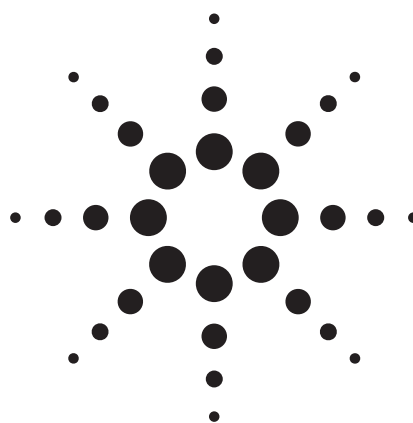


HPLC によるカルボニル化合物の 高速分離と同定



アプリケーション

環境分析

著者

William J. Long and John W Henderson, Jr.
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1610
USA

要旨

本文書では、DNPH 誘導体化した大気中のカルボニル化合物の高速 HPLC メソッドについて説明します。1.8 μm StableBond C18 カラムを用いて、13 の DNPH 誘導体化カルボニル標準物質の分離を行いました。大気サンプル中のカルボニル化合物を 10 分以内に検出しました。

緒言

カルボニル化合物は全世界の都市の大気中に多く含まれています。これらの化合物は光化学スモッグを引き起こし、オゾン形成に寄与します。屋外での発生源としては、

自動車の排気や炭化水素の不完全燃焼などがあります。屋内では、断熱材、タバコの煙、家具、パーティクルボードなどの中に含まれるアルデヒドなどがあり、環境問題の原因となります。大気中の低濃度カルボニル化合物の測定には、高感度で妨害のない技術が必要です。大気中のカルボニル化合物の多く（ホルムアルデヒドやアセトンなど）は発色団を持たないため、UV 検出器では高感度に検出することができません。そのため、大気および水中の低分子アルデヒドとケトンを、2,4-ジニトロフェニル-ヒドラジン（DNPH）を用いて誘導体化して測定する HPLC メソッドが開発されています（図 1）。

カルボニル化合物用の公定法

サンプルの種類に応じて、DNPH 誘導体化カルボニル化合物の公定法（米国内）があります（表 1 参照）。

これらのメソッドはすべて、本文書の実験のセクションで説明する一般的な手法に変更を加えたものです。有毒大気サンプルについては、オゾンがカルボニル - DNPH 反応を妨害する場合がありますため、DNPH カートリッジの前にオゾンスクラバーを設置する必要があります。

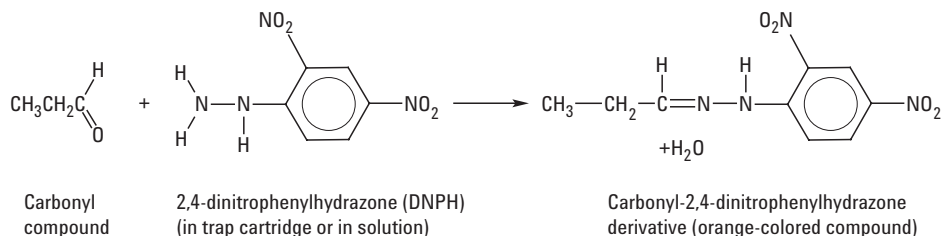


図 1. 大気または水サンプルからのカルボニル化合物の誘導体化



Agilent Technologies

表 1. DNPH 誘導体化カルボニル分析用メソッド

メソッド番号	マトリクス
EPA TO-11	環境大気
EPA 8315A	液体、土壌、ガスサンプル
ASTM D5197	環境大気
NIOSH 2016、2532	環境室内空気
EPA 554	飲料水

EPA = 米国環境保護庁
ASTM = 米国材料試験協会
NIOSH = 国立労働安全衛生研究所

実験

カルボニル化合物を含む大気サンプルを、DNPH をコーティングしたシリカゲルカートリッジ、あるいは、酸性化 DNPH 溶液に通します。水系のサンプルの場合、DNPH をサンプルに添加し、pH 3 にすることで反応が起きます。カルボニル化合物はこの条件下でヒドラゾンに迅速に誘導体化されます。次に、アセトニトリルを用いてこれらのヒドラゾンをトラップカートリッジから溶出させます。あるいは、水系のサンプルの場合は、ジクロロメタンを用いて抽出します。次に、この抽出液を濃縮し、適切な溶媒に再溶解し、逆相カラムに注入して分離と定量を行います。

