

6.3 LC/MSによるカルボニル化合物の分析

6.3.1 はじめに

カルボニル化合物は、工場排ガス、焼却炉排ガス及び自動車排ガス中に多量に含まれ、また大気中では光化学反応生成物としても知られている。それらは、植物に対して有害であるばかりでなく悪臭の原因にもなり大気汚染の指標として重要な物質である。また最近では、家具や化粧板からも揮散され、シックハウス症候群の原因物質の一つと言われている。

このようなカルボニル化合物の測定方法として、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン(DNPH)と反応させ、生成したDNPH誘動体をGC^{1・3)}またはHPLC^{4・6)}で分析する方法が一般に提唱されている。しかし、従来のGC、LC法では、ホルムアルデヒドやアセトアルデヒドを除いて大気環境中や工場排ガス中のカルボニル化合物の測定には感度不足で応用が難しい。

本報では、液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS)により13種類のカルボニル化合物について分析法の検討を行ったので報告する。

6.3.2 実験

6.3.2-1 試薬

実験に使用した13種類のカルボニル化合物-DNPH(表6.3.2-1)標準は、SUPELCO社(USA)製の各アルデヒド20 μ g/ml(ホルムアルデヒドは40 μ g/ml)を含むアセトニトリル溶液である。これらをアセトニトリルに溶解して0.005~1.0 μ g/ml溶液を調製して各標準液とした。

メタノール、アセトニトリル及び蒸留水は和光純薬工業(株)製液体クロマトグラフ用を用い、ネプライザーガスには高純度窒素(99.999%、日本キョート(株):東京)を使用した。

大気及び工場排ガス試料採取にはWaters Associates社(Milford,MA,USA)製Sep-Pak[®] DNPH-Silica(SPカートリッジ)及びSep-Pak[®] Ozone Scrubber(SP Ozoneカートリッジ)を使用した。

6.3.2-2 装置及び分析条件

本実験で使用したLC/MSは、大気圧イオン化法であるエレクトロスプレーインターフェース(ESI)と大気圧化学イオン化インターフェース(APCI)を装着した四重極型島津製作所製LC/MS QP-8000シリーズで、LC10AIオートインジェクターを装備したものである。

MS条件

イオン化法 : APCI - Negative 法

CDL 電圧 : 20、50V

DEFs 電圧 : -35V、-45V

CDL 温度 : 230 APCI プローブ温度 : 400
 プローブ電圧 : - 3.5KV ネブライザーガス流量 : 2.0 l/min

LC 条件

分離カラム : HP 社製 ZORBAX SB-C8 (5 μ m、4.6mm ×150mm)
 溶離液 : 水/アセトニトリル 流量 : 1 ml/min. 注入量 : 5 μ l
 グラジエント条件 : アセトニトリル(55%,3min.) ---5%/min---アセトニトリル (65%,5min)

また、実サンプル試料の測定に用いた HPLC の分析条件は次のとおりである。

装置 : Waters System_486 検出器 : 996 Photodiode Array Detector
 カラム : Purecil C-18 (5 μ m、4.6mm × 2 50mm)
 溶離液 : 水/アセトニトリル (43/57) 流量 : 1ml/min

大気及び工場排ガス試料は、2 連の SP カートリッジの前に SP Ozone カートリッジを接続し、1L/min で 60 ~ 200L 採取した。各 SP カ - トリッジを 5ml のアセトニトリルで溶出し、その 5 μ l を LC/MS 及び 20 μ l を HPLC に注入し分析した。

6.3.3 結果及び考察

6.3.3-1 イオン化モードの選定

フローインジェクション法により 13 種類のカルボニル化合物-DNPH のマススペクトルを測定した。ESI 及び APCI のポ ジティブモードではネガティブモードに比較して分析感度が悪く、また ESI 法より APCI 法において高感度であった。

各物質の APCI-ネガティブモードにおけるマススペクトルを図 6.3.3-1 に示す。

各物質のマススペクトルは各々カルボニル化合物-DNPH 誘導体の分子イオン (M)⁻ からプロトンが脱離した擬分子イオン(M-H)⁻ のピークが最も強く観測された。

従って、カルボニル化合物の分析については APCI-ネガティブモードで行い、SIM 分析でのモニターイオンは、擬分子イオン(Mn-H)⁻ に相当するイオンを選んだ。表 6.3.3-1 に各物質についてのモニターイオンの質量数を示す。

表 6.3.3-1 カルボニル化合物-DNPH 誘導体のモニターイオン

番号	物質名	モニターイオン	番号	物質名	モニターイオン
1	Formaldehyde	209	8	2-Butanone	251
2	Acetaldehyde	223	9	n-Butyraldehyde	251
3	Acrolein	235	10	Benzaldehyde	285
4	Acetone	237	11	n-Valeraldehyde	265
5	Propionaldehyde	237	12	p-Tolualdehyde	299
6	Crotonaldehyde	249	13	Hexaldehyde	279
7	Methacrolein	249			

