

オンラインカラムフローインジェクション  
法によるシリカおよびリン酸の同時定量に  
及ぼすマトリックス効果の予備研究

成澤芳男、 名和 靖

立教大学理学部化学教室

〒171 東京都豊島区西池袋3-34-1

Preliminary study of matrix effect on  
the simultaneous determination of sil-  
ica and phosphate with on-line column  
FIA spectrophotometry

Yoshio NARUSAWA and Yasushi NAWA

Department of Chemistry, College of Science, Rikkyo (St. Paul's) University  
Nishi-Ikebukuro, Toshima-ku, Tokyo 171 JAPAN

**Summary.** A matrix effect on the simultaneous determination of silica and phosphorus in mussel, tea-leaves, sargasso and rice flour (NIES CRM) with on-line column FIA spectrophotometry is described. Volatile constituents in the reference materials were easily removed on a hot-plate to give ash. The resulting ash was fused with a lithium carbonate-boric acid mixture and dissolved in a hydrochloric acid solution. In order to remove interfering cations, an aliquot of the solution was filtered with a cation-exchange resin column. The acid effluent was evaporated to dryness. The residue was fused with a small amount of sodium carbonate, taken up in a dilute EDTA solution, and analyzed for silica and phosphorus by FIA. For the simultaneous determination of these elements, was used a TSK-gel SAX.

and the eluent of which was 0.085mol/l NaCl/0.010mol/l NH<sub>3</sub>/0.0010 mol/l EDTA. For cross-checking, ICP-AES was measured for the analyses of silica and phosphorus for these reference materials. The agreement of the results between FIA and ICP for silica is satisfactory, whereas for phosphorus dissatisfactory except for mussel. This discrepancy in the phosphorus determination except for mussel was interpreted as being due to the matrix mismatching between the sample and standard solutions in the FIA measurements. Silica contents in mussel, tea-leaves and sargasso of NIES CRM were reported in the present work for the first time.

## 1. 緒言

モリブデンイエローあるいはモリブデンブルーを用いるFIA法でシリカおよびリンを同時定量する場合、両元素は互いに妨害をする。シリカ、リンおよびヒ素の3成分系の同時定量は更に困難であろう。著者らはHPLC用の陰イオン交換カラムを組み込んだFIAマニホールドを用いて、この3成分系の分離に関する基礎的検討を行い<sup>1,2)</sup>、SRM中のシリカおよびリンの同時定量法を確立し、分析に応用した<sup>3)</sup>。黒田ら<sup>4)</sup>はケイ酸塩岩石中のリンの分析に際して、モリブデン試薬に酒石酸アンチモニルカリウムを加え、ケイモリブデンブルーの生成を抑えてリンの定量を行った。また黒田ら<sup>5)</sup>はFIAを用いモリブデンイエロー生成によりケイ酸塩岩石中のシリカの分析を行った。かれらはシリカ定量に及ぼすリンの妨害を検討し、当該分析条件下ではリンはシリカの定量を妨害しないことを明らかにした。

最近、二重容器式のテフロンバイアルを用いる優れた方法が開発された<sup>6)</sup>。この方法はゲルマニウム、セレン、水銀等の微量揮発成分を揮散させずに溶液に留めて分解できるという点で優れた分解法である。しかしシリカ成分に富む試料に対しては分解が不完全となる。また処理の過程でシリカ除去のためにフッ化水素酸を加えケイフッ化水素酸としてシリカを揮散させるので、シリカ定量に適用できない。従って、生物試料に対する最新の分解法はシリカの分析には不満足である。その点、例えば機器中性子放射化分析(INAA)や粒子誘導X線発光分析(PIXE)の

ような非破壊分析法は試薬による汚染や揮発成分の揮散が問題とならないので有効な方法である。しかしこれらの機器により得られた分析結果を評価するために湿式法による分析データが必要であるが、現在利用できるデータは少ない。

