

UNIVERSITETET FOR MILJØ- OG BIOVITENSKAP



Forord

Denne mastergradsoppgaven ble utført ved Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB), institutt for plante- og miljøvitenskap (IPM). Oppgaven er et samarbeid mellom Nordisk Institutt for Odontologiske Materialer (NIOM) og min arbeidsgiver Først Medisinsk Laboratorium. Det meste av det praktiske arbeidet, analysene og skriving ble utført ved Først Medisinsk Laboratorium i Oslo. Mine veiledere har vært 1. amanuensis Elin Gjengedal ved UMB og tannlege MNTF, professor ved Odontologisk Fakultet UiO og laboratoriesjef ved NIOM, Dr. odont. Jon E. Dahl. De fortjener begge en stor takk for god støtte og hjelp under arbeidet. Jeg så alltid positivt på det videre arbeidet etter møte med dem. En stor takk til overtannlege og spesialist i protetik Charlotta Holm fra NIOM som brukte mange timer på å preparere prøvene akkurat slik jeg ønsket. Jeg vil også rette en spesiell takk til overingeniør Karl Andreas Jensen ved UMB for formidling av utrolig mye kunnskap omkring uorganisk kjemi og ICP-MS. Han var svært viktig i den innledende planleggingen av analysene. Tusen takk til avdelingsingeniør Sofrid Lohne ved UMB som hjalp til med preparering av kontrollstandarder.

En spesiell takk fortjener min arbeidsgiver, Først Medisinsk Laboratorium ved Medisinsk direktør Dr. med. Marie Buckmann som har oppmuntret meg og ikke minst gitt meg mulighet og økonomisk støtte til å utføre en mastergrad i arbeidstiden. Først Medisinsk Laboratorium har også stått for de fleste utgiftene i forbindelse med denne mastergradsoppgaven. Min nærmeste leder Bente Berge fortjener en stor takk for sin alltid positive innstilling tross mye slit med å fylle opp arbeidslistene slik at rutinen kunne gå sin gang. Til slutt må jeg også rette en takk til overlege Dr. med. Kjell Torgeir Stokke ved Først Medisinsk Laboratorium som tross alt skal ha æren for at det ble et samarbeid mellom NIOM og Først. Jon E. Dahl er nemlig Kjell Torgeirs tannlege og gode venn.

Sist, men ikke minst må jeg takke deg Roger. Du har alltid støttet meg og stått på med flytting, oppussing samtidig med at du har holdt ut med en gravid kjæreste som jobbet 80 % og studerte 100 %. Du har fått meg til å slappe av hjemme når jeg trengte det. Nå venter nye og enda større utfordringer!

Oslo, mai 2010, Torill Kalfoss

Sammendrag

Det finnes over tusen odontologiske legeringer på markedet i dag, og bruken av uedle legeringer har i stor grad erstattet bruken av gullbaserte legeringer. Felles for disse legeringene er at de er i kontakt med oralt vev, og at metaller lekker fra legeringene ut i munnhulen. Det stilles derfor mange spørsmål om den biologiske sikkerheten omkring bruken av disse legeringene. Korrosjonstester, hvor de ulike legeringene blir utsatt for det samme sure miljøet som finnes i munnhulen, har vist at uedle legeringer lekker ut større konsentrasjoner av metaller sammenlignet med edle legeringer

Nordisk Institutt for Odontologiske Materialer (NIOM) har undersøkt ekstrakter av ulike legeringer i cellekulturer og sett på hvilken påvirkning de har på cellene. I den sammenheng ønsket de å kvantifisere utlekking av metaller fra de ulike legeringene i cellekulturmediet for å bestemme konsentrasjonen av de ulike grunnstoffene som cellene hadde blitt utsatt for. Først Medisinsk Laboratorium fikk i oppdrag å utvikle en metode for kvantitativ bestemmelse av grunnstoffer i Minimal Essential Medium with Earle's salts (MEM).

Atten ulike odontologiske legeringer, hovedsakelig uedle, ble sandlåst, slipt og rensert før inkubering i MEM cellekulturmedium under bevegelse i tre døgn ved 37 °C. Legeringene ble deretter fjernet fra mediet og løsningene ble analysert ved induktivt koplet plasma massespektrometri (ICP-MS). Alle prøvene ble analysert for grunnstoffene litium (Li), beryllium (Be), aluminium (Al), vanadium (V), mangan (Mn), kobolt (Co), nikkel (Ni), kobber (Cu), sink (Zn), gallium (Ga), arsen (As), selen (Se), rubidium (Rb), strontium (Sr), yttrium (Y), zirkonium (Zr), niob (Nb), molybden (Mo), ruthenium (Ru), palladium (Pd), sølv (Ag), kadmium (Cd), indium (In), tinn (Sn), antimon (Sb), cesium (Cs), barium (Ba), lantan (La), cerium (Ce), praseodym (Pr), neodym (Nd), samarium (Sm), europium (Eu), gadolinium (Gd), terbium (Tb), dysprosium (Dy), holmium (Ho), erbium (Er), thulium (Tm), ytterbium (Yb), lutetium (Lu), hafnium (Hf), tantal (Ta), wolfram (W), rhenium (Re), osmium (Os), iridium (Ir), platina (Pt), gull (Au), bly (Pb), vismut (Bi) og thorium (Th). Resultater fra analysering av de odontologiske legeringene viste bare utlekking av de metallene som var oppgitt fra produsenten av legeringene, og det er kun disse grunnstoffene som er presentert i resultatkapittelet. Som korrosjonstestene gav også her de uedle legeringene et høyere utslipp av metaller enn de edle legeringene.

Målemetoden som ble utviklet på ICP-MS gav tilfredsstillende deteksjons- og kvantifiseringsgrenser, gjenfinning, presisjon og nøyaktighet for grunnstoffene Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Nb, Mo, In, Sn, W, Pt og Au. Metoden gav bare ca 80 % gjenfinning av Ag og den kunne ikke brukes for bestemmelse av Pd < 50 µg/L. Metoden hadde ikke tilstrekkelig sensitivitet for bestemmelse av Fe på det nivået som lakk fra de 18 legeringene som ble analysert i denne oppgaven. Den største usikkerheten i metoden lå i prepareringen av løsningene. For mye manipulering av noen av legeringene ødela det beskyttende oksidlaget som ble dannet på overflaten og økte dermed utlekking av metaller.

Summary

There are more than a thousand dental alloys on the market today, and non precious alloys have replaced the use of gold - containing alloys. Dental alloys are in contact with oral tissues, and consequently metals leak into the mouth. There are a lot of questions about the biological safety of using these alloys. Corrosion tests have shown that there are significantly higher amount of leakage from non precious alloys, compared to precious alloys.

Nordisk Institutt for Odontologiske Materialer (NIOM) has investigated the influence of the metals from different alloys on cells in cell cultures. Their aim has been to quantify the amount of metal leakage from the alloys into the cell culture medium to determine the concentrations of different elements that cells become exposed to. Først Medisinsk Laboratorium was asked to develop a method for quantitative determination of elements in Minimal Essential Medium with Earle's salts (MEM).

Eighteen different dental alloys, mainly non precious, were sandblasted, polished and cleaned before incubation in MEM cell culture medium under agitation at 37 °C for 72 hours. The specimens were then removed, and the solutions were analyzed by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The elements Li, Be, Al, V, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Ru, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Cs, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Hf, Ta, W, Re, Os, Ir, Pt, Au, Pb, Bi and Th were identified and quantified. The released and detected elements were in accordance with the composition stated for the different alloys, and only these elements are presented in the results chapter. The leakage was higher from non precious alloys compared to precious alloys.

The limits of detection, limits of quantification, recoveries, precision and accuracy of the method were sufficient and satisfactory for the elements Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Nb, Mo, In, Sn W, Pt and Au. The method had only 80 % recovery of Ag, and it could not be used for determination of Pd < 50 µg/L. The method was not sensitive enough to quantify Fe leakage from the dental alloys investigated in this project. The biggest uncertainty was in preparation of the solutions. The protective oxidation layer on the surface of the alloys of some samples was destroyed by artificial heavy handling.

Ordforklaringer

Allergen	Et stoff som kan forårsake en allergisk reaksjon.
Biokompatibilitet	Et materiales evne til å opptre med en hensiktsmessig biologisk respons i en spesifikk anvendelse.
Biotilgjengelighet	Hvilken andel av for eksempel totalkonsentrasjonen som måles av et grunnstoff som er tilgjengelig for opptak i organismer.
Cellekulturmedium	Ekstrakt uten celler. For eksempel MEM.
Dekomponering	Omvandling av faste stoffer til vandige løsninger ved hjelp av en kjemisk separering med syre, eller fjerning av organisk materiale fra matriks i en flytende prøve.
Edelmetaller	Betegnelse på metaller som er motstandsdyktige, eller lite reaktive, mot korrosjon og oksidasjon.
”Interface” i ICP-MS	Instrumentdel som betegner overgangen mellom ICP- og MS – delen (fra atmosfærisk trykk til høyvakuum).
MEM	Minimum Essential Medium.
MTT cellekulturtest	Generell cytotoxisitest som måler mitokondriefunksjonen i cellene. Redusert mitokondriefunksjon er et mål på celledød.
Mutagen	Et stoff som kan forårsake en mutasjon (varig forandring i arvestoff, DNA).
NIOM	Nordisk Institutt for Odontologiske Materialer.
Odontologiske legeringer	Metallegeringer brukt til forskjellige formål i munnhulen.
”Space charge effekt”	Norsk: ”Romladningseffekt”. Defokusering av ionestøm i ioneoptikken på grunn av for høy konsentrasjon av matriksioner med samme ladning. Medfører suppresjon av ionesignal.
”Torch” i ICP-MS	Instrumentdel hvor plasma dannes.

Innholdsfortegnelse

Forord.....	
Sammendrag.....	
Summary	
Ordforklaringer.....	
Innholdsfortegnelse	
1 Innledning.....	8
2 Teori	10
2.1 Odontologiske legeringer	10
2.2 Induktivt koplet plasma massespektrometri (ICP-MS)	12
3 Eksperimentelt.....	17
3.1 Instrumentelt.....	17
3.2 Prosedyre for preparering av de odontologiske legeringene	18
3.3 Reagenser	20
3.4 Analyseprosedyre	22
3.4.1 Forarbeid	22
3.4.2 Metodeutvikling	25
3.4.3 Metodevalidering.....	27
3.4.4 Analyse av utlekking av metaller fra de odontologiske legeringene på ICP-MS	29
4 Resultater og Diskusjon.....	31
4.1 Metodevalidering.....	31
4.1.1 Foranalyse - TotalQuant™	31
4.1.2 Linearitet	31
4.1.3 Deteksjons- og kvantifiseringsgrenser	32
4.1.4 Nøyaktighet	33
4.1.5 Presisjon	42

4.1.6	Usikkerhetsvurdering	44
4.2	Utlekking fra odontologiske legeringer.....	44
5	Konklusjon	56
6	Referanser.....	58
7	Vedlegg	60
	A. Preparering av odontologiske legeringer før inkubering i MEM cellekulturmedium (Holm 2010)	60
	B. Odontologiske legeringer med oppgitt vekt (%) (Holm 2010).....	63
	C. Dixons test (Q-test) for uteliggere (Miller & Miller 2005).....	65
	D. TotalQuant™ analyse av MEM cellekulturmedium.....	66
	E. Kalibreringskurver	68
	F. Resultater fra analysering av de odontologiske legeringene	76
	G. Resultater fra analysering av de odontologiske legeringene (alle resultater)	79
	H. Beregning av fortynningsfeil på grunn av at noe cellekulturmedium ble hengende igjen på legeringene etter inkubering (et regneeksempel)	98

1 Innledning

Det finnes mer enn tusen odontologiske legeringer på markedet i dag (Gjerdet 2008). Felles for disse legeringene er at de er i kontakt med oralt vev, og at metaller lekker fra legeringene ut i munnhulen. Lekkasjen kan variere stort mellom de forskjellige legeringene (Wataha 2000). Det stilles derfor mange spørsmål om den biologiske sikkerheten ved bruk av de forskjellige legeringene. Siden uedle legeringer i stor grad har erstattet edle metaller og metallegeringer med høyt gullinnhold, er det av interesse å undersøke utlekk av disse metallene i et miljø, som kan ligne miljøet som er i munnhulen. Inntak av mat- og drikkevarer fører til såkalt plakk på tennene, og dette senker pH i munnhulen (Ardlin et al. 2005). Det er utført en del korrosjonstester på forskjellige legeringer med innkubering i kunstig spytt med pH 5 og i melkesyre med pH 2 (Elshahawy et al. 2009; Lopez-Alias et al. 2006; Tuna et al. 2009). Disse undersøkelsene viser at edle metaller er mer korrosjonsresistente enn uedle metaller, og at lavere pH øker korrosjonen og dermed utlekking av metallene.

NIOM har undersøkt ekstrakter av ulike legeringer i cellekulturer ved bruk av MTT cellekulturtest (Ardlin et al. 2008). I den sammenheng ønsket de å kvantifisere utlekking av metaller fra de ulike legeringene i cellekulturmediet for å bestemme konsentrasjonen av de ulike grunnstoffene som cellene hadde blitt utsatt for. Først Medisinsk Laboratorium fikk i oppdrag å utvikle en metode for kvantitativ bestemmelse av metaller i løsningen ved bruk av ICP-MS, og forespørselen initierte denne mastergradsoppgaven i analytisk kjemi.

Nordisk Institutt for Odontologiske Materialer (NIOM) bruker en standardisert metode (vedlegg A) for preparering av legeringene før inkubering i cellekulturmediet.

Mastergradsoppgaven omfavnet inkubering av legeringene i Minimal Essential Medium with Earle's salts (MEM) og videre tillaging av prøveløsning, utvikling av metode for kvantitativ bestemmelse av metaller og analysering av prøveløsningene.

Siden utlekking av metaller fra legeringene i cellekulturmediet (pH 7,0 – 7,5) var forventet å være relativt lavt, var det viktig å benytte en analyseteknikk med lave deteksjonsgrenser. ICP-MS ble derfor valgt. Først Medisinsk Laboratorium bruker et PerkinElmer, Elan® DRC™ II instrument med reaksjonscelle for interferenskorrigering. På grunn av relativt komplisert matriks med høyt innhold av karbon og forskjellige salter måtte en eventuell dekomponeringsprosess vurderes. Ettersom det måles veldig lave konsentrasjoner av

grunnstoffer med ICP-MS, er kontamineringsfaren stor. Det var derfor viktig å utvikle en prøvebehandlingsprosedyre som i minst mulig grad tilførte grunnstoffer til prøveløsningene. I første omgang ble det derfor valgt å benytte en metode med enkel fortykning av prøvene, i stedet for dekomponering. En dekomponeringsprosess ville tilføre prøveløsningene ekstra kjemikalier, og prøveløsningene ville komme i kontakt med ekstra beholdere. Hvis det skulle vise seg at dette ikke gav tilfredsstillende resultater, kunne en dekomponeringsprosess benyttes. Det var også veldig viktig å planlegge forsøksoppsettet nøye med hensyn til å unngå kontaminering.

Det ble hovedsakelig undersøkt uedle legeringer, med innhold av blant annet Cr, Co og Ni, da bruken av disse er økende. Det ble også undersøkt noen få edle og halv-edle legeringer med innhold av Au, Ag, Pt og Pd. De uedle legeringene har i mange sammenhenger erstattet edle legeringer på grunn av den høye råvareprisen på edle metaller. En viktig målsetting i denne oppgaven var derfor å kartlegge utlekking av metaller fra uedle legeringer.

2 Teori

2.1 Odontologiske legeringer

De odontologiske legeringene grupperes ofte etter innholdet av edle og uedle metaller. De brukes til forskjellige formål som støpelegeringer for krone – bro konstruksjoner (edelmetallene Au, Pt og Pd og de uedle metallene Co og Cr), støpelegeringer for avtakbare proteser (CoCr, NiCr og Ti med loddelegering av Ag, Cu, Zn og noen ganger Au), implantater (Ti) og kjeveortopediske anvendelser (CoCr, Ni) (Gjerdet 2008). Sammensetningen av legeringene er avgjørende for viktige egenskaper som mekanisk styrke, korrosjonsmotstand, støpbarhet, nedbrytning og biologiske risikoer (Herø et al. 1999). CoCr- og NiCr - legeringer har vært brukt i mange år og de har til en viss grad erstattet edle og halvedle legeringer til kroner og broer. Titan er et metall som foretrekkes i odontologiske implantater, da det er svært korrosjonsresistent. Motstand mot korrosjon har sammenheng med at det dannes et meget stabilt oksidlag på overflaten. Titan har også høy biokompatibilitet (Craig & Hanks 1990; Molina et al. 2008). Metaller lekker fra de odontologiske legeringene ut i munnhulen, men det behøver allikevel ikke være en sammenheng mellom mengden av stoffer som lekker ut og sammensetningen av legeringene (Wataha 2000). En legering av edelmetaller kan inneholde over 50 % (vekt - %) Ag, mens mindre enn 2 % av den totale massen som lekker ut, er Ag. Det samme vil gjelde for andre edelmetaller som Ag, Pd og Pt. På den andre side kan en legering med for eksempel 35 % (vekt - %) Cu gi utlekk hvor mer enn 85 % er Cu. Det samme vil gjelde for blant annet Ni. Stabiliteten til en legering avhenger av sammensetningen av metaller. Det er blant annet vist at Pd øker stabiliteten til Cu i en gullbasert legering. Lavere pH vil øke utlekking av metaller i munnen. Dette ses særlig på nikkelbaserte legeringer. En legerings biokompatibilitet avhenger derfor av syreinnhold i munnhulen. Metaller kan ha toksiske, inflammatoriske, allergene og mutagene egenskaper. Det er derfor viktig å være klar over korrosjonsegenskapene til en legering (Wataha 2000). Samtlige odontologiske støpelegeringer, bortsett fra Ti, kan framkalle bivirkninger hos overfølsomme pasienter (Celebic et al. 2006; Herø et al. 1999; Lu et al. 2009). Tabell 2-1 viser en oversikt over de odontologiske legeringene som ble analysert i denne oppgaven.

Tabell 2-1: Sammensetning av metaller i de odontologiske legeringene som ble analysert i denne oppgaven (opplysningene er hentet fra oppdragsgiver Charlotta Holm, NIOM).

Legering	Merkenavn	Batch no	Produsent	Sammensetning (vekt - %)
1	Wirobond 280	12221	BEGO	Co: 60,2, Cr: 25, W: 6,2, Mo: 4,8, Si: X, Ga: 2,9, Mn: X
2	Wirobond C	2689	BEGO	Co: 63,3, Cr: 24,8, W: 5,3, Mo: 5,1, Si: X, Fe: X, Ce: X
3	Solibond C-plus	ikke oppgitt	YETI	Co: 63, Cr: 24, W: 8,1, Mo: 2,9, Nb: 0,9, Si: 1,1
4	Remanium segura	274	Dentaurum	Co: 58, Cr: 30, W: 5,5, Mo: 3, Si: 1,5, Mn: 1,25
5	Remanium star	475	Dentaurum	Co: 60,5, Cr: 28, W: 9, Nb: X, Si: 1,5, Mn: X
6	Heraenium P	12571	Heraeus	Co: 59, Cr: 25, W: 10, Mo: 4, Si: 1, Mn: 0,8
7	Heraenium Pw	12202	Heraeus	Co: 55,2, Cr: 24, W: 15, Si: 1, Fe: 4, Mn: 0,8
8	U-gull	899	KA Rasmussen	Au: 74, Ag: 9, Pt: 9, Cu: 4,4, Zn: 2, In: 1,5, Ir: 0,1
9	Albabond A	88087	Heraeus	Ag: 32,6, Pd: 56,6, Zn: 0,2, In: 3,4, Ir: 0,2, Sn: 6,8, Ru: 0,2
10	Wiron 99	ikke oppgitt	BEGO	Cr: 22,5, Mo: 9,5, Nb: X, Si: X, Ni: 65, Sn: X, Ce: X
11	Titan grade II	ikke oppgitt	ikke oppgitt	Ti: 100
13	Wirobond LFC	12437	BEGO	Co: 33, Cr: 30, Mo: 5, Si: X, Fe: 29, Mn: 1,0
14	IPS d.SIGN 30	S24141AG	Ivoc Vivad	Co: 60,2, Cr: 30,1, Mo: X, Nb: 3,2, Si: X, Fe: X, Ga: 3,9, Al, Li, B: X
15	Heraenium S	275125	Heraeus Kulz	Cr: 23, Mo: 10, Si: 2, Ni: 62,9, Fe: 1,5, Ce: 0,6
16	Heraenium Sun	Z073342	Heraeus Kulz	Co: 43, Cr: 23,45, W: 2,5, Mo: 2, Si: 1, Fe: 27, Mn: 0,8,
17	Remanium 2001	250	Remanium	Co: 63, Cr: 23, W: 4,3, Mo: 7,3, Si: 1,6, Mn: X
18	Remanium Cse	454	Remanium	Co: X, Cr: 26, Mo: 11, Si: 1,5, Ni: 61, Fe: X, Ce: X
19	NPG	ikke oppgitt	AlbaDent	Ni: 4,3, Cu: 80,7, Zn: 2,7, Fe: 3, Mn: 1,7, Al: 7,8

Legering nummer 12 er en kobber kontroll som ikke ble analysert i denne oppgaven.

(X) metallet er til stede, men har ikke oppgitt konsentrasjon.

2.2 Induktivt koplet plasma massespektrometri (ICP-MS)

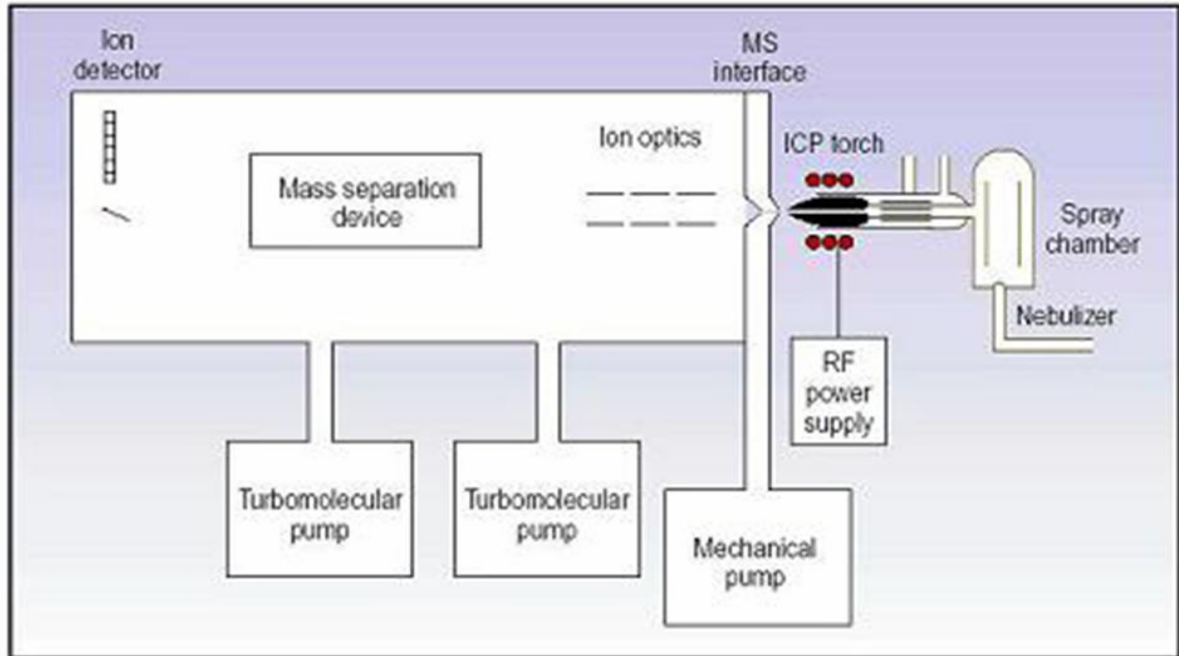
2.2.1 Analyseteknikk

ICP-MS ble introdusert av Houk et. al i 1980. Første kommersielle ICP-MS instrument (Elan 250) ble lansert i 1983 av PerkinElmer Sciex (Becker 2007). ICP-MS er en multigrunnstoffteknikk med høy kapasitet og lave deteksjonsgrenser (Thomas 2004). Den involverer følgende trinn: atomisering, ionisering og separering av ioner på grunnlag av masse/ladnings - ratio (Skoog et al. 2007). Et ICP-MS instrument består av en ionekilde (ICP) som omvandler en prøveløsning til positivt ladete ioner. Ionene separeres og detekteres av et massespektrometer (MS).

Et plasma er en delvis ionisert gass (argon). I dette tilfellet vil det innebære ca. 0,1 % Ar^+ (Jarvis et al. 1991). Induktivt koplet plasma betyr et RF (radio frekvent) industert plasma. På grunn av den høye temperaturen (6000 – 10000 K), vil de fleste grunnstoffene ioniseres mer enn 90 % med hovedsakelig en enkelt positiv ladning (Skoog et al. 2007). Årsaken til dette er at første ioniseringspotensial for Ar er høyere enn første ioniseringspotensial for de fleste andre grunnstoffer. Første ioniseringspotensial for Ar er derimot lavere enn andre ioniseringspotensial for de fleste andre grunnstoffer. Ba har derimot lavere andre ioniseringspotensial enn argons første ioniseringspotensial, noe som kan føre til at Ba lettere danner dobbeltladete ioner (Ba^{2+}). Noen få grunnstoffer har et relativt høyt første ioniseringspotensial, og vil derfor ioniseres i mindre grad i plasma. Dette gjelder blant annet Zn, As, Se, Hg, I og Br. (Vandecassreele & Block 1993). Prøveløsningen vil bli ført inn i plasma via introduksjonssystemet som består av en forstøver forbundet med et spraykammer. Forstøveren omvandler den flytende væsken til en fin aerosol. De store dråpene blir skilt ut i spraykammeret, slik at bare de aller fineste dråpene (1 - 2 %) (Thomas 2004) går videre via injektoren til torchen og dermed plasma. Her dannes de positive ionene. Ionene dras videre på grunn av trykkforskjell gjennom to koner av platina og fokuseres så gjennom en ionelinse inn til kvadropolen og deretter detektoren. Detektoren teller antall ioner (cps = counts per sekund). Figur 2-1 viser en skjematisk oversikt av et ICP-MS instrument.

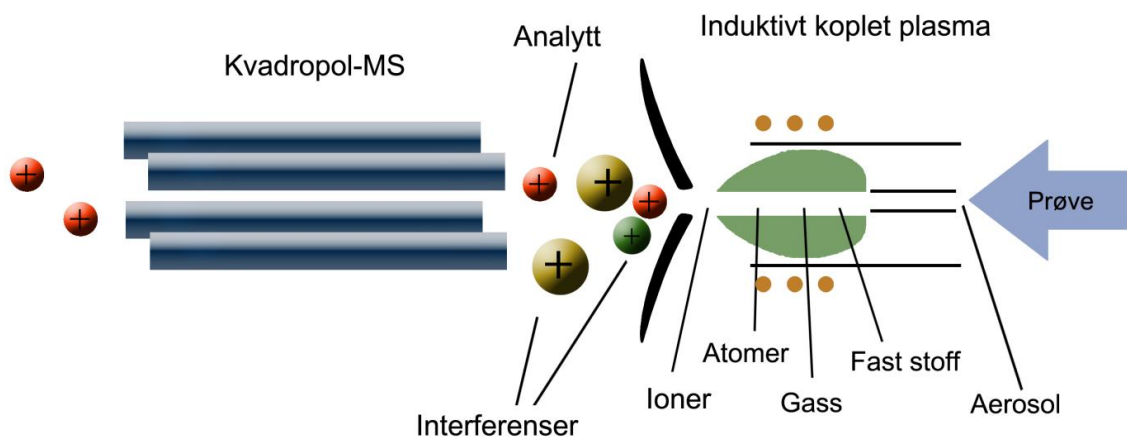
Introduksjonssystemet med forstøver og spraykammer vises helt til høyre, etterfulgt av ionekilden med torchen omringet av en RF - spole som danner det radiofrekvente feltet. Videre vises ”interfacet” med de to konene inn til ioneoptikken etterfulgt av

masseanalysatoren og detektoren helt til venstre. Tre vakuumpumper sørger for vakuum i ”interface” og i masseanalysatoren (Thomas 2004).



Figur 2-1: Skjematisk oversikt av et ICP-MS instrument (Thomas 2004)

Masseanalysatoren i instrumentet (Elan® DRC™ II) som ble brukt i denne oppgaven, er en såkalt kvadropol. Kvadropolen består av fire gullbelagte staver (se figur 2-2). Det settes opp en spenning av likestrøm og vekselstrøm mellom disse stengene i et gitt tidsrom, og avhengig av kombinasjonen av de ulike spenningene vil en bestemt masse/ladning passere kvadropolen og nå detektoren. Detektoren som benyttes i Elan® DRC™ II er en såkalt kanal elektron multiplikator detektor. Denne detektoren konverterer ioner til elektroner og forsterker signalet. For å øke det lineære måleområdet til detektoren benyttes to forskjellige scanninger, puls (digital) scanning som har høy sensitivitet og analog scanning med redusert spenning. Ved å benytte ”dual detector”, vil detektoren skifte fra puls til analog scanning ved cps (counts per second) > 2 mill (Thomas 2004).



Figur 2-2: Dannelse av ioner i plasma og separering i en kvadropol – MS (www.perkinelmer.com 2004a).

2.2.2 Interferenser

Interferenser i ICP-MS kan deles inn i de to hovedkategoriene spektral- og ikke spektral interferenser. Spektrale interferenser kan igjen deles inn i isobare interferenser (isotoper med samme masse som analytten), dobbeltladede grunnstoffer (M^{2+} blir detektert som $M/2$) og polyatomiske interferenser (molekyler av to eller flere grunnstoffer fra plasma eller matriks som har samme masse/ladnings - ratio som analytten). Ikke spektral interferenser kan forårsakes av en kompleks matriks og gi forandringer i ioneintensiteten på grunn av forskjell i

forstøving, ionefokusering ("space charge effekt") eller tilstopping av slanger og koner på grunn av partikler i prøveløsningen (Thomas 2004).

