

TOC

TALK LETTER

Vol. 4
August 2018



水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインについて…… P. 2

アプリケーション 食品分野でのTN(全窒素)測定 …… P. 4

TOC測定のいろは 試料希釈のお話 …… P. 6

水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインについて

水道水質検査を行う検査機関が、水道水質基準に係る検査方法による検査を行う場合、各検査機関が自らの標準作業書に示す検査方法の妥当性について評価する必要があります。その手順を示す「水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン」が改定され、平成30年4月1日から新ガイドラインが適用されました。その中で、今回追加された『検量線の作成』、『添加試料の評価』について、島津TOC-L/TOC-Vの最新バージョンのPCソフトウェアTOC-Control L/Vで実施する場合の設定方法について紹介します。

『検量線の作成』について

水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン(抜粋)

4-1. 検量線の作成

(1) 濃度範囲

標準試料中の検査対象物の濃度と応答値との間に正の相関係数が見られる濃度範囲内で検量線を作成し、添加試料は検量線の濃度範囲内で定量する。

(2) 各濃度点の設定

1本の検量線につきブランク試料を含まない4点以上の濃度点を設定し、各濃度点はできるだけ均等に配置して特定の濃度範囲に集中しないようにする。

また、各濃度点を公比(隣り合う2つの濃度点の濃度比)が原則4以内になるように設定する。

(3) 測定順序と測定回数

標準試料は、最初にブランク試料を測定し、次に低濃度の標準試料から高濃度の標準試料を順番に測定し、最後にブランク試料を測定する。この一連の測定を繰り返し、各濃度の標準試料の測定データを3個以上取得する。

(4) 回帰式の算出方法

検量線の回帰式にはできるだけ直線回帰モデルを用いる。各濃度点の重み付けを行ってもよい。なお、回帰式は原点を強制的に通過せず、原則としてブランク試料を含めずに応答値がられた濃度の標準試料のみを用いて算出する。

▶ 妥当性ガイドラインに対応する検量線の作成方法として、TOC-Control「検量線ウィザード プロットリスト」の一例を示します。

検量線作成方法の一例

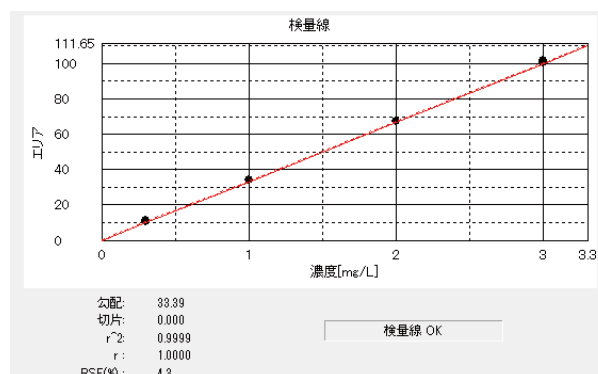
- 検量線の濃度点は、0.3、1、2、3 mg/Lの4点とゼロ^{注)}。
- 最初および最高濃度試料(3 mg/L)標準液測定後にブランク試料(0 mg/Lつまりゼロ水)を測定し、この一連の測定を3回繰り返す。
- 濃度や注入回数は使用目的に応じて適宜変更してください。

注) TOC測定に使用する検量線を作成する場合は、一般的に使用する標準液の調製水(ゼロ水)に含まれるTOC濃度を補正するための原点移動機能を使用します。この補正方法は、「妥当性ガイドライン質疑応答集のQ4-1-4)」に言及されています。そのため、ここでは調製水にTOC成分が含まれるものとして検量線を作成し、検量線作成後に原点を通る位置まで平行移動します。なお、調製水(ゼロ水)の測定値も検量線に含めて原点移動することもできます。

