

新しい粒子測定ソリューション： 島津遠心FFFのご紹介

株式会社島津製作所 分析計測事業部

はじめに

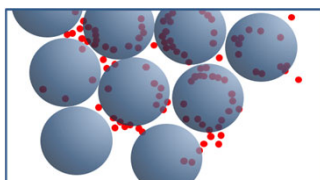
- ・多くの分野で材料の微細化、均一化が重要視されている
- ・ナノ材料への規制が始まっている



ナノ材料・ナノ粒子の大きさを正確に測定する
技術が求められている。

ナノ材料計測の課題

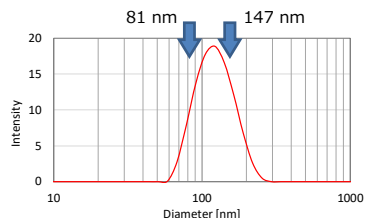
電子顕微鏡(SEM/TEM)による 大小粒子混在試料の測定



- ◆ 小径粒子が、大径粒子に隠れてしまう
- ◆ 視野が狭く多数の画像解析が必要

動的光散乱測定器(DLS)による 大小粒子混在試料の測定

試料：ポリスチレン粒子 粒子径81 nmと147 nm混合試料



- ◆ 小径粒子(81 nm)と大径粒子(147 nm)を分離して測定できず、ひと山の粒子径分布になってしまう

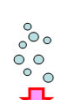
ナノ材料をより
正確に計測するには



分級



計測



計測



計測

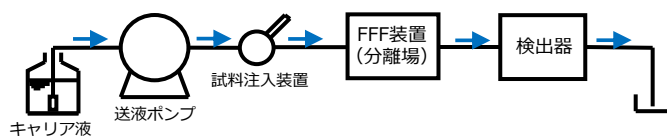
サイズ分級して計測する
ことで正確な測定を実現

3

フィールドフローフラクショネーション (FFF) とは

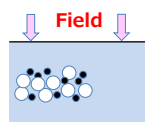
分離担体（カラム）を使用せず試料を粒子サイズで分離する手法

(Dr. Giddingsにより1960年代に発明)

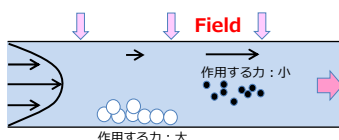


FFFシステムの概略図

FFFでは分離場（ex. 遠心力場）が粒子に与える力を利用して分離を行う



- ① キャリア液の流れる方向と
垂直な方向に、分離場を印加



- ② 分離場が粒子に与える力の強弱により
粒子の溶出時間に差が生じる

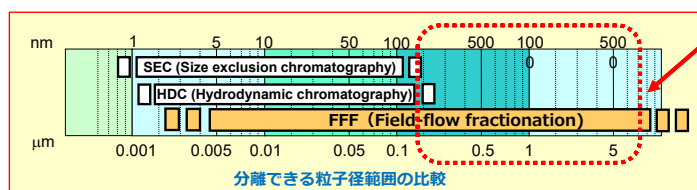
4

FFFの分級範囲

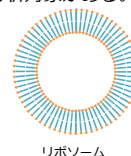
サイズによる液相分離法として、以下が挙げられる。

- ・ サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)
- ・ ハイドロダイナミッククロマトグラフィー (HDC)
- ・ フィールドフローフラクショネーション (FFF)

一般的に粒子径
100~200 nm
程度が排除限界



抗体医薬品の凝集体、リボソームなど、
粒子の中にはサイズの大きな
分析対象がある。



リボソーム



凝集体

FFFはSEC・HDCの排除限界を超える
ミクロンオーダーの微粒子まで分離が可能

5

FFFの種類

FFFには分離場が異なる複数のバリエーションがある

FFFの種類	分離場
遠心FFF (centrifugal-FFF、CF3)	遠心力場
フローFFF (flow-FFF、FFFF)	流れ場
電場FFF (electric-FFF、EL-FFF)	電場
熱式FFF (thermal-FFF、Th-FFF)	温度場