著者らの目的の一つはシリカの定量であり、従って種々の分解法を検討してきた。現段階で到達した最も確実で、安全で、なおかつ試薬の汚染の少ない分解法として、揮発性成分である炭素、窒素、酸素、水素等を熱板上で穏やかに加熱して揮散させ、灰とする方法を適用した。この灰の溶解にはケイ酸塩岩石試料の溶融法を適用することができた<sup>7)</sup>。試料の溶解のことを考慮して、得られた灰を炭酸リチウム-ホウ酸により溶融するのが最適である。また本法を適用すると灰分は採取試料の10%前後と融剤の量が少なくて済むので、試薬による汚染は少ない（Sargassoでは約20%、Rice Flourでは約2%と試料により灰分は異なる）。

## 2. 実験

### 試薬および試料

すべての薬品は特級試薬であり、それ以上精製せずに用いた。すべての溶液調製には超純水を用いた。フラスコ、テフロンビーカーおよびガラス器具の洗浄には  $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{O}_2 : \text{H}_2\text{O} (= 2:1:2)$  を満たし、一夜放置後、水にて洗浄した。調製した溶液はすべてポリエチレン容器に貯蔵した。

分析に供した試料は、国立公害研究所の標準試料である Mussel (NIES No.6)、Tea-Leaves (NIES No.7)、Sargasso (NIES No.9) および Rice Flour (NIES No.10) であった。これらの試料は国立公害研究所の岡本研作氏より提供して頂いた。

分析試料は電気乾燥器中85℃で4時間乾燥し、デシケーター中で放冷し、秤量した。分析値はすべてこの乾燥質量を基に計算した。

### 溶 液

a) シリカ貯蔵溶液 高純度シリコンの塊状粒子数粒を2つの鉄製スパチュラにて狭み、粉碎し、1 mol/l塩酸に侵し、水、エタノールにて洗浄した。0.1170gのシリコンを炭酸ナトリウム (1.1g) と硝酸カリウム (0.12g) の混合物にて白金ルツ

ボ中で30分間約1000℃で溶融した。冷後、融成物を水にて溶解し、250mlとした。この溶液のシリカ含量は1.0mgSiO<sub>2</sub>/ml。

b) リン酸塩貯蔵溶液 110℃にて2時間乾燥した無水リン酸二水素カリウムの0.7167gを秤量し、水にて溶解し、正確に500mlとした。この溶液のリン酸イオン含量は1.00mgPO<sub>4</sub><sup>3-</sup>/ml (0.326mgP/mlに相当)。

c) 溶離液、モリブデン(VI)溶液およびアスコルビン酸溶液 これらの溶液は前報<sup>3)</sup>に記載された方法で調製した。

d) マトリックス溶液と標準溶液 Musselの定量に対しては、マトリックス溶液と標準溶液は以下のように調製した。マトリックス溶液：1.25gの炭酸リチウムとホウ酸混合物(1:1)を15分間約1000℃にて溶融した。冷後、融成物を1.0mol/l塩酸に溶解し、同じ酸にて250mlに希釈した。標準溶液：0.40mgAl<sup>3+</sup>、8.0mgCa<sup>2+</sup>、1.0mgFe<sup>3+</sup>、2.0mgMg<sup>2+</sup>、1.0mgMn<sup>2+</sup>、8.0mgK<sup>+</sup>および0.40mgZn<sup>2+</sup>を100mlポリプロピレンメスフラスコにて混合し、さらに50mlのマトリックス溶液、2.0mgSiO<sub>2</sub>および18.4mgPO<sub>4</sub><sup>3-</sup>(6.0mgP)を加えて水にて刻線まで希釈した。この溶液調製においては試料溶液と標準溶液のマトリックス濃度を一致させた。5.0mlの標準溶液を陽イオン交換樹脂カラムに通し、妨害陽イオンを除去した。以下の操作は次節に記述したものと同様である(操作c)。

e) 標準溶液 Mussel以外の標準試料の分析においては、種々の濃度のシリカとリンを含む一連の標準溶液を、それぞれの貯蔵溶液から所定量を計り取り25mlポリエチレンメスフラスコ中で刻線まで単に水で希釈することによって調製した。この溶液調製においては試料溶液と標準溶液のマトリックス濃度は一致していない。

