

# Active Solvent Modulationバルブを用いたハイレゾリューションサンプリング 2D-LC による共重合体の分析



## 要旨

2種類以上のモノマーやブロックポリマーから合成された共重合体の特性解析において、GPCによる分子量情報とGPEC(gradient polymer elution chromatography)による化学組成の情報は重要です。GPCで使用する溶媒の多くはGPECでは溶出力が強いため、GPCとGPECをオンラインで接続する2D-LC測定を行うことは容易ではありません。

そのため、GPCでターゲットのピークを分取後、溶媒を除去しGPECを行う方法や、1次元目；GPEC 2次元目；GPCのコンプリヘンシブ 2D-LCが行われてきました<sup>1</sup>。しかし、ピークに分取→溶媒除去→GPCはマニュアルによる作業で手間がかかります<sup>2</sup>。一方、GPEC→GPCのコンプリヘンシブ 2D-LCでは、超高速GPCが必要となり、使用可能なカラムや分離度の制限があります。

このアプリケーションノートでは、従来の問題を解決する手法としてActive Solvent Modulation (ASM)バルブを用いたハイレゾリューションサンプリング(HRS) 2D-LCによるホモポリマーとブロックコポリマーの分析を紹介します。

## Authors

熊谷 浩樹

林 慶子

アジレント・テクノロジー  
株式会社

## 分析条件

Agilent 1290 Infinity II 2D-LC Solution

マルチハートカットシステム

1290 Infinity II フレキシブルポンプ (G7104A)

1290 Infinity II ハイスピードポンプ (G7120A)

1290 Infinity II マルチサンプラ (G7167B)

1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116B)

1290 Infinity II バルブドライブ (G1170A)

+ ASMバルブ (G4243A)

+ MHCバルブキット (G4242A)

1290 Infinity II 蒸発光散乱検出器(ELSD) (G7102A)

1D : GPC

カラム : PLgel MiniMIX C, 4.6×250 mm (PL1510-5500)

移動相 : THF

流速 : 0.1 mL/min

カラム温度 : 40 °C,

サンプル注入量 : 10 µL

2D : GPEC

カラム : YMC Triart C18 ExRS, 3.0×150 mm 3 µm

移動相 : A: アセトニトリル B; THF

グラジエント : 25 %B (0 min) → 25 %B (2 min) →  
100 %B (12 min) → 100 %B (20 min)

流速 : 0.5 mL/min

サンプルループ : 40 µL

ハイレゾリューションサンプリング (25秒× 6)

検出 : ELSD, ネブライザ温度 50 °C

蒸発管温度 80 °C

ガス流量 1.3 SLM

試料 : PS標準ポリマー Mw; 30,000 (PL2013-2001)

PMMA標準ポリマー Mw; 30,000 (PL2023-2001)

Poly (styrene-*block*-methyl methacrylate)

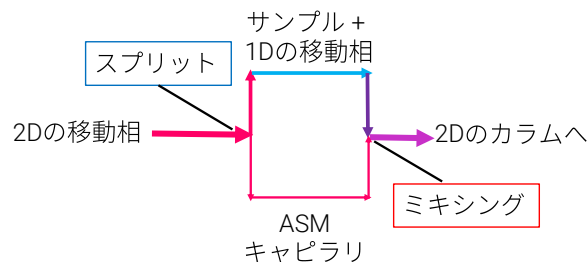
average Mn 30,000, block ratio of 1:1 (Sigma-Aldrich  
749184 )

各ポリマーはTHFに溶解しました。

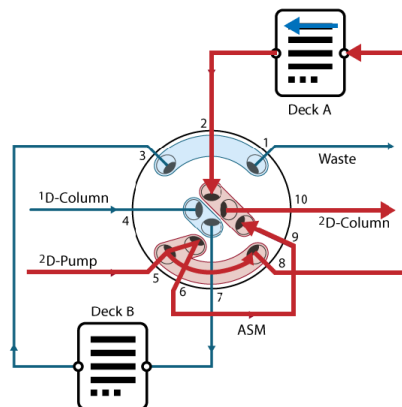
## Active Solvent Modulation

1Dの移動相が2Dのカラムにとって溶出力の強い溶媒の場合、2Dの分離が損なわれ、ピークがブロードになる、ピーク形状が悪くなる、分離度が低下するなどの現象が起こります。

