

# 計量法トレーサビリティ制度により供給される環境計測用有機標準液の開発

*Development of organic standard solutions supplied by Japan Calibration service System*

財団法人 化学物質評価研究機構 東京事業所 化学標準部 上野 博子  
HIROKO UENO

*Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan*

## 1. はじめに

最近の環境問題等への関心の高まりの中で、測定対象物質の種類が増大、対象濃度の低濃度化や正確さへの要求から、機器分析は日常の化学分析に欠かせないものとなっている。また、機器分析において得られる値は電流値や電圧値であり、測定対象物の濃度との関係が明らかでなければならない。その測定対象物の濃度と電流値等との関係は、分析ごと、対象物質ごとに校正という形で求めることになる。その校正に用いられる標準物質は、測定結果の信頼性確保に欠かせない重要なものとなっている。

1997年当時、我が国において計量法に基づき供給される標準物質は、42種類であり、トレーサビリティ体系の確立された標準物質の供給という観点からすると、欧米諸国と比較して不十分な状況であった。また、その42種類の標準物質は、無機系の標準物質であり、特に有機系標準物質については民間企業が製造している標準は供給されているものの、国家標準にトレーサブルな標準は供給されておらず、測定データの信頼性、データの相互比較・受入れに支障をきたしており、産業界から基準となる標準物質の供給が強く望まれていた。

そこで、通商産業省（現 経済産業省）は、産業技術審議会・日本工業標準調査会合同会議知的基盤整備特別委員会を設け、計量標準、標準物質、生物資源情報、化学物質安全、材料関連知的基盤及び生活・福祉関連知的基盤の分野について、その推進方策を検討し、平成10年6月に「我が国の知的基盤の充実に向けて」と題した報告書を取りまとめた。その中で標準物質について

は、平成13年度末（2001年度末）までに1997年当時の42物質を120物質までに整備拡充するとした（表1<sup>1)</sup>）。その結果、平成13年度末において標準ガス19種類、無機標準液10種類、有機標準液23種類、内分泌攪乱化学物質（環境ホルモン）関連標準液10種類の開発が完了し、供給のための準備が進められている。ここでは、平成13年度までに開発された有機標準液23物質について紹介する。

表1 環境関連標準物質の整備計画

| 対象物質       | 現在  | I 期 | II 期 |
|------------|-----|-----|------|
| 標準ガス       | 11種 | 12種 | 19種  |
| 無機標準液（金属）  | 18種 | 8種  | 7種   |
| 無機標準液（非金属） | 7種  | 3種  | —    |
| 有機標準液      | —   | 17種 | 12種  |
| pH標準液      | 6種  | —   | —    |
| 計          | 42種 | 40種 | 38種  |
| 合計         | 42種 | 82種 | 120種 |

現在：1997年 I 期：1998年～1999年 II 期：2000年～2001年

## 2. 開発の概要

当機構は、指定校正機関として、これまでもpH標準液や、無機（金属・イオン）標準液の特定標準液を調製し、特定二次標準液への濃度の値付けを行ってきた。今回、新しく有機標準液の供給を始めるにあたり、信頼のおける濃度の標準液を供給するために検討が必要な項目をいくつか挙げた。

- ①純度の決定された高純度基準物質
- ②高精度の調製技術
- ③繰り返し性のよい標準液への値付け方法
- ④優れた保存安定性

以上の4項目を中心に検討を進めてきたが、①の高純度

基準物質の開発と純度の決定については、独立行政法人産業技術総合研究所が、また、その基準物質の保存安定性については、独立行政法人製品評価技術機構が行った。当機構では標準液の調製方法、濃度の値付け方法、また、標準液の保存安定性について検討を行った。

今回開発した23物質は、トリクロロエチレン、ベンゼン等の国の環境基準・排出基準が設けられている有害な揮発性有機化学物質であり、それぞれ100~1000ppmの濃度範囲のメタノールとヘキサン溶液である。

### 3. 開発の内容

#### 3.1 基準物質<sup>2)</sup>

基準物質の開発は、原料選定、精製、アンプル充填、純度測定及び微量不純物の定量という過程で行われた。精製前に市販品の試薬数種をガスクロマトグラフ法により測定し、主成分含量が多く、不純物の少ないものを原料の候補として選定した。それを精密蒸留法で精製することで、安定化剤、極低沸点分や高沸点分を除去し、ほとんどの物質で99.9%以上の高純度化がなされた。また、蒸留前に物質により必要に応じて脱水処理を行うことで10ppm以下の水分値となった。精製により得られた高純度物質は、高純度アルゴン雰囲気下でアンプル封入された。大量スケールでの精製とアンプル充填は、関東化学株式会社草加工場で行われた。純度決定は、示差走査熱量計(DSC)を用いた凝固点降下法で行った。凝固点降下法はSI単位系に直接つながる一次標準測定法である。アンプル封入された高純度基準物質は、安定性を考慮し、物質により-140℃、-20℃での保存とした。この高純度基準物質の一部は、当機構において上記の温度で保存・管理され、特定標準液の調製に用いられる。

