

第26回センシングフォーラム 投稿原稿

テーマ：容量計測に関する不確かさの推定

(英題：Estimation of uncertainty of volume
measurement)

発表者：(株) エー・アンド・ディ 第1設計開発本部

出雲直人、深見雄二

主催：SICE (社) 計測自動制御学会計測部門

協賛：応用物理学会、次世代センサ協議会、
センシング技術応用研究会、電子情報通信学会、
電気学会、日本機械学会、精密工学会、他

期日：2009年9月28日(月)、29日(火)

会場：東京工業大学・大岡山キャンパス
(東京都目黒区)

容量計測に関する不確かさの推定 (電子天びんを利用した重量法の実例)

(株)エー・アンド・デイ 第1設計開発本部 ○出雲直人 深見雄二

Estimation of uncertainty for volume measurement (Example of the gravimetric method using balances)

Naoto Izumo, Yuji Fukami A&D Company Limited

Higashi-Ikebukuro, Toshima-ku, Tokyo 170-0013 Japan

Abstract

Many kinds of volumetric meters, such as pipettes and dispensers, are used in research fields, clinical trial, industrial fields, and so on.

Generally, the volume accuracy of those volumetric instruments are checked with gravimetric method using balances.

This report shows the practical data and remarkable points regarding the volume measurement with gravimetric method.

Keywords

Piston pipettes, Z correction factors, Evaporation trap, Human error, Density of liquid

1) はじめに

数多く使われる容量計の代表としてマイクロピペットがあげられます。ピペットは化学実験や、医療、医薬、バイオ関係から食品に至る分野で、研究から臨床、学生の化学実験までの場面で多数使用されています。現在全世界には30社以上のピペットメーカーが存在しており、マイクロピペットに限定しても、最近ではその年間生産台数はワールドワイドで100~200万台、毎年5%程度使用量が増加しているとの話も聞かれます。上記食品、製薬、バイオ関係の研究機関から、病院の臨床試験の使用分野では各拠点や研究部門で数百台単位のピペットが使用されており、研究室レベルでは、一人平均で10台程度のピペットを所有しています。また大学の化学系学部では1学部当たり1,000台近い数が使用されており管理業務には技術的な問題以外に多大な工数や費用を消費している実態があります。

一方生産を主とする産業界では自動機の分野でデイスペンサーと呼ばれる自動吐出装置が多数使用されており、液晶やLEDの製造装置でのレジスト液量のはかり込みや電池関係の生産ラインでの液体吐出量の管理に、またクリーム半田や接着剤、グリスやオイルの塗布工程の重要機器として大量に使用されており、製品の性能維持や品質管理が行われています。

液体の吐出作業に使われるピペットやデイスペンサーなどの容量計は、当然ですが、その容量吐出能力に価値が見出されています。その一方、液体の吐出能力を測定する容量計測技術の導入は容易でない為、未だピペットの使用現場で容量検出手法が確立したとは言い難い状況となっています。この為、多くの場合、ピペットに関わる専門家が測定環境を整え管理を行っている実態があります。専門家による管理は理想的ではありますが、実使用現場との環境の違いや操作者の熟練度による個人差があり、管理された性能と使用時に得られる吐出性能が異なる事が問題となっています。そこで、現在提案されている容量計測方法のなかで、一般的な方法として実績のある重量法について検討を加え、重量法で容量を決定する時に必要となる測定の注意点、及び容量計測の実態について、実験により把握されたデータを基に報告します。

2) 重量法による測定原理

容量を質量で測定するのが重量法となります。これは多くの物理量の測定の中で、質量計測が比較的安価で容易に、かつ高分解能の得られる事を反映しています。例えば秤量 200g で最小表示が 0.1 mg となる一般的な分析天びんでは、その分解能が 200 万分の 1 に達し、定価は 20 万円前後と安価な商品が存在しています。

一方ピペットの中でも微量の測定が必要となるマイクロピペットでは、測定容量が 20~1000 μL の製品が売れ筋となっています。例えば定格容量が 20 μL のピペットの試験では、0.1 μL の桁まで確定することが求められますので、さらにもう一桁下の 0.01 μL (10nL) の測定が必要になります。密度が 1 g/mL の水を基準とすると 10nL=10 μg となりますので、質量計としてはセミマイクロ天びんが必要となります。10 μg は 1g の 1 円玉を 10 万個に分割した時の 1 個に相当する質量となり、10nL の容量計測が容易ではない事が推察されます。

