

技術論文

クロモトロープ酸を用いる高感度蛍光検出/フローインジェクション分析法による超純水中の極微量ホウ素の定量

李 貞 海¹, 大島 光子^{®1}, 本水 昌二¹

Highly sensitive determination of boron with 1,8-dihydroxynaphthalene-3,6-disulfonic acid in ultrapurified water by fluorescence detection/flow-injection analysis

Zhen Hai Li¹, Mitsuko OSHIMA¹ and Shoji MOTOMIZU¹

¹ Department of Chemistry, Faculty of Science, Okayama University, 3-1-1, Tsushimanaka, Okayama-shi, Okayama 700-8530

(Received 2 December 2003, Accepted 4 February 2004)

Boron as boric acid was determined as a complex with chromotropic acid at pH 6.0 in an aqueous medium by fluorescence detection/flow-injection analysis. The complex was detected by measuring the fluorescence intensities ($\lambda_{\text{ex}} = 313 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 360 \text{ nm}$). EDTA was used as a buffer component with the role of a masking agent to metal ions. The background fluorescence of chromotropic acid could be decreased by mixing with 0.1 M ammonia water after complex formation, resulting in a stable baseline. The calibration graph was rectilinear over $10^{-9} \sim 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ (M), and the detection limit was $5 \times 10^{-10} \text{ M}$ ($S/N = 3$). The reproducibility was 3.61% ($n = 10$, with the peak height) at $6 \times 10^{-9} \text{ M}$ of boron and sample throughput was 40 h^{-1} . Applications to river water, ion-exchanged water and distilled water could be achieved without any pretreatments. For the analysis of ultrapurified water, an evaporation/preconcentration procedure was carried out, because the concentration was under the LOD and no reference water which could be used for the carrier solution or preparation of the reagent solutions.

Keywords : boron ; chromotropic acid ; ultrapurified water ; fluorescence/flow injection analysis.

1 緒 言

半導体材料の製造工程等で必要とされる高純度水、高純度試薬などに含まれる極微量ホウ素は、半導体性能に大きく影響するため、sub-ppb～ppt オーダーの定量が要求されている。現在、JIS では水試料中のホウ素の定量法としてクルクミン吸光光度法やメチレンブルーによる抽出吸光光度法¹⁾が採用されている。このほかにも誘導結合プラズマ原子発光分析法 (ICP-AES)^{2)~4)}、誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS)^{5)~8)}、黒鉛炉原子吸光分析法 (GFAAS)⁹⁾による定量法、2,6-ジヒドロキシ安息香酸¹⁰⁾、2,4-ジニトロ-1,8-ナフタレンジオール¹¹⁾、4,6-di-*tert*-ブチル-3-メトキシカテコール¹²⁾を用いる抽出/吸光光度法、高速液体クロマ

トグラフィー (HPLC) による定量法¹³⁾¹⁴⁾などがある。これらの定量法では、蒸留分離、蒸発乾固、抽出などの分離操作、あるいは抽出液の洗浄などの煩雑な前処理を必要とし、更に着色試料や共存元素による干渉などにより、検出感度は ppm～sub-ppm 程度である。簡便、迅速、高感度な定量法として、流れ分析のフローインジェクション分析 (FIA) 法^{15)~20)}やその他の流れ分析法^{21)~25)}が報告されているが、定量感度として ppb レベルであり、実際の高純度水、高純度試薬中のホウ素を精度よく正確に定量するには、これまでに報告されている ppb～sub-ppb の感度レベルより更に 10～100 倍以上の感度が望ましい。

これまでに報告されている方法の中で、特別な前処理なしで最も高感度な定量法は、クロモトロープ酸を用いる FIA/蛍光法である¹⁶⁾¹⁷⁾。この方法では、水溶液中でホウ酸とクロモトロープ酸が反応して生成するホウ素錯体の蛍光

