

技術報告

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

渡 辺 貞 夫

Studies on the Method for Determination of Musty Odor Substances  
(2-Methylisoborneol and Geosmin) in Water

Sadao WATANABE

Synopsis

The analytical method of 2-MIB and geosmin causing a musty odor in water was examined in detail by a solid-phase extraction-GC/MS. It was possible to measure up to one tenth of the water quality criteria by the tC18 cartridge column and it satisfied the coefficient of variation within 20%, too. The possibility of satisfying this requirement was suggested as for the cartridge column of C18 or PS-2. However, in the case of an actual sample, the measurements of the minimum limit up to one tenth of the criteria value were did not satisfied the requirment because of a pseudopositivity of the background origin in the sample under the present situation.

Key Words : analytical method, musty odor substance, 2-methylisoborneol(2-MIB), geosmin, solid-phase extraction, GC/MS

緒 言

平成15年5月30日の告示<sup>1)</sup>により水質基準が改訂され、従来の46項目の中で9項目が削除され、新たに13項目が追加され50項目となった。今回の改訂で水のカビ臭原因物質の2-メチルイソボルネオール (2-MIB) 及びジェオスミンが新たに水質基準項目に取り入れられた。

今回の水質基準値は2-MIB及びジェオスミンいずれも0.00001mg/L (10ng/L) 以下と規定されたが、平成19年3月31日までは暫定的な基準値0.00002mg/L以下が適用される。測定精度に関しては、基準値の十分の一までを測定し、その値付近での変動係数が20%以下という指標が示されている<sup>2)</sup>。

告示で指定された測定法は、パージ・トラップ- ガスクロマトグラフ/ 質量分析法 (以下 PT-GC/MS 法と略す)、ヘッドスペース- ガスクロマトグラフ/ 質量分析法 (HS-GC/MS 法) 及び固相抽出- ガスクロマトグラ

フ/ 質量分析法 (固相抽出-GC/MS 法) の3方法である<sup>3)</sup>。前記2方法は、GC/MSの他にヘッドスペース装置またはパージトラップ装置が必要であるが、固相抽出-GC/MS法は特別な装置が不要で標準仕様の GC/MSで対応可能であるので、この方法を用いたときの検査上の問題点について検討した。

実験方法

1. 試薬

2-MIB 及びジェオスミン：和光純薬工業 (株) 社製水質試験用で、各100mg/L濃度の混合メタノール溶液を標準原液とした。これをメタノールで逐次希釈して0.01 mg/L ~ 0.1mg/Lの標準溶液を調製した。

精製水：逆浸透およびイオン交換による処理により得られた水を用いた。

Sep-Pak Plus C18, Sep-Pak Plus tC18及び Sep-Pak Plus PS-2カートリッジカラム：Waters 社製のカラムをジクロロメタン5mL, メタノール5mL 及び精製水5mLで順次洗浄及び活性化後、すみやかに使用した。

その他試薬：残留農薬試験用あるいは試薬特級を用いた。

## 2. 装置および測定条件

### 2・1 装置

ガスクロマトグラフ - 質量分析計 (GC/MS) : 以下の2社の製品を用い, 主として HP 社の製品で測定し, 感度比較として日本電子 (株) 製と対比した。

