Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

No. 720003012J

アルデヒド・ケトン汚染物質のHPLC分析における アセトニトリル使用量の削減

概要

主に大気中に含まれる低分子量のアルデヒド・ケトン類（カルボニル化合物）の分析は経済的および社会的に大きな影響を与えます。一つにはこれらが人間に影響を与えるためです（特に粘膜、目、上気道、皮膚の炎症）。アルデヒド類は植物にも被害を与える可能性があります。ホルムアルデヒドは光化学オゾンを生成する役割を果たすため植物に被害を与える化合物として最も良く知られています。さらに多くのカルボニル化合物は一次または二次的な大気汚染物質となります。

カルボニル化合物は（ⅰ）自然発生、（ⅱ）化学製品、ゴム製品、紙などの製造過程、（ⅲ）大気中に形成された二次的汚染物質として、（ⅳ）自動車排気ガスを通してなど、さまざまな方法で形成されます。そのため自動車産業において、特に排気ガス基準が最も厳しいカリフォルニアでは主要な問題となっています。これらの基準を満たさなければコストの上昇、作業能率の不足、生産性の低下につながります。

HPLCによるこれらの汚染物質の分析には誘導体化法が最も良く使用されています。一般的に酸処理DNPHを含むカートリッジ内に既知量のサンプル（例：環境大気）を吸引します。Sep-Pak® DNPH-SilicaやXPoSure™カートリッジに捕集された大気中のアルデヒド・ケトン類はすぐにDNPH（2,4-dinitrophenylhydrazine）と反応し安定なヒドラゾン誘導体を形成します。その後カートリッジに100%アセトニトリル（CH_3CN）を流して全てのカルボニル化合物の誘導体を溶出し、HPLC分析を行います。これらの化合物を分析するために承認された分析方法は大量のアセトニトリルを移動相に使用します。これは最も良好な分離を与える方法ですが、アセトニトリルが不足し高価になりつつある*ことから代替法が必要とされています。

このアプリケーションノートでは13種類のカルボニル化合物を分析するための代替HPLCメソッドを紹介しています。このメソッドはカリフォルニア EPAメソッド430に概説されている検出限界の要求値およびUS EPAメソッド（T0-11A, 8315A）に明記されている検出限界を達成しています。

溶出溶媒に使用されるアセトニトリルは10%だけなので前述の方法と比べるとアセトニトリル使用量は86～96%削減されます。すなわちHPLC1分析につき溶媒コストが1/20まで削減されることになり、長期での溶媒削減量は何千ドルにも及びます*。

分析条件

SunFire™ C18カラムはアルデヒド・ケトン類のDNPH誘導体の分離に独自の選択性を与える高純度シリカをベースとしたカラムです。最新の官能基結合およびエンドキャッピング技術を採用したSunFire C18カラムは残存シラノール活性が低く分析対象成分との二次的な相互作用をほとんど受けません。高負荷量と良好なピーク形状はより低い検出限界を必要とするアプリケーションに最適です。

システム： Waters Alliance®2695セパレーションモジュール, 2998 PDA検出器
ソフトウェア：Empower™2（Build 2154）
カラム：SunFire C18, 4.6x250mm, 5µm
（P/N 186002560）
移動相A：メタノール/水=10/90
移動相B：メタノール/THF/アセトニトリル=60/30/10
流速：1.5mL/min
グラジエント：56-80%B 0-15min,
80-100%B 15-16min,
100%B 16-18min,
初期条件に戻す（トータル分析時間22分）
カラム温度：40℃
注入量：20µL
検出：365nm, サンプリングレート2Hz,
標準時定数

標準溶液の調製
アルデヒドおよびケトンのDNPH誘導体標準液は100µg/mL（100ppm）の濃度で100%アセトニトリルに溶解したものが市販されています。後の13化合物混合溶液はこれらの標準原液をアセトニトリルで10ppmに希釈して調製しました。

結果と考察

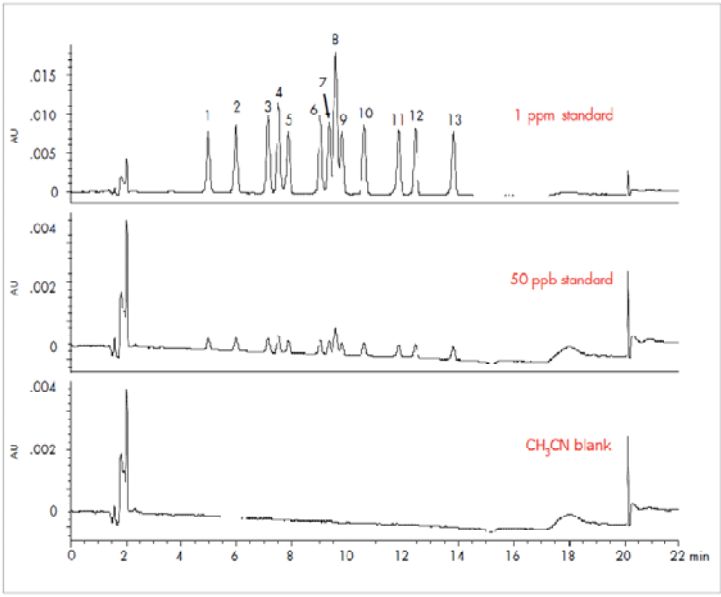
図1に13カルボニル化合物の分離クロマトグラムを示します。比較のために溶媒ブランクのクロマトグラムも示しています。13ピーク全てについて十分な分離が15分未満、トータル分析時間22分間で実現しています。この分析時間はCA EPAメソッド430のアイソクラティック法とほぼ同等で、US EPAメソッドT0-11Aおよび8315Aのグラジエント法よりも3倍早くなります。図1に示される50ppb標準溶液のシグナルノイズ（S/N）比によりメソッドの定量下限（LOQ, S/N=10）は10～20ppb、検出限界（LOD, S/N=3）は2～5ppbと推定されます。これらの値はCA EPAメソッド430の検量線作成用標準の下限（100ppb）を大きく下回っています。

