

アミルケイ皮アルデヒド

Amylcinnamic aldehyde

別名： α -ペンチルシンナムアルデヒド、 α -Pentylcinnamaldehyde

IUPAC Name：(2Z)-2-(phenylmethylidene)heptanal

ペントナール

Pentanal

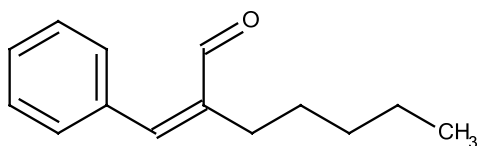
別名：吉草酸アルデヒド、Valeraldehyde

4-メトキシベンズアルデヒド

4-Methoxybenzaldehyde

別名： p -アニスアルデヒド、 p -Anisaldehyde

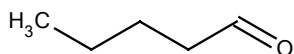
【対象物質及び構造式】



アミルケイ皮アルデヒド

CAS 番号：122-40-7

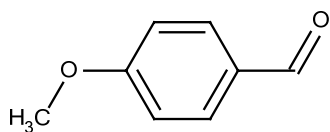
分子式：C₁₄H₁₈O



ペントナール

CAS 番号：110-62-3

分子式：C₅H₁₀O



4-メトキシベンズアルデヒド

CAS 番号：123-11-5

分子式：C₈H₈O₂

【物理化学的性状】

物質名	分子量	沸点 (°C)	蒸気圧 (mmHg)	水溶解度 (25°C)	log P _{ow}
アミルケイ皮 アルデヒド	202.30	287-290	0.000452 ¹⁾ (計算値)	5.03 mg/L ¹⁾ (計算値)	4.33 ¹⁾ (計算値)
ペンタナール	86.14	103	26 ¹⁾	11.7 g/L ¹⁾	1.31 ¹⁾ (計算値)
4-メトキシベンズ アルデヒド	136.15	248	0.0329 ¹⁾	4290 mg/L ¹⁾	1.76 ¹⁾

1) SRC PhysProp Database

【毒性・用途】

物質名		毒性 (mg/kg)		用途
アミルケイ皮 アルデヒド	ラット	経口 LD ₅₀	3730 ¹⁾	香料
ペンタナール	ラット	経口 LD ₅₀	3200 ²⁾	合成中間体
	マウス	経口 LD ₅₀	6400 ²⁾	
	ウサギ	経皮 LD ₅₀	4860 ²⁾	
4-メトキシベンズ アルデヒド	ラット	経口 LD ₅₀	1510 ¹⁾	医薬品や香料の 合成における中 間体
	マウス	経口 LD ₅₀	1859 ¹⁾	
	モルモット	経口 LD ₅₀	1260 ²⁾	

1) 和光純薬工業：製品安全データシート (MSDS)

2) 関東化学：製品安全データシート (MSDS)

§1 分析法

(1) 分析法の概要

水質試料 (100 mL) にジニトロフェニルヒドラジン (DNPH) 溶液を加えて、塩酸で pH 1 に調整し、30 分間反応させる。生成した DNPH 誘導体を固相抽出し、50%アセトニトリル水溶液で洗浄後、アセトニトリルで溶出する。10 mL に定容後、1.00 mL を分取し内標準物質を加えて、LC-MS/MS で測定を行う。

(2) 試薬・器具

【試薬】

アセトニトリル	: 和光純薬工業製 高速液体クロマトグラフ用
塩酸	: 和光純薬工業製特級
水酸化ナトリウム	: 和光純薬工業製特級
クエン酸	: 和光純薬工業製特級
クエン酸三ナトリウム二水和物	: 和光純薬工業製特級
2,4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH)	: 和光純薬工業製特級
α -ペンチルシンナムアルデヒド (アミルケイ皮アルデヒド)	: 和光純薬工業製特級
<i>p</i> -アニスアルデヒド (4-メトキシベンズアルデヒド)	: 関東化学製
<i>n</i> -吉草酸アルデヒド (ペンタナール)	: 関東化学製
Valeraldehyde-DNPH (100 μ g/mL) (ペンタナール-DNPH)	: SUPELCO 製
4-Methoxy- <i>d</i> ₃ -benzaldehyde	: CDN ISOTOPES 製

【器具】

三角フラスコ (100、500 mL)、pH メーター D-21 (HORIBA 製)、InertSep C18 (2 g、12 mL、ジエールサイエンス製)、吸引マニホールド、真空ポンプ、試験管、メスフラスコ (10 mL)、ホールピペット (1 mL)、ガラス繊維ろ紙 (1 μ m)

(3) 分析法

【試料の採取及び保存】

環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」（平成 21 年 3 月）に従う。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料（100 mL）を三角フラスコに取り、DNPH アセトニトリル溶液（3 mg/mL）を 6 mL 加えた後、12 mol/L 塩酸で pH 1 に調整し、30 分間誘導体化を行う。誘導体化後、クエン酸緩衝液（後述）4 mL を加え、5 mol/L 水酸化ナトリウムで pH 3 に調整する（注 1）。この試料溶液を、あらかじめアセトニトリル 30 mL 及び精製水 30 mL でコンディショニングした固相カートリッジ InertSep C18 に 10 mL/min で通水し、DNPH 誘導体を捕集する。通水後、精製水 20 mL、50%アセトニトリル／水 30 mL を順に流して固相カートリッジを洗浄し、アセトニトリル 10 mL で DNPH 誘導体を溶出させる。これを試料前処理液とする。この試料前処理液をアセトニトリルで 10 mL に定容後、1 mL を分取して、内標準物質（4-メトキシ- d_3 -ベンズアルデヒド DNPH 誘導体）を 20.0 ng(ALD)（注 2）添加し、試験液とする。

【空試験液の調製】

精製水 100 mL で【試料の前処理及び試験液の調製】の操作を行い、得られた試験液を空試験液とする。

【標準液等の調製】

〔DNPH 誘導体〕

DNPH 3 g を三角フラスコにはかり取り、2 mol/L 塩酸 300 mL を加え、マグネチックスターラーで 1 時間攪拌する。残渣をアセトニトリルと 2 mol/L 塩酸で洗浄したガラス繊維ろ紙でろ過して、DNPH 塩酸溶液を作成する。この溶液に誘導体化する測定物質 0.2 g を攪拌しながら徐々に加え、沈殿した DNPH 誘導体をろ過し、2 mol/L 塩酸で洗った後、精製水で洗い、乾燥させて DNPH 誘導体の合成を行う（注 3）。

アミルケイ皮アルデヒド DNPH 誘導体を DNPH アセトニトリル溶液（2 µg/mL）に溶解し、100 µg/mL(ALD)の標準原液を調製する。

他の DNPH 誘導体はアセトニトリルに溶解し、100 µg/mL(ALD)の標準原液を調製する。これらの標準原液を DNPH アセトニトリル溶液（2 µg/mL）で順次希釈し、検量線用標準溶液を作成する。

内標準原液として、4-メトキシ- d_3 -ベンズアルデヒド DNPH 誘導体をアセトニトリルに溶解し、100 µg/mL(ALD)の内標準原液を調製する。この内標準原液をアセトニトリルで順次希釈し、1.00 µg/mL(ALD)の内標準溶液を調製する。

〔アルデヒド〕

各標準物質をアセトニトリルに溶解し 1.00 mg/mL の標準原液を調製する。この標準原液をアセトニトリルで順次希釈し、標準液を作成する。

〔DNPH アセトニトリル溶液〕

DNPH をアセトニトリルに溶解し、3 mg/mL に調製して DNPH アセトニトリル溶液を作成する。この溶液をアセトニトリルで順次希釈し、2 µg/mL の DNPH アセトニトリル溶液を作成する。

〔クエン酸緩衝液〕

クエン酸とクエン酸三ナトリウムをそれぞれ精製水に溶解し、1 mol/L になるように調製する。調製したクエン酸水溶液 80 mL とクエン酸三ナトリウム水溶液 20 mL を合わせてクエン酸緩衝液を作成する。クエン酸緩衝液の pH を確認して pH 3 でない場合は 2 mol/L 塩酸、5 mol/L 水酸化ナトリウムを用いて pH 3 に調整する。

【検量線用標準液の調製】

各アルデヒド DNPH 誘導体の標準原液を DNPH アセトニトリル溶液 (2 µg/mL) で希釈し、アミルケイ皮アルデヒドは 0.200～10.0 ng/mL(ALD)、ペンタナールと 4-メトキシベンズアルデヒドは 0.500～40.0 ng/mL(ALD)の範囲にわたる 5 種類以上の濃度で検量線用標準液を作成する。各濃度の標準液には 20.0 ng/mL(ALD)の濃度になるように内標準物質を添加する。

【測定】

〔LC-MS/MS 分析条件〕 (注 4、5)

使用機器

HPLC : Prominence (島津製作所製)
MS装置 : API 3200 (Applied Biosystems製)

HPLC条件

分析カラム : Wakosil DNPH 2.0 × 250 mm, 5 µm (和光純薬工業製)
HPLC移動相 : A液 : 水
 : B液 : メタノール
 0→15 min A : 20→0 B : 80→100
 15→22 min A : B = 0 : 100
 22→23 min A : 0→20 B : 100→80
 23→33 min A : B = 20 : 80
流量 : 0.2 mL/min
カラム温度 : 40℃
注入量 : 5 µL

