

## Agilent Cary 3500 UV-Vis 分光光度計の 3 Abs 以上の測光精度と直線性

米国薬局方 (USP) で規定されたガイドラインに従い、異なる濃度の二クロム酸カリウム ( $K_2Cr_2O_7$ ) を使用し Agilent Cary 3500 の測光精度と直線性を検証すると、最大 3.5 Abs の測光範囲を満たすことが分かります。

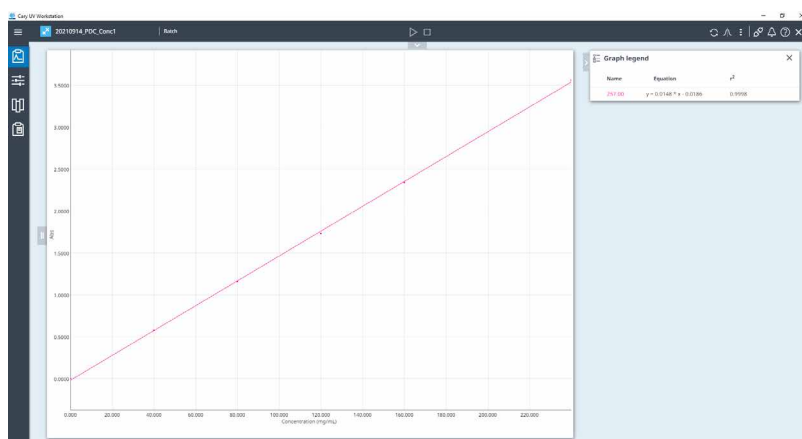
分光光度計の測光精度と直線性により化合物の吸光度を測定する性能が決まり、これは既知の吸光度または濃度に直接関連しています。

測光精度により、機器がどれだけ正確にサンプルの吸光度を測定できるかが決まります。測光精度が低いと結果が不正確になります。

濃度が上昇するにつれ、機器がどれだけ正確に吸光度を測定できるかは測光直線性で決まります。測光直線性が低くても結果が不正確になります。

これら 2 つのパラメータのすべての試験は、吸光度とサンプル濃度との間に直線相関性があることを示す、ランベルト・ベールの法則に従っています (図 1)。紫外可視光を使用した場合、吸光度と濃度の関係はシンプルな比例関係となり、測定自体も比較的簡単です。このため紫外可視分光光度計は、非常に多くの定量分析方法の基本となっています。

図 1. Cary UV Workstation ソフトウェアの画面。257 nm での 40 ~ 240 mg/L の二クロム酸カリウムの検量線を示しています。最高濃度での吸光度は 3.5 Abs を超えています。検量線の R2 は 0.9998 です。



分光光度計が直線性を維持するダイナミックレンジも重要です。直線性の範囲では、高濁度サンプルのさまざまなサンプル濃度の分析が可能で、サンプル前処理（希釈）に必要な時間が削減されます。

米国薬局方（USP）で規定されたガイドラインに従い、異なる濃度の二クロム酸カリウム（ $K_2Cr_2O_7$ ）を使用することにより、Agilent Cary 3500の測光精度と直線性を実証できます。

## 測光精度

二クロム酸カリウム（ $K_2Cr_2O_7$ ）認証標準物質を使用して、測光精度テストを実施しました。スペクトルの UV 領域で測光精度をテストするための USP メソッドでは、希釈過塩素酸中の二クロム酸カリウム（ $K_2Cr_2O_7$ ）の溶液を測定する必要があります。次に、235 nm、257 nm、313 nm、および 350 nm での吸光度を測定します。測定される吸光度の精度は、1 Abs 未満では  $\pm 0.01$  Abs、1 Abs 以上では  $\pm 1\%$  となる必要があります。

表 1 に、5 種類の異なる二クロム酸カリウム認証標準物質を測定した結果を示します。結果はすべて、USP が要求している精度以内でした。

表 1. 40 ~ 240 mg/L の認証二クロム酸カリウム  $K_2Cr_2O_7$  を使用した際の測光精度。測定では 0.001 M 過塩素酸の溶液をブランクとして使用し、リファレンスピーームは空のままにしました。

