

## 資料

# マイクロピペットの性能試験結果及びその傾向

古賀敬興・平川周作

分析で使用しているマイクロピペットの信頼性を担保し、及び向上させ、分析結果の品質を高めることを目的として、分注に係る性能試験を実施した。50 mL メスフラスコをひょう量容器に用いることで 0.01 mg の桁まで量り取ることができ、その結果 10  $\mu$ L の設定容量の評価が可能になることを確認した。最大容量、最大容量の 1/2 (中間容量) 及び最小容量全てで系統誤差及び偶然誤差が規格内であったものは 29 本中 14 本であり、系統誤差が規格内であったものは 18 本、偶然誤差が規格内であったものは 23 本であった。マイクロピペットを用いた分注操作は、系統誤差及び偶然誤差双方の観点から、有効容量範囲の中でもできるだけ大きな設定値で使うことが望ましいことが分かった。

[キーワード: マイクロピペット、誤差]

## 1 はじめに

マイクロピペットは、化学、医学、生物学、薬学など様々な分野における試験で使用される汎用的な液体分注機器である。この機器を用いて算出された結果の信頼性を担保するためには機器の性能評価を含めた校正が必要である。マイクロピペットの性能試験結果に関する報告は多くないが、古川ら (2018) はマイクロピペットの操作方法や試料温度と室温との差が分注精度に与える影響について報告している<sup>1)</sup>。

今回、分析で使用しているマイクロピペットの信頼性を担保し、及び向上させ、分析結果の品質を高めることを目的として、分注に係る性能試験を実施し、結果及びその傾向をまとめた。

## 2 試験方法

### 2・1 試験対象

対象としたマイクロピペットは、有効範囲 1 - 10 mL (7 本)、0.5 - 5 mL (2 本)、1000  $\mu$ L (2 本)、100 - 1000  $\mu$ L (7 本)、20 - 200  $\mu$ L (6 本)、10 - 100  $\mu$ L (4 本) の 28 本であり、内訳は A 社製 26 本 (可変容量型 25 本、固定容量型 1 本)、B 社製 2 本 (可変容量型 2 本) である。いずれもシングルチャンネルの空気置換式であり、使用年数は 1 年 ~ 10 年程度である。チップは 1 - 10 mL L 243 mm 0030 000.781 (Eppendorf (株) 社製)、0.2 - 5 mL L 175 mm 0030 000 650 (Eppendorf (株) 社製)、1200  $\mu$ L エクストラロングフィルターチップ 124-1200S (深江化成 (株) 社製)、200  $\mu$ L ロングフィルターチップ 1252-801CS (深江化成 (株) 社

製) を使用した。

### 2・2 試験条件

#### 2・2・1 ひょう量容器と蒸発量の関係確認試験

今回対象としたマイクロピペットの中で最も少ない設定容量は 10  $\mu$ L であったので、JIS K 0970 (2013) “ピストン式ピペット” (以下“規格”という。) 附属書 A に従い、0.01 mg の桁までひょう量することを試みたが、ひょう量容器にビーカーを用いると蒸発の影響で 0.01 mg の桁を安定してひょう量できなかつた。そこで汎用的な器具を用いてこの問題を解決するため、ビーカーとメスフラスコの蒸発の影響の違いを確認した。使用したのはそれぞれ容量 50 mL のビーカーとメスフラスコであり、これら容器に精製水を入れた状態で蓋及び栓をせず、時間経過に伴う重量の減少量を計測した。試験時のひょう量容器の外観を図 1 に示す。メスフラスコは (A) 精製水が 40 mL 程度入った条件と (B) 精製水が 10 mL 程度入った条件の 2 条件で試験を実施した。t=0 sec から 60 sec まで 10 sec ごとに指示値を記録し、n=3 のデータを取得した。本試験の結果を踏まえて、後の性能試験で使用するひょう量容器を決定した。

