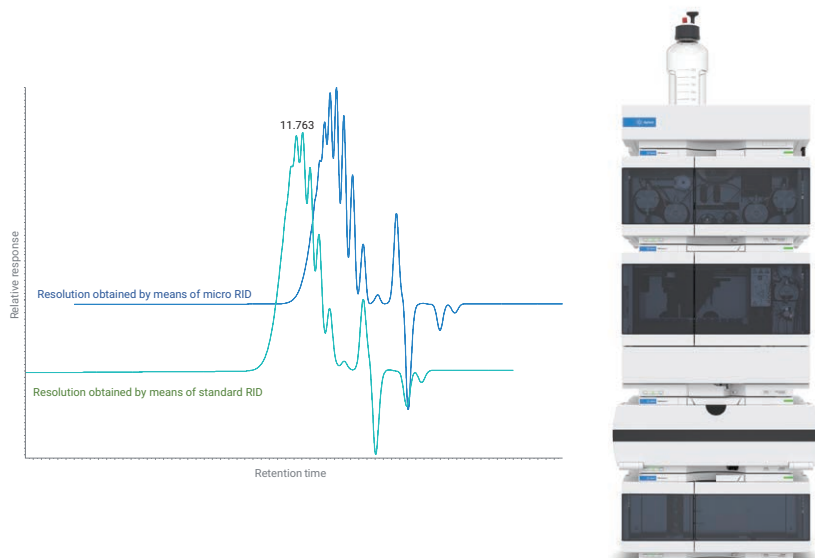


Agilent 1290 Infinity II Micro RID를 이용한 GPC 성능 향상

동급 최고의 분리능으로 가장 낮은 용매 소모에서 처리량
극대화



저자

Edgar Naegele
Agilent Technologies, Inc.

개요

이 응용 자료에서는 Agilent 1290 Infinity II Micro 굴절률 검출기(micro RID)와 Agilent 1290 Infinity II LC를 함께 사용하는 GPC 분석의 이점에 대해 설명합니다. Micro RID를 사용하면 4.6 및 2.1mm와 같이 좁은 내경의 GPC 컬럼을 사용할 수 있습니다. 물론 일반적으로 사용하는 7.5mm 내경 컬럼 역시 이 시스템에서 계속 사용할 수 있지만 좁은 내경의 컬럼을 사용하면 동일하거나 보다 우수한 폴리머 분리 성능으로 분리능을 향상하고, 실행 시간을 단축하며, 용매 소모량을 줄일 수 있습니다.

소개

전형적인 GPC 표준 분석법은 다소 큰 내경 (ID)(예: 75mm)의 긴 컬럼을 기반으로 하며, 1mL/분 이상과 같이 더 높은 유속에서 분리를 수행합니다. 그 결과, THF와 같은 고가의 용매가 많이 소모됩니다. 이러한 단점을 극복하기 위해 최신 GPC 분석법에서는 길이가 동일하지만 더 작은 4.6mm 내경(또는 2.1mm도 가능)의 컬럼을 사용하며, 이를 통해 낮은 유속으로 작동할 수 있습니다. 이러한 유속에서 충분한 정밀도를 얻기 위해서는 최신 UHPLC 펌프가 필요합니다. 이러한 펌프는 매우 높은 압력에서 작동할 수 있기 때문에 실리카 재료를 기반으로 하는 컬럼 상을 직렬로 여러 개 연결할 수 있는 유용한 효과를 나타냅니다. 또한, 최신 GPC 고정상 재료에서는 높은 유속의 사용도 가능합니다. 분리능을 유지하기 위해서는 셀 dead volume이 매우 낮은 검출기가 필요합니다.

