



Forord

«Kvantitativ analyse med høyopløselig væskkromatografi og tandem massespektroskopi på perfluoroktansyre og perfluoroktansulfonat i vann behandlet med aktivt kull og karbonfiber ved ulike betingelser» er en masteroppgave utført ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU) på Ås, Norge og Research Center for Eco-Environmental Sciences (RCEES) i Beijing, Folkerepublikken Kina. Oppgaven inngår i forskningsprosjektet “Polyfluorinated compounds: Are point sources contaminating the environment-consequences for human exposure in China and Norway (PFC-ChiNo)” med prosjektnummer 209666. Prosjektet er finansiert av Norges forskningsråd og prosjektleder er Dorte Herzke. Det er et samarbeid mellom NMBU, RCEES og Norsk institutt for luftforskning (NILU).

Jeg vil takke min familie og min kjæreste for all hjelp og støtte. Takk også til mine besteforeldre og foreldre som har lest korrektur. En stor takk til Roland Kallenborn, min veileder, som har hatt stor tro på meg underveis og gitt meg god hjelp når jeg har hatt bruk for det. En takk til Dag Ekeberg som jeg har diskutert problemstillinger og metode med og til Behman Nazari og Gao Yan som jeg har jobbet mye sammen med. En takk til Sweco for donasjon av karbonfiber til testing, samt prosjektet PERFOOD som har bidratt med internstandardmikser av PFOS og PFOA og gjenvinningsstandard.

Til slutt vil jeg takke de tålmodige teknikerne fra AB Sciex, som i en lang periode bidro med feilsøking og feilretting på MS-instrumentet.

Risør, 18.04.2015 Anders Philip Olesen Grefstad

Sammendrag

Perfluoroktansulfonat (PFOS) og perfluoroktansyre (PFOA) er to perfluorerte forbindelser som har blitt mye brukt til overflatebehandlingsformål i industrien. I høye konsentrasjoner har begge stoffene vist seg å være skadelige for naturen og mennesker. Det er derfor ønskelig å finne gode metoder for å redusere risikoen for kontaminering i mennesker og andre levende organismer. Hovedmålet med denne oppgaven har vært å finne optimale betingelser for fjerning av PFOS og PFOA i ferskvann ved bruk av karbonfiber og aktivt kull, og deretter teste dette ut på elvevann fra Beijing i Folkerepublikken Kina.

MilliQ-vann ble spiket med en kjent mengde PFOS og PFOA, og fikk tilsatt enten et av tre ulike karbonfibre eller en type aktivt kull ved ulike betingelser (temperatur, tid og mengde adsorberingsmaterial). Ved å sammenligne mengde PFOS og PFOA før og etter behandling med en HPLC-MSMS trippel kvadrupol, viste det seg at det aktive kullet var best egnet for fjerning av PFOA. Ved 25°C og 24 timer behandlingstid med aktivt kull, ble rundt 90% fjernet. 10 – 45% av PFOA ble adsorbent opp med de ulike fibertypene. For PFOS var tallene vesentlig lavere, under 30% for fiber og under 10% for aktivt kull.

Mengde av adsorberingsmaterialet ble variert mellom 0,01g - 2g og ga ikke store sprik i adsorberingseffekten, hverken for PFOS eller PFOA. Viktigere var behandlingstiden hvor økt behandlingstid ga en vesentlig forbedring av adsorpsjonen.

Reduksjon i behandlingstemperatur hadde middels effekt på PFOS for karbonfiberet og en mindre effekt på PFOA. Det ble utført temperaturtest for aktivt kull også, men på grunn av svært lave responstall i kromatogrammet, var det ikke mulig å komme fram til noen konklusjoner.

I Folkerepublikken Kina ble det gjort analyser med aktivt kull på vann fra elva Qinghe med prøveuttak i Beijing. Det ble oppdaget at matriks hadde liten eller ingen virkning på adsorbering av PFOA. Det ble ikke funnet kontaminasjon av PFOS i elvevannet, så den kortkjedede perfluorbutansulfonat (PFBS) ble brukt som måleobjekt istedenfor. Det ble påvist stor adsorpsjon for PFBS på aktivt kull ved 4 °C, noe som kan tyde på at perfluorerte sulfonater har en økende adsorberingseffekt på porøse overflater når karbonskjelettet er kort. Det ble gjort et nytt forsøk mot PFBS, men dette mislyktes under SPE kjøring. Et ukjent kjemikalie ble ved en feiltagelse brukt framfor metanol, noe som førte til komplett tap av alle analytter.

Stort avvik i relativ responsfaktor mellom IS og analytter (RRFi) ble et problem ved gjennomføringen av forsøkene. Det ble også økende kontaminering av PFOS. I tillegg ble det brukt en MS som viste seg å ha store korrosjonskader. Dette har påvirket sensitivitet og nøyaktighet for målingene. Oppbevaring av stamløsninger ble også en feilkilde, da mengdeforholdet mellom PFOS og PFOA endret seg over tid. Dette kan skyldes at et av stoffene ble adsorbent til veggen på plasttubene de ble oppbevart i.

Symboler og forkortelser

A	Eddy diffusjon (matematisk ukjent)
A	Selektivitet
AFFF	Akvatisk film-dannende skum (Aquatic film forming foam)
APCI	Kjemisk ionisering ved atmosfærisk trykk (Atmospheric pressure chemical ionization)
B	Molekylær diffusjon (matematisk ukjent)
C	Massetransport (matematisk ukjent)
cc	Kubikkcentimeter (Cubic centimeter)
CH ₄	Metan
CI	Kjemisk ionisering (Chemical ionization)
DDT	Diklor-difenyl-trikloretan
e	Elektron
E	Energi
ECD	Elektronfanger detektor (Electron capture detector)
EFC	Elektrokjemisk fluorering. (Electrochemical fluorization)
ED	Eddydiffusjon
EI	Elektronionisering (Electron ionization)
EPA	Environmental Protection Agency
ESI	Elektrospray ionisering (Electrospray ionization)
F	Fragment
GC	Gass kromatografi (Gas chromatography)
H	Hydrogen
HDPE	Kompakt polyetylen (High density poly ethylene)
HF	Hydrogenfluorid
HLB	Hydrofilt - lipofilt - balansert (Hydrophilic - Lipophilic - Balanced)
HPLC	Høyoppløselig væskkromatografi (High performance liquid chromatography)
IKBM	Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap
IR	Infrarød (Infrared)
IS	Internstandard (Internal standard)
K	Retensjonsfaktor
L	Lengde på kolonne
LC	Væskkromatografi (Liquid Chromatography)
LC-MS	Væskkromatografi-massespektroskopi
LOD	Deteksjonsgrense (Limit of detection)
LOQ	Kvantifiseringsgrense (Limit of quantification)
NH ₄ OH	Ammoniumhydroksid
NILU	Norsk institutt for luftforskning
NMBU	Norges Miljø- og Biovitenskapelige Universitet
NMR	Kjernemagnetisk resonans (Nuclear magnetic resonance)
M	Molekyl
MALDI	Matriks assistert laserdesorpsjonsionisering (Matrix assisted laser desorption ionization)
MD	Molekylær diffusjon
mg	Milligram
mm	Millimeter
mM	Millimolar
mL	Milliliter

mL/min	Milliliter per minutt
MP	Mobilfase (Mobile phase)
MPFAC	Internstandard av perfluorerte karboksylsyrer
MPFAS	Internstandard av perfluorerte sulfonater
MPFOA	Internstandard for perfluoroktansyre
MPFOS	Internstandard for perfluoroktansulfonat
MRM	Multipel reaksjonsmodus (Multiple reaction mode)
MS	Masse spektroskopi / Masse spektrometer (Mass spectrometry)
MSMS	Tandem Massespektroskopi
MT	Massetransport
MW	Molekylvekt (Molecular weight)
m/z	Masse / Ladning
N	Platetall
ng	Nanogram
NH ₃	Ammonium
PCB	Polyklorinerte bifenyler
PE	Polyetylen
PFAS	Perfluorerte stoffer
PFBS	Perfluorbutansulfonat
PFHxS	Perfluorheksansulfonat
PFOA	Perfluoroktansyre
PFOS	Perfluoroktansulfonat
pg	Pikogram
pKa	Syrekonstant
POP	Persistente organiske miljøgifter (Persistent organic pollutants)
PP	Polypropen
PSI	Pund per kvadrattomme (Pounds per square inch)
Q	Kvadrupol
R ²	Korrelasjonskoeffisienten
RCEES	Research Centre of Eco-Environmental Sciences
RP	Omvendtfase (Reversed phase)
RSD	Relativt standardavvik (Relative standard deviation)
R _s	Oppløsning (Resolution)
RS	Gjenvinningsstandard (Recovery standard)
RSD	Relativt standardavvik
RRFi	Relativ responsfaktor mellom internstandard og analytt (Relative response factor)
RRFg	Relativ responsfaktor mellom internstandard og gjenvinningsstandard (Relative response factor)
RT	Retensjonstid (Retention time)
SPE	Fastfase ekstraksjon (Solid phase extraction)
S/N	Signal mot støy ratio (Signal to noise ratio)
SIM	Selektert ioneovervåking (Selected ion monitoring)
SP	Fastfase (Solid phase)
U	Strømningshastighet for mobil fase (Flow rate)
UV	Ultrafiolett (Ultraviolet)
V	Volt
μ	Mikro
μL	Mikroliter

Innholdsfortegnelse

1	Bakgrunn og formål.....	8
2	Teori	10
2.1	Perfluoroktansyre og Perfluoroktansulfonat.....	10
2.1.1	Persistente organiske miljøgifter	11
2.1.2	Tidligere forsøk for fjerning av perfluoroktansulfonat og perfluoroktansyre	12
2.1.3	Perfluorerte alkylerte stoffer i Norge	12
2.2	Prøvepreparering.....	13
2.2.1	Fastfaseekstraksjon.....	13
2.3	Høyoppløselig væskkromatografi	14
2.3.1	Betingelser for god separasjon	15
2.3.2	Mobil Fase	18
2.4	Massespektrometri.....	19
2.4.1	Ionisering.....	20
2.5	Kvantitativ analyse	24
2.5.1	Intern Standard (IS) og gjenvinningsstandard (RS)	24
2.5.2	Deteksjonsgrense og kvantifikasjonsgrense	25
3	Materialer og metode.....	26
3.1	Materialer	26
3.2	Prosedyre for prøvetesting	26
3.2.1	Fibertest.....	26
3.2.2	Aktivt kull	29
3.2.3	Fast fase ekstraksjon.....	32
3.2.4	Oppkonsentrering og tilsetning av gjenvinningsstandard	32
3.2.5	Gjenvinningstest for WAX og HLB kolonner.....	33
3.2.6	Linearitetstest	33
3.2.7	Væskkromatografiprogram på NMBU/IKBM, Ås, Norge	34
3.2.8	Massespektroskopi	34
3.2.9	Elveprøver tatt fra Folkerepublikken Kina	35
4	Resultater.....	37
4.1	Resultater for linearitetstest og gjenvinningstest.....	37

4.2	Resultater for fiber batch 1 og 17 - Tidstest	39
4.3	Resultater for fiberbatch 1 og 17 - Massetest	40
4.4	Resultater for fiberbatch 17 - Temperaturtest	41
4.5	Resultater for aktiv kull - Mengdetest	43
4.6	Resultater for aktivt kull – Tidstest	45
4.7	Aktivt kull - Temperaturtest	46
4.8	Resultater for test med nytt fiber fra Sweco	46
4.9	Resultater fra Folkerepublikken Kina	47
5	Diskusjon	48
5.1	Linearitetstest og gjenvinningstest	48
5.2	Tidstest - Fiberbatch 1 og 17	48
5.3	Temperaturtest - Fiberbatch 17	50
5.4	Kullprøver - Mengdetest	52
5.5	Kullprøver - Tidstest	53
5.6	Kullprøver - Temperaturtest	55
5.7	Nytt fiber fra Sweco	55
5.8	Matriksprøve i Folkerepublikken Kina	56
5.9	Metodeevaluering og valg av metode	57
5.9.1	Metodebeskrivelse	57
5.9.2	Kontaminasjonsproblemer	58
5.9.3	MS-problemer	60
5.9.4	Metodeevaluering	60
5.10	Resultatene sammenlignet med andre internasjonale studier	60
5.11	Relevans og implikasjoner for resultatene	62
5.12	Videre forskning	62
6	Konklusjon	63
7	Kilder	64
8	Appendikser	67
8.1	Appendiks A – Arealer for Temperaturtest Batch 17	67
8.2	Appendiks B: Arealer for mengdeprøver aktiv kull	68
8.3	Appendiks C: Arealer for tidsprøver aktivt kull	68
8.4	Appendiks D: Arealer for matriksprøver fra Kina	69
8.5	Appendiks E – Temperaturtest Kull	71

8.6	Appendiks F – Nytt fiber test	71
8.7	Appendiks G – Gjenvinning for Wax-kolonne	72
8.8	Appendiks H – Linearitetstest Ås	73
8.9	Appendiks I – Instrumentinfo Institutt for Matsikkerhet og Infeksjonsbiologi (MatInf), NMBU, Oslo.	74
8.10	Appendiks J Instrumentinfo IKBM, NMBU, Ås	75
8.11	Appendiks K – Utstyr og kjemikalier	76

1 Bakgrunn og formål

I det siste århundret har bruk av syntetiske stoffer ført til forurensing og kontaminering av rent drikkevann. Noen produkter som ble brukt hyppig, har senere vist seg å være skadelige for eksempel som diklor-difenyl-triklorethan (DDT) og polyklorerte bifenyler (PCB). Perfluorerte Alkylstoffer (PFAS) er en stoffgruppe med perfluorerte alkylkjeder som først ble produsert av bedriften 3M i 1949. ^[1] I 2002 ble det estimert en total produksjon av slike stoffer på 96 000 tonn. ^[1] Det er funnet høye nivåer av disse stoffene i miljøet.

