株式会社堀場製作所

光透過式遠心沈降法による粒子径測定装置の開発

高分解能測定事例の紹介

山　口　　哲　司

1　はじめに

ナノテクノロジーにより生み出されたさまざまなナノ粒子材料，特に大きさが 100 nm 以下の粒子（いわゆるナノ粒子）が様々な用途で生成されている[1]。粉体工学の分野では，液中分散ナノ粒子のサイズ分布は，簡便に測定できる動的光散乱法[2]（Dynamic Light Scattering，以下 DLS という）で測定されることが多い。この方法では，分布幅の狭い単分散サンプルの測定精度は優れているものの，分布幅の広いサンプルの場合，逆問題を解く粒子径算出演算の特性上，分布幅の測定精度が低い欠点がある。また，分布幅の広いサンプルでは，様々な粒子径の粒子が混在しているため，小粒子が大粒子の影に隠れてしまう現象や，大粒子の散乱光強度が小粒子のそれより粒子径比の 6 乗倍で大きいことから，小粒子の存在が過少評価されてしまう現象などにより粒子径分布を正確に測定できない場合がある。

一方，光透過式遠心沈降法[3]（Disc Centrifugal Photosedimentometry，以下 DCP という）では，測定するサンプル中に様々な粒子径の粒子が混在していても，粒子の質量に依存した沈降速度で沈降するため，重い粒子は速く，軽い粒子は遅く沈降する。つまり，均一の密度を持つ粒子において，粒子径の大きい粒子から小さな粒子に並び直すように分級されながら沈降していく。この大きさ順で落ちてくる粒子の濃度を光の透過率を使って求めるため，先に述べた DLS のような問題は生じず，分布幅精度・分解能が高い粒子径分布を測定することが可能になる。今回開発した光透過式遠心沈降法の粒子径分布測定装置を用い，多峰性サンプルや分布幅の広いサンプルなどを測定し，結果を評価したので報告する。

2　実　　験

2･1　サンプル

装置を評価するためのサンプルとして，Thermo Fisher Scientific（以下 TFS という。）社製の単分散シリカ標準粒子と Sigma-Aldrich（以下 SA という。）社製の単分散シリカ標準粒子，TFS 社製単分散ポリスチレンラテックス（Polystyrene latex，以下 PSL という）標準粒子と TFS 社製で 3 種の単分散 PSL 粒子が，指数等間隔の粒子径を持つ粒子が等量比率で混合されている TFS 社製 Tri-Modal Picket Fence PSL（以下 TPF-PSL という。）粒子，CMP スラリーとして市販されている分布幅を持つ Chemical Mechanical Polishing（以下 CMP という。）用シリカ粒子を準備した。粒子密度は 1980 kg/m^3，屈折率 1.45 である。表 1 に NIST トレーサブルの TFS 社製の 4 種類の単分散シリカ粒子の情報を示す。表 2 に NIST トレーサブルの SA 社製の 4 種類の単分散シリカ粒子の情報を示す。

表 1　シリカ粒子（TFS 社製）情報

カタログ番号	8050	8070	8100	8150
公称径（μm）	0.5	0.7	1.0	1.5
値付径（μm）	0.48±0.02	0.73±0.02	0.99±0.02	1.57±0.02
粒子密度 (kg/m^3)	1830	1980	2010	2180
演算用粒子密度（kg/m^3）	2000	2000	2000	2000
屈折率	1.45	1.45	1.45	1.45
濃度（%）	2	2	2	2

表 2　シリカ粒子（SA 社製）情報

カタログ番号	56799	56796	56798	44054
公称径（μm）	0.15	0.5	1.0	5.0
値付径（μm）	0.15±0.01	0.49±0.02	1.04±0.04	4.83±0.19
粒子密度 (kg/m^3)	1800-2000	1800-2000	1800-2000	1800-2000
演算用粒子密度（kg/m^3）	1900	1900	1900	1900
屈折率	1.45	1.45	1.45	1.45
濃度（%）	5	5	5	5

表 3 に NIST トレーサブルの TFS 社製の 5 種類の PSL 粒子の情報を示す。表 4 に NIST トレーサブルの TFS 社製の ISO 評価サンプル TPF-PSL 粒子の情報を示す。

