

オンライン SPE-GC/MS/MS システムを用いたジェオスミンおよび 2-メチルイソボルネオール分析法の検討

○浅井 智紀, 佐々野 僚一

(株式会社アイスティサイエンス)

【はじめに】

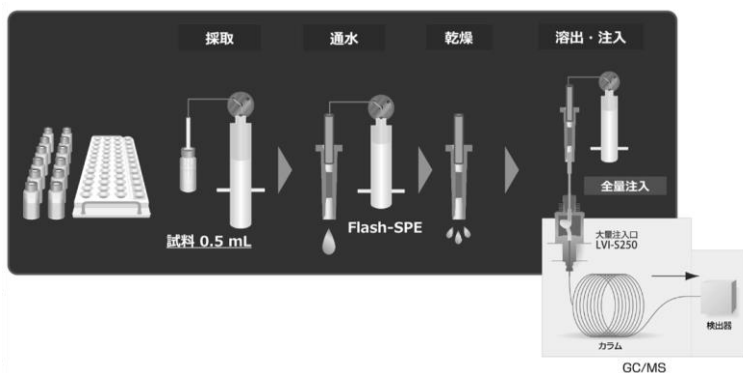
ジェオスミンおよび 2-メチルイソボルネオール(2-MIB)は、カビ臭の原因物質として厚労省の定める水道法において基準値が設けられている。水質基準項目として 0.01 $\mu\text{g/L}$ (ppb)という低い基準値が設定されており、また、定量下限値としてはさらにその 1/10 の 0.001 $\mu\text{g/L}$ (ppb)という極めて低い値が求められている。演者らはこれまでに、GC 大量注入法と固相抽出法を用いた分析法の検討を行い、その結果を本学会において報告した。今回、オンライン SPE-GC システムを用いた分析法の検討を行ったので報告する。

従来法によるジェオスミンおよび 2-MIB の測定法では、多量の試料が必要であり、さらに濃縮操作に時間を必要とするなど測定までの前処理操作に様々なコストを要する。演者らが開発した自動前処理装置は、測定に必要な試料量を低減し、濃縮操作に要する時間や溶媒量の削減などの低コスト化を実現し、さらに前処理操作から分析までの全自動化を実現した。本演題では、開発した自動前処理 SPE-GC/MS/MS システムによるジェオスミンおよび 2-MIB の分析方法とその結果について報告する。

【方法】

(システム概要)

本研究に用いた自動前処理オンライン SPE-GC システムの概要を図 1 に示した。



バイアルに入れた試料 0.5 mL を採取し、専用固相カートリッジカラム (Flash-SPE) に保持させた。固相カートリッジを窒素パージにより乾燥後、固相溶出液を直接 GC に大量注入した。

図 1 オンライン SPE-GC システム[SIGI-P100 (アイスティサイエンス)]による操作概要

(試料調製および前処理方法)

アセトンに溶解した 2-MIB 標準液(和光純薬)およびジェオスミン標準液(和光純薬)を超純水に添加し、各濃度に調製した試料を試験液として使用した。HLB を 3mg 充填した Flash-SPE をコンディシ

A study of method for analysis of geosmin and 2-methylisoborneol by online SPE-GC/MS/MS system

○Tomonori Asai, Ryoichi Sasano

AiSTI SCIENCE Co., Ltd.

ヨニングした後、試験液 0.5 mL を通水して目的成分を保持させた。次に固相カートリッジカラムに窒素ガスを吹き付け、十分に乾燥させた。溶出にはアセトン/ヘキサン=1/3 の混合溶媒を用い、固相溶出液 40 μ L を大量注入口装置 [LVI-S250 (アイスティサイエンス)] に注入し、胃袋型インサート内で濃縮した目的成分を GC/MS/MS 分析に供した。分析装置には Agilent 7890B/7000C GC/MS/MS (アジレントテクノロジー) を用いた。

【結果と考察】

(添加回収試験および再現性試験)

2-MIB およびジェオスミンをアセトン/ヘキサン=1/3 に溶解して 0.125 μ g/L (ppb) に調製した標準液 40 μ L を直接 GC に注入してピーク面積値(絶対量: 5 pg)を積算した。次に、0.01 μ g/L (ppb) に調製した試験液をオンライン SPE-GC システムに供して得られたピーク面積値 (絶対量: 5 pg) から回収率を算出した。結果として、回収率はいずれも 80% 以上となった(表 1)。また、0.01 ppb に調製した試験液をオンライン SPE-GC システムで 5 回連続測定して再現性の評価を行った。結果として、RSD はいずれも 10% 以下となった(表 1)。