#### 3.2 溶媒

標準液の調製に用いる溶媒は、不純物等の存在によって調製濃度に影響を与えないことが重要である。標準液の値付けと同条件で溶媒のみを測定した場合、目的成分の定量に影響を与えるクロマトグラムが得られることがある。測定方法の設定において、それらの成分が妨害しないような分析条件を検討する必要があるが、全てを除くことは困難なため、調製濃度に影響を与えない濃

度の不純物であることを確認したものを用いる必要があった。そこで、溶媒は数種のグレードのものを用いてガスクロマトグラフで測定し、クロマトグラム上で測定対象物やそのピーク近傍の不純物が少ないものを選択した。現在は、関東化学株式会社製の水質試験用のメタノールとヘキサンを用いているが、今後もロットごとに不純物等の確認をする必要がある。

#### 3.3 調製方法

これまで、金属・非金属の無機標準液の調製は、全量フラスコ等の容器を用いて質量比法で行ってきた。しかし、揮発性の高い有機標準液の調製においては、調製容器の密閉性が重要になってくる。全量フラスコのようなスリつきの蓋の容器においては、溶媒等の揮発による質量変化が心配された。そこで、全量フラスコ、ねじ口のバイアルびん、揮発性有機溶媒用二重栓びんにメタノールとヘキサンをそれぞれ入れ、蓋をしたときの質量変化を調べたが、いずれもほとんど変化しなかった。しかし、蓋の開閉後の質量変化をみると、10秒開けることによりメタノール、ヘキサンともに約0.002g減少した。これは原料を加える際、容器の蓋の開閉により溶媒の質量変化を起し、正確な質量の測定ができず調製濃度に影響がでることを示している。溶媒の蒸気圧を抑えるため、溶媒や容器を冷却する方法も検討したが、操作が容易ではなく、低温で質量測定をするための環境を整える必要があり、それは困難であった。室温での調製操作を可能にするためには、全量フラスコのように口の広い容器は適当でないと考え、口の狭い容器が必要となった。そこで高気密保存びんで同様の確認を行ったところ、大きな質量変化は起こらなかった。シリンジの針サイズほどの穴が開いているだけであり、気体の大量の通過が阻まれていると考えられた。しかし、蓋の開閉が困難であり容量も小さく標準液の調製には適当でないため、同様にシリンジの針程度の穴で開閉が容易である図1に示す125mLポリテトラフルオロエチレン(商品名:テフロン)製ピストンシール型スクリューキャップ付密閉型ガラス容器を用いて確認を行った。この容器にヘキサンを入れ質量変化の測定を行ったところ、図2に示すようにびんにより質量変化の大きいものがあった。容器とキャップは対で販売されているわけではないので、無作為に選んだキャップとびんの口の密閉性はそれぞれ異なるようである。

キャップを交換して同様に質量変化を確認すると、変化せず密閉性が保たれていることが確認された。そこで、使用前に全ての容器にヘキサンを入れて質量変化のないことを確認し、キャップとびんに番号を付け、毎回同じ組み合わせで使用する事とした。

