

化学分析における基礎技術の重要性(6)

Importance of The Basic Technique on Chemical Analysis(6)

—不確かな試験方法とその工夫—

— Uncertainty in the Analysis Method and their countermeasures —

関東化学株式会社 検査部 井上 達也
TATSUYA INOUE

Inspection Dept., Kanto Chemical Co., Inc.

1. はじめに

近年、化学分析における機器の進歩と自動化は、着実にその速度を増している。しかし、試料全般の取り扱いについては、依然として試験技術者の経験によるところが多く、それが不確かさの算出にも大きく係わり、試験結果の信頼性も異なるという事態に及ぶことがある。試薬の分析では、各種分析技術の習得のみならず、試料となる薬品の特性や取り扱い方の習熟が信頼性向上のため重要な管理の課題になっている。

社会情勢の変化により、粒状水酸化ナトリウム及び水酸化カリウムの国内製造業者が当社一社となり、供給の社会的責任の重みが増したこともあって、その試験方法の有効性の確保にはことさら配慮している。これらアルカリは、周知のとおり吸湿性が高いことに加え大気中の二酸化炭素を吸収しやすく、試験する際の取り扱い方には種々工夫が不可欠である。それら事例の紹介をはじめ、いくつかの分析手法について試料の取り扱い方を中心に、分析手法が抱える問題点とその解決の一助となる工夫について紹介する。

2. 粒状水酸化ナトリウムの純度測定時の試料の取り扱い方による影響

吸湿性の高い試料を試験する際、試料の秤量時の吸湿によりはかりの指示値がプラス方向に変化し続け、止まらないといった現象に悩まされている試験者も多いことと推察される。この現象は、試料が大気と接触する限り阻止することができない。最良の解決策は、湿度の影響を

除去したグローブボックス等の中で試料を取り扱うことであるが、実分析では作業性を極端に悪化させ現実的ではない。そこで簡易的に試料の秤量精度を向上させる工夫とその効果について粒状水酸化ナトリウムの純度試験を事例として紹介する。基本骨子は、薬包紙に包み込んで秤量することである。

- 1) 精密はかりに薬包紙を乗せ、秤量または風袋除去する。
- 2) 薬包紙をはかりからおろし、粒状の試料をその上に乗せ、直ちにおひねり状に包み込む。
- 3) それを精密はかりで秤量する。
- 4) ビーカー等に粒状試料を移し、薬包紙を少量の水で洗い、洗液を先のビーカーに移す。

きわめて単純な対策であるが、確実に効果が得られる。さらに滴定に至るまでも使用するビーカーの濡れと滴定前の試料溶解も試験精度に影響を及ぼす大きな要因となる。この3つの要因を変化させて試験を行なった結果を表1に示す。

表1 粒状水酸化ナトリウムの試験操作条件による純度及び炭酸塩の影響(1)

操作No.	試験日	秤量形態	ビーカー	事前溶解	NaOH%(n=5)		Na ₂ CO ₃ %(n=5)	
					平均値%	RSD%	平均値%	RSD%
1	A	ビーカー	乾燥	有り	98.062	0.008	0.190	23.19
2	A	ビーカー	乾燥	無し	98.068	0.003	0.091	3.67
3	A	薬包紙	乾燥	無し	98.161	0.009	0.075	11.90
3'	B	薬包紙	乾燥	無し	98.178	0.012	0.098	11.95
4	B	薬包紙	濡れ	無し	98.158	0.093	0.169	53.91

ここで秤量の形態として、前述の薬包紙を用いる方法とビーカーにフィルムでふたをする方法の二者を、そしてビーカーについては、完全に乾燥したものと洗浄後ラックで風乾中の濡れた状態のものを使用する二つの方法

を比較した。また事前溶解の影響をみるため、試料を溶解してから滴定した場合と溶解せずに滴定した場合を比較した。その結果をグラフ化して図1に示した。

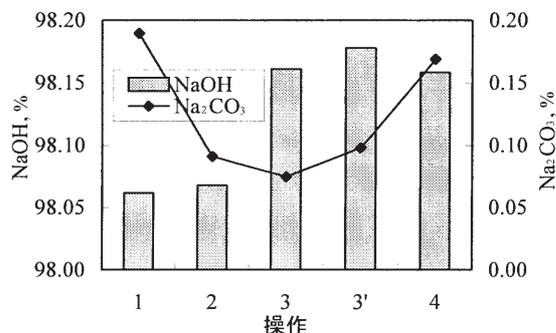


図1 粒状水酸化ナトリウムの試験操作条件による純度及び炭酸塩の影響(2)