密度勾配水は，富士フイルム和光純薬製試薬特級スク

表 3　PSL 粒子（TFS 社製）情報

カタログ番号	4011A	4013A	4016A	4018A	4202A
公称径 (μm)	1.1	1.3	1.6	1.8	2.0
値付径 (μm)	1.10±0.02	1.36±0.02	1.59±0.02	1.75±0.02	2.02±0.02
粒子密度 (kg/m³)	1050	1050	1050	1050	1050
屈折率	1.58	1.58	1.58	1.58	1.58
濃度 (%)	1	1	1	1	1

表 4　TPF−PSL 粒子（TFS 社製）情報

名　称	Tri−Modal Picket Fence Sample Log−Spaced, Monodisperse PSL		
値付径（μm）	1.59	2.50	4.00
粒子密度（kg/m³）	1050	1050	1050
屈折率	1.58	1.58	1.58
粒子濃度（%）	0.5		
濃度（%）	33.3	33.3	33.3

ロースを，純水装置（ヤマト科学社製 WE21）にて得た純水（比抵抗値 263 kΩm）にて希釈した水溶液を作成した。シリカ粒子測定時は 8〜24 % の密度勾配層を使用し，PSL 粒子測定時は 2〜6 % の密度勾配層を使用した。演算時には粒子が沈降する範囲に存在するショ糖溶液の平均密度と平均粘度を使用し，密度・粘度・屈折率はすべて温調温度 30 ℃ で校正された値を使用している。

2･2　光透過式遠心沈降法

使用した DCP 装置は，堀場製作所製遠心式ナノ粒子解析装置 Partica CENTRIFUGE で図 1（左）である。図 1（右）にオプションの密度勾配フラクショネータを示す。

光源には LED を搭載し，検出器はフォトダイオードを搭載している。ディスクロータは，アルミニウム製で外径約 200 mm，リファレンス用セルとサンプル用セルをセットするポートを持ち，このセルポートに，セルとセルキャップとセルカップをセットにしたセルユニットを装着する構造である。セルは，角型のアルミニウム製で外径寸法は約 15(D)×約 16(W)×約 35(H) mm，光が透過する部分に窓を設けて，光学ガラス窓材をシールして使用している。セルキャップとセルカップはポリアセタール樹脂を使用している。セルキャップは，溶媒の漏れ防止と打ち込みサンプル用の格納部としての機能を両立している。また，セルカップは，セルを格納保護し，発生する遠心力に耐える緩衝材的機能を有する。セ

図 1　Partica CENTRIFUGE（左），密度勾配フラクショネータ（右）

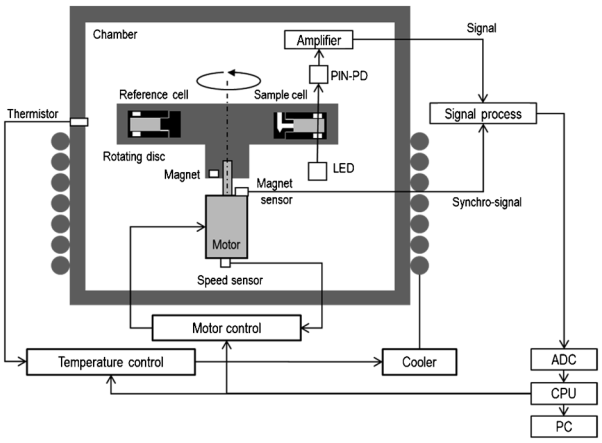

図 2　ブロックダイアグラム

ルのマド部中心が検出位置で，この検出位置の上下に光源と検出器の光軸が合致する構造となっている。測定方法は，一様沈降法とラインスタート法の両法を同じ光学系で，同じセルを使用して計測できるようになっている。ロータの回転制御は，停止状態から 18000 rpm までは定加速度制御，18000 rpm に到達後は一定速で整定制御する。この最大回転数 18000 rpm での遠心力は 30000×g である。ロータの回転摩擦による温度上昇を抑えるため，ロータを囲むチャンバー外周を冷凍器からの冷却配管が巻き付けてあり，セル内の液温が 30 ℃ 一定になるように温度調整を行っている。すべての制御はソフトウェアからの指示で行うとともに，検出器からの信号は，プリアンプで増幅され，AD 変換されたのち PC へデータを転送される。図 2 にブロックダイアグラムを示す。

