

# 土壌および堆積物中のペルフルオロアルキル化合物およびポリフルオロアルキル化合物の測定

## U.S. EPA メソッド 1633 向けの混合 Agilent Bond Elut PFAS WAX/Carbon S SPE カートリッジの利用

### 著者

Matthew Giardina  
Agilent Technologies, Inc.

### 概要

米国環境保護庁（EPA）メソッド 1633 は、環境マトリックス中のペルフルオロアルキル化合物およびポリフルオロアルキル化合物（PFAS）の測定に関する標準化されたプロトコルを提供しています。このアプリケーションノートでは、土壌および堆積物サンプルから 40 種類の PFAS を抽出するために、Agilent Bond Elut PFAS WAX および Carbon S 充填剤を含む混合構成の Dual Phase 固相抽出（SPE）カートリッジを用いた修正版サンプル前処理アプローチを評価します。このメソッドは、メソッド 1633 の性能に基づいた基準に準拠しており、マトリックススパイク回収率、相対パーセント差、内部標準回収率を含むすべての品質管理要件を満たしています。これらの研究結果は、固体環境マトリックス中の PFAS 抽出の有効な代替手法として、混合構成の Dual Phase SPE カートリッジを使用できることを立証しています。

## はじめに

U.S. EPA メソッド 1633 は、水性、固体、組織サンプル中の PFAS の測定を標準化するために開発されました。<sup>1</sup>このメソッドは、ポリマー弱陰イオン交換 (WAX) SPE を用いた後に、緩いカーボンによりマトリックス低減を実施する 2 ステップの抽出プロセスを使用して、複数のラボの研究により検証されました。このメソッドの発表以後、多くのラボは、WAX と炭素充填剤を単一の二相カートリッジに組み合わせて充填剤を層状にした、1 ステップのシンプルなアプローチを採用しています。この二相 SPE は、分析対象物の抽出とマトリックスの低減を 1 ステップに統合することにより、サンプル前処理を効率化します。

性能に基づいたメソッドである EPA 1633 は、40 CFR Part 136.6 (文書化と品質許容基準の遵守を義務付ける規格) に準拠している限り、手順を変更することができます。層状化の代替手法として、充填剤を混合する手法があります。これによりカートリッジ設計が簡略化され、分離用フリットが不要になります。混合充填剤は、メソッドで規定されている全マトリックスタイプに適用可能です。

混合充填剤と層状充填剤を比較した以前のアプリケーションノートでは、水性環境サンプルからの PFAS 抽出において性能が同等であることが実証されており、EPA メソッド 1633 の品質管理要件を満たしています。<sup>2</sup>このアプリケーションノートでは、EPA メソッド 1633 の固体サンプル手順に従い、土壌および堆積物サンプルからの 40 種類の PFAS の抽出について、混合構成の Agilent Dual Phase PFAS WAX/Carbon S SPE カートリッジ (200/50 mg、6 mL) を評価しました。その結果から、混合構成の Dual Phase カートリッジを使用した場合、すべての品質管理基準を満たしていることが示されました。

## 実験方法

### 材料および試薬

非標識 PFAS 標準および同位体標識された類似体はキットとして、Wellington Laboratories, Inc. (ゲルフ、オンタリオ州、カナダ) から購入しました。Agilent InfinityLab メタノール (MeOH)、LC/MS 用 (部品番号 5191-5111) と InfinityLab アセトニトリル (ACN) (部品番号 5191-5101) を使用して、試薬と移動相を調製しました。試薬グレードの酢酸、酢酸アンモニウム、ギ酸、イソプロパノール (IPA)、水酸化アンモニウムは、Sigma-Aldrich (セントルイス、ミズーリ州、米国) から入手しました。超純水は、MilliporeSigma (バーリントン、マサチューセッツ州、米国) の Milli-Q 7003 精製システムを使用して調製しました。

### 溶液

分析に使用した溶液はすべて、U.S. EPA メソッド 1633 に従って調製しました。標準溶液は、メタノール中に 4 % 試薬水、1 % 水酸化アンモニウム、0.625 % 酢酸を含む溶媒混合液で調製しました。土壌サンプルは、0.3 % (v:v) 水酸化アンモニウムメタノール溶液を用いて抽出しました。サンプルロード前に、SPE カートリッジを 0.3 M ギ酸水溶液でコンディショニングして、その後 1 % 水酸化アンモニウムメタノール溶液で溶出しました。サンプル容器は、潜在的な汚染を最小限に抑えて、完全なサンプル回収率を確保するために、水とメタノールの 0.1 M ギ酸 1:1 溶液で洗浄しました。

