

超純水を使った分析で気を付けること

高橋 あかね

1 分析用の水

分析現場では、試薬調製、器具洗浄、ブランク水、希釈水、HPLCの移動相などで純水や超純水が使われる。日本国内で純水や超純水を製造する時は、水道水や井水が原水となる。これら原水は透明色で目視による水質の識別はできないが、無機イオン類、金属水酸化物、有機物、微粒子、微生物、溶解ガスなど多くの溶解物質が含まれており、それらの物質は「不純物」と呼ばれている。そしてこの溶解物質＝不純物を除去しなければ、純水や超純水は製造できない。

純水、超純水を製造する際、原水である水道水中の溶解物質＝不純物の指標となる基準値は定められており、水道法第4条の規定に基づき「水質基準に関する省令」で規定する水質基準に適合する必要がある。

日本国内で使用される規格の中で、分析用水としてよく使用されているのが「JIS K0557 用水・排水の試験に用いる水」と「日本薬局方の水」である。

「JIS K0557 用水・排水の試験に用いる水」は、表1で示すようにA1からA4に分類され、最も高いグレードがA4グレード、超純水相当グレードである。但し、こ

れは代表的な項目、質を規定したものであり、試験目的及び方法によって項目の選択または追加を行う。

「日本薬局方の水」では、純水や超純水という言葉は使用せず、常水や精製水という言葉を使用する。

日本薬局方の第五改正（JP5）時までは「蒸留水」が主流であったが製法規定はなく、1951年の第六改正（JP6）時に蒸留水は蒸留によるものと製法が規定された。

1961年の第七改正（JP7）では、「蒸留水」が「精製水」という記述に替わるとともに、この精製水は、蒸留またはイオン交換樹脂を通して精製すると製法が規定され、併せてイオン交換樹脂を通すために、通常オルガノ式モノベット型製造装置などを用いる、と記述された。

精製水という記述から50年後の2011年の第十六改正（JP16）では、医薬品各条「精製水」の改正に伴い、試験室で製造され、試験の目的に適った水であることが確認された水であれば使えるような規定とする方向で検討が進められ、通則20で、医薬品等の試験に用いる水は「精製水」から「試験を行うのに適した水」という記述に変更された（試験用のみの変更）。

なお、製薬用の精製水および注射用水の純度試験方法

表1 種別及び質

項 目 ¹⁾	種 別 及 び 質			
	A1	A2	A3	A4
電気伝導率 mS/m (25℃)	0.5 以下	0.1 ²⁾³⁾ 以下	0.1 ²⁾ 以下	0.1 ²⁾ 以下
有機体炭素 (TOC) mgC/L	1 以下	0.5 以下	0.2 以下	0.05 以下
亜鉛 µgZn/L	0.5 以下	0.5 以下	0.1 以下	0.1 以下
シリカ µgSiO ₂ /L	—	50 以下	5.0 以下	2.5 以下
塩化物イオン µgCl ⁻ /L	10 以下	2 以下	1 以下	1 以下
硫酸イオン µgSO ₄ ²⁻ /L	10 以下	2 以下	1 以下	1 以下

注 1) 試験方法によっては、項目を選択してもよい。また、試験方法で個別に使用する水の規定がある場合は、それによる；
2) 水精製装置の出口水を、電気伝導率計の検出部に直接導入して測定したときの値；3) 最終工程のイオン交換装置の出口に精密ろ過器などのろ過器を直接接続し、出口水を電気伝導率計の検出部に直接導入した場合には、0.01 mS/m (25℃) 以下とする。

では、それまでの過マンガン酸カリウム還元性物質の指標から TOC（全有機体炭素）に変更された。

2025 年現在は、第十八改正（JP18）が公示されており、第十九改正（JP19）の施行時期は令和 8 年（2026 年）4 月が目標となっている。

1.1 溶解物質の処理技術

原水中に含まれる溶解物質は、各々に適した技術により除去を行う。そのため、単一の技術を用いて水中の不純物除去を行うこともあるが、多くは複数の技術を組み合わせることで水中の不純物除去を行い、純水、超純水を製造する。次に水中の不純物除去を行うための処理技術と役割を紹介する。

