

GL-7400は、装置制御ソフトEZChrom *Elite*にSECオプションをつけることで、容易にSECモードでの解析が可能になります。今回は、このSECオプション機能と応用分析の解析例を紹介します。

* SECオプション設定画面 *

Enable GPC/SEC Analysis

	Molecular Weight	Average Time (min)
1	612000	4.003
2	465000	4.02
3	170000	4.227
4	48000	5.307

Calibration Type: Narrow
Time Slice (Sec): 1

Ranges in Minutes:

	Baseline		Result Range	
	Start	Stop	Start	Stop
1	5.127	10.032	5.372	8.147
2				

Horizontal Baseline Threshold

Sample Data

Reference Peak Time (min)

Reference Window %

較正曲線は、以下の3種類から選択可能です

- ①標準較正曲線
- ②Broad Range Calibration
- ③汎用較正曲線

較正曲線の線種が選択できます
線種は6種類から選択可能です

- ①折れ線
- ②直線
- ③2次曲線
- ④3次曲線
- ⑤4次曲線
- ⑥スプライン曲線

Fit Type: Cubic R²: 0.993768

時間: 9.0653 min - Molecular Weight: —

Flow Rate (ml/min)

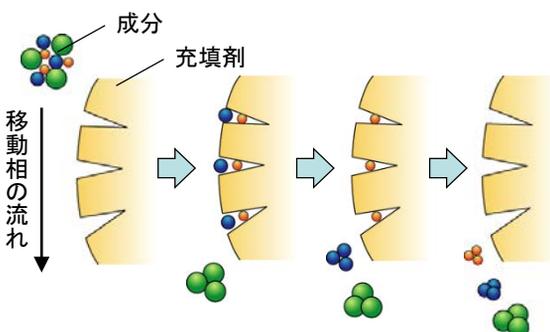
Print Export Settings

ベースラインを水平化することができます

流量変動を補正するための保持時間の参照ピークを設定できます

X軸は、溶出容量と保持時間の両方が選択可能です

* サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) とは? *



サイズ排除クロマトグラフィー (Size Exclusion Chromatography : SEC) は大きい分子やポリマーの分子量分布を測定するために使用されるクロマトグラフィー技術です。



* SECシステムとは? *

一般にSECシステムを用いて分析すると、容易に較正曲線を作成でき、目的成分の各種平均分子量や積分分子量分布曲線を得ることができます。

較正曲線は、縦軸に分子量の対数、横軸に溶出容量または保持時間をとり、あらかじめ分子量が分かっている分子量マーカーの溶出容量との関係より作成します。

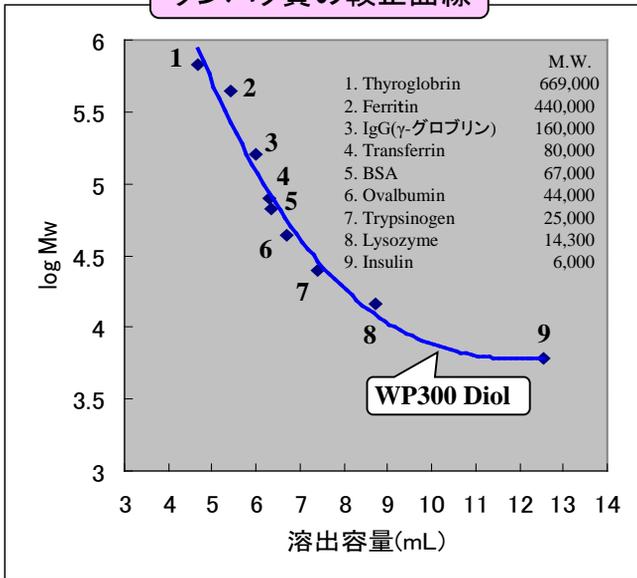
また、SECで使用される計算式は分子量値を得るよりも分子量分布 (molecular weight distribution : MWD) あるいは平均分子量値を得るように設計されています。

