報 文

微量試料蛍光検出フローインジェクション法による
イットリウム系高温超伝導体中の銅の平均価数の決定渡辺 邦洋^{®*}, 大庭 邦洋^{*}, 板垣 昌幸^{*}Fluorometric flow injection determination of average copper valence
in yttrium system superconductor using micro-amounts of sample

Kunihiro WATANABE, Kunihiro OHBA and Masayuki ITAGAKI

*Department of Industrial Chemistry, Faculty of Science and Technology, Science University
of Tokyo, 2641, Yamazaki, Noda-shi, Chiba 278

(Received 14 November 1995, Accepted 13 January 1996)

Fluorometric determinations of average Cu valence in superconductor Y-Ba-Cu-O were performed by flow injection analysis (FIA). The present FIA apparatus had triple channels for streams of (i) distilled water (carrier), (ii) 5% ascorbic acid solution (pH 2.5) and (iii) 0.25% *o*-phenylenediamine solution. A sample solution was prepared by dissolving about 0.02 μg of the Y-Ba-Cu-O in 5 ml of 5% ascorbic acid solution. The sample solution (100 μl) containing Cu(II) and/or Cu(III) ions was injected into the carrier (i). Cu(II) and/or Cu(III) ions oxidized ascorbic acid in the stream (ii) to dehydroascorbic acid, which reacted with *o*-phenylenediamine in the stream (iii) to produce a kind of quinoxaline derivative. The fluorescence intensity of the quinoxaline derivative ($\lambda_{\text{ex}}=350\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=430\text{ nm}$) constituted the parameter for the average Cu valence, $2[\text{Cu(III)}]+[\text{Cu(II)}]$. On the other hand, the concentration of the total Cu ions, $[\text{Cu}]_{\text{total}}$, was determined by atomic absorption spectrometry. The average Cu valence, n_{av} , can be calculated according to the following equation: $n_{\text{av}}=(2[\text{Cu(III)}]+[\text{Cu(II)}])/[\text{Cu}]_{\text{total}}+1$. The results agreed well with those obtained by iodometry. In the present method, the lower limit of determination was 0.09 ppb which corresponded to 0.02 μg of Y-Ba-Cu-O sample.

Keywords : FIA; average Cu valence; ascorbic acid; *o*-phenylenediamine; fluorometric determination.

1 緒 言

高温酸化物超伝導体中には極少数の例外を除いて、銅が含まれ、その平均価数が超伝導特性に大きく影響することが知られている¹⁾²⁾。それ故、銅の平均価数測定法が種々検討され、多くの研究例が報告されている^{3)~6)}。

一般に酸化物超伝導体の価数分析は、X線光電子分光法(XPS)などによる機器分析法より精度の点で優れる化学分析法によってなされ、ヨードメトリーを主とする滴定法が用いられている³⁾。しかし、これは貴重な試料を多量に消費するものである。著者らはヨードメトリーに抽出吸光光度法を導入することによる高感度分析法を検討し既に報告した⁷⁾⁸⁾。これは銅とヨウ化物イオンの反応により生成したヨウ素を吸光定量するものである。

* 東京理科大学理工学部: 278 千葉県野田市山崎 2641

が、薄膜など極微量の試料の分析が要求される現在、感度の点で十分ではない。そこで銅とアスコルビン酸の反応を利用する吸光光度法を検討し、必要消費量を 25 μg 程度に減少させることに成功した⁹⁾。今回この方法を FIA に適用し、検出法を蛍光光度法にすることにより、更に試料の消費量の減少を試みた。その結果、0.02 μg 程度の試料量で分析でき、又 1 試料当たりの分析時間を著しく短縮できたので報告する。

2 実 験

2.1 試薬及び装置

Cu(II) 標準溶液：和光純薬製の原子吸光用銅標準溶液を蒸留水、又は 0.1 M (mol/l) の塩酸溶液で適宜希釈して使用した。L-アスコルビン酸：和光純薬製の特級 L(+) アスコルビン酸を使用した。*o*-フェニレンジアミン：和光純薬製の一級 *o*-フェニレンジアミンを使用した。アスコルビン酸溶液と *o*-フェニレンジアミン溶液は使用の都度新しく調製し、実験中溶液は遮光水冷して使用した。上に示した以外の試薬はすべて市販の特級品を使用した。