#### 2・2・2 性能試験

試験は規格の附属書 A に従い実施した。はかりは Mettler Toledo XPE205DRV を使用した。設定値は有効容量範囲上限 (規格では“公称容量”と表記される。以下“最大容量”という。)、最大容量の 1/2 (以下“中間容量”という。)、有効容量範囲下限 (以下“最小容量”という。) とし、この順序で連続して分注操作を行った。分注には精製水を用い、測定回数は n=10 とした。

福岡県保健環境研究所 (〒818-0135 太宰府市大字向佐野 39)

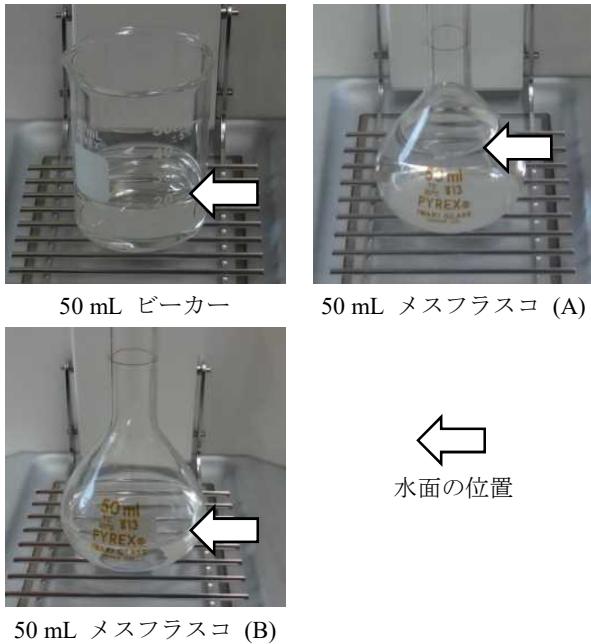


図 1 ひょう量容器

- (A) 精製水が 40 mL 程度入った条件  
 (B) 精製水が 10 mL 程度入った条件

使用する機材を熱平衡状態となるまで 24 °C の恒温室に置くとともに、はかりに通電し指示値が安定した後、精製水を分注し、その重量を測定した。吸引量調整機構付きのマイクロピペットについては、最大容量及び中間容量における系統誤差がなるべく小さくなるよう調整した後測定を行った。

なお、測定に際して注意した取り扱いに関する事項は以下のとおりである。1. 設定値より少し大きい値にダイヤルを回してから設定値に合わせる。2. 測定前に 5 回以上吸引・排出のプレリンス作業を行う。3. チップを液面に対して垂直に入れる。4. チップ先端の差し込み深さを液面から 1 cm 程度までとする。5. プッシュ部が完全に元の位置に戻った後 2、3 秒後に静かにチップ先端を水面から離す。6. 吸引及び排出時チップ外側に液が付着した場合は容器の縁で拭う。7. ピペット操作を行っていないときは、手の熱で温めないようマイクロピペットを握らない。

### 2・3 評価方法

評価は規格の附属書 A に従い、測定した精製水の重量から体積 (μL) を算出し、系統誤差及び偶然誤差を評価した。

系統誤差  $e_s$  (μL) は、 $n$  回の平均分注量  $V$  (μL) と設定容量  $V_s$  (μL) を用いて以下で算出した。

$$e_s = V - V_s$$

偶然誤差  $S_r$  (μL) は、 $i$  回目の分注量  $V_i$  (μL)、 $n$  回の平均容量  $V$  (μL) 及び測定回数  $n$  を用いて算出した。

表 1 最大許容誤差 (JIS K 0970 (2013))