¹ 岡山大学理学部：700-8530 岡山県岡山市津島中 3-1-1

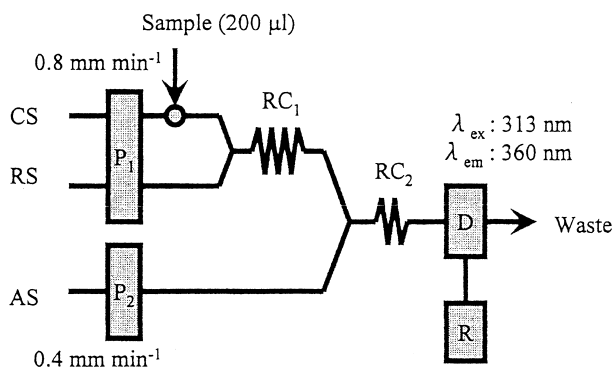


Fig. 1 Flow system for boron determination

RS: reagent solution: 2.0×10^{-4} M chromotropic acid + 0.01 M EDTA + 0.1 M acetate buffer (pH 6.0); CS: carrier solution: MilliQ water; AS: ammonia (0.1 M); RC₁: reaction coil (2 m); RC₂: reaction coil (1 m); P₁: pump (0.8 mm/min); P₂: pump (0.4 mm/min); D: detector; R: recorder

を利用する。本研究では、著者らにより既に報告されているクロモトローブ酸による微量ホウ素の定量法（検出限界: 5×10^{-9} M¹⁷⁾）を基に、一層の高感度化を目指して実験諸条件を再検討し、新たに最適化を行った結果、感度、再現性、迅速性に優れた定量法とすることができた（検出限界: 5×10^{-10} M）。更に蒸発濃縮法を併用することにより、超純水中の ppt オーダーの極微量ホウ素の定量も可能となった。

2 実験

2.1 装置及び器具

本研究で用いたホウ素定量用 3 流路 FIA/蛍光光度法のフローダイアグラムを Fig. 1 に示す。FIA/蛍光法の装置には、ポンプとしてダブルプランジャー型（PFA-300 FIA 機器）2 台を用い、送液は各流路の流量 0.4 ml/min で行った。蛍光検出器には島津製高速液体クロマトグラフ用分光蛍光検出器 RF-10AXL を用い、東亜電波製 FBR-252A 記録計を連結して蛍光強度を記録した。試料注入は、試料導入ループ付き六方切り替えバルブにより行った。反応チューブは内径 0.5 mm のポリテトラフルオロエチレン (PTFE) チューブを用い、クロモトローブ酸とホウ酸の反応 (RC₁) には 2 m, アンモニア水溶液の反応 (RC₂) には 1 m のものを用いた。

本法で使用した器具類、溶液類保存のための瓶類はすべて樹脂製のものを使用した。また加熱、濃縮に用いる容器はすべて透明石英ビーカーを用いた。

2.2 試薬

試薬溶液 (RS): 0.02 M エチレンジアミン四酢酸 (EDTA) (7.4 g/l) を含む 4×10^{-4} M クロモトローブ酸

(0.15 g/l) を 0.5 M アンモニアで pH 6.0 に調節した。この溶液と 0.2 M 酢酸緩衝液 (pH 6.0) を 1 : 1 で混合したものを用いた。

キャリアー液: 超純水製造装置 (Auto Pure, WQ500, Yamato 製) により製造した超純水を用いた。

アルカリ溶液: 0.1 M アンモニアを用いた。

ホウ素標準液: 特級ホウ酸 0.3092 g を 500 ml の超純水に溶かし、 1.000×10^{-2} M とした。必要に応じて、超純水で正確に希釈して用いた。

