

Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis 分光光度計：広いダイナミックレンジの利点

低濃度から高濃度サンプルの高速で簡単なルーチン定量分析

概要

紫外可視（UV-Vis）分光分析法による成分のサンプル濃度測定は、多くのラボで使用されている確立されたアプローチです。Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis 分光光度計は、直線ダイナミックレンジが広いこと、ルーチンで使用するベンチトップ型 UV-Vis 分光光度計において、最高クラスの研究性能を実現できます。0.03 ~ 490 mg/L の範囲の過マンガン酸カリウム溶液を分析することにより、機器性能を評価しました。



図 1. Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis 分光光度計では、液体および固体サンプルの直接測定用のルーチンシステムにおいて、優れた測光性能を実現しています。低～高濃度サンプルの分析に最適です。

はじめに

Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis はダブルビームの分光光度計で、強力なキセノンフラッシュランプが搭載されており、ウォームアップを毎日行う必要はありません。このランプは 10 年間の保証付きで（アジレントまたはアジレントの提携パートナーから購入した Cary 3500 機器の場合）、ランプ交換の頻度およびコストが大幅に削減されるため、安心して使用できます。Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis 分光光度計では、液体および固体サンプルの直接測定用のルーチンシステムにおいて、高い測光性能を提供しています。柔軟性に優れたこの機器には大型のサンプルコンパートメントが搭載されており、幅広いアクセサリにより、さまざまなサイズおよび種類のサンプルの分析に対応できます。Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis の直線ダイナミックレンジ (LDR) は 6 Abs を上回っており、ルーチンで使用するベンチトップ型 UV-Vis 分光光度計において、最高クラスの研究性能を実現しています。LDR が広く、吸光度が高いサンプルを直接測定できるため、サンプル前処理時間が最小限に抑えられ、分析の効率と精度が向上します。

Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis は、広い LDR に加えて、ルーチンおよびさまざまな用途向けに構成されています。本システムには、サンプルハンドリングおよびユーザーアクセスをスムーズに行うための大型のサンプルコンパートメントが搭載されていますが、設置面積は小さく抑えられています。また、光路長 1 cm およびそれ以上の長さのセルに対応できる、カスタムのセルホルダベースも搭載されています。このセルホルダベースは、セルを固定位置に迅速にセットできるように設計されており、作業者の経験や熟練度に関係なく、サンプルを確実に正確な位置に配置できます。

この技術概要では、Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis を用いて、非常に高濃度（最大 490 mg/L）および非常に低濃度（0.03 mg/L）の過マンガン酸カリウム (KMnO₄) 溶液の分析について説明します。測定に必要な LDR を得るために、光路長 1 cm の標準セルと光路長 10 cm のセルを切り替えて使用しました。可変光路長セルホルダは、目的の光路長に迅速かつ簡単に変更でき、工具は不要です。セルホルダは、一度所定の位置に配置するとそれ以上調整する必要はなく、さまざまな種類の多数のサンプルを、短時間で正確かつ高い信頼性で分析できます。

実験方法

KMnO₄ の標準溶液

- 20 mL の計量フラスコに、0.03 ~ 500 mg/L の既知濃度の KMnO₄ 水溶液を、蒸留水を使用して適切に希釈し調製しました。
- 光路長 1 cm の標準セルを使用して、KMnO₄ 溶液を 5、50、100、200、300、350、400、420、460、490、および 500 mg/L において測定しました。
- 光路長 10 cm の角型セルを使用して、KMnO₄ 溶液の吸光度を 0.03、0.04、0.05、0.1、0.3、0.5、0.8、1、2、3、5、8、および 10 mg/L において測定しました。

注:測定ごとに、各溶液が入ったサンプルセルを洗浄することが重要です。各測定の前に、リントフリーのティッシュを使用して光学面にある水気と指紋を拭き取ってください。

装置構成

Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis 分光光度計に、光路長 1 cm の標準セルホルダ（部品番号 G9886-68005）および可変光路長角型セルホルダ（部品番号 G9886-68003）を取り付けました。KMnO₄ 標準溶液を濃度に応じて、光路長 1 cm または 10 cm の石英製セルに加えしました。KMnO₄ 溶液の吸光度測定値を、Agilent Cary UV ワークステーションソフトウェア、バージョン 1.4 を使用して取得しました。機器の操作パラメータを表 1 に示します。

