

GC 大量注入法を用いたカビ臭物質 (ジェオスミン・2-MIB) の高感度分析

○谷澤 春奈¹, 杉原 万理²

(¹株式会社アイスティサイエンス, ²ジャスコインタナショナル株式会社)

【はじめに】

ジェオスミンおよび 2-メチルイソボルネオール (以下 2-MIB) は、水道水中のカビ臭原因物質として知られているが、平成 16 年 4 月の水道法改定により、水質基準項目として 0.01µg/L (10ppt) という低い基準値が設定され、定量下限値としてはさらにその 1/10 の 0.001µg/L (1ppt) という極めて低い値が求められている。今回、GC 大量注入法と固相抽出法を用い、GC/MS および GC/MS/MS によるこれらのカビ臭物質の安定した高感度分析を検討したので報告する。

【方法】

装置

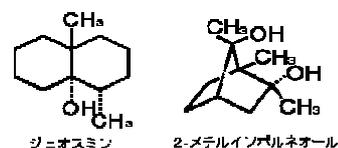
注入口：胃袋型インサートを備えた GC 大量注入口装置 LVI-S200 (アイスティサイエンス社製) を GC/MS および GC/MS/MS に搭載した。

GC/MS: Jms-Q1000GC (日本電子社製)、オートサンプラーには多機能オートサンプラーCombiPAL (AMR 社製) を用いた。

GC/MS/MS: Quattro micro GC (ジャスコインタナショナル社製)、オートサンプラーには 7683B (アジレント社製) を用いた。

標準品；標準品はジェオスミン標準原液、2-メチルイソボルネオール標準原液 (水質試験用カビ臭物質標準溶液：関東化学社製) を用いた。(Fig.1)

前処理法；前処理法を Fig.2 に示す。河川水 (紀ノ川) 100mL を SAIKA-SPE PBX (20mg) (ポリマー系コンビネーションカラム：アイスティサイエンス社製) に通水後、超純水 2mL×2 回で試料を入れた容器を洗浄し、洗液として上記固相ミニカラムに通水した。その後、5 分間吸引乾燥し水分を除去し、アセトン:ヘキサン (3:7)1mL で溶出後、1%ポリエチレングリコール(200)+10ppm フェナントレン d 体/アセトン溶液を 2uL 添加し 1mL に定容 (100 倍濃縮) し、試験溶液とした。大量注入口装置を用いて GC/MS および GC/MS/MS にその試験溶液を 25uL 注入し、測定を行った。



M.f. C₁₂H₂₂O
Mol.wt. 182
水質基準値 0.01µg/L

M.f. C₁₁H₂₀O
Mol.wt. 168
水質基準値 0.01µg/L

Fig.1 Structure & Physical Chemistry

河川水 100mL

固相SAIKA-SPE PBX (20mg)*1:保持

*1 PBX;ポリマー系コンビネーションカラムの総称

洗液:超純水 2mL×2

吸引乾燥:5分間

溶出:アセトン:ヘキサン(3:7) 1mL

1%ポリエチレングリコール(200)+10ppmフェナントレンd体/アセトン 2µL

定容(1mL)

アセトン:ヘキサン(3:7)で1mLに定容 (100倍濃縮サンプル)

GC/MS, GC/MS/MS測定 (25µL注入)

Fig.2 Scheme of sample preparation

添加回収試験; 上記前処理法に従い添加回収試験(n=5)を行った。添加濃度は、試料中濃度 0.1 μg/L(基準値の 10 倍)で行い、0.01 μg/L(基準値)ではシリンジスパイク試験を行い定量限界を確認した。

