

Regular Article

Quantification of Nanoparticles *via* Flow Injection Analysis Using Asymmetric Flow Field-flow Fractionation (AF4)

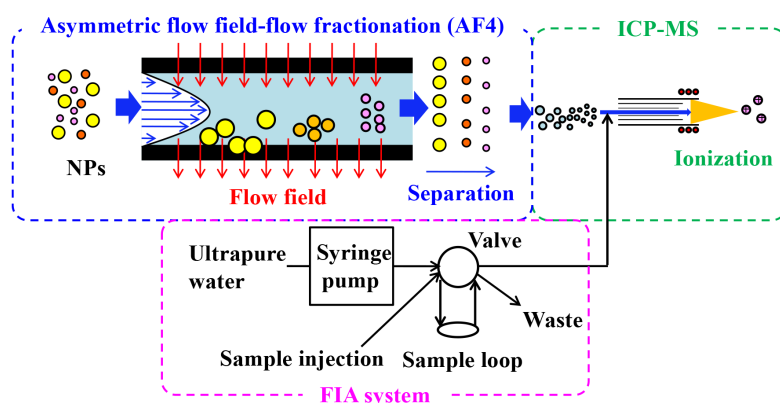
Daisuke ITABASHI^{1)*} and Kazumi MIZUKAMI²⁾

1) Advanced Technology Research Laboratory, Nippon Steel Corporation

2) Nippon Steel Technology Co., Ltd.

Abstract: To determine the number density of fine precipitates in steels by asymmetric flow field-flow fractionation (AF4) with inductively coupled plasma–mass spectrometry (ICP–MS), an analysis method employing flow injection was investigated. For accurate calibration, matrix matching was performed by mixing the standard solution and AF4 carrier solution in front of a nebulizer. Two surfactants were used for AF4 separation; it was found that the appropriate selection of surfactants based on their acidity constant is essential to avoid salt precipitation. In addition, the effect of the AF4 retention time on recovery was investigated. A long retention time led to the adsorption and aggregation of the samples in the AF4 separation channel. Results showed that an AF4 retention time within 20 min facilitated superior recovery. Moreover, five types of AuNPs were analyzed via AF4–ICP–MS and quantified using flow injection analysis. Good analytical performance was achieved for all AuNPs and the recoveries exceeded 93%, and the coefficient of variation was within 5%. The effect of particle size on the recovery was not confirmed. Furthermore, the developed flow injection analysis for AF4–ICP–MS was applied to evaluate niobium carbide (NbC) precipitates in steels. The number density of nanometer-sized NbC was quantified to be within 10^{13} to 10^{14} particles per 1 g of Fe. It was quantitatively confirmed that the long-duration heat treatment led to an increase in the number density of nanometer-sized NbC. Hence, this method can be useful for quantitatively analyzing the size and number density of nanoprecipitates in steels.

Keywords: asymmetric flow field-flow fractionation; flow injection analysis; gold nanoparticles; niobium carbide; number density; size distribution.



Received on Jan. 23, 2023; Accepted on Feb. 15, 2023; originally published in ISIJ Int., Vol.62, 2022, No.5, pp.860-866

* Corresponding author. E-mail: itabashi.53b.daisuke@jp.nipponsteel.com, Address: Nippon Steel Corporation, 20-1 Shintomi Futtsu Chiba 293-8511



© 2023 The Iron and Steel Institute of Japan. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

フローインジェクションー非対称流れ 流動場分離 (AF4) 法によるナノ粒子個数濃度の定量分析

板橋 大輔^{1)*}・水上 和実²⁾

Quantification of Nanoparticles *via* Flow Injection Analysis Using Asymmetric Flow Field-flow Fractionation (AF4)

Daisuke ITABASHI and Kazumi MIZUKAMI

1. 緒言

一般的に 100 nm 以下の粒子として定義されるナノ粒子は、同じ物質のバルク試料とは異なる材料特性を示すことが知られている。これらの特徴は、量子サイズ効果と単位体積当たりの表面積の大きさに起因している。例えば、CdSe¹⁾ や InAs²⁾ 等の量子ドットは、そのサイズに応じて異なる波長の光を吸収することができる。鉄鋼業界では、ナノメートルサイズの析出物の特性を有効活用して、様々な鋼材を作り込んでいる。これらの析出物は鋼の析出強化³⁾ や結晶粒径の制御⁴⁾ に対して、重要な役割を果たしている。析出物のサイズ分布やその個数密度は鋼の機械的な特性に影響を及ぼすため、合金設計や鉄鋼製造におけるプロセス条件を決定するために正確に評価する必要がある。多くの鋼では、析出物は幅広いサイズ分布を有し、不均一な分散状態で存在している。そのため、観察領域が局所に限定される電子顕微鏡による観察を適用することは難しい。また、従来の析出物、介在物の化学分析法は様々な鉄鋼試料に対して適用されているものの、析出物、介在物を酸⁵⁾ やアルカリで溶解するために、そのサイズ情報を取得することができない。その一方で、サイズに基づいた分離分析手法である非対称流れ流動場分離 (asymmetric flow field-flow fractionation; AF4) 法は、様々なナノ粒子⁶⁻⁸⁾ や鉄鋼試料中の析出物⁹⁻¹¹⁾ の分析に使用されてきた。AF4法は液体クロマトグラフィーの分離カラムに用いられる固定相を必要とせず、サイズに依存した分離を達成できる特徴を有する。加えて、AF4法は光散乱分析法、紫外可視分光分析法、誘導結合プラズマ質量分析法 (inductively coupled plasma-mass spectrometry; ICP-MS) 等の様々な分析法を検出手法として組み合わせることができ、分離された試料に関する各情報を取得することができる。著者らはこれまでに、AF4-ICP-MS法をフェライト鋼中の炭化ニオブ (NbC) の分

