩および DOM 濃度が経時的に測定された。この RM は製造

後 3 ヶ月間について栄養塩濃度は変化せず、微生物による汚染も認められなかった。一方、DOC はすべてのボトルで、DOP は PP ボトルで汚染が発生した (Fig. 17)。

次に、DOM-RM#2 として PET, PFA (国内 2 社製品)、PP, ガラスの 5 種のボトルを使用し、亜熱帯表層水を用いた RM をそれぞれ約 100 本試作し (2013 年 2 月)、DOC および DOP 濃度が経時的に測定された (芳村, 未発表)。その結果、DOC はすべてのボトルで、DOP は PP ボトルでのみ汚染が発生した (Fig. 18)。

DOM-RM#1 および #2 の結果を合わせて考えると、栄養塩 RM に使用されている PP ボトルは DOM の汚染源であると推測される。既存の栄養塩 RM の DOM 濃度が高く、同一ロットのボトル間でばらつく原因がボトル素材からの溶出であることが示唆された。PP ボトル以外にも、DOM の深刻な汚染を引き起こすボトル素材が多く存在することがわかる。

4.1.4. 今後の展望

これまでの研究結果から、DOC および DOP をどちらも汚染しない容器素材は見つかっていない。ただし、DOC に関して、PFA およびガラスボトルによる DOC 汚染は比較的小さいため、より強力に洗浄することで、汚染を防止することができるかもしれない。例えば、微量金属測定用容器の洗浄に用いられている方法 (Cutter *et*

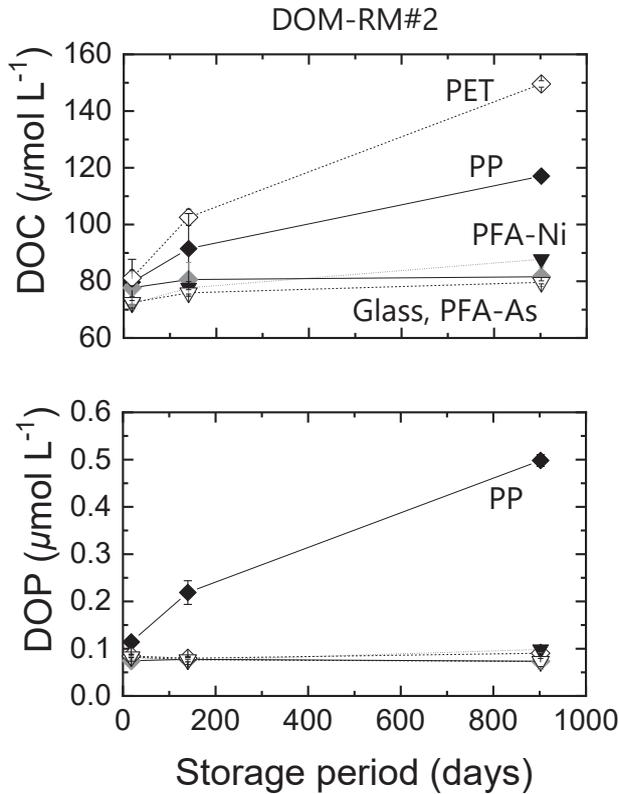


Fig. 17. Time courses of dissolved organic carbon and phosphorus concentrations (mean \pm s.d., $n = 3$) during the storage of DOM-RM#1

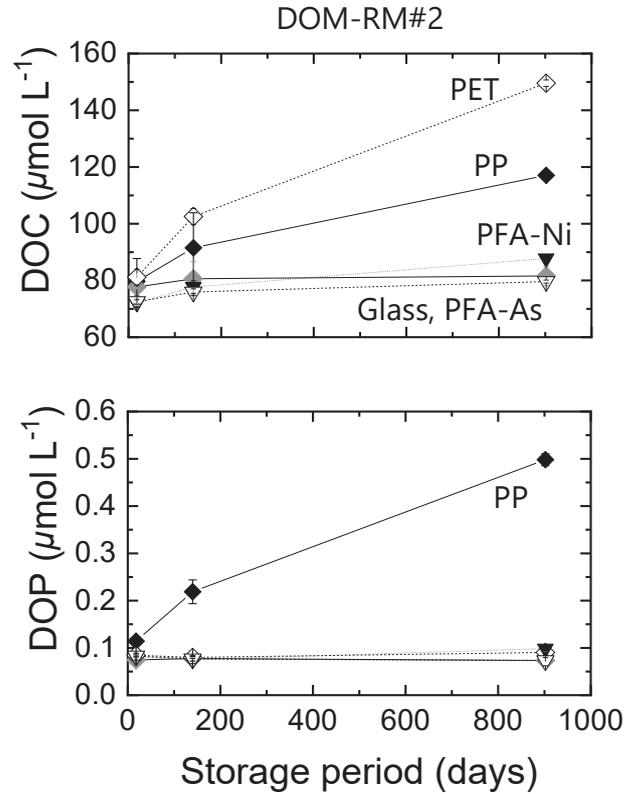


Fig. 18. Time courses of dissolved organic carbon and phosphorus concentrations (mean \pm s.d., $n = 3$) during the storage of DOM-RM#2

al., 2017)を試みる事が挙げられる。ただし、容器からではなく、キャップを通じた気相からの汚染である可能性もあるため、例えばガラスサンプルでの保存実験と比較するなどの検討も必要である。

