GPC/SEC 用カラム

ゲル浸透クロマトグラフィと サイズ排除クロマトグラフィのための カラムと標準物質の選択ガイド

セレクションガイド

The Measure of Confidence

Agilent Technologies

はじめに

ゲル浸透クロマトグラフィ (GPC) とサイズ排除クロマトグラフィ (SEC) は、天然および合成ポリマーの分子量分布を測定するためのテクニックです。ポリマーの分子量分布は、強度や靱性、化学耐性といった物質の物理的特性に影響を与える要素です。GPC と SEC は、分子の化学的特性ではなく、溶液中のサイズをもとに個々のポリマー鎖を分離する液体クロマトグラフィテクニックです。

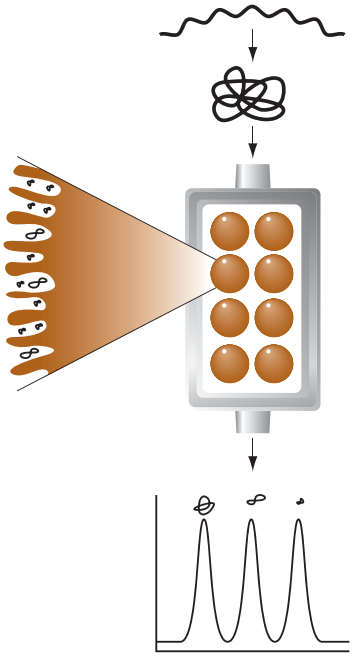
アジレントでは、GPC を用いたテトラヒドロフランなどの有機溶媒中のポリマーの分析や、SEC を用いた水中およびバッファ溶液などの水性溶媒中のポリマーの分析を紹介しています。GPC/SEC は、ポリマーの分子量分布を包括的に解明できる、唯一の確実な手法です。

このセレクションガイドについて

アジレントは GPC/SEC によるポリマー分析用のカラムを幅広く取り揃えています。本冊子では、各種ポリマーの分析に適したカラムと条件について各項目の質問に答えることで、適切なカラムを絞り込めるようになっています。アプリケーションによっては、カラム選択が難しい場合があります。その場合は担当営業あるいはカストマコンタクトセンタ (0120-477-111) までお問い合わせください。

GPC/SEC のメカニズム

- ポリマー分子が溶液中で溶解し、球状のコイルを形成しています。大きさは分子量により異なります。
- カラムを流れる溶離剤にポリマーのコイルが導入されます。
- カラムには、特定のポア構造を持つ不溶性の多孔ビーズが充てんされています。
- ポアの大きさは、ポリマーコイルの大きさと同様です。
- ポリマーコイルがポアの内外に拡散します。
- コイルがサイズに応じて溶出します。大きいコイルが先に、小さいコイルが後に溶出します。
- ポリマー標準物質を用いて作成した検量線により、サイズ分離を分子量分離に変換します。



ポイント

- 小さいコイルは多くのポアに出入りできます。
- 大きいコイルでは、出入りできるポアの数が少なくなります。
- きわめて大きいコイルは、ごくわずかなポアしか出入りできません。

図 1. GPC および SEC のメカニズム

Polymer Laboratories (PL) 社は、GPC/SEC 用の高品質のカラムや標準物質、機器、ソフトウェアを提供するために、1976 年に設立されました。同社は 30 年以上にわたって、PLgel、PL aquagel-OH、PlusPore、PLgel Olexis、PolarGel カラム、EasiVial 標準物質など、市場を代表する多くの製品を開発してきました。最先端の社内製造技術をもとに開発された PL の製品は、品質と性能に関して最高の評価を獲得しています。また、ワールドクラスの技術およびアプリケーションサポートにも支えられています。

アジレントが PL 社を買収したことで、これまで以上に幅広い GPC および SEC ソリューションを提供し、合成ポリマーや生体分子ポリマーを扱うあらゆるタイプの分析に対応できるようになりました。従来の GPC 手法から、マルチカラムおよびマルチ検出メソッドを用いた複雑な測定まで、幅広い選択肢を提供しています。

