

キャリアガスに窒素を用いた GC/MS 分析による

微量成分定量方法の検討

瀬賀悟史・恩田紘樹・川上亮英*

The preliminary attempt to quantifying trace components by GC/MS analysis
using nitrogen as carrier gas

SEGA Satoshi, ONDA Kouki, KAWAKAMI Ryouei

群馬県立群馬産業技術センターに設置のガスクロマトグラフ質量分析装置(以下、GC/MS)において、微量成分定量分析における代表的な物質であるジェオスミン(以下、Geosmin)と2-メチルイソボルネオール(以下、2-MIB)を例にとり、キャリアガスに窒素を用いて定量分析を試みた。その結果、固相マイクロ抽出(以下、SPME)-GC/MSでヘッドスペース(以下、HS)-GC/MSよりも多くの成分をGC/MSに導入できた。さらにSPME-GC/MSによるGeosmin及び2-MIBの検出限界値は共に11 pptであったことから、110 ppt以上のGeosmin及び2-MIBであれば定量分析できることが示唆された。以上のことから、他の揮発性有機化合物についても同様の条件で定量分析できると推測された。

キーワード: ガスクロマトグラフ質量分析、キャリアガス、窒素、ジェオスミン、2-メチルイソボルネオール

The quantitative analysis of representative trace components such as geosmin and 2-methylisoborneol (2-MIB) was attempted by gas chromatograph mass spectrometer (GC/MS) using nitrogen as carrier gas in Gunma industrial technology center. As a result, larger amount of these components could be provided to solid-phase microextraction (SPME)-GC/MS compared with head-space (HS)-GC/MS. In addition, considering the detection limits of geosmin and 2-MIB were both 11 ppt in SPME-GC/MS analysis, it was suggested that these components could be quantified at more than 110 ppt level. From these results, it was assumed that other volatile organic components could be also quantified by similar analytical method.

Keywords: gas chromatograph mass spectrometry, carrier gas, nitrogen, geosmin, 2-methylisoborneol

1 まえがき

GC/MSは主として揮発性有機化合物の定性・定量に用いられる。GC/MSのキャリアガスとしては、不活性で、分析可能な線速度範囲が広いヘリウムが最も汎用的に用いられてきたが、昨今の世界的なヘリウムの供給不足により入手が困難な状況であり、今後も安定供給の見通しが立っていない。このため、

ヘリウム以外の不活性ガスをキャリアガスとして用いた分析条件の確立が急務となっているが、キャリアガスを変更した場合、分析対象物の検出感度が変化するため、特に微量成分の分析では検出限界値を把握する必要がある。

そこで本研究では、水道水のかび臭原因物質であり^{1、2)}、水道法に基づく水質基準値³⁾が0.00001 mg/L (10 ppt)と極めて微量であるGeosminと2-MIBを例に、当センター保有のGC/MSにより窒素をキャリアガスとして分析

を試み、さらにこれらの分析対象物について検出限界値及び定量下限値を算出したので報告する。

2 実験方法

2.1 試薬

Geosmin 及び 2-MIB の標準試料としてかび臭物質 2 種混合標準液 (各 0.1 mg / L) JCSS 化学分析用 (水質試験用) (関東化学株式会社) を用いた。内部標準物質として 2,4,6-トリクロロアニソール-d3 (以下、TCA) 標準液 (1 mg / mL メタノール溶液) (水質試験用) (富士フイルム和光純薬株式会社) を用いた。

2.2 機器

ガスクロマトグラフ四重極型質量分析計の 7890B GC / 5977A MSD (アジレント・テクノロジー株式会社製) を使用し、GC カラムは DB-5HT (30 m × 0.250 mm, 0.10 µm) (アジレント・テクノロジー株式会社製) を使用した。また、オートサンプラーは Multi-Purpose Sampler MPS (GERSTEL 製) を使用した。GC 注入口には Cooled Injection System (以下、CIS) 及び Thermal Desorption Unit (以下、TDU) (いずれも GERSTEL 製) を接続した。CIS ガラスライナーは Tenax TA™ (GERSTEL 製) (以下、トラップ) を用いた。SPME ファイバーは 50/30µm StableFlex DVB/Carboxen/PDMS (GERSTEL 製) を用いた。CIS は液体窒素を用いて温度制御することで試料成分を捕集・吸着した。キャリアガスには純度 99.99995 % 以上の高純度窒素を用いた。