薬包紙を用いた操作No.3及び3'では純度が高いことから、試料秤量時の吸湿による重量変化が試験結果に大きく影響していることがわかる。また、操作No.2, No.3及び3'では炭酸塩が低いことから、試料の事前溶解や濡れた器具の使用では、炭酸塩が高くなる傾向が現れている。先の号(No.198)でも述べたように、濃アルカリ溶液やアルカリ固体では二酸化炭素を吸収しにくい、試料を水に溶解することで二酸化炭素が吸収されやすくなる濃度領域に陥ることがわかる。また、pH電極同様に、ビーカーのガラス表面に薄く広がった水は、二酸化炭素を含んでいるため器具の乾燥状態の影響として試験結果に現れることになる。共通すり合わせ三角フラスコに乾燥窒素を通じて試料を採取しても、湿気はいつしか進入してしまう。また、現行市販されている超純水装置は性能が向上し、pH7に限りなく近い水を得ることができるが、誤って泡立てて採水すれば炭酸を含んだ水になり、今回のような分析ではその影響を受けることになる。なお、一連のデータは、メローム社製電位差滴定装置Titrandolにより求めた(塩化バリウム添加)。攪拌にはプロペラスクリューを使用しているが、外国製の自動滴定装置はこの方式が多く、日本製はマグネティック・スターラー方式が多い。滴定時の気泡の巻き込み及び使いやすさから、前者が優れていると感じることが多い。

掲載したデータは、もう一つの教訓を示している。RSDに注目すると偏りの影響を受けているにもかかわらず操作No.2が良好な結果となっている。熟練した試験者の操作は、自動化された計測器のシーケンスを上回る正確な繰り返し操作が可能である。そのため併行精度は良好

となり、その結果が正しいと錯覚を起こしてしまう。やはり試験条件を変化させ、頑健性、堅牢性等を評価することが重要である。ただし、試験は要求される精度によっては、上記のレベルの管理は必要ない場合もある。

3. 乾燥減量試験における静電気の影響

秤量操作で問題を起こす大きな要因として静電気の存在がある。最近になってやっと認識が広まり始めているが、十分な対処がされていない状況をよく目にするので、乾燥減量の試験を例に静電気の影響について事例を紹介する。

有機化合物の試料は、しばしば静電気を帯びる性質を有している。特に医薬品原薬などを微粉末とした場合には特にその影響が強くなる。表2のデータは、ある有機薬品の微粉末試料を、105℃で乾燥減量を試験した結果である。使用した精密はかりは、イオナイザーを装備したザルトリウス社製で、そのイオナイザーの効果を検証した。

表2 乾燥減量試験における静電気の影響

イオナイザー	乾燥前g	乾燥後g	乾燥減量%	判定
OFF	1.00726	1.00404	0.320	不適合
	1.01023	1.00773	0.247	不適合
	1.01222	1.00751	0.465	不適合
ON	1.00918	1.00887	0.031	適合
	1.01123	1.01089	0.034	適合
	1.00727	1.00697	0.030	適合

有機微粉末は、乾燥前から静電気を帯びていることが多いが、乾燥後ではさらに多くの静電気を帯びる。一方、静電気は秤量に対しマイナスに影響する。したがって、試料が乾燥前よりも多くの静電気を蓄えた場合、計測上軽くなったと誤認される。検証に用いた試料の乾燥減量の規格は0.2%以下であり、静電気の影響で判定さえも誤る結果を得てしまう。特に有機微粉末を多用する医薬品原薬の試験では注意が必要である。

筆者自身が静電気の影響を強く認識し始めて20年以上経過している。きっかけは、ふっ素樹脂製(PFA製)分解容器に有機微粉末を薬さじで入れようとした際、試料のほとんどが静電気の影響で容器の外に散らばってしまったことがあった。当初は、これを除去する機器もなく、静電気除去シートや刷毛で対応していた。現在、イオナイザーを装備した精密天秤や天秤台に置いて使用できるイオナイザーが市販され、当社でも両者を使用して静電

気対策をしている。

昨今、RoHS指令によりプラスチック類の金属、難燃性臭素化合物の分析頻度が多くなっているが、ここでも静電気の影響評価は重要である。特に試料がフィルム状の場合、多量の静電気を帯びていることが多い。秤量は、化学分析の基本でありこの部分で大きな誤差を取り込んでしまえば、以後の操作でいくら注意しても取り返しがつかないことになるので、静電気の影響にも配慮されたい。

