

超臨界流体クロマトグラフを用いた カルボン酸無水物の分析

増田 佑亮

ユーザーベネフィット

- ◆ SFCを用いることにより、加水分解を抑制した条件でカルボン酸無水物を分析できます。
- ◆ 分離選択性の異なるSFC用カラムパッケージが効率的なカラムスカウティングを提供します。
- ◆ 分析の途中でモディファイアーを切り替え、化学的特性の異なる化合物の一斉分析が可能です。

■はじめに

カルボン酸無水物は水やアルコールにより容易に加水分解されてしまうため、逆相液体クロマトグラフィーによる分析は困難です。そのため、順相液体クロマトグラフィー (NPLC) がしばしば用いられます。しかし、NPLCはヘキサンやクロロホルムのような有機溶媒を大量に使用するため、人体への影響や環境負荷に対する懸念があります。超臨界流体クロマトグラフィー (SFC) は低極性の二酸化炭素を移動相に使用し、溶媒コストや環境負荷を抑えつつNPLCに類似した分析を行うことが可能です。またSFCは移動相として水やアルコールを使用せず分析が可能であり、加水分解による影響低減が期待できます。さらに移動相に用いるモディファイアーの種類を適切に選択することで、幅広い化学的特性を持つ化合物の分析が可能であり、加水分解物の分析にも適応できます。

本稿では、超臨界流体クロマトグラフ Nexera UCを用いたカルボン酸無水物の分析例を紹介します。

■SFCカラムの選び方

SFCで使用する超臨界二酸化炭素は移動相の拡散性が高く、分子密度が低いいため、LCよりも副次的な相互作用を受けやすく、カラムの固定相の種類によって分離の挙動が大きく変化します。そのため、分離選択性を変更する際は、用いるカラムを変更することが有効です。分離選択性の異なるSFC用カラム (Shim-pack™ UCシリーズ) のパッケージである「6本カラムセット」は、分離条件探索のファーストチョイスに最適です。カラムの種類と特長を表1に示します。

■カルボン酸無水物のモデルサンプル

カルボン酸無水物のモデルサンプルとして、ポリイミド合成に用いられるモノマーであるピフタル酸無水物 (BPDA) およびオキシジフタル酸無水物 (ODPA) の異性体 (計4種) を用いました。各化合物の構造式を図1に示します。

サンプルは溶媒中での加水分解を抑制するため、アセトニトリル (超脱水) を用いて調製しました。

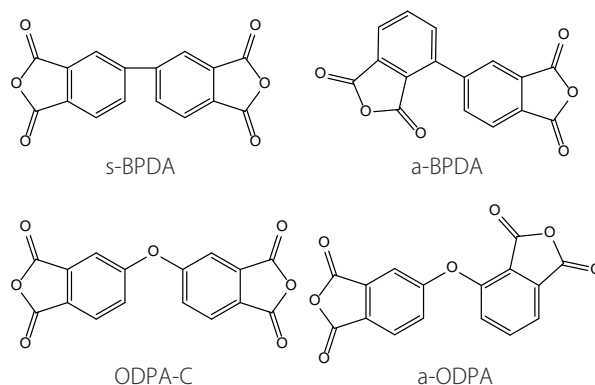


図1 モデルサンプルの構造式

表1 6本カラムセットの種類と特長

	Shim-pack UC-Diol II	Shim-pack UC-Sil II	Shim-pack UC-PolyVP
Chemistry			
Feature	分離モードは順相系。 非特異的相互作用を抑制。	塩基性化合物の保持・立体構造 の認識に優れる。	酸塩基無添加条件でも良好な ピーク形状を発揮。
	Shim-pack UC-PolyBT	Shim-pack UC-PBr	Shim-pack UC-ODS
Chemistry			
Feature	π - π 相互作用により、芳香族化 合物の認識性に優れる。	ODSでは保持が小さい化合物の 分離改善。	分離モードは逆相系。 疎水性作用により保持。

■ カラムスカウティング専用ソフトウェア

分析法開発支援ソフトウェアを用いることで、5つのステップの簡便な操作で複数の分析条件を一括で自動作成することができ、効率よくスカウティングを行うことができます(図2)。また、スカウティング結果をもとにソフトウェア上で簡単に最適分析条件を探し出すことができます。