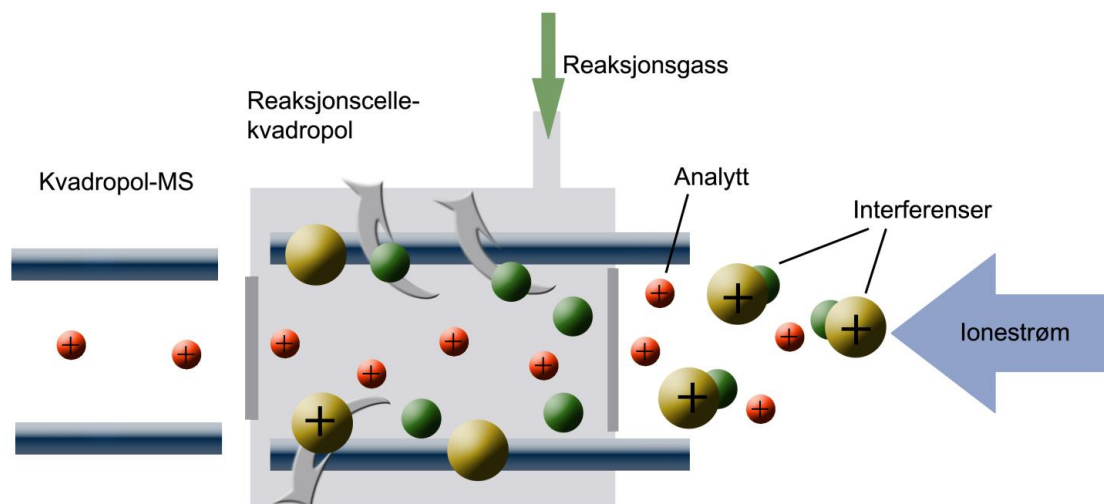
De ikke spektrale interferensene kan reduseres ved å fortynne prøven så mye som mulig. Det kan også benyttes matriksmatching av standarder eller standard addisjon kalibrering (Thomas 2004). Bruk av internstandard kompenserer for forskjell i sensitivitet i målingene. Separering av analytt fra matriks ved å bruke en dekomponeringsprosess kan også benyttes. Spektral interferenser reduseres først og fremst ved å måle på en isotop fri for isobare overlapp, eller ved matematisk korrigerer av isobare interferenser (Thomas 2004).

Polyatomiske interferenser kan være mindre forutsigbare og disse kan reduseres ved å øke oppløsning i masseanalysatoren (bruk av høyopløselig magnetisk sektor instrument) (Thomas 2004). Separasjon av analytt fra matriks ved en dekomponeringsprosess vil også fjerne mange polyatomiske interferenser, mens matriksmatching og blanksubstraksjon vil kompensere for enkelte polyatomiske interferenser.

Enkelte polyatomiske interferenser er veldig stabile og kan dermed korrigeres for ved matematisk beregning. Eksempler på dette er blant annet MoO^+ og RuO^+ på Cd^+ , RuO^+ på Ba^+ og Ba^{++} på Ga og Zn (May & Wiedmeyer 1998). Det kan lages en interferensløsning med Mo , Ru og Ba som analyseres først i serien. Bidraget fra disse på Cd , Ba , Ga og Zn kan så beregnes i etterkant (Jensen 2009).

Andre polyatomiske interferenser kan være vanskelig å korrigere for. Årsaken til dette er at de er ustabile eller fordi signalet fra disse er veldig dominerende, slik at signal/støy - forholdet blir veldig lavt. Dette gjelder særlig interferenser fra plasma (forbindelser med Ar eller O). For å fjerne disse polyatomiske interferensene kan for eksempel DRC^{TM} (Dynamic reaction cell) - mode benyttes. Bruk av DRC - mode fjerner interferenser på to måter: 1) Kjemisk reaksjon med en reaksjonsgass (NH_3 eller CH_4) som fører til at interfererende molekyler omvandles til ikke interfererende spesier. 2) "Dynamic bandpass tuning" som vil si justering av avskjæringen av lave masser ved å justere RPq -verdi (rejection parameter q) (Tanner & Baranov 1999).

Figur 2-3 viser en skjematisk illustrasjon av en reaksjonscelle. DRC^{TM} er en kvadropol på lik linje med masseanalysatoren. DRC^{TM} er plassert foran masseanalysatoren. Det benyttes en reaktiv gass og de polyatomiske interferensene vil derfor elimineres i reaksjonscellen og ikke nå detektoren.



Figur 2-3: DRC™ (Dynamic reaction Cell™) på Elan®DRC™ II (www.perkinelmer.com 2004b).

3 Eksperimentelt

3.1 Instrumentelt

ICP-MS instrumentet som ble brukt var Elan® DRC™ II (PerkinElmer SCIEX, Ontario, Canada) med SC-4 FAST (Elemental Scientific, Omaha, USA) prøveveksler. Instrumentelle parametre er vist i tabell 3-1.

Tabell 3-1: Instrumentelle parametre

Instrumentspesifikasjoner	Innstilling/type
Plasmagass	15 L/min
Hjelpergass	1 L/min
Forstøvergass	ca 1.0 L/min (optimalisert hver gang)
Reaksjonsgass ved bruk av DRC - mode (NH ₃)	0,45 mL/min (Cr), 0,15 mL/min (Fe)
RPq ved bruk av DRC - mode	0,35 (Cr), 0,55 (Fe)
Prøveprobe	teflon med karbon fiber støtte
Bærerløsningsprobe	teflon med karbon fiber støtte
Pumpehastighet på peristaltisk pumpe	-16
Prøveloop og andre slanger tilknyttet prøveintroduksjon	teflon
Rotorsil	teflon (CTFE/PTFE)
Forstøver	konsentrisk, teflon (PFA)
Spray kammer	syklonisk, quartz
Injektor	teflon (PFA) /sapphire
Torch	quartz
Radiofrekvensseffekt på spole	1500 W
Sampler/skimmer koner	Pt/Pt
Dataregistrering	
Vasketid mellom prøvene	60 s (30 s + 30 s)
Ventetid før avlesning (read delay)	16 s (standard mode) 18 s (DRC mode)
Lesetid (dwell time)	50 ms
Dataopptakingsmåte (scanning mode)	peak hopping
Avlesningspunkt per masse (points/spectral peak)	1
Sveip per avlesning (sweeps/reading)	7 (standard mode) 10 (DRC mode)
Avlesninger per replikat (readings / replicat)	1
Antall replikater	3
Signalmåling	gjennomsnittlig
Dual detector	på
Autolens	på

3.2 Prosedyre for preparering av de odontologiske legeringene

Charlotta Holm ved NIOM preparerte legeringene. Hun fikk nøye instruksjoner om hvordan prøvene måtte behandles i forholdt til for eksempel bruk av hansker og ikke bruk av sminke for å unngå kontaminering av prøvene. Vedlegg A viser prosedyre for preparering av de odontologiske legeringene før tilsetning av MEM cellekulturmedium. Teflonbiter (12 stykker, seks preparert i september og seks preparert i oktober) ble behandlet på samme måte som de odontologiske legeringene. Disse ble brukt som blindprøver. Prepareringen av legeringene ble utført ved NIOM.

Charlotta Holm fikk utlevert 5.0 mL prøverør av polypropylen (PP) med lokk og flat bunn (VWR International, Oslo, Norge) for oppbevaring av legeringene. Rørene var testet på forhånd ved UMB (Jensen 2009). Rørene med legeringene ble fylt med nitrogengass for å unngå oksidering av legeringsoverflatene. Prøverørene ble oppbevart og fraktet i eksikator tilsatt Silica Gel Dessiccant (28-200 Mesh, Grade 12/Cerified ASC) (Fisher Scientific, Fairlawn, NJ USA).

Prøvene ble tilsatt MEM cellekulturmedium med Biohit eline® elektroniske pipetter, 50 – 100 µL og 100 – 5000 µL (VWR International, Oslo, Norge) på Institutt for plante- og miljøvitenskap, UMB. Volumet som ble tilsatt var tilpasset størrelsen (overflaten) på legeringen og hentet fra oppdragsgiver (Charlotta Holm, NIOM, se vedlegg A). Prøvene ble umiddelbart plassert i varmeskap (Termaks serie 6000 cooling incubator 0 – 70 °C ± 0,3 °C (Heigar, Oslo) med bevegelse for inkubering ved 37° C i tre døgn. Temperaturen på varmeskapet ble i ettertid kontrollert med et termometer kalibrert av Norsk Akkreditering. Dette viste 37,4 °C. Prosedyren fra NIOM godtok ± 0,5 °C.

Etter inkubering ble metall legeringen tatt ut med en pinsett av polyamid (VWR International, Oslo, Norge) som ble dyppet i 10 % (v/v) HNO₃ og deretter ionefritt vann mellom hver ny legering. Prøverørene ble veid før og etter at legeringene ble tatt ut. I tillegg ble bare legeringene veid etter å ha blitt tørket rene. Analysevekt Sartorius A210S (VWR International, Oslo, Norge) ble brukt. Dette ble gjort for å undersøke om noe av cellekulturmediet som ble hengende igjen på legeringene kunne gi fortynningsfeil av løsningene. Ekstraktene ble tilsatt 4.76 % (v/v) HNO₃ (sub boiled ultrapure¹) med

¹ Renset HNO₃ p.a med Milestone sunPUR destilleringssystem, UMB

Finnpipette® Novus, elektronisk, 10 – 100 µL (VWR International, Oslo, Norge) direkte i de samme prøverørene. Rørene ble fraktet til Først Medisinsk Laboratorium og oppbevart i kjøleskap i en måned.

3.3 Reagenser

Tabell 3-2 og 3-3 viser henholdsvis kjemikalier og standarder som ble brukt i oppgaven.

Tabell 3-2: Kjemikalier

Kjemisk produktnavn	Kjemisk formel	Konsentrasjon (% m/m)	Kvalitet	Leverandør
Argon	Ar		> 99.999 %	Yara Praxair, Oslo, Norge
Ammoniakk	NH ₃		> 99.998 %	Yara Praxair, Oslo, Norge
Nitrogen	N		>99.999 %	Yara Praxair, Oslo, Norge
Salpetersyre	HNO ₃	65	Sub boiled ultrapure ¹	Merck Darmstadt, Tyskland / UMB
Salpetersyre	HNO ₃	65	Suprapur® ²	Merck Darmstadt, Tyskland
Saltsyre	HCl	30	Suprapur®	Merck Darmstadt, Tyskland
Minimal Essential Medium Eagle (MEM) cellekulturmedium			MEM with Earle's Salts without L-Glutamine, pH 7.0 - 7.5	PAA Laboratories GmbH, Pasching, Østerrike
Ionefritt vann	H ₂ O		> 18 MΩ	Millipore, Billerica, USA

¹Brukt i standarder.

²Brukt i vaskeløsninger.

Tabell 3-3: Standarder

Produktnavn	Grunnstoffer	Konsentrasjon	Matriks	Leverandør
ICP-MS-68B, solution A (multigrunnstoffstandard)	Al, Ba, Bi, Cd, Ce, Cr, Cu, Er, Gd, Ho, Fe, Pb, Lu, Mn, Ni, Na, Re, Sm, Se, Sr, Tl, Th, V, Y, Ar, Be, B, ca, Cs, Co, Dy, Eu, , Ga, In, La, Li, Mg, Nd, P. Pr, Rb, Sc, Na, Tb, Th, U, Yb, Zn	100 mg/L	HNO ₃ , 4 %	High-purity standards, Charleston, USA
ICP-MS-68B, solution B (multigrunnstoffstandard)	Sb, Ge, Ha, Mo, Nb, Si, Ag, Ta, Te, Sn, Ti, W, Zr	100 mg/L	HNO ₃ , 2 % + 1 dr HF	High-purity standards, Charleston, USA
ICP-MS-68B, solution C (multigrunnstoffstandard)	Ag, Ir, Os, Pd, Pl, Rh, Ru	100 mg/L	HNO ₃ , 2 % + 1 dr HCl	High-purity standards, Charleston, USA
Spectrascan (singlegrunnstoffstandarder)	Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Nb, Mo, Ru, Ag, In, Sn, W, Pt, Pd, Au, Ba, Tl	1000 mg/L	HNO ₃ , 2,5 %, HCl, 2,5 %	Teknolab AS, Drøbak, Norge
Kontrollstandard a (fra Spectrascan singlegrunnstoffstandarder)	Co, Cr, Ni, Cu, Zn, In, Fe, Ga, Mn	5 mg/L	HNO ₃ , 4 %	Teknolab AS, Drøbak, Norge/ Solfrid Lohne, UMB
Kontrollstandard b (fra Spectrascan singlegrunnstoffstandarder)	W, Mo, Nb, Ag, Sn,	5 mg/L	HNO ₃ , 2 % + 1 dr HF	Teknolab AS, Drøbak, Norge/ Solfrid Lohne, UMB
Kontrollstandard c (fra Spectrascan singlegrunnstoffstandarder)	Au, Pt, Ru	5 mg/L	HNO ₃ , 2 % + 1 dr HCl	Teknolab AS, Drøbak, Norge/ Solfrid Lohne, UMB
Kontrollstandard Pd (fra Spectrascan singlegrunnstoffstandarder)	Pd	5 mg/L	HNO ₃ , 2 % + 1 dr HCl	Teknolab AS, Drøbak, Norge/ Trude Sandvik, Fürst Medisinsk Laboratorium
PerkinElmer Pure Atomic Spectroscopy Standards (singlegrunnstoffstandarder)	Fe, Rh, Ag, Au	1000 mg/L	HNO ₃ , HCl	PerkinElmer Life and Analytical Science, Shelton, USA
Elan DRC Sensitivity Detection Limit Solution	Be, Co, In, U, Mg, Rh, Pb, Na, Fe, Ca, K, Ba	1 µg/L		PerkinElmer Life and Analytical Science, Shelton, USA
Dual detektor kalibrerings løsning	Lagd fra ICP-MS-68 A, B og C	200 µg/L	HNO ₃ , 2 %	High-purity standards, Charleston, USA/ KAJ, UMB

¹Fortynnet av Karl Andreas Jensen, UMB.

3.4 Analyseprosedyre

Tillaging av prøveløsninger og analysering på ICP-MS, ble utført ved Først Medisinsk Laboratorium.

Volumetrisk utstyr for tillaging av standardløsninger, oppbevaring/tillaging av konsentrert HNO₃, 2 % HNO₃ og vaskeløsninger:

- 50 mL målekolbe glass, klasse A, Brand, Duran® (VWR International, Oslo, Norge).
- 500 mL målekolber PP, klasse B, Brand, Duran® (VWR International, Oslo, Norge).
- 1 L flaske FEB, Nalgene (VWR International, Oslo, Norge) (konsentrert HNO₃ (sub boiled ultrapure)).
- 1 L flaske PP, Nalgene (2 % HNO₃) (VWR International, Oslo, Norge).

3.4.1 Forarbeid

Vaskeprosedyre av plast/glassutstyr:

Alt plast- og glassutstyr ble fylt og oppbevart minimum 24 timer med 5 % (v/v) HNO₃, Suprapur®, og deretter skylt med rikelig mengde ionefritt vann.

Vaskeprosedyre av instrument:

Ettersom ICP-MS instrumentet ble brukt daglig til rutineanalysing av blod, serum og urin, ble det skiftet til rene koner, ren injektor og rene slanger til introduksjonssystemet og ren prøveprobe hver gang det ble foretatt analysing i forbindelse med denne oppgaven. De samme delene ble brukt om igjen ved senere analyser. Spraykammeret ble skylt med konsentrert HNO₃, Suprapur®, etterfulgt av rikelig mengde ionefritt vann før hver analysing. For å vaske forstøver ble prøveproben satt til å aspirere 5 % (v/v) HNO₃ Suprapur® i fem minutter etterfulgt av fem minutter i ionefritt vann før analysing. Ionelinse ble vasket før første analysing med 2,5 % (v/v) HNO₃ Suprapur® i fem minutter i ultralydbad etterfulgt av skylling i ionefritt vann og Metanol Puriss (Merck).

Tillaging av vaskeløsninger:

Vaskeflaskene tilhørende prøveveksler ble skylt med henholdsvis 10 % (v/v) konge vann (3 deler HCl Suprapur® og en del HNO₃ Suprapur®) og 5 % (v/v) HNO₃ Suprapur®, etterfulgt av rikelige mengder ionefritt vann. Flaskene ble deretter fylt opp igjen med 10 % (v/v) konge vann og 5 % (v/v) HNO₃ Suprapur®. To 50 ml sentrifugerør ble fylt med henholdsvis 5 % (v/v) HNO₃ Suprapur® og ionefritt vann og satt på definerte plasser på prøvevekslerack.

Tillaging av standarder, internstandarder, kontrollstandarder, interferensløsning:

Bruksløsninger av standarder og kontrollstandard ble lagd som beskrevet i tabell 3-4. Det ble lagd egne standarder for Ag og Au fra utgangsstandard PerkinElmer Pure Atomic Spectroscopy Standard før hver analysering. Dette fordi det var mistanke om at disse standardene ikke var stabile i løsning (Jensen 2009).

Det ble lagd en interferensløsning med Mo, Ru og Ba. Dette fordi følgende interferenser er kjente og stabile og kan korrigeres for: MoO⁺ og RuO⁺ på Cd⁺. RuO⁺ på Ba⁺ og Ba⁺⁺ på Ga og Zn. (May & Wiedmeyer 1998). Interferensløsningen ble analysert først i serien, slik at bidraget fra disse på Cd, Ba, Ga og Zn kunne beregnes i etterkant.

Ellers ble alle løsningene fortynnet som vist i tabell 3-4.

Tabell 3-4: Tillaging av bruksløsninger av standarder, internstandarder, interferensløsning og kontrollstandard.

Utgangsløsning	Utgangs-konsentrasjon	Fortynning	Bruksløsning
Kalibreringsstandard multigrunnstoff (A+B+C)	100 mg/L	500 µL opp til 50 mL, 2 % (v/v) HNO ₃	1 mg/L
Kalibreingsstandard Ag	1000 mg/L	500 µL opp til 500 mL, 2 % (v/v) HNO ₃	1 mg/L
Kalibreingsstandard Au	1000 mg/L	500 µL opp til 500 mL, 2 % (v/v) HNO ₃	1 mg/L
Internstandard (Rh, Tl)	1000 mg/L	500 µL opp til 500 mL, 2 % (v/v) HNO ₃	1 mg/L
Interferensløsning (Mo, Ba, Ru)	1000 mg/L	5 mL Mo, 2.5 mL Ru, Ba opp til 500 mL 2 % (v/v) HNO ₃ 10 mL opp til 50 mL, 2 % (v/v) HNO ₃	10 mg/L Mo, 5 mg/L Ru, Ba ¹
Kontrollstandard (a+b+c)	5 mg/L	500 µL opp til 50 mL, 2 % (v/v) HNO ₃	1 mg/L

Før avpipettering ble alle løsninger helt opp i 50 ml sentrifugerør, PP, Greiner bio-one (VWR International, Oslo, Norge).

Rett før analysering ble 2 % (v/v) HNO₃ (sub boiled ultrapure) lagd i en plastflaske. MEM cellekulturmedium ble tilsatt 4.76 % (v/v) HNO₃ (sub boiled ultrapure), for å få samme syrekonsentrasjon som prøvene. Deretter ble blindprøve, standarder, interferensløsning og prøver fortynnet med Finnpiquette® Novus elektronisk, 100 – 1000 µL og Eppendorf Research® pro elektronisk, 100 – 5000 µL (VWR International, Oslo, Norge) direkte i prøvevekslerrør (15 ml test rør med spiss bunn, PP, Greiner bio-one (VWR International, Oslo, Norge)) på følgende måte:

- 500 µL MEM/prøve med 4.76 % (v/v) HNO₃ (sub boiled ultrapure).
- 200 µL internstandard/standard/interferensløsning, 100 µL kontrollstandard.
- Fylt opp til 10 mL med 2 % (v/v) HNO₃ (sub boiled ultrapure).

Prøver og standarder ble dermed fortynnet 20 ganger. Standarder ble tillagt en konsentrasjon på 20 µg/L, mens kontrollstandard ble tillagt en konsentrasjon på 10 µg/L etter fortynning. Ettersom multigrunnstoffstandard inneholdt internstandardene som ble brukt, ble internstandarder tilsatt i samme konsentrasjon som standard til alle prøver bortsett fra multigrunnstoffstandard. På den måten ble det lik konsentrasjon av internstandard i prøver og i multigrunnstoffstandard.

Optimalisering av instrument:

For å kondisjonere/rene reaksjonscellen på instrumentet før bruk, ble det introdusert NH₃ med en hastighet på 0,9 mL/min, mens plasma ble stabilisert i 40 minutter. Deretter ble det utført en dual detektor kalibrering med en løsning på 200 µg/L av alle grunnstoffene i ICP-MS-68B, solution A, B og C fra High-purity standards (se tabell 3-2). Dual detektor kalibrering gjøres for å utvide måleområdet til detektoren slik at den kan måle både lave og høye tellinger samtidig.

Instrumentet ble så optimalisert med en daglig test løsning (Elan DRC Sensitivity Detection Limit Solution). Først ble forstøvergasshastigheten optimalisert for å oppnå best mulig følsomhet. Forstøvergasshastigheten påvirker også dannelsen av oksider og dobbeltladede

ioner i plasma. Oksider og dobbeltladede ioner er mulige interferenter, og fortøvergasshastigheten ble optimalisert slik at $\text{CeO/Ce} < 3 \%$ og $\text{Ba}^{++}/\text{Ba} < 3 \%$, samtidig som følsomheten på In var høyest mulig. Deretter ble det utført en autolinsekalibrering på grunnstoffene Be, Co, In og Pb for å få beste spenning over hele masseområdet. Til slutt ble det utført en daglig ytelses test for å sjekke at følsomheten. Kriteriene for videre analysering var at følsomheten på Mg var > 6000 cps, følsomheten på In var > 30000 cps og følsomheten på U var > 20000 cps. Samtidig skulle CeO/Ce være mindre enn 3% og Ba^{++}/Ba være mindre enn 3% . Ce er det grunnstoffet som lettest danner oksider, mens Ba er det stoffet som lettest danner dobbeltladede ioner. Derfor vil alle andre oksider og dobbeltladede ioner være $< 3 \%$.

Total QuantTM analyse:

Ettersom de odontologiske legeringene inneholdt mange forskjellige metaller og det også kunne forekomme forurensninger av legeringene, ble det i utgangspunktet valgt å bestemme så mange metaller som mulig. Det var ikke ønskelig å bestemme konsentrasjonen av metaller som allerede fantes i høy konsentrasjon i matriks (cellekulturmediet). For å gjøre en rask vurdering av matriks, ble "TotalQuantTM" analyse av MEM cellokulturmedium benyttet. Dette er en semikvantitativ metode for bestemmelse av grunnstoffer i ukjent medium. Denne metoden ble benyttet for å se på sammensetningen av de ulike grunnstoffene i mediet: Hvilke grunnstoffer som forekom i målbar konsentrasjon, konsentrasjonsområde for grunnstoffer av interesse, interfererende molekyl ioner (polyatomiske interferenser) og masser hvor det ikke forekom noen grunnstoffer (dette er masser hvor eventuelle internstandarder kan defineres). Ved å bruke informasjon fra en TotalQuantTM analyse, kan man altså bestemme hvilke(n) isotop(er) som bør velges for å unngå potensielle interferensproblemer og de beste masseområdene for internstandard(er).

3.4.2 Metodeutvikling

Vurdering av løselighet/utfelling/pH:

Ettersom matriks inneholdt relativt høye konsentrasjoner av klor, karbon, svovel og forfor, kunne det dannes klorider, karbonater, sulfater og fosfater som kunne felle ut. Det ble valgt å

fortynne prøvene 20 ganger for blant annet å senke konsentrasjonen av matrikskomponentene. I tillegg ble det valgt å utføre et gjenfinningsforsøk (beskrevet under metodevalidering), for eventuelt å se om noen grunnstoffer gikk tapt med en gang eller under henstand.

Det ble valgt å tilsette HNO₃ til en konsentrasjon på ca 5 % (v/v) i alle prøvene. Hensikten med dette var å stabilisere grunnstoffene i løsningen.

Kalibreringsprosedyre:

Ekstern kalibrering med en standard og en metodeblind ble valgt som kalibreringsmetode. Matriks (MEM cellekulturmedium) ble brukt som metodeblind, mens standarden ble tilsatt samme mengde matriks som prøvene.

Valg av internstandard:

Det ble ikke gjort noen undersøkelse på hvilke internstandarder som var best egnet i denne metoden. For enkelhets skyld, ble kun to internstandarder valgt. ¹⁰³Rh ble valgt på de lave til middels høye massene, mens ²⁰⁵Tl ble valgt på de høye massene. In, som egner seg bra som internstandard (Jensen 2009), ble utelatt fordi en av legeringene inneholdt In.

Interferenser og valg av isotop:

Det ble først valgt å analysere to isotoper, hvis mulig, av alle grunnstoffene. Det var ønskelig å bruke isotoper med høyest forekomst for å få best mulig respons. Hver enkelt isotop ble vurdert i forhold til interferenser (May & Wiedmeyer 1998), og isotoper med alvorlige polyatomiske interferenser ble utelatt. Grunnstoffer med isobare overlapp ble ikke valgt, hvis det var mulig å velge en annen isotop.

Prøve spesifikk matrikseffekt og spektral interferens fra matriks ble korrigert for ved bruk av matriks matching av standard ved ekstern kalibrering og bruk av internstandard. Matriks (MEM cellekulturmedium) ble også brukt som metodeblindprøve.

Hvis det var mulig, ble det valgt å bruke en metode i standard mode. Hvis det viste seg at bakgrunnssignalet var veldig høyt og signal/støyforholdet ble for lavt i standard mode, ble det lagd en metode i DRC mode.

Optimalisering av DRC mode parametre:

Det ble valgt å analysere Fe og Cr i DRC mode med ammoniakk som reaksjonsgass.

Reaksjonsgassflyten og RPq verdi ble optimalisert i henhold til prosedyre i Elan Version 3.0

Software guide og følgende løsninger ble brukt:

- Blank: MEM cellekulturmedium fortynnet 1:20 med 2 % (v/v) HNO₃ i ionefritt vann.
- Standard: Blank ”spiket” med 1 µg/L multigrunnstoffstandard i 2 % (v/v) HNO₃.

I første omgang ble maksimalt antall metaller analysert, for å kunne avdekke eventuelle forurensninger av legeringene. Alle grunnstoffer som er egnet for bestemmelse med ICP-MS og som hadde en konsentrasjon på < 0,1 µg/L fra TotalQuant™ analyse av MEM cellekulturmedium, ble bestemt. Det ble ikke funnet målbare konsentrasjoner av noen andre grunnstoffer enn de som produsenten har oppgitt i legeringene. Det er derfor kun de oppgitte metallene som er presentert i resultatdelen. Ti ble ikke bestemt, siden Ti er meget biokompatibelt (Craig & Hanks 1990) og var dermed ikke viktig i å bestemme i denne undersøkelsen (Holm 2010). Ir, Ce, Ta, Ru, Al, Li og B som også er oppgitt i noen av legeringene blir heller ikke presentert i resultatdelen, siden ingen av disse metallene ble funnet i målbar konsentrasjon i noen av legeringene.

3.4.3 Metodevalidering

Linearitet:

For å vise at analysemetoden på ICP-MS var lineær i et tilstrekkelig måleområde, ble det utført et linearitetsforsøk (Tønseth & Døhl 1996).

Det ble lagd fem standarder på 1, 5, 10, 20 og 40 µg/L (ferdig fortynnet 20 ganger).

Standardene ble matriksmatchet på samme måte som kalibreringsstandardene som ble brukt i analyse av prøvene.

Deteksjonsgrenser (DL) og kvantifiseringsgrense (QL):

DL og QL ble beregnet etter analyse av blindprøver (teflonbiter), totalt 12 stk (Miller & Miller 2005).

$$DL = 3 * s_b$$

$$QL = 10 * s_b$$

Hvor s_b er standard avvik av konsentrasjon ($\mu\text{g/L}$) av målinger av prøveblank beskrevet over.

Resultater mindre enn QL ble utgitt som $< QL$

Nøyaktighet:

Gjenfinningsforsøk:

Seks replikater i to nivåer av cellekulturmediet ble ”spiket” med vandige sertifiserte standarder (brukt kontrollstandard som inneholder standarder fra en annen leverandør enn kalibreringsstandardene) og analysert tre ganger på tre forskjellige dager. Totalt 18 målinger. Spikingen ble gjort for å sjekke om noen stoffer gikk tapt umiddelbart eller under henstand. De tre første parallellene ble analysert samme dag som de ble lagd, de tre neste ble analysert dag to, mens de tre siste parallellene ble analysert etter en måneds henstand. En måned ble valgt fordi det er den tiden prøvene ble stående før analyse. Gjenfinning ble beregnet ut fra følgende formel (Tønseth & Døhl 1996):

$$\text{”Gjenfinning” (\%)} = (C_M / C_{\text{spike}}) * 100 \%$$

C_M er målt konsentrasjon i spiket løsning

C_{spike} er tilsatt konsentrasjon i spiket løsning

Sammenlignende laboratorieprøvinger (SLP):

Sertifisert referansemateriale med matriks av cellekulturmedium var ikke tilgjengelig. Nøyaktigheten ble derfor kontrollert ved å sende tre prøver til fire andre laboratorier for sammenligning (Gjengedal 2010). På grunn av lite prøvemengde, ble prøver med flere paralleller slått sammen.

Presisjon:

Repeterbarhet ble beregnet ut fra prøveparallellene. Noen paralleller er utelatt på grunnlag av Dixons test for uteliggere (vedlegg C (Miller & Miller 2005)).

Analytisk variasjon ble beregnet ut fra gjenfinningsforsøk. Repeterbarhet av prøveparallellene (seks stk), og reproduserbarhet fra de tre analysedagene (tre stk) (Rustad 2008).

