

多分散型細孔径 GPC 用充填カラム TSK-GEL MultiporeH シリーズの開発

徳 永 邦 行
森 山 弘 之

TSK-GEL MultiporeH Series for Gel Permeation Chromatography — Evaluation and Application —

Kuniyuki TOKUNAGA
Hiroyuki MORIYAMA

Size-exclusion chromatography (SEC) has been used widely and routinely for determining molecular mass distribution and mass average of polymers. Commonly used SEC columns are packed with a mixture of packing materials of different pore size distribution, so the chromatograms of polymers obtained on these columns often show inflectional patterns, making it difficult to determine molecular mass distribution with good reproducibility.

SEC analysis of cationic polymers using tetrahydrofuran (THF) or chloroform as the eluent is infeasible due to the interaction between the packing materials and the polymers. Now, we have developed three new types of columns packed with porous polystyrene gels of a broad pore size distribution, *i.e.*, TSKgel MultiporeH_{XL}-M, TSKgel MultiporeH_{HR}-M HT and TSKgel MultiporeH_{XL}-M C. TSK-GEL MultiporeH series show excellent linearity in calibration and no inflection is observed on the SEC chromatograms obtained. Separation of cationic polymers has been effected successfully by SEC on the column of TSKgel MultiporeH_{XL}-M C using THF as the solvent. In this paper, the characteristics as well as several SEC applications of these new types of packing materials, TSK-GEL MultiporeH series, have been presented.

1. はじめに

高分子材料の特性評価のために平均分子量および分子量分布を測定する方法として、間接法（相対法）であるにも関わらず迅速性、操作性および再現性が高い^{1), 2)} という理由からサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) が広く普及している。

SECにおいて、試料の分子量分布の正確性、精度および再現性を高めるためには、測定条件（測定溶離液、測定流速、試料濃度、試料負荷量³⁾、測定温度⁴⁾ な

ど) の最適化、ハード上では高感度かつ安定性に優れた検出器および定流量性の高い送液ポンプの採用⁵⁾ および較正曲線の直線性に優れ、かつサイズ排除効果以外の二次的要因（イオンの相互作用^{6), 7)} による吸着や反発現象、水素結合性⁸⁾ など）が起きないカラムの選定、さらにはデータ処理におけるベースラインや主ピーク終始点の設定統一化⁹⁾ などが重要な項目である。

これらの中でも、とりわけ高分離能で広い分子量画面範囲に直線性の優れた較正曲線を有し安定性の高い

SECカラムを採用することは非常に重要なことである。

一般に高分子材料は、分子量分布を持っているためSEC測定においては、細孔径の異なったグレードの複数本、あるいは細孔分布の異なる数種の充填剤を混合した、いわゆるミックスカラム^{7), 10)~12)}を複数本接続する方法が多用されている。

しかし、これら何れの方法においても、フェノール樹脂、アクリル樹脂やエポキシ樹脂などの高分子試料のSECクロマトグラムに凹凸が観察され、試料の分子量分布の測定精度や測定再現性に影響を及ぼすことが予想された。この凹凸部分は、使用したカラム(充填剤)の排除限界分子量に相当する部分に見られ、不連続な局部的に歪みのある細孔分布曲線に起因すると考えられた^{13)~15)}。

また、当社ではアニオン性およびノニオン性の試料に対して正常な測定が行えるように設計したSECカラムを販売しているが、カチオン性を有した試料を通常多用されるテトラヒドロフラン (THF) やクロロホルム (CHCl₃) のような単一溶離液で測定しようとするとかラムとの相互作用のため吸着や反発などの現象が観られ、正常なSEC測定が不可能な状況にある。

したがって、カチオン性の試料を測定する方法としては、各種の溶離液を使用したり溶離液中に臭化リチウム (LiBr) のような塩やアミンなどの塩基を添加して吸着現象を制御する方法が提案されている^{16)~19)}。

今回、我々は、単一粒子内に幅広い細孔径を持ち、一種類の充填剤で直線性に優れた較正曲線を有した新しいタイプの多分散型細孔径SEC用充填剤でアニオン性およびノニオン性試料に対応したTSKgel Multipore H_{XL}-M、カチオン性試料専用カラムとしてTSKgel Multipore H_{XL}-M Cおよび高温SECに適したTSKgel Multipore H_{HR}-M HTの三種類のカラムを開発した。

ここでは、これらのカラムの基本的性質、特徴および応用例について述べる。

2. MultiporeHの特徴

[1] 充填剤

J.C. Mooreが紹介した合成法²⁰⁾をベースとした従来の有機溶媒系SEC充填剤は、比較的狭い細孔径分布を有するものであり、一般に分子量分布を持つ高分子材料のSEC測定には、細孔径の大きさの異なる充填剤を組み合わせる必要がある。この方法ではFig. 1の模式図に示したように合成された較正曲線に歪曲あるいは段差部分が現われ、これがクロマトグラムの凹凸

現象として観察される。

これに対し、今回開発したMultiporeHシリーズは、スチレン-ジビニルベンゼン共重合体を基材とし、特殊な細孔制御法で一つの粒子内に幅広い細孔径分布を有するように調製した充填剤である。Fig. 2の模式図およびFig. 3の走査型電子顕微鏡 (SEM) 写真に示すようにMultiporeHは、一種類の充填剤で広い分子量分画範囲を有する充填剤である。

Fig. 4には、TSKgel MultiporeH_{XL}-Mと市販品のミックスカラム充填剤のSEM写真を比較した。市販品は、いくつかの異なる充填剤を混合していることがわかり、高分子試料のSEC測定においてクロマトグラムの凹凸が推測できる。