## 装 置

a) 用いたFIA装置は既報<sup>2)</sup>に記述したものと同様である。Fig. 1に概略図を示す。装置はJASCO model FIU-300、8μlフローセル、JASCO ASB-200 空気浴恒温槽、およびJASCO UVIDEC-340からなる。用いたレコーダーはChromatocorder 11と12(System Instruments Co.)である。デガッサーはErma ERC-3512を用い、系の脱気を行った。マニホールドは、反応コイルRC<sub>1</sub>(口径0.5mm, 2m)およびRC<sub>2</sub>(口径0.5mm, 4m)および逆圧コイルBC(口径0.25mm, 2m)を除いて、他は口径1.0mmのテフロンチューブである。試料の灰化は、Iwaki-glass model PC-351熱板を用いた。

ダイアルの目安は目盛り 2 : 150℃、 3 : 250℃、 4 : 320℃、 5 : 370℃である。イオンの分離には、TSK-gel SAX (TOSOH, 150mm×4.6mm i.d., 5μm\*) を用いた。

b) 用いた I C P 装置は前報<sup>3)</sup>にて記述されたものと同じである。

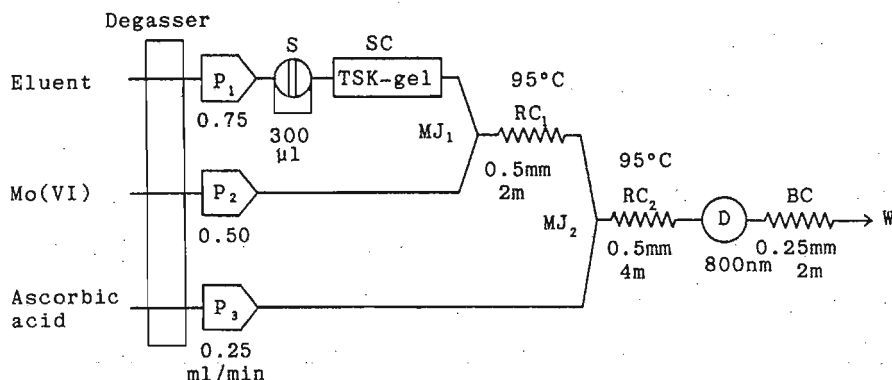


Fig. 1. Schematic diagram of FIA manifold.

## 操 作

### a) 試料の分解

① 灰化 白金ルツボに約1.0gの生物試料を精秤し、電気乾燥器中85℃にて4時間乾燥し、デシケーター中にて放冷後、秤量する。その後、熱板上の目盛り2で1時間、3で1時間、4で1ないし2時間加熱する。この操作により残存灰分の%はほぼ一定値に達する。

② 溶融 分解後、灰分は炭酸リチウム-ホウ酸 (1:1) 混合物の500mgと混合し、15分間約1000℃にて溶融する。冷後、融成物を1.0mol/l塩酸にてマグネチック・スターラーで攪拌しながら、加熱せずに溶解し、同じ酸にて正確に100mlにする。この溶液をMaster溶液と呼ぶ。この調製法で得られた溶液はシリカおよびリンの定量に対して長期間安定である。

### b) 陽イオン交換樹脂カラム

① 交換容量 用いた陽イオン交換樹脂はDowex 50W-X8, 100~200meshで、交

\* 記述されたカラムサイズに当研究室にて充填材を詰めた。充填材は強陰イオン交換体,  $RN^+(CH_3)_3$ , でポラスポリマーを基材とするスチレン-ジビニルベンゼン共重合体で、交換容量は3.7meq/gである (TOSOH 総合カタログ 1990)。

換容量は $1.3\text{meq}/\text{cm}^3$  (湿潤) である。カラムサイズは内径  $8\text{mm}$ ×樹脂相の長さ $30\text{mm}$  であり、カラムの交換容量は約 $2.0\text{meq}$ である。

