

## 低分子量ポリ-L-乳酸の SEC/GPC、DSC、TGA 分析

---

James Browne, Jennifer Gough

TA Instruments, Waters Corporation



---

### 要約

アドバンスドポリマークロマトグラフィー（APC）、示差走査熱量測定（DSC）、熱重量分析（TGA）などの直交する分析装置を使用するポリ乳酸（PLA）ポリマー、ポリ-L-乳酸（PLLA）の分析により、ポリマー特性を明らかにすることができ、PLLA の製造と加工に関する情報が得られます。APC を使用するサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）分析により、分子量分布が明らかになります。補完的な分析手法で特性解析したさまざまな分子量の一連のサンプルにより、低分子量の一連の PLLA の特性が明らかになります。DSC や TGA などの熱分析手法により、ポリマーの融解、結晶化、安定性といった特性が明らかになり、完成品の製造と加工、および最終製品の性能についての理解が深まります。

### アプリケーションのメリット

#### ACQUITY APC:

- システムのクロロホルムとの適合性
- 10 分間のアイソクラティックランでの PLA 分析
- 高速/高分離能クロマトグラフィー用の堅牢で粒子径の小さいカラム

## TA Instruments DSC 2500:

- Tzero テクノロジーにより、優れたベースライン、転移分解能、および感度が実現
- 熱力学転移と動力学転移を分離し、熱容量を直接測定するために調整された DSC
- 直感的な TRIOS ソフトウェアによるデータ削減および実験のセットアップ

## TA Instruments TGA 5500:

- 卓越した正確度、感度、信頼性
- Hi-Res モードでは分解能が増強
- 活性化エネルギーを直接測定するために調整された TGA

---

## はじめに

石油を原料とする再生不可能なプラスチックを再生可能な資源からのポリマーで代用することについて、過去数十年間、大きな関心が寄せられています。より一般的に使用されている市販のプラスチックに匹敵する特性を備えた「グリーン」ポリマーの開発において、大きな進歩が見られました。ポリ乳酸（PLA）は、これらの材料の一般的な例の 1 つです。PLA には、再生可能資源であること、生分解性（特定の条件下）、熱可塑性、非毒性など、多くの利点があります。これらの利点により、PLA は、医療機器や食品包装などの接触材料としての用途において特に魅力的です。PLA は、2 種類の重合経路、つまり縮合による直接重合またはラクチドの開環重合によって生成します。重合プロセスの概略図を図 1 に示します。

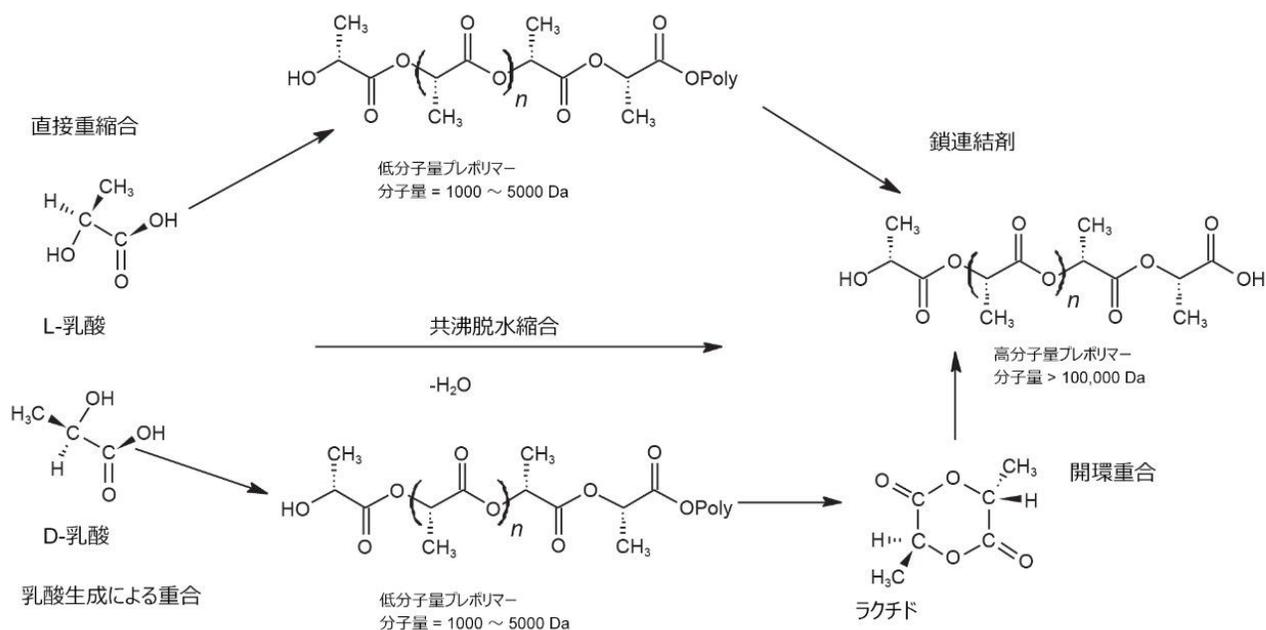


図 1.PLA 重合の概略図'。

分子量、分子量分布、熱安定性、融点、ガラス転移、結晶化挙動の特性解析は、加工、安定性、および最終用途での性能面と関連しているため、ポリマー分析の重要な部分となります。この研究では、Waters ACQUITY アドバンスドポリマークロマトグラフィーシステム、TA Instruments の Discovery 2500 示差走査熱量計および Discovery 5500 熱重量測定装置を使用した、ポリ-L-乳酸の 4 サンプルの特性解析について説明します。

## 実験方法

この文書では、APC、DSC を用いた PLA の SEC 分析、および熱分析のための PLA の TGA 分析に重点を置いて説明します。これらのポリマー分析手法の組み合わせにより、一連の低分子量の PLLA の特性が明らかになり、加工中または環境条件下での最終製品中のポリマーの性能に関して新たな理解が得られます。

## 結果および考察

## サイズ排除の結果

### APC

特定の分子量の PLLA サンプルの APC 分析は、各サンプル (Sigma Aldrich、米国ミズーリ州セントルイス) の 5 mg/mL ストック溶液をクロロホルム中に作製し (0.75% エタノールで安定化)、シリンジでろ過して行いました (表 1)。

サンプル	D,L	分子量	末端基	メーカー	部品番号
ポリ (L-ラクチド)	L	5000	CH3	Sigma Aldrich	764590
ポリ (L-ラクチド)	L	10000	CH3	Sigma Aldrich	765112
ポリ (L-ラクチド)	L	20000	CH3	Sigma Aldrich	764698
ポリ (L-ラクチド)	L	40000	CH3	Sigma Aldrich	94829

表 1.この実験で使用した PLLA サンプル

この SEC 実験では、ポリスチレンのキャリブレーション標準品による相対検量線を使用しました。表 2 の APC 装置設定を用いてサンプルを注入し、分析完了後に収集したデータを解析するためのデータ解析メソッドを作成しました。

LC システム: アドバンスドポリマークロマトグラフィ (APC)、p-QSM ポンプ搭載

検出: 示差屈折率

検出器温度: 40 °C

バイアル: 2 mL

カラム: ACQUITY APC XT 4.6 × 150 mm  
450 Å、125 Å、45 Å (550 K ~ 200 Da)

カラム温度: 40 °C

サンプル温度: 20 °C

注入量:	20 $\mu$ L
流速:	0.8 mL/分
分析時間:	10 分
移動相:	クロロホルム (0.75% エタノールで安定化)
シール洗浄溶媒:	イソプロパノール
キャリブレーションの種類:	相対
キャリブレーション標準試料:	ポリスチレン ReadyCal キット
クロマトグラフィソフトウェア:	Empower 3 FR5

---

表 2.PLLA 実験の LC 条件。

PLLA のクロマトグラムをキャリブレーション標準品のクロマトグラムと比較すると、サンプルと移動相の屈折率の値が近いこと、標準品と比較して PLLA のピーク高さがほとんど見えませんでした (図 2)。PLLA サンプルは紫外線 (UV) を吸収しないため、UV を使用する検出器には適しません。そこで、サンプルをより高濃度で分析しました (サンプル前処理とキャリブレーションの詳細については追加情報を参照) <sup>2</sup>。



