



Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

**Masteroppgave 2020/21 60 stp**

Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap

## **Analyse av mikroplast i jord ved bruk av pyr-GC/MS**

Analysis of microplastic in soil using pyr-GC/MS

Petter Larsen Grimstad

Kjemi

## Forord

Denne masteroppgaven ble utført ved fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap, ved Norges miljø og biovitenskapelige universitet (NMBU). Oppgaven ble utført i perioden august 2020 til august 2021. Denne oppgaven ble skrevet hos forskningsgruppen for Organisk sporanalyser og utgjør 60 studiepoeng av en 120 poengs mastergrad i kjemi

Jeg ønsker å takke veilederen min Roland Kallenborn for at jeg fikk mulighet til å jobbe med en så utfordrende og gøy oppgave. Takker spesielt for at du motiverte og støttet igjennom hele prosessen. Ønsker også å takke Ivo Havranek for all hjelp jeg fikk på lab. Vil også takke Lina Aarsbog og Jahn Kaupang for all hjelp jeg fikk når GC og ATD instrumentet ikke ville fungere. Til slutt vil jeg takke Norbert Schmidbauer for hjelpen jeg fikk på Carbolite ovnen.

Norges miljø og biovitenskapelige universitet

Ås, august 2021

Petter Larsen Grimstad

## Sammendrag

I 2018 ble det produsert 359 million ton plastikk. Siden plast er sjeldent biologisk nedbrytbart når det kommer ut i naturen, vil den gå igjennom en rekke biologiske, kjemiske og fysiske prosesser. Dette resulterer i at den blir fragmentert til mindre partikler, altså mikroplast. Mikroplast har blitt funnet i en rekke marinemiljøer, jordmiljøer, og i en rekke dyr som befinner seg i marine eller jordiske miljø. Dette betyr at mikroplast kan bli ført videre opp i matkjeden til maten som mennesker spiser. Det er derfor viktig å ha analysemetoder som kan pålitelig kvantifisere plast i en prøve. Pyrolyse-GC/MS er en av de mest lovende analyseteknikkene innenfor polymer karakterisering og er et raskt voksende fagområde, som vist ved det økende antall publikasjoner. Dermed er hovedmål med oppgaven å etablere en kvalitativ og kvantitativ analysemetode for bestemmelse av spesifikke polymerer ved bruk av pyr-GC/MS og pyr-ATD-GC/MS

Opgaven består av 4 deler; identifikasjon av polymerer, utvikling av MRM-metode, metodevalidering og analyse av jordprøver.

Det ble laget en analysemetode for å identifisere pyrolyse produktene til polymerene PE, PP, PVC og PTFE. Analysemetoden ble brukt på pyrolyse ovnene Pyrola og Carbolite. Resultatene viser at analysemetoden kan identifisere de utvalgte polymerene. PVC og PTFE ga pyrolyse produkter som ikke finnes naturlig.

PVC og PTFE ble valgt for MRM-metode. *Product ion scan* ioner utvalgt for PVC og PTFE var 112 og 100 m/z. Disse ble analysert med *Product ion scan* metode på Pyrola og Carbolite, med kollisjonsenergi på 5, 15, 20 og 30. MRM-overganger som ga best resultat for PVC er 112→77 m/z med kollisjonsenergi på 15 og PTFE ga 100→69 m/z med kollisjonsenergi på 5.

For metodevalidering ble PVC løst i THF brukt. LOD ble funnet til å ligge på 4,36 ng/μL, LOQ ble funnet til å ligge på 14,53 ng/μL og MDL ligger på 3,36 ng/μL. Repeterbarhet ble funnet til å ha en spredning under 5% utenom 5 ng/μL som hadde en spredning på 29%. Lineariteten ble funnet til å være 0,9995

Til slutt ble 3 jordprøver med 5Wt%, 1Wt% og 0,1Wt% med PVC og PTFE analysert med MRM metode på Pyrola ovn. Metoden klarte å analysere og detektere PVC og PTFE i jord, selv ved små mengder.

## Abstract

In 2018, 359 million tonnes of plastic were produced. Since plastic is rarely biodegradable when released into nature, it will undergo several biological, chemical, and physical processes. This results in it being fragmented into smaller particles, i.e., microplastics. Microplastics have been found in several marine environments, terrestrial environments, and in several animals that are in marine or terrestrial environments. This means that microplastics can be carried further up the food chain to the food that people eat. It is therefore important to have an analysis method that can reliably quantify plastic in a sample. Pyrolysis GC / MS is one of the most promising analytical techniques in polymer characterization and is a rapidly growing field, as shown by the increasing number of publications. Thus, the main goal of the project is to establish a qualitative and quantitative analysis method for the determination of specific polymers using pyr-GC / MS and pyr-ATD-GC / MS

The thesis consists of 4 parts: identification of polymers, development of MRM method, method validation and analysis of soil samples.

An analysis method was made to identify the pyrolysis products of the polymers PE, PP, PVC, and PTFE. The analysis method was used on Pyrola and Carbolite furnace. The results show that the analysis method can identify the selected polymers. PVC and PTFE gave pyrolysis products that do not exist in nature.

PVC and PTFE were chosen for MRM method. Product scan ions selected for PVC and PTFE were 112 and 100 m / z. These were analyzed with product scan method on Pyrola and Carbolite, with collision energies of 5, 15, 20 and 30. MRM transitions that gave the best result for PVC are 112→77 m/z with collision energy of 15 and PTFE gave 100→ 69 m/z with collision energy of 5.

For method validation, PVC dissolved in THF was used. LOD was found to be 4.36 ng/μL, LOQ was found to be 14.53 ng/μL and MDL is 3.36 ng/μL. Repeatability was found to have a spread below 5% except for 5 ng/μL which had a spread of 29%. The linearity was found to be 0.9995

Finally, 3 soil samples with 5Wt%, 1Wt% and 0.1Wt% with PVC and PTFE were analyzed by MRM method on Pyrola furnace. The method was able to analyze and detect PVC and PTFE in soil, even in small amounts.

## Innhold

Forord .....	i
Sammendrag .....	ii
Abstract .....	iii
Forkortelser .....	vi
1. Introduksjon .....	1
1.1 Mål for oppgaven.....	3
2. Teori .....	4
2.1 Plast .....	4
2.2 Gasskromatografi .....	6
2.3 Massespektroskopi .....	8
2.4 Automatisk termisk desorpsjon (ATD) .....	12
2.5 Pyrolyse.....	14
2.5.1 Pyrolyse av Plast .....	14
2.6 Metodevalidering .....	19
3. Materialer og metode .....	22
3.1 Kjemikaler.....	22
3.1.1 Standarder og løsninger.....	23
3.2 Materialer og Instrumenter .....	24
3.3 Metode.....	26
3.3.1 Polymer identifikasjon .....	26
3.3.2 Analyse med Pyrola-GC/MS.....	27
3.3.3 Analyse med ATD-GC/MS .....	27
3.3.4 Analyse av jord og vannprøver. ....	28
3.4 Metodevalidering .....	29
3.4.1 LOD og LOQ .....	29

3.4.2 Repeterbarhet .....	29
3.4.3 Linearitet .....	29
3.4.4 Metode deteksjons grense (MDL) .....	29
4. Resultater og diskusjon .....	30
4.1 Metodeutvikling .....	30
4.1.1 Identifikasjon av polymerer (Pyrola) .....	30
4.1.2 Identifikasjon av polymerer (Carbolite) .....	34
4.1.3 Utvikling av MRM-metode .....	37
4.2 Metodevalidering .....	39
4.2.1: LOQ og LOD .....	39
4.2.2: Repeterbarhet .....	40
4.2.3 Metode deteksjonsgrense. ....	41
4.2.4: Linearitet. ....	41
4.3 Analyse av spiket jordprøver.....	43
4.4 Instrumentelle utfordringer. ....	46
5. Konklusjon .....	50
5.1. Videre arbeid .....	51
Vedlegg. ....	58
Vedlegg 1: Single-Tailed 99th Percentile t Statistic .....	58
Vedlegg 2: Kollisjonsenergi vs. Abundance for Pyrola og Carbolite <i>Product ion scan</i> .....	59
Vedlegg 3: LOD og LOQ.....	61
Vedlegg 4: Repeterbarhet.....	63
Vedlegg 5: MDL .....	67

## Forkortelser

ATD: automatisk termisk desorber

CE: kollisjonsenergi

GC: Gasskromatograf

LOD: Deteksjonsgrense

LOQ: Kvantifiseringsgrense

m: Stigningstall

MDL: Metode deteksjonsgrense

MRM: *Multiple Reaction Monitoring*

MS: Massespektrometer

PE: Polyetylen

PP: Polypropylen

PTFE: Polytetrafluoretylen

Pyr: Pyrolyse

S/N: *Signal to noise*

SD: standardavvik

RSD: Relativt standardavvik

THF: Tetrahydrofuran

Wt%: vektprosent

x: Antall

$\bar{x}$ : Gjennomsnitt

## 1. Introduksjon

I dag er det normalt å bruke mikro-FTIR og mikro-Raman spektroskopi for å overvåke mikro og nanoplast rester. I nylige metode sammenligninger er det mye usikkerhet knyttet til resultatene og problemer med kontaminering i bakgrunn for miljøprøver (Prata, da Costa, Duarte, & Rocha-Santos, 2019). En pyrolyse gaskromatograf koblet til et massespektrometer (Pyr-GC/MS) er en av de mest lovende analyseteknikkene innenfor polymer karakterisering og er et raskt voksende fagområde, som vist ved det økende antall publikasjoner (Tsuge, Ohtani, & Watanabe, 2011, s. 1). Imidlertid er det en del forskere som er skeptisk til en viss grad mot de rapporterte dataene fra moderne analytisk pyrolyse, spesielt angående reproduserbarheten til dataene (Tsuge et al., 2011, s. 1). Derfor er standardisering av analytiske betingelsene, ved bruk av godt karakteriserte prøver, og publisering av en god karakterisert database for en serie av standardiserte prøver vert ønsket lenge (Tsuge et al., 2011, s. 1).

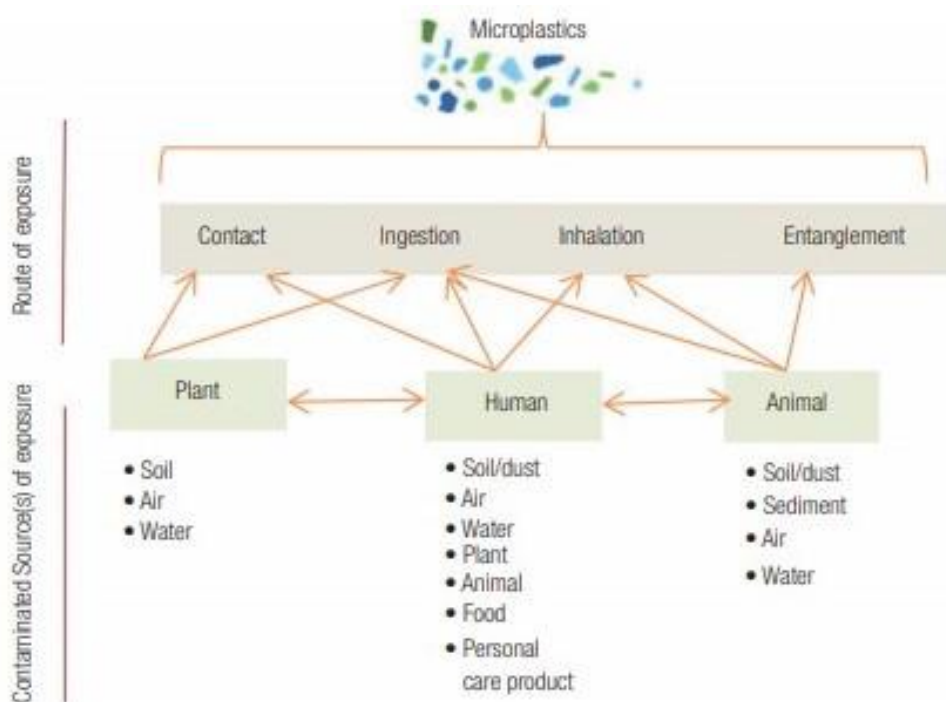
I 2018 ble det produsert 359 million ton plastikk (PlasticsEurope, 2019, s. 14). Plastikk blir brukt i mange forskjellige kommersielle områder som emballasje, elektronikk, helsevesen etc. Mikroplast kan defineres som fragmentert plast med små dimensjoner < 5mm i diameter (Cole et al., 2013), (Rillig & Lehmann, 2020), (Van Cauwenberghe, Vanreusel, Mees, & Janssen, 2013), men det er også normalt å definere det med <1mm i diameter (Alimba & Faggio, 2019), (Claessens, Meester, Landuyt, Clerck, & Janssen, 2011).

Siden plast er sjeldent biologisk nedbrytbart når det kommer ut i naturen, vil den gå igjennom en rekke biologiske, kjemiske og fysiske prosesser (Dierkes et al., 2019), (Sullivan et al., 2020). Dette resulterer i at den blir fragmentert til mindre partikler, altså mikroplast (Alimba & Faggio, 2019). Mikroplast er en vedvarende miljøforurensning, og er blitt detektert i både land og vannmiljøer (Alimba & Faggio, 2019; Yong, Valiyaveetill, & Tang, 2020).

Siden plastprodukter har et enormt forbrukt, allestedsværende i vårt daglige liv, og at plastproduksjon øker årlig. Blir det også mye plastavfall, som vil bli fragmentert til mikroplast (Ebere et al., 2020). Mikroplast er allestedsværende i miljø siden det har blitt funnet i all form for økosystemer (Ebere et al., 2020). På grunn av de små dimensjonene på mikroplast, kan det bli spist av en rekke marine organismer som for eksempel plankton, krill og kreps (Van Cauwenberghe & Janssen, 2014).



Mikroplast har også blitt funnet i en rekke marinemiljøer, jordmiljøer, og i en rekke dyr som befinner seg i marine eller jordiske miljø (Prata, 2018; Rist, Carney Almroth, Hartmann, & Karlsson, 2018). Dette betyr at mikroplast kan bli ført videre opp i matkjeden til maten som mennesker spiser (Rist et al., 2018).



Figur 1.1: Potensielle eksponeringsveier for mikroplast (Ebere et al., 2020)

Det finnes en rekke eksponeringsruter for mikroplast som vist i figur 3, det betyr at mikroplast potensielt kan finnes overalt. Det betyr at all form for miljø er i risiko for eksponering og potensiell toksisitet fra mikroplast (Ebere et al., 2020). I 2016 ble plast produksjon estimert til å ha nådd 355 millioner tonn. På grunn av avfallhåndteringsproblemer har det blitt anslått at 5-12 millioner plast partikler har endt opp i havet (Hermabessiere et al., 2018).

Potensiell toksisitet for mikroplast er en av de viktigste miljøspørsmålene i vår tid (Verla, Enyoh, Verla, & Nwariorh, 2019). Spesielt i maritimemiljøer er det vist at mikroplast er giftig for dyr og mikroorganismer (Chae & An, 2017). Mikroplast kan fungere som en bærer av giftige kjemikalier som tungmetaller (Verla et al., 2019). Dette kan bety en økning av tungmetall konsentrasjon i mennesker, når dette blir videreført oppover i matkjeden (Enyoh et al., 2020). Mikroplast har også vist en negativ effekt på metabolisme, fertilitet og dødelighet for vannorganismer (Chae & An, 2017).

For maritime arter i havet og ved havbunden er det observert redusert fôringsaktivitet, energireserver, overlevelse og utvikling (Guzzetti, Sureda, Tejada, & Faggio, 2018). For mennesker er det foreløpig en kun spekulativ potensiell giftig effekt, da det ikke er noen studier enda som har observert en giftig effekt (Enyoh et al., 2020). Noen av de potensielle giftige effektene av mikroplast for mennesker kan være oksidativt stress, cytotoksiske effekter, betennelses respons for lungeceller. Dette vil potensielt bare skje ved høye konsentrasjoner av mikroplast (Yong et al., 2020).

### 1.1 Mål for oppgaven

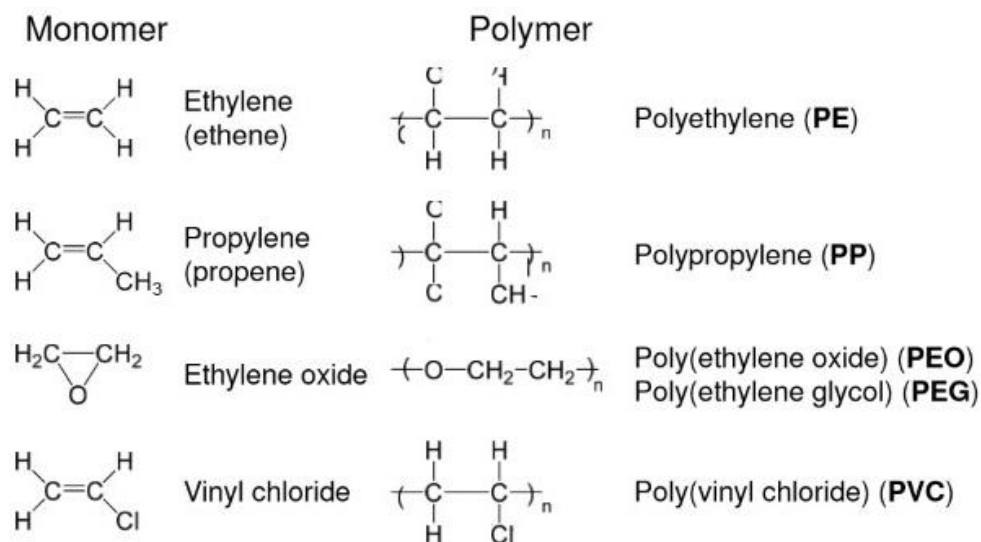
Hovedmålet med oppgaven er å etablere en kvalitativ og kvantitativ analysemetode for bestemmelse av spesifikke polymerer ved bruk av pyr-GC/MS og pyr-ATD-GC/MS. Etablere om metoden kan brukes til å analysere prøver av jord og vann som er tilsatt små mengder plast. Til slutt se om pyrolyse av større prøvemengder vil gi større sensitivitet ved bruk av Pyr-ATD-GC/MS.

Delmål med oppgaven er å validere metodene, henholdsvis for å finne LOQ, LOD, linearitet, repeterbarhet, og metode LOQ

## 2. Teori

### 2.1 Plast

Plast er syntetiske polymerer som består av repeterende enheter av monomerer ofte i lange kjeder (PlasticsEurope, u.å-b). Et eksempel på dette er polyetylen, der dens monomer er etylen som vist i figur 2.1.1

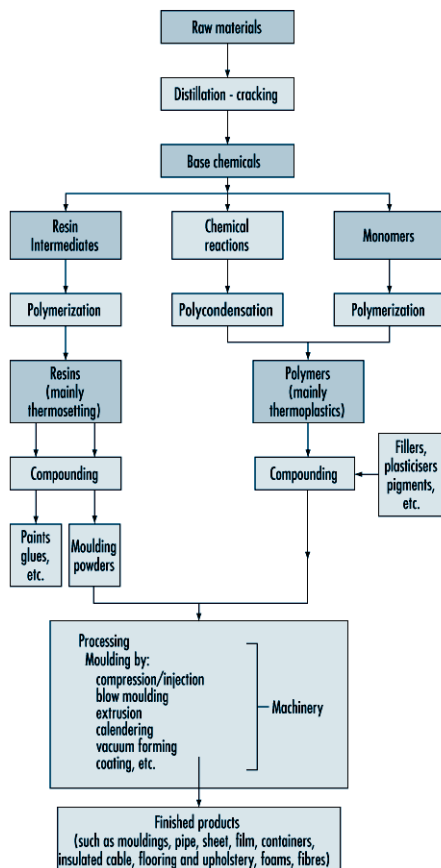


Figur 2.1.1: Polymerer og deres monomerer hvor  $n$  er antall repeterende enheter (Kjønksen, 2018)

Videre kan plastikk deles in i 2 kategorier, termoplast (Tsao & DeVoe, 2009, s. 1) og termosett (Li & Strachan, 2015, s. 1). Der termoplast kan bli mykt ved oppvarming, dette fører til at termoplast kan enkelt bli omformet ved oppvarming, og vil beholde formen ved romtemperatur (Tsao & DeVoe, 2009, s. 1). Termosett plastikk også kalt hardplast, kan ikke bli omformet eller mykne ved oppvarming. Hardplast er også ettertraktet for sin holdbarhet og styrke sammenlignet med termoplast (American-Chemistry-Council, u.å). Hardplast blir ofte brukt i kretskort, epoksy, båtskrog etc. Termoplast blir brukt ofte brukt i emballasje, plastflasker, plastbokser, bilpaneler etc. (American-Chemistry-Council, u.å).

Plastikk er kjent for å være kjemisk (Ciardelli, Bertoldo, Bronco, & Passaglia, 2019, s. 44) og biologisk resistent (Shah, Hasan, Hameed, & Ahmed, 2008, s. 247). Noen typer polymerer som for eksempel polyuretan (PU) blir ofte brukt som termisk isolator (Yeganeh, Atai, Hojati Talemi, & Jamshidi, 2006), og noen typer blir også brukt som elektrisk isolator (AmericanChemistryCouncil, u.å). Eksempler på termoplast er polypropylen, polyetylen, polyvinylklorid og polystyren. Eksempler på termosettplast er epoksy, polyuretan og fenoliske polymerer (Romeorim, u.å)

Produksjon av plast starter ved ekstraksjon av råmaterialer, som oftest er det råolje, naturgass og kull som blir ekstrahert. Videre blir råmaterialene raffinert til monomerer (Baheti, u.å). I raffinering prosessen blir råolje oppvarmet i en ovn, deretter blir det sendt til en destillasjons prosess. Her vil råoljen bli separert til lettere komponenter (Baheti, u.å) (PlasticsEurope, u.å-a). Neste i prosessen er polymerisering, der blir monomerer konvertert til hydrokarboner med høy molekylvekt (PlasticsEurope, u.å-a). Dette skjer ved at monomerene blir bundet sammen til kjeder, ved hjelp av polymerisering som vist i figur 2.

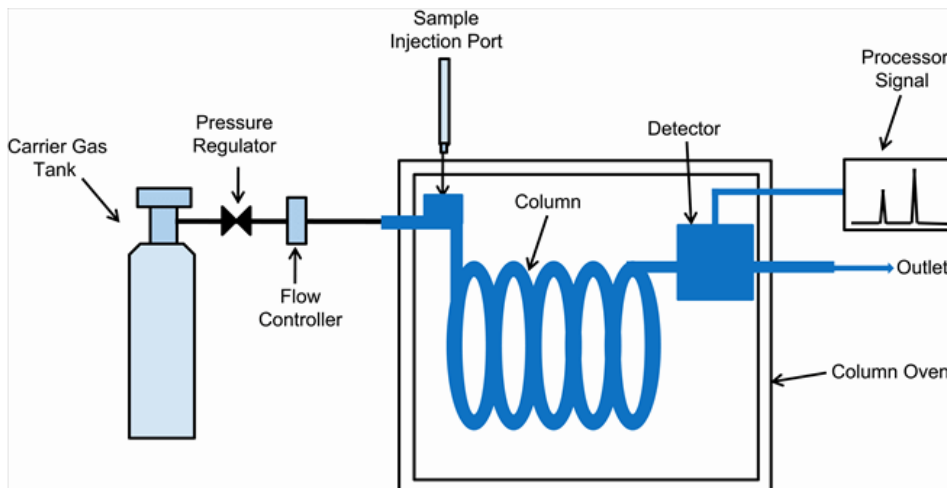


Figur 2.1.2: Plast produksjon (Law & Britton, u.å)

Til slutt blir polymerne smeltet sammen med andre materialer til en blend, som blir avkjølt og omgjort til pellets (Baheti, u.å).