A HP社製 6890/5973型

B 日本電子 (株) 製 オートマス System 150

加圧型固相抽出用定流量ポンプ: Waters 社製 Sep-Pak コンセントレーターを用いた。

### 2・2 測定条件

GC/MSの測定条件は表1に示した。

表1 2-MIB 及びジェオスミン測定のための GC-MS条件

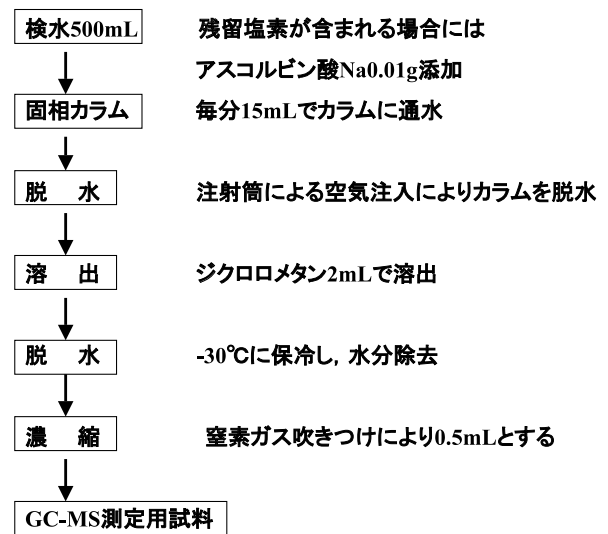
カラム: DB-5MS (長さ30m, 内径0.25mm, 膜厚0.25 $\mu$ m)
カラム温度: 40 $^{\circ}$ C (1min)—10 $^{\circ}$ C/min—180 $^{\circ}$ C (0min)—20 $^{\circ}$ C/min—280 $^{\circ}$ C (4min)
注入口温度: 200 $^{\circ}$ C
ガス流量: 1.3mL/min
注入量: 2 $\mu$ L (スプリット)
イオン化電圧: 70eV
測定m/z: 95, 107, 135 (試料注入後 5~11.5分の間)
112, 111, 125 (11.5~18分)

## 3. 試験溶液の調製

精製水及び水道水への2-MIB及びジェオスミン添加回収実験

精製水500mL に2-MIB及びジェオスミン0.01~0.1mg/Lの混合標準メタノール溶液を50 $\mu$ L添加し, 0.000001mg/L~0.00001mg/Lの濃度の水溶液を調製した。水道水については, 所内の水道蛇口を約2分間放水後, 採水した水500mLに残留塩素を除去するためにアスコルビン酸ナトリウム0.01g 加え, かくはんして溶解後, 約10分間放置した。その後, 精製水と同様に2-MIB及びジェオスミンを添加した。調製した水溶液は, 定流量ポンプにより毎分15mLで固相カラムに通水後, カラムは注射筒を使い水分が出なくなるまで3~5回強く空気を吹き出した後, ジクロロメタン2mLで溶出した。溶出したジクロロメタンにはまだ水分が含まれているため, 密栓をして-30 $^{\circ}$ Cのフリーザーで2-3時間放置することにより水分を凍結し, 凍結しないジクロロメタン相を分取した後, 窒素気流下で0.5mLに濃縮した。なお, スキーム1にその概要を示した。得られた GC/MS 用試験液はジクロロメタン溶液であるので, 2-MIB 及びジェオスミンの混合メタノール標準原液をジクロロメタンで希釈した標準系列

を調製した。標準系列の GC/MS 測定による絶対検量線法により2-MIB 及びジェオスミンの溶出濃度を求めた。



スキーム1 水中の2-MIB 及びジェオスミン固相抽出法

## 結果及び考察

### 1. GC/MS による2-MIB 及びジェオスミン標準溶液の測定

2-MIB 及びジェオスミンのマススペクトルを図1に示した。告示法では2-MIBはm/z 95, 107及び135のフラグメントイオン, ジェオスミンはm/z 112, 111及び125のフラグメントイオンのピーク高さ又はピーク面積により定量する方法が示されている。2-MIB 及びジェオスミンが水質基準値の0.00001mg/Lである場合, 500mLの水溶液から固相カラム濃縮及びジクロロメタン溶出操作で100%抽出できたとすると, 0.5mLのGC/MS試験溶液中の濃度は0.01mg/Lとなる。この濃度では2-MIBのm/z 95, 107及び135, ジェオスミンのm/z 112, 111及び125のフラグメントイオンのピーク高さは十分に有り, いずれのフラグメントイオンでも定量に使うことが可能であった(図2)。しかし, その十分の一の濃度となると最もピーク高さのある2-MIBのフラグメントイオンのm/z 95, ジェオスミンのm/z 112での定量は可能であったが, 他のフラグメントイオン強度は弱く定性には使えるが定量には不十分であった。そこで, 2-MIBはm/z 95, ジェオスミンはm/z 112のピーク面積による定量を行い, 他のフラグメントイオンは定性に使うこととした。

