



# 粒子物性装置を使用して マルチモーダルサンプルを用いた特性評価

このアプリケーションノートでは、粒度分布測定における粒子径分解能のトピックと、様々な技術の長所と短所について説明します。複数の機器を用いて、複雑な混合サンプルを用いて測定した事例です。技術者が、測定するサンプルの評価に最も適した測定原理を選択することが重要です。

## Introduction

粒子物性解析において、複数の粒子を含むサンプルの分析を求められることが多々あります。この様なサンプルを使用することで、装置の分解能および測定精度を確認することができます。しかしながら、測定結果は、基幹技術、製品設計、サンプル前処理、および基盤となるサンプルの粒子径の違いなど、様々な要因に依存します。多くの場合、2種類の単一粒子サンプルを連続して測定するか（例えば、50 nm、100 nmの単一粒子を個別に複数回測定）、難易度は上昇するが、2種類のサンプルを混合して測定しています（例えば、50 nmと100 nmのビーズを混合して測定し、ピークを分離できるのか確認します）。

この2つは、わずかな違いであるものの、重要な意味を持っています。装置性能をテストするために頻繁に使用されている単一粒子径のラテックス粒子とは異なり、実際に測定するほとんどのサンプルは、複雑な形状や分布を持ち、様々なサイズおよび構成要素の混合物です。そして各粒子径（各成分）ごとに分離することは必ずしも簡単ではありません。そのため、測定装置で混合サンプルを測定した場合に、複数成分のピークを分離できることは非常に有用です。

## 基幹技術の特性

有効な実験を計画するためには、粒子径測定装置を用いて解像度に影響を与え得る様々な要因を議論することが重要です。測定を開始する前に、使用する測定装置の基本性能つまり、測定原理上の最高分解能を把握することが最も重要です。粒子の特性評価において、粒子径測定を行える装置は数多く存在しますが、基盤技術はそれほど多いわけではありません。粒度分布測定装置で最も一般的な技術として、レーザー回折・散乱法、動的光散乱法、コールター法（電気的検知帯法）、画像解析法などが挙げられます。近年では、共振式質量測定法のようないくつかの新技術が登場していますが、これらは市場への浸透が比較的限られているため、ここでは議論しません。

## コールター法（電気的検知帯法）Multisizer 4e

コールター法は、電気インピーダンスにより、粒子径との粒子数を測定します。<sup>1-3</sup> 簡単に説明すると、電解液を満たしたビーカー両端に電極が配置され、液体と電流は、両側に非導電バリアを有する小さな穴（オリフィス）を通して移動することができる構造になっています。このように流体および電気の流れを制限することにより、オリフィスの周りに高密度の電場を作り出します。このことは、大量の電荷を含む少量の液体が存在していると考えられます。粒子が液体中に浮遊して高密度電場を通り抜ける際に、それらは測定可能な電気パルスが発生します。各パルスは粒子の数に対応し、パルスの大きさは粒子の体積に比例します。

コールター法の分解能は非常に高く、理論上の限界はほとんどありません。しかしながら、電気設計、信号解析、シグナルノイズ比など、実用上の制限は存在します。

しかし、これらの制限があっても、コールター法の最上位機種は、5%以上の混合溶液に対するサイズ分解能を持つ

ています。図1に示すように、Multisizer 4eは、0.5  $\mu\text{m}$ 、0.85  $\mu\text{m}$ 、および1.04  $\mu\text{m}$ を中心とした3つの異なる粒子集団を簡単に分離することができます。0.9  $\mu\text{m}$ 付近で、1.04  $\mu\text{m}$ の母集団の左下端と0.85  $\mu\text{m}$ の母集団の右上端が重なり始めます。それでも、その結果から、システムが非常に近い大きさの粒子を正確に区別できることが分かります。この測定手法は、粒子径の分離が非常に重要になる可能性がある研究用途や複雑な混合物に最適です。さらに、この技術のシンプルで生理食塩水を用いる性質から、細胞や生物学的材料の分析にも適しています。

