

SHIMADZU
Excellence in Science

もう悩まない！紫外可視分光光度計の使い方 ～分析のノウハウと評価の効率アップ～

株式会社島津製作所 分析計測事業部

SHIMADZU

紫外可視分光光度計とは

光源 スリット 回折格子 スリット セル 検出器
試料室

試料に照射する波長を走査して... 特定の波長の吸収に注目して...

吸収スペクトル

確認試験や光学特性評価に利用

検量線 (校正曲線)

目的物質の定量に利用

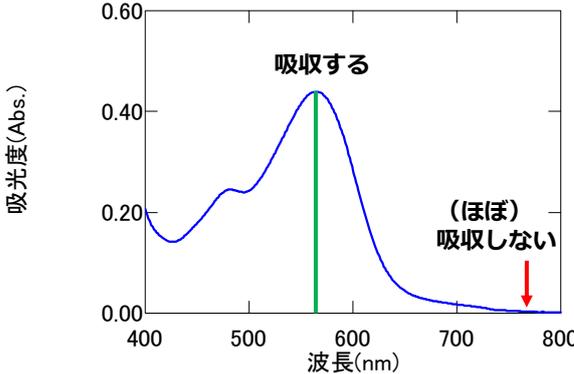
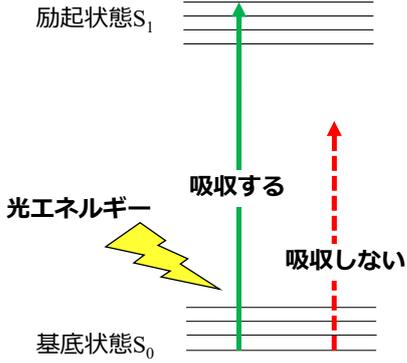
SHIMADZU

光の吸収と遷移

(光)エネルギーと波長の関係

$$E = hc / \lambda$$

h :プランク定数(6.6626×10^{-34} Js) c :光速(2.998×10^8 m/s), λ :波長

吸収される波長は物質の分子構造に依存する

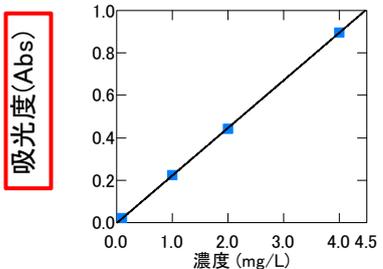
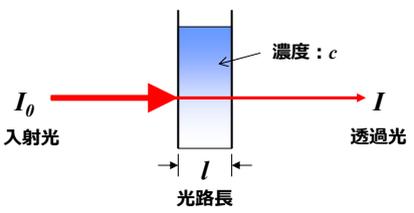
SHIMADZU

濃度と吸光度

ランバート・ベールの法則

$$A = \log_{10}(I_0/I) = \log_{10} 10^{\epsilon cl} = \epsilon cl$$

A :吸光度 I_0 :入射光強度 I :透過光強度 ϵ :モル吸光係数 c :濃度 l :光路長

(参考) 透過率

$$T (\%) = (I/I_0) \times 100 = 10^{-\epsilon cl} \times 100$$

紫外可視分光光度計を用いる定量分析では吸光度を使用

SHIMADZU

今回取り上げる分析とポイント

1. 全窒素	JIS K0102	<ul style="list-style-type: none"> ・セルの透過率について ・検量線の良否 ・当測定法が不向きなケース
2. 六価クロム	JIS K0102他	<ul style="list-style-type: none"> ・六価クロムに関する話題 ・セルの光路長について ・水質測定プログラム
3. りん酸	JIS K2247	<ul style="list-style-type: none"> ・AUS32とは ・AUS32中のりん酸の定量 ・合否判定
4. 次亜塩素酸 ナトリウム	食品添加物公定書	<ul style="list-style-type: none"> ・スペクトル評価機能

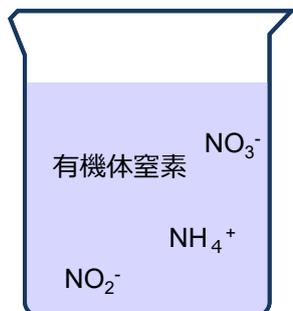
SHIMADZU

今回取り上げる分析とポイント

1. 全窒素	JIS K0102	<ul style="list-style-type: none"> ・セルの透過率について ・検量線の良否 ・当測定法が不向きなケース
2. 六価クロム	JIS K0102他	<ul style="list-style-type: none"> ・六価クロムに関する話題 ・セルの光路長について ・水質測定プログラム
3. りん酸	JIS K2247	<ul style="list-style-type: none"> ・AUS32とは ・AUS32中のりん酸の定量 ・合否判定
4. 次亜塩素酸 ナトリウム	食品添加物公定書	<ul style="list-style-type: none"> ・スペクトル評価機能

