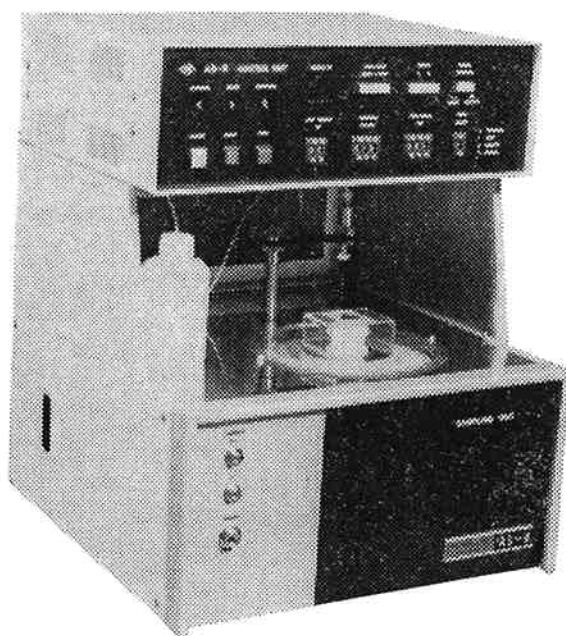


## LC 用 オート サンプラ AS-8

佐 知 清 吾  
 宝 迫 敬 一  
 相 浦 惇 惇

New Micro Auto Sampler AS-8

Seigo SACHI  
 Keiichi HOHSAKO  
 Makoto AIURA



Automatic Microsampler for Liquid Chromatography

Shown here is the automatic microsampler AS-8 newly developed for routine LC analyses. This instrument features a needle cleaning system coupled with microsampling.

### 1. はじめに

高速液体クロマトグラフィは近年ますますその進歩の度合いが加速されている。一般の計測技術分野の技術革新を迅速に取り入れることによって、装置の自動化、機能の多様化を達成するとともに、新しい充填剤と利用技

術の開発によって、高速化、高分離能化と適用分野の拡大が進められている。特に生化学、医学の分野においては、微量サンプルを高感度で測定する必要があり、また多検体を迅速に処理するために、自動化は必要不可欠なものになっている。

我々は、このニーズに合わせ、微量検体を取扱うこと

のできるLC用オートサンプラーAS-8を新たに開発したので、ここにその概要について報告する。

2. 仕様

- 試料検体数……48点
- サンプルビン……1,200  $\mu\text{l}$
- 計量ポンプ……2,000  $\mu\text{l}$
- 試料注入量……1~500  $\mu\text{l}$  可変
- 耐 圧……350 kg/cm<sup>2</sup>
- 分析周期……6~999 min
- 再現精度…… $\pm 1\%$
- 機能……インジェクションマーカ(Dry 接点)  
 繰返しインジェクション  
 外部リモートコントロール  
 サンプル冷却槽 (オプション)
- 寸 法……送液部 400(W)×370(H)×400(D)  
 制御部 400(W)×130(H)×400(D)
- 重 量……35 kg

(特徴)

- ① サンプル量が少なくても (Sample volume + 40  $\mu\text{l}$  以上)
- ② サンプル注入量が 1~500  $\mu\text{l}$  の範囲で可変
- ③ 1 ボードコンピュータを内蔵し、操作性が良い。
- ④ 針先をインジェクションポート内で液洗浄できる

構造にしたため、針先でのサンプルの結晶をおさえることができる。

⑤ サンプル冷却可能 (+5°C まで) オプション

3. 原理と構造

Fig. 1 は、本オートサンプラーの原理、構成図を示す。サンプリングバルブ、ニードル保持部、ターンテーブル、3方流路切換弁、計量ポンプ、およびこれらの制御をつかさどるボードコンピュータから構成されており、以下順を追って説明する。

〔1〕 サンプリングバルブ

本オートサンプラーのサンプリングバルブには、信頼性の高い、レオダイ 7125 をベースに、ロータシール、ロータ及びニードルガイドを改造すると共に、バルブ切換の自動化とサンプリングバルブ内でのニードルの洗浄方式を独自の考えで開発した。

従来オートサンプラーの自動化には、ハンドルのレバーをモータに連結したクランクで駆動したり、また通常の歯車を介してモータで一定回転角度、動かす等の手段が行われているが、これらの手段では作動時に切替不良を起こして、サンプリングバルブのストップピンが破損したり、またインジェクション後サンプリングニードルの先端に、前回の資料が付着して、次回の試料の分析に悪影響を与える等の問題があった。ここでは切替えノブ

