

遠心フィールドフローフラクショネーション  
Guideline of Method Development for Centrifugal Filed-Flow Fractionation

# 遠心FFFメソッド開発ガイド



## 概要

本ガイドでは、遠心フィールドフローフラクショネーション（遠心FFF）のメソッド開発手順を紹介します。

遠心FFFは、粒子計測で広く用いられる動的光散乱法（DLS）やレーザー回折法（LD）と比較して、より正確な測定が可能な測定方法です。遠心FFFでは、DLSでは検出できない粗大粒子を検出したり、特定のサイズの粒子を分取して別の測定器で解析したりすることが可能です。

本ガイドでは、有機溶媒中に分散したナノメートルサイズのチタン酸バリウム粒子をモデル試料とし、試料の特性に応じたキャリア液の選定方法、サンプル負荷量の調整方法、分析条件および分取条件の検討方法などを、実例を交えて紹介します。さらに、開発したメソッドによる測定と、分取試料の走査型電子顕微鏡（SEM）による観察を通して、動的光散乱法（DLS）で測定された粒子径分布を超える大きさの粒子がモデル試料に含まれていることを確認します。

分析機器には、島津遠心FFFシステム（FFF-C8030）と島津電子線マイクロアナライザ（EPMA-8500G）を使用します。また、遠心FFFのメソッド開発ではDLSやLDを併用することで効率的に検討を進めることができるため、本ガイドではDLSを使用しています。



# 目次

遠心FFFのメソッド開発ガイド	1
概要	2
1. はじめに	4
2. 測定目的および試料	4
3. システム構成	5
4. 試料の粒子サイズの確認	6
5. サンプル負荷量の検討	7
6. キャリア液条件の検討	8
(ステップ1) キャリア液のリストアップと使用可否の簡易確認	8
(ステップ2) キャリア液の絞り込み	9
7. 分析条件の設定	12
7.1 検出器の選択、回収率の確認、サンプル負荷量の調整	13
7.2 MALS 溶出曲線によるサイズ分級の評価	13
7.3 初期回転数の検討	14
7.4 $T_a$ による分離能／分析時間の調整	15
8. 分析再現性の確認	17
9. キャリーオーバーの確認	18
10. 分取	19
10.1 サンプル負荷量増加によるピーク形状への影響	19
10.2 分取位置の検討	20
10.3 分取の実行	21
10.4 電子顕微鏡による粒子観察	21
11. 流路洗浄	22
12. 装置状態の確認	22
13. 分析システムの保管	23
14. まとめ	23
参考文献	24

## 1. はじめに

これまで、粒子径やその分布の測定には、動的光散乱法 (DLS) やレーザー回折法 (LD) が主に使用されてきました。これらの方法は簡単に測定できる利点がありますが、最近では、材料の微細化や品質の向上に対応するために、より正確な測定が求められるようになり、既存の測定法では対応できない状況も増えてきました。例えば、DLSやLDでは粒子径の分解能が低いため、ロット間の微妙な分布の違いを識別したり、試料中に少量存在する粗大粒子を検出したりすることが難しいという問題が指摘されています。

このような状況の中、新たな粒子計測法としてフィールドフローフラクシオネーション (FFF) が注目されています。FFFには分離場の違いで複数のバリエーションがありますが、当社では遠心力を利用した遠心FFFユニット (FFF-C8030) を提供しています。遠心FFFは、DLSやLDより正確な測定が可能な優れた分析法です。そのシステム構成は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) と類似し、ポンプやオートサンプリャなど多くのユニットがHPLCと共通です。一定の手動操作が必要なDLSやLDに対し、遠心FFFは自動運転が容易なため、分析条件が一度決まってしまう複数のサンプルを連続して測定することが可能です。一方、遠心FFFのメソッド開発は検討すべき条件が多いため、検討に時間がかかります。遠心FFFで測定可能な試料は、金属やセラミックなどの無機化合物、リポソームやLNPなどの有機物、エマルジョンなど、多岐にわたります。粒子の材質、サイズ、表面処理、溶媒など、試料の特性によって適切な分析条件が異なるため、試料ごとに適した条件を探索する必要があります。加えて、遠心FFFはHPLCほど普及していないため参考となる文献や測定例が少なく、手掛かりが少ない状況でメソッド開発を始めなければならない場合も多くあります。

このガイドは、遠心FFFのメソッド開発を初めて行うユーザーを対象に、メソッド開発における検討事項を測定データを交えて紹介することを目的としています。遠心FFFの測定原理や測定法特有の用語などの詳細は、参考文献1や参考文献2で解説していますので必要に応じてご参照ください。また、国際的にはFFFに関する標準規格の策定が進んでおり、ISO/TS 21362 という、FFF初心者にとっての教科書とも言える規格文書が整備されています (参考文献3)。この規格には、遠心FFFのメソッド開発についても詳しく記載されているため、興味のある方はぜひ参照してください。このガイドの内容も、可能な限りISO/TS 21362 を考慮しています。

## 2. 測定目的および試料

このガイドでは、ナノサイズの粒子径分布を持つ試料に少量含まれる粗大粒子の検出と、分画採取した試料の観察を例にしてメソッド開発手順を説明します。ここでは、チタン酸バリウム粒子がメチルエチルケトン (MEK) 中に分散した懸濁液 (粒子濃度 30 %) を、説明のためのモデル試料として用います。

### 3. システム構成

使用するシステム構成を図1に示します。メソッド開発では、複数のキャリア液条件を検討する必要がありますが、ポンプの前段にキャリア液切り替えバルブを設けることでキャリア液の変更作業を自動化できます。FFF-C8030の接液部材はポンプや検出器などシステムを構成する他の装置と同等の耐薬品性を持つため、酸やアルカリをはじめ、有機溶媒など幅広いキャリア液を使用できます。

遠心FFFのメソッド開発では、測定結果が得られた後で最適な検出器を選択できるよう、最初から複数の検出器を使用することが推奨されます。モデル試料のメソッド開発では、検出器としてフォトダイオードアレイ検出器SPD-M40 (PDA)、蛍光検出器RF-20AXS (RF)、多角度光散乱検出器 (MALS) を使用します。PDAは複数の波長の吸光度を一度に測定し、測定後に最適な波長を選択できる点でメソッド開発に適しています。RFは、試料が蛍光を持つ場合に選択性が高い検出器であり、蛍光がない場合でも励起波長と蛍光波長を同一に設定することで光散乱検出器として使用できます。今回は、チタン酸バリウム粒子に対して高い感度が期待できるため、RFを光散乱検出器として使用します。MALSは粒子径や分子量を測定できるため、遠心FFFによるサイズ分級の確認や粒子径分布測定などに活用される、メソッド開発に欠かせない検出器です。

今回は分級した試料を詳細に解析するため分取を行います。そのために、システムの最後にフラクションコレクターFRC-10Aを接続します。

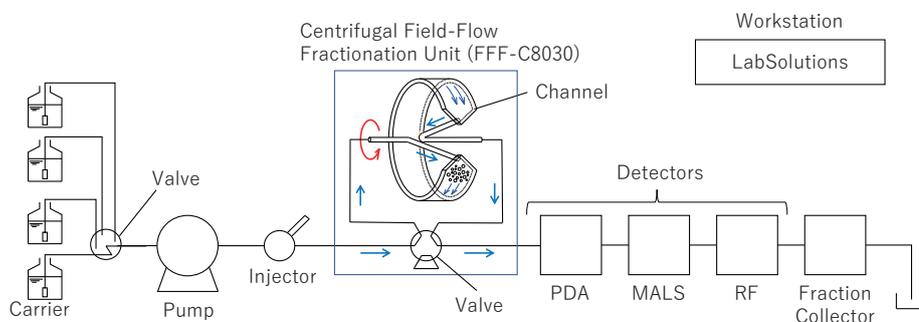


図1 システム構成

## 4. 試料の粒子サイズの確認

メソッド開発を本格的に開始する前に、試料を遠心FFFシステムに注入しても問題ないか判断するため、試料の最大粒子径を確認します。試料中に遠心FFFシステムの許容サイズを超える大きさの粒子が存在する場合、配管が詰まる可能性があるため、あらかじめDLSやLDなどで粒子径分布を測定します。なお、今回使用するFFF-C8030システムで使用されている流路の最小寸法は約0.25 mm（分離チャンネルの高さ、最小配管径）ですが、凝集等も考慮して試料の許容サイズはこれよりも小さく設定されており、粒子径約20  $\mu\text{m}$ が上限です。

