

フローインジェクション分析におけるサンプルインジェクターの比較

内田和秀，友田正子，斎藤真一

上智大学理工学部一般科学研究室

〒 102 千代田区紀尾井町 7-1

フローインジェクション法において，数種のサンプルインジェクターの dead volume ，CV% および，特性を比較し，各サンプルインジェクターのフローインジェクション分析に対する適性を検討した．サンプルインジェクターの構造により適性は大きく左右され，分析法によるサンプルインジェクターの使分けが必要であることが解った．

1 緒 言

フローインジェクション法においてサンプルインジェクターは重要な部位である．正確に試料体積を決め流路中に注入することが，再現性の高い定量分析を行なうための必須条件である．近年，フローインジェクション法を用いた多くの報告より，多種多様なサンプルインジェクターの使用がうかがえる．

本研究では数種のサンプルインジェクターを例にとり，吸光光度法を用いた単純な流路のフローインジェクション法¹⁾により，各々のサンプルインジェクターを比較することを目的とし，いくつかの知見を得たので報告する．

2 実 験

2.1 試薬

塩酸溶液： 12 mol dm^{-3} 塩酸 16.7 cm に蒸留水を加えて全容を 1000 cm^3 とした．（ $2.0 \times 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$ ）

水酸化ナトリウム溶液： 水酸化ナトリウム 4.2 g を蒸留水に溶解し全容を 1000 cm^3 とした．この溶液を 100 倍に希釈して用いた．（ $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ）

メチルオレンジ溶液：メチルオレンジ 0.3273 g を蒸留水に溶解し全容を 1000 cm³ とした。(1.0 × 10⁻³ mol dm⁻³) この溶液を上記水酸化ナトリウム溶液で適当に希釈し、試料系列とした。

試薬はすべて和光純薬工業製特級試薬を用いた。

2.2 装置

ポンプ：Gilson 製 Miniplus 2 ペリスタ型ポンプを用いた。ポンプチューブは専用の塩化ビニル製のものを使用した。

分光光度計：日本分光製 UVDEC-340 型分光光度計に FIC-361 型フローセル（光路長 10 mm，容量 20 mm³）を取りつけて使用した。

記録計：理研電子製 SP-G12 型記録計を使用した。

サンプルインジェクター：Table 1. に示す。

Table 1. Various sample injectors

No.	Sample injector	Type	Manufacturer
1	KLS-3F	septum	Kyowa Seimitsu
2	KMM-4V-2	double 4 valves	"
3	KMM-6V	6 valves	"
4	KHP-UI-130A	6 valves*	"
5	4005 (Cat. No.)	6 valves	Ohyoh Bunkoh
6	NLV-6	6 valves	Nihon Seimitsu Kagaku
7	5000-0285 (Part No.)	double 4 valves	Tecator
8	7125	6 valves*	Rheodyne

* It is also possible to use a microsyringe with these types.

2.3 方法

FIAシステムのフローダイアグラムを Fig. 1 に示す。

ポンプチューブ以外のチューブはすべてテフロン製のものを用いた。流量は操作ごとにポンプを微調整し、吸入量を測定して正確に決めた。ポンプ（P）により送液されたキャリアー溶液（C）にサンプルインジェクター（S）により濃度系列を調製した試料を注入し、混合コイル（M）にて呈色させ、分光光度計（D）にて 510 nm における吸光度変化を測定記録した。Table 1. に示したサンプルインジェクターを順次取り替え測定に用い、比較検討した。

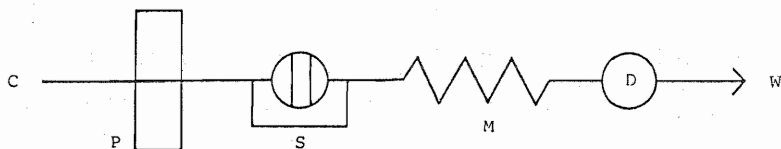


Fig. 1 Flow diagram

The conditions were C: HCl (2.0×10^{-1} mol dm⁻³),
M: Mixing coil (1 mm i.d., 1.5 m long),
D: Detector (Spectrophotometer, wave length 510 nm),
Flow rate: 2.0 cm³ min⁻¹.
P: Pump, S: Sample injector, W: waste.

各サンプルインジェクターの試料注入法と体積の規定法を Table 2. に示す.