② カラムの再生 カラムは $2\text{mol}/\text{l}$ 塩酸 $10\text{ml}$ を流速約  $1\text{ml}/\text{min}$ にて流し、続いて $10\text{ml}$ の水で2回洗浄して再生する。

c) 試料溶液の前処理 Master溶液 $2.5\text{ml}$ と水  $2.5\text{ml}$ を取り、陽イオン交換カラムに通す。カラムを $0.5\text{mol}/\text{l}$ 塩酸  $2\text{ml}$ ずつで5回洗浄し、溶離液を  $30\text{-ml}$ 白金ルツボに集める。湯煎上で約半量に濃縮し、少量の水で白金ルツボに移す。湯煎上で蒸発乾固し、最後にバーナーの小炎で穏やかに熱する。残査に  $0.25\text{mol}/\text{l}$ 炭酸ナトリウムを  $0.5\text{ml}$ 加え再度蒸発乾固し、 $15$ 分間約 $1000^\circ\text{C}$ にて熔融する。冷却後、融成物に $0.01\text{mol}/\text{l}$ EDTAを $1\text{ml}$ 加え、攪拌しながら加熱せずに溶解する。F I A測定には、この溶液を $25\text{ml}$ ポリエチレンメスフラスコに移し、水にて刻線まで希釈する。

## 定 量

a) フロー・インジェクション分析 前処理を行った試料溶液 $300\mu\text{l}$ を流速 $0.75\text{ml}/\text{min}$ のキャリアー流路 (C) に注入し、混合ジョイント M J<sub>1</sub>で流速 $0.5\text{ml}/\text{min}$ のモリブデン酸試薬の流路 (M) と混合し、更に混合ジョイント M J<sub>2</sub>で流速 $0.25\text{ml}/\text{min}$ のアスコルビン酸流路 (A) と混合した。試料の栓流は2つの反応コイル R C<sub>1</sub> と R C<sub>2</sub>を通し、その際反応を加速するために空気浴恒温槽の温度を $95^\circ\text{C}$ に保った。フローセル中の吸光度をモリブデンの希薄溶液を対照として  $800\text{nm}$ で測定した。標準試料の内、Musselを除く試料に対してはシリカおよびリンの種々の濃度を含む一連の標準溶液 (溶液 e) を調製し、試料溶液の F I A測定の前にキャリアー流路に注入した。Musselに対しては、前述の標準溶液 (溶液 d) を試料溶液と同様に F I A測定の前にキャリアー流路に注入した。

## 3. 結果と考察

### 分解

試料の分解は既報<sup>3)</sup>に従った。 $1\text{g}$ の試料を白金ルツボ中で精秤し、電気乾燥器中 $85^\circ\text{C}$ で4時間乾燥した。乾燥減量をTable 1に示す。乾燥試料を熱板上で加熱し、

分解を行った。残存灰分の%は2~3回の測定で試料毎にほぼ一定値を示した。Musselは(7.0±0.2)%、Tea-Leavesは(5.1±0.2)%、Sargassoは(21.7±0.3)%、Rice Flourはlow, medium, high level Cdとも(1.8±0.1)%であった。

### イオン交換分離

Musselの分析に用いたマトリックス溶液と標準溶液(溶液 d)について考察する。マトリックス溶液中に含まれる金属イオンは主として融剤の炭酸リチウムに由来するLi<sup>+</sup>である。従って標準溶液に含まれる金属イオンは主としてLi、KおよびCaであると考えてよい。1回の分離では標準溶液 5mlを陽イオン交換カラムにloadするので、Liが0.18meq、Kが0.010meq、Caが0.020meqとなる。従ってイオンの総量は0.21meqとなり、カラムの交換容量は十分余裕がある。生物試料の分析の際は、マトリックス溶液の濃度は2倍になるが、カラムにloadする液量を2.5mlとするので、最終的にFIA測定を行うときにはその濃度が一致するようにしてある。これから明らかなように、陽イオン交換カラムを用いて妨害金属イオンを除去するにあたって、カラムの交換容量に大きく影響するのはマトリックス溶液の濃度であり、試料に含まれる成分の種類と含有量の差は影響がないと考えてよい。