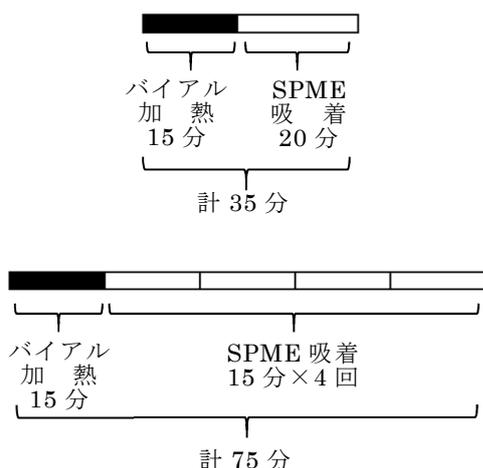
2.3 HS-GC/MS 分析

バイアルに Geosmin、2-MIB 及び TCA の濃度を 1000 ppt に調製した水溶液 10 mL を充填し、塩化ナトリウム 4.5 g を添加した。このバイアルを 80 °C で 20 分間加熱した後、ヘッドスペース部分のガスをサンプリングし、GC 注入口へ導入した。GC の試料注入法はプログラマブル温度気化 (以下、PTV) 注入 (スプリット比 1:40)、一回当たりの注入量は 2500 mL とした。CIS 温度 (以下、トラ

ップ温度) を検討する場合は、トラップ温度域を -50 から 100 °C、注入回数は 1 回とした。注入回数を検討する場合は、トラップ温度を 60 °C とした。CIS にセットしたトラップに捕集・濃縮された試料を脱離する際には、トラップ温度の設定温度から 300 °C まで 12 °C / sec で昇温させた。オープン温度は 40 °C で 2 分間保持した後、5 °C / min で 150 °C まで昇温させ、さらに 20 °C / min で 280 °C まで昇温させた後、280 °C で 5 分間保持した。質量分析は Selected Ion Monitoring (以下、SIM) 測定で行い、選択イオンは Geosmin で 111、112 及び 125、2-MIB で 95、107 及び 108、TCA で 195、213 及び 215 とした。

2.4 SPME-GC/MS 分析

トラップ温度を検討する場合は、まず、バイアルに Geosmin、2-MIB 及び TCA の濃度を 50 ppt に調製した水溶液 10 mL を充填し、塩化ナトリウム 4.5 g を添加してバイアルを 80 °C で 15 分間加熱した後、試料成分を SPME ファイバーに 20 分間暴露させて吸着させた。これを GC 注入口に設置の 250 °C に加熱してある TDU に挿入して試料成分を一旦脱着させた後、TDU 直下の CIS → PTV 注入 (スプリット比 1:40) により注入し、CIS にセットしたトラップで試料成分を再び捕集・濃縮させた。このとき、トラップ温度は 0 から 50 °C の温度域で検討した。トラップされた試料は、トラップ温度を設定温度から 300 °C まで 12 °C / sec で昇温させて脱離させ、GC/MS へ導入した。注入回数を検討する場合は、まず、バイアルに Geosmin 及び 2-MIB の濃度を 40 ppt、TCA の濃度を 50 ppt に調製した水溶液 10 mL を充填し、塩化ナトリウム 4.5 g を添加した。注入回数 1 回のときは、図 1 に示すようにバイアルを 80 °C で 15 分間加熱した後、試料成分を SPME ファイバーに 20 分間暴露させて吸着させ、これを GC 注入口に設置の 250 °C に加熱してある TDU に挿入して試料成分を一旦脱着させた後、TDU 直下の CIS → PTV 注入 (スプリット比 1:40) により注入した。トラップ温度 40 °C で試料成分を再び捕集・濃縮させた後、トラップ温度を 40 から 300 °C まで 12 °C / sec で昇温させて試料成分を脱離させ、GC/MS へ導入した。注入回数 4 回のときは、図 1 に示すよう



