

## 資料

# マイクロピペットのハンドリング時間とチップ形状が与える分注量への影響

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、マイクロピペットのハンドリング時間とチップ形状が分注量に与える影響を確認するための試験を実施した。9分間に渡って分注量を連続的に取得したところ、分注量の変化は確認できず、今回の条件においては手の熱が与える分注量への影響は考慮する必要がないことが分かった。一方、チップ形状の違いによって、最大容量の系統誤差において1.14~1.93%の差が見られた。マイクロピペットの性能試験を行った際には使用したチップの型式を記録しておくこと、マイクロピペット使用時には使用するチップに留意することが必要であるといえる。

[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分析作業において欠かせない器具であり、その性能試験は分析結果のトレーサビリティを確保する上で重要な役割を果たす。分析作業におけるマイクロピペットの取扱いは、性能試験時と同一の条件で行うことが望ましいことは当然であるが、同一条件とすることが困難な状況も分析操作上生じうる。JIS K 0970 (2013)「ピストン式ピペット」(以下“規格”という。)やISO 8655 (2002)に示されるマイクロピペットの性能試験は、天秤を用いて分注量を評価するものであるが、3以上の設定値についてそれぞれ10回の分注操作を行うため、実際のマイクロピペットの使用状況と比較して長い時間操作を行うこととなる。空気置換式のマイクロピペットの場合、ハンドリング時間が長くなれば手の熱によってピストン部が温められ、分注量に影響を与えるおそれがある。また、チップには様々な機能や形状を有するものが販売されている。一連の分析操作の中でも各分注操作で要求されるチップ性能は異なることがあり、その際は目的に合ったチップを選択して使用する必要があるが、その形状も分注量に影響を与えるおそれがある。これらの影響の程度を把握し、必要に応じてその影響を除去及び緩和するための処置を施すことは分析結果の信頼性担保の観点から重要である。

そこで、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、マイクロピペットのハンドリング時間とチップ形状が分注量に与える影響を確認するための試験を実施した。

## 2 試験方法

### 2・1 試験条件及び注意事項

はかりはmettler toled XPE205DRVを使用した。分注には精製水を用いた。

使用する機材を熱平衡状態となるまで恒温室(24°C)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。

なお、測定に際して注意した取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1cm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。

### 2・2 ハンドリング時間の影響確認試験

ハンドリング時間と分注量の関係を把握するため、プレウエットング後9分間に渡る連続的な30回の分注についてひょう量を実施した。用いたマイクロピペットは、有効範囲1-10 mL 3本、0.5-5 mL 3本、100-1000 µL 3本の計9本であり、全てeppendorf(株)社製 Research® plus(シングルチャンネル、空気置換式)である。チップは1-10 mL(165 mm, 0030 000.765, eppendorf(株)社製)、0.1-5 mL(120 mm, 0030 000.978, eppendorf(株)社製)、50-1,250 µL(76 mm, 0030 000.935, eppendorf(株)社製)を用いた。設定値は有効容量範囲上限(規格では“最大容量”と表記される。以下“最大容量”という。)とし、操作の開始から終了までの9分間は常にマイクロピペットを素手で握った状態とした。

### 2・3 チップ形状の影響確認試験

チップの形状と分注量の関係を把握するため、形状（長さ、径）の異なるチップを装着して分注量確認試験を行い、系統誤差を評価した。使用したマイクロピペットは、有効容量範囲 1 - 10 mL、100 - 1000  $\mu$ L、20 - 200  $\mu$ L それぞれ 3 本ずつとした。チップは short チップと long チップの 2 種類を用いた。チップの詳細を表 1 に、形状を図 2 にそれぞれ示す。設定容量は、最大容量、最大容量の 1/2 (以

表 1 使用したチップの詳細

| 使用したチップ                      | チップの詳細   |
|------------------------------|--|
| 1 - 10 mL short チップ          | ependorf 1 - 10 mL, 165 mm, 0030 000.765         |
| 1 - 10mL long チップ            | ependorf 1 - 10 mL L, 243 mm, 0030 000.781       |
| 100 - 1000 $\mu$ L short チップ | ependorf 50 - 1,250 $\mu$ L, 76 mm, 0030 000.935 |
| 100 - 1000 $\mu$ L long チップ  | watson 1200 $\mu$ L エクストラロングフィルターチップ, 124-1200S  |
| 20 - 200 $\mu$ L short チップ   | ependorf 2 - 200 $\mu$ L, 53 mm, 0030 000.870    |
| 20 - 200 $\mu$ L long チップ    | watson 200 $\mu$ L ロングフィルターチップ, 1252-801CS       |