表 1. Agilent Cary 3500 UV-Vis 分光光度計の実験パラメータ

パラメータ	設定
波長範囲 (nm)	400 ~ 750
データ間隔 (nm)	0.5
シグナル平均化時間 (s)	1.0
ベースライン	蒸留水

結果と考察

光路長 1 cm の標準セルを用いた高濃度サンプルの分析

光路長 1 cm の標準セルで 5、50、100、200、300、350、400、および 420 mg/L の KMnO_4 溶液を測定することにより、Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis 分光光度計の LDR を決定しました。8 種類の標準溶液の UV-Vis スペクトルを図 2A に示します。図 2B に、525 nm で測定した吸光度と濃度 (mg/L) の検量線を示します。最大 6.6 Abs までにおいて、相関係数 $R^2 = 0.9995$ という優れた直線性を示す検量線が得られま

した。これらの結果により、Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis と光路長 1 cm の標準セルを使用した場合、最大 420 mg/L (6.60 Abs) という高濃度の KMnO_4 溶液を定量分析できることが確認されました。

ただし、シグナル平均化時間を 10 秒まで長くすることにより、最大 490 mg/L の KMnO_4 溶液における高吸光度測定が実施できました (図 3A)。対応する検量線を図 3B に示します。相関係数 $R^2 = 0.9997$ という優れた直線性傾向が得られました。

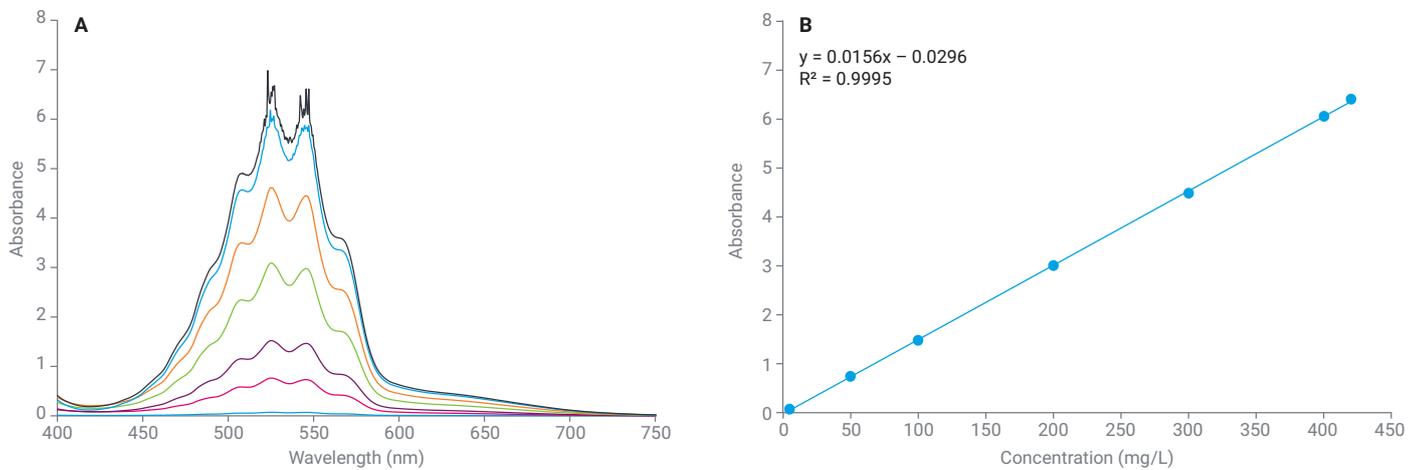


図 2. (A) 光路長 1 cm の標準セルを使用してシグナル平均化時間 1 秒で測定した、 KMnO_4 水溶液のスペクトル。(B) 吸光度 (525 nm) と濃度 (mg/L) の検量線。相関係数は $R^2 = 0.9995$ で、優れた直線性が示されました。

