

# 多岐にわたる有機標準物質の 供給を支える一対多型校正 一対多型校正の概要と標準供給への応用

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 物質計測標準研究部門  
有機基準物質研究グループ  
伊藤 信靖

# 発表内容

## ○背景

- ・ 分析現場で使いやすい混合標準液（例：水質基準項目）
- ・ 従来の混合標準液の開発スキームとその課題

## ○一対多型校正

- ・ 定量核磁気共鳴分光法（qNMR）
- ・ ポストカラム反応ガスクロマトグラフィー
- ・ qNMR/クロマトグラフィー

## ○まとめ

# 発表内容

## ○背景

- ・ 分析現場で使いやすい混合標準液（例：水質基準項目）
- ・ 従来の混合標準液の開発スキームとその課題

## ○一対多型校正

- ・ 定量核磁気共鳴分光法（qNMR）
- ・ ポストカラム反応ガスクロマトグラフィー
- ・ qNMR/クロマトグラフィー

## ○まとめ

# 多岐にわたる検査項目の例

水道水質基準は、水道法第4条に基づいて厚生労働省令によって定められている。平成16年4月1日に大幅に改正され、平成20年、21年、22年、23年及び26年に一部改正され、現在は51項目（水質基準項目）。水道水は、水質基準に適合するものでなければならず、水道法により、検査が義務づけられている。

## 水質基準項目（51項目）

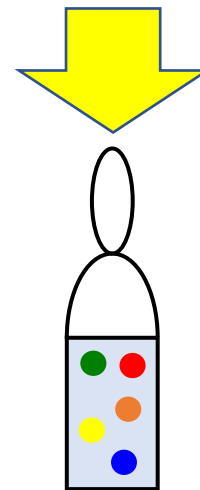
一般細菌	シアン化物イオン及び塩化シアン	トリクロロエチレン	トリクロロ酢酸	マンガン及びその化合物	有機物(全有機炭素(TOC)の量)
大腸菌	硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素	ベンゼン	ブロモジクロロメタン	塩化物イオン	pH値
カドミウム及びその化合物	フッ素及びその化合物	塩素酸	ブロモホルム	カルシウム、マグネシウム等(硬度)	味
水銀及びその化合物	ホウ素及びその化合物	クロロ酢酸	ホルムアルデヒド	蒸発残留物	臭気
セレン及びその化合物	四塩化炭素	クロロホルム	亜鉛及びその化合物	陰イオン界面活性剤	色度
鉛及びその化合物	1,4-ジオキサン	ジクロロ酢酸	アルミニウム及びその化合物	ジェオスミン	濁度
ヒ素及びその化合物	シス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレン	ジブロモクロロメタン	鉄及びその化合物	2-メチルイソボルネオール	
六価クロム化合物	ジクロロメタン	臭素酸	銅及びその化合物	非イオン界面活性剤	
亜硝酸態窒素	テトラクロロエチレン	総トリハロメタン	ナトリウム及びその化合物	フェノール類	

# 分析現場で使いやすい混合標準液

水質基準項目に含まれる主な有機化学物質

カテゴリー	成分数
VOC	14種
ハロ酢酸	3種
陰イオン界面活性剤	5種
かび臭物質	2種
非イオン界面活性剤	1種
フェノール類	総量

カテゴリーごとに同じ機器を用いて測定



分析現場では、各カテゴリー内の全成分が含まれる混合標準液（実用標準）を用いて測定することが一般的

# 水道水質検査方法における標準液

従来：決められた手順に則り、測定者が高純度試薬から標準原液を作成し、標準原液を希釈して標準液として利用

水道水質検査方法である「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」が平成27年度に改訂

水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法  
(平成15年厚生労働省 告示第261号)

## 一 総則的事項

2 試薬における標準原液は、計量法(平成四年法律第五十一号)第百三十六条若しくは第百四十四条の規定に基づく証明書又はこれらに相当する証明書が添付され、かつ、各号の別表に定める標準原液と同濃度のものを用いることができること。

(平成二七年三月十二日厚生労働省告示第五六号 平成二七年四月一日から適用)