MS条件

イオン化法	: APCI-Negative (SRM)
Curtain Gas	: 10 psi
Nebulizer Current	: - 5 μ A
Temperature	: 300°C
Nebulizer Gas	: 30 psi

モニターイオン	: アミルケイ皮アルデヒド	381.0 / 46.0 (定量用)
	DNPH誘導体	381.0 / 152.0 (確認用)
	ペンタナールDNPH誘導体	265.0 / 46.0 (定量用)
		265.0 / 152.0 (確認用)
	4-メトキシベンズアルデヒド	315.0 / 46.0 (定量用)
	DNPH誘導体	315.0 / 151.0 (確認用)
	4-メトキシ- d_3 -ベンズアルデヒド	318.0 / 46.0
	DNPH誘導体	

〔検量線〕

検量線用標準液 5 μ L を LC/MS に導入して分析する。得られる各クロマトグラムにおいて、標準物質のピーク面積を内標準物質のピーク面積で割って得られる比を計算し、検量線の縦軸とする（注 6）。分析した検量線用標準液に含まれる標準物質の濃度を内標準物質の濃度で割って得られる比を計算し、検量線の横軸とする。最小二乗法により一次の検量線を作成し、関係式及び寄与率 (r^2) を計算する。寄与率が 0.995 以上であることを確認する。

〔定量〕

試験液 5 μ L を LC/MS に導入して分析する。得られた被検物質のピーク面積を内標準物質のピーク面積で割った比から、検量線を基にして、被検物質濃度を内標準濃度で割った比 (R) を求める（注 6）。

〔濃度の算出〕

試料中濃度 C (ng/L) は次式により算出する。

$$C = R \cdot Q \cdot L_1 / L_2 / V$$

R : 検量線から求めた被検物質濃度を内標準物質濃度で割った比

Q : 試料中に添加した内標準の量 (ng)

L_1 : 最終液量 (mL)

L_2 : 分取量 (mL)

V : 試料水量 (L)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$$Q = 20 \text{ (ng)}$$

$$L_1 = 10 \text{ (mL)}$$

$$L_2 = 1 \text{ (mL)}$$

$$V = 0.100 \text{ (L)}$$

即ち、

$$C = R \times 2000 \text{ (ng/L)}$$

〔装置検出下限値 (IDL)〕

本分析に用いた LC-MS/MS の IDL を表 1 に示す (注 7)。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (L)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/L)
アミルケイ皮 アルデヒド	0.059	0.100	10	5.9
ペンタナール	0.12	0.100	10	12
4-メトキシベンズ アルデヒド	0.11	0.100	10	11

〔測定方法の検出下限値 (MDL) 及び定量下限値 (MQL)〕

本分析法の MDL 及び MQL を表 2 に示す (注 8)。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)
アミルケイ皮 アルデヒド	0.100	10	10	27
ペンタナール	0.100	10	21	53
4-メトキシベンズ アルデヒド	0.100	10	14	37

注 解

- (注 1) シリカベースの固相カートリッジを使用するため、化学結合基の加水分解を考慮し、抽出条件を参考にした EPA method 8315A と同じ pH 3 とした。
- (注 2) これ以後、DNPH 誘導体の濃度や量について「ng(ALD)」や「ng/mL(ALD)」と表記した場合、DNPH 誘導体としてではなく、それぞれアルデヒドとしての量や濃度を表す。
- (注 3) DNPH 誘導体が市販されていない等の理由で入手できない場合は、合成を行い HPLC で純度試験を行う。面積百分率で 99% 以下の場合、アセトニトリル中で再結晶を行い、純度を向上させる。
- (注 4) LC/MS の条件は、本測定に使用した機種特有のものである。
- (注 5) ESI でもイオン化は可能で、感度も APCI より良かったが、本測定に使用した装置においては、APCI の方がアミルケイ皮アルデヒド検量線作成時に、直線性が得られやすかったため APCI を採用した。
- (注 6) ペンタナール DNPH 誘導体は、使用している分析条件においてピークが 2 本に分かれるため、これらのピーク面積を合算したものをペンタナール DNPH 誘導体のピーク面積として、定量を行う。

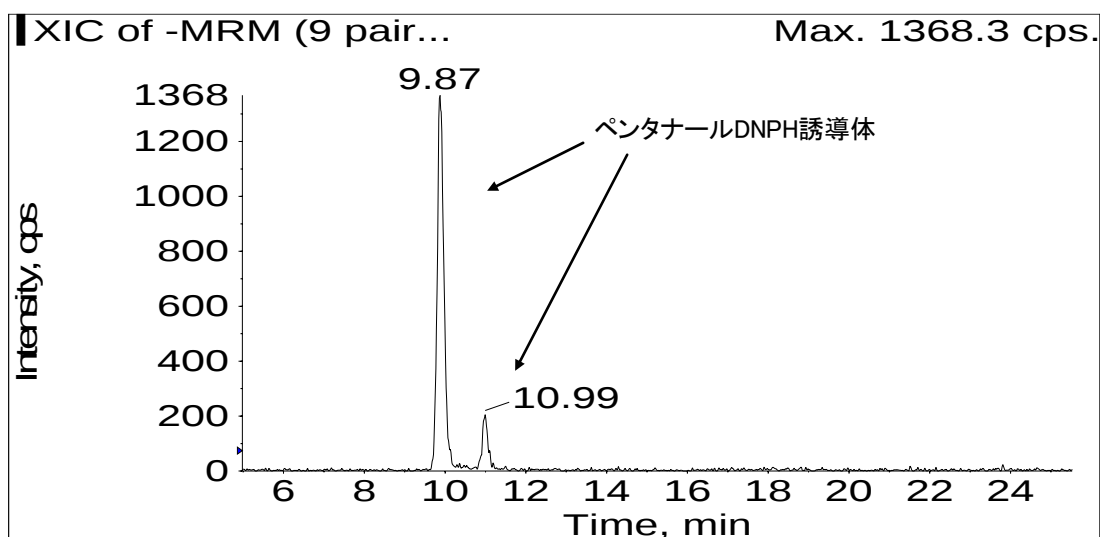


図 1 ペンタナール DNPH 誘導体のクロマトグラム

(注 7) IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 21 年 3 月)に従い、表 3 のとおり算出した。

表 3 IDL の算出結果

物質名	アミルケイ皮 アルデヒド	ペンタナール	4-メトキシベンズ アルデヒド
試料量 (L)	0.100	0.100	0.100
最終液量 (mL)	10	10	10
注入液濃度 (ng/mL)	0.2	0.5	0.5
装置注入量 (μL)	5	5	5
結果1 (ng/mL)	0.200	0.501	0.452
結果2 (ng/mL)	0.181	0.463	0.468
結果3 (ng/mL)	0.187	0.406	0.503
結果4 (ng/mL)	0.198	0.435	0.447
結果5 (ng/mL)	0.226	0.470	0.482
結果6 (ng/mL)	0.203	0.450	0.464
結果7 (ng/mL)	0.185	0.446	0.526
平均値 (ng/mL)	0.1972	0.4530	0.4775
標準偏差 (ng/mL)	0.015	0.030	0.029
IDL (ng/mL)*	0.059	0.12	0.11
IDL試料換算値 (μg/L)	0.0059	0.012	0.011
S/N 比	7	6	12
CV (%)	7.7	6.6	6.0