Studier har påvist stoffene i humant serum. ^[2] PFOS og PFOA vil ved langvarig eksponering gi negative effekter som for eksempel hormonforstyrrelser ^[3-4] og oppsamling i lever ^[5]. Studier på ørret og hamsterceller kan indikere at stoffgruppen gir økt risiko for kreft i leveren. ^{[6] [7]} En litteraturstudie konkluderer imidlertid med at det ikke er vesentlige resultater som tilsier at stoffene er karsinogene for mennesker. ^[8] Denne studien er finansiert av 3M og er derfor ikke et uavhengig arbeid.

Stoffene kan transporteres over lengre distanser, blir lett tatt opp av organismer og har en bioakkumulerende effekt grunnet lang halveringstid og lett tilgjengelighet. ^[9] Aritmetisk og geometrisk gjennomsnitt for halveringstid av PFOS i menneskeserum er funnet til henholdsvis 5,4 og 4,8 år. For PFOA er verdiene 3,8 og 3,5 år. ^[10] Stoffene finnes fritt i naturen, og prøver tatt fra tropiske og subtropiske hav viste et PFAS-innhold på intervallet 131-10900pg/L (median 645pg med 27 prøver). ^[11]

Det første interlaboratoriske eksperimentet på PFOA og PFOS ble også utført i 2005. Dette viste store sprik for målinger av PFOS og PFOA i vannprøver mellom laboratoriene. ^[12] Det er krevende å utføre nøyaktige analyser, da stoffet enkelt kan adsorberes på overflater som laboratorie-utstyr kan være laget av. ^[13] Ved gjentatt analyse kan PFOS og PFOA lekke ut fra kontaminert laboratorie-utstyr og påvirke videre analyser betydelig.

I denne oppgaven fokuseres det på Perfluoroktansyre (PFOA) og Perfluoroktan-sulfonat (PFOS), som begge er PFAS-er. Formålet er å teste ulike metoder og se på effekten av parametere for fjerning av PFOS og PFOA i drikkevann. Aktivt kull og fiber ble brukt, og effekt av variasjon av temperatur, konsentrasjon og eksponeringstid ble undersøkt. Kvantitativ analyse ble gjort med en trippel kvadrupol LC-MS.

Masteroppgaven inngår i et forskningsprosjekt mellom Norge og Folkerepublikken Kina. Kinesisk deltager i prosjektet er Research Centre of Eco-Environmental Sciences (RCEES). RCEES har gjort en del forskningsarbeid på perfluorerte forbindelser.

Arbeidet med masteroppgaven er utført i to faser:

Fase 1: Metodeutvikling:

HPLC-MSMS metoden som er brukt er bygget på Behman Nazaris masteroppgave «Metodeutvikling for kvantitative analyse av perfluorerte alkylerte stoffer i vann med høyoppløselig væskechromatografi og tandem massespektroskopi (HPLC-MS/MS). I samarbeid med doktorgradsstudent Yan Gao fra RCEES, ble det på NMBU utviklet en metode for behandling av vannprøver med fiber og aktivt kull.

Metoden ble optimalisert for å finne best mulig temperatur, behandlingstid og mengde adsorberingsmateriale.

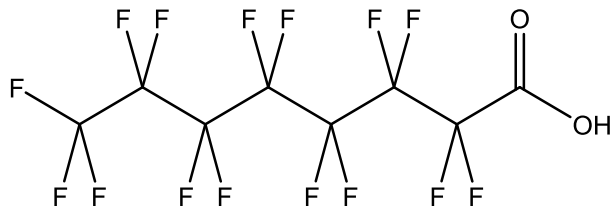
Fase 2: Utprøving av metode i felt:

Prøver tatt fra elva Qinghe i Beijing i Folkerepublikken Kina, ble behandlet og analysert på RCEES. Optimale betingelser og adsorberingsmaterial ble da benyttet. Dette ble gjort for å undersøke mulig matrikseffekt på adsorberingen av PFOS og PFOA.

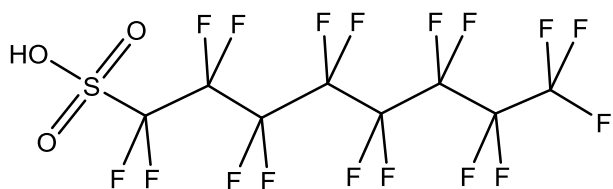
2 Teori

2.1 Perfluoroktansyre og Perfluoroktansulfonat

PFOS og PFOA har blitt mye brukt i industrien. C – F bindingen er en av de sterkeste i organisk kjemi fordi forskjellen i elektronegativitet mellom fluor og karbon er stor. ^[14] Når elektronegativt fluor binder seg sammen med et karbonatom, vil elektronene trekkes til fluoratomet. En slik binding er sterkt kovalent, og vil derfor kreve mye energi å bryte opp.



Figur 2.1: Strukturen til PFOA



Figur 2.2: Strukturen til PFOS

Et karbonatom i en C-F binding vil ha en partiell positiv ladning, samtidig som fluoratomet vil få en partiell negativ ladning. Den induserte dipolen mellom C og F- atomene vil stabilisere C – C bindingene i molekylskjelettet. På grunn av dette er mettede fluorkarboner termisk stabile og veldig inerte (men vil reagere med sterke reduktanter). ^[14] PFOS og PFOA er amfotære stoffer, og oppfører seg derfor både hydrofobt og hydrofilt. Den lange karbonkjeden med fluor er upolar samtidig som sulfonatgruppen i PFOS og syregruppen i PFOA er hydrofile. Dette gir stoffene samme egenskaper som lipider, som strukturmessig ligner perfluorete stoffer. Denne egenskapen er gunstig for brannslukningsskum, maling, impregnering, voks, lakk, poleringsmiddel og i elektriske og hydrauliske innretninger. Fett er ikke gunstig å bruke i slike sammenhenger, selv om egenskapene er like. Fett er biologisk nedbrytbart og fremkommer i mange biokjemiske prosesser i levende organismer. I tillegg er en C – H binding, som finnes i fett, ikke like sterk som en C – F binding. Ifølge Paulings elektronegativitetsskala er forskjellen i elektronegativitet mellom C og H på 0,35, mens forskjellen mellom C og F er 1,43. Bindinger mellom to atomer med stor forskjell i elektronegativitet, vil ha en sterkere binding enn atomer med liten forskjell. Fordi det kreves mer energi for å bryte en sterk binding enn en svakere, vil perfluorete karboner være svært stabile.

PFOS og PFOA kan produseres ved bruk av to ulike metoder:

- Ved å sette inn grupper med C – F bindinger til et molekyl.
- Ved å lage nye C – F bindinger via fluorering.

Den første metoden bruker mindre byggeklosser for å bygge et større molekyl, noe som er en tradisjonell måte å syntetisere stoffer på i organisk syntetisk kjemi. Det vil dannes mange bi-produkter og det kan kreve svært giftige reagenser. Det er enkelt å lage store volumer med denne metoden.^[15] PFOS-produksjon er strengt regulert, men stoffet kan bli dannet som et avfallsstoff ved bruk av denne metoden til produksjon av andre kjemiske forbindelser.^[15] Pfos kan også være et produkt fra nedbrytning av andre PFAS-er.^[16]

Den andre metoden kalles elektrokjemisk fluorering (EFC). Bedriften 3M tok den i bruk til produksjon av PFOS i 1949, og den har siden da vært den mest brukte prosessen for produksjon av PFOS. EFC er en elektrolyse hvor en fluoriserer et organisk molekyl med hydrogen fluorid (HF). 3M stoppet produksjonen i 2002, og var da verdens største produsent av dette stoffet.^[17]

For analysearbeid i laboratorium beregnet på miljøanalyser, er det stor risiko for kontaminering til laboratorie-utstyr. Materialer som inneholder fluor, for eksempel teflon, vil bidra til kontaminering av prøvematerialet. De perfluorerte stoffene binder seg godt til overflater. Beholdere av glass skal helst unngås. Det er derfor best å bruke materialer av for eksempel polypropylen (PP) eller polyetylen (PE) for å unngå stor endring av prøveinnhold. Selv om det brukes utstyr som i utgangspunktet ikke kan kontaminere i særlig grad, vil det likevel være noen usikkerheter i analyseresultater på grunn av dette.^[18]

2.1.1 Persistente organiske miljøgifter

Persistente organiske miljøgifter (POP) er en gruppe miljøgifter som tilfredsstillende følgende kriterier:^[19]

- 1 Persistente: Stoffene må ha lang nedbrytningstid og må være stabile under mange forhold.
- 2 Bioakkumulerende: Stoffet som er lipofilt vil lett bli lagret i fettvev hos levende organismer. Dette gir en akkumulering oppover i næringskjedene.
- 3 Lett transporterbar: Stoffet som lett kan føres store distanser med hjelp av vind- og havstrømmer.
- 4 Stoffet må være giftig.

Selv om perfluorerte forbindelser for første gang ble indikert i menneskeserum i 1968,^[20] ble det gjort lite for å hindre spredning av stoffene. Det var på den tiden lite kunnskap om hvor giftig forbindelsene kunne være. Etter hvert kom det flere rapporter om at perfluorerte forbindelser akkumulerte seg både i dyr og mennesker.^{[21], [2, 13]}

PFOS ble oppført i Stokholmkonvensjonen i 2009. Dette betyr at med noen spesifikke unntak, er produksjon og bruk av stoffet forbudt i land som har underskrevet avtalen. Det ble derfor klassifisert som en POP samme år, selv om PFOS ikke er veldig bioakkumulerende, er stoffet veldig stabilt mot naturlig nedbrytning.^[9] Det adsorberes delvis til jord og sedimenter ved utslipp i vann, og en finner det derfor i marine pattedyr, naturprodukter og i vannprøver. Stoffet er ikke flyktig, derfor er vann det viktigste mediet for langdistansetransport. Helsevirkningene av PFOS og PFOA er ennå ikke fullt kartlagt,^[9, 22] men en vet at stoffet er skadelig ved lang eksponeringstid. En kan fortsatt se store

bivirkninger fra bruk av eldre POPs (DDT, PCB etc), og en kan fortsatt finne signifikante konsentrasjoner av disse enkelte steder på jorden.

2.1.2 Tidligere forsøk for fjerning av perfluoroktansulfonat og perfluoroktansyre

I 2009 kom det amerikanske Environmental Protection Agency (EPA) med en anbefalt maksimumsgrense for PFOA i drikkevann på 0,4ng/mL og 0,2ng/mL for PFOS.^[19] Det er gjort flere forskjellige forsøk på å finne gode rensemetoder for å fjerne PFOS og PFOA fra drikkevann for å oppnå dette. Ved fotokatalyse med perklorisyre og titanium dioksid, ble 97 % av all PFOA dekomponert til andre stoffer, med en avfluorisering på 38%. Avfallsstoffene er imidlertid primært perfluorerte forbindelser, som kan være like skadelige som PFOA.^[23]

Det er også gjort forsøk på å bryte ned PFOS og PFOA ved bruk av ulike teknikker som oksidasjon eller katalyse.^{[24] [25]} Dette vil, som ved fotokatalyse med perklorisyre og titandioksid, skape avfallsstoffer med ukjente eller skadelige effekter.

Adsorberingsteknikker viser seg å være en enklere metode for fjerning av perfluorerte forbindelser i drikkevann.^{[26] [27] [28]} Disse baseres på bruk av materialer med stor overflate og er effektivt for adsorpsjonen av PFOS og PFOA.

Forsøk med bruk av aktivt kull har blitt gjort på PFOS. Det er da testet adsorpsjon over en gitt tid. To ulike typer av aktivt kull ble brukt. Bruk av mesoporøst kull (porediameter mellom 2-50nm) hadde en vesentlig bedre effekt enn mikroporøst kull (porediameter under 2nm).^[29]

2.1.3 Perfluorerte alkylerte stoffer i Norge

PFAS-kontaminasjon i Norge har i hovedsak kommet fra AFFF (akvatisk film-dannende skum) brukt i brannslukningsapparater, og da særlig ved flyplasser, offshore og andre steder hvor det har vært gjennomført mange brannøvelser.^[30] Denne typen skum inneholder PFAS, som bidrar til at skummet er effektivt mot klasse B branner (Hydrokarboner). I all hovedsak ble bruken av PFOS i brannskum, impregnering og tekstiler forbudt i Norge i 2007. Miljødirektoratet driver et overvåkningsprogram med systematisk prøveuttak og analyse for å følge opp virkning og konsekvens over tid på lokasjoner hvor det har vært konsentrert bruk av PFOS eller PFOS-relaterte produkter. I juni 2014 ble bruk av PFOA i forbrukerartikler mye strengere regulert.^[30]

PFOS, PFOA og langkjedete perfluorerte syrer er nå oppført i en nasjonal liste kalt «prioriteringslisten». Nasjonal målsetting er å stanse utslipp av disse innen 2020.^[30]

2.2 Prøvepreparering

Det er viktig å ha en ordentlig prøvepreparering før analyse. Det er derfor nødvendig å lage en strategi for prøvepreparering. Nøyaktighet, presisjon og repeterbarhet er viktige kriterier som forteller mye om kvaliteten på benyttet metode.^[31-32] Presisjon er et mål på hvor mye variasjon det er mellom resultatene i et prøvesett. Stor grad av variasjon i resultatene er en indikasjon på en dårlig presisjon. Nøyaktigheten til en metode er et mål på hvor nærme resultatene er virkelige verdier. Repeterbarheten karakteriserer en metodes evne til å gi samme resultat for prøver hvis de blir kjørt om og om igjen.