平成28年度から、計量法トレーサビリティ制度 (JCSS) において  
供給する混合標準液の使用が可能に

→対応する混合標準液を迅速に開発することが急務

# 発表内容

## • 背景

- 分析現場で使いやすい混合標準液（例：水質基準項目）
- 従来の混合標準液の開発スキームとその課題

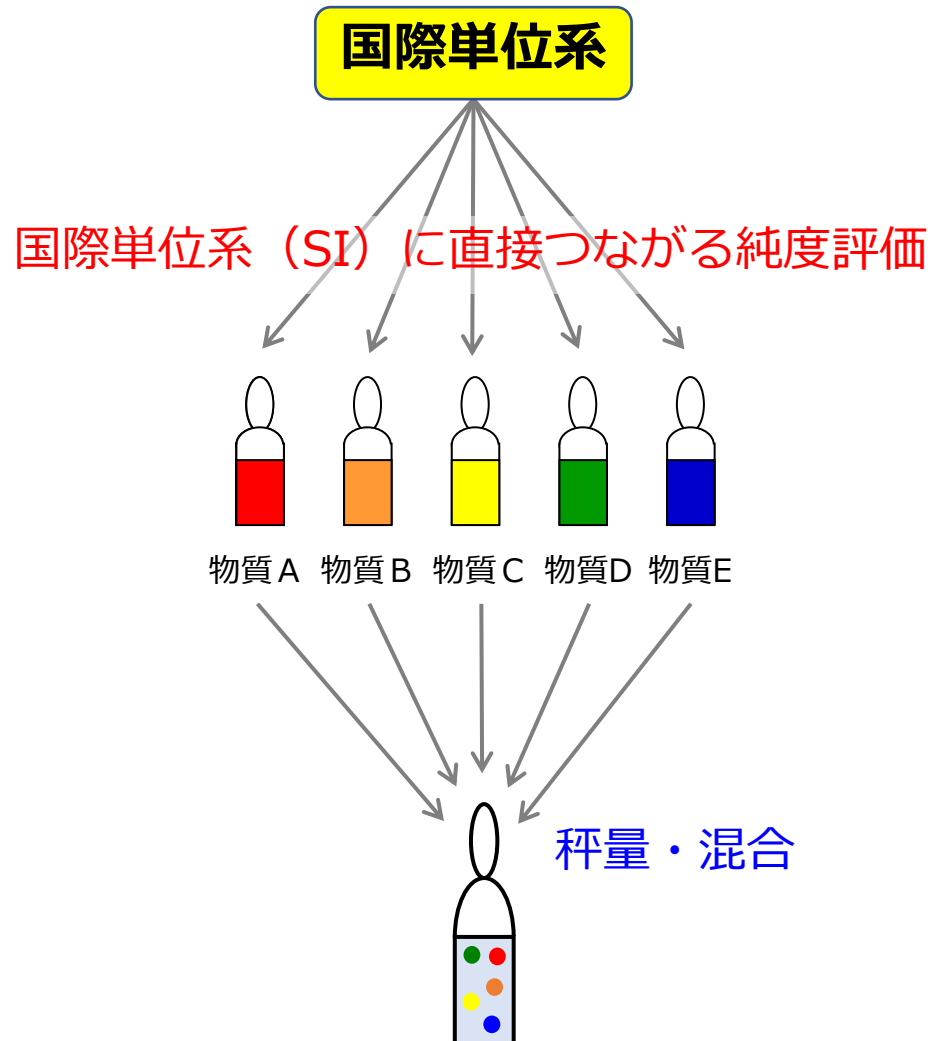
## • 一对多型校正

- 定量核磁気共鳴分光法（qNMR）
- ポストカラム反応ガスクロマトグラフィー
- qNMR/クロマトグラフィー

## • まとめ

# 従来の混合標準液の開発スキーム (1)

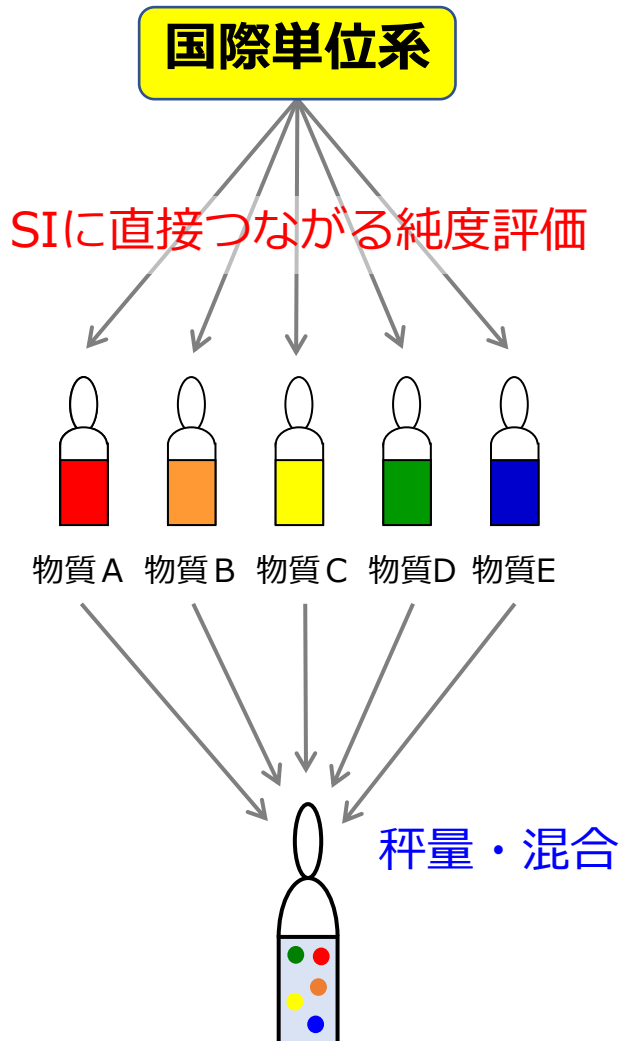
従来の開発スキーム





# 従来の混合標準液の開発スキーム (2)

従来の開発スキーム



SIに直接つながる純度評価＝

一次標準測定法：最も信頼できる評価法

- 凝固点降下法
  - ・試料物性に制限がある
- 滴定法
  - ・適用範囲物質が限定的
  - ・類似不純物の定量が不可欠

+

共存する不純物の評価（差数法）

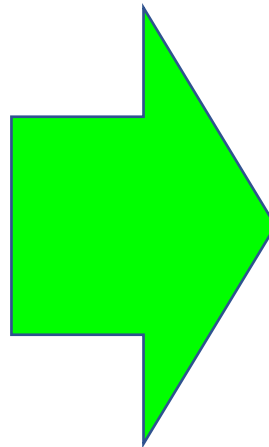
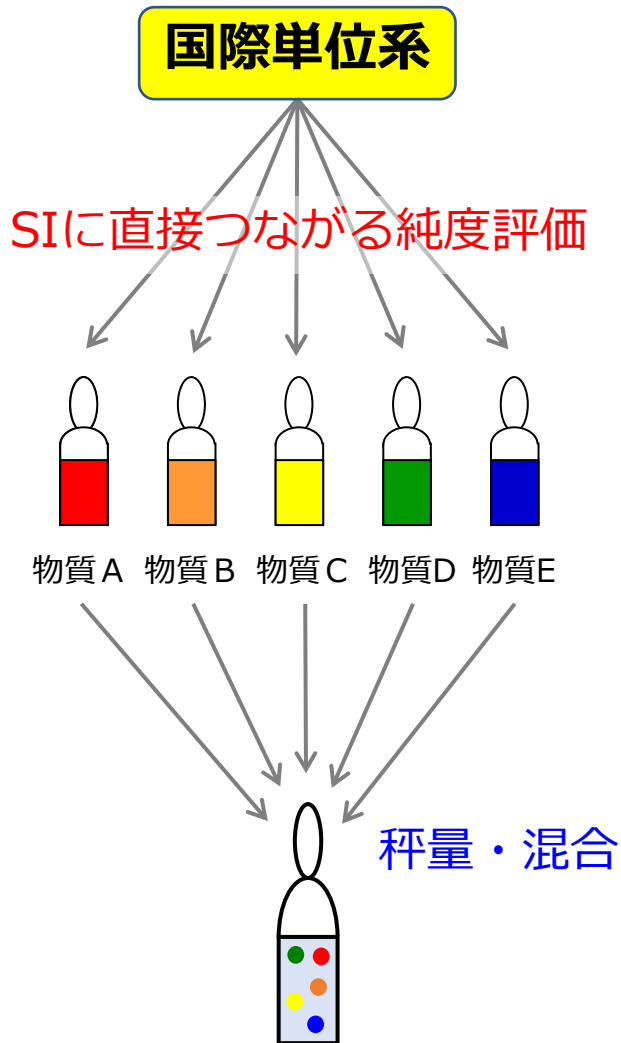
- ・類縁物質、残留溶媒、水分、強熱残分等

→混合標準液を開発する上での律速

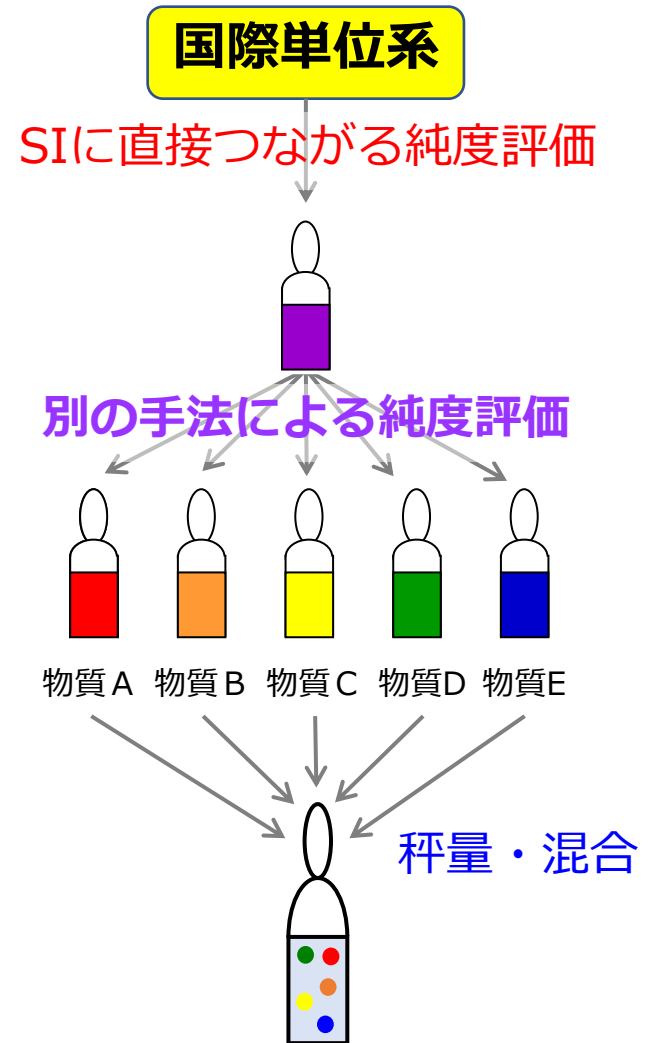
→この工程を減らすことが重要

# 一対多型校正による混合標準液の開発スキーム

従来の開発スキーム



一対多型校正



# 発表内容

## ○背景

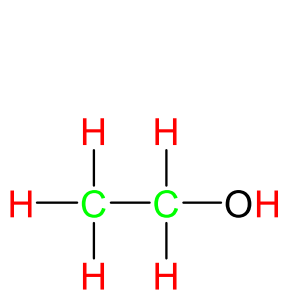
- ・ 分析現場で使いやすい混合標準液（例：水質基準項目）
- ・ 従来の混合標準液の開発スキームとその課題

## ○一対多型校正

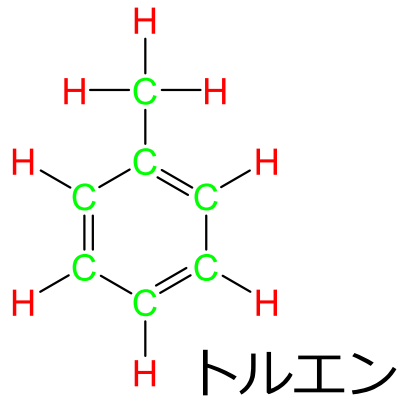
- ・ 定量核磁気共鳴分光法（qNMR）
- ・ ポストカラム反応ガスクロマトグラフィー
- ・ qNMR/クロマトグラフィー