他の試薬は市販試薬特級品を用いた。水は超純水製造装置により製造した超純水を用いた。

3 結果及び考察

本報では、既報の微量ホウ素定量法¹⁷⁾を基に一層の感度向上を目指して、反応条件の最適化を再検討した。

3.1 励起、蛍光波長、反応チューブ長、流量、温度、及び試料注入量の感度向上に及ぼす影響

Lapid ら²⁶⁾はクロモトローブ酸のホウ素錯体の励起及び蛍光スペクトルは、それぞれ 313 nm, 380 nm で極大を示すと報告している。本報では、クロモトローブ酸自身の蛍光も考慮し、励起波長を 313 nm とし、蛍光波長を検討したところ、蛍光波長 360 nm で最も強い蛍光を示した。また、内径 0.5 mm, 長さ 1~4 m の反応チューブを用いて反応コイル長の影響を調べたところ、2 m のとき一番高いピークが得られ、ピークの半値幅に差はほとんど見られなかった。0.2~0.5 ml/min の範囲で流量の影響を調べたところ、流量が増すにつれてピークはわずかながら高くなったが、0.4 ml/min 以上ではほぼ一定のピーク高が得られた。反応コイル (RC₁) の恒温槽の温度の影響について 20~75°C の範囲で調べたところ、ピーク高はほとんど同じであった。また 70°C 以上ではベースラインのノイズが大きくなった。試料注入量の影響について 100~300 µl の範囲で調べたところ、試料注入量を増やすにつれてピーク高は、初めは上昇するが、200 µl 以上ではほぼ一定の高さとなった。しかし、試料注入量を増やすにつれピーク幅が広がり、測定迅速性が損なわれた。

3.2 感度向上に及ぼすアルカリの影響

ホウ素錯陰イオンの蛍光波長においてクロモトローブ酸自身も強い蛍光を示し、pH のわずかな変動でも蛍光強度に大きく作用するため、高感度定量を目的とする場合には精度と確度が損なわれる。クロモトローブ酸の OH 基の酸解離定数 (pK_a) は 5.4 と 15.6 であり、pH が高くなるに従って OH 基が解離して、バックグラウンドの蛍光を低下させることができる。したがって、ホウ素錯体生成後、アルカリ性にするにより、反応後に残っている大

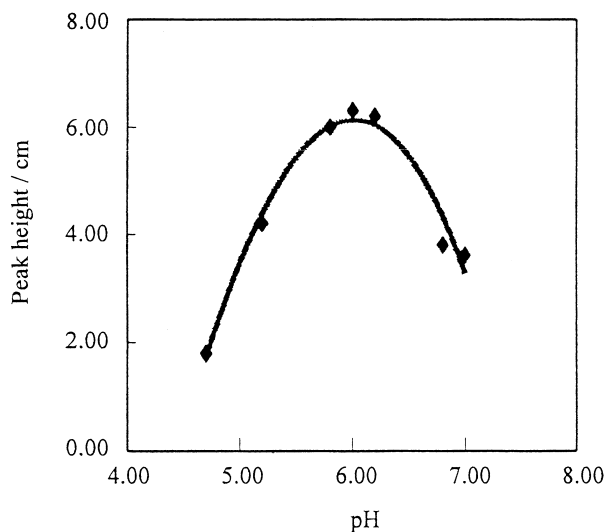


Fig. 2 Effect of reaction pH
Boric acid: 4×10^{-8} M

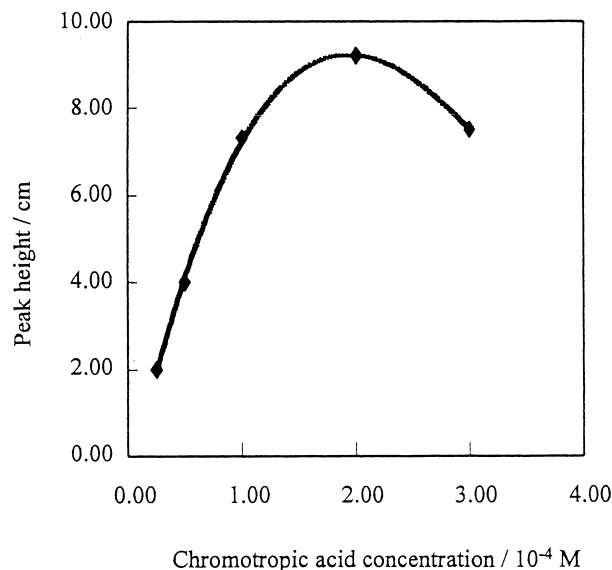


Fig. 3 Effect of chromotropic acid concentrations
Boric acid: 6×10^{-8} M

過剰のクロモトロープ酸による蛍光を大幅に減少させることができる。前報¹⁷⁾では水酸化ナトリウムを用いたが、これは空気中の二酸化炭素を吸収して炭酸塩 (Na_2CO_3) を生成し、送液ポンプのプランジャー部分に固体を析出させ、更にチェックバルブにも吸着しやすく、長時間測定では安定した流れが得られないことがあり、本報の目的とする高感度分析には適さないことが分かった。そこで、本法ではアンモニアをアルカリとして用いることにより、水酸化ナトリウムの欠点を克服することができ、非常に安定なベースラインを得ることができた。アンモニア濃度 0.1 ~ 1.0 M について調べた結果、この濃度範囲ではピーク高さはほとんど変わらなかったため、0.1 M アンモニアを用いることとした。