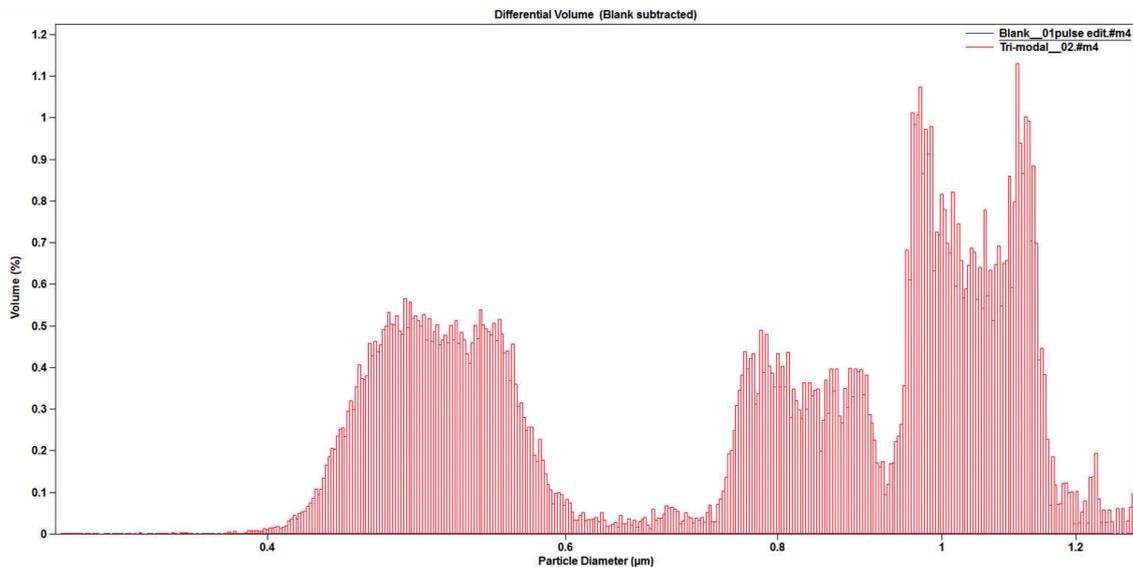


図1. Multisizer 4eで測定した混合サンプルの粒度分布データ

## レーザー回折・散乱法 LS 13 320 XR

レーザー回折は、粒度分布を測定するために静的光散乱の物理的原理を使用しています。レーザー回折の基礎理論については、いくつかの良書が存在しています<sup>4-5</sup>。要約すると、レーザー回折機器は、入射光が粒子群によって散乱される強度と角度を検出し解析します。この挙動をモデル化し、粒子集団の粒度分布に変換する複数の数学モデルがあります。技術自体の究極の理論的分解能は、レーザー波長、検出器の間隔、およびシステムの光学設計（これは、検出器面積とそれによるS / N比を最大化する設計）になります。

例えば、X線回折システムは、極小波長の光を使用して、連続検出システム上でサブナノメートルの分解能を達成しています。工業用の品質管理環境でX線を使用することにはいくつかの実用上の制限があるため、粒子サイズ測定装置は可視および近可視波長光のレーザーが使用されます。

機器の波長はすべての場合において類似しているため、基本的な数学的関係は類似しています。そのため、レーザー回折散乱装置の性能いかんは、検出器の数および検出器の角度間隔がシステム分解能にとって非常に重要になります。つまり、散乱角に対する検出器数が多いほど、正確な分析を行うために多くのデータポイントが得られます。混合物の場合、レーザー回折のシステムは、特定の角度における検出器のサイズ範囲と数に応じて、複数のピークの分解能を提供できなければなりません。0.3  $\mu\text{m}$ と0.5  $\mu\text{m}$ のビーズの混合サンプルに1  $\mu\text{m}$ と2  $\mu\text{m}$ の粒子を加えた、混合粒子サンプルの分析結果を図2に示します。高い分解能を持つ装置を使用することで、近接した粒子を分離したピークが得られていることが分かります。LS 13 320 XRでは、上記の高い検出器の数以外にPIDS (Polarization Intensity Differential Scattering : 偏光散乱強度差計測法) 光学系を搭載しており、通常、検出能力が低下する1  $\mu\text{m}$ 以下のサブミクロン領域においても、大粒子側と同等の検出力を維持することができます。

この結果は、上記のMultisizer 4eの結果よりも狭い範囲での分解能という点では多少分解能が落ちる部分もありますが、レーザー回折は簡単な操作やコールター法よりも幅広いナノ～サブミクロン領域からマイクロ～ミリ領域まで網羅した測定範囲を持ち、広域な測定能力を備えているため、産業用途に最適といえます。

