



日本の海洋科学：現在と将来

世界の栄養塩濃度の 比較可能性

—過去，現在そして未来—

青山 道夫

**Comparability of nutrients data in the world
ocean: past, present and future**

Michio Aoyama

あおやま みちお：海洋研究開発機構海洋観測研究センター
/筑波大学アイソトープ環境動態研究センター

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きた。しかし、比較可能性が確保されておらず、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確保する認証標準物質が無かったことに起因している。本総説では、世界の栄養塩濃度の比較可能性についてその過去、現在そして未来について記述する。

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、その測定値は比較可能性を確保するデータマネジメントの仕組みと栄養塩測定用認証標準物質がなかったため、また分析手法の検証手段が統一されていなかったために、地域や国に依存して、個々の分析者によるデータ取得への取組方に違いが大きかった。従って、測定の高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その理解のために栄養塩データを統合的に活用することは困難であり、最近になってやっと厳密な解析が可能となってきた。

日本の海洋学コミュニティでは、過去25年に亘り、本論の著者である青山の個別研究に始まり、その後数回にわたる栄養塩測定国際比較実験 (Aoyama, 2006; Aoyama *et al.*, 2018; Aoyama *et al.*, 2016; Aoyama *et al.*, 2008; Aoyama *et al.*, 2010a) 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δροグラフィー航海での栄養塩標準物質を全測点で使用した測定などを通して、栄養塩標準物質の研究と開発、栄養塩標準物質を基軸としたデータマネジメントの運用を世界に先駆けて行ってきた。その後も「みらい」の航海では栄養塩標準物質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。さらに栄養塩標準物質を組織だって使用することにより、栄養塩測定の濃度に依存する不確かさの見積もりが可能と

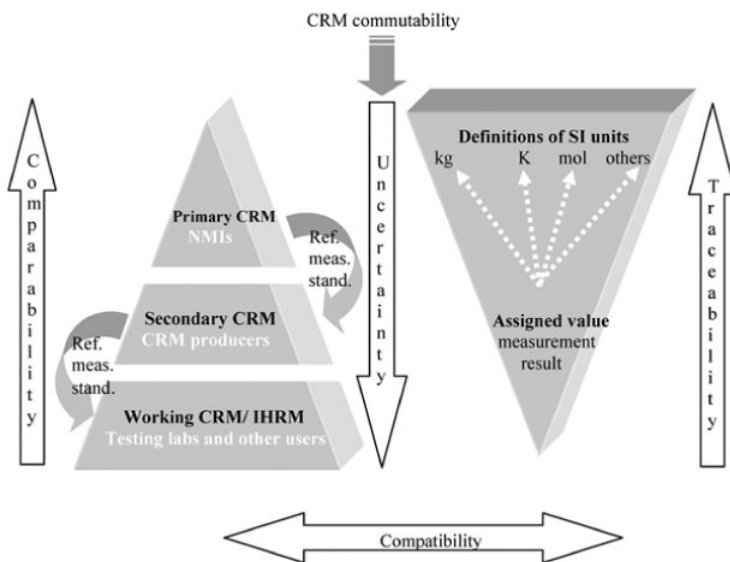


図1 国際単位系 (SI) に関する概念図. Ilya Kuselman and Aleš Fajgelj, Fig. 3 of IUPAC/CITAC Guide: Selection and use of proficiency testing schemes for a limited number of participants-chemical analytical laboratories (IUPAC Technical Report), Pure Appl. Chem., Vol. 82, No. 5, pp. 1099-1135, 2010.

なった。

世界の海洋学コミュニティでは、長期間にわたり ICES の 1965 年の相互比較実験に見られるように比較可能性を高める努力が行われてきた。(詳細は第 4 章国際共同実験の歴史で詳しく述べる) さらに近年では、研究者間の国際協力を進め、栄養塩データの比較可能性の向上を目指すため、2009 年に政府間海洋学委員会は (Intergovernmental Oceanographic Commission, IOC) A JOINT ICES-IOC STUDY GROUP ON NUTRIENT STANDARDS (以下 SGONS) を立ち上げ、青山が共同議長を務めるとともに、国際協力を進める体制を確立した (Aoyama *et al.*, 2010b)。SGONS は栄養塩標準物質の国際的な検証実験や栄養塩分析マニュアルの出版も行ってきた (Hydes *et al.*, 2010)。さらにより発展した国際協力関係と栄養塩データの比較可能性の向上を目指して国際海洋科学委員会 (Science Committee of Ocean Research, 以降 SCOR) の Working Group を申請し、青山が共同議長を務める SCOR WG#147 COMPNUT が 2015 年から活動を行った。また WG147 は一年期間の延長が認められ、2019 年まで活動を継続し、最終的に 2010 年に出版したマニュアルを改定した栄養

塩分析マニュアルを出版して (Becker *et al.*, 2019) WG147 の活動を 2019 年 9 月で終了した。(https://scor-int.org/group/147/)。