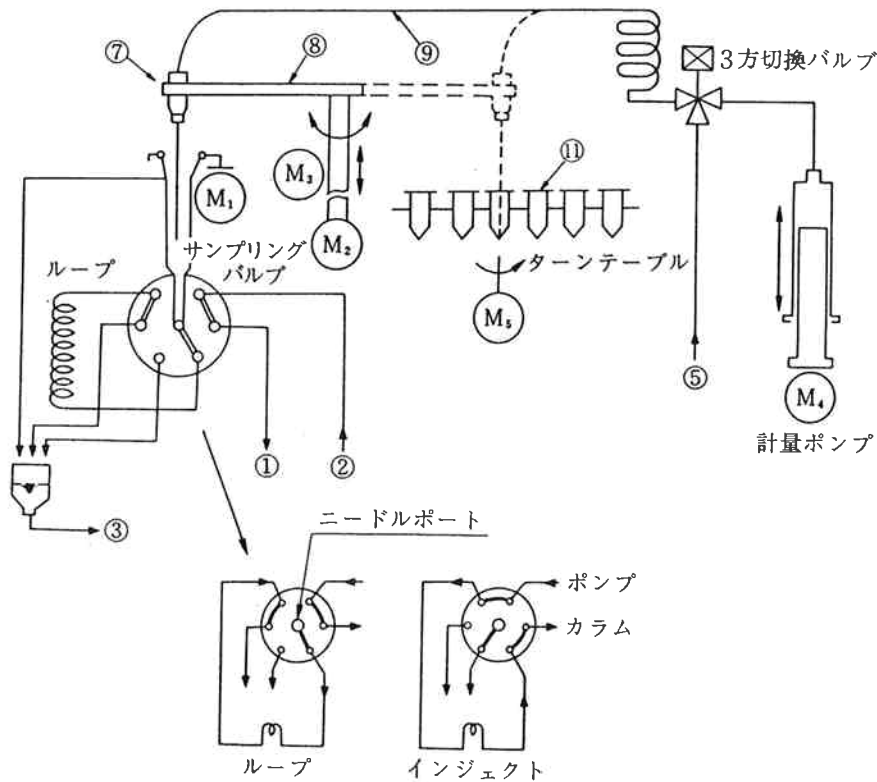


Fig. 1 原理構成

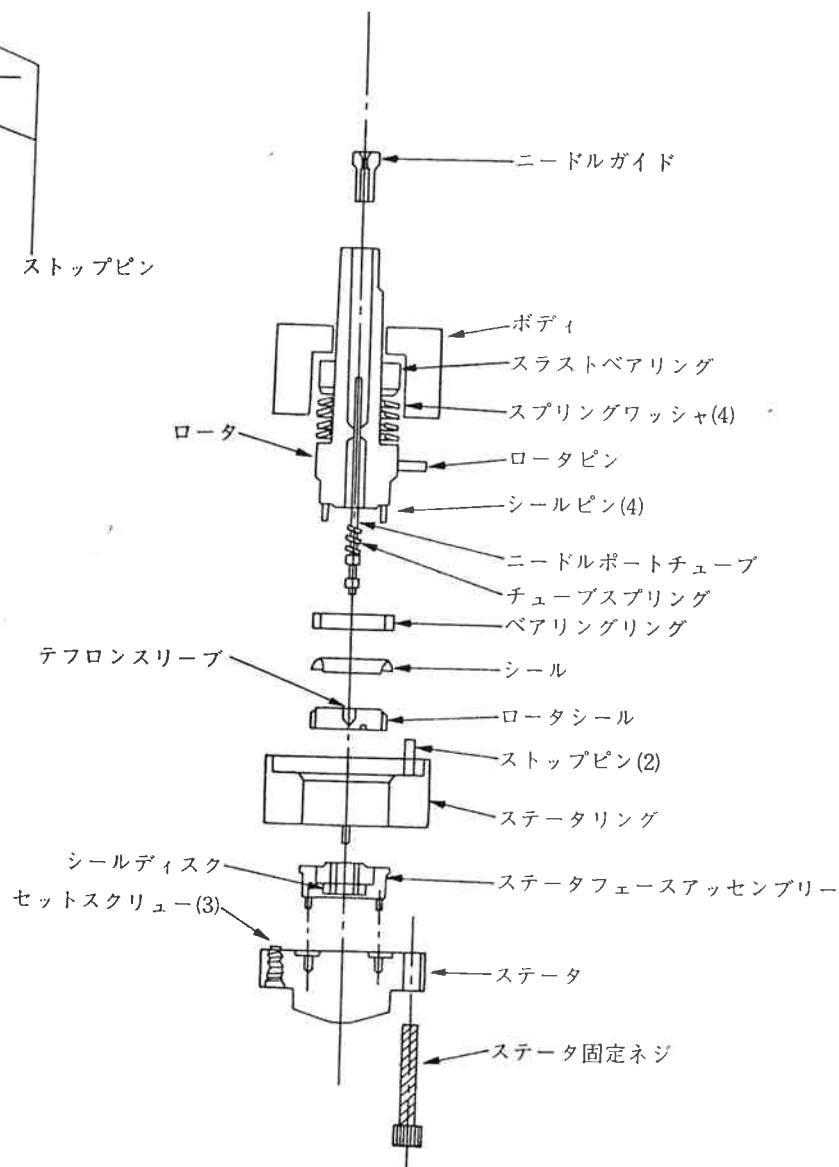


Fig. 2 バルブ分解組立図

の替りにゼネバ溝を有する駆動カムを取付け、回転軸のクランクのロータピンを駆動カムのゼネバ溝に係合させ、サンプリングバルブの切替えを確実に行うようにした。

サンプリングの停止位置は、回転軸の回転角  $\beta$  をクランクの回転  $\alpha$  より予め大きくセットしておくこと、万一停止位置に「ずれ」を生じててもサンプリングバルブの回転角の再現精度に影響を与えず、駆動時の初期トルクの減少とバルブ切替えの再現性向上が計れる。