最適な GPC/SEC システムを構築するための手順

以下の項目にお答えいただくと、アプリケーションに適したカラムや標準物質、注入量を決定するための情報が得られます。

GPC/SEC 用溶離剤の選択

質問	回答	推奨カラム	備考
1. サンプルが溶解する溶媒の種類は？ ポリマーの多くは、限られた種類の溶媒にしか溶解しません。ポリマー分析のメソッド開発では、このことが大きな問題になります。ここで挙げる溶媒は、GPC/SEC で使用される一般的な溶離剤です。	水、またはメタノール 50 % までの水性バッファ	Agilent PL aquagel-OH	水性アプリケーションには最適で 50 % 以下濃度でのメタノールを使うこともできます。
	THF、クロロフォルム、トルエンなどの一般的な有機溶媒	Agilent PLgel または Agilent PlusPore	PLgel が主たるカラムです。PlusPore カラムも使うことができます。
	有機/水の混合液、または DMF、NMP などの極性有機溶媒	Agilent PolarGel	PolarGel は PLgel や PL aquagel-OH カラムより測定できる分子量範囲が狭いですが、かわりに幅広い溶媒を使用できるため、有機溶媒と水の混合液に適しています。

GPC/SEC 用カラムの選択

太字で示されたカラムが、第一の選択肢として推奨されるカラムです。

質問	回答	推奨カラム	備考
2. 予想される分子量は？ GPC/SEC では、カラムの分離能は分離範囲と結びついています。予想されるサンプルの分子量がある程度わかっていれば、最適な結果を得られるカラムを選びやすくなります。	大 (数百万まで)	水性溶媒 **PL aquagel-OH MIXED-H 8 µm、** または PL aquagel-OH 40 と 60 15 µm の組み合わせ	15 µm カラムの組み合わせは、サンプル粘度がきわめて高い場合にのみ適しています。それ以外の場合では、8 µm カラムのほうが高い分離能を得られます。
		有機溶媒 **PLgel 10 µm MIXED-B、** または PLgel 20 µm MIXED-A	PLgel MIXED-A カラムは、PLgel MIXED-B よりも分離能が高くなりますが、粒子サイズが大きいため、効率は低くなります。
		混合溶媒 **PolarGel**	この分子量範囲に適した PolarGel カラムは提供されていません。詳しくはアジレントにお問い合わせください。
	中 (数十万まで)	水性溶媒 **PL aquagel-OH MIXED-M 8 µm**	ほとんどの水溶性ポリマーに対応できる、適用範囲の広いカラムです。
		有機溶媒 **PLgel 5 µm MIXED-C、** または PLgel 5 µm MIXED-D、PolyPore または ResiPore	PLgel カラムはもっとも適用範囲が広く、多くのアプリケーションに対応できます。PolyPore および ResiPore カラムが使えます。
		混合溶媒 **PolarGel-M**	ほとんどのアプリケーションに対応します。
	低 (数万まで)	水性溶媒 **PL aquagel-OH 40 と PL aquagel-OH 30 8 µm の組み合わせ**	この 2 つのカラムは、この分子量範囲のなかでも小さい分子量に対応します。
		有機溶媒 **PLgel 3 µm MIXED-E、** または MesoPore	PLgel カラムは分離能に優れ、低分子量アプリケーション用に設計されています。MesoPore カラムで代用できます。
		混合溶媒 **PolarGel-L**	低分子量アプリケーションに対応します。
	極低 (数千)	水性溶媒 **PL aquagel-OH 20 5 µm**	この高性能カラムは、低分子量で高い分離能が得られます。
		有機溶媒 **OligoPore または PLgel 3 µm 100Å**	OligoPore カラムは、PLgel カラムに比べて分散が小さいことがわかっています。ただし、どちらのカラムも良好に機能します。
		混合溶媒 **PLgel**	PolarGel カラムはこの範囲に対応していません。代わりに PLgel カラムを使用してください。
	不明	水性溶媒 **PL aquagel-OH MIXED-M 8 µm**	ほとんどのポリマーサンプルの分子量範囲に対応します。
		有機溶媒 **PLgel 5 µm MIXED-C** または PolyPore	この PLgel カラムはもっとも適用範囲が広く、多くのアプリケーションに対応できます。
		混合溶媒 **PolarGel-M**	多くのアプリケーションに対応します。