遠心FFFにフォーカス
して、ご紹介します。

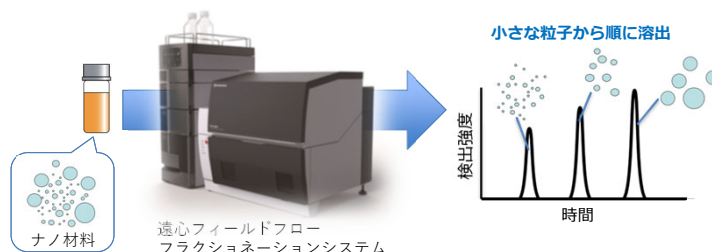
一村慎吾ほか、「ナノ粒子計測」, 共立出版, 197 (2018)

6

遠心FFFの概要

遠心フィールドフローフラクショネーション : Centrifugal Field-Flow Fractionation

略して 遠心FFF、CF3 文献では SdFFF (Sedimentation FFF) と表記されている



特長

1. カラムを使わない分離方法で、幅広いサイズの粒子測定が可能（数nm～数十 μm ）
2. サンプルの質量に応じた分離
3. 回転数制御によって分離能をコントロール可能

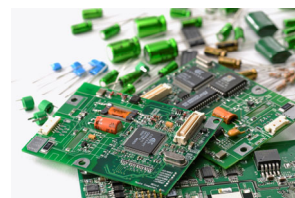
7

遠心FFFの分析対象

- 汎用無機材料
各種シリカなど
- 金属、金属酸化物
金、銀、酸化チタン、酸化亜鉛など
- セラミックス
チタン酸バリウム、ジルコニアなど
- ポリマー
ナノ・マイクロプラスチックなど
- エマルション
リポソームなど