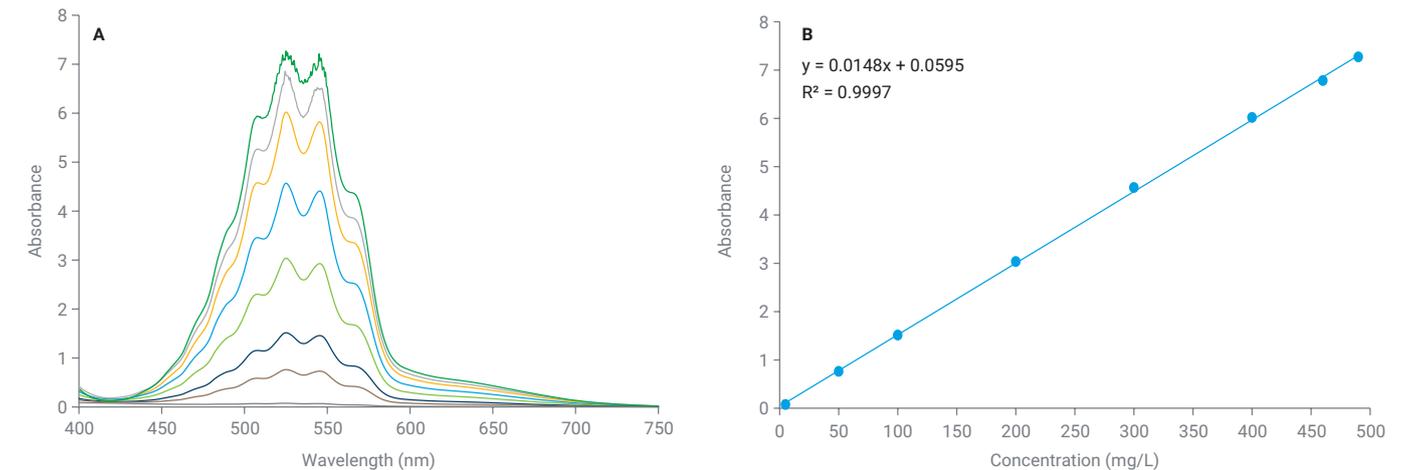


図 3. 光路長 1 cm の標準セルを使用してシグナル平均化時間 10 秒で測定した、最大 7 Abs までの高濃度の KMnO_4 水溶液の分析結果。(A) 8 種類の標準溶液の UV-Vis スペクトル、(B) 吸光度 (525 nm) と濃度 (mg/L) の検量線。優れた直線性を示しています ($R^2 = 0.9997$)。

光路長 10 cm のセルを用いた低濃度サンプルの分析

Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis 分光光度計には、光路長が異なるセルホルダに対応するように設計された、専用のセルホルダベースが搭載されています。セルホルダには、角型セル用の可変光路長ホルダ (2、4、5、および 10 cm) と、円筒形セル用の可変光路長ホルダ (2、4、5、および 10 cm) があります。可変光路長セルホルダは、目的のセル光路長に対して最適な位置があらかじめ設定されています。

図 4A に、光路長 10 cm のセルに対応するように調整された、可変光路長角型セルホルダを示します。セルホルダは、キャリッジ端をセルホルダベースのガイドレール上をスライドさせて目的の光路長に配置し、ネジを締めることにより調整します。セルホルダは、それ以上調整する必要はありません。10 mg/L 未満の低濃度の KMnO_4 溶液については、図 4B に示すように、光路長 10 cm という長いセルを使用して分析しました。

0.03 ~ 10 mg/L の低濃度の KMnO_4 溶液の定性および定量分析の結果を図 5 に示します。図 5A の挿入図は、最低濃度のサンプル (0.10、0.05、および 0.03 mg/L) で得られたスペクトルのプロファイルが、より高濃度のサンプルのプロファイルと同じであったことを示しています。対応する図 5B の検量線は、優れた直線性を示しています ($R^2 = 0.9996$)。検量線の最低濃度範囲 (図 5B の挿入図) では、Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis が 0.03 ~ 0.5 mg/L において優れた測光直線性を示しています ($R^2 = 0.9999$)。

