

波長分散型全反射蛍光 X 線分析法による  
環境水中微量元素分析のための試料調製法の検討

Sandor KURUNCZI , 庄司雅彦 , 桜井健次

Sample Preparation for Wavelength-Dispersive  
Total-Reflection X-Ray Fluorescence Analysis of  
Trace Elements in Natural Water

Sandor KURUNCZI, Masahiko SHOJI and Kenji SAKURAI

X線分析の進歩 第35集(2004) 抜刷

Copyright ©  
The Discussion Group of X-Ray Analysis,  
The Japan Society for Analytical Chemistry



# 波長分散型全反射蛍光X線分析法による 環境水中微量元素分析のための試料調製法の検討

Sandor KURUNCZI, 庄司雅彦, 桜井健次

## Sample Preparation for Wavelength-Dispersive Total-Reflection X-Ray Fluorescence Analysis of Trace Elements in Natural Water

Sandor KURUNCZI, Masahiko SHOJI and Kenji SAKURAI

National Institute for Materials Science, Materials Engineering Laboratory  
1-2-1, Sengen, Tsukuba, Ibaraki 305-0047, Japan

(Received 27 December 2003, Accepted 6 January 2004)

A preparation of a sample solution is examined for wavelength-dispersive total-reflection X-ray fluorescence (WD-TXRF) analysis of trace metals in natural water. Eliminating salt matrix ions, such as alkali metals and alkaline earth metals, which are generally included at high concentration in natural water, using chelating resin leads to small size and good shape of droplet residue as specimen for WD-TXRF analysis, so that good spectra with strong intensity and high energy resolution can be obtained.

**[Key words]** Wavelength-dispersive total-reflection X-ray fluorescence analysis, Trace analysis, Natural water, Chelating resin, Matrix ions

波長分散型全反射蛍光X線(WD-TXRF)分析法を環境水中の微量元素の分析に適用するための試料調製方法の検討を行った。環境水中に高濃度で含まれるアルカリ金属, アルカリ土類金属のような塩マトリックスイオンをキレート樹脂を用いて除去することによって, WD-TXRF法でのスペクトル測定に供するに十分な小さいサイズと良好な形状をもつ液滴残滓試料を作製可能であることがわかった。

[キーワード] 波長分散型全反射蛍光X線分析, 微量分析, 環境水, キレート樹脂, マトリックスイオン

---

独立行政法人 物質・材料研究機構 材料研究所 茨城県つくば市千現 1-2-1 〒305-0047

## 1. はじめに

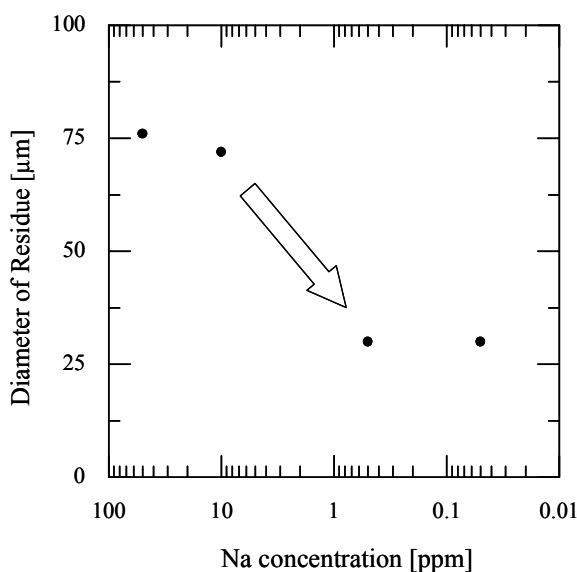
全反射蛍光X線分析法<sup>1)</sup>は最も有力な超微量元素分析法の一つであり、他の分析方法に比べて格段に低い検出限界を実現できる。Si(Li)検出器を用いたエネルギー分散型全反射蛍光X線(ED-TXRF)分析法に代えて金属材料技術研究所(現、物質・材料研究機構)で独自に開発した小型ヨハンソン分光器を用いた波長分散型全反射蛍光X線(WD-TXRF)分析法を採用することにより、0.1  $\mu\text{l}$ 程度の液滴を主な試料として、 $10^{-16}$  gレベルのきわめて少量の3d遷移金属を検出できる段階にまで到達している<sup>2)</sup>。このように絶対量の検出限界が著しく低いことは、他の方法では試料量が少なすぎるために断念していた分析にも対応できることを意味している。一方、エネルギー分解能が高いこともWD-TXRF法の優れた点である。例えば、ED-TXRF法では区別がむずかしい3d遷移金属の $K\alpha_1$ 線と $K\alpha_2$ 線のピークを十分に分離して検出することが可能である。ED-TXRF法では複数の元素からの近接したエネルギーをもつ蛍光X線のスペクトルが重なり合うために元素濃度の定量のためにはソフトウェアを用いてスペクトルを分解して解析する必要があったが、WD-TXRF法では多数の3d遷移金属や希土類金属を含む試料の場合にも、例えばコバルトの $K\alpha_1$ (6930.3 eV)とエルビウムの $L\alpha_1$ (6948.7 eV)のような近接したエネルギーの蛍光X線ピークを区別して検出することが可能であり、元素濃度の定量もより高い信頼性で行うことができる。このような検出限界の低さと元素識別能力の高さから、WD-TXRF法は、生体試料などの組成が複雑で量が限られた試料の分析への応用が期待されている。

