

# Gel-Permeation Chromatography における濃度の影響の 溶媒依存性\*

加 藤 芳 男  
橋 本 勉

## Dependence of Concentration Effect in Gel-Permeation Chromatography on Solvent

Yoshio Kato  
Tutomu Hashimoto

It is well known that in gel-permeation chromatography dependence of elution volume and resolution on concentration is one of the origins of errors. The concentration effect was measured for various polymer-solvent systems, where different interactions are shown between them.

The following results were obtained. 1) As the poorer solvent for the polymer is used, the concentration effect becomes smaller. 2) When theta solvent is used, the elution volume is independent of its concentration. 3) Resolution of the column is almost constant in the lower concentration region, and then it decreases rapidly as the concentration increases.

KEY WORDS GPC/Concentration Effect/Poor Solvent/Good Solvent/Elution Volume/Resolution/Polystyrene/Polychloroprene/

### 1. 緒 言

現在、常温でのGPC測定には、テトラヒドロフラン (THF) を溶媒として使用する場合が多い。これは、THFが多くの種類の高分子を溶解するためであるが、測定精度の点からは問題である。

それは、GPC測定において、良溶媒を使用すると、溶液濃度の影響が測定精度に相当関係することが多く報告されているからである。つまり、溶液濃度が高くなるにつれて、分解能は低下し、溶出量は大きくなる。その結果、得られる分子量分布は広くなり、低分子量側へずれる。平均分子量数十万の試料で、溶液濃度が0.3%ぐらいの場合、 $\bar{M}_n$ ,  $\bar{M}_w$  などの計算値に与える誤差が10%以上になることも多い<sup>1)~3)</sup>。

したがって、濃度の影響を少なくするためには、できるかぎり低濃度で測定し、検出器の感度を上げなければならず、そのためにベースラインが不安定になり、かえって測定精度が低下することにもなる。

Cantow<sup>1)</sup>, Duerksen と Hamielec<sup>4)</sup>, Lamberi<sup>5)</sup>, Berger と Schulz<sup>5)</sup> は、種々の濃度で測定し、結果を濃度ゼロに外そうとする方法を提案しているが、これは測定に時間がかかり、GPCの特徴が失われる。

もう一つ考えられる方法は、適当な溶媒を使用することである。光散乱、浸透圧などの測定では、濃度の影響をなくすためには、 $\theta$  溶媒を使用すればよいことはよく知られている。したがって、GPC測定においても、貧溶媒を使用すれば、濃度の影響は少なくなることが期待できるが、このような研究はなされていない。

われわれは、相互作用の異なる3種類の高分子-溶媒の組合せ (ポリスチレン-THF, ポリスチレン-メチルエチルトン (MEK), ポリクロロブレン-MEK) について、GPCにおける濃度の影響を検討してみた。

### 2. 実 験

#### [1] 装置

実験には、島津製作所製GPC装置1A型と、スチレ

\* 高分子化学, 30, (334)107 (Feb. 1973) から再録

ンゲルを充てんした TSK-GEL カラムを使用した。カラム系は、空孔の大きさの異なるゲルの混合物を充て

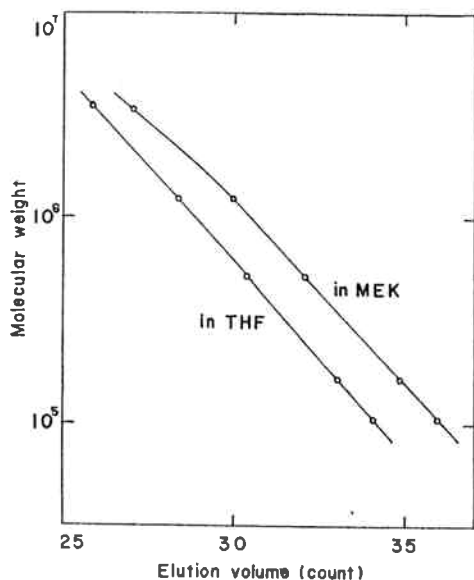


Fig. 1 Calibration curves for polystyrene in THF and in MEK at 25°C.