一方、多くの素材のボトルでDOP濃度を安定的に保存できることがわかった。DOPのみをターゲットにするのであれば、現状の知見をもとにRMの製造が可能である。近年、低緯度のリン制限海域におけるDOPの役割の解明が着目される状況において(Karl and Björkman, 2015), DOPデータの重要性が高まっている。DOP-RMが存在しないためにラボ間比較実験が実施されていないのは大きな課題である。本論文で取り上げた結果をもとにDOP-RMを作成し、海洋研究コミュニティにおいて早急に活用する必要がある。

4.2. 炭酸系測定のためのCRM

4.2.1. 炭酸系CRM開発の背景

1980年代後半から1990年代にかけて、海洋の物質循環に係る国際研究プログラムJoint Global Ocean Flux Study (JGOFS)が実施された。JGOFSでは海洋中の炭素循環解明が大きな目的の一つであったが、当時は十分に経験を積んだラボ間であっても、同じ海水であるにもかかわらずCO₂濃度の測定値に大きな差がみられた。つまり、データの比較可能性が国際研究プログラムを実施するには不十分な状況であった。この状況を解消するためRMの作製が海洋化学コミュニティの間で合意され、海洋炭酸系を構成する項目のうち、全炭酸濃度と全アルカリ度のRMが作製された。これらは早い段階で認証化(Certified)が行われ、JGOFSだけではなく、同時期に

行われた WOCE での炭酸系項目測定のためにも配布された。現在は CRM として使用されている。本章では、栄養塩よりも早く認証化され国際的な海洋コミュニティで使用されている炭酸系 CRM の現状と課題について紹介する。

4.2.2. Dickson CRM

全炭酸濃度と全アルカリ度の CRM は、Scripps Institution of Oceanography (SIO) の A. G. Dickson 教授のラボで作製、供給されている。そのため、関係者の間では、Dickson CRM と呼ばれている。1990 年に Batch 1 の供給が開始され、最新のバッチは Batch 177 となっている。当初は濃度の安定しないバッチがいくつかみられたが、最近ではほとんどみられなくなった。CRM の原料海水は、カルフォルニア沖の表面海水であり、実験室でシャワー状で海水を循環させることで、採取した海水と実験室の空気との間で CO_2 が平衡となるようにしている。これは、海水を 500 mL の Borosilicate のガラスボトルに詰めた後、輸送時にガス交換があったとしても、その影響が少なくなるようにするためである。表面海水であるため、栄養塩はどのバッチでも非常に薄い濃度となっているが、生物活動を抑えるために塩化第二水銀が添加されている。また、ガス交換を極力抑えるため、ボトルの栓（共通摺り TS24/30）にグリース（Apiezon L）が貼付されている。なお、全炭酸濃度と全アルカリ度は同一ボトルで認証されている。現在、Dickson CRM は JGOFS や WOCE が終了後も、幅広く使用されている。なお、より詳細な情報については、Dickson (2010) を参照されたい。

4.2.3. 今後の課題

全炭酸濃度と全アルカリ度は、CRM が存在するというだけでなく、測定方法についても情報が共有化されている。結果として、測定値の比較可能性が高い状況が確保されている。しかしながら、現在は新たな CO_2 問題として、海洋酸性化が取り上げられるようになっていく。大気中の CO_2 が海洋に溶け込むことにより海水の pH が下がり、海洋生物への影響（貝殻や骨格の形成が困難となる等）が懸念されている。pH は電位差測定法により比較的容易に測定ができ、分光測定法ではより高精度（繰り返し精度）な測定が可能となっている。しかし、pH の測定値は、全炭酸や全アルカリ度と比較すると、現時

点では比較可能性がかなり低い (Bockmon and Dickson, 2015)。海洋酸性化は大気中の CO_2 濃度の将来予測や海洋生態系の変化とも直結する問題であり、pH 測定の高精度化が大きな課題となっている。現在、国際的な海洋炭酸系測定のコミュニティで活発に議論されている最中である (<https://www.us-ocb.org/ocean-carbonate-system-intercomparison-forum/>)。

4.3. マルチパラメータ標準海水の開発

4.3.1. 開発の背景

地球温暖化等に起因する海洋の変化を観測データから評価するには、海水標準物質の整備が不可欠である。海水標準物質には、実用塩分 (IAPSO 標準海水)、全炭酸・全アルカリ度 (Dickson CRM)、溶存有機炭素 (Hansell CRM) 等が古くから使用されている (National Research Council of the National Academies, 2002)。これらに加え、近年、日本発の栄養塩測定用海水標準物質 (KAN-SO-CRM: RMNS) が、世界的に普及してきた (Aoyama *et al.*, 2010b)。一方、貧酸素化が問題となっている溶存酸素や酸性化の指標となる pH では標準海水が存在しないため、測定値の比較可能性の議論が難しい (Stendardo *et al.*, 2009; Velo *et al.*, 2010)。また、既存の標準海水についても問題が存在する。例えば、実用塩分測定用標準海水の認証値は SI トレーサビリティが確保されておらず、認証値のバッチ間にオフセットが存在するという指摘がある (Kawano *et al.*, 2006; Uchida *et al.*, 2020)。密度の測定から塩分測定値の SI トレーサビリティを確保する提案もあるが (Pawlowicz *et al.*, 2016)、ガラス瓶からのケイ素溶出により標準海水の密度が経時変化する問題がある (Uchida *et al.*, 2011)。さらに、海水密度の測定に用いられる振動式密度計は、通常、空気と純水で校正するが、振動式密度計の非線形性の問題により海水密度の測定値に誤差を生じる可能性が指摘されている (Uchida *et al.*, 2011)。また、全炭酸・全アルカリ度測定用標準海水には、殺菌のため塩化第二水銀が添加されているという問題がある (Murata, 2010)。

