

# SEPARATION REPORT

## 細孔多分散型高性能 SEC セミマイクロカラム TSKgel SuperMultiporeHZ シリーズについて

### —— 目 次 ——

	ページ
1. はじめに	1
2. TSKgel SuperMultiporeHZ シリーズの特長	1
3. TSKgel SuperMultiporeHZ シリーズ基本的性質	2
3-1. 細孔特性	2
3-2. 分離性能	3
3-3. 理論段高さ (HETP) の流速依存性	5
3-4. 較正曲線の流速依存性	6
3-5. 試料注入量の影響	7
3-6. 試料濃度の影響	8
3-7. 測定温度の影響	11
3-8. クロマトグラムの歪み	12
4. おわりに	15

## 1. はじめに

サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）は、測定法としての簡便さ（自動化、測定時間）、再現性の良さから相対分子量測定法であるにも拘らず、化学、食品、バイオ、医薬など幅広い分野で高分子の分子量分布測定法として広く普及しています。

SECでは、標準試料により作成された較正曲線に基づいて分子量が計算されるため、カラムグレードの選択方法によっては近似較正曲線と実較正曲線との誤差が発生する、あるいは異なる細孔径の充てん剤を複数用いる事により高分子試料のクロマトグラムに歪みが認められる場合があります。

東ソーでは、このような問題を解決した単一粒子内に幅広い細孔径を有した細孔多分散型カラム（TSKgel MultiporeHXL-M）<sup>1),2)</sup>を既に商品化しています。

今回、TSKgel MultiporeHXL-Mの特性を維持した上で新しい合成法により単分散微粒子充てん剤を開発し、省溶媒対応型のセミマイクロカラム（4.6 mmID×15 cm）に充てんしたSECカラムを上市しました。さらにオリゴマーや低分子用試料を対象にした低分子用グレードの細孔多分散型充てん剤も新たに開発し上市しました。

本稿では、これらの新規細孔多分散型有機溶媒系セミマイクロSECカラム TSKgel SuperMultiporeHZ シリーズの基本特性と応用例についてご紹介します。

## 2. TSKgel SuperMultiporeHZ シリーズの特長

従来よりSEC測定においては、充てん剤細孔径の異なる

各種カラムを複数本接続して分子量分画範囲の適正化を図る方法、あるいは細孔径の異なる充てん剤を最適な比率でブレンドし細孔特性（分子量分画範囲および較正曲線の直線性）を改良したいわゆるミックスベッドカラムを使用することが一般的でした。

しかし、このような方法では、分子量既知の標準試料の測定データから得られた実際のデータ点と多次式で近似された較正曲線に誤差が生じること、また細孔径（排除限界分子量）の異なる充てん剤（あるいは充てんカラム）が混合（あるいは接続）されることにより較正曲線に変曲点が存在することになり、試料によってはクロマトグラム上に歪みが観察されることがありました。即ち正確性と測定精度に問題のあるケースがありました。

これらの問題を克服するカラムとして細孔多分散型カラム TSKgel MultiporeHXL-M を上市し、ご好評をいただいていた。

今回、新規な合成法で開発された TSKgel SuperMultiporeHZ シリーズは、現行品の特長を受け継いだ上に単分散微粒子化充てん剤をセミマイクロカラムに充てんしているため、従来のカラムと同等の分離が半分の測定時間で達成され、溶媒消費量も 1/6 に低減されました。

また、オリゴマーや低分子試料に優れた分離能を有した新規グレードの低分子用細孔多分散型カラム TSKgel SuperMultiporeHZ-N もラインナップしました。

TSKgel SuperMultiporeHZ シリーズの基本的性質を表-1、2に、また表-3には特長をまとめました。

表-1 TSKgel SuperMultiporeHZ シリーズの物性一覧表

物 性	TSKgel SuperMultiporeHZ-N	TSKgel SuperMultiporeHZ-M
充てん剤基材	Poly (Styrene/divinylbenzene)	
粒子径	3 μm (単分散粒子)	4 μm (単分散粒子)
排除限界分子量 (PS/THF)	120,000	2,000,000
中心細孔径	8 nm	14 nm
分子量分画範囲 (PS/THF)	50,000 ~ 500	1,000,000 ~ 500
カラム理論段数	20,000 段/15 cm	16,000 段/15 cm
カラムサイズ (分析カラム)	4.6 mmID × 15 cm	
カラムサイズ (ガードカラム)	4.6 mmID × 2 cm	

表-2 細孔多分散型 SEC カラムの性能一覧表

商品名	理論段数 (TP/カラム) (保証値)	非対称係数	カラムサイズ (mmID × cm)	粒子径 (μm)	Conditions
					Eluent : THF Flow rate : 0.35 mL/min (4.6 mmID × 15 cm) 1.0 mL/min (7.8 mmID × 30 cm) Detection : UV 254 nm (UV-8020 microcell) Temperature: 25 °C Sample : DCHP (0.5 %) Inj. volume : 1 μL (4.6 mmID × 15 cm) 20 μL (7.8 mmID × 30 cm)
TSKgel SuperMultiporeHZ-N	20,000/15 cm	0.7 ~ 1.4	4.6 × 15	3.0	
TSKgel SuperMultiporeHZ-M	16,000/15 cm	0.7 ~ 1.4	4.6 × 15	4.0	
TSKgel MultiporeHXL-M	16,000/30 cm	0.7 ~ 1.4	7.8 × 30	6.0	

### 3. TSKgel SuperMultiporeHZ シリーズの基本的性質

#### 3-1. 細孔特性

TSKgel SuperMultiporeHZ シリーズでは、表-1 および表-2 に示すように低分子用と高分子用の2グレードを揃えています。

図-1 には、THF 溶離液における標準ポリスチレンの校正曲線を示しています。

低分子用グレードの TSKgel SuperMultiporeHZ-N の測定可能な分子量分画範囲は、50,000 ~ 500、高分子用グレー

ドの TSKgel SuperMultiporeHZ-M については、1,000,000 ~ 500 であり、両グレードの校正曲線とも測定可能な分子量分画範囲において優れた直線性を有しています。

図-2 では、TSKgel SuperMultiporeHZ-N とこれまでのオリゴマー測定用として一般的な細孔径の異なる複数カラム系 (TSKgel SuperHZ4000 + 3000 + 2500 + 2000) の校正曲線の比較をしました。

TSKgel SuperMultiporeHZ-N は、現行カラム系に比較して低分子領域の校正曲線の傾きが緩やかで分離に優れていることがわかります。

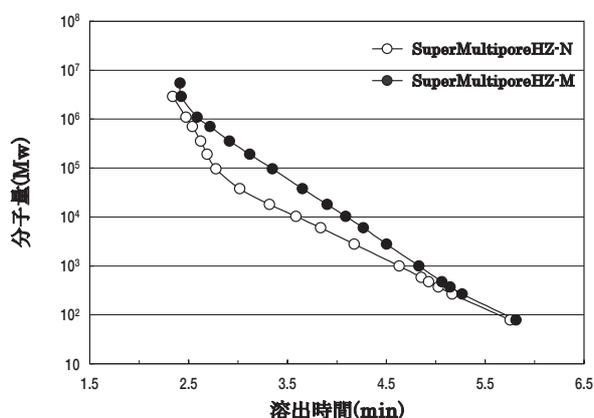


図-1 TSKgel SuperMultiporeHZ シリーズの校正曲線

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ シリーズ  
(4.6 mmID × 15 cm)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