現在、株式会社環境総合テクノス (以下「KANSO」) が製作している栄養塩標準物質 (Mitsuda *et al.*, 2010 ; Ota *et al.*, 2010) が栄養塩データの比較可能性を高めるためものとして均質性、安定性が国際共同実験で検証され最適であることが分っている (Aoyama *et al.*, 2012b)。この海洋環境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 SCOR と共同で、SCOR-JAMSTEC CRM の頒布を開始した。(http://www.jamstec.go.jp/scor) これも SCOR WG 147 の活動の一環である。さらに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 の開発が産業総合研究所検量標準総合センター (NMIJ) で行われた。

ここで国際単位系 (SI) について改めて簡単に触れておくとともに、図 1 にその基本的な体系をしめす。国際単位系 (SI) は、次元的に独立であるとともになされる七つの量、長さ、質量、時間、電流、

熱力学温度、物質質量及び光度について明確に定義された単位、メートル (m)、キログラム (kg)、秒 (s)、アンペア (A)、ケルビン (K)、モル (mol)、カンデラ (cd) を基礎として構築されている。測定器は標準器によって校正され、その標準器もより正確な（不確かさがより小さい）標準器によって校正される、というように測定器が校正の連鎖によって国際単位系 SI に辿り着けることが確かめられている場合、この測定器により得られた結果は SI にトレーサブルであると言う。すべての観測に用いる測定器は、原則として、明示的に SI にトレーサブルである必要がある。この意味は個々の測定器について、SI にトレーサブルであることの体系図が書けることである。「不確かさ」とは、1990 年代に入ってから利用されるようになった計測データの信頼性を表すための新しい尺度である。従来から、「誤差」や「精度」といった概念が計測の信頼性を表すために用いられてきた。しかし、技術分野や国によってこれらの使われ方がばらばらだったため、国際度量衡委員会のイニシアティブにより、計測データの信頼性を評価・表現する方法の統一に向けた取り組みが行われ、その成果として、1993 年に、計測に関わる主要な 7 国際機関からの共同出版の形で *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement* (計測における不確かさの表現ガイド) が世に出た (JCGM 100, 2008)。このガイドは、英文タイトルの頭文字をとってしばしば GUM (ガムと呼ばれる。) GUM では、不確かさを、計測によって得られる私たちの知識の曖昧さの程度をあらわすものとし、その定量的評価のための手順を詳しく説明している。その基本的な考え方は、様々な不確かさ成分を、

A) 標準偏差の計算という通常の統計解析による A タイプ評価

B) データ以外の様々な情報から、標準偏差に相当する大きさを推定する B タイプ評価

のどちらかの方法で求め、これらを合成することにより、全体としての不確かさを求めようというものである。不確かさは、計測データの信頼性が重要な意味をもつ様々な技術的、学術的文書の中

で利用されるようになっており、また、国際標準化機構が策定した ISO 9000 (品質システム) ISO 17025 (校正・試験機関の能力に対する一般的要求事項) などの国際規格のなかではその不確かさ評価が必須のものとして要求されている。栄養塩の場合には、リンや窒素の原子の数あるいは質量と単位質量あるいは単位体積で決まる濃度とその不確かさについて、国際単位系に準拠することが気候変動研究のように長期にわたる変動の研究を行うためには、不可欠である。

本稿においては、栄養塩認証標準物質の開発の歴史と科学的背景を述べるとともに、実際のデータの比較可能性の状況の一例をしめす。また 1965 年以降最近までの国際共同実験の歴史をその成果や教訓を概観することにより栄養塩データの比較可能性がどのように向上してきたか、残された問題は何か等を議論する。

2. 栄養塩認証標準物質の開発の歴史と科学的背景

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。また、人為起源 CO₂ の海洋での蓄積量評価において、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向上させる必要があった。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ためであると指摘されている (Bindoff *et al.*, 2007). 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が広がっている。

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。また WOCE WHPO は WOCE 航海参加者に ICES 第 6 回国際共同実験に参加するように呼び掛けたけれども、ICES 共同実験はこの第 5 回で最終となり第 6 回共同実験は実施されなかった。栄養塩標準が必要なのは認識されていたが、誰がそれを持ってくるかというところで議論は止まり、顔を見合わせるような状況であった。

日本では JAMSTEC が行った 1995 年の WOCE 航海において、航海前に JAMSTEC の実験室で作製した試作品の栄養塩 RM が初めて使われた。その後、栄養塩標準物質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 International Council for the Exploration of the Sea (ICES) の国際共同実験で配布された試料と同程度に達した。しかしこの時点ではリン酸塩の均一性はまだ 1% を超える状態であり、さらに努力が必要であった。青山は 2002 年の Ocean Science Meeting で発表を行い、4 年の保存に耐え、均一性も良い栄養塩標準物質ができたこと、1 ロット 300 本供給可能であること等を報告した。また、この時点では認証は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。栄養塩標準溶液は最終的に 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。また、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 (日本の場合は産総研 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。これにより栄養塩標準物質の SI トレーサビリティはリン酸塩と硝酸塩に関しては国際的な窒素とリンの標準に準拠して確立した。ケイ酸塩に関しては、適切な標準物質が得られなかったため、NMIJ は NIST のケイ酸塩標準液に準拠して認証を行った。現時点で、ケイ酸塩標準に関しては JAMSTEC と KANSO は NMIJ の協力のもと 5N 高純度二酸化ケイ素を高温でアルカリ溶解させて作るケイ素標準液の作成に成功し、それに対応するようにケイ酸塩の分析レシピも変更し、陸上の実験室では完全重量法および船上では容量法を用いてケイ酸塩分析が行えるようになっていた。作成したケイ素標準液は NMIJ によって値付けされ、SI トレーサブルとなっている。この方法はこれから認証される栄養塩 CRM に適用されるとともに JAMSTEC のみらい等の航海でのケイ酸塩分析に 2019 年 9 月の北極航海から実施されている (青山注: 執筆時点での分析結果がみらいから報告されてきており、順調に分析できている。)

