

技術論文

¹H 核磁気共鳴法による水溶液中のエタノールの定量に関する 国際比較

齋藤 剛¹, 井原 俊英¹, 佐藤 浩志¹, Harald JANCKE², 衣笠 晋一¹

International comparison on the determination of an ethanol aqueous solution by ¹H nuclear magnetic resonance

Takeshi SAITO¹, Toshihide IHARA¹, Hiroshi SATO¹,
Harald JANCKE² and Shinichi KINUGASA¹¹ National Metrology Institute of Japan, AIST, Tsukuba Central 5, 1-1-1, Higashi Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8565² Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung, Richard-Willstätter-Straße 11, 12489 Berlin, Germany

(Received 14 April 2003, Accepted 14 September 2003)

Quantitative nuclear magnetic resonance (NMR) has attracted much attention because quantitation with NMR is in principle traceable to the SI units. However, only few studies have been reported for accurate and precise NMR measurements. In this paper, a quantitation of aqueous ethanol, which was one of the intercomparison studies organized by Comité Consultatif pour la Quantité de Matière, is described. Our result was within 0.2% of the reference value set by the pilot laboratory. An internal standard material used in this study was 3-Trimethylsilyl-2,2,3,3-tetradeutero propionic acid, Na salt (TSP). Peak integrations obtained with methyl signals showed much less scattering than those obtained with methylene signals of ethanol. The large scattering of methylene peak integrations in repeated experiments suggested that the baseline of the methylene resonance peak was disturbed by a strong water signal. The repeatability of NMR signal integration was less than 0.4%. From an analysis of the variance, the repeatability of the NMR area integration was as precise as mass measurements of sample preparations. Additionally, the data indicated that combination of TSP and ethanol may not be sufficient for this study. An intercomparison study indicated that the accuracy of quantitative NMR is as good as that of quantitation performed with gas chromatography.

Keywords : nuclear magnetic resonance (NMR); quantitative NMR; ethanol; uncertainty; CCQM intercomparison.

1 緒 言

核磁気共鳴 (NMR) は化合物同定には欠かせない分析法であり、タンパク質の構造解析への応用は目覚ましい成果を挙げている。NMR で得られるピーク面積の比は、一般にそのピークに寄与する核の数に比例することが知られて

おり、化学シフトや J-カップリングより得られる情報と併せて化合物同定に重要な役割を果たしている。

¹H NMR ではピークに寄与する水素原子核の数の比がピーク面積比に対応する。この特性を利用することで未知濃度溶液の定量が可能である。例えば、内標準物質として別の化合物を定量的に加え ¹H NMR を測定すると、各化合物に特有の ¹H のピークが得られるが、対象物質及び内標準物質それぞれの適当なピークについて面積と寄与する核の数を勘案することで、両者のモル比から定量値が得られる。したがって、NMR は国際単位系 (SI) に直結した形

¹ 独立行政法人産業技術総合研究所計測標準研究部門: 305-8565 茨城県つくば市東 1-1-1 つくば中央 5

² Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung, Richard-Willstätter-Straße 11, 12489 Berlin, Germany

で定量することが可能な分析法である。しかしながら、定量性と不確かさに関する詳細な報告は少なく¹⁾²⁾、いまだ実用化には至っていない。国際度量衡委員会 (Comité International des Poids et Mesures, CIPM) の物質質量諮問委員会 (Comité Consultatif pour la Quantité de Matière, CCQM) で定義する、SI につながり測定される量の標準を参照せずに測定できる方法 (一次標準測定法³⁾) になり得る分析法として NMR は期待が持たれており、CCQM で過去 2 回 NMR を利用した研究的な意味での国際比較試験が行われている。

エタノールは酒類の主要成分であり、世界各国で輸出入されている。その濃度決定において世界各国で同等な測定技術を持つことは、関税や飲酒運転などの問題に対して重要であることから、2001 年、英国の LGC (Laboratory of the Government Chemist) とドイツの BAM (Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung) が幹事機関となり、水溶液中のエタノールの濃度測定に関する CCQM 国際比較が行われた。本国際比較は主としてガスクロマトグラフィー (GC) による測定を想定したものであったが、併行して NMR によるエタノールの定量に関する国際比較も行われ、全体で 10 か国の国立研究機関が参加した。本報告では当機関で得られた NMR の結果と、その結果から示唆された NMR 測定プロトコルの評価を行ったので報告する。