機器測定条件; GC/MS および GC/MS/MS 測定条件を Table1, 2 に示す。

PTV Injector	LVI-S200 (AiSTI Science) : Stomach Insert
Injectoin Temp.	70°C(0.3min)-120°C/min-240°C-50°C/min-260°C(20min)
Auto Injector	Combi PAL (AMR) : 50 μL syringe
Injection Volume	25 μL
GC	Agilent 6890N
Pre-column	Deactivated silica capillary tube 0.32mm×0.3m
Column	MIGHTY Cap ENV-5MS 0.25mm i.d.×30m, df.0.25 μm
Column Oven Temp.	50°C(3min)-10°C/min-180°C-25°C/min-310°C(5min)
Splitpurge	150mL/min(0.25min)-0(2.75min)-50mL/min(2min)-20mL/min
MS	JMS-K9 (JEOL)
Detector Temp.	280°C
MS Method	SCAN : 50-250 SIM : m/z=83,97,111,112,125,126,149 (Geosmin) m/z=95,107,108,135,150 (2-MIB)

Table.1 Condition of GC/MS

PTV Injector	LVI-S200 (AiSTI Science) ; Stomach Insert
Injector Temp.	70°C(0.3min)-120°C/min-240°C-50°C/min-260°C(20min)
Auto Samplor	Agilent 7683B; 50 mL Syringe
Injection Volume	25 μL
GC	Agilent 7890A
Column	DB-5MS, 0.25mm i.d.×30m, df: 0.25mm
Column Oven Temp.	50°C(3min)-10°C/min-180°C-25°C/min-310°C(5min)
Splitpurge	100mL/min(0.28min)-0(2.72min)-50mL/min(2min)-20mL/min
MS	Quattro micro GC (Waters)
MS Method	MRM 112 > 97, 112 > 79, 112 > 83 (Geosmin) 108 > 93, 95 > 67, 135 > 93 (2-MIB)
Detector Temp.	280 °C
Multiplier	500V

Table.2 Condition of GC/MS/MS

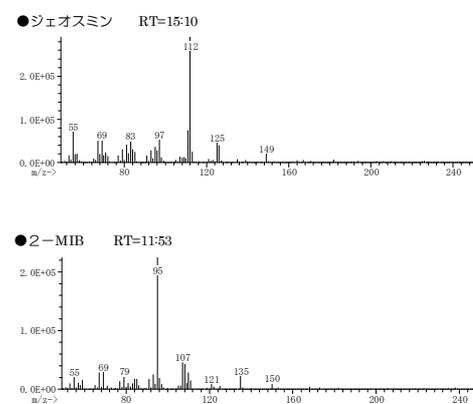


Fig.3 MS Spectrum

【結果と考察】

河川水を用いて添加回収試験 (0.1 μg/L) を行った結果、ジェオスミンと 2-MIB 共に回収率 90%以上、RSD も 10%未

満と良好な結果が得られた (Table.3)。スパイク回収率もほぼ 100%と、GC/MS 測定においてもマトリックスの影響もなく定量できていると考えられた。

試料中濃度 0.01 μg/L (基準値) の GC/MS/MS のクロマトグラムを Fig.4 に示した。スタンダード (下段) は非常に感度良く、前処理を行った河川水に同濃度をシリンジスパイクしたクロマトグラム (中段) も、2-MIB は夾雑成分の影響を若干受けているものの、ジェオスミンは全く影響を受けず、高選択的に定性でき、基準値レベルで十分定量できることがわかった。

大量注入を用いることでカビ臭物質の高感度分析が可能になり、同時に前処理においても 500mL 必要であった検水が 100mL に少量化できるなど前処理のスケールダウンが図れ、迅速分析も可能になった。

Table.3 Recovery and Reproducibility added to river water (Kinokawa in Wakayama) (% , n=5)

compounds name	GC/MS			GC/MS/MS		
	Average	RSD	spike	Average	RSD	spike
Geosmin	100.4	1.7	104.8	104.6	9.3	101.2
2-Methylisoborneol	92.9	2.4	101.2	103.2	6.0	116.7

