



SEPARATION REPORT

耐溶媒交換性高性能GPC用充填カラム TSK-GEL Hタイプ HRシリーズについて

— 目 次 —

	ページ
1. はじめに	1
2. 特徴	1
3. 基本的性質	5
3-1. 高分子測定用グレードの分離性能	5
3-2. 理論段高さ(HETP)の流速依存性	7
3-3. 溶媒交換性	9
3-4. 機械的強度	11
3-5. 超高分子の分離	11
3-6. ミックスカラム(リニアタイプ)	17
3-7. 特殊溶媒における塩の添加効果	23
4. 応用例	27
5. おわりに	34

1. はじめに

ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)は、高分子物質の分子量及び分子量分布などの分子特性を知る有力な分析手段として、比較的簡便で短時間に、また再現性が良いなどの理由から広く普及しています。

当社は、1983年に高性能有機溶媒系GPCカラム、TSK-GEL Hタイプ XLシリーズ(以下H_{XL}シリーズ)を商品化し、その性能は現在までに内外で高く評価されています。

近年、エンジニアリングプラスチックに代表される高性能で高機能な高分子素材の開発・商品化が活発化している中で、これらのポリマーは高性能・高機能であるがために、従来多用されてきたテトラヒドロフラン(THF)やクロロホルムなどの溶媒には難溶(または不溶)となり、このようなポリマーのGPC測定溶媒としては、THFやクロロホルムなどに替わるいろいろなポリマーに適した溶媒が提案・採用されてきています。例えば、2,2,2-トリフルオロエタノール(TFE)やヘキサフルオロイソプロパノール(HFIP)などのフッ化アルコール^{1)~4)}、ペンタフルオロフェノール(PFP)／クロロホルム⁵⁾、N-メチルピロリドン(NMP)、ジメチルホルムアミド(DMF)やジメチルスルホキシド(DMSO)などがあげられます。これらの溶媒は、THFやクロロホルムに比べ極性が強く高粘度のものがほとんどであり、現状のH_{XL}カラムでの使用は耐久性・安定性の面から、またTHFからこれらへの直接溶媒交換は困難であり、使用条件に制約を受けることにもなっています。さらに、適正な測定溶媒(溶離液条件)でない場合は、充填材と試料の相互作用による吸着・反発などの現象が見られるようになります。

すなわち、従来の測定条件下(例えば、カラムにH_{XL}、溶媒にTHFを使用)のみでは、各種ポリマーのGPC測定の再現性、安定性や正確性を確保することが困難な状況になってきています。

TSK-GEL Hタイプ HRシリーズ(以下H_{HR}シリーズ)は、このような課題を解決すべく開発・設計された充填剤を充填した耐溶媒交換性のある、有機溶媒系GPC用カラムで、H_{XL}シリーズに比べ、より特殊な溶媒あるいは条件下での測定安定性が向上した充填カラムです。

ここでは、TSK-GEL H_{HR}シリーズの特徴、基本的性質及び測定応用例について紹介します。

2. 特徴

TSK-GEL H_{HR}シリーズは、TSK-GEL H_{XL}シリーズの細孔特性を保ちながら非常に強固で膨潤・収縮のほとんどない高度に架橋されたスチレン-ジビニルベンゼン系共重合体ですので、各種溶媒への交換が容易になり、高分子測定用グレードの高性能化も達成されています。

表-1にH_{HR}シリーズとH_{XL}シリーズの性能の比較を示します。高分子測定用グレード(G5000H_{HR}~G7000H_{HR}及びGMH_{HR}-M、-H)は、従来のH_{XL}シリーズの10 μ mの充填剤に対し、5 μ mの充填剤を使用しているため、保証理論段数が14000TP/30cmから16000TP/30cmに向上し、高分離能化されています。また、低分子測定用グレード(G1000H_{HR}~G4000H_{HR}及びGMH_{HR}-L)にはH_{XL}シリーズと同等の性能を保持させています。また、高分子分離用には超高分子・高温用グレードとして粒子径13 μ mの(S)タイプを用意しています。

表-2にH_{HR}シリーズの溶媒交換可能な溶媒の一覧表を示します。この表に示す様に、TSK-GEL H_{HR}シリーズは各種の有機溶媒に交換が可能で、これらの溶媒での安定性にも優れています。また、いろいろな有機溶媒に直接溶媒交換が可能となる様に、THF溶媒が封入された状態で出荷されています。

図-1~図-8に、各種溶媒における各種標準試料を用いて測定したTSK-GEL H_{HR}シリーズの校正曲線を示します。

表-1 TSK-GEL H_{HR}シリーズとH_{XL}シリーズの性能の比較

カラム	H _{HR}		H _{XL}	
	粒子径 (μm)	保証理論段数 (TP/カラム)	粒子径 (μm)	保証理論段数 (TP/カラム)
G1000H	5	16000	5	16000
G2000H	5	16000	5	16000
G2500H	5	16000	5	16000
G3000H	5	16000	5	16000
G4000H	5	16000	5	16000
G5000H	5	16000	10	14000
G6000H	5	16000	10	14000
G7000H	5	16000	10	14000
G5000H(S)	13	8000	—	—
G6000H(S)	13	8000	—	—
G7000H(S)	13	8000	—	—
GMH-H	5	16000	—	—
GMH-M	5	16000	—	—
GMH-L	5	16000	5	16000
GMH	—	—	10	14000
GMH-H(S)	13	8000	—	—
GMH-M(S)	13	8000	—	—

理論段数測定条件

カラムサイズ；7.8mmI.D.×30cm

溶離液；テトラヒドロフラン(THF)

流速；1.0ml/min

試料；ベンゼン：G1000H～G2500H

n-ブチルベンゼン：G3000H、G4000H及びGMH-L

ジシクロヘキシルフタレート：G5000H～G7000H、GMH-M

及びGMH-H

表-2 TSK-GEL H_{HR}シリーズの溶媒交換性

溶媒交換可能な溶媒
トルエン、キシレン、クロロホルム、ベンゼン、ジクロロメタン、ジクロロエタン、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、ジオキサソ、N-メチルピロリドン、m-クレゾール/クロロホルム、キノリン、MEK、o-ジクロロベンゼン、トリクロロベンゼン、HFIP、HFIP/クロロホルム、o-クロロフェノール/クロロホルム、ピリジン、四塩化炭素、酢酸エチル、メタノール/クロロホルム、THF/メタノール、アセトン、エタノール、ジメチルアセトアミド、n-ヘキサソ、ドデカン、1-クロロナフタレン、FC-113、トリクロロエタン

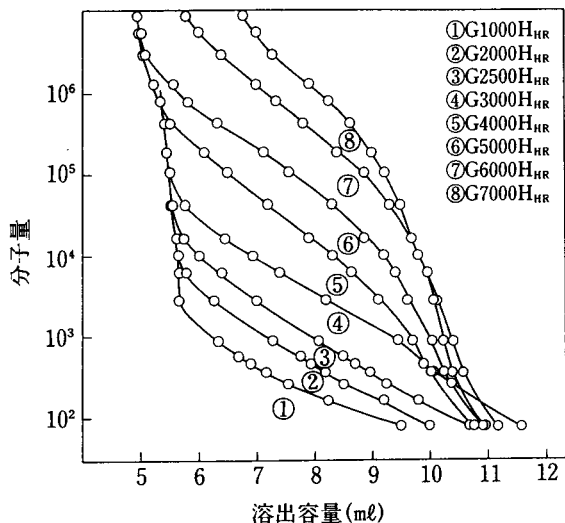


図-1 THFでのポリスチレンによる較正曲線
 カラム；TSK-GEL H_{HR}シリーズ(7.8mmI.D.×30cm)
 溶離液；THF
 流速；1.0ml/min
 温度；25℃
 検出；UV(254nm)
 試料；標準ポリスチレン

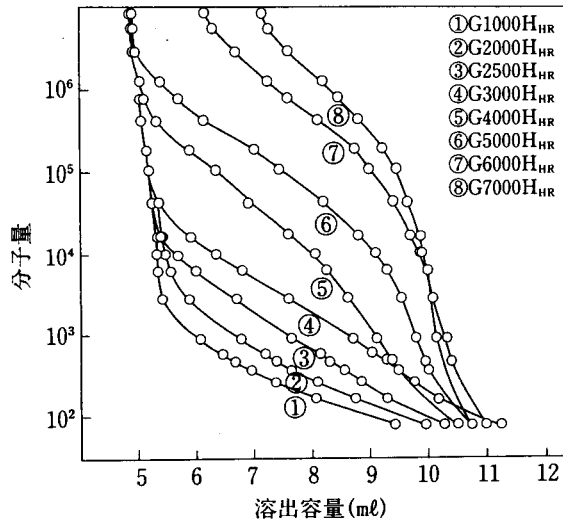


図-3 クロロホルムでのポリスチレンによる較正曲線
 カラム；TSK-GEL H_{HR}シリーズ(7.8mmI.D.×30cm)
 溶離液；クロロホルム
 流速；1.0ml/min
 温度；25℃
 検出；UV(254nm)
 試料；標準ポリスチレン

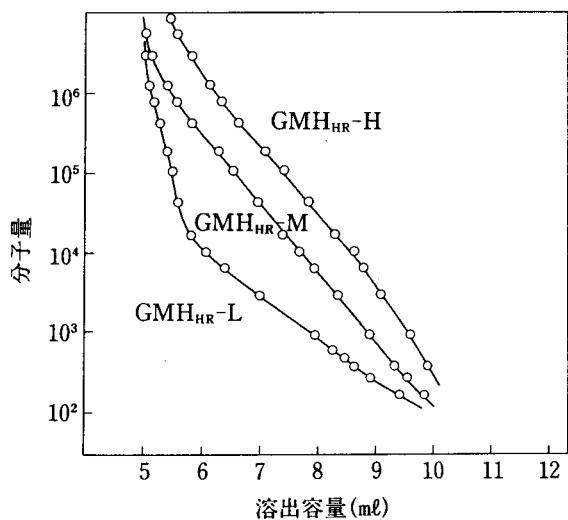


図-2 THFでのポリスチレンによる較正曲線
 カラム；TSK-GEL H_{HR}シリーズ(7.8mmI.D.×30cm)
 溶離液；THF
 流速；1.0ml/min
 温度；25℃
 検出；UV(254nm)
 試料；標準ポリスチレン

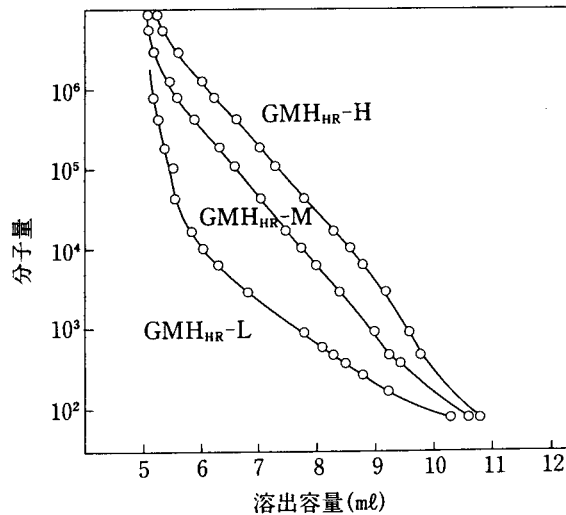


図-4 クロロホルムでのポリスチレンによる較正曲線
 カラム；TSK-GEL H_{HR}シリーズ(7.8mmI.D.×30cm)
 溶離液；クロロホルム
 流速；1.0ml/min
 温度；25℃
 検出；UV(254nm)
 試料；標準ポリスチレン

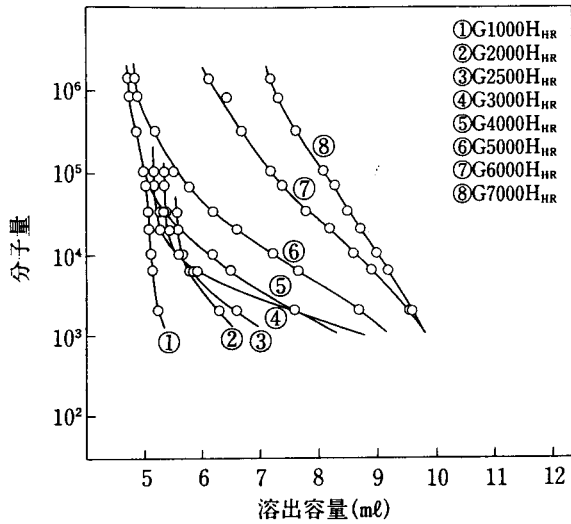


図-5 HFIPでのポリメタクリル酸メチルによる校正
曲線

カラム; TSK-GEL H_{HR}シリーズ(7.8mmI.D.×30cm)
 溶離液; 5mM トリフルオロ酢酸ナトリウム in HFIP
 流速; 1.0ml/min
 温度; 40°C
 検出; UV(220nm)
 試料; 標準ポリメタクリル酸メチル

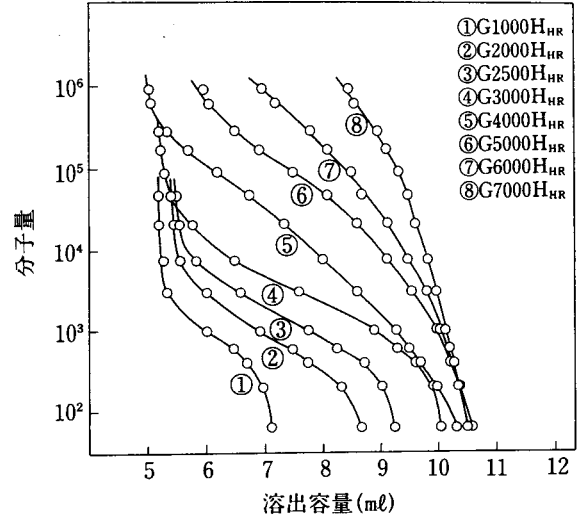


図-7 DMFでのPEO及びPEGによる校正曲線
カラム; TSK-GEL H_{HR}シリーズ(7.8mmI.D.×30cm)

溶離液; 10mM 臭化リチウム in DMF
 流速; 10ml/min
 温度; 25°C
 検出; RI
 試料; 標準ポリエチレンオキシド及びポリエチレング
 リコール