2 実 験

2.1 配布試料

定量用未知濃度試料として、0.4~2.5 mg g⁻¹ の濃度範囲にあるエタノール水溶液が LGC からスクリーキャップ容器で 2 本配布された (バイアル 1, バイアル 2)。これらに加え、NMR での参加機関にのみ、NMR 測定用の内標準物質としてアンプルに封かんされた 3-トリメチル

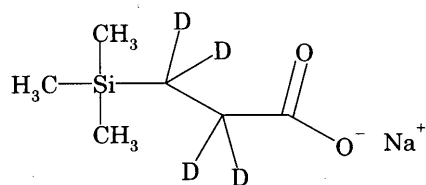


Fig. 1 Structure of TSP

シリルプロピオン酸ナトリウム-d₄ (TSP, Fig. 1) の重水 (D₂O) 溶液が BAM より提供され、その濃度と拡張不確かさ (95% 信頼区間, 自由度 11) は、(9.109 ± 0.029) mg g⁻¹ と通知された。

2.2 NMR 測定試料の調製

エタノール水溶液と TSP 溶液を精確にひょう量して混合し、混合液の一部を外径 5 mm の NMR 管 (Wilmad 製 528-PP 8) に移した。NMR 管の中で液高が 5 cm になるよう D₂O を加えた後、NMR 管を封管して測定試料とした。試料調製は各バイアルから 2 本ずつ行い、バイアル 1 及び 2 から調製した試料をそれぞれ試料 11, 12 及び試料 21, 22 とし、測定に供するまで冷蔵庫に保管した。なお、各溶液のひょう量値を Table 1 に示した。

2.3 測定プロトコル

今回の国際比較試験における NMR 測定の参加者に対しては、測定及び解析のプロトコルを BAM が指定し、それに準じた形で行うよう指示された。以下プロトコルの指示内容を示す。

TSP 溶液を内標準物質として、配布されたエタノール水溶液と質量比混合法にて NMR 測定試料を調製し、これらの ¹H NMR 測定を行う。測定はプレサチュレーション法を利用し、水由来のピークを消去する。得られたスペクトルから、エタノールのメチルピーク (1.2 ppm) と TSP のメチルピーク (0 ppm) の積分値を求め、以下に示す式 (1) を利用してエタノールの濃度を算出する。

$$k_x = \frac{I_{x1} n_{y1} M_x m_y}{I_{y1} n_{x1} M_y m_x} k_y \quad (1)$$

式中の k は濃度 (mg g⁻¹)、 I は NMR 積分強度、 n はプロトンの個数、 M は分子量、 m はひょう量した試料の質量で、添え字の x はエタノール、 y は TSP、1 はメチルプロトンを示す。NMR 測定試料は、各バイアルからそれぞれ 2 試料ずつ調製し、測定は試料調製後時間を隔てて 2 回行う。スペクトルの積分区間内に不純物由来のピークが存在する場合には、そのピークの積分を改めて行い、これを全体より引き測定の積分強度とする。BAM より推奨された NMR 測定パラメーターを Table 2 に示した。

Table 1 Gravimetric weighting values of NMR samples

	Vial 1		Vial 2	
	Sample 11	Sample 12	Sample 21	Sample 22
Ethanol aqueous solution	909.72 mg	888.13 mg	876.63 mg	930.33 mg
TSP solution	121.89 mg	192.86 mg	107.21 mg	120.00 mg

Table 2 Recommended parameter set for NMR measurements from BAM

Parameter	Value	Parameter	Value
Excitation pulse	90°	Sample spin	Optional
Time domain points	32768	Presaturation period	1.5 s
Spectral width	16 ppm	Filter band width	>20 ppm
Pulse delay	20 μs	Spectrum data points	32768
Relaxation delay	60 s	Line broadening	0.3 Hz
Signal to noise ratio	>150	Integration region	64 $\times$ full width at half high

2・4 NMR 装置及び測定条件

Varian 製 ^{Unity}INOVA 600A 型 NMR 装置 (^1H 共鳴周波数 599.892 MHz) に Varian 製 5 mm indirect detection プローブを用い, $(4.0 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ に温度制御して ^1H NMR スペクトルを測定した. Varian 製の Vnmr ソフトウェアによりデータプロセスを行った.

