

Краткое руководство по выбору колонок и стандартов для **гель-проникающей хроматографии**

РУКОВОДСТВО ПО ВЫБОРУ



Введение

Гель-проникающая хроматография (ГПХ) — это методика оценки молекулярно-массового распределения природных и синтетических полимеров — показателя, определяющего многие физические параметры материалов, такие как прочность, твердость и химическая стойкость. ГПХ — это методика жидкостной хроматографии, при которой полимер в растворе разделяется на отдельные цепочки в зависимости от их размеров, а не от химических свойств.

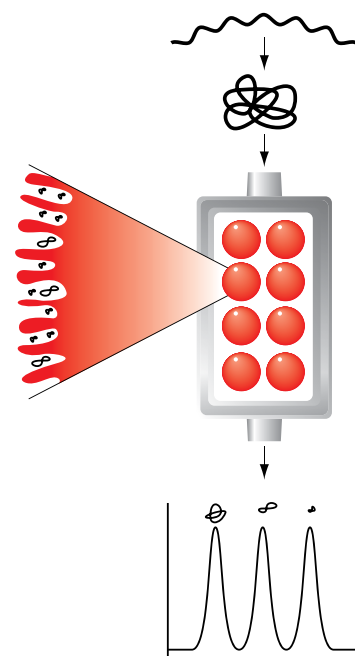
Под ГПХ подразумевается анализ полимеров в органических растворителях, таких как тетрагидрофуран, а также анализ полимеров в воде и растворах на водной основе, например буферных растворах. ГПХ — это единственный признанный способ получить полное понимание молекулярно-массового распределения полимера.

Как работать с руководством

Существует множество колонок для анализа полимеров методом ГПХ. Цель данного руководства — помочь подобрать комплект колонок и условия для анализа полимеров самых распространенных типов. Ответы на ряд вопросов помогут сузить обширный перечень до разумных пределов. Некоторые методики сложно классифицировать, а нужная информация может отсутствовать, поэтому следует проконсультироваться у местного эксперта по ГПХ.

Механизмы ГПХ

- Полимер растворяется в растворе с образованием сферических молекулярных клубков с размерами, определяемыми молекулярной массой.
- Молекулярные клубки полимера вводятся в растворитель, протекающий через колонку.
- Колонка наполнена нерастворимыми пористыми гранулами с четкой структурой пор.
- Размер пор соответствует размерам клубков.
- Молекулярные клубки полимера проникают в поры наполнителя и выходят из них.
- Результат — элюирование в зависимости от размера; крупные клубки элюируют в первую очередь, а клубки меньшего размера — в последнюю.
- По градуировочной кривой, полученной с помощью стандартов полимера, разделение по размеру преобразуется в разделение по молекулярной массе.



Легенда

- Клубки меньшего размера могут проникать во многие поры.
- Клубки большего размера могут проникать в часть пор.
- Очень большие клубки проникают лишь в несколько пор.

Рисунок 1. Механизмы ГПХ

Предприятие Polymer Laboratories было основано в 1976 году. Оно занимается поставками высококачественных колонок, стандартов, приборов и программного обеспечения для ГПХ. За более чем 30 лет компания разработала много передовой продукции, включая колонки PLgel, PL aquagel-OH, PlusPore, PLgel Olexis, PolarGel и стандарты EasiVial. Продукция компании Polymer Laboratories производится по собственной современной технологии и за свое качество и характеристики заслужила самую высокую репутацию, подкрепляемую технической и прикладной поддержкой мирового уровня.

С приобретением Polymer Laboratories компания Agilent начала предлагать еще более широкий ассортимент технологических решений для исследований синтетических и биомолекулярных полимеров всеми методами ГПХ — от традиционной ГПХ до комплексных исследований с применением нескольких колонок и разных детекторов.

Рекомендации по наладке системы ГПХ

Вопросы ниже помогут найти рекомендуемые колонки и стандарты для любой методики, а также подобрать параметры системы, такие как объемы вводимых проб.

