



コンプリヘンシブ 2D-LC による スチレン-アクリロニトリル共重合体の 特性解析

2つの相互依存分布の検討

アプリケーションノート

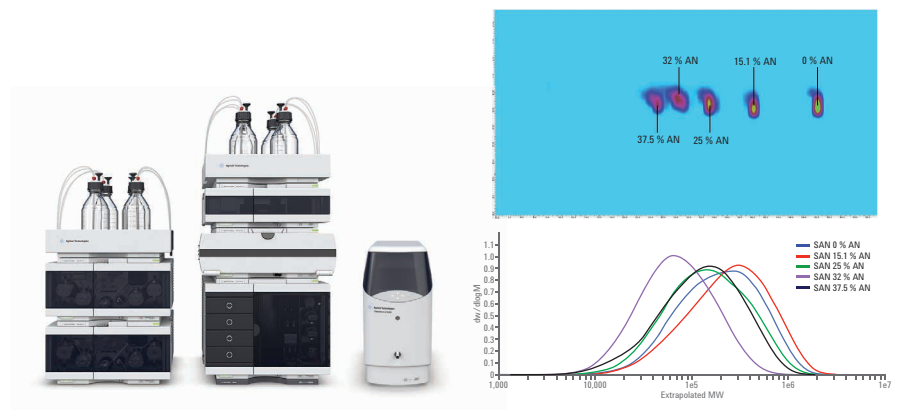
エネルギーと化学

著者

Sonja Krieger
Agilent Technologies, Inc.
Waldbronn, Germany

概要

合成ポリマーは、分子量や化学組成などのさまざまな分子特性の分布を持つ複雑な混合物です。2つの分子特性の分布を持つポリマーの場合、完全な特性解析は二次元分離を使用するのみ達成することができます。このアプリケーションノートは、一次元目が相互作用クロマトグラフィーで二次元目が高速サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) の、コンプリヘンシブ二次元液体クロマトグラフィーを使用した、スチレン-アクリロニトリル共重合体 (SAN) の分析を紹介し、一次元目ではアクリロニトリル成分量 (化学組成) に従って分離され、二次元目の SEC 分離ではアクリロニトリル成分量が異なる SAN の分子量分布を求めることができます。



Agilent Technologies

はじめに

合成ポリマーは単一分子種ではなく、分子量、組成、連鎖構造などのさまざまな分子特性の分布を持つ複雑な混合物です^{1, 2}。最もシンプルなもの（ホモポリマー）では、ポリマーの繰り返し単位の数がさまざまであったり、鎖長すなわち分子量の分布が存在します。異なるモノマーから構成されたポリマー（共重合体）の場合、化学組成の分布が観察されます。その他の可能性のある不均質性のタイプには、形態、立体規則性、末端基のバリエーションが含まれます^{1, 3}。1つのポリマー中に存在する異なるタイプの分布は、通常、相互に依存しています⁴。ポリマーの特性は、平均的な分子構造に依存するだけでなく、潜在的な分布によって影響されます。分子分布の特性を得るには、異なる構造の分離が必要不可欠です^{1, 3, 4}。

ポリマーの分子量分布は、溶液中の分子がサイズ（流体力学的体積）に応じて分離される、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）を用いて分析できます。化学組成または官能性に基づいた分離は、異なる形態の相互作用クロマトグラフィーで行うことができます^{1, 5}。二次元で分布のあるポリマー、例えば化学組成および分子量分布を持つ共重合体の場合、完全な特性解析は二次元分離を使用するのみ達成できます^{1, 6}。

本アプリケーションノートでは、コンプリヘンシブ二次元液体クロマトグラフィー（コンプリヘンシブ 2D-LC）を使用した、スチレン-アクリロニトリル共重合体（SAN）の解析を紹介します。一次元目で相互作用クロマトグラフィーを適用し、アクリロニトリル成分量（化学組成）に応じた分離をします。二次元目では高速 SEC により、アクリロニトリル成分量が異なる SAN の分子量分布を求めることができます。相互に依存する化学組成と分子量の分布は 2D-LC を使用してのみ完全に特性解析できることを解説します。SAN などの発色団