ラインスタート法での測定時は，オプションの密度勾配フラクショネータを使用する。図 3 に密度勾配フラクショネータの前パネル部を示す。左側のボトルに低濃度側のショ糖水溶液を，右側のボトルに高濃度側のショ糖水溶液を入れて，吸入パイプを差し込み，ショ糖水溶液を吸入し，チュービングポンプを経由してミキシングユニットに導かれ，混合された水溶液はノズルから排出される。ノズルは，セルの底面に接地するようにセットされる。二つのチュービングポンプは，装置制御部で回転数制御を行う。左のポンプスピードは最大速度から徐

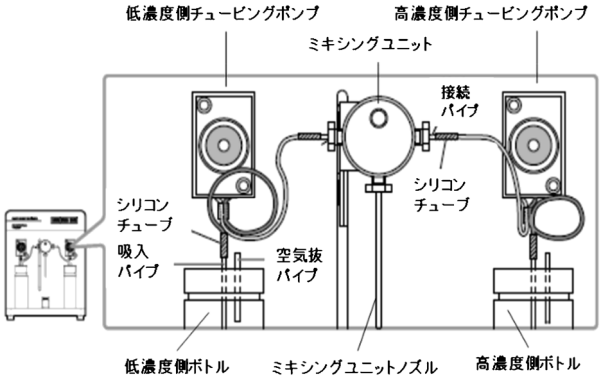

図 3　密度勾配フラクショネータの前パネル部

々に減速し停止へ，右のポンプスピードは停止から徐々に加速する。速度設定は 11 段階で制御する。これにより，低濃度水溶液から順番に高濃度水溶液に切り替えて，セルの底へ注入することで，低濃度，すなわち低密度の液が上へ，高濃度，すなわち高密度の液が下へ層を作る。最後にノズルを抜くと，連続 11 層の密度勾配液ができあがる。

2･3　演算処理

本装置は液相沈降法を基本とし，光透過法による測定を行う。これは，Stokes の沈降式および吸光度と粒子濃度との比例関係を組み合わせた測定法である。詳細は，ISO 13318−2：2007[3] に記載されている。密度 ρ_0 kg/m^3，粘度係数 η_0 Pa･s をもつ溶媒中に存在する粒子径 D m，密度 ρ Pa･s の粒子は，沈降距離 h m，回転中心から測定点までの距離 r m，回転角速度 ω radians/s により，Stokes の沈降式式(1)に従って，速度 V m/s で沈降する。

$$V = \frac{1}{18} \times \frac{(\rho - \rho_0)\, h^2 \cdot \omega^2 \cdot r}{\eta_0} \times D^2 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots (1)$$

本装置の測定方法は，一様沈降法とラインスタート法の 2 方法の選択が可能である。比較的希薄な分散液をそのままで測定する場合は，再現性精度の良い一様沈降法で測定することを推奨する。一様沈降法では，ブランク測定を行った後，サンプル測定を行う。一方，比較的高濃度の分散液をそのままで測定する場合は，高分解能測定が可能であるラインスタート法で測定することを推奨する。ラインスタート法では，校正測定を行った後，サンプル測定を行う。ラインスタート法用のセルキャップにはサンプル注入口があり，測定準備としてここに所定量である 2〜10 μL の校正サンプルや測定サンプルを注入する。ロータが回転を始めると同時に，サンプルは遠心力によって密度勾配液の最上層に打込まれる構造を持つ。ロータは反時計回りに回転し，両セルが交互に LED 光源と検出器との光束を通過するように構成されている。リファレンスセルが通った時の光量を $Ir(t)$，サンプルセルが通った時の光量を $Is(t)$，回転開始時間 $t=0$ から測定終了時 $t=$end まで計測する。回転中心か液面までの距離を x_1 m，回転中心から検出面までの距離を x_2 m，ω_0 radians/s は立ち上がり時の回転角速度，α radians/s^2 は立ち上がり時の加速度を表す。測定後，得られた $Is(t)$ と $Ir(t)$ から式(2)によって吸光度 $ABS(t)$ を求める。

$$ABS(t) = -\log\left(\frac{I_s(t)}{I_r(t)}\right) \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots (2)$$

