

手動二連六方バルブ型サンプル インジェクターの企画開発

内田和秀, 友田正子, 齊藤真一

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

The development of a manually operated sample injector
employing a pair of six-valve systems

Kazuhide Uchida, Masako Tomoda and Shin-ichi Saito

General Science Laboratory, Faculty of Science and
Engineering, Sophia University, 7-1 Kioicho, Chiyodaku,
Tokyo 102

A manually operated sample injector (KMM-6V-2), a pair of six-valve systems, was planned and developed for basic researches of flow injection analysis. No ferrule is required at any joints for the tubes into the sample injector and the structure is simpler than that of injectors for high performance liquid chromatograph use; thus the maintenance of the sample injector is quite easy. The dead volume (43.0 mm^3) is smaller than that for the current model (KMM-6V). The parts in touch with the solution were made of titanium, Teflon and Diflon, the body was made of stainless steel (SUS-361). Because the two six-valve systems synchronize with single action, the sample injector can be applied in the merging zone method.

In a simple examination of the merging zone method with indicator, Methyl Orange, relative standard deviations were 0.826 and 0.901 % ($n=15$) at different sample injection volumes. A linear relationship was observed between concentrations of indicator and absorbance ($r=0.99996$).

This sample injector may become extremely useful for basic researches of flow injection analysis.

1 結 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かつ不可欠な部位である。正確に試料体積を規定し、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。著者らは前報¹⁾において数種のサンプルインジェクターの比較を行なったが、近年その諸機能のみならず、サンプルインジェクターの多様な使用法がうかがえる。²⁻¹⁴⁾しかしそれはモーターを使用した電動インジェクターで、品質管理、環境モニターおよび臨床検査などの応用面においては無人化も可能で、利用価値もあると思われるものの、試行錯誤で繰り返し行なう基礎実験においては高価な装置であると言わざるを得ない。更に数種のサンプルインジェクターは HPLC の流れをくみ、dead volume を可能な限り抑える目的および、耐圧性能向上の目的でチューブとの接続はフェラルを使用する構造となっている。これは dead volume のみに言及すれば最良であり、総ての実験条件が決定されている応用面での使用であれば問題はない。しかし基礎研究で最適条件を検討する場合、多少不便である。具体的には試料体積変更のためのチューブの交換や、試薬または試料反応生成物などによる汚れおよび沈殿による詰まりの除去作業が上げられる。

今回以上を考慮し、フローインジェクション用に手動二連六方バルブ型サンプルインジェクターの企画開発を行なったので報告する。

2 実 験

2.1 サンプルインジェクター

既存の HPLC 用二連六方バルブ（協和精密製，KAH-6V-2）は必要以上の耐圧性能（ 350 Kg cm^{-2} ）と、フェラルを用いるチューブ接続でフローインジェクション分析の目的に必ずしも応じたものとは言えない。そこでバルブ本体側にオス型ジョイントを設け、チューブ先端をフレアー状に成形し、袋ナットで接続する方式に変更した。またメンテナンスを考慮し、器具の必要なく分解、組み立て可能な単純な構造とした。これは既存の切り換えバルブ（協和精密製，KMM-4V-2，KMM-6V）と同様である。またフローインジェクション法において、試料の充填には overflow method が一般に用いられているが、微量分析を特長の一点に上げる本法において、overflow method は最適とは言えない。しかしながら簡便で再現性の高い結果が得られることは衆知の事実である。そこで overflow する試料を高い再現性を失わず減量する目的で、従来サンプルインジェクター外部

に設けられていた sample injection port (本体とチューブで接続) を本体に直接設置した。耐圧性能は 60 Kg cm^{-2} , dead volume は 43.0 mm^3 (ジョイント部も含む) である。接液材質はチタン, ポリテトラフルオロエチレン (テフロン) およびポリクロロトリフルオロエチレン (ダイフロン) を使用し, 本体は Cr, Ni, Mo 鋼 (SUS-361) を用いた。製作は協和精密 (株) に依頼し, 型式を KMM-6V-2 とした。

2. 2 装置

ポンプ: Gilson 製 Minipuls 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 UVIDEC-340 型分光光度計に, 日本分光製 FIC-361 型フローセル (光路長 10 mm , 容量 20 mm^3) を取りつけて使用した。

記録計: 理研電子製 SP-G12 型記録計に, 理研電子製 AT-74 型オフセット付分圧器 (入力電圧打消部分拡大用) を増設して, 既存のものと同併用した。

2. 3 試薬

塩酸溶液: 12 mol dm^{-3} 塩酸 16.7 cm^3 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 0.327 g を蒸留水に溶解し, 全容を 1000 cm^3 とした。 ($1.0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) この溶液を上記水酸化ナトリウム溶液で適当に希釈して用いた。