モデル試料をDLSで測定すると平均粒子径は約40 nm、分布幅は18 ~ 100 nmとなりました（図2）。このように、試料の粒子径分布が許容粒子サイズ（20  $\mu\text{m}$ ）より十分小さいことが確認できれば、遠心FFFシステムに注入して問題ありません。なお、この時に測定した平均粒子径や分布の情報は、後で分析条件を決定する工程でも利用します。

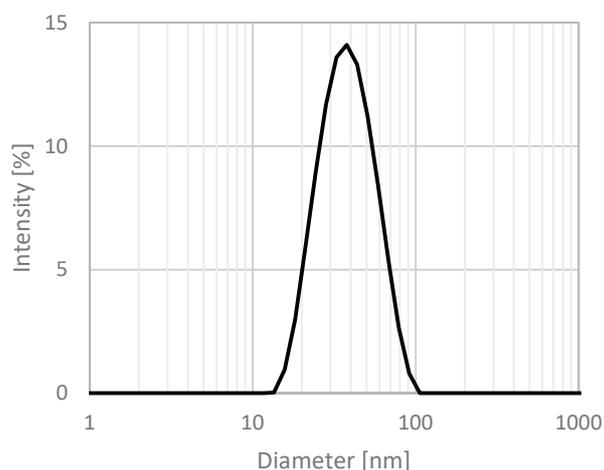


図2 測定試料をDLSで測定した結果

## 5. サンプル負荷量の検討

試料を遠心FFFシステムに注入できることが確認できたら、本格的な条件検討を開始します。最初に、システムに注入するサンプルの負荷量（試料濃度 × 注入容量）を決定します。遠心FFFの測定では、適切なキャリア液を使用しないと、試料が吸着してチャンネル（Channel、図1）が汚染される可能性があります。メソッド開発の初期段階では適切なキャリア液がわからず汚染の可能性があるため特に注意が必要です。そこで、チャンネルの汚染を最小限にし、万が一汚染が発生した場合でも洗浄を容易にするため、この段階では試料の注入量をできるだけ少なくします。ただし、負荷量が少なすぎると検出できなくなるため、検出器のS/Nが十分得られる負荷量は確保する必要があります。具体的には、システムに試料を注入した時のピーク高さから信号強度とノイズの比（S/N）を求め、適切な負荷量を検討します。ワークステーションソフトウェア「LabSolutions™ LC/GC」において、FFF-C8030の「Flow Line」パラメータに「Bypass」を選択すると、FFF-C8030に内蔵されたバルブが切り替わって分析が実行されます（図1を参照）。その結果、試料が分離チャンネルを通らずに試料注入装置から直接検出器に流れるようになります（Bypass 流路）。これにより、分離チャンネルへの試料吸着リスクが低い状態で負荷量を検討できます。

この段階では、基本的にはキャリア液には試料の分散媒と同じものを使用します。ただし、すでに使用するキャリア液が決まっていればその限りではありません。測定は、Bypass流路で流量1 mL/minで行います。各検出器で観測されたピーク高さを信号強度（S）とし、LabSolutions LC/GCのノイズ計算機能を使用してノイズ（N）を算出します。次の工程（キャリア液条件の検討）ではピーク幅が広がってピーク高さが低下するため、この工程でS/Nが約1000以上となる負荷量を選択します。ただし、キャリア液を変更すると検出感度が変わる可能性があります。その場合は、必要に応じてこの工程に戻ってサンプル負荷量を再検討します。

モデル試料では、MEKをキャリア液として用いて測定を行いました。測定時の吸光度検出器のピーク形状を図3に、サンプル負荷量ごとの検出器のS/Nを表1に示します。本試料では、全ての検出器でS/Nが1000以上となった3 µgをサンプル負荷量として設定しました。

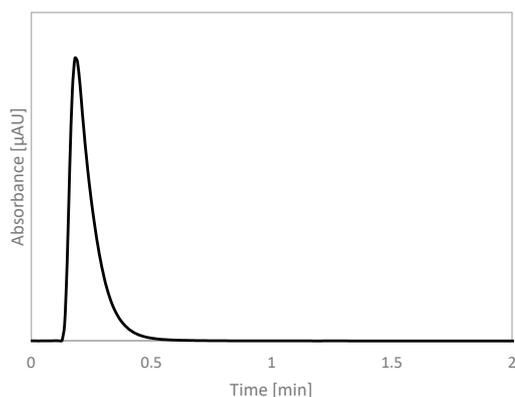


図3 Bypass 流路で測定した結果(PDA、波長 350 nm)

表1 測定試料の濃度と注入量

負荷量	試料濃度	注入量	S/N(PDA)	S/N(RF)	S/N(MALS)
0.3 µg	0.03 mg/mL	10 µL	503	93	14
0.6 µg	0.03 mg/mL	20 µL	1197	194	223
1.5 µg	0.03 mg/mL	50 µL	2202	841	618
3 µg	0.3 mg/mL	10 µL	4614	1837	1263

## 6. キャリア液条件の検討

次に、分析に使用するキャリア液条件を検討します。遠心FFF分析ではキャリア液の選択が分析結果に大きな影響を与えるため、メソッド開発においては特に重要な工程です。ここでは、2つのステップに分けて検討する方法を紹介します。ステップ1はキャリア液のリストアップと使用可否の簡易確認で、ステップ2は回収率を指標としたスクリーニングです。

### ステップ1 キャリア液のリストアップと使用可否の簡易確認

遠心FFFのキャリア液は、基本的に試料溶媒と似た組成の液体が使用されます。例えば、試料が水系溶媒中に分散している場合は水系のキャリア液、有機溶媒中に分散している場合は有機系のキャリア液などです。試料溶媒と全く同じ組成のキャリア液を使用することが理想的ですが、より良い分析結果を得るために組成を変更することもあります。例えば、水系キャリア液の場合は界面活性剤の添加やpHおよびイオン強度の調整、有機系キャリア液の場合は極性の異なる溶媒への変更や混合溶媒の使用、有機酸・有機塩基の添加などが考えられます。

ステップ1では、可能な限り多くの候補を挙げてキャリア液として使用可能かどうかを確認します。確認方法としては、候補となる溶媒で試料を分散または希釈し、試料の沈殿（凝集）の有無を目視で確認する方法が最も簡便です。さらに、DLSやLDなどを使用して平均粒子径や分布の変化を確認すれば、キャリア液によるサンプルへの影響をより詳細に判断することができます。

モデル試料を複数の溶媒で希釈した結果を図4に示します。水やヘキサンなどで希釈した場合、図4（右）のような沈殿が見られました。希釈時に粒子が沈殿する溶媒は、キャリア液として使用できないため候補から除外します。一方、図4（左、中）のように沈殿が見られない溶媒はキャリア液の候補になり得ます。本試料については、MEK、エタノールで希釈した時にDLSで測定した平均粒子径が大きく変化しないことも確認されました。こうした検討を通じて、本試料ではエタノールとMEKをベースとした計4種類のキャリア液を次の工程でスクリーニングする候補としました。

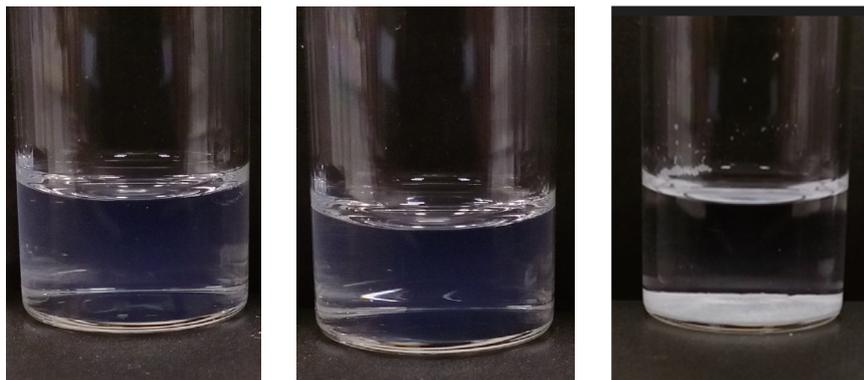


図4 MEK(左)、エタノール(中)、純水(右)で希釈した場合の分散液(Day1)

