

アナリティカルレポート

示差走査熱量計を用いる凝固点降下法による有機塩素系化合物の
純度分析における不確かさ評価井原 俊英^{®1}, 飯島由美子¹, 清水 由隆¹

1 緒 言

国民の安心・安全への意識の高まりから、規制対象の化学物質は年々増えていると同時に、分析値の精確さへの要求も高まっている。機器分析による分析値の精確さを保証するためには、適切な分析法の選択と併せて、検量線作成に用いる標準物質の信頼性が重要である。環境や食品などの分野における有機化合物の分析では、一般に多成分の混合標準液が用いられるが、この濃度信頼性の確保においては、希釈に用いる溶媒の品質と各成分の原体の純度が重要な要素となる。溶媒については、近年、試薬メーカーから用途に合わせた様々な規格のものが市販されており、実用上問題ないと考えられる。一方、原体については、ガスクロマトグラフィー (GC) や高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の分析値から比較的高純度と推定されるものの、正確な純度値を保証したものは、極めて少ないのが現状である。

測定される量の標準を参照せずに純度を正確に測定するには、一次標準測定法 (又は基準分析法) と呼ばれる国際単位系に直接つながる測定が可能である分析法が必要である。凝固点降下法は国際度量衡委員会物質質量諮問委員会 (CCQM) において一次標準測定法¹⁾としての資格を有する測定法として規定されており、特に特異性の少ない有機化合物の純度測定には有用性が高いと考えられる。凝固点降下を利用した純度測定は、古典的な熱量計を用いて古くから行われており、断熱型熱量計等、熱力学的に平衡状態を実現できる装置では正確な測定が可能であることが確かめられている^{2)~4)}。ところが、試料が大量に必要なことや極めて長い測定時間を要することに加えて、装置の取り扱いが難しいことなどの問題があり、現在入手可能な市販装置はほとんどない。そのため、近年は微量で迅速な測定が可能な示差走査熱量計 (DSC) による純度測定⁵⁾⁶⁾が一般化しているが、その代償として、非平衡状態での測定に伴う近似や仮定が避けられない。したがって、DSC のよう

に試料を一定速度で加熱する方法で純度測定の不確かさを評価した報告はほとんどなく、原体の純度測定法として見た場合、定量的な意味での実用性を判断できない状況にある。

そこで、本研究では有機塩素系化合物を対象とし、DSC を用いた純度測定における不確かさの評価を試み、正確な純度測定法としての適用可能性を検討した。

2 実 験

2・1 試料及び試薬

本研究の目的は DSC を用いた純度測定における不確かさの評価にあり、原体の純度の正確さを判断することではないが、Table 1 に示す 7 種類の有機塩素系化合物の認証標準物質を用いて、純度測定条件の妥当性確認を行った。また、これらの物質の融点を考慮し、温度及び熱量の校正用の標準物質には、水銀 (NIST SRM 2225, 融点: $-38.85^{\circ}\text{C} \pm 0.03^{\circ}\text{C}$, 融解エンタルピー: $11.469 \text{ J/g} \pm 0.008 \text{ J/g}$) 及びインジウム (NIST SRM 2232, 融点: $156.5985^{\circ}\text{C} \pm 0.00034^{\circ}\text{C}$, 融解エンタルピー: $28.51 \text{ J/g} \pm 0.19 \text{ J/g}$) を用いた。

2・2 装置及び測定条件

装置にはイントラクーラーを内蔵した熱流束型の DSC (DSC823[°]/700, METTLER TOLEDO 製) を用い、高感度タイプの熱量センサーである HSS7 (Signal time constant: 3.9 s, Resolution: 0.01 mW, Digital resolution: 1.6×10^7 points) を選択した。また、試料は 2~3 mg をウルトラミクロてんびん (UMX2, METTLER TOLEDO 製) で精密に秤量し、熱分解を抑制するため、酸素濃度 1 ppm 以下、露点 -80°C 以下の窒素雰囲気中に制御したグローブボックス中で内容量 40 μL のアルミニウム製気密容器に封入し検体とした。