이 응용 자료에서는 GPC 분석에 1290 Infinity II LC를 사용할 때의 이점을 보여줍니다. 주요 구성인 Agilent 1290 Infinity II 고속 펌프는 분자량을 정확하게 측정하는 데 필요한 매우 낮은 유속을 최상의 정밀도로 제공할 수 있습니다. Micro RID는 2.1mm까지의 좁은 내경을 가진 GPC 컬럼을 사용함과 동시에 최고의 분리능을 유지할 수 있습니다. 이 조합은 기존 GPC 분석법에 비해 동일하거나 보다 우수한 분리 성능을 발휘하여 용매 소모량 감소, 분리능 향상 및 분석 시간 단축의 효과를 제공할 수 있으며, 동일 시스템 구성을 사용하여 기존 GPC 분석법을 작동할 수도 있습니다.

실험

Agilent 1290 Infinity II GPC/SEC 시스템

- Agilent 1290 Infinity II 고속 펌프 (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II Vialsampler(G7129B)
- Agilent 1260 Infinity II 다중 컬럼 온도 조절 장치(MCT) (G7116A)
- Agilent 1290 Infinity II Micro RID(G7162B) 또는
- Agilent 1260 Infinity II RID (G7162A)

소프트웨어

- Agilent OpenLab v2.3 및 GPC 애드온 (G7860AA)

분석법

| 파라미터 | 값 |
|-------|--|
| 용매 | THF, 등용매, 채널 B |
| 유속 | 0.06, 0.3, 0.6, 1.0mL/분 |
| 종지 시간 | 22, 11 또는 7분 |
| 컬럼 온도 | 35°C, 두 개의 컬럼을 직렬로 연결 (75µm, 길이 105mm 캐필러리 사용) |
| 주입 부피 | 20µL, 4µL |
| RID | 광학 장치 온도: 35°C 데이터 속도: 18Hz 신호 극성: 양성 |

컬럼

- Agilent PLgel MiniMixE, 250 × 4.6mm, 3µm (PL1510-5300)
- Agilent PLgel MixedE, 300 × 7.5mm, 3µm (PL1110-6300)
- Agilent InfinityLab OligoPore, 250 × 2.1mm (PL1913-5520)

검량

Agilent EasiVial, PS-L 2mL (PL2010-0401)

- **빨간색 바이알**(Mp: 47,190, 9,960, 2,980, 580 g/mol)
- **녹색 바이알**(Mp: 30,230, 7,640, 1,840, 370 g/mol)
- **노란색 바이알**(Mp: 18,340, 4,900, 935, 162 g/mol)

시료

- 폴리스티렌 580
- 폴리스티렌 1320
- 에폭시 수지(Epikote)

화학물질 및 용매

- Tetrahydrofuran(THF)≥99.9%, 억제제 무첨가, HPLC용 CHROMASOLV Plus, Honeywell Riedel-de Haën(독일, 젤체)

결과 및 토의

초기 실험으로, Micro RID 및 표준 RID에 대하여 1mL/분의 유속에서 일반적인 표준 GPC/SEC 컬럼(7.5 × 300mm)을 이용해 폴리스티렌 검량 시료 세트를 측정하였습니다. 하나의 검량 혼합물(저분자량의 검량 화합물이 들어 있는 빨간색 캡 바이알, 실험 참조)에 대해 Micro RID에서 얻은 분리 결과를 그림 1에 나타내었습니다. 크로마토그램에서는 모든 성분이 명확하게 분리되었으며 저분자량 성분은 부분적으로 분리되고 폴리스티렌 올리고머를 포함하고 있는 것을 보여줍니다. (데이터로는 표시하지 않았지만) 표준 RID에서도 동일한 결과가 얻어졌습니다. Micro RID와 표준 RID의 차이는 각각 2 및 8μL인 셀의 부피입니다. 일반적인 표준 GPC/SEC 조건, 즉 내경이 큰 컬럼 및 높은 유속에서 이 셀 부피의 차이는 분리능에 영향을 미치지 않습니다. 두 검출기의 결과가 동일하다는 것을 입증하기 위해 저분자량 폴리스티렌(Mp 1,320)의 분자량(Mp, Mn, Mw 및 PD)을 측정하였습니다(그림 2). 두 검출기 모두에서 분리능은 동일했으며 분자량 정보는 비슷하였습니다.