蛍光強度測定は島津蛍光光度計 RF-535、恒温槽はタイテック製 Thermo Minder Dx-100、送液ポンプは東京理科器械製 Micro Tube Pump MP-3、pH 測定は東亜電波製 HM-20E 型 pH メーター、フレームレス原子吸光法では島津原子吸光光度計 AA-660G、電子ミクロはかりはザルトリウス製 M3P 型 (1 μg 以上ひょう量可能) をそれぞれ使用した。

2.2 原理及び方法

アスコルビン酸が Cu(II) や Cu(III) と反応すると、酸化型のアスコルビン酸 (デヒドロアスコルビン酸) となり、銅自身は一価の銅となる^{10)~14)}。この反応で三価の銅は二価に、そして二価の銅は一価となり、三価の銅は二価の 2 倍のデヒドロアスコルビン酸を生成する。従ってこのデヒドロアスコルビン酸の定量を行えば、銅の価数変化量が求められる。しかし、デヒドロアスコルビン酸自身は紫外可視部に吸収が見られないことから、このデヒドロアスコルビン酸と *o*-フェニレンジアミンとを反応させ紫外部に吸収を示し、更に蛍光を発するキノキサリン誘導体を生成させた¹⁵⁾。このキノキサリン誘導体の定量は吸光光度法でも可能であったが、より高感度に測定できる蛍光光度法を採用した。得られた生成物の蛍光強度は、間接的に Cu(II) と Cu(III) の価数の総変化量 ($[\text{Cu(II)}] + 2[\text{Cu(III)}]$) を示す。一方、銅の全量 (全 [Cu]) をフレームレス原子吸光法で測定

Fig. 1 Flow system

P: pump; I: injector (100 μl); S(Cu): sample solution; D: fluorescence detector ($\lambda_{\text{ex}}=350\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=430\text{ nm}$); DC: damping coil; R: recorder; RC: reaction coil; W: waste; Asc.: ascorbic acid solution; *o*-PDA: *o*-phenylenediamine solution

することによって、平均価数は式(1)又は(2)により求められる。

$$\text{銅の平均価数} = \frac{[\text{Cu(II)}] + 2[\text{Cu(III)}]}{\text{全 [Cu]}} + 1 \quad (1)$$

$$= \frac{[\text{Cu(III)}]}{\text{全 [Cu]}} + 2 \quad (2)$$

言うまでもなく、平均価数の定量は Cu(III) の定量をも意味している。

Fig. 1 に本研究で用いたフローシステムを示す。5% アスコルビン酸溶液 5 ml に超伝導体を溶解し、これを 100 μl 注入して、反応コイル 1 (RC1) でアスコルビン酸と反応させ、デヒドロアスコルビン酸を生成させた。次に反応コイル 2 (RC2) で 0.25% *o*-フェニレンジアミンと反応させキノキサリン誘導体を生成させた。得られたキノキサリン誘導体を励起波長 350 nm、蛍光波長 430 nm で蛍光強度を測定し、記録紙上のピーク高さから価数の総変化量を求めた。この際、5% アスコルビン酸溶液と 0.25% *o*-フェニレンジアミン溶液は熱や光に不安定なことから遮光水冷し、アスコルビン酸溶液に関しては窒素通気 (20 分以上) も行った。反応温度は恒温槽で 60°C に保った。ダンピングコイルは反応コイル 1 (RC1) や反応コイル 2 (RC2) で溶液が混合される前に溶液の温度を一定にすることにより、再現性を向上させるために使用した。ポンプの流量はキャリヤー液 (蒸留水) を 0.3 ml/min、5% アスコルビン酸溶液を 0.3 ml/min、0.25% *o*-フェニレンジアミン溶液を 0.4 ml/min とした。

酸素が溶存する場合、Cu(I) は酸化され Cu(II) が再

Fig. 2 Effect of pH on peak height

o-PDA: 0.0025 g/ml (0.023 M); Asc.: 0.05 g/ml (0.28 M); Cu(II): 50 ppb; $\lambda_{ex}=350$ nm, $\lambda_{em}=430$ nm; Reaction temperature: 60°C

Fig. 3 Effect of ascorbic acid concentration on peak height

o-PDA: 0.0025 g/ml (0.023 M); pH: 2.5; Cu(II): 50 ppb; $\lambda_{ex}=350$ nm, $\lambda_{em}=430$ nm; Reaction temperature: 60°C

生されるので, 本法では, Cu(II) の再生を抑制するために, *o*-フェニレンジアミン溶液にチオ硫酸ナトリウム (最終溶液濃度 3.22×10^{-3} M) を加えた。