### オンラインカラム分離

SiO<sub>2</sub>8.0ppmとPO<sub>4</sub><sup>3-</sup>3.6ppmを含む溶液についてオンラインカラムFIAによる繰り返し測定を行った。結果をFig. 2に示す。図から分かるように、シリカ、リンの順にピークを示す。測定に際してリンのシグナルが出始めたとき次のサンプルを注入した。SiO<sub>3</sub><sup>2-</sup>とPO<sub>4</sub><sup>3-</sup>を比較して単位体積当たりの電荷の大きいPO<sub>4</sub><sup>3-</sup>の方がカラムへの吸着が強いのでリテンションタイムが大きく、溶離が遅れると考える。9回測定の繰り返しの変動係数(c.v.)はシリカおよびリンに対してそれぞれ0.86%および0.62%であった。このことからFIA測定の再現性はよいと考えられる。

### FIAによるケイ素とリンの定量

Tea-Leaves、SargassoおよびRice Flourに対する典型的なFIA測定の結果をFig. 3~5に示す。検量線を作成するために3~4種類の標準溶液を3回ずつ注入し、続いて試料溶液を3回ずつ注入した。測定の結果から得られた標準溶液の各3回の

Table 1 Sample weights(g) taken and dried of NIES CRM

Sample	NIES No.	Sample weights(g) Moisture			
		taken	dried	loss(%)	
Mussel*	No.6	-----	1.0030	----	
Tea-Leaves 1	No.7	1.0015	0.9801	2.1	
Tea-Leaves 2	No.7	1.0145	0.9798	3.4	
Sargasso	No.9	1.0090	0.9053	10.0	
Rice Flour	low level Cd	No.10-a	1.0121	0.9354	7.6
	med. level Cd	No.10-b	1.0046	0.9238	8.0
	high level Cd	No.10-c	1.0065	0.9305	7.6

\* The sample dried in an oven at 85°C for 4h was taken directly.

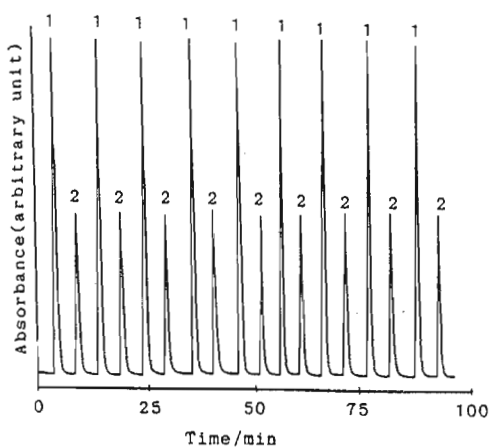


Fig. 2. Reproducibility tests of simultaneous determination for Si and P with FIA.

Si: 8.0ppm SiO<sub>2</sub>, P: 3.6ppm PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>  
 Signals: 1, SiO<sub>2</sub>; 2, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>

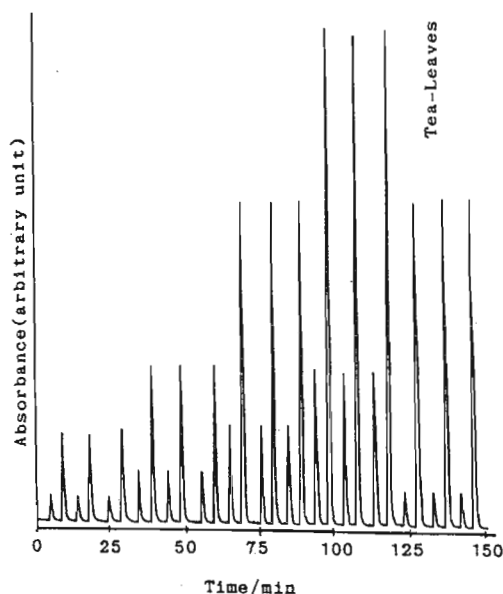


Fig. 3. FIA signals for tea-leaves.