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。

栄養塩標準物質が作成できるようになったので、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物質を 2003 年と 2004 年に配布し、時間と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った。これらの実験の結果は明示的に比較可能性が確保されることを示していた。また開発した栄養塩標準を使った最初の国際共同実験を 2003 年に実施した。以降国際共同実験を 2006 年、2008 年、2012 年、2014/2015 年、2017/2018 年と実施して (Aoyama, 2006; Aoyama *et al.*, 2018; Aoyama *et al.*, 2016; Aoyama *et al.*, 2008; Aoyama *et al.*, 2010a), 栄養塩濃度の比較可能性の向上に明示的に寄与するとともに残されている問題点を明らかにすることにも寄与してきた。これらの詳細は「4. 国際共同実験の歴史」を参照されたい。

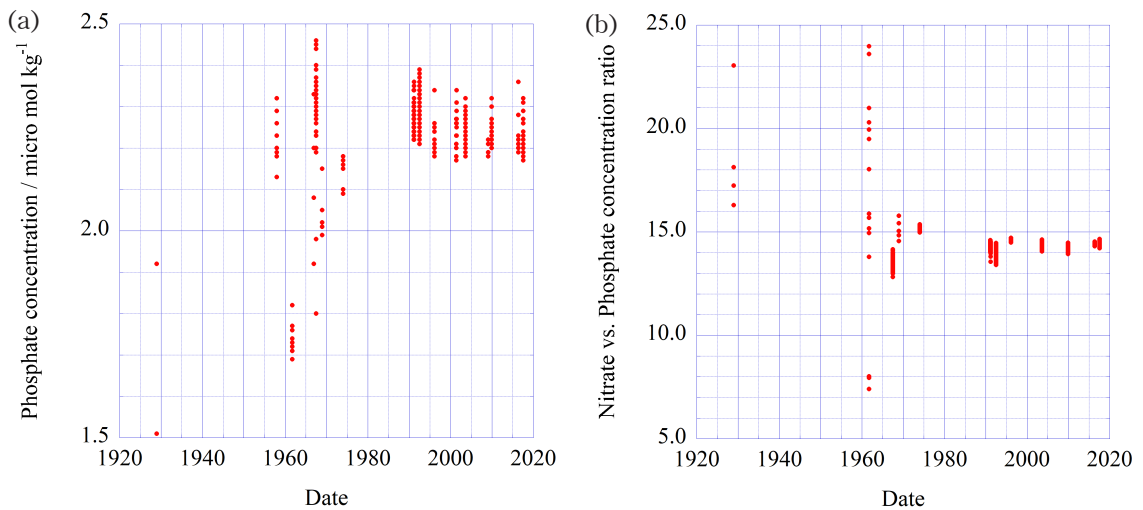


図2 南緯 30 度-南緯 32 度, 西経 170 度から西経 178 度, 深度 3400m以深の 1928 年から 2017 年までのリン酸塩濃度 (a) 及び硝酸塩濃度とリン酸塩濃度の比 (b) の経年変動. 栄養塩RMもしくはCRMが使用される 2003 年より前には比較可能性が確保されていないために, 自然変動でなく見かけの大きな変動が見えていることに注意が必要である. それに対して 2003 年以降ではリン酸濃度及び硝酸塩濃度とリン酸塩濃度の比はよく一致している.

3. 実際のデータの比較可能性の状況

図 2 (a) に南太平洋南緯 32 度の P06 ライン ニュージーランド北東海域西経 178 度から西経 170 度での深層 3400m 以深でのリン酸塩濃度の 1928 年から 2017 年までの経年変動を示す. この海域では, 1928 年の南極航海, 1950 年代後半の IGY 航海, 1960 年代のおそらく南極航海, 1970 年代の GEOSECS 航海, 1990 年代に WOCE を含む 3 つの航海および 2000 年代の栄養塩 CRM/RM を使った航海を含む WOCE 再観測航海による測定値が得られていた. 図 3 には図 2 と同じ海域での 1928 年から 2017 年までのリン酸濃度の鉛直分布を示す.