## 2.2 Gasskromatografi

Det finnes 2 typer av gasskromatografi: gass-væske kromatografi (GLC) og gass-faststoff kromatografi (GSC). Det er GLC som er mest brukt innenfor all form av vitenskap, og blir ofte forkortet til gasskromatografi (Skoog, Holler, & Crouch, 2018, s. 720). I gasskromatografi blir komponenter i en fordampet prøve separert. Dette er et resultat av forskjellig distribusjon mellom en gassformig mobilfase og en flytende eller fast stasjonærfase (Skoog et al., 2018, s. 720). I en gasskromatografisk separasjon, der prøven blir fordampet og injisert direkte inn i en kolonne. Mobilfasen i gasskromatografi påvirker ikke prøven, da mobilfase gassen er inert (Skoog et al., 2018, s. 720). Prøver som skal benyttes i en gasskromatograf bør være flyktige og termisk stabile ved temperaturer som benyttes under analysen (Greibrokk, Lundanes, & Rasmussen, 1998, s. 109). En typisk gasskromatograf (GC) er vist i figur 2.1.3.



Figur 2.1.3: Typisk Gasskromatograf (Evers, 2014, s. 19)

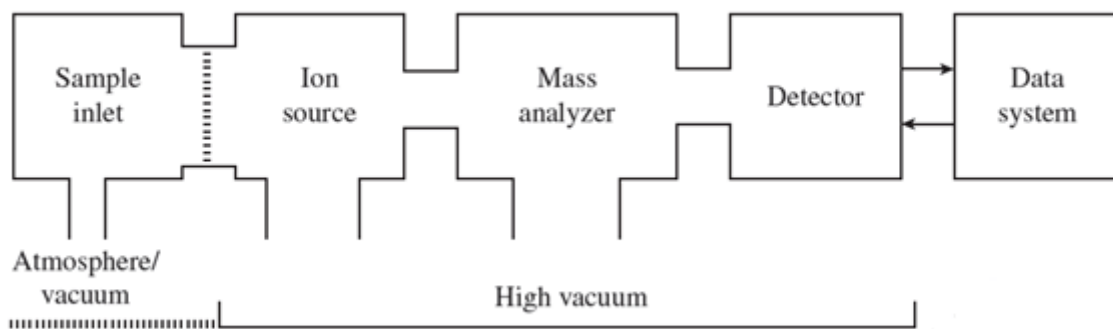
En gasskromatograf system kan deles in i flere deler;

- **Bæregass:** Mobilfasen i en GC er kalt bæregass og må være kjemisk inert siden gassens eneste formål er å bære analytten igjennom kolonnen (Miller, 2009, s. 148). Helium er den mest populære mobilfasen, men andre gasser er også brukt som nitrogen, hydrogen og argon (Skoog et al., 2018, s. 722)

- **Prøveinjeksjonssystem:** For å få en høy effektivitet, må prøven bli introdusert som en plugg av damp. Sakte injeksjon og overdimensjonerte prøver vil føre til båndspredning og dårlig oppløsning (Skoog et al., 2018, s. 722). Ved prøveintroduksjon blir en *split/splitless* injektor brukt. Andre injektorer som brukes er *on-column- injektor* (Skoog et al., 2018, s. 723)
- **Kolonnoevn:** Kolonnetemperatur er en viktig variabel som må kontrolleres meget nøyaktig. For å oppnå god separasjon mellom komponenter, brukes et temperaturprogram som øker temperaturen kontinuerlig eller stegvis. Dette fører til at komponenter med lavere kokepunkt vil eluere ut raskere enn komponenter med et høyere kokepunkt (Skoog et al., 2018, s. 724)
- **Kolonne:** Komponenter blir separert i kolonnen. Det er flere parametere som påvirker separasjon det er overflatemateriale, porestørrelse og form av stasjonærfasen (Greibrokk et al., 1998, s. 119). Når komponenter vandrer igjennom kolonnen så vil vandringshastigheten bestemmes av flyktighet, løselighet i stasjonærfase og temperatur. Stasjonærfasen er ofte silikonbasert. Den mest brukte kolonne typen er kapillære kolonner. Det fins 2 typer; *wall coated open tubular* (WCOT) og *support coated open tubular* (SCOT). Der WCOT har et tynt lag med stasjonærfase på indre vegg. SCOT har et tynt lag med support film på den indre veggen og et tynt lag med stasjonærfase over (Skoog et al., 2018, s. 732).
- **Detektor:** En detektor måler hvor mye av en komponent som eluere ut av en kolonne. Detektorer kan deles in i 2 typer: konsentrasjonsfølsomme og massefølsomme. Begge typer baserer seg på samme konsept ved at mengde som eluere ut av en kolonne er proporsjonal med responsen i detektoren (Greibrokk et al., 1998, s. 133). Typer detektorer som finnes er: FID, MS, ECD og TCD. Responssignalet blir sendt til en PC der det blir omgjort til et kromatogram (Skoog et al., 2018, s. 725).

## 2.3 Massespektroskopi

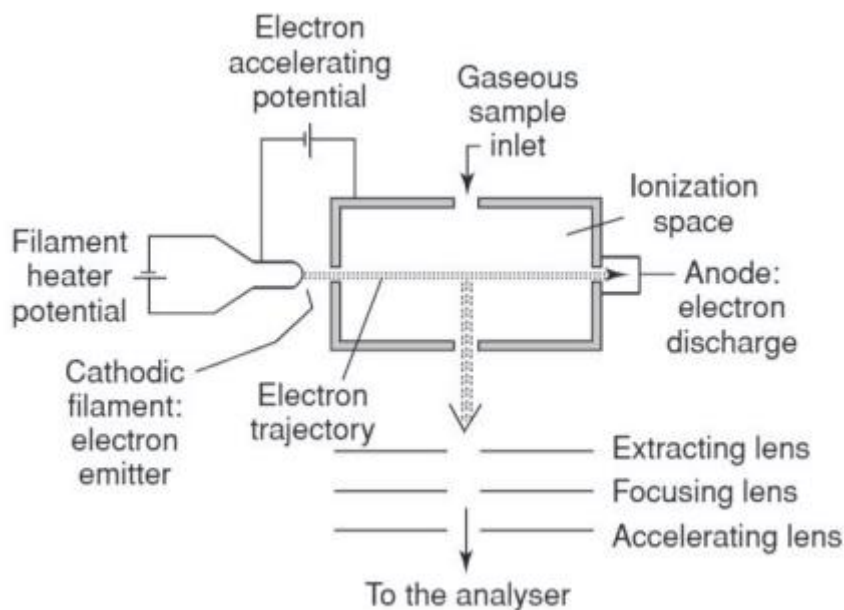
Et massespektrometer (MS) er ofte brukt som en detektor i et kromatografisk system. En fordel med MS i forhold til andre detektorer for GC, er at MS kan gi strukturell informasjon som molekylvekt og fragmenterings mønster (Skoog et al., 2018, s. 255). Prinsippet for MS er at molekyler blir ionisert i en ionekilde, videre blir ionene analysert i en masseanalysator basert på forholdet mellom masse og ladning ( $m/z$ ). Tilslutt blir ionene detektert i en detektor, dette skjer i et høy vakuumbetingelser (Skoog et al., 2018, s. 255) Figur 2.3.1 viser et enkelt MS system.



Figur 2.3.1: Enkelt MS system (Helaly, 2011)

Det finnes mange teknikker for å ionisere molekyler. For et GC/MS-system er den mest vanlige ioniseringsteknikken elektron ionisering (EI). En skjematisk illustrasjon av en EI-kilde er vist i figur 2.3.2. Prøven blir introdusert som gassform inn til ioniseringskammeret. I kammeret, vil et oppvarmet filament gi elektroner ved en gitt spenning. Denne spenningen er som oftest 70eV. Dette er fordi organiske molekyler vil gi mest ioner ved 70eV (Hoffman & Stroobant, 2007, s. 15). Imidlertid dette fører til også omfattende fragmentering.

Ioniseringskammeret opprettholder et elektrisk potensial og ekstraksjonslinsene holdes ved et jordingspotensial, som fører til at ioner blir trukket ut av kammeret og inn i masseanalysatoren (Hoffman & Stroobant, 2007). Noe som ikke er inkludert i figur 2.3.2 er repeller-elektroden som kan beholde eller skyve ioner ut av ioniseringskammeret



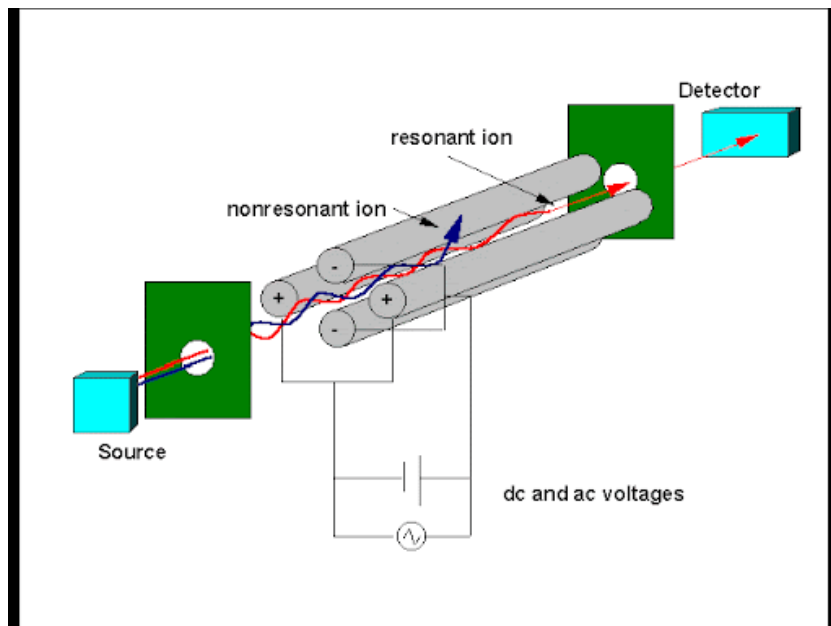
Figur 2.3.2: Skjematisk illustrasjon av en EI-kilde (Hoffman & Stroobant, 2007, s. 16)

En av de mest brukte masseanalytorene er en kvadrupolmassefilter. I en kvadrupol er  $m/z$ -forholdet separert av stabiliteten til banene i et oscillerende elektriskfelt (Hoffman & Stroobant, 2007). En kvadrupol består av 4 parallelle rør som vist i figur 2.3.3. Rørene som er plassert i motsetning til hverandre har samme ladning som vist i figur 2.3.3 og vil oscillere mellom dem. Dette kan vises med ligningen under

$$U = V * \cos(\omega) * t$$

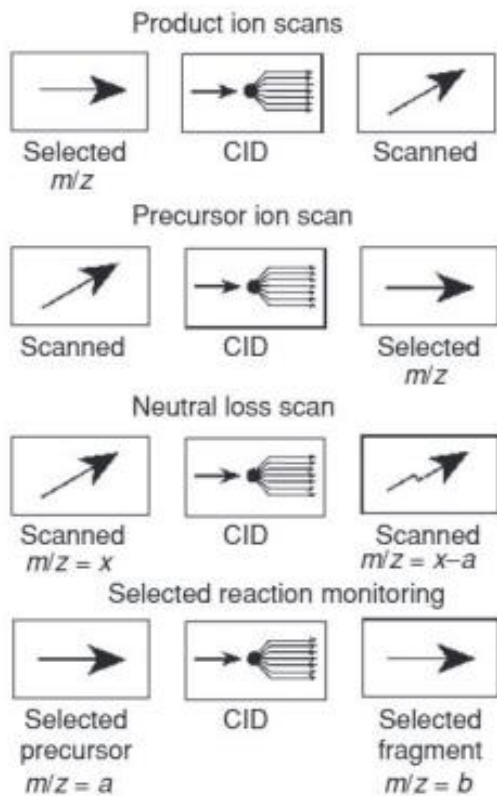
Der  $U$  er direkte potensial,  $V$  er amplituden til radiofrekvensspenningen og  $\omega$  er vinkelfrekvens (Hoffman & Stroobant, 2007). Når et ion kommer inn i feltet mellom rørene, vil ionet bli tiltrukket til røret med samme ladning. Ionet vil endre retning hvis potensialet i rørene endres før ionet går ut av feltet. Basert på dette er det mulig å justere hvilke masser som går igjennom analysatoren uten å bli forkastet.





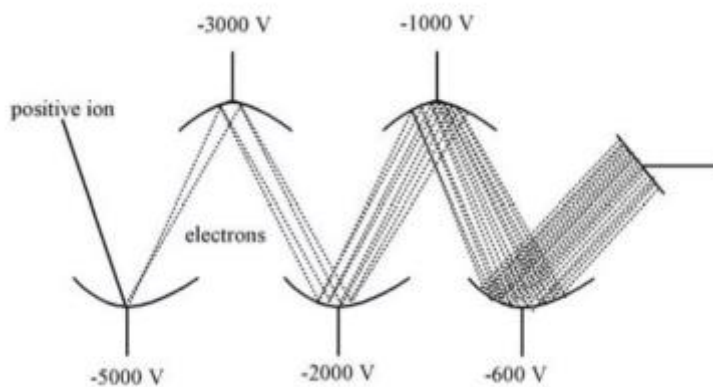
Figur 2.3.3: illustrasjon av en kvadrupol (Evers, 2014)

Det er mulig å operere med flere masseanalytatorer i tandem, som vil gi et MS/MS-system. Et eksempel på et slikt MS/MS system er en trippel kvadrupol (QqQ) (Dawson, 1967). Det første og siste kvadrupolen brukes som masseanalytatorer, men den i midten q, er en radiofrekvens kvadrupol. Her er det mulig å introdusere en gass, slik at q kan brukes som en kollisjonscelle (Kool & Niessen, 2015). Et system med et QqQ kan kjøres i 6 forskjellige moduser, som vist i figur 2.3.4, kan brukes som et enkelt kvadrupol med fullt skann modus og *selected ion monitoring* (SIM). Kombinasjonen av å skanne og velge ioner gir 4 muligheter med en QqQ; *product ion scan*, *precursor ion scan*, *neutral loss scan* og *selected reaction monitoring*, disse er vist i figur 2.3.4 (Hoffman & Stroobant, 2007). Kombinasjonen av skann og velge ioner gjør at QqQ er mer sensitiv og selektiv enn enkel kvadrupol. Dette er fordi ved å øke kriteriene for deteksjon, vil gi en høyere S/N forhold, som vil gi en kvantifisering med lavere deteksjonsgrense.



Figur 2.3.4: 4 muligheter for MS/MS oppsett (Kool & Niessen, 2015)

En ofte brukt ion detektor er et elektron multipliser. Prinsippet er at ioner fra detektoren blir akselerert til en høy hastighet. Dette øker deteksjons effektiviteten.



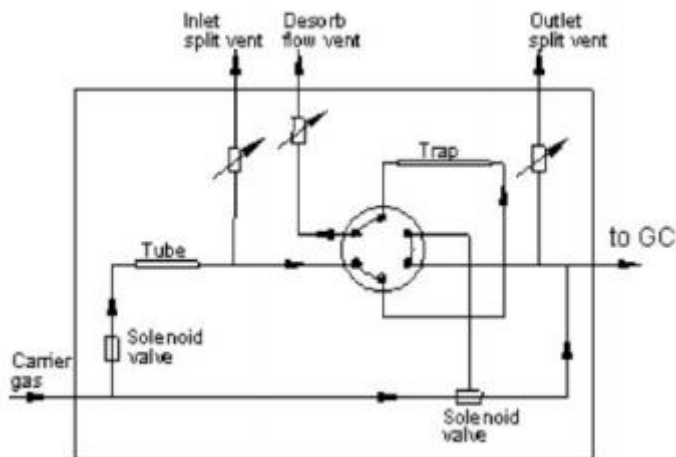
Figur 2.3.5 illustrasjon av en elektron multipliser (Hoffman & Stroobant, 2007)

Den første elektroden kalles en konverteringsdynode. Den holder enten en positiv eller negativ høy ladning. Dynodene har motsatt ladning en de detekterte ionene. Som figur 2.3.5 viser er ionene positive, mens dynodene er negative.

Når ionene treffer konverteringsdynoden, emitteres sekundære partikler som positive og negative ioner, elektroner. De sekundære partiklene vil treffe den neste dynoden og bli konvertert til elektroner. Videre forsterkes disse i en kaskadeeffekt som gir en elektronstrøm som akselereres av det synkende potensiale til dynodene. Ved utgangen av elektron multiplieren er et elektrometer

#### 2.4 Automatisk termisk desorpsjon (ATD)

Termisk desorpsjon er et allsidig prøvintroduksjonssystem på grunn av dens evne til å kombinere prøvetaking og prøvepreparering. Den fungerer også som en GC injeksjons system (Corell, Armenta, & Esteve-Turrillas, 2020). Prinsippet for termisk desorpsjon er at gass molekyler beholdes ved adsorpsjon til et sorbent. Adsorpsjon er et overflate fenomen og hovedsakelig påvirket av overflateareal av sorbent og interaksjon mellom sorbent og prøve (Woolfenden, 2021) For å eluere gassmolekyler beholdt av sorbent, blir sorbent varmet opp og en inert bæregass bærer dem videre til GC-kolonnen (Wu & Chang, 2012). Termisk desorpsjon som en prøvetakings teknikk er et 2-steps prosess. Først blir prøvemolekylene adsorbent in i sorbenten i prøverør, før prøvemolekylene blir eluert og konsentrert i en felle før introduksjon til GC-kolonnen (Woolfenden, 2021) 2-steps desorpsjon øker sensitivitet og lavere deteksjonsgrense.



Figur 2.4.1: skjematisk tegning av ATD-400 (Massold, Bähr, Salthammer, & Brown, 2005)

I denne oppgaven ble en ATD-400 brukt. Her ble sorbent plassert i rustfri stål rør. Prøver blir introdusert enten ved injeksjon av væske, pumpe luft igjennom rørene eller ved bruk av gas standarder. Rørene blir introdusert en og en in til ATD-400 enheten hvor dem blir låst in i bæregass strømmen (Woolfenden, 2021).

Figur 2.4.1 viser oppsettet for termisk desorpsjon i en ATD-400. I midten er en oppvarmet ventil, som vil rotere slik at gass strømmen er riktig i henhold til program.

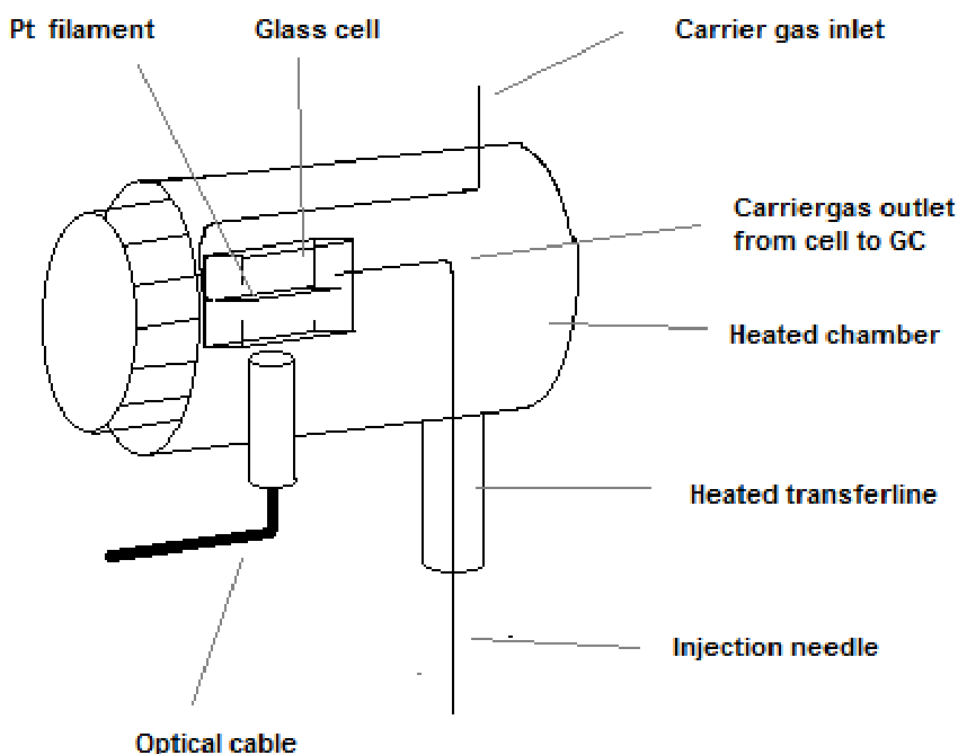
Det er brukt 2 innstillinger i ATD, det er kondisjonering og 2-steps desorpsjon.

Kondisjonering skjer ved at et rør blir forseglet in i bæregass strømmen og renses ved høy temperatur over en viss tid. Dette gjøres for å fjerne lavere molekylære urenheter og gjenværende komponenter, men også for å aktivere sorbenten. 2-steps desorpsjon er analyse modus, hvor prøven blir injisert til GC. Ved begge innstillinger, blir det utført en lekkasjesjekk, når rørene er låst inn i bæregass strømmen (Perkin-Elmer, 1998). Rørene må gå gjennom 2 lekkasjesjekker. Disse blir utført ved romtemperatur og ingen flow i rør.

Første lekkasje test skjer ved å sette trykk på prøverøret, ved å åpne en solenoid ventil (venstre i figur 2.4.1) i 5 sekunder og den oppvarmede ventilen snur slik at gass strøm blir koblet til desorb flow vent (figur 2.4.1). Det er en trykktranduser som vil måle trykket ved begge sider av ventilen. Hvis trykkforskjellene mellom transduserende faller mer enn 6,9kPa, indikerer dette en større lekkasje i systemet og rører blir lastet tilbake i prøvekarusellen (Perkin-Elmer, 1998). Hvis første lekkasje test er bestått, vil neste test begynne. Her vil Den første solenoid ventilen stenges og desorb flow ventilen fortsatt holdes åpen. Hvis trykkforskjellen overgår kolonne hode trykk, så vil systemet identifisere at det er en lekkasje og laste røret tilbake i prøvekarusellen (Perkin-Elmer, 1998). Etter lekkasje testene vil rørene bli renses for kontaminering som vann ved romtemperatur. Etter rensing blir rørene varmet opp slik at prøvemolekylene blir desorbent inn i cold-trap over en viss tidsperiode. Her blir temperaturen satt ned til mellom -15 og -30°C. For å eluere ut prøven inn i GC blir cold-trap varmet opp med en rate på 40°C/sek (Perkin-Elmer, 1998)

## 2.5 Pyrolyse

Pyrolyse er en analyseteknikk som involverer termisk dekomponering av en prøve ved at den varmes til 400-1000 °C (Lord & Pfannkoch, 2012). Når en Pyrolyse instrument er koblet til et GC/MS (pyr-GC/MS) kan en pålitelig identifisere isolerte plast partikler, ved å analysere dem karakteristiske termisk degraderings produkt (Fischer & Scholz-Böttcher, 2017). Pyr-GC/MS kan termisk degradere større molekyler til mindre molekyler i en inert atmosfære (Käppler et al., 2018). Avhengig av pyrolyse temperatur, kan dette føre til karakteristiske, flyktige degraderings produkter som enten ligner eller kan spores tilbake til forgjenger molekyl (Käppler et al., 2018).



Figur 2.5.1: Skisse av Pyroly 2000 (Östman & Näsström, 2012)

I denne oppgaven ble en Pyroly 2000 brukt, som vist i figur 2.5.1. Dette er et filament pyrolyser. Her vil prøven bli plassert på et filament inne i et lukket kammer med en inert atmosfære. Pyrolyse temperaturen er proporsjonal med spenningen satt til å gå igjennom filament (Pyrolab, 2005). Prøven vil da termisk fragmentere og sendt inn i GC med mobilfasen.

