

有機物(全有機炭素の量)測定における誤差要因 —水質検査外部精度管理の結果解析より—

中西 成子、福島 得忍

Occurrence and source of errors found in the interlaboratory test
on determination of total organic carbon (TOC) in water

Shigeko NAKANISHI and Tokunin FUKUSHIMA

要 旨

県内の飲料水の水質検査を行っている機関を参加対象とし、有機物（全有機炭素の量、以後 TOC と略す）を検査対象項目とする外部精度管理を実施し、その結果を解析した。配付試料はフタル酸水素カリウム標準液を精製水で希釈し、添加濃度1.0mg/Lと4.0mg/Lで調製した。各機関毎に Z スコアを算出し、Z スコアが $2 < |Z| < 3$ の機関から提出されたデータを検討した結果、(1) 検量線の回帰式から試料濃度を算出する際のブランクの扱いの誤り、(2) システムブランク値が高いこと及び、(3) TOC 計の応答値のパラツキが、誤差要因であった。TOC 計の応答値のパラツキの要因は、当衛生研究所における飲料水検査時の検討結果から、室内空気からのコンタミネーションによるものと考えられた。

キーワード：全有機炭素(TOC)の定量：外部精度管理：誤差要因

Key Word：Determination of total organic carbon：Interlaboratory test：

Occurrence and source of errors

はじめに

平成4年12月に水道水の水質基準が改正され、水質基準項目が26項目から46項目へ強化されたのに合わせ、水質検査機関内や機関間で精度管理を行うことが求められようになった。当所は、平成7年から毎年度2回、県内の飲料水の水質検査を行っている機関を対象とする外部精度管理事業の実施の中心的役割を担ってきた。平成18年度の第2回外部精度管理は、有機物（全有機炭素の量、以後 TOC と略す）を対象検査項目として実施された。TOC は平成15年5月の水質基準の改正¹⁾で新たに加わった検査項目で、水質基準値は5 mg/L以下であり、その10分の1の濃度(0.5mg/L)までの定量が義務づけられている²⁾。TOC の測定方法は、「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の別表第30全有機炭素計測定法³⁾、以後告示法と略す」である。TOC の外部精度管理を実施するのは初めてであったので、配付試料の性状による誤差はできるだけ排除することとし、配付試料は、検量線用標準液の調製に用いる全有機炭素標準原液を精製水で希釈して調製した。参加機関数21に対し外部精度管理を実施し、参加機関から提出された検査結果を解析した結果、いくつかの誤差要因が明らかになったので報告する。

方 法

1. 試薬及び器具

精製水は日本ミリポア製 Elix5/Milli-Q Plus 純水製造装置で製造した水を、塩酸は関東化学製原子吸光分析用を使用した。全有機炭素標準原液として、和光純薬製水質試験用フタル酸水素カリウム標準液（炭素として1.00

mg/mL）を使用した。

配付試料の容器としては、洗浄後クリーンパックされている容量500mLのポリプロピレン製広口瓶を使用した。

2. 全有機炭素計及び測定条件

島津製作所製 TOC-5000型で、オートサンプラー ASI-5000型付きを使用し、測定条件は以下の通りである。

測定方式：燃焼酸化方式、触媒燃焼温度680℃、高感度TC触媒を使用

キャリアガス：純空気を圧力5 kg/cm²、流量150mL/minで使用

スパージ条件：約35mLの試料に(1+5)塩酸を約200 μL添加し、酸性とした試料に、純空気を約100mL/minで10分間通気

試料注入量：120 μL

3. 配付試料

高濃度試料は、全有機炭素標準原液20mLを全量フラスコに採り、精製水で5Lとした。低濃度試料は、全有機炭素標準原液5mLを全量フラスコに採り、精製水で5Lとした。高濃度、低濃度試料いずれも25Lずつ調製し、それぞれ容量30Lの高密度ポリエチレン製広口瓶に入れ、振とう混和した。