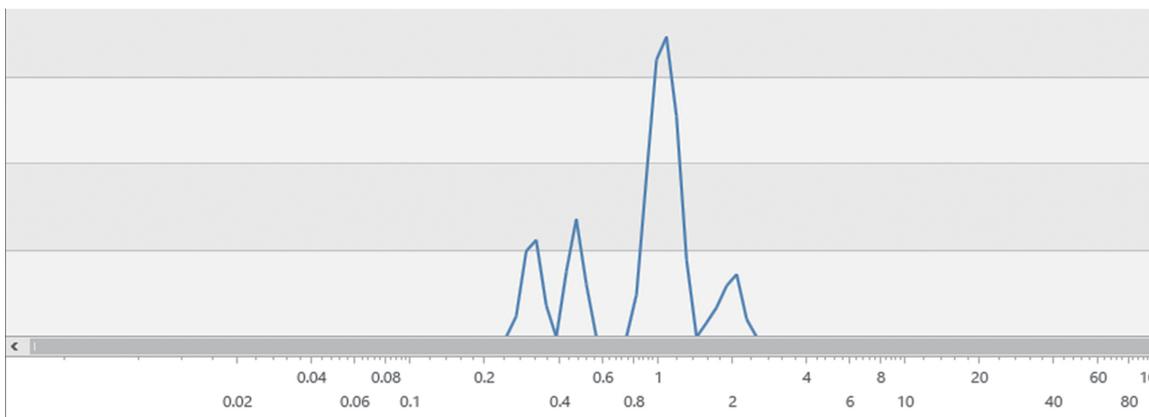


図2. LS 13 320 XRで測定した混合サンプルの粒度分布データ

## 動的光散乱 DelsaMAX

動的光散乱は、簡単にいうと粒子サイズの分析に粒子のブラウン運動を利用しています。

動的光散乱測定では、分散液中に懸濁した粒子を単一の検出器を用いてレーザー経路の特定の角度（通常90または165度）に配置していきます。溶液中に拡散している粒子はランダムに運動し、ランダムにレーザー焦点面を通過します。焦点体積を横切っている間、それらは検出器が置かれる角度を含む多くの角度に光を散乱させます。その結果、検出器で散乱光の強度が変動します。これらの変動が起こる速度は粒子サイズに比例します（大きい粒子はゆっくりと拡散し、変動の頻度は少なくなり、小さい粒子は素早く拡散し、変動の頻度は多くなります。）ランダムな強度変動から粒子サイズを導き出すための数学的定式化は非常に複雑であるため、今回は言及しません。<sup>6-7</sup>

ただし、実験の設定から、最終的な結果に対していくつかの解釈が必要になります。第一に、粒子の集団全体に対して間接的な検出システムが1つしかないため、マルチモーダル粒子のサイズ分布を幅広い正規分布と明確に区別することは困難です。第二に、大きな粒子と小さな粒子の間で散乱強度が大きく異なるため、粒子分割が複雑になる可能性があります。散乱強度は粒子径の6乗 ( $1 \times 10^6$ ) に比例します。つまり、1つの大きな粒子が何百万もの小さな粒子と同じ量の光を散乱します。

粒子径は、最終的な分解能に劇的な影響を及ぼします。一般的に、動的光散乱法測定装置は、ピーク分離に300～600%の粒子径差が求められます。図3は、当社のDelsaMaxが公称直径80 nm、199 nm、506 nmの3種類のラテックス混合物を容易に分離できることを示しています（80～199nmのpeak to peak分解能147%および199～506 nmのピークは159%で分離）。この結果は、この装置の優れた分解能を示しています。不可能ではないにしても、他の動的光散乱法測定装置において同等の結果を得ることは困難であると考えています。