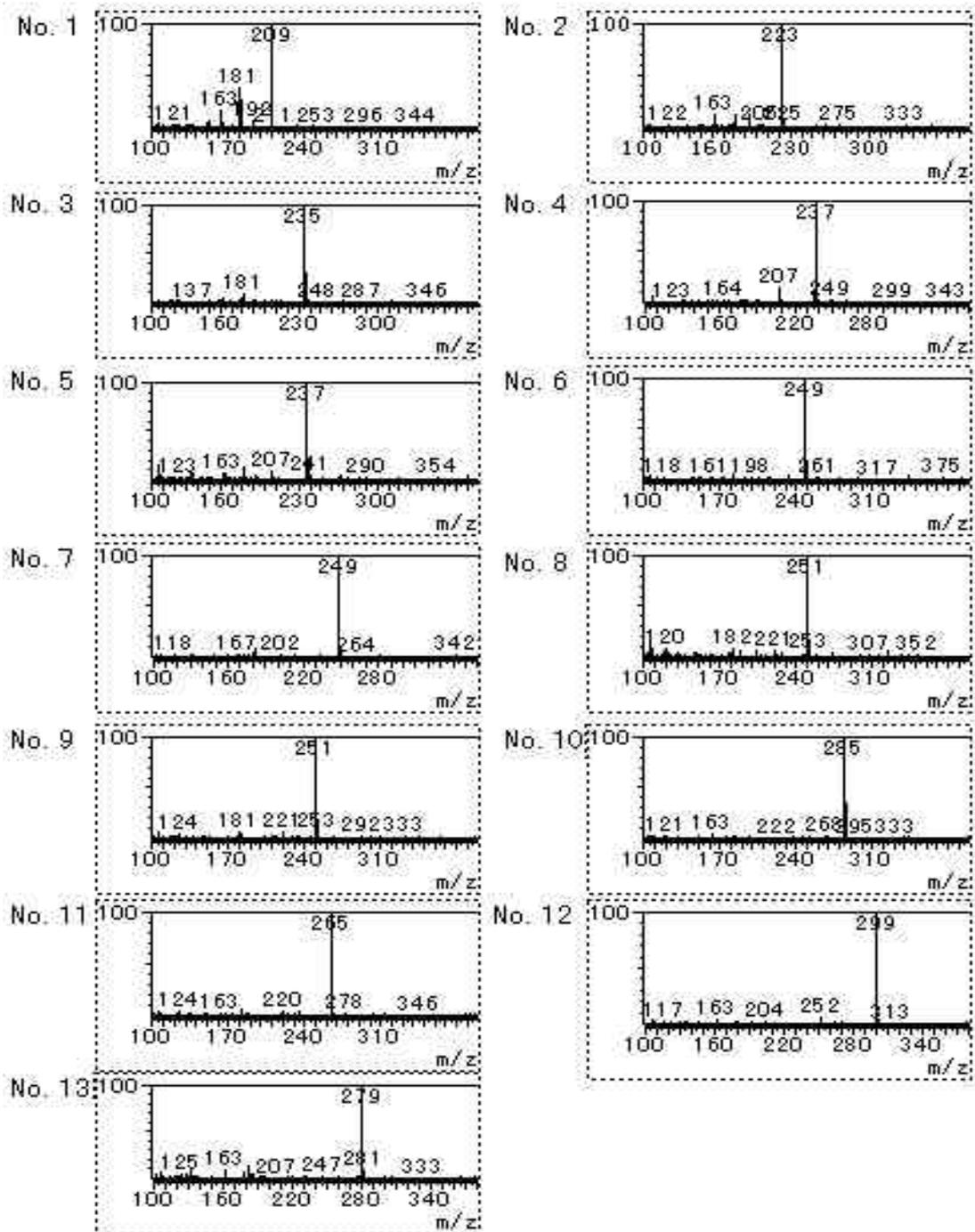


図 6.3.3-1 カルボニル化合物-DNPH 誘導体のマススペクトル(APCI-Negative)

6.3.3-2 カラム及び移動相

特に Acetone と Acrolein 及び 2-Butanone と n-Butyraldehyde の分離能の点から C18 と C8 の 2 種類について分離条件を検討した。溶離液は、水/アセトニトリル混合溶媒を用いた。C18 カラムには NUCLEOSIL 120-5C18、C8 には ZORBAX SB-C8 を用いた。C18 カ

ラムでは 2-Butanone と n-Butyraldehyde の分離がやや悪いため、また、C8 のカラムでは 13 物質が 11 分以内に完全分離することから、C8 系のカラムである ZORBAX SB-C8 を用いることにした。図 6.3.3-2 に標準のクロマトグラムを示す。