容量500mLのポリプロピレン製広口瓶に調製した試料を約500mLずつ分注後密栓し、栓をビニールテープで覆い、ファスナー付きビニール袋に入れた。配付試料をダンボール箱中に梱包し、保管は5℃の低温室で行い、翌日クール宅配便で発送した。配付試料は、発送の翌日すなわち試料調製の2日後に全参加機関に到着した。

4. 参加機関での実施要領

参加機関には、配付試料の温度を室温に戻した後、高濃度試料及び低濃度試料各々を5つの容器に分取し、日常業務で使用している検査実施標準作業書（SOP）に従って、それぞれについて速やかに測定を行い、各測定値を提出するよう求めた。測定は、必ず平行測定（測定時間、測定者、測定機器、測定条件、測定場所を同一にして試験を行うこと）で行うことを条件とした。

結果

1. 配付試料の容器間のバラツキと経時変化

試料調製2日後、保管してある配付試料の中からランダムに5本を抜き取り、各々のTOC濃度を測定し容器間のバラツキを求めた。高濃度試料の平均値は4.050mg/L、標準偏差は0.0122mg/L、変動係数（CV%）は0.30%、低濃度試料の平均値は1.058mg/L、標準偏差は0.0083mg/L、変動係数は0.79%で、配付試料の容器間のバラツキは認められなかった。

また、配付試料を5℃で保存した場合の経時変化の有無を調べた。試料調製日、翌日、7日後、16日後に、配

付試料の中からランダムに1本を抜き取り、各々のTOC濃度を5回の繰り返し測定で求めた。2日後のTOC濃度には容器間のバラツキの測定値を当て、結果を表1に示した。高濃度試料の平均値は4.020mg/L、標準偏差は0.0245mg/L、変動係数は0.61%、低濃度試料の平均値は1.050mg/L、標準偏差は0.0066mg/L、変動係数は0.63%で、配付試料に経時変化は認められなかった。

告示法³⁾には「試料は、精製水で洗浄したガラス瓶に採取し、速やかに試験する。速やかに試験できない場合は、冷暗所に保存し、24時間以内に試験する。」と記載されているが、配付試料の容器は、輸送中の破損および洗浄による誤差を考慮し、洗浄後クリーンパックされているポリプロピレン製広口瓶を使用した。各参加機関における試料調製から測定までの経過日数は、最長で14日間（配付試料到着後12日目に測定実施）であったが、配付試料の容器間のバラツキと経時変化の測定結果から、使用した容器によるTOCの測定値への影響は無視できる。

表1 配付試料の保存期間中の経時変化

日数(日)	保存日数別の測定値* (mg/L)					平均値 (mg/L)	標準偏差 (mg/L)	変動係数 (CV%)
	当日	1	2	7	16			
高濃度試料	4.034	4.028	4.050	3.996	3.994	4.020	0.0245	0.61
低濃度試料	1.048	1.044	1.058	1.044	1.056	1.050	0.0066	0.63

*測定値は、5回測定の平均値

2. 報告データ数及び測定方法

参加機関は21機関、参加機関から報告されたデータ数は高濃度試料、低濃度試料ともに21であった。全有機炭素計測定法の測定方式⁴⁾別の参加機関数およびデータ数は、燃焼酸化方式⁴⁾が20、湿式酸化方式⁴⁾が1であった。燃焼酸化方式のTOC計はすべて同一メーカー製で、新旧二つの型式の装置があり、旧型を使用している機関が3、新型を使用している機関が17であった。燃焼温度は19機関が680℃、1機関が720℃であった。湿式酸化方式は、試料に酸化剤として15%過硫酸アンモニウム溶液を加え、紫外線により酸化する方法であった。また、全参加機関で試料に酸を添加し、無機炭素除去の前処理を行っていた。

3. データ解析

1) 棄却検定

参加機関から報告された5回の繰り返し測定値から各機関毎の平均値を算出し、平均値を該当の機関の報告値とした。全報告値についてGrubbs（グラブス）の棄却検定⁵⁾を行った結果、低濃度試料の最大値が1%棄却限界値を越え、1%外れ値であった。他に1%棄却限界値を越えた測定値はなかった。

