

## Cary 3500 と Cary 8454 UV-Vis 分光光度計の性能比較

サンプル定量測定の場合



### 概要

アジレントは 1980 年代に、ダイオードアレイ式分光光度計を導入して、世界の製薬業界向けの UV-Vis 測定に最適な機器を発売しました。これは革新的な技術であり、品質保証ラボにシンプルさ、スピード、堅牢性をもたらしました。同じ頃、立体配置ダブルリトロモノクロメータ光学設計をベースとする Cary UV-Vis 分光光度計が、学術機関や研究機関における性能基準として台頭してきました。

2018 年の Cary 8454 の販売終了と 10 年間のサポート保証の発表後、アジレントは、Cary ブランドの基盤となる研究グレードの光学系とユーザーのワークフローを進化させる機能を備えた、Cary 3500 UV-Vis 分光光度計シリーズを発売しました。スループットを向上させ、UV 分析の完全性を維持するために、同時測定が可能な堅牢で可動部のないマルチセルの利点を備えた機器が実現されました。

Cary 3500 UV-Vis は、10 年間交換保証（アジレントまたはパートナーから購入した Cary 3500 機器が対象）付きのキセノンフラッシュランプを光源として使用することで、Cary 8454 よりも優れた測光性能を実現しています。Cary 3500 の革新的なデザインは、製品のライフサイクル全体を通して環境に与える影響に関する、My Green Lab の ACT ラベルを取得しました。これは、ラボが持続可能性目標を達成するのに役に立ちます。機器を制御するソフトウェアも新たに開発され、ワークフローの簡素化、ユーザーエクスペリエンスの向上が実現しました。

Good Manufacturing Practice (GMP) ガイドラインは、メソッドをある機器から別の機器に移行するときに、メソッド移管の同等性を実証することを求めています。この規範により、結果の再現性と比較可能性が保証されます。この技術ノートでは、確立されたメソッドであるニクロム酸カリウム溶液の定量を、Cary 8454 から Cary 3500 UV-Vis に移管する方法について説明します。Cary 3500 の利用で、このような測定にどのような利点をもたらされるかについても説明します。

## 実験手法

### 機器

- Cary 8454 UV-Vis 分光光度計、Agilent UV-Vis ChemStation ソフトウェアによる制御
- Cary 3500 マルチセル UV-Vis 分光光度計、Cary UV ワークステーションソフトウェアによる制御

### 試薬

検量線の作成には、ニクロム酸カリウムの認証標準溶液を用いました。サンプルとして、ニクロム酸カリウムの別の認証標準溶液を使用しました。詳細を次の表に示します。

溶液	内容物
ブランク溶液	0.001 M 過塩素酸
キャリブレーションに使用した認証標準溶液	0.001 M 過塩素酸中の40、80、120、160、200、240 mg/L ニクロム酸カリウム
サンプルとして使用した認証溶液	0.001 M 過塩素酸中の 60 mg/L ニクロム酸カリウム

## 比較その1 分析波長の決定

ニクロム酸カリウムの吸光度ピークに関連する波長は文献に広く掲載されており、確立されたものですが、波長スキャンを実行してこれを確認することが推奨されます。化学成分間の相互作用、pH の変化、またはその他の環境変化により、ピーク波長がシフトする場合があります。クイックサーベイスキャンにより、サンプルの想定された状態に生じた変化を明らかにできます。Cary 8454 は測定ごとにフルスペクトルを収集するため、スペクトル情報はすべてのサンプルで常に確認可能でした。Cary 3500 UV-Vis は、スキャン速度が十分に速いため、サンプルスキャンをルーチンで行っても実用的です。60 mg/L のニクロム酸カリウムサンプルを対象に、表 1 に示すパラメータを使用して波長スキャンを実行しました。