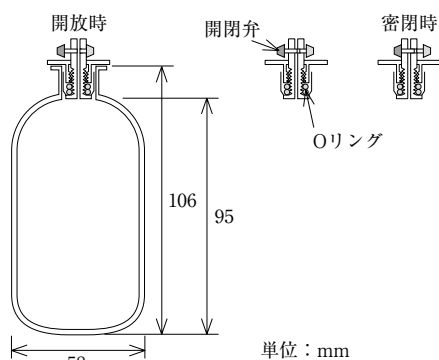


図1 調製容器

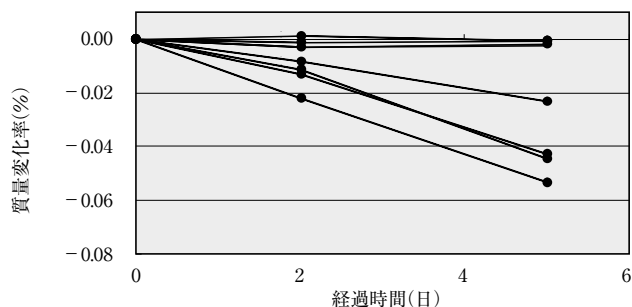


図2 容器と蓋の組み合わせによる密閉度の比較（内溶液：ヘキサン）

調製は、質量比法により図3に示す手順で行うこととした。質量を測定した調製容器にメタノール（又はヘキサン）を入れてひょう量し、原料物質を加えて10000mg/Lの原液とした。密度の測定は、濃度単位をg/gからmg/Lに換算するために行うこととする。さらに、この原液をメタノール（又はヘキサン）で希釈し1000mg/Lの中間原料とした。原液をメタノール（又はヘキサン）で希釈して1000mg/L標準液を、中間原料を希釈して100mg/L標準液を調製することとした。

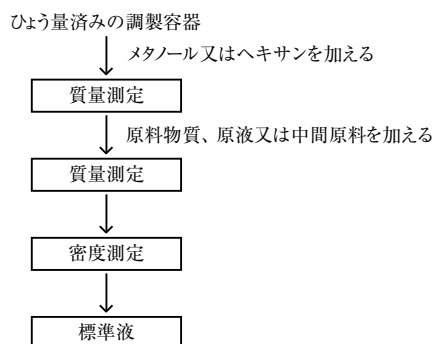


図3 有機標準液の調製方法

この方法で標準液の調製が正しくなされているか、次のように濃度確認を行った。1000mg/L、100mg/Lの標準液を上記の方法で各5組調製し、そのうちの1組を試料として他の4組の標準液で濃度の値付けを行ったところ、問題なく調製が行われていることがわかった。1000mg/Lのシス-1,3-ジクロロプロペン（メタノール溶液）における濃度確認の結果を図4に示した。

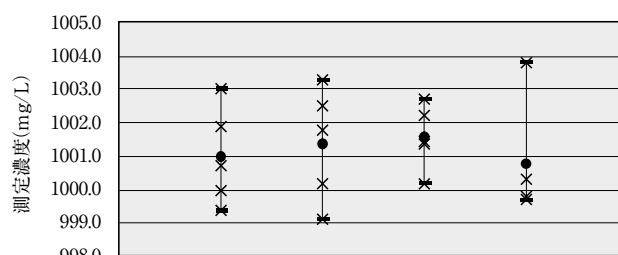


図4 4組の標準液による濃度の値付け結果

### 3.4 測定方法

濃度の測定は物質によりガスクロマトグラフと高速液体クロマトグラフを用いて行うこととした。精度の良い値付けのため、測定によるピーク面積の繰り返し性の良い測定条件を検討する必要がある。

ガスクロマトグラフにおいて、繰り返し性に大きく影響する要因の一つに注入方法が挙げられる。一般的なスプリット・スプリットレス注入法では、繰り返し測定によるピーク面積の相対標準偏差が数%と大きい値を示した。そこで、注入した試料全てがカラムへ導入されるオンカラム注入法について検討した。オンカラム注入法は、他の注入法に比べて精度の高い方法であるが、いくつか制限されるパラメータがある。試料注入量がスプリット注入法等に比べて少なく、また、径の小さいカラムではカラムの過負荷が起こりやすい。しかし、繰り返し性を良くするために感度を上げ、ピーク面積を大きくするために注入量が多いほうが良いので、カラムは径の大きいメガボアカラムで膜厚の大きいものを用いた。また、ピークバンド幅の広がりやピークの歪みを抑えるため、メタノール溶液で5m、ヘキサン溶液で1mの不活性化処理したリテンションギャップを使用した。さらに、オートインジェクタにより高速注入し試料の損失を少なくした。また、オンカラム注入法では、溶媒のピークを目的成分のピークより先に溶出させる必要があるため、カラムは溶媒ごとにヘキサン溶液には強極性の液相（polyethylene glycol）を、メタノール溶液には微極性の液相（6%-

Cyanopropylphenyl, 94%-Dimethylsiloxane)を選択した。同じ全量注入法であるダイレクト注入法とオンカラム注入法で20回繰り返し値付けを行い比較したところ、オンカラム注入法は、ダイレクト注入法より繰り返し性の良い結果を示した。各注入法による繰り返し測定による値付けの不確かさの一例を表2に示す。カラム槽の温度条件は、標準液が単成分であるため、基本的に溶媒と目的成分の分離が可能であれば全物質共通でも問題ないが、溶媒中の微量不純物との分離や分析時間の短縮を考慮して物質ごとに設定した。また、検出器は水素炎イオン化検出器(FID)とした。