全窒素について

全窒素とは？



水中に存在する
無機体窒素 (NO₂⁻, NO₃⁻, NH₄⁺) と
有機体窒素の含量

増加すると富栄養化の進行
→**水質の悪化**につながる
→環境基準、排水基準が設けられている

ここでは、日本産業規格 (JIS) K0102 工業排水試験法を取り上げる

全窒素 (JIS K0102)

総和法 インドフェノール青吸光光度法

- NO₂⁻, NO₃⁻
- NH₄⁺、有機体窒素 をそれぞれ定量し合算する方法

→ 紫外線吸光光度法 NO₃⁻の紫外線吸収

窒素化合物を前処理して NO₃⁻とし、NO₃⁻を定量する方法

硫酸ヒドラジウム還元法 ナフチルエチレンジアミン吸光光度法

窒素化合物を前処理して NO₃⁻とし、
NO₃⁻を硫酸ヒドラジウム (Cu触媒) 還元して NO₂⁻とし定量

銅・カドミウムカラム還元法 ナフチルエチレンジアミン吸光光度法

窒素化合物を前処理して NO₃⁻とし、
NO₃⁻を銅・カドミウムカラムで還元して NO₂⁻とし定量

etc.

SHIMADZU

全窒素 (JIS K0102)

紫外線吸光度法 NO_3^- の紫外線吸収

窒素化合物を前処理して NO_3^- とし、 NO_3^- を定量する方法

試料測定の流れ* *実際に測定する際にはJIS K0102を参照してください

- ①試料 50 mL
- ②水酸化ナトリウム
-ペルオキシニ硫酸カリウム溶液 10mL
- ③オートクレーブ
(120°C, 30 min)
- ④上澄み液
25mL
- ⑤塩酸 (1+16) 5mL
(pH 2~3に調節)
- ⑥溶液の一部を
吸収セル*に移す
*石英ガラス製
- ⑦220 nmにおける吸光度を測定

分解瓶

ビーカー 50 mL

UV-1900i

SHIMADZU

全窒素 (JIS K0102)

紫外線吸光度法 NO_3^- の紫外線吸収

窒素化合物を前処理して NO_3^- とし、 NO_3^- を定量する方法

空試験の流れ* *実際に測定する際にはJIS K0102を参照してください

- ①水 50 mL
- ②水酸化ナトリウム
-ペルオキシニ硫酸カリウム溶液 10mL
- ③オートクレーブ
(120°C, 30 min)
- ④上澄み液
25mL
- ⑤塩酸 (1+16) 5mL
(pH 2~3に調節)
- ⑥溶液の一部を
吸収セル*に移す
*石英ガラス製
- ⑦220 nmにおける吸光度を測定
試料について得た吸光度を補正する

分解瓶

ビーカー 50 mL

UV-1900i

SHIMADZU

全窒素 (JIS K0102)

紫外線吸光度法 NO_3^- の紫外線吸収

窒素化合物を前処理して NO_3^- とし、 NO_3^- を定量する方法

検量線作成の流れ*

*実際に測定する際にはJIS K0102を参照してください

① JIS K0102の手順に従って調製した窒素標準液 (N:20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

1~10 mL 段階的にとる

② 標線まで水を加える 全量フラスコ100 mL

③ うち、④ 塩酸 (1+500) 5mL (pH 2~3に調節)

