

Application News

No. L533

高速液体クロマトグラフィー

Prominence™-i Plus と Shim-pack Scepter™ PFPP-120 を用いた DNPH 誘導体化アルデヒド類の一斉分析

2018年9月21日付で、悪臭防止法施行規則第五条の特定悪臭物質の測定の方法が改正され、告示第78号として公布・施行されました。この改正により、アルデヒド類6物質（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、ノルマルバレリルアルデヒド及びイソバレリルアルデヒド）の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、新たに高速液体クロマトグラフ法（HPLC法）が追加されました。ここでは、一体型高速液体クロマトグラフ“Prominence-i Plus”とペンタフルオロフェニル基を有するカラム“Shim-pack Scepter PFPP-120”を用いた、アルデヒド類6物質の分析例をご紹介します。

A. Minamimoto

■ DNPH 誘導体化アルデヒド類 6 物質の一斉分析

図1にDNPH誘導体化アルデヒド類6物質を一斉分析したクロマトグラムを、表1に分析条件を示します。構造異性体であるノルマルブチルアルデヒドとイソブチルアルデヒド（図1の3と4）、イソバレリルアルデヒドとノルマルバレリルアルデヒド（図1の5と6）の分離度は、1.88および1.40であり、6物質の分離は良好でした。

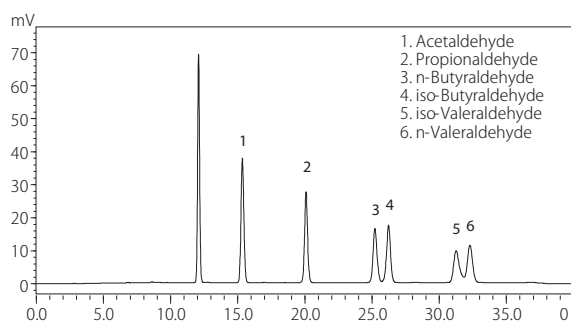


図1 混合標準液のクロマトグラム（各アルデヒド濃度 1.0 μg/mL）

表1 分析条件

Column	: Shim-pack Scepter PFPP-120 (150 mmL × 4.6 mmI.D., 3 μm)
Mobile phase	: A: Water B: Methanol/Acetonitrile = 8/2 (v/v)
Time program	: B.CONC. 20% (0 min) → 55% (5 min) → 60% (25 min) → 60% (25-35 min) → 20% (35-40 min)
Flow rate	: 1.0 mL/min
Injection volume	: 20 μL
Column temp.	: 35 °C
Detection	: UV 360 nm (D ₂ Lamp)

■ 直線性と再現性

規制基準が設定されるアルデヒド類6物質のそれぞれの臭気強度に対応する大気中の被検体成分の濃度 C を、式(1)を用いてHPLC法で求められる濃度 $\frac{As-At}{v}$ [μg/mL]に換算しました（表2及び表3）。図2-図7に臭気強度2.5及び3.5の場合を想定したアルデヒド類6物質の混合標準液の検量線を示します。全ての成分で、寄与率 (R^2) は0.9999以上と良好な直線性が得られました。規制基準が最も小さいイソバレリルアルデヒドの定量下限は 0.0052 μg/mL、検出限界は 0.0017 μg/mLとなりました。また、各検量線の下限濃度での誤差率 (%) ($n=1$) を求め、さらにその濃度において再現性の指標となるピーク面積値の相対標準偏差 (%RSD) ($n=6$) を求めました（表4）。全ての成分で誤差率は5%以下、%RSDは1%以下となり、精度を確認しました。

なお、標準液は全てアセトニトリルで希釈調製しています。

$$C = \frac{22.4(As-At) \times E}{MvV \times \frac{273}{273+t} \times \frac{P}{101.3}} \quad (1)^1$$

