

標準液の基礎知識

Fundamental Knowledge of Calibration Solutions



一般財団法人化学物質評価研究機構
東京事業所
化学標準部技術第二課長

上野 博子 博士(工学)

1. はじめに

最近の化学分析において、測定対象物質の種類の多種多様化、対象濃度の低濃度化や正確さへの要求から、機器分析は通常の計測に欠かせないものとなっている。また、分析機器の高度化に伴い測定の自動化が進み、さらに試験所認定制度などにおいて操作手順書などが整備されていることから、測定者の熟練度によらず初心者であっても、ある程度の結果を求めることができるようになってきている。しかし、機器が計測するのは物質そのものではなく、その物質の何らかの現象により生じる電流値や電圧値の変化など相対的な数値を示したものであるため、試料を機器に導入するだけでは、測定対象物の濃度を知ることはできない。一方、環境基準や水質基準、製品の品質管理等においては濃度で管理されることが多く、我々が結果として求めたいものは『濃度』である。そこで、濃度を得るために、機器分析においては標準物質を用いて測定対象物の濃度と機器の出力値の関係を検量線という形で求める必要がある。そのため、機器分析においてこの標準物質の質がそのまま検量線の精確さ、更には測定結果の精確さに大きく影響を与えることとなる。

今回は化学分析における結果の信頼性確保に必要な標準物質の概要と標準液の使用上の留意点などについて紹介する。

2. 標準物質とは

「標準物質」と呼ばれるものは数多くあり、使用目的に応じて選択する必要がある。

化学分析に用いられる標準物質は大別すると純物質系標準物質と組成標準物質の二つに分けられる。純物質系標準物質は高純度物質、これを希釈して調製された標準ガスや標準液などが挙げられる。標準液としては、高純度試薬を水や酸に溶解させた pH 標準液や無機標準液、有機溶媒に溶解させた有機標準液などがある。

一方、組成標準物質は純物質系標準物質以外を示し、一般にマトリックス中の成分の濃度あるいは組成が特性値であるもので、鉄鋼などの金属標準物質、セラミックスなどの無機標準物質、海水や土壌などの環境標準物質、合成高分子などの高分子標準物質、血清などの臨床標準物質がある。

標準物質の主な使用目的として、分析・計測機器の校正 (Calibration)、他の物質への値の付与、計測機器や分析・計測手順の妥当性確認 (Validation)、内部精度管理や外部精度管理などの技能確認があり、用途に応じて各標準物質は使い分けられている。特に、機器の校正に用いられる純物質系標準物質は組成標準物質の特性値の決定にも用いられるため、化学分析の根幹となる必要不可欠なものである。

標準物質 (RM: reference material) は、JIS Q 0030:2019 (ISO guide 30:2015) 「標準物質—選択された用語及び定義」中で、

「一つ以上の規定特性について、十分均質かつ安定であり、測定プロセスでの使用目的に適するよう作製された物質。」と定義されている。

また、標準物質の中でも信頼性の高い認証標準物質 (CRM: Certified Reference Material) は、

「一つ以上の規定特性について、計量学的に妥当な手順によって値付けされ、規定特性の値及びそれに付随する不確かさ、並びに計量トレーサビリティを記載した標準物質認証書が付いている標準物質。」としている。

このように認証標準物質は計量トレーサビリティが確立され、特性値の信頼の程度を数値で示した不確かさが付与されている。JIS Q 17025:2018 (ISO/IEC 17025:2017) 「試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項」では、能力のある生産者から提供された、表明された国際単位系 (SI) への計量トレーサビリティを伴った認証標準物質の認証値を用いる

ことにより、測定結果がSIにトレーサブルであることを確実にすることの証明の一つとされている。このように、信頼性の高い測定結果を得るためには認証標準物質が必要であるといえる。