Выбор растворителя для ГПХ

Вопрос	Ответ	Рекомендации	Примечания
1. В чем растворима проба? <i>Многие полимеры растворимы лишь в небольшом числе растворителей. Это ключевой вопрос при выборе методов анализа полимеров. Все указанные в настоящем документе растворители — распространенные растворители, применяемые в ГПХ.</i>	Вода или водный буферный раствор, содержащий до 50% метанола. Типовой органический растворитель, такой как ТГФ, хлороформ, толуол Смеси органических веществ и воды или полярные органические соединения, такие как диметилформамид, N-метилпирролидон	Agilent PL aquagel-OH Agilent PLgel или Agilent PlusPore Agilent PolarGel	Самый лучший выбор для методик, в которых в виде растворителя используются водные растворы, но не подходит для органических веществ, кроме метанола в концентрации до 50%. PLgel — рабочие лошади лабораторий, колонки PlusPore можно использовать в качестве альтернативы. Колонки PolarGel меньше, чем колонки PLgel или PL aquagel-OH, но подходят для смесей органических веществ и воды.

Выбор колонки для ГПХ

Лучше всего сначала выбирать колонки, выделенные жирным шрифтом.

Вопрос	Ответ	Рекомендации	Примечания
2. Какова предполагаемая молекулярная масса? <i>Этот вопрос может показаться странным, но в ГПХ степень разрешения колонки связана с диапазоном разделения. Имея определенную информацию о предполагаемой молекулярной массе, легче выбрать самую подходящую колонку, которая даст оптимальные результаты.</i>	Высокая (до нескольких миллионов) Средняя (до сотен тысяч)	<i>Растворители на водной основе</i> PL aquagel-OH MIXED-H 8 мкм или комбинация PL aquagel-OH 40 и 60 15 мкм <i>Органические растворители</i> PLgel 10 мкм MIXED-B или PLgel 20 мкм MIXED-A <i>Смешанные растворители</i> PolarGel	Комбинация колонок на 15 мкм будет самой подходящей только при очень большой вязкости пробы, в противном случае колонки на 8 мкм дадут большее разрешение. Колонка PLgel MIXED-A обеспечивает лучшее разделение, чем PLgel MIXED-B, но менее эффективна в связи с большим размером частиц. Для данного диапазона молекулярной массы нет подходящих колонок PolarGel. Следует проконсультироваться с местным экспертом по ГПХ
		<i>Растворители на водной основе</i> PL aquagel-OH MIXED-M 8 мкм <i>Органические растворители</i> PLgel 5 мкм MIXED-C или PLgel 5 мкм MIXED-D, PolyPore или ResiPore <i>Смешанные растворители</i> PolarGel-M	Колонки с большим диапазоном, подходящие для большинства растворимых в воде полимеров. Колонки PLgel применяются чаще всего для большинства методик; колонки PolyPore и ResiPore являются альтернативой. Подходят для большинства методик.
	Низкая (до десятков тысяч)	<i>Растворители на водной основе</i> Комбинация PL aquagel-OH 40 и PL aquagel-OH 30 8 мкм <i>Органические растворители</i> PLgel 3 мкм MIXED-E или MesoPore <i>Смешанные растворители</i> PolarGel-L	Находясь в сочетании, эти две колонки охватывают диапазон низких молекулярных масс. Колонка PLgel обеспечивает высокое разрешение и предназначена для анализа полимеров с низкой молекулярной массой; колонка MesoPore является альтернативой. Для анализа соединений с низкой молекулярной массой.
	Очень низкая (несколько тысяч)	<i>Растворители на водной основе</i> PL aquagel-OH 20 5 мкм <i>Органические растворители</i> OligoPore или PLgel 3 мкм 100Å <i>Смешанные растворители</i> PLgel	Эта высокоэффективная колонка обеспечивает высокое разрешение при анализе соединений с низкой молекулярной массой. Колонка OligoPore менее склонна к диспергированию, чем колонка PLgel, но обе дают хорошие результаты. Колонок PolarGel для данного диапазона нет, поэтому в качестве альтернативы рекомендуется использовать колонки PLgel.
	Неизвестно	<i>Растворители на водной основе</i> PL aquagel-OH MIXED-M 8 мкм <i>Органические растворители</i> PLgel 5 мкм MIXED-C или PolyPore <i>Смешанные растворители</i> PolarGel-M	Охватывает диапазоны молекулярной массы проб большинства полимеров. Данная колонка PLgel наиболее широко используется для большинства методик. Подходит для большинства методик.

Наладка системы ГПХ

Вопрос	Ответ	Рекомендации	Примечания
3. Сколько колонок использовать? <i>Чем больше размер частиц наполнителя колонки (который зависит от прогнозируемой молекулярной массы пробы), тем меньше разрешение и тем больше колонок потребуется для получения надежных результатов. Для проб с большой молекулярной массой необходимы более крупные частицы, чтобы снизить риск механического разрушения компонентов анализируемых проб при проведении анализа.</i>	Зависит от размеров частиц наполнителя колонки	Размер частиц 20 мкм — использовать 4 колонки Размер частиц 13 мкм — использовать 3 колонки Размер частиц 10 мкм — использовать 3 колонки Размер частиц 8 мкм — использовать 2 колонки Размер частиц 5 мкм — использовать 2 колонки Размер частиц 3 мкм — использовать 2 колонки	Чтобы компенсировать низкую эффективность, в случае крупных частиц необходимо больше колонок.