^1H NMR の測定条件は以下のとおりである. パルス幅は 6.3 μs (90° パルス), スペクトル幅を 9611.9 Hz (約 16 ppm) とし, 32768 点の 41 倍のデータポイントを取り込み, これをダウンサンプルして 32768 点 (取り込み時間は 1.705 秒) とした. デジタルフィルターは Analog Plus を利用し, フィルター幅はスペクトル幅の半分とし, 64 回積算した. 測定を開始する前に 4 回ダミー積算を行った. 試料管スピンは行わなかった. スペクトルは, TSP ピークを 0 ppm とした. その他の測定パラメーターと積分区間の決定は, BAM の推奨値に従った. 今回は, 各試料は独立した日に 2 シリーズの測定を行い, それぞれのシリーズは 9 回ずつの測定を行い評価した. したがって, すべての試料で合計 72 回 (4 試料 $\times$ 2 シリーズ $\times$ 9 回測定) の測定を行った.

3 結果と考察

3・1 定量値の求め方

Fig. 2 に NMR 測定試料の ^1H NMR スペクトルを示した. 垂直方向に拡大することで, メインピークのほかにそれぞれのピークに ^1H - ^{13}C カップリングによる ^{13}C のサテライトピークと, 不純物由来のピークが存在することが分かる. したがって, 測定値は Fig. 2(c) に示した各ピーク全体の積分区間を積分した後で, 不純物由来のピークの積分を個別に行い, これらを全体から差し引いてピーク積分値とした. 一例として, 1 回目の測定シリーズにおける試料 11 のエタノールと TSP のメチルピークの積分値とその相対比を Table 3 に示した. 測定の全平均を利用して式 (1) より得たエタノール濃度は 1.0736 mg g^{-1} であった.

積分値の相対標準偏差 (RSD) を見ると, エタノールのメチルピークと TSP のメチルピーク共に 0.4% 以下であった. また積分比の RSD は 0.14% で, 積分値の比を採ることで, 測定のばらつきが 1/3 程度まで軽減した. この

ことはエタノールと TSP のピーク積分値, I_{x1} と I_{y1} には相関があることを示している.

一方, 今回定量に利用しなかったエタノールのメチレンピークに注目すると, ピーク積分強度の RSD は 4.4% であり, 積分比もほぼ同様であることから, メチレンピークのばらつきが極めて大きいことが分かった. これは, メチレン基のピークがプレサチュレーションで消去した水ピークにより近く, 水消し操作によってベースラインが不安定になった結果, ピーク積分値の変動が大きくなったためであると考えられる.

各試料間の積分強度は, 試料の量によって変化するため, 試料間で積分値の相対的な比較はできないことになる. そこで, 式 (1) 中の各試料で変動するパラメーター, すなわち試料のひょう量値と NMR 積分強度をひとまとめにすることで試料間の相対的な比較をすることを可能にした. ここでは式 (1) 中に関数 g を導入し

$$k_x = \frac{n_{y1}}{n_{x1}} \frac{M_x}{M_y} k_y g(I_{x1}, I_{y1}, m_x, m_y) \quad (2)$$

とした. ここで関数 g は試料調製及び NMR 測定で一体となって変動する部分であり, この値を測定ごとに求め, 比較することとした.

3・2 分散分析

式 (2) に示した関数 g は NMR の測定試料間で比較が可能であるが, この関数の値には試料調製による効果, 試料調製からの時間経過によって生じる効果や繰り返し測定によって起こる効果がすべて含まれてしまう. ここではそれぞれの効果の結果への影響の個別評価をするために, 試料調製を变量型, 測定までの時間を母数型とする繰り返しのある 2 元配置の分散分析を行い, 調製した 4 試料間の効果 (A, 4 水準), 2 回行った測定までの時間経過の効果 (B, 2 水準), これらの交互作用 (A $\times$ B) と各測定シリーズ 9 回の測定ばらつき (E, 9 水準) の分散の期待値に分解した.

