

特定悪臭物質のアルデヒド 6 種が 分離可能な、Agilent InfinityLab Poroshell120 PFP カラム



Authors

松下 邦明

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

特定悪臭物質であるアルデヒドの測定の方法に、高速液体クロマトグラフ法が追加されました。このアプリケーションノートでは、Agilent InfinityLab Poroshell120 PFP カラムを使用した、規制対象 6 成分の分離について報告します。このカラムを用いますと、ODS カラムでは分離が困難なイソブチルアルデヒドとノルマルブチルアルデヒドが良好に分離します。また、これら 2 成分を含めた規制対象 6 成分が、20 分程度のイソクラチック分析で分離可能です。

Key words: HPLC、アルデヒド、ブチルアルデヒド、悪臭防止法、特定悪臭物質

はじめに

平成30年9月21日、悪臭防止法施行規則第5条の特定悪臭物質の測定方法について定めた告示の一部を改正する告示¹⁾が公布・施行され、アセトアルデヒド、プロピオンアルデヒド、ノルマルブチルアルデヒド、イソブチルアルデヒド、ノルマルバレルアルデヒド及びイソバレルアルデヒドの測定方法のうち、敷地境界線における濃度の測定及び気体排出口における流量の測定について、高速液体クロマトグラフ法（HPLC法）が新たに追加されました。

HPLCを用いたアルデヒド類の分析に関しては多くの報告がありますが、今回の規制対象6種のアルデヒド類を分析する際、一般的に用いられるODSカラムでは、ノルマルブチルアルデヒドとイソブチルアルデヒドの分離が困難です。また、分離が可能な場合も、移動相組成やグラジエントが複雑なメソッドになりがちです。

今回、Agilent InfinityLab Poroshell120 PFPカラムと、移動相に水、アセトニトリル及びメタノールを用いたイソクラチック条件で、規制対象6成分のアルデヒド類を分離することができましたので報告します。また、6成分の近傍に溶出するアルデヒド類との分離、注入溶媒の検討や、カラムのロット違いによる保持挙動の差、更には、EPA 8315A²⁾に含まれる成分の分離について確認しましたので、併せて報告します。

システム

1260 Infinity II バイナリポンプ (G7112B)
1260 Infinity II バイアルサンプラ (G7129A)
1260 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116A)
1260 Infinity II ダイオードアレイ検出器 (DAD) (G7117C)
(セル:G4212-60007、60mm)

分析条件

カラム	InfinityLab Poroshell120 PFP (4.6 x 250 mm、4 µm) 部品番号 690970-408
移動相	水/アセトニトリル/メタノール (5:4:2)
流速	1 mL/min
カラム温度	50 °C
測定波長	360 nm
注入量	各クロマトグラムを参照

試薬・試料

水はミリQ水を使用しました。アセトニトリルとメタノールは、関東化学製LC/MS用を使用しました。試料として用いたDNPH化アルデヒド類の標準溶液は、富士フィルム和光純薬製または関東化学製を希釈して使用しました。

結果

規制対象6成分の分離

アルデヒド類6種(アセトアルデヒド、プロピオンアルデヒド、ノルマルブチルアルデヒド、イソブチルアルデヒド、ノルマルバレルアルデヒド及びイソバレルアルデヒド)のクロマトグラムを、図1に示します。ODSカラムでは分離が困難なノルマルブチルアルデヒドとイソブチルアルデヒドが、分離度2.6で分離しています。また、イソバレルアルデヒドとノルマルバレルアルデヒドの分離度は、1.3でした。