図 6.3.3-2 カルボニル化合物-DNPH 誘導体の標準クロマトグラム

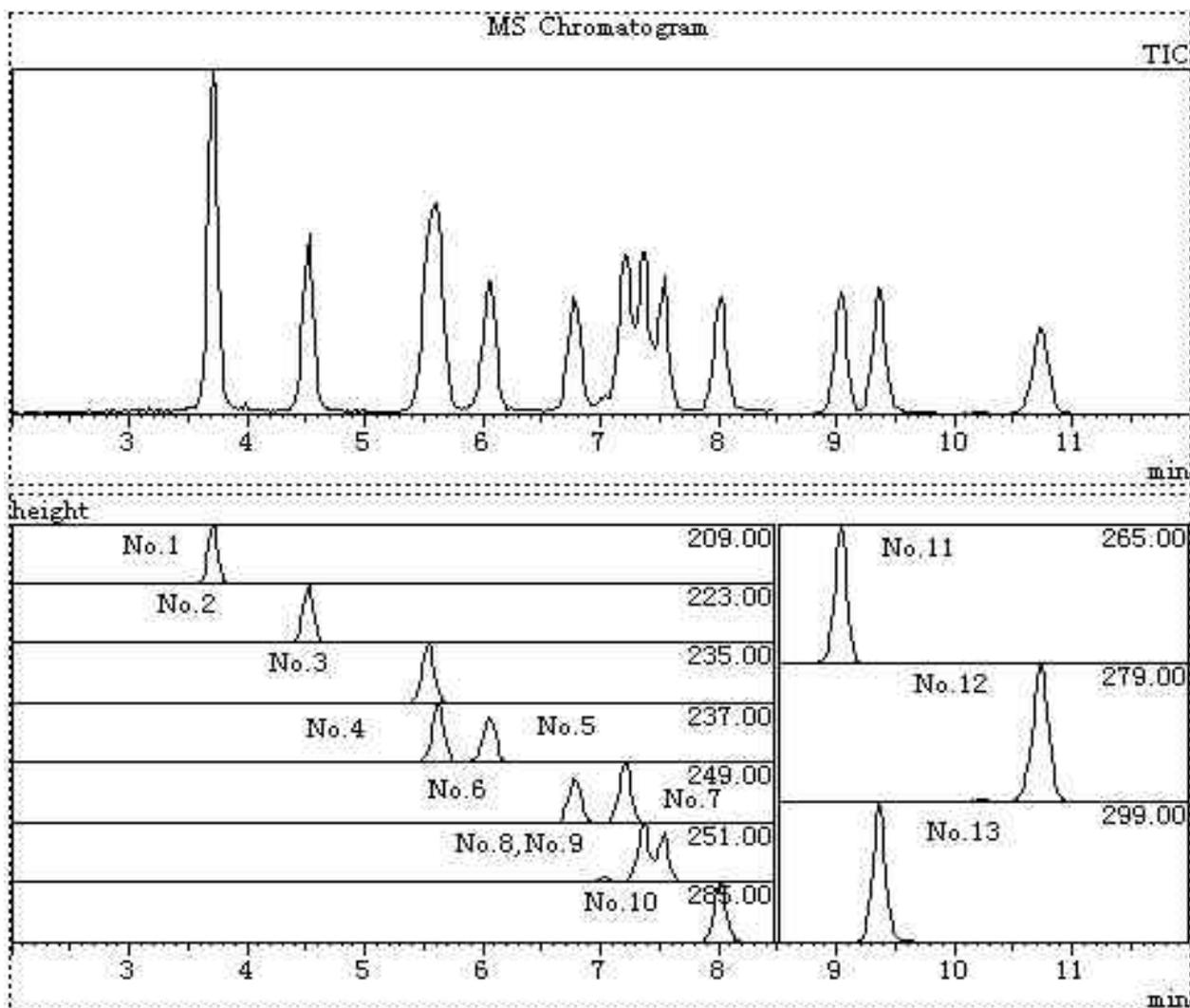


図 6.3.3-2 カルボニル化合物-DNPH 誘導体の標準クロマトグラム

6.3.3-3 CDL 電圧及び DEFs 電圧の検討

LC/MS QP - 8000 の装置では、イオン化に影響する主な要因として、溶媒イオンと試料分子とのイオン分子反応による試料のイオン化後、余分の溶媒を除くための脱溶媒部にかける CDL (Curved Desolvation Line) 電圧と、イオン収束に関するデフレクタ(DEFs)電圧が考えられる。そこで、主にこの二つの要因について検討した。また、APCIプローブ温度と CDL 温度の影響についても検討した。結果を図 6.3.3-3 ~ 図 6.3.3-6 に示す。

オートチューニングによる条件のうち CDL 電圧のみ変化させたときの結果を図 6.3.3-3 に示す。横軸は表 6.3.3-1 の番号に相当する化合物を示す。縦軸は各 CDL 電圧におけるピーク面積を CDL 電圧 20V におけるピーク面積に対する相対比で示した。最高値を示す CDL

