

# オートサンプラのインジェクタプログラムを使用した標準溶液調製の自動化

## 内容

バイアルサンプラのインジェクタプログラムを使用した標準溶液調製の自動化が可能かどうかを手作業による希釈との相対誤差により確認しました。

## 分析試料

ナフタレン（関東化学：特級）をアセトニトリルに溶解し、5000 µg/mLの溶液を調製しました。この溶液を原液として、オートサンプラによる自動希釈および手作業による希釈で0.005、0.025、0.05、0.25、0.5、5、25、50、250、500 µg/mLのナフタレン標準溶液を調製しました。このうち、0.005-25 µg/mLのナフタレン標準溶液を測定に供し、測定はいずれも希釈操作を含めてn=3で実施しました。

## 分析条件

System : Agilent 1260 Infinity II (高感度セルを使用)

### HPLC method

カラム : Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 3.0×150mm, 3.5µm (P.N.959963-302)

カラム温度 : 40°C

移動相 : 超純水 / アセトニトリル = 30 / 70 (vol%)

流量 : 0.5 mL/min

注入量 : 5 µL

検出波長 : 275nm、バンド幅4 nm

インジェクタプログラムのメソッド

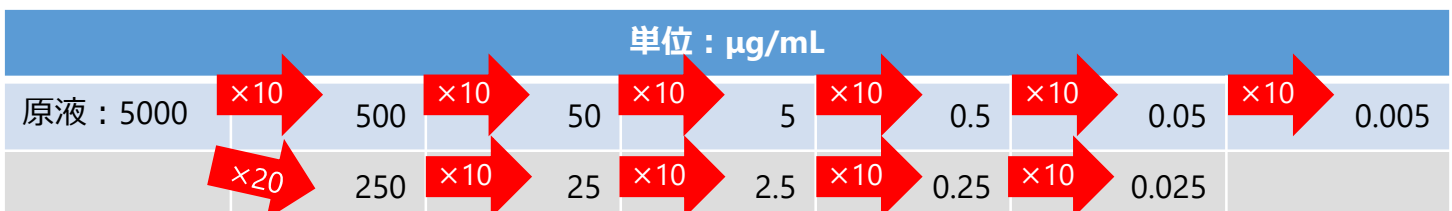
ID	バイアル	アクション	タイプ	データファイル	注入ソース	サンプルタイプ	レベル	サンプル名	測定メソッド	注入量	サンプルアップメソッド
1	P1-A2	注入		<S><DS>	Als	ブランク		ブランク	ナフタレン自動希釈検証.amxx	メソッド設定を使用	自動希釈×1000000.smx
2	P1-B1	注入	検量線を手で消去	<S><DS>	Als	キャリブレーション	1	ナフタレン_0.005µg/mL	ナフタレン自動希釈検証.amxx	メソッド設定を使用	
3	P1-B2	注入		<S><DS>	Als	キャリブレーション	2	ナフタレン_0.025µg/mL	ナフタレン自動希釈検証.amxx	メソッド設定を使用	
4	P1-B3	注入		<S><DS>	Als	キャリブレーション	3	ナフタレン_0.05µg/mL	ナフタレン自動希釈検証.amxx	メソッド設定を使用	
5	P1-B4	注入		<S><DS>	Als	キャリブレーション	4	ナフタレン_0.25µg/mL	ナフタレン自動希釈検証.amxx	メソッド設定を使用	
6	P1-B5	注入		<S><DS>	Als	キャリブレーション	5	ナフタレン_0.5µg/mL	ナフタレン自動希釈検証.amxx	メソッド設定を使用	
7	P1-B6	注入		<S><DS>	Als	キャリブレーション	6	ナフタレン_2.5µg/mL	ナフタレン自動希釈検証.amxx	メソッド設定を使用	
8	P1-B7	注入		<S><DS>	Als	キャリブレーション	7	ナフタレン_5µg/mL	ナフタレン自動希釈検証.amxx	メソッド設定を使用	
9	P1-B8	注入		<S><DS>	Als	キャリブレーション	8	ナフタレン_25µg/mL	ナフタレン自動希釈検証.amxx	メソッド設定を使用	

図1 自動希釈のシーケンス

バイアルポジション：P1-A2に希釈溶媒、P1-A3に原液をセットし、P1-B1～P1-B11に空のバイアルをセットする。

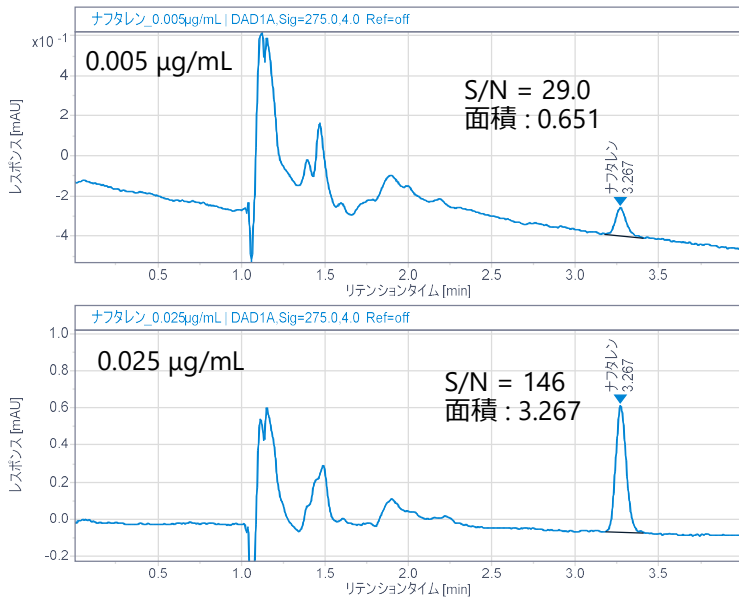
シーケンス開始後に自動希釈が行われ、順次希釈された溶液が空のバイアル内に調製されていく。