Det er ønskelig med en metode som gir en tilfredsstillende grad av både nøyaktighet, presisjon og repeterbarhet, men det er andre faktorer som også har betydning.^[32] Økonomi, tilgjengelighet av kjemikalier og utstyr, tidsrom som er til disposisjon og lignende kan gi vanskeligheter når en ønsker en optimal metode.

Et representativt prøveutvalg må tilstrebes. Et godt representativ utvalg bør gi resultater som representerer det en ønsker å måle.^[33] Prøver som kun er utført på PFOS-innhold i vannprøver fra Nord-Norge, ville for eksempel vært lite representativt dersom målsetningen var å forske på PFOS i vann fra hele Europa. Det vil da være nødvendig å ta prøver fra flere ulike steder som til sammen gir et helhetlig bilde av situasjonen.

Det må arbeides videre med prøven etter at den er samlet opp. Det kan være stoffer som interfererer med stoffet som skal analyseres, eller som kan ødelegge instrumenteringen (særlig kromatografi og MS instrumenter er utsatt). Ved å rense prøver med hjelp av ulike renseteknikker, fjernes stoffer en ikke ønsker å ha med videre i analysearbeidet. Ved prøveoppbehandling er det også mulig å oppkonsentrere prøver til en detekterbar konsentrasjon eller å skifte løsemiddel som analyttene er oppløst i.^[34] Prøvepreparering kan også brukes for å gjøre en analytt mer følsom for deteksjon. Dette kan gjøres ved kjemisk modifikasjon av molekylene en ønsker å analysere.

Oppbevaring av prøvene kan også være et problem ved prepareringen. Noen kjemikalier vil reagere med luft, være lettflyktig og/eller kunne adsorberes på overflater i oppbevaringsmediet.^[32]

2.2.1 Fastfaseekstraksjon

Fastfaseekstraksjon (SPE) er en separasjonsteknikk som ofte brukes i prøveoppbehandling for stoffer som er løst opp i et løsemiddel. Ved bruk av SPE, vil prøven bli renset, oppkonsentrert og løsemiddel kan endres. Analyttene vil bli adsorbent på et kolonnemateriale, og resten vil gå rett gjennom kolonnen. SPE gjennomføres ved hjelp av engangsbeholdere som inneholder en ønsket stasjonær fase (SP).^[35]

SPE-prosessen foregår i 4 forskjellige trinn: ^[35]

1 - Kondisjonering:

Kolonnematerialet består av et silicaskjelett med bestemte funksjonelle grupper. Bruk av forskjellige funksjonelle grupper vil bestemme hvilke stoffer som adsorberes. For å få best mulig adsorpsjon på SP, må overflateareal maksimeres. Ved å fukte SP med samme løsemiddel som brukes i prøven, vil kolonnematerialet folde seg ut og få et større overflateareal. Dette er viktig for å få en god kontaktflate mellom analytt og SP.

2 - Prøveapplisering:

Prøven appliseres og kjøres gjennom kolonnen. Analytter og urenheter som har samme polaritet som SP vil feste seg på kolonnematerialet. Løsemiddel og andre urenheter vil renne gjennom kolonnen. Det er viktig å velge et kolonnemateriale som har sterkere interaksjon til analytt enn løsemiddelet den befinner seg i. Hvis ikke dette er tilfelle, vil analytt renne gjennom sammen med forurensinger.

3 – Vasking:

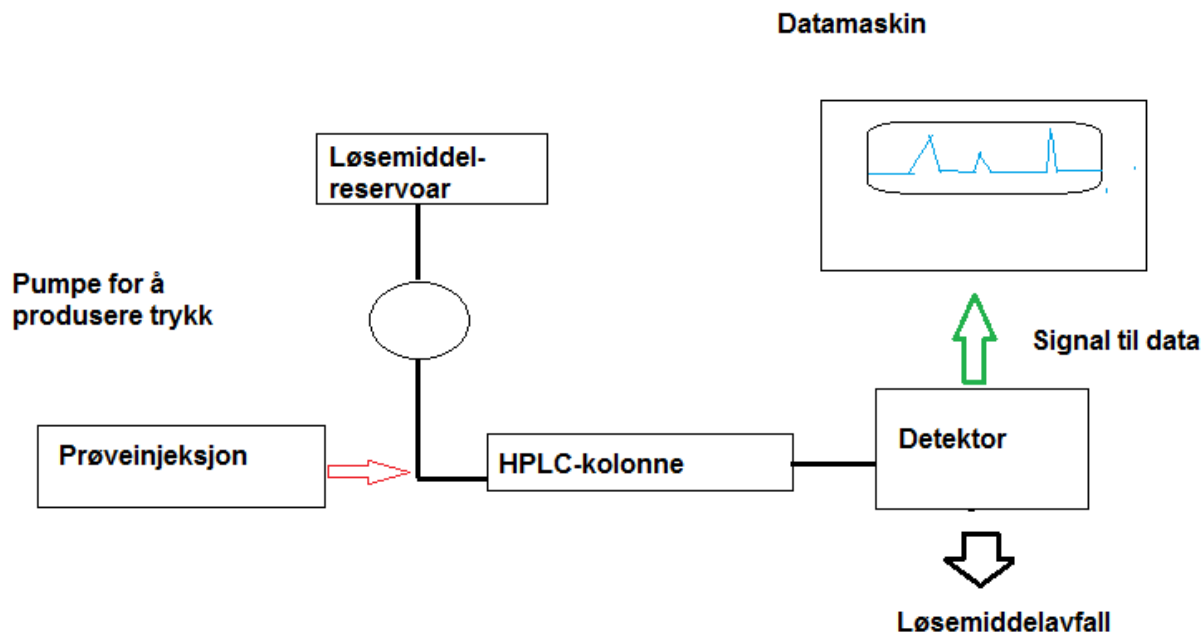
Vasking skjer ved å bruke et litt sterkere løsemiddel. Dette er gjerne en blanding av to forskjellige, et svakt og et sterkt. Ved vasking vil uønskede stoffer ofte løsne fra SP på grunn av utskiftingen til sterkere løsemiddel. Det er viktig å ikke benytte for sterk vaskeløsning, for da vil analytt skylles ut sammen med eventuelle andre interfererende stoffer. Det er vanlig å velge 5-20% metanol eller acetonitril i rent vann som vaskeløsning.

4 – Eluering:

Etter vasking vil kolonnemateriale inneholde lite eller ingen interfererende urenheter. Det er da ønskelig få ut analytt. Ved å bruke et sterkt løsemiddel vil interaksjonen mellom analytt og SP forstyrres og forsvinne. Analytt vil da løses opp i det nye løsemiddelet, som benyttes i det videre arbeidet. Ren metanol eller acetonitril brukes ofte som elueringsmiddel dersom det også ble brukt i vaskingen.

2.3 Høyoppløselig væskechromatografi

Høyoppløselig væskechromatografi (HPLC) er en separasjonsteknikk som er mye brukt i analytisk kjemi. Metoden benyttes for å separere stoffer i en kjemisk kompleks løsning. Væskechromatografi brukes vanligvis i de tilfellene hvor gasschromatografi ikke er egnet, for eksempel hvis analyttene ikke er flyktige. HPLC er basert på en mobilfase(MP) og en stasjonærfase (SP) som analyttene vil fordele seg over. Dagens HPLC kolonner består oftest av pakkede kolonner. ^[36] Separasjonen skjer ved at analyttene distribuerer seg ulikt mellom MP og SP. Et stoff som har stor affinitet til den stasjonære kolonnen, vil bruke lenger tid på å kjøre gjennom systemet enn et stoff som har bedre affinitet til løsemidlet. ^[37] De ulike stoffene vil bli detektert av en detektor, og komme ut som topper i et chromatogram. Her blir detektorens respons plottet mot tid.



Figur 2.3: Figuren viser et forenklet HPLC system. Prøven injiseres i mobilfasen med en autosampler. Pumpene gir mobilfasen fart og presser løsemiddel og analytt gjennom en stasjonær kolonne og videre frem til en detektor.

2.3.1 Betingelser for god separasjon

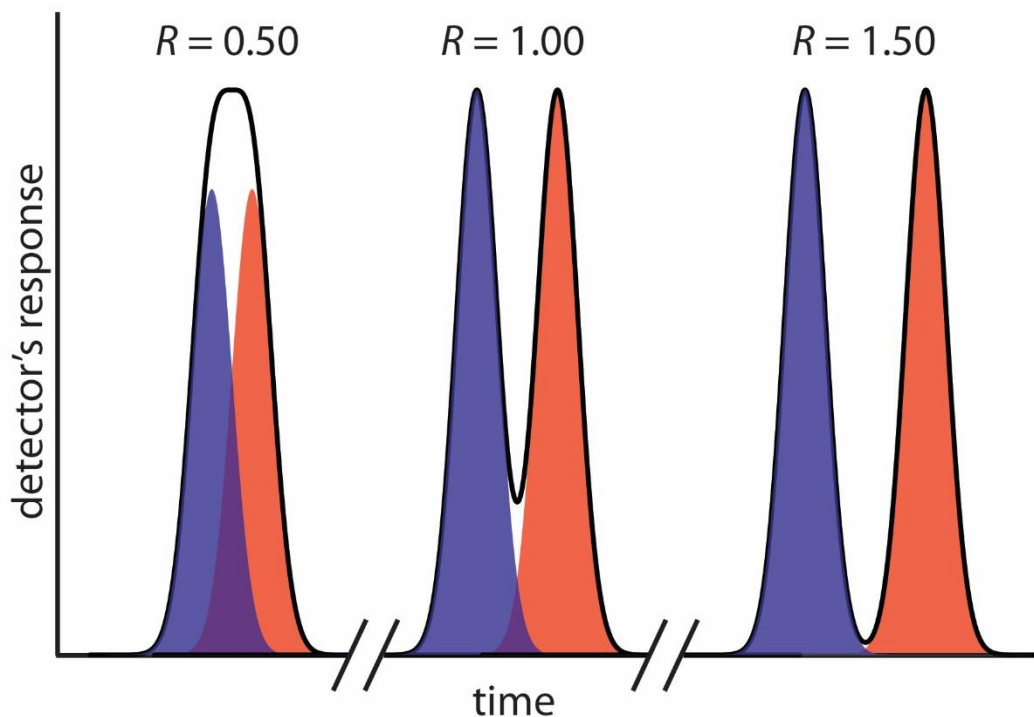
Det er flere ulike faktorer som kan endres for å oppnå en god separasjon i HPLC: Strømningshastigheten til den mobile fasen, gradientprogram for mobilfase, stoffet (eller stoffene) som skal brukes som mobil fase, temperatur (viktig for gass kromatografi), kolonnemateriale, diameter på partikkelstørrelsen for stasjonær fase og lengden på kolonnen. ^[38]

Selve separasjonen mellom to topper, bestemmes av følgende ligning: ^[39]

$$R_s = 1/4 (N)^{0.5} (a-1) (k / [1+k]) \quad (1)$$

Hvor R_s = oppløsning, N = antall teoretiske plater, a = selektivitet og k = retensjonsfaktor

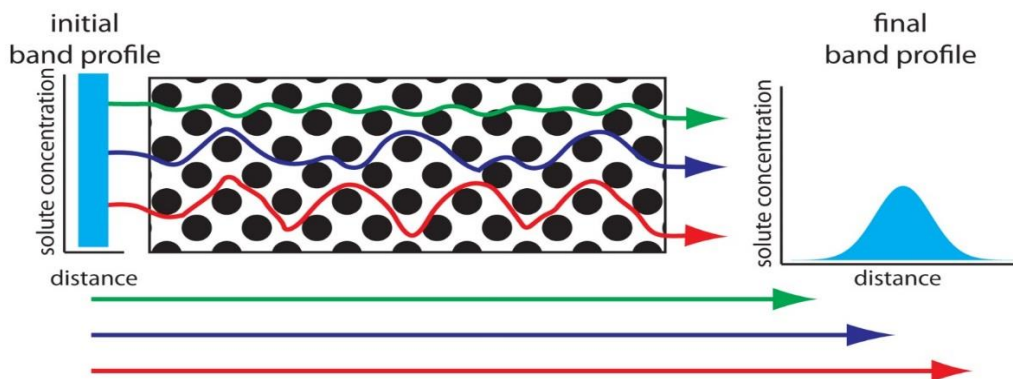
Ligning 1 beskriver R_s oppløsningen på separasjonen. Dette er et mål på hvor godt to kromatografiske topper er separert fra hverandre. Det blir operert med mange ulike grenseverdier for hva en god R_s er. En R_s på over 1,5 – 1,6 gir minimal til ingen overlapp (se figur 2.4), noe som er ønskelig når en skal integrere toppene.