Fig. 3 にこの状況を示す。

さらにはサンプリングニードルの洗浄のため、サンプリングポート口の外側縁に“O”リングを又、上部にドレン口を設けることにより、使用時ニードル保持部下部とシール性を持たせた上、ニードルをクリーニング位置で止めて、洗浄液を排出することにより、サンプリング

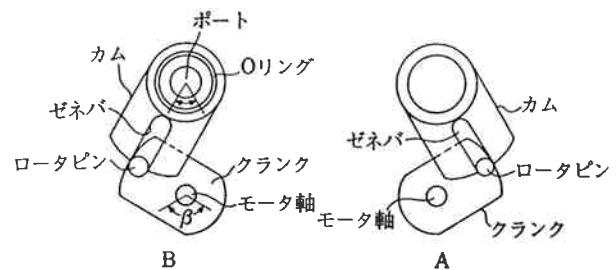


Fig. 3 バルブの切替原理

ニードルの洗浄効果を高めたものである。Fig. 4 にこの状況を示す。

〔2〕 ニードル保持部

Fig. 4 左は、ニードル保持部の詳細を示すもので、上方部がオシネユニオンを介して、テフロン製サンプル保持管に接続するが、ニードル保持部の内部には、上、

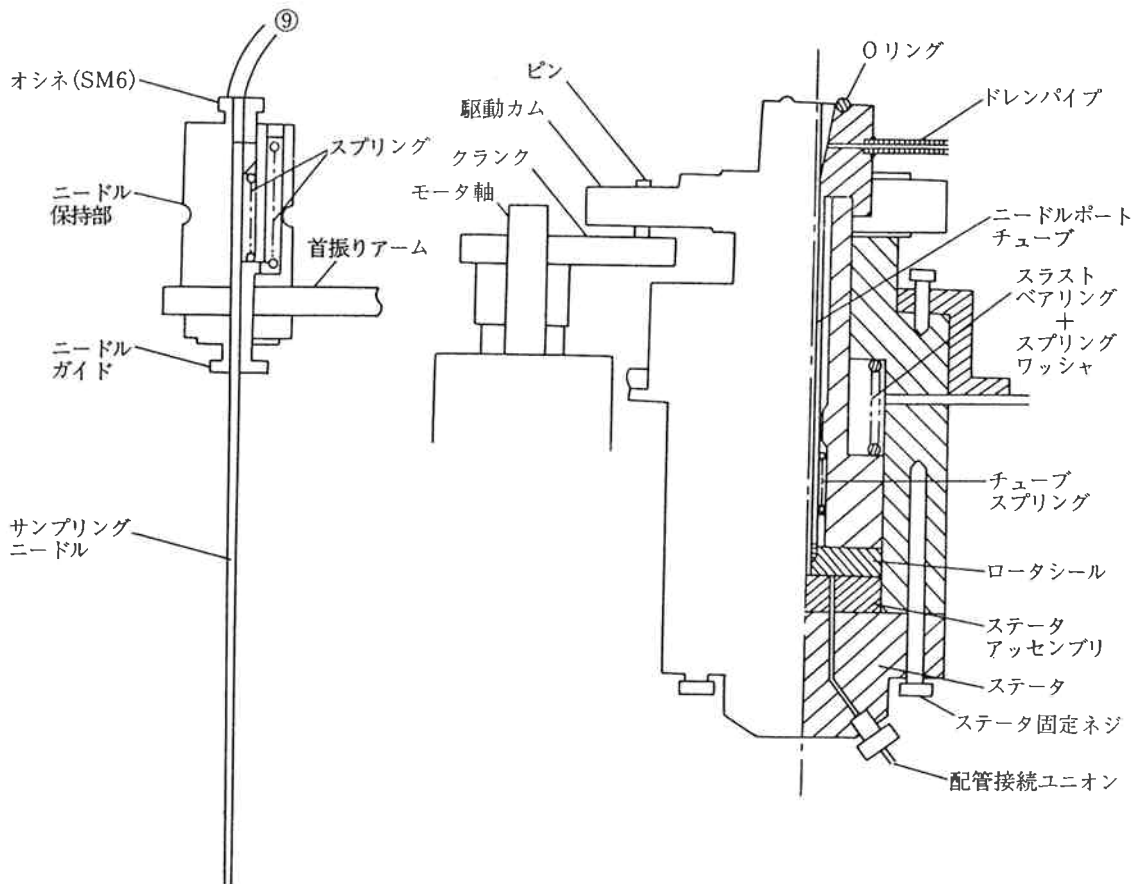


Fig. 4 サンプルングバルブとニードル保持部

下2段のスプリングを介在し、ニードルガイド及びサンプルングニードルにクッション効果を持たせてある。これは前記サンプルングポートにおける洗浄時の“O”リングとのシール性及び試料吸引時試料ピンの底部までサンプルを吸引するさい、ニードルにかかる反力を吸収させるためである。

