

高速GPC装置HLC-8320GPCの開発

バイオサイエンス事業部 技術部

佐藤 達
杉本 忠
宮内 宏
作馬 敏
福谷 彰
高橋 俊
後藤 二
柚木 実
古川 浩
一
瞳

1. はじめに

GPC（ゲル浸透クロマトグラフィー）システムは高分子試料の分子量及び分子量分布の測定手段として使用され、バイオサイエンス事業部における液体クロマトグラフ事業の中心的な製品である。同システムは、1972年に世界初の高速GPC装置HLC-801を発売開始以来、広く利用され、国内ではトップシェアを維持している。特に近年は高速・高分離が可能なセミマイクロカラム化を進め、現行機種であるHLC-8220GPCはそのカラム性能を十分に発揮できる装置として1999年に販売開始し、年間100台以上の販売実績を挙げている。しかし、対象ポリマーの多様化に伴い使用される溶媒の種類も増加し、特殊溶媒に対して接液材質面での個別対応が必要であったり、性能の向上が求められたりといった要求があがっている。また、国内市場だけでは今後の大幅な販売台数の増加は見込めないが、欧米のGPC市場では高性能専用機があまり普及しておらず、カラムと一体のシステムとして市場拡大の可能性がある。

そこで、特殊溶媒への対応、ベースライン安定性など基本性能の向上、海外各種規格に対応した設計、というコンセプトに基づきHLC-8320GPCを開発・商品化した。本報告では、その主な仕様、基本性能、及び応用例を報告する。

2. 装置の外観、仕様

装置の外観を図1に、主な仕様を表1に示す。

3. 設計のポイント

[1] 特殊溶媒への対応

現行機種では、主に塩素系溶媒やフッ素系の溶媒に

対して、個別に部品交換を実施してユーザ要求に対応している。そこで、接液部材や脱気部の接ガス部材の見直しを行い、標準仕様で使用可能な溶媒を大幅に拡大した。具体的には、バルブ部のゴムパッキンの廃止や、デガッサチャンバ材質の耐ハロゲン性の向上、真空圧力センサの材質変更、サンブラシリンジ部の構造変更などが挙げられる。

[2] 性能

GPCでは一般的に示差屈折計（以下RIと略す）検出器が用いられ、本装置でも標準搭載している。RIでは溶質成分の変化に伴う屈折率変化を検出しているが、屈折率は溶媒の温度、密度（送液圧力）、添加剤・混合溶媒など溶離液の組成変化などでも変化する。よって、安定したRIベースラインを得るためには、試料の溶出成分以外のこれらの変化を如何に低減するかが問題となる。このうち、温度に関しては、ポンプ部以降の配管をすべて温調し、かつ温調部の流入側に予熱コイルを配置することで、溶媒の温度を安定化させた。送液圧力の変化については、RI検出器出口側を装置内で圧力開放し、背圧の変化が発生しにくい構造とした。次に、溶離液組成変化については、カラムの微小な温度変化に起因しているということを実験で確認していたため、新機構として二重温調方式を採用し、制御にはカスケード制御を導入した。カラム部の温調性能向



図1 装置外観

表1 HLC - 8320GPCの主な仕様

デガッサ	方式	真空デガス(間欠運転)
	容量	20 or 40mL
ポンプ	方式	パラレル送液(クイックリターン)
	流量正確さ	±2%または±5uLの大きい方
	流量精密さ	±0.2%または±1uLの大きい方
ポンプオープン	方式	温風循環方式
	温調範囲	室温+10 ~50
	温度設定正確さ	±0.5
	温度制御精密さ	±0.1
オートサンブラ	方式	可変注入
	注入範囲	シリンジ計量:1~1500uL
	点数	100点
	サンプルカップ	標準:2ml程度のバイアル数種(セプタム対応)
	再現性	0.5%以内(10uL以上注入時)
カラムオープン	方式	温風循環方式(二重温調)
	温調範囲	室温+10 ~60
	温度設定正確さ	±0.5
	温度制御精密さ	±0.02
検出器	方式	デュアルフロー
	セル容量	2.5uL
	ノイズレベル	2.0×10^{-9} RIU (レスポンス:3s, THF, 封入)
	ドリフト	1.0×10^{-7} RIU / 1h (THF, 1.0ml/min送液時)
操作部	操作キー	全ての操作は本体のキーで操作可能
紫外吸光検出器 (オプション)	設置	内蔵
	方式	ダブルビーム、シングルフローセル方式
	光源	重水素ランプ
	波長範囲	195~350nm
	ノイズレベル	2.5×10^{-5} ABU以下
	フローセル	2uL
オプション	マニュアル注入バルブ	なし
	カラムスイッチングバルブ	8方2位置 切り替えバルブ(電動)
サイズ		680(W)×500(D)×550(H)

