

マイクロピペットを利用した 界面活性剤等の分注精度について

The study of dispensing accuracy
for surfactant and others with using micro-pipette.

株式会社 エー・アンド・デイ

JASIS 2016 2016年9月8日

1.はじめに 1-1 マイクロピペットについて 用途・使用現場・市場

○用途：少量の液体を採り分ける器具（分注器）

$1 \mu\text{L} \doteq 1\text{mg}$

○使用現場：研究室、検査機関 … など

例) 医薬、バイオ、農業、成分分析、臨床検査、工業

○日本市場

10万本以上

(電動・手動、シングル・マルチ、1mL以上を含む)

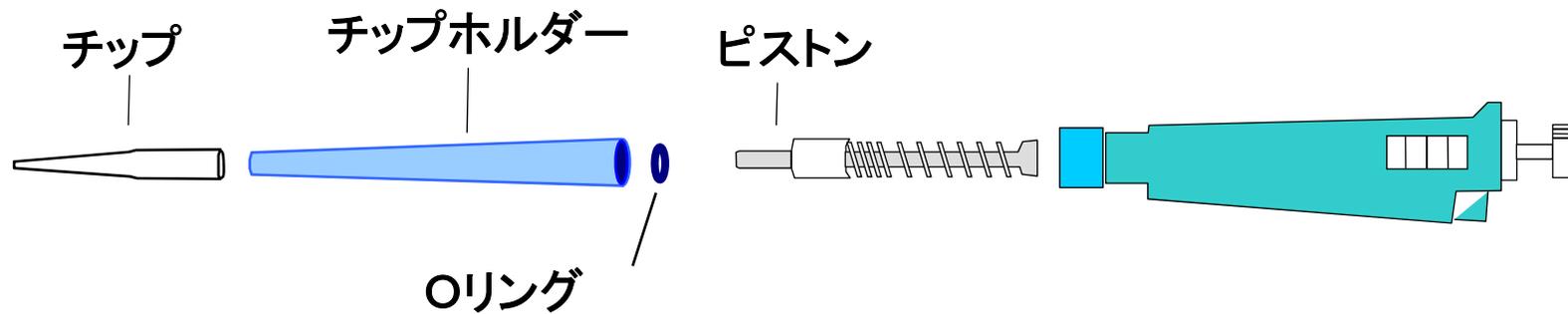


AND
A&D Company, Limited

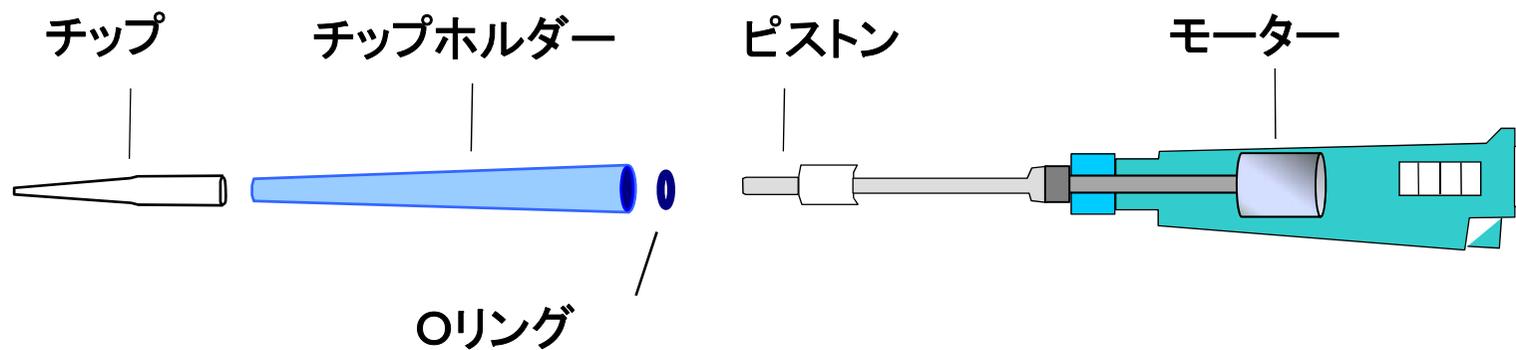
1.はじめに 1-2 マイクロピペットについて 構造

(空気置換式/エアディスプレイメントタイプ)

(1) [手動式]



(2) [電動式]



1. はじめに 1-3 分注で問題となる液体

○粘度が高い液体

○揮発性がある液体

○溶剤と酸性の液体

弊社ホームページにて公開している資料を
ご参照ください

○表面張力が低い液体

・界面活性剤 → 液切れが悪い

2. ピペットの精度について 2-1 ピペットの規格

ISO 8655

2002年制定

『ピストン式容量測定機器』

(ピペット/ビュレット/ダイリュータ/ディスペンサ)

