

4. 液体クロマトグラフ質量分析法によるジェオスミン及び2-メチルイソボルネオール の分析法の検討

船附 壮一 森口 泰男
立石 浩之 平林 達也

1. はじめに

水道水の異臭味被害の主要な原因物質であるかび臭原因物質（ジェオスミン及び2-メチルイソボルネオール）は、従来から、ガスクロマトグラフ質量分析法（以下、GC-MS法）によって測定されている。一方で、液体クロマトグラフ質量分析法（以下、LC-MS法）は、水溶性の高い化合物の測定に適しており、装置の性能向上とともに多くの有機化合物の測定に用いられている。LC-MS法は、近年、世界的に供給不足となっているヘリウムガスを使用せず、水試料を直接注入して分析できることから、測定の前処理の簡易化が見込めるため、LC-MSによるかび臭原因物質の分析方法の検討を行った。

2. 実験手法等

2. 1 イオン化条件の検討

ESI法のポジティブモード及びネガティブモード、APCI法のポジティブモード及びネガティブモード、それぞれについて、フローインジェクション法によるスキャン分析を行い、かび臭原因物質のイオン化を確認した。次に、プロダクトイオンスキャン分析により、生成するプロダクトイオンの探索を行った。

2. 2 LC-MS分析条件の検討

プリカーサーイオンの強度が最大化する移動相組成について、アセトニトリルまたはメタノールまたは精製水を使用してイオン強度の比較を行った。その後、移動相流速、分離条件、その他のパラメーターの最適化を行った。

2. 3 固相抽出法の検討

告示法で定められている、かび臭原因物質の固相抽出-GC-MS法¹⁾を参考に、かび臭原因物質の濃縮条件の検討を行った。告示法では、抽出溶媒にジクロロメタンを用いることとなっているが、本検討では、アセトニトリルまたはメタノールでの抽出を試みた。また、固相カラムは InertSep Slim-J PLS-2（充填量265 mg、ジーエルサイエンス製、以下、PLS-2）と InertSep Slim-J PLS-3（充填量230 mg、ジーエルサイエンス製、以下、PLS-3）について検討を行った。

2. 4 分析精度の確認

かび臭原因物質が200 ng/L~4000 ng/Lになるように精製水に添加した試料と、かび臭原因物質が1~20 ng/Lになるように精製水に添加し、固相抽出によって200倍濃縮を行った試料を測定し、検量線の比較を行うことで、固相抽出による回収率を評価した。さらに、厚生労働省が提示している水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン²⁾に従い、かび臭原因物質が1 ng/Lになるように水道水に添加した試料を用いて、真度、併行精度等を評価した。

3. 調査結果

3. 1 イオン化条件の検討結果

ESIのポジティブモード、ネガティブモード及びAPCIのネガティブモードではジェオスミン及び2-MIBに由来すると考えられるイオンは検出されなかったが、APCIのポジティブモードでは、ジェオスミンで m/z 165、2-MIBで m/z 151のイオンが検出された。これらをプリカーサーイオンとしてプロダクトイオンスキャン分析を行ったところ、いずれのプリカーサーイオンからも m/z 109、95、81、67等のプロダクトイオンが検出されたため、これらのフラグメントイオン強度が最大になるようにコリジョンエネルギーを調整し、MS/MS条件とした。

3. 2 LC-MS分析条件の検討結果

移動相として精製水とメタノールを用いた場合は、ジェオスミンのイオン強

表-1 LC-MS/MS分析条件

移動相	A) 水 B) アセトニトリル
グラジエント条件	0min(95:5)→2min(95:5)→2.5min(10:90)→ (A:B) 6.6min(10:90)→6.9min(95:5)→9.4min(95:5)
流速	0min(0.8mL/min)→2min(0.8mL/min)→ 2.5min(0.1mL/min)→6.6min(0.1mL/min)→ 6.9min(0.8mL/min)→9.4min(0.8mL/min)
オープン温度	40°C
注入量	50 µL
イオン化法	APCI(+)
インターフェイス電圧	3.4kV(ジェオスミン)、3.6kV(2-MIB)
インターフェイス温度	170°C
ネブライザーガス流量	3.8L/min
ドラインガス流量	3.0L/min
DL温度	200°C
ヒートブロック温度	200°C
MRM条件	ジェオスミン 165.15>109.20 165.15>95.20 165.15>67.20 2-MIB 151.20>95.20 151.20>81.20