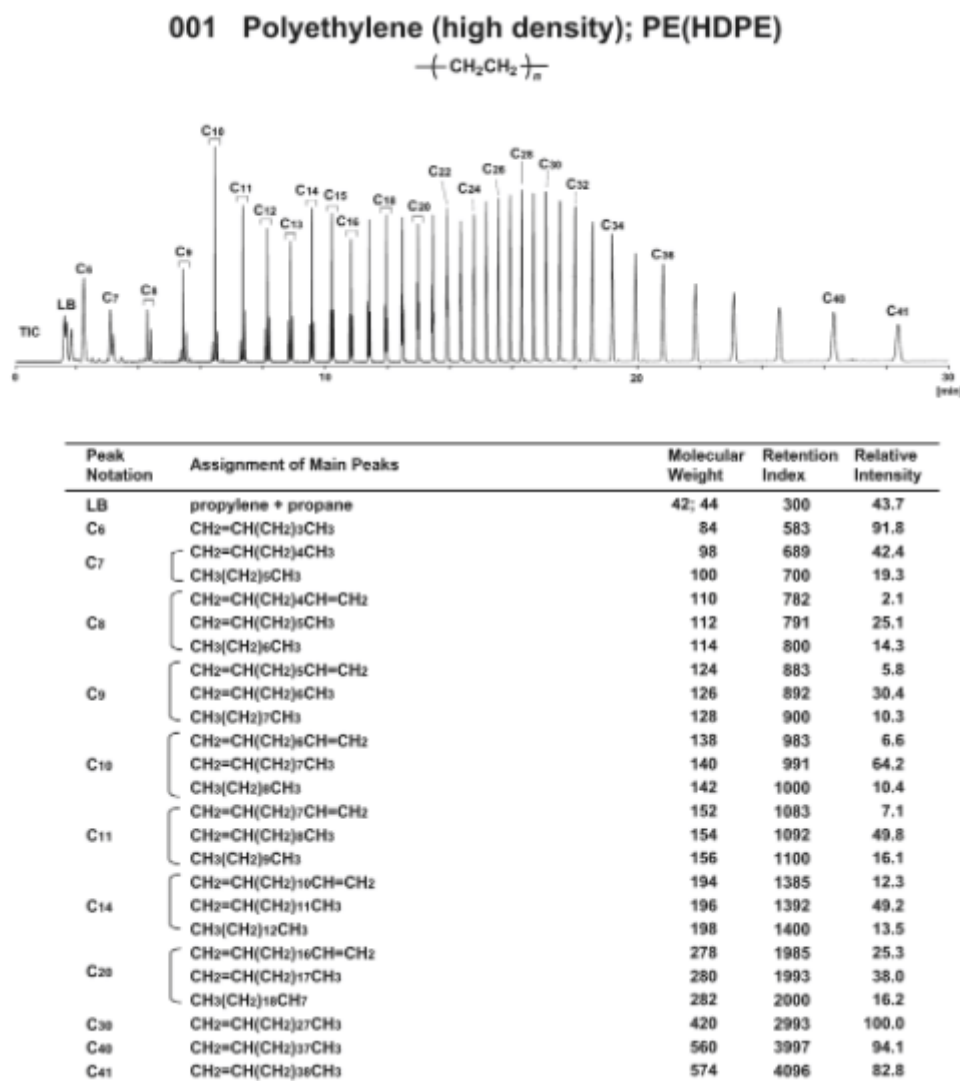
### 2.5.1 Pyrolyse av Plast

Pyrolyse av plast ved en gitt temperatur vil gi samme fragmenteringsmønstre, uansett hvor mange paralleller som analyseres (Peters et al., 2018), (Zhou et al., 2016). I denne oppgaven ble polyetylen (PE), Iso-polypropylen (PP), polytetrafluoretylen (PTFE) og polyvinylklorid

(PVC) analysert på pyr-GC/MS-MS. Fragmenteringsmønsteret til dem ble sammenlignet med fragmenteringsmønster og MS spekter fra boken Pyrolysis-GC/MS Data book of Synthetic Polymers (Tsuge et al., 2011)

## Polyetylen

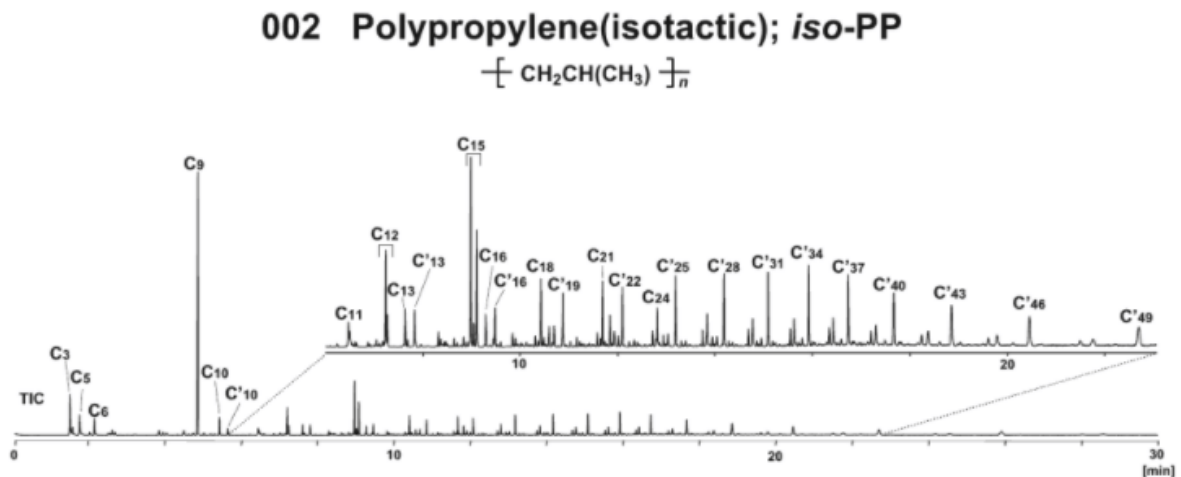
Som figur 2.5.2 viser, har polyetylen et fragmenteringsmønster som starter ved C6 1-hepten i starten av kromatogrammet og ender med C41 1-hentetrakonten. Fragmenteringsmønsteret viser at polyetylen vil fragmentere til en rekke alkener.



Figur 2.5.2: Fragmenteringsmønster for polyetylen.

## Iso-polypropylen

Som figur 2.5.3 viser, har Iso-polypropylen et fragmenteringsmønster med alkener og alkaner med forgreninger. Antall C-atomer og forgreninger i fragmentene øker oppover i kromatogrammet.

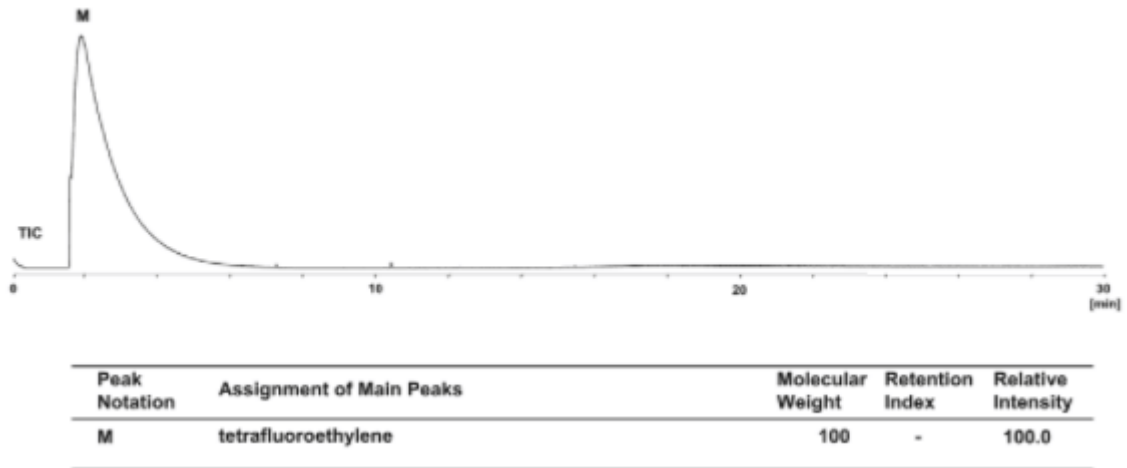


Peak Notation	Assignment of Main Peaks	Molecular Weight	Retention Index	Relative Intensity
C3	propylene	42	295	14.6
C5	<i>n</i> -pentane	72	500	10.0
C6	2-methyl-1-pentene	84	584	8.1
C9	2,4-dimethyl-1-heptene	126	844	100.0
C10	2, 4, 6-trimethyl-1-heptene	140	895	6.8
C10'	2, 4, 6-trimethyl-1, 6-heptadiene	138	916	2.6
C11	4, 6-dimethyl-2-nonene (meso form)	154	996	2.9
C12	2, 4, 6-trimethyl-1-nonene (meso form)	168	1083	9.5
	2, 4, 6-trimethyl -1-nonene (racemic form)	168	1087	3.3
C13	2, 4, 6, 8-tetramethyl-1-nonene (meso form)	182	1132	4.0
C13'	2, 4, 6, 8-tetramethyl-1, 8-nonadiene (meso form)	180	1156	4.1
C15	2, 4, 6, 8-tetramethyl-1-undecene (isotactic)	210	1312	18.5
	2, 4, 6, 8- tetramethyl-1-undecene (heterotactic)	210	1320	2.6
	2, 4, 6, 8- tetramethyl-1-undecene (syndiotactic)	210	1329	10.6
C16	2, 4, 6, 8, 10-pentamethyl-1-undecene (isotactic)	224	1356	3.4
C16'	2, 4, 6, 8, 10-pentamethyl-1, 10-undecadiene (isotactic)	222	1385	3.9
C18	2, 4, 6, 8, 10-pentamethyl-1-tridecene (isotactic)	252	1531	6.4
C19'	2, 4, 6, 8, 10, 12-hexamethyl-1, 12-tridecadiene (isotactic)	264	1605	5.4
C34'	2,4,6,8,10,12,14,16,18,20,22-undecamethyl-1,22-tricosadiene (isotactic)	476	3397	9.7

Figur 2.5.3: Fragmenteringsmønster for Iso-polypropylen (Tsuge et al., 2011).

## PTFE:

Som figur 2.5.4 viser, har PTFE et fragmenteringsmønster med en karakteristisk topp av tetrafluoretylen.



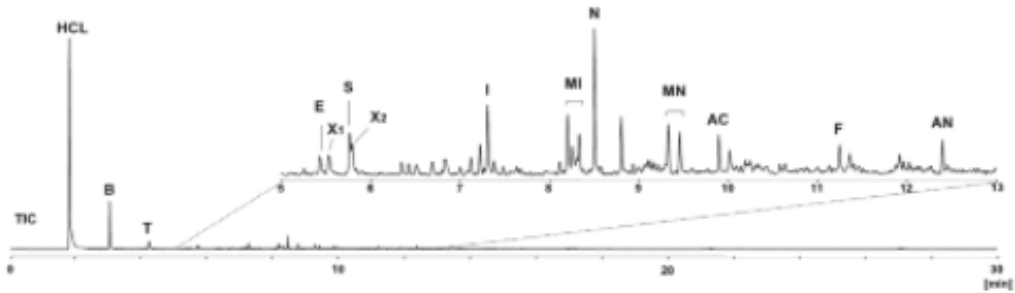
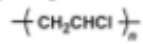
Figur 2.5.4: fragmenteringsmønster for PTFE (Tsuge et al., 2011)










## PVC:

Som figur 2.5.5 viser, har PVC et fragmenteringsmønster med en rekke benzen derivater. Antall benzen ringer på et fragment øker oppover i kromatogrammet.



### 050 Poly(vinyl chloride); PVC



Peak Notation	Assignment of Main Peaks	Molecular Weight	Retention Index	Relative Intensity
HCL	hydrogen chloride	36	-	100.0
B	benzene	78	651	16.0
T	toluene	92	766	4.3
E	ethylbenzene	106	867	0.5
X1	xylene ( <i>m</i> - or <i>p</i> -)	106	875	0.8
S	styrene	104	896	1.3
X2	<i>o</i> -xylene	106	898	1.0
I	indene 	116	1057	1.8
MI	1-methylindene 	130	1167	1.8
	3-methylindene 	130	1183	1.3
N	naphthalene 	128	1204	3.5
MN	2-methylnaphthalene 	142	1320	1.7
	1-methylnaphthalene 	142	1338	1.2
AC	acenaphthene 	154	1403	0.9
F	fluorene 	166	1622	0.8
AN	anthracene 	178	1832	0.8

Figur 2.5.5: fragmenteringsmønster for PVC (Tsuge et al., 2011)

## 2.6 Metodevalidering

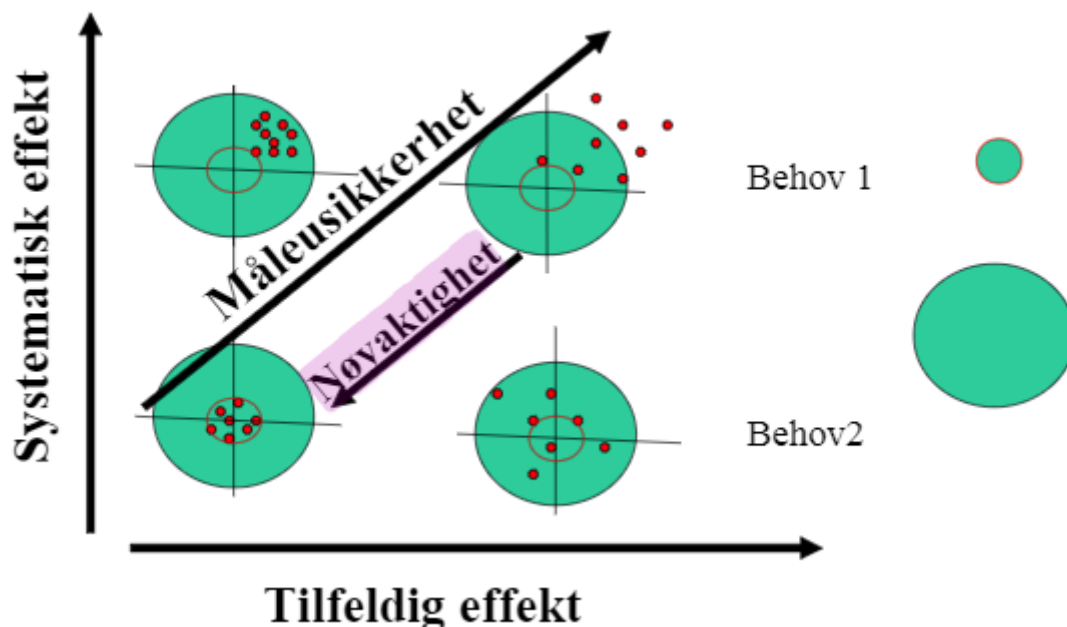
Evnen til å gi betimelig, nøyaktig og pålitelig data er sentralt i rollen som analytisk kjemiker. Analytisk data spesielt innenfor farmasøytisk industri, brukes til å hjelpe med utviklingen av nye legemidler, overvåke stabilitet og teste sluttprodukter før utgivelse (Green, 1996).

Kvaliteten på analytiske data er en nøkkelfaktor i metodeutvikling og validering har en direkte innvirkning på kvaliteten av disse dataene.

Metodevalidering er prosessen for å bevise at en analytisk metode er akseptabel for tiltenkt formål. Verifisering av en metode er en viktig undersøkelse om et laboratorie kan utføre en analyse i henhold til parametere satt i valideringen (Lea, 2009). Generelt må metoder for regulatorisk innsending omfatte studier om spesifisitet, linearitet, nøyaktighet, presisjon, LOD, LOQ og robusthet (Green, 1996).

Følgende parametere er typisk å undersøke i en metodevalidering.

- **Nøyaktighet** er en metode for å måle hvor nær en gitt verdi er til sann verdi til prøven (Taverniers, Bockstaele, & Loose, 2010). Nøyaktighet er påvirket av systematisk og tilfeldige feil (Hovind, Magnusson, Krysell, & Måkinen, 1984), dette er vist i figur 2.6.1



Figur 2.6.1: Målesikkerhet (Hovind et al., 1984)

- **Presisjon** er et mål på spredning av resultatene oppnådd fra flere analyser (Green, 1996). Presisjon blir påvirket av tilfeldige feil ved analysen som eksempel ustabilitet og kontaminering (Lea, 2009). Presisjon blir som oftest uttrykt som analyseresultatenes standardavvik. Der lite standardavvik betyr god presisjon og stort standardavvik betyr dårlig presisjon. Standardavvik kan defineres slik i formel 2.6.1:

$$SD = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \quad [2.6.1]$$

Der SD er standardavvik, x er antall prøver og  $\bar{x}$  er gjennomsnitt til prøver. Relativt standardavvik kan finnes med formel 2.6.2 (Hovind et al., 1984):

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} * 100 \quad [2.6.2]$$

- **Repeterbarhet** er definert som en tilfeldig effekt ved gjentatte målinger under samme forhold. Dette gjøres som oftest i løpet av samme dag med det samme utstyr og personell. Repeterbarhet kan finnes ved å regne ut SD, 2\*SD og 3\*SD fra middelverdien. Hvis 95% av analyseresultatene ikke overstiger 2\*SD verdien, så kan disse anses som akseptable (Hovind et al., 1984).
- **Deteksjonsgrense (LOD)** er definert som laveste konsentrasjon av analytt som kan detekteres med en grad av riktighet (Skoog et al., 2018). S/N forholdet bør være 3.1 og LOD kan beregnes fra S/N. Dette er vist i formel 2.6.3:

$$LOD = 3 * \frac{c}{S/N} \quad [2.6.3]$$

Der c er konsentrasjon.

- **Kvantifiseringsgrense (LOQ)** er definert som laveste konsentrasjon som kan kvantifiseres med en viss grad av riktighet (Skoog et al., 2018). S/N forholdet bør være 10:1 og LOQ kan beregnes fra formel 2.6.4:

$$LOQ = 10 * \frac{c}{S/N} \quad [2.6.4]$$

LOQ kan deles inn i LLOQ og ULOQ, der LLOQ er laveste deteksjonsgrense og ULOQ er øvre deteksjonsgrense. Kan og beregne metode deteksjonsgrense (MDL).

Dette er et mål på minimum konsentrasjon av analytt som kan bli målt og rapportert med et 99% konfidens, at analytt konsentrasjon er større enn null (EPA, 2016). MDL kan finnes med formel 2.6.5:

$$MDL = \bar{X} + t_{(n-1, 1-\alpha=0.99)} * SD \quad [2.6.5]$$

Der MDL er metode deteksjonsgrense,  $\bar{X}$  er gjennomsnitt av blankprøver, t er t-verdi brukt for 99% konfidens og en standardavvik estimert til n-1 grad av frihet. Dette kan finnes i tabell 1 i vedlegg.

### 3. Materialer og metode

#### 3.1 Kjemikaler

**Tabell 3.1.1:** kjemikalier brukt i oppgaven. Oppgitt produsent, renhet/andre kommentarer og CAS-nr.

<b>Produkt</b>	<b>Produsent</b>	<b>Renhet/andre kommentarer</b>	<b>CAS-nr</b>
<b>Polyetylen (PE)</b>	Merck Life Science AS	Gj. snitt Mw $\approx$ 4000	9002-88-4
<b>Isotactic Polypropylen (PP)</b>	Merck Life Science AS	Gj. snitt Mw $\approx$ 12000	9003-07-0
<b>Polytetrafluoretylen (PTFE)</b>	Merck Life Science AS		9002-84-0
<b>Polyvinylklorid (PVC)</b>	Merck Life Science AS	Høy Mw	9002-86-2
<b>Etanol</b>	VWR International AS, Radnor, PA, USA	$\geq 99.9$ %	64-17-5
<b>Tetrahydrofuran (THF)</b>	Sigma-Aldrich, Saint-Louis, Missouri, USA	$\geq 99.9$ %	109-99-9
<b>Helium</b>	Aga, Norge	6,0	7740-59-7
<b>Hydrogenperoksid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)</b>	VWR International AS, Radnor, PA, USA	30%	7722-84-1
<b>Metanol</b>	VWR International AS, Radnor, PA, USA	$\geq 99.9$ %	67-56-1
<b>Toluen</b>	VWR International AS, Radnor, PA, USA	$\geq 99.8$ %, vannfri	108-88-3

### 3.1.1 Standarder og løsninger

Standarder brukt i oppgaven ble laget i stamløsninger og fortynninger ble laget fram dem. Det ble brukt målesylindere med glasskork til å lagre standarder. Det ble unngått å bruke utstyr av plast når standarder ble laget og ved analyse. Tetrahydrofuran (THF) ble brukt som løsemiddel til standarder brukt i oppgaven, da ifølge studien til Lattimer et al passet THF best til å løse opp PVC (Lattimer, Pausch, & Meuzelaar, 1983).

### 3.2 Materialer og Instrumenter

**Tabell 3.2.1:** Oversikt over materialer og instrumenter brukt i oppgaven. Det er oppgitt produkt, produktnavn, produsent og spesifikasjoner/andre kommentarer.

<b>Produkt</b>	<b>Produktnavn</b>	<b>Produsent</b>	<b>Spesifikasjoner/andre kommentarer</b>
GC-kolonne	HP-VOC	J & W Scientific, Agilent Technologies, Santa Clara, USA	60m x 0,2 mm, 1,1 µm
Gass kromatograf	7890B Gas kromatograf	Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA	
Masse spektrometer	7000C Triple Quadrupole mass spectrometer	Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA	
ATD rør	Stainless Steel ATD Prepacked Sample Tube with Tenax TA 60/80	Perkin Elmer, Norwalk, USA	
Pyrola	Pyrola 2000	Pyrol AB, Lund, Sverige	
Carbolite ovn	Wire wound Tube furnace (MTF 12/38/250 med 301 kontroller)	Carbolite-gero, Hope, UK	
Kvartsrør	Kvartsrør	Carbolite-gero, Hope, UK	440mmX30mm
Termisk desorber	ATD-400	Perkin Elmer, Norwalk, USA	
Pumpe prøvetaking	Pocket Pump Touch Sample Pumps	SKC, Blandford Forum, United Kingdom	

Glass sprøyter	Microliter Syringes	Hamilton	5, 10, 50 og 100µL
Pasteurpipetter	Disposable Glass Pasteur Pipettes	VWR International AS, Radnor, PA, USA	
Mikrovekt	C2P2	Sartorius, Goettingen, Tyskland	

Programvarer som ble brukt i oppgaven er:

Agilent Masshunter Qualitative Analysis B.06.00

Agilent Masshunter Quantitative Analysis B.07.00

Microsoft Excel, Office 365



### 3.3 Metode.

Oppgaven kan deles inn i 4 deler. Det er polymer identifikasjon, analyse med Pyro-GC/MS, analyse med ATD-GC/MS og analyse av jord og vannprøver.

#### 3.3.1 Polymer identifikasjon

For polymer identifikasjon av PE, PP og PVC ble artiklene fra Hermabessiere et al. (2018) og Funck et al. (2020) brukt som mal for å finne indikatorioner. For PTFE ble artikkelen fra Vaganov (Vaganov-Vil'kins et al., 2019), brukt til å finne indikatorioner Videre ble boken *Pyrolysis-GC/MS data book of synthetic polymers* brukt for å sammenligne kromatogram og massespektre. For å identifisere de forskjellige typer polymerer, ble retensjonstid, indikatorioner fra MS-spekter og kromatogrammønster brukt. Indikatorioner for analyserte polymerer er vist i tabell 3.3.1

**Tabell 3.3.1:** Indikatorioner for pyrolyse av PE, PP, PVC og PTFE

Polymer	Karakteristisk komponent	Indikator ion (m/z)
<b>PE</b>	1-Nonene (C9)	83:97
	1-Decene (C10)	83:97
	1-Undecene (C11)	83:97
	1-Dodecene (C12)	83:97
	1-Tridecene (C13)	83:97
	1-Tetradecene (C14)	83:97
	1-Pentadecene (C15)	83:97
	1-Hexadecene (C16)	83:97
	1,14-Pentadeca-diene	81
<b>PP</b>	7-Methyl-decene	111:97
	3-Dodecene	111:97
	2,4,6-Trimethyl-octene	111:97
	2,4-dimethyl-1-heptene	70:126
<b>PVC</b>	Benzene	52:78
	Toluene	91
	Styrene	78:104
	Indene	116
	Naphthalene	128
	2-methylnaphthalene	115:142
	1-methylnaphthalene	115:142
<b>PTFE</b>	Tetrafluoroethylene	69:131

### 3.3.2 Analyse med Pyrola-GC/MS

Analyse av polymerer ble utført på en Pyrola 2000 koblet til en 7890B Gas kromatograf med en 7000C Trippel kvadrupol massespektrometer. Helium ble brukt som bæregass. Pyr-GC/MS metode ble tilpasset fra Hermabessiere et al. (2018). Pyrola hadde et kammer temperatur på 175°C og pyrolyse temperatur var 700°C. En splitt/splitt injektor ved 250°C, en splitt på 1:15 og en strømningshastighet på 1,5 mL/min ble brukt til analysene. Temperaturprogrammet er følgende: start 40°C → hold i 3 min → ramp til 200°C med en rate på 5°C/min → hold i 3 min → ramp til 260°C med en rate på 10°C/min → hold i 2 min. For ionisering i MS ble EI (70eV) brukt og ved TIC skann ble masseområde fra 20-250 m/z brukt. Ionekilden hadde en temperatur på 230°C og kvadrupol hadde en temperatur på 150°C. Ved MRM analyse ble 15CE valgt som kollisjonsenergi for PVC og 5CE ble valgt for PTFE

Masshunter ble brukt til å kontrollere instrumentet. Kromatografiske topper ble identifisert ved hjelp av retensjonstid og indikatorioner fra tabell 3.3.1.