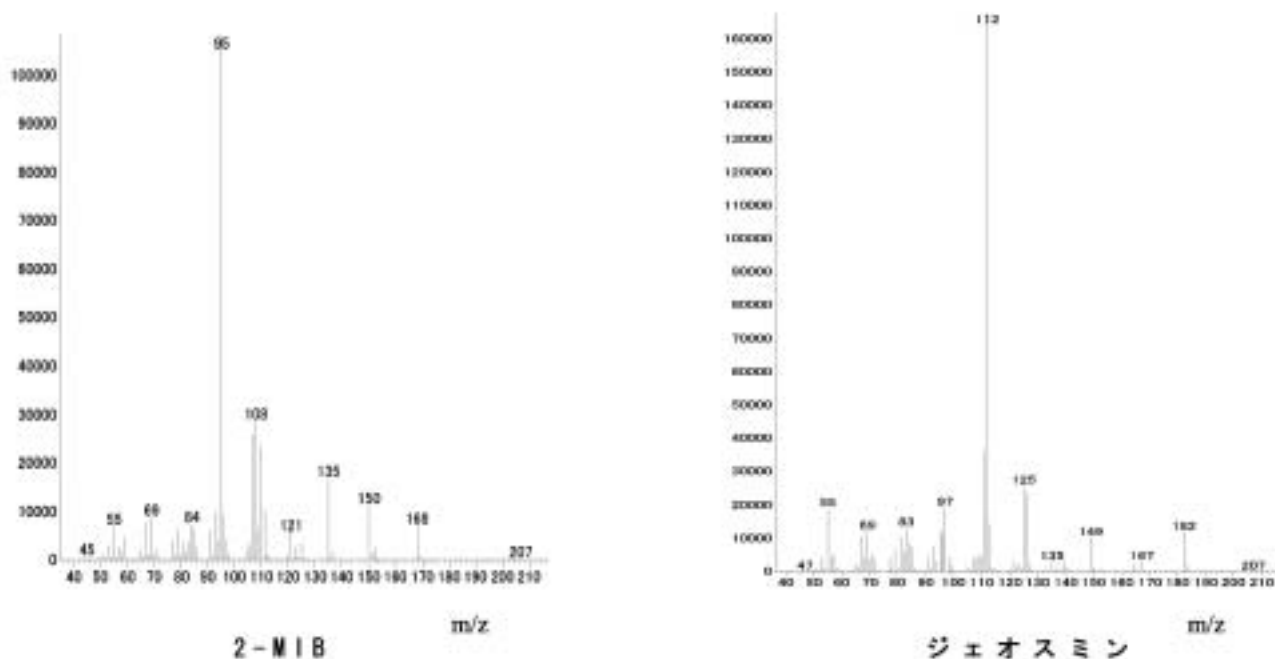


図1 2-MIB及びジェオスミンのマススペクトル

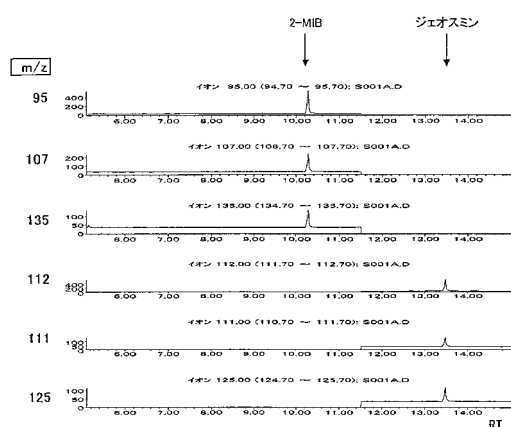


図2 2-MIB及びジェオスミン0.01mg/L濃度のマスクロマトグラム

2. 固相カラムの検討

告示法で指定された固相カラムは、オクタデシル基を化学結合したシリカゲルを詰め込んだもの又はこれと同等以上の性能を有するものとの記載がある。今回、オクタデシル基を化学結合したシリカゲルカラムのC18及びtC18、また水中の農薬の検査に汎用されるスチレンジピニルベンゼン重合体のPS-2カラムにより比較検討した結果を表2に示した。表には精製水あるいは水道水について空試験を行い、そのピーク面積を差し引いて得られた面積で定量値を求めた。

いずれのカラムも標準品を精製水に加えたものでは、基準値の十分の一である0.000001mg/Lまで定量可能であり、2-MIBあるいはジェオスミンいずれもマスクロマトグラム上にそれぞれ3つのフラグメントイオンのピーク

