



LC/NMR による高分子のキャラクタリゼーション

右手 浩一

1 きっかけ

1986年12月、私の所属する大阪大学基礎工学部に待望の超伝導NMR（日本電子製JNM GX500型）が設置された。この装置は理学部との共同利用設備として導入されたもので、豊中キャンパスに設置された最初の超伝導NMRでもあった。それまで200~400 MHz NMRの測定では、学内外の施設^{*1}でたびたびお世話になっていた。市販の装置としては当時最高の500 MHz NMRを好きにだけ使えるのは夢のようなことで、二次元NMRなど、やってみたい測定がいくらでもあった。

ただし、この500 MHz NMRは「超微量機能材料分離解析装置」の名称で要求が出され、当初から液体クロマトグラフィ（LC）による分離機能との連結が念頭に置かれていた¹⁾。1978年のWatanabeらの報告²⁾を皮切りに、ドイツ³⁾、アメリカ⁴⁾、イギリス⁵⁾の研究グループがLC/NMRに関する論文を発表していたが、私たちも超伝導NMRの導入を機に、この新しい測定法の研究を始めることになったのである。500 MHzのLC/NMRはまだ報告されておらず、高分子分析にLC/NMRを使った例も見当たらなかった。

恩師の畑田耕一先生^{*2}らの発案により、日本電子^株の協力のもとでLC検出器（プローブ）が出来上がった。これは、通常の¹H専用5 mm径プローブを改造してフローセル（図1）を装着したものである。構造上、温度制御ができなかったが、セルの交換は容易だった。有機溶媒を主体とする私たちのLC/NMRでは接着剤が使えないため、初期には液漏れや気泡に悩まされた。セル内の乱流も深刻な問題で、流路のデザインに工夫が必要なこともわかってきた。

2 SEC/NMRによるポリマー・オリゴマーのキャラクタリゼーション⁶⁾⁷⁾

流速の増大に伴う検出感度と分解能の変化など、LC/NMRの基礎的データを取り終えてみると、私たちのプローブは期待どおりの性能を示していた。あとは、この性能をいかに発揮させるかである。LCとNMRを別々に測定する場合に比べて時間が短縮されたり、手間が省けたりという利便性^{*3}のほかに、LC/NMR独自の長があるはずだと考えた。

幸い、合成高分子を対象にした場合、LC/NMRには明確な

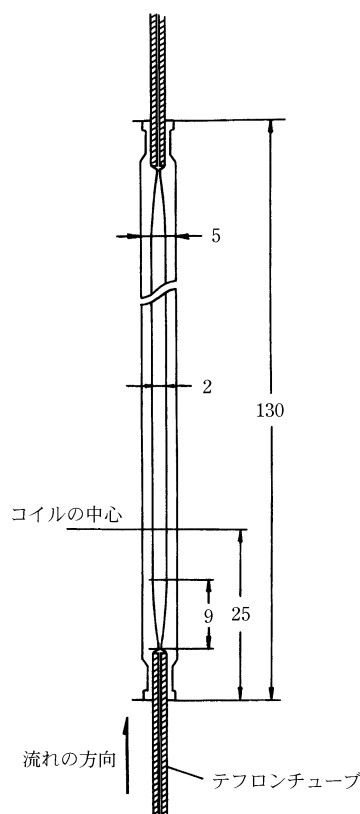


図1 フローセルの一例（単位：mm）

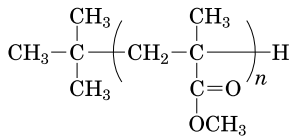
利点の一つあった。それは、合成高分子の本質ともいえる「化学構造の分布」を、そのまま測定できるという利点である。通常の合成高分子は、分子量、立体規則性、共重合組成、末端基などの異なる無数の分子種の混合物なので、低分子のように個々の成分をLCで分離することは不可能に近い。合成高分子のLC溶出曲線は、なんらかの化学構造に関する分布を表している。溶出帯の分取という操作の不要なLC/NMRは、このような分布を連続的に分析できるのである。