Figur 2.4: Figuren viser tre ulike situasjoner hvor oppløsningen varierer. En lav oppløsning vil gi topper som går inn i hverandre, noe som kan gi problemer hvis en ønsker integrere en enkelt topp.^[40]

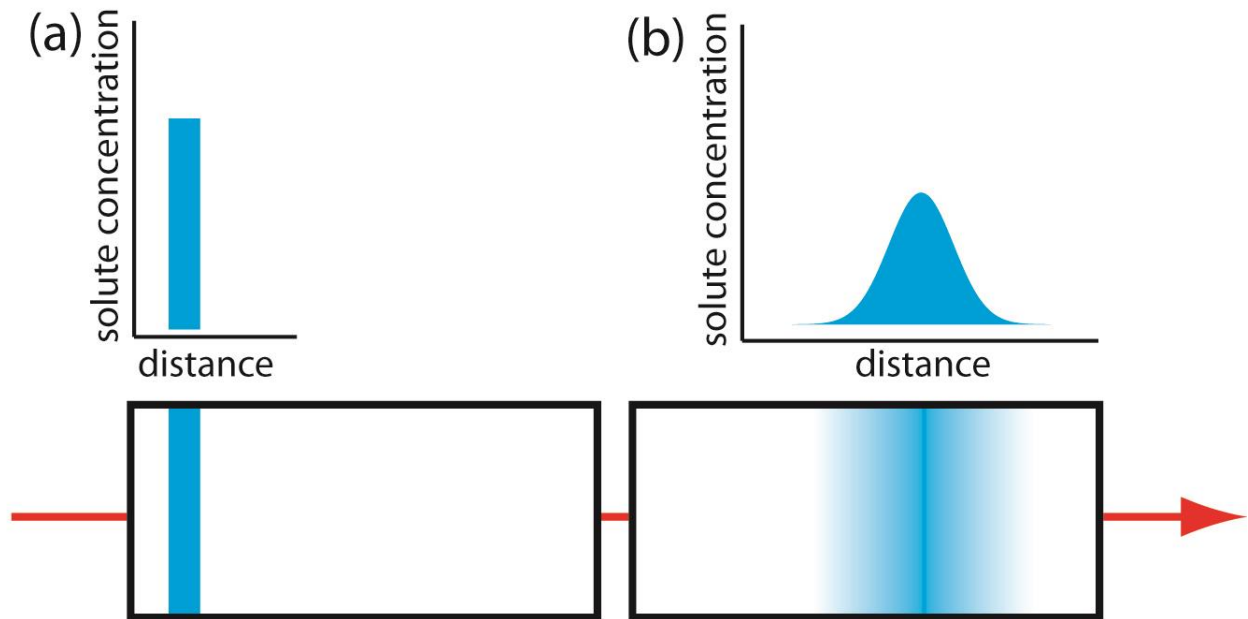
N er platennummeret, et mål på hvor god en topp er. I HPLC er det ønskelig med topper som kommer på smalest mulig tidsrom. Båndspredning er et fenomen som opptrer i alle separasjoner, det er forårsaket av tre prosesser:^[41]

- 1- **Eddydiffusjon (ED):** Gjennom en pakket kolonne kan analyttene velge utallige veier for å komme gjennom. Noen veier er lengre enn andre. Tiden analyttene bruker gjennom kolonnen vil derfor variere. For å minimere denne variasjonen (eddy diffusjonen), er det ønskelig med minst mulig partikkelstørrelse pakket tettest mulig sammen. Ulempen med å bruke en tettere kolonne, er at pumpesystemet da må levere et vesentlig høyere trykk.^[41] Se figur 2.5 for en grafisk demonstrasjon av ED



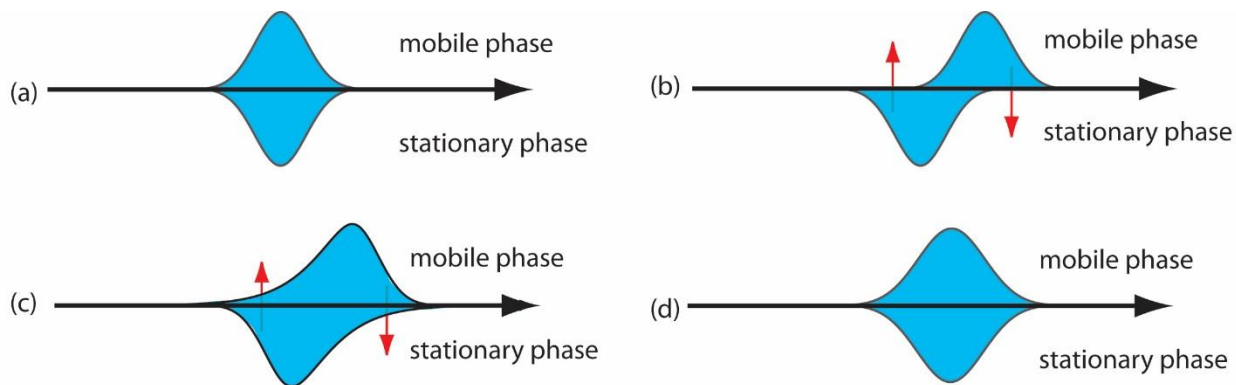
Figur 2.5: Figuren viser tre av mange ulike veier en analytt kan velge gjennom kolonnen. Dette gir båndspredning.^[42]

- 2- **Molekylær diffusjon (MD):** Dette er bevegelse av stoff fra et sted med stor konsentrasjon til et område med liten konsentrasjon. I kolonnen vil analytt introduseres som et tynt lite bånd. På grunn av konsentrasjonsforskjeller både foran og bak, vil båndet utvide seg litt. Se figur 2.6. Ved å øke strømningshastigheten til den mobile fasen, blir MD redusert, men en økt hastighet gir samtidig utslag på effektiviteten av separeringen (se neste side for mer om hastighet).



Figur 2.6: Figuren viser hvordan molekylær diffusjon sprer ut analyttene i en kolonne.^[42]

- 3- **Massetransport (MT):** Dette er en diffusjon mellom den stasjonære og mobile fasen. Helt i starten vil det være en likevekt mellom fasene hvor analyttkonsentrasjonen er stabil. Likevekten blir så forstyrret ved at analyttene i mobilfase vandrer og analytter i stasjonærfase blir igjen. Det dannes da en ny likevekt, og på den måten bidrar det til en båndspredning. Prinsippet her er best illustrert i figur 2.7:



Figur 2.7: figuren viser hvordan massetransporten bidrar til båndspredning. Fra a til b vil likevekten ødelegges, og i c-d vil det dannes ny likevekt, som resulterer i en litt bredere topp. ^[42],

Økt strømningshastighet vil bidra til en økt massetransport. Det er derfor viktig å balansere hastigheten med tanke på både MT og MD for å få et optimalt platenummer. ^[41]

Disse tre prinsippene er grunnleggende for Van Deemter ligningen (ligning 2), som kan brukes for å finne optimal fart på MP: ^[41]

$$(L/N) = A + B/u + C \cdot u \quad (2)$$

Hvor L = lengden av kolonnen, N = antall teoretiske plater, A = Eddy diffusjon, B = Molekylær diffusjon, C = massetransport og u = strømningshastighet for MP.

2.3.2 Mobil Fase

I HPLC er det to ulike metoder som brukes på mobil- og stasjonærfase. Den mest benyttede metoden nå kalles reversfase kromatografi og brukes i mer enn 50% av alle kromatografiske kjøring. ^[37] Her vil MP være polar til middels polar, og SP vil være av upolar karakter. Ofte brukes metanol, HPLC-gradert vann eller acetonitrill som MP, gjerne i en blanding eller som gradient. Til kolonnemateriale brukes det gjerne et silikabasert materiale med upolare sidegrupper (C4, C8 og C18) for reversfase-seperasjon. ^[37] Mindre molekyler har vanligvis ikke så mange hydrofobe grupper, og det må derfor en stor hydrofob kjede til for at de skal feste seg (C18). Proteiner og andre store makromolekyler inneholder mange upolare grupper, og da kan kjeden være kortere. ^[43]

Normalfase bruker en upolar MP og en polar SP. Fordi upolare løsninger ofte er lite miljøvennlige og til og med kan være giftige, er reversfase å foretrekke. Noen ganger er imidlertid normalfase en nødvendig metode for å kunne utføre analyse. Metoden blir brukt ved analyse av stoffer som ikke er løselig i polare løsningsmidler.

MP ved revers fase inneholder ofte et buffer for å holde pH-verdien på et ønsket nivå. ^[37] pH er viktig for at sensitiviteten i MS-detektoren skal være best mulig, og for at retensjonstiden skal holdes stabil. PFOS og PFAS er begge syrer med en bestemt pKa. Hvis mobilfasen har en pH i intervallet +/- 1 pKa til analytt, vil en liten endring i pH gi stor forandring i retensjonstid. ^[44] Selve kolonnen har også et pH-operasjonsområde. For silikakolonner vil dette ligge i områder mellom pH-intervallet 2-8. Er pH

utenfor dette området, vil kolonnen kunne lekkke silica ut i den mobil fasen, eller den kan miste sine adsorptive egenskaper. ^[44].

2.4 Massespektrometri

Et massespektrometer er et mye brukt instrument innen kvantitative og kvalitative analyser i organisk kjemi. ^[45] Instrumentet er massesensitivt og måler masse pr ladning på ulike molekylioner og molekylfragmenter. For stort sett alle detektorer i analytisk kjemi, gjelder følgende ligning ^[46]:

$$M \cdot R = S \quad (3)$$

Hvor M er mengde analytt, R er responsfaktor for analytten og S er intensiteten på signalet MS-detektoren registrerer (signalstyrke).

Hvis det blir benyttet en MS-detektor koblet til en HPLC, kan ligning 3 omarbeides til følgende uttrykk:

$$C \cdot U \cdot R = S \quad (4)$$

Hvor C er konsentrasjon, U er strømningshastighet og S som her er signalstyrke.

Ved bruk av ligning 4 er det mulig å kvantifisere stoffer ved hjelp av MS. Det er også vanlig å koble en HPLC eller GC til en MS. Da får en separert ulike stoffer fra hverandre før deteksjon. Det vil gi bedre resultater med økt sensitivitet og mindre interferenser.

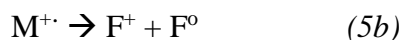
Molekyler av samme art vil i en MS fragmentere til helt bestemte fragmentioner. Ved å undersøke hvilke fragmentioner som er tilstede, er det mulig å finne strukturen til stoffet som analyseres.

NMR-metoder krever langt høyere konsentrasjoner for stoffanalyse, derfor brukes det i hovedsak MS ved analyse av sporstoffer. UV- og IR-detektorer kan også benyttes, men disse metodene gir få kvalitative svar. ^[47]

2.4.1 Ionisering

På uladde molekyler og fragmenter er det ikke mulig å måle m/z – verdi ($m/z = \text{masse/ladning}$).^[45] For å kunne utføre analyse, må molekylet få en ladning. Dette er nødvendig for å akselerere ionefragmenter gjennom MS-systemet med elektrisk potensial, og videre fordi masseanalysatorene baserer seg på magnetiske eller elektriske felt. Det finnes en rekke teknikker som er utviklet for å ionisere et stoff. Elektronionisering og kjemisk ionisering (henholdsvis EI og CI), matriksassistert laser desorpsjon (MALDI) og elektropray ionisering (ESI) er noen av ioniseringsteknikkene som brukes i dag.

Alle de ulike metodene benytter følgende reaksjonsligninger:^[45]



Hvor M er molekyl, F er fragment. E er energi og prikken indikerer et radikal.

Ved EI skytes det elektroner med høy kinetisk energi mot analyttmolekylene. Kollisjonen mellom elektron og molekyl vil overføre mye av den kinetiske energien til molekylet. Molekylet kan enten ta opp eller miste et elektron, og får derfor en ladning (molekylion) (se ligning 5a). EI har en så stor energioverføring at molekylionet ofte blir ustabil og vil fragmentere til to mindre deler, et fragmention og et radikal (se ligning 5b). Molekylionet kan danne ulike fragmentioner og radikaler bestemt av hvor molekylet får fragmentering. Molekylionene og fragmentionene vil så gå videre til masseanalysatoren.