▶ 最高濃度試料(3 mg/L)の測定後のブランク試料はキャリーオーバーの評価に使用しますので測定後に除外設定します。除外した点にはEマークが表示されます。

プロット									
No.	濃度	平均エリア	注入回数	除外	SD 上限	CV 上限	SD	CV	
1	0.000 mg...	0.6634	1/1		0.1000	2.00	0.000	0.00	
2	0.3000 mg...	11.81	1/1		0.1000	2.00	0.000	0.00	
3	1.000 mg...	34.24	1/1		0.1000	2.00	0.000	0.00	
4	2.000 mg...	67.37	1/1		0.1000	2.00	0.000	0.00	
5	3.000 mg...	101.5	1/1		0.1000	2.00	0.000	0.00	
6	0.000 mg...	0.8635	1/1	E	0.1000	2.00	0.000	0.00	
7	0.3000 mg...	10.64	1/1		0.1000	2.00	0.000	0.00	
8	1.000 mg...	34.24	1/1		0.1000	2.00	0.000	0.00	
9	2.000 mg...	67.35	1/1		0.1000	2.00	0.000	0.00	
10	3.000 mg...	100.5	1/1		0.1000	2.00	0.000	0.00	
11	0.000 mg...	0.8607	1/1	E	0.1000	2.00	0.000	0.00	
12	0.3000 mg...	10.54	1/1		0.1000	2.00	0.000	0.00	
13	1.000 mg...	33.88	1/1		0.1000	2.00	0.000	0.00	
14	2.000 mg...	67.09	1/1		0.1000	2.00	0.000	0.00	
15	3.000 mg...	100.9	1/1		0.1000	2.00	0.000	0.00	
16	0.000 mg...	1.031	1/1	E	0.1000	2.00	0.000	0.00	

▶ 検量線(原点移動処理したもの)



『添加試料の評価』について

水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン(抜粋)

4-4. 添加試料の評価

添加試料を自らの標準作業書に基づく検査方法に従って試験し、その結果から4(1)～(4)に示す性能パラメータを求め、それぞれの目標に適合していることを確認する。(以下省略)

(1) 選択性(省略)

(2) 真度

5個以上の添加試料を検査方法に従って試験し、得られた試験結果の平均値の添加濃度に対する比を求め、目標を満たすことを確認する。

(3) 併行精度

添加試料を検査方法に従って複数回試験し、得られた試験結果の併行精度(RSD)が目標を満たすことを確認する。自由度が4以上となるように試験を行う。

(4) 室内精度(省略)

真度および精度の目標

項目	真度(%)	併行精度(RSD%)
有機物	70～130	≤20

- ▶ 妥当性ガイドラインの添加試料の評価の「(2) 真度」の試験を行う場合、添加試料をコントロール試料として測定することにより真度を評価することができます。その場合のTOC-Control「コントロール試料ウィザード コントロールチェック」の一例を示します。

添加試料の評価の設定方法の一例

添加を行う水として水道水を使用する。水道水には常在成分としてTOCが存在するので、添加試料と添加前の試料の測定値を比較して評価する。

水道水を「基準試料」、ここでは0.3 mg/LのTOCを水道水に添加した試料を「比較試料」として測定し、真度70～130%を満たすかを試験する。

1. 「回収率」を選択し、「濃度比較」にチェックを入れる。
2. 「比較濃度」に添加する濃度(ここでは0.3 [mg/L])を設定する。
3. 判定範囲である「下限」に70(%)、「上限」に130(%)を設定する。

- ▶ コントロール試料の測定結果例を示します。

結果欄に水道水(基本試料)と0.3 mg/L添加試料(比較試料)の濃度値が表示され、注記欄にその差の添加濃度に対する回収率(=真度%)であるコントロール値とその判定結果が表示されます。

	試料タイプ	測定タイプ	試料名	結果	注記
9	コントロール試料	NPOC	水道水と添加試料	NPOC:基本試料0.7228mg/L 比較試料1.036mg/L	コントロール値:104.3 / コントロール値の範囲内
10	コントロール試料	NPOC	水道水と添加試料	NPOC:基本試料0.7640mg/L 比較試料1.044mg/L	コントロール値:99.45 / コントロール値の範囲内
11	コントロール試料	NPOC	水道水と添加試料	NPOC:基本試料0.7359mg/L 比較試料1.049mg/L	コントロール値:102.2 / コントロール値の範囲内
12	コントロール試料	NPOC	水道水と添加試料	NPOC:基本試料0.7597mg/L 比較試料1.039mg/L	コントロール値:91.03 / コントロール値の範囲内
13	コントロール試料	NPOC	水道水と添加試料	NPOC:基本試料0.7261mg/L 比較試料1.046mg/L	コントロール値:106.7 / コントロール値の範囲内

