沈降場流動分画法による粒子径測定における溶離液の影響

森 康 維*, 原 田 雅 浩*, 宮 本 慶 一*
井 上 真 司**, 鈴 木 幹 彦**, 谷 垣 昌 敬**

The Effect of a Carrier Solution on Particle Size Measurement
by Sedimentation Field-flow Fractionation

by

Yasushige MORI[†], Masahiro HARADA[†], Keiichi MIYAMOTO[†]

Sinji INOUE^{††}, Mikihiro SUZUKI^{††} and Masataka TANIGAKI^{††}

In order to analyze the size distribution of sub-micron particles by the sedimentation field-flow fractionation, a new apparatus which includes a rotary joint consisting of a flat surface seal and a rotary column with changeable wall material and channel thickness was constructed.

At a low ionic strength in the aqueous carrier solution, the elution time of particles in sedimentation field-flow fractionation deviates from that by Giddings' theory, resulting in underestimation of the particle size. In this case, the elution time of particles can better be estimated by considering the particle-wall interaction and the fluid force effect. In the methanol carrier solution, the behavior of particles is apparently the same as that in the aqueous carrier solution. The particle size could be estimated by Giddings' theory when the aqueous or methanol solution with a certain concentration of di-2-ethylhexyl sodium sulfosuccinate (Aerosol OT) surfactant was used as a carrier solution.

Key Words : Field-flow Fractionation, Particle Size Measurement,
Liquid Chromatography, DLVO Theory, Separation by Flow

1. 緒 言

流動分画(FFF)法は、コロイド粒子を外力の作用したカラム内で粒子径別に分離・分画する方法で、一相クロマトグラフィーに分類される分析手法である¹⁻⁴⁾。沈降場流動分画(SdFFF)法は、遠心力を外力として

用いるFFF法の一つであり、サブミクロン粒子の粒子径測定に適している。粒子の溶離挙動(流出時間)から粒子径を算出する理論的根拠は、J. C. Giddingsら⁵⁻⁷⁾によって提出された。この式では、粒子と液体(溶離液)との密度差、流速、遠心力およびカラムの大きさのみが変数であり、実験値とよく一致することが報告されてきた。しかし近年、使用する溶離液の条件によっては、Giddingsの式との一致が悪く、粒子と装置壁との相互作用、粒子間の相互作用や試料の過負荷を考慮する必要が指摘されている⁸⁻¹³⁾。

本研究では、SdFFF法に基づく装置を試作し、標準ポリスチレンラテックス(PSL)粒子と、イオン性界面活性剤を含む蒸留水やメタノールを溶離液に用いて、その性能を評価した。さらにDLVO理論に基づく粒子

1995年3月27日受付

第32回粉体に関する討論会(1994年10月、つくば)にて発表

* 同志社大学工学部物質化学工学科

(〒610-03 京都府綴喜郡田辺町多々羅都谷1の3)

TEL. 0774-65-6626

** 京都大学工学部化学工学教室

(〒606-01 京都市左京区吉田本町) TEL. 075-753-5566

† Dept. of Chem. Eng. and Mater. Sci., Doshisha Univ.,
(Tatsumi-cho, Kyoto 610-03)

†† Dep. of Chem. Eng., Kyoto Univ.,
(Sakyo-ku, Kyoto 606-01)

と装置壁との相互作用力、および剪断流れ場において粒子に働く流体力を考慮した粒子の溶離挙動の計算を行い、実験結果と比較検討した。

2. 理 論

Giddingsらによれば、粒子の流出時間と溶離液の平均滞留時間との比で表現される保持比は次式となる⁶⁾。

$$R = \frac{t_0}{t_p} = 6\alpha(1-\alpha) + 6\lambda(1-2\alpha) \left[\coth\left(\frac{1-2\alpha}{2\lambda}\right) - \frac{2\lambda}{1-2\alpha} \right] \quad (1)$$

ここで $\lambda = 6kT/(\pi\Delta\rho d_p^3 Gw)$, $\alpha = d_p/(2w)$ である。

水溶液中で異種物質が数 μm 内に近づくと、コロイド力が発生する^{14,15)}。そこで筆者らはSdFFF装置の壁近傍の粒子に対しても、DLVO理論に基づくLondon-van der Waals引力と、静電気反発力が働くと考え、保持比に及ぼすコロイド力の影響を検討した⁹⁾。