二クロム酸カリウム ( $K_2Cr_2O_7$ )、40 mg/L					
波長 (nm)	認定値	Cary 3500 値 (n = 6)	測定値と認証値の差	精度の許容範囲	結果
235.00	0.4931	0.4973	0.0042	$\pm 0.010$ Abs	合格
257.00	0.5704	0.5779	0.0075	$\pm 0.010$ Abs	合格
313.00	0.1914	0.1973	0.0059	$\pm 0.010$ Abs	合格
350.00	0.4239	0.4336	0.0097	$\pm 0.010$ Abs	合格
二クロム酸カリウム ( $K_2Cr_2O_7$ )、80 mg/L					
波長 (nm)	認定値	Cary 3500 値 (n = 6)	測定値と認証値の差	精度の許容範囲	結果
235.00	0.9995	1.0029	0.0034	$\pm 0.010$ Abs	合格
257.00	1.1562	1.1627	0.0065	$\pm 1\%$	合格
313.00	0.3874	0.3961	0.0087	$\pm 0.010$ Abs	合格
350.00	0.8559	0.8659	0.0100	$\pm 0.010$ Abs	合格

ニクロム酸カリウム (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )、120 mg/L					
波長 (nm)	認定値	Cary 3500 値 (n = 6)	測定値と認証値の差	精度の許容範囲	結果
235.00	1.4974	1.4915	-0.0059	±1 %	合格
257.00	1.7352	1.7319	-0.0033	±1 %	合格
313.00	0.5751	0.5827	0.0076	±0.010 Abs	合格
350.00	1.2753	1.2807	0.0054	±1 %	合格
ニクロム酸カリウム (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )、160 mg/L					
波長 (nm)	認定値	Cary 3500 値 (n = 6)	測定値と認証値の差	精度の許容範囲	結果
235.00	2.0188	2.0141	-0.0047	±1 %	合格
257.00	2.3451	2.3439	-0.0012	±1 %	合格
313.00	0.7716	0.7791	0.0075	±0.010 Abs	合格
350.00	1.7147	1.7209	0.0062	±1 %	合格
ニクロム酸カリウム (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )、240 mg/L					
波長 (nm)	認定値	Cary 3500 値 (n = 6)	測定値と認証値の差	精度の許容範囲	結果
235.00	3.0867	3.0747	-0.0120	±1 %	合格
257.00	3.5899	3.5886	-0.0013	±1 %	合格
313.00	1.1686	1.1768	0.0082	±1 %	合格
350.00	2.5988	2.6091	0.0103	±1 %	合格

## 測光直線性

測光応答（直線性）の検証について、USP (USP43-NF 38)、Chapter <857> 紫外可視分光光度計では、次のように述べられています。

「測光応答（直線性）の検証は必須であり、必要な波長に適した標準物質を使用して評価する必要があります。必要な吸光度範囲にわたり少なくとも 3 種類の異なる吸光度レベルを測定します。上述の要件の状況の下では、標準物質の応答の相関係数を計算して直線性を実証する必要はありません。選択した異なる吸光度レベルにおいて、許容限界値を満たしていることを実証するだけです」。これは、(表 1) で実証されています。(1)

Cary 3500 を使用して 5 種類のニクロム酸カリウム標準から作成した検量線では、235 と 257 nm の R<sup>2</sup> 値は 0.9998、313 と 350 nm では 0.9999 でした。図 2 に示すように、Cary 3500 は 3 Abs を超える優れた測光直線性を示しています。測光直線性が優れているということは、高濃度の液体サンプルを希釈しなくても、正確に測定できるということです。

吸光度と濃度 (mg/L) のプロットはダイナミックレンジが広く、40 ~ 240 mg/L のニクロム酸カリウムの定量分析のピーク吸光度波長が 257 nmであることを示しています。ニクロム酸カリウムの最高濃度において、この波長での吸光度は 3 Abs を超えています。