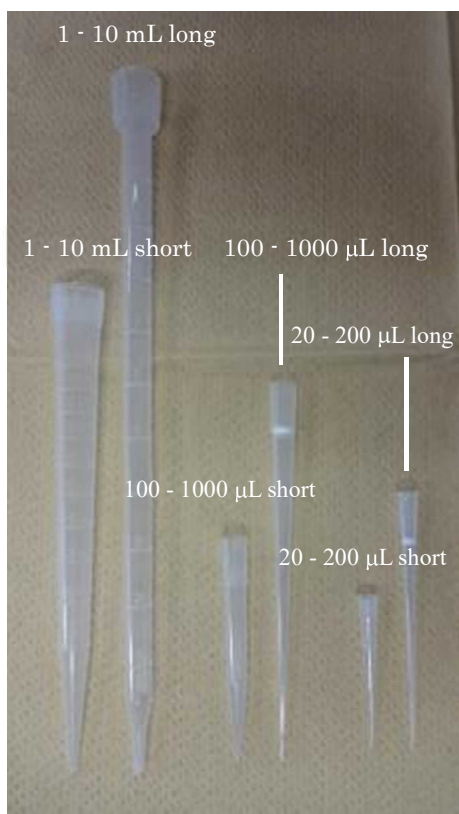


図 2 各チップの形状

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、測定回数は  $n=10$  とした。

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 ( $\mu$ L) を算出し、系統誤差を算出した。

系統誤差  $e_s$  ( $\mu$ L) は、10 回の平均分注量  $V$  ( $\mu$ L) と設定容量  $V_s$  ( $\mu$ L) を用いて以下で算出した。

$$e_s = V - V_s$$

上記で算出した系統誤差 ( $\mu$ L) について、設定容量 ( $\mu$ L) 又は最大容量 ( $\mu$ L) に対する比 (%) を算出した。

### 3 結果及び考察

#### 3・1 ハンドリング時間と分注量の関係

試験結果を容量ごとに図 1 に示す。図 1 は、それぞれのマイクロピペットについて 9 分間に渡る 30 回の分注

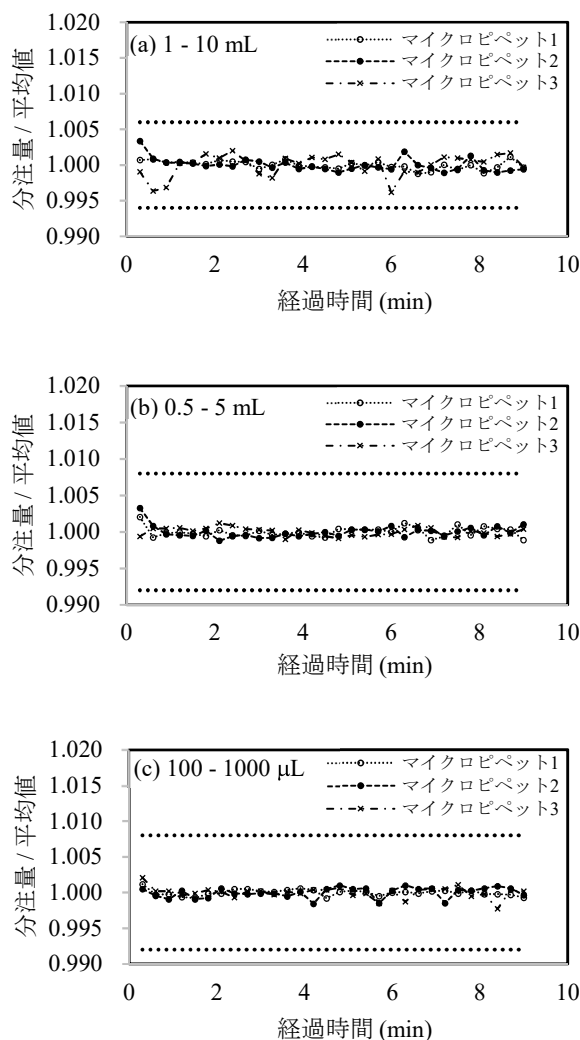


図 1 分注量とハンドリング時間の関係

(a) 1 - 10 mL マイクロピペット、(b) 0.5 - 5 mL マイクロピペット、(c) 100 - 1000  $\mu$ L マイクロピペット。点線は規格の許容系統誤差を示す。

量の平均を 1 としたときの分注量の変化を示し、参考として規格に示される許容系統誤差を点線で示す。許容系統誤差は 1 - 10 mL で最大容量の 0.6%、0.5 - 5 mL 及び 100 - 1000  $\mu$ L で最大容量の 0.8% である。(a) 1 - 10 mL、(b) 0.5 - 5 mL、(c) 100 - 1000  $\mu$ L のどのマイクロピペットについても、今回の試験時間 (9 分間) では分注の精度に影響を与える程の分注量の変化は確認できなかった。使用したマイクロピペットは手で握る位置と分注量に関するピストン部の位置が異なること、また最外層のプラスチック部とピストン部との間に空気の層があることから、ピストン部に手の熱が伝わりにくい構造になっており、今回の条件においては手の熱が与える分注量への影響は考慮する必要がないことがわかった。