Inertsil カラムを用いた水系SECモードでの分析

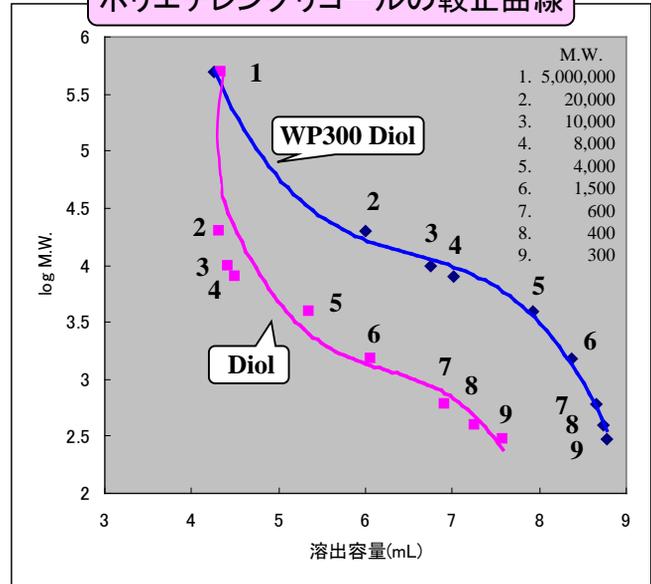
商品名	母体シリカゲル			化学修飾			仕様
	粒径	表面積	細孔径	結合基	エンドキャップ	炭素量	
Inertsil WP300 Diol	5 μm	150m ² /g	300 Å	ジオール基	無	9%	250 x 7.6
Inertsil Diol	5 μm	450m ² /g	100 Å	ジオール基	無	20%	250 x 7.6

300Åの細孔径をもつWP300Diolと、100Åの細孔径を持つDiolカラムを用いることで、下記の較正曲線を得ることができます。

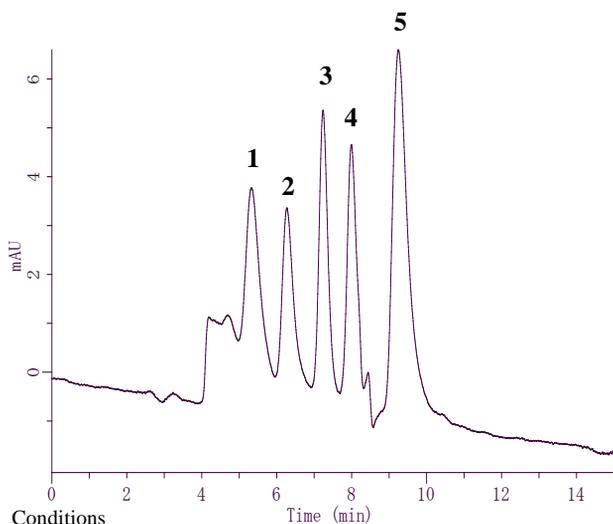
タンパク質の較正曲線



ポリエチレングリコールの較正曲線



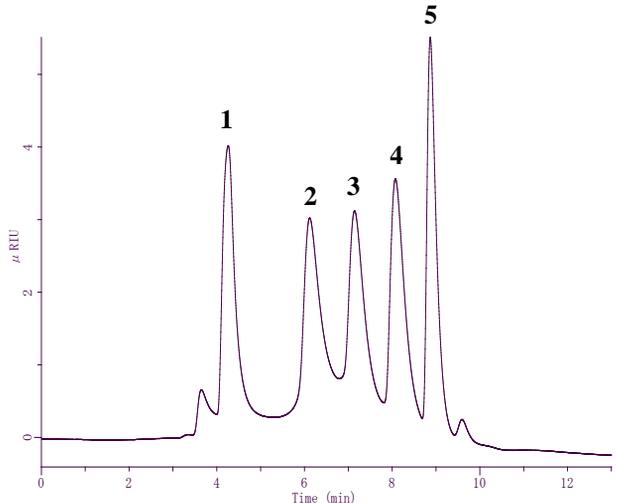
Number	Protein Name	M.W.	Concentration
1	Ferritin	440,000	40 μg/mL
2	Transferrin, human	80,000	260 μg/mL
3	Trypsinogen	25,000	160 μg/mL
4	Lysozyme	14,300	80 μg/mL
5	Insulin	6,000	460 μg/mL



Conditions

- System : GL7400 HPLC systems
- Column : Inertsil WP300 Diol (250 x 7.6 mm I.D.)
- Eluent : 0.1M Phosphate Buffer + 0.2M NaCl (pH6.7)
- Flow rate : 1.0 mL/min
- Col. Temp. : 35°C
- Detector : UV 280nm
- Sample Size : 10 μL