6 種類のポリ塩化ビフェニル (PCB) に関しては、まず、予備測定として、用意した検体を室温から各試料の融点まで $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ で加熱し、同じく $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ で冷却し、融解及び凝固ピークを確認した。熱力学的観点からは可能な限り加熱速度を遅くすることが純度測定には適切と考えられる

¹ 独立行政法人産業技術総合研究所計測標準研究部門: 305-8563
茨城県つくば市梅園 1-1-1 中央第 3

Table 1 Purity comparison of organochlorine compounds between certified values and measured values

Substance	Name of the Reference material	Certified value/ kg kg ⁻¹	Expanded uncertainty	Measured value/ kg kg ⁻¹	Expanded uncertainty
1,1-Dichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethylene (4,4'-DDE)	LGC 1110	0.996	0.004	0.997	0.004
2,4'-Dichlorobiphenyl (PCB8)	BCR-289	0.9963	+0.012, -0.0027	0.998	0.003
2,3,3'-Trichlorobiphenyl (PCB20)	BCR-290	0.9984	0.0008	0.998	0.003
3,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl (PCB77)	ERM-AC820a	0.998	+0.002, -0.003	0.999	0.002
3,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl (PCB126)	ERM-AC821a	0.989	0.003	0.998	0.003
3,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl (PCB169)	ERM-AC822a	0.994	+0.006, -0.013	0.998	0.003
2,2'3,4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl (PCB180)	BCR-298	0.9956	0.0009	0.997	0.004

ことから、本測定の際は融解が始まる温度よりも3℃程度低い温度まで5℃/minで加熱した後、0.1℃/minで走査して融解ピークを得た。

一方、1,1-ジクロロ-2,2-ビス(4クロロフェニル)エチレン(4,4'-DDE)に関しても同様に予備測定、本測定の順に測定を行ったが、本測定においては融解ピークの得られる温度として3種類の温度、すなわち57℃、73℃、87℃の場合があった。そこで、融解後5℃/minで-70℃まで冷却し、80℃まで加熱する走査を準安定相からの融解と考えられる57℃及び73℃の吸熱ピークが観測されなくなるまで繰り返し、最安定相からの融解と考えられる87℃の融解ピークを得た。

以上の測定を各試料とも3検体についてそれぞれ3回行い、装置付属のソフトウェア(STAR[®] Software Version 9.01, METTLER TOLEDO製)により純度を得た。また、すべての試料について、少なくとも1検体は5回以上の測定を繰り返し、得られた純度及び融解熱量が低下傾向にないことを回帰の分散分析により判断し、更に測定後の検体について質量減少が認められないことを確認した。

3 結 果

7種類の有機塩素系化合物について、各3検体でそれぞれ3回の測定を行い、得られた9個の純度の平均値及びその不確かさをTable 1に各標準物質の認証値とともに併記した。測定値は認証値よりも全般にやや高めの値となったが、最大でも0.01 kg/kg以内の差であり、後述する不確かさの範囲ではおおむね一致し、純度測定法としての正確さを確認できた。また、今回は測定を行っていないが、揮発成分や灰分などDSCでは測定値に反映されないと思われる不純物を考慮することで、更に一致すると思われる。

4 不確かさの評価

4.1 数学モデル

凝固点降下法による純度測定は、凝固点(融点)降下度が不純物濃度に比例するという理論に基づく。熱量計を用いてこれを実現する際には、ファントホッフ式を近似した

式(1)から試料温度 T と $1/F$ (融解分率の逆数)をプロットし、1次回帰により得られた傾きと切片から試料中の不純物の物質質量分率 X_{ip} (mol/mol)が得られる。

$$T = T_0 - \frac{R(T_0)^2}{\Delta H} X_{ip} \frac{1}{F} \quad (1)$$

すなわち、 X_{ip} は式(2)に示すように、測定から得た傾き A 、融解エンタルピー ΔH 、純物質の融点 T_0 と気体定数 R から求めることができる。

$$X_{ip} = \frac{\Delta H}{R(T_0)^2} A \quad (2)$$

したがって、本測定から得られる不確かさは、式(2)に示す数学モデルに基づき算出することとした。すなわち、不純物の物質質量分率 X_{ip} 、ファントホッフプロットの傾き A 、気体定数 R 、融解エンタルピー ΔH 、純物質の融点 T_0 を要因として不確かさを求めることとし、不純物の物質質量分率に関しては、更に測定の不確かさ、純度解析に用いる融解範囲及びファントホッフプロットの補正の不確かさに分けて見積もった。