〔3〕 首振り昇降部

Fig. 5 は、首振りアームとバルブの動きを説明する平面図である。

前記ニードル保持部を首振りアームを介してバルブ位置からサンプル位置まで動かし、試料の吸引のためサンプルング位置まで上、下させ、試料を吸引後バルブ位置まで戻し、サンプルインジェクション及びクリーニングを行うものである。

これらの動作原理を説明すると、首振りは、シンクロモータで平歯車を介して、首振り軸を左、右にまた昇降は別のシンクロモータでウォーム歯車を介して上、下に動かし、ホットセンサーで希望の位置に停止させるものである。尚左、右及び上、下方向はシンクロモータの極性を切換えることによって行っている。

Fig. 6 に当該ホットセンサーの配置を示す。

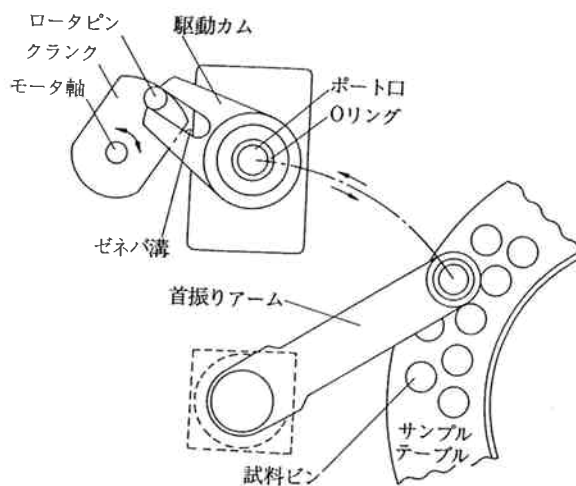
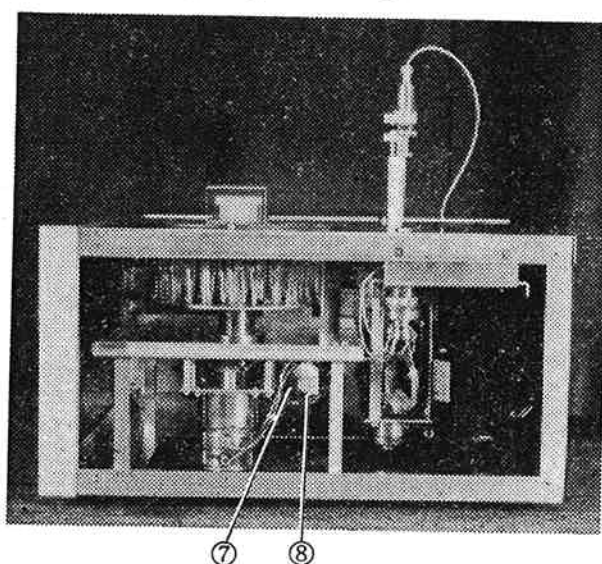
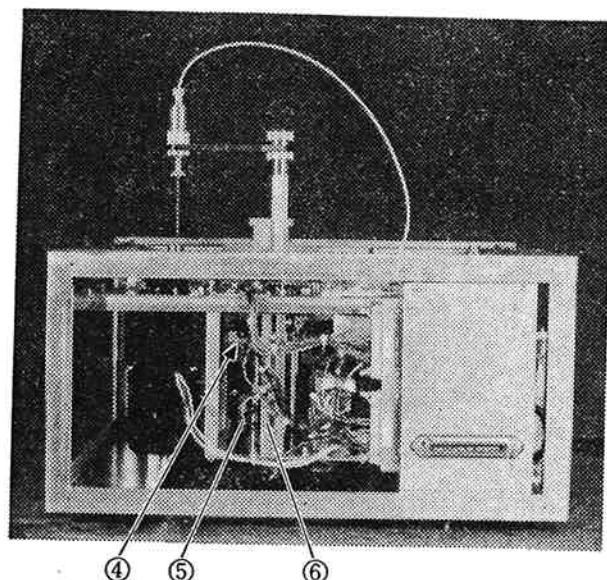
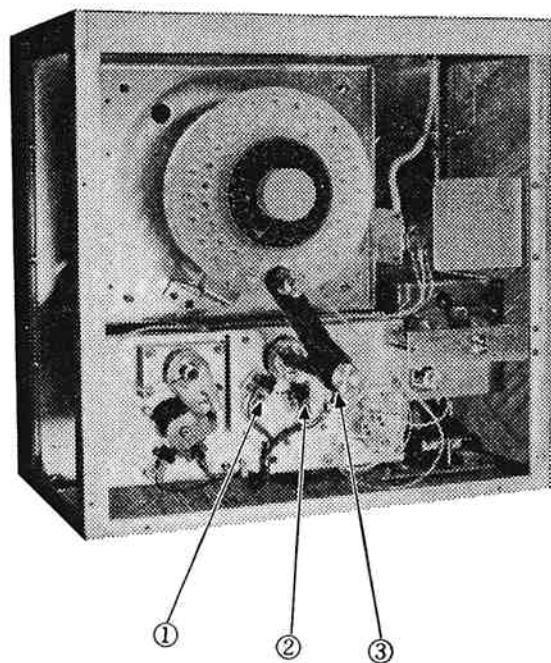