2) 基本統計量

全データ（n=21）より算出した高濃度試料と低濃度試料の基本統計量、及び1%外れ値を除いたデータ（n=20）より算出した低濃度試料の基本統計量を表2に示した。高濃度試料の全平均値は3.991mg/L、標準偏差は

表2 基本統計量

項目	高濃度試料 (添加濃度 4.0mg/L)	低濃度試料 (添加濃度 1.0mg/L)	低濃度試料* (添加濃度 1.0mg/L)
全平均 (mg/L)	3.991	1.038	1.027
標準偏差 (mg/L)	0.1044	0.0671	0.0439
範囲 (mg/L)	0.560	0.338	0.172
標本数	21	21	20
変動係数 (CV%)	2.61	6.46	4.27

*1%外れ値を棄却して算出

0.1044mg/L、変動係数は2.61%であった。全データより求めた低濃度試料の全平均値は1.038mg/L、標準偏差は0.0671mg/L、変動係数は6.46%であり、1%外れ値を除いたデータより求めた低濃度試料の全平均値は1.027mg/L、標準偏差は0.0439mg/L、変動係数は4.27%であった。いずれの全平均値も試料調製時の添加濃度とほぼ一致した。

3) 各機関の室内精度とZスコアの分布

各機関ごとの5回の繰り返し測定値の変動係数及びZスコアを、高濃度試料のZスコアの昇順(小→大)で、表3に示した。高濃度試料の各機関のZスコアごとにNo.1~No.21までの昇順番号を付け、昇順番号を各機関番号とした。低濃度試料は、全データ及び1%外れ値を除いたデータについて、各々Zスコアを算出した。Zスコアは下式により求めた。

$$Z \text{ スコア} = \frac{(x - \bar{x})}{S}$$

ここで x : 各機関の平均値 \bar{x} : 全平均値 S : 標準偏差

有機物(全有機炭素の量)の検査で必要とされる測定精度は、基準値の10分の1付近の測定で、変動係数10%以下である²⁾が、高濃度試料では0.11~1.29%と非常に

良好な結果であった。低濃度試料での変動係数は0.41~8.64%であり、高濃度試料に比べて範囲が広い結果であったが、全参加機関で目標とする10%以下であった。

全参加機関の高濃度試料のZスコアの分布を図1-1に、低濃度試料のZスコアの分布を図1-2に示した。高濃度試料でZスコアが高い機関は、低濃度試料でもZスコアが高い傾向にあった。

4) ヒストグラムとZスコアによる評価

Zスコアによる評価は、全平均値のなかにおける各機関の平均値の相対的な位置を示し、Zスコアが0の場合は分布の中心になり、Zスコアの絶対値 $|Z|$ が2を越える確率は5%、3を越える確率は0.3%である。Zスコアの一般的な評価基準では、 $|Z| \leq 2$ の場合は「満足」、 $2 < |Z| < 3$ の場合は「疑わしい」、 $|Z| \geq 3$ の場合は「不満足」と判定する⁶⁾。高濃度試料のZスコアのヒストグラムを図2-1に、1%外れ値を除いた低濃度試料のZスコアのヒストグラムを図2-2に示した。いずれの試料でも、Zスコア0付近を中心とする左右対称の正規分布の形になった。 $2 < |Z| < 3$ で「疑わしい」と評価されたのは、高濃度試料で2機関、低濃度試料で1機関であった。

表3 機関内変動係数及びZスコア

高濃度試料 昇順番号	高濃度試料		低濃度試料		
	変動係数 (CV%)	Zスコア	変動係数 (CV%)	Zスコア	Zスコア*
1	1.09	-2.81	1.90	-0.39	-0.35
2	0.22	-1.19	0.59	-1.68	-2.30
3	0.58	-0.76	0.85	-0.84	-1.03
4	0.58	-0.57	1.51	-0.51	-0.53
5	0.11	-0.48	0.45	-0.75	-0.89
6	0.37	-0.32	1.09	-0.54	-0.57
7	0.40	-0.30	0.69	-0.13	0.06
8	1.24	-0.29	2.96	-0.60	-0.66
9	0.21	-0.19	1.11	-0.22	-0.07
10	1.29	-0.06	0.89	-0.48	-0.48
11	0.40	-0.02	0.54	-0.48	-0.48
12	0.37	0.19	0.81	-0.01	0.25
13	0.39	0.27	0.41	0.89	1.61
14	0.25	0.27	0.83	0.53	1.07
15	0.41	0.38	1.12	-0.36	-0.30
16	0.32	0.44	0.78	0.44	0.93
17	0.28	0.50	0.54	-0.33	-0.25
18	0.28	0.60	1.51	0.74	1.38
19	0.53	0.86	0.77	0.74	1.38
20	0.32	0.92	0.41	0.65	1.25
21	1.03	2.55	8.64	3.36	