本研究では、環境水や生体試料中の超微量元素をWD-TXRF法で測定定量するための試料溶液の調製方法を確立することを目的としている。本論文では、特に塩マトリックス成分を効率的に除去することにより、液滴残滓のサイズや形状を制御して良好な測定試料を作製する方法にポイントを絞り、キレート樹脂を用いたイオン交換法の有用性について検討した結果を報告する。

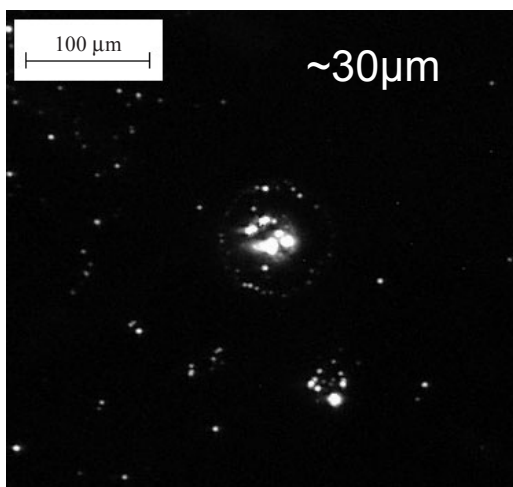
## 2. 全反射蛍光X線分析法のための液滴試料調製方法について

試料調製方法は、ED-TXRF法による微量元素分析において、最も重要な技術の一つである<sup>3-11)</sup>。特に問題となるのは試料中に高濃度で含まれるマトリックス成分である。高濃度のマトリックス成分は散乱源や吸収源となって信号対バックグラウンド比を悪化させ、検出限界に影響を及ぼす<sup>3)</sup>。WD-TXRF法を用いる場合もその影響はやはり深刻である。WD-TXRF法で測定試料として用いられるのは試料溶液の微小液滴を平坦な表面をもつ基板上で乾燥させて得られた液滴残滓である。液滴残滓であ

るという点では一般にED-TXRF法で用いられる測定試料と同じであるが、サイズの制限が格段に厳しい。ヨハンソン分光器の集光光学系の原理上、発光点にあたる液滴残滓のサイズが、検出器位置での蛍光X線強度とエネルギー分解能の両方に影響を与える。同じ試料を測定するにも、液滴残滓のサイズが小さくできれば、分解能に優れたピーク強度の大きい良好なスペクトルを得ることができる。現時点では、直径70  $\mu\text{m}$ 程度の平坦な液滴残滓を目標に考えている。ある滴下量に対して十分に小さい液滴残滓が得られるならば、強度と分解能をある許容範囲内で犠牲にして滴下量を増やすことも有望である。標準試料の場合には液中に含まれる溶質の濃度が非常に低いため、特別な分離処理をしなくても、例えば0.1  $\mu\text{l}$ の液滴を基板上に滴下して乾燥させたときに析出する残滓のサイズは十分小さなものとなる。しかし、環境水や生体試料などの実試料の場合には、検出対象となる微量元素のほかにNa、Caなどの塩マトリックス成分が高濃度で含まれているため、何の処理もせずに液滴残滓を作製すると析出する残滓のサイズは必然的に大きくなる。超純水中にNaだけを添加し、その濃度を変えたときの液滴残滓サイズの変化 (Fig.1)を見ると、もともと単元素を溶解させただけの試料溶液であるからNaが100 ppm含まれる場合にも0.1  $\mu\text{l}$ の液滴に対して目標の70  $\mu\text{m}$ に近い直径の液滴残滓が得られているが、0.5 ppm程度まで濃度が下がると液滴サイズが格段に小さくなる。一方、超純水中にNaとCaを添加した試料溶液の場合には、両者をあわせた添加濃度が1 ppm-0.1 ppmの程度まで下がっても液滴残滓の直径は70-400  $\mu\text{m}$ とバラつきが大きく、10 ppmや100