*Sample were spiked at 0.1 μg/L(0.1ppb) of Geosmin and 2-MIB

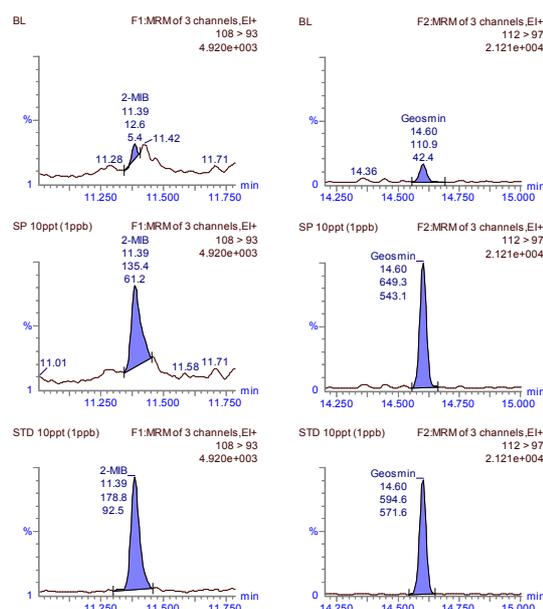


Fig.4 GC/MS/MS Chromatograms of Geosmin and 2-MIB (high: Blank in water, middle:0.01 μg/L spiked in river water, low:Standard 0.01 μg/L)



GC大量注入法を用いたカビ臭物質 (ジェオスミン・2-MIB)の高感度分析

株式会社アイスティサイエンス ○谷澤春奈
ジャスコインタナショナル株式会社 杉原万理

AiSTI SCIENCE



目的

- 大量注入によるカビ臭物質の高感度分析
 - 基準値(0.01 $\mu\text{g/L}$ =10ppt)の感度確保
 - 再現性、直線性確認
- 大量注入による前処理のスケールダウン
 - 試料の少量化による前処理の簡易・迅速化
- 添加回収試験による評価
 - 河川水での添加回収試験による回収率および再現性確認

AiSTI SCIENCE

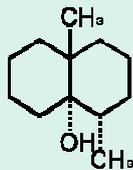
大量注入法について

★GC大量注入法のメリット

- 前処理操作の小スケール化
- 濃縮操作の省略
- 10~100倍の感度向上
- SCAN分析が可能

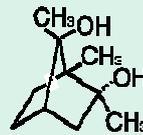
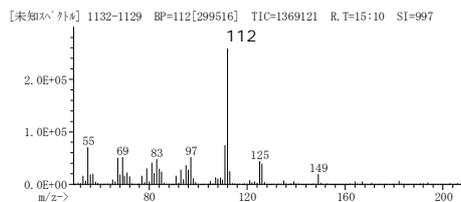


構造式・物性&MSスペクトル



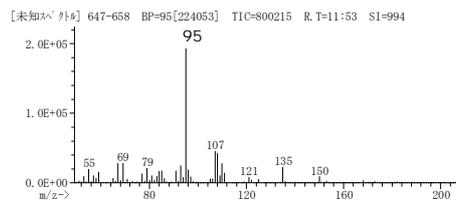
ジェオスミン

M.f. $C_{12}H_{22}O$
 Mol.wt. 182
 水質基準値 0.01 μ g/L



2-メチルイソボルネオール

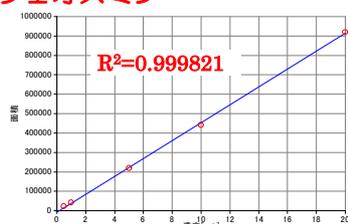
M.f. $C_{11}H_{20}O$
 Mol.wt. 168
 水質基準値 0.01 μ g/L





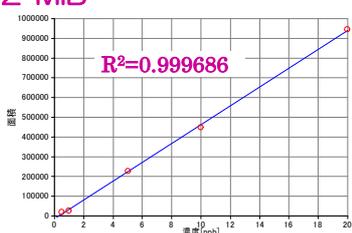
再現性 & 直線性(GC/MS:SCAN)

● ジェオスミン



Geosmin					Area
測定回数	0.5ppb	1ppb	5ppb	10ppb	20ppb
1	20646	37285	203838	412432	846342
2	20610	37963	205876	420291	878355
3	21683	38099	202236	422231	862223
4	21529	36860	205734	416268	837321
5	20845	35301	202641	402771	843056
Average	21063	37101	204065	414799	853459
RSD(%)	2.4	3.0	0.8	1.9	2.0

