

イオンクロマトグラフィー

水質基準に準拠したイオンクロマトグラフィーポストカラム吸光光度法による臭素酸分析の妥当性評価

上水処理でオゾン処理や次亜塩素酸処理を行う場合に臭素酸は消毒副生成物として発生します。発がん性物質であること、水道水から高濃度で検出される可能性があることから平成15年から水質基準項目に指定されています。一方、検査を行う水道事業者に対しては検査方法について妥当性評価を行うことが求められています。

本稿では厚生労働省から示されているガイドラインに従ってNexera™臭素酸分析システムを用いた臭素酸試験の妥当性評価の例をご紹介します。 M. Terada

■ 水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン*1

水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインは、水質検査機関の標準作業書に示される検査方法の妥当性を評価するための手順を示したガイドラインです（平成24年9月6日厚生労働省通知）。検査方法導入時や検査方法の一部を変更する場合に実施します。ガイドラインでは、以下の項目の評価を要求しています。

（検量線の評価）

標準試料を繰り返し測定し以下の項目を確認します。

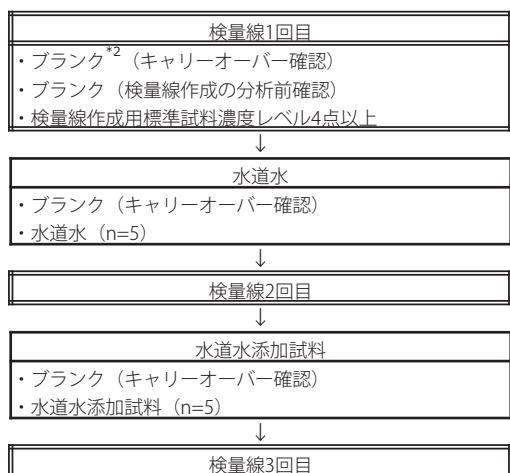
- ・ キャリーオーバー
標準試料測定後のブランクが検量線の下限值を下回ること。
- ・ 真度
各試料の平均値が調製濃度の80~120%。
- ・ 精度
各濃度の定量値の相対標準偏差（%RSD）が10%以下。

（添加試料の評価）

臭素酸0.001 mg/Lを水道水に添加して試験し以下の項目を確認します。

- ・ 真度
試料5個の平均値が添加試料濃度の70~130%。
- ・ 併行精度
複数試料の併行精度（%RSD）が10%以下。
- ・ 室内精度
複数回試験し、室内精度（%RSD）が15%以下。

今回は図1に示した妥当性評価分析例に従い真度、精度について評価を行いました。



*2ブランク分析には超純水を用いました。

図1 妥当性評価分析例

■ 分析条件

試験法では反応液として亜硝酸ナトリウム溶液の注入については任意となっていますが、Nexera臭素酸分析システムでは亜硝酸ナトリウム溶液を用いた2段階での誘導体化法を採用しています。カラムに導入された臭素酸イオンはイオン交換モードで分離され、第一反応で亜硝酸ナトリウム、第二反応で臭化カリウム/硫酸溶液を加えて三臭素イオンを生成します。亜硝酸ナトリウムは生成した三臭化イオンの可逆性を抑制する働きをし直線性や感度の向上に寄与しています。検出は波長268 nmで行います。分析条件を表1に流路を図2に、図3にNexera分析システムの装置構成を示します。

表1 HPLC分析条件

<Separation>	
Column	: Shim-pack™ IC-Bromate ^{*3} (150 mm × 4.0 mm I.D.), S/N 773018
Guard Column	: Shim-pack IC-Bromate (G), S/N 772015 ^{*4}
Mobile Phase	: 12 mmol/L NaHCO ₃ 、0.6 mmol/L Na ₂ CO ₃
Flow Rate	: 1.0 mL/min.
Column Temp.	: 40 °C
<Post-column Reaction>	
First Reaction	
Reagent 1	: 1.2 mmol/L NaNO ₂
Flow Rate	: 0.2 mL/min.
Reaction Temp.	: 40 °C
Second Reaction	
Reagent 2	: 1.0 mol/L H ₂ SO ₄ containing 1.5 mol/L KBr
Flow Rate	: 0.4 mL/min.
Reaction Temp.	: 40 °C
Detection	: SPD-40 at 268 nm
Injection Volume	: 200 μL

*3 P/N: 228-46884-91, *4 P/N: 228-46884-93

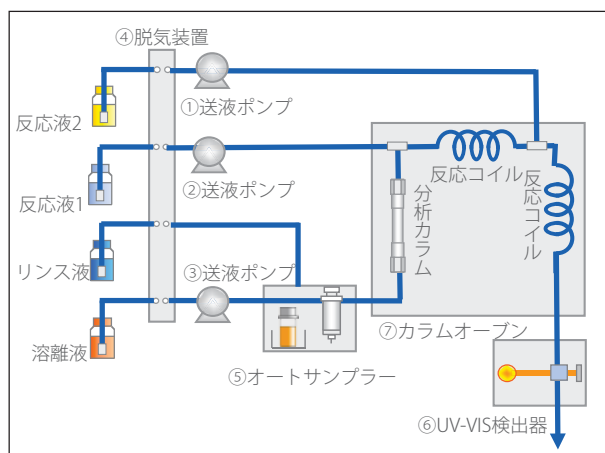


図2：流路図



図3：Nexera™臭素酸分析システム

- 装置構成
- ① LC-20Ai
 - ② LC-40D
 - ③ LC-40D
 - ④ DGU-405
 - ⑤ SIL-40C
 - ⑥ SPD-40
 - ⑦ CTO-40C

■ 検量線の真度、精度

検量線の濃度範囲は、下限を0.001 mg/L、上限を0.02 mg/Lとし5点検量線を作成しました。図1に示した方法で同一日に3回繰り返し分析を行い、全ての測定データを用いて検量線を作成しました。図4に検量線を示します。寄与率は0.999以上と良好でした。