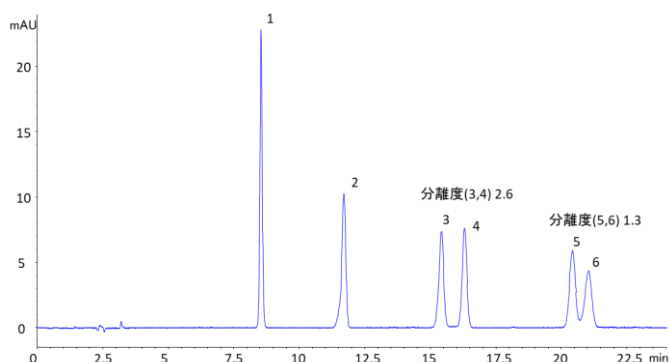


図1.規制対象6成分のクロマトグラム、1)アセトアルデヒド-DNPH、2)プロピオンアルデヒド-DNPH、3)ノルマルブチルアルデヒド-DNPH、4)イソブチルアルデヒド-DNPH、5)イソバレルアルデヒド、6)ノルマルバレルアルデヒド、試料:DNPH化したアルデヒド類各0.1 mg/L(アルデヒド類として)を含むアセトニトリル溶液を水で2倍希釈した溶液、注入量:20 µL

規制対象6成分と近傍に溶出するアルデヒド類との分離

規制対象6成分と、近傍に溶出するアルデヒド類(ホルムアルデヒド、アクロレイン、アセトン、クロトンアルデヒド、ベンズアルデヒド)のクロマトグラムを、図2に示します。

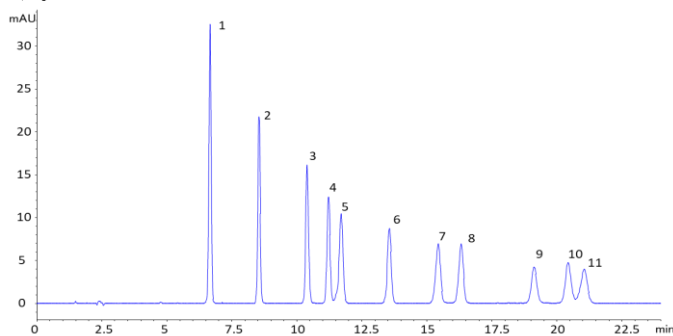


図2.規制対象6成分と近傍に溶出するアルデヒド類のクロマトグラム、1)ホルムアルデヒド-DNPH、2)アセトアルデヒド-DNPH、3)アクロレイン-DNPH、4)アセトン-DNPH、5)プロピオンアルデヒド-DNPH、6)クロトンアルデヒド-DNPH、7)ノルマルブチルアルデヒド-DNPH、8)イソブチルアルデヒド-DNPH、9)ベンズアルデヒド-DNPH、10)イソバレルアルデヒド-DNPH、11)ノルマルバレルアルデヒド-DNPH、試料:DNPH化したアルデヒド類各0.1 mg/L(アルデヒド類として)を含むアセトニトリル溶液を水で2倍希釈した溶液、注入量:20 µL

注入溶媒、注入量の検討

今回追加された方法では「20 μ L程度分取し、高速液体クロマトグラフ試料導入部に注入する」とあります。しかし、逆相HPLC分析の場合、アセトニトリルで調製した試料を多量に注入すると、ピーク形状が悪化することがあるため、注入量や注入溶媒がどう影響するかを確認しました。

アセトニトリルに溶解した試料を10 μ L注入した時と、20 μ L注入した時のクロマトグラムを、図3に示します。

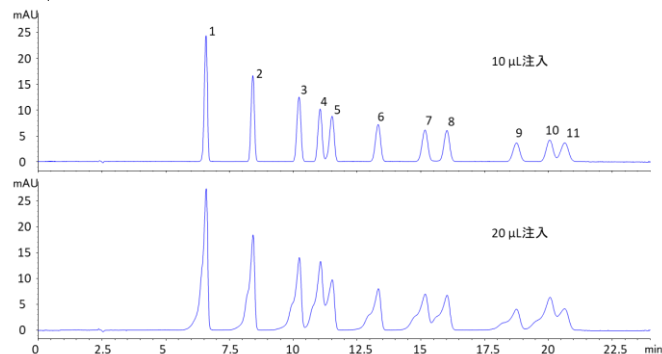


図3.規制対象6成分と近傍に溶出するアルデヒド類のクロマトグラム、試料: DNPH化したアルデヒド類各0.1 mg/L(アルデヒド類として)を含むアセトニトリル溶液(成分は図2と同じ)