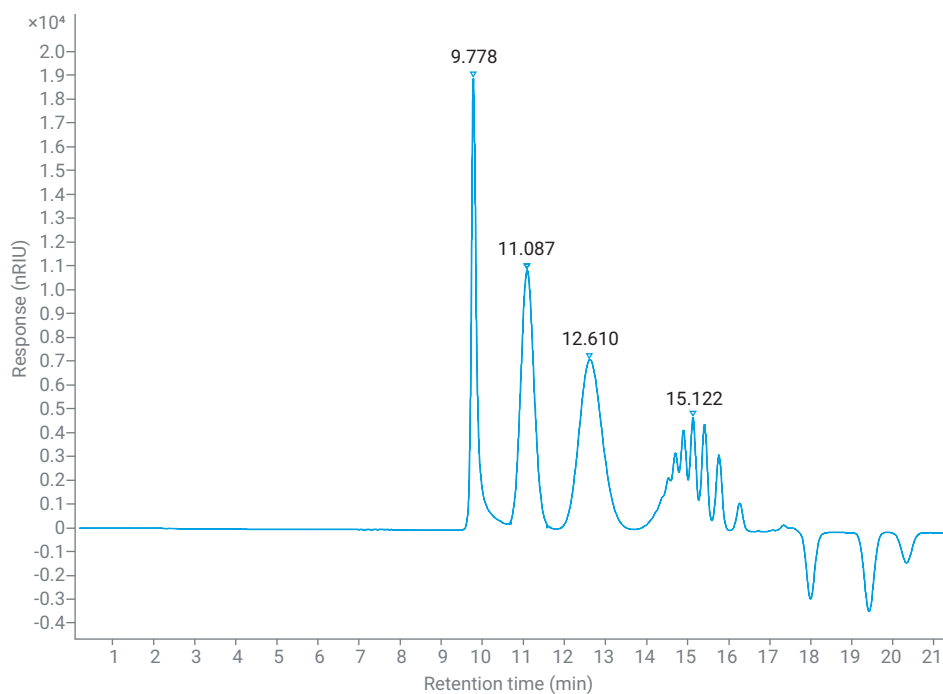


그림 1. 저분자량 폴리스티렌 혼합물 분리 결과(저분자량 검량 화합물이 들어 있는 빨간색 캡 바이알, 실험 참조). 1mL/분 유속의 THF, Agilent PLgel 컬럼(2개의 300 × 7.5mm, 3μm 컬럼) 사용 및 Agilent 1290 Infinity II Micro RID에서 검출

| 결과 세트 | RT(분) | Mp(g/mol) | Mn(g/mol) | Mw(g/mol) | PD |
|---------------|--------|-----------|-----------|-----------|------|
| GPC-표준-RID | 13.805 | 1,314 | 1,048 | 1,265 | 1.21 |
| GPC-micro-RID | 13.740 | 1,345 | 1,065 | 1,254 | 1.18 |