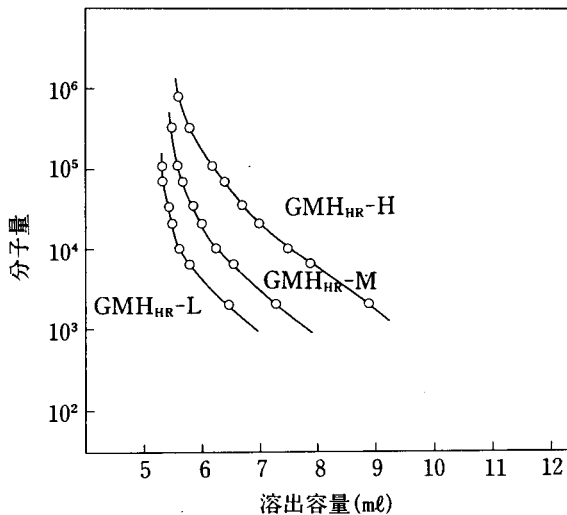


図-6 HFIPでのポリメタクリル酸メチルによる校正
曲線

カラム; TSK-GEL H_{HR}シリーズ(7.8mmI.D.×30cm)
 溶離液; 5mM トリフルオロ酢酸ナトリウム in HFIP
 流速; 1.0ml/min
 温度; 40°C
 検出; UV(220nm)
 試料; 標準ポリメタクリル酸メチル

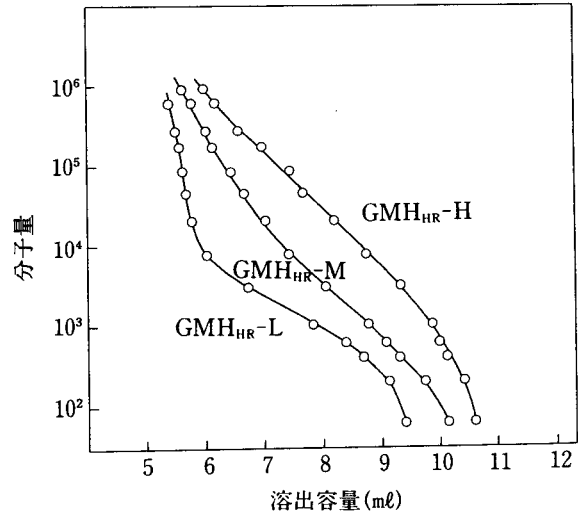


図-8 DMFでのPEO及びPEGによる校正曲線
カラム; TSK-GEL H_{HR}シリーズ(7.8mmI.D.×30cm)

溶離液; 10mM 臭化リチウム in DMF
 流速; 1.0ml/min
 温度; 25°C
 検出; RI
 試料; 標準ポリエチレンオキシド及びポリエチレング
 リコール

3. 基本的性質

3-1. 高分子測定用グレードの分離性能

表-1に示す様にG5000H_{HR}~G7000H_{HR}、GMH_{HR}-M及びGMH_{HR}-Hの高分子測定用グレードは、従来のH_{XL}シリーズのそれに比べ、充填剤の粒子径を5 μ mに微粒子化しているため、高分離能となっています。

図-9にG5000H_{HR}とG5000H_{XL}によるポリスチレン混

合試料の分離クロマトグラムの比較を、図-10にはGMH_{HR}-HとGMH_{XL}、GMH_{HR}-H(S)によるポリスチレン混合試料の分離クロマトグラムの比較を示します。両グレードとも従来のH_{XL}シリーズよりも高分離能であることがわかります。

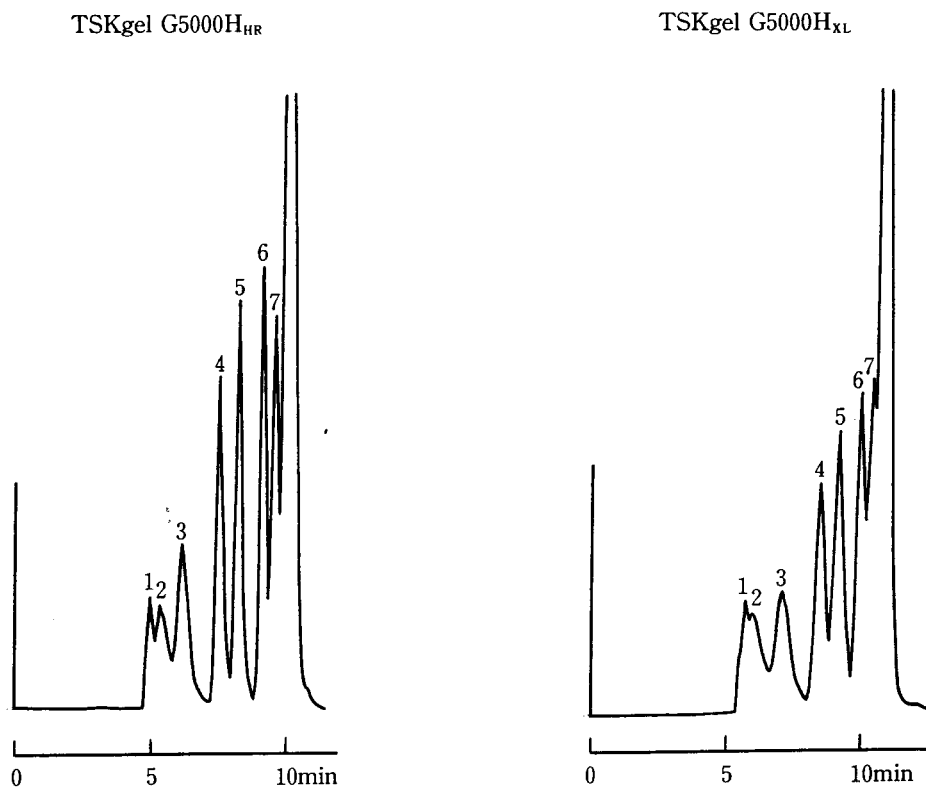


図-9 TSKgel G5000H_{HR}とTSKgel G5000H_{XL}の
分離能の比較

カラム；TSKgel G5000H_{HR}、TSKgel G5000H_{XL}

(共に7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；1.0ml/min

温度；25°C

検出；UV(254nm)

試料；標準ポリスチレン

1.MW 2,890,000 2.MW 1,260,000

3.MW 422,000 4.MW 107,000

5.MW 42,800 6.MW 10,200

7.MW 2,800

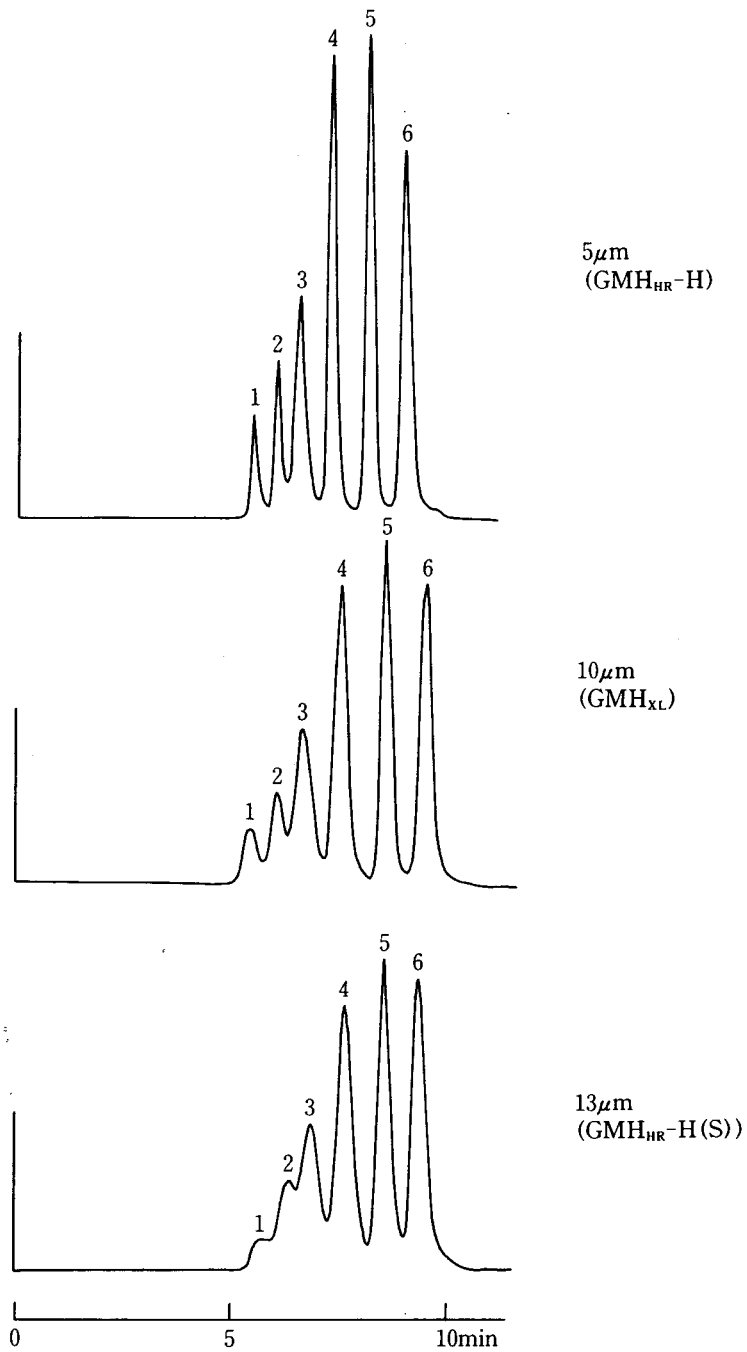


図-10 TSKgel GMHによるポリスチレン混合物の分離

カラム ; TSKgel GMH_{HR}-H, TSKgel GMH_{XL}、
TSKgel GMH_{HR}-H(S)
(すべて7.8mmI.D.×30cm)

溶離液 ; THF

流 速 ; 1.0ml/min

温 度 ; 25°C

検 出 ; UV (254nm)

試 料 ; 標準ポリスチレン

1. MW 8,420,000 2. MW 1,260,000

3. MW 422,000 4. MW 107,000

5. MW 16,700 6. MW 2,800

3-2. 理論段高さ(HETP)の流速依存性

流速の理論段高さ(HETP)への影響は、充填剤の粒子径、試料分子の大きさ溶離液の粘度などに大きく依存します。ここではGMH_{HR}-H(5 μ m)を選択し、試料にはフタル酸ジシクロヘキシル(DCHP)を用い、GMH_{XL}(10 μ m)及びGMH_{HR}-H(S)(13 μ m)とのHETPの流速依存性の比較を図-11に示します。

低分子試料であるDCHPを分離する際、GMH_{HR}-Hは、流速が高くなってもHETPの変化が小さいのに対し、GMH_{XL}やGMH_{HR}-H(S)は、流速の影響を受け、高流速(1.5ml/min以上)でのHETPが大きくなっています。

このように、充填剤の粒子径が小さいGMH_{HR}-Hでは、低分子試料(DCHP)についてHETPの流速依存性が小さいため、特に高流速(1.5~2.0ml/min)を用いて分析時間を短縮することができます。

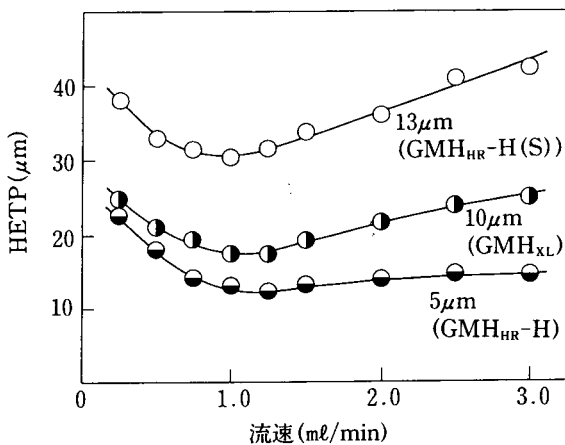


図-11 TSK-GEL GMHにおける測定流速とHETPの関係

カラム；TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{XL}、TSKgel GMH_{HR}-H(S)
(すべて7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；0.25ml/min~3.0ml/min

温度；25℃

検出；UV(254nm)

試料；フタル酸ジシクロヘキシル(DCHP)

図-12にGMH_{HR}-H、GMH_{HR}-H(S)及びGMH_{XL}における高分子試料の分離能と流速の関係を示します。分離能の流速依存性は、GMH_{HR}-H(5 μ m)で最も少なくなっていますが、充填剤の粒子径にかかわらず流速が高くなるにつれて分離能が低下しています。したがって特に高分子試料を分析する場合は、0.5ml/min以下の流速が適していると思われます。

図-13~図-15に、GMH_{HR}-H、GMH_{XL}及びGMH_{HR}-H(S)における標準ポリスチレン混合試料の分離の流速依存性を示します。分子量約300万程度の高分子試料においてもGMH_{HR}-Hは、流速依存性が小さく、高流速での分析が可能です。ただし、個々のピークのシャープ性等を考慮すると、高分子を含む一般試料では、流速は0.5~1.0 ml/minが最適と思われます。

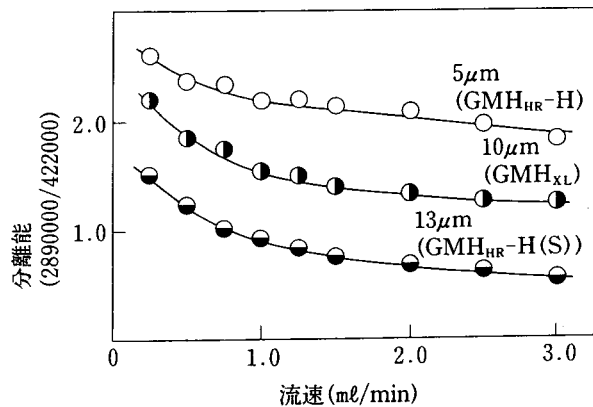


図-12 TSK-GEL GMHにおける測定流速と分離能の関係

カラム；TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{XL}、TSKgel GMH_{HR}-H(S)
(すべて7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；0.25ml/min~3.0ml/min

温度；25℃

検出；UV(254nm)