### 3.3.3 Analyse med ATD-GC/MS

ATD metode ble tilpasset fra Aarsborgs master oppgave (Aarsbog, 2019). Analyse av polymerer ble også analysert ved bruk av en Carbolite ovn og en ATD-GC/MS. Ved analyse på Carbolite ovn, ble prøver plassert på et magnesiaspor og plassert i midten av et kvartsrør. Røret ble lukket på begge sider med klammer. Carbolite ble varmet opp til 700°C med en rate på 50°C/min. Når 700°C ble nådd, ble Tenax rør koblet til ene enden av kvartrør. En *pocket pump touch sample* pumpe ble koblet til Tenax rør og prøven ble samlet i 30 min ved 125 mL/min. I løpet av prøvetaking ble en av pluggene på andre siden av kvartsrør åpent. Dette ble gjort for å hindre at pumpe feilet i løpet av prøvetaking. Etter 30 min ble prøven overført til ATD. ATD hadde en desorpsjons temperatur på 250°C i 30 min. Cold trap var ved -15°C og 250°C ved eluering til GC. ATD hadde et trykk på 30psi, som tilsvarer ca. 1.2 ml/min flow inn i GC. Overgangsrøret var av deaktivert fused silica ved 200°C. GCMS hadde samme oppsett som kap. 3.3.3

#### 3.3.4 Analyse av jord og vannprøver.

Analyse av jord og vannprøver bruker instrument oppsettet fra kap. 3.3.3 og 3.3.4. Ved analyse på Pyrola ovn, ble jord prøver plassert på platinafilament ved bruk av spatel. Grunnet Covid-19 og problemer med instrumentering, ble bare jordprøver preparert. Det ble laget 3 jordprøver som ble spiket med PVC og PTFE. Disse var ved 5Wt% (vektprosent), 1Wt% og 0,1Wt%. Disse ble laget ved å veie in beregnet Wt% av PVC og PTFE, blande disse med jord i en erlendmeyer flaske med glasskork. Prøvene ble plassert i en ultralyd bad i 30 min for å homogenisere dem. Jord ble hentet fra laboratoriefryser og jorden er fra E16 rute 30 og gravd ut ca. 0-20cm ned i bakken.

### 3.4 Metodevalidering

Metodevalidering ble utført ved bruk av ekstern standard metode. Standarder ble laget med PVC med THF som løsemiddel.

#### 3.4.1 LOD og LOQ

LOD og LOQ ble beregnet ut ifra ekstern standard konsentrasjonene 5, 50, 100, 500, 1000, 2500 og 5000 ng/μL fra ekstern standard. S/N- forhold til standardene ble plottet mot konsentrasjon og stigningstall fra dette plottet ble brukt il å beregne LOQ og LOD. Formel 3.4.1 og 3.4.2 viser formelen for LOD og LOQ.

$$LOQ = \frac{10}{m} \quad [3.4.1]$$

$$LOD = \frac{3}{m} \quad [3.4.2]$$

#### 3.4.2 Repeterbarhet

Presisjonsparameteret repeterbarheten ble analysert ved å analysere 3 prøver i løpet av en dag, så lengde dette lot seg gjøre. Repeterbarhet ble beregnet fra formel 2.6.1 og 2.6.2.

#### 3.4.3 Linearitet

Linearitet ble beregnet ved å analysere ekstern standard prøver med PVC. Konsentrasjon var 5, 50, 100, 500, 1000, 2500 og 5000 ng/μL. Prøvene ble analysert på pyr-GC/MS i henhold til kap. 3.3.2 og 3.3.3. Linearitet ble funnet ved å plote areal mot konsentrasjon, deretter ble linearitet vurdert fra R<sup>2</sup>-verdi

#### 3.4.4 Metode deteksjons grense (MDL)

MDL til metoden ble analysert ved å analysere 10 blank prøver og bruke formel 2.6.5 til å beregne MDL. For n-1 og t-verdier ble vedlegg 1 brukt.

## 4. Resultater og diskusjon

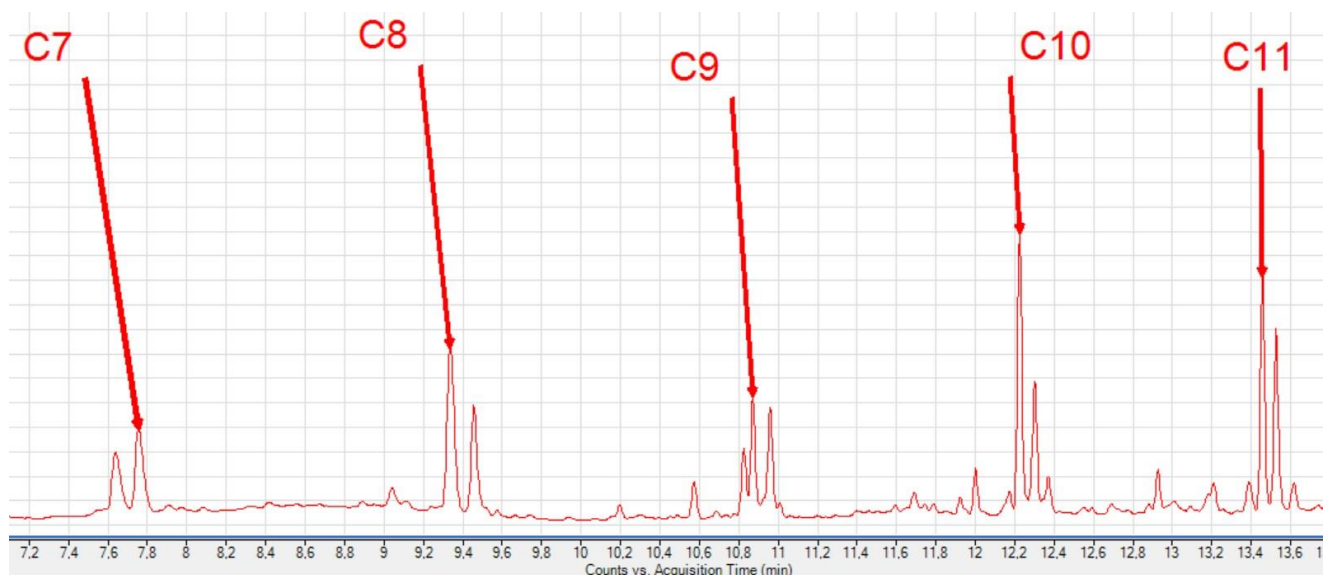
### 4.1 Metodeutvikling

Kvalitativ og kvantitativ bestemmelse av polymerer, kan deles in i flere deler. Det er Identifikasjon av polymerer, utvikling av MRM-metode og validering av metoden. Metode er beskrevet i kap. 3.3.

#### 4.1.1 Identifikasjon av polymerer (Pyrola)

Første del av oppgaven var å identifisere polymerer ved bruk av pyrolyse på Pyrola. Dette ble utført ved å bruke metoden beskrevet i kap. 3.3. Det ble analysert 4 typer polymerer: PE, PP, PVC og PTFE. Målet med denne delen var å identifisere pyrolyse produkter som er lett gjenkjennelig i matrikser av vann og jord.

Første polymer analysert var PE. Her ble en spatelstøps mengde med PE plassert på platinafilamentet til Pyrola ovn og pyrolysert ved 700°C. Et utdrag fra analyse kan ses i figur 4.1.1.

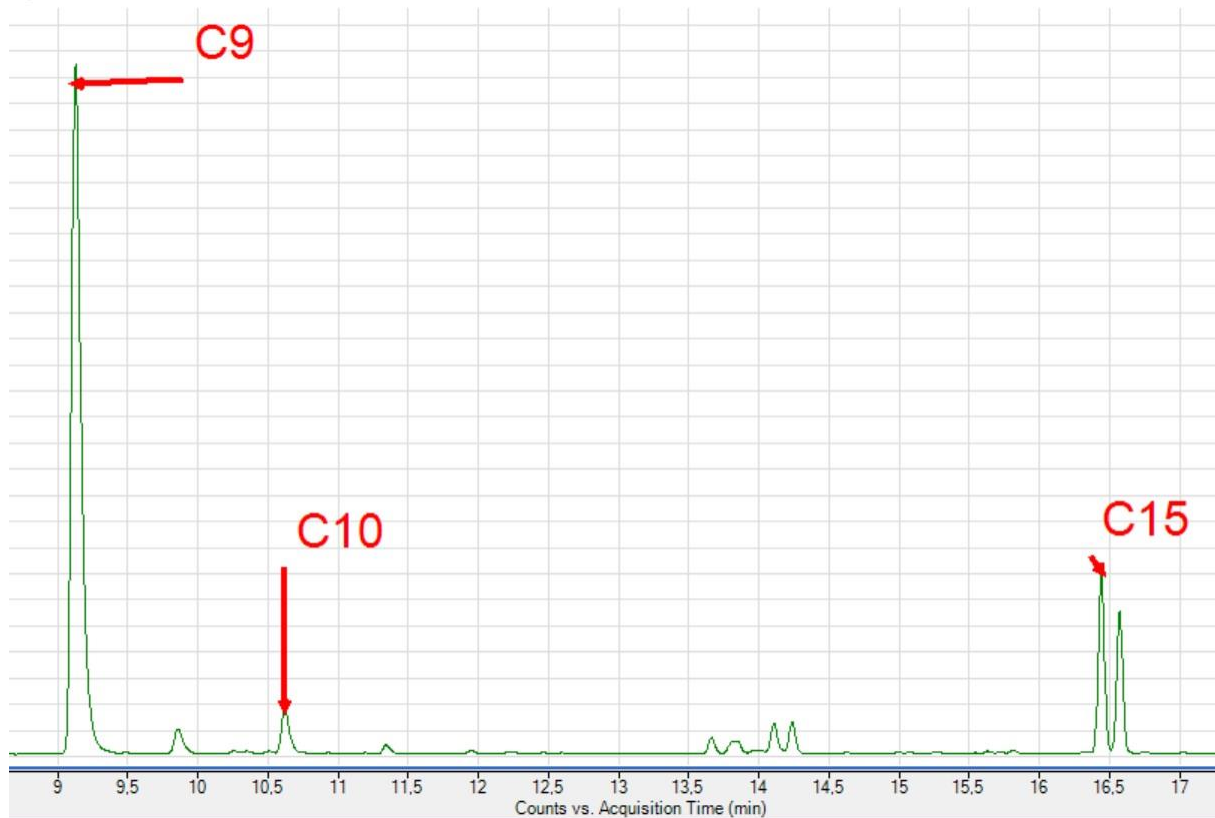


Figur 4.1.1: Utdrag av analyse av PE på Pyrola

Som figur 4.1.1 viser, vil pyrolyse produktene til PE være lik det som er vist i kap.2.5.1. Her vil produktene være en rekke alkener som vil øke i antall C opp over i kromatogram. Det som også er karakteristisk, er toppene kommer i par. Der ene toppen er et alken og den andre toppen er alkan. Det som også kan merkes er at toppen i kromatogram er nokså like. Dette vises også i figur 2.5.2 med topper som er nokså like i høyde. Det som bør merkes er at disse pyrolyse produktene blir vanskelig å skille i en matriks av vann og/eller jord. Siden disse

produktene er meget vanlig å finne i organisk materiale som vann og jord. Da vil det bli vanskelig å skille mellom f.eks. C7 fra PE og C7 fra matriks

Neste polymer analysert var PP. Her ble samme metode brukt som forklart ved analyse av PE. Figur 4.1.2 viser et utdrag av PP på Pyrola.

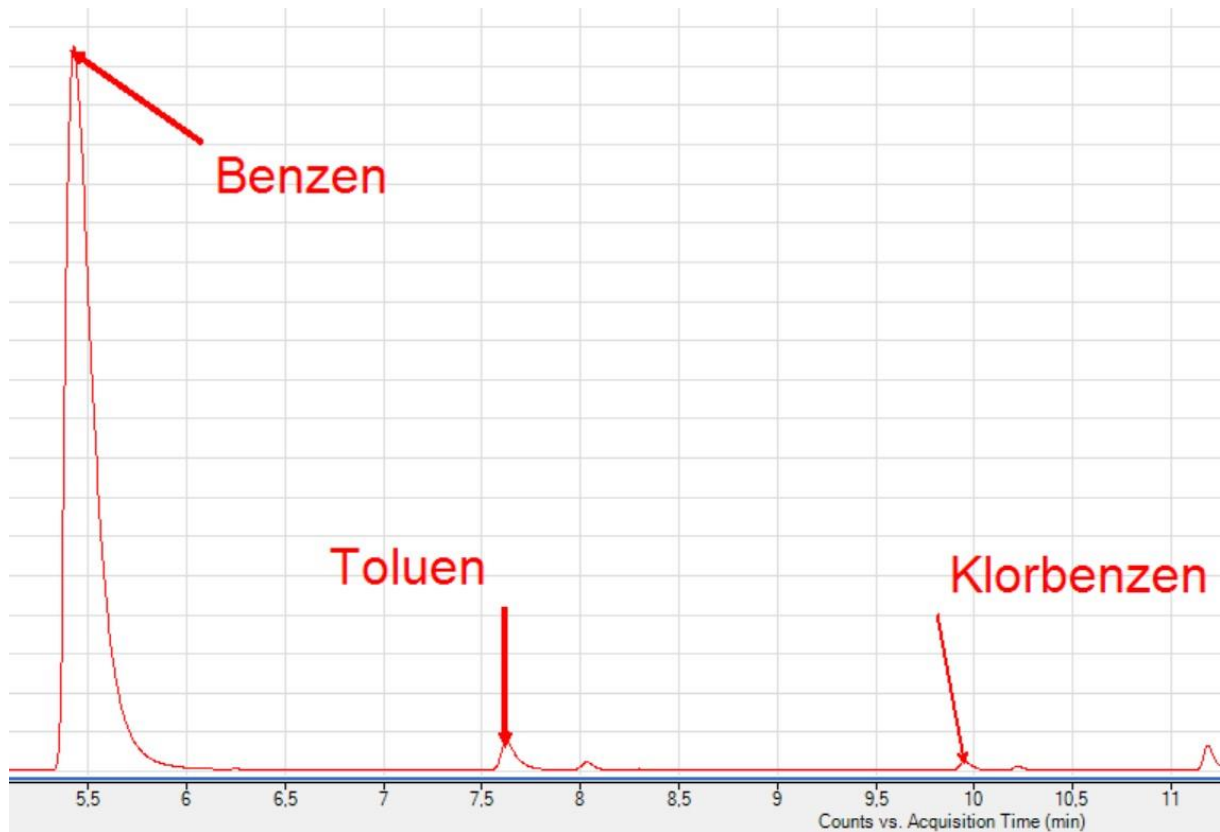


Figur 4.1.2: Utdrag av analyse av PP på Pyrola

Som figur 4.1.2 viser, er det en dominerende topp av C9 (2,4-dimetyl-1-hepten) er den dominerende toppen, Dette samsvarer med det som er vist i figur 2.5.3 og vist i Hermabessiere et al. (2018). Eksempelvis er også C10 (2,4,6-trimetyl-1-hepten) og C15 (2, 4, 6, 8-tetrametyl-1-undecen) vist. Det kan ses at antall C øker oppover i kromatograf og antall forgreninger øker. Dette tyder på at PP blir fragmentert til en rekke alkener og alkaner med forgreninger. PP har samme problem som PE ved at pyrolyse produktene er relativt normale organiske forbindelser. Disse kan være vanskelige å skille fra om dem er fra pyrolyse produkt eller matriks.

Neste polymer som er analysert PVC. Analyse av PVC følger samme metode som PP og PE.

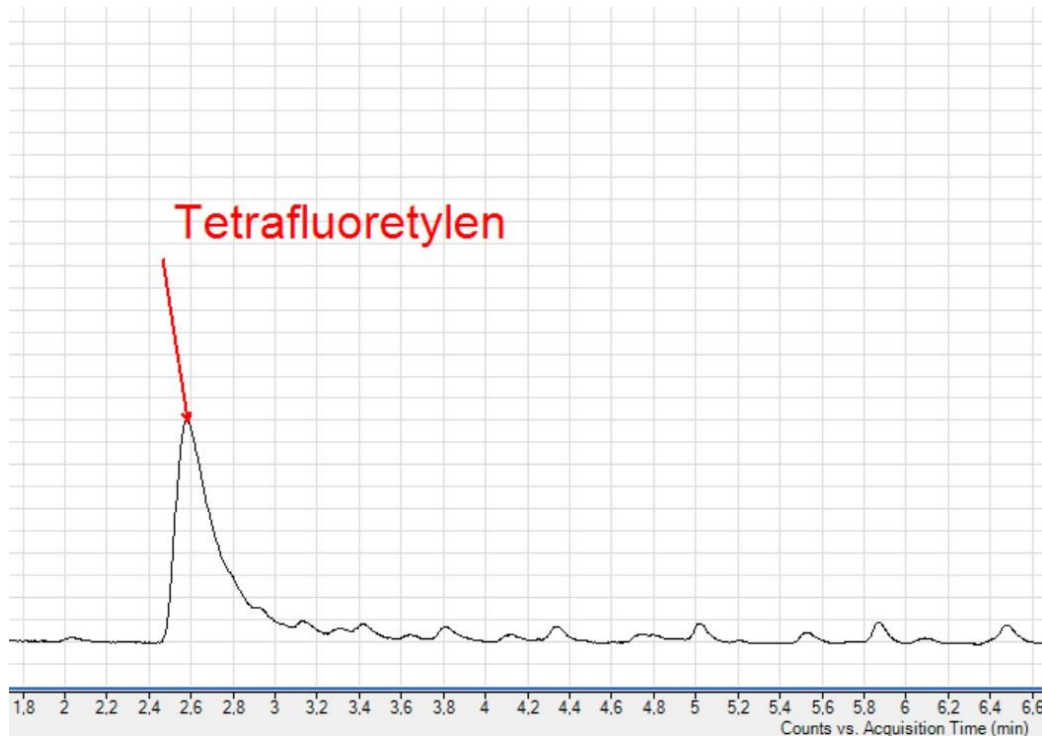
Figur 4.1.3 viser et utdrag av PVC på Pyrola.



Figur 4.1.3: utdrag av analyse for PVC på Pyrola

Som figur 4.1.3 viser vil pyrolyseproduktene til PVC ligne det som er vist i figur 2.5.5 og Hermabessiere et al. (2018). Kromatogrammet ga samme pyrolyse produkter som figur 2.5.5. Kromatogrammet viste at pyrolyse produktene til PVC vil gi en rekke benzenderivater, som styren, naftalen og antracen. Disse derivatene vil øke i antall C oppover i kromatogrammet. Det som er spesielt med pyrolyse kromatogram til PVC er at det ble detekter den uorganiske forbindelsen klorbenzen. Denne kan brukes til å detektere PVC i organiske matrikser, da klorbenzen ikke finnes i naturen (Pubchem, u.å-a). PVC kan dermed enkelt detekteres i en organisk matriks, som er blitt pyrolysert. Dette betyr at om en pyrolyserer en naturlig matriks som jord og klorbenzen detekteres. Kan en fastslå at det mest sannsynlig er PVC i matriksen. PVC ble valgt til å lage en MRM metode.

Siste polymer som ble analysert var PTFE. Analyse av PTFE følger samme metode som PP, PE og PVC. Figur 4.1.4 viser et utdrag av PTFE på Pyrola.



Figur 4.1.4: utdrag av analyse for PTFE på Pyrola

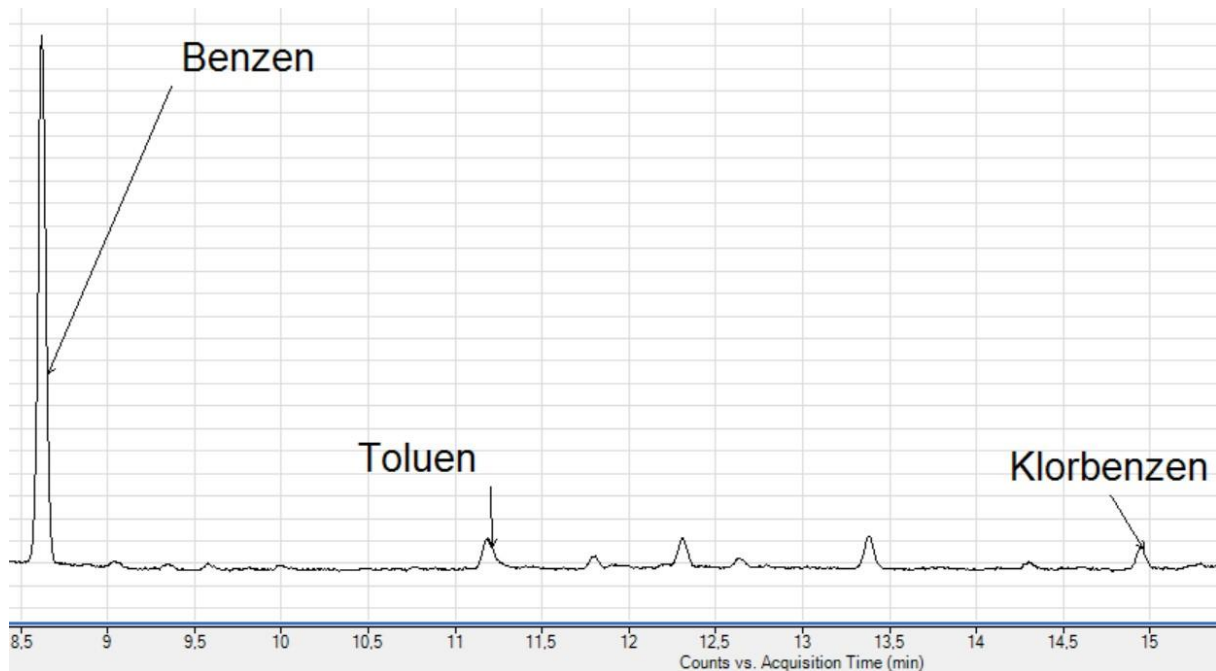
Som figur 4.1.4 viser vil pyrolyseproduktene til PTFE være tetrafluoretylen. Dette pyrolyse produktet er den eneste som vises i kromatogram og den samsvarer med det som er vist i figur 2.5.6. Siden Tetrafluoretylen ikke finnes naturlig (Pubchem, u.å-b), kan denne skilles fra naturlige matrikser. Dette betyr at om en pyrolyserer en naturlig matriks som jord og tetrafluoretylen detekteres. Kan en fastslå at det mest sannsynlig er PTFE i matriksen. PTFE ble valgt til å lage en MRM metode av.



#### 4.1.2 Identifikasjon av polymerer (Carbolite)

Polymerene ble også analysert på Carbolite med samme formål som ved analyse på Pyrola. Det ble utført analyser på PE, PP, PVC og PTFE. Dette ble utført ved å bruke metoden beskrevet i kap. 3.3. Det ble brukt 10mg prøve mengde for hver analyse.

