

● 2D-HPLC を用いた高分子材料の組成解析

東ソー分析センター 四日市事業部 解析グループ
東ソー分析センター 四日市事業部

平井 貴康
松本 良憲
香川 信之

1. はじめに

プラスチック、ゴム、繊維など、高分子材料は身の回りのあらゆる製品に利用されている。高分子の特性の一つに、分子量が単一ではなく分布を持つことが挙げられ、通常はその平均値および分布の広がり程度が材料を特徴づける値として用いられている。また、近年ではより高機能な製品の開発を目的に、複数種のモノマーから成る共重合体や、多成分系の高分子が設計されることも一般的となっている。

共重合系において、各モノマーの反応性比は異なる場合が多く、モノマーの消費率の変化に伴い、徐々に組成の異なる共重合体が生成する。結果として、生成物の組成は均一とならず、ばらつきが生じる(図1)。このため、共重合体試料では分子量分布に加え、組成の分布も存在している。

この分子量分布および組成分布は、合成高分子の熱的・機械的性質に直接影響を及ぼすパラメータである。したがって、分子構造を詳細に把握する事は、材料の機能性制御に不可欠であり、こうした背景から共重合体の構造解析の重要性は高まっている。

そこで本報告では、高分子材料の組成解析手法として近年発展を遂げている、二次元(2D)-高速液体クロマトグラフィー(HPLC)法の技術についてまとめた。なお、本技術は「産業と技術革新の基盤を作ろう」というSDGsの目標に対し、分析技術の進展という形

で貢献することを目指すものである。

2. 共重合体の組成分布解析

共重合体のキャラクタリゼーションにおいて、分子量の測定にはゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)を用いるケースが最も多いのではないかと考えられる。粘度法や沈降速度法など、高分子の平均分子量を求める方法は多く存在するが、GPCは他の手法と異なり、分子量分布まで評価可能な点で優位である。

一方、共重合組成を評価する手法としては、フーリエ変換赤外分光法(FT-IR)や核磁気共鳴分光法(NMR)、元素分析法などが一般的である。しかしながら、これら手法より得られるのは試料全体の平均組成のみであり、単独で組成分布を評価する事は不可能である。組成分布を評価するためには、まずGPC分取などで分子量分別を行い、分画した成分ごとにFT-IRやNMRなどを用いて組成分析する必要がある。

GPCの検出器としてFT-IRを接続し、各分子量でのIRスペクトルを連続的に得るGPC/FT-IR法はその一例であり、本技術により詳細なキャラクタリゼーションが可能となった^{1,2)}。ただし、分子量毎に分画してもなお、得られる値は各分子量での平均値であり、同じ分子量の中での組成のばらつきについては知り得ないという課題も残っていた(図2-a, b)。