試料；標準ポリスチレン

MW 2,890,000及び422,000

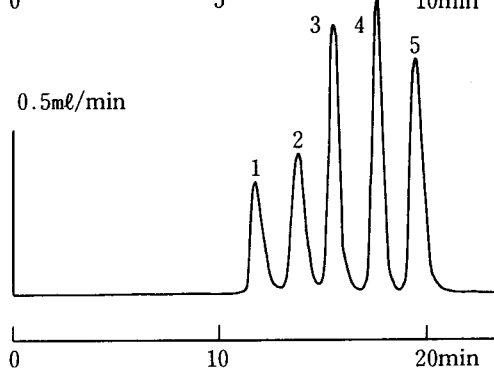
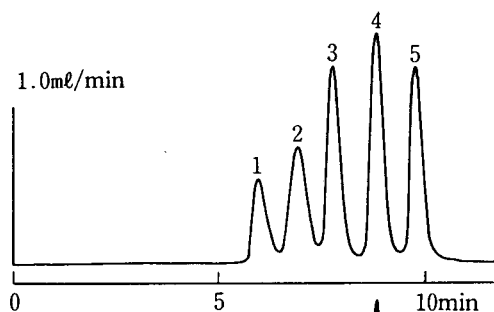
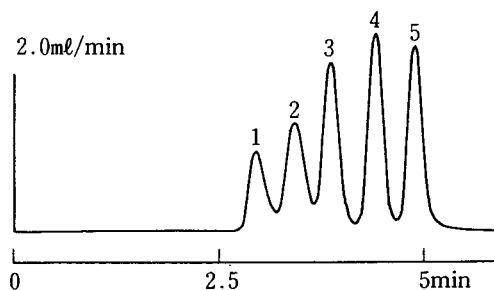
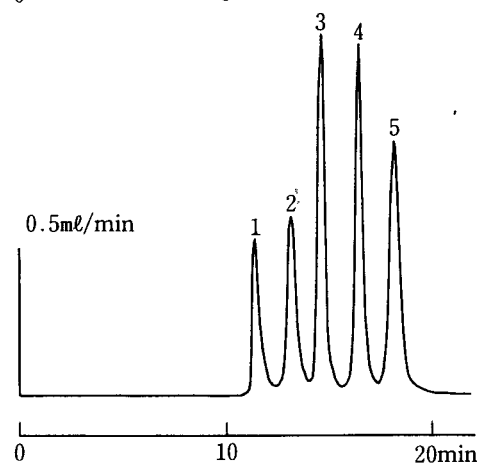
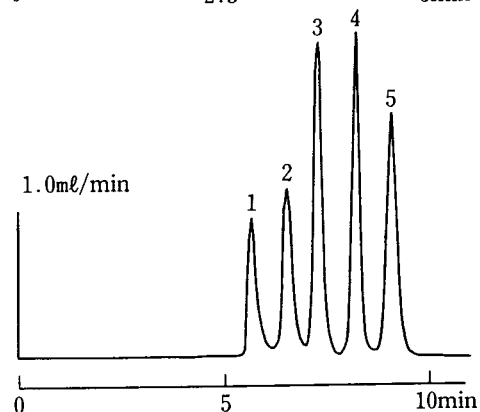
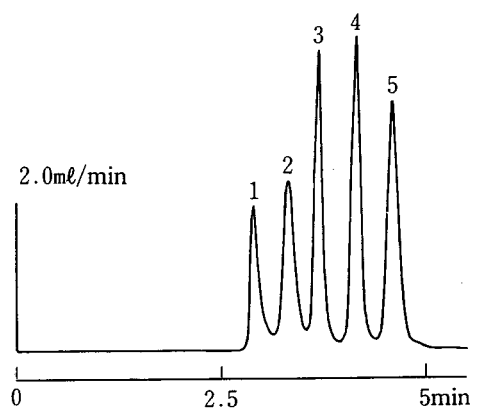


図-13 TSKgel GMH_{HR}-Hによる標準ポリスチレンの分離の流速依存性

カラム；TSKgel GMH_{HR}-H(7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；0.5、1.0、2.0ml/min

温度；25℃

検出；UV(254nm)

試料；標準ポリスチレン

1.MW 2,890,000 2.MW 422,000

3.MW 107,000 4.MW 16,700

5.MW2,800

図-14 TSKgel GMH_{XL}による標準ポリスチレンの分離の流速依存性

カラム；TSKgel GMH_{XL}(7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；0.5、1.0、2.0ml/min

温度；25℃

検出；UV(254nm)

試料；標準ポリスチレン

1.MW 2,890,000 2.MW 422,000

3.MW 107,000 4.MW 16,700 5.MW 2,800

3-3. 溶媒交換性

表-3にG2000H_{HR}とG2000H_{XL}の各種有機溶媒中での充填剤の膨潤・収縮特性の比較を示します。H_{HR}シリーズの充填剤は各種溶媒への膨潤・収縮がH_{XL}シリーズに比べ、非常に小さくなっていますので、カラムの出荷溶媒であるTHFから各種溶媒へ溶媒交換が可能であることが類推できます。

表-3 TSKgel G2000H_{HR}とG2000H_{XL}の膨潤・収縮特性の比較

溶 媒	膨潤・収縮度	
	G2000H _{HR}	G2000H _{XL}
トルエン	1.01	1.06
ベンゼン	1.00	—
THF	1.00	1.00
DMF	0.99	0.86
アセトン	0.99	0.86
メタノール(MeOH)	0.98	0.67
THF/水=1/1	0.98	—
MeOH/水=1/1	0.93	—
水	0.86	0.52

※THFでの膨潤体積を1.00として、各種溶媒での膨潤・収縮度。

表-4及び表-5に、実際にカラムをTHFから直接、他の有機溶媒に交換した際の理論段数の変化を示します。溶媒交換は、THFから直接、有機溶媒に交換し、その溶媒で1週間放置後、再びTHFに交換してから、他の有機溶媒へ交換していく方法を用いています。すなわち溶媒交換は、(THF→有機溶媒)を1セットとして、異なる有機溶媒へ連続交換していく際のカラムの充填性の変化をみています。

表-4では、G2000H_{HR}において8種類の有機溶媒へ溶媒交換を行っていますが、ベンゼンの理論段数は、ほとんど変化しておらず、溶媒交換にも、カラムは安定であることがわかります。

表-5ではG1000H及びG2500Hにおいて、H_{HR}シリーズ及びH_{XL}シリーズの溶媒交換性を比較しています。H_{XL}シリーズでは、クロロホルム、DMFへの溶媒交換は可能でしたが、HFIPに交換した場合、カラムの入口側に隙間(void)ができてしまい、充填剤が収縮しています。

一方、H_{HR}シリーズはHFIPに対しても、THFから直接溶媒交換が可能であり、その後、連続してエタノールまで置換することが可能です。(ただしG2500H_{HR}ではエタノール交換後のベンゼンの段数が、保証段数の16,000段を若干下まわっています)

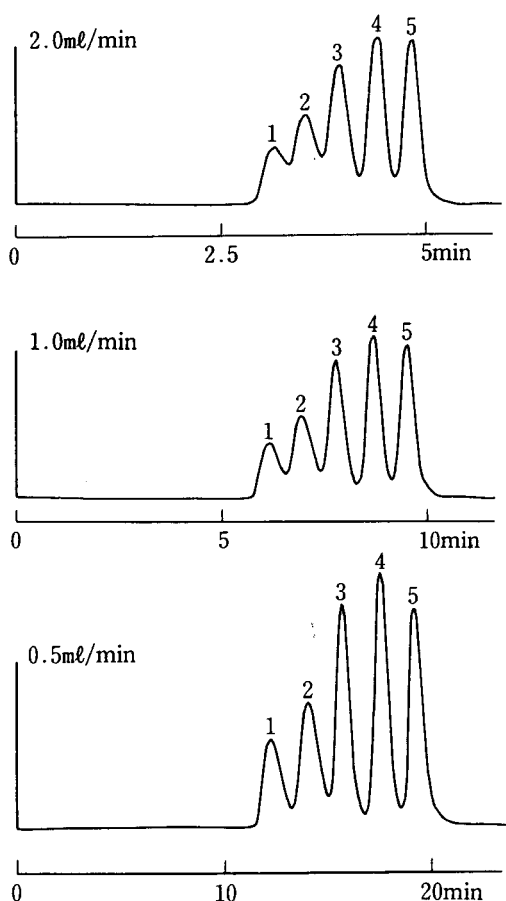


図-15 TSKgel GMH_{HR}-H(S)による標準ポリスチレンの分離の流速依存性

カラム；TSKgel GMH_{HR}-H(S) (7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；THF

流 速；0.5、1.0、2.0ml/min

温 度；25℃

検 出；UV (254nm)

試 料；標準ポリスチレン

1.MW 2,890,000 2.MW 422,000

3.MW 107,000 4.MW 16,700 5.MW 2,800

以上のようにTSK-GEL H_{HR}シリーズは、従来のH_{XL}シリーズでは不可能であった良溶媒(THF、クロロホルム等)から貧溶媒(DMF、HFIP等)への交換が可能となりました。また溶媒交換も流速0.5~1.0ml/minという分析の流速と同じ流速で行うことができます。さらに貧溶媒から貧溶媒への溶媒交換(例えばDMSO→DMF、アセトン→メタノール)も可能であり、特に粘度の高い溶媒へ

の置換に関しても、一般的な溶媒交換法としての0.3ml/min以下の低流速による溶媒交換で対応できると考えられます。

このように、1本のカラムで種々の有機溶媒への交換ができるため、HRカラムを用いれば、様々な有機溶媒での分析が行え、非常に多くの情報が入手できることが期待できます。

表-4 TSKgel G2000H_{HR}の溶媒交換性

溶 媒	カラムNo.1	カラムNo.2
	理論段数(TP/30cm)	
THF	22200	20900
クロロホルム		
THF	21400	20300
DMF		
THF	21800	23400
DMSO		
THF	24100	21200
ジオキササン		
THF	223000	20700
ODCB		
THF	22300	21100
アセトン		
THF	22400	19800
HFIP		
THF	22000	19300
キノリン		
THF	21700	19900

<溶媒交換条件>

テスト溶媒への交換時の流速：0.5ml/min

および交換時の温度：25℃

THFからテスト溶媒への交換時間：16時間

テスト溶媒での放置期間：1週間

テスト溶媒からTHFへの交換時の流速：1.0ml/min

および交換時の時間：1時間

<理論段数測定条件>

溶離液；THF

流 速；1.0ml/min

温 度；25℃

検 出；UV(254nm)

試 料；ベンゼン 20μl

表-5 TSK-GEL H_{HR}とH_{XL}シリーズの溶媒交換性の比較

溶 媒	H _{HR}		H _{XL}	
	G1000	G2500	G1000	G2000
	理論段数(TP/30cm)			
THF	18700	20700	20300	20550
クロロホルム				
THF	19000	17800	20400	20800
DMF				
THF	18700	18200	17200	21300
HFIP			Void*	Void*
THF	18200	16600		
メチルセルソルブ			Void*	Void*
THF	18500	17400		
DMSO				Void*
THF	16900	18200		
四塩化炭素				
THF	19500	17200		
エタノール				Void*
THF	17200	15400		

<溶媒交換条件>

テスト溶媒への交換時の流速：1.0ml/min

および交換時の温度：25℃

THFからテスト溶媒への交換時間：24時間

テスト溶媒での放置期間：1週間

テスト溶媒からTHFへの交換時の流速：1.0ml/min

および交換時の時間：1時間

<理論段数測定条件>

溶離液；THF

流 速；1.0ml/min

温 度；25℃

検 出；UV(254nm)

試 料；ベンゼン 20μl

*：カラム入り口側に、隙間が生じた。

3-4. 機械的強度

図-16にG2000H_{HR}及びG2500H_{HR}、G2000H_{XL}とG2500H_{XL}を流速2.5ml/minで通液した際のカラム効率の変化を示します。H_{XL}シリーズは、高流速では、ランニング時間とともに理論段数の低下が観察されますが、H_{HR}シリーズには、400時間でも理論段数の変化が起きておらず、H_{HR}シリーズは、溶媒交換に対する耐久性のみならず、機械的強度にも優れていることがわかります。

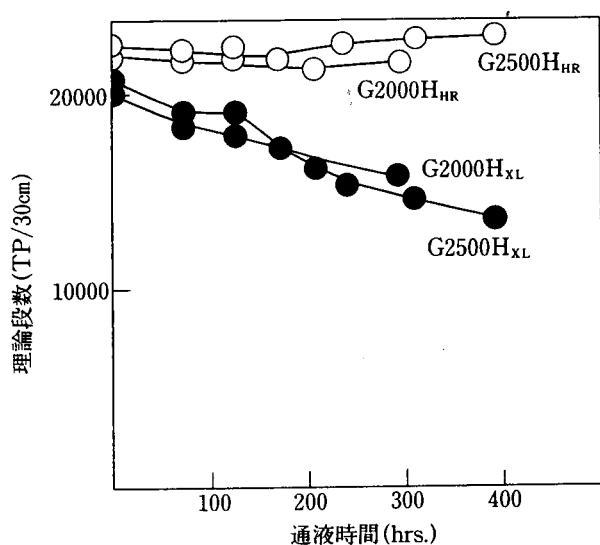


図-16 TSK-GEL H_{HR}とH_{XL}の高流速での
カラム効率変化

カラム；TSKgel G2000H_{HR}、TSKgel G2500H_{HR}
TSKgel G2000H_{XL}、TSKgel G2500H_{XL}
(各7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；1.0ml/min

温度；25°C

検出；UV(254nm)

試料；ベンゼン

理論段数測定条件は表-4に同じ

3-5. 超高分子の分離

試料の分析に関して、充填剤の微粒子化を行い、カラムの高性能化を達成し、短時間に高分離測定を終了することは、非常に有意義なことです。しかし、高分子あるいは超高分子の平均分子量及び分子量分布を再現性良く正確に測定するためには、特に次の項目について注意する必要があります。

- ①試料負荷量(濃度、注入量)
- ②オーバーロード現象
- ③分子鎖切断
- ④カラム温度

3-5-1. 試料負荷量

試料負荷量は試料の分子量、種類、移動相及び充填剤の粒子径に依存し、分子量が大きいほど、また粒子径が小さいほど試料負荷量が小さくなります。また、高分子試料の場合、試料負荷量を大きくする方法として出来るだけ試料濃度を下げて(0.02%以下)、注入量を多くすることが知られています⁶⁷⁾。

図-17にGMH_{HR}-HとGMH_{XL}及びGMH_{HR}-H(S)を用いて標準ポリスチレンのMW 2,890,000と422,000の分離能と、試料注入量の関係を示します。分離能の試料注入量依存性は、粒子径が小さいグレードほど大きくなっています。分離能を低下させない最大試料注入量は、GMH_{HR}-Hでは10 μ l以下、GMH_{XL}では約20 μ l、GMH_{HR}-H(S)では約100 μ lと考えられます。またGMH_{HR}-Hではオーバーロード現象が見られない場合は、試料負荷量を50 μ l程度にしても比較的高い分離能が得られています。さらにそれ以上の注入量が必要な場合は、粒子径の大きいTSKgel GMH_{HR}-H(S)が優れていることがわかります。

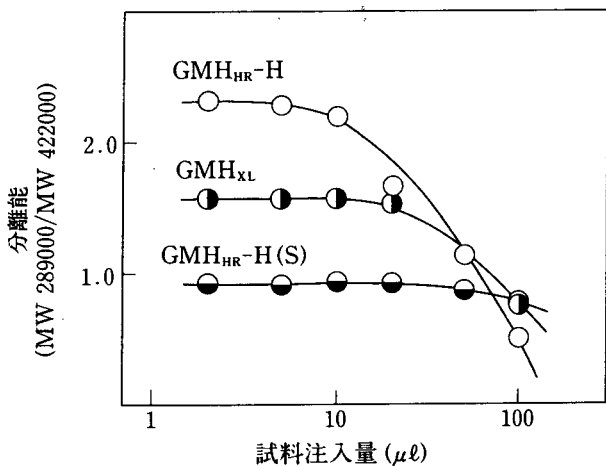


図-17 TSK-GEL GMHにおける試料注入量と分離能の関係

カラム；TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{XL}

TSKgel GMH_{HR}-H(S) (各7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；1.0ml/min

