

一体型HPLCによる カルボキシメチルセルロースの分析

岩田 奈津紀

ユーザーベネフィット

- ◆ 溶離液に硝酸ナトリウムや硫酸ナトリウムを用いたカルボキシメチルセルロースの分子量分布測定が可能です。
- ◆ 腐食の影響が少ない溶離液を使用することで、安定した分析が可能です。
- ◆ 一体型HPLCでゲルろ過クロマトグラフィー（GFC）と他の分析との併用が可能です。

■はじめに

カルボキシメチルセルロース（CMC）は、医薬品の崩壊剤や食品添加物、化粧品などに使用されています。CMCは増粘性、吸水性、保水性の特徴を有するアニオン性の水溶性高分子です。水溶性高分子の物性評価や製品の品質管理における分子量分布計算の際には、ゲルろ過クロマトグラフィー（GFC）を用います。一般に、アニオン性試料では分子内でのイオン反発による分子鎖拡大や充てん剤との間でのイオン反発により溶出が早まる可能性があります。GFCの溶離液条件によっては、イオン反発による静電的な相互作用によりCMCの溶出開始点が早くなり、正確な分子量分布の測定ができません。

本稿では、一体型HPLCを用いたCMCの分析例をご紹介します。また、溶離液の比較についてもご紹介します。

■溶離液の比較

溶離液に塩を添加すると、イオン反発の抑制効果が高まります。一方で、高濃度の塩化ナトリウムのようなハロゲン化物の塩を溶離液に使用すると、ステンレス製の配管や部品等を使用した装置が腐食を受けるなどの影響があります。この場合、分析終了後に流路洗浄を要する、あるいは、メタルフリーの装置を別途用意することになります。

本稿では、溶離液として装置の腐食の影響が少ない硝酸ナトリウムと硫酸ナトリウムを比較しました。分析カラムは、対応する分子量範囲の異なる2本のカラムを直列につないで使用しました。サンプルは市販のカルボキシメチルセルロースナトリウム（重量平均分子量：～90,000）を用いました。図1にCMCの標準溶液（0.1%、各溶離液で調製）のクロマトグラムの比較を、表1に分析条件を示します。硝酸ナトリウムを使用することで、より大きなピーク高さを示しました。

表1 分析条件

System	: LC-2050C
Column	: Shodex OHpak SB-803 HQ+SB-805 HQ (300 mm×8.0 mm I.D. each)
Flow rate	: 1.0 mL/min
Mobile phase (1)	: 100 mmol/L sodium nitrate
Mobile phase (2)	: 100 mmol/L sodium sulfate
Column temp.	: 40 °C
Sample	: 0.1% CMC solution
Injection volume	: 50 µL
Vial	: SHIMADZU LabTotal™ for LC 1.5 mL, Glass
Detection	: Refractive index (RID-20A) Cell temp. 40 °C

