

波長分散型蛍光 X 線分析装置による 植物体化学組成分析の試み

上野 振一郎*・小野 森 弘*・杉谷 健一郎*

(2010年11月5日受付, 2011年4月22日受理)

Analysis of plant samples by wavelength dispersive X-ray fluorescence spectrometer

Shinichiro UENO*, Morihiko ONO* and Kenichiro SUGITANI*

* Department of Environmental Engineering and Architecture,
Graduate School of Environmental Studies, Nagoya University
Chikusa, Nagoya 464-8601, Japan

A wavelength dispersive X-ray fluorescence spectrometer has been widely used for elemental analyses in the field of earth and soil sciences. In the present study, this instrument was applied to the quantitative analysis of some major (Mg, Ca, K, P, Al, Na) and minor elements (Mn, Fe, Ba, Cr, Cu, Ni, Pb, Sr, Zn) in vegetation specimens. Standard samples for calibration were prepared by mixing geochemical reference rock samples with some reagents. Samples were melted with lithium tetraborate to prepare glass bead. Vegetation samples (*Chamaecyparis obtuse*, *Phragmites australis*, litter and reference materials) were heated at 400°C for 4 hours in advance. We used D (Deviation) value $\{(\text{Measured value}) - (\text{Certified value}) / (\text{Certified value}) \times 100$ - to check the accuracy with certified reference vegetation materials, NIST1547 (Peach Leaves) and NIST1573a (Tomato Leaves). The D values of major elements except for Na, and those of minor elements such as Fe, Ba and Sr were within $\pm 10\%$. The results of Ca and K were satisfactorily precise considering that their D values were within $\pm 5\%$. The method proposed here can be reliably applied to analysis of vegetation species, and even complicated materials composed of litters and minerals in the soil horizon.

Key words: WDXRF, vegetation, elemental analysis, ashing, accuracy

1. はじめに

植物試料の化学組成分析は、生物学的見地ばかりではなく環境汚染の実態把握などの面においても重要であるとして、以前からその確立が進められてきた(野中ほか, 1981)。今日ではファイトレメディエーションや野菜の産地判別法に関する研究でも植物化学組成分析が行われており、ICP 発光分光分析装置や原子吸光分析装置が用いられることが多い。これらの方法

は高感度であり、試料の量も少なく済む一方、試料を液化しなければならないため、硝酸やフッ化水素酸等を用いて試料を分解するという危険で煩雑な前処理が必要である。また、ケイ素を多量に含む物質ではアルミニウムの分析精度が下がることや (Carvajal *et al.*, 2010)、試料を液化する過程で試料溶液中のケイ素が不溶化する場合があります、ケイ素の濃度分析自体も精度が悪くなってしまうという報告もある(秋山ほか, 2010)。

そこで本研究では波長分散型蛍光 X 線分析装置を用いて酸分解をせず植物の化学組成を分析する手法を試みた。蛍光 X 線分析は ICP 発光分光分析に比べて

* 名古屋大学大学院環境学研究科都市環境学専攻
〒464-0816 愛知県名古屋市千種区不老町

感度は劣るものの、多元素同時分析や迅速な分析が可能である点では共通しており、前処理が比較的容易であるという利点もある（大高ほか，2009）。試料を液化する必要もないので、先述した酸分解の際に懸念される不溶性物質の問題も生じない。蛍光X線分析法は岩石、土壌の分析法として定着しているものの、植物体の分析法としては未だ定着していない。しかし前述した湿式分析法の問題点を理由に、本法の植物体分析への応用例は1950年代の後半には既に見出され、わが国においても1960年代に入ると分析例が報告されるようになった（山崎，1982）。近年では波長分散型蛍光X線分析装置を用いた Margui *et al.* (2005) や波長分散型及びエネルギー分散型の両方の蛍光X線分析装置を用いた Queralt *et al.* (2005) によって、本法は植物体分析にも有効であることが報告されている。

蛍光X線の分析における定量法として代表的なものには検量線法とファンダメンタルパラメータ法がある。X線強度から濃度を理論的に推定するのがファンダメンタルパラメータ法であるが（Queralt *et al.*, 2005），この方法は検量線法に比べ正確さが劣るといわれている（表ほか，1995）。Margui *et al.* (2005) はセルロースに試薬を加えて植物試料と類似したマトリックスを持つ標準試料を作成し、これらから得た検量線の有効性を報告している。これらの研究ではいずれも粉末プレス法を用いている。粉末プレス法は測定試料の作成が迅速にできる利点があるものの、粒径効果や鉍物効果が避けられず、正確度がガラスビード法に比べて劣ることが多いという指摘もある（柚原ほか，2004；高瀬・長橋，2007）。

これらのことを考慮し、本研究ではガラスビード試料を用いた検量線法によって、植物体試料の分析を行うこととした。この方法はこれまで蛍光X線分析による植物体試料の分析に用いられてこなかった。しかしガラスビード法は先述した粒径効果、鉍物効果を取り除くことができるため、少なくとも試料中元素のX線強度に関してはより正確な分析が可能である（本間，2005）。また、ガラスビード作成の前に有機炭素を燃焼揮散させるが、この過程により、揮散せずに残った無機元素濃度が大幅に増加する。試料と融剤の混合比によってはこれらの元素の蛍光X線強度が上がるため、分析の正確度も向上すると考えられる。

本研究では検量線法を用いるため複数の標準試料を

準備する必要がある。灰化植物の主要成分は岩石のものと類似しているので（Larcher, 2001），その検量線は、植物標準試料の代わりに既存の岩石標準試料を用いて作成できるはずである。本法による植物体試料の分析が可能となれば、土壌の研究を行う場合に、一台の機器で土壌、岩石、そして落葉落枝（リター）の一連の化学組成分析が行えることになる。土壌には有機物を30%以上含むものもあるが、その有機物は主にリターからもたらされる（Bot and Benite, 2005）。そのため、リター中の無機成分濃度が土壌の化学組成に与える影響も大きい。これまでこれらの分析を行っている研究は見られるものの、いずれもリターを含む植物体試料についてはICPやAASを用いており（Galuszka, 2005; Lee *et al.*, 1998），本法の確立によって土壌研究のさらなる進展が期待できる。

2. 実験方法

実験の流れは以下の通りである。まず地質調査所発行の岩石標準試料に市販の試薬を添加して調製した標準試料を用いて検量線を作成する。次に灰化に適切な燃焼温度、時間を決定する。その後、灰化過程を経てガラスビードに成型した植物標準試料を分析し、認証値と定量値を比較する。対象の元素は、炭素、水素、窒素、硫黄、酸素を除く植物体中の主成分元素（マグネシウム、カルシウム、カリウム、リン、アルミニウム、ナトリウム）、微量元素（マンガン、鉄、バリウム、クロム、銅、ニッケル、鉛、ストロンチウム、亜鉛）である。