**Fig.1** Relationship between size of residue from 0.1  $\mu\text{l}$  droplet and dissolved Na concentration. The substrate is a Si wafer etched in HF atmosphere.



**Fig.2** Optical microscope image of a residue from 0.1  $\mu$ l droplet of 0.01 ppm Na-Ca solution. The substrate is a Si wafer etched in HF atmosphere.

ppmの場合よりも大きな直径となることもあった。これは、溶質の組成が複雑になると量以外の効果もあらわれることを意味している。しかし、0.1 ppmよりも低い濃度では直径が30  $\mu$ m前後の液滴残滓を安定して得ることができた (Fig.2)。

ところで、ED-TXRF法のための試料調製方法の研究の歴史は二十年以上に及び、微量元素の検出限界の向上のために微量元素を濃縮するとともに塩マトリクス成分を除去する手法についてもさまざまな検討が行われ、環境水中の微量元素の定量分析などに実際に応用されている。TXRF法も含めた蛍光X線分析のための水試料の予備濃縮に関する初期の研究はVan Griekenの総説<sup>4)</sup>に網羅されている。よく知られている手法としては、ジチオカルバミン酸を用いて微量元素との錯体を形成させ、形成された錯体を有機溶媒で溶出させる方法<sup>5-7)</sup>、イオン交換樹脂を用いる方法<sup>8)</sup>、電気化学的に微量元素だけを基板上に析出させる方法<sup>9)</sup>などがある。ジチオカルバミン酸を用いた方法では、有機溶媒による溶出プロセスを廃し、沈殿した錯体を濾過乾燥したものをそのまま石英基板にのせて測定を行う手法も提案されている<sup>10)</sup>。イオン交換樹脂を用いる方法では、陽イオン交換樹脂、陰イオン交換樹脂、キレート樹脂といった複数の異なる性質の樹脂の混合物を用いて分離濃縮することにより状態分析が容易になることも報告されている<sup>11)</sup>。

### 3. 試料調製

以下に述べる試料溶液の調製、滴下、乾燥は、外室用にHEPAフィルタ、内室用にULPAフィルタをもつ二重構造のクリーンブース内で行った。

試料溶液調製段階で用いた超純水はMILLIPORE社製超純水製造装置 Milli-Q Academic A10を使用して製造したものである。超純硝酸は多摩化学工業(株)製の濃度68%のTAMAPURE-AA-10硝酸を使用した。使用した緩衝液は1M酢酸アンモニウム(pH 5.5)であり、多摩化学工業(株)製の濃度20%のTAMAPURE-AA-100アンモニウム水40mlを、多摩化学工業(株)製の濃度30%のTAMAPURE-AA-100酢酸94mlで中和し、500mlの超純水で希釈することによって調製した。

塩マトリックスの除去に使用したキレート樹脂は、入手が容易であり微量元素の分離濃縮にしばしば用いられるBIO-RAD社製のChelex 100<sup>11-13)</sup>である。購入したChelex 100 (Biotechnology Grade, 100-200 mesh, sodium form)は、5M硝酸溶液で洗浄し、2Mアンモニウム水を用いてナトリウムイオンをアンモニウムイオンで置換し、超純水ですすいだ後、湿った環境で保存した。

試料としては霞ヶ浦湖面から採取した水を用いた。湖面水は、採取後すみやかにセルロースアセテートメンブランフィルター(直径47mm, 孔径0.45µm, Advantec社製)を用いて濾過し、バクテリアや浮遊粒子等を取り除き、超純硝酸でpH約2に調整し、試料溶液調製に用いるまで冷蔵庫で保存した。