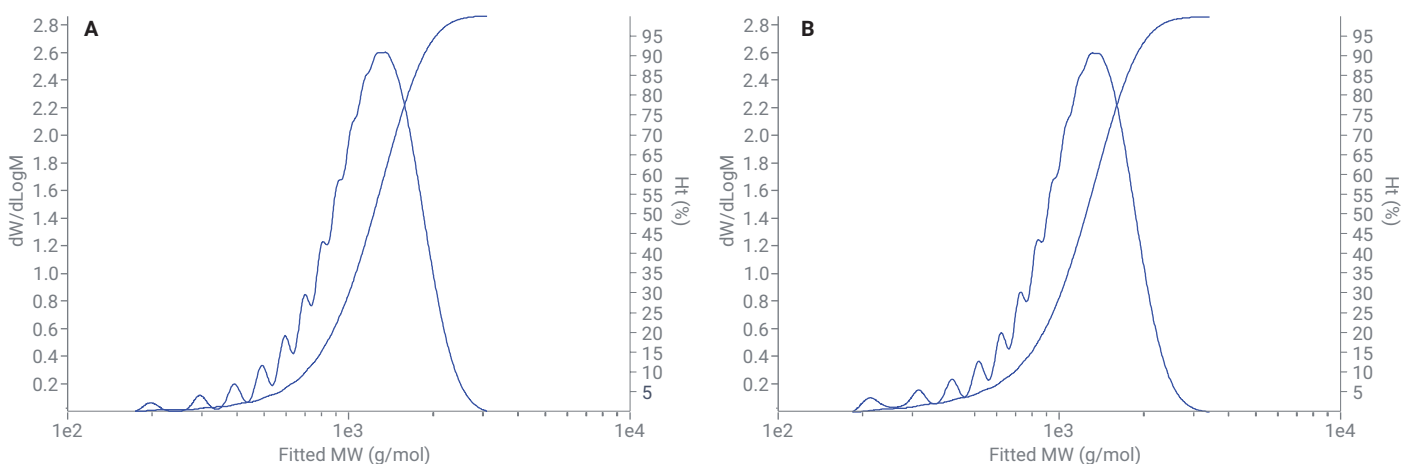


그림 2. Agilent 1290 Infinity II Micro RID (A) 및 Agilent 1260 Infinity II 표준 RID (B)에 의한 저분자량 폴리스티렌의 분자량 측정 결과. 1mL/분 유속의 THF, Agilent PLgel 컬럼 (2 개의 300 × 7.5mm, 3μm 컬럼) 사용(Mn: 수평균 분자량, Mw: 중량 평균 분자량, Mp: 최대 피크에서의 분자량, PD: 다분산성 지수)

일반적인 GPC/SEC 표준 조건을 사용할 때의 단점은 1mL/분 혹은 그 이상의 유속과 관련한 많은 용매 소모에 있습니다. 이 유속에서는 유해한 용매 폐기물이 많이 발생하므로 폐기물 처리 비용도 상당합니다. 이러한 단점을 극복하기 위해 4.6mm 내경의 컬럼으로 상이한 유속에서 일련의 실험을 수행하여 결과가 비슷하다는 것을 입증하고자 했습니다. 검량 표준물질과 비슷한 머무름 시간을 얻기 위해, 초기 유속을 표준 조건에서 하향으로 계산하였습니다. 그런 다음 처리량 증대를 위해 유속을 높였습니다.

그림 3은 Micro RID를 사용하여 용매 소모를 줄이거나 처리량을 높이기 위한 여러 유속으로 얻은 결과를 비교한 것입니다. 예를 들어, 4.6mm 내경 컬럼에서 유속이 0.3mL/분인 경우, 제시된 표준 조건에서 관찰된 것과 동일한 실행 시간을 얻었습니다. 검량 혼합물(낮은 분자량의 검량 화합물이 들어 있는 빨간색 캡 바이알, 실험 참조) 내 저분자량 화합물의 분리능은 동일한 품질을 보입니다(그림 3A1 및 3A2). 처리량을 증가시키기 위해 유속을 0.6mL/분(그림 3B1 및 3B2) 및 1.0mL/분(그림 3C1 및 3C2)으로 높였습니다. 0.6mL/분으로

증가시켰을 때 저분자량 성분에 대한 분리능을 동일하게 유지하면서 가능한 처리량이 정확히 두 배로 늘어났습니다. 유속을 1mL/분으로 더 높인 경우 처리량은 초기 조건에 비해 약 3배 증가했습니다. 여기에서 저분자량 성분의 분리능은 여전히 양호했지만 상대적으로 분자량이 높은 화합물 쪽에서 분리능이 약간 떨어졌습니다(더 낮은 머무름 시간 부분, 그림 3C1 및 3C2). 시료당 용매 소모량은 7.5mm 내경 컬럼의 표준 조건과 비교 시 모든 경우에서 대략 30%로 감소하였습니다(표 1).