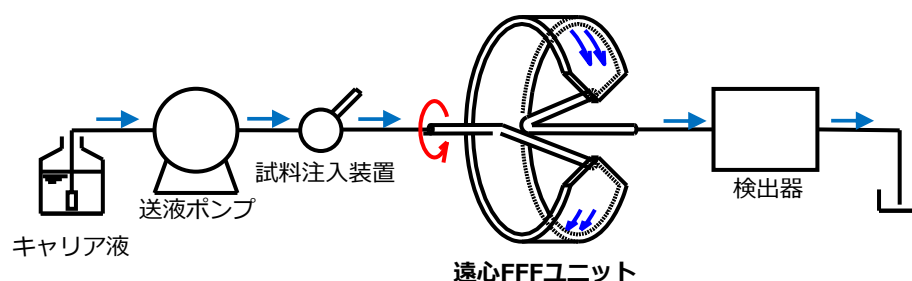
コーティング剤



電子材料

8

遠心FFFのシステム構成



HPLCにおける“カラム”が
“遠心分離装置（遠心FFFユニット）”に
置き換わったような流路構成

9

遠心FFFで使用する検出器・測定機器

FFF-C8030で
分級&粒径分布測定



HPLC各種検出器

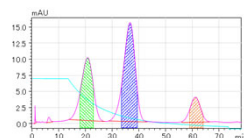
- UV
- 屈折率
- 光散乱粒径検出器
- 多角度光散乱検出器



分取



フラクションコレクタ



分画液を
詳細分析



ICP-MS

混合物測定、粒子成分測定、
環境試料測定

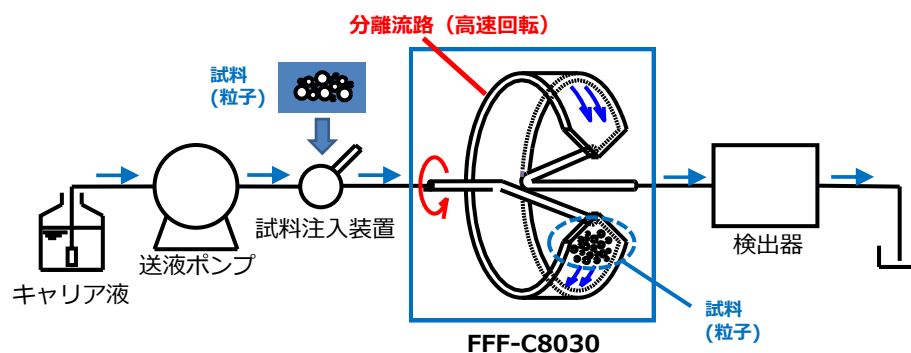


SEM、TEM、EPMA™

形態/凝集 観察、組成解析

10

遠心FFFの分級原理①



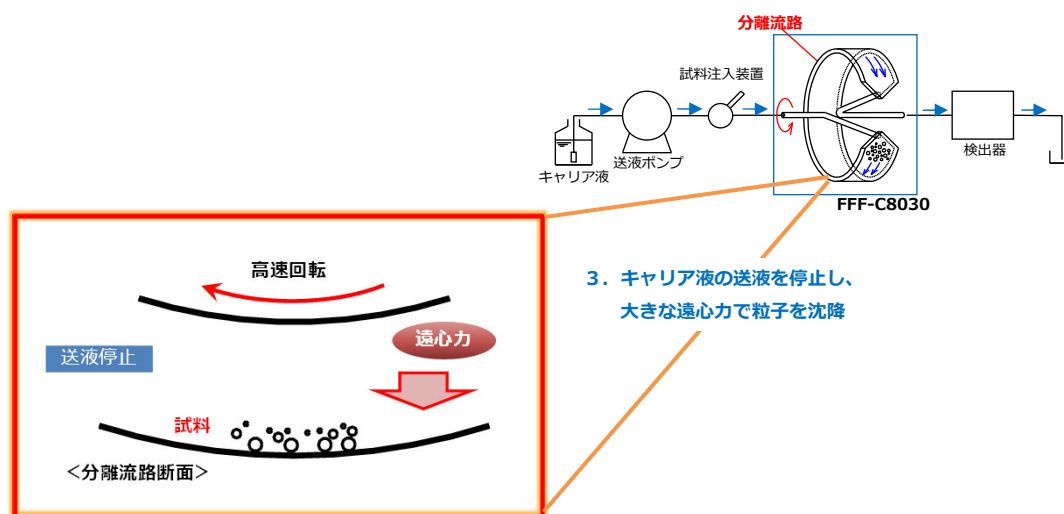
1. ポンプで送液される
キャリア液に試料粒子を注入



2. 高速回転する円環上の
分離流路に試料を導入

11

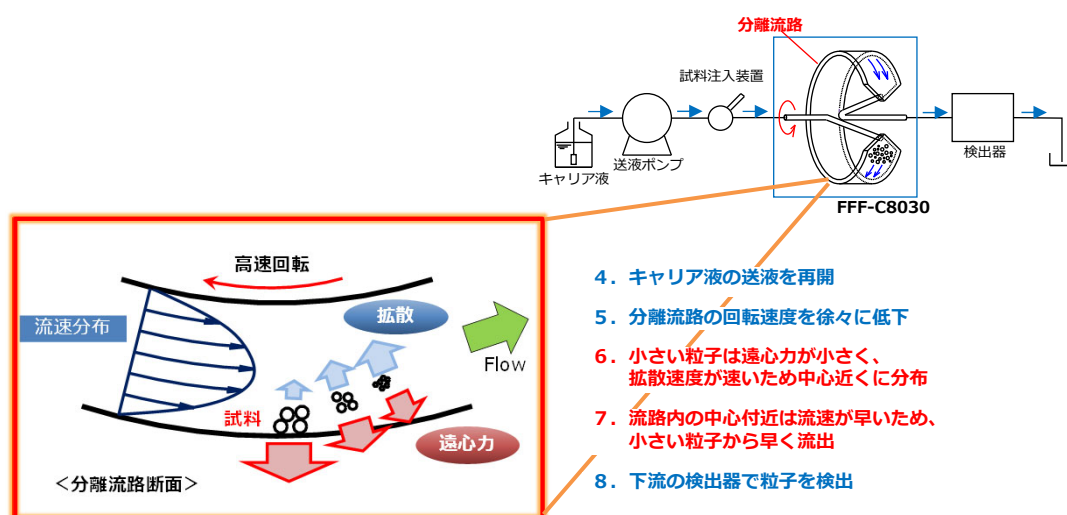