食品分野でのTN(全窒素)測定

食品に含まれるTN(全窒素)濃度を測定することにより、窒素化合物であるタンパク質やアミノ酸の濃度の情報を得ることができます。例えば、調味料として使用される酢には原料の穀物や果実に由来するタンパク質やアミノ酸が含まれますが、これらの量は製品の味に大きな影響を与えます。したがってTN測定をしてタンパク質やアミノ酸の濃度を確認することで、酢の品質を確認することができます。

また、食品製造工場では、製造設備の洗浄後に前の製品が残留していないかを確認し、その量が許容値以下であることを検証する洗浄バリデーションが、品質管理や安全性の確保の観点から重要視されていますが、製造設備を洗浄した後の水をTN測定してタンパク質やアミノ酸の濃度を評価することができますので、設備が適切に洗浄できているかを確認できます。

食品中のたんぱく質量を測定する方法として一般的に使用されるケルダール法では、複数の試薬を使用して分解や蒸留などを行います。そのため測定するには、人の手による、何時間もかかる操作が必要です。しかし島津全有機体炭素計の全窒素ユニットTNM-Lは熱分解-化学発光方式なので、試薬は使用せず、1回あたりの測定は5分程度と大変迅速です。またオートサンブラを使用すれば複数の試料を自動測定することもできます。

今回は島津燃焼式全有機体炭素計TOC-Lと全窒素ユニットTNM-Lのシステムを使用して、食品のTNを測定した例をご紹介します。

1. TN測定による酢の品質管理

1-1. 分析方法

原材料が異なる5種類の酢(米酢、玄米黒酢、穀物酢、りんご酢、バルサミコ酢)のTNを測定しました。米酢、玄米黒酢、穀物酢、りんご酢は純水で100倍に希釈、バルサミコ酢は500倍に希釈して測定し、測定結果は希釈倍率で補正しました。検量線は、20 mgN/Lの硝酸カリウム水溶液で校正して作成しました。

測定条件

分析計	: TOC-LCPH+全窒素測定ユニットTNM-L
触媒	: TOC/TN触媒
測定項目	: TC(全窒素)
検量線	: 20 mgN/L硝酸カリウム水溶液による1点検量線
試料	: 市販の米酢、玄米黒酢、穀物酢、りんご酢、バルサミコ酢
希釈倍率	: 米酢、玄米黒酢、穀物酢、りんご酢は100倍希釈 バルサミコ酢は500倍希釈

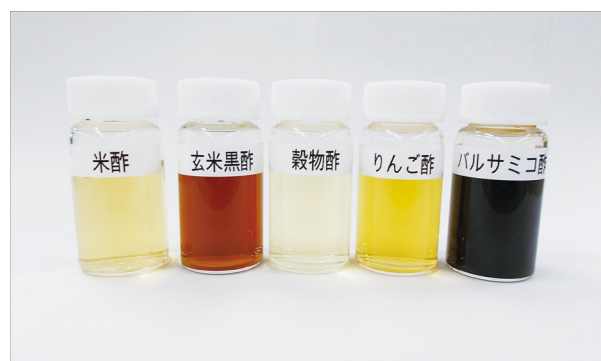


Fig. 1 測定試料

Table 1 測定試料

試料	おもな原材料
米酢	米
玄米黒酢	玄米
穀物酢	小麦、コーン
りんご酢	りんご果汁
バルサミコ酢	ぶどう果汁

1-2. 分析結果

5種類の酢をTN測定した結果をTable 2に示します。いずれの試料も精度よくTN測定されています。

原材料に含まれるたんぱく質やアミノ酸の量や製法が各々の酢によって異なるため、TN濃度は酢により違いがあることがわかります。

Table 2 測定結果

試料	TN測定値(mgN/L)
米酢	306
玄米黒酢	1650
穀物酢	357
りんご酢	24.4
バルサミコ酢	912

2. TOCとTN測定による食品製造設備の洗浄バリデーション

2-1. 試料の準備

Fig. 2の丸型ステンレス容器（容量約700 mL）に、米酢および玄米黒酢を約5 mL入れて容器の内側全体に酢を付着させ、以下のように洗浄し、そのときの洗浄水をTOC/TN測定用の試料としました。