● 2-MIB



2-MIB					Area
測定回数	0.5ppb	1ppb	5ppb	10ppb	20ppb
1	18372	24830	209296	418293	870160
2	17543	25178	209574	427842	918155
3	19257	25013	207739	434499	895376
4	18101	24662	208720	428510	857033
5	18290	21613	203958	401351	853455
Average	18312	24259	207857	422099	878836
RSD(%)	3.4	6.2	1.1	3.1	3.1

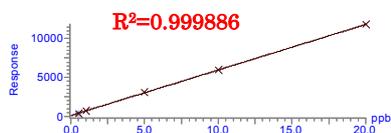
AISTI SCIENCE



再現性 & 直線性(GC/MS/MS:MRM)

● ジェオスミン

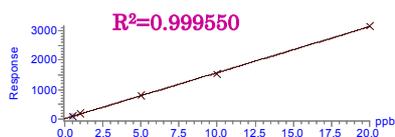
Compound name: Geosmin
 Correlation coefficient: $r = 0.999943$, $r^2 = 0.999886$
 Calibration curve: $586.83 \cdot x + 108.709$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



Geosmin					Area
測定回数	0.5ppb	1ppb	5ppb	10ppb	20ppb
1	352	717	3113	5929	11852
2	336	687	3125	5869	11318
3	366	645	3095	6021	10978
4	383	658	3045	5921	11176
5	393	662	2982	5742	10849
Average	366	674	3072	5896	11234
RSD(%)	6.3	4.2	1.9	1.7	3.5

● 2-MIB

Compound name: 2-MIB
 Correlation coefficient: $r = 0.999775$, $r^2 = 0.999550$
 Calibration curve: $156.181 \cdot x + 14.3066$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



2-MIB					Area
測定回数	0.5ppb	1ppb	5ppb	10ppb	20ppb
1	89	190	805	1531	3157
2	92	183	826	1493	2875
3	92	164	832	1554	2748
4	93	174	817	1496	2798
5	92	174	782	1472	2687
Average	92	177	812	1509	2853
RSD(%)	1.6	5.7	2.4	2.2	6.4

AISTI SCIENCE



分析条件 (GC/MS)

PTV Injector	LVI-S200 (AISTI Science) : Stomach Insert
Injectoin Temp.	70°C(0.3min)-120°C/min-240°C-50°C/min-260°C(20min)
Solvent Purge Time	0.25min
Auto Injector	Combi PAL(AMR) : 50 µ L syringe
Injection Volume	25 µ L
GC	Agilent 6890N
Pre-column	Deactivated silica capillary tube 0.32mm × 0.3m
Column	MIGHTY Cap ENV-5MS 0.25mm i.d. × 30m, df0.25 µ m
Column Oven Temp.	50°C(3min)-10°C/min-180°C-25°C/min-310°C-(5min)
Splitpurge Flow	150mL/min(0.25min)-0(2.75min)-50mL/min(2min)-20mL/min
MS	Jms-Q1000GC (JEOL)
Detector Temp.	280°C
MS Method	SCAN : 50-250 SIM : m/z=83, 97, 111, 112, 125, 126, 149 (ジェオスミン) m/z=95, 107, 108, 135, 150 (2-MIB)

AISTI SCIENCE



分析条件 (GC/MS/MS)

PTV Injector	LVI-S200 (AISTI Science) : Stomach Insert
Injectoin Temp.	70°C(0.3min)-120°C/min-240°C-50°C/min-260°C(20min)
Solvent Purge Time	0.28min
Auto Injector	Agilent 7683B : 50 µ L syringe
Injection Volume	25 µ L
GC	Agilent 7890A
Column	DB-5MS 0.25mm i.d. × 30m, df0.25 µ m
Column Oven Temp.	50°C(3min)-10°C/min-180°C-25°C/min-310°C-(5min)
Splitpurge Flow	100mL/min(0.28min)-0(2.72min)-50mL/min(2min)-20mL/min
MS/MS	Quattro micro GC (Waters)
Detector Temp.	280°C
MS Method	MRM : m/z=112>97, 112>79, 112>83 (ジェオスミン) m/z=108>93, 95>67, 135>93 (2-MIB)

