

3.07 動的光散乱法による液体中の粒子径測定法

3 本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

4 動的光散乱法(DLS : Dynamic Light Scattering)は、液体中
5 に分散されたサブミクロンサイズの粒子に対して、粒子径分布
6 の平均値と分散値を測定するのに使用することができる。平均
7 粒子径と粒子径分布は、懸濁剤、乳剤、又はリポソーム製剤な
8 どの分散系における重要な特性である。動的光散乱法は、サブ
9 ミクロン粒子を測定するのに使用することができ、それゆえ、
10 粒子径がおおよそ1ミクロンまでのランダムに動く粒子からなる
11 分散系の粒子径解析に特に適している。なお、本測定法は
12 ISO22412 : 2017に準拠したものである。

1. 原理

14 液体中に分散されたサブミクロン粒子は、沈降することなく、
15 ブラウン運動として知られる常にランダムな動きをしている。
16 これらの粒子にレーザー光が照射されると、動いている粒子に
17 より散乱された光の強度は、粒子の拡散係数に応じて変動する。
18 大きな粒子は動きが遅いので、大きな粒子による散乱光強度の
19 揺らぎは緩やかであり、一方、小さな粒子による散乱光強度の
20 揺らぎは短時間で変化する。動的光散乱法では、この拡散係数
21 に依存した散乱光強度の揺らぎが測定されて、解析される。拡
22 散係数と粒子径は、ストークス・アインシュタイン式によって
23 関係づけられている。

$$24 \quad x = \frac{kT}{3\pi\eta D} \times 10^{12}$$

25 x : 球状粒子とみなしたときの流体力学的直径(nm)

26 k : ボルツマン定数($1.38 \times 10^{-23} \text{ J} \cdot \text{K}^{-1}$)

27 T : 絶対温度(K)

28 η : 分散媒の粘度(mPa·s)

29 D : 並進拡散係数($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)

30 拡散粒子から散乱された光の強度は、経時的位相シフトカス
31 ペクトル周波数シフトかのいずれかで記述される時間依存性を
32 示す。

33 これらの考えに基づき、時間的に変化する散乱光強度は、光
34 子相関法(PCS : Photon Correlation Spectroscopy)か周波数解
35 析法かのいずれかにより処理される。

36 光子相関法では、経時的な散乱光強度は、それ自身を時間的
37 にずらした波形との相関をとる(自己相関)あるいは他の検出器
38 から得られた信号との相関をとる(相互相関)。単一粒子径から
39 なる系においては、自己相関関数及び相互相関関数は、遅れ時
40 間と共に指数関数的に減衰する。この減衰定数は、粒子径の関
41 数となる散乱光の揺らぎ(大粒子では小さく、小粒子では大き
42 い)によって決まるものである。

43 周波数解析法では、散乱光の周波数のパワースペクトルを解
44 析する。試料が単一粒径ならば、パワースペクトルはローレン
45 ツ型の関数になる。

46 この二つの手法は、数学的に等価である。つまり、光子相関
47 法における自己相関関数は、周波数解析法のパワースペクトル
48 をフーリエ変換したものに一致する。このため、どちらの手法
49 を用いても、平均粒子径(\bar{x}_{DLS})と粒子径分布の分散値を反映し
50 た多分散指数(PI)が求められる。

51 データの評価には、異なる数学的手法が用いられる。例え
52 ば、粒子径分布の評価には逆ラプラス法が用いられ、自己相関
53 関数の評価にはキュムラント法が用いられる。

54 動的光散乱式測定装置に使われている光学検出方法は二つの
55 タイプがある。散乱光のみを検出するホモダイン法と散乱光と
56 入射光を干渉させて検出するヘテロダイン法である。

2. 装置

58 一般的な測定装置は、以下の構成となる。

59 (i) レーザー : 単色かつ可干渉性のあるレーザーで、入射光
60 軸と受光光学系の軸とを含む面に対して、垂直な電場成分をも
61 つ偏光(垂直偏光)となるように設置する。測定セル内の試料を
62 照射する。