遠心FFFの分級原理②



3. キャリア液の送液を停止し、
大きな遠心力で粒子を沈降

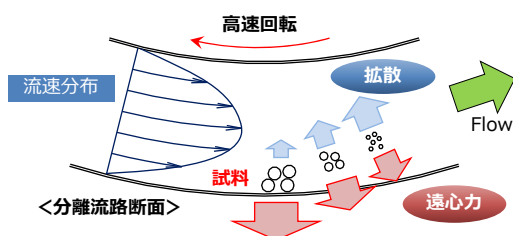
12

遠心FFFの分級原理③



13

遠心FFFにおける課題



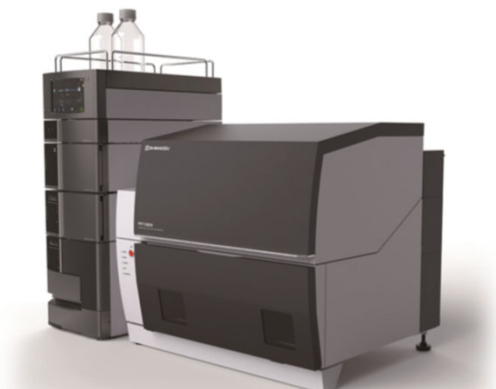
サイズや密度の小さい粒子を保持するためには、強い遠心力が必要。しかし、、、

遠心力増加
 ↓
流路内部の圧力増加
 ↓
流路からの液漏れ

14

SHIMADZU

遠心フィールドフローフラクシオネーションユニット FFF-C8030



独自の流路構造を採用し、
従来装置の5倍以上の遠心力 $15900\times g$ を印加することのできる
遠心FFFユニットFFF-C8030を開発！

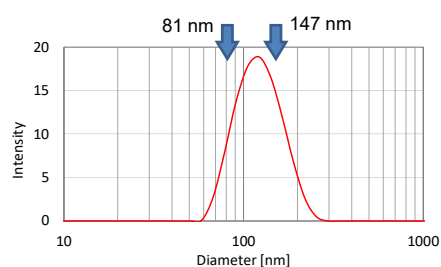
15

SHIMADZU

FFF-C8030の測定事例① 粒子径が近い粒子の分離

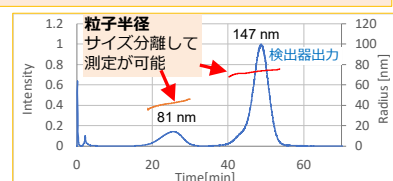
粒子径81 nmと147 nmのポリスチレン粒子の混合試料（質量濃度比 1 : 1）を測定