温度：室温

注入量：5  $\mu$  L

試料：標準ポリスチレン

(TSKgel 標準ポリスチレン F-550 ~ A-500)、ベンゼン

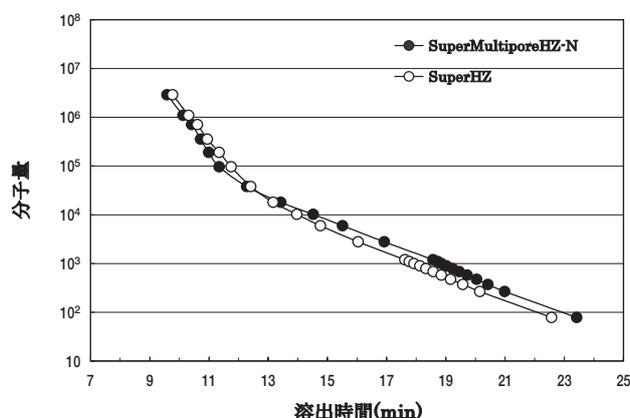


図-2 TSKgel SuperMultiporeHZ と TSKgel SuperHZ カラムの校正曲線

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-N × 4本  
TSKgel SuperHZ4000 + 3000 + 2500 + 2000  
(4.6 mmID × 15 cm × 4本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

温度：室温

注入量：5  $\mu$  L

試料：標準ポリスチレン

(TSKgel 標準ポリスチレン F-288 ~ A-500)、ベンゼン

表-3 TSKgel SuperMultiporeHZ シリーズの特長

特長	利点
1) 細孔多分散型充てん剤 (単一粒子内に幅広い細孔分布を有する)	・校正曲線の直線性に優れる。 ・測定試料のクロマトグラムに歪みが観察されない。 →分子量測定データの正確性、再現性の向上
2) 充てん剤 (単分散粒子) の微粒子化	・短時間・高分離能測定が可能 →従来カラム (30 cm) と同等の分離能を 1/2 の測定時間で達成可能 ・高流速測定においても分離能が低下しない ・カラム性能の安定性の向上
3) セミマイクロカラム	・溶媒消費量の低減 →従来カラム (30 cm) に比べ 1/6 の消費量
4) 低吸着性充てん剤の採用	・幅広い種類の試料に適用可能

### 3-2. 分離性能

低分子用グレードであるTSKgel SuperMultiporeHZ-Nは、粒子径 $3\mu\text{m}$ の充てん剤を用いており、低分子用TSKgel HXLシリーズに比べ単位長さ当り2倍の理論段数を有しています。図-3に両タイプで測定したオリゴマー（PTMEG 650）のクロマトグラムを示します。TSKgel SuperMultiporeHZ-NがHXLシリーズと同等の分離性能を半分の測定時間で達成していることがわかります。

図-4にPTMEG 650をそれぞれSuperHZシリーズ（TSKgel SuperHZ4000 + 3000 + 2500 + 2000およびTSKgel SuperHZM-N）とTSKgel SuperMultiporeHZ-Nを用いて測定したクロマトグラムを示します。現行SuperHZシリーズ（クロマトグラムBとC）に比べTSKgel SuperMultiporeHZ-N（クロマトグラムA）の分

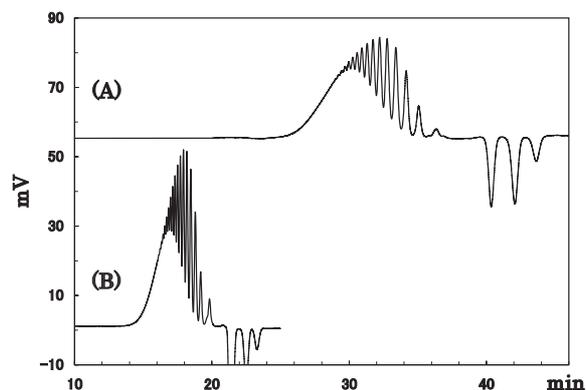


図-3 TSKgel SuperMultiporeHZ-NとHXLカラムによるPTMEGの分離

カラム：(A) TSKgel G4000 + 3000 + 2500 + 2000HXL  
(7.8 mmID × 30 cm × 4本)  
(B) TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 4本)

溶離液：THF

流速：(A) 1.0 mL/min  
(B) 0.35 mL/min

検出：RI

温度：40℃

注入量：(A) 50  $\mu\text{L}$   
(B) 10  $\mu\text{L}$

試料：ポリテトラメチレンエーテルグリコール (PTMEG 650)

離能が高いことがわかります。

高分子用グレードであるTSKgel SuperMultiporeHZ-Mは、粒子径 $4\mu\text{m}$ の充てん剤を用いており、TSKgel MultiporeHXL-Mに比べ、単位長さ当り2倍の理論段数を有しております。図-5に、両タイプで測定した各種標準ポリスチレンの溶出曲線の重ね書きを示します。TSKgel SuperMultiporeHZ-MがMultiporeHXL-Mと同等の分離を半分の測定時間で達成していることがわかります。

図-6に、標準ポリスチレンオリゴマー（TSKgel標準ポリスチレン A-500：Mw約500）をそれぞれTSKgel SuperMultiporeHZ-NとTSKgel SuperMultiporeHZ-Mで測定したクロマトグラムを示します。

較正曲線の傾きが緩やかで粒子径が小さなTSKgel SuperMultiporeHZ-Nの方が高分離能であることが明らかです。

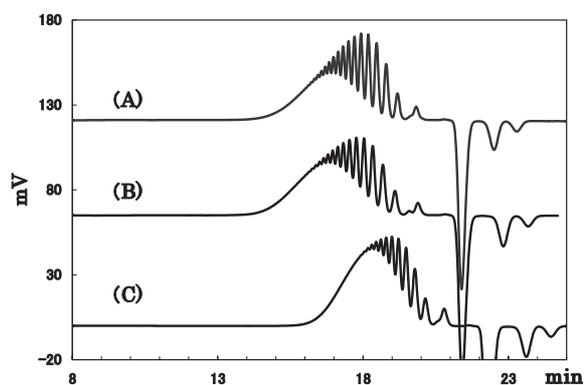


図-4 TSKgel SuperMultiporeHZ-NとSuperHZによるPTMEGの分離

カラム：(A) TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 4本)  
(B) TSKgel SuperHZ4000 + 3000 + 2500 + 2000  
(4.6 mmID × 15 cm × 4本)  
(C) TSKgel SuperHZM-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 4本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

検出：RI

温度：40℃

注入量：10  $\mu\text{L}$

試料：ポリテトラメチレンエーテルグリコール (PTMEG 650)

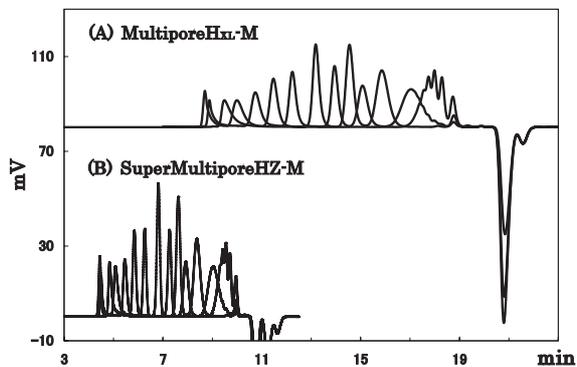


図-5 TSKgel SuperMultiporeHZ-MとMultiporeHXL-M  
の標準ポリスチレンの溶出曲線

カラム：(A) TSKgel MultiporeHXL-M  
(7.8 mmID × 30 cm × 2本)

(B) TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

溶離液：THF

流速：(A) 1.0 mL/min

(B) 0.35 mL/min

検出：RI

温度：40℃

注入量：(A) 50 μL

(B) 10 μL

試料：標準ポリスチレン

(TSKgel標準ポリスチレン F-288～A-500)

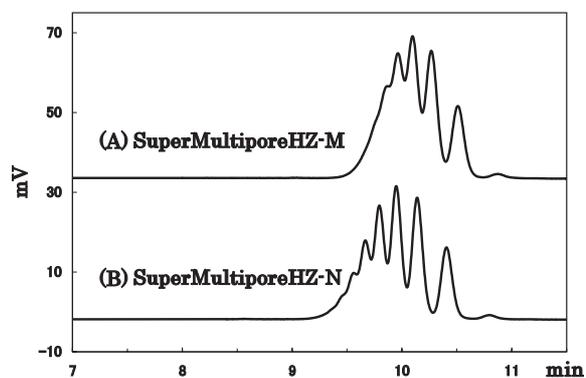


図-6 TSKgel SuperMultiporeHZ-NとSuperMultiporeHZ-M  
による標準ポリスチレンオリゴマーの分離

カラム：(A) TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

(B) TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

検出：UV 254 nm

温度：室温

注入量：5 μL

試料：標準ポリスチレンオリゴマー

(TSKgel標準ポリスチレン A-500)