2.1 検量線作成用標準試料の調製

乾式灰化した植物の化学組成のデータは多くの先行研究で挙げられているので（Larcher, 2001; 寺島ほか，2004），これらの濃度範囲を調べ、岩石標準試料に市販の試薬を混合して範囲を調整した。用いた岩石標準試料は地質調査所発行のJA-2, JA-3, JB-1, JB-1a, JG-1a, JG-2, JG-3, JSI-2, JSd2, JSd3, JCh-1であり、これらに二酸化ケイ素、リン酸2水素カリウム、リン酸カルシウム、炭酸ナトリウム、炭酸マグネシウム、炭酸カルシウム、マンガンを混合し濃度を調整した。岩石標準試料及び市販試薬はいずれも105°Cで24時間以上乾燥させた後、デシケータ内で放熱してから秤量を行った。各元素の濃度範囲をTable 1に示す。この合成粉末試料0.5 gと4ホウ酸リチウム3.5 gの計4.0 gをよく混合し、ビードサンプラー（東京科学株式会社製ビード&ヒューズサンプラ

Table 1 Ranges of element concentrations in standard samples for calibration curve (for analysis of heated specimens).

Element	Minimum value	Maximum value
Mg ^a	0.011	5.86
Ca ^a	0.0319	60.07
K ^a	0.183	14.72
P	7.86 ^b	11.39 ^a
Al ^a	0.386	8.782
Na ^a	0.0225	9.58
Fe ^a	0.248	7.43
Mn	55.1 ^b	1.26 ^a
Ba ^b	41	1029
Cr ^b	2.24	399
Cu ^b	0.25	904
Ni ^b	1.43	140
Pb ^b	1.17	121
Sr ^b	4.2	444
Zn ^b	4.46	1665

^a Concentrations are expressed as weight percentage(%).

^b Concentrations are expressed as mg/kg.

TK4100型)で攪拌操作も含めた高温溶融を2回行ってガラスビードを作成した。予備加熱は750°Cで2分行い、その後1200°Cの高温溶融を行った。1回目の溶融は試料の溶融状態を見ながら4~6分、2回目は4分で繰り返して行った。なお、白金坩堝からビードを取り出すことが容易であったため、ビードを作成する際に剥離剤は用いなかった。

2.2 乾式灰化条件による植物試料化学組成の変化

ガラスビードの作成に際し試料溶融容器として白金坩堝を用いるため、その前にできるだけ試料中の有機物を取り除く必要がある。植物体は大部分が有機物で構成されており、炭素は80%以上含まれていることが多い。有機物は325°Cで揮散が起こるといわれているため (Rowell, 1994), 400°C以上の強熱処理が望ましい。乾式灰化は先章で述べた長所を持つ反面、灰化に伴う元素の揮散損失などの問題もある (野中ほか, 1981)。そこで様々な温度、時間条件で植物試料を乾式灰化させ、強熱減量の変化や無機成分化学組成の変化を調べた。乾式灰化に用いる試料と磁性皿を105°Cで24時間以上乾燥させてから、秤量した12gの試料を磁性皿に入れて均質に広げた。磁性皿を構成する磁器の成分はSiO₂が48%, Al₂O₃が46%であり、その釉薬の成分はSiO₂が77%, Al₂O₃が13%である。その後、電気マッフル炉 (ADVANTEC 製 KM-100)

を用いて燃焼させた。その結果得られた灰化試料を、2.1で述べた標準試料と同じ手順に従ってガラスビードを作成することとした。ガラスビード作成に際し、硫化物の多い試料は白金坩堝を傷めることが知られているが、硫黄はある程度高温により揮散する。そのため予備実験として800°C, 600°C, 400°Cの各条件で4時間以上乾式灰化したヒノキ (*Chamaecyparis obtuse*) の葉及び落葉落枝の粉碎試料について、燃焼温度が高かったものから順に坩堝を用いた高温溶融を行った。その結果、いずれの条件においても坩堝に明確な損傷が見られなかったため、本実験でも燃焼温度は400°C以上、燃焼時間は4時間以上という条件で処理を行うこととした。昇温速度は200°C/(時間)であり、定温燃焼後に100°Cで1時間の放冷を行った。

試料の種類による違いも考慮に入れるため、この実験にはヒノキ (*Chamaecyparis obtuse*) の葉、ヨシ (*Phragmites australis*) の茎と葉、広葉樹林帯の落葉落枝 (Litter) を用いた。これらの試料をそれぞれ試料 A, B, C とする。試料は脱イオン水ですばやく洗浄した後、80°Cで24時間以上乾燥させ、その後にミキサー及び臼式粉碎機で粉碎した。ミキサーには株式会社 TESCOM 製フードミル TML180を、臼式粉碎機には電動式のパナソニック株式会社製家庭用臼式お茶粉末器 EU6820P, 及び手動式のジャパンポー

Table 2 WDXRF conditions used in the scanning mode (standard measuring conditions).

Element	Line	Crystal	Collimator	Detector	kV	mA	Time (sec)
Mg	K α	PX1	700 μ m	Flow	32	125	30
Ca	K α	LiF 200	150 μ m	Flow	32	125	30
K	K α	LiF 200	150 μ m	Flow	32	125	30
P	K α	Ge 111	700 μ m	Flow	32	125	40
Al	K α	PE 002	700 μ m	Flow	32	125	30
Na	K α	PX1	700 μ m	Flow	32	125	30
Fe	K α	LiF 200	150 μ m	Duplex	60	66	30
Mn	K α	LiF 200	150 μ m	Duplex	60	66	30
Ba	L81	LiF 200	150 μ m	Duplex	50	80	50
Cr	K α	LiF 200	150 μ m	Duplex	50	80	50
Cu	K α	LiF 200	150 μ m	Duplex	60	66	50
Ni	K α	LiF 200	150 μ m	Duplex	60	66	50
Pb	L81	LiF 200	150 μ m	Scint.	60	66	50
Sr	K α	LiF 200	150 μ m	Scint.	60	66	50
Zn	K α	LiF 200	150 μ m	Scint.	60	66	50

レックス株式会社製セラミックお茶ミルを用いた。粒径が2 mm 以下の試料（粗粒試料）と250 μ m 以下（細粒試料）の試料に同じ処理及び分析を行い、粒径の違いによって強熱減量と化学組成にどの程度の差異が表れるかを比較した。ヨシ試料は均質試料を二つに分けて粗粒試料と細粒試料を用意したが、ヒノキと落葉落枝試料については処理途中で試料が不足したため、同種類の別の試料を用いた。したがって、同一試料における粒径の影響を正しく評価できるのはヨシ試料のみであり、他の2種の結果は参考値にとどまることを述べておく。