温度；25℃

検出；UV(254nm)

試料；標準ポリスチレン(MW 2,890,000,422,000)

3-5-2. オーバーロード現象

試料負荷量と同様に、高分子試料を分離する際に試料注入量が増加するにつれて、オーバーロード現象が見られることがあります。図-18~図-20に粒子径の異なる充填剤における試料注入量の影響を示します。図-18のGMH_{HR}-Hでは、試料注入量20 μ l以上でMW2,890,000の試料が、試料注入量100 μ lでMW422,000の試料でオーバーロード現象が見られ、ピークが広がったり、正常な溶出位置よりも遅れてきています。図-19のGMH_{XL}では、試料を100 μ l注入した場合、同様の現象が見られます。

一方、粒子径の大きい(13 μ m)のGMH_{HR}-H(S)では、オーバーロード現象は見られず、3-5-1で述べたように、高分子試料を注入量を増やしたい場合は、このGMH_{HR}-H(S)が最適と言えます。

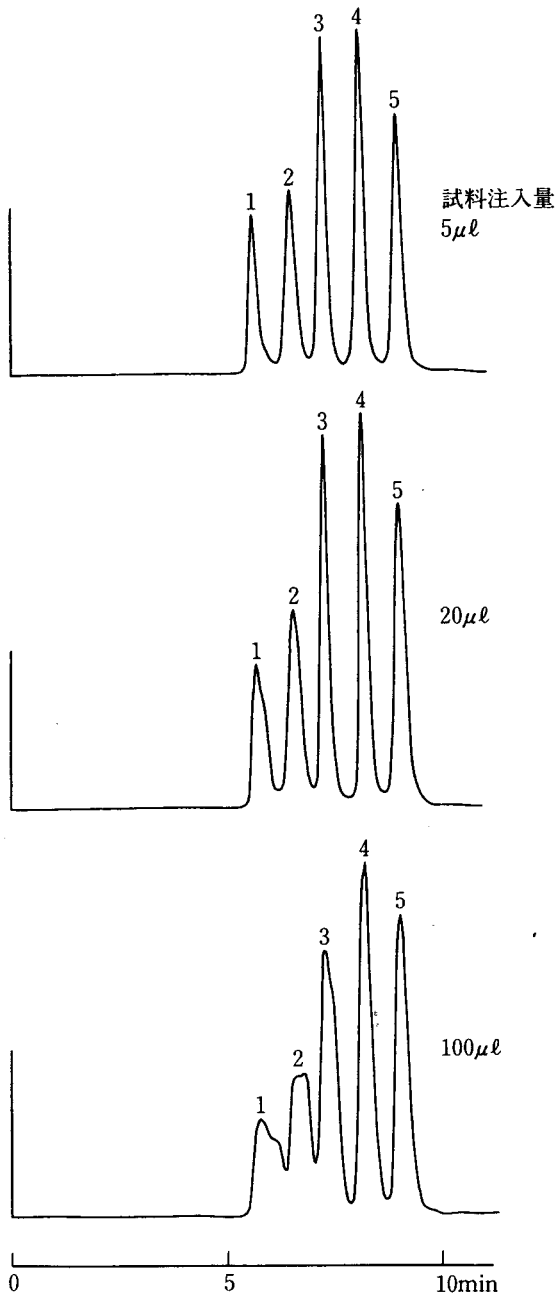


図-18 TSKgel GMH_{HR}-Hによるポリスチレンの分離
における試料負荷量の影響

カラム；TSKgel GMH_{HR}-H(7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；1.0ml/min

温度；25℃

検出；UV(254nm)

試料；標準ポリスチレン(5μl、20μl、100μl)

1.MW 2,890,000(0.5mg/ml)

2.MW 422,000(0.7mg/ml)

3.MW 107,000(1.0mg/ml)

4.MW 16,700(1.0mg/ml)

5.MW 2,800(1.0mg/ml)

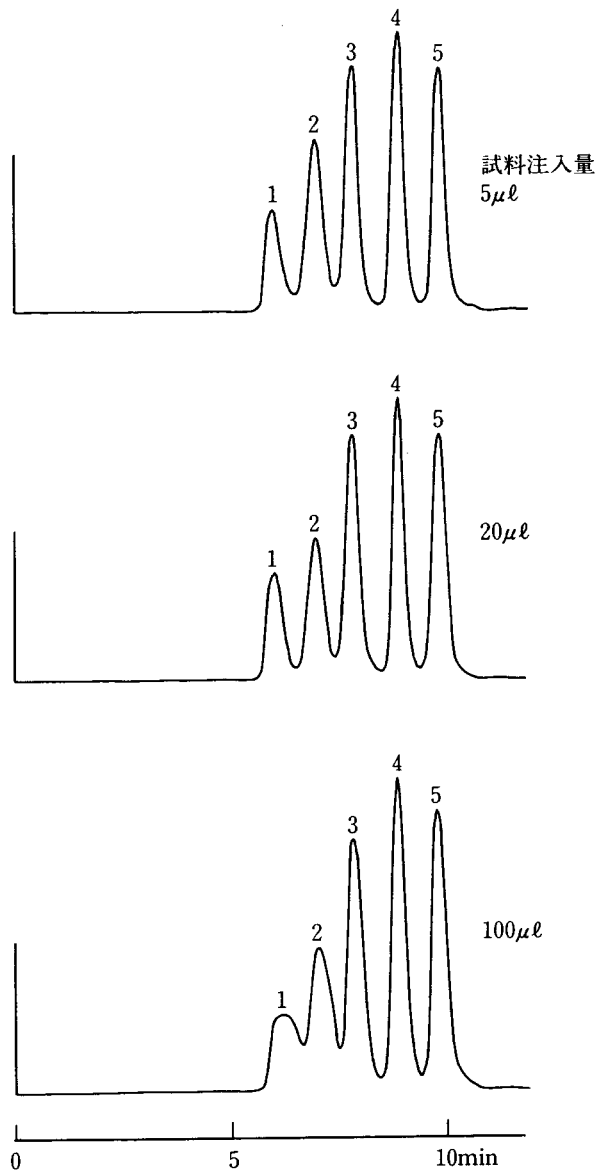


図-19 TSKgel GMH_{XL}によるポリスチレンの分離にお
ける試料負荷量の影響

カラム；TSKgel GMH_{XL}(7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；1.0ml/min

温度；25℃

検出；UV(254nm)

試料；標準ポリスチレン(5μl、20μl、100μl)

1.MW 2,890,000(0.5mg/ml)

2.MW 422,000(0.7mg/ml)

3.MW 107,000(1.0mg/ml)

4.MW 16,700(1.0mg/ml)

5.MW 2,800(1.0mg/ml)

3-5-3. 分子鎖切断

この現象は、特に超高分子試料の測定で観察されます。分子鎖切断(Shear degradation)は、微粒子充填剤を用いたり、高流速で測定した場合に起こりやすくなります。

図-21にTSK-GEL GMHを用いた、分子鎖切断と充填剤の粒子径の関係を示します。流速1.0ml/minの場合、超高分子試料(MW 20,600,000)が正常に溶出しているのは、粒子径の大きいTSKgel GMH_{HR}-H(S)のみです。TSKgel GMH_{XL}やGMH_{HR}-Hでは分子鎖切断が起き、低分子側に新たなピークが観察されています。

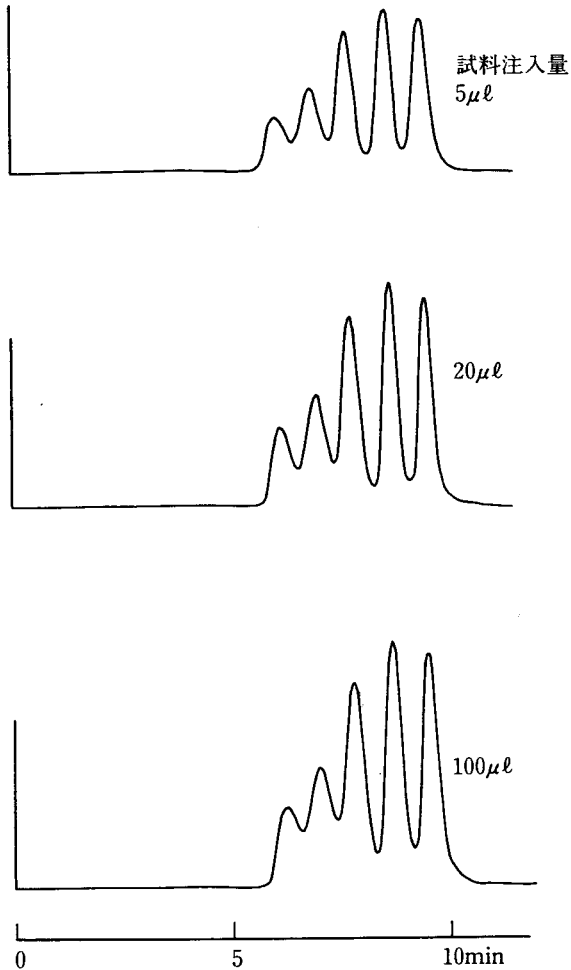


図-20 TSKgel GMH_{HR}-H(S)によるポリスチレンの分離における試料負荷量の影響

カラム；TSKgel GMH_{HR}-H(S) (7.8mm I.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；1.0ml/min

温度；25°C

検出；UV (254nm)

試料；標準ポリスチレン (5μl, 20μl, 100μl)

1. MW 2,890,000 (0.5mg/ml)

2. MW 422,000 (0.7mg/ml)

3. MW 107,000 (1.0mg/ml)

4. MW 16,700 (1.0mg/ml)

5. MW 2,800 (1.0mg/ml)

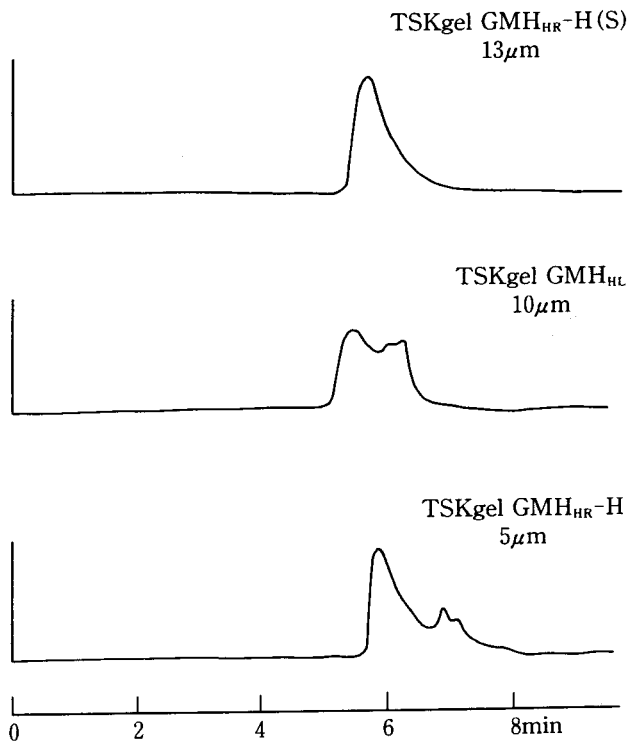


図-21 TSK-GEL GMHにおける高分子試料の分子鎖切断の粒子径依存性

カラム；TSKgel GMH_{HR}、TSKgel GMH_{XL}

TSKgel GMH_{HR}-H(S) (各7.8mm I.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；1.0ml/min

温度；25°C

検出；UV (254nm)

試料；標準ポリスチレン F-2000 (MW 20,600,000) 20μl (0.025%)

図-22には、分子鎖切断の流速依存性を示します。GMH_{XL}では、流速を0.6ml/minまで下げることによって分子鎖切断を抑えることができます。しかしGMH_{HR-H}では、流速0.4ml/minでも、分子鎖切断を抑えることが

できませんでした。したがって、H_{HR}シリーズで超高分子試料を測定する場合は(S)タイプを使用するのが効果的と思われます。

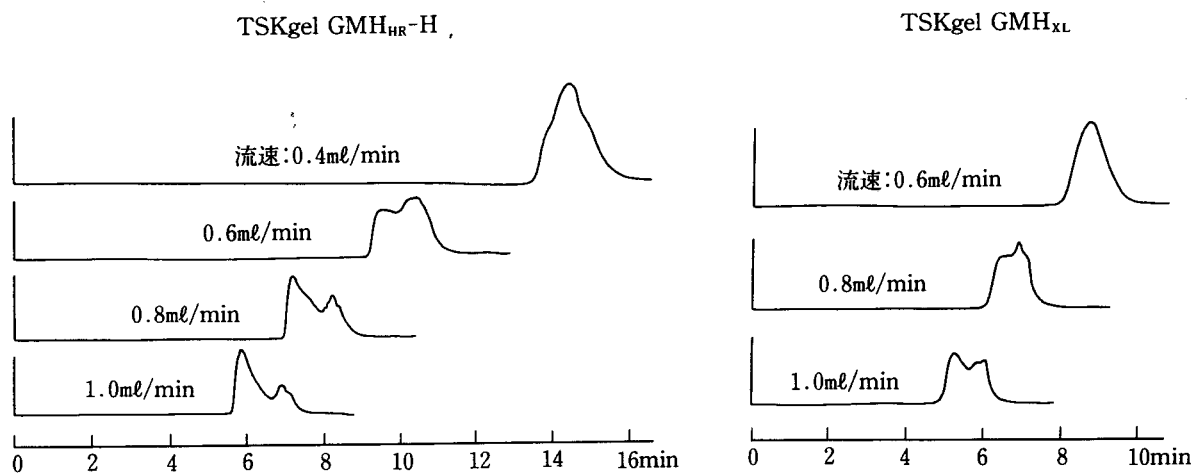


図-22 TSKgel GMH_{HR-H}とTSKgel GMH_{XL}における試料の分子鎖切断の流速依存性

カラム；TSKgel GMH_{HR-H}、TSKgel GMH_{XL}
(各7.8mm I.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；0.4～1.0ml/min

温度；25℃

検出；UV(254nm)

試料；標準ポリスチレンF-2000(MW 20,600,000)

20μl(0.025%)

3-5-4. カラム温度

一般に、カラム温度が高くなると、分配係数(Kd)の変化により、試料の溶出は早くなります⁸⁾。図-23に、GMH_{HR}-Hを用いた時の、標準ポリスチレンによる校正曲線のカラム温度依存性を示します。

