

GPCにおける溶質—充填剤間相互作用

加 藤 芳 男
 佐 藤 孝
 佐々木 博 朗
 相 浦 惇
 橋 本 勉

Solute-Substrate Interaction in Gel Permeation Chromatography

Yoshio KATO
 Takashi SATO
 Hiroo SASAKI
 Makoto AIURA
 Tsutomu HASHIMOTO

The elution behavior of samples in gel permeation chromatography has been investigated for several sample/column packing/solvent combinations. When the polarities of sample and column packing are similar, but those of sample and solvent are different, the elution of low molecular weight samples often tends to be retarded.

1. ま え が き

理想的な GPC においては、溶液中での溶質分子のサイズだけにより分離が行なわれるが、溶質分子—充填剤間の相互作用により試料の溶出が早くなったり遅れたりすることがしばしば観察されている。この溶質分子—充填剤間の相互作用をうまく利用すると、GPC の機構単独の場合よりも高分解能が得られる場合もあるが¹⁾、一般には、溶質分子—充填剤間の相互作用は分離機構を複雑にし、分離能を低下させたり、測定時間を長くしたり、あるいは測定結果の解析を困難にしたりするために好ましくない。溶質分子—充填剤間の相互作用に関する研究は既にいろいろと行なわれており、それらの結果によれば、極性物質の測定あるいは極性溶媒を使用した測定において現われやすいように思われる。しかし、この溶質分子—充填剤間の相互作用の機構や、相互作用を除く方法を知るには、より多くのデータの集積が必要である。

ここでは、極性溶媒で使用可能な高速 GPC 用カラム

TSK-GEL PW タイプ (水酸基を有する親水性ポリマーゲル)、TSK-GEL SW タイプ (水酸基を有する化合物により表面処理をした多孔性シリカ) と、有機溶媒系 GPC で広く使用されている架橋ポリスチレンゲル TSK-GEL H タイプを使って、各種極性溶媒により、極性の異なる試料、オリゴ糖、オリゴエチレングリコール、オリゴエチレングリコールジメチルエーテル、オリゴスチレン、*n*-炭化水素を測定し、どのような充填剤—溶媒—試料の系の場合に溶質分子—充填剤間の相互作用が現われやすいかを調べた結果を報告する。

2. 実 験

GPC 測定は東洋ソーダの高速液体クロマトグラフ、HLC-802 UR により、25°C で、1 ml/min の流速で行なった。使用したカラムは東洋ソーダの G3000H、G 3000 PW、G2000 SW 各一本である。これらのカラムのポアサイズはほぼ等しく、排除限界分子量は数万である。各カラムは長さ 60 cm、内径 7.5 mm で、それぞれ、

12~15, 12~15, 8~12 μ の直径の充填剤が充填されており, 低分子量化合物で測定した理論段数は 8,000 段以上であった。

溶媒として, 蒸留水, メタノール, ジメチルスルホキシド (DMSO), ジメチルホルムアミド (DMF), テトラヒドロフラン (THF) およびクロロホルムを用いた。

測定した試料は, 和光純薬より購入したオリゴエチレングリコール (分子量7,500以下), オリゴエチレングリコールジメチルエーテル, オリゴ糖 (ラフィノース, マルトース, デキストロース) n-炭化水素および東洋ソーダのポリエチレングリコール (分子量10,000以上), オリゴステレンである。各試料は0.1~0.5%の溶液にして 0.2 ml 注入した。

測定は上記のカラム, 溶媒, 試料の組み合わせのうち可能なものについて行なった。

3. 結果と考察

Fig. 1~6 に各溶媒で得られた分子量と溶出量の関係 (検量線) を示す。

溶質分子-充填剤間の相互作用の有無は, 高分子の場合, 同一条件で異なる種類の試料を測定し, $[\eta]M$ を溶出量に対してプロットすることにより判断できるが, オリゴマーの場合には正確な判断は困難である。ここでは,

同一条件で得られた異なる種類の試料に対する検量線を比較することにより判断した。この方法では, 相互作用が小さい場合には判断が困難であるが, ある程度大きい場合には確認可能である。