水銀ポロシメーターによるTSKgel MultiporeH_{XL}-Mと現行ミックスカラムTSKgel GMH_{HR}-Mの細孔分布データをFig. 5に示す。

この結果より、TSKgel MultiporeH_{XL}-Mは、0.02 μm ~ 0.1 μmの広い細孔径範囲に細孔容積が大きく、またTSKgel GMH_{HR}-Mに比べて特に0.01 μm ~ 0.05 μmと0.1 μm ~ 0.6 μmの範囲で大きい細孔容積を持っていることがわかる。このような細孔分布特性の違いがSEC測定における試料のクロマトグラムの凹凸に現われてくると考えられる。

[2] 充填カラム

スチレン-ジビニルベンゼン共重合体を基材としたMultiporeHシリーズには、Table 1に示すようにタイプの異なる三種類の充填剤を用意している。

高分離能を追求したTSKgel MultiporeH_{XL}-M、架橋度を高め高温測定での安定性を重視したTSKgel MultiporeH_{HR}-M HTおよびカチオン性を有した疎水性ポリマー測定専用カラムとしてTSKgel Multipore H_{XL}-M Cは、いずれも多分散型細孔径充填カラムである。

これらのカラムの交換可能な溶媒をTable 2に示す。TSKgel MultiporeH_{XL}-MおよびTSKgel MultiporeH_{XL}-M Cは、同等の溶媒交換性であり、ジメチルホルムアミド (DMF) のような特殊溶媒にも対応したカラムも用意している。また、TSKgel MultiporeH_{HR}-M HTは、ポリオレフィンの測定溶媒として使用されるクロルベンゼン類に溶媒交換可能としている。

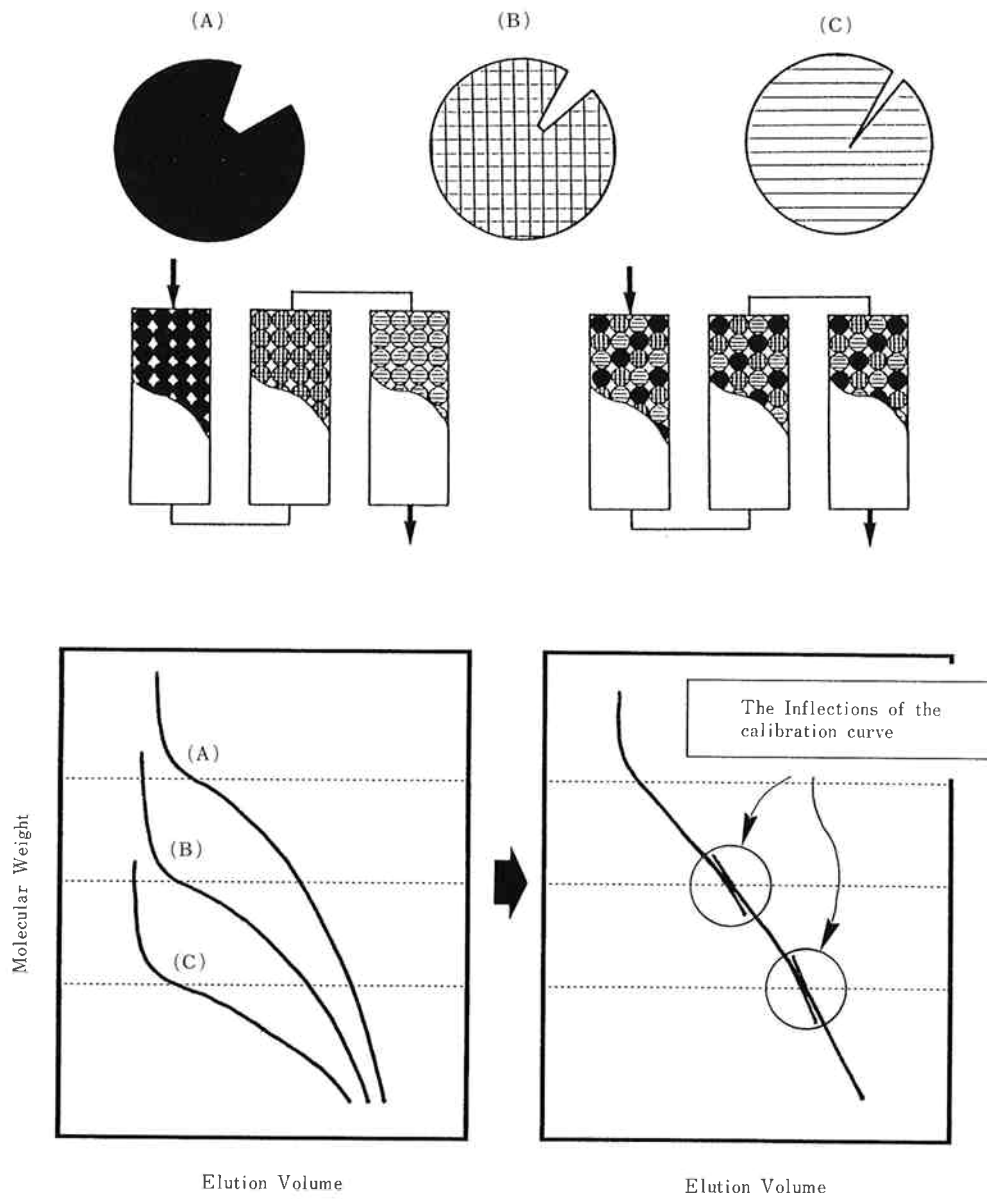


Fig. 1 Schematic representation of calibration curves of conventional SEC packings.