を含むポリマーの分析には UV 検出を使用することができます。より汎用的な検出を可能にするために、蒸発光散乱検出器（ELSD）との組み合わせも紹介します。

実験方法

装置構成

Agilent 1290 Infinity II 2D-LC ソリューションは、次のモジュールで構成しました。

- Agilent 1290 Infinity II ハイスピードポンプ（2 x G7120A）、テトラヒドロフラン対応の UltraClean チューブキット（G4220-68070）付き：

- 一次元目ポンプ：テトラヒドロフラン対応の黒色 PTFE ピストンシール（p/n 5063-6589）付きチャンネル B ポンプヘッド、最大圧力 60 MPa

- 二次元目ポンプ：テトラヒドロフラン対応の黒色 PTFE ピストンシール（p/n 5063-6589）付きチャンネル A およびチャンネル B ポンプヘッド、最大圧力 60 MPa

メンテナンスが容易なポンプヘッドの使用により、黒色の PTFE ピストンシールへ容易に変更可能（1290 Infinity II ハイスピードポンプ用の容易なメンテナンスアップグレード、G4223A）

- Agilent 1290 Infinity II マルチサンプラ（G7167B）、冷却システム（オプション #100）を搭載
- Agilent 1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット（G7116B）、2本の 80 μ L ループを装着した 2 ポジション/4 ポートデュオバルブ（2D-LC バルブヘッド 130 MPa：p/n 5067-4244）を搭載

- Agilent 1290 Infinity II ダイオードアレイ検出器（G7117B）、光路長 10 mm の Max-Light カートリッジセル（G4212-60008）を搭載
- Agilent 1290 Infinity II 蒸発光散乱検出器（G7102A）

テトラヒドロフランの使用について

テトラヒドロフランの使用により、機器の寿命が短くなったり、メンテナンス頻度が増す可能性があるので注意してください。

ソフトウェア

- Agilent OpenLab CDS ChemStation Edition rev. C.01.07 [27] と Agilent 1290 Infinity 2D-LC Acquisition ソフトウェア（バージョン A.01.02 SP1）
- GC Image LCxLC-HRMS Edition ソフトウェア（バージョン 2.5b0）、2D-LC データ分析用、GC Image 社製（米国ネブラスカ州リンカーン）
- Agilent Cirrus GPC オフライン GPC/SEC ソフトウェア（バージョン 3.4.1）

カラム

一次元目

Agilent PLRP-S、100 A、2.1 \times 150 mm、3 μ m（p/n PL1912-3300）

二次元目

Agilent ResiPore、10 \times 50 mm、3 μ m（カスタム）

試薬

SEC キャリブレーション用ポリスチレンはアジレントの製品です（EasiVial PS-M、p/n PL2010-0301）。すべての溶媒は LC グレードを使用しました。アセトニトリルおよびテトラヒドロフランはそれぞれ、Merck（ダルムシュタット、ドイツ）および VWR（ルーヴェン、ベルギー）から購入しました。

標準溶液

アクリロニトリル成分量が異なる (0、15.1、25、32、37.5 % アクリロニトリル) 個々のスチレン-アクリロニトリル共重合体を 10 mg/mL 濃度のテトラヒドロフラン中で溶解しました。個々の溶液を混ぜ合わせて混合液中で各スチレン-アクリロニトリル重合体の総濃度を 2 mg/mL にします。

SEC キャリブレーションのために、0.5 mL のテトラヒドロフランを、ポリスチレン標準が含まれる事前計量した EasiVial PS-M バイアルに添加しました。それぞれ 4 つの異なる狭分子量分布 (162 ~ 465、600 g/mol の範囲の Mp) のポリスチレンを含む 3 つの混合液を分析しました。

