

液中粒子数濃度の測定技術と標準に関する調査研究

車 裕輝*

(2018年2月28日受理)

**Measurement techniques and calibration standards
for number concentration of liquid-borne particles**

Yuki KURUMA

Abstract

Particles suspended in liquid with diameters between several nanometers and micrometers have two conflict faces. In one aspect, they are valuable industrial nanomaterials, and in the other they are pollutants which would have adverse effects on cleanliness. In industries accurate measurements of particle number concentration in ultrapurewater, chemicals, blood, injections, infusion, and tap water, are needed, and therefore the quality control of liquid-borne particle counters (LPCs) which is used for the measurement of particle number concentration is important. In this report, a survey on measurement techniques of number concentration of liquid-borne particles used in industries and required metrological standards was conducted.

Although semiconductor industry needs to control particles with diameters smaller than 100 nm suspended in ultrapurewater and chemicals, quality control of these measurements at a satisfactory level is not available. To meet these demands for the diameter range, the National Metrological Institute of Japan at the National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (NMIJ/AIST) is progressing development of national primary standard for the number concentration of liquid-borne particles and planning an expansion of calibration range down to 50 nm (current calibration range: 2 μm – 20 μm). Toward the expansion of the calibration diameter range, literature investigation of several calibration techniques was conducted.

LPC of non water medium, such as blood cell measurement or particle measurement in oil are in need of novel calibration techniques applying accurate number concentration standards. This report investigated applicability and potential issues in using AIST's standards of number concentration for liquid-borne particles to liquid media other than water.

1. はじめに

液中に浮遊している粒子は様々な性状をもち、大きさについても肉眼で確認可能なものからナノメートルオーダーまで多岐にわたる。液中粒子には人間にとって好ましくない有害物質としての側面がある。例えば半導体・エレクトロニクス産業では、製品製造過程で部品に付着す

る粒子は製品の信頼性低下を招く汚染物質としてみなされ、部品洗浄用の超純水・薬液に対して厳しい清浄度管理が求められる。医薬品業界では人体への異物の混入を防ぐ目的で、注射剤や輸液に対して不溶性粒子試験を行うことが各国の医薬品の規格基準書である薬局方で定められている。他方で液中粒子は有益な作用をする物質・機能性材料という見方もできる。例えば金属ナノ粒子やカーボンナノチューブに代表される工業用ナノ材料は、ナノテクノロジー分野でマイクロ・ナノメートルオーダー

*物質計測標準研究部門粒子計測研究グループ

での高度なサイズ制御が行われており、エネルギー効率の向上やユニークな物理・化学特性の発現と産業利用を目指し、新たな機能性材料の開発が進められている。生命活動に欠かせない役割を果たしている赤血球や白血球、血小板など、血液に含まれる血球細胞も液中粒子の範疇内であり、臨床検査現場では血液検査の中で血球計測が日常的に行われ、健康状態を把握するための指標に利用されている。

上で説明した事例では液中粒子の個数濃度・粒径分布を把握することを目的として様々な液中粒子計測技術が用いられており、いずれの場合も目的とする粒径範囲の正確な粒子数濃度を測定することが求められる。液中粒子計測技術の進展は著しく、液中粒子数濃度を自動的に測定可能な液中粒子計数器が開発・市販され、幅広いユーザに利用されている。液中粒子計数器の利用分野の広汎さから、液中粒子計数技術が産業界で果たす役割は大きく、液中粒子計数器に対する適切な精度管理はますます重要になることが予測される。液中粒子数濃度測定値の信頼性を保証し適切な精度管理を行うためには、測定結果の根拠を明確に示す必要がある。一般には一連の測定操作で得られる測定量が信頼できる計量標準にトレサブルであることで、測定値の信頼性の範囲（不確かさ）を示すことができる。液中粒子数濃度に対しても同様に、信頼できる粒子数濃度標準を用いた校正体系を実現することで、測定値の不確かさを示すことができる。

本調査研究では産業界での液中粒子数濃度測定技術の利用実態を把握することと、液中粒子数濃度標準の実態、さらには今後の標準開発のための指針を得ることを目的とし、液中粒子数濃度測定技術に関する文献調査、粒子計測器メーカーや標準粒子メーカーなど、関連する業界へのインタビュー調査を実施した。本調査研究報告書はこの調査結果をまとめたものである。2章では液中粒子数濃度測定の基本原則を説明し液中粒子計数器の技術動向についてレビューする。3章では産業界での液中粒子数濃度測定技術の利用事例を説明し、現場のユーザが抱えている精度管理上の問題点をまとめる。4章では液中粒子数濃度国家標準の供給の仕組みと今後開発が必要な標準について述べる。5章では液中粒子数濃度標準を開発するために今後取り組む校正技術について述べる。なお本稿では液中粒子とは液体中に懸濁・分散しているナノメートルからマイクロメートルオーダの固体状物質を指すこととする。

2. 液中粒子数濃度の測定方法

液中粒子計測法には様々な計測原理があり、その計測原理を大きく分けると①個々の粒子を計測する個別評価手法（カウント法）と、②多数の粒子を含む集合体に対して計測を行う集合体評価手法（アンサンブル法）がある¹⁾。本稿で説明する液中パーティクルカウンタ¹（Liquid-borne Particle Counter: LPC）は前者の個別評価手法に基づく、個々の粒子からの何らかの信号応答を得てその応答数を計数することで懸濁液中の粒子数濃度測定が可能な計測器のことを指す。後者の集合体評価手法に分類される液中粒子計測技術は、粒子群からの物理的応答を得ることで粒径を測定するもの（例えば動的光散乱法、静的光散乱法、レーザ回折・散乱法、小角 X 線散乱法）であるが、これらの計測法では粒子数濃度の絶対的な測定は困難である。そのため正確な粒子数濃度の算出のためには粒子数濃度標準による校正が原則必要になる。本稿ではこれらの計測法については扱わない。この章では個別評価に基づく様々な液中粒子数濃度測定技術の基本原則について説明し、それぞれの測定手法がもつ特徴をまとめる。表1にこの章で説明する液中粒子数濃度測定技術とその測定可能粒径範囲、対応する日本工業規格（JIS: Japanese Industrial Standard）、国際標準化機構（ISO: International Organization for Standardization）規格²⁾⁻¹¹⁾の一覧を示す。測定可能粒径範囲については LPC メーカーのカatalog等を参考にして作成した。

2.1 光散乱式粒子計数法

光散乱式粒子計数法は、粒子による光散乱現象を利用して粒径と粒子数を測定する方法である。光散乱式液中パーティクルカウンタ（光散乱式 LPC）の原理を図1に示す。粒子を含む液体はフローセルとよばれる石英やサファイヤなどの透明材料でできた流路内を流れる。フローセル内の一部にはレーザや LED 等の光源からの光が照射されており、粒子がこの照射域を通過する瞬間に光が多角度に散乱される。散乱光の一部はフォトディテクタで電気信号として検出される。粒子が検出域を通過するときのみ信号が検出されるため、得られる電気信号はパルス状になる。発生した電圧パルス1つが粒子1個としてカウントされ、このときの電圧パルスの波高が

¹ 狭義では光散乱式・光遮蔽式粒子計数器を指すが、本稿では個別評価手法に基づく計測器をパーティクルカウンタと呼ぶ。

表 1 主な液中粒子数濃度測定技術の比較

測定法	原理	有効径	測定可能粒径範囲 ^{a)}	JIS	ISO 規格
全数計数型光散乱式粒子計数法	光散乱	光散乱相当径	0.1 μm – 20 μm	JIS B 9925 ²⁾	ISO 21501-2 ³⁾
部分計数型光散乱式粒子計数法	光散乱	光散乱相当径	0.03 μm – 0.2 μm		
光遮蔽式粒子計数法	光遮蔽	光散乱相当径	1 μm – 100 μm	JIS B 9916 ⁴⁾	ISO 21501-3 ⁵⁾
顕微鏡法	画像解析	幾何相当径	0.001 μm –	JIS Z 8827-1 ⁶⁾	ISO 13322-1 ⁷⁾
電気的検知帯法	電気抵抗	体積相当径	0.04 μm – 1600 μm	JIS Z 8832 ⁸⁾	ISO 13319 ⁹⁾
粒子軌跡解析法	ブラウン運動	ブラウン拡散径	0.03 μm – 1 μm		ISO 19430 ¹⁰⁾
単一粒子誘導結合プラズマ質量分析法	質量分析	物質質量相当径	0.01 μm – 10 μm		ISO/TS 19590 ¹¹⁾
共振式質量測定法	共振周波数	質量相当径	0.05 – 5 μm		

a): メーカーのカatalog等をもとに作成。

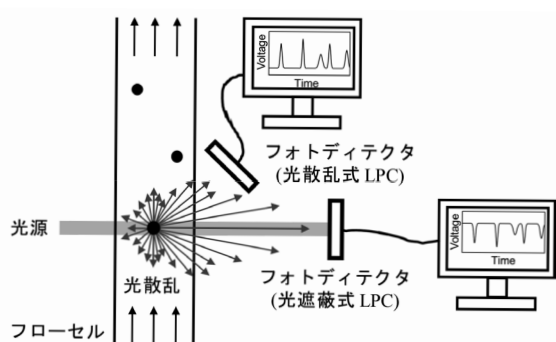


図 1 光散乱式・光遮蔽式LPCの粒子検出原理。

粒径の大きさに対応する。この粒子計数法は液中粒子のみならず気中のパーティクルカウンタにも広く利用されている¹²⁾。光散乱式LPCには検出部のフローセル内を流れる粒子全てを計数可能な全数計数型（全数計数型光散乱式LPC）と一部の粒子を検出する部分計数型（部分計数型光散乱式LPC）の2種類がある。いずれも測定者の習熟度に対する依存性が少ない迅速・簡便な自動計数技術であり、高速な時間応答が得られるのが特徴である。サブマイクロメートル粒径域の検出が得意なことから、半導体製造現場での超純水や薬液の清浄度管理、フィルタの性能試験、化学機械研磨（Chemical Mechanical Polishing: CMP）用のスラリー中の粗大粒子管理など幅広い分野で利用される。光散乱式LPCには検体からサンプリングした試料を測定するバッチ式と、検体が流れているラインにLPCを組み込んでリアルタイムにモニタリングするインライン式があるが、液中粒子数濃度の算出方法は同様である。懸濁液の試料流量を q [mL/min]、測定時間を t [min]、粒子計数値を N [個] とすると、液中粒子数濃度 C [個/mL] は以下の式で表現できる。

$$C = \frac{N}{q \cdot t} \quad (1)$$

計数効率が100%ではないLPCの場合は、式(1)の右辺に対して計数効率を除することで、粒子数濃度を算出することができる。光散乱式LPCはISO (ISO 21501-2³⁾) およびJIS (JIS B 9925²⁾) で規格化されており、これらの規格にはLPCの基本構成、粒径校正、粒径設定精度、計数効率、粒径分解能、最大粒子数濃度、流量精度、サンプリング時間、校正周期などが記述されている¹³⁾。

全数計数型光散乱式LPC

フローセル内の粒子通過域全面に検出用レーザーを照射し、液中に含まれる粒子を全数計数できるように設計されているのが全数計数型光散乱式LPCである。全数計数型にはフローセル全体にレーザー光を照射する場合（フローセル全面照射型）と、シースフロー構造をとることでフローセル内の一部のみを照射する場合の2通りがある。後者は細胞計測等で用いられる光学式フローサイトメータに多く採用されている構造である。それぞれの照射方式についてレーザー軸からみた模式図を図2 (a), (b) に、フローセルの断面側からみた模式図を図3 (a), (b) に示す。

フローセル全面照射型では図2 (a), 図3 (a) に示すようにフローセル全面にレーザー光が照射される構造をとっており、このような光学系を備えた全数計数型光散乱式LPCは主に粒径が数マイクロメートル以下の粒子検出に広く用いられている。照射するレーザー光の光密度が均一になるよう光学レンズで調節してあり、粒子の通過域による散乱光強度の揺らぎが後述する部分計数型と比べると小さい特徴がある。現在市販されている全数計数型光散乱式LPCで100%の検出効率が保証されている粒径は約200nmまでである¹⁴⁾。

シースフロー型では図2 (b), 図3 (b) に示すように試料流がシース流に包まれた鞘状構造をとることで、試料流をフローセルの中心軸に集中させている。シース

フロー型の長所としては、このような構造をとることでフローセル壁面からの反射光・屈折光・表面汚染による迷光の影響に起因するバックグラウンドノイズを低減できることである。欠点としては装置構造が複雑になり光学系や流路の高精度な軸合わせや大量のシース用の超純水が必要になることである。さらに試料流とシース流界面での流体揺動が屈折率の揺らぎを引き起こすことで新たなバックグラウンドノイズが生じる場合がある。バックグラウンドノイズの増加は偽計数増加の原因となる。

部分計数型光散乱式 LPC

検出する粒子の粒径が 100 nm 以下の領域では、光散乱強度は粒径の 6 乗に比例する Rayleigh 散乱領域になり、粒径が小さくなるほど光散乱強度の低下が著しく、光学的に粒子を検出することが困難になることが知られている¹⁵⁾。

$$\frac{I_R}{I_0} = \frac{\pi^4 d_p^6}{8R^2 \lambda^4} \left(\frac{\frac{m}{n}^2 - 1}{\frac{m}{n}^2 + 2} \right)^2 (1 + \cos^2 \theta) \quad (2)$$

ここで I_R は散乱光強度、 I_0 は入射光強度、 d_p は粒径、 R は粒子からの距離、 λ は光の波長、 m 、 n はそれぞれ粒子・媒体の複素屈折率、 θ は方位角である。上式から分

かる通り粒径が 2 分の 1 になると光散乱強度が 64 分の 1 に減衰することから、検出粒子の微小化に伴い装置由来のバックグラウンドノイズとの区別が困難になる。このような微小粒径域での粒子検出を目的として用いられているのが部分計数型光散乱式 LPC である。

部分計数型光散乱式 LPC の模式図を図 2 (c)、図 3 (c) に示す。部分計数型光散乱式 LPC は図 3 (c) に示すように、集光レンズを用いてレーザー光密度を高めてフローセルの一部に照射するような機構を持ち、それによって粒子の光散乱強度を高め、全数計数型光散乱式 LPC に比べてより微小な粒子の検出を実現している。またレーザーパワーを高めるとともに短波長レーザーに変更するなど¹⁶⁾、粒径 100 nm 以下の微小粒子の検出感度向上に特化した LPC が市販されており、現在市販されている部分計数型 LPC の最小検出粒径は約 30 nm 程度になっている。レーザー光を集光して光密度を高めたものをフローセル内のごく一部に照射しているため、照射面の中で光密度が不均一になり、同じ大きさの粒子でもレーザー光を通過する場所によって検出される光強度が変化する^{16), 17)}。さらに粒子がレーザー光を通過しない場合は検出されない。フローセルを流れる粒子のうちレーザー照射域を通過する割合、すなわち計数効率の決定には、粒子数濃度標準を用いた校正を行う。市販されている部分計数型光散乱式 LPC の計数効率は、最小検出粒径下限である 30 nm 付近では数%以下まで低下する。計数効率を正確に決定することは難しく、そのため部分計数型光散乱式 LPC による粒子数濃度測定値の不確かさは大きい。

このような微小粒径域の粒子を検出可能な LPC が必要とされている背景は 3.1 節で説明する半導体業界からの要望によるものが大きい。近年の半導体・電子部品の高集積化に伴い、製造過程で用いられる部品洗浄液に含まれる微小粒径域の粒子に対して、より厳しい粒子数濃度管理が求められるようになったためである。半導体業界で用いられる、20 nm - 50 nm の微小な孔径をもつフィルタの性能評価試験にも部分計数型光散乱式 LPC

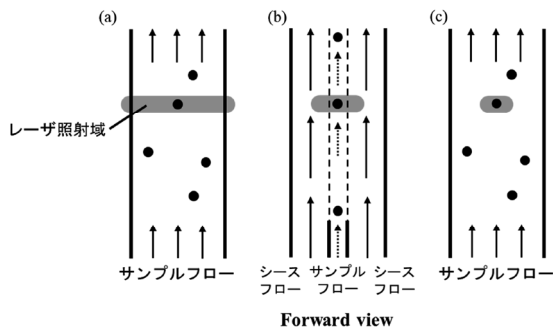


図 2 光散乱式 LPC の全数計数型と部分計数型の照射方式の違い (フローセルを横からみた図)。
(a) : フローセル全面照射型, (b) : シースフロー型, (c) : 部分計数型。