まず, 図 2 (a) で明らかことは濃度が比較的均一であると期待されている深層での栄養塩濃度の変動の大きさが, 報告された値では 1.5 から 2.5 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ と大きく変動しているが, 時代とともに分析の手法の向上と品質管理の向上により同じ航海内では濃度変動は小さくなっていること及び航海間の差が小さくなっていることが明瞭に見取

れることである. さらに比較可能性が確保されていないので, 平均値としてみると, 大きな 20 年程度の周期で増減を繰り返す周期的な経年変動をしているように見える. (青山注: ちろんこの変動は分析の比較可能性が確保されていないことによる人為的なものであると青山は確信している.) また, 図 3 で明らかであるが, 1990 年代より前の航海のリン酸塩濃度は平均値が 2000 年代航海のそれと系統的にずれているとともに, ばらつきの大きさも大きい. 実際の深層水の同海域でのリン酸塩濃度はもっと均一であるが, 分析の比較可能性が確保されていないことが見かけでばらつきを大きくしていることを明示的に示している. NP 比も 2000 年代では 14.3 程度で安定している図 2 (b).

4. 国際共同実験の歴史

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を行ってきた. ここにその歴史を振り返る. 国際共同実験の歴史について, 1 回目から 4 回目の ICES 共同実験の詳細は, 最初の 4 回の ICES

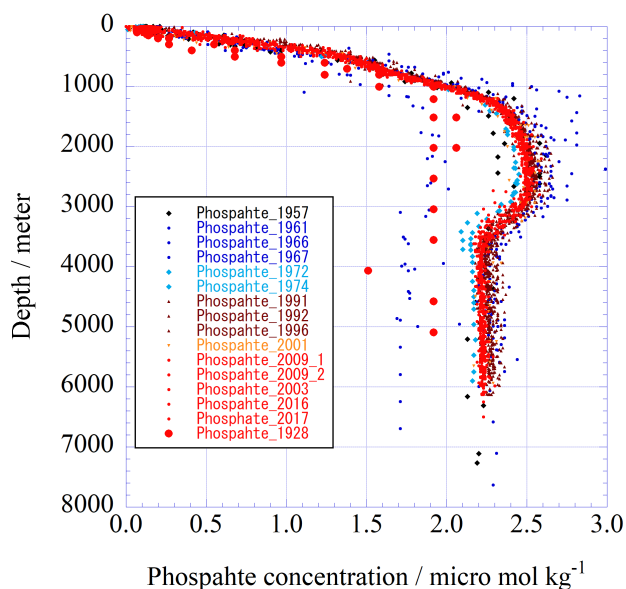


図3 南緯 30 度-南緯 32 度, 西経 170 度から西経 178 度海域での 1928 年から 2017 年までのリン酸塩濃度の鉛直分布. 栄養塩RMもしくはCRMが使用される 2003 年より前には比較可能性が確保されていないために, 自然変動でなく見かけの大きな変動が見えていることに注意が必要である. それに対して 2003 年以降ではリン酸濃度はよく一致している.

共同実験を含む 5 回目の Aminot and Kirkwood (1995) の詳細レポートから引用した (Aminot and Kirkwood, 1995). NOAA / NRC の 2 回の共同実験, 青山による MRI 2003, 2006, 2008, 2012 の共同実験の歴史および最近の IOCCP-JAMSTEC 共同実験の詳細な内容は最新の国際共同実験報告書の appendix VI (Aoyama *et al.*, 2018) をご覧いただきたい.

ICES 共同実験

第 1 回 ICES Exercise : 最初の共同実験は, 1965 年 6 月に 3 隻の研究船がコペンハーゲンで相互の合意によって行われ, 全くバルト海内の出来事であったと記されている. 各船は, 新たに採取された海水を同日にサブサンプリングし, 3 隻の参加船のそれぞれ船上で分析されている. 酸素量, 塩分, 塩素量, アルカリ度, およびリン酸塩が測定されている.

第 2 回 ICES Exercise : この時は 2 回に分けて実施されている. Part1 では, 1 回目と同様にバルト海中心で, 4 隻の研究船が集まって, 新鮮な海水をそれぞれで船上で酸素量, 塩分, 塩素量, pH, およびリン酸塩が測定されている. Part2 では, ノルウェイと英国が参加し, 測定項目に硝酸塩, 亜

硝酸塩, ケイ酸塩が追加されている. Grasshoff によって編集された最終報告書 (UNESCO, 1966 年) では, 硝酸塩や亜硝酸塩については言及していないが, 出席者の中からは, これらの結果は「含めるのがひどすぎる」と告白しているとされている. 関係者にとって公平を期すためと付記されていて, 1966 年はカドミウムベースの硝酸塩 / 亜硝酸塩還元技術の開発の初期段階であり, 還元に関する技術の問題の一部はおそらく当時十分にわかっていなかったと思われると記載されている. リン酸塩に関するこれまでの相互比較実験は, 新鮮な同一組成サンプルの同時分析で構成されていたことは注目に値し, Jones and Folkard (ICES, 1966) は, 個々の方法の詳細な実験室試験を実施した. 彼らは「この方法による無機リン酸塩の測定において, さらに相互較正の必要はないようだ」と発表しました. 明らかにこの幸福な状態は続くことができなかったし, 続かなかった. (青山注: 自動分析装置が登場しました, と記されているように, あらたな問題が発生したのだと推測できる.)