残った試料溶液はフレイムレス原子吸光法により銅の全量を定量するために使用された。

3 結果及び考察

3・1 デヒドロアスコルビン酸の生成とその定量条件の検討

3・1・1 pH の影響 本法における反応は銅とアスコルビン酸との反応, デヒドロアスコルビン酸と *o*-フェニレンジアミンとの反応の二段階である。従って, それぞれの反応における最適 pH 範囲が存在する。デヒドロアスコルビン酸と *o*-フェニレンジアミンとの反応は吸光度測定により pH 5.8~6.1 が最適であるとされた⁹⁾。一方, 銅とアスコルビン酸の反応は最適 pH が明らかにされていない。そこで使用するアスコルビン酸溶液の pH を変化させ, 蛍光強度に対する影響を調べた。結果は Fig. 2 に示すように pH 2.5 まではピーク高さが増大し, それ以降ピーク高さは減少した。これは, pH 2.5 以上では空試験値が急増するため濃度消光によりピーク高さが減少すると考えられる。このように pH 2.5 が最大ピークを示したが, 必ずしもデヒドロアスコルビン酸の生成量が最大になることを意味してはいない。pH 2.5 のアスコルビン酸溶液を使用するとき最終

pH は 3.25 となる。*o*-フェニレンジアミン溶液の pH は調節しないで使用した。

3・1・2 アスコルビン酸濃度の影響 アスコルビン酸の濃度を变化させてピーク高さへの影響を調べた (Fig. 3)。図に示したように, 5×10^{-2} g/ml 以上でピーク高さが最大かつ一定となった。しかし, アスコルビン酸濃度が増大するとベースラインの乱れが大きくなった。アスコルビン酸溶液は窒素通気と遮光水冷を行っているが, アスコルビン酸濃度が濃い範囲では除去できない酸素による酸化反応が顕著に起こる結果と思われる。以後の実験では 5×10^{-2} g/ml を使用することにした。

3・1・3 *o*-フェニレンジアミンの濃度の影響 *o*-フェニレンジアミンの濃度を变化させてピーク高さへの影響について調べた。結果を Fig. 4 に示す。 2.5×10^{-3} g/ml 以上でピーク高さが最大かつ一定となったので, 使用する *o*-フェニレンジアミンの濃度は 2.5×10^{-3} g/ml とした。*o*-フェニレンジアミンの代わりに類似のジアミンを用いれば, 生成物は *o*-フェニレンジアミンと同様に構造上で環の数が増大し, 紫外可視部に吸収や蛍光を示すことが予想される。そこで, ジアミノナフタレン (DAN) やエチレンジアミンについても検討した。その結果 DAN はデヒドロアスコルビン酸とほとんど反応せず, エチレンジアミンとデヒドロアスコルビン酸との反応による蛍光物質 ($\lambda_{ex}=395$ nm, $\lambda_{em}=515$ nm)

Fig. 4 Effect of *o*-PDA concentration on peak height

pH: 2.5; Asc.: 0.05 g/ml (0.28 M); Cu(II): 50 ppb; λ_{ex} =350 nm, λ_{em} =430 nm; Reaction temperature: 60°C

Fig. 5 Effect of length of reaction coil (RC2) on peak height

o-PDA: 0.0025 g/ml (0.023 M); Asc.: 0.05 g/ml (0.28 M); Cu(II): 50 ppb; λ_{ex} =350 nm, λ_{em} =430 nm; Reaction temperature: 60°C; pH: 2.5

は、等モル量の *o*-フェニレンジアミンに比較し蛍光強度は 1/100 以下であった。

3・1・4 反応コイル長によるテイリング時間及びピーク高さへの影響 1~6 m の長さのコイルを用いて、

Fig. 6 Effect of length of reaction coil (RC2) on tailing time

o-PDA: 0.0025 g/ml (0.023 M); Asc.: 0.05 g/ml (0.28 M); Cu(II): 50 ppb; λ_{ex} =350 nm, λ_{em} =430 nm; Reaction temperature: 60°C; pH: 2.5

ピーク高さへの影響を Fig. 5 に、テイリング時間（ピークからベースラインに戻るまでの時間）への影響を Fig. 6 に示した。これらを見て分かるように反応コイルを長くした場合、4 m まではピーク高さは増大するが、それ以降は一定となった。又、テイリング時間はコイル長に比例して長くなった。4 m 以上の長さではピーク高さは変化しないことから、コイル長は 4 m とした。しかし、ここで問題となることはテイリング時間がコイル長 4 m では 28 分かかることである。本研究で用いたフローシステムに硫酸キニーネを注入した場合、硫酸キニーネのテイリング時間は 4 分ほどであった。銅イオンを注入した場合は 28 分かかるのは銅がライン内に吸着しているためと考える。