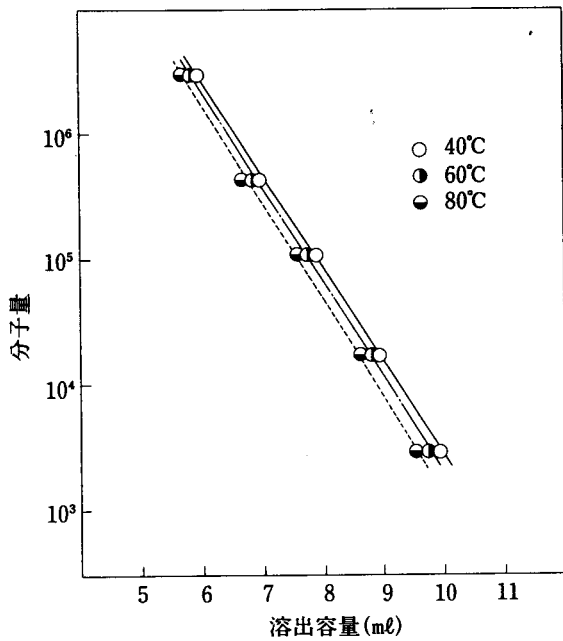


図-23 TSKgel GMH_{HR}-Hにおける校正曲線の温度依存性

カラム：TSKgel GMH_{HR}-H(7.8mmI.D.×30cm)

溶離液：DMF

流速：1.0ml/min

温度：40°C～80°C

検出：RI

試料：標準ポリスチレン

3-6. ミックスカラム(リニアタイプ)

TSK-GEL H_{HR}シリーズでは、リニアタイプのミックスカラムを3グレード用意しています。GMH_{HR}-Hは、分子量 $10^3 \sim 10^7$ の分画範囲で、またGMH_{HR}-Mは、分子量 $500 \sim 10^6$ の分画範囲で校正曲線に直線性を持たせてあります。GMH_{HR}-Lは、分子量 10^4 以下の低分子試料に、またオリゴマー分析用に設計されており、特に高分子領域も分離しながら、オリゴマー領域を分離能良く測定するという、パターン分析に最適です。さらに、超高分子分析用にGMH_{HR}-H(S)とGMH_{HR}-M(S)を用意しています。

図-2に、溶離液にTHFを、試料に標準ポリスチレンを使用した時の校正曲線を示します。図-4、図-6、及び図-8には、クロロホルム、HFIP及びDMFを溶離液にした時の校正曲線を示します。

図-24~図-27には、GMH_{HR}シリーズによる標準ポリスチレン混合試料の分離クロマトグラムの比較を示します。

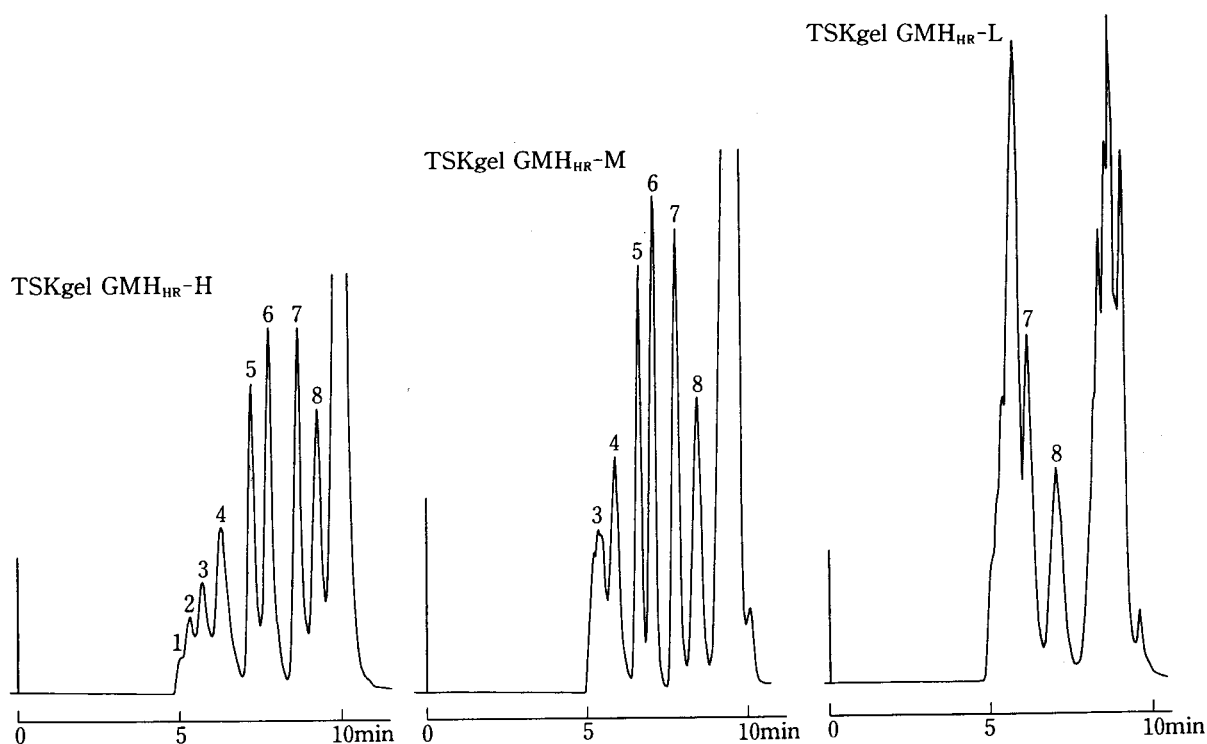


図-24 TSK-GEL GMH_{HR}シリーズの標準

ポリスチレンの分離の比較(1)

カラム；TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M、

TSKgel GMH_{HR}-L(各7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；1.0ml/min

温度；25℃

検出；UV(254nm)

試料；標準ポリスチレン

1.MW 8,420,000 2.MW 2,890,000

3.MW 1,260,000 4.MW 422,000

5.MW 107,000 6.MW 42,800

7.MW 10,200 8.MW 2,800

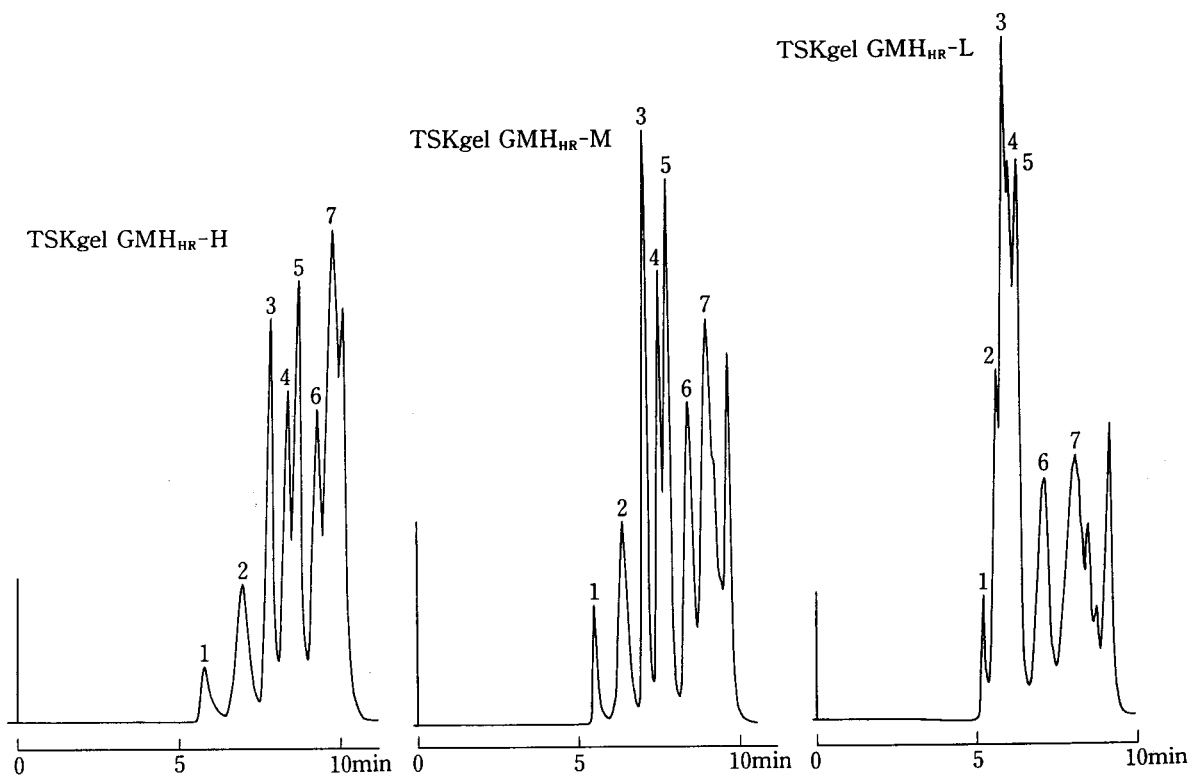


図-25 TSK-GEL GMH_{HR}シリーズの標準

ポリスチレンの分離の比較(2)

カラム；TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M

TSKgel GMH_{HR}-L(各7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；1.0ml/min

温度；25°C

検出；UV(254nm)

試料；標準ポリスチレン

1.MW 1,260,000 2.MW 186,000

3.MW 42,800 4.MW 16,700

5.MW 10,200 6.MW 2,800 7.A-1000

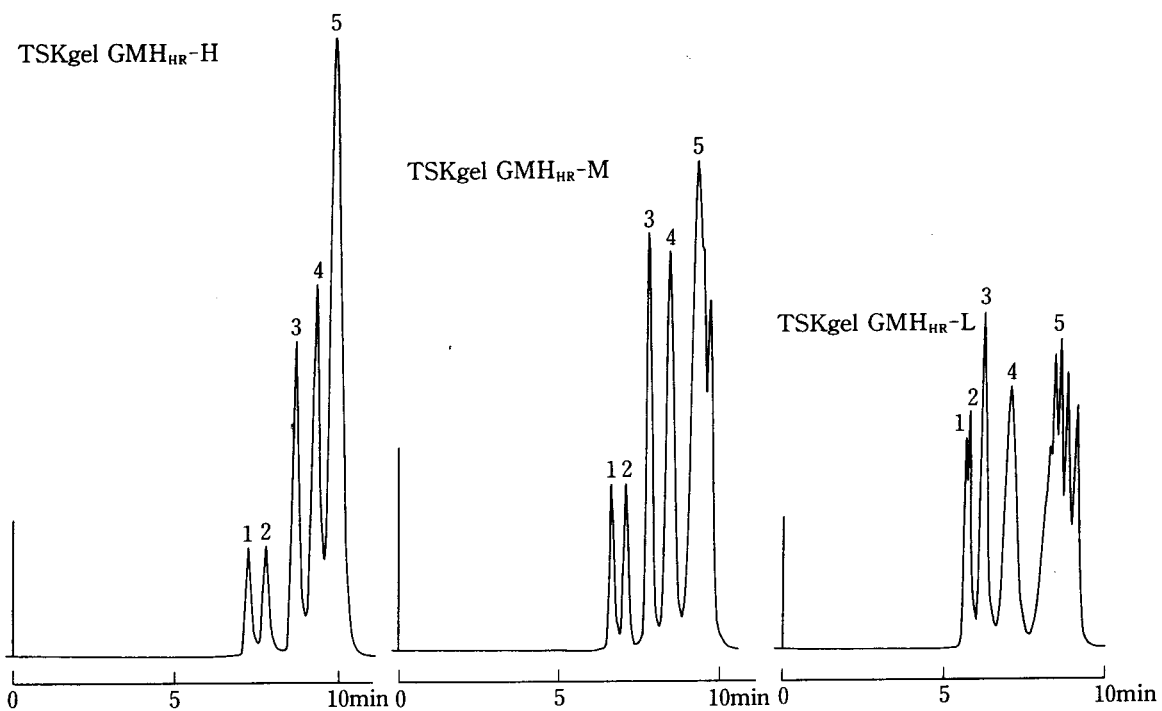


図-26 TSK-GEL GMH_{HR}シリーズの標準

ポリスチレンの分離の比較(3)

カラム ; TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M

TSKgel GMH_{HR}-L (各7.8mmI.D.×30cm)

溶離液 ; THF

流 速 ; 1.0ml/min

温 度 ; 25°C

検 出 ; UV (254nm)

試 料 ; 標準ポリスチレン

1. MW 107,000 2. MW 42,800

3. MW 10,200 4. MW 2,800

5. MW A-500

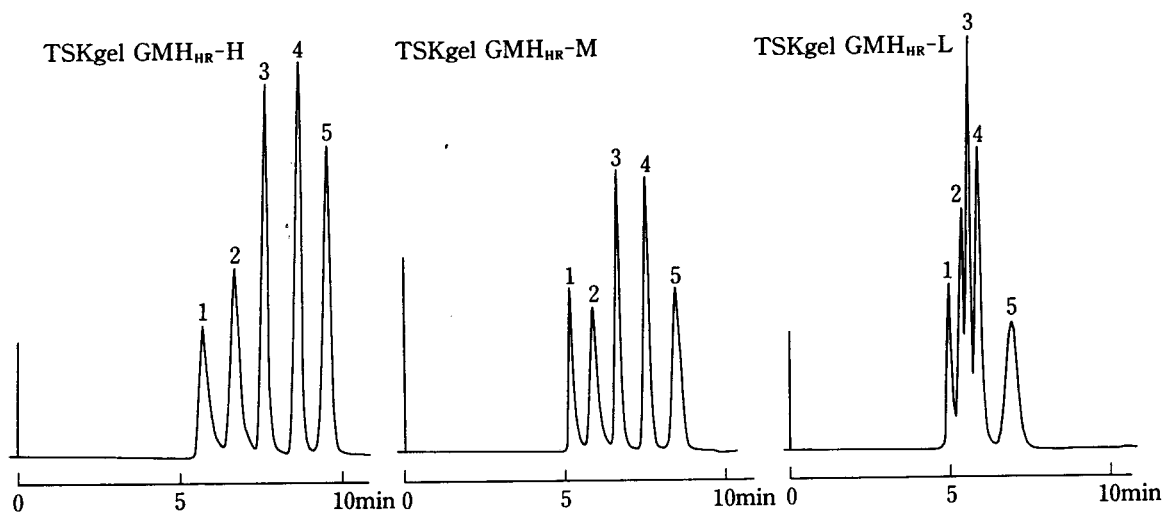


図-27 TSK-GEL GMH_{HR}シリーズの標準

ポリスチレンの分離の比較(4)

カラム；TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M
TSKgel GMH_{HR}-L(各7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；1.0ml/min

温度；25°C

検出；UV(254nm)