2D-LC メソッド

パラメータ	設定値		
一次元目ポンプ			
溶媒 A	アセトニトリル		
溶媒 B	テトラヒドロフラン		
流量	0.064 mL/min		
グラジエントと流量	時間 (分) %B 流量 (mL/min)		
	0 0 0.064		
	5 0 0.064		
	60 80 0.064		
	61 100 0.500		
	64 100 0.500		
	65 0 0.500		
	70 0 0.500		
	71 0 0.064		
ストップタイム	75 分		
二次元目ポンプ			
溶媒	テトラヒドロフラン、イソクラティック		
流量	4.0 mL/min		
モジュレーション時間	1.00 分		
モジュレーション	0 ~ 60 分		
Agilent 1290 Infinity II マルチサンブラ			
注入量	3 µL		
サンプル温度	15 °C		
ニードル洗浄	アセトニトリル/テトラヒドロフラン (30/70、v/v) 中で 10 秒		
Agilent 1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット			
一次元目および二次元目カラム	25 °C		
2 ポジション/4 ポートデュオバルブ	2 ポジション/4 ポートデュオバルブは、二次元目の 60 秒のモジュレーションサイクルが終了するたびに自動的に切り替えました。ループは並流方式で使用しました (ループに対する充填と溶出が同じ方向)。		
Agilent 1290 Infinity II ダイオードアレイ検出器			
波長	254 nm/4 nm、Ref. : 360 nm/100 nm		
データレート	40 Hz		
ストップタイム	60 分		
Agilent 1290 Infinity II 蒸発光散乱検出器			
エバポレータ温度	70 °C		
ネブライザ温度	55 °C		
エバポレータガス流量	1.0 SLM		
スムージング	10		
データ出力レート	40 Hz		
ストップタイム	60 分		

結果と考察

SAN 混合液の特性解析を可能にするには、アクリロニトリル成分量（化学組成）および分子量分布に関する情報を得る必要があります。図 1 に示すように、一次元の相互作用クロマトグラフィーではアクリロニトリル成分量に応じて SAN を分離できます。しかし、分子量分布についての情報を得ることはできません。

一方、一次元の SEC ではサイズに応じて SAN を分離できますが（図 2）、アクリロニトリル成分量に関する情報を得ることはできません。相互作用クロマトグラフィーと SEC の両方を個別に使用しても、特定のアクリロニトリル成分量の SAN の分子量分布の情報を得ることはできず、混合液中のアクリロニトリル成分量が異なる SAN の分子量分布を比較したりすることもできません。このような情報を得るには、SAN 混合液の二次元分離が必要不可欠です。