ISO 8655-2 ピペット

ISO 8655-6 重量法

JIS K 0970

1989年制定

『プッシュボタン式液体用微量体積計』

手動式、空気置換式のみ

2013年改正（平成25年）

『ピストン式ピペット』

ISO 8655-2, -6を参照して改正

国内で使用されている20mLのピペットを
考慮し、空気置換式の適用範囲は20mL
まで（ISO 8655-2 は10mLまで）

2. ピペットの精度について 2-2 最大許容誤差

○ISO 8655-2 最大許容誤差

- ・ 系統誤差 (Systematic Error) . . . 正確さ
平均値で判定
- ・ 偶発誤差 (Random Error) . . . 再現性
標準偏差で判定

例) 公称容量 200 μ L のピペットの ISO8655 スペック

- ・ 正確さ : $\pm 0.8\%$ ($\pm 1.6 \mu$ L)
- ・ 再現性 (C. V.) : 0.3% (0.6μ L)

再現性 $\pm 2\sigma$ (95%) = $\pm 0.6\%$ ($\pm 1.2 \mu$ L)
正確さ $\pm 0.8\%$ ($\pm 1.6 \mu$ L)
合計 $\pm 1.4\%$ ($\pm 2.8 \mu$ L)

2. ピペットの精度について 2-3 重量法による確認

○ISO 8655-6 重量法

- ・重量法による容量確定方法（水を使用）

$$V_i = m_i \times Z$$

V_i : 体積 [μL]

m_i : 分注質量 [mg]

Z : Zファクター [μL/mg] (mg → μL 補正係数)

“Zファクター”

- ・水温による水の密度
- ・温度・気圧による浮力補正

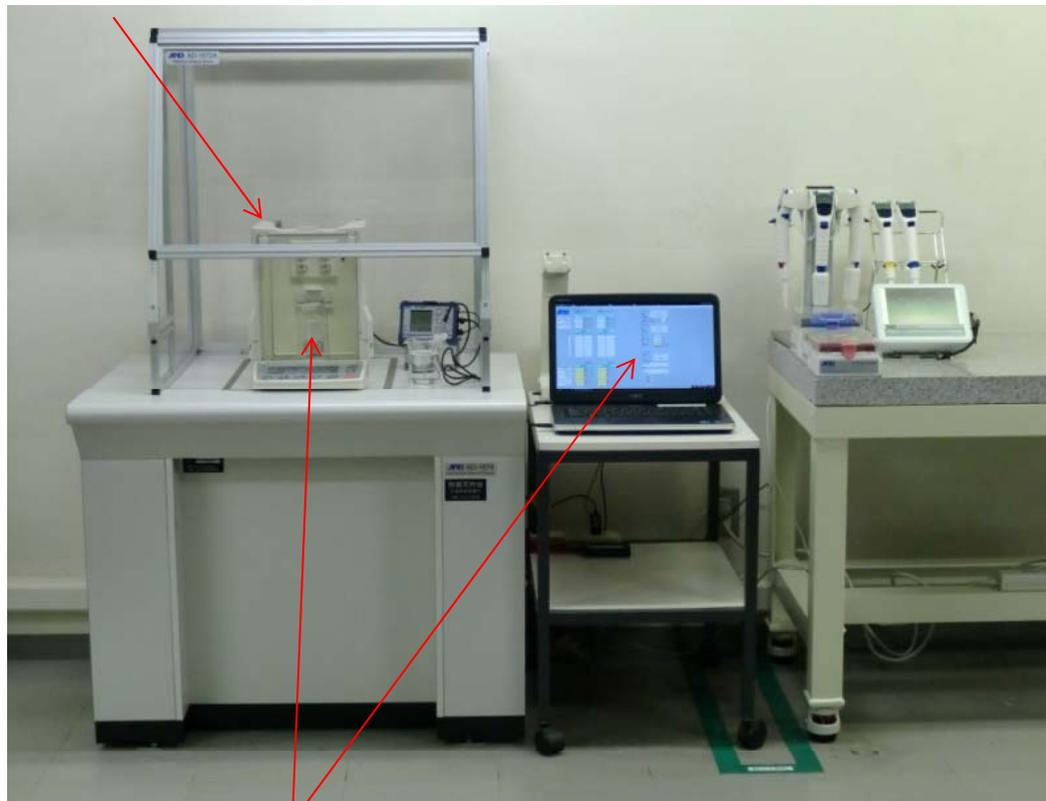
$$Z = \frac{1}{\rho_w} \times \frac{1 - \frac{\rho_a}{\rho_b}}{1 - \frac{\rho_a}{\rho_w}}$$

Z : 補正係数 [μL/mg]
 ρ_w : 吸入した水の密度 [g/cm³]
 ρ_b : はかり校正に使用した分銅の密度 [g/cm³]
 ρ_a : 空気密度 [g/cm³]

2. ピペットの精度について 2-4 測定環境 (弊社例)

電子天びん
BM-20

温度 : 23°C ± 1.0 °C
湿度 : 50% ± 5 %



BM-014 (BM用ピペット容量テスターキット)
[湿度保持容器、水温計、ソフトウェア]

