

#### 【測定原理】

本法は Chlorophosphonazo-III とカルシウムとのキレート錯体形成による可視部の発色を観測し、カルシウム濃度を求めるものです。Chlorophosphonazo-III は中性領域でカルシウムと錯形成します。このキレート錯体における波長 680~700 nm (副波長 740~810 nm) の吸光度を測定することによりカルシウム濃度を求めることができます。

カルシウムの測定法は o-CPC 法が一般的ですが、アルカリ性試薬であるため、データの安定性における問題がありました。近年、中性~弱酸性でも測定できる手法として、Arsenazo-III 法と Chlorophosphonazo-III 法が提案されています。前者は優れた正確性、安定性を発揮しますが微量の砒素を含有しているため毒物としての管理が必要です。一方、後者は毒物には該当せず、Arsenazo-III 法と同様の性能を保有しているため、今後、様々な産業における基準メソッドとしての普及が期待されています。本キットは Chlorophosphonazo-III 法をベースとした Ready to use キットです。また、特殊な助剤、毒劇物、保存料等は処方されていませんので、カルシウム定量方法を選択する際の基本評価用としてもご利用頂けます。

#### 【キットの内容】 (合計 250 測定分)

発色液 (Chelate color) ●	60 mL×1
Ca 標準液 100 mg/L (Calcium standard) ●	1.0 mL×1

※ 本キットにキュベット・セル、96 穴ウエルは含まれておりません。ユーザー様で別途御用意下さい。

#### 【試薬の準備】

発色液：そのまま使用して下さい。

Ca 標準液：そのまま使用して下さい。

※ 発色液は開封後、冷暗所 (2-8℃) に保存し、12 ヶ月以内に使用して下さい。

#### 【測定試料の注意点】

- 1) 測定試料が強酸の場合は、pH=3 以上にしてからアッセイ検体としてください。
- 2) 懸濁、着色している試料はあらかじめ EDTA により測定元素をマスキングさせた試料ブランク検体をたて、試料の吸収から妨害吸収を差分して濃度を算出してください。
- 3) 著しく懸濁している試料は遠心分離等で懸濁物を除去したものをアッセイ検体としてください。
- 4) 測定レンジ以上の検体は適当に希釈したものをアッセイ検体としてください。または多点検量線を作成し、濃度を求めて下さい。
- 5) 本法は公定法ではありません、計量証明目的には使用できません。
- 6) 本法は生物試料には適用できません。生物試料を定量する場合は、弊社姉妹品のメタロアッセイ LS シリーズをご使用ください。詳細については、弊社 website を御参照下さい。
- 7) 本法はその得られた数値を保証するものではありません。予め対象試料の測定値、誤差、特性を確認した後、応用される際は最適パラメータを試料種ごとに検討の上、ご使用されることをお奨め致します。

## 【操作】

### 1. 測定条件（マイクロプレートリーダーの場合）

測光波長： 690 nm（680-710nm）  
温度： 25/30/37℃  
ウェル： 96穴ウェル（タンパク低吸着タイプが望ましい）

### ※ 注意

紫外可視分光光度計を使用してキュベットで測定する場合、測定可能な検体数はマイクロプレートリーダー使用時と比較して少なくなります。ダウンサイズされた微量セルを使用することで96穴ウェルと同等の測定数を得ることも可能です。

### 2. アッセイ

以下の用量で発色液、標準液、試料を分注し、よく混合して下さい。  
混合後10分間静置し、上記の測定条件でマイクロプレートリーダー（紫外可視分光光度計）により測定して下さい。  
（30分以内に測定して下さい。）

本発色系は試薬ブランクの吸光度が高いため、必ず、ブランク検体を対照（ゼロ点）として下さい。

	測定検体		
	ブランク	Ca標準試料	試料
蒸留水（μL）	2	-	-
Ca標準液（μL）	-	2	-
試料（μL）	-	-	2
発色液（μL）	240	240	240
10分反応後 マイクロプレートリーダーで測定して下さい			

\*下限値付近（2～10mg/L）の定量精度を必要とする場合は、Ca標準液を10倍希釈し、10mg/L標準液として、試料量：20μL、発色液：220μLの用量で同様に測定して下さい。濃度の計算の際は標準液濃度を10mg/Lとして下さい。

## 【濃度の計算】

$$\text{Ca濃度 (mg/L)} = \frac{A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Std}}} \times 100$$

標準液濃度  
mg/L

$A_{\text{Sample}}$  : 試料の吸光度  
 $A_{\text{Std}}$  : カルシウム標準試料の吸光度

## 【性能】

- ・感度 試薬ブランクを対照としてカルシウム標準液（100 mg/L）を測定した時の吸光度は0.1～0.5の範囲内です。
- ・同時再現性 同一検体を5回測定した時のC.Vは5%以内です。（Ca濃度が20-200 mg/Lの既知環境試料測定時）
- ・正確性 既知濃度の河川水標準物質における表示値との差は10%以内です。  
o-CPC法、Arsenazo-III法、原子吸光光度法に対して良好な相関があります。
- ・測定範囲 2～300 mg/L（300 mg/Lを超える試料を測定する場合は、2～10倍希釈してから操作して下さい。）
- ・妨害物質 マグネシウムは150 mg/Lまで測定値に影響を与えません。

### **【品質保持期限と保存方法】**

品質保持期限：商品包装袋及び商品外箱に表示。（製造日から10ヶ月間）

御購入後、冷暗所（2-8℃）で保存して下さい。

### **【参考文献】**

- 1) J. W. Ferguson, J. J. Richard, J. W. O'laughlin and C. V. Banks, "Simultaneous Spectrophotometric Determination of Calcium and Magnesium with Chlorophosphonazo-III", *Anal. Chem.*, 1964, 36, 796.

※ 表記性能は汎用されているマイクロプレートリーダー、紫外可視分光光度計を用いた場合の目安です。使用機器の型式によっては完全に一致しない場合があります。予め御了承下さい。

※ 品質に関してのお問い合わせの際は、試薬キット包装袋に貼付の Lot No.を御確認の上、お問い合わせ下さい。

※ 製品の仕様・サービス・包装形態・梱包形態は、予告なく変更する場合があります。本マニュアルに従い、適切に御使用下さい。

※ 製品の輸送・取扱い・処理・廃棄については、付属の製品安全データシート（MSDS）に従って下さい。

### **【製造販売業者】**

メタロジェニクス株式会社 営業部  
〒260-0015 千葉市中央区富士見 1-14-13 千葉大栄ビル  
TEL： 043-227-6767  
FAX： 043-227-6768  
e-mail： sales@ak-j.com  
URL： <http://metallogenics.co.jp/>

※メタロアッセイ™は、メタロジェニクス（株）の試薬キットの名称です。