

UV TALK LETTER



UV TALK LETTER

装置バリデーシヨンの内容と点検方法

今回のテーマは紫外可視分光光度計の装置バリデーシヨンについてです。装置の健康状態を把握・管理するために欠かせない装置バリデーシヨンについて、そもそもバリデーシヨンとは何か、どのように進めればよいのかといった内容を解説します。

1. バリデーシヨンとは

製品開発・製造の現場では様々な設備や装置を使い、複雑な作業工程を経て製品を生み出します。そのようにして作られた製品が期待通りの品質を持っていると言うためには、使われる設備、装置、運用手順に問題がないかどうかを検証しなければなりません。

いつ誰がやっても同じ内容の検証となるよう、検証は手順化されている必要があります。定められた手順に従って検証を行い、検証結果を文書として記録する一連のプロセスを一般にバリデーシヨンと呼びます。

バリデーシヨンの対象は、設備や装置といった有形のものから作業手順や工程といった無形のものまで多岐にわたります。本稿では紫外・可視分光光度計に対するバリデーシヨン（装置バリデーシヨン）について、その内容をご説明します。

2. 紫外可視分光光度計の装置バリデーシヨン

分光光度計は試料に様々な波長の光を当て、光の吸収や反射、透過の度合いを調べることで、試料を定性的または定量的に分析するための装置です。それでは、分光光度計の性能にはどのようなものがあるでしょうか。

「JIS K0115 吸光光度分析通則」によると、装置が表示すべき性能項目として表1に示す項目が定義されています。

表1から分かるように、一言に性能といっても、着目する観点によって分光光度計には様々な種類の性能があります。分光光度計の装置バリデーシヨンでは、これらの性能項目の中から装置の管理や状態把握に必要な項目をピックアップして検証を行うこととなります。

表1 JIS K0115に記載されている性能項目

性能項目	
波長正確さ	迷光
波長設定繰返し精度	ベースライン安定度
測光正確さ	ベースライン平坦度
測光繰返し精度	ノイズレベル
分解	

3. 装置バリデーシヨンの進め方

それでは装置バリデーシヨンの具体的な考え方、進め方について、いくつかの性能項目を例にとって見てゆきましょう。

<波長正確さ>

「波長正確さ」の検証では、一般に重水素ランプや低圧水銀ランプの輝線、または波長校正用光学フィルターの吸収ピークが利用されます。

図1は重水素ランプのエネルギースペクトルです。重水素ランプは波長656.1nm及び486.0nmのところに鋭いエネルギーピーク（輝線）を持つことが知られています。従って、重水素ランプのエネルギースペクトルを測定し、656.1nm付近に存在するピークの波長を調べ、その波長値を656.1と比較することで装置の波長正確さを検証することが出来ます。

例えば、検出されたピーク波長が656.2nmであった場合、真の値656.1nmからの誤差は0.1nmとなり、これがこの装置の波長正確さの精度となります。

いくつかの輝線（または吸収ピーク）を使って波長正確さの確認を行うべきか、誤差がいくら以内であれば問題なしとすべきかは、製品を開発・製造するに当たって装置にどれだけの性能が要求されるのかによって変わってきます。試料のスペクトルを測定し、仮にそのスペクトルのピーク波長を誤差1nm以内で特定する必要がある場合、波長正確さとして0.1nmの精度があれば十分であるといえるでしょう。

<迷光>

「迷光」とは、試料に照射される指定波長以外の光のことです。例えば波長220nmの光の吸光度を測定したいとき、試料に220nm以外の波長の光が多く当たってしまうと、正しい吸光度の測定が出来ません。

例として、指定波長において0.01%の迷光が存在する場合を考えます。このとき、迷光の影響により透過率1%（吸光度2）の試料は透過率が1.01%（吸光度1.9957）であるように見え、また透過率0.01%（吸光度4）の試料は透過率が0.02%（吸光度3.6990）であるように見えてしまいます。

すなわち、それぞれの試料において吸光度0.0043及び0.3010の誤差が生じるのです。また、この例から分かるように、迷光の影響は測定したい試料の吸光度が高いほど大きくなります。

