

【資 料】

カビ臭原因物質の分析法の検討

Examination of the analysis of the causative agents of the mold smell

山本浩司, 吉岡敏行, 肥塚加奈江*, 難波順子* (水質科)
*衛生化学科

Koji Yamamoto, Toshiyuki Yoshioka, Kanae Koeduka*, Junko Namba* (Water Section)
*Food and Drug Chemical Research Section

要 旨

HS-GC/MSは、操作が簡単で迅速に分析が可能であるが、ジェオスミンの場合、内標準の添加濃度やGCカラムの選択に注意が必要であることが判明した。また、SPE-GC/MSは、固相抽出に時間を要する難点があるが、ヘッドスペースオートサンプラーがない場合には、この方法で十分測定できることが確認できた。また、SIM測定よりMS/MS測定の選択性が高く、内標準の影響を受けない利点があることも確認できた。

[キーワード：かび臭 ジェオスミン 2-メチルイソボルネオール GC/MS]
[Key word : mold smell, geosmin, 2-methylisoborneol, GC/MS]

1 はじめに

カビ臭の原因物質であるジェオスミン及び2-メチルイソボルネオール（以下2-MIB）は、水道法に基づく水質基準が0.0001mg/L以下に設定されている。測定に当たっては、基準値の1/10の定量が求められ、GC/MSを用いた測定法としては、最も高感度な測定法のひとつであり、測定法はパージ&トラップ(P&T)-GC/MS、ヘッドスペース(HS)-GC/MS、固相抽出(SPE)-GC/MS及び固相マイクロ抽出(SPME)-GC/MSが採用されている。分析方法については、研究機関やメーカーから各種報告^{1), 2)}が出されているが、基準値の10分の1の信頼性のある測定が難しい等の問題点が指摘されている。当センターでも緊急時対応が可能となるよう、カビ臭の分析方法について検討したところ、定量時に問題があることが明らかになった。そこで、当センターで実施可能なHS-GC/MSとSPE-GC/MSの分析方法について検討したところ、若干の知見を得たので報告する。

GC/MSはJMS-Q1000GC K9 (S-trap), SPE-GC/MSはJEOL JMS-Q1000GC Mk II 及びVarian-240MSであり、測定条件を表1に示す。

標準品(2-MIB, ジェオスミン, ジェオスミン-d₃, 2,4,6-トリクロロアニソール-d₃)は、和光純薬工業製を使用した。分析フローを図1に示す。

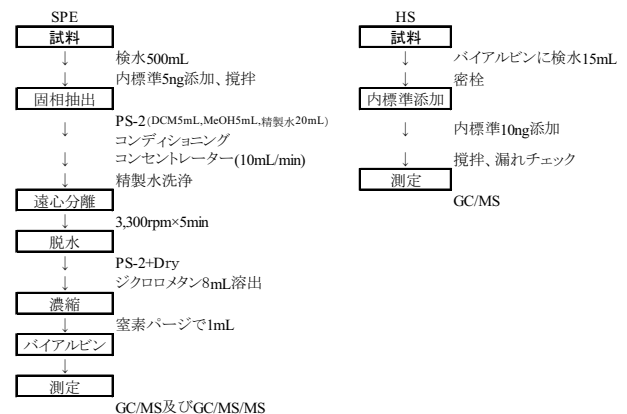


図1 分析フロー

2 実験方法

水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法（平成15年厚生労働省告示第261号）（以下、告示法）³⁾に基づき、HS-GC/MSとSPE-GC/MSを実施した。SPE-GC/MSでは四重極型とイオントラップ型で測定を行い、測定結果を比較した。使用したGC/MSは、HS-

