

# GPC装置の構造と測定原理

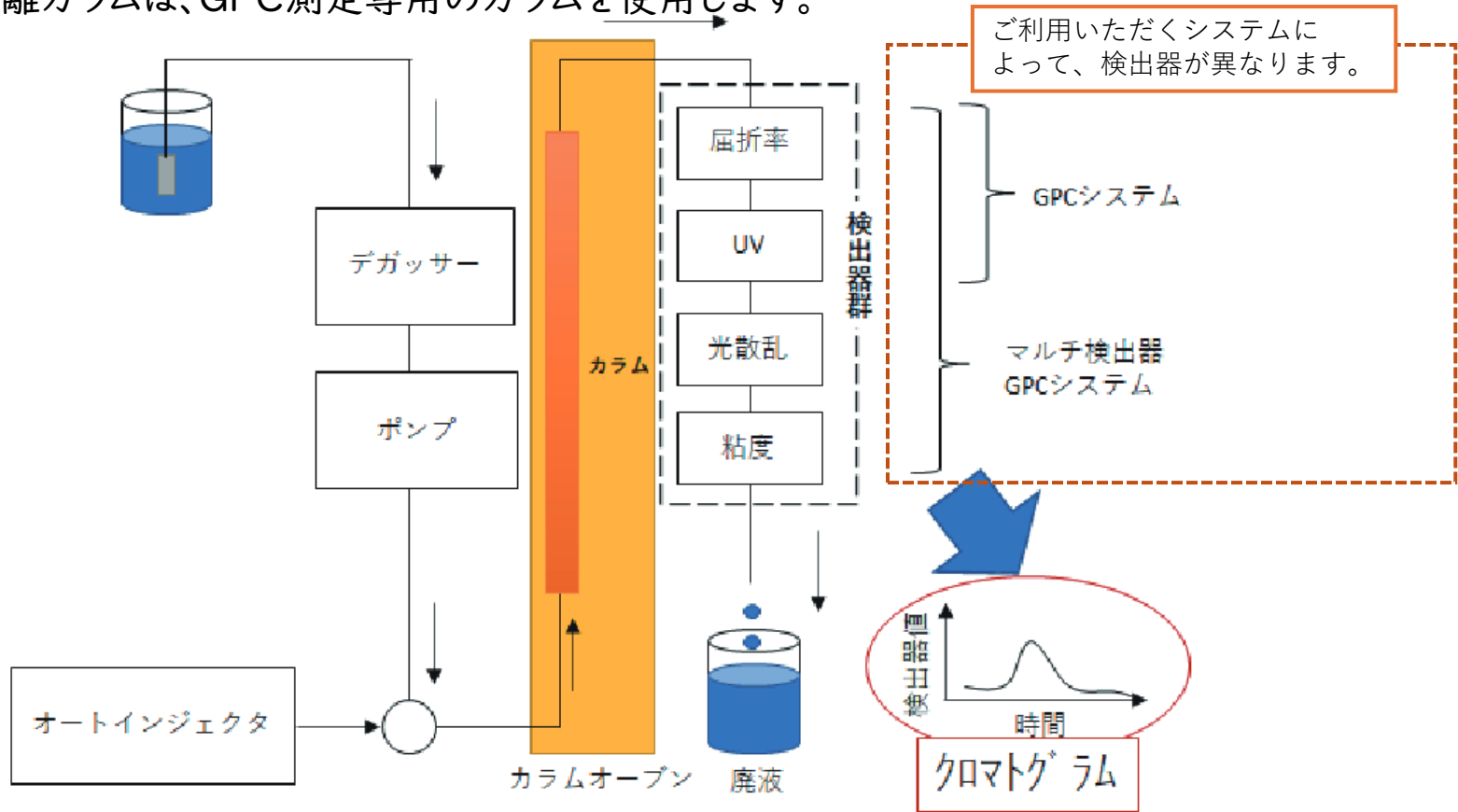
本項では、ご利用までにご覧いただきたい、GPC装置の構造と分子量を評価する原理について説明します。

# GPCとは

- 名称について
    - Gel Permeation Chromatography (ゲル浸透クロマトグラフィー) の略。
    - Size Exclusion Chromatography (サイズ排除クロマトグラフィー。SEC) とも呼ぶ。
  - 主な用途
    - 高分子化合物の分子量の評価
  - どんなサンプルが測定できるのか
    - 測定溶媒(弊所ではクロロホルム)に溶解するサンプル
    - 非反応性のサンプル
    - カラムへの吸着がないサンプル
- ※詳細は、お問い合わせの際、ご相談ください。

