

コロイドを観察・分離する分析法について

金井 豊¹⁾

1. はじめに

コロイドの分析では, どのような種類のコロイドがどのくらい存在しているのかということのみならず, コロイドとしての特性を発揮してどの程度の特性強度を有しているのか, といったことについても知る必要がある. これは特に「コロイド特性把握」という観点から, フィールドでのコロイド調査項目を決める上で重要なことであろう. しかし, まず初段階として, コロイドの大きさ・形に関する情報を得ること, その組成, 濃度を知ることが必要である. これらの分析方法は, 目的や対象によって種々あるためそのすべてを尽くすことは困難であるが, 大きく分けて顕微鏡などを用いる観察法と, 濾過装置等を用いる分離法とがあり, その一部を以下に紹介するが, 実際にはこれらを幾つか組み合わせられて行われていることが多い.

2. 観察法による分析

観察法で用いられる装置・手法には, 比較的大がかりな装置で物理化学的手法を用いるものが多い. 透過型電子顕微鏡 (TEM), 走査型電子顕微鏡 (SEM), 原子間力顕微鏡 (AFM), 静的光散乱法 (SLS), 単粒子計測法 (SPC), 動的光散乱法 (光子相関分光法) (DLS, PCS), レーザー誘起ブレイクダウン検出法 (LIBD) 等があり, それぞれ長所 (○), 短所 (●) がある. 以下に個々の手法を概観していく.

(1) 透過型電子顕微鏡 TEM

- 高分解能 (0.1nm) である.
- 超高真空を必要とし, 水のある状態で測定は不可能. 導電性物質でコーティングしなければならない. 3次元情報は不正確.

(2) 走査型電子顕微鏡 SEM

- 表面の3次元観察ができる. フィルター上で測定できる. 5nm以上のコロイドに適用可能. 大きさ・数・構造がわかる. エネルギー分散型分光計 (EDS) を併用すると元素組成もわかる.
- 超高真空を必要とし, 水のない状態で測定しなければならない. 導電性物質でコーティングしなければならない. 高エネルギー電子との相互作用により構造変化・原子の気化が起こる. 1-10nm程度の情報は不正確といわれる.

(3) 原子間力顕微鏡 AFM

- 導電性物質でコーティングする必要がない. 非破壊分析法で, 3次元の表面マッピングが可能. 鉛直情報は信頼性高いが水平方向はチップに依存. 大気圧下で測定可能. 室温・水中でも可能 (Plaschke *et al.*, 1999).
- 水平方向の情報はチップに依存する. 時間がかかる. 数が少ないため統計的問題を生ずる.

(4) 静的光散乱法 SLS

- (コロイド溶液の散乱光強度をレイリーやミーの散乱理論に基づいて解析)
- その場分析, 系を乱さない, 非破壊分析法. 迅速.
- 分布が複雑だと難しい, 化学情報は得られない (Ranville *et al.*, 1999).

(5) 単粒子計測法 SPC

- (光束の中を粒子が流れ, その散乱から粒子一つ一つを観測)
- 50nm以上ならば 10^4 /mlでも検出可能 (Rosse and Loizeau, 2003). その場分析, 系を乱さない, 非破壊分析法. 絶対数濃度測定ができる.
- 6サイズ分け (Degueldre *et al.*, 1989), 13サイズ分け (Wieland and Spieler, 2001), 19サイズ分け

1) 産総研 深部地質環境研究センター

キーワード: コロイド, 分析法, 特性把握, 観察法, 分離法

(Rosse and Loizeau, 2003) 等の研究例があるが、サブミクロン粒径からしか有効でない。

(6) 動的光散乱法 (光子相関分光法) PCS

(ブラウン運動の揺らぎを散乱光強度の揺らぎから解析)

- その場分析, 系を乱さない, 非破壊分析法. 測定後に鉍物・化学分析に使用可能. 校正用の標準不要. 単分散系に有効.
- 感度が粒径に大きく依存 (100nm以下だと感度悪い), 分布が複雑だと難しい (均一な形・屈折率を仮定), 大粒子, 高濃度向き. 大きな粒径は過剰評価となる傾向 (Plaschke *et al.*, 2001).