3・1・5 テイリングの短縮 Fig. 7 に EDTA のテイリング時間短縮への効果を示した。銅イオンを注入した 2 分後に 0.05% EDTA を注入し、EDTA によりライン内に吸着していると思われる銅の除去を試みた。その結果、テイリングは収まり、EDTA (0.1 M, 100 μ l) を注入した 4 分 30 秒後に銅イオンを注入した場合、先に注入した銅イオンのピークと全く等しい高さのピークが得られた。よって、テイリングのために 28 分間以上必要としたものが、6 分 30 秒後には測定可能となった。又、EDTA のほかにも、硝酸 (0.1 M, 100 μ l) 又は塩酸 (0.1 M, 100 μ l) を注入することにより、ライン内に吸着している銅の洗浄を行うことが可能であった。

Fig. 7 Effect of EDTA on tailing time

o-PDA: 0.0025 g/ml (0.023 M); Asc.: 0.05 g/ml (0.28 M); Cu(II): 50 ppb; λ_{ex} =350 nm, λ_{em} =430 nm; Reaction temperature: 60°C; pH: 2.5

3・1・6 アスコルビン酸の N₂ 通気 アスコルビン酸溶液に N₂ 通気した場合としない場合の空試験値の経時変化を調べた。アスコルビン酸を 20 分ほど N₂ 通気することにより、空試験値は一定となり、N₂ 通気しない場合の 4 分の 1 ほどの値となった。本研究ではアスコルビン酸に関しては N₂ 通気のほかに遮光氷冷も行ったが、これはアスコルビン酸が酸素、熱、光に不安定なためである。N₂ 通気や遮光氷冷を行うことによってベースラインの乱れが小さくなり、検出限界の向上に有効であった。

3・2 フレームレス原子吸光法の検討

本法で取り扱うアスコルビン酸を含む試料溶液の場合、急速に設定温度とする方式 (step モード) で行った結果、銅が揮散し、吸光度が減少した。そこで徐々に温度を上げ次に一定温度にする方法 (ramp モード) を用いた。フレームレス原子吸光法の条件を検討した結果、乾燥は 25~150°C で 30 秒、灰化は 150~500°C 15 秒、500°C 10 秒が最適であり、又原子化は 2300°C 4 秒間とした。

3・3 共存イオンの影響

本法を実試料に適用するために、YBCO 系の高温酸化物超伝導体の成分である Y と Ba の影響を調べた。結果を Table 1 に示す。Ba は Cu 0.1 ppm に対して 10 倍量である 1.0 ppm で妨害を示さなかった。Y は 10 倍量で 12% の負の妨害、5 倍量で 4% の負の妨害を示した。2 倍量の 0.2 ppm では妨害しなかった。実試料の

Table 1 Effect of foreign ions

Ion	Added as	Conc. of ion, ppm	Recovery, %
Y(III)	Y(NO ₃) ₃	1.0	88
		0.5	96
		0.2	100
Ba(II)	Ba(NO ₃) ₂	1.0	100

Cu(II): 0.1 ppm

Table 2 Average valences of Cu in superconductor Y-Ba-Cu-O

Method	Samples taken	Average valence of Cu ($n=4$)
Iodometry ⁸⁾ (Titration)	60 ~ 100 mg	2.23 ± 0.04
Spectrophotometry ⁹⁾	101 ~ 115 µg	2.27 ± 0.05
Fluorometry by FIA (Present method)	0.92 ~ 1.3 µg	2.24 ± 0.05

YBCO について考えると、Y は Cu の重量で 1/2 倍量以下であり、Ba は Cu の重量で 3/2 倍量以下であるので、YBCO の実試料に関しては Y と Ba の影響はなく、銅の価数分析が可能である。

3・4 検量線

以上の定量条件により得られた検量線は 0~150 ppb の範囲で良好な直線性を示し、相関係数は 0.999 であった。再現性は銅 100 ppb における相対標準偏差が 7 回の測定で 1.9% であった。原子吸光法では、0.6~300 ppb の範囲で定量可能であった。

3・5 銅の平均価数

YBCO 系の実試料約 1 µg を採取し、5% アスコルビン酸溶液 5 ml に溶解した。その中から 100 µl を注入することによって、検量線より 2[Cu(III)] + [Cu(II)] は 65.3 ppb との結果を得た。又、残りの試料溶液を使用し原子吸光法より全 [Cu] は 52.6 ppb となった。従って、[Cu(III)] は 12.6 ppb となった。