63 (ii) 試料ホルダー : 試料の温度を±0.3℃以内に維持しなけ
64 ればならない。

65 (iii) 光学系及び検出器 : 入射レーザー光に対して一定の角度
66 に配置された検出器(通常、単一散乱角について実施)により、
67 適切なサンプリングレートでみかけの散乱光強度が測定される
68 (このみかけの散乱光強度は、測定されたサンプリングタイム
69 における、散乱体積中全粒子からの散乱光の合計である)。検
70 光子を含む場合、検光子は垂直偏光の透過率が最大になるよう
71 に設置される。

72 (iv) 相関計(光子相関法)又はスペクトルアナライザー(周波数
73 解析法)

74 (v) 演算装置及びデータ処理ソフトウェア : 相関計やスペク
75 トルアナライザーの機能を有するデータ処理装置もある。

3. 装置の性能

77 動的光散乱法により得られた粒子径は、標準粒子から算出さ
78 れた相対的な値ではなく、基本原理に基づいた絶対的な値であ
79 るので、校正は不要である。

80 しかし、装置を設置したとき、又は装置の動作に疑いがある
81 場合には、粒子径が認証された試料を用いて、性能の確認を行
82 うことが必要である。また、その後少なくとも1年ごとに性能
83 の確認を行うことが望ましい。

84 動的光散乱用の認証された標準物質を使用することが望まし
85 い。

86 認証された標準物質は、100 nm程度かその他適切な粒子径
87 の狭い粒子径分布を持つポリスチレンラテックス粒子が用いら
88 れる。

89 認証値と5回測定の前平均値との絶対値差は2%以内でなければ
90 ならない。5回連続測定の標準偏差は2%以下でなければならない。
91 多分散指数の測定値は0.1未満でなければならない。

92

4. 手順

4.1. 試料調製

95 (i) 試料は、分散媒中によく分散した試験物質からなる。多
96 重光散乱の影響を除去するため、濃度は適切な範囲に収めなけ
97 ればならない。分散媒は、次の要件を全て満たすものを選ぶ。

98 a 使用するレーザーの波長に対して吸収を認めない。

99 b 装置に用いられている材質に腐食などの影響を与えない。

100 c 粒子に対して溶解、膨潤、凝集などの影響を与えない。

101 d 試験物質と異なった既知の屈折率をもつ。

102 e 測定温度の範囲で粘度が±2%以内の精度で既知である。

103 f バックグラウンド散乱が低く、測定に支障のない清浄レ
104 ベルである。

105 (ii) 粒子濃度の範囲は、主に適宜段階的に希釈し、粒子径の
106 測定結果に変化が認められない範囲の濃度を見極めて決定する
107 ことが望ましい。

108 また、測定に影響を与えるダストを除去し、調製中の再混入
109 を防止することが重要である。試料の希釈に用いる分散媒から
110 の散乱光信号は、通常認められないか又は非常に弱くなければ
111 ならない。もし異常に強い信号を伴う大きな揺らぎが記録され
112 る場合や、試料を通過するレーザー光中に輝点が出現する場合
113 においては、汚染物質が試料に混入している可能性が高い。そ
114 のような場合、分散媒を使用前に更に清浄化する措置(ろ過、
115 蒸留など)をとる必要がある。濃度の下限は主に、分散媒及び
116 汚染物質からの散乱光に影響されない条件から決定する。

117 なお、水を分散媒として用いる場合、新鮮な蒸留水又は脱塩
118 してろ過(例えば、孔径0.2 μm のフィルターを用いる)した水の
119 使用が推奨される。粒子が強く帯電して、長距離の粒子間相互
120 作用が測定結果に影響することもある。その際には影響を低減
121 するために、分散媒に微量の塩(例えば、塩化ナトリウム濃
122 度; 10^{-2} mol/L程度)を添加してもよい。また、冷蔵保存してい
123 たサンプルを室温で測定する場合には、測定セル中で気泡が生
124 じる可能性があるため、注意する必要がある。