### サンプル

表土は、地域の家庭園芸用品店から入手し、堆積物サンプルは、米国デラウェア州ウィルミントン近郊の河川から採取しました。

### 標準およびスパイク溶液

サンプル抽出および標準調製に必要な溶液はすべて、U.S. EPA メソッド 1633 に記載されているプロトコルに従って調製しました。表 1 は、非標識 PFAS 分析対象物、抽出内部標準 (EIS)、非抽出内部標準 (NIS) の公称キャリブレーション濃度を示しています。塩として入手可能な分析対象物については、報告の一貫性を確保するため、公称濃度を対応する酸形式に変換しました。

表 1. キャリブレーションレベル濃度

化合物	レベル濃度 (ng/mL)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>非標識 PFAS</b>								
PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnA, PFDaA, PFTrDA, PFTeDA, PFBS, PFPeS, PFHxS, PFHpS, PFOS, PFNS, PFDS, PFDoS, PFOSA, NMeFOSA, NEtFOSA, NMeFOSAA, NEtFOSSA	0.02	0.05	0.13	0.25	0.50	1.0	2.0	2.5
PFPeA, PFMPA, NFDHA, PFMB, PFEESA	0.04	0.10	0.25	0.50	1.0	2.0	4.0	5.0
PFBA, 4:2FTS, 6:2FTS, 8:2FTS, HFPO-DA, ADONA, 9Cl-PF3ONS, 11Cl-PF3UdS	0.08	0.20	0.50	1.0	2.0	4.0	8.0	10.0
NMeFOSE, NEtFOSE	0.20	0.50	1.25	2.50	5.0	10.0	20.0	25.0
3:3FTCA	0.25	0.63	1.25	2.5	5.0	10.0	12.5	--
5:3FTCA, 7:3FTCA	0.50	1.25	3.13	6.25	12.5	25.0	50.0	62.5
<b>EIS</b>								
<sup>13</sup> C <sub>2</sub> -PFDaA, <sup>13</sup> C <sub>2</sub> -PFTeDA, <sup>13</sup> C <sub>6</sub> -PFDA, <sup>13</sup> C <sub>7</sub> -PFUnA, <sup>13</sup> C <sub>9</sub> -PFNA	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
<sup>13</sup> C <sub>3</sub> -PFBS, <sup>13</sup> C <sub>3</sub> -PFHxS, <sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFHpA, <sup>13</sup> C <sub>5</sub> -PFHxA, <sup>13</sup> C <sub>8</sub> -PFOA, <sup>13</sup> C <sub>8</sub> -PFOS, <sup>13</sup> C <sub>8</sub> -PFOSA, D <sub>3</sub> -NMeFOSA, D <sub>5</sub> -NEtFOSA	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
<sup>13</sup> C <sub>2</sub> -4:2FTS, <sup>13</sup> C <sub>2</sub> -6:2FTS, <sup>13</sup> C <sub>2</sub> -8:2FTS, <sup>13</sup> C <sub>5</sub> -PFPeA, D <sub>3</sub> -NMeFOSAA, D <sub>5</sub> -NEtFOSAA	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
<sup>13</sup> C <sub>3</sub> -HFPO-DA, <sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFBA	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
D <sub>7</sub> -MeFOSE, D <sub>9</sub> -EtFOSE	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
<b>NIS</b>								
<sup>13</sup> C <sub>5</sub> -PFNA, <sup>13</sup> C <sub>2</sub> -PFDA	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
<sup>13</sup> C <sub>2</sub> -PFHxA, <sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFOA, <sup>18</sup> O <sub>2</sub> -PFHxS, <sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFOS	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
<sup>13</sup> C <sub>3</sub> -PFBA	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40

土壌および堆積物の抽出では、表 2 に示されているように、中レベルの濃度において、マトリックススパイク (MS) サンプルおよびマトリックススパイク複製 (MSD) サンプルを調製しました。標準溶液中の濃度 (表 1) に適合させるために、同位体標識された EIS および NIS のスパイク濃度を選択しました。

表 2. 非標識 PFAS スパイク濃度

化合物	スパイク濃度 (ng/g)
PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnA, PFDaA, PFTrDA, PFTeDA, PFBS, PFPeS, PFHxS, PFHpS, PFOS, PFNS, PFDS, PFDoS, PFOSA, NMeFOSA, NEtFOSA, NMeFOSAA, NEtFOSSA	0.25
PFPeA, PFMPA, NFDHA, PFMB, PFEESA	0.50
PFBA, 4:2FTS, 6:2FTS, 8:2FTS, HFPO-DA, ADONA, 9Cl-PF3ONS, 11Cl-PF3UdS	1.0
NMeFOSE, NEtFOSE	2.5
3:3FTCA	1.25
5:3FTCA, 7:3FTCA	6.3