表 1 本システムによる回収率および再現性評価 (n=5)

| | STD | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Average | RSD (%) | Recovery (%) |
|---------|--------|-------|--------|-------|-------|-------|---------|---------|--------------|
| 2-MIB | 1,741 | 1,642 | 1,682 | 1,699 | 1,673 | 1,342 | 1,608 | 9.3 | 92 |
| Geosmin | 11,366 | 9,291 | 10,244 | 9,384 | 9,120 | 8,672 | 9,342 | 6.1 | 82 |

表内には面積値を示し、結果の算出は内標補正を使用せず行った。

(検量線)

試料水中濃度が 0.005, 0.01, 0.05, 0.1 ppb になるように試験液を調製し、SPE-GC システムにより検量線を作成した(図 2)。2-MIB の相関係数が 0.9967 となり、ジェオスミンの相関係数は 0.9958 となった。

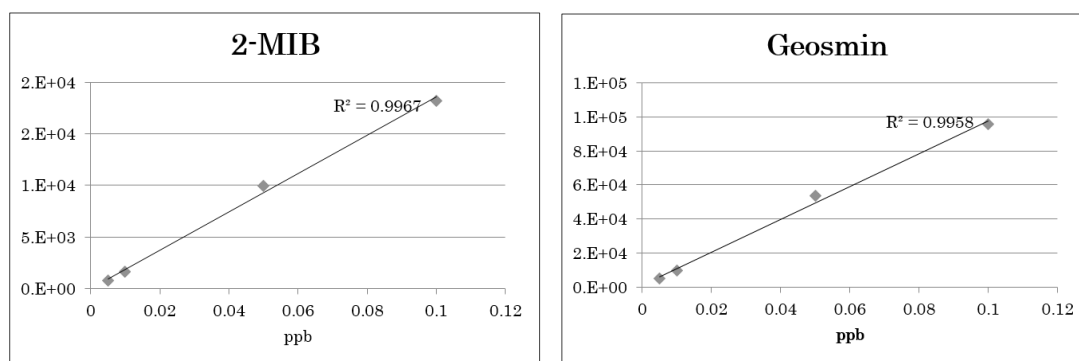


図 2 本システムによる検量線

【結論】

今回、開発したオンライン SPE-GC システムを用いることで、カビ臭 (ジェオスミンおよび 2-MIB) の前処理工程から測定までを全自動化することができた。また、前処理に要する時間を 10 分以内にまで大幅に短縮することができ、本システムを GC/MS/MS と組み合わせることにより低濃度試料での分析が可能となった。今後、Fast GC を取り入れた SPE-GC システムの検討を行い、1 試料の前処理から分析終了までに要するトータル時間のさらなる短縮を目指していく。