## ○まとめ

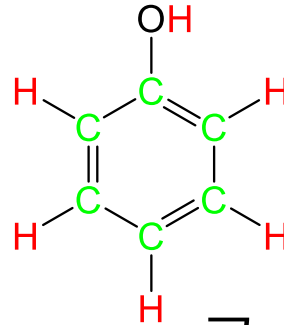
# 有機物質に普遍的に含まれる水素に着目



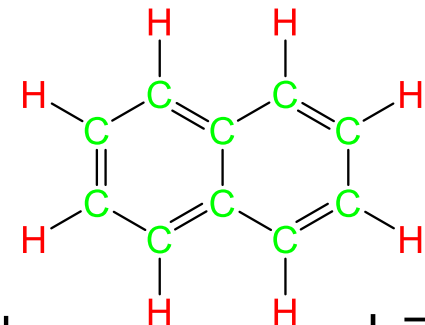
エタノール



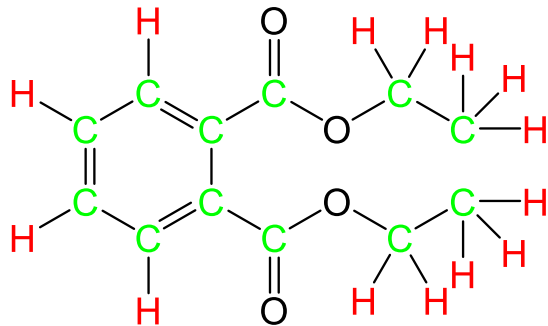
トルエン



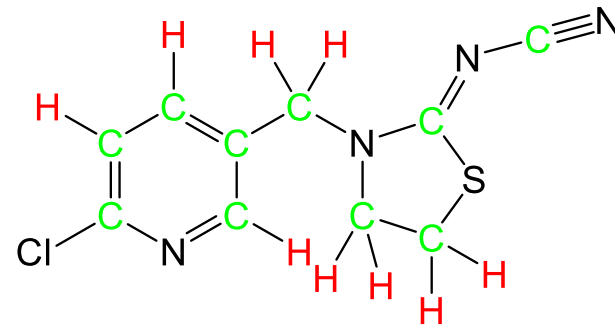
フェノール



ナフタレン



フタル酸ジエチル

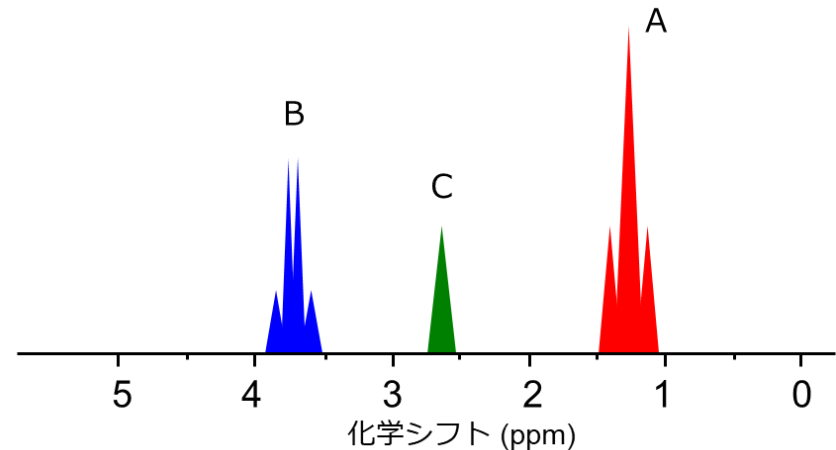
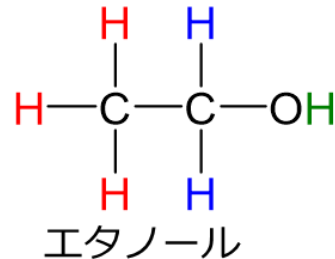


チアクロピリド

有機物質のほとんどに含まれている**水素**で評価することに着目

# 核磁気共鳴分光法 (NMR)

NMR装置の外観

(A) (B) (C) エタノールの<sup>1</sup>H-NMRスペクトル

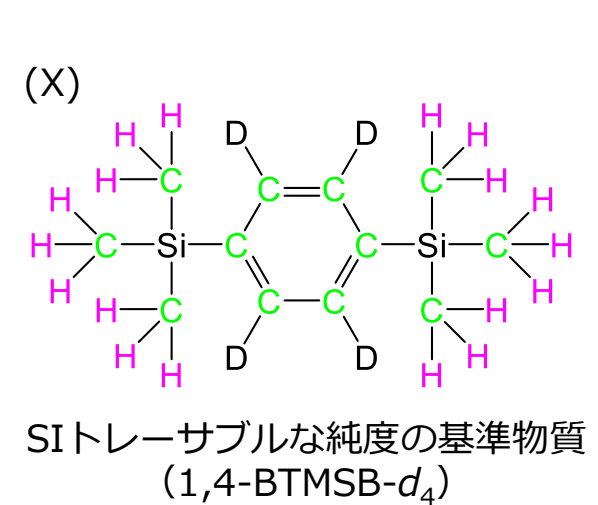
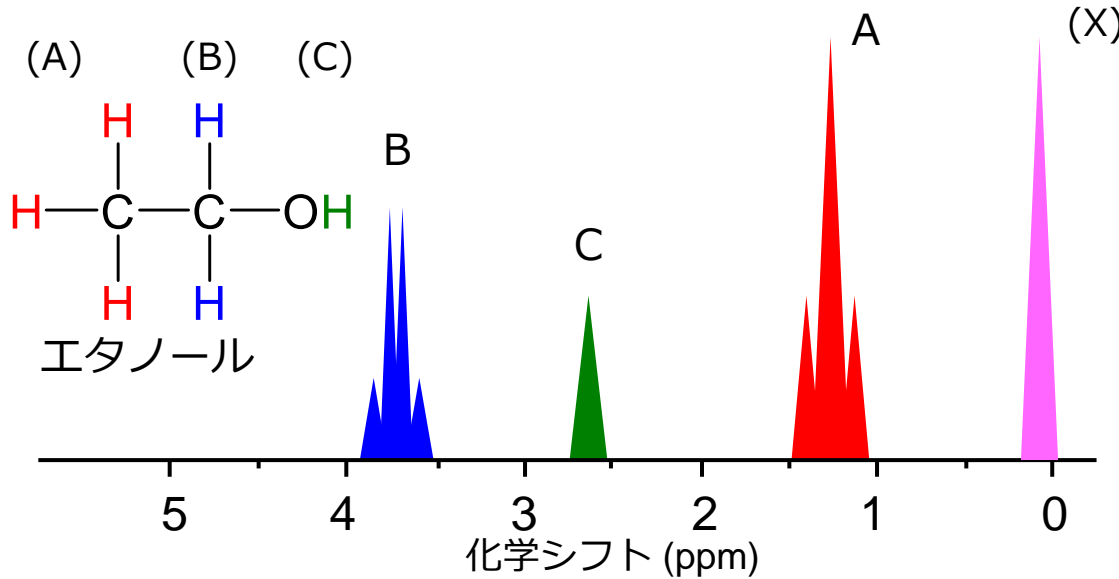
1. 化学シフト : 信号が検出される位置 (横軸; 周波数Hzの変換形で表現)
2. 信号面積 (積分値) : <sup>1</sup>H核の個数に比例 ( $S_A:S_B:S_C \doteq 3:2:1$ )
3. 分裂パターン (スピンスピン結合) : 相互作用する隣接<sup>1</sup>H核の情報を反映

→1~3の情報により、有機物質の構造が推定できる

- ・ 過去60年以上に渡り、主に有機化学で利用 (天然物の構造決定、合成物の構造確認)

# 定量NMR (qNMR) の原理と定量精度の向上

## 2. 信号面積が<sup>1</sup>H核の個数に比例することを利用



信号面積 物質質量 <sup>1</sup>H数 純度 モル質量 質量 <sup>1</sup>H数 信号面積 基準物質の純度

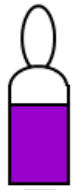
$$\frac{S_A}{S_X} = \frac{n_A N_A}{n_X N_X} \quad \Rightarrow \quad p_A = \frac{M_A m_X N_X}{M_X m_A N_A} \frac{S_A}{S_X} p_X$$

基準物質の<sup>1</sup>Hを用いて、分析対象成分の純度が評価可能

要素技術の開発により、精確さを一桁以上向上 (10 % → <1 %)  
→ 標準物質の純度評価 (値付け) に適用できる水準に

# qNMRにより実現した新たな標準供給

## 国際単位系

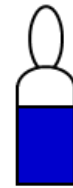


純度評価：凝固点降下法 + 不純物評価（差数法）

基準物質（qNMR用認証標準物質）

NMIJ CRM 4601-b (3,5-ビス(トリフルオロメチル)安息香酸)

NMIJ CRM 4602-a (1,4-ビス(トリメチルシリル)-2,3,5,6-テトラフルオロベンゼン)



物質A 物質B 物質C 物質D 物質E



## 国際単位系

純度評価



物質A 物質B 物質C 物質D 物質E

秤量・混合



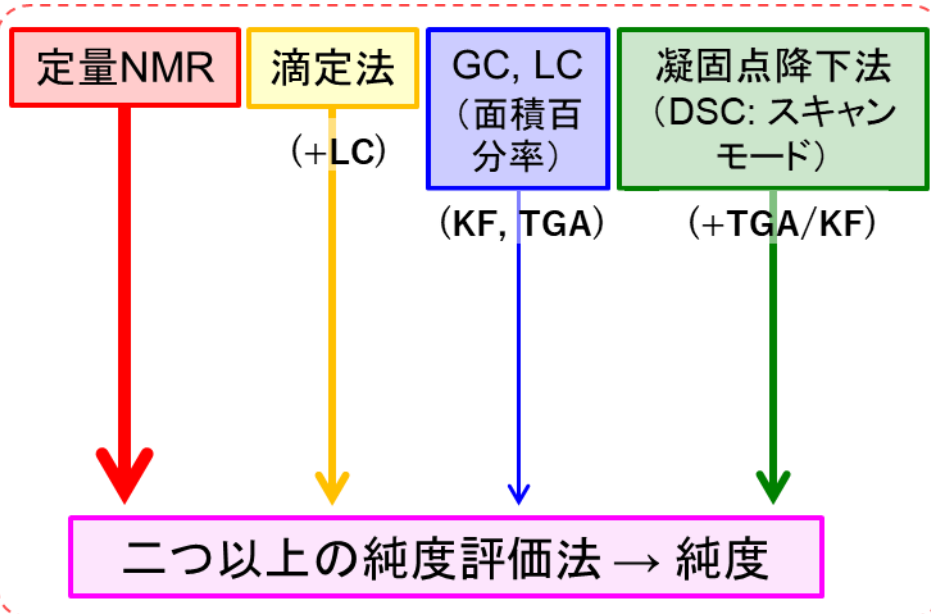
1. 迅速な標準供給の実現
2. 従来法では値付けできなかったCRMの開発  
(原料物質としての純度評価が不要)

# 1. 迅速な標準供給の実現（校正サービス）

○検疫所等における食品残留農薬試験の信頼性確保による**食品の安全性向上**

## 校正サービスにおける値付け

(試薬メーカー標準品の純度をSIトレーサブルに)