んしたもので、内径7.6mm、長さ1220mmのカラム5本のシリーズで、Fig. 1に示したような検量線のものである。1%アセトン溶液で測定した理論段数は1footあたり2750段であり、正確な測定ができるように理論段数の高いものを選んだ。なお、Fig. 1の検量線は、Pressure Chemical社の標準ポリスチレン（ピーク位置の分子量が $5.2 \times 10^5$ 、 $1.65 \times 10^5$ 、 $1.05 \times 10^5$ のもの）と、われわれの研究室でアニオン重合した単分散ポリスチレン（ピーク位置の分子量が $1.23 \times 10^6$ 、 $3.35 \times 10^6$ のもの）を標準試料とし、溶液濃度0.03g/dl、注入溶液量2ml、溶媒はTHFとMEK、測定温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、流速1ml/minの条件で測定したものである。

### [2] 溶媒

溶媒としては、市販1級のTHFとMEKをそのまま使用した。ただし、ポリクロロブレンの測定には、MEKに安定剤として2.6-ジ-tert-ブチル-p-クレゾールを0.1%加えたものを使用した。

### [3] 試料

試料としては、Pressure Chemical社の標準ポリスチレン(PS1, PS2)と、われわれの研究室でアニオン重合した単分散ポリスチレン(PS3)と、市販のポリクロロブレンをDesreux法でカラム分別した分布の狭い区分(PCR1, PCR2)を使用した。測定には、これらのうちの二つの試料(PS1とPS2, PS2とPS3, PCR1とPCR2)を等量ずつ混合したもの

を使用した。各試料の $\bar{M}_n$ および $\bar{M}_w$ をTable 1に示す。

Table 1 Samples.

Sample code	$\bar{M}_n \times 10^{-4}$	$\bar{M}_w \times 10^{-4}$	$\bar{M}_w/\bar{M}_n$
PS 1	11.9 <sup>a)</sup>	12.5 <sup>b)</sup>	1.05 <sup>c)</sup>
PS 2	40.4 <sup>a)</sup>	50.7 <sup>b)</sup>	1.25 <sup>c)</sup>
PS 3	—	335 <sup>b)</sup>	1.10 <sup>d)</sup>
PCR 1	4.49 <sup>d)</sup>	5.02 <sup>d)</sup>	1.12 <sup>d)</sup>
PCR 2	35.9 <sup>d)</sup>	45.9 <sup>d)</sup>	1.28 <sup>d)</sup>

a) osmotic pressure, b) light scattering, c) osmotic pressure and light scattering, d) gel-permeation chromatography

### [4] 測定

前述の3種類の高分子-溶媒の組合せに対し、ピーク溶出量および下記のように定義されている分解能(R)の濃度依存性を測定した。

$$R = \frac{2\Delta L}{W_1 + W_2} \quad (1)$$

ここで、 $\Delta L$ は二つの単分散高分子のピーク溶出量の差であり、 $W_1$ および $W_2$ はそれぞれ二つの単分散高分子のピーク幅（溶出曲線の変曲点で引いた二つの接線がベースラインを切りとる長さ）である。

測定した濃度範囲は、GPC測定に一般に用いられていると考えられる0.02~1.2g/dlである。

測定温度は $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、流速は1ml/min、注入溶液量は2mlであった。

## 3. 結 果

### [1] ピーク溶出量の濃度依存性

Fig. 2にピーク溶出量の濃度依存性を示す。測定は2種類の単分散高分子の混合物の溶液で行なったものであり、横軸の濃度は試料全体としての濃度である。

この図よりつぎのことがわかる。ピーク溶出量の濃度依存性は、ポリスチレン-THF、ポリスチレン-MEK、ポリクロロブレン-MEKの順に小さい。また、ポリクロロブレン-MEKでは、濃度が約0.8g/dlまではピーク溶出量は一定である。

### [2] 分解能の濃度依存性

Fig. 3に分解能の濃度依存性を示す。

この図よりつぎのことがわかる。ある濃度以下の領域では分解能は大體一定で、その濃度をこえると急激に低下する。この分解能の低下し始める濃度は、分子量が小さいほど高く、同じ分子量の試料に対しては、ポリスチ

