

定量 NMR による環境試料分析の検討

水田 敏史

鳥取大学 技術部

1.はじめに

鳥取大学研究基盤センターでは、乾燥地研究センター、農学部、工学部などの環境由来試料をイオンクロマトグラフで測定を行っている。サンプルの前処理として、遠心分離、フィルターろ過、希釈などを行い、カラムへの夾雑物の混入を防いでいる。しかし、サンプルの濃度が高く、夾雑物が多いサンプルの場合、汚れの吸着によるカラムの劣化や、ピークの重なりにより定量が困難な場合がある。他方、NMR は、サンプルによる機器の汚染リスクが低く、高濃度サンプルの測定が可能である。そこで今回、土壌サンプルに含まれるリンを対象とした ^{31}P 定量 NMR の検討を行ったので報告する。

2.実験方法

各種土壌サンプルを以下の方法で抽出し、測定を行った。アルカリ抽出法⁽¹⁾では、土壌 4 g に対して 0.25 M NaOH 0.05 M EDTA 32 ml を加え、約 17 時間浸透した。12,000×g、30min 遠心分離後、上清を回収した。金属イオンを取り除くため、3% 8-Hydroxyquinoline:サンプルを 1:10 の割合で混合し、12,000×g 30min 遠心分離後、上清を回収した。水抽出法では、土壌 5 g に対し、50 ml の超純水を加え、約 17 時間浸透した。12,000×g、30 min 遠心分離後、上清を回収した。 ^{31}P 定量 NMR は qNMR 用の認証標準物質 (Sigma-Aldrich TraceCERT[®] KH_2PO_4) を用いた。NMR サンプルは終濃度 10% D_2O となるように重水を混合した。各種測定には以下の機器を用いた。

NMR: JEOL JNM-ECZ600、イオンクロマトグラフ: SHIMADZU Nexera、10a、アミノ酸分析装置: HITACHI LA8080 AminoSAAYA

3.実験結果

イオンクロマトグラフでは、アルカリ抽出したサンプルにおいて、リン酸イオンのピーク付近に有機酸、フルボ酸と推定されるピークが重なり定量が困難であった。水抽出では、リン酸イオン付近に夾雑ピークは少なく、リン酸の定量が可能であった。 ^{31}P NMR では、アルカリ抽出法によるリン酸の濃度は水抽出サンプルと比較して高く、定量 NMR に求められる S/N 比以上の積算が可能であった。

4.おわりに

NMR 測定により、土壌中のリンの定量が可能であった。抽出法による定量誤差について検討を行う予定である。土壌抽出物の ^1H NMR については感度の問題で測定が難しい状況であった。凍結乾燥などでサンプル濃度を上げることで、土壌中の有機物の測定が可能となる可能性がある。イオンクロマトグラフの測定に加え、NMR 測定により土壌中成分の解析が広がることが期待される。

参考文献

(1) Li, M., Mazzei, P., Cozzolino, V. et al. Optimized procedure for the determination of P species in soil by liquid-state ^{31}P -NMR spectroscopy. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 2, 7 (2015).