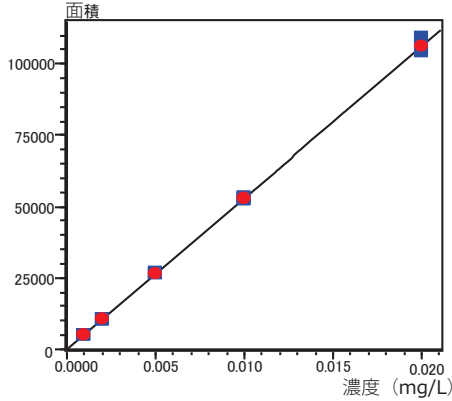


図4 0.001~0.02 mg/L検量線 (3回繰り返し)

各標準試料溶液3回の分析結果を用いて真度⁵と精度⁶を求めました。いずれの濃度についても下記に示す基準値以内となりました。

規格：真度 80~120%、精度 10%以下

表2 検量線標準試料の定量結果と真度、精度

調製濃度 (μg/L)	濃度 (μg/L)			真度 (%)	精度 (%RSD)
	検量線1	検量線2	検量線3		
1	0.97	0.99	0.98	98	1.0
2	2.05	1.99	2.00	101	1.6
5	5.13	5.01	4.96	101	1.7
10	9.93	9.90	10.1	100	1.1
20	20.5	19.9	19.6	100	2.3

⁵真度 (%) = 定量値の平均/調製濃度 × 100

⁶精度 (%RSD) = 定量値の標準偏差/定量値の平均 × 100

■ 添加試料 真度、精度

添加試料は水道水に0.001 mg/Lとなるように臭素酸を加えて調製しました。添加試料は取り分けた水道水にそれぞれ臭素酸を添加し5個の試料を調製しました。図5に水道水と0.001 mg/L添加水のクロマトグラムを示します。水道水からは臭素酸は検出されませんでした。

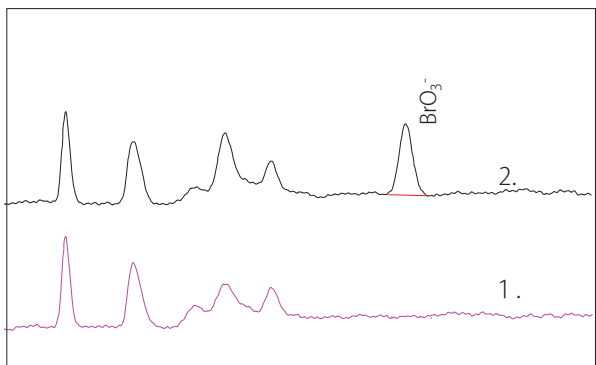


図5 水道水と0.001 mg/L添加試料のクロマトグラム
1. 水道水 2. 添加試料

添加試料5個を分析し定量結果を用いて真度⁷と併行精度⁸を求めました。下記に示す基準値以内となりました。

規格：真度70~130%、併行精度 10%以下

表3 添加試料の定量結果と真度、精度

濃度 (μg/L)					真度 (%)	併行精度 (%RSD)
添加水 1	添加水 2	添加水 3	添加水 4	添加水 5		
1.02	1.05	1.08	1.07	1.04	105	2.3

⁷真度 (%) = 定量値の平均/添加濃度 × 100

⁸併行精度 (%RSD) = 定量値の標準偏差/定量値の平均 × 100

■ Nexera臭素酸分析システムの再現性

上記添加試料での併行精度の結果は、添加量のばらつきによる誤差が含まれています。ここではシステムの再現性を確認する目的で、同一バイアルから繰り返し分析を行いました。試料は超純水に臭素酸0.001 mg/Lとなるように添加したものを用いました。保持時間、面積ともに良好な再現性を示しました。

表4 保持時間、面積再現性 (同一バイアルより採取)

分析回数	1	2	3	4	5	%RSD
保持時間	6.83	6.83	6.81	6.82	6.81	0.12
面積	5552	5691	5633	5609	5768	1.46

■ 統計計算とブラウザ機能の活用

真度、精度を求める計算にはLabsolutions™に搭載された“ブラウザ機能”を活用する事で大幅な作業時間の短縮が可能です。妥当性評価のスケジュールファイルを読み込み、表示された一連のデータから必要なデータを選択するだけで、検量線作成、平均値、相対標準偏差が計算されます。

Data#	データファイル名	保持時間	面積	濃度 (μg/L)
1	水道水_添加_01.lcd	6.817	5.224	1.0
2	水道水_添加_02.lcd	6.825	5.419	1.1
3	水道水_添加_03.lcd	6.817	5.552	1.1
4	水道水_添加_04.lcd	6.817	5.522	1.1
5	水道水_添加_05.lcd	6.808	5.336	1.0
	平均	6.817	5.411	1.1
	%RSD	0.086443	2.493527	5.167194
	最大	6.825	5.552	1.1
	最小	6.808	5.224	1.0
	標準偏差	0.005893	134.915819	0.054772

図6 ブラウザ機能を用いた統計計算例

■ まとめ

ガイドラインに従って同一日での妥当性評価を行い、良好な結果を得ることが出来ました。Nexera臭素酸分析システムとLabsolutionsは、正確で安定した分析結果と便利で迅速な計算処理によって試験作業の効率化に貢献します。

*1 水道水質検査妥当性評価ガイドラインの詳細については厚生労働省の下記サイトをご覧ください。

<https://www.nihs.go.jp/dec/section3/validation.html>

Nexera、Shim-packおよびLabSolutionsは、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。