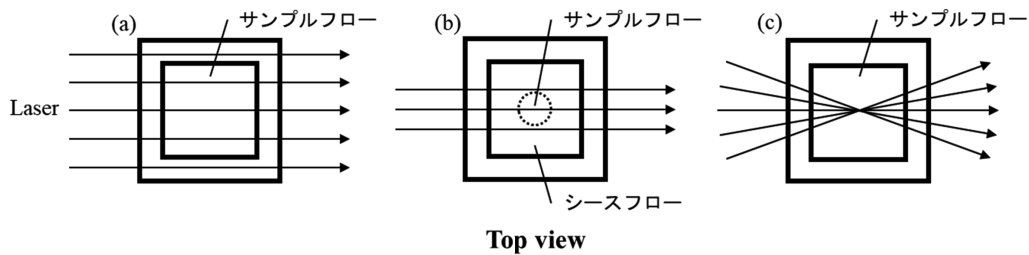


図 3 光散乱式 LPC の全数計数型と部分計数型の照射方式の違い (フローセルの断面図)。
(a) : フローセル全面照射型, (b) シースフロー型, (c) : 部分計数型。

は利用されている^{17),18)}。

2.2 光遮蔽式粒子計数法

粒子による散乱・吸収のためフォトディテクタに到達する入射光量が減衰する原理を利用した粒子計数法を光遮蔽式粒子計数法とよぶ。光遮蔽式パーティクルカウンタ（光遮蔽式 LPC）は図 1 に示すようにレーザの光軸上にフローセルを挟んでフォトディテクタが配列する構造をもつ。フォトディテクタではレーザ光源から常に光を受光しているが、フローセル内のレーザ照射面を粒子が横切ると、粒子による光散乱・吸収現象によりフォトディテクタで受け取る光量は減衰する。そのため光散乱式 LPC とは異なり負の電圧パルスを検出する方式となる。このパルス数がフローセルを通過した粒子数に、パルス波高が粒子サイズに対応する。粒子による光減衰量は消散（散乱+吸収）効率に依存し、粒子 1 個につき減衰する受光量パワー変化量 ΔP (W) は次式で表される。

$$-\Delta P = I_0 A_p Q_{\text{ext}} \quad (3)$$

$$Q_{\text{ext}} = Q_{\text{sca}} + Q_{\text{abs}} \quad (4)$$

ここで I_0 は入射光強度 (W/m^2)、 A_p は粒子の投影面積 (m^2)、 Q_{ext} は粒子の光消散係数、 Q_{sca} は粒子の光散乱係数、 Q_{abs} は粒子の光吸収係数である。粒子数濃度は光散乱式 LPC と同様に式 (1) により算出できる。一般的な可視光波長領域の光源を用いた場合、 Q_{ext} は粒径数 μm 以上で 2 に漸近する¹⁹⁾。サブマイクロメートル粒径域の粒子検出に有利な光散乱式 LPC に対して光遮蔽式 LPC は数 μm 以上の大粒径側粒子の検出が得意であり、この粒径域の粒子数濃度測定が行われる注射剤・輸液中の異物管理や作動油・潤滑油中の固体粒子汚染管理に広く用いられている。光遮蔽式 LPC は ISO (ISO 21501-3⁵⁾) および JIS (JIS B 9916⁴⁾) で規格化されている¹³⁾。

2.3 電気的検知帯法

光学的な検出法によらない電気的手法を用いた液中粒子計数技術として、電気的検知帯法 (Electrical Sensing Zone Method) がある。図 4 に電気的検知帯式液中パーティクルカウンタ (電気的検知帯式 LPC) の原理図を示す。装置容器内には電解液が満たされており、陽極と陰極の間に電圧を印加することで一定の電流が流されている。両電極間は電解液の大部分がガラス製の絶縁体 (アパーチャチューブ) を挟んで絶縁されているが、ガラス管の一部に数 $10 \mu\text{m} - 2000 \mu\text{m}$ 程度の微細なアパーチャが設けられており、この箇所が粒子検出域となる。

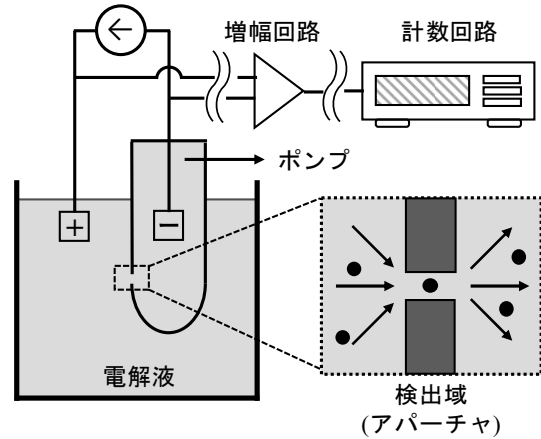


図 4 電気的検知帯式 LPC の粒子検出原理。

ポンプの吸引によって試料液体がアパーチャを通じて流れると、試料中の粒子がこの領域を通過する瞬間に電極間の電気抵抗が増大し、これを抵抗パルスとして計数することで粒子計数が可能となっている²⁾。粒子数濃度 C [個/mL] の測定は式 (1) に従い、粒子数値 N [個] とポンプにより吸引される懸濁液の流量 q [mL/min] を正確に測定することで算出できる。粒子が検出域を通過する際に発生する電気パルスの振幅は粒子により排除される電解液の体積分に比例する。そのため得られる測定結果は体積相当径基準の粒径分布である。一般的に粒子の電気伝導度は電解液と比べて小さい必要があるが、金属やカーボン、シリコンなどの導電性が高い粒子³⁾ や有機物に対しても測定可能である。この計測法は血液細胞の測定事例が多く、主に臨床検査での血球計数に広く用いられる液中粒子計数法である。

電気的検知帯式 LPC の検出可能粒径範囲は主にアパーチャの孔径に依存する。アパーチャ径に対し粒子が小さすぎると、得られるパルス信号が電気ノイズに埋もれてしまい、粒子が大きすぎるとアパーチャへの目詰まりが発生しやすくなるため、検出可能粒径域は孔径の 2% - 60%^{8),9)} の粒径に限定される。作製可能なアパーチャ径の制約により、市販されているガラス製アパーチャチューブでは粒径が数 100 nm 以下の粒子検出は困難であったが、近年アパーチャ径を自在に変化させることが可能でサブミクロン粒径域の粒子を検出可能な Tunable Resistive Pulse Sensor (TRPS) が開発され

²⁾ 例えば電圧一定型の場合、検出部への粒子通過による抵抗値変化は電流値の低下から読み取る。

³⁾ ただし表面電位層の形成を妨げないような適切な電圧の印加が必要となる。

た^{20),21)}。TRPSはミクロン径の小孔を持ち、張力を加えることでアパーチャ径を制御可能な高分子膜等を用いたセンサである²²⁾。このセンサを用いた電氣的検知帯式LPCによる粒径220 nm, 330 nm, 410 nmの単分散ポリスチレンラテックス (PolyStyrene Latex: PSL) 粒子およびそれら混合懸濁液の測定では妥当な平均粒径・粒径分布測定値を得られたことが報告されている²³⁾。

電氣的検知帯式LPCの測定可能粒径下限の制約要因はアパーチャ径だけではない。アパーチャ径の微小化に伴い基準となる電流 (電圧) 値自体が小さくなる。そのため粒子通過時に生じる電流 (電圧) 値差も小さくなり、電気ノイズ信号との区別が困難になる。この問題に対する解決策として溶液の電解質濃度を高めることで溶液の電気抵抗を小さくする工夫があるが、そうした場合は凝集や浸透圧による粒子サイズ変化が生じるおそれが生じる。電氣的検知帯式LPCはISO 13319およびJIS Z 8832で規格化され^{8),9)}、測定に適合する電解液は粒子種ごとにAppendix D (附属書D)で一覧化されている。

2.4 顕微鏡法 (直接検鏡法)

液中粒子数濃度の測定に古くから用いられてきた測定手法として、顕微鏡による粒子計数法 (直接検鏡法) がある。通水フィルタや平面度の高いシリコン基板等の表面に粒子を捕集し、光学顕微鏡や電子顕微鏡により撮像することで、捕集面上に残った粒子数を目視計数する手法である。捕集面の一部のみを観察し、計数視野面積率から全捕集粒子数を推定する部分計数法や、捕集面全面を計数する全数計数法^{24),25)}に大別できる。図5に顕微鏡法による粒子計数法の原理を示す。粒子数濃度が低く清浄度の高い試料に対してはフィルタ通水法を用いる (図5 (a))。例えばニュクリポア膜²⁶⁾や中空糸膜²⁷⁾を用いて既知量の懸濁液を通水することでフィルタ上に捕集された粒子数から粒子数濃度を算出する。粒子数濃度が高い場合は平面基板へ液滴を滴下する方法が適している (図5 (b))。平面シリコン基板にマイクロピペット等により既知量の液滴を滴下してから滴下範囲にある粒子数を計数することで粒子数濃度を算出できる。顕微鏡法は粒子形状や大きさなどを直接目視観察が可能なことから、古くから超純水の清浄度管理²⁸⁾や油中の汚染粒子管理²⁹⁾など、非常に広汎な分野で利用されている。粒子数濃度 C [個/mL] の算出には、全数計数法の場合は捕集面上に通水・滴下した試料懸濁液体積 V [mL] と粒子計数値 N [個] を用いて求めることができる。

$$C = \frac{N}{V} \quad (5)$$

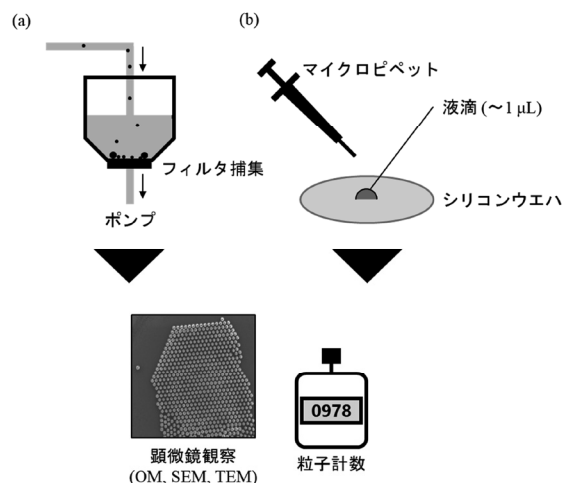


図5 顕微鏡法 (直接検鏡法) による粒子計数法。

(a) : フィルタ通水捕集による粒子捕集, (b) : シリコンウエハへの液滴滴下による粒子捕集。

OM: Optical Microscope; SEM: Scanning Electron Microscope; TEM: Transmission Electron Microscope.

部分計数法の場合はろ過膜の有効過面積 A_f と実際に測定した視野面積 a から通水した懸濁液に含まれている粒子数濃度を算出する。

$$C = \frac{N}{V} \times \frac{A_f}{a} \quad (6)$$

顕微鏡法の問題点として、粒子捕集から撮像・計数までの手順が煩雑かつ多大な時間を要することから測定の迅速性は低い。また超純水などのように清浄度が高い試料の場合は液に含まれている粒子が少なく、統計的信頼度を確保するために多くの粒子数を捕集するまで大量にフィルタに通水する必要がある。また通水前のフィルタ上に粒子が存在する場合、もともとフィルタ上にある粒子数をブランク粒子数として通水後の計数値から差引く必要があり、不確かさ要因の増大につながる。顕微鏡法による粒子数濃度の測定精度向上のためには、もとのフィルタに含まれるブランク粒子の低減と十分な数の粒子数を捕集することが必要である³⁰⁾。

2.5 粒子軌跡解析法

粒子軌跡解析 (Particle Tracking Analysis: PTA) 法は個々の粒子のブラウン運動を CCD, CMOS カメラなどで追跡することで、その粒子数とブラウン拡散径を求め、個数基準の粒径分布を測定する方法である³¹⁾。図6にPTA法による粒子計測原理を示す。PTAの装置内では試料懸濁液に照射されたレーザーの粒子による側方散乱光をカメラで検出する仕組みになっており、カメラに

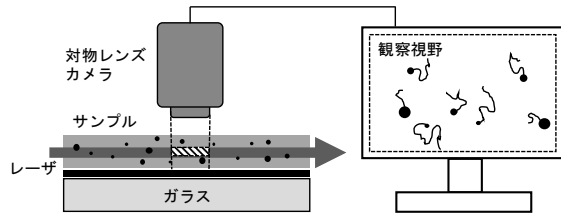


図6 粒子軌跡追跡 (PTA) 法の粒子検出原理.

映った光散乱スポットを粒子とみなす。サブマイクロメートル粒子はブラウン運動が活発になり、個々の粒子について単位時間当たりの平均移動距離を求めることによって粒径を算出する。PTA法により求める粒径はブラウン拡散径であり、以下の Stokes-Einstein 式に基づいて算出できる。

$$\overline{(x, y)^2} = 4Dt \quad (7)$$

$$d_p = \frac{k_B T}{3\pi\mu D} \quad (8)$$

ここで D は拡散係数、 $\overline{(x, y)^2}$ は2次元での平均二乗変位、 t は測定時間、 k_B はボルツマン定数、 μ は媒体の粘度、 d_p は粒径である。粒子計数に関してはカメラの視野内に映った粒子を計数するため、粒子数が少ない清浄度の高い試料に対しては統計的信頼性を確保することが困難である。市販装置の中にはブラウン運動の観察に支障を及ぼさない程度にシリジポンプによる加圧操作を行い、観察視野を少しずつ移動させることでより多くの粒子計数値を得ることができる機構を持った装置もある^{32), 33)}。粒子数濃度 C [個/mL] は式 (5) と同様にカメラの視野内に映った粒子の計数値 N [個] と測定試料体積 V [mL] (カメラの観察視野とレーザー照射域が重なった領域の体積) をもとに算出する。

PTA法は光散乱式LPCや光遮蔽式LPCとは異なり、粒径既知の標準粒子による校正をせずに粒径測定が可能³⁴⁾であることに加え、ブラウン運動が顕著なサブミクロン粒子であればどのような組成・形状の粒子でも粒径分布測定が可能である。一方で粒子数濃度を算出する場合は測定試料体積 V を正確に見積もることが難しい点に加え、測定中に測定視野から外れた粒子を計数処理上どのように扱うかについて問題がある。

2.6 単一粒子誘導結合プラズマ質量分析法

微量元素分析に広く用いられている誘導結合プラズマ質量分析法を金属・金属酸化物ナノ粒子の計測に応用した例が単一粒子誘導結合プラズマ質量分析法 (Single-Particle Inductively-Coupled-Plasma Mass-Spectrometry:

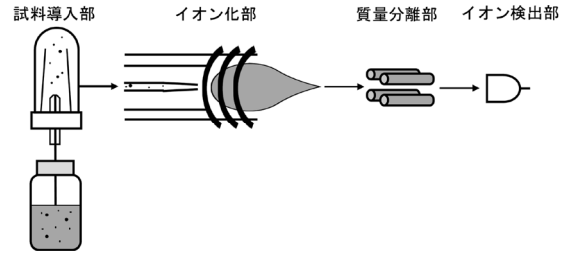


図7 単一粒子誘導結合プラズマ質量分析法 (SP-ICP-MS) の粒子検出原理.