迷光の存在は、検量線のひずみの原因にもなります。従って、標準試料を使って検量線を作成し、高濃度の（吸光度が大きい）

未知試料の定量を行う場合は、装置の迷光が小さいことが求められます。

迷光の大きさを評価するときは、ヨウ化ナトリウム（NaI）水溶液など、特定の波長で光を透過しないことが分かっている水溶液が用いられます。例えば、NaI水溶液は波長220nmの光を透過しません。測定ではまず、全ての光を完全に遮断するシャッターブロックを試料室にセットした状態で透過率を測定し（透過率X）、次にNaI水溶液セルをセットした状態で透過率を測ります（透過率Y）。このとき、Y - Xの値を装置の迷光量と定義し、迷光の大きさを評価します。図2はこの様子を示したものです。

装置バリデーションの目的は、装置が製品の検査や製造を行うのに十分な性能を有しているかどうかを確認することです。実際にバリデーションを行う場合は、必要とされる装置性能を理解した上で適切な検査項目を選び、合格基準を設けることが大切です。

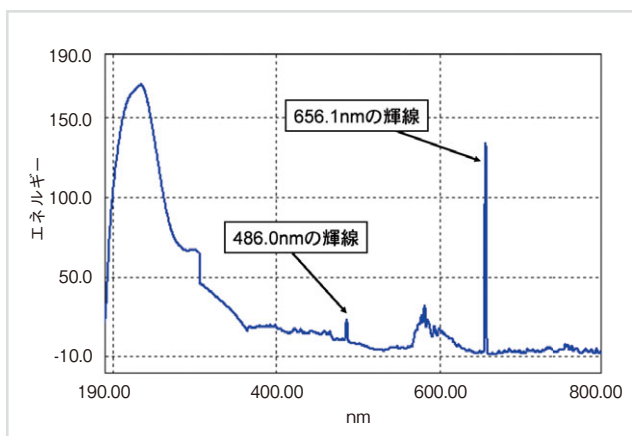


図1 重水素ランプの輝線

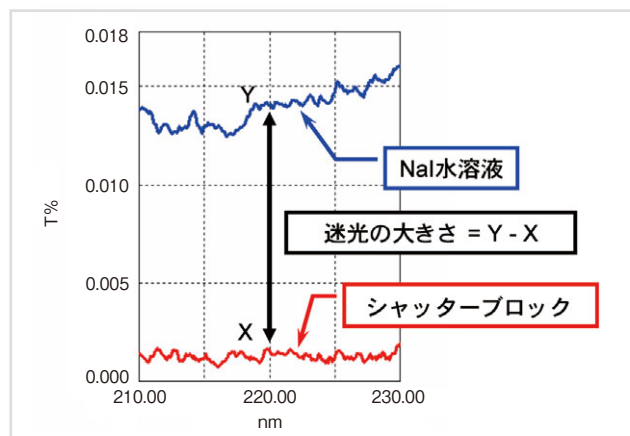


図2 NaI水溶液を用いた迷光測定

4.バリデーションは装置の健康診断

分光光度計は多くの部品から構成されており、その中には経年や使用頻度によって劣化してゆく消耗品もあります。装置バリデーションは、装置内部の構成部品の状態を知る上でも役立ちます。

例として、「ノイズレベル」を見てみましょう。分光光度計においてノイズレベルは光源（ランプ）の状態を知る一つの手がかりとなります。ノイズレベルは、特定の波長における吸光度0付近の時間変化を1分間測定したときの吸光度の最大の振幅（隣り合う山と谷の距離のうち、最大のもの）という形で定義されています。図3にノイズレベルを測定したグラフを示します。

ランプが経年劣化して放射光の強度が小さくなってくると、雑音の大きさは相対的に増大し、ノイズレベルが高くなります。ノイズレベルの上昇はデータの再現性の低下を意味しますので、測光値を正確に知りたい場合には悪影響が出てきます。

また、非常に小さな吸収ピークを検出しなければならない場合、ノイズレベルが大きいとピークがノイズに埋もれてしまい、正しく検出できなくなる可能性があります。

分光光度計の光学系には、集光や分光のため色々なミラーが使われています。これらのミラーは経年とともに表面が劣化してゆくことがあります。また、装置が置かれている環境によっては、空気中のほこりや粉塵が付着する可能性もあります。例えば、分光用のミラーの劣化は前述の迷光量の増加の一つの要因となります。