$$g_{ijk} = \mu + a_i + b_j + (a \times b)_{ij} + e_{ijk} \quad (3)$$

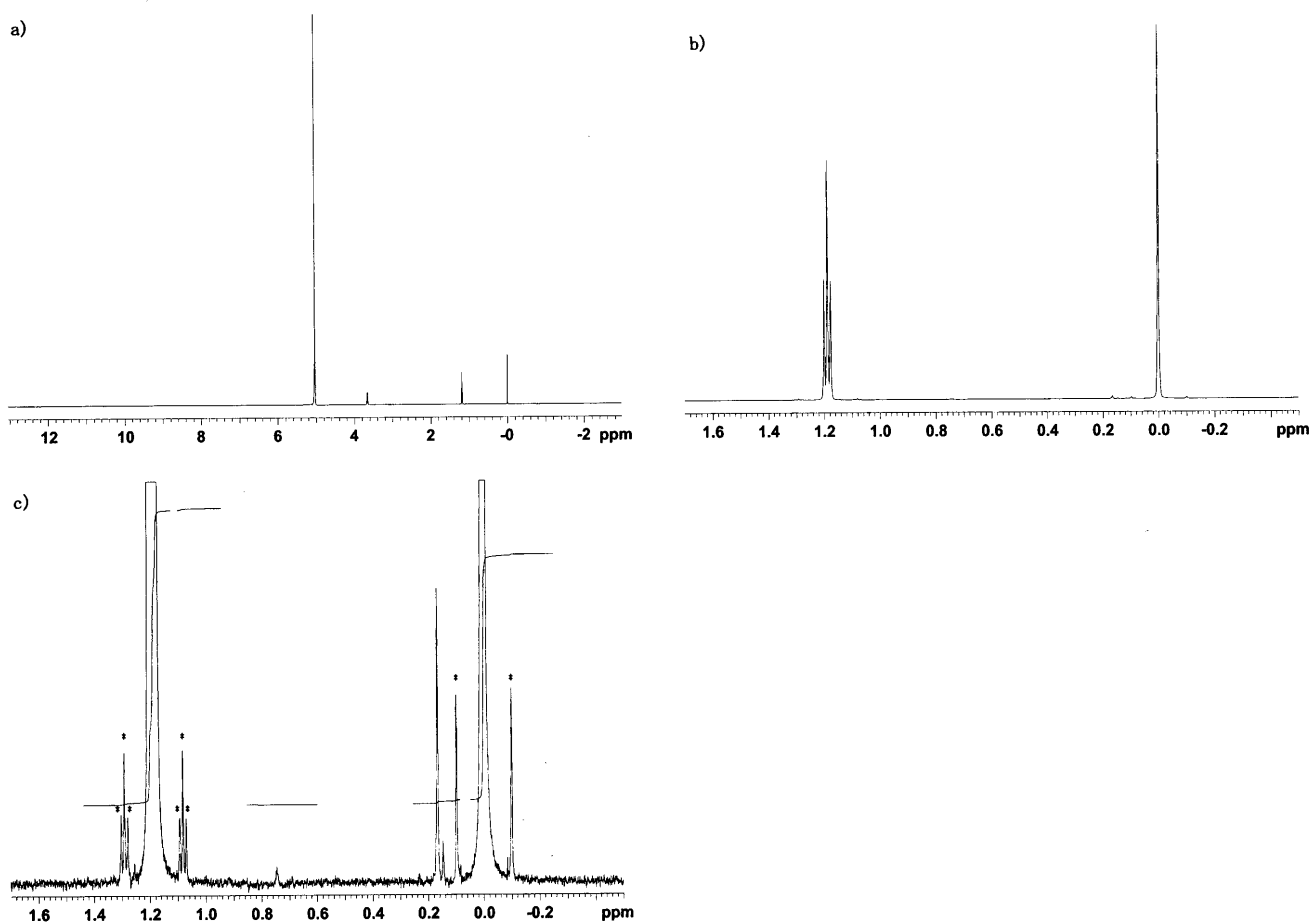


Fig. 2 ^1H NMR spectrum of the mixture of ethanol and TSP in $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ solution

a) Full region of the spectrum displaying methyl resonance of TSP at 0 ppm, methyl and methylene signals of ethanol at 1.188 ppm and 3.661 ppm, respectively, and water peak at 5.0 ppm; b) expansion of the spectrum a) for the methyl signal regions of TSP and ethanol; c) the same spectral region as b) whose vertical scale is 100 times higher. Integration curves are also displayed. ^{13}C satellite peaks, indicated with *, due to J -coupling between nuclei ^1H and ^{13}C are shown whose intensities are about 0.5% of the main peaks.