GPC/SEC システムの設定

質問	回答	推奨サイズ	備考
3. 使用するカラムの数は？ カラム中の充てん剤の粒子サイズが大きくなると (予想されるサンプルの分子量に左右されます)、分離能が低くなるため、分析結果の品質を維持するためには、複数本のカラムが必要になります。分子量の大きいサンプルの場合、分析中におけるサンプルのせん断劣化のリスクを抑えるために、大きい粒子を使う必要があります。	カラムの粒子サイズにより異なります。	粒子サイズ 20 µm の場合、カラム 4 つ	粒子サイズが大きい場合、効率の低さを補うために、必要なカラム数が多くなります。
		粒子サイズ 13 µm の場合、カラム 3 つ	
		粒子サイズ 10 µm の場合、カラム 3 つ	
		粒子サイズ 8 µm の場合、カラム 2 つ	
		粒子サイズ 5 µm の場合、カラム 2 つ	
		粒子サイズ 3 µm の場合、カラム 2 つ	
質問	**回答**	**推奨サイズ**	**備考**
4. 注入する量は？ 必要な注入量は、カラムの粒子サイズにより異なります。粒子サイズが小さい場合は、デッドボリュームを最小限に抑えるために、注入量を少なくする必要があります。注入量を多くすれば、分子量の大きいサンプルを低い濃度で導入できるため、粘度が小さくなり、高品質のクロマトグラムを得られます。	カラムの粒子サイズにより異なります。	粒子サイズ 20 µm の場合、注入量 200 µL	粒子サイズが小さい場合、バンド拡散を最小限に抑えるために、注入量を少なくする必要があります。
		粒子サイズ 13 µm の場合、注入量 200 µL	
		粒子サイズ10 µm の場合、注入量 200 µL	
		粒子サイズ 5 µm の場合、 注入量 100～200 µL	
		粒子サイズ 3 µm の場合、注入量 20 µL	

使用すべき標準物質は？

太字で示された標準物質が、最初の選択肢として適した物質です。

質問	回答	推奨事項	備考
5. 溶離剤は？ 標準物質はポリマーなので、標準物質の選択は、おもに選択した溶離剤への溶解性に左右されます。	水、またはメタノール 50 % までの水性バッファ	**ポリエチレングリコール (PEG)/オキシド (PEO)** または多糖類 (SAC)	これらの標準物質は、一般的な Agilent EasiVial フォーマットのすべての水性システムに対応できます。
	THF、クロロフォルム、トルエンなどの一般的な有機溶媒	**ポリスチレン (PS)** またはポリメチルメタクリレート (PMMA)	ポリスチレンは、一般的な EasiVial フォーマットでもっとも広く使用されています。
	有機/水の混合液、または DMF、NMP などの極性有機溶媒	**ポリエチレングリコール/オキシド**またはポリメチルメタクリレート	極性のある標準物質が適しています。
質問	**回答**	**推奨事項**	**備考**
6. 推奨される標準物質のフォーマットは？ お客様のニーズに応じて、さまざまな標準物質フォーマットを利用できます。	正確な濃度が不要で、もっとも迅速かつ簡単なアプローチを希望する場合	もっとも簡単な選択肢 – **EasiVial** または Agilent EasiCal	EasiVial は、使用が容易で、より広い種類のポリマーに適しているため、EasiCal よりも優先すべき選択肢となります。
	正確な濃度が必要な場合	正確な濃度が必要な場合 – **EasiVial** または各標準物質	いずれのフォーマットでも、正確なサンプル濃度が得られますが、使いやすいのは EasiVial のほうです。

一般的なポリマーの分子量

以下の表では、一般的なポリマーの分子量を記載しています。
サンプルの分子量が不明な場合、アプリケーションに適したカラムを選択する際の参考情報としてお使いいただけます。