Number	polyethyleneglycol	M.W.	Concentration
1	polyethyleneglycol	500,000	
2	polyethyleneglycol	20,000	1mg/mL
3	polyethyleneglycol	8,000	1mg/mL
4	polyethyleneglycol	4,000	1mg/mL
5	polyethyleneglycol	300	1mg/mL

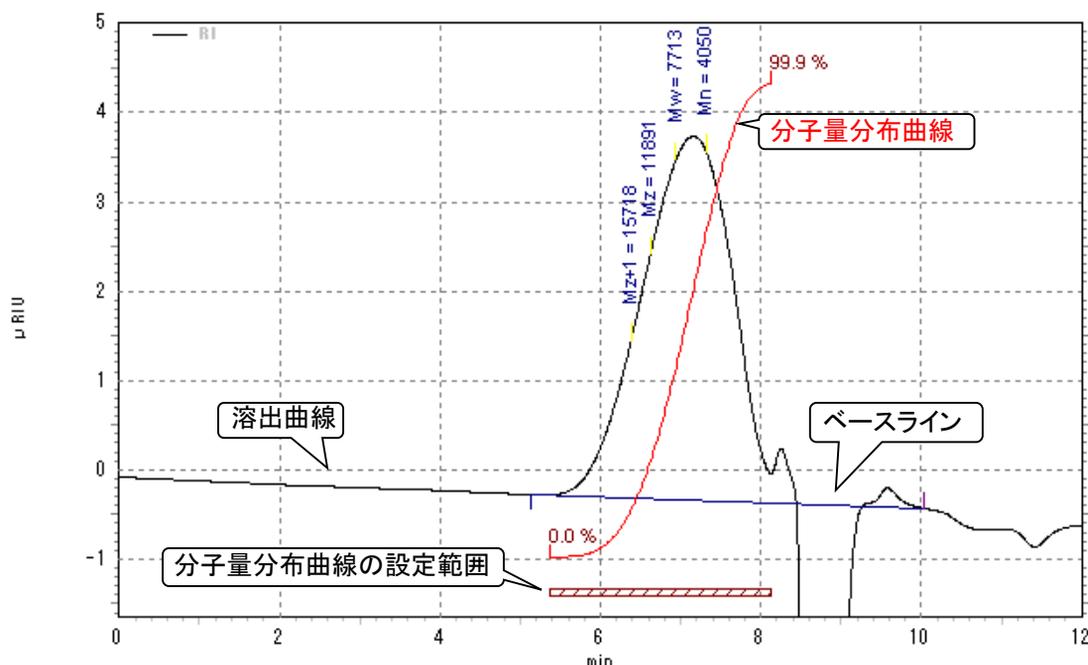


Conditions

- System : GL7400 HPLC systems
- Column : Inertsil WP300 Diol (250 x 7.6 mm I.D.)
- Eluent : H₂O
- Flow rate : 1.0 mL/min
- Col. Temp. : 40°C
- Detector : RI
- Sample Size : 10 μL

応用分析と解析結果

水系SEC分析の応用例として、血液凝固阻止剤の『ヘパリン』を分析しました。分析結果を、前ページのポリエチレングリコールの較正曲線により解析すると、以下の結果が得られます。



Conditions

•System	: GL7400 HPLC systems
•Column	: Inertsil WP300 Diol (250 x 7.6 mmI.D.)
•Eluent	: 0.1M NaCl
•Flow rate	: 1.0mL/min
•Col.Temp.	: 40°C
•Detector	: RI
•Sample Size	: 50μL (ヘパリン 1mg/mL)