1.1.1 活性炭

有機物、残留塩素等を除去する目的で使用する。

残留塩素は、水道水中に残る酸化力を有する塩素で殺菌や消毒の効果がある。

1.1.2 膜

水中のイオン類、有機物など溶解成分や微粒子、粗粒子など懸濁成分を物理的な過程で除去する。関係性を図 1 に示す。

- MF 膜（Microfiltrration Membrane）

イオン類、有機物など溶解成分は透過し、濁質、微粒子など懸濁成分を除去する。

- UF 膜（Ultrafiltration Membrane）

分子量 1000 から 300000 程度の高分子量物質が除去対象で、水、イオン、低分子物質は透過し、高分子、ウイルス、パイロジェンを除去する。

- RO 膜（Reverse Osmosis Membrane）

濃度差のある水溶液の水のみを通す膜で起こる浸透現象を利用した処理方法。一般に濃度差があると、低濃度側から高濃度側へ膜を通過して水分子が移動する。逆に高濃度側に高圧力を掛けると低濃度側へ水分子を押し出

すができる。これを逆浸透（Reverse Osmosis, RO）と呼ぶが、この原理を利用して純度の高い水を作り出すことができる。イオン類、有機物など溶解成分や、微粒子など懸濁成分など、どの不純物も満遍なく除去する。

1.1.3 イオン交換

原水中に存在する陽イオン（ Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 等）をそれぞれ官能基の H^+ 、 OH^- に交換する。 H^+ に、陰イオン（ Cl^- 、 HCO_3^- 等）を OH^- に交換し H_2O を作る処理方法。

- 陽イオン交換樹脂

スルホン基やカルボキシル基などを官能基として持つ樹脂で、水溶液中の陽イオン（ Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} など）と官能基の H^+ を交換する。

- 陰イオン交換樹脂

アンモニウム基などを官能基として持つ樹脂で、水溶液中の陰イオン（ Cl^- 、 Br^- 、 SO_3^{3-} 、 NO_2^{2-} など）と官能基の OH^- を交換する。

1.1.4 UV

細菌やウイルス等が持っている核酸に紫外線を照射し菌を殺す。

- 254 nm： 殺菌
- 185 nm： 酸化による有機物除去
有機物を酸化分解し TOC を低減する。

2 純水・超純水

2.1 純水とは

蒸留水、イオン交換水、RO 水、精製水と、製法により除去の特徴はあるが水中の不純物が除去されており、以前はそれらの製法を用いて呼んでいたが、現在は純水と呼ぶのが一般的である。図 2 はイメージ図だが、超純水に比べると純水の範囲は広く、純水と超純水の間には、決められた境界値はなく、その間が高純水と呼ばれたりする。

分類	成分領域	溶解成分			懸濁成分		
		イオン	分子	高分子	微粒子	粗粒子	
粒径 (μm)		0.001	0.01	0.1	1	10	100 1000
除去対象物	イオン	溶解塩類	ウイルス	大腸菌			
	THM	THM 前駆物質	細菌	クリプトスポリジウム			
分離法			深層・原生動物	シルト			
			粘土	砂粒子			
分離法			精密ろ過 (MF)				
			膜ろ過 (UF)				
			逆浸透 (RO)				