このように、装置バリデーションの結果から装置の健康状態を把握するのに有益な情報が得られます。装置の状態を常に把握し、管理するためには、装置バリデーションを定期的に行うことを推奨します。また、消耗品を交換した後や装置の据付場所を変更した後など、装置環境に変更があった場合にもこまめにバリデーションを行うことが大切です。

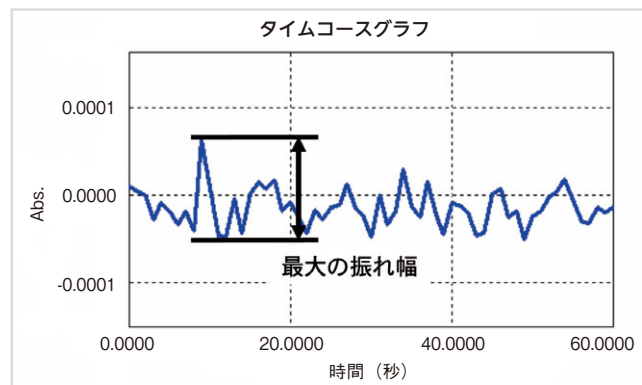


図3 ノイズレベルの測定結果

5. ソフトウェアによる

装置バリデーションの自動化

装置バリデーションで確認しなければならない性能項目は多岐にわたり、これらの項目を一つ一つ手作業で確認してゆくのは時間がかかります。また、煩雑な検査手順に伴う人為的な操作ミスも起こしやすくなります。

バリデーション作業を行う際、バリデーションに必要な測定や計算を自動的に行うよう設計されたプログラムがあれば装置管理の負担は大きく軽減されます。

島津では紫外可視分光光度計の装置バリデーションに特化したソフトウェア（UV Performance Validationソフトウェア）を提供しています。図4はUV Performance Validationソフトウェアの画面例です。

ソフトウェアを用いると検査項目、検査条件、合格判定基準の設定が柔軟かつ容易に行え、測定から計算、判定までが自動で行えます。また、校正用光学フィルターなどの検査ツールの管理やバリデーション結果のレポート印刷など、様々な機能で装置バリデーション作業を支援します。