Fig. 1~6 には, 他の試料と比較して溶出の遅れているものがいくつかある。これらをまとめて Table 1 に示すが, 大部分の場合, 低分子量試料ほど溶出の遅れが大きくなっている。これは, Dawkins らの提案している networklimited adsorption の効果 (低分子量試料ほど接触する充填剤の表面積が大きくなるために相互作用が大きくなる)^{2)~5)}や, 試料の分子量が大きくなりランダムコイル鎖になると相互作用に大きく寄与する末端基が充填剤表面と接触する機会が少なくなる効果などによるものと思われる。n-炭化水素-Hタイプ-DMF の系では分子量が大きい試料ほど溶出の遅れが大きくなったが, これは, n-炭化水素の DMF への溶解性が分子量が大きくなると急激に小さくなるための solubility-determined partitioning 効果⁶⁾によるものと予想される。

Table 1 より, 試料と溶媒の極性が異なり, 試料と充填剤の極性が近い場合に低分子量の試料の溶出が遅れやすいと推定される。ただし, 高分子量試料が溶解しないほど試料と溶媒の極性が異なる場合は高分子量の試料ほど溶出が遅れる。

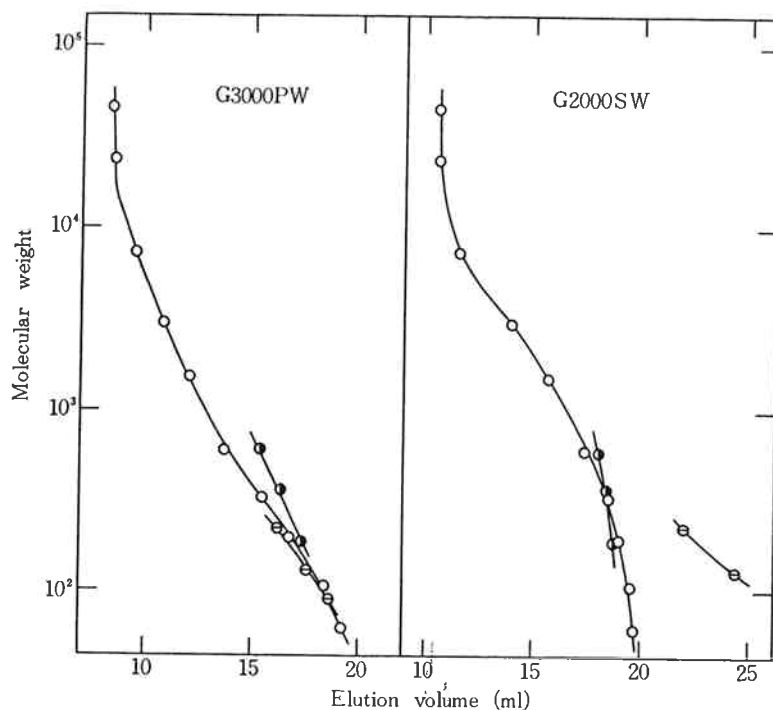


Fig. 1 Calibration curves for (○) oligoethylene glycol, (⊙) oligoethylene glycol dimethyl ether and (●) oligosaccharide measured with distilled water on G3000PW and G2000SW

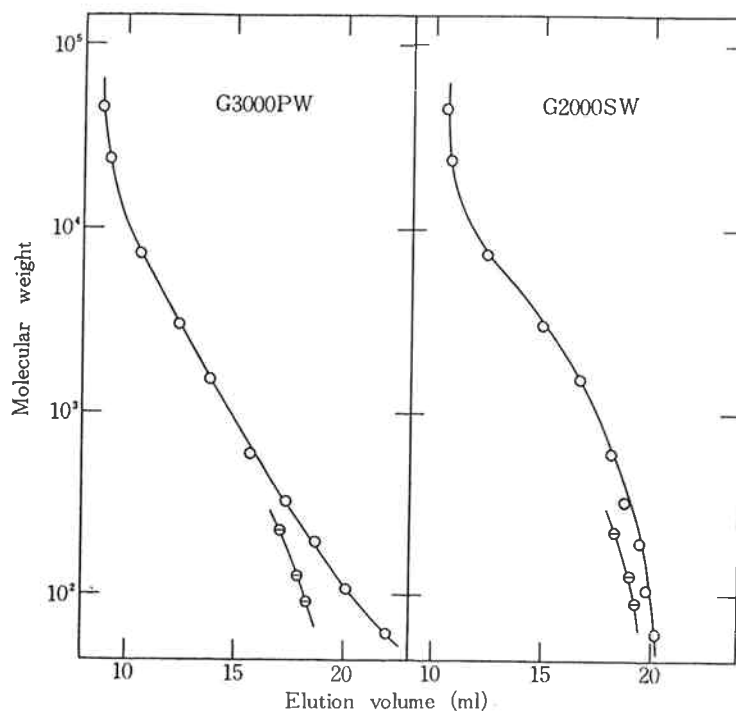


Fig. 2 Calibration curves for (○) oligoethylene glycol and (⊙) oligoethylene glycol dimethyl ether measured with methanol on G3000PW and G2000SW