### 3-3. 理論段高さ (HETP) の流速依存性

試料に低分子単分散試料 (フタル酸ジシクロヘキシル : DCHP) を用いて、TSKgel MultiporeHXL-M (粒子径 :  $6\ \mu\text{m}$ ) と TSKgel SuperMultiporeHZ-N および M (粒子径 :  $3\ \mu\text{m}$  および  $4\ \mu\text{m}$ ) における HETP の測定流速依存性を確認した結果を図-7 に示しました。

粒子径の大きい TSKgel MultiporeHXL-M における最適線流速 (最小 HETP) は、およそ  $0.035\ \text{cm/sec}$  ( $7.8\ \text{mmID}$  カラムで約  $1.0\ \text{mL/min}$ ) でありこれ以上高い線流速では HETP が徐々に大きくなりカラム効率が低下することが分かります。一方、微粒子化された TSKgel SuperMultiporeHZ シリーズでは、MultiporeHXL-M よりも高い領域 ( $0.035\sim 0.04\ \text{cm/sec}$  : 約  $0.35\sim 0.4\ \text{mL/min}$ ) に最適線流速があり、また高流速下条件でもカラム効率が

が低下し難く高流速での高速分析も可能であることを示しています。

図-8 に高分子試料 (TSKgel 標準ポリスチレン F-40 :  $M_w = 355,000$ 、F-2 :  $M_w = 18,100$ ) に対する TSKgel SuperMultiporeHZ-M の HETP と測定線流速の関係を示します。低分子試料 (C) では、 $0.035\sim 0.04\ \text{cm/sec}$  で HETP が最も小さく (カラム効率が最も高く) なるのに対し、高分子試料 (A、B) では線流速が低下するにしたがって HETP が徐々に小さくなり、カラム効率が高くなるのがわかります。この傾向は分子量が高くなるにしたがって強くなります。したがって、平均分子量が1万以下の試料においては高流速測定が充分可能ですが5万以上の高分子試料では低流速測定が望ましいと言えます。

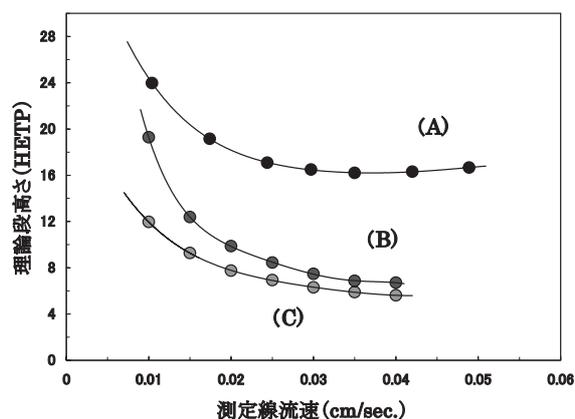


図-7 TSKgel SuperMultipore における線流速と HETP の関係

カラム : (A) TSKgel MultiporeHXL-M  
( $7.8\ \text{mmID} \times 30\ \text{cm}$ )  
(B) TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
( $4.6\ \text{mmID} \times 15\ \text{cm}$ )  
(C) TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
( $4.6\ \text{mmID} \times 15\ \text{cm}$ )

溶離液 : THF

流速 :  $0.10\sim 1.40\ \text{mL/min}$

検出 : UV 254 nm

温度 : 室温

注入量 : (A)  $20\ \mu\text{L}$

(B) & (C)  $1\ \mu\text{L}$

試料 : フタル酸ジシクロヘキシル (DCHP)

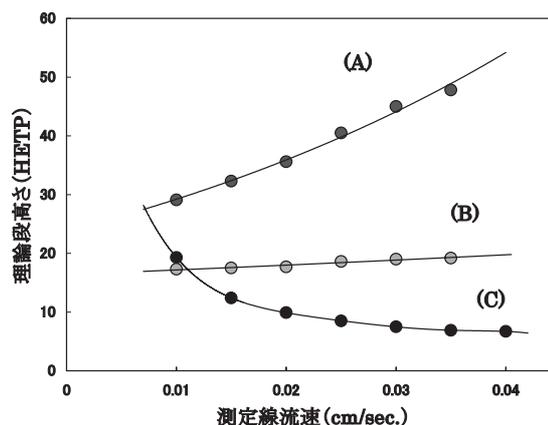


図-8 TSKgel SuperMultiporeHZ-M における線流速と HETP の関係

カラム : TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
( $4.6\ \text{mmID} \times 15\ \text{cm}$ )

溶離液 : THF

流速 :  $0.10\sim 0.40\ \text{mL/min}$

検出 : UV 254 nm

温度 : 室温

注入量 : (A) & (B)  $5\ \mu\text{L}$

(C)  $1\ \mu\text{L}$

試料 : (A) 標準ポリスチレン ( $M_w:355,000$ )

(B) 標準ポリスチレン ( $M_w:18,100$ )

(C) DCHP

### 3-4. 較正曲線の流速依存性

TSKgel SuperMultiporeHZシリーズについて、測定流速を変化させた時の較正曲線への影響を調べました(図-9、図-10)。

測定流速を0.1 mL/minから0.35 mL/minの範囲で変化させて得られた標準ポリスチレンの較正曲線データより、両グレードの細孔特性の測定流速依存性がほとんどないことが確認されました。

この結果から、測定した標準ポリスチレンの分子量範囲(TSKgel SuperMultiporeHZ-NはMw108万以下、TSKgel SuperMultiporeHZ-MはMw289万以下)において、測定流速が0.1~0.35 mL/minの範囲内で、オーバーロード効果や分子鎖切断現象などによる試料の流体力学的容積の変化が少なく適正クロマトグラムが得られることがわかります。

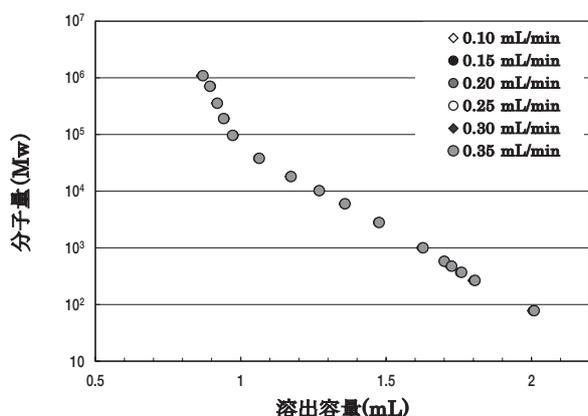


図-9 TSKgel SuperMultiporeHZ-Nの較正曲線の流速依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm)

溶離液：THF

流速：0.10~0.35 mL/min

温度：室温

注入量：5  $\mu$  L

試料：標準ポリスチレン

(TSKgel標準ポリスチレン F-128 ~ A-500)、ベンゼン

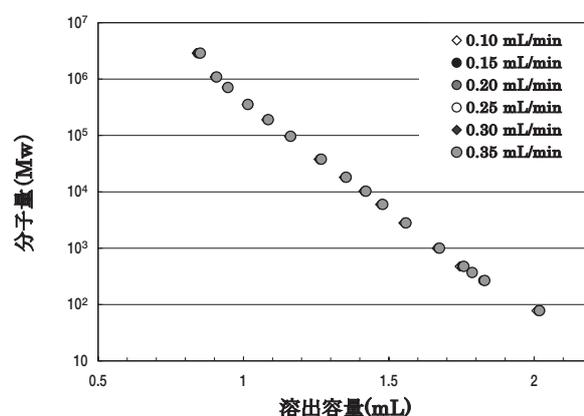


図-10 TSKgel SuperMultiporeHZ-Mの較正曲線の流速依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
(4.6 mmID × 15 cm)