⑤ 溶液の一部を吸収セル*に移す*石英ガラス製

⑥ 220 nmにおける吸光度を測定

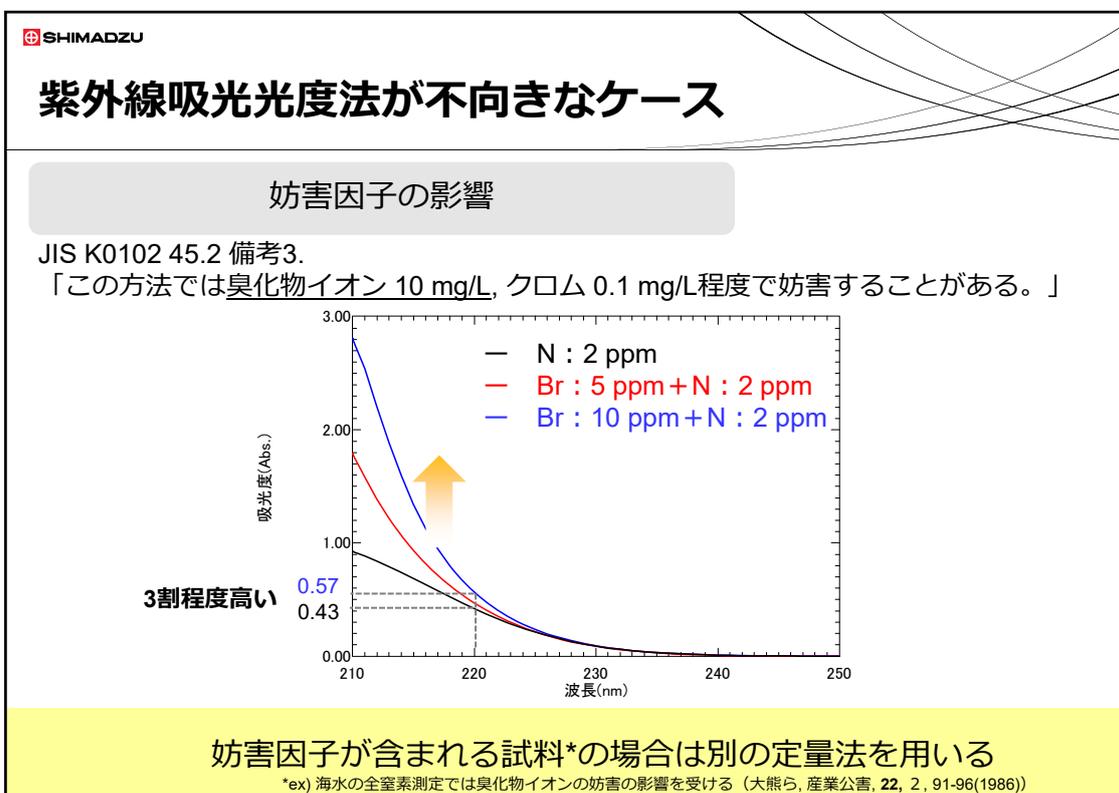
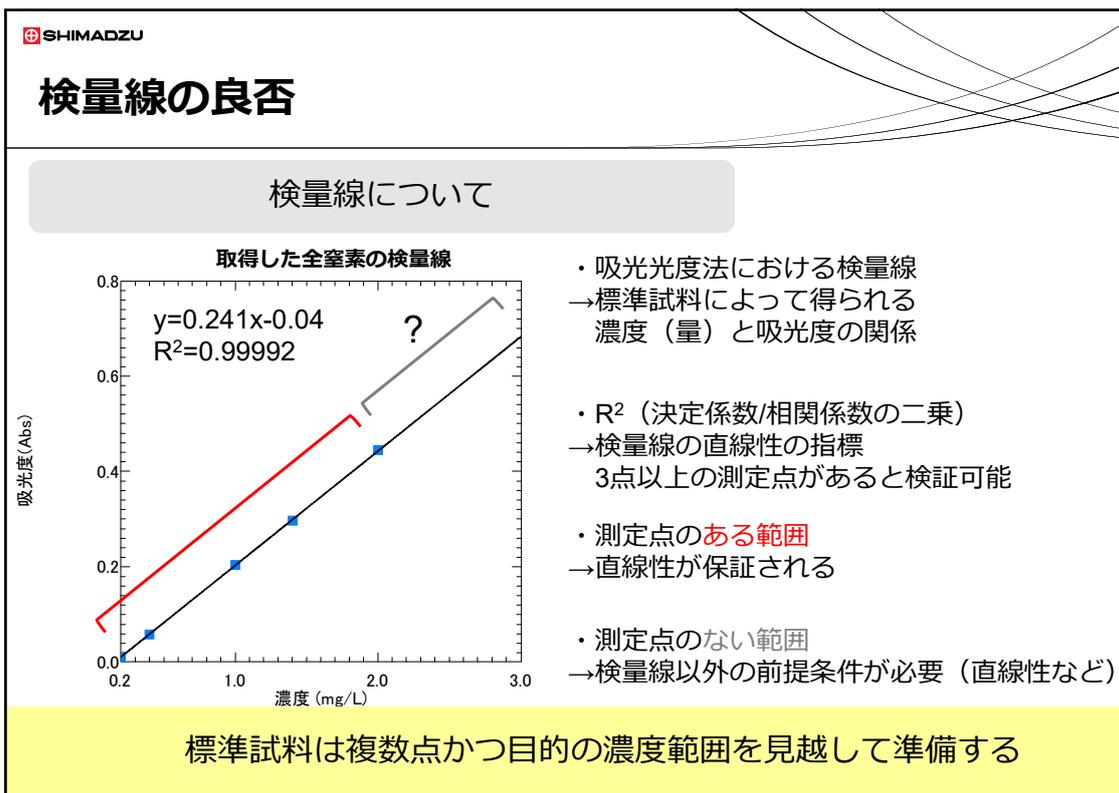
SHIMADZU