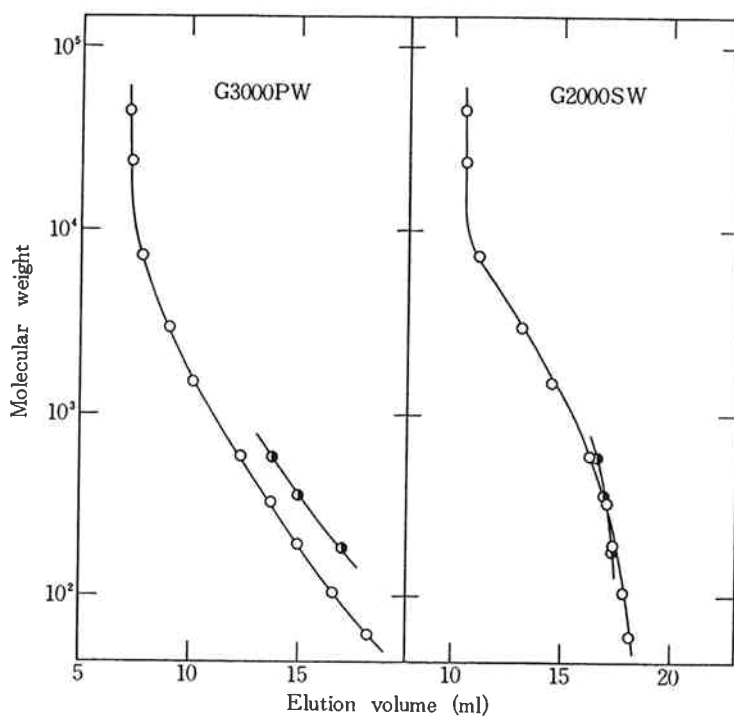


Fig. 3 Calibration curves for (○) oligoethylene glycol and (⊙) oligosaccharide measured with dimethyl sulfoxide on G3000PW and G2000SW