動的光散乱測定器(DLS)による測定

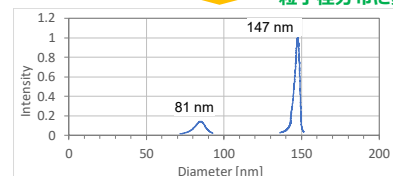


粒子径81 nmと147 nmの粒子を分離して測定できず
ひと山の粒子径分布になってしまう

遠心FFF-多角度光散乱検出器による測定



粒子径分布に変換



粒子径81 nmと147 nmの粒子を分離して測定可能

DLSよりも高い分離能で粒子径分布の測定が可能

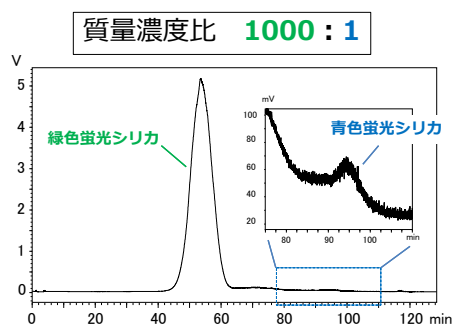
16

SHIMADZU

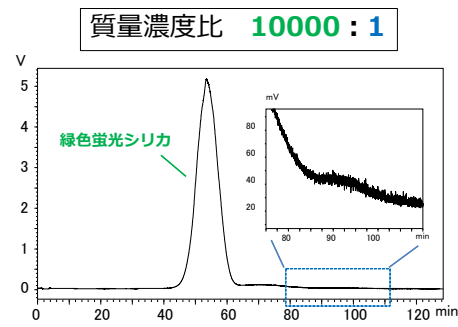
FFF-C8030の測定事例②

微量混入粒子の分離検出

緑色蛍光シリカ粒子（粒子径100 nm）と
青色蛍光シリカ粒子（粒子径300 nm）の混合試料を測定



検出器：多角度光散乱検出器



検出器：多角度光散乱検出器

微量に含まれる粗大粒子を高感度に分離検出できる

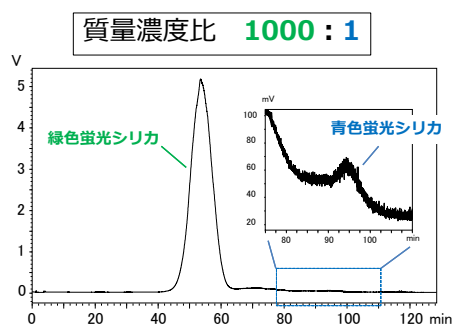
17

SHIMADZU

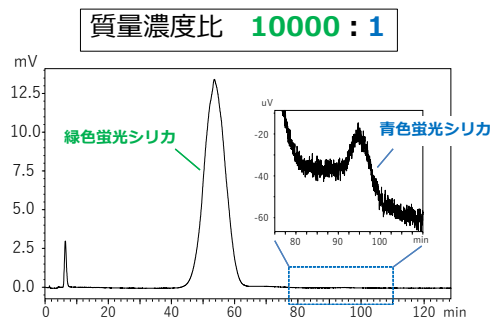
FFF-C8030の測定事例②

微量混入粒子の分離検出

緑色蛍光シリカ粒子（粒子径100 nm）と
青色蛍光シリカ粒子（粒子径300 nm）の混合試料を測定



検出器：多角度光散乱検出器



検出器：蛍光検出器
(Ex : 354 nm、Em : 450 nm)

