

HPLC による DNPH 及び CNET 誘導体化アルデヒド、ケトン類の分離

Separation of Aldehydes and Ketones as it's DNPH or CNET derivative by HPLC

環境大気中のアルデヒド及びケトン類を測定する方法として、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH) と反応させて、HPLC 或いは GC により分析する手法が広く用いられています。DNPH 誘導体として測定する方法は、EPA の標準法であり、国内においても、室内空気中化学物質や有害大気汚染物質の公定法として採用されています。しかし、DNPH がオゾンにより分解されやすいこと、DNPH 誘導体の安定性が低いこと、DNPH 及び DNPH 誘導体に変異原性が認められていること等の理由により、最近では、*o*-(4-シアノ-2-エトキシベンジル)ヒドロキシシラミン (CNET) を誘導体化試薬とした分析方法も採用されています。今回、逆相クロマトグラフィーによる DNPH 誘導体、及び CNET 誘導体の分離例を紹介します。

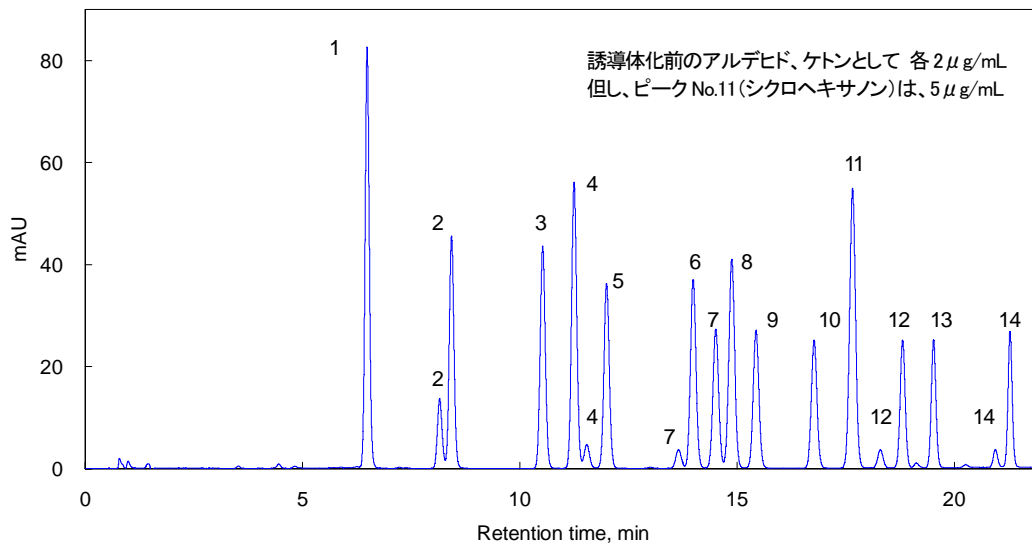


図 1 DNPH 誘導体のクロマトグラム

- |                         |                         |                        |
|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| 1: DNPH-Formaldehyde    | 2: DNPH-Acetaldehyde    | 3: DNPH-Acetone        |
| 4: DNPH-Acrolein        | 5: DNPH-Propionaldehyde | 6: DNPH-Crotonaldehyde |
| 7: DNPH-2-Butanone      | 8: DNPH-Methacrolein    | 9: DNPH-Butylaldehyde  |
| 10: DNPH-Benzaldehyde   | 11: DNPH-Cyclohexanone  | 12: DNPH-Valeraldehyde |
| 13: DNPH-p-Tolualdehyde | 14: DNPH-Hexaldehyde    |                        |

表 1 分析条件(DNPH 誘導体)

Instrument:	Agilent 1200SL series (Agilent Technologies)
Column:	TSKgel ODS-100Z 3µm (3.0 mmI.D. x 15 cm)
Eluent:	A; water/tetrahydrofuran = 80/20 B; acetonitrile
Gradient:	0 min(B 25%)→15 min(B 50%)→20 min(B 70%)→25 min(B 70%)
Detector:	UV; 360 nm
Flow rate:	0.7 mL/min
Column temp.:	40 °C
Injection vol.:	5 µL