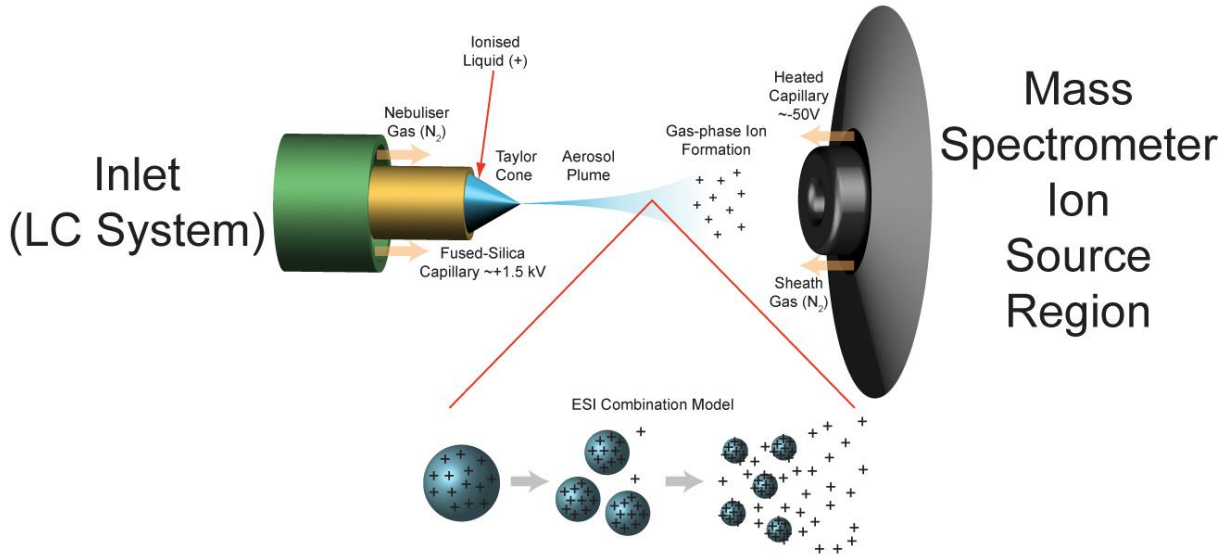
Ved EI kan det forekomme at molekylionene ikke vises i massespekteret, kun fragmenter av det kan sees. Dette kommer av at molekylionet blir for ustabil som følge av en høy indre energi og alt vil fragmentere. EI er en hard ioniseringsmetode, dvs. en metode hvor energioverføringen er stor.^[48]

CI fungerer nesten på samme måte som EI. Her brukes det imidlertid en gass som energitransportør (f.eks CH₄ eller NH₃). Reagensgassen blir bestrålt med energirike elektroner og ioniseres. Deretter vil reagensgassen kolliderer med analyttene og det oppstår en ladningsoverføring fra reagensgass til analytt. CI er en skånsom ioniseringsmetode, og en vil ikke få like mye fragmentering som ved EI, fordi energioverføringen ikke er så høy.^[48]

Både CI og EI krever at molekyler er i gassform, noe som ikke er tilfelle ved en HPLC kjøring. For analytter som er separert i HPLC, kan APCI (kjemisk ionisering ved atmosfærisk trykk) eller ESI (elektroprayionisering) være aktuelle metoder. Begge har en skånsom ionisering, hvor APCI er litt sterkere enn ESI. APCI ligner på CI. Hovedforskjellen er at APCI opererer ved atmosfæretrykk og kan benyttes på prøver som er oppløst i løsemiddel.^[48]

2.4.1.1 Elektrospray ionisering

Electrospray Ionisation (ESI) and Ion Source Overview



Figur 2.8: Figuren viser en enkel modell av virkemåte for ESI. ^[49]

ESI er som nevnt en skånsom ioniseringsmetode som brukes i forbindelse med HPLC. Metoden er så myk at en ofte ikke får noen fragmenteringer i det hele tatt. ^[48] Derfor er ikke ESI optimal for å finne strukturer til ukjente stoffer. Metoden egner seg godt til kvantitative analyser i forbindelse med tandempektroskopi (MS/MS). Den kan videre brukes for å analysere stoffer med stor masse, noe som enkelte typer masseanalytorene har vanskeligheter med. Dette er fordi flere ladninger vil bidra til at m/z tallet går ned. Fra HPLC-systemet vil det være en konstant flyt av analysemolekyler som er oppløst i løsemiddel. MS-en kan ikke analysere ikke-ioner, og er heller ikke i stand til å separere ioner som er løst opp i løsemiddel. Ioniseringen skjer derfor i tre trinn: ^[50]

- 1- Et kapillærrør med høy spenning vil danne små ladede duggdråper. Elektrisk spenning mellom kapillæret og elektroden vil få dråpene til å bevege seg mot elektroden. De ioniserte partiklene vil løsne fra kapillæret og vandre videre.
- 2- Dråpene er fortsatt for store til å kunne analyseres, og inneholder for mye løsemiddel. Mellom kapillæret og masseanalytoren brukes en tørkegass, vanligvis nitrogen. Gassen vil få mye av løsningsmiddelet til å fordampe og hver boble vil bryte sammen og deles opp i flere høyladde aerosoler. Ved høy temperatur kan disse være i stand til å forme gassioner.
- 3- Gassioner vil passere gjennom et lite hull til elektroden. Her er det et område med vakuum hvor ionene vil skille seg fra hverandre. Det er enda en spenningsforskjell her, slik at ionene skal få en viss fart gjennom masseanalytoren.

2.4.1.2 Trippel Kvadrupol for MSMS:

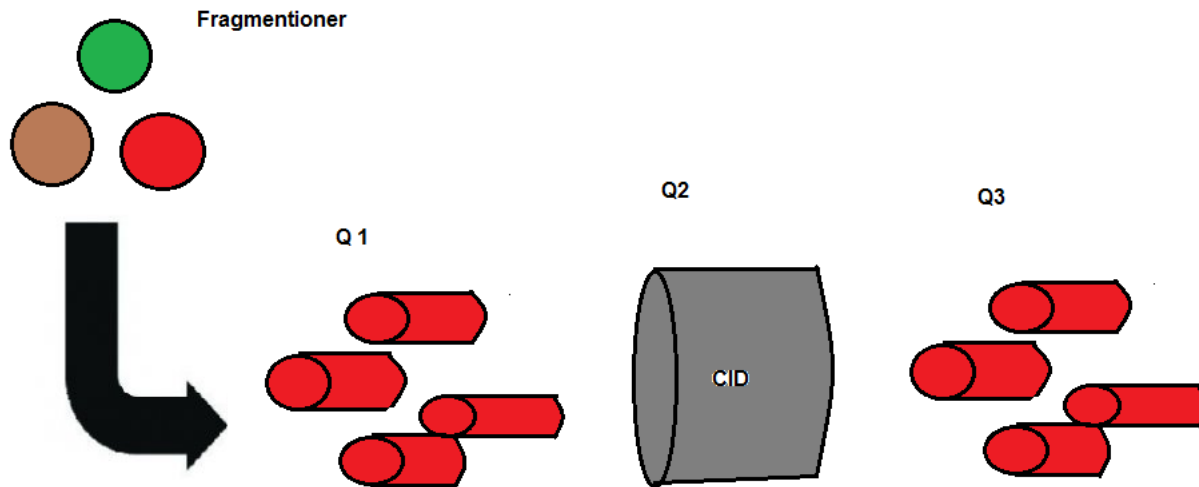
En kvadrupol er en enkel og mye anvendt masseanalysator. Den består av fire parallelle metallstaver som er arrangert som hjørnene i et kvadrat. Motstående staver nord og sør har lik spenning. Det samme gjelder øst og vest. Disse fire stavene vil under kjøring få følgende varierende spenning: ^[51]

$$V = (U + V_0 \cdot \cos(\omega t)) \quad (6)$$

Hvor V = spenning i hver metallstav, U = direkte potensial, V_0 = Amplituden til spenningen, ω = frekvens og t = tid

To motstående staver har ladning $V_1 = V$, og de to andre har en negativ ladning $V_2 = -V$.

Med en spenning gitt av ligning 6, dannes det et varierende elektrisk felt mellom kvadrupolene. MS-instrumentet er koblet til en PC som har software som da kommuniserer med MS-en. Som innputt ved kjøring må en velge ut spesifikke m/z -verdier som korresponderer med ønskede ionefragmenter og/eller molekyllioner. PC-programmet forteller da MS-en om hvor stor V_0 og ω skal være i ligning 6. Ionefragmenter som har en ønsket m/z verdi, vil så få en bane i det elektriske feltet som ikke ender med en kollisjon med en av metallstavene. Andre ioner vil kollidere og overføre sin ladning til kvadrupolstaven. Molekylet som da dannes vil ikke detekteres. ^[51]



Figur 2.9: Figuren viser oppbygningen av en trippel kvadrupol.

Figur 2.9 viser en trippel kvadrupol. Dette er to kvadrupolenheter koblet sammen (Q1 og Q3) med et kollisjonskammer (Q2). Q1 kan enten benyttes for å skanne gjennom et stort område av m/z verdier slik at de fleste ioner kommer igjennom, eller den kan fokuseres på bestemte m/z verdier. Q2 består av en heksapole og der fragmenteres ioner som kommer fra Q1 ved hjelp av en kollisjonscelle som skyter gassatomer på ionene. ^[52] Ofte brukes argon eller nitrogengass, fordi disse er veldig stabile og ureaktive. ^[53] Q3 fungerer på samme måte som Q1, og fører ionene videre til en detektor.

Kvadrupoler får dårligere sensitivitet hvis de skal benyttes til å skanne over et stort område. Det er ønskelig i kvantitative analyser av sporstoffer at sensitiviteten er høyest mulig. Til dette brukes enten SIM (selektert ioneovervåkning) for singel kvadrupol eller MRM (multippel reaksjonsovervåkning) for trippel kvadrupol. Ved MRM selekterer Q1 ønskede masser, som i Q2 vil få unike fragmenteringsmønstre. Ionefragmentene selekteres deretter i Q3.

Ved kompliserte matriser er MRM bedre å bruke enn SIM, da MRM kan skille to molekyler med identisk masse fra hverandre. I Q2 vil fragmenteringene av molekylene være ulike, og de kan da skilles fra hverandre. ^[52]

2.4.1.3 Detektor

I de fleste MS-instrumenter brukes det nå en elektronmultiplikator som detektor. Når et ion passerer masseanalysatoren, treffer den en diode som så emitterer ut elektroner. Disse vil igjen treffe en annen diode, og flere elektroner slippes løs. På denne måten vil et enkelt ion gi en stor respons som prosesseres av en programvare i tilkoblet PC. Output vil være et massespekter og eventuelt et kromatogram. ^[54]

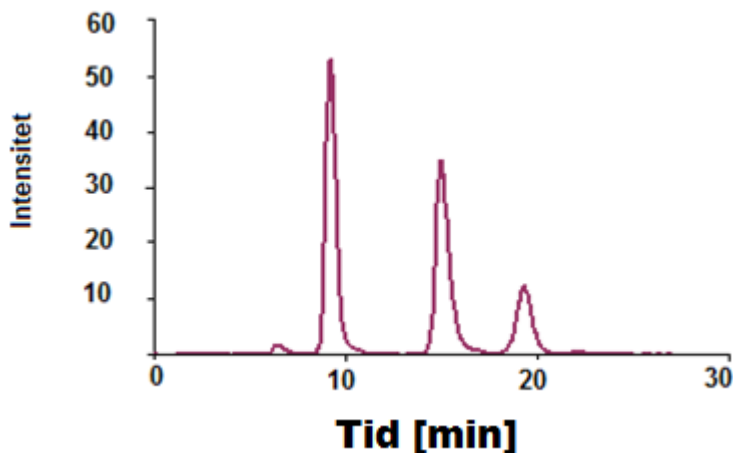
2.4.1.4 Valg av Ionefragmenter for kvantitativ Analyse

Ved MS-kjøring produseres det et spekter som viser massetopper for hvert fragmention og molekylion som detekteres. Ved kvantitativ analyse er det vanlig å velge ut en av disse toppene til bruk ved kvantifisering. En god kvantifiseringstopp har en m/z -verdi over 50, og samtidig bør den være en av de mest dominante toppene med høyest intensitet. Topper under 50 m/z kan brukes, men i området 0-50 m/z vil det alltid være interferenser forårsaket av løsemiddel og andre mindre ioner. ^[55]

En kan også velge å bruke en referansetopp som er forskjellig fra kvantifiseringstoppen. Dette gjøres for å kvalitetssikre MS-kjøringen. Forholdet mellom kvantifiseringstopp og referansetopp bør i en analyseserie ikke ha større avvik enn 20%. Dette er en mye brukt grense for presisjonen. ^[32]

2.5 Kvantitativ analyse

En kvantitativ analyse benevner analyser hvor mengde stoff i en prøve blir undersøkt. Som det fremgår av ligning 3 fra kapittel 2.4, er det en sammenheng mellom konsentrasjonen av et stoff og detektorsignalet. Et slikt signal vil komme som en topp på et kromatogram.



Figur 2.10: Figuren viser et eksempel på et kromatogram hvor kromatografi er brukt til å skille 3 stoffer. X-aksen måler tid fra analysestart, y-aksen viser intensitet.

Ved kvantitative analyser er det som oftest arealet under toppene som brukes for å finne mengde stoff. Høyden kan også benyttes, men dette vil gi større variasjon og mindre presise målinger.

2.5.1 Intern Standard (IS) og gjenvinningsstandard (RS)

Ved prøveopparbeidelse vil noe av analysestoffet gå tapt. Dette kan skyldes menneskelige feil ved aktiviteter som pipettering, veiing og manuelle målinger. Metoden som blir valgt, vil også bidra med usikkerheter relatert til transport av prøve mellom beholdere, oppkonsentrering, adsorbering til beholdere, ekstraksjons-effektivitet, nedbryting av stoff og tap av stoff under kromatografikjøring.^[56] I tillegg er det alltid tilfeldige feil i en analyse, som en ikke kan gjøre noe med. Ved å tilsette en kjent mengde intern standard til prøven tidligst mulig i behandlingen, kan en korrigere for tap av analytt. Det brukes en responsfaktor (RRF) mellom analytt og IS, se ligning 7

$$\text{RRF} = \frac{\text{Mengde IS} \cdot \text{Areal analytt}}{\text{Mengde analytt} \cdot \text{Areal IS}} \quad (7)$$

Ved å lage standarder med kjent innhold av analysestoff og IS, er det mulig å kalkulere RRF. Dette forholdet kan så brukes til å regne ut mengde analytt i en ukjent prøve. RRF er konstant i et gitt konsentrasjonsområde. Det er derfor vanlig praksis å lage en linearitetstest bestående av standarder med ulike konsentrasjoner. Når en kurve viser linearitet mellom respons og analyttkonsentrasjon, vil det bety at RRF er konstant i konsentrasjonsområdet som en tester i. RRF skal ideelt sett være konstant mellom en gitt IS og analytt.

Små variasjoner vil imidlertid alltid forekomme, og da er det forårsaket av variasjoner i pipettering og måleinstrument. Ved høye konsentrasjoner kan det forekomme dårlig linearitet.^[57]

En god IS har følgende egenskaper:^[58]

- IS må i minst mulig grad interferere med prøven. Dette gjelder kjemisk eller fysisk interaksjon med analytt, eller påvirkning på detektoren.
- Fordi IS-mengden skal være kjent, må prøvene ikke inneholde IS-stoffene.
- IS bør ha relativ lik retensjonstid og like fysiske og kjemiske egenskaper som analyse-stoffet
- Hvis MS ikke brukes som detektor, må ikke IS ha nøyaktig lik retensjonstid som analytt. Andre detektorer kan ikke separere IS fra analytt, og er avhengig av å separere ved hjelp av kromatografi alene.
- Stoffet som brukes til IS, må være rent og i en form som er lett tilgjengelig for analyse. IS burde være så stabil som mulig.