Table 3 Area integration of methylene and methane of ethanol peaks, methyl resonance of TSP, and ratio between the methylene and methyl of ethanol peaks and the TSP signals

Measurements	Sample 11				
	Ethanol		TSP	Ratio	
	x: CH_2	x: CH_3	y: CH_3	(x: CH_2)/(y: CH_3)	(x: CH_3)/(y: CH_3)
1	0.811 57	1.217 08	1.109 76	0.731 30	1.096 70
2	0.806 52	1.216 52	1.111 09	0.725 89	1.094 89
3	0.904 88	1.218 68	1.110 52	0.814 83	1.097 40
4	0.808 93	1.218 05	1.110 18	0.728 65	1.097 17
5	0.780 55	1.215 13	1.109 53	0.703 50	1.095 18
6	0.800 06	1.209 53	1.106 77	0.722 88	1.092 84
7	0.788 91	1.208 54	1.104 11	0.714 52	1.094 58
8	0.804 08	1.207 75	1.103 53	0.728 64	1.094 44
9	0.813 10	1.209 18	1.105 17	0.735 73	1.094 11
Average	0.813 18	1.213 38	1.107 85	0.733 99	1.095 26
Standard deviation	0.036 03	0.004 53	0.002 97	0.031 82	0.001 53
RSD, %	4.430 24	0.373 41	0.267 88	4.335 12	0.139 79

Table 4 Analysis of variance table of area integration ratio between methyl peaks of ethanol and TSP

	Factor	Sum of squares $\times 10^8$	Degree of freedom	Mean sum of squares $\times 10^8$
Samples	<i>A</i>	101.518	3	$V_A = \sigma_e^2 + 2 \times 9\sigma_A^2$
Time	<i>B</i>	110.77	1	$V_B = \sigma_e^2 + 9\sigma_{(A \times B)}^2 + 4 \times 9\sigma_B^2$
Interaction	<i>A</i> $\times$ <i>B</i>	108.874	3	$V_{A \times B} = \sigma_e^2 + 9\sigma_{(A \times B)}^2$
Repeatability	<i>E</i>	100.4	64	$V_e = \sigma_e^2$
Total	<i>T</i>	421.562	71	

Table 5 Analysis of variance table of area integration ratio between methylene peak of ethanol and methyl resonance of TSP

	Factor	Sum of squares $\times 10^8$	Degree of freedom	Mean sum of squares $\times 10^8$
Samples	<i>A</i>	82.691	3	$V_A = \sigma_e^2 + 2 \times 9\sigma_A^2$
Time	<i>B</i>	46.144	1	$V_B = \sigma_e^2 + 9\sigma_{(A \times B)}^2 + 4 \times 9\sigma_B^2$
Interaction	<i>A</i> $\times$ <i>B</i>	35.59	3	$V_{A \times B} = \sigma_e^2 + 9\sigma_{(A \times B)}^2$
Repeatability	<i>E</i>	3201.054	64	$V_e = \sigma_e^2$
Total	<i>T</i>	3365.479	71	

ここで, μ は測定結果の全平均, a_i , b_j は水準 i 及び j のときの因子 A 及び B の期待値, $(a \times b)_{ij}$ はこれらの交互作用の期待値, e_{ijk} は各測定におけるばらつきに関する項である. エタノールのメチルピークと TSP のメチルピークにおける測定値を用いた分散分析の結果を Table 4 に示したが, 試料調製, 試料調製後の時間経過とそれぞれの交互作用に有意な差が現れた. したがって, エタノールのメチルピークにおける NMR 測定の繰り返し精度は高いことが分かった.