表 1. 波長スキャンとピーク分析に使用した機器パラメータ

パラメータ	設定値	
	Cary 8454	Cary 3500
測定モード	標準モード、UV-Vis ChemStation ソフトウェアのスペクトル/ピークタスク	Cary UV ワークステーションソフトウェアのスキャンモード
分析ツール	ピーク/谷検索 – 最大 2 つのピーク	ピーク/谷検索 – スレッショールド 0.1
波長範囲	190 ~ 600 nm (表示)	190 ~ 1100 nm
データ間隔	1.0 nm	1.0 nm

### メソッド

Cary 8454 のスイッチをオンにし、ランプのウォームアップを 1 時間行いました。Cary 3500 UV-Vis はキセノンフラッシュランプを使用しているため、ウォームアップは必要ありません。過塩素酸のブランク溶液を使用して、両方のシステムのベースラインを測定しました。次に、60 mg/L のサンプル溶液の測定を、表 1 に示す波長範囲で実施しました。

### 結果

Cary 8454 と Cary 3500 UV-Vis の両方で同じピークが同定され（図 1a および 1b）、ピークの同じ波長が検出されました。

## 比較その2 サンプルの定量

検量線は、6 個のニクロム酸カリウム標準を使用して Cary 8454 と Cary 3500 UV-Vis の両方の機器で作成しました。定量用の選択された分析波長は 257 nm としました。使用したパラメータを表 2 および図 2 に示します。

表 2 . 定量化に用いた機器パラメータ

パラメータ	設定値	
	Cary 8454	Cary 3500
測定モード	標準モード、UV-Vis ChemStation ソフトウェアの定量タスク	Cary UV ワークステーションソフトウェアの濃度モード
波長	257 nm	
検量線のタイプ	直線	
標準	6	
サンプル	1	
積分/平均化時間	3.0 秒	

## メソッド

両方の機器で、過塩素酸のブランクを使用してベースラインを測定しました。両方の機器で、各標準とサンプルの全スペクトルを測定しました。Cary 8454 では、標準とサンプルを 1 つずつ測定しました。Cary 3500 UV-Vis では、マルチセルモジュール設計により、7 個のキュベットすべてを同時に測定できました。

測定されたスペクトルから、各標準の 257 nm における吸光度を使用して検量線を作成しました。

次に、もう 1 つの認証溶液をサンプルとして測定しました。

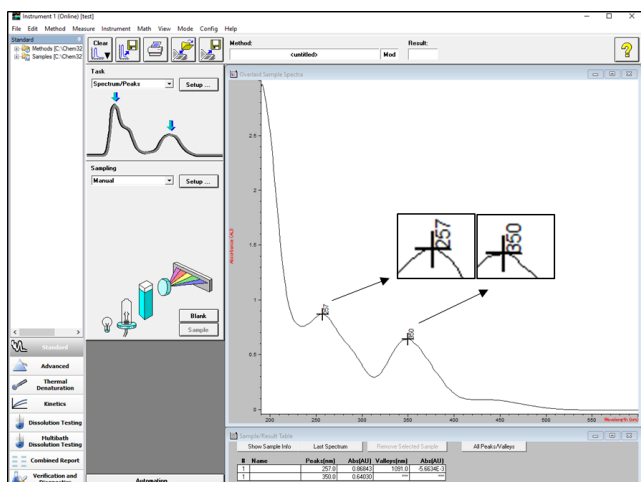


図 1a. Cary 8454 は、60 mg/L のニクロム酸カリウムサンプルについて 2 つのピーク (257 nm および 350 nm) を報告しました。