表2 固相カラムによる水溶液からの2-MIB及びジェオスミンの回収

カラム	添加濃度 (mg/L)	2-MIB				ジェオスミン			
		精製水		水道水		精製水		水道水	
		回収率(%)**	CV(%)	回収率(%)**	CV(%)	回収率(%)**	CV(%)	回収率(%)**	CV(%)
C18	0.00001	97.2		106.0		83.4		117.1	
	0.000005	86.1		92.4		90.8		111.2	
	0.000002	76.0		65.2		75.4		68.3	
	0.000001	86.3		41.2		76.6		36.0	
tC18*	0.00001	89.0±11.3	12.7	107.3±15.7	14.6	86.7±15.2	17.5	111±8.5	7.7
	0.000005	85.7±7.5	8.8	105.7±13.6	12.8	87.3±4.5	5.2	105.7±14.0	13.3
	0.000002	84.3±13.1	15.5	77.0±8.5	11.1	105.7±17.6	16.7	79.3±14.7	18.6
	0.000001	96.7±12.3	12.8	42.3±26.6	62.8	90.7±4.0	4.5	68.7±45.0	65.5
PS-2	0.00001	96.0		83.1		121.5		95.1	
	0.000005	77.4		86.0		70.2		126.0	
	0.000002	100.7		62.1		88.0		64.3	
	0.000001	110.0		34.1		117.2		44.7	

\*tC18カラムのみ3回繰り返し、回収率の欄は平均±S.D.を示した。他は1回の回収率である。

\*\*回収率(%)はジクロロメタン標準液に対する値で、かつ空試験値を差し引いた値である。

クがすべて認められた。実試料の定量は、標準品の単純な希釈系列による絶対検量線法によるものではなく、精製水500mLに標準品を添加し、検体と同じ操作を行ったもので定量用検量線を作成することになっている。そこで、tC18カラムの平均回収率を例にとり添加濃度に対して回収濃度を求めた結果を図3に示した。原点を通る一次回帰直線とはいかないまでも、検量線としては十分であり、この結果から基準値の十分の一の濃度まで検量線が得られた。他のカラムによる添加回収実験結果からも、回収率はいずれの濃度も70%以上あり、検査に使用できるものと思われた。今回、その中でtC18のカラムは3回の繰り返し実験を行い、変動係数(CV)を求めたところいずれも20%以内で、指定された条件を満たしていた。

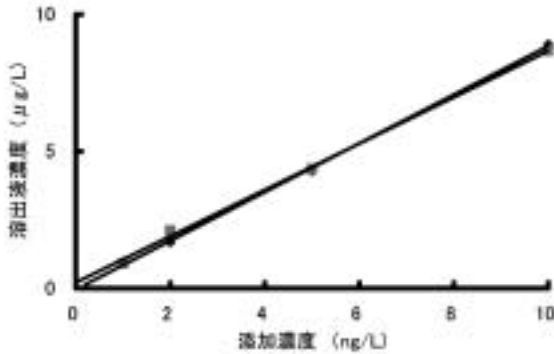


図3 絶対検量線により求めた固相カラム tC18 - ジクロロメタン溶出による2-MIB およびジェオスミン濃度

○ : 2-MIB , □ : ジェオスミン

添加濃度 : 添加した2-MIB及びジェオスミンの水溶液 500mL中の濃度

溶出液濃度 : 溶出液0.5mL中の濃度

3. 水道水からの回収

水道水の場合には、検体由来の微量な有機物が定量に影響した。図4にtC18カラムにより得られた空試験によるイオンクロマトグラムを示したが、2-MIBにみられるように m/z 95では2-MIBの溶出相当位置にピークがあり、数値として定量された。しかし、定性に使う m/z の107及び135では溶出位置からわずかにずれた位置にはピークがあるが、溶出位置にはピークが認められないことから擬陽性であると判断された。ジェオスミンの場合も同様であった。表2にはこれらの空試験値を差し引いた結果を示した。

カビ臭に関する臭気苦情が寄せられる最低濃度は2-MIBが20ng/L程度以上、ジェオスミンが30~40ng/L程

度以上との報告がある<sup>9)</sup>。このような背景から、今回の水質基準値は両者いずれも10ng/L以下と極めて低い濃度に設定された。固相カラム-GC/MS法は、検体由来のバックグラウンドの影響が特に低濃度で大きく影響し、0.000001mg/L (1ng/L)の濃度ではtC18のカラムでCV値が20を大きく超えた。他のカラムでも空試験値を引くと回収率が低くなり、信頼できる定量値は得られにくくなると考えられた。