＜洗浄方法＞

- ① 容器内の酢を捨てる。
- ② 容器の上部まで精製水を入れて攪拌し、容器から取り出す。
この洗浄水を1回目の洗浄水とする。
- ③ ②と同様に洗浄し、2回目の洗浄水とする。
- ④ 同様に洗浄し、3回目の洗浄水とする。



Fig. 2 ステンレス容器



Fig. 3 食品製造設備

2-2. 分析方法

洗浄に使用した精製水と1～3回目の各洗浄水について、TOCとTNを同時測定しました。TOC用検量線は250 mgC/Lのフタル酸水素カリウム水溶液で校正して作成しました。またTN用検量線は0と5 mgN/Lの硝酸カリウム水溶液で校正して作成しました。

測定条件

分析計	: TOC-LCPH+全窒素測定ユニットTNM-L
触媒	: TOC/TN触媒
測定項目	: TOC (=酸性化通気処理によるTOC) およびTNの同時測定
検量線	: TOC : 250 mgC/L フタル酸水素カリウム水溶液による1点検量線 TN : 0-5 mgN/L硝酸カリウム水溶液による2点検量線

2-3. 分析結果

米酢と玄米黒酢の入った容器を洗浄した洗浄水および洗浄に使用した精製水の測定結果をTable 3に示します。洗浄を繰り返すにつれTOCとTNは徐々に低濃度になり、3回目の洗浄水のTOCとTNは、洗浄に使用した精製水とほぼ同じ濃度になりました。このように洗浄水のTOCとTNの濃度値を評価することにより、容器の洗浄効果を確認することができました。

Table 3 測定結果

試料	TOC測定値 (mgC/L)	TN測定値 (mgN/L)
洗浄に使用した精製水	0.123	0.038

試料	TOC測定値 (mgC/L)	TN測定値 (mgN/L)
米酢の洗浄水(1回目)	196.2	1.62
米酢の洗浄水(2回目)	3.36	0.076
米酢の洗浄水(3回目)	0.127	0.046

試料	TOC測定値 (mgC/L)	TN測定値 (mgN/L)
玄米黒酢の洗浄水(1回目)	129.4	3.36
玄米黒酢の洗浄水(2回目)	0.535	0.062
玄米黒酢の洗浄水(3回目)	0.116	0.040

3. まとめ

島津全有機体炭素計TOC-Lと全窒素ユニットTNM-Lのシステムを使用して食品中のTN測定することにより、タンパク質やアミノ酸といった窒素化合物の濃度を精度よく評価することができました。TNM-LによるTN測定は、JISに定められている熱分解—化学発光法で、燃焼管で熱分解させて化学発光方式で検出しますので、ケルダール法と比較するとたいへん便利な方法です。本方法は昨年ケルダール法の代替法としてASTMに収載されており、簡便なTN測定用途として活用することができます。

TOC測定のは

試料希釈のお話

先日、「試料を2倍希釈したらTOC値が2倍になったんです!」という、なんとも謎めいたお問い合わせをいただきました。これはいったいどういうことでしょうか。

TOC測定、とりわけ1 mg/L以下の高感度TOC測定を難しくしている原因に、TOC = 0の純水が存在しないこと、そして純水がTOC汚染されやすいこと、のふたつがあります。これらふたつを合わせて、「仮にTOC≒0の純水が手に入ったとしても測定操作の中で容易に汚染されてしまう」と言い換えてもいいでしょう。このことはTOC測定がその他の分析項目や分析手法と大きく異なる点です。

TOC測定に限らず、標準液調製や試料希釈には目的成分を含まない溶媒を用います。TOC測定においてはTOCを含まずかつ安定な純水が手に入れば何も問題ないのですが、現実には上述のとおりです。そして、このことが検量線に与える影響と配慮は比較的良好に認知されています^{*1}が、試料希釈に与える影響は意外な落とし穴ではないでしょうか。

そこで今回は、希釈に用いる純水(ここでは希釈用水と呼びます)に含まれるTOCが希釈後試料のTOC濃度に与える影響(ここでは希釈誤差と呼びます)を考えることにしましょう。