C : 大気中の被検体成分の濃度 [ppm]	それぞれの規定値で計算
As : HPLCに注入した被検成分の量 [μg]	
At : アルデヒド類の操作ブランク値 [μg]	0 μg で計算
E : 試験液量 [mL]	5 mL で計算
M : 被検成分の分子量	
v : HPLCへの注入量 [mL]	20 × 10 ³ mL で計算
V : ガスメーターで測定した吸引ガス量 [L]	30 L で計算
t : ガスメーターにおける温度 [°C]	25 °C で計算
P : 試料捕集時の大気圧 [kPa]	101.3 kPa で計算

表2 臭気強度 2.5 に対応する濃度

特定悪臭物質名	大気中の濃度 C [ppm]	HPLC法での濃度 $\frac{As-At}{v}$ [μg/mL]
アセトアルデヒド	0.05	0.54
プロピオンアルデヒド	0.05	0.71
ノルマルブチルアルデヒド	0.009	0.16
イソブチルアルデヒド	0.02	0.35
イソバレリルアルデヒド	0.003	0.063
ノルマルバレリルアルデヒド	0.009	0.19

表3 臭気強度 3.5 に対応する濃度

特定悪臭物質名	大気中の濃度 C [ppm]	HPLC法での濃度 $\frac{As-At}{v}$ [μg/mL]
アセトアルデヒド	0.5	5.4
プロピオンアルデヒド	0.5	7.1
ノルマルブチルアルデヒド	0.08	1.4
イソブチルアルデヒド	0.2	3.5
イソバレリルアルデヒド	0.01	0.21
ノルマルバレリルアルデヒド	0.05	1.1

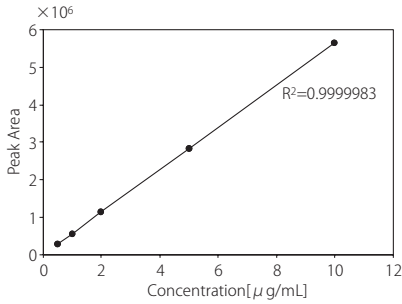


図2 アセトアルデヒド検量線
(0.5、1、2、5および10 μg/mL)

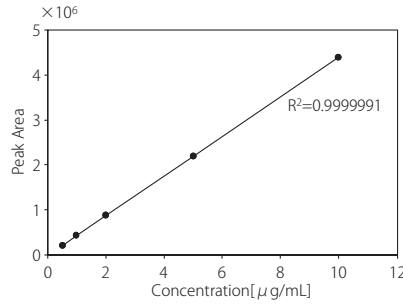


図3 プロピオンアルデヒド検量線
(0.5、1、2、5および10 μg/mL)

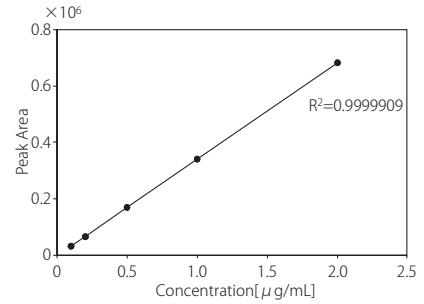


図4 ノルマルブチルアルデヒド検量線
(0.1、0.2、0.5、1および2 μg/mL)

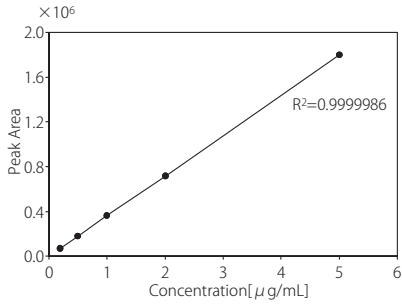


図5 イソブチルアルデヒド検量線
(0.2、0.5、1、2および5 μg/mL)

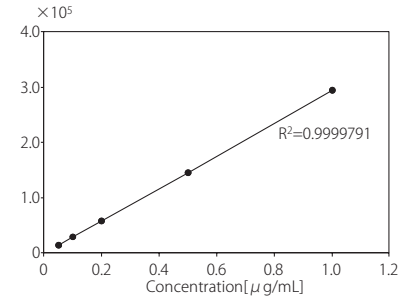


図6 イソバレールアルデヒド検量線
(0.05、0.1、0.2、0.5および1 μg/mL)