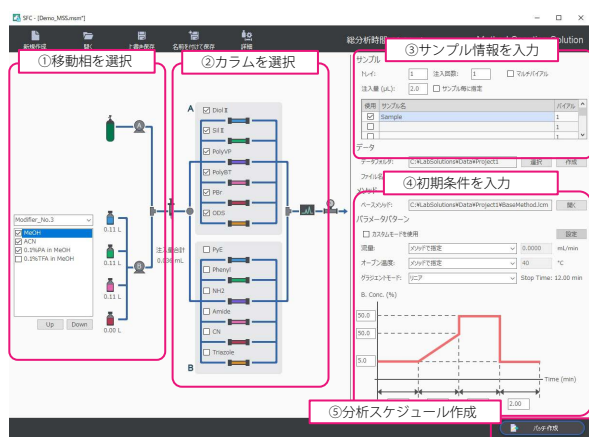


図2 分析法開発支援ソフトウェアの設定画面と操作手順

■ スカウティング条件とクロマトグラム

カラムスカウティング条件を表2に、得られたクロマトグラムを図3に示します。赤枠内に示した固定相にポリブチレンテレフタレート(Shim-pack UC-PolyBT)を用いた場合に最も良好な分離を示すことが分かりました。モディファイアーには、カルボン酸無水物の加水分解を抑制するためアセトニトリルを用いました。

表2 カラムスカウティング条件

Column	: Shim-pack UC-Diol II, UC-Sil II, UC-PolyVP, UC-PolyBT, UC-PBr, UC-ODS (250 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm) *1
Mobile Phase A	: CO ₂
Mobile Phase B	: Acetonitrile
Flow Rate	: 3.0 mL/min
Time Program	: B.Conc. 5%(0 min) → 50% (8-10 min) → 5% (10-12 min)
Column Temp.	: 40 °C
BPR Pressure	: 15 MPa
BPR Temp.	: 50 °C
Detection	: 300 nm (PDA with a high-pressure flow cell)
Injection Volume	: 2 μL in acetonitrile
Vial	: SHIMADZU LabTotal™ for LC 1.5 mL, Glass*2

*1 P/N : 227-32606-22, 227-32607-22, 227-32509-02, 227-32503-02, 227-32602-22 and 227-32608-25 in that order

*2 P/N : 227-34001-01

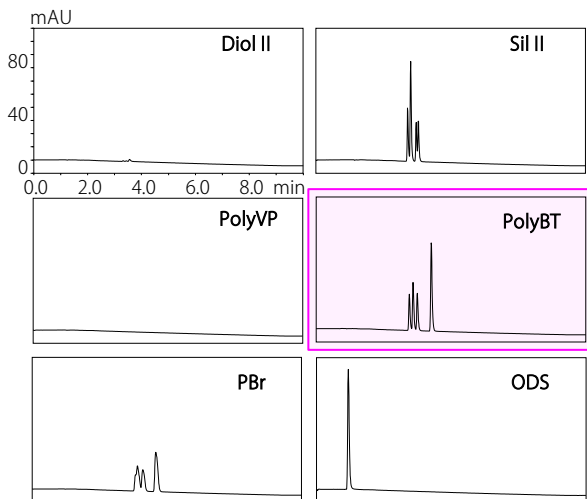


図3 スカウティングにより得られたクロマトグラム*3

*3 クロマトグラムのスケールは同一です。

■ 条件の最適化と検量線・繰り返し再現性

カラムスカウティング結果に基づき、分析条件を最適化しました(表3、図4)。構造の類似したモデルサンプル4種を約7 minで完全分離することができました(分離度 > 2.1)。

最適化条件においてモデルサンプル4種の5-125 mg/Lの濃度での検量線は、いずれも寄与率R² > 0.999となり良好な直線性が得られました(表4、図5)。また、それぞれの繰り返し分析から得られた面積値再現性は、相対標準偏差(%RSD) 1.0以下となり良好な再現性が得られました。