近年、HPLCを用いた組成解析の有効性が明らかと

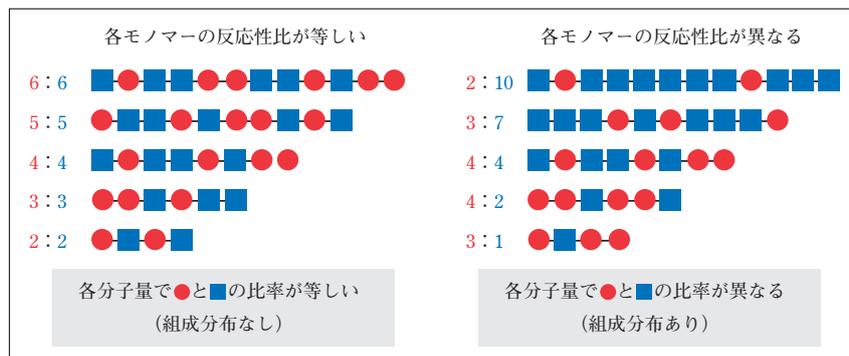


図1 高分子共重合体における組成分布のイメージ図

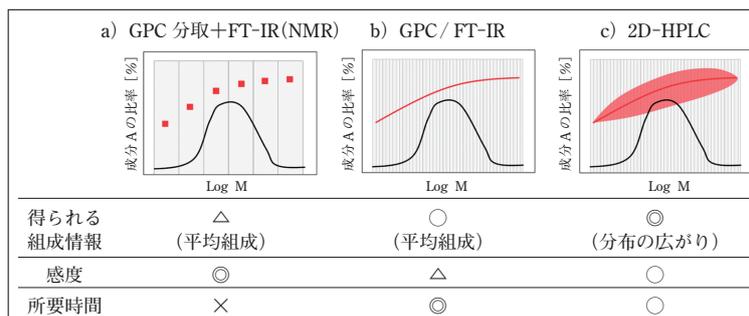


図2 組成分布解析手法とそれぞれの特徴

なり、分子量に依存せず極性のみで共重合体を分離する「GPEC(Gradient Polymer Elution Chromatograph)」という手法が確立された。

今回紹介する2D-HPLCは、このGPECとGPCを組み合わせて分子量と組成、両方の分布を解析する手法である(図2-c)。以下ではまず、GPECについて概説する。

3. HPLCによる組成解析

HPLCでは、固定相(カラム充填剤)と移動相(溶媒)のいずれに溶質が分配しやすいかの違いで成分が分離される。この時の分離係数 K は、ギブスの自由エネルギー変化 ΔG と関連しており、(1)式で表すことができる³⁾。

$$K = \exp\left(-\frac{\Delta G}{RT}\right) = \exp\left(-\frac{\Delta H}{RT}\right) \cdot \exp\left(\frac{\Delta S}{R}\right) \quad (1)$$

(G:自由エネルギー、H:エンタルピー)
(T:絶対温度、S:エントロピー)

(1)式の右辺、エンタルピー項は溶質と固定相の相互作用、エントロピー項は溶質の分子サイズの変化にそれぞれ対応する。GPCはHPLCの一種であるが、溶質は充填剤と相互作用しない事が前提である。これは $\Delta H = 0$ の条件であるため、分子サイズの違いのみで成分が分離される。

一方、理想的な分配/吸着クロマトグラフィーでは、溶質の立体配座の変化は起こらず($\Delta S = 0$)、分配係数はエンタルピー変化によってのみ決まるとされている。ただし、実際には固定相との相互作用の際に、立体配座の変化が少なからず生じるため、分配係数は ΔH と ΔS の関数となる。すなわち、順相、逆相と呼ばれる一般的なHPLCの条件では、サイズ排除モードと分配/吸着モードが足し合わさった複雑な溶出挙動を示す。

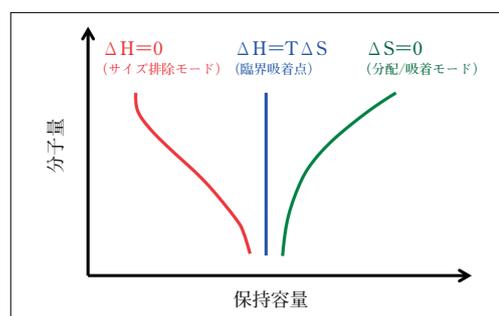


図3 各分離モードにおける分子量と保持容量の関係

なお、図3に示すように、サイズ排除モードと分配/吸着モードでは分子量に対する溶出の順序が逆の挙動となる事が知られている。

ところで(1)式において、 ΔH と ΔS が変動するとき、 $K = 1$ 、つまり固定相と移動相への分配性が等しくなる点もまた存在する。この状態は臨界吸着点(CPA:Critical Point of Adsorption)と称され、CPAでは同じ組成の成分は分子量に依らず同時に溶出する性質が知られている。このCPAを用いたHPLCの手法として、「LCCC(Liquid Chromatography at the Critical Conditions)」と「GPEC」の2つが存在する。両者の違いは移動相が単一か、溶媒グラジエントを用いているかである。LCCCは、ある1成分のCPAに合わせた移動相を用いるため、精密な成分分離が可能となる⁴⁾。しかし、1成分のCPAに移動相を固定することで、分析対象が3成分系以上の場合や連続的な組成分布を有する試料の場合は十分な効力を発揮できない。