^{*1} 阪大蛋白研（200 MHz）、国立循環器病センター・奈良女子大（270 MHz）、^株日東技術情報センター・日本電子^株・姫路工大（400 MHz）のご厚意による。

^{*2} 現・福井工大教授、阪大名誉教授。

^{*3} 最近では「ハイスループットNMR」の概念に発展し、実用の域に達している。

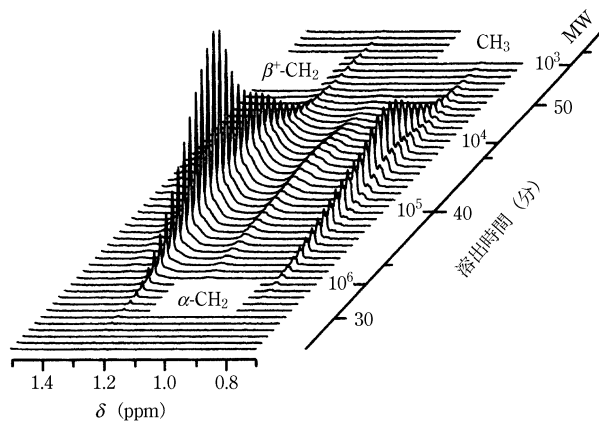
まず、リビング重合で合成したポリメタクリル酸メチル (PMMA, 式1) のサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) に LC/NMR を応用した (私たちはこれを SEC/NMR または GPC/NMR と呼んでいる)。



式1

通常、SEC の溶出曲線を分子量分布に換算するには保持容量 V と分子量 M との関係を知る必要があるが、この PMMA の SEC/NMR では $V-M$ の関係が直接得られる。溶出ポリマーの末端基定量により、その場で数平均重合度が求まるからである。当時の 500 MHz SEC/NMR では数平均分子量 (M_n) 5260 の PMMA についてこのような測定が可能であり、 $V-M$ の「絶対校正曲線」を得ることができた⁸⁾。最近の 750 MHz SEC/NMR では、 $M_n = 24200$ の PMMA でも同様の測定が可能である⁹⁾。これらの実験は、SEC/NMR の測定精度や信頼性の評価という点でも重要な意味を持っている。よく似た例が、ポリエーテルスルホンの SEC/NMR について報告されている¹⁰⁾。

SEC と NMR は、それぞれが高分子分析の優れた方法なので、これらを組み合わせた SEC/NMR がもたらす情報は豊富である。たとえば、メタクリル酸エステルのブロックおよびランダム共重合体¹¹⁾¹²⁾、エチレン-プロピレン-ジエン共重合体¹³⁾、アクリル酸-メタクリル酸ラウリル共重合体¹⁴⁾、スチレン-アクリル酸エステル共重合体¹⁵⁾¹⁶⁾ の組成と分子量との相関を分析できる (図2)。ポリ酢酸ビニル加水分解物の SEC/NMR では、ビニルアルコール連鎖長の分子量依存性がわかる¹⁷⁾。PMMA¹⁸⁾ やクロラルオリゴマー¹⁹⁾ の立体規則性と分子量の関係も分析することも可能である。いずれの場合も、SEC の検出器として NMR を用いるメリットは明らかである。



CH 基に隣接する CH₂ 基を α-, それ以外を β- で表す。CH 基のシグナル (1.36-1.52 ppm) は、拡大すればみえる。

図2 エチレン-プロピレン-ジエン共重合体 (EPDM) の 750 MHz SEC/NMR 曲線¹³⁾

3 500 MHz から 750 MHz へ: LC/NMR の技術革新とともに

500 MHz NMR の導入から 10 年後の 1996 年 8 月、大阪大学ベンチャービジネスラボラトリーに 750 MHz NMR (パリアン製 Unity-INOVA 750 型) が設置され、その利用が私たちにも認められた。市販で最高の NMR 装置を使って LC/NMR を測定する幸運に、再び恵まれたわけである。