SP-ICP-MS) である³⁵⁾⁻³⁷⁾。この計測法は通常の ICP-MS とは異なり試料の酸分解・溶液化を行わず、ナノ粒子懸濁液をネブライザで気相に噴霧したあとにプラズマトーチ内に粒子状のまま直接導入し、分解・イオン化させたものを質量分析計で検出する。SP-ICP-MSによるナノ粒子計数の原理を図7に示す。検出器の時間分解能を高めることで個々のナノ粒子の信号ピークを一つずつ区別できるようになっており、このパルス数が粒子数、個々のパルス面積が着目した元素の物質量に対応する。これらを計数することで懸濁液中に含まれているナノ粒子の個数基準粒径分布を算出することが可能である。SP-ICP-MS測定により得られた粒径分布からの粒子数濃度算出には、試料懸濁液の噴霧から検出器までの輸送効率を補正する必要がある³⁸⁾。粒子数濃度 C [個/mL] は検出部での粒子計数頻度 f_{count} [個/min]、ネブライザから検出部までの粒子輸送効率 η およびネブライザからの懸濁液噴霧量 $q_{\text{nebulizer}}$ [mL/min] から求まる^{37), 38)}。

$$C = \frac{f_{\text{count}}}{\eta \times q_{\text{nebulizer}}} \quad (9)$$

プラズマトーチ内に導入された粒子が完全に分解・イオン化されない場合、正しい粒径分布測定値が得られない可能性がある。例えば 60 nm, 80 nm, 100 nm, 150 nm, 250 nm 金粒子の測定事例では、それぞれの粒子から得られる信号強度は粒径の3乗に対して直線関係が得られた一方で、250 nm 粒子の信号強度はこの直線から外れたことが報告されている³⁹⁾。この効果に対して適切な補正を行わないと大粒径側で正しい粒径値が得られず、正確な粒子数濃度が得られない。粒子数濃度測定値の過小評価要因としては、粒子の凝集体の生成や、信号取込み時の処理上で複数の粒子が1個の粒子として計数されることにより発生する同時通過損失⁴⁰⁾などが挙げられる。

SP-ICP-MSによるナノ粒子計測の検出可能粒径下限は主に装置感度、バックグラウンドノイズ等に依存する。最小検出粒径下限はバックグラウンド信号強度の標準偏

差の3倍に相当する粒径とする場合が多い⁴¹⁾。金属ナノ粒子の組成別の検出可能粒径下限がLeeら⁴¹⁾により調べられており、金属種によっては粒径10 nm程度の粒子検出が可能であることが報告されている。

2.7 共振式質量測定法

共振式質量測定 (Resonance Mass Measurement: RMM) 法は試料懸濁液の質量密度変化に伴う共振周波数変化を検知することで粒子計数を行う方法である^{42), 43)}。RMM法による粒子計測の原理を図8に示す。マイクロカンチレバー内に幅約数 μm 程度の微細な流路が形成されており、この流路の中を試料懸濁液が流れるようになっている。媒体のみが一定の流量で流れている間はカンチレバーの共振周波数は変化しないが、媒体と密度差がある粒子状物質 (または気泡) が流入すると、カンチレバーに質量変化が生じ共振周波数変化が生じる。媒体に対し密度が大きい粒子の場合には共振周波数は低下し、密度が小さい場合には共振周波数は増加する。共振周波数変化は粒子がカンチレバー内の流路を通過しているときだけ、時間経過に対してパルス状に生じる。このイベントを粒子の1カウントとし、カウント総数 N [個] とカンチレバー内に流れた流量 q [mL/min] から式 (1) に基づき懸濁液中の粒子数濃度 C [個/mL] を算出する。RMM法は測定原理上、媒体に対して密度が大きい粒子と小さい粒子を識別できることから、気泡と粒子を区別可能である数少ないLPCとしてウルトラファインバブル (Ultrafine bubble: UFB) の計測に利用されている⁴⁴⁾。この計測法はカンチレバー内の流路に流す試料流量が約 $10 \text{ pL/s} - 100 \text{ pL/s}$ ⁴²⁾ と非常小さいことから、粒子数濃度の迅速測定には向かない欠点がある。また装置内流路に導入した試料懸濁液の全量をカンチレバー内の微細流路に導入する構造をとっておらず、懸濁液中粒子を全数計数することはできない。正確な粒子数濃度の測定のためには装置内で流路が分岐することにより生じる粒子数濃度の偏りを考慮する必要がある。

2.8 エアロゾル計測技術応用法

液中粒子の微小化に伴い、特に $100 \text{ nm} - 200 \text{ nm}$ 以下

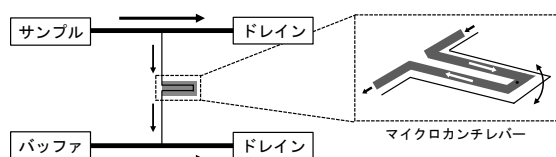


図8 共振式質量測定 (RMM) 法による粒子計数。

の粒径域では光学的に検出困難になることを2.1節で述べた。100 nm以下の超微小粒子 (Ultrafine particle: UFP) に対しては、数 nm以上の検出が可能なエアロゾル計測技術を応用することも有用である⁴⁵⁾。エアロゾル計測法の一つとして、懸濁液中の粒子を、空気による加圧噴霧方式、(超)音波等を用いた振動方式、エレクトロスプレー方式等の噴霧技術を用いてエアロゾル化し空气中に分散させ、分散粒子を凝縮成長させ光散乱法で検出するものがある。このような機構を備えた市販の粒子計数器として、エアロゾル計測分野で広く用いられている凝縮粒子計数器 (Condensation Particle Counter: CPC) がある⁴⁶⁾。CPCの原理を図9に示す。CPCはインレットとなる試料導入部、作動液蒸気の飽和部、凝縮部、粒子検出部で構成される。インレットを通過したエアロゾルが飽和部で作動液蒸気と十分に混合したのち、凝縮部に到達すると粒子の凝縮成長が始まり、数 μm 程度⁴⁷⁾の大きさまで粒径成長する。こうして光学的に検出可能な粒径に成長した粒子が検出部に到達すると、半導体レーザーやLED光源からの光の散乱を発生することで粒子数を計数することができる。CPC単体では粒径分布測定はできないが、インレットの上流部に微分型移動度分析器 (Differential Mobility Analyzer: DMA) のような分級器を挟むことで粒径分布測定も可能になる^{48), 49)}。DMAは荷電粒子の粒径による電気移動度の違

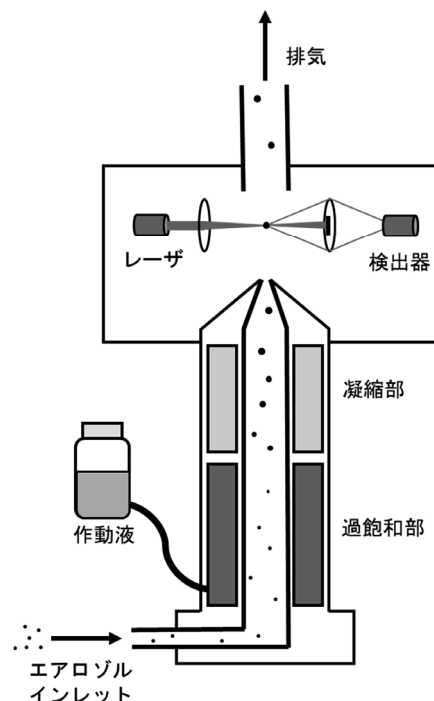


図9 凝縮粒子計数法による粒子検出原理。

いを利用した分級器であり、CPCと組み合わせることで約数 nm - 1 μm の範囲でエアロゾル粒径分布を迅速測定可能となる。DMAとCPCを組み合わせる構成されるエアロゾル粒径分布測定システムは Differential Mobility Analyzing System (DMAS) と呼ばれナノ粒子計測に広く用いられている⁴⁷⁾。

DMASを用いた場合の液中粒子数濃度測定法について説明する。図10に示すのは測定システムの構成であり、気相噴霧部(ネブライザ)、電荷調整部(荷電器)、分級部(DMA)、検出部(CPC)で構成される。気相噴霧部ではネブライザにより懸濁液を消費速度 $q_{\text{suspension}}$ [mL/min] でエアロゾルを発生する。このうち電荷調整部に輸送されるエアロゾル流量を q_{aerosol} [cm³/min] とする。荷電器内では荷電状態が未知のエアロゾル粒子を気体イオンと衝突させ、既知の荷電状態へと調整する。荷電器を通過したエアロゾル粒子の荷電率は粒径の関数であり、粒径ごとの荷電率 f_{charge, d_p} を理論^{50), 51)}により推定する。粒子は分級部に輸送され、電気移動度の粒径による違いを利用してDMAで分級される。分級された粒子をCPCで計数することで各粒径ごとの粒子数濃度、つまり粒子数濃度の粒径分布 $dC/d\log d_p$ [個/cm³] を測定する。測定された粒径分布を計数目的の粒径範囲で積分することで気中粒子数濃度 C_{aerosol} [個/cm³] を算出する。

$$C_{\text{aerosol}} = \int_{\log d_p} \frac{1}{f_{\text{charge}, d_p}} \cdot \frac{dC}{d\log d_p} d\log d_p \quad (10)$$

ネブライザによる粒子発生頻度が時間に対して一定であることを仮定し、このときの液相から気相への粒子噴霧効率を α とおくと液中粒子数濃度 C [個/mL] は次式で算出できる。

$$C = \frac{C_{\text{aerosol}}}{\alpha} \frac{q_{\text{aerosol}}}{q_{\text{suspension}}} \quad (11)$$

ネブライザとDMASによる測定を組み合わせることで、液中に懸濁している100 nm以下の微小粒子を高い粒径分解能で測定することが可能である。DMASを用いた3種類の粒径の単分散金ナノ粒子の粒径分布事例では、30 nm, 50 nm, 80 nmの個数濃度ピークを明確に

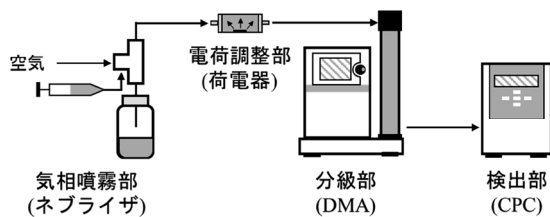


図10 エアロゾル計測法による液中粒子計数法の概要図。

区別できたことが報告されている⁵²⁾。エアロゾル計測法を利用した液中粒子数濃度測定は、ナノ毒性評価に用いる暴露試験用懸濁液の評価⁵³⁾や、CMPスラリー中のコロイダルシリカの粒子数濃度評価^{54), 55)}などに用いられている。

エアロゾル計測法により液中粒子数濃度を測定する際に起こりうる測定誤差要因を述べる。第一に式(11)ではネブライザによる粒子の噴霧効率 α が変化しないことが仮定されているが、懸濁液の蒸発に伴い懸濁液中の粒子数濃度が増加し⁵⁶⁾、輸送空気中に含まれる粒子数が時間経過に伴い変動する場合がある。またこの噴霧効率 α を正確に決定することが難しいため、エアロゾル計測法により定量的な液中粒子数濃度測定値を得るには、粒径と粒子数濃度が既知の標準懸濁液を校正に用いることが必要となる^{53, 57), 58)}。第二にネブライザを用いて懸濁液をエアロゾル化した場合、懸濁液中の粒子がもつ本来の粒径分布が保存されない可能性がある。例えば気相噴霧後の粒子には水分(溶媒)が多く含まれるため、拡散ドライヤやヒータ等の乾燥器を通して水分(溶媒)を除去するが、懸濁液中に溶存していた不揮発性物質は残渣粒子として輸送空気中に残る^{59), 60)}。また計数目的粒子の表面にこれらの不揮発性物質がコーティングされることで^{61), 62)}、計数目的粒子の粒径を増大させる可能性がある。さらに計数目的粒子同士が凝集するとみかけ上の粒子数が減少するため⁶³⁾、これも粒子数濃度の過小評価の原因となる。

3. 産業界での液中粒子数濃度測定の利用例

この章では産業界での液中粒子数濃度の測定事例を紹介し、精度管理の実態や課題について述べる。最後に産業界で求められている液中粒子数濃度標準について簡潔にまとめる。

3.1 半導体製造現場での超純水・薬液の清浄度管理

半導体デバイスの高機能化・大容量化に向けて集積回路内の高集積化が進んでいる。DRAMメモリーセル間の距離は年々狭まっており、集積回路に付着する汚染粒子が製品の品質や歩留まりに及ぼす影響は大きくなっている⁶⁴⁾。そのため半導体製造工場ではクリーンな製造環境づくりが製品の信頼性向上に重要になっている。半導体部品の製造工程では粒子が発生するので、超純水・薬液による洗浄^{65), 66)}が行われており、ウエハ表面付着粒子の検査^{67), 68)}が日常的に行われている。超純水・薬液による洗浄は半導体製造工程内で大きな比率を占めてお

り⁶⁹⁾、洗浄液の清浄度管理は重要である。そのため洗浄液に含まれる微小粒子をモニタ可能な LPC が製造現場での清浄度管理に広く利用されている。

国際半導体技術ロードマップ 2.0⁷⁰⁾ (International Technology Roadmap for Semiconductors 2.0: ITRS 2.0) には将来的な半導体製造技術への要求事項がまとめられており、超純水中の汚染粒子に対する品質管理に必要な粒径 (Critical particle size) および粒子数濃度を示している。表 2 に ITRS2.0 から一部抜粋したものを示す。ITRS 2.0 によると製造環境での清浄度管理には粒径 10 nm 以下の汚染粒子の検出が必要であり、超純水中の粒子数濃度は 1000 個/L 以下に管理することを求めている。そのため粒径 10 nm 以下の粒子計測技術が必要だが、現在市販されている部分計数型光散乱式 LPC の検出可能下限粒径は約 30 nm であり、現状の微粒子計測技術は半導体製造現場での要求レベルに対し十分に追従できていない。このことは ITRS 2.0 の後継である、国際デバイスおよびシステムロードマップ (International Roadmap for Devices and Systems: IRDS) のホワイトペーパー⁷¹⁾でも言及されており、微粒子管理の困難さを認めている。製造現場では超純水中の粒子数濃度測定に前述の部分計数型光散乱式 LPC が用いられているが、2.1 節で述べたように 100 nm 以下の超微小粒子を検出するには様々な技術的困難があることから、これらの装置から得られる粒子数濃度測定値の不確かさは大きい。

以上の理由から半導体業界の LPC ユーザは粒径 100 nm 以下の液中粒子数濃度標準を必要としているが、現状はこの粒径域に対応した国家標準は存在しない。そのため可測粒径下限が 100 nm 以下である部分計数型光散乱式 LPC の計数効率評価には、半導体産業の業界団体である SEMI (Semiconductor Equipment and Materials International) が規格化した評価方法^{72), 73)}が利用されている。この規格で定められている試験手順の概要を図 11 に示す。評価試験に用いる粒子は単分散性が高く均一な粒径をもつ PSL 標準粒子^{74), 75)}である。市販されている PSL 標準粒子の懸濁液は質量濃度が既知であり、粒子の平均粒径・密度情報をもとに懸濁液中に含まれる

粒子数濃度を推定することができるので、その値を参照標準としている。この PSL 標準粒子懸濁液は非常に高濃度であるため、LPC で測定可能な粒子数濃度まで純水で希釈する必要がある。図 11 (a) に示すように、PSL 標準粒子懸濁液からマイクロピペットで懸濁液を一定量分取し、超純水で 10^5 – 10^6 倍の定容希釈を行う (一次希釈)。この一次希釈液を図 11 (b) に示す試験系で LPC の可測粒子数濃度範囲まで定量的に希釈することで粒子数濃度既知の二次希釈液を得る。流量比から得られる希釈倍率から理論的な二次希釈液の粒子数濃度を得る。この希釈液を被試験用 LPC に導入し粒子数濃度測定を行い、LPC の粒子数濃度測定結果と比較することで LPC の計数効率を評価する。現状ではこの定量希釈法は粒径 100 nm 以下を測定対象とする部分計数型光散乱式 LPC の計数効率を評価する唯一の方法となっている。この評価方法の問題点としてはこのような希釈操作をユーザが行うには煩雑であり、高倍率の希釈操作には大きな不確かさを伴う。また母懸濁液となる市販の PSL 標準粒子懸濁液ボトルはメーカー公称値で 1% の固形分質量濃度としているものに対して、固形分が全て PSL 粒子由来であるという仮定のもとで、質量濃度から個数濃度に変換している。そのためこの定量希釈法で求める測定結果は、参照標準の粒子数濃度の精確さが不明であるため、必ずしも正確な計数効率が求められるとはいえない。

以上のことから部分計数型光散乱式 LPC は半導体生産ラインでの粒径 100 nm 以下の粒子を常時モニタできる唯一の LPC であるが、ユーザが求めるレベルでの精度管理がなされているとは言えない。半導体業界の LPC ユーザが求めるのはより粒子数濃度の値が確かな液中粒子数濃度標準である。特にユーザの使い勝手の良さを重視した、日常の精度管理に使いやすい粒子数濃度標準を必要としている。

3.2 臨床検査現場での血球計数

人間の健康状態を診断するために病院の検査室では日常的に血液検査が行われている。特に赤血球・白血球・

表 2 ITRS 2.0 が超純水中に求める微粒子の管理レベル

Year of Production		2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	2028
DRAM 1/2 Pitch	nm	20	18	17	15	14	13	12	11	10	9.2	8.4	7.7
Critical particle size	nm	10	9	8.5	7.5	7	6.5	6	5.5	5	4.6	4.2	3.9
Number of particles >critical size	#/L	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Number of particles for EUV mask production >critical size	#/L	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

※ITRS 2.0 の Table YE3 「Technology Requirements for Wafer Environmental Contamination Control」より一部抜粋。