先に述べたように、「標準物質」と呼ばれるものは多々あり、試薬メーカーが独自に保証している標準物質、学協会等が供給している試験機関や分析者の技能評価などに用いられる組成標準物質等があるが、この中には計量トレーサビリティが明確ではないものも多く存在している。一方で、後述する計量法トレーサビリティ制度(JCSS)によって供給される標準ガスや標準液、国立研究開発法人産業技術総合研究所計量標準総合センター(NMIJ/AIST)から供給されるNMIJ CRMなどは計量トレーサビリティが明確なものである。信頼性が異なる標準物質があることを理解した上で、使用目的に合わせて、選択する必要がある。

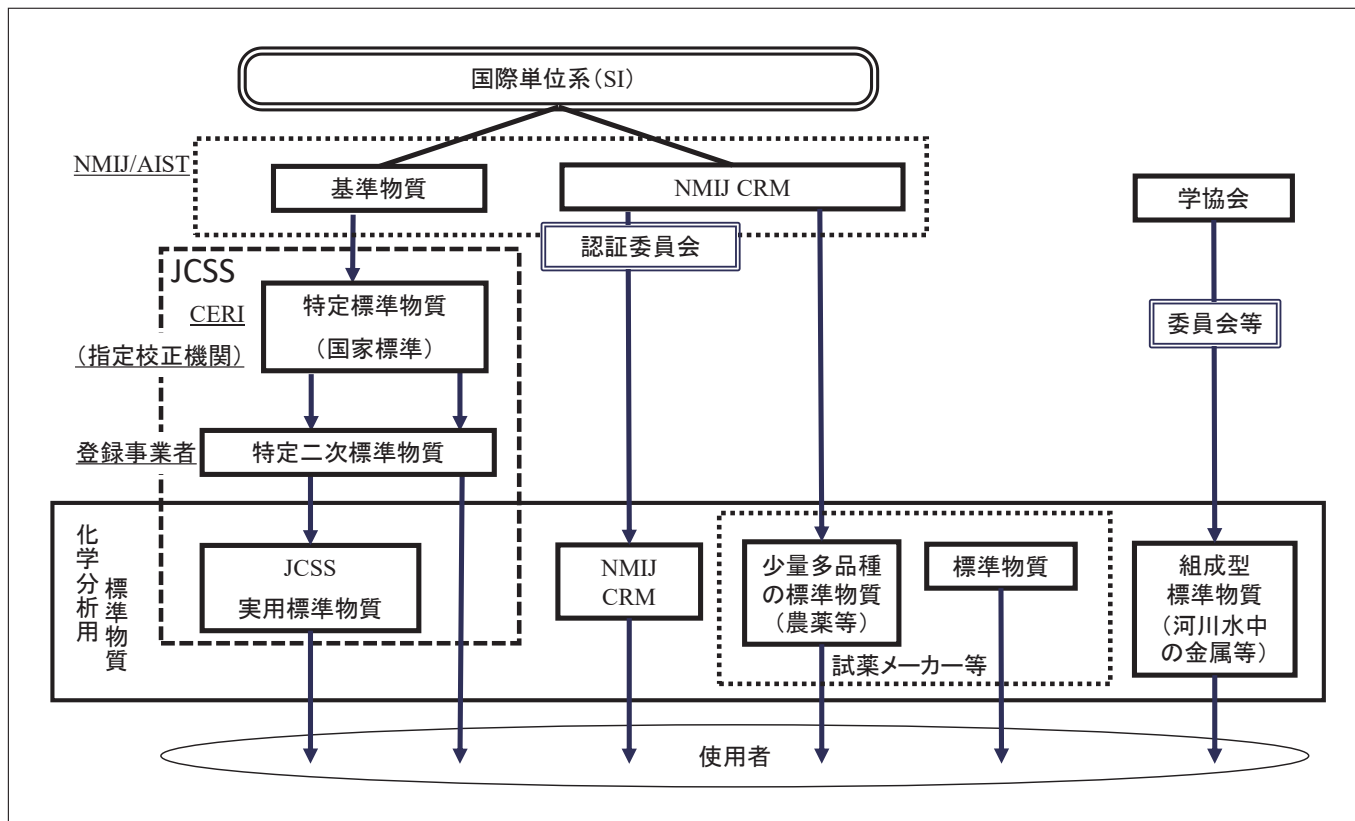


図1 標準物質の供給体系

NMIJ/AIST：国立研究開発法人産業技術総合研究所計量標準総合センター

NMIJ CRM：NMIJが供給する認証標準物質

CERI：一般財団法人化学物質評価研究機構

JCSS：計量法トレーサビリティ制度

JCSS実用標準物質：計量法トレーサビリティ制度に基づき供給される市販の標準物質

3. 計量法トレーサビリティ制度(JCSS)によって供給される標準物質

JCSS 標準物質とは1993年に施行された新計量法により導入された計量法トレーサビリティ制度(Japan Calibration Service System：JCSS)に基づき供給される標準物質のことである。JCSSでは、長さや質量、時間など25の分野の計量標準が供給されているが、その一つに濃度(標準物質)がある。JCSS 標準物質の供給体系は次のとおりである。経済産業大臣より指定された指定校正機関(一般財団法人化学物質評価研究機構：CERI)が国家標準に相当する特定標準物質を製造・維持管理し、登録事業者から持ち込まれる特定二次標準物質の校正(値付け)を行っている。さらに、JCSSの登録事業者は特定二次標準物質を用いて実用標準物質を校正(値付け)し、JCSSのロゴマークが付与された校正証明書とともに市販している。ここで用いられる特定標準物質の濃度は、国家計量標準機関であるNMIJの認証標準物質(NMIJ CRM)を介して国際単位系(SI)にトレーサブルであることから、これら一連の校正の連鎖により、JCSS 標準物質の濃度はSIへのトレーサビリティが確保されている。このようにJCSS 標準物質は計量トレーサビリティが明確なものであり、測定データの信頼性確保に有効なものとして使用できる。2020年10月時点において、標準ガス34種類、標準液101種類の合計135種類が特定標準物質として指定されている。