第 3 回 ICES Exercise : 共同実験の試料は 1969 年から 1970 年にかけて配布された. 20 か国 45 ラボが結果を報告した. 主催者は生の海水の不安定さ

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。またこの回から栄養塩に特化した共同実験となっている。この共同実験では、参加者は自分の実験室で分析を行いました。各測定に適切なブランク溶液が（意図的に）提供されているにもかかわらず、特にリン酸塩と硝酸塩の全体的な精度は期待外れであったと記されている。レポートは、「分析方法にはあまり差異はなかった。検量線溶液の作成の扱いに結果の差異が依存していることは明らかであったとしている。また、参加した研究所の名前と結果が表にされたが、それらを結合することはできませんでした。結果として、これが逆効果であった可能性があることを示唆しています。（青山注：ちなみに青山が行った、あるいは青山が調整者を務めた2003年以降の共同実験ではすべて実名で値が報告書に記載されている。）またレポートには「現在、世界中のラボが品質の低いデータを生成していることを認識しているということしか、ラボのパフォーマンスを向上させるための大きな動機付けはないと考えています。」と記されており、海水組成の栄養塩標準物質がないことが根本原因であるにも関わらず、海水組成の栄養塩標準物質作成を考えず精神論に走っているように著者には見える。）

第4回 ICES Exercise：この回の共同実験は全世界が相手ではなく、ICES参加国に限定されていた。また以下の3つの点で以前と異なっていた。

1) テストサンプルは、標準溶液ではなく、天然またはほぼ天然の海水でした。（厳密に言えば、これにより、共同実験は相互校正ではなく相互比較になった。）

2) 参加者は、ブランクサンプルが含まれていることに気がつかなかった。

3) 匿名性は廃止されました。参加者は最初から、最終報告書には研究室の身元、結果、連絡する手段が記載されていることを認識していました。

22か国から69の研究所が結果を提出し、83ページの最終報告書（Kirkwood *et al.*, 1991）がサンプルの配布から2年以内に参加者の手に渡っ

た。統計処理により、リン酸塩分析で整合性のある58の研究所、硝酸塩分析で整合性のある51の研究所、およびリン酸塩と硝酸塩両方に整合性がある48の研究所と、その中でコンセンサス濃度に特に近い12の研究所が特定されました。

第5回 ICES Exercise：栄養塩分析測定の品質管理の改善が必要と一般的に認識されていることにより、1993年に5回目のICES相互比較実験が実施されました。合計142セットのサンプルが31か国に配布された。結果は132の研究所によって返され、そのうち61研究所ICESが4回目の相互比較実験に参加しており、56研究所はQUASIMEME（ヨーロッパの海洋環境モニタリングに関する情報の品質保証）に参加していた。参加国も次に示すように各段に増加している。UK (22), Germany (18), Sweden (13), France (11), Spain (8), USA (7), Norway (5), Ireland (5), Australia (4), Canada (4), Netherlands (4), Denmark (3), Greece (3), Portugal (3), Belgium (2), Estonia (2), Finland (2), Italy (2), Poland (2), Argentina (1), Bermuda (1), China (1), Faroe Islands (1), Iceland (1), Japan (1), Latvia (1), Lithuania (1), New Zealand (1), Qatar (1), South Africa (1), Turkey (1)。

サンプル調製とオートクレーブの方法では、サンプルごとに2つの関連する栄養塩が準備されている。すなわち一方のシリーズでは硝酸塩と亜硝酸塩、もう一方のシリーズではリン酸塩とアンモニアが含まれていた。（青山注：ケイ酸塩はなかった）。

QUASIMEME：欧州連合（EU）は、1993年から1995年の間にQUASIMEMEプロジェクトをサポートしました。その目的は、ヨーロッパの海洋環境監視情報の全体的な品質保証プログラムを開発することでした。この先駆的なプロジェクトの結果として、監視と研究の両方の目的で、海洋環境プログラムで測定されたほとんどの測定項目について、海洋ネットワークと実験室の性能評価が確立されました。QUASIMEMEの栄養塩部分は、ICESの専門家の画期的な過去の研究に完全に基づいており、ICESの共同実験の原理と方法論が

使用されました。このプロジェクトは、定期的に学習プログラムと実験室の試験計画に従う実験室がデータの品質を改善したことを証明しました。1995年にEUの資金調達を終了した後、QUASIMEMEスキームはサブスクリプションベースで継続されました。今では世界中のどの研究所も参加することが可能になりました。QUASIMEMEの結果は、海洋環境の品質を評価する目的で、提出されたデータの品質を評価するために使用されている。