3 結果及び考察

1) SPEの検討

SPEは低沸点溶媒をGC/MSに注入するため、特殊なオートサンプラーが必要でなく、最も分析装置の制約を受けない方法である。しかし、試料水0.5Lを固相抽出す

表1 測定条件

	HS-GC/MS (四重極型MS)	SPE-GC/MS (四重極型MS)	SPE-GC/MS/MS (イオントラップ型MS/MS)
使用機種	JMS-Q1000GC K9 Strap	JMS-Q1000GC Mk II	VARIAN 240MS
検出モード	SIM	SIM	MS/MS
使用カラム	GL Science Aquatic 60m×1.8μm×0.32mm	DB-5MS 30 m×0.25 mm, 0.25 μm (Agilent)	
カラム温度	40°C(2min)-20°C/min-150°C(0min)- 5°C/min-230°C(2min)	50 °C (2 min) – 20 °C/min – 320 °C (10 min)	
注入方法	直接導入	スプリットレス	パージ開始時間 1.5min
注入口温度	—		250 °C
注入量	—		1 μL
キャリアーガス	ヘリウム(20psi)		ヘリウム(1.0mL/min)
インターフェース温度	230°C	250 °C	300°C
イオン源温度	210 °C	210 °C	280°C
トラップ管	GLトラップ1	—	—
トラップ回数	3回	—	—
モニターイオン	2-MIB	95(107)	同左
	2,4,6-trichloroanisol- <i>d</i> ₃	213(215)	同左
	Geosmin	112(111)	同左
	Geosmin- <i>d</i> ₃	115	同左

るため、前処理に時間（約50分/1検体）を要する。告示法では、固相カラムはオクタデシル基を化学結合したシリカゲル又はこれと同等以上の性能を有するものと規定されており、今回は、4種類の固相カラムSep-Pak plus PS-2（waters製）、Sep-Pak plus tC18（waters製）、Sep-Pak plus C18（waters製）及びAquisis PLS-3（GL Science製）について検討した。

精製水0.5Lに標準物質5ngを添加（10ng/L）し、それぞれの固相カラムで抽出し、回収率を求めた結果を表2に示す。PS-2及びC18、PLS-3は良好な回収率が得られ、いずれの固相カラムも使用できると判断された。

しかし、tC18の2-MIBの回収率が58%と低い結果であった。その原因を調べたところ、内標準2,4,6-トリクロロアニソール-*d*₃のモニターイオンm/z 213に妨害ピークが重なったことにより、見掛け上回収率が低くなったことによる。tC18を使用した場合、内標準2,4,6-トリクロロアニソール-*d*₃のモニターイオンをm/z 215に変更したところ、正常な回収率（95%）となった。したがって、モニターイオンの選択にも注意が必要であることが判明した。

表2 4種類の固相カラムの添加回収率(%)

回収率(%)	PS-2	C18	tC18	PLS-3
2-MIB	84	86	58	92
Geosmin	107	107	119	107

2) SPEによる低濃度添加回収試験

水道水0.5Lにアスコルビン酸0.1gを添加して、塩素を除去した試験水を用いて添加回収試験を実施した。設定濃度は10ng/L（PS-2）と1ng/L（C18）とし、試験回数

はそれぞれ5回行った。本来は同一濃度で比較すべきであるが、限られた時間の中で違う固相及び違う濃度でも添加回収率に問題がないことを確認するために、今回の条件で行った。測定は、JMS-Q1000GC Mk II及びVARIAN-240MSで行った。添加回収試験結果を表3に、添加回収試験時のクロマトグラム（SPE-GC/MS）を図2に示す。いずれの装置でも10ng/L及び1ng/Lの回収率は82～104%であり、変動係数（CV）は1.7～5.1%と良好な結果が得られた。

表3 添加回収試験結果(%)

10ng/L PS-2回収率(%)	SPE-GC/MS		SPE-GC/MS/MS	
	2-MIB	Geosmin	2-MIB	Geosmin
添加(10ng/L)-1	89	96	80	91
添加(10ng/L)-2	90	96	97	95
添加(10ng/L)-3	93	94	96	95
添加(10ng/L)-4	95	96	94	99
添加(10ng/L)-5	93	93	99	95
平均	92	95	93	95
CV(%)	2.4	1.7	8.2	3.1

1ng/L C18回収率(%)	SPE-GC/MS		SPE-GC/MS/MS	
	2-MIB	Geosmin	2-MIB	Geosmin
添加(1ng/L)-1	94	102	84	96
添加(1ng/L)-2	98	103	85	100
添加(1ng/L)-3	100	102	83	98
添加(1ng/L)-4	104	95	82	101
添加(1ng/L)-5	104	98	93	91
平均	100	100	85	97
CV(%)	4.2	3.4	5.1	4.1