微量に含まれる粗大粒子を高感度に分離検出できる
選択性を有する検出器を利用することで、感度良く分析可能

18

FFF-C8030の測定例③

同じ粒子径で密度が異なる試料の測定

測定試料

試料A： PSL粒子 粒子径100 nmと
Ag粒子 粒子径100 nm の混合

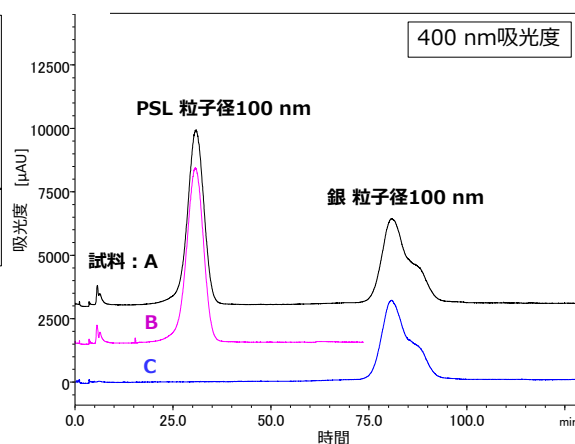
試料B： PSL粒子 粒子径100 nm

試料C： Ag粒子 粒子径100 nm

密度

PSL : 1.05 g/cm³

Ag : 10.49 g/cm³



同じ粒子径でも密度が異なれば分離可能

19

遠心FFFにおける条件検討

① 初期回転数

② 減衰係数

③ キャリア液



20

SHIMADZU

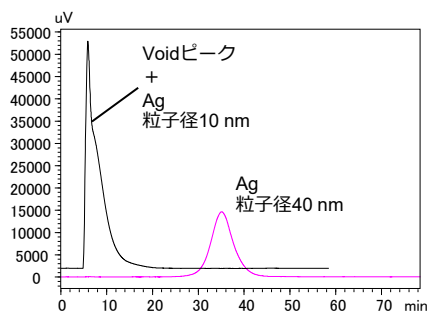
遠心FFFにおける分析条件検討

①初期回転数

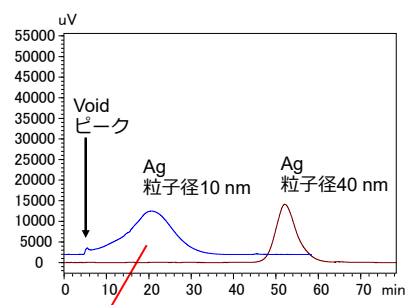
初期回転数が高いほど**小さな粒子**を保持できるようになる

試料：銀粒子 粒子径10 nm、40 nmの単分散試料

初期遠心力 2,300×g / 初期回転速度4,500 rpm

初期遠心力2,300×gでは、
粒子径10 nmが保持できずに溶出

初期遠心力 14,000×g / 初期回転速度11,250 rpm

初期遠心力14,000×gを付加することで
粒子径10 nmが保持できるようになった。

21

SHIMADZU

①初期回転数

妥当な初期回転数の試算方法

ステップ1：Retention parameter(λ)を計算

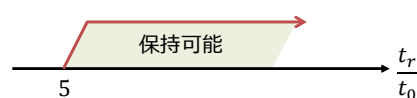
$$\lambda = \frac{6kT}{\pi d^3 G w \Delta \rho}$$

k : ボルツマン定数 G : 初期重力場
 T : 温度 w : 流路高さ
 d : 粒子直径 $\Delta \rho$: 試料とキャリアの密度差

ステップ2： t_r/t_0 を計算

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

ステップ3：保持可能かどうかの判定

※ $t_r/t_0 < 5$ のときは分析条件（初期回転数など）を再検討する

Ag 10 nmでの計算例

初期回転数	4500 rpm	11250 rpm
λ	0.1485	0.0238
t_r/t_0	1.6	7.4

島津製作所テクニカルレポート：「遠心フィールドフローフラクシオネーションの原理（C190-0526）」を参照

22

遠心FFFにおける分析条件検討

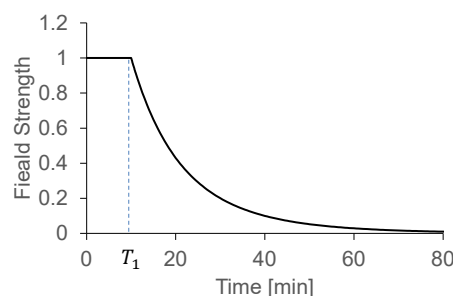
②減衰係数

初期回転速度のまま、一定の回転数で分級すると、溶出にかなりの時間を要するため、溶出中に回転数を徐々に遅くする。

FFF-C8030ではPower Programmeと呼ばれる方法で回転数の減衰を行っている。

$$RPM(t) = \begin{cases} RPM_0 & (0 \leq t \leq T_1) \\ RPM_0 \left(\frac{T_1 - T_a}{t - T_a} \right)^p & (T_1 \leq t) \end{cases}$$

RPM_0 : 初期回転数、 T_1 : 初期回転数の持続時間
 T_a : 減衰係数、 t : 溶出時間、 p : 減衰パラメータ



減衰係数 T_a が分離に大きな影響を与える。
 T_a の値を小さくするほど減衰が緩やかになり分離能が向上する。

23

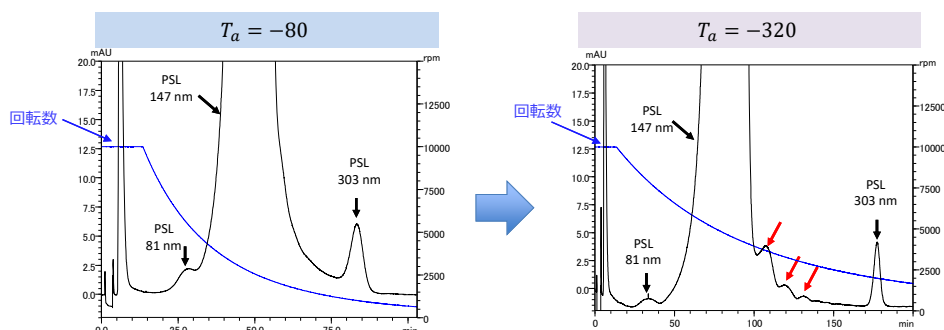
遠心FFFにおける分析条件検討

②減衰係数

Power Programme法では、 T_a の値を小さくするほど減衰が緩やかになり、分離能が良くなる。一方で、分析時間は長くなる。

$$RPM(t) = \begin{cases} RPM_0 & (0 \leq t \leq T_1) \\ RPM_0 \left(\frac{T_1 - T_a}{t - T_a} \right)^p & (T_1 \leq t) \end{cases}$$