表1 特定標準物質の種類

	標準物質の種類	実用標準物質の供給の状態
標準ガス	メタン標準ガス、プロパン標準ガス、一酸化炭素標準ガス、二酸化炭素標準ガス、一酸化窒素標準ガス、二酸化窒素標準ガス、酸素標準ガス、二酸化硫黄標準ガス、零位標準ガス、塩化ビニル標準ガス、VOC12種混合標準ガス	登録事業者が 実用標準ガス供給
	一酸化窒素標準ガス(低濃度)、二酸化硫黄標準ガス(低濃度)、アンモニア標準ガス、ジクロロメタン標準ガス、クロロホルム標準ガス、1,2-ジクロロエタン標準ガス、トリクロロエチレン標準ガス、テトラクロロエチレン標準ガス、ベンゼン標準ガス、エタノール標準ガス、低濃度窒素酸化物用零位調整標準ガス、低濃度硫黄酸化物用零位調整標準ガス、VOC用零位調整標準ガス、1,3-ブタジエン標準ガス、アクリロニトリル標準ガス、 <i>o</i> -キシレン標準ガス、 <i>m</i> -キシレン標準ガス、トルエン標準ガス、エチルベンゼン標準ガス、アセトアルデヒド標準ガス、VOC9種混合標準ガス、ベンゼン等5種混合標準ガス、VOC7種混合標準ガス	2020年10月現在 登録事業者なし
pH 標準液	しゅう酸塩 pH 標準液、フタル酸塩 pH 標準液、中性りん酸塩 pH 標準液、りん酸塩 pH 標準液、ほう酸塩 pH 標準液、炭酸塩 pH 標準液	登録事業者が 実用標準液供給
無機標準液	アルミニウム標準液、ひ素標準液、ビスマス標準液、カルシウム標準液、カドミウム標準液、コバルト標準液、クロム標準液、銅標準液、鉄標準液、水銀標準液、カリウム標準液、マグネシウム標準液、マンガン標準液、ナトリウム標準液、ニッケル標準液、鉛標準液、アンチモン標準液、亜鉛標準液、塩化物イオン標準液、ふっ化物イオン標準液、亜硝酸イオン標準液、硝酸イオン標準液、りん酸イオン標準液、硫酸イオン標準液、アンモニウムイオン標準液、リチウム標準液、バリウム標準液、モリブデン標準液、ストロンチウム標準液、すず標準液、タリウム標準液、セレン標準液、ルビジウム標準液、臭化物イオン標準液、シアン化物イオン標準液、陰イオン7種混合標準液、ほう素標準液、セシウム標準液、ガリウム標準液、インジウム標準液、テルル標準液、バナジウム標準液、臭素酸イオン標準液、塩素酸イオン標準液、銀標準液、亜塩素酸イオン標準液	登録事業者が 実用標準液供給
	金属15種混合標準液	2020年10月現在 登録事業者なし
有機標準液	揮発性有機化合物23種混合標準液、ホルムアルデヒド標準液、揮発性有機化合物25種混合標準液、全有機体炭素標準液、フェノール類6種混合標準液、かび臭物質2種混合標準液、ハロ酢酸4種混合標準液	登録事業者が 実用標準液供給