表2 ダイレクト注入法とオンカラム注入法の比較  
3回測定時の値付けの不確かさ(%)

| 標準液の種類      |       | 注入法   |       |
|-------------|-------|-------|-------|
|             |       | オンカラム | ダイレクト |
| 四塩化炭素       | ヘキサン  | 0.04  | 0.59  |
| 1,2-ジクロロエタン | ヘキサン  | 0.09  | 1.00  |
| ジクロロメタン     | メタノール | 0.06  | 1.07  |
| クロロホルム      | メタノール | 0.08  | 1.27  |
| 1,2-ジクロロエタン | メタノール | 0.06  | 1.03  |

ベンゼン、キシレン等は、高速液体クロマトグラフで値付けを行うこととした。主な測定条件を表3にまとめた。溶離液の組成は、溶媒中の微量不純物との分離や分析時間の短縮等を考慮し物質ごとに異なっている。また、感度とピーク面積の関係から、注入量は1000mg/Lで10 $\mu$ L、100mg/Lで25 $\mu$ Lとした。

以上の条件で標準液の濃度付近における検量線を作成したところ(100mg/Lで80~120mg/L、1000mg/Lで800~1200mg/L)良い直線関係が得られたこと、また、値付けされる標準液が検量線用標準液の濃度値に近いものであることから、1点検量線で正確な値付けが可能であると考えた。さらに、確認のため挟み込みの2点検量線で測定した結果と1点検量線で測定した結果を比較したところ両者はよく一致したため、1点検量線法を用いることにした。

表3 高速液体クロマトグラフによる測定条件

|        |                                            |
|--------|--------------------------------------------|
| 装置     | 高速液体クロマトグラフ                                |
| 検出器    | UV検出器                                      |
| カラム    | ODSカラム 4.6×250mm                           |
| カラム槽温度 | 40℃                                        |
| 試料導入装置 | オートインジェクタ                                  |
| 試料注入量  | 25 $\mu$ L (100mg/L)、10 $\mu$ L (1000mg/L) |
| 溶離液の組成 | アセトニトリル/水=60/40 又は 70/30                   |
| 溶離液の流量 | 1.0mL/min                                  |

### 3.5 保存安定性

以上の調製方法と測定方法を踏まえて、標準液の保存安定性試験を行った。物質ごとにメタノール溶液、ヘキサン溶液でそれぞれ100mg/L、1000mg/Lの濃度の標準液(試料)を300mL調製し、ほうけい酸ガラス製アンプルに8mL充填してバーナーで熔封したのち5℃の冷蔵庫で保存した。測定は、調製直後と2、4、6か月後に行い、6か月間の保存安定性を試験した。念のため、測定試料は保存前に質量を測定し、使用直前にも質量を測定して試料の漏れがないことを確認した。また、測定はその都度新しく調製した基準液を用いて値付けを行った。その結果の一例を図5に示す。これにより6か月間の保存安定性が確認された。

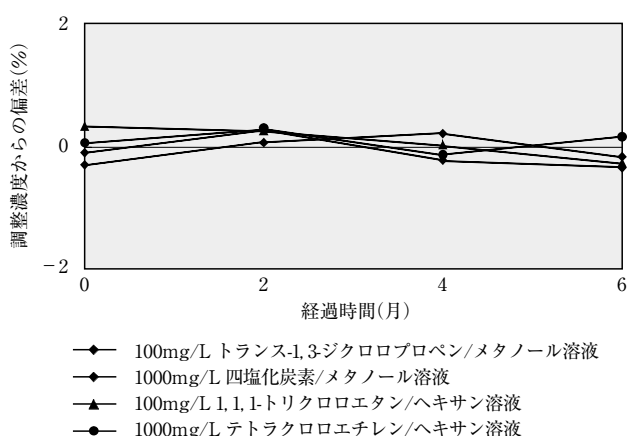


図5 標準液の6か月の保存安定性

## 4. 不確かさ

ISO/IEC 17025等の試験所認定制度において、技能試験や測定の不確かさが重要な要素となっている。そのため、測定に用いられる標準物質にも不確かさの表示が不可欠となり、標準液の不確かさをどのように評価するか検討が続けられている。現在、特定標準液による特定二次標準液への値付けによる不確かさの要因としては、原料物質の純度の不確かさ、溶媒中の不純物の不確かさ、特定標準液調製の不確かさ、特定二次標準液を小分けした際の試料(アンプル)間の不確かさ、特定二次標準液への値付け(測定)の不確かさ、特定標準液の保存安定性の不確かさを挙げている。一般的に標準液の濃度は初期濃度が決定された場合、その初期濃度を用いるため、ある一定期間経過後の濃度を補正して用いることはない。そのため、ここで意味する