*IDL = $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

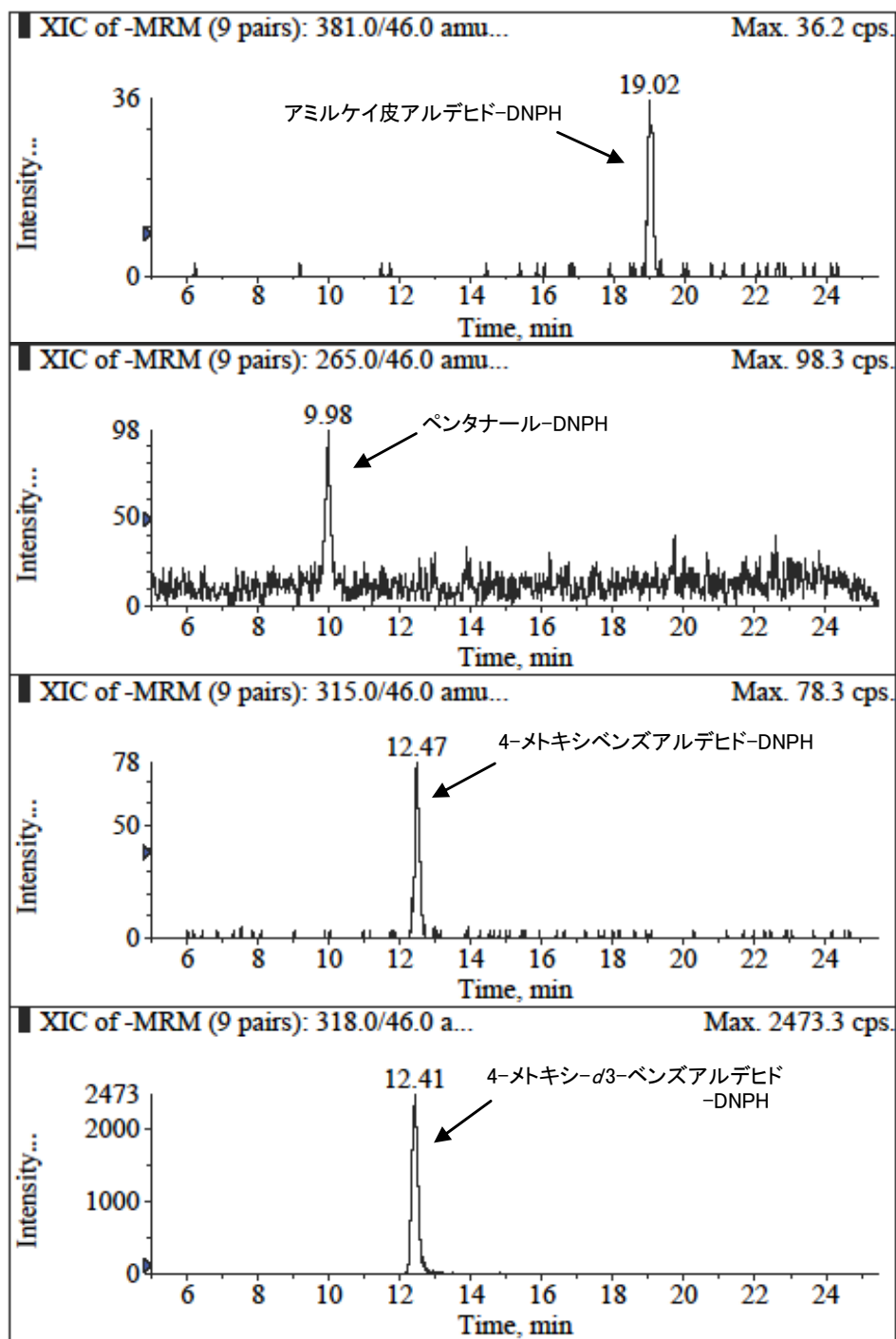


図2 IDL のクロマトグラム

(注 8) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 21 年 3 月)に従い、表 4 のとおり算出した。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	アミルケイ皮 アルデヒド	ペンタナール	4-メトキシベンズ アルデヒド
試料	河川水	河川水	河川水
試料量 (L)	0.100	0.100	0.100
標準添加量 (ng)	3.00	6.00	6.00
試料換算濃度 (ng/L)	30	60	60
最終液量 (mL)	10	10	10
注入液濃度 (ng/mL)	0.30	0.60	0.60
装置注入量 (μL)	5	5	5
操作ブランク (ng/L) ^{*1}	ND	ND	ND
無添加 (ng/L) ^{*2}	ND	ND	ND
結果1 (ng/L)	28.1	48.1	54.8
結果2 (ng/L)	26.1	62.2	57.3
結果3 (ng/L)	23.8	49.8	59.3
結果4 (ng/L)	23.2	49.1	62.3
結果5 (ng/L)	26.6	57.7	52.3
結果6 (ng/L)	29.7	56.4	51.9
結果7 (ng/L)	22.4	51.1	56.8
平均値 (ng/L)	25.72	53.50	56.37
標準偏差 (ng/L)	2.69	5.31	3.73
MDL (ng/L) ^{*3}	10	21	14
MQL (ng/L) ^{*4}	27	53	37
S/N 比	10	7	12
CV (%)	10	9.9	6.6

*1 操作ブランク平均：試料マトリックスのみがない状態で他は同様の操作を行い測定した値 (n= 1)

*2 無添加平均：MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度 (n= 1)