4. 誘導結合プラズマ発光分析におけるマトリックスの影響

金属分析についても精度を追求していくと、多くの問題に遭遇するが、誘導結合プラズマ発光分析についていくつかの事例を述べる。

近年、電子部品の処理に混合薬品が用いられる傾向が強まっている。従来では、硫酸、硝酸、酢酸、りん酸等、主に鉱酸類を主とする比較的簡単な組み合わせの混酸が多用されていたが、現在では有機・無機化合物を多様に混合した複雑なマトリックスの試料が増加している。分析者側から見れば、不確かな要因が増大することになる。当然、このような新製品の試験方法の有効性も設計しなければならない。その最大の問題は、感度の増減効果と妨害の2点である。例えば過去のデータを解析し、どのような成分が増減に関与するかを知っておくことが重要である。それによって、どのような試験方法を適用するかを決定すれば、比較的短時間で試験方法を設計することができる。その後、必要に応じ妥当性確認を実施すれば、本格生産時にある程度信頼できる品質管理体制を引くことができる。

図2に各種試薬を分析した際の内標準の挙動を示した。ただしこのデータは、各試薬が測定に与える影響を確認するためにあえて収集したものではなく、通常業務のデータを再解析して得たものである。一連のデータは、誘導結合プラズマ発光分析装置(ハリアン社製Vista Pro/トーチ:アキシャル)で同じ条件で測定した空試験液と試料液に添加された内標準(イットリウム)の感度比(試料液の発光強度/空試験液の発光強度)を表したグラフである。

各試料は水で1%に希釈し、内標準を添加して測定したデータである。結晶水を有する試料の場合、結晶水を含めて1%としている。なお紙面の都合で約100種類のデータのうち、名称を表示できているものはごく一部であ

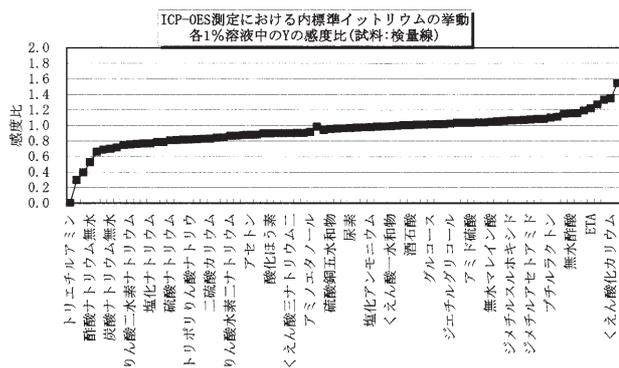


図2 内標準感度比に対するマトリックスの影響

ることをご理解いただきたい。図2から、マトリックスの影響がいかに大きいものであるかが良く分かる。ニトロリエタノールに至っては、1%溶液でプラズマが消えてしまうほどの影響を有している。他にも有機窒素化合物で同様の現象が起きており、いずれもプラズマの励起状態に窒素がダメージを与えているものと推察できる。前処理により、マトリックスの影響が除去できればよいが、それが不可能な場合、少なくとも内標準を使用した分析でその影響を評価し、必要な場合は別法に変えるか、さらに濃度を薄くするなどの処置を施すことが必要である。いずれにせよ掲載したデータは、一定の条件での測定結果であり、別の条件で測定すればまた異なった結果となる。

各試験所では多くのデータが所有されているが、日常業務に追われそれらを解析する時間が無いために、有効なデータが埋もれていることが多い。

測定波長については、最初から1波長で測定すると妨害を見逃すことがある。複雑なマトリックスの試料の場合、どこにどの程度の妨害が現れるか予測することが困難である。また、回収試験で100%に近い結果を得たとしても、試料側と添加側が共に同じ妨害を受けた場合には回収率が100%近くなることもあるため、その試験結果が必ずしも正しいとは限らない。このような場合、複数波長で測定しておけば、仮にいずれの波長において回収率が100%であっても、試料液の結果が異なる値を示すので、妨害の存在に気づくことができる。