実際に質量測定により容積を決定するには密度補正が必要となり、また一般的にセミマイクロより細かい質量測定には、環境要因による計量の不確かさが大きくなり、不確かさを低減させた管理には多くの技術的注意と環境整備の為の費用が発生することが知られています。

Fig. 1 に 10nL (μg) まで測定できる天びんを利用した重量法による容量試験機の例を示します。左から操作部 (表示部)、計量部、液体の温度を測定する温度計と容器が配置されています。計量部の上面には液体(純水)の蒸発を少なくする事を目的とした、湿度保持容量が設定されています。この湿度保持容器は液体の蒸気圧により、ピペットにより吐出された液体の蒸発を抑制する効果を持っており、測定時の不確かさ低減と操作性を確保する器具となります。

型式 : AD4212B-PT



Fig.1
10 μg 天びんを利用したピペット容量試験機 [4]

3) 重量法の不確かさ発生要因について

重量法により発生する不確かさの要因は以下のものが主になると判断されます。

○補正係数 : Zファクターについて

質量で容量を測定する為には、測定したい容量を持つ試料の質量を、その試料の密度で割る必要があります。

$$\text{容量} : V = M \div \rho \quad \text{ここで、} M : \text{質量、} \rho : \text{密度}$$

従って質量計測の不確かさと密度決定時の不確かさから容量の不確かさが決定され、不確かさを構成する要因もそれぞれの物理量測定時に発生している事が理解されます。

特に純水を使ったピペットの吐出容量計測では、密度補正に関わる要因を Zファクター (Z Correction factors) と呼び、質量から容量への換算係数と定義されています [1], [2]。

$$\text{容量} : V = M \times Z \quad \text{ここで、} M : \text{質量、} Z : \text{Zファクター (換算係数)}$$

Zファクターを構成する主要因として温度変化に伴う純水の密度変化、温度変化と大気圧変化に伴う浮力変化があげられます。

なお、20℃の純水の温度が1℃変化した場合、水の密度は約0.02%変化します。

○液体の蒸発による質量値の変化

天びんの皿上に設置した容器にピペットで液体を吐出させた後、液体が気化・蒸発する事で発生する質量計測の不確かさとなり、通常計量値の減少する現象として認識されます。

○ピペット操作に伴う不確かさ

液体の吸引時と排出時に発生し、吸入量が多すぎたり少なかったり、またピペット先端部（チップ）に液体が残存する事、測定容器を人が持つ事によって発生する温度差による対流など、主にピペットの操作に伴う人為的不確かさとなります。

上記主要因の中で、密度変化、蒸発量については主に計測システムに伴う不確かさの要因となり、液体吸引と液体残存、人体の熱などにより発生する不確かさは操作者の知識や熟練度に影響されるものとなります。上記要因の中で、密度変化はただ単に液体と空気の密度変化を計算上補正するだけです。以下の2項目、1：液体の蒸発量と、2：人為的不確かさに絞った実験を行いました。

4) 測定結果について

4-1) 液体の蒸発量について

重量法では媒体として温度についての密度が確定している純水を使う事が一般的です。水は比熱が大きく沸騰温度が高いため蒸発し難い液体となりますが、ピペットによる吐出後は蒸発が始まります。Table.1 に容器からの蒸発量を測定した結果を示します。

室温30℃、湿度50%の環境にて、30mL容器に水を入れて放置した場合、蒸発量は約0.3mg/分(0.3μL=300nL/分)に達しました。これは定格容量200μLのピペットの10%である20μLの試験を行う場合、測定結果を確定するのに問題のあるレベルで影響することを示しています。

この時、容量測定の実験改善治具として、Fig.2 に示すような湿度保持容器を導入することで、蒸発量は約1/4の0.07mg/分(0.07μL=70nL/分)程度に低減され、1回の測定を10秒以下で実施すれば蒸発量は10nL程度に押さえられる事が確認されました。このことは、湿度保持容器の利用により、20μLでの測定時でも、蒸発による影響は0.05%程度に低減できることを示しています。