公称容量 (最大容量) μL	最大許容系統誤差		最大許容偶然誤差	
	± %	± μL	± %	± μL
1	5	0.05	5	0.05
2	4	0.08	2	0.04
5	2.5	0.12	1.5	0.07
10	1.2	0.12	0.8	0.08
20	1	0.2	0.5	0.1
50	1	0.5	0.4	0.2
100	0.8	0.8	0.3	0.3
200	0.8	1.6	0.3	0.6
500	0.8	4	0.3	1.5
1000	0.8	8	0.3	3
2000	0.8	16	0.3	6
5000	0.8	40	0.3	15
10000	0.6	60	0.3	30
20000	0.6	120	0.3	60

$$S_r = \frac{\sum_{i=1}^n (V_i - V)^2}{n-1}$$

なお、本試験では  $n = 10$  とした。上記で算出した系統誤差 (μL) 及び偶然誤差 (μL) について、設定容量 (μL) 又は最大容量 (μL) に対する比 (%) を算出した。

規格に示される最大許容誤差を表 1 に示す。規格において、最大許容誤差 (μL) は設定容量によらず有効範囲内において一定である。

## 3 結果及び考察

### 3・1 ひょう量容器と蒸発量の関係

各条件における経過時間と指示値の関係を図 2 に示す。50 mL メスフラスコ (A) 及び (B) は平均蒸発速度 0.0037 mg/s 及び 0.0031 mg/s であり、50 mL ビーカー (0.024 mg/s) と比較して蒸発速度が遅かった。50 mL ビーカーの場合は測定中値が安定していないことを示す表示が頻繁に現れたが、50 mL メスフラスコは時折その表示が現れるものの、ひょう量に十分な安定性を示した。このような結果になったのは、メスフラスコの細長い首の形状によるものであると考えられる。電子天秤風防内が飽和蒸気圧でない場合、定常状態と仮定すると水面からの正味の蒸発量は容器上部開口部における水蒸気移動量と等しい。水蒸気移動量はフィックの法則から水蒸気濃度勾配に比例するため<sup>2)</sup>、水面と容器開口部との距離が長いほど濃度勾配は小さくなり単位時間単位面積当たりの移動量が小さくなる。さらにその断面積が小さいと単位時間あたりの移動量は小さくなる。以上から細く長いメスフラスコの首の形状は蒸発を抑えることにおいて有利に働くものと考えられる。

以上の結果から、ひょう量容器にメスフラスコを用いることで 0.01 mg の桁まで安定してひょう量できることが確認できたため、以降の性能試験ではひょう量容器にメス

フラスコを用いた。

### 3・2 性能試験

試験の結果、最大容量、中間容量及び最小容量全てで系統誤差及び偶然誤差が規格内であったものは 29 本中 14 本であり、系統誤差が規格内であったものは 18 本、偶然誤差が規格内であったものは 23 本であった。

試験結果を図 3 に示す。図 3-1 に示すとおり、最大容量に対する系統誤差の比はどの設定容量においても同程度（平均で最大容量 -0.30%、中間容量 -0.07%、最小容量 0.40%）であった。

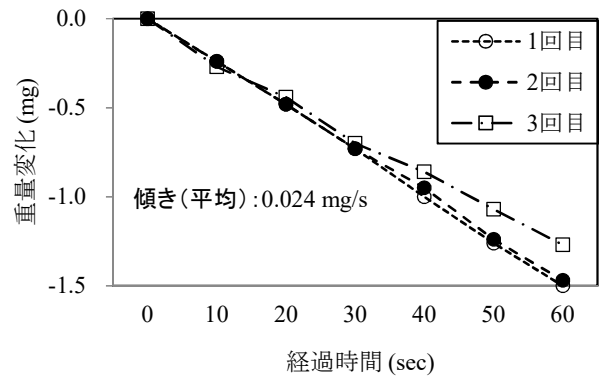
そのため、図 3-2 に示すように、設定容量に対する系統誤差の比を各設定容量で比較すると、最大容量では小さく (-0.30%)、最小容量では大きく (3.43%) になった。さらに標準偏差は最小容量 (4.60%) では最大容量 (0.56%) 及び中間容量 (0.94%) と比較して大きくなっていった。