セルの透過率について

「石英ガラス製セル」の使用と「220 nm」

波長 (nm)	石英ガラス製セル (%)	ガラス製セル (%)	PMMA製セル (%)	PS製セル (%)
190	83	-5.00	-5.00	-5.00
220	83	-5.00	-5.00	-5.00
400	83	80	75	70
600	83	83	83	80
800	83	83	83	80
1000	83	83	83	80
1100	83	83	83	80

目的の測定波長によって適切なセルを選択する



今回取り上げる分析とポイント

1. 全窒素	JIS K0102	<ul style="list-style-type: none"> セルの透過率について 検量線の良否 当測定法が不向きなケース
2. 六価クロム	JIS K0102他	<ul style="list-style-type: none"> 六価クロムに関する話題 セルの光路長について 水質測定プログラム
3. りん酸	JIS K2247	<ul style="list-style-type: none"> AUS32とは AUS32中のりん酸の定量 合否判定
4. 次亜塩素酸 ナトリウム	食品添加物公定書	<ul style="list-style-type: none"> スペクトル評価機能

六価クロムの定量に関する話題

TOPICS^[1]

令和2年4月に水道法 水質基準の六価クロムの基準値が改正を受けて、**水質汚濁に係る人の健康の保護に関する環境基準等（以降、環境基準）**においても同様の見直しが進められている。

項目名	新基準	旧基準
六価クロム	0.02 mg/L以下	0.05 mg/L以下

環境基準では、六価クロムの適当な測定法として JIS K0102 65.2 に定める方法が取り上げられている。
ただし、JIS K0102 65.2.1(ジフェニルカルバジド吸光光度法)による場合で、六価クロム濃度が0.04 mg/Lを下回る場合、

光路長 10 mm吸収セル（現行） → **光路長 50 mm吸収セル**

を用いた測定法が検討されている。

[1]環境省ホームページ「水質汚濁に係る人の健康の保護に関する環境基準等の見直しについて（第6次報告案）に関する意見の募集（パブリックコメント）について」

SHIMADZU

六価クロム (JIS K0102)

ジフェニルカルバジド吸光度法

試料にジフェニルカルバジドを加え、生成する赤紫の錯体の吸光度を測定

試料測定の流れ*

*実際に測定する際にはJIS K0102を参照してください

①試料 適量
(クロム(VI)を2~50 µg含む)

②硫酸 (1+9) 2.5 mL

③ジフェニルカルバジド溶液 1 mL

④水を標線まで加え、
約5分間放置

⑤一部を吸収セルに移し、
540 nm付近の吸光度を測定

ビーカー (A)

中和

全量フラスコ 50 mL

約15°C

UV-1280

【試料が酸性の場合】
水酸化ナトリウム溶液 (40 g/L)
【試料がアルカリ性の場合】
硫酸 (1+35) を使用

SHIMADZU

六価クロム (JIS K0102)

ジフェニルカルバジド吸光度法

試料にジフェニルカルバジドを加え、生成する赤紫の錯体の吸光度を測定

対照液作成の流れ*

*実際に測定する際にはJIS K0102を参照してください

①試料 適量
(クロム(VI)を2~50 µg含む)

②硫酸 (1+9) 2.5 mL

③エタノール (95) 少量

④煮沸
還元

⑤ジフェニルカルバジド溶液 1 mL

⑥水を標線まで加え、
約5分間放置

ビーカー (B)

中和

全量フラスコ 50 mL

約15°C

対照液

Cr(VI)→Cr(III)

【試料が酸性の場合】
水酸化ナトリウム溶液 (40 g/L)
【試料がアルカリ性の場合】
硫酸 (1+35) を使用

SHIMADZU

六価クロム (JIS K0102)

ジフェニルカルバジド吸光度法

試料にジフェニルカルバジドを加え、生成する赤紫の錯体の吸光度を測定

検量線作成の流れ*

*実際に測定する際にはJIS K0102を参照してください

① JIS K0102の手順に従って調製した
クロム(VI)標準液 (Cr(VI) : 2 µg/mL)