	ジクロロメタン標準液、クロロホルム標準液、1,2-ジクロロエタン標準液、四塩化炭素標準液、トリクロロエチレン標準液、テトラクロロエチレン標準液、トルエン標準液、ベンゼン標準液、 <i>o</i> -キシレン標準液、 <i>m</i> -キシレン標準液、 <i>p</i> -キシレン標準液、1,1-ジクロロエチレン標準液、 <i>cis</i> -1,3-ジクロロプロペン標準液、 <i>cis</i> -1,2-ジクロロエチレン標準液、1,1,1-トリクロロエタン標準液、1,1,2-トリクロロエタン標準液、 <i>trans</i> -1,3-ジクロロプロペン標準液、トリプロモメタン標準液、プロモジクロロメタン標準液、ジプロモクロロメタン標準液、 <i>trans</i> -1,2-ジクロロエチレン標準液、1,2-ジクロロプロパン標準液、1,4-ジクロロベンゼン標準液、フタル酸ジエチル標準液、フタル酸ジ- <i>n</i> -ブチル標準液、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル標準液、フタル酸ブチルベンジル標準液、4- <i>t</i> -オクチルフェノール標準液、4- <i>t</i> -ブチルフェノール標準液、4- <i>n</i> -ヘプチルフェノール標準液、ビスフェノールA標準液、4- <i>n</i> -ノニルフェノール標準液、2,4-ジクロロフェノール標準液、フタル酸ジ- <i>n</i> -ヘキシル、フタル酸ジシクロヘキシル、フタル酸ジ- <i>n</i> -ペンチル、フタル酸ジ- <i>n</i> -プロピル、フタル酸エステル類8種混合標準液、アルキルフェノール類等6種混合標準液、アルキルフェノール類等5種混合標準液、ヘプタオキシエチレンドデシルエーテル標準液*	2020年10月現在 登録事業者なし

*2020年6月に特定標準物質として追加指定された標準液で、2020年度中に登録事業者から実用標準液を供給予定

4. 標準液の使い方

4-1. 取扱い

標準物質は、認証書などに明記されている保管方法や使用方法(乾燥などの前処理条件や最小試料量等)を確認し、これに従って用いる必要がある。

一般的に市販されている標準液の多くは、1000 mg/L や 100 mg/L の濃度で供給されている。JIS K 0010～JIS K 0038(2007年廃止)の pH 標準液や銅標準液、硝酸イオン標準液などの無機標準液の規格では、取扱い上の注意事項として次のことを挙げている。

- ・直射日光を避け、25℃以下で保存する。ただし、凍結させてはならない。
- ・容器をよく振った後、開封する。
- ・開封した場合は、直ちに使用する。

凍結させてはならない理由として、凍結により凝集などが起こり、内容物が不均質になる可能性があること、ねじ口の保存容器などでは、本体と蓋の材質が異なる場合、その収縮率の違いから容器本体と蓋の間に隙間ができ、内溶液が揮散し、結果的に濃度変化を引き起こす可能性があることなどが挙げられる。また、内溶液成分の密度の違いや容器の内壁への内溶液付着などにより濃度が不均質になるおそれがあるため、標準液を開封する前には内溶液を十分攪拌する必要がある。さらに、開封後は直ちに使用し、保存期間の過ぎたものは使用しないなどの基本的な注意が必要である。