これに対し、GPECでは、多成分系試料にも適用が可能である。分離の原理図を図4に示す。一般的なHPLCと同様、GPECでは試料を良溶媒に溶解して注入するが、系内には貧溶媒を満たしておき、試料をカラム内で析出させる。その後、移動相の良溶媒比率を

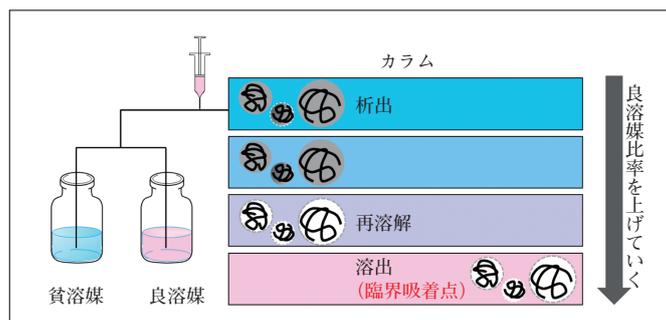


図4 GPECによる分離の原理

徐々に上昇させていくと、析出した試料が再溶解し、ある組成に達したときカラムから溶出する。この溶出時の移動相が、その成分のCPAに相当する⁵⁾。グラジエントにより溶媒組成が連続的に変わるため、CPAが異なる複数成分についても順次溶出させる事が可能となる。

ただし、GPECの課題として、分子量約1万以下の低分子量成分は保持時間に分子量依存性が出る事や、逆に高分子量成分では再溶解が遅れ、正確な保持時間を評価できないケースが存在する事も報告されている⁵⁾。

4. 2D-HPLC 測定原理

二次元クロマトグラフィーとは、異なる分離条件を組み合わせて2段階での分離を行う手法の総称であり、通常のクロマトグラフィーではピークが重なってしまうような類似成分が共存する場合に有効である⁶⁾。前述の通り、高分子共重合体には分子量と組成に関する分布が存在するため、分子サイズによる分離を行うGPCと、化学組成による分離を実現するGPECの組み合わせでの評価が効果的である。2D-HPLCの装置構成を図5に示す。

最大の特徴は1次元目のカラムの後ろに設けられた「切替バルブ」である。切替バルブには複数のループが設置されており、1次元目のカラムを通過した後の試料溶液を等量ずつ溜めていく事が可能となる。各ループに溜められた試料溶液はその後、流路を切り替えることで2次元目のカラムに順次導入され、1次元目とは異なる機構で分離される。

5. 2D-HPLC による組成分布解析事例紹介

[1] エチレン-酢酸ビニル共重合体 (EVA) の組成分布解析

エチレンに酢酸ビニル (VA) を共重合して製造される EVA 樹脂は、低温特性や耐候性に優れるという特徴がある。VA 含量によりゴム弾性や接着性などの特性が変化し、低 VA グレードはフィルムやシートに、高 VA グレードは接着用途に利用される。今回は、VA 含量 80.0wt% の EVA について、2D-HPLC による組成分布解析を実施した。

(1) 試料および測定条件

EVA は Scientific Polymer Products 製で、平均 VA 含量 80.0wt% の試料を用いた (※平均 VA 含量は、¹H-NMR によって測定されたメーカー付与値)。また、

