1,10-フェナントロリン化学発光検出を利用した微量希土類 金属イオン測定用連続流れ分析システムの開発

(1992 年 4 月 15 日 受理)

石井 幹太^{*†}・穴澤安代[†]・赤井 朋子^{††}

1,10-フェナントロリン (1,10-Phen) の化学発光 (CL) を希土類金属イオンの微量定量に応用した連続流れ/CL 分析システム (3 流路構成) を開発した。本 CL 反応系は希土類金属イオン/1,10-Phen/過酸化水素/水酸化ナトリウム/界面活性剤/増感剤色素からなる。利用する CL は希土類金属の edta 錯体がアルカリ性下で過酸化水素を接触分解したときに生じる活性酸素と 1,10-Phen とが反応したときに得られる。希土類金属イオンの代表例としての Eu(III) の本分析システムでの分析化学的特性は以下の通りである。検出下限: $2.0 \times 10^{-8} \text{ M}$ ($1 \text{ M} = 1 \text{ mol dm}^{-3}$; $20 \mu\text{l}$ 注入法) および $1.0 \times 10^{-8} \text{ M}$ (連続試料注入法), 定量範囲: $3.3 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ ($20 \mu\text{l}$ 注入法) および $1.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ (連続試料注入法), 相対標準偏差: $3 \times 10^{-5} \text{ M}$ Eu(III) 溶液の 5 回繰り返し測定で 2.2% ($20 \mu\text{l}$ 注入法) および 1.7% (連続試料注入法), 分析所要時間: 約 12 秒 ($20 \mu\text{l}$ 注入法)。共存物質の影響: $3 \times 10^{-5} \text{ M}$ の Eu(III) の CL 強度に対して同じ濃度の他の希土類化合物や Cu(II) は干渉するが, 前者は 10 倍, 後者は 100 倍少量では干渉は生じなかった。Ho(III) など他の二, 三の希土類金属イオンも Eu(III) と同程度の検出感度を有した。石炭フライアッシュ中の Eu(III) も分析した。

1 緒 言

近年, 希土類元素はファインセラミックスなどの新素材の構成成分^{1)~3)}として需要が増している。原料希土類化合物の純度の検定は言うに及ばず, 新素材中の希土類元素の分布や存在状態をできるだけ詳しく簡便に調べるためには新しい分析システムの開発はますます必要となると思われる。

希土類元素, たとえば Eu(III) の分析は吸光光度法⁴⁾, キレート滴定法⁵⁾, 発光分光分析法⁶⁾, ICP-MS 法⁷⁾⁸⁾, 蛍光法⁹⁾など, 各種の方法¹⁰⁾により行われている。現在は微量分析や同位体分析との関係から原子吸光法¹⁰⁾や ICP-MS 法⁷⁾⁸⁾が常用され始めている。Eu(III) の場合 ICP-MS 法⁷⁾¹⁰⁾および原子吸光法¹⁰⁾での検出下限は約 10^{-8} g/l レベルであり, 岩石の分析⁸⁾などにも応用され

ている。しかし, レーザー ICP-MS 法に見られるように装置が大型かつ高価であるので, 経済的ゆとりのある研究システムでの利用に限られる。したがって, 汎用性のある安価で簡便な希土類化合物の分析システムを開発することも希土類元素の分析化学的研究を発展させるうえで重要なことと考える。また, 希土類元素は他の元素に比べて検出下限の向上が図られていない。その主な理由の一つに分離操作の困難さがある。すなわち, 希土類元素同士の性質が似ているために鉱物中では互いに相ともなって産出するので, 希土類元素の分析化学的研究は溶媒抽出などもっぱら分離に焦点があてられてきた¹¹⁾¹²⁾。今後は検出下限の向上に焦点を当てた研究も前記した理由と相まって積極的に展開される必要がある。

著者らは化学発光 (以下 CL と略記する) 分析法の研究を進めている^{13)~15)}。CL 分析法は連続流れ分析法と併用することで, 再現性の向上, 高感度検出, 迅速定量, 装置の簡便化かつ低廉化などの特長を持つことができ微量物質の検出に利用されてき

- 明治大学理工学部工業化学科, 214 川崎市多摩区東三田
†† 現在 横浜市立東鴨居中学校, 226 横浜市緑区鴨居
1) 石田孝司, 戸田堯三, “光学セラミックスと光ファイバー”, 技報堂出版 (1983) p.64.
2) 一ノ瀬 昇, 平野真一, “光機能材料セラミックス”, オーム社 (1988) p.83.
3) 浜野健也編, “ファインセラミックスハンドブック”, 朝倉書店 (1984) p.889.
4) D. C. Stewart, D. Kato, *Anal. Chem.*, **30**, 164(1958).
5) 上野景平, “キレート滴定法”, 改訂第14版, 南江堂 (1970) p.410.
6) 日本分析化学会編, “分析化学実験ハンドブック”, 丸善 (1987) p.419.
7) F. E. Richte, A. L. Meier, J. G. Crock, *Anal. Chem.*, **59**, 1150(1987).