誘導体化ヒドラゾンを捕集および抽出（または溶出）し、逆相 HPLC でこれらの化合物を分析します [1 ~ 5]。ヒドラゾンの疎水性は化合物により大きく異なるため、適切な時間で溶出させるためにはグラジエント条件が必要となります。

結果と考察

図 2 に、環境有害物質のリストにある主なカルボニル化合物の DNPH 誘導体の分離を示します。標準溶液 (3 µg/mL) は Sigma 社 (ミズーリ州セントルイス) から購入しました。StableBond C18 1.8 µm 4.6 mm x 150 mm カラム (部品番号 829975-902) により、ピーク 8 と 9 の分離を除き、優れた分離が得られました。クロマトグラムの最初の部分はアイソクラティック分析であるため、どの機器にも簡単にメソッドを応用することができ、マススペクトル検出に使用される内径の細かいカラム用にメソッドをスケールダウンすることも可能です。Agilent 1200 HPLC システムは高流量分析を簡単に実現することができますが、これらのグラジエント分析での最高圧力は約 37 MPa でした。

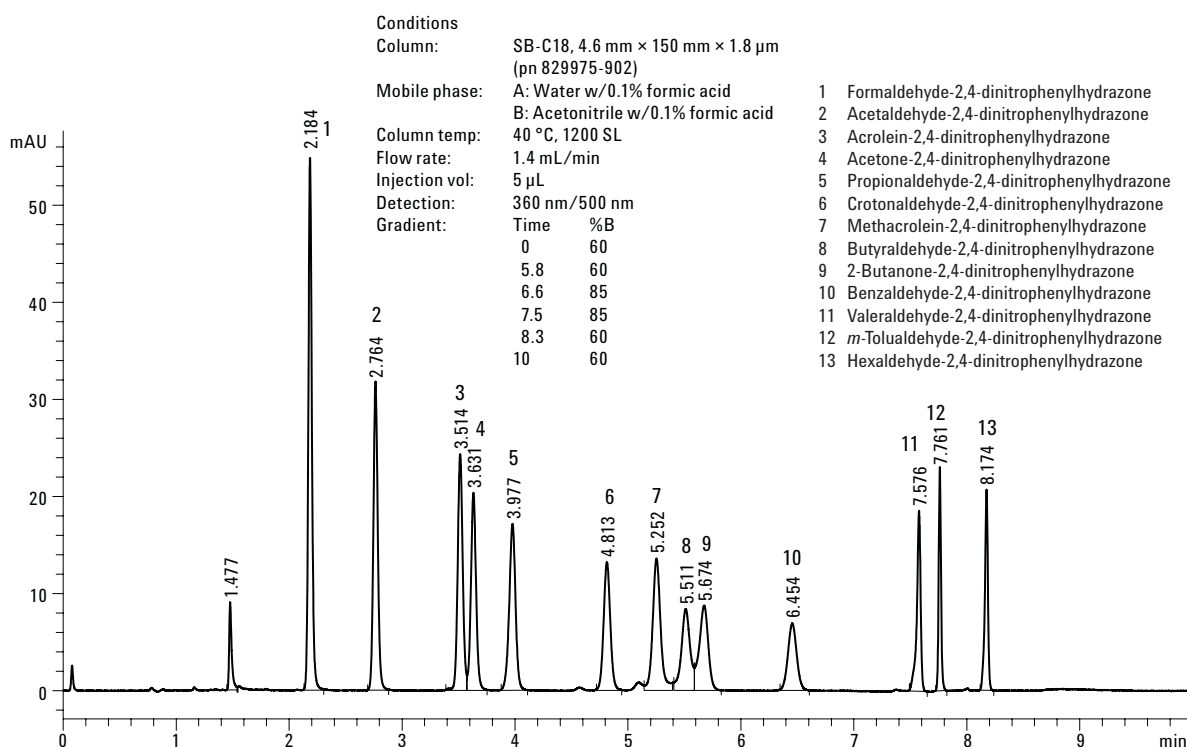


図 2. DNPH 標準と分析条件

環境大気サンプル中のカルボニル化合物の分析

DNPH カートリッジを用いて室外大気を捕集し、抽出作業を行いました。この抽出サンプルは、バーモント州環境保護局 (DEC) 環境研究所 (米国バーモント州ウォーターベリー) のご厚意により提供いただきました。抽出液を、Agilent StableBond SB-C18 カラムに直接注入しました。ブランクはサンプルの捕集プロセスを行っていない DNPH カートリッジを用いて処理した後、同様に分析しました。