## ステップ2 キャリア液の絞り込み

ステップ2では、実際に試料を遠心FFFシステムに注入し、回収率を測定してキャリア液候補を絞り込みます。回収率 (Recovery)  $R\%$  は、以下の式で計算されます。

$$R\% = \frac{A_{S1}}{A_D} \times 100 \quad \text{または} \quad R\% = \frac{A_{S2}}{A_D} \times 100 \quad (1)$$

ここで、 $A_{S1}$  および  $A_{S2}$  は試料を分離チャンネルに通して測定したピーク面積で、それぞれ測定条件と目的が異なります。 $A_{S1}$  は分析の間ローターを停止させたまま測定したピーク面積であり、試料と分離チャンネル壁面との間の相互作用を判断するために用います。 $A_{S2}$  は、ローターを回転させた状態で分析を開始し、その後、回転数を減衰させて測定したピーク面積であり、分離のための遠心力を付加したときの回収率を判断する目的で用います。 $A_D$  は同じ負荷量の試料を Bypass 流路 (試料が分離チャンネルを通らず直接検出器に流れる流路) で測定したピーク面積です。

ステップ2の目的はあくまでキャリア液候補を絞り込むことなので、 $A_{S2}$  の測定では、Power Programme 法 (詳細は 7.4 参照) による回転数の減衰は行わず、初期回転数で一定時間動作した後にローターを停止させる方法を採用します。これにより、短時間で試料の溶出を終えることができるため、検討するキャリア液候補が多い場合に特に有効です。ただし、試料に遠心力がかかる時間が短くなることで、実際の分析条件よりも回収率が高くなる可能性があることに注意が必要です。ISO/TS 21362 では、目安とする回収率は少なくとも 70 % 以上、良好な分級を行うためには 90 % 以上にすることが推奨されています。

各条件の分析メソッドの設定例を表2に、 $A_{S2}$  の測定におけるローター一回転数の時間推移を図5に示します。

表2 LabSolutionsにおける分析条件の設定例 (各項目の詳細は参考文献2を参照)

項目	記号	値 ( $A_D$ ) の測定	値 ( $A_{S1}$ ) の測定	値 ( $A_{S2}$ ) の測定	LabSolutionsにおける初期値	単位
Flow Line		Bypass	Channel	Channel	Channel	
Channel Flow Rate	$Q$	1	1	1	1	mL/min
Rotational Speed of Constant Field	$N_0$	0	0	6000	5000	rpm
Injection Delay Time	$T_{inj}$	0	1	1	1	min
Relaxation Time	$T_{relax}$	0	0	2.5	2.5	min
Period of Constant Field	$T_1$	3	20	5	10	min
Decay Constant	$T_a$	—	-20	-20	-40	min
Power of Field Decay	$p$	—	4	4	4	min
Total Period of Field Decay	$T_{tot}$	—	0	0	60	min
Rinse Time	$T_{rinse}$	—	0	30	0	min
Rinse Flow Rate	$Q_{rinse}$	—	1	1	1	mL/min

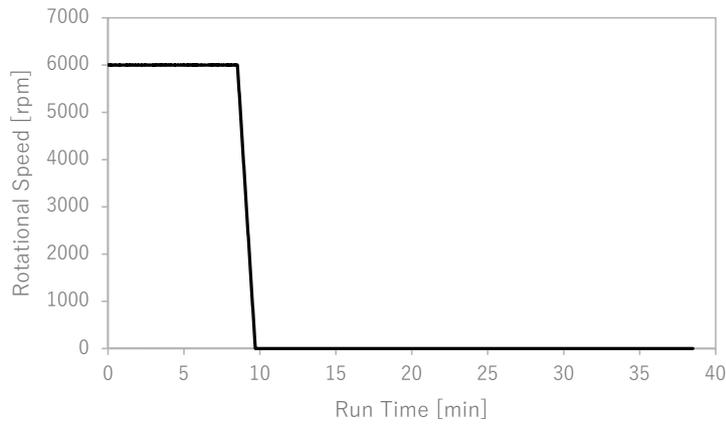


図5  $A_{S2}$ の測定におけるローター回転数の推移

$A_{S2}$ の測定における初期回転数  $N_0$  は下記の式で計算される Retention parameter  $\lambda$  を用いて、 $t_R/t_0 > 5$  となるように設定します。

$$\lambda = \frac{6kT}{\pi d^3 G w \Delta \rho} \quad (2)$$

$$\frac{t_R}{t_0} = \frac{1}{6\lambda \left[ \coth\left(\frac{1}{2\lambda}\right) - 2\lambda \right]} \quad (3)$$

ここで、 $w$  はチャンネルの高さ、 $k$  はボルツマン定数、 $T$  は絶対温度、 $d$  は粒子直径、 $G$  は初期重力加速度であり、チャンネルが回転する半径を  $r$  として

$$G = r \left( \frac{\pi N_0}{30} \right)^2 \quad (4)$$

で計算します。 $\Delta \rho$  は密度差で、 $\rho_s$  を試料密度、 $\rho_c$  をキャリア液密度として  $\Delta \rho = \rho_s - \rho_c$  で与えられます。また、 $t_R$  はリラクゼーション終了時を起点としたときの試料の溶出時間 (Elution Time: 図 6 参照) であり、 $t_0$  は Void の溶出時間です (参考文献 2)。モデル試料では、DLS 測定で得た粒子径分布の最小値 (約 18 nm) に対して  $t_R/t_0$  を計算し、初期回転数  $N_0$  を 6000 rpm としました。この計算に用いた値を表 3 に示します。

表3 初期回転数 $N_0$ の計算に用いた値

項目	記号	値	単位	備考
ボルツマン定数	$k$	$1.38 \times 10^{-23}$	$\text{m}^2 \text{kg}/\text{s}^2/\text{K}$	定数
温度	$T$	293	K	20℃として計算
流路高さ	$w$	$250 \times 10^{-6}$	m	FFF-C8030のチャンネル高さ
ローターの回転半径	$r$	$99 \times 10^{-3}$	m	FFF-C8030におけるローターの回転半径
粒子径	$d$	$18 \times 10^{-9}$	m	DLS測定で得た粒子径分布の最小値で試算
試料密度	$\rho_s$	$6.02 \times 10^3$	$\text{kg}/\text{m}^3$	チタン酸バリウムの密度
キャリア液密度	$\rho_c$	$0.9982 \times 10^3$	$\text{kg}/\text{m}^3$	20℃の純水の密度
Void溶出時間	$t_0$	162	sec	チャンネル容量2.7 mLと流量から試算

キャリア液ごとにモデル試料の回収率を測定した結果を表4に示します。MEKのように、初期回転数0 rpmのときにピークが確認できない場合は、キャリア液として使用するには不適切です。エタノールのように、初期回転数0 rpmで比較的回収率が高くても、遠心力がかかる6000 rpmで回収率が下がるキャリア液も同様に不適切です。本試料では、エタノールに0.01%の酢酸を添加したキャリア液が最も回収率が高くなりましたので、このキャリア液を使用して次工程の検討を行います。ただし、これ以降の検討過程で回収率が低くなる、あるいは、分析性能（分離能、サンプル負荷量など）が目標を満たさないこともあります。そうした場合は、再度キャリア液の検討が必要です。具体的には、添加剤濃度やpH（キャリア液溶媒が水系の場合）を微調整することが多いですが、全く別の候補を再探索する場合があります。

表4 キャリア液ごとの回収率測定結果 (RF)

キャリア液	回収率 (0 rpm)	回収率 (6000 rpm)
MEK	0 %	No data
0.2 % acetic acid in MEK	60 %	0 %
Ethanol	86 %	62 %
0.01 % acetic acid in Ethanol	99 %	100 %

## 7. 分析条件の設定

キャリア液が決まったら、測定を実行するために必要なパラメータを設定します。遠心FFFにおける主な分析条件に対して、今回の試料に対する設定値とその求め方を表5に、分析の流れを図6に示します。