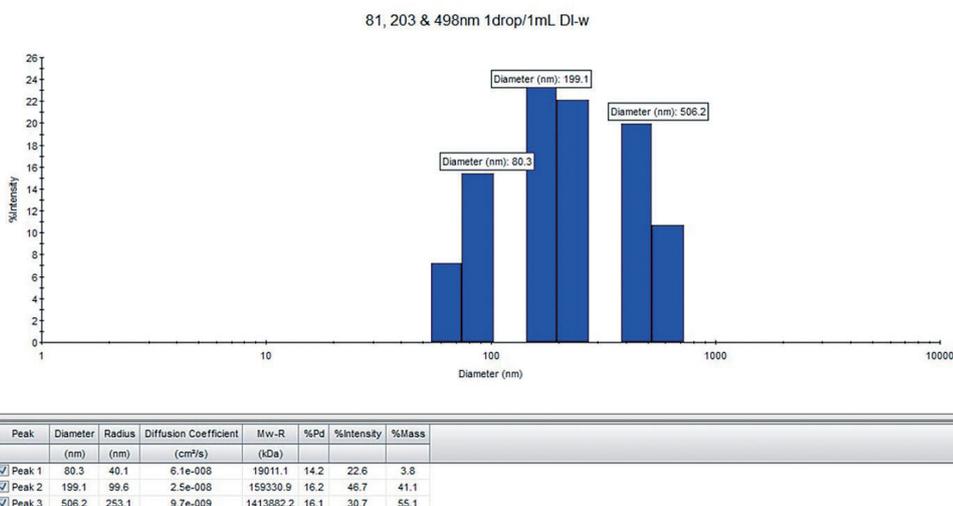


図3. DelsaMaxで測定した混合サンプルの粒度分布データ

画像解析は、非常に高い理論分解能を持つ別の手法です。超高解像度カメラと優れた光学設計により、イメージングシステムはわずか数パーセントの peak to peak 解像度を達成できると考えられます。しかしながら、画像解析ソフトウェア、および多くの実用上の問題が最終的な解像度を制限する可能性があります。これらには、レンズ収差、汚れ/埃、光源のパワー変動、分析アルゴリズムのあいまいさ、および相対サンプル量の少なさが含まれます。最初の3つの要因は比較的理解しやすいものですが、分析アルゴリズムのあいまいさは、ピクセルごとの分析で粒子の真の境界を見分けることが困難になることを意味します。通常、これらの境界は、ピクセル内の色の変化（例えば、明から暗）を観察することによって確立されます。ただし、粒子の焦点が合っていない場合、特に粒子径に誤差が生じることがあります。第二に、イメージングは通常、上記の他の技術よりもはるかに低い統計的信頼性になっています。典型的な画像解析では、数千の粒子が多数と見なされます。ただし、コールター原理、レーザー回折、動的光散乱を使用すると、何百万もの粒子を分析し、統計的信頼性が得られます。それでも、機器が適切に設計されていれば、イメージングは優れた解像度を提供できます。

## 当社測定装置の品質検証

様々な技術を用いた複数の装置で粒子を分析した結果、最も満足できる結果の1つは、すべての結果が一致した場合です。これは、正しい粒度分布が正確に測定されていることを示し、またこの機器が複雑で未知のサンプルを測定することに非常に適していることを表しています。当社測定装置の品質と正確さを検証するために、我々は3つの異なる原理を使用した装置で複雑なサブミクロン混合サンプルをテストしました。図4は、すべての結果がよく一致していることを示しています。使用した混合サンプルの公称ビーズ直径は、81 nm、203 nm、および498 nmでした。Multisizer 4eは203 nmと498 nmのピークを明確に示していますが、81 nmのビーズは検出下限の0.2 μm以下であるために測定できていません。ただし市場にあるコールター法の装置において、この0.2 μmという下限が最も低いことに注目してください。3つの機器すべてが、これらの複雑な混合サンプルを分離できているという事実は、当社の粒子物性測定装置が優れた設計および性能特性を持ち、技術者に対して最大限の信頼を提供できるということです。

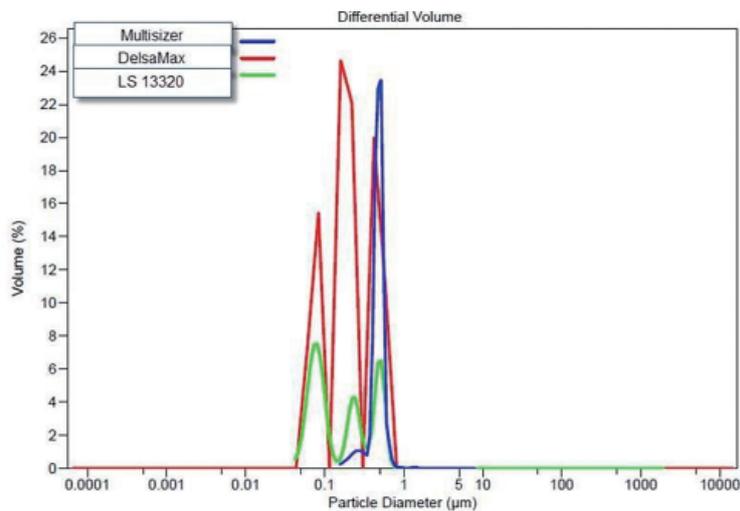


図4 DelsaMax、LS 13 320 XR、およびMultisizer 4eを用いた混合サブミクロンサンプルの粒度分布データ

## References

1. WH Coulter, "Means for Counting Particles Suspended in a Fluid," U.S. Patent #2,656,508, October 20, 1953.
2. WH Coulter, "High Speed Automatic Blood Cell Counter and Cell Size Analyzer," *Proceedings of the National Electronics Conference*, 12 (1957): 1034-1042.
3. MD Graham, "The Coulter Principle: Foundation of Industry," *Journal of the Association for Laboratory Automation* 8, no. 6 (2003): 72-81.
4. De Boer, GB et al. Laser Diffraction Spectroscopy: Fraunhofer Diffraction vs Mie Scattering. Part. Charact. 4 (1987) 14-19.
5. Winscombe, WJ. Improved Mie Scattering Algorithms. *Applied Optics*. 1987. 19 (9) 1505-1509.
6. Goldberg, WI. Dynamic Light Scattering. 1999. 67 (12) 1152.
7. Gulari, E. Photon Correlation Spectroscopy of Particle Distributions. *J. Chem. Phys.* 1979. 70 (8) 3965.

## ベックマン・コールター株式会社

本 社：〒135-0063 東京都江東区有明3-5-7 TOC有明ウエストタワー

お客様専用 ☎ 0120-566-730 ☎ 03-6745-4704 FAX 03-5530-2460  
 e-mail bckkcas@beckman.com URL <http://www.beckmancoulter.co.jp>