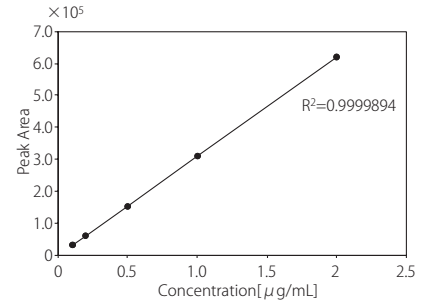


図7 ノルマルバレールアルデヒド検量線
(0.1、0.2、0.5、1および2 μg/mL)

表4 各濃度における誤差率(n=1)とピーク面積値の%RSD(n=6)

特定悪臭物質名	検量線の下限濃度 [μg/mL]	誤差率 [%]	ピーク面積値の %RSD[%]
アセトアルデヒド	0.5	-1.3	0.089
プロピオンアルデヒド	0.5	-1.0	0.096
ノルマルブチルアルデヒド	0.1	1.8	0.19
イソブチルアルデヒド	0.2	-0.60	0.22
イソバレールアルデヒド	0.05	1.7	0.64
ノルマルバレールアルデヒド	0.1	3.0	0.18

■ Prominence 高圧グラジエントシステム での一斉分析

図8にモジュラー型高速液体クロマトグラフ“Prominence”の高圧グラジエントシステムを用いて DNPH 誘導体化アルデヒド類6物質を一斉分析したクロマトグラムを、表5に分析条件を示します。Prominenceの高圧グラジエントシステムにおいても、ノルマルブチルアルデヒドとイソブチルアルデヒド(図8の3と4)、イソバレールアルデヒドとノルマルバレールアルデヒド(図8の5と6)の分離度は2.00および1.54であり、アルデヒド類6物質の分離は良好で、Prominence-i Plus(低圧グラジエントシステム)と同等の結果が得られました。

表5 分析条件

Column	: Shim-pack Scepter PFPP-120 (150 mmL×4.6 mmI.D., 3 μm)
Mobile phase	: A: Water B: Methanol/Acetonitrile = 8/2 (v/v)
Time program	: B.CONC. 20% (0 min)→55% (5 min)→60% (25 min)→60% (25-35 min)→20% (35-40 min)
Flow rate	: 1.0 mL/min
Injection volume	: 20 μL
Column temp.	: 35 °C
Detection	: UV 360 nm (D ₂ Lamp)
Mixer volume	: 0.5 mL

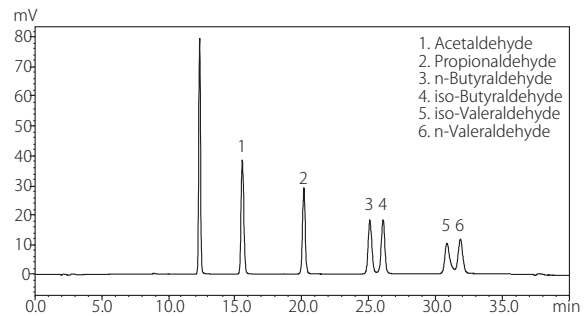


図8 Prominenceの高圧グラジエントシステムにおける混合標準液のクロマトグラム(各アルデヒド濃度1.0 μg/mL)

■ まとめ

一体型高速液体クロマトグラフ“Prominence-i Plus”およびShim-pack Scepter PFPP-120を用いて、DNPH誘導体化アルデヒド類6物質の混合標準液の分離および定量が可能であることを確認しました。ペンタフルオロフェニル基を有するShim-pack Scepter PFPP-120を用いることで、構造異性体であるノルマルブチルアルデヒドとイソブチルアルデヒド、ノルマルバレールアルデヒドとイソバレールアルデヒドの良好な分離が可能になりました。また、モジュラー型高速液体クロマトグラフ“Prominence”を用いた高圧グラジエントシステムでも同等の結果となり、アルデヒド類6物質の試験法に対応出来ることが分かりました。

<参考文献>

- 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)

ProminenceおよびShim-pack Scepter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。