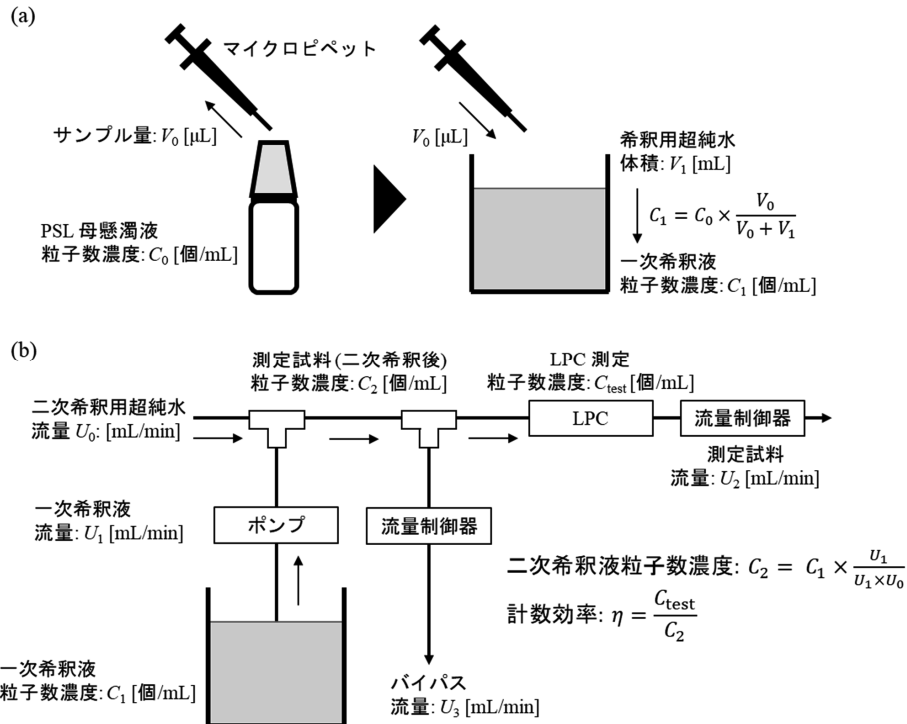


図 11 定量希釈法による部分計数型光散乱式 LPC の計数効率評価。
(a)：一次希釈液の調製，(b)：二次希釈液の調製と計数効率評価の試験系。

血小板などの血球濃度は臨床診断には必要不可欠であり、高い診断精度を維持し質の高い医療サービスを提供するためには、血球数濃度測定 of 適切な精度管理が必要である。近年は臨床検査室での検査精度の信頼性を保証する手段として、ISO 15189（臨床検査室－品質と適合能力に関する特定要求事項）などの検査室認定を取得する施設が増加しており^{76),77)}、世界中で通じる品質保証システムを整えている。

血球計数装置は古くから電気的検知帯式 LPC が広く使われているが、光学式フローサイトメータなどのレーザーによる光学的検知法も使われている。電気的検知帯式 LPC では電気抵抗の変化量に基づき血球計数が行われるが、光学式フローサイトメータ⁷⁸⁾では散乱光・蛍光解析に基づき、より細かな血球分類が可能になっている⁴。表 3 に人間の血液に含まれる赤血球、白血球、血小板の粒径・粒子数濃度範囲を示す。これらはおよそ数 μm から 20 μm の範囲に粒径分布をもつ。白血球は赤血球と粒径分布が重なる領域が広く、濃度は赤血球よりも 3

表 3 赤血球、白血球、血小板の粒径範囲と粒子数濃度⁷⁹⁾

	赤血球	白血球	血小板
粒径 / μm	6.0 - 9.0	7.5 - 21.1	2.0 - 5.0
粒子数濃度 / 個 mL ⁻¹	3.8 × 10 ⁹ - 5.6 × 10 ^{9,80)}	7 × 10 ⁶	2 × 10 ⁸

桁ほど小さい。白血球計数の際には前処理として溶血剤の添加により赤血球を溶血させる必要がある⁸¹⁾。赤血球は最も濃度が高く、白血球濃度は殆ど無視できるオーダであり、血小板と粒径分布が重なる領域が少ないため、白血球と比べ比較的正確な濃度測定が可能である⁵。

血球計数分野では国際的に合意の得られた標準物質は存在しないため^{81),83)}、測定法に基づく参照標準の設定が国際血液学標準化委員会（International Committee for Standardization of Haematology: ICSH）と臨床・検査標

⁵ 血小板数については光学式フローサイトメータを用いた散乱光・蛍光解析に基づき赤血球と血小板の個数濃度比（RBC/Platelet）を測定し、別途電気的検知帯法で測定した赤血球濃度を用いて血小板濃度を算出する参照法が ICSH, ISLH により推奨されている⁸²⁾。そのためここでは電気的検知帯式 LPC による血小板の粒子数濃度測定については触れない。

⁴ 電気的検知帯式 LPC、光学式フローサイトメータのいずれも血球計数の際には抗凝固剤の添加等の化学処理や、生理食塩水等による希釈操作が必要になる。

準協会 (Clinical and Laboratory Standards Institutes: CLSI) を中心に進められてきた。赤血球と白血球の濃度については ICSH が推奨する国際標準測定法による値付け法⁸⁴⁾が用いられている。この基準測定操作法 (以下 ICSH 法)、すなわち電気的検知帯式 LPC を使ったヒト新鮮血への値付け法を一次標準とし、臨床検査室で得られる赤血球個数濃度がこの一次標準にトレーサブルになるような校正体系が整えられている^{85), 86)}。ICSH 法に基づく赤血球測定値のトレーサビリティを図 12 に示す。まず ICSH 法を参照測定法として健常者のヒト新鮮血に対して精確に赤血球濃度を値付けする。この新鮮血を用いて血球計数器メーカー内の実用標準器を校正する。校正された実用標準器でキャリブレーションと呼ばれる製造業者製品校正物質⁸⁷⁾を値付けし、このキャリブレーションにより臨床検査現場で用いられる血球計数器を校正する。

ICSH 法に基づく赤血球数測定操作手順の一例^{80), 88)}を説明する (図 13)。値付けを行う健常者のヒト新鮮血の

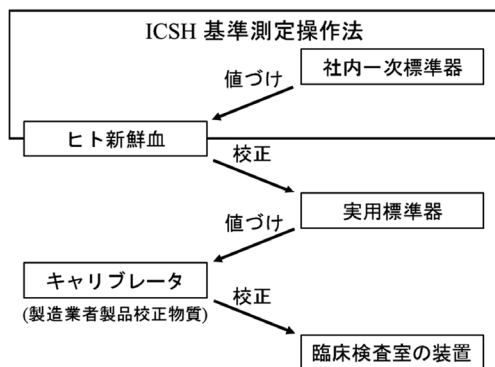


図 12 ICSH 基準測定操作法に基づく赤血球数測定値のトレーサビリティ。

赤血球数濃度 C_B はおよそ 3.8×10^9 個/mL - 5.6×10^9 個/mL であり、最初に血液の希釈操作を行う。マイクロピペットとメスフラスコを用いて約 5×10^4 倍の定容希釈を行い、その希釈率 R_5 を正確に求める。赤血球の検出には電気抵抗式 LPC を用いて行われているが、その検出領域を赤血球が同時に通過する場合、本来 2 個と数えるべきところを 1 個として計数してしまう数え落としが生じる。この効果は濃度が高いほど顕著になるため、ICSH 法では以下の手順によりこの同時通過損失の補正を行うことになっている。5 万倍希釈後血液試料濃度 C_{Bd} に対し試料濃度 C_{Bdi} が 25%, 50%, 75%, 100% になるような希釈系列試料を作製する。これらをそれぞれ 12 回, 6 回, 4 回, 3 回ずつ電気的検知帯式 LPC で測定し、各濃度における総計数値 n_{Bdi} を求める。試料濃度 C_{Bdi} を横軸に、各希釈試料に対する計数値 n_{Bdi} を縦軸にとり回帰直線をとると、仮に同時通過損失が起これないとする回帰直線は水平になるはずだが (25% \times 12 = 50% \times 6 = 75% \times 4 = 100% \times 3 = 300%), 実際は試料濃度が高いほど同時通過損失が多く発生し見かけ上計数値は減少するので回帰直線は右下がりになる。回帰直線の y 切片は、理論上同時通過損失が発生しない無限希釈を行った場合 (試料濃度 0%) の血球計数値 n_{Bd0} とみなせるため、ここにデータを外挿して得た計数値 n_{Bd0} を 3 で割ることで (300% \div 3 = 100%) R_5 倍希釈血液の赤血球計数値 N_{Bd} を得る。得られた赤血球計数値 N_{Bd} に対し LPC での測定試料体積 V_{Bd} で割算することで、最初に行った R_5 倍の希釈血液試料の濃度 C_{Bd} が求まる。 C_{Bd} に希釈倍率 R_5 を掛算することで、もとの血液に含まれていた赤血球の濃度 C_B を算出できる。

この ICSH 法による赤血球計数法は同時通過損失を考

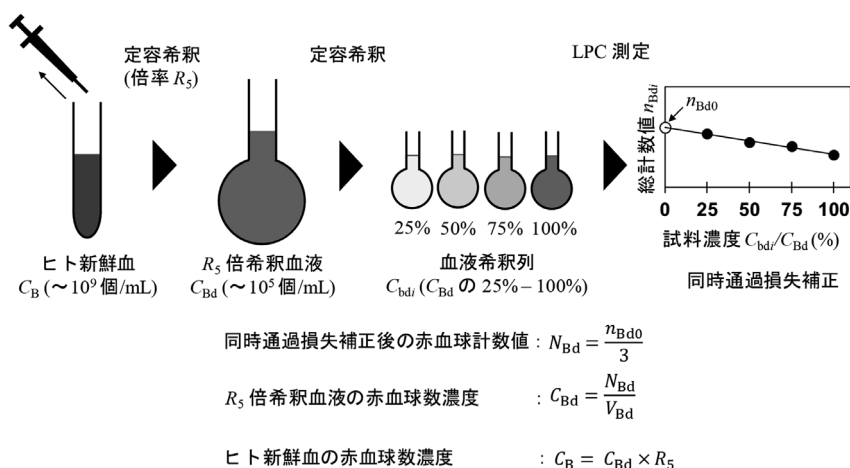


図 13 ICSH 基準測定操作法による赤血球数濃度の測定法。

慮した妥当性の高い方法であると考えられるが、元の計数値は血球計数器によるものであり、計数の偏り等の評価がなされていないため、血球計数器の計数能力を保証するものではない。また同時通過損失補正法の妥当性検証や不確かさ評価の報告例は非常に限られており⁸⁰⁾、液中粒子数濃度の国家標準を用いた精度検証が求められている。

3.3 油圧作動液・潤滑油中の固体汚染粒子管理

潤滑油や油圧作動液は、電力会社の発電所や自動車製造業等の産業用機械で多様な役割を果たすため使用されている。その役割を一例として挙げれば、潤滑油は機械内部を循環し、摺動部の摩擦低減のみならず、発熱部を冷却し、さらには機械設備内で発生する摩耗粉などの汚染物質を運搬し除去している⁸⁹⁾。軸受部の油膜厚さは約数 μm から数100 μm であり、この膜厚と同程度の粒径の固体汚染粒子が潤滑油中に混入して摺動面に入り込んだ場合、摺動面は粒子により摩耗する^{90),91)}。その結果軸受部は損傷し機械設備の動作不良や故障の原因となる。また摺動面の膜厚よりも小さな粒径であっても、粒子数濃度が高い場合は接触部材が損傷するという報告がある^{92),93)}。油中の固体汚染粒子を適切に計測することは、産業設備機械が安全かつ適正な運転を保持することや、油の劣化状態診断における初期スクリーニング検査を行う上で重要な項目となる。

油中粒子の計数法は古くから顕微鏡法による粒子計数法⁹⁴⁾が用いられてきたが、一方では現場での産業設備機械の保全状態の迅速・簡便なオンラインモニタリングを目的として自動油中粒子計数器⁹⁵⁾も用いられている。現在市販されている油中粒子計数器の多くは2.2節で説明した光遮蔽式の検出原理⁹⁶⁾が採用されており、JIS B 9934⁹⁷⁾およびISO 11500¹⁰⁰⁾で規格化されている。油中粒子数濃度の測定結果はISO等級 (ISO 4406)⁹⁹⁾あるいは米国の規格であるNAS等級 (NAS 1638)¹⁰⁰⁾などの汚染度コードに基づき表示することになっている。ISO等級では4 μm 以上、6 μm 以上、14 μm 以上の3種類の粒径範囲に区分し、測定結果に粒子数濃度のスケール番号を割り当てて表示することが決められているため、油の汚染度管理には粒径4 μm 以上の粒子数濃度測定の精度管理が求められる。油中粒子計数器の校正手順はISO 11171 「Hydraulic fluid power – Calibration of automatic particle counters for liquids」¹⁰¹⁾ (JIS B 9932 「油圧 – 液体用自動粒子計数器の校正方法」¹⁰²⁾) に示されており、校正用の標準物質にはISO-ミディアムテストダスト (ISO-MTD) と呼ばれる試験用粉体が用いられる。ISO-MTD

はシリカ・アルミナを主成分としたアリゾナの鉱物ダストを精製したもので、ISO 12103-1 「Road vehicles – Test contaminants for filter evaluation – Part 1: Arizona test dust」¹⁰³⁾に規定されている。一次標準にはこのISO-MTDを油中に分散させ、粒径および累積粒子数濃度を値付けされた認証標準物質 NIST SRM 2806¹⁰⁴⁾が用いられる。

油中粒子計数器の粒子数濃度測定精度に関する要求事項はISO 11171 (JIS B 9932) のAppendix E (附属書E) 「粒子計数精度の確認」に記載されており、試験用懸濁液としては各粒径閾値に対して累積粒子数濃度が参照値として付与されている NIST RM 8632 を油中に分散させたものが用いられる。NIST RM 8632 を正確に油中に希釈調製したものを精度確認対象の油中粒子計数器で測定する。各粒径範囲での累積粒子数濃度が規定の許容範囲内に収まり、測定の繰り返しに対する変動係数が規定値以下であることを要求している。

油中粒子計数器による粒子数濃度測定のトレーサビリティを図14に示す。現場で日常的に用いられる油中粒子計数器は現場で調製される二次校正用標準懸濁液により校正されている。二次校正用標準懸濁液にはISO-MTD (あるいはNIST参照物質RM8631) を油中に分散させたものが用いられる。そうして得られた懸濁液に対し、一次校正用標準懸濁液により校正された参照用油中粒子計数器を用いて繰り返し測定を行い、得られた累積粒子数濃度の変動係数が規定値以下に収まることで、これらは二次標準と認められる。二次校正用標準懸濁液で校正された現場の油中粒子計数器で得られる粒子数濃度測定結果は一次標準であるSRM 2806へとトレーサブルになる。

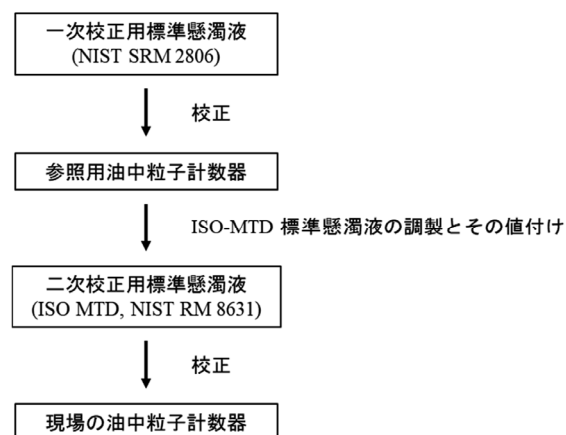


図14 ISO 11171に基づく油中粒子数濃度測定値のトレーサビリティ。

油中粒子計測分野での課題を述べる。一次標準として用いられる NIST SRM 2806 の原料は先に述べたようにアリゾナで採取した天然鉱物ダスト粒子であり、これを精製後に油中に分散させたものを標準懸濁液としている。この標準懸濁液に含まれる粒子は形状が不定形で粒径分布が多分散であることから、計測器によっては正確な粒径校正ができない可能性がある。例えば粒径ごとの計数効率や粒径分解能が不明な計測器では正しい粒径校正ができない。この場合はあらかじめ別の方法で計数器の計数効率等を求めておく必要がある。計数技術に関する課題としては、油中に気泡、水滴、エマルジョン、消泡剤として用いられるシリコンオイルが混入している場合、油中粒子計数器はこれらを固体汚染粒子と識別できない¹⁰⁵⁾⁻¹⁰⁷⁾。これらのコンタミネーションによる粒子数濃度測定値への影響を低減するため、固体汚染粒子との識別をリアルタイムに可能な計測技術が求められる。識別などの新たな技術により得られた粒子数濃度測定値の妥当性評価のために高精度な粒子数濃度標準による評価が必要とされている。