- 8) N. Imai, *Anal. Chim. Acta*, **235**, 381(1990).
9) M. Aihara, M. Arai, T. Taketatsu, *Analyst (London)*, **111**, 641(1986).
10) 日本化学会編, “第4版実験化学講座 15, 分析”, 丸善 (1991) p.311~326.
11) 日本化学会編, “第4版実験化学講座 15, 分析”, 丸善 (1991) p.314.
12) S. Elchuk, R. M. Cassidy, *Anal. Chem.*, **51**, 1434 (1979).
13) M. Ishii, *Anal. Sci.*, **7**, 703(1991).
14) M. Ishii, Y. Ohno, T. Hobo, *ibid.*, **7**, 873(1991).
15) 石井幹太, 白井理子, 分析化学, **41**, 125(1992).

た^{16)~19)}。

希土類元素の CL 現象は Eu(III) に限り知られているが、その CL も反応機構²⁰⁾²¹⁾の解明や存在の確認²²⁾に限り応用されている。希土類元素の CL の分析化学的利用に関してはここ数年間著者らの知る限り例を見ない。この主な理由は希土類元素に関係する CL 反応系が見いだせなかったことに負うところが大い。

希土類元素は、銅(II)や鉄(III)のような一般的な金属と異なり、エチレンジアミン四酢酸(EDTA, H₄edta)と比較的安定な錯体を酸性下でも形成する²³⁾。一方、1,10-フェナントロリン(以下 1,10-Phen と略記する)はアルカリ状態で銅(II)などの金属と容易に錯体をつくり、過酸化水素のような酸化剤が存在すると反応によって活性酸素を生じる。その活性酸素は 1,10-Phen と反応して 1,10-Phen の分解生成物である励起 6,6'-ジホルミル-2,2'-ビピリジンを生成し CL が生じる²⁴⁾。したがって、希土類元素の edta 錯体が 1,10-Phen の金属錯体と同様に活性酸素を生成し 1,10-Phen と CL 反応を行えば希土類化合物の CL 分析が可能となる。

著者らはこの考えに基づいて Eu(III) など希土類金属イオン/EDTA/1,10-Phen/アルカリ/過酸化水素から成る CL 反応系を見いだした。この CL 反応系を連続流れ分析法に組み込むことで汎用性のある簡便な微量希土類金属イオンの連続流れ/CL 分析システムを 1,10-Phen の CL を利用して確立したので報告する。

2 実 験

2.1 連続流れ/CL 分析システム

Eu(III) など希土類金属イオン測定のための CL 反応系に関係する試薬の混合は、著者らが新しい CL 現象の検出に汎用しているパッチ式 CL 検出システム²⁵⁾を用いた基礎実験の結果、連続流れ/CL 分析システム(図 1 参照)に示した順序で行うのが感度や分析時間に関して最も適することがわかった。したがって、微量希土類金属イオンの連続流れ/CL 分析システムの設計に関しての試薬濃度などの最適化は図 1 の分析システムを使用して検討した。

本分析システムは 3 流路(L₁, L₂, L₃)から構成されている。試薬溶液などの送液には内径 1.0 mm, 外径 2.0 mm のテフ

Fig. 1 Flow system for chemiluminescent determination of rare earth metal ions

L₁~L₃: Flow lines, P: Peristaltic pump, M: Mixing coil (1 m long, 1.0 mm i.d. and 2.0 mm o.d.), S: 20 μ l sample injector, D: Detector equipped with a 1 m long PVC spiral flow cell, comprised of photomultiplier tube, its cooler system, its power supply, electric picoammeter and recorder. Optimal operating conditions: L₁, 5.0×10^{-3} M sodium hydroxide at 2.5 ml/min flow rate; L₂, 5.0×10^{-3} M trimethyloctadecylammonium chloride and 1.0×10^{-4} M brilliant sulfoflavine at 2.5 ml/min flow rate, L₃: 3.0% hydrogen peroxide and/or rare earth metal ion samples at 2.5 ml/min flow rate; samples, 20 μ l injection volumes; analytical samples are prepared for the (1+1+1) mixed solutions with EDTA and 1,10-phenanthroline of 8.0×10^{-5} M and rare earth metal ions