- (A) Large pore size packings
- (B) Middle pore size packings
- (C) Small pore size packings

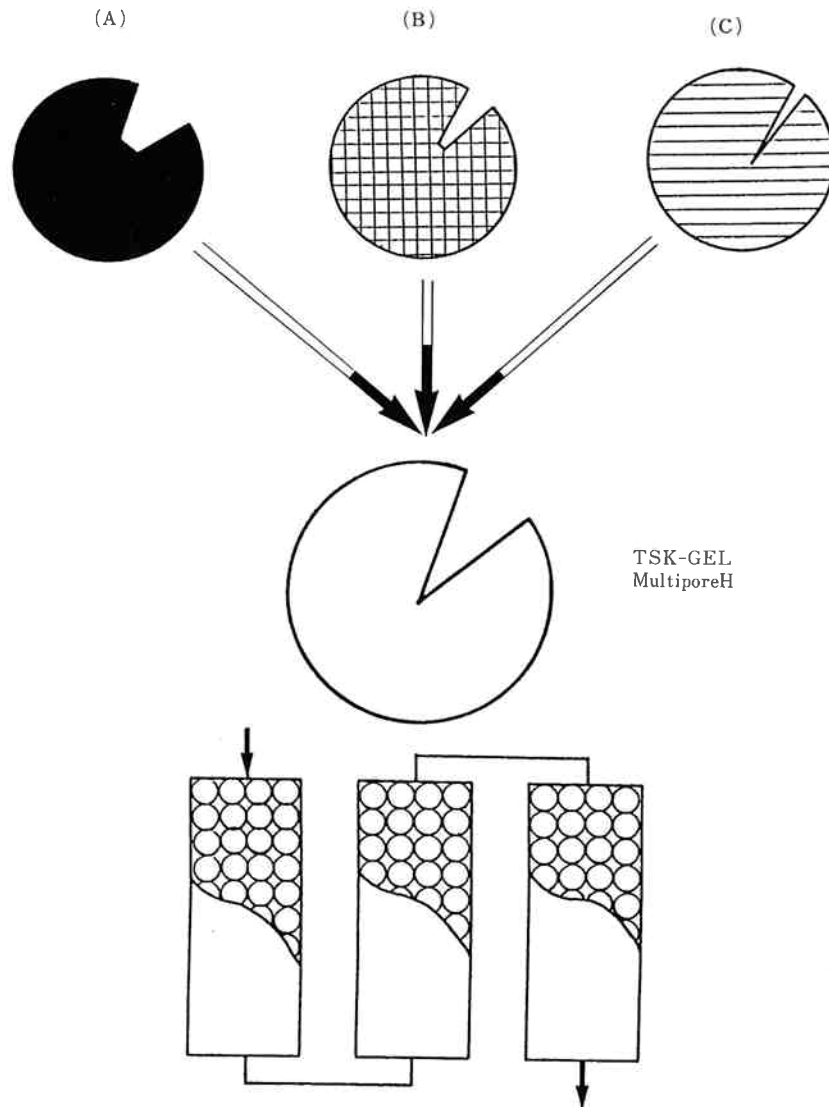
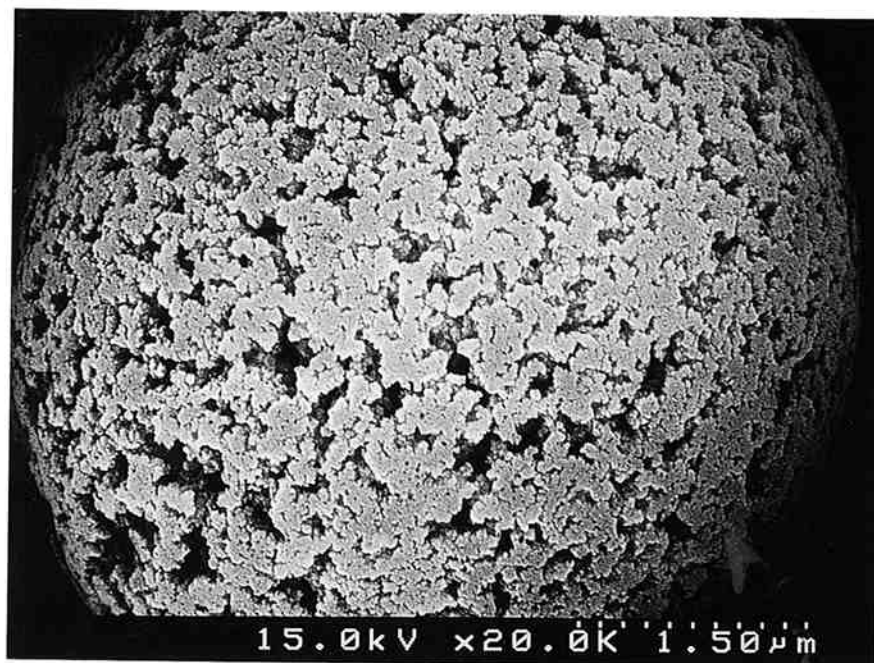
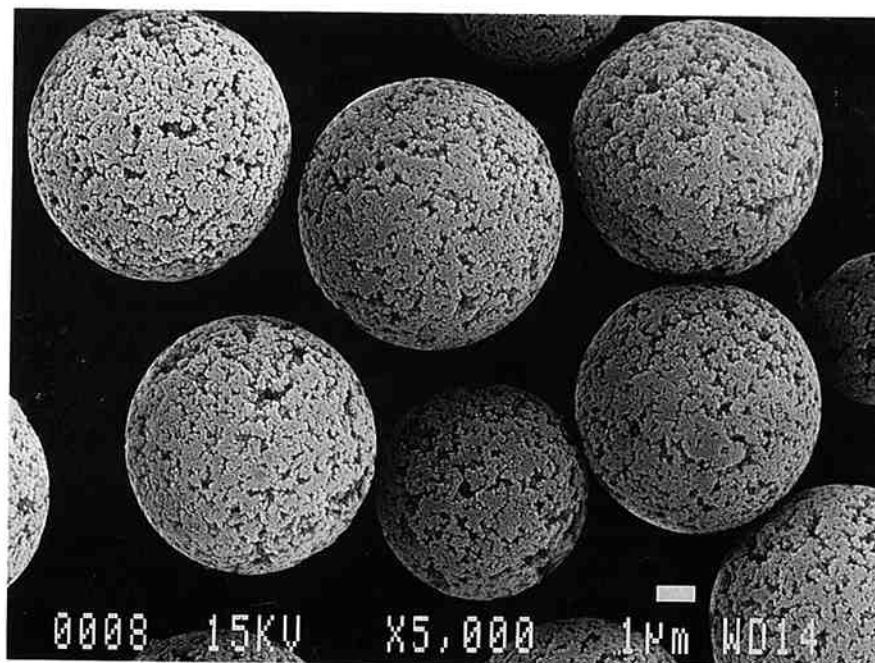