さらに平板近傍における剪断流れ場における粒子の運動についてのGoldmanら¹⁶⁾の研究結果を用いて、粒子が粒子中心位置の流体とは異なった移動速度をとること(流体力)を考慮した保持比の計算手法を提出した¹³⁾。

コロイド力と流体力を考慮した計算手法では、保持比の解析解は得られず、次式のようなチャネルの厚さ方向(x 方向)の空間平均を求める必要がある。

$$R = \frac{t_0}{t_p} = \frac{\langle v_p(x)c(x) \rangle}{u_m \langle c(x) \rangle} \quad (2)$$

ここで装置壁からチャネルの厚さ方向に x だけ離れた点における溶離液の流れ方向の粒子移動速度は、Goldmanらの研究結果¹⁶⁾を修正した次式で求まる。

$$\begin{aligned} \frac{v_p(x)}{u(x)} &= 1 - 0.32 \left(\frac{d_p}{2x} \right)^3 & 0.57 \leq \frac{x}{d_p} \\ &= \frac{0.809}{0.6376 - 0.2 \ln \left(\frac{2x - d_p}{d_p} \right)} & 0.5 < \frac{x}{d_p} \leq 0.57 \end{aligned} \quad (3)$$

$u(x)$ は無限平行平板間を層流で流れるとした場合の溶離液の流速である。

さらにその点における粒子の濃度は、次の微分方程式の解である。

$$\frac{dc(x)}{dx} + \left(-\frac{1}{\lambda w} + \frac{dV_{pw}(x)}{dx} \right) \cdot c(x) = 0 \quad (4)$$

Eq.(4)中の粒子・装置壁間の相互作用エネルギーは、van der Waals相互作用 $V_{pw,A}$ と静電相互作用 $V_{pw,R}$ の和として表現できる。

$$V_{pw}(x) = V_{pw,A}(x) + V_{pw,R}(x) \quad (5)$$

$$V_{pw,A}(x) = -\frac{A_{123}}{6} \left\{ \frac{d_p}{2x - d_p} + \frac{d_p}{2x + d_p} + \ln \left(\frac{2x - d_p}{2x + d_p} \right) \right\} \quad (6)$$

$\kappa d_p \gg 1$ では

$$V_{pw,R}(x) = \frac{32\pi\epsilon_0\epsilon_f d_p k^2 T^2 \Psi_p \Psi_w}{e_0^2} \times \ln \left[1 + \exp \left\{ -\kappa \left(x - \frac{d_p}{2} \right) \right\} \right] \quad (7)$$

$\kappa d_p \ll 1$ では

$$V_{pw,R}(x) = \frac{128\pi\epsilon_0\epsilon_f k^2 T^2 \Psi_p \Psi_w}{e_0^2} \cdot \frac{d_p x}{2x + d_p} \times \ln \left[1 + \frac{d_p}{2x} \exp \left\{ -\kappa \left(x - \frac{d_p}{2} \right) \right\} \right] \quad (8)$$

$$\text{ここで } \kappa^2 = \frac{2e_0^2 N_A I}{\epsilon_0 \epsilon_f k T}, \quad \Psi_p = \tanh \left(\frac{e_0 \phi_p}{4kT} \right),$$

$$\Psi_w = \tanh \left(\frac{e_0 \phi_w}{4kT} \right)$$

溶離液を介した粒子と壁との間のHamaker定数 A_{123} を必要とするが、次式から計算できる¹⁴⁾。

$$A_{123} = (\sqrt{A_{11}} - \sqrt{A_{33}})(\sqrt{A_{22}} - \sqrt{A_{33}}) \quad (9)$$

ここで A_{11} は粒子の、 A_{22} は装置壁の、 A_{33} は溶離液のHamaker定数であり、Table 1のような値を採用した。 A_{33} は松本ら¹⁷⁾の、 A_{11} はCroucherら¹⁸⁾の報告から引用した。 A_{22} は、Hansenら¹¹⁾の論文中的 A_{223} の値、Table 1の A_{33} の値およびEq.(9)から求めた。