図 1 膜処理 物質の大きさと分離法

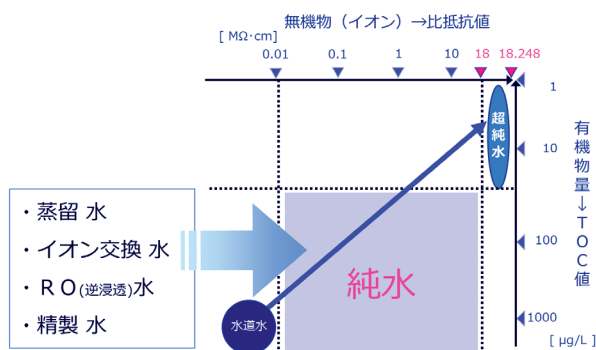


図 2 純水・超純水の水質

2.2 超純水とは

以前の超純水の主な指標は、無機物（イオン）の量であったが、日本国内では1980年代前半には有機物（TOC）の量も主な指標として加わっている。そのため多くの超純水製造装置は、比抵抗値とTOC値がモニターできるようになっている。

超純水は不純物を極限まで除去した水であるが、純水、超純水と水の純度が高くなるほど容器の成分や気体など、接触する物質を溶かし込んでいく性質がある。このような状態の水を「ハングリーウォーター」と呼んでいる。そのため超純水と触れる容器は可能な限り溶出の少ない材質の容器を使用することを推奨する。

また、超純水は採水後の扱い方次第で水質が急激に悪化するため、精製したばかりの超純水は時間を置かず使用する。特に分析用の超純水の多くはヒトが採水するため、使用するまでに「汚染されやすい環境」にある。

2.3 純水と超純水の関係

水の純度を示す尺度として純水は導電率（電気伝導率）、超純水は比抵抗で表すことが多い。導電率と比抵抗は逆数の関係にあり、1を境に、図3で示すように導電率は値が大きくなるほど水質が悪く、小さくなるほど水質が良い。逆に比抵抗は値が大きくなるほど水質が良く、小さくなるほど水質が悪い。

超純水はイオンが非常に少ないため、導電率では値が小さくなり過ぎるので比抵抗が、純水では逆に比抵抗の値が超純水ほど大きくないので導電率が使われている。

単位と読み方は次の通りである。

■導電率 σ ：電気の流れやすさ

$\mu\text{S}/\text{cm}$

マイクロジーメンス パーセンチメートル

■比抵抗 ρ ：電気の流れにくさ

$\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$

メガオーム センチメートル

または

メガオーム センチメートル

また、導電率が比抵抗のどちらかの値がわかれば、次の計算式で割り出せる関係にある。

$$\sigma = 1/\rho \quad 0.055 \mu\text{S}/\text{cm} = 18 \text{M}\Omega\cdot\text{cm}$$

シグマ ロー 導電率 比抵抗

2.4 微量な濃度を表す単位（参考）

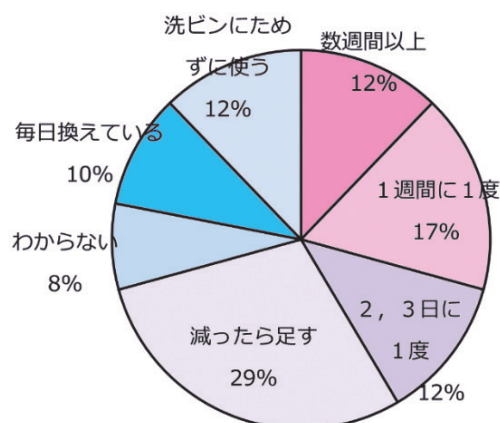
微量な濃度の単位を次にいくつか挙げる中、ラボ用で超純水中の不純物量としてよく使われる単位は $\mu\text{g}/\text{L}$ (ppb) と ng/L (ppt) である。

10 g/L	(1 %)	
1 g/L	(1 ‰)	
1 mg/L	(1 ppm)	1 g/1 m ³
1 $\mu\text{g}/\text{L}$	(1 ppb)	1 g/1000 m ³
1 ng/L	(1 ppt)	1 g/1000000 m ³