### 機器とメソッド

サンプル分析には、Agilent 1290 Infinity II ハイスピードポンプ (G7120A)、Agilent 1260 Infinity II ハイブリッドマルチサンプラ (G7167C)、および Agilent 1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116B) で構成される Agilent Infinity II LC システムを使用しました。この LC システムを PFAS 分析用にするために、Agilent InfinityLab PFC フリー HPLC 変換キット (部品番号 5004-0006) を使用しました。この LC システムを、Agilent Jet Stream エレクトロスプレーイオン源を備えた Agilent 6475A トリプル四重極 LC/MS システムに接続して使用しました。データ取り込みには、Agilent MassHunter Workstation ソフトウェア、バージョン 12.1 Update 3 および Analysis バージョン 12.1 Update 2 を使用しました。MRM 設定を最適化するために、Agilent PFAS MRM 拡張データベース、LC/TQ 用 (G1736AA) を使用しました。最適化された LC、ハイブリッドマルチサンプラ、およびイオン源の条件をそれぞれ、表 3、4、5 に示します。ハイブリッドマルチサンプラは、拡張された内側洗浄および外側洗浄を有効にした状態で、従来のフロースルーモードで操作しました。

表 3. LC 条件

パラメータ	設定値																		
カラム温度	50 ± 5 °C																		
流量	0.400 mL/min																		
移動相	A) 5 mM 酢酸アンモニウム 95:5 水:ACN 溶液 B) ACN																		
グラジエント	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>%A</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.00</td> <td>98.00</td> <td>2.00</td> </tr> <tr> <td>0.20</td> <td>98.00</td> <td>2.00</td> </tr> <tr> <td>11.00</td> <td>0.00</td> <td>100.00</td> </tr> <tr> <td>13.00</td> <td>0.00</td> <td>100.00</td> </tr> <tr> <td>13.10</td> <td>98.00</td> <td>2.00</td> </tr> </tbody> </table>	時間 (分)	%A	%B	0.00	98.00	2.00	0.20	98.00	2.00	11.00	0.00	100.00	13.00	0.00	100.00	13.10	98.00	2.00
時間 (分)	%A	%B																	
0.00	98.00	2.00																	
0.20	98.00	2.00																	
11.00	0.00	100.00																	
13.00	0.00	100.00																	
13.10	98.00	2.00																	
ディレイカラム	Agilent InfinityLab PFC ディレイカラム、4.6 × 30 mm (部品番号 5062-8100)																		
ガードカラム	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18、2.1 × 50 mm、1.8 μm (部品番号 959757-902)																		
分析カラム	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18、2.1 × 100 mm、1.8 μm (部品番号 959758-902)																		

表 4. ハイブリッドマルチサンプリング条件

パラメータ	設定			
注入量	2 µL			
吸引スピード	200 µL/min			
排出スピード	200 µL/min			
吸引後待ち時間	3.0 秒			
洗浄ステップ	ステップ	作業	溶媒	時間/容量
	1	内側洗浄	1:1 IPA:ACN	150 µL
	2	内側洗浄	移動相 B	150 µL
	3	シート洗浄	1:1 IPA:ACN	150 µL
	4	シート洗浄	移動相 B	150 µL
	5	再コンディショニング	移動相 A	-
	サンプル吸引			
	1	外側洗浄	1:1 IPA:ACN	10 秒
	2	外側洗浄	移動相 B	5 秒
	注入			

表 5. イオン源条件

パラメータ	設定
極性	ネガティブ
ガス温度	230 °C
ガス流量	8 L/min
ソースガス流量	10.0 L/min
ネプライザ圧力	15 psi
ソースガス温度	355 °C
キャピラリー電圧	2,500 V
ノズル電圧	0

## 消耗品

表 6 に、PFAS の抽出と分析に使用した、PFAS に適した消耗品を示します。

表 6. PFAS 対応消耗品

アジレントの消耗品	部品番号
混合 PFAS WAX/Carbon S SPE カートリッジ、200/50 mg、6 mL	5610-2245
ポリプロピレンオートサンブルスクリーントップバイアル、2 mL	5191-8121
ポリプロピレン/シリコンセプタムスクリーキャップ、9 mm	5191-8151
遠心分離チューブおよびキャップ、50 mL	5610-2039
遠心分離チューブおよびキャップ、15 mL	5610-2039
空 SPE カートリッジ、60 mL	12131012
SPE アダプタ	12131001
ガラスウール、シラン処理済み	8500-1572
Captiva プレミアムナイロンシリンジフィルタ、直径 25 mm、ポアサイズ 0.2 µm	5190-5092
Vac Elut SPS 24 マニホールド、10 × 75 mm 試験管用コレクションラック付き	12234003
12 または 15 mL コニカルチューブ用コレクションラックおよびファネルセット、Vac Elut SPS 24 マニホールド用	12234027
Vac Elut ポリプロピレンストップコックバルブ	12234520