3.4 注射剤・輸液中の異物粒子検査

不溶性の異物粒子が混入したものが注射剤や輸液中に混入し、それが静脈内に投与された場合、体内へ分布・沈着・蓄積することで健康障害（組織障害）が発生するおそれがある¹⁰⁸⁾⁻¹¹⁰⁾。注射剤・輸液中に混入するおそれのある不溶性微粒子の成分としてはガラス片やプラスチック片、ゴム片、注射シリンジ内面に塗布されているシリコンオイル^{111), 112)}などが挙げられる。

日本薬局方（Japan Pharmacopoeia: JP）は「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（薬機法、旧名称：薬事法）」に基づき、医薬品の性状及び品質の適正化を目的として定められた規格基準書である。そのため日本薬局方は法律の一部であり、日本国内に流通する医薬品はすべて日本薬局方が定める規格基準を満たしている必要がある。現在公示されている第十七改正日本薬局方では注射剤・輸液に対して不溶性微粒子の混入試験が義務付けられており、不溶性微粒子数の許容上限数を定め品質管理をしている。不溶性微粒子数の試験方法として光遮蔽式粒子計数法と顕微鏡法に

よる粒子計数法が定められており、前者は優先試験事項となっている¹¹³⁾。表4にJPに定められている各試験粒径での上限粒子数を示す。JPでは光遮蔽式LPCの粒径校正に少なくとも5 μm、10 μm、25 μmのPSL標準粒子を用いることが定められており、これらには長さに対する国家標準へのトレーサビリティを求められている。またLPCの計数精度試験には計数参照用粒子数濃度標準懸濁液を用いることが定められており、粒径10 μmの粒子数濃度標準懸濁液（1000個/mL±100個/mL）が利用されている。この粒子数濃度標準懸濁液の製造には産総研の液中粒子数濃度標準が貢献しており、試験結果の信頼性向上に貢献している。具体的な標準供給形態については4.2節で説明する。

日本・米国・欧州連合それぞれの医薬品規制当局と製薬業界の代表者で構成される医薬品規制調和国際会議（The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use: ICH）により各国薬局方の不溶性粒子試験法は概ね調和が取れており試験法の標準化が進んでいる。表4に示す通り、いずれの薬局方でも光遮蔽式LPCによる10 μm以上の不溶性粒子数濃度測定をすることが定められている。その一方で米国薬局方¹¹⁴⁾や欧州薬局方¹¹⁵⁾では光遮蔽式LPCの校正頻度に関して記載されていないなど、三薬局方間での相違が一部見られ、今後の三薬局方調和の課題である。

3.5 水道法に基づく上水中の濁度評価

濁度は水の濁りの程度を示す指標であり、水中に分散する粒子等により透過光が減衰することで水の透明さが失われる度合いを度数で表現する。飲み水などの生活用水として使われる上水に対しては基準値が2度以下と定められており、全国の上水試験場では「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」¹¹⁶⁾にて濁度評価をすることが定められている。上水の濁度評価が必要とされる理由は、上水汚染による細菌感染を防ぐためである。

病原性微生物であるクリプトスポリジウムによる水道を介した集団感染事件の発生を受け、1996年10月に「水道におけるクリプトスポリジウム暫定対策指針」が厚生

表4 三薬局方の注射剤中の不溶性微粒子試験法の比較

項目	JP		USP / EP	
注射剤の表示容量	< 100 mL	≥ 100 mL	≤ 100 mL	> 100 mL
試験粒径	≥ 10 μm	≤ 6000 個/容器	≤ 6000 個/容器	≤ 25 個 mL ⁻¹
	≥ 25 μm	≤ 600 個/容器	≤ 600 個/容器	≤ 3 個 mL ⁻¹
校正頻度	少なくとも年1回		記載無し	

省（現在の厚生労働省）により策定された。これにより濾過池出口の水の濁度を常時監視し、濁度を0.1度以下に維持することが求められるようになったことから、2度以下の低濁度領域においても正確な濁度測定が必要とされている。

濁度測定に用いられる測定方式は、試料に照射した光の透過率を測る透過光測定法、試料中の懸濁物質からの散乱光強度を測る散乱光測定法、透過光と散乱光の比を測定する積分球式光電光度法あるいは透過散乱法といった方法がとられている。これらの測定方式では光強度の減衰比率や散乱光強度あるいは散乱光と透過光の比をとるため、粒子個数単位の測定量では表現できない。そのためこのような測定方式を採用している濁度計のことをここではLPCとは呼ばないことにする。濁度値を得るには濁度標準懸濁液による濁度計の校正作業が必ず必要になる。

校正用濁度標準懸濁液にはカオリン、ホルマジン、ポリスチレンラテックス（PSL）粒子が使われている。濁度計の校正に用いる濁度標準液の種類により濁度表示値を「度（カオリン）」のように明記することが決められている。カオリン濁度標準懸濁液は天然の粘土鉱物である白陶土（カオリン）を精製したのちに規定量の純水に懸濁させたものに対し濁度値が付与される。日本では古くから濁度測定にカオリン濁度標準懸濁液が目盛基準として採用されてきたが、カオリンが天然鉱物であることから、産地の違いにより組成・粒度分布が均一になりにくい問題が古くから指摘されている。実際にカオリン濁度標準懸濁液を製造するメーカーによってその粒度分布に大きな差異があることが報告されている¹¹⁷⁾。ホルマジン濁度標準懸濁液は硫酸ヒドラジンとヘキサメチレンテトラミンの重合化合物を水中に懸濁させたものである。調製・保存条件等により濁度変化が起こりうるが¹¹⁸⁾、カオリンのように産地によるばらつきが生じるおそれがなく、その安定性が比較的高いことがJIS K 0801「濁度自動計測器」¹¹⁹⁾でも認められている。欧米ではホルマジン濁度標準懸濁液が主として使用されており、NTU（Nephelometric Turbidity Unit）単位として表記することが一般的である¹²⁰⁾。PSL濁度標準懸濁液は5種類（0.5 μm - 10 μm）の均一な粒径をもつPSL粒子を規定量とり、純水中に懸濁させたものである。PSL粒子は高い剛性をもち、安定な粒径を長期間にわたって維持することができることから濁度の再現性はカオリンやホルマジンよりも高い。そのため日本では2003年から新たな濁度標準懸濁液として採用された。濁度標準懸濁液は同じ度数であったとしてもカオリン、ホルマジン、PSLの度数

は厳密に等価ではない。また同じ濁度標準懸濁液で校正を行い、同一試料を測定した場合でも測定方式により得られる濁度は変化する。これは濁度標準液の粒度分布や光学特性等の性状に対し、測定方式ごとに検出感度が異なるためである¹²¹⁾。

2度以下の低濁度領域の測定には半導体レーザーによる粒子数計数方式（光散乱式LPC）も用いられる。これは先に述べたクリプトスポリジウムによる集団感染事件を契機に低濁度領域に対して高感度な装置で正確に測定する必要が生じたためである。クリプトスポリジウムの粒径はおよそ4 μm - 6 μm¹²²⁾で、光散乱式LPCの測定粒径範囲内である。粒子数計数方式では粒径分布測定値から濁度に変換する。濁度 τ と、ある粒径 d_p での粒子数濃度 C_{dp} の間には次式で示すような相関関係がある。

$$\tau \propto \sum_{dp} C_{dp} K_{dp} \quad (12)$$

ここで K_{dp} はある粒径 d_p での光散乱断面積である。粒子計数方式の濁度計は個々の粒子を計数することを前提としているため、高濁度の測定には向いておらず測定可能な上限は2度程度となる。

臨床化学検査・血液検査や注射剤中の不溶性粒子試験のように人体健康リスクへの懸念がある分野では国際的な参照法の策定や国家計量機関等による公的なトレーサビリティ体系が整備される傾向があるが、飲み水などの生活用水として使われる上水の濁度試験についてはそのような校正体系は確立されていない¹¹⁸⁾。濁度標準懸濁液に対する安定性などの特性が不明である点が多い点に加えて、測定方式により検出感度が異なることが校正体系の確立を困難にしているためであると考えられる。

3.6 産業界で今後必要となる標準

これまで産業界での液中粒子計数技術の利用事例と計測上抱えている問題点を説明してきた。これらをまとめると今後必要とされる標準は以下の2種類に分類できる。①主に半導体業界で用いられる部分計数型光散乱式LPCを対象とした、粒径100 nm以下の計数効率を評価するための液中粒子数濃度標準、②血液や油などの水以外の媒体を対象にしたLPCに対しての粒子数濃度標準による評価である。①について、100 nm以下の粒径域では精確な参照標準がないため、この粒径域を測定対象とする部分計数型光散乱式LPCの高精度な計数効率評価は困難であり、半導体業界のLPCユーザは高精度な液中粒子数濃度標準による計数効率の評価を必要としている。そのため液中粒子数濃度国家標準の校正範囲を100 nm以下まで拡張することを望んでいる。②は主に

血球計数分野と油中粒子計数分野を対象としている。血球計数分野では粒子数濃度の国家標準が存在しないため、ICSHの推奨法である基準測定操作法が赤血球の粒子数濃度測定的一次標準として用いられている。血球計数器メーカーからはこのICSH法で得られる血球濃度測定値に対する系統的な不確かさ成分の評価が求められている。油中粒子計数分野では油中粒子計数技術の高度化に併せて、粒子数濃度測定値の信頼性向上のために液中粒子数濃度国家標準による評価が求められている。産総研ではこれらの計測分野からの要望に応えられるように液中粒子数濃度標準の開発・整備を行い、標準供給体制を整えていく予定である。産業界から求められている具体的な標準の種類と、今後の研究・開発方針については4.4節と5章で述べる。

4. 液中粒子数濃度標準の現状と今後の開発指針

4章ではまず4.1節で現行の液中粒子数濃度国家一次標準の概要を説明し、4.2節で国家標準の供給形態や産業界での利用事例を述べる。また4.3節では現在市販されている粒子数濃度標準液の種類をまとめ、国家標準とのギャップについて述べる。これを踏まえ4.4節で今後の液中粒子数濃度国家標準の開発指針を述べる。

4.1 液中粒子数濃度国家一次標準：全数計数型フローサイトメータ

現在産総研が整備している液中粒子数濃度国家標準の供給の仕組みについて説明する。まず産総研が開発した液中粒子数濃度標準である全数計数型フローサイトメータ (Total-Counting-Type Flow-Cytometer: T-FCM) 法²⁵⁾を紹介する。T-FCM法では分取した質量 M [g] の懸濁液中に含まれる粒子数 N [個] を全て計数し、粒子数濃度を $C_{\text{T-FCM}} = N/M$ として算出する。校正用の懸濁液に対し規定の攪拌操作を行ったのち懸濁液の一部を試験管に採取し、採取された懸濁液質量を電子天秤で測定する。測定原理は光散乱式LPCに基づいており、測定装置は市販の光学式フローサイトメータを一部改造したものになっている。図2(b)で示したように試料懸濁液中の粒子が必ずレーザー照射域を通過するようなシーソフロー機構を持っている。試験管に採取した試料懸濁液中の粒子を全てフローセル内に流せるように、測定中に一時試料取入れを止めて超純水によるリンスが繰り返し行える構造を持っている。このような機構をとることで分取した懸濁液中の全粒子数を計数することが可能となり、測定試料質量を正確に決定できる。こうして得られ

る液中粒子数濃度の単位は個/gである。以上により実現されるT-FCM法による現在の校正可能粒径範囲は2 μm - 20 μm で、粒子数濃度範囲は500 個/g - 2 000 000 個/gである¹²³⁾。

粒子数の単位「個」は国際単位系 (SI)¹²⁴⁾ の7つの基本単位 (m, kg, s, A, K, cd, mol) ならびにその組立て単位により記述できない。そこで産総研では粒子数濃度の決定に必要な粒子数 N 以外の測定量についてSI基本単位へのトレーサビリティを確立するとともに、別途独立した手法によって求めた粒子数濃度と比較し、不確かさの範囲内での一致を確認することによってT-FCM法の妥当性を保証している。校正試験には標準粒子メーカーより比較的高濃度 ($\sim 10^6$ 個/mL)⁶⁾ な母懸濁液の一部が提供されているため、この懸濁液に対しては顕微鏡法を利用している。マイクロピペットを用いて試料懸濁液を約1 μL 採取し、清浄度の高い平面シリコンウエハ基板上に滴下する。滴下した液滴は表面張力により直径約1.2 mmの半球ドーム形状を形成するが、時間経過とともに水が蒸発していく (約1 $\mu\text{g/s}$)。このときの液滴質量変化を滴下後経過時間とともにマイクロ電子天秤で測定する。経過時間をゼロに外挿した値から基板上に滴下した液滴質量 M を推定する。液滴が十分乾燥するとPSL粒子群のみが基板上に残るため、これに対し走査型電子顕微鏡 (SEM) で粒子画像を取得する。取得した画像から基板上の粒子数 N を全て目視計数することで液中粒子数濃度 $C_{\text{SEM}} = N/M$ を算出することができる。以上よりT-FCM法と顕微鏡法で実現される液中粒子数濃度測定 of theトレーサビリティ体系図を図15に示す。液中粒子数濃度 C は粒子数 N と懸濁液質量 M で与えられる。質量 M に対しては校正済みの電子天秤により国家標準にトレーサブルな測定が実現されている。粒子数 N に対しては前述の通りSI単位系に含まれないため、T-FCM法と顕微鏡法で得られた粒子数濃度 C の測定値が拡張不確かさの範囲内で一致することからその妥当性を確認している。

4.2 液中粒子数濃度標準の供給形態

T-FCM法にて実現された液中粒子数濃度国家標準がどのように産業界に供給されているかについて説明する。図16に産総研の国家標準から現場で用いられる

⁶⁾ T-FCM法には粒子数濃度が 10^6 個/mLだと高すぎるので、T-FCM法で測定可能になるようにあらかじめ 10^3 個/mLまで超純水で正確に希釈を行ったのち粒子数濃度を測定する。

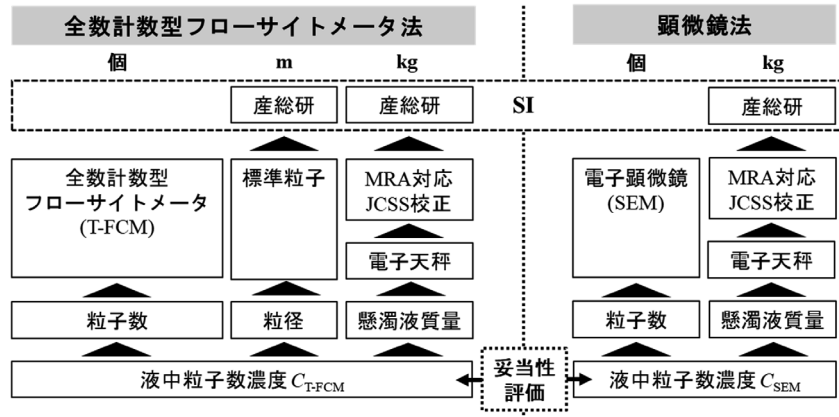


図 15 液中粒子数濃度国家一次標準のトレーサビリティ体系。

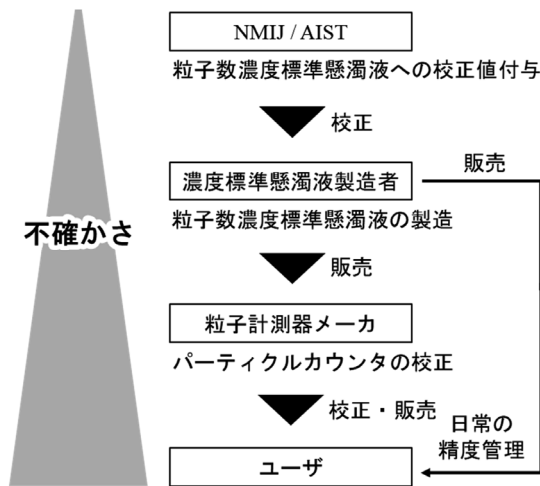


図 16 液中粒子数濃度標準の供給体制。

LPC への標準供給体制の説明図を示す。粒子数濃度が既知の濃度標準懸濁液が標準粒子メーカーにより製造されており、製造した母懸濁液の一部が産総研に提供される。産総研はこの試料に対し T-FCM 法により粒子数濃度の校正値を付与する。標準粒子メーカーは校正された母懸濁液と同一ロットの母懸濁液を希釈し、粒子数濃度標準懸濁液を調製する。同一ロット内での粒子数濃度のばらつきや調製した製品群に対して希釈操作に伴う粒子数濃度のばらつきの不確かさ評価を行うことで、これらの粒子数濃度標準懸濁液は産総研の粒子数濃度標準にトレーサブルになる。粒子計測器メーカーはこの粒子数濃度標準懸濁液を標準粒子メーカーから購入し、社内標準器の計数効率を評価する。この社内標準器を用いて、生産された LPC の検出効率を評価する。半導体・電子デバイス業界、医薬品製造業界等の LPC ユーザはこの校正された LPC を購入することで液中粒子数濃度を測定し純

