

四連六方バルブ型サンプル インジェクターの開発とその応用

友田正子^{*}, 内田和秀^{**}, 佐治京子^{*}, 福島和昭^{**}, 斉藤真一^{*}

^{*}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

^{**}防衛医科大学校麻酔学教室

〒359 所沢市並木 3-2

Development and application of sample injector
for flow injection analysis

Masako Tomoda^{*}, Kazuhide Uchida^{**}, Kyoko Saji^{*}, Kazuaki Fukushima^{**} and
Shin-ichi Saito^{*}

^{*}Department of Natural Sciences, Faculty of Science and Technology,
Sophia University, 7-1 Kioicho, Chiyoda-ku, Tokyo 102

^{**}Department of Anesthesiology, National Defense Medical College, 3-2
Namiki, Tokorozawa-shi, Saitama 359

A sample injector(KMM-6V-4 type) has been developed for flow
injection analysis. It has a quartet of synchronized six-valve systems.

The external appearance and the specifications of the injector are
shown in the text. This injector has been applied for the determination
of guanase with a coupled enzyme system using flow injection analysis.
Although the analysis via series injection and merging zone methods is
complicated, a convenient and reliable determination was made possible
by using this injector with a single action done by hand.

1 緒 言

初期のフローインジェクション分析法に於けるサンプルインジェクターの役割は、文字通り流路への試料の導入のみであったが、近年、種々のサンプルインジェクター開発と共に、様々なその使用法が研究されている。例えばEricksonらは試料及び試薬の複数同時注入等の、多目的注入バルブについて報告しており¹⁾、Fernandezらは二連注入バルブを用い、速度論的定量法を検討している²⁾。また、多機能バルブの開発と応用を記述したToeiの一連の論文³⁻⁵⁾も注目されよう。

一方、我々は先に二連六方バルブ型サンプルインジェクターの開発を行い⁶⁾、その多彩な応用性について考察した⁷⁾。今回、更に高度な機能を有する四連六方バルブ型サンプルインジェクター(KMM-6V-4)を開発したので、その応用も含めてここに報告する。

2 KMM-6V-4の外観と仕様

KMM-6V-4の外観をFig. 1に、その仕様をTable 1に示す。KMM-6V-4の構造は、KMM-6V-2を2台組み合わせたに過ぎない。しかしその機能はKMM-6V-2のそれ⁷⁾の順列組合せとなり、非常に応用面の広範なサンプルインジェクターと言えよう。