試料: PSL粒子 粒子径81, 147, 303 nmの混合試料 (混合比: 1 : 1000 : 1)



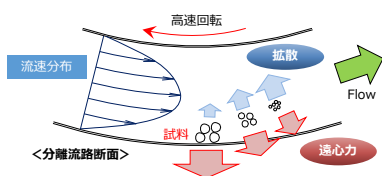
T_a を増やすことで81 nm, 303 nmの粒子の分離が向上しただけでなく、PSL 147 nm粒子の一部が分離して検出できるようになった。

24

遠心FFFにおける分析条件検討

③キャリア液

遠心FFFでは、分離向上、吸着や反発防止のため、キャリア液に添加剤を加えるケースが多い。



分離に影響を与える要因

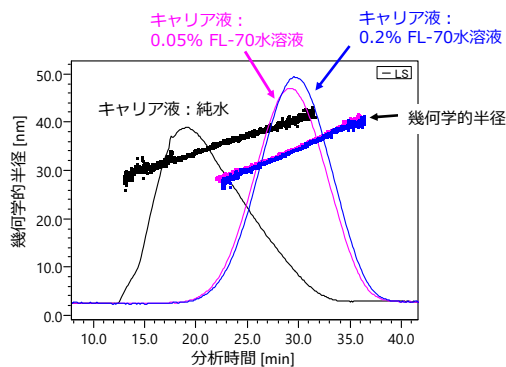
- ・ 流路表面－粒子間の引力／斥力
- ・ 粒子－粒子間の引力／斥力



キャリア液の組成で
コントロール

添加材濃度を変えた場合の測定例

試料：シリカ粒子 粒子径70 nm



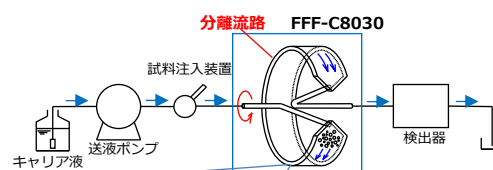
(参考)

遠心FFFにおけるキャリア液・初期回転数と分離能の関係を検査した文献
H. Kato et. al., *Journal of Chromatography A*, 1602 (2019) 409–418

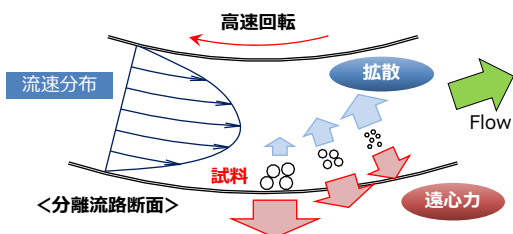
25

遠心FFFにおける分析条件検討

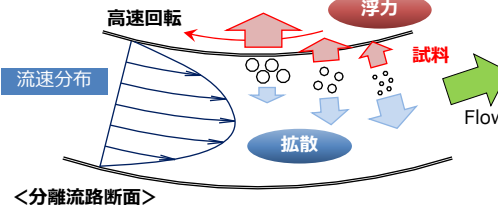
③キャリア液



密度：試料＞キャリア液



密度：キャリア液＞試料



どちらも小さな粒子から流出する

密度の小さな粒子でも、
キャリア液と密度差があれば保持が可能

26

まとめ

- **遠心FFFの原理**

遠心FFFは、フィールドフローフラクショネーションの一種であり、分離場として遠心力を用いる方法である
大小異なる大きさの粒子が混在したナノ材料に対して、粒子をサイズ分級することにより、正確な計測が可能となる

- **FFF-C8030による高分離**

従来装置の5倍以上の高遠心力を達成しており、従来装置では困難であった粒子の分級も可能

- **遠心FFFにおける条件検討**

初期回転速度を大きくすることで、小さな粒子が保持できるようになり、分離能も向上する
減衰方法をコントロールすることで、分離能が調整できる
キャリア液に添加剤を加えることで、分離能の向上、吸着・反発の防止ができる