オンラインSPE-GC/MS/MSシステムを用いた ジェオスミンおよび2-メチルイソボルネオール 分析法の検討



株式会社アイスティサイエンス

○浅井 智紀、佐々野 僚一

Beyond your Imagination

AiSTI SCIENCE

オンラインSPE-GCシステムについて

SGI-P100



Flash-SPE



※写真はアジレントテクノロジー株式会社の許可の許可を得て使用しております。

オンラインSPE-GCシステムについて

検水を入れたバイアルをセット

採取

通水

乾燥

溶出・注入

窒素パージ

全量注入

全自動処理

前処理時間は約8分

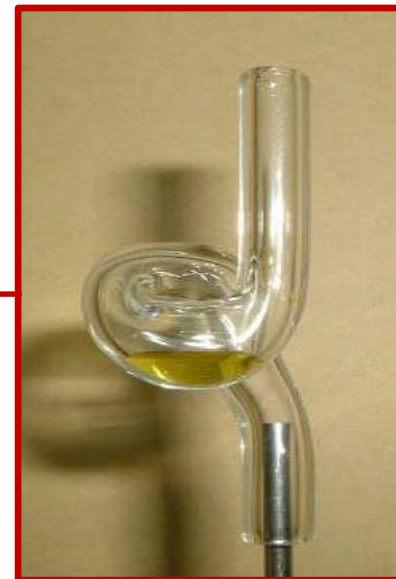
胃袋型インサート

大量注入口
LVI-S250

カラム

検出器

GC/MS



目的

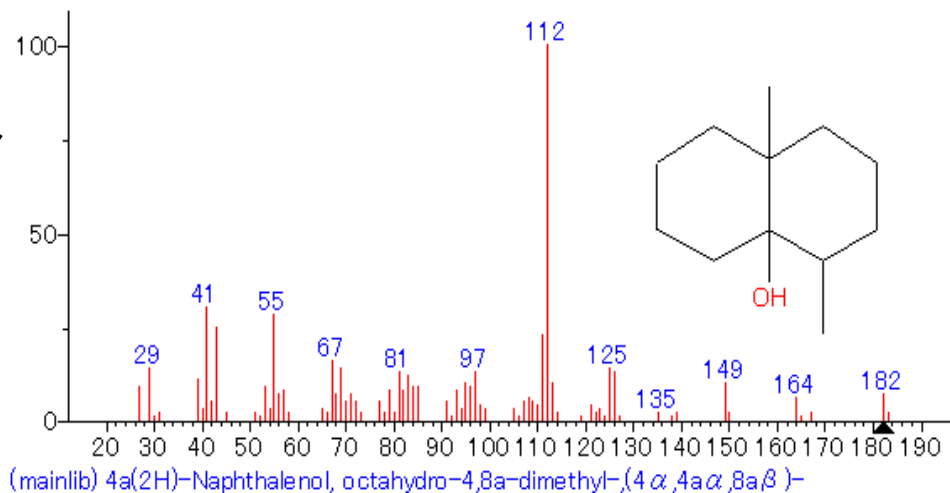
- カビ臭成分であるジェオスミンおよび2-メチルイソボルネオール (2-MIB)の自動前処理化
- ジクロロメタンを使用しない抽出法
- 前処理時間の短縮および試料の少量化による効率化

評価方法

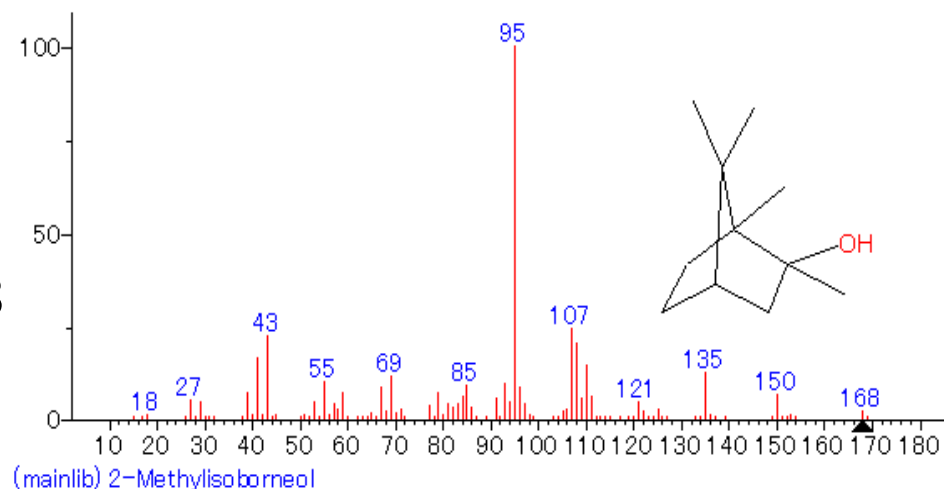
- 【 繰り返し再現性および検量線の直線性評価
- 【 添加回収試験による評価

カビ臭成分-ジエオスミン、2-MIB

ジエオスミン
($C_{12}H_{22}O$)
MW. 182.30



2-MIB
($C_{11}H_{20}O$)
MW. 168.28



水道法において

検出基準値

→ **0.01 $\mu\text{g/L}$**
(定量下限値は1/10)

分析条件

分析装置：オンラインSPE-GC SGI-P100、大量注入口装置 LVI-S250
 (株式会社アイスティサイエンス)
 7000C トリプル四重極GC/MS (アジレント・テクノロジー株式会社)

LVI条件

注入モード：大量注入

昇温条件：70°C(0.43 min)–150°C/min–160°C(1.97 min)–50°C/min
 –250°C(10 min)

GC条件

カラム：VF-5ms [0.25 mm x 30 m (0.25 μm)]