表5 遠心FFFにおける主要な分析条件

項目	記号	設定値	LabSolutionsにおける初期値	単位	求め方
Channel Flow Rate	$Q$	1	1	mL/min	通常は1 mL/min とします。
Rotational Speed of Constant Field	$N_0$	6000	5000	rpm	式(2)、(3)、(4)より求めます。
Injection Delay Time	$T_{inj}$	1	1	min	FFF-C8030の標準的なシステムでは1 minとします。(試料注入装置から分離チャンネルまでの配管容量とキャリア液流量に応じて決まる)
Relaxation Time	$T_{relax}$	2.5	2.5	min	以下の式より計算します。 $T_{relax} \geq 1.5 \times \frac{18\mu w}{\Delta \rho G d^2} \quad (5)$ ここで、 $\mu$ はキャリア液の粘度です。
Period of Constant Field	$T_1$	10	10	min	通常、10 minとします。
Decay Constant	$T_a$	-80	-40	min	$T_a = -8 \times T_1$ とします。
Total Period of Field Decay	$T_{tot}$	60	60	min	初回は減衰終了時の回転数が200 rpm以下になるように設定します。以降は実際の測定結果を参照し、試料の溶出完了後にローターの回転が停止するように調整します。
Power of Field Decay	$p$	4	4		通常4を設定します。
Rinse Time	$T_{rinse}$	20	0	min	20 min以上が推奨です。
Rinse Flow Rate	$Q_{rinse}$	1	1	mL/min	Channel Flow Rateと同じかそれ以上に設定します。
Injection Volume	$V_{inj}$	10	—	$\mu\text{L}$	
Concentration of Sample	$c$	0.3	—	mg/mL	

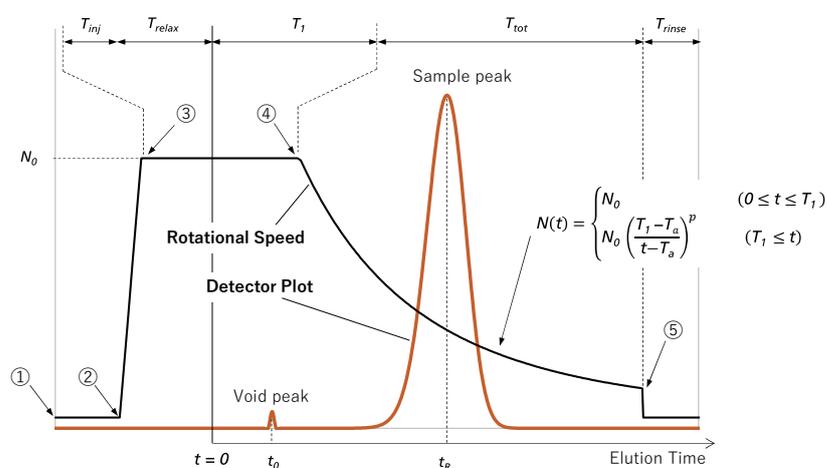


図6 遠心FFFにおける分析の流れ

- ① キャリア液の送液開始、② 分析開始(ローターの回転開始)、
- ③ 試料注入、④ ローター減衰開始、⑤ ローター停止(リンス開始)

## 7.1 検出器の選択、回収率の確認、サンプル負荷量の調整

複数の検出器を使用する場合は、最終的に分析の目的と照らし合わせて最もふさわしい検出器を選択します。試料、キャリア液、分析条件などが影響して検出感度やベースラインの安定性が変わるため、実際の測定結果を見てどの検出器が適切かを検討する必要があります。検出器のS/Nが十分でない場合は、サンプル負荷量（濃度×注入容量）を増やすことも検討します。同時に回収率も確認し、回収率が低い場合には添加剤濃度、pH、溶媒の混合比を見直すなど、キャリア液組成を再検討します。

表5に示す条件でモデル試料を分析した結果を図7に示します。この時の回収率は90%以上（RF、MALS）でした。このように、検出器でピークが確認され、高い回収率があればサンプル負荷量とキャリア液組成は適切と考えられます。また、本測定のように試料中に少量含まれる粗大粒子の検出を目的とする場合は、できるだけS/Nが高い検出器を選択します。本試料については、S/Nが最も高いRF（ $S/N \approx 700$ ）をモニター用の検出器として使用します。なお、MALSはRFに比べてS/Nが劣りましたが（ $S/N \approx 110$ ）、溶出粒子のサイズを測定するために引き続き使用します（次節参照）。

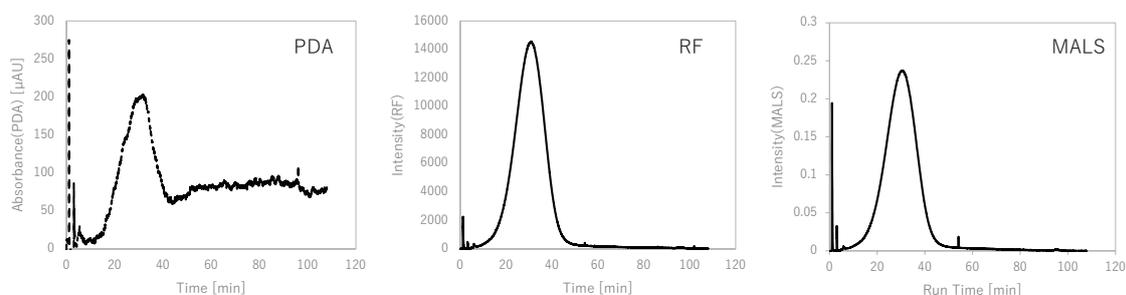


図7 測定結果

## 7.2 MALS 溶出曲線によるサイズ分級の評価

MALSを利用すると、試料粒子の回転半径（慣性半径、rms radius）、粒子径、分子量の溶出曲線を測定することができ、これらの測定結果から遠心FFFによる試料のサイズ分離が適切に行われているか評価できます。

図8に、前節の測定においてMALSで測定した回転半径の溶出曲線を示します。このように、分析時間に対して溶出曲線が単調増加していれば、遠心FFFによって試料が適切にサイズ分級されたと判断されます。

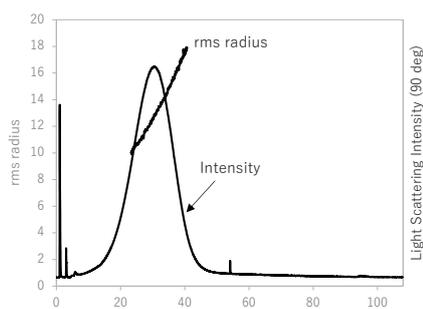


図8 MALSで測定した回転半径の溶出曲線

### 7.3 初期回転数の検討

遠心FFFの分析では、試料溶媒や遠心力がかからない成分の溶出によって最初のピーク (Void ピーク) が現れ、その後、遠心力によって保持された成分によるピークが現れます。Voidピークの溶出時間はキャリア液流量やシステムの配管容量によって変化しますが、キャリア液流量 1 mL/minである今回の測定条件では分析時間約 5 ~ 7分に現れることが多いです (リラクゼーション終了時を起点とする「Elution Time」では 1.5 ~ 3.5分)。Voidピーク溶出後に信号強度がベースラインまで下がらない場合、または、目的とする試料の溶出時間 ( $t_R$ ) とVoidピークとの分離が十分でない場合、負荷する遠心力が低い可能性があるため初期回転数を上げることを検討します。ISO/TS 21362では、一般的に  $t_R/t_0 > 5$  が推奨されています。逆に、Voidと目的とするピークが必要以上に離れすぎている場合は、分析時間を短くするために初期回転数を下げることが検討できます。

図9に、モデル試料を初期回転数 6000 rpmと 8000 rpmで測定した結果を示します。初期回転数以外の測定条件は表5と同様で、初期回転数 8000 rpmのときのみ  $T_{tot} = 90$  minとしました。図9において、約6.05分のピークがVoidピークです。初期回転数 6000 rpmの場合、メインピークの  $t_R/t_0$  は約 14となり推奨値を上回りましたが、Voidピーク溶出後の信号強度がベースラインまで下がりきらずにメインピークが立ち上がりました。このような場合、試料中に 6000 rpmでは保持できない粒子が含まれていると考えられるので、より高い初期回転数を設定します。図9の 8000 rpmのように、Voidピーク溶出後に信号強度がベースライン付近まで下がれば、初期回転数の設定は適切と考えられます。