銅の平均価数は 2.24 となり、Table 2 に示したようにヨードメトリーにより得られた結果と一致した。

又、YBa₂Cu₃O_{7- σ} において、平均価数は Y が 3 価、Ba が 2 価、Cu が 2.24 価、O が -2 価とすると、電荷の釣り合いより $\sigma=0.14$ となる。従って YBa₂Cu₃O_{6.86} の分子量は 663.9 で Cu=63.55 より YBCO 1 µg

中に銅は 0.287 μg となる。これをアスコルビン酸溶液 5 ml に溶かすので YBCO 1 μg では、銅は 57.4 ppb となる。実試料では全 [Cu] は 52.6 ppb であったので、逆算すると実試料 YBCO のひょう量した量は 0.92 μg と計算でき、1 μg 以下で測定を行うことが可能であった。

3・6 検出限界

既報⁹⁾において Cu(II) 検出限界は 1.2 ppb であったが、FIA を導入した本法では測定条件を厳密に制御することが可能となり、検出限界を 0.09 ppb まで下げることができ、既報⁹⁾の 1/10 以下であった。又、試みた実試料量は 0.92 μg までであったが、検出限界の 10 倍量であれば定量は十分可能であるので、0.016 μg 以上に対して定量可能であると考え、従って少なくとも 0.02 μg 以上の試料量に本法は適用できる。バッチ操作では、0.21 μg が限界であることから FIA を導入し、蛍光検出法にすることにより、貴重な試料の消費量を著しく減少させることができた。

(1995 年 5 月, 第 56 回分析化学討論会において一部発表)

文 献

- 1) 笛木和雄, 井手本康: “新高温超伝導体酸化物の化学設計とプロセッシング”, p. 98 (1992), (文部

省科学研究費重点領域研究報告書)。

- 2) 恒藤敏彦, 小菅皓二, 上田 寛, 坂東尚周, 斉藤軍治, 岡田隆夫: “超伝導体の化学と物理”, p. 45 (1990), (三共出版)。
- 3) A. I. Nazzari, V. Y. Lee, E. M. Engler, R. D. Jacowitz, Y. Tokura, J. B. Torrance: *Physica C*, **153-155**, 1367 (1988)。
- 4) M. Oku, J. Kimura, M. Omori, K. Hirokawa: *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **335**, 382 (1989)。
- 5) K. Kurusu, H. Takami, K. Shintomi: *Analyst* (London), **114**, 1341 (1989)。
- 6) 広川吉之助: ぶんせき (*Bunseki*), **1990**, 353。
- 7) K. Watanabe, A. Takakuwa, K. Fueki: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **65**, 882 (1992)。
- 8) 渡辺邦洋, 高本信浩, 笛木和雄: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **42**, 33 (1993)。
- 9) 渡辺邦洋, 西森良太: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **43**, 615 (1994)。
- 10) F. Haupter, A. Pucek: *Ber.*, **93**, 249 (1960)。
- 11) E. S. G. Barron, R. H. DeMeio, F. Klemperer: *J. Biol. Chem.*, **112**, 625 (1936)。
- 12) E. Silverblatt, A. L. Robinson, C. H. King: *J. Am. Chem. Soc.*, **65**, 137 (1943)。
- 13) E. Stotz, J. H. Harrer, C. G. King: *J. Biol. Chem.*, **119**, 511 (1937)。
- 14) A. Weissberger, J. E. Luvalle: *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 700 (1944)。
- 15) S. Udenfriend: “*Fluorescence Assay in Biology and Medicine*”, 3rd printing, (1964), (Academic Press, New York)。

要 旨

フローインジェクション分析 (FIA) による、Y 系高温酸化物超伝導体中の銅の平均価数定量法を検討した。アスコルビン酸が Cu(II) や Cu(III) と反応するとデヒドロアスコルビン酸を生成する。これと *o*-フェニレンジアミンを反応させ、蛍光物質であるキノキサリン誘導体を得た。この蛍光強度を測定することにより、銅の価数変化量を求めた。又、銅の全量はフレイムレス原子吸光法により定量し、これらの結果から Y 系高温酸化物超伝導体中の銅の平均価数を求めた。銅の平均価数はヨードメトリの値と一致し、試料量は 0.02 μg 以上に対して定量可能であった。検出限界は 0.09 ppb と既報の 1/10 以下となった。