図3では、注入量10 μ Lの時にはピーク形状の悪化はありませんが、20 μ L注入の時は、ピーク形状の悪化が見られます。このことから、アセトニトリルに溶解した試料をそのまま注入する場合、注入量は10 μ Lにするのが望ましいことが分かります。

10 μ Lを超える量の試料溶液を注入したい場合は、試料溶液を水で希釈することによって、ピーク形状の悪化を防ぐことができます。アセトニトリル溶液を20 μ L注入した時と、水で2倍希釈して40 μ L注入した時のクロマトグラムを、図4に示します。

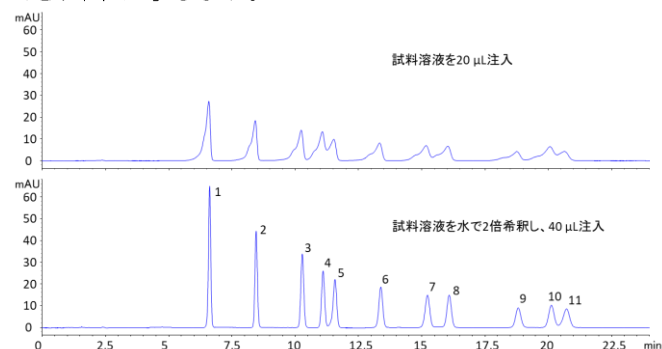


図4.規制対象6成分と近傍に溶出するアルデヒド類のクロマトグラム、試料: DNPH化したアルデヒド類各0.1 mg/L(アルデヒド類として)を含むアセトニトリル溶液(成分は図2と同じ)

図4では、水で2倍希釈した時にはピーク形状の悪化がありません。このことから、アセトニトリルに溶解した試料で10 μ Lを超える量を注入したい場合、水で2倍希釈して注入することで、ピーク形状を悪化させずに分析できるこ

とが分かります。また、注入量をさらに増やし、高感度な検出器、例えば、1260 Infinity II ダイオードアレイ検出器(G7117C)と高感度セル(G4212-60007、セル長:60 mm)を用いることで、 μ g/Lレベルの低濃度な試料の分析が可能になります。

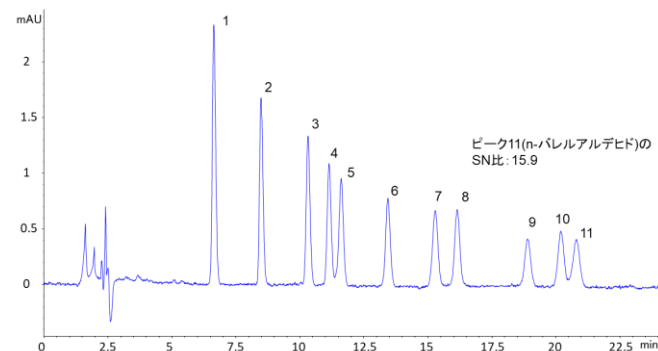


図5.規制対象6成分と近傍に溶出するアルデヒド類のクロマトグラム、試料: DNPH化したアルデヒド類各2 μ g/L(アルデヒド類として)を含むアセトニトリル溶液を水で2倍希釈した溶液(成分は図2と同じ)、注入量:100 μ L