## キャリブレーションと定量

定量は、安定同位体希釈方法を用いて実施し、非標識 PFAS 化合物の応答および濃度は、EIS に対して相対的に測定しました。次に、EIS の応答および濃度を、NIS に対して相対的に測定しました。非標識 PFAS および EIS に使用した同位体標識された参照化合物は、EPA メソッド 1633 の表 10 に記載されている化合物と一致しました。検量線は、1/x 重み付き線形最小二乗法回帰モデルを使用して作成し、すべての分析対象物について原点 (0,0) を含めるように制限しました。分岐異性体を有する PFAS 化合物については、個々の異性体の応答を合計して総応答を算出しました。塩として供給された PFAS 標準は、酸形式の濃度を反映するように補正しました。定量下限 (LOQ) は、表 1 に示すように、最も低濃度の標準溶液の濃度として定義しました。

## カートリッジブランク測定

カートリッジブランク測定を実施して、充填剤混合物、カートリッジチューブ、フリットに存在する可能性のある残留物が、PFAS 抽出回収率に干渉するかどうかを評価しました。カートリッジを真空下で、5 mL の 1 % 水酸化アンモニウムメタノール溶液で洗浄し、洗浄液を回収しました。溶液を中和させるために、25 µL の酢酸を添加した後、1 分間ボルテックスしました。次に、EIS および NIS を添加して、溶液をさらに 1 分間ボルテックスした後、LC/MS/MS で分析しました。

## サンプル前処理

サンプル前処理は、図 1 に示すように、EPA メソッド 1633 に記載されている固体マトリックスの抽出手順を二相カートリッジ用に修正して、厳密にその手順に従いました。表土サンプルの場合、含水量が約 37% であった

ため、乾燥重量 5 g 相当を得るには 8 g のサンプルが必要でした。堆積物サンプルの場合、含水量が約 24% であったため、同じ乾燥重量を得るために 6.6 g のサンプルを使用しました。