検疫所で常時モニタリングしている農薬：200種類



\*計量トレーサビリティの確保された標準物質



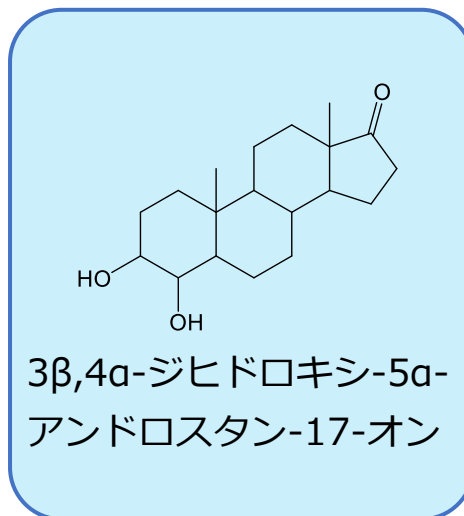
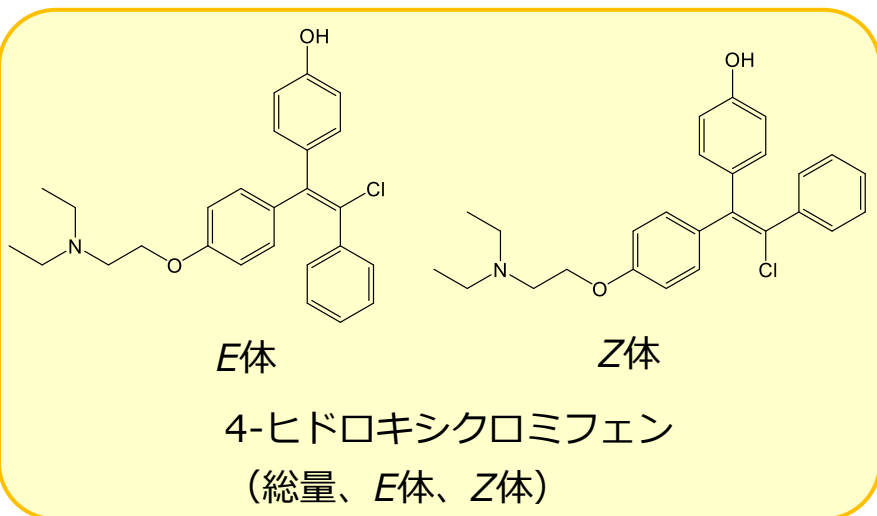
# 1. 迅速な標準供給の実現（標準物質の開発）

## ドーピング検査用標準物質の開発

世界ドーピング防止機構（WADA）からの要請を受け、禁止物質の代謝物であり検査が必要とされている2種類の有機物質について、qNMRの技術を用いて認証標準物質（CRM）を開発し、2020年3月より供給しています。

NMIJ CRM 6211-a: 4-ヒドロキシクロミフェン標準液（総量、E体、Z体）

NMIJ CRM 6212-a: 3 $\beta$ ,4 $\alpha$ -ジヒドロキシ-5 $\alpha$ -アンドロスタン-17-オン標準液



標準物質の外観

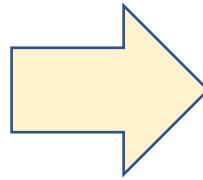
## 2. 従来法では値付けできなかったCRMの開発

### 下痢性貝毒の基準値に対応する標準物質の開発

下痢性貝毒及び麻痺性貝毒については我が国では昭和55年7月に規制値を設け、マウス試験法により規制値を超える貝類の販売等を禁止（食品衛生法）  
 →平成27年3月に、下痢性貝毒オカダ酸群の検査では機器分析を導入することが厚生労働省より通知（食安発0306第2号厚生労働省医薬食品局 食品安全部長通知）

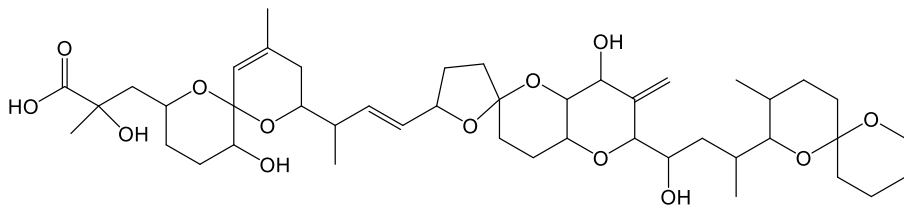


規制値：0.05 MU/g

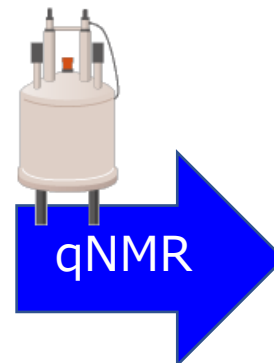


機器分析  
 (LC/MS/MSなど)

規制値：0.16 mgオカダ酸当量/kg



オカダ酸：天然物由来で少量しか得られない  
 →原料物質としての純度評価ができない



機器分析に不可欠な標準液



qNMRの技術により実現！

# 発表内容

## ○背景

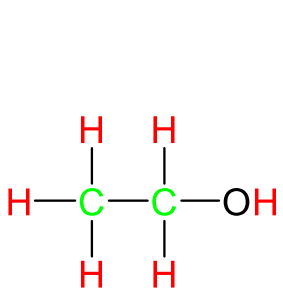
- ・ 分析現場で使いやすい混合標準液（例：水質基準項目）
- ・ 従来の混合標準液の開発スキームとその課題

## ○一対多型校正

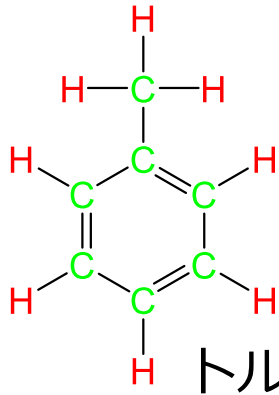
- ・ 定量核磁気共鳴分光法（qNMR）
- ・ **ポストカラム反応ガスクロマトグラフィー**
- ・ qNMR/クロマトグラフィー

## ○まとめ

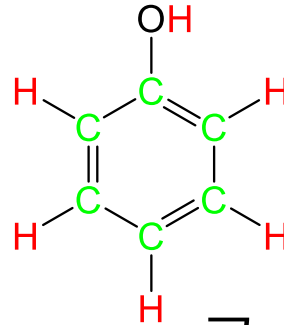
# 有機物質に普遍的に含まれる炭素に着目



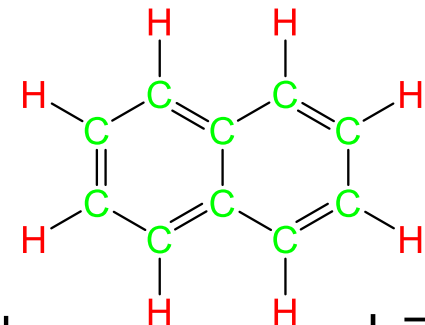
エタノール



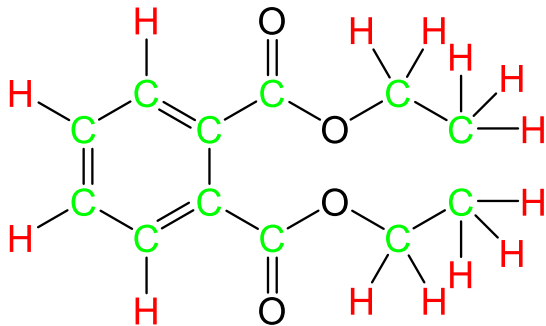
トルエン



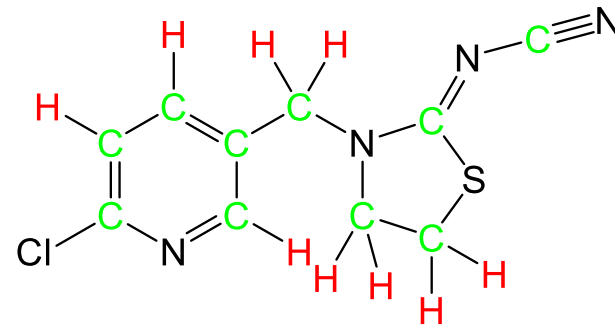
フェノール



ナフタレン



フタル酸ジエチル



チアクロピリド

有機物質に必ず含まれている**炭素**で評価することに着目

# 炭素数による一対多型校正の原理



構成する炭素成分をメタンとして検出することにより、成分にかかわらず炭素の数だけを基準として評価できる

→**基準物質の炭素を用いて他成分を校正できる**

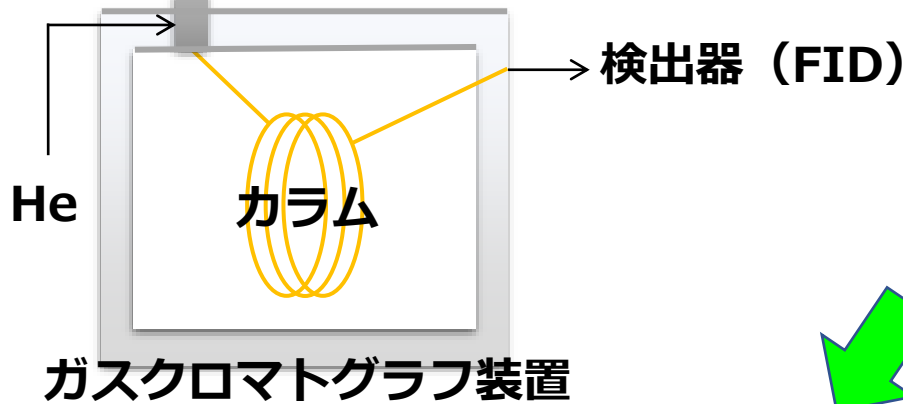
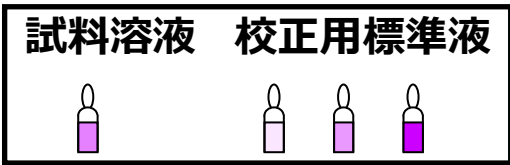
ただし、前提条件として、