昇温条件：50°C(3min)–7.5°C/min–125°C–35°C/min–300°C

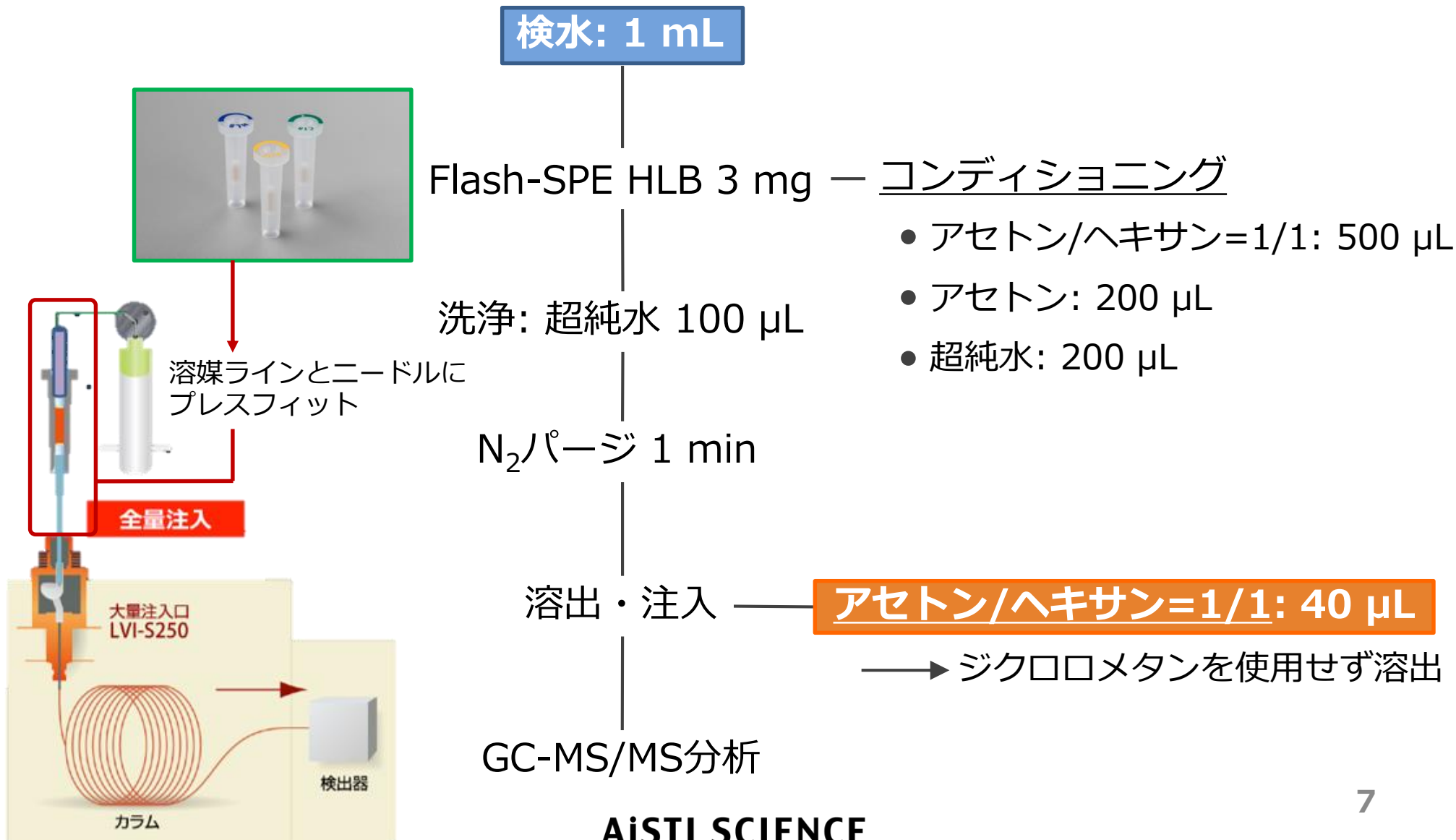
スプリットモード：溶媒ベント[70 kPa, 150ml/min(0.43 min), 50ml/min(3 min)]

MS条件

イオン源温度：260°C 測定モード：MRM ジェイカミン 112 → 97 (112 → 83)

トランスファライン温度：260°C 2-MIB 108 → 93 (108 → 77)