AISTI SCIENCE



前処理フロー

★前処理時間: 20分/1検体

試料水 100mL

固相SAIKA-SPE PBX(20mg)*: 保持

洗液; 水 2mL × 2

*PBX: ポリマー系コンビネーションカラム

吸引乾燥; 5分間

溶出; アセトン:ヘキサン(3:7) 1mL

0.2%ポリエチレングリコール(200)+10ppmフェナントレンd体/アセトン 2μL

濃縮操作なし!!

定容(1mL)

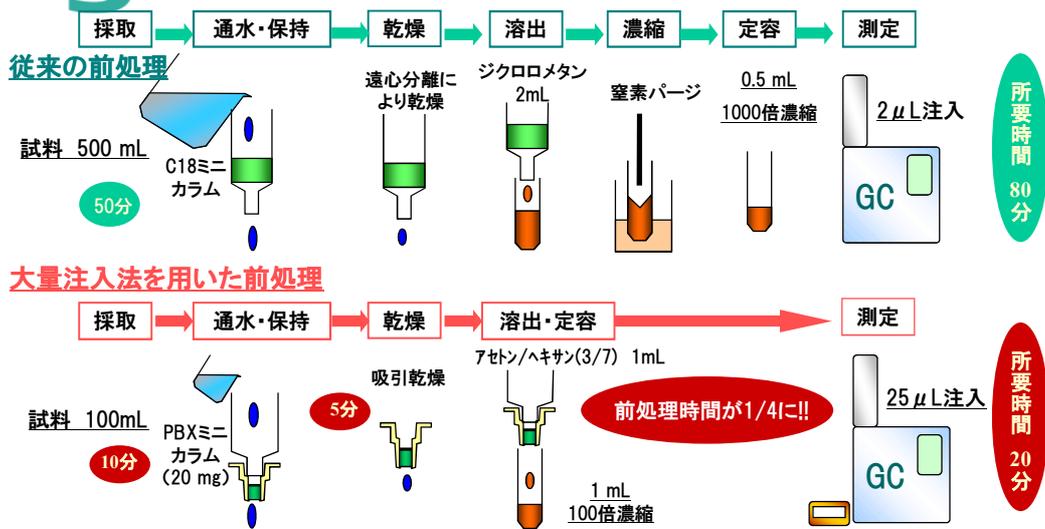
アセトン:ヘキサン(3:7)で1mLに定容 (100倍濃縮サンプル)

GC/MS, GC/MS/MS測定 (25μL注入)

AISTI SCIENCE



前処理のスケールダウン



AISTI SCIENCE

添加回収試験 (河川水: 紀ノ川)

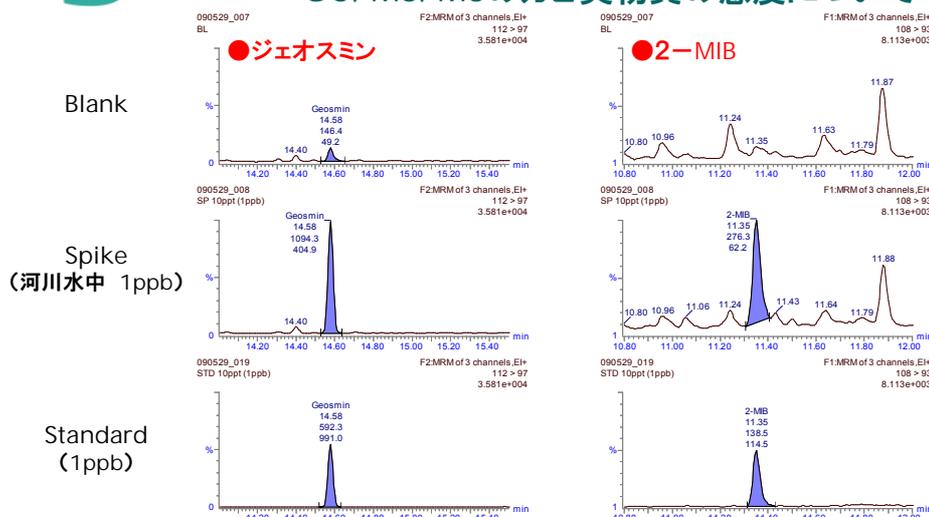
(% , n=5)