ポリマーの種類	ポリマーの一般的な分子量	ポリマーの一般的な多分散性[1]
フリーラジカル合成ポリマー	大 (数百万まで)	~ 2
	中 (数十万まで)	
イオン合成ポリマー	中 (数十万まで)	~ 1.01
	低 (数万まで)	
付加合成ポリマー	中 (数十万まで)	~ 2
	低 (数万まで)	
制御ラジカル重合により合成したポリマー	低 (数万まで)	~ 1.1〜1.5
	極低 (数千)	
ポリオレフィン	中 (数十万まで)	~ 2〜200
	大 (数百万まで)	
アクリレート	中 (数十万まで)	~ 2
	大 (数百万まで)	
小分子添加物	極低 (数千)	1
プレポリマー	低 (数万まで)	~ 2〜10
	極低 (数千)	
樹脂	低 (数万まで)	~ 2〜10
	極低 (数千)	
多糖類などの天然バイオポリマー	中 (数十万まで)	~ 2〜10
	大 (数百万まで)	
ゴム	中 (数十万まで)	~ 2〜10
	大 (数百万まで)	
生体分解性高分子	中 (数十万まで)	~ 1.1〜2
	低 (数万まで)	

[1] 多分散性は、ポリマーの分子量分散の指標です。

製品情報

表 1. 有機溶媒溶カラムの情報

有機 GPC カラム		
品名	**分子量範囲 (g/mol)**	**部品番号**
PLgel 20 µm MIXED-A、300 x 7.5 mm	2,000～40,000,000	PL1110-6200
PLgel 20 µm MIXED-A LS、300 x 7.5 mm	2,000～40,000,000	PL1110-6200LS*
PLgel 10 µm MIXED-B、300 x 7.5 mm	500～10,000,000	PL1110-6100
PLgel 10 µm MIXED-B LS、300 x 7.5 mm	500～10,000,000	PL1110-6100LS*
PLgel 5 µm MIXED-C、300 x 7.5 mm	200～2,000,000	PL1110-6500
PLgel 5 µm MIXED-D、300 x 7.5 mm	200～400,000	PL1110-6504
PLgel 3 µm MIXED-E、300 x 7.5 mm	30,000 まで	PL1110-6300
PLgel 3 µm 100 Å、300 x 7.5 mm	4,000 まで	PL1110-6320
PolyPore、300 x 7.5 mm	200～2,000,000	PL1113-6500
ResiPore、300 x 7.5 mm	200～400,000	PL1113-6300
MesoPore、300 x 7.5 mm	25,000 まで	PL1113-6325
OligoPore、300 x 7.5 mm	4,500 まで	PL1113-6520

* 光散乱アプリケーション用のローシェディング

表 2. 混合溶媒カラムの情報

混合溶媒 GPC カラム		
品名	**分子量範囲 (g/mol)**	**部品番号**
PolarGel-M、300 x 7.5 mm	700,000 まで	PL1117-6800
PolarGel-L、300 x 7.5 mm	30,000 まで	PL1117-6830
PLgel – 表 1 参照		

表 3. 水性溶媒カラムの情報

水性 GPC/SEC カラム		
品名	**分子量範囲 (g/mol)**	**部品番号**
PL aquagel-OH 15 µm 60、300 x 7.5 mm	200,000～10,000,000	PL1149-6260
PL aquagel-OH 15 µm 40、300 x 7.5 mm	10,000～200,000	PL1149-6240
PL aquagel-OH 8 µm MIXED-H、300 x 7.5 mm	100 ～10,000,000	PL1149-6800
PL aquagel-OH 8 µm MIXED-M、300 x 7.5 mm	100～400,000	PL1149-6801
PL aquagel-OH 8 µm 60、300 x 7.5 mm	200,000～10,000,000	PL1149-6860
PL aquagel-OH 8 µm 50、300 x 7.5 mm	50,000～1,000,000	PL1149-6850
PL aquagel-OH 8 µm 40、300 x 7.5 mm	10,000～200,000	PL1149-6840
PL aquagel-OH 8 µm 30、300 x 7.5 mm	100～30,000	PL1120-6830
PL aquagel-OH 5 µm 20、300 x 7.5 mm	100～10,000	PL1120-6520