水・薬液の清浄度管理を行う。現場のユーザは計測器メーカーへ LPC の校正依頼を年 1、2 回の頻度で行うとともに、粒子数濃度標準懸濁液を購入することで日常の精度管理も行うことができる。

4.3 市販されている粒子数濃度標準懸濁液

現在、標準粒子メーカーから販売されている粒子数濃度標準懸濁液について、その粒径範囲と粒子数濃度範囲をまとめたものを表 5 に示す。ここに示すのは粒径に対して国家計量機関にトレーサブルな PSL 標準粒子を純水中に懸濁させた粒子数濃度標準懸濁液である。粒子数濃度に対してのトレーサビリティは、ほとんどの懸濁液で明示されておらず不明である。

表 5 に示した市販粒子数濃度標準懸濁液の多くは LPC への直接サンプリングが可能な濃度に調整されており、現場のユーザが希釈する手間のないように工夫されている。特に光散乱式・光遮蔽式 LPC の計数精度評価に適した粒子数濃度 (1000 個/mL-4000 個/mL) のものが多く揃えられている。Colloidal Metrics 社からは PTA 法に適した粒子数濃度である 10^7 個/mL- 10^{11} 個/mL オーダの PSL 粒子数濃度標準懸濁液を販売している。一方で半導体産業での超純水・薬液の清浄度管理に用いられる部分計数型光散乱式 LPC に適した、粒径 100 nm 以下の粒子数濃度懸濁液の製品数は限られている。100 nm 以下の微小粒径側では標準懸濁液ボトル自体からの内部発塵が顕著になり¹²⁵⁾、この粒径域の粒子数濃度への影響が無視できなくなる。その結果、懸濁液の粒子数濃度が不安定になることが主な理由であると考えられる。この問題に対する対策として KANOMAX FMT 社から販売されている粒子数濃度標準懸濁液は 4×10^7 個/mL と高濃度に調整されている。こうするこ

表 5 市販 PSL 粒子数濃度標準懸濁液の粒子数濃度と粒径範囲

メーカー	製品	粒子数濃度 / 個 mL ⁻¹	粒径 / μm
JSR (JSR Life Sciences)	CLINTEX	1000 ± 10%, 15%	0.2 - 10
Thermo Fisher Scientific	EZY-CAL	2000 ± 10%	2 - 70
	COUNT-CAL	3000 ± 10%	2 - 70
	PHARM-TROL	3800 ± 15%	15
	VALIDEX	1000 ± 15%	5 - 10
KANOMAX FMT	NanoParticle Standards ^{a)}	4 × 10 ⁷ ± 10%	0.02 - 0.5
Colloidal Metrics	One-Shot standards ^{b)}	5 × 10 ⁷ - 10 ¹¹ ± 10%	0.07 - 0.5

a): 別途 2×10⁴ 倍まで希釈可能な希釈器が販売されている。

b): PTA 法に適した粒子数濃度に調整されている。

とでもともと含まれている粒子数に対して容器内発塵による粒子数増加は無視できるレベルになると考えられる。この粒子数濃度標準懸濁液は現場のユーザによる希釈操作を前提にしたものであり、そのための専用の希釈器も販売されている。

4.4 今後開発に取り組む液中粒子数濃度標準校正粒径範囲の拡張

産総研から供給している現在の液中粒子数濃度国家標準の供給粒径範囲と、産業界が求めている粒子数濃度標準の粒径範囲を図 17 に示す。3.6 節で説明したように、100 nm 以下の粒子を測定可能な LPC を用いている半導体業界では、この粒径域で国家標準にトレーサブルな液中粒子数濃度標準を必要としているが、現在産総研が供給している液中粒子数濃度の校正粒径範囲は 2 μm - 20 μm であり、産業界のニーズとは 1 桁以上のギャップがある。このような半導体業界からの要望を踏まえ、今後は校正可能粒径下限の拡張に取り組む予定である。産総研では第 2 期知的基盤整備計画¹²⁶⁾に基づき、液中粒子数濃度標準の校正粒径範囲を 2022 年を目途に 50 nm まで拡張することを目標としている。2018 年度までの目標として、600 nm まで下限を拡張するための技術開発を進める。600 nm よりさらに微小な粒径への拡張については、現在開発中の校正技術の高度化とともに、新たな校正技術の開発を進める予定である。具体的な液中粒子数濃度の校正技術開発方法については 5 章で説明する。

校正粒径範囲拡張に合わせ市販粒子数濃度標準懸濁液のトレーサビリティの確保の仕方についても検討を進める。先に述べたように日方¹²⁵⁾の報告ではクリーンボトル内壁からの粒径 100 nm 以下の発塵が時間経過とともに指数的に増大し、粒径 100 nm 以上の場合のように粒子数濃度標準懸濁液を製造・管理することが困難になるおそれがある。この問題に対する解決策としては、発

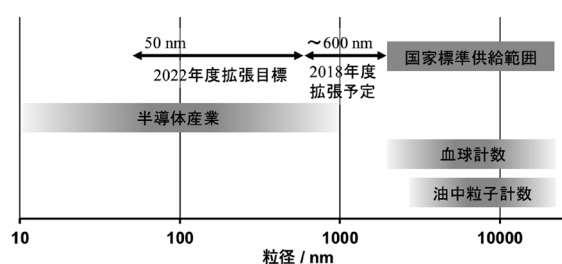


図 17 液中粒子数濃度国家標準の供給粒径範囲と産業界が求める粒径範囲。

塵影響を無視できる程度まで粒子数濃度を高濃度に調整したボトルに対して値づけを行うことが考えられる。これは 4.3 節で述べた市販の 100 nm 以下の粒子数濃度標準懸濁液に対してとられている方法と同様である。もう一つ考えられる方法としては、LPC 本体を産総研の標準器と直接比較試験することで校正を実施する標準の供給形態が考えられる。この方法では安定性の悪い粒子数濃度標準懸濁液を LPC ユーザが扱わずに済むという利点がある。どちらの方法がよりユーザの要望に適した供給方法なのかについては、今後校正技術開発を進めるとともに標準粒子メーカーや LPC メーカーと協力して検討を行う予定である。

なお、2017 年時点で粒子数濃度標準懸濁液に対する濃度校正技術を有する計量研究機関は殆ど無く、実際の校正実績も明示されていないため不明である。4.3 節で述べたように、ほとんどの市販粒子数濃度標準懸濁液のトレーサビリティが明示されていないことから、世界的に見ると水媒体の液中粒子数濃度測定分野では、高い信頼性を有する計測標準へのトレーサビリティを実現するための仕組みが十分に整備されているとは言えない。一方で 3.6 節で述べたように、産業界では液中粒子数濃度測定の高い需要が存在することから、産総研がナノ・サブマイクロメートル粒径域の液中粒子数濃度標準を開発することは大きな意義があると考えられる。

水以外の媒体への液中粒子数濃度国家標準の展開

3.6節で説明した通り、液中粒子数濃度の測定技術は血液中の血球計数や油中の粒子計数など純水以外の媒体にも利用されており、これらの分野からは高精度な粒子数濃度標準による評価が求められている。そのため産総研の液中粒子数濃度標準をこれらの計測分野へ展開することを考えている。

血球計数分野では3.2節で説明した通り粒子数濃度の国家標準が存在しないため、ICSHが推奨する基準測定操作法によるヒト新鮮血への値付けをトレーサビリティの最上位に据えたものが運用されている。血球計数分野で国家標準レベルの標準物質が存在しない場合が多い理由は、血球と同等の移動・変形特性を持つ安定な代替試料の調製が困難なためである。ICSH法により値付けされるヒト新鮮血の安定性は高くなく、そのためICSH法の最上位標準器同士の試験所間比較を行うのにヒト新鮮血を用いることは困難である。またICSH法による赤血球濃度測定法では検出部への同時通過による数え落としを補正することで正確な赤血球数濃度を測定しているが、この同時通過補正法の妥当性評価を含め、血球濃度測定値の不確かさ評価は限られている⁸⁰⁾。ICSH法による同時通過損失補正法の妥当性評価を含め、電気的検知帯式LPCの血球計数能力の検証には、高精度な液中粒子数濃度国家標準による評価が有効である可能性が高い。国家標準による比較試験等の結果からICSH法の妥当性を示すことができればICSH法の計量標準としての価値はさらに高まることが期待できる。

油中粒子計数分野で用いられるLPCは3.3節で述べた通り、ISO規格に基づいて装置校正が行われているが、一次標準である標準物質は多分散で不定形の鉍物粒子であることが理由で、校正される計測器によっては粒径や計数効率の正確な校正ができない可能性がある。この問題に対する解決法として、油中粒子計数器に対する計数効率評価に単分散性の高いPSL標準粒子を用いる方法がある。まず粒径閾値近傍のサイズを持つPSL粒子⁷⁾からなる粒子数濃度標準を用い、粒径閾値近傍での油中粒子計数器の計数効率を求め、粒径閾値近傍で計数効率が100%あるいは粒径によらず一定であることが分かれば、続いてNIST SRM 2806を用いた正確な粒径校正ができる。さらに気泡等のコンタミネーション粒子との識別といった粒子計数技術の高度化が進んでおり、

このような技術に対する妥当性検証にも単分散PSL粒子を用いた液中粒子数濃度国家標準による評価は有効と期待される。

赤血球と油中粒子の測定対象粒径範囲はそれぞれ $6\ \mu\text{m} - 9\ \mu\text{m}$ 、 $\geq 4\ \mu\text{m}$ であるので、現行の国家標準の測定粒径範囲内にある。しかし産総研で実施している校正は純水中に分散しているPSL標準粒子を対象としているため、媒体が異なる血液や油に対してはこの校正技術をそのまま評価に用いることは困難である。例えば産総研のT-FCM法による校正や比較試験に用いる粒子がPSL標準粒子である場合を想定する。血球計数に用いられる電気的検知帯式LPCは媒体が電解液でなければ測定できないため、懸濁液に対して塩の添加等による化学処理が必要である。その結果得られる粒子数濃度測定値が化学処理の前後で変化していないことを実証する必要がある。さらに水と油のような異なる媒体を用いると、屈折率の違いに起因して光散乱式LPCにより得られる粒径は変化する¹²⁷⁾。そのため水とは異なる媒体に対する粒子数濃度の評価をする場合、媒体の違いを考慮する必要がある。

この節で述べた液中粒子数濃度国家標準の水以外の媒体への利用は現在のところ構想段階であり、具体的な評価方法についてさらに技術検討を進める必要がある。特に媒体や測定方法の違いによる影響は重要な検討課題である。また今後も各産業界での液中粒子計測技術の動向調査を引き続き行いつつ、各計測分野での粒子数濃度測定信頼性向上を目指して国家計量標準の展開を進める。

5. ナノ粒径液中粒子数濃度標準の開発

前節で述べた通り半導体業界からの要望を踏まえ、産総研では液中粒子数濃度の校正粒径範囲を最終的に50 nmまで拡張することを目標としている。この章では将来的な校正可能粒径範囲の拡張を実現するために今後検討を進める校正技術の開発指針について説明する。5.1、5.2節は現行標準の高度化による校正粒径範囲の拡張について説明する。5.3、5.4節では50 nmまでの拡張をするために新たに取り組む校正技術の手法について説明する。

5.1 光散乱式粒子計数法による粒子数濃度校正の下限粒径拡張

T-FCM法は粒子の光散乱に基づく粒子計数法であり、現在は $2\ \mu\text{m} - 20\ \mu\text{m}$ の範囲で標準供給が実現されてい

⁷⁾ NIST SRM 2806により得られる粒径校正値は不定形粒子の投影面積に基づいた円相当径であり¹⁰⁴⁾、PSL粒子による粒径校正値は厳密には等しくない。

るが、この光散乱式粒子計数法の高度化を行うことで校正可能粒径下限を拡張できると考えている。ここではまず現在産総研で開発を進めている 600 nm までの校正技術について説明する。

図 18 に示すのは現在産総研で開発が進められている全数計数型光散乱式 LPC を用いた質量同時測定型光散乱式粒子計数法の概要図である。粒子検出部は図 2 (a)、図 3 (a) に示したものと同様に、フローセル内の粒子が全てレーザー光を横切る全数計数型の構造をもつ。粒子懸濁液が入ったボトルが電子天秤上に設置されており、粒子計数中の懸濁液の質量変化を常時測定している。懸濁液ボトルには試料取入れのためのプローブが挿入されており、懸濁液はシリンジポンプにより LPC 内にサンプリングされる。測定時は LPC による粒子計数と電子天秤による質量測定を同時に行うことで、シリンジポンプ動作時の質量減少速度と測定時間から実測定試料質量 M [g] を推定する。測定時間内に計数された粒子数 N [個] から、粒子数濃度を $C=N/M$ [個/g] と求めることができる。

この質量同時測定型粒子計数法による粒子数濃度測定を実施するにあたり考慮すべき主な不確かさ要因を説明する。第一に懸濁液内に挿入したプローブに働く浮力による質量測定のバイアスが挙げられる。測定中にボトル内の液面が下降するに伴い、プローブに働いていた分の浮力が減少し、その分だけ電子天秤が示す質量が減少する。第二にシリンジポンプ動作の不均一さに起因する質量推定の不確かさがある。光散乱式 LPC で測定した実測定試料量は、時間経過に対するボトル質量減少の回帰式より推定するが、シリンジポンプの動作は一定ではなく、短時間的・長時間的変動があることが確認されている。第三に波高分析器 (PHA) による計数時間の不確かさが挙げられる。PHA による信号取得時間の真値からのずれが実測定試料量の誤差につながるため、粒子数濃

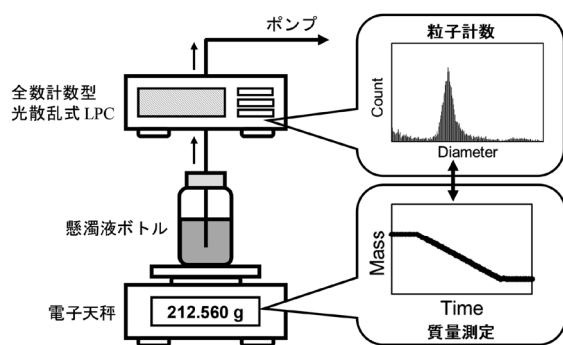


図 18 質量同時測定型光散乱式 LPC による液中粒子数濃度の校正法。

度測定の際には考慮しなければならない不確かさ要因である。

この測定原理によって実現される校正可能粒径範囲は 600 nm – 20 μm で、拡張不確かさは T-FCM 法と同等あるいはそれ以下になることが見込まれている。また試験管を超純水により繰返しリンスする必要がないため、測定時間の大幅な短縮が見込める。将来的にはこれと同様の測定原理を用いて、全数計数型光散乱式 LPC による粒子の検出限界に近い 200 nm – 300 nm まで拡張することを目指す予定である。そのために考慮すべき検討課題としては粒子検出感度の向上、つまり S/N 比の向上が重要である。検出粒子の微小化に伴う感度低下により、光学設計上生じうる迷光など、装置特性由来のノイズ信号と粒子からの光散乱信号との区別が困難になる。微小粒子の検出感度向上のためにはレーザーの高出力化のみならず、バックグラウンドノイズの低減を目的とし、コンタミネーション防止のための試料調製方法の工夫、レーザーの短波長化、光学系部材の変更などを検討する必要がある。

5.2 顕微鏡法

現行の国家標準である T-FCM 法と同様に、質量同時測定型光散乱式粒子計数法に対しても顕微鏡法による妥当性評価を行う。顕微鏡法による 600 nm までの粒子数濃度測定は現行標準の校正範囲である 2 μm – 20 μm と同様に実施できることが確認されているため、質量同時測定型光散乱式粒子計数法に対してもその妥当性評価として用いることが可能である。5.1 節で述べた校正方法の高度化と併せて、顕微鏡法による妥当性評価もこれまでと同様に行う予定である。ここでは粒径の更なる微小化に伴う顕微鏡法の問題点をまとめ、今後検討すべき技術的課題を説明する。粒径の微小化に伴い起こりうる問題点としては撮像枚数の増大が挙げられる。粒子の目視計数が実施可能な解像度で取得するためには高い拡大倍率で撮像する必要があるため、画像 1 枚あたりの観察視野は縮小する。シリコンウエハ基板上に滴下する液滴 (1 μL) のスポット径は 1.2 mm で変わらないため、計数目的粒子の微小化に伴い撮像枚数が大幅に増加することが予想される。撮像枚数は粒径の 2 乗に反比例することから、例えば粒径が 1 μm から 100 nm になると撮像枚数は 100 倍に増加する。撮影画像枚数の増加とともに作業者の負担は増大し、顕微鏡法による粒子計数作業は困難になる。顕微鏡法による校正粒径範囲を拡張するにあたっては、撮像枚数を低減するためにスポット径を小さくすることが有効である。それには滴下した粒子群が一