2･4　粒子径分布演算

式(3)より，横軸の時刻 t を対応する粒子径 $D(t)$ に変換し，縦軸を $ABS(t)$ から頻度 % に変換することで面積基準の粒子径分布が得られる。体積基準の粒子径分布への変換は，$ABS(t) \times D(t)$ で算出される。ラインスタート法では，粒子が沈降する範囲に存在するショ糖溶液の平均密度と平均粘度を使用し，密度・粘度・屈折率はすべて温調温度で校正された値を使用している。

$$D(t) = \sqrt{\frac{18\eta_0 \ln(x_2/x_1)/1000}{(\rho - \rho_0)\,(1/3\alpha^2 t^3 + \omega_0 \alpha t^2 + 1/3\omega_0^2 t)}} \quad (0 \leqq t \leqq t')$$

$$= \sqrt{\frac{18\eta_0 \ln(x_2/x_1)/1000}{(\rho - \rho_0)\,(1/3\alpha^2 t'^3 + \omega_0 \alpha t'^2 + 1/3\omega_0^2 t' + \omega_{\max}^2 (t - t'))}} \quad (t' \leqq t) \quad \cdots (3)$$

演算処理の補正係数として，希釈効果を補正する KAMAC 補正，粒子の屈折率と粒子径による消光係数を補正する吸光度補正，平滑化処理，演算範囲限定処理，乱流補正，粒子形状補正，空隙率補正などの補正処理が選択できるようになっている。

3　結果と考察

3･1　実験結果

DCP 装置の評価のために，単分散標準粒子を使って分解能を評価し，分布の広いシリカスラリーを使って測定再現性・性能を評価した。

表 1 に示す 4 種類の粒子径を持つ単分散シリカ粒子を 1 滴ずつ試験管に滴下し，この混合液から 10 μL サンプリングしてラインスタート法にて測定を行った結果が図 4 の体積基準分布である。校正は，カタログ No. 8100 の 1.0 μm 粒子にて行った。また，4 種類のシリカの密度がそれぞれ異なるため，演算には，平均値 2000 kg/m^3 を使用した。結果はグラフ内に記載している通りで，測定径はモード径で，(値付径) は平均径である。混合液を測定したにもかかわらず，4 ピークに再度分離し，それぞれの測定径は値付径によく一致していることがわかる。