試料；標準ポリスチレン

1.MW 2,890,000 2.MW 422,000

3.MW 107,000 4.MW 16,700

5.MW 2,800

図-28には、エポキシ樹脂(エピコート1001)の分離クロマトグラムの比較を示します。

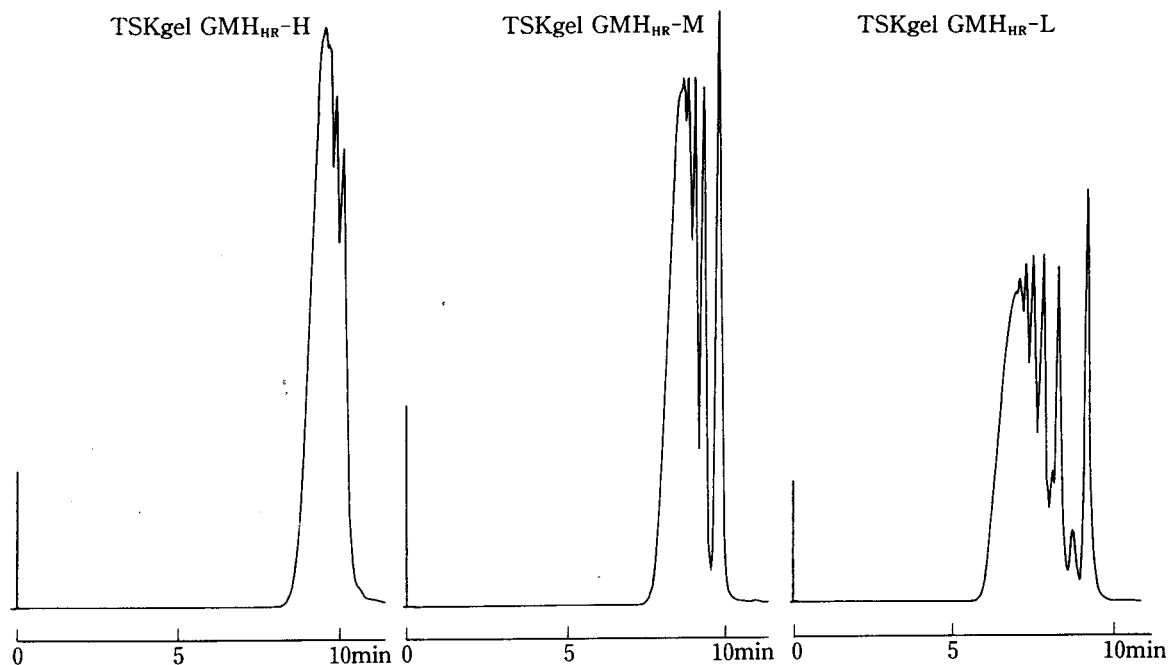


図-28 TSK-GEL GMH_{HR}シリーズによるエポキシ樹脂(エピコート1001)の分離の比較

カラム ; TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M
TSKgel GMH_{HR}-L(各7.8mmI.D.×30cm)

溶離液 ; THF

流速 ; 1.0ml/min

温度 ; 25°C

検出 ; UV(254nm)

試料 ; エポキシ樹脂(エピコート1001)

図-29には、フェノール樹脂の分離クロマトグラムの比較を示します。

それぞれ図からわかるように、最適な分画範囲(高分離能領域)が各グレードで異なることがわかります。

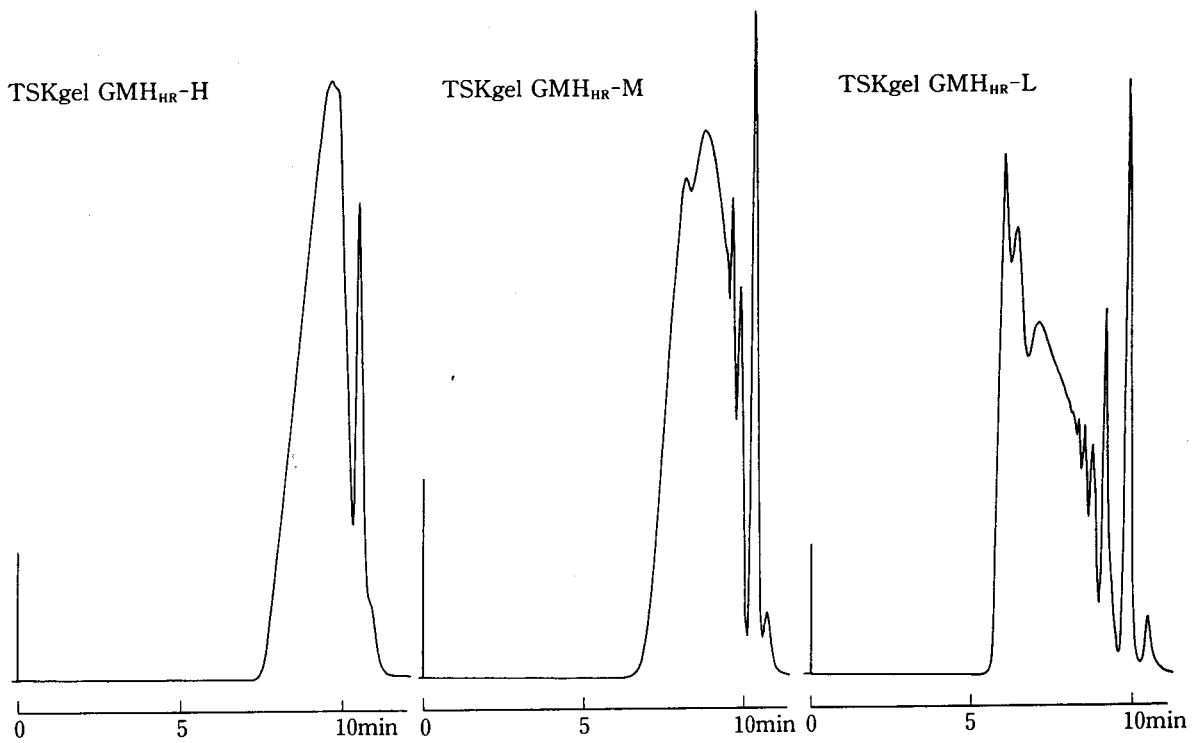


図-29 TSK-GEL GMH_{HR}シリーズによるフェノール樹脂の分離の比較

カラム；TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M
TSKgel GMH_{HR}-L(各7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；THF

流速；1.0ml/min

温度；25℃

検出；UV(254nm)

試料；フェノール樹脂

3-7. 特殊溶媒における塩の添加効果

ポリマーの分子中あるいは末端に、スルホン基やカルボキシル基のようなイオン性解離基を有する試料を、DMF溶媒で測定すると、試料の溶出位置が非常に早くなることがあります。この原因は、静電的作用によるポリマーコイルの拡大、分子間の会合による高分子構造の肥大化、また極性基とDMFとの双極子相互作用、さらに試料の解離基と充填剤とのイオンの反発によるものと解釈され、この現象の抑制法として、DMF溶離液へのリチウム塩(LiBr、LiCl)の添加が提案されています^{9)~11)}。

この他にも、フェノール樹脂¹²⁾、尿素樹脂¹³⁾及びカルボキシル基を有するポリマー^{14)~17)}で同様の現象が観察されています。またHannら¹⁸⁾は、4級化されたポリウレタンでは、吸着現象を観察しています。

ここでは、DMF溶離液、THF/メタノール混合溶離液及びHFIP溶離液と塩(LiBr、トリフルオロ酢酸ナトリウム)添加系を用い、カラムには、TSK-GEL H_{HR}シリーズを用い、アルキド樹脂、フェノール樹脂及びポリアーテリイミドの溶出挙動を調べました。

図-30に、G3000H_{HR}を用い、アルキド樹脂とフェノール樹脂の溶出挙動をDMF溶離液及びLiBr添加系での結果を示します。

DMF溶離液では、両樹脂とも静電的な相互作用で溶出が異常に早くなっていますが、LiBrをDMF溶離液に添加することにより、正常なクロマトグラムが得られる様になっています。アルキド樹脂の場合は、およそ30mMの塩濃度、フェノール樹脂では、10mM程度の塩濃度で正常な測定が行えます。

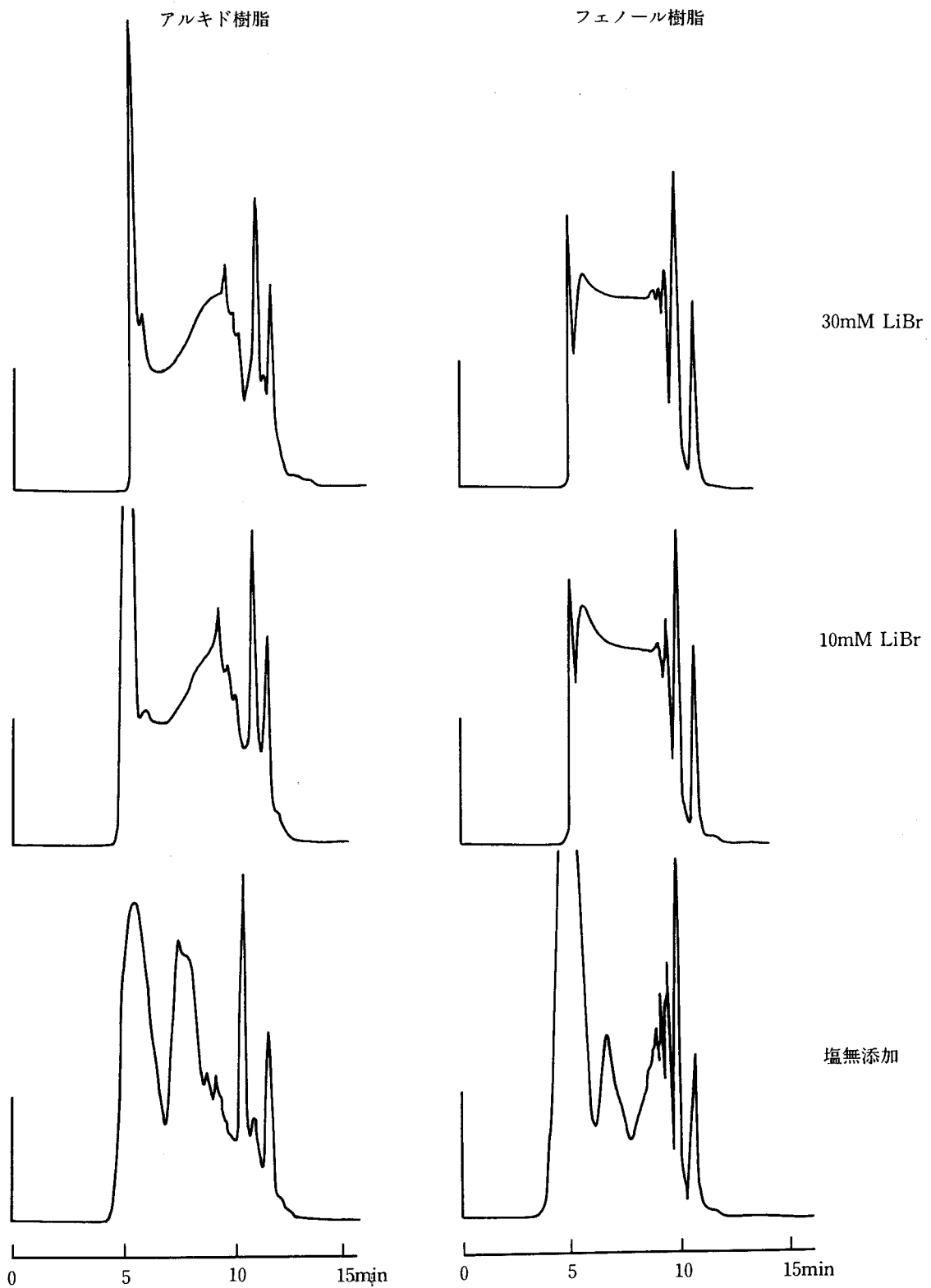


図-30 TSKgel G3000H_{HR}によるアルキド樹脂及び
フェノール樹脂の分離

カラム；TSKgel G3000H_{HR}(7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；DMF(LiBrを含む)

流 速；1.0ml/min

温 度；25°C

検 出；UV(270nm)

試 料；アルキド樹脂、フェノール樹脂

図-31に、G3000H_{HR}を用い、アルキド樹脂とフェノール樹脂の溶出挙動をTHF/メタノール=6/4溶離液及び20mM LiBr添加系での結果を示します。THF/メタノール=6/4溶離液でも、DMF溶離液と同様に、両樹脂とも静電的な相互作用で溶出が異常に早くなっていますが、20 mM LiBrをTHF/メタノール=6/4溶離液に添加することにより、正常なクロマトグラムが得られる様になっています。

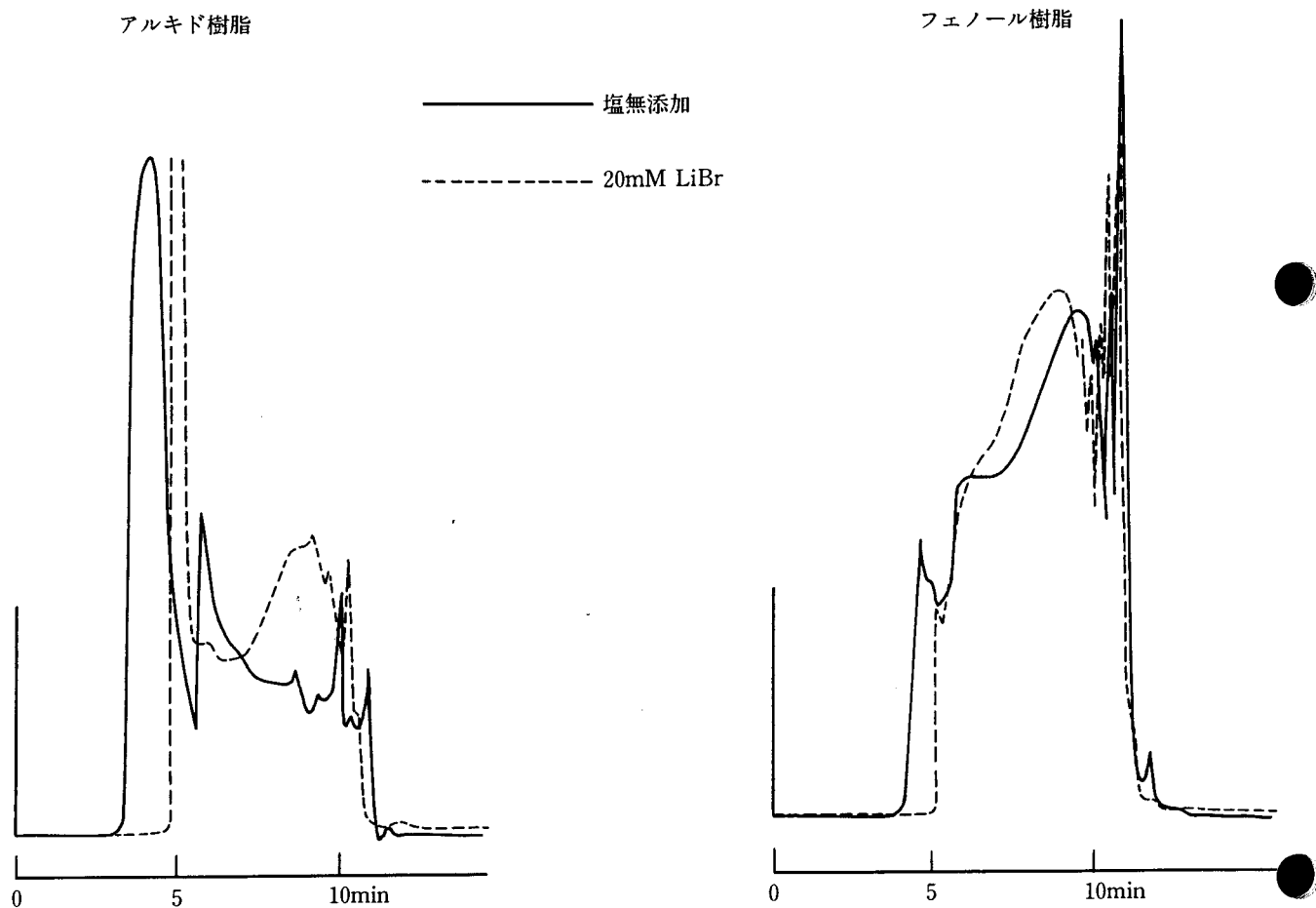


図-31 TSKgel G3000H_{HR}によるアルキド樹脂及びフェノール樹脂の分離

カラム；TSKgel G3000H_{HR} (7.8mm I.D. × 30cm)