以上の試薬は総べて和光純薬工業製特級試薬を用いた。

2. 4 実験方法

overflow method を用い, KMM-6V-2 の再現性を検討した。使用した 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すべてのチューブはテフロン製 (内径 1 mm , 外径 2 mm), コネクターはダイフロン製のものを用いた。流量は操作毎にポンプを微調整し, 吸入量を測定し正確に決めた。ポンプ (P) により送液されたキャリアー溶液に KMM-6V-2 (S) の片側の六方バルブを使用し, メチルオレンジ溶液を繰り返し注入し, 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逐次測定記録した。試料充填には樹脂製注射筒 (テルモ製, 1 cm^3 & 10

cm³ 用) を使用した.

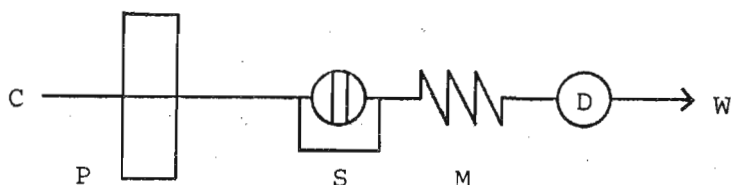


Fig. 1 Flow diagram for investigation of reproducibility with overflow method

The conditions were C: HCl ($2.0 \times 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$); P: Peristaltic pump; S: Sample injector (sample volume 103 mm^3); M: Mixing coil (1.0 mm i.d., 3 m long); D: Detector (spectrophotometer, wave length 510 nm); W: Waste. Flow rate: $2.0 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$

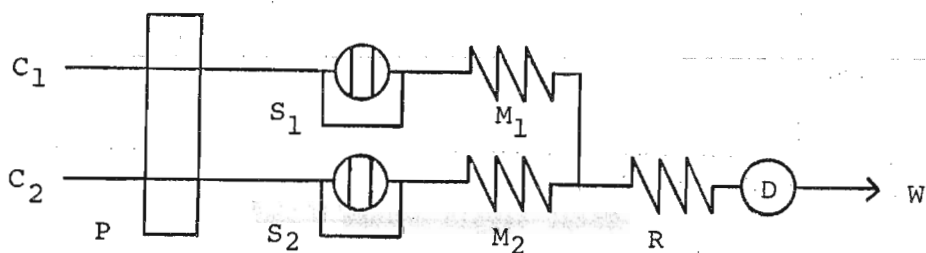


Fig. 2 Flow diagram for examination of adaptability to merging zone method

The conditions were C_1 & C_2 : H_2O ; P: Peristaltic pump; S_1 : Sample injector (sample volume, 103 or 73 mm^3); S_2 : Reagent injector (reagent volume, 113 or 83 mm^3); M_1 & M_2 : Mixing coil (1.0 mm i.d., 1 m long); R: Reaction coil (1.0 mm i.d., 3 m long); D: Detector (spectrophotometer, wave length 510 nm); W: Waste. Flow rate: each $1.5 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$

次に KMM-6V-2 の merging zone method への応用性を検討した。使用した FIA システムのフローダイアグラムを Fig. 2 に示す。(S_1) により試料、(S_2) により試薬として塩酸を注入した。その他は上記実験方法に準拠した。

3 結果と考察

Fig. 1 に示した FIA システムを使用し $1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ メチルオレンジ溶液を試料に、サンプルインジェクターに充填する全試料体積（注入量および過剰流出量）を変化（ $0.10 \sim 2.0 \text{ cm}^3$ ）させ吸光度を測定した結果を