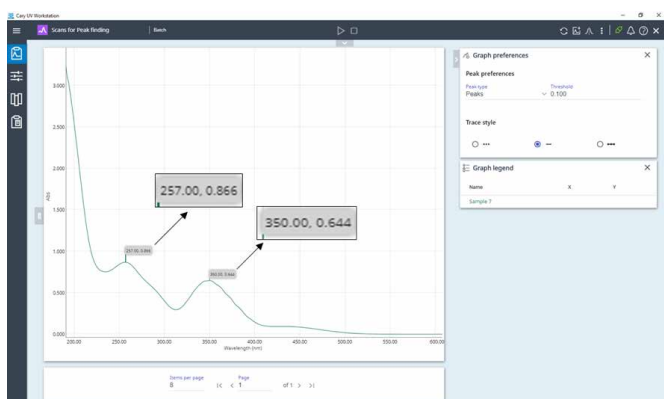


図 1b. Cary 3500 は、60 mg/L のニクロム酸カリウムサンプルについて 2 つのピーク (257 nm および 350 nm) を報告しました。

**Quantification Parameters**

Wavelengths  
 Use wavelength:  nm  
 Background correction:    nm

Calibration  
 Analyte name:  Calibration curve type:

Enter Concentration  
 Concentration:  Unit  
 Weight & Volume:  Weight /  Volume Unit

Prompt for standard information  Prompt for sample information

Data type:  Display spectrum: From  nm To:  nm

各認証標準溶液で測定された吸光度を表 3 に示します。2 つの機器は同等の能力を示し、同様の結果となりました。最も濃度の高い 2 つの標準溶液の吸光度は、Cary 8454 の測定上限である約 3 Abs に近いものでした。Cary 3500 UV-Vis の測光範囲は 4 Abs であるため、これらの標準溶液をより正確に測定することができました。

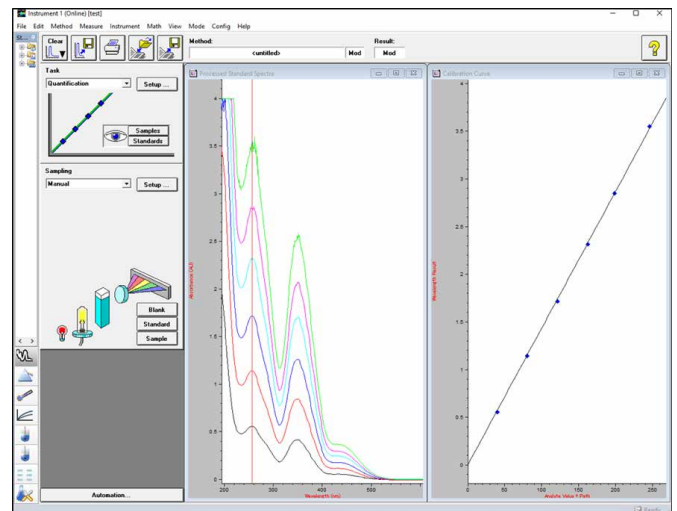


図 3. Cary 8454 を使用して得られた、各標準溶液の波長スキャンとスキャンから作成された検量線

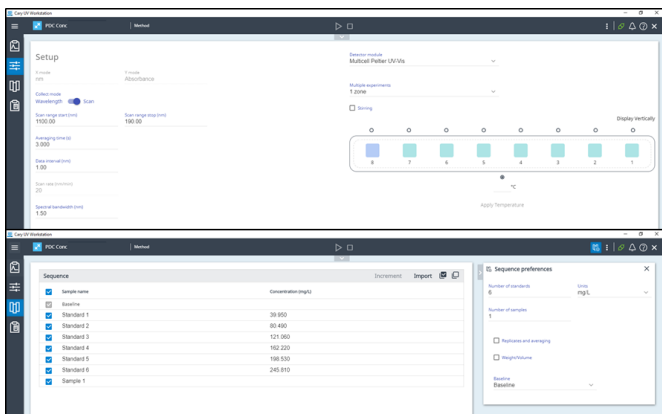


図 2. 各機器の測定パラメータ設定画面：Cary 8454 (上)、Cary 3500 (下)