5. イオンクロマトグラフィーにおける分離不足による影響

クロマトグラフィーでは、しばしば分離不足による誤った識別が問題になることがあるが、いくつかそのような事例を紹介する。

米国半導体分野のユーザーから、当社塩酸をウェハー処理に用いるとウェハー表面に塩化物イオンが残存するとの報告があった。試験方法がイオンクロマトグラフ法であること及び過酸化水素を共に使用しているという状況であったことから、以下に起因する分離不足による誤った識別を招いているものと経験上直感的に判断できた。その旨を現地法人経由で先方に伝えると興味深い知見だ”との反応が返ってきた。この事例では、塩酸に含まれている微量の臭化物イオンが、過酸化水素により臭素酸イオンに変化し、分離度が不足したクロマトグラフィーにより塩化物イオンとして誤認されたものである。事実、臭素酸イオンと塩化物イオンの分離は大変難しく、臭素酸イオンを塩化物イオンとして取り違える事例がしばしば見受けられるので留意を要する。

このような理由もあって、当社より市販しているイオン混合標準液には、臭素酸イオンは含まれておらず、この事例のような塩化物イオンの分離不足に起因する問題を回避している。

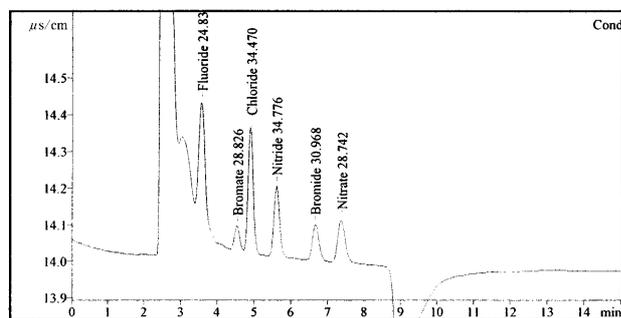


図3 くえん酸三カリウム(標準添加)のイオンクロマトグラム

図3は、試薬のくえん酸三カリウムに各種陰イオンを標準添加した試料のクロマトグラムである。臭素酸イオンと塩化物イオンは、非常に接近しており分離に留意を要することが理解いただけよう。もともと海水に起源を持つ化学薬品には、しばしば臭化物イオンが含まれていることがあるので、この点留意いただきたい。この外にも、硫酸イオンと亜硫酸イオンが条件によっては分離不足となり誤認されやすい。

このような問題の対処としては、分離能の高いカラムに変えるか、あるいはUV検出器など識別を容易にする方法により解決することができる。

同様に、過酸化物の存在も分析に強い影響を与えることが多い。例えば、過酸化水素水による化物イオンを

加え、放置後にイオンクロマトグラフで測定すると、大部分のよう化物イオンがよう素酸イオンへ変化してしまう。図4にその様子を示す。

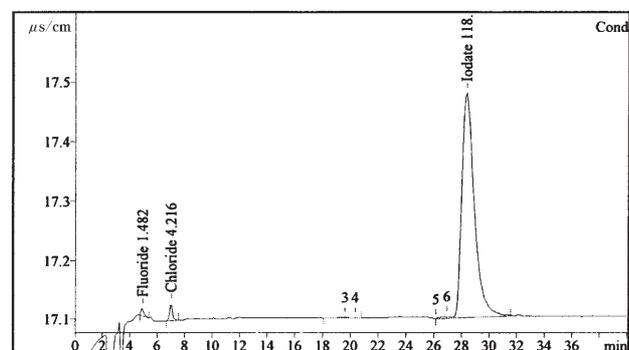


図4 過酸化水素水による化物イオンを添加した後のクロマトグラム

類似の事例が身近にも存在する。飲料水の試験項目に臭素酸イオンが新たに追加されたが、その背景には原水のオゾン処理がある。即ち、原水中の臭化物イオンがオゾン酸化で臭素酸イオンへ変化するためであり、上述の過酸化水素の影響による事例と同じである。

そのほか、ジフェニルカルバジド法で6価クロムを測定する際でも、液性がアルカリ性で3価クロムと過酸化物が共存すると、3価クロムが6価クロムに変化することがある。例えば、ポリマーの重合開始剤として過酸化物が用いられていることがあるので、RoHS指令関連でポリマー中のクロムの分析を行うような場合など、若干の注意が必要であろう。