(7) レーザー誘起ブレイクダウン検出法 LIBD

(パルスレーザーの焦点内の粒子にプラズマを形成させ衝撃波を検出)

- その場分析, 系を乱さない, ダイナミックレンジが広い (5-1,000nm), 高感度. 濃度範囲 (1ppt-数ppm) が広い. 10nmならば 10^4 /mlでも測定可能. 5nm・pptまで可能 (Walter, 2003).
- 破壊分析法 (わずかな部分, 10^5 個にすぎないが). 光子フルエンスのデータが必要 (Walter, 2002). 標準物質による校正が必要 (他の物質では2倍ほどの誤差が出る).

このほかにも, コロイド溶液の回折光を利用したレーザー回折法があるという. これらの多くの方法は, 粒子の持つ物理化学的な相互作用を利用している.

3. 分離を伴う分析

一方, 粒子を大きさで分離する手法としては, 遠心分離法, 限外濾過, 沈降法, 作用場流動分別 (FFF) 等がある. なお, 本特集号の「自然界でのコロイドの概要とその特性について」(金井, 2007)においてコロイド粒子の大きさを示した第1図では, 分離法として用いられる濾過膜の種類と適用範囲を示してある.

(1) 遠心分離法

(回転場における遠心力を利用し粒子の沈降速度を上昇させ, 沈降速度を解析)

- 目詰まりがない. 多分散や不均質性を減じて, フラクション分けし, 化学分析が可能. 濾過などの際のコンタミネーションが避けられる.
- 分解能が悪く時間がかかり繰り返しが必要

(Ranville *et al.*, 1999). 最初の状態を攪乱. 高密度な小粒子と大きな低密度粒子とが混じる. 凝集の可能性.

(2) 濾過法 (限外濾過) UF

- 多分散や不均質性を減じて, フラクション分けし, 化学分析が可能.
- 最初の状態を攪乱. 有効孔サイズが定量的でなく, 分解能が悪い. フィルターへの吸着, 汚染の可能性.

(3) 沈降法

- フラクション分けし, 化学分析が可能.
- 最初の状態を攪乱. 時間がかかる. 密度が必要.

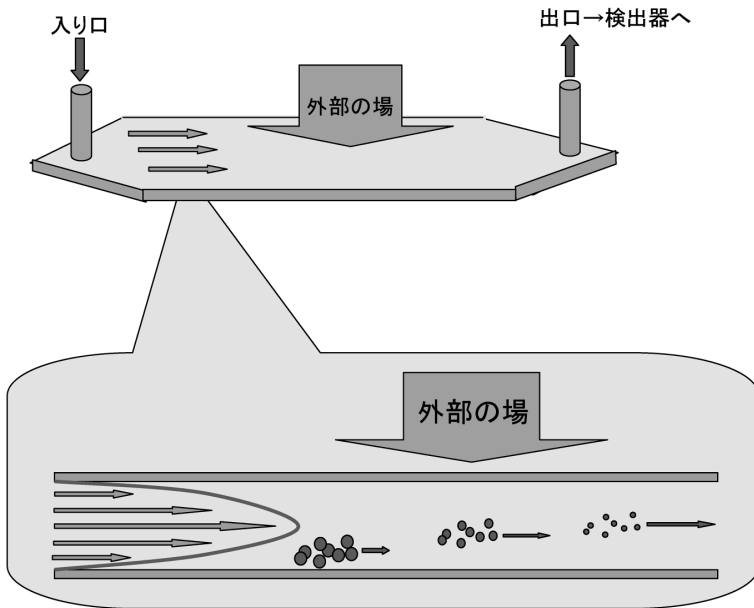
(4) Field flow fractionation (作用場流動分別)