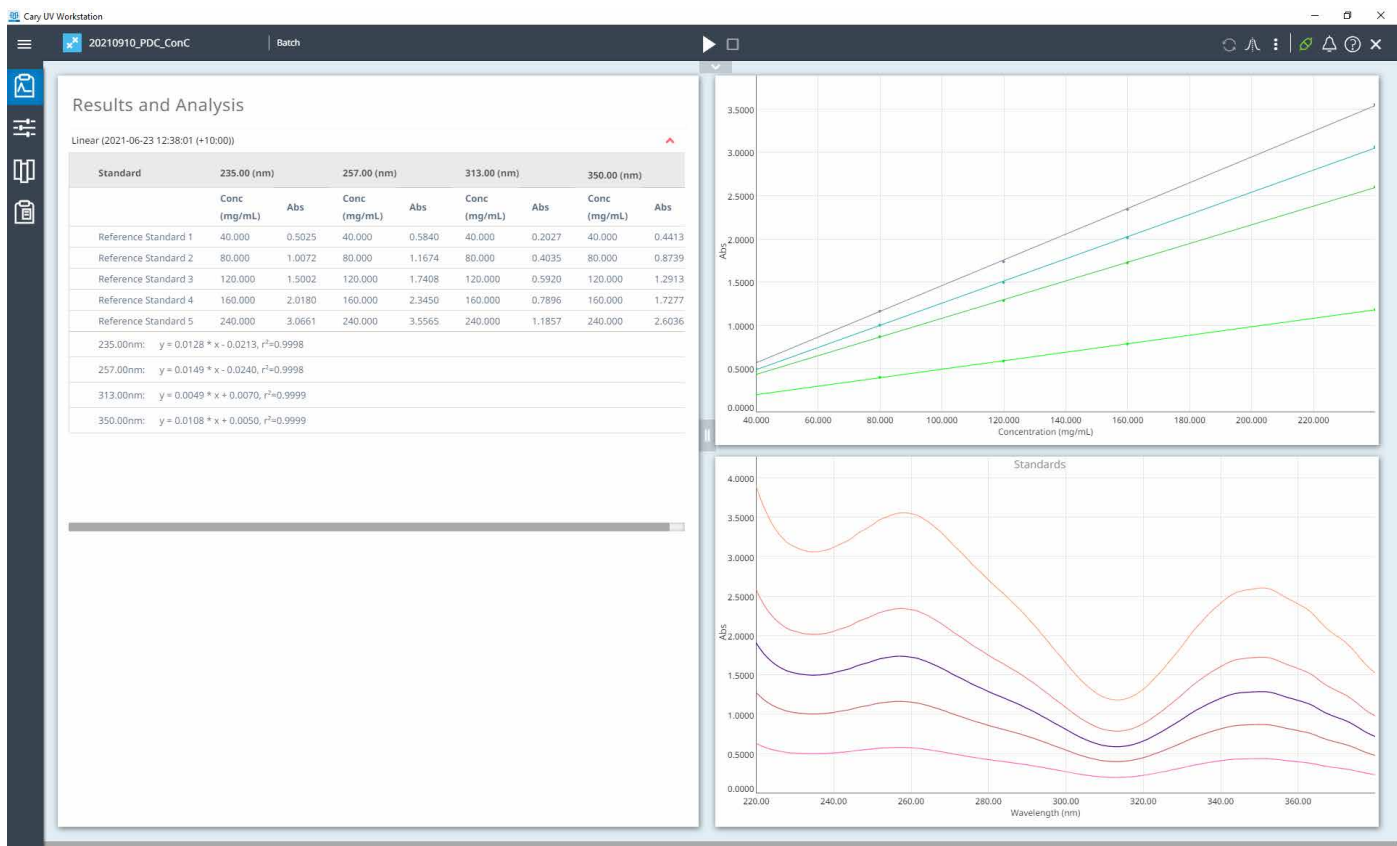


図 2. Cary UV Workstation ソフトウェアの画面。235、257、313、および 350 nm でのニクロム酸カリウムの検量線（右上）と、標準に関連する波長スキャン（右下）を示しています。画面の左側では、一次方程式および相関係数と、235、257、313、および 350 nm における測光値を確認できます。

## 参考文献

Chapter <857> Ultraviolet-Visible Spectroscopy .United States Pharmacopeia and National Formulary (USP43-NF38 - 7166).DocID: GUID-4C5C1937-524A-4BED-95E7-384EDE3745E0\_3\_en-US

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

[email\\_japan@agilent.com](mailto: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おりません。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, October 17, 2021  
5994-3931JAJP  
DE44467.2379976852