4.3.2. 開発の歴史

関西電力 (株) から KANSO への委託研究 (2003 ~ 2004 年度)、および、科研費基盤 (B) 「海洋における炭素・栄養塩変動把握のための国際標準物質の研究」 (2005

～2008年度)により, RMNSの製造技術(大容量オートクレーブによる殺菌)を基に, 無毒な全炭酸・栄養塩一体型標準海水の開発が行われ(lots Pre 1～11), 分注方法の改良や容器にアルミ缶(アルミ袋で脱気包装)を採用することで, 全炭酸濃度の1年程度の安定性を実現した(Murata, 2010)。その後, 関西電力(株)からKAN-SOへの委託研究(2008～2009年度)により, 開発したRMNSの溶存酸素標準への拡張が検討されたが(lots Pre 12～13), 溶存酸素については十分な安定性は実現できなかった(Mitsuda *et al.*, 2010)。そこで, KANSO, JFEアドバンテック(株), および, JAMSTECの共同研究「標準溶存酸素センサーとその校正に必要な溶存酸素標準物質の開発」(2010～2013年度), および, 「小型溶存酸素センサーの改良と溶存酸素標準物質の長期安定性評価」(2014年度)により, 溶存酸素標準物質の実現に向け開発が継続された(lots Pre 14～18)。アルミ缶にガス・水蒸気バリア性が高いプラスチック中栓を採用することで, アルミ袋による脱気包装することなく全炭酸・溶存酸素の安定性が大きく改善された(lot Pre 16)。しかし, 大容量タンクを3台(320 Lを2台と200 Lを1台)

連結することにより, アルミ缶への分注時のタンク内圧の変化によるものと思われる溶存酸素の初期均質性の低下が見られた(lot Pre 18)。なお, センサーについては「小径プローブDO計ARO-PR」としてJFEアドバンテック(株)により製品化された。並行して, (株)マリン・ワーク・ジャパンとJAMSTECの共同研究「海水密度標準物質の開発」(2011～2012年度)により, 密度測定用標準海水のための各種プラスチックを含む容器や包装袋の検討を行った。最終的に, 500 mLアルミ缶にプラスチック中栓を採用したものが海水密度標準物質として最も適していることを確認した。これにより, 1本の標準海水で全炭酸・全アルカリ度・溶存酸素・密度(絶対塩分)・実用塩分等の複数の分析項目に対応した, 天然海水を原料とする無毒のマルチパラメータ標準海水として集約した。また, JAMSTECからNMIJの委託研究「海水密度絶対測定に関する研究」(2012年度)により, 標準海水の密度を国際単位系(SI)へのトレーサビリティを確保して高精度(1 ppmの標準不確かさ)で測定するための液中ひょう量装置を開発した。現在, NMIJでは, 開発した液中ひょう量装置を用いた海水を含む水溶液の密度校

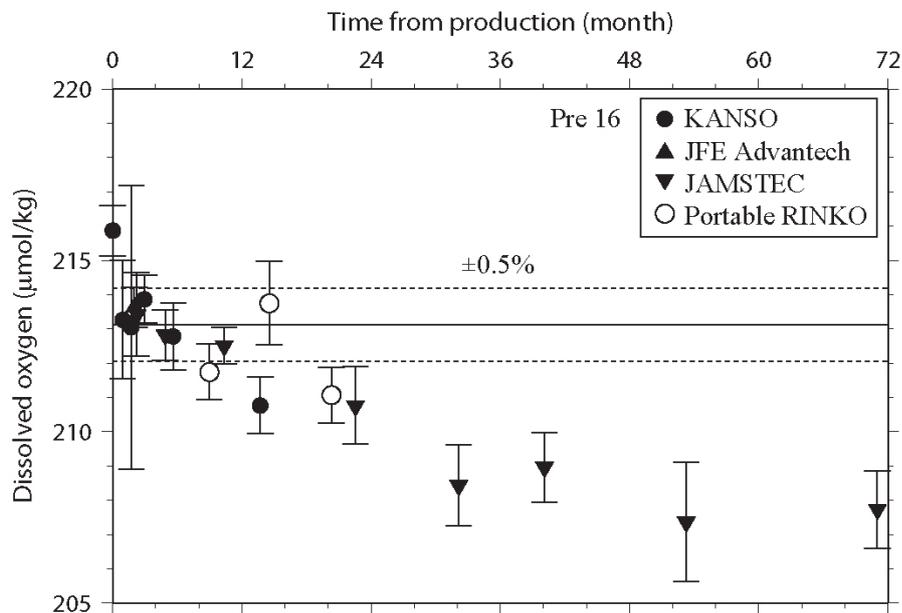


Fig. 19. Temporal changes of dissolved oxygen concentrations of multiparametric standard seawater (lot Pre 16)