FFF

(作用場との相互作用による粒子の定常的濃度分布と移動相の層流によって分離)

- 多分散や不均質性を減じて, フラクション分けし, 化学分析が可能. 高分解能で, 質量に基づく分離, 数学的に質量や半径を解釈できる. 少量試料で可能 ($10\mu\text{l}$).
- 最初の状態を攪乱. 定量性は検出器の感度に依存. 少量試料のため高感度分析が必要. 鉄がチャンネル表面に吸着したり, 装置部品からSi・Alが流出して検出感度を低下させる (Geckeis *et al.*, 2003).

これらの中でFFFは興味深いので, もう少し詳しく触れてみる. FFFはJ.C.Giddings (1966)が1966年に発見した手法で, 大きな分子から粒子までを大きさで分離することができる. クロマトグラフィと似ているが, クロマトグラフィが2相間の相互作用で分離するのに対し, FFFは一つの相で分離する. 主要なメカニズムを第1図に示したが, 管中の流路の速度分布は中央部が大きい放物線状となるので, 異なる位置に分布した粒子が異なる速度で運搬されて分離される. このときに場がかけられていると, 粒子との相互作用で位置が移動して粒子毎の大きな分離となる. 外部から作用する場の種類により, 遠心場 (sedimentation FFF, SdFFF), 電気的 (Electrical FFF, ElFFF), 温度勾配 (Thermal FFF, ThFFF), クロスフロー (Flow FFF, FiFFF; FFFF) などがある. 高分解能であることから, 今後様々な利用が期待されており, コロイド分野での利用も多い (例えば, Taylor *et al.*, 1992;



第1図 FFFの説明図。

外部の場の相互作用で粒径毎に異なる位置に移動し、流路の中の速度の違いで分離される。

Ranville *et al.*, 1999; Geckeis *et al.*, 2003など). 変わった応用例では、ガン細胞と正常細胞とを分離した研究例も紹介されている(手嶋, 2000).

これらの分離法では、検出感度はいずれも検出手法に依存するものの、分離後に化学分析が可能であるため、同定が容易になる。また、元の試料を粒径ごとに分けているために破壊的であるが、その後の操作の前処理としての有効性が高い。

4. コロイドの分析例

分析手法にはそれぞれ一長一短があることから、実際のコロイドを分析する場合、これまでに述べた手法を幾つか併用することが多い。以下に実際に分析手法を比較検討した例を示す。

トリウムの水酸化物 $\text{Th}(\text{OH})_4$ はコロイド状態となりやすく、Walter (2003)はこのトリウムコロイドを用いて光子相関分光法(PCS)、電子顕微鏡(EM)、原子間力顕微鏡(AFM)を比較検討している。PCSは系を攪乱せずに非破壊でその場分析が可能であるが、感度が粒径に大きく依存しており、また計算モデルでは均一な形・屈折率を仮定しているので分布が複雑だと算出が困難である。EMは内部構造等のナノシステムの研究に有効だが、超高真空を必要とし、乾燥・電導物質のコーティング等の試料調製が必要で、そのためコロイドの系を乱している。EMでは試料調製中に

乾燥するため凝集する可能性がある。更に、高エネルギー電子を照射するため、それとの相互作用で構造変化・原子の気化等が起こり、試料を破壊してしまう。AFMは表面研究に有効であり、室温、大気中・水中でも測定可能で、しかも非破壊で測定が可能であるが、平らな面に載せることが必要である。 $\text{Th}(\text{OH})_4$ のAFM観察結果では、水平方向60nm、鉛直方向4-5nmに凝集しており、一方 ThO_2 コロイドでは水平方向170nm、鉛直方向20-50nmであることを示した。レーザー誘起ブレイクダウン検出法(LIBD)はその場分析ができて、カバーする粒径範囲(5-1,000nm)、濃度範囲(1ppt-数ppm)ともにダイナミックレンジが広い。高感度であり、例えば10nmの粒子なら 10^4 個/mlでも測定可能。系を乱さない。試料をプラズマ状態にしてしまう破壊分析法ではあるが、それは一部分(10^5 個)にすぎない。これらの幾つかの手法を組み合わせることの重要性を述べている。