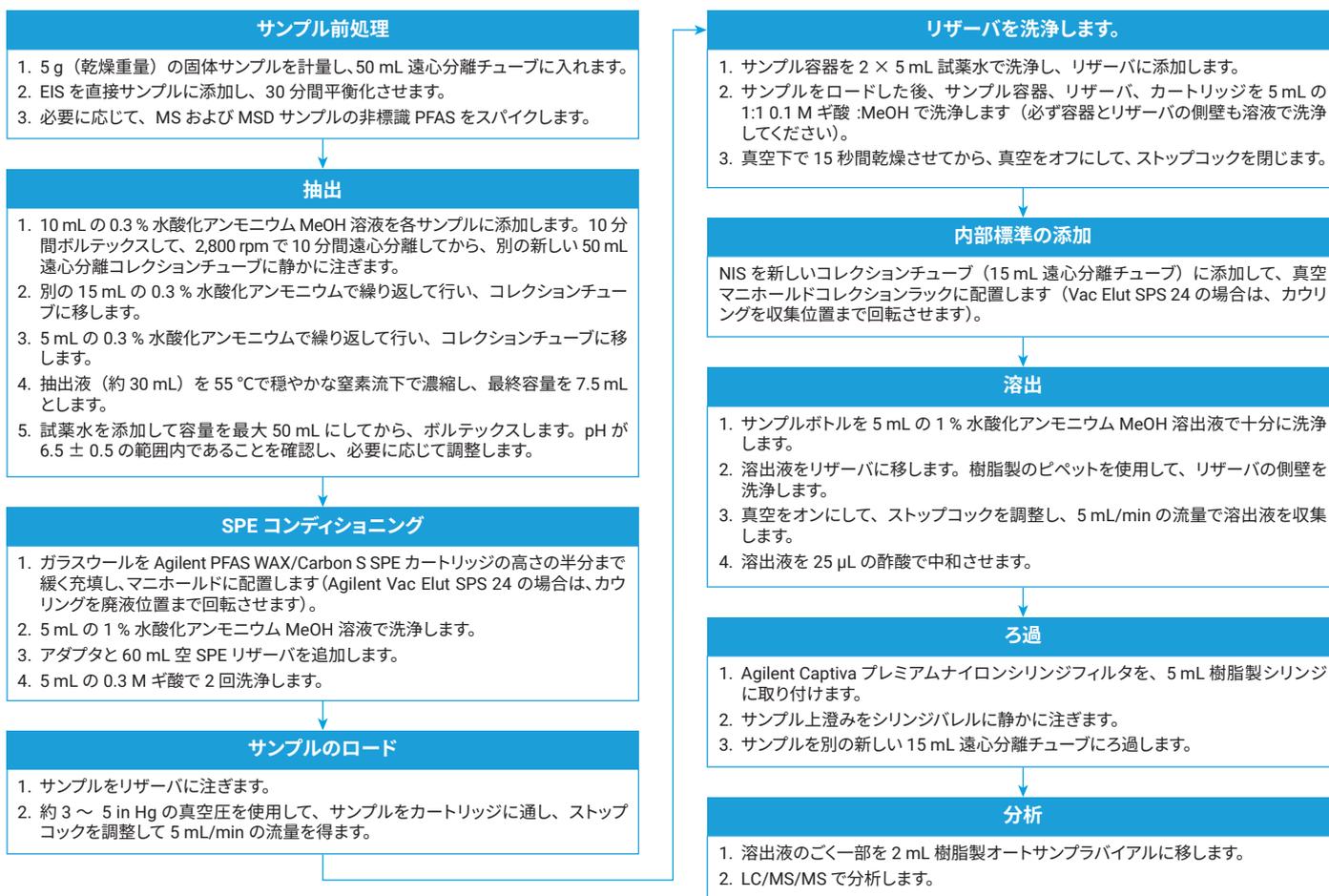


図 1. サンプル前処理手順

## 結果と考察

### カートリッジブランク測定

充填剤混合物、カートリッジチューブ、またはフリットに由来する干渉性 PFAS 残留物の存在を評価するために、3 回の繰り返し分析カートリッジ洗浄液を分析しました。各カートリッジは真空下で、5 mL の 1 % 水酸化アンモニウムメタノール溶液で洗浄し、洗浄液を分析のために回収しました。図 2 に示すように、緑色の破線は LOQ を示しており、赤色の破線は、各非標識 PFAS の LOQ の半分の値を示しています。繰り返し分析対象物中で測定された残留物はすべて、LOQ スレッシュホールドの半分の値を下回っており、SPE カートリッジの清浄度のレベルが高いことが実証されました。

### 土壌および堆積物の分析

表土と河川堆積物のサンプルを、2 回繰り返して分析しました。表 7 は、LOQ を上回って検出された非標識 PFAS 化合物と、繰り返し分析間の相対パーセント偏差 (RPD) を示しています。ほとんどの化合物において、RPD 値は 30 % を十分に下回っており、良好な再現性を示しました。例外として、表土サンプル中の 6:2 FTS および PFTrDA は、30 % をわずかに上回る高い RPD を示しました。2 回の繰り返し分析のうち 1 回のみ検出された化合物は、LOQ に近い濃度で存在していました。これらの化合物の場合、1 回の繰り返し分析値が LOQ をわずかに下回ったため、報告されませんでした。

表 7. 土壌および堆積物サンプル中の非標識 PFAS の測定濃度

ターゲット	表土			河川堆積物			
	サンプル 1 (ng/g)	サンプル 2 (ng/g)	RPD (%)	ターゲット	サンプル 1 (ng/g)	サンプル 2 (ng/g)	RPD (%)
PFBA	0.097	0.088	10 %	6:2FTS	1.34	1.58	18 %
PFPeA	0.082	0.089	8 %	PFOA	0.039	0.036	8 %
PFHxA	0.128	0.113	12 %	PFOS	0.081	0.068	18 %
PFBS	0.055	0.054	2 %	PFUnDA	0.066	0.070	6 %
PFHpA	0.057	0.061	7 %	PFNS	0.032	< LOQ	--
6:2FTS	0.981	0.714	31 %	PFDoA	0.030	0.029	2 %
PFOA	0.222	0.203	9 %	PFTrDA	0.042	0.048	13 %
PFNA	0.172	0.173	0 %				
PFDA	0.087	0.090	4 %				
PFOS	0.315	0.352	11 %				
PFUnDA	0.085	0.084	1 %				
PFDoDA	0.037	0.036	5 %				
PFTrDA	0.022	0.030	31 %				
PFTeDA	0.021	< LOQ	--				