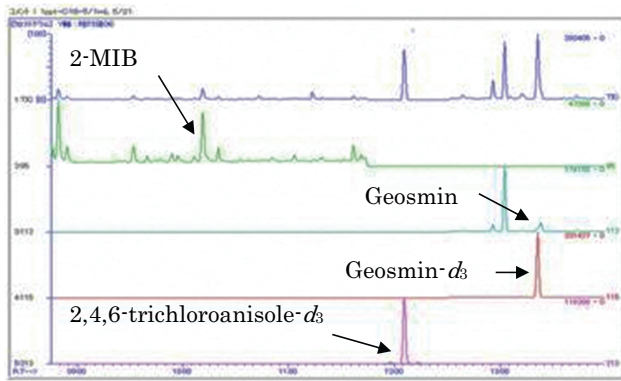


図2 添加回収試験 (1ng/L) のクロマトグラム (SPE-GC/MS)

3) HS-GC/MS

HS-GC/MSは操作が簡単で、かつ迅速に測定が可能であるが、専用のオートサンプラーが必要である。トラップ機能を有するJMS-Q1000GC K9 (S-trap) を用いて、検出感度を確認した。塩化ナトリウムは添加しないで、精製水15mLに内標準及び標準を添加し、トラップ回数3回で測定⁴⁾したところ、1ng/Lでも十分測定可能であった。公定法では塩化ナトリウムを添加するよう記載されているが、装置感度が十分あり、添加回収試験の結果が問題なかったため、添加せずに測定を行った。

4) 検出感度の比較

HS-GC/MS、SPE-GC/MS及びSPE-GC/MS/MSについて感度を比較した。試料換算の濃度で最も高感度に測定できたのは、SPE-GC/MSで0.2ng/Lであった。次にSPE-GC/MS/MSで0.5ng/L、HS-GC/MSで1ng/Lであった。いずれの方法でも基準値の1/10が測定可能であった。

5) 内標準d体の影響

図3にHS-GC/MSで測定した1ng/Lのクロマトグラムを示す。ジェオスミン-d₃とジェオスミンのピーク分離が不十分で、かつジェオスミン定量用イオンm/z 112にジェオスミン-d₃のフラグメントイオンm/z 112が重なり、特に、低濃度の試料の面積値の積算は自動で行うのは困難で、手動で行う必要があることがわかった。したがって、シングル四重極型GC-MSを用いてSIM測定する場合には、ジェオスミン-d₃の添加量を極力少なくするか、分離ができる昇温条件やGCカラムを再検討する必要があると考えられた。なお、図4にHS-GC/MS測定時のジェオスミンの検量線を示す。1～200ng/Lの範囲で直線性 (r²>0.999) が確認された。

一方、GC-MS/MS測定の場合には、プロダクトイオン

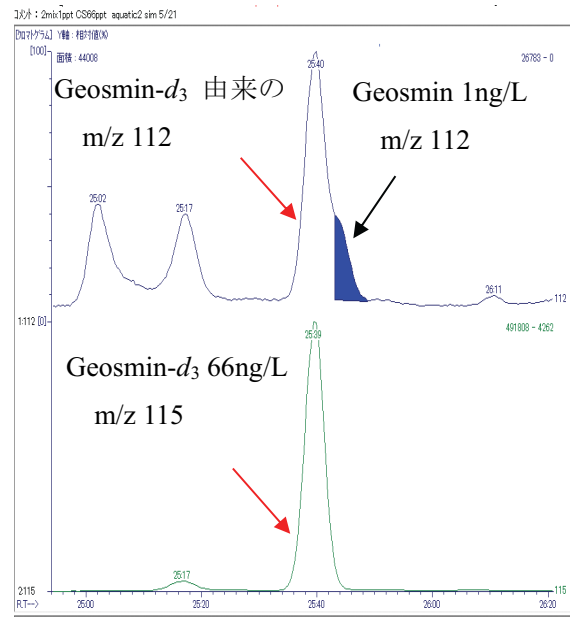


図3 Geosminのクロマトグラム(HS-GC/MS)