ベントナイトコロイドを試料として用いてPlaschke *et al.* (2001)はAFM、LIBD、PCS、フローフィールドフローフラクシオネーション(FFFF)-ICP質量分析計(ICPMS)の比較を行っている。AFMではディスク様の形で平均高/半径比(アスペクト比)は約1/10とされた。AFMでは走査型電子顕微鏡(SEM)と同様に形・幾何学的形状を直接示しており、73nmの半径が求めた。LIBD(67±13nm)、FFFF-ICPMS(最大~70nm)もAFMと良く一致した。これらはポリスチレン

標準試料でサイズ校正され、それとの比較である。PCSでは幾分高めに出た。AFM, LIBDは数加重平均半径, FFF-LLS, PCSは強度加重平均半径, FFFF-ICPMSは質量加重平均半径となる。

同様に Filella *et al.* (1997) は天然系に適用する際の利点・欠点をPCSについて検討している。本法は攪乱が無く簡便であるが、大きさ・形態・組成が非常に不均質な天然の系では困難なことが多く、分別するか、他の方法との併用を勧めている。

Ranville *et al.* (1999) は土壌コロイドをsed-FFFで分析し、小粒子と大粒子に鉄を含む相があること、また、カオリン、パーミキュライト、イライトの存在量はサイズによって異なっていることを示した。FFFの精度はそれに続く検出器に依存しており、Plaschke *et al.* (2001) はFFFの検出器としてLLS(散乱光)とICP-MSとを用いて検討した。LLSでは大粒子ほど感度が大きいいためピークは大きい方にずれるが、ICP-MSでは質量加重平均濃度を示すため、AFMなどの結果と良い一致を見せることを示した。しかし、コンタミネーションで感度が低下することがあるとしている。Taylor *et al.* (1992) でもSed-FFFの元素検出にICP-MSを使用している。また、Geckeis *et al.* (2003) も、スメクタイトコロイドのFFFF分析で検出器にLLSとICP-MSとを使用して比較しており、Plaschke *et al.* (2001) と同様にLLSは大きな粒子を過大評価するためICP-MSの方が信頼性があるとした。また、試料が少量でも良いが薄まるために高感度分析の必要性と、セラミック使用によるAl・Siのコンタミネーションのため感度が低下することを指摘している。また、アルカリ抽出したフミン酸コロイドをFFFF分析した場合、鉄(一部微量元素も)がチャンネル表面に吸着して回収率が低下したことを報告している。FFFの研究例として、Beckett *et al.* (1990) は、オーストラリアの河川水中から得たコロイド物質の吸着密度分布を研究し、細粒ほど吸着量が大きいこと、表面積当たりのオルトリン酸の吸着量は粒径に依らないこと、などを示している。

5. 多量の天然試料を扱う濃縮操作

天然中のコロイド粒子は低濃度であると推定され、これまでに述べてきたような分析手法がそのまま使用できるとは限らない。そうした場合、大量の試料(10-1,000リットル)を濃縮処理する必要があるが、一

つの前処理手段としてCFF: cross-flow-filtration (tangential-flow-filtration) が使用されることがある。これは、試料液を循環させる間に分離膜を通して微粒子と溶液とをそれぞれ分離し、濃縮していくものである。コロイド分析法とは少し異なるが、コロイド濃縮法として有用と考えられるため、ここで少し触れておこう。