溶離液：THF

流速：0.10~0.35 mL/min

温度：室温

注入量：5  $\mu$  L

試料：標準ポリスチレン

(TSKgel標準ポリスチレン F-288 ~ A-500)、ベンゼン

### 3-5. 試料注入量の影響

試料注入量は、分離性能や分子量分布データに大きく影響することは良く知られています。一般的には、カラムサイズが小さく充てん剤の粒子径が小さくなるほど最大試料注入量は小さくなります。

図-11に、TSKgel SuperMultiporeHZシリーズにおける低分子単分散試料（DCHP）のHETPの注入量依存性を示します。

微粒子が充てんされているTSKgel SuperMultipore-HZシリーズでは、一本当り最大試料注入量は、5  $\mu$ LでありTSKgel MultiporeHXL-Mは、50  $\mu$ Lであることがわかります。

図-12と13のTSKgel SuperMultiporeHZ-Nによる標準ポリスチレンオリゴマー（TSKgel標準ポリスチレンA-500）の分離性能の注入量依存性を観察した結果からも5  $\mu$ Lが最大試料注入量であることが示されています。

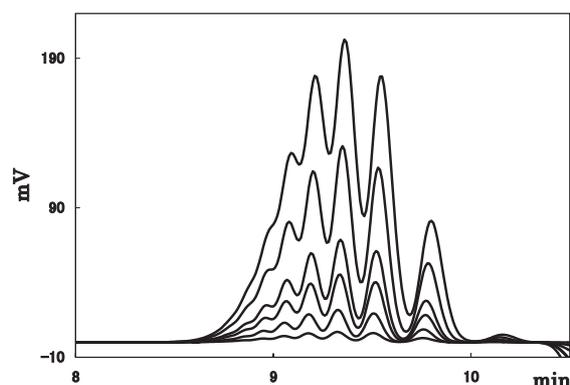


図-12 TSKgel SuperMultiporeHZ-Nによる標準ポリスチレンオリゴマーのクロマトグラムの注入量依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

検出：RI

温度：40℃

注入量：2, 5, 10, 15, 30, 50  $\mu$ L

試料：標準ポリスチレンオリゴマー  
(TSKgel標準ポリスチレンA-500)、3 g/L

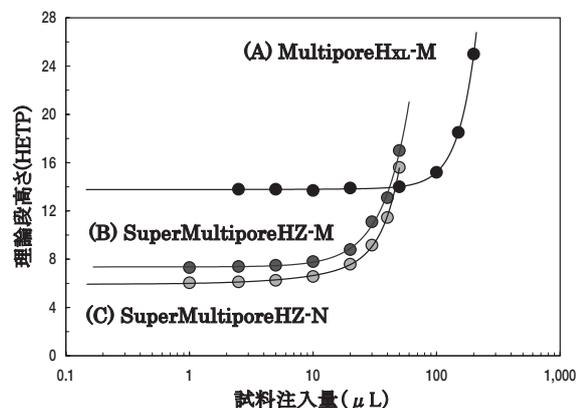


図-11 TSKgel SuperMultiporeHZシリーズ及びTSKgel MultiporeHXL-Mにおける試料注入量とHETPの関係

カラム：(A) TSKgel MultiporeHXL-M  
(7.8 mmID × 30 cm × 2本)

(B) TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

(C) TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

溶離液：THF

流速：(A) 1.0 mL/min

(B) & (C) 0.35 mL/min

検出：UV 254 nm

温度：室温

注入量：1～200  $\mu$ L

試料：フタル酸ジシクロヘキシル（DCHP）、5 g/L

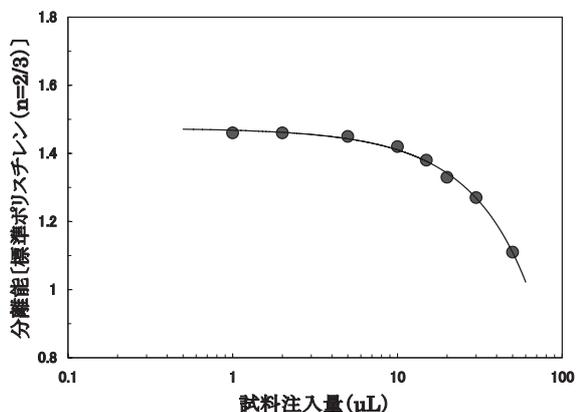


図-13 TSKgel SuperMultiporeHZ-Nによる標準ポリスチレンオリゴマー（2量体と3量体）の分離能の注入量依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

検出：RI

温度：40℃

注入量：1, 2, 5, 10, 15, 20, 30, 50  $\mu$ L

試料：TSKgel標準ポリスチレン（A-500）、3 g/L

### 3-6. 試料濃度の影響

試料注入量の違いや変動は確実に試料の溶出時間（溶出容量）に影響し、分子量データおよび分離性能の変動や低下につながります。さらに、最大試料注入量を超えた条件下ではこの影響が顕著に現れてきます。また、最大試料注入量を超えていなくとも測定条件（測定流速、温度、分子量および分布）、充てん剤特性あるいは充てんカラムにより、悪影響を及ぼすことは前述したとおりです。

試料濃度が高くなると、試料注入量やその他が最適化された一定条件であっても流体力学的容積が小さくなり溶出時間（溶出容量）が遅くなってきます。

この現象は濃度効果と呼ばれ、一般に充てん剤の粒子径が小さいほど、試料の分子量が高いほど強くなる傾向にあります。

図-16と図-17には、低分子用グレードのTSKgel SuperMultiporeHZ-Nによる低分子標準ポリスチレンの分離クロマトグラムと2量体（ $n=2$ ）と3量体（ $n=3$ ）の分離能の試料濃度依存性データを示します。この結果で

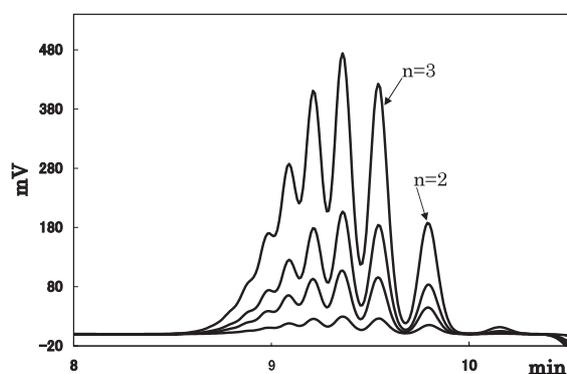


図-16 TSKgel SuperMultiporeHZ-Nによる標準ポリスチレンオリゴマーのクロマトグラムの濃度依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

検出：RI

温度：40℃

注入量：15  $\mu$  L

濃度：1.2, 5, 10, 20 g/L

試料：標準ポリスチレンオリゴマー

(TSKgel標準ポリスチレンA-500)

は、試料濃度が10 g/L以下であれば十分な分離性能が安定して得られることが示されています。

図-18、19にTSKgel SuperMultiporeHZ-Nを用いて濃度の異なるフェノール樹脂（ $M_w$ 約5,000）を測定したクロマトグラムと分子量を、図-20、21に同一条件で測定したエポキシ樹脂（ $M_w$ 約8,000）のクロマトグラムと分子量を示します。両試料とも比較的分子量が低いために、試料濃度20 g/Lまでの範囲であれば平均分子量に変化が認められないことがわかりました。

TSKgel SuperMultiporeHZ-Mによるエポキシ樹脂、ポリスチレン（SRM706）のクロマトグラムと分子量の試料濃度依存性データを図-22～25に示します。