Fig. 2 Schematic representation of TSK-GEL MultiporeH packings.

- (A) Large pore size packings
- (B) Middle pore size packings
- (C) Small pore size packings



1 μm



2 μm

Fig. 3 SEM Photographs of TSKgel MultiporeH_{XL}-M.

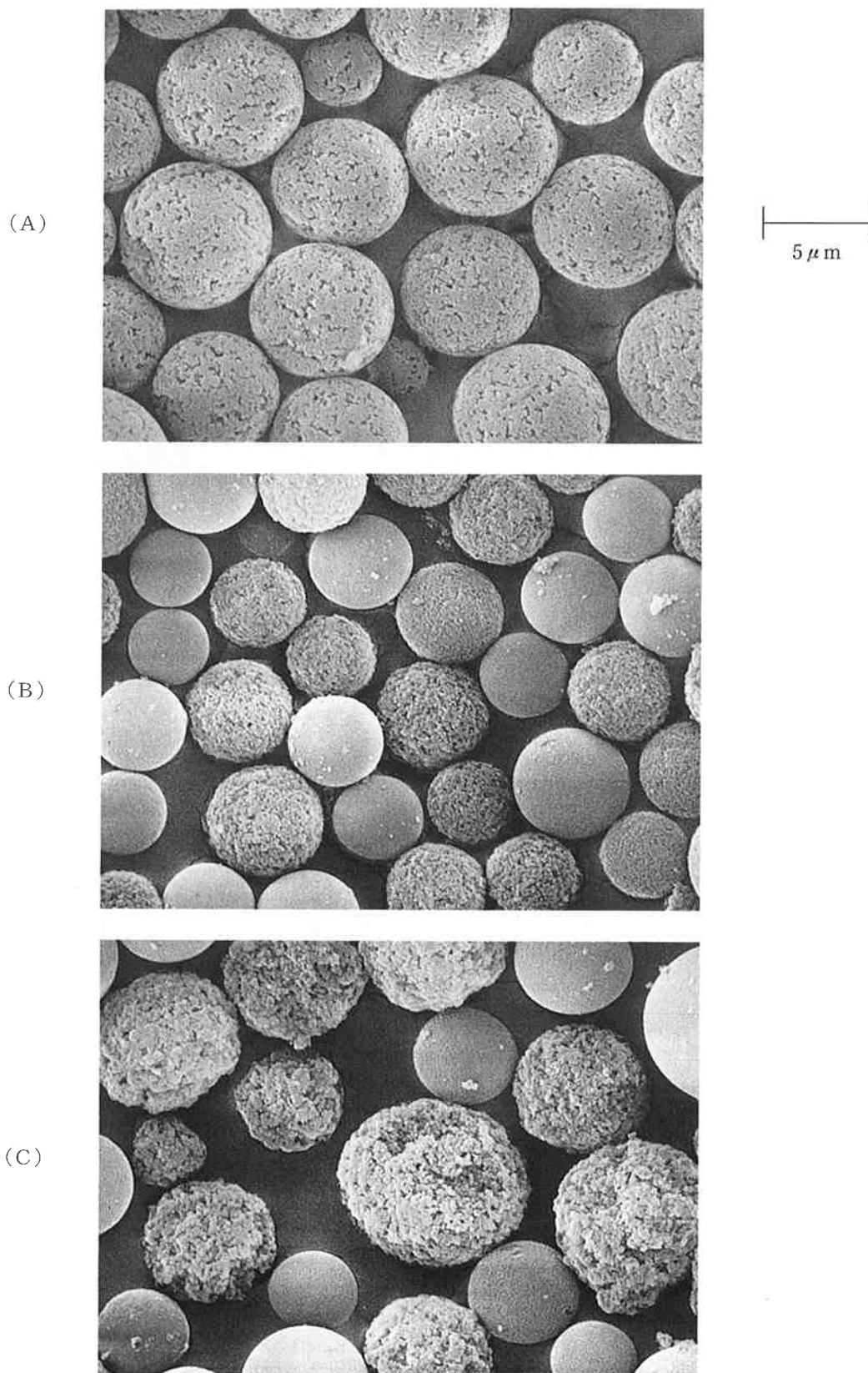


Fig. 4 SEM Photographs of TSKgel MultiporeH_{XL}-M, TSKgel GMH_{HR}-M and commercial MIX column.