4.2 測定の不確かさ

測定の不確かさには、気密容器に封入した検体間のばらつき及びそれぞれの検体における測定誤差が考えられるため、3個の検体についてそれぞれ3回測定を行った9回の測定結果について分散分析を行った。その結果、4,4'-DDEにおいては、検体間と測定誤差の有意差検定の結果、有意差が認められなかったため、測定標準不確かさ $u(mea)$ は 4.62×10^{-4} mol/mol(自由度8)と見積もられた。

4.3 純度解析に用いる融解範囲の不確かさ

DSCによる純度測定においては、一般に装置に付属の純度解析ソフトウェアを用いる。このとき、得られた融解ピークの全体を純度解析に用いるのではなく、特定の融解

Table 2 Relationship between the percentage area limit and amount-of-substance fraction (mol mol^{-1}) of impurities in 4,4'-DDE

		Right limit, %						
		35	40	45	50	55	60	65
left limit, %	7	0.00231	0.00239	0.00250	0.00260	0.00271	0.00279	0.00289
	8	0.00237	0.00245	0.00257	0.00267	0.00278	0.00287	0.00297
	9	0.00243	0.00252	0.00265	0.00275	0.00287	0.00297	0.00307
	10	0.00248	0.00257	0.00270	0.00282	0.00294	0.00304	0.00315
	11	0.00256	0.00265	0.00279	0.00291	0.00305	0.00315	0.00326
	12	0.00262	0.00270	0.00285	0.00297	0.00311	0.00322	0.00334
	13	0.00265	0.00274	0.00290	0.00303	0.00318	0.00329	0.00341

範囲の測定データが用いられるので, 純度解析に用いる融解範囲 (以下, 解析範囲) には任意性が生じ, この不確かさを考慮する必要がある. 使用した装置に付属のソフトウェアでは, 融解ピークの高さの 10% を解析開始点 (以下, Left limit), 融解ピークの高さの 50% を解析終了点 (以下, Right limit) として純度解析を行う仕様であったので, これを基準に解析範囲を変化させて不純物の物質質量分率への影響を調べた.

4,4'-DDE において, Left limit を 7~13%, Right limit を 35~65% の間でそれぞれ変化させて純度解析を行ったところ, Table 2 に示す解析範囲と不純物の物質質量分率の関係が得られた. 4,4'-DDE の場合は $2.82 \times 10^{-3} \text{ mol/mol}$ (通常の解析範囲の場合) を中心に $5.9 \times 10^{-4} \text{ mol/mol}$ 以内にすべての値が収まることから, 一様分布を想定し $\sqrt{3}$ で除した $3.41 \times 10^{-4} \text{ mol/mol}$ を解析範囲の標準不確かさ $u(fm)$ とした.

なお, 解析範囲の不確かさは, 測定試料の純度や融解ピークの形状に依存するので, 6 種類の PCB についてもそれぞれ同様の表を作成し, 不確かさを求めた.

4.4 ファントホッフプロットの補正の不確かさ

DSC による純度測定では, 試料を一定速度で加熱するため熱力学的には平衡状態が実現されていないことから, ファントホッフプロットは理論どおりの直線にならずに, 通常, 下に凸の曲線になってしまう. この直接の原因は融解ピークから得られる各試料温度での部分融解量が本来よりも少なめに見積もられているからであると言われており, DSC に付属する純度解析ソフトウェアでは, 一般に融解ピークの部分融解量及び全融解量それぞれに適当な補正值を加えることで, ファントホッフプロットの直線化を図っている⁷⁾. 今回用いた純度解析ソフトウェアもその考えに基づき, 補正值及び不確かさを自動計算しているため, 各測定データにおける計算された不確かさをファントホッフプロットの補正の不確かさとした. 具体的には, それぞれの測定結果における計算値を拡張不確かさとし, 一様分布を想定して標準不確かさを算出後に, 得られた測定

数分 (9 個) の値を平均した. その結果, 4,4'-DDE におけるファントホッフプロットの補正の標準不確かさ $u(vh)$ は $3.56 \times 10^{-4} \text{ mol/mol}$ と見積もられた.