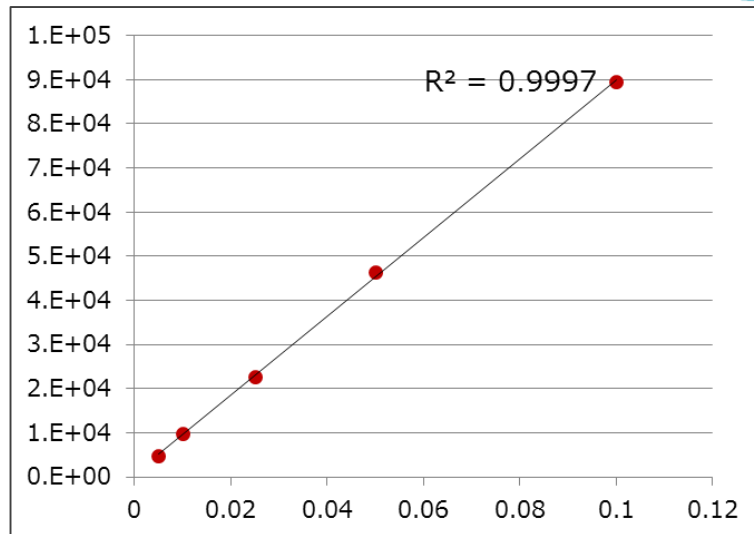
SGI-P100-前処理操作フロー



再現性および絶対検量線

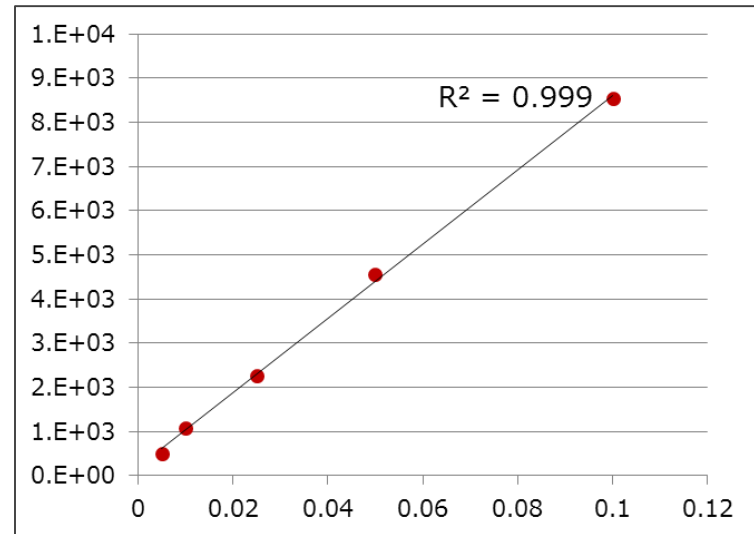
ジェオスミン

| 測定回数 | バイアル中濃度 (μg/L) | | | | |
|---------|----------------|--------|--------|--------|--------|
| | 0.005 | 0.01 | 0.025 | 0.05 | 0.1 |
| | Peak area | | | | |
| 1 | 5,021 | 10,561 | 22,867 | 47,595 | 92,210 |
| 2 | 4,894 | 10,501 | 22,948 | 44,334 | 88,620 |
| 3 | 4,609 | 10,246 | 22,619 | 48,929 | 92,235 |
| 4 | 5,151 | 9,822 | 21,862 | 44,733 | 89,684 |
| 5 | 4,778 | 8,884 | 22,952 | 45,978 | 87,449 |
| 6 | 4,391 | 9,677 | 22,989 | 46,161 | 86,925 |
| Average | 4,807 | 9,949 | 22,706 | 46,288 | 89,521 |
| RSD (%) | 5.8 | 6.3 | 1.9 | 3.7 | 2.6 |



2-MIB

| 測定回数 | バイアル中濃度 (μg/L) | | | | |
|---------|----------------|-------|-------|-------|-------|
| | 0.005 | 0.01 | 0.025 | 0.05 | 0.1 |
| | Peak area | | | | |
| 1 | 531 | 1,048 | 2,194 | 4,716 | 8,800 |
| 2 | 563 | 1,183 | 2,402 | 4,481 | 8,337 |
| 3 | 476 | 1,129 | 2,222 | 4,731 | 8,916 |
| 4 | 557 | 1,121 | 2,239 | 4,265 | 8,541 |
| 5 | 490 | 954 | 2,408 | 4,471 | 8,383 |
| 6 | 450 | 1,041 | 2,174 | 4,703 | 8,268 |
| Average | 511 | 1,079 | 2,273 | 4,561 | 8,541 |
| RSD (%) | 9.0 | 7.5 | 4.6 | 4.1 | 3.1 |



