

Q 258 検量線はどのように作成しますか

検量線の作成に当たり、測定値の有効数字が通常 3 桁で表されるので、最初に標準物質を秤量する場合には有効数字 3 桁の測定が可能な化学天秤を使用します。例えば、標準物質 50 mg を計るときは 0.1 mg まで測定できる化学天秤を使用します。正確に秤量した標準品を 50 mL のメスフラスコに移し、適切な溶媒を加えて完全に溶解して定容します（濃度は 1,000 $\mu\text{g/mL}$ ）。この標準溶液は、段階的に希釈するその他の標準溶液よりも使用頻度が低いので、保存溶液として貯蔵しておく便利です。

この溶液を順次希釈して測定機器に適した濃度の溶液を調製します。このときに使用する溶媒は、物質の溶解度と測定方法を念頭において選定します。GC 測定では溶媒はアセトンあるいはヘキサンが無難です。HPLC 測定では逆相系カラムを使用することが多いため溶媒は水と混ざり合って UV 吸収のないアセトニトリルやメタノールが適当です。逆相系の移動相に合わせて標準溶液調製に水を含む溶媒を使用する場合は、標準物質の加水分解に対する注意が必要です。検量線を作成する直前に水を含む溶媒に置き換えるなどの工夫が必要です。

検量線作成のための濃度点数は 5 点程度とりますが、GC あるいは HPLC に装着する検出器にはそれぞれ最小検出量があります。したがって、それ以下の量（濃度）を測定することはできないため、検量線は正当な理由なしにあえて原点を通す必要はありません（ゼロと言う濃度を検量線作成に入れる意味もありません）。市販農作物の検査をする場合は、基準値の 1/10 に相当する濃度を定量下限値にし、基準値の 2 倍の濃度を最高濃度とすることを目安とすると良いでしょう。農薬の作物残留試験などで対象農薬の残留基準値が未定の場合には、定量下限値は安定した測定が得られる限り高感度にし、できるだけ幅広い検量線が作成できれば便利です。検量線の直線の範囲が確かめられれば、日常分析では一点検量線も実用的には可能です。感度変動が大きい測定機器の場合は何点かの試料ごとに標準溶液を測定して感度変動を確認し、必要に応じて感度の補正を行うようにします。

検量線は最小二乗法により回帰式が $y=ax+b$ で表され、その直線性は相関係数で示されます。検量線の直線性は $r \geq 0.995$ であれば良好であると判断します。但し、分析期間をととして $r \geq 0.995$ の直線性を維持するためには、分析開始時点ではほぼ完全な直線性（ $r \geq 0.999$ ）であることが望まれます。また、検量線の直線性が良好であっても、検量線が原点から大きく外れると、定量限界濃度レベルの分析値の変動が大きくなるので注意しましょう。

～内標準物質～

測定時の変動を補正するために内標準物質が使用されます。内標準物質は、測定物質と物理化学的挙動が類似し、保持時間が接近しているものを選択します。この場合は、測定対象物質の濃度比と信号比をそれぞれ横軸と縦軸に取り検量線を描きます。質量分析計を検出器とする場合は、理論的に分析対象成分と同様の挙動を示す安定同位体を内標準物質として使用すると大きな利点があります。なお、この安定同位体を抽出時に添加することで回収率も同時に補正する標準品をサロゲートと呼びます。