[APPLICATION NOTE]

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

APC（アドバンスド ポリマー クロマトグラフィー）システムを用いたGPC分析における溶媒置換

Mia Summers, Jeremy Shia, Kenneth J. Fountain
Waters Corporation, Milford, MA, USA

アプリケーションの利点

- 異なる移動相溶媒に対して、専用カラムを用意する必要がありません
- APC™システムとカラムの高速再平衡化と迅速な溶媒切り替え

ウォーターズのソリューション

ACQUITY APC™（アドバンスド ポリマー クロマトグラフィー）システム

ACQUITY APC XT カラム

Waters® ポリマー標準品

Empower® 3 CDS ソフトウェア

キーワード

ポリマー、SEC、GPC、APC、ポリマー特性解析、溶媒置換、THF、トルエン、DMF

はじめに

GPC カラムには一般的にスチレン / ジビニルベンゼンやメタクリル酸のポリマーなどが固定相として使用されております。これらの固定相は、使用する移動相溶媒に適したサイズにパーティクルが膨潤する為、十分なコンディショニングが必要です。GPC カラムの性能維持のため、カラムは分析で使用される移動相溶媒によって充填されており、使用する溶媒に合わせてカラムを購入する必要があります。異なる移動相を使用しなければならない時は、このようにカラムを使用溶媒により分けることで、パーティクルの特性が変わることによるカラム性能の低下を最小限に抑えることが可能です。

クロマトグラフィーにおいてポリマー充填剤を使用することは明らかに制限があります。移動相溶媒の置換を行わなければならない時、分析者は置換する移動相溶媒に適したカラムを購入するか、または置換のために長い平衡化時間が必要となります。また、置換して使用する場合は性能が低下する可能性があります。さらにポリマー充填剤は、高い背圧に対して機械的に不安定な為、注意して使用する必要があります。

ポリマー分析に適した Waters Advanced Polymer Chromatography™（APC）カラムは、強度が高く、溶媒置換に柔軟な粒子径 3 µm 以下のハイブリットシリカで構成されています。APC カラムは、異なる溶媒を使用してもパーティクルの膨潤が無い為、カラム性能の低下を気にすることなく、様々な溶媒を使用することが出来ます。このような APC カラムの汎用性により、ラボ内のカラムの本数を最小限に抑えながら、アプリケーションに合わせて最適な溶媒を使用することが可能となります。低拡散の ACQUITY APC システムと堅牢な APC カラムの組み合わせにより、高流量での分析でも高い背圧に耐えることが出来ます。様々なアプリケーションに対して同じカラムを使用でき、より短時間でのシステム平衡化を実現することで、ACQUITY APC システムはポリマー分析において、驚異的な分析時間の短縮だけでなく、圧倒的な溶媒使用量の削減をもたらします。

分析条件

ACQUITY APC システム条件

検出器： ACQUITY® RI

RI フローセル： 35 ℃

移動相： THF、トルエン、
10 mM LiCl 含有 DMF

流速： 1 mL/min

カラム： ACQUITY APC XT 450Å、
4.6 × 150 mm
2.5 µm（1 本）

ACQUITY APC XT 450Å および
125Å、4.6 × 150 mm
2.5 µm（2 本連結）

カラム温度： 35 ℃

サンプル溶解溶媒：THF、トルエン、
10 mM LiCL 含有 DMF

注入量： 20 µL

データ管理システム：Empower 3 ソフトウェア

サンプル調製

標準品： 1 mg/mL Waters ポリスチレン
スタンダードキット
（製品番号 WAT058931）

サンプル： Polystyrene 180K narrow sample at 1 mg/mL in THF, poly (methyl methacrylate co ethyl acrylate in THF, poly (9,9 di-n- uorenyl 2,7-diyl) in toluene, poly(bisphenol A co epichlorohydrin) in DMF with 10 mM LiCl

結果および考察

ポリマー分析用の従来のカラムは、ジビニルベンゼン架橋されたポリスチレンなどのポリマー固定相が一般的に使用されています。従来のカラムは、安定して使用する為に適切な平衡化が必要になります。充填剤が膨潤すればカラムは不安定になるので、カラムを長く安定して使用する為には、分析時の背圧などに注意する必要があります。移動相溶媒の置換は、溶媒に対する膨潤率の違いやカラムの充填効率、再現性の観点から、一般的には推奨されておりません。仮に移動相溶媒の置換を実施する場合、新しい溶媒を、まず低流速で流し、分析時レベルまで徐々に流速を上げるというプロセスが必要となり、多くの時間を要します。この時間のかかる手順を実行するよりも、移動相溶媒に置換された新しいカラムを購入するほうが良いかもしれません。しかし、通常、複数本のカラムを使用するポリマー分析では、溶媒毎にカラムを用意する必要があり多大な費用がかかります。