Table 2. Injection methods and volume regulations

Sample injector	Injection method	Volume regulation
KLS-3F	Microsyringe	Hamilton-made microsyringe (725N, 750N)
KHP-UI-130A	Microsyringe	Kusano Kagaku-made microsyringe (LF-100)
7125	Microsyringe with and without repeating dispenser: Hamilton-made (PB600-1)	Hamilton-made microsyringe (725SNR, 750SNR)
KMM-4V-2	Overflow*	Teflon tube #1 (0.5 mm i.d., 2 mm o.d. 153 and 204 mm long)
KMM-6V	"	"
NLV-6	"	"
4005	"	Teflon tube #2 (same as above)
5000-0285	"	Teflon tube (0.5 mm i.d., 1/16" o.d. 153 and 204 mm long)
7125	"	"

* Sample volume is the sum of the inner volume of teflon tube (sample loop) and the dead volume of each sample injector.

3 結果と考察

各サンプルインジェクターを使用し、microsyringeの試料注入量およびsample loop容量を 30 mm^3 とし、メチルオレンジ試料の濃度系列(1~ $6\text{ }\mu\text{mol dm}^{-3}$)を各々注入し、吸光度を測定した結果をFig. 2に示す。なおKLS-3

Fについては、septumが数10回のmicrosyringeの使用に耐えられず、septumの切端が流路中に流入したり、microsyringeの針につまること、また液もれが起こることより使用を中止した。

Fig. 2において7125とKHP-UI-130Aが傾きが最も小さく、5000-0285, 4005の順に続き、KMM-4V-2, KMM-6V, NLV-6が非常に接近している。この傾向は試料体積を 40 mm^3 としても同様であった。KMM-4V-2とKMM-6Vのdead volumeは設計図より算出した値およびノギスを用いた実測値とも

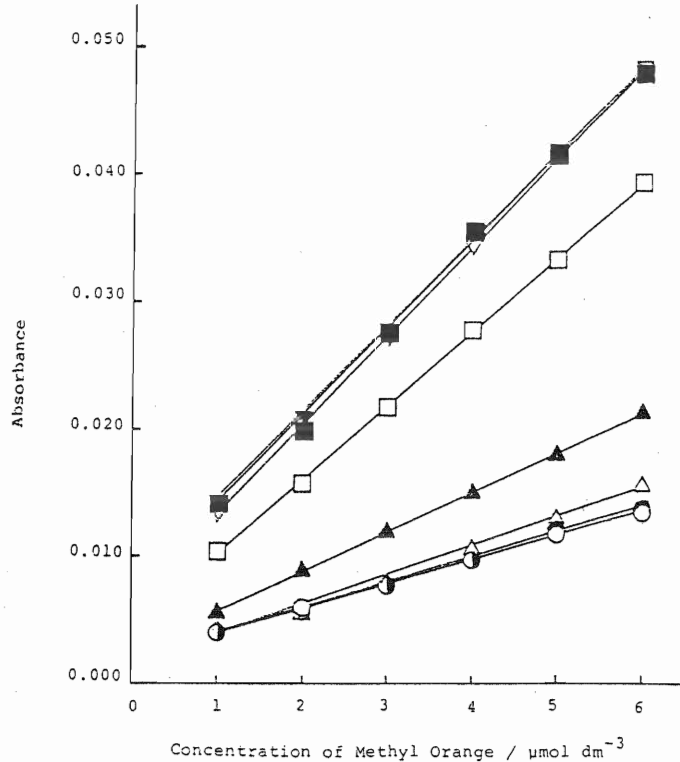


Fig. 2 Effect of the concentration of sample
Sample volume: 30 mm^3

- : 7125(overflow)
- △: 7125(microsyringe)
- : 4005
- ▽: NLV-6
- : KHP-UI-130A
- ▲: 5000-0285
- : KMM-4V-2
- ▼: KMM-6V