- (A) TSKgel MultiporeH_{XL}-M
- (B) TSKgel GMH_{HR}-M
- (C) Commercial MIX column

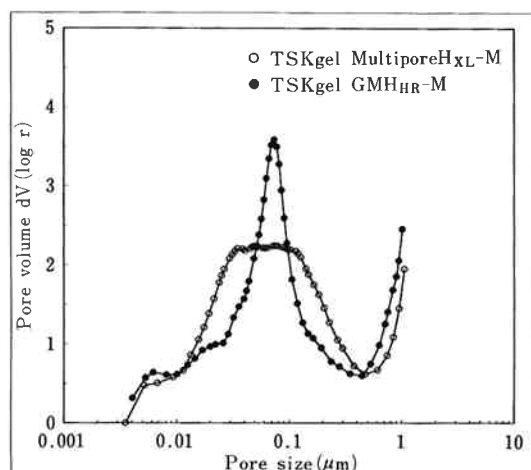


Fig. 5 Pore size distribution of TSKgel MultiporeH_{XL}-M and TSKgel GMH_{HR}-M.

3. 基本的性質

〔1〕 細孔分布特性

(1) 較正曲線

TSK-GEL MultiporeHシリーズの標準ポリスチレンによる較正曲線をFig. 6に示す。

TSKgel MultiporeH_{XL}-MとTSKgel MultiporeH_{XL}-M Cは、溶離液にTHFを用い、TSKgel MultiporeH_{HR}-M HTでは、135℃のo-ジクロロベンゼン (ODCB) での結果である。

また、Fig. 7にはTSKgel MultiporeH_{XL}-Mと市販品のミックスカラムの較正曲線を示す。TSKgel MultiporeH_{XL}-Mは、現行のミックスカラムに比べ較正曲線の傾きが緩やかであり、直線性にも優れた高性能なカラムであることがわかる。

TSKgel MultiporeH_{XL}-Mにおける較正曲線の測定流速依存性および測定温度依存性を検討した結果、測

Table 1 Characteristics of TSK-GEL MultiporeH series

Grade	Exclusion Limit (Polystyrene)	Theoretical* ¹ Plate (TP/30cm)	Particle Size (μm)	Shipping Solvent
TSKgel MultiporeH _{XL} -M	2 × 10 ⁶	16,000	5	THF* ²
TSKgel MultiporeH _{HR} -M HT	2 × 10 ⁶	16,000	5	ODCB* ³
TSKgel MultiporeH _{XL} -M C	2 × 10 ⁶	16,000	5	THF* ²

* 1 : Conditions

Column size : 7.8mmID*30cm
 Eluent : THF
 Flow rate : 1.0ml/min
 Temperature : 25℃
 Detection : UV 254nm
 Sample : Dicyclohexyl Phthalate

* 2 : Tetrahydrofuran

* 3 : o-Dichlorobenzene

Table 2 Solvent exchangeability of TSK-GEL MultiporeH series

Grade	Solvent
TSKgel MultiporeH _{XL} -M	Toluene, Xylene, Chloroform, Benzene Dichloromethane, Dichloroethane
TSKgel MultiporeH _{HR} -M HT	Chlorobenzene, Trichlorobenzene
TSKgel MultiporeH _{XL} -M C	Toluene, Xylene, Chloroform, Benzene Dichloromethane, Dichloroethane

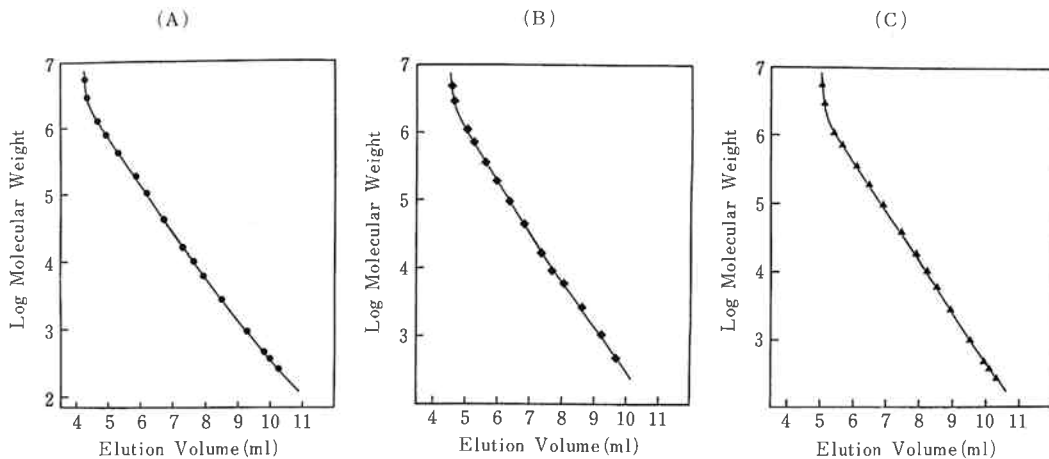


Fig. 6 Calibration curves of TSK-GEL MultiporeH series.