ハイブリッドシリカパーティクルカラムを使用した APC システムでのポリマー分析では溶媒毎にカラムを用意する必要はありません。ポリマー固定相と異なりハイブリットシリカパーティクルは、移動相溶媒の置換が可能で、膨潤することがありません。さらに、APC システムは、高強度ハイブリットシリカパーティクルカラムを使うことにより高流速で分析でき、分析時間の短縮だけでなくピーク形状や分解能の向上を提供します。

APC カラムの溶媒柔軟性を示すために 3 つの移動相（THF、トルエン、DMF）を使い、単分散ポリスチレンサンプルの溶出を比較した結果を図 1 に示します。

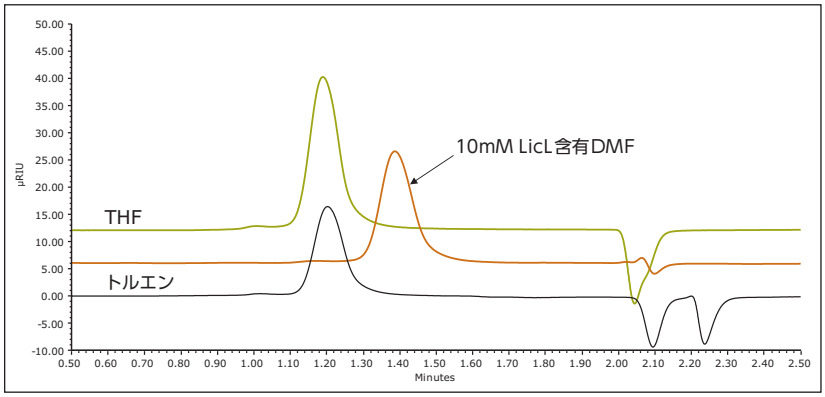


図 1. 3 種の異なる移動相溶媒（THF、トルエン、DMF）における単分散ポリスチレンサンプルのクロマトグラム比較（ACQUITY APC XT 450Å 2.5 µm 4.6 × 150 mm カラム）。溶出時間の差は、ポリマーの特性変化から生じます。