図 3-3 及び図 3-4 に偶然誤差の比較結果を示す。図 3-3 に示すとおり、最大容量に対する偶然誤差の比はどの容量においても同程度（最大容量 0.25%、中間容量 0.15%、最小容量 0.12%）であった。そのため、図 3-4 に示すように、設定容量に対する偶然誤差の比を各設定容量で比較すると、最大容量で最も小さく (0.25%)、最小容量で最も大きく (1.07%) になった。さらに標準偏差は最小容量 (1.18%) では最大容量 (0.39%) 及び中間容量 (0.41%) と比較して大きくなっていった。

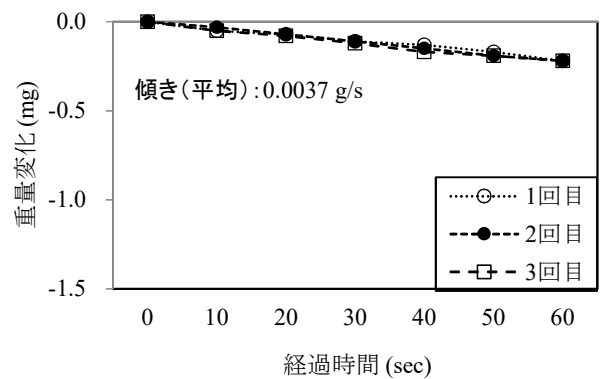
以上から対象としたマイクロピペットの系統誤差及び偶然誤差 (μL) は設定容量によらずその有効設定範囲内で同程度であることが分かった。そのため、同一のマイクロピペットにおいて設定容量が小さいほど設定容量に対する系統誤差及び偶然誤差の比が大きくなることが確認できた。したがって、可変容量型のマイクロピペットを用いた分注操作は、有効容量範囲の中でもできるだけ大きな設定値で使用する事が望ましいといえる。

### 文献

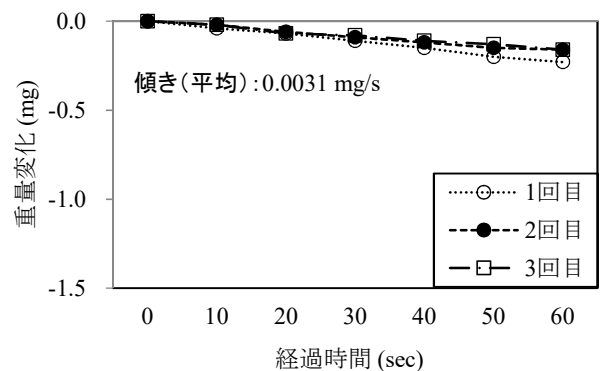
- 1) 古川聡子ら：医学検査, 67, 44-51, 2018.
- 2) 近藤豊訳：“大気化学入門”, p 66, 2002, (東京大学出版会); D. J. Jacob: “Introduction to Atmospheric Chemistry”, 1999, (Princeton University Press, Princeton)



50 mL ビーカー



50 mL メスフラスコ (A) (精製水 40 mL)



50 mL メスフラスコ (B) (精製水 10 mL)