一方, 同様にして, プロトコルでは指定されなかったエタノールのメチレン基の積分強度と, TSP を比較した場合に得られた結果の分散分析表を Table 5 に示した. こちらの結果は因子間に有意な差が現れず, エタノールのピークとは全く違った分析結果になった. これは, 先にも述べたが, 水消し操作によってベースラインが不安定になったため, 十分な測定精度が得られなかったことが原因と考えられ, プロトコルで測定対象のピークをメチルピークに限定した点は重要であることが確かめられた.

なお, Table 4 では, 試料調製と時間との交互作用にも優位な差が現れており, 時間に対して単一的な変化の傾向は認められなかった. しかしながら, 1 回目のシリーズの測定結果から得られる標準偏差に対して, 2 回目のシリーズのそれは明らかに大きくなっており, 試料になんらかの変化があった可能性が高い. 例えば, 今回の試料がアルコールと酸の混合物であるため, 非常に微量であるがエステル化反応が起こり得ることなどが考えられる. プロトコルで指定されていたため時間をおいて 2 回の測定を行ったが, TSP を内標準物質として用いるには用時調製が適切であることが示唆された.

3.3 不確かさ評価

合成標準不確かさは, 式(4)で示される不確かさの伝ば則⁴⁾に基づいて評価した.

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N \left[\frac{\partial f}{\partial x_i} \right]^2 u(x_i)^2 \quad (4)$$

ここで, y は出力量, x_i は入力量で $y = f(x_1, x_2, \dots, x_N)$ である. したがって, 式(2)より

$$u_c(k_x)^2 = \left\{ \frac{\partial k_x}{\partial g} \right\}^2 u(g)^2 + \left\{ \frac{\partial k_x}{\partial M_x} \right\}^2 u(M_x)^2 + \left\{ \frac{\partial k_x}{\partial M_y} \right\}^2 u(M_y)^2 + \left\{ \frac{\partial k_x}{\partial n_{x1}} \right\}^2 u(n_{x1})^2 + \left\{ \frac{\partial k_x}{\partial n_{y1}} \right\}^2 u(n_{y1})^2 + \left\{ \frac{\partial k_x}{\partial k_y} \right\}^2 u(k_y)^2 \quad (5)$$

が得られる. NMR 測定に関する因子 g は, 式(3)に従って分解し, それぞれの分散の期待値を水準数で割って標準不確かさを算出し, それらを式(6)に従って合成した.

$$u(g)^2 = \left\{ \frac{\partial g}{\partial A} \right\}^2 u(A)^2 + \left\{ \frac{\partial g}{\partial B} \right\}^2 u(B)^2 + \left\{ \frac{\partial g}{\partial (A \times B)} \right\}^2 u(A \times B)^2 + \left\{ \frac{\partial g}{\partial E} \right\}^2 u(E)^2 \quad (6)$$

分子量 M は原子量の不確かさ⁵⁾をく形分布で仮定して合成し, ^1H 核の個数 n は天然存在比の不確かさをく形分布で仮定した. また, TSP 溶液の不確かさは, BAM から試料とともに提供された値を用いた. したがって, 各不確かさ成分は Table 6 のようになり, 合成不確かさは, 式(5)

Table 6 The uncertainty budget table

Quantity	Symbol	Uncertainty component	x_i	$u(x_i)$	$(\partial f / \partial x_i)$	$ (\partial f / \partial x_i) u(x_i) / \text{mg g}^{-1}$	Type	Degree of freedom
Sample preparation and NMR measurements	g	Analysis of variance	0.146 88	0.000 14	7.309 24 mg g^{-1}	0.001 03	A	3.25
	A	Sample		0.000 07	1 mg g^{-1}	6.695×10^{-5}	A	3
	B	Time		0.000 10	1 mg g^{-1}	1.017×10^{-4}	A	1
	$A \times B$	Interaction		0.000 07	1 mg g^{-1}	6.944×10^{-5}	A	3
	E	Repeatability		0.000 01	1 mg g^{-1}	1.477×10^{-5}	A	64
The number of ^1H nuclear	n_{H}	^1H natural abundance in methyl of ethanol	3	0.004 04 %	$-0.357 87 \text{ mg g}^{-1}$	1.446×10^{-5}	B	Large
The number of ^1H nuclear	n_{D}	^1H natural abundance in methyl of TSP	9	0.004 04 %	0.119 29 mg g^{-1}	4.822×10^{-6}	B	Large
Molecular weight	M_x	Molecular weight of ethanol	46.068 44 g mol^{-1}	0.000 31 g mol^{-1}	0.023 30 mol mg g^{-2}	7.271×10^{-6}	B	Large
Molecular weight	M_f	Molecular weight of TSP	172.235 81 g mol^{-1}	0.000 60 g mol^{-1}	$-0.006 23 \text{ mol mg g}^{-2}$	3.735×10^{-6}	B	Large
Concentration of the standard	k_y	TSP solution (BAM)	9.109 mg g^{-1}	0.013 mg g^{-1}	0.117 86	0.001 53	B	11
Combined standard uncertainty $u_c(k_x) = 0.0019 \text{ mg g}^{-1}$, Effective degree of freedom $\nu_{\text{eff}} = 12$, $k_x = (1.0736 \pm 0.0038) \text{ mg g}^{-1}$ ($k = 2$)								