1~25 mL段階的にとる



全量フラスコ50 mL

+

対照液 (水 約30 mL)

ビーカー(A)に対する
②-④の処理

ビーカー(B)に対する
②-⑤の処理

一部を吸収セルに移し、
540 nm付近の吸光度を測定



SHIMADZU

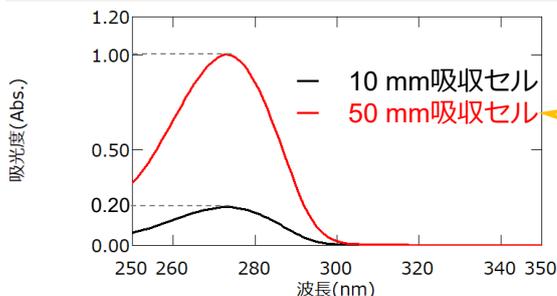
セルの光路長について

なぜ低濃度測定で長光路セルが有効なのか

ランバート・ベールの法則

$$A = \log_{10}(I_0/I) = \log_{10} 10^{\epsilon cl} = \epsilon cl$$

A: 吸光度 I_0 : 入射光強度 I : 透過光強度 ϵ : モル吸光係数 c : 濃度 l : 光路長



カフェインの吸収スペクトル

吸光度を5倍に拡大して
測定できる!

SHIMADZU

水質測定プログラム*のご紹介

*JIS K0102には**非**準拠の測定法です。ご注意ください。

複数の試薬の調達や調製が大変...



