

Gel Permeation Chromatography における Broadening Effect の補正について

加 藤 芳 男
木 戸 士 龍
橋 本 勉

On the Correction for Broadening Effect in Gel Permeation Chromatography

Yoshio Katou
Shiro Kido
Tsutomu Hashimo

For samples with various width of molecular weight distribution, the correction for broadening effect due to imperfect resolution on gel permeation chromatograms was made by Tung's Fourier-Analysis Method. As a result, for broad samples, accuracy of correction was satisfactory. However, for a very narrow sample oscillation occurred at the both ends of the distribution curve. Moreover, we simulated the GPC measurement for various samples and column resolution and corrected the obtained distribution curves by means of Tung's Method. Consequently, except for almost monodisperse samples the gel permeation chromatogram gave nearly true molecular weight distribution of polymer sample if proper correction for broadening effect was made. When a higher resolution column is used in the experiment, more accurate results can be obtained with this correction.

1. ま え が き

高分子物質の性質に影響を及ぼす重要な因子として、分子量及び分子量分布があるが、この測定手段として、最近 GPC がよく使用されるようになった。

この GPC は操作が簡単で、再現性が良く、分別法などに比較して短時間で分子量分布、 \bar{M}_n 、 \bar{M}_w などを得ることができる。

GPC では、分子量の大きい分子から順に溶出してくるのであるが、他のクロマトグラフィーと同じように、均一な物質でもパルスとしてではなくある広がりをもって溶出する。したがって、一般に、GPC により得られる分子量分布は、真の分布よりも広がる傾向がある。^{1), 2), 3)} それで、GPC によって真の分子量分布を得るためには、実験結果に対して広がり補正をしなければならない。また、この広がりの影響は、試料の分子量分布の幅によって異なると考えられているので、われわれは、

分子量分布の幅の異なる三種類のポリスチレンの GPC 実験結果に対して、Tung のフーリエ解析法⁵⁾によって広がり補正をしてみた。また、真の分布曲線と補正曲線の比較のため、真の分布曲線を正規分布と仮定し、シミュレーションによって実験曲線を計算し、これに対して広がり補正をおこなった。

2. 実 験

[1] 試 料

試料としては、Table 1 に示した三種類のポリスチレン

Table 1 \bar{M}_w and \bar{M}_n of samples used in experiment

Sample	\bar{M}_n ^{a)}	\bar{M}_w ^{a)}	\bar{M}_w/\bar{M}_n
PS — 25	224,000	317,000	1.41
PS — 2	19,800	20,600	1.04
PS — 16	162,000	163,000	1.01

a): by GPC measurement

ンを使用した。

検量線は、Pressure Chemical 社製リビング重合ポリスチレンにより作製した。

[2] GPC 実験

GPC 実験は、島津製 GPC-1A の屈折計の部分を Waters 社製のものにとりかえた装置を使用し、つぎの条件でおこなった。

溶 媒：THF (市販一級品を単蒸留したもの)

温 度：25°C

流 速：1ml/min

溶液濃度：0.1% (g/dl)

注入時間：120sec

カラム系：4 feet カラム 5 本 (1700 TP/F)
 $10^7 + 10^6 + 10^5 + 10^4 + 10^3$ (Å°)

[3] Resolution Factor

広がり補正に必要な Resolution Factor⁴⁾ は、Tung の提案した Reverse Flow Technique によって計算した。なお、Resolution Factor の測定の際、水分などの不純物の存在は、溶出曲線の形をゆがめ、実験精度を悪くするので、溶液を調製する直前に、各試料共一昼夜 45°C で真空乾燥を行なった。