溶離液；THF/メタノール=6/4 (LiBrを含む)

流速；1.0ml/min

温度；25°C

検出；UV (254nm)

試料；アルキド樹脂及びフェノール樹脂

図-32に、G4000H_{HR}とG5000H_{HR}を用い、ポリエーテルイミドの溶出挙動をHFIP溶離液及び10mM トリフルオロ酢酸ナトリウム添加系での結果を示します。ポリエーテルイミドの測定では、図-30、図-31のDMF溶離液やTHF/メタノール=6/4溶離液とは異なった現象が観察され、塩の無添加系では、吸着現象が観察されますが、HFIP溶離液に10mM トリフルオロ酢酸ナトリウムを添加することにより、正常なGPC測定が行える様になっています。

以上のように、特殊溶媒系で分析を行う場合には、試料の溶出挙動が異常な場合があり、溶媒に塩を添加することで、正常なクロマトグラムが得られる場合があります。

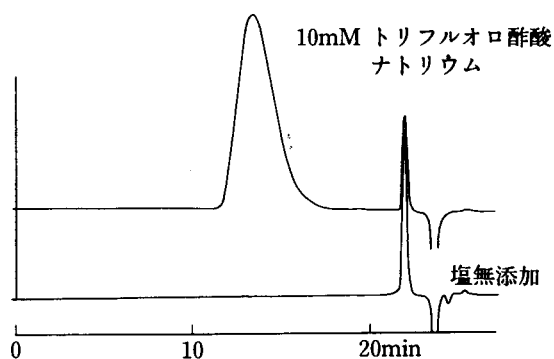


図-32 TSKgel H_{HR}によるポリエーテルイミドの分離

カラム；TSKgel G5000H_{HR}+TSKgel G4000H_{HR}

(7.8mmI.D.×30cm×2)

溶離液；HFIP(トリフルオロ酢酸ナトリウムを含む)

流速；1.0mℓ/min

温度；40℃

検出；RI

4. 応用例

図-33に、カラムを複数本つないだ場合のクロマトグラムの比較を示します。

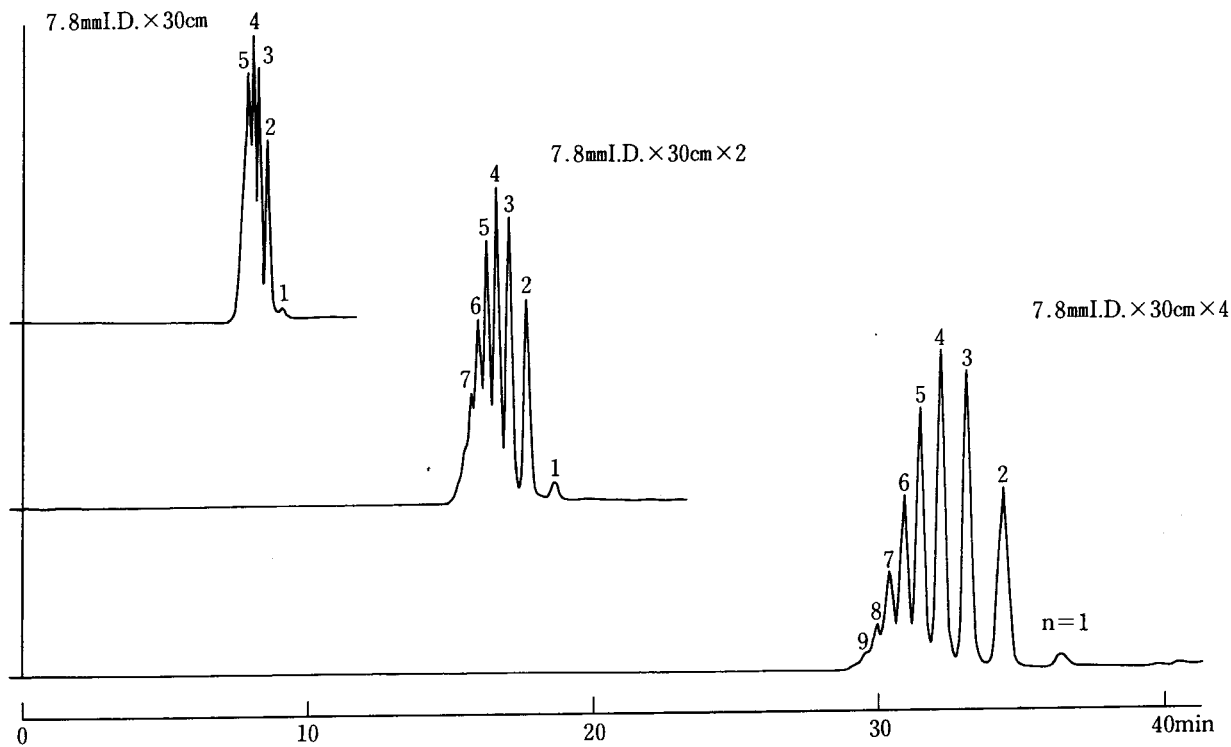


図-33 TSKgel G2500H_{HR}による標準ポリスチレンA-500の分離

カラム；TSKgel G2500H_{HR}

(7.8mmI.D. x 30cm ~ 7.8mmI.D. x 30cm x 4)

溶離液；THF

流速；1.0ml/min

温度；25°C

検出；UV(254nm)

図-34～図-43に各種樹脂、ポリマーを種々の有機溶媒を用いて分析した例を示します。

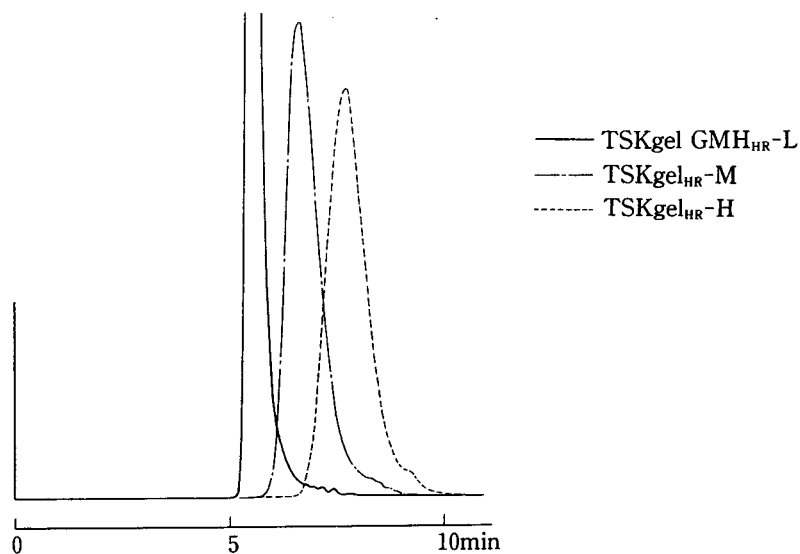


図-34 TSK-GEL GMH_{HR}シリーズによる
ポリカーボネートの分離

カラム；TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M、
TSKgel GMH_{HR}-L(各7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；クロロホルム

流 速；1.0ml/min 温 度；25°C 検 出；UV(254nm)

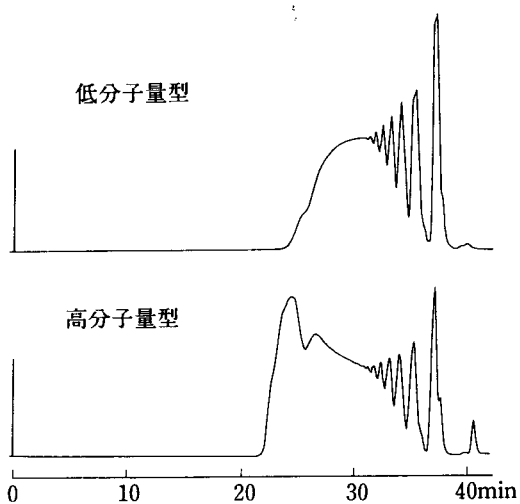


図-35 TSK-GEL H_{HR}によるフェノール樹脂
(ノボラック型)の分離

カラム；TSKgel G4000H_{HR}+TSKgel G3000H_{HR}
+TSKgel G2000H_{HR}×2(7.8mmI.D.×30cm×4)

溶離液；10mM LiBr in DMF

流 速；1.0ml/min

温 度；25°C

検 出；UV(270nm)

試 料；低分子量型及び高分子量型フェノール樹脂
(ノボラック型)

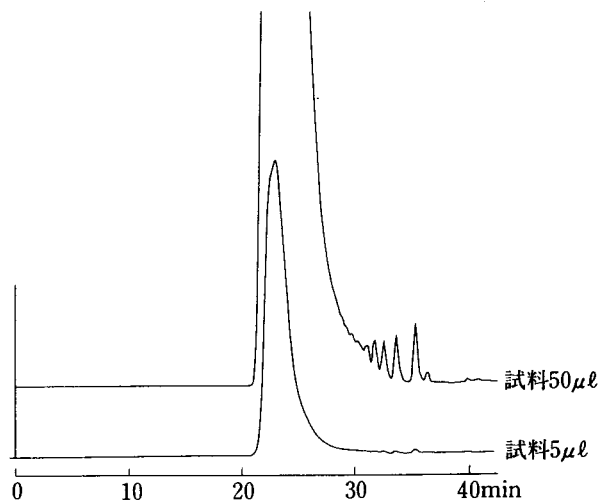


図-36 TSK-GEL H_{HR}によるポリエーテルサルフオンの分離

カラム；TSKgel G4000H_{HR}+TSKgel G3000H_{HR}
+TSKgel G2000H_{HR}×2(7.8mmI.D.×30cm×4)

溶離液；10mM LiBr in DMF

流 速；1.0ml/min

温 度；25°C

検 出；UV(270nm)

試 料；ポリエーテルサルフオン

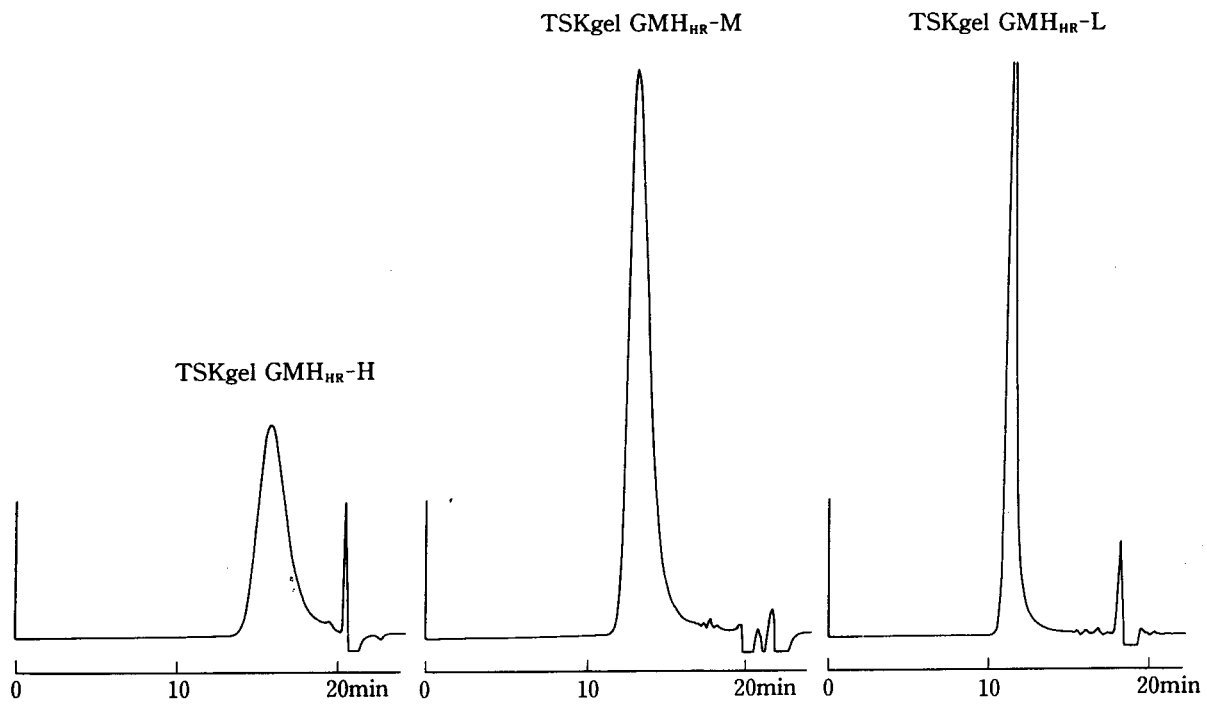


図-37 TSK-GEL GMH_{HR}シリーズによる

ポリエーテルサルフォンの分離

カラム ; TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M

TSKgel GMH_{HR}-L(各7.8mmI.D.×30cm×2)