3 超純水の汚染事例

3.1 洗ビンの水の交換頻度

図4は、日本生化学会と日本環境測定分析協会の付設展示で取った洗ビンの中の超純水交換頻度のアンケート結果である（41人回答）。一番多かった回答が「減ったら足す」だったが、洗ビンの中の超純水を廃棄せずに継ぎ足すことで汚れが溜まり、どれだけ汚染されているかわからない。「洗ビンに貯めずに使う」「毎日換えている」という回答がある一方で、「数週間以上」や「カビが生えてしまった」という回答もあった。洗ビンの中の貯め水は、常に新鮮な超純水に入れ替えることを心掛けたい。



日本生化学会、日本環境測定分析協会展示会場でアンケート実施：n=41

図4 洗ビンの水 交換頻度

3.2 洗ビンに貯留した水の使用が HPLC に与える影響

図5は、クロマトグラムを重ねているが、試料が一番上がガラス瓶に2日間封入した超純水、二番目が分析室で2日間使用した洗ビン内の超純水、三番目が6種のフタル酸エステル類を $20 \mu\text{g}/\text{L}$ 混合した標準液を準備し LC-MS で分析した。洗ビンの超純水は、保持時間18分を過ぎたあたりで、大きなピークが見られた。

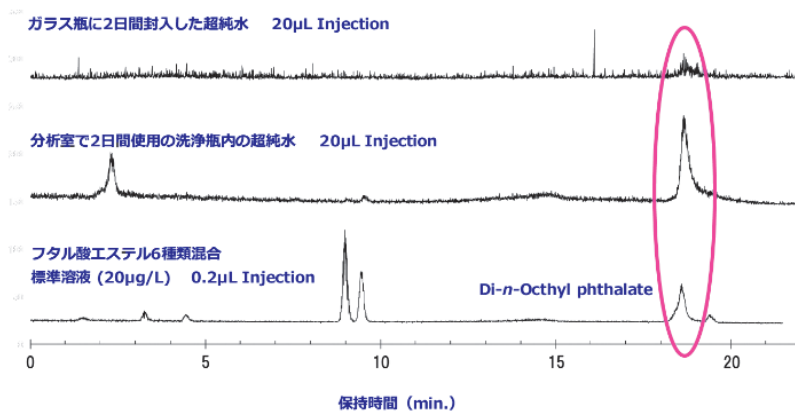
	比抵抗 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ (at 25°C)	導電率 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (at 25°C)
きれいな水の指標	18.24	0.0548
	18	0.0555
	15	0.0666
	10	0.1
	1	1
	0.1	10
	0.025	40
	0.0063	158.73
	0.0032	312.5
		水道水

図3 純水と超純水の関係

確認したところ、di-n-octyl phthalate であることが分かった。この洗ビンに製造する工程でフタル酸エステル類は使われていなかったことから、このピークは洗ビンを長時間繰り返し使うことにより、実験室環境の有機物が洗ビンに混入したと考えられる。洗ビンに長時間放置した超純水は使用せず、新鮮な超純水を使用した方が良い。

3・3 超純水の採取後の時間経過による影響

図6は、採水直後の超純水と、4日後、7日後、9日後と汲み置きした超純水を比較した結果である。採水直後の超純水と4日間汲み置いた超純水では明らかにクロマトグラムに違いがあり、このピークが何か明確でなければ、汚染によって正体不明のピークが出てしまう。