*3 $MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

*4 $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

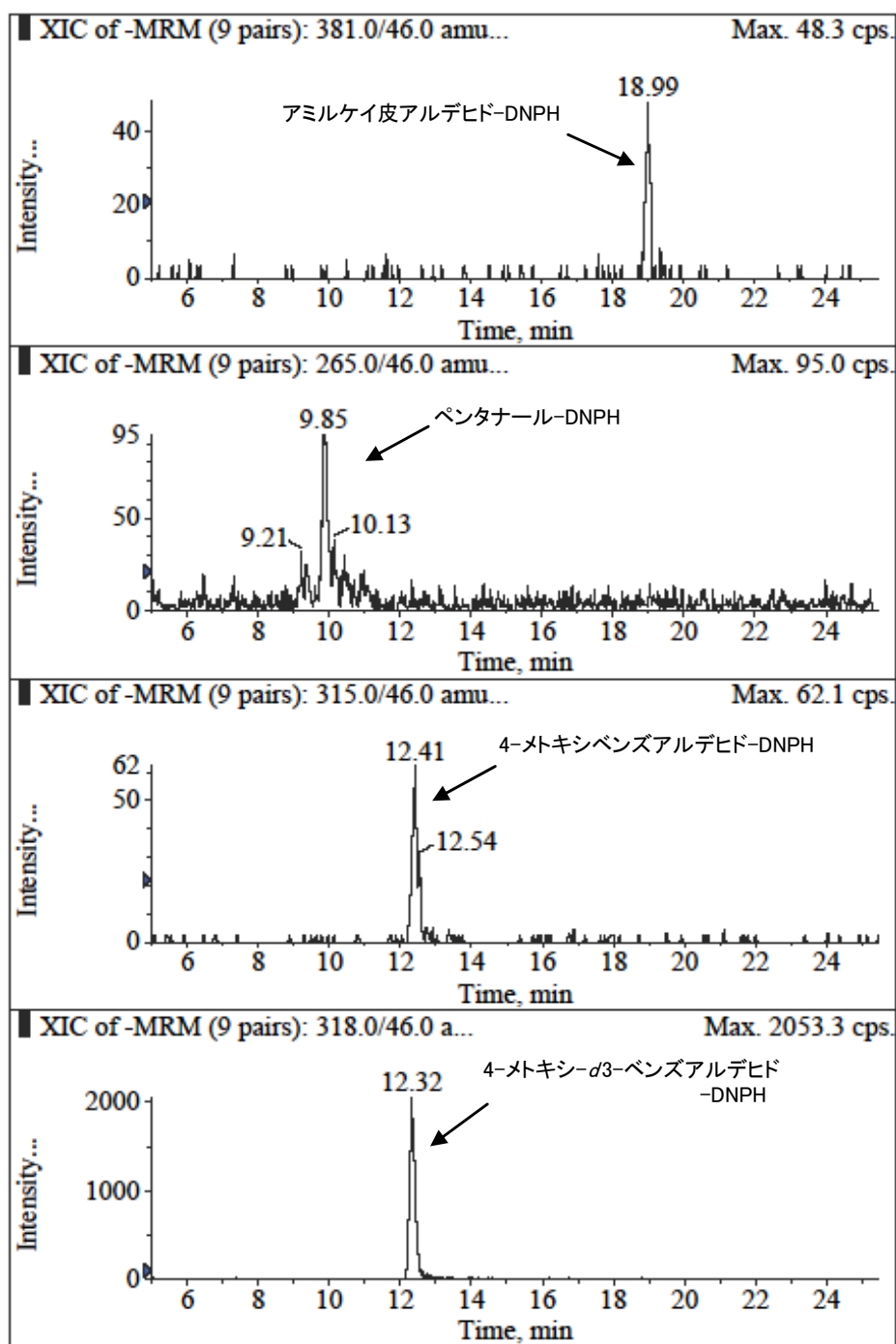


図3 MDL のクロマトグラム

§ 2 解 説

【分析法】

【フローチャート】

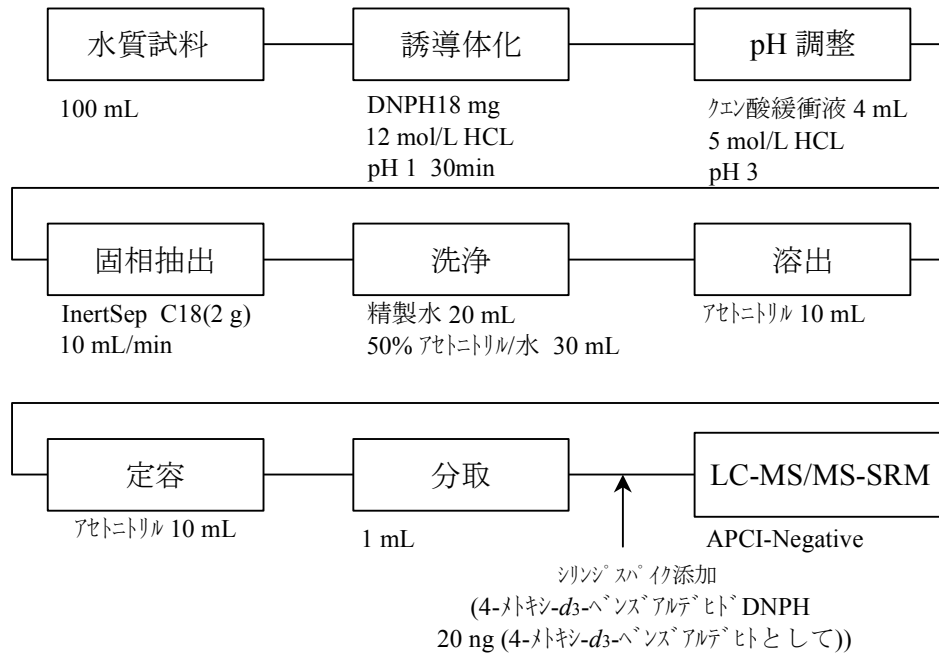


図 4 分析法のフローチャート

【検量線】

$r^2=0.999$ 以上の良好な直線性であった。検量線を以下に示す。

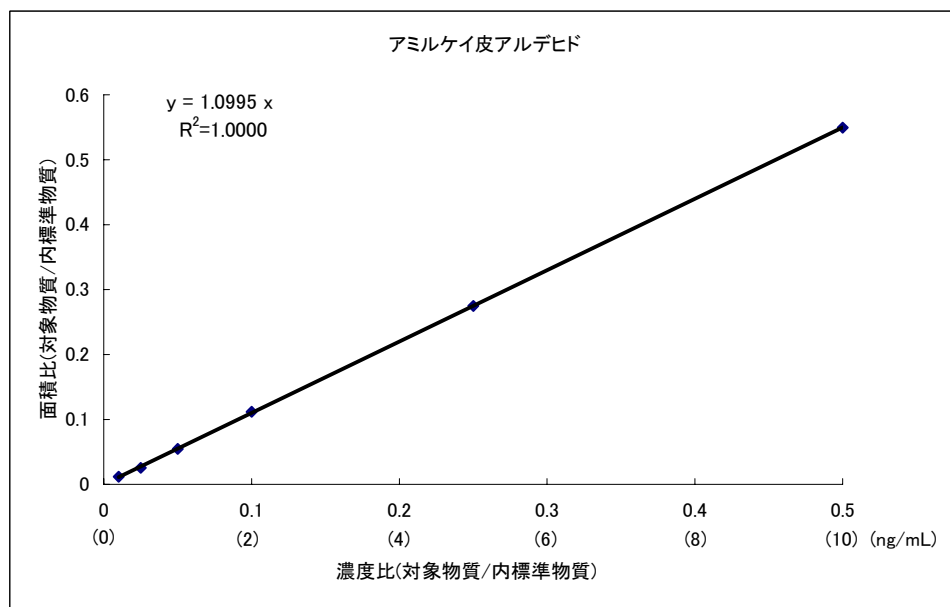


図 5 検量線

(内標準物質 20.0 ng/mL、対象物質濃度範囲 0.200~10.0 ng/mL)

表 5 検量線作成用データ (アミルケイ皮アルデヒド)

試料名	面積値	IS 面積値	比 (面積値 / IS 面積値)	計算濃度	%偏差
0.2 ng/mL	313	26264	0.0119	0.217	8.5
0.5 ng/mL	726	28543	0.0254	0.463	-7.5
1 ng/mL	1482	27206	0.0545	0.991	-0.92
2 ng/mL	2967	26571	0.112	2.03	1.5
5 ng/mL	7451	27087	0.275	5.00	0.069
10 ng/mL	14686	26729	0.549	9.99	-0.056

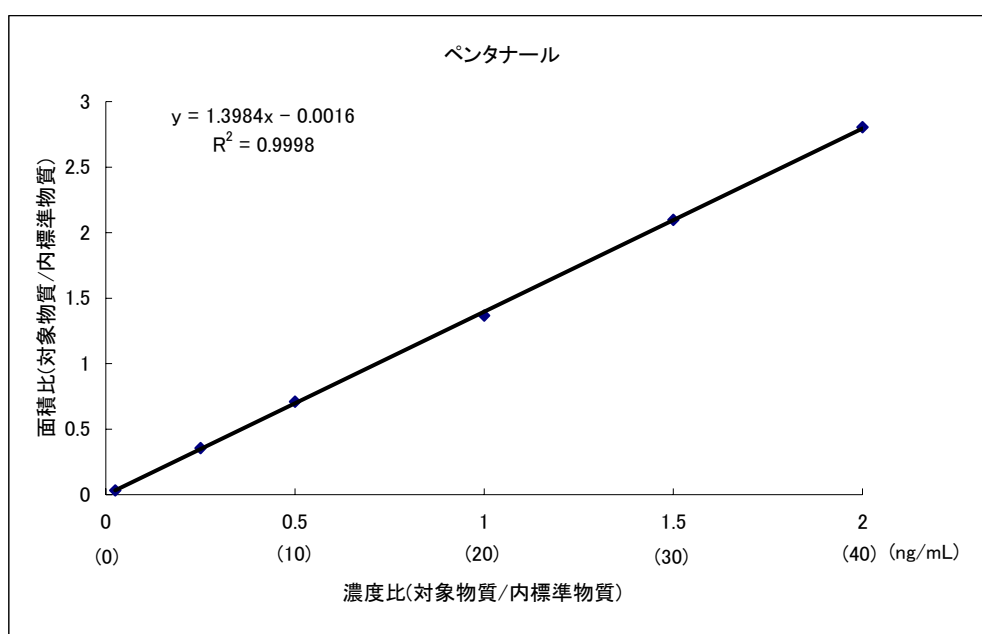


図 6 検量線
(内標準物質 20.0 ng/mL、対象物質濃度範囲 0.500~40.0 ng/mL)

表 6 検量線作成用データ (ペンタナール)

試料名	面積値	IS 面積値	比 (面積値 / IS 面積値)	計算濃度	%偏差
0.5 ng/mL	903	28543	0.0316	0.475	-5.0
5 ng/mL	9630	27087	0.356	5.11	2.2
10 ng/mL	18984	26729	0.710	10.2	1.8
20 ng/mL	37958	27752	1.37	19.6	-2.1
30 ng/mL	56999	27187	2.10	30.0	0.029
40 ng/mL	74430	26534	2.81	40.1	0.36

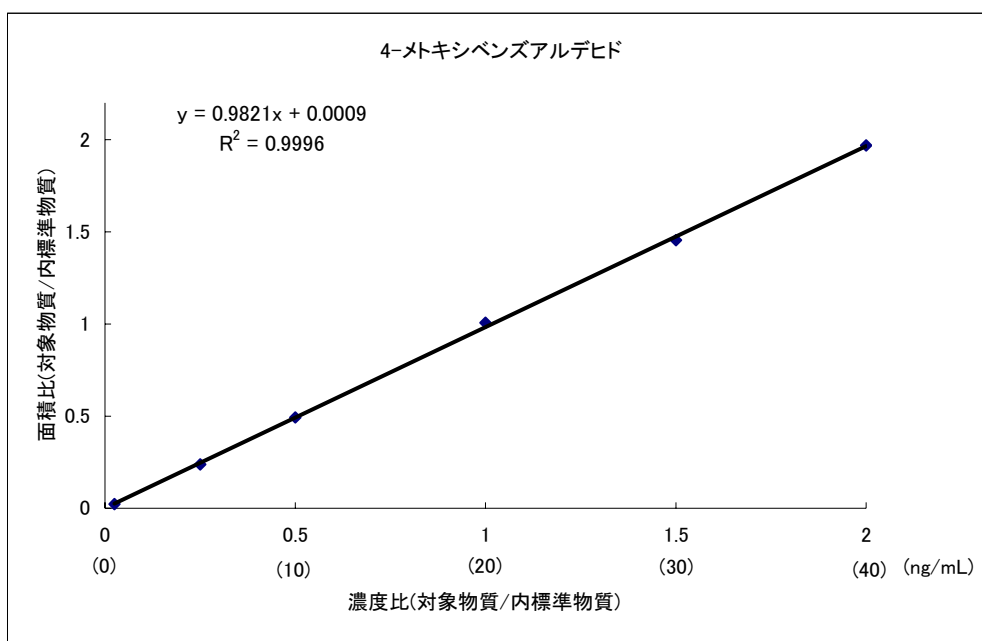


図 7 検量線 (内標準物質 20.0 ng/mL、対象物質濃度範囲 0.500~40.0 ng/mL)

表 7 検量線作成用データ (4-メトキシベンズアルデヒド)

試料名	面積値	IS 面積値	比 (面積値 / IS 面積値)	計算濃度	%偏差
0.5 ng/mL	668	28543	0.0234	0.458	-8.4
5 ng/mL	6469	27087	0.239	4.85	-3.1
10 ng/mL	13199	26729	0.494	10.0	0.38
20 ng/mL	27948	27752	1.01	20.5	2.4
30 ng/mL	39556	27187	1.46	29.6	-1.3
40 ng/mL	52214	26534	1.97	40.1	0.14

〔マススペクトル〕

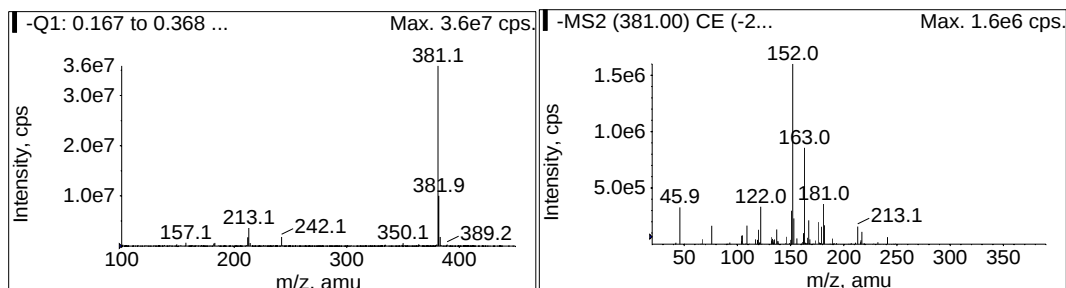


図 8 アミルケイ皮アルデヒド DNPH 誘導体のマススペクトル (左) とプロダクトイオンスペクトル (右)