*1%外れ値を棄却してZスコアを算出

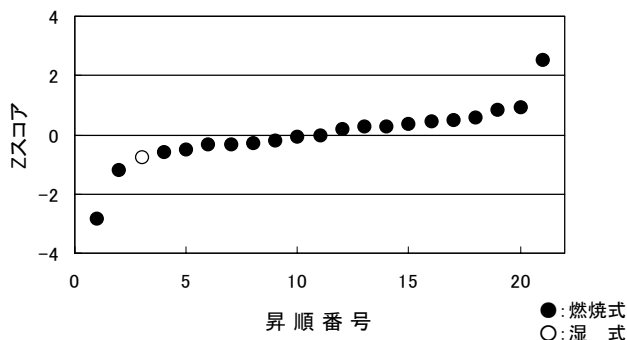


図 1-1 高濃度試料での各機関の Z スコアの分布

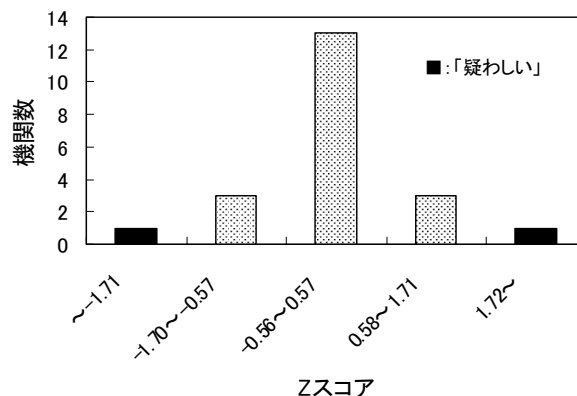


図 2-1 高濃度試料での Z スコアのヒストグラム (n=21)

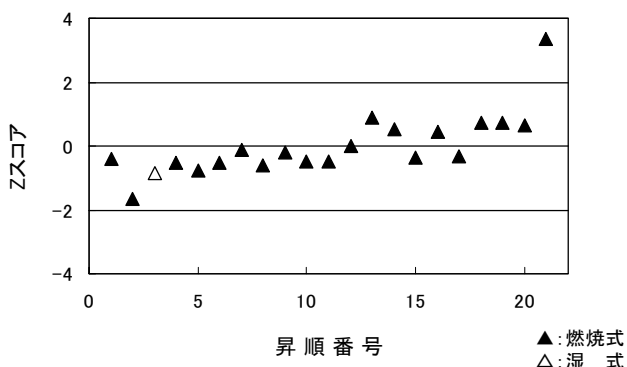


図 1-2 低濃度試料での各機関の Z スコアの分布

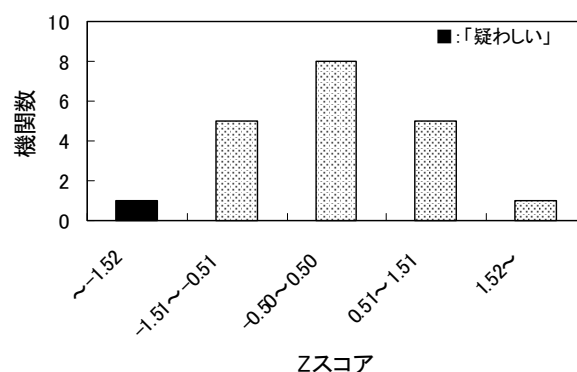


図 2-2 低濃度試料での Z スコアのヒストグラム (n=20)