## 結果

各機器で検量線を作成しました。Cary 8454 を用いて作成した検量線の相関係数 ( $R^2$ ) は、0.9999 でした (図 3)。ニクロム酸カリウムサンプルの濃度は 61.37 mg/L であると決定されました (表 3)。この結果は、60.73 mg/L の認証濃度に近いものでした。Cary 3500 UV-Vis を用いて作成された検量線の相関係数 ( $R^2$ ) は 0.9999 でした。ニクロム酸カリウムサンプルの濃度は 60.72 mg/L であると決定されました (表 3)。

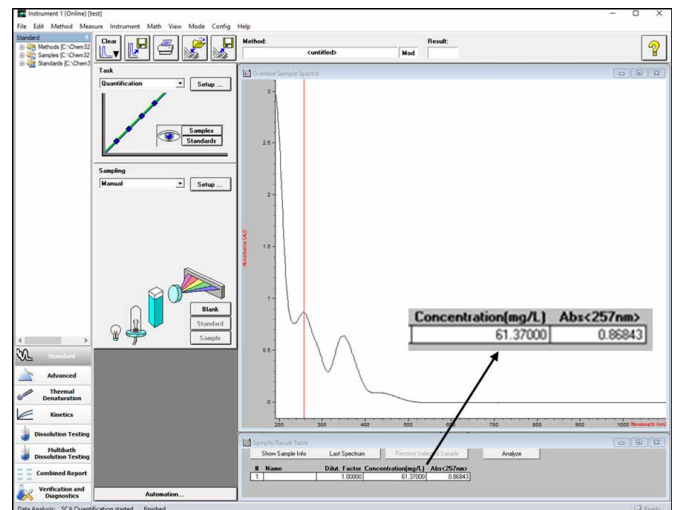


図 4. Cary 8454 によって生成されたサンプルの結果

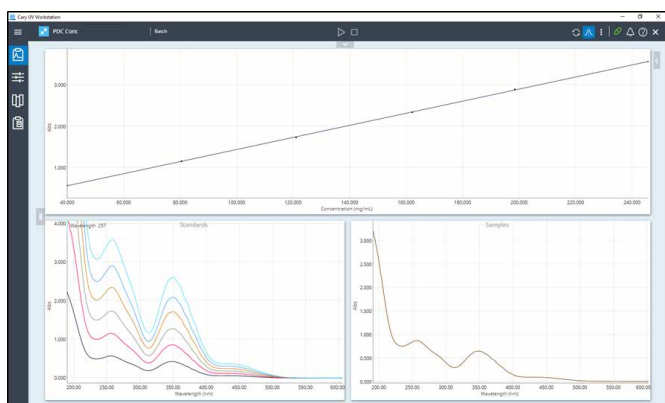


図 5. Cary 3500 で測定された標準の吸光度スペクトル、および 257 nm における吸光度から作成された検量線。サンプルの吸光度スキャンが右下のウィンドウに表示されます。

表 3. Cary 8454 と Cary 3500 の両方で測定された、認証標準とサンプル溶液の吸光度データ

サンプル	認証値 (Abs) *	Cary 8454 測定値	誤差 (Abs)	Cary 3500 測定値	誤差 (Abs)
標準溶液 1	0.5704	0.5627	0.0077	0.5703	0.0001
標準溶液 2	1.1562	1.1456	0.0106	1.1566	-0.0004
標準溶液 3	1.7352	1.7201	0.0151	1.7359	-0.0007
標準溶液 4	2.3451	2.3276	0.0175	2.3442	0.0009
標準溶液 5	2.9069	2.8697	0.0372**	2.8968	0.0101
標準溶液 6	3.5899	3.5322	0.0577**	3.5583	0.0316
サンプル	0.8673	0.8684	-0.0011	0.8686	-0.0013