(※SPME 吸着中もバイアルは加熱保持)

図1 SPME-GC/MSにおける
試料の吸脱着条件

にバイアルを 80 °C で 15 分間加熱した後、試料成分を SPME ファイバーに 15 分間暴露させて吸着させ、これを GC 注入口に設置の 250 °C に加熱してある TDU に挿入して試料成分を一旦脱着させた後、TDU 直下の CIS へ PTV 注入 (スプリット比 1:40) により注入し、トラップ温度 40 °C で試料成分を捕集・濃縮させた。これを 4 回繰り返して試料成分の捕集・濃縮を繰り返した後、トラップ温度を 40 から 250°C まで 12 °C/sec で昇温させて試料成分を脱離させ、GC/MS へ導入した。オープン温度は 40 °C で 2 分間保持した後、5 °C/min で 150 °C まで昇温させ、さらに 20 °C/min で 280 °C まで昇温させた後、280 °C で 5 分間保持した。質量分析は SIM 測定で行い、選択イオンは Geosmin で 111、112 及び 125、2-MIB で 95、107 及び 108、TCA で 195、213 及び 215 とした。

2.5 検出限界値の算出

Geosmin 及び 2-MIB の濃度が 12、16、20、24、28、32、36 及び 40 ppt、内部標準物質 TCA の濃度が 100 ppt の混合水溶液をそれぞれ調製し、これを SPME-GC/MS で測定した。質量分析は SIM 測定で行い、選択イオンは Geosmin で 111、112 及び 125、2-MIB で 95、107 及び 108、TCA で 195、213 及び 215 とした。Geosmin 及び 2-MIB の各濃度の分析結果について、x 軸を Geosmin 又は 2-MIB の濃度、y 軸を Geosmin 又は 2-MIB の各選

択イオンのマスクロマトグラムピーク面積を内部標準物質 TCA の選択イオン 215 のマスクロマトグラムピーク面積で除した相対強度としてプロットし、回帰直線を求め、その傾き a とブランクにおける相対強度の標準偏差 σ から、式 1 により検出限界値 D (ppt) を算出した⁴⁾。なお、 t は測定回数により決まる値である⁵⁾。

$$D = \frac{t \cdot \sigma}{a} \quad \text{式 1}$$

3 結果と考察

3.1 分析条件の検討

分析法は当センターの分析機器で実施可能な方法である HS-GC/MS 及び SPME-GC/MS を採用し、水道法に基づく告示法⁶⁾を参考にし、感度よく分析できる条件を検討した。

3.1.1 HS-GC/MS 分析条件の検討

分析対象試料の検出感度を高める方法の一つとして GC/MS への試料導入量を増やすことが挙げられる。そこで、トラップ温度を試料の沸点以下の温度に保持した状態で、複数回ヘッドスペースガスを注入してトラップに試料を濃縮すれば試料導入量を増やすことができると考えられた。以上をふまえ、まずは Geosmin 及び 2-MIB のトラップ温度について検討することにした。トラップ温度を -50 から 100 °C の範囲で設定し、各温度において § 2.3 に記載の方法で Geosmin 及び 2-MIB を分析して得られた SIM 測定のマスクロマトグラムにおける選択イオンの総ピーク面積 (以下、検出強度) をプロットした結果を図 2 に示す。ただし、-50 から 0 °C の温度域における分析 (以下、分析①) 及び 0 から 100 °C の温度域における分析 (以下、分析②) は異なる日に実施したため、分析①と分析②のそれぞれの 0 °C における分析結果から検出強度の比を求めて補正係数とし、これを分析①の分析結果に乗じて補正している。Geosmin は -50 から 90 °C までは検出強度に大きな変動が見られなかったが、それ以上の温度で低下がみられた。また、2-MIB では -50 から 70 °C までは検出強度にあまり変動が見られなかったが、それ以上の温度では低下し