考 察

Zスコアが $2 < |Z| < 3$ の3機関から提出された分析チャート、検量線、測定結果レポート等を検討したところ、下記の誤差要因が明らかになった。

1. 検量線回帰式の考え方

TOC の検量線用標準系列は、全有機炭素標準原液を精製水で希釈して調製するが、調製した各標準液の実際の TOC 濃度は、調製 TOC 濃度に希釈に用いた精製水の TOC 濃度を加えた濃度になる。精製水および各標準液を TOC 計で測定し、得られた応答値から作成した検量線の概念図を図 3 に示した。燃烧酸化方式で、定量下限値 0.5mg/L を十分に測定できる濃度範囲で検量線を作成すると、回帰式 $y = ax + b$ が得られる。ここで、 b は精製水の TOC 濃度に相当する応答値 (α) にシステムブランクの応答値 (β) を加えたものと考えられる⁴⁾。検量線に十分な直線性があれば、標準液の調製 TOC 濃度に対応する検量線の回帰式は $y = ax$ となり、検量線の傾き a から試料の TOC 濃度を算出できる。ここで重要なことは、試料の測定では、試料の TOC 濃度に相当する応答値にシステムブランクの応答値を加えた値が得られることである。精度の良いデータを得るためには、 b の値に占めるシステムブランクの値が十分に小さいことが必須である。告示法では、TOC の測定に使用する精製水

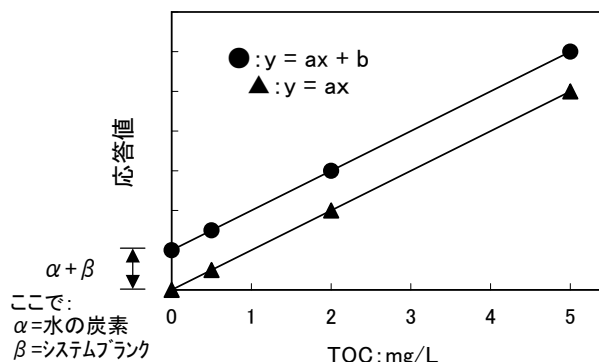


図 3 TOC の検量線概念図

について「全有機炭素濃度が 0.1mg/L 以下のもの又は同等以上の品質を有するもの³⁾」と規定してるが、回帰式 $y = ax$ より精製水の TOC 濃度を求め、その値が 0.1mg/L 以下であることが必要と考える。当然、算出した精製水の TOC 濃度にはシステムブランクの値も含まれる。

昇順番号 2 の機関は、回帰式 $y = ax + b$ を用いて試料の TOC 濃度を算出している。この場合の TOC 濃度は、 $y = ax$ を用いて算出した TOC 濃度より低い値となり、その影響は試料の TOC 濃度が低いほど大きい。表 3 に示したように、高濃度試料の Z スコアは -1.19 、1% 外れ値を除いた低濃度試料の Z スコアは -2.30 といずれも

低く、低濃度試料の $|Z|$ が2を越えたのは、計算式の違いによるものであった。

昇順番号21の機関は、検量線の傾き a から精製水の TOC 濃度を算出すると0.18mg/Lとなり、精製水あるいはシステムブランクの値が高い。高濃度試料、低濃度試料いずれも Z スコアが2以上であることから、システムブランク値が高いために、試料の測定値が大きくなったと考えられる。この場合も試料の TOC 濃度が低いほど影響は大きくなるので、低濃度試料の報告値が1%外れ値になった。

2. 応答値のバラツキの影響

昇順番号1の機関は、高濃度試料の Z スコアが-2.81で「疑わしい」という結果であったが、1%外れ値を除いた低濃度試料の Z スコアは-0.35と良好であった。この機関は、TOC 計への試料注入量を高濃度試料と低濃度試料で変え、別々の検量線を作成して測定を行っていた。高濃度用の標準液測定時の最も濃度が高い標準液 (st.4) と精製水 (st.1) の分析チャートと応答値を図4に示した。各標準液の測定値は、決められた測定回数