分析は、時として試料の起源を推定しなければ正しく解析できないことがあり、これら事例を参考にいただければ幸いです。

6. グッツアイト法ひ素試験における共存物質の影響

広く認知された試験においても問題が起きることがある。グッツアイト法は、JIS試薬、日本薬局方、食品添加物公定書等の公的規格として広く採用されているひ素の試験方法である。塩酸酸性下よう化カリウムと塩化すず(Ⅱ)でひ素を三価に還元した後、亜鉛末と塩酸の反応で発生する水素でひ素をアルシingasに変え、ジエチルジチオカルバミン酸銀または臭化水銀(Ⅱ)紙に吸収して、前者では吸光光度法で、また後者では目視で比色する方法である。特に、臭化水銀(Ⅱ)紙法による場合では、実際には検体にひ素が存在しなくても、不適合の結果を与える場合がある。共存するアンチモンの妨害によるため

あるが、アンチモンもひ素と同様に反応してスチビングスを形成し、それをひ素として取り違えて検出されることがある。従って、この試験方法ではひ素が検出されたとしても、他の方法でも確認することをお勧めする。

分析に際し、その試験方法の弱点を理解しておくことが、誤ったデータを生み出さない予防処置の第一歩である。このような工夫は、試験方法の問題解決だけにとどまらず、精度管理や技能教育のためにも必要な配慮といえる。

7. 吸光光度法における精度管理の工夫

近年、紫外可視分光光度計にもダイオードアレイ検出器を搭載した機種が登場し、従来にも増して豊富な試験データが得られるようになってきた。古くより、分光光度計の波長の定期校正には、校正用光学フィルタや低圧水銀ランプ、重水素放電管の輝線が用いられてきた。図5は、モリブデン青吸光光度法によるけい素の測定例であるが、770nmと810nm付近に極大吸収がある。770nm付近の極大吸収はしばしば妨害が現れやすいので通常810nmの極大吸収が試験に選ばれる。しかし810 nm付近の吸収極大の測定に際しても、その前後の波長の吸収を測定し妨害がないことを確認して測定値の有効性の確保ができるよう工夫されてきた。最近の装置では、190~900 nmの間の測定域が数秒から数十秒と大変迅速に測定できるが、加えて波長の校正基準となる重水素放電管の輝線(656.1 nm)を同時に取り込むよう工夫され、測定ごとの波長の正確さが検証できるようになっている。図5は、16検体を重ね書きしたものであるが、輝線部分は極めて高い再現性を示している。

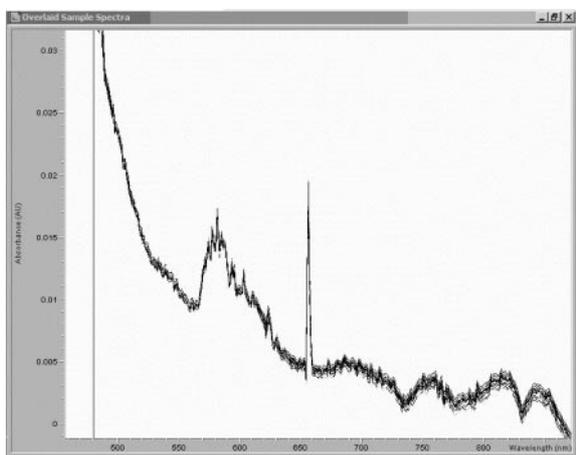


図5 重水素放電管の輝線を取り込んだスペクトル
(機種:Agilent 8453、50 mmセル)

このような分析自体、医薬品に関連しない方には馴染みがなく理解しにくいと思われるが、製造装置の洗浄バリデーションのため測定したものであるが、3日間にわたり試験を実施した。参考にその際の検量線データを次に示した。

表3 けいモリブデン青法検量線データ

Si濃度 mg/50mL	吸光度		
	A	B	C
0.000	0.000951	0.001706	0.001120
0.002	0.193963	0.194890	0.192447
0.004	0.385307	0.378520	0.377127
0.006	0.557680	0.564087	0.558817
0.008	0.753360	0.755737	0.752617
0.010	0.936150	0.932997	0.942460
相関係数	0.9999	0.9999	1.0000
傾き	93.237	93.208	93.841
y切片	0.00505	0.00528	0.00156