AND
A&D Company, Limited

3. 実験方法 3-1 本実験での精度確認方法

○重量法

- ・ 密度計*1にて試験液の密度 (ρ_x) を測定
- ・ 重量法により容量計算

$$V_i = \frac{m_i}{\rho_x}$$

V_i : 体積 [μL]
 m_i : 分注質量 [mg]
 ρ_x : 試験液の密度 [g/cm^3] = [$\text{mg}/\mu\text{L}$]

※ 浮力補正を行わない事による体積換算の偏差は、
+0.1% (200 μL 分注結果に対して、+0.2 μL) 程度

*1 Anton Paar社製 密度計 DMA 35N (精度 : $\pm 0.001\text{g}/\text{cm}^3$)

3. 実験方法 3-2 使用機器 (1) ピペット、(2) チップ

(1) ピペット

MPA-200 基本仕様

容量範囲		10 ~ 200 μ L	
性能	容量	10 μ L	200 μ L
	正確さ	2.50%	0.60%
	再現性(CV値)	1.00%	0.15%
動作モード		・SYS(システム設定モード) ・AUTO(標準モード) ・MD(連続分注モード) ・MIX(混合モード)	
吸引・排出スピード		5段階調整	
最大分注回数(フル充電時)		約1,800回 *1	
オートクレーブ処理		ロアパーツのみ可能	
ピペット駆動方式		ステッピングモータ	

*1 標準モード、吸引・排出スピード最速設定時

(2) チップ (200 μ L用)

- ・ A&D 標準チップ (材質PP)
- ・ シリコナイズチップ (材質PP、チップ全面をシリコンコート)