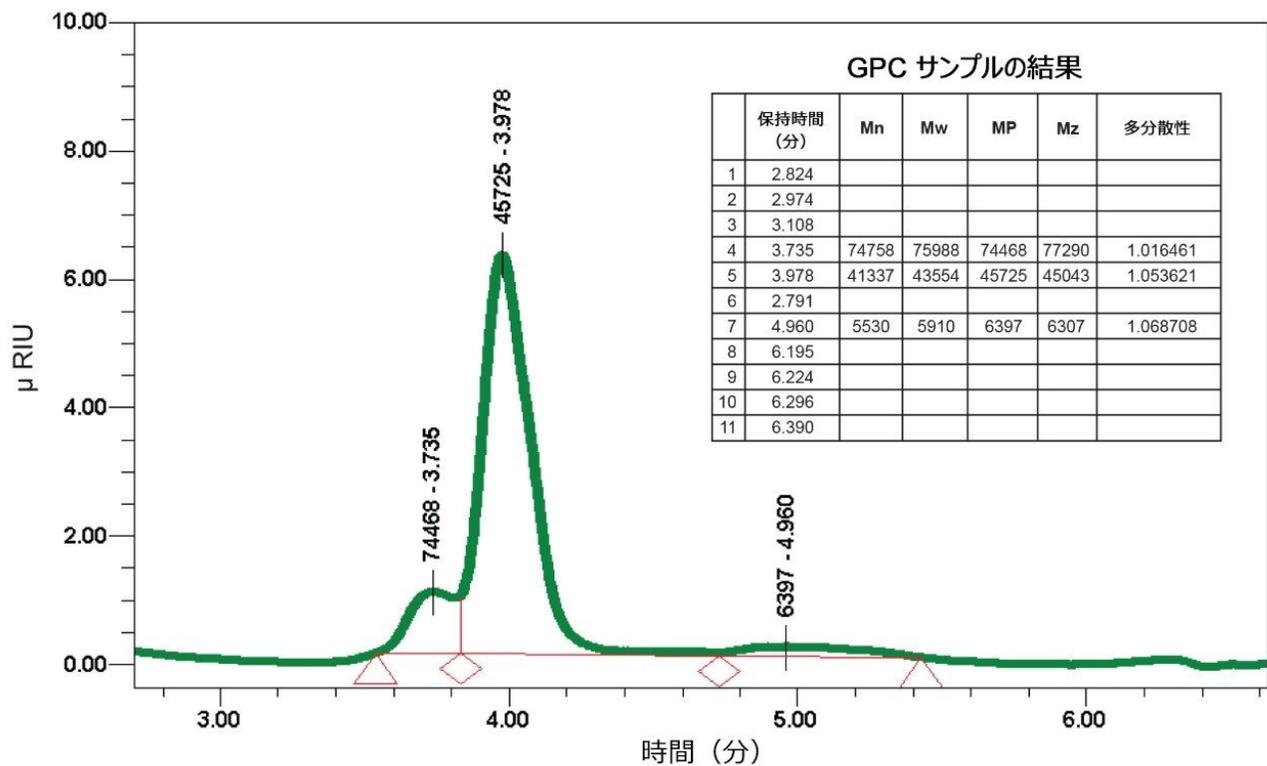


図 4.40 kDa の PLLA サンプルの積分分子量

SEC では、特にピークが 15 kDa ~ 20 kDa 未満の場合に、低分子量領域および高分子量領域が明らかになる場合があります。熱分析において予期せぬ結果が得られることがあります。ポリマーが一貫して熱的挙動を始める分子量があります。この一貫性のポイントは PLLA に固有であり、挙動がそれぞれのポリマーに固有であるのと同様です。ポリマーが一貫した挙動を始めるとして一般に受け入れられているポイントは、15 kDa ~ 20 kDa です。ポリマー特性データベースからの一例を下に示し（図 5）、さらなる例をこの試験の熱分析セクションに示します<sup>4</sup>。

「平均分子量だけでなく、分子量分布も物理特性、機械的特性、および加工特性に顕著な影響を与えます。ほとんどの場合、低分子量部分が可塑剤として作用してポリマー材料が軟化するため、分子量分布の幅が狭い方が、広い分布よりも機械的特性が高くなります。一方で、分子量が過度に大きい部分は、融解粘度に対して偏った強い影響を及ぼすため、ポリマー樹脂の加工が非常に困難になります。」

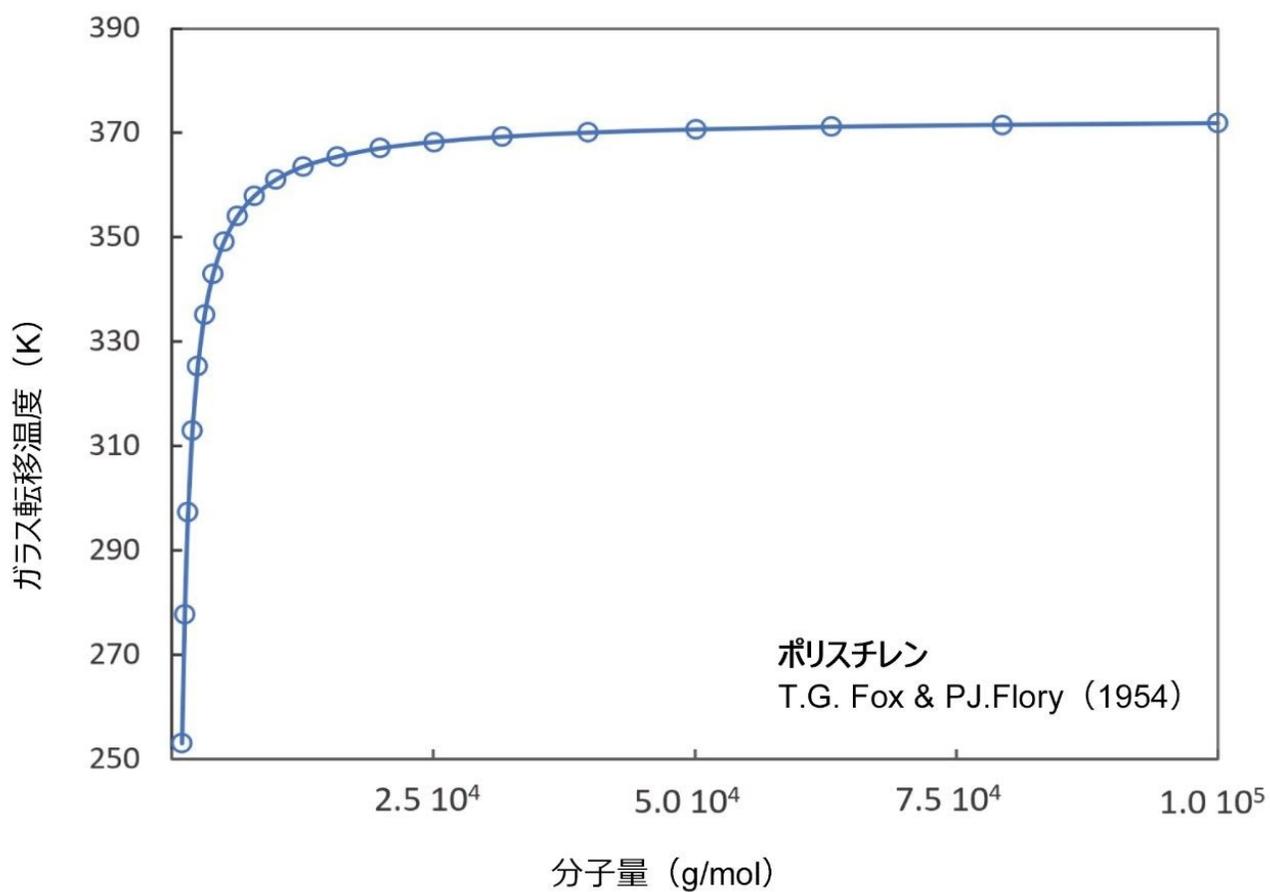


図 5.分子量の変化の影響下でのポリスチレンの挙動の例

## 熱分析の結果

熱分析システム:	TA Instruments Discovery 5500
サンプル容器:	100 マイクロリットルのプラチナ製パン
パージガス:	窒素
最高温度:	800 °C
最低温度:	23 °C