析に適用し、異なる時効処理時間で熱処理した2つの試料におけるNbCのサイズ分布の違いを評価した⁹⁾。しかしながら、NbCの個数密度については定量的に評価することができていなかった。

そこで本研究では、フローインジェクション分析法 (flow injection analysis; FIA)^{12,13)} を利用し、AF4-ICP-MS分析の定量方法を検討した (以下、FI-AF4-ICP-MS法と称する)。AF4キャリア溶液と混合しながら測定した金属元素標準溶液のフローインジェクション (FI) クロマトグラムを積分し、検量線を作成した。さらに、この手法で得られる定量分析値の確からしさについて、数種類の金ナノ標準粒子 (AuNPs) の回収率に基づいた評価を行った。また、開発したFI-AF4-ICP-MS法をフェライト鋼中のNbCの分析に適用し、その適用可能性を検証した。

2. 実験

2.1 ナノ粒子および試薬

実験に用いた全ての金ナノ粒子は nanoComposix (San Diego, CA, USA) から購入した。Table 1 に水中に分散した標準ナノ粒子の詳細を示す。5種類の AuNPs (AuNP-5, AuNP-10, AuNP-30, AuNP-50, AuNP-100) を用いて、FI-AF4-ICP-MS法による回収率を調査した。3種類の AuNPs (AuNP-2, AuNP-5, AuNP-10) を用いて、各試料のAF4分析におけるサイズ測定を校正した。AF4-ICP-MS分析に使用した全ての試薬は市販のものを追加の精製なしに用いた。試料溶液の希釈とAF4キャリア溶液の調製には、超純水 (> 18 MΩ: Milli-Q水精製システムおよびElix UV10, Millipore Corp., USA) を使用した。AF4キャリア溶液の調製には、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS, 純度 ≥ 99.0%, 富士フィルム和光純薬株式会社, 日本) およびコール酸ナトリウム (SC, 純度 ≥ 98.5%, 富士フィルム和光純薬株式会社, 日本) を用いた。

原著論文: ISIJ Int., Vol.62 (2022), No.5, pp.860-866

2023年1月23日受付 2023年2月15日受理 (Received on Jan. 23, 2023; Accepted on Feb. 15, 2023; originally published in ISIJ Int., Vol.62, 2022, No.5, pp.860-866)

1) 日本製鉄 (株) 技術開発本部先端技術研究所 (Advanced Technology Research Laboratory, Nippon Steel Corporation)

2) 日鉄テクノロジー (株) (Nippon Steel Technology Co., Ltd.)

* Corresponding author. E-mail: itabashi.53b.daisuke@jp.nipponsteel.com, Address: Nippon Steel Corporation, 20-1 Shintomi Futtsu Chiba 293-8511



© 2023 The Iron and Steel Institute of Japan. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.ja).

硝酸(純度 ≥ 60.0-61.0%), 塩酸(純度 ≥ 35.0%-37.0%), 原子吸光分析用金標準溶液 (Au1000, 1000 mg L⁻¹) をそれぞれ関東化学 (日本) から購入し, 標準溶液の調製に使用した。FI-AF4-ICP-MS法により鉄鋼試料中のNbCを定量分析するために, 多元素標準溶液 (XSTC-8, 10 mg L⁻¹, SPEX CertiPrep, Metuchen, USA) を用いた。アセチルアセトン (AA, 特級, 富士フィルム和光純薬株式会社, 日本), 塩化テトラメチルアンモニウム (TMAC, 純度 ≥ 98.0%, 東京化成工業株式会社, 日本), メタノール (特級, 富士フィルム和光純薬株式会社, 日本) を用いて調製した電解液により, 鉄鋼試料からNbCを抽出した。

2・2 FI-AF4-ICP-MS法による定量方法

AF4装置本体とは独立して, 標準溶液を流す流路を新たに設けた。その流路はシリンジポンプ, 6方切り替えバルブ, およびサンプルループから構成されている。シリンジポンプならびに6方切り替えバルブをネブライザーに, サンプルループを6方切り替えバルブにそれぞれ接続し, サンプルループの容量は552 μLに調整した。また, 洗浄用の流路を6方切り替えバルブに接続し, 6方切り替えバルブによって各流路の切り替えができるようにした。金標準溶液は濃度がそれぞれ0, 0.01, 0.025, 0.05, 0.1 mg L⁻¹となるように希釈し, マトリックスとして5% (v/v) 王水を含むように調製した。(以下, Std1-5と称する。) また, 多元素標準溶液は濃度がそれぞれ0, 1.0, 3.0, 7.5, 10 ng L⁻¹となるように希釈し, マトリックスとして1% (v/v) 硝酸を含むように調製した。サンプルループがネブライザーに未接続の状態において, 洗浄用流路からこれらの標準溶液をサンプルループに注入し, 標準溶液でサンプルループを満たした。その後, 流路を切り替え, シリンジポンプを用いて, 一定量の標準溶液をネブライザーに送液した。この標準溶液はICP-MSによって時間分解分析法で検出され, その検出されたクロマトグラムのピーク面積を積分して, 信号強度を求めた。標準溶液の注入量と得られたクロマトグラムのピーク面積の間の相関関係から検量線を作成した。