Fig. 5 サンプルング動作

〔4〕 サンプルングテーブル

本オートサンプラーのもう一つの特徴は、首振り機構を利用して、首振り回転軸を中心としたニードルの同一円周上に試料ピンを2列に配置し、小さなサンプルテーブル上に多数の試料ピンを配置したことであり、テーブル上の外側または内側のサンプルかは、サンプル No. のカウント数により判別されて24以下であれば外側のサ



- ①～③：首振り位置決め用  
 ④～⑥：ニードル昇降位置決め用  
 ⑦～⑧：ターンテーブル位置決め用

Fig. 6 ホ ト セ ン サ ー の 配 置

ンプルが指定される。

(Fig. 5 参照)

サンプルテーブルは、シンクロナスマータと2つのホットセンサー及び検出円盤から1ステップ送りとホームポジション復帰が可能である。さらには冷却槽をオプションで取付可能とし、サンプルピンの浮上り防止及びキャップシールを施した。

(3方流路切替弁)

本切替弁は、クリーニング液とサンプル保持管の流路を切替えるもので、死容積が小さく、切替え時の流路に与えるノイズや熱によるエアの発生が小さいものが適している。

ここでは経済性から死容積の小さい電磁弁を選択シ

ル部に放熱器を設置すると共に、作動後の電流を制限し、熱によるエアの発生を極力おさえた。

〔5〕計量ポンプ

本オートサンプラの重要機能部である計量ポンプは、Fig. 7 に示すように、全溶媒に使用できる特殊なガラスポンプ (2,000  $\mu$ l シリンジ用) を採用し、プランジャーをマイクロメータに連結させ、タイミングベルトを用いてステッピングモータにて駆動し、上下動させるものである。

ポンプストロークは、全ストローク 25 mm にて2,000  $\mu$ l の吸引、吐出を行い、1パルス 1.8° で 1  $\mu$ l 当り 10パルスとなる。

尚、計量精度を上げるため、タイミングベルトには、

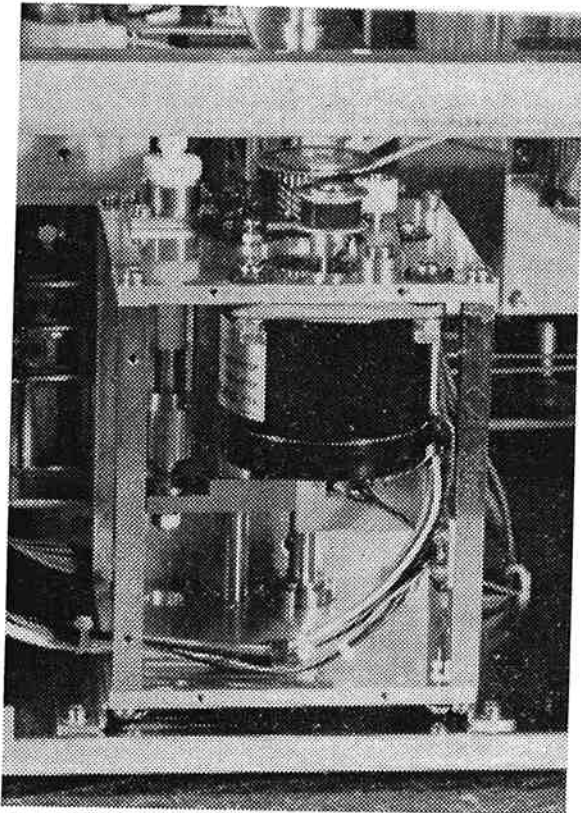


Fig. 7 計 量 ポ ン プ

テンションコントロールも付加した。

#### [6] ボードコンピュータ

本オートサンプラーは、複雑な制御を要求されるため内部に、マイクロコンピュータが使用されている。このコントロールフローダイアグラムを Fig. 9 にまた、制御ユニットを Fig. 8 に示す。