3.3 ホウ素錯体生成に及ぼす pH 及び緩衝液の影響

ホウ酸とクロモトロープ酸の錯生成反応は、pH に依存するため、反応溶液の pH の影響について調べた (Fig. 2)。既報では、0.15 M の EDTA (pH 6.2) を用いたが、この濃度は EDTA の飽和濃度に近いため、調製しにくく、析出のおそれもある。そこで、調製しやすい混合緩衝液について検討した。緩衝剤としては EDTA (0.01 M) を含む酢酸緩衝液 (0.1 M) を用いることとし、金属イオンのマスキング作用を兼ねた緩衝を実現した。Fig. 2 から分かるように、pH 6.0 付近でピークが一番高くなることから、高感度化を考慮して pH 6.0 を用いることとした。

3.4 ホウ素錯生成に及ぼすクロモトロープ酸濃度の影響

Fig. 3 に反応試薬中のクロモトロープ酸の濃度の影響に

Table 1 Conditions adopted for the determination of boron

Carrier solution	ultrapurified water
Reagent solution	2.0×10^{-4} M chromotropic acid + 0.01 M EDTA + 0.1 M acetate buffer (pH 6.0)
Flow rate	$P_1, P_2: 0.4 \text{ ml min}^{-1}$
Sample volume	200 μl
Reaction coil	RC ₁ : 0.5 mm i.d $\times$ 2 m; RC ₂ : 0.5 mm i.d $\times$ 1 m
Wavelength	λ_{ex} : 313 nm, λ_{em} : 360 nm
Linearity of the calibration graph	$10^{-9} \sim 10^{-7}$ M

ついて調べた結果を示す。ホウ酸 6×10^{-8} M に対してクロモトロープ酸 2×10^{-4} M で最も高い蛍光を示し、これよりも低濃度及び高濃度領域ではピーク高は低下した。低濃度領域では反応不十分のためであり、高濃度領域では過剰のクロモトロープ酸による消光であると考えられる。本法では高感度を考慮してクロモトロープ酸の濃度は 2×10^{-4} M を用いた。なお、これらの条件を用いれば反応コイルの温度は室温で差し支えない。

3.5 検量線、再現性及び検出限界

以上のように反応条件の最適化を行い、Fig. 1 の装置により検量線を作成した。本研究で用いた実験条件を Table 1 にまとめて示す。再最適化条件を用いることにより、検出限界を 10 分の 1 に下げること成功した。前処理なしで非常に安定なベースラインを得ることができ、 $10^{-9} \sim 10^{-6}$ M 範囲で良好な直線性を示し、 $S/N = 3$ の検出限