単位時間あたりの水の蒸発量		
容器	湿度保持容器	
	無し	有り
5mL (内径 13mm)	0.14mg/分	0.05mg/分
30mL (内径 30mm)	0.26mg/分	0.07mg/分
温度 30℃	湿度 50%(Rh)	

Table.1 蒸発量

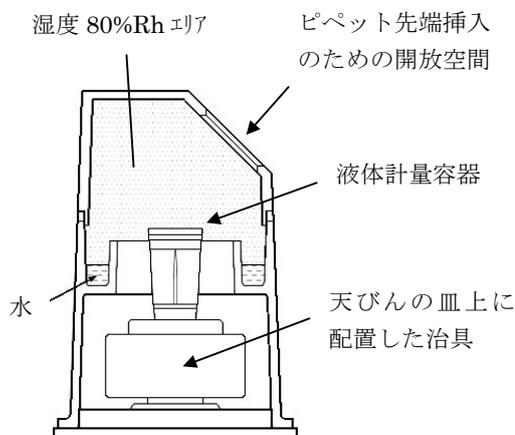


Fig.2 湿度保持容器

4-2) 容器を人が持つ事で発生する対流について特に小容量の測定については、蒸発による影響を少なくする目的で、容器に蓋をする提案がなされています^{[1]、[3]}。しかし、ある条件下で、人が手で一定時間容器を持つと、容器に体温が伝わり容器の温度が上昇します。この温度差が容器の周囲に上昇気流を発生させ、計量値の変化する現象が確認されています。

Fig.3 に容器を手で一定時間（約10秒）持った直後にサーモグラフィで温度測定した結果を示します。サーモグラフィは、分析天びんを横から撮影したもので、左側が操作&表示部、中央の白く見える部分が、計量皿上に載った容器（φ53×L100mm、スチール製）となります。またFig.4 にその時の容器温度と計量値の測定結果を示します。一定時間容器を手で持ち、その後室温に放置した実験の結果では、放置後1分間で、容器の温度が約0.7℃/分程度低下し、その際に計量値が0.7mg/分増加する事が確認されました。

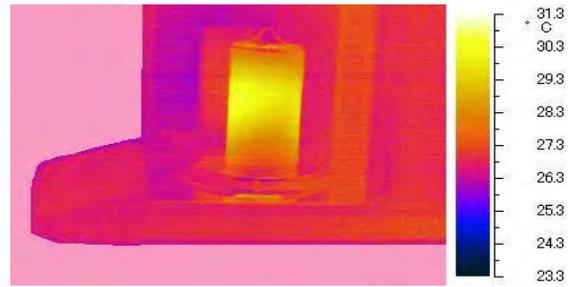


Fig.3 容器を手で持った直後のサーモグラフィ（分析天びん GH252 利用）

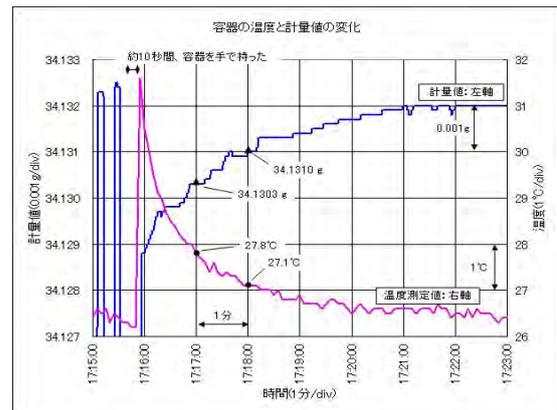


Fig.4 容器温度と計量値の変化

この変化量は上記4-1) 項による蒸発量（湿度保持容器を使用しない場合）の約2倍となります。実際に利用される容器は、プラスチック製であり寸法も小さいのですが、繰り返し手で持つ事は容器の温度上昇を招き、室温との温度差により容器表面に対流が発生し、計量値の変化につながります。このことで、手で長時間に容器を直接持つ事は大きな外乱となる可能性が示されました。