1. 予め個別の成分に分離しておく必要がある
2. 分離する際、マトリックスに炭素成分が含まれない

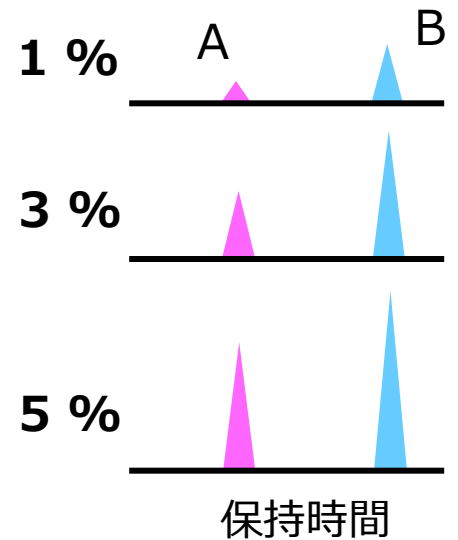
→**ガスクロマトグラフィーとの組み合わせが理想的**

# 一般的なガスクロマトグラフィーによる定量

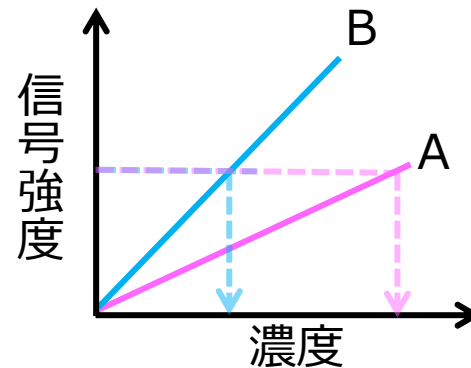
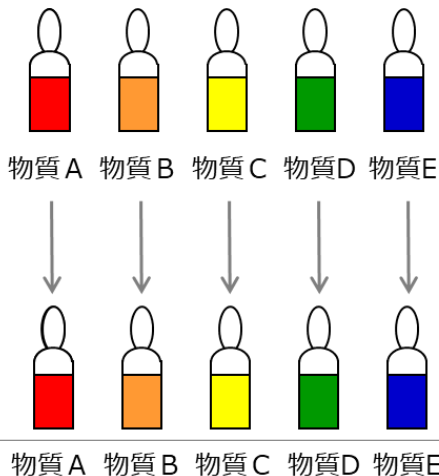
ガスクロマトグラフ装置：対象成分を含む溶液を気化して分離・評価



校正用標準液



一対一型校正

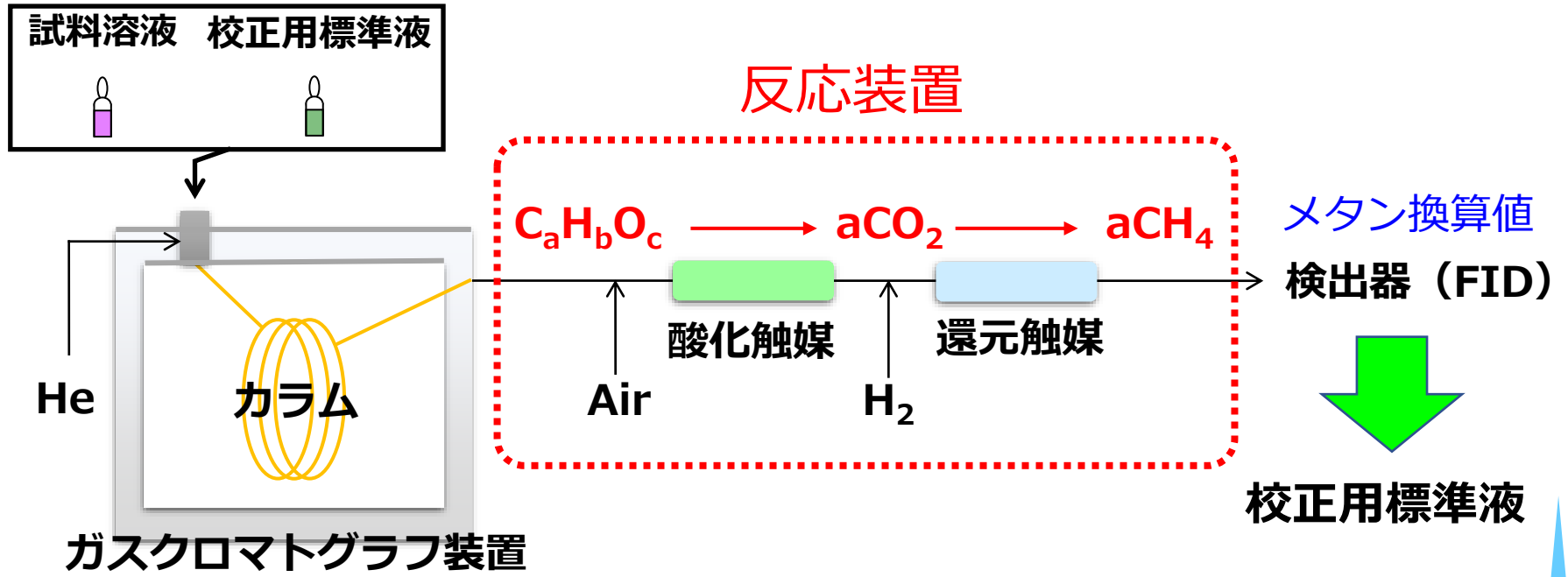


試料溶液

A: 2 % B: 1.2 %

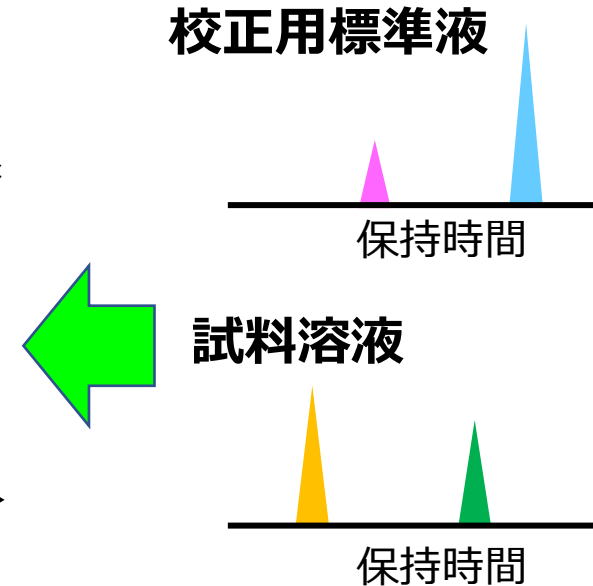
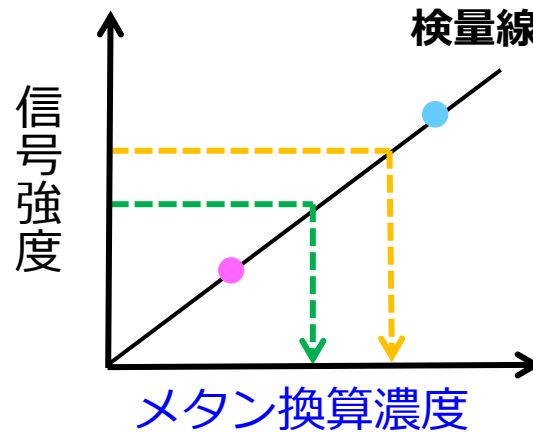
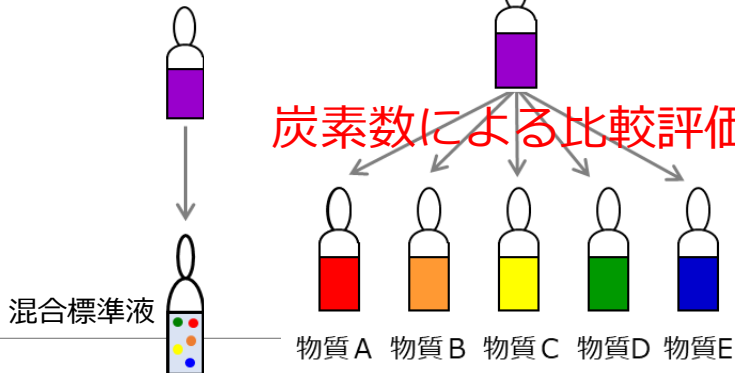