正サービス（依頼試験）を行っている。

4.3.3. 開発の現状

ここでは、長期（6年間）に渡る評価が行われたロット（Pre 16）を中心に紹介する。実用塩分、全炭酸、および、全アルカリ度については、6年間で有意な経時変化は見られず、ばらつきの幅も、それぞれ、 ± 0.00026 (Uchida *et al.*, 2020), $\pm 3 \mu\text{mol}/\text{kg}$, および, $\pm 1 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 程度であった。しかし、溶存酸素については、保管温度の飽和濃度に近づくような経時変化が見られ、目標とする安定性 ($\pm 0.5\%$) は一年程度しか維持できていない (Fig. 19)。また、溶存酸素については、初期均質性にも問題が見られた (lot Pre 16 では $\pm 0.5\%$ であったが, Pre 18 では $\pm 1.4\%$ 程度)。製造直後の溶存酸素濃度が高いが (Fig. 19), これは、ウインクラ法妨害物質の一つである過酸化水素の影響と思われる。過酸化水素はオートクレーブにより生成されたものと考えられ、時間とともに指数関数的に減少し、製造から2年でほぼゼロとなる。pHについては、3年間の安定性評価で、測定した航海毎、あるいは、機関毎に値が大きく異なったが (± 0.02 程度)、標準海水の変質というよりは分析の問題と思われる。溶存有機炭素についても、2年間の安定性評価でばらつきは大きかったが ($\pm 7 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 程度)、トレンド的な変化は無く分析の問題の可能性もあるかもしれない。

4.3.4. 開発の今後

科研費基盤 (C) 「深海環境変化に基づく地球温暖化の解明」(2018～2020年度)により、KANSOと共同で、均質性・安定性の向上を目指して超大容量 (500 L) タンク1台のみの使用やスクリーキャップの上からブチルゴムを巻くなど、いくつかの変更を施したロット (Pre 19) を2019年2月に製造した。JAMSTEC, KANSO, 気象庁, NMIJ, 広島大学などの共同で、溶存酸素・全炭酸・全アルカリ度・pH・栄養塩・実用塩分・密度 (絶対塩分)・溶存有機炭素・蛍光溶存有機物・ヨウ素酸塩・過酸化水素などの均質性・安定性評価、溶存酸素の機関間比較、および、実用塩分測定用標準海水のバッチ間オフセットの評価への利用などを計画している。また、NMIJでは、海水密度絶対測定の再現性向上を目指した液中ひょう量装置の改良を行っている。さらに、科研費挑戦的萌芽研究「高精度絶対塩分計の開発」(2014～2015年度)、および、JAMSTECの特別推進プログラム

「革新的手法による超深海塩分測定の挑戦」(2017～2018年度)により開発した、屈折率測定に基づく超高感度海水密度計 (Uchida *et al.*, 2019) を用いた高感度な密度 (絶対塩分) の評価も計画している。

5. 終わりに

栄養塩 CRM を中心として海水標準物質の現状と将来の展望について紹介してきた。個々の課題については各章で述べられているので、ここでは総括的な課題を取り扱う。

栄養塩 CRM の開発の背景と歴史については詳細に述べられており、読者にもその重要性が十分に伝わったのではないと思われる。20年以上の努力の結果、日本発の栄養塩 CRM が世界標準になりつつある。しかし課題もある。栄養塩 CRM では硝酸塩、亜硝酸塩、リン酸塩、ケイ酸塩については認証 (certified) されているが、要望が多いアンモニウム塩については認証されていない。保存実験を行ってきたが、硝酸塩、亜硝酸塩に濃度変化が無いのにアンモニウム塩には濃度変化が検出された。原因については、現在検討中である。栄養塩 CRM の製作・供給体制についても課題がある。特に高濃度の栄養塩 CRM を作製するためには、1,000 m 深程度の海水を採取し、その場で直ちに簡易殺菌の作業ができる船が必要となる。船を備船として使用する場合、その備船料は栄養塩 CRM の販売価格に反映されることになり、結果として価格が高騰してしまい、普及を妨げることになる。実際の船上での作業は数日で終了するため、正味の費用はより少額となる筈であるが、船を所有する機関からすれば、港から港までではなく、その途中での作業についての額の算出は難しいようである。サイエンスとは直接関係のない話であるが、大きな課題である。

海水標準物質は、海洋環境の長期変動を正確に把握し理解するためには不可欠である。海水標準物質が普及し継続して使用されれば、海洋全体でどのような変動が起こっているかをとらえることが可能となる。実際、1990年代から普及している炭酸系 CRM では、全球海洋規模で海洋がどれほど大気中に放出された CO_2 を吸収しているかを評価することに成功している (Gruber *et al.*, 2019)。海洋環境変動で対応を急がれているものには、

富栄養化, 貧酸素化などがあり, これらの変動の把握と理解には栄養塩 CRM のほか, 溶存酸素, 密度, 有機物などの環境標準物質が必要となる。栄養塩 CRM の開発の成功を機に, 現在開発が進められている。10 年後には, いくつかの海水標準物質を手に入れることができるかもしれない。

謝 辞

本総説は 2018 年 11 月 9 日に JAMSTEC 東京事務所で開催された「海水標準物質開発 25 周年記念シンポジウム」の内容に基づいています。当日は 50 名を超える参加者となり, 活発な質疑応答がありました。参加された皆様に感謝いたします。また, 当日会場での事務を担当して頂いた JAMSTEC と KANSO のスタッフの皆様にも, あらためて感謝いたします。Fig. 7 の作成には, Ocean Data View, Schlitzer, R. <http://odv.awi.de.2018> を使用しました。