サンプル質量: 公称 4 mg

加熱速度: 10 °C/分

表 3.TGA の実験条件。

図 6 に、白金製のるつぼを使用し、N<sub>2</sub> 中で 10 °C/分の加熱速度での、温度の関数としての質量損失と質量損失率の比較を示します。TGA データで示されたサンプルの安定性は、低い方から高い方へ 40 kDa < 10 kDa < 5 kDa < 20 kDa の順になっています。直感的には、高分子種の方がより安定であると予想されるため、このサンプルセットでは、他の構造特性が安定性に影響を及ぼしていることを示しています。考えられる特性としては、酸化的攻撃を妨げるまたは促進する立体規則性や立体配座などが挙げられます。

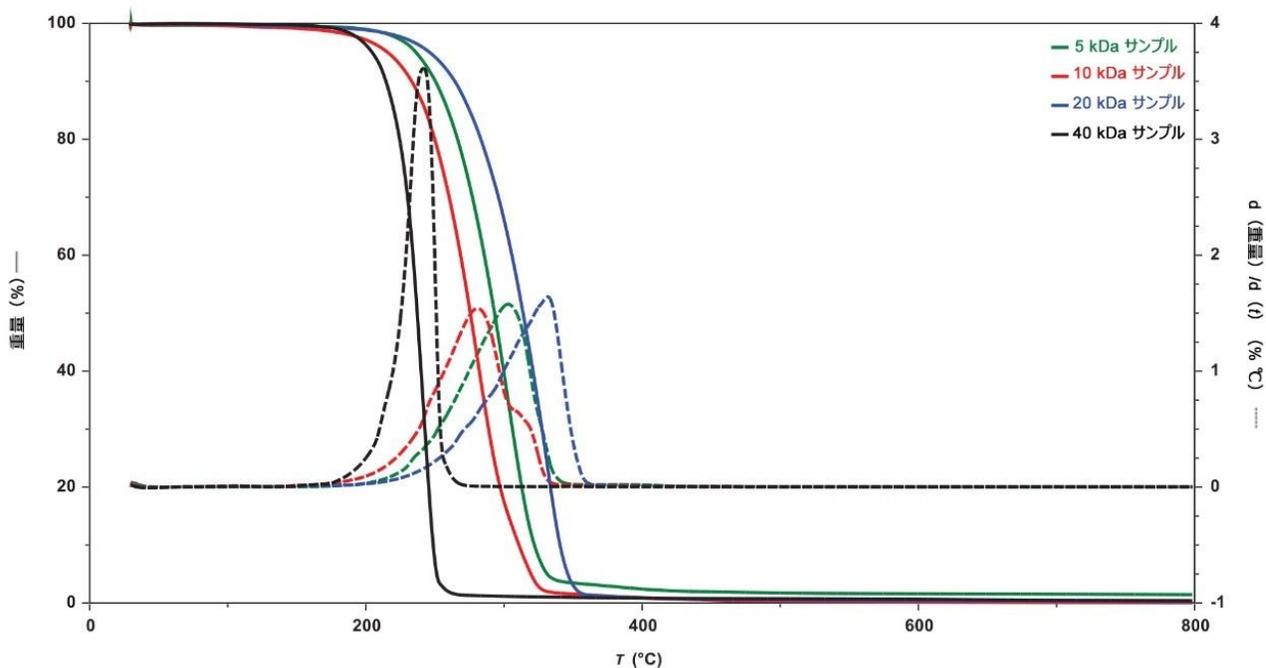


図 6.温度の関数として質量損失と質量損失率を示す TGA の結果

## DSC

熱分析システム:	TA Instruments DSC 2500
サンプル容器:	Tzero アルミニウム製パン
パージガス:	窒素
最高温度:	190 °C
最低温度:	-70 °C
サンプル質量:	公称 4 mg
加熱速度:	10 °C/分
冷却速度:	10 °C/分
実験の種類:	加熱、冷却、加熱

表 4.DSC の実験条件。

DSC 実験の前に TGA 実験を行って、対象サンプルの分解温度を決定する必要があります。多くの場合、この温度は約 2% の質量損失が発生するポイントと見なされます。分解の速度論的性質のため、TGA 実験は、DSC 実験と同じパラメーター、具体的にはサンプルの質量、パージガスの組成、加熱速度、およびサンプルの形状（フィルム、粉末、成形部品など）を使用して行う必要があります。サンプルについては、上限を 190°C に設定しました。

PLLA の平衡融解温度 ( $T_M^0$ ) が Zhang らおよび Saiedlou らによって報告されています。値は計算方法によって異なり、172 ~ 約 200 °C と報告されています<sup>5, 6</sup>。ここでは Hoffman-Weeks 法を用いて、最も熱的に安定していると思われるサンプル 20 K の平衡融解温度を 185°C と推定しました<sup>7</sup>。以前の研究では、DSC 実験においてはじめてのサンプル構造をすべて破壊するために、平衡融解温度よりもかなり高い温度まで加熱することが重要であることを示しました<sup>8</sup>。このことは、結晶化を評価するときに特に重要です。特に 40 kDa および 10 kDa のサンプルにおいては、平衡融解温度を超える温度で大きな質量損失が発生するため、PLLA サンプルでは注意が必要であることが明らかです（図 6）。

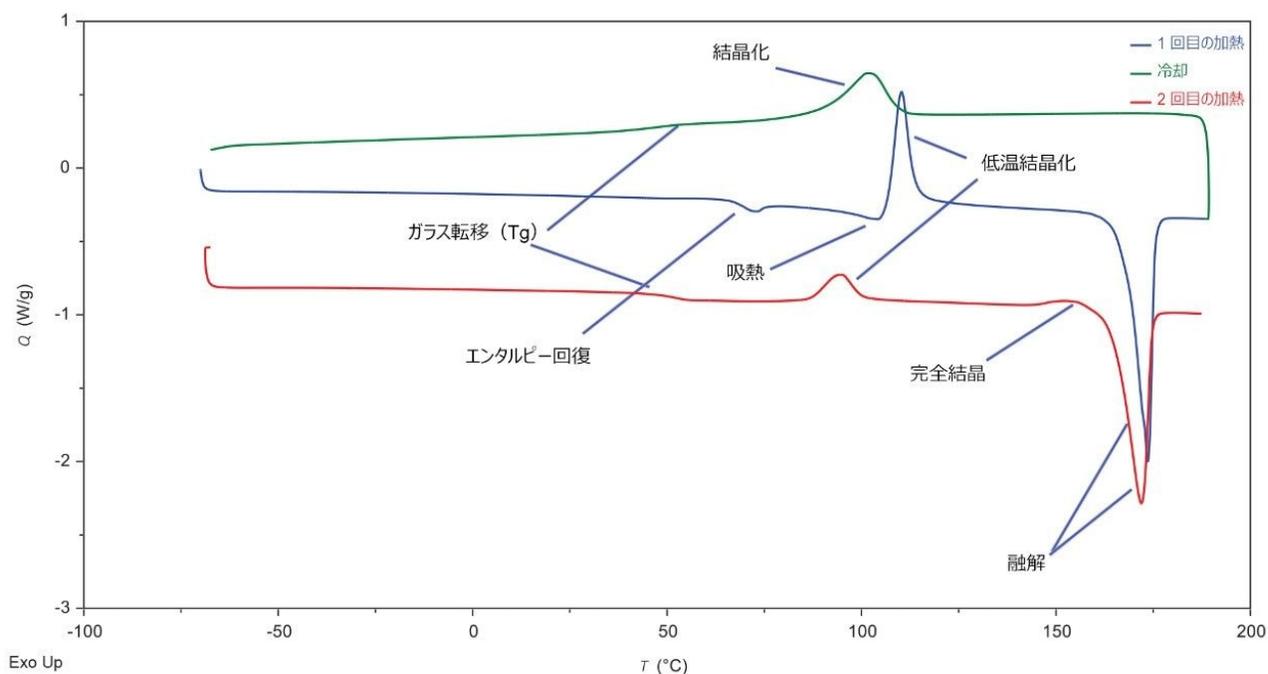


図7.コメント付きの 40 kDa サンプル

表5に、各サンプルの加熱-冷却-加熱 DSC の結果をまとめています。図7に、表5で参照している転移条件についてのコメントが付けられた 40 kDa サンプルを示します。DSC トレースの重ね描きを図8、9、10に示します。5 kDa サンプルは、最も単純な熱的挙動を示し、ガラス転移、結晶完全性、最初の加熱での融解、および冷却中の結晶化とガラス転移、結晶完全性とそれに続く2回目の加熱での融解を示しています。10 kDa、20 kDa、40 kDa サンプルは、5 kDa サンプルよりも複雑な熱挙動を示し、以下の転移を示します。