# ポストカラム反応ガスクロマトグラフィーによる定量



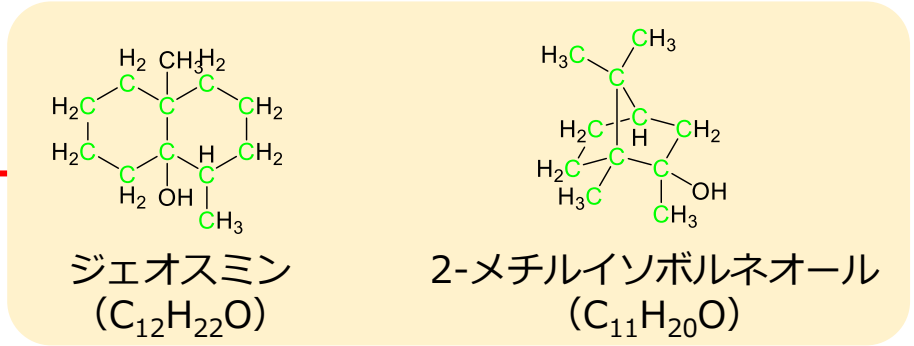
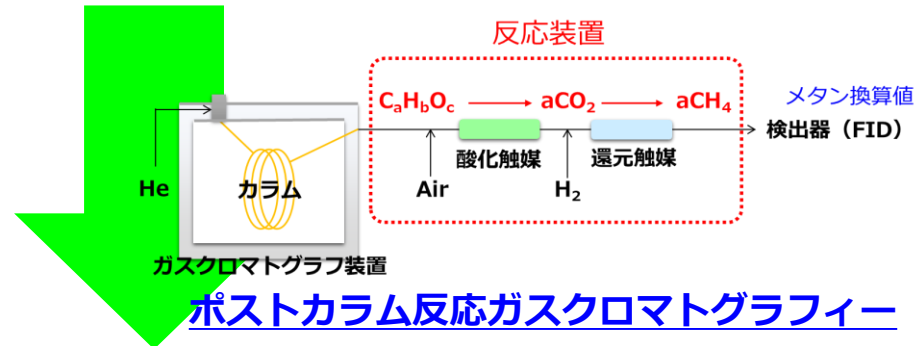
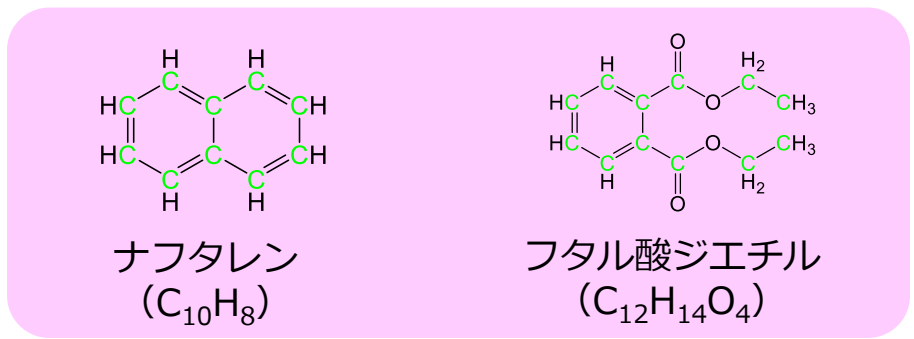
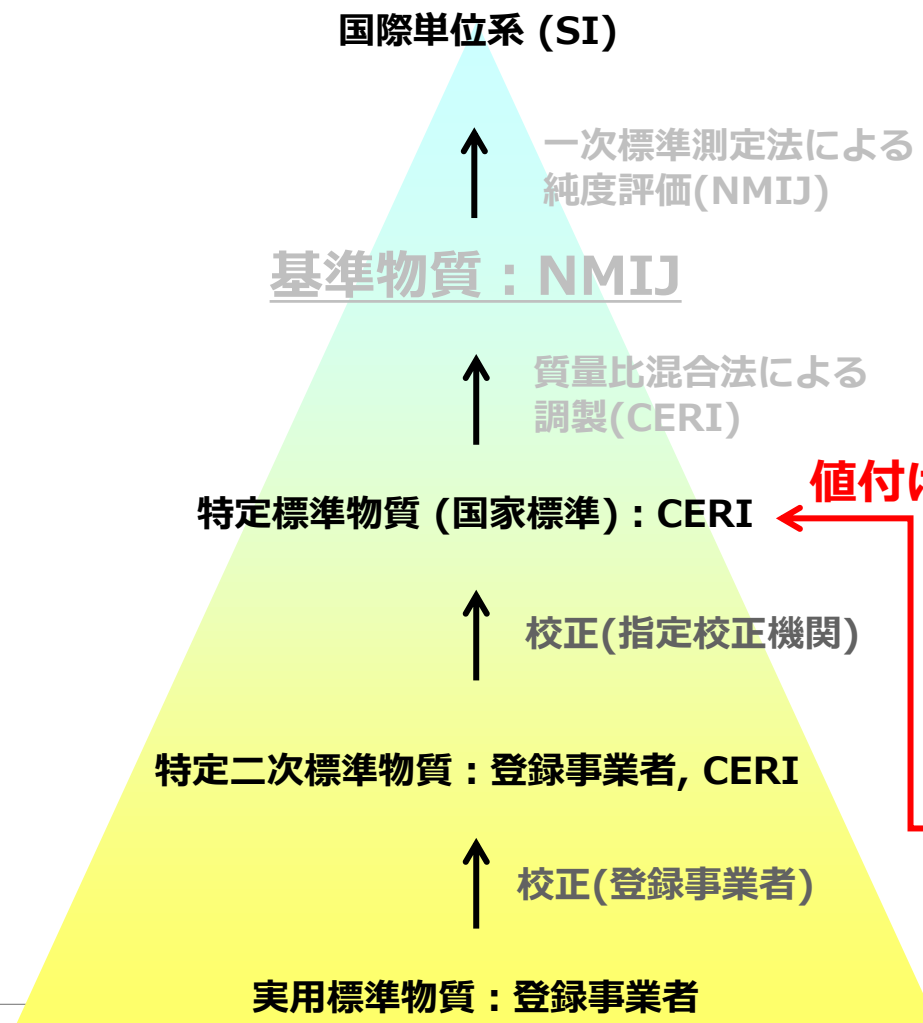
一对多型校正