提供：野村化学株式会社

図5 環境から汚染する超純水の影響

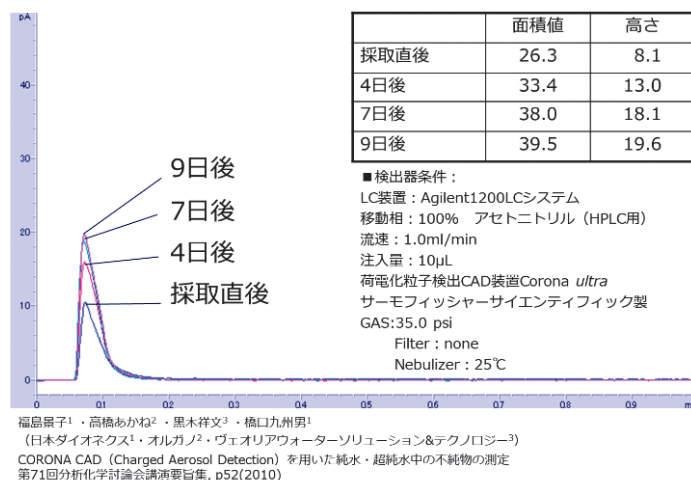
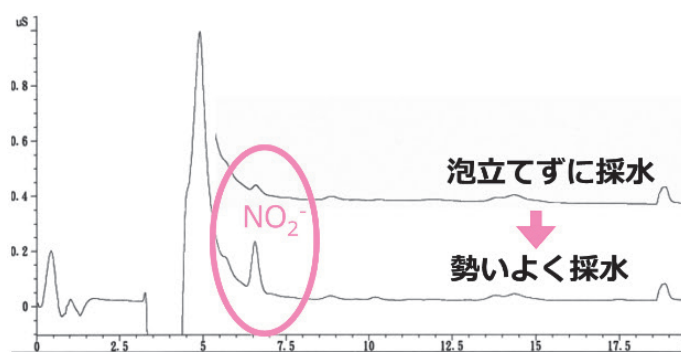


図6 超純水の採取後の時間経過による影響



提供：日本ダイオネクス株式会社（現・サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社）

図7 採水操作による汚染

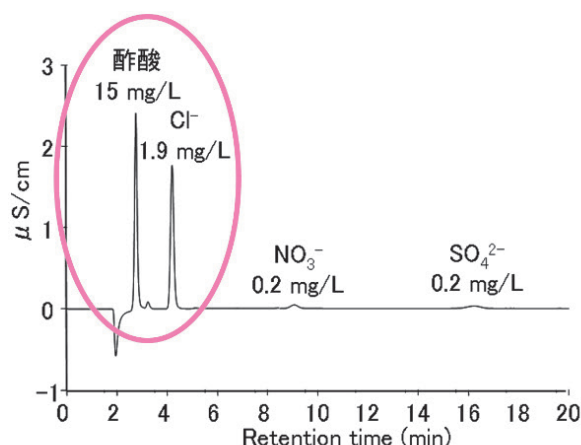
4 超純水採水時の汚染事例

4.1 採水操作による汚染

図7はクロマトグラムを重ねているが、超純水製造装置の採水口からメスシリンダーやビーカーなどの容器に、そっと伝わらせながら超純水を泡立てずに採水した場合と、容器の水面に対して垂直に勢よく泡立てて採水した場合の違いである。勢よく泡立てて採水した場合に NO_2^- が検出されており、周囲の気体を巻き込んで採水したことによる室内環境中からの汚染ではないかと示唆された。

4.2 ヒト由来

図8は、超純水の採水時に手袋を着用しないまま指が直接超純水に触れてしまったが、そのまま止めずに採水した場合のクロマトグラムである。ヒトの汗の成分となる酢酸などが検出されており、このように触れてしまった場合、超純水は採水し直すことを推奨する。



提供：日本ダイオネクス株式会社（現・サキモフィッシャーサイエンティフィック株式会社）

図8 ヒト由来の汚染

5 最終フィルター由来の汚染

図9は、HPLC用の移動相として10数種の超純水相当を比較したデータから3種を抜粋した。超純水製造装置の採水口の先端に最終フィルターが装着されている場合、フィルターの初期洗浄が足りないと、フィルター由来のコンタミネーションが起こる事例である。