### 1 回目の加熱

- ガラス転移 - 20 kDa および 40 kDa のサンプルにおいて、ガラス転移時に発生する吸熱は、非晶質相のエンタルピー緩和の結果生じたエンタルピー回復によるものです。
- 吸熱は、低温結晶化の直前に発生します。この吸熱は、低温結晶化と同時に発生する準安定構造の融解転移である可能性があります。この吸熱を特性解析するには、さらなる実験設計が必要です。
- 低温結晶化
- 融解

### 冷却

- 結晶化発熱
- ガラス転移

## 2 回目の加熱

- ガラス転移 – 20 kDa または 40 kDa のサンプルのいずれにおいても、エンタルピー回復の兆候なし
- 低温結晶化（1 回目の加熱における低温結晶化の前に認められる吸熱がない）
- 完全結晶
- 融解

## 1 回目の加熱

サンプル	$T_G$ °C	$T_C$ °C	$T_M$ °C	$T_M$ °C	$\Delta H_F$ (J/g)
5 kDa	69.6	-	135	159	-59.21
10 kDa	62.9	110	105	167	-47.09
20 kDa	68.9	110	105	173	-32.98
40 kDa	67.8	110	104	174	-21.39

## 冷却

サンプル	$T_G$ °C	$T_C$ °C	$\Delta H_C$ (J/g)
5 kDa	47.3	105	49.03
10 kDa	50.5	104	37.28
20 kDa	53.4	108	28.73
40 kDa	45.9	102	25.89

## 2 回目の加熱

サンプル	$T_G$ °C	$T_C$ °C	$T_M$ °C	$T_M$ °C	$\Delta H_F$ (J/g)
5 kDa	51.6	-	149	161	-57.53
10 kDa	56.2	96.4	-	164	-47.82
20 kDa	58.4	91	161	173	-34.59
40 kDa	50.8	94.7	-	172	-28.23

表 5. PLLA サンプルの DSC の結果のまとめ

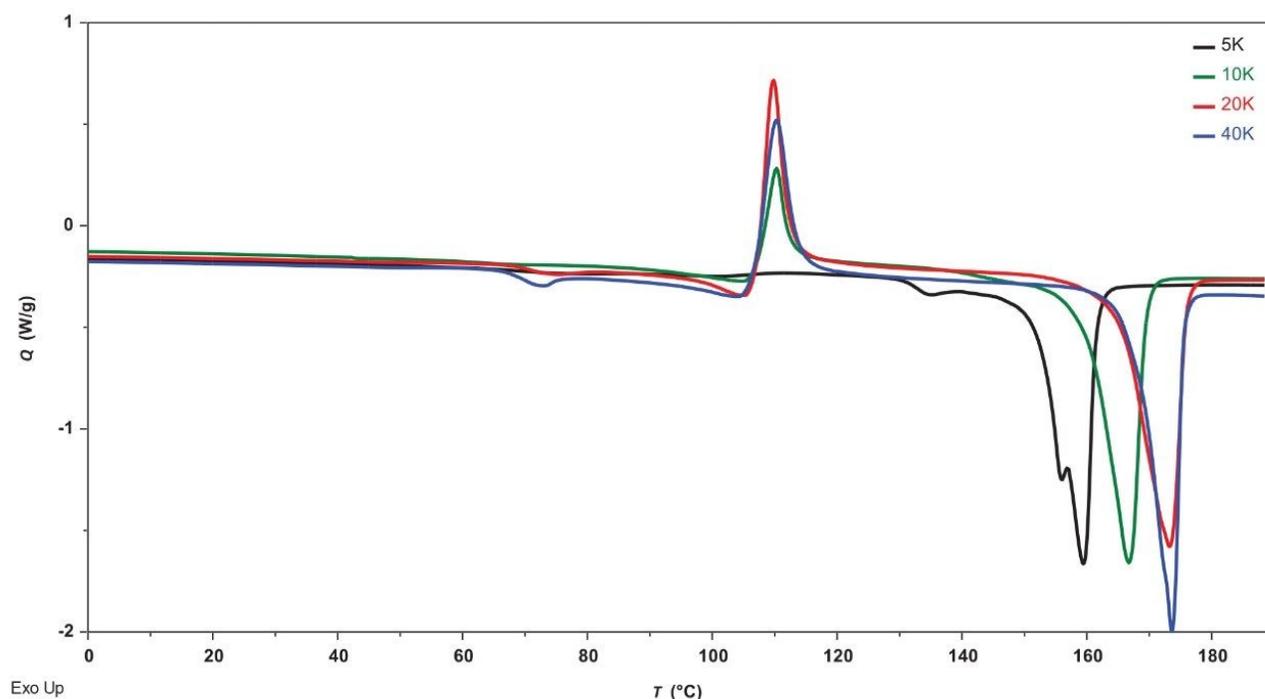


図 8. PLLA サンプルの 1 回目の加熱の重ね描きの比較

1 回目の加熱の重ね描き - 図 8 の重ね描きでは、DSC の 1 回目の加熱データを比較しており、5 kDa のサンプルのみが低温結晶化しないことを示しています。融点は分子量とともに上昇し、20 kDa と 40 kDa のサンプルが融合しています。サンプルはそれぞれエンタルピー回復の兆候を示しており、20 kDa と 40 kDa のサンプルで最も顕著です。

1. 冷却の重ね描き - 図 9 に結晶化の速度論の潜在的な違いを示す冷却データの比較を示しており、さらに評価することができます。

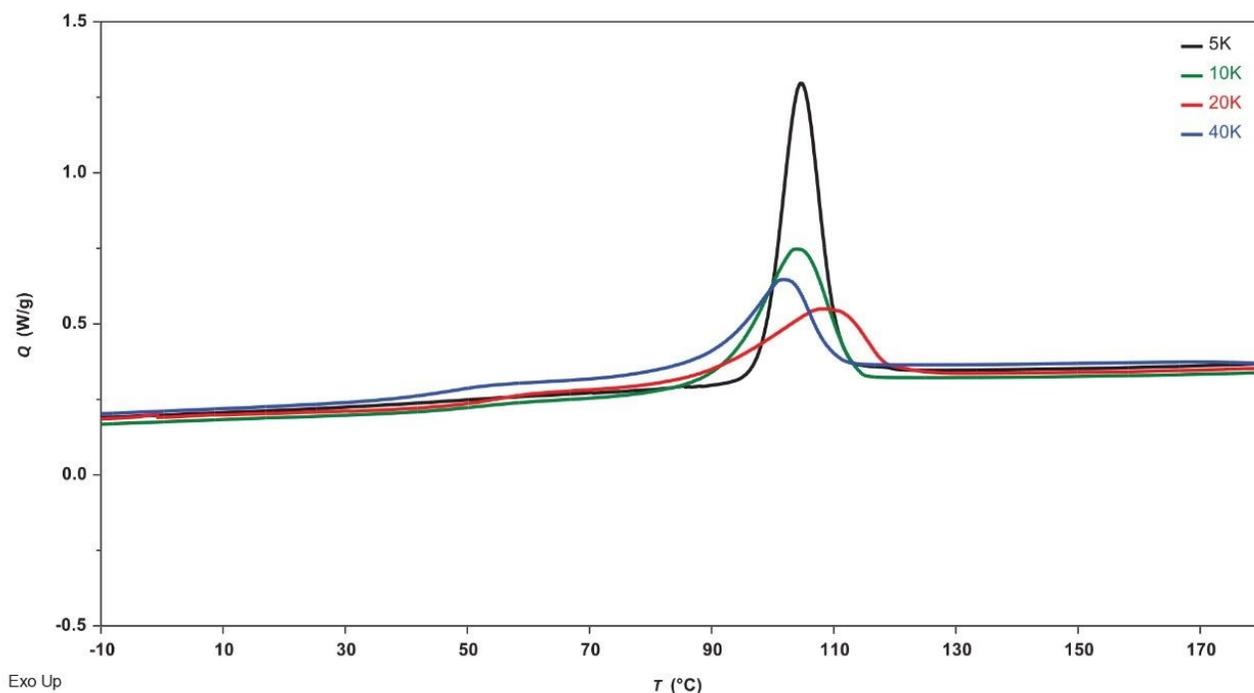


図 9. PLLA サンプルの冷却の重ね描きの比較

2 回目の加熱の重ね描き - 図 10 では 2 回目の加熱の DSC データを比較しています。5 kDa のサンプルは低温結晶化の兆候を示していませんが、他のサンプルはそれぞれ、融解物からの結晶化に加えて低温結晶化を示しています。このことは、完全な結晶化が起こらない、あるいは生じる結晶構造が選択した冷却速度（10°C/分）では準安定であることを示している可能性があります。フォローアップ実験により、さらに多くの情報が得られる可能性があります。各サンプルは、融解する前にある程度の結晶完全性も示します。