現在、JCSSとして供給されている揮発性有機化合物25種混合標準液などの有機標準液は、冷蔵保存としている。また、有機標準液などのようなアンプルに入ったものは、アンプルを開封後直ちに使用し、使用後の残り分を保存して再度使用せず、使い切りにする必要がある。

これらの使用方法や保存条件は一例であり、必ず認証書や容器に貼付されているラベルに記載されている内容を確認することが最も重要である。

4-2. 検量線用標準液の調製

機器分析では、検量線を作成するために1000 mg/Lなどの標準液(原液)を希釈して検量線用標準液を調製する。精確な濃度の検量線用標準液の調製には様々な注意点がある。

原液として用いる標準液には、単成分標準液と混合標準液があるが、いずれも高濃度の標準液を水や酸溶液などの希釈溶液で希釈して用いるのが一般的である。

この希釈溶液として用いる水や酸などの品質の確保は精確な濃度の検量線用標準液を調製する上で欠かせない条件である。この希釈溶液の中に、測定対象成分が不純物として含まれると、検量線用標準液の濃度の精確さが失われることになる。よって、希釈に用いる水や酸などの不純物の情報は重要であり、測定の目的に合わせて、その品質を確認する必要がある。

化学分析に用いる水の規格としては JIS K 0557「用水・排水の試験に用いる水」があり、種別及び質として4種類が規定されているが、実際に用いる場合は、試験目的によって要求される質が異なるため、目的に合わせた空試験が必要である。また、溜め置いて長期間保存したものは汚染などの問題を起こすので、製造直後の水を使用することが望ましい。

金属等の検量線用標準液を調製する場合には、その多くが、硝酸等の酸を用いることになり、水と同様に使用する酸の品質には十分な注意が必要である。

硝酸は、JIS規格の中でも JIS K 8541「硝酸(試薬)」、JIS K 9901「高純度試薬—硝酸」のように品質の異なるものが規定されており、要求される不純物の規格値も異なっている。さらに、試薬製造業者が独自の規格で製造するものもあり、その中には高感度分析を目的とした不純物の保証の項目が多く規格値が低濃度のレベル(質量分率 ppb から質量分率 ppt)で管理されている酸もある。不純物等の情報は、試薬製造業者のホームページ等から規格値が確認できるだけでなく、製造ロットごとに試験成績書が入手可能である。

有機標準液の検量線用標準液を調製する際は、メタノールやヘキサン等の有機溶媒が用いられるが、これらの有機溶媒についても、前述の酸と同様にそれぞれの試薬製造業者から各試験の目的に応じた様々な規格のものが市販されているため、不純物などの情報を入手し、適切な品質のものを選択する必要がある。

希釈方法としては、全量ピペットや全量フラスコなどのガラス製体積計を用いる容量比混合法が広く用いられている。ガラス製体積計の精確さの情報は、製造者からの情報や JIS R 3505(ガラス製体積計)などから入手できる。これらは、20℃の状態では標準液が校正されているので、標準液を希釈する場合は、体積計だけでなく、希釈される標準液(原液)や希釈のための酸溶液などの液温にも十分な注意が必要である。特に、希釈のための酸溶液を調製する際、水に酸を添加すると発熱するので、あらかじめ酸溶液を調製して温度を安定させてから使用するとよい。また最近では、全量ピペットより操作が簡便なことからマイクロピペットなどの微量体積計も多く用いられているが、微量を取り扱うことになるため、その取り扱いや分取した液体の体積の精確さの確認など十分な配慮が必要である。