2・3 電解抽出法による鉄鋼試料中析出物の抽出および試料調製

前報で報告した0.1Nb-0.01C (wt%) の化学組成を有するNbC析出フェライト鋼⁹⁾を本研究での検討に供した。この

鉄鋼試料は, 溶体化処理 (1250°C, 24時間) の後, NbCを析出させるために600°Cで1時間もしくは10時間保持し, その後, 水で急冷して作製した。既報では600°Cでの時効処理時間の長さによらず, NbCのサイズ分布は同様であることを報告したが, その個数密度については定量されていない。また, この試料は25×25×2 mm³の大きさに切断し, 後に続く試料調製, 分析に供した。

鉄鋼試料中の析出物を抽出するために, 電解エッチング (selective potentiostatic etching by electrolytic dissolution; SPEED) 法^{14,15)}を適用した。電解液には10%AA系電解液 (10% (v/v) AA-1% (w/v) TMAC-メタノール) に, 分散剤としてSDSを500 μg mL⁻¹の濃度となるように添加したものをを用いた (以下, SPEED溶液と称する)。ここで, 抽出された析出物の表面に吸着する界面活性剤としてSDSを添加することによって, SPEED溶液中でこれら析出物が凝集することを防止することができる。電解抽出条件は既報と同様に, 500 mAの定電流電解とし, 以下の2段階のステップで実施した。第1ステップでは, 鉄鋼試料の表面上の汚染物や酸化層を溶解するために, 15分間の電解抽出操作を行った。第1ステップ完了後, 鉄鋼試料を別途調製した同一組成のSPEED溶液に移し替え, SPEED溶液中に溶解した試料表面上の汚染物や酸化層を鉄鋼試料から分離除去した。続く第2ステップでは120分間の電解抽出操作を行った。この操作により, 約1.0 gの鉄鋼試料をSPEED溶液中に溶解することができる。その後, 超音波処理を1分間行い, 全ての析出物をSPEED溶液中に分散回収した。この析出物を分散させた溶液試料について, AF4-ICP-MS分析を行った。

2・4 装置

Fig.1にICP-MS装置およびFI装置と組み合わせたWyatt Eclipse AF4装置(Wyatt Technology Europe, Germany)の概略図を示す。この装置は, 高速液体クロマトグラフィー用のポンプ, オンライン脱気システムおよびオートサンプラー (Agilent Technologies 1260 Infinity series, Agilent Technologies, USA) を備えている。AF4分離チャンネルにナノ粒子試料を注入すると, これらの試料はこのチャンネル内で拡散し, チャンネルフローによって移動しながら, そのサイズに依存して分離される。このAF4分析では, 300 mg L⁻¹のSDS

Table 1. Specifications of nanoparticles.

	AuNP-2	AuNP-5	AuNP-10	AuNP-30	AuNP-50	AuNP-100
Average diameter by TEM (nm)	2.1 ± 0.3	5.0 ± 0.6	9.5 ± 0.4	28.0 ± 0.9	50.3 ± 2.3	102 ± 4.2
Concentration (mg mL ⁻¹)	0.053	1.08	0.052	0.052	0.050	0.053
Number concentration (particles mL ⁻¹)	5.5×10 ¹⁴	8.7×10 ¹⁴	5.9×10 ¹²	2.4×10 ¹¹	3.9×10 ¹⁰	4.9×10 ⁹
Hydrodynamic diameter by DLS (nm)	—	—	19	36	60	107
Zeta potential (mV)	—	—	-20	-46	-53	-50
pH	7.0	6.4	7.7	7.7	7.5	7.6
Surface	Glutathione	Sodium citrate		PEG12 carboxylic acid		
Solvent		Water		2 mmol L ⁻¹ aqueous sodium citrate		

溶液または 500 mg L^{-1} のSC溶液をAF4キャリア溶液として用いた。さらに、分子量カットオフ径30 kDaの再生セルロース (RC) 限外ろ過膜 (RC 30 kDa, Microdyn-Nadir, Germany) をAF4分離チャンネルの底部に使用した。続いて、AF4分離装置には長さ275 mmのチャンネル、厚さ350 μm または490 μm の非対称ダイヤモンド型チャンネルスペーサーを採用した。AF4分離チャンネルは四重極型ICP-MS装置

(Agilent8800, Agilent Technologies, USA) に直接接続され、AF4装置で分離されたナノ粒子の元素情報をオンラインで取得した。

ICP-MS装置の試料導入には、自己吸引型のネブライザー (Conikal DC Nebulizer, Glass Expansion, Port Melbourne, Australia), ペルチェ冷却装置を備えたスコット型チャンバーを用いた。Table 2にICP-MS装置の測定条件を示す。AF4分析を行う前に、少なくとも30分間、SDSまたはSCを含むAF4キャリア溶液をAF4分離チャンネルに流し、RC限外ろ過膜を調整した。各AuNPs分散溶液の試料バイアル中での良好な分散状態を保つために、これらを希釈することなしに直接分析に供した。また、SPEED溶液中に分散させた析出物も同様に希釈せずに分析に供した。加えて、これら測定試料のAF4分離チャンネルへの注入は、オートサンプラーを用いて行い、それぞれ分析を実施した。Table 3にAF4分離条件をまとめて示す。