3. 結果および考察

[1] カラム系の検量線と Resolution Factor

使用したカラム系に対し、分子量と溶出量、Resolution

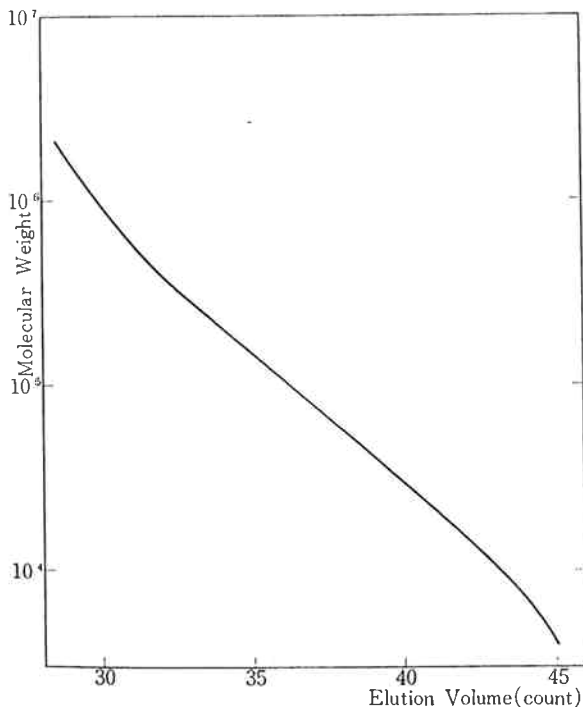


Fig. 1 Calibration curve for experimental column set of five columns

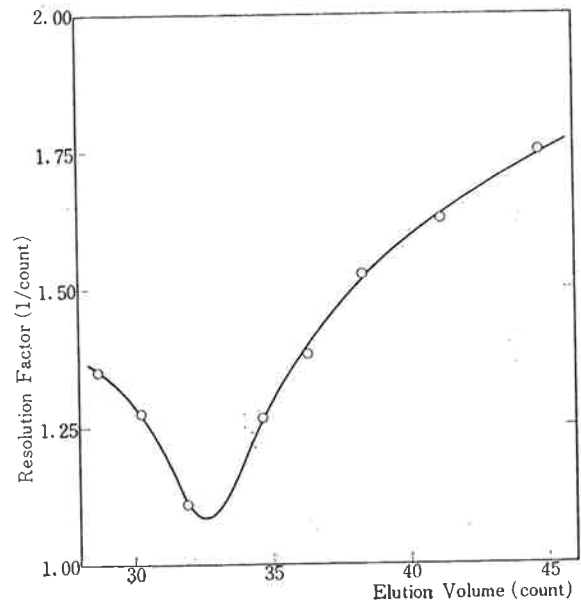


Fig. 2 Plots of resolution factor h against elution volume

Factor と溶出量の関係は、それぞれ Fig. 1, Fig. 2 のようであった。

[2] 溶出曲線と補正曲線の比較

PS-25, PS-2, PS-16 に対する溶出曲線及びこれらを Tung のフーリエ解析法で補正した補正曲線を Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5 に示した。

これによれば、PS-25 のように分子量分布が広い場合には、補正によってあまり変化しないがうまく補正できる。

PS-2 のように、分子量分布が狭い場合、補正曲線と実験曲線のずれは大きくなっていくので、広がり補正が是非とも必要である。また、Fig. 4 のように、この程度の分子量分布の広さのものに対しては、精度よく補正できる。

しかし、PS-16 のように分子量分布が非常に狭い試料の場合、Fig. 5 のように、補正が必要であるのに、補正曲線のすその方が減衰振動をおこし、分布の形ははっきりしなくなる。それでわれわれは、Tung のフーリエ解析法と共に、現在最も精度が良いと思われる Chang らの方法⁶⁾によっても補正を試みたが、同じような結果になった。したがって、これは、現在までに報告されている補正法^{4), 5), 6), 7), 8), 9), 10)}の限界をこえているものと考えられる。それゆえ、分子量分布の非常に狭い単分散試料に対しては、本実験で使用したカラム系よりもっと分解能のすぐれたカラム系を使用しなければ、正確な分子量分布は得られない。