3. 実験方法 3-3 測定液体

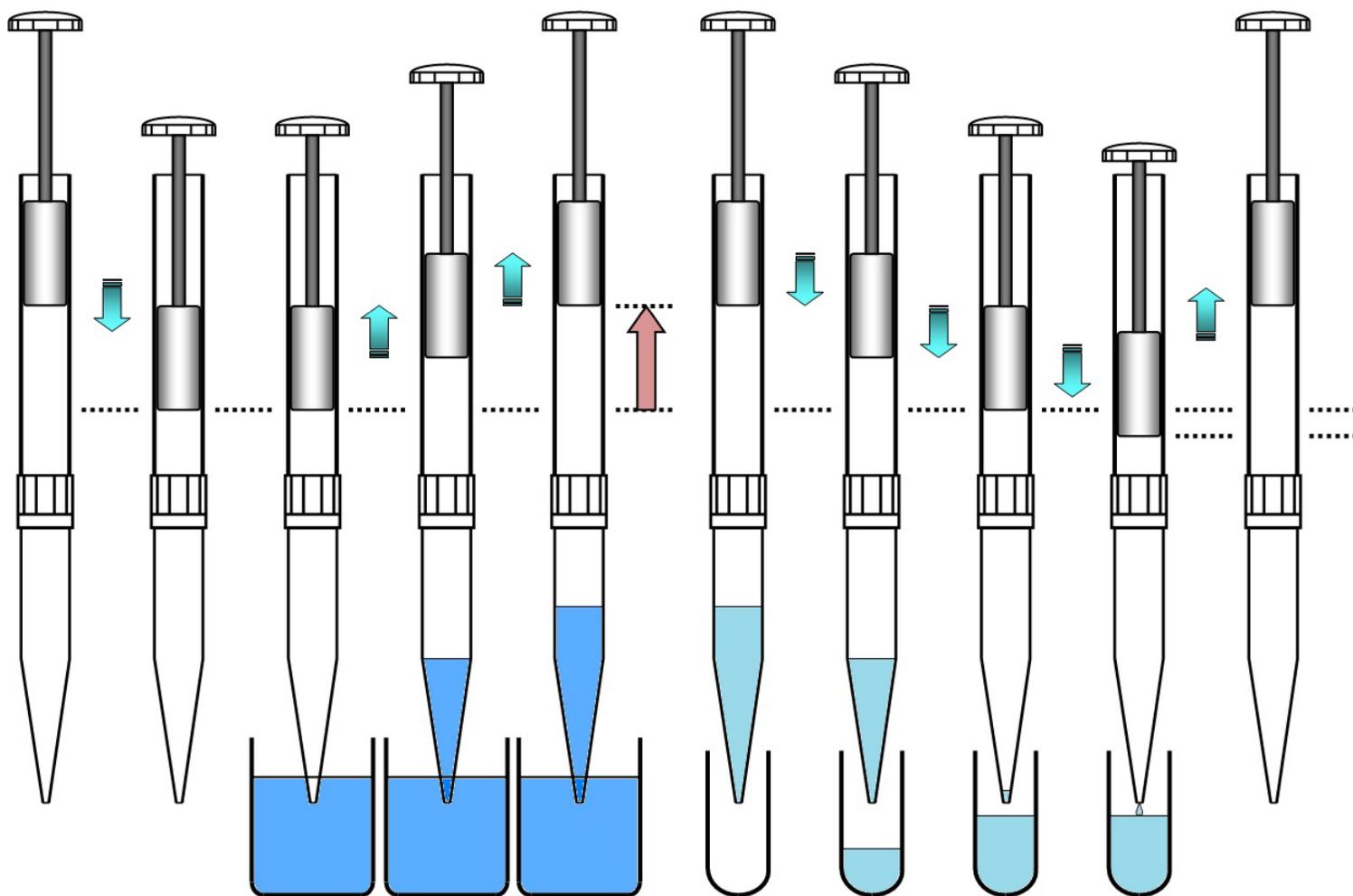
界面活性剤

- (1) CTAB [臭化セトリモニウム(スタブ)] <濃度1wt%>
陽イオン性、生体膜を溶かす
 - (2) SDS [ドデシル硫酸ナトリウム] <濃度10wt%>
陰イオン性、電気泳動にてタンパク質で分離
 - (3) Tween 20 [ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノラウレート] <濃度10wt%>
 - (4) Triton X-100 [ポリオキシエチレン(10)オクチルフェニルエーテル] <濃度10wt%>
- 3.4. は非イオン性、タンパク質の可溶化
(膜タンパク質に対する作用がおだやか)