この頃すでに LC/NMR は実用的な分析法として認知されつつあった。LC/NMR 用に最適化されたプローブが市販され、検出感度が大幅に向上していた。実際、新しい 750 MHz 用 LC プローブの S/N は、前述の 500 MHz 用 LC プローブの 9.2 倍^{*4} という測定結果が出た⁹⁾。温度制御も可能になった。計算機能力の向上によって、大量のデータ処理が容易になった。さらに、溶媒シグナルの消去技術が画期的に進歩し、LC/NMR の実用化に大きく貢献していた。これらの進歩については、過去に本誌で解説されている^{20)~22)}。

SEC では比較的安価な重クロロホルムや重水を移動相として使えるため、750 MHz SEC/NMR の主たる特長は高感度と高分解能にある⁹⁾¹³⁾。溶媒シグナルの消去とプローブの温度制御が可能になったことで、SEC/NMR の適用範囲は広がった。たとえば、アセトン/重アセトン (95/5) を移動相とする PMMA ステレオコンプレックスの SEC/NMR では、溶媒消去と温度制御が不可欠である²³⁾。

一方、高分子の LC 分析における SEC 以外の分離モードがしだいに注目されるようになってきた。Pasch らは、アセトニトリル/重水を溶離液とする逆相タイプの LC/NMR により、ポリエチレンオキシド²⁴⁾ とスチレンオリゴマー²⁵⁾ のキャラクタリゼーションについて報告している。私たちは、臨界吸着 LC という新しい分離モードを利用した LC/NMR の研究を行った (LCCAP/NMR)。この LC では、ポリマーの分子量による分離効果が最小化され、立体規則性や末端基など「分子量以外の化学構造」に基づく分離が可能になる。アセトン/重アセトン/シクロヘキサンを移動相に用いたメタクリル酸エチルの LCCAP/NMR について実験したところ、試料の持つ「立体規則性分布」を見事にとらえることができた²⁶⁾。今後、LC による分離技術が発展するにつれて、LC/NMR による高分子キャラクタリゼーションはさらに有用なものとなるだろう。

LC/NMR の周辺技術も、まだまだ進歩が止まりそうにない。NMR の rf コイルを液体ヘリウムで冷却する技術が LC プローブにも適用され、検出感度が従来の数倍になるとしている。また、LC/NMR のデータ解析にケモメトリックス的手法が導入され、従来の解析では見落とされていた細かな情報を抽出できるようになりつつある¹⁴⁾²³⁾。

4 750 MHz LC/NMR で起こった事故

もし、読者がこれから LC/NMR を実施されるなら、お伝えしたいことがある。LC/NMR 測定の安全性についてである。

超伝導磁石の近辺にクロマト機器を配置する LC/NMR では、漏洩磁場に対する十分な対策が必要である。クロマト分離への影

*4 低ノイズアンパや DSP など、 S/N 向上の理由はほかにもある。

響を考えれば、LC と NMR を結ぶ配管をなるべく短くしたいところだが、それに限度があることは言うまでもない。恐ろしいのは、機器を磁石にうっかり近づけてしまう可能性だ。磁場は目に見えず、クロマト機器は運びやすい。

500 MHz 装置で LC/NMR を始めた頃、院生の一人が磁石に UV 検出器を吸い付けられたことがある。LC/NMR ではないが、私自身もこの磁石に電気掃除機をくっつけた経験がある。いずれの場合も事なきを得たが、磁場の恐ろしさは身にしてみていた。しかし、それでも事故は起きた。