UV-1280

測定方法

検査項目を選択
検査する項目を選びます。

測定方法の確認
測定方法を確認します。

セルブランク
試料をセルに入れ、UV-1280のセルホルダにセットし、[セル&K]を押します。

試料の準備
試料を専用カップに1.5mL採ります。

試薬の投入
10μLテストのチューブに、専用カップの試料を全量吸い込みます。同時に[測定開始]を押すと測定時間のカウントダウンが始まります。

反応
チューブを画面指示に扱い振り混ぜます。セルにチューブ内の測定液を戻し、セルホルダにセットします。

濃度結果表示
指定時間後に自動的に測定し、濃度が表示されます。

印刷
プリンタがあれば印刷できます。

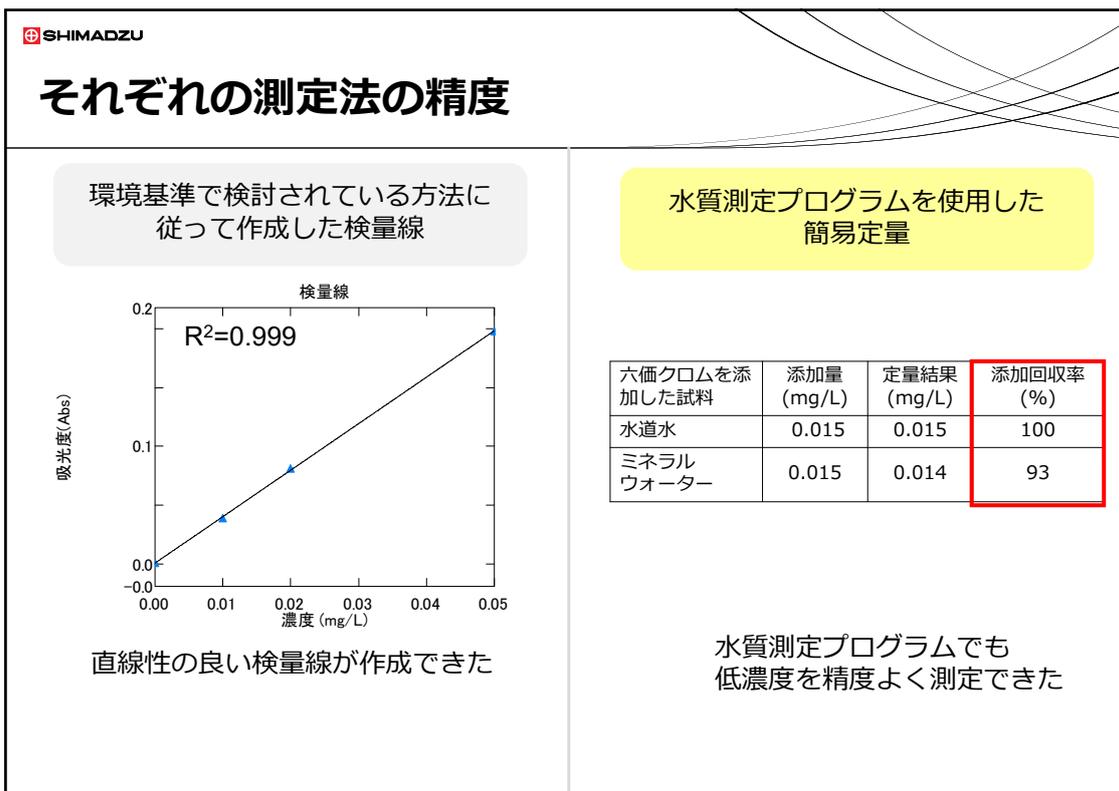
内蔵された検量線と調製済みの試薬で簡単に定量分析できる

SHIMADZU

水質測定プログラム対応一覧

項目名	型式	セル	項目名	型式	セル
1 ClO ₂ 残留塩素 (遊離)	WAK-ClO ₂ -DP	セミ加セル	21 NO ₂ 亜硝酸	LR-NO ₂	10mmセル
2 CN ⁻ 遊離シアン	WAK-CN-2	セミ加セル	22 NO ₃ (1) 硝酸 (亜硝酸なし)	LR-NO ₃	10mmセル
3 CN ⁻ 全シアン	LR-CN ⁻ T	10mmセル	23 NO ₃ (2) 硝酸 (亜硝酸0.05mg/L以下)	LR-NO ₃	10mmセル
4 COD 化学的酸素要求量	LR-COD-B-2	10mmセル	24 NO ₃ (3) 硝酸 (亜硝酸5mg/L以下)	LR-NO ₃	10mmセル
5 Color 色度	-	10mmセル	25 NO ₂ -N 亜硝酸態窒素	LR-NO ₂	10mmセル
6 Cr ⁶⁺ 六価クロム	LR-Cr ⁶⁺	10mmセル	26 NO ₃ -N (1) 硝酸態窒素 (亜硝酸態窒素なし)	LR-NO ₃	10mmセル
7 Cr ⁶⁺ -50 六価クロム-50mmセル	LR-Cr ⁶⁺	50mmセル	27 NO ₃ -N (2) 硝酸態窒素 (亜硝酸態窒素0.015mg/L以下)	LR-NO ₃	10mmセル
8 Cr ⁶⁺ (D) 六価クロム (低濃度)	DPR-Cr ⁶⁺ D	セミ加セル	28 NO ₃ -N (3) 硝酸態窒素 (亜硝酸態窒素1.5mg/L以下)	LR-NO ₃	10mmセル
9 Cr ⁶⁺ (WAK) 六価クロム (パックテスト)	WAK-Cr ⁶⁺	セミ加セル	29 Pb 鉛	SPK-Pb	セミ加セル
10 Cr ^T 全クロム	LR-Cr ^T	10mmセル	30 Phenol フェノール	WAK-PNL	セミ加セル
11 Cu 銅	WAK-Cu	セミ加セル	31 PO ₄ りん酸	WAK-PO ₄	セミ加セル
12 F ふっ素 (遊離)	WAK-F	セミ加セル	32 PO ₄ (D) りん酸 (酵素法)	WAK-PO ₄ (D)	セミ加セル
13 Fe 鉄	WAK-Fe	セミ加セル	33 PO ₄ -P りん酸総りん	WAK-PO ₄	セミ加セル
14 Fe (D) 鉄 (低濃度)	WAK-Fe(D)	セミ加セル	34 PO ₄ -P(D) りん酸総りん (酵素法)	WAK-PO ₄ (D)	セミ加セル
15 FOR ホルムアルデヒド	WAK-FOR	セミ加セル	35 S 硫化物 (硫化水素)	WAK-S	セミ加セル
16 H ₂ O ₂ 過酸化水素	WAK-H ₂ O ₂	セミ加セル	36 TH 全硬度	WAK-TH	セミ加セル
17 Mn マンガン	WAK-Mn	セミ加セル	37 Turbid (FTU) 濁度 (ホルマジン)	-	10mmセル
18 NH ₄ アンモニウム	WAK-NH ₄ -2	セミ加セル	38 Turbid (PS) 濁度 (ポリスチレン)	-	10mmセル
19 NH ₄ -N アンモニウム態窒素	WAK-NH ₄ -2	セミ加セル	39 Zn (D) 亜鉛 (低濃度)	WAK-Zn(D)	セミ加セル
20 Ni ニッケル	WAK-Ni(D)	セミ加セル			