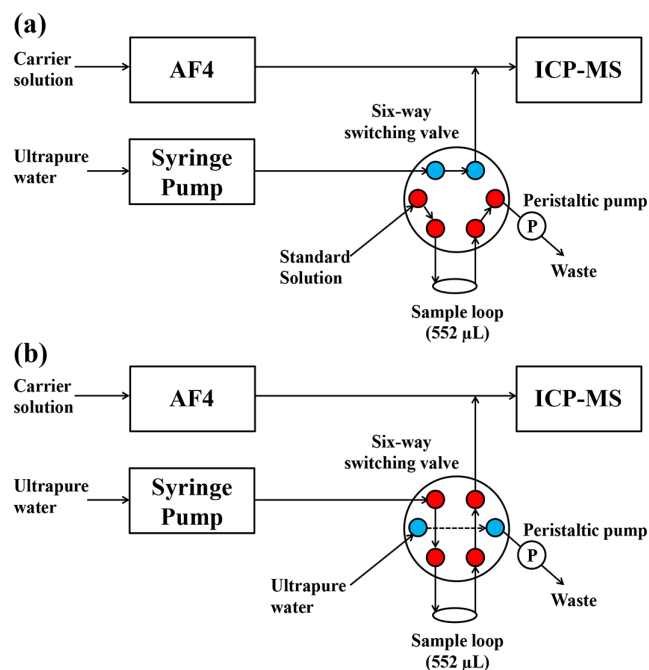


Fig. 1. Schematic of AF4-ICP-MS and FI apparatus. (a) Sample load; (b) sample injection. (Online version in color.)

Table 2. ICP-MS operating conditions.

Agilent8800 ICP-MS	
RF power (W)	1550
Nebulizer gas flow (L min^{-1})	0.82
Make-up gas flow (L min^{-1})	0.23
Cooling gas (L min^{-1})	15
Auxiliary gas (L min^{-1})	0.90
Sampling depth (mm)	7.0
Element (m/z)	Nb (93), Au (197)
Duration time (s)	0.10
Spray chamber temperature (K)	275.15

Table 3. AF4 separation condition and schematic of AuNPs and NbC precipitates.

	For AuNPs		For NbC precipitates	
	Regenerated Cellulose (RC)	Regenerated Cellulose (RC)	Regenerated Cellulose (RC)	
Channel parameters	Membrane nature	30	30	
	Membrane cut-off (kDa)	30	30	
	Spacer (μm)	350	490	
	Spacer (μm)	350	490	
Fractionation time	Elution solvent	1.04 mmol L^{-1} SDS	1.04 mmol L^{-1} SDS	
	Elution time (min)	1	1	
	Focusing time (min)	35	0	
	Focus +Injection time (min)	1	2	
	Focusing time (min)	2	0	
	Focusing time (min)	3	1	
	Elution time (min)	35	0	
Fractionation step, flow, and volume	Injection volume (μL)	1	100	
	Injection flow (mL min^{-1})	0.2	0.2	
	Channel flow ($V_{\text{out}}, \text{mL min}^{-1}$)	1.0	1.0	
	Cross flow ($V_c, \text{mL min}^{-1}$)	Conditon 1: 0.5→0		
		Conditon 2: 1.5→0		
		Conditon 3: 2.0→0		
		Conditon 4: 3.0→0		
Conditon 5: 4.0→0 (linear gradient)				
Focus flow (mL min^{-1})	3.0	0	2.0→0.1 (linear gradient)	

3. 結果と考察

3.1 FI-AF4-ICP-MS分析における検量線作成

Au標準溶液とAuNP-2をAF4-ICP-MS法のみで分析した結果をFig.2に示し、各クロマトグラムのピーク面積を比較した。AuNP-2のピーク面積はAF4分離チャンネルへのAu注入量がAu標準溶液の約半分であるにもかかわらず、Au標準溶液のピーク面積よりも約3.3倍大きかった。Au標準溶液のICP-MSへの導入量が大幅に減少した理由として、大量のAuイオンがAF4分離チャンネル内部の透過膜を通過し、廃液として除去されてしまったことが考えられる。以上の結果から、AF4分離チャンネルへのAu標準溶液の注入は、正確な検量線を作成するには適していないことが明らかになった。

そこで、AF4-ICP-MS法で得られた分析結果の正確な定量のために、FIAの適用を検討した。初めに、Au標準溶液を用いた検量線の作成方法を検討した。ICP-MS分析におけるマトリックスマッチングを行うために、AF4キャリア溶液の濃度をAF4分析で使用した濃度の2倍に調製し、AF4キャリア溶液をネブライザーの直前で、5% (v/v) 王水もしくは1% (v/v) 硝酸を含むAu標準溶液と、同一の体積比で速やかに混合した。超純水をAF4キャリア溶液として用いた際のAu標準溶液 (Std 1-5) のFIクロマトグラムをFig.3に示す。Std 1-5の各クロマトグラムのピークを積分し、これらのピーク面積を用いて検量線を作成した。各AF4キャリア溶液を用いて作成したAu標準溶液のFI検量線をFig.4に示す。AF4キャリア溶液にSDS溶液を用いた場合、検量線は良好な直線性を示し、AF4キャリア溶液を超純水とした場合とほぼ同等の結果であった。その一方で、SC溶液をAF4キャリア溶液とした場合、検量線の良好な直線性が得られず、各点のばらつきが大きかった。こ

の理由として、AF4キャリア溶液に含まれる各界面活性剤の酸解離定数の違いが影響したと考えられる。SDSおよびSCの酸解離定数はそれぞれ1.84, 4.98であり、マトリックスとして5% (v/v) 王水を含むAu標準溶液を各界面活性剤溶液と混合すると、溶液のpHはSCの酸解離定数よりも低くなると考えられる。SDS溶液およびSC溶液と5% (v/v) 王水を同一の体積比で混合した溶液の写真をFig.5に示す。SDS溶液は透明であったが、SC溶液では塩の析出が見られた。この結果から、SCの塩の析出によって、ネブライザーもしくはPFAチューブが閉塞し、安定したICP-MSの信号が得られず、FI検量線において信号強度に大きなばらつきが生じたと考えられる。したがって、FI-AF4-ICP-MS分析において、安定した信号強度が得られないために、SC溶液の使用は適さないことが明らかになった。それゆ