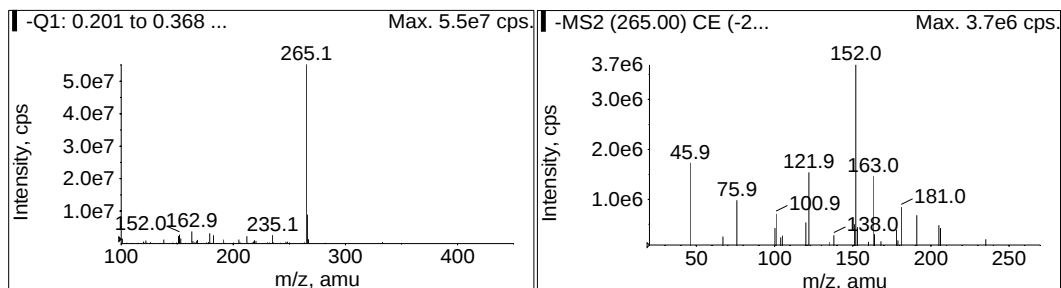


図 9 ペンタナール DNPH 誘導体のマススペクトル (左) とプロダクトイオンスペクトル (右)

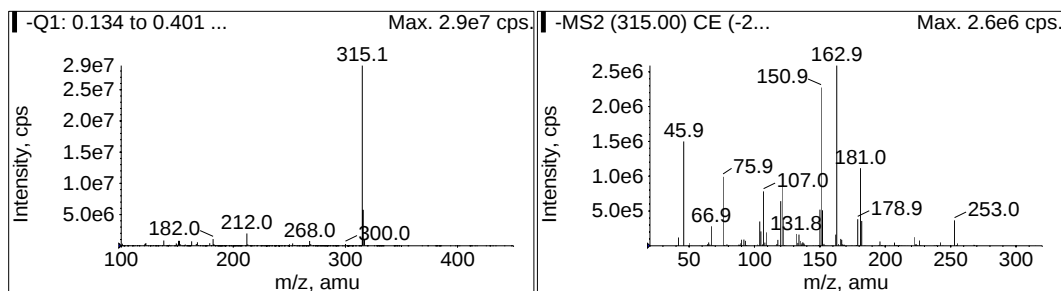


図 10 4-メトキシベンズアルデヒド DNPH 誘導体のマススペクトル (左) とプロダクトイオンスペクトル (右)

〔操作ブランク〕

精製水 100 mL を使用して、【試料の前処理及び試験液の調製】の処理を行い、操作ブランクの確認を行ったところ、検出下限値以下であった。

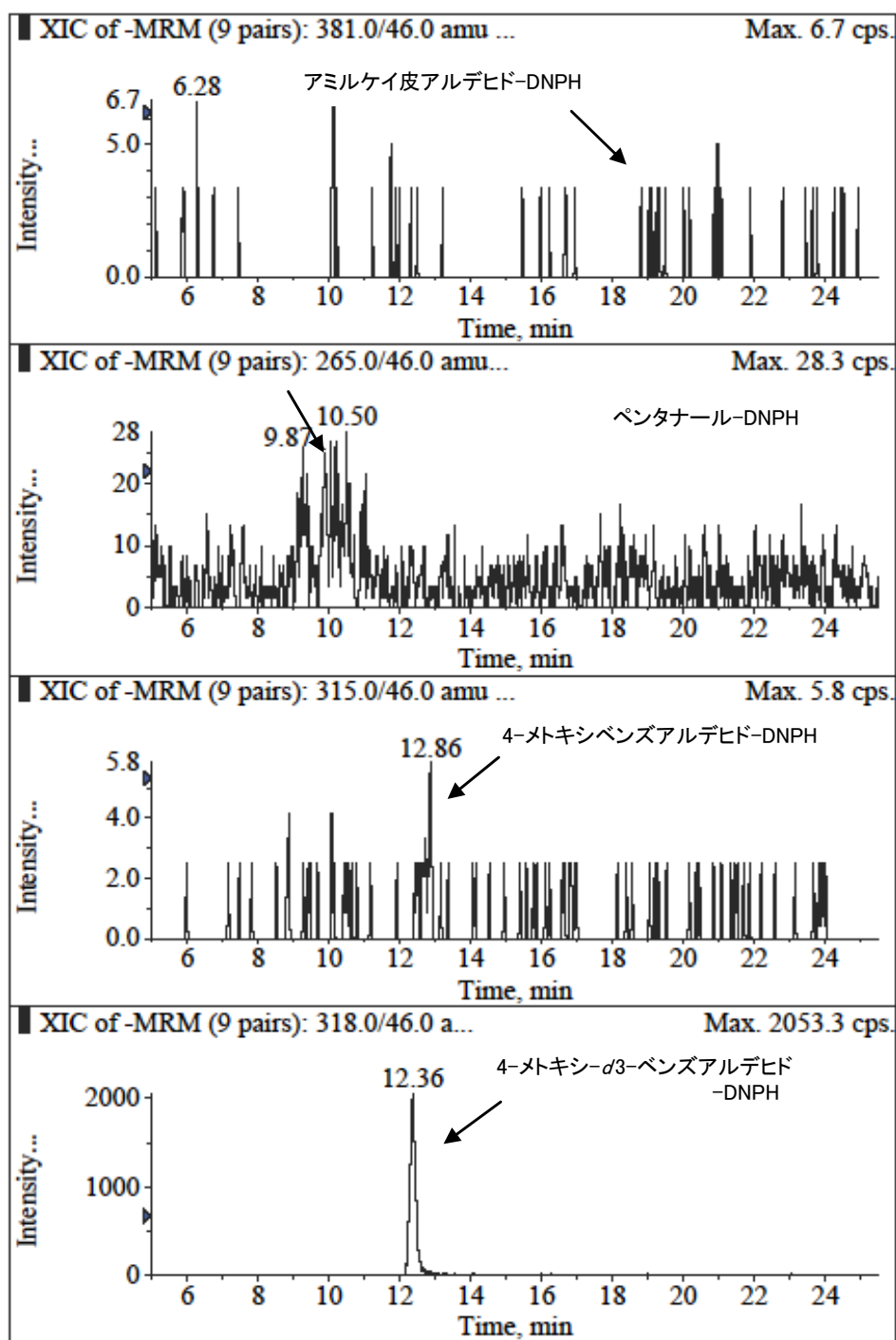


図 11 操作ブランクのクロマトグラム

〔添加回収試験〕

河川水と海水に標準物質を添加して【試料の前処理及び試験液の調製】の操作を行い、無添加試料の結果を差し引いて回収率を算出した。以下に添加回収試験結果を示す。

表 8 添加回収試験結果（河川水）

化合物	試料量 (L)	添加量 (ng)	検体 数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	CV (%)
アミルケイ皮	0.100	無添加	1	ND		
アルデヒド	0.100	3	7	25.7	86	10
ペンタナール	0.100	無添加	1	ND		
	0.100	6	7	53.5	89	9.2
4-メトキシベン ズアルデヒド	0.100	無添加	1	ND		
	0.100	6	7	56.4	94	6.6

※ 河川水については MDL 試験の結果から算出した

表 9 添加回収試験結果（海水）

化合物	試料量 (L)	添加量 (ng)	検体 数	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	CV (%)
アミルケイ皮	0.100	無添加	1	ND		
アルデヒド	0.100	40	5	321	80	7.3
ペンタナール	0.100	無添加	1	ND		
	0.100	80	5	734	92	3.0
4-メトキシベン ズアルデヒド	0.100	無添加	1	ND		
	0.100	80	5	806	101	4.1