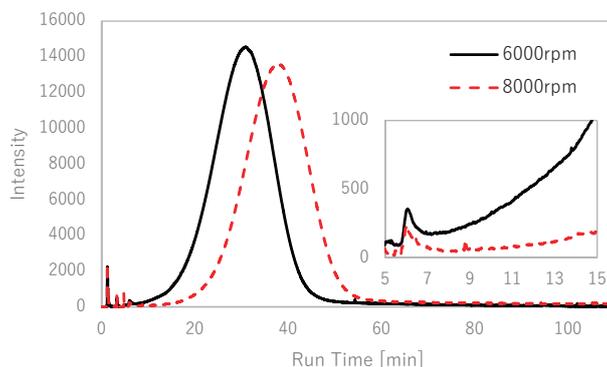


図9 異なる初期回転数で測定した結果 (RF 波長 350 nm)

## 7.4 $T_a$ による分離能／分析時間の調整

ナノサイズの粒子を遠心FFFで測定する場合、通常、分析中に回転数を徐々に減衰させ、遠心力で保持されなくなった粒子を順次溶出させる方法が使用されます（ノーマルモード）。SECやGPCなどにはない遠心FFFの特長は、この時の減衰速度を変えることで分離能と分析時間を調整できる点です。回転数 $N(t)$ の減衰には、以下の式に示すPower Programmeと呼ばれる方法が使用されます。

$$N(t) = \begin{cases} N_0 & (0 \leq t \leq t_1) \\ N_0 \left( \frac{T_1 - T_a}{t - T_a} \right)^p & (t_1 \leq t) \end{cases} \quad (6)$$

ここで、 $N_0$ は初期回転数、 $T_1$ は初期回転数の持続時間、 $t$ は溶出開始時（リラクゼーション終了時）を起点とした時間、 $p$ は減衰パラメータ（Power of Field Decay）です。そして、 $T_a$ は回転数の減衰速度を決定する時間パラメータで、分離能や分析時間に直接影響を与えます。例えば、図10のように $T_a$ の絶対値を大きくすると減衰速度の傾きが緩やかになり、サイズ分離能が向上しますが、減衰に時間がかかるため分析時間は長くなります。 $T_a$ の値は、 $T_a = -8 \times T_1$ を基準に設定しますが、分離能を高めたい場合は $T_a$ の絶対値をそれ以上の値（ $T_a = -16 \times T_1$ など）に設定します。逆に、分取試料の量を稼ぐために分析を繰り返す場合などのように、分離能を犠牲にしてでも1回の分析時間を短くしたい場合は、 $T_a$ の絶対値を小さい値（ $-4 \times T_1$ など）に設定します。

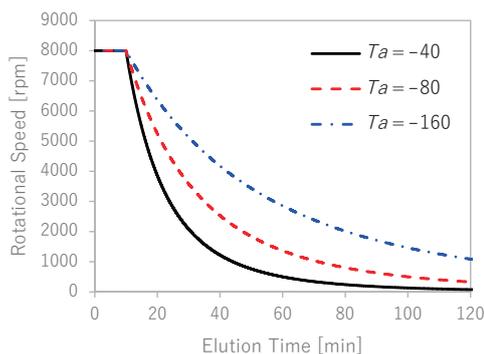


図10 回転数の減衰プログラム（初期回転数 8000 rpm、 $T_1=10$  min、 $p=4$ ）  
横軸はリラクゼーション終了時を起点とした溶出時間（Elution Time）

図11に、モデル試料を異なる $T_a$ で測定した結果を示します。分析条件を表6に示します。記載のない条件は表4と同様です。図11からは、 $T_a$ の絶対値が大きいほど回転半径（rms radius）の溶出曲線の傾きが緩やかになり、単位時間当たりのサイズ分離能が向上することが確認できます。一方、光散乱強度のピーク形状からは、 $T_a$ の絶対値が大きくなるほどピークトップの溶出時間が遅くなり、ピーク幅も広がるのがわかります。そのため、一般的には $T_a$ の絶対値が大きいほど、測定により長い時間が必要になります。このように、分離能と分析時間はトレードオフの関係にありますので、測定の目的に合った $T_a$ を設定する必要があります。次節以降、モデル試料の測定には $T_a = -80$  minを使用します。

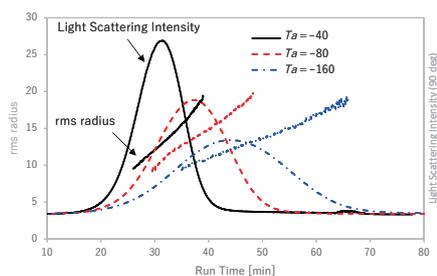


図11 異なる $T_a$ で測定した結果（MALS）

表6 分析条件(記載のない条件は表4と同様)

項目	記号	条件 1	条件 2	条件 3
Rotational Speed of Constant Field	$N_0$	8000 rpm	8000 rpm	8000 rpm
Decay Constant	$T_a$	-40 min	-80 min	-160 min
Total Period of Field Decay	$T_{tot}$	50 min	90 min	170 min

モデル試料ではピークが1つしか観測されなかったため、もう一つ、複数のピークが観測された分析例を紹介します(図12)。試料はポリスチレンラテックスの粒子径標準試料で、粒子径81 nm ~ 240 nmの4種類の粒子を混合したものです。 $T_a = -40$  minではピーク間の距離が近く、203 nmと240 nmのピークが重なっていますが、 $T_a = -120$  minではピークの重なりが少なくなり、分離が向上しています。このように、複数のピークが見られる試料では、 $T_a$ を変えたときのピーク形状、溶出時間、ピーク幅などから、各ピークが分離できる条件を探ることができます。

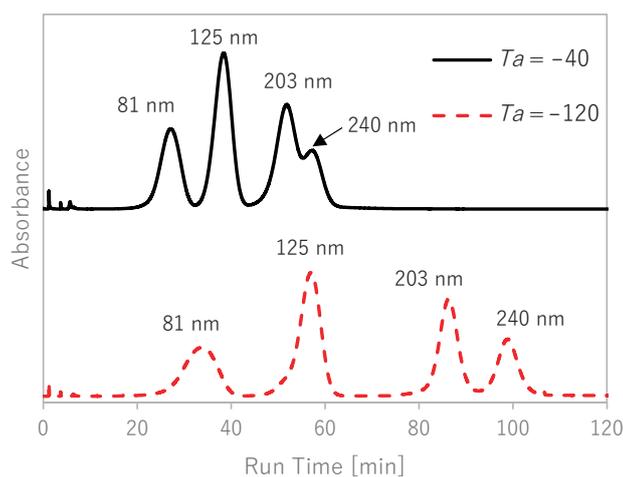


図12 複数のピークが観測される試料に対して $T_a$ を変化させた場合の測定例  
 キャリア液 0.2 % FL-70 水溶液、流量 1 mL/min、  
 初期回転数 12000 rpm、 $T_i = 10$  min、吸光度検出器、波長 265 nm

$T_a$ 以外にも、初期回転数 $N_0$ を上げることで分離を向上させる方法があります(参考文献4)。また、キャリア液に界面活性剤を添加することで、粒子同士に働く相互作用が抑制され、分離が改善される事例も報告されています(参考文献5)。さらなる分離能向上を目指す場合は、そうした周辺の分析条件も合わせて条件検討する必要があります。

## 8. 分析再現性の確認

遠心FFFの分離チャンネルが比較的単純であることや、分離能を左右する遠心力を高い精度で制御可能なことなどから、良好な分析条件であれば遠心FFFの分析再現性は高く、例えばピーク溶出時間の相対標準偏差が1%以下となるような分析も可能です。しかし、実際には、分析のたびにピーク形状や大きさが変化するなど、分析再現性が低くなる場合もあります。この要因としては、例えば、分析のたびに粒子が分離チャンネルに吸着し、分離チャンネルの状態が変化することが考えられます。試料の吸着はしばしば低い回収率として結果に表れるため、分析条件を検討する際には常に回収率を確認することが大切です。再現性が低下する他の要因として、粒子が凝集や沈降しやすい試料などで、試料注入装置内で試料が時間とともに変化することが挙げられます。試料バイアル内で粒子が沈降しやすい場合は、分析前に試料をよく攪拌することで再現性が向上することがあります。分析条件の良否を確認するためには、同一の分析条件で少なくとも3回以上分析して再現性を確認します。また、日間差、前処理条件の差、装置間差などを把握し、分析再現性に影響する要因を明らかにしておくにより良い分析ができるようになります。

図13に、モデル試料で繰り返し測定を行った結果を示します。また、このときの分析条件を表7に示します。この測定では、溶出ピークの保持時間の相対標準偏差は約0.13%、面積の相対標準偏差は約0.33%となりました。このように、繰り返し測定時のピークがほぼ重なり、ばらつきが小さければ分析再現性は良好であると判断します。