電圧は番号 1 の Formaldehyde では 20V であるが、分子量の大きい物質ほど CDL 電圧が高い値の方へシフトしている。図 6.3.3-3 より Formaldehyde(1)から Propionaldehyde(5)までは CDL 電圧の変化によるピーク強度の変化が同じ様な傾向を示しており、20V のときのピーク強度が最も高い。Crotonaldehyde(6)、Metacrolein(7)及び 2-Butanone(8)は CDL 電圧が変化してもピーク強度はそれほど大きく変化しないようである。n-Butyraldehyde(9)から Hexaldehyde(13)までの物質については、CDL 電圧が高くなるに従ってピーク強度も高くなる傾向にあり、特に p-Tolualdehyde(12)については顕著であった。これらの結果より CDL 電圧は 20V と 50V の 2 種類を選択することにした。

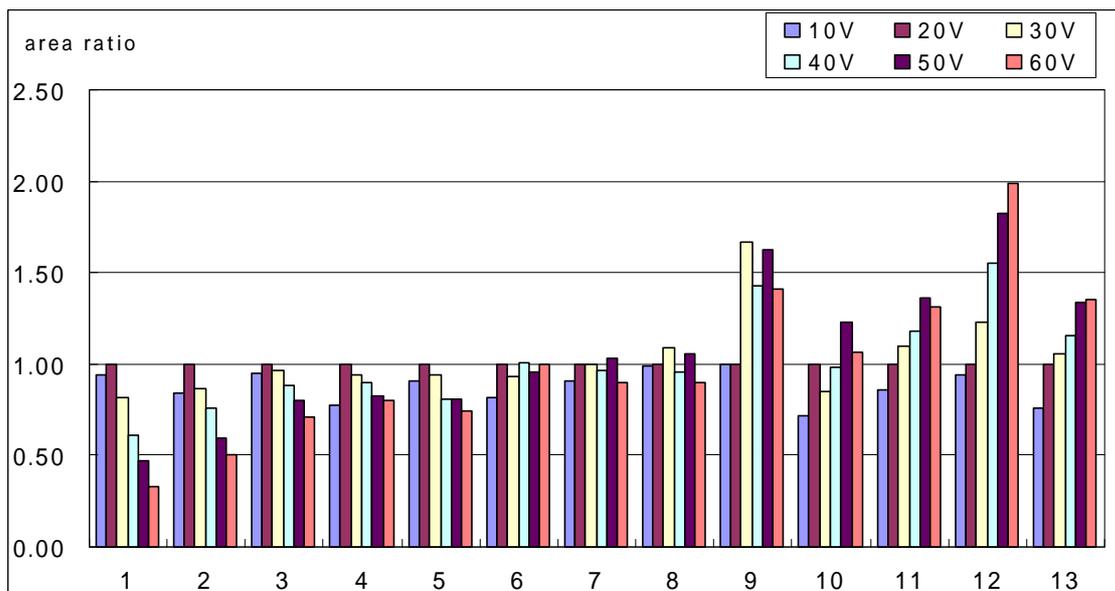


図 6.3.3-3 CDL 電圧とピーク強度

次に、CDL 電圧 20V における DEFs 電圧と各物質のピーク強度の関係を図 6.3.3-4 に示した。DEFs 電圧が -30V でのピーク強度値を 1.00 として相対強度で表示した。Formaldehyde は DEFs 電圧が -35V のときピーク強度が最も強かったが、その他の化合物については -45V のときに最高値を示した。