図5はソフトウェアを用いた装置バリデーションの流れを一例として示したものです。

このように、装置バリデーションのためのソフトウェアを有効に活用することで確実に効率的な装置バリデーションが行えます。

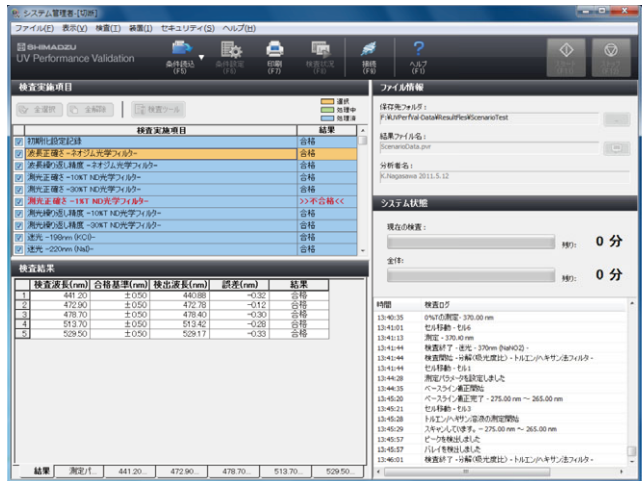


図4 UV Performance Validation ソフトウェアのメイン画面

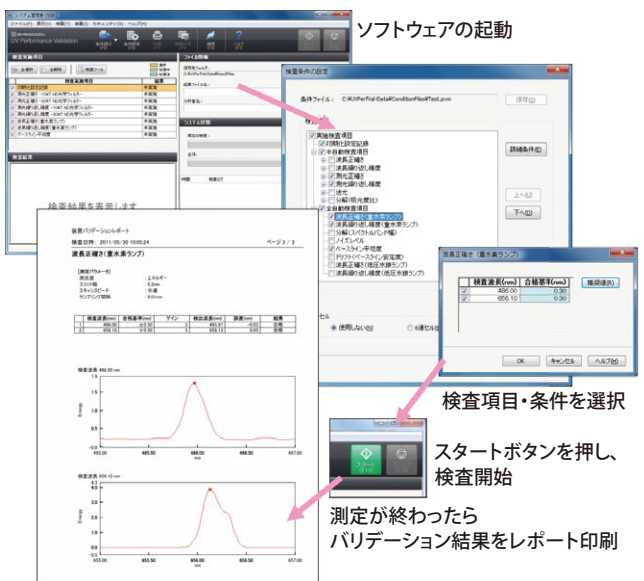


図5 ソフトウェアを使った装置バリデーションの流れ

6. おわりに

本稿で述べたことを以下にまとめます。

- 製品の開発・製造に用いる装置の状態を把握するためには、装置バリデーションを行うことが大切です。
- 実際に装置バリデーションを行う際は、様々な性能項目の中から必要なものを選択し、適切な合格基準を設けた上で検査します。バリデーション用のプログラムを有効活用することで、確実に効率的な装置バリデーションを行うことができます。

今回は装置バリデーションについて解説しました。装置管理や装置の健康状態の把握に役立てていただければ幸いです。

分析計測事業部 スペクトロビジネスイニット
原田知幸

多試料連続測定に有効なシッパーの紹介

紫外可視分光光度計を用いた溶液測定で使われる付属品のひとつとしてシッパーがあります。シッパーは試験管やビーカーなどから直接溶液を試料室に供給することができる非常に便利な付属品です。シッパーには、恒温機能の有無や標準必要試料量などが異なるさまざまな種類があります。今回は、各シッパーの特長、使用する際に注意すべき点についてご紹介します。

1. シッパーの種類と選択

シッパーを用いて試験管から溶液を吸引している様子を図1に示します。シッパーは、レバーを押すと、試料の吸引が行われ、自動的に測定を開始する付属品です。シッパーには、いくつかの種類があります。

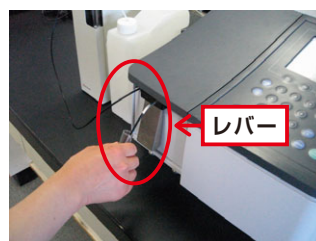


図1 シッパーを用いた測定の様子

シッパーは、まず試料溶液の吸引方法によって大きく2つに分けられます。しごきポンプを使用するシッパー160とシリンジポンプを使用するシリンジシッパーです。さらに恒温機能の有無やフローセルの種類などで分類されます。シッパーの一覧を表1に示します。ここで標準必要試料量とは、直前の試料の影響を受けず測定ができる試料量です。

表1 各種シッパー一覧

	付属品名	セル / 恒温機能	標準必要試料量
しごきポンプ型	シッパー160L	標準形	2.0 mL
	シッパー160T	3回パス形	1.5 mL
	シッパー160C	恒温形	2.5 mL
	シッパー160U	超微量形	0.5 mL
シリンジ型 (フローセル別売)	シリンジシッパー-N型	常温タイプ	0.9/ 1.0/ 5.0 mL (フローセルによる)
	シリンジシッパー-CN型	恒温水還流タイプ	

図2にシッパー160の外観を示します。シッパー160はユニットを試料室内に入れることができ非常にコンパクトです。シッパー160は、フローセルの違いにより4種類あります。図3にシッパー160のフローセルの形状を示します。L形は標準形フローセルです。T形は3回パス形のフローセルを用いています。フローセルの形状が、ほぼストレートな構造になっているため吸入、排出時の試料の流れがスムーズです。また、C形は恒温形フローセルを用いて、一定温度での測定が可能です。U形は、微量用フローセルです。他のフローセルより微量の試料で測定が可能です。