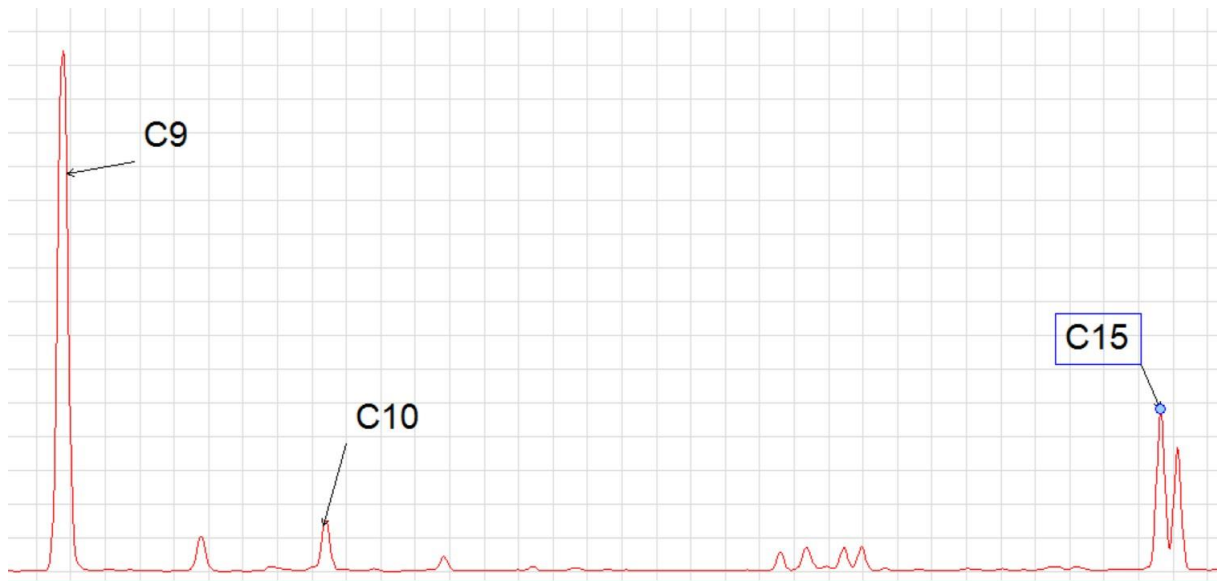
Første polymer som ble analysert var PVC. Figur 4.1.5 viser et utdrag av kromatogram for analysen.



Figur 4.1.5: utdrag av analyse for PVC på Carbolite.

Pyrolyseprodukt av PVC på Carbolite, ga samme fragmentering som ved Pyrola. Det som kan nevnes er at Klorbenzen har noe høyere abundance sammenlignet med Pyrola. Dette kommer mest av høyere prøvemengde som var 10mg. Samme konklusjon fra pyrolyse med Pyrola kan trekkes her ved pyrolyse med Carbolite.

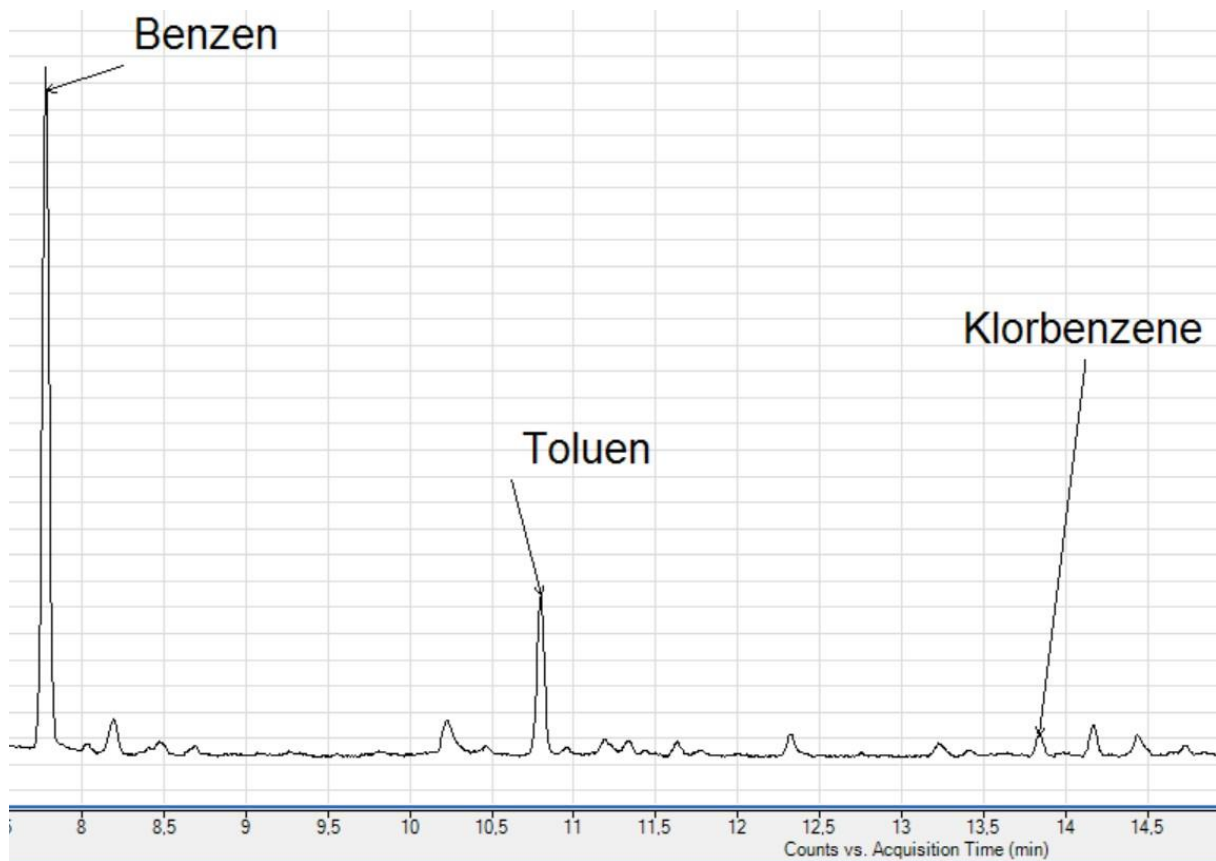
Neste polymer analysert er PP. Figur 4.1.6 viser et utdrag av kromatogram.



Figur 4.1.6: utdrag av analyse for PP på Carbolite

Pyrolyseprodukt av PP på Carbolite ga samme fragmentering som ved Pyrola utenom noe lavere abundance. En årsak for noe lavere abundance, kan være at det er flere steg ved analyse på Carbolite enn ved Pyrola. Her vil prøven bli adsorbent inn i tenaxrør og videre bli analysert på ATD-GC/MS. Det kan trekkes samme konklusjon her som ved analyse med Pyrola. Med at pyrolyseproduktene er normale organiske produkter som finnes naturlig. Det vil da bli vanskelig skille mellom pyrolyseprodukt og samme organiske produkt som finnes i matriks.

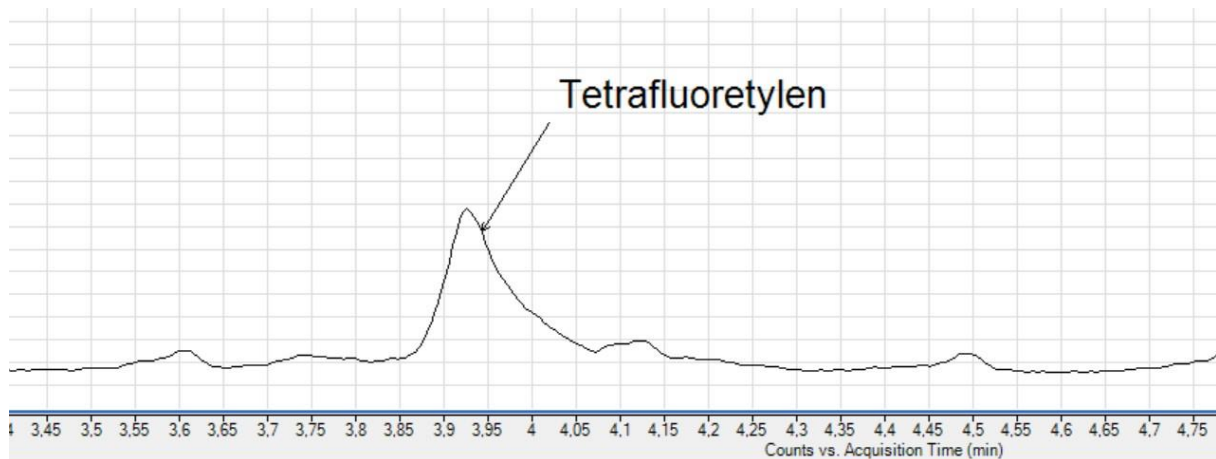
Nest polymer analysert er PE. Figur 4.1.7 viser et utdrag fra kromatogram



Figur 4.1.7: utdrag av analyse for PE på Carbolite.

Som figur 4.1.7 viser er det kontaminering av PVC i prøven, som vist av toppene benzen, toluen og klorbenzen. Topper for PE er nesten ikke detekterbar. Dette kan komme av den høye abundance for PVC som blir dominerende. Kan også komme av at PE vil bli mer fragmentert enn ved Pyrola analyse. En siste årsak kan være at et allerede brukt tenaxrør fra en PVC-analyse ble brukt, og at dette røret ikke hadde blitt kondisjonert ennå slik at rester av PVC hadde blitt fjernet. Grunnet tidspress ble ikke flere paralleller analysert.

Neste polymer er PTFE. Figur 4.1.8 viser et utdrag av kromatogram for PTFE



Figur 4.1.8: Utdrag av analyse for PTFE på Carbolite

Som figur 4.1.8 viser har PTFE samme fragmenteringsmønster som ved Pyrola. Her var også abundance noe lavere enn ved Pyrola. En årsak for noe lavere abundance, kan være at det er flere steg ved analyse på Carbolite enn ved Pyrola. Her vil prøven bli adsorbent inn i tenaxrør og videre bli analysert på ATD-GC/MS. Det kan trekkes samme konklusjon her som ved analyse med Pyrola. Samme konklusjon fra pyrolyse med Pyrola kan trekkes her ved pyrolyse med Carbolite. PTFE ble valgt videre til å lage MRM metode.

#### 4.1.3 Utvikling av MRM-metode

PVC og PTFE ble valgt til å lage MRM-metode. Først ble *Product ion scan* ioner valgt. For PVC var dette 112 m/z og for PTFE var dette 100 m/z. dette betyr at kvadrupol 1 ble valgt til å filtrere alt utenom 112 og 100 m/z. Dermed ble 112 og 100 m/z fragmentert i kollisjonscellen og kvadrupol 3 scannet etter fragmenter som ble dannet. *Product ion scan* ble utført ved 4 forskjellige kollisjonsenergier, det var 5, 15, 20 og 30. Produkt ioner med høyest abundance ble valgt for MRM-analyse.

Først ble PVC analysert på Pyrola og Carbolite. På Pyrola ble det observert at 77 m/z hadde høyest abundance for ioner som ble skannet. Dette ble gjort visuelt i Masshunter Qualitative Analysis programmet.

Ut ifra abundance og kollisjonsenergi ble det valgt hvilke kollisjonsenergier MRM-metoden skal bruke. Figur 1 i vedlegg 2 viser kollisjonsenergi vs. Abundance for klorbenzen på Pyrola. Her har 15CE høyest abundance og ble dermed valgt som kollisjonsenergi for MRM-metode. For Carbolite analyse ble samme trend observert, Figur 2 vedlegg 2 viser kollisjonsenergi vs. Abundance for klorbenzen på Carbolite.

Neste ble PTFE analysert på Pyrola og Carbolite, med samme metode som PVC. På Pyrola ble det observert at 69 m/z hadde høyest abundance for ioner som ble skannet. Dette ble gjort visuelt i Masshunter Qualitative Analysis programmet. Ut ifra abundance og kollisjonsenergi ble det valgt hvilke kollisjonsenergier MRM-metoden skal bruke. Fra figur 3 i vedlegg 2 som viser kollisjonsenergi vs. Abundance for tetrafluoretylen på Pyrola, kan det ses at 5CE har høyest abundance og ble dermed valgt for MRM-metode. For Carbolite analyse ble bare 5CE og 15CE observert med en topp av tetrafluoretylen. Dette kan skyldes at ved 20 og 30CE ble 100 m/z fragmentert for mye i forhold til 5 og 15CE. Når samme konklusjon med at 5CE ble valgt for MRM-metode.

Oppsummert, for MRM på Pyrola og Carbolite, ble det valgt at MRM overganger for PVC er 112→77 m/z med en kollisjonsenergi på 15. For PTFE ble MRM overgang til 100→69 m/z med kollisjonsenergi på 5CE.

## 4.2 Metodevalidering

Ved metodevalideringen ble det laget eksterne standarder av PVC løst i THF.

Konsentrasjonene var 5, 50, 100, 500, 1000, 2500 og 5000 ng/μL

Dette er fordi ekstern standard var lett tilgjengelig ved bruk av THF. Det var også problemer med å finne en god internstandard som var tilnærmet lik analytt. Til slutt var det også en frykt for å ødelegge adsorbent i tenaxrør ved bruk av internstandard. Derfor ble ekstern standard brukt i denne oppgaven. Grunnen for at det ikke ble laget standarder av PTFE er fordi det gikk tom for PTFE pulver og det var lang leveringstid for nytt pulver. Grunnet tidspress, problemer med instrumentering og covid-19 ble valget tatt for å bare lage standarder av PVC som ble analysert på Pyrola.

Grunnet problemer med instrumentering og covid-19 ble det ikke tid til å ta jord og vannprøver ute i feltet. Problemer med instrumentering vil bli forklart i detalj i kap. 4.4 Det ble laget 3 prøver med spiket jord prøver med varierende Wt% PVC og PTFE.

### 4.2.1: LOQ og LOD

LOD og LOQ ble bestemt fra standarder av PVC løst i THF. Her ble S/N plottet mot konsentrasjon. Figurer i vedlegg 3 viser S/N vs. Konsentrasjon kurver for PVC standard. Område fra 5- 100 ble valgt for å beregne LOD og LOQ. Dette er fordi mellom 100 og 500 ng ble det en bøy i linearitet, som kan ses i figur 6 i vedlegg 3. S/N ble funnet fra Masshunter Quantitative Analysis og dermed ble gjennomsnittet av 3 paralleller brukt. Rådata for dette kan finnes i tabell 2 i vedlegg 3.

**Tabell 4.2.1:** LOD, LOQ, regresjonsformel og  $R^2$

	$y=mx+b$	LOD (ng/μL)	LOQ (ng/μL)	$R^2$
<b>PVC (5-100)</b>	$y=0,6811x+2,334$	4,360	14,533	0,999

Tabell 4.2.1 viser en LOD på 4,360 ng/μL og LOQ på 14,53 ng/μL. Det var ønskelig å sammenligne LOD og LOQ på Pyrola og Carbolite, men på grunn av problemer med Carbolite ble ikke dette mulig.

#### 4.2.2: Repeterbarhet

En av presisjonsparameter som ble testet er repeterbarhet, som er et mål for presisjon i løpet av en kort periode. Her ble 3 paralleller analysert i løpet av 1 dag. Disse resultatene ble plottet inn i en X-diagram. Det var ønskelig å analysere flere paralleller, men grunnet tidspress og problemer med instrumentering kunne ikke dette bli utført. Det var og ønskelig å utføre analyse for reproduserbarhet, men lot seg ikke gjøre av samme grunner nevnt over

**Tabell 4.2.2:** Gjennomsnittss konsentrasjon, standardavvik og relativt standardavvik for PVC standarder.

<b>Snitt kons (ng/μL).</b>	<b>SD</b>	<b>RSD (%)</b>
<b>5,06</b>	1,47	29,06
<b>49,46</b>	0,40	0,82
<b>100,05</b>	1,55	1,55
<b>577,96</b>	26,84	4,64
<b>878,76</b>	40,53	4,61
<b>2523,19</b>	69,55	2,76
<b>4984,94</b>	16,67	0,33

Som tabell 4.2.2 viser har alle en god SD og RSD utenom 5 ng/μL som har en RSD på 29%. Akseptable RSD-verdier ligger som oftest rundt 10% for prøver med lave konsentrasjoner. Grunnen for høy RSD på 5 ng/μL, kan være at ved så små konsentrasjoner og med et flyktig løsemiddel som THF. Kan det være at noe av analytt blir fordampet sammen med THF. Ved så små konsentrasjoner kan dette være mer betydelig. Eller kan det være at standarden brukt er av dårligere kvalitet sammenlignet med resten av standarder. Resten av RSD resultater er innenfor 10% Snitt kons i tabell 4.2.2 ble beregnet fra beregnet konsentrasjon som Masshunter Quantitative Analysis programvaren. Resultatene vises at fra konsentrasjoner mellom 50-5000 har en spredning på under 5% i dag til dags analyser. For spredning over lengre tid bør reproduserbarhet analyseres. Dette kan gjøres ved å analysere en større mengder prøver over lengre tid og bruke samme metoder for å beregne repeterbarhet til å beregne reproduserbarhet.

I vedlegg 3 figur 7-13, er det laget X-diagram for alle standarder brukt. Der alle standarder hadde 3 paralleller. Det kan ses at i de fleste diagrammene, var det bare 1 som var utenfor SD linje, noe som er akseptabelt.

#### 4.2.3 Metode deteksjonsgrense.

Metode deteksjonsgrense (MDL) er et mål på minimum konsentrasjon av analytt som kan bli målt og rapportert med et 99% konfidens. For å beregne MDL ble formel 2.6.5 brukt. Tabell 4 i vedlegg 5 ble brukt til å beregne MDL. MDL ble beregnet til å være 3,362 ng/μL

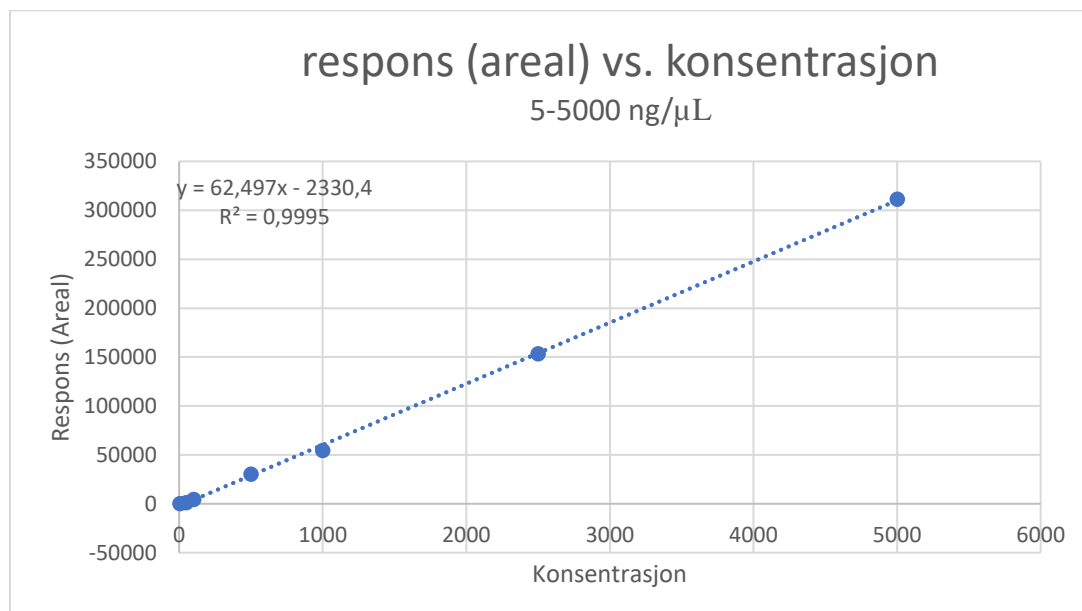
**Tabell 4.2.3: Beregning av MDL**

<b>Gjennomsnitt</b>	2,841
<b>SD</b>	0,185
<b>t (n-1)</b>	2,821
<b>MDL (ng/μL)</b>	<b>3,362</b>

Denne MDL verdien gir mening, da det er normalt at denne er lavere enn LOD. Hvis en prøve har lavere verdi enn MDL, så vil denne bli antatt til å ikke være detekterbar. Har prøve en verdi mellom MDL og LOD, så vil dette gi en høy sjanse for falske negativer.

#### 4.2.4: Linearitet.

Linearitet ble bestemt ved å analysere PVC standarder fra 5-5000 ng/μL. Figur 4.2.1 viser linearitet for 5-5000 ng/μL. Kurven viser god linearitet, men en R<sup>2</sup>-verdi på 0,9995



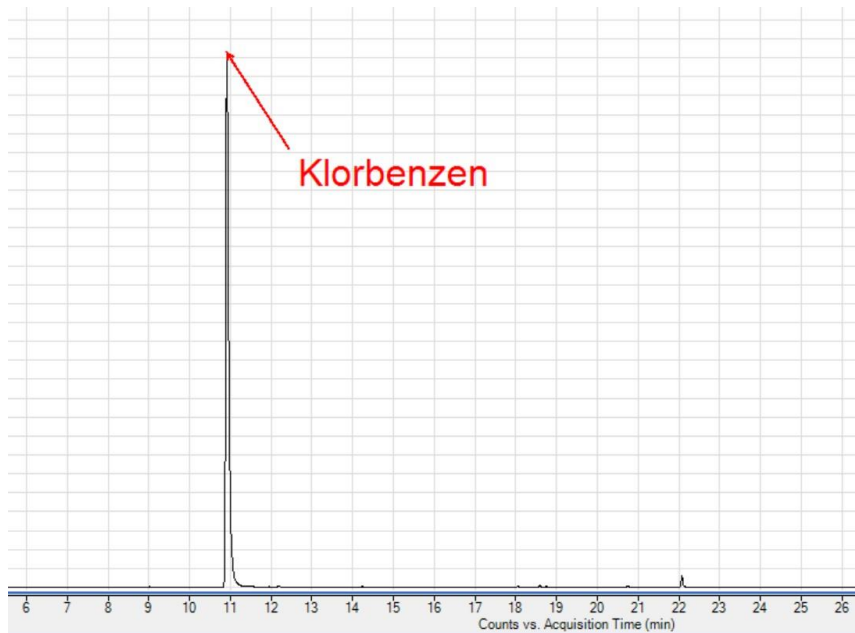
Figur 4.2.1: Respons plottet mot konsentrasjon



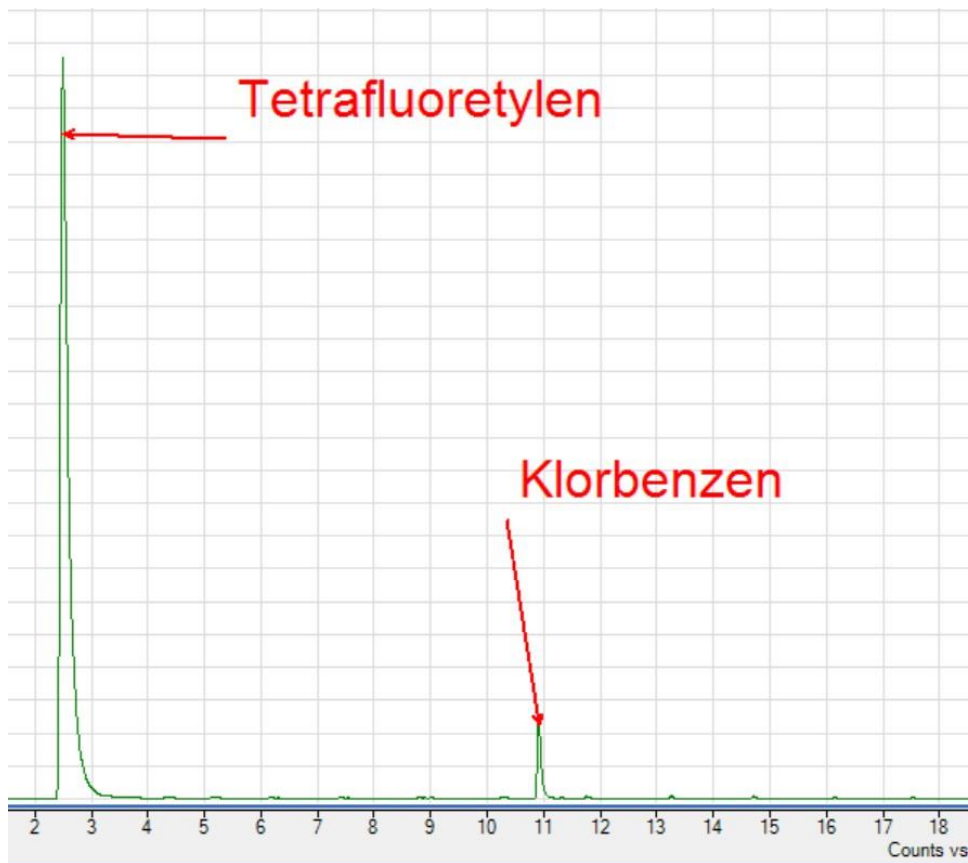
Det store konsentrasjons område kan påvirke riktigheten på lineariteten. Med dette menes at de øvre verdiene som for eksempel 1000, 2500, 5000 ng/μL, kan være en dominerende faktor. Det betyr at de lavere verdiene som 5, 50 og 100 ng/μL mindre «verdt». Dette kan ha vært løst ved å bruke et mer egnet konsentrasjonsområde, med verdier som er mer nære hverandre.

