LC-NMR と DOSY

— 高分子の溶液 NMR の新しい測定法 —

右 手 浩 一

合成高分子の溶液 NMR に関する最近のトピックス、とくに、LC-NMR (Liquid chromatography coupled to NMR spectroscopy) と DOSY (Diffusion-ordered NMR spectroscopy) について述べる。これら 2 つの測定法は、合成高分子の本質ともいえる「化学構造の分布」を調べるのに適している。

1. はじめに

溶液 NMR の測定技術は、ここ十数年来、タンパク質などの生体高分子や複雑な天然物の構造解析を中心に発展してきた。また、固体 NMR と NMR イメージング (MRI) でもハード・ソフトの著しい進歩が見られ、それらは溶液 NMR にも影響を与えている。このような NMR 技術の動向と高分子科学への応用については、すでに書籍^{1), 2)}に詳述されているほか、本誌でもたびたび取り上げられている^{3)~8)}。

合成高分子の溶液 NMR に焦点を絞ると、ここ数年でもっとも注目すべき測定法の進歩は何だろうか。筆者は、LC-NMR と DOSY がそれに相当すると思う。LC-NMR は、液体クロマトグラフィー (LC) の分離機能と NMR とを結合させた、原理的にシンプルな測定法である。一方、DOSY は、パルス磁場勾配を利用した一種の 2 次元 NMR である。複数の分子種からなる混合物の DOSY 測定を行うと、それぞれの分子種の自己拡散係数の大小によって NMR スペクトルを分離することができる。

ほとんどの合成高分子は無数の分子種の混合物であるから、その特性解析では、分子量や共重合連鎖のような構造パラメーターの平均だけでなく、分布や相関の情報が大切になる。LC-NMR と DOSY は、そのような解析を省力化するだけでなく、高分子のもつ化学構造の分布を鮮明に描き出す測定法といえるだろう。

2. LC-NMR による高分子の キャラクタリゼーション⁹⁾

LC の検出器として NMR を用いるメリットは、NMR がもたらす圧倒的な情報量と、その質の高さである。注意深い測定を行えば、核種の濃度に比例した定量的情報が直接得られ、検量線を必要としない。しかし、紫外吸収検出器などの一般的な LC 検出器に比べて感度が低いため、なかなか実用に至らなかった。

近年、¹H 共鳴周波数が 500 MHz 以上の高磁場 NMR が普及するとともに、増幅系の低ノイズ化とデジタル技術の進歩によって、NMR の検出感度は大幅に向上した。さらに、LC-NMR 用に最適化された専用の検出器 (プローブ) が市販されて、LC-NMR はようやく日の目を見つつある。図 1 は、LC-NMR プローブの一例¹⁰⁾である。このようなプローブを装着した 750 MHz ¹H NMR の検出感度 (S/N 比) は、15 年前に 500 MHz の LC-NMR で得られた結果¹¹⁾に比べて 9.2 倍に向上している¹²⁾。また、溶離液の巨大な NMR シグナルのために溶質 (試料) のスペクトルが観測できないという問題も、技術的にはほぼ解決された¹³⁾。これらの詳細は、最近の総説^{9), 14)~16)}に述べられている。

高分子の分析でもっとも頻繁に用いられる LC は、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) であろう。SEC では比較的安価な重クロロホルムや重水を溶離液として使えるの

UTE, Koichi
大阪大学大学院基礎工学研究科 (560-8531 豊中市待兼山町 1-3)・助教授、工学博士。
1983 年 大阪大学大学院基礎工学研究科博士課程前期課程修了。専門は高分子キャラクタリゼーションと高分子合成。〈趣味〉宝塚歌劇