\* 257 nm での認証吸光度

\*\* 誤差が 0.01 Abs より大きいもの、または 1 Abs より大きい場合は 1% より大きいもの

### 比較その3 測定時間

Cary 8454 はダイオードアレイシステムであるため、1 回の取り込みで 190 ~ 1100 nm のスペクトル全体を収集します。Cary 3500 は、個々の波長を順次測定するモノクロメータベースのシステムです。他のモノクロメータベースのシステムとは異なり、Cary 3500 UV-Vis は非常に速い波長変化率を有するように設計されており、150,000 nm/min という高速データ採取レートが可能です。

この比較では、1 nm のデータ間隔で 190 ~ 1100 nm の波長範囲にわたるサンプルスキャンを取得するために必要な経過時間を記録しました。次に、検量線とサンプルの測定に関連する経過時間（比較その 2 で説明）も記録しました。

### メソッド

機器間で同等の分析が保証されるように、信号の平均化時間を両方の測定で 0.1 秒に設定しました。この設定は、Cary 8454 機器で可能な最短の積分時間です。

3 番目のタイミング測定は、Cary 3500 UV-Vis でのみ 2 回のデータ採取を繰り返すことによって行いました。この測定では、信号の平均化時間を 0.004 秒としました。これは、Cary 3500 で実現できる最短の信号平均化時間です。他のパラメータは変更していません。

### 結果

表 4 に示すように、Cary 8454 は、単一スペクトルを測定する処理時間が高速です。この分析速度の利点は、効率とスループットの向上であることは明らかです。Cary 3500 UV-Vis は、複数の測定を同時に実現することにより、高速で効率的なサンプル測定のための新しいパラダイムを提供します。マルチセルモジュールには可動部分がなく、各サンプルを真に同時測定します。Cary 3500 UV-Vis は、キャリブレーションや未知のサンプルの測定など、複数の測定が必要な分析において、標準試料とサンプルとの間にばらつきが生じないため、分析の整合性を維持できます。

表 4. 測定のおおよその経過時間：単一サンプルの波長スキャン、および 6 個の標準を含む検量線の測定についての Cary 8454 と Cary 3500 の比較

	Cary 8454 (0.1 秒の積分時間)	Cary 3500 (0.1 秒の信号平均化時間)
波長スキャンの時間 (秒)	7	92
検量線の時間 (秒)	141	92

## 結論

Cary 8454 および Cary 3500 UV-Vis 分光光度計は、どちらも迅速かつ簡単に使用できます。どちらの機器も、ここで説明したと同様の測定機能を備えており、同等の結果が得られます。

Cary 8454 UV-Vis 分光光度計と比較して、Cary 3500 UV-Vis の直線範囲が拡張されていることを実際に示しました。最大 4 Abs で吸収度の大きいサンプルを正確に測定する機能により、機器の操作範囲が広がり、サンプル希釈に伴う誤差が排除できます。

Cary 3500 UV-Vis で、複数のサンプルを同時に測定できることの利点も実証しました。標準測定とサンプル測定の間には発生する可能性のある環境の変化、実験や機器によるばらつきを排除することにより、採取したデータの品質が向上します。

Cary 8454 から Cary 3500 UV-Vis へのメソッド移管には多くの利点があります。Cary 3500 UV-Vis 分光光度計シリーズは、OpenLab ソフトウェアスイートに対応しています。Agilent OpenLab ソフトウェアが実現する技術的管理により、FDA 21 CFR Part 11、EU Annex 11、GAMP5、ISO/IEC 17025、EPA の 40 CFR Part 160（および他国の同様の規制）に準拠する必要があるラボでも、データを安全に取得して保存できます。これらの管理には、アクセス制御に加えて、ローカルまたは中央データベースへの安全な保管、電子署名ワークフロー、高度な監査証跡レビューが含まれます。このオプションにより、GLP/GMP 規制対象企業のラボにおいて Cary 3500 UV-Vis は Cary 8454 の最適な代替品になります。

[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。

DE20369607

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2023

Printed in Japan, November 10, 2023

5994-1047JAJP

## 詳細情報

[Agilent Cary 3500 マルチセル UV-Vis 分光光度計](#)

[Agilent 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](#)