次に Fig. 1 及び Fig. 8, 9 を使って本オートサンプラーの概略の動作を説明する。

電源を入れると、STOP ランプが点灯する。次にスタートボタンを押すと、サンプリングテーブルは、モータ M5 によりホームポジションまで回転し、No. 1 の試料で待機し、ニードルは洗浄位置まで行って止まる。このあと CLEANING 工程に入り 3 方バルブはクリーニング方向となり、ステッピングモータ M4 により計量ポンプは  $2,000 \mu\text{l}$  洗浄液を吸引する。そして CLEANING 位置で停止しているニードル先端から約 70% の洗浄液を吐出し、ニードルポートが洗浄液で満たされ、あふれた洗浄液はポート上部の排出管よりドレントラップへ導かれる。この間にニードル内部と外縁部が洗浄され、さらにバルブ下部からの排出とシール面の洗浄を促すため、インジェクション位置にて残り 30% を吐出させる。

以上が終了すると SAMPLING 工程となり、上、下モータ M2 を介してニードルは持上り、その後首振りアームをサンプリング位置へ持ってゆく。ここでサンプル保持管内でクリーニング液とサンプル拡散を防ぐため、数  $\mu\text{l}$  のエアを吸引する。さらに上、下モータ M2 によりインジェクション位置まで下降させることにより、ニードル先端が資料ビンの底部に達する。3 方バルブを吐出方向に切換え、計量ポンプにより試料を設定 VOLUME +  $30 \mu\text{l}$  吸引する。この後ニードルをサンプルインジェクション位置まで持ってきて  $10 \mu\text{l}$  だけインジェクション位置で吐出せしめ、シール面のデッドボリューム分をサンプルで満たす。