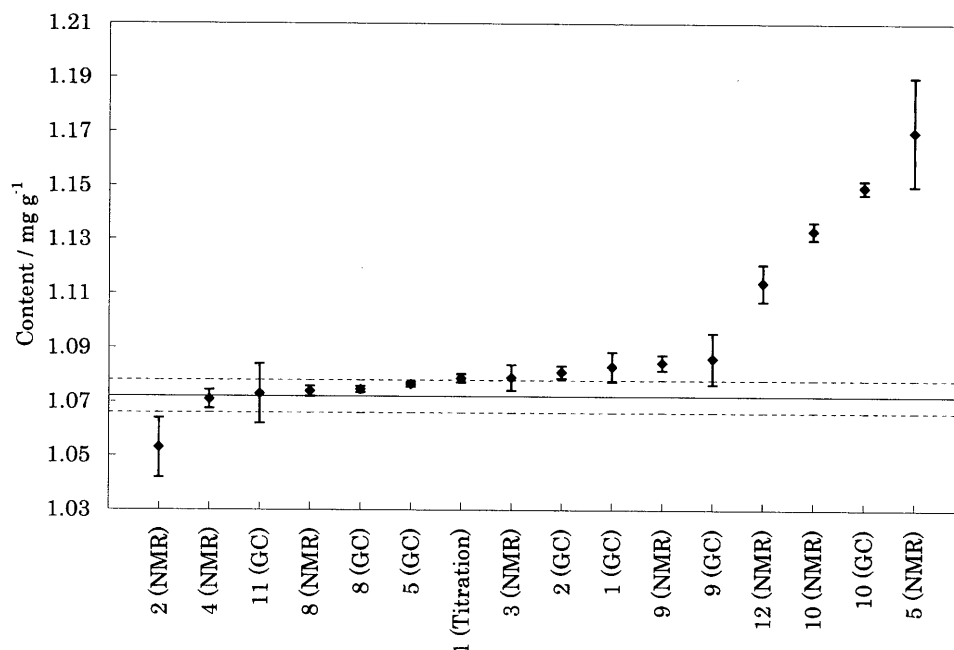


Fig. 3 The result of intercomparison study for the quantitation of aqueous ethanol

The solid line in the figure is the reference value from LGC. Among the organizations, eight is ours.

より $u_c = 0.00185 \text{ mg g}^{-1}$ となった。

有効自由度 ν_{eff} は, A タイプと B タイプのそれぞれの有効自由度を計算したそれぞれの寄与を合成した。A タイプの有効自由度は,

$$\text{Type A } \nu_{\text{effA}} = \frac{u_{cA}^4(y)}{\sum \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} u_A(x_i) \right)^4} = 3.25$$

自由度 Large を無限大とすると, B タイプの有効自由度は BAM より提供された標準物質の自由度に支配され

$$\text{Type B } \nu_{\text{effB}} = \frac{[u_{dB}(y)/y]^4}{\sum \frac{[u_B(x_i)/x_i]^4}{\nu_{dB}}} = 11.00$$

となった。これら A タイプと B タイプのそれぞれから得られた有効自由度を次式に従って合成すると,

$$\frac{u_c(y)^4}{\nu_{\text{eff}}} = \frac{u_{cA}(y)^4}{\nu_{\text{effA}}} + \frac{u_{dB}(y)^4}{\nu_{\text{effB}}}$$