また、各溶媒系について、Waters ReadyCal スタンダード試薬を使用し、較正曲線を作成しました（図 2）。

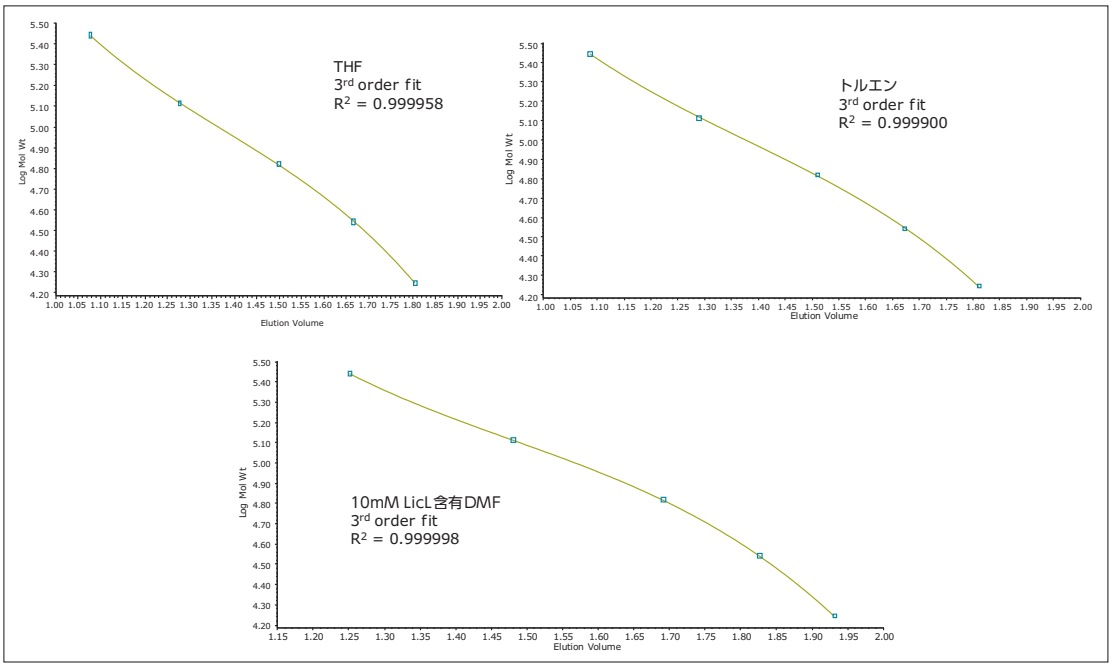


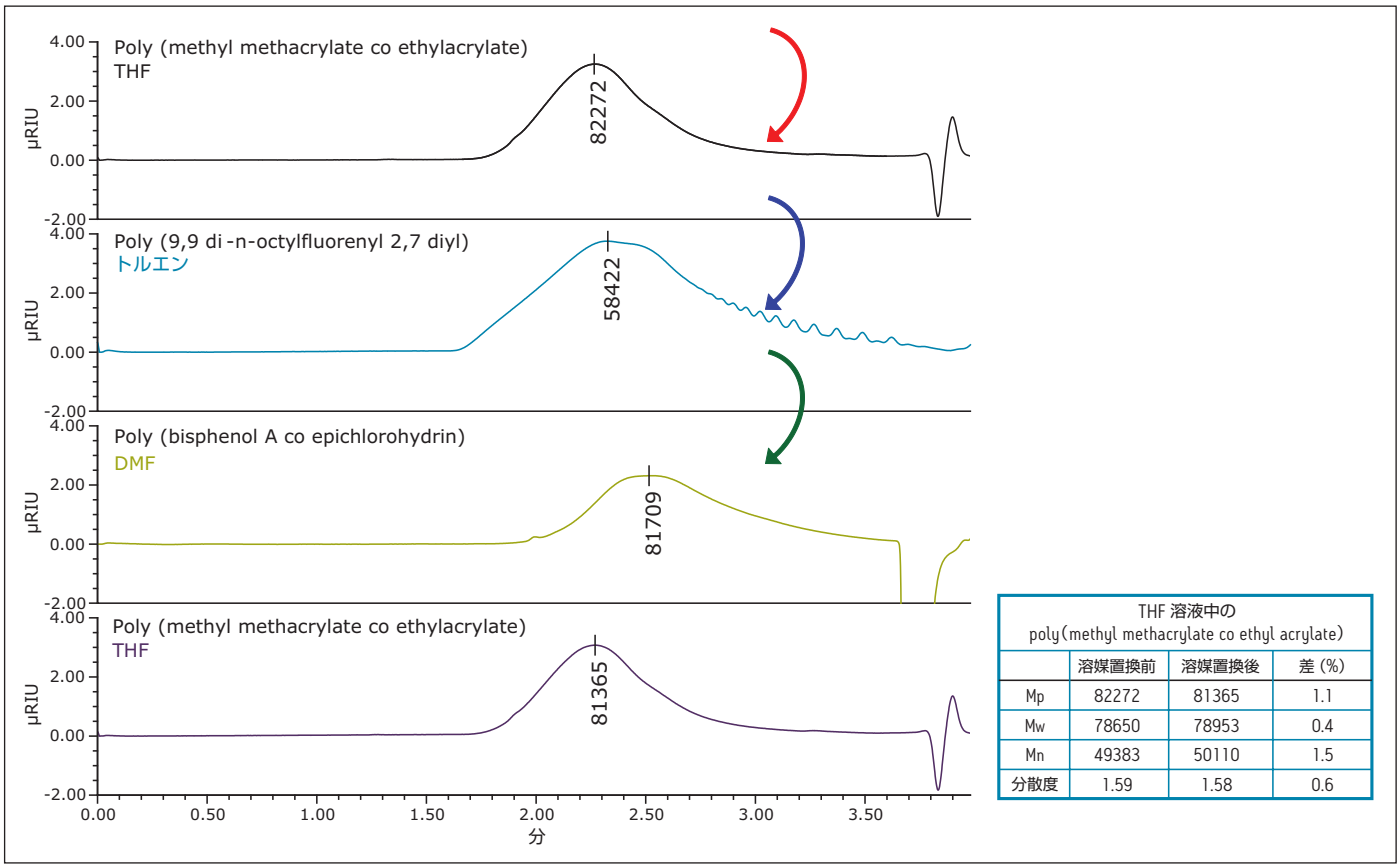
図 2. 3 種の異なる移動相溶媒（THF、トルエン、DMF）でのポリスチレン較正曲線の比較（分子量範囲：17.6 K から 277 K）