GPC/SEC カラムの製品一覧は、**www.agilent.com/chem/jp** でご覧いただけます。

表 4. 較正用標準物質の製品情報

較正用標準物質		
品名	**分子量範囲 (g/mol)**	**部品番号**
Agilent EasiVial PEG/PEO 2 mL 計量済み較正キット	106～1,200,000	PL2080-0201
Agilent EasiVial PEG 2 mL 計量済み較正キット	106～35,000	PL2070-0201
Agilent PEG-10 ポリエチレングリコール較正キット	106～22,000	PL2070-0100
Agilent PEO-10 ポリエチレンオキシド較正キット	20,000～1,000,000	PL2080-0101
Agilent SAC-10 プルラン多糖較正キット	180～850,000	PL2090-0100
Agilent PAA-10 ポリアクリル酸 Na 塩構成キット	1,000～1,000,000	PL2140-0100
Agilent PS-H EasiVial 2 mL 計量済みポリスチレン較正キット	162～6,000,000	PL2010-0201
Agilent PS-M EasiVial 2 mL 計量済みポリスチレン較正キット	162～400,000	PL2010-0301
Agilent PS-L EasiVial 2 mL 計量済みポリスチレン較正キット	162～40,000	PL2010-0401
Agilent EasiCal PS-1 調整済みポリスチレンキット	580～7,500,000	PL2010-0501
Agilent EasiCal PS-2 調整済みポリスチレンキット	580～400,000	PL2010-0601
Agilent S H-10 ポリスチレン較正キット	300,000～15,000,000	PL2010-0103
Agilent S-H2-10 ポリスチレン較正キット	1,000～15,000,000	PL2010-0104
Agilent S-M-10 ポリスチレン較正キット	580～3,000,000	PL2010-0100
Agilent S-M2-10 ポリスチレン較正キット	580～300,000	PL2010-0102
Agilent S-L-10 ポリスチレン較正キット	162～20,000	PL2010-0101
Agilent S-L2-10 ポリスチレン較正キット	162～4,500	PL2010-0105
Agilent M-M-10 ポリメチルメタクリレート較正キット	1,000～1,500,000	PL2020-0101
Agilent M-L-10 ポリメチルメタクリレート較正キット	600～50,000	PL2020-0100

上記のポリマーは、すべて名目分子量としても利用できます。

較正用標準物質リストは、**www.agilent.com/chem/jp** でご覧いただけます。

Agilent GPC/SEC 分析システム

Agilent 1260 Infinity GPC/SEC 分析システムを使えば、簡単で信頼性の高いポリマー分析が実現します。アイソクラティック溶媒送液システムにより、GPC/SEC カラムの高分離能を維持するうえで欠かせない、一貫して安定した流速が得られます。また、正確な高流速性能と優れた温度安定性により、分子量測定において、最高の確度と精度が実現します。

Agilent 1260 Infinity
GPC/SEC 分析システム

Agilent バイオ HPLC カラム

アジレントは、タンパク質やペプチド、
オリゴヌクレオチドの分離用に、幅広いバイオ Bio SEC
カラムも提供しています。バイオ SEC カラムに用いられて
いる独自の親水性コーティングを施したシリカ粒子は、
サイズ分離の再現性と信頼性を高めます。
幅広いポアサイズを用意しているので、小型ペプチドから
オリゴヌクレオチド、大型のタンパク質や凝集体まで、
さまざまな分離で高い効率が得られます。詳細については、
www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

Agilent PL-GPC 50 インテグレート GPC/SEC システムは、幅広いポリマーの分析に必要なすべてのコンポーネントを搭載するスタンドアロン型の機器です。ポンプ、注入バルブ、カラムオーブン、オプションのデガッサに加えて、示差屈折率検出器、光散乱検出器、粘度測定検出器を任意に組み合わせられる PL-GPC 50 は、GPC をこれから始めるラボや、便利な単一ソリューションを求めているラボに最適です。

Agilent PL-GPC 50 インテグレート GPC/SEC システム

詳細情報 :

Agilent BioHPLC カラムを始め、アジレントのカラムの詳細については、**www.agilent.com/chem/jp** をご覧ください。

カストマコンタクトセンタ
フリーダイヤル **0120-477-111**

本文書に記載の情報は、予告なく変更されることがあります。また、
本文書掲載の機器類は薬事法に基づく登録を行っておりません。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2010
Printed in Japan December 15, 2010
5990-6868JAJP

Agilent Technologies