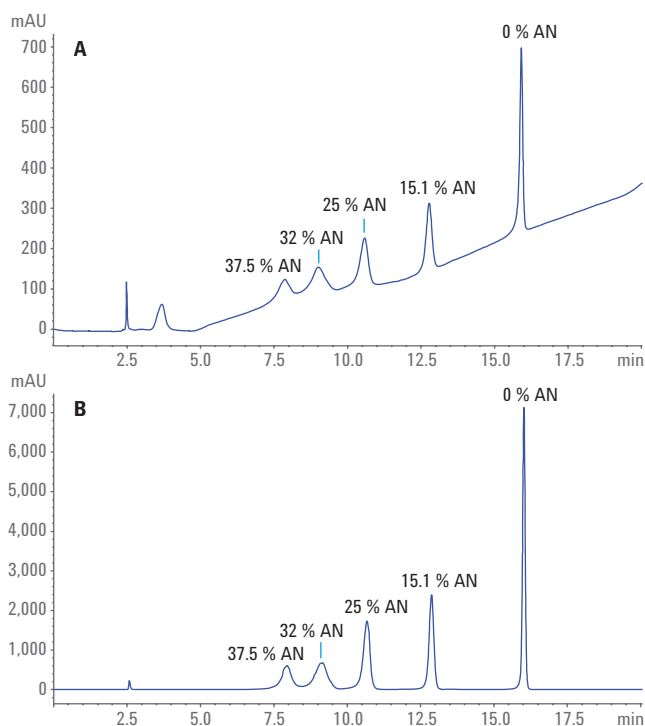


図 1. 相互作用クロマトグラフィーによる SAN の混合液の一次元分析。
カラム：PLRP-S 100A、 2.1×150 mm、 $3 \mu\text{m}$ 、溶媒：0～80% THF の ACN 溶液を 19 分間、
流量：0.2 mL/min。 (A) Agilent 1290 Infinity II ダイオードアレイ検出器を波長 254 nm で使用、
(B) Agilent 1290 Infinity II 蒸発光散乱検出器

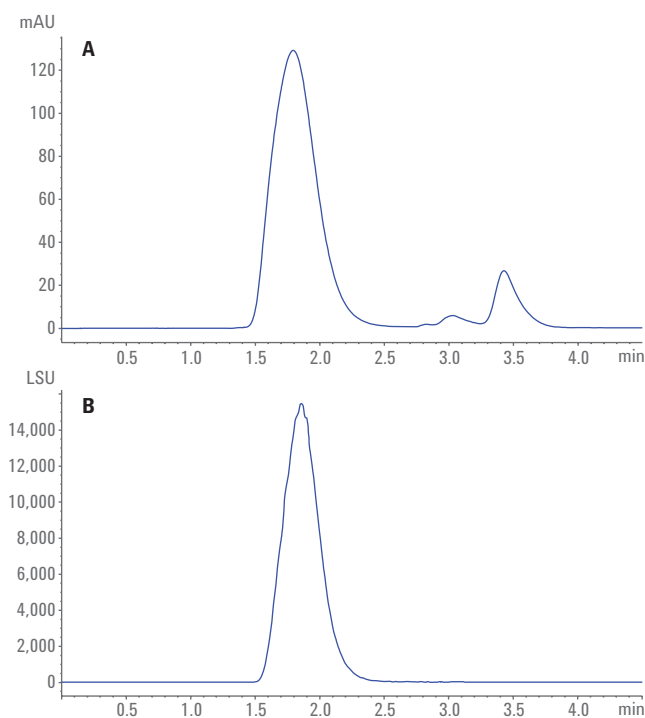


図 2. SAN の混合液の一次元 SEC 分析。カラム：ResiPore、 10×50 mm、 $3 \mu\text{m}$ 、溶媒：THF、
流量：1.0 mL/min。 (A) Agilent 1290 Infinity II ダイオードアレイ検出器を波長 254 nm で使用、
(B) Agilent 1290 Infinity II 蒸発光散乱検出器

図 3 に、一次元目で相互作用クロマトグラフィー、二次元目で SEC を使用した SAN 混合液のコンプリヘンシブ二次元解析を示します。短い (50 mm) SEC カラムを高流量 (4 mL/min) で使用すると SEC 分析時間をわずか 1 分にできるため、モジュレーション時間が 1 分のコンプリヘンシブ 2D-LC セットアップでアプリケーションが可能となります。図 3 からわかるように、UV 検出および ELS 検出から同等の結果が得られました。ELS 検出とは異なって、UV 検出では、一次元目からの溶出物の二次元目分離への繰り返し注入によるバックグラウンド信号が検出されます。さらに、一次元の分析から観察されるように、UV 検出のみ SAN 混合液中の低分子質量の不純物が検出されます。

コンプリヘンシブ 2D-LC 分析から、アクリロニトリル成分量が異なる SAN の分子量分布の違いを観察できます。例えば、アクリロニトリル成分量が 32 % の SAN は、二次元目の SEC 分析でリテンションタイムが長くなり、その結果、混合液に含まれるその他の SAN と比べるとより低分子量となっています。