炭素数による比較評価



# ポストカラム反応ガスクロマトグラフィーの応用

水質基準項目のかび臭物質（2種）の特定標準物質に対する値付け  
 JCSSの供給体系





# 発表内容

## ○背景

- ・ 分析現場で使いやすい混合標準液（例：水質基準項目）
- ・ 従来の混合標準液の開発スキームとその課題

## ○一対多型校正

- ・ 定量核磁気共鳴分光法（qNMR）
- ・ ポストカラム反応ガスクロマトグラフィー
- ・ qNMR/クロマトグラフィー

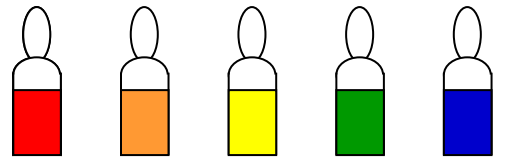
## ○まとめ

# 混合標準液の調製における効率化

従来の開発スキーム

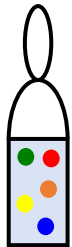
国際単位系

SIに直接繋がる純度評価



物質A 物質B 物質C 物質D 物質E

秤量・混合

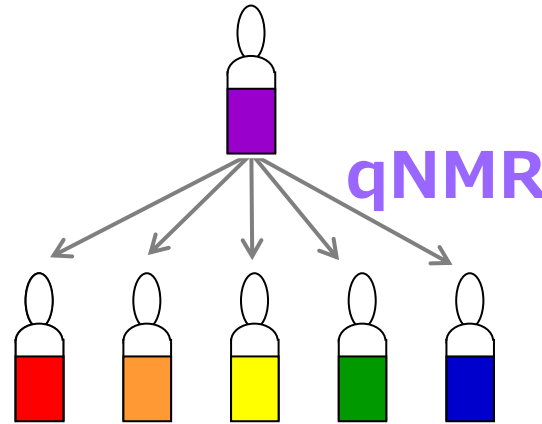


特殊な環境と熟練の技術が不可欠

qNMR技術単独による開発スキーム

国際単位系

SIに直接繋がる純度評価



物質A 物質B 物質C 物質D 物質E

秤量・混合



圧倒的な効率化の実現

従来法と同じ

# 混合標準液の調製における効率化

qNMR技術単独による開発スキーム

新たなアプローチ

国際単位系

国際単位系

SIに直接繋がる純度評価

SIに直接繋がる純度評価

qNMR

混合標準液の濃度評価

1. 混合標準液の調製
  2. 各成分を個別に評価
- 信頼できる混合標準液

- ✓ 混ぜてから評価するので、混合工程に精確さは不要
- ✓ 不純物と分離してから評価するので、相互に含まれる不純物の影響を受けない

秤量・混合

1. 純度や濃度を個別に評価
  2. 上記1を秤量・混合
  3. 相互に含まれる不純物の考慮
- 信頼できる混合標準液

# qNMR/クロマトグラフィー

## qNMR



### 【利点】

#### 成分ごとの標準物質が不要

純度が付与された基準物質をもとに異なる物質に値付け可能

### 【欠点】

#### 多成分同時分析が困難

成分が混合されている標準液の濃度評価は困難

## クロマトグラフィー



ガスクロマトグラフィー 高速液体クロマトグラフィー

### 【利点】

#### 多成分同時分析が可能

標準液中の複数成分を一斉に分離分析可能

### 【欠点】

#### 成分ごとの標準物質が必要

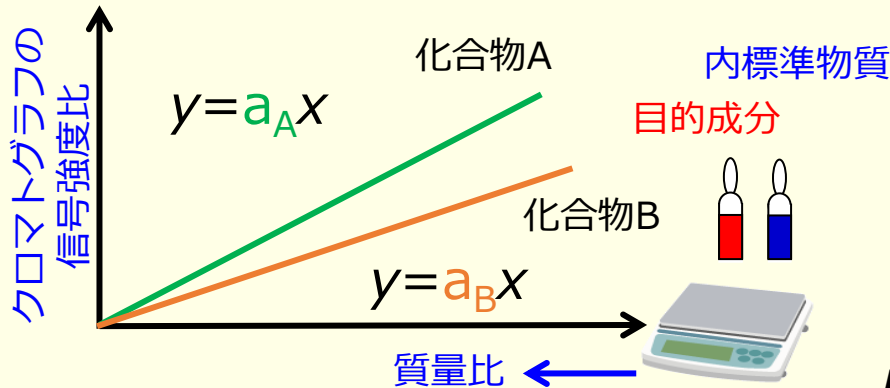
成分ごとの検量線作成（装置校正）が必要

それぞれの手法の利点を組み合わせることによって、  
混合標準液に直接、精確な値付けを行う技術

# qNMR/クロマトグラフィーによる定量

## 1. 目的成分を用いた検量線の作成

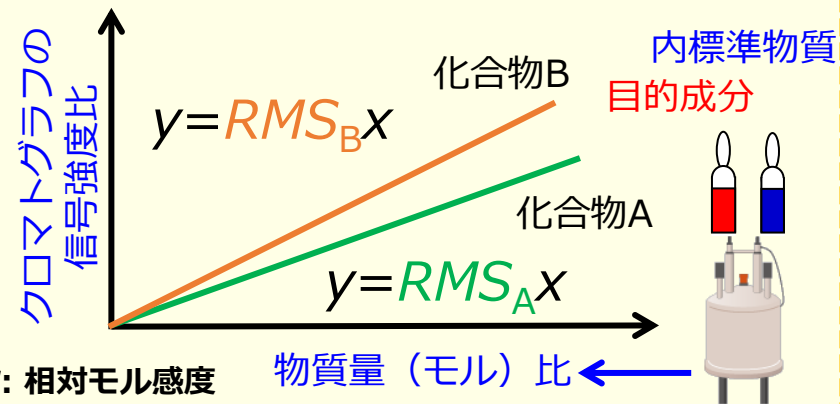
一般的な内標準法による検量線



原料物質の純度が明らかで正確に混合できれば、  
 正確な定量が可能

**目的成分**にCRMを用いれば、SIトレーサブルな定量値

qNMR/クロマトグラフィーの検量線



原料物質の純度が不明で正確に混合できなくても、  
 正確な定量が可能

**内標準物質**にCRMを用いれば、SIトレーサブルな定量値

## 2. 未知試料に含まれる目的成分の評価

1. 内標準物質を正確に添加
2. クロマトグラフにおける目的成分(A,B)と内標準物質の信号強度比を取得 (y軸)
3. 信号強度比と添加した内標準物質の質量を  $y = a_A x$  や  $y = a_B x$  に導入して、目的成分を定量

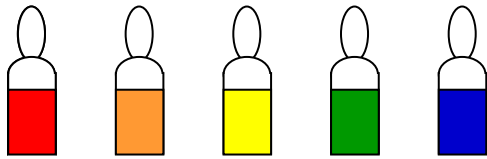
1. 内標準物質を正確に添加
2. クロマトグラフにおける目的成分(A,B)と内標準物質の信号強度比を取得 (y軸)
3. 信号強度比と添加した内標準物質の質量を  $y = RMS_A x$  や  $y = RMS_B x$  に導入して、目的成分を定量

# qNMR/クロマトグラフィーの検証

従来の開発スキーム

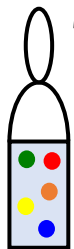
国際単位系

SIに直接繋がる純度評価



物質A 物質B 物質C 物質D 物質E

秤量・混合



qNMR/クロマトグラフィー

国際単位系

SIに直接繋がる純度評価



qNMR



クロマトグラフィー



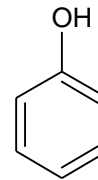
結果が同等であること  
による妥当性確認

# フェノール類6種混合標準液による検証

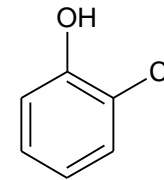
フェノール類は水質基準項目の1つであり、水道法により検査が義務付けられている項目

水質基準対応JCSS有機標準物質を整備するために必要な基準物質の品目

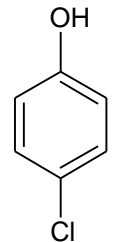
標準液（総成分数）	（追加）成分
VOC (25)	: 1,4-ジオキサン (MTBE)
八口酢酸 (4)	: クロロ酢酸 ジクロロ酢酸 トリクロロ酢酸 (ブromo酢酸)
陰イオン界面活性剤 (5)	: アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム5種
かび臭物質 (2)	: ジェオスミン 2-メチルイソボルネオール
非イオン界面活性剤 (1)	: ヘプタオキシエチレンドデシルエーテル
<b>フェノール類 (6)</b>	<b>: フェノール クロロフェノール類5種</b>



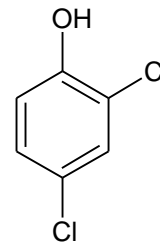
フェノール (Ph)



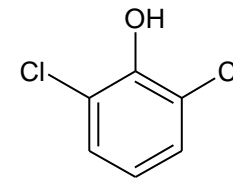
2-クロロフェノール (2CP)



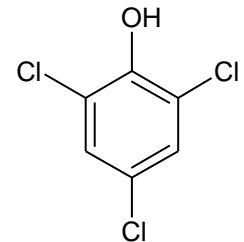
4-クロロフェノール (4CP)



2,4-ジクロロフェノール (24dCP)



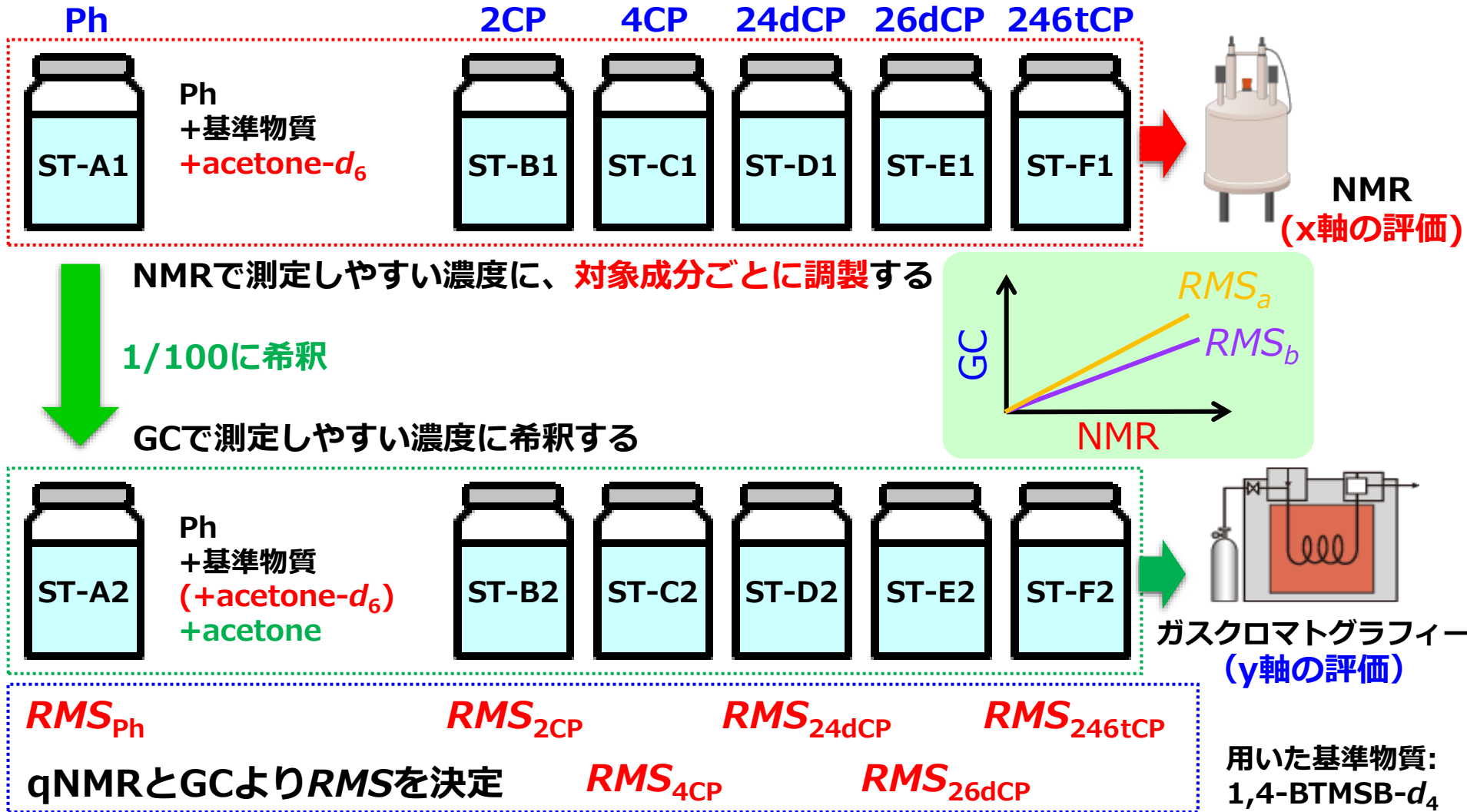
2,6-ジクロロフェノール (26dCP)



2,4,6-トリクロロフェノール (246tCP)