LC-NMR and DOSY—New NMR Techniques for the Analysis of Polymer in Liquid—

図 1 LC-NMR 用プローブの構造¹⁰⁾

3. 高分子キャラクタリゼーションへの DOSY の応用³⁴⁾

Stokes の法則と Einstein の理論を組合せれば、流体中に拡散する球状粒子の半径 a と自己拡散係数 D との間には $D = k_B T / 6\pi\eta a$ の関係が成り立つ (k_B : Boltzmann 定数, T : 絶対温度, η : 溶媒の粘性率)。この式を高分子の場合に拡張して, $D = k_B T / 6\pi\eta r_H$ なる式によって高分子鎖の流体力学的半径 r_H が定義される。 M の十分大きな屈曲性高分子の希薄溶液では, r_H は M の 0.5~0.6 乗に比例するので, D は M の測定法として利用できる。

液体やゲル中における特定の分子種の D を, パルス磁場勾配 (PFG) NMR によって測定する方法は, かなり以前から知られている³⁵⁾。近年, PFG NMR の技術的進歩は著しく³⁶⁾、最近の NMR 装置では標準的に装備されていることが多い。DOSY 測定^{37), 38)} によく用いられるパルス系列³⁹⁾ を図 4 に示す。 g は磁場勾配強度, 他は時間パラメータを表す。2 組の PFG が与えられる間 Δ に分子が磁場勾配方向に拡散すると, エコー強度 f が減衰する。このとき, g を段階的に変化させ, 他のパラメータを一定にして f を順次測定することにより, 式 (3) から D が求まる。 γ は, 観測核の磁気回転比である。

$$f(g) = f(0) \exp \left[-D (\gamma \delta g)^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3} - \frac{\tau}{2} \right) \right] \quad (3)$$

f が複数の分子種によるエコーの和になっている場合, その取り扱いはいくぶん複雑になる (式 (4))。 $G(D)$ は, D の分布関数である。なお, 各々の分子種の磁氣的緩和時間の違いは考慮しない。

$$f(g) = \int_0^\infty G(D) \exp \left[-D (\gamma \delta g)^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3} - \frac{\tau}{2} \right) \right] dD \quad (4)$$

式 (4) からわかるように, $f(g)$ は $G(D)$ のラプラス変換であるから, $f(g)$ から $G(D)$ を求める操作は, その逆変換ということになる。ところが, この逆変換は, フーリエ変換の逆変換のように一義的ではないのである。DOSY を研究に利用したいと考える人々にとって, この問題は常に悩みの種であるが, 最近ではいろいろなソフトウェア (CONTIN, 最大エントロピー法, ケモメトリックス的解析法など) が入手可能になり, 個々の試料に適した解析法が選択できるようになりつつある^{34), 38), 40)}。

分子量分布をもつ高分子の D の平均値と M_w を PFG-NMR で測定する試みは 1980 年代に始まった⁴¹⁾。1995 年に Johnson らは, DOSY による多分散高分子の分子量分

図 4 DOSY 測定に用いられるパルス系列³⁹⁾

布測定についてはじめて報告している³⁹⁾。筆者らもイソタクチック PMMA の分子量分布を θ 条件下の DOSY によって測定し, その結果が正しいことを確認した⁴²⁾。

高分子分析における実際的な問題への DOSY の応用は, まだ報告例が少ない。ポリプロピレン ($M_n = 44,000$, $M_w/M_n = 3.3$) とポリスチレン ($M_n = 350,000$, $M_w/M_n = 1.04$) の混合物の溶液について DOSY 測定が行われ, 両者の NMR スペクトルが分離されている。前者の D の平均値は後者のその約 2 倍である。2 峰性の分子量分布をもつイソタクチックポリプロピレン ($M_n = 151,000$, $M_w/M_n = 21.9$) の DOSY 測定では, このポリマーが立体規則性の低い低分子量成分を含むことが明瞭に示されている (図 5)⁴³⁾。

高分子混合物の DOSY 解析にケモメトリックス的手法の一種 (MCR) が有効であることが示されている²³⁾。平均分子量約 2,000 のポリアクリル酸と平均分子量約 7,000 のポリアクリルアミドの混合物について DOSY-MCR 測定を行うと, 両ポリマーのスペクトル全域を完全に分離することができる。MCR は, SEC-NMR で得られるような, 強度変調されたスペクトル組の解析に適用できる点でも注目される。