compounds name	GC/MS			GC/MS/MS				
	0.1ppb			0.1ppb			0.01ppb	
	Average	RSD	spike	Average	RSD	spike	Average	RSD
Geosmin	100.4	1.7	104.8	104.6	9.3	101.2	89.0	4.1
2-MIB	92.9	2.4	101.2	103.2	6.0	116.7	77.0	7.1

カビ臭物質を試料中濃度 $0.1 \mu\text{g/L}$ (0.1ppb)、 $0.01 \mu\text{g/L}$ (0.01ppb) になるように河川水に添加し、本法に従い分析を行い、それぞれGC/MSおよびGC/MS/MSで測定を行った。

AISTI SCIENCE

基準値(試料中0.01ppb=バイアル中1ppb)におけるGC/MS/MSのカビ臭物質の感度について



AISTI SCIENCE

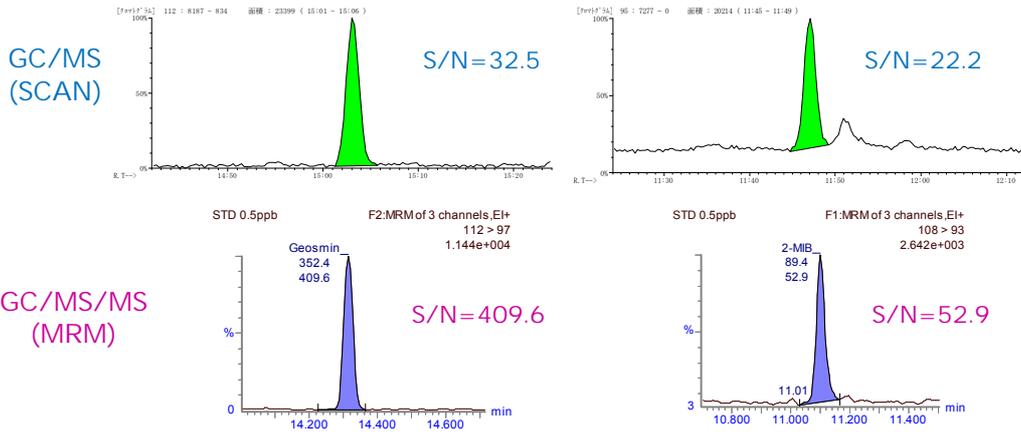


基準値の1/2(試料中0.005ppb=バイアル中0.5ppb)のカビ臭物質の感度(GC/MS & GC/MS/MS)

★Standard 0.5ppb

●ジェオスミン

●2-MIB



AISTI SCIENCE



まとめ

大量注入を用いることにより、

- ジェオスミン・2-MIBともに、バイアル中濃度0.5ppbの低濃度でもGC/MS(SCAN分析)でS/N>20、GC/MS/MS(MRM分析)でS/N>50と高感度分析が可能なり、直線性 $R^2=0.999$ 以上、再現性も10%未満と安定した結果が得られた。
- 河川水を用いた添加回収試験の結果、基準値の10倍濃度(0.1ppb)において、ジェオスミン・2-MIBともに回収率90%以上、RSDも10%未満と良好な結果が得られた。
- GC/MS/MSを用いることで、低濃度である基準値(0.01ppb)での添加回収試験でも夾雑成分の影響をほとんど受けず、高選択的に基準値レベルで定量・定性が可能であった。
- 前処理操作のスケールダウンも図れ、前処理時間は1検体で20分で、濃縮操作のない迅速分析が可能となった。

AISTI SCIENCE