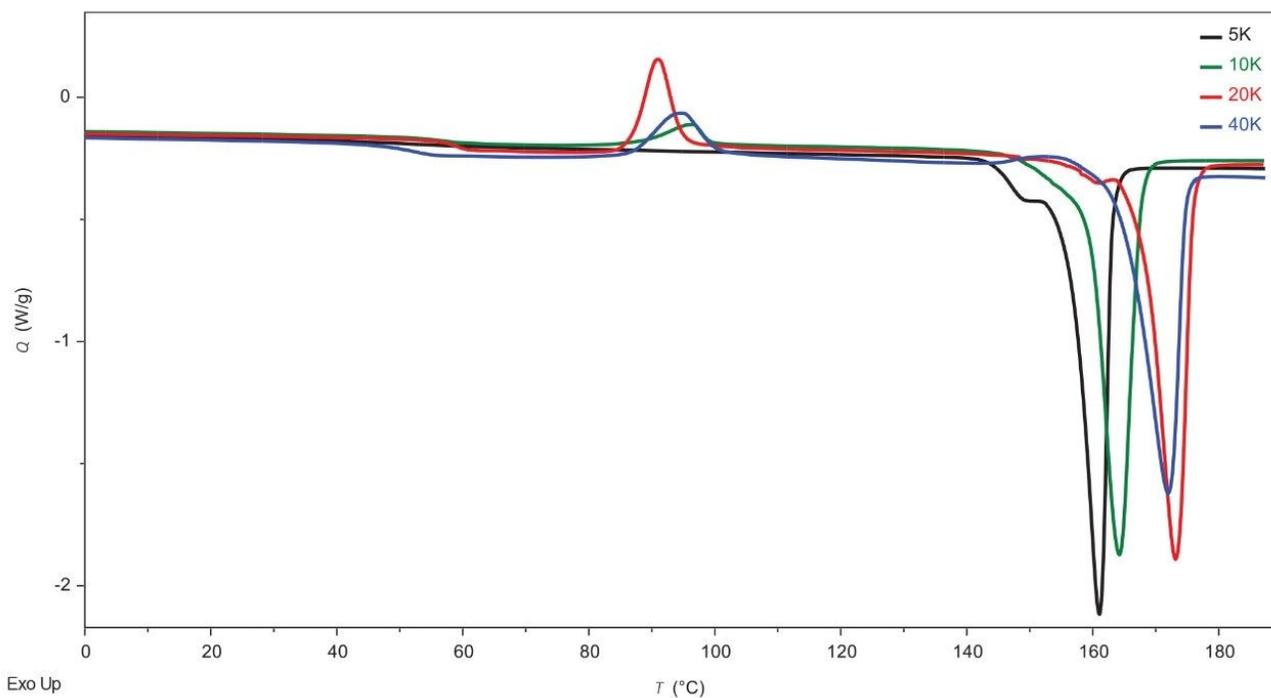


図 10. PLLA サンプルの 2 回目の加熱の重ね描きの比較

## ガラス転移温度

図 11 では、分子量の関数としてのガラス転移温度を比較しています。最初の加熱サンプルはボトルからサンプル原液として取得したため、重合後に発生した劣化の影響がすべて含まれています。ガラス転移温度は 5 kDa、20 kDa、40 kDa のサンプルで同様ですが、10 kDa のサンプルでは低くなっています。このことは、このサンプルの劣化が少ないことを意味している可能性があります。1 回目の加熱と 2 回目の加熱の間には、ガラス転移温度に劣化の影響、特にエントルピー緩和による大きな違いがあります。高いガラス転移は弾性率の増加および脆性破壊と関連しているため、これは重要な特性です。冷却および 2 回目の加熱におけるガラス転移温度は、5 kDa、10 kDa、20 kDa のサンプルでは分子量とともに上昇していますが、40 kDa のサンプルでは低下を示しています。このことは、図 4 に示す APC 実験データで見られる、低分子量画分による可塑化で説明できる可能性があります。

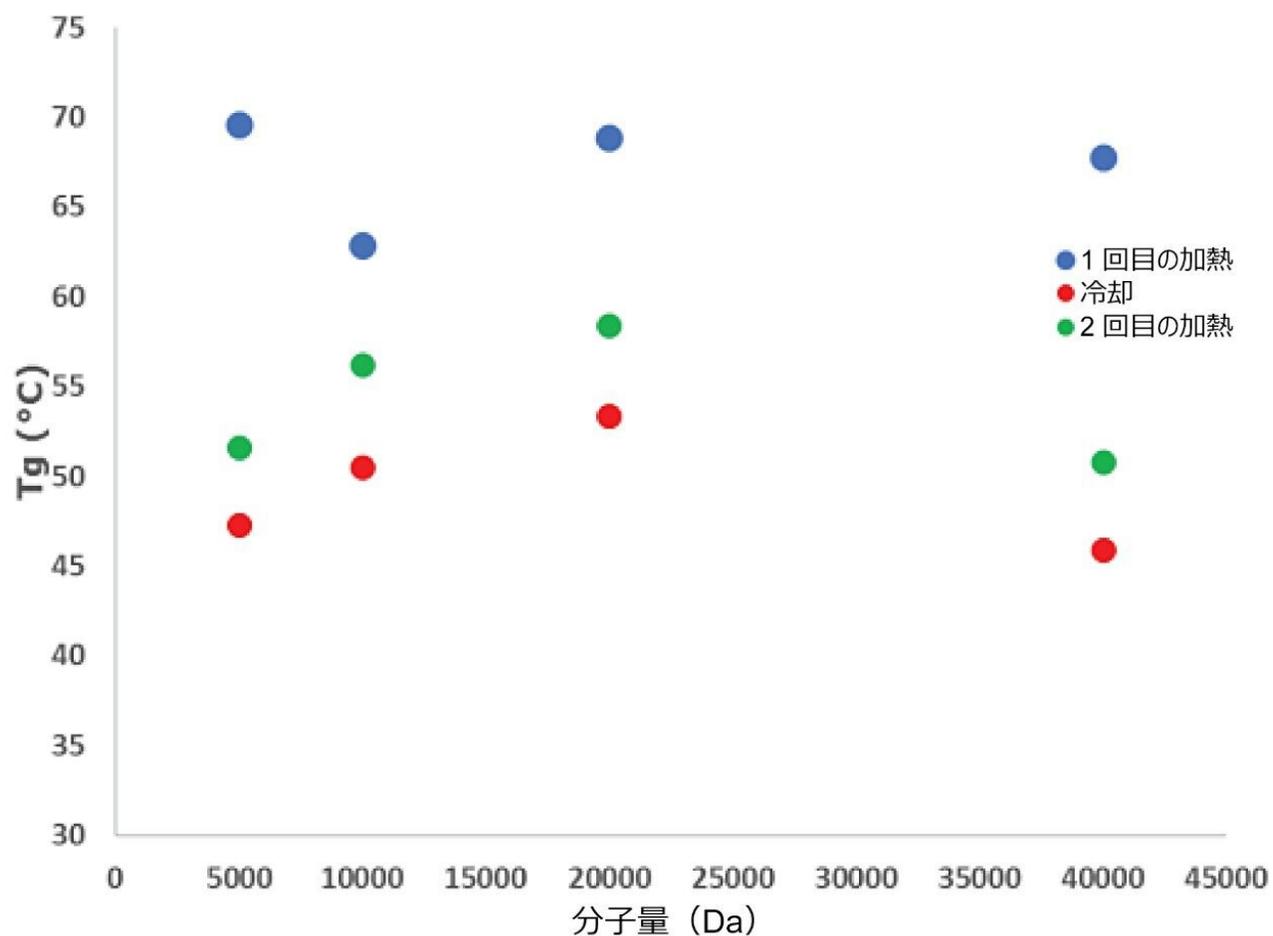


図 11.分子量の関数としてのガラス転移温度の比較

ガラス転移時の熱容量の変化は、存在する非晶質相の量に比例します。下の表 6 には比熱容量の変化をまとめています。これを図 12 にもプロットしています。分子量の増加に伴い、熱容量の大きな変化が見られ、データは明らかな収束を示しています。2 回目の加熱でのガラス転移のエンタルピー値は、最後の列に示すように、分子量の関数として直線的に増加しています<sup>9</sup>。