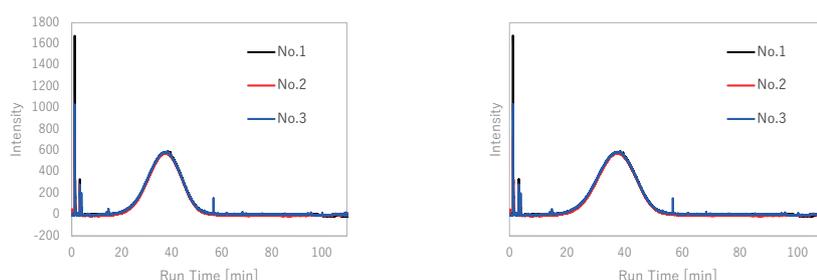


図13 同一サンプルを同一条件で3回測定した結果  
1回目と2回目は同一日の連続測定、3回目は別日の測定 (RF 波長 550 nm)

表7 分析条件

項目	記号	設定値	単位
Channel Flow Rate	$Q$	1	mL/min
Rotational Speed of Constant Field	$N_0$	8000	rpm
Injection Delay Time	$T_{inj}$	1	min
Relaxation Time	$T_{relax}$	2.5	min
Period of Constant Field	$T_1$	10	min
Decay Constant	$T_a$	-80	min
Total Period of Field Decay	$T_{tot}$	90	min
Power of Field Decay	$\rho$	4	
Rinse Time	$T_{rinse}$	20	min
Rinse Flow Rate	$Q_{rinse}$	1	mL/min
Injection Volume	$V_{inj}$	10	$\mu$ L
Concentration of Sample	$c$	0.3	mg/mL

## 9. キャリーオーバーの確認

回収率が低い時や分析する試料濃度が高い時などでは、分析後に試料の一部が装置やチャンネルに残存することがあります。こうした残存試料がその後の測定結果に影響を与える「キャリーオーバー」の有無や、試料の残存場所を確認するため、定期的にブランク測定を行います。ブランク測定の方法には、試料注入動作をせずに分析する「非注入」と試料の代わりにキャリア液を注入する「キャリア注入」、試料溶媒を分析する「試料溶媒注入」の3通りの方法があります。非注入のときに試料の溶出時間付近にピークが観測される場合は、分離流路や配管等に試料が残存していると考えられます。非注入でピークが確認されず、キャリア注入でピークが出る場合は、試料注入装置のニードルやバルブ、サンプルループ等の汚染が疑われます。非注入とキャリア注入でピークが出ず、試料溶媒注入の時だけピークが出る場合、試料溶媒に含まれる粒子状の夾雑物が検出されている可能性があります。また、遠心FFF分析では、分析の最後に回転数を止めて一定時間送液する「リンス工程」を設定できますので、分析ごとに十分な時間リンスすることを推奨します。さらに、初期回転数  $N_0 = 0$  rpm で30分から1時間程度送液する「装置洗浄用メソッド」を作成し、装置をシャットダウンする前に装置洗浄用の分析を実行することも有効です。安定して分析装置を使用するためには、日頃からこうした方法でキャリーオーバーを抑制することが重要です。

モデル試料の測定におけるキャリーオーバーの有無を確認するため、前章で説明した繰り返し分析をした後に、同じ条件で試料溶媒（エタノール）を注入して測定した場合と、非注入測定した場合の結果を図14に示します。エタノール溶媒の注入（赤、Ethanol）でも非注入（青、No inject）でもピークは確認されなかったため、この測定では問題となるようなキャリーオーバーはないと考えられます。

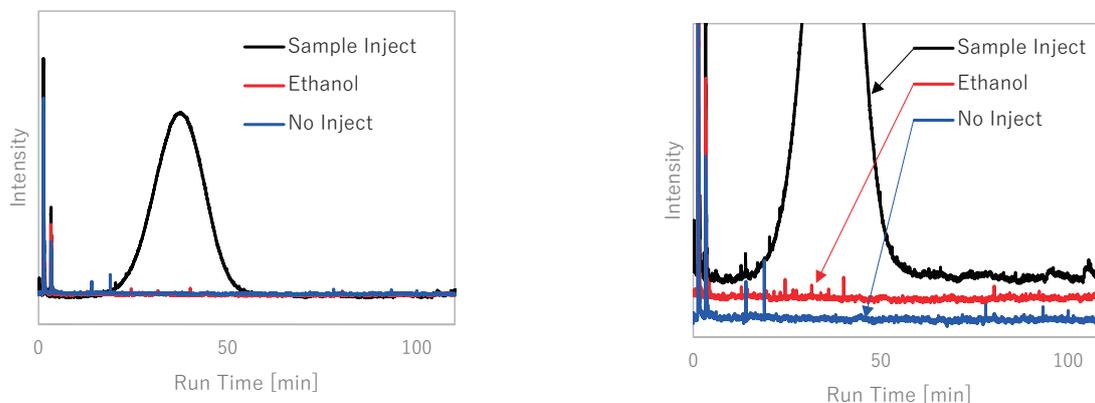


図14 試料溶媒(エタノール)と非注入測定の結果  
(左)全体図 (右)ベースラインをシフトして拡大表示した図

## 10. 分取

遠心FFFでは試料を分級・分析するだけでなく、分級した試料の任意の位置を分取することができます。これはDLSやLDなどにはない、遠心FFFの大きな特長です。試料を分取することで、電子顕微鏡など他の測定法と組み合わせたより詳細な解析を行うことが可能になります。ここでは、遠心FFFで試料を分取する場合に検討すべき内容を紹介いたします。なお、分取についての詳細は参考文献6を参照してください。今回は、モデルケースとして、分取した試料を電子顕微鏡で観察して粒子サイズや組成を確認し、試料中にDLSで測定した粒子径分布の上限(約100 nm)より大きな粒子が含まれているかどうか確認する方法を説明します。

### 10.1 サンプル負荷量増加によるピーク形状への影響

分取のための事前検討として、サンプル負荷量を増やした時のピーク形状への影響を評価します。遠心FFFの分析では、分析の過程で試料が希釈されます。その希釈倍率は、測定条件やピークの幅(試料の分布幅)によって変わり、一般的には分析前の試料に対して数十～数千倍ですが、分取する位置によってはさらに希釈倍率が大きくなることもあります。分取試料が必要濃度に満たない場合、サンプル負荷量を増やす必要があります。しかし、HPLCと同じく、遠心FFFでも負荷量が増えると分離が悪化する傾向がありますので、実際には負荷量にも上限があります。そのため、負荷量と分離の良否の関係を把握し、許容可能な負荷量を見極める必要があります。その方法には、負荷量を少しずつ変化させてピーク形状を観察する、MALSを利用して溶出曲線や分布を測定する、分取試料を電子顕微鏡観察する、などがあります。ここでは比較的容易に検討が可能な、ピーク形状による判断方法について紹介します。

ピーク形状から分離の良否を判断する場合、目的に応じた判断基準を用いる必要があります。例えば、試料に含まれる2つの異なる成分を分取する場合では、各成分がそれぞれピークとして観測され、分離できていれば問題ありません。一方、本試料のように1つのピークしか観測されない場合は、負荷量を変えた時のピーク形状ができる限り相似形を保つ範囲で負荷量を決めます。MALSが使用可能な場合は、粒子径や分子量の溶出曲線を算出することで分離能を判断できる可能性があります。しかし、高負荷量の測定ではMALSの信号強度が飽和してしまい正確な測定が難しくなることがあるため注意が必要です。

図15に、モデル試料の負荷量を1.5～180 µgの範囲で変化させて測定したピークを、高さに関して正規化した結果を示します。負荷量以外の分析条件は表7と同様です。この結果のように、負荷量が多くなるほど溶出時間が早くなったり、ピークの対称性が悪化したりする場合は、負荷量に応じて分離能が悪化すると考えられるため、できるだけ負荷量を低く抑える必要があります。本試料では、30 µg以上でピークの対称性が大きく悪化したため、分取時の負荷量を15 µgと設定しました。

