

水質分析における固相抽出前処理の不確かさに関する研究

谷口秀樹
工業化学担当

Study on the Uncertainty of Solid-Phase Extraction in Water Analysis

Hideki TANIGUCHI
Industrial Chemistry Division

要 旨

環境基準の強化や排水基準の強化の動向、JIS 改正による固相抽出法の追加などを背景に廃止鉱山坑内水処理水を試料として、水中金属分析における不確かさを推定した。分析には前処理として固相抽出を行いマトリックスから目的元素を濃縮した。前処理のばらつきの不確かさを分散分析から、また前処理の偏りの不確かさを添加回収試験からそれぞれ求め、ガラス器具容積の不確かさ、標準原液や検量線標準液の不確かさ、検量線の不確かさをそれぞれ求め、合成した。得られた合成標準不確かさには前処理のばらつきの不確かさが最も影響していた。報告値に対する不確かさ ($k=2$) は報告値の有効数字桁数や位から、妥当な不確かさと考えられる。

1. はじめに

1.1 水質規制の動向

平成 23 年 10 月 27 日改正「水質汚濁に係る環境基準について（環告第 59 号（昭和 46 年 12 月 28 日））」によって、環境水中のカドミウム濃度の規制は従前の 0.01mg/L 以下から 0.003mg/L 以下に強化されている。一方、水質汚濁防止法による一律排水基準は 0.1mg/L 以下のままであるが、現在、環境省の中央環境審議会水環境部会排水規制等専門委員会では、排水規制等の在り方を議題として取り上げており、前記の平成 23 年 10 月までは環境基準の 10 倍が排水基準であったことから、排水基準は現行の環境基準を 0.003mg/L に対応して、0.03mg/L に強化することが妥当との議論になっている⁽¹⁾。

1.2 JIS 規格の改正

上記の環境基準や一律排水基準の試験方法は JIS K0102「工場排水試験方法」を引用しており、その K0102 が平成 25 年 9 月 20 日に改正され、このうちカドミウムについては銅などとともに新たにキレート樹脂による分離濃縮が追加された。従来の有機溶媒による抽出濃縮では、操作後に大量の廃有機溶媒が発生するが、固相抽出では省溶媒で効率的な分離濃縮が可能である。

JIS K0102 では 52.2 備考 6. にキレート樹脂充填固相としてイミノ二酢酸キレート樹脂を充填した固相が示されている。

1.3 ISO17025 技術要求事項の不確かさの見積もりと化学分析の前処理

不確かさとは、測定の結果に付随した、合理的に測定値に結び付けられ得るばらつきを特徴づけるパラメータであり、1993 年に発行された信頼性表現が計測における不確かさの表現ガイド (GUM) で定義されている。

品質マネジメントシステムの ISO9001 をベースに試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項である ISO/IEC17025 が 1999 年に発行され、多くの分析機関が国際的に通用する認証を受けている (JIS では JIS Q 17025)。ISO17025 の技術的要求事項の中で、不確かさを見積もることが要求されている⁽²⁾。

ここで、化学分析ではいわゆる前処理と呼ばれる試料の溶液化や分解などの操作を行った後に機器分析することが多い。この操作において、十分でない溶液化や分解不足、マトリックスの干渉などによって真値から外れていくため、前処理の妥当性確認は不可欠である。前処理の不確かさ評価については山澤が前処理操作や種類によらない不確かさ評価方法を提案している⁽³⁾。

そこで、前記の規制値強化による微量分析化の動向や JIS への固相抽出の追加を踏まえ、センターに寄せられる様々な企業からの要望・依頼・技術相談・共同研究などの VOC (Voice Of Customer) のうち微量分析に対して、即応できる環境づくりをすることを目的に固相抽出前処理による不確かさについて検討した。

2. 実験方法

2.1 試料

水中金属分析における不確かさの算出として、豊栄鉱山坑廃水の処理水（坑廃水を炭酸カルシウムおよび消石灰で中和し凝集沈殿物を除いた上澄水）を検体として用いた。目的元素はカドミウムとした。