22種39項目の測定条件、検量線が内蔵されている



SHIMADZU

今回取り上げる分析とポイント

1. 全窒素	JIS K0102	<ul style="list-style-type: none"> ・セルの透過率について ・検量線の良否 ・当測定法が不向きなケース
2. 六価クロム	JIS K0102他	<ul style="list-style-type: none"> ・六価クロムに関する話題 ・セルの光路長について ・水質測定プログラム
3. りん酸	JIS K2247	<ul style="list-style-type: none"> ・AUS32とは ・AUS32中のりん酸の定量 ・合否判定
4. 次亜塩素酸ナトリウム	食品添加物公定書	<ul style="list-style-type: none"> ・スペクトル評価機能

SHIMADZU

AUS32とは

NOx還元剤AUS32
(AUSはAqueous Urea Solution:尿素水溶液の略)

尿素SCRシステム
(SCRはSelective Catalytic Reduction:選択的触媒還元の略)

尿素有水分解
 $(\text{NH}_2)_2\text{CO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + 2\text{NH}_3$

NOxとNH₃の反応
 $4\text{NO} + 4\text{NH}_3 + \text{O}_2 \rightarrow 4\text{N}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$
 $6\text{NO}_2 + 8\text{NH}_3 \rightarrow 7\text{N}_2 + 12\text{H}_2\text{O} + 2\text{NH}_3$
 $\text{NO} + \text{NO}_2 + 2\text{NH}_3 \rightarrow 2\text{N}_2 + 3\text{H}_2\text{O}$

AUS32はディーゼルエンジン排気中のNOxの低減に活用される

SHIMADZU

JIS K2247について

: NOx還元剤AUS32の品質要件に関する規格
 AUS32の製造工程で混入する可能性のある**不純物***の許容値などが規定されている
*尿素SCRシステム内の堆積などが懸念される

AUS32の品質要件の一部

特性	単位	許容値	
		最小	最大
尿素濃度	質量分率%	31.8	33.2
密度(20°C)	g/cm ³	1.0870	1.0930
屈折率(20°C)	—	1.3814	1.3843
アルカリ度(NH ₃ 換算)	質量分率%	—	0.2
ピウレット	質量分率%	—	0.3
アルデヒド	mg/kg	—	5
りん酸 (PO ₄)	mg/kg	—	0.5
カルシウム	mg/kg	—	0.5
赤外線吸収スペクトル	—	基準スペクトルと同等	

試験法において紫外可視分光光度計を用いる

今回取り上げる→

SHIMADZU AUS32中のりん酸の定量結果

実際にAUS32についてりん酸の定量を行いました。

50 mLメスフラスコ中の
りん酸イオン質量

試料測定の結果

$E_s - E_B = 0.002$

計算の結果
 0.04* mg/kg

*検量線範囲以下

≤ 0.5 mg/kg (許容値)

$$W_p = \frac{(E_s - E_B) \times F_C \times V_s \times F_1}{V \times F_2 \times m_s}$$

ここで、

- W_p : りん酸濃度 (mg/kg)
- E_s : 試料の吸光度
- E_B : ブランク試料の吸光度
- F_C : 校正係数(μg)
- V_s : 灰化・溶解後の試料溶液の体積(mL)
- F_1 : 1000 (kgからgへの換算係数)
- V : 吸光度測定に用いた体積
- F_2 : 1000(mgからμgへの換算係数)
- m_s : 尿素溶液の質量 (g)

SHIMADZU AUS32中のりん酸の合否判定

$$W_p = \frac{(E_s - E_B) \times F_C \times V_s \times F_1}{V \times F_2 \times m_s} \leq 0.5 \text{ (mg/kg)}$$

今回の調製条件において、

⇔ $(E_s - E_B) \times F_C \leq 20.024$

	サンプル名	種類	Ex	濃度	WL800.00	PF1
1	AUS32	UNK		1.66	0.002	合格

今回取り上げる分析とポイント

1. 全窒素	JIS K0102	<ul style="list-style-type: none"> ・セルの透過率について ・検量線の良否 ・当測定法が不向きなケース
2. 六価クロム	JIS K0102他	<ul style="list-style-type: none"> ・六価クロムに関する話題 ・セルの光路長について ・水質測定プログラム
3. りん酸	JIS K2247	<ul style="list-style-type: none"> ・AUS32とは ・AUS32中のりん酸の定量 ・合否判定
4. 次亜塩素酸 ナトリウム	食品添加物公定書	<ul style="list-style-type: none"> ・スペクトル評価機能