(この場合 $n=5$) で得られる CV%あるいは標準偏差が、あらかじめ決めておいた条件内に納まるまで繰り返し測定を行い、得られた応答値を平均した値である。図中のマイナス記号がついている応答値が棄却されたデータである。高濃度試料の測定に用いられた検量線データから算出した回帰式は $y = 6234.28x + 142.78$ ($r^2 = 0.99988$)、一方棄却された検量線データ (st.3とst.4の面積値が低い) から算出した回帰式は $y = 5641.14x + 326.64$ ($r^2 = 0.99989$) と傾き a がかなり異なる。棄却された検量線データから算出した傾き a より高濃度試料の TOC 濃度を計算し直すと、Z スコアは「満足」の範ちゅうにあり、検量線用の測定値のバラツキ、特に最も濃度が高い標準液のバラツキが、検量線の傾きに大きく影響するという典型的な例であった。直線性に優れ、 r^2 が良好な検量線が、必ずしも精度の良いデータを保証するものではないことに注意すべきである。外部精度管理の結果からのみでは、このようなバラツキが生じた原因を特定できないので、TOC の測定環境が測定値に与える影響について検討を行った。

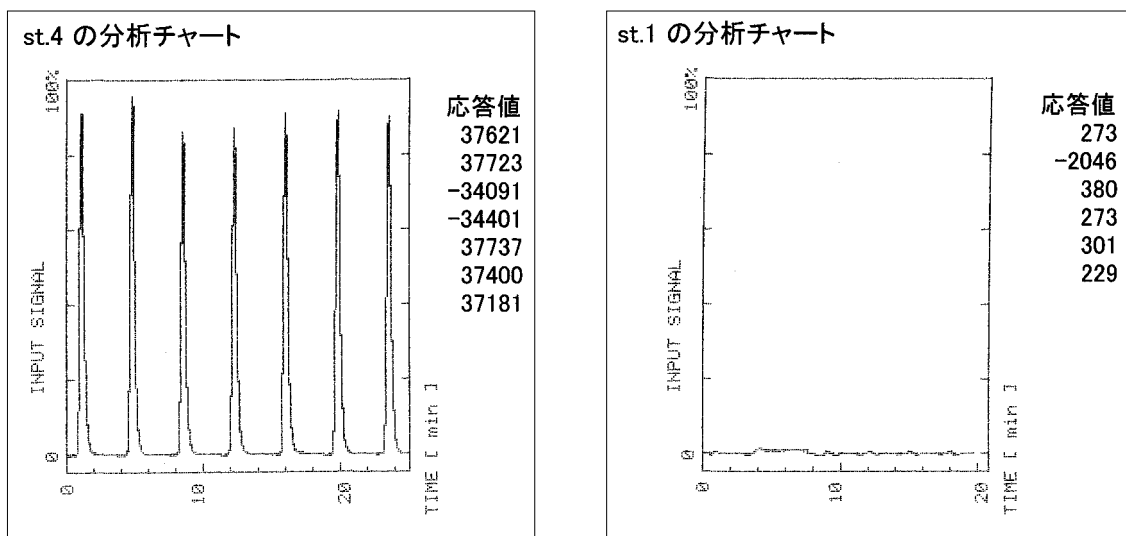


図4 TOC 計の応答値のバラツキ (昇順番号1)

3. 測定環境の影響

図4の精製水 (st.1) の繰り返し測定の応答値から算出された平均値は291 ($n=5$) で、2046と飛び抜けて高い応答値が棄却されている。対応する分析チャートを見ると、大きなピークが出現しているのではなく、ベースラインが台地状に高くなっていることがわかり、st.4の標準液の測定時にも同様な現象が起こっていたのではないかと推測された。

著者らは、配付試料の容器間のバラツキと経時変化で示したように、本精度管理の TOC の測定では安定した精度の良いデータが得られたが、飲料水の基準項目¹⁾の検査で、TOC 計の応答値にバラツキが認められることがあった。飲料水の TOC 試験は、告示法で試料採取後