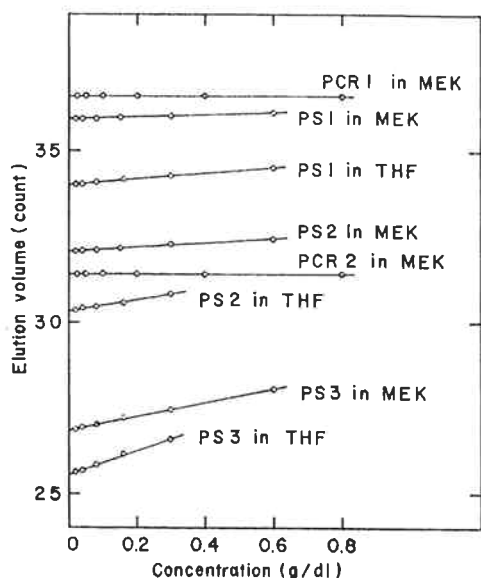
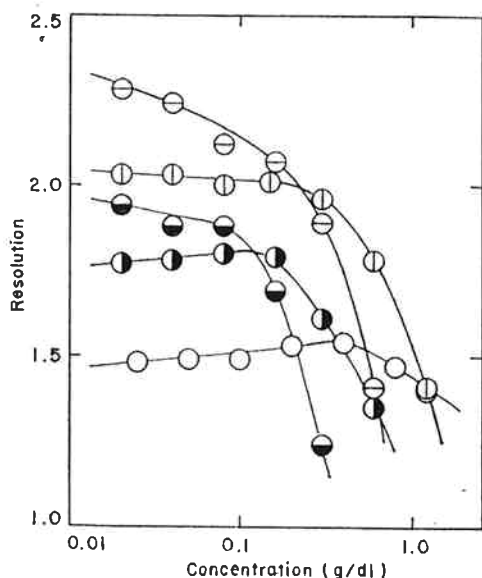


Fig. 2 Dependence of elution volume on polymer concentration.



○ : PS1+PS2 in MEK, ⊖ : PS2+PS3 in MEK  
● : PS1+PS2 in THF, ● : PS2+PS3 in THF  
○ : PCR1+PCR2 in MEK

Fig. 3 Plots of resolution against polymer concentration.

レン—THF, ポリスチレン—MEK, ポリクロロブレン—MEK の順に高いようである。同じ試料に対しては、ポリスチレン—MEK のほうがポリスチレン—THF よりも分解能は高い。

#### 4. 考 察

##### 〔1〕高分子—溶媒間相互作用の大きさと濃度の影響

実験に使用した高分子—溶媒の組合せに対する固有粘度  $[\eta]$  と分子量  $M$  の間の関係式はつぎのように表わ

される。

ポリスチレン—THF (25°C) に対しては<sup>6)</sup>

$$[\eta] = 6.82 \times 10^{-5} M^{0.766} \text{ (dl/g)} \quad (2)$$

ポリスチレン—MEK (25°C) に対しては<sup>6)</sup>

$$[\eta] = 2.84 \times 10^{-4} M^{0.61} \text{ (dl/g)} \quad (3)$$

ポリクロロブレン—MEK (25°C) に対しては<sup>6)</sup>

$$[\eta] = 1.13 \times 10^{-3} M^{0.50} \text{ (dl/g)} \quad (4)$$

これらの式で、分子量の指数 ( $a$  とする) は、高分子—溶媒間の相互作用の大きさを表わすことはよく知られている。つまり、 $\theta$  溶媒では  $a=0.5$  で、良溶媒になるほど  $0.5$  より大きくなる。したがって、(2), (3), (4) 式から考えて、ポリスチレンについては THF が一番良溶媒で、ついで MEK で、MEK はポリクロロブレンの  $\theta$  溶媒である。

したがって、ピーク溶出量の濃度依存性は良溶媒ほど大きく、 $\theta$  溶媒では、濃度の低い領域では濃度の影響はないことがわかる。また、分解能の低下し始める濃度も貧溶媒ほど高いことになる。

##### 〔2〕Viscous fingering と濃度の影響

GPC における濃度の影響を overload effect といひ、原因は viscous fingering<sup>7)</sup> であるという説が多い。ところが、もし viscous fingering が起これば、ピーク溶出量が大きくなることと、分解能の低下の両方が同時に起こると考えられる。われわれの実験によれば、濃度が 0.1~0.5 g/dl 以下では、分解能はほぼ一定で、ピーク溶出量は濃度とともに大きくなり、それ以上の濃度では、分解能は急激に低下し、ピーク溶出量も大きくなる。したがって分解能が低下し始める濃度以上では viscous fingering が起こっていると考えられる。そして、実験結果から考えて、良溶媒ほど viscous fingering が起こりやすい。しかし、一定濃度以下では viscous fingering は起こらず、別の原因でピーク溶出量が変化するものと思われる。