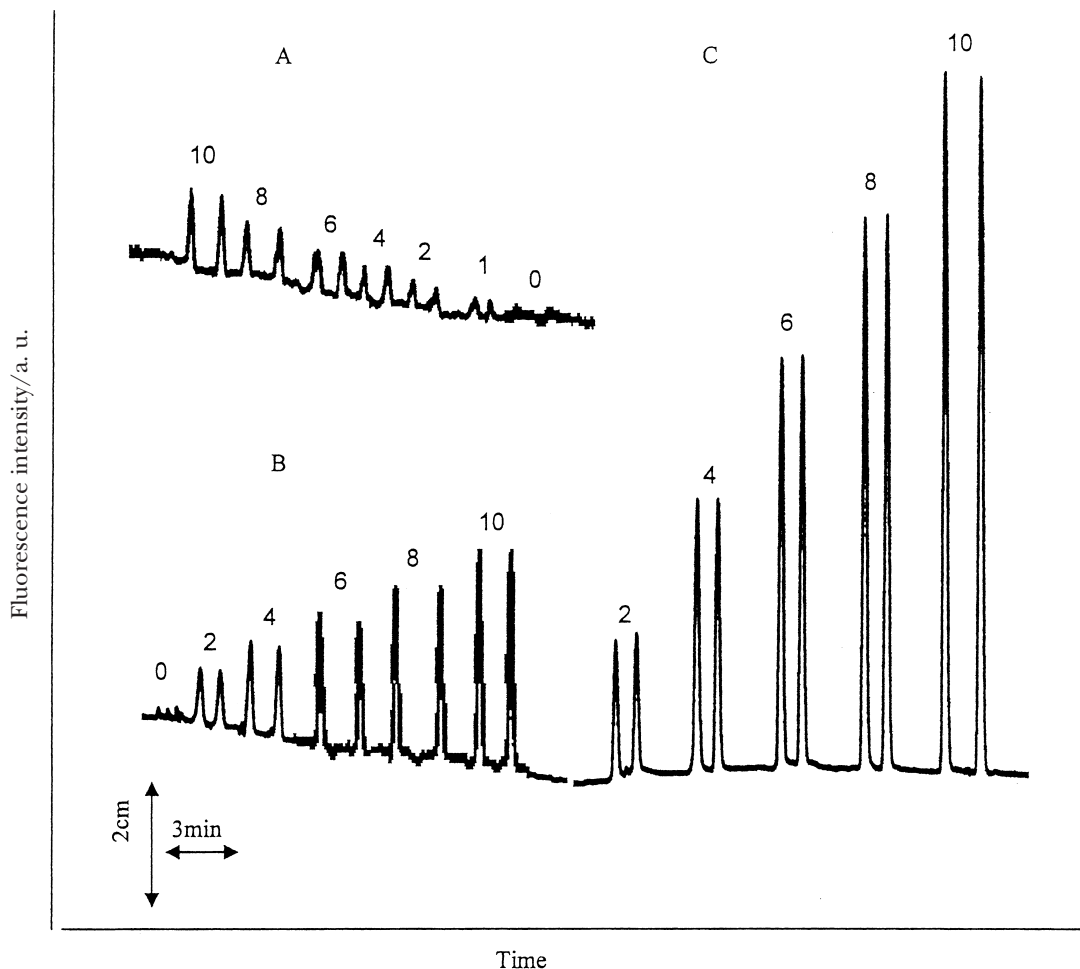


Fig. 4 Flow signals for calibration graphs of boric acid
A: 10^{-9} M level; B: 10^{-8} M level; C: 10^{-7} M level

界は 5×10^{-10} M である (Fig. 4)。本法の再現性について調べた結果、ホウ素 6×10^{-9} M の 10 回繰り返し実験の相対標準偏差はピーク高さで 3.6% ($n = 10$) と良好な結果が得られた。

3・6 極微量ホウ素の加熱濃縮法

本法のような FIA 法では、用いたキャリヤー中の分析対象物と試料中の濃度の差がピークとして現れる。本法で用いたキャリヤー溶液は超純水製造装置を用いて極めて注意深く製造したものであり、現在入手できるものとしては、最もホウ素含量が少ないものと考えてよい。この超純水中のホウ素を定量するためには、もしその濃度が検出限界以上で定量範囲内であるとしても、本法では検出できない (キャリヤーと試料が同じであれば、ピークは出現しない)。したがって、キャリヤーと同じ試料を測定するためには、なんらかの方法で試料を濃縮しなければならない。また、この濃縮操作により汚染があってはならない。そこで、超純水中のホウ素を定量するために、化学的操作を伴

わない濃縮法として、加熱濃縮法について検討した。従来、遊離のホウ素 (ホウ酸) は加熱によって揮散しやすいと考えられてきた。このためにホウ素の定量に当たっては、分析操作に様々な制限が加えられてきた。本研究では、まず加熱、濃縮によるホウ素の揮散について検討した。この操作はクリーンな場所が好ましいが、通常のクリーンルームは好ましくない。これは、クリーンルームのフィルターからホウ素の放出があることによるもので、高濃度のホウ素が検出される。したがって、通常の実験室で、人気がなく、空気をかき回さない場所を選び、テフロンコーティングした清浄なホットプレートを用い、上から落下してくるほこり、ごみ等を除くために樹脂製板でカバーをして蒸発濃縮を行った。試料水 100 ml を濃縮容器にとり、4~7 ml になるまで濃縮した。この溶液を FIA 装置に注入し、ホウ素量を求めた。微量ホウ素の定量では、加熱濃縮に用いる容器が汚染を引き起こす主要な原因の一つになり得ることから、濃縮用容器が定量に及ぼす影響について調べた。透明石英ビーカー、不透明石英ビーカー、テフロンビ