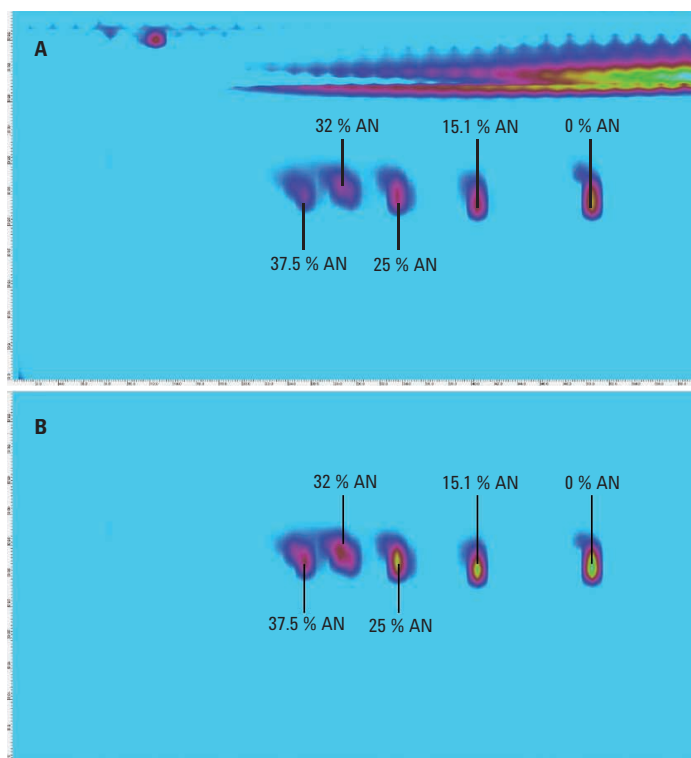


図 3. 一次元目に相互作用クロマトグラフィー、二次元目に SEC を用いた SAN の混合液のコンプリヘンシブ 2D-LC 分析。(A) Agilent 1290 Infinity II ダイオードアレイ検出器を波長 254 nm で使用、(B) Agilent 1290 Infinity II 蒸発光散乱検出器

SEC カラムをキャリブレーションするために、コンプリヘンシブ 2D-LC を用いてポリスチレン (EasiVial PS-M) を分析しました。図 4 に、ELS 検出による分離の結果を示します。一次元目の化学組成に応じた分離に追加して、一次元目のリテンションタイムの分子量との間にいくらかの非線形な依存性が観察されました。分析した各混合液で、予期していなかった低分子量の不純物が検出されました。ELSD 設定 (70 °C のエバポレータ温度) の後、低分子量のポリスチレン (Mp 162 g/mol、PS-M green に含まれる) は検出されませんでした。さらに低いエバポレータ温度には設定しませんでした。

SEC キャリブレーションでは、図 5 で Mp が 465,600 g/mol の PS-M red ポリスチレンで代表的に示すように、ポリスチレンの個々の二次元目の SEC クロマトグラムを LCxLC ソフトウェアからエクスポートしました。個々の二次元目の SEC クロマトグラムを Cirrus GPC Offline GPC/SEC ソフトウェアにインポートし、SEC 検量線を作成しました (図 6)。SEC 検量線では、二次多項式カーブフィットを使用し、0.9997 の決定係数を得ました。