2.2 操作手順の明確化

不確かさの算出のため、操作手順を、次のように決めた。

(1) 酸分解

試料を 300mL コニカルビーカに 200g 秤量し、硝酸を 2mL 添加して、ホットプレートで約 180mL になるまで煮沸分解して放冷。

(2) 固相抽出のための検液調整

1. 2M 硝酸アンモニウムを 10mL 添加
2. 20%アンモニア水を添加して pH=5.5 に調整

(3) コンディショニング及び検液の通液、溶出、定容

1. GL サイエンス社製シリンジパレル型 InertSep ME-1 (250mg/6mL) に 2N HNO₃ 5mL 通液後、超純水 5mL を 2 回通液する。続いて 0.1M 硝酸アンモニウムを 5mL 通液して活性化させる。
2. 検液を 10mL/min. の速さで通液する。
3. 2N HNO₃ を用いて、受け容器に 65mL デジチューブを使い、2mL で 1 回目の溶出を行い、1mL で 2 回目の溶出を行い、超純水で 20mL に定容する（10 倍濃縮）。

(4) 添加回収試験

1000mg/L のカドミウム標準液を希釈して 10mg/L カドミウム中間標準液を調整。マイクロピペットで 200 μL 分取して試料に添加して (1)～(3) の操作を行う。

(5) 検量線

1000mg/L のカドミウム標準液を希釈して 1mg/L カドミウム中間標準液を調整。中間原料標準液を希釈し、0.1mg/L～0.01mg/L の検量線標準液を調整。検量線標準液を ICP-AES に導入し、検量線を作成。

(6) 測定

検液及び添加検液を ICP-AES に導入し、検量線法で測定試料中のカドミウムの濃度を測定。

2.3 不確かさの要因の列挙

- (1) 検量線標準液の不確かさ
- (2) 検量線縦軸の不確かさ
- (3) 前処理のばらつきの不確かさ
- (4) 前処理のかたよりの不確かさ

2.4 取り上げなかった不確かさの要因

通常、小さいと思われる次の要因と測定の繰り返しの中に含まれると考えられる要因は、今回の不確かさ算出では取り上げなかった。

- (1) 試料 200g 秤量の不確かさ
- (2) 温度変化によるガラスの体積変化による不確かさ
- (3) 添加回収試験の添加操作の不確かさ
- (4) 濃縮後定容操作の不確かさ

3. 結果と考察

3.1 検量線標準液の濃度の不確かさ

3.1.1 原料標準液 1000mg/L の不確かさ

1000mg/L のカドミウム標準液の信頼性は、JCSS 証明書から値付け値 996mg/L、不確かさ 0.5% (k=2) であるため、ここでは矩形分布と仮定し、標準不確かさ $u(s_1)$ および相対標準不確かさ $\frac{u(s_1)}{C_{s1}}$ は次のようになる。

$$u(s_1) = \frac{996 \text{ mg/L} \times 0.005}{\sqrt{3}} = 2.8752 \text{ mg/L}$$

$$\frac{u(s_1)}{C_{s1}} = \frac{2.898 \text{ mg/L}}{996 \text{ mg/L}} = 0.002886$$

3.2 原料標準液の希釈操作の不確かさ

原料標準原液から次の操作で検量線標準液を調整した (Table 3-1)。

Table 3-1 標準液希釈操作

| 希釈前濃度 (mg/L) | 全量ピペット容量 / 全量フラスコ容量 | 希釈後濃度 (mg/L) |
|--------------|---------------------|--------------|
| 1000 | 5/500 | 10 |
| 10 | 5/50 | 1 |
| 1 | 15/50 | 0.3 |
| 1 | 10/100 | 0.1 |
| 1 | 7/100 | 0.07 |
| 1 | 3/100 | 0.03 |
| 1 | 1/100 | 0.01 |

希釈に用いた全量ピペットと全量フラスコの分取、メスアップの繰り返し結果から求めた繰り返しの相対標準不確かさ、JIS R3505 の許容差⁽⁴⁾から求めた目盛線の相対標準不確かさ、試験室の温度範囲を 20℃±5℃として水の体膨張係数 2.1×10^{-4} から求めた温度変化による相対標準不確かさを次の Table 3-2 に示す。

Table 3-2 標準原液希釈の相対標準不確かさ

| 種類 | 容量 (mL) | 目盛り線 | 繰り返し | 温度変化 |
|--------|---------|---------|------------|----------|
| 全量ピペット | 1 | 0.00408 | 0.0007214 | 0.000606 |
| | 3 | 0.00204 | 0.0003777 | 0.000606 |
| | 5 | 0.00122 | 0.0002814 | 0.000606 |
| | 7 | 0.00116 | 0.0002912 | 0.000606 |
| | 10 | 0.00082 | 0.00009354 | 0.000606 |
| 全量フラスコ | 50 | 0.00049 | 0.0006650 | 0.000606 |
| | 100 | 0.00040 | 0.0001438 | 0.000606 |
| | 500 | 0.00020 | 0.00008904 | 0.000606 |