添加回収試験

試験方法

- 水道水および河川水に標準試薬を0.01 $\mu\text{g/L}$ になるように添加
- 検水1 mLを自動採取してSPE-GCにより測定 (注入絶対量 0.01 ng)
- 標準液(0.25 $\mu\text{g/L}$) 40 μL を直接GCに注入 (注入絶対量 0.01 ng)

結果

水道水

| | Peak area | | | | | | | | | | average | RSD (%) | Recovery (%) | |
|--------|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|---------|---------|--------------|-----|
| | STD | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | | | | 10 |
| ジェオスミン | 11,654 | 9,629 | 9,564 | 9,722 | 9,171 | 8,959 | 10,080 | 9,862 | 9,915 | 8,982 | 9,496 | 9,538 | 4.1 | 82 |
| 2-MIB | 881 | 930 | 974 | 1,027 | 963 | 848 | 907 | 979 | 964 | 898 | 865 | 936 | 6.0 | 106 |

河川水：紀ノ川 (和歌山市)

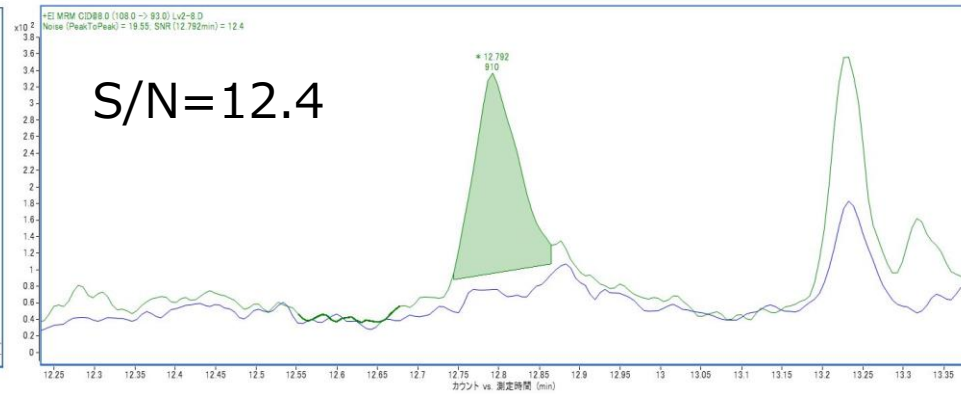
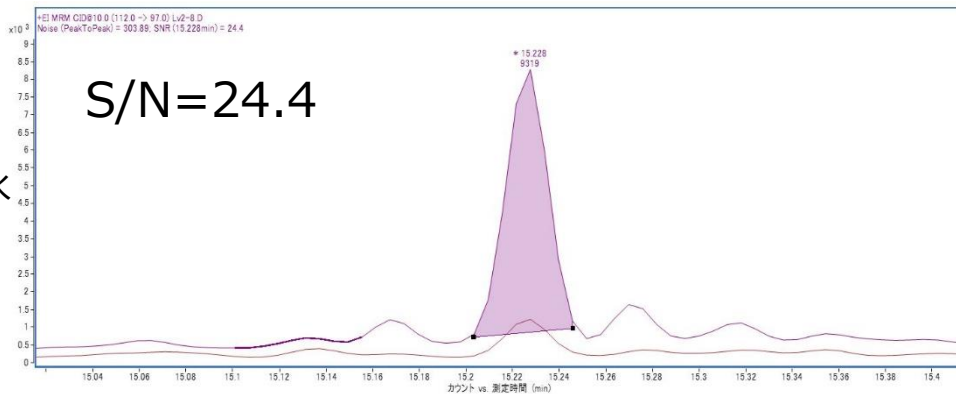
| | Peak area | | | | | | | | | | average | RSD (%) | Recovery (%) | |
|--------|-----------|--------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|---------|--------------|-----|
| | STD | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | | | | 10 |
| ジェオスミン | 12,167 | 11,858 | 9,382 | 10,416 | 10,355 | 9,808 | 9,638 | 9,612 | 9,522 | 8,937 | 10,201 | 9,973 | 8.1 | 82 |
| 2-MIB | 877 | 1,000 | 977 | 1,039 | 968 | 1,030 | 846 | 1,032 | 787 | 890 | 986 | 956 | 9.0 | 109 |