### 3.1 分離処理

本研究で検討した分離処理法は三つの段階からなる(Fig.3)。第一段階はバッチ法によるキレート樹脂への湖面水中の微量元素イオンおよびマトリックスイオンの吸着である。第二段階はカラム法によるキレート樹脂からのマトリックスイオンの除去で

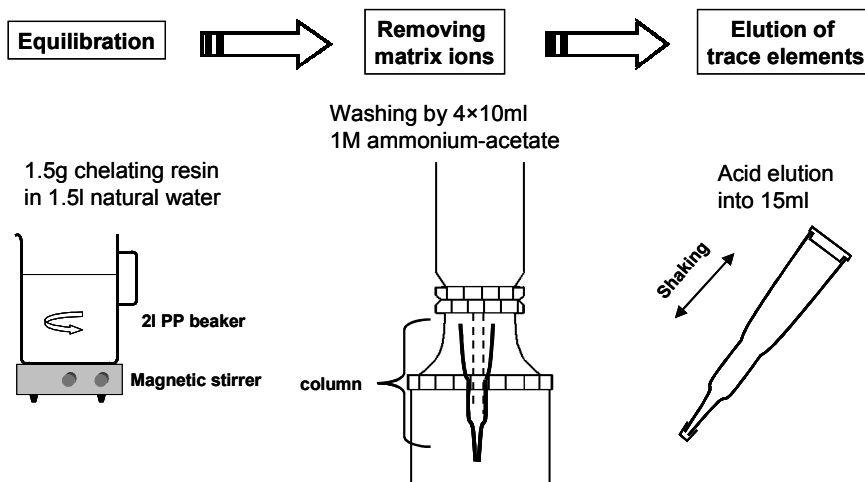


Fig.3 Scheme of separating and removing matrix ions.