標準試料を用いて作成した較正曲線を基準として、ヘパリンをSECオプションを用いて解析しました。

SECオプションを用いることにより、目的成分の各種平均分子量値をレポートできます。

Mz	= Z平均分子量
Mz + 1	= Z+1平均分子量
Mw	= 重量平均分子量
Mn	= 数平均分子量
Mw/Mn	= 多分散度

また、『Mark-Houwink』式における標準試料固有粘度のk値とα値が分かっている場合には、以下の値も得られます。

Mv	= 粘度平均分子量
----	-----------

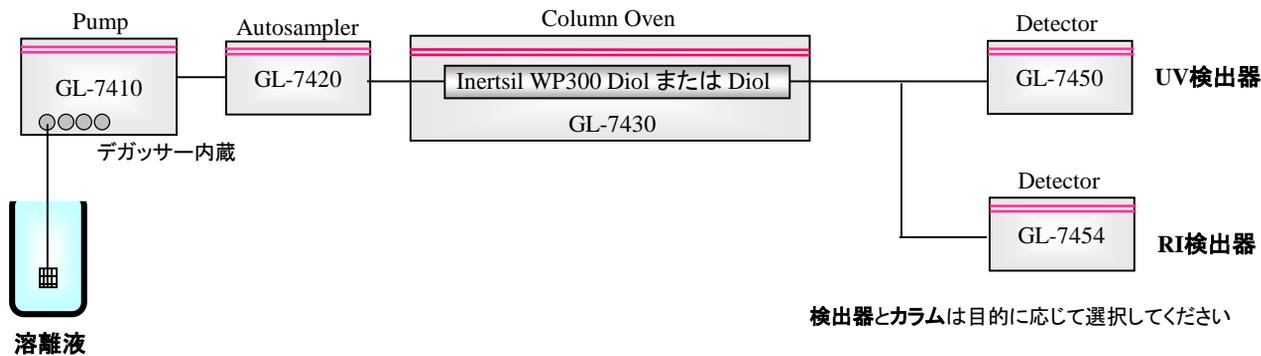
その他に、試料の溶出曲線を縦にスライスした面積より、分子量分布の軌跡を表示することもできます。これを、

分子量分布曲線

といいます。

得られたデータはエクスポート機能により、テキスト形式で出力し保存することができます。

流路図



使用装置

カラム

Inertsil WP300 Diol
Inertsil Diol

5um 250 x 7.6mmI.D.
5um 250 x 7.6mmI.D.

Cat No. 5020-05988
Cat No. 5020-05666

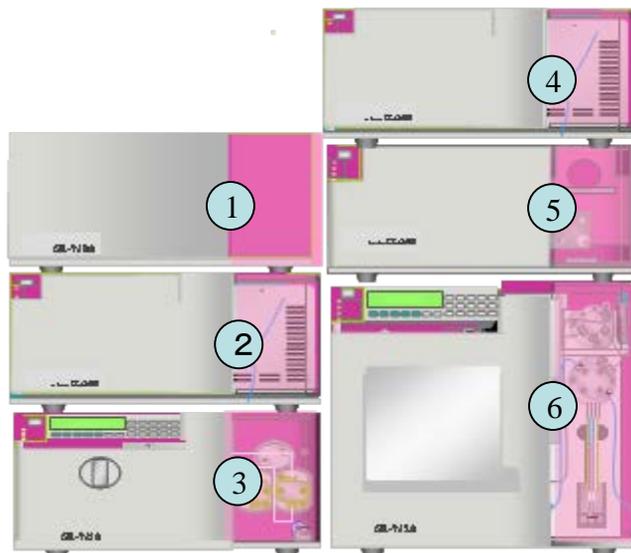
GLクロマトディスク

水系 25A 0.45 um フィルター
Cat. No. 5040-28512
価格 ¥ 21,000 (100個入)

HPLC装置: GL-7400 シリーズ

SECシステム

番号	品名	型番
1	キャリアリザーバー	GL-7480
2	UV検出器	GL-7450
3	ポンプ	GL-7410
4	RI検出器	GL-7454
5	カラムオープン	GL-7430
6	オートサンプラー	GL-7420



ジーエルサイエンス株式会社

〒163-1130 東京都新宿区西新宿 6-22-1 新宿スクエアタワー 30F
TEL.03-5323-6611 FAX.03-5323-6622

※各試験法は、変更される場合がありますので、分析の前に確認されることをお薦めします。

データに起因し、直接的または間接的に生じたいかなる損害に対しましても、当社が責任をおうものではありません。また、記載事項につきましては、予告無しに改訂する場合がありますので、あらかじめご了承ください。

カスタマーサポートセンターでは、ノウハウのご提供と分析に関するフォローを行なっております。お困りの際には、カスタマーサポートセンターまでお気軽にお問い合わせください。

カスタマーサポートセンター (土・日・祝除く 9:00-17:00)

☎ 04-2934-1100 ✉ info@glsc.co.jp



【アプリケーションの検索はこちら】

https://www.glsc.co.jp/technique/app/app_search.html