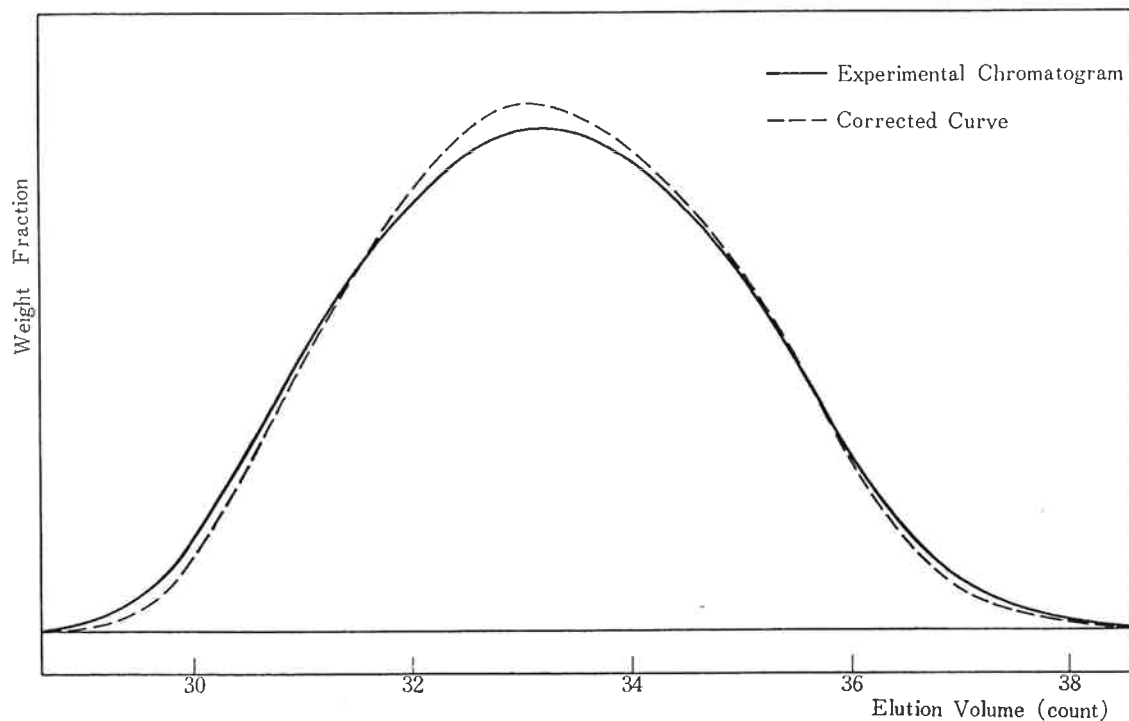


Fig. 3 Corrected curve by Tung's Fourier-Analysis Method in comparison with the experimental chromatogram for PS-25

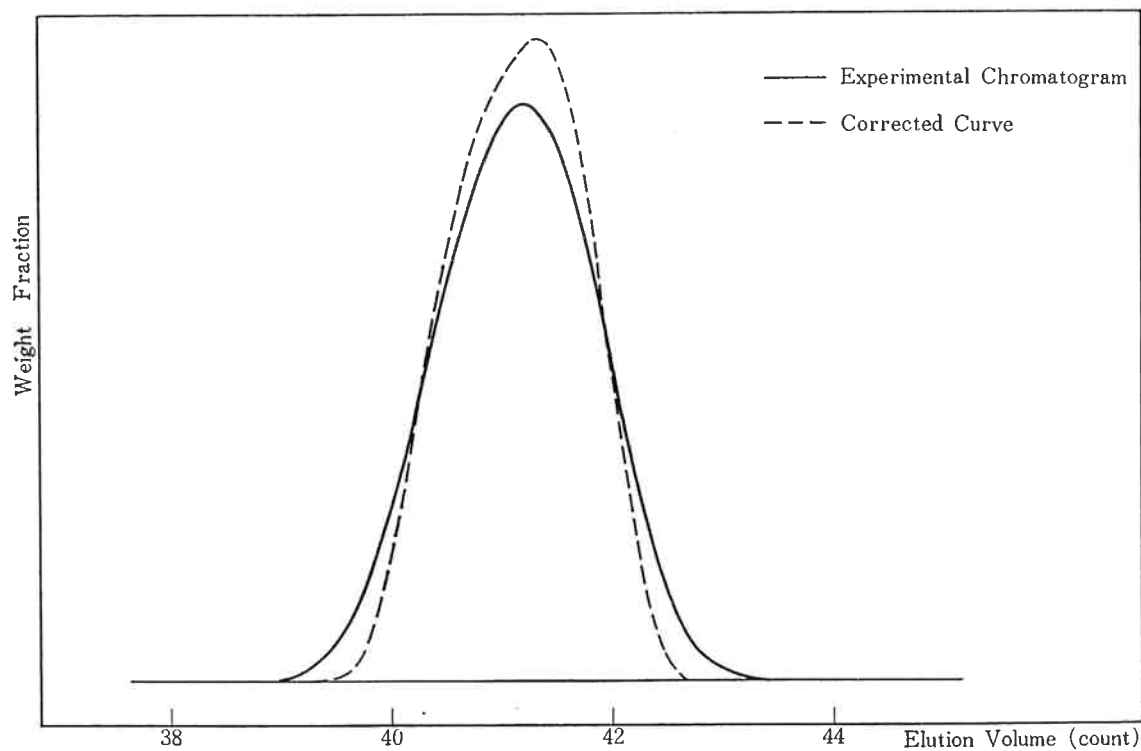


Fig. 4 Corrected curve by Tung's Fourier-Analysis Method in comparison with the experimental chromatogram for PS-2