基準値(0.01 $\mu\text{g/L}$)のクロマトグラム

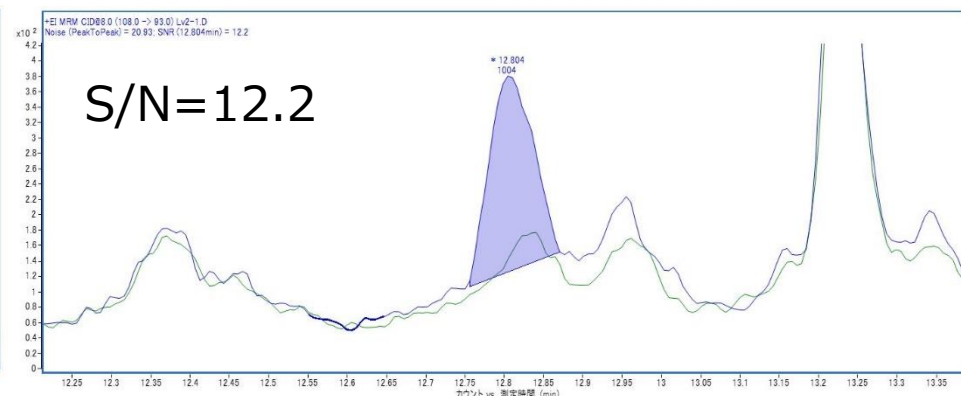
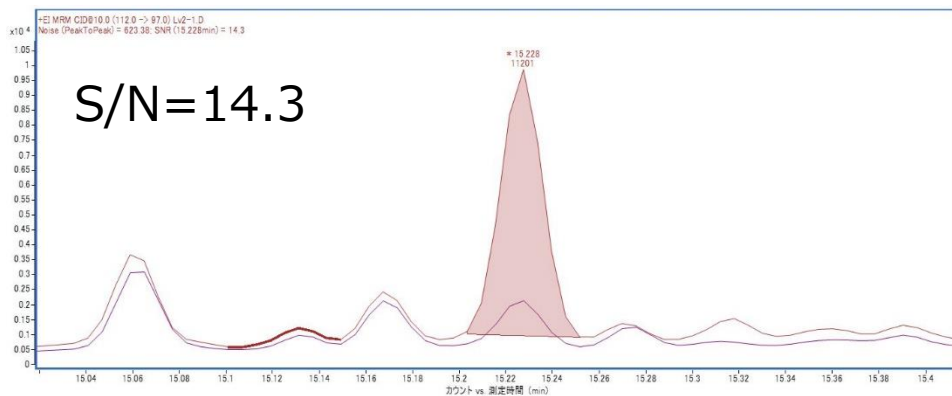
ジェオスミン

2-MIB

水道水



河川水



効率性評価

公定法-固相抽出法

検水量: 500 mL (0.01 ng/mL)

C18カートリッジカラム

コンディショニング

- ジクロロメタン: 5 mL
- メタノール: 5 mL
- H₂O: 5 mL

脱水

溶出 ジクロロメタン: 2 mL

N₂パージ

定容: 0.5 mL (0.01 μg/mL)

↓ 1 μLを注入

GC/MS分析 絶対量 0.01 ng

前処理時間約80分

検水量

1/500

溶媒量

1/10以下

前処理時間

1/10

SPE-GCシステム

検水量: 1 mL (0.01 ng/mL)

Flash-SPE HLB 3 mg

コンディショニング

- アセトン/ヘキサン=1/1 : 0.5 mL
- アセトン: 0.2 mL
- H₂O: 0.2 mL

N₂パージ

溶出・注入

アセトン/ヘキサン=1/1: 40μL

↓ 溶出液を全量注入

GC/MS分析 絶対量 0.01 ng

前処理時間約8分

まとめ

- オンラインSPE-GC/MS/MSシステムを用い、カビ臭成分分析の前処理操作の全自動化が可能となった。
- 本システムの評価において、繰り返し再現性(RSD=10%以下)および直線性($r^2=0.999$ 以上)のある結果が得られ、添加回収試験においても回収率が82%–109%となる結果が得られた。
- 公定法との比較において、ジクロロメタン使用せずに溶出が可能であり、検水量・溶媒量の削減と前処理時間の大幅短縮が可能となった。