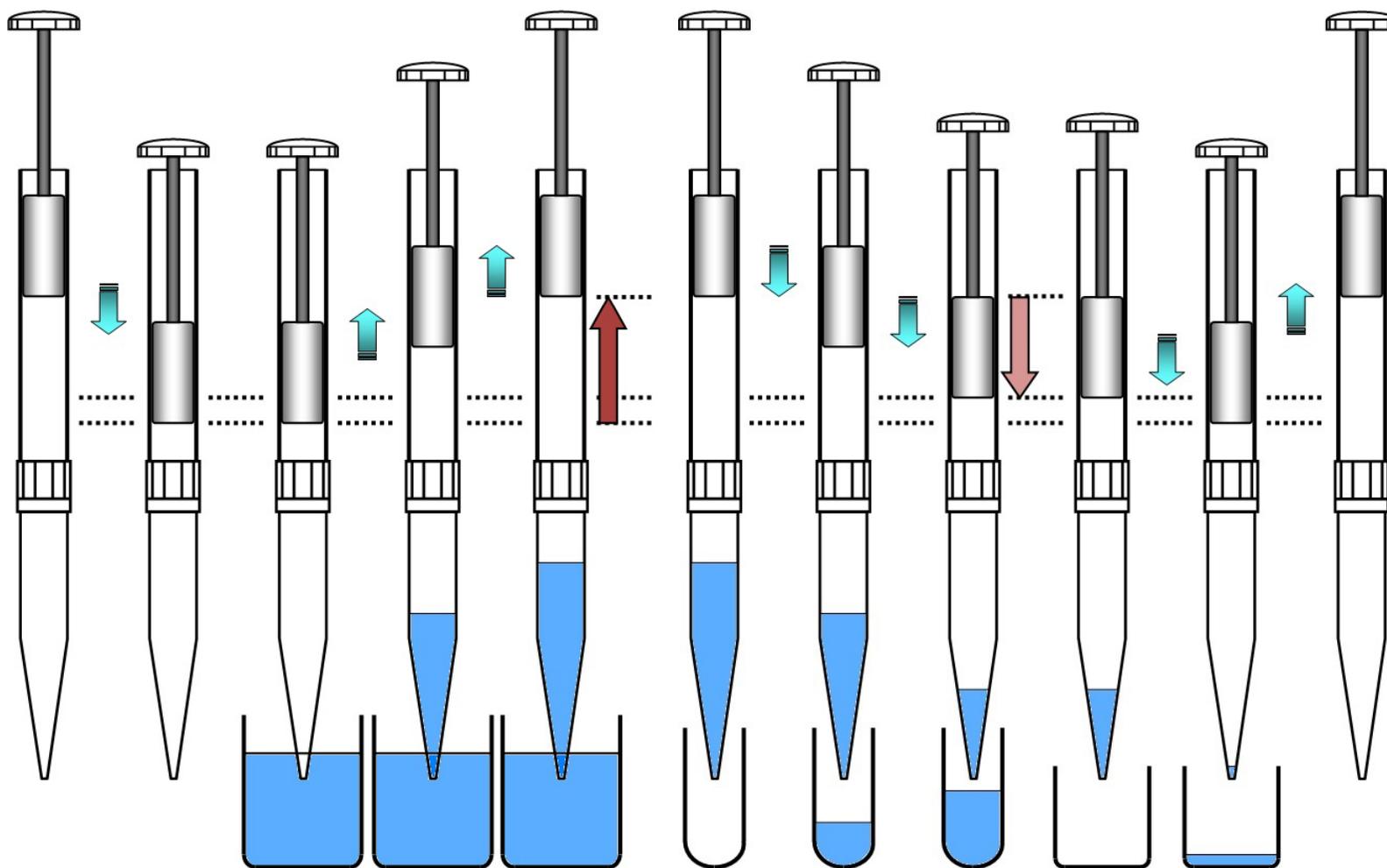
増粘剤

- (1) HPC [ヒドロキシプロピルセルロース] <濃度2wt%>

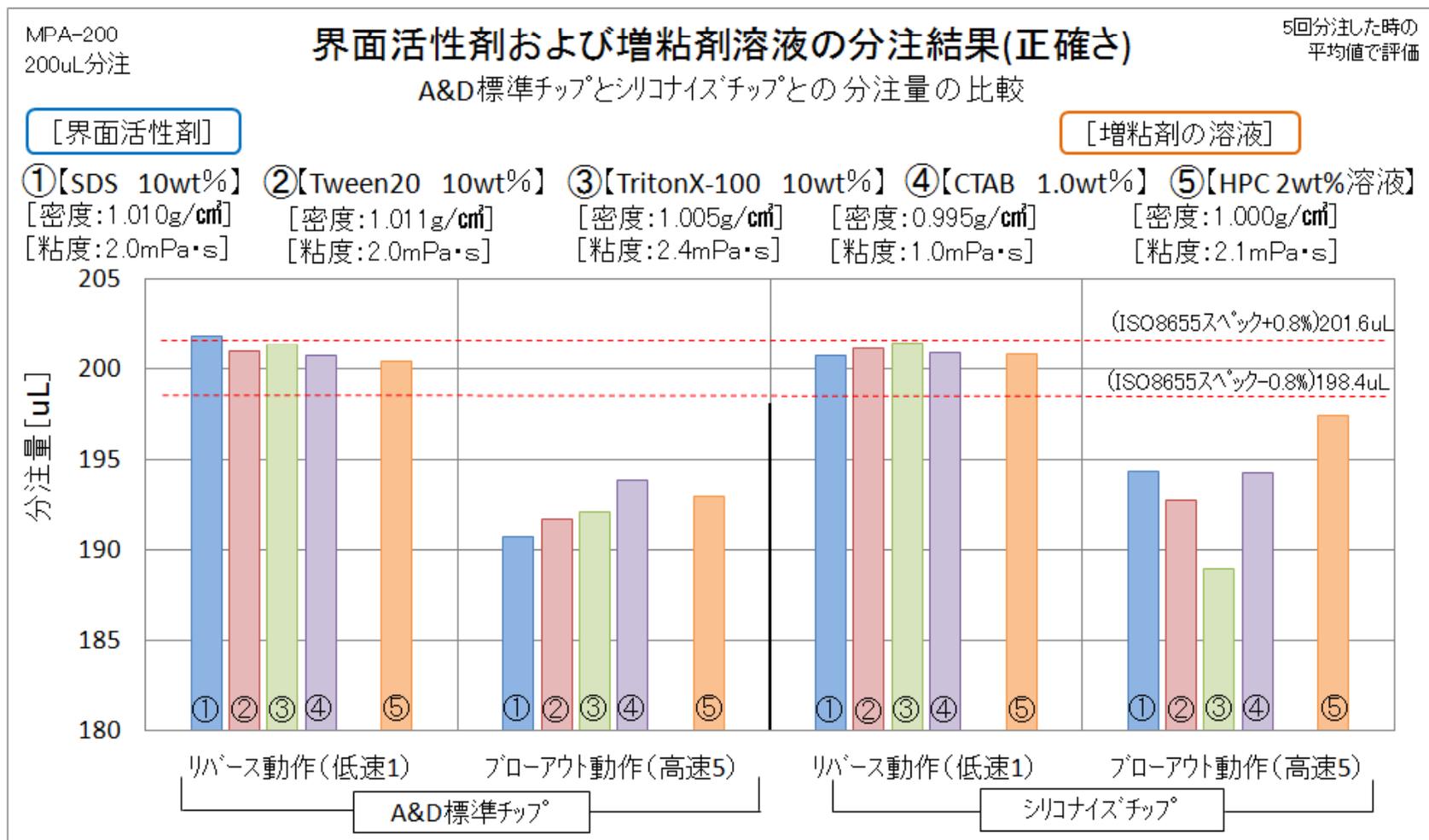
3. 実験方法 3-4 ピペット操作方法 (1) 通常の操作 [フォワード法]