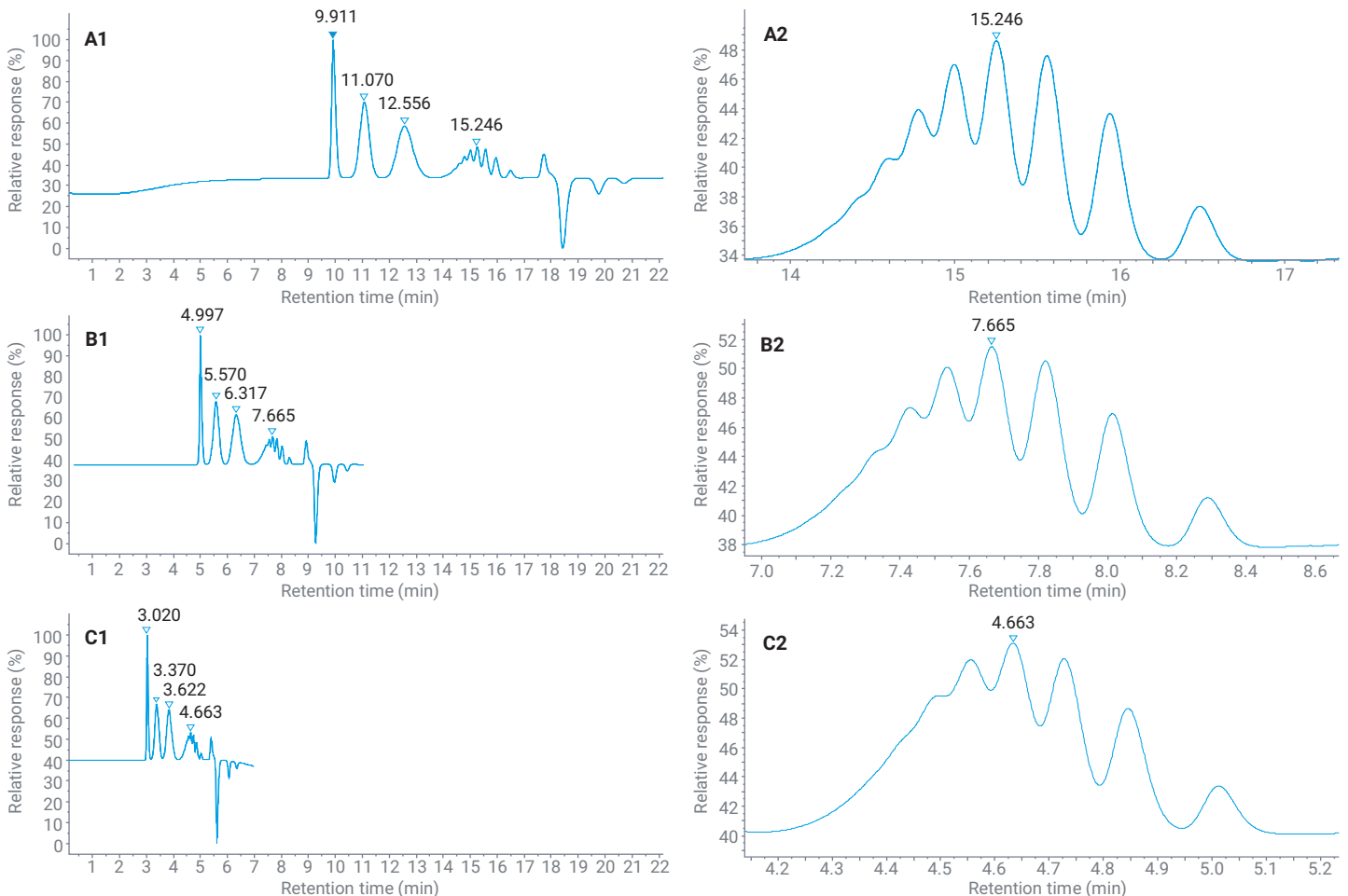


그림 3. 서로 다른 유속(A) 0.3, (B) 0.6, (C) 1.0mL/분의 THF를 사용하여 Agilent PLgel 컬럼(2 개의 250 × 4.6mm, 3μm 컬럼)에서 수행한 저분자량 폴리스티렌 혼합물의 분리 비교. Agilent 1290 Infinity II Micro RID로 검출

상이한 유속에서 동일한 분자량 결과를 얻을 수 있음을 입증하기 위해 에폭시 수지의 분자량(Mp, Mw, Mn 및 PD)을 측정하였습니다(그림 4). 분자량 분포(그림 4A, 4B 및 4C)는 모두 우수한 분리능을 나타내며, 가장 높은 유속의 경우 더 큰 분자량의 올리고머 분리능이 약간 저하되는 것이 보입니다. 그러나 계산된 분자량의 결과는 거의 동일합니다(그림 4의 표).