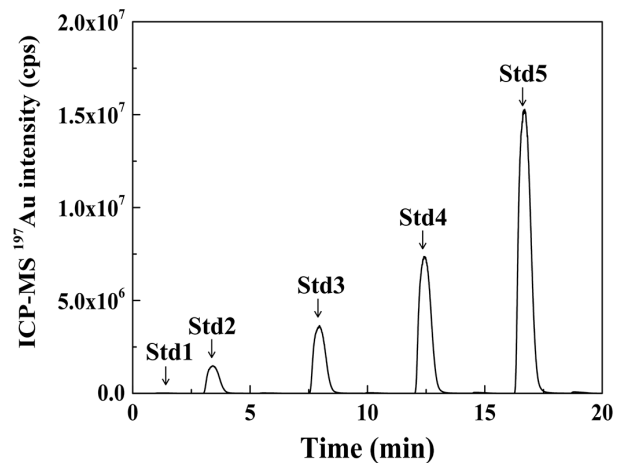


Fig. 3. FI chromatogram of Au standard solution (Std). Ultrapure water was applied as carrier solution at 1.0 mL min⁻¹. Std 1-5 concentrations of 0, 0.01, 0.025, 0.05, and 0.1 mg L⁻¹ were prepared.

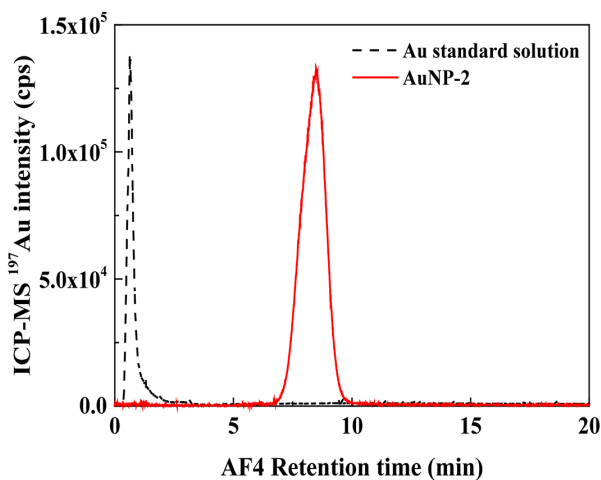


Fig. 2. AF4 chromatogram of Au standard solution and AuNP-2. The concentrations of the Au standard solution and AuNP-2 were 0.1 and 0.053 mg L⁻¹, respectively. (Online version in color.)

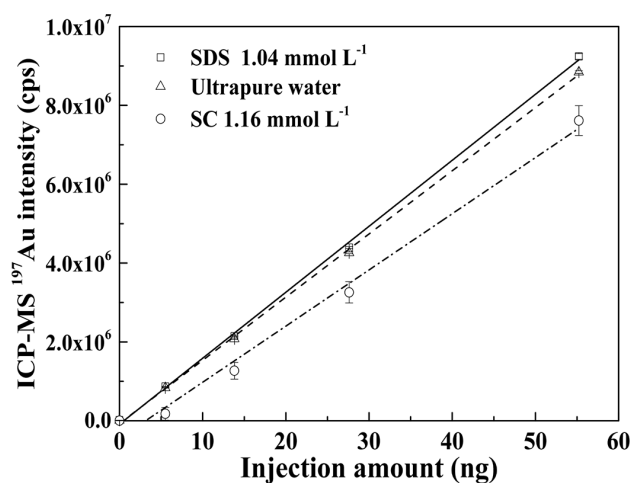


Fig. 4. Comparison of FI calibration curves of the Au standard solution among ultrapure water (△), SDS solution (□), and SC (○) solution. Measurements for the FIA were performed three times.

え、本分析では界面活性剤の酸解離定数を考慮して、適切に界面活性剤を選択する必要があると考える。

3・2 FI-AF4-ICP-MS分析によるAuNPsの定量

FIAの確からしさと精度を調査するために、AuNPsのAF4-ICP-MS分析を行った。AF4-ICP-MS分析で検出されたAuNPsに対して、FI検量線を用いてそれぞれ定量した。式(1)に示した回収率を用いて、本分析における確からしさと精度を評価した。また、サンプリングの不確かさを考慮して、AF4分離チャンネルにチャンネルフローのみを流した条件下で等量のAuNPsのAF4-ICP-MS分析を行い、FI検量線を用いて検出された量を定量することで、注入量を決定した。

$$\text{Recovery}(\%) = \frac{\text{The amounts quantified by FIA analysis}(g)}{\text{The injected amounts of samples}(g)} \times 100 \quad \text{.....(1)}$$

本研究では、AF4分析によって得られる回収率に対する試料の保持時間の影響を調査した。AF4分離条件は式(2)^{16,17)}に示した通りに、チャンネルフロー流量、クロスフロー流量、AF4分離チャンネル体積、温度、溶媒の粘度を変更することで、調整可能である。特に、チャンネルフロー流量、クロスフロー流量はAF4分離条件を変えるのに、最も簡単なパラメーターである。

$$t_R = \frac{w^2 R_h \pi \eta}{kT} \ln \left(1 + \frac{V_c}{V_0} \right) \quad \text{.....(2)}$$