ピーク面積の平均値から検量線を作った。検量線は1次回帰直線 ( $Y = a + bX$ ) となり、切片  $a$  と勾配  $b$  および相関係数  $r$  を求めた。解析結果をTable 2 に示す。いずれも良好な直線関係を示す。検量線からSiO<sub>2</sub>およびPの含有率 wt%を次のようにして求めた。試料のFIA測定から求められる濃度  $X$  (ppm) は

$$X = (Y - a) / b$$



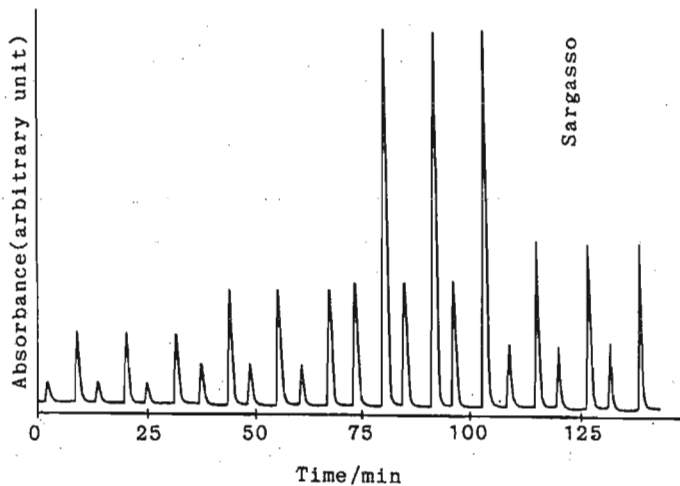


Fig. 4. FIA signals for sargasso.

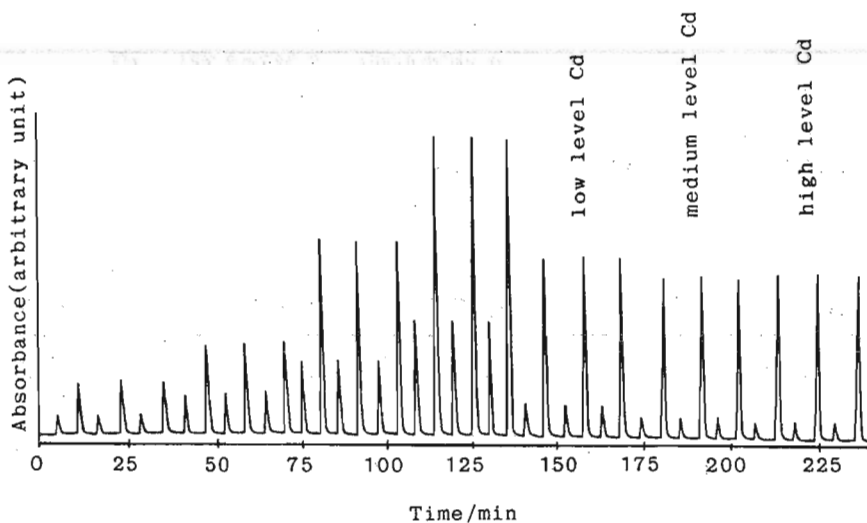


Fig. 5. FIA signals for rice flour.

Table 2 Analysis of linear regressions

Sample	Species	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
Tea-Leaves 1	SiO <sub>2</sub>	0.0175	0.6355	0.9997
	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	-0.0733	0.4052	0.9999 <sub>9</sub>
Sargasso	SiO <sub>2</sub>	-0.0418	1.0079	0.9999 <sub>6</sub>
	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	-0.2329	0.6177	0.9998
Rice Flour & Tea-Leaves 2	SiO <sub>2</sub>	0.0349	0.8028	0.9992
	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	-0.1729	0.4851	0.9999

*a*: Intercept, *b*: Slope, *r*: Correlation coefficient (See text).