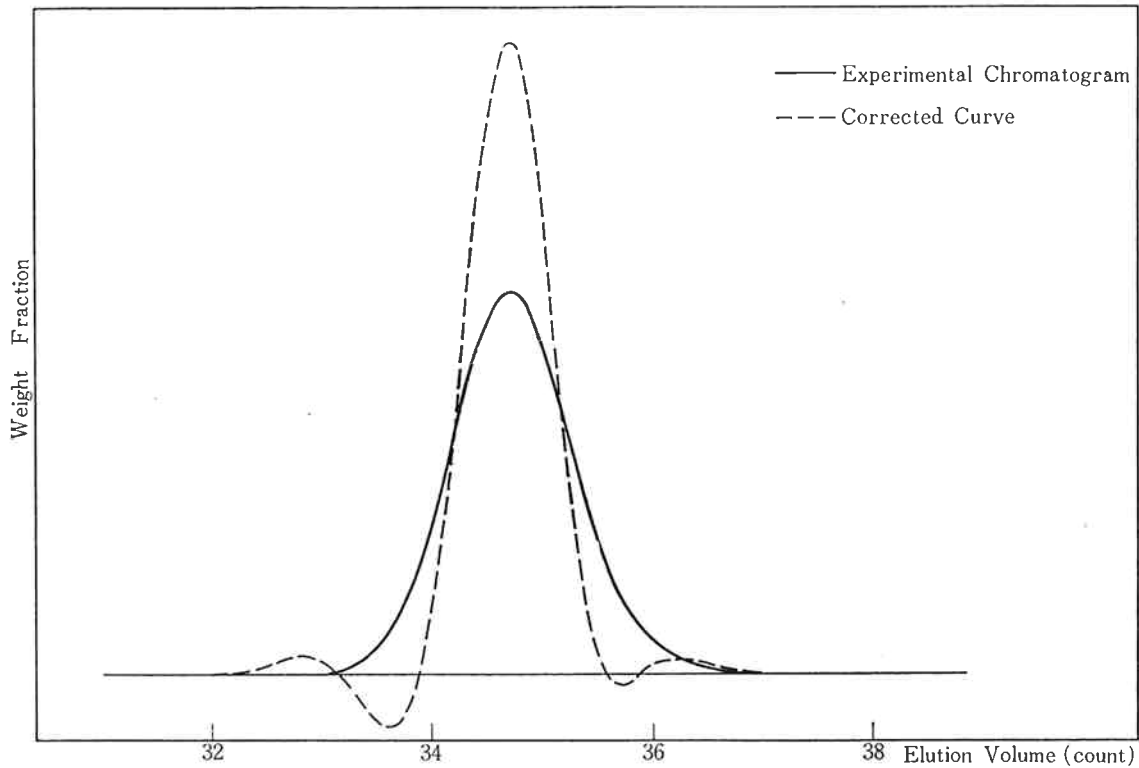


Fig. 5 Corrected curve by Tung's Fourier-Analysis Method in comparison with the experimental chromatogram for PS-16

[3] シミュレーションによる検討

(1) 実験と同じような条件に対するシミュレーション

われわれは、補正した分布曲線が、真の分子量分布と一致しているのかどうかを確かめるために、シミュレーションを行なってみた。つまり、架空の試料の真の分子量分布 $I(M)$ を対数正規分布と仮定し、均一な物質の溶出曲線 $G(v-y)$ を、一般に広がり補正の際におこなわれているように⁴⁾、正規分布と仮定して、これから、実験により得られる溶出曲線 $F(v)$ を計算した。ついで、 $F(v)$ に対して広がり補正をおこなった。この際、Resolution Factor h は一定、検量線は Fig. 6 に示したような直線とした。これらは先の実験結果の値と大体一致するように選んだ。