2.3 ガラスビード作成による元素損失

約12分から15分という短時間であるとはいえ、ガラスビードを作成するための溶融温度は1200°Cと高温であり、この過程で元素が揮散損失する可能性も十分に考えられる。ガラスビード試料は温度や湿度によって変質するため、長期保存していた場合は実際の分析前に再溶融を行うことが多い。もし数回の溶融過程で元素が揮散すると正しい分析が行えなくなる。高温溶融過程での元素損失を調べるため、一度作成したガラスビードを同じ条件で5回繰り返して測定し、元素濃度の差異を調べた。

2.4 植物標準試料の乾式灰化実験

2.1及び2.2によって求めた条件に従って植物標準試料を灰化させ、ガラスビード化した試料を分析した。正確度確認用の植物標準試料にはNIST (National Institute of standards and Technology USA) 発行のNIST1547 (Peach Leaves) とNIST1573a (Tomato Leaves) の2種を用いた。

2.5 蛍光X線分析装置の分析条件

試料の化学組成分析には波長分散型蛍光X線分析装置 (Panalytical 製 Axios-N システム) を用いた。本機にはロジウム管球、4つの分光結晶 (LiF 200, PE 002, PX 1, Ge 111), そして3つの検出モード (Scintillation, Duplex, Flow) が備え付けられている。自動ピークサーチを使用してピーク角度及びバックグラウンド角度の設定を行なった。分光結晶と検出モードはこれらの角度に対応して設定した。以上の分析条件を Table 2 に示す。バリウム、鉛のピークが最大に出るのは共にL α 線であるが、バリウムのL α 線の近くにはチタンのK α 線が、鉛のL α 線の近くにはヒ素のK α 線が存在する。したがってこの2元素の定量分析にはL β 1線を用いた。

3. 結果及び考察

3.1 検量線の直線性及び元素の検出限界値

3.1.1 検量線の直線性 以下に述べるマトリックス補正を行うことによって検量線がより直線性を示すようになり、より正確度の高い分析を行えることが知られている (山本・森下, 1997; Brouwer, 2006)。

試料中で発生した蛍光X線は、試料表面に出てくるまでに周囲の共存元素に吸収されると同時に、共存元素の蛍光X線によって二次的に励起される。この吸収及び励起効果によって、X線強度が変化する現象はマトリックス効果と呼ばれている。これを補正するための計算は分析器に付属のプログラム (SuperQ 4.0L) によって行った。

マトリックス補正の有無による検量線の直線性につ

いてはシグナル強度と濃度の相関係数 R^2 を用い、マトリックス補正後の濃度を用いて算出された値から評価した。Table 3 に結果を示す。これによると、補正により各元素の R^2 が高くなり、プロットがより直線状に配列することが確認できた。微量元素のニッケル、鉛の R^2 が低い値となっているが、鉄、マンガン、銅、亜鉛に関してはマグネシウムやカリウムよりも高い値となり、主成分元素とほぼ同程度にプロットのばらつきが小さいことが分かる。 R^2 が最も高い値となったアルミニウムと最も低い値となったニッケルの検量線を Fig. 1 に示す。Table 3 には検量線作成に用いた試料数 n も載せている。 n の値が一致していないのは、付属のソフトウェアの基準に基づき各元素について線状分布群から大きく外れている試料のプロットを除外したからである。また、炭酸カルシウムを用いて作成した試料のプロットはストロンチウムの線状分布群から大きく外れるため、7 試料全てを除外した。

3.1.2 元素の検出限界値 機器分析を行う時にはその検出限界値を把握しておく必要がある。検出限界値を算出する方法には実測法と理論計算法があるが、本研究では実測法を用いた。この方法では、まず元素濃度が低い標準試料を用いて検量線を作成する。そしてその元素濃度が 0% あるいはこれに近い試料について単純 10 回繰り返し再現性実験を行い、その標準偏差の 3 倍を検出限界値とする (西壁, 2005)。鉄、マンガン、バリウム以外の微量元素については濃度が 20

mg/kg 未満の試料 5 個以上を用いて検量線を作成した。主成分元素、鉄、マンガン、バリウムについてはいずれも 20 mg/kg 未満の試料が 5 個未満であったため、濃度が小さい順に 5 試料を選んで用いた。この検量線の作成に用いた元素の濃度範囲と試料数 n を Table 4a に、検出限界値を Table 4b に示す。検量線作成に用いる標準試料の数が異なるだけであり、他の条件は Table 2 と同じである。

検出限界値は原子番号が 20 以下の元素と 20 より大きい元素で差が表れた (Table 4b)。アルミニウムとリン以外は 20 mg/kg 以上となり、中でも Na は 250 mg/kg になった。これらの元素の検量線作成に用いた標準試料の濃度が比較的高かったことも原因の一つだが、ほぼ同じ条件の鉄の値は 9 mg/kg となった。ナトリウムやマグネシウムのような軽元素は重元素よりも蛍光 X 線強度が弱く (Margui *et al.*, 2005)、低濃度試料の強度検出が困難であることが大きな原因であると考えられる。鉄やマンガンよりも低い濃度範囲の標準試料を用いたバリウムも 148 mg/kg という高い値となった。これはチタンの X 線強度の干渉を避けるために、ピークが最大となる $L\alpha$ 線ではなく $L\beta$ 線の強度を分析対象としていることが原因と思われる。同じく $L\beta$ 線を用いて分析した鉛も比較的低濃度の標準試料を用いて検量線を作成したが、クロムやニッケルよりも 2 倍以上高い検出限界値となった。

Table 3 Calibration data for vegetation matrices.

Element	n	R^{2c}	Normalized R^2
Mg ^a	26	0.9978	0.9983
Ca ^a	25	0.9963	0.9993
K ^a	26	0.9985	0.9985
P ^a	24	0.9987	0.9989
Al ^a	25	0.9995	0.9997
Na ^a	22	0.9978	0.9979
Fe ^a	24	0.9906	0.9989
Mn ^a	22	0.9973	0.9994
Ba ^b	24	0.9852	0.9951
Cr ^b	23	0.9912	0.9973
Cu ^b	21	0.9973	0.9990
Ni ^b	26	0.9747	0.9934
Pb ^b	22	0.9925	0.9941
Sr ^b	18	0.9941	0.9970
Zn ^b	21	0.9987	0.9989

^a Concentrations are expressed as weight percentage(%).

^b Concentrations are expressed as mg/kg.

^c R means correlation coefficient.