図10は、同様にHPLC用の移動相として3種の超純水相当を比較したデータである。左からハイエンド機種から採水した超純水、市販のLC-MS用精製水、右は一般的な機種から採水した超純水で、何もインジェクションをしていないのに右の超純水だけピークが検出された。当初は前日に使用した試料チウラムが残留物として検出されてしまったかもしれないと、キャリーオーバーを疑ったがチウラムのピークではなく不明のままに終了した。ところがこのデータを別の分析研究者に見せたところ、同様のゴーストピーク（ゴーストピーク＝本来試料に含まれない成分なのに現れるピークのこと）が検出され、超純水メーカーに相談をしたところ「そのような事象が出たら最終フィルターを外して超純水を採水し直してみてください」とアドバイスを受け、試してみたらゴーストピークが消えたと言う。

超純水製造装置の採水口の先端に最終フィルターが装着されている場合、フィルター由来のコンタミネーションやフィルターに貯まった水の汚染を考慮し、新品の最終フィルターの場合は、取扱説明書に洗浄時間の記載があれば記載通りに洗浄し、使用中の最終フィルターの場合は、超純水が貯まっているのが目視で見えるようであれば、貯まり水を十分に廃棄してから超純水を採水することを推奨する。

6 ボトル水使用の注意点

LC-MS用ボトル精製水は、超純水の代替として移動

■分析条件

- ・ LC/MS : Waters Acquity I-Class /SYNAPT G2S (negative ESI)
- ・ カラム: Waters Acquity UPLC HSS T3 (2.1 x 100 mm, 100 Å, 1.8 μm)
- ・ 移動相: A = 超純水100%、
B = アセトニトリル100%
(LiChrosolv Hypergrade for LC-MS, Cat. No. 1.00029.2500)
- ・ 流速: 0.4 mLmin⁻¹
- ・ グラジエント: 0 min (99% A) →
2 min (99% A) → 7.5 min (0% A) →
11.5 min (0% A) → 11.51 min
(99% A) → 15.51 min (99% A)
- ・ サンプル注入無し