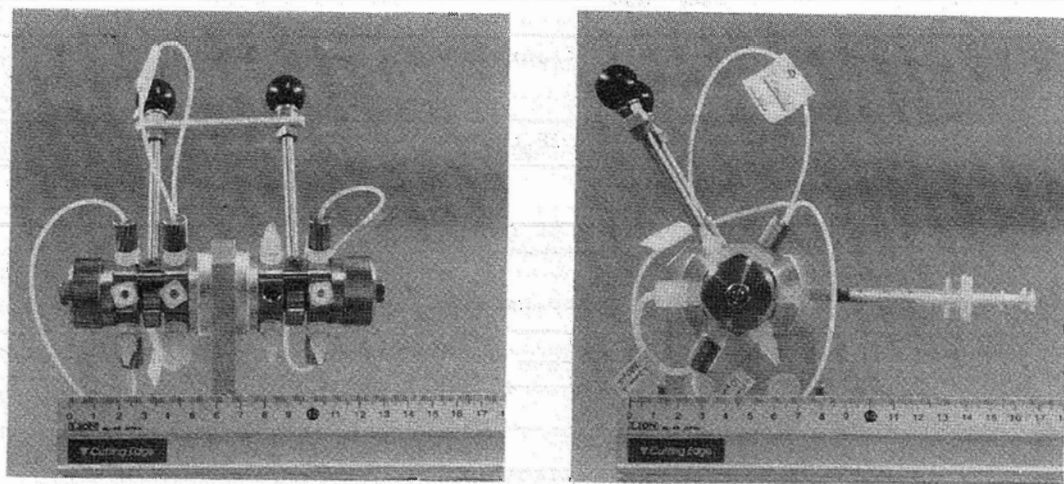


Fig. 1 External appearance of KMM-6V-4 type sample injector

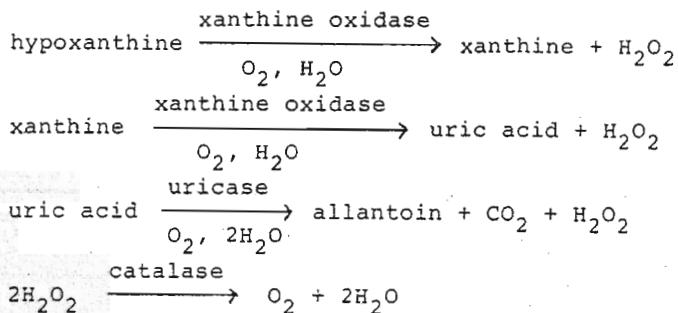
Table 1 Specification for the sample injector

- 1) manufacturer: Kyowa Seimitsu Co. Ltd. (Tokyo, Japan)
- 2) type: KMM-6V-4
- 3) mechanism: a quartet of six-valve systems (four parts synchronized)
- 4) operation: single action with manual
- 5) connection with tubes: use of joint nut with flared tubes
(avoid use of ferrule)
- 6) the quality of the material
the parts in touch with the solution: titanium, Teflon and Diflon
the body: stainless steel (SUS-361) and aluminium
- 7) dead volume: 43.0 mm³

Table 2 Reagent system

reagent 1	0.01 U/ml	xanthine oxidase
	0.5 U/ml	uricase
	6 U/ml	superoxide dismutase
	14 U/ml	catalase
	1.25 U/ml	peroxidase
	2 U/ml	ascorbate oxidase
	0.05 M	phosphate buffer (pH 7.4)
reagent 2	200 μM	guanine
	200 μM	3-methyl-2-benzothiazolinonchydrazone (MBTH)
	1 mM	N-ethyl-N-(3-sulphopropyl)-m-anisidine (ESPAS)

Step 1: elimination of endogenous compounds



Step 2: determination of guanase

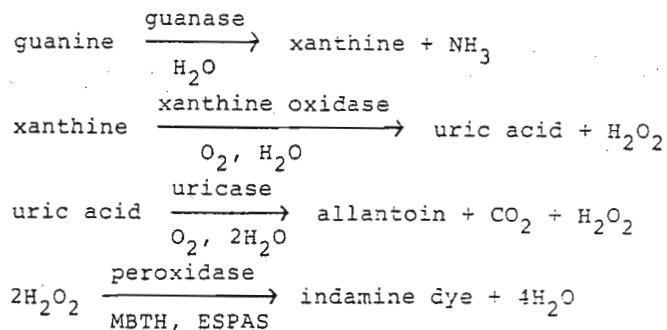


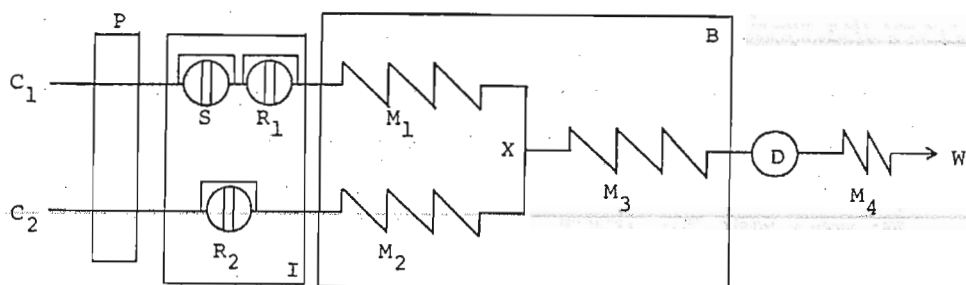
Fig. 2 Reaction paths

3 KMM-6V-4の応用

グアナーゼの定量⁸⁾にフローインジェクション分析法を応用し、KMM-6V-4の評価を行った。

3. 1 実験

使用した試薬をTable 2に、反応経路に基づく測定原理をFig. 2に示す。種々の検討事項により、得られた最適条件に於けるフローダイアグラム並びに、KMM-6V-4にて導入された試料及び試薬の配列をFig. 3に示す。また、本法では3つの