### 4.3 Analyse av spiket jordprøver

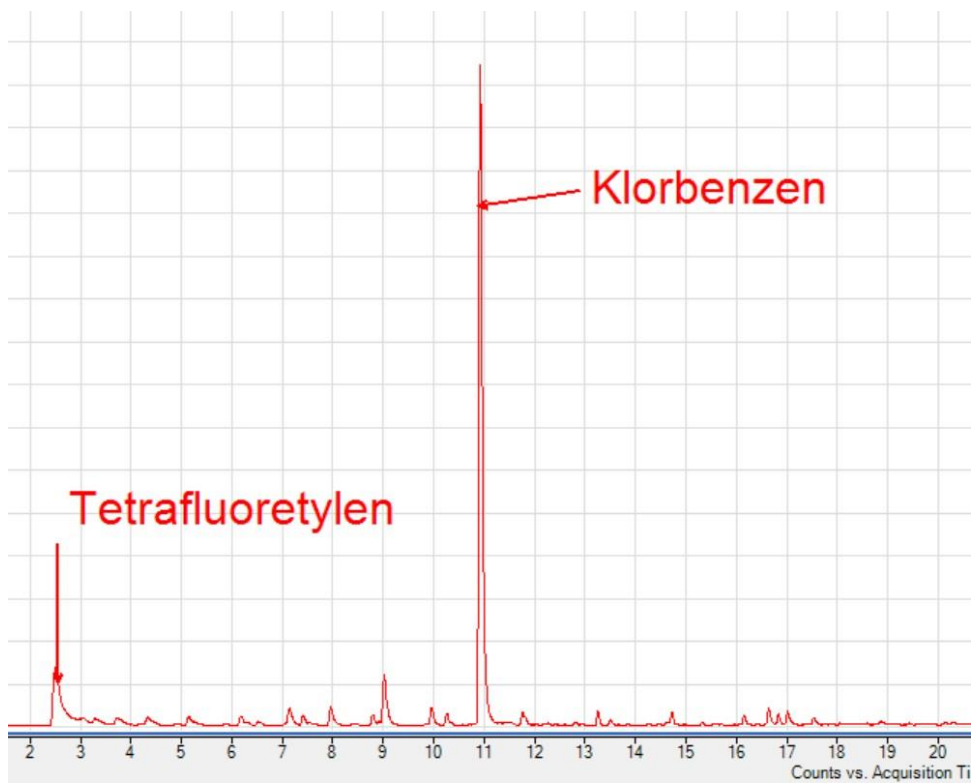
Det ble laget 3 jordprøver som ble spiket med PVC og PTFE. Disse 3 prøvene hadde konsentrasjon på 5Wt%, 1Wt% og 0,1Wt%. Det er bare 0,1 og 1Wt% som har både PVC og PTFE. Disse prøvene ble analysert på Pyrola ovn. De ble ikke analysert på Carbolite på grunn av instrumentelle utfordringer.



Figur 4.3.1: Kromatogram for 5Wt% jord spiket med PVC



Figur 4.3.2: Kromatogram for 1Wt% jord spiket med PVC og PTFE



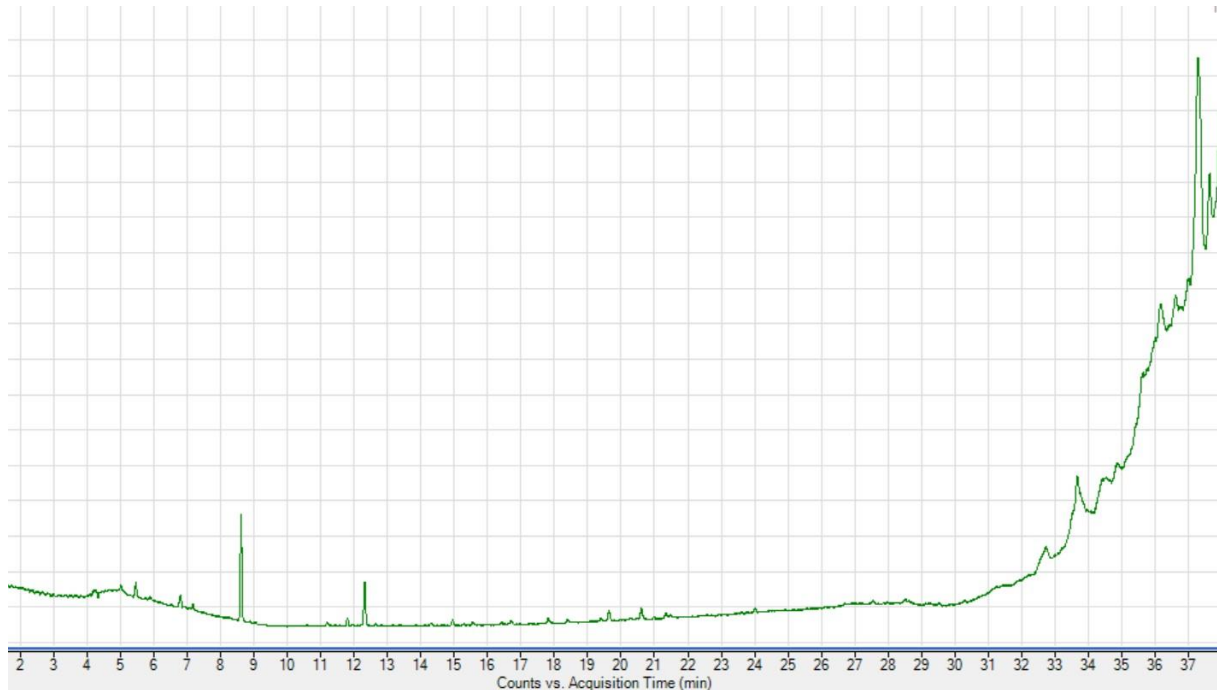
Figur 4.3.3: Kromatogram for 0,1Wt% jord spiket med PVC og PTFE

Figurene 4.3.1-4.3.3 viser at PVC og PTFE kan bli detektert i jord prøver, selv i små mengder. Jordprøvene ble analysert uten noe form for prøvepreparering. Prøvene kunne ikke kvantifiseres, da jordprøvene ble plassert på platina filament ved bruk av en spatel. Dette er fordi platina filamentet er veldig tynt og skjørt. Filamentet er festet til skrulokket på Pyrola. Laboratorie hadde ikke tilgjengelig en analysevekt, der skrulokket med platina filament kan veies med prøver. Det er ikke mulig å ta av platina filament, veie det med prøve og dermed feste den til skrulokket igjen. Dette er fordi filamentet er skjørt og kan misformet meget lett. Standarder brukt tidligere kunne ikke bli brukt her, da konsentrasjonsområde for jordprøvene er mye høyere enn for standarder.

#### 4.4 Instrumentelle utfordringer.

I løpet av oppgaven ble det oppstod det flere instrumentelle utfordringer. Mange av disse utfordringene gjorde det umulig å fullføre flere analyser. Spesielt utfordringer med Carbolite ovn, gjør at det stilles spørsmål om kvaliteten og validiteten for MRM-metode på Carbolite.

Meste av utfordringer med oppgaven stammer fra Carbolite. Første utfordring som ble oppdaget, var mye kolonneblødning som vist i figur 4.4.1. Dette ble løst ved å kutte av ca. 1m fra kolonneende som går inn i MS

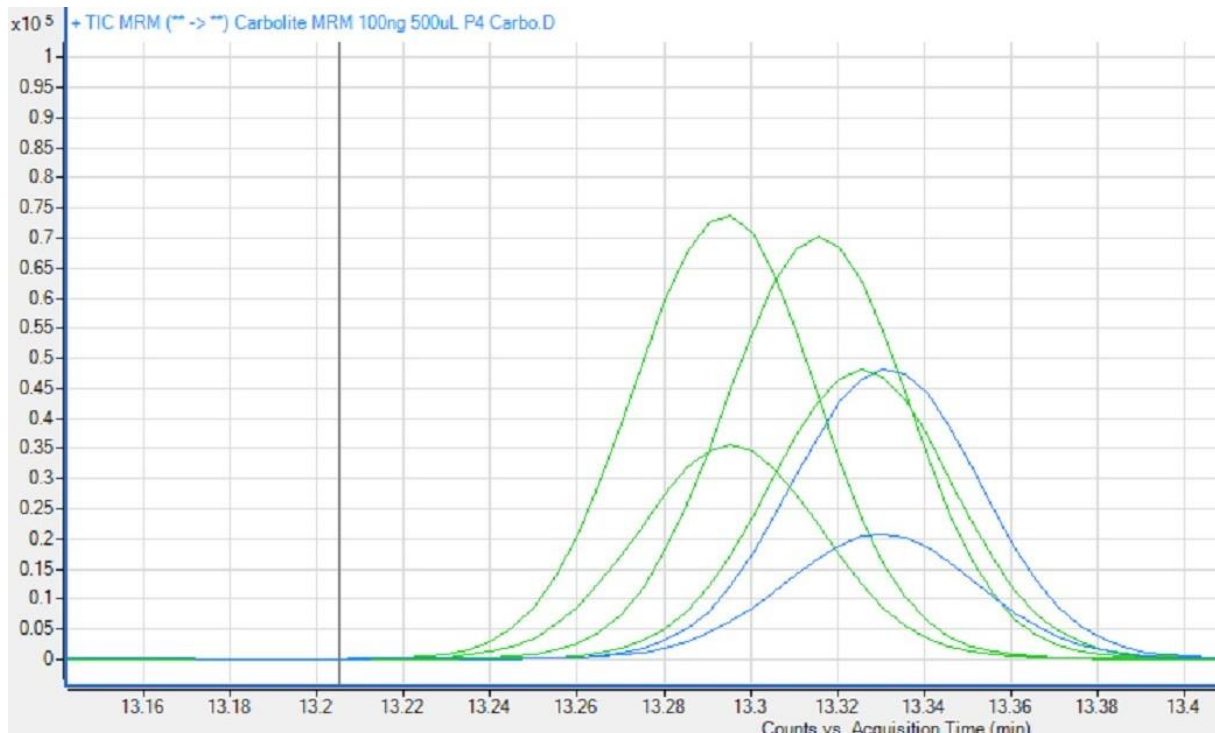


Figur 4.4.1: Eksempel på kolonneblødning.

Neste problem var forhøyet baseline, med dette menes at baseline for analyse var veldig høy og langt over det som var normalt. Dette ble løst ved å rengjøre ionekilde, kondisjonere kolonnen og bytte gassfilter på GC.

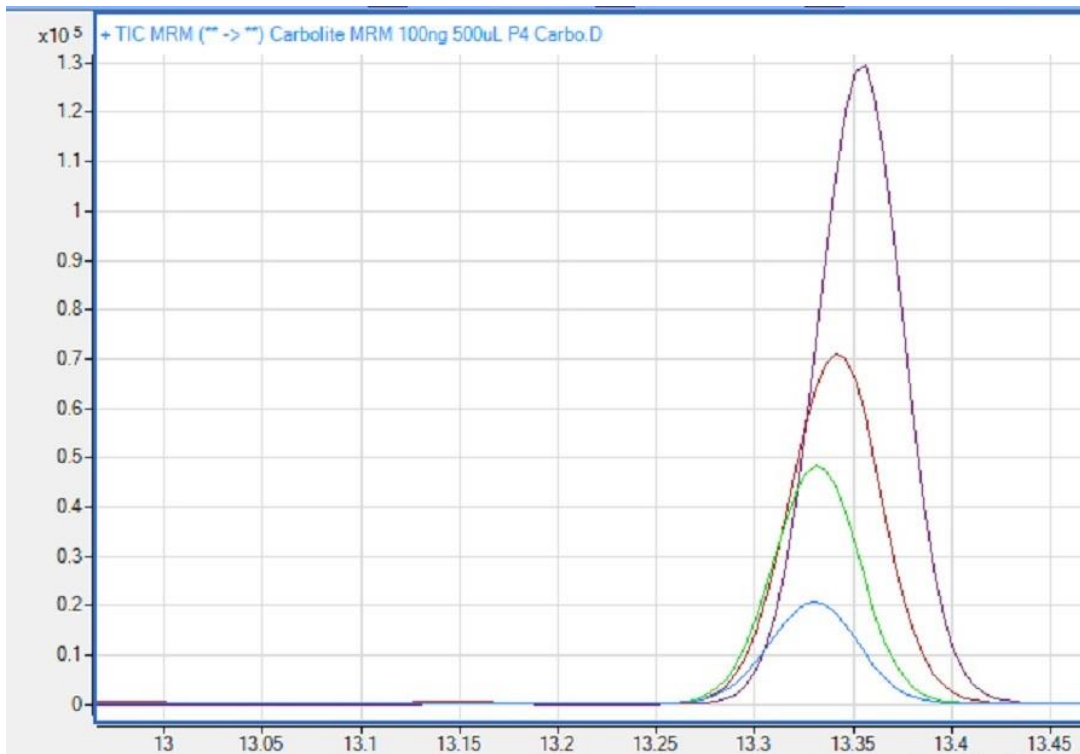
Neste problem var med ATD. I løpet av hele oppgaven har det vært utfordringer med lekkasje i ATD. Denne lekkasjen er mest sannsynlig rundt der tenaxrør blir desorbent. En mulig årsak er at støvpartikler/adsorbent fra tenax havner mellom rør og O-ringer. Denne utfordringen blir midlertidig løst ved å bytte O-ringer.

Neste problem var med Carbolite ovn. I løpet av analyser med MRM ble det oppdaget at topper i kromatogrammet var meget like uavhengig av konsentrasjon som ble analysert.



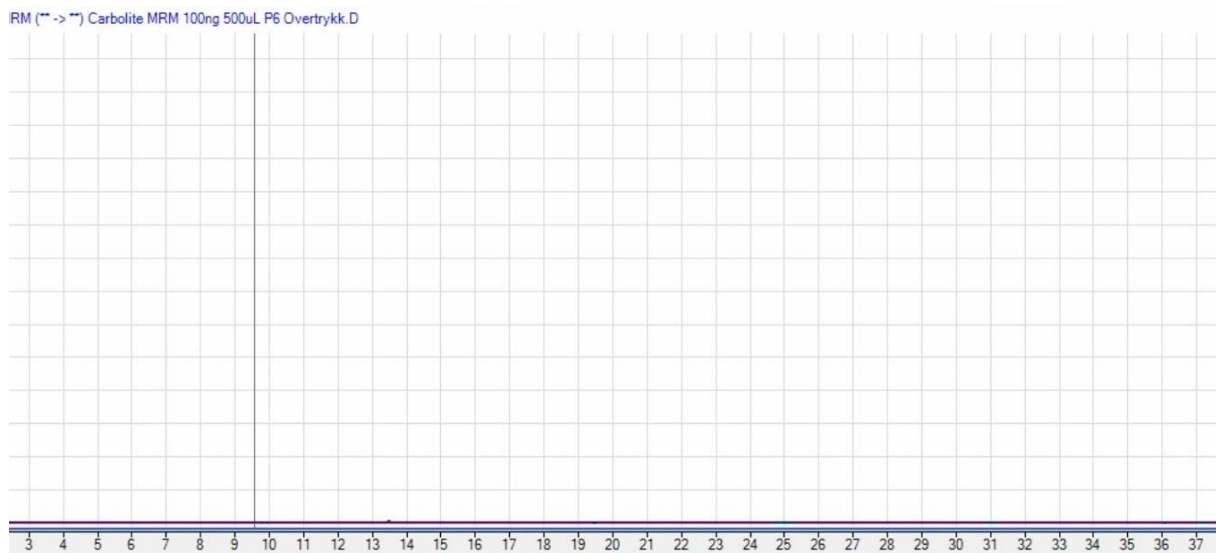
Figur 4.4.2: MRM analyse av 100ng (grønn) og 10ng (blå)

Eksempel på dette kan ses i figur 4.4.2. Her kan det ses at det er store forskjeller mellom 100 ng (grønn), men at 10ng (blå) er nokså like. Det ble utført flere tester for å feilsøke dette problemet. Det ble prøvd å bytte O-ringer på endeklammer, men dette løste ikke problemet. Neste som ble prøvd var å bruke tenaxrør med carbotrap adsorbent. Dette løste heller ikke problemet, som kan ses i figur 4.4.3. Det bør nevnes at forskjeller i retensjonstid skyldes bæregass strømmen. Hver gang O-ringer blir byttet, måtte trykket, innlett, desorb og outlet strøm bli justert. Det er trykket som styrer bæregass hastighet og innlett, desorb og outlet styrer splitt strøm. Ventilene som styrer disse er veldig følsomme, slik at forskjeller i retensjonstid oppstår.



Figur 4.4.2: MRM analyse av 100ng carbotrap (blå og grønn) og 100ng Tenax (lilla og rød)

Det neste som ble prøvd var å bruke overtrykk inne i kvartsrøret til prøvetaking istedenfor pumpe. Ved oppvarming inne i kvartsrøret, blir det dannet et overtrykk på grunn av ekspansjon av luft. Istedenfor å bruke pumpe til prøvetaking, ble tenaxrør åpnet, mens den var koblet til Carbolite. Her vil da overtrykket «dytte» pyrolyse produkt inn i tenaxrør.



Figur.4.4.3: MRM analyse av 100ng med overtrykk

Som figur 4.4.3 viser fungerte ikke denne metoden, selv med en rekke paralleller. Etter at forsøk med overtrykk ikke fungerte, ble valget om å avslutte Carbolite delen av oppgaven og fokusere på Pyrola. Feilsøking på Carbolite tok opp mye tid av oppgaven. Dette er fordi det kunne bare bli kjørt 3-4 prøver om dagen. Dette er fordi nedkjøling av Carbolite tar flere timer. Det ble laget et kjølesystem for Carbolite, slik at den var nedkjølt raskere.

På grunn av problemene med Carbolite, spesielt det med at kromatografiske topper var nokså like uansett konsentrasjon som ble analysert. Dette setter et spørsmåltegn for *Product ion scan* analyser på Carbolite. Hadde det vært mer tid i oppgaven, så hadde det vært lurt å gå tilbake og kjøre disse analysene på nytt med flere paralleller. Siden disse problemene ikke oppstod på Pyrola, så kan det antas at disse er brukbare.



## 5. Konklusjon

Hovedmålet med masteroppgaven var å utvikle en analysemetode for å kvantitativt og kvalitativt bestemme spesifikke polymerer ved bruk av pyr-GC/MS og pyr-ATD-GC/MS. Først ble en metode for å identifisere 4 forskjellige polymerer, som var PE, PP, PVC og PTFE laget. Analysemetoden klarte å identifisere de forskjellige polymerene på Pyrola og Carbolite. Kromatogram for disse polymerene ble sammenlignet med litteratur for bekreftelse av pyrolyse produkt. PVC og PTFE ble valgt for å lage en MRM metode, da disse hadde pyrolyse produkter som ikke finnes i naturen og kan bli identifisert i en naturlig matriks.

Neste var å utvikle MRM-metode for analysen. *Product ion scan* ioner for PVC og PTFE var 112 og 100m/z. Disse ble analysert med *Product ion scan* metode både på Pyrola og Carbolite, med kollisjonsenergier på 5, 15, 20 og 30. MRM-overganger som ga best resultat for PVC var 112→77 m/z med kollisjonsenergi på 15 og for PTFE ga 100→69 m/z med kollisjonsenergi på 5 best resultat.

For metodevalidering ble ekstern standard av PVC løst i THF brukt. Konsentrasjonene på disse var 5, 50, 100, 500, 1000, 2500 og 5000 ng/μL. Validering ga LOD på 4,36 ng/μL og LOQ på 14,53 ng/μL. Analyse av repeterbarhet ga en spredning på under 5% for dags til dags analyser utenom for 5 ng/μL som hadde en spredning på 29%. Validering av metode deteksjonsgrense ga en verdi på 3,36 ng/μL. Validering av linearitet ga en god R<sup>2</sup>-verdi på 0,9995

Til slutt ble 3 jordprøver spiket med PVC og PTFE analysert med MRM-metode. Jordprøvene hadde en konsentrasjon på 5Wt%, 1Wt% og 0,1Wt% PVC og PTFE. Metoden klarte å analysere jordprøvene og detektere PVC og PTFE i jord, selv i små mengder. Det var minimalt til ingen prøveopparbeiding ved analyse på Pyrola.

Oppsummert kan det konkluderes med at analysemetoden kan identifisere polymerene PE, PP, PVC og PVC. Validering av metoden ga akseptable resultater av parametere som kunne beregnes. Til slutt kan metoden identifisere PVC og PTFE i matrikser av jord, med minimal til ingen prøveopparbeiding.

### 5.1. Videre arbeid

Målet for videre arbeid bør være å utvide antall polymerer som kan identifiseres. Det vil være nyttig å undersøke potensielle tilsetningsstoffer i identifiserte polymerer, for å finne pyrolyse produkter som skiller seg ut. Spesielt med tanke på PE og PP. Videre vil det være nyttig å utvide valideringen til flere parameter og flere standarder. Spesielt flere standarder ved lave konsentrasjoner.

Det vil være nyttig å validere metoden med intern standard kvantifisering. Dette vil gi flere parametere å validere og undersøke. Intern standard vil gi bedre nøyaktighet og generelt bedre verdier. Til slutt vil det være nyttig å få metoden validert på Carbolite ovnen, da det vil være nyttig å kunne sammenligne kvantifisering mellom Pyrola og Carbolite. Vil også være nyttig å undersøke om Carbolite vil gi bedre følsomhet sammenlignet med Pyrola, på grunn av Carbolite mulighet for større prøvemengde

## Referanser

Alimba, C. G., & Faggio, C. (2019). Microplastics in the marine environment: Current trends in environmental pollution and mechanisms of toxicological profile. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 68, 61-74. doi:<https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.03.001>

American-Chemistry-Council. (u.å). Plastics: How Plastics are made. Hentet fra <https://plastics.americanchemistry.com/How-Plastics-Are-Made/>

AmericanChemistryCouncil. (u.å). Plastics: The Basics: Polymer Definition and Properties. Hentet fra <https://plastics.americanchemistry.com/The-Basics/>

Baheti, P. (u.å). How Is Plastic Made? A Simple Step-By-Step Explanation. Hentet fra <https://www.bpf.co.uk/plastipedia/how-is-plastic-made.aspx>

Chae, Y., & An, Y.-J. (2017). Effects of micro- and nanoplastics on aquatic ecosystems: Current research trends and perspectives. *Marine Pollution Bulletin*, 124(2), 624-632. doi:<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.070>

Ciardelli, F., Bertoldo, M., Bronco, S., & Passaglia, E. (2019). *Polymers from Fossil and Renewable Resources*. Switzerland: Springer Nature.