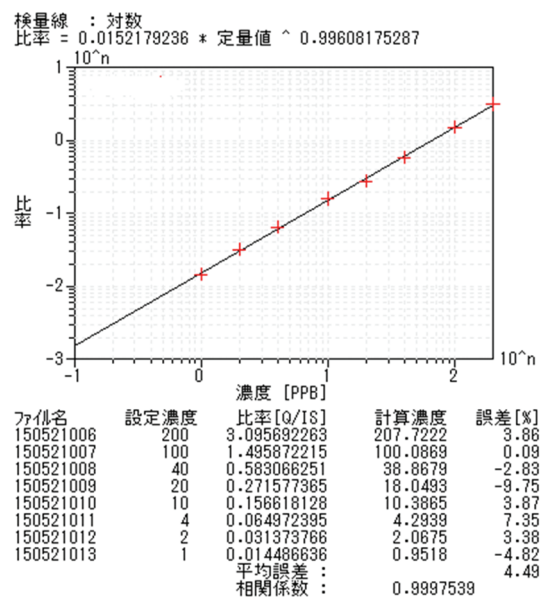


図4 Geosminの検量線 (HS-GC/MS)

m/z 97のプリカーサーイオンが異なるために図5に示すとおり、SIM測定のようなd体の影響は全く見られなかった。

SPE-GC/MS/MS測定時のジェオスミンの検量線を図6に示す。0.5～20ng/Lの範囲で直線性 (r²>0.995) が確認された。なお、SPEの場合には、検量線溶液もSPE抽出により調製するため、若干、相関が悪くなったと考えられた。

2-MIBについては図7～9に示すとおり、HS-GC/MS (1～100ng/L)、SPE-GC/MS (0.2～20ng/L)、SPE-GC/

MS/MS (0.5 ~ 20ng/L) のいずれの測定法であっても直線性 ($r^2 > 0.995$) が確認された。

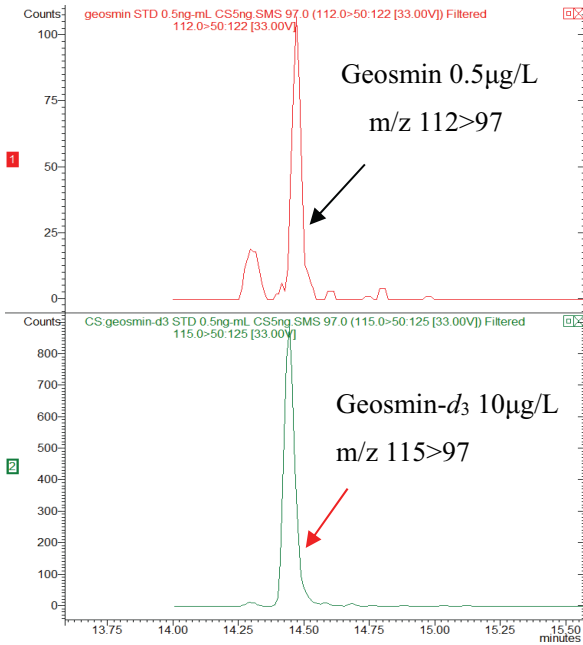


図5 Geosminのクロマトグラム (SPE-GC/MS/MS)

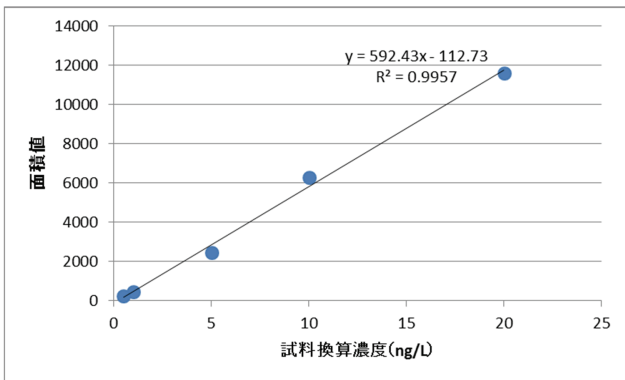


図6 Geosminの検量線 (SPE-GC/MS/MS)