ロン製細管を使用した。各流路の結合部は Y 型ジョイントを使用した。流路 L₁ と L₂ の試薬溶液を十分に混合するため流路 L₁, L₂ および L₃ の最終合流点から試料注入器(S: 草野科学製定容量バルブ 10/20 μ l 型: 20 μ l 使用)にいたるまでの間に、内径 1.0 mm, 外径 2.0 mm, 長さ 1 m のテフロン製混合コイル(M)を設置した。検出器(D)は浜松ホトニクス製光電子増倍管(PMT: R 453 型)と冷却器(C 659 B)およびその直流高圧安定化電源(HTV-C 3350 型)、ピコアンメーター(ADVANTEST TR-8641 型)および記録計(東亜電波工業製 TOA EPR-151 A 型)で構成した。PMT で検出された CL 応答はピコアンメーターおよび記録計でそれぞれ増幅、記録される。検出器内にあるフローセルは内径 1.0 mm のポリ塩化ビニル製管を 100 cm の長さで渦巻き状にしたものを用い、PMT の受光面と対向する状態に設置した。試料注入器からフローセルまでの距離はできるだけ短く(約 4 cm)設定した。送液にはペリスタ式ミニポンプ(P: アトー製三連動式 SJ-1220 型)を使用した。

2.2 試薬と試料

試薬類(特級)は東京化成工業、和光純薬工業、信越化学工業製を用いた。各試薬溶液は蒸留後脱イオンした水(東京理化学器械製 RO-10 型純水製造装置: 以下純水と略記する)を用いて濃厚溶液を調製し、目的に応じて純水で希釈して使用した。なお、過酸化水素のような不安定な試薬溶液については実験の都度新しく調製した。また純水には銅(II)や鉄(III)など金属類が 10^{-8} M ($1 \text{ M} = 1 \text{ mol dm}^{-3}$) レベルまで含まれないことを Zeeman 原子吸光光度計(日立製作所製 Z-8000 型)で確認した。

信越化学工業製(純度 99.99%)の酸化ユウロピウム(III)など希土類金属イオンの標準溶液は 13 M 濃硝酸で溶解したのち純水で希釈し、さらに濃硝酸で pH を 2.0 に調整して用いた。

EDTA/1,10-Phen を含む希土類金属イオン溶液は、その標準

- 16) 石井幹太, 山田正昭, ぶんせき, 1989, 442.
- 17) A. Tsuji, M. Maeda, H. Arakawa, *Anal. Sci.*, 5, 497 (1989).
- 18) 今井一洋, ぶんせき, 1991, 892.
- 19) T. Segawa, T. Kamidate, H. Watanabe, *Anal. Sci.*, 6, 763(1990).
- 20) M. Paetz, M. Elbanowski, *J. Photochem. Photobiol.*, 55, 63(1990).
- 21) V. S. Sharov, V. A. Kazamanov, Y. A. Vladimirov, *Free Radical Biol. Med.*, 7, 237(1989).
- 22) M. Elbanowski, M. Paetz, J. Slawinski, L. Ciesla, *Photochem. Photobiol.*, 47, 463(1988).
- 23) N. N. Tananaeva, N. A. Kostromina, *Zh. Neorg. Khim.*, 14, 1205(1969); (*Chem. Abstr.*, CA 71(8): 35476 c).
- 24) O. S. Fedorova, S. E. Olkin, V. M. Berdnikov, *Z. Phys. Chem. (Leipzig)*, 263, 529(1982).
- 25) 石井幹太, 馬場崎晋一, 高橋 享, 第 52 回分析化学討論会講演要旨集, p. 415 (1991).

溶液と 1, 10-Phen および EDTA 溶液を容積比 (1 : 1 : 1) の割合で混合して使用した。

実試料 (石炭フライアッシュ標準試料) は鈴木らの方法²⁶⁾に準じて溶解し、純水で希釈して本分析システムで測定できる pH (*ca.* 2) に濃硝酸で調整して使用した。なお、石炭フライアッシュ標準試料中の Eu(III) など本実験に関係のある金属類は ICP-MS 法により測定値が以下の通り定められている²⁷⁾。単位は特記したもの以外は $\mu\text{g/g}$ である。Eu(III) : 0.54, Ho(III) : 0, Sm(III) : 0, Ce(III) : 30, Cu(II) : 16.5, Mg(II) : 0, Cd(II) : 0.17, Al(III) : 3.07%, Co(II) : 6.8, Zn(II) : 28, Pb(II) : 12.4, Ni(II) : 19.4, Fe(III) : 1.1%。