750 MHz NMR の測定室にいた院生（O 君）から第一報があったのは夕刻だ。豊中キャンパスから車で 15 分のベンチャービジネスラボラトリーまで、LC/NMR 用の循環恒温槽を一人で取りに行ったらしい。責任逃れのももりはないが、必ず二人で行くよう指示したはずだった。O 君は、750 MHz NMR の経験 15 か月の、優秀で気配りのできる院生だ。一緒に行くつもりだった学生が忙しそうなので気をつかったのが裏目に出た。

事故当時の測定室の概略を図 3 に示す。磁石の表面から 2 m あまりの場所に木製の机があり、この上にクロマトグラフが置かれていた。机の磁石側にカラムを載せ、温度をジャケットで制御する構成だった。このジャケットに水を循環させる恒温槽（重量 25 kg、W 170 × D 370 × H 500）が、すぐ奥の床に置いてあったのである。

O 君は豊中キャンパスの研究室まで恒温槽を持ち帰るべく、測定室内の階段で地階へ降りた。実は O 君もこの日は忙しく、さっさと車に積んで帰りたいかった。窮屈なスペースでいきなり恒温槽を抱えた彼は、机と柱の間を通り抜けるのではなく、磁石に近い側から階段へ向かうルートをとった。普段は考えられないことだ。磁石に背を向けながら慎重に運ぼうとした O 君だったが、磁石表面から約 1.4 m の位置（図 3 印）で一

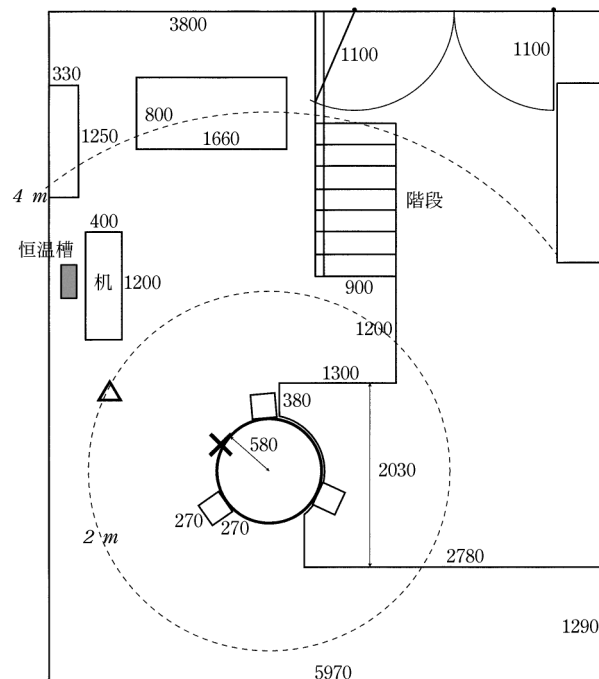


図 3 事故当時の 750 MHz NMR 室の見取図

瞬のうちに磁場に引き込まれ、恒温槽もろとも磁石に叩きつけられた（図 3 × 印）。印地点の漏洩磁場は、推定 100 G である。

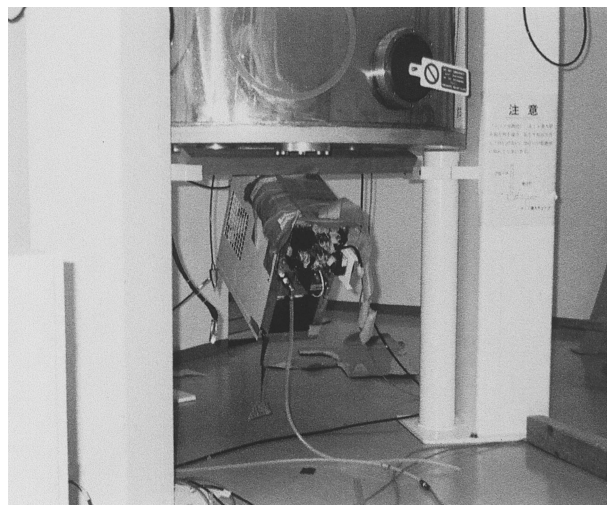
O 君はこのとき、750 MHz の巨大な磁石の上部からヘリウム蒸気が 50 cm ほど吹き上がるのを見た。クエンチの前兆と直感したが、蒸気の噴出はすぐに収まった。私としては、この時点で連絡して欲しかったが、彼が動揺していたのも無理はない。O 君は恒温槽と磁石に挟まれた際、右手指 3 本に裂傷を負っていた。非常に幸運なことに、これは軽傷ですんだ。磁石の表面が曲面だったため、指は衝突の直撃をまぬがれたのである。恒温槽と磁石が接するところに挟まった電源ケーブルは、すっぱり切断されていた。翌日の検査で O 君の右頬骨にひびが入っていることがわかったが、これも大事には至らなかった。最悪の事態だけは避けられた。