サンプル	$\Delta C_p$ 1 回目の加熱 (J/g °C)	$\Delta C_p$ 冷却 (J/g °C)	$\Delta C_p$ 2 回目の加熱 (J/g °C)	$\Delta H$ 2 回目の加熱 (J/g)
5 kDa	0.141	0.184	0.110	0.007
10 kDa	0.109	0.183	0.152	0.195
20 kDa	0.231	0.250	0.228	0.268
40 kDa	0.244	0.280	0.299	0.665

表 6. ガラス転移による熱容量の変化

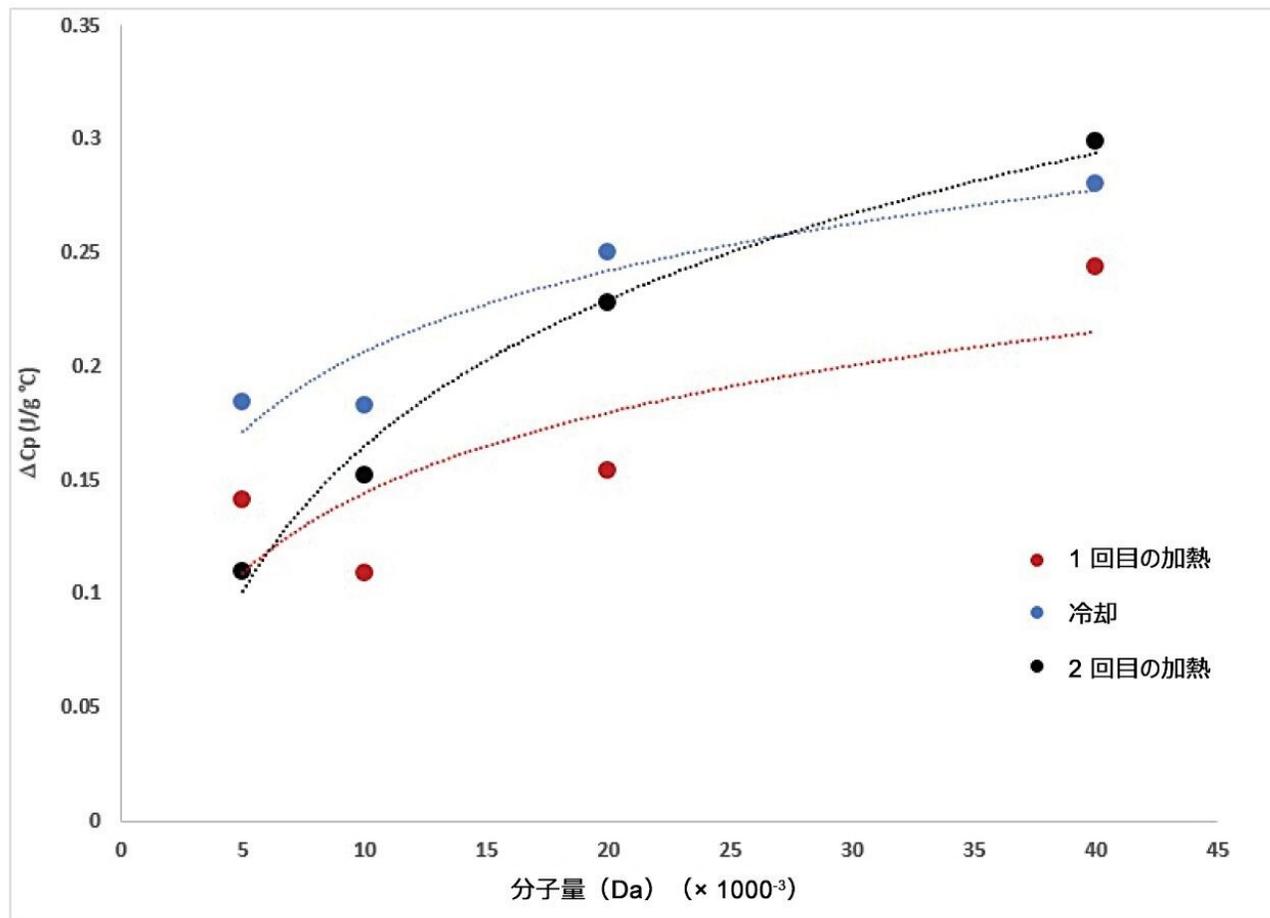


図 12. 分子量の関数としてのガラス転移時の熱容量の変化

## エンタルピー回復

各サンプルでは、ガラス転移時の吸熱によって示されるさまざまなレベルのエンタルピー回復が示されています。エン

タルピー回復はエンタルピー緩和の結果です。エンタルピー緩和を簡単に説明すると、非晶質相が、ガラス転移を下回る非平衡状態まで冷却された後、平衡に近づく際にエネルギーを放出するプロセスです。サンプルの最初の加熱（熱履歴を加えていない）を図 13 に示します。このサンプルセットの場合、エンタルピー緩和/回復の程度は、40 kDa のサンプルで最も明らかに分子量と相関しています。