以上のことを式で表わすとつぎのようになる。

$$I(M) = [1/(\beta\sqrt{\pi}M)] \exp\{-1/\beta^2 \ln^2(M/M_0)\} \quad (1)$$

ここで、 β は分子量分布の幅を表わし、 M_0 はピークの位置の分子量を表わすパラメーターであり、 M は分子量。

$$G(v-y) = (h/\sqrt{\pi}) \exp\{-h^2(v-y)^2\} \quad (2)$$

ここで、 v, y とともに溶出量を表わす。

$$v = C_1 - C_2 \ln(M) \quad (3)$$

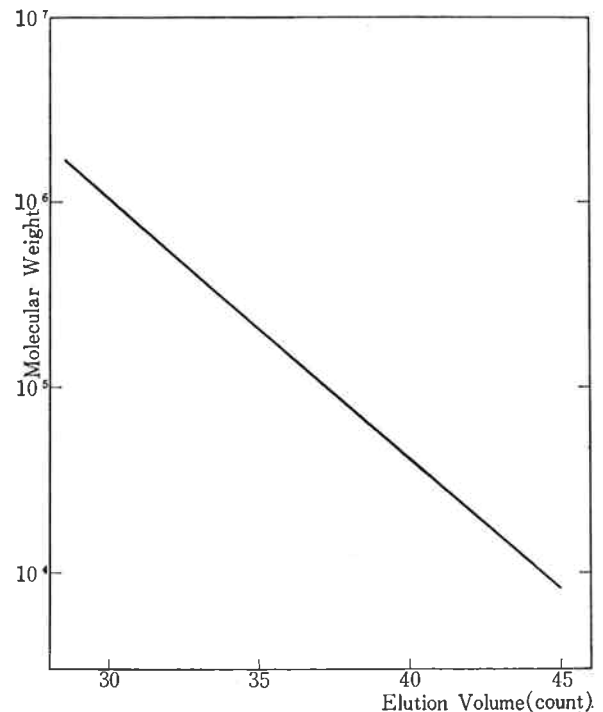


Fig. 6 Calibration curve used in simulation of GPC

$$C_1 = 51.37 (\text{カウント}), C_2 = 3.088 (\text{カウント})$$

$$h = 1.5 (1/\text{カウント})$$

ここで、(1)式に(3)式を代入すれば、試料に対する真の溶出曲線 $W(v)$ (広がり影響がない場合の重量分率 v. s. 溶出量) が得られる。結果は、

$$W(y) = [1/(C_2 \beta \sqrt{\pi})] \exp\{-[1/(C_2^2 \beta^2)] \times (y - y_0)^2\} \quad (4)$$

ここで、 $y_0 = C_1 - C_2 \ln(M_0)$ であり、溶出量を表わすのに v のかわりに y を使用した。

従って、 $F(v)$ はつぎのようになる。

$$F(v) = \int_0^\infty W(y) G(v-y) dy$$

$$= \{h/\sqrt{\pi(1+h^2 C_2^2 \beta^2)}\} \times \exp\{-[h^2/(1+C_2^2 \beta^2 h^2)] \times (v-y)^2\} \quad (5)$$

計算は、分子量分布の異なる三種類についておこなった。つまり、 \bar{M}_w/\bar{M}_n の値を1.01, 1.03, 1.50とした。 M_0 は全て200,000とした。

上の条件で(4)式を使って真の分布曲線を計算し、(5)式によって、実験により得られる分布曲線を計算した。また、この実験曲線に対し、Tung のフーリエ解析法によって、広がり補正を行なった。それぞれの場合に対する結果を、Fig. 7, Fig. 8, Fig. 9, に示した。

実際の実験においては、 h は溶出量に依存するが、シミュレーションにおいては、 h を一定と仮定したが、Fig. 3 ~ Fig. 5 までと、Fig. 7 ~ Fig. 9 を比較してみると、大体の傾向は一致している。つまり、 \bar{M}_w/\bar{M}_n の値が1.01ほどの、分子量分布が狭いものに対しては、PS-16 の結果と同じように、広がり補正をおこなった場合、補正曲線のすその方が減衰振動をおこし真の分布曲線と一致しない。しかし、この場合でも、振動をおこしていない部分は、補正によって真の分布曲線に近いものを得ることができる。また、 \bar{M}_w/\bar{M}_n の値が1.03より大きい場合には、真の分布曲線に大体一致する補正曲線が得られることがわかった。

(2) カラム分解能と補正精度

われわれはさらに、種々のカラム分解能と分子量分布の幅に対して計算してみた。つまり、先の計算では、 h の値が1.5 (1/カウント) の時は \bar{M}_w/\bar{M}_n の値が1.03ぐらいまでは精度良く補正できることがわかったが、ここでは、一定の \bar{M}_w/\bar{M}_n 値に対し、補正曲線が振動をおこさず精度良く補正できる h の値の範囲を調べてみた。結果は、Fig. 10 のようになった。