125 4.2. 測定手順

126 装置の電源を入れ、暖機運転をする。

127 必要に応じてセル洗浄を行う。洗浄の程度は測定条件によっ
128 て異なる。個別に包装された使い捨ての清浄なセルを用いる場
129 合は、そのまま使用することもできる。セルを洗浄する場合は、
130 水あるいは有機溶剤でセルをすすぐ。必要に応じて、研磨剤を
131 含まない洗剤を用いてもよい。

132 試料の入ったセルを試料ホルダー内に入れ、試料の温度が試
133 料ホルダーの温度と平衡になるまで待つ。温度を $\pm 0.3^\circ\text{C}$ 以内
134 の精度で制御し、測定することが望ましい。

135 予備測定を実施して、4.1.試料調製の項に記載の通り、粒子
136 濃度を適切な範囲に設定する。

137 適切な測定時間と積算回数を設定し、測定する。

138 測定ごとに平均粒子径と多分散指数を記録する。測定値に粒
139 子濃度依存性が見られた場合には、無限希釈濃度へ外挿した平
140 均粒子径及び多分散指数の値(又は最低粒子濃度での測定値)を
141 採用する。

142 測定終了時に、試料中に顕著な沈殿物が認められないことを
143 確認する。沈殿物が認められた場合は、凝集又は析出が生じた
144 試料であるか、動的光散乱法による測定に適していない試料で
145 ある可能性がある。

146 4.3. データの再現性

147 本試験法で得られる再現性は、主に試料の特性(懸濁剤/乳
148 剤、分散安定性、粒子径分布の分散値など)に依存するが、要
149 求される再現性は測定の目的に依存する。(異なる試料の調製
150 における)再現性は物質によって大きく異なることから、本項
151 においてその必須要件を定めることはできない。しかし、少な
152 くとも3回測定した際の平均粒子径(\bar{x}_{DLS})の相対標準偏差が
153 10%以下といった、再現性の許容基準を目標とすることが望
154 ましい。

155 5. 結果の報告

156 試験報告書には、平均粒子径と多分散指数を記載しなければ
157 ならない。

158 また、使用した分散媒とその屈折率及び粘度、及び試料温度

159 等について記載し、測定系についての十分な情報として、例え
160 ば、測定原理(光子相関法又は周波数解析法)、光学的配置(ホモ
161 ダイーン又はヘテロダイーン)、及び観測角度などの測定装置に関
162 する情報が含まれる。それに加えて、測定時間又は積算回数、
163 試料(性質、濃度及び調製法)、分散条件、及び測定セル型に関
164 する情報も記載すべきである。結果は装置の特性、データ解析
165 プログラム、及び使用する光学モデルに依存するため、それら
166 の詳細についても提供する必要がある。

167 6. 用語

168 (i) 平均粒子径(Average particle diameter) \bar{x}_{DLS} : 散乱光強
169 度基準による調和平均粒子径(直径)であり、単位は、ナノメー
170 トル(nm)とする。

171 (ii) 多分散指数(Polydispersity index) PI: 粒子径分布の分
172 散値を示す無次元指標である。

173 (iii) 散乱体積(Scattering volume): 受光光学系で観測できる
174 入射レーザー光の体積である。一般的には 10^{12} m³オーダーで
175 ある。

176 (iv) 散乱光強度(Scattered intensity), カウントレート
177 (count rate): 散乱体積に存在している粒子によって散乱され
178 た光の強度(散乱光強度)である。光子相関法では、検出器で散
179 乱される散乱強度に比例する単位時間当たりの光子パルス数
180 (カウントレート)であり、周波数解析法では、検出器からの出
181 力電流値(光電流)である。

182 (v) 粘度(Viscosity) η : 分散媒の粘度であり、単位は、ミリ
183 パスカル秒(mPa·s)とする。

184 (vi) 屈折率(Refractive index) n : レーザー光の波長における
185 分散媒の屈折率を示す無次元指標である。

186