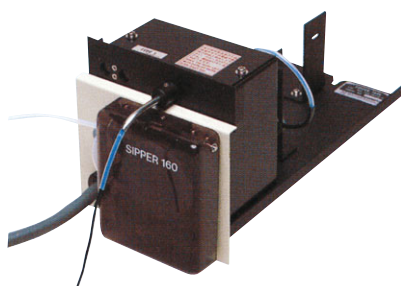


図2 シッパー160外観

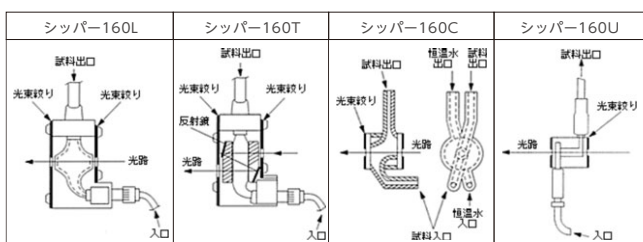


図3 シッパー160のフローセル形状

UV-1800にシリンジシッパーを設置した外観を図4に示します。シリンジシッパーは吸引にシリンジを使用していますので極めて高い吸引量再現性（繰り返し精度：±0.03mL）を実現しています。シリンジシッパーの場合、まず常温タイプ（N型）か、恒温水還流タイプ（CN型）かを選択します。次にフローセルを標準必要試料量で選択します。通常は、標準必要試料量以上の試料を吸引し測定を行います。シリンジシッパーのフローセルは、交換が簡単にできることも特長のひとつです。このためメンテナンスも容易です。表2に、シリンジシッパーの推奨フローセルの一覧を示します。



図4 シリンジシッパーの外観

表2 シリンジシッパー推奨フローセル

形状	光路長	透光部寸法	標準必要試料量
角型フローセル（超マイクロ）	10mm	φ2mm	0.9 mL
角型フローセル（マイクロ）	10mm	φ3mm	1.0 mL
角型フローセル（セミマイクロ）	10mm	H11×W3.5 mm	5.0 mL

2.耐薬品性

シッパーは、種類によって耐薬品性が異なります。

シッパー160では、しごきポンプ部に塩化ビニル系チューブを使用しており、標準構成では強酸、強アルカリ、一部の有機溶剤が使用できません。このためオールテフロン製電磁弁ユニット、試料廃棄ユニットSWA-2をオプションとして用意しています。これらのオプションを使用することでさまざまな試料の測定が可能となります。

シリンジシッパーは接液部がフッ素樹脂、ガラス、石英で構成されています。このため耐薬品性に優れ、ほとんどの試料の測定に対応可能です。

3.気泡の発生しやすい試料の測定

粘度の大きい試料などをシッパーで測定する場合、気泡が発生することがあります。フローセル中の気泡は、測定値に影響を与えますので気泡を発生させないことが重要です。気泡が発生する場合は、まず測定メソッドの吸引速度を遅くしてください。ほかに排出量を最小値(0mL)に設定することや安定時間を長くともすることで改善されることがあります。また粘度の大きい試料の場合、標準必要試料量では直前の試料の影響が大きくなることも考えられます。吸引量も多めに設定するとよい結果が得られるでしょう。

4.自動連続測定

シッパーは、オートサンプルチェンジャーASC-5と組み合わせると多試料連続自動測定が可能となります。最大100試料までの連続自動測定が可能です。図5にオートサンプルチェンジャーASC-5の外観を示します。ASC-5は、標準で試験管ラック、試験管が用意されていますがピーカーなどの標準以外の試料容器も使用できます。縦200mm×横200mm×高さ150mm以下の範囲で設置可能です。



図5 オートサンプルチェンジャーASC-5の外観

5. キャリーオーバーと標準必要試料量

連続して試料測定を行う場合に、前の試料がフローセル内に残って次の試料測定に影響を与えることを「キャリーオーバー」といいます。

シッパーでは、キャリーオーバーが1.0%以下になる試料の吸引量が標準必要試料量として設定されています。実際には、フローセルまでの吸引側チューブの長さによって必要な試料量は、変わります。このためASC-5を使用する場合などでは、標準必要試料量より吸引量を多くしなければならないこともあります。

UV-1800、シリンジシッパーN型とマイクロ角型フローセル（標準必要試料量1.0mL）を用いて取扱説明書に記述されている方法でキャリーオーバーの確認を行いました。表3にシッパーの設定条件を示します。試料は吸光度約0.5に調製した重クロム酸カリウム水溶液を使用しました。水（ブランク）と試料を3回ずつ350nmにおける吸光度を測定しました。測定は、「(1)水1」→「(2)水2」→「(3)水3」

→「(4)試料1」→「(5)試料2」→「(6)試料3」の順で行いました。このとき試料が水から試料に入れ替わった直後の「(4)試料1」と「(6)試料3」の吸光度差を「(6)試料3」の吸光度で割ったものをキャリーオーバーとして規定しています。キャリーオーバーがなければ本来「(4)試料1」と「(6)試料3」は測定誤差の範囲内で同様の値が出ます。しかし「(4)試料1」に直前の「(3)水3」の影響がある場合には「(4)試料1」は、「(6)試料3」より吸光度値が低くなります。