度が著しく低下することを確認した。一方で、精製水とアセトニトリルを用いた場合は、2-MIBの感度が低下するが、ジェオスミンの感度低下はメタノールを用いた場合より少なかった。ジェオスミンのブリーカーサーイオン強度は2-MIBと比べて弱いことから、移動相の有機相にはジェオスミンの感度低下が少ないアセトニトリルを使用することとした。移動相流速や分離条件、その他測定パラメーターを最適化した分析条件を表-1に示す。

3. 3 固相抽出法の検討結果

固相カラムにPLS-2、PLS-3を使用し、抽出溶媒にアセトニトリルまたはメタノールを用いて回収率を比較したところ、いずれの組み合わせでもジェオスミン、2-MIBともに抽出できたが、LCに50 μ L注入した場合、ピーク形状が著しく悪化した。固相カラムと抽出溶媒の組み合わせによる固相抽出回収率を表-2に示す。固相カラムについては、回収率が高いPLS-3を用いることとした。一方、抽出溶媒については、ジェオスミンと2-MIBで回収率が高い溶媒が異なったが、感度の低いジェオスミンの回収率が高いメタノールを使用することとした。

次に、悪化したピーク形状の回復を試みるため、試料の有機溶媒と水の比率の調整を行ったところ、抽出溶媒と同量の水を添加することで、水試料と同等のピーク形状に回復することを確認した。また、抽出液量については0.5 mLのメタノールで抽出した時点で、ジェオスミン、2-MIBの回収率は95%以上となり、1 mLのメタノールで抽出することで全量回収できることを確認した。固相抽出条件を表-3に示す。

3. 4 分析精度の確認結果

厚生労働省が提示している水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインに従った添加試料の評価結果を表-4に示す。水道水に添加したジェオスミン、2-MIBにおいて、規定されている精度目標（真度70～130%、併行精度 \leq 20%、室内精度 \leq 25%）を全て満たしていることを確認した。なお、標準試料は50%メタノール水溶液で調製したが、精製水で調製した場合でも感度は同等であった。

4. まとめ

LC-MSを用いたかび臭原因物質の分析条件の検討を行い、その分析精度は妥当性評価ガイドラインが掲げる精度目標を全て満たしていることを確認した。検討の結果、かび臭原因物質の濃度が高い場合は水試料の直接注入や簡易な前処理によって測定可能であり、水質基準値の1/10レベルの場合、固相抽出による濃縮を行うことで精度良く測定可能であった。近年、ヘリウムガスの供給不足が世界的な問題となり、多くの水道事業者において検査方法の変更等の対応がされているが、かび臭原因物質については分析感度の観点から従来のGC-MSを用いた測定法以外の代替手段が確立されていないため、喫緊の課題となっている。本LC-MS法はヘリウムガスを使用せずに、水道水中に含まれるかび臭原因物質を精度よく測定することが可能であることから有益な水質検査法となることが期待できる。

5. 参考文献

- 1) 厚生労働省：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7月22日厚生労働省告示第261号〔最終改正令和4年3月31日厚生労働省告示第134号〕）
- 2) 厚生労働省：水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン（平成24年9月6日健水発0906第1～4号〔最終改正平成29年10月18日薬生水発1018第1～4号〕）

表-2 固相抽出回収率

InertSep Slim-J PLS-2 265 mg	ジェオスミン		2-MIB	
	アセトニトリル	メタノール	アセトニトリル	メタノール
抽出溶媒				
回収率 (%)	60	84	85	87

InertSep Slim-J PLS-3 230 mg	ジェオスミン		2-MIB	
	アセトニトリル	メタノール	アセトニトリル	メタノール
抽出溶媒				
回収率 (%)	73	94	98	80

表-3 固相抽出条件

固相カラム	InertSep Slim-J PLS-3 230 mg
コンディショニング	
メタノール	5 mL
精製水	5 mL
試料通水量	400 mL (10 mL/min)
洗浄量	10 mL
乾燥時間	1 min
抽出溶媒	メタノール
浸漬条件	0.7 mL (2 min)
抽出量	1 mL
抽出方向	バックフラッシュ
精製水添加量	1 mL
最終液量	2 mL
濃縮倍率	200

表-4 妥当性評価結果

	真度	併行精度	室内精度
ジェオスミン	89.3%	7.1%	17.5%
2-MIB	97.6%	7.7%	11.2%