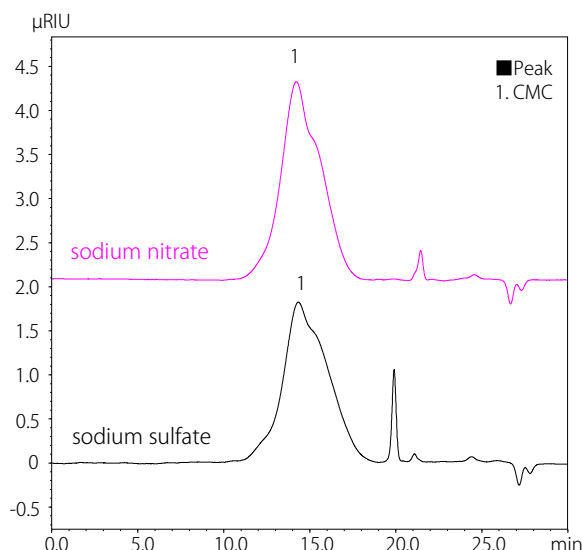


図1 溶離液の比較

■校正曲線

プルランの標準マーカーとマルトオリゴ糖を用いて、342～1,600,000の分子量範囲で校正曲線を作成しました。図2に校正曲線を示します。

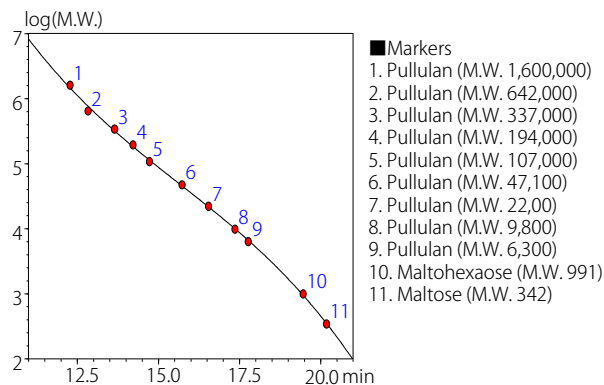


図2 校正曲線

■カルボキシメチルセルロースの分析

図3にCMC標準溶液（0.1%、溶離液で調製）のクロマトグラムを、表2に分析条件を示します。

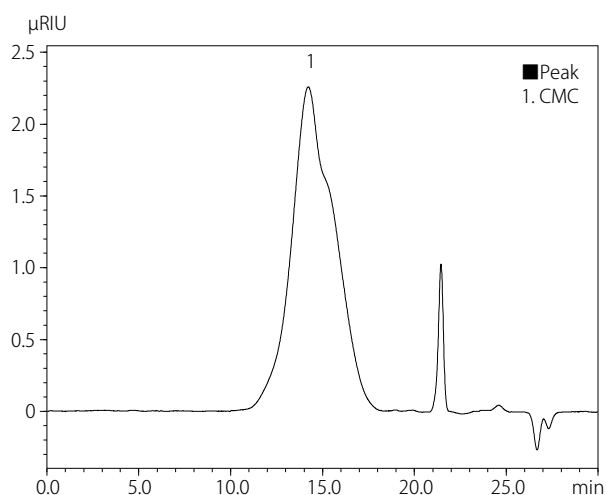


図3 CMC標準溶液（0.1%）のクロマトグラム

表2 分析条件

System	: LC-2050C
Column	: Shodex OHpak SB-803 HQ+SB-805 HQ (300 mm×8.0 mm I.D. each)
Flow rate	: 1.0 mL/min
Mobile phase	: 100 mmol/L sodium nitrate
Column temp.	: 40 °C
Sample	: 0.1% CMC solution
Injection volume	: 50 μL
Vial	: SHIMADZU LabTotal for LC 1.5 mL, Glass
Detection	: Refractive index (RID-20A) Cell temp. 40 °C

■分子量分布と再現性

CMCを6回繰り返し分析しました。表3に数平均分子量（Mn）、重量平均分子量（Mw）、分子量分布（多分散度：Mw/Mn）の平均値と再現性（n=6）を示します。本稿で使用したサンプルは、分子量分布が大きく高分子側で外挿しましたが、Mn、Mw、Mw/Mnともに、再現性は0.7%以下と良好な結果が得られました。なお、これらの計算結果はプルラン換算分子量となります。

また、当社のワークステーションLabSolutions™ GPCオプションソフトウェアでは、繰り返し分析の統計計算結果を一目で確認することが可能です（図4）。

表3 GPC計算結果（n=6）

	Mn	Mw	Mw/Mn
CMC	78,000	263,000	3.37
%RSD	0.51	0.62	0.64

■まとめ

示差屈折率検出器を接続した一体型HPLCを用いて、CMCの分子量分布測定が可能です。溶離液に硝酸ナトリウムなどのステンレスを腐食の影響が少ない塩を使用することで、安定した分析が可能です。配管や部品等の変更は不要であるため、一体型HPLC一台で他の分析との併用も可能です。

No.	データファイル名	サンプル名	数平均分子量(Mn)	重量平均分子量(Mw)	多分散度(Mw/Mn)
1	210528_NaNO3.CMC	CMCNa_NaNO3	78512	263365	3.35448
2	210528_NaNO3.CMC	CMCNa_NaNO3	77373	262841	3.39707
3	210528_NaNO3.CMC	CMCNa_NaNO3	77805	260194	3.34418
4	210528_NaNO3.CMC	CMCNa_NaNO3	78228	265218	3.39034
5	210528_NaNO3.CMC	CMCNa_NaNO3	77933	263583	3.38219
6	210528_NaNO3.CMC	CMCNa_NaNO3	78166	262604	3.35958
平均値			78003	262967	3.37131
最大値			78512	265218	3.39707
最小値			77373	260194	3.34418
%RSD			0.505	0.624	0.636
標準偏差			394	1640	0.02145

図4 統計計算結果の表示画面

SHIMADZU LabTotal、LabSolutionsは、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

01-00207-JP 初版発行：2021年7月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

改訂版は会員制サイト Solutions Navigator で閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>
 閲覧には、会員制情報サービス Shim-Solutions Club にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

© Shimadzu Corporation, 2021