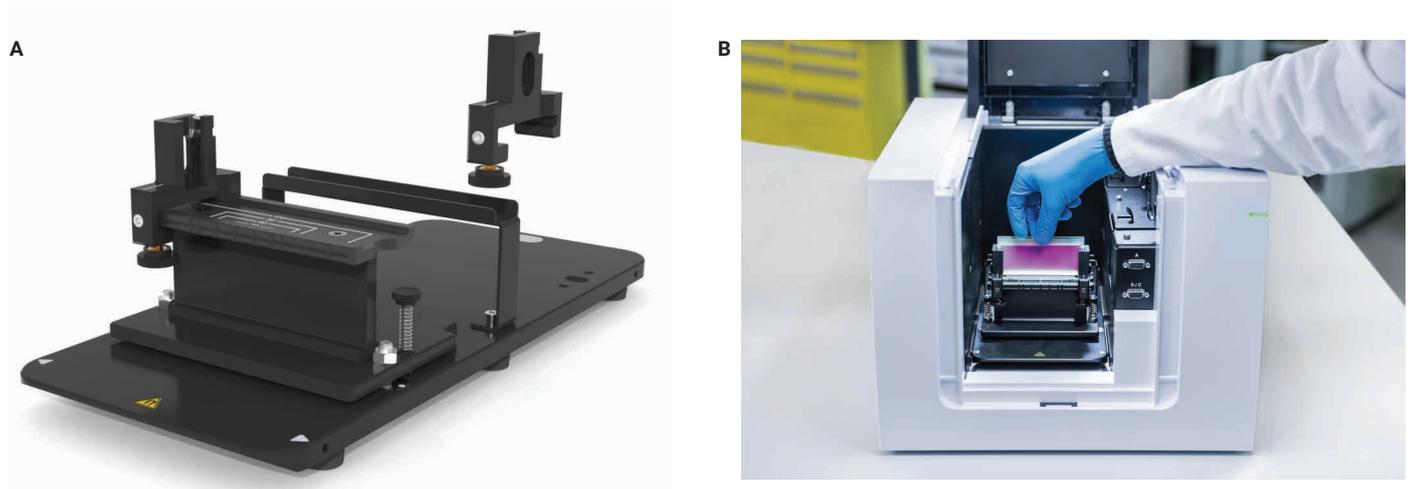


図 4. (A) Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis 分光光度計用の可変光路長角型セルホルダ。可変光路長セルホルダは、目的の光路長に迅速かつ簡単に変更でき、調整および工具は不要です。(B) Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis 分光光度計と KMnO_4 溶液が入った光路長 10 cm のセル。

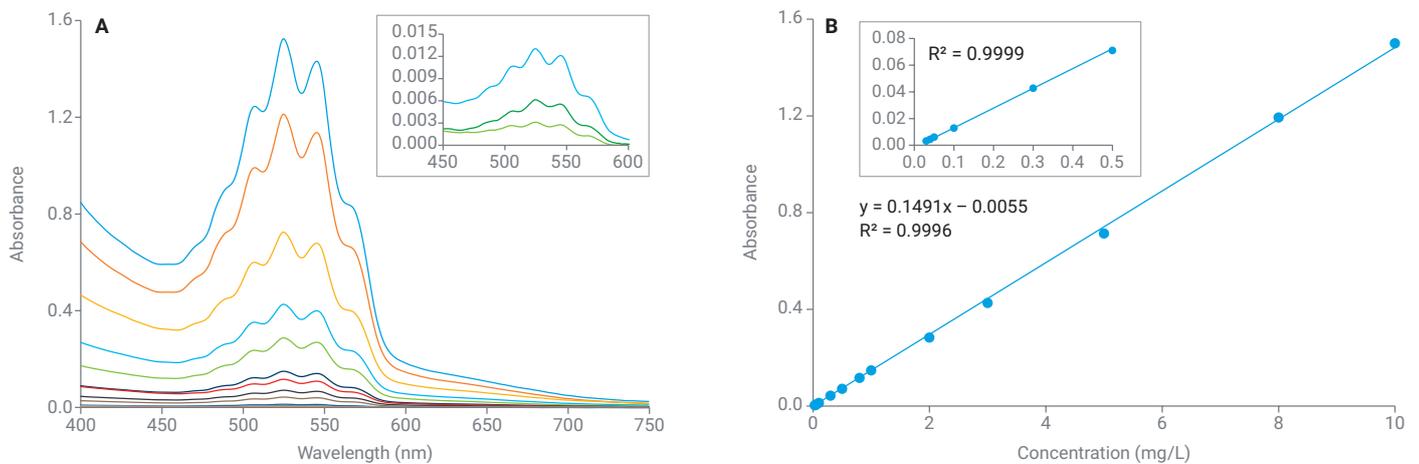


図 5. (A) 光路長 10 cm の角型セルを使用して測定した、標準の KMnO_4 溶液のスペクトル。挿入図は、低濃度標準液 0.10、0.05、および 0.03 mg/L で得られたスペクトルを示しています。(B) 吸光度 (525 nm) と濃度 (mg/L) の直線検量線。相関係数は $R^2 = 0.9996$ です。挿入図は、0.03 ~ 0.50 mg/L の最低濃度範囲の検量線を示しています。

