

Application News

No. L537

高速液体クロマトグラフィー

Nexera™ GPC システムによるスループット向上 ~オーバーラップインジェクションと複数添加剤の同時分析~

高分子の分子量分布の測定はサイズ排除モードで行われる HPLC 分析の一分野で、古くから GPC (gel permeation chromatography) と呼称されています。昨今の高速化によるスループットの向上の要求は分析手法の確立した GPC でも重要視されつつあります。本稿では、一般的なカラムを用いたオーバーラップインジェクションによる効率化と、高分子添加剤の定量を同時に行った例をご紹介します。

Y. Watabe, K. Nakajima, H. Terada

■ オーバーラップインジェクションによる GPC 分析と添加剤の同時分析

高分子化合物の平均分子量、多分散度を計算する GPC 分析では、重量応答する示差屈折率検出器 (RID) を用いる場合が多く、酸化防止作用のある添加剤の分析には二重結合を持つ化合物が多いため、UV 検出器が多用されます。従って検出は上記二つの検出器を直列に接続して使用します。GPC 分析においては、排除限界以前の成分が溶出することはほとんどなく、連続して分析する場合、溶出成分のないクロマトグラム前半に、前回分析の成分溶出バンドを重ねるように注入タイミングを制御することで、分析時間の短縮、即ちスループットの向上が図れます。しかし、複数の添加剤が共存する場合、排除限界の小さなカラムを使っても、低分子の添加剤相互の完全分離は難しく、正確な定量分析は困難な場合がほとんどです。そこで、UV 検出器にスペクトル情報も同時に得られるフォトダイオードアレイ検出器 (PDA) を採用し、ピークデコンボリューション機能を用いて未分離添加剤相互の分離向上による定量も併せて実施しました。図 1 に今回の検討に用いたポリスチレンと三種の添加剤を GPC 分析して得られたクロマトグラムを、表 1 に分析条件を示します。

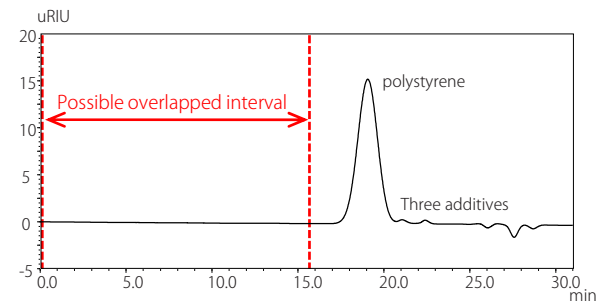


図 1 オーバーラップ処理の模式図

表 1 分析条件

Column	: Shim-pack™ GPC 805+GPC 801 (300 mmL×8 mmI.D. for each)
Mobile phase	: THF
Flow rate	: 0.8 mL/min
Column temp.	: 40 °C
Injection vol.	: 10 μL
Detection	: RID/PDA (220-400 nm)
Sample	: 0.5 % Polystyrene containing three additives
Cycle time	: 31 min
Overlap time	: 15.5 min

■ オーバーラップインジェクションによるハイスループット化

図 1 に示すクロマトグラムでは、0~15 min の区間に溶出成分がないことから、これをオーバーラップ区間としたオーバーラップインジェクション分析を実施しました。その際のオーバーラップの有無による連続クロマトグラムの比較を図 2 に示します。ほぼ半減した分析サイクルによるハイスループット化が確認できます。

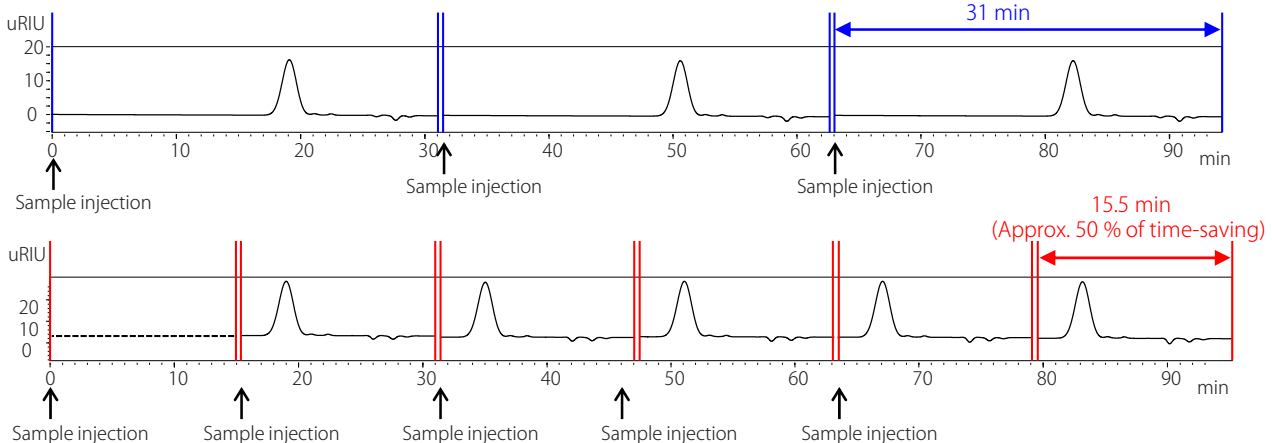


図 2 オーバーラップインジェクションによる効率化例 (RID)

(上図 通常の GPC 分析における連続クロマトグラム 下図 オーバーラップインジェクションを行った場合の連続クロマトグラム)