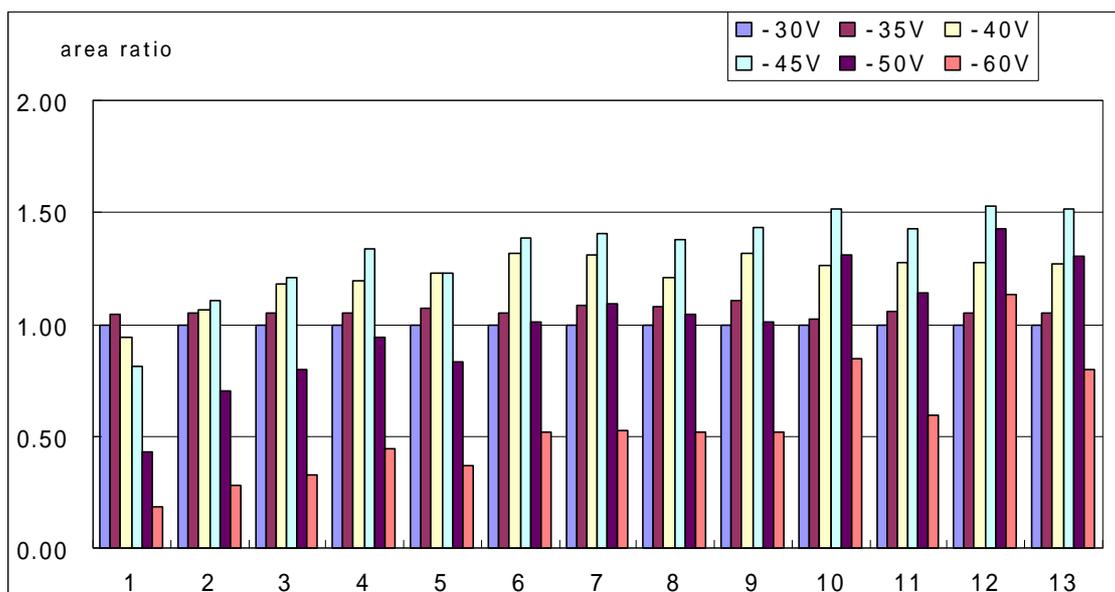


図 6.3.3-4 DEFs 電圧とピーク強度(CDL 電圧 : 20V)

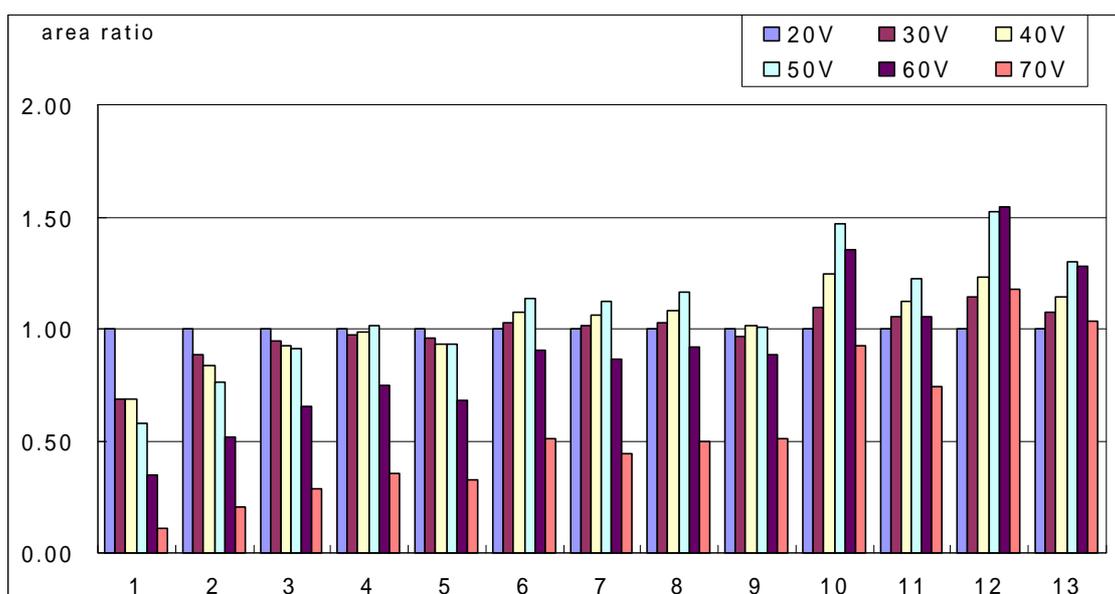


図 6.3.3-5 CDL 電圧とピーク強度(DEFs : -45V)

この結果をもとに、DEFs 電圧を - 45V に固定して CDL 電圧を 20 ~ 70V まで変化させ、各カルボニル化合物のピーク強度を調べた。結果を図 6.3.3-5 に示す。

以上の結果より、Formaldehyde から Crotonaldehyde までの物質については CDL 電圧が 20V で DEFs 電圧は - 45V、Metacrolein より後の物質については CDL 電圧が 50V で DEFs 電圧は - 45V のときが最適条件であるとした。