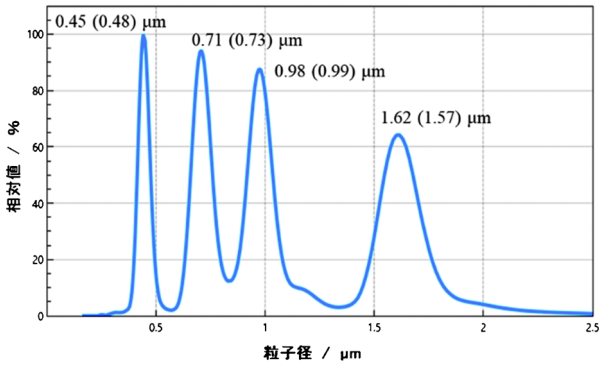

図 4　4 種混合シリカ粒子（TFS 社製）体積基準分布
［データラベル値：測定径（値付径）］

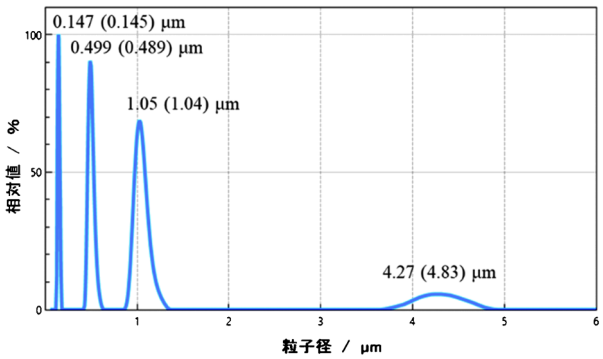

図 5　4 種混合シリカ粒子（SA 社製）体積基準分布
［データラベル値：測定径（値付径）］

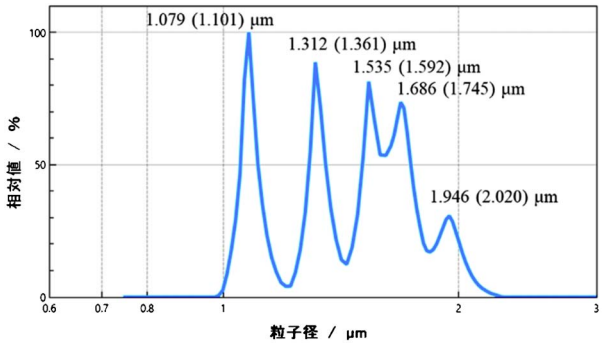

図 6　5 種混合 PSL 粒子（TFS 社製）体積基準分布
［データラベル値：測定径（値付径）］

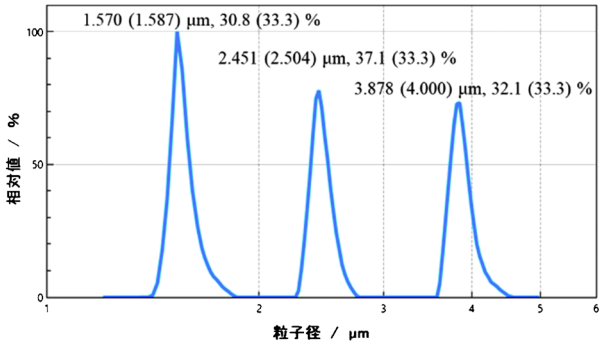

図 7　TPF−PSL 粒子（TFS 社製）体積基準分布
［データラベル値：測定径（値付径），測定濃度（値付濃度）］

表 2 に示す 4 種類の粒子径を持つシリカ粒子を 1 滴ずつ試験管に滴下し，この混合液を 10 µL サンプリングして測定を行った結果が図 5 の体積基準分布である。校正は，カタログ No. 8100 の 1.0 µm 粒子にて行った。4 種のシリカ粒子の密度が一定値でないため，演算には，粒子密度 1900 kg/m^3 を使用した。結果はグラフ内に記載している通りである。測定径と（値付径）はともに平均径である。混合液を測定したにもかかわらず，4 ピークに再度分離し，測定径は値付け径によく一致していることがわかる。公称径 5 µm 粒子の測定径がやや小さいが，密度値が不明であり絶対値の議論は避けたい。

表 3 に示す 5 種類の粒子径を持つ単分散 PSL 粒子を 1 滴ずつ試験管に滴下し，この混合液から 10 µL サンプリングしてラインスタート法にて測定を行った結果が図 6 の体積基準分布である。校正は，カタログ No. 4010A の公称径 1.0 µm 粒子にて行った。結果はグラフ内に記載している通りで，測定径はモード径で，（値付径）は平均径である。混合液を測定したにもかかわらず，1 から 2 µm の間に 5 ピークが確認でき，分解能の高さを証明している。さらに，測定径は値付径によく一致していることがわかる。測定値の差異は，モード径と平均径の差に起因するものと考える。

表 4 に示す 3 種類の粒子径を持つ TPF−PSL 粒子を 10 µL サンプリングして測定を行った結果が，図 7 の体積基準分布である。校正は，カタログ No. 4010A の 1.0 µm 粒子にて行った。結果はグラフ内に記載している通りで，測定径と（値付径）はともに平均径である。本サンプルは，3 種類の粒子を粒子濃度 33.3 % ずつの混合したものであり，測定結果から体積基準分布のピーク面積比から粒子濃度を算出すると，30.8/37.1/32.1 % であった。混合液を測定したにもかかわらず，3 ピークに再度分離し，それぞれの測定径は公称径にほぼ一致しているとともに，混合比もかなり近い値を示していることがわかる。

CMP 用シリカ分散液を純水で吸光度が約 1 となるように希釈し，一様沈降法にてサンプルを作り直しながら再現性確認試験（n=10）測定を行った。表 5 に示す通り，平均粒子径の平均値は 0.1127 µm で，CV % は 0.4 % であった。図 8 は体積基準分布の 10 回測定結果の重ね書きを示す。