表1はSunFire C18カラムを用いて開発したメソッドとUS EPAメソッドおよびCA EPAメソッドの分析時間と溶媒コストの比較を示しています。

新たに開発されたSunFire C18メソッドを使用することによる費用対効果は一目瞭然です。このメソッドではアセトニトリル使用量がCA EPAメソッドの約1/7（分析時間は同じ）、US EPAメソッドの1/20以下まで削減されます。さらにSunFire C18メソッドの分析時間はUS EPAメソッドの1/3になります。

SunFire C18メソッドは表1に記載されている他のメソッドよりも1分析につきアセトニトリル使用量に換算して86%～96%のコストを低減します。1台のHPLCシステムを1日あたり8時間、1週間あたり5日間、1年あたり50週間稼動させる場合、SunFire C18メソッドによってアセトニトリルのコストだけで6800ドルものコスト削減*になります。

図1.アルデヒド・ケトン類の13DNPH誘導体を分離したUVクロマトグラム



ピーク溶出順序：(1)ホルムアルデヒド，(2)アセトアルデヒド，(3)アセトン，(4)アクロレイン，(5)プロピオンアルデヒド，(6)クロトンアルデヒド，(7)メチルエチルケトン（MEK），(8)メタクロレイン，(9)ブチルアルデヒド，(10)ベンズアルデヒド，(11)バレルアルデヒド，(12)m-トルアルデヒド，(13)ヘキサナール

表1.分析時間、アセトニトリル使用量、コストにおけるカルボニル化合物分析のためのSunFire C18メソッドの利点

Method	Total run time (min)	CH_3CN usage per run (mL)	Cost of CH_3CN per run (USD)
SunFire C_{18}	22	2.1	$0.21
CA EPA Method 430	25	15	$1.50
US EPA Methods TO-11A and 8315A	71	47	$4.70

コストはアセトニトリルの費用を1リットルにつき100ドルと想定*して計算しています。
表の計算値はカラムの洗浄および平衡化時間を含みます。

まとめ

アルデヒド・ケトン汚染物質分析のアセトニトリル使用量を最小限にするためにSunFire C18カラムを用いてHPLC分析法を開発しました。CA EPAメソッド430と同じ分析時間でアセトニトリル使用量を現行法よりも1/22まで削減しています。すなわち溶媒コストが大幅に削減しています（86～96%）。定量下限値は大気中の正確な定量に必要な限界値を大きく下回っています。ここで開発されたメソッドはウォーターズSep-Pak DNPH-SilicaおよびXPoSureカートリッジと組み合わせて大気および自動車排気ガスを含む環境大気サンプル中のアルデヒド・ケトン汚染物質の測定に使用することができます。

*米国4月現在

参考文献

1. Winberry Jr., W.T., Tejada, S., Lonneman, B., Kleindienst, T., “Determination of Formaldehyde in Ambient Air Using Adsorbent Cartridge Followed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) [Active Sampling Methodology],” in Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air, U. S. Environmental Protection Agency, EPA/625/R-96/010b, Cincinnati, OH, January 1999.
2. California EPA Air Resources Board, “Determination of Formaldehyde and Acetaldehyde in Emissions from Stationary Sources,” Method 430, September 1989.
3. U. S. Environmental Protection Agency, “Determination of Carbonyl Compounds by High Performance Liquid Chromatography (HPLC),” Method 8315A-1, December 1996.
4. Committee on Aldehydes, Board of Toxicology and Environmental Hazards, National Research Council, Formaldehyde and Other Aldehydes; National Academy Press, Washington, DC, 1981.
5. Tejada, S.B., “Evaluation of Silica Gel Cartridges Coated In Situ With Acidified 2,4-Dinitrophenylhydrazine for Sampling Aldehydes with Ketones in Air”, Intern. J. Environ. Chem. 1986, 26: 167–185.

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.co.jp
東京本社 〒140-0001
東京都品川区北品川1-3-12第5小池ビル
TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011
大阪市淀川区西中島5-14-10カトキチ新大阪ビル11F
TEL 06-6304-9999 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
テクニカルセンター 東京 大阪 名古屋 福岡 静岡