6.3.3-4 APCI プロ - ブ温度及び CDL 温度

APCI プロ - ブ温度及び CDL 温度による影響についてはそれほど顕著な差はみられなか

った。ここでは APCI プロ - ブ温度についての結果のみ図 6.3.3-6 に示す。

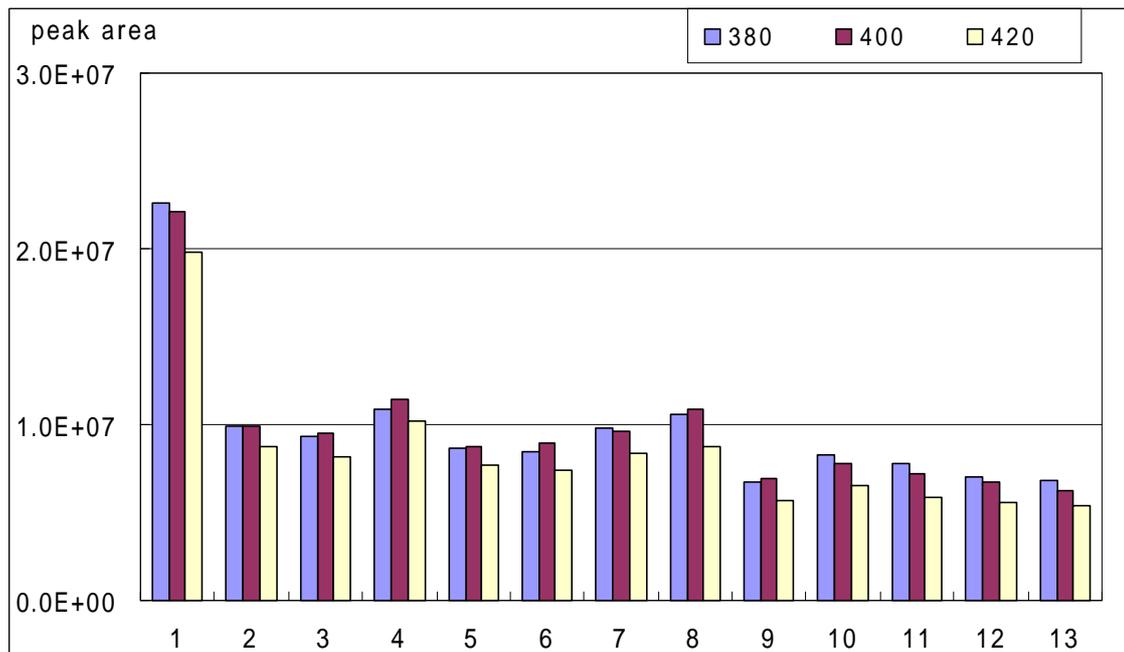


図 6.3.3-6 APCI プロ - ブ温度とピーク強度

各物質のピーク強度はプローブ温度が 420 と高くなるにつれピーク強度は弱くなる傾向にあった。しかし、ほとんど差は認められないが、230 の時が最もピーク強度が強い。従って各物質ともに CDL 温度は 230 、 APCI プロ - ブ温度は 400 が最適温度であった。

6.3.3-5 注入量

各々 0.05 $\mu\text{g/mL}$ (Formaldehyde のみ 0.1 $\mu\text{g/mL}$) のアセトニトリル溶液 1 ~ 30 μl を注入し、注入量とピーク面積との直線性を求めた。ほとんどの物質について 30 μl まで直線性が得られたが、30 μl 注入した場合にはピークがブロードになり形状が悪くなった。特に、Butyraldehyde と 2 -Butanone は 10 μl 以上ではピークが広がり両者の分離が悪くなった。この結果より注入量は 5 μl とした。

6.3.3-6 検量線及び注入の再現性

13 物質を含む 0.004 ~ 2.0 $\mu\text{g/mL}$ のアセトニトリル溶液を 5 μl 注入して検量線を作成した。表 6.3.3-2 に得られた検量線の直線性の範囲を示す。各々の範囲での相関係数は、0.997 ~ 1.000 で、検出限界は 0.01 ~ 0.025ng であった。

各々 0.05 $\mu\text{g/mL}$ (Formaldehyde のみ 0.1 $\mu\text{g/mL}$) のアセトニトリル溶液 5 μl を注入したときのピーク面積の再現性についての結果を表 6.3.3-3 に示す。ほとんどの物質についての変動係数は 0.48 ~ 8.82% と良好な結果が得られた。

表 6.3.3-2 検量線の直線性の範囲と相関係数

カルボニル化合物	直線性の範囲 (ng)	相関係数
Formaldehyde	0.02 - 10.0	1.00
Acetaldehyde	0.025 - 5.0	1.00
Acrolein	0.025 - 5.0	0.999
Acetone	0.025 - 5.0	0.997
Propionaldehyde	0.025 - 5.0	0.999
Crotonaldehyde	0.05 - 5.0	0.997
Methacrolein	0.025 - 5.0	0.999
2-Butanone	0.05 - 5.0	0.999
n-Butyraldehyde	0.05 - 5.0	0.996
Benzaldehyde	0.025 - 5.0	1.00
n-Valeraldehyde	0.020 - 5.0	1.00
p-Tolualdehyde	0.025 - 5.0	1.00
Hexaldehyde	0.025 - 5.0	1.00

表 6.3.3-3 注入の再現性

カルボニル化合物	Average (n=5)	standard deviation	C.V. (%)
Formaldehyde	1284068	30524	2.38
Acetaldehyde	544653	2602	0.48
Acrolein	475600	7648	1.61
Acetone	558242	13740	2.46
Propionaldehyde	453278	11235	2.48
Crotonaldehyde	400644	15876	3.96
Methacrolein	475109	25785	5.43
2-Butanone	511442	30489	5.96
n-Butyraldehyde	329595	29074	8.82
Benzaldehyde	348289	15011	4.31
n-Valeraldehyde	359064	21330	5.94
p-Tolualdehyde	299383	18977	6.34
Hexaldehyde	310695	12647	4.07