おそらく, DOSY がもっとも有効な研究分野のひとつは, 分子会合系の研究と思われる。たとえば, ウシ血清アルブミンとドデシルスルホン酸ナトリウムが重水のリン酸緩衝液中で形成する会合体の組成を DOSY で測定した例がある。会合度と r_H の関係も明らかにされている⁴⁴⁾。Meijer らは, 式 (5) の化合物が重クロロホルム溶液中で水素結合により形成する環状およびポリマー状会合体を DOSY 測定により明らかにしている⁴⁵⁾。PMMA ステレオコンプレックスの解析にも DOSY が応用されている⁴⁶⁾。

図 5 2 峰性の分子量分布をもつポリプロピレンの DOSY スペクトル ($C_2D_2Cl_4$ 中, 600 MHz, 25°C)⁴³⁾

上記のほか、リン脂質が形成するベシクル（小胞）の大きさの分布をDOSYで測定した例⁴⁷⁾や、ポリエチレン中に含まれる酸化防止剤などの添加剤をDOSYで分離して測定した例⁴⁸⁾の報告がある。

4. おわりに

LC-NMRとDOSYの測定原理は異なるが、試料に含まれる化学種の構造分布を測定できるという点では共通している。これまでの筆者の経験では、LC-NMRのほうがDOSYより直感的で、分析精度も良好である。しかし、溶媒などの測定条件が特殊な場合や分子会合体の測定など、何らかの理由でLC-NMRが測定困難な場合には、DOSYは有用な測定法である。LC-NMRとDOSYの発展によって、高分子キャラクタリゼーションの視点が「平均から分布・相関へ」シフトする傾向が、ますます加速すると思われる。