ーカー, ガラスビーカーを用いて実験を行った結果を Table 2 に示す. この結果から, 透明石英ビーカーからの汚染が一番少ないことが分かったので, 以後は透明石英ビーカーを加熱, 濃縮に用いることとした. 透明石英ビーカーにより得られた結果が超純水中のホウ素と考えられる.

以上の結果に基づき, 標準添加法を用いて加熱濃縮によるホウ素の汚染と揮散の状態について調べた. Table 3 に

結果を示す. 濃縮率と FIA 法の測定結果から計算して最終的に得た濃度から求めた回収率は, ほとんど 100% 付近であり, 加熱濃縮処理による汚染と揮散は無視できることが分かった. 次に濃縮操作の繰り返し実験について検討した. 結果を Table 4 に示す. 5 回の繰り返し実験による超純水中のホウ素濃度の平均値は $3.55(\pm 0.34) \times 10^{-10}$ M であり, 相対標準偏差 (RSD) は 8.1% であった. この結果からも, 本報による蒸発濃縮法では, 実験環境からのホウ素の汚染や揮散は無視できると考えてよい.

Table 2 Contamination of boron from vessels

Beaker ^{a)} No.	Enrichment ratio ^{b)}	Boron found		
		Measured/ 10^{-9} M	In samples/ 10^{-10} M	Average/ 10^{-10} M
A	6.2	2.1	3.4	3.8
A	7.7	3.2	4.2	
B	6.5	4.2	6.5	6.9
B	11.1	8.0	7.2	
C	8.8	30.0	34.1	34.5
C	7.5	26.1	34.8	
D	16.7	1300	778	730
D	15.4	1050	682	

Ultrapurified water, 100.00 g, was evaporated to about 6~16 ml. a) A: transparent silica beaker; B: not transparent silica beaker; C: PTFE beaker; D: glass beaker. b) Residual water was weighed by a chemical balance, and the enrichment ratio was calculated.

3・7 超純水中の極微量ホウ素定量への応用

前述のようにキャリヤーとして用いた超純水と同じ試料中のホウ素を直接定量することはできない. そこで本法では 3・6 の加熱濃縮を併用することにより, 超純水中のホウ素を定量した. 別の超純水製造装置 (日本ミリポア製, Elix10/MilliQ Element) を用いて別の水道水から製造した超純水 100 ml を透明石英ビーカーに取り, 約 30 倍濃縮し, FIA 法により得られた結果から超純水中のホウ素量を求めた結果を Table 5 に示す. 同じ操作を 5 回繰り返して測定した結果は $1.02(\pm 0.06) \times 10^{-9}$ M であり, 相対標準偏差は 2.45% で, 非常に精度の良い結果が得られた. なお, ICP-MS により測定した結果 (0.99×10^{-9} M) も示

Table 3 Determination of boron in ultrapurified water by standard addition method

Boron added/ 10^{-9} M	Residual sample/ g	Enrichment ratio	Boron found			Recovery, %
			Measured/ 10^{-8} M	In samples/ 10^{-9} M	Average/ 10^{-9} M	
0.0	3.74	26.7	0.80 ± 0.08	0.30	0.31	
0.0	4.93	20.3	0.65 ± 0.05	0.32		
0.1	4.98	20.1	1.01 ± 0.04	0.50	0.48	117
0.1	5.71	17.5	0.79 ± 0.02	0.45		
0.5	3.97	25.2	2.32 ± 0.10	0.92	0.90	111
0.5	6.62	15.1	1.33 ± 0.05	0.88		
1.0	6.10	16.4	2.20 ± 0.06	1.34	1.32	101
1.0	8.93	11.2	1.45 ± 0.05	1.29		
2.0	6.62	15.1	3.53 ± 0.04	2.34	2.23	97
2.0	8.33	12.0	2.68 ± 0.04	2.23		
4.0	9.80	10.2	4.43 ± 0.02	4.34	4.38	102
4.0	6.17	16.2	7.12 ± 0.08	4.42		

Ultrapurified water taken was 100.00 g.