The state of one series injection in upper flow line:

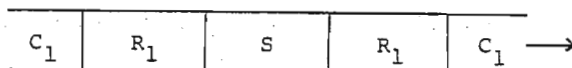
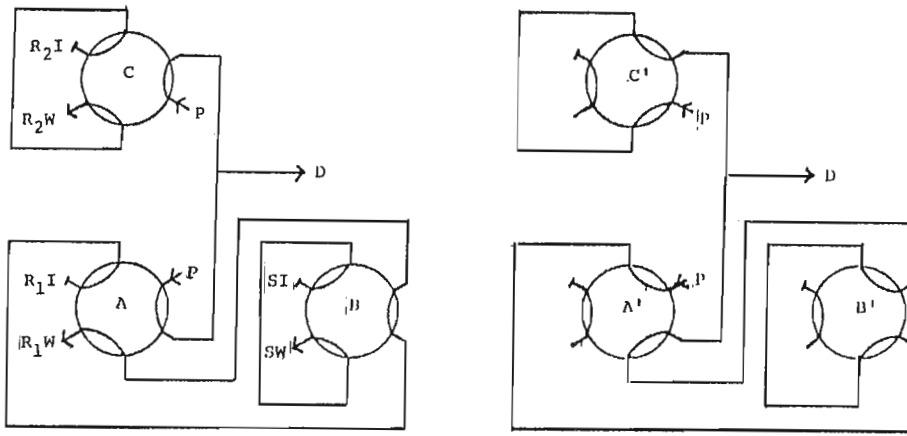


Fig. 3 A flow diagram at optimum conditions for the determination of guanase activity ; the state of series injection

C₁ and C₂: Carrier solution (0.05 M KH₂PO₄ - NaOH buffer, pH = 7.4 and 6.0, containing 1.2% (v/v) Triton X-100); P: Peristaltic pump; I: Injector, the synchronized system using four circuits of six-way valves; S: Sample (injection volume = 50 mm³); R₁: Enzyme solution (consisting mainly of XOD, UCD, Catalase and POD; injection volume = 350 mm³); R₂: Substrate and color reagent solution (consisting mainly of guanine, MBTH and ESPAS; injection volume = 200 mm³); M₁: Mixing coil (0.5 mm id x 32 m); M₂: Mixing coil (0.5 mm id x 20 m); M₃: Reaction coil (0.5 mm id x 36 m); B: Water bath at 45°C; D: Detector, spectrophotometer fixed flow cell, λ = 570 nm; M₄: Back pressure coil (0.25 mm id x 0.15 m); W: Waste. Flow rates: C₁ = 0.5 cm³ min⁻¹, C₂ = 0.3 cm³ min⁻¹.



1) Plug of sample and reagents to KMM-6V-4 2) Injection of sample and reagents to flow lines

Fig. 4 Tube connections with KMM-6V-4 for series (un sandwiched) injection and merging zone methods

R_1I : reagent 1 injection port, R_1W : reagent 1 waste, SI : sample injection port, SW : sample waste, R_2I : reagent 2 injection port, R_2W : reagent 2 waste, P : pump, D : detector.