保存安定性の不確かさとは仮に濃度変化があった場合でも、その濃度変化分を補正せずに初期に何らかの形で決めた値をその標準液の濃度として用いる場合の濃度値の不確かさを示す。

以上の各要因をもとに、不確かさの伝播則に従って特定二次標準液の値付け直後の不確かさを算出した。各成分の不確かさ、合成標準不確かさ及び拡張不確かさの一例を表4に示した。拡張不確かさは、合成標準不確かさに包含係数 $k=2$ を乗じ小数点第二位を切り上げた。なお、この不確かさは、独立行政法人産業技術総合研究所で開発した計算方法により求められた。

表4 標準液の不確かさの一例

| 物質名               | 溶媒    | 呼称濃度 | 原料純度と溶媒中の不純物 |      | 保存安定性<br>6か月 | 基準標準液の調製 | 試料のばらつき | 濃度測定<br>3回測定 | 合成標準不確かさ | 拡張不確かさ<br>( $k=2$ ) |
|-------------------|-------|------|--------------|------|--------------|----------|---------|--------------|----------|---------------------|
|                   |       |      | 純度           | 溶媒   |              |          |         |              |          |                     |
| プロモジクロロメタン        | メタノール | 1000 | 0.02         | 0.03 | 0.00         | 0.06     | 0.07    | 0.08         | 0.13     | 0.3                 |
|                   |       | 100  | 0.02         | 0.29 | 0.00         | 0.00     | 0.00    | 0.15         | 0.33     | 0.7                 |
|                   | ヘキサン  | 1000 | 0.02         | 0.03 | 0.03         | 0.04     | 0.00    | 0.11         | 0.13     | 0.3                 |
|                   |       | 100  | 0.02         | 0.29 | 0.07         | 0.03     | 0.07    | 0.10         | 0.32     | 0.7                 |
| トリプロモメタン          | メタノール | 1000 | 0.02         | 0.03 | 0.00         | 0.07     | 0.03    | 0.11         | 0.13     | 0.3                 |
|                   |       | 100  | 0.02         | 0.29 | 0.00         | 0.06     | 0.00    | 0.11         | 0.31     | 0.7                 |
|                   | ヘキサン  | 1000 | 0.02         | 0.03 | 0.00         | 0.00     | 0.07    | 0.11         | 0.14     | 0.3                 |
|                   |       | 100  | 0.06         | 0.29 | 0.00         | 0.07     | 0.07    | 0.11         | 0.33     | 0.7                 |
| トランス-1,2-ジクロロエチレン | メタノール | 1000 | 0.02         | 0.03 | 0.02         | 0.00     | 0.10    | 0.08         | 0.13     | 0.3                 |
|                   |       | 100  | 0.02         | 0.29 | 0.04         | 0.00     | 0.17    | 0.10         | 0.36     | 0.8                 |
|                   | ヘキサン  | 1000 | 0.02         | 0.03 | 0.00         | 0.07     | 0.09    | 0.12         | 0.17     | 0.4                 |
|                   |       | 100  | 0.02         | 0.29 | 0.00         | 0.00     | 0.06    | 0.10         | 0.31     | 0.7                 |
| ジプロモクロロメタン        | メタノール | 1000 | 0.01         | 0.03 | 0.03         | 0.00     | 0.06    | 0.05         | 0.09     | 0.2                 |
|                   |       | 100  | 0.01         | 0.29 | 0.04         | 0.00     | 0.00    | 0.12         | 0.31     | 0.7                 |
|                   | ヘキサン  | 1000 | 0.01         | 0.03 | 0.03         | 0.03     | 0.04    | 0.10         | 0.12     | 0.3                 |
|                   |       | 100  | 0.01         | 0.29 | 0.06         | 0.00     | 0.07    | 0.15         | 0.34     | 0.7                 |
| 1,4-ジクロロベンゼン      | メタノール | 1000 | 0.02         | 0.03 | 0.00         | 0.08     | 0.00    | 0.07         | 0.14     | 0.3                 |
|                   |       | 100  | 0.02         | 0.29 | 0.00         | 0.08     | 0.00    | 0.14         | 0.33     | 0.7                 |
|                   | ヘキサン  | 1000 | 0.02         | 0.03 | 0.00         | 0.00     | 0.07    | 0.13         | 0.15     | 0.4                 |
|                   |       | 100  | 0.02         | 0.29 | 0.09         | 0.08     | 0.00    | 0.12         | 0.33     | 0.7                 |
| 1,2-ジクロロプロパン      | メタノール | 1000 | 0.06         | 0.03 | 0.03         | 0.04     | 0.02    | 0.07         | 0.11     | 0.3                 |
|                   |       | 100  | 0.06         | 0.29 | 0.03         | 0.02     | 0.04    | 0.10         | 0.32     | 0.7                 |
|                   | ヘキサン  | 1000 | 0.06         | 0.03 | 0.09         | 0.05     | 0.03    | 0.10         | 0.16     | 0.4                 |
|                   |       | 100  | 0.06         | 0.29 | 0.04         | 0.06     | 0.08    | 0.09         | 0.33     | 0.7                 |