2000年および2002年NOAA/NRC Intercomparison: 2000年の相互比較で配布された試験材料は、MOOS-1でした(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となることを目的としていました。参加する実験室にはそれぞれ2本のMOOS-1ボトルが送られ、各ボトルで重複分析を行うように依頼されました。準備されたサンプルは、36の参加研究所に送られ、30セットの結果が返されました。この相互比較の結果は、いくつかの点で、サンプルの均一性の問題によってうまくいかず、pスコアを測定するための目標標準偏差は広すぎて、当時達成できた測定精度を反映していませんでした。2002年に海水試料中のリン酸塩、ケイ酸塩、亜硝酸塩、および亜硝酸塩+硝酸塩を測定する研究室の現在の能力を評価するために、さらなる相互比較実験が行われました。これは、NOAA Center for Coastal Monitoring and Assessment (CCMA) が後援し、カナダ国立研究評議会の国家測定基準研究所が準備した2回目の共同実験でした。2つの海水サンプル(フロリダ州ペンサコーラサウンドのサンプルとMOOS-1のサンプル)を31の研究所に配布しました。24の研究所がデータを提出しました。報告された結果はすべて、従来の比色法を使用して得られました。一般に、参加者間の満足のいく合意が達成され、平均値の10%以内の結果が得られました。この相互比較の結果は、最初のNOAA/NRC相互比較実験で特定された均一性の問題が克服されたことを示唆しましたが、リン酸塩データは、予想よ

りも大きな研究室間分散を示した。

2003年から2012年までの4回のMRI国際共同実験:

2003年共同実験では、オートクレーブ処理された天然海水が、国際共同実験実験用サンプルとして準備されました。サンプルの均一性は、測定の再現性によって確認されました。過去のICESや米国・カナダで行われた国際共同実験よりも高い濃度範囲をカバーする6サンプルのセットが配布されました。濃度は、硝酸塩では0-38 μmolkg^{-1} 、亜硝酸塩では0-0.9 μmolkg^{-1} 、リン酸塩では0-2.7 μmolkg^{-1} 、ケイ酸塩では0-136 μmolkg^{-1} でした。合計18セットのサンプルが5か国の18の研究所に配布されました。結果は5か国の17の研究所から返されました。6つのサンプルについてコンセンサス濃度が得られましたが、標準偏差はリン酸塩とケイ酸塩の均一性の標準偏差のそれぞれ4.5倍と10倍以上でした。硝酸塩の場合、標準偏差は均一性の約2倍に過ぎませんでした。これらの結果は、分析精度ではなく、参加する研究室の標準物質のばらつきが、研究室間の不一致の主な原因であることを示していた。したがって、認証標準物質の使用が、特にケイ酸塩とリン酸塩について、研究所間で比較できる栄養塩データセットを確立するために不可欠であることを示した。

オートクレーブ処理された天然海水は、2003年の国際共同実験と同様に、2006年に使用された。サンプルの均一性は、測定の再現性によって確認された。硝酸塩、リン酸塩、およびケイ酸塩の均一性は、それぞれ0.2%、0.3%、および0.2%でした。硝酸塩の濃度範囲0.1-42.4 μmolkg^{-1} 、亜硝酸塩の0.0-0.6 μmolkg^{-1} 、リン酸塩の0.0-3.0 μmolkg^{-1} 、ケイ酸塩の1.7-156.1 μmolkg^{-1} の濃度範囲をカバーする6つのサンプルのセットが準備された。合計55セットのサンプルが20か国の55の研究所に配布された。結果は19か国の52の研究所から返された。基本的には2003年共同実験と同様に今回増えた研究所間でも、認証標準物質の使用が、特にケイ酸塩とリン酸塩について、研究所間で比較できる栄養塩データセットを確立するため

に不可欠であることを示した。

オートクレーブ処理された天然海水は、2003年および2006年と同様に、2008年の国際共同実験に使用された。合計58セットのサンプルが20か国の58の研究所に配布された。結果は19か国の52の研究所から返された。2008年共同実験で使用された6つのサンプルのうち2つは、2006年共同実験で使用されたものと同じロットでした。従って、2006年と2008年の両方の研究に参加した各研究室での内部比較可能性、および参加している研究室間の栄養塩データの国際比較可能性を見ることができた。これらのことは栄養塩濃度の内部の比較可能性は良好であるが、外部の比較可能性は少ないことを明示的に示しました。

オートクレーブ処理された天然海水は、2003年、2006年、2008年と同様に、2012年の国際共同実験に使用された。結果は28か国の67の研究所から返された。2012年の共同実験で使用されたサンプル#1は、2006年および2008年の共同実験で使用された同じロットのものであった。2012年共同実験で使用されたサンプル#2は、2006年共同実験で使用された同じロットであり、2012年共同実験で使用されたサンプル#3は、2008年共同実験で使用された同じロットでした。従って、以前の共同実験に参加した各研究室の内部比較可能性、および参加している研究室間の栄養データの国際比較可能性を見ることができた。その結果、内部の比較可能性は良好であるが、外部の比較可能性は少ないことを2008年の共同実験と同様に明示的に示しました。