3.4.4 Analyse av utlekking av metaller fra de odontologiske legeringene på ICP-MS

Legeringene ble preparert i henhold til vedlegg A av Charlotta Holm ved NIOM i to omganger. Noen ble preparert i september 2009 og noen i oktober 2009. Prøveløsningene forekom i to til seks paralleller avhengig av tilgjengelig materiale. Ettersom det var 18 forskjellige legeringer, 12 blindprøver (seks fra september og seks fra oktober) ble totalt antall prøver 96 (se vedlegg A og B). Alle prøvene ble analysert i to serier (to kalibreringer) på ICP-MS. Alle prøvene ble først analysert i standard mode (alle stoffene) og deretter i DRC mode (bare Cr og Fe). For å unngå eventuell overdraging mellom prøvene, ble det valgt å analysere 5 % (v/v) HNO₃ etterfulgt av rensset vann som prøver mellom hver type legering (for å få vasket forstøver og spraykammer). Det var i tillegg 30 sekunders vasking med 10 % (v/v) kongevann og 30 sekunders vasking med 5 % (v/v) HNO₃ mellom alle prøvene (bare vask av prøveprobe). Kontrollstandard på 10 µg/L ferdig fortynnet ble analysert rett etter kalibrering for en sjekk på kalibreringskurve. Et avvik på inntil 10 % på kontrollstandard ble godtatt. Kontrollstandard var opptil 70 % for lav på Ag, men ellers var den < 10 % på alle de andre stoffene. Dette viste også at Ag ikke var stabil i kontrollstandard som ble lagd av Solfrid Lohne ved UMB. Samme standard som ble brukt til kalibrering ble analysert for cirka hver 30 prøve for å sjekke eventuell drift i serien. Et avvik på inntil ± 10 % ble godtatt. Ingen

av standardene hadde avvik $> 10\%$ på noen av stoffene under analyseringen. Det ble ikke gjort noen korleksjon på grunnlag av interferensløsningen som ble analysert først i serien. Dette fordi Cd og Ba var under kvantifiseringsgrensen på alle legeringene. Ettersom Ba ikke ble kvantifisert, var det heller ikke noe bidrag fra Ba^{++} på Ga og Zn.

4 Resultater og Diskusjon

De ulike valideringsparametre, nøyaktighet, presisjon, linearitet, deteksjons- og kvantifiseringsgrenser, er forklart i Eksperimentelt, kapittel 3. Resultatene fra valideringsanalysene er presentert i kapittel 4.1. Resultater fra analysering av de odontologiske legeringene er presentert i kapittel 4.2.

4.1 Metodevalidering

4.1.1 Foranalyse - TotalQuant™

TotalQuant™ analyse av MEM cellekulturmedium (fortynnet 20 ganger) viste relativt høye konsentrasjoner av magnesium (Mg), karbon (C) og klor (Cl) (1200 - 40 000 µg/L). Natrium (Na) var enda høyere og utenfor måleområde. Grunnstoffene svovel (S), kalsium (Ca) og kalium (K) viste konsentrasjoner på 14 – 65 µg/L. Det var uansett ikke aktuelt å bestemme noen av disse stoffene, ettersom ICP-MS er en metode som egner seg dårlig eller egner seg ikke til dette formålet. Alle andre grunnstoffer hadde en konsentrasjon på < 0,1 µg/L, bortsett fra Si som hadde en konsentrasjon på >1 µg/L. Si ble utelatt i denne oppgaven. Vedlegg D viser resultater fra TotalQuant™ analyse.

4.1.2 Linearitet

Vedlegg E viser kalibreringskurver for de grunnstoffene og de isotopene som er presentert i resultatene. Konsentrasjonsområde 1 til 40 µg/L (ferdig fortynnet 20 ganger) ble vurdert.

En korrelasjonskoeffisient, $r > 0,985$ (Tønseth & Døhl 1996) ble vurdert til å være tilfredsstillende. Tabell 4-1 viser regresjonslinje og korrelasjonskoeffisient (r) for de ulike grunnstoffene. Alle stoffene viste bra linearitet i konsentrasjonsområde 1 – 40 µg/L (ferdig fortynnet). Ved en 20 ganger fortynning, var man sikret linearitet på standardkurve opp til en konsentrasjon på 800 µg/L på prøvene. Resultater over 800 µg/L måtte utgis som > 800 µg/L. Bruk av en standard med konsentrasjon på 20 µg/L (ferdig fortynnet) ble derfor vurdert til å

være tilfredsstillende for analyse av de odontologiske legeringene. På grunn av den høye deteksjonsgrensen på Fe, ble det valgt en standard på 40 µg/L (ferdig fortynnet) på Fe.

Tabell 4-1: Oppnådd regresjonsligning og korrelasjonskoeffisient ved analyse av fem standarder med konsentrasjoner 1, 5, 10, 20 og 40 µg/L.

Analytt	Regresjonsligning: $Y = b(X + a/b)$	r
Cr	$Y = 4149(X + 0,066)$	0,999
Mn	$Y = 18673(X + 0,408)$	0,999
Fe	$Y = 154,1(X + 2,615)$	0,998
Co	$Y = 14810(X + 2,855)$	0,999
Ni	$Y = 3103(X + 0,324)$	0,999
Cu	$Y = 3286(X + 0,400)$	0,999
Zn	$Y = 1756(X + 0,433)$	0,999
Ga	$Y = 12834(X + 0,330)$	0,999
Nb	$Y = 25915(X + 0,111)$	1,000 ¹
Mo	$Y = 3981(X + 0,145)$	0,999
Pd	$Y = 5621(X + 0,542)$	0,999
Ag	$Y = 5938(X - 0,770)$	0,997
In	$Y = 28400(X + 0,131)$	1,000 ¹
Sn	$Y = 9743(X + 0,132)$	1,000 ¹
W	$Y = 9261(X + 0,175)$	0,999
Pt	$Y = 5692(X + 0,124)$	1,000 ¹
Au	$Y = 6995(X + 1,122)$	0,999

¹Det er valgt å presentere tre desimaler på korrelasjonskoeffisienten. Derfor blir korrelasjonskoeffisientene avrundet til 1,000.

4.1.3 Deteksjons- og kvantifiseringsgrenser

Tabell 4-2 viser de oppnådde verdiene på deteksjonsgrense (DL) og kvantifiseringsgrense (QL). Deteksjonsgrense og kvantifiseringsgrense er beregnet ut fra analyse av 11 (12 på Cr og Fe) prøveblindparalleller (teflonbiter) analysert etter hverandre i en serie.

Tabell 4-2: Oppnådd deteksjonsgrense (DL) og kvantifiseringsgrense (QL) etter analyse av 11 (12 på Cr og Fe) prøveblindparalleller (teflonbiter).

Analytt	Standardavvik _{prøveblind}	DL	QL
	µg/L	µg/L	µg/L
Cr	0,1	0,3	1
Mn	0,3	1	3
Fe	20	50	160
Co	0,05	0,1	0,5
Ni	1	3	10
Cu	3	9	29
Zn	0,8	2	8
Ga	0,03	0,08	0,25
Nb	0,007	0,02	0,06
Mo	0,05	0,1	0,5
Pd	0,050	0,15	0,50
Ag	0,2	0,5	2
In	0,008	0,03	0,08
Sn	0,01	0,04	0,1
W	0,1	0,3	1
Pt	0,01	0,03	0,1
Au	1	3	10

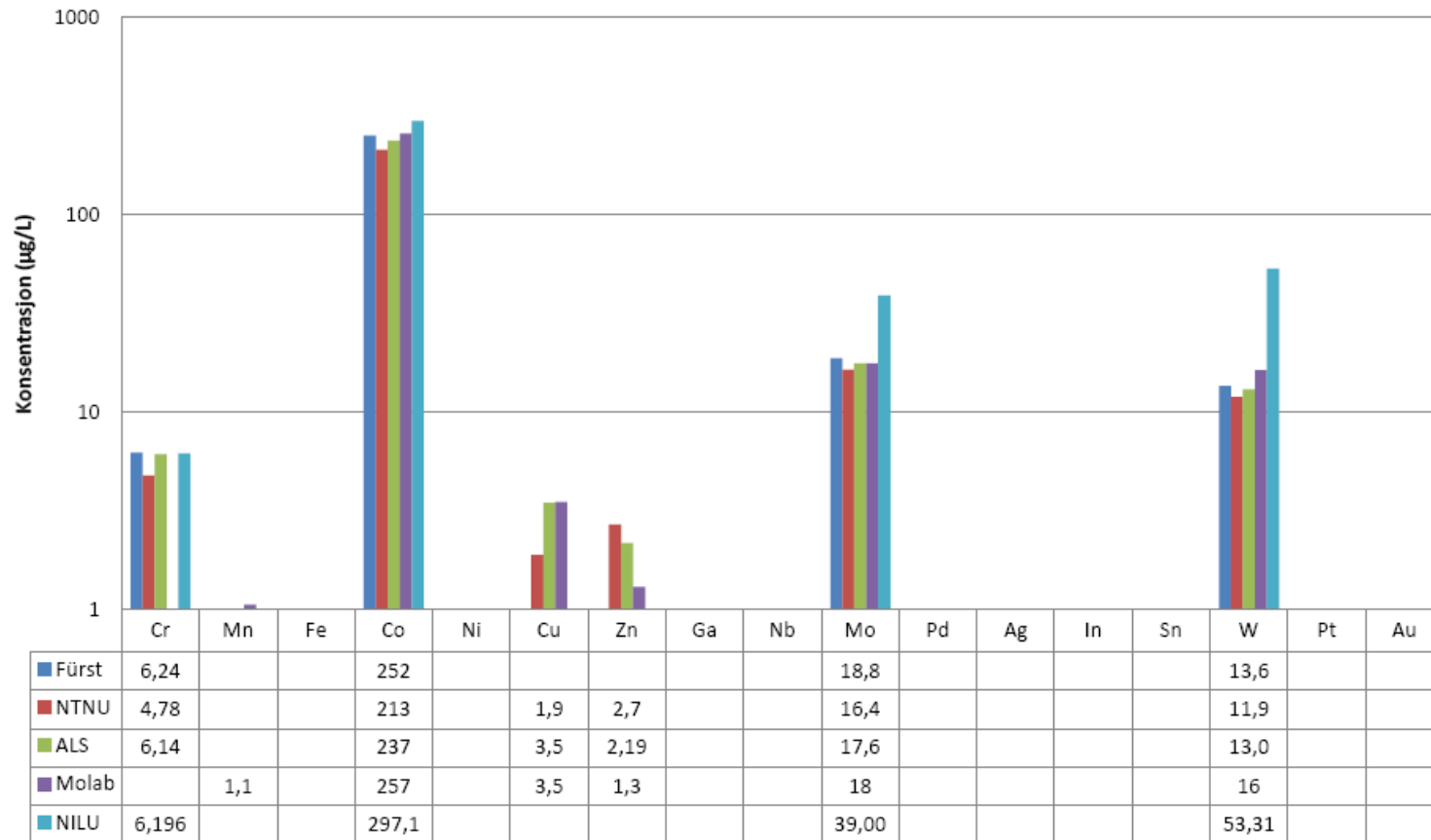
4.1.4 Nøyaktighet

Sammenlignende laboratorieprøving (SLP):

De fire laboratoriene som deltok i den sammenlignende laboratorieprøvingen, i tillegg til Først Medisinsk Laboratorium hvor denne oppgaven ble utført, var Norges teknisk - naturvitenskapelige universitet (NTNU), Institutt for kjemi, Trondheim , ALS Laboratory Group, Luleå, Molab Porsgrunn og Norsk institutt for luftforskning (NILU), Kjeller.

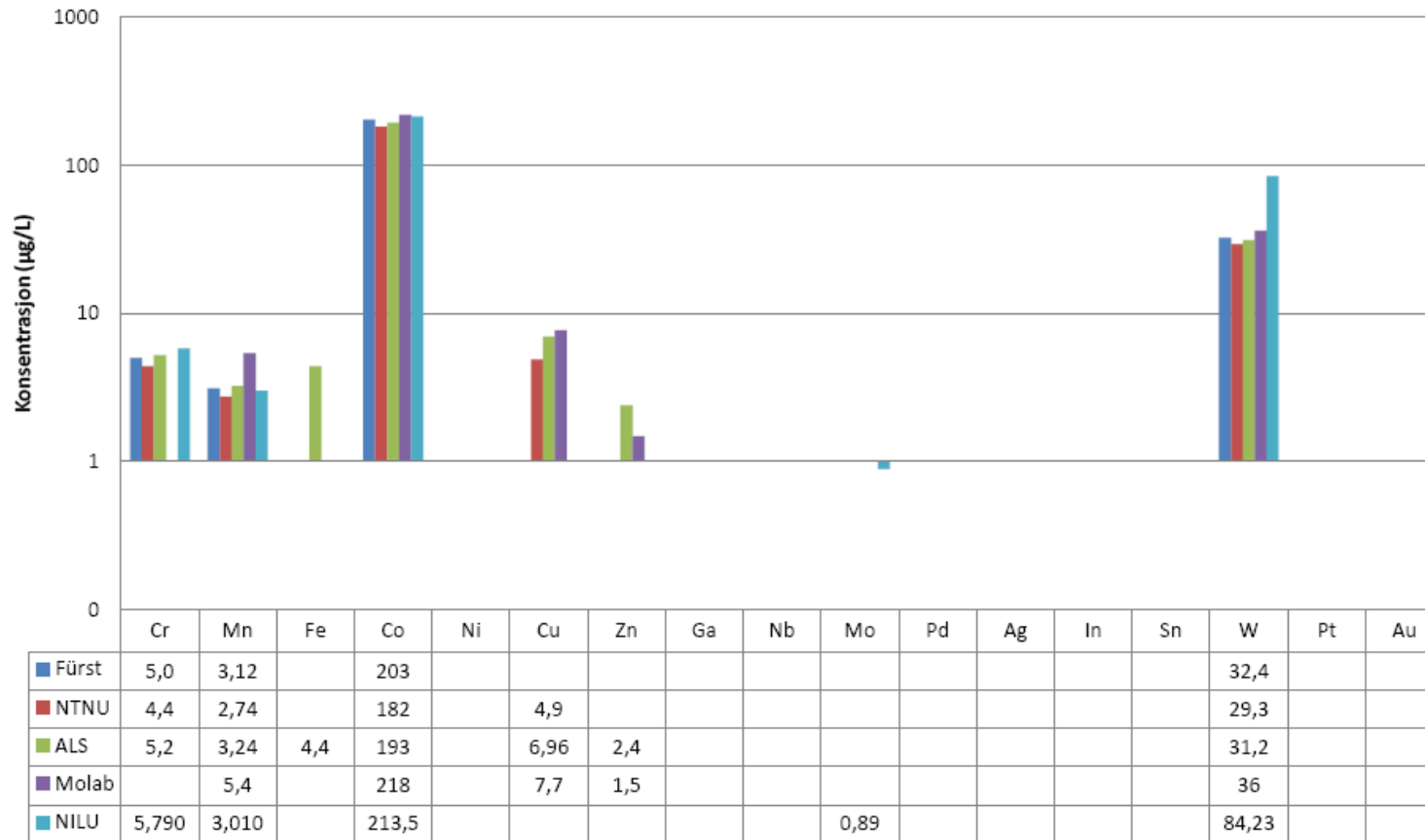
Figur 4-1, 4-2 og 4-3 viser resultater fra analysering av tre forskjellige prøver på de fem forskjellige laboratoriene som deltok.

Prøve 1



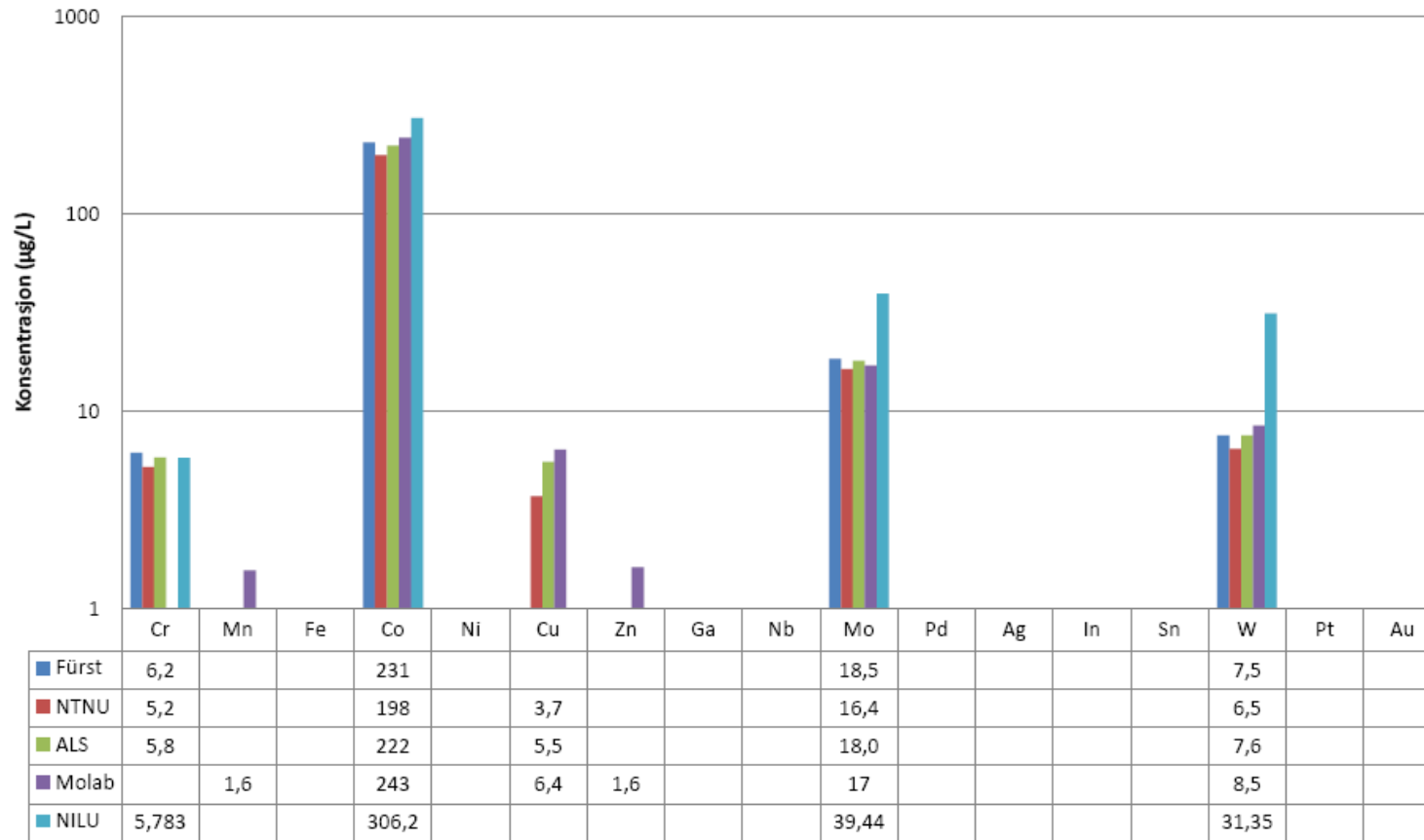
Figur 4-1: Resultater fra analysering av prøve 1 utsendt til de fire forskjellige laboratoriene i den sammenlignende laboratorieprøvingen. Fürst er metoden som er lagd i denne oppgaven. Åpne ruter betyr at resultatet fra bestemmelse av den aktuelle analytten er under laboratoriets kvantifiseringsgrense.

Prøve 2



Figur 4-2: Resultater fra analysering av prøve 2 utsendt til de fire forskjellige laboratoriene i den sammenlignende laboratorieprøvingen. FÜRST er metoden som er lagd i denne oppgaven. Åpne ruter betyr at resultatet fra bestemmelse av den aktuelle analytten er under laboratoriets kvantifiseringsgrense.

Prøve 3

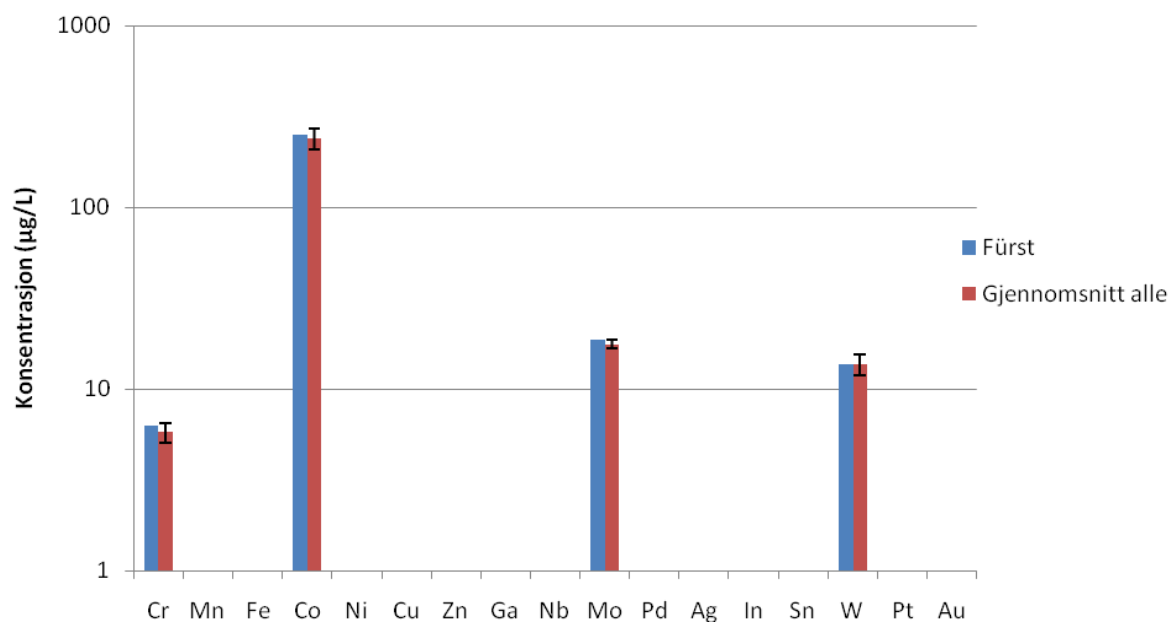


Figur 4-3: Resultater fra analysering av prøve 3 utsendt til de fire forskjellige laboratoriene i den sammenlignende laboratorieprøvingen. FÜRST er metoden som er lagd i denne oppgaven. Åpne ruter betyr at resultatet fra bestemmelse av den aktuelle analytten er under laboratoriets kvantifiseringsgrense.

Analysering av prøve 1, 2 og 3 i den sammenlignende laboratorieprøvingen på de fem forskjellige laboratoriene viste god overensstemmelse med noen unntak. Metoden som ble utviklet i denne oppgaven hadde en deteksjonsgrense på Cu på 9 µg/L. Kobber i de tre prøvene ble målt til henholdsvis 3,2, 6,7 og 5,3 µg/L. Dette samsvarte bra med de andre laboratoriene, men resultatene ble ikke oppgitt i figurene, da de lå under deteksjons- og kvantifiseringsgrensen for Cu. Det var bare ALS som hadde lav nok kvantifiseringsgrense på Fe til å kunne kvantifisere innhold av Fe i prøve 2. ALS, NTNU og Molab målte lavt innhold av Zn, men dette skyldtes sannsynligvis kontaminering av prøvene. Molab fant ikke målbar konsentrasjon av Cr i noen av prøvene. Dette skyldtes sannsynligvis at Molab benyttet TotalQuant™ analyse, som ikke var tilstrekkelig godt nok for analyse av Cr i denne matriksen. Molab var også den eneste som målte lavt innhold av Mn i prøve 1 og 3, mens de lå noe høyere på Mn enn de andre i prøve 2. Det ble benyttet Dixons test for uteliggere (vedlegg C) på Mn i prøve 2, og Molabs resultat ble på grunnlag av denne testen utelatt. NILU målte noe høyere konsentrasjoner av Mo og W på alle tre prøvene. På grunnlag av Dixons test for uteliggere ble Mo og W utelatt i prøve 1 og 3, mens W ble utelatt i prøve 2.

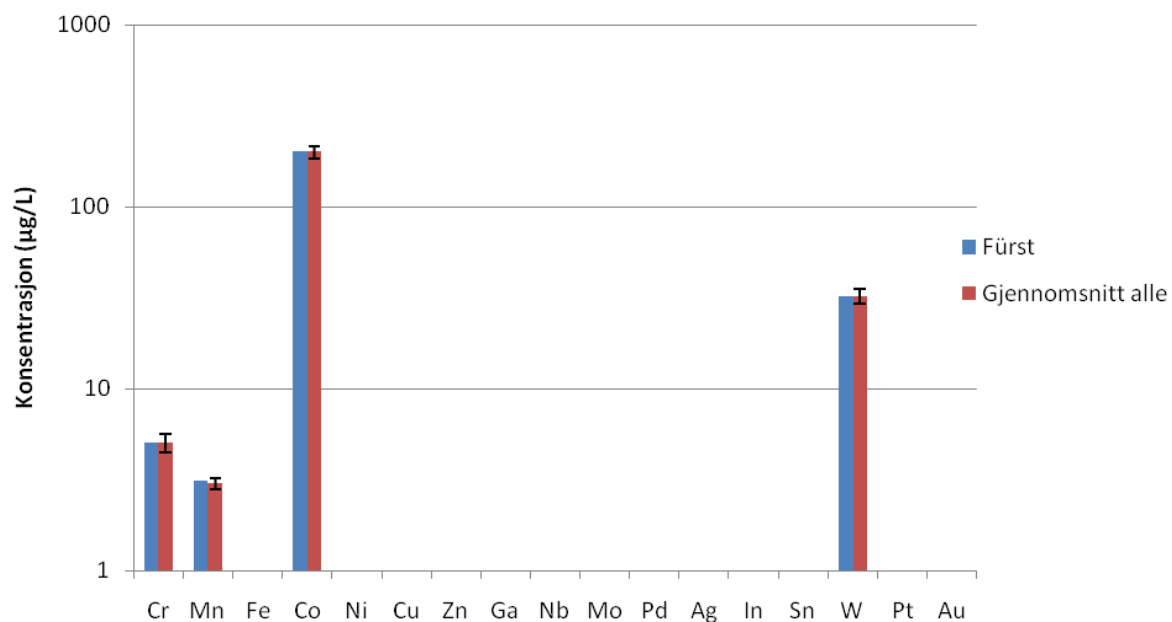
Etter at uteliggere var fjernet, ble det beregnet gjennomsnitt av resultatene fra alle fem laboratoriene. Sink og kobber ble utelatt, da ingen av analyttene skulle forekomme i noen av prøvene og det dermed sannsynligvis var kontaminering. Jern ble også utelatt, da dette bare skulle finnes i veldig lav konsentrasjon i prøve 2, og det bare var ALS som kunne kvantifisere Fe. Figur 4-4, 4-5 og 4-6 viser resultater fra den utviklede metoden i denne oppgaven sammenlignet med gjennomsnitt av de deltagende laboratoriene i den sammenlignende laboratorieprøvingen på prøve 1, 2 og 3. Uteliggerne er ikke tatt med i beregningen av gjennomsnitt.

Prøve 1



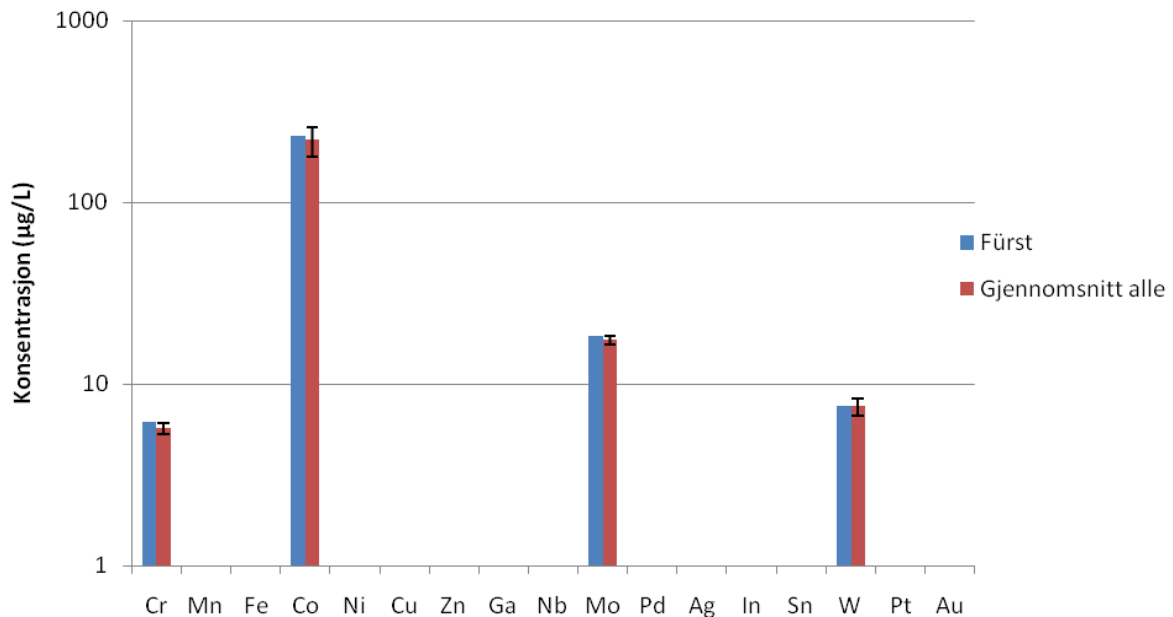
Figur 4-4: Den utviklede metoden (Füst) sammenlignet med gjennomsnitt av de deltagende laboratoriene i den sammenlignende laboratorieprøvingen på prøve 1. Gjennomsnittet er uttrykt med \pm ett standardavvik.

Prøve 2



Figur 4-5: Den utviklede metoden (Füst) sammenlignet med gjennomsnitt av de deltagende laboratoriene i den sammenlignende laboratorieprøvingen på prøve 2. Gjennomsnittet er uttrykt med \pm ett standardavvik.