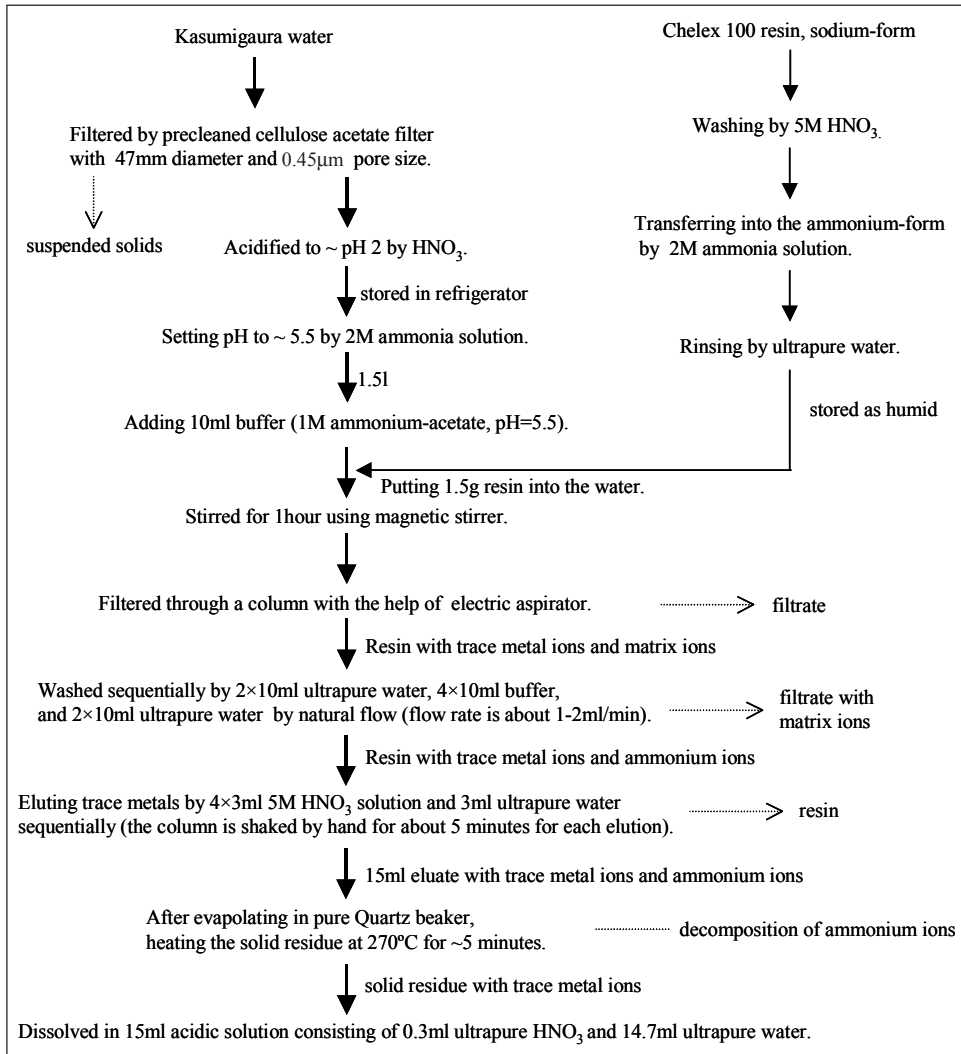


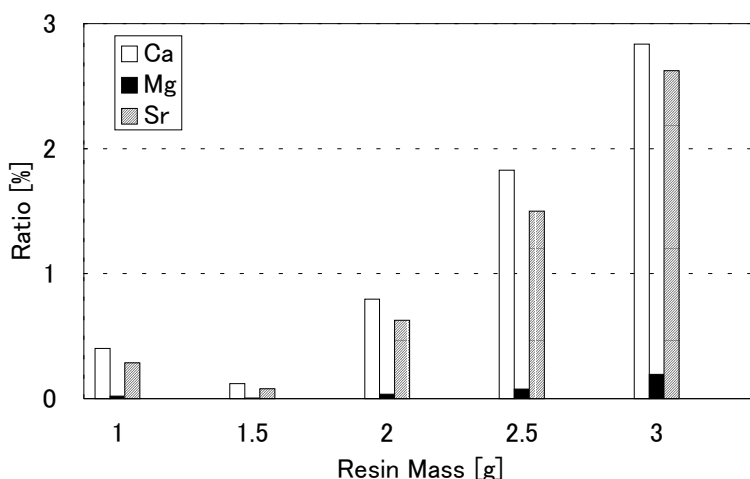
Fig.4 Flow of preparation of a sample solution.

ある。第三段階はカラム法によるキレート樹脂からの微量元素の溶出回収である。以下にその手順の詳細を示す (Fig.4)。

まず、冷蔵保存していた湖面水を2 Mアンモニア水によりpH約5.5に調整する。調整後、湖面水1.5 lに緩衝液10 mlを添加し、上述のように前処理した1.5 gのキレート樹脂を添加してスターラーで約1時間攪拌する。使用するキレート樹脂量と最終的に微量元素の溶出液中に残留する塩マトリックスイオンの量との関係を検討した結果 (Fig.5)、本研究で用いた機器等の条件では1.5 gが最適であるという結論に至った。

微量元素イオン及びマトリックスイオンが吸着したキレート樹脂を含む湖面水を、Advantec社製濾過ユニットに取り付けたBIO-RAD社製カラム(ポリプレップカラム)で





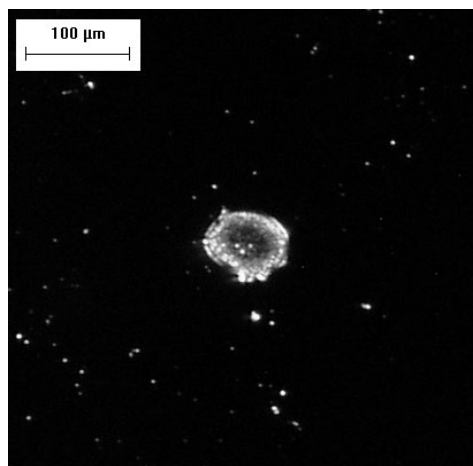
**Fig.5** Ratio of the matrix ions eluted after processing to that in the starting water. Only the mass of chelating resin is changed. After adsorption using the batch method, the resin is filtered by the column and washed by  $2 \times 10$  ml/ buffer solution (1 M ammonium-acetate, pH 5.5) and ultrapure water, and then the elution is performed by 3 M nitric acid. The measurements were performed by ICP-AES in Materials Analysis Station, NIMS.