6.3.4 応用分析例

本法を都市空気及び工場排ガス中のカルボニル化合物の分析に応用した。

表 6.3.4-1 応用分析例 *

Carbonyl Compounds	Urban Air (ng/m ³)	Industrial emission 1 (μg/m ³)		Industrial emission 2 (μg/m ³)		Industrial emission 3 (μg/m ³)	
	LC/MS	LC/MS	LC	LC/MS	LC	LC/MS	LC
Formaldehyde	5.12	2.22	2.43	4.25	4.78	5.68	5.51
Acetaldehyde	2.33	1.63	1.93	2.39	2.83	3.20	3.84
Acrolein	n.d.	n.d.	----	n.d.	----	n.d.	----
Acetone	4.54	10.13	----	2.97	----	12.3	----
Propionaldehyde	0.57	0.49	n.d.	0.48	n.d.	0.69	----
Crotonaldehyde	n.d.	n.d.	----	n.d.	----	n.d.	----
Methacrolein	n.d.	0.45	----	0.65	----	0.51	----
2-Butanone	1.13	4.72	----	1.74	----	1.62	----
n-Butyraldehyde	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.34	n.d.
Benzaldehyde	0.43	0.30	----	0.45	----	0.49	----
n-Valeraldehyde	0.21	0.14	n.d.	n.d.	n.d.	0.03	n.d.
p-Tolualdehyde	0.16	n.d.	----	n.d.	----	0.20	----
Hexaldehyde	0.09	0.12	----	0.19	----	0.14	----

*Sampling volume : 200L of the urban air at 1L/min; 60L of the industrial emissions at 1L/min.

---- : 測定せず n.d. : 検出せず

Waters 社製 Sep-Pak DNPH カートリッジを 2 個連結し、その前にオゾンスクラバーを接続して、都市空気及び工場排ガスを通気採取したものを分析試料とした。結果を表 6.3.4-1 に示す。工場排ガスについては HPLC 法で同時分析を行ったのでその結果も併せて示した。また、代表的なクロマトグラムを図 6.3.4-1 及び図 6.3.4-2 に示す。従来の HPLC 法では測定できなかった分子量の高いカルボニル化合物についても測定可能で、空気中や排ガス中からも Benzaldehyde や Hexaldehyde などが検出された。