Prøve 3



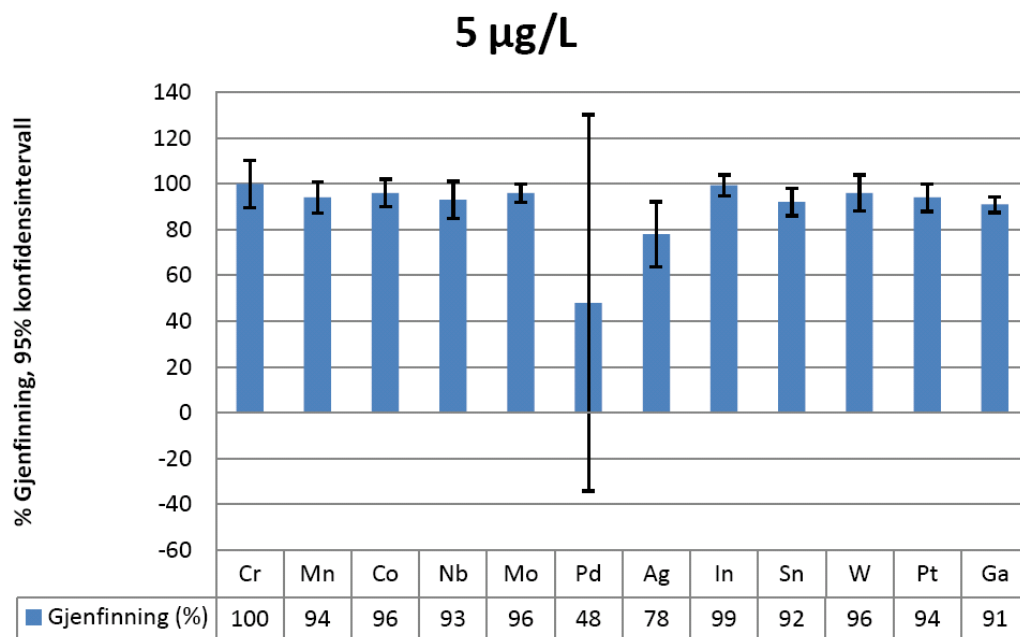
Figur 4-6: Den utviklede metoden (Fürst) sammenlignet med gjennomsnitt av de deltagende laboratoriene i den sammenlignende laboratorieprøvingen på prøve 3. Gjennomsnittet er uttrykt med \pm ett standardavvik.

Figur 4-4, 4-5 og 4-6 viser at den utviklede metoden samsvarte godt med de andre deltagende laboratoriene i den sammenlignende laboratorieprøvingen. Dette viste at metodens nøyaktighet var tilfredsstillende for grunnstoffene Cr, Mn, Co, Mo og W. Metoden hadde ikke tilfredsstillende kvantifiseringsgrenser på Fe, Zn og Cu til å kunne gi en kvantitativ sammenligning med de andre laboratoriene på de tre prøvene som ble analysert. De andre grunnstoffene som ble bestemt ble ikke funnet i målbar konsentrasjon hos noen av laboratoriene.

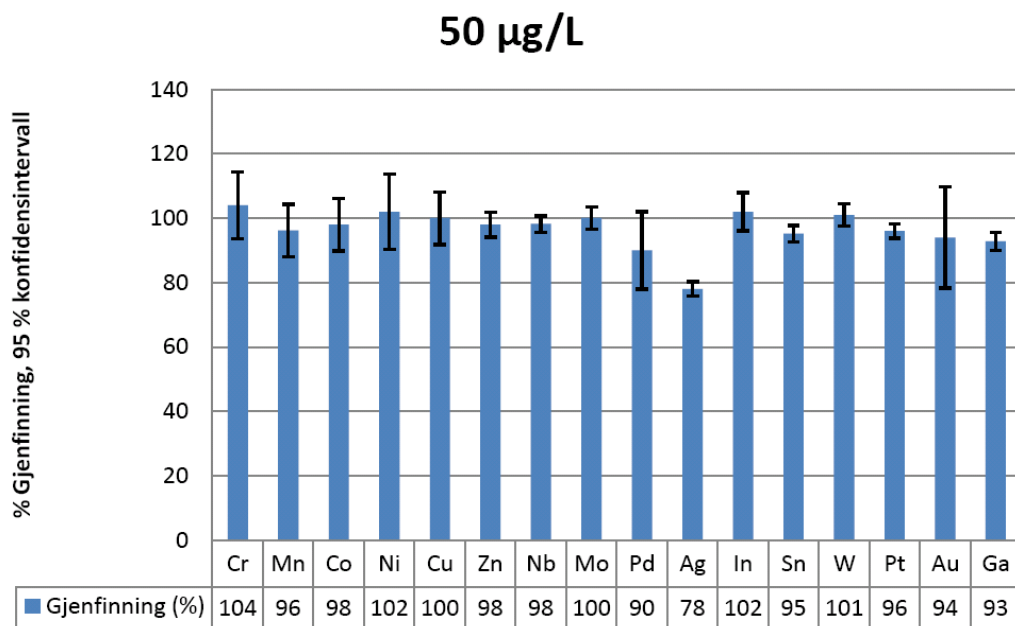
Gjenfinning:

Figur 4-7, 4-8 og 4-9 viser % gjenfinning med 95 % konfidensintervall fra analysering av ”spiket” MEM cellekulturmedium ved tre nivåer. Resultatene er basert på middelverdi fra analyse av seks prøveparalleller over tre forskjellige dager (totalt 18 målinger). Dag en og dag to er samme dag og påfølgende dag som prøvene ble preparert. Dag tre er analysert etter en måneds henstand av prøvene (samme oppbevaring som de reelle prøvene). Grunnstoffene Ni,

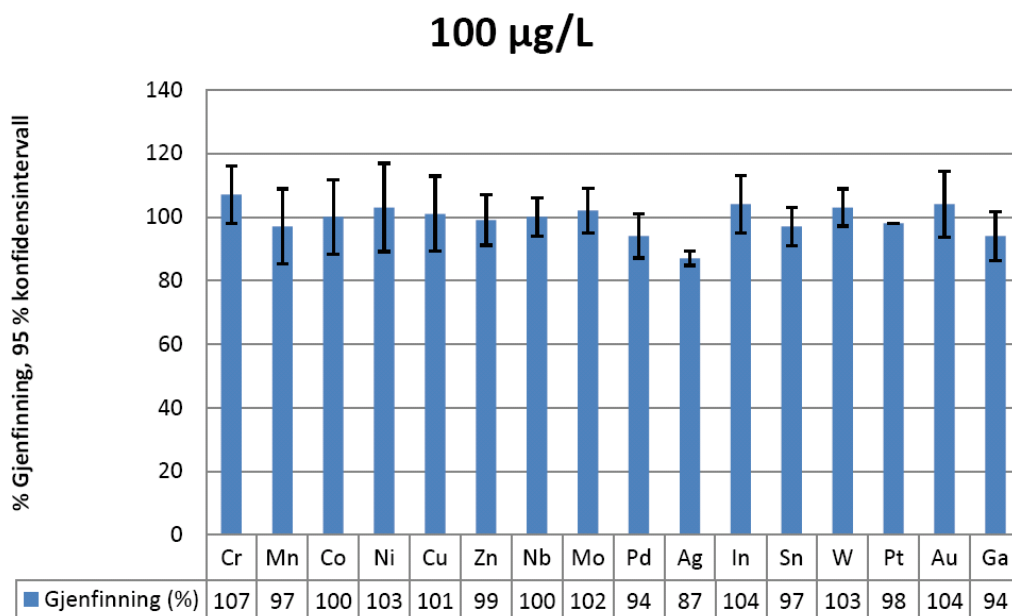
Cu, Zn og Au ble ikke tatt med ved konsentrasjon 5 µg/L, siden dette er under analyttenes deteksjons- og kvantifiseringsgrense. Jern ble ikke tatt med ved noen av de tre konsentrasjonene, siden alle er under kvantifiseringsgrensen for Fe. Gallium ble preparert feil i kontrollstandard som ble brukt i dette forsøket (ti ganger høyere konsentrasjon enn oppgitt). Gjenfinning er derfor beregnet for 50 µL, 500 µL og 1000 µL for Ga.



Figur 4-7: Gjenfinning (%) med 95 % konfidensintervall fra analysering av MEM cellekulturmedium tilsatt 5 µg/L kontrollstandard (n = 6 over tre dager, dag 1, dag 2 og dag 30). Gallium er bestemt på 50 µg/L, på grunn av feil preparering av kontrollstandard som ble brukt.



Figur 4-8: Gjenfinning (%) med 95 % konfidensintervall fra analysering av MEM cellekulturmedium tilsatt 50 µg/L kontrollstandard (n = 6 over tre dager, dag 1, dag 2 og dag 30). Gallium er bestemt på 500 µg/L, på grunn av feil preparering av kontrollstandard som ble brukt.

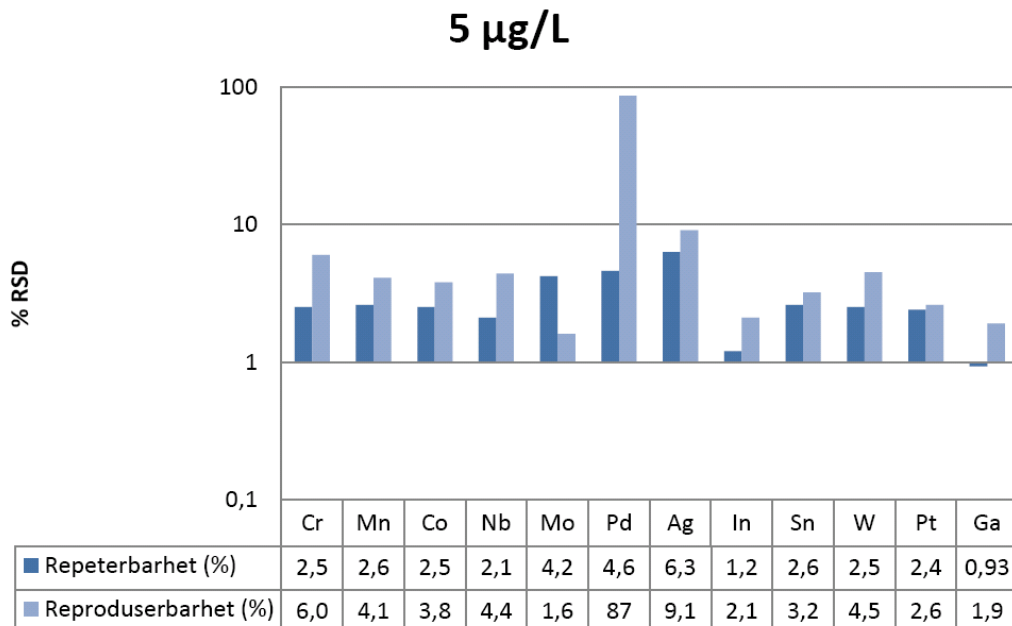


Figur 4-9: Gjenfinning (%) med 95 % konfidensintervall fra analysering av MEM cellekulturmedium tilsatt 100 µg/L kontrollstandard (n = 6 over tre dager, dag 1, dag 2 og dag 30). Gallium er bestemt på 1000 µg/L, på grunn av feil preparering av kontrollstandard som ble brukt.

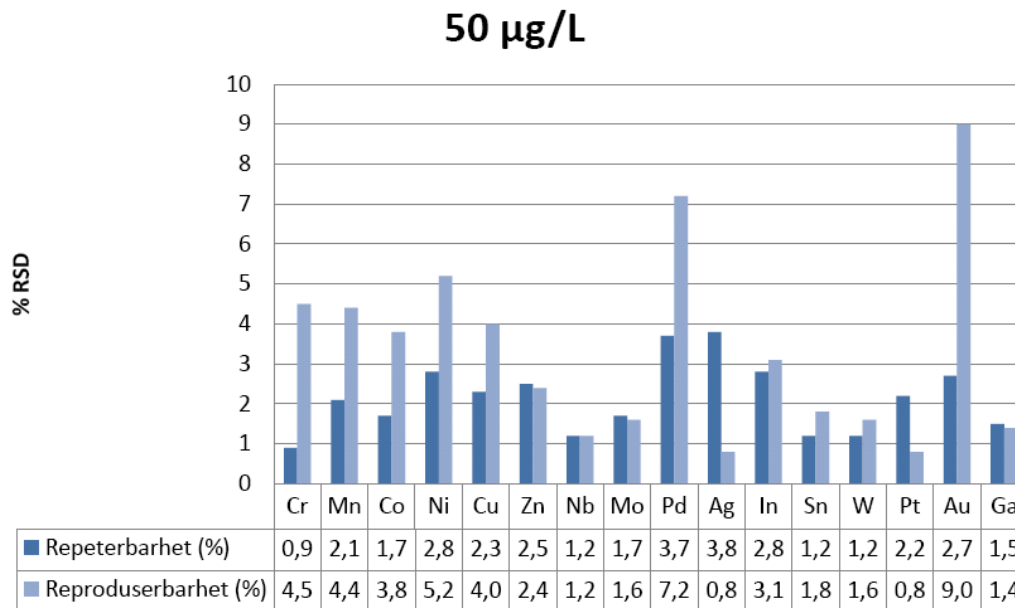
En gjenfinning på mellom 90 og 110 % anses å være akseptabelt for denne metoden (Gjengedal 2010). Palladium gav bare 48 % gjenfinning ved nivå 5 µg/L med et standardavvik på 42 %. Årsaken var at Pd på nivå 5 µg/L var nesten fraværende etter en måneds henstand. Ved nivå 50 µg/L og 100 µg/L hadde Pd en gjenfinning på henholdsvis 90 og 94 %, som er akseptabelt. Dette vil si at vi ikke kan si med sikkerhet at noen av legeringene ikke inneholdt lave konsentrasjoner av Pd (<50 µg/L). Det er imidlertid kun en av legeringene som var oppgitt til å innholde Pd (prøve nummer 9, Alabond A) og denne legeringen gav en utlekking på 55 µg/L. Dette resultatet ble derfor vurdert til å være tilfredstillende. Sølv gav en gjenfinning på 78 – 87 %. Det er derfor sannsynlig at de to prøvene som var oppgitt å inneholde Ag (prøve 8, U-guld og prøve 9, Alabond A) gav cirka 20 % for lavt resultat. Dette kan skyldes utfelling av AgCl₂ (Harris 2007). Ellers gav alle de andre grunnstoffene en gjenfinning på mellom 90 og 100 %.

4.1.5 Presisjon

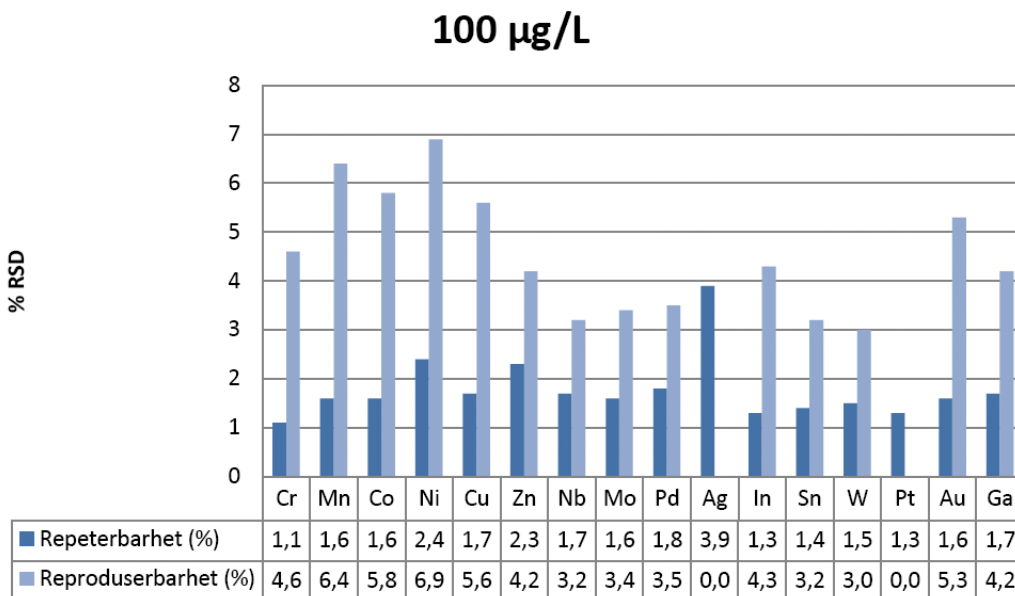
Figur 4-10, 4-11 og 4-12 viser reativt standardavvik uttrykt i repeterbarhet og reproduserbarhet fra analysering av ”spiket” MEM cellekulturmedium ved tre nivåer.



Figur 4-10: Metodens presisjon (RSD), uttrykt i repeterbarhet og reproduserbarhet ved nivå 5 µg/L. Gallium er bestemt på 50 µg/L, på grunn av feil preparering av kontrollstandard som ble brukt.



Figur 4-11: Metodens presisjon (RSD), uttrykt i repeterbarhet og reproduserbarhet ved nivå 50 µg/L. Gallium er bestemt på 500 µg/L, på grunn av feil preparering av kontrollstandard som ble brukt.



Figur 4-12: Metodens presisjon (RSD), uttrykt i repeterbarhet og reproduserbarhet ved nivå 100 µg/L. Gallium er bestemt på 1000 µg/L, på grunn av feil preparering av kontrollstandard som ble brukt.

På grunn av den lave gjenfinningsprosenten på Pd ved en konsentrasjon på 5 µg/L, gav dette en dårlig reproduserbarhet (RSD = 86,7 %). RSD for repeterbarheten var imidlertid < 5 % som er akseptabelt. Alle de andre grunnstoffene gav RSD for repeterbarhet på < 5 %, og en RSD for reproduserbarhet på < 10 %, noe som er tilfredsstillende til dette formålet.

4.1.6 Usikkerhetsvurdering

Den totale usikkerheten i metoden omfattet prøvepreparering, preparering av prøveløsning og analyse på ICP-MS. I denne metoden lå den største usikkerheten i forbehandling av de odontologiske legeringene og prepareringen av prøveløsningene før analysering på ICP-MS. Siden det var forventet å bestemme svært lave konsentrasjoner var kontamineringsfaren stor. Det ble valgt å bruke pinsett for å ta legeringene opp av cellekulturmediet, i stedet for å helle mediet over i et nytt prøverør. I ettertid kan det virke som det kanskje hadde vært bedre å helle av mediet i nye rør, ettersom det var svært vanskelig å få tatt opp legeringene med pinsetten. På grunn av mye manipulering med pinsett, ble utlekking av metaller høyere. Siden den største usikkerheten lå i prøveprepareringen, var den totale usikkerheten vanskelig å kvantifisere.

4.2 Utlekking fra odontologiske legeringer

Vedlegg F viser resultater (gjennomsnittlig konsentrasjon av prøveparallellene, absolutt og relativt standardavvik og antall prøveparalleller) fra analysering av de odontologiske legeringene. Det ble notert hvilke av legeringene det var problemer med å ta opp av mediet. Det viste seg at dette stemte overens med de analyseresultatene som var høye i forhold til de andre parallellene av samme legering. Disse resultatene er utelatt i beregning av gjennomsnittlig konsentrasjon og standardavvik av analyseparallellene. Andre enkeltresultater er også utelatt på grunnlag av Dixons test (Miller & Miller 2005) for uteliggere (vedlegg C). Vedlegg G viser imidlertid resultater fra alle prøveparallellene fra analysering av legeringene.

Siden noe medium ble sittende igjen på legeringen da den ble tatt ut av mediet, ble denne mengden veid inn på analysevekt. Det ble i etterkant besluttet å se bort fra dette siden denne

mengden utgjorde svært lite i forhold til usikkerheten i analyseresultatene. Vedlegg H viser et regneksempel på hvor lite denne mengden utgjorde på analyseresultatene.

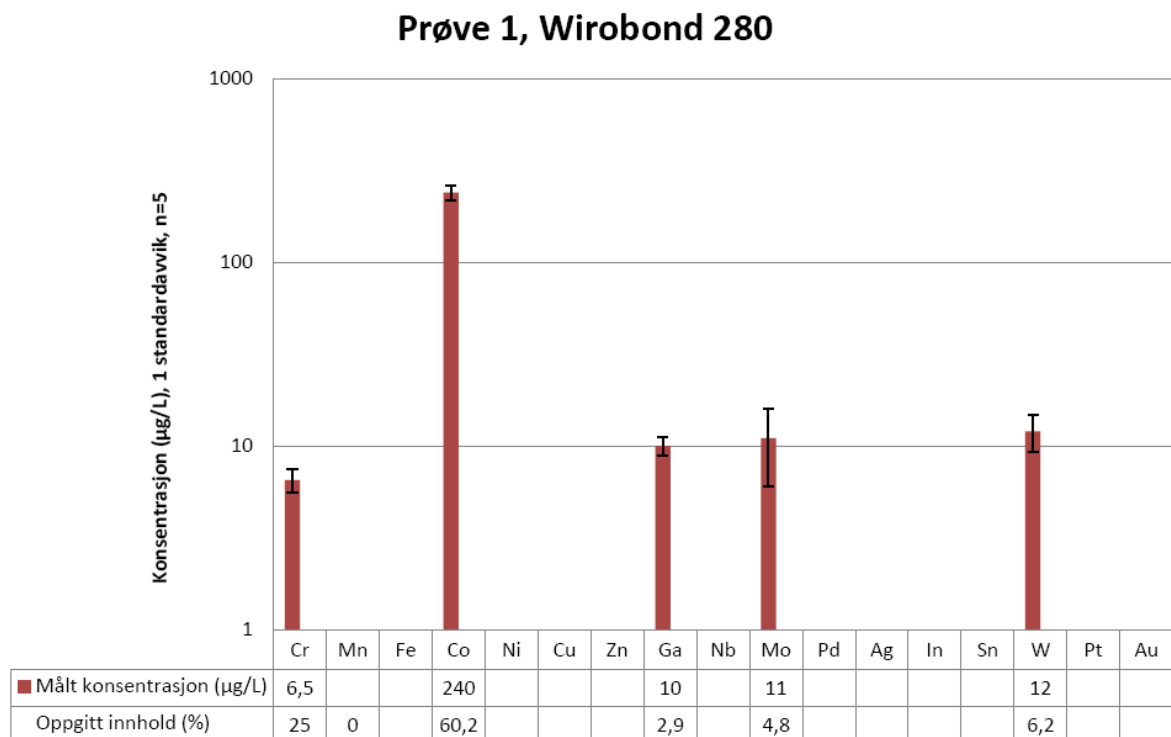
Figur 4-13 til 4-29 viser resultater fra analysering av de odontologiske legeringene (gjennomsnittlig konsentrasjon med ett standardavvik) i forhold til oppgitt innhold (%).

Figurene viser samme resultat som vedlegg F, hvor enkeltparallelere er utelatt.

Analyseresultater under deteksjonsgrense er ikke angitt.

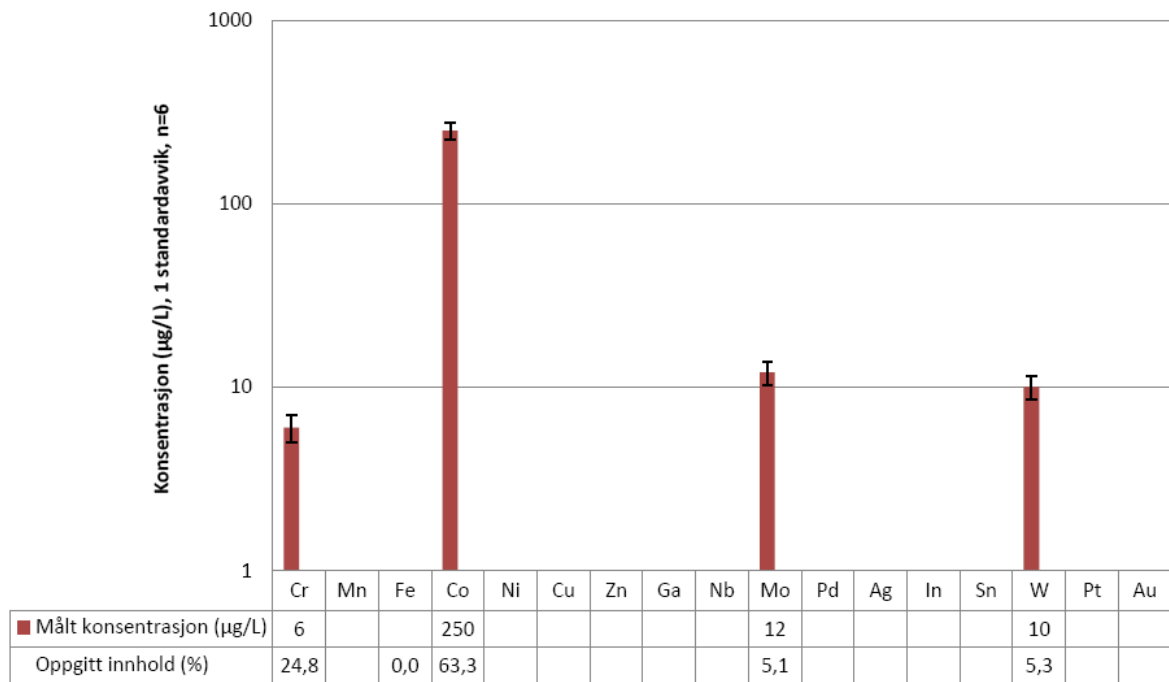
Prøve 11, Titan grade II inneholdt bare Ti. Titan er ikke bestemt i denne oppgaven, og prøve 11 fikk dermed ikke resultater over deteksjonsgrense på noen av de andre analyttene.

Prøve 12 er en positiv kontrollprøve som besto av bare Cu. Den er ikke analysert i denne oppgaven.



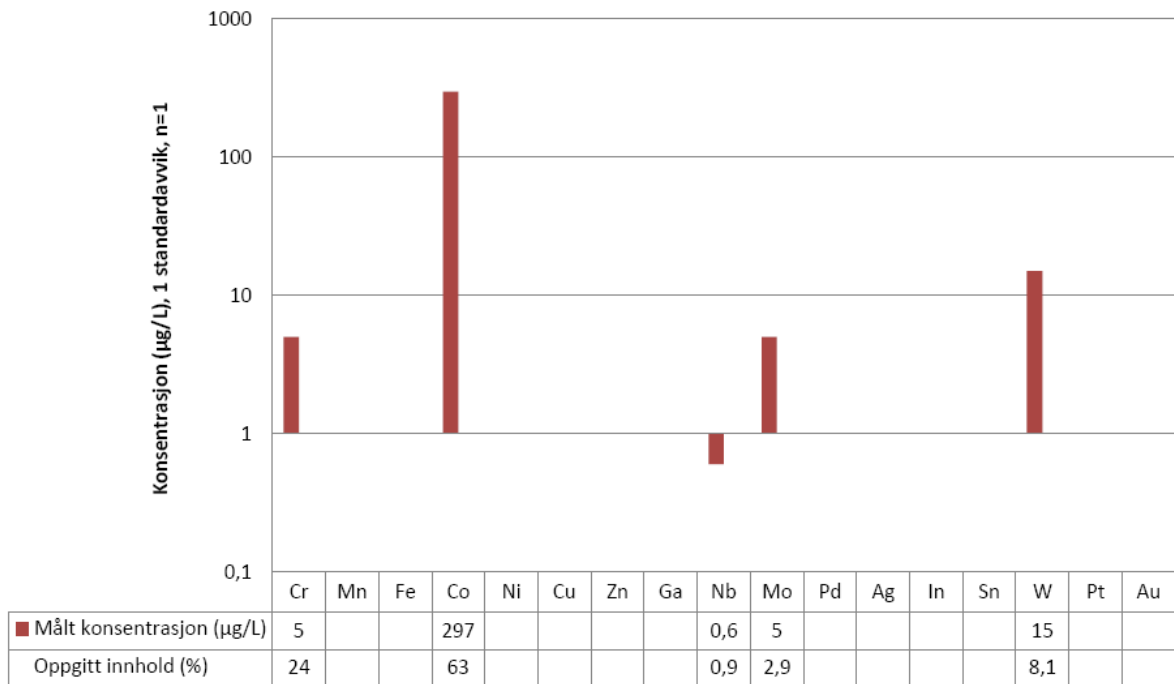
Figur 4-13: Målt gjennomsnittlig konsentrasjon av prøve 1 angitt med ett standardavvik ($n = 5$ for Cr, Ga, Mo og W, $n = 6$ for Co) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen. Mangan er oppgitt som til stede i legeringen, men er ikke angitt i % (vises som 0 i figuren).

Prøve 2, Wirobond C



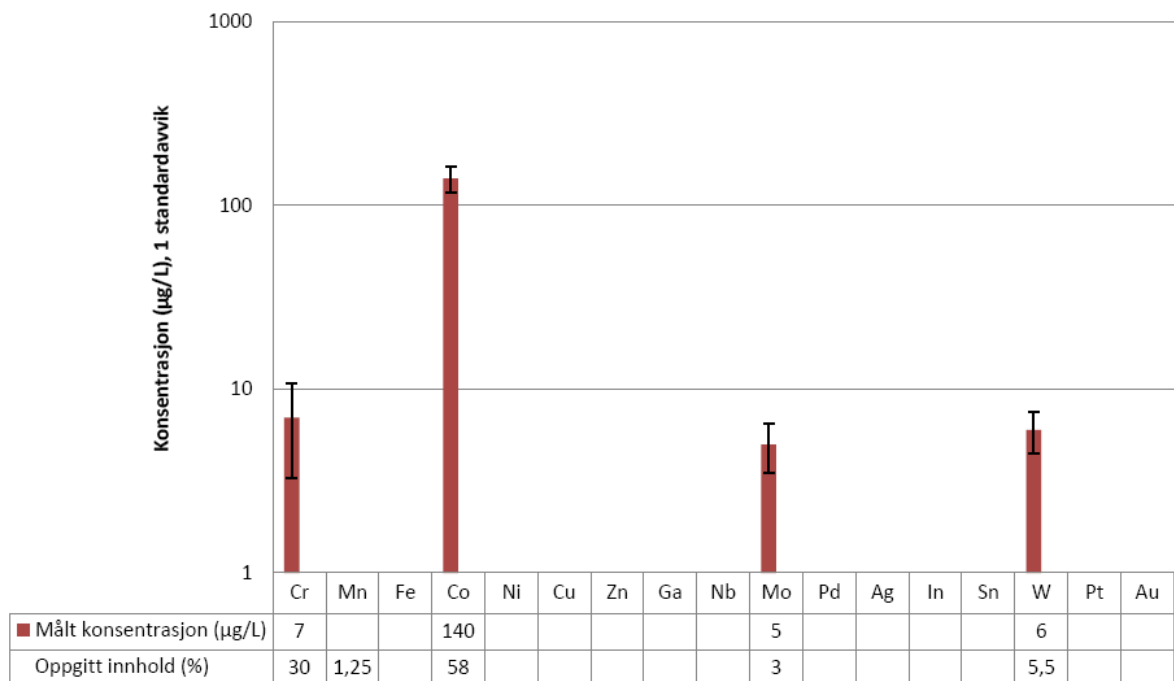
Figur 4-14: Målt gjennomsnittlig konsentrasjon av prøve 2 angitt med ett standardavvik ($n = 6$ for Cr og Co, $n = 5$ for Mo og W) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen. Jern er oppgitt som til stede i legeringen, men er ikke angitt i % (vises som 0,0 i figuren).