ここで、 V_0 はチャンネルフロー流量、 V_c はクロスフロー流

量、 w はスペーサー厚み、 η は溶媒の粘度、 k はボルツマン定数、 T は絶対温度、 R_h は流体力学的直径である。

本検討ではクロスフロー流量のみを使ってAF4分離条件をそれぞれ変更して、試料の保持時間を任意に変化させた。Table 3に本検討で用いたAF4分離条件を示す。各AF4分離条件におけるAuNP-50のAF4-ICP-MS分析のクロマトグラムをFig.6 (a)に示す。クロスフロー流量を増大させるほど、試料であるAuNP-50の保持時間が長くなる傾向が見られた。また、AuNP-50の回収率をFig.6 (b)に示した。保持時間が長くなるほど、AuNP-50の回収率は低下し、保持時間が25分を超えると、その影響が著しくなることが分かった。この結果は、AuNP-50の凝集とAF4分離チャンネル内部の透過膜への吸着によって生じていると考えられる。AF4分離条件2~5ではAuNP-50の凝集体に由来するピークが観測されており、今回はこの凝集体に由来するピークを考慮せずに回収率を求めたが、仮にこれらのピークを考慮したとしても、回収率は100%にならなかった。このことから、AuNP-50の凝集だけではなく、AuNP-50の一部がAF4分離チャンネル内部の透過膜に吸着し、ICP-MSでそれらが検出されていないことが明らかになった。したがって、AF4分析における試料の保持時間は20分以内となるように調整する必要がある。

さらに、5種類のAuNPsを適切なAF4分離条件下でAF4-ICP-MS法によってそれぞれ3回ずつ分析し、FIAにより定量した。各AuNPの回収率をFig.7に示す。開発したFIAによって、いずれのAuNPに対しても良好な分析結果が得ら

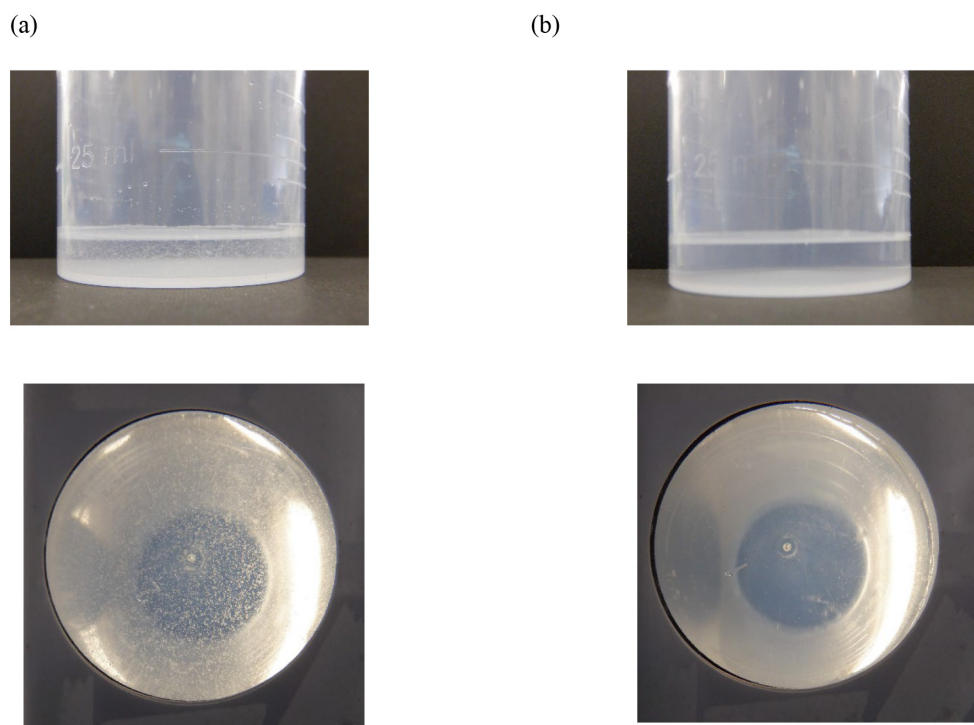


Fig. 5. Mixed solutions of 5% (v/v) aqua regia and (a) 1.16 mmol L⁻¹ SC solution or (b) 1.04 mmol L⁻¹ SDS solution at the same volume ratio. (Online version in color.)

れ、回収率は全て93%を超え、その変動係数は5%以内であった。回収率に対する粒子サイズの影響は確認されなかったが、試料のサンプリングにおけるばらつきや試料の

分散状態が僅かな回収率の低下に影響した可能性がある。

3・3 FI-AF4-ICP-MS分析による鉄鋼試料中NbCの定量

AF4-ICP-MS分析へのFIAの適用可能性を調査するために、鉄鋼試料から抽出されたNbCをFI-AF4-ICP-MS法で定量分析した。その結果、FIAは鉄鋼試料中のナノメートルサイズの析出物を定量的に評価するのに有効であることが分かった。以下に詳細を述べる。鉄鋼試料から抽出されたNbCのAF4-ICP-MS分析条件をTable 3に示す。AF4分析におけるサイズ計測の較正方法は以下に示す通りに行った。初めに、数種類のAuNPsをそれぞれAF4で分析して求めた各AF4保持時間と透過型電子顕微鏡 (transmission electron microscopy; TEM) 観察で得られた各々の平均サイズをプロットし、サイズ較正曲線を作成した。NbCのAF4-ICP-MS分析を行った後、上記のサイズ較正曲線を用いて、AF4保持時間をサイズに変換することで、サイズ分布を見積もった。また、サイズ分布の分布幅は著者らが既報⁹⁾で報告したAF4分析の拡がり係数を用いて補正した。なお、既報⁹⁾では、AF4-ICP-MS, TEM, 小角X線散乱法で得られた結果を比較検証することで、このサイズ評価手法の確からしさを確認している。