アスピレータ加圧のもとに濾過してキレート樹脂をカラムに濾しとった後、カラム内に残ったキレート樹脂を10 ml/の超純水で二度洗浄し、10 ml/の緩衝液で四度洗浄し、さらに10 ml/の超純水で二度洗浄することによってキレート樹脂に吸着していた塩マトリックスイオンをアンモニウムイオンで置換して洗い流す。洗浄は自然落下法で行った。緩衝液での洗浄の回数は $\text{Na}^+$ に比べて置換するのが難しい $\text{Ca}^{2+}$ イオンを可能な限り取り除くために4回とした。事前の検討では5回以上の洗浄による顕著な効果はみられなかった。

次に、3 ml/の5 M 硝酸溶液をカラムに注いで約5分間手で振とうし微量元素の溶出液を回収する操作を四度繰り返し、最後に3 ml/の超純水で同様の操作をすることにより、キレート樹脂に吸着して残っている微量元素イオンを水素イオンで置換して溶出させる。この過程で得られる15 ml/の溶出液には塩マトリックスイオンの洗浄の際に交換したアンモニウムイオンも同時に溶出し、その高濃度の故に塩マトリックスイオンと同様の効果で液滴残滓の微小化を阻害する。それを防ぐため、溶出液を石英ビーカー中で蒸発させ、その残滓を270 ℃で約5分間加熱することによって硝酸アンモニウムを分解した後、0.3 ml/の超純硝酸と14.7 ml/の超純水を注いで残滓を溶解させて15 ml/の試料溶液を得る。

### 3.2 微小液滴残滓試料の作製

液滴残滓を保持する基板としては、希釈した超純硝酸で、超音波洗浄器を使用して



**Fig.6** Typical optical microscope image of a droplet residue from the Kasumigaura water processed by the use of the present preparation method.

洗浄したシリコンウエハ片（横 20 mm × 縦 14 mm）を用いる。シリコンウエハ表面はシリコン酸化物層で覆われていて親水性であるので、ここに水試料を滴下すると液滴は広範囲に広がってしまい、結果として乾燥後の液滴残滓のサイズも大きくなる。それを防ぐためには、シリコンウエハ表面を10分間フッ酸雰囲気さらして酸化物層を取り除き、疎水化する方法が有効である<sup>14)</sup>。デジタルディスペンサ（武蔵エンジニアリング社製 SPM-III）を用いて 0.1 μl の試料溶液を基板上に滴下したのち、50 のホットプレート上で乾燥させて残滓を析出させる。

以上の処理により、液滴残滓の平均的な直径は光学顕微鏡による観察で約 70 μm にまで小さくすることができた（Fig.6）。

#### 4. スペクトル測定および結果

スペクトル測定は、SPring-8のアンジュレータビームラインBL-40XUにローランド円半径100 mmのヨハンソン分光器を持ち込み、ピークエネルギー10 keV（ID Gap 10.8 mm）の準単色光を用いて行った。放射光のビームサイズは、約0.25 mm（水平）× 0.03 mm（垂直）であるが、水平方向については、試料上で液滴以外の部分への照射をできるだけ少なくするために幅0.03 mmのスリットを用いて制限し、約0.03 mm角のビームとして使用している。原理的には、集光光学系を用いて利用可能なフォトン数をさらに増やすことも可能である。測定装置の詳細は、他の論文<sup>15, 16)</sup>に記されている。