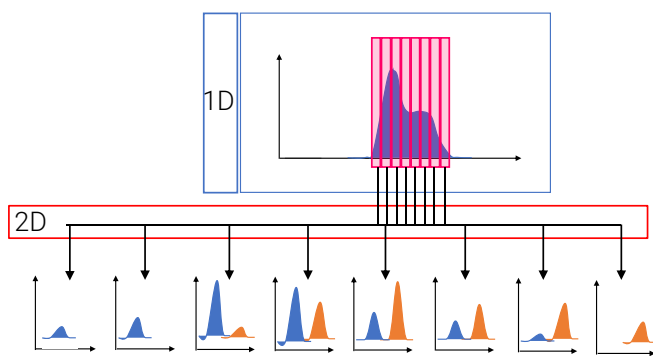
Active solvent modulation (ASM) は、1Dカラムの溶出液を2Dの移動相で希釈して2Dカラムに導入します。その結果、1Dの移動相の溶出強度が調節され2Dカラムの分離が改善されます。希釈率はASMキャピラリーを変更することで変更することができます。ASMを内蔵したASMバルブは、マルチハートカット (MHC) およびハイレゾリューションサンプリング (HRS) 2D-LCに適しています。



## MHC 及び HRS 2D-LC



MHC 2D-LCシステムでは、最大10本のループに1Dのフラクションを溜めることができます。1Dのクロマトグラム上の複数ピークをハートカットする他に、1Dの特定の範囲を連続してループに溜めれば、部分的なコンプリヘンシブ 2D-LCとして分析できます。通常のコンプリヘンシブとは異なり、2Dの分析条件の制限が少なくなるため、分離度の高い分析が可能になります。



# 結果

## 1D (GPC) の分析結果

図4にPS、PMMA、PS-PMMA block co-polymerのGPCのクロマトグラムを示します。各ポリマーの溶出時間がわずかに異なっていることがわかりました。

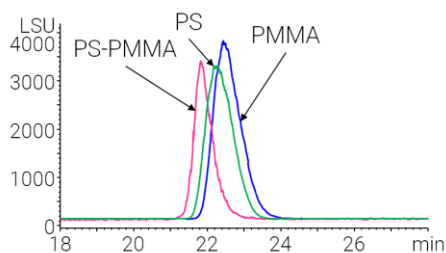


図4 PS、PMMA、PS-PMMA block co-polymerのGPCのクロマトグラム

図5に3つのポリマーの混合溶液のGPCのクロマトグラムを示します。このクロマトグラムで21.5 minから25 secごとに6フラクションをGPECで分析しました。

