

カラギーナンのモル質量と構造分析のための GPC/SEC 粘度測定

著者

Daniela Held
Agilent Technologies, Inc.

概要

GPC/SEC 粘度測定でカラギーナンサンプルの実際のモル質量を測り、モル質量分布が非常によく似たサンプル間の微妙な違いを検出することができます。構造情報には、Mark-Houwink プロットで簡単に確認できます。

はじめに

カラギーナン（別名カラゲニン）は、増粘剤や安定化剤など食品添加物として使用されます。らせん構造を形成する極めて柔軟な分子で、室温でさまざまなゲルを形成することができます。カラギーナンは海藻から抽出されるため、ベジタリアンやヴィーガンにとってはゼラチンの代用品です¹。

すべてのカラギーナンは、ガラクトース単位と 3,6-アンヒドロガラクトースで構成される高分子量多糖類で、硫酸化されたものとそうでないものが両方ともあります。繰り返し単位は、 α -1-3 および β -1-4 グリコシド結合で交互に結合されます。

カラギーナンは商業的に主に次の 3 種類に分類されます。

- カッパ：強く、硬いゲルを形成します
- イオタ：柔らかいゲルを形成します
- ラムダ：ゲル化しません。主に乳製品の増粘に使用されます

サンプル間のささいな差異を検出するには、GPC/SEC 粘度測定は完璧なメソッドです。汎用キャリブレーションを使用して、実際のモル質量を測定できます。粘度計がもたらすその他の結果（Mark-Houwink 係数 K および α など）から構造情報がわかります。オンライン多角度光散乱検出器（MALLS）と組み合わせることもできます。これにより、屈折率増分 dn/dc が正確にわかっている場合に絶対モル質量を測定できるようになります。

実験方法

表 1. 機器およびサンプル条件

	条件
ポンプ	イソクラティックポンプ 流量：1 mL/min 移動相：H ₂ O、0.1 M LiNO ₃
注入システム	オートサンプル 注入量：20 μ L
カラム	Agilent SUPREMA 10 μ m プレカラム、8 × 50 mm (p/n SUA080510) Agilent SUPREMA 10 μ m リニア XL、8 × 300 mm (p/n SUA083010LXL)
温度	23 °C
サンプル濃度	1.0 ~ 1.5 mg/mL
キャリブレーション	Agilent ReadyCal キット プルラン高分子 (p/n PSS-PULKITR1H)
検出器	示差屈折率 (RI) 検出器 示差粘度計 オプション：多角度光散乱検出器 (MALLS)
ソフトウェア	Agilent WinGPC

結果と考察

カラギーナンの特性解析では、サンプルの前処理が極めて重要です。厳格な SOP を使用し、決められた間隔で正確な温度を適用する必要があります。さらに、サンプルは、溶媒を攪拌しながらゆっくりと追加しなければなりません。溶液処理の完了後、直ちにサンプルを注入する必要があります。

このアプリケーションノートでは、イオタとカッパの 2 種類のカラギーナンを調査しました。固定相には SUPREMA カラムセットを、移動相には水性 0.1 M 硝酸リチウム溶液を使用しました。モル質量の決定には、次の 2 つのメソッドを使用しました。

- 狭いプルランモル質量標準を使った従来のキャリブレーションでは、プルランに対する見かけのモル質量が得られます。
- プルランモル質量標準に基づくオンライン示差粘度計を使った汎用キャリブレーションでは、実際のモル質量、固有粘度、および Mark-Houwink 係数 α を得られます。