図1にアルデヒド、ケトン類のDNPH誘導体14種の分離例を示します。アセトン(ピーク3)とアクロレイン(ピーク4)の分離の改善を目的として、溶離液中に THF を添加しています。また、図2に、CNET 誘導体13種の分離例を示します。

アルデヒド及びケトン類の誘導体には、ホルムアルデヒドやアセトン等のシンメトリーの分子構造をもつ物質以外では、syn 体と anti 体の2種類の異性体が存在します。今回の溶離条件では、アセトアルデヒドやアクロレイン等の一部の誘導体が異性体分離されています。今回のクロマトグラム上のピークの帰属は、標準物質の各クロマトグラムの確認、及び LC-MS 測定によるフラグメントイオンの確認により行いました。いずれの誘導体化法を使用した場合においても、ng/mL オーダーの装置検出下限値(IDL)が得られました。

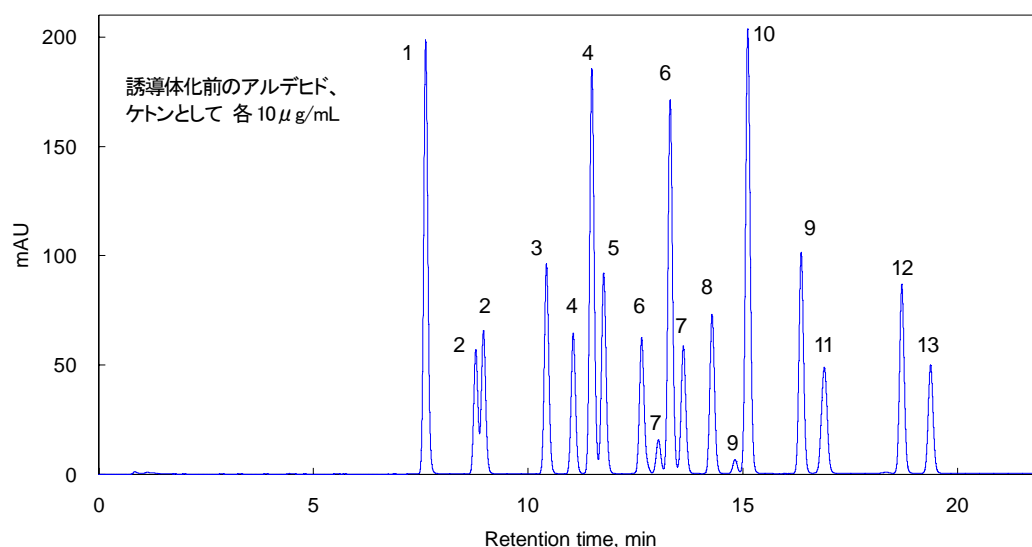


図2 CNET 誘導体のクロマトグラム

- |                       |                         |                         |
|-----------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1: CNET-Formaldehyde  | 2: CNET-Acetaldehyde    | 3: CNET-Acetone         |
| 4: CNET-Acrolein      | 5: CNET-Propionaldehyde | 6: CNET-Crotonaldehyde  |
| 7: CNET-2-Butanone    | 8: CNET-Butylaldehyde   | 9: CNET-Benzaldehyde    |
| 10: CNET-Methacrolein | 11: CNET-Valeraldehyde  | 12: CNET-m-Tolualdehyde |
| 13: CNET-Hexaldehyde  |                         |                         |

表2 分析条件(CNET 誘導体)

Instrument:	Agilent 1200SL series (Agilent Technologies)
Column:	TSKgel ODS-100Z 3μm (3.0 mmI.D. x 15 cm)
Eluent:	A; water B; acetonitrile
Gradient:	0 min(B 45 %)→25 min(B 90 %)→26 min(B 90 %)
Detector:	UV; 240 nm
Flow rate:	0.7 mL/min
Column temp.:	40 °C
Injection vol.:	5 μL