平均分子量（ $M_w$ ）が約2万のエポキシ樹脂では、試料濃度依存性は小さく4g/L以下であれば測定に問題ありませんが、平均分子量（ $M_w$ ）が約26万のポリスチレンにおいては、試料濃度が2 g/Lより高くなると溶出位置の遅れと分子量値の低下が観られてきます。このように試料の分子量によっても適正な試料濃度が異なり、試料濃度の最適化は重要なポイントになります。

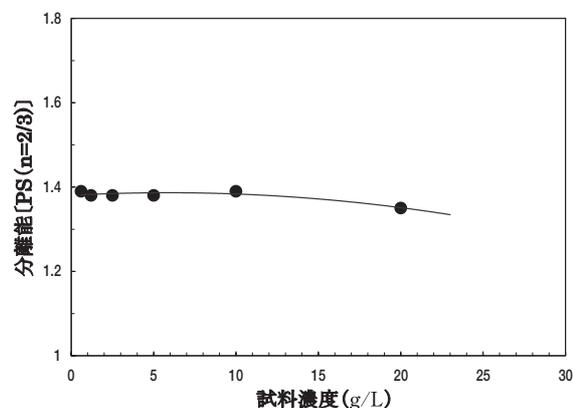


図-17 TSKgel SuperMultiporeHZ-Nによる標準ポリスチレンオリゴマーの分離能の濃度依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

検出：RI

温度：40℃

注入量：15  $\mu$  L

濃度：0.6, 1.2, 2.5, 5, 10, 20 g/L

試料：標準ポリスチレンオリゴマー

(TSKgel標準ポリスチレンA-500)

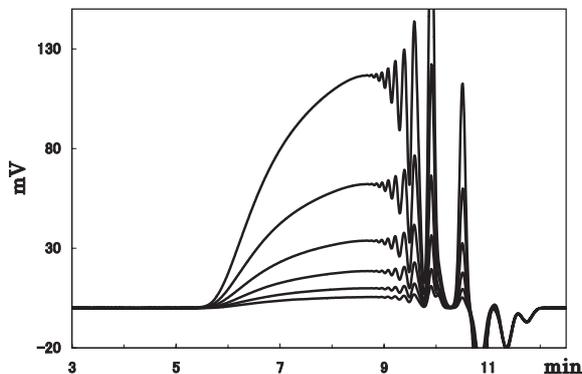


図-18 TSKgel SuperMultiporeHZ-Nによるフェノール樹脂のクロマトグラムの濃度依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)  
溶離液：THF  
流速：0.35 mL/min  
検出：RI  
温度：40℃  
注入量：15 μL  
濃度：0.6, 1.2, 2.5, 5, 10, 20 g/L  
試料：フェノール樹脂 (Mw：約5,000)

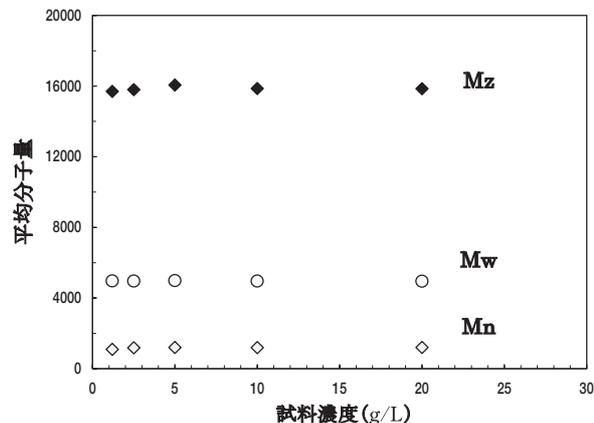


図-19 TSKgel SuperMultiporeHZ-Nによるフェノール樹脂の分子量の濃度依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)  
溶離液：THF  
流速：0.35 mL/min  
検出：RI  
温度：40℃  
注入量：15 μL  
濃度：1.2, 2.5, 5, 10, 20 g/L  
試料：フェノール樹脂 (Mw：約5,000)

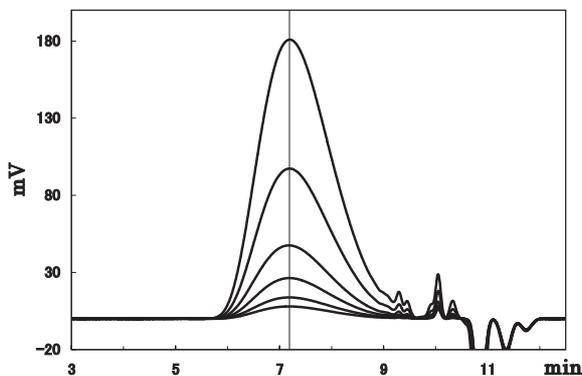


図-20 TSKgel SuperMultiporeHZ-Nによるエポキシ樹脂のクロマトグラムの濃度依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)  
溶離液：THF  
流速：0.35 mL/min  
検出：RI  
温度：40℃  
注入量：15 μL  
濃度：0.6, 1.2, 2.5, 5, 10, 20 g/L  
試料：エポキシ樹脂 (Mw：約8,000)

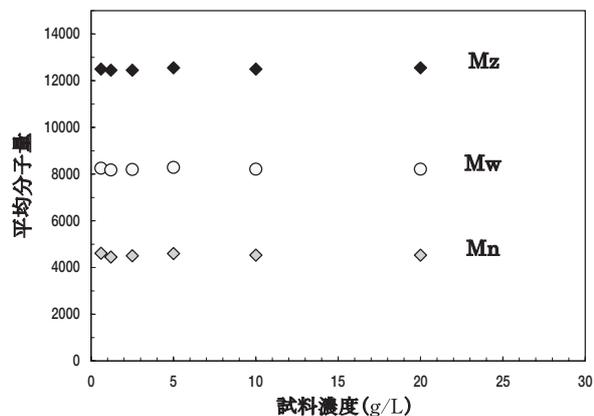


図-21 TSKgel SuperMultiporeHZ-Nによるエポキシ樹脂の分子量の濃度依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)  
溶離液：THF  
流速：0.35 mL/min  
検出：RI  
温度：40℃  
注入量：15 μL  
濃度：0.6, 1.2, 2.5, 5, 10, 20 g/L  
試料：エポキシ樹脂 (Mw：約8,000)

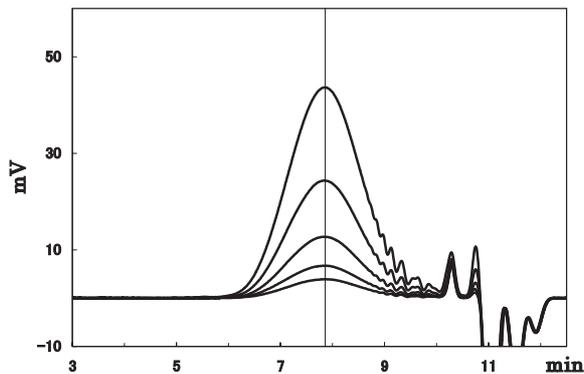


図-22 TSKgel SuperMultiporeHZ-Mによるエポキシ樹脂のクロマトグラムの濃度依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

検出：RI

温度：40℃

注入量：15 μL

濃度：0.5, 1, 1.5, 3, 5 g/L

試料：エポキシ樹脂 (Mw：約20,000)

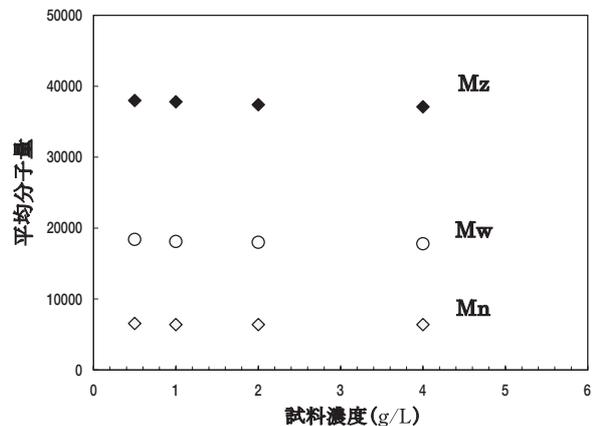


図-23 TSKgel SuperMultiporeHZ-Mによるエポキシ樹脂の分子量の濃度依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