Prøve 3, Solibond C-plus



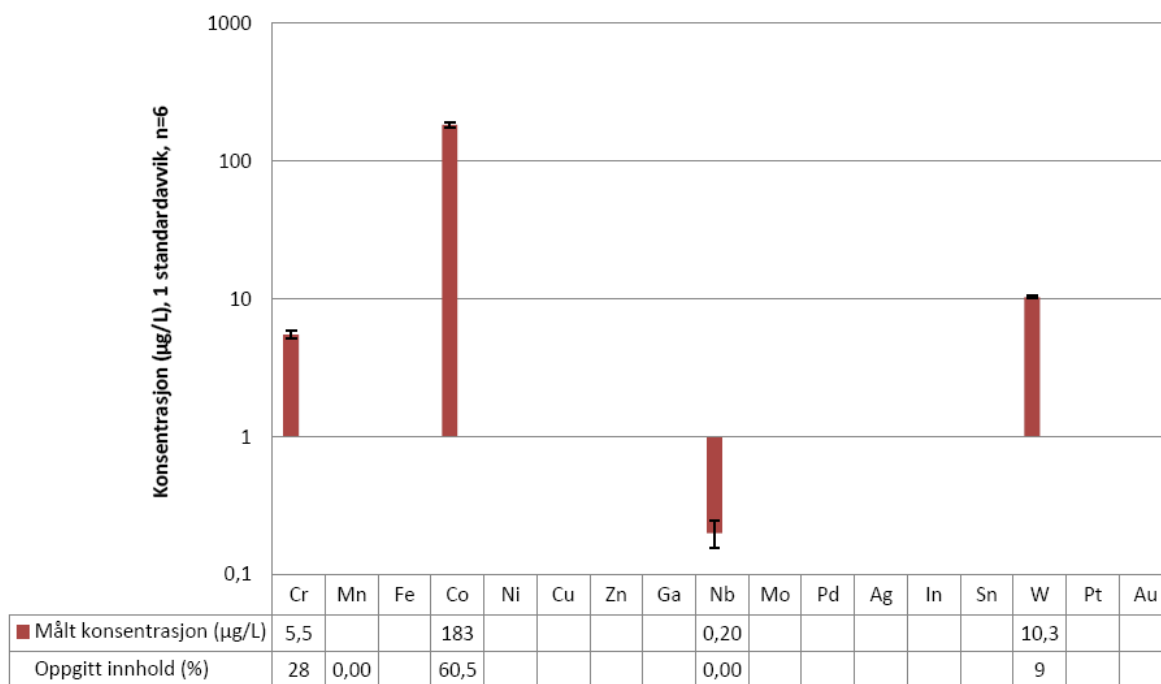
Figur 4-15: Målt konsentrasjon av prøve 3 (n = 1) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen.

Prøve 4, Remanium securia



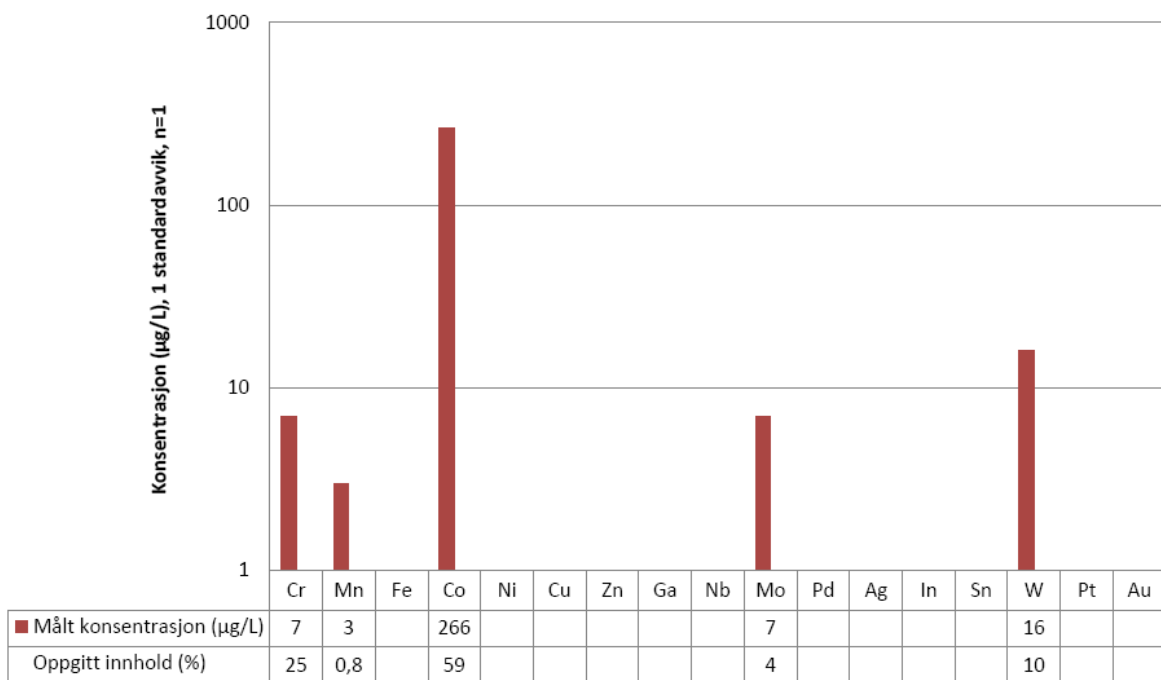
Figur 4-16: Målt gjennomsnittlig konsentrasjon av prøve 4 angitt med ett standardavvik (n = 6) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen.

Prøve 5, Remanium star



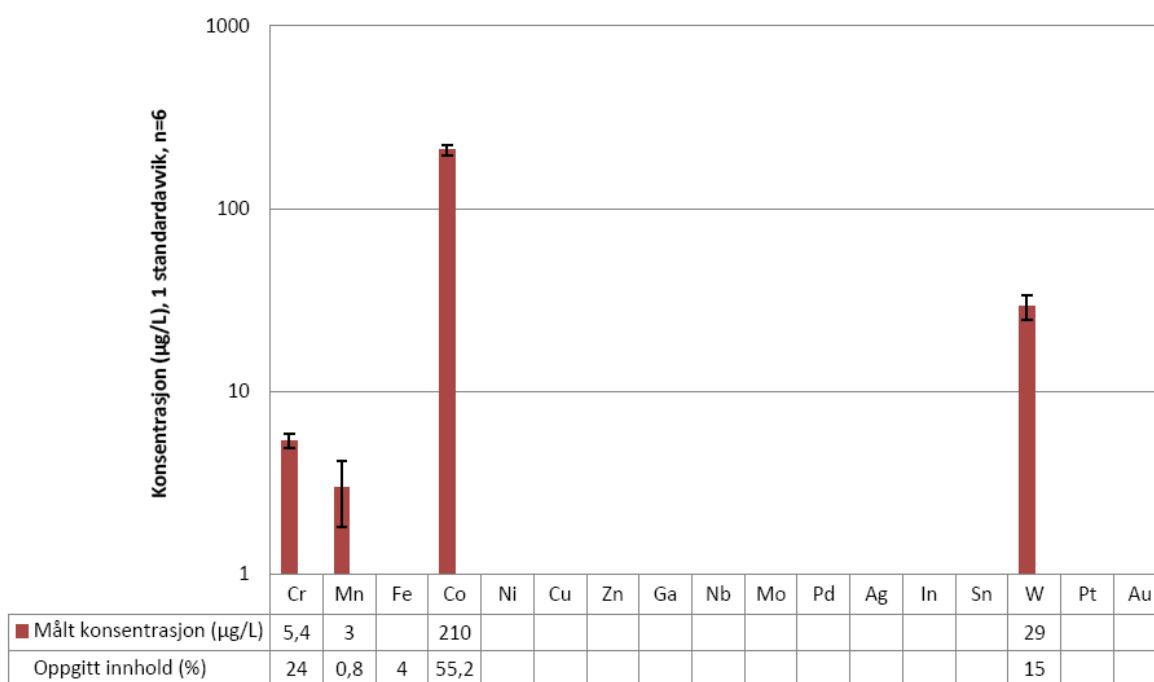
Figur 4-17: Målt gjennomsnittlig konsentrasjon av prøve 5 angitt med ett standardavvik (n = 6) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen. Mangan og niob er oppgitt som til stede i legeringen, men er ikke angitt i % (vises som 0,0 i figuren).

Prøve 6, Heraenium star



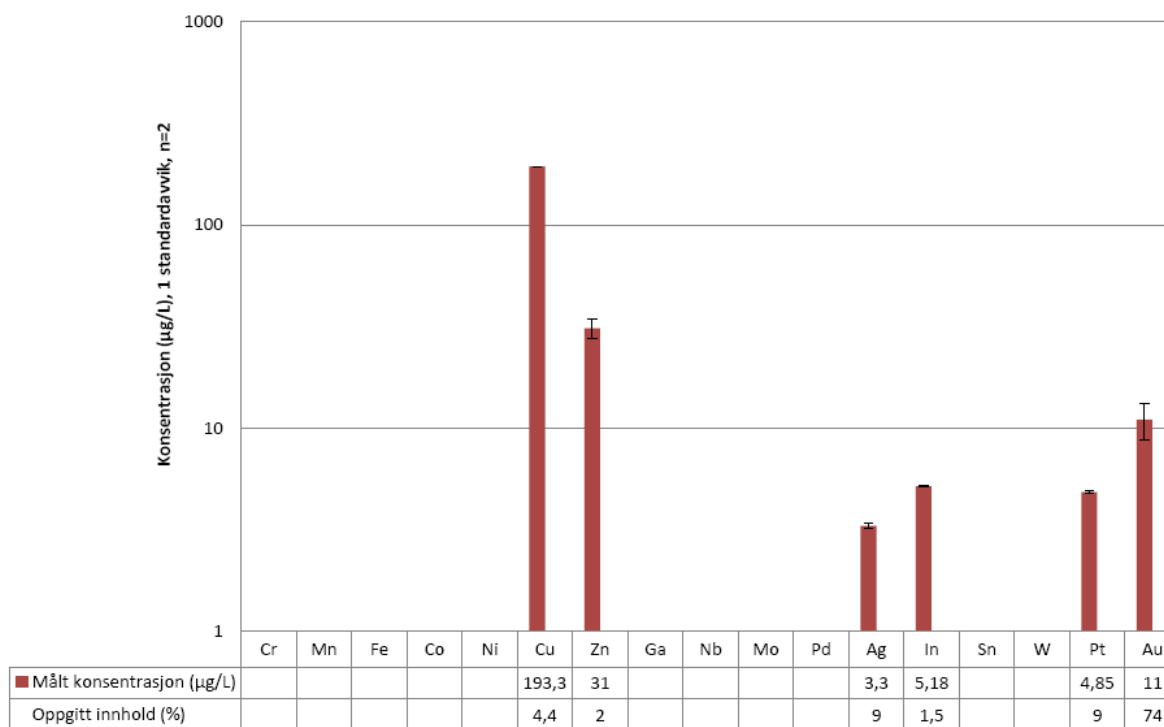
Figur 4-18: Målt konsentrasjon av prøve 6 (n = 1) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen.

Prøve 7, Heraenium Pw



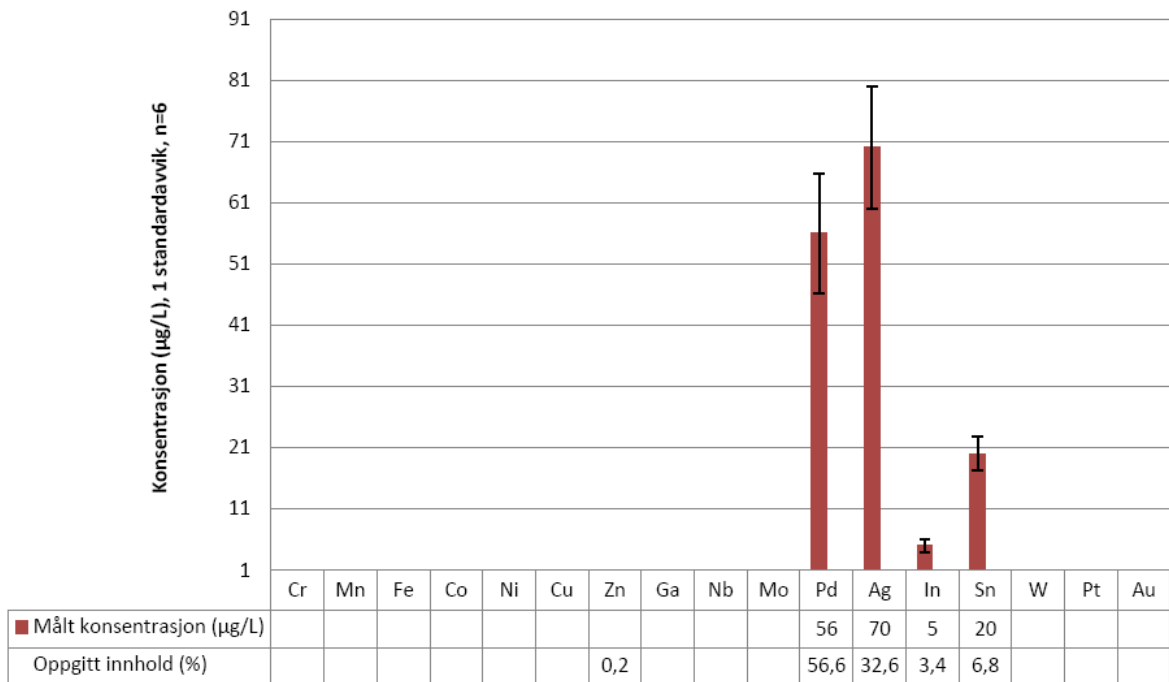
Figur 4-19: Målt gjennomsnittlig konsentrasjon av prøve 7 angitt med ett standardavvik (n = 6 for Cr, Mn, og Co, n = 5 for W) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen.

Prøve 8, U-guld



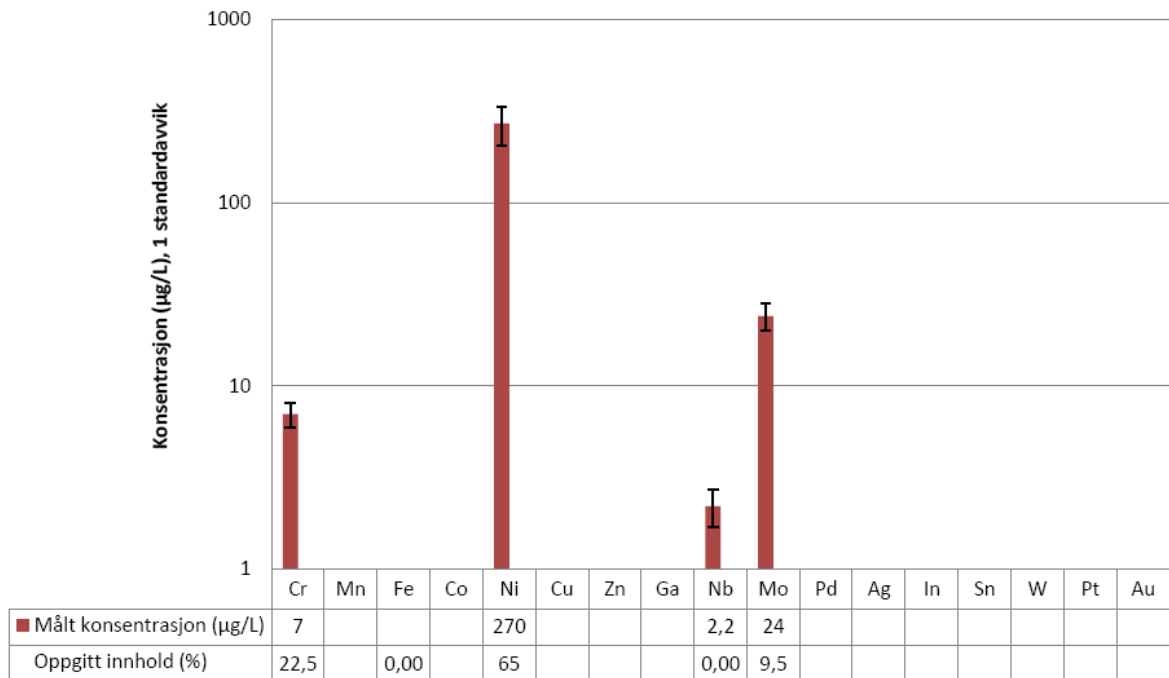
Figur 4-20: Målt gjennomsnittlig konsentrasjon av prøve 8 angitt med ett standardavvik (n = 2) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen.

Prøve 9, Albabond A



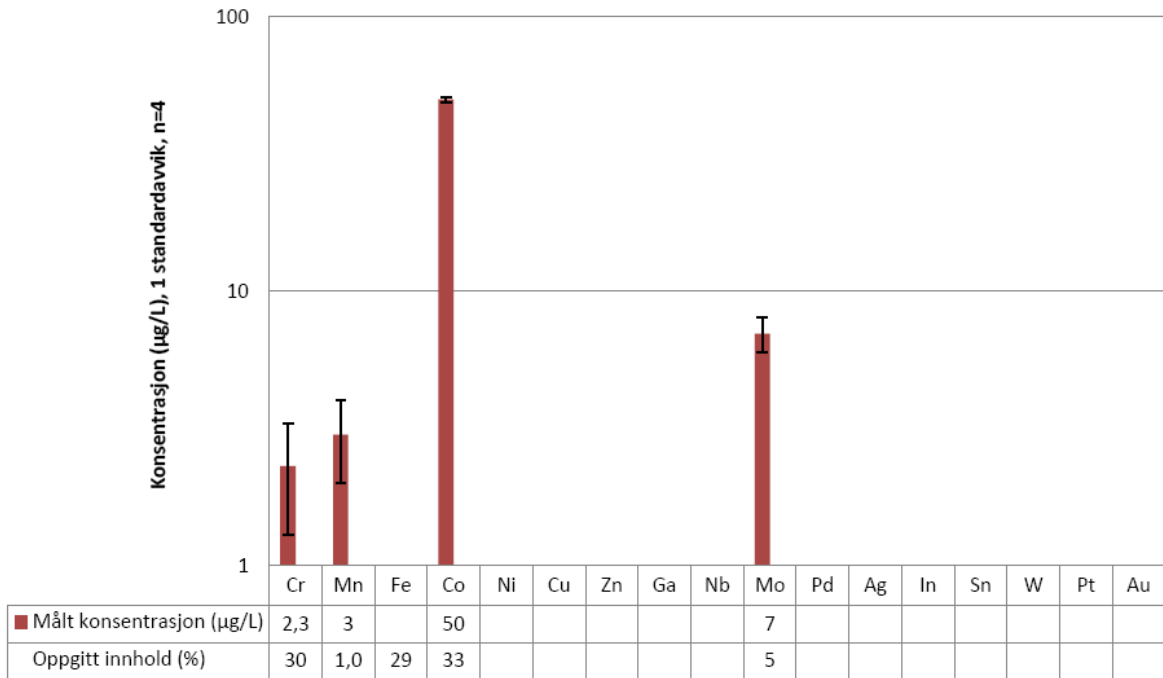
Figur 4-21: Målt gjennomsnittlig konsentrasjon av prøve 9 angitt med ett standardavvik (n = 6) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen.

Prøve 10, Wiron 99



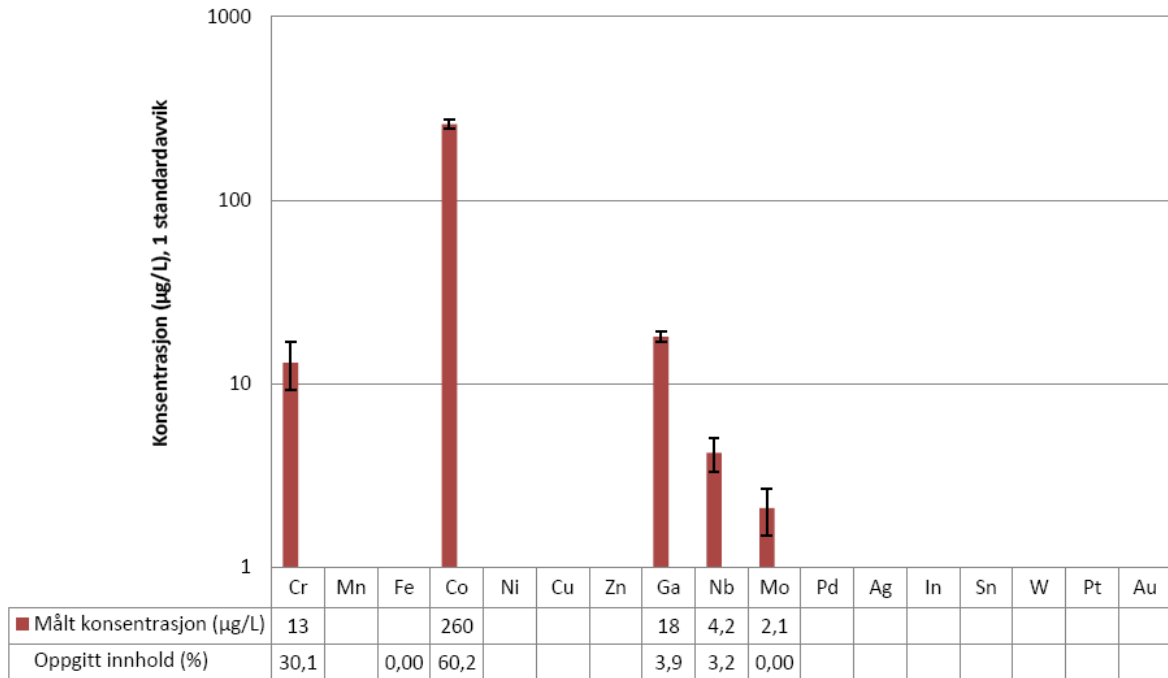
Figur 4-22: Målt gjennomsnittlig konsentrasjon av prøve 10 angitt med ett standardavvik (n = 3) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen. Jern og niob er oppgitt som til stede i legeringen, men er ikke angitt i % (vises som 0,0 i figuren).

Prøve 13, Wirobond LFC



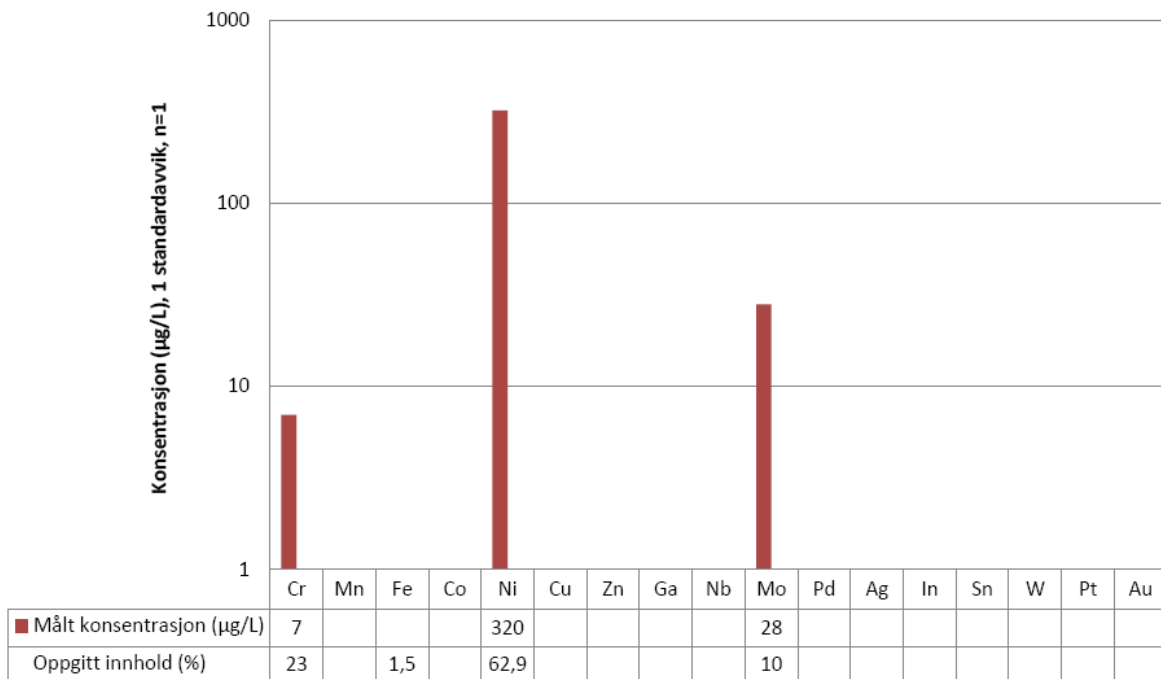
Figur 4-23: Målt gjennomsnittlig konsentrasjon av prøve 13 angitt med ett standardavvik (n = 4) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen.

Prøve 14, IPS d. SIGN 30



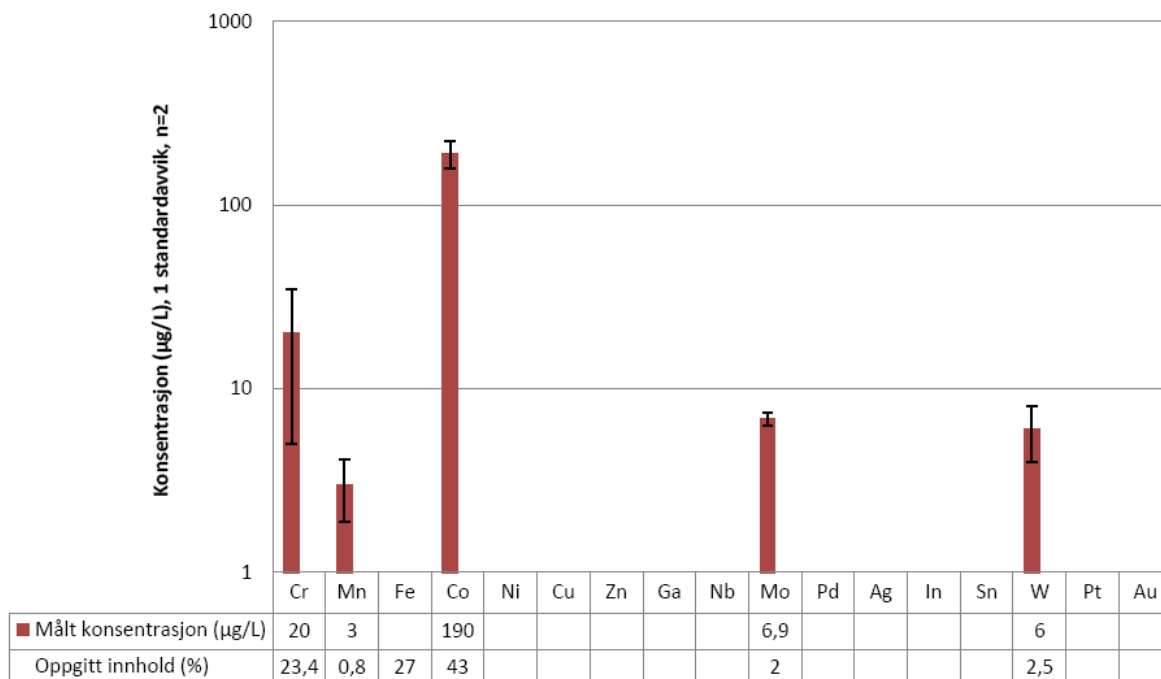
Figur 4-24: Målt gjennomsnittlig konsentrasjon av prøve 14 angitt med ett standardavvik (n = 4) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen. Jern og molybden er oppgitt som til stede i legeringen, men er ikke angitt i % (vises som 0,0 i figuren).