TOC = Aの試料をTOC = Bの希釈用水を用いてC倍希釈すると、希釈後試料のTOC = A'は次のようになります。A'が単純に $A \times (1/C)$ とならず、これに $B \times ((C-1)/C)$ が加わるのがポイントで、これこそが希釈誤差です。^{*2}

$$A' = A \times (1/C) + B \times ((C-1)/C)$$

では、この希釈誤差を実感していただくために具体的な操作条件を挙げて試算してみましょう。

今日では純水製造装置の性能が飛躍的に向上し、卓上型純水製造装置によってTOC < 10 µg/Lの極めて清浄な純水を潤沢に得られるようになりました。

そこで、希釈用水のTOC = 10 µg/Lとしたときの希釈前試料のTOC(上式のAです)と希釈誤差の関係を希釈倍率別に示したのがFig.1です。縦軸の希釈誤差は、 $A \times (1/C)$ に対する $B \times ((C-1)/C)$ の割合、つまり意図した濃度に対する誤差を百分率で表現したものです。希釈前試料のTOCが低いほど、また希釈倍率が高いほど希釈用水の影響が大きくなり、希釈誤差が大きくなる様子がよく分かります。それと同時に、日常のTOC測定でよく使用されるこのような希釈操作条件では、希釈用水のTOCを10 µg/Lレベルに抑えることができれば希釈誤差を概ね1%以下に抑えられることが分かります。

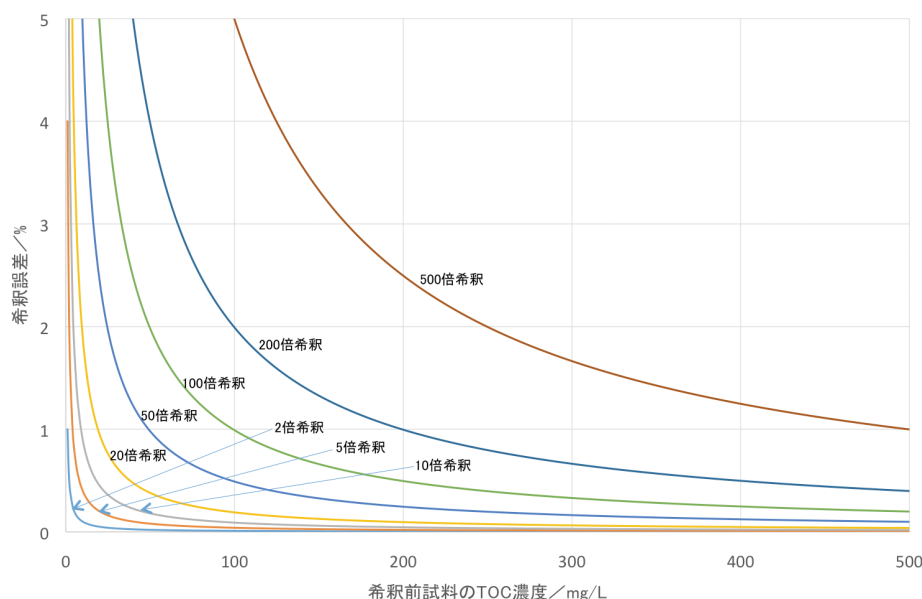


Fig. 1 希釈前試料濃度と希釈誤差の関係(希釈用水のTOC = 10 µg/L)

しかし油断は禁物です。すべての希釈操作を通じてTOC=10 µg/Lの水質を保つことは容易ではないからです。

Fig. 2をご覧ください。Fig. 2は希釈用水がTOC=100 µg/Lとした場合の希釈前試料のTOCと希釈誤差の関係を示したものです。Fig. 2をFig. 1と比較すると、希釈用水のTOCの重要性を感じていただけるでしょう。希釈後試料の組成の大半は希釈用水ですからこれは当然のことです。

このような状況は架空のものではなく、程度の差こそあれ身近に起こることです。たとえばTOC計に備わる自動希釈機能を使用する場合は要注意で、希釈水ボトル内に長期間放置された純水が思わぬ汚染を受けていることがあります。