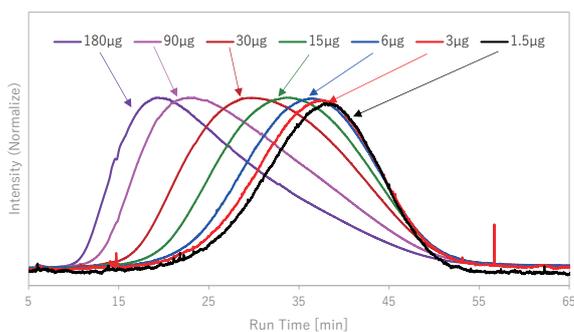


図15 負荷量によるピーク形状への影響(ピーク高さを正規化して表示)

## 10.2 分取位置の検討

続いて、試料を分取する位置を検討します。フラクションコレクターを使うと分取操作を自動で行うことができます。島津フラクションコレクターでは、あらかじめ分取時間を決めておいてピーク中の狙った場所を分取する方法や、検出器信号の強度や傾きの変化をトリガーにした分取が可能です（参考文献6）。例えば、図16のようにピークを等間隔に分画したり、ピークの任意の位置を分画したりできます。

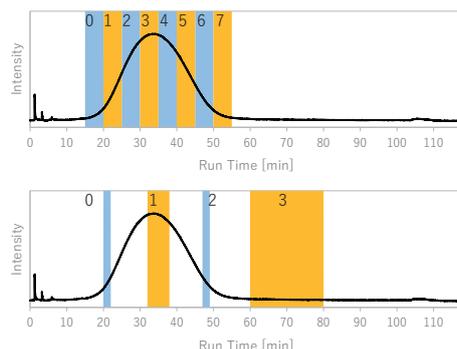


図16 分取プログラムの設定例

モデル試料の測定における分取目的は、DLSで検出された分布範囲の上限（約100 nm）を超えるサイズの粒子の存在有無を電子顕微鏡で観察することなので、メインピークよりも遅れて溶出する試料を分取します。図17の分析時間60分以降のように、一見すると試料が溶出していないように見える場合でも、グラフを拡大すると検出器の信号がベースラインまで下がっていない場合があります。この測定においては、分析時間65分以降の回転半径が40 nm（球形換算の粒子径が約100 nm）以上と算出されました（図18）。ピークの裾野部分のため信号強度が低く、MALSの測定には誤差があると考えられますが、DLSでは測定できなかったサイズの粒子が溶出している可能性が高く、分取試料を電子顕微鏡で観察することで粒子の大きさや形状が確認できると期待されます。なお、106分前後に見られるピークは、ローターの回転を停止して流路を洗浄する工程で溶出した成分です。粒子成分以外の夾雑物を含んでいると考えられる部分のため、通常は測定対象として考慮しません。

ここでは、回転半径が約70 nmの粒子が溶出していると考えられる分析時間100～101分を分取範囲とします。ただし、レイリー散乱を仮定すると図17、図18で示す光散乱強度は粒子径の6乗に比例して大きくなるため、より大きな粒子が溶出する100～101分の分画はより高感度に検出され、その分、濃度は低いことに留意します。

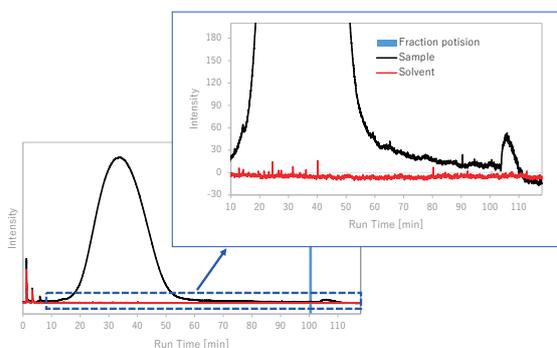


図17 負荷量 15  $\mu\text{g}$ （試料濃度 0.3 mg/mL、  
注入量 50  $\mu\text{L}$ ）の結果とSEM観察用試料の分取位置  
負荷量以外の分析条件は表7と同様

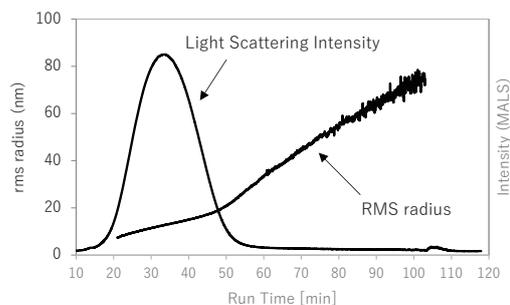


図18 負荷量 15  $\mu\text{g}$ （試料濃度 0.3 mg/mL、  
注入量 50  $\mu\text{L}$ ）のときのMALSによる回転半径の測定結果  
負荷量以外の分析条件は表7と同様

### 10.3 分取の実行

分取を実行する前に、フラクションコレクターのバルブから分取ポート先端までの流路を十分に洗浄しておきます。具体的には、遠心FFFのローターを停止させ ( $N_0 = 0$  rpm)、分析時と同じ流量で予備の試験管等にキャリア液を数 mL 程度分取します。また、分取液を集める試験管を洗浄しておくことも重要です。さらに、分取実施後は速やかに密閉容器に入れるなどして異物が混入しないようにします。

### 10.4 電子顕微鏡による粒子観察

分取試料を別の方法で測定するため、後処理（分取試料の測定法によっては前処理）が必要になるケースがあります。表 8 によく採用される処理方法を例示します。

表 8 遠心FFFの分取試料に対してよく用いられる後処理

目的	手法
試料濃度の変更	遠心濃縮、溶媒揮発、キャリア液等での希釈など
溶媒組成の変更	遠心精製、限外ろ過、透析など
溶媒の除去	自然乾燥、減圧乾燥、凍結乾燥など

試料濃度を次工程に合わせて変更することが最もオーソドックスな後処理です。特に、遠心FFFでは試料が希釈されるため、濃縮が必要になるケースが多くあります。濃縮・希釈のどちらであっても、その過程で試料が凝集しないよう注意する必要があります。希釈して試料濃度を下げる場合、モニターする検出器の感度に余裕があれば、分取時の負荷量を減らすことでも対処可能です。溶媒組成の変更は、分取試料の溶媒組成が後の測定法にとって適切でない場合に用います。遠心FFFでは分離を高めるために試料溶媒とは異なる組成のキャリア液を用いて分析するケースがありますが、分取試料は溶媒がキャリア液に置換された状態になります。この場合も同様に、凝集など分取試料の変化に注意する必要があります。

今回は、電子顕微鏡として島津電子線マイクロアナライザ (EPMA-8500G) を使い、分取したモデル試料を形状観察・組成解析します。電子顕微鏡観察などでは、表 8 における濃縮や乾燥を行うことが多いですが、今回は凝集を避けるため濃縮は行いません。乾燥の過程で粒子が凝集すると正確な評価ができなくなってしまいますが、今回の分取試料は粒子の個数濃度が低く、観察用のシリコン基板と試料溶媒との濡れ性も良いため、自然乾燥であっても凝集の心配は比較的低いと考えられます。そこで今回は、分取した試料を基板上へ滴下し、溶媒を自然乾燥で除去することで観察用試料を作成しました。ただし、乾燥中の凝集が問題になる場合は、凍結乾燥など、凝集を防ぐ工夫が必要になります。

分析時間 100 ~ 101 分 (図 17) の分取試料に対して EPMA-8500G で SE 像を観察した結果、図 19 のような約 150 nm の粒子が見つかり、組成解析した結果チタンが検出されました。このように組成分析を同時に行うことで、粒子の寸法・形状観察だけでなく、発見した粒子が確かに測定対象 (チタン酸バリウム) であることがわかります。

ここまでの測定を通して、メインピークを構成する本試料の主成分は回転半径 40 nm 以下 (球相当粒子径 86 nm 以下) であるものの、その他に少量の大きな粒子が存在し、粒子径 150 nm 程度の粒子が含まれていることが確かめられました。



図 19 チタン酸バリウム粒子のSE像

## 11. 流路洗浄

遠心FFFではチャンネルに残留した試料や夾雑物が次の分析に影響を与え、分離不良や溶出時間のずれといった問題を引き起こすことがあります。いったんトラブルが発生すると、復旧まで多大な時間がかかったり測定のやり直しが発生したりするので、日常的に試料や夾雑物をシステム内に残存させずに清浄な状態を保つよう注意して、トラブルを避ける工夫が必要です。