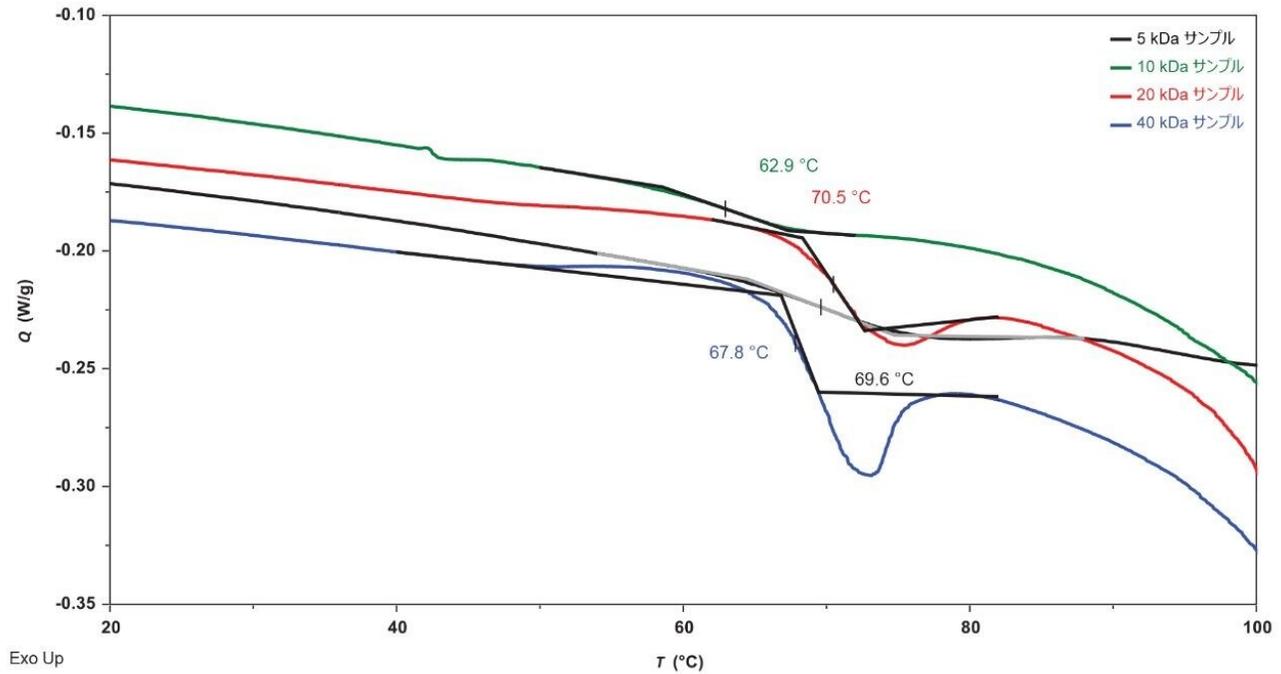


図 13.エンタルピー回復を示す PLLA サンプルの 1 回目の加熱の比較

図 14 は、制御した加熱および冷却後の 2 回目の加熱でのサンプルのガラス転移を比較したもので、事実上エンタルピー回復は観察されません。

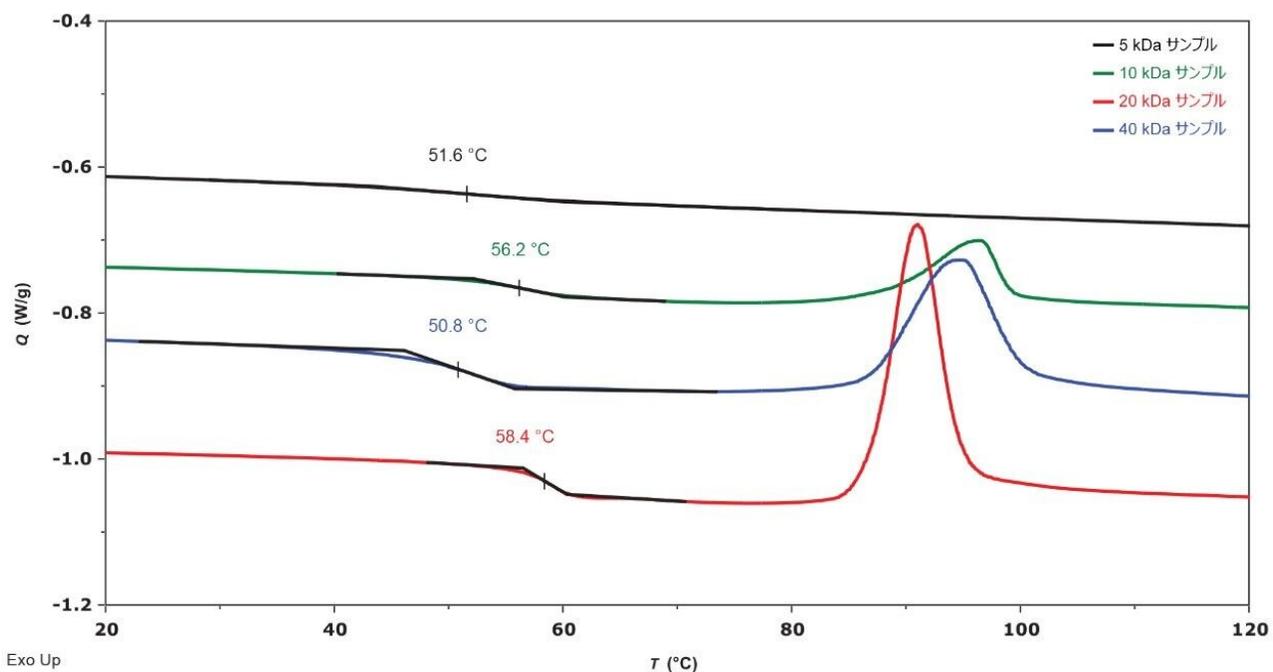


図 14. PLLA サンプルの 2 回目の加熱の比較

40 kDa のサンプルの 1 回目の加熱と 2 回目の加熱の比較を示します。1 回目の加熱による最も顕著なエンタルピー回復を図 15 に示しています。

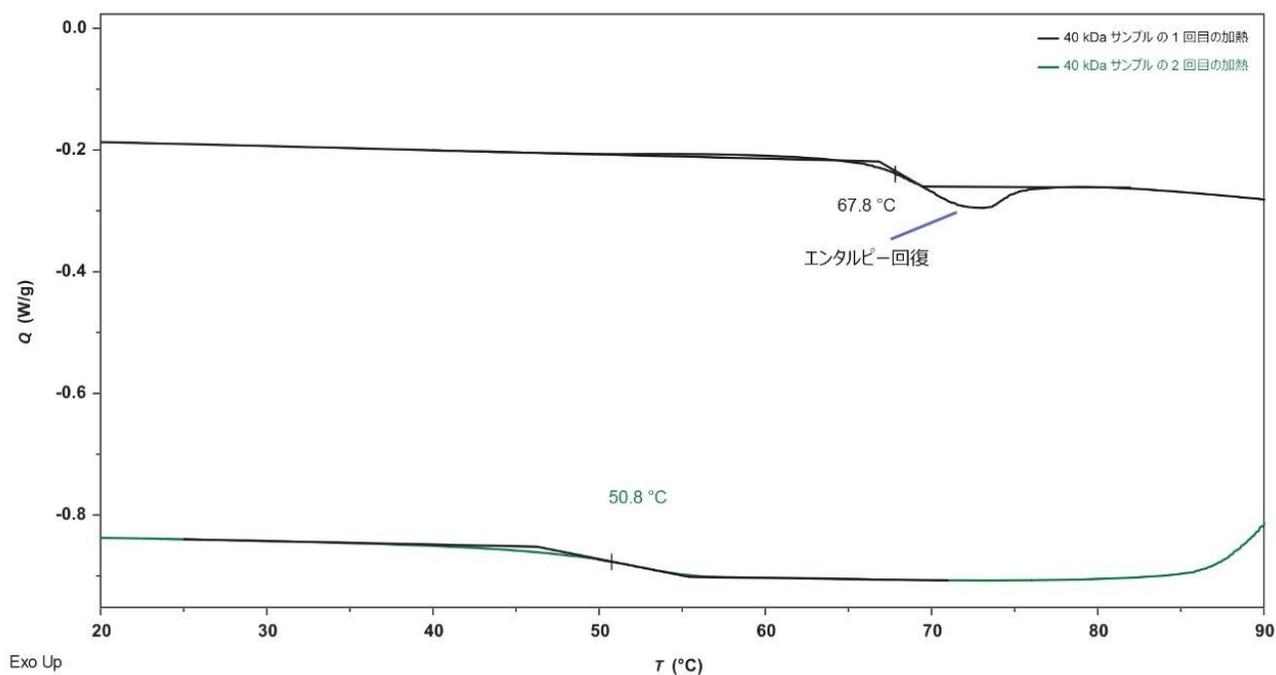


図 15.40 kDa のサンプルの 1 回目の加熱と 2 回目の加熱におけるガラス転移の比較

エンタルピー回復に伴うエネルギーは、Yue<sup>9</sup> の論文に記載された方法、またはエンタルピー回復の熱流量をガラス転移から効果的に分離するモジュレイテッド DSC (MDSC) で計算できます<sup>10</sup>。

## データ管理

クロマトグラフィーソフトウェア: Empower 3 FR5

熱分析ソフトウェア: TRIOS 5.5

## 結論

SEC、DSC、TGA などの分析手法を組み合わせることで、PLLA の製造と加工に関する情報を得るためのポリマー特性を明らかにすることができます。SEC 分析手法は、分子量分布を理解する上で非常に重要になります。APC では、この実験の各注入の分子量データが 10 分で得られ、検量線は 30 分で得られます。相対的安定性を

TGAによって決定した結果、ポリマーの安定性に及ぼす他の構造的特性の影響を理解する必要があることが示されました。DSCにより、4サンプルのうち3つで、融解物からの結晶化や低温結晶化を含む複雑な熱転移が示されました。各サンプルは、エンタルピー緩和（劣化）によるエンタルピー回復も示しています。これは、プロセス管理によって軽減できる可能性があります。

この分析から、3つの分離したピークを示す 40 kDa サンプルの異常な分布が明らかになりました。75 kDa と 6 kDa のピークは、ポリマーの融解特性と結晶化特性に影響を与える可能性があり、最終製品の性能にこの影響が現れる可能性があります。75 kDa 画分が結晶化に及ぼす潜在的な影響は、等温速度論の方法または非等温速度論の方法のいずれかによって評価できます。6 kDa 画分の影響は、サンプルの可塑性において明らかであり、結果としてガラス転移温度の低下および弾性率の低下の兆候が認められました。