この後バルブをロードに切換え設定サンプル量だけ

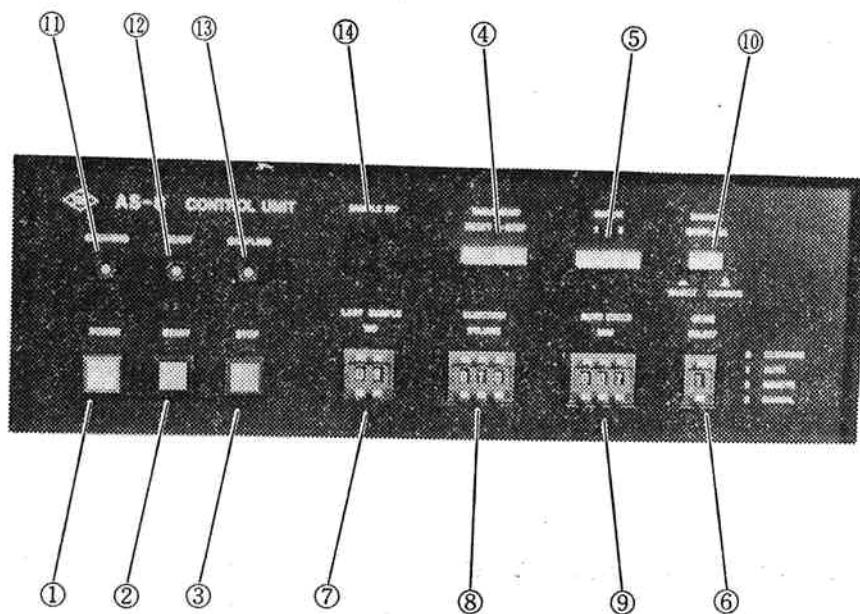


Fig. 8 制 御 ユ ニ ッ ト

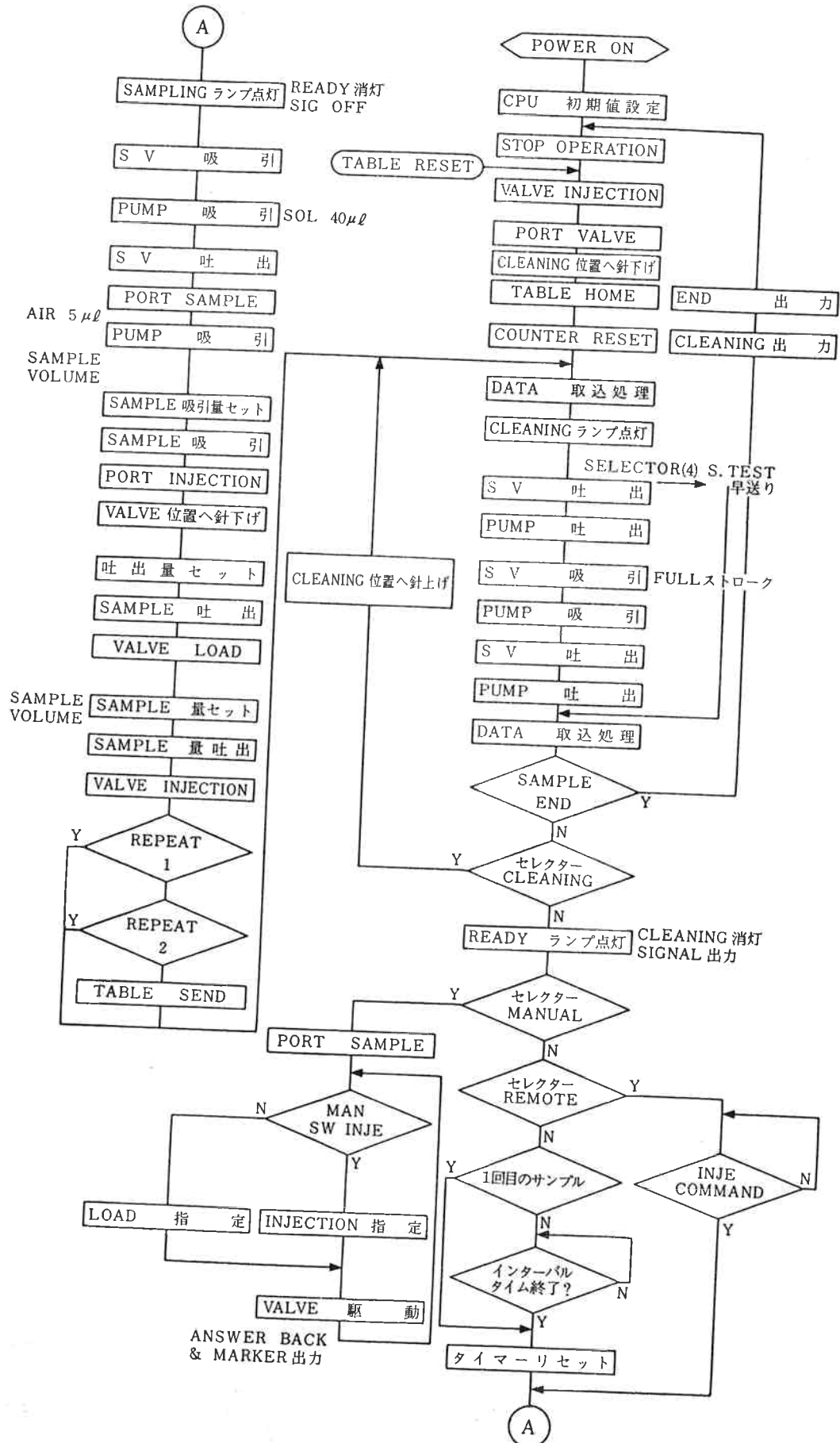


Fig. 9 CONTROL FLOW DIAGRAM

Loop に打込む。打込み終るとすぐにバルブをインジェクション側に切換え、ループ内のサンプルを送液系内に送り込む。

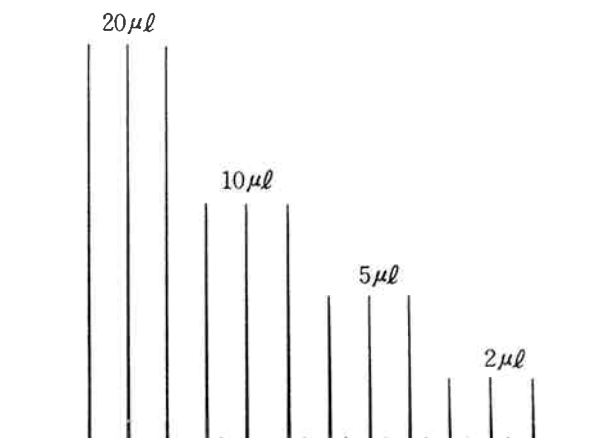
尚シーケンスチェック用として、デジスイッチ4による早送りと異常処置 (インターロック) プログラムを追加した。

#### 4. 評価実験と結果

##### 〔1〕 再現性 テスト

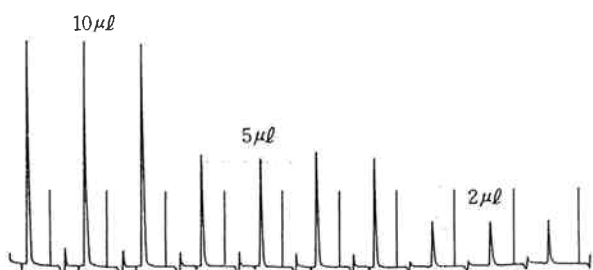
分析条件

Solvent	MeOH
Sample	BENZEN 1.0%
Flow	1.0 ml/min
Column	410 ODS
Detector	UV (254 nm) × 256
Recorder	10 mv/FS 10 cm/hour
Cleaning	MeOH
Sample volume	



分析条件

Solvent	MeOH/H <sub>2</sub> O=50/50
Sample	Phenol 1.0%
Flow	1.0 ml/min
Column	410 ODS
Detector	UV (280 nm) × 16
Recorder	10 mv/FS 10 cm/hour
Cleaning	H <sub>2</sub> O
Sample Volume	