24時間以内に行うように定められており³⁾、日常検査では他の検査項目と同時に測定を行っていると思われる。本精度管理の TOC の測定は、飲料水の検査日と重ならないよう実施している場合があると考えられ、TOC の測定環境に問題があると思われた。

有機溶媒を使用する試験を行う日に、測定時間や測定環境を変えて、精製水と TOC 標準液を TOC 計で測定する実験を半年間ほど行った。同一日の測定で、測定環境の影響が顕著に認められた例を図5-1と図5-2に示した。TOC の測定環境であるが、測定の全操作は同一階で行われ TOC 標準液の調製や TOC 測定用試料の分取を行う試験室と、有機溶媒を使用する試験室とは別室である。TOC 計を設置した機器室には超純水製造装置とイオン

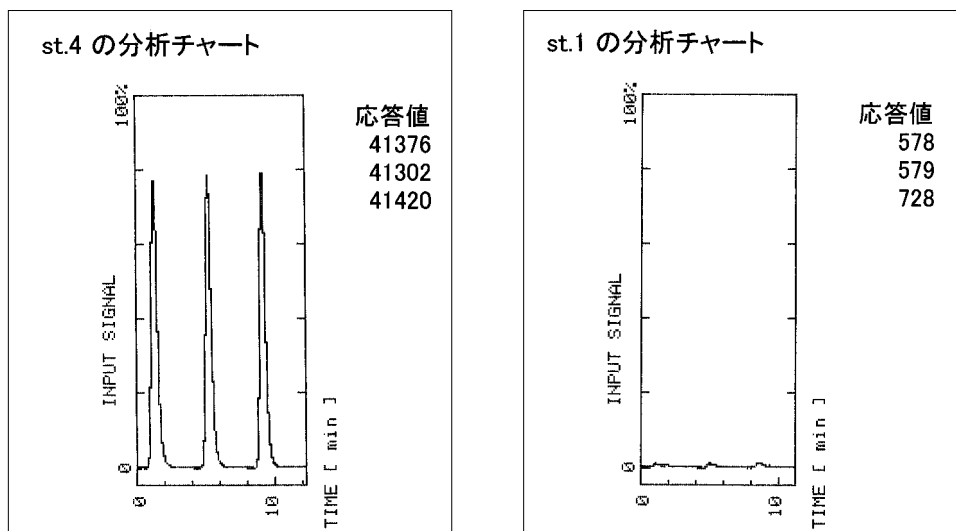


図 5-1 コンタミネーションが無い測定環境での TOC 計の応答値

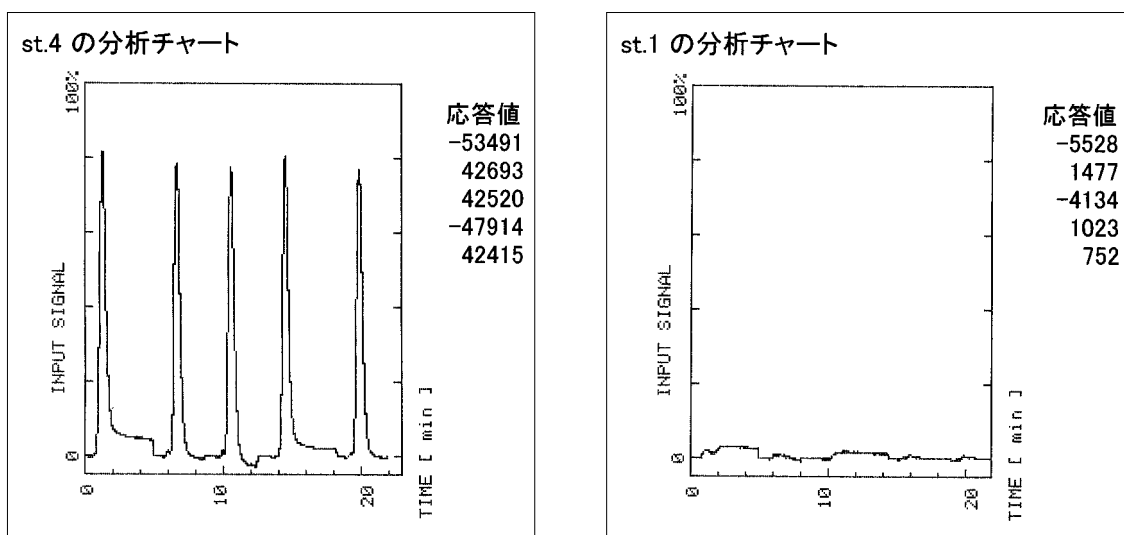


図 5-2 コンタミネーションがある測定環境での TOC 計の応答値

クロマトグラフを置き、この機器室では原則として有機溶媒は使用しない。試験室の空調設備は共通、6室ある機器室の空調設備は試験室とは別系統で、共通である。TOC計を使用する時は、TOC計を設置した機器室の空調は止めて入口のドアを閉め、出来る限り廊下のドアや窓を開けて外気を試験室に取り込む。図5-1は有機溶媒を使用していない時間帯に、試験室の空調を入れ、廊下のドアと窓を開け放して測定を行った TOC 標準液 (st.4、5.0mg/L) と精製水 (st.1) の分析チャートであり、応答値は安定していた。図5-2は有機溶媒を使用する他の試験が終了後、試験室の空調を止め、廊下のドアと窓を閉めて測定を行った TOC 標準液 (st.4、5.0mg/L) と精製水 (st.1) の分析チャートである。この時間帯にガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS と略す) を設置した機器室では、空調を止めた状態で、有機溶媒で調製した試料をオートサンプラーで GC/MS へ注入して測定を行っていた。図5-2の分析チャートには、ランダムなベー