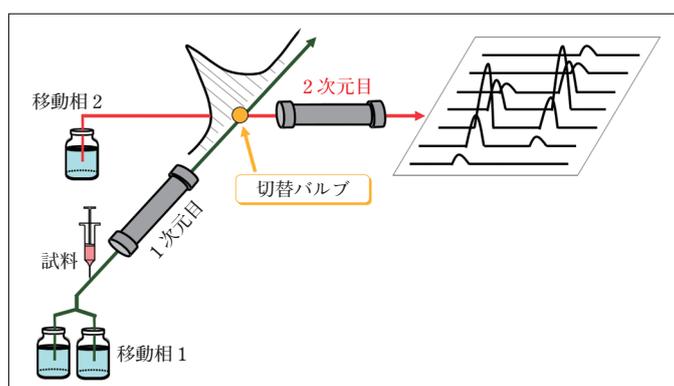


図5 2D-HPLCの装置構成図

組成検量線作成用の試料として、Scientific Polymer Products 製の VA 含量の異なる EVA、および校正曲線作成用として東ソー製のポリスチレン (PS) を用いた。また、各種分析条件は表 1 に示した。

(2) 解析結果

解析結果を鳥瞰図、および等高線図で示す (図 6-a,b)。各図において、VA と表示された軸は GPEC より求めた VA 組成を、Log M と表示された軸は GPC より求めた分子量の対数値をそれぞれ示す。今回用いた EVA は、VA 含量が約 80wt%、分子量約 10 万の地点をピークトップとし、そこからほぼ同心円状にピークが広がっている事が読み取れた。また、図 6-b 中の赤色の太線は、各分子量における平均 VA 含量を記したものである。以上より、本試料は分子量に対する組成分布は存在しないと判断した。また、メーカー付与値から大きく組成の異なる共重合体は含まれておらず、組成のばらつきの小さい試料であると考えられる。

[2] スチレン-ブタジエンゴム (SBR) の組成分布解析

SBR は耐摩耗性や耐熱性、耐老化性に優れ、加工性も高い事から、自動車用タイヤやホースなど多くの用途で利用されている合成ゴムである。SBR の材料特性は、スチレン (St) とブタジエンの共重合比を変える事で変化する事が知られている⁷⁾。今回は、市販 SBR (St 含量: 23.4wt%) について、分子量に対する共重合組成の変化を 2D-HPLC により評価した。

(1) 試料および測定条件

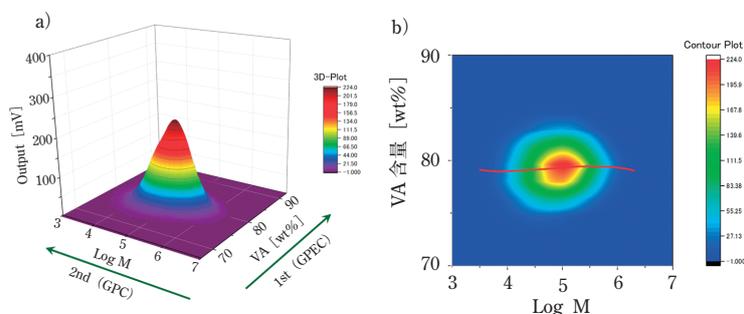
SBR はスペクトラ・フォーラム製で、平均 St 含量 23.4wt% の試料を用いた (※平均 St 含量は、¹H-NMR によって測定されたメーカー付与値)。また、組成検量線作成用の試料として、スペクトラ・フォーラム製のポリブタジエン、および NIST 製のポリスチレン (PSt)、校正曲線作成用として東ソー製の PSt を用いた。また、2D-HPLC 分析条件は表 2 に示した。

(2) 解析結果

得られた結果を 2 次元等高線図として示す (図 7)。

表 1 EVA の組成分布解析のための 2D-HPLC 測定条件

装置: 1290 Infinity II 2D-LC システム (Agilent 製)	
■1 次元目 (GPEC)	
カラム	: TSKgel ODS-100V (4.6mmI.D.×7.5cm) (東ソー製)
移動相	: A 液…水 / MeOH=80 / 20, B 液…THF A / B=50 / 50 (0min.)→25 / 75 (60min.)→20 / 80 (70min.)
流速	: 0.05mL / min.
試料濃度	: 1.0mg / mL
注入量	: 20 μL
■2 次元目 (GPC)	
カラム	: TSKgel SuperAWM-H (4.6mmI.D.×7.5cm) (東ソー製)
溶離液	: THF
流速	: 0.7mL / min.
検出器	: 蒸発型光散乱検出器 (ELSD) (Agilent 製)