Buesseler *et al.* (1995) は海水中の有機炭素濃縮の目的のために、14の異なるCFFシステムを内部比較した。その結果、メンブランフィルターの吸着や装置からの汚染を考慮して、装置の洗浄を十分に行うこと、プレコンディショニングが終わったら直ちに始めること、などを指摘している。マスバランスやブランケットも有効である。時系列に沿った試料採取は、汚染や最適実験条件、マスバランスや溶質、コロイドの定量にも必要であり、いつの時点でどのように採取されたかを記録に残し明らかにしておくべきである。また、フィルターのcut-off(フィルターによって実際に分画される大きさ)を標準試料で確認する必要がある。更に、天然試料での適用においては、実験の設計や条件をきめ細かに記録・報告することが必要とされる。

Wilding *et al.* (2004) は公称1kDa(ダルトン: 分子量の大きさを示す)の膜を0.3, 1.3, 3.5kDaの標準試料で検討し、2.1-2.5kDaあたりのcut-offと推定している。低分子量物質の残留を減らすには、高濃縮するか長時間の稼働を勧めるが、高分子量物質のブレイクスルーも起こるため、濃縮度(CF)=10-15当たりが両者の分離に最適としている。

Eyrolle and Chamasson (2000) はZartoriusのCFFを使用してサイズの選択性、コンタミネーション、吸着・凝集について、実際の河川水・海水を用いて検討している。フィルターからは未使用のみならず使用済みのフィルターからも有機物が溶出する。酸性溶液では無機元素の汚染が起こる可能性がある。このため、分析システムを試料でコンディショニングしておくことがよいとしている。更にマスバランスの計算をして分別がうまくいっているかチェックする必要を指摘している。

濾過法は簡便であるため、試料の前処理として使用されることも多い。しかし、様々な問題点もある。その一つが目詰まりである。Salbu *et al.* (1985) は濾過にNucleoporeの膜とMilliporeの膜とを比較し、0.40 μ mフィルターでは100-200mlまではよいが、500

ml濾過すると目詰まりで $0.1\mu\text{m}$ と同じになるとし、多量の時はMilliporeの膜の方がよいが、1,000mlになるとMilliporeもだめであったという。

Karlsson *et al.* (1994)は加圧式のスクリーンフィルターで湖水を濾過し、フィルター面での粒子の蓄積によって有効な孔径が減少し、 $47\text{mm}\phi$ の $0.40\mu\text{m}$ フィルターで 100mg/l の懸濁液 100ml を濾過すると、 $0.015\mu\text{m}$ と同じになることを示している。また、濾過は簡便であるものの、濾過装置への吸着によるロス、操作中のコンタミネーションなどの危険性から、注意深い洗浄とコンディショニングが必要であるとしている。

6. 終わりに

コロイドの分析法は多種・多様であり、最適な分析法というものはない。特に天然の系のように他種類の粒子が混在している場合には、幾つかの手法を組み合わせる分析するのが望ましい。また、コロイドの濃度が低く検出が困難な場合には、濃縮操作も必要となるが、その際のフィルターサイズの選択性、コンタミネーション、吸着等に留意しなければならない。また、コロイドがそうした操作中に、凝集や変質等が起こらないような条件を設定することも必要である。天然のコロイドを扱うことの難しさがここにあるのであろう。