##### 〔3〕ピーク溶出量と流体力学的体積の濃度依存性

最近、Rudin は GPC における溶出量は溶質分子の流体力学的体積によってきまるといふ考え方に基づいて、ピーク溶出量の濃度依存性は濃度が高くなると溶質分子の流体力学的体積が小さくなるためであると説明している<sup>8),9)</sup>。この場合には、分解能はあまり変化しないと考えられる。

Rudin によれば、溶液中の高分子の流体力学的体積  $V$  (cm<sup>3</sup>) は、濃度  $g$  (g/cm<sup>3</sup>) の関数として次式のように表わされる。

$$V = \frac{M}{\frac{\rho N_0}{\epsilon_0} + \frac{N_0 \epsilon_x}{0.507} \left( \frac{1}{\epsilon_x} - \frac{1}{\epsilon_0} \right) g} \quad (5)$$

$$\epsilon_0 = \frac{[\eta] \rho}{2.5} \quad (6)$$

$$\epsilon_x = 2.60 + 0.34 \times 10^{-3} \frac{M}{M_0} \quad (7)$$

ここで、 $M$  は高分子の分子量、 $\rho$  ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ) は無定形状態の高分子の密度、 $N_0$  はアボガドロ数、 $[\eta]$  ( $\text{cm}^3/\text{g}$ ) は高分子の固有粘度、 $M_0$  は高分子の成分モノマーの分子量である。たし、 $\epsilon_x$  に対する(7)式は、ビニルポリマーに対して成立する式である(式の誘導などの詳細は省略する)。

それで、低濃度領域における濃度依存性が、Rudin のように流体力学的体積の濃度依存性によるものかどうかを調べるために、(5)、(6)、(7)式を使って、相互作用の異なる高分子-溶媒の組合せに対して計算した。計算は、分子量  $3.35 \times 10^6$ 、 $5.2 \times 10^5$ 、 $1.05 \times 10^5$  のポリスチレンと THF ( $25^\circ\text{C}$ )、MEK ( $25^\circ\text{C}$ )、シクロヘキサン ( $35^\circ\text{C}$ ) の組合せに対して行なった。 $\theta$  状態に相当するものとして、実験ではポリクロロブレン-MEK を使ったが、計算では他の組合せとの比較が容易なようにポリスチレン-シクロヘキサンを採用した。ポリスチレンの無定形状態の密度は  $1.04$  ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )<sup>10)</sup>、スチレンモノマーの分子量は 104 とし、固有粘度-分子量の関係式として、THF、MEK に対するものはそれぞれ(2)式および(3)式を使い、シクロヘキサン ( $35^\circ\text{C}$ ) に対しは次式を使った。

$$[\eta] = 7.0 \times 10^{-4} M^{0.50} \quad (\text{dl}/\text{g})^{11)} \quad (8)$$

結果を Fig. 4 に示す。

計算結果はポリスチレンの濃度依存性は、THF、MEK、シクロヘキサンの順に小さいことを示しており、良溶媒ほどピーク溶出量の濃度依存性が大きいという実験結果と一致する。しかし、 $\theta$  溶媒に相当するシクロヘキサンの場合でも、流体力学的体積は濃度とともに変化している。これは、流体力学的相互作用は  $\theta$  状態においても存在することによるものと考えられ、ポリクロロブレン-MEK に対する実験結果と一致しない。

したがって、GPC におけるピーク溶出量の濃度依存性は、流体力学的体積の濃度依存性によるものではないと考えられる。

以上、GPC におけるピーク溶出量の濃度依存性の原因として現在までに提案されているのは、前述の viscous fingering と流体力学的体積の濃度依存性だけであるが、両者とも今回の実験結果を説明できない。したがって、何か別の原因があると考えられるが、断定できるようなものはない。