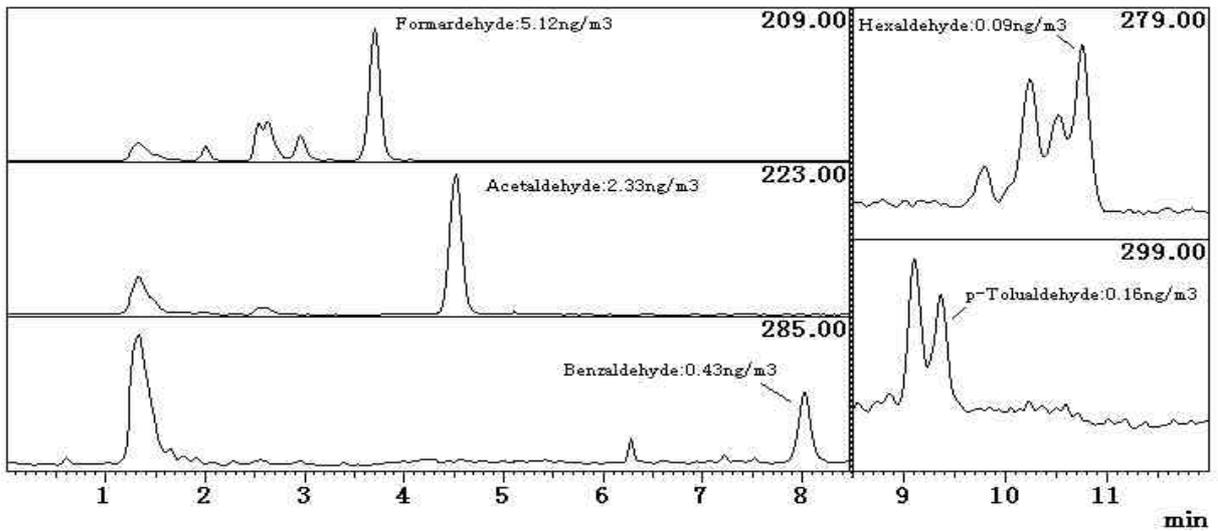


図 6.3.4-1 都市空気の分析例

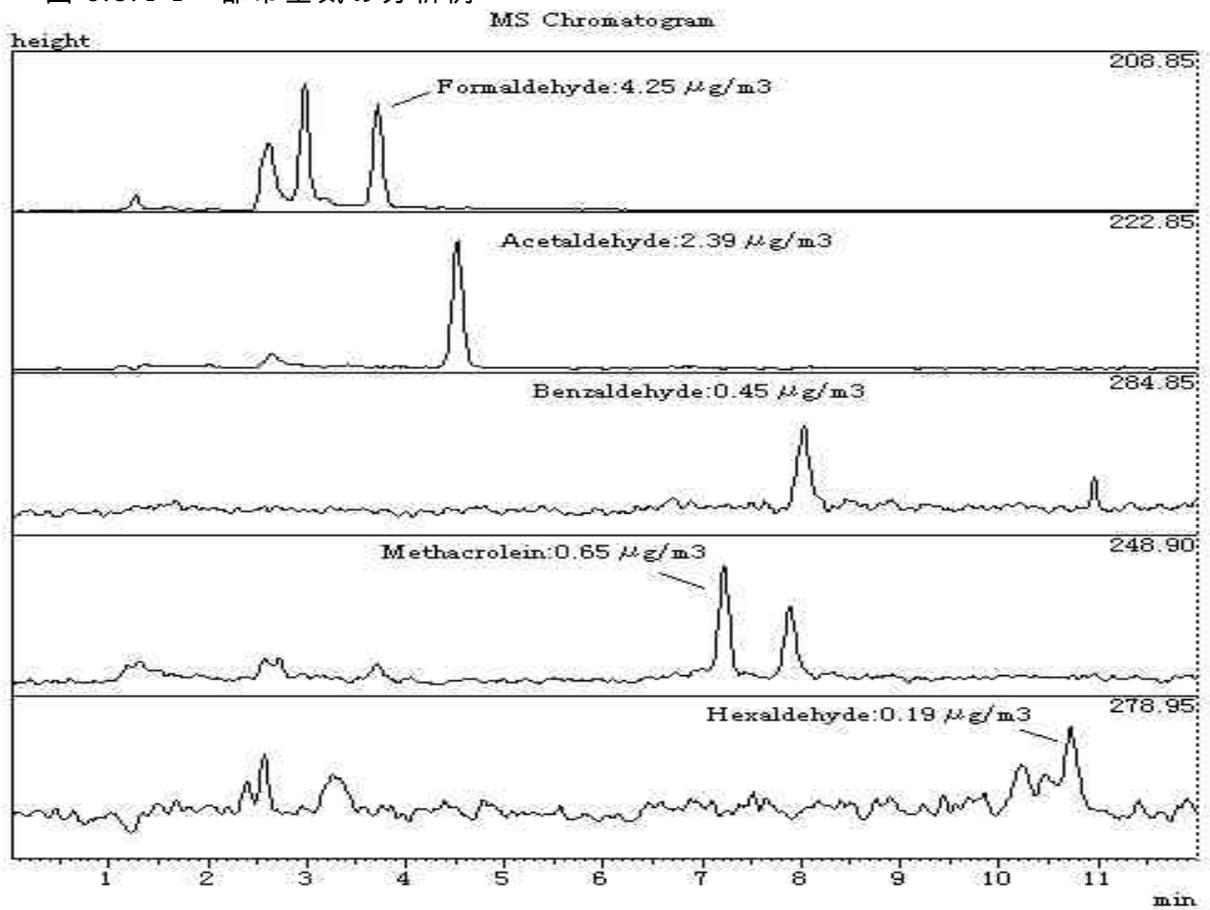


図 6.3.4-2 工場排ガスの分析例

6.3.5 まとめ

LC/MS 分析での検出感度はイオン化条件、特に CDL 及び DEFs 電圧の影響を強く受ける。しかし、APCI プロ - ブ及び CDL 温度による影響は、各々の電圧による影響に比べ小さい。カルボニル化合物の擬分子イオン(M-H)⁻のイオン強度は CDL 及び DEFs 電圧が高くなるほどフラグメンテーションを起こし易くなり擬分子イオンの生成効率が低下する。APCI プロ - ブ及び CDL 温度から個々に受ける影響は少ないが、CDL 及び DEFs 電圧の影響に加えそれらが重なりあった場合には、さらにイオン解裂が促進され、カルボニル化合物-DNPH 誘導体の擬分子イオン(M-H)⁻のイオン強度に影響を及ぼすと考えられる。

カルボニル化合物をカルボニル化合物-DNPH 誘導体として LC-APCI-MS 法により、カルボニル化合物-DNPH の擬分子イオン(M-H)⁻を測定することで 13 物質のカルボニル化合物を 0.02 ~ 0.05ng までは定量することができた。

従来の LC 法では、分析困難である高分子量のカルボニル化合物についても分析可能であり、大気及び工場排ガス中のカルボニル化合物の分析には十分実用的であった。

参考文献

1. L.J.Papa,L.P.Turner:J.Chromatogr.Sci.,10 (1972) p.747
- 2.M.Dalene,P.Persson and G.Skarping: J.Chromatog.,626 (1992) p.284
- 3.NIOSH Method 2541. NIOSH Manual of analytical Method, Electronic Version, 1994
4. K.Kuwata,M.Uebori, Y.Yamasaki:Anal.Chem.,55(1983)2013
- 5.S.P.Tejeta,:Intern. J. Environ. Anal. Chem.,26 (1986) 167
- 6.Method TO-11, EPA-600/4-89-017 U. S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park,
NC, 1988