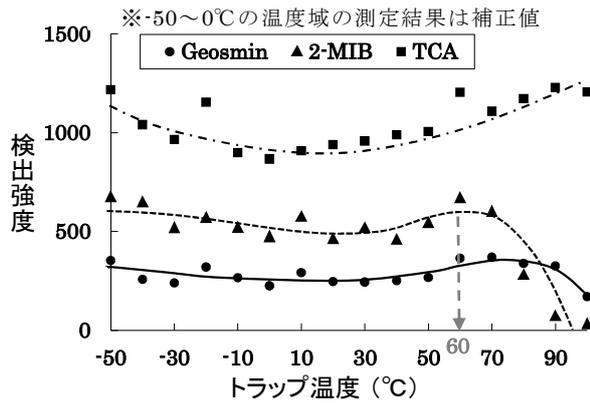


図2 検出強度とトラップ温度の相関 (HS-GC/MS)

た。一方、TCAについては-50から100°Cの範囲で検出強度の低下は見られなかった。このように Geosmin 及び 2-MIB ではそれぞれ 90 °C 及び 70 °C 以上の温度域でトラップによる捕集・濃縮が困難になると考えられたため、トラップ温度は 2-MIB の検出強度が低下する前の 60 °C とした。次に、検出感度上昇のための試料ヘッドスペースガスの複数回注入についての検討を行った。§ 2. 3 に記載の方法で Geosmin、2-MIB 及び TCA を 1~6 及び 10 回注入して分析を行ったところ、図 3 に示すように Geosmin 及び TCA では試料注入回数に比例して検出強度が大きくなったのに対し、2-MIB では注入回数が 5 回以下では注入回数に比例して検出強度が大きくなったが、それ以上では検出強度に大きな変化が見られなかった。この理由については現時点では不明であるが、トラップへの吸着量が飽和した可能性等が考えられる。以上の結果から、本研究で用いた試料を HS-GC/MS により分析する場合、適切な試料注入回数は 5 回とした。

3. 1. 2 SPME-GC/MS 分析条件の検討

HS-GC/MS と同様に SPME-GC/MS においても、§ 2. 4 に記載の方法で、まずはトラップ温度について検討することとした。なお、§ 3. 1. 1 におけるトラップ温度の検討では、0 °C 以下では Geosmin、2-MIB 及び TCA の検出強度のばらつきが 0 から 50 °C の範囲のばらつきよりもいずれも大きいこと、また、50 °C よりも高い温度域では特に 2-MIB で検出強度の急激な低下が起こると

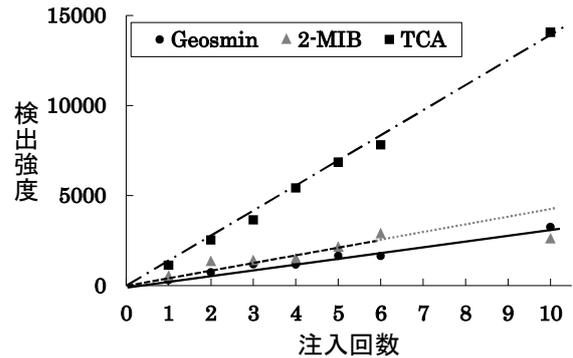


図3 検出強度と注入回数の相関 (HS-GC/MS)

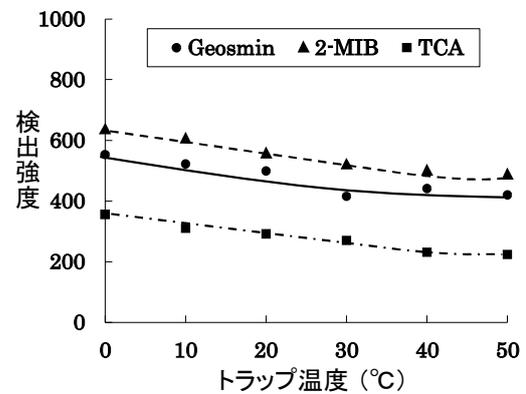


図4 検出強度とトラップ温度の相関 (SPME-GC/MS)