イオタ（青）とカッパ（緑）カラギーナンに対する両メソッドの結果を図 1 と 2 に示します。

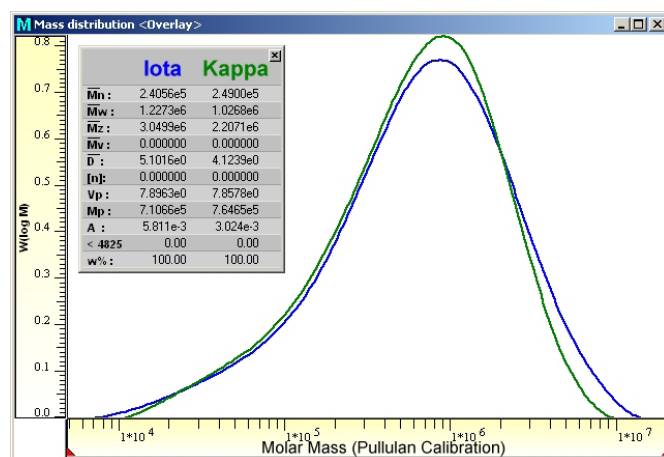


図 1. プルランキャリブレーションから得られたイオタおよびカッパカラギーナンのモル質量分布とモル質量平均

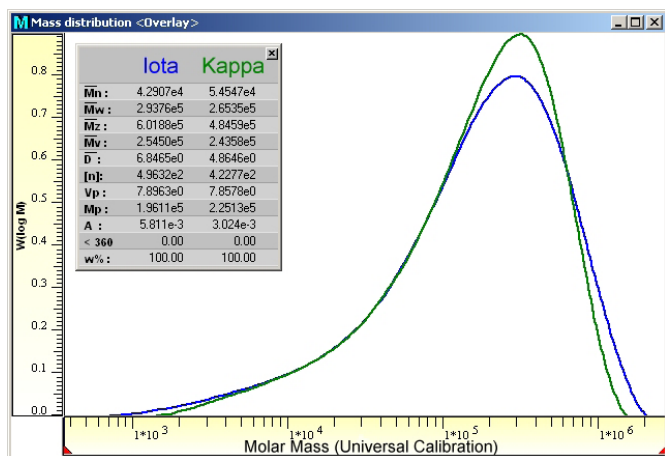


図 2. 汎用 キャリブレーションから得られたイオタおよびカッパカラギーナンのモル質量分布とモル質量平均

図 1 は、狭いモルランモル質量標準を使った従来のキャリブレーションで得られたモル質量分布とモル質量平均を表したグラフです。

図 2 は、汎用キャリブレーションで得られたモル質量分布とモル質量平均を表したものです。結果の差は、従来のキャリブレーションで得られたモル質量が実際の結果ではないことに起因します。定められたモル質量のカラギーナンの流体力学的容量は、同じモル質量のプルランよりも大きいいため、従来のキャリブレーションでは、人工的に高いモル質量が得られます。GPC/SEC 粘度測定から、どちらのカラギーナンも実際のモル質量は同じで、 $M_w = 250,000$ から $300,000$ g/mol の範囲であることがわかります。

Mark-Houwink プロット比較 (図 3) には、2 つのサンプルの間に、モル質量分布以外にも微妙な差が表れています。この図では、示差粘度計を使ってオンラインで測定した固有粘度の対数に対する汎用キャリブレーション (または、MALLS 検出器を使った光散乱) で得られたモル質量の対数がプロットされています。

固有粘度は、イオタカラギーナンのモル質量に従って、直線的に増加しますが、カッパカラギーナンでは、密度と構造の変化が、測定された傾きの変化に表れています。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE91999653

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2020, 2023

Printed in Japan, March 2, 2023

5994-5762JAJP

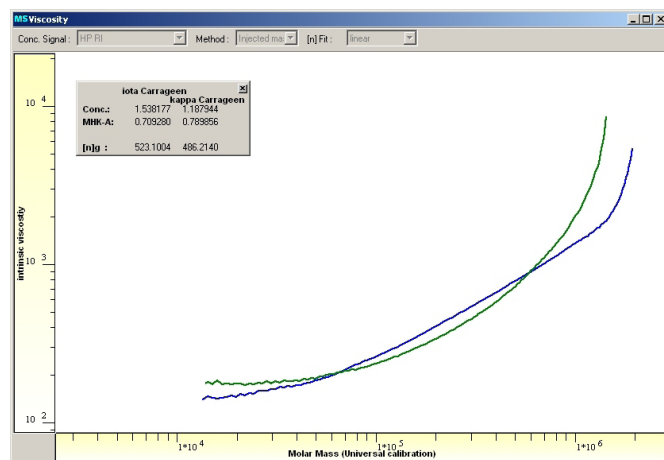


図 3. イオタ (青) とカッパ (緑) カラギーナンについて、固有粘度と Mark-Houwink 係数を使った Mark-Houwink プロット

さらに、イオタカラギーナンの Mark-Houwink 係数 α は予想以上に低く、分子があまり硬くないことを示していて、このサンプルがもたらすアプリケーションの難しさを物語っています。イオタカラギーナン係数はランダムコイルの値の範囲内ですが、カッパ係数はロッド同様、より硬い構造になる傾向があります。

結論

固定相として Agilent SUPREMA カラムと、信頼性と堅牢性に優れた GPC/SEC を使って、カラギーナンを分析することができます。プルラン標準を使ったキャリブレーションにより、相対モル質量を測定できます。オンライン MALLS 検出器や示差粘度計を使用して、実際のモル質量とカラギーナンの構造情報を判断できます。

参考文献

1. Haaris, P. Food Gels, **1990**, Springer Dordrecht.