

# Application News

## No.L561K

### High Performance Liquid Chromatography

## 고속 Nexera GPC 시스템을 이용한 첨가제의 분자량 산정 및 정량분석

High Speed GPC Analysis by Nexera™ GPC System:  
Calculation of Molecular Weight and Quantitative

중합체의 분자량 분포 측정은 크기 배제 모드를 활용한 HPLC의 한 분야로, 오랫동안 GPC(겔 투과 크로마토그래피)라고 불렸습니다. 최근, 이미 확립된 GPC분석에도 고속분석에 의한 처리량 증대를 위한 고속 GPC가 고려되어지고 있습니다. 본 자료에서는 작은 입자가 채워진 고속 GPC컬럼으로 구성된 GPC 시스템과 외부 컬럼의 확산을 절대적으로 최소화하여 성능을 검증하는 Nexera XR UHPLC 이용하여 고속 GPC 분석을 실시하였습니다. 또한 GPC 분석의 효율성 향상을 보여주기 위해 LabSolutions™ 워크스테이션에서 제공되는 추가적인 PDA검출기와 디콘볼루션 기능을 사용하여 고속 GPC 분석에서 저분자 중합체 첨가물을 동시에 결정하는 방법을 소개합니다.

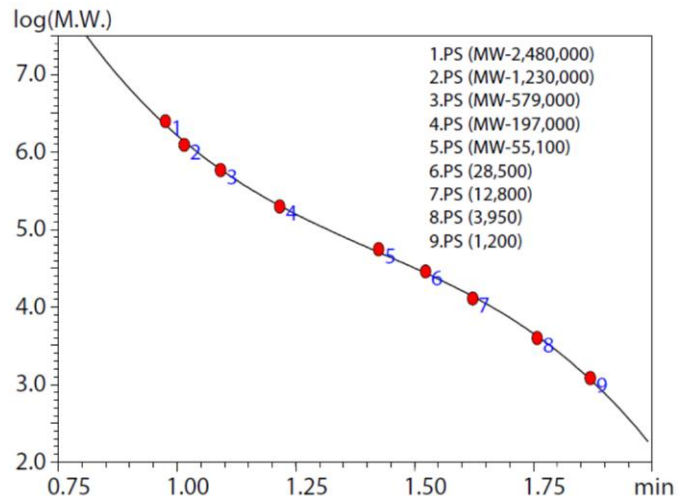
Y. Watabe

#### ■ 고속 GPC 분석

시료 분자량에 반응하는 굴절률 검출기(RID)는 고분자 화합물의 평균 분자량 및 다분산성을 계산하기 위해 GPC분석에서 일반적으로 사용되지만 RID는 온도 변화에 민감하게 반응하는 것으로 알려져 있습니다. 더욱이 GPC 계산은 단순히 피크 면적의 영향을 받는 것이 아니라 전체 용출구간에 걸쳐 피크 형상에 영향을 받기 때문에 일반 HPLC 계산에 비해 GPC 계산의 재현성 평가가 더 엄격합니다. 본 자료의 분석에서는 입자 크기가 3.5um인 GPC 컬럼과 semi-micro 분석을 지원하는 RID(Shodex™ RI-504)를 이용하여 고속 GPC 분석을 실시 하였습니다. 평균 분자량 및 다분산성을 측정하여 5회 연속 분석의 재현성을 검증하였습니다. Table 1은 분석 조건의 세부사항을 보여줍니다. 표에는 다음 페이지에서 설명하는 PDA검출기의 설정도 나와 있습니다. Fig. 1은 polystyrene 표준 마커를 사용하여 GPC 계산을 위해 생성된 검정 곡선을 보여줍니다.