□□□

これらの検量線標準液の相対標準不確かさを原料標準液の不確かさ、使用した全量ピペット、全量フラスコの目盛り線の不確かさ、温度変化の不確かさを合成して求めた (Table 3-3)。

Table 3-3 検量線標準液の相対標準不確かさ

| 検量線標準液濃度 (mg/L) | 相対標準不確かさ |
|-----------------|----------|
| 0.3 | 0.003838 |
| 0.1 | 0.003773 |
| 0.07 | 0.003874 |
| 0.03 | 0.004227 |
| 0.01 | 0.005545 |

0.3mg/L~0.01mg/L の検量線標準液の相対標準不確かさは、0.003838~0.005545 であるので、ここでは最も大きな 0.005545 を検量線標準液の相対標準不確かさとした。

3.3 検量線から求めた濃度 (x₀) の不確かさ

調整した検量線標準液と ICP-AES 発光強度の関係を Table 3-4 に示す。

Table 3-4 検量線データ (ICP-AES)

| | | | | |
|------------------|--------|---------|--------|--------|
| 検量線標準濃度 (mg/L) x | 0 | 0.01 | 0.03 | 0.07 |
| ICP-AES 発光強度 y | 82875 | 122427 | 209895 | 378857 |
| 検量線標準濃度 (mg/L) x | 0.1 | 0.3 | | |
| ICP-AES 発光強度 y | 500848 | 1350729 | | |

この検量線データから測定試料濃度の不確かさ (試験試料からの機器信号の偶然誤差) は一般的に次の近似式より求まる⁽⁵⁾。

$$S_{x_0} = \frac{S_{y_0}}{b} \sqrt{\left\{ \frac{1}{n} + \frac{1}{m} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum (x_i - \bar{x})^2} \right\}} \dots \text{式 1}$$

$$S_{y_0} = \sqrt{\left[\frac{\sum \{y_i - (bx_i + a)\}^2}{(m-2)} \right]} \dots \text{式 2}$$

S_{x0}: 測定濃度の不確かさ

S_{y0}: 縦軸の不確かさ (検量線縦軸測定値のばらつき)

b: 検量線の傾き

n: 測定試料の測定繰り返し

m: 検量線の濃度数×繰り返し

y₀: 測定試料の測定値 (機器出力)

y_i: 検量線の各測定値

\bar{y} : 検量線測定値の平均値

x_i: 検量線標準液の各濃度

\bar{x} : 検量線標準液の各濃度の平均値

Table 3-4 から検量線の横軸 (標準液濃度) の分散 S_x², 縦軸の共分散 S_{xy} をそれぞれ求めた。

$$S_x^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{m} = 0.010425$$

$$S_{xy} = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{m} = 44077.6625$$

これらから傾き b および切片 a を求めた。

$$b = \frac{S_{xy}}{S_x^2} = 4228073$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x} = 81552.28$$

なお、検量線の相関係数 r は

$$r = \frac{S_{xy}}{\sqrt{S_x^2 \cdot S_y^2}} = 0.99991$$

となる。

測定試料の ICP-AES 発光強度結果を Table 3-5 に示す。

Table 3-5 試料の測定結果

| 前処理 | 1回目 | 2回目 | 3回目 | 平均 |
|----------------|----------|----------|----------|---------|
| ICP-AES 出力値 | 177844 | 168566 | 167775 | |
| | 180082 | 170512 | 171200 | |
| | 178183 | 169385 | 169480 | |
| | 178199 | 170191 | 170987 | |
| | 178052 | 170245 | 169668 | |
| 出力値平均 | 178472 | 169779 | 169822 | 172691 |
| 濃度 (mg/L) | 0.022922 | 0.020867 | 0.020877 | 0.02155 |

検量線を用いて濃度に変換した値の平均値を濃縮倍率 10 倍で除した値が測定結果 M_0 となる (ここでは表示桁数は多めに表示している)。

$$M_0 = 0.02155 / 10 = 0.002155(\text{mg} / \text{L})$$

3.4 前処理のばらつきの不確かさ

前処理のばらつきの不確かさを算出するため、有意差検定を行った。2 つ以上の試料がある場合の平均値間の有意差に対する一元配置分散は Table3-6 のように求める^{(3), (5)}。これに Table3-5 の ICP-AES 出力値を濃度に換算し、一元配置分散分析を行った。結果を Table 3-7 に示す。