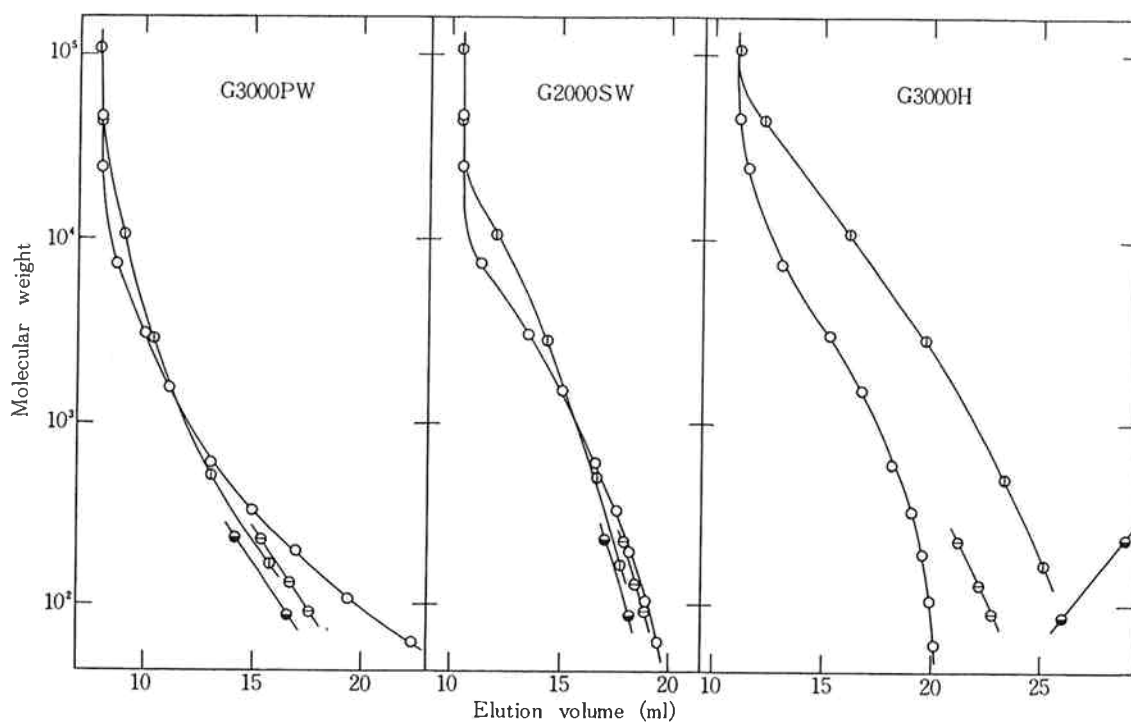


Fig. 4 Calibration curves for (○) oligoethylene glycol, (⊖) oligoethylene glycol dimethyl ether, (⊕) oligostyrene and (●) n-hydrocarbon measured with dimethylformamide on G3000H, G3000PW and G2000SW

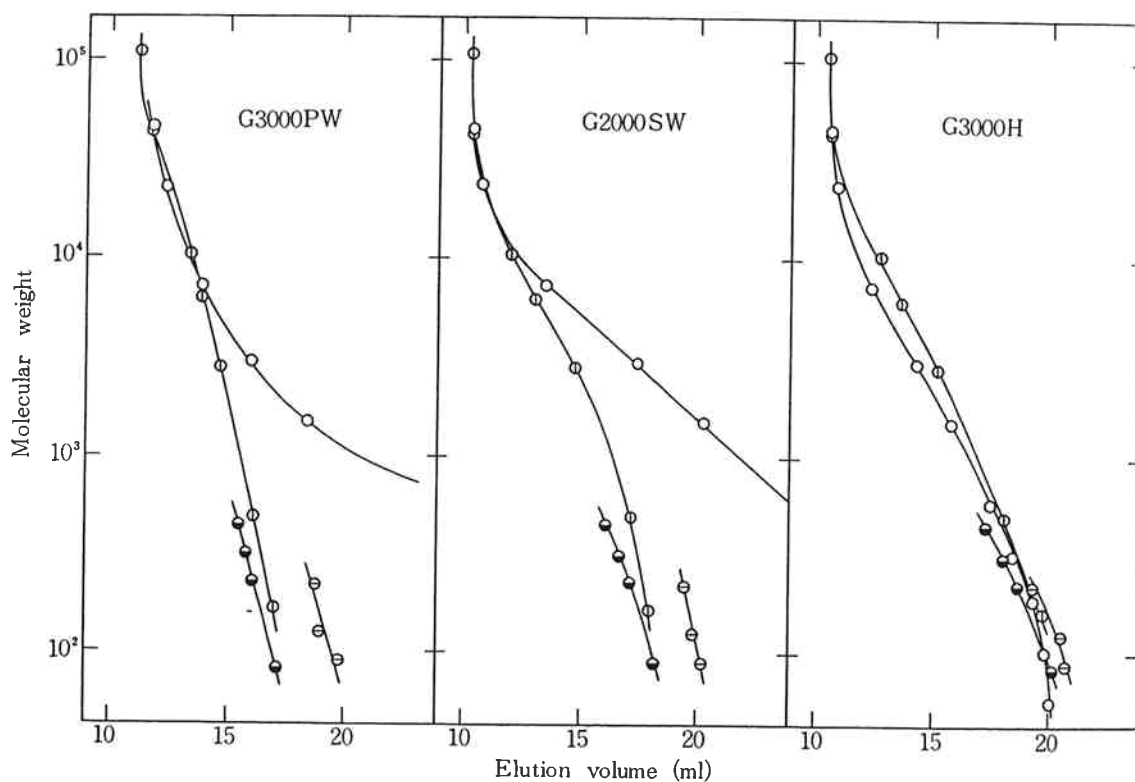


Fig. 5 Calibration curves for (○) oligoethylene glycol, (⊖) oligoethylene glycol dimethyl ether, (⊕) oligostyrene and (●) n-hydrocarbon measured with tetrahydrofuran on G3000H, G3000PW and G2000SW