質として指定されている(表5)。ただし、現在のところ、認定申請が出されておらず、JCSSとしての供給には至っていない。今後、供給に向けた積極的な取り組みが必要と思われる。また、これらの標準液は、混合標準液としての供給の要望が強く、現在、23物質の混合標準液について、保存安定性等を含めた標準液の不確かさ算出のための検討を始めたところである。

表5 指定された標準液の種類と校正の不確かさ

| 種類                    | 校正(値付け)の範囲                           | 拡張不確かさ<br>( $k=2$ ) (%) |
|-----------------------|--------------------------------------|-------------------------|
| ジクロロメタン標準液            | メタノール及びヘキサン希釈で濃度が100mg/L以上1000mg/L以下 | ±0.9~1.2                |
| クロロホルム標準液             |                                      | ±0.5~1.6                |
| 1,2-ジクロロエタン標準液        |                                      | ±0.4~0.8                |
| 四塩化炭素標準液              |                                      | ±0.7~1.7                |
| トリクロロエチレン標準液          |                                      | ±0.6~1.4                |
| テトラクロロエチレン標準液         |                                      | ±0.6~2.3                |
| トルエン標準液               |                                      | ±0.5~0.8                |
| ベンゼン標準液               |                                      | ±0.6~0.9                |
| o-キシレン標準液             |                                      | ±1.3~1.5                |
| m-キシレン標準液             |                                      | ±0.7~1.0                |
| p-キシレン標準液             |                                      | ±0.7~1.0                |
| 1,1-ジクロロエチレン標準液       |                                      | ±0.8~1.3                |
| cis-1,3-ジクロロプロペン標準液   |                                      | ±0.9~1.4                |
| cis-1,2-ジクロロエチレン標準液   |                                      | ±1.0~1.2                |
| 1,1,1-トリクロロエタン標準液     |                                      | ±0.7~1.6                |
| 1,1,2-トリクロロエタン標準液     |                                      | ±0.7~0.9                |
| trans-1,3-ジクロロプロペン標準液 |                                      | ±2.0~2.1                |
| トリプロモメタン標準液           |                                      | ±0.3~0.7                |
| プロモジクロロメタン標準液         |                                      | ±0.3~0.7                |
| ジプロモクロロメタン標準液         |                                      | ±0.2~0.7                |
| trans-1,2-ジクロロエチレン標準液 |                                      | ±0.3~0.8                |
| 1,2-ジクロロプロパン標準液       |                                      | ±0.3~0.7                |
| 1,4-ジクロロベンゼン標準液       |                                      | ±0.3~0.7                |

## 5. まとめ

平成10年度から平成13年度にかけて23物質の有機標準液の開発を行ってきた。これにより、SI単位系にトレーサブルな手法で純度が精確に決定された高純度基準物質を用いた標準液の調製、繰り返し性のよい標準液への値付け技術が確立され、信頼性のある標準液を供給することが可能となった。現時点(2002年10月)では、これら23物質は計量法トレーサビリティ制度(Japan Calibration Service System:JCSS)による特定標準物

本研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構と独立行政法人産業技術総合研究所からの委託を受けて実施したものである。

## 参考文献

- 1) 産業技術審議会・日本工業標準調査会合同会議知的基盤整備特別委員会, 報告書 我が国の知的基盤の充実に向けて(平成10年6月)
- 2) 井原俊英, THE CHEMICAL TIMES, No.181,3(2001)