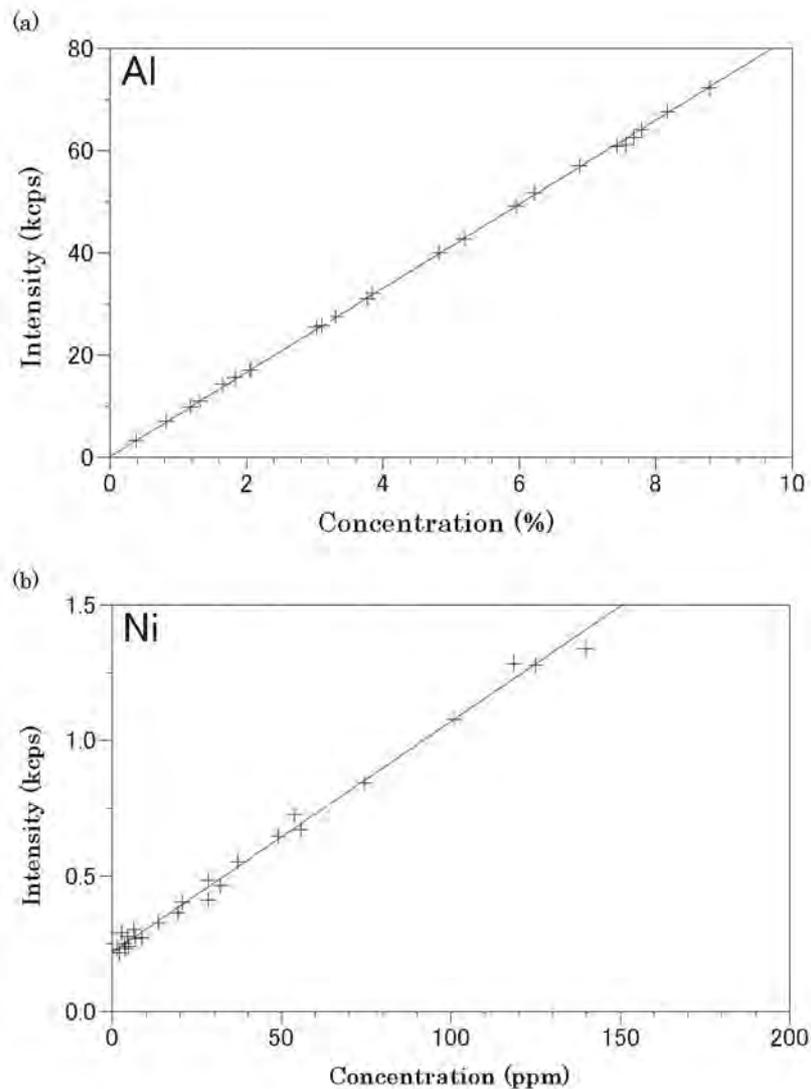


Fig. 1 Calibration curves of Al (a) and Ni (b).

3.2 試料作成過程における化学組成の変化

3.2.1 乾式灰化条件と植物化学組成の変化 灰化過程において500°Cまで温度を上げると磁性皿が変色し、700°Cで試料の一部が蒸発皿に付着した。野中ほか(1981)は植物試料を200~800°Cまでの様々な温度で24時間灰化を行い元素の損失について調べ、450°Cでカリウム、銅の損失が、600°Cでナトリウム、マグネシウム、鉄の損失が生じていることを示した。そこで本研究では400°Cでの灰化を採用した。次に燃焼温度を400°Cに設定して、燃焼時間を4時間、8時間、12時間の三段階に変えて処理をした各々の試料の強熱減量率と化学組成を調べた。強熱減量率の結果をTable 5に、化学組成の結果をTable 6に示す。

分析値の違いはRSD (Relative Standard Devia-

tion)によって評価した。その結果、灰化時間の違いによる強熱減量率の値に大きな差は見られなかったため、4時間で十分に有機物の揮散が行われたと判断した。また、燃焼後に少量の有機物が残っていたとしても白金坩堝を激しく傷めるほどではないことも分かった。

化学組成については、検出限界を下回ったAの粗粒・細粒両試料中のナトリウム及びCの粗粒試料中のナトリウムを除き、灰化時間の違いによる主成分元素濃度の大きな差は見られなかった (Table 6a)。これら主成分元素のほとんどと鉄、マンガ、ストロンチウム、亜鉛はRSDが5%を下回った。B及びCの細粒試料については主成分の多くが1%を下回り、微量元素についてもBで4元素、Cで3元素が1%を下回

Table 4 Calibration data for lower limit of detection (LLD) (a), and lower limit of detection (LLD) (b).

(a)				(b)	
Elements	n	Minimum value	Maximum value	Elements	LLD ^b
Mg ^a	5	0.011	0.16	Mg	20
Ca ^a	5	0.0319	0.66	Ca	37
K ^a	5	0.183	1.07	K	32
P	5	7.86 ^b	0.036 ^a	P	10
Al ^a	5	0.386	1.65	Al	12
Na ^a	5	0.0225	0.394	Na	250
Fe ^a	5	0.248	0.611	Fe	9
Mn ^b	5	55.1	303	Mn	14
Ba ^b	5	41	104	Ba	148
Cr ^b	5	2.24	17.6	Cr	4
Cu ^b	8	0.25	15	Cu	9
Ni ^b	5	1.43	19.4	Ni	9
Pb ^b	8	1.17	18.5	Pb	18
Sr ^b	6	4.2	16	Sr	5
Zn ^b	5	4.46	14.6	Zn	3

^a Concentrations are expressed as weight percentage(%).

^b Concentrations are expressed as mg/kg.

Table 5 Loss on ignition (%) for three vegetation specimens.

Coarse specimens				
Time (hour)	4	8	12	RSD
Sample A (<i>Chamaecyparis obtuse</i>)	95.4	95.6	95.3	0.17
Sample B (<i>Phragmites australis</i>)	94.2	94.4	94.2	0.14
Sample C (Litter)	89.5	89.4	89.3	0.15
Fine specimens				
Time (hour)	4	8	12	RSD
Sample A (<i>Chamaecyparis obtuse</i>)	92.6	93.0	93.0	0.27
Sample B (<i>Phragmites australis</i>)	94.5	94.5	94.5	0.039
Sample C (Litter)	79.0	79.4	79.6	0.43
3 same fine specimens ignited for 4h				
Sample number	1	2	3	RSD
Sample A (<i>Chamaecyparis obtuse</i>)	92.7	92.5	92.5	0.15
Sample C (Litter)	79.0	78.8	79.0	0.12

る良好な結果となった。ヒノキの葉を分析したAについては粗粒試料と細粒試料で特に差が見られなかったが、ヒノキの葉の試料が同一でなかったことがその原因と考えられる。AとCの細粒試料についてはそれぞれ同一試料を3つ用意して4時間の燃焼灰化を行い、値のばらつきも測定した (Table 6b)。この結果、燃焼時間によって化学組成に明確に差が表れたが、粒径を細かくすることでこの差が小さくなることも確認

できた。

3.2.2 ガラスビード作成による元素損失 2回の高温溶融を行って成型した状態を1回目として、その後750°Cで2分間の予備加熱、1200°Cで4分間の高温溶融という条件で4回の溶融と分析を行った。試料には試料Bとは別のヨシ粉碎物を用いた。結果をTable 7に示す。主成分元素及びストロンチウム、亜鉛についてはRSDが1%を下回り、大きな差は見ら

Table 6 The RSD values resulted from elemental concentrations for three vegetation specimens. (a) between specimens ignited for 3 different time (n = 1), (b) between 3 specimens ignited for 4 h.