**Table 1 Analytical Conditions**

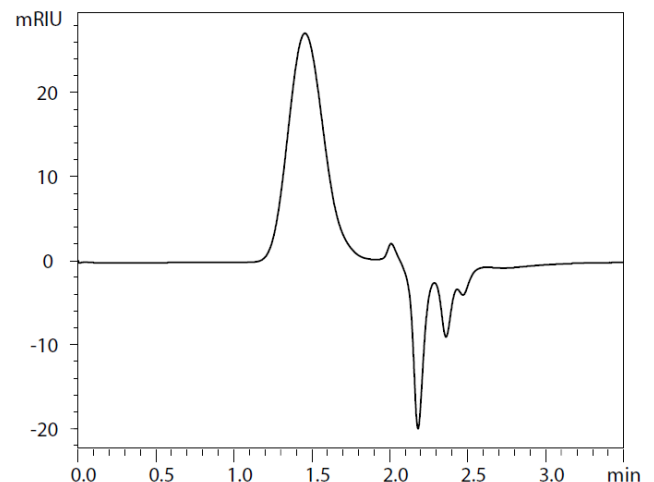
System	: Nexera XR GPC
Column	: Shodex GPC HK-404L (150 mm × 4.6 mm I.D., 3.5 μm)
Mobile phase	: THF
Flow rate	: 0.8 mL/min
Column temp.	: 40 °C
Injection vol.	: 5 μL
Detection	: RI-504 (RID) Cell temp.: 40 °C SPD-M40 (PDA, UHPLC cell equipped) Wave length range: 190-400 nm Cell temp.: 40 °C Response: 0.025 s Sampling: 0.025 s
Sample	: 0.2% (w/v)
Analysis time	: 3.5 min



**Fig. 1 Calibration Curve Created Using Polystyrene Standard**

#### ■ GPC 분석 및 논의 결과

Fig.2는 RID 검출기로 얻은 고속 GPC 크로마토그램입니다. 실제 투과 한계 주변의 용출량은 약 1.6~2mL로 나타납니다. 단, 바탕선의 안정성을 고려하여 연속 분석, 즉 사이클 타임에 대한 1개 샘플 분석 시간을 약 3.5분으로 설정했습니다. 또한, peak 앞쪽에 해당하는 분자량도 약 600,000으로 Fig.1에 나타난 검정곡선을 이용하여 적절한 GPC 계산이 실행되었음을 시사합니다.



**Fig. 2 Chromatogram of Polystyrene Sample by High Speed GPC**

Fig.3은 고속 GPC를 이용한 5샘플 연속 분석으로 얻은 크로마토그램의 비교입니다.

Table2는 평균 분자량, 중량 평균 분자량, 다분산성의 수를 재현성 수치와 함께 정리하였습니다. 3~4분의 짧은 분석 사이클 시간에도 안정적인 연속 분석이 가능했고, 만족스러운 GPC 분석의 반복성을 얻었습니다.

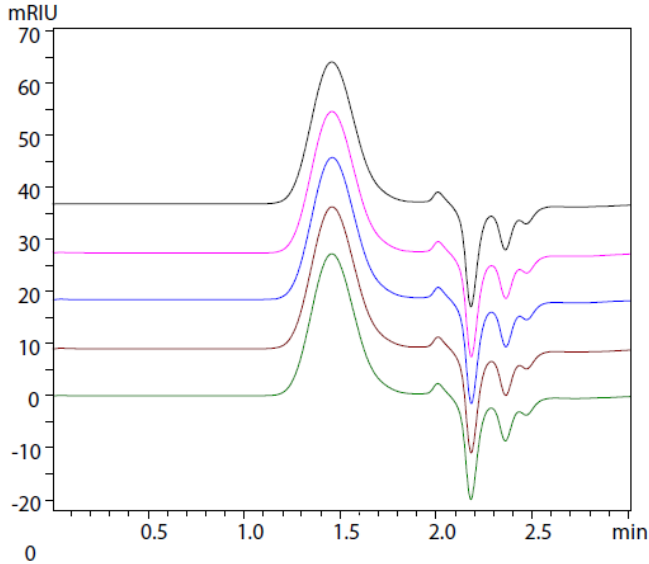


Fig. 3 Comparison of Chromatograms in Continuous High Speed GPC Analysis

Table 2 GPC Calculation Results of Polystyrene Sample (n=5)

	Mn	Mw	Mw/Mn
Polystyrene	$2.73 \times 10^4$	$4.67 \times 10^4$	1.71
%RSD	0.89	0.68	0.23