De beste IS-ene består av massestempelt analytt. Dette er analytt laget med deuterium eller ¹³C. En slik type IS vil få egenskaper som er veldig like analytten, men massen vil være noe høyere. Disse IS-ene som oftest dyre og ikke alltid lett tilgjengelige

2.5.2 Deteksjonsgrense og kvantifikasjonsgrense

LOD (deteksjonsgrense) er et mål på den minste konsentrasjonen som kan aksepteres for at det skal være mulig på et godt statistisk grunnlag å si at et stoff er tilstede i prøven. LOQ (kvantifikasjonsgrense) er en grense for minste konsentrasjon hvor mengden kan kvantifiseres på et statistisk grunnlag.^[59]

En blankprøve som kun består av løsemiddel, vil alltid gi elektrisk støy for grunnlinjen av kromatogrammet, noe som viser at det alltid er en viss variasjon.

Er høyden på en topp over 3 ganger høyden til baselinjen, vil toppen være over deteksjonsgrensen (LOD). Alle toppe med en signal/støyratio (S/N –ratio) over 3, er statistisk anlagt for å fortelle at et stoff er detektert i en prøve. For LOQ må S/N-ratio være over 10.^[32]

3 Materialer og metode

3.1 Materialer

Se appendiks L for liste over kjemikalier og utstyr

3.2 Prosedyre for prøvetesting

3.2.1 Fibertest.

Av natriumsaltet fra PFOS og PFOA ble det laget en stamløsning på 1µg/mL PFOS og PFOA mix oppløst i metanol. Løsningen ble lagret i kjøleskap på 4 °C i en 15mL Falcon PP-tube med kork.

Fiberbatch 1 og 17 ble puttet i milliQ-vann i et døgn og deretter satt til tørk i et varmeskap (60 °C) i to døgn.

Alle fibere som omtales i denne rapporten, har en ukjent sammensetning. Fiber materialet er levert av SWECO, og oppbygning er en produksjonshemmelighet.

3.2.1.1 *Fibermengde- og tidstest*

Fiberbatch 1 og 17 ble behandlet ved mengde- og tidstestet på følgende måte:

Mengdetest fiber:

Med pipette ble det overført 100 µL (100ng PFOS og PFOA) til 250mL HDPE plastflasker med 200mL milliQ vann fra PFOS+PFOA stamløsning. Totalt volum ble 200,1mL.

Prøveflasker med spiket vann ble inndelt i tre grupper, hver gruppe hadde to spikede prøver og en blank bestående av kun milliQ vann, IS og RS.

Gruppe 1 fikk tilsatt 0,02g av en fiberbatch, gruppe 2 fikk 0,2g og gruppe 3 fikk 2,0g. Det ble tillatt et slingringsmonn på opp til 2%, fordi det var vanskelig å rive fiberbiter som gav riktig vekt. Alle prøvene ble satt på shaker med konstant hastighet på 150rpm og 20 °C i 24 timer.

Tidstest fiber:

Flasker med spiket vann (200mL milliQ vann + 100ng PFOS og PFOA) ble delt opp i 5 grupper, hver gruppe hadde 2 spikede prøver og en blank. Alle gruppene ble tilsatt 0,2g fiber og satt til risting på shaker ved konstant temperatur og hastighet på henholdsvis 20 °C og 150rpm. Gruppe 1 ble tatt ut etter en time, Gruppe 2 etter 2 timer, gruppe 3 etter 4 timer, gruppe 4 etter 8 timer og gruppe 5 etter 16 timer.

Etter risting ble fibret filtrert ut ved hjelp av filterpapir og trakt. Filterpapiret ble byttet ut med nytt etter hver filtrering, og trakten ble vasket med metanol. Filtratet ble samlet opp i nye og rene 250mL HDPE plastflasker, og sto i romtemperatur over et døgn med lokket på. Prøvene ble tilsatt 5ng MPFOA og MPFOS fra en stamløsning på 50ng/mL som var laget fra PERFOOD sin MPFAC miks og MPFAS miks (1500ng/mL hver).

Prøvene ble så satt til SPE kjøring. For utregning av konsentrasjon av prøvene, ble det brukt 4 standarder med ulik konsentrasjon (henholdsvis 1, 2, 5 og 20ng/mL PFOS og PFOA). Tidstest og mengdetest for fiber ble gjennomført i samarbeid med PhD-student Gao Yan fra RCES, Beijing, Folkerepublikken Kina.

Tabell 3.1: Tabellen gir en skjematisk oversikt over prøveinnhold og behandling for tidstest og mengdetest.

Prøve	ng PFOS og PFOA	mL vann	ng IS	ng RS	Behandlingstid i tidstest	Mengde fiber i mengdetest
1-2	100	200	5	5	1 time	0,02g
3-4	100	200	5	5	2 timer	0,2g
5-6	100	200	5	5	4 timer	2g
7-8	100	200	5	5	8 timer	
9-10	100	200	5	5	16 timer	

3.2.1.2 Fiber temperaturtest

Prøvene ble delt inn i 3 grupper med 4 flasker i hver gruppe. Følgende temperaturvariasjon ble valgt:

- Gruppe 1 ble behandlet ved 4 °C. Satt i kjølerom
- Gruppe 2 ble behandlet ved 20 °C Satt i vannbad
- Gruppe 3 ble behandlet ved 35 °C. Satt i vannbad

Fordi shakeren var opptatt i lengre perioder, kunne den ikke brukes ved temperaturtesten. Følgende metode for å blande fibret inn i vannet ble derfor brukt:

0,2g fiber ble veid opp med et tillatt slingsmonn på 2%. Alle prøvene bestod av 200mL milliQ-vann og 100ng PFOS+PFOA. To metodeblankprøver ble laget, hver bestående av 200mL milliQ-vann. For at fibre ikke skulle flyte på overflaten av vannet under eksponeringstiden, ble den pakket inn i filterpapir som ble holdt sammen med en gummistrikk. Dette holdt fibre stort sett neddykket i hele eksponeringstiden.



Figur 3.1: Figuren viser hvordan filterpapiret og strikken holder på fibret.

Etter en eksponeringstid på 24 timer, ble prøvene tatt ut. Fiber med filterpapir ble fjernet med en pinsett som på forhånd var rensset i metanol. Alle flaskene ble tilsatt 5ng MPFOS og MPFOA fra PERFOOD. Prøvene ble satt direkte til SPE-kjøring. To kvantifiseringsstandarder på 100ng PFOS og PFOA samt 5ng IS og RS ble laget til bruk for beregning av relative responsfaktorer. Disse gikk ikke gjennom SPE eller oppkonsentrering.

Tabell 3.2: Tabellen gir en skjematisk oversikt over prøveinnhold og behandling for temperaturtest.

Prøve	ng PFOS + PFOA	mL vann	ng IS	ng RS	Temperatur under behandlingen
1 + 5	Blankprøve	200	5	5	
2-4	100	200	5	5	4 °C
6-8	100	200	5	5	20 °C
9-12	100	200	5	5	35 °C

3.2.1.3 Testing av nytt Fiber

I tillegg til fiberbatch 1 og 17, ble enda en fibertype levert av Sweco, som ble undersøkt. Dette ble gjort for å se om fibret kunne være mer effektivt enn fiberbatch 1 og 17.

Tre paralleller med 100ng PFOS og PFOA ble tilsatt 100mL milliQ-vann sammen med 0,2g fiber. En metodeblank ble også laget bestående av 100mL milliQ-vann. Behandlingen varte i 24 timer, med en konstant temperatur ved 4 °C og uten risting. 18,5ng IS ble tilsatt alle prøvene før SPE og oppkonsentrering. Før MS-kjøring ble det tilsatt 20ng RS.

En kvantifiseringsstandard ble laget ved å bruke samme mengde PFOS, PFOA, IS og RS i oppløst i 1mL metanol.

Tabell 3.3: Tabellen gir en skjematisk oversikt over prøveinnhold og behandling med ny type fiber..

Prøve	ng PFOS + PFOA	mL vann	ng IS	ng RS
1 - 3	100	100	18,5	20

3.2.2 Aktivt kull

100mL MilliQ vann ble overført i HDPE 250mL plastflasker. En metodeblank ble laget på 100mL milliQ vann, uten tilsatt PFOS eller PFOA. I motsetning til fibret, fikk kullet ingen forbehandling.

3.2.2.1 Aktivt kull Mengde test:

Flaskene med 100mL vann, ble delt opp i 3 grupper med 2 prøver i hver. Alle fikk tilsatt 50ng PFOS og PFOA. Aktivt kull ble tilsatt i følgende mengder:

- Gruppe 1 fikk tilsatt 0,01g aktivt kull.
- Gruppe 2 fikk tilsatt 0,10g aktivt kull.
- Gruppe 3 fikk tilsatt 1,00g aktivt kull.

For å gjøre separasjonen mellom prøven og kullet enklere, ble det brukt glassfilterhylser. Hylsene ble først vasket i milliQ-vann. Kullet ble tilsatt og åpningen ble tettet igjen med parafilm. Denne ble holdt på plass med en gummistrikk og ble så puttet oppi prøvene. For mengdetesten var eksponeringstiden satt til 24 timer ved romtemperatur på 20 °C uten risting. Deretter ble hylsen fjernet og klemmt med en ren pinsett slik at minst mulig vann gikk tapt. 5ng MPFOS og MPFOA fra PERFOOD ble tilsatt. En kvantifiseringsstandard på 50ng PFOS + PFOA og 5ng RS og IS ble laget. Denne gikk ikke gjennom SPE eller oppkonsentrering.



Figur 3.2: Figuren viser en av hylsene som ble brukt. Det aktive kullet ble holdt på plass i hylsen med parafilm festet med gummistrikk som dekket åpningen.

Tabell 3.4: Tabellen gir en skjematisk oversikt over hver prøveinnholdt og behandling ved mengdetest for aktivt kull.

Prøve	ng PFOS+PFOA	mL vann	ng IS	ng RS	Mengde aktivt kull
2-4	50	100	5	5	1g
5-7	50	100	5	5	0,01g
8-10	50	100	5	5	0,1g
1	Blank	100	5	5	

3.2.2.2 Aktiv kull Tidstest

100 mL vann og 50ng PFOS og PFOA ble tilsatt alle prøvene i rene plastflasker. Tre forskjellige grupper med 2 prøver i hver ble laget. Hver gruppe fikk følgende eksponeringstider:

- Gruppe 1: Eksponeringstid for kullet på 2 timer.
- Gruppe 2: Eksponeringstid for kullet på 12 timer.
- Gruppe 3: Eksponeringstid for kullet på 24 timer.

En blankprøve uten PFOS og PFOA samt en kontrollprøve uten behandling, men med tilsatt 50ng PFOOS og PFOA ble laget i tillegg. Hylse ble brukt for å oppbevare det aktive kullet i prøven. 0,2g aktivt kull ble benyttet. Temperaturen ble holdt på 20 °C og prøvene ble ikke ristet.

Før SPE kjøring ble hver prøve tilsatt 18,5ng MPFOS og MPFOA mix fra Wellington fordi det ikke var mer PERFOOD IS igjen. Etter tre måneders oppbevaring i kjøleskap med en temperatur på 4 °C, ble LC-MS kjøringen gjort på Institutt for Matsikkerhet og Infeksjonsbiologi (MatInf) i Oslo (se Appendiks I for instrumentinfo).

Kvantifiseringsstandarden som ble laget for testing av nytt fiber fra Sweco (Kapittel 3.2.1.3) ble benyttet. Prøvene ble kjørt sammen med prøvene med nytt fiber.

Tabell 3.5: Tabellen gir en skjematisk oversikt over prøveinnhold og behandling ved tidstest med aktivt kull.

Prøve	ng PFOS + PFOA	mL vann	ng IS	ng RS	Behandlingstid
1	Blank	100	18,5	20	Blank
2	50	100	18,5	20	Ingen behandling
3-5	50	100	18,5	20	1 time
6-8	50	100	18,5	20	6 timer
9-11	50	100	18,5	20	24 timer

3.2.2.3 Aktivt kull temperaturtest

Tidstesten for aktivt kull ble kjørt med en temperatur på 20 °C. Resultater fra prøve 9-11 i tidstesten ble derfor også brukt i temperaturtesten. I tillegg ble det laget to nye grupper med tre prøver i hver, begge med 100ng PFOS + PFOA.

- 1- Gruppe 1 ble laget og satt i et kjølerom som holdt 4 °C i en periode på 24 timer.
- 2- Gruppe 2 ble laget og satt i varmebad som holdt 35 °C i en periode på 24 timer.
- 3- Gruppe 3 ble tatt fra tidstesten som holdt 20 °C i en periode på 24 timer. Denne gruppen ble ikke analysert på nytt.

Det ble også laget en blankprøve på 100mL uten PFOS og PFOA som var felles for begge gruppene. Aktivt kull i hylse ble brukt. 18,5 ng MPFOS og MPFOA ble tilsatt hver prøve, også i blankprøven. SPE kjøring ble utført rett etter IS tilsetningen. LC-MS kjøringen ble foretatt på Institutt for Matsikkerhet og Infeksjonsbiologi i Oslo (se appendiks I for instrumentinfo).

Tabell 3.6: Tabellen gir en skjematisk oversikt over prøveinnhold og behandling ved temperaturtest med aktivt kull.