Eu(III) など希土類金属イオン測定のためのブランク溶液は希土類金属イオン溶液の代わりに純水を用い、さらに濃硝酸により pH を調整後使用した。

3 結果と考察

3.1 Eu(III) の CL

希土類金属イオンの代表例として Eu(III) を選び、その CL 反応系の連続流れ分析への組み込みおよび CL 機構を詳細に調べるため Eu(III)/EDTA/1, 10-Phen 系を用いて基礎的実験を行った。実験条件および実験結果を図 2 に示す。なお、CL 強度に関する数値的取り扱いには得られた CL 応答ピークの高さに相当する電流値を用いた。また Eu(III) に関する CL 強度からブランク CL

Fig. 2 Chemiluminescent profiles obtained by the proposed flow system

A~D : CLs for Eu(III) samples, A'~D' : CLs for blank samples

	Europium(III) (<i>ca.</i> 1×10^{-5} M)	1, 10-Phenanthroline (8.0×10^{-5} M)	EDTA (8.0×10^{-5} M)	HNO ₃ (0.05M)
A	1 ml	+	1 ml	+
A'	0	1	1	1
B	1	1	0	1
B'	0	1	0	2
C	1	0	1	1
C'	0	0	1	2
D	1	0	0	2
D'	0	0	0	3

Operating conditions : Same as for Fig. 1, except for 20 μl injections of the sample solutions

(BG-CL) 強度を差し引いた強度を真の Eu(III) の CL (Eu-CL と略記) 強度と定めた。さらに Eu(III) に関する CL 強度を BG-CL 強度で除した値を一般的に用いられる SN 比 (S/N) と定義した。

EDTA/1, 10-Phen がともに存在しない場合 (図 2-D, D') は小さな CL 応答は確認されたが、Eu-CL は確認できなかった。したがって、EDTA と 1, 10-Phen の入っていない系では D および D' ともに純水や試薬類に含まれる微量の不純物金属 (M) に基づく CL 応答と考えられる。

EDTA のみを添加した場合 (図 2-C, C') は Eu-CL が得られ、CL 強度も D および D' に比べて大きくなった。この (D, D') との CL 強度の違いは本 CL 反応が EDTA が存在しない場合の CL (D, D') とは異なった反応機構に基づく結果と思われる。すなわち本 CL の場合、EDTA の添加によって Eu(III) および M が Cu(II) と 1, 10-Phen の CL の場合と同様な反応機構²⁸⁾で edta 錯体を形成し、その金属錯体がアルカリ下で過酸化水素を分解して生じる活性酸素の関与する CL 反応と考えられる。また $C > C'$ なる CL 強度の関係は以下の理由で生じると考えられる。Eu(III) はとりわけ酸性下では M など他の金属と比べて EDTA と錯体を形成しやすい。したがってその金属錯体形成能の違いが CL 収率の違いに反映され $C > C'$ の関係が生じると考えられる。

1, 10-Phen のみを添加した場合 (図 2-B, B') は Eu-CL は認められなかったが、(D, D') の場合と比べて大きな CL 応答が得られた。本実験条件下では 1, 10-Phen は Eu(III) よりも Cu(II) などと錯形成しやすいので極微量の M の存在が支配的となり 1, 10-Phen と Cu(II) の場合²⁸⁾のように比較的発光収率の大きい CL を生じさせるものと思われる。

本 CL 反応系となる EDTA/1, 10-Phen 混合系の場合 (図 2-A, A') は他のすべての場合と比較して最も大きな Eu-CL が得られた。Eu(III) は 1, 10-Phen よりも EDTA と特に酸性下では錯形成しやすいので、Eu(III) に関する CL は Eu(III) の edta 錯体によって支配されることになる。すなわち、Eu(III) に関する CL は Eu(III)-edta 錯体と過酸化水素との接触分解反応によって生じる活性酸素が 1, 10-Phen と反応すること²⁴⁾によって大きな発光収率をともなうて生じる。一方、BG-CL (A') は C' の CL に関与する活性酸素が C' の CL 反応機構に依存するよりもむしろ 1, 10-Phen と反応して CL が生じると考えられる。

いずれにせよ活性酸素の生成が本 CL 反応系では支配的となるので活性酸素の生成を調べた。活性酸素、とりわけスーパーオキシドラジカルアニオン (O_2^-) の捕捉剤であるニトロブルーテトラゾリウム (NBT : *ca.* 1×10^{-3} M) を試料溶液に加えると、図 2 に示したすべての CL 応答の強度が加えない場合の CL 強度の全体の約 1/6 (図 2-A) から 4/5 (図 2-A', C') に減少した。したがって、図 2 に示したすべての CL には O_2^- が関与していると考えられる。なお、他の使用した希土類金属イオンも NBT 試薬に対して Eu(III) と同様な挙動を示した。

26) T. Suzuki, H. Nakagawa, K. Sawada, *Anal. Sci.*, **2**, 309(1986).