また表面電位 ϕ が必要であるが、一般的な近似であ

Table 1 Hamaker constants and ζ -potential used in calculation

A_{11}	PSL	$9.8 \times 10^{-20} \text{J}$
A_{22}	stainless steel	$2.26 \times 10^{-19} \text{J}$
A_{33}	water	$4.77 \times 10^{-20} \text{J}$
	methanol	$3.24 \times 10^{-20} \text{J}$
ζ_w	stainless steel	-18mV
ζ_p	PSL in water	-54mV
	PSL in methanol	-77mV

る ζ 電位の値で代用する。Table 1に顕微鏡電気泳動法による粒子の ζ 電位測定値を示す。装置壁(ステンレススチール)の ζ 電位も示すが、流動電位測定装置を用いて測定したステンレススチール粉の ζ 電位を採用した。

3. 実験装置

Fig. 1にSdFFF法の装置の概略を示す。装置は、ポンプ(島津製作所製, LC-6A), 試料注入部(Rheodyne製, 7725), 遠心機(トミー精工製, RLX-9200相当品), 紫外可視吸光度計(島津製作所製, SPD-6A), 天秤(エー・アンド・デイ製, FA-2000)およびパーソナルコンピュータから成っている。分離部本体は、遠心機内の回転カラム(回転直径20cm)に設置された幅2cm, 長さ約60cmの矩形断面のチャンネルである。厚さは100~250 μ mの範囲で調節可能である。チャンネルの壁は鏡面仕上げのステンレススチールである。溶離液の流出入のために、平面接触型の回転面シール(回転ジョイント)を採用している。回転数の制御は装置本体での設定の他に、外部電圧入力設定も可能な仕様を備えている。紫外可視吸光度計の吸光度、天秤で測定している流出液重量および遠心機の回転数は、試料導入後、パーソナルコンピュータに測定データとして一定時間間隔毎に記録される。

Fig. 1 Schematic diagram of sedimentation field-flow fractionation and channel dimension

蒸留水または市販特級のメタノールを公称径0.1 μ mのフィルターで濾過し、15分以上減圧下で超音波脱気した液を溶離液とした。濃度0.04wt%のラテックス(PSL)標準粒子(日本合成ゴム製, STADEx)を試料とした。

回転カラム内のチャンネルに溶離液を流し、送液ポンプ、遠心機及び検出器が安定に作動していることを確認後、実験を開始する。送液量を1ml/min, 試料導入時間を5秒とした。その後、流路切り換え用四方バルブを操作し、回転カラム内の流れを止め、チャンネル内に粒子径に対応した粒子濃度分布を形成させる。この期間は緩和期間と呼ばれ、FFF法特有の操作である。緩和期間終了後、再び回転カラム内に所定流量で溶離液を流し、測定を開始する。

4. 実験結果および考察

4.1 溶離液が水溶液の場合

Fig. 2に分光光度計で測定された吸光度の経時変化の一例を示す。横軸の時間は試料導入時から数えている。このため5秒の試料導入期間と3分の緩和期間の終了後、流路切り換えバルブ操作のノイズ、ボイドピークと呼ぶ溶離液の平均滞留時間に相当するピークが現れている。続いて粒子径の小さい粒子の流出ピークが出現し、その後粒子径の大きい粒子が流出する。しかし溶離液に蒸留水を用いた場合と、0.1mol/m³のラウリル硫酸ナトリウム(SDS)陰イオン性界面活性剤水溶液を用いた場合では粒子の流出時間が異なっている。このように水にイオン性界面活性剤を添加するだけで、粒子の流出特性が異なる理由の一つに、水溶液

Fig. 2 Fractogram of polystyrene latex(PSL) particles in sedimentation field-flow fractionation with water or sodium dodecylbenzene sulfonate(SDS) solution

Fig. 3 Comparison of observed and calculated elution time of particles with aqueous solution. Broken line and solid lines, respectively, are calculated by Eq. (1) and Eq. (2)

のイオン強度に対応するコロイド力の影響が考えられる。

各粒子の最大吸光度を示す時間を粒子流出時間とし、粒子流出時間と粒子径の関係を**Fig. 3**に示す。実験結果とGiddingsらの計算(Eq. (1))との一致は良くない。0.1 mol/m³ SDS水溶液のイオン強度は、添加したSDSの量と水素イオン濃度の実測値(pH=5.3)から、0.105 mol/m³と考えられる。また蒸留水の場合は、水素イオン濃度の実測値(pH=5.4)から、イオン強度を0.004 mol/m³とした。これらのイオン強度に基づいて、Eqs. (2)~(9)を用いた計算値を示す。測定した全粒子径範囲で、実験値と計算値は良好な一致を示している。また理論計算式でイオン強度を1 mol/m³にすると、粒子径の大きい範囲ではEq. (1)を越えるが、ほぼ同様な流出時間を示すと考えられる。