Prøve 15, Heraenium S



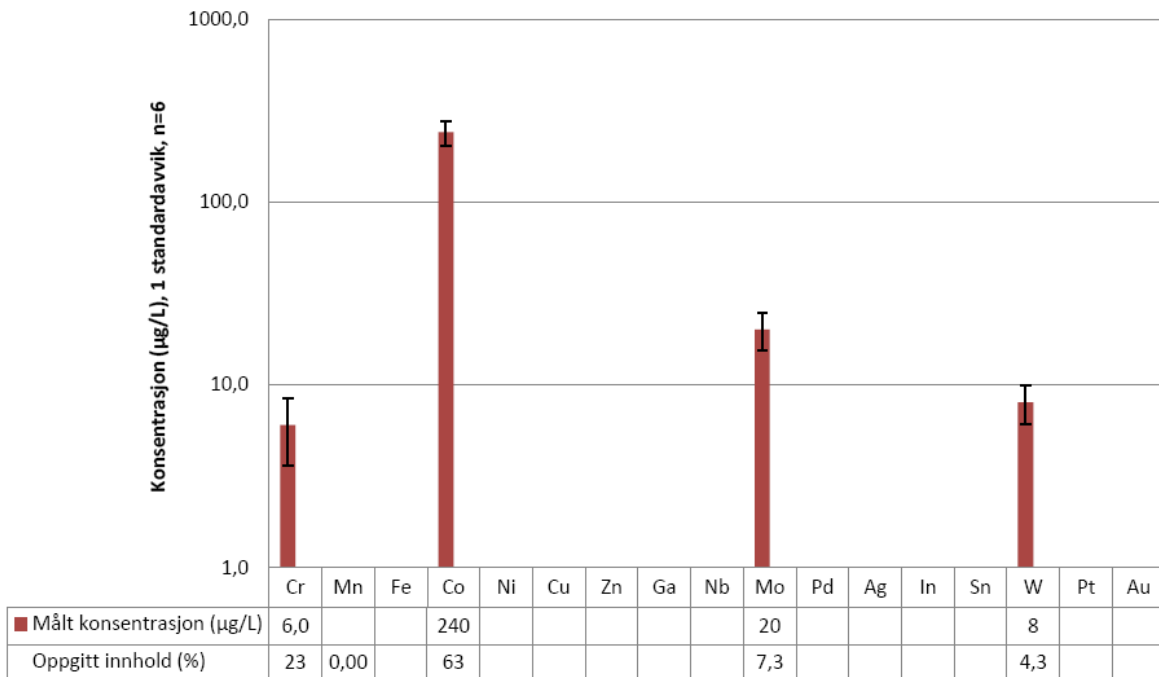
Figur 4-25: Målt konsentrasjon av prøve 15 (n = 1) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen.

Prøve 16, Herarnium Sun



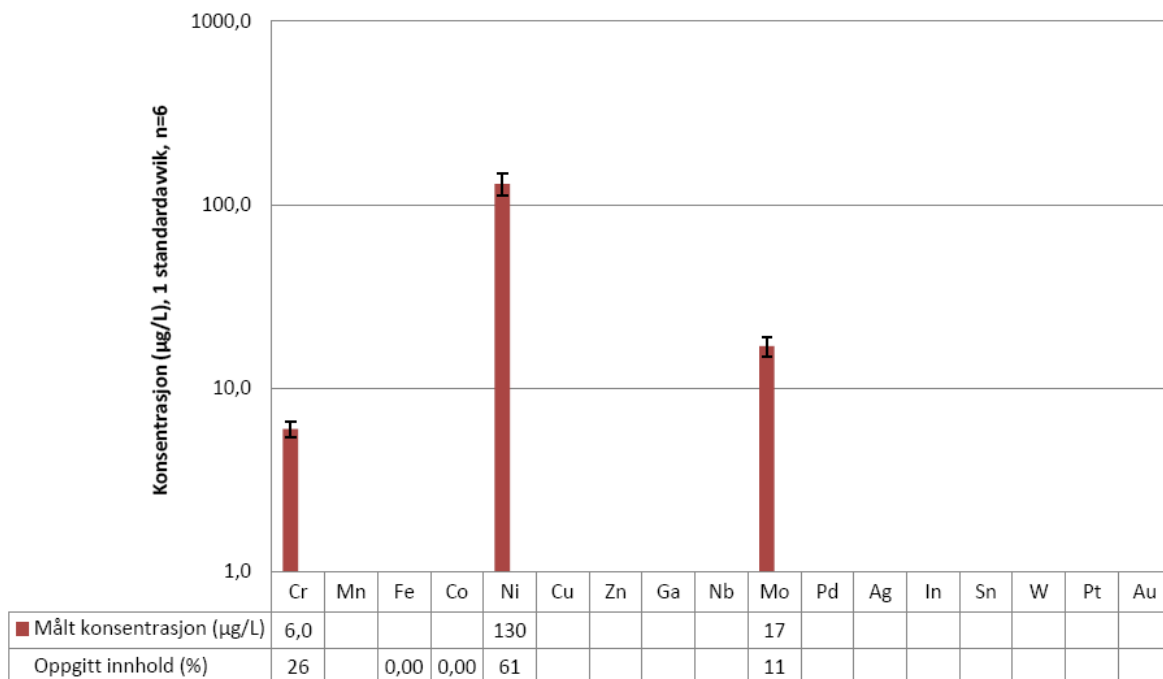
Figur 4-26: Målt gjennomsnittlig konsentrasjon av prøve 16 angitt med ett standardavvik (n = 2) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen.

Prøve 17, Remanium 2001

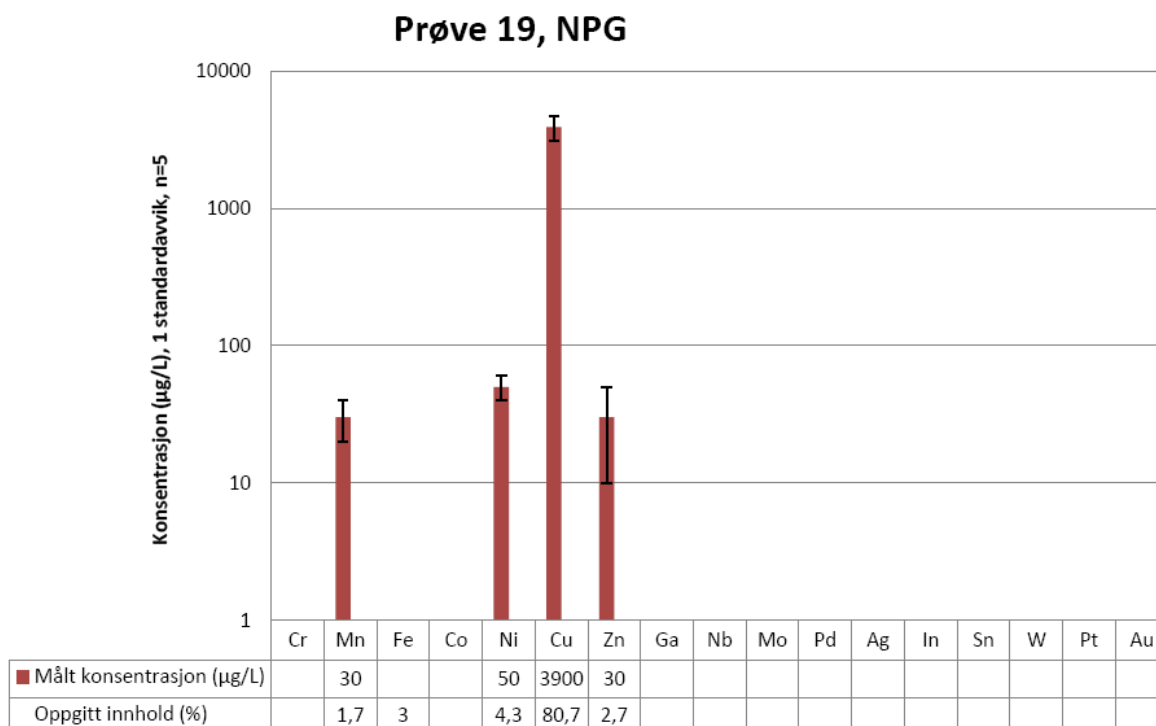


Figur 4-27: Målt gjennomsnittlig konsentrasjon av prøve 17 angitt med ett standardavvik (n = 6) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen. Mn er oppgitt som til stede i legeringen, men er ikke angitt i % (vises som 0,0 i figuren).

Prøve 18, Remanium Cse



Figur 4-28: Målt gjennomsnittlig konsentrasjon av prøve 18 angitt med ett standardavvik (n = 6) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen. Fe og Co er oppgitt som til stede i legeringen, men er ikke angitt i % (vises som 0,0 i figuren).



Figur 4-29: Målt gjennomsnittlig konsentrasjon av prøve 19 angitt med ett standardavvik ($n = 5$) sammenlignet med oppgitt innhold (%) i legeringen. Cu som er målt til 3900 µg/L, utgis som > 800 µg/L, siden det ikke er vist at kalibreringskurven er lineær over 800 µg/L.

Alle prøvene ble analysert på grunnstoffene Li, Be, Al, V, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Ru, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Cs, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Hf, Ta, W, Re, Os, Ir, Pt, Au, Pb, Bi og Th. Resultater fra analysen av de odontologiske legeringene viste utlekking av kun de metallene som er oppgitt i legeringene. Titan ble ikke bestemt, etter avtale med oppdragsgiver, fordi den krevde ekstra metodeutvikling og siden Titan regnes for å være meget biokompatibelt (Craig & Hanks 1990). Silisium ble heller ikke bestemt, siden resultat fra TotalQuant™ analyse av matriks viste konsentrasjon av Si > 0,1 µg/L. Grunnstoffene Ir, Ce og Ta som var oppgitt i noen av legeringene ble også utelatt i resultatdelen, siden de bare var oppgitt i veldig små mengder (Holm 2010).

Metodens måleområde dekket ikke utlekking av Fe. Det kan allikevel fastslås at ingen av legeringene gav utlekking av Fe over 163 µg/L, som var kvantifiseringsgrensen til Fe med denne metoden.

Resultatene fra analysene av legeringene stemte godt overens med de metallene som var oppgitt i legeringene. Kobber gav høyest utlekking, og prøve 19, NPG, som hadde 80 % innhold av Cu, gav utlekking på 3900 µg/L. Siden høyeste standard var 800 µg/L i linearitetsforsøket, ble resultatet rapportert som >800 µg/L. Gull gav lavest utlekking, og prøve 8, U-guld, som hadde 74 % innhold av Au, gav utlekking på 11 µg/L. Dette viste også at de uedle metallene lakk mer enn de edle metallene. Den oppgitte konsentrasjonen av de ulike metallene i legeringene var vekt - %, og dette førte også til at en relativt høy % av et grunnstoff med høy massetetthet, ikke nødvendigvis gav høy utlekking i molar konsentrasjon.

5 Konklusjon

Det ble utviklet en tilfredsstillende metode for kvantitativ bestemmelse av utlekking av metaller fra odontologiske legeringer i cellekulturmedium. Metoden egnet seg godt for kvantitativ bestemmelse av Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Nb, Mo, In, Sn, W, Pt og Au. Metoden gav bare cirka 80 % gjenfinning av Ag og den kunne ikke benyttes for bestemmelse av Pd < 50 µg/L. Metoden hadde ikke tilstrekkelig deteksjons- og kvantifiseringsgrense for bestemmelse av Fe på det nivået som lakk fra de 18 legeringene som ble analysert i denne oppgaven. Hvis det skal måles lavere konsentrasjoner enn 160 µg/L av Fe, bør et annet instrument som fjerner interferenser fra Ar bedre, benyttes. For eksempel vil høyoppløselig magnetisk sektor instrument være bedre egnet.

I den sammenlignende laboratorieprøvingen (SLP) ble den utviklede metoden sammenlignet med tre metoder på magnetisk sektor ICP-MS, og to av laboratoriene benyttet dekomponering av prøvene. SLP'en viste tilfredsstillende overensstemmelse mellom måleresultatene fra alle fire laboratoriene. Prøvene som ble analysert inneholdt bare uedle metaller, men hovedhensikten med oppgaven var også å undersøke utlekking fra disse. Den sammenlignende laboratorieprøvingen viste at metoden som ble utviklet gav nøyaktig kvantifisering av metallene Cr, Mn, Co, Mo og W.

De detekterte grunnstoffene samsvarte med den oppgitte sammensetningen av legeringene, og de uedle metallene (Cu, Cr, Co og Ni) gav høyere utlekking i løsningen sammenlignet med edelmetallene Au, Pt og Pd. Det ble ikke detektert kontamineringer av andre grunnstoffer i noen av legeringene. På grunn av vanskeligheter med å få fjernet legeringene fra cellekulturmediet etter inkubering, burde det vært brukt en annen metode enn pinsett. Dette medførte en del manipulering av legeringene og gav dermed store forskjeller i måleresultatene mellom prøveparallelene. Flere resultater måtte fjernes fra resultatbehandlingen. Skraping på overflaten av en legering, vil fjerne et eventuelt beskyttende oksidlag og øke utlekking. Dette er blant annet vist i studier med påvirkning ved hard tannbørsting (Molina et al. 2008).

Opgaven har vist at metallene i legeringene lekker ut i cellekulturmedium i løpet av tre døgn inkubasjonstid ved 37°C. Det antas at metallene lekker i minst like stor grad i munnhulen, men hvilken biologisk virkning dette har, er ikke vurdert i denne oppgaven. Metoden som ble brukt måler totalkonsentrasjonen av et grunnstoff. Biotilgjengelighet og

toksisitet av et grunnstoff er bestemt av kjemisk tilstandsform, men dette er ikke vurdert i denne oppgaven.

6 Referanser

Ardlin, B. I., Dahl, J. E. & Tibballs, J. E. (2005). Static immersion and irritation test of dental metal-ceramic alloys. *European Journal of Oral Sciences*, 113: 83-89.

Ardlin, B. I., Lindholm-Sethson, B. & Dahl, J. E. (2008). Corrosion of Dental Nickel-Aluminium Bronze With a Minor Gold Content - Mechanism and Biological Impact. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 88B (2): 465-473.

Becker, J. S. (2007). *Inorganic Mass Spectrometry: Principles and Applications*. Chichester: John Wiley and Sons, Ltd. 496 s.

Celebic, A., Baucic, M., Stipetic, J., Baucic, I., Miko, S. & Momcilovic, B. (2006). Ion release from gold/platinum dental alloy: could release of other elements be accountable in the contact allergy attributed to the gold? *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, 17 (4): 301-305.

Craig, R. G. & Hanks, C. T. (1990). Cytotoxicity of Experimental Casting Alloys Evaluated by Cell Culture Tests. *Journal of Dental Research*, 69 (8): 1539-1542.

Elshahawy, W., Watanabe, I. & Koike, M. (2009). Elemental ion release from four different fixed prosthodontic materials. *Dental Materials*, 25 (8): 976-981.

Gjengedal, E. L., Universitetet for miljø- og biovitenskap, Ås. (2010). Personlig meddelelse.

Gjerdet, N. R. (2008). Odontologiske legeringer. *Den norske tandlegeforenings tidende*, 118 (7): 444-446.

Harris, D. C. (2007). *Quantitative Chemical Analysis*. 7 utg. New York: W. H. Freeman and Company. 663 s.

Herø, H., Bergman, B., Grimsdottir, M. & Kerosuo, H. (1999). Metaller i munnen - holdbart og trygt? *Tandlaegebladet*, 103 (3): 148-154.

Holm, C., Nordisk institutt for odontologiske materialer. (2010). Personlig meddelelse.

Jarvis, K. E., Gray, A. L. & Houk, R. S. (1991). *Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. London: Blackie academic and professional 380 s.

Jensen, K. A., Universitetet for miljø- og biovitenskap, Ås. (2009). Personlig meddelelse.

Lopez-Alias, J. F., Martinez-Gomis, J., Anglada, J. M. & Peraire, M. (2006). Ion release from dental casting alloys as assessed by a continuous flow system: Nutritional and toxicological implications. *Dental Materials*, 22 (9): 832-837.

Lu, Y., Chen, W. Q., Ke, W. & Wu, S. H. (2009). Nickel-based (Ni-Cr and Ni-Cr-Be) alloys used in dental restorations may be a potential cause for immune-mediated hypersensitivity.

Medical Hypotheses, 73 (5): 716-717.

May, T. W. & Wiedmeyer, R. H. (1998). A Table of Polyatomic Interferences in ICP-MS. Atomic Spectroscopy, 19 (5): 150-155.

Miller, J. N. & Miller, J. C. (2005). Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry. 5 utg. Harlow: Pearson Education Ltd. 268 s.

Molina, C., Nogues, L., Martinez-Gomis, J., Peraire, M., Salsench, J., Sevilla, P. & Gil, F. J. (2008). Dental casting alloys behaviour during power toothbrushing with toothpastes of various abrasivities. Part II: corrosion and ion release. Journal of Materials Science-Materials in Medicine, 19 (9): 3015-3019.

Rustad, P. (2008). Kontrollregler også med %CV-grenser, S-1.
www.medisinstudent.no/41943/1/41943_1.xls (red.).

Skoog, D. A., Holler, F. J. & Crouch, S. R. (2007). Principles of Instrumental Analysis. 6 utg. Belmont: Thomson Brooks/Cole. 1039 s.

Tanner, S. D. & Baranov, V. I. (1999). Theory, Design and Operation of a Dynamic Reaction Cell for ICP-MS. Atomic Spectroscopy, 20 (2): 45-52.

Thomas, R. (2004). Practical Guide to ICP-MS. New York: Marcel Dekker, Inc 324 s.

Tuna, S. H., Pekmez, N. Ö., Keyf, F. & Canli, F. (2009). The influence of the pure metal components of four different casting alloys on the electrochemical properties of the alloys. Dental Materials, 25 (9): 1096-1103.

Tønseth, C. P. & Døhl, J. (1996). Guidelines for Validation of Analytical Methods. 2 utg.

Vandecasteele, C. & Block, C. B. (1993). Modern Methods for Trace Element Determination. New York: John Wiley and Sons Ltd. 344 s.

Wataha, J. C. (2000). Biocompatibility of dental casting alloys: A review. The Journal of Prosthetic Dentistry, 83 (2): 223-234.

www.perkinelmer.com. (2004a). The 30-Minute Guide to ICP-MS (lest 07.04).

www.perkinelmer.com. (2004b). Elan DRC II Brosjyre: PerkinElmer (lest 07.04.).

7 Vedlegg

A. Preparering av odontologiske legeringer før inkubering i MEM cellekulturmedium (Holm 2010)

Hej Torill

Jag har förberett metallerna enligt följande;

1. Metallerna sandblästrade i 110 µm aluminiumoxid.
2. Slipade och polerade med sandpapper i 120, 320 samt 1200 under vattenspolning. Nytt slippapper mellan varje metall.
3. Doppade i ättiksyra 10%. Sköljda i jonfritt vatten.
4. Ultraljud 70% ethanol i 5 min. Sköljda i ethanol och torkade i varmluft.
5. 1 prov per plaströr, 5 ml. Numreringen följer listan som jag lämnat tidigare.
6. Rören har fyllts med Nitrogen och står i eksikator.

Prepareringen utfördes vid två tillfällen, september och oktober, då jag inte hade alla metallerna tillgängliga i september.

Teflon har använt som kontroll vid båda tillfällena och legat i HNO₃ 1 dygn innan preparering.

Alla prover för respektive metall kommer från samma batch. Numreringen för både prover och batch följer listan jag lämnat tidigare.

Undantag är prov 19 - 1 från oktober som eventuellt kan ha en annan sammansättning varför den måste separeras från de övriga. Tyvärr blev det två prover som heter 19 – 1 men har i alla fall skrivit med röd penna i oktober...

Tillsätt medium där mängden är beräknad utifrån provets yta dividerat med 1,25.

Ställs i vattenbad under rörelse 37°C i tre dygn.

Bifogar fil ”MTT assay” hur jag därefter fortsatt men vet inte om det är exakt så du skall göra.
Föreslår dock tre dygn i medium istället för ett.

Lycka till

/Charlotta

September / Nummer	Antal	Medium
2	1, 2, 3, 4, 5, 6	3,8 ml
4	1, 2, 3, 4, 5, 6	3,0 ml
5	1, 2, 3, 4, 5, 6	3,8 ml
9	1, 2, 3, 4, 5, 6	1,0 ml
11	1, 2, 3, 4	4,3 ml
17	1, 2, 3, 4, 5, 6	3,8 ml
18	1, 2, 3, 4, 5, 6	3,4 ml
19	1, 2, 3, 4, 5	3,4 ml nr 5 / 2,6 ml
20 – Teflon	1, 2, 3, 4, 5, 6	3,7 ml

Oktober / Nummer	Antal	Medium
1	1, 2, 3, 4, 5, 6	3,7 ml
3	1, 2	3,0 ml
6	1	3,8 ml
7	1, 2, 3, 4, 5, 6	3,8 ml
10	1, 2, 3, 4	3,8 ml
13	1, 2, 3, 4, 5, 6	3,3 ml
14	1, 2, 3, 4, 5, 6	3,2 ml nr 5, 6 / 2,5 ml
15	1, 2	3,6 resp 3,1 ml
16	1, 2	3,8 resp 3,1 ml
19	1	3,5 ml
20 – Teflon	1, 2, 3, 4, 5, 6	3,7 ml

B. Odontologiske legeringer med oppgitt vekt (%) (Holm 2010)

Tabell B-1: Odontologiske legeringer

Trade name, batch no,	Co	Cr	W	Mo	Nb	Si	Au	Ag	Pd	Pt	Ni	Cu	Zn	In	Ir	Sn	Fe	Ga	Ce	Ta	Mn	N	Others
	%																						
1. Wirobond 280	60,2	25	6,2	4,8		x												2,9			x		
BEGO 12221																							
2. Wirobond C	63,3	24,8	5,3	5,1		x											x		x				
BEGO 2689																							
3. Solibond C-plus	63	24	8,1	2,9	0,9	1,1																	
YETI																							
4. Remanium segura	58	30	5,5	3	1,5																1,25	x	
Dentaurum 274																							
5. Remanium star	60,5	28	9	x	1,5																x	x	
Dentaurum 475																							
6. Heraenium P	59	25	10	4		1															0,8	0,2	
Heraeus 12571																							
7. Heraenium Pw	55,2	24	15			1											4				0,8	x	
Heraeus 12202																							
8. U-guld							74	9		9		4,4	2	1,5	0,1								
KA Rasmussen 0899																							
9. Alabong A								32,6	56,6				0,2	3,4	0,2	6,8							Ru 0,2
Heraeus 88087																							
10. Wion 99		22,5		9,5	x	x					65						x		x				
BEGO																							
11. Titan grade II																							

13. Wirobond LFC	33	30		5		x										29				1	x	C	
BEGO 1247																							
14. IPS d.SIGN 30	60,2	30,1		x	3,2	x										x	3,9						Al, Li, B
Ivoc Vivad + S24141AG																							
15. Heraenium S		23		10		2				62,9						1,5		0,6					
Heraeus Kulz 275125																							
16. Heraenium Sun	43	23,45	2,5	2		1										27				0,8	0,15	C 0,1	
Heraeus Kulz Z073342																							
17. Remanium 2001	63	23	4,3	7,3	1,6															x	x		
Remanium 250																							
18. Remanium CSe	x	26		11		1,5				61						x		x					
Remanium 454																							
19. NPG										4,3	80,7	2,7				3				1,7			Al 7,8 %
AalbaDent																							

C. Dixons test (Q-test) for uteliggere (Miller & Miller 2005)

$$Q = |\text{mistenkt verdi} - \text{nærmeste verdi}| / (\text{største verdi} - \text{minste verdi})$$

Hvor den kritiske verdien av Q for $P = 0,05$ for en to - sidig test er gitt i tabell A.6 (Miller & Miller 2005)

$Q < \text{kritisk verdi}$ vil si at den mistenkte verdien ikke er en uteligger.

D. TotalQuant™ analyse av MEM cellekulturmedium

TotalQuant - Summary Report

Sample ID: Sample

Sample Date/Time: Tuesday, October 13, 2009 13:54:18
Sample Description:
Solution Type: Sample
Blank File: C:\elandata\Dataset\TotalQuant Analysis\Blank.071
Number of Replicates: 1
Peak Processing Mode: Average
Signal Profile Processing Mode: Average
Dual Detector Mode: Dual
Dead Time (ns): 60

Sample File:
Method File: C:\elandata\Method\TotalQuant\MASTER.mth
Dataset File: C:\elandata\Dataset\TotalQuant Analysis\Sample.073
Tuning File: C:\elandata\Tuning\default.tun
Optimization File: C:\elandata\Optimize\default.dac
Response File: C:\elandata\System\elan.rsp

Report Concentration Unit: ug/L

TotalQuant Internal Standards

Analyte Intensity Blank Intensity

Analyte Intensities

Analyte	Concentration	Intensity	Intensity units
H			Not Measured
He			Not Measured
Li	0.000	0	
Be	0.000	0	
B	0.137	133	
C	30485.512	19458356	
N	0.000	0	
O		0	
F		0	
Ne		0	
Na	S	S	
Mg	1200.650	11563876	
Al	0.003	817	
Si	1.390	413666	
P	30.770	1401066	
S	14.129	947037	
Cl	4177.773	17350991	
Ar		0	
K	65.606	214999145	
Ca	17.486	76326085	
Sc	0.000	871	
Ti	0.023	81941	
V	0.003	10459	
Cr	0.013	55780	
Mn	0.000	1647	
Fe	0.045	267556	
Co	0.000	191	
Ni	0.000	1269	
Cu	0.000	367	

Report Date/Time: Tuesday, March 09, 2010 12:30:35

Page 1

Sample ID: Sample

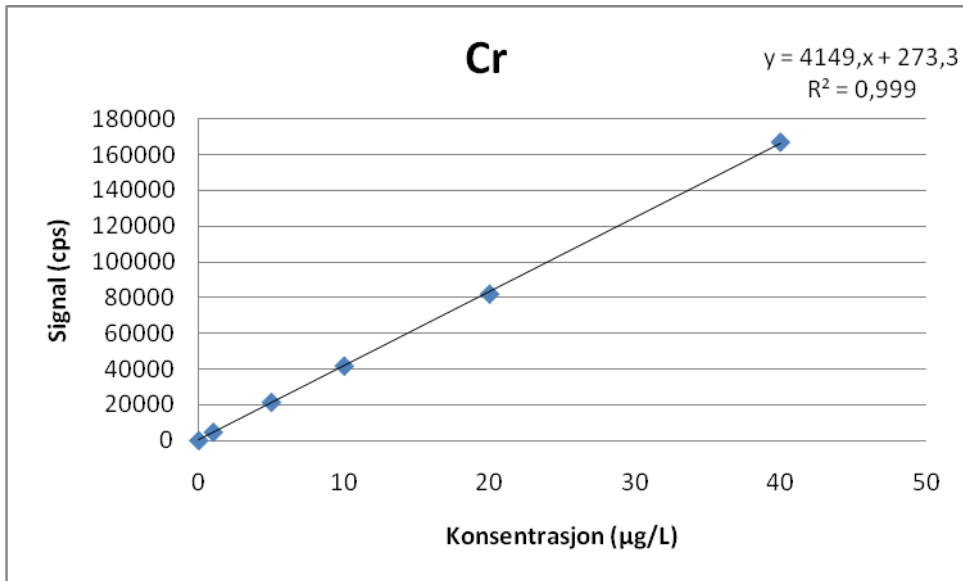
Zn	0.000	1095
Ga	0.000	17
Ge	0.000	0
As	0.002	1167
Se	0.000	0
Br	0.082	11337
Kr		0
Rb	0.001	6161
Sr	0.006	46681
Y	0.000	0
Zr	0.000	0
Nb	0.000	4
Mo	0.000	152
Ru	0.000	0
Rh	0.016	287
Pd	0.000	0
Ag	0.000	0
Cd	0.000	0
In	0.000	0
Sn	0.000	0
Sb	0.016	210
Te	0.000	0
I	0.000	0
Xe		0
Cs	0.002	44
Ba	0.048	1298
La	0.000	4
Ce	0.000	0
Pr	0.000	0
Nd	0.000	0
Sm	0.000	0
Eu	0.000	0
Gd	0.000	0
Tb	0.000	0
Dy	0.000	0
Ho	0.000	0
Er	0.000	0
Tm	0.000	0
Yb	0.000	0
Lu	0.000	0
Hf	0.000	10
Ta	0.000	4
W	0.001	26
Re	0.000	0
Os	0.000	0
Ir	0.000	0
Pt	0.000	0
Au	0.009	84
Hg	0.000	0
Tl	0.015	430
Pb	0.069	1874
Bi	0.000	7
Th	0.000	4
U	0.002	21

Report Date/Time: Tuesday, March 09, 2010 12:30:35

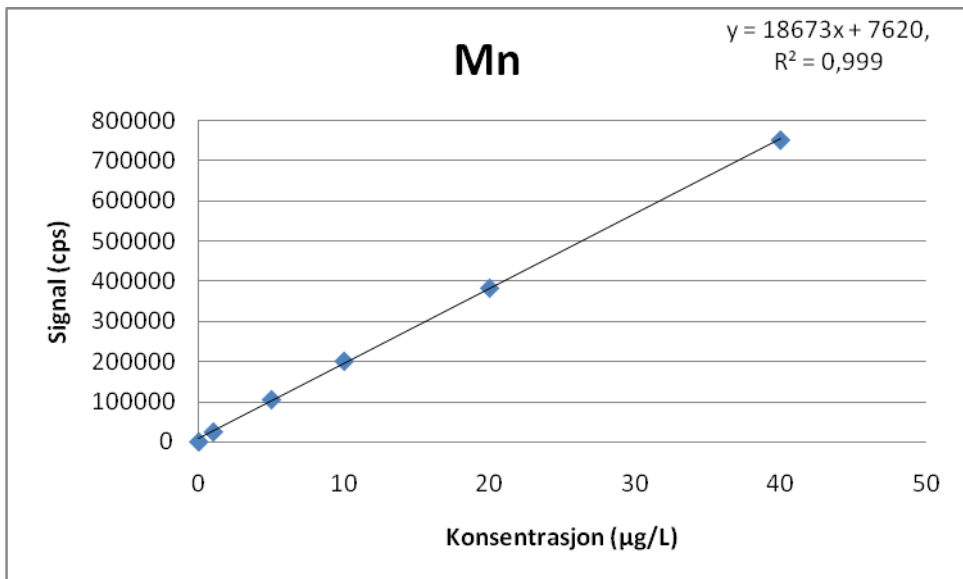
Page 2

Sample ID: Sample

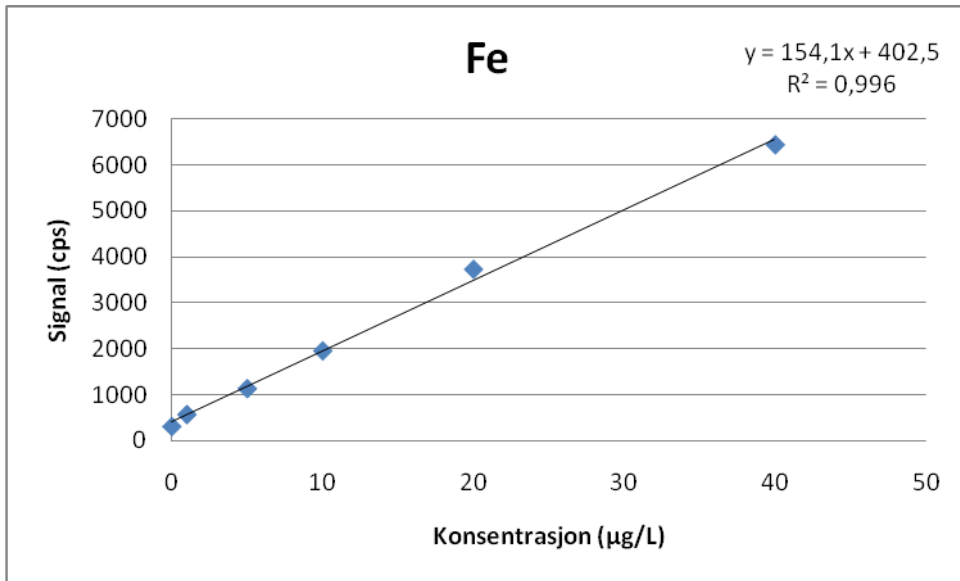
E. Kalibreringskurver



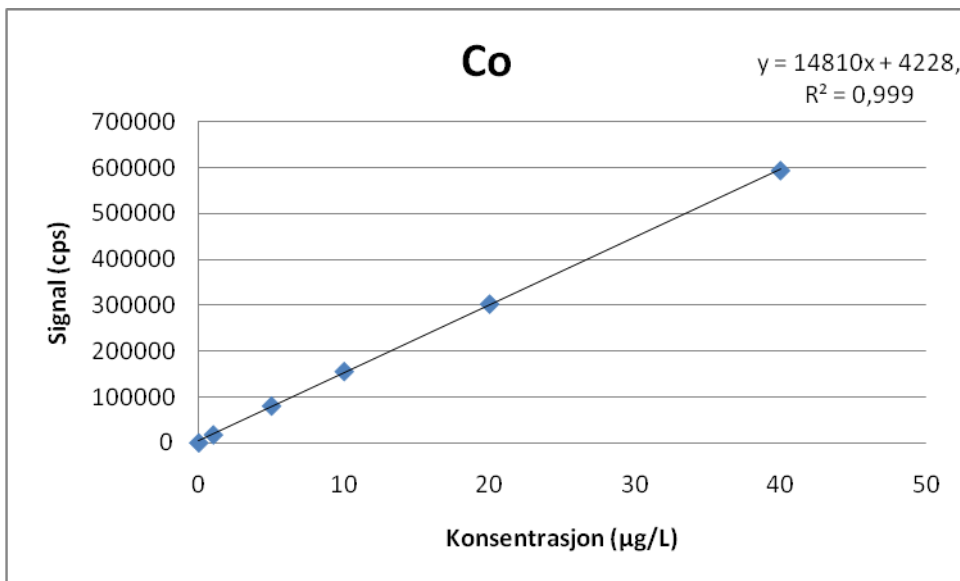
Figur E-1: Kalibreringskurve for ^{52}Cr .