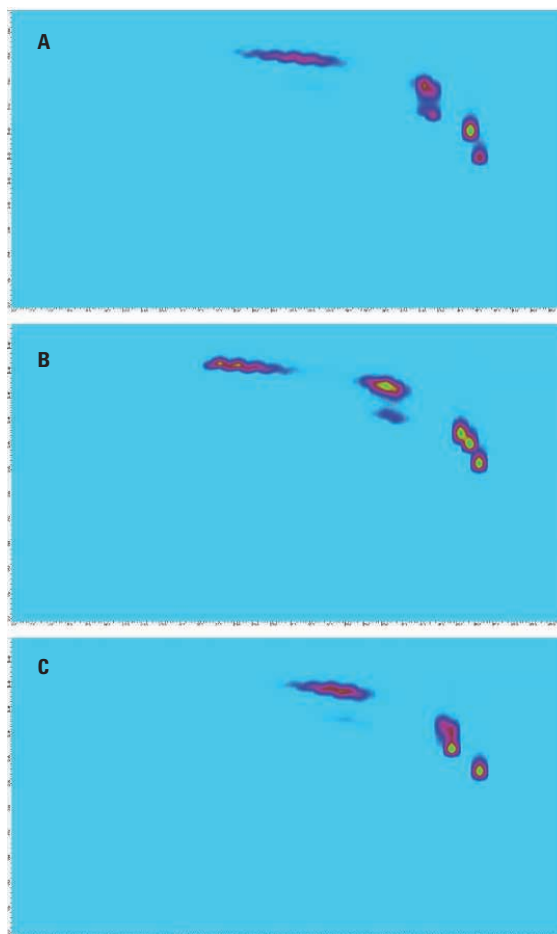


図 4. ポリスチレン (EasiVial PS-M) の、一次元目に相互作用クロマトグラフィー、二次元目に SEC を用いたコンプリヘンシブ 2D-LC 分析。検出 : Agilent 1290 Infinity II 蒸発光散乱検出器、(A) PS-M red、(B) PS-M yellow、(C) PS-M green

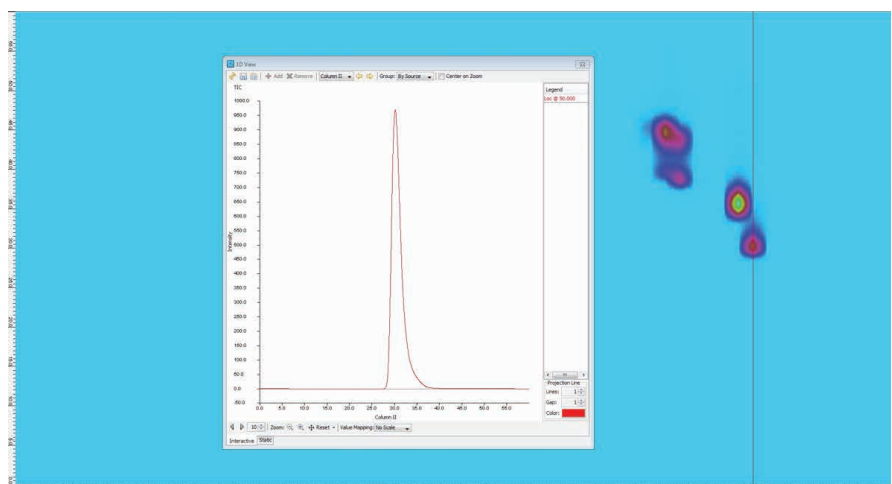


図 5. ポリスチレン PS-M red (EasiVial PS-M) のコンプリヘンシブ 2D-LC 分析。検出 : Agilent 1290 Infinity II 蒸発光散乱検出器、Mp が 465,600 g/mol のポリスチレンの二次元目の個別のエクスポート用 SEC クロマトグラムの表示

同様に、アクリロニトリル成分量が異なる SAN の個々の二次元目の SEC クロマトグラムを使用して分子量分布を評価しました。図 7 および表 1 に、アクリロニトリル成分量が異なる SAN の分子量分布を示し、得られた分子量情報をまとめました。これにより、コンプリヘンシブ 2D-LC クロマトグラムで示された、アクリロニトリル成分量が異なる SAN の分子量分布の違いをより詳細に調査できます。

結論

一次元目の相互作用クロマトグラフィーと二次元目の高速 SEC によるコンプリヘンシブ 2D-LC により、アクリロニトリル成分量（化学組成）に従って SAN を分離し、アクリロニトリル成分量が異なる SAN の分子量分布を求めることができます。相互依存する化学組成と分子量分布のような情報は、二次元分離を使用するのみ得ることができます。