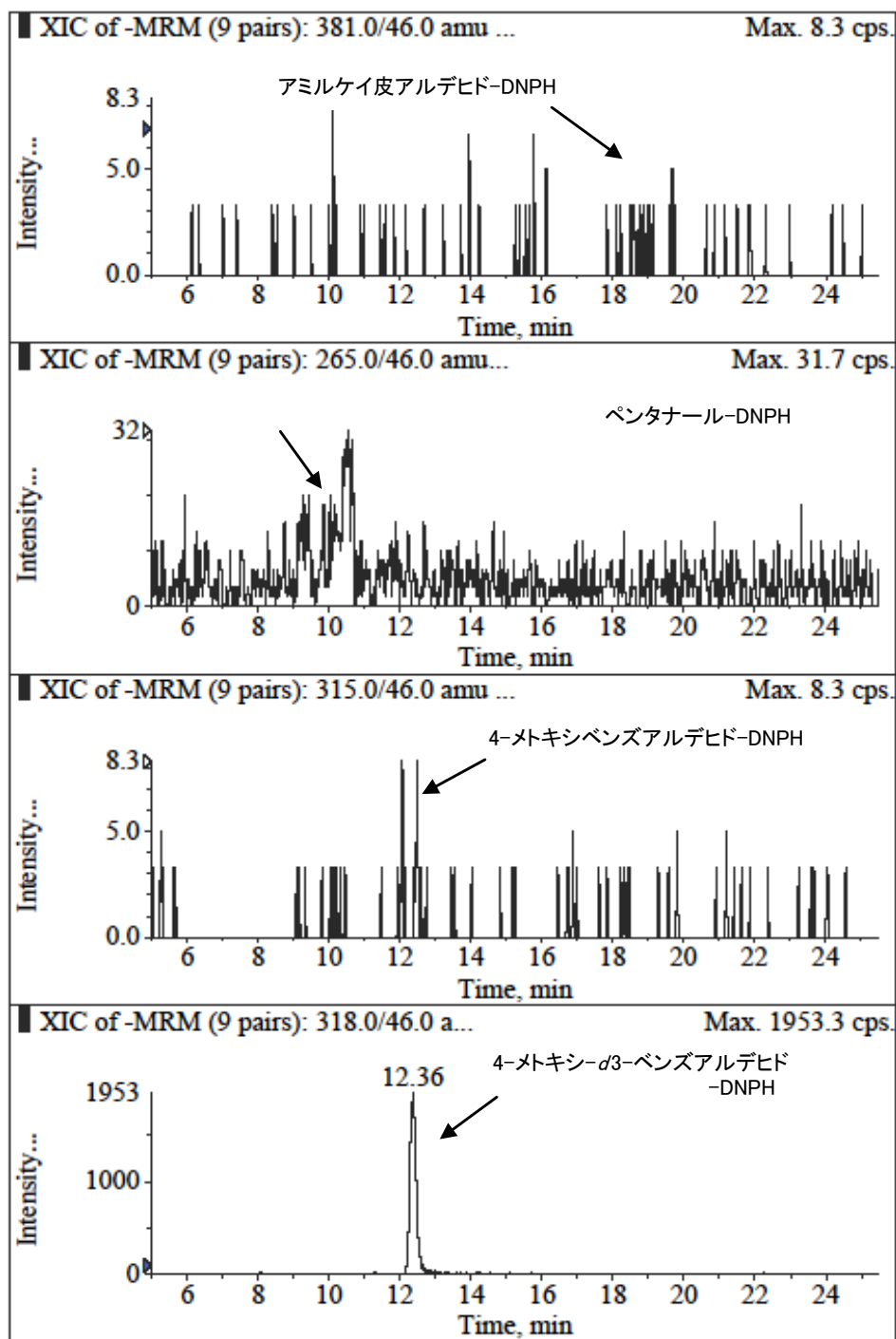


図 12 海水（無添加）のクロマトグラム

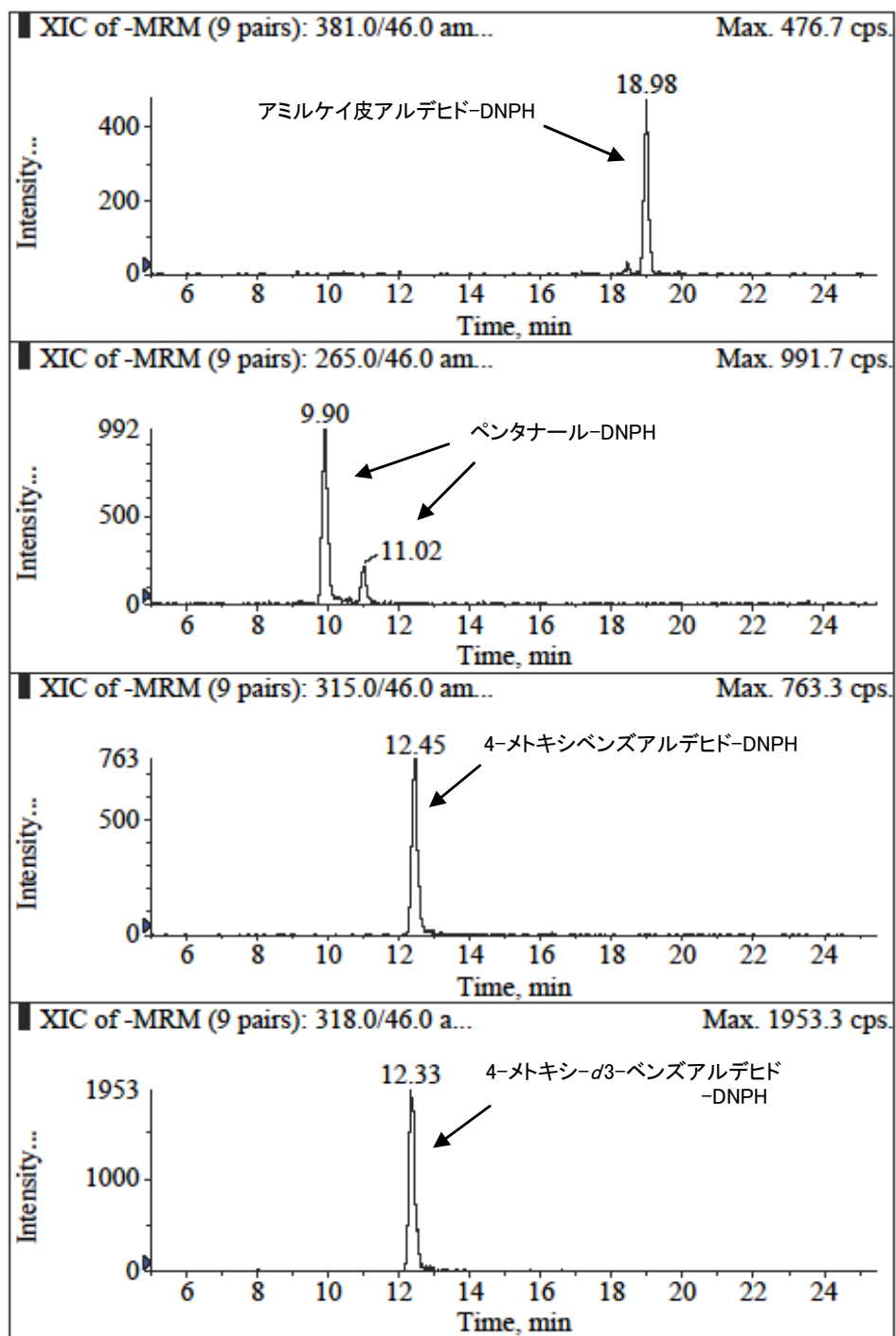


図 13 海水（添加）のクロマトグラム

〔分解性スクリーニング試験〕

精製水の pH を調整し、アミルケイ皮アルデヒドの設定濃度が 50 ng/L、ペンタナールと 4-メトキシベンズアルデヒドの設定濃度が 100 ng/L になるように標準物質を添加して、分解性スクリーニング試験を行った。その結果を以下に示す。

表 10 分解性スクリーニング試験結果（アミルケイ皮アルデヒド）

pH	初期濃度 (ng/L)	1 時間後の 残存率(%)	7 日後の残存率(%)	
			暗所	明所
5	50	88	25	-
7	50	81	91	46
9	50	84	90	-

表 11 分解性スクリーニング試験結果（ペンタナール）

pH	初期濃度 (ng/L)	1 時間後の 残存率(%)	7 日後の残存率(%)	
			暗所	明所
5	100	86	0	-
7	100	90	79	2
9	100	88	75	-

表 12 分解性スクリーニング試験結果（4-メトキシベンズアルデヒド）

pH	初期濃度 (ng/L)	1 時間後の 残存率(%)	7 日後の残存率(%)	
			暗所	明所
5	100	95	0	-
7	100	90	91	0
9	100	93	87	-

〔メトキシベンズアルデヒド異性体分離の検討〕

4-メトキシベンズアルデヒドには 2 つの異性体 (2-メトキシベンズアルデヒドと 3-メトキシベンズアルデヒド) が存在するため、Xterra MS C18 (2.0 × 150 mm、3 μm)、Develosil C30-UG-5 (2.0 × 150 mm、5 μm)、Wakosil DNPH (2.0 × 250 mm、5 μm) を使用して、各異性体ピークを分離できる条件の検討を行った。Wakosil DNPH は図 14 のように各異性体を分離することができたが、他のカラムでは 3-メトキシベンズアルデヒド DNPH 誘導体と 4-メトキシベンズアルデヒド DNPH 誘導体の分離が不十分であった。