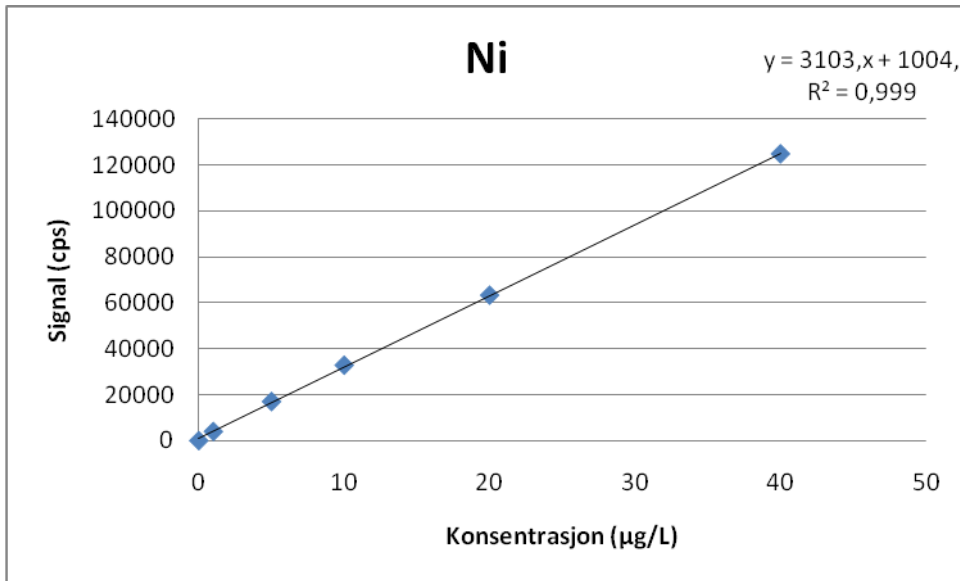
Figur E-2: Kalibreringskurve for ^{55}Mn .



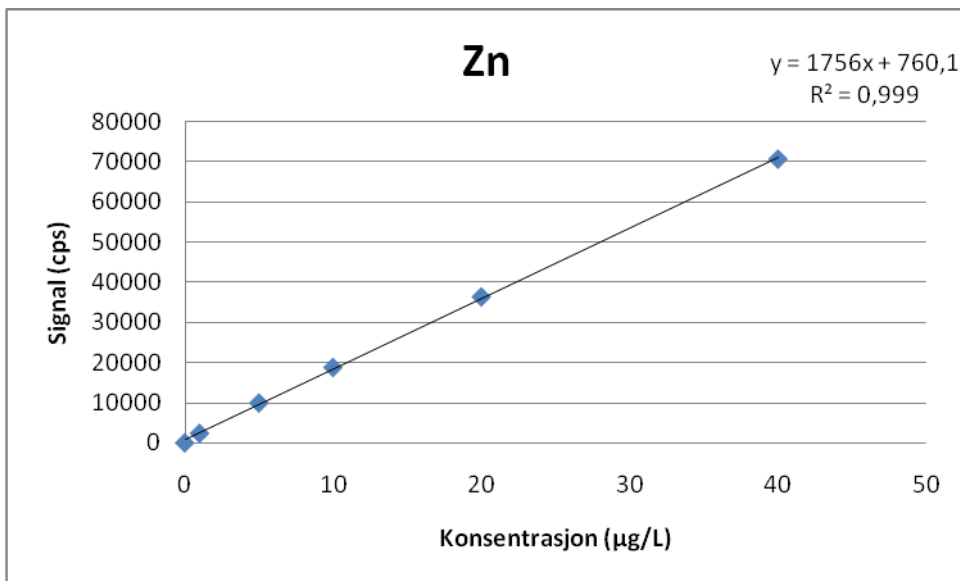
Figur E-3: Kalibreringskurve for ⁵⁴Fe.



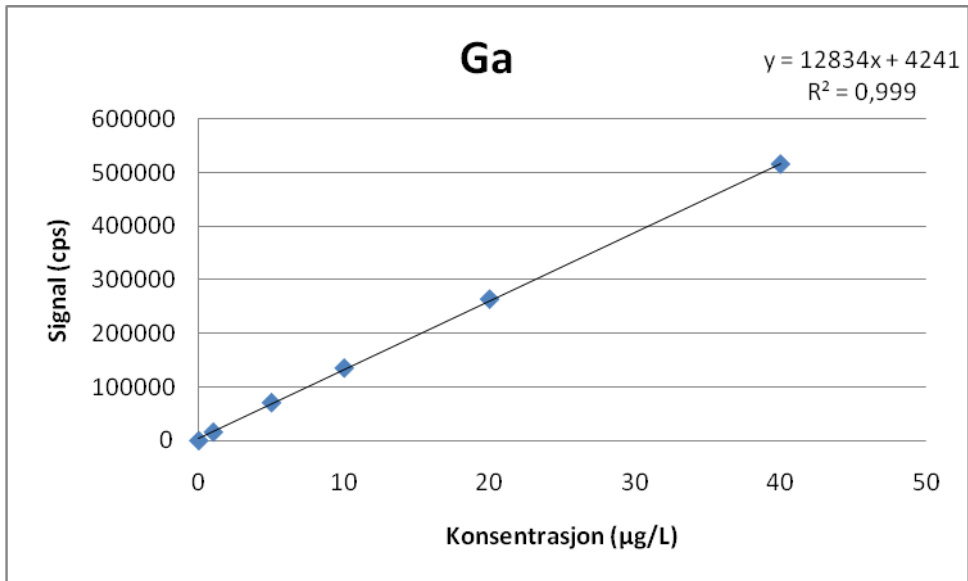
Figur E-4: Kalibreringskurve for ⁵⁹Co.



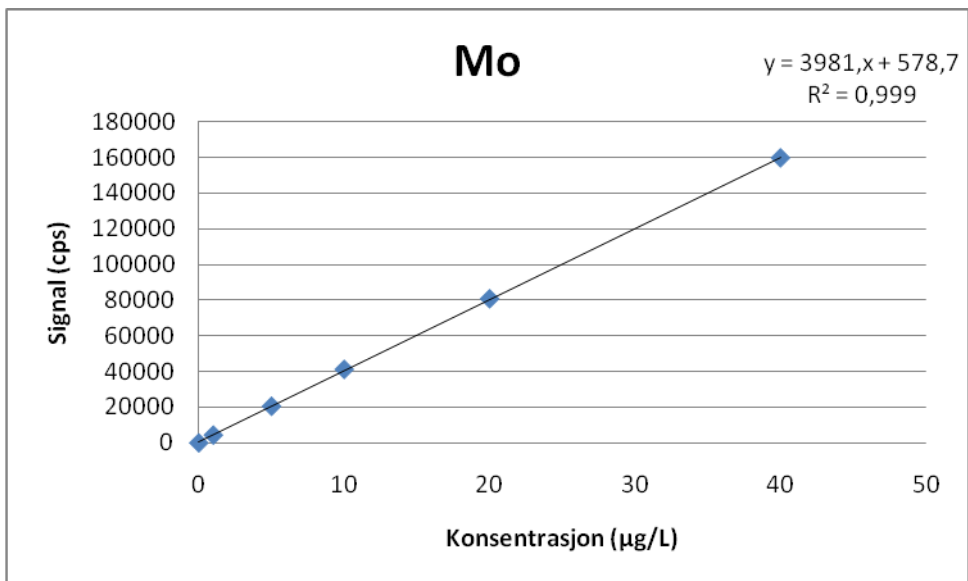
Figur E-5: Kalibreringskurve for ⁶⁰Ni.



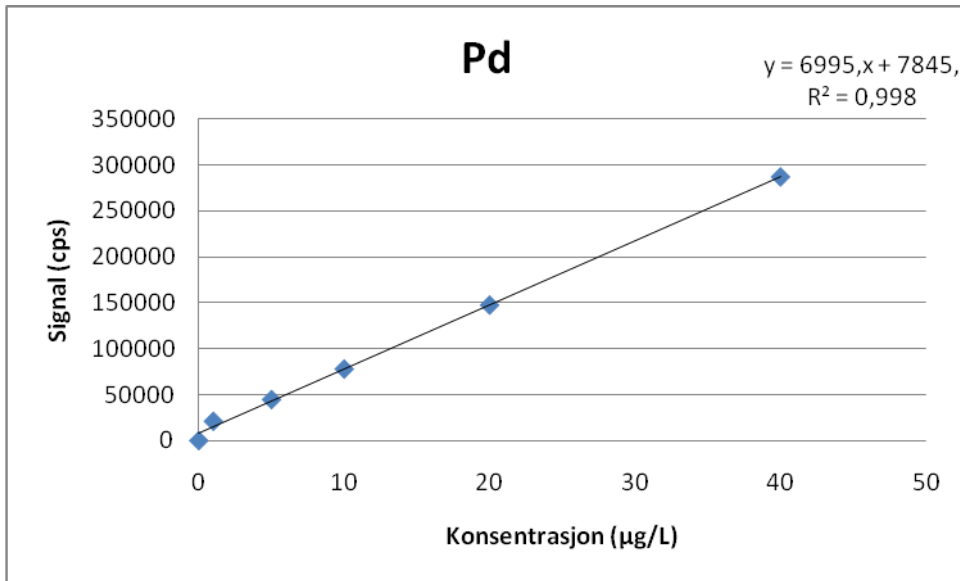
Figur E-6: Kalibreringskurve for ⁶⁶Zn.



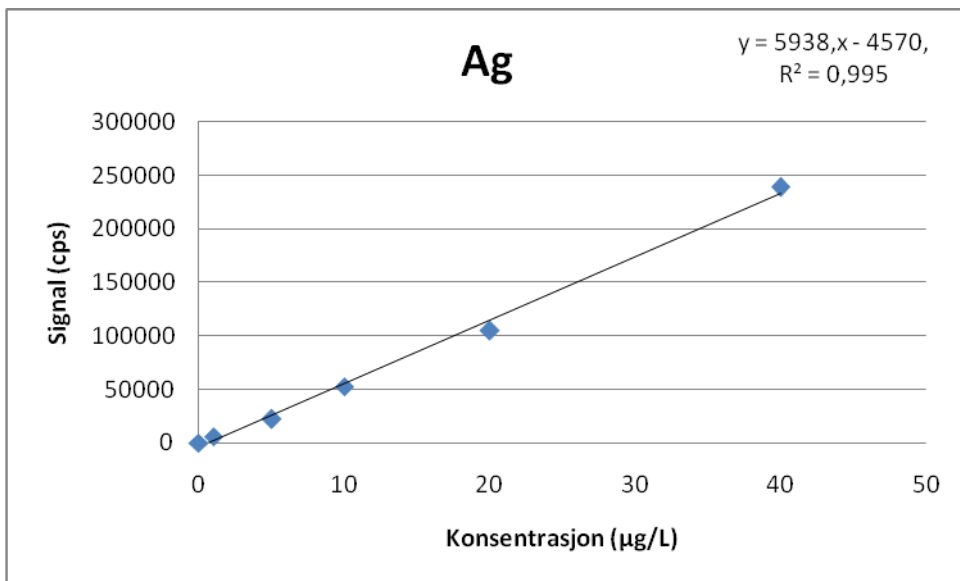
Figur E-7: Kalibreringskurve for ⁶⁹Ga.



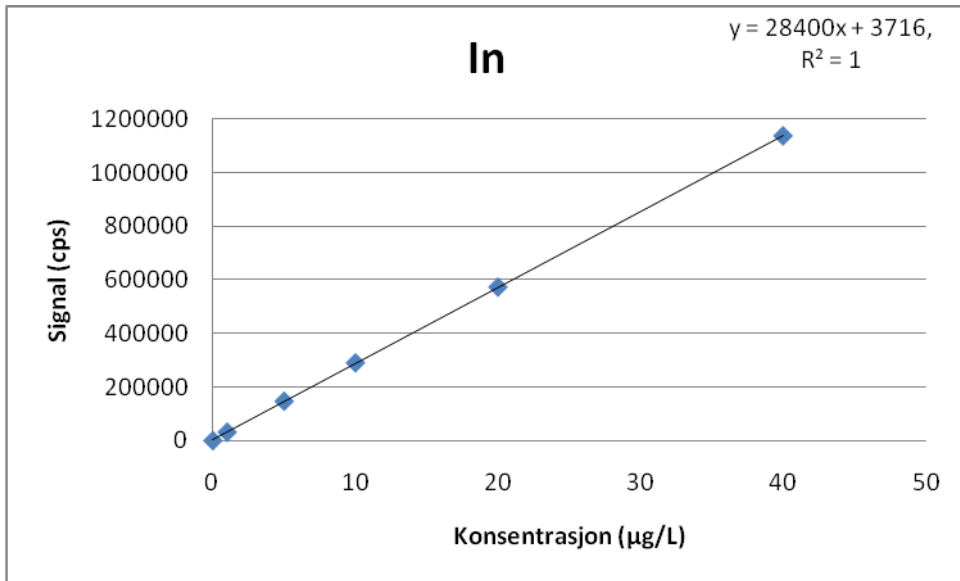
Figur E-8: Kalibreringskurve for ⁹⁵Mo.



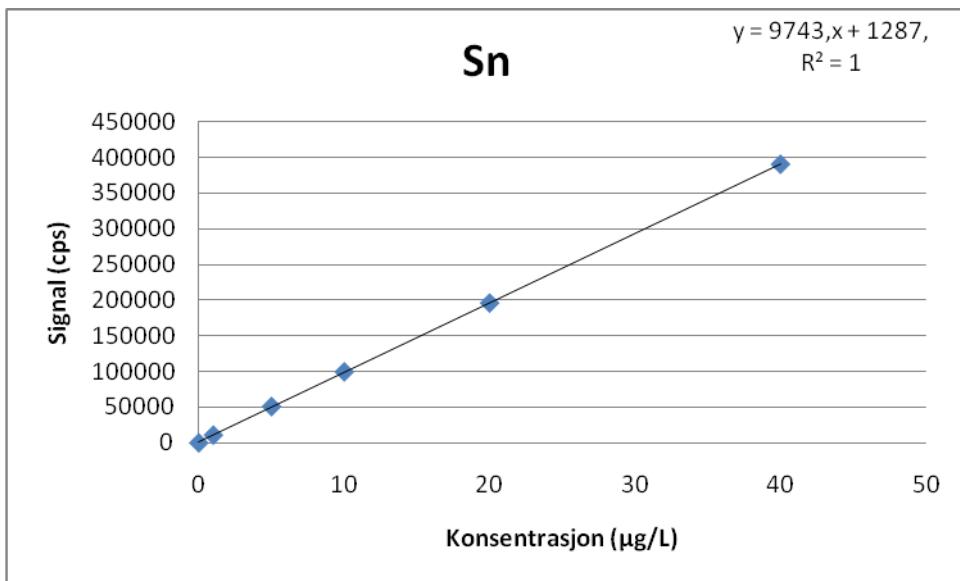
Figur E-9: Kalibreringskurve for ¹⁰⁸Pd.



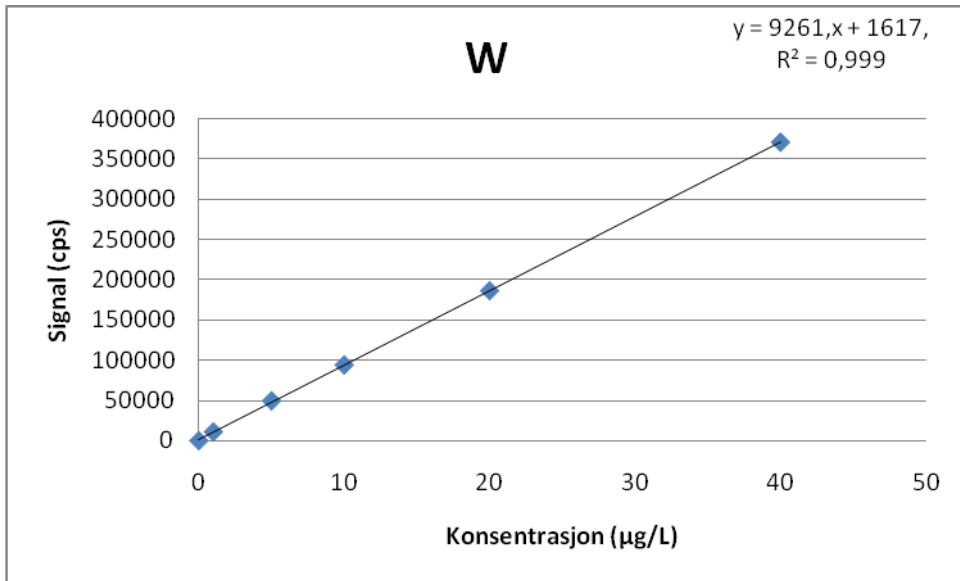
Figur E-10: Kalibreringskurve for ¹⁰⁷Ag.



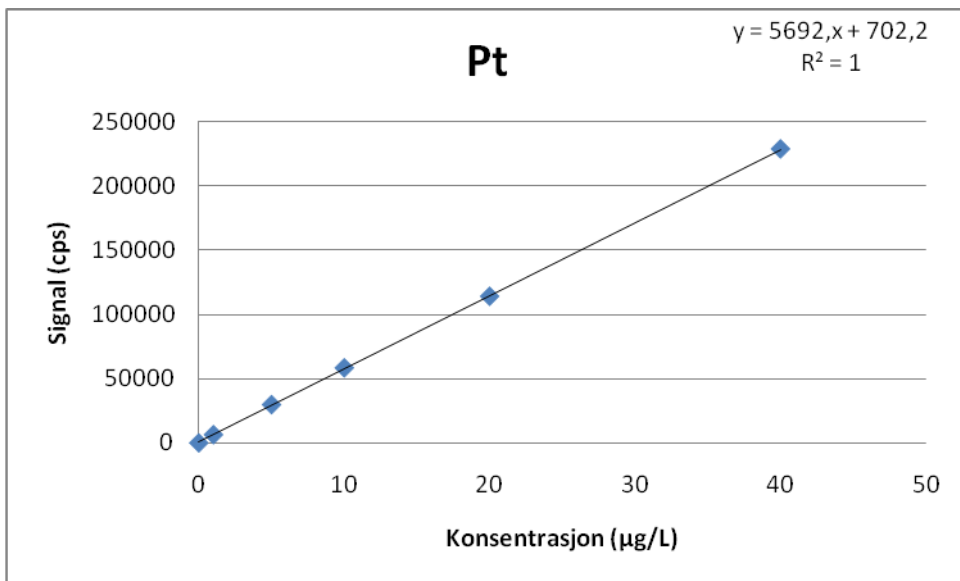
Figur E-11: Kalibreringskurve for ¹¹⁵In.



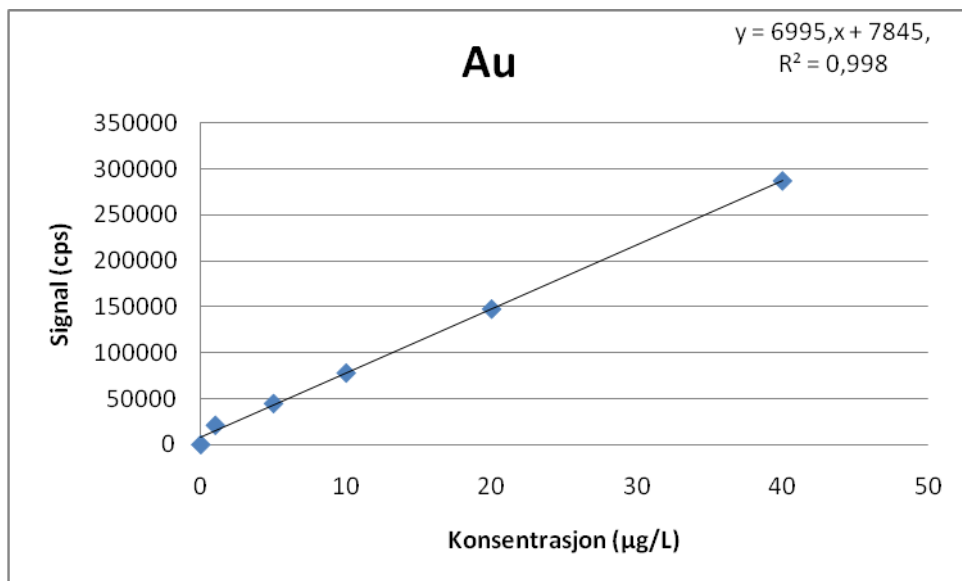
Figur E-12: Kalibreringskurve for ¹²⁰Sn.



Figur E-13: Kalibreringskurve for ^{184}W .



Figur E-14: Kalibreringskurve for ^{195}Pt .



Figur E-15: Kalibreringskurve for ¹⁹⁷Au.

F. Resultater fra analysering av de odontologiske legeringene

Tabell F-1: Resultater fra analysering av de odontologiske legeringene.

	⁵² Cr	⁵⁵ Mn	⁵⁴ Fe	⁵⁹ Co	⁶⁰ Ni	⁶⁵ Cu	⁶⁶ Zn	⁶⁹ Ga	⁹³ Nb	⁹⁵ Mo	¹⁰⁸ Pd	¹⁰⁷ Ag	¹¹⁵ In	¹²⁰ Sn	¹⁸⁴ W	¹⁹⁵ Pt	¹⁹⁷ Au
Prøve 1, Wirobond 280																	
Gjennomsnitt (µg/L)	6,5			240				10		11					12		
Standardavvik (µg/L)	0,91			23				1,2		5,0					2,7		
Rel. standardavvik (%)	14			9,7				12		44					22		
Antall prøver (n)	5			6				5		5					5		
Prøve 2, Wirobond C																	
Gjennomsnitt (µg/L)	6			250						12					10		
Standardavvik (µg/L)	1			26						1,8					1,5		
Rel. standardavvik (%)	20			10						15					15		
Antall prøver (n)	6			6						5					5		
Prøve 3, Solibond C-plus																	
Gjennomsnitt (µg/L)	5			297					0,6	5					15		
Standardavvik (µg/L)																	
Rel. standardavvik (%)																	
Antall prøver (n)	1			1					1	1					1		
Prøve 4, Remanium segura																	
Gjennomsnitt (µg/L)	7			140						5					6		
Standardavvik (µg/L)	4			23						2					2		
Rel. standardavvik (%)	60			16						30					20		
Antall prøver (n)	6			6						6					6		
Prøve 5, Remanium star																	
Gjennomsnitt (µg/L)	5,5			183					0,20						10,3		
Standardavvik (µg/L)	0,35			6,40					0,045						0,260		
Rel. standardavvik (%)	6,2			3,50					23						2,50		
Antall prøver (n)	6			6					6						6		
Prøve 6, Heraenium star																	
Gjennomsnitt (µg/L)	7	3		266						7					16		

Standardavvik (µg/L)										
Rel. standardavvik (%)										
Antall prøver (n)	1	1	1			1			1	
Prøve 7, Heraenium Pw										
Gjennomsnitt (µg/L)	5,4	3	210						29	
Standardavvik (µg/L)	0,47	1	14						4,4	
Rel. standardavvik (%)	8,6	30	6,9						15	
Antall prøver (n)	6	6	6						5	
Prøve 8, U-guld										
Gjennomsnitt (µg/L)			193,3	31		3,3	5,18		4,85	11
Standardavvik (µg/L)			0,2500	3,4		0,10	0,0450		0,0450	2,2
Rel. standardavvik (%)			0,1300	11		3,2	0,870		0,930	20
Antall prøver (n)			2	2		2	2		2	2
Prøve 9, Albabond A										
Gjennomsnitt (µg/L)						56	70	5	20	
Standardavvik (µg/L)						9,8	10	1	2,8	
Rel. standardavvik (%)						18	16	20	14	
Antall prøver (n)						6	6	6	6	
Prøve 10, Wiron 99										
Gjennomsnitt (µg/L)	7		270			2,2	24			
Standardavvik (µg/L)	1		65			0,51	4,0			
Rel. standardavvik (%)	10		24			23	16			
Antall prøver (n)	3		3			3	3			
Prøve 11, Titan grade II¹										
Gjennomsnitt (µg/L)										
Standardavvik (µg/L)										
Rel. standardavvik (%)										
Antall prøver (n)										
Prøve 13, Wirobond LFC										
Gjennomsnitt (µg/L)	2,3	3	50			7				
Standardavvik (µg/L)	0,56	4	20			2				
Rel. standardavvik (%)	24	100	40			20				
Antall prøver (n)	4	4	4			4				
Prøve 14, IPS d. SIGN 30										

Gjennomsnitt (µg/L)	13	260	18	4,2	2,1
Standardavvik (µg/L)	3,8	16	1,2	0,87	0,60
Rel. standardavvik (%)	28	6,0	6,7	21	28
Antall prøver (n)	4	4	4	4	4
Prøve 15, Heraenium S					
Gjennomsnitt (µg/L)	7	320			28
Standardavvik (µg/L)					
Rel. standardavvik (%)					
Antall prøver (n)	1	1			1
Prøve 16, Heraenium Sun					
Gjennomsnitt (µg/L)	20	3	190	6,9	6
Standardavvik (µg/L)	20	1	33	0,56	2
Rel. standardavvik (%)	80	40	18	8,1	30
Antall prøver (n)	2	2	2	2	2
Prøve 17, Remanium 2001					
Gjennomsnitt (µg/L)	6	240		20	8
Standardavvik (µg/L)	2	38		4,6	2
Rel. standardavvik (%)	40	16		23	20
Antall prøver (n)	6	6		6	6
Prøve 18, Remanium Cse					
Gjennomsnitt (µg/L)	6,0	130		17	
Standardavvik (µg/L)	0,60	17		2,1	
Rel. standardavvik (%)	10	13		12	
Antall prøver (n)	6	6		6	
Prøve 19, NPG					
Gjennomsnitt (µg/L)	30	50	> 800 ²	30	
Standardavvik (µg/L)	10	10	820	20	
Rel. standardavvik (%)	50	30	21	60	
Antall prøver (n)	5	5	5	5	

¹Titan er ikke bestemt i denne oppgaven.

²Resultat: 3900 µg/L er over validert område og gis derfor gis ut > 800 µg/L. Standardavvik og relativt standardavvik ble beregnet ut fra resultat 3900 µg/L.