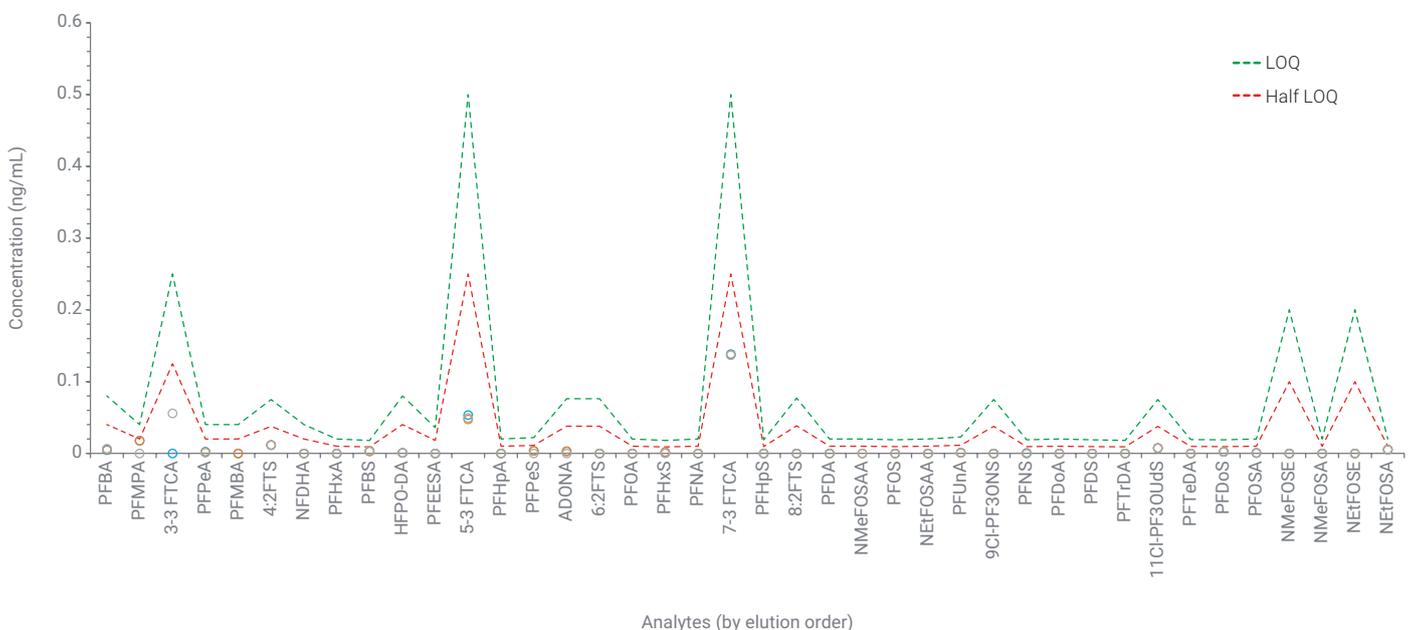


図 2. カートリッジブランク分析 (3 回の繰り返し分析) は、青色、オレンジ色、灰色の円で示されています。各非標識 PFAS の LOQ は緑色の破線で、LOQ の半分の値は赤色の破線で示されています。

### マトリックススパイク

表 2 に示すように、中レベルの濃度において、表土および河川堆積物の両方について、MS および MSD サンプルを調製して分析しました。これらのサンプルにおける非標識 PFAS の回収率と RPD を図 3 に示します。図中の影付きの領域は、EPA メソッド 1633 の表 7 で規定されている、固体マトリックス中の非標識 PFAS の継続的な精度と回収率 (OPR) の

限界値と、国防総省データ検証ガイドライン、モジュール 6.3 で定義されている  $\leq 30\%$  RPD スレッシュホールドを示しています。すべての MS および MSD の結果において、非標識 PFAS の回収率と再現性は規定された OPR および RPD 限界値内に収まっており、両マトリックスタイプにおけるメソッドの信頼性が確認されました。