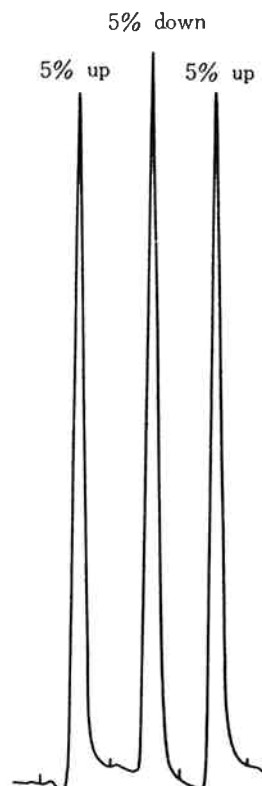


##### 〔2〕 流速変動によるピーク高さの変動

分析条件

Injection volume	10 μl
Flow rate	1 ml/min
Solvent	MeOH
Detector	UV × 32 AUFS

流速が変動するとピーク高さが変動することを示した。

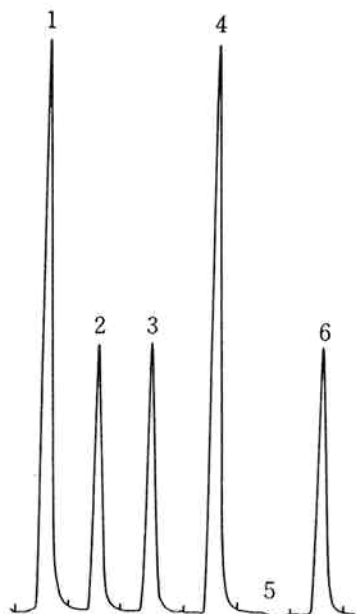


##### 〔3〕 洗浄効果

分析条件

Solvent	MeOH
Flow	1.0 ml/min
Detector	UV (254 nm)
Cleaning	MeOH
Recorder	10 mv/FS 0.5 cm/min
1 & 4—	2.5% BENZEN
2 & 3 & 6—	1.0% BENZEN
5—	MeOH





サンプル濃度が変化した場合のピーク高さの変化を見た。

〔4〕 実サンプルテスト例

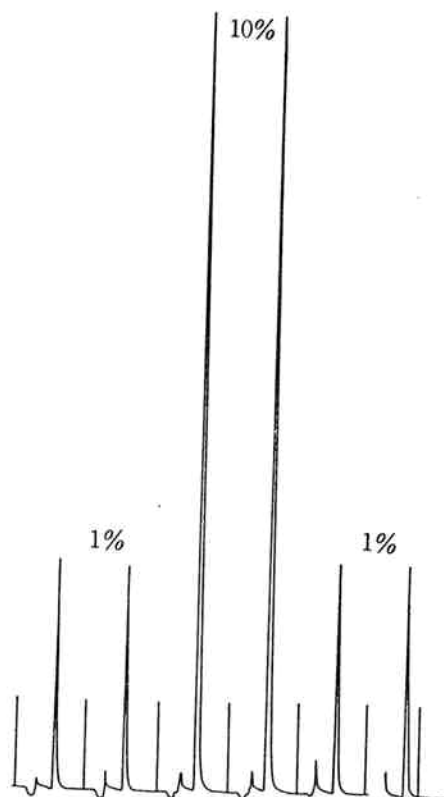
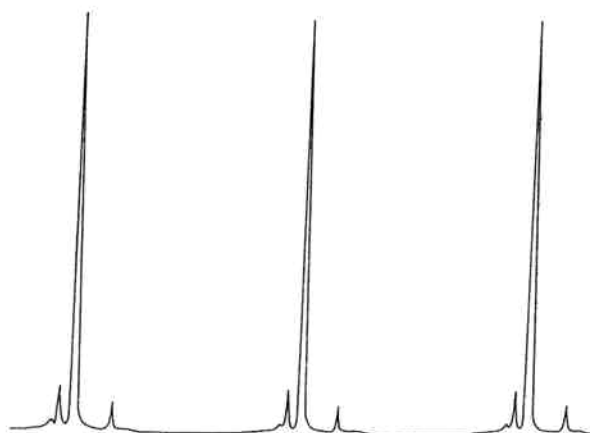
分析条件

サンプル 牛アルブミン (蛋白濃度 5%)  
 カラム SW 3000  
 キャリアー 1/15 Mol リン酸バッファー pH 6.8  
 流速 0.5 ml/min  
 検出器 UV (254 nm) × 0.16  
 記録計 10 mV/FS 1 mm/min  
 クリーニング液 蒸留水  
 サイクルタイム 90 min  
 サンプルボリューム 10 μl

分析条件

Solvent MeOH/H<sub>2</sub>O = 50/50  
 Flow 1.0 ml/min  
 Column 410 ODS  
 Detector UV (280 nm) × 16  
 Sample Phenol  
 1% 10%

Press 196kg/cm<sup>2</sup>



5. おわりに

オートサンプラーに要求される機能として、各種溶媒とサンプルによる再現精度、及び長期間安定して使用できる、及び操作性が良い等が考えられる。本開発によって、再現精度±1%以内で長期間安定して使用できる点で、一応満足できたと考えられ、ここに機能面の検討の一部を紹介し、製品紹介とする。

最後に、本処置の開発に当ってアイデアの提供を頂いた開発部松本勝也氏と開発製造に御協力いただいた日理工業㈱の丸山社長をはじめ関係の皆様へ感謝致します。