Claessens, M., Meester, S. D., Landuyt, L. V., Clerck, K. D., & Janssen, C. R. (2011). Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. *Marine Pollution Bulletin*, 62(10), 2199-2204. doi:<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.06.030>

Cole, M., Lindeque, P., Fileman, E., Halsband, C., Goodhead, R., Moger, J., & Galloway, T. S. (2013). Microplastic Ingestion by Zooplankton. *Environmental Science & Technology*, 47(12), 6646-6655. doi:10.1021/es400663f

Corell, L., Armenta, S., & Esteve-Turrillas, F. A. (2020). Direct and fast determination of polychlorinated biphenyls in contaminated soils and sediments by thermal desorption-gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1610, 460573. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460573>

Dawson, P. H. (1967). *Quadrupole Mass Spectrometry and its application*. New york: Elsevier.

Dierkes, G., Lauschke, T., Becher, S., Schumacher, H., Földi, C., & Ternes, T. (2019). Quantification of microplastics in environmental samples via pressurized liquid extraction and pyrolysis-gas chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 411(26), 6959-6968. doi:10.1007/s00216-019-02066-9

Ebere, E., Shafea, L., Wirnkor, V., Evelyn, V., Wang, Q., Chowdhury, T., & Paredes, M. (2020). Microplastics Exposure Routes and Toxicity Studies to Ecosystems: An Overview. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 35, e2020004. doi:10.5620/eaht.e2020004

Enyoh, C. E., Shafea, L., Verla, A. W., Verla, E. N., Qingyue, W., Chowdhury, T., & Paredes, M. (2020). Microplastics Exposure Routes and Toxicity Studies to Ecosystems: An Overview. *Environ Anal Health Toxicol*, 35(1), e2020004-2020000. doi:10.5620/eaht.e2020004

EPA. (2016). *Definition and Procedure for the Determination of the Method Detection Limit*. Hentet fra [https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-12/documents/mdl-procedure\\_rev2\\_12-13-2016.pdf](https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-12/documents/mdl-procedure_rev2_12-13-2016.pdf)

Evers, R. (2014). *Development of a Liquid Chromatography Ion Trap Mass Spectrometer Method for Clinical Drugs of Abuse Testing with Automated On-Line Extraction Using Turbulent Flow Chromatography*. University of Portsmouth,

Fischer, M., & Scholz-Böttcher, B. M. (2017). Simultaneous Trace Identification and Quantification of Common Types of Microplastics in Environmental Samples by Pyrolysis-Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Environmental Science & Technology*, 51(9), 5052-5060. doi:10.1021/acs.est.6b06362

Funck, M., Yildirim, A., Nickel, C., Schram, J., Schmidt, T. C., & Tuerk, J. (2020). Identification of microplastics in wastewater after cascade filtration using Pyrolysis-GC–MS. *MethodsX*, 7, 100778. doi:<https://doi.org/10.1016/j.mex.2019.100778>

Green, M. (1996). *A Practical Guide to Analytical Method Validation*. Hentet fra <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ac961912f>

Greibrokk, T., Lundanes, E., & Rasmussen, K. E. (1998). Gasskromatografi. In K. E. Rasmussen (Ed.), *Kromatografi: Separasjon og Deteksjon* (3 ed., pp. 109-153). Oslo: Universitetsforlaget.

Guzzetti, E., Sureda, A., Tejada, S., & Faggio, C. (2018). Microplastic in marine organism: Environmental and toxicological effects. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 64, 164-171. doi:<https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.10.009>

Hanvey, J. S., Lewis, P. J., Lavers, J. L., Crosbie, N. D., Pozo, K., & Clarke, B. O. (2017). A review of analytical techniques for quantifying microplastics in sediments. *Analytical Methods*, 9(9), 1369-1383. doi:10.1039/C6AY02707E

Helaly, S. (2011). *Isolation and Physicochemical Characterization of Novel Secondary Metabolites from Streptomyces strains Acta 3662, BK 190 and Acta 3062*.

Hermabessiere, L., Himber, C., Boricaud, B., Kazour, M., Amara, R., Cassone, A.-L., . . . Duflos, G. (2018). Optimization, performance, and application of a pyrolysis-GC/MS method for the identification of microplastics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(25), 6663-6676. doi:10.1007/s00216-018-1279-0

- Hoffman, E. d., & Stroobant, V. (2007). *Mass Spectrometry: Principles and Applications* (3 ed.). London: John Wiley & Sons Ltd.
- Hovind, H., Magnusson, B., Krysell, M., & Måkinen, I. (1984). *Intern Kvalitetskontroll: Håndbok for Kjemiske Laboratorier*. Hentet fra <https://docplayer.me/41004037-Intern-kvalitets-kon-troll-handbok-for-kjemiske-laboratorier.html>
- Kjønixsen, A.-L. (2018). [Polymerer og deres monomerer].
- Kool, J., & Niessen, W. M. A. (2015). *Analyzing Biomolecular Interactions by Mass Spectrometry*. Weinheim: John Wiley and Sons.
- Käppler, A., Fischer, M., Scholz-Böttcher, B. M., Oberbeckmann, S., Labrenz, M., Fischer, D., . . . Voit, B. (2018). Comparison of  $\mu$ -ATR-FTIR spectroscopy and py-GCMS as identification tools for microplastic particles and fibers isolated from river sediments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(21), 5313-5327. doi:10.1007/s00216-018-1185-5
- Lattimer, R. P., Pausch, J. B., & Meuzelaar, H. L. C. (1983). Pyrolysis Studies of Chlorinated Poly(vinyl chloride). *Macromolecules*, 16(12), 1896-1900. doi:<https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ma00246a017>
- Law, P. K., & Britton, T. J. (u.å). Production sequence in the processing of plastics. Hentet fra <http://www.ilocis.org/documents/chpt77e.htm>
- Lea, P. (2009). *Validering av kjemiske analysemetoder*. Hentet fra <https://docplayer.me/27534391-Validering-av-kjemiske-analysemetoder.html>
- Li, C., & Strachan, A. (2015). Molecular scale simulations on thermoset polymers: A review. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 53(2), 103-122. doi:10.1002/polb.23489
- Lord, H. L., & Pfannkoch, E. A. (2012). 2.27 - Sample Preparation Automation for GC Injection. In J. Pawliszyn (Ed.), *Comprehensive Sampling and Sample Preparation* (pp. 597-612). Oxford: Academic Press.
- Massold, E., Bähr, C., Salthammer, T., & Brown, S. K. (2005). Determination of VOC and TVOC in Air Using Thermal Desorption GC-MS – Practical Implications for Test Chamber Experiments. *Chromatographia*, 62(1), 75-85. doi:10.1365/s10337-005-0582-z
- Miller, J. M. (2009). *Chromatography: Concepts and Contrasts* (2 ed.). New jersey: John Wiley and Sons.
- Perkin-Elmer. (1998). *Automated Thermal Desorber, User's Manual*.: Perkin-Elmer Corporation,.

Peters, C. A., Hendrickson, E., Minor, E. C., Schreiner, K., Halbur, J., & Bratton, S. P. (2018). Pyr-GC/MS analysis of microplastics extracted from the stomach content of benthivore fish from the Texas Gulf Coast. *Marine Pollution Bulletin*, 137, 91-95. doi:<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.09.049>

PlasticsEurope. (2019). *Plastics: the facts 2019*. Hentet fra <https://www.plasticseurope.org/en/resources/market-data>

PlasticsEurope. (u.å-a). How Plastics are made. Hentet fra <https://www.plasticseurope.org/en/about-plastics/what-are-plastics/how-plastics-are-made>

PlasticsEurope. (u.å-b). What are plastics. Hentet fra <https://www.plasticseurope.org/en/about-plastics/what-are-plastics>

Prata, J. C. (2018). Airborne microplastics: Consequences to human health? *Environmental Pollution*, 234, 115-126. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.043>

Prata, J. C., da Costa, J. P., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. (2019). Methods for sampling and detection of microplastics in water and sediment: A critical review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 110, 150-159. doi:<https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.029>

Pubchem. (u.å-a). Chlorobenzen. Hentet fra <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chlorobenzene#:~:text=Chlorobenzene%20is%20a%20colorless%2C%20flammable,from%20its%20peak%20in%201960.>

Pubchem. (u.å-b). Tetrafluoroethylene. Hentet fra <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tetrafluoroethylene#section=Natural-Pollution-Sources>

Pyrolab. (2005). *Manual Pyrola 2000*. Lund: Pyrolab.

Rillig, M. C., & Lehmann, A. (2020). Microplastic in terrestrial ecosystems. *Science*, 368(6498), 1430. doi:10.1126/science.abb5979

Rist, S., Carney Almroth, B., Hartmann, N. B., & Karlsson, T. M. (2018). A critical perspective on early communications concerning human health aspects of microplastics. *Science of The Total Environment*, 626, 720-726. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.092>

Romeorim. (u.å). Thermosets vs. Thermoplastics. Hentet fra <https://romeorim.com/thermoset-vs-thermoplastics/>

Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. (2008). Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, 26(3), 246-265. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005>

Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2018). *Principles of Instrumental Analysis* (6 ed.). Boston: Cengage Learning.

Sullivan, G. L., Gallardo, J. D., Jones, E. W., Holliman, P. J., Watson, T. M., & Sarp, S. (2020). Detection of trace sub-micron (nano) plastics in water samples using pyrolysis-gas chromatography time of flight mass spectrometry (PY-GCToF). *Chemosphere*, 249, 126179. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126179>

Taverniers, I., Bockstaele, E., & Loose, M. (2010). Analytical Method Validation and Quality Assurance. In.

Tsao, C.-W., & DeVoe, D. L. (2009). Bonding of thermoplastic polymer microfluidics. *Microfluidics and Nanofluidics*, 6(1), 1-16. doi:10.1007/s10404-008-0361-x

Tsuge, S., Ohtani, H., & Watanabe, C. (2011). *Pyrolysis-GC/MS data book of synthetic polymers*. Oxford, UK: Elsevier.

Vaganov-Vil'kins, A. A., Rudnev, V. S., Pavlov, A. D., Sukhoverkhov, S. V., Kostin, V. I., & Lukiyanchuk, I. V. (2019). IR and Py-GC/MS investigation of composite PTFE/PEO coatings on aluminum. *Materials Chemistry and Physics*, 221, 436-446. doi:<https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2018.09.029>

Van Cauwenberghe, L., & Janssen, C. R. (2014). Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environmental Pollution*, 193, 65-70. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.06.010>

Van Cauwenberghe, L., Vanreusel, A., Mees, J., & Janssen, C. R. (2013). Microplastic pollution in deep-sea sediments. *Environmental Pollution*, 182, 495-499. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.08.013>

Verla, A. W., Enyoh, C. E., Verla, E. N., & Nwarnorh, K. O. (2019). Microplastic-toxic chemical interaction: a review study on quantified levels, mechanism and implication. *SN Applied Sciences*, 1(11), 1400. doi:10.1007/s42452-019-1352-0

Woolfenden, E. (2021). Chapter 10 - Thermal desorption gas chromatography. In C. F. Poole (Ed.), *Gas Chromatography (Second Edition)* (pp. 267-323). Amsterdam: Elsevier.

Wu, Y., & Chang, V. W. C. (2012). Development of analysis of volatile polyfluorinated alkyl substances in indoor air using thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1238, 114-120. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.03.053>

Yeganeh, H., Atai, M., Hojati Talemi, P., & Jamshidi, S. (2006). Synthesis, Characterization and Properties of Novel Poly(urethane-imide) Networks as Electrical Insulators with Improved Thermal Stability. *Macromolecular Materials and Engineering*, 291(7), 883-894. doi:10.1002/mame.200600120

Yong, C. Q., Valiyaveetill, S., & Tang, B. L. (2020). Toxicity of Microplastics and Nanoplastics in Mammalian Systems. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(5). doi:10.3390/ijerph17051509

Zhou, H., Wu, C., Onwudili, J. A., Meng, A., Zhang, Y., & Williams, P. T. (2016). Influence of process conditions on the formation of 2–4 ring polycyclic aromatic hydrocarbons from the pyrolysis of polyvinyl chloride. *Fuel Processing Technology*, 144, 299-304.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2016.01.013>

Östman, M., & Näsström, E. (2012). *Construction of a Labview controlled pyrolysis unit for coupling to a Pyrola 85 pyrolysis chamber.*

Aarsbog, L. (2019). *Solvent-free quantification for selected volatile organics in Arctic air.*  
Retrieved from <https://nmbu.brage.unit.no/nmbu-xmlui/handle/11250/2642505>



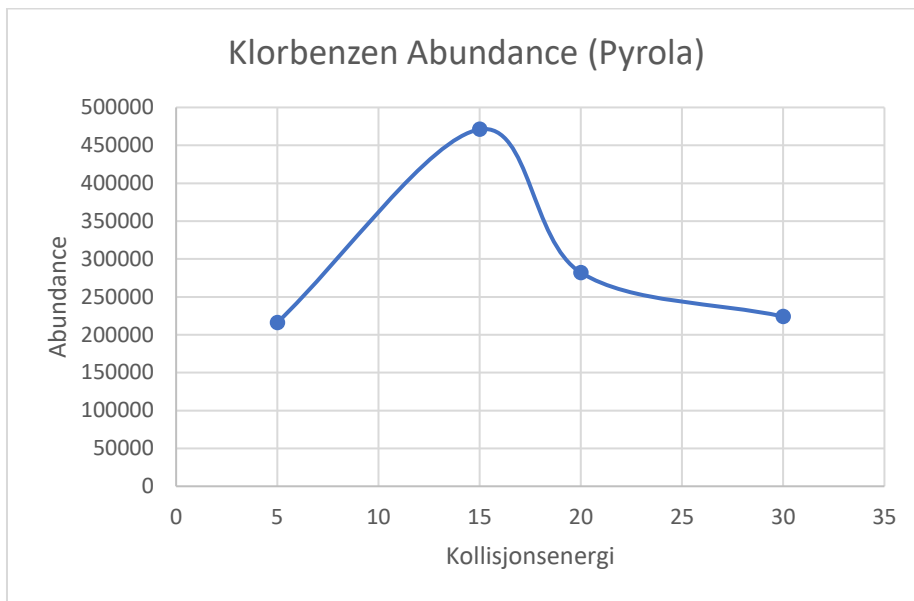
Vedlegg.

Vedlegg 1: Single-Tailed 99th Percentile t Statistic

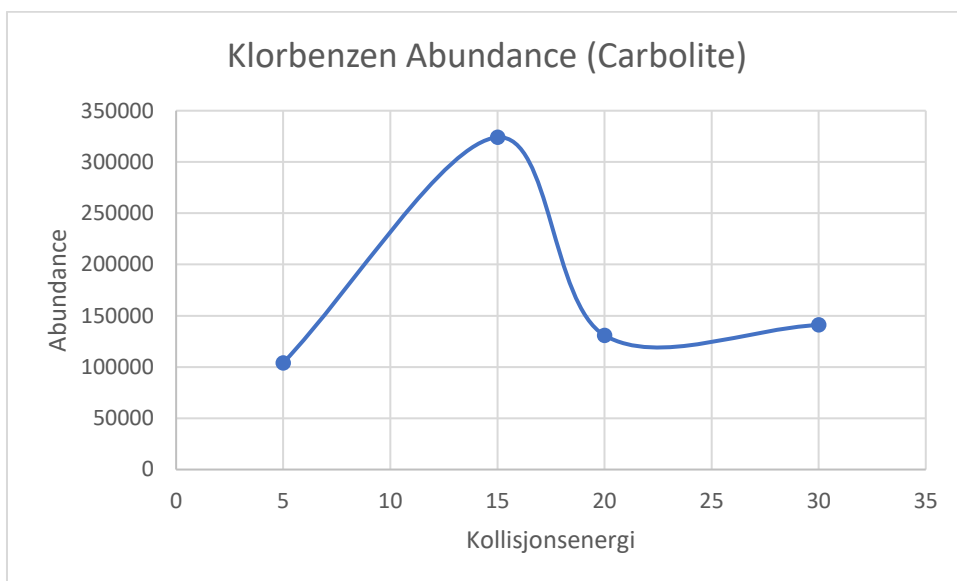
Tabell 1: *Single-Tailed 99th Percentile t Statistic*

<b>Number of replicates</b>	<b>Degrees of freedom (n-1)</b>	<b><math>t_{(n-1, 0.99)}</math></b>
7	6	3.143
8	7	2.998
9	8	2.896
10	9	2.821
11	10	2.764
16	15	2.602
21	20	2.528
26	25	2.485
31	30	2.457
32	31	2.453
48	47	2.408
50	49	2.405
61	60	2.390
64	63	2.387
80	79	2.374
96	95	2.366
100	99	2.365

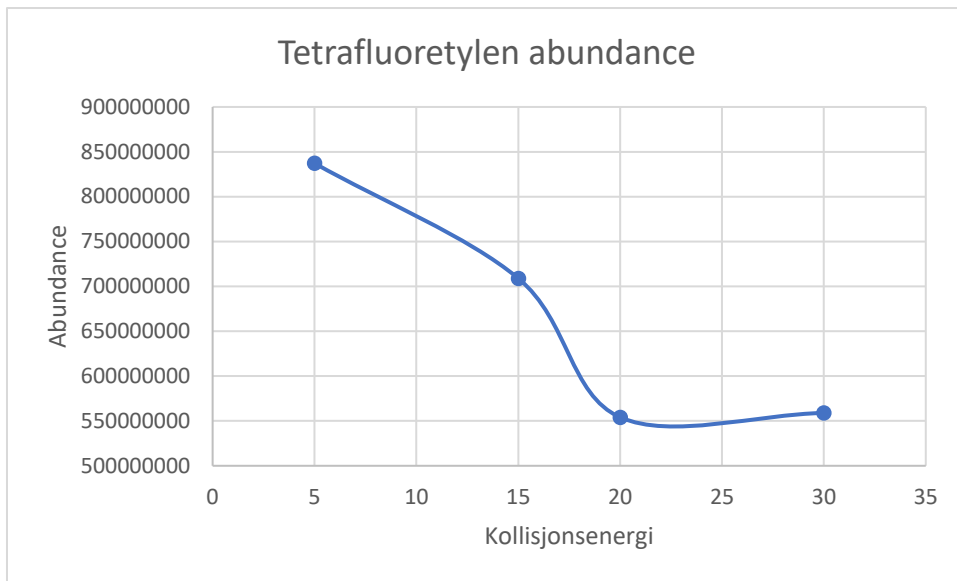
Vedlegg 2: Kollisjonsenergi vs. Abundance for Pyrola og Carbolite *Product ion scan*