定量下限

定量下限 (LOQ) は、分析メソッドにより定量できる、テストサンプル中の成分の測定可能な最低濃度として定義されます。式 1 で示されている標準偏差法を使用して、 KMnO_4 の定量下限を計算しました。

式 1.

$$\text{LOQ} = 10 \times \sigma / S$$

ここで、 σ は適切な回数のブランクサンプル測定値の標準偏差で、 S は検量線の傾きです¹。

注:医薬品規制調和国際会議 (ICH) で規定されているガイドラインに従って、さまざまな方法で σ を推定できます。ブランクの標準偏差は、適切な数のブランクサンプルを分析して標準偏差を計算する方法の 1 つです。

Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis 分光光度計に、光路長 1 cm の標準セルと光路長 10 cm の角型セルを取り付けて測定を実施し、 KMnO_4 の LOQ を計算しました。対応する検量線を図 2B と 5B に示します。各光路長のブランクサンプル測定値の標準偏差 (σ) を計算するために、ブランク分析測定を 10 回繰り返した際の吸光スペクトルを取り込み、525 nm での吸光度値を測定しました。表 2 に示されているように、光路長 1 cm および 10 cm のセルにおける KMnO_4 の LOQ の計算結果はそれぞれ、0.029 および 0.003 mg/L でした。この LOQ の結果より、残留物や不純吸収物などの、濃度が極端に低いサンプルは、Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis 分光光度計と光路長 10 cm のセルを使用して測定できるということが示されています。

表 2. 光路長 1 cm および 10 cm のセルを使用した測定による定量下限値

スキャン	525 nm におけるブランクの吸光度	
	光路長 1 cm	光路長 10 cm
1	0.000063	0.000205
2	0.000079	0.000205
3	0.000171	0.000199
4	0.000175	0.000200
5	0.000176	0.000188
6	0.000188	0.000190
7	0.000192	0.000187
8	0.000188	0.000182
9	0.000190	0.000177
10	0.000188	0.000022
標準偏差 (σ)	0.000046	0.000052
検量線の傾き (S)	0.0156	0.1491
LOQ (mg/L)	0.029	0.003

結論

Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis は革新的なダブルビーム UV-Vis 分光光度計であり、広い LDR にわたって高い測光性能を実現しており、ルーチンの UV-Vis 測定に最適です。さらに、ダブルビームの分光光度計で強力なキセノンフラッシュランプを搭載しています。このキセノンランプは 10 年間の保証付きで、中断されることなく運用できると同時に、高価で時間のかかるランプ交換は不要です。このベンチトップ型の Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis には、簡単なサンプルハンドリングおよびユーザーアクセスをスムーズに行うための大型のサンプルコンパートメントが搭載されています。また、可変光路長セルホルダに対応できる、専用のセルホルダベースも搭載されています。目的の光路長で分析するためのセルホルダの切り替えと位置決めは、工具を使用せず迅速かつ正確に行うことができ、時間のかかるアクセサリ取り付け作業を最小限に抑えます。

KMnO_4 水溶液の定量分析により、Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis 分光光度計において、6 Abs を上回る優れた直線ダイナミックレンジが実証されました。光路長 1 cm の標準セルおよび光路長 10 cm という長いセルを使用することにより、高濃度および低濃度の KMnO_4 水溶液サンプルをそれぞれ正確に定量しました。光路長 10 cm のセルにより、 KMnO_4 の LOQ が 0.003 mg/L と算出されました。これにより、濃度が極端に低いサンプルの分析において、Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis 分光光度計の感度が優れていることが実証されました。

Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis 分光光度計により、広い LDR にわたって吸光度が高い液体または固体サンプルを直接測定できるため、サンプル前処理時間が最小限に抑えられ、分析の感度と精度が向上します。

参考文献

1. ICH Q2, Validation of Analytical Procedures:Text and Methodology, November **2005**.

詳細情報

- Agilent Cary 3500 フレキシブル UV-Vis 分光光度計
- Cary UV ワークステーションソフトウェア
- GMP 施設のデータインテグリティ実現のために Agilent Cary 3500 UV-Vis 向け Cary UV ワークステーションソフトウェア
- UV-Vis 分光分析と分光光度計の FAQ

ホームページ

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

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。

DE82183607

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2023
Printed in Japan, April 3, 2023
5994-5840JAJP