しかし、もし GPC の分離が溶質分子の統計力学的な大きさによって支配されるものだとし、ピーク溶出量の

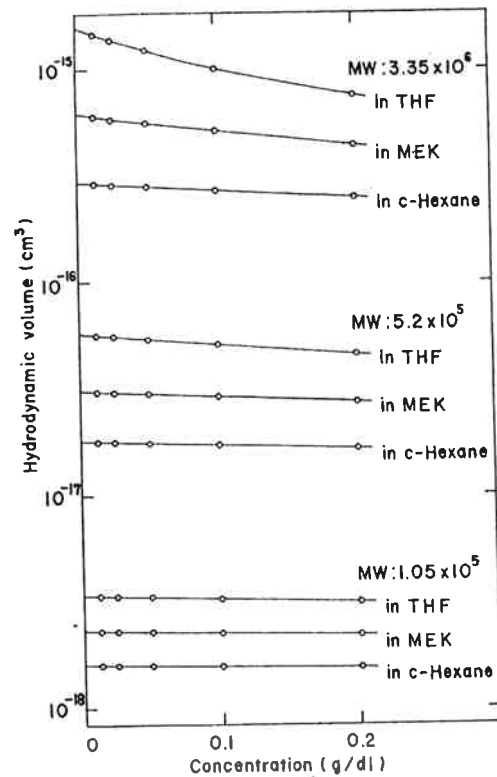


Fig. 4 Dependence of hydrodynamic volume of polystyrene on concentration.

濃度依存性の原因は、濃度が高くなるとともに溶質分子の統計力学的な大きさが小さくなることであるとすると説明できる。すなわち、Fixman によれば<sup>12)</sup>、溶液中の高分子の 2 乗平均慣性半径は濃度とともに小さくなる。そしてこの濃度依存性は良溶媒ほど大きく、 $\theta$  溶媒ではなくなるので、GPC における溶出量の濃度依存性と一致する。

したがって、GPC での低濃度領域におけるピーク溶出量の濃度依存性は、溶質分子の統計力学的な大きさが濃度とともに小さくなることによるのではないかと推察される。

## 5. 結 語

GPC における濃度の影響を、ポリスチレン-THF、ポリスチレン-MEK、ポリクロロブレン-MEK について測定した結果つぎのことがわかった。

- (1) 貧溶媒ほどピーク溶出量への濃度の影響は少なく、 $\theta$  溶媒ではピーク溶出量は濃度に依存しない。
- (2) 分解能は、低濃度のときはほぼ一定であるが、ある濃度より高くなると急に低下する。低下しはじめる濃度は、分子量が小さいほど、また、貧溶媒ほど高い。
- (3) ピーク溶出量の濃度依存性は、低濃度領域では、溶質分子の統計力学的な大きさの濃度依存性によるも

のようであり、濃度が高くなると、これに viscous fingering の影響が加わるようである。

付記 本研究を行なうにあたり種々の助言をいただいた東洋曹達工業㈱研究所の福田三寿氏に感謝いたします。

#### 文 献

- 1) M. J. R. Cantow, R. S. Porter, J. F. Johnson: *J. Polym. Sci.*, **B4**, 707 (1966)
- 2) K. A. Boni, F. A. Sliemer, P. B. Stickney: *J. Polym. Sci.*, A-2, **6**, 1567 (1968)
- 3) A. Lambert: *Polymer*, **10**, 213 (1969)
- 4) J. H. Duerksen, A. E. Hamielec: *J. Appl. Polymer Sci.*, **12**, 2225 (1968)
- 5) K. C. Berger, G. V. Schulz: *Makromol. Chem.*, **136**, 221 (1970)
- 6) M. Fukuda: private communication
- 7) K. H. Altgelt, J. C. Moore: in "Polymer Fractionation", M. J. R. Cantow, Ed., Academic Press, New York (1967)
- 8) A. Rudin: *J. Polym. Sci.*, A-1, **9**, 2587 (1971)
- 9) A. Rudin, H. L. W. Hoegy: *J. Polym. Sci.*, A-1, **10**, 217 (1972)
- 10) O. G. Lewis: "Physical Constants of Linear Homopolymers", Springer-Verlag, New York (1968)
- 11) H. J. Cantow: *Makromol. Chem.*, **30**, 169 (1959)
- 12) M. Fixman: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **89**, No. 4, 657 (1961)