検出：RI

温度：40℃

注入量：15 μL

濃度：0.5, 1, 2, 4 g/L

試料：エポキシ樹脂 (Mw：約20,000)

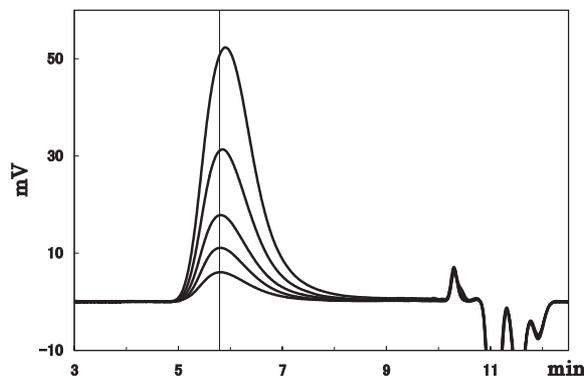


図-24 TSKgel SuperMultiporeHZ-Mによるポリスチレンのクロマトグラムの濃度依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

検出：RI

温度：40℃

注入量：15 μL

濃度：0.5, 1, 1.5, 3, 5 g/L

試料：標準ポリスチレン

(NIST SRM 706：Mw = 258,000)

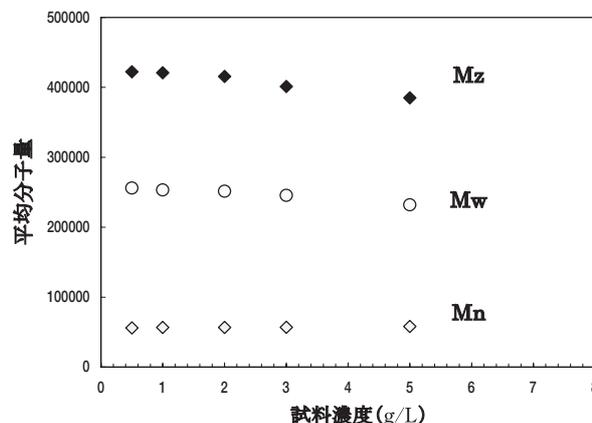


図-25 TSKgel SuperMultiporeHZ-Mによるポリスチレンの分子量の濃度依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

検出：RI

温度：40℃

注入量：15 μL

濃度：0.5, 1, 1.5, 3, 5 g/L

試料：標準ポリスチレン

(NIST SRM 706：Mw = 258,000)

### 3-7. 測定温度の影響

図-26と図-27にTSKgel SuperMultiporeHZシリーズの標準ポリスチレンの較正曲線の温度依存性データを示します。両グレードとも測定温度が高くなるほど各標準ポリスチレンの溶出が早くなります。

図-28にTSKgel SuperMultiporeHZ-Nにおける各種標準ポリスチレンの理論段数と測定温度の関係を示しました。温度が高くなると試料の広がり小さくなることから知られていますが、高分子試料ほどその傾向が強くなることがわかります。

温度を高めて測定することは、試料の溶出が早くなること、試料の広がりが小さくなること、試料の最適流速が高められることなどより高分離能・高速分析が期待されます。

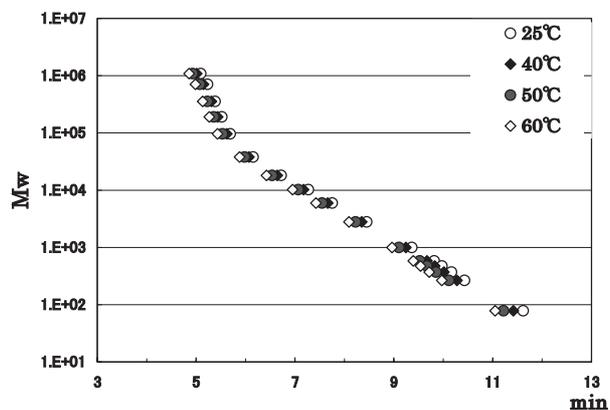


図-26 TSKgel SuperMultiporeHZ-Nの較正曲線の温度依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

温度：25, 40, 50, 60 °C

注入量：5 μL

試料：標準ポリスチレン

(TSKgel標準ポリスチレン F-128 ~ A-500)

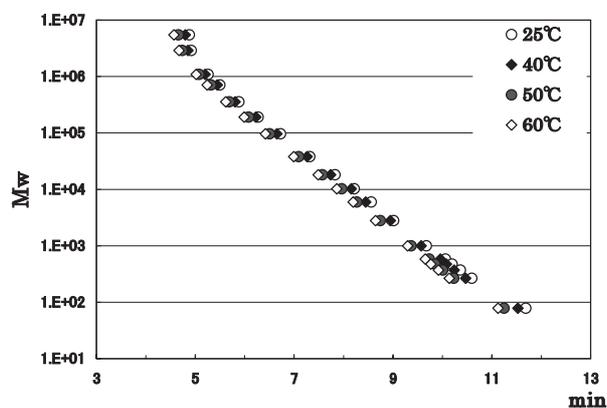


図-27 TSKgel SuperMultiporeHZ-Mの較正曲線の温度依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

温度：25, 40, 50, 60 °C

注入量：5 μL

試料：標準ポリスチレン

(TSKgel標準ポリスチレン F-550 ~ A-500)

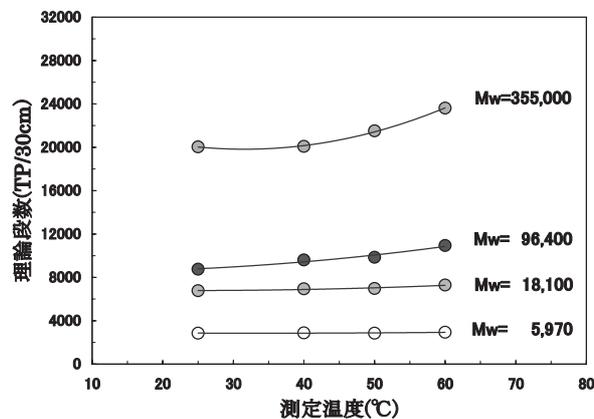


図-28 TSKgel SuperMultiporeHZ-Nにおける標準ポリスチレンの理論段数の温度依存性

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

温度：25, 40, 50, 60 °C

注入量：5 μL

試料：標準ポリスチレン

(TSKgel標準ポリスチレン F-40, F-10, F-2, A-5000)

### 3-8. クロマトグラムの歪み

一般にSECは細孔径の異なる異種グレードカラムを複数本接続し、或いは細孔径の異なるグレードを混合したミックスベッド型のカラムで測定されます。この場合試料によってはクロマトグラム上に歪みが観られることがあります。一方、細孔多分散型カラム（TSK-GEL SuperMultiporeHZシリーズ、TSKgel MultiporeHXL-M）を用いた場合は、その最大の特長である細孔特性（細孔構造）によりクロマトグラムに歪みが認められません。

図-29にTSKgel SuperMultiporeHZ-NとTSKgel SuperHZ（3000+2500+2000）によるフェノール樹脂のクロマトグラムを示します。TSKgel SuperHZシリーズでは、クロマトグラム上に歪みが観られますが、TSKgel SuperMultiporeHZ-Nではこの現象が観察されません。

図-30と31にTSKgel SuperMultiporeHZ-NとTSKgel SuperHZ（3000+2000）による各種フェノール樹脂のクロマトグラムを示します。SuperHZ（3000+2000）を用いた場合（図31）は、分子量の異なる各種試料のクロマトグラムの歪みが特定の溶出時間に観察されます。一方、TSKgel SuperMultiporeHZ-Nの場合ほどの試料もクロマトグラムに歪みが観察されません。