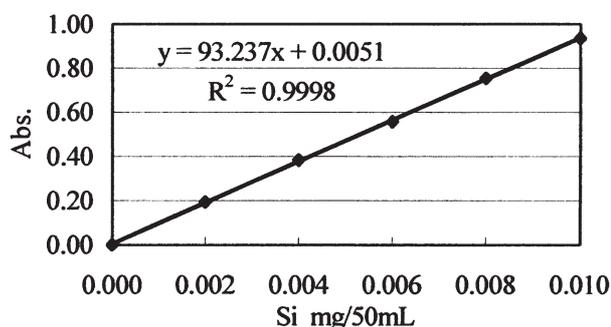


図6 けいモリブデン青法検量線

当試験室では、3日間にわたるA、B、Cの一連のデータをプロットしても、図6に示すように決定係数(R^2)0.9998を示す精度が維持できているが、多分に装置性能の向上が大きく寄与している。とはいえ、さすがに検量線のy切片の微妙な変化まではコントロールしきれていない。全ての試料の測定でこのように高い精度が可能ではないが、工夫のしどころで改善できることがまだまだあるかと思う。

フーリエ変換赤外分光光度計(FT-IR)の世界に目を転じれば、装置に高純度メタンを校正基準として装備し、測定の都度、試料の測定波数を同時に校正する装置が登場している。今後の分析機器は、何らかの手段で測定毎の正確さを担保する方向に向かうことであろう。

8. 教育資料の収集にも工夫を

旋光度の測定では、多くの方が温度依存性に注意するよう指導されていることであろう。では“旋光度測定における波長の依存性は?”という素朴な疑問についてはいかがであろうか。手元に適切な妥当性を証明するデータがない、としてもうなずける。このような場合でも、最近ではインターネットを通じて多くの情報を集めることができる。

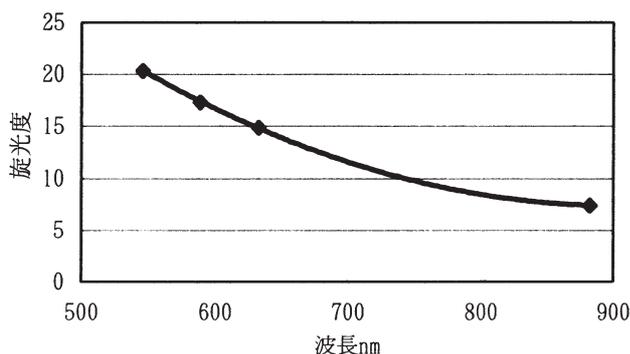


図7 スクロースの旋光度と波長の関係

例えば、NISTのホームページにアクセスして、旋光度の標準物質スクロースの情報を抽出し整理してみると、図7のようなグラフが作成できる。

この結果より、一般的にはナトリウムのD線の波長586nm付近の光が測定に用いられるが、用いる旋光計の光学的な精度によっても影響を受けることが推察できよう。

多くの分析者の方々と交流するなかで、筆者にもしばしば虚を突かれるような格好になることがあって、自分自身にとっても大変勉強になることがある。

インターネット上には試験技術の教育に使える情報もかなりあり、たとえば、分銅のトレーサビリティが知りたい場合、はかりを供給しているメーカーのホームページを探せば、各国が所有するキログラム原器の番号も知ることができる。その他分析機器の基礎理論、不確かさの算出方法、SPC管理等の品質管理技術、標準物質の情報、国際的な技能試験の開催情報など枚挙に暇がない。

9. おわりに

昨今、国際規格が試験の精度を明確にするよう要求することが増えている。ISO 17025による不確かさの見積もり以外にも、QS 9000 (ISO/TS 16949)でも測定システ

ム分析(MSA)の要求等がある。この場合では、評価判定として、「ゲージR&R」の解析を要求している。

$$TV = \sqrt{EV^2 + AV^2 + PV^2} = \sqrt{(R\&R)^2 + PV^2}$$
$$R\&R = \sqrt{EV^2 + AV^2}$$

(R&R: Repeatability & Reproducibility 繰返し性と再現性)

TV: Total Variation 測定値の全ばらつき

EV: Equipment Variation 測定機器によるばらつき

AV: Appraiser Variation 測定者によるばらつき

PV: Part Variation 被測定物のばらつき

$$\text{「ゲージR\&R」の合格基準} \left(\frac{R\&R}{TV} \right) \times 100(\%)$$

R&RがTVの10%以下の場合 : 優良

R&RがTVの10%から30%の場合 : 可

R&RがTVの30%以上の場合 : 不可

試験の実施については、精度管理の要求がますます高まりつつあり、試験のプロセスのなかに含まれる不確かな要素の一つひとつに地道な配慮が望まれる。試験結果の有効性を高める手段として、また技術を伝承していく教育にも、こうした配慮の成果が十分に反映されるよう期待する。