IOCCP-JAMSTEC 2014/2015年共同実験：

2014年、IOCCPとJAMSTECは共同で、KANSOが製造した4ロットのCRMを使用して、海水中の栄養塩測定のための国際共同実験を開催しました。KANSOが製造したCRMは、すでに0.2%より優れた均質性を示しており、硝酸塩、リン酸塩、ケイ酸塩の濃度は6.4年間で1.0%を超えて変化しませんでした。ISOガイド35:2006の基準では、CRM栄養塩濃度の不安定性は見られなかった (Aoyama *et al.*, 2012)。また産総研計量標準総合センター (以下

NMIJ) が2014年3月に認証した3つの濃度レベルのCRMが、国際共同実験で使用された。韓国海洋科学技術研究所 (KIOST) も、最近開発したRMをこの国際共同実験に提供した。さらに、王立オランダ海洋研究所 (NIOZ) は、この共同実験の結果の全体的な評価に貢献するケイ酸塩原液を提供した。

CRMの4つのサンプルのセットは、世界(28か国)の71のすべての参加ラボに無料で配布され、3ロットのNMIJ CRMの組み合わせが21のラボに有料で配布され、それらの支払いに同意しました。韓国のRMは、分析に同意した24の任意の研究所にも配布されました。NIOZ原液は、深海サンプルの研究を行っている特定の研究所に送られ、ケイ酸塩濃度の分析に同意しました。

28か国の71の研究所が参加したが、58の研究所のみから結果が返された。今回は認証されている濃度があらかじめ全参加者に提示されていることが、これまでの共同実験と異なっており、結果の報告が少なかった原因であったかもしれない(青山注: 提示された値と大きく異なる値を出した参加者は報告しなかったであろうあるいは報告したくなかったであろうとのコメントを貰っている)。結果として一般に、硝酸塩とケイ酸塩の正規化された累積分布は非常に似ていました。したがって、比較可能性の大きさは類似していました。リン酸の分析結果の正規化された累積分布は相対的に平坦であり、他の栄養塩よりもリン酸分析の比較可能性が優れていることを示していた。

コンセンサス値の標準偏差は比較的大きかったが、各サンプルのコンセンサスの中央値/平均値は、コンセンサス標準偏差の範囲内でサンプルの認証値とその不確かさと良好な一致を示した。これは比較可能性が向上している証拠であり、良い兆候であった。またこのことは参加した研究室の大半が海水中の栄養塩濃度を測定する優れた能力を有していたことを意味し、CRMの使用により栄養塩濃度の比較可能性と追跡可能性がさらに向上することを意味していた。また、この共同実験の結果は、栄養塩分析の検量線の非線形性が、栄

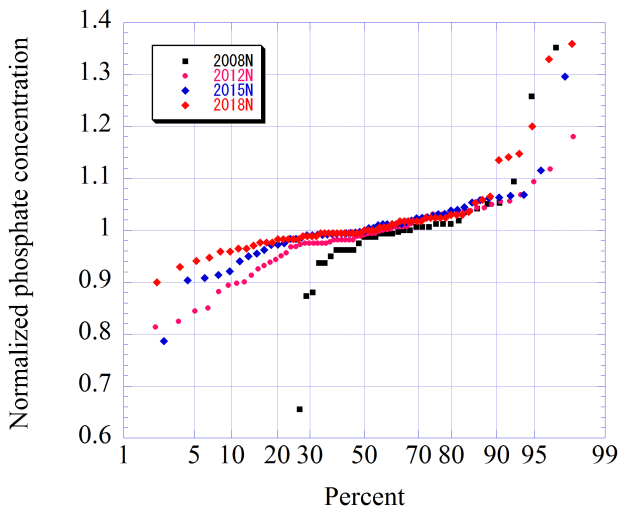


図4 国際共同実験(2008年、2012年、2014年および2018年)で報告されたリン酸塩濃度が2.5から3.0 マイクロモル kg^{-1} 範囲の試料について正規化した累積頻度分布。

養塩データの比較可能性の低下の重要な原因であることを示した。これは、世界の海洋のどこでも測定された栄養塩度の比較可能性を維持するために、海水中の栄養塩濃度範囲を持つ一連の栄養塩CRMを使用する必要があることを意味していた。

IOCCP-JAMSTEC 2017/2018 共同実験：

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。2018年の共同実験に参加し結果を報告した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、前回の実験時より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、2014/2015年の共同実験結果も2017/2018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改めて示した。

依然として問題であるのは、ケイ酸塩の比較可能性が明らかに硝酸塩やリン酸塩より低く、改善される兆候が見えないことである。分析のレシピの問題とともに各ラボにおける自家製標準作成の化学物質とその調整方法に内在する問題があると判断できる。

良い兆候としては、リン酸塩分析の比較可能性は徐々に向上していることが正規化された累積分布が図4に示すように徐々に平らになってきていることである。これは、比較可能性が徐々に向上していることを示しており、例えば2012年に行ったリン酸塩分析に特化したworkshopを開催し、徹底して分析のレシピを検証し報告書として出版した(Aoyama *et al.*, 2012a) ことがその原動力であると思われる。

5. 将来

現在、日本発で日本初でもある海洋環境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(村田ほか、海の研究投稿中)。外洋の水深200mで70 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 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。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精度データが必要である。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。さらに、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)。2018年に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、太平洋中層の北から南に戻る海洋大循環像を描ける可能性もある。