ガラス製体積計やマイクロピペットは必要に応じて校正して用いることができる。校正方法はガラス製体積計については

JIS K 0050 (化学分析方法通則)に、マイクロピペットについては JIS K 0970 (ピストン式ピペット)に規定されている。

一方、ガラス製体積計を用いる容量比混合法以外にも、質量比混合法と呼ばれる希釈方法もある。質量比混合法は原料及び溶媒の質量を精密天びんで測定して調製する方法である。通常の手順は、次のようになる。

- ① 希釈用容器の質量を測定
- ② ①の希釈用容器に希釈用の標準液(原液)を入れ、質量を測定
- ③ 希釈用容器に希釈溶液を必要量加え、質量を測定
- ④ 内溶液をよく攪拌混合した後、密度を測定

容量比混合法がガラス製体積計などの精確さに依存するのに対し、質量比混合法は天びん及び密度計の精確さに依存するため、一般的には容量比混合法に比べ質量比混合法の不確かさが小さくなると考えられるが、通常の機器分析においては容量比混合法による希釈操作で十分なことが多い。質量比混合法の場合、溶質と溶液の量が質量で表される(g/gなど)ことから、一般的な濃度単位(g/Lなど)に換算するために密度測定が必要となるが、必ずしもガラス製体積計を用いる必要がないので、様々な容器を用いることが可能となり、その汎用性は広い。例えば、揮発性の高い有機標準液の場合、全量フラスコを用いて調製すると、蓋のすり合わせの部分から溶媒等が揮発することによる濃度の精確さへの影響が懸念されるが、全量フラスコの標線に頼らず、密閉性の高い容器を用いて質量比混合法により標準液を希釈することも可能となり、希釈操作における選択の幅が広がる。

4-3. 混合標準液の調製

吸光光度分析法、原子吸光分析法などでは、単成分の標準液を用いる場合が多いが、最近は多元素を同時に測定可能な誘導結合プラズマ発光分光分析法、誘導結合プラズマ質量分析法なども多用されているため、検量線作成のために混合標準液を利用することが多い。これら混合標準液を単成分の標準液を用いて混合する場合には、不溶物の生成などに対する注意が必要である。

測定対象成分による不溶物が生成するものとして、例えば、クロム標準液と鉛標準液を混合する場合に、クロム酸鉛が生成することが挙げられる。ただし、このクロム酸鉛はクロムの価数が6価の場合に生成し、それぞれの標準液をある程度希釈してから使用すると不溶物を生成しないなど、混合時の濃度や混合からの時間によっても生成の状態は異なる。

また、標準液の液性によって不溶物が生成するものもある。標準液の多くは硝酸溶液であるが、その成分の種類により濃度の安定性などの問題で、硝酸溶液、塩酸溶液、硫酸溶液の状態で供給されている。そのため、液性の異なる標準液を混合した場合、液性の種類によっては、測定対象成分と不溶物を生成する可能性がある。例えば、ヒ素標準液は、塩酸酸性として供給されているため、銀標準液と混合すると、ヒ素標準液中の塩酸と銀が反応して不溶物の塩化銀を生成する。

よって、標準液を混合調製する際は、安易に混合せず、ラベルなどに記載されている標準液の成分を確認し、混合する標準液の相互の反応や、沈殿ができる場合はその溶解度などを調査する必要がある。

4-4. 保存安定性

標準液は調製濃度や値付け濃度など、初期に付与された濃度を補正せずに測定に用いるため、濃度が経時変化を起こさない保存条件の設定が重要である。濃度変化が起こった標準液を用いて検量線を作成し、その検量線により試料の濃度測定を行えば、精確な結果が得られないことは明らかである。そのため、用いる標準液の濃度の保存安定性を評価することが必要である。JCSS 標準物質の場合、開発時に保存安定性試験を実施しているが、保存条件を設定する際には希釈溶媒の液性、保存容器や保存温度等について比較検討し最適保存条件を選択している。