上は組成のみならず、温度や圧力を安定させることにも効果が高い。

[3] 各種規格への対応

本装置は欧米を中心とした海外販売を考慮して開発したため、UL、CEマーキング(低電圧指令、EMC指令)に適合した設計としている。また、RoHSに関して分析用機器は適用除外品となっているが、将来的に適用される可能性を考慮し、規制材料を使用せずに設計を行った。WEEE指令に対しても、対象部品をリストアップし、ドキュメントの用意を行っている。

また、海外だけではなく日本でも製薬メーカーを中心にFDA 21 CFR Part 11やGLPへの対応が必要となっており、ソフトウェアを中心に対応を実施した。

[4] 環境や安全への配慮

GPCシステムでは、溶離液に有機溶媒を用いる場合が多く、当然ながら環境や安全への配慮は十分に必要がある。当社の推し進めるセミマイクロ化も、使

用溶媒を低減するという環境への配慮からコンセプトを得ている。現行機種からの改良点としては、デガッサチャンバ容量を選択可能とすることでセミマイクロカラム使用時の使用溶媒を低減したこと、セプタムタイプのサンプルカップを使用可能として蒸発するガスを抑えたこと等が環境面への配慮として挙げられる。また、新機能として自動溶媒交換機能を追加したことで呼び水操作を自動化し、ユーザが溶媒に触れる機会を大幅に減少させた。

4. 評価結果

[1] カラムオープンの温調性能

カラムオープンで40℃設定で温調し、現行機と温調性能を比較した結果を図2に示す。現行機では通常の空気循環方式を用いており、ヒータ熱源のON/OFFが直接カラム部に伝わるため、温調精密さは0.05程度が限界だったのに対し、新方式では0.01以下に向上している。これは、カラムを配置する内箱内には特定

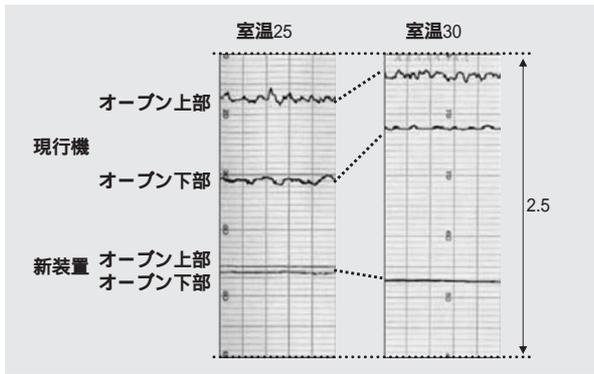


図2 カラムオープン温調性能の確認

の熱源がなく、内箱周囲から伝熱された熱を緩やかな風で循環しており、温度変動が抑えられているためである。同じ理由で、温度分布の大きさも0.6 から0.05 に改善されていることを確認した。また、環境温度を5℃変化させた場合、現行機ではカラム付近の温度が0.5℃変化しているのに対し、新方式では0.05℃に改善されている。現行方式でも測定点は常に設定温度になるよう温調制御を行っている。しかし、オープン内の温度分布が大きいため、環境温度が変化した場合にカラムが配置される部分の実温の変化が大きかった。それに対して、新方式ではカスケード制御を導入し、カラム付近の温度が設定温度になるよう制御を行うため、環境温度が変化した場合の影響が低減されている。

[2] RIベースラインの安定性

本装置のベースライン安定性を、現行機種と比較し

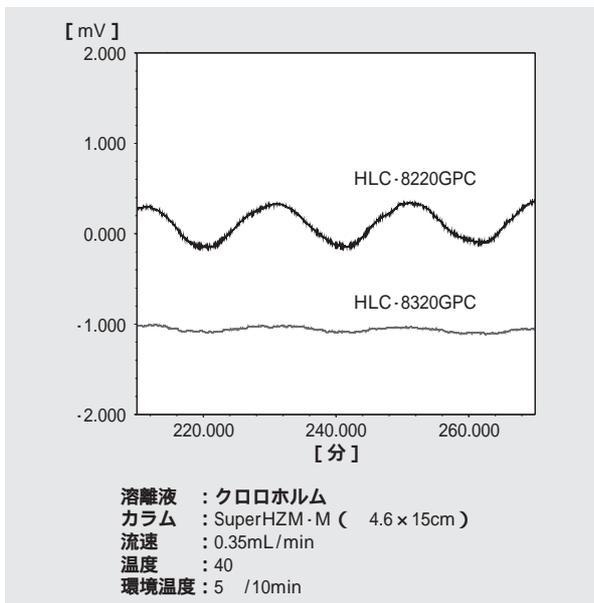


図3 RIベースライン安定性

た結果を図3に示す。溶媒として使用したクロロホルムには、安定剤として1%のエタノールが含まれている。それぞれの屈折率 n_D^{20} が1.45、1.36であり差が大きいため、カラムの微小な温度変化でも安定剤の濃度変化が発生し、ベースライン変動につながりやすい。環境温度を5℃変化させた場合のベースライン変動は既存装置の1/5以下に抑えられる。