4.5 融解エンタルピー及び純物質の融点の不確かさ

熱量及び温度の校正は, 水銀とインジウムの融解ピークの面積及び onset 温度 (融解ピークの低温側の接線とベースラインの交点) により 2 点で行った. また, その際, 融解エンタルピー及び融点に許容範囲 (融解エンタルピー: $\pm 5 \text{ mJ}$, 融点: $\pm 0.3^\circ\text{C}$) を設け, 測定結果がその範囲である場合には再校正をしなかった.

したがって, 融解エンタルピーの標準不確かさ $u(\Delta H)$ としては, 許容範囲に基づく標準不確かさ $u(H_c)$, 校正に用いた 2 つの標準物質それぞれの認証値の標準不確かさ $u(H_{m1})$ 及び $u(H_{m2})$ を考慮し, 更に試料の秤量に用いたてんびんの標準不確かさ $u(b)$ 及び分子量の標準不確かさ $u(mw)$ を融解エンタルピー (J/mol) に換算して加えた. なお, 融解エンタルピーには, 4.4 で述べた融解量の補正を行った値を用いた.

一方, 純物質の融点の標準不確かさ $u(T_0)$ としては, 許容範囲に基づく標準不確かさ $u(T_c)$, 校正に用いた 2 つの標準物質それぞれの認証値の標準不確かさ $u(T_{m1})$ 及び $u(T_{m2})$ を考慮した.

以上の不確かさを評価した結果, 4,4'-DDE においては, 融解エンタルピーの標準不確かさ $u(\Delta H)$ は 2158 J/mol , また, 純物質の融点の標準不確かさ $u(T_0)$ は 0.174 K と見積もられた.

4.6 不確かさの合成

以上の各要因における不確かさをそれぞれ独立と考え, 式 (3) に示す不確かさの伝播則⁸⁾に基づき合成し, 合成標準不確かさ $u_c(X_{ip})$ を得た. すなわち, 合成標準不確かさ $u_c(X_{ip})$ は, 各要因の標準不確かさの値 $u(x_i)$ にそれぞれの感度係数 (偏導関数) の絶対値 $|c_i|$ を乗じて求められる合成標準不確かさの成分 $u_i(X_{ip})$ を二乗和して正の平方根をとった.

Table 3 Total uncertainty budget for the purity analysis of 4,4'-DDE by differential scanning calorimeter

Standard uncertainty component, $u(x_i)$	Source of uncertainty	Value of standard uncertainty, $u(x_i)$	$c_i \equiv \partial f / \partial x_i$	$u_i(X_{ip}) \equiv c_i u(x_i) / \text{mol mol}^{-1}$	Degrees of freedom
$u(X_{ip})$	amount-of-substance fraction of impurities in the substance	$6.15 \times 10^{-4} \text{ mol mol}^{-1}$	1	6.15×10^{-4}	33.31
$u(mea)$	analysis of the resulting data by ANOVA method	$3.68 \times 10^{-4} \text{ mol mol}^{-1}$			8
$u(fm)$	percentage area limit of the fraction melted	$3.41 \times 10^{-4} \text{ mol mol}^{-1}$			large
$u(vh)$	correction of van't Hoff equation	$3.56 \times 10^{-4} \text{ mol mol}^{-1}$			8
$u(A)$	slope of van't Hoff plot	included $u(X_{ip})$	X_{ip}/A	—	
$u(R)$	gas constant	$1.5 \times 10^{-5} \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$	$-X_{ip}/R$	4.73×10^{-9}	large
$u(\Delta H)$		2158 J mol^{-1}	$X_{ip}/\Delta H$	2.22×10^{-4}	large
$u(H_c)$	permissible error of calibration	2157 J mol^{-1}			large
$u(H_{rm1})$	calibration standard for fusion enthalpy (SRM 2225)	5.93 J mol^{-1}			large
$u(H_{rm2})$	calibration standard for fusion enthalpy (SRM 2232)	84.9 J mol^{-1}			large
$u(b)$	balance	3.35 J mol^{-1}			large
$u(mw)$	molecular weight	0.637 J mol^{-1}			large
$u(T_0)$	melting point of pure substance	0.174 K	$-2X_{ip}/T_0$	2.53×10^{-6}	large
$u(T_c)$	permissible error of calibration	0.173 K			large
$u(T_{rm1})$	calibration standard for temperature (SRM 2225)	0.0173 K			large
$u(T_{rm2})$	calibration standard for temperature (SRM 2232)	$1.70 \times 10^{-4} \text{ K}$			large