溶媒	注入回数	Mw	Mn	分散度
THF	1	170093	162305	1.05
THF	2	169765	162011	1.05
THF	3	170014	161989	1.05
	平均	**169957**	**162102**	**1.05**
	%RSD	**0.1**	**0.1**	**0.1**
Toluene	1	171228	167118	1.02
Toluene	2	170293	165109	1.03
Toluene	3	170771	166117	1.03
	平均	**170764**	**166115**	**1.03**
	%RSD	**0.3**	**0.6**	**0.3**
THF での結果との差（%）		**0.5**	**2.5**	**-1.9**
DMF	1	167856	163697	1.03
DMF	2	166593	161292	1.03
DMF	3	167501	163111	1.03
	平均	**167317**	**162700**	**1.03**
	%RSD	**0.4**	**0.8**	**0.4**
% Change compared to THF		**-1.6**	**0.4**	**-1.9**

表 1. 3 種の異なる移動相溶媒（THF、トルエン、DMF）における測定結果から得られた単分散ポリスチレン試料の Mw、Mn、分散度の比較（ACQUITY APC XT 450Å 2.5 µm 4.6 × 150 mm カラム）

各溶媒毎に単分散ポリスチレンサンプルについて較正曲線から得られた分子量（Mp、Mw、Mn）及び分散度を算出した結果を表 1 に示します。測定結果は APC システムとカラムの精度の高さと正確性を示しています。

次に APC システムを用いてハイブリッドパーティクルカラムを溶媒置換して使用した場合の分子量再現性確認結果の一例を図 3 に示します。この分析では 450Å と 125Å の 2 本の APC XT カラムを直列に接続しています。最初にカラムを THF で平衡化し、Poly（methyl methacrylate co ethylacrylate）について分子量情報（Mp、Mw、Mn）及び分散度を算出（ポリスチレン換算値）しました。次に、このカラムをトルエンに置換し、平衡化後、Poly（9,9 di-n-octylfluorenyl 2,7-diyl）を分析し、その後さらにカラムを 10 mM LiCl を含む DMF に置換、平衡化後、Poly（bisphenol-A co epichlorohydrin）を分析しました。この一連の分析後、移動相を THF に戻し、カラムを平衡化、最初に分析した Poly（methyl methacrylate co ethylacrylate）について分子量情報を確認し、異なる溶媒に置換する前後での結果を比較しました。溶媒置換前後での結果の差は 2% 以下となっており、ハイブリッドパーティクルカラムを使用した場合の溶媒置換を伴う分析における高い頑健性が証明されております。従来のように移動相ごとにカラムを交換して分析を行った場合、これらの検証結果を得るためには数日間かかります。一方、ハイブリッドパーティクルカラムを使用した場合はカラム交換が不要となり、APC システムでは数時間で結果を得ることが可能です。



THF 溶液中の
poly（methyl methacrylate co ethyl acrylate）

	溶媒置換前	溶媒置換後	差 (%)
Mp	82272	81365	1.1
Mw	78650	78953	0.4
Mn	49383	50110	1.5
分散度	1.59	1.58	0.6

図 3. APC システムによる溶媒置換した際のポリエステル（メタクリル酸メチルとアクリル酸エチルの共重合）測定時の再現性。溶媒は、THF → DMF → トルエン → DMF の順に置換し、THF に戻しています。カラムは、APC 4.6 × 150 mm 450Å と同サイズ 125Å の 2 本を連結して用いています。

結論

ポリマー分析では、ポリマー固定相の制限から、溶媒交換はほとんど行われません。しかし、APC カラムに充填されたハイブリッドシリカパーティクルは、膨潤を気にせず異なる移動溶媒の置換を可能にします。その結果、図 3 に示したように同一カラムで溶媒を置換した場合でも頑建性の高いポリマー分析を可能にします。さらに、低拡散、高耐圧の APC システムでは溶媒置換の際のシステム内及びカラムの平衡化にかかる時間を大幅に短縮できます。APC システムと APC カラムを使用することで使用溶媒ごとにカラムを用意する必要がなくなります。さらに、分析時間が短縮されることで生産性の向上とコストの削減を可能にします。

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.com
東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12第 5 小池ビル TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10 サムティ新大阪フロントビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
テクニカルセンター 東京 大阪 名古屋 福岡 札幌

Waters、ACQUITY および Empower は Waters Corporation の登録商標です。
ACQUITY APC、Advanced Polymer Chromatography、APC および The Science of What's Possible は Waters Corporation の商標です。その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

©2013 Waters Corporation. Printed in Japan. 2013年5月 720004628JA PDF