3･2　測定時の注意点

遠心沈降法で信頼性の高いデータを得るための注意点を列挙する。

① 測定可能粒子径（上限）：沈降時に乱流が発生しな

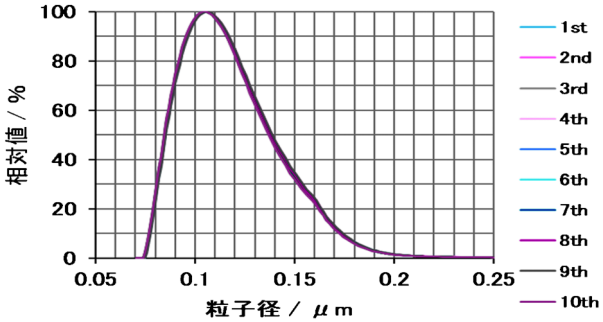

図 8　CMP 用シリカ粒子体積基準分布

表 5　再現性確認試験（n=10）結果

測定番号	平均径（μm）
1st	0.1125
2nd	0.1131
3rd	0.1123
4th	0.1129
5th	0.1125
6th	0.1131
7th	0.1123
8th	0.1130
9th	0.1135
10th	0.1119
平均径（μm）	0.1127
標準偏差（μm）	0.0005
相対標準偏差（%）	0.4 %

い Stokes 域の粒子であること。

② 測定可能粒子径（下限）：ブラウン運動による平均移動距離が，沈降距離の 10 % となる粒子径である。これ以下の粒子はいくら待っても沈降しない。

③ 溶媒粘度選択：粗い粒子を測定するときは，高粘度分散媒を，軽い粒子を測定するときは，低粘度分散媒を使うこと。粘度を上げるには，純水の代わりにポリエチレングリコール水溶液を使用すると良い。

④ 測定対象となる粒子だけでなく，使用する溶媒の密度も正確に把握しておく必要がある。また，異なる密度をもつ粒子の混合系は測定できない。

⑤ ゲル化（一様沈降法）：高濃度サンプルを測定しようとすると，濃縮効果によりゲル化することがある。

⑥ 校正測定（ラインスタート法）：粒子径と密度が既知の粒子を使って，密度勾配液の濃度や液面高さのばらつきなどを校正するために使用する。校正粒子としては，高密度粒子を測定するときは表 1 の TFS 社製のシリカ粒子を，低密度粒子を測定するときは表の TFS 社製の PSL 粒子を推奨する。

4　結　　言

DCP 装置を開発し，単分散の標準シリカ粒子や PSL 粒子を使って性能評価・分解能評価を行った。また，分布を持つシリカ粒子を測定し，その再現性精度の評価を行った。その結果，測定対象物が単分散であっても，広い分布幅を持つものであっても，高い分解能と再現性精度で測定評価可能であることが確認できた。今後の開発・商品化されるナノ材料の評価ツールとして期待できる。

文　　献

1) 一村信吾，飯島善時，山口哲司，叶井正樹，白川部喜春，伊藤和輝，藤本俊幸：“分析化学実技シリーズ 分析編 8. ナノ粒子計測”，(2018)，(共立出版)．
2) JIS Z 8828，粒子径解析−動的光散乱法（2017）．
3) JIS Z 8823−2，液相遠心沈降法による粒子径分布の測定法−第 2 部：光透過式遠心沈降法（2016）．

山口哲司（Tetsuji Yamaguchi）
株式会社堀場製作所科学・半導体製品開発センター（〒601−8510 京都市南区吉祥院宮の東町 2）。広島大学大学院工学研究科博士課程後期修了。博士（工学）。≪現在の研究テーマ≫科学機器製品の研究開発，特に，ナノ粒子計測装置の開発・設計。≪主な著書≫“分析化学実技シリーズ 分析編 8. ナノ粒子計測”（日本分析化学会編），(共立出版)。≪趣味≫山歩き。
E−mail : tetsuji.yamaguchi@horiba.com

会社ホームページURL：
https://www.horiba.com/jpn/

関連製品ページURL：
https://www.horiba.com/jp/scientific/products-jp/particle-characterization/particle-size-analysis/details/cn-300-45781/