文 献

- 1) 高分子学会編：高分子の構造 (1) 磁気共鳴法，新高分子実験学 5，共立出版，1995
- 2) 中條利一郎監修：高分子・生体分子のNMR，東京化学同人，1992
- 3) 朝倉哲郎，芦田 淳：高分子，**50**，549 (2001)
- 4) 梶 弘典，田井利弘，堀井文敬：高分子，**47**，316 (1998)
- 5) 黒子弘道，安藤 勲：高分子，**46**，140 (1997)
- 6) 安藤 勲，浅川直紀：高分子，**42**，956 (1993)
- 7) 竹腰清乃理，引地邦男：高分子，**42**，960 (1993)
- 8) 右手浩一：高分子，**40**，102 (1991)
- 9) 右手浩一：ぶんせき，459 (2002)
- 10) Varian Inc.: Microflow NMR Probes Manuals—Installation, Testing, and Specifications, Publication No. 01-999127-00, Rev. B0801, Palo Alto, U.S.A., 2001
- 11) K. Hatada, K. Ute, Y. Okamoto, M. Imanari, N. Fujii: *Polym. Bull.*, **20**, 317 (1988)
- 12) K. Ute, R. Niimi, S. Hongō, K. Hatada: *Polym. J.*, **30**, 439 (1998)
- 13) S. H. Smallcombe, S. L. Patt, P. A. Keifer: *J. Magn. Reson. A*, **117**, 295 (1995)
- 14) 杉浦真喜子：ぶんせき，662 (1997)
- 15) 岡本昌彦，木村雅晴，高橋謙一，瀧本善之：ぶんせき，897 (1997)
- 16) 小松一男，福原忠雄：ぶんせき，231 (1999)
- 17) 畑田耕一，右手浩一：高分子，**38**，1029 (1989)
- 18) 畑田耕一，右手浩一：高分子加工，**41**，158 (1992)
- 19) K. Ute, K. Hatada: *Anal. Sci. (Suppl.)*, **7**, 1629 (1991)
- 20) K. Ute, R. Niimi, K. Hatada, A. C. Kolbert: *Int. J. Polym. Anal. Charact.*, **5**, 47 (1999)
- 21) K. Hatada, K. Ute, T. Kitayama, T. Nishimura, M. Kashi-yama, N. Fujimoto: *Polym. Bull.*, **22**, 549 (1990)
- 22) T. Kitayama, M. Tabuchi, K. Hatada: *Polym. J.*, **32**, 796 (2000)
- 23) L. C. M. Van Gorkom, T. M. Hancewicz: *J. Magn. Reson.*, **130**, 125 (1998)
- 24) K. Albert, M. Dachtler, T. Glaser, H. Händel, T. Lackner, G. Schlotterbeck, S. Strohschein, L. Tseng, U. Braumann: *J. High Resol. Chromatogr.*, **22**, 135 (1999)
- 25) I. Krämer, H. Pasch, H. Händel, K. Albert: *Macromol. Chem. Phys.*, **200**, 1734 (1999)
- 26) K. Hatada, K. Ute, T. Kitayama, M. Yamamoto, T. Nishi-mura, M. Kashi-yama: *Polym. Bull.*, **21**, 489 (1989)
- 27) K. Ute, R. Niimi, M. Matsunaga, K. Hatada, T. Kitayama: *Macromol. Chem. Phys.*, **202**, 3081 (2001)
- 28) K. Ute, M. Kashi-yama, K. Oka, K. Hatada, O. Vogl: *Makro-mol. Chem., Rapid Commun.*, **11**, 31 (1990)
- 29) K. J. Eichhorn, D. Voigt, H. Komber, D. Pospiech: *Macromol. Symp.*, **119**, 325 (1997)
- 30) H. Pasch, W. Hiller: *Macromolecules*, **29**, 6556 (1996)
- 31) H. Pasch, W. Hiller, R. Haner: *Polymer*, **39**, 1515 (1998)
- 32) 佐藤壽彌，河井栄一：ぶんせき，303 (2001)
- 33) T. Kitayama, M. Jancó, K. Ute, R. Niimi, K. Hatada, D. Berek: *Anal. Chem.*, **72**, 1518 (2000)
- 34) 右手浩一：99-2 高分子学会 NMR 研究会要旨集，p. 7 (1999)
- 35) E. O. Stejskal, J. E. Tanner: *J. Chem. Phys.*, **42**, 288 (1965)
- 36) 鶴澤 洵，越野広雪，有機合成化学協会誌：**54**，354 (1996)
- 37) K. F. Morris, C. S. Johnson, Jr.: *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 3139 (1992)
- 38) C. S. Johnson, Jr.: *Prog. NMR Spectrosc.*, **34**, 203 (1999)
- 39) D. Wu, A. Chen, C. S. Johnson, Jr.: *J. Magn. Reson., A*, **115**, 260 (1995)
- 40) 右手浩一：化学，**54** (12)，69 (1999)
- 41) E. D. von Meerwall: *J. Magn. Reson.*, **50**, 409 (1982)
- 42) 右手浩一，新見 亮，尾崎智映，北山辰樹：高分子学会予稿集，**48**，3919 (1999)
- 43) A. Jerschow, N. Müller: *Macromolecules*, **31**, 6573 (1998)
- 44) A. Chen, D. Wu, C. S. Johnson, Jr.: *J. Phys. Chem.*, **99**, 828 (1995)
- 45) B. J. B. Folmer, R. P. Sijbesma, E. W. Meijer: *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 20931 (2001)
- 46) 右手浩一，石井尊子，前原州貴，北山辰樹：高分子学会予稿集，**51**，476 (2002)
- 47) D. P. Hinton, C. S. Johnson, Jr.: *J. Phys. Chem.*, **97**, 9064 (1993)
- 48) D. A. Jayawickrama, C. K. Larive, E. F. McCord, D. C. Roe: *Magn. Reson. Chem.*, **36**, 755 (1998)