ビームライン実験ハッチ内に試料調製用クリーンブースと同様の二重構造のクリー

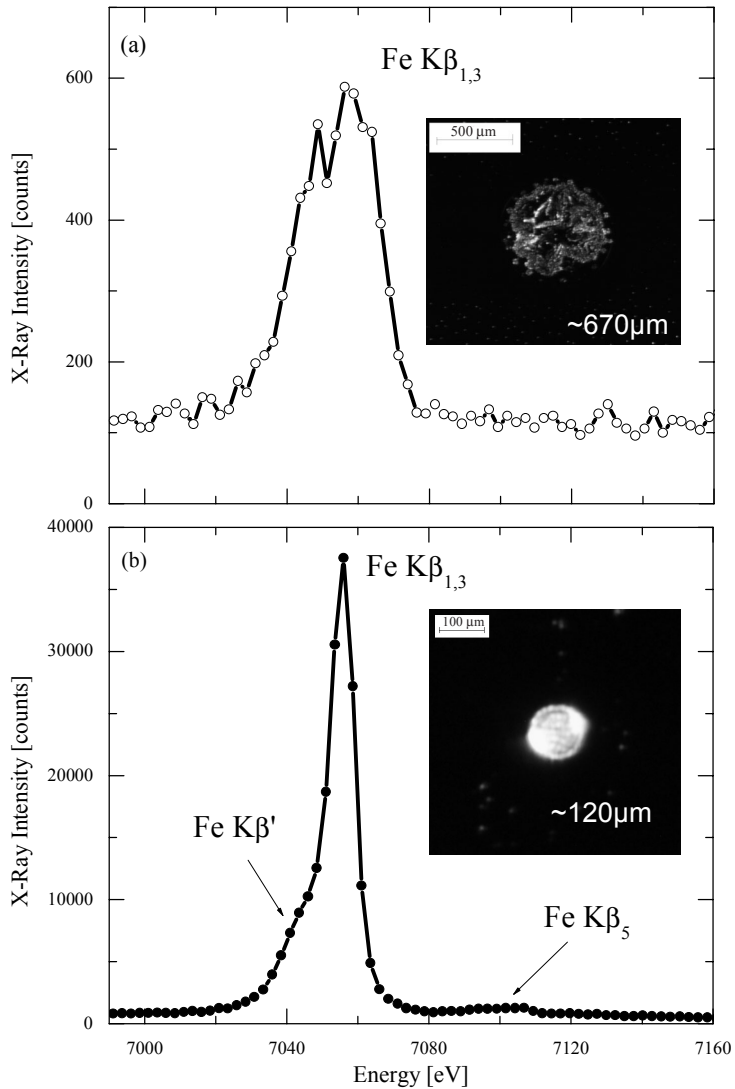


Fig.7  $Fe\ K\beta_{1,3}$  spectra of two kinds of sample solutions originating from Kasumigaura water and photographs of their droplet residues: (a) the water with salt matrix ions and (b) the water processed by the present preparation method.

ンブースを設置し,その中に分光器をセットアップする.分光器の試料室は真空排気可能であり,試料調製用のクリーンブース内で乾燥のおわった試料は,外気に触れないようにして即座に試料室内のホルダにセットされ,ビーム照射前に,真空排気した状態でさらに約10分間乾燥させる.

Fig.7に霞ヶ浦湖水0.1  $\mu l$ の液滴残留試料について測定した鉄の $K\beta_{1,3}$ スペクトルと当該試料の光学顕微鏡写真を示す.測定は1点あたり5秒で行った.(a)は塩マト

リックス成分の除去処理をしていない試料溶液のものである。ピーク強度が弱く、ピーク対バックグラウンド比は4倍にも満たない。Fe K $\beta_{1,3}$ での半値全幅が30 eV以上もあり、ピークも二つに割れている。写真からわかるように、このときの液滴残滓は直径がほぼ670  $\mu\text{m}$ にも達していた。また、表面に大きな凹凸があることも見て取れる(b)は上述の方法で塩マトリックス成分を分離除去した試料溶液のものである。こちらは、測定時間から考えると十分とはいえないまでも各元素の特性エネルギーを識別するのに十分な程度のピーク強度が得られている。ピーク対バックグラウンド比は40倍以上であった。(a)と比較するとピーク強度は60倍以上である。エネルギー分解能も許容できる範囲内にある(Fe K $\beta_{1,3}$ での半値全幅が10 eV以下を実現している)。また、化学状態識別に利用することのできるK $\beta'$ 及びK $\beta_5$ についてもその片鱗をみることができる。このときの液滴残滓サイズは120  $\mu\text{m}$ であった。70  $\mu\text{m}$ という目標サイズに達してはいないものの、形状はほぼ円形であり、表面の凹凸も光学顕微鏡写真では判別できない。これらの結果の比較から、塩マトリックス成分を除去することによる効果は一目瞭然である。