FI-AF4-ICP-MS法により分析したNbCの個数密度をFig.8に示す。AF4法で測定した平均直径(約2 nm)⁹⁾とNbCの密度を用いて、FI-AF4-ICP-MS分析で定量したNbの質量をNbCの個数密度に変換した。今回の試験に供した鉄鋼試料は、600℃で1時間または10時間時効処理を施しており、時効処理時間の増大によりNbCの個数密度は約6倍に増加していることが明らかとなった。加えて、TEM観察ではこれらのNbCが鋼中に不均一に分散していることが確認されたため、TEM観察では正確な個数密度を評価することが出来なかった。それに対し、FI-AF4-ICP-MS分析はTEMやアトムプローブトモグラフィー (APT) よりも多く

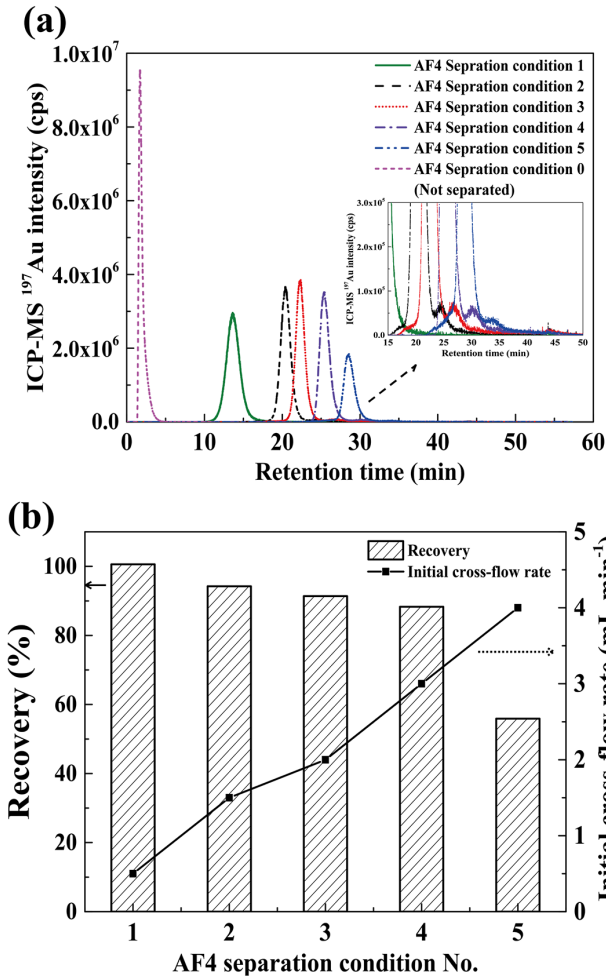


Fig. 6. (a) AF4-ICP-MS chromatogram of AuNP-50 under each AF4 separation condition, (b) Recovery of AuNP-50 under each AF4 separation condition. (Online version in color.)

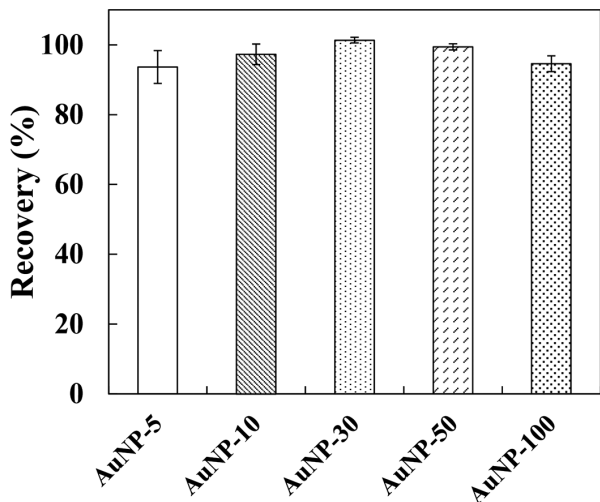


Fig. 7. Recovery of AuNPs in AF4-ICP-MS analysis. Analyses were conducted three times for each AuNP.

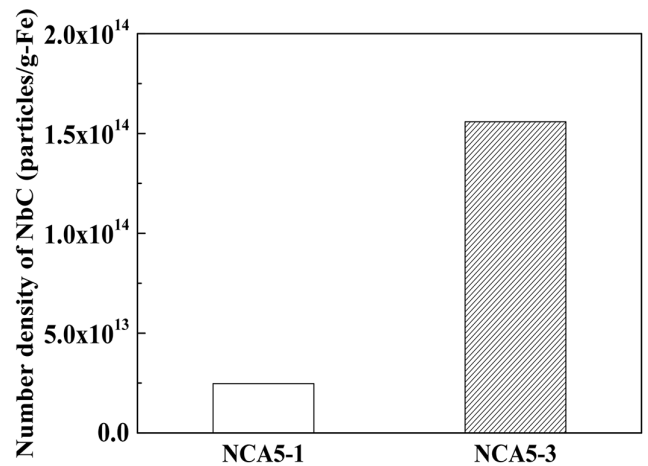


Fig. 8. Quantification of number density of NbC precipitates in NCA5-1 and NCA5-3 steels. Heat treatment was performed at 873 K for 1 and 10 h on NCA5-1 and NCA5-3, respectively.