Table 3-6 有意差検定 (一元配置分散分析)^{(3), (5)}

| 変動要因 | 変動 S (平方和) | 自由度 f | 分散 V |
|------|--|----------|-------|
| 試料間 | $n \sum_i (x_i - \bar{x})^2$ | $h-1$ | S/V |
| 試料内 | $\sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$ | $h(n-1)$ | S/V |
| 計 | $\sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{x})^2$ | $hn-1$ | |

Table 3-7 分散分析の結果

| | 変動 S | 自由度 f | 分散 V |
|--------|-------------|-------|--------------|
| 前処理間 B | 0.000014021 | 2 | 0.0000070100 |
| 前処理間 e | 0.000000752 | 12 | 0.0000000627 |
| 合計 | 0.000014772 | 14 | |

前処理のばらつき u_{TRE1} は次の式から求めた。

$$u_{TRE1} = \frac{\sqrt{(V_B - V_e)}}{\sqrt{N}} \dots \text{式 3}$$

V_B : 前処理間の分散

V_e : 前処理内の分散

n : 測定回数

N : 前処理回数

$n = 5, N = 3$ であるので、式 3 に代入し、 $u_{TRE1} = 0.0006805(\text{mg/L})$ となり、相対標準不確かさ (u_{TRE1}/M_0) は次のとおりとなった。

$$\frac{u_{TRE1}}{M_0} = \frac{0.0006805/10}{0.002155} = 0.03157$$

3.5 前処理のかたよりの不確かさ

カドミウム標準液 (996mg/L $\pm 0.5\%$ ($k=2$)) を試料に 200 μL 添加して、同様に前処理を行い、ICP-AES 測定して検量線を用いて、添加量に対する回収率を求めた。結果を Table 3-8 に示す。

Table 3-8 添加回収試験の結果

| 前処理 | 1回目 | 2回目 | 3回目 | 平均 |
|----------------|---------|---------|---------|---------|
| ICP-AES 出力値 | 616786 | 624536 | 630592 | |
| | 623475 | 625149 | 625954 | |
| | 626759 | 626100 | 625254 | |
| | 613566 | 627275 | 621604 | |
| | 618609 | 628131 | 627198 | |
| 出力値平均 | 619839 | 626238 | 626120 | 624066 |
| 濃度 (mg/L) | 0.12277 | 0.12423 | 0.12420 | 0.12373 |
| 回収率 (%) | 101.3 | 102.5 | 102.5 | 102.1 |

添加濃度 $M_{100} = 0.12115\text{mg/L}$ 、添加回収試験測定値 $M_{REC} = 0.12373\text{mg/L}$ から回収率は 102.1% と得られ、回収率 100% との差は 2.1% だった。

かたよりの不確かさ u_{TRE2} は次の式から求めた。さらに M_{REC} で除して相対標準不確かさ u_{TRE2}/M_{REC} を求めた。

$$u_{TRE2} = \sqrt{(M_{100} - M_{REC})^2 + (M_{100} \times u_{CRM} / M_{CRM})^2} \dots \text{式 4}$$

$$\begin{aligned} \frac{u_{TRE2}}{M_{REC}} &= \sqrt{\left(\frac{M_{100} - M_{REC}}{M_{REC}}\right)^2 + \left(\frac{M_{100} \times u_{CRM} / M_{CRM}}{M_{REC}}\right)^2} \\ &= \sqrt{\left(\frac{0.12115 - 0.12373}{0.12373}\right)^2 + \left(\frac{0.12115 \times 4.98 / 996}{0.12373}\right)^2} \dots \text{式 5} \\ &= 0.02143 \end{aligned}$$

3.6 不確かさの合成

ここまで検討したそれぞれの不確かさを、前処理に起因する不確かさと検量線から得られた濃度の不確かさに区分して、不確かさの伝播則によって合成した。結果を Table 3-9 にまとめた。

Table 3-9 バジェットシート

| 不確かさの要因 | 相対標準不確かさ | 備考 |
|------------------|----------|----|
| 合成標準不確かさ | 0.04089 | |
| 前処理に起因する不確かさ | 0.03815 | |
| 前処理のばらつき | 0.03157 | |
| 前処理のかたより | 0.02143 | |
| 検量線から得られた濃度の不確かさ | 0.01470 | |
| 検量線の濃度の不確かさ | 0.005554 | |
| 標準液の縦軸の不確かさ | 0.01362 | |