References

- Aminot, A., and D. S. Kirkwood (1995) : Report on the result of the fifth ICES inter-comparison study for nutrients in seawater, ICES Cooperative Research Report no. 213.
- Anderson, L. A., and J. L. Sarmiento (1994) : Redfield ratios of remineralization determined by nutrient data analysis. *Global Biogeochemical Cycles*, **8** (1), 65-80.
- Aoyama, M., S. Becker, M. Dai, H. Daimon, L. I. Gordon, H. Kasai, R. Kerouel, N. Kress, D. Masten, A. Murata, N. Nagai, H. Ogawa, H. Ota, H. Saito, K. Saito, T. Shimizu, H. Takano, A. Tsuda, K. Yokouchi, and A. Youenou (2007) : Recent comparability of Oceanographic Nutrients Data: Results of a 2003 Intercomparison Exercise using Reference Materials. *Anal. Sci.*, **23**, 1151-1154.
- Aoyama, M. *et al.* (2008) : 2006 Inter-laboratory Comparison Study for Reference Material for Nutrients in Seawater, Technical Reports of the Meteorological Research Institute, No. 58, 104pp, Tsukuba, Japan.
- Aoyama, M. *et al.* (2010a) : 2008 Inter-laboratory Comparison Study for Reference Material for Nutrients in Seawater, Technical Reports of the Meteorological Research Institute, No. 60, 134pp, Tsukuba, Japan.
- Aoyama, M., A. G. Dickson, D. J. Hydes, A. Murata, J. R. Oh, P. Roose, and E.M.S. Woodward, (Eds.) (2010b) : Comparability of nutrients in the world's ocean. Tsukuba, JAPAN: MOTHER TANK, 148 pp.
- Aoyama, M., H. Ota, M. Kimura, T. Kitao, H. Mitsuda, A. Murata, and K. Sato (2012) : Current status of homogeneity and stability of the reference materials for nutrients in seawater, *Anal. Sci.*, **28**, 911-916.
- Aoyama, M. *et al.* (2016) : IOCCP-JAMSTEC 2015 Inter-laboratory Calibration Exercise of a Certified Reference Material for Nutrients in Seawater. IOCCP Report Number 1/2016, ISBN 978-4-901833-23-3.
- Aoyama, M. *et al.* (2018) : IOCCP-JAMSTEC 2018 Inter-laboratory Calibration Exercise of a Certified Reference Material for Nutrients in Seawater. Yokosuka, Japan, International Ocean Carbon Coordination Project / Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology (JAMSTEC), 214pp. (IOCCP Report Number 1/2018) .
- 青山道夫 (2018) : ガス分画連続流れ方式の分析装置を用いた高精度で相互比較可能な海水中の溶存栄養塩類 (N, P, Si) 分析方法, p.G302JP-1-17. 海洋観測ガイドライン, Vol. 3, Chap. 2, 日本海洋学会編.
- Becker, S., M. Aoyama, E. M. S. Woodward, K. Bakker, S. Coverly, C. Mahaffey, and T. Tanhua (2019) : GO-SHIP Repeat Hydrography Nutrient Manual, 2019: The precise and accurate determination of dissolved inorganic nutrients in seawater; Continuous Flow Analysis methods and laboratory practices. DRAFT FOR COMMUNITY COMMENT., Plymouth Marine Laboratory, 49 pp.
- Bindoff, N. L. *et al.* (2007) : Observations: Oceanic Climate Change and Sea Level. In: Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, edited by S. Solomon *et al.*, Cambridge University Press, pp.385-433.
- Bockmon, E. E. and A. G. Dickson (2015) : An inter-laboratory comparison assessing the quality of seawater carbon dioxide measurements. *Mar. Chem.*, **171**, 36-43.
- Broecker, W. S. (1974) : "NO", a conservative water-mass tracer, *Earth Planet. Sci. Lett.*, **23**, 100-107.
- Broecker, W. S. (1991) : The Great Ocean Conveyor. *Oceanography*, **4**, 79-89.
- Cheong, C., N. Nonose, T. Miura, and A. Hioki (2014) : Improved accuracy of determination of dissolved silicate in seawater using absorption spectrometry. *Accred. Qual. Assur.*, **19**, 31-40.
- Cheong, C., Y. Yamauchi, and T. Miura (2018) : Determination of Dissolved Silica in Seawater by Ion-exclusion Chromatography with Post-column Derivatization / Silicomolybdenum Yellow Detection. *Anal. Sci.*, **34**, 477-481.
- Cheong, C., A. Sakaguchi, K. Sueki, and M. Ohata (2020) : Evaluation of calibration method for accurate analysis of dissolved silica by continuous flow analysis. *Anal. Sci.*, **36**, 247-253.
- Clance, V and S. Willie (2004) : Preparation and certification of a reference material for the determination of nutrients in seawater. *Anal. Bioanal. Chem.*, **378**, 1239-1242.
- Cutter, G., K. Casciotti, P. Croot, W. Geibert, L. Heimbürger, M. Lohan, H. Planquette, and T. van der Fliert (2017) : Sampling and Sample-Handling Protocols for GEOTRACES Cruises. version 3.0. 139 pp.
- Dickson A. G. (2010) : Standards for ocean measurements. *Oceanography*, **23** (3), 34-47.
- Dore, J. E., T. Houlihan, D. V. Hebel, G. Tien, L. Tupas, and D. M. Karl (1996) : Freezing as a method of sample preservation for the analysis of dissolved inorganic nutrients in seawater. *Mar. Chem.*, **53**, 173-185.
- Glibert, P. M. (2016) : Margalef revisited: A new phytoplankton mandala incorporating twelve dimensions, including nutritional physiology. *Harmful Algae*, **55**, 25-30.
- Gruber *et al.* (2019) : The oceanic sink for anthropogenic CO₂ from 1994 to 2007. *Science*, **363**, 1-7.
- Hansell, D.A. (2005) : Dissolved organic carbon reference material program. *Eos, Transactions American Geophysical Union*, **86**, 318.