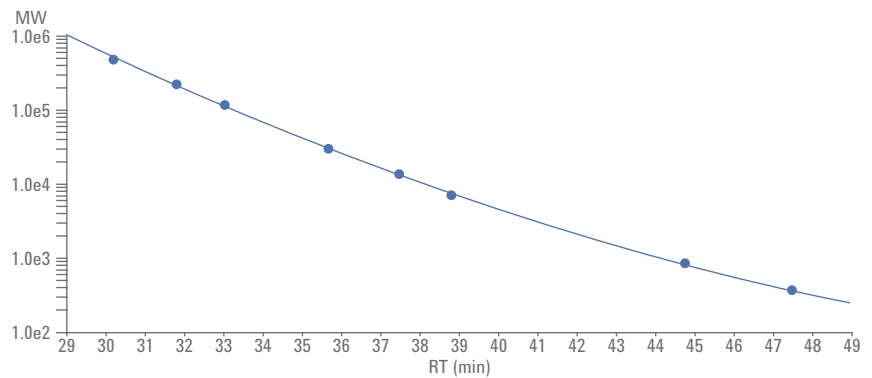


図 6. ポリスチレン (EasiVial PS-M) のコンプリヘンシブ 2D-LC 分析による SEC 検量線

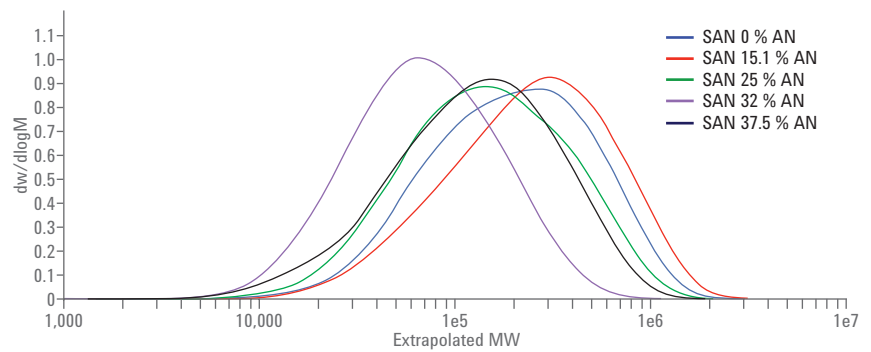


図 7. SAN 混合液のコンプリヘンシブ 2D-LC 分析より得られたアクリロニトリル成分量が異なる SAN の分子量分布

表 1. SAN 混合液のコンプリヘンシブ 2D-LC 分析より得られたアクリロニトリル成分量が異なる SAN の分子量の情報

SAN	Mp	Mn	MW	PD
SAN 0 % AN	282631	110158	273515	2.4829
SAN 15.1 % AN	319674	130723	340225	2.6026
SAN 25 % AN	151636	83193	207518	2.4944
SAN 32 % AN	71568	44027	94477	2.1459
SAN 37.5 % AN	164110	65939	178206	2.7026

参考文献

1. Jiang; *et al.* Comprehensive two-dimensional liquid chromatography for the characterization of functional acrylate polymers. *J. Chromatogr.A* **2005**, 1076, 51-61.
2. Im; *et al.* Two-dimensional liquid chromatography analysis of synthetic polymers using fast size exclusion chromatography at high column temperature. *J. Chromatogr.A* **2009**, 1216, 4606-4610.
3. Radke. Polymer separations by liquid interaction chromatography: principles - prospects - limitations. *J. Chromatogr. A* **2014**, 1335, 62-79.
4. Uliyanchenko; *et al.* Comprehensive two-dimensional ultrahigh-pressure liquid chromatography for separations of polymers. *Anal.Chem.***2012**, 84, 7802-7809.
5. Raust; *et al.* Two-dimensional chromatography of complex polymers 6. Method development for (meth)acrylate-based copolymers. *J. Chromatogr.A* **2008**, 1203, 207-216.
6. Schoenmakers; Aarnoutse. Multi-dimensional separations of polymers. *Anal.Chem.***2014**, 86, 6172-6179.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2016
Printed in Japan, April 1, 2016
5991-6699JAJP



Agilent Technologies