図6に測定結果を示します。キャリーオーバーがほとんどないことが確認できます。

次に水（ブランク）で、ベースライン補正を行い、「(a)試料」→「(b)水」の順に吸収スペクトルを測定しました。図7に測定結果を示します。「(b)水」のスペクトルには、350nmで吸光度0.001と吸収がほとんど認められません。表3のシッパー設定条件で精度のよい測定ができていることが確認できます。

	サンプル ID	種類	Ex	WL350.0	コメント
1	水1	Unknown		-0.001	
2	水2	Unknown		-0.001	
3	水3	Unknown		0.000	
4	試料1	Unknown		0.501	
5	試料2	Unknown		0.502	
6	試料3	Unknown		0.502	
7					

表3 シリンジシッパー設定条件

設定項目	設定値
吸引速度(mL/秒)	0.6
吸引量(mL)	1.0
排出量(mL)	1.0
安定時間(秒)	2
洗浄回数(回)	0

図6. 350nmにおける測定結果

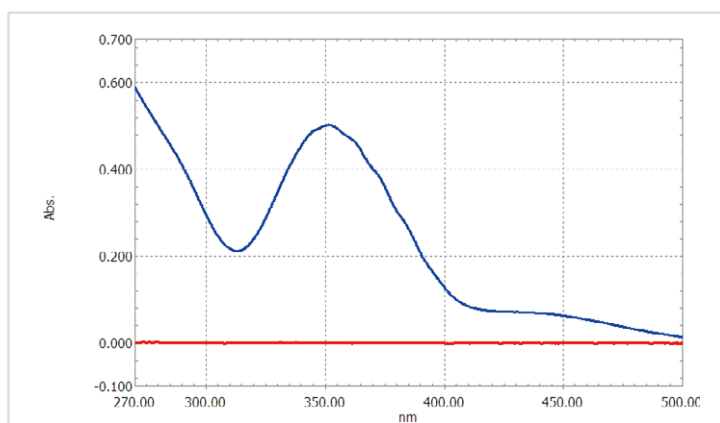


図7. スペクトル測定結果 (—: (a) 試料 —: (b) 水)

6. メンテナンス

シッパーは使用後速やかに水あるいは洗剤を吸引して十分に洗浄してください。洗剤を使用した場合は、その後水で十分に洗浄してください。試料がフローセルに残っているとフローセルの汚れの原因となります。フローセルが汚れると気泡も発生しやすくなります。

シッパー160では、フローセルの洗浄以外にしごきポンプ部のチューブの定期的な交換が必要となります。交換方法の詳細は、取扱説明書を参照ください。

シリンジシッパーは、フローセルを含む接液部を十分洗浄していただくだけで結構です。

7. まとめ

シッパーはセルに溶液を入れる手間を省き、連続で試料の供給ができる付属品ですが、通常のセルを使用する場合とは異なる点に注意しなければなりません。特に気泡の発生には注意が必要です。またシッパーの中でもシリンジシッパーは試料の吸引再現性や耐薬品性さらにメンテナンス性にも優れており非常に使いやすい付属品となっています。

Q

樹脂板やフィルムのヘイズ(曇価)を求めるにはどのようにすればよいのでしょうか？

A

樹脂板やフィルムのヘイズ(曇価)を求める測定はよく行なわれています。ヘイズは試料の曇り度合いを表す指標で、全光線透過率に対する拡散透過率の比率として求められます。曇り度合いの大きな試料ほどヘイズは大きくなります。積分球付属装置を用いるとヘイズを求めることができます。

以下に測定手順を示します。

- (1) Fig.1のように積分球入り口に何も設置しない状態でベースライン補正を行なう。
- (2) Fig.2のように積分球測定光側入り口に試料を設置して全光線透過率を測定する。
- (3) Fig.3のように試料対面に位置する標準白板を外した^{注1)}状態で拡散透過率を測定する^{注2)}。
(試料対面の標準白板を外すと直線透過率は積分球外へ放出されることとなります。これにより積分球内には拡散透過光のみがとらえられ拡散透過率が測定できます。)
- (4) 次式からヘイズを求めます。
ヘイズ(%) = (拡散透過率 / 全光線透過率) × 100