よく一致し、 $79.1, 81.9\text{ mm}^3$ である。従ってsample loop容量を 30 mm^3 とした場合、各々 $109.1, 111.9\text{ mm}^3$ が真の試料体積となる。両サンプルインジェクターの試料体積の差はKMM-6Vの2.5%にしかすぎない。このことから傾きの差異は主に試料体積に影響されると思われる。microsyringeで試料体積を規定した7125, KHP-UI-130Aが傾きが最も小さいのはその為である。over-

flow typeのサンプルインジェクターがそろって傾きが大きいのは dead volume が試料体積（テフロンチューブの長さにより規定）に加えられることによる。

dead volume を知るには前記の様に計測する方法と、実験により求める方法がある。例えば試料体積に対する吸光度を plot し、その比例関係から求める方法があるが、

overflow type のサンプルインジェクターの場合 sample loop の長さは構造上の制約を受け、図に於ける原点の近傍には plot できず、実験誤差が多くなり正確さを欠く。（KMM-6V について上記方法により dead volume を求めたところ -11% の誤差を生じた。）

overflow type の例外である 7125, 5000-0285 は設計上 dead volume が非常に少なくなる様製作されている。5000-0285 は sample loop のサンプルインジェクターへの接続が ferrule（シリコンゴムを切ったもので、HPLC に於ける金属やテフロン製のものとは異なる。）で行え、sample loop をサンプルインジェクターの内部まで挿入可能なことに起因する。同様のことが 7125 に於いても考えられる。また 7125 については overflow type と microsyringe による試料注入法による比較も行った。後法が多少傾きが大きく出た原因はサンプルインジェクターの構造上の問題である。septumless の為、overflow type と同じく sample loop を設け、その中に microsyringe を用い試料を充填するが、overflow type と異なり、試料注入量は sample loop 容量の 50% を超えない様に用いなければならない。これは管内液流に皆共通した放物線的流速分布により若干の試料が sample loop から逃げ、注入精度が低下する為である。²⁾ それゆえ試料は流路注入前にサンプルインジェクター内でキャリア溶液に混合される。この時の注入速度は速く、試料とキャリア溶液の混合が進み呈色を進行させ、傾きを大きくしたものと考察した。

7125（microsyringe, repeating dispenser 併用）を用い試料体積と吸光度の関係を調べた結果を Fig. 3 に示す。sample loop 容量の違いにより直線範囲が異なることが解る。

KMM-4V-2 測定時に peak height に著しい特徴的誤差が観察された。試料を注入する syringe の交換時に 1 本目の peak height が高くなり、以後影響はなかった。1 本目を除く peak については再現性があるが、1 本目の peak height は他に比較し、不規則に高くなった。これは Fig. 4 に示す二連四方型サンプルインジェクターの構造によるものである。Fig. 4 (a) を試料充填時、Fig. 4 (b)

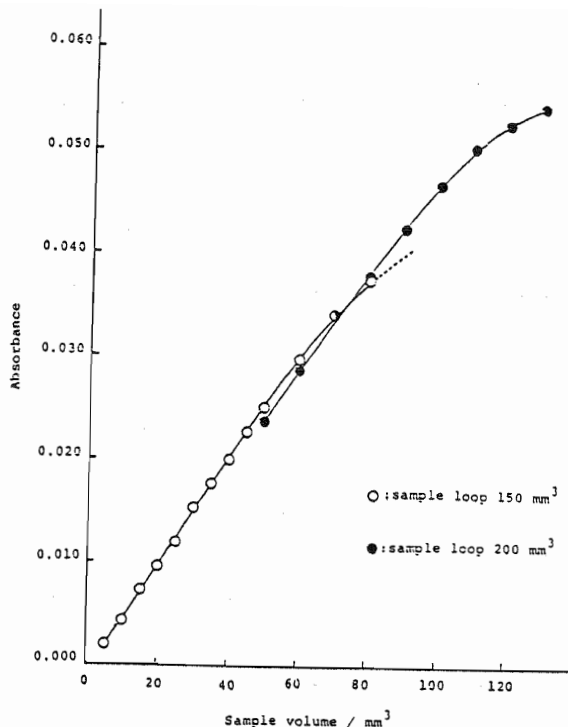


Fig. 3 Effect of the sample volume

Sample injector: 7125, Concentration: $6 \mu\text{mol dm}^{-3}$

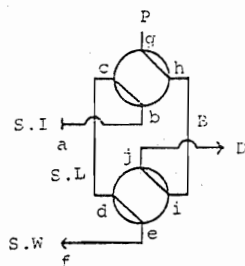
(a) Load

路に注入される試料はサンプルインジェクターの dead volume にあたる $b'c'$, $d'e'$ と sample loop に満たされた試料のみである。この為、 ah' , fi' には試料がのこされ、 a と f の位置関係 (高さ) により 2つの異なる汚染過程が生じる。

1) f が高い位置にある場合、siphon 効果により fi' に満たされた試料が、 $i'j'$, jk' , $g'h'$ 方向へと逆流する。これは bypass の汚染を意味し、valve の切換えによ

を試料注入時とする。Fig.