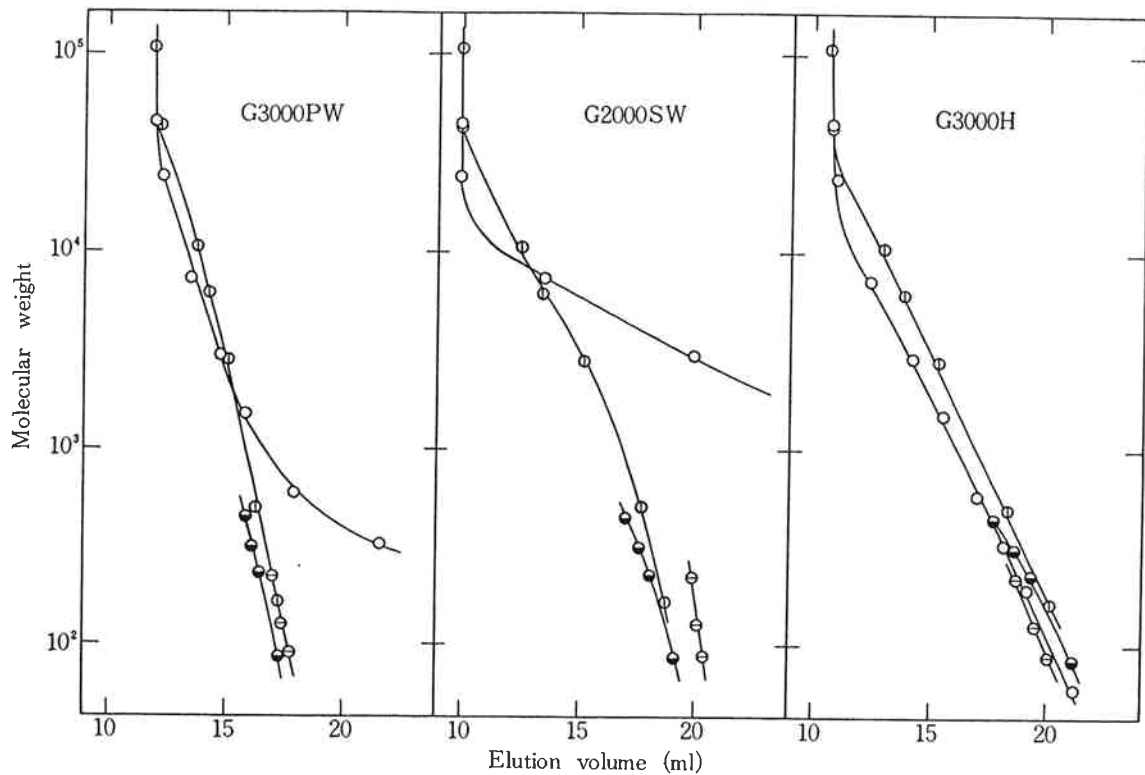


Fig. 6 Calibration curves for (○) oligoethylene glycol, (⊙) oligoethylene glycol dimethyl ether, (⊖) oligostyrene and (⊕) n-hydrocarbon measured with chloroform on G3000H, G3000PW and G2000SW

Table 1 a) Sample-column-solvent combinations in which interactions become stronger with decreasing molecular weight

Sample	Column	Solvent
Oligoethylene glycol	G 3000 P W	DMF
"	H 2000 S W	"
"	G 3000 P W	THF
"	H 2000 S W	"
"	G 3000 P W	Chloroform
"	H 2000 S W	"
Oligoethylene glycol dimethy ether	"	Water
Oligostyrene	G 3000 H	DMF

b) Sample-column-solvent combination in which interactions become stronger with increasing molecular weight

Sample	Column	Solvent
n-Hydrocarbon	G 3000 H	DMF

文 献

- 1) S. Mori and A. Yamakawa; *Anal. Chem.*, **51**, 382 (1979).
- 2) J. V. Dawkins and M. Hemming; *Makromol. Chem.*, **176**, 1777 (1975).
- 3) J. V. Dawkins and M. Hemming; *ibid.*, **176**, 1795 (1975).
- 4) J. V. Dawkins and M. Hemming; *ibid.*, **176**, 1817 (1975).
- 5) J. V. Dawkins; *J. Polymer Sci. Polymer Phys. Ed.*, **14**, 569 (1976).
- 6) W. Brown and Ö. Andersson; *J. Chromatogr.*, **57**, 255 (1971).