表4にシリコン樹脂をそれぞれTSKgel SuperMultiporeHZ-Nと市販カラム（4000と2000グレードの接続）の充てん剤のロット（市販カラムは2000グレード）が異なるカラムを用いて測定し得られた分子量、多分散度を示します。細孔多分散型カラムは、市販カラムに比

べ分子量の充てん剤ロット間差が小さいことがわかります。さらに図-32にTSKgel SuperMultiporeHZ-Nのクロマトグラムを示します。クロマトグラムに顕著な違いは見られずロット間差が小さいことがわかります。

図-34と35にTSKgel SuperMultiporeHZ-MとTSKgel G（4000+3000+2500+2000）HXLおよびTSKgel SuperHZ（4000+3000+2500+2000）によるフェノール樹脂のクロマトグラムを示します。従来品においては、クロマトグラムに歪みが観察されますが、TSKgel SuperMultiporeHZ-Mではこの現象が観察されません。

図-36に、試料にアクリル樹脂を用いて両グレードによる分離クロマトグラムを示します。フェノール樹脂同様に、アクリル樹脂においても従来品ではクロマトグラムに歪みが観察されますが、TSKgel SuperMultiporeHZ-Mではこの現象が観察されません。

図-37に、細孔径の異なる充てん剤の混合比率を最適化したミックスベッドカラムであるTSKgel SuperHZM-Mと細孔多分散型カラムTSKgel SuperMultiporeHZ-Mによるフェノール樹脂のクロマトグラムを示します。この様に、充てん剤の混合比率の最適化により細孔特性を改良したミックスベッドカラムにおいても、クロマトグラムに歪みが観察されます。

図-38に、TSKgel SuperHZM-Mと同タイプの他社ミックスベッドカラムとTSKgel SuperMultiporeHZ-Mによるフェノール樹脂のクロマトグラムを示します。

図-37と同様にミックスベッドカラムの場合はクロマトグラムに歪みが観察されました。

表-4 各種ロットのTSKgel SuperMultiporeHZ-NとSuperHZによるシリコン樹脂の平均分子量

Column (Gel Lot)	平均分子量			多分散度	
	Mw	Mn	Mz	Mz/Mw	Mw/Mn
TSKgel SuperMultiporeHZ-N (A)	3,410	1,340	7,750	2.27	2.54
TSKgel SuperMultiporeHZ-N (B)	3,400	1,340	7,740	2.28	2.54
TSKgel SuperMultiporeHZ-N (C)	3,430	1,350	7,850	2.29	2.54
Ave. (RSD)	3,410 (0.37%)	1,340 (0.35%)	7,780 (0.64%)	2.28 (0.36%)	2.54 (0.00%)
市販カラム(4000+2000グレード)(A)	3,430	1,330	7,640	2.23	2.58
市販カラム(4000+2000グレード)(B)	3,480	1,310	7,990	2.30	2.66
市販カラム(4000+2000グレード)(C)	3,370	1,270	7,850	2.33	2.65
市販カラム(4000+2000グレード)(D)	3,540	1,320	7,710	2.18	2.68
Ave. (RSD)	3,455 (1.81%)	1,310 (1.74%)	7,800 (1.72%)	2.26 (2.60%)	2.64 (1.43%)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

温度：40℃

検出：RI (HLC-8220GPC)

試料：シリコン樹脂 (3 g/L) 10 μL

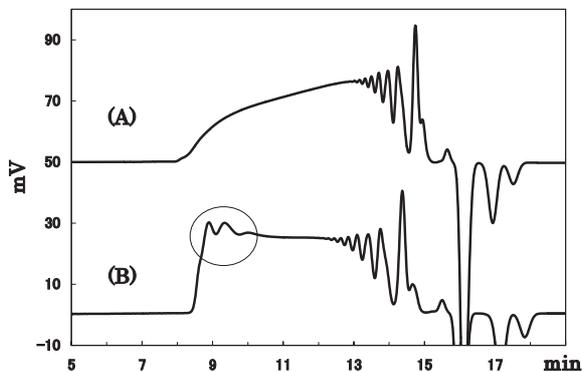


図-29 TSKgel SuperMultiporeHZ-NとSuperHZカラムによるフェノール樹脂の分離

カラム：(A) TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 3本)  
(B) TSKgel SuperHZ3000 + 2500 + 2000  
(4.6 mmID × 15 cm × 3本)

溶離液：THF  
流速：0.35 mL/min  
検出：RI  
温度：40℃  
注入量：10 μL  
試料：フェノール樹脂 (3 g/L)

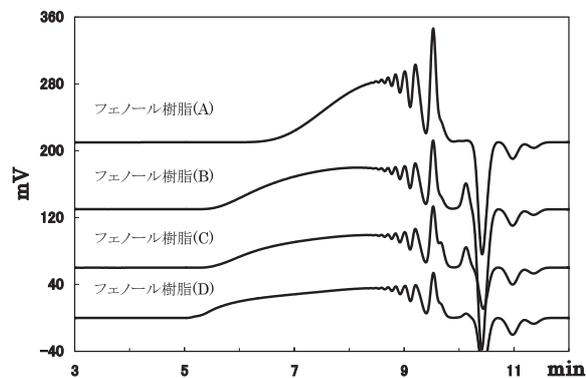


図-30 TSKgel SuperMultiporeHZ-Nによる各種フェノール樹脂の分離

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)  
溶離液：THF  
流速：0.35 mL/min  
検出：RI  
温度：40℃  
注入量：10 μL  
試料：フェノール樹脂 (3 g/L)

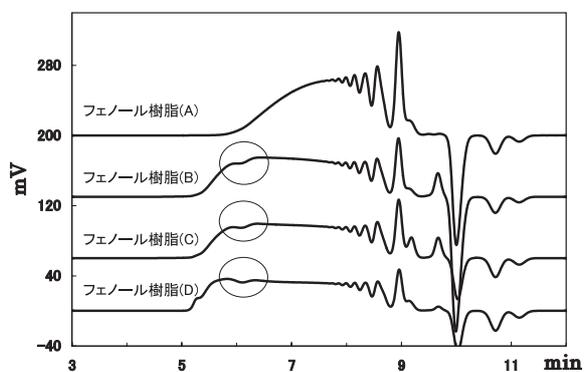


図-31 TSKgel SuperHZカラムによる各種フェノール樹脂の分離

カラム：TSKgel SuperHZ3000 + 2000  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)  
溶離液：THF  
流速：0.35 mL/min  
検出：RI  
温度：40℃  
注入量：10 μL  
試料：フェノール樹脂 (3 g/L)

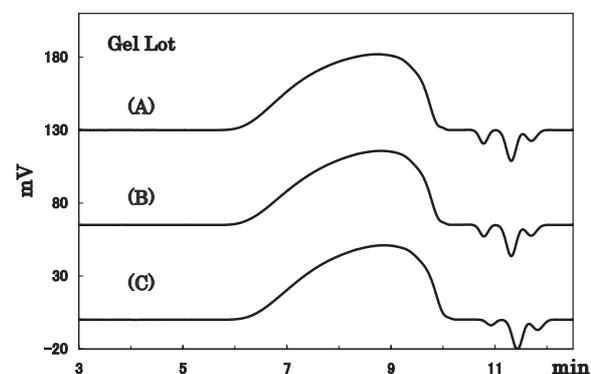


図-32 各種ロットTSKgel SuperMultiporeHZ-Nによるシリコン系樹脂の分離

カラム：TSKgel SuperMultiporeHZ-N  
(4.6 mmID × 15 cm × 2本)  
溶離液：THF  
流速：0.35 mL/min  
検出：RI  
温度：40℃  
注入量：10 μL  
試料：シリコン系樹脂