スラインの上昇があり、応答値にバラツキが認められた。このようなランダムなベースラインの上昇は時間の経過とともに小さくなる傾向にあり、屋内空気中の有機溶媒の減少に伴い小さくなっていると推定された。約半年間の検討中、使用する精製水や試薬、標準液の調製操作、試料の測定容器への分取操作等が、TOCの測定精度に影響していたことはなかった。かつて、水中のクロロホルムを、パージ・トラップ-GC/MS法で測定を行う外部精度管理で、室内空気中にクロロホルムが微量でも存在すると、測定精度が著しく悪化することを経験している⁷⁾。TOCの測定でも、室内空気からのコンタミネーションが誤差要因になったと考えられる。

参加機関に「試験上の留意点及び問題点」を結果報告書に記載してもらっているが、燃焼酸化方式の20機関中12機関から意見が寄せられた。その中で、精製水、使用器具の選択や洗浄法、検査室の空調の調整、標準液の希釈操作、TOC計の測定前チェック、有機溶媒の使用場

所等、各機関でコンタミネーションを防ぎ、精度良いデータを得るために様々な工夫がなされていた。定量下限値0.5mg/Lの測定で、TOC計の応答値にバラツキが認められる時は、室内空気についてもっと注意を払う必要がある。

文献

- 1) 平成15年5月30日厚生労働省令第101号：水質基準に関する省令。
- 2) 平成15年10月10日健水発第1010001号 厚生労働省健康局水道課長通知：水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等並びに水道水質管理における留意事項について 別添5 水質基準項目の測定精度。
- 3) 平成15年7月22日厚生労働省告示第261号、平成18年3月30日厚生労働省告示第191号一部改正：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の別表第30全有機炭素計測定法。
- 4) 水質問題研究会(1989)：TOCの分析精度の評価と管理、水道協会雑誌、58(1)、17-25。
- 5) JIS Z 8402-2:1999 測定方法及び測定結果の精確さ(真度及び精度) 一第2部：標準測定方法の併行精度及び再現精度を求めるための基本的な方法、日本規格協会。
- 6) JIS Q 0043-1:1998 試験所間比較による技能試験 第1部：技能試験スキームの開発及び運営 附属書A(参考) 技能試験データの取扱いに関する統計的手法の事例、日本規格協会。
- 7) 中西成子、西尾高好、日野隆信(1996)：各種分析方法による水中のトリハロメタン類の測定値に影響をおよぼす要因、環境化学、6(3)、329-337。