$$u_c(X_{ip}) = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left[\frac{\partial f}{\partial x_i} u(x_i) \right]^2} \quad (3)$$

なお、ファントホッフプロットの傾きの不確かさは不純物の物質質量分率の不確かさに含まれると考えた。また、気体定数の標準不確かさ $u(R)$ は文献値⁹⁾ より $1.5 \times 10^{-5} \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ とした。以上より得られた 4,4'-DDE における標準不確かさ成分のまとめを Table 3 に示す。これらの値に基づいて求めた合成標準不確かさ $u_c(X_{ip})$ は $6.54 \times 10^{-4} \text{ mol/mol}$ となり、有効自由度 42.54 に対する t 分布に基づく包含係数 $k=2$ を乗じて、拡張不確かさ U は $1.4 \times 10^{-3} \text{ mol/mol}$ とした。

したがって、試料中の不純物の物質質量分率 X_{ip} と拡張不確かさ U から、4,4'-DDE の純度 X_p (物質質量分率) は、 $0.9974 \pm 0.0014 \text{ (mol/mol)}$ と見積もられた。

4・7 純度の単位変換とその不確かさ

式(2)により計算される純度は、物質質量分率 (mol/mol) の単位で得られる。しかしながら、例えば検量線作成用の標準液の原体として用いることを想定すると、物質質量分率では実用上の取り扱いが困難である。そこで、得られた物質質量分率での結果を式(4)により質量分率 (kg/kg) に変換することとした。すなわち、質量分率での純度

$X_{p,w}$ は、主成分の分子量 M_p と不純物の平均分子量 M_{ip} 及び物質質量分率での純度 X_p により計算される。

$$X_{p,w} = \frac{M_p X_p}{M_p X_p + M_{ip} (1 - X_p)} \quad (4)$$

このとき、すべての不純物を定性・定量することは現実的ではないため、不純物を主成分と類似の物質群と想定し、得られる平均分子量を主成分の分子量と同じと仮定した。一方、その不確かさについては、主成分の分子量 M_p を中心に 0 から $2M_p$ までの一様分布を仮定し、4,4'-DDE においては、主成分の分子量 318.03 を $\sqrt{3}$ で除した 184 を不純物の平均分子量の標準不確かさ $u(M_{ip})$ とした。なお、主成分の分子量の標準不確かさ $u(M_p)$ は、IUPAC の原子量の標準不確かさ¹⁰⁾ を合成して求めた。

以上より得られた 4,4'-DDE における標準不確かさ成分のまとめを Table 4 に示す。これらの値から式(3)に基づいて求めた合成標準不確かさ $u_c(X_{p,w})$ は $1.65 \times 10^{-3} \text{ kg/kg}$ となり、有効自由度 1702 に対する t 分布に基づく包含係数 $k=2$ を乗じて、拡張不確かさ U は $3.3 \times 10^{-3} \text{ kg/kg}$ とした。

したがって、質量分率での純度 $X_{p,w}$ と拡張不確かさ U から、4,4'-DDE の純度 $X_{p,w}$ (質量分率) は 0.997 ± 0.004

Table 4 Uncertainty budget for the measurement units conversion from the amount-of-substance fraction to the mass fraction