Conditions

Column : (A) TSKgel MultiporeH_{XL}-M
(B) TSKgel MultiporeH_{HR}-M HT
(C) TSKgel MultiporeH_{XL}-M C

Column size : 7.8mmID*30cm

Eluent : (A)&(C) THF (B) ODCB

Flow rate : 1.0ml/min

Temperature : (A)&(C) 25°C (B) 135°C

Detection : (A)&(C) UV 254nm (B) RI

Sample : Polystyrene standards

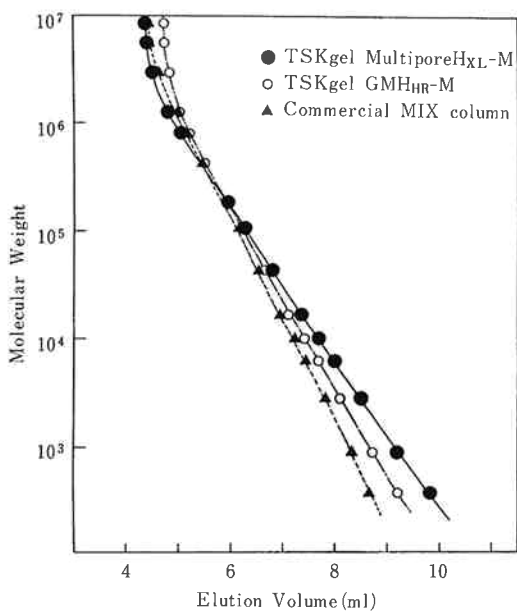


Fig. 7 Calibration curves of TSKgel MultiporeH_{XL}-M and commercial MIXED columns.

Conditions

Column size : TSK-GEL (7.8mmID*30cm)

Commercial column (7.5mmID*30cm)

Eluent : THF

Flow rate : 1.0ml/min

Temperature : 25°C

Detection : UV 254nm

Sample : Polystyrene standards

定流速および測定温度が校正曲線の直線性や傾きに及ぼす影響は小さかった。いずれの条件下でも良好な細孔分布特性を与えるので測定応用範囲が広いことが確認された。

TSKgel MultiporeH_{XL}-MとTSKgel MultiporeH_{XL}-M Cの校正曲線を、THF溶離液とCHCl₃溶離液での測定結果をFig. 8に示す。両溶離液ともに良好な校正曲線である。

(2) 細孔特性

TSK-GEL MultiporeHシリーズと現状のミックスカラムの標準ポリスチレンによる校正曲線から求められた細孔特性値の比較をTable 3に示した。

この表より、TSK-GEL MultiporeHシリーズは、直線性 (r^2) がより1に近く、また (b) の値が大きいため傾きが緩やかであることがわかり、現状のミックスカラムに比べ優れた直線性および高分離性能を有したカラムである。

〔2〕 分離性能

(1) 理論段数および分離能の流速依存性

Fig. 9に、TSKgel MultiporeH_{XL}-MとTSKgel GMH_{HR}-Mによる測定流速とフタル酸ジシクロヘキシル (DCHP) の理論段数の関係を示した。またFig. 10には、TSKgel MultiporeH_{XL}-Mによる測定流速と標

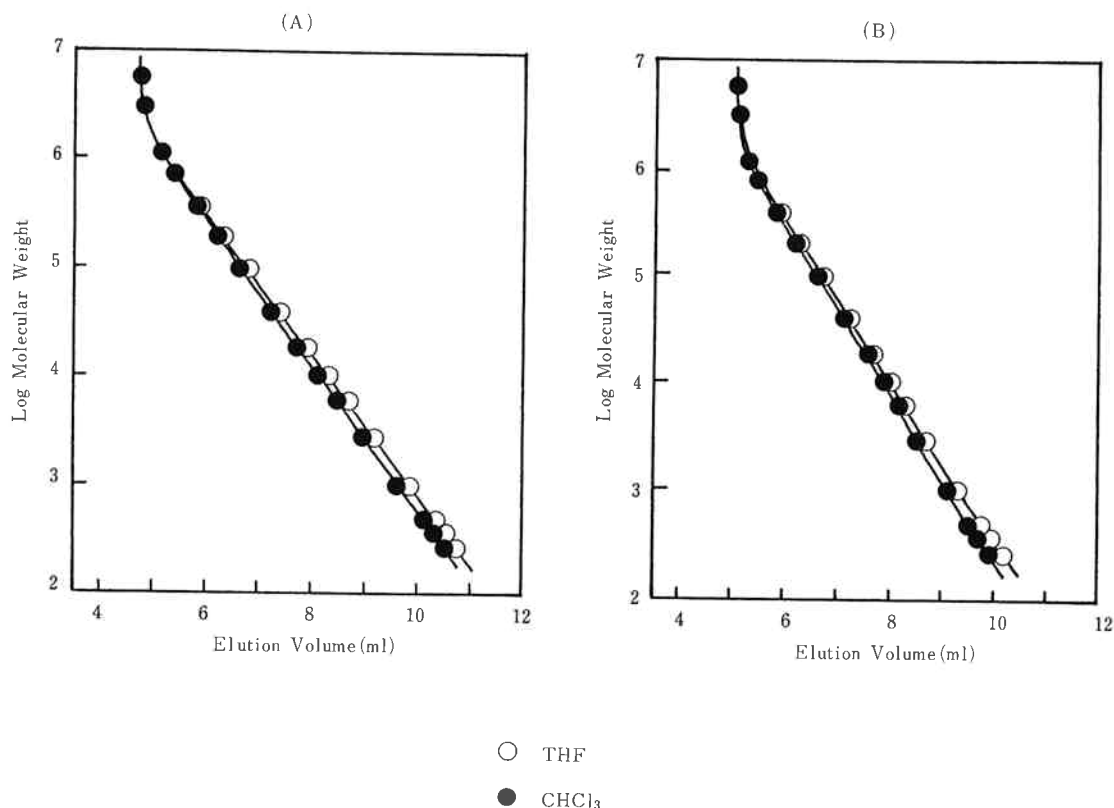


Fig. 8 Calibration curves of TSKgel MultiporeH_{XL}-M and TSKgel MultiporeH_{XL}-M C with polystyrene in THF and CHCl₃.