Вопрос	Ответ	Рекомендации	Примечания
4. Каков объем вводимой пробы? <i>Объем пробы, который требуется вводить, зависит от размера частиц наполнителя колонки — для частиц меньшего размера нужны меньшие объемы, чтобы максимально сократить мертвый объем. При большем объеме имеется возможность вводить пробы полимеров с высокой молекулярной массой в более низкой концентрации, уменьшая вязкость пробы, что надежно обеспечивает получение хроматограммы.</i>	Зависит от размеров частиц наполнителя колонки	Размер частиц 20 мкм — вводить 200 мкл Размер частиц 13 мкм — вводить 200 мкл Размер частиц 10 мкм — вводить 200 мкл Размер частиц 5 мкм — вводить от 100 до 200 мкл Размер частиц 3 мкм — вводить 20 мкл	Для частиц меньшего размера требуются петли меньшего размера, чтобы максимально сократить размывание хроматографических пиков.

Какие стандарты следует использовать?

Лучше всего сначала выбирать стандарты, выделенные жирным шрифтом.

Вопрос	Ответ	Рекомендации	Примечания
5. Что используется в качестве растворителя? <i>Стандарты — это полимеры, поэтому выбор стандарта главным образом отражает растворимость в выбранных растворителях.</i>	Вода или водный буферный раствор, содержащий до 50% метанола. Типовой органический растворитель, такой как ТГФ, хлороформ, толуол Смеси органических веществ и воды или полярные органические соединения, такие как диметилформамид, N-метилпирролидон	Полиэтиленгликоль (PEG) и оксид (PEO) или полисахариды (SAC) Полистирол (PS) или полиметилметакрилат (PMMA) Полиэтиленгликоль и оксид или полиметилметакрилат	Эти стандарты хорошо работают во всех системах на водной основе и поставляются в удобном формате Agilent EasiVial. Полистирол — это самый распространенный стандарт, поставляемый в удобном формате EasiVial. Хорошо работают полярные стандарты.
6. Какой формат стандартов рекомендован? <i>В зависимости от предпочтений пользователь может выбрать разные форматы.</i>	Для самого быстрого и простого подхода, когда точная концентрация не требуется Если требуются точные концентрации	Самый удобный вариант — EasiVial или Agilent EasiCal Требуются точные концентрации — EasiVial или индивидуальные стандарты	Легкий в использовании формат EasiVial предпочтительнее формата EasiCal, так как выбор типов полимеров гораздо шире. Оба формата дают точные концентрации проб, но EasiVial проще применять.

Типовые молекулярные массы полимеров

В случае сомнений по поводу молекулярной массы анализируемой пробы можно воспользоваться таблицей ниже, в которой указан порядок молекулярной массы распространенных полимеров и которая поможет выбрать правильную колонку для соответствующей методики.

Тип полимера	Типовая молекулярная масса полимера	Типовая полидисперсность ¹ полимера
Полимеры, полученные методом свободнорадикальной полимеризации	Высокая (до нескольких миллионов)	~ 2
	Средняя (до сотен тысяч)	
Полимеры, полученные методом ионной полимеризации	Средняя (до сотен тысяч)	~ 1,01
	Низкая (до десятков тысяч)	
Полимеры, полученные методом аддитивной полимеризации	Средняя (до сотен тысяч)	~ 2
	Низкая (до десятков тысяч)	
Полимеры, полученные методом контролируемой радикальной полимеризации	Низкая (до десятков тысяч)	~ от 1,1 до 1,5
	Очень низкая (несколько тысяч)	
Полиолефины	Средняя (до сотен тысяч)	~ от 2 до 200
	Высокая (до нескольких миллионов)	
Акрилаты	Средняя (до сотен тысяч)	~ 2
	Высокая (до нескольких миллионов)	
Низкомолекулярные добавки	Очень низкая (несколько тысяч)	1
Форполимеры	Низкая (до десятков тысяч)	~ от 2 до 10
	Очень низкая (несколько тысяч)	
Смолы	Низкая (до десятков тысяч)	~ от 2 до 10
	Очень низкая (несколько тысяч)	
Природные биополимеры, такие как полисахариды	Средняя (до сотен тысяч)	~ от 2 до 10
	Высокая (до нескольких миллионов)	
Каучуки	Средняя (до сотен тысяч)	~ от 2 до 10
	Высокая (до нескольких миллионов)	
Биоразлагаемые полимеры	Средняя (до сотен тысяч)	~ от 1,1 до 2
	Низкая (до десятков тысяч)	

¹ Полидисперсность — это мера распределения макромолекул различной молекулярной массы в полимере.