Fig. 3 に、その時の相対標準偏差を Table 1 に示す。Fig. 3 において吸光

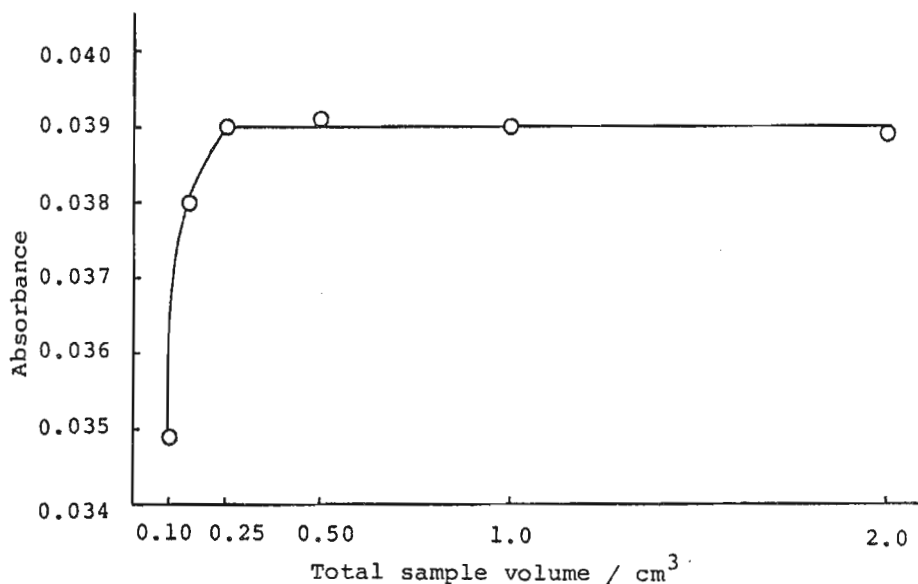


Fig. 3 Influence of the total sample volume*

*Total sample volume is injection volume and overflow volume.

度は全試料体積が $0.25 \sim 2.0 \text{ cm}^3$ の範囲で一定で、 0.25 cm^3 未満で急激に減少した。これは全試料体積が試料注入量の約2倍に相当する 0.25 cm^3 以上ではキャリアー溶液を試料で排出可能であるのに対し、 0.25 cm^3 未満では拡散により希釈された試料を完全に排出しきれないことに起因する。この排出率が試料の希釈率、ひいては吸光度に影響をおよぼしたものと考察した。Table 1 に示

Table 1 Reproducibility in single line

Total sample volume/ cm ³	Relative standard deviation/ %	Number of samples/ n
0.10	1.72	10
0.15	0.326	10
0.25	0.178	15
0.50	0.409	15
1.0	0.405	15
2.0	0.409	15

した相対標準偏差は全試料体積が試料注入量の約1倍に相当する 0.10 cm³ 時に顕著に増加した。これは全試料体積の減少により、サンプルインジェクター内への充填速度による希釈率のバラツキとサンプルインジェクター内での拡散によるバラツキが増加するものと考察した。以上の結果および試料の微量化を考慮し、充填する全試料体積は注入量の約2倍が好適であることが解ったが、この結果は1つの指標であり、試料および試薬のチューブへの親和力などによりそれは異なることが予測される。

merging zone method は2流路に各々個別に試料と試薬を注入した後、合流、反応させる方法であり多数の報告がある¹⁵⁻²⁰⁾ 一方細管内径の僅かなバラツキやポンプの流量変化によって合流のタイミングが影響を受け、試料と試薬がいつも同じ状態で合流するとは限らないという欠点があるとの指摘がなされている⁹⁾ そこで Fig. 2 に示した FIA システムを用い、 $5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ メチルオレンジ溶液を試料に塩酸を反応試薬として merging zone method の相対標準偏差を求めた結果を Table 2 に示す。またメチルオレンジ溶液で濃度系列 (1.0 ~ $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) を調製後試料とし、試料注入量 103 mm³ , 試薬注入量 113 mm³ にて吸光度を測定した結果を Fig. 4 に示す。Table 2 に示したように、2つの試料注入量における相対標準偏差は満足の行くものであった。また Fig. 4 に示したように各濃度における吸光度は高い直線性を示した。以上の結果より、merging zone method のバラツキは十分許容範囲内にあると確認された。

これらの実験結果および merging zone method の利点を考慮すると、KMM-6-

Table 2 Reproducibility for merging zone method

Sample injection volume/ mm ³	Reagent injection volume/ mm ³	Relative standard deviation/ %
103	113	0.826
73	83	0.901

The conditions were Sample concentration: 5×10^{-5} mol dm⁻³; Total sample volume: 0.50 cm³; Number of samples: 15.