	Sample A (<i>Chamaecyparis obtuse</i>)			Sample B (<i>Phragmites australis</i>)		Sample C (Litter)		
	Coarse	Fine		Coarse	Fine	Coarse	Fine	
	(a)	(a)	(b)	(a)	(a)	(a)	(a)	(b)
Mg	2.5	3.5	2.1	3.0	0.30	2.1	1.3	1.1
Ca	3.6	3.6	1.9	2.9	0.15	1.7	0.83	0.14
K	3.2	3.6	1.9	2.2	0.53	1.6	0.86	0.27
P	3.0	3.6	1.9	2.6	0.31	1.7	0.40	0.17
Al	5.3	3.1	2.1	2.1	1.1	1.4	0.25	0.60
Na	-	18	16	2.3	0.41	-	2.2	3.7
Fe	4.6	3.7	1.9	2.2	1.0	1.2	0.86	0.15
Mn	2.2	3.6	2.0	3.0	0.56	1.7	0.78	0.53
Ba	8.5	53	45	18	17	6.8	8.5	9.6
Cr	5.1	6.9	24	0.9	1.3	2.5	2.8	1.5
Cu	21	1.0	6.4	4.7	12	5.4	20	21
Ni	3.7	7.2	24	1.8	2.7	2.9	3.2	11
Pb	13	102	57	12	26	4.2	10	9.7
Sr	2.5	3.8	2.4	2.7	0.28	3.5	0.73	0.91
Zn	3.1	4.5	3.3	24	1.0	1.1	2.3	1.2

Table 7 Comparison of the results of 5 fusion and measurements on the same bead.

Round	1	2	3	4	5	RSD
Mg ^a	0.97	0.97	0.97	0.98	0.98	0.30
Ca ^a	1.23	1.24	1.25	1.25	1.26	0.76
K ^a	5.46	5.46	5.48	5.49	5.50	0.32
P ^a	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.24
Al ^a	1.71	1.72	1.71	1.72	1.73	0.43
Na ^a	2.75	2.75	2.76	2.75	2.76	0.29
Fe ^a	1.09	1.09	1.09	1.09	1.09	0.25
Mn ^a	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.59
Ba ^b	211	132	156	238	218	23
Cr ^b	192	184	192	190	195	2.3
Cu ^b	80	76	82	81	83	3.4
Ni ^b	84	87	85	86	87	1.7
Pb ^b	17	18	20	19	20	5.6
Sr ^b	127	126	125	126	125	0.68
Zn ^b	382	383	386	387	388	0.69

^a Concentrations are expressed as weight percentage(%).

^b Concentrations are expressed as mg/kg.

れなかったが、バリウムについては23%という高い値となった。理由は分からないが、2回目の溶融で値が下がっているのに対し、4回目と5回目では元の濃度に近くなったため、揮散が原因ではないだろう。溶融過程で充分均質化されていないことが原因であるかもしれない。もしそうであるならば攪拌溶融時間を長くすることで精度が向上すると思われる。他の多くの

元素は繰り返し溶融作業に対して安定であった。

Fig. 2に灰化時間の違いによる RSD 値と繰り返しの加熱溶融による RSD 値を合わせたグラフを示す。このグラフから分かるように、一度ガラスビードが成型された後は高温溶融による元素の揮散は顕著ではなく、1000°C以上の高温であっても時間が20分ほどであれば影響はほとんどないと見てよい。