Table 3 Analytical results of NIES CRM

Sample	SiO <sub>2</sub> (wt%)	P (wt%)	Remark
Mussel	0.159±0.010	0.79 ±0.01	FIA
	0.155±0.001	0.80 ±0.01	ICP
Tea-Leaves 1	0.044±0.002	0.340±0.020	FIA
	0.049±0.001	0.367±0.002	ICP
Tea-Leaves 2	0.044±0.002	0.330±0.020	FIA
	0.048±0.001	0.363±0.001	ICP
Sargasso	0.170±0.002	0.251±0.046	FIA
	0.169±0.049	0.275±0.003	ICP
Rice Flour* low level Cd	0.094±0.006	0.330±0.027	FIA
	0.092±0.001	0.354±0.002	ICP
med. level Cd	0.060±0.012	0.304±0.009	FIA
	0.053±0.001	0.324±0.001	ICP
high level Cd	0.044±0.006	0.303±0.046	FIA
	0.047±0.001	0.348±0.002	ICP

\* Cd contents for low level, medium level and high level Cd are 0.024, 0.32 and 1.95 (μg/g), respectively. Cf. K. Okamoto, Fresenius Z. Anal. Chem., 332, 524 (1988).

ここで Y は SiO<sub>2</sub> および PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> のピーク面積である。この 10 倍が Master 溶液中の濃度である。リン酸は 0.326 を掛けて P の含有率に換算した。wt% は次式で表される。

$$\text{wt\%} = (\text{ppm 含有率} \times 10^{-2}) / w$$

ただし w は試料の乾燥質量である。得られた結果は Table 3 に示す。Cross-check の目的で共通の Master 溶液についてすべて ICP-AES の測定を行った。シリカについてはほぼ満足すべき結果であったが、リンについては Mussel を除いて FIA の結果は ICP の結果より 10% 前後小さかった。Tea-Leaves、Sargasso および Rice Flour では標準溶液はシリカおよびリンの貯蔵溶液を単に水で希釈して調製したので FIA 測定でマトリックス効果の影響を受けたと考えられる。しかしシリカはマトリックスの影響に関して鋭敏でないと考えられる。またリンの検量線はいずれも切片 a が負の値となっている (Table 1)。すなわちリンの濃度が小さいときピーク面積が過小評価されることを意味する。しかしこの原因は現在のところ明かではない。

#### 4. 結 語

環境標準試料中のシリカおよびリンの定量を行うにあたって、試料を白金ルツボに秤取し、熱板上で加熱して灰にした後、溶融した。妨害金属イオンは陽イオン交換樹脂カラムを通して簡単に除去することができた。溶離液を蒸発乾固した後、少量の炭酸ナトリウムにて溶融することによって、オンラインカラムフローインジェクション分析が可能となった。また同じMaster溶液についてICP-AESの測定を行って、分析値の評価を行った。

#### 謝 辞

超純水を提供して頂いた野村マイクロサイエンスに感謝いたします。またICP-AESの測定をして頂いた早稲田大学環境保全センターの桂 勤、尾島浩幸両氏に感謝いたします。

#### 文 献

- 1) a) Y. Narusawa and T. Hashimoto, *J. Flow Injection Anal.*, **4**, 20 (1987).  
b) Y. Narusawa and T. Hashimoto, *Chem. Lett.*, 1987, 1367.
- 2) Y. Narusawa, *Anal. Chim. Acta*, **204**, 53 (1988).
- 3) Y. Narusawa, T. Katsura, and F. Kato, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **332**, 162 (1988).
- 4) R. Kuroda, I. Ida, and K. Oguma, *Mikrochim. Acta*, **1**, 377 (1984).
- 5) R. Kuroda, I. Ida, and H. Kimura, *Talanta*, **32**, 353 (1985).
- 6) K. Okamoto and K. Fuwa, *Anal. Chem.*, **56**, 1758 (1984).
- 7) P. G. Jeffery and D. Hutchison, "*Chemical methods of rock analysis*", 3rd edn. Pergamon Press, Oxford, pp 18-28.

(1991年3月11日受理)