Figur 1: Kollisjonsenergi vs. Abundance for Klorbenzen på Pyrola

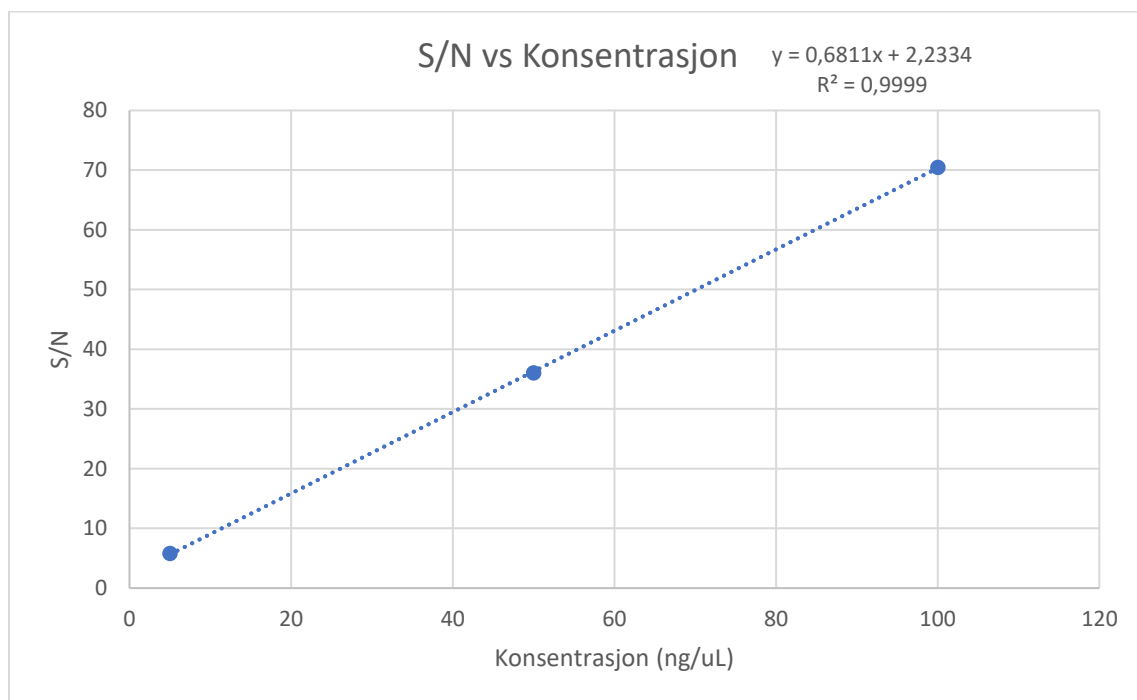


Figur 2: Kollisjonsenergi vs. Abundance for Klorbenzen på Carbolite

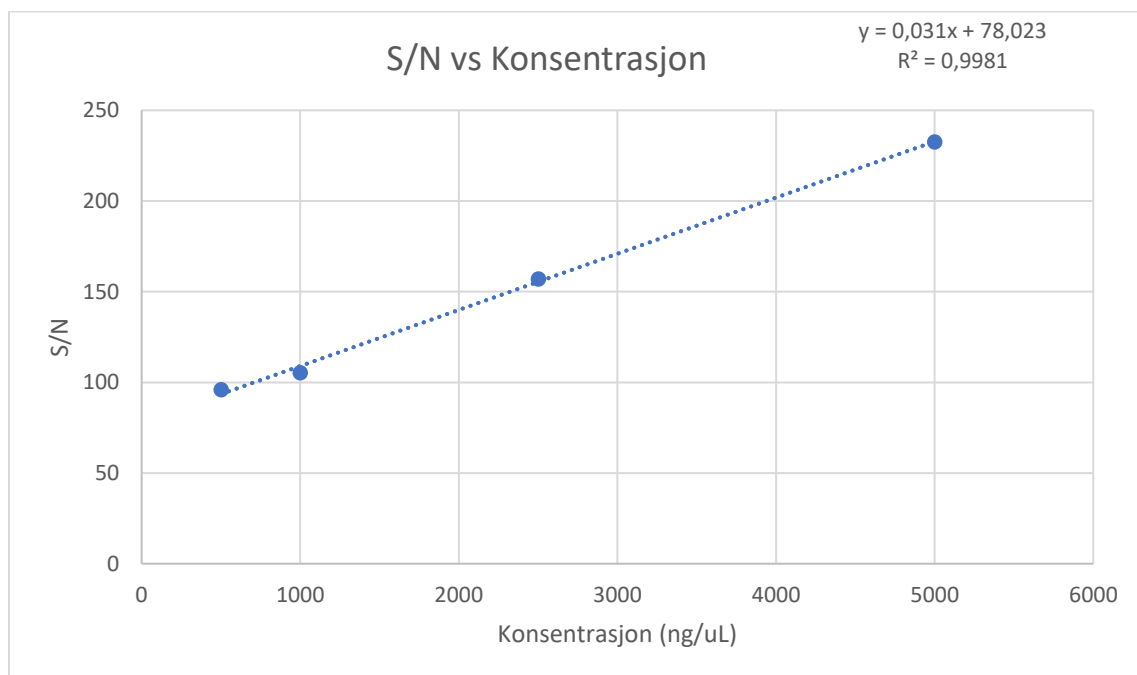


Figur 3: Kollisjonsenergi vs. Abundance for Tetrafluoretylen på Pyrola

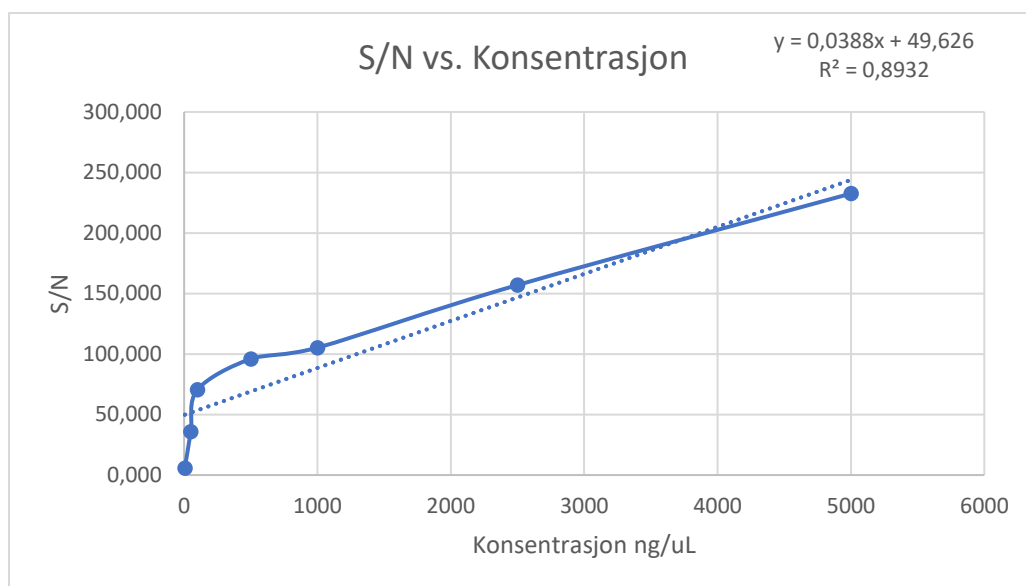
### Vedlegg 3: LOD og LOQ



Figur 4: S/N vs. konsentrasjon fra 5- 100 ng/ $\mu$ L



Figur 5: S/N vs. konsentrasjon fra 500- 5000 ng/ $\mu$ L



Figur 6: S/N vs. konsentrasjon fra 5- 5000 ng/ $\mu$ L

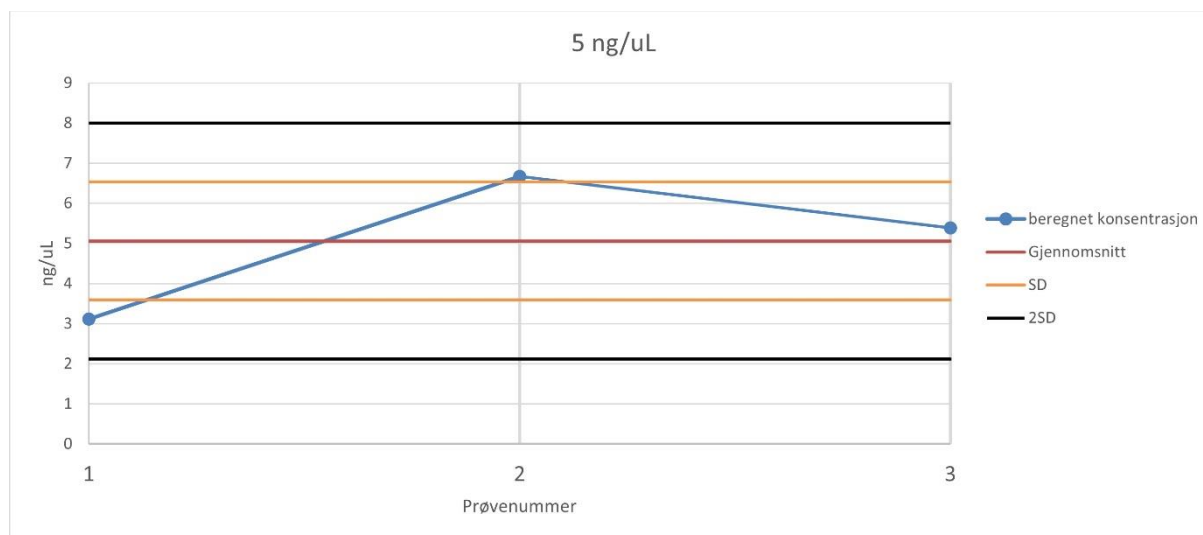
Tabell 2: Rådata for PVC standarder

Name	Exp. Conc.	RT	Resp.	Calc. Conc	S/N
Pyrola MRM 5 ng/ $\mu$ L 5uL P1	5	10,88686667	154,3286355	3,11710555	4,457
Pyrola MRM 5 ng/ $\mu$ L 5uL P2	5	10,8967	149,6669655	6,673949348	6,880
Pyrola MRM 5 ng/ $\mu$ L 5uL P3	5	10,88686667	99,37680103	5,391183134	6,006
Pyrola MRM 50 ng/ $\mu$ L 5uL P1	50	10,88158333	805,2766531	49,70234535	36,186
Pyrola MRM 50 ng/ $\mu$ L 5uL P2	50	10,88686667	1253,907071	49,78768823	36,244
Pyrola MRM 50 ng/ $\mu$ L 5uL P3	50	10,88663333	1845,896622	48,89226634	35,635
Pyrola MRM 100 ng/ $\mu$ L 5uL P1	100	10,87678333	2095,200832	97,86579735	68,990
Pyrola MRM 100 ng/ $\mu$ L 5uL P2	100	10,88158333	4780,576277	100,9540106	71,094
Pyrola MRM 100 ng/ $\mu$ L 5uL P3	100	10,88158333	6764,794358	101,3209018	71,344
Pyrola MRM 500 ng/ $\mu$ L 5uL P1	500	10,88686667	26791,82775	595,8110116	96,493
Pyrola MRM 500 ng/ $\mu$ L 5uL P2	500	10,8919	33938,49868	598,0364514	96,562
Pyrola MRM 500 ng/ $\mu$ L 5uL P3	500	10,88663333	30745,6968	540,0253789	94,764
Pyrola MRM 1000 ng/ $\mu$ L 5uL P1	1000	10,88686667	53414,5422	935,9932703	107,039
Pyrola MRM 1000 ng/ $\mu$ L 5uL P2	1000	10,88663333	52770,18694	847,4798116	104,295
Pyrola MRM 1000 ng/ $\mu$ L 5uL P3	1000	10,88686667	57481,28768	852,8203513	104,460
Pyrola MRM 2500 ng/ $\mu$ L 5uL P1	2500	10,88663333	158478,4616	2621,559879	159,291
Pyrola MRM 2500 ng/ $\mu$ L 5uL P2	2500	10,8919	148565,0711	2474,011694	154,717
Pyrola MRM 5000 ng/ $\mu$ L 5uL P1	5000	10,88663333	314614,654	5002,625231	233,104
Pyrola MRM 5000 ng/ $\mu$ L 5uL P2	5000	10,88663333	307973,4023	4967,26039	232,008

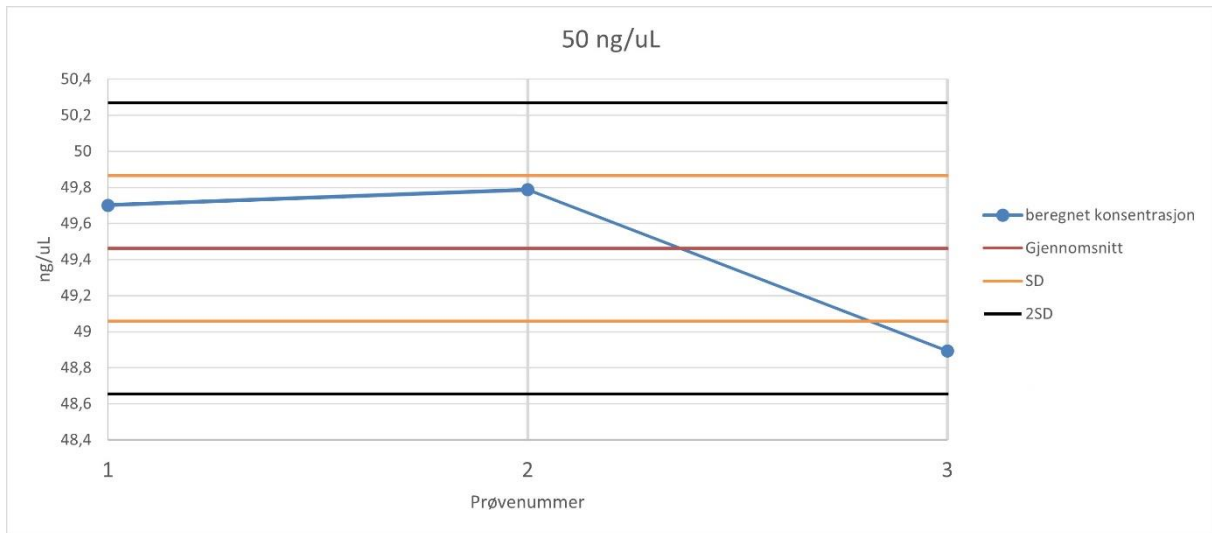
## Vedlegg 4: Repeterbarhet

**Tabell 3: Rådata for Repeterbarhetsanalyser**

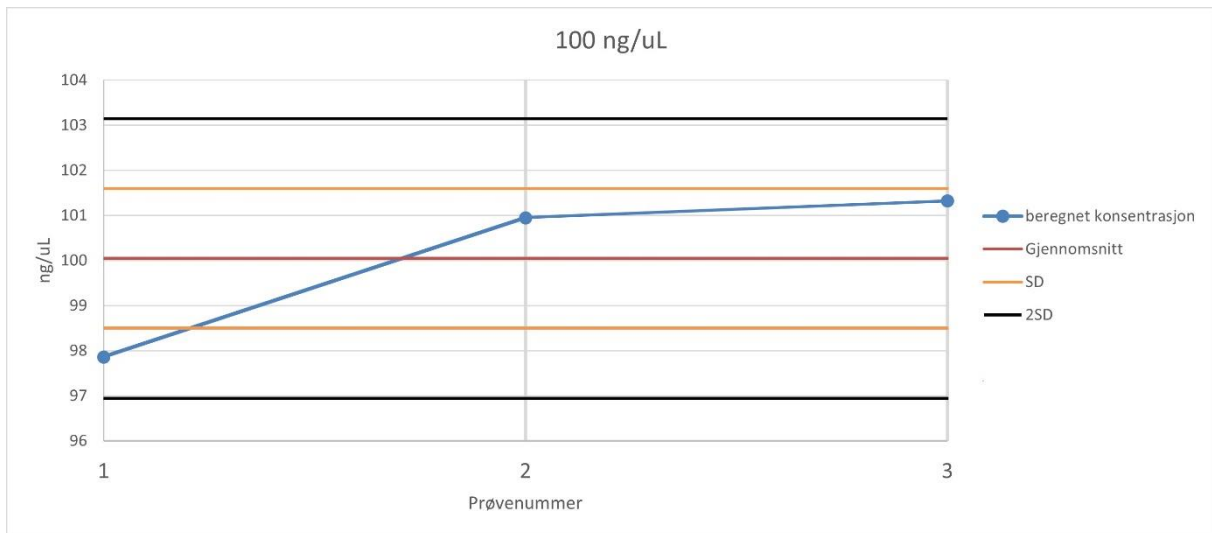
Exp. Conc.	RT	Resp.	parallell	Calc. Conc	Gjennomsnitt	SD	SD	2SD	3SD	. -SD	. -2SD	. -3SD	RSD
5	10,8869	154,33	1	3,117	5,061	1,471	6,532	8,002	9,473	3,590	2,119	0,648	29,062
5	10,8967	149,67	2	6,674									
5	10,8869	99,38	3	5,391									
50	10,8816	805,28	1	49,702	49,461	0,403	49,864	50,268	50,671	49,057	48,654	48,250	0,816
50	10,8869	1253,91	2	49,788									
50	10,8866	1845,90	3	48,892									
100	10,8768	2095,20	1	97,866	100,047	1,550	101,596	103,146	104,695	98,497	96,948	95,398	1,549
100	10,8816	4780,58	2	100,954									
100	10,8816	6764,79	3	101,321									
500	10,887	26791,83	1	595,811	577,95761	26,8	604,795	631,63	658,47	551,1	524,3	497,4	4,644
500	10,892	33938,5	2	598,036									
500	10,887	30745,7	3	540,025									
1000	10,887	53414,54	1	935,993	878,76448	40,5	919,290	959,82	1000,3	838,2	797,7	757,2	4,612
1000	10,887	52770,19	2	847,48									
1000	10,887	57481,29	3	852,82									
2500	10,887	158478,5	1	2621,56	2523,1944	69,6	2592,749	2662,3	2731,9	2454	2384	2315	2,757
2500	10,892	148565,1	2	2474,01									
2500	10,892	148565,1	2	2474,01									
5000	10,887	314614,7	1	5002,63	4984,9428	16,7	5001,614	5018,3	5035	4968	4952	4935	0,334
5000	10,887	314614,7	1	5002,63									
5000	10,887	307973,4	2	4967,26									



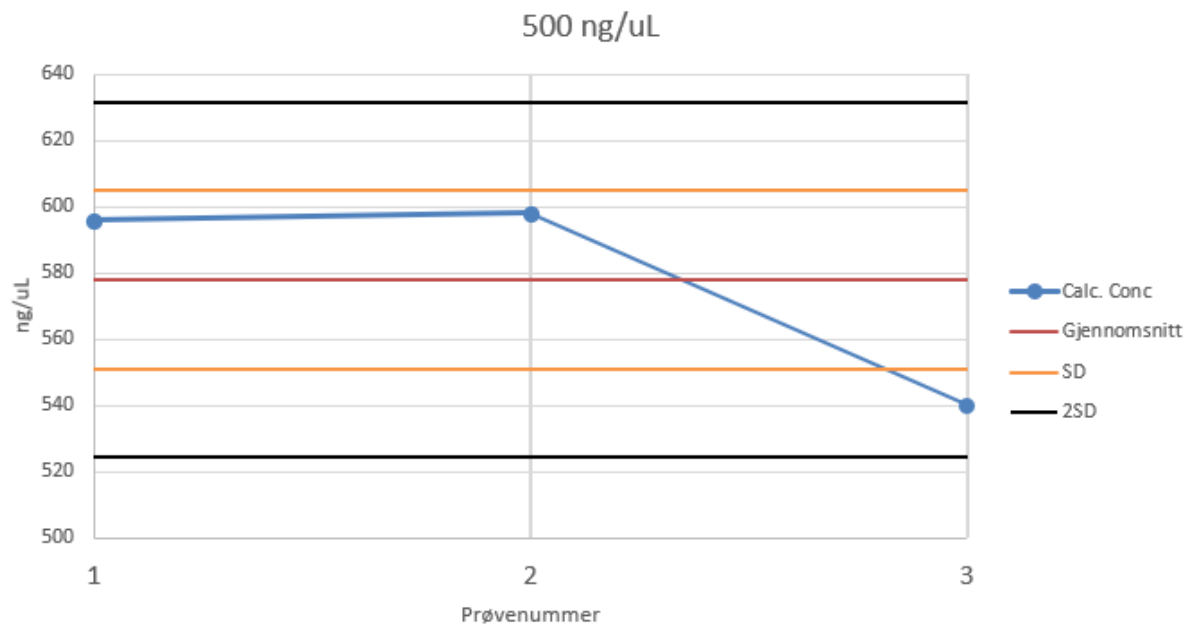
Figur 7: X-diagram for repeterbarhet av 5 ng/μL



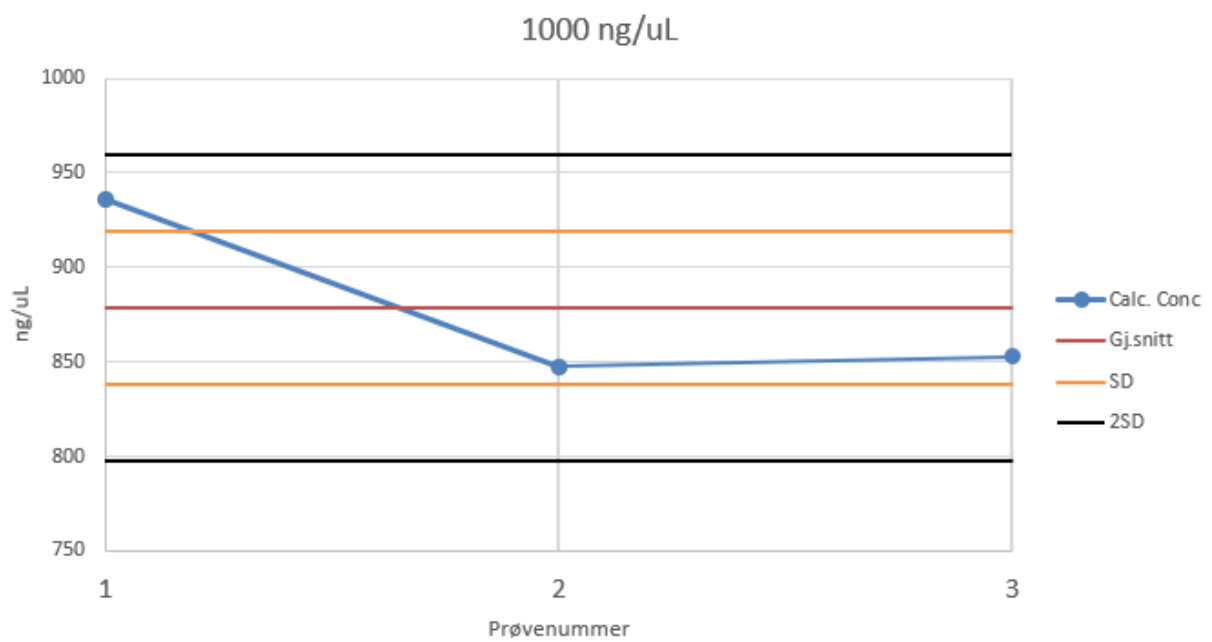
Figur 8: X-diagram for repeterbarhet av 50 ng/μL



Figur 9: X-diagram for repeterbarhet av 100 ng/μL

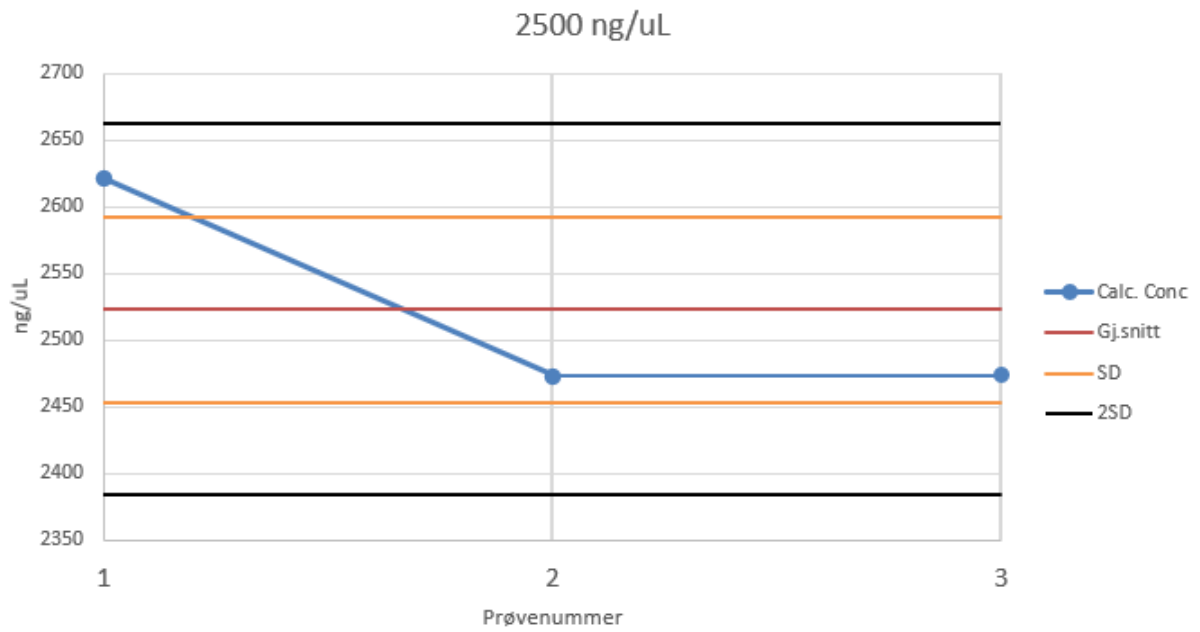


Figur 10: X-diagram for repeterbarhet av 500 ng/μL

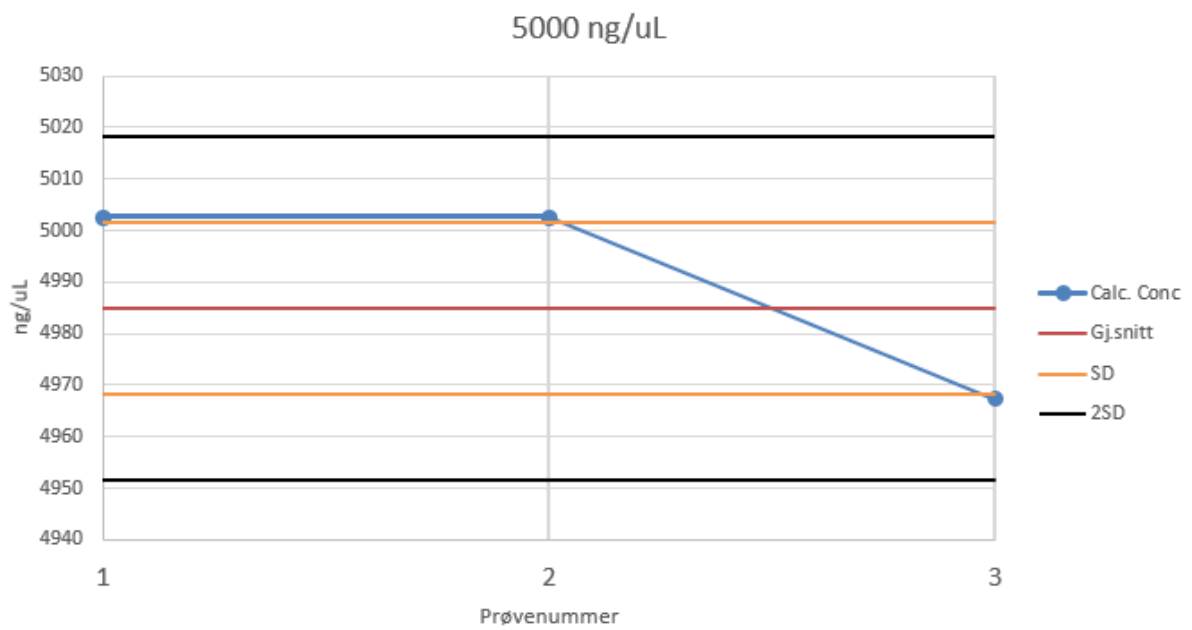


Figur 11: X-diagram for repeterbarhet av 1000 ng/μL





Figur 12: X-diagram for repeterbarhet av 2500 ng/uL



Figur 13: X-diagram for repeterbarhet av 5000 ng/uL

Vedlegg 5: MDL

**Tabell 4: Rådata for MDL analyser.**

<b>Navn</b>	<b>Kons</b>	<b>Resp.</b>
<b>Pyrola MRM Blank P1</b>	2,82012	7,7508
<b>Pyrola MRM Blank P2</b>	2,74935	7,7343
<b>Pyrola MRM Blank P3</b>	3,14944	7,9243
<b>Pyrola MRM Blank P4</b>	2,49585	7,4235
<b>Pyrola MRM Blank P5</b>	2,93736	7,4285
<b>Pyrola MRM Blank P6</b>	3,04394	8,1859
<b>Pyrola MRM Blank P7</b>	2,73943	7,3048
<b>Pyrola MRM Blank P8</b>	2,89605	7,9374
<b>Pyrola MRM Blank P9</b>	2,94434	7,2644
<b>Pyrola MRM Blank P10</b>	2,63059	7,1749



**Norges miljø- og biovitenskapelige universitet**  
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet  
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
Norway