Prøve	ng PFOS + PFOA	mL vann	ng IS	ng RS	Behandlingstemperatur
1	Blank	100	18,5	20	Blank
2-4	100	100	18,5	20	4 °C
5-7	100	100	18,5	20	35 °C
8-10 (prøve 9-11 fra tidstest)	50	100	18,5	20	20 °C

3.2.3 Fast fase ekstraksjon

Filterpapir og fiber ble tatt opp av flaskene med to pinsetter. Den ene pinsetten ble brukt for å holde filterpapiret og den andre for å skvise absorbert vann tilbake til flasken. Det samme ble gjort med ekstraksjonshylsene, som ble skvist til det ikke var mer vann på innsiden.

SPE ble utført med HLB 6cc kolonner montert fast på en vakuumanifold. For å danne vakuum, ble det i forsøkene i Norge brukt en enkel vannkranbasert vakuumpumpe koblet via et reservoar. I Kina ble dette utført med en elektrisk pumpe.

For å gjøre håndteringen enklere ble det koblet til 60mL sprøyter på toppen av SPE-kolonnene via en kolonneadapter. SPE-kolonnene ble først kondisjonert med 7mL HPLC-gradert metanol og deretter med 7mL milliQ-vann. Prøvene ble applisert ved å helle dem gradvis i sprøytene. I denne fasen ble det passet på at strømningshastigheten gjennom kolonnene ikke oversteg 2 drypp per sekund. Etter prøveappliseringen ble hver kolonne vasket med 5mL vaskeløsning bestående av 20% metanol løst i 80% milliQ vann.

For elueringen ble det brukt 10mL HPLC gradert metanol. Prøvene ble eluert ut i 15mL PP-tuber med lokk. I IKBM-laboratoriet ble dette gjort uten vakuum, men med et manuelt trykk fra sprøyten. I Folkerepublikken Kina ble elueringen utført med hjelp av en vakuumpumpe. Etter SPE ble eluatet oppkonsentrert.

3.2.4 Oppkonsentrering og tilsetting av gjenvinningsstandard

Prøvene ble overført fra 15mL PP-tuber til turbovap-oppkonsentreringsglass. Tubene ble skylt med 1mL metanol, som deretter ble overført til glassene. Oppkonsentreringen skjedde i en Turbovap 2 hvor vannbadet holdt 50°C. Endepunktet ble satt til automatisk, noe som gjør at en sensor automatisk stopper nitrogentilførselen til glasset når volumet synker ned til cirka 0,5 mL. Konsentratet ble samlet opp i 1,2mL GC-glass. 0,1mL metanol ble brukt til å skylle konsentreringsglassene, og dette ble deretter overført i GC-glassene.

For alle fibertestene og kullmengdetesten ble det tilsatt 5ng RS, men dette ble økt da sensitiviteten til MS-en begynte å synke. Til kulltestene for tid og temperatur ble det derfor brukt 20ng RS og IS økte fra 5ng til 18,5ng.

3.2.5 Gjenvinningstest for WAX og HLB kolonner

Før prøvekjøringene ble det gjort en sammenligning mellom WAX og HLB SPE-kolonnene. 4 tester for WAX og 4 tester for HLB ble laget. Disse bestod av 100mL vann med 5ng PFOS og PFOA standard sammen med 5ng IS. Prøvene ble kjørt gjennom SPE og på HLB-kolonnene ble prosessen gjennomført som beskrevet i punkt 3.2.3.

SPE for WAX-kolonnene ble utført på følgende måte:

- 1- WAX kolonner ble satt på vakuummanifoldet. Disse ble først kondisjonert med 4mL av en 0,1% NH₄OH løsning i metanol. Deretter ble det brukt 4mL ren metanol, og til slutt 4mL milliQ vann. Vakuum ble ikke benyttet i denne forbindelse.
- 2- Hver prøve ble så applisert på hver sin kolonne, og vakuomet ble slått på. Hastigheten på gjennomstrømmingen ble regulert med vakuomet, maks 2 dråper i sekundet. En bufferløsning på 25mM ammonium acetat/metansyre på pH 4.0 ble laget. Hver kolonne ble vasket med 4mL av denne løsningen.
- 3- PFOS og PFOA ble eluert ut i 15mL HDPE-tuber med 4mL 0,1% NH₄OH. Eluatet ble oppkonsentrert til 0,5mL og satt i GC-glass med kork. Se punkt 3.2.4 vedrørende fremgangsmåte for oppkonsentrering. Prøvene ble deretter satt til HPLC-MS kjøring.

3.2.6 Linearitetstest

MS-instrumentet på NMBU har tidligere ikke blitt brukt til å måle så høye konsentrasjoner av PFOS og PFOA. Det var derfor nødvendig teste lineariteten i dette området.

Følgende standarder ble benyttet i linearitetstesten:

Tabell 3.7 Tabellen viser innhold i de ulike linearitetsstandardene.

Standard nr	IS [ng/mL]	RS [ng/mL]	PFOS / PFOA [ng/mL]
1	5	5	10
2	5	5	20
3	5	5	40
4	5	5	80
5	5	5	100
6	5	5	150
7	5	5	200

Fra tabellmateriale i tabellen 3.7 og resultater etter analyse, ble det laget en kalibreringskurve ved regresjon. R-verdien ble kalkulert og brukt som et mål på lineariteten for PFOS og PFOA.

3.2.7 Væskekromatografiprogram på NMBU/IKBM, Ås, Norge

2 stk av Perkin Elmer serie 200 HPLC pumper ble brukt for å kjøre en gradient mellom HPLC gradert vann (pumpe A) og HPLC gradert metanol med 2mM natrium acetat buffer (Pumpe B).

Tidligere forsøk utført av Behman Nazari på instrumenteringen på NMBU/IKBM på Ås har resultert i et pumpeprogram som gir gode kromatogrammer for PFOS og PFOA, se tabell 3.8 for detaljer. ^[60]

Tabell 3.8: Tabellen viser gradientprogrammet for pumpe A og B som ble brukt under forsøkene ved NMBU/IKBM

Steg	Varighet [min]	Strømningshastighet [mL/min]	Vol% A (Vann)	Vol% B (Metanol)
Standby	Standby	0,200	95	5
1	1	0,200	70	30
2	5	0,200	25	75
3	5	0,200	0	100
4	5	0,200	0	100
5	5	0,200	95	5

For å injisere prøver ble det brukt et injeksjonsvolum på 20 µL med Perkin Elmer serie 200 autosamplere. Kolonnen som ble brukt var ACE 3 C₁₈ – 300 75X2,1 mm, 3µm, laget av ACE, Aberdeen Skottland. Temperaturen for kolonnen ble holdt konstant ved 35 °C. Trykket ble holdt høyere enn 4,8*10⁶ Pa under hele gjennomkjøringen. Samme metode og utstyr ble benyttet i denne masteroppgaven.

3.2.8 Massespektroskopi

Et optimalisert skanneprogram for PFOS / PFOA ble først laget ved å bruke den innebygde funksjonen «compound optimization» i programvaren Analyst versjon 1. En 0,500mL sprøyte med en løsning på 100ng/mL PFOS og PFOA, 10ng/mL IS av PFOS og PFOA og 10ng/mL RS ble koblet til API2000 MS-en. En egen sprøytepumpe (CMA/1000 Microinjection Pump) ble brukt og satt til en strømningshastighet på 8µL/min. Analyst laget automatisk en optimalisert metode for alle stoffene i blandingen. (Se appendiks J for MS-program).

Ionene det ble skannet for fremgår av tabell 3.9a og 3.9b.

Tabell 3.9a: Tabellen viser m/z verdiene for de ulike ionefragmentene som det ble skannet for.

Fragment	Q1 [m/z]	Q3 [m/z]
PFOA	413,1	368,9
PFOA2	413,1	168,9
MPFOA	421,1	375,8
MPFOA2	421,1	171,8
PFOS	498,9	79,7
PFOS2	498,9	98,8
MPFOS	506,9	79,8
MPFOS2	506,9	98,8
PFMe2OA (RS)	513,0	468,7

Fragmenter som slutter på tallet 2 indikerer et referansefragment, og skal kun brukes for å kvalitetssikre målingene.

Da kulltesene med variasjon av tid og temperatur samt testing av nytt fiber ble utført, måtte det kjøpes inn en ny type IS (Wellington). IS fra PERFOOD var da brukt opp, og var ikke lenger tilgjengelig å få kjøpt. Dette medførte at MPFOA og MPFOS hadde følgende oppdaterte verdier ved de to siste testene:

Tabell 3.9b: Tabellen viser oppdaterte m/z verdier for IS ved test av tid og temperatur for aktivt kull samt testing av nytt fiber.

Fragment	Q1 [m/z]	Q3 [m/z]
MPFOA	417.1	372.8
MPFOA2	417.1	168.8
MPFOS	503.9	79.8
MPFOS2	503.9	98.8

3.2.9 Elveprøver tatt fra Folkerepublikken Kina

Det ble tatt 9 prøver fra elven Qinghe ved en stor bro med tett trafikk i nærheten av olympiaparken i Beijing. Like ved prøveopptakstedet ligger det en stor prosessfabrikk som behandler kjøttprodukter. GPS lokalisasjon er 40.029672, 116.371472. Stedet hvor prøvene ble tatt, ble valgt grunnet den korte distansen fra RCEES. Vann fra denne elven har tidligere blitt analysert mot perfluoreerte karboner av studenter på instituttet, og er kjent for å inneholde PFOA. Dette stedet har også en enkel vei ned til elven, som ikke er lett å finne andre steder. Elva var ikke dyp på lokasjon for prøveuttak.

Det ble forsøkt etter beste evne å ikke få med bunngums i prøvene. Hver prøve som var på cirka 1L, ble fraktet tilbake til «Research Centre for Eco-Environmental Sciences» (RCEES). Der ble de satt til lagring ved 4 °C over natten.



Figur 3.3: Kartet (fra Google Maps) viser området rundt prøvetagningsstedet.. Målestokk 1:5000. Nord er orientert oppover.

For å fjerne ulike partikler ble prøvene filtrert og målt til 1L gjennom et pumpefiltersystem. Prøvene ble overført til nye og rene 1L plastflasker, og fikk tilsatt 100mg med tiosulfat for å fjerne klorforbindelser. Flaskene ble nummerert og delt inn i 3 grupper:

- 1- Flaske 1-3: Ingen behandling.
- 2- Flaske 4-6: Behandling med fiber (ny type).
- 3- Flaske 7-9: Behandling med aktivt kull.

Det ble i tillegg laget en metodeblank bestående av 1L MilliQ-vann uten spike. Prøve 4-6 ble tilsatt cirka 0,400g fiber, og prøve 7-9 ble tilsatt 0,400g aktivt kull. Prøvene ble så satt 24 timer i en shakeboks som holdt 4 °C og hadde en konstant hastighet på 110RPM.

Prøve 4-9 ble filtrert for å fjerne fibret og det aktive kullet. Filteret ble byttet ved overgangen fra filtrering av aktivt kull til filtrering av fiberprøver. Deretter fikk prøvene tilsatt 10ng intern standard og ble oppbevart ved 4 °C i cirka 18 timer før SPE-kjøring. SPE kjøringen ble gjort på samme måte som før, men det ble brukt vakuumpumpe istedenfor vannpumpe.

Nitrogen ble brukt for å justere prøvolumet til å ligge i intervallområdet mellom 1 - 1,3 mL. Deretter ble prøvene overført til en LC glass og tilsatt 10ng RS.

Det ble laget 5 kvantifiseringsstandarder med henholdsvis 0,2, 0,5, 2,0, 5,0, 10,0 og 20,0. ng/mL PFOS og PFOA. Alle 5 fikk tilsatt 10ng IS og RS, og volumet ble satt til 1mL. Hver løsning ble laget fra en felles stamløsning.

Tabell 3.6: Tabellen viser hvordan standardene ble laget.