推測されることから、トラップ温度範囲は 0 から 50 °C とした。その結果、図 4 に示すように Geosmin、2-MIB 及び TCA のそれぞれの検出強度は、40 °C より低い温度域ではいずれも緩やかに低下したが、40 °C 以上で検出強度の変動が小さくなった。このことから、SPME-GC/MS の場合、分析に適したトラップ温度は 40 °C と考えられた。次に、§ 2. 4 に記載の方法で Geosmin、2-MIB 及び TCA を SPME に吸着させて、GC/MS に注入する回数が 1 回の場合と 4 回の場合における検出強度の比較を行った。その結果、図 5 に示すように Geosmin、2-MIB 及び TCA の注入回数 1 回の際の検出強度と比較して注入回数 4 回の際の検出強度は、それぞれ 2.3 倍、3.3 倍及び 1.3 倍となり、いずれの試料も注入回数 4 回の際の検出強度は注入回数 1 回の際の 4 倍より小さい値を示し、特に TCA では検出強度に大きな違いがみられなかった。この理由についても現時点では不明であるが、SPME ファイバーに 2 回目以降

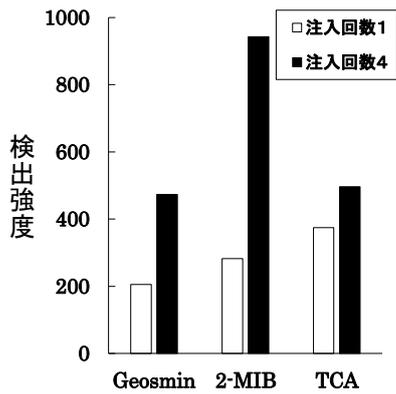


図5 注入回数と検出強度の比較 (SPME-GC/MS)

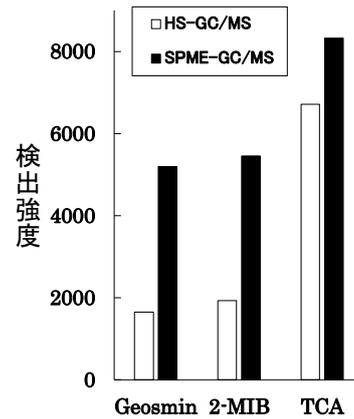


図6 HS-GC/MSとSPME-GC/MSの検出強度比較

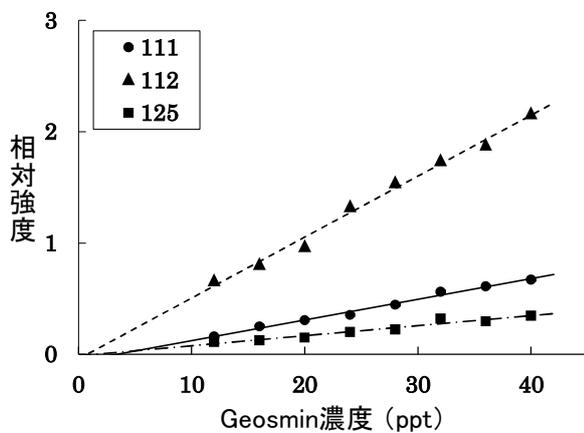


図7 Geosminの回帰直線

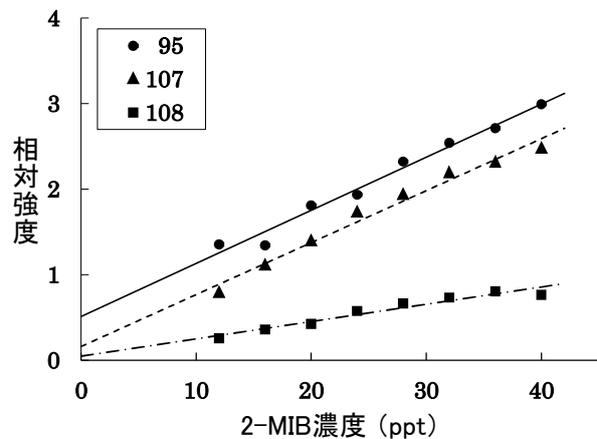


図8 2-MIBの回帰直線

吸着させる際、ヘッドスペースに Geosmin や TCA が十分量揮発していなかった可能性等が考えられる。以上の結果から、本研究における SPME-GC/MS では、分析に適する注入回数を 4 回としたが、今後さらなる調査が必要であると考えられる。