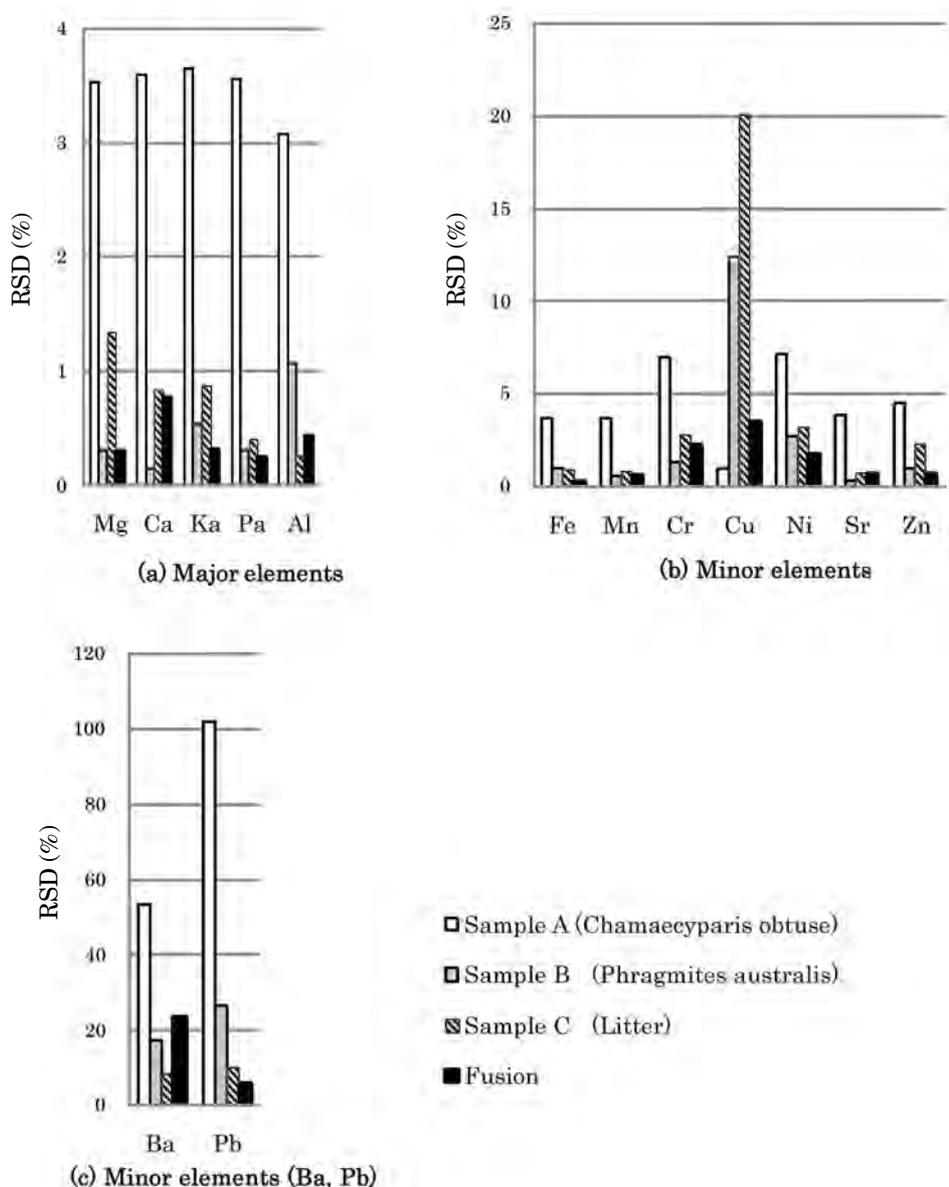


Fig. 2 Comparison of the results of ignition measurements on different three times (n = 1 in each time) and of 5 fusion measurements on the same sample, for three specimens. (a) major elements, (b) minor elements and (c) Ba, Pb.

3.3 植物標準試料の分析

3.3.1 認証値と定量値の比較 強熱減量に基づいて

強熱前の化学組成に換算した後、下記の式を用いて定量値と認証値のずれ (D: Deviation) を算出し、分析値の正確度を確認した。結果を Table 8 に示す。この表には分析値 (Ash) とこれらを強熱前の状態に換算した値 (Calculated), 及び認証値と D 値を載せている。

$$D(\%) = \frac{(\text{定量値} - \text{認証値})}{(\text{認証値})} \times 100$$

ナトリウム以外の主成分、鉄、バリウム、ストロンチウムは植物標準試料 NIST1547 (Peach Leaves) と NIST1573a (Tomato Leaves) の2種について D 値が ±10% 以内であった。但し、バリウム及びストロンチウムは分析試料における濃度が検量線の濃度範囲を超えている。マグネシウム、カルシウム、カリウムについて述べると、NIST1547 でマグネシウムの D

Table 8 Concentrations obtained and loss on ignition (L. O. I) for the certified reference material NIST1547 (Peach Leaves) and NIST1573a (Tomato Leaves) by using WDXRF quantitative method.

	NIST1547 (n=1)				NIST1573a (n=1)			
	Measured value		Certified value	D(%)	Measured value		Certified value	D(%)
	Ash	Calculated			Ash	Calculated		
Mg ^a	5.01	0.458	0.432	5.95	5.49	1.21	1.2	1.2
Ca ^a	16.96	1.55	1.56	-0.64	23.93	5.29	5.05	4.74
K ^a	26.52	2.42	2.43	-0.24	12.70	2.81	2.70	3.96
P ^a	1.52	0.139	0.137	1.34	1.07	0.235	0.216	9.02
Al ^a	0.28	0.025	249 ^b	2.3	0.29	0.063	598 ^b	5.9
Na ^a	0.27	0.025	24 ^b	930	n.d	-	136 ^b	-
Fe ^a	0.26	0.024	218 ^b	9.7	0.16	0.036	368 ^b	-3.0
Mn ^a	0.12	0.011	98 ^b	7.8	0.13	0.028	246 ^b	14
Ba ^b	1299 ^d	119	124	-4.24	258	57.0	63	-9.6
Cr ^b	19	1.7	1 ^c	73	14	3.0	1.99	52
Cu ^b	26	2.3	3.7	-37	17	3.7	4.70	-21
Ni ^b	9	0.8	0.69	14	<9	1	1.59	-23
Pb ^b	<18	-	0.87	-	<18	-	-	-
Sr ^b	621 ^d	56.8	53	7.1	418	92.3	85	8.6
Zn ^b	129	11.8	17.9	-34.2	96	21	30.9	-31
L.O.I	90.9				77.9			

"Ash" means the samples heated at 400°C for 4 hours, and "Calculated" means the original values we guess by L.O.I.

^a Concentrations are expressed as weight percentage(%).

^b Concentrations are expressed as mg/kg.

^c Reference value.

^d Value overs range of standard samples.

n.d: not detected.

値が+5.95%となったが、それ以外では±5%以内であり、本研究で示した検量線の正確度が確認できた。炭素、水素、酸素を除くとマグネシウム、カルシウム、カリウムは植物の中でも比較的多量に含まれており、植物の成長にも深く関わるため着目される元素である(井田, 1997; 後藤, 2006)。本研究でこれらの元素について良好な結果が得られたことは意義が大きい。3元素とも本研究で対象としている元素の中では濃度が高いことが正確さの要因として挙げられるが、マンガンについては NIST1573a の方が NIST1547 よりも濃度が高いにも関わらず D 値も高かった。

主成分元素であるナトリウムの D 値は NIST1547 で930%と非常に高い値となった。認証値が24 mg/kg であるため、この標準試料の灰化後濃度は263 mg/kg になるが、定量値はその10倍以上となった。また、NIST1573a の灰化後のナトリウム濃度は615 mg/kg であるが、正味の強度が検出されなかった。既に述べたように、軽元素は同濃度の重元素よりも蛍光 X 線強度が弱いので、低濃度における正確な定量ができな

かったと考えられる。本方法によるナトリウムの定量については検討を要する。

植物の必須元素であるリンは、NIST1547では D 値が+1.34%と非常に良い結果が得られたが NIST 1573a では+9.02%となった。NIST1547で+9.7%となった鉄及び NIST1573a で+14%となったマンガと同様、定量方法について検討の余地が残る。

バリウムは両標準試料について D 値が±10%以内と良好な結果であった。しかし灰化実験 (Table 6) と溶融実験 (Table 7) の結果も考えると精度が高いとはいえない。したがってバリウムの精度の向上を試みる場合、溶融過程におけるバリウム定量値の変化が小さくなる方法をまず始めに見つけなければならない。

クロム、銅、ニッケル、鉛はいずれの元素も認証値と定量値のずれが大きかった。しかしクロム、ニッケルについては検量線の直線性 (Table 3)、灰化時間 (Table 6)、溶融時間 (Table 7) の実験結果から、濃度が高ければナトリウムと同様に正確度も向上する