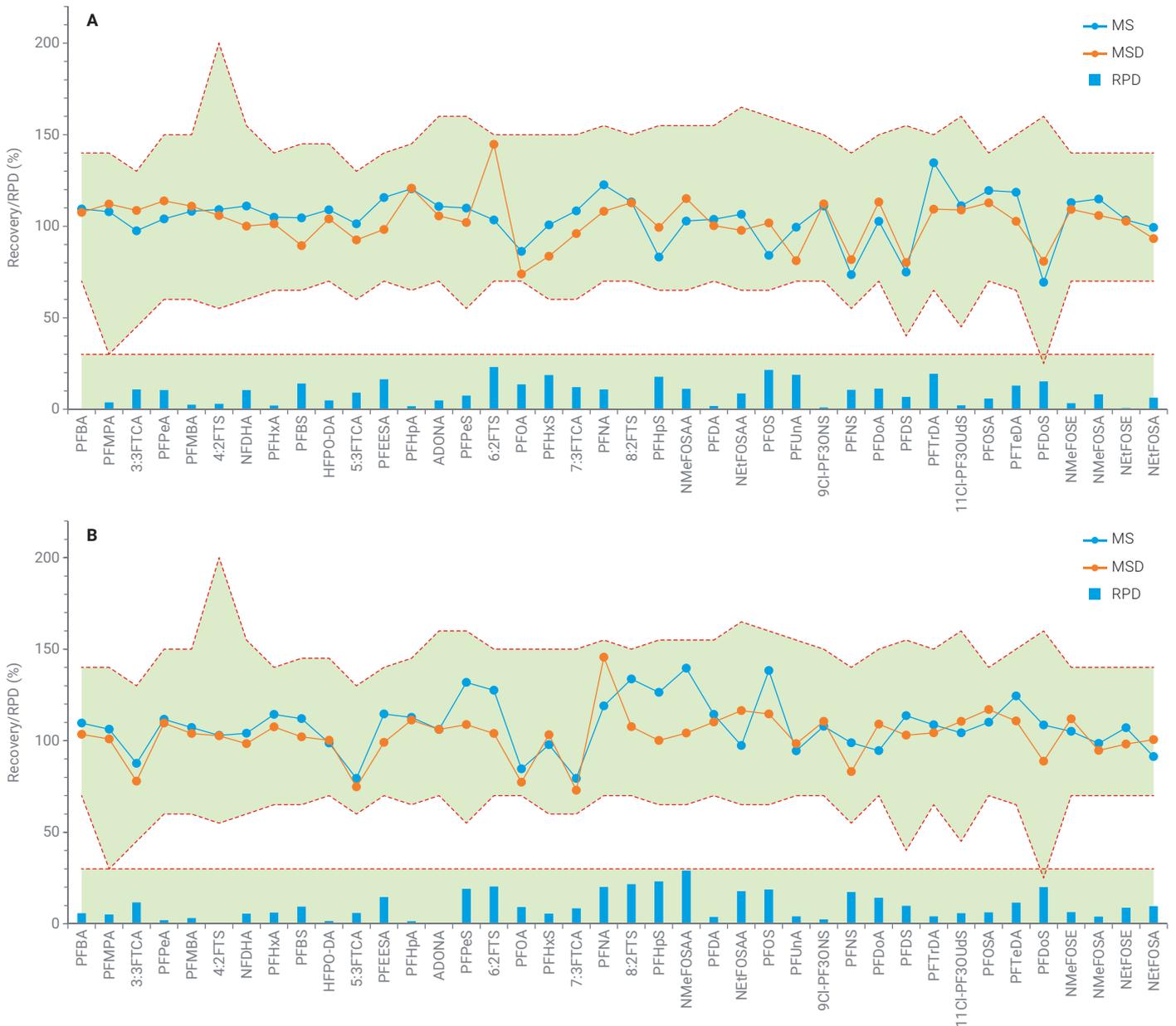


図 3. 表土 (A) における非標識 PFAS のスパイク回収率：MS (青色の円)、MSD (オレンジ色の円)、RPD (青色の棒)。河川堆積物 (B) における非標識 PFAS のスパイク回収率：MS (青色の円)、MSD (オレンジ色の円)、RPD (青色の棒)。緑色の領域は、OPR および RPD の許容限界値を示しています。

### EIS および NIS の回収率

EPA メソッド 1633 では、すべてのフィールドサンプルについて、EIS および NIS の回収率を報告することが義務付けられています。図 4 は、2 回繰り返し分析した表土および堆積物サンプル、さらに各マトリックスの MS および MSD サンプルにおける EIS と NIS の両方の回収率を示しています。

図中の影付きの領域は、メソッド 1633 の表 8 で規定されている許容範囲を表しています。すべての EIS および NIS の回収率がこの許容範囲内に収まっており、全サンプルタイプでメソッドの性能が確認されました。