六方バルブを使用した。KMM-6V-4のチューブ接続法（配管）をFig. 4に示す。

Fig. 3に示した様に、試料は（R1）により挟まれた形状で、KMM-6V-4にて流路に導入される（一般にseries injection method または sandwiched injection method と呼ばれる）。試料は（R1）と（M1）中で反応しながら送液され、同時にKMM-6V-4により、別の流路に導入された（R2）と（X）で合流（merging zone method）し、（M3）中で反応後、検出器で測光される。

グアナーゼ標準試料を用い、検量線の直線性及び再現性について検討した。

3. 2 結果と考察

0.56及び3.5 U/l グアナーゼ試料を用いた同時再現性は、各々RSD=1.18及び0.76% ($n=10$)と非常に良好であった。得られた検量線をFig. 5に示す。定量範囲は0.14-4.9 U/lであり、図に示した様に検量線の直線性も高かった。

上記の結果より、series injection method と merging zone method を同時に取り入れた複雑な系に於いて、KMM-6V-4が確実に作動することが立証された。

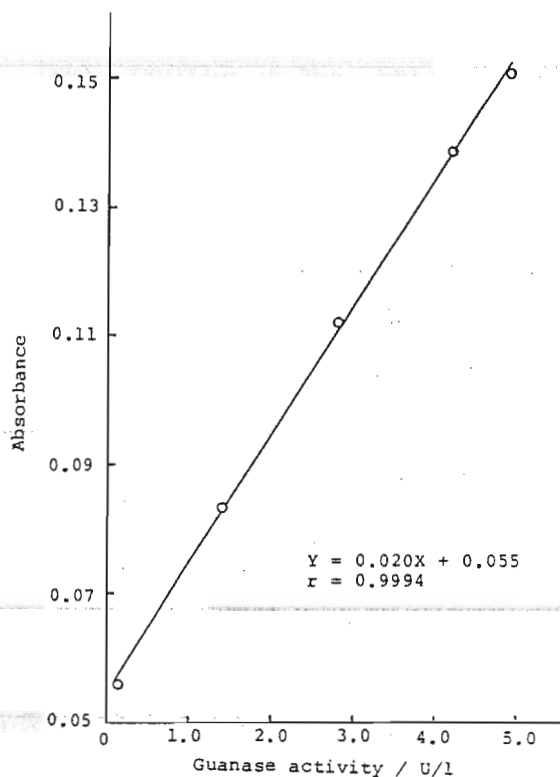


Fig. 5 A typical calibration curve for the determination of guanase activity

4 結 語

KMM-6V-2の発展型としてKMM-6V-4を開発し、グアナーゼのフローインジェクション分析に活用した。本法はseries injection method とmerging zone method を取り入れた複雑な系であるにもかかわらず、KMM-6V-4の使用により単一動作で簡便確実な定量分析が可能となった。

今回、我々は応用分析としてグアナーゼの定量を行ったが、市販の臨床検査試薬キットは2試薬系のものが多く、それらのフローインジェクション分析法への応用にはKMM-6V-4の使用が好適である。

謝 辞

本論文提出にあたり英文要旨並びに図表を御校閲頂いた、上智大学理工学部化学科 F.S. Howell博士に深謝致します。

文 献

- 1) B.C. Erickson, B.R. Kowalski and J. Ruzicka, Anal. Chem., 59, 1246 (1987).
- 2) A. Fernandez, M.D.L. de Castro and M. Valcarcel, Analyst, 112, 803 (1987).
- 3) J. Toei, Anal. Lett., 20, 1951(1987).
- 4) J. Toei, Analyst, 113, 475(1988).
- 5) J. Toei, ibid, 113, 731(1988).
- 6) 内田和秀, 友田正子, 齐藤真一, J. Flow Injection Anal., 3, 18(1986).
- 7) 友田正子, 内田和秀, 福岛和昭, 齐藤真一, J. Flow Injection Anal., 4, 120(1987).
- 8) 手登根 稔, 藤田誠一, 片山善章, 伊藤敬一, 臨床検査機器・試薬, 9, 491(1986).

(1 9 8 9 年 2 月 9 日 受 理)