ここでは、補正曲線と真の分布曲線の一致の程度を表わすのに、補正曲線のピーク位置の高さを、真の分布曲線のピーク位置の高さで割った値を用いた。つまり、こ

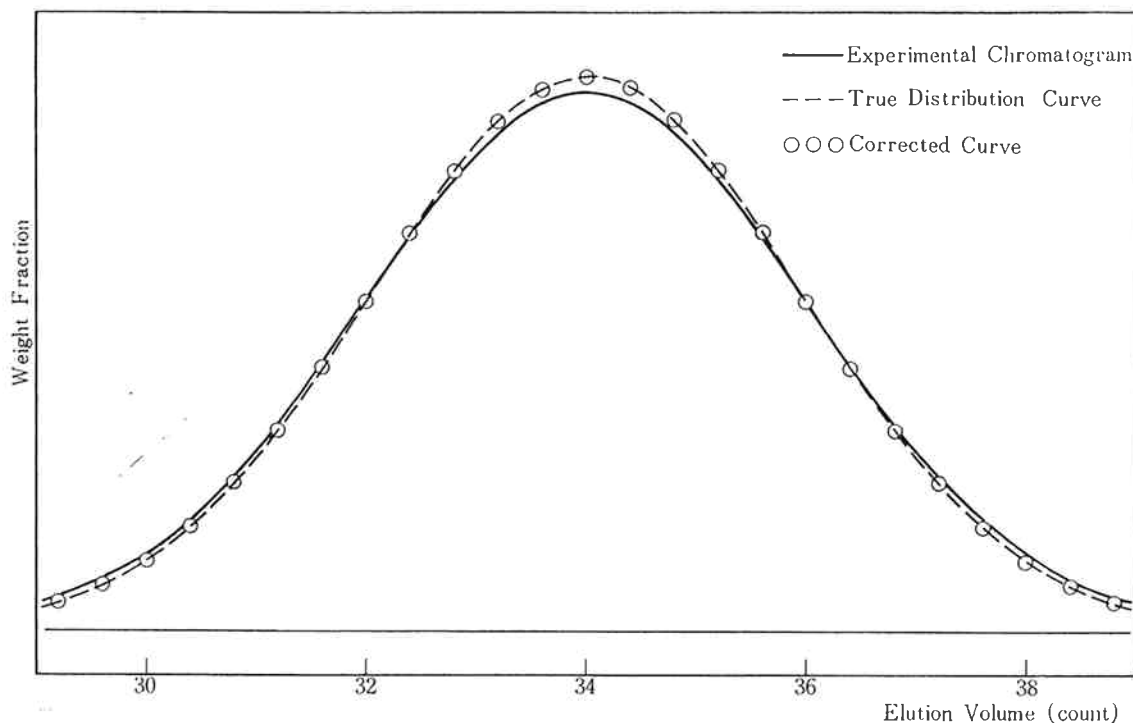


Fig. 7 Corrected curve by Tung's Fourier-Analysis Method in comparison with the true distribution curve and the experimental chromatogram calculated by simulation of GPC; $\bar{M}_w/\bar{M}_n = 1.50$