文 献

- Beckett, R., Hotchin, D.M. and Hart, B.T. (1990) : Use of field-flow fractionation to study pollutant-colloid interactions. *J. Chromatogr.*, 517, 435-447.
- Buesseler, K.O., Bauer, J.E., Chen, R.F., Eglinton, T.I., Gustafsson, O., Landing, W., Mopper, K., Moran, S.B., Santschi, P.H., VernonClark, R. and Wells, M.L. (1995) : An intercomparison of cross-flow filtration techniques used for sampling marine colloids: Overview and organic carbon results. *Marine Chem.*, 55, 1-31.
- Degueldre, C., Baeyens, B. and Goerlich, W. (1989) : Colloids in water from a subsurface fracture in granitic rock, Grimsel Test Site, Switzerland. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 53, 603-610.
- Eyrolle, F. and Chamasson, S. (2000) : Ultrafiltration large volumes for the determination of colloiddally bound artificial radionuclides in natural waters. *Applied Radiation and Isotopes*, 52, 927-936.
- Filella, M., Zhang, J., Newman, M.E. and Buffle, J. (1997) : Analytical applications of photon correlation spectroscopy for size distribution measurements of natural colloidal suspensions: capabilities and limitations. *Colloids and Surfaces A*, 120, 27-46.
- Geckeis, H., Manh, Th.N., Bouby, M. and Kim, J.I. (2003) : Aquatic colloids relevant to radionuclide migration: characterization by size fractionation and ICP-mass spectrometric detection. *Coll. Surf. A*, 217, 101-108.
- Giddings, J.C. (1966) : A new separation concept based on a coupling of concentration and flow nonuniformities. *Sep. Sci.*, 1, 123-125.
- 金井 豊 (2007) : 自然界でのコロイドの概要とその特性について。地質ニュース, no.631, 7-9.
- Karlsson, S., Peterson, A., Hakansson, K. and Ledin, A. (1994) : Fractionation of trace metals in surface water with screen filters. *The Science of the Total Environment*, 149, 215-223.
- Plaschke, M., Romer, J., Klenze, R. and Kim, J.I. (1999) : In situ AFM study of sorbed humic acid colloids at different pH. *Colloids and Surfaces A*, 160, 269-279.
- Plaschke, M., Schafer, T., Bundschuh, T., Manh, Th.N., Knopp, R., Geckeis, H. and Kim, J.I. (2001) : Size characterization of bentonite colloids by different methods. *Anal. Chem.*, 73, 4338-4347.
- Ranville, J.F., Chittleborough, D.J., Shanks, F., Morrison, R.J.S., Harris, T., Doss, F. and Beckett, R. (1999) : Development of sedimentation field-flow fractionation - inductively coupled plasma mass-spectrometry for the characterization of environmental colloids. *Anal.Chim.Acta*, 381, 315-329.
- Rosse, P. and Loizeau, J.L. (2003) : Use of single particle counters of the determination of the number and size distribution of colloids in natural surface waters. *Colloids and Surfaces A*, 217, 109-120.
- Salbu, B., Bjornstad, H.E., Lindstrom, N.S., Lydersen, E., Brevik, E.M., Rambaek, J.P. and Paks, E.P. (1985) : Size fractionation techniques in the determination of elements associated with particulate or colloidal material in fresh waters. *Talanta*, 32, 907-913.
- Taylor, H.E., Garbarino, J.R., Murphy, D.M. and Beckett, R. (1992) : Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry as an Element-Specific Detector for Field-Flow-Fractionation Particle Separation. *Anal. Chem.*, 64, 2036-2041.
- 手嶋紀雄 (2000) : 誘電泳動/重力場フィールドフローフラクシヨネーション法によるがん細胞の分離。ぶんせき, 2000, 344.
- Walter, C. (2002) : Laser induced breakdown detection for the assessment of colloid mediated radionuclide migration. *Nuclear Instruments and Methods in Physical Research*, 195, 374-388.
- Walter, C. (2003) : Comparison of colloid investigations by single particle analytical techniques - a case study on thorium-oxyhydroxides. *Colloids and Surfaces A*, 217, 81-92.
- Wieland, E. and Spieler, P. (2001) : Colloids in the mortar backfill of a cementitious repository for radioactive waste. *Waste Manage.* 21, 511-523.
- Wilding, A., Liu, R. and Zhou, J.L. (2004) : Validation of cross-flow ultrafiltration for sampling of colloidal particles from aquatic systems. *Journal of Colloid and Interface Science*, 280, 102-112.

KANAI Yutaka (2007) : Review of analytical methods (observation, separation) of colloidal materials.

<受付: 2006年11月30日>