図5では、アセトニトリル溶液で2 μ g/Lの濃度でも、水で2倍希釈して分析することで、SN比が10以上で検出できることが、分かります。

カラムのロット違いによる保持挙動の差

充填剤ロットの異なる3本で、規制対象6成分と近傍に溶出するアルデヒド類を分析しました。クロマトグラムを図6に示します。

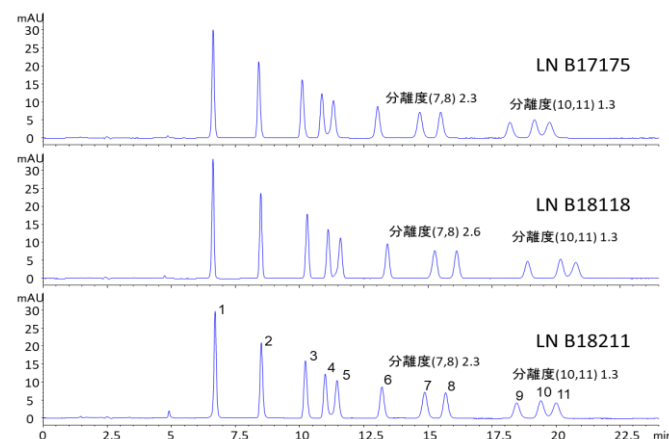


図6.規制対象6成分と近傍に溶出するアルデヒド類のクロマトグラム、試料: DNPH化したアルデヒド類各0.1 mg/L(アルデヒド類として)を含むアセトニトリル溶液を水で2倍希釈した溶液(成分は図2と同じ)、注入量:20 μ L

図6では、各ロット間で、ノルマルブチルアルデヒドとイソブチルアルデヒドの分離度は2.3~2.6、イソバレルアルデヒドとノルマルバレルアルデヒドの分離度は1.3でした。

EPA 8315Aに記載された成分の分離

EPA 8315A Procedure2に示されたアルデヒド類15成分にイソブチルアルデヒドを加えた16成分について、同条件で分析しました。クロマトグラムを、図7に示します。

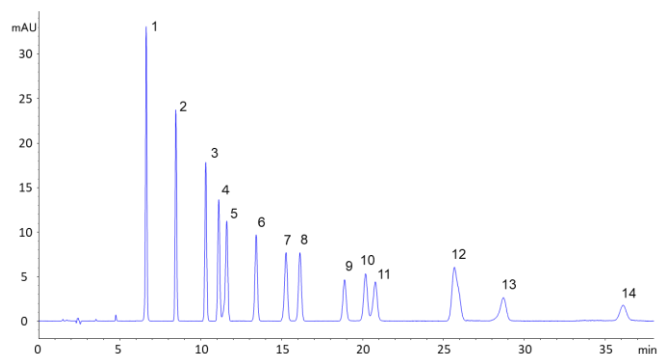


図7.アルデヒド類16種のクロマトグラム、1)ホルムアセトアルデヒド-DNPH、2)アセトアルデヒド-DNPH、3)アクロレイン-DNPH、4)アセトン-DNPH、5)プロピオンアルデヒド-DNPH、6)クロトンアルデヒド-DNPH、7)ノルマルブチルアルデヒド-DNPH、8)イソブチルアルデヒド-DNPH、9)ベンズアルデヒド-DNPH、10)イソバレルアルデヒド-DNPH、11)ノルマルバレルアルデヒド-DNPH、12)トルアルデヒド-DNPH(オルト、メタ、パラ)、13)ヘキサアルデヒド-DNPH、14)2,4-ジメチルベンズアルデヒド-DNPH、試料:DNPH化したアルデヒド類各0.1 mg/L(アルデヒド類として)を含むアセトニトリル溶液を水で2倍希釈した溶液、注入量：20 μ L

図7では、トルアルデヒドのオルト、メタ、パラは分離しませんでした。他の成分については、今回のHPLC条件で分離しました。分析時間は、最後に溶出する2,4-ジメチルベンズアルデヒドまでで40分程度でした。

まとめ

特定悪臭物質のアルデヒド類6成分の分離を検討しました。その結果、Agilent InfinityLab Poroshell120 PFPカラムを用いれば、規制対象の6成分、また、近傍に溶出するアルデヒド類との分離が、イソクラチック分析、20分程度で可能でした。試料がアセトニトリル溶液の場合、10 μ L以下の注入量だとピーク形状の悪化を防ぐことができ、10 μ Lより多くの量を注入したい場合、水で2倍希釈するとピーク形状を悪化させずに分析可能であることが分かりました。カラム充填剤ロットの違いで、ピークの重なりや溶出位置が逆転するような選択性の差は認められなかったことが、示されました。

参考資料

- 1) 特定悪臭物質の測定の方法の一部を改正する告示（平成30年9月環境省告示第78号）
- 2) EPA Method 8315A (SW-846): Determination of Carbonyl Compounds by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), December, 1996

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

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いません。
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。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2018

Printed in Japan, December 26, 2018

LC-201812MA-001