Таблица 1. Данные для заказа колонок для органических растворителей

Колонки ГПХ для органических растворителей		
Наименование	Диапазон ММ (г/моль)	Каталожный номер
PLgel 20 мкм MIXED-A, 300 x 7,5 мм	от 2000 до 40 000 000	PL1110-6200
PLgel 20 мкм MIXED-A LS, 300 x 7,5 мм	от 2000 до 40 000 000	PL1110-6200LS*
PLgel 10 мкм MIXED-B, 300 x 7,5 мм	от 500 до 10 000 000	PL1110-6100
PLgel 10 мкм MIXED-B LS, 300 x 7,5 мм	от 500 до 10 000 000	PL1110-6100LS*
PLgel 5 мкм MIXED-C, 300 x 7,5 мм	от 200 до 2 000 000	PL1110-6500
PLgel 5 мкм MIXED-D, 300 x 7,5 мм	от 200 до 400 000	PL1110-6504
PLgel 3 мкм MIXED-E, 300 x 7,5 мм	до 30 000	PL1110-6300
PLgel 3 мкм 100Å, 300 x 7,5 мм	до 4000	PL1110-6320
PolyPore, 300 x 7,5 мм	от 200 до 2 000 000	PL1113-6500
ResiPore, 300 x 7,5 мм	от 200 до 400 000	PL1113-6300
MesoPore, 300 x 7,5 мм	до 25 000	PL1113-6325
OligoPore, 300 x 7,5 мм	до 4500	PL1113-6520

* Со сниженным уровнем "шумов", для методик, в которых применяются детекторы по светорассеянию.

Таблица 2. Данные для заказа колонок для смешанных растворителей

Колонки ГПХ для смешанных растворителей		
Наименование	Диапазон ММ (г/моль)	Каталожный номер
PolarGel-M, 300 x 7,5 мм	до 700 000	PL1117-6800
PolarGel-L, 300 x 7,5 мм	до 30 000	PL1117-6830
PLgel — см. Таблицу 1		



Таблица 3. Данные для заказа колонок для растворителей на водной основе

Колонки ГПХ для растворителей на водной основе		
Наименование	Диапазон ММ (г/моль)	Каталожный номер
PL aquagel-OH 15 мкм 60, 300 x 7,5 мм	от 200 000 до 10 000 000	PL1149-6260
PL aquagel-OH 15 мкм 40, 300 x 7,5 мм	от 10 000 до 200 000	PL1149-6240
PL aquagel-OH 8 мкм MIXED-H, 300 x 7,5 мм	от 100 до 10 000 000	PL1149-6800
PL aquagel-OH 8 мкм MIXED-M, 300 x 7,5 мм	от 100 до 400 000	PL1149-6801
PL aquagel-OH 8 мкм 60, 300 x 7,5 мм	от 200 000 до 10 000 000	PL1149-6860
PL aquagel-OH 8 мкм 50, 300 x 7,5 мм	от 50 000 до 1 000 000	PL1149-6850
PL aquagel-OH 8 мкм 40, 300 x 7,5 мм	от 10 000 до 200 000	PL1149-6840
PL aquagel-OH 8 мкм 30, 300 x 7,5 мм	от 100 до 30 000	PL1120-6830
PL aquagel-OH 5 мкм 20, 300 x 7,5 мм	от 100 до 10 000	PL1120-6520

Полный перечень колонок для ГПХ в Интернете: www.agilent.com/chem/gpcsec.