の鋼中析出物を分析できるため、試料代表性の観点から有利である。したがって、FI-AF4-ICP-MS分析は鋼中析出物のサイズと個数密度を定量的に分析するのに有効な分析手法であると考えられる。

結論として、AF4-ICP-MS分析へのFIAの適用は、鉄鋼試料中の様々なナノ析出物の定量解析を可能にする。しかしながら、本分析法では鋼中から析出物を抽出するため、鉄鋼試料中の位置情報は失われてしまう。したがって、AF4-ICP-MS分析はTEMやAPT等の局所観察手法と相補的に利用されるべきであり、このような多面的な評価が鉄鋼製造プロセスにおける様々な現象を解釈するために必要不可欠であると考えられる。

4. 結言

本研究ではFIAによるAF4-ICP-MS分析の定量方法に関して、AuNPsと鋼中NbCを使って検討を行った。本研究で得られた知見を以下にまとめる。

- (1) 適切なマトリックスマッチングを行うために、検量線を得るのに必要な標準溶液をAF4キャリア溶液と混合する必要があり、そのAF4キャリア溶液に用いる界面活性剤は、界面活性剤の酸解離定数を考慮して選択する必要がある。
- (2) AF4分離チャンネル中での試料の凝集、AF4分離チャンネル内部の透過膜への試料の吸着を回避するために、AF4分析における試料の保持時間は20分以内となるように分離条件を調整する必要がある。
- (3) FI-AF4-ICP-MS分析により、鉄鋼試料の時効処理時間を1時間から10時間に増大させると、微細なNbCの個数密度が約6倍になることを定量的に明らかにした。

FIAはAF4-ICP-MS分析を利用した様々なナノ粒子の個数密度の定量評価に有効であるため、本分析法は、鋼中の様々な析出物のサイズ分布および個数密度を決定するのに有用な手法であると考えられる。

文 献

- 1) C.Bullen and P.Mulvaney: *Langmuir*, **22**(2006), 3007. <https://doi.org/10.1021/la051898e>
- 2) K.Yamaguchi, K.Yujobo and T.Kaizu: *Jpn. J. Appl. Phys.*, **39**(2000), L1245. <https://doi.org/10.1143/JJAP.39.L1245>
- 3) N.Kamikawa, Y.Abe, G.Miyamoto, Y.Funakawa and T.Furuhara: *ISIJ Int.*, **54**(2014), 212. <https://doi.org/10.2355/isijinternational.54.212>
- 4) H.Ohta, R.Inoue and H.Suito: *ISIJ Int.*, **48**(2008), 294. <https://doi.org/10.2355/isijinternational.48.294>
- 5) S.Kinoshiro, T.Ishida, M.Inose and K.Fujimoto: *Tetsu-to-Hagané*, **99**(2013), 362 (in Japanese). <https://doi.org/10.2355/tetsutohagané.99.362>
- 6) K.C.Nwoko, X.Liang, M.A.Perez, E.Krupp, G.M.Gadd and J.Feldmann: *J. Chromatogr. A*, **1642**(2021), 462022. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462022>
- 7) D.Ojeda, M.V.Taboada-López, E.Bolea, J.Pérez-Arategui, P.Bermejo-Barrera, A.Moreda-Piñeiro and F.Laborda: *Anal. Chim. Acta*, **1122**(2020), 20. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.04.080>
- 8) H.Hagendorfer, R.Kaegi, J.Traber, S.F.L.Mertens, R.Scherrers, C.Ludwig and A.Ulrich: *Anal. Chim. Acta*, **706**(2011), 367. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.08.014>
- 9) D.Itabashi, R.Murao, S.Taniguchi, K.Mizukami, H.Takagi and M.Kimura: *ISIJ Int.*, **60**(2020), 979. <https://doi.org/10.2355/isijinternational.ISIJINT-2019-387>
- 10) D.Itabashi, K.Mizukami, S.Taniguchi, M.Nishifuji and H.Kamiya: *Anal. Sci.*, **35**(2019), 995. <https://doi.org/10.2116/analsci.19P087>
- 11) O.Meili-Borovinskaya, F.Meier, R.Drexel, M.Baalousha, L.Flamigni, A.Hegetschweiler and T.Kraus: *J. Chromatogr. A*, **1641**(2021), 461981. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.461981>
- 12) L.Fischer, B.Zipfel, G.Koellensperger, J.Kovac, S.Bilz, A.Kunkel, C.Venzago and S.Hann: *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **95**(2014), 121. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.02.016>
- 13) M.E.Lagerström, M.P.Field, M.Séguret, L.Fischer, S.Hann and R.M.Sherrell: *Mar. Chem.*, **155**(2013), 71. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2013.06.001>
- 14) K.Takimoto, I.Taguchi and R.Matsumoto: *J. Jpn. Inst. Met.*, **40**(1976), 834 (in Japanese). https://doi.org/10.2320/jinstmet1952.40.8_834
- 15) F.Kurosawa, I.Taguchi and R.Matsumoto: *J. Jpn. Inst. Met.*, **43**(1979), 1068 (in Japanese). https://doi.org/10.2320/jinstmet1952.43.11_1068
- 16) J.C.Giddings: *Science*, **260**(1993), 1456. <https://doi.org/10.1126/science.8502990>
- 17) J.C.Giddings, F.J.F.Yang and M.N.Myers: *Science*, **193**(1976), 1244. <https://doi.org/10.1126/science.959835>