さらなる試験の機会として、以下が挙げられます。

- 準安定形結晶フォームの評価
- 結晶フォームの結晶化速度論
- エンタルピー緩和速度論

## 追加情報

### SEC サンプル前処理およびキャリブレーション

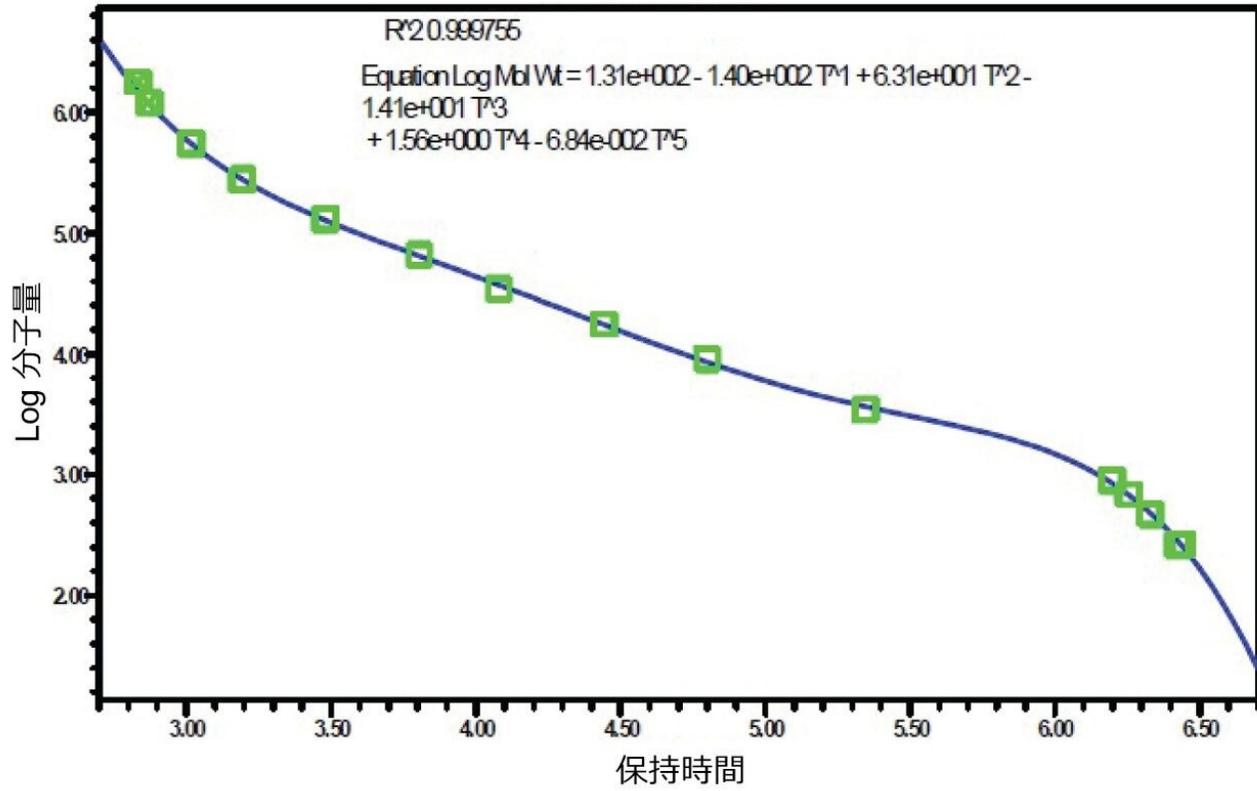
サンプルを排気フード内に一晩放置し、溶解させました（表 1）。溶解が完了したら、各ストック溶液を 13 mm の 0.2  $\mu\text{m}$  シリンジフィルターでろ過し、ポリエチレンコーンインサートキャップ付きの清浄な 20 mL シンチレーションバイアルに入れました。ろ過したサンプルは、対応する各ラベル付き 2 mL APC サンプルバイアルに加え、エタノール安定化クロロホルムで 1 mg/mL の濃度に希釈しました。

黄色、紫色、ピンク色のキャップ付きの 3 種類のポリスチレン製 ReadyCal キャリブレーション標準バイアル（180 万～200 ダルトン）を、1.5 mL のエタノール安定化クロロホルムで希釈し、排気フード内に一晩放置して溶解しました。すべての APC サンプルバイアルが APC バイアルラックに入っており、すべてのストック溶液を最終希釈した後、5°C の冷蔵庫に保管しました。

キャリブレーション標準の分析が完了したら、データを解析するためのデータ解析メソッドを作成しました。各ピークに与えられたピーク分子量値を、それぞれの対応する保持時間のサンプルテーブルに入力しました。

この実験を 5 mg/mL の PLLA サンプルで繰り返し行いました。標準試料は 1 mg/mL のままで行いました。PLLA の一連の分子量を、ポリスチレン標準品を用いて作成した相対検量線を使用して解析しました。分子量の最も大きいピーク 2 つは、カラムバンクの分離範囲が 550 kDa ～ 200 Da であるため除外されました。得られたクロマトグラムを追加図 1 に示します。

## GPC キャリブレーションプロット



## GPC キャリブレーションテーブル

	分子量 (ダルトン)	保持時間 (分)	計算分子量 (ダルトン)	% 残差
1	1800000	2.832		
2	1200000	2.871		
3	562000	3.016	555300	-0.594
4	277000	3.195	276844	0.056
5	130000	3.481	127495	1.965
6	66000	3.804	64852	1.770
7	34800	4.078	37288	-6.673
8	17600	4.443	17423	1.016
9	9130	4.798	8541	6.901
10	3470	5.344	3666	-5.334
11	890	6.197	851	4.551
12	682	6.256	667	0.680
13	474	6.328	496	-2.569
14	266	6.425	282	-5.728
15	266	6.441	253	5.038

追加図 1.ポリスチレン標準品の検量線

---

## 参考文献

### Size Exclusion Analysis

1. Rafael Auras, Bruce Harte, Susan Selke, An Overview of Polylactides as Packaging Materials, *Macromol.Biosci* .2004, 4, 835–864.
2. Serban C. Moldoveanu, Victor David, Chapter 13 - Solvents, Buffers, and Additives Used in the Mobile Phase, Editor(s): Serban C. Moldoveanu, Victor David, Selection of the HPLC Method in Chemical Analysis, Elsevier, 2017, Pages 393–450, ISBN 9780128036846, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803684-6.00013-5> < <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803684-6.00013-5>> .
3. A.A. Cuadri, J.E. Martín-Alfonso, Thermal, Thermo-Oxidative and Thermomechanical Degradation of PLA: A Comparative Study Based on Rheological, Chemical, and Thermal Properties, *Polymer Degradation and Stability*, Volume 150, 2018, Pages 37–45, ISSN 0141-3910, <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2018.02.011> < <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2018.02.011>> .
4. Polymer Properties Database, 2015–2021, <https://polymerdatabase.com/home.html> < <https://polymerdatabase.com/home.html>> .

### Thermal Analysis

5. Ri-Chao Zhang, Dan Sun, Ai Lu, Meiling Zhong, Guangyao Xiong, Yizao Wan; *Polymers* 2017, 9, 625; doi:10.3390/polym9110625.
6. Sajjad Saeidlou, Michel A. Huneault, Hongbo Li, Chul B. Park; Poly(lactic acid) Crystallization; *Progress in Polymer Science* 37 (2012) 1657–1677.
7. Hoffman J., Weeks J.; Melting Process and the Equilibrium Melting Temperature of Polychlorotrifluoroethylene; *Journal of Research of the National Bureau of Standards-A. Physics and Chemistry*, Vol.66A, No.1, January-February 1962.

## 謝辞

Ben MacCreath、Claudia Lohmann

---

## ソリューション提供製品

ACQUITY アドバンスド ポリマー クロマトグラフィーシステム <<https://www.waters.com/134724426>>

ACQUITY UPLC 示差屈折率検出器 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=134726507>>

Empower クロマトグラフィーデータシステム <<https://www.waters.com/10190669>>

720007344JA、2021 年 8 月

© 2022 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[利用規約](#)  
[環境設定](#)

[プライバシー](#)

[商標](#)

[サイトマップ](#)

[キャリア](#)

[クッキー](#)

[クッキー](#)