G. Resultater fra analysering av de odontologiske legeringene (alle resultater)

Tabell G-1: Prøve 20, prøveblind (teflon)

Analytt	20-1	20-2 ²	20-3	20-4	20-5	20-6	20-1	20-2	20-3	20-4	20-5	20-6	Middel-	Standard-	DL	QL
	sep ¹	sep	sep	sep	sep	sep	okt	okt	okt	okt	okt	okt	verdi	avvik	µg/L	µg/L
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L
Mn	-0,126	-	-0,084	-0,105	-0,105	0,084	-0,861	-0,042	-0,693	-0,021	0,231	-0,084	-0,2	0,3	1	3
Co	-0,021	-	0,105	0,042	0,063	-0,021	0,042	0	0,105	0,042	0,126	0,042	0,05	0,05	0,1	0,5
Ni	1,176	-	0,357	0,378	0,651	0,504	0,483	0,147	3,885	0,042	1,071	0,315	1	1	3	10
Cu	0,231	-	1,05	0,924	0,399	0	10,311	2,415	1,785	0,462	2,772	2,226	2	3	9	29
Zn	1,449	-	-0,042	-0,693	-0,546	-0,063	-0,021	0,21	-0,651	-0,609	1,428	-0,483	0,0	0,8	2	8
Ga	-0,021	-	0	-0,042	0,042	0	0	-0,042	0	0,021	0	-0,021	-0,01	0,03	0,08	0,25
Nb	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-0,021	-0,002	0,007	0,02	0,06
Mo	0,105	-	0,063	0,105	0,084	0,063	0,042	0	0,105	0,042	-0,021	-0,021	0,05	0,05	0,1	0,5
Pd	-0,063	-	0	-0,084	-0,105	-0,063	-0,021	0,063	-0,042	-0,084	-0,084	0	-0,04	0,05	0,1	0,5
Ag	0,588	-	0,189	0,105	0,042	0,084	0,084	0,105	0,021	0	0,021	0,021	0,1	0,2	0,5	2
In	0	-	0	0	0	0	0	0	-0,021	0	0	-0,021	-0,004	0,008	0,03	0,08
Sn	-0,021	-	-0,021	-0,042	-0,021	-0,042	-0,042	-0,021	-0,042	-0,021	-0,042	-0,063	-0,03	0,01	0,04	0,1
W	-0,042	-	0,084	-0,168	-0,042	0,063	0,084	-0,084	0,021	-0,105	-0,252	-0,105	0,0	0,1	0,3	1
Pt	0,021	-	0	0,021	0	0	0	0	0,021	0,021	0,021	0	0,01	0,01	0,03	0,1
Au	2,646	-	0,126	-0,252	-0,336	-0,42	-0,693	-0,735	-0,546	-0,777	-0,84	-1,008	0	1	3	10
Cr	0,105	0,168	0,063	0,105	0,252	0,357	0,21	0,042	0,273	0	0,063	0,231	0,2	0,1	0,3	1
Fe	77,805	13,545	23,394	24,717	27,489	27,132	24,759	30,471	23,961	19,131	20,496	21	28	20	50	160

¹Seks prøver er preparert i september og seks prøver er preparert i oktober.

²Prøve 20-2 fra september fikk ikke noe resultat på alle grunnstoffene som er analysert i standard mode fordi prøveslange hoppet av under analysering.

Tabell G-2: Prøve 1, Wirobond 280

Analytt	1-1	1-2	1-3	1-4	1-5	1-6	Middelverdi	Standardavvik	Relativt standardavvik
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	%
Mn	0,630	1,071	0,987	-0,546	0,525	0,840	0,6	0,5	90
Co	269,976	260,946	250,845	206,787	225,771	237,237	240	21	8,8
Ni	-0,105	0,126	-0,189	-0,126	-0,147	0,189	0,0	0,1	300
Cu	3,024	2,163	4,704	1,848	2,352	8,631	4	2	60
Zn	1,071	0,294	1,491	-0,189	0,441	0,336	0,6	0,6	100
Ga	11,193	11,760	(22,386)	8,526	9,912	10,416	10	1,2	12
Nb	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,021	0,000	0,00	0,008	200
Mo	20,160	10,374	(40,194)	8,085	9,072	9,345	11	5,0	44
Pd	0,252	0,000	0,105	-0,042	0,441	-0,042	0,1	0,2	100
Ag	1,428	0,504	0,504	0,273	0,462	0,210	0,6	0,4	70
In	0,021	0,000	0,021	0,021	0,042	0,000	0,02	0,01	80
Sn	0,252	0,000	0,000	0,021	0,063	-0,021	0,05	0,09	180
W	16,779	12,600	(44,037)	9,975	10,920	11,088	12	2,7	22
Pt	0,000	0,021	-0,021	0,000	0,000	0,042	0,01	0,02	300
Au	6,237	2,415	1,197	0,777	0,126	-0,042	2	2	100
Cr	7,560	7,266	(52,332)	5,208	6,510	6,636	6,5	0,91	14
Fe	23,835	19,887	27,132	25,137	21,798	28,266	24	2,9	12

Resultater i parentes ble fjernet på grunnlag av Dixons test for uteliggere (vedlegg C).

Tabell G-3: Prøve 2, Wirobond C

Analytt	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5	2-6	Middelverdi	Standardavvik	Relativt
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L			µg/L
Mn	-0,084	-0,567	-0,105	-0,105	-0,609	-0,105	-0,3	0,3	90
Co	270,354	233,688	287,574	219,366	237,762	250	250	26	10
Ni	-0,063	-0,084	0,441	0,399	0,315	0,399	0,2	0,2	100
Cu	2,730	2,331	5,817	1,533	1,743	2,562	3	2	60
Zn	0,756	0,105	1,806	0,756	1,407	1,092	1,0	0,59	60
Ga	0,042	0,084	0,042	0,042	0,063	0,063	0,06	0,02	30
Nb	0,000	0,000	-0,021	0,000	0,000	-0,021	-0,01	0,01	150
Mo	12,768	14,511	(54,579)	10,332	10,353	11,214	12	1,8	15
Pd	-0,042	-0,105	-0,084	-0,105	-0,126	-0,147	-0,10	0,036	36
Ag	0,399	0,126	0,021	0,042	0,042	0,063	0,1	0,1	100
In	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,00	0,000	0,0
Sn	-0,021	0,000	0,000	-0,021	-0,042	-0,021	-0,02	0,02	90
W	12,306	10,374	(35,763)	8,547	8,904	10	10	1,5	15
Pt	0,000	0,000	0,000	-0,021	0,000	-0,021	-0,01	0,01	200
Au	0,504	-0,231	-0,861	-1,302	-1,428	-1,491	-0,8	0,8	100
Cr	7,581	4,536	6,216	5,628	6,510	6,615	6	1	20
Fe	29,127	25,536	19,383	26,397	20,685	26,334	25	3,7	15

Resultater i parentes ble fjernet på grunnlag av Dixons test for uteliggere (vedlegg C).

Tabell G-4: Prøve 3, Solibond C-plus

Analytt	3-1
	$\mu\text{g/L}$
Mn	-1,0
Co	297
Ni	-0,2
Cu	2,0
Zn	-0,5
Ga	0,0
Nb	0,6
Mo	5
Pd	0,0
Ag	0,2
In	0,0
Sn	0,0
W	15
Pt	0,0
Au	-0,5
Cr	4,9
Fe	1,9

Feil under analysering av prøve 3-2, derfor bare en prøveparallel.

Tabell G-5: Prøve 4, Remanium securi

Analytt	4-1	4-2	4-3	4-4	4-5	4-6	Middelverdi	Standardavvik	Relativt
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L			µg/L
Mn	-0,147	-1,008	-0,714	-0,882	-0,315	-0,441	-0,6	0,3	60
Co	132,363	122,409	109,179	146,895	154,476	171,129	140	23	16
Ni	0,063	-0,084	-0,084	0,210	0,000	-0,147	0,0	0,1	2000
Cu	2,667	2,646	1,848	4,116	4,263	2,205	3	1	30
Zn	1,323	0,588	0,000	0,546	1,344	1,911	1,0	0,69	73
Ga	0,042	0,063	0,000	0,063	0,021	0,021	0,04	0,03	70
Nb	0,021	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	245
Mo	3,465	4,095	3,780	4,914	4,179	7,623	5	2	30
Pd	-0,063	-0,021	0,021	-0,042	-0,021	-0,063	-0,03	0,03	100
Ag	0,294	0,189	0,042	0,021	0,042	0,021	0,1	0,1	100
In	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,00	0,000	0,0
Sn	-0,042	-0,021	-0,063	-0,021	-0,021	-0,042	-0,04	0,02	50
W	5,040	5,208	5,019	5,859	6,195	8,883	6	2	20
Pt	0,000	0,021	0,021	0,021	0,000	0,021	0,01	0,01	80
Au	0,168	-0,441	-0,294	-0,420	-0,609	-0,504	-0,4	0,3	80
Cr	4,431	4,704	4,074	4,956	13,629	8,463	7	4	60
Fe	-1,008	1,386	1,785	2,667	0,798	-0,714	1	1	200

Tabell G-6: Prøve 5, Remanium star

Analytt	5-1	5-2	5-3	5-4	5-5	5-6	Middelverdi	Standardavvik	Relativt
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L			µg/L
Mn	0,567	0,903	0,777	0,462	0,525	0,567	0,6	0,2	20
Co	182,973	182,658	184,527	171,087	188,916	188,202	183	5,90	3,20
Ni	1,344	0,210	0,441	0,294	0,210	0,315	0,5	0,4	90
Cu	1,932	1,701	0,714	0,651	0,945	1,134	1,2	0,48	41
Zn	0,525	1,008	0,315	0,840	0,504	0,021	0,5	0,3	60
Ga	0,021	0,042	0,063	0,063	0,021	0,063	0,05	0,02	40
Nb	0,252	0,126	0,168	0,189	0,210	0,231	0,20	0,041	21
Mo	0,462	0,462	0,105	-0,063	0,021	0,210	0,2	0,2	100
Pd	-0,063	-0,126	-0,168	-0,147	-0,168	-0,147	-0,14	0,036	26
Ag	0,063	0,021	0,021	0,000	0,000	-0,021	0,01	0,03	190
In	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,00	0,000	0,0
Sn	-0,042	-0,042	-0,042	-0,042	-0,042	-0,042	-0,04	0,000	0,0
W	10,437	10,080	10,479	9,870	10,101	10,479	10,3	0,240	2,30
Pt	-0,021	0,000	0,000	-0,021	0,000	-0,021	-0,01	0,01	100
Au	-1,260	-1,470	-1,722	-1,638	-1,806	-1,722	-1,6	0,19	12
Cr	5,502	5,355	5,439	5,691	6,258	5,943	5,5	0,32	5,5
Fe	20,916	21,714	20,685	31,794	22,911	29,211	25	4,3	18

Tabell G-7: Prøve 6, Heraneium P

Analytt	6-1
	µg/L
Mn	3
Co	266
Ni	0,8
Cu	3,1
Zn	1,0
Ga	0,1
Nb	0,0
Mo	7
Pd	-0,1
Ag	0,1
In	0,0
Sn	-0,0
W	16
Pt	0,0
Au	-1,5
Cr	7
Fe	27

Tabell G-8: Prøve 7, Heraenium Pw

Analytt	7-1	7-2	7-3	7-4	7-5	7-6	Middelverdi	Standardavvik	Relativt
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L			µg/L
Mn	3,465	3,402	4,725	4,494	1,869	1,869	3	1	40
Co	186,543	215,145	195,279	225,645	211,827	211,827	210	14	6,9
Ni	0,399	0,294	0,504	0,168	0,399	0,399	0,4	0,1	30
Cu	1,890	9,534	4,578	3,045	4,179	4,179	5	3	60
Zn	0,987	1,428	1,449	0,315	0,315	0,315	0,8	0,6	70
Ga	0,063	0,063	0,420	0,063	0,042	0,042	0,1	0,2	100
Nb	0,021	0,021	0,063	0,021	0,021	0,021	0,03	0,02	60
Mo	0,126	0,231	0,210	0,378	0,168	0,168	0,21	0,089	42
Pd	-0,042	-0,042	-0,105	0,147	-0,105	-0,105	-0,04	0,1	200
Ag	1,386	0,777	0,588	0,525	0,420	0,420	0,7	0,4	50
In	0,000	0,000	-0,021	0,021	0,000	0,000	0,00	0,01	10
Sn	-0,063	-0,063	-0,063	0,000	-0,042	-0,042	-0,05	0,03	50
W	21,966	29,526	26,880	(54,516)	32,466	32,466	29	4,4	13
Pt	0,000	-0,021	0,021	0,000	0,000	0,000	0,00	0,01	10
Au	3,192	0,147	-0,483	-0,840	-0,966	-0,966	0	2	10000
Cr	5,922	4,956	5,922	6,006	5,040	5,649	5,4	0,47	8,4
Fe	24,507	26,439	24,780	28,413	27,552	26,502	26	1,5	5,8

Resultater i parentes ble fjernet på grunnlag av Dixons test for uteliggere (vedlegg C).

Tabell G-9: Prøve 8, U-guld

Analytt	8-1	8-2 ¹	Middelverdi	Standardavvik	Relativt standardavvik
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	%
Mn	-0,126	-0,273	-0,2	0,1	50
Co	0,084	0,105	0,09	0,02	16
Ni	0,441	0,315	0,38	0,089	24
Cu	195,153	195,510	193,3	0,2500	0,1000
Zn	33,516	28,644	31	3,4	11
Ga	0,357	0,210	0,3	0,1	40
Nb	0,000	0,000	0,00	0,000	0,0
Mo	-0,063	0,021	-0,02	0,06	300
Pd	0,000	-0,084	-0,04	0,06	100
Ag	3,465	3,318	3,3	0,10	3,1
In	5,145	5,208	5,18	0,0450	0,900
Sn	0,021	0,000	0,01	0,02	140
W	0,168	0,252	0,21	0,059	28
Pt	4,830	4,893	4,85	0,0450	0,900
Au	9,282	12,348	11	2,2	20
Cr	0,063	-	-	-	-
Fe	3,003	-	-	-	-

¹Ikke nok prøvemateriale til å analysere to paralleller i DRC mode, prøve 8-1 og 8-2 er slått sammen.

Tabell G-10: Prøve 9, Albabond A

Analytt	9-1	9-2	9-3	9-4	9-5	9-6	Middelverdi	Standardavvik	Relativt standardavvik
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	%
Mn	-0,420	-0,273	-0,294	-0,273	-0,357	-0,399	-0,34	0,065	20
Co	0,378	0,210	0,378	0,105	0,147	0,231	0,2	0,1	50
Ni	0,294	0,441	0,315	0,042	0,336	0,210	0,3	0,1	50
Cu	1,428	7,497	2,058	1,785	3,171	2,016	3	2	80
Zn	2,310	2,730	3,444	1,218	1,512	0,588	2	1	50
Ga	0,000	0,000	0,000	-0,042	0,000	0,021	0,00	0,02	600
Nb	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,00	0,000	0,0
Mo	0,126	0,063	0,252	0,063	0,063	0,105	0,11	0,074	66
Pd	66,129	60,921	62,286	43,197	56,574	43,827	56	9,8	18
Ag	63,609	80,325	65,814	50,274	71,001	58,590	70	10	16
In	6,258	4,452	6,069	4,368	6,258	4,158	5	1	20
Sn	23,919	17,430	23,016	17,955	21,042	18,291	20	2,8	14
W	1,155	1,113	0,861	1,071	0,231	0,819	0,9	0,3	40
Pt	0,000	0,021	0,000	0,021	0,042	0,021	0,02	0,02	90
Au	1,953	1,638	1,260	0,777	0,714	0,609	1,2	0,55	48
Cr	0,000	-0,105	0,063	0,000	0,378	0,021	0,1	0,2	300
Fe	-1,827	-2,268	4,662	2,268	8,925	3,654	3	4	200

Tabell G-11: Prøve 10, Wiron 99

Analytt	10-1 ¹	10-2	10-3	10-4	Middelverdi	Standardavvik	Relativt standardavvik
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	%
Mn	-0,483	0,672	1,260	0,945	1,0	0,29	31
Co	0,231	0,105	0,336	0,231	0,2	0,2	50
Ni	458,934	243,201	348,390	229,929	270	65	24
Cu	5,586	3,339	3,192	11,424	6	5	80
Zn	1,344	0,714	-0,084	0,294	0,3	0,4	130
Ga	0,021	0,063	0,084	0,042	0,06	0,02	30
Nb	1,554	1,995	2,751	1,785	2,2	0,51	23
Mo	47,124	23,835	28,728	20,832	24	4,0	16
Pd	-0,105	-0,147	-0,126	-0,147	-0,14	0,012	8,7
Ag	0,336	0,189	0,168	0,126	0,16	0,032	20
In	0,000	0,000	0,000	0,000	0,00	0,000	0,0
Sn	-0,042	-0,042	-0,063	-0,063	-0,06	0,01	20
W	0,231	0,147	0,315	0,105	0,2	0,1	50
Pt	0,021	0,000	-0,042	0,000	-0,01	0,02	200
Au	-0,987	-1,365	-1,596	-1,575	-1,5	0,13	8,4
Cr	13,797	7,686	8,421	6,342	7	1	10
Fe	26,607	25,368	22,491	27,531	25	2,5	10

¹Prøve 10-1 er ekskludert fra resultatene på grunn av at det var vanskelig å ta metallbiten opp av mediet, slik at mye pinking med pinsett gav stort utlekk.

Tabell G-12: Prøve 11, Titan grade II

Analytt	11-1	11-2	11-3	11-4	Middelverdi	Standardavvik	Relativt standardavvik
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	%
Mn	-1,092	-0,945	-1,134	-0,987	-1,04	0,088	8,50
Co	0,315	0,273	0,294	0,336	0,30	0,027	8,9
Ni	0,378	0,273	0,315	0,483	0,36	0,091	25
Cu	4,284	9,072	4,368	5,397	6	2	40
Zn	-0,042	3,612	-0,336	3,486	2	2	100
Ga	0,021	0,063	0,042	0,084	0,05	0,03	50
Nb	-0,021	-0,021	-0,021	-0,021	-0,02	0,000	0,0
Mo	0,126	0,462	0,126	0,084	0,2	0,2	90
Pd	-0,105	-0,126	-0,126	-0,147	-0,13	0,017	14
Ag	0,189	0,084	0,084	0,042	0,10	0,063	63
In	0,000	0,000	0,000	0,000	0,00	0,000	0,0
Sn	-0,063	-0,063	-0,042	-0,063	-0,06	0,01	20
W	1,008	0,231	0,336	0,378	0,5	0,4	70
Pt	-0,021	-0,021	-0,021	-0,021	-0,02	0,00	0,0
Au	-1,575	-1,701	-1,743	-1,743	-1,69	0,0800	4,70
Cr	0,168	0,063	0,525	0,147	0,2	0,2	90
Fe	23,016	27,300	29,694	26,922	27	2,8	10

Tabell G-13: Prøve 13, Wirobond LFC

Analytt	13-1	13-2	13-3	13-4	13-5 ¹	13-6 ¹	Middelverdi	Standardavvik	Relativt
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L			standardavvik
Mn	1,743	0,525	8,232	0,672	8,967	14,280	3	4	130
Co	41,034	64,344	72,345	34,125	107,226	574,203	50	20	30
Ni	0,399	0,147	0,483	0,231	0,735	0,294	0,3	0,2	50
Cu	1,176	0,903	13,734	0,462	1,386	2,352	4	7	200
Zn	0,903	0,273	0,273	0,147	0,672	0,714	0,4	0,3	90
Ga	0,189	0,063	0,063	0,042	0,042	0,126	0,09	0,07	80
Nb	0,042	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,02	0,02	100
Mo	6,720	7,707	8,589	5,061	12,012	74,655	7	2	20
Pd	-0,126	-0,126	-0,084	-0,063	-0,084	-0,126	-0,10	0,032	32
Ag	0,105	0,084	0,021	0,021	0,000	-0,021	0,06	0,04	80
In	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,021	0,000	0,00	0,000	0,0
Sn	-0,063	-0,042	-0,042	-0,042	-0,042	-0,021	-0,05	0,01	20
W	0,273	0,126	0,189	0,000	0,147	0,336	0,1	0,1	80
Pt	-0,021	-0,021	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,01	0,01	100
Au	-1,722	-1,827	-1,932	-1,827	-1,869	-1,932	-1,83	0,0860	4,70
Cr	2,814	1,701	2,961	2,541	11,235	118,839	2,3	0,56	23
Fe	22,071	22,323	25,410	25,242	40,971	109,473	24	1,8	7,6

¹Prøve 13-5 og 13-6 er ekskludert fra resultatene på grunn av at det var vanskelig å ta metallbiten opp av mediet, slik at mye pirking med pinsett gav stort utlekk.

Tabell G-14: Prøve 14, IPS d. SIGN 30

Analytt	14-1 ¹	14-2	14-3	14-4	14-5 ¹	14-6	Middelerdi	Standardavvik	Relativt
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L			standardavvik
Mn	0,924	-0,252	-0,063	-0,210	3,108	-0,798	-0,3	0,3	100
Co	8216,859	277,263	266,826	242,319	18250,533	250,992	260	16	6,0
Ni	17,640	4,074	0,819	0,966	28,287	4,389	3	2	80
Cu	4,284	6,258	4,053	2,604	4,641	3,318	4	2	40
Zn	7,308	0,630	0,147	0,084	16,359	7,455	2	4	200
Ga	429,450	18,354	19,026	16,233	1203,237	17,598	18	1,2	6,7
Nb	138,957	4,557	4,977	4,431	319,221	2,982	4,2	0,87	21
Mo	72,723	2,688	2,646	1,428	144,711	1,953	2,1	0,60	28
Pd	0,126	-0,063	0,189	-0,084	0,147	-0,063	0,0	0,13	2500
Ag	0,252	0,168	0,399	0,147	0,525	0,252	0,2	0,11	48
In	0,063	0,021	0,021	0,000	0,336	0,000	0,01	0,01	100
Sn	0,000	-0,042	0,021	-0,042	0,042	0,294	0,1	0,2	300
W	2,856	0,189	-0,021	-0,063	1,071	-0,189	0,0	0,2	700
Pt	0,000	0,000	0,021	0,000	0,000	0,000	0,01	0,01	200
Au	-1,092	-1,029	-1,029	-1,008	-0,798	-0,882	-0,99	0,071	7,2
Cr	2623,572	13,566	15,267	8,064	6934,305	16,800	13	3,8	28
Fe	124,530	23,310	29,610	24,003	346,521	2,667	20	10	60

¹Prøve 14-1 og 14-5 er ekskludert fra resultatene på grunn av at det var vanskelig å ta metallbiten opp av mediet, slik at mye pirking med pinsett gav stort utlekk.

Tabell G-15: Prøve 15, Heraenium S

Analytt	15-1	15-2 ¹
	µg/L	µg/L
Mn	0,3	1,701
Co	0,4	0,651
Ni	320	1 165,899
Cu	2,4	2,667
Zn	0,2	-0,756
Ga	0,1	0,042
Nb	-0,1	-0,021
Mo	28	487,095
Pd	-0,11	0,525
Ag	0,01	0,189
In	0,01	0,021
Sn	-0,1	0,000
W	0,2	0,189
Pt	0,0	-0,021
Au	-1,8	-1,701
Cr	7	42,861
Fe	20	28,077

¹Prøve 15-2 er ekskludert fra resultatene på grunn av at det var vanskelig å ta metallbiten opp av mediet, slik at mye pinking med pinsett gav stort utlekk.

Tabell G-16: Prøve 16, Heraenium Sun

Analytt	16-1	16-2	Middelverdi	Standardavvik	Relativt standardavvik
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	%
Mn	3,486	1,869	3	1	40
Co	212,121	165,291	190	33	18
Ni	0,546	0,126	0,3	0,3	90
Cu	0,924	0,840	0,88	0,059	6,7
Zn	-0,063	0,252	0,1	0,2	200
Ga	0,273	0,210	0,24	0,045	18
Nb	-0,021	-0,021	-0,02	0,000	0,0
Mo	7,392	6,594	6,9	0,56	8,1
Pd	-0,105	-0,021	-0,06	0,059	94
Ag	0,000	0,105	0,05	0,07	100
In	0,000	0,000	0,00	0,000	0,0
Sn	-0,084	-0,042	-0,06	0,03	50
W	7,644	4,851	6	2	30
Pt	-0,021	0,000	-0,01	0,02	100
Au	-1,869	-1,806	-1,84	0,0450	2,40
Cr	28,161	7,287	20	10	80
Fe	34,566	5,271	20	20	100

Tabell G-17: Prøve 17, Remanium 2001

Analytt	17-1	17-2	17-3	17-4	17-5	17-6	Middelverdi	Standardavvik	Relativt
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L			standardavvik
Mn	0,420	-0,903	0,147	0,357	0,147	-0,546	-0,1	0,5	900
Co	302,400	199,374	243,621	251,643	222,852	206,199	240	38	16
Ni	0,252	0,084	0,693	0,336	0,714	0,378	0,4	0,3	60
Cu	3,801	2,415	2,163	2,331	11,487	2,268	4	4	90
Zn	5,376	-0,042	0,462	0,966	0,588	-0,126	1	2	200
Ga	0,063	0,063	0,042	0,084	0,063	0,042	0,060	0,016	27
Nb	-0,021	-0,021	-0,021	-0,021	-0,021	-0,021	-0,02	0,000	0,0
Mo	24,570	14,700	24,654	21,483	17,829	14,784	20	4,6	23
Pd	-0,084	-0,105	-0,126	-0,126	-0,147	-0,084	-0,11	0,025	23
Ag	0,063	0,000	-0,063	-0,021	0,000	-0,042	-0,010	0,044	410
In	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,00	0,000	0,0
Sn	0,021	-0,042	-0,042	-0,042	-0,042	0,000	-0,02	0,03	100
W	10,332	5,964	9,534	8,484	7,098	5,733	8	2	20
Pt	-0,021	-0,021	-0,021	-0,021	0,021	-0,021	-0,01	0,02	100
Au	-1,680	-1,974	-1,974	-2,016	-2,058	-1,743	-1,9	0,16	8,2
Cr	11,046	4,494	5,691	5,817	5,922	4,431	6	2	40
Fe	27,699	22,239	24,759	26,460	26,817	25,956	26	1,9	7,5

Tabell G-18: Prøve 18, Remanium CSe

Analytt	18-1	18-2	18-3	18-4	18-5	18-6	Middelverdi	Standardavvik	Relativt standardavvik
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	%
Mn	-0,945	-0,147	0,105	0,063	-0,168	-0,105	-0,2	0,4	200
Co	1,134	0,840	0,882	0,756	1,176	1,008	1,0	0,17	17
Ni	136,689	124,656	133,707	108,213	133,455	160,335	130	17	13
Cu	2,289	3,402	3,171	3,465	2,562	3,087	3,0	0,47	16
Zn	0,042	4,137	3,822	0,882	3,885	1,113	2	2	80
Ga	0,063	0,021	0,063	0,063	0,042	0,063	0,05	0,018	34
Nb	-0,021	-0,021	-0,021	-0,021	-0,021	-0,021	-0,02	0,000	0,0
Mo	16,716	17,535	18,375	14,133	17,304	20,412	17	2,1	12
Pd	0,042	-0,084	-0,126	-0,168	-0,189	-0,189	-0,12	0,089	75
Ag	0,042	0,000	-0,042	-0,021	-0,021	-0,021	-0,01	0,03	300
In	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,00	0,000	0,0
Sn	-0,042	-0,063	-0,063	-0,063	-0,063	-0,063	-0,060	0,0090	14
W	0,105	0,126	0,231	0,189	0,126	0,189	0,16	0,049	31
Pt	0,000	0,021	-0,021	0,000	0,000	0,000	0,00	0,013	0,00
Au	-1,911	-1,974	-1,974	-2,058	-1,932	-2,037	-1,98	0,0570	2,90
Cr	6,447	5,649	6,384	5,166	6,384	6,783	6,0	0,60	9,8
Fe	24,675	21,609	25,935	20,349	24,990	21,021	23	2,4	10,3

Tabell G-19: Prøve 19, NPG

Analytt	19-1	19-2	19-3	19-4	19-5	19-6 ¹	Middelverdi	Standardavvik	Relativt standardavvik
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	%
Mn	24,696	38,304	12,705	42,252	16,653	419,475	30	10	50
Co	0,084	0,189	0,147	0,168	0,357	0,420	0,2	0,1	50
Ni	32,508	38,157	44,982	49,518	66,738	171,906	50	10	30
Cu	2732,604	3853,584	3859,905	4273,185	4994,220	90669,810	3900	820	21
Zn	27,930	51,219	11,718	59,031	15,960	15,645	30	20	60
Ga	0,021	0,042	0,021	0,042	0,042	0,063	0,03	0,01	30
Nb	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,021	0,00	0,000	0,0
Mo	0,126	0,000	0,000	0,021	0,084	0,147	0,05	0,06	100
Pd	-0,105	0,063	-0,084	-0,042	0,042	-0,021	-0,03	0,08	300
Ag	0,966	0,693	0,567	0,483	1,701	0,504	0,9	0,5	60
In	0,000	0,000	0,000	-0,021	0,000	0,000	0,000	0,009	200
Sn	-0,063	-0,063	-0,063	-0,063	-0,042	-0,042	-0,060	0,0090	16
W	-0,168	-0,126	0,021	-0,042	0,084	0,000	0,0	0,1	200
Pt	0,021	0,000	0,000	0,021	0,000	0,000	0,01	0,010	100
Au	-0,567	-0,840	-0,798	-0,987	-0,378	-0,945	-0,7	0,2	30
Cr	0,168	-0,084	0,462	0,189	0,105	0,105	0,2	0,2	100
Fe	24,780	21,567	36,981	46,956	-0,315	29,736	26	20	70

¹Prøve 19-6 er ekskludert fra resultatene, fordi den er avvikende fra de andre resultatene. 19-6 er preparert i oktober, mens de andre er preparert i september.

H. Beregning av fortynningsfeil på grunn av at noe cellekulturmedium ble hengende igjen på legeringene etter inkubering (et regneeksempel)

Gjennomsnittlig volum av mediet som ble hengende igjen var 40 μL .

Ved et volum på 1 mL cellekulturmedium, ble det tilsatt 50 μL syre, noe som gir en fortynningsfaktor på $1,0476 \approx 1,05$

Ved at 40 μl blir hengende igjen på legeringene vil fortynningsfaktoren bli:

$$50 / (1050 - 40) = 1,0495 \approx 1,05$$

Dette viser at mengden som ble sittende igjen på legeringene ikke har innvirkning på analyseresultatet i denne oppgaven.