### 3・2 チップの形状と分注量の関係

short チップ及び long チップ装着時の設定値ごとの系統誤差 (マイクロピペット各容量 3 本の平均値) を最大容量との比で表した結果を表 2 及び図 3 に示す。short チップ (図 3 (a)) では各マイクロピペットにおいて最大容量、中間容量及び最小容量で同程度の系統誤差 (全データの平均値はそれぞれ 0.57%, 0.36%, 0.48%) であったのに対して、long チップ (図 3 (b)) ではどの容量のマイクロピペットでも最小容量で正の方向に大きく、設定値が大きくなるに従って負の方向に変化していた。また表 2 に示すとおり、10 mL のマイクロピペットの最小容量を除いて long チップは short チップより分注量が少なかった。今回検討した 3 種類の容量のマイクロピペットでは、最大容量の系統誤差においてチップ形状の違いによって 1.13~1.93% の差が見られた。チップの形状でこのような差が生じた要因としては、short チップと long チップのチップ内液面高さの違いが考えられる。大気圧を  $P_0$ 、チップ内圧力を  $P_1$ 、水の密度を  $\rho$ 、液面高さの差を  $h$ 、重力加速度を  $g$  とすると、 $P_1 = P_0 - \rho gh$  と表すことができる。long チップは short チップに比べて  $h$  が大きくなるため  $P_1$  が小さくなり分注量が少なくなると考えられる。そのため、マイクロピペットの性能試験を行った際には使用したチップの型式を記録しておくこと、マイクロピペット使用時には許容できる誤差を考慮した上で使用するチップを選択することが必要であるといえる。さらに、各マイクロピペットで使用するチップを限定した上で性能試験及び分注操作を行うことでチップ形状の違いによる誤差を除去することがきる。

表 2 最大容量に対する系統誤差 (平均値) の比

| 容量                 | チップ形状     | 最小容量   | 中間容量   | 最大容量   |
|--------------------|-----------|--------|--------|--------|
| 1 - 10 mL          | short (a) | 0.22%  | 0.00%  | 0.10%  |
|                    | long (b)  | 0.32%  | -0.29% | -1.03% |
|                    | 差 (a - b) | -0.10% | 0.29%  | 1.13%  |
| 100 - 1000 $\mu$ L | short (a) | 1.16%  | 1.09%  | 1.34%  |
|                    | long (b)  | 0.60%  | -0.26% | -0.59% |
|                    | 差 (a - b) | 0.56%  | 1.35%  | 1.93%  |
| 20 - 200 $\mu$ L   | short (a) | 0.07%  | 0.00%  | 0.26%  |
|                    | long (b)  | -0.12% | -0.80% | -1.13% |
|                    | 差 (a - b) | 0.19%  | 0.80%  | 1.39%  |

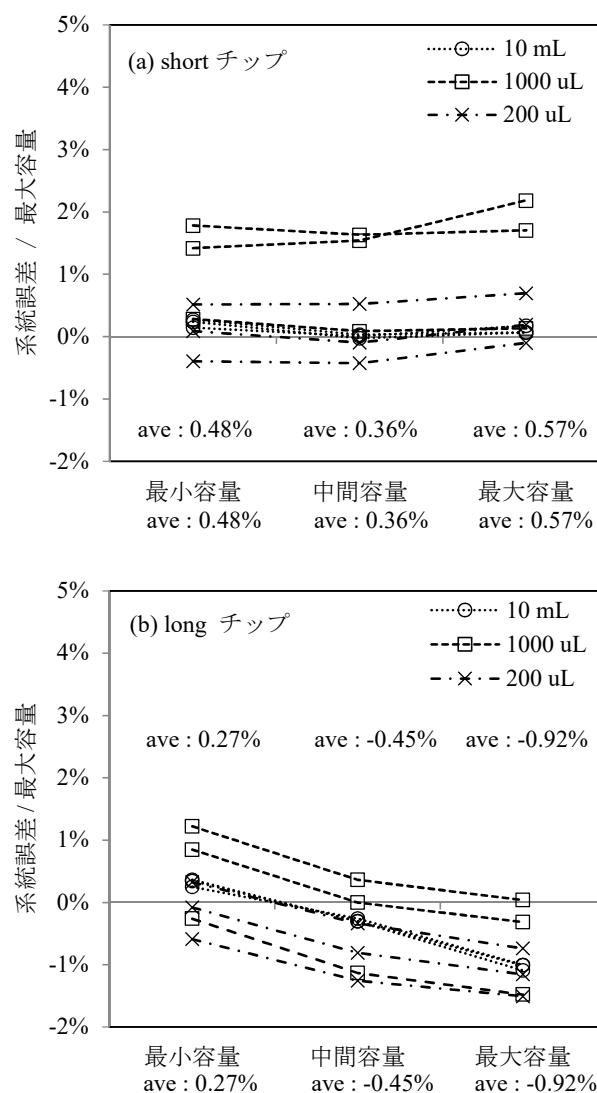


図 3 チップの形状と分注量の関係  
(系統誤差 最大容量との比)  
(a) short チップ、(b) long チップ