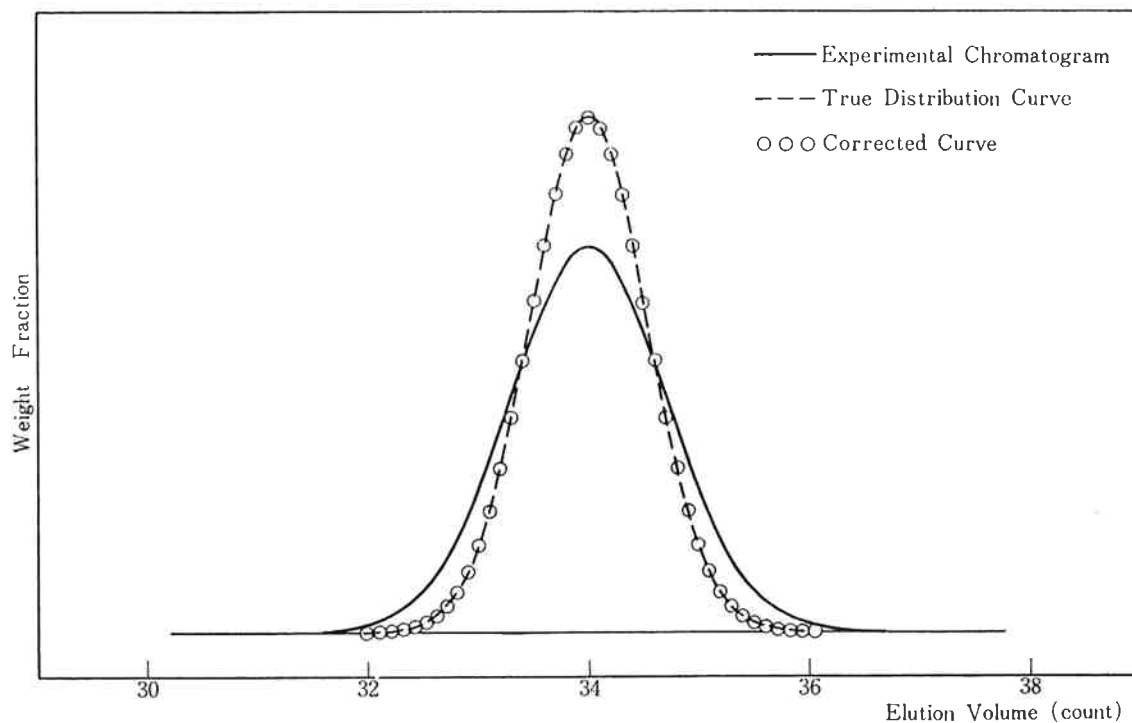


Fig. 8 Corrected curve by Tung's Fourier-Analysis Method in comparison with the true distribution curve and the experimental chromatogram calculated by simulation of GPC; $\bar{M}_w/\bar{M}_n=1.03$

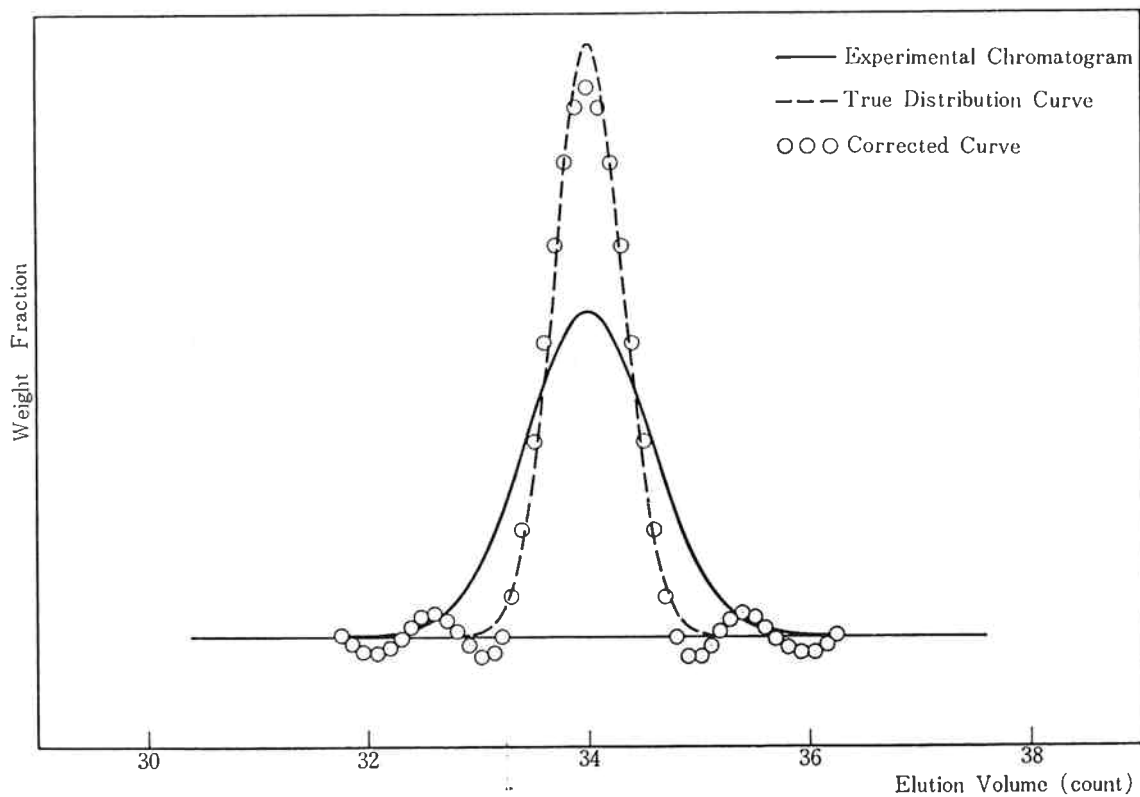


Fig. 9 Corrected curve by Tung's Fourier-Analysis Method in comparison with the true distribution curve and the experimental chromatogram calculated by simulation of GPC; $\bar{M}_w/\bar{M}_n=1.01$