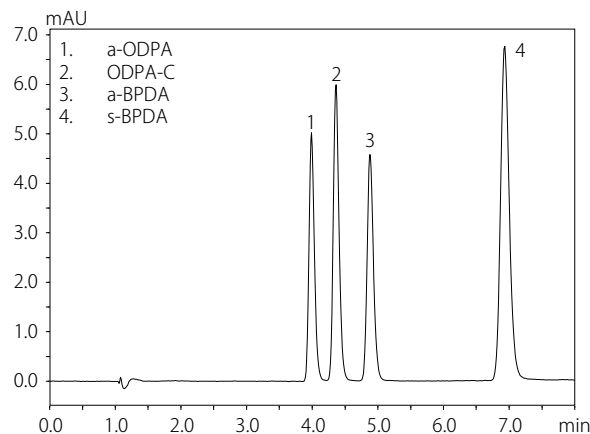


図4 最適条件におけるクロマトグラム

表3 分析条件

Column	: Shim-pack UC-PolyBT (250 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm)
Mobile Phase	: CO ₂ : acetonitrile = 90/10
Flow Rate	: 3.0 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
BPR Pressure	: 15 MPa
BPR Temp.	: 50 °C
Detection	: 300 nm (PDA with a high-pressure flow cell)
Injection Volume	: 2 μL in acetonitrile
Vial	: SHIMADZU LabTotal for LC 1.5 mL, Glass

表4 面積値繰り返し再現性(%RSD)と検量線の寄与率(R²)

Sample	%RSD (peak area, n=6 (50 mg/L))	R ² (5, 10, 25, 50, 125 mg/L)
a-OPDA	0.68	0.9999
OPDA-C	0.84	0.9998
a-BPDA	0.85	0.9997
s-BPDA	0.93	0.9993

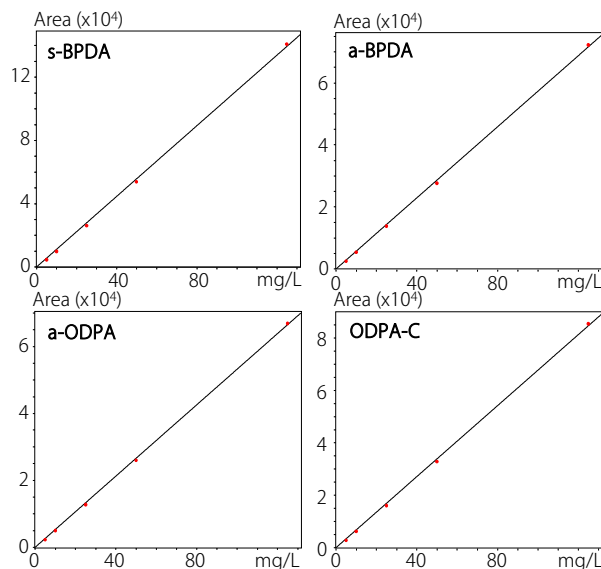


図5 各モデルサンプルの検量線

■ カルボン酸無水物と加水分解物の一斉分析

カルボン酸無水物の分析後にモディファイアー送液ポンプ内蔵のバルブを切り換え、モディファイアーをアセトニトリルから0.1%リン酸メタノール溶液に変更することで、カルボン酸無水物とその加水分解物の一斉分析が可能なメソッドの開発に成功しました(表5、図6)。

本分析条件は、カルボン酸無水物を含むサンプル中に含まれる分解物の不純物測定や、サンプルの劣化指標測定への応用が期待できます。

また、このようにSFCはモディファイアーの選択により性質の大きく異なるサンプルを同一メソッドで分析可能であり、従来のLCでは困難であった分析を達成できる可能性を持っています。

表5 分析条件

Column	: Shim-pack UC-PolyBT (250 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm)
Mobile Phase A	: CO ₂
Mobile Phase B	: Acetonitrile (0-8 min), 0.1% phosphoric acid in MeOH (8-30 min)
Flow Rate	: 3.0 mL/min
Time Program	: B.Conc. 10%(0-8 min) → 5% (8-50 min) → 10%(50-55 min)
Column Temp.	: 40 °C
BPR Pressure	: 15 MPa
BPR Temp.	: 50 °C
Detection	: MaxPlot 250-300 nm (PDA with a high pressure flow cell)
Injection Volume	: 2 μL
Vial	: SHIMADZU LabTotal for LC 1.5 mL, Glass