Table 4 Reproducibility of boron measurement with enrichment by vaporization on a hot plate

Sample No.	Residual sample/ g	Enrichment ratio	Boron	
			Measured/ 10^{-9} M	Found/ 10^{-10} M
1	6.29	15.9	5.10	3.21
2	4.41	22.7	8.67	3.82
3	6.67	15.0	5.00	3.33
4	6.21	16.1	5.67	3.52
5	6.10	16.4	6.33	3.86
				Mean 3.55 ± 0.34

Table 5 Determination of boron in ultrapurified water

Method	Pretreatment	Concentration ratio	Boron found/ 10^{-9} M ^{a)}	Average/ 10^{-9} M
FIA	Evaporation/Concentration	34.13	1.03 ± 0.08	1.02 ± 0.06
		42.20	1.02 ± 0.06	
		61.35	1.05 ± 0.04	
		33.44	0.98 ± 0.05	
		50.76	1.02 ± 0.05	
ICP-MS	None			0.99

a) Mean value of triplicate measurements, with the deviation from each mean value

Table 6 Determination of boron in waters

Sample	Pretreatment	Boron found/M
Asahi River	A None	1.3×10^{-6}
	B None	5.7×10^{-7}
Deionized water	A None	5.5×10^{-7}
	B None	2.5×10^{-7}
	C None	3.4×10^{-8}
Deionized/ Distilled water	A None	1.9×10^{-8}
	B None	3.0×10^{-8}
	C None	3.0×10^{-8}
Ultrapurified ^{a)} water	A Evaporation/ Concentration (E/C)	3.2×10^{-10}
	B (E/C)	3.5×10^{-10}
	C (E/C)	3.3×10^{-10}

a) Used as a carrier

した。これらの結果は極めてよく一致していることから、本法の定量法は十分信頼できる方法といえることができる。

3・8 実際試料への応用

本法により、河川水や通常の純水中に存在するホウ素の定量を行った結果を Table 6 に示す。河川水、イオン交換水、蒸留水中のホウ素 $10^{-8} \sim 10^{-7}$ M は直接検量線から容易に求めることができる。

本 FIA/蛍光法は、簡便、迅速、高感度で定量範囲が広く、また加熱、濃縮を併用することにより、 10^{-10} M オーダーの超純水中のホウ素の定量が可能となった。本法は、水溶液中のホウ素のみならず、高純度試薬（無機、有機）中のホウ素の定量への応用も期待できる。

本研究を進めるに当たり、貴重な情報（ICP-MS 測定データ）と、更に超純水試料の製造、提供にご協力いただいた日本ミリポア（株）石井直恵氏に感謝します。

文 献

- 1) JIS G 1227, 鉄及び鋼中のホウ素定量法 (1999).
- 2) R. K. Winge, V. A. Fassel, V. J. Peterson, M. A. Floyd: "Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectroscopy", p. 266 (1985), (Elsevier Sci. Pub., Amsterdam).
- 3) 高橋保夫: 分析化学 (Bunseki Kagaku), **36**, 693 (1987).