濃度の保存安定性に影響する可能性のある要因として次のような例が挙げられる。

- ・標準液の濃度(一般的には低濃度は不安定)
- ・標準液原料物質の種類
- ・保存期間
- ・溶媒の種類(酸の種類、水の製造方法、有機溶媒の種類)
- ・溶媒の濃度(酸の濃度、pH、溶媒中の不純物成分の濃度)
- ・保存容器の種類(材質、容量、器壁の厚さ、密閉形式、溶出、遮光、揮発)
- ・保存容器の洗浄方法(容器への吸脱着)
- ・標準液の充填状態(空間の比率等)
- ・安定化剤の有無(安定化剤の種類や濃度)
- ・保存温度(一般的には低温度が安定)
- ・保存場所(汚染、温度変化の大きさ)
- ・保存安定性評価に用いる方法(測定方法、解析方法)
- ・その他(容器内の均質性、容器の開封、未開封の状態)

これらの要因は、成分、環境条件などにより複雑に影響しあうため、一般的な程度を示すことは難しい。それぞれの使用方法や保存方法、環境条件などを基に標準液の濃度の保存安定性を確認することが望ましい。

保存安定性の試験方法としては、保存用の試料を調製した後、保存の最初と一定期間経過後にそれぞれ独立した検量線用標準液を用いて濃度を測定し、その変化量を評価する方法が一般的である。

標準液の保存安定性の一例として、シアン化物イオン標準液の結果を示す(図2)。

シアン化物イオン標準液の保存安定性試験では、標準液の濃度、水酸化ナトリウムの濃度、保存容器の種類、保存温度を因子として挙げた。これらの因子について2～3水準ずつ設定し、直交配列表へ割り付け、それぞれの条件でシアン化物イオン標準液を調製し、6か月にわたる経時変化を測定した。その結果を統計的に解析し、各因子や水準の安定性への影響を定量的に評価し、最適な保存条件を求めた。結果の一部を図に示したが、6か月間の濃度変化は5℃で保存した場合は-5%以内である一方、40℃で保存した場合は-80%前後となり、統計解析の結果、保存温度が濃度変化に最も影響を与えていることが明らかとなった。