図 2 ひょう量容器と蒸発速度の関係

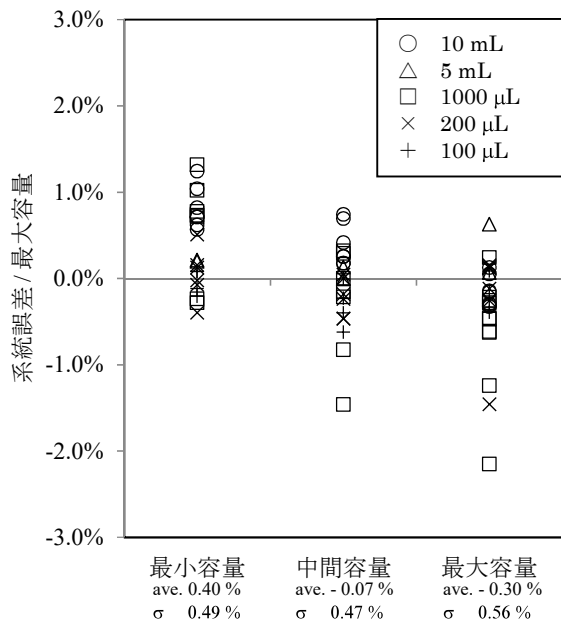


図 3-1 最大容量に対する系統誤差の比

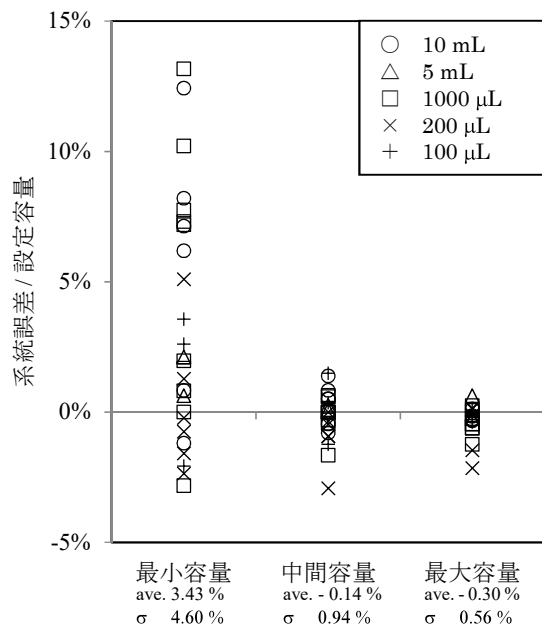


図 3-2 設定容量に対する系統誤差の比

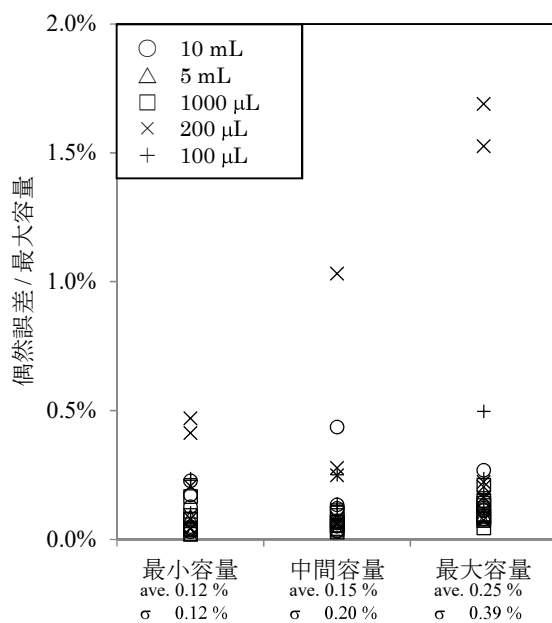


図 3-3 最大容量に対する偶然誤差の比

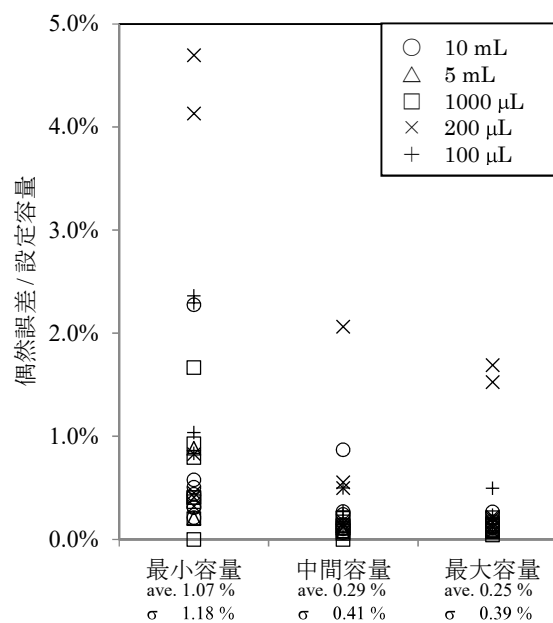


図 3-4 設定容量に対する偶然誤差の比

図 3 設定容量ごとの系統誤差及び偶然誤差の比較