と思われる。本研究で用いた標準試料の濃度はクロムが NIST1547 で 1 mg/kg, NIST1573a で 1.99 mg/kg であり、灰化後の濃度に換算しても 10 mg/kg 及び 9.00 mg/kg と低濃度である。ニッケルも NIST1547 で 0.69 mg/kg, NIST1573a で 1.59 mg/kg であり、灰化後の濃度に換算しても 7.2 mg/kg 及び 5.53 mg/kg と低濃度である。このことが D 値を大きくする原因といえる。先述したようにマンガンは濃度が高い標準試料で D 値が大きいくという結果となり、ケイ素について村山ほか (2003) は、濃度が高すぎるとプロットのばらつきが大きくなることがあると述べている。しかし、本研究においては平均濃度よりかなり高濃度の領域においてもプロットのばらつきは小さく (Fig. 1), しかも主成分元素は微量成分よりも D 値が小さい (Table 3) という結果が得られている。したがって分析時間を長くするなどの工夫だけでなく、濃度が高い標準試料を用いて正確度の確認を行うこと

も必要である。

3.3.2 先行研究との比較 XRF を用いて植物の化学組成分析を行っている先行研究の結果を Table 9 に示す。これらはいずれも加圧成型試料を用いた検量線法を取り入れている。大高ほか (2009) 及び 築田ほか (2007) は三次元偏光光学系エネルギー分散型蛍光 X 線分析装置を, Margui *et al.* (2005) は本研究と同様に波長分散型蛍光 X 線分析装置を用いている。大高ほか (2009) は本研究よりも分析可能元素数や分析精度の点でより良好な結果を示している。この理由として、微量元素の定量分析については三次元偏光光学系エネルギー分散型 X 線分析装置の方が波長分散型蛍光 X 線分析装置よりも適しているとされていること, そして 1 試料あたりに 10 時間という長い分析時間をかけていることが考えられる。一方で本研究では 1 試料あたりの分析時間はおよそ 900 秒である。但しこの研究例と同様に三次元偏光光学系の XRF を用

Table 9 Concentrations and deviations obtained for the certified reference material in other studies. ^aReported by Otaka *et al.* (2009), ^bYanada *et al.* (2007), and ^cMurgui *et al.* (2005).

	NIST SRM 1567a Wheat Flour ^c		NIST SRM 1570a Spinach Leaves ^d		GBW07602 Bush and branches and leaves ^e	
	Certified value	D(%)	Certified value	D(%)	Certified value	D(%)
Mg	400±2	-3.2	8900	-25.28	0.287±0.011 ^a	-5.23
Ca	191±0.4	-0.5	15300±410	-6.54	2.22±0.07 ^a	2.25
K	1330±3	0.8	29000±520	-7.59	0.85±0.03 ^a	10.59
P	1340±6	0.0	5180±110	-1.93	0.083±0.003 ^a	42.17
Al	5.7±1.3	-9.0	310±11	10.65	0.214±0.018 ^a	-6.54
Na	6.1±0.8	2.5	-	-	1.1±0.06 ^a	0
Fe	14.1±0.5	-5.0	275	-1.45	58±3	-6.90
Mn	9.4±0.9	-9.1	75.9±1.9	6.59	1020±40	0.98
Ba	-	-	7.43	41.72	-	-
Cu	2.1±0.2	-0.4	12.2±0.6	10.66	-	-
Ni	-	-	2.14±0.1	5.14	-	-
Pb	-	-	-	-	7.1±0.7	11.27
Sr	-	-	55.6±0.8	-2.16	345±7	-10.14
Zn	11.6±0.4	1.9	82±3	-1.22	20.6±1	6.80
S	1650±2	-12	4600	-6.30	0.32±0.02 ^a	-3.13
Cl	565	1.2	-	-	-	-
Br	6	0.6	-	-	-	-
Rb	0.68±0.03	-1.1	13	27.69	-	-
Mo	0.48±0.03	1.1	0.38	-2.63	-	-
Cd	0.026±0.002	2.7	2.89±0.07	-2.42	-	-

All certified values are original.

Concentrations no superscript attached are expressed as mg/kg.

^a Concentrations are expressed as weight percentage(%).

いて、1試料あたり7200秒の分析時間をかけている梁田ほか(2007)の結果と本研究を比較すると、マグネシウム、アルミニウム、カリウム、カルシウムについては本研究のD値の方が小さく、より良好な正確度である。同型の分析装置を用いている Margui *et al.* (2005)と比較すると、微量元素である亜鉛、鉛のD値がかなり大きい、植物の必須元素であるリン、カリウムのD値は小さく、それらの正確度がこの研究例より良好であることを示している。

他の研究例ではマグネシウム、カルシウム、カリウム、リンという植物の必須かつ主要である4元素の分析を一度に行っているものがあまり見られない中、これらの元素の正確度は本研究でいずれも良好である。銅、ニッケル、亜鉛についてはD値が $\pm 14 \sim \pm 37\%$ となり、主要元素や他の研究例に比べ正確度が良好とはいえない。しかし湿式分析法を用いた近年の分析例と比較しても本研究のデータは遜色なく、むしろ良好なデータが多い。原子吸光分析装置を用いた Carvajal *et al.* (2010)の研究や、ICP-MSを用いた Rashed (2010)のように、D値が $\pm 10\%$ を超えているにもかかわらず実際に植物の未知試料の分析を行いこれらの元素濃度について考察を行っていることを考えると、分析の精度を明確に示しておけば本研究で考案した手法も植物の生物地球化学的研究に応用できるだろう。

4. 結 論

以上の結果から、本研究で提案した方法は植物体の分析法としてほとんどの主要元素について有効であることが示された。但し、実際の適用や正確度についての課題も多い。

本研究では、1試料の分析につき植物の灰化物質を0.5 g用いた。強熱減量率が90~95%であることを考慮すると、乾重量では5~10 g必要であり、湿試料になると多いものでは100 g必要ということになる。湿式分析に比べ必要量が多く、採取地の状況によってはこれだけの量の試料を用意できない可能性がある。とりわけ分析量を少量に抑えるべきである希少種植物試料の分析を想定すると検討の余地が残る。この課題を解決するためには、より希釈率を高くした試料でも実験を行って正確度を確認する必要がある。また既に述べたように硫化物の多い試料は白金坩堝を痛めるため、植物未知試料のガラスビード作成を行う前に硫黄分析装置等で試料中の硫黄濃度を測定しておくことが

望ましい。硫黄は植物の必須元素でもあるので白金坩堝の損傷の可能性を問うだけではなく植物の化学組成自体の考察にも役立つ。灰化試料の硫黄の濃度が高いようであればビードを作成する時に試料に酸化剤を加えるなど(本間, 2006), 分析精度は下がるものの希釈率を高めることで坩堝の損傷を軽くすることができる。

分析の前処理として灰化処理を行っているため、揮散しない無機成分は試料中に濃縮する。本研究では使用する試料量を0.5 gとし、ガラスビードの成型をしやすくするためこれに4ホウ酸リチウム3.5 gを加えた。しかし、多量に試料が用意できる場合であれば灰化試料を1.5 g, 4ホウ酸リチウムを3 gにするなど低希釈試料の作成も可能である。もちろん硫黄の問題も解決されているとした場合であるが、希釈率が低くなることによって各元素の蛍光X線強度が上がり、正確度も向上すると考えられる。