표 1. 표준 분석법 대비 내경이 더 작은 컬럼(2개의 250 × 4.6mm 컬럼을 0.3, 0.6 및 1.0mL/분에서 사용)을 사용한 분석법의 시료당 용매 소모량과 시료 처리량 비교*.

| 유속 (mL/분) | 실행 시간(분) | 시료당 용매 소모(%)* | 시료 처리량 비율* |
|--------------|-------------|------------------|---------------|
| 0.3 | 22 | 30.0 | 1 |
| 0.6 | 11 | 30.0 | 2 |
| 1.0 | 7 | 31.8 | 3 |

* 표준 분석법인 1mL/분, 22분 실행 시간과의 비교는 그림 1을 참조하십시오.

| 유속(mL/분) | RT(분) | Mp(g/mol) | Mn(g/mol) | Mw(g/mol) | PD |
|----------|--------|-----------|-----------|-----------|------|
| 0.3 | 11.678 | 7261 | 2614 | 6415 | 2.45 |
| 0.6 | 5.876 | 7278 | 2638 | 6340 | 2.40 |
| 1.0 | 3.544 | 7297 | 2606 | 6238 | 2.39 |

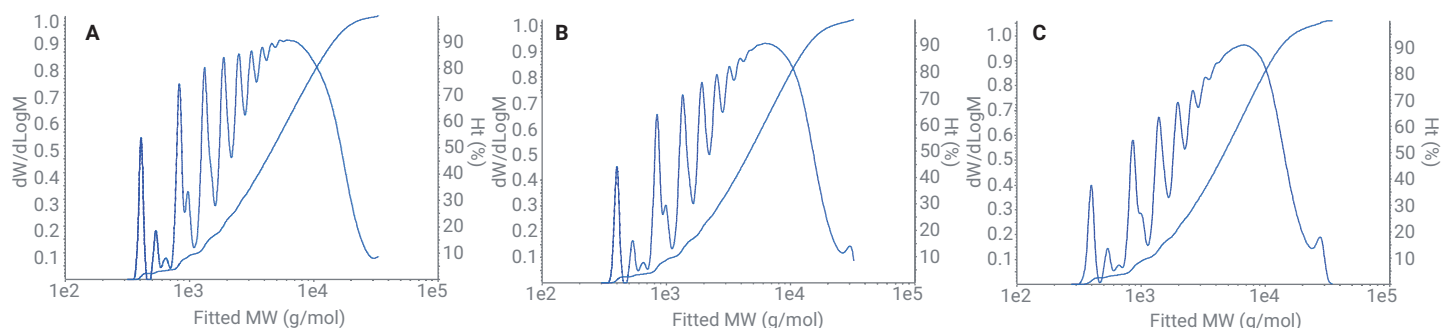


그림 4. 서로 다른 유속((A) 0.3, (B) 0.6, (C) 1.0mL/분)의 THF를 사용하여 Agilent PLgel 컬럼(2 개의 250 × 4.6mm, 3μm 컬럼)에서 얻은 에폭시 수지의 분자량 비교 결과. Agilent 1290 Infinity II Micro RID로 검출(Mn: 수평균 분자량, Mw: 중량 평균 분자량, Mp: 최대 피크 분자량, PD: 다분산성 지수)