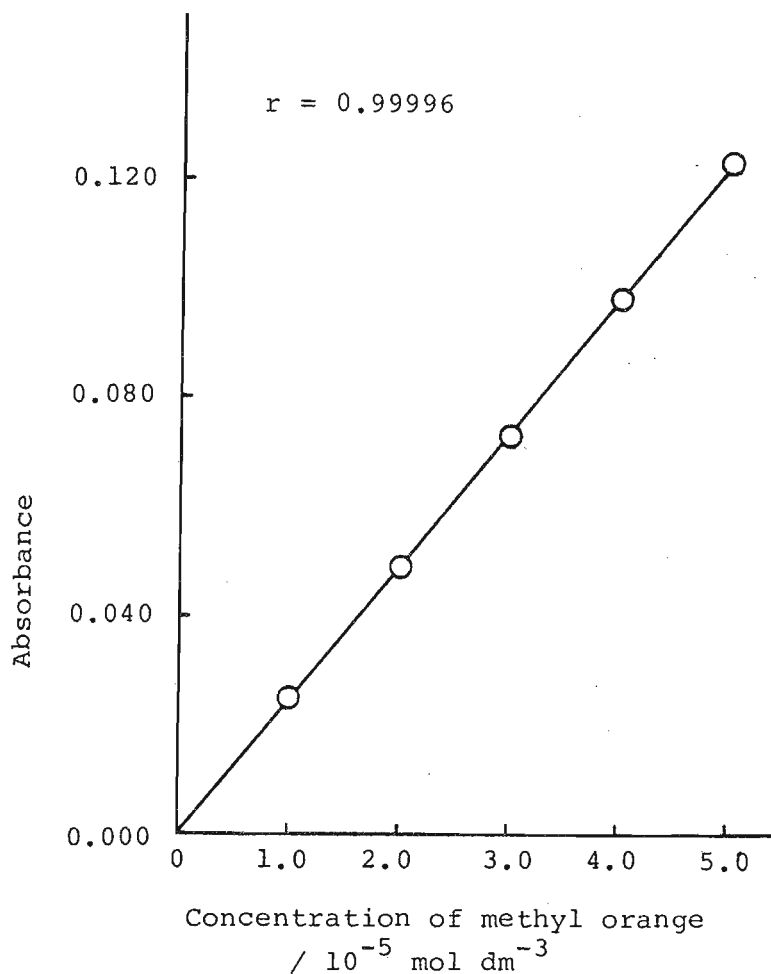


Fig. 4 Effect of the concentration of methyl orange

V-2 は FIA に有効なサンプルインジェクターであり，広く利用されることが望まれる。

文 献

- 1) 内田和秀，友田正子，斉藤真一，J. FIA, 2, 143(1985).
- 2) H. Bergamin F', B. F. Reis, A. O. Jacintho and E. A. G. Zagatto, Anal. Chim. Acta, 117, 81(1980).
- 3) B. F. Reis, E. A. G. Zagatto, A. O. Jacintho, F. J. Krug and H. Bergamin F', Anal. Chim. Acta, 119, 305(1980).
- 4) B. F. Reis, A. O. Jacintho, J. Mortaatti, F. J. Krug, E. A. G. Zagatto, H. Bergamin F' and L. C. R. Pessenda, Anal. Chim. Acta, 123, 221(1981).
- 5) A. O. Jacintho, E. A. G. Zagatto, B. F. Reis, L. C. R. Pessenda and F. J. Krug, Anal. Chim. Acta, 130, 361(1981).
- 6) J. Ruzicka and E. H. Hansen, Anal. Chim. Acta, 145, 1(1983).
- 7) M. F. Gine, B. F. Reis, E. A. G. Zagatto, F. J. Krug and A. O. Jacintho, Anal. Chim. Acta, 155, 131(1983).
- 8) C. Riley, L. H. Aslett, B. F. Rocks, R. A. Sherwood, J. D. Watson and J. Morgon, Clin. Chem., 29, 332(1983).
- 9) 合田淳子，黒石忠文，打木英夫，保田和雄，第44回分析化学討論会講演要旨集，p.101(1983).
- 10) B. F. Rocks, R. A. Sherwood and C. Riley, Analyst, 109, 847(1984).
- 11) B. F. Rocks and R. A. Sherwood, Talanta, 31, 879(1984).
- 12) 黒石忠文，打木英夫，第3回フローインジェクション分析講演会講演要旨集，p.45(1985).
- 13) 黒石忠文，第4回フローインジェクション分析研究会講演会講演要旨集，p.5(1985).
- 14) 桐栄純一，馬場信行，J. FIA, 2, 151(1985).
- 15) H. Bergamin F', E. A. G. Zagatto, F. J. Krug and B. F. Reis, Anal. Chim. Acta, 101, 17(1978).
- 16) E. A. G. Zagatto, F. J. Krug, H. Bergamin F', S. S. Jorgensen and B. F. Reis, Anal. Chim. Acta, 104, 279(1979).
- 17) J. Ruzicka and E. H. Hansen, Anal. Chim. Acta, 106, 207(1979).

- 18) M. F. Gine, H. Bergamin F', E. A. G. Zagatto and B. F. Reis,
Anal. Chim. Acta, 114, 191(1980).
- 19) E. A. G. Zagatto, A. O. Jacintho, J. Mortatti and H. Bergamin
F', Anal. Chim. Acta, 120, 399(1980).
- 20) E. H. Hansen and J. Ruzicka, Anal. Chim. Acta, 148, 111(1983).

謝 辞

本論文提出にあたり英文要旨を御校閲いただいた，上智大学理工学部化学科
F.S. Howell 博士に感謝いたします。

付 記

以下に KMM-6V-2 を示す。