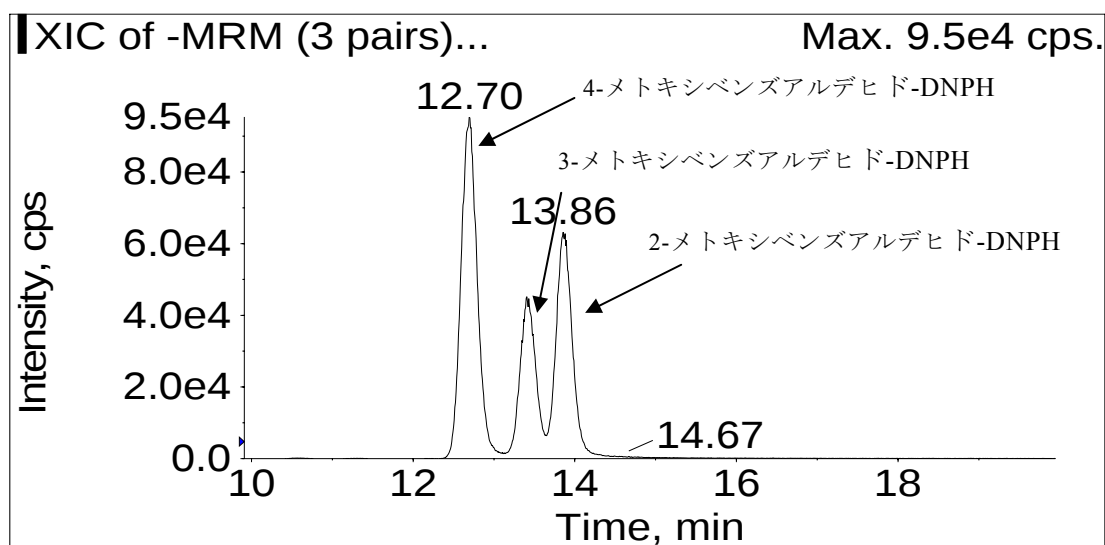


図 14 Wakosil DNPH (2.0×250 mm) によるメトキシベンズアルデヒド DNPH 誘導体の分離

〔未反応 DNPH の除去方法の検討〕

抽出時に回収される未反応 DNPH の除去のために、抽出後の C18 カートリッジを洗浄する方法を検討した。50、60、70%のアセトニトリル／水で C18 カートリッジを洗浄し、洗浄溶液中における各物質の回収率を確認した。各洗浄溶液 30 mL で洗浄を行えば、DNPH によるカートリッジの着色はほとんど除去することができたが、表 13 に示すように、ペンタナール DNPH 誘導体と 4-メトキシベンズアルデヒド DNPH 誘導体は、50%アセトニトリル／水以外の条件では、洗浄溶液中に合計 80%以上溶出していた。アミルケイ皮アルデヒド DNPH 誘導体はどの条件においても、洗浄溶液中にはほとんど溶出していなかった。これらのことから、洗浄には 50%アセトニトリル／水を採用した。(※ 50%アセトニトリル／水による洗浄後の試験液の DNPH 濃度は約 2 μg/mL であった。)

表 13 洗浄溶液中の各化合物の DNPH 誘導体の回収率

化合物	液量 (mL)	回収率(%)		
		50% MeCN／水	60% MeCN／水	70% MeCN／水
アミルケイ皮 アルデヒド	0-10	0	0	0
	10-20	0	0	0
	20-30	0	0	3
ペンタナール	0-10	4	10	67
	10-20	4	29	27
	20-30	4	50	2
4-メトキシベン ズアルデヒド	0-10	0	0	67
	10-20	0	52	26
	20-30	0	39	2

※MeCN：アセトニトリル

〔アミルケイ皮アルデヒド DNPH 誘導体の標準液調製方法の検討〕

アミルケイ皮アルデヒド DNPH 誘導体はアセトニトリルで調製した標準液中では感度が安定せず、不安定であった。一方、前処理後の抽出液中では安定な傾向が見られたため、アセトニトリルとアセトニトリルで調製した DNPH 溶液（1、2、10 $\mu\text{g/mL}$ ）を用いて標準液を調製し、これらを比較することにより、抽出液中に含まれる未反応の DNPH による、アミルケイ皮アルデヒド DNPH 誘導体の保存性を確認した。図 15 に示すように、DNPH が共存する溶液中では感度変動によるばらつきはあるものの、13 日目までは比較的安定していることが確認でき、DNPH 濃度による差も見られなかったため、試験液の DNPH 濃度（2 $\mu\text{g/mL}$ ）に合わせて標準液を調製し、保存性試験を行った。その結果を表 14 に示す。（※ 図 15 の試験は ESI を使用したため、APCI の検量線範囲よりも低濃度（0.050 ng/mL ）において確認を行った。）

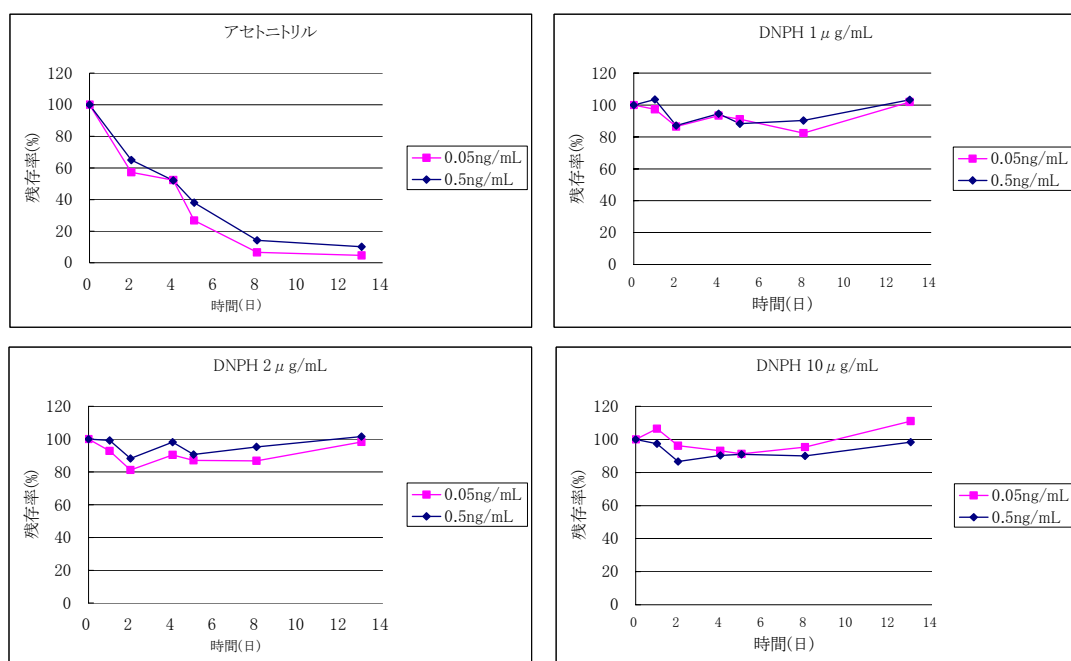


図 15 各溶液中でのアミルケイ皮アルデヒド DNPH 誘導体の残存率

表 14 保存性試験結果 (60 日間)

試料名		初期濃度 (ng/mL)	残存率 (%)
標準液	アミルケイ皮アルデヒド	1.0	103
		20	104
	ペンタナール	1.0	103
		20	103
	4-メトキシベンズアルデヒド	1.0	90
		20	97

〔環境試料中における誘導体化〕

環境試料のようなマトリックスが多い状態では、誘導体化効率が低下することが懸念されたため、大阪、京都府内の河川水（2 地点）と海水（1 地点）に標準物質を添加して【試料の前処理及び試験液の調製】の操作を行い、無添加試料の結果を差し引いて回収率を算出し、誘導体化効率への影響を確認した（各地点の無添加試料は ND であった）。その結果を以下に示す。

表 15 環境試料における誘導体化効率（添加回収試験結果）

化合物	試料	試料量 (L)	添加量 (ng)	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)
アミルケイ皮 アルデヒド	河川水	0.100	40	353 379	88 95
	海水	0.100	40	346	86
ペンタナール	河川水	0.100	80	606 685	76 86
	海水	0.100	80	663	83
4-メトキシベン ズアルデヒド	河川水	0.100	80	634 726	79 91
	海水	0.100	80	750	94