比較可能性の向上のためにはまだやるが残されている。特にケイ酸塩分析に特化して努力をする必要を著者は感じており努力をしている最中である。

謝辞：栄養塩標準物質開発にあたってはKANSOの技術者の努力なしには現在のCRMは存在しなかった。太田秀和氏、光田均氏、藤井武史氏、北尾隆氏、村尾麻美さんをはじめKANSO諸氏に感謝します。またNMIJからの認証標準物質の供給について、日置昭治氏、三浦勉氏、チョン千香子さんに感謝します。

15年以上前のCRM開発段階から長期にわたり、栄養塩分析時に同時に栄養塩標準物質を測定し値を報告してくれた気象庁各観測船の栄養塩担当者の協力なしには今日のCRMは存在しなかった。感謝します。

JAMSTECの研究船「かいよう」および「みらい」で1993年以降現在まで栄養塩測定に携わった数多くの栄養塩担当者に感謝します。かれらの仕事なしにはCRMは存在しなかったし、CRMそのものの向上もしてこなかった。

気象研究所の青山の研究室で2003年から2012年までの4回の国際共同実験の試料の準備・発送作業および報告されたデータの整理を行い、データ処理のシステムを組み上げてくれた研究支援者各位に感謝します。青山が気象研地球化学研究部在籍当時の上司、広瀬克己博士はCRM開発を積極的に後押ししてくれた。感謝します。

2014/2015年および2017/2018年 IOCCP-JAMSTEC 国際共同実験実施にあたり試料の準備・発送作業および報告されたデータの整理を行ってくれた MWJ 各位に感謝します。

KANSOとJAMSTECが2014年以降共同でCRMの認証するようになった後、陸上実験室で重責である認証作業に携わっている MWJ 栄養塩チームとKANSOの栄養塩担当者各位に感謝します。彼らの貢献なしにはCRMは存在できない。

参考文献

- [1] Aminot A, Kirkwood DS. Report on the results of the fifth ICES Inter-comparison study for Nutrients in Seawater. ICES Cooperative Research Report No213, 1995, pp. 79.
- [2] Aoyama M. 2003 Intercomparison Exercise for Reference Material for Nutrients in Seawater in a Seawater Matrix. Technical Reports of the Meteorological Research Institute. Meteorological Research Institute, Japan, 2006.
- [3] Aoyama M, Abad M, Aguilar-Islas A, P MA, Azetsu-Scott K, Bakir A, *et al.* IOCCP-JAMSTEC 2018 Inter-laboratory Calibration Exercise of a Certified Reference Material for Nutrients in Seawater. Yokosuka, Japan: JAMSTEC, 2018.
- [4] Aoyama M, Abad M, Anstey C, P MA, Bakir A, Becker S, *et al.* IOCCP-JAMSTEC 2015 Inter-laboratory Calibration Exercise of a Certified Reference Material for Nutrients in Seawater Yokosuka, Japan: JAMSTEC, 2016.

- [5] Aoyama M, Bakker K, van Ooijen J, Ossebaar S, Woodward E. Report from an international nutrient workshop focusing on phosphate analysis: Yang Yang publication, 2012a.
- [6] Aoyama M, Barwell-Clarke J, Becker S, Blum M, S. BE, Coverly SC, *et al.* 2006 Inter-laboratory Comparison Study for Reference Material for Nutrients in Seawater. Technical Reports of the Meteorological Research Institute, 2008.
- [7] Aoyama M, Carol A, Janet B-C, Baurand F, Becker S, Blum M, *et al.* 2008 Inter-laboratory Comparison Study of a Reference Material for Nutrients in Seawater. Technical Reports of the Meteorological Research Institute. the Meteorological Research Institute, 2010a.
- [8] Aoyama M, Hydes D, Daniel A, Bakker K, Murata A, Tanhua T, *et al.* First Meeting of the joint IOC-ICES Study Group on Nutrient Standards (SGONS), 2010b.
- [9] Aoyama M, Ota H, Kimura M, Kitao T, Mitsuda H, Murata A, *et al.* Current Status of Homogeneity and Stability of the Reference Materials for Nutrients in Seawater. Analytical Sciences 2012b; 28: 911-916.
- [10] Becker S, Aoyama M, Woodward EMS, Bakker K, Coverly S, Mahaffey C, *et al.* GO-SHIP Repeat Hydrography Nutrient Manual: The precise and accurate determination of dissolved inorganic nutrients in seawater, using Continuous Flow Analysis methods, 2019.
- [11] 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.
- [12] Broecker, W. S. (1991) : The Great Ocean Conveyor. Oceanography, 4, 79-89.
- [13] Hydes D, Aoyama M, Aminot A, Bakker K, Becker S, Coverly S, *et al.* Determination of Dissolved Nutrients (N, P, SI) in Seawater With High Precision and Inter-Comparability Using Gas-Segmented Continuous Flow Analysers. 2010.
- [14] 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.
- [15] 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.