3. 実験方法 3-4 ピペット操作方法 (2) リバースモード

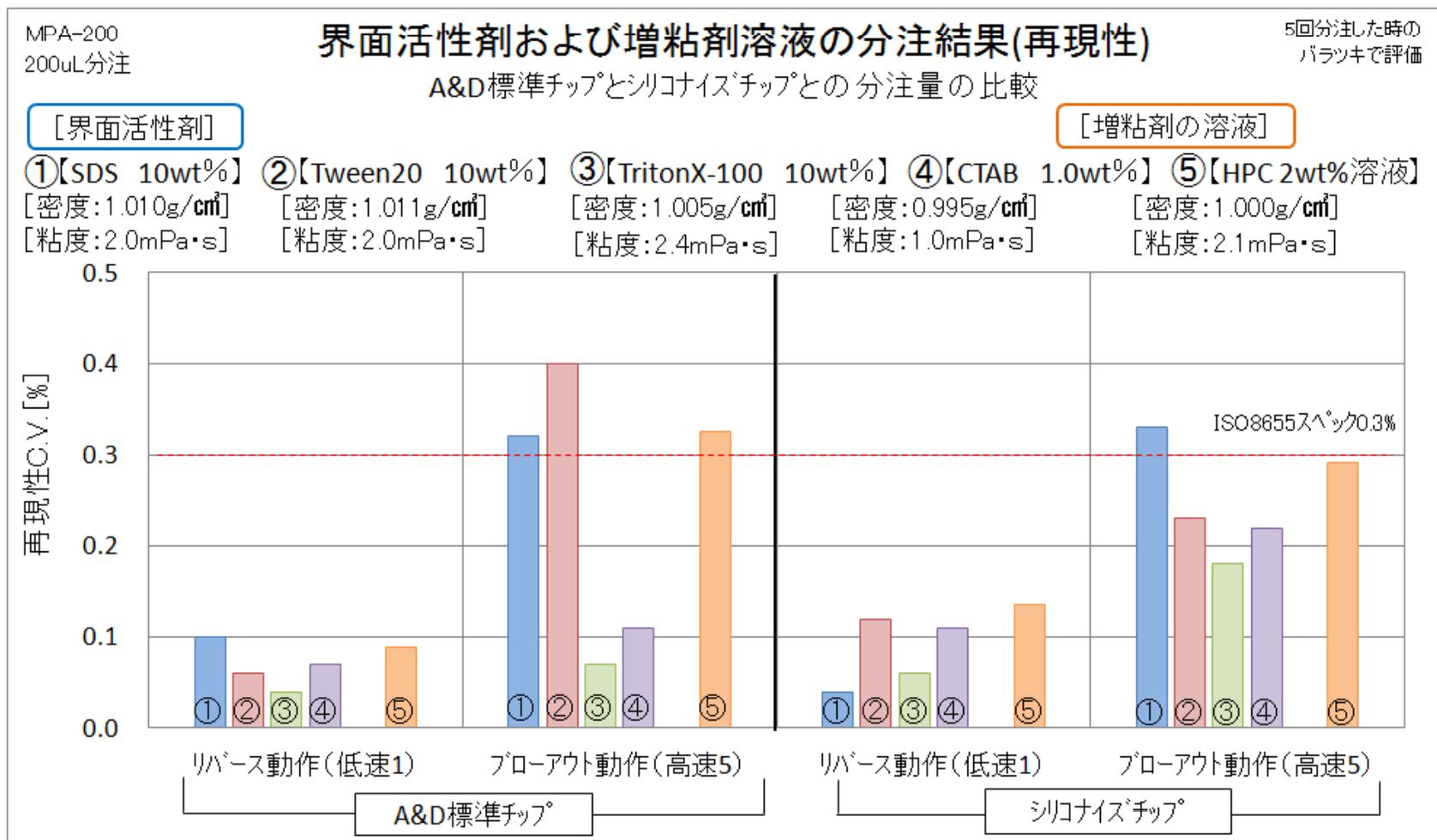


4. 実験結果 4-1 正確さ



- ・ 通常の操作(ブローアウト動作、高速)では、分注量が少なくなる (約-1.25~-5.5%)