飯沼賢輝, 日本分析化学会第68年会, P3151, (2019).より

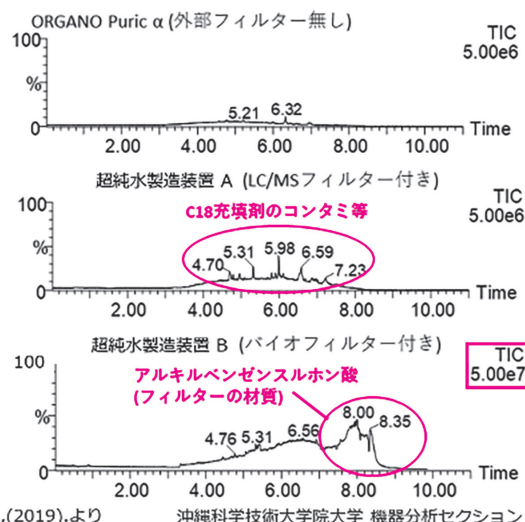


図9 LC-MS分析に最適な超純水の検討

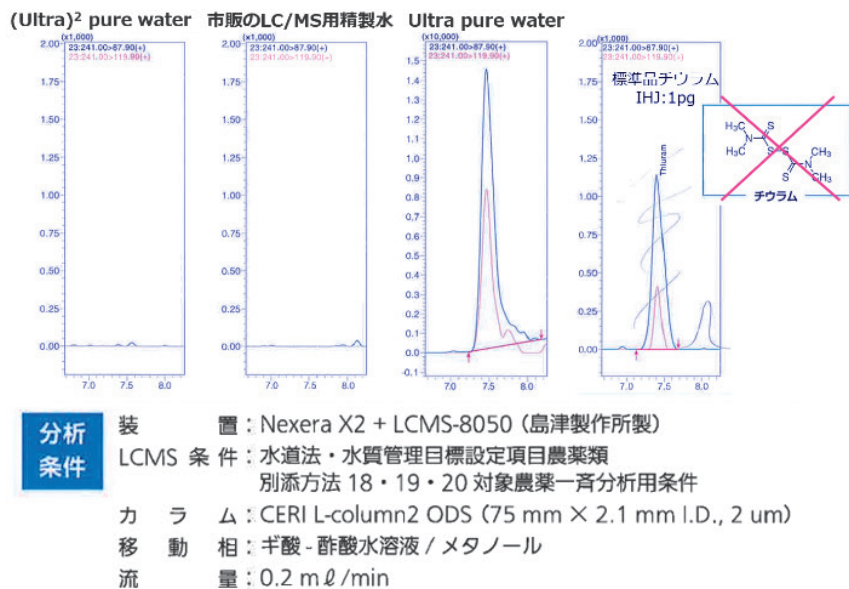


図 10 最終フィルターの汚染

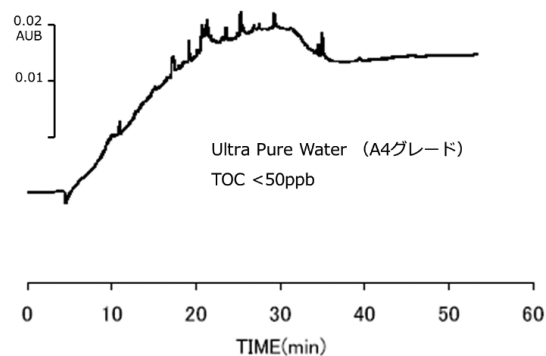


図 11 古い純水はゴーストピークのもと

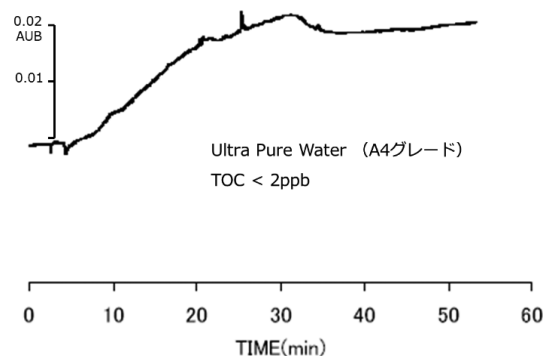
相などに使われることがある。図 10 に示す最終フィルターの汚染事例では、市販の LC-MS 用ボトル精製水のきれいなデータを紹介したが、開封してすぐにボトル精製水を使用した場合は問題なく使えているが、一度使用してキャップを閉め、次に開封する場合は貯め水となっている。図 11 に示すように既に 1987 年には「古い純水はゴーストピークのもと。捨ててしましましょう」と注意喚起が行われている通り、開封後は速やかに使い切ってしまうか、もしくは廃棄することを推奨する。

7 超純水中の有機物量が HPLC に与える影響

冒頭に、表 1 で示した「JIS K0557 用水と排水の試験に用いる水」の最もグレードの高い A4 グレード（超純水相当グレード）では、TOC は 0.05 mgC/L (50 ppb) 以下と定められている。単位を読み替えると 50 ppb 以



(a) TOC が 50 ppb をわずかに下回った超純水



(b) TOC が 2 ppb 未満の超純水

図 12 超純水中の有機物量が HPLC に与える影響

下と定められている。それでは超純水中の TOC 50 ppb 以下の水は HPLC の移動相に用いた場合、適切かどうかを確認した。図 12 a に示すクロマトグラムは TOC 50 ppb をわずかに下回った超純水、図 12 b に示すクロマトグラムは TOC 2 ppb 未満の超純水を、それぞれ超

純水とアセトニトリルでグラジエントを掛けて検出波長 210 nm で測定したクロマトグラムである。何もインジェクションをしていないのに TOC 50 ppb をわずかに下回った超純水では、TOC が高いため多くのゴーストピークが検出されていることがわかる。このような点から、特に微量分析を行う時は、超純水中の TOC は JIS 規格の 50 ppb より可能な限り低い値が望ましい。

8 ま と め

水は微粒子や色のある溶質を含まない限り無色透明なので、超純水か通常の水なのか一見では判別できず、ましてや汲み置いた超純水かどうかは見た目には分からない。そのため、洗ビンに「超純水」と記載があれば、その水が数日経過していても使用してしまいがちである。しかしながら「超純水は貯めて使用しない」のが基本である。

