

Nexera™ GPCシステムによる高速GPC分析 ～分子量計算と添加剤の定量～

はじめに

高分子の分子量分布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putt 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、微細粒子を充填した高速 GPC 用カラムと、カラム外拡散を極限まで低減した UHPLC システムである Nexera XR で構成された GPC システムにより、高速 GPC 分析を実施し、性能確認を行いました。さらに PDA 検出器を追加し、従来、分取処理等でポリマーと分離後、逆相など別モードの分析で行っていた低分子添加剤の定量を、ワークステーションが備えるデコンボリューション機能を用いて GPC 分析と同時に処理することにより、GPC 分析の高効率化を図った結果をご紹介します。

Y. Watabe

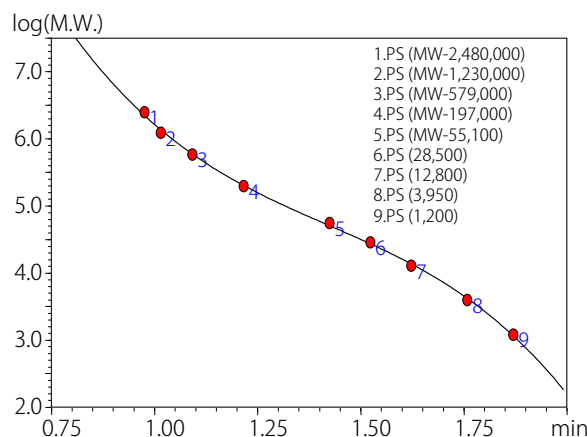


図1 ポリスチレン標準マーカによる較正曲線

高速 GPC 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) が多用されますが、温度変化に対して敏感であることが知られています。また、GPC 計算に影響を及ぼすのは、ピーク面積だけでなく、広範に溶出するピークの形状そのものであるため、通常の HPLC 分析と比較して、GPC 計算結果の再現性評価は厳しいものとなります。今回の分析では、粒子径 3.5 μm の迅速分析用 GPC カラムとセミマイクロスケールの分析に対応する RID である Shodex® RI-504 を用いて、高速 GPC 分析を行い、平均分子量と多分散度の測定を行い、5 回の繰り返し再現性の確認を行いました。分析条件の詳細は表 1 に示します。尚、この表には裏面で示す PDA 検出器の設定についても、併せて示します。GPC 計算に用いたポリスチレン標準マーカを用いて作成した較正曲線を図 1 に示します。

表 1 測定条件

| | |
|----------------|---|
| System | : Nexera XR GPC |
| Column | : Shodex GPC HK-404L (150 mm × 4.6 mm I.D., 3.5 μm) |
| Mobile phase | : THF |
| Flow rate | : 0.8 mL/min |
| Column temp. | : 40 °C |
| Injection vol. | : 5 μL |
| Detection | : RI-504 (RID) Cell temp.: 40 °C SPD-M40 (PDA, UHPLC cell equipped) Wave length range: 190-400 nm Cell temp.: 40 °C Response: 0.025 sec. Sampling: 0.025 sec. |
| Sample | : 0.2 % Polystyrene sol. |
| Analysis time | : 3.5 min |

GPC 分析の結果および考察

図 2 に RID を検出に用いて得られた高速 GPC のクロマトグラムを示します。実際の浸透限界付近の溶出容量は 1.6-2 mL 程度と思われます。しかし、ベースラインの安定を勘案し、連続分析に必要な一分析あたりの時間、いわゆるサイクルタイムは 3.5 分程度となりました。また、ピークの立ち上がり部分に対応する分子量も 60 万程度となり、図 1 に示した較正曲線で適切な GPC 計算が行われていることが示唆されました。

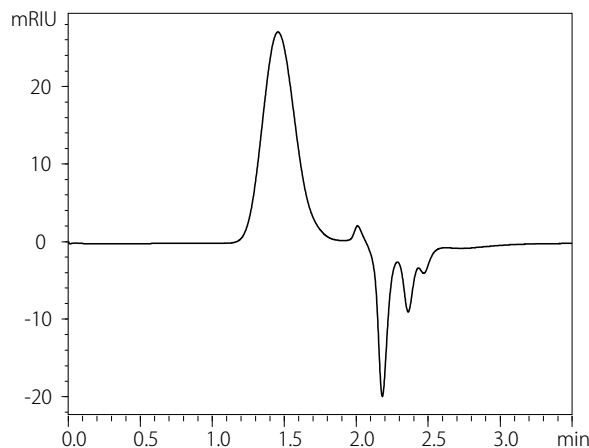


図2 ポリスチレン試料の高速 GPC 分析によるクロマトグラム

高速 GPC 分析による、5 回の繰り返し分析によって得られたクロマトグラムの比較を図 3 に示します。

また、数平均分子量、重量平均分子量および多分散度とそれらの再現性を表 2 にまとめて示しました。3-4 分程度のサイクルタイムの連続分析においても、安定した分析が実施可能で、GPC 計算値の再現性に関して、良好な結果が得られました。