〔環境試料の分析〕

京都、大阪府内の 4 地点の河川水、1 地点の海水を分析したところ全て検出下限値以下であった。

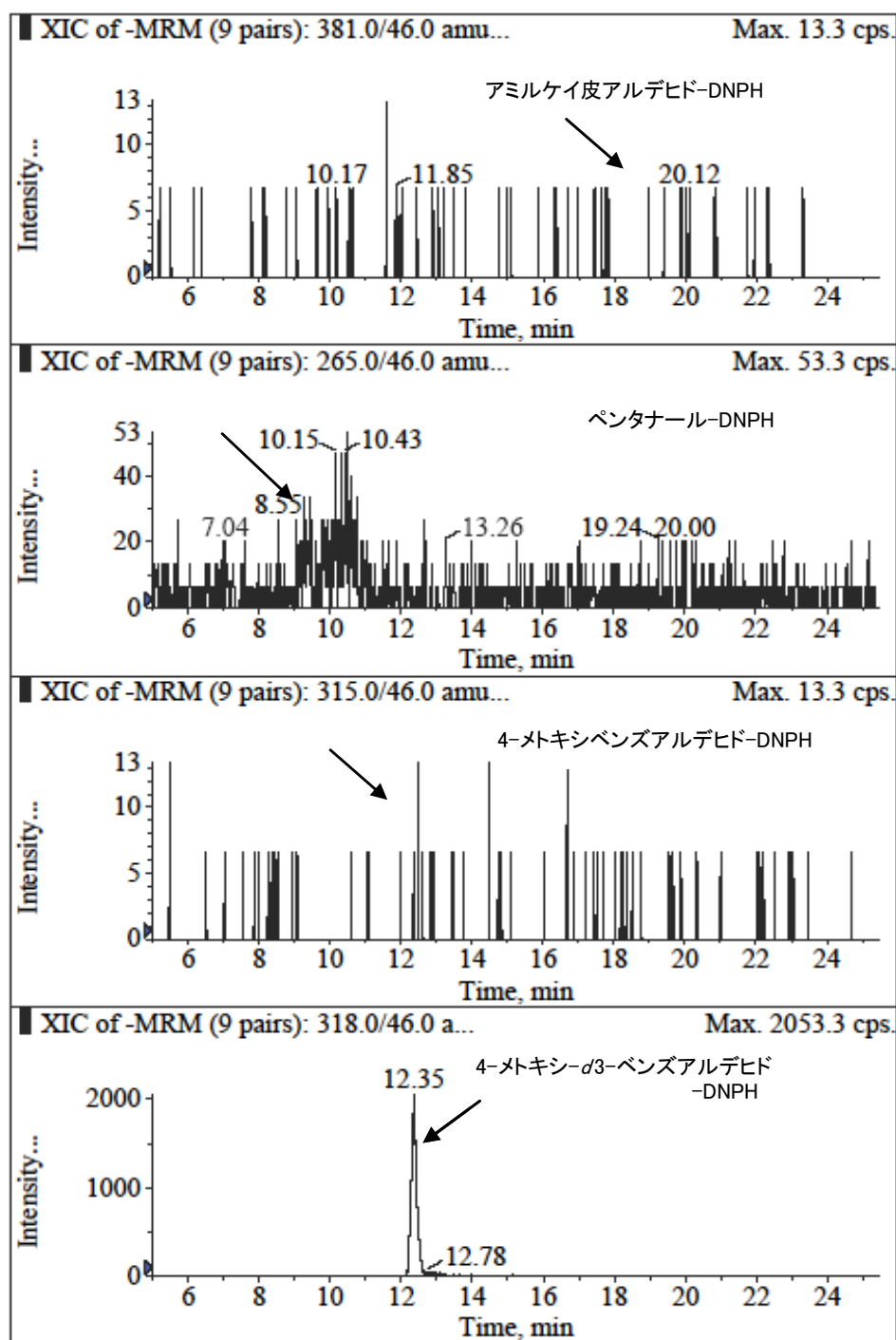


図 16 河川水のクロマトグラム

【評価】

本法は、アミルケイ皮アルデヒドが 0.200～10.0 ng/mL、ペンタナールと 4-メトキシベンズアルデヒドが 0.500～40.0 ng/mL の検量線範囲において良好な直線性 ($r^2 > 0.999$) が得られた。また、アミルケイ皮アルデヒドの MDL が 10 ng/L、海水を用いた添加回収試験における回収率が 74～89% (変動係数 7.3%) であり、同様にペンタナールは MDL が 21 ng/L、添加回収試験における回収率が 87～94% (変動係数 3.0%)、4-メトキシベンズアルデヒドは MDL が 14 ng/L、添加回収試験における回収率が 96～106% (変動係数 4.1%) であった。これらのことから、本法は環境水中のアミルケイ皮アルデヒド (要求感度 14 ng/L)、ペンタナール (要求感度 2500 ng/L)、4-メトキシベンズアルデヒド (要求感度 710 ng/L) がそれぞれの要求感度において検出可能である。

【参考文献】

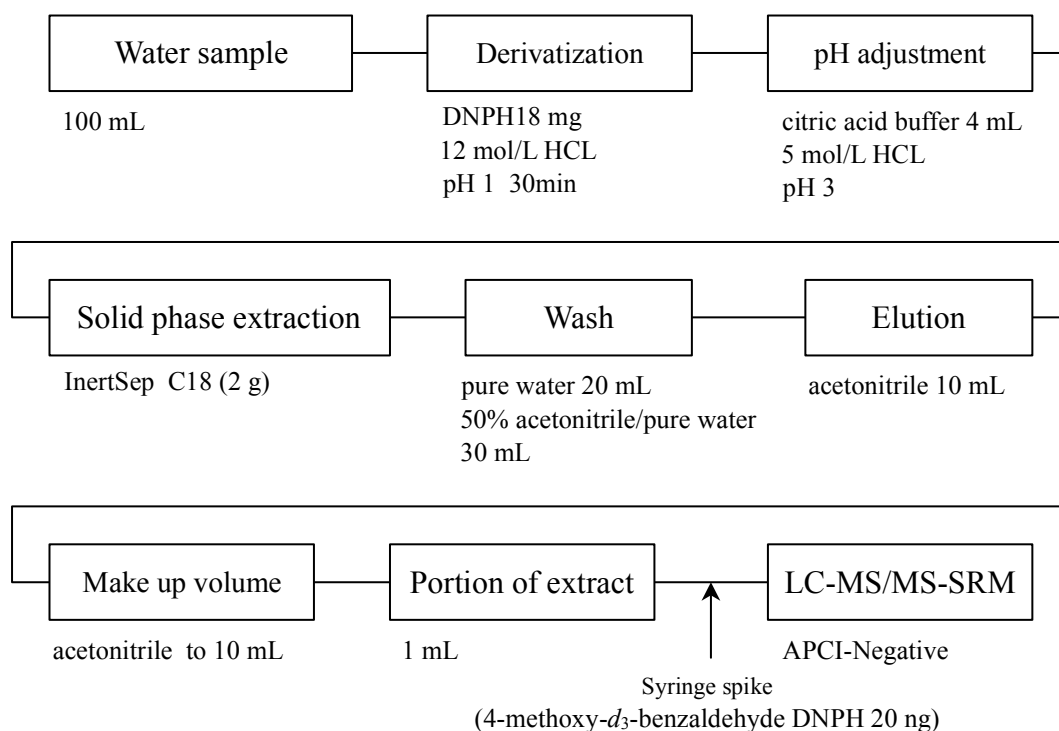
EPA method 8315A, Determination of carbonyl compounds by high performance liquid chromatography (1996)

【担当者連絡先】

所属先名称 : 株式会社島津テクノリサーチ
所属先住所 : 〒604-8435 京都市中京区西ノ京三条坊町 2 番地の 13
TEL : 075-811-3182 FAX : 075-811-3278
担当者名 : 中村明広、福田 實、久谷和也
E-mail : a_nakamura00@shimadzu-techno.co.jp
m_fukuda00@shimadzu-techno.co.jp
k_hisatani00@shimadzu-techno.co.jp

Amylcinnamic aldehyde
Pentanal (Valeraldehyde)
4-Methoxybenzaldehyde

This method provides procedures for the determination of amylcinnamic aldehyde (AA), pentanal (VA) and 4-methoxybenzaldehyde (MA) in water samples by liquid chromatography combined with tandem quadrupole mass spectrometry (LC/MS/MS) using 2, 4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) derivatization. A measured volume of water sample (0.1 L) is derivatized with DNPH at optimized pH 1 for 30 min, buffered to pH 3 and passed through the C18 cartridge (2 g) at a flow rate of 10 mL/min. The extract in the cartridge is washed with 20 mL of water followed by 30 mL of 50% acetonitrile in water, and the analytes are eluted with 10 mL of acetonitrile. The final volume of eluate is adjusted to 10 mL with acetonitrile. After spike of 4-methoxy-*d*₃-benzaldehyde DNPH derivative as an internal standard, the analytes are determined by LC/MS/MS. Ionization mode is negative APCI (atmosphere pressure chemical ionization). The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) are 10 and 27 ng/L (AA), 21 and 53 ng/L (VA), 14 and 37 ng/L (MA) respectively. The average of recoveries (n = 5) from 40 ng (AA), 80 ng (VA), 80 ng (MA) added seawater were 80% (AA), 92% (VA), 101% (MA) and the relative standard derivations were 7.3% (AA), 3.0% (VA), 4.1% (MA), respectively.



物質名	分析法フローチャート	備考
[1]アミルケイ皮 [2]アルデヒドペンタナール [3]4-メトキシベンズアルデヒド	【水質】 <pre> graph LR A[水質試料 100 mL] --> B[誘導体化 DNPH 18 mg 12 mol/L HCL pH 1 30min] B --> C[pH 調整 クエン酸緩衝液 4 mL 5 mol/L HCL pH 3] C --> D[固相抽出 InertSep C18(2 g) 10 mL/min] D --> E[洗浄 精製水 20 mL 50% アセトニトリル/水 30 mL] E --> F[溶出 アセトニトリル 10 mL] F --> G[定容 アセトニトリル 10 mL] G --> H[分取 1 mL] H --> I[LC-MS/MS-SRM APCI-Negative] J[シリンジスベイク添加 (4-メトキシ-d3-ベンズアルデヒド-DNPH 20 ng (4-メトキシ-d3-ベンズアルデヒドとして))] --> I </pre>	分析原理： LC-MS/MS-SRM APCI-Negative 検出下限値： 【水質】(ng/L) [1] 10 [2] 21 [3] 14 分析条件： 機器 LC：Prominence MS：API-3200 カラム Wako sil DNPH 2.0 mm×250 mm, 5 μm