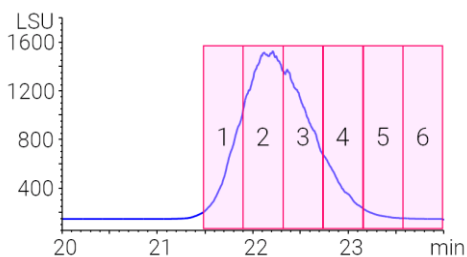


図5 ポリマー混合溶液のGPCとフラクションの位置

## 2D (GPEC) の分析結果

ポリマー混合溶液のGPECの結果を図6に示します。

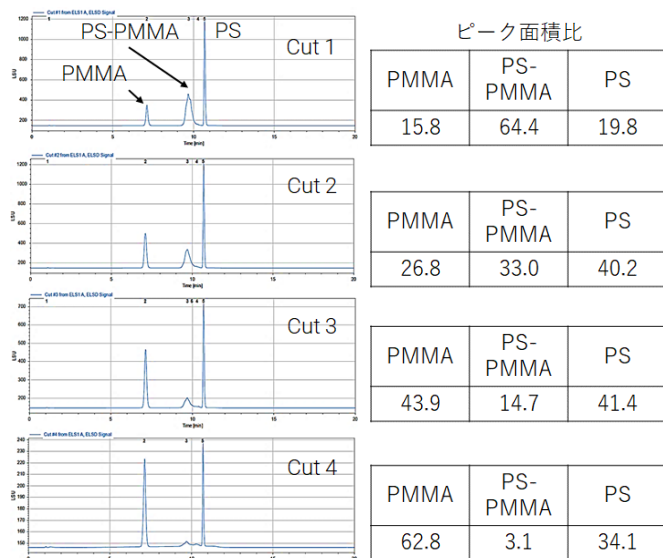


図6 ポリマー混合溶液のGPEC

GPECでは、PMMA、PS-PMMA block co-polymer、PSの順に溶出し、GPCではほぼ同じ時間に溶出するポリマーを分離することができました。図6では、図5のフラクションごとに各ポリマーの含有量が異なっていることがわかります。HRS 2D-LCを用いれば、分子量による分離と化学組成による分離を1度に行うことができます。

## ASMによる2Dのピーク形状改善

図7にASMによるピーク形状の改善効果を示します。ASMを使用することにより、ピーク形状が改善し、ピーク高さも増加しました。

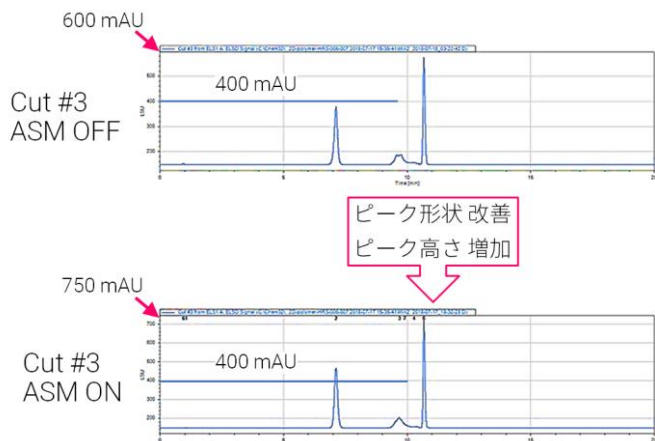


図7 ASMによるピーク形状の改善効果

## まとめ

Agilent 1290 Infinity II 2D-LC Solution マルチハートカットシステムを用いて、分子サイズおよび化学組成に基づくポリマーの2D-LCを実施しました。ハイレゾリューションサンプリングモードを利用することで、分離条件の制限が小さく操作性の良い分析が可能でした。また、ASMバルブを利用することで、溶出力の強い溶媒がGPECに導入されることによるピーク形状の低下が低減され、良好な分離度とピーク感度が得られました。

## 2D-LC のモードの比較

マルチハートカット (MHC)	ハイレゾリューションサンプリング (HRS)	コンプリヘンシブ
ピークを複数のループに貯留 → 2Dの分析時間に制限がない	ピークを複数のループに貯留 → 2Dの分析時間に制限がない	2Dは超高速分析 (例えば30秒程度) となるため、2Dの分離に制限がある
ピークの頂点付近を 2Dへ導入する	ピークの全部もしくは大部分を2Dへ導入する	1Dの溶出液を全て2Dへ導入できる
ピークの限定された範囲しか 2Dへ導入できない (数十 μL)	ピークを広範囲にわたって2Dへ導入できる (約 4 ~ 320 μL)	ピークの限定された範囲しか 2Dへ導入できない (数十 μL)
1ループあたりのピーク採取時間を長くすると、1Dの分離度が低下する	1ループあたりのピーク採取時間は短くても良いため、1Dの分離度が変わらない	1ループあたりのピーク採取時間を長くすると、1Dの分離度が低下する
定量には向かない	精度の良い定量が可能	定量可能だが専用のSWが必要

### 参考文献

1. "Characterization of Styrene-Acrylonitrile Copolymers Using Comprehensive 2D-LC Investigation of Two Mutually Dependent Distributions"  
資料番号 5991-6699EN
2. 「ELSDトリガー分取システムによるポリマー共重合体のGPC分離および分取試料のGPEC分離」  
資料番号 LC-201807HK-002

### ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://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. 2018

Printed in Japan, October 30, 2018

LC-201810KG-001