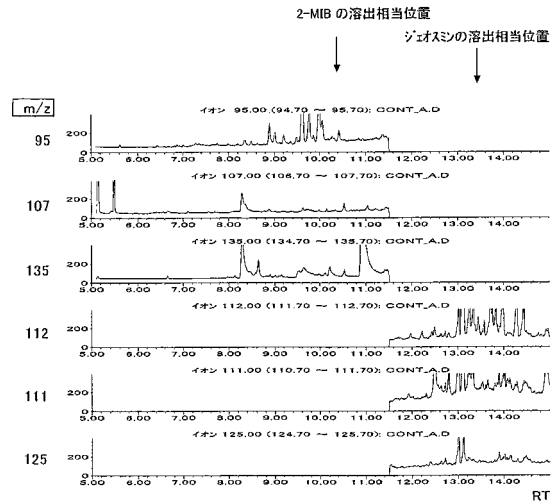


図4 水道水由来によるバックグラウンドのマスクロマトグラム

4. GC-MSの機種による比較

固相カラムによる測定では、検水に含まれる有機物の影響を受け、十分な定量下限が得られない場合があった。この原因が本実験で使用したHP社製のGC/MSの性能によるものかを判断するため、一般的により高感度といわれている日本電子製のGC/MSとの比較を行った。0.001mg/L ~ 0.01mg/Lのジクロロメタン標準溶液についてGC/MS条件を同一にして行った結果を表3示した。この結果、本実験結果からはHP社製あるいは日本電子製で測定された2-MIBの m/z 95及びジェオスミンの m/z 112のマスクロマトグラム上のピークのS/N比から、いずれの濃度でも大きな有意差はなかった。また、一般的な定量限界であるS/N比の値が10を適用すると、基準値の十分の一の濃度では標準品でもS/N比が10程度であるため、検体由来のバックグラウンドが高い試料では定量下限を0.000001mg/Lにすることは本法では困難であり、信頼できる定量下限値は0.000002mg/Lあるいはそれ以上になると考えられた。

表3 2-MIB及びジェオスミン標準溶液のクロマトグラム上でのS/N比の比較

	HP5973			日本電子オートマ150 System II		
	0.01	0.005	0.001	0.01	0.005	0.001 (mg/L)
2-MIB	230	140	16	150	95	10
ジェオスミン	230	141	13	180	80	18

2-MIBはm/z 95,ジェオスミンは112で比較

告示に示された各方法の定量下限は、PT-GC/MS法で0.000001mg/L、HS-GC/MS法及び固相抽出-GC/MS法で0.000002mg/Lとの報告がある<sup>5)</sup>。今回の結果などから、暫定基準の適用される平成19年3月31日までは固相抽出-GC/MSでも基準値の十分の一の測定は可能と考えられるが、本来の基準の適用されるそれ以降では基準値の十分の一については信頼性のある測定精度の確保はむずかしいと考えられた。

まとめ

固相抽出-GC/MS法によるカビ臭原因物質2-MIB及び

ジェオスミンの測定法について詳細に検討した。固相カラムはtC18カラムで水質基準の十分の一まで測れる検量線が得られ、かつ変動係数も20%以内で条件を満たしていた。C18あるいはPS-2のカラムでもこの条件を満たす可能性が示唆された。ただし、実際のサンプルでは検体由来の微量な有機物の影響のためカイオンクロマトグラム上の夾雑ピークがあり、水質基準値の十分の一までの測定は現状では変動係数などの必要条件を満たせなかった。

(平成16年7月28日受理)

文 献

- 1) 厚生労働省令第101号 (2003), 平成15年5月30日
- 2) 健水発第1010001号 (2003), 平成15年10月10日
- 3) 厚生労働省告示第261号 (2003), 平成15年7月22日
- 4) 上水試験方法解説2001年版, pp.734, 日本水道協会, 東京 (2001)
- 5) 上水試験方法2001年版, pp.485-496, 日本水道協会, 東京 (2001)