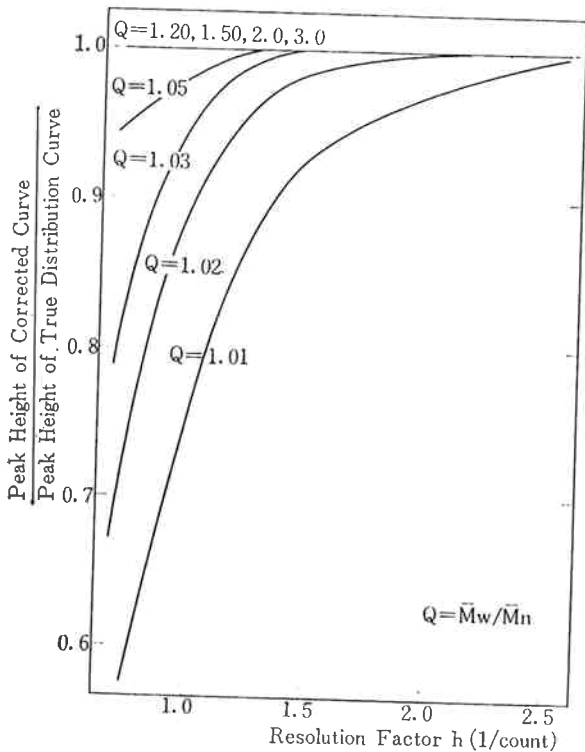


Fig. 10 Influence of column resolution and molecular weight distribution width on accuracy of correction by Tung's Method

の値がほとんど1に近い場合は、補正曲線と真の分布曲線が大体一致する時であり、1より小さい値の時は、補正曲線のすその方が減衰振動をおこしている時である。そして、この値が1より小さい程、補正曲線と真の分布曲線のずれは大きい。

Fig. 10 からみて、 \bar{M}_w/\bar{M}_n の値が1.2よりも大きい、ある程度以上広い分子量分布の試料に対しては、カラム分解能が少しぐらい悪くても補正によって真の分子量分布を得ることが可能であるが、これより分子量分布が狭い試料では、その分布の幅に応じて分解能の良いカラム系を使用しなければ、広がり補正をおこなっても、真の

分子量分布は得られない。

4. む す び

本実験に使用した程度のカラム分解能であれば、分子量分布が極端に狭い場合をのぞいては、つまり、なだらかな one-peak の分子量分布では \bar{M}_w/\bar{M}_n の値が1.03程度より大きい場合には、適当な方法で広がり補正をすることによって、試料の真の分子量分布を得ることが可能であろう。また、広がり補正を行なうにしても、正確な分子量分布、 \bar{M}_w 、 \bar{M}_n などを得ようと思えば、測定する試料の分子量分布の広さに応じて、分解能の良いカラムを使用する必要がある。

文 献

- 1) Atsushi Yamamoto, Ichiro Noda, and Mitsuru Nagasawa; *Polymer Journal*, **1**, 304 (1970).
- 2) T. C. Kendrick; *J. Polymer Sci.*, **A-2**, **7**, 297 (1969).
- 3) 岩間真道, 田形信雄, 本間輝武; “工化”, **72**, 116 (1969).
- 4) L. H. Tung; *J. Appl. Polymer Sci.*, **10**, 375 (1966).
- 5) L. H. Tung; *ibid.*, **13**, 775 (1969).
- 6) M. Hess, and R. F. Kratz; *J. Polymer Sci.*, **A-2**, **4**, 731 (1966).
- 7) W. N. Smith; *J. Appl. Polymer Sci.*, **11**, 639 (1967).
- 8) P. E. Pierce and J. E. Armonas; *J. Polymer Sci.*, **C**, No. 21, 23 (1968).
- 9) H. E. Pickett, M. J. R. Cantow and J. F. Johnson; *ibid.*, **C**, No. 21, 67 (1968).
- 10) K. Chang, R. Y. M. Hung; *J. Appl. Polymer Sci.*, **13**, 1459 (1969).