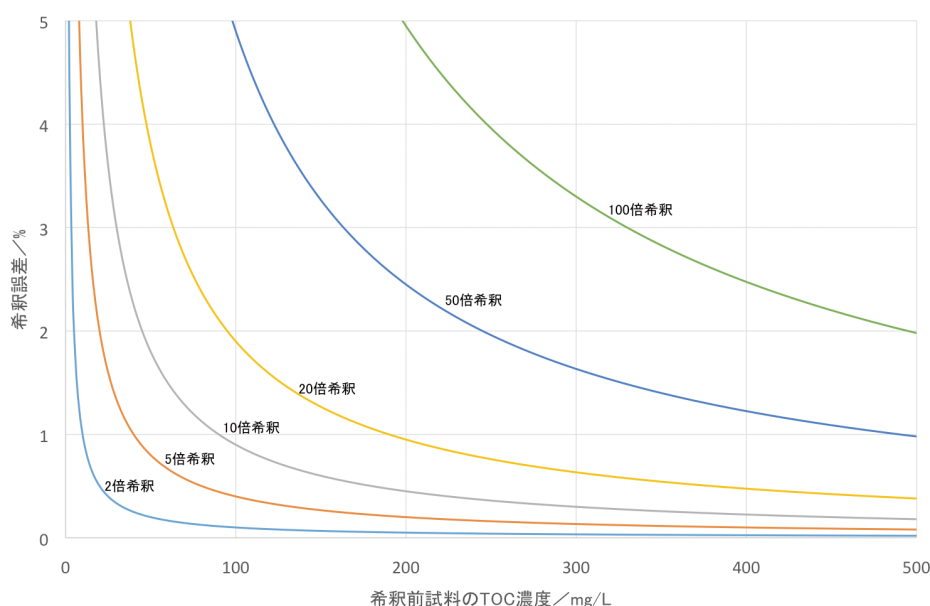


Fig. 2 希釈前試料濃度と希釈誤差の関係 (希釈用水のTOC=100 µg/L)

ではこの辺で、冒頭の「試料を2倍希釈したらTOC値が2倍になったんです!」の種明かしをしましょう。

このお客様は、「TOC=1 mg/Lの試料をTOC=1 mg/Lの純水を用いて2倍希釈」して測定しておられました。難しい計算をするまでもなく希釈後の濃度は1 mg/LですからTOC測定値は1 mg/Lとなります。そして希釈前濃度を求めるためにこの測定値を2倍すればどうなるか…で説明の必要もないでしょう。

これは非常に悪い条件が重なった極端な例ですが、たとえば長時間実験室に放置した純水を用いて低TOC試料を希釈といった操作は案外やってしまうのではないのでしょうか。

最後に、「TOCなんてそんなに汚染されないんじゃないの?」とおっしゃる方のために、TOCがどれぐらい汚染に敏感かのお話をしておきましょう。

角砂糖ひとつを25 mプールの水に溶かすと、そのプール水のTOCはいっただけだけ増加するでしょう?

角砂糖ひとつの質量=4.0 g、角砂糖の成分をスクロース(C₁₂H₂₂O₁₁、炭素含量は144/342)、25 mプールの形状を長さ25 m×幅13 m×水深1.4 m (水量=455,000 L)とすると、

$$\begin{aligned}\text{TOC増加} &= ((4.0 \times 10^6) \times (144 / 342)) / 455,000 \\ &= 3.7 (\mu\text{g/L})\end{aligned}$$

となります。どうです、10 µg/LのTOC汚染など、ちょっとしたことで生じることがお分かりでしょう。

繰り返しますが、希釈後試料の組成の大半は希釈用水です。くれぐれも希釈用水に含まれるTOCに対する配慮をお忘れなきよう。

※1 本誌vol.2の本項で取り上げました。ぜひご覧ください。

※2 ここでは希釈用水に含まれるTOCの影響だけを考慮しており、希釈操作で生じる計量誤差や器具からの汚染等の要素は考慮していません。

全有機体炭素計

TOC-L

TOTAL ORGANIC CARBON ANALYZER



さまざまな分野で活用

プロセス管理

排水処理工程管理
各種工程
超純水回収・再精製工程

品質管理

水道資機材
電子部品
アルミ箔
各種原材料

調査・試験研究

地球環境、富栄養化、河川水、
湖沼水、地下水、海洋水
土壌、汚泥、堆積物
生分解性プラスチック、
セメント二次製品

水質管理

水道水
超純水
排水、排水原水
プール水、温泉水
ボイラー水、各種工程水

医薬品製造

製薬用水管理
洗浄効果の確認
(洗浄バリデーション)