3. 2 HS-GC/MSとSPME-GC/MSの比較

本研究で決定した HS-GC/MS 及び SPME-GC/MS におけるトラップ温度及び試料注入回数を基にして、Geosmin、2-MIB 及び TCA の濃度 1000 ppt の水溶液（試料量 10 mL、塩析 NaCl 3.5 ~ 4.5 g）について、HS-GC/MS 及び SPME-GC/MS により分析したところ、図 6 に示すように SPME-GC/MS の方が高い検出強度を示した。このことから、本研究の分析対象試料の低濃度定量分析については、HS-GC/MS よりも SPME-GC/MS の方が適していることがわかった。

3. 3 SPME-GC/MS による検出限界値及び定量下限値の検討

§ 2. 5 に記載の方法で、種々の濃度の Geosmin 及び 2-MIB について SPME-GC/MS により分析を行い、回帰直線を作成した。Geosmin 及び 2-MIB の回帰直線を図 7 及び図 8 に示す。Geosmin の選択イオン 111、112 及び 125 の回帰直線の傾きは、それぞれ 1.85×10^{-2} 、 5.47×10^{-2} 及び 9.00×10^{-3} であり、ブランクにおける相対強度の標準偏差はそれぞれ 2.11×10^{-2} 、 2.11×10^{-2} 及び 2.47×10^{-2} であった。また、2-MIB の選択イオン 95、107 及び 108 の回帰直線の傾きは、それぞれ 6.22×10^{-2} 、 6.07×10^{-2} 及び 2.02×10^{-2} であり、ブランクにおける相対強度の標準偏差はそれぞれ 9.85×10^{-2} 、 9.67×10^{-2} 及び 5.65×10^{-2} であった。式 1 において測定回数 8 回のときの t 値は 3.79⁵⁾ であることから、検出限界値を算出すると Geosmin の選択イオン 111、112 及び 125 ではそれぞれ 5 ppt、5 ppt 及び 11 ppt であり、2-MIB の選択イオン 95、107 及び 108 ではそれぞれ 7 ppt、7 ppt 及び 11 ppt であった。定

量下限値はおおむね検出限界値の 10 倍が妥当とされている⁵⁾ことから、Geosmin 及び 2-MIB の SIM 測定で最も検出限界値の高かった選択イオンである 125 及び 108 を基準に考慮すると、その定量下限値は、共に 110 ppt であると考えられた。したがって、他の揮発性有機化合物の定量分析においても、100 ppt オーダー以上の分析であれば、利用できると推測された。

4 まとめ

・SPME-GC/MS では、HS-GC/MS に比較して、より多くの試料を GC/MS に導入できると考えられた。

・キャリアガスに窒素を用いた GC/MS 分析において水溶液中の濃度が 110 ppt 以上の Geosmin 及び 2-MIB を定量できると考えられた。

・本研究の分析条件により、他の揮発性有機化合物も 100 ppt オーダー以上の定量分析が可能であると推測された。

文 献

- 1) 眞柄泰基ほか：水道水質辞典増補版，日本水道新聞社，p. 62-63 (2005)
- 2) 菊池徹：分析化学，Vol. 22, No.11, 1530-1538, (1973)
- 3) 水質基準に関する省令（平成 15 年厚生労働省告示第 101 号）
- 4) 杉江謙一ほか：マイクロシリンジ試料導入法を用いた Direct Analysis in Real Time (DART)-TOF-MS による α -PVP 含有危険ドラッグ分析における定量法の検討、分析化学，Vol. 65, No.8, pp. 439-446 (2016)
- 5) ガスクロマトグラフィー質量分析通則 JIS K 0123、日本規格協会，§12.6 (2018)
- 6) 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）