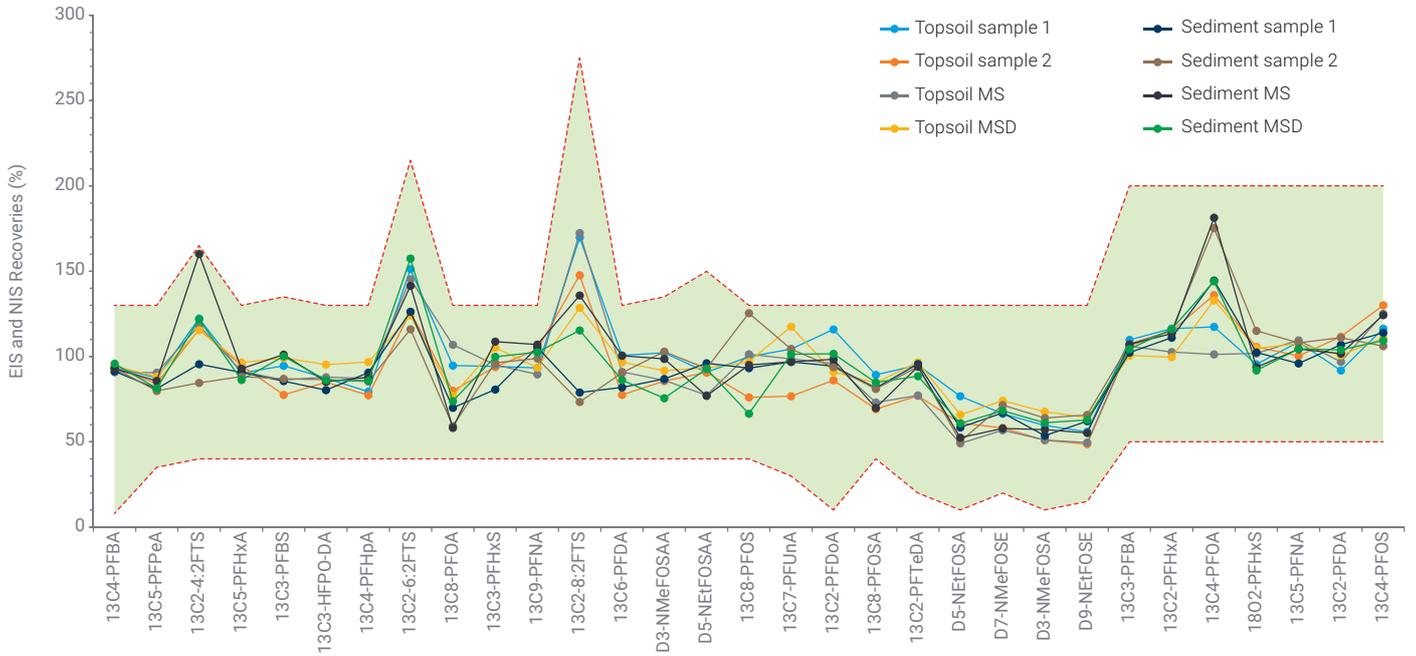


図 4. 表土サンプル 1 (水色)、表土サンプル 2 (オレンジ色)、表土 MS (灰色)、表土 MSD (黄色)、堆積物サンプル 1 (濃青色)、堆積物サンプル 2 (茶色)、堆積物 MS (黒色)、堆積物 MSD (濃緑色) の EIS および NIS 回収率

## 結論

混合構成の Agilent Dual Phase Bond Elut PFAS WAX および Carbon S SPE カートリッジの使用は、土壌および堆積物サンプルからの PFAS の抽出において、層状の充填剤構成に代わる効率的で効果的な手法です。マトリックススパイクや内部標準の回収率と再現性が許容範囲内であることなど、EPA メソッド 1633 に記載されているすべてのメソッド性能基準を満たしています。このアプローチは、分析の完全性を維持しながら、サンプル前処理を簡略化できるため、日常的な環境モニタリングワークフローへの導入に適しています。

## 参考文献

1. U.S. Environmental Protection Agency. Method 1633A: Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Aqueous, Solid, Biosolids, and Tissue Samples by LC-MS/MS. EPA 820-R-24-007, Office of Water, Engineering and Analysis Division: Washington, DC, December 2024. <https://www.epa.gov/system/files/documents/2024-12/method-1633a-december-5-2024-508-compliant.pdf>
2. Novello, A.; Mihelich, B.; Giardina, M. 水性サンプルからの PFAS の自動化固相抽出、US EPA メソッド 1633 用の Agilent Bond Elut Dual Phase PFAS WAX/Carbon S SPE カートリッジの使用アジレント・テクノロジー、アプリケーションノート、publication number 5994-8289JAJP, **2025**.
3. U.S. Department of Defense. Data Validation Guidelines Module 6: Data Validation Procedure for Per- and Polyfluoroalkyl Substances Analysis by QSM Table B-24. Environmental Data Quality Workgroup, October 2022. <https://www.denix.osd.mil/edqw/denix-files/sites/43/2023/02/Module-6-Data-Validation-Guidelines-1633-PFAS-Final-1.pdf>

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタマコンタクトセンター

**0120-477-111**

**email\_japan@agilent.com**

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE-008952

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2025

Printed in Japan, August 22, 2025

5994-8290JAJP