か所にまとまって乾燥・凝集するよう、基板に対し親水化処理を施すなどといった工夫^{24), 25)}のほか、ウエハ基板上に滴下する液滴を微小化する方法も考えられる。例えば液滴体積及び発生頻度を高精度に制御できるインクジェット法^{128), 129)}を用いることで、液滴径が数10 μm程度(約 5×10^{-7} μL– 5×10^{-4} μL)の微小液滴を安定的に供給可能である。インクジェット液滴をシリコンウエハ基板の狙った位置に安定的に慣性力で付着させることができれば顕微鏡による観察面積の大幅な低減を目指すことも可能である¹³⁰⁾。この場合は液滴の微小化に伴い、電子天秤による懸濁液質量の直接測定は困難になるため、別の方法により液滴質量を正確に測定する必要がある。滴下液滴を微小化する方法を用いた場合、粒子数濃度を評価する際に統計的信頼度の維持に必要な粒子数(約1000個)が液滴中に含まれる必要があるため、用いる標準粒子懸濁液試料は高濃度でなければならない。よって液滴量を1 μLよりも微小化した場合は、用いる懸濁液は 10^6 個/mLよりも高濃度である必要がある。例えば発生させる液滴径が10 μmのとき、液滴中には 1.9×10^{12} 個/mL以上の濃度で粒子が含まれている必要がある。この場合100 nm以下の粒径に対しては例えばJSR社(JSR Life Sciences社)から市販されている標準粒子懸濁液(JSR SIZE STANDARD PARTICLES)がこれよりも数桁濃度が高く、適宜適切な粒子数濃度まで希釈・調整することで本手法が適用可能である。

5.3 懸濁液乾燥質量法

光学式LPC法で目標としている100 nm–200 nmからさらに校正粒径下限を拡張するにあたり、従来の液中粒子計数技術とは異なる方法の検討も進める。図19に

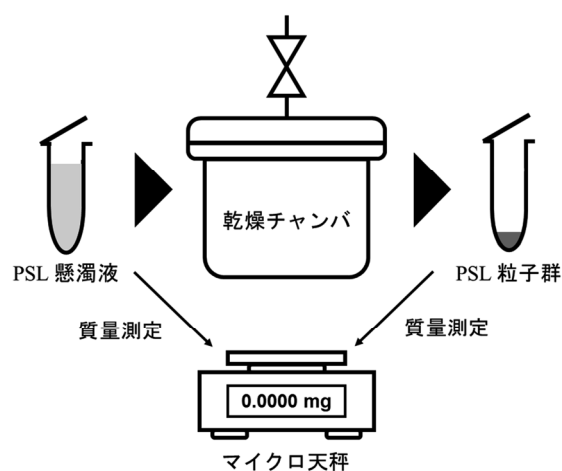


図19 懸濁液乾燥質量法による液中粒子数濃度の校正法。

示す懸濁液乾燥質量法は粒子を直接計数するのではなく、懸濁液の乾燥重量から粒子数を推定する方法である^{1), 53), 131)}。PSL粒子懸濁液を試験管に分取した後にその質量 $m_{\text{suspension}}$ [g]を測定する。次に乾燥チャンバ内で十分に乾燥させ試験管内に残った残渣分の質量 m_{residue} [g]を再度測定する。このときに示す質量がすべてPSL粒子群によるものと仮定し、PSL粒子1個分の質量 m_{PSL} [g/個]で割算することで元の分取した懸濁液中に含まれていたPSL粒子総数を推定することができる。したがって粒子数濃度 C [個/g]は以下の式で求められる。

$$C = \frac{m_{\text{residue}}}{m_{\text{PSL}}} \times \frac{1}{m_{\text{suspension}}} \quad (13)$$

粒子1個あたりの質量はPSL標準粒子を完全な球形とみなし、平均粒径と密度から算出する。この方法は粒子を1個ずつ直接計数するわけではなく、質量測定から粒子数濃度を推定する方法なので、光学式LPC法による粒子計測では確立が困難であった、SI基本単位へのトレーサブルな測定を確立できる校正方法である。理想的な測定状況下では理論上どの粒径に対しても適用できるが、得られる校正値の不確かさは用いる標準粒子懸濁液の質に大きく依存する校正方法である。以下に具体的な課題を挙げる。

第一に懸濁液中の粒子の粒径分布を正確に求めることが必要である。粒子の粒径分布幅が大きい場合、完全な単分散粒子であるという仮定は粒子数濃度の決定において誤差を生じさせるため、有限の粒径分布幅をもった粒子群として計算する必要がある。その場合はDMA等による正確な粒径分布測定が必要となる。第二に質量測定に影響を及ぼすような粗大粒子や不揮発性の分散剤、容器内部の発塵影響が無視できるほど小さいことが必要となる。例えば100 nm粒子に対し粒子数濃度をこの校正法で値づけしようとする場合、粒径が10倍の1 μm粒子が1個混入すると、100 nm粒子1000個分に相当する質量増加が起きる。この大粒径での計数が偽計数であった場合、粒子数濃度推定値は実際の値から大きくずれることになる。そのため偽計数の評価が重要である。また分散剤は懸濁液中のPSL粒子の凝集を防ぎ液中に均一に分散させる目的で加えられることが多いが、乾燥後は粒子群とともに残渣として残る可能性がある。その場合も粒子数推定の過大評価につながるおそれがある。懸濁液ボトルの容器内部発塵影響もまた4.3節で述べたように粒子数濃度の過大評価につながる可能性がある。

以上で説明した通り懸濁液乾燥質量法は比較的シンプルな液中粒子数濃度の決定方法であるが、その反面妥当

性評価が難しい方法でもある。光散乱式 LPC の計数効率の校正に用いられた事例¹³¹⁾もあるが、不確かさ評価を含めたその妥当性評価を行った事例は報告されていない。そのため懸濁液乾燥質量法を校正技術として確立するためには、他の顕微鏡法などの粒子計測手法による妥当性評価を行うことが必要である。また用いる天秤の分解能や表示桁数の制約から、LPC で計測される粒子数濃度領域よりも非常に高濃度の懸濁液に対して値づけを行うことになる。懸濁液乾燥質量法により校正された粒子数濃度標準懸濁液を LPC ユーザが用いるためには、数段階の希釈操作が必要になり現場での校正の手間は増える。

5.4 エアロゾル計測技術応用法

5.1 節で説明したように、粒径 200 nm 以下の粒子を光学的に検出するのは困難になる。エアロゾル計測技術ではこのような微小粒径範囲にある粒子に対しても適用可能な計測装置として、2.8 で説明した凝縮粒子計数器 (CPC) が用いられている。CPC による測定粒径下限はおよそ数 nm であり、50 nm の液中粒子数濃度の校正に適用できる可能性がある。エアロゾル計測技術を 200 nm 以下への校正範囲拡張手段の一つとして検討を進める。ここではエアロゾル計測技術応用法による校正技術の開発を進めるにあたり、今後検討が必要な課題をまとめる。

第一に気相噴霧の際に発生する、計数目的粒子ではない残渣粒子の影響が考えられる。2.8 節で説明したように、PSL 標準粒子懸濁液をネブライザで気相に噴霧すると、粒子を含む液滴と粒子を含まない液滴の 2 種類が発生する。拡散ドライヤ等による乾燥で水分を除去すると、粒子を含まない液滴は元の純水中に溶存していた不揮発性物質等の不純物が残渣粒子として残るため^{59), 60)}、これらの粒子は計数誤差の原因となる。標準粒子の懸濁液中には粒子の分散性や安定性を向上する目的で界面活性剤等が添加されており、残渣粒子中にはこれらが多く含まれる。CPC で計数する前に DMA やインパクタ等の分級器を用いて計数目的粒子以外の残渣粒子を除去する。その場合は残渣粒子の粒径分布範囲が計数目的粒子の粒径分布範囲と重なっていないことを確認する必要がある⁵⁸⁾。残渣粒子による影響を低減するために、できるだけ界面活性剤等の不純物の含有が少ない標準粒子懸濁液を選定すること¹³²⁾、気相噴霧後の大粒径の残渣粒子が発生しにくい噴霧条件を検討することが求められる。

第二にネブライザから検出器までに輸送されるまでに生じる様々な粒子損失要因を考慮する必要がある。例え

ば式 (11) で述べたネブライザの粒子噴霧効率 α を正確に求めるのは難しい。ネブライザ内では懸濁液中の粒子の一部は液相から気相に噴霧されずに液相中にとり残されたり、エアロゾル化した粒子の一部がネブライザ容器内壁に沈着することで損失する。さらにネブライザによる懸濁液の気相噴霧から CPC で検出されるまでに通過する配管内では、粒子が管壁に沈着することで輸送空気中から損失する¹³³⁾。特に 100 nm 以下の微小粒径では粒子が無秩序な運動をするブラウン拡散が顕著となり粒子損失率が增大する。また DMAS を構成する荷電器の荷電効率¹³⁴⁾や DMA の分級特性も定量的に評価する必要があるが、計量計測トレーサビリティのとれた粒径分布測定法の標準器は現状では存在しない¹³⁵⁾。そのためエアロゾル計測技術を用いた液中粒子数濃度の校正技術確立のためには、粒径分布測定器の高度化も必要である。

エアロゾル計測技術応用法を用いて値付けをすることができる液中粒子数濃度は、気相中での粒子輸送中に発生する様々な損失要因を考慮すると、最低でも 10^6 個 mL^{-1} は必要だと考えられる。そのため本法により校正された粒子数濃度標準懸濁液を LPC ユーザが用いるには、懸濁液乾燥質量法と同様に数段階の希釈操作が必要になる可能性が高い。

エアロゾル計測技術応用法を用いる最大の利点としては、現在産総研が供給しているファラデーカップ電流計に基づく気中粒子数濃度国家標準^{136), 137)}にトレーサブルな計測ができるという点である。先に述べた計数不確かさ要因を低減し、ネブライザから CPC に輸送される際に生じる粒子損失要因を定量的に評価することができれば、液中粒子数濃度の校正技術として確立することが可能である。

6. まとめ

本調査研究では文献調査や企業インタビュー調査を通して液中粒子数濃度の各種計測技術の調査を行い、産業界での液中粒子数濃度測定の利用事例と現状抱えている計測上の問題点を把握することで、今後取り組む液中粒子数濃度標準開発のための指針を得た。LPC の利用分野は多岐にわたり、その汎用性の高さからユーザの数は増大することが予想される。そのため LPC に対する適切な精度管理はますます重要になると考えられる。

LPC の粒子数濃度校正には液中粒子数濃度標準懸濁液が利用されているが、半導体業界の LPC ユーザはサブマイクロメートル粒径域での粒子数濃度標準を必要としており、この粒径域の精度管理は十分なレベルではな

されていない。今後は液中粒子数濃度国家標準による供給範囲を 50 nm まで拡張するため、校正技術の開発を進める予定である。5 章では校正可能粒径下限を拡張するにあたり、今後開発を進める校正技術の検討を行った。光散乱式粒子計数法に基づく校正技術では 600 nm までの校正範囲の拡張が予定されており、この手法をさらに高度化することで将来的に 200 nm-300 nm までの校正範囲の拡張を目指す。同時に妥当性評価のための顕微鏡法による校正技術も同時に開発を進める予定である。200 nm 以下では懸濁液乾燥質量法とエアロゾル法の利用を考えており、技術検討を進める予定である。開発した国家標準を可能な限り幅広い LPC ユーザが利用できるよう、より適した供給形態についての検討も進める。

血球計数分野や油中粒子計数分野では液中粒子数濃度国家標準による粒子数濃度測定値の評価を求めている。これらの計測分野で対象としている測定粒径範囲は、現在産総研が供給している校正粒径範囲内であるが、血液や油の媒体を対象にした LPC に対してはこのまま評価に用いることができない。そのため水以外の媒体に対する粒子数濃度の評価方法を確立する必要がある。

式中の記号

A_i : 有効ろ過面積
 A_p : 粒子の投影面積
 α : 顕微鏡での測定視野面積
 C : 液中粒子数濃度
 C_{aerosol} : 気中粒子数濃度
 C_B : ヒト新鮮血の赤血球濃度
 C_{Bd} : ヒト新鮮血 5 万倍希釈後の赤血球濃度
 C_{Bd_i} : 5 万倍希釈血液に対する希釈系列の試料濃度
 C_{d_p} : ある粒径 d_p での液中粒子数濃度
 $C_{\text{T-FCM}}$: 全数計数型フローサイトメータ法で求めた液中粒子数濃度
 C_{SEM} : 顕微鏡法で求めた液中粒子数濃度
 D : 拡散係数
 d_p : 粒径
 f_{charge, d_p} : 粒径ごとの荷電率
 f_{count} : 検出部での粒子計数頻度
 I_R : 散乱光強度
 I_0 : 入射光強度
 K_{d_p} : ある粒径での光散乱断面積
 k_B : ボルツマン定数
 M : 試料懸濁液質量
 $m_{\text{suspension}}$: PSL 粒子懸濁液の質量

m_{PSL} : PSL 粒子 1 個分の質量
 m_{residue} : PSL 粒子懸濁液を乾燥させた後の質量
 m : 粒子の複素屈折率
 N : 粒子計数値
 N_{Bd} : R_5 希釈後血液試料の赤血球計数値
 n : 媒体の複素屈折率
 n_{Bd_i} : 各希釈系列試料の 3 回測定の総計数値
 ΔP : フォトディテクタでの受光量パワー変化
 Q_{ext} : 粒子の光消散係数
 Q_{sca} : 粒子の光散乱係数
 Q_{abs} : 粒子の光吸収係数
 q : 試料流量
 $q_{\text{suspension}}$: ネブライザによる懸濁液消費速度
 q_{aerosol} : 電荷調整部に輸送されるエアロゾル流量
 $q_{\text{nebulizer}}$: ネブライザからの懸濁液噴霧量
 R : 粒子からの距離
 R_5 : ヒト新鮮血の希釈倍率
 t : 測定時間
 V : 試料懸濁液体積
 V_{Bd} : 血液試料の測定試料体積
 $\overline{(x, y)^2}$: 2 次元での平均二乗変位
 α : ネブライザによる液相から気相への粒子噴霧効率
 λ : 光の波長
 θ : 方位角
 η : ネブライザから検出部までの粒子輸送効率
 τ : 濁度
 μ : 媒体の粘度

謝辞

本調査研究の遂行にあたり液中粒子計数に関わる産業ニーズ調査のための企業インタビューに標準粒子メーカー 2 社、粒子計測器メーカー 1 社、血球計測器メーカー 1 社、油中粒子計測器メーカー 1 社からご協力いただきました。また竹歳尚之副研究部門長、桜井博グループ長、坂口孝幸主任研究員ならびに粒子計測研究グループの方々より多くの助言をいただきました。ここに厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) J. Shang and X. Gao: *Chem. Soc. Rev.*, 43 (2014) 7267-7278.
- 2) JIS B 9925: 光散乱式液中粒子計数器 - 校正方法及び検証方法 (2010).