本法の特筆すべきもう一つの点は、岩石標準試料をベースとしてそれにリン、カリウム、カルシウム、マンガンなど特定の元素の濃度範囲を広げるだけで植物試料の分析が可能となることである。検量線を作成するための多くの植物標準試料を購入する必要もなく、岩石や植物体など、異なる形態の試料の分析が効率よく行える。蛍光X線分析装置で土壌を主に分析している研究機関において、植物の化学組成の影響も考慮した複合的な研究が行えることになり、議論の幅がより広まることだろう。

謝 辞

本研究で用いた分析法の検量線作成にあたり名古屋大学大学院環境学研究科の山本鋼志教授から貴重なご助言を頂きました。スペクトリス株式会社パナリティカル事業部の山路功様からは検量線の直線性の評価について、同社の水平学様からは植物試料の粉碎法について貴重なご助言を頂きました。広島大学大学院理学研究科の高橋嘉夫教授及び匿名の査読者には、論文全体を通しての貴重なご助言を頂いたほか、見落とされていた誤りに関するご助言も数多く頂きました。以上の方々に深く感謝し、お礼申し上げます。

引用文献

- 秋山耕一・中西正・大西亮・赤木右(2004)誘導結合プラズマ発光分析法によるケイ素定量的ための植物試料溶解法. 分析化学, **53**, 1229-1232.
Brouwer, P. (2006) *Theory of XRF - Getting acquainted with*

- the principles, second edition*, Panalytical B. V., ISBN 90-9016758-7.
- Bot, A. and Benites, J. (2005) *The importance of soil organic matter -Key to drought-resistant soil and sustained food and production*. Food and agriculture organization of the united nations. (ボット, A.・ベニテス, J. 新井重光訳 (2007). 土壌有機物の重要性—早魃抵抗性土壌および持続的食料生産への鍵—. 社団法人国際農林協力・交流協会 (JAICAF), 1-2.).
- Carvajal, B., Aboal, J. R. and Fernández, J. A. (2010) Influence of roads and inhabited areas on metal concentrations in terrestrial mosses. *Atmospheric Environment*, **44**, 3432-3441.
- Galuszka, A. (2005) The chemistry of soils, rocks and plant bioindicators in three ecosystems of the holy cross mountains, Poland. *Environmental Monitoring and Assessment*, **110**, 55-70.
- 後藤逸男 (2006) 土壌の有効成分. 犬伏和之・安西徹郎編, 土壌学概論. 朝倉書店, 109-117.
- 本間寿 (2005) 試料調整法. 中井泉編, 蛍光 X 線分析の実際. 朝倉書店, 62-77.
- Lee, J., Chon, H. and Kim, K. (1998) Migration and dispersion of trace elements in the rock-soil-plant system in areas underlain by black shales and slates of the Okchon Zone, Korea. *Journal of Geochemical Exploration*, **65**, 61-78.
- Margui, E., Hidalgo, M. and Queralt, I. (2005) Multielemental fast analysis of vegetation samples by wavelength dispersive X-ray fluorescence spectrometry: Possibilities and drawbacks. *Spectrochimica Acta Part B*, **60**, 1363-1372.
- 井田和子 (1997) 無期塩類—土壌からの栄養素—. 増田芳雄編, 絵とき 植物生理学入門 2章 環境. オーム社, 56-62.
- 村山正樹・西川奈緒美・増山和晃 (2003) 蛍光 X 線分析装置の定量分析精度に関する解析. 三重県科学技術振興センター工業研究部. 三重県科学技術振興センター工業研究部編 2003年度, **28**, 115-122.
- 西埜誠 (2005) 分析結果を論文・報告書に書くときの注意事項. 中井泉編, 蛍光 X 線分析の実際. 朝倉書店, 214-219.
- 野中信博・樋口英男・浜口博・戸村健児 (1981) 植物試料の乾式灰化に伴う元素の損失. 分析化学, **30**, 599-604.
- 表寿一・河野久征・戸田勝久 (1995) ファンダメンタルパラメータ法を利用した蛍光 X 線分析法による植物の元素分析とその有効性. 日本生態学会誌, **45**, 9-18.
- 大高亜生子・梁田陽子・保倉明子・松田賢士・中井泉 (2009) 蛍光 X 線分析法による小麦粉中の微量元素定量と産地判別への応用. 分析化学, **58**, 1011-1022.
- Queralt, I., Ovejero, M., Carvalho, M. L., Marques, A. F. and Llabres, J. M. (2005) Quantitative determination of essential and trace element content of medicinal plants and their infusions by XRF and ICP techniques. *X-Ray Spectrometry*, **34**, 213-217.
- Rashed, M. N. (2010) Monitoring of contaminated toxic and heavy metals, from mine tailings through age accumulation, in soil and some wild plants at Southeast Egypt. *Journal of Hazardous Materials*, **178**, 739-746.
- Rowell, D. L. (1994) Organic materials -Alive and dead. In: *Soil Science -method & application-*. Longman Pub Group, 38-59.
- 高瀬つぎ子・長橋良隆 (2007) 蛍光 X 線分析におけるガラスビード法と粉末プレス法の比較評価—地質試料中の主要10元素と微量18元素の定量. 福島大学地域創造, **19**, 32-47.
- 寺島滋・今井登・太田充恒・岡井貴司・御子柴真澄 (2004) 関東平野南部における土壌の地球化学的研究 土壌地球化学図の基礎研究 (第5報) 総括. 地質調査研究報告, **55**, 1-18.
- Larcher, W. (2001) *Ökophysiologie der Pflanzen*. Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart Germany. (ラルヘル, W. 佐伯敏郎・館野正樹訳 (2004) 植物生態生理学第2版. シュプリンガー・フェアラーク東京, 133.).
- 梁田陽子・保倉明子・松田賢士・水平学・中井泉 (2007) 蛍光 X 線分析法によるハウレンソウ中の無機元素の高感度定量及び産地判別への応用. 分析化学, **56**, 1053-1061.
- 山本鋼志・森下泰成 (1997) 蛍光 X 線分析用微量元素標準試料の調整. 地質学雑誌, **103**, 1037-1045.
- 山崎慎一 (1982) けい光 X 線分析法とその土壌, 植物体への応用. 日本土壌肥科学雑誌, **53**, 158-166.
- 袖原雅樹・古川直道・田口幸洋 (2004) 粉末ベレット法による珪酸塩・炭酸塩岩の微量元素の蛍光 X 線分析. 福岡大学理学集報, **34**, 43-49.