類似構造の化合物が含まれる混合液であるため、qNMRだけでは評価できない

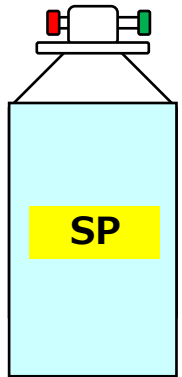
# ステップ<sup>o</sup>1: 単一成分溶液を用いた個別RMSの決定 (検量線の作成)





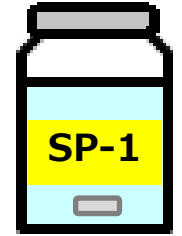
# ステップ2: 検証用混合標準液の調製

試料および測定溶液の調製



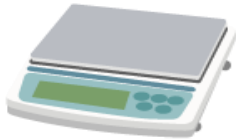
フェノール類  
6種混合標準液  
(acetone)

基準物質 (1,4-BTMSB- $d_4$ )  
を精確に添加



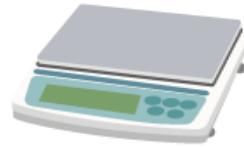
検証用標準液  
(acetone)

質量比混合法(従来法)で精確に調製



調製値

原料物質の純度と添加量  
からの計算値



測定値

qNMR/GCによる結果から算出

$RMS_{Ph}$

$RMS_{2CP}$

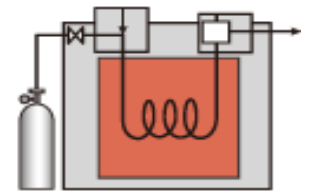
$RMS_{4CP}$

$RMS_{24dCP}$

$RMS_{26dCP}$

$RMS_{246tCP}$

+



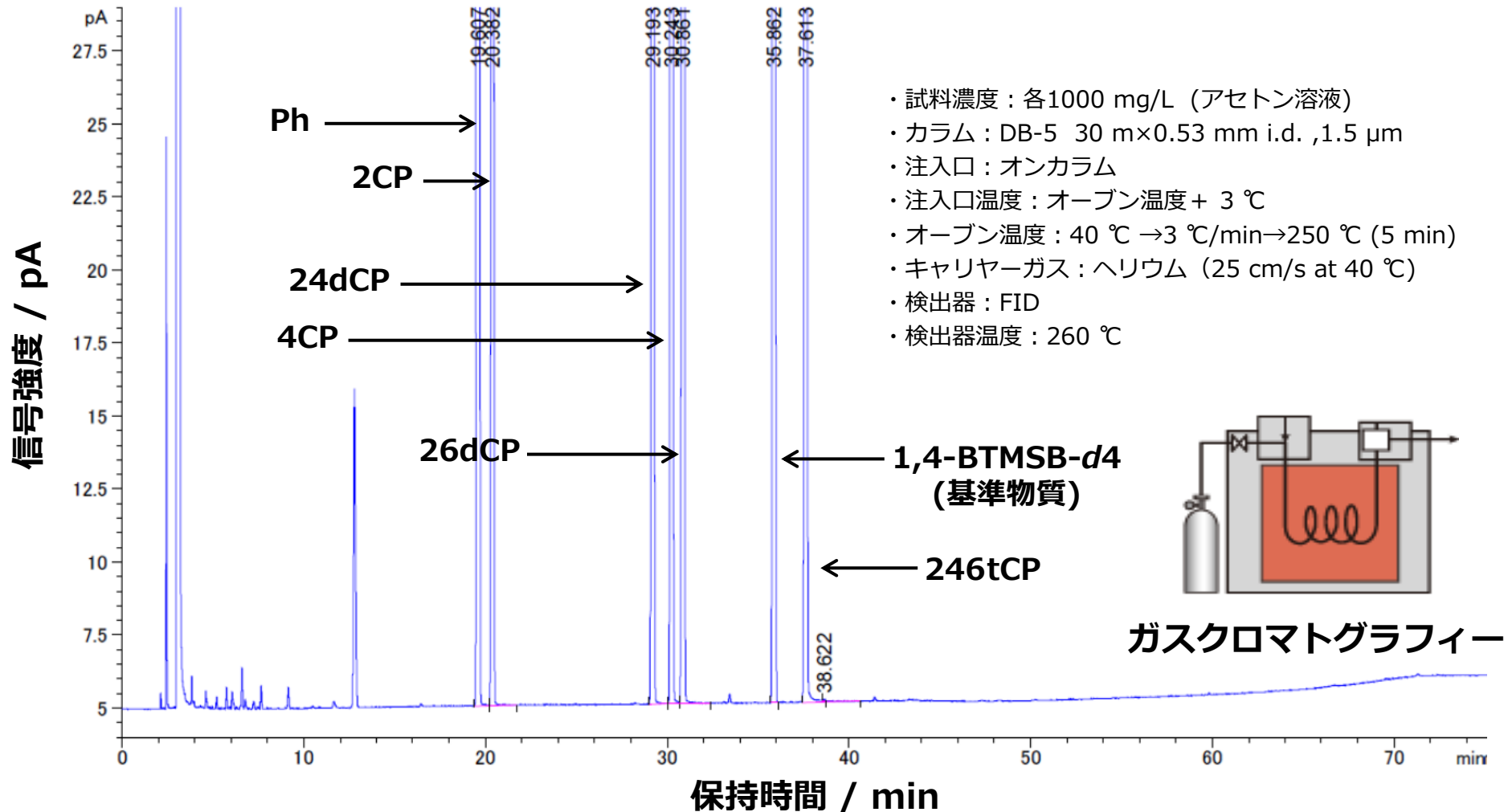
ガスクロマトグラフィー



比較による検証

# ガスクロマトグラフィーによる測定結果

## GC-FIDで得られたクロマトグラム



# ステップ3: 妥当性確認の結果

成分	調製値 (mg/kg)	qNMR/GCによる 測定値 (mg/kg)	偏差 %	$ E_n $
フェノール (Ph)	1250 ± 2	1253 ± 8	0.24	0.36
2-クロロフェノール (2CP)	1270 ± 4	1275 ± 8	0.39	0.56
4-クロロフェノール (4CP)	1240 ± 2	1239 ± 8	-0.08	0.12
2,4-ジクロロフェノール (24dCP)	1238 ± 4	1239 ± 8	0.08	0.11
2,6-ジクロロフェノール (26dCP)	1254 ± 2	1260 ± 8	0.48	0.73
2,4,6-トリクロロフェノール (246tCP)	1252 ± 2	1249 ± 12	-0.24	0.25

不確かさは拡張不確かさ( $k=2$ )

- ✓ 質量比混合法による調製値とqNMR/GCによる測定値は、0.5 %以内で一致。
- ✓  $E_n$ 数は、6種類すべてにおいて $|E_n| \leq 1$  (満足なパフォーマンス) を確認。



**従来法との同等性から、本手法の有効性を確認**

# qNMR/ガスクロマトグラフィーの応用

水質基準項目にあるフェノール類6種の特定標準物質に対する値付け  
JCSSの供給体系

国際単位系 (SI)



一次標準測定法による  
純度評価(NMIJ)

基準物質 : NMIJ



質量比混合法による  
調製(CERI)

特定標準物質 (国家標準) : CERI

値付け



校正(指定校正機関)

特定二次標準物質 : 登録事業者, CERI



校正(登録事業者)

実用標準物質 : 登録事業者

水質基準対応JCSS有機標準物質を整備  
するために必要な基準物質の品目

標準液 (総成分数)	(追加) 成分
VOC (25)	: 1,4-ジオキサン (MTBE)
八口酢酸 (4)	: クロロ酢酸 ジクロロ酢酸 トリクロロ酢酸 (ブromo酢酸)
陰イオン界面活性剤 (5)	: アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム5種
かび臭物質 (2)	: ジエオスミン 2-メチルイソボルネオール
非イオン界面活性剤 (1)	: ヘプタオキシエチレンドデシルエーテル
フェノール類 (6)	: フェノール クロロフェノール類5種

# 発表内容

## ○背景

- ・ 分析現場で使いやすい混合標準液（例：水質基準項目）
- ・ 従来の混合標準液の開発スキームとその課題

## ○一対多型校正

- ・ 定量核磁気共鳴分光法（qNMR）
- ・ ポストカラム反応ガスクロマトグラフィー
- ・ qNMR/クロマトグラフィー

## ○まとめ

# まとめ

多岐にわたる有機物質に対してSIトレーサブルな純度や濃度を効率的に値付けするため、  
一対多型校正法として

(1) qNMR

(2) ポストカラム反応ガスクロマトグラフィー

(3) qNMR/クロマトグラフィー

の技術を開発し、社会ニーズに応じた標準供給にも応用している。今後も、さらなる技術開発による適用範囲の拡大や高精度化を行うとともに、一対多型校正法を一般ユーザにも広く使える技術としての展開を行う。

# 一対多型校正の活用について

これまでに紹介してきた一対多型校正については、  
受託研究や技術コンサルティングという制度の下で  
ご利用頂けます。

装置校正に有機物質を用いる場合、装置の高精度化  
を行う上では、その有機物質に対する精確な純度/  
濃度の評価が不可欠です。一対多型校正法によって  
有機物質を評価したい場合には、ぜひご相談ください。

**ご清聴ありがとうございました。**

**ご質問や受託研究等のご相談があれば、下記までご連絡ください**

**[nmij-info-ml@aist.go.jp](mailto:nmij-info-ml@aist.go.jp)**