- Hioki, A., and J. W. McLaren (2008) : Direct determination method of nitrate ions in seawater by UV-detection ion-chromatography with hydrochloric acid/sodium chloride eluent. *AIST Bulletin of Metrology*, **7**, 51-59.
- Holmes, R. M., A. Aminot, R. K erouel, B. A. Hooker, and B. J. Peterson (1999) : A simple and precise method for measuring ammonium in marine and freshwater ecosystems. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **56**, 1801-1808.
- Hydes, D. *et al.* (2010) : Determination of dissolved nutrients (N, P, Si) in seawater with high precision and inter-comparability using gas-segmented continuous flow analysers. In: The GO-SHIP Repeat Hydrography Manual: A Collection of Expert Reports and Guidelines, IOC-CP.
- International Organization for Standardization (ISO) (2006) : ISO Guide 35: Reference materials—General and statistical principles for certification (ISO GUIDE 35: 2006 (E)).
- International Organization for Standardization (ISO) (2009) : ISO Guide 34: General requirements for the competence of reference material producers (ISO GUIDE 34: 2009 (E)).
- Karl, D.M., and K.M. Björkman (2015) : Dynamics of DOP. p. 233-334. In *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*, edited by D. A. Hansell, and C.A. Carlson, Academic Press, San Diego, USA.
- Karl, D. M., K. M. Björkman, J. E. Dore, L. Fujieki, D. V. Hebel, T. Houlihan, R. M. Letelier, and L. M. Tupas (2001) : Ecological nitrogen-to-phosphorus stoichiometry at station ALOHA. *Deep Sea Research Part II*, **48**, 1529-1566.
- Kawagucci, S. *et al.* (2018) : Hadal water biogeochemistry over the Izu-Ogasawara Trench observed with a full-depth CTD-CMS. *Ocean Sci.*, **14**, 575-588.
- Kawano, T., M. Aoyama, T. Joyce, H. Uchida, Y. Takatsuki, and M. Fukasawa (2006) : The latest batch-to-batch difference table of standard seawater and its application to the WOCE onetime sections. *J. Oceanogr.*, **62**, 777-792.
- Kodama, T., T. Ichikawa, K. Hidaka, and K. Furuya (2015a) : A highly sensitive and large concentration range colorimetric continuous flow analysis for ammonium concentration. *J. Oceanogr.*, **71**, 65-75.
- Kodama, T., T. Setou, M. Masujima, M. Okazaki, and T. Ichikawa (2015b) : Intrusions of excess nitrate in the Kuroshio subsurface layer. *Cont. Shelf Res.*, **110**, 191-200.
- Kodama, T., Y. Igeta, M. Kuga, and S. Abe (2016) : Long-term decrease in phosphate concentrations in the surface layer of the southern Japan Sea. *J. Geophys. Res.*, **121**, 7845-7856.
- Kodama, T. *et al.* (2017) : Presence of high nitrate to phosphate ratio subsurface water in the Tsushima Strait during summer. *J. Oceanogr.*, **73**, 759-769.
- 児玉武稔, 小埜恒夫, 葛西広海, 清本容子, 桑田晃 (2017) : 蛍光法によるクロロフィル *a* 濃度測定の研究機関比較. *水産技術*, **9**, 77-81.
- Lee, T. and T.-K. Rho (2015) : Seawater N/P ratio of the East Sea. *The Sea*, **20**, 199-205.
- Mitsuda, H., M. Kimura, A. Muraio, R. Ishii, Y. Takeda, H. Ota, and M. Aoyama (2010) : Development of a reference material for dissolved oxygen in seawater. In: *Comparability of nutrients in the world's ocean*. Aoyama *et al.* (eds.), Mother Tank, Tsukuba, Japan, 101-112.
- Murata, A. (2010) : The development of non-toxic reference materials for oceanic CO₂ measurements: Current status and future plans. In: *Comparability of nutrients in the world's ocean*. Aoyama *et al.* (eds.), Mother Tank, Tsukuba, Japan, 31-41.
- Nagata, T. (2000) : Production mechanisms of dissolved organic matter. p. 121-152. In *Microbial Ecology of the Oceans*, edited by D. L. Kirchmann, Wiley-Liss, New York, USA.
- Nakano, T. (2010) : R/V Ryofu Maru Cruise Report: P09. [Available online at http://cchdo.ucsd.edu/data_access/show_cruise?ExpoCode=49RY20100706].
- National Research Council of the National Academies (2002) : *Chemical Reference Materials, Setting the Standards for Ocean Science*. The National Academies Press, Washington, D.C., 130 pp.
- Nishikawa, H., I. Yasuda, K. Komatsu, H. Sasaki, Y. Sasai, T. Setou, and M. Shimizu (2013) : Winter mixed layer depth and spring bloom along the Kuroshio front: implications for the Japanese sardine stock. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **487**, 217-229.
- Nonose, N., C. Cheong, Y. Ishizawa, T. Miura, and A. Hioki (2014) : Precise determination of dissolved silica in seawater by ion-exclusion chromatography isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, **840**, 10-19.
- 小川浩史 (2018) : DOC/DON/DOP. p.G310JP-1-13. *海洋観測ガイドライン*, Vol. 3, Chap. 10, 日本海洋学会編.
- Olsen, A., R. M. Key, S. van Heuven, S. K. Lauvset, A. Velo, X. Lin, C. Schirnick, A. Kozyr, T. Tanhua, M. Hoppema, S. Jutterstr m, R. Steinfeldt, E. Jeansson, M. Ishii, F. F. Pérez and T. Suzuki (2016) : The Global Ocean Data Analysis Project version 2 (GLODAPv2) - an internally consistent data product for the world ocean. *Earth Syst. Sci. Data*, **8**, 297-323, 2016, doi:10.5194/essd-8-297-2016.
- Ota, H. (2003) : Japan Patent Kokai 2003-214996.
- Ota, H., T. Kitao, and M. Kimura (2006) : Japan Patent Kokai 2006-058080.
- Ota, H., T. Kitao, H. Mitsuda, M. Kimura, and T. Kitao (2010) : Reference materials for nutrients in seawater: Their development and present homogeneity and stability. In: *Comparability of nutrients in the world's ocean*, Aoyama *et al.* (eds.), Mother Tank, Tsukuba, Japan, 11-30.
- Pawlowicz, R., R. Feistel, T.J. McDougall, P. Ridout, S. Seitz, and H. Wolf (2016) : Metrological challenges for measurements of key climatological observables Part 2: Oceanic salinity. *Metrologia*, **53**, R12-R25.
- Richter, W. (1997) : Primary methods of measurement in chemical analysis. *Accred. Qual. Assur.*, **2**, 354-359.
- Ryther, J. H. (1969) : Photosynthesis and Fish Production in the Sea. *Science*, **166**, 72-76.
- Sakamoto, C. M., G. E. Friederich, and L. A. Codispoti (1990) : MBARI procedures for automated nutrient analyses using a modified Alpkem Series 300 Rapid Flow Analyzer, 84 pp.
- Sharp, J. H., C. A. Carlson, E. T. Peltzer, D. M. Castle-Ward, K. B. Savidge, and K. R. Rinker (2002a) : Final dissolved organic carbon broad community intercalibration and preliminary use of DOC reference materials. *Mar. Chem.*, **77**, 239-253.
- Sharp, J. H., K. R. Rinker, K. B. Savidge, J. Abell, J. Yves Benaim, D. Bronk, D. J. Burdige, G. Cauwet, W. Chen, M. D. Doval, D. Hansell, C. Hopkinson, G. Kattner, N. Kaumeyer, K. J. McGlathery, J. Merriam, N. Morley, K. Nagel, H. Ogawa, C. Pollard, M. Pujo-Pay, P. Raimbault, R. Sambrotto, S. Seitzinger, G. Spyres, F. Tirendi, T. W. Walsh, and C. S. Wong (2002b) : A preliminary methods comparison for measurement of dissolved organic nitrogen in seawater. *Mar. Chem.*, **78**, 171-184.