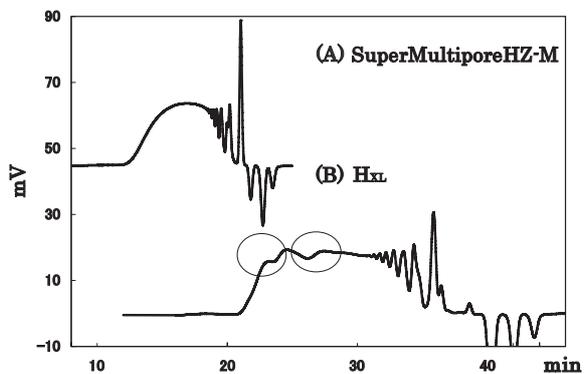


図-34 TSKgel SuperMultiporeHZ-M と H<sub>XL</sub> カラム  
シリーズによるフェノール樹脂の分離

カラム：(A) TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
(4.6 mmID × 15 cm × 4本)  
(B) TSKgel G4000 + 3000 + 2500 + 2000H<sub>XL</sub>  
(7.8 mmID × 30 cm × 4本)

溶離液：THF

流速：(A) 0.35 mL/min

(B) 1.0 mL/min

温度：40℃

検出：RI

試料：フェノール樹脂 (3 g/L)

注入量：(A) 10 μL

(B) 50 μL

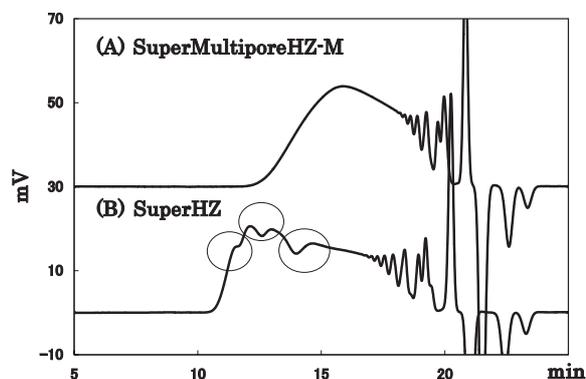


図-35 TSKgel SuperMultiporeHZ-M と SuperHZ カラム  
によるフェノール樹脂の分離

カラム：(A) TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
(4.6 mmID × 15 cm × 4本)  
(B) TSKgel SuperHZ4000 + 3000 + 2500 +  
2000 (4.6 mmID × 15 cm × 4本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

検出：RI

温度：40℃

注入量：10 μL

試料：フェノール樹脂 (3 g/L)

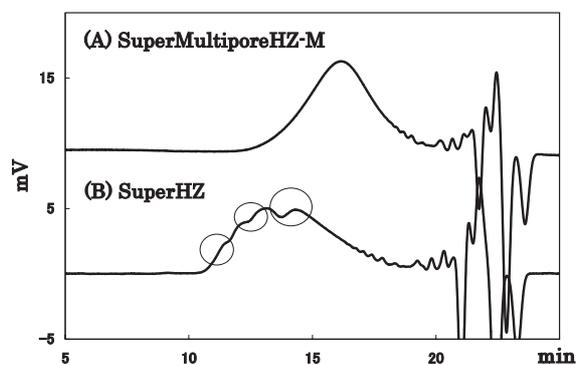


図-36 TSKgel SuperMultiporeHZ-M と SuperHZ カラム  
によるアクリル樹脂の分離

カラム：(A) TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
(4.6 mmID × 15 cm × 4本)  
(B) TSKgel SuperHZ4000 + 3000 + 2500 +  
2000 (4.6 mmID × 15 cm × 4本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

検出：RI

温度：40℃

注入量：10 μL

試料：アクリル樹脂 (3 g/L)

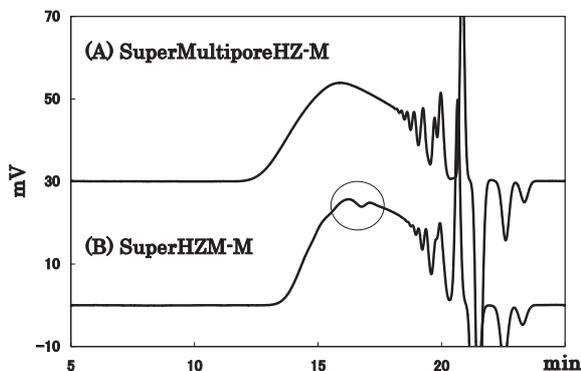


図-37 TSKgel SuperMultiporeHZ-M と SuperH2M-M  
によるフェノール樹脂の分離

カラム：(A) TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
(4.6 mmID × 15 cm × 4本)  
(B) TSKgel SuperH2M-M  
(4.6 mmID × 15 cm × 4本)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

検出：RI

温度：40℃

注入量：10 μL

試料：フェノール樹脂 (3 g/L)

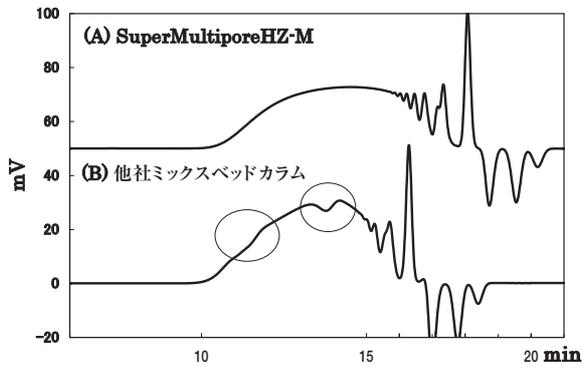


図-38 TSKgel SuperMultiporeHZ-Mと他社ミックス  
タイプカラムによるフェノール樹脂の分離

カラム：(A) TSKgel SuperMultiporeHZ-M  
(4.6 mmID × 25 cm)  
(B) 他社ミックスベッドカラム  
(4.6 mmID × 25 cm)

溶離液：THF

流速：0.35 mL/min

検出：RI

温度：40℃

注入量：10 μL

試料：フェノール樹脂 (3 g/L)

#### 4. おわりに

TSKgel SuperMultiporeHZシリーズは、細孔多分散型充てん剤を充てんした有機溶媒系高性能SECセミマイクロカラムであり、従来のミックスベッドカラムなどに比較して、理想的なクロマトグラムが得られ、その結果として測定再現性が高く正確な分子量分布データが得られることがお分かり頂けたと思います。

また、本充てん剤は、新規な合成法により微粒子化と単分散粒子化を達成し、これまでの分離能を維持した上で高速分析を実現しました。

さらに、本充てんカラムは、省溶媒に対応したカラムサイズを採用しており、SEC測定においては送液再現性に優れた高速SECシステム専用機であるHLC-8220GPCとの組合せでの測定を推奨致します。

#### (参考文献)

- 1) M.Nagata, T.Kato, H.Furutani, J.Liq.Chrom & Rel.Technol., 21 (10) 1471-1484 (1998)
- 2) 東ソー研究報告 第41巻 (1997)  
細孔多分散型GPC用充てんカラム  
TSKgel MultiporeHシリーズの開発



TOSOH

---

## 東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部

東京本社 営業部 ☎(03)5427-5180 〒105-8623 東京都港区芝 3-8-2  
大阪支店 バイオサイエンス ☎(06)6344-3857 〒530-0004 大阪市北区堂島浜 1-2-6  
名古屋支店 バイオサイエンス ☎(052)211-5730 〒460-0003 名古屋市中区錦 1-17-13  
福岡支店 ☎(092)781-0481 〒810-0001 福岡市中央区天神 1-13-2  
仙台支店 ☎(022)266-2341 〒980-0014 仙台市青葉区本町 1-11-1  
山口営業所 ☎(0834)63-9888 〒746-8501 山口県周南市開成町 4560  
バイオサイエンス事業部ホームページ <http://www.tosoh.co.jp/science/>  
東ソー HLC データベース [http://www.tosoh.co.jp/hplc/hlcdb\\_inx.htm](http://www.tosoh.co.jp/hplc/hlcdb_inx.htm)  
お問い合わせ E-mail [tskgei@tosoh.co.jp](mailto:tskgei@tosoh.co.jp)

5607SB- 品番 994002 A

環境・資源保護のため100%再生紙を使用しています。