Conditions

Column : (A) TSKgel MultiporeH_{XL}-M
(B) TSKgel MultiporeH_{XL}-M C

Column size : 7.8mmID*30cm

Eluent : THF&CHCl₃

Flow rate : 1.0ml/min

Temperature : 25°C

Detection : UV 254nm

Sample : Polystyrene standards

標準ポリスチレン混合物の分離能の関係を示す。

高分離を得るためには、高分子試料では低流速測定が望ましいことがわかる。一方、低分子試料では0.8ml/min付近の比較的高流速が良いことがわかる。高分子試料は分子量分布を持っていることと測定時間の関係から実際には0.5~1.0ml/minが適正な流速として設定される。

(2) 試料注入量

TSKgel MultiporeH_{XL}-Mによる標準ポリスチレン混合物の注入量と分離能の関係をFig. 11に示す。この結果での最大試料注入量は、20 μ l程度であるが分子量分布を持つ実際の高分子試料の測定においては、少し多めの50 μ l~100 μ lが選択される。

[3] クロマトグラム特性

TSKgel MultiporeH_{XL}-Mと現状のカラムシステムによるエポキシ樹脂のクロマトグラムの比較をFig. 12に示す。現状品では、いずれの場合もクロマトグラムに凹凸が観察されるが、単一粒子内に幅広く細孔径分布を有する新しいタイプの多分散型細孔径GPC用カラムTSKgel MultiporeH_{XL}-Mでは、このような現象は観られず理想的でスムーズなクロマトグラムを示している。

Fig. 13には、三種類のTSK-GEL MultiporeHシリーズによるエポキシ樹脂のクロマトグラムを示す。三者の性質は異なるが、いずれも多分散型細孔径GPC用カラムであるため、それぞれのクロマトグラムには凹凸は観察されない。

Table 3 Properties of TSK-GEL MultiporeH series and commercial columns

Column designation	Exclusion Limit (Polystyrene)	Mean Pore size $\Phi_m(\text{\AA})^{*1}$	Porosity (ϵ) ^{*2}	Calibration Linearity (r^2) ^{*3}	Slope (b) ^{*3}
TSKgel MultiporeH _{XL} -M	2×10^6	135	0.70	0.9993	-0.701
TSKgel MultiporeH _{HR} -M HT	2×10^6	135	0.70	0.9992	-0.753
TSKgel MultiporeH _{XL} -M C	2×10^6	135	0.70	0.9993	-0.730
MIX-BED Columns					
TSKgel GMH _{HR} -M	2.5×10^6	140	0.64	0.9991	-0.839
Commercial column (A)	4×10^6	160	0.60	0.9990	-0.932
Commercial column (B)	3×10^6	190	0.64	0.9981	-0.746

* 1 : The diameter of the probe molecules (Φ , in \AA) was calculated from the equation given by Halász and Martin²¹⁾

$$\Phi_m(\text{\AA}) = 0.62(Mw_{1/2})^{0.59}$$

Where $Mw_{1/2}$ is the gram-molecular weight of the probe

* 2 : $\epsilon = V_t - V_o / V_{col} - V_o$

Where V_t is the total permeation volume, V_o is the void volume and V_{col} is the empty column volume

* 3 : Linearity(r^2) and slope(b) of calibration were calculated from the following equations

$$r^2 = \frac{a \cdot \Sigma Y + b \Sigma XY - 1/n(\Sigma Y)^2}{\Sigma Y^2 - 1/n(\Sigma Y)^2}$$

$$a = 1/n(\Sigma Y - b \Sigma X)$$

$$b = \frac{\Sigma XY - 1/n \Sigma X \cdot \Sigma Y}{\Sigma X^2 - 1/n(\Sigma X)^2}$$

Y : $\log_{10}(Mw)$, X : Elution volume(ml)

$$y = a + bx$$

[4] 吸着特性

カチオン性の試料を、THFや CHCl_3 単独溶離液で正常なSEC測定を行なうことは、容易ではない。Fig. 14にTSKgel MultiporeH_{XL}-M Cと現状カラムによるカチオン性アクリル系樹脂のクロマトグラムを示す。

TSKgel MultiporeH_{XL}-M Cでは、この試料のSEC溶出を可能としているが、現状のカラムでは、いずれの場合も試料がカラムへの強い吸着現象のため溶出していない。

また、標準ポリスチレンと標準ポリ(2-ビニルピリジン)を用いて作成した校正曲線を比較したところ、標準ポリスチレンの校正曲線とカチオン性試料である標準ポリ(2-ビニルピリジン)の校正曲線が良く一致していることがわかった。

4. SEC測定

[1] TSKgel MultiporeH_{XL}-Mと現状品による

各種試料のSECクロマトグラムの比較

Figs. 15~16に、TSKgel MultiporeH_{XL}-Mと細孔分布の異なった4グレードのTSK-GEL H_{XL}カラムシステムによるフェノール樹脂とアルキド樹脂のSECクロマトグラムの比較を示す。TSK-GEL H_{XL}カラムシステムの場合は、いずれの試料においてもクロマトグラムに凹凸(←で示した)が観察された。これは、使用された各グレードの排除限界分子量部分に相当している。

Fig. 17には、TSKgel MultiporeH_{XL}-Mと細孔分布の異なった充填剤の混合比率を最適化し、校正曲線の直線性を良好にしたミックスカラムであるTSKgel GMH_{HR}-Mおよび他社ミックスリニアークラムによるアクリル樹脂のクロマトグラムの比較を示した。校正