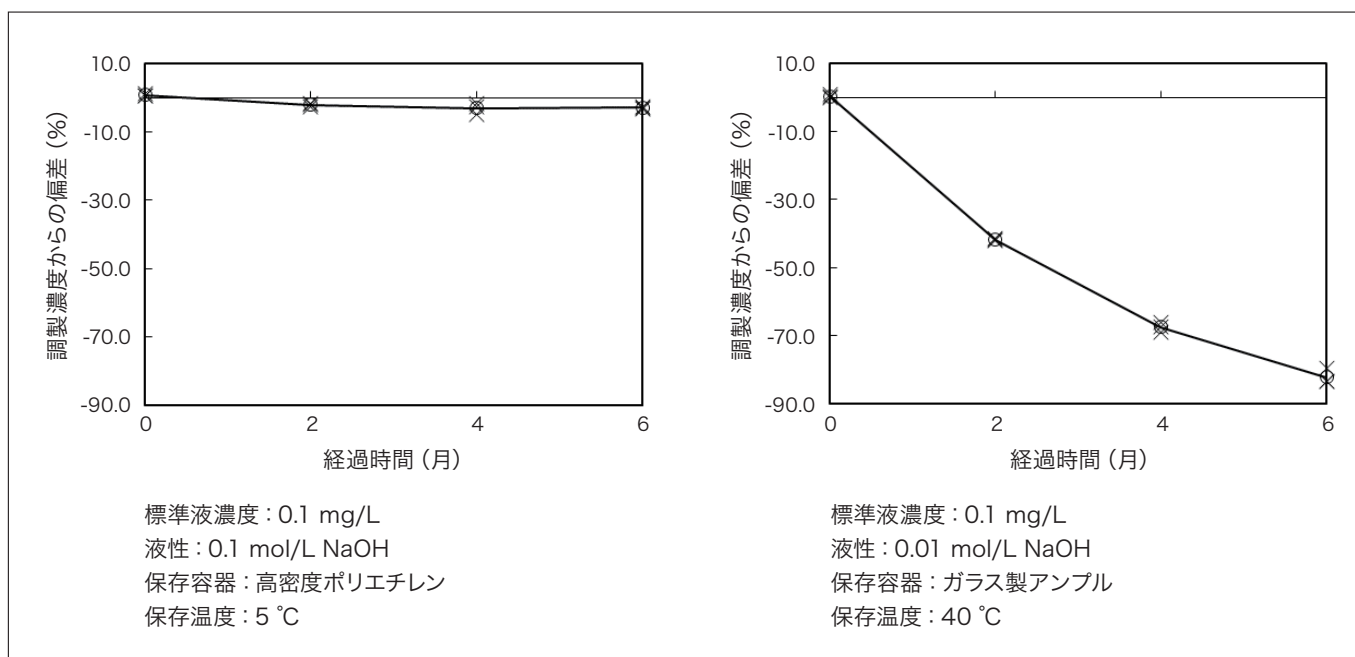


図2 シアン化物イオンの経時濃度変化

4-5. 保存容器

検量線用標準液は、用時調製が基本であるが、一時的に保存する場合がある。全量フラスコなどで調製し、そのまま保存すると、栓の部分から溶媒が揮散して結果的に濃度変化が起きる又は全量フラスコ自体から溶出した元素が問題を引き起こすなどの理由から、密閉度を高くした状態で別の容器に保存することが望ましい。

一般的な保存容器の材質としては、ガラス製、ポリエチレン製、ポリプロピレン製などの多くの種類がある。同じ材質であっても、その材質中の不純物や製造時の添加剤などが主成分以外に含まれるため、これらの不純物などが標準液保管中に溶出してくることがある。特に、検量線用標準液の測定対象成分が容器から溶出すると正確な検量線の作成に影響するため注意が必要である。

また、一般的に標準液の保存容器として用いられる高密度ポリエチレン製容器では、容器の器壁などから溶媒が揮散する場合がある。標準液中の水分が水蒸気などの状態で器壁を透過するなどの理由が考えられる。先に示したシアン化物イオン標準液の濃度低下のように、対象成分そのものが分解などにより直接濃度変化を起こさずとも、結果的に濃度変化につながる可能性があるため注意が必要である。

5. おわりに

日々の測定の中で、標準物質は必要不可欠なものとなっている。標準物質は多くの種類が存在するが、その信頼性のレベルは大きく異なっており、分析者の使用用途に合わせた標準物質を選択する必要がある。一方、信頼性の高い標準物質を選択しても、その取扱い方法によって、その信頼性を損ねる場合があるため、個々の測定者が測定目的や対象成分、測定濃度に応じて注意しながら使用することで、最終的な測定結果の信頼性が確保されると考える。

参考文献

- 1) 久保田正明編著, “化学分析・試験に役立つ 標準物質活用ガイド”, 丸善 (2009).
- 2) JIS Q 0030, 標準物質—選択された用語及び定義 (2019).
- 3) ISO/IEC Guide 99, VIM: International Vocabulary of Metrology—Basic and general concepts and associated terms (2007).
- 4) JIS Q 17025, 試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項 (2018).
- 5) 平井昭司監修, 日本分析化学会編, “現場で役立つ化学分析の基礎”, オーム社 (2006).
- 6) 四角目和広, ぶんせき, p562-570 (2010).
- 7) JIS K 0557, 用水・排水の試験に用いる水 (1998).
- 8) JIS K 8541, 硝酸 (試薬) (2015).
- 9) JIS K 9901, 高純度試薬—硝酸 (1994).
- 10) JIS R 3505, ガラス製体積計 (1994).
- 11) JIS K 0050, 化学分析方法通則 (2019).
- 12) JIS K 0970, ピストン式ピペット (2013).
- 13) 国立研究開発法人産業技術総合研究所計量標準総合センター, 一般社団法人日本試薬協会共著, “試薬ガイドブック 改訂第4版”, 化学工業日報 (2020).
- 14) 財団法人化学品検査協会, “微量シアン計測に必要な低濃度シアン化物標準液の開発研究に関する報告書” (1997年3月).