■ i-PDeA II*1 ピークデコンボリューション機能について

検出に PDA を用いて得られたスペクトル情報を元に、未分離ピークの分離を行う LabSolutions™ (ワークステーション) の機能としては、i-PDeA および i-PDeA II という二種があります。前者は 2 成分系の分離を微分スペクトルを用いて一方を相殺するもので、後者は三成分系以上にも適用できるもので、PDA で得られた 3 次元情報を元に各成分の単一クロマトグラムの近似解をシミュレーションで求めるものです。本稿では、三成分の添加剤の定量を行うため、i-PDeA II を採用しました。以下の図 3 に三成分系でのデコンボリューション操作のイメージを示します。

*1 島津 テクニカルレポート C191-0078

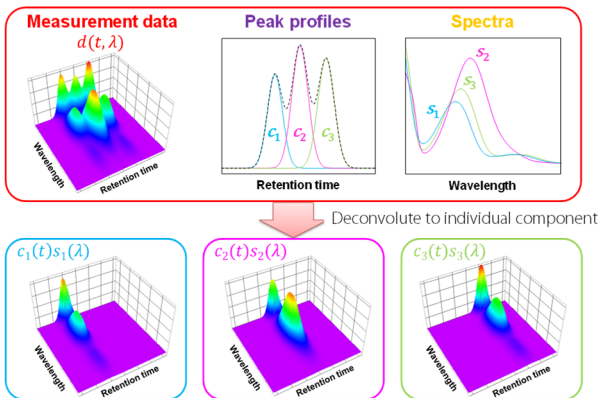


図 3 i-PDeA II によるピークデコンボリューションイメージ

■ 高分子試料中の未分離添加剤のデコンボリューション

図 4 にポリスチレン試料に添加した酸化防止剤をはじめとする 3 種の添加剤の構造式を示します。図 5 には PDA で UV240 nm での切り出しクロマトグラムとデコンボリューション機能を用いて得られた各単一成分のクロマトグラムの重ね書きを示し、図 6 に各添加剤の UV スペクトルを示します。UV 検出だけでは、2 つのピークしか確認できないものの、i-PDeA II での処理により 3 つのピークが確認できるようになりました。また本機能ではデコンボリューションによって得られたピークの面積は、直接的に未分離のオリジナルデータにおける各成分の寄与を示すものになるので、無加工で定量計算に用いることができます。

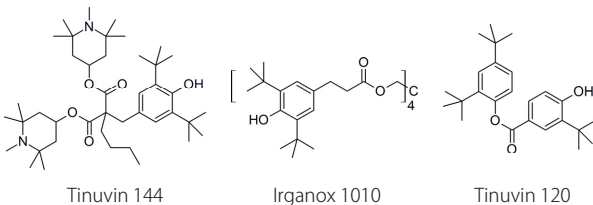


図 4 ポリスチレン試料に添加された三種の添加剤の構造

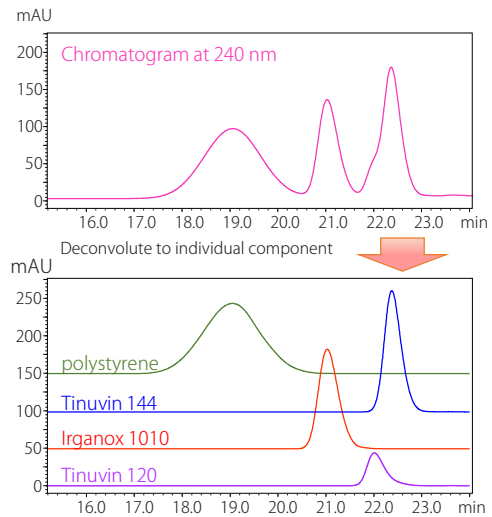


図 5 三種の添加剤のデコンボリューション結果 (PDA)

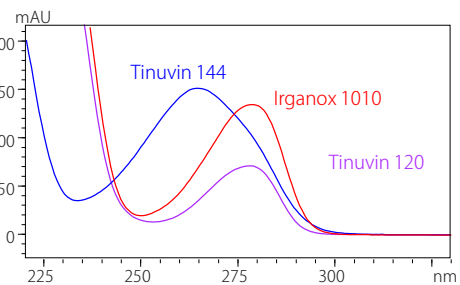


図 6 デコンボリューションで得られた三種の添加剤の UV スペクトル

■ デコンボリューション後の計算結果 (まとめ)

三種の添加剤について 0.01~0.1% (w/v) の範囲で検量線を作成し、それを用いてポリスチレン試料に添加した添加剤の定量計算を行いました。それぞれの検量線の直線性および 6 回の繰り返し分析の定量結果を表 2 に示します。また、RID によるポリスチレンの GPC 計算の結果を表 3 に示します。オーバーラップインジェクションによる GPC 分析の効率化と、GPC カラムの低分子領域での分離性能を補う i-PDeA II での定量計算により、GPC 分析における付加価値の高いハイスループット分析の可能性が示されました。

表 2 ポリスチレン試料中の添加剤の分析結果 (n=6)

Additive	Irganox 1010	Tinuvin 144	Tinuvin 120
Linearity of calibration curve (r^2)	0.999	0.995	0.998
Determined content (mg/g)	49.2	23.1	27.4
%RSD	1.28	1.93	1.47

表 3 ポリスチレン試料の分析結果 (GPC, n=6)

	Number average molecular weight M_n	Weight average molecular weight M_w	Polydispersity M_w/M_n
Polystyrene	2.63×10^4	4.89×10^4	1.86
%RSD	1.41	0.89	0.52

Nexera、Shim-pack、および LabSolutions は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2019年5月

島津コールセンター ☎ 0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。