- 4) 遠藤芳秀, 畑 俊彦, 坂尾則隆: 分析化学 (Bunseki Kagaku), **32**, T50 (1983).
- 5) W. Rock, G. Richard: *Semiconductor Pure Water and Chemicals Conference*, 20th, p. 15 (2001).
- 6) K. Katsu, K. Yoko: *Semiconductor Pure Water and Chemicals Conference*, 21st, p. 88 (2002).
- 7) S. Kozono, S. Takahashi, H. Haraguchi: *Analyst*, **127**, 930 (2002).
- 8) 谷池誠司, 田中雅文, 高橋真人: 公開特許公報, 特開 2002-257787.
- 9) R. Kobayashi, S. Okamura, K. Yamada, M. Kudo: *Anal. Sci.*, **13**, 31 (1997).
- 10) M. Oshima, K. Fujimoto, S. Motomizu, K. Toei: *Anal. Chim. Acta*, **134**, 73 (1982).
- 11) K. Toei, S. Motomizu, M. Oshima, H. Watari: *Analyst*, **106**, 776 (1981).
- 12) M. Oshima, K. Shibata, T. Gyoten, S. Motomizu, K. Toei: *Talanta*, **35**, 351 (1988).
- 13) Z. Jun, M. Oshima, S. Motomizu: *Analyst*, **113**, 1631 (1988).
- 14) M. Oshima, S. Motomizu, Z. Jun: *Anal. Sci.*, **6**, 627 (1990).
- 15) F. J. Krug, J. Mortatti, L. C. R. Pessenda, E. A. G. Zagatto, H. B. Filho: *Anal. Chim. Acta*, **125**, 29 (1981).
- 16) 桐柴恭二, 本水昌二, 大島光子, 小野田 稔: 分析化学 (Bunseki Kagaku), **35**, 344 (1986).
- 17) S. Motomizu, M. Oshima, Z. Jun: *Anal. Chim. Acta*, **251**, 269 (1991).
- 18) T. Lussier, R. Gilbert, J. Hubert: *Anal. Chem.*, **64**, 2201 (1992).
- 19) S. D. Yurtsever, E. Nusret: *Turk. J. Chem.*, **25**, 305 (2001).
- 20) C. S. Sastri, V. Iyengar, G. Blondiaux, T. Sauvage, Y. Tessier: *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **254**, 53 (2002).
- 21) 山崎綾子, 石橋耀一, 楊 利民, 相羽陽子, 角田欣一: 分析化学 (Bunseki Kagaku), **51**, 841 (2002).
- 22) M. Taddia, M. G. Cerroni, E. Morelli, A. Musiani: *Annali di Chim.*, **92**, 1045 (2002).
- 23) D. F. Kuemmel, M. G. Mellon: *Anal. Chem.*, **29**, 378 (1957).
- 24) T. Korenaga, S. Motomizu, K. Toei: *Analyst*, **103**, 745 (1978).
- 25) S. Motomizu, I. Sawatani, M. Oshima, K. Toei: *Anal. Chem.*, **55**, 1629 (1983).
- 26) J. Lapid, S. Farhi, Y. Koresh: *Anal. Lett.*, **9**, 355 (1976).

要 旨

超純水中の極微量ホウ素を定量するために, クロモトロープ酸を用いるホウ素の蛍光検出/フローインジェクション (FIA) 法の諸条件を再検討し, 検出限界を 10 分の 1 の 5×10^{-10} M に下げることに成功し, 大幅な感度向上を達成した. クロモトロープ酸とホウ酸との反応生成物の蛍光を利用するホウ素の FIA 法における残存クロモトロープ酸の蛍光強度を低下させるために, アンモニア水を加え, アルカリ性にした. 緩衝液としてエチレンジアミン四酢酸を含む酢酸緩衝液を用い, 金属のマスキングを兼ねた pH 調整を行うことにより, 非常に安定なベースラインを得ることに成功した. 流量, 反応コイル長, 試料注入量, 試薬濃度等の FIA パラメーターについて感度向上の観点から最適化を行い, ホウ素錯体の蛍光測定 (励起波長 $\lambda_{\text{ex}} = 313$ nm, 蛍光波長 $\lambda_{\text{em}} = 360$ nm) により, 前処理なしでホウ素 10^{-9} M の定量が可能となった. $S/N = 3$ での検出限界は 5×10^{-10} M (5 ppt) で, 現在最も高感度な定量法である. ホウ素 6×10^{-9} M の 10 回繰り返し実験の相対標準偏差 (RSD) は 3.6% ($n = 10$) であり, 1 時間に 40 試料の分析が可能であった. 河川水, 蒸留水, イオン交換水などに存在する程度の金属イオン及び陰イオンは定量を妨害しない. 本法により, イオン交換水, 蒸留水中に存在するホウ素は直接定量できた. 超純水中に存在する微量のホウ素 (10^{-10} M レベル) は, 加熱濃縮操作法を併用することにより, 定量可能となった.