4-3) ピペットの操作習熟度の影響

弊社技術系新入社員3名（Ka君、Ku君、O君）にピペットを操作させた場合の測定結果について報告します。3人に同一の定格容量200μLピペットを渡し、①そのまま測定、②簡単な吸引・排出操作の説明後、③安定計量を行う知識として、チップ交換、プレリンス、吸引角度、チップ浸漬深さ、操作速度など、すべての条件について説明した後の合計3通りについて、100μLの計量を実施しました。測定結果をTable.2に示します。極端な例となりますが、Ku君では正確さ/再現性が①5.8%/22%⇒②0.20%/0.15%⇒③0.11%/0.18%へと改善しました。また学生実験でピペットの操作経験のあったO君でも、正確さが①-0.36%⇒②-0.34%⇒③-0.04%と改善される傾向が見られました。

訓練レベル	Ka君(初心者)		Ku君(初心者)		O君(経験者)	
	正確さ	再現性	正確さ	再現性	正確さ	再現性
①そのまま測定	-3.9%	0.46%	5.8%	22%	-0.36%	0.13%
②ピペットの操作を説明	-0.26%	0.24%	0.20%	0.15%	-0.34%	0.22%
③安定計量の操作を説明	-0.15%	0.25%	0.11%	0.18%	-0.04%	0.10%

※正確さ：設定容量に対する平均値の偏差、再現性：C.V.(標準偏差÷平均値) 測定回数10回

Table.2 訓練レベルによる改善

5) 結論とまとめ

- ピペットの蒸発量を抑制する為には、湿度保持容器の導入が効果的であり、湿度保持容器を使用した場合には、ピペットの先端部に対して開放された空間を設置しても、10 nL/1回(10秒)程度の蒸発量に押さえた容量計測が可能とのデータが得られました。この方法により(JIS K0970-1989やISO8655-6で小容量の測定時に提案されている、容器に蓋をして計量を行う方法で問題となる)容器の操作による非効率や人の体温による計量の不確かさを改善できる可能性が示されました。
- 重量法による容量測定において、計測システムの不確かさは、①天びんによる質量測定の不確かさと、②質量から容量への換算に必要な環境(温度、気圧)測定による不確かさがあげられます。天びんによる質量測定の不確かさの主要因として、繰り返し性、直線性、丸め誤差、温度ドリフトを考慮し、4-3)の実験に使用した天びんの製品仕様に基づいて、質量測定の標準不確かさを検討しました。その結果、測定時の温度変化を1℃と仮定すると、100 μL(100 mg)を測定したときの標準不確かさは0.058 μLとなりました。また、環境測定による不確かさは、純水の温度変化が主要因となり、純水の温度と密度の関係(1℃あたり0.02%変化)から、温度測定の不確かさを1℃とした場合、100 μLの容量を測定したとき、質量から体積への換算に関する不確かさは0.012 μLとなります。よって、計測システムによる測定の標準不確かさは0.059 μL、拡張不確かさは0.118 μL(包含係数k=2)となり、測定容量100 μLに対しては、それぞれ約0.06%、0.12%となります。
- 蒸発による影響を抑制した状態では、個人の操作による再現性が大きいことがわかりました。4-3)の実験結果に示すように、初心者が訓練しない状態で測定したときの再現性は、0.46%(ka君)や22%(ku君)であり、測定回数(10回)の平方根で除して推定標準不確かさを求めると、100 μLに対して、0.15%(Ka君)や6.9%(Ku君)になります。これは計測システムの標準不確かさに比較し、2倍以上大きい結果となり、習熟を重ねることにより再現性は小さくなっています。
- ピペットでの容量決定には、操作の習熟度による個人差があり、また使用経験の少ない人でも、教育を受け、その結果を数値化できる測定機を導入する事で、容易に不確かさ(正確さ、再現性)を低減でき、より安定した容量計測が可能になる事が実証されました。容量計測において、これら一連のPDCAが回る為には、その効果を確認し認識できる手法の確立が必要となります。その具体的方法として、重量法に基づく計量機器の導入が有効であることが明らかとなりました。
- 例えば、吐出時のチップ先端部への残留液体を低減する方法の提案など、今後は、より操作が容易となる方法を提案し、容量計測に関わる広範囲な不確かさを低減に寄与できる機器の開発を進めたいと考えています。

参考文献・資料

- [1] ISO8655 1-6 : 2002(E) Piston-operated volumetric apparatus-
- [2] ISO/TR20461 : 2000(E) Determination of uncertainty for volume measurements made using the gravimetric method
- [3] JIS K 0970-1989 プッシュボタン式液体用微量体積計
- [4] (株)エー・アンド・デイ <http://www.aandd.co.jp>