[3] 再現性

ビニル系ポリマーの測定を日内 (n=10)/日差 (n=5) で行い、結果を表2に示した。日内/日差再現性とも良好な結果が得られた。分子量値の良好な再現性を得るためには、前述したRIベースライン安定性とともを送液の安定性が重要となる。本装置では、現行機種と同様にポンプ部を温調したうえで、ポンプ部に供給される液温を一定にするための予熱コイルの追加、個体差の出にくいチェック弁の構造変更、圧力補正制御方法の見直しなどの効果が出ている。

表2 日内/日差再現性

	Mn		Mw	
	平均値	CV%	平均値	CV%
1日目	13948 (n=10)	1.122	30123	0.197
2日目	13622	1.142	30124	0.185
3日目	13836	0.773	30241	0.131
4日目	13969	0.821	30233	0.151
5日目	14191	1.372	30260	0.150
日差	13913 (n=5)	1.492	30196	0.222

Mn : 数平均分子量
Mw : 重量平均分子量
カラム : TSKgel Super Multipore HZ-M (4.6mmI.D x 15cm x 2)
溶離液 : THF
流速 : 0.35mL/min
注入量 : 10uL
試料 : Vinyl chloride/vinyl acetate/vinyl alcohol terpolymer

[4] 装置間差

本装置の販売開始にあたり、装置のみだけではなく、直線性の高いSuper Multiporeカラムと、調製誤差の出にくい標準試料キットPStQuickを組み合わせることで、ユーザに対してより安定した分子量測定結果を提供することも重要であると考えている。そこで、装置4台でビニル系ポリマーの測定を行ったところ、表3に示した通りMw値で装置間のばらつきとしてCV0.4%程度が得られた。

[5] 応用例

応用例として、エピコート及びセルロースの測定例

表3 装置間差

装置	Mn	Mw
A	13802 (n=10)	29770
B	13747	29821
C	13641	29814
D	13632	30041
CV%	0.605	0.408

Mn : 数平均分子量
 Mw : 重量平均分子量
 カラム : TSKgel SuperMultiporeHZ-M
 (4.6mmI.D × 15cm × 2)
 溶離液 : THF
 流速 : 0.35mL/min
 注入量 : 10uL
 試料 : Vinyl chloride/vinyl acetate/vinyl alcohol
 terpolymer

5.まとめ

2007年9月発売のHLC-8320GPCは、優れた安定性と再現性が得られるGPCシステムである。同時に販売するカラムや標準試料キットと併せて、国内ユーザの新しいニーズに応えるとともに、海外市場進出へのフラッグシップとなることが期待される。

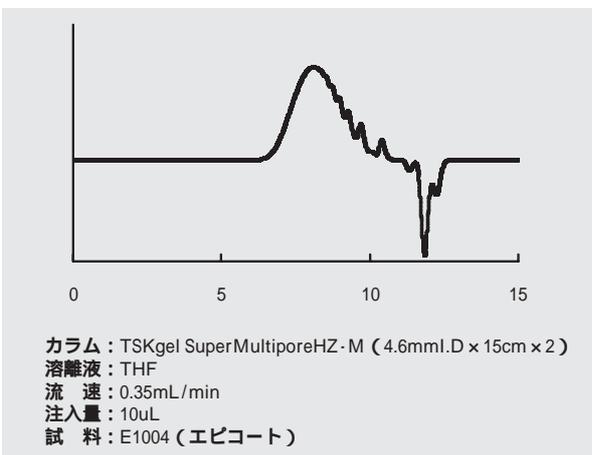


図4 測定例1

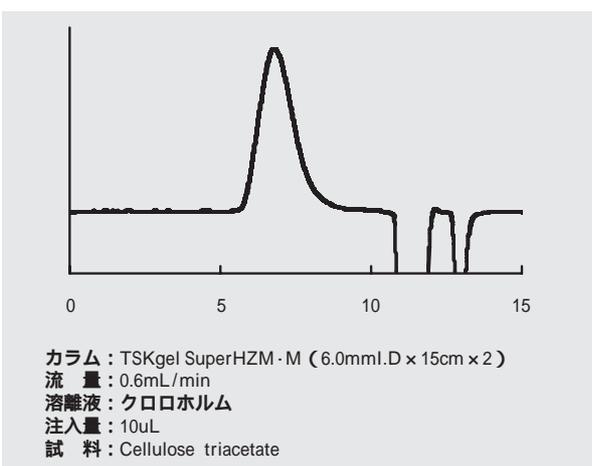


図5 測定例2

を図4、図5に示す。他にも、これまでの実績から使用例の多い溶媒やカラム系で測定を行い、GPCシステムとしての適性を確認した。