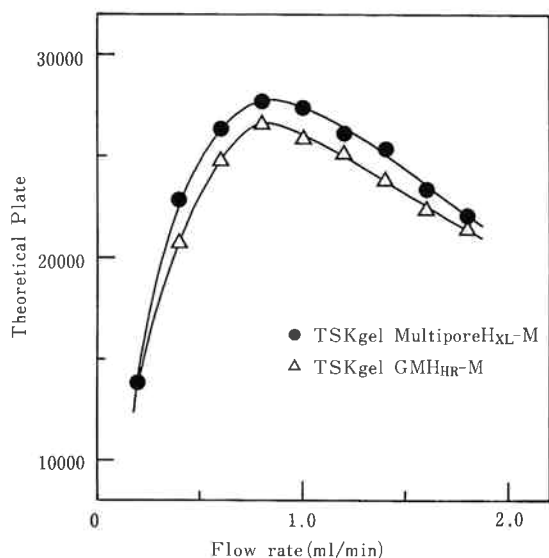


Fig. 9 The effect of flow rate on theoretical plate on TSKgel MultiporeH_{XL}-M and TSKgel GMH_{HR}-M.

Conditions

Column size : 7.8mmID*30cm
 Eluent : THF
 Flow rate : 0.2~1.8ml/min
 Temperature : 25°C
 Detection : UV 254nm
 Sample : Dicyclohexyl Phthalate 20 μl(0.1%)

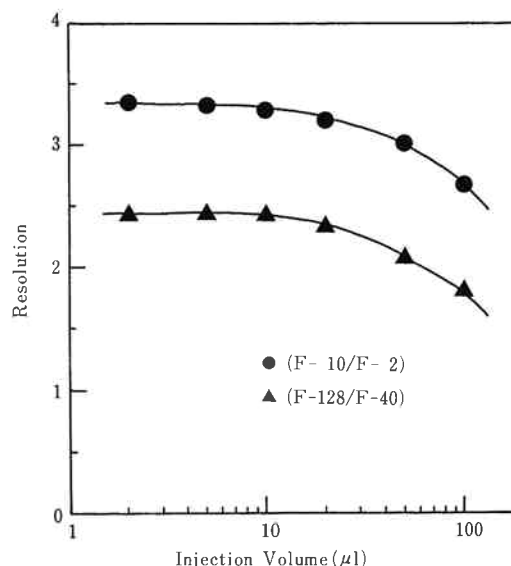


Fig. 11 Relationship between resolution and injection volume on TSKgel MultiporeH_{XL}-M.

Conditions

Column size : 7.8mmID*30cm
 Eluent : THF
 Flow rate : 1.0ml/min
 Temperature : 25°C
 Detection : UV 254nm
 Sample : Polystyrene standards mixture 2~100 μl
 Sample concentration : F-128(0.02%)/F-40(0.05%)
 F-10(0.05%)/F-2(0.1%)

← Inflections of the chromatograms

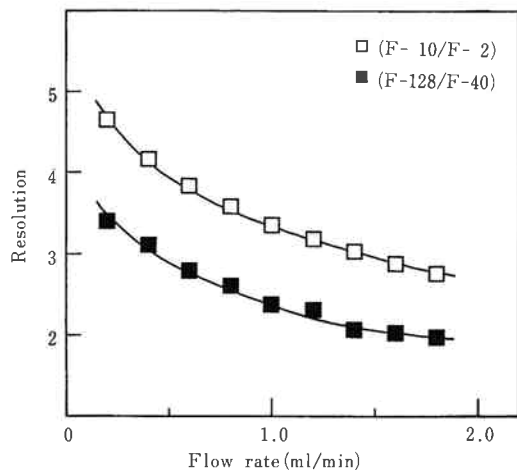


Fig. 10 Relationship between resolution and flow rate on TSKgel MultiporeH_{XL}-M.

Conditions

Column size : 7.8mmID*30cm
 Eluent : THF
 Flow rate : 0.2~1.8ml/min
 Temperature : 25°C
 Detection : UV 254nm
 Sample : Polystyrene standards mixture 20 μl
 Sample concentration : F-128(0.02%)/F-40(0.05%)
 F-10(0.05%)/F-2(0.1%)

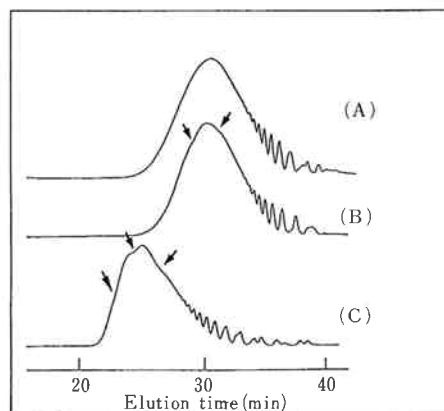


Fig. 12 Chromatograms of epoxy resin on TSKgel MultiporeH_{XL}-M and conventional columns.

Conditions

Column : (A) TSKgel MultiporeH_{XL}-M
 (B) TSKgel GMH_{HR}-M
 (C) TSKgel G4000H_{XL}+G3000H_{XL}
 +G2500H_{XL}+G2000H_{XL}
 Column size : 7.8mmID*30cmx4
 Eluent : THF
 Flow rate : 1.0ml/min
 Temperature : 40°C
 Detection : RI
 Instrument : HLC-8120GPC(TOSOH)
 Sample : Epoxy resin (Epikote 1009)