Standard uncertainty component, $u(x_i)$	Source of uncertainty	Value of standard uncertainty, $u(x_i)$	$c_i \equiv \partial f / \partial x_i$	$u_i(X_{ip}) \equiv c_i u(x_i) / \text{kg kg}^{-1}$	Degrees of freedom
$u(M_p)$	molecular weight of main component	7.95×10^{-3}	$\frac{X_{pw}(1-X_p)}{M_p}$	6.54×10^{-8}	large
$u(M_{ip})$	average molecular weight of impurities	184	$-\frac{X_{pw}^2(1-X_p)}{M_p X_p}$	1.51×10^{-3}	large
$u(X_p)$	amount-of-substance fraction of main component in the substance	$6.54 \times 10^{-4} \text{ mol mol}^{-1}$	$\frac{X_{pw} \{M_p - (M_p - M_{ip}) X_{pw}\}}{M_p X_p}$	6.54×10^{-4}	42.54

(kg/kg) と見積もられた。6 種類の PCB についても同様の手法に基づき不確かさ評価を行ったところ、拡張不確かさ U として、0.002~0.004 kg/kg の結果を得た (Table 1)。

5 結 言

本研究では、有機塩素系化合物を用いて DSC による純度測定における不確かさを見積もり、0.2~0.4% (0.002~0.004 kg/kg) の不確かさを得ることができた。また、認証標準物質を用いて純度の正確さも確認された。本法を異なる物質に適用した場合、測定の不確かさはやや異なる可能性があるが、DSC による純度測定が適用可能なものについては、同様の不確かさ評価法が適用できるものと思われる。

本不確かさ評価法によれば、原体等の純度測定に DSC を適用する際の定量的な実用性を判断する上での指針を示すことができる。

文 献

- 1) W. Richter : *Accred. Qual. Assur.*, **2**, 354 (1997).
- 2) D. D. Tunnicliff, H. Stone : *Anal. Chem.*, **27**, 73 (1955).
- 3) O. Haida, H. Suga, S. Seki : *J. Chem. Thermodynamics*, **9**, 1133 (1977).
- 4) Y. Shimizu, Y. Ohte, Y. Yamamura, K. Saito, T. Atake : *J. Phys. Chem. B*, **110**, 13970 (2006).
- 5) 高木定夫: 熱測定, **9**, 124 (1982).
- 6) G. Widmann, O. Scherrer : *J. Thermal Anal.*, **37**, 1957 (1991).
- 7) A. A. van Dooren, B. W. Müller : *Int. J. Pharm.*, **20**, 217 (1984).
- 8) "Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement", (1993), (International Organization for Standardization).
- 9) P. J. Mohr, B. N. Taylor : *Rev. Mod. Phys.*, **77**, 1 (2005).
- 10) M. E. Wieser : *Pure Appl. Chem.*, **78**, 2051 (2006).

Uncertainty Evaluation for Purity Analysis of Organochlorine Compounds by Freezing-Point Depression Method Using Differential Scanning Calorimeter

Toshihide IHARA¹, Yumiko IJIMA¹ and Yoshitaka SHIMIZU¹

¹ National Metrology Institute of Japan, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Tsukuba Central 3, 1-1-1, Umezono, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8563

(Received 7 December 2007, Accepted 31 January 2008)

Purity analysis using the freezing-point depression method is qualified as a measurement method traceable to the International System of Units. In particular, it is well-known that it is one of the analytical methods for which absolute quantities can also be obtained for high-purity organic compounds. However, the evaluation of commercially available raw materials for standard solutions is normally performed using chromatography, and few examples exist of the application of the freezing-point depression method. In this study, we applied the freezing-point depression method to perform a purity analysis of polychlorinated biphenyls and other organochlorine compounds, using a differential scanning calorimeter. We then evaluated the uncertainties to examine its practical applicability. The measurement results obtained in this study for the compounds used indicated purity levels of between 99.7% and 99.9%. When we assessed uncertainty, the uncertainty for the unit of purity obtained using the freezing-point depression method, after taking into account the uncertainty in conversion from the amount-of-substance fraction to the mass fraction, could be evaluated at a practically viable level of 0.2% to 0.4%. We expect that the uncertainty evaluation method proposed here can be used to perform a quantitative evaluation of the practicality of applying a differential scanning calorimeter to purity analyses of raw materials for standard solutions.

Keywords : purity analysis ; differential scanning calorimeter ; freezing-point depression method ; uncertainty evaluation ; organochlorine compounds.