最も簡便かつ効果的なのが、検出器の測定精度に影響を与えない範囲で負荷量を抑えることです。負荷量が少ない方が意図しない残存物を減らせることに加え、一般的には分離能も高くなりやすいというメリットもあります。また、適切な分析条件で分析することも大切です。回収率が高いこと、キャリアオーバーが無いこと、再現性が良いことなど、ここまで述べた検討項目を満足した条件で分析することでトラブルを起きにくくすることができます。そして必ず必要な作業が、定期的な流路の洗浄です。例えば、1日の分析の最初と最後に分析用のキャリア液やリンス液を使って送液洗浄し、流路に残った試料を洗い流します。具体的には～数百 mL（流量 1～5 mL/min で数時間）の送液洗浄を日常的に行うことを推奨します。なお、送液洗浄は遠心FFFの分離チャンネルだけでなく、FFF-C8030内蔵バルブを切り替えてBypass流路に対しても行うようにします。（図1参照）

ある試料に関して一連の分析・検討を終えた後など、普段より念入りに流路を洗浄する場合は、分析に用いたキャリア液やリンス液のほかに、界面活性剤や、酸・アルカリ・有機溶媒などを使うことも検討します。試料が溶解する溶媒で送液洗浄すれば、システムの流路内に残存した試料を効果的に除去することができます。ただし、装置で使用可能な溶媒には制限があるため、取扱説明書等を参考に、使用する洗浄液を選定する必要があります。

## 12. 装置状態の確認

分析装置を長期間にわたって運用していくためには、装置が正しい状態にあるかどうかを定期的に確認することが重要です。確認方法はいろいろ考えられますが、例えば、評価の指標になるテストサンプルを分析して、結果と比較する方法があります。テストサンプルにはできるだけ信頼性が高く、安定な試料を選ぶ必要があります。ここでは、ポリスチレンラテックス（PSL）の粒子径標準試料を複数混合した試料を使う例を紹介します。PSLは多様なサイズの試料が市販されており比較的安定した試料であるため、有望なテストサンプル候補です。

図20に今回紹介した一連の分析条件検討の前後でテストサンプルを測定した結果を示します。また、分析条件を表9に示します。テストサンプルは、PSL標準試料（Thermo Fisher Scientific社）の粒子径81 nm（3080A）、125 nm（3125A）、203 nm（3200A）、240 nm（3240A）と純水を、体積比 10 : 5 : 1 : 1 : 83 で混合して作製したものです。キャリア液はFL-70 Concentrate（Thermo Fisher Scientific社）の0.2 wt%水溶液です。図20のように、条件検討の前後でピーク位置や形状に変化が見られなければ、装置状態は変化していないと考えられます。このように、複数の粒子を混合した試料をテストサンプルに用いると、分離能の悪化など装置の不調を判断しやすくなります。

表9 分析条件

項目	記号	設定値	単位
Channel Flow Rate	$Q$	1	mL/min
Rotational Speed of Constant Field	$N_0$	12000	rpm
Injection Delay Time	$T_{inj}$	1	min
Relaxation Time	$T_{relax}$	2.5	min
Period of Constant Field	$T_I$	10	min
Decay Constant	$T_a$	-120	min
Total Period of Field Decay	$T_{tot}$	120	min
Power of Field Decay	$p$	4	
Rinse Time	$T_{rinse}$	20	min
Rinse Flow Rate	$Q_{rinse}$	1	mL/min
Injection Volume	$V_{inj}$	20	$\mu\text{L}$
Absorption Wavelength	$\lambda$	265	nm

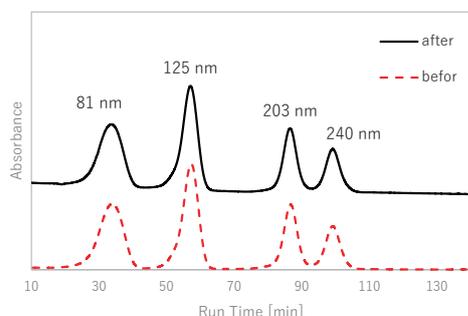


図20 PSL粒子による装置状態の判定例

## 13. 分析システムの保管

保管中に分離流路の状態が変化するなどして次の分析結果に影響することがあるため、しばらく分析システムを使用しない場合には、システムを十分に洗浄した後、適切な方法で保管する必要があります。界面活性剤や緩衝液など乾燥すると塩が析出するキャリア液や、酸やアルカリなど化学反応が起きやすいキャリア液を用いた場合など、こうしたトラブルが起きやすい条件で分析した場合には、特に注意が必要です。どのような場合でも、まず11章に示す洗浄を行い、システム内の残留物を除去します。その後、システムを使用しない期間に応じたキャリア液でシステム内の流路を満たして保管します。システムを使用しない期間が、比較的短期間（数日）の場合は、キャリア液に純水などを用います。長期間（1週間程度）の場合は、10%程度アルコール水溶液、または純度の高いアルコールを用います。このとき、キャリア液が揮発して乾燥しないように注意が必要です。さらに長期間の場合は、揮発しやすいアルコールで流路を満たした後で、流路内のアルコールを抜き、システム内の流路を乾燥させて保管します。

## 14. まとめ

ここまで、ナノサイズの粒子中に少量含まれる粗大粒子の分離検出と電子顕微鏡による観察を目的とした遠心FFFのメソッド開発事例を使って、メソッド開発の一連の流れを説明しました。

測定したモデル試料に対しては、遠心FFF分析の回収率、ピーク形状、MALSで測定した回転半径の溶出曲線といった結果から、分析条件が適切に設定できたことが確認されました。モニターとして用いた検出器（RF）の信号強度から、メインピークを構成する本試料の主成分となる粒子のほかに、より大きな粒子が存在することがわかりました。また、分取試料の電子顕微鏡観察からは、実際に約150 nmの粒子が存在していることが確認できました。

実際の試料で条件検討に取り組んでみると、試料や分析目的に応じた追加の工夫が必要になることがありますが、本ガイドの内容がメソッド開発の一助になることを願っています。

## 参考文献

1. Technical Report「粒子径測定の新しい選択肢～遠心フィールドフローフラクショネーションの特長」(C190-0525)
2. Technical Report「遠心フィールドフローフラクショネーションの原理」(C190-0526)
3. ISO/TS 21362「Nanotechnologies — Analysis of nano-objects using asymmetrical-flow and centrifugal field-flow fractionation」
4. Technical Report「遠心フィールドフローフラクショネーションの分級性能向上」(C190-0539)
5. H.Kato et.al Determination of number-based size distribution of silica particle using centrifugal field-flow fractionation, J.Chrom.A, 1602 (2019), 409-418
6. Technical Report「遠心FFFを用いた封止材用シリカ粒子のサイズ分級と微粒から粗粒におよぶ分取試料の電子顕微鏡観察」(C190-0574)

LabSolutionsは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

本文書に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。

なお、本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

本製品は、医薬品医療機器法に基づく医療機器として承認・認証等を受けておりません。

治療診断目的およびその手続き上での使用はできません。

トラブル解消のため補修用部品・消耗品は純正部品をご採用ください。

外観および仕様は、改良のため予告なく変更することがありますのでご了承ください。

# 株式会社 島津製作所

## 分析計測事業部

604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1

製品情報



価格お問合せ



東京支社 (官公庁担当) (03) 3219-5631  
(大学担当) (03) 3219-5616  
(会社担当) (03) 3219-5622

関西支社 (06) 4797-7230  
札幌支店 (011) 700-6605  
東北支店 (022) 221-6231  
郡山営業所 (024) 939-3790

つくば支店 (官公庁・大学担当) (029) 851-8511  
(会社担当) (029) 851-8515

北関東支店 (官公庁・大学担当) (048) 646-0095  
(会社担当) (048) 646-0081  
横浜支店 (官公庁・大学担当) (045) 311-4106  
(会社担当) (045) 311-4615  
静岡支店 (054) 285-0124

名古屋支店 (官公庁・大学担当) (052) 565-7521  
(会社担当) (052) 565-7531

京都支店 (官公庁・大学担当) (075) 823-1604  
(会社担当) (075) 823-1603  
神戸支店 (078) 331-9665  
岡山営業所 (086) 221-2511  
四国支店 (087) 823-6623

広島支店 (082) 236-9652  
九州支店 (官公庁・大学担当) (092) 283-3332  
(会社担当) (092) 283-3334

島津コールセンター ☎ 0120-131691  
(操作・分析に関する相談窓口) IP電話等:(075) 813-1691