3.7 結果の表示

求めた拡張不確かさを含めたこの分析の結果表示は次のとおり。

水中のカドミウム濃度 $0.0022\text{mg/L} \pm 0.0002\text{mg/L} (k=2)$

4. 不確かさの要因とまとめ

前処理の不確かさと検量線から得られる濃度の不確かさを比較した結果を Fig.1 に示す。

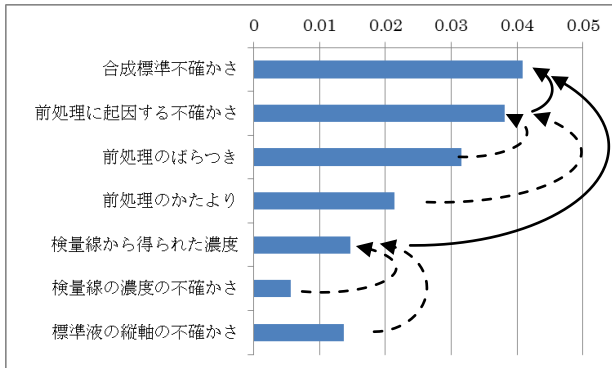


Fig.1 水中カドミウム濃度(0.002mg/L)測定の要因ごとの相対標準不確かさと合成標準不確かさ

今回、検討したカドミウムの文献による検出限界⁽⁶⁾は0.001mg/Lであり、検出限界の20倍程度の濃度の測定であったので、定量性はよく、検量線の不確かさは小さいが、合成相対標準不確かさのほとんどを占めている不確かさが前処理に起因する不確かさであった。さらには、前処理の不確かさのうち、かたよりよりもばらつきの不確かさが大きな部分を占めていることがわかる。ばらつきとかたよりでは、真値に近づくには、まずはかたよりの不確かさを小さくしなければならないことから、今回の評価結果は妥当な結果と言える。

平成24年度報告⁽⁸⁾では、鉱山坑廃水の処理水の鉄濃度

測定について不確かさを求めたが、このときは不確かさの要因に前処理の標準不確かさを含まれていなかったが検量線の縦軸の標準不確かさが大きな要因であり、傾向は既報(9),(10)と同じだった。

濃度単位での不確かさを見た時にも、報告値を有効数字2桁で小数第4位までとしていることに対し、不確かさは少数第4位目であり、妥当な結果と言える。

固相抽出による前処理については、回収率の許容範囲の目安は70~120%であること⁽⁷⁾からみても良好な回収率が得られており、今回の分離濃縮操作は妥当なものであったと言える。

鉱山坑廃水の処理水について報告したが、処理前の鉱山坑廃水についても添加回収試験をしており、カドミウム濃度0.002mg/Lから0.021mg/Lまでの7種類についても良好な回収率(102%~110%)を得ている。ただし、いずれも正の側の回収率であったため、添加している標準液中のカドミウムの状態と鉱山坑廃水中のカドミウムの状態が異なる可能性や、前処理操作になんらかのクセがあるのかもしれない。今後、より詳細に検討していき、県内企業からの技術相談や分析依頼、企業との共同研究などVOCに即応できる環境づくりをしていきたい。

参考文献

- (1) 環境省中央環境審議会水環境部会排水規制等専門委員会(第14回)会議事録, 2013
<http://www.env.go.jp/council/09water/yoshi09-12.html>
- (2) 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, 日本規格協会, 2005
- (3) 化学分析における前処理の不確かさ評価, JAIMA セミナー要旨集, P218, 2013
- (4) JIS R 3505:ガラス体積計, 日本規格協会, 1994
- (5) データのとり方とまとめ方, Miller, 共立出版, 2004
- (6) ICP 発光分析の基礎と応用, 原口紘丞, 講談社サイエンティフィック, 1986
- (7) 化学物質環境実態調査実施の手引き, 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課, P86, 2009
- (8) 水質分析における不確かさに関する研究, 大分県産業科学技術センター研究報告, 2013
- (9) JNLA 不確かさの見積もりに関するガイド, (独)製品評価技術基盤機構認定センター, 2007
- (10) 化学分析における不確かさ評価例, 四角目和広((財)化学物質評価研究機構), 2006