さて、O 君はすぐに磁石から恒温槽を引き離そうと試みたが、それは危険であっただけでなく、結果としては装置のダメージを拡大した。床にこぼれた循環水に足をとられ、転倒する拍子に恒温槽を道連れにしてしまったのだ。恒温槽は磁石の下部に回り込み、プローブと室温シムを破損した（図 4）。

現場に着いた私は O 君の出血にも驚いたが、装置の状況を見て呆然とした。かろうじて NMR シグナルが観測できたが、磁場は異常にドリフトし、液体ヘリウムの蒸発量も通常の数倍に増えていた。このあと翌朝まで、メーカーの技術者を含む人々の協力で恒温槽の解体除去を試みた。しかし、磁石下部の磁場強度は想像を絶しており、超伝導電流を徐々に下げる以外に打つ手がなかった。次の日、その作業の開始直後に主磁場のクエンチが起こった。やむをえない結末だろう。

装置は、磁石の総点検と再励磁を経て 5 か月後に復旧した。この間に実施した主な安全対策は、1 測定室階段の付け替え、2 超伝導磁石防護マット（厚さ 20 cm）の取り付け、3 クロマト機器の床への固定、4 緊急排気ダクトの補強、5 警告表示の改善などである。現在の 750 MHz NMR 室の見学希望があれば歓迎する。

事故の記録を誌面に残すことにためらいも感じるが、どこか



木材等は作業のときに使ったもの

図 4 磁石の下部に固着した恒温槽

で同じことが起こらないよう願う気持ちが上回る。LC/NMRに限らず、超伝導 NMR を利用する多くの読者のご参考になれば幸いである。

文 献

- 1) 超伝導 NMR 運営委員会：“超伝導 NMR 10 年の歩み”，(1997)，(大阪大学理化学部・基礎工学部)。
- 2) N. Watanabe, E. Niki: *Proc. Jpn. Acad., Ser B*, **54**, 194 (1978).
- 3) E. Bayer, K. Albert, M. Nieder, E. Grom, T. Keller: *J. Chromatogr.*, **186**, 497 (1979).
- 4) J. F. Haw, T. E. Glass, H. C. Dorn: *Anal. Chem.*, **53**, 2327 (1981).
- 5) D. A. Laude, Jr., C. L. Wilkins: *Anal. Chem.*, **56**, 2471 (1984).
- 6) 畑田耕一，右手浩一：高分子，**38**, 1029 (1989).
- 7) 畑田耕一，右手浩一：高分子加工，**41**, 158 (1992).
- 8) K. Hatada, K. Ute, Y. Okamoto, M. Imanari, N. Fujii: *Polym. Bull.*, **20**, 317 (1988).
- 9) K. Ute, R. Niimi, S. Hongo, K. Hatada: *Polym. J.*, **30**, 439 (1998).
- 10) K. J. Eichhom, D. Voigt, H. Komber, D. Pospiech: *Macromol. Symp.*, **119**, 325 (1997).
- 11) K. Hatada, K. Ute, T. Kitayama, T. Nishimura, M. Kashiya, N. Fujimoto: *Polym. Bull.*, **22**, 549 (1990).
- 12) T. Kitayama, M. Tabuchi, K. Hatada: *Polym. J.*, **32**, 796 (2000).
- 13) K. Ute, R. Niimi, K. Hatada, A. C. Kolbert: *Int. J. Polym. Anal. Charact.*, **5**, 47 (1999).
- 14) L. C. M. Van Gorkom, T. M. Hancewicz: *J. Magn. Reson.*, **130**, 125 (1998).
- 15) K. Albert, M. Dachtler, T. Glaser, H. Händel, T. Lacker, G. Schlotterbeck, S. Strohschein, L. Tseng, U. Braumann: *J. High Resol. Chromatogr.*, **22**, 135 (1999).