27) G. A. Urano, National Bureau of Standards Reports, (1979).

28) 石井幹太, 山田正昭, 鈴木繁喬, 分析化学, **35**, 373(1986),

以上のことから希土類金属イオンの CL 分析に用いる CL は以下に示す機構に基づいて生じると結論した。

3.2 操作条件の最適化

本連続流れ/CL 分析システムの操作条件の最適化を感度の向上のための色素¹⁵⁾や界面活性剤²⁸⁾の使用および 1,10-phen と EDTA の混合割合などから検討した。

3.2.1 界面活性剤: 界面活性剤は溶液中で分子配向することで CL 収率を高める場合がある²⁸⁾。Eu(III) を例にとり、陽イオン界面活性剤など 11 種の界面活性剤について検討した。実験は図 1 の装置を用い、試薬は流路 L₁ に 1.0×10⁻³ M 水酸化ナトリ

Table 1 Effect of organized surfactant assemblies on CL intensity for Eu(III)

Surfactant	Relative CL intensity	Relative S/N ^{d)} value
None	11	47
Cationic ^{a)}		
STAC	100	100
CTAB	83	80
CEDAB	79	73
MDBAC	63	65
DDAB	46	52
MTAB	2	37
CPC	0	0
DTAB	0	0
Anionic ^{b)}		
SDS	0	0
None ionic ^{c)}		
Brij-35	0	0
Tween #85	5	40

a) 5.0×10⁻³ M.

b) 5.0×10⁻³ M.

c) 5.0 g/l.

d) The intensity ratio of europium(III) chemiluminescence to the background chemiluminescence.

STAC: trimethyloctadecylammonium chloride, CTAB: trimethylhexadecylammonium bromide, CEDAB: ethyl hexadecyldimethylammonium bromide, MDBAC: zephiramine, DDAB: dimethyldidodecylammonium bromide, MTAB: trimethyltetradecylammonium bromide, CPC: hexadecylpyridinium chloride, DTAB: trimethyldodecylammonium bromide, SDS: sodium dodecyl sulfate.

Conditions: 1.0×10⁻³ M sodium hydroxide for L₁, surfactant for L₂ and 3.0% hydrogen peroxide for L₃ at flow rate of 2.5 ml/min each; 20 μl injections for the (1+1+1) mixed solution with 1.0×10⁻⁴ M europium(III), 2.0×10⁻⁴ M 1,10-phenanthroline and 1.0×10⁻⁴ M EDTA.

Table 2 Effect of dye-sensitizer on the CL intensity

Dye-sensitizer (1×10 ⁻⁴ M)	Relative S/N value
None	36
Brilliant sulfoflavine	100
Uranine	51
9,10-Dibromoanthracene	50
Perylene	44
9,10-Diphenylanthracene	44
Rhodamine B	32
Eosin Y	30
Erythrosine B	30
Eosin B	30
Flavine mononucleotide	22
Pyronine B	21

Operating conditions: Same as for Table 1, except for 5.0×10⁻³ M STAC.

ウムを、流路 L₂ に 5.0×10⁻³ M 界面活性剤を、流路 L₃ に 3% 過酸化水素を配置した。試料溶液は 1.0×10⁻⁴ M Eu(III) と 1.0×10⁻⁴ M EDTA および 2.0×10⁻⁴ M 1,10-Phen を等容混合して用いた。ブランク試料はすべての実験で Au(III) の代わりに純水を用いて調製した。結果を表 1 に示す。陽イオン性の界面活性剤に増感効果が顕著で、中でも S/N および CL 強度ともに塩化トリメチルオクタデシルアンモニウム (STAC と略記) が最大であった。したがって界面活性剤には STAC を使用することにした。

3.2.2 増感剤色素: キサンテン系色素などは界面活性剤の場合と同様 CL 増感に役立つ場合がある¹⁵⁾。キサンテン系色素 11 種について検討した。実験条件は界面活性剤の場合に準じ、5.0×10⁻³ M STAC 溶液に 1.0×10⁻⁴ M のキサンテン系色素 11 種を添加して流路 L₂ より送液した。結果を表 2 に示した。S/N に注目すると、ブリリアントスルホフラビン (以下 BSF と略記する) が最も大きく、これを使用しない場合の約 2.8 倍であった。Eu(III) の CL 強度に注目するとローダミン B が最大で BSF の約 2 倍であったが、S/N は 1/3 に満たない。S/N が大きい方が一般的には感度が高くなるので以後の実験では BSF を使用した。なお、STAC および BSF を本 CL 反応系に添加することで S/N で約 6 倍、Eu(III) の CL 応答で約 28 倍の増感が確認された。

3.2.3 EDTA/1,10-Phen の混合比: 本 CL 反応系において EDTA/1,10-Phen の混合比は Eu(III) の CL に対して強度と選択性を支配する要因となる。そこで、EDTA と 1,10-Phen との最適混合比について検討した。実験は混合割合の異なった EDTA と 1,10-Phen を含む 5.0×10⁻⁵ M Eu(III) 標準溶液を本分析システムに導入し、流路 L₁ より 5.0×10⁻³ M 水酸化ナトリウム、流路 L₂ より 5.0×10⁻³ M STAC と 1.0×10⁻⁴ M BSF の混合液、流路 L₃ より 3% 過酸化水素を送液して実施した。結果を図 3 に示す。S/N が最大の組み合わせは 8.0×10⁻⁵ M EDTA と 8.0×10⁻⁵ M 1,10-Phen であった。また混合比は EDTA : 1,10-Phen = 1 : (1~2) の場合に Eu-CL が最大となることが判明した。以後の実験では 8.0×10⁻⁵ M EDTA と 8.0×10⁻⁵ M 1,10-Phen を等容混合して用いた。

3.2.4 試薬濃度: 水酸化ナトリウムと過酸化水素の最適濃度を Eu(III) の CL 強度および S/N の両面から検討した。結果を図 4 に示した。1.0×10⁻³ M 水酸化ナトリウムと 3% 過酸化水素

Fig. 3 Effect of the concentration ratio of 1,10-phenanthroline and EDTA on the chemiluminescent intensity

[EDTA/M]: A, 1.0×10^{-4} ; B, 8.0×10^{-5} ; C, 5.0×10^{-5} ; D, 2.0×10^{-5} ; E, 1.0×10^{-5}
 Conditions: Same as for Fig. 1, except for 20 μ l injections of $ca. 5 \times 10^{-5}$ M europium(III)

Fig. 4 Effect of hydrogen peroxide concentration on the chemiluminescent intensity

[NaOH/M]: A, 0.1; B, 0.01; C, 1×10^{-3} ; D, 1×10^{-4}
 Conditions: Same as for Fig. 1, except for concentrations of hydrogen peroxide and sodium hydroxide

付近の組み合わせが本実験条件に適することが判明したので、その付近の濃度について詳細に調べたところ 5.0×10^{-3} M 水酸化ナトリウムと 3% 過酸化水素の組み合わせが最適であった。

3.2.5 試料の pH: 錯体形成が pH の影響を受けることは周知のことである。本研究の分析対象とした Eu(III) は水に難溶で硝酸を用いて溶解するので、試料溶液の pH の変化が CL 強度に影響することが予測される。試料溶液の pH を変えて CL 強度に与える影響を検討した結果を図 5 に示した。試料溶液の場合はブランク試料の場合に比べて著しい CL 強度への影響が確認された。このことは本 CL が Eu(III) の edta 錯体の形成に関係があることを示唆する結果でもあり本 CL 反応機構を支持することに

Fig. 5 Effect of pH of the sample solutions on the chemiluminescent intensity

A: Europium(III), B: Background
 Conditions: Same as for Fig. 1, except for 20 μ l injections of $ca. 5 \times 10^{-5}$ M europium(III)

Fig. 6 Calibration graphs for determination of europium(III)

A: Continuous sample flow method, B: Flow injection method
 Conditions: Same as for Fig. 1

もなる。以後、大きな S/N が得られる pH 2.5 を最適条件に選び実験を進めた。

3.2.6 試薬流量: 試薬流量の本 CL に及ぼす影響を図 1 の実験条件に示した試薬濃度で検討した。各試薬流量が 0.5~1.5 ml/min の範囲までは流量の増加にともない Eu(III) の CL 強度は増したが、1.5~3.5 ml/min の範囲では一定となり、3.5~5.0 ml/min の範囲では減少した。BG-CL に関しては実験した範囲ではほぼ一定となった。したがって、最適試薬流量として 2.5 ml/min を選び実験を進めた。

3.3 検量線

最適実験条件下 (図 1 参照) Eu(III) を例にとり、20 μ l 試料注入法および連続試料注入法 (図 1 の流路 L₃ から過酸化水素と混合して導入する) による Eu(III) の検量線を作成した。結果を図

6 に示す。20 μ l 注入法での検出下限と定量範囲はそれぞれ 2.0×10^{-8} M および $3.3 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ M であった。また、連続試料注入法の検出下限と定量範囲はそれぞれ 1.0×10^{-8} M および $1.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ M であった。なお、この場合の S/N は 1.5 である。Eu(III) の検出下限は連続試料注入法の場合が 20 μ l 注入法の場合に比べて 2 倍良好で、定量範囲も広がった。これは試料を大量に導入できるためである。他の希土類金属イオンにも Eu(III) と同様な傾向が認められた。使用した希土類金属イオンでの 20 μ l 注入法と連続試料注入法 (S/N=1.5) での検出下限と定量範囲を以下に示す。検出下限 (20 μ l 注入法, 連続試料注入法) は Sm(III)=(3.5×10^{-8} , 2.0×10^{-8} M); Ho(III)=(2.0×10^{-8} , 1.0×10^{-8} M); Ce(III)=(4.0×10^{-8} , 3.0×10^{-8} M) である。また、定量範囲 (20 μ l 注入法, 連続試料注入法) は Sm(III)=($4.6 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ M, $2.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ M); Ho(III)=($3.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ M, $1.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ M); Ce(III)=($5.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ M, $3.5 \times 10^{-8} \sim 8.5 \times 10^{-6}$ M) である。

3.4 CL 反応の選択性

本 CL は 1, 10-Phen の CL であるのでこの CL 系には Cu(II) や Pb(II) などの一部の金属類が関与する²⁸⁾。Eu(III) と予測される金属類 10 種 (3×10^{-5} M) および入手できた Eu(III) 以外の希土類化合物について検討した。結果を表 3 に示した。希土類化合物に関しては Eu(III) とほぼ同程度の CL 強度が得られた。その他の金属では Cu(II) が最も大きく、次いでマグネシウム(II)、カドミウム(II) の順で、先の報告²⁸⁾ と比べて銅(II) に対するこれら金属の相対 CL 強度値は大きかった。このことは反応試薬に金属のマスキング剤 (テトラエチレンペンタミン) を加えていないこと、および界面活性剤にセチルエチルジメチルアンモニウム臭化物の代わりに STAC を使用したことによる結果と思われる。なお、アスコルビン酸や塩化ナトリウムなど金属以外の数種の化合物には CL 応答が得られないことも確かめた。

Table 3 Selectivity for the proposed CL reaction system

Compounds tested (3×10^{-5} M)	Relative molar CL intensity
Eu ₂ O ₃	100
Ho ₂ O ₃	106
Sm ₂ O ₃	82
Ce ₂ O ₃	77
Cu(NO ₃) ₂	270
MgCl ₂	54
CdCl ₂	40
AlCl ₃	38
CoCl ₂	32
ZnSO ₄	25
Pb(NO ₃) ₂	27
Ni(NO ₃) ₂	16
FeCl ₃	8
MnCl ₂	3
NaCl	2
Ascorbic acid	2
H ₂ O	2

Conditions: Same as for Fig. 1.

Table 4 Effect of coexistent substances on CL intensity

Compounds tested	Relative error (%)
Eu ₂ O ₃	—
Ho ₂ O ₃ ^{a)}	0
Sm ₂ O ₃ ^{a)}	0
Ce ₂ O ₃ ^{a)}	0
Cu(NO ₃) ₂	320
MgCl ₂	13
CdCl ₂	15
AlCl ₃	3
CoCl ₂	7
ZnSO ₄	4
Pb(NO ₃) ₂	8
Ni(NO ₃) ₂	1
FeCl ₃	1
MnCl ₂	1
NaCl	0
Ascorbic acid	0

a) 3×10^{-5} M. Conditions: Same as for Fig. 1, except for 20 μ l injections of the (1+1) mixed solution with 3×10^{-5} M Eu(III) and 3×10^{-5} M other coexistent substances each except for rare earth metal compounds.

3.5 共存物質の影響

本 CL の選択性の検討結果から共存物質の影響も著者らの先の報告²⁸⁾ の場合と同じ傾向が予測される。表 3 で調べた金属と入手した希土類化合物について調べた。 3×10^{-5} M の Eu(III) と他の共存物質 (3×10^{-5} M; 希土類化合物は 3×10^{-6} M) を等容混合した試料を調製して実験した。結果を表 4 に示した。表中の数値は共存物質がない場合の CL 強度に対する各共存物質の影響を相対誤差 (%) で示してある。Cu(II) には Eu(III) の CL を干渉する傾向が認められたが、他の金属についてはカドミウム(II) が 15% で、ついで Mg(II) の 13%, Pb(II) の 8% で、Mn(II) や Ni(II) はともに 1% であった。しかし、Cu(II) の場合も添加濃度を 100 倍希釈して用いると Eu(III) の CL 強度への影響は確認されなかった。希土類化合物は Eu(III) の 10 倍低濃度では Eu(III) の CL 応答に干渉を及ぼさなかった。Eu(III) を初めて希土類化合物の純度検定などの実試料分析では Cu(II) などの共存物質はほとんどの場合無視できるほど微量しか含まれていないので、本分析システムは Eu(III) など希土類金属化合物の測定に関して選択的であるといえる。

3.6 再現性と分析時間

最適実験条件下で (図 1 参照), 3×10^{-5} M の Eu(III) 溶液を用いて 20 μ l 注入法および連続試料注入法について調べた。5 回繰り返し実験での相対標準偏差は、前者が 2.2%, 後者が 1.7% であった。

分析所要時間は、図 2 の CL 応答プロファイルから計算して、20 μ l 注入法の場合で約 12 秒であった。

3.7 実試料分析

石炭フライアッシュ中の Eu(III) を連続試料注入法による標準添加法で分析した。本測定結果は 3.7×10^{-8} M で、ICP-MS 法 (1.3×10^{-8} M) とは約 3 倍の差異が生じた。これは実試料中に Eu(III) と同様本 CL に関与する Ce(III) などが存在するためと

思われる。すなわち純度検定など特殊な場合は別として、本分析システムをいろいろな実試料の分析に応用する場合はあらかじめ組成をある程度明らかにするか、あるいはイオン交換法のような他の分離法との組み合わせを用いることが肝要と思われる。

本研究で開発した希土類金属イオンの連続流れ/CL 分析システムは、ICP-MS 法などに比べて定量下限はやや劣るが、安価な装置で簡便に目的成分を測定できる。本分析システムは試料に何

種かの希土類金属化合物を含む場合などの分析ではイオン交換法など既存の分離法との組み合わせが必要であるが、気軽に利用できる利点があり、今後希土類化合物の分析化学的研究に活用できると考える。なお、選択性の向上と高感度化については検討中である。

(1991 年 5 月, 第 52 回分析化学討論会にて一部発表)

Development of Flow Injection and Continuous Flow System Using 1,10-Phenanthroline Chemiluminescent Detection for Determination of Small Amounts of Rare Earth Metal Ions

Mikita ISHII, Yasuyo ANAZAWA* and Tomoko AKAI**

*Department of Industrial Chemistry, School of Science and Technology, Meiji University;
1-1-1 Higashimita, Tama-ku, Kawasaki-shi 214 Japan*

*** Higashi Kamoi Junior High School; 3-39-1 Kamoi, Midori-ku Yokohama-shi 226 Japan*

In order to determine small amounts of rare earth metal ions, a new flow injection and continuous flow system using 1,10-phenanthroline (1,10-Phen) chemiluminescent (CL) detection was developed. The proposed system is comprised of three flow lines at flow rate of 2.5 ml/min each; the sodium hydroxide solution line, the surfactant and dye-sensitizer solution line and the hydrogen peroxide and/or sample solution line. Rare earth metal ion samples containing the mixed reagents of 1,10-Phen and EDTA ($H_4\text{edta}$) are analyzed by the flow injection method or by the continuous flow method. The 1,10-Phen CL for the determination of rare earth metal ions is produced by a reaction of 1,10-Phen and reactive oxygen species produced by a reaction of rare earth metal-edta complex and hydrogen peroxide in the alkaline solution, and enhanced by surfactant and dye-sensitizer. Typical europium(III)'s analytical characteristics for the proposed system are as follows. The lower detection limits are 2.0×10^{-8} M ($1\text{ M} = 1\text{ mol dm}^{-3}$) in $20\text{ }\mu\text{l}$ injection volumes and 1.0×10^{-8} M in 2.5 ml/min continuous sample flows. The magnitudes for the determination are $3.3 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5}$ M by the flow injection method and $1.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ M by the continuous sample flow method. Analytical time required is *ca.* 12 s by the $20\text{ }\mu\text{l}$ injection method. Relative standard deviations are 2.2% by the flow injection method and 1.7% by the continuous flow method in 5 repeated runs of the 3×10^{-5} M europium solutions. Copper(II), the substance which may cause the largest interference to the europium CL intensity, did not interfere the intensity even by the 3×10^{-7} M coexistence in the 3×10^{-5} M europium solutions. The analytical properties for other rare earth metal ions such as samarium(III) showed the same tendency to those for europium. Coal fly ash was analyzed with the present system.