有効自由度は $\nu_{\text{eff}} = 23.2$ となり, 小数点以下を切り捨てて 23 とした。有効自由度から t 分布の 95% 信頼区間を求めると包含係数が $k = 2.07$ となった。よって拡張不確かさ $U = 0.0038 \text{ mg g}^{-1}$ となり, 最終的に

$$k_x = (1.074 \pm 0.004) \text{ mg g}^{-1} (k = 2)$$

を得た。

3.4 国際比較試験結果との比較

参加機関数は延べ 10 機関で, 8 機関が NMR を利用した。配付されたエタノール水溶液の LGC による調製値は, $(1.072 \pm 0.006) \text{ mg g}^{-1}$ (拡張不確かさ, $k = 2$) と報告され, 当機関の結果 $(1.074 \pm 0.004) \text{ mg g}^{-1}$ ($k = 2$) は調製値からの偏差が 0.18% と良好であったことが確認された。Fig. 3 に各機関の測定結果を示した。図中の 8 番が当機関で, NMR と GC で参加し, 双方とも良好な結果が得られたことが分かる。

NMR を利用した参加機関の結果は, GC の参加機関の結果と比較してばらつきが大きかったが, NMR 測定時における水消しが正しく行われなかった結果であったことが報告された。通常の NMR 測定においては, 重水素化溶媒に試料を溶解して測定を行うために, この操作は必要なく, 水 (H_2O) 溶液の ^1H NMR 測定などに限定された比較的特殊な操作になる。この手法としてプレサチュレーション法を用いた場合, パルスの照射位置, 強度や時間の設定になんらかの問題があると測定値に大きなずれを生じる可能性がある。一方, これらの条件設定を適正に行った機関は, 調製値に対し偏差の少ない値を報告したことから, 適切なパラメーターで NMR 測定を行えば, 正確な結果が得られることが確認できた。

4 結 言

この国際比較試験を通して、NMRが他の分析手段、例えば、GCと同程度に正確な定量結果を与えることが証明できた。今回のNMR定量法では、TSP試料を内標準物質としてエタノール水溶液の濃度測定を行った。GCによる定量では、同じ物質で同程度の濃度範囲にある標準物質が必要不可欠であるのに対して、NMRでは別の標準を利用して正確な定量が行える、すなわち、ユニバーサルな標準を利用した定量測定が可能である。したがって、信頼できる校正用標準がない物質の正確な定量などへ応用が可能で

あると考えられ、今後更に定量NMRの高精度化を行うことによって、SIトレーサブルな定量法、すなわち一次標準測定法としての実用化に期待が持てる。

文 献

- 1) G. Maniara, K. Rajamoorthi, S. Rajan, G. W. Stockton: *Anal. Chem.*, **70**, 4921 (1998).
- 2) L. Griffiths, A. M. Irving: *Analyst*, **123**, 1061 (1998).
- 3) T. J. Quinn: *Metrologia*, **34**, 61 (1997).
- 4) 飯塚幸三編: “計測における不確かさの表記ガイド” (1996), (日本規格協会); “*Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*”, (1993), (ISO).
- 5) 原子量表 (2001), 化学と工業, **55** (4) (2002).

要 旨

定量核磁気共鳴 (NMR) 法は測定原理から国際単位系に結び付く測定法として注目されているが、この方法を利用し高精度な定量測定を行った報告は少ない。定量NMR法を利用して、国際度量衡委員会の物質量諮問委員会が主催した水溶液中のエタノールの定量に関する国際比較に参加した。結果は調製値からの偏差が0.2%と良好であった。NMRでのエタノール水溶液の定量においては、内標準物質として、3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム塩- d_4 を利用した。エタノールのメチルとメチレンピークでは、積分値の測定繰り返しのばらつきは大きく異なり、水ピークの影響がメチレンピークの積分安定性に影響していることが示唆された。定量NMRの繰り返し精度は、0.4%以下で、ひょう量など試料調製と同等水準の不確かさを持つことが分かった。分散分析の結果、今回利用した内標準物質は、この系で利用する場合、用時調製が適切であると考えられた。国際比較の結果から、NMRの定量性は、ガスクロマトグラフィーを利用した定量性と同等な結果が得られることが分かった。