Du Pont社のSdFFF法装置を用いた粒子径測定の報告¹⁹⁾で、Kirklandらは溶離液として2.25 mol/m³スルホホはく酸ナトリウム(AOT)陰イオン性界面活性剤水溶液を推奨し、実験の補正をEq. (1)に加えると、粒子流出時間から粒子径への変換が可能であるとしている。そこでチャネル幅と溶離液流量および溶離液組成をKirklandらの報告に合わせて実験した。**Fig. 4**に、遠心機の回転数を1000, 1500, 2000rpmと変えた実験結果とEq. (1)の計算結果を示す。粒子径が600 nm程度まではほぼ計算結果と一致している。このことは適当な溶離液を用いると、複雑な計算をせずにEq. (1)で粒子流出時間から粒子径を推定できることを示している。

4. 2 溶離液がメタノール溶液の場合

Fig. 5に溶離液をメタノール溶液にした場合を示す。メタノールのみの場合、粒子径が大きくなっても

Fig. 4 Effect of centrifugal force on elution time of particles with 2.25 mol/m³ di-2-ethylhexyl sodium sulfosuccinate(AOT) solution. Solid lines are calculated by Eq. (1)

Fig. 5 Relationship between elution time of particles and size using methanol with various di-2-ethylhexyl sodium sulfosuccinate(AOT) concentration as a carrier solution

粒子流出時間は大きくならず、純水を溶離液にした場合と良く似た挙動であり、Eq. (1)で粒子流出時間を予測できないことが分かる。しかしメタノールにAOTを添加すると、粒子流出時間は粒子径と共に大きくなり、1 mol/m³を含むメタノール溶離液では、粒子径の大きい範囲を除いて、実験値はEq. (1)の計算値と一致する。

Eq. (2)の計算では、メタノール溶液中でのイオン濃度を知る必要があるが、単にHamaker定数と比誘電率をメタノールの値に変え、イオン強度を0.001から1 mol/m³として計算した結果を図に示す。純メタノールではイオン強度を0.001 mol/m³とした計算線とほぼ一致している。本実験で使用したメタノール中の含水量は50 mol/m³であり、計算に用いたイオン強度の

50,000倍に相当するので、メタノール中で水がわずかに解離すると考えれば妥当であると言える。しかし粒子表面は親水性であることから、粒子は水を吸着しやすく、粒子表面近傍の水濃度はメタノール中の平均より高いと考えられ、どの程度のイオン強度を採用するのが妥当であるかは今後の検討課題であろう。またAOTを添加した溶離液の場合も、イオン強度をAOT濃度とすると計算値の方が、実測値より大きくなり、AOT分子がすべて解離しているとは言えないようである。

5. 結 論

沈降場流動分画法に基づく装置を試作し、ポリスチレンラテックス粒子と、イオン性界面活性剤を含む蒸留水やメタノールを溶離液に用いて、その性能を評価し、以下の結論を得た。

- 1) 低イオン強度の水溶液を溶離液に用いると、

Giddingsらの提案した式(Eq.(1))では実験値を予測できず、DLVO理論に基づく粒子・壁間の相互作用を考慮し、壁近傍での粒子と流体との相互作用を考慮した計算式(Eqs.(2)~(9))を用いる必要がある。

2) 溶離液にメタノール溶液を用いても、粒子流出挙動は水溶液とあまり変わらない。適当なイオン強度の値を用いると、Eqs.(2)~(9)で実験値を説明できる。

3) 2.25 mol / m³ AOT水溶液や1 mol / m³ AOTメタノール溶液を溶離液とすると、粒子流出時間と粒子径の関係は、Eq.(1)ではば表現できる。

[謝 辞] 本研究を行うにあたり、財団法人ホソカワ粉体工学振興財団の助成金の援助を得ました。また沈降場流動画化法装置の試作には、日本電子株式会社の竹内誠、水野恵夫両氏および株式会社トミー精工の絶大なる御協力を得ました。ここに記して謝意を表します。