- 16) I. Krämer, H. Pasch, H. Händel, K. Albert: *Macromol. Chem. Phys.*, **200**, 1734 (1999).
- 17) K. Ute, K. Hatada: *Anal. Sci.*, **7**(Suppl.), 1629 (1991).
- 18) K. Hatada, K. Ute, T. Kitayama, M. Yamamoto, T. Nishimura, M. Kashiya: *Polym. Bull.*, **21**, 489 (1989).
- 19) K. Ute, M. Kashiya, K. Oka, K. Hatada, O. Vogl: *Makromol. Chem., Rapid Commun.*, **11**, 31 (1990).
- 20) 杉浦眞喜子：ぶんせき，**1997**, 662.
- 21) 岡本昌彦，木村雅晴，高橋謙一，瀧本善之：ぶんせき，**1997**, 897.
- 22) 小松一男，福原忠雄：ぶんせき，**1999**, 231.
- 23) K. Ute, R. Niimi, M. Matsunaga, K. Hatada, T. Kitayama: *Macromol. Chem. Phys.*, **202**, 3081 (2001).
- 24) H. Pasch, W. Hiller: *Macromolecules*, **29**, 6556 (1996).
- 25) H. Pasch, W. Hiller, R. Haner: *Polymer*, **39**, 1515 (1998).
- 26) T. Kitayama, M. Jancö, K. Ute, R. Niimi, K. Hatada, D. Berek: *Anal. Chem.*, **72**, 1518 (2000).

右手浩一 (Koichi UTE)



大阪大学大学院基礎工学研究科化学系専攻 (〒560-8531 大阪府豊中市待兼山町1-3)。大阪大学大学院基礎工学研究科博士前期課程修了。工学博士。現在の研究テーマ 均一ポリマー，NMR とクロマトグラフィーによる高分子構造解析。主な著書と出版社名 “Encyclopedia of Analytical Chemistry” (分担任筆)(John Wiley & Sons Ltd.)。趣味 テニス，宝塚歌劇 (ファン歴 6 年)。
E-mail : ute@chem.es.osaka-u.ac.jp

原 稿 募 集

創案と開発欄の原稿を募集しています

内容：新しい分析方法・技術を創案したときの着想，新しい発見のきっかけ，新装置開発上の苦心と問題点解決の経緯などを述べたもの。但し，他誌に未発表のものに限ります。

執筆上の注意：1) 会員の研究活動，技術の展開に参考になるよう，体験をなるべく具体的に述べる。物語風でもよい。2) 従来の分析方法や装置の問題点に触れ，記事中の創案や開発の意義，すなわち主題の背景を分かりやすく説明する。3) 図や表，当時のスケッチなどを用いて理解しやす

くすることが望ましい。4) 原稿は図表を含めて 4000～8000 字 (図・表は 1 枚 500 字に換算) とする。

採用の可否は編集委員会にご一任ください。採用分については規定の原稿料をお支払いします。原稿の送付先・問い合わせは下記へ。

〒141-0031 東京都品川区五反田 1-26-2

五反田サンハイツ 304 号

(社)日本分析化学会「ぶんせき」編集委員会

[電話：03-3490-3537]