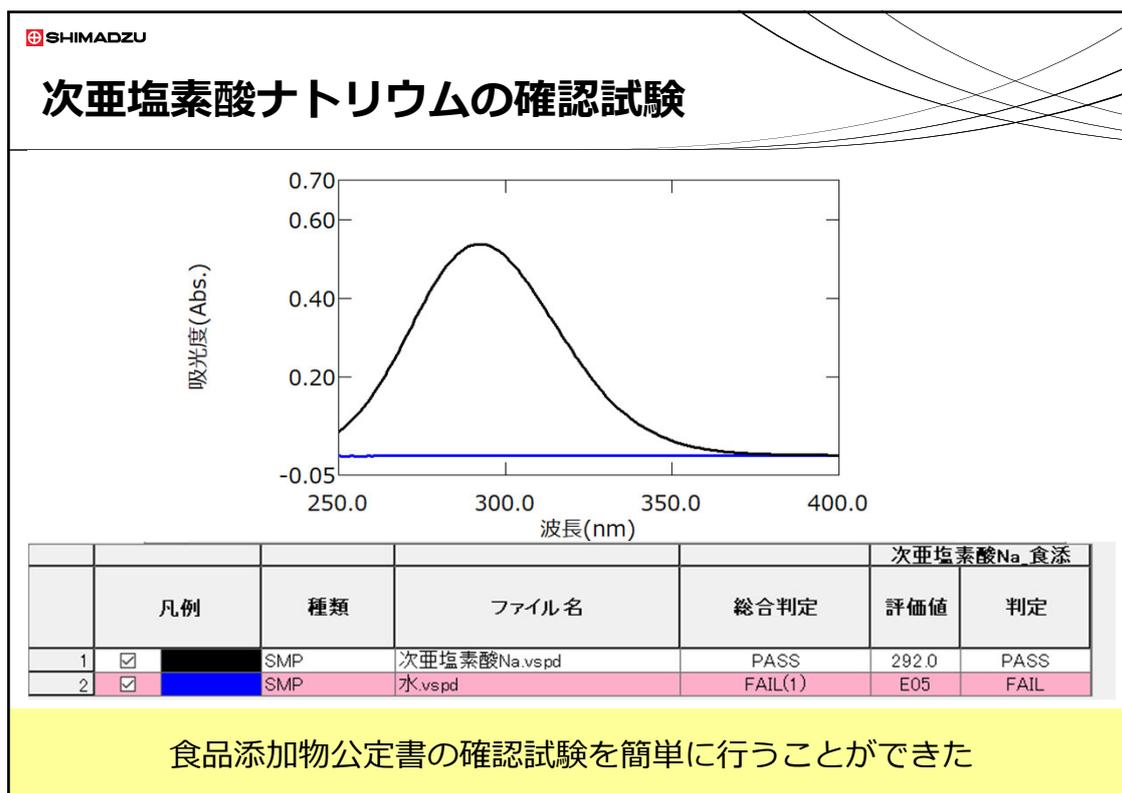
次亜塩素酸ナトリウム

第9版食品添加物公定書（厚生労働省,2018）に次亜塩素酸ナトリウムの確認試験が取り上げられている。

確認試験

- (1) 本品は、ナトリウム塩の反応(1)および次亜塩素酸塩の反応を呈する。
- (2) 本品の水溶液（1→25）4 mLにリン酸緩衝液(pH8) 100 mLを加えた液は、波長291~294 nmに極大吸収部がある。
- (3) 本品にリトマス紙（赤色）を浸すとき、リトマス紙（赤色）は青変し、次に退色する。

スペクトル評価機能で確認試験を効率化できる



SHIMADZU

まとめ

今回取り上げた分析

全窒素(JIS K0102)、六価クロム(JIS K0102他)、
りん酸 (JIS K2247) 、次亜塩素酸ナトリウム(食品添加物公定書)

分析のノウハウ

- 各種分析の手順について
- 目的に応じた吸収セルの使い分け
 - 石英ガラス製セル (紫外域)
 - 長光路吸収セル (低濃度)
- 検量線の良否について
 - 直線性は相関係数の二乗で評価
- 妨害因子の影響

評価の効率化

- 簡易定量法
 - 水質測定プログラムの利用 (UV-1280+パックテスト™)
- 定量結果の許容値との比較
- スペクトルの確認試験
 - Labsolutions™ UV-Visの活用

 SHIMADZU

ご清聴ありがとうございました。

本発表内に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商品です。
なお、発表中では「™」、「®」を明記していない場合があります。