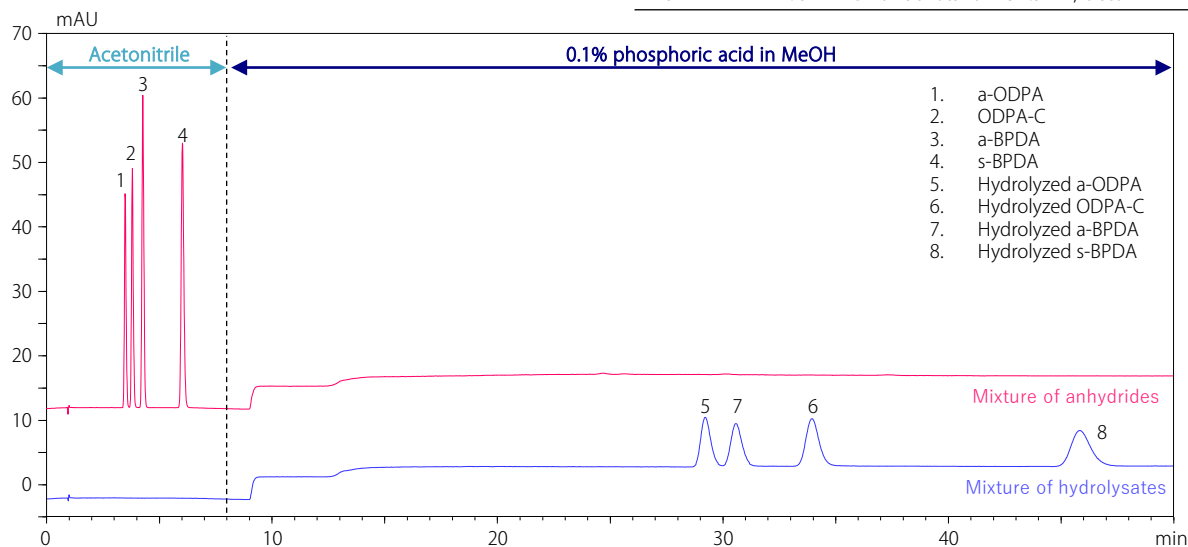


図6 カルボン酸無水物と加水分解物のクロマトグラム

■ 加水分解物の保持時間および面積値の繰り返し再現性

加水分解物について各ピークの保持時間および面積値の繰り返し再現性を評価しました(表6)。各ピークの保持時間再現性は相対標準偏差(%RSD) 0.9%以下、面積値再現性は相対標準偏差(%RSD) 1.1%以下となり良好な再現性が得られました。また、各ピーク間の分離度は、1.5以上となり良好な分離が得られました。

表6 繰り返し再現性 (%RSD)^{*4}

Sample	%RSD (retention time, n=6 (50 mg/L))	%RSD (peak area, n=6 (50 mg/L))
Hydrolyzed a-ODPA	0.76	0.67
Hydrolyzed ODPA-C	0.80	0.62
Hydrolyzed a-BPDA	0.81	0.88
Hydrolyzed s-BPDA	0.83	1.08

^{*4} 解析波長 254 nm

■ まとめ

本稿では、SFCを用いたカルボン酸無水物の分析例を紹介しました。SFCでは加水分解を抑制した条件でカルボン酸無水物の分析が可能です。モディファイアーを切り換えることによって同一メソッド上でカルボン酸無水物とその加水分解物を分析可能であり、反応液の不純物測定やサンプルの劣化指標測定への応用が期待されます。

また、「6本カラムセット」と分析法開発ソフトウェアを用いることで、分析条件検討の省力化、効率化を図ることが可能です。

さらに、SFCで用いる二酸化炭素は、LCで使用する多くの有機溶媒に比べて安価な上、廃液処理コスト等もかからないことから、分析にかかるランニングコストの削減効果も期待されます。

Nexera、Shim-pack、および SHIMADZU LabTotal 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 <https://www.an.shimadzu.co.jp/>

01-00478-JP 初版発行：2023年 6月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

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。本文中に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。