#### ■ i-PDeA II에 의한 폴리머 시료 내 미분리 첨가제의 티콘볼루션 (deconvolution)

고분자 첨가물의 정량적 분석에서 일반적으로 GPC 컬럼만을 사용하여 2개 이상의 저분자 첨가물을 완벽히 분리하는 것은 어렵습니다. 그 결과로, 이러한 첨가제는 분취LC나 더 높은 분리능을 기대할 수 있는 역상크로마토그래피에 의해 수집됩니다. 단, PDA 검출기로 얻은 스펙트럼 정보를 바탕으로 분리되지 않은 peak를 디콘볼루션하는 LabSolutions workstation의 iPDeA II(Intelligent Peak Deconvolution Analysis II) 기능을 이용하여 시뮬레이션 한 후 각 화합물에 대한 티콘볼루션 크로마토그래피 솔루션을 얻을 수 있습니다. 디콘볼루션에 의해 얻어지는 크로마토그래픽 정보는 정량적 결정에서도 함께 사용될 수 있습니다. 더욱이, 디콘볼루션은 크로마토그램에 국한되지 않고 스펙트럼 분석에도 적용할 수 있어 정성 분석의 성능 향상에도 기여합니다. i-PDeA II에 대한 자세한 내용은 시마즈 기술 보고서 No. C191-E042에서 확인할 수 있습니다.

이 자료에서 분석한 폴리스티렌 샘플에 포함된 첨가제 중 표준 화합물을 준비할 수 있는 Irganox®1010 및 Tinuvin®144에 대한 용출 시간이 확인되었으며, 이러한 화합물은 Fig.4의 PDA 크로마토그램에서 UV254nm에서 용출 위치가 거의 동일하였습니다. Fig.4의 데이터 처리 보정 라인에서 볼 수 있듯이, 이 두 화합물은 분리되지 않은 peak를 형성하였습니다. Fig.5는 폴리스티렌 및 저분자량 첨가제의 용출 간격 동안 i-PDeA II 기능으로 얻은 각 화합물의 중첩된 디콘볼루션 크로마토그램입니다. Irganox 1010과 Tinuvin144에서 기원한 peak는 #2, #4로 디콘볼루션 되었고, 폴리스티렌의 함량비는 peak 면적을 기준으로 별도로 생성된 교정 곡선을 사용하여 26.9mg/g와 3.9mg/g로 정량 되었습니다.

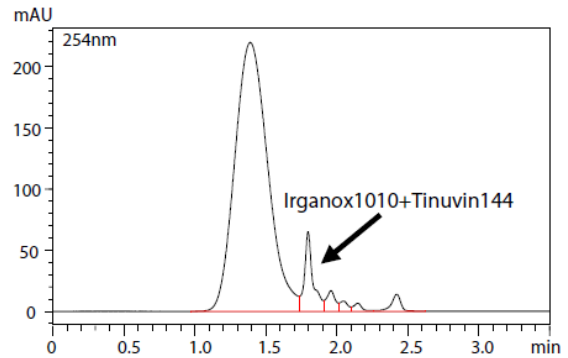


Fig. 4 PDA Chromatogram of Polystyrene Containing Additives

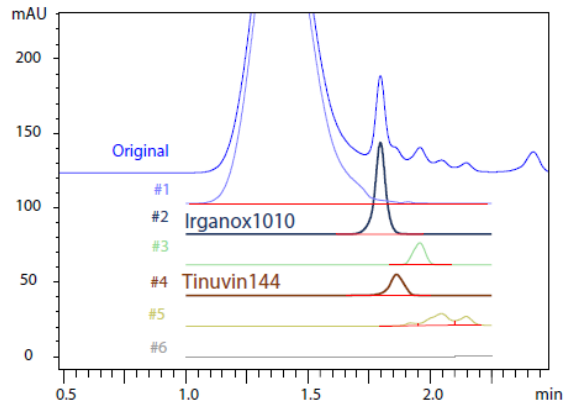


Fig. 5 Result of Deconvolution of Polystyrene and Additive During Elution Interval

#### ■ 결론

이번 실험을 통하여, SHIMADZU Nexera XR GPC 시스템을 기존 GPC 분석과 동등한 신뢰도로 고속 GPC 분석에 적용할 수 있다는 것을 확인하였습니다. 기존 GPC 컬럼만 사용할 경우 저분자량 첨가물에 대한 완전한 분리 및 정량적 판단이 어려웠지만, 이번 실험에서는 i-PDeA II 디콘볼루션 함수에 의한 고속 GPC 분석에서 이들 첨가제의 분리 및 정량적 분석이 가능하다는 것을 입증하였습니다.