# GPC装置の構成

- 液体クロマトグラフと同様の装置構成です。
- 分離カラムは、GPC測定専用のカラムを使用します。



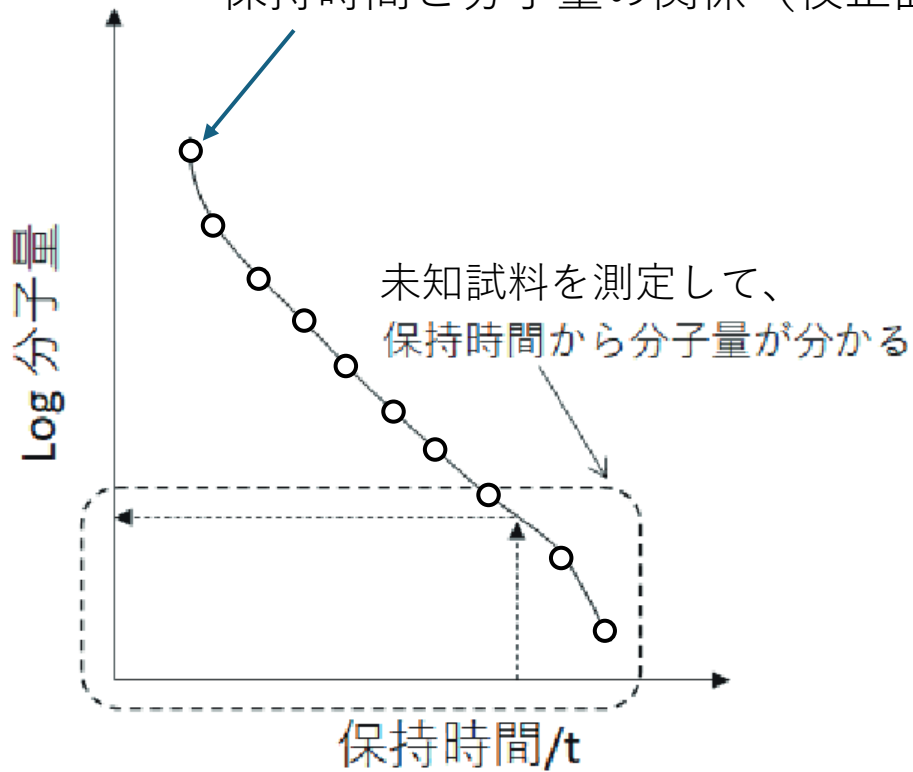
## 弊所のGPCシステム、マルチ検出器GPCシステムの紹介

- 二種類の装置で運用しています。
- 初めての方には、サンプル調製、解析が簡便なGPCシステムをお勧めします。
- サンプルの分岐構造や絶対分子量、流体力学的等価球半径 $R_h$ などを評価したい場合は、マルチ検出器GPCシステムをご利用ください。

| 項目     | GPCシステム     | マルチ検出器GPCシステム          |
|--------|-------------|------------------------|
| メーカー   | 東ソー株式会社     | スペクトリス株式会社             |
| 型式     | HLC-8220    | OMNISEC RESOLVE・REVEAL |
| 溶媒     | クロロホルム      | クロロホルム                 |
| UV検出器  | 254 nm      | 250-500 nm             |
| 屈折率検出器 | リファレンスポンプ方式 | リファレンスセル方式             |
| 光散乱検出器 | —           | 2角度（7度、90度）            |
| 粘度検出器  | —           | ホイトストンブリッジ方式           |
| 相対分子量法 | ○           | ○                      |
| 絶対分子量法 | ×           | ○                      |
| 分析温度   | 40°C        | 40°C                   |
| 必要試料   | 2 mg        | 10 mg                  |

# 分子量の評価法:相対分子量法

分子量が分かっている複数の標準サンプルを測定し、  
保持時間と分子量の関係（校正曲線）を明らかにする。



# 分子量の評価法：絶対分子量

- 光散乱強度と試料濃度から分子量を求める手法です。相対分子量法と異なり、標準試料や溶媒に影響を受けない絶対分子量を求めることができます。
- 装置の校正するため、分子量と濃度の分かっているポリスチレン標準試料を測定する必要があります。
- その一方で、分子量が低い試料（およそ1万以下）では、光散乱強度が低くなり検出が困難な場合、低分子量領域の寄与を低く見積もることにより、分子量を高めめに評価してしまう懸念があります。

$$\frac{Kc}{R_0} = \frac{1}{M_w} + 2 A_2 c$$

$$M_w = \frac{R_0}{K c}$$

K: 光学定数

$K = (4\pi^2 n^2 / \lambda_0^4 N_A) (dn/dc)^2$  n: 屈折率

c: 溶質濃度

$R_0$ : 0度での過剰還元散乱強度

$M_w$ : 重量平均分子量

$A_2$ : 第二ビリアル係数



0度の散乱光強度が分かれば、分子量 $M_w$ を算出できる。

低濃度 (GPCの条件)  
右辺第二項は無視

※尾高 雅文, 生物工程学89巻, 398-400.