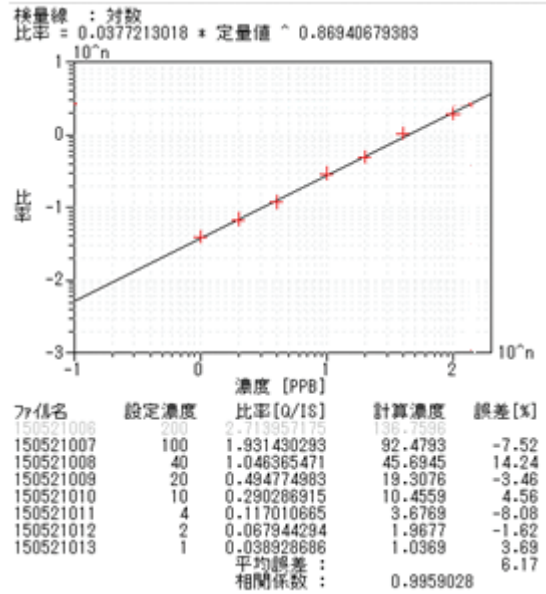


図7 2-MIBの検量線 (HS-GC/MS)

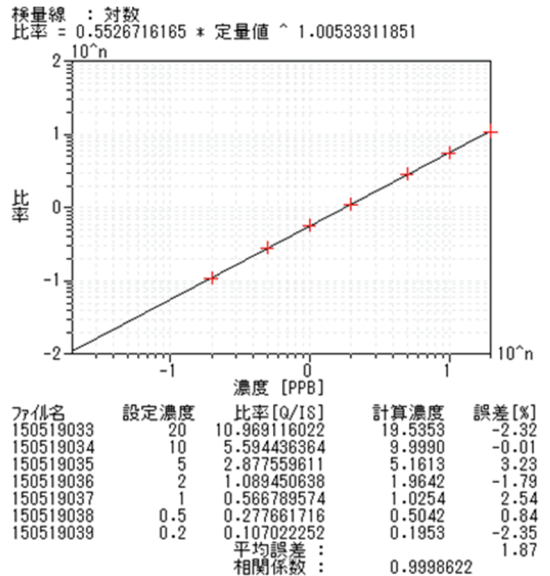


図8 2-MIBの検量線 (SPE-GC/MS)

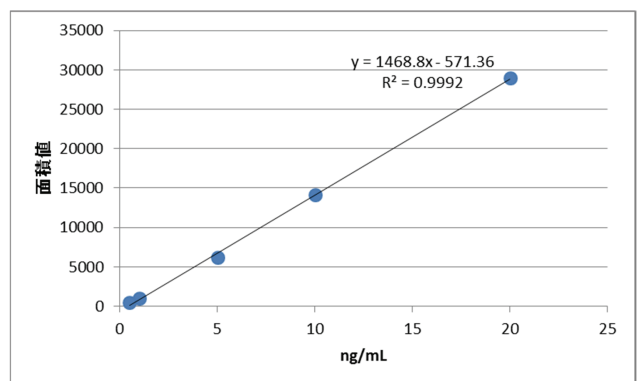


図9 2-MIBの検量線 (SPE-GC/MS/MS)

4 まとめ

かび臭原因物質であるジェオスミンと2-MIBについて、2種類の前処理法で3種類の測定法を検討した。検討の結果、いずれの方法でも基準値の1/10である1ng/Lレベルの測定は可能であった。

文献

- 1) 渡辺貞夫：水中のカビ臭物質（2-メチルイソボルネオールおよびジェオスミン）分析法の検討，神奈川県衛生研究所研究報告 No_34 (2004)
- 2) 谷澤春菜：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，株式会社アイステイサイエンス <http://www.aisti.co.jp/common/pdf/sk1801a.pdf>
- 3) 水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法（平成15年厚生労働省告示第261号）
- 4) 榎本剛司：トラップ-ヘッドスペースによるVOCとカビ臭の同時分析，日本電子データム(株) www.ee-net.ne.jp/ms/sympo08/abstract-pdf/24_enomoto.pdf