- ・ 低速でリバース動作を行うことにより、精度が確保できる

4. 実験結果 4-2 再現性

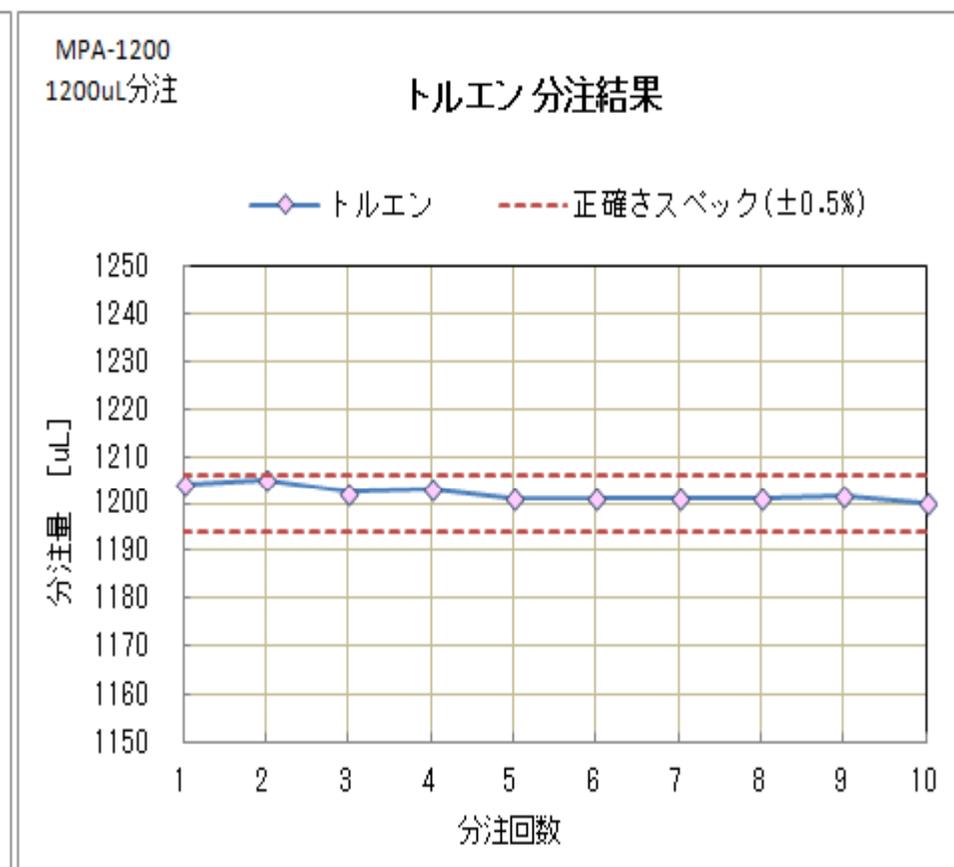
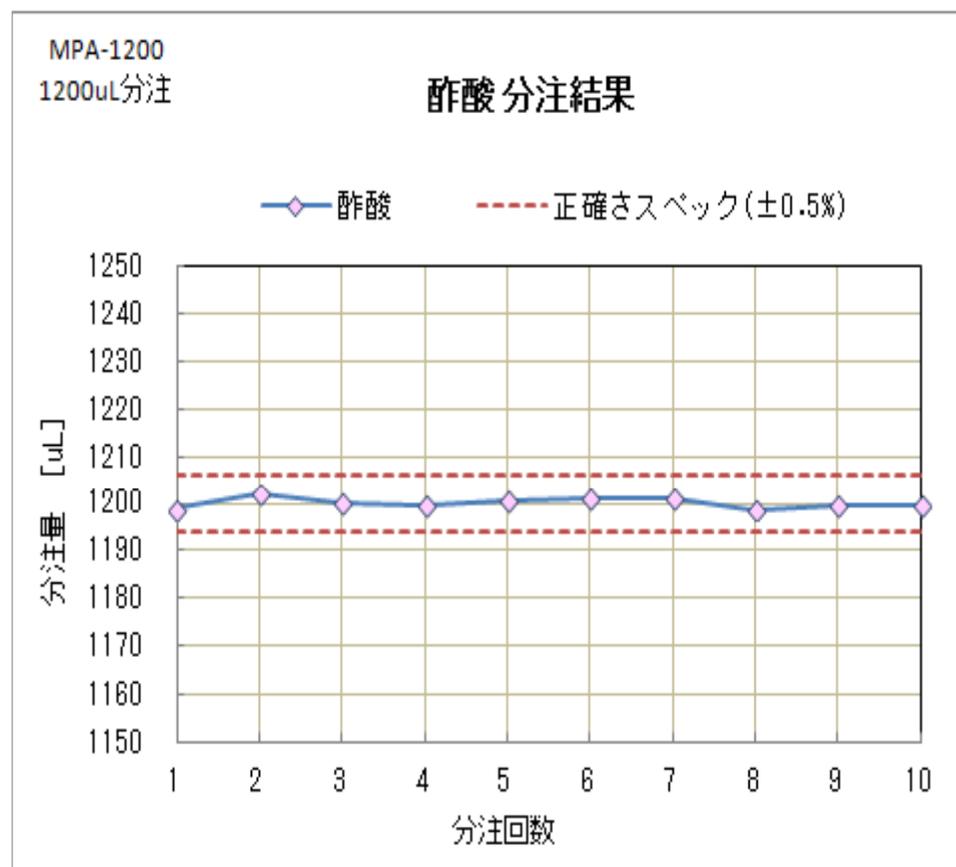