- Stendardo, I., N. Gruber, and A. Körtzinger (2009) : CARINA oxygen data in the Atlantic Ocean. *Earth Syst. Sci. Data*, **1**, 87-100.
- Suzuki, T., M. Ishii, M. Aoyama, J. R. Christian, K. Enyo, T. Kawano, R. M. Key, N. Kosugi, A. Kozyr, L. A. Miller, A. Murata, T. Nakano, T. Ono, T. Saino, K. Sasaki, D. Sasano, Y. Takatani, M. Wakita and C. Sabine (2013) : PACIFICA Data Synthesis Project. ORNL/CDIAC-159, NDP-092. Carbon Dioxide Information Analysis Center, Oak Ridge National Laboratory, U.S. Department of Energy, Oak Ridge, Tennessee.
- Uchida, H., T. Kawano, M. Aoyama, and A. Murata (2011) : Absolute salinity measurements of standard seawaters for conductivity and nutrients. *La mer*, **49**, 119-126.
- Uchida, H., Y. Kayukawa, and Y. Maeda (2019) : Ultra high-resolution seawater density sensor based on a refractive index measurement using the spectroscopic interference method. *Sci. Rep.*, **9**:15482.
- Uchida, H., T. Kawano, T. Nakano, M. Wakita, T. Tanaka, and S. Tanihara (2020) : An expanded batch-to-batch correction for IAPSO standard seawater. *J. Atmos. Oceanic Technol.*, doi:10.1175/JTECH-D-19-0184.1.
- Velo, A., F.F. Pérez, X. Lin, R.M. Key, T. Tauhua, M. de la Paz, A. Olsen, S. van Heuven, S. Jutterström, and A.F. Ríos (2010) : CARINA data synthesis project: pH data scale unification and cruise adjustments. *Earth Syst. Sci. Data*, **2**, 133-155.
- Weiss, J (2016) : Handbook of Ion Chromatography, Vol. 3, Wiley-VCH, Weinheim, p.1,437-1,440.
- Yasunaka, S. *et al.* (2018) : Basin-scale distribution of NH_4^+ and NO_2^- in the Pacific Ocean. *J. Oceanogr.*, **74**, 1-11.
- Yoshimura, T. (2013) : Appropriate bottles for storing seawater samples for dissolved organic phosphorus (DOP) analysis: A step towards the development of DOP reference materials. *Limnology and Oceanography: Methods*, **11**, 239-246.
- Yoshimura, T. and J. H. Sharp (2010) : Additional calibration of nutrient reference materials for dissolved organic carbon, nitrogen, and phosphorus. p. 91-100. In *Comparability of Nutrients in The World's Ocean*, edited by M. Aoyama, Mother Tank, Tsukuba, Japan.
- Zhang, J.-Z. and P. B. Ortner (1998) : Effect of thawing condition on the recovery of reactive silicic acid from frozen natural water samples. *Water Res.*, **32**, 2553-2555.