表1 希釈フロー



# 結果

## 自動希釈



## 手作業による希釈

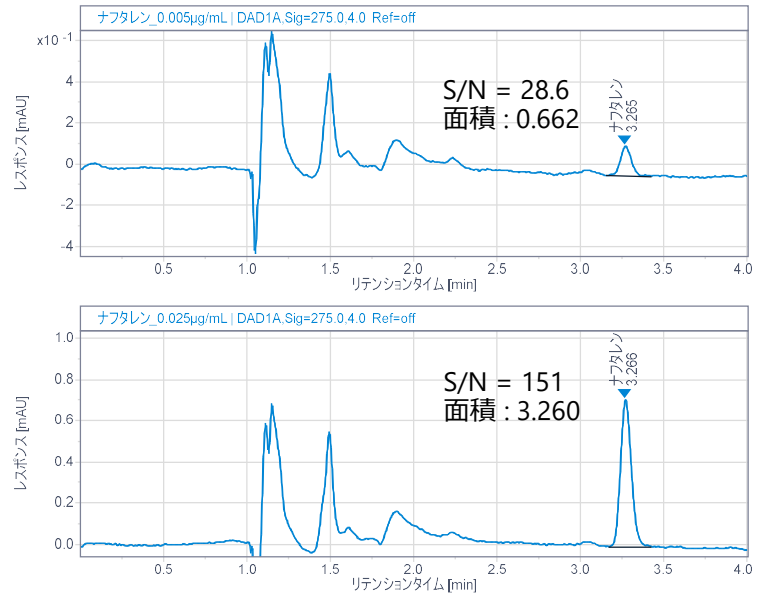


図2 クロマトグラム (低濃度一例)

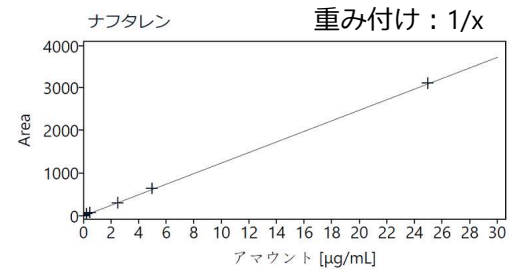
表2 ピーク面積の比較と相対誤差

調製濃度 (µg/mL)	面積 (自動希釈)	面積 (手作業)	相対誤差 (%)
0.005	0.6318	0.6464	2.26
0.025	3.104	3.261	4.82
0.05	6.103	6.405	4.71
0.25	30.52	31.97	4.53
0.5	61.69	63.80	3.31
2.5	307.8	318.8	3.46
5	631.8	638.5	1.06
25	3105	3160	1.73

各希釈方法での面積の平均値の相対誤差は全ての濃度において5%未満で、良好な一致が確認できました。

$$\text{相対誤差 (\%)} = \frac{|(\text{自動希釈の面積}) - (\text{手作業による希釈の面積})|}{(\text{手作業による希釈の面積})} \times 100$$

化合物: ナフタレン  
 シグナル: DAD1A  
 予測 RT: 3.268  
 残差: 4.69548  
 R: 0.99997  
 R<sup>2</sup>: 0.99998  
 方程式:  $y = ax + b$   
 a: 124.4259  
 b: -0.0137



化合物: ナフタレン  
 シグナル: DAD1A  
 予測 RT: 3.266  
 残差: 3.80025  
 R: 0.99999  
 R<sup>2</sup>: 0.99999  
 方程式:  $y = ax + b$   
 a: 126.7112  
 b: 0.0423

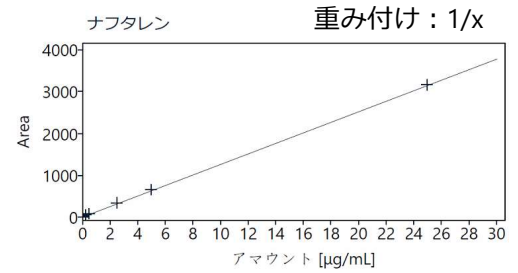


図3 検量線 (上: 自動希釈、下: 手作業による希釈)

表3 検量のパラメータ比較

調製方法	検量線の近似式	決定係数 (R <sup>2</sup> )
自動	$y = 124.4259 * x - 0.0137$	0.99998
手作業	$y = 126.7112 * x + 0.0423$	0.99999

ナフタレンの自動希釈では1,000,000倍希釈まで手作業による希釈との良好な一致が確認できました。

希釈作業の自動化により、以下の効果が期待できます。

- ✓ 作業者の拘束時間の低減
- ✓ 実験者間の誤差の回避
- ✓ テレワークなど遠隔地から測定可能