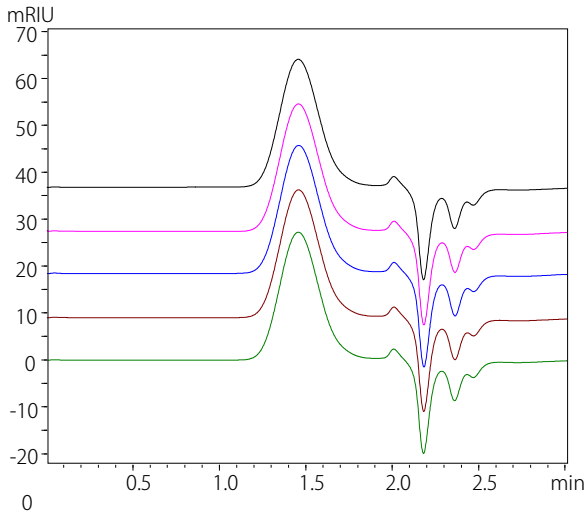


図 3 高速 GPC 連続分析におけるクロマトグラムの比較

表 2 ポリスチレン試料の GPC 分析結果 (n=5)

| | Mn | Mw | Mw/Mn |
|-------------|----------------------|----------------------|-------|
| Polystyrene | 2.73x10 ⁴ | 4.67x10 ⁴ | 1.71 |
| %RSD | 0.89 | 0.68 | 0.23 |

■ 高分子試料中の未分離添加剤の i-PDeA II によるデコンボリューション

一般に高分子添加剤の定量分析を行う際は、低分子領域の添加剤相互の分離が GPC カラムのみでは困難なため、分取クロマトグラフィー等の方法で、ポリマーから低分子領域の成分を回収して、逆相クロマトグラフィーなど、より分離性能の向上が期待できる方法で定量分析を行います。

しかし検出に PDA を用いることで得られたスペクトル情報を元に、未分離ピークのデコンボリューションを行う LabSolutions™ (ワークステーション) の i-PDeA II 機能を用いれば、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ことが可能です。得られたクロマトグラム情報はそのまま定量計算に利用可能です。また、クロマトグラムだけでなく、スペクトルのデコンボリューションも可能で、定性機能の向上にも寄与します。尚、i-PDeA II の詳細は“島津テクニカルレポート” (C191-0078) をご参照ください。

Nexera 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。
Shodex は、昭和電工株式会社の登録商標です。
Irganox および Tinuvin は、BASF SE の日本およびその他の国における登録商標です。

本稿で分析したポリスチレン試料が含有する添加剤の内、標準品が準備できた Irganox®1010 と Tinuvin®144 については保持時間を確認し、図 4 の PDA による UV254 nm でのクロマトグラムに溶出位置を示しました。波形処理補正線が示す通り、両者は未分離ピークとなっています。図 5 にはポリスチレンおよび低分子添加剤の溶出部分に i-PDeA II による処理を行い、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ます。Irganox1010 と Tinuvin144 由来のピークが #2、#4 のトレースで単離されたため、その面積値を基に別途作成した検量線を用いて、ポリスチレンへの含有率をそれぞれ、26.9 mg/g、3.9 mg/g と定量しました。

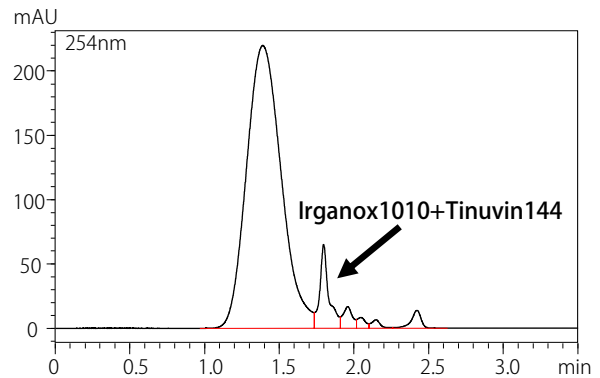


図 4 PDA による添加剤を含むポリスチレンのクロマトグラム

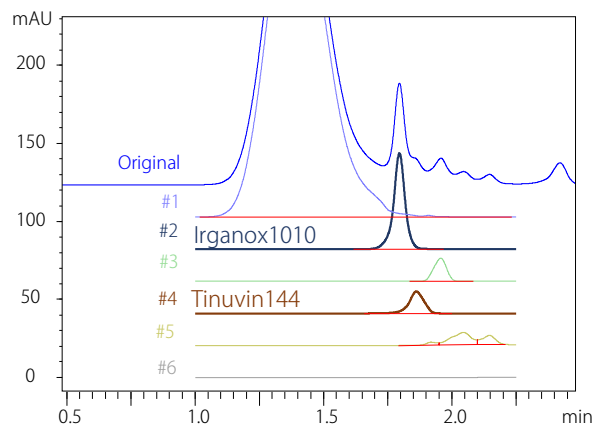


図 5 ポリスチレンおよび添加剤溶出部分のデコンボリューション結果

■ まとめ

Nexera XR GPC システムを用いて高速 GPC 分析への対応が可能であり、従来の GPC 分析結果と同等の信頼性を短時間の分析で得られることが確認できました。併せて、ワークステーションのデコンボリューション機能 i-PDeA II によって従来 GPC カラムのみでは困難であった低分子添加剤相互の分離定量が、高速 GPC 分析においても可能であることが、示されました。