1290 Infinity II GPC/SEC 시스템에서 Micro RID를 사용하면 마이크로 스케일 분석을 위해 2.1mm와 같이 좁은 내경의 GPC/SEC 컬럼을 이용할 수 있습니다. 앞서 나타낸 내경 4.6mm 컬럼에서 적용한 유속을 내경 2.1mm 컬럼으로 하향 계산한 결과 유속은 60 μ L/분이 되었습니다. 1290 Infinity II 고속 펌프는 내경이 더 큰 컬럼과 대등한 머무름 시간을 유지하기 위해 필요한 유속 정밀도를 성취할 수 있었습니다. 또 다른 장점은 표준 RID(8 μ L)와 비교하여 Micro RID 셀(2 μ L)의 분산 부피가 더 낮기 때문에 보다 낮은 분자량 올리고머에 대한 분리능을 개선할 수 있다는 것입니다(그림 5).

결론

이 응용 자료는 기존 GPC 및 마이크로 GPC 분석법 모두에 대한 Agilent 1290 Infinity II GPC/SEC 시스템과 Agilent 1290 Infinity II Micro RID의 사용을 설명하고 있습니다. 결과는 내경이 큰 컬럼과 높은 유속을 사용하는 일반적인 GPC 표준 조건하에서의 폴리머 혼합물 분리가 표준 RID를 이용하여 얻은 결과와 동일한 것을 보여줍니다. 또한, 내경이 보다 작은 컬럼을 사용하여 시료당 용매 소모를 줄이면서 시료 처리량을 높일 수 있습니다. 내경이 작은 컬럼을 적용하면 마이크로 리터 범위에서 매우 낮은 유속으로 마이크로 GPC 분석법을 사용할 수 있으며, 1290 Infinity II Micro RID를 통해 일관된 분자량 결과와 향상된 분리능을 성취할 수 있습니다.

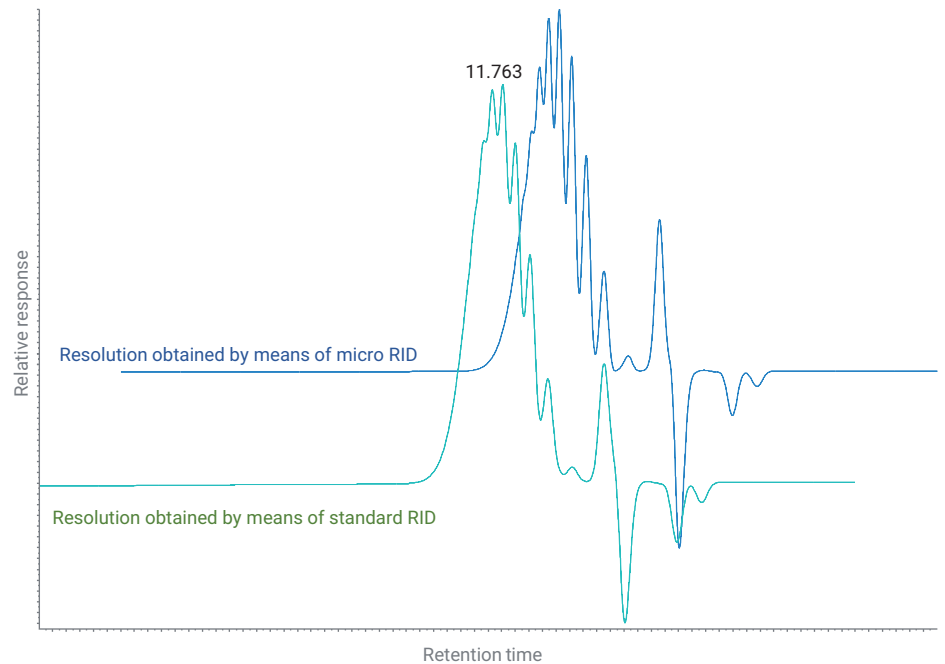


그림 5. 저분자량 PS 580에 대한 표준 RID 대비 micro RID의 분리능 비교(2 개의 Agilent OligoPore 컬럼, 250 × 2.1mm, 60 μ L/분 유속) 적중시켜 나타내는 해당 표시 방법에서는 머무름 시간 스케일이 표시되지 않습니다.

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
2019년 8월 1일, 한국에서 인쇄
5994-1089KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr