

ストップフロー法カインेटクスを用いた 高速化学反応のモニタリング

50 ミリ秒でデータ収集を開始、12 ミリ秒のデータ収集間隔



著者

Jeffrey Comerford, Ph.D Agilent
Technologies

Australia (M) Pty Ltd. Mulgrave,
Victoria, 3170, Australia

はじめに

多くの要素によって化学反応の速度は影響を受けます。要素には、金属、配位子のサイズと電荷、反応物質の濃度、pH や温度などの環境条件が含まれます。これらすべての要因により、ミリ秒から数時間、数日の範囲の半減期を持つ系が生じる可能性があります。

反応をモニタリングする方法の 1 つが、UV-Vis 分光光度計です。反応物質または生成物の吸光度が反応時間の関数として変化する場合、通常はこの方法を採用することができます。半減期が数分より長い反応には従来のセルで十分ですが、1 秒または数ミリ秒以内に終了する反応には専用の装置が必要になります。高速カインेटクスアクセサリ（またはストップフロー装置）を使用すれば、そのような高速反応を測定できます。

この研究では Cary 50 UV-Vis を使用しましたが、Cary 50 UV-Vis の後継機 Cary 60 UV-Vis も使用可能です。

理論

1 秒未満の速度で進行する反応を解析する場合、従来の分光光度法は使用できません。反応物質を手動で添加し、数秒間攪拌して十分混合すると反応が終了し、スペクトルの変化は記録されません。この問題を解決するには、瞬時の混合とデータ記録を数十ミリ秒の時間単位でデータを記録するストップフロー装置（図 1）を使用します。この手法では、フローセル内で 2 つの溶液をすばやく混合し、混合が終了したらデータの記録を開始します。Cary 50 および Cary 60 UV-Vis 分光光度計はいずれも、12.5 ミリ秒ごとにデータポイントを記録できます。



図 1. ラピッドミックスアクセサリ – SFA20

機器のアクセサリコントローラポートに接続されているリモート送信ケーブルを介してストップフロー装置を分光光度計に接続します。図 2 に示すように、溶液 A と溶液 B のラベルが付いた 2 つのシリンジに反応物質を入れます。プランジヤを押すと、溶液は別々にキュベットに移動し、セルに入ったときに初めて混合されます。それまでの反応溶液はシリンジに排出され、マイクロスイッチを押すまでは戻りません。ここでセルへの溶媒の流入が止まり、データ収集が瞬時に開始されます。この結果、手動で開始することによって生じる遅延を防ぐことができます。

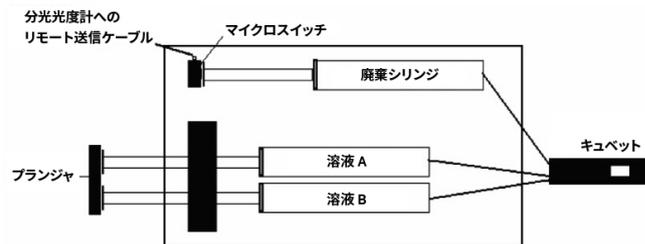


図 2. ラピッドミックスアクセサリの概略図

データは、従来の手法を使用する場合とほぼ同じ方法で処理されます。Cary WinUV カイネティックスアプリケーションで利用可能な組み込みアルゴリズムでは、0 次、1 次、および 2 次の近似を適用できます。近似曲線がグラフに表示され、計算されたパラメータがレポートに示されます。反応の初期段階でスペクトルのほとんどの変化が発生するため、ここに十分な数のデータポイントがあることが重要です。

半減期の 3 ~ 4 倍の時間で十分なデータを収集する必要があります。Cary 50/60 UV-Vis 分光光度計をストップフロー装置と組み合わせると、数百ミリ秒以内に終了する反応を測定することができます。

装置

- Cary 50² UV/Vis 分光光度計
- ラピッドミックスアクセサリ (SFA-20)
- 緑食用色素
- 漂白剤 (White King)¹

実験方法

Cary 50² UV-Vis の非常に高速なデータ収集能力を実証するために、緑食用色素の漂白速度について解析しました。反応速度は、漂白剤の濃度によって制御し、この反応の測定限界となるまで濃度を変化させました。さらに、1 次動力学近似をデータに適用しました。

脱イオン蒸留水中に緑食用色素を加え、溶液の吸光度が約 0.4 となるように調製しました (溶液 A)。

溶液 B は、漂白剤溶液 (0.655 mL) を 30 mL の脱イオン蒸留水で希釈して調製しました。

¹ 次亜塩素酸ナトリウムとして 40 g/L の塩素が利用可能な家庭用洗濯漂白液

² Cary 60 は Cary 50 の後継機であり、同等の性能を有しています。

Cary 50 UV-Vis の機器パラメータは次のように設定しました。

パラメータ	設定値
波長 (nm)	414
平均時間 (秒)	0.0125
Y 最小	0
Y 最大	0.5
サイクル (分)	0
停止 (分)	0.2

結果

緑色は、黄色と青色の 2 つの原色で構成されており、水中での緑食用色素の UV-Vis スペクトルに反映されています (図 3)。黄色の成分は 414 nm に吸光があり、青色の成分は 629 nm に吸光があります。漂白剤を添加すると 414 nm の吸光度に急速な変化が生じ、その後 1 次崩壊経路が発生します。この速度は漂白剤の濃度によって異なります。反応モニタリングは、414 nm で行いました。

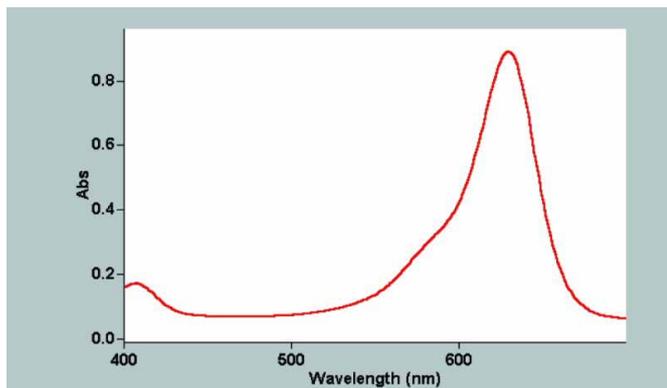


図 3. 水に溶解した緑食用色素の UV-Vis スペクトル

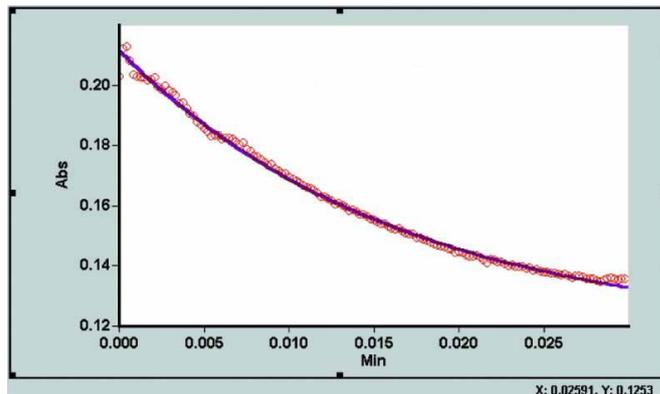


図 4. 緑食用色素と漂白剤の 414 nm における吸光度の変化

図 4 は、Cary 50 UV-Vis で収集した緑食用色素の漂白による吸光度の経時変化を示したものです。反応は 2 秒以内に終了し、一次反応の速度定数は 60.320 min^{-1} 、SD は 0.0013 と計算されました。

考察

1 秒未満の半減期を持つ反応を正確に観測するには、分光光度計に次の機能が必要です。

1. 試薬の混合から最初のデータポイントの記録までの遅延時間が非常に短いこと。
2. データの正確な近似が可能になる十分な データポイント/秒を取り込む能力を有すること。
3. ラピッドミックスアクセサリを接続できるリモート読み取りプラグを有すること。

Cary 50 および Cary 60 UV-Vis は、ソフトウェアに「Synch Start (同期開始)」機能を組み込むことにより、混合から最初のデータポイントの収集までの待ち時間を最小限に抑えました。その結果、ソフトウェアが実質上「プライミング」され、最初の読み取りの準備が行われます。Cary 50 および Cary 60 UV-Vis では遅延が合計で 50 ミリ秒未満であるため、反応の初期段階で貴重なデータが失われることはありません。

Cary WinUV Kinetics ソフトウェアは、データの解析と表示に必要なすべてのツールを提供します。曲線近似は数秒で完了し、近似曲線が実験データに重ねて表示されます。実験データを点として表示し、近似曲線を実線として表示するオプションにより、ユーザーによるカスタマイズが可能な専門的なレポートを作成できます。

データ収集に使用した機器パラメータと曲線近似の結果もレポートに表示されます。

結論

Cary 50 および 60 UV-Vis は、高速波長走査型 UV-Vis 分光光度計であり、1 秒あたり 80 データポイントの収集速度で単一または複数の波長からデータを収集します。試薬の混合から最初のデータポイントの収集までの遅延が極めて短く、吸光度の最大の変化が発生する反応初期の部分でより多くのデータを収集できます。これにより、1 秒未満のレベルで進行する反応の正確なモニタリングと解析が可能になります。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2021
Printed in Japan, July 16, 2021
SI-A-1177JAJP
DE44313.0383564815