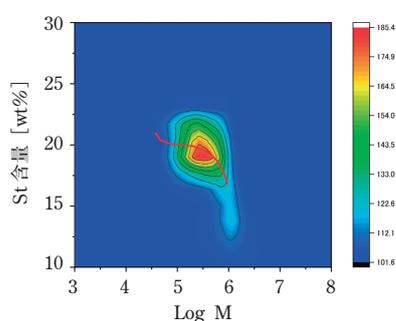


スケールバーは ELSD の出力電圧 (mV) に相当する。また、図中の赤色の太線は各分子量における平均 VA 含量を示す

図 6 a) 2D-HPLC による EVA (VA=80wt%) の鳥瞰図、b) 2D-HPLC による EVA (VA=80wt%) の等高線図

表2 SBRの組成分布解析のための2D-HPLC測定条件

装置：1290 Infinity II 2D-LC システム (Agilent 製)	
■1次元目(GPEC)	
カラム	：TSKgel ODS-80Ts (4.6mmI.D.×25cm) (東ソー製)
移動相	：A液…アセトニトリル、B液…THF A/B=70/30(0min.)→0/100(25min.)
流速	：0.4mL/min.
試料濃度	：1.0mg/mL
注入量	：20 μ L
■2次元目(GPC)	
カラム	：TSKgel SuperHM-M (6.0mmI.D.×15cm) (東ソー製)
溶離液	：THF
流速	：0.6mL/min.
検出器	：蒸発型光散乱検出器(ELSD) (Agilent 製)



スケールバーはELSDの出力電圧(mV)に相当する。
また、図中の赤色の太線は各分子量における平均St
含量を示す

図7 2D-HPLCによるSBR(St=23.4wt%)の等高線図

分子量に対して組成が均一であれば、等高線は真横に広がる事になるが、今回の試料では左斜め方向に傾いた楕円となっており、低分子量側ほどSt含量が高い傾向にあると言える。

なお、分子量100万付近の領域に注目すると、等高線が低St側に尾を引くように広がっている様子が確認される。この部分については、実際に高分子量側に低St成分が含まれる可能性もあるが、GPECで再溶解が遅れた高分子量成分が検出されている可能性が高いと推定される。

6. まとめ

機能性材料を開発する上で、材料の分子特性を詳細に把握することは必須である。従来、高分子共重合体の組成分布解析には、GPC分取などを組み合わせる必要があり、分析に工数を要した。本稿で紹介した2D-HPLC技術は、オンラインで分子量分布と組成分布解析を実現し、短時間でより詳細な高分子のキャラクタリゼーションを可能とするものである。共重合組成の評価の他にも、グラフト化反応の進行の確認、ポ

リマーブレンドの分離定量への活用も可能であり、今後さらに適用範囲は広がると考えられる。

7. 参考文献

- 1) A. J. P. Van Zyl, S. M. Graef, R. D. Sanderson, B. Klumperman, H. Pasch, *J. Appl. Polym. Sci.*, 88, 2539 (2003)
- 2) P. J. DesLauriers, D. C. Rohlfing, E. T. Hsieh, *Polymer*, 43, 159-170 (2002)
- 3) H. Pasch, B. Trathnigg, *HPLC of Polymers*, 17-23 (1997)
- 4) M. Janco, T. Hirano, T. Kitayama, K. Hatada, D. Berek, *Macromolecules*, 33, 1710-1715 (2000)
- 5) 香川信之、岡崎玲子、伊藤明、*分析化学*, 59 (9)、793 (2010)
- 6) H. Pasch, B. Trathnigg, *Multidimensional HPLC of Polymers*, 95-98 (2013)
- 7) 藤本邦彦、右田哲彦、松井正行、粕谷辰男、*材料*, 16 (166)、466-468 (1967)