汚染事例では「貯めない」「周囲の気体を巻き込んで採水しない」「最終フィルターは要注意」「ヒトが誤って直接触れた超純水は使用しない」を紹介した。また超純水は「ハングリーウォーター」であるため、超純水と触れる容器は可能な限り溶出の少ない材質の容器を使用することを推奨する。

超純水を使用する場合は消耗品を延命させず、必要経費として予算を確保し、定期的に交換することがより精度の高い実験を遂行する上で最も重要である。

文 献

- 1) 丸山正武: *Organo Hi-Lites*, Vol. 2 No. 2, p. 2 (1953).
- 2) 丸山正武: *Organo Hi-Lites*, Vol. 6 No. 2, p. 18 (1957).
- 3) 丸山正武: *Organo Hi-Lites*, Vol. 8 No. 3, pp. 1-21 (1959).
- 4) オルガノ社史編集委員会: “オルガノ 35 年の歩み”, pp. 21-38 (1981), (馬場静山堂).
- 5) 坂本勉: “分析化学に用いる試薬としての水”, (オルガノ株式会社), (1984).
- 6) 渡邊秀夫: “ナベさんの液クロ便利帖”, No. 13, (東ソー株式会社), (1985).

- 7) オルガノ株式会社 超純水編集委員会: “超純水”, (1991), (ジェイ・オー・クリエイト).
- 8) オルガノ社史編集・編集委員会: “地球の生命・水 [オルガノ 50 年の歩み]”, pp. 3-21 (1997), (ダイヤモンド・グラフィック).
- 9) ローム・アンド・ハース・ジャパン: “イオン交換樹脂読本”, p. 27 (1997), (双葉タイプ).
- 10) 日本ミリポア株式会社: “超純水超入門”, pp. 8-20 (2003).
- 11) 梅香明子: ぶんせき (*Bunseki*), **2004**, 403.
- 12) 中村洋 監修: “液クロ実験 How to マニュアル”, pp. 60-61 (2007).
- 13) 山中弘次: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*) **59**, 265 (2010).
- 14) 福島景子, 高橋あかね, 黒木祥文, 橋口九州男: 第 71 回分析化学討論会講演要旨集, p. 52 (2010).
- 15) 鳥山由紀子: ぶんせき (*Bunseki*), **2010**, 442.
- 16) 高久雄一, 石塚香織, 西村寛之, 高橋あかね: 日本分析化学会第 60 年会講演要旨集, p. 272 (2011).
- 17) 飯沼賢輝: 日本分析化学会第 68 年会講演要旨集, p. 3151 (2019).
- 18) 中村洋 監修: 液体クロマトグラフィー研究懇談会 創立 45 周年記念誌『日本における HPLC, LC/MS 発展の歴史』, pp. 213-220 (2019).
- 19) 日本工業規格: JIS K0557 1998, 用水・排水の試験に用いる水 (<https://kikakurui.com/>), (accessed 2024.10.29).
- 20) 厚生労働省: 「日本薬局方」ホームページ (<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000066530.html>), (accessed 2024.10.29).



高橋 あかね (TAKAHASHI Akane)

オルガノ株式会社 本社 機能商品本部 事業企画部 (〒136-8631 東京都江東区新砂 1-2-8). 液体クロマトグラフィー分析士 初段。《現在の研究テーマ》次世代のラボ用超純水製造装置: 水中の有機フッ素化合物 PFAS 対策; 環境水中の医薬品対策; マーケティング—売れる仕組みづくりの構築。《主な著書》液体クロマトグラフィー研究懇談会 創立 45 周年記念誌『日本における HPLC, LC/MS 発展の歴史』。《趣味》テニス, イギリスで暮らすように旅すること。

E-mail: takaha-a@organo.co.jp