

# Cary 50/60 UV-Vis で ストップフローカイネティクスを用いた 高速反応モニタリング

## アプリケーションノート

化学

### 著者

Jeffrey Comerford, PhD.  
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、配位子のサイズおよび電荷、反応物質の濃度、pH や温度などの環境条件が含まれます。これらの要素によって、ミリ秒から時間、日単位の半減期を持つ系が生じます。

反応モニタリングを行うための手段の1つに、UV-Vis 分光光度法を使用する方法があります。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。従来のセルは、半減期が数分以上の反応には十分ですが、1秒以内または数ミリ秒で終了する反応には特殊な装置が必要です。ラピッドカイネティクスアクセサリ (またはストップフロー装置) を使用することにより、このような高速反応を測定することができます。



**Agilent Technologies**

## 理論

1 秒未満の速度で発生する反応を調べる場合は、従来の分光光度計の手法は採用できません。反応物質を手動で加え、十分に混合するために数秒間攪拌すると、反応が終了し、スペクトルの変化は記録されません。この問題は、瞬時の混合と、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) を使用することで解決できます。この手法では、フローセル内の 2 つの溶液をすばやく混合し、混合が停止したときにデータの記録を開始します。Cary 50 および Cary 60 分光光度計は 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

機器のアクセサリ制御ポートに接続されたリモート送信ケーブルを通じて、ストップフロー装置を分光光度計に接続します。図 2 に示す溶媒 A および溶媒 B のラベルが付いた 2 本のシリンジに反応物質を入れます。

プランジャを押すと、溶媒はキュベットに個別に移動し、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。

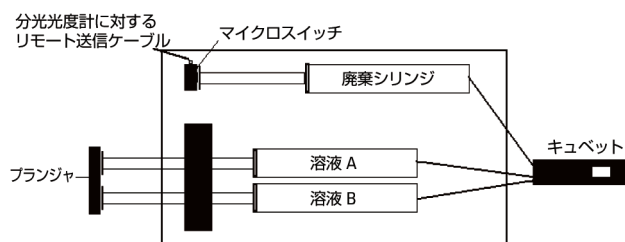


図 2. ラピッドミックスアクセサリの図

データは、従来の手法を使用した場合とほとんど同様に処理されます。Cary WinUV カイネティックスアプリケーションで使用可能な組み込みのアルゴリズムでは、実験データにゼロ次、1 次および 2 次近似を適用することができます。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表示されます。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。

## 実験装置

- Cary 50 UV-Vis 分光光度計
- ラピッドミックスアクセサリ (SFA-20)
- 緑色の食用色素
- 漂白剤 (White King)

## 実験方法

Cary 50/60 UV-Vis の高速のデータ収集能力を示すために、緑色の食用色素の漂白速度を調べました。反応速度は、この反応の測定限界に達するまで漂白剤の濃度を変えることによって制御しました。次に 1 次動力学近似をデータに適用しました。吸光度が約 0.4 になるように緑色の色素を脱イオン蒸留水に溶解し、溶液を前処理しました (溶液 A)。

White King (0.655 mL) を 30 mL の脱イオン蒸留水で希釈し、溶液 B を前処理しました。

Cary 50/60 の機器パラメータを次のように設定しました。

波長 (nm)	414
平均時間 (秒)	0.0125
Y Min	0
Y Max	0.5
サイクル (分)	0
停止 (分)	0.2

## 結果

緑色は、黄と青の 2 個の主な色で構成されています。これは、図 3 に示す水に溶解した緑色の食用色素の UV-Vis スペクトルに反映されています。黄色成分の吸光度は 414 nm に、青色成分の吸光度は 629 nm にあります。漂白剤を加えることにより 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。反応モニタリングを 414 nm で行いました。

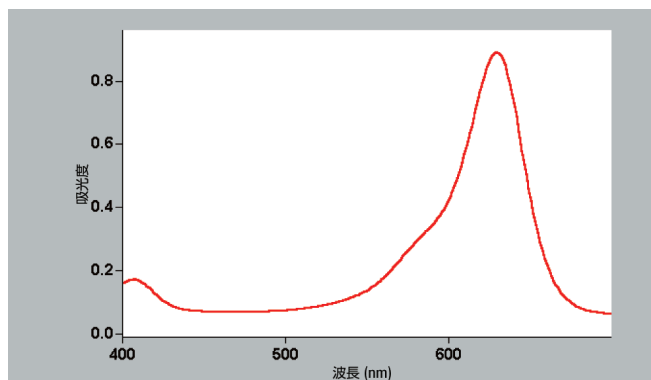


図 3. 水に溶解した緑色の食用色素の UV-Vis スペクトル

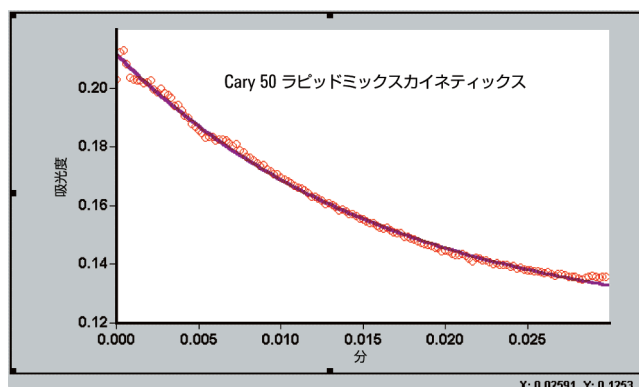


図 4. Cary 50 で収集した緑色の食用色素と漂白剤の 414 nm における吸光度の変化

緑色の食用色素を漂白したときに Cary 50 で収集した吸光度の経時変化を図 4 に示します。この実験は Cary 60 UV-Vis で実行することもできます。反応は 2 秒以内に終了し、1 次崩壊の速度定数は、SD が 0.0013 で  $60.320 \text{ min}^{-1}$  となりました

## 考察

半減期が 1 秒未満の反応を正確にモニタリングするには、分光光度計が次の機能を持っていないとなりません。

1. 試薬を混合してから最初のデータポイントを記録するまでの遅延が最小限。
2. データの正確な近似が可能になる十分な数のデータポイント/秒を取り込む。
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がある。

Cary 50/60 UV-Vis は、そのソフトウェアに「Synch Start」機能を組み込むことで、混合から最初のデータポイントの収集までの待機時間を最小限に抑えています。この結果、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 50/60 では遅延が合計で 50 ms 未満です。これは、貴重なデータが反応の初期段階で失われないことを示しています。

WinUV カイネティックソフトウェアは、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。曲線近似が数秒以内に完了し、近似曲線が実験データに重ね表示されます。実験データを点で、近似曲線を実線で表示するオプションにより、レポートが作成されます。このレポートはユーザーによるカスタマイズが可能です。

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 50/60 は、現在の市場で最速の波長スキャン UV-Vis 分光光度計です。試薬を混合してから最初のデータポイントを収集するまでの遅延が最小限に抑えられているため、吸光度の最大の変化が発生する反応の初期段階でより多くのデータを収集することができます。この結果、1 秒未満のレベルで発生する反応の正確なモニタリングと分析が可能になります。

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

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc., 1998, 2013  
Published in Japan, May, 2013  
SI-A-1177JAJP



**Agilent Technologies**