## 5. まとめと今後の展望

本研究の結果、上述のような市販のキレート樹脂を用いた簡便な分離処理で塩マトリックス成分を除去するだけでも、環境水のような高濃度の溶液にWD-TXRF法を適用できる可能性があることがわかった。しかし、上記の測定で検出できた元素は鉄、ニッケル、銅といった環境水中に存在の予想される微量金属にとどまり、希土類金属のような極微量元素の検出には至らなかった。一つの原因としては液滴残滓直径120  $\mu\text{m}$ が、入射ビームの縦方向のサイズ30  $\mu\text{m}$ の約4倍であることがあげられる。このため、5秒間の測定時間が必要になる程度の蛍光X線強度しか得られなかったと考えられる。また、塩マトリックス成分を除去して小さい液滴残滓サイズを実現することに主眼を置いて試料調製を行ったため、キレート樹脂による分離処理過程での極微量元素の回収率が十分でなかったことも原因の一つであると考えられる。実際にICP-AESで測定を行って調べたところでは、霞ヶ浦湖面水1.5 lに50 ppbのテルビウムを添加したものに上記の分離除去処理を施した結果、回収された量は添加量の30~50%でしかなかった。一般に、蛍光X線分析を行う場合には、採取した環境水に適当な元素を添加して内部標準とすることができるため、分離処理時の微量元素の回収率にはそれほど神経を使わなくてすむ。しかし、WD-TXRF法で実現しようとするような超微量分析においては、低い回収率は、検出不能という結果を導きかねない。したがって、試料処理においては、限りなく100%に近い回収率を実現することが必要不

可欠である。

以上のようにここで提案した処理方法はWD-TXRF法の可能性を確認するという意味では十分な成果を挙げた。次のステップとしては、塩マトリックス成分の除去率のさらなる向上と、分離処理の際に極微量元素を完全に回収できる方法の確立が必要である。塩マトリックス成分の除去率を向上させるためには使用する実験機器をも再考して、樹脂洗浄のために一回に使える液量を増やす等の試みも必要であろう。それによって、使用できる樹脂量も増える可能性がある。そうなれば、微量元素が吸着段階で取りこぼされる危険も減少すると考えられる。また、使用するキレート樹脂のサイズ、塩マトリックス成分の洗浄除去時の通液速度、微量金属を溶出させる際の液量等も最適化していく必要がある。もっと適したキレート樹脂の探索も必要であろう。例えば、WD-TXRF法の検出限界の低さを利用するならば、微量元素の濃縮の効果はあえて期待せず、不要なマトリックスイオンのみを選択的に吸着分離する方向も有望である。

## 謝 辞

本研究は日本学術振興会外国人特別研究員制度により行われた。波長分散型全反射蛍光X線スペクトルの測定は、SPring-8 BL40XUにおいて、実験課題2002B0147-NM-npおよび2003A0143-NS2-npにより行われた。実験に際し、お世話になった井上勝晶博士、八木直人博士に感謝いたします。

## 参考文献

- 1) R. Klockenkämper: "Total-Reflection X-Ray Fluorescence Analysis", (1997), (John Wiley & Sons, Inc., New York).
- 2) K. Sakurai, H. Eba, K. Inoue, N. Yagi: *Anal. Chem.*, **74**, 4532 (2002).
- 3) A. Prange: *Spectrochim. Acta*, **44B**, 437 (1989).
- 4) R. Van Grieken: *Anal. Chim. Acta*, **143**, 3 (1982) (日本語訳: 吉永 敦, 合志陽一, X線分析の進歩, **15**, 243 (1984)).
- 5) A. Knöchel, A. Prange: *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **306**, 252 (1981).
- 6) A. Prange, A. Knöchel, W. Michaelis: *Anal. Chim. Acta*, **172**, 79 (1985).
- 7) B. Hołyńska, B. Ostachowicz, D. Węgrzynek: *Spectrochim. Acta*, **B 51**, 769 (1996).
- 8) R. Härtel, J. Vehlow, J. Schneider: *Spectrochim. Acta*, **B 51**, 1647 (1996).
- 9) Q. Fan, Y. Gohshi: *Appl. Spectrosc.*, **47**, 1742 (1993).
- 10) P. Kump, M. Nečemer, M. Veber: *X-Ray Spectrometry*, **26**, 232 (1997).
- 11) 劉 家煒, 宇井倬二, 鎌田 仁, 合志陽一: 日本化学会誌, 1721 (1981).

- 12) S.-C. Pai, P.-Y. Whung, R.-L. Lai: *Anal. Chim. Acta*, **211**, 257, 271 (1988).
- 13) H. M. Kingston, I. L. Barnes, T. J. Brady, T. C. Rains, M. A. Champ: *Anal. Chem.*, **50**, 2064 (1978).
- 14) S. Kurunczi, K. Sakurai: *X-Ray Spectrometry* (in press).
- 15) K. Sakurai, H. Eba, K. Inoue, N. Yagi: *Nucl. Instrum. & Methods*, **A467-468**, 1549 (2001).
- 16) 桜井健次: *X線分析の進歩*, **35**, 201 (2004).