Таблица 4. Данные для заказа калибровочных стандартов

Калибровочные стандарты		
Наименование	Диапазон ММ (г/моль)	Каталожный номер
Agilent EasiVial PEG/PEO 2 мл, комплект для калибровки с навеской	от 106 до 1 200 000	PL2080-0201
Agilent EasiVial PEG 2 мл, комплект для калибровки с навеской	от 106 до 35 000	PL2070-0201
Agilent PEG-10, комплект для калибровки с полиэтиленгликолем	от 106 до 22 000	PL2070-0100
Agilent PEO-10, комплект для калибровки с полиэтиленгликолем	от 20 000 до 1 000 000	PL2080-0101
Agilent SAC-10, комплект для калибровки с полисахаридом пуллулан	от 180 до 850 000	PL2090-0100
Agilent PAA-10, комплект для калибровки с натриевой солью полиакриловой кислоты	от 1000 до 1 000 000	PL2140-0100
Agilent PS-H EasiVial 2 мл, комплект для калибровки с навеской полистирола	от 162 до 6 000 000	PL2010-0201
Agilent PS-M EasiVial 2 мл, комплект для калибровки с навеской полистирола	от 162 до 400 000	PL2010-0301
Agilent PS-L EasiVial 2 мл, комплект для калибровки с навеской полистирола	от 162 до 40 000	PL2010-0401
Agilent EasiCal PS-1, комплект с подготовленной пробой полистирола	от 580 до 7 500 000	PL2010-0501
Agilent EasiCal PS-2, комплект с подготовленной пробой полистирола	от 580 до 400 000	PL2010-0601
Agilent S H-10, комплект для калибровки с полистиролом	от 300 000 до 15 000 000	PL2010-0103
Agilent S-H2-10, комплект для калибровки с полистиролом	от 1000 до 15 000 000	PL2010-0104
Agilent S-M-10, комплект для калибровки с полистиролом	от 580 до 3 000 000	PL2010-0100
Agilent S-M2-10, комплект для калибровки с полистиролом	от 580 до 300 000	PL2010-0102
Agilent S-L-10, комплект для калибровки с полистиролом	от 162 до 20 000	PL2010-0101
Agilent S-L2-10, комплект для калибровки с полистиролом	от 162 до 4500	PL2010-0105
Agilent M-M-10, комплект для калибровки с полиметилметакрилатом	от 1000 до 1 500 000	PL2020-0101
Agilent M-L-10, комплект для калибровки с полиметилметакрилатом	от 600 до 50 000	PL2020-0100

Все указанные выше типы полимеров также в наличии с номинальной молекулярной массой.

Полный перечень калибровочных стандартов в Интернете: www.agilent.com/chem/gpcsec.





Аналитическая система для ГПХ Agilent 1260 Infinity

Аналитические системы Agilent для ГПХ

Легко и точно провести исследование полимеров можно с помощью аналитической системы Agilent 1260 Infinity для ГПХ. Система подачи растворителя в изократическом режиме обеспечивает постоянство и отсутствие пульсаций потока, что крайне важно для обеспечения высокого разрешения колонки для ГПХ. Высокая точность подачи растворителя и стабильность температуры дают уверенность в том, что молекулярная масса будет определена максимально точно.

Комплексная система для ГПХ Agilent PL-GPC 50 — это автономный прибор, оснащенный всеми необходимыми компонентами для анализа самых разных полимеров. Имея насос, кран инжектора, термостат для колонок, дополнительный дегазатор, а также рефрактометр, детектор по светорассеянию и вискозиметрический детектор в любых сочетаниях, система PL-GPC 50 является идеальным вариантом как для начинающих в ГПХ, так и для тех, кто хочет иметь одну удобную систему.



Комплексная система Agilent PL-GPC 50 для ГПХ

Колонки Agilent BioHPLC

Компания Agilent также предлагает полный ассортимент колонок Bio SEC для аналитического разделения белков, пептидов и олигонуклеотидов. Чтобы обеспечить воспроизводимое, надежное разделение по размерам, в колонках Bio SEC используется наполнитель с частицами кремния, имеющими оригинальное гидрофильное покрытие. Разные размеры пор гарантируют высокую эффективность разделения как небольших пептидов и олигонуклеотидов, так и крупных белковых молекул и агрегатов. Подробности на сайте www.agilent.com/chem/BioHPLC.



Дополнительные сведения:

Полный перечень колонок для ГПХ в Интернете: www.agilent.com/chem/gpcsec

Подробная информация о колонках Agilent BioHPLC: www.agilent.com/chem/BioHPLC

В других странах обратитесь в местное представительство Agilent, к авторизованному дистрибьютору Agilent или зайдите на сайт www.agilent.com/chem/contactus.

Информация может быть изменена без предварительного уведомления.

© Agilent Technologies, Inc., 2010 г.
Отпечатано в США, 15 декабря 2010 г.
5990-6868RU



Agilent Technologies