Fig.4はEVA(エチレン・酢酸ビニル共重合体)フィルムに対して行なった全光線透過率と拡散透過率の測定結果です。例えば550nmのヘイズは上式により72.5%となります(550nmの全光線透過率と拡散透過率を用いて計算しました)。本試料は曇り度合いの大きな試料でしたのでヘイズも比較的大きな値となっています。なお、本方法を用いた場合、試料への測定光の照射状態や積分球の開口率^{注3)}などの相違から専用のヘイズメーターの測定値とは差異が生じることがありますのでご注意ください。

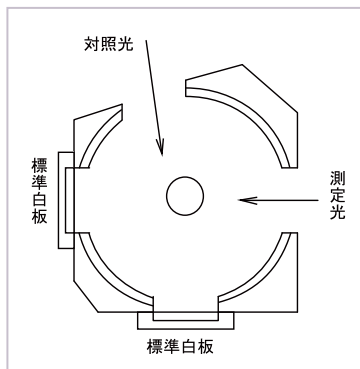


Fig.1 ベースライン補正

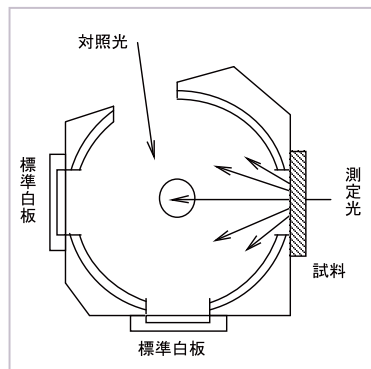


Fig.2 全光線透過率測定

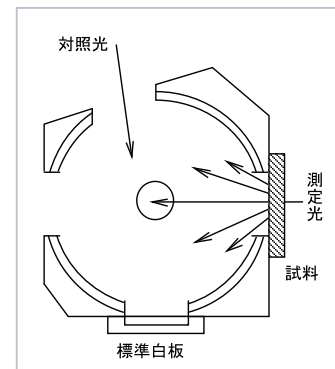


Fig.3 拡散透過率測定

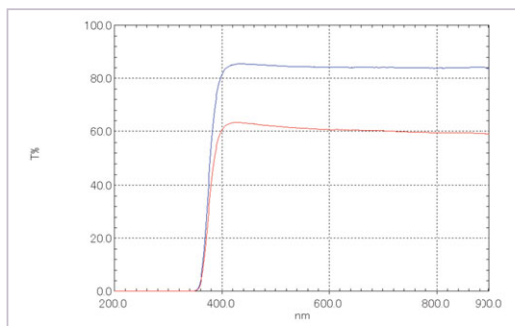


Fig.4 EVAフィルムの全光線透過スペクトル(青)と拡散透過スペクトル(赤)

注1) 光トラップ(光を吸収する筒)を用いて測定する場合もあります。

注2) 状況によっては0%補正が必要となる場合があります。

注3) 開口率とは、積分球における全ての窓面積の球内表面積に対する割合のことです。

紫外可視分光光度計

UV-2600/2700

UV-VIS Spectrophotometer

あらゆるシーンで、
求めていた“精度”を実感



Single monochromator UV-2600 測定波長 1400nm の可能性

広い波長範囲で低ノイズのシングルモノクロメータ搭載 近赤外(～1400nm)[※]の測定を可能に
※オプションの積分球 ISR-2600Plus 使用時

Double monochromator UV-2700 測光レンジ 8 桁以上の実力

吸光度 8 の測定が可能な超低迷光ダブルモノクロメータを搭載
自社製・ローレイグレド回折格子使用

さらにコンパクトに、フレンドリーに

設置面積28%[※]削減、450mm 幅のコンパクトサイズ
当社比10%[※]の省エネを実現
※従来モデル UV-2450/2550 と比較

バリデーションソフト 標準付属

豊富なアプリケーションで、あらゆる現場に対応

測定対象に合わせて自由に拡張が可能
既存装置の付属品も使用可能
データ処理の自動化



UV
TALK LETTER
Vol.8

- 発行日 ● 2011年9月1日
- 編集・発行 ● 株式会社島津製作所 分析計測事業部 応用技術部
- 連絡先 ● 分析計測事業部 事業企画部 “Shim-Solutions Club” 事務局
〒604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1
E-mail: analytic@group.shimadzu.co.jp