4 (a) に於いて a より試料を充填し、サンプルインジェクター内の bc に入り、sample loop cd を満たし、再びサンプルインジェクター内の de を通り、 f へと試料は排出される。この際、キャリア溶液による試料の希釈を避ける為試料は overflow され、 a から f までは一様な試料濃度となる。valve の切換えにより Fig. 4 (b) に示す状態に移行する。その際流



(b) Inject

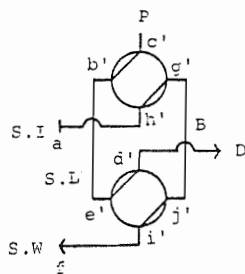


Fig. 4 Scheme of the sample injector (KMM-4V-2)

P: Pump, D: Detector, S.I: Sample injection port
S.W: Sample waste, S.L: Sample loop, B: Bypass

り流路中に注入される。

2) a が高い位置にある場合、同じく siphon 効果により、a h' に満たされた試料が g' h', g' j', i' j' へと流出する。以下1)と同様である。

この汚染の程度は syringe を a よりぬいた時から、次にさし込むまでの時間により決まる。syringe を注入口にさし込んだままにしておくと syringe が栓の役目を果たし汚染されない。また汚染による peak 形状は [切換え, 試料充填, 切換え] の一連の操作に要する時間により, ghost peak, double peak, composed peak と変化して行く。

上記汚染の対策は2つ考えられる。その1つは二連四方形 valve の構造的問題であるから、構造を変更し、valve 切換え時に bypass を汚染しない様にサンプルインジェクター内の流路を連結しない方法である。これは 5000-0285 に用いられている。いま1つは bypass をも sample loop として使用する方法である。しかしこの方法は以下の欠点がある。bc, cd, deの容量とgh, hi, ijの容量が等しくなければ、再現性に悪影響をおよぼすが、容量を正確に一致させるのは難しい。

Table 3. にサンプルインジェクターの特徴を示す。

Table 3. Evaluation of the sample injectors

Sample injector	CV%(n=15)	Evaluation	Price
KLS-3F	—	unsuitable for FIA	inexpensive
KMM-4V-2	2.10 ^{a)}	suitable for alternative injection of two different sample volumes	medium
KMM-6V	0.981	usable for general determination on FIA	medium
5000-0285	1.45	"	expensive
4005	0.538	"	medium
NLV-6	2.81	"	inexpensive
KHP-UI-130A	2.86 ^{b)}	possible for super-micro analysis on FIA	expensive
7125	2.33 ^{b)}	"	expensive
	1.76 ^{c)}	"	

a) The value was calculated on every other peak.

b) By the use of microsyringe.

c) By the use of microsyringe with repeating dispenser.

The repeating dispenser may decrease errors because of the regulation of injection time.

以上より一部の例外を除き、各サンプルインジェクターはFIAの一般的使用に十分満足しうる結果を得たが、dead volume については大きな差が出た。河川水や水道水のように比較的多量の試料採取ができる場合は問題はないが、生体試料のように少量の試料の場合は microsyringe による試料充填が要求される。この場合充填速度により分散が変化する為、repeating dispenser の併用が好ましい。

チューブの接続法、部品の規格、価格、dead volume、型式などの異なる多種多様のサンプルインジェクターを選択できる現在、各実験に最適なサンプルインジェクターを用い、効率の良い研究が望まれる。

文 献

- 1) 上野景平，喜納兼勇：“フローインジェクション分析法入門”，p. 28 (1983)，(講談社)。
- 2) (株)ケムコ編，技術資料，103 (1985)。

謝 辞

本実験にあたり、便宜をはかっていただいた、協和精密(株)の柳原氏に感謝いたします。

(1985年6月21日 受理)

Comparison of sample injectors used for flow injection analysis.

Kazuhide Uchida, Masako Tomoda and Shinichi Saito

(General Science Laboratory, Faculty of Science and Engineering,

Sophia University, 7-1, Kioi-cho, Chiyoda-ku, Tokyo, 102)

The dead volume, CV% and character of several sample injectors were compared by using FIA method. Their suitability for FIA was considerably affected by their structures. The need to use different sample injectors for different analytical purposes was established.