Current situation and future perspective for environmental standards of seawater: commencing with Certified Reference Materials (CRMs) for nutrients

Akihiko Murata^{1*}, Michio Aoyama^{1,2}, Chikako Cheong³, Tsutomu Miura³, Takeshi Fujii⁴, Hitoshi Mitsuda⁴, Takashi Kitao⁴, Daisuke Sasano⁵, Toshiya Nakano⁶, Naoki Nagai⁵, Taketoshi Kodama⁷, Hiromi Kasai⁸, Yoko Kiyomoto⁹, Takashi Setou⁷, Tsuneko Ono⁷, Shinichiro Yokogawa¹⁰, Yasuhiro Arii¹⁰, Tomomi Sone¹⁰, Yoshiko Ishikawa¹⁰, Takeshi Yoshimura¹¹, Hiroshi Uchida¹, Tatsuya Tanaka¹⁰, Yohei Kayukawa³ and Masahide Wakita¹²

Abstract

Seawater certified reference materials (CRMs) are indispensable for the accurate quantification of long-term changes in the marine environment. Nutrient concentrations, for instance, have been measured since the earliest days of scientific oceanographic observations in the late 19th century. This long history of measurements implies that numerous nutrient concentration datasets exist from many parts of oceans. Such datasets could greatly facilitate studies of environmental changes in oceans. However, there have been few studies of environmental changes based on nutrient concentrations in oceans because historical nutrient concentration datasets have poor internal and external comparability; thus, it is difficult to compare data analyzed by one laboratory with data from a similar part of the ocean analyzed by another laboratory. Nutrient CRMs developed in Japan and distributed from the country are beginning to be widely used by the global oceanographic community. This development allows for the detection of long-term changes in the marine environment based on nutrient concentration measurements. In Chapter 2 of this review, we describe the scientific background of nutrient CRMs and the history of their development. We then describe the methods by which nutrient CRMs are produced and distributed for use in oceanographic observations. We also describe the development of nutrient CRMs traceable to SI units. In addition, we describe the activity of the Scientific Committee on Oceanic Research (SCOR) Working Group #147, the purpose of which is to facilitate the international distribution of nutrient CRMs. In Chapter 3, we describe the application of nutrient CRMs for quality control and assurance. The use of nutrient CRMs in monitoring climate change in oceans' and fisheries' research is illustrated. We also describe the merits of using nutrient CRMs for observations, which require high accuracy, such as the Global Ocean Ship-Based Hydrographic Investigations Program (GO-SHIP). In Chapter 4, we describe the development of CRMs for dissolved organic matter, which is likely to be needed in the future. Furthermore, we discuss the development of multiparametric standard seawater in a single bottle in which multiple properties (carbonate system parameters, concentrations of nutrients, dissolved oxygen, fluorescent dissolved organic matter, and density (absolute salinity)) are certified. One purpose

of distributing nutrient CRMs is to facilitate the elucidation of global-scale temporal changes in the oceanic environment using nutrient data. Global-scale variations of oceanic inorganic carbonate system properties have already been detected owing to the availability of the Dickson CRM, which has been available and used worldwide since the 1990s. We discuss the Dickson CRM because its availability and use provides motivation for the worldwide distribution of nutrient CRMs. In the last chapter, we summarize issues related to seawater environmental standards. The most important issue is how to maintain a system for distributing CRMs. The maintenance of that system must address issues including the collection of seawater as raw material for CRMs, the identification of certified distribution centers, and the use of CRMs for commercial and research purposes.

Key words: Environmental standards in seawater, Nutrient CRMs, Comparability, Traceability, Changes of the marine environment

(Corresponding author's e-mail address: murataa@jamstec.go.jp)

(Received 24 September 2019; accepted 4 August 2020)

(doi: 10.5928/kaiyou.29.5_153)

(Copyright by the Oceanographic Society of Japan, 2020)

-
- 1 RIGC, Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology (JAMSTEC), Yokosuka, Japan, 237-0061
 - 2 University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8577 Japan
 - 3 National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), National Metrological Institute of Japan (NMIJ), Tsukuba, Japan, 305-8563
 - 4 Laboratory for Instrumentation and Analysis, KANSO CO., LTD., 3-1-1 Higashikuraji, Katano, Osaka, 576-0061, Japan
 - 5 Global Environment and Marine Department, Japan Meteorological Agency, Tokyo, Japan, 100-8122
 - 6 Nagasaki Local Meteorological Observatory, 11-51 Minamiyamate, Nagasaki, 805-0931, Japan
 - 7 Fisheries Resource Institute, Japan Fisheries Research and Education Agency, Yokohama, Japan, 236-8648
 - 8 Kushiro Field Station, Fisheries Resource Institute, Japan Fisheries Research and Education Agency, Kushiro, Japan, 085-0802
 - 9 Fisheries Technology Institute, Japan Fisheries Research and Education Agency, Nagasaki, Japan, 851-2213
 - 10 MARINE WORKS JAPAN LTD., 3-54-1 Oppamahigashi, Yokosuka, Japan, 237-0063
 - 11 Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Kita-10 Nishi-5, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 060-0810, Japan
 - 12 Mutsu Institute for Oceanography, JAMSTEC, 690 Kitasekine, Sekine, Mutsu, Aomori 035-0022, Japan.
- * Corresponding author: Akihiko Murata
e-mail: murataa@jamstec.go.jp