図 3 に、バーモント州バーリントン近郊で収集された実際の大气サンプルの HPLC 分析の結果を示します。このサンプルでは、少量のホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、アセトンが検出されました。未知ピークがブランクからも検出されました。約 5.5 分に溶出する化合物は、未反応 DNPH によるもので、その他は同定されませんでした。

結論

DNPH カートリッジ捕集と HPLC 分析を用いることで、大気中の少量のカルボニル含有化合物を短時間で分離および測定できます。Agilent StableBond SB-C18 カラムは優れた選択性を示し、EPA リストに掲載されているカルボニル化合物を約 8 分で高速分離することができました。

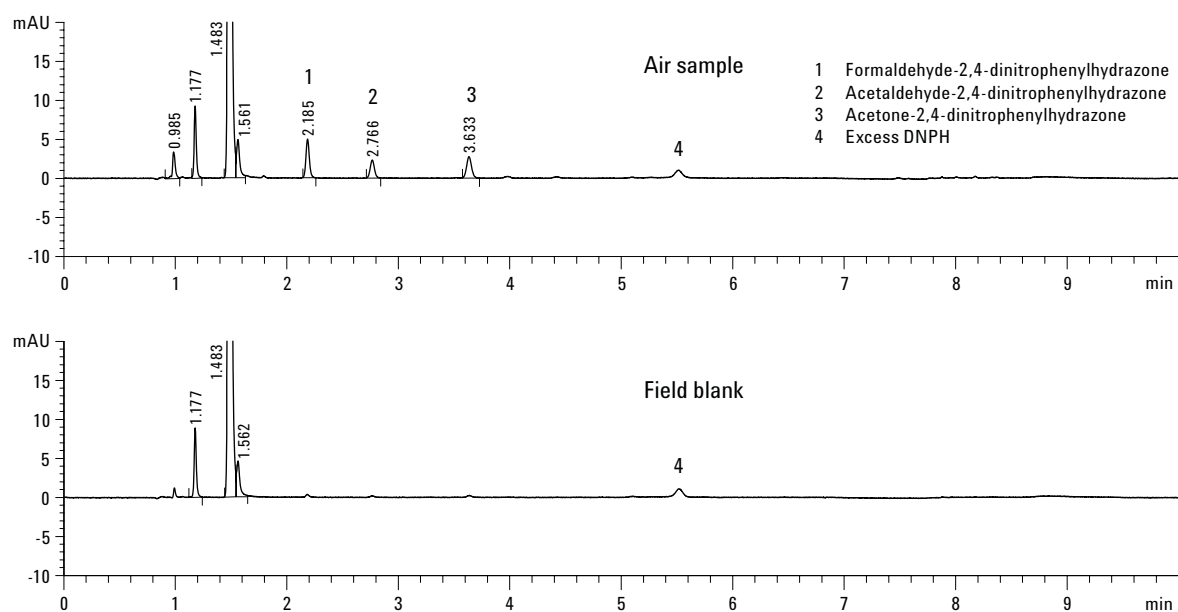


図 3. バーリントン近郊の大气サンプル (上) とブランク (下)、SB-C18 4.6 mm x 150 mm x 1.8 μ m

参考文献

1. Robert Ricker, "Separation of DNPH-Derivatized Aldehydes from Ambient Air Samples," Agilent Technologies, Publication No. 5988-6346EN (2002).
2. Noriko Shimoi and Hiroki Kumagai, "Analysis of Formaldehyde and Acetaldehyde in Air by HPLC Using DNPH Cartridge," Agilent Technologies, Publication No. 5965-9796E (1997).
3. Hiroki Kumagai, "HPLC Analysis of Formaldehyde in Indoor Air," Agilent Technologies, Publication No. 5867-5598E (1998).
4. Paul Kirschmer, "Aldehydes in Air," Hewlett Packard (now Agilent Technologies), Publication No. 12-5952-1551 (1990).
5. E. Grosjean, D. Grosjean, P.G. Green and J.M. Hughes, "LC.DAD/MS Analysis of Carbonyl (2,4-Dinitrophenyl)hydrazones," Agilent Technologies, Publication No. 5986-8850E (2000).

詳細情報

アジレントの製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

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。

© Agilent Technologies, Inc. 2007

Printed in Japan
October 19, 2007
5989-7483JAJP



Agilent Technologies