- 3) ISO 21501-2: Determination of particle size distribution – Single particle light interaction methods – Part 2: Light scattering liquid-borne particle counter (2007).
- 4) JIS B 9916 : 光遮へい式液中粒子計数器 – 校正方法及び検証方法 (2010).
- 5) ISO 21501-3: Determination of particle size distribution – Single particle light interaction methods – Part 3: Light extinction liquid-borne particle counter (2007).
- 6) JIS Z 8827-1 : 粒子径解析 – 画像解析法 – 第 1 部 : 静的画像解析法 (2008).
- 7) ISO 13322-1: Particle size analysis – Image analysis methods – Part 1: Static image analysis methods (2014).
- 8) JIS Z 8832 : 粒子径分布測定方法 – 電気的検知帯法 (2010).
- 9) ISO 13319: Determination of particle size distributions – Electrical sensing zone method (2007).
- 10) ISO 19430: Particle size analysis – Particle tracking analysis (PTA) method (2016).
- 11) ISO/TS 19590: Nanotechnologies – Size distribution and concentration of inorganic nanoparticles in aqueous media via single particle inductively coupled plasma mass spectrometry (2017).
- 12) C. M. Sorensen, J. Gebhart, T. J. O'Hern, D. J. Rader: Aerosol Measurement – Principles, Techniques, and Applications – Chapter 13 Optical Measurement Techniques: Fundamentals and Applications, ed. P. Kulkarni, P. A. Baron, K. Willeke (John Wiley and Sons, New York, 2011).
- 13) 一条和夫 : 空気清浄, 44 (2006), 11-18.
- 14) 一条和夫 : 空気清浄, 35 (1997), 276-279.
- 15) 高橋幹二 : エアロゾル学の基礎, 森北出版 (2003).
- 16) 近藤郁 : ぶんせき, 9 (2012), 499-504.
- 17) 近藤郁 : クリーンテクノロジー, 12 (2012), 37-41.
- 18) SEMI C82-0713: Test method for particle removal performance of liquid filter rated 20 to 50 nm with liquid-borne particle counter, Semiconductor Equipment and Materials International (2013).
- 19) W. C. Hinds: Aerosol Technology – Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles – Chapter 16 Optical Properties, (John Wiley and Sons, New York, 1999).
- 20) D. Kozak, W. Anderson, R. Vogel, M. Trau: *Nano Today*, 6 (2011) 531-545.
- 21) G. R. Willmott, R. Vogel, S. S. C. Yu, L. G. Groenewegen, G. S. Roberts, D. Kozak, W. Anderson, M. Trau: *J. Phys.: Condens. Matter*, 22 (2010) 454116.
- 22) E. Weatherall and G. R. Willmott: *Analyst*, 140 (2015) 3318-3334.
- 23) W. Anderson, D. Kozak, V. A. Coleman, A. K. Jamting, M. Trau: *J. Colloid and Interface Sci.*, 405 (2013) 322-330.
- 24) 勝田哲男, 深井芳和, 青谷征二 : *JSR Technical Review*, 99 (1992) 13-16.
- 25) T. Sakaguchi and K. Ehara: *Meas. Sci. Technol.*, 22 (2011) 024010.
- 26) 杉山勇, 遠藤睦子 : 空気清浄, 43 (2006) 423-430.
- 27) 草野徹 : クリーンテクノロジー, 11 (2007), 37-40.
- 28) JIS K 0554 : 超純水中の微粒子測定方法 (1990).
- 29) JIS B 9930 : 油圧 – 作動油汚染 – 光学顕微鏡を用いた計数法による微粒子測定方法 (2006).
- 30) 田中洋一 : 空気清浄, 51-2 (2013) 49-55.
- 31) J. A. Gallego-Urrea, J. Tuoriniemi, M. Hassellöv: *Trends in Anal. Chem.*, 30-3 (2011) 473-483.
- 32) 船戸美幸 : 粉体工学会誌, 53 (2016) 363-365.
- 33) M. Tong, O. S. Brown, P. R. Stone, L. M. Cree, L. W. Chamley: *Placenta*, 38 (2016) 29-32.
- 34) Y. Matsuura, N. Ouchi, H. Banno, A. Nakamura, H. Kato: *Colloids and Surfaces A*, 525 (2017) 7-12.
- 35) 宮下振一, 藤井紳一郎, 稲垣和三 : 分析化学, 66-9 (2017) 663-676.
- 36) 小林恭子 : ぶんせき, 10 (2016) 414-417.
- 37) F. Laborda, E. Bolea, J. Jiménez-Lamana: *Anal. Chem.*, 86 (2014) 2270-2278.
- 38) H. E. Pace, N. J. Rogers, C. Jarolimek, V. A. Coleman, C. P. Higgins, J. F. Ranville: *Anal. Chem.*, 83 (2011) 9361-9369.
- 39) W. Lee and W. Chan: *J. Anal. At. Spectrom.*, 30 (2015) 1245-1254.
- 40) I. Abad-Álvaro, E. Peña-Vázquez, E. Bolea, P. Bermejo-Barrera, J. R. Castillo, F. Laborda: *Anal. Bioanal. Chem.*, 408 (2016) 5089-2097.
- 41) S. Lee, X. Bi, R. B. Reed, J. F. Ranville, P. Herckes, P. Westerhoff: *Env. Sci. Technol.*, 48 (2014) 10291-10300.
- 42) T. P. Burg, M. Godin, S. M. Knudsen, W. Shen, G. Carlson, J. S. Foster, K. Babcock, S. R. Manalis: *Nature*, 446-26 (2007) 1066-1069.
- 43) M. Godin, A. K. Bryan, T. P. Burg, K. Babcock, S. R. Manalis: *Appl. Phys. Lett.*, 91 (2007), 123121.

- 44) H. Kobayashi, S. Maeda, M. Kashiwa, T. Fujita: *Proc. of International Conference on Optical Particle Characterization* (Tokyo, Japan, 2014) 92320S.
- 45) Y. Cheng: *Aerosol Measurement-Principles, Techniques, and Applications – Chapter 17 Condensation Particle Counters*, ed. P. Kulkarni, P. A. Baron, K. Willeke (John Wiley and Sons, New York, 2011).
- 46) 桜井博, 飯田健次郎: *エアロゾル研究*, 31-3 (2016), 212-217.
- 47) R. C. Flagan: *Aerosol Measurement – Principles, Techniques, and Applications – Chapter 15 Electrical Mobility Methods for Submicrometer Particle Characterization*, ed. P. Kulkarni, P. A. Baron, K. Willeke (John Wiley and Sons, New York, 2011).
- 48) 飯田健次郎, 宮川拓真, 桜井博: *エアロゾル研究*, 32-1 (2017), 58-66.
- 49) 桜井博: *エアロゾル研究*, 32-3 (2017), 199-207.
- 50) A. Wiedensohler: *J. Aerosol. Sci.*, 19-3 (1988), 387-389.
- 51) N. A. Fuchs: *Pure & Appl. Geophys.*, 56-1 (1963), 185-193.
- 52) T. Y. Ling, Z. Zuo, D. Y. H. Pui: *International Conferences on Safe Production and Use of Nanomaterials*, 429 (2013) 012006.
- 53) K. Iida, K. Ehara, K. Takahashi, H. Sakurai, J. Nakahashi, K. Yamamoto, M. Gamo: *Aerosol Sci. Technol.*, 51-10 (2017) 1144-1157.
- 54) G. V. Schooneveld, M. R. Lithy, D. C. Grant: *Proceedings of 2010 International Conference on Planarization / CMP Technology* (Phoenix, Arizona, 2010) 348-351.
- 55) G. V. Schooneveld, M. R. Lithy, D. C. Grant: *Technical Proceedings of the 2011 Nanotechnology Conference and Expo*.
- 56) W. C. Hinds: *Aerosol Technology – Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles – Chapter 21 Production of Test Aerosols*, (John Wiley and Sons, New York, 1999).
- 57) A. Wiedensohler, M. Krämer, H. -C. Hansson: *J. Aerosol Sci.*, 22-S1 (1991), S329-330.
- 58) T. Y. Ling, J. Wang, D. Y. H. Pui: *Environ. Sci. Technol.*, 44 (2010), 774-779.
- 59) A. Rastegar, M. Samayoa, M. House, H. Kurtuldu, S-K. Eah, L. Morse, J. Harris-Jones: *Proc. of Adv. Lithography* (San Jose, California, 2014) 90480P.
- 60) 大竹哲也: *クリーンテクノロジー*, 4 (2017), 56-60.
- 61) I. W. Lenggoro, B. Xia, K. Okuyama: *Languir*, 18 (2002), 4584-4591.
- 62) I. W. Lenggoro, H. Widiyandari, C. J. Hogan Jr., P. Biswas, K. Okuyama: *Anal. Chim. Acta*, 585 (2007), 193-201.
- 63) Y. Kousaka, K. Okuyama, M. Shimada, K. Ohshima, T. Hase: *J. Aerosol Res. Jpn.* (エアロゾル研究), 4-4 (1989), 294-302.
- 64) 守屋剛, 松井英章: *空気清浄*, 46-5 (2009) 321-330.
- 65) 小田貴文: *クリーンテクノロジー*, 10 (2005) 35-36.
- 66) 松田朋信: *クリーンテクノロジー*, 10 (2006) 25-28.
- 67) 田島奈穂子, クンプアン ソマワン, 原史朗, 飯田健次郎, 榎原研正, 桜井博: *エアロゾル研究*, 31-4 (2016) 266-277.
- 68) 岡本彰, 国安仁, 服部毅: *クリーンテクノロジー*, 10 (2005) 16-21.
- 69) 服部毅: *クリーンテクノロジー*, 9 (2003) 7-10.
- 70) ITRS: *International Technology Roadmap for Semiconductors*, 2015.
- 71) IRDS: *IRDS Reports – Yield enhancement White Paper*, 2016.
- 72) SEMI C77-0912: *Test method for determining the counting efficiency of liquid-borne particle counters for which the minimum detectable particle size is between 30 nm and 100 nm*, Semiconductor Equipment and Materials International (2012).
- 73) Y. Yeh, K. Kondo, H. Weng: *Sensors and Materials*, 28-6 (2016) 625-630.
- 74) 勝田哲男, 椎橋透, 青谷征二: *エアロゾル研究*, 2-2 (1987), 134-139.
- 75) K. Ehara, K. Takahata, M. Koike: *Aerosol Sci. Technol.*, 40 (2006), 521-535.
- 76) 近藤弘: *Readout*, 44 (2015) 12-15.
- 77) 下田勝二: *Symex Journal*, 17-1 (2016) 1-5.
- 78) 永井豊: *Cytometry Research*, 21-2 (2011) 13-22.
- 79) 吉野二男, 大澤久男: *日本分光学会測定法シリーズ 11 血液検査における自動化測定法*, 学会出版センター (1986).
- 80) 新改悦郎, 白上篤, 藤本敬二: *不確かさ評価事例集 I*, (2009) 183-195.
- 81) 永井豊, 巽典之: *生物試料分析*, 31-5 (2008) 307-

- 324.
- 82) ICSH and ISLH : *Am. J. Clin. Pathol.*, 115 (2001) 460-464.
- 83) 川合陽子 : モダンメディア, 62-12 (2016) 379-388.
- 84) ICSH: *Clin. Lab. Haemat.*, 16 (1994) 131-138.
- 85) 新改悦郎, 白上篤, 藤本敬二 : 日本検査血液学会雑誌, 8-2 (2007) 134-145.
- 86) 新改悦郎, 白上篤, 藤本敬二 : 生物試料分析, 31-5 (2008) 325-330.
- 87) C. Roos, E. Shinkai, K. Fujimoto: *Sysmex Journal Int.*, 18-2 (2008) 31-37.
- 88) 新改悦郎, 白上篤, 藤本敬二 : 検査と技術, 36-6 (2008) 518-522.
- 89) 本田和乙 : 精密工学会誌, 75-3 (2009) 359-362.
- 90) D. Hargreaves and S. C. Sharma: *Proc. of the 2nd World Tribology Congress* (Sep. 2001) 3-7.
- 91) 伊澤一康 : 潤滑経済, 8 (2004) 36-43.
- 92) J. K. Dochowski, K. G. Collins, W. M. Dmochowski: *J. Soc. Tribologists and Lubrication Engineers*, (2002) 34-39.
- 93) M. Tomimoto: *Wear*, 254 (2003) 749-762.
- 94) 山下憲一 : 潤滑, 29-12 (1984) 913-918.
- 95) 日本潤滑油学会 : トライボロジスト, 35-6 (1990) 373-379.
- 96) 吉長重樹, 岩井喜郎, 西野栄治, 西沢英樹, 小林喬郎 : 光学, 26-5 (1997) 273-279.
- 97) JIS B 9934 : 油圧 - 光遮蔽原理を用いた自動粒子計数法による清浄度測定方法 (2012).
- 98) ISO 11500: Hydraulic fluid power - Determination of the particulate contamination level of a liquid sample by automatic particle counting using the light-extinction principle (2008).
- 99) ISO 4406: Hydraulic fluid power - Fluids - Method for coding the level of contamination by solid particles (2017).
- 100) NAS: 1638: Cleanliness requirements of parts used in hydraulic systems (2011).
- 101) ISO 11171: Hydraulic fluid power - Calibration of automatic particle counters for liquids (2016).
- 102) JIS B 9932 : 油圧 - 液体用自動粒子計数器の校正方法 (2015).
- 103) ISO 12103-1: Road vehicles - Test contaminants for filter evaluation - Part 1: Arizona test dust (2016).
- 104) R. Fletcher, N. Ritchie, D. Bright, J. Filliben, W. Guthrie: *J. Res. NIST*, 121 (2016) 476-497.
- 105) W. D. Phillips and J. W. G. Staniewski: *Lubrication Sci.*, 28 (2016) 43-64.
- 106) 小笠原輝典 : 潤滑経済, 10 (2009) 29-33.
- 107) 白井忠昭 : 潤滑通信, 1 (1990) 35-41.
- 108) 河崎陽一 : 薬学雑誌, 129-9 (2009) 1041-1047.
- 109) 倉本敬二 : 静脈経腸栄養, 24-6 (2009) 1183-1190.
- 110) 勝山壮, 倉本敬二, 浜田節男, 東海林徹, 仲川義人 : 医療薬学, 33-6 (2007) 510-514.
- 111) 菅原卓也, 倉本敬二, 鈴木啓之, 白石正, 石井一成, 玉地正樹, 東海林徹 : 静脈経腸栄養, 25-6 (2010) 1243-1250.
- 112) 菅原拓也, 荒井浩一, 倉本敬二, 東海林徹, 浅倉聖岳, 白石正 : 医療薬学, 32-10 (2016) 678-686.
- 113) 第十七改正日本薬局方 一般試験法 6.07 注射剤の不溶性微粒子試験法 (2016).
- 114) United States Pharmacopeia: 788 Particulate Matter in Injection.
- 115) European Pharmacopoeia: 2.9.19 Particulate contamination: sub-visible particles.
- 116) 平成 15 年厚生労働省告示第 261 号 : 水道基準に関する省令の規定に基づき校正労働大臣が定める方法 第五十二号 濁度 (2003)
- 117) 島岡治夫 : 粉体工学会誌, 38-11 (2001) 801-808.
- 118) 斉藤紘史, 田村誠也, 内山英樹 : 水質汚濁研究, 9-6 (1986), 363-369.
- 119) JIS K 0801 : 濁度自動計測器 (1986).
- 120) ISO 7027 : Water quality - Determination of turbidity - Part 1: Quantitative methods (2016).
- 121) 平野順子 : かんぎきょう, 7 (2013) 18-19.
- 122) S. Hatukai, Y. Ben-Tzur, M. Rebhun: *Wat. Sci. Tech.*, 36-4 (1997) 225-230.
- 123) 坂口孝幸 : 計量標準と計量管理, 64-3 (2014) 64-70.
- 124) Bureau International des Poids et Mesures (BIPM), The International System of Units (SI), 9th edition, 2019.
- 125) 日方幹雄, 佐久間都, 深井芳和 : エアロゾル研究, 22-4 (2007) 282-288.
- 126) 経済産業省 : 第 2 期知的基盤整備計画, http://www.meti.go.jp/policy/economy/hyojun/techno_infra/index.html, (2014).
- 127) Z. Hu, D. Ripple: *J. Res. NIST*, 119 (2014) 674-682.
- 128) 飯田健次郎, 桜井博, 斎藤敬三, 榎原研正 : エア

- ロゾル研究, 27-4 (2012) 341-349.
- 129) K. Iida, H. Sakurai, K. Saito, K. Ehara: *Aerosol Sci. Technol.*, 48 (2014) 789-802.
- 130) 飯田健次郎: 産総研計量標準報告, 8-2 (2011) 213-243.
- 131) M. Martin and J. Heitzenberg: *J. Aerosol Sci.*, 23-4 (1992) 373-378.
- 132) J. Y. Park, P. H. McMurry, K. Park: *Aerosol Sci. Technol.*, 46 (2012), 354-360.
- 133) P. G. Gormley and M. Kennedy: *Proc. Roy. Irish Acad.*, 52-A (1949), 163-169.
- 134) P. S. K. Liu and T. Deshler: *Aerosol Sci Technol.*, 37 (2003), 916-923.
- 135) 村島淑子: 産総研計量標準報告, 9-3 (2016), 381-397.
- 136) H. Sakurai, K. Ehara: *Meas. Sci. Technol.*, 22 (2011) 024009.
- 137) K. Ehara, H. Sakurai: *Metrologia*, 47 (2010) S83-S90.