- ・ 通常の操作(フローアウト動作、高速)では、液体によっては再現性が悪化する
- ・ 低速でリバース動作を行うことにより、高い再現性が確保できる

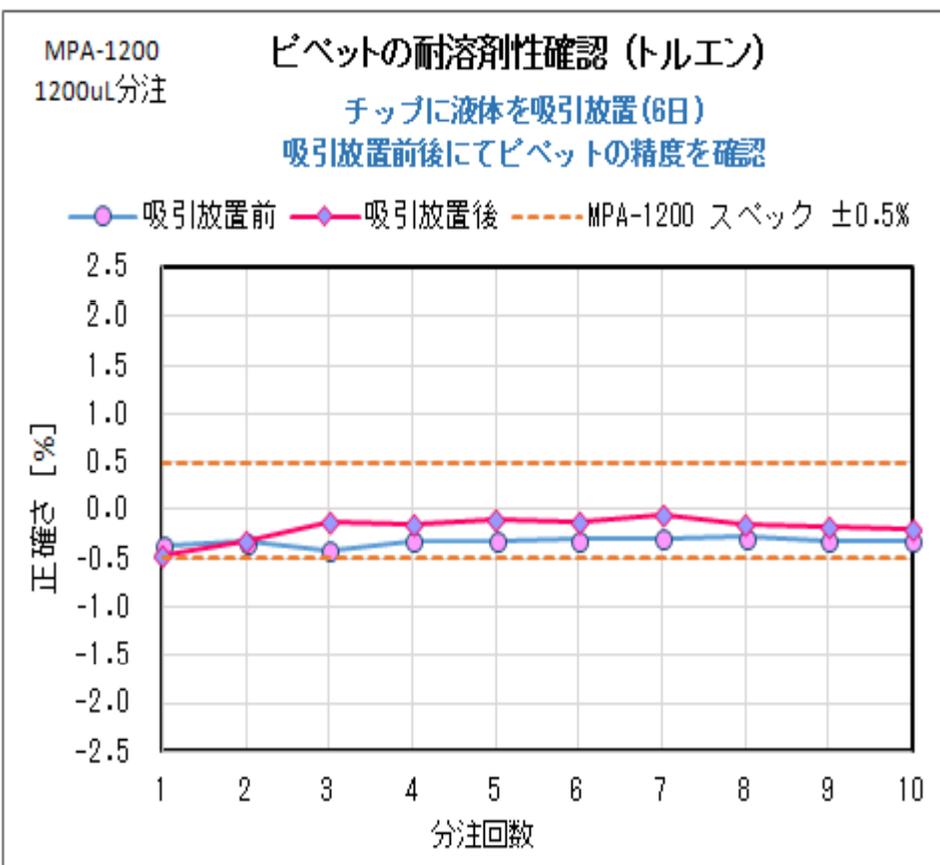
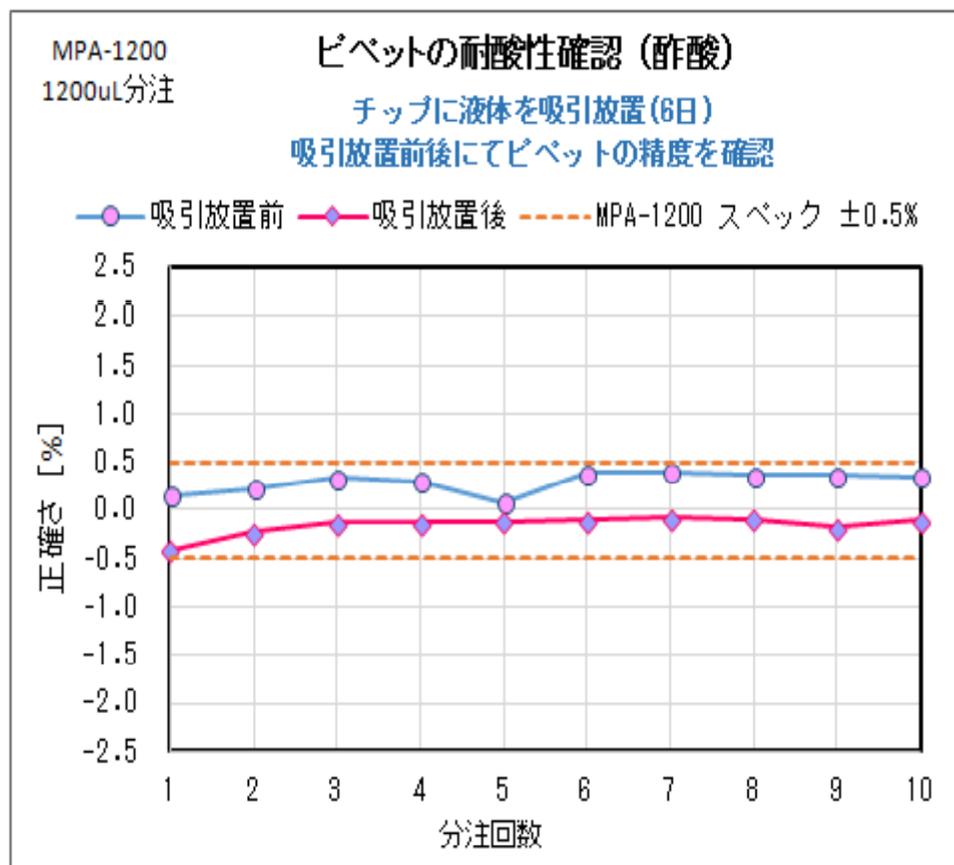
5. まとめ及び考察

- 界面活性剤、および増粘剤について、標準チップおよびシリコナイズチップを使用し、ピペット操作方法を変えて分注精度を確認した。
- 界面活性剤 4 種類 [CTAB, SDS, Tween20, TritonX-100]、および増粘剤 [HPC] においては、標準チップとシリコナイズチップによる分注精度の違いは確認できなかった。
- いずれのチップでも、電動ピペットのリバースモードにて、吸引・排出スピードを低速にすることにより、正確に分注できることが確認できた。
- 今後は、液体に適した操作の確認と啓蒙を進めるとともに、使いやすく精度が良いピペットの開発を目指します。

6. 追加実験結果 6-1 酢酸・トルエンの分注結果



6. 追加実験結果 6-2 酢酸・トルエンに対する耐性



7. おわり

ご清聴ありがとうございました。