溶離液 ; 10mM LiBr in DMF

流 速 ; 1.0ml/min

温 度 ; 80°C

検 出 ; RI

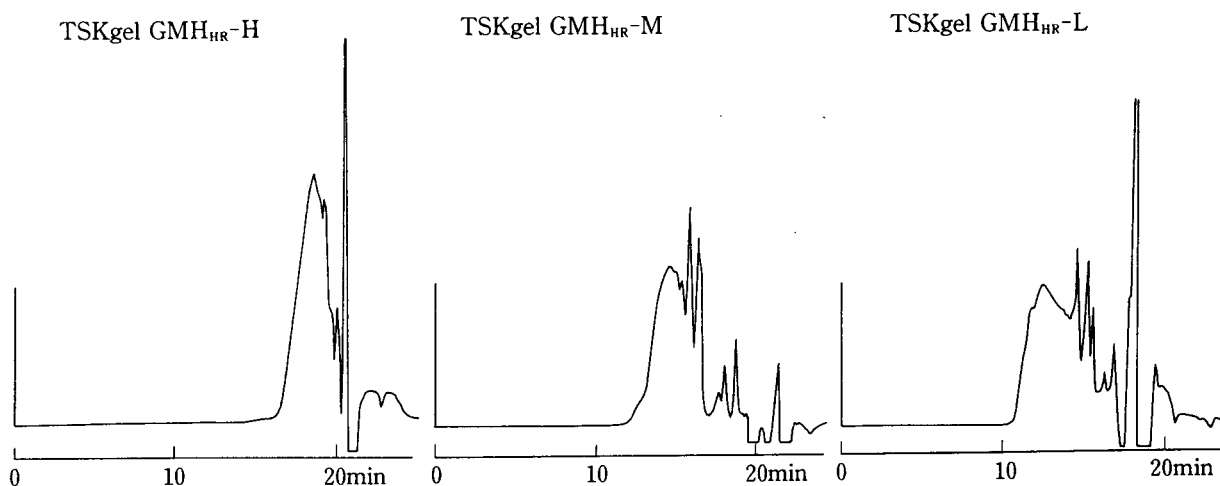


図-38 TSK-GEL GMH_{HR}シリーズによるフェノール樹脂(レゾール型)の分離

カラム ; TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M
TSKgel GMH_{HR}-L(各7.8mmI.D.×30cm×2)

溶離液 ; 10mM LiBr in DMF

流 速 ; 1.0ml/min

温 度 ; 80°C

検 出 ; RI

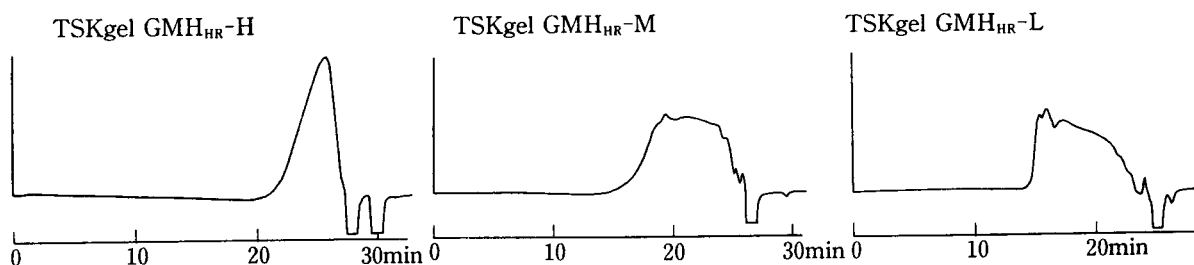


図-39 TSK-GEL GMH_{HR}シリーズによるメラミン樹脂の分離

カラム ; TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M
TSKgel GMH_{HR}-L(各7.8mmI.D.×30cm×2)

溶離液 ; 10mM LiBr in DMSO

流 速 ; 0.75ml/min

温 度 ; 80°C

検 出 ; RI

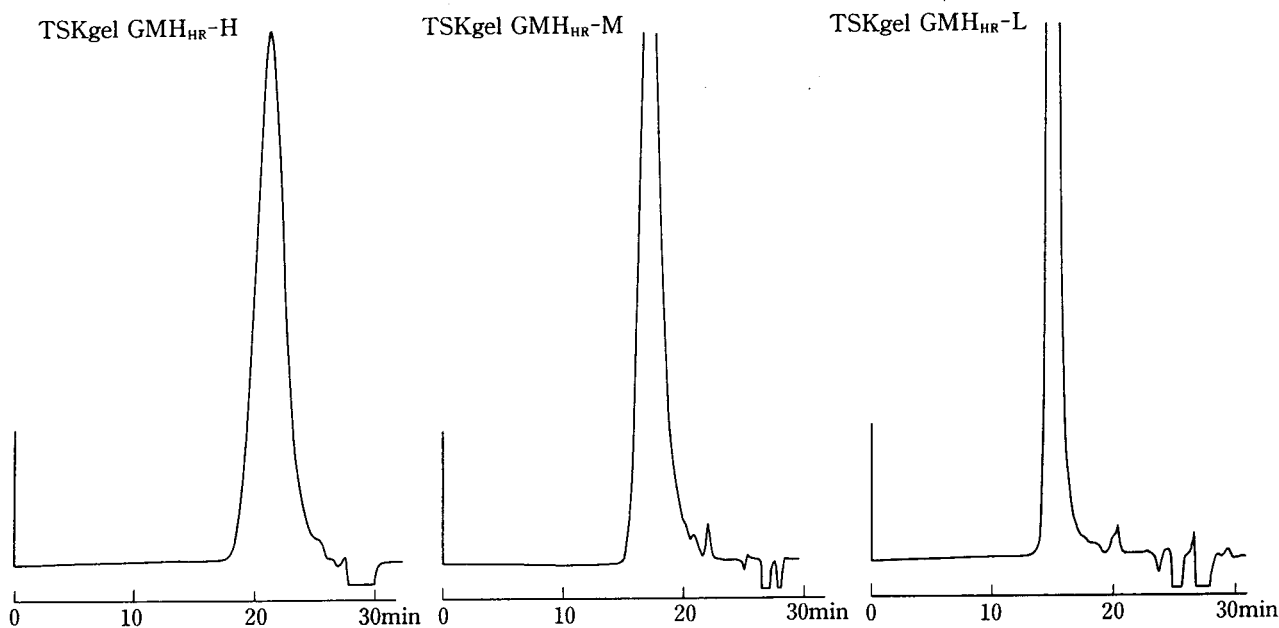


図-40 TSK-GEL GMH_{HR}シリーズによる
ポリエーテルイミドの分離

カラム；TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M
TSKgel GMH_{HR}-L(各7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；10mM LiCl in N-メチルピロリドン

流 速；0.75ml/min

温 度；80℃

検 出；RI

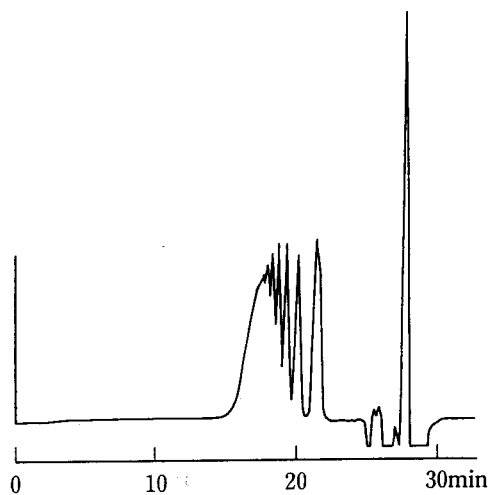


図-41 TSK-GEL H_{HR}によるデキストランT-40
加水分解物の分離

カラム；TSKgel G3000H_{HR}+TSKgel G2500H_{HR}
(7.8mmI.D.×30cm×2)

溶離液；10mM LiCl in N-メチルピロリドン

流 速；0.75ml/min

温 度；80℃

検 出；RI

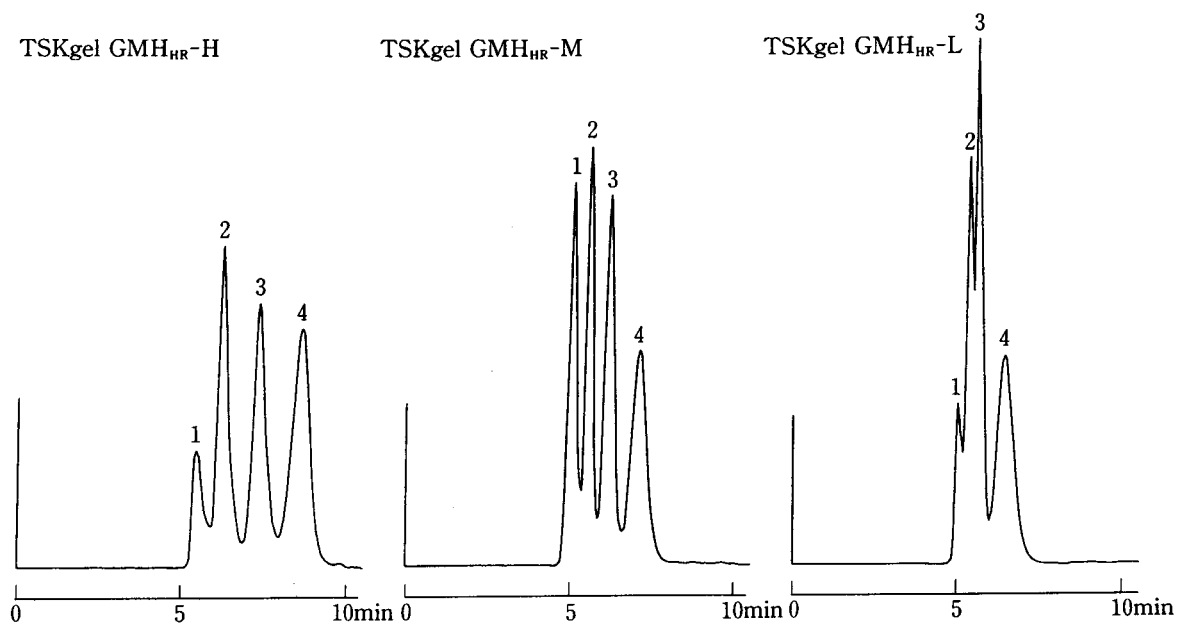


図-42 TSKgel GMH_{HR}シリーズによるポリメタクリル酸メチル混合物の分離

カラム；TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M
TSKgel GMH_{HR}-L(各7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；5mM トリフルオロ酢酸ナトリウム in HFIP

流 速；1.0ml/min

温 度；40℃

検 出；UV (220nm)

試 料；ポリメタクリル酸メチル

1.MW 820,000 2.MW 67,000

3.MW 10,200 4.MW 1,950

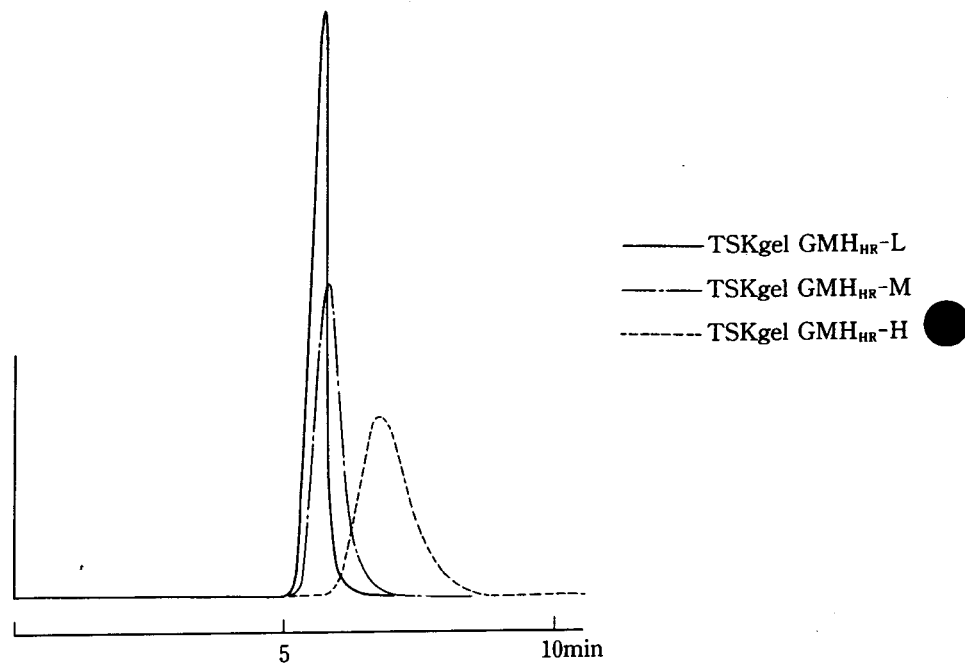


図-43 TSK-GEL GMH_{HR}シリーズによるナイロン66
 の分離

カラム ; TSKgel GMH_{HR}-H、TSKgel GMH_{HR}-M、
 TSKgel GMH_{HR}-L(各7.8mmI.D.×30cm)

溶離液 ; 5mM トリフルオロ酢酸ナトリウム in HFIP

流 速 ; 1.0ml/min

温 度 ; 40°C

検 出 ; RI

試 料 ; ナイロン66

5. おわりに

TSK-GEL H_{HR}シリーズは、充填剤の強度を非常に高めることによって、従来のH_{XL}シリーズでは達成されなかった耐溶媒交換性、特殊溶媒での耐久性及び高流速測定での安定性などの性能を大幅に向上させたカラムです。

今後、従来不可能であった溶媒での測定、また特殊条件下での測定が可能となり、今までにない新しい数多くの情報がH_{HR}シリーズを使用することによって得られることが、大いに期待されます。

参考文献

- 1) P. J. Wang, R. J. Rivard, *J. Liq. Chromatogr.*, **10**, 3059(1987)
- 2) C. A. Veith, R. E. Cohen, *Polymer*, **30**, 942(1989)
- 3) S. Mori, *Anal. Chem.*, **61**, 1321(1989)
- 4) T. Ogawa, M. Sasaki, W. Ishitobi, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, **24**, 109(1985)
- 5) A. Kinugawa, *IUPAC 32nd International Symposium on Macromolecules Preprints*, 489(1988)
- 6) S. Mori, *J. Appl. Polym. Sci.*, **20**, 2157(1976)
- 7) S. Mori, "Steric Exclusion Liquid Chromatography of Polymers", by J. Janca, Marcel Dekker, N.Y. (1984), Chapter 4.
- 8) S. Mori, *Anal. Chem.*, **52**, 1625(1980)
- 9) C. Y. Cha, *J. Polym. Sci.*, **B7**, 343(1969)
- 10) G. Coppola et al., *Appl. Polym. Sci.*, **16**, 2829(1972)
- 11) A. S. Kenyon et al., *Appl. Polym. Symp.*, **25**, 57(1974)
- 12) B. Riedl et al, *Holzforshung*, **42**, 315(1988)
- 13) P. R. Ludlam et al., *J. Appl. Polym. Sci.*, **29**, 3863(1984)
- 14) D. R. Sheuing, *J. Appl. Polym. Sci.*, **29**, 2819(1984)
- 15) P. P. Nefedr et al., *J. Chromatogr.*, **170**, 11(1979)
- 16) L. Z. Vilenchik et al., *Chromatographia*, 24633(1987)
- 17) C. C. Walker, *J. Polym. Sci., Polym. Chem.*, **26**, 1649(1988)
- 18) N. D. Hann, *J. Polym. Sci., Polym. Chem.*, **15**, 1331(1977)