Nomenclature

A	: Hamaker constant	(J)	V_{pw}	: total free energy of interaction between particle and channel wall	(J)
c	: particle concentration	(mol · m ⁻³)	$V_{pw,A}$	: van der Waals interaction free energy between particle and channel wall	(J)
d_p	: particle diameter	(m)	$V_{pw,R}$	: electrostatic interaction free energy between particle and channel wall	(J)
e_0	: electronic charge	(C)	v_p	: velocity of particle	(m · s ⁻¹)
G	: field strength of centrifugal force	(m · s ⁻²)	w	: channel thickness	(m)
k	: Boltzmann constant	(J · K ⁻¹)	$\Delta\rho$	: density difference between particles and carrier solution	(kg · m ⁻³)
I	: ionic strength	(mol · m ⁻³)	ϵ_0	: permittivity of free space	(C ² · J ⁻¹ · m ⁻¹)
N_A	: Avogadro's constant	(mol ⁻¹)	ϵ_f	: relative permittivity of carrier solution	(-)
Q	: flow rate of carrier solution	(m ³ · s ⁻¹)	ζ_p	: ζ potential of particles	(V)
R	: retention ratio of particle	(-)	ζ_w	: ζ potential of channel wall	(V)
T	: absolute temperature	(K)	k	: inverse Debye length	(m ⁻¹)
t_0	: elution time for a non-retained peak or average residence time of carrier solution	(s)	ϕ_p	: electrostatic surface potential of particles	(V)
t_p	: elution time of particles or average residence time of particles	(s)	ϕ_w	: electrostatic surface potential of channel wall	(V)
u	: velocity of carrier solution	(m · s ⁻¹)			
u_m	: average velocity of carrier solution	(m · s ⁻¹)			

References

- 1) Caldwell, K. D. : "Modern Methods of Particle Size Analysis(Ed. H. G. Barth)", p.211, John Wiley & Sons Inc.(1984)
- 2) Giddings, J. C. : *Sep. Sci.*, **1**, 123(1966)
- 3) Janca, J. : "Field-Flow Fractionation", Marcel Dekker(1987)
- 4) Funtai Kougakukai(Ed.) : "Ryuusi-kei Keisoku Gijutsu", p.263, Nikkan Kogyo Shinbunsha(1994)
- 5) Giddings, J. C. : *J. Chem. Phys.*, **49**, 81(1968)
- 6) Giddings, J. C. : *Sep. Sci. Technol.*, **13**, 241(1978)
- 7) Hovingh, M. E., G. H. Thompson and J. C. Giddings : *Anal. Chem.*, **42**, 195(1970)
- 8) Mori, Y., B. Scarlett and H. G. Merkus : *J. Chromatogr.*, **515**, 27(1990)
- 9) Mori, Y. K. Kimura and M. Tanigaki : *Anal. Chem.*, **62**, 2668(1990)
- 10) Hoshino, T., M. Suzuki, K. Ysukawa and M. Takeuchi : *J. Chromatogr.*, **400**, 361(1987)
- 11) Hansen, M. E. and J. C. Giddings : *Anal. Chem.*, **61**, 811(1989)
- 12) Hansen, M. E., J. C. Giddings and R. Beckett : *J. Colloid Interface Sci.*, **132**, 300(1989)
- 13) Mori, Y. : *Adv. Colloid Interface Sci.*, **53**, 129(1994)

- 14) Kitahara, Y. and A. Watanabe : "Kaimen Denki Gensyou", Kyouritsu Shuppan(1972)
- 15) Verwey, E. J. W and J. T. G. Overbeek : "Theory of the Stability of Lyophobic Colloid", Elsevier(1948)
- 16) Matsumoto, M., A. G. Gaonkar and T. Takenaka : *Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ.*, **58**, 523(1980)
- 17) Croucher, M. D. and M. L. Hair : *J. Phys. Chem.*, **81**, 1631(1977)
- 18) Goldman, A. J., R. G. Cox and H. Brenner : *Chem. Eng. Sci.*, **22**, 653(1967)
- 19) Kirkland, J. J. and W. W. Yau : *Science*, **218**, 121(1982)