Stoff + start konsentrasjon	0,2ng/mL std	0,5 ng/mL std	2 ng/mL std	5 ng/mL std	10 ng/mL std	20 ng/mL std
Stamløsning PFOS+ PFOA 50ng/mL	0,004mL	0,010mL	0,040mL	0,100mL	0,200mL	0,400mL
RS 100ng/mL	0,100mL	0,100mL	0,100mL	0,100mL	0,100mL	0,100mL
IS 50ng/mL	0,200mL	0,200mL	0,200mL	0,200mL	0,200mL	0,200mL
Metanol HPLC grade	0,696mL	0,690mL	0,660mL	0,600mL	0,500ml	0,300mL

Kvantifiseringsstandardene ble kjørt samme dag som de ble laget, og prøvene ble kjørt like etter på en HPLC-MSMS

4 Resultater

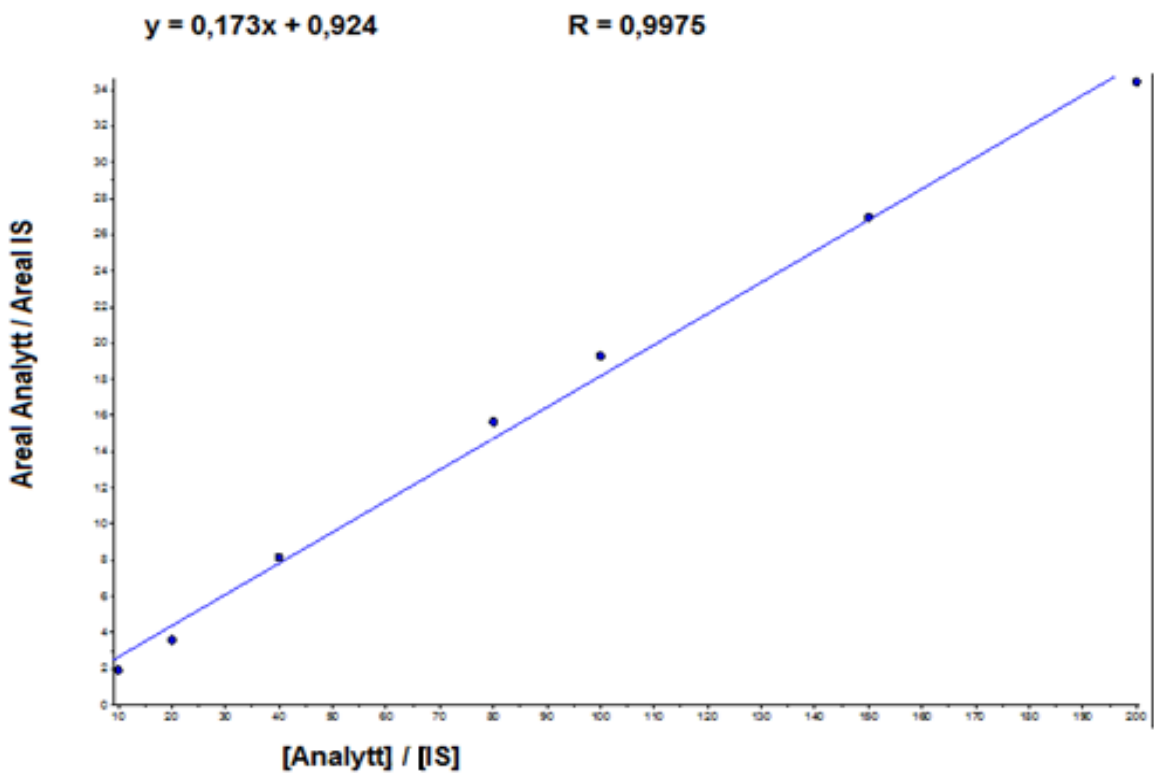
4.1 Resultater for linearitetstest og gjenvinningstest

Følgende resultater ble registrert ved gjenvinningstestene som ble utført av MSc Yan Gao fra RCEES. Rådata for test på WAX-kolonnene er tilgjengelig ved Appendiks G. Rådata for HLB-kolonnene har gått tapt.

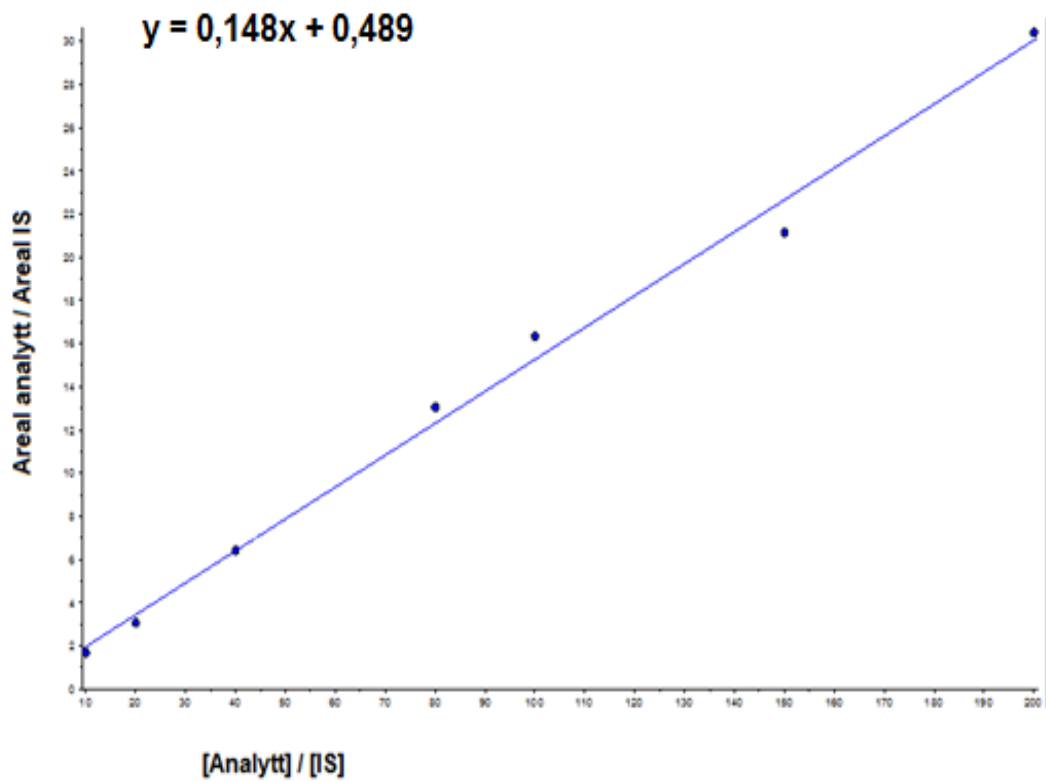
Tabell 4.1.1: Tabellen viser gjenvinningsprosentene for PFOS og PFOA etter utført metode ved bruk av to forskjellige SPE-kolonner. Se appendiks G for Rådata

	Rec% PFOS	Rec% PFOA
WAX-kolonne	113	114
HLB-kolonne	107	112

Linearitetstesten (se appendiks H for rådata) gav linearitetskurver gitt i figur 4.1.1 og 4.1.2 for PFOS og PFOA:



Figur 4.1.1: figuren viser linearitetskurve for PFOS. Ligning $y = 0,173x + 0,924$ og $R = 0,9975$.



Figur 4.1.2: Figuren viser linearitetskurven for PFOA. Ligning for kurven er $y = 0,148x + 0,489$ $R = 0,9966$ (ikke avbildet).

4.2 Resultater for fiber batch 1 og 17 - Tidstest

Alle gjennomsnittene i denne masteroppgaven er aritmetiske, ikke geometriske.

Følgende verdier for Fiber 1 ble målt ved HPLC-MS kjøring:

Tabell 4.2.1: Tabellen viser total mengde PFOS og PFOA som er funnet for spiket vann etter behandling med Fiber batch 1 ved forskjellige behandlingstider. Startmengde var på 100ng PFOS+ PFOA. Gjennomsnittet er regnet for hver prøvegruppe

Prøve (n=1)	ng PFOS	RSD for gjennomsnitt	ng PFOA	RSD for gjennomsnitt	Tid (timer)
1	86		93		1
2	85		78		1
1-2 gjennomsnitt	85±1	1,1 %	85±11	12,5%	1
1 – 2 absolutt avvik	0,5		7,5		
3	81		92		2
4	80		91		2
3-4 gjennomsnitt	81 ±1	1,7%	92±1	0,8%	2
3 – 4 absolutt avvik	0,5		0,5		
5	83		83		4
6	86		87		4
5-6 gjennomsnitt	85±2	2,2%	85±3	3,5%	4
3 – 4 absolutt avvik	1,5		2,0		
7	88		109		8
8	80		77		8
7-8 gjennomsnitt	84±6	6,1 %	93±23	24,8%	8
7 – 8 absolutt avvik	4,0		16,0		
9	80		77		16
10	73		86		16
9-10 gjennomsnitt	77±5	5.8%	81±6	7.2%	16
9 – 10 absolutt avvik	3,5		4,5		

Følgende verdier for fiber 17 ble målt ved HPLC-MS kjøring.

Tabell 4.2.2: Tabellen viser total mengde PFOS og PFOA som er funnet for spiket vann etter behandling med fiberbatch 17 ved forskjellige behandlingstider. Startmengde var på 100ng PFOS+PFOA. Gjennomsnittet er regnet for hver prøvegruppe.

Prøve (n= 1)	ng PFOS	RSD for gjennomsnitt	ng PFOA	RSD for gjennomsnitt	Tid (timer)
1	83,3		90,7		1
3	86,5		83,5		2
4	83,7		74,7		2
3-4 gjennomsnitt	81,0 ±1,3	1,7%	79,1±6,2	7,9%	2
3-4 absolutt avvik	1,3		4,4		
5	86,5		62,2		4
6	83,7		84,1		4
5-6 gjennomsnitt	85,1±2,0	2,3%	73,2±15,5	21,2%	4
5-6 absolutt avvik	1,3		1,0		
7	83,5		80,3		8
8	87,8		77,0		8
7-8 gjennomsnitt	85,7±3,0	3,5 %	78,7±2,3	3,0%	8
7-8 absolutt avvik	2,2		1,7		
9	70,6		77,4		16

Prøve 2 og 10 er ikke tatt med, på grunn av feil ved SPE-kjøring.

4.3 Resultater for fiberbatch 1 og 17 - Massetest

Masseprøvene ga resultater som ikke var gode. Ingen rådata fra dette forsøket er tilgjengelig, da Yan Gao som utførte målingene, ikke sparte på dem. Fordi fibret var dårlig egnet til fjerning, ble det ikke utført noen ny test av dette.

4.4 Resultater for fiberbatch 17 - Temperaturtest

Følgende verdier for 200mL prøver ble registrert ved HPLC-MS kjøring:

Tabell 4.4.1: Tabellen viser total mengde PFOS og PFOA som er funnet for spiket vann etter behandling med Fiber batch 17 ved forskjellige temperaturer. Startmengde var på 100ng. Gjennomsnittet er regnet for hver prøvegruppe.

Prøve (n=1)	ng PFOS	PFOS RSD	Ng PFOA	PFOA RSD	IS gjenvinning % (MPFOS)	IS gjenvinning % (MPFOA)	Temperatur [°C]
1(blank)	2		4		135	166	4
2	63		88		139	143	4
3	64		89		111	124	4
4	65		83		117	132	4
2-4 gjennomsnitt	64 ±1	0,85%	87±3	3,82%	122	133	4
2-4 absolutt avvik	0,7		2,44		11,1	6,7	
5 (blank)	2		9		42	36	20
6	71		84		114	126	20
7	87		96		98	106	20
8	70		90		102	114	20
6-8 gjennomsntt	76±9	12,17%	90±6	6,79%	105	115	20
6-8 absolutt avvik	7,3		4,00		6,2	7,1	
9	81		94		54	69	35
10	91		94		57	64	35
11	63		3		51	94	35
12	83		97		57	58	35
9-12 (11 utelatt) gjennomsnitt	85±5	6,46%	95±2	1,71%	56	64	35
Absolutt avvik 9-12 (11 utelatt)	4,0		1,3		1,3	3,8	

Kvantifiseringsprøver for temperaturtest av fiberbatch 17:

Tabell 4.4.2: Tabellen viser gjennomsnittsverdier for relative responsfaktorer regnet fra to ulike kvantifiseringsstandarder. Standardene inneholdt begge 100ng PFOS og PFOA samt 5ng IS og RS

RRFi		RRFg	
PFOS	PFOA	MPFOS	MPFOA
1,65	1,00	0,87	0,67

Tabell 4.4.3: Tabellen viser forholdstall mellom arealet til kvantifiserings- og refereranseionene. Det er også regnet ut relativt standardavvik og absolutt standardavvik fra gjennomsnittet.

Prøve (n=1)	PFOS/ PFOS2 Areal	% rsd fra gjennomsnitt	MPFOS/ MPFOS2 Areal	% rsd fra gjennomsnitt	PFOA/ PFOA2 Areal	% rsd fra gjennomsnitt	MPFOA/ MPFOA2 Areal	% rsd fra gjennomsnitt
1	8,03	5,49	5,26	11,91	1,28	11,27	1,82	0,06
2	7,55	0,90	5,25	11,69	1,45	0,56	2,13	17,01
3	7,03	7,62	4,03	14,34	1,44	0,31	1,89	4,05
4	6,48	14,95	3,80	19,17	1,39	3,18	2,07	13,85
5	7,48	1,75	3,32	29,36	1,26	12,35	1,63	10,35
6	8,20	1,75	4,87	3,48	1,40	2,92	2,08	14,27
7	7,14	7,64	5,01	6,61	1,51	4,66	1,96	7,94
8	7,09	6,22	4,81	2,20	1,40	2,60	1,84	1,21
9	7,86	6,91	4,95	5,25	1,56	8,35	1,66	9,04
10	6,75	3,26	5,57	18,48	1,57	9,35	1,40	23,11
11	8,59	11,34	4,47	5,05	1,34	6,75	1,74	4,17
12	9,18	12,78	5,09	8,29	1,61	11,95	1,63	10,40
Gjennomsnitt	7,62		4,70		1,44		1,82	
Absolutt standardavvik	0,63		0,53		0,09		0,17	

4.5 Resultater for aktiv kull - Mengdetest

Følgende tabeller baserer seg på rådata fra appendiks B

Tabell 4.5.1: Tabellen viser utregnede verdier for mengde stoff i hver prøve. Mengde før behandling var på 50ng PFOS og PFOA. Gjenvinning %, RSD % og S/N verdier er tatt med. Gjennomsnittet er regnet for hver prøvegruppe (med \pm)

Prøve (n=1)	ng PFOS	PFOS RSD	ng PFOA	PFOA RSD	IS gjenvinning % (MPFOS)	IS gjenvinning % (MPFOA)	Mengde Kull [g]
1(blank)	14		13		84	107	0,1
2	42		5		70	94	1
3	47		6		69	87	1
4	43		6		64	89	1
2-4 gjennomsnitt	44 \pm 2	5,54%	6 \pm 1	11,06%	67	90	
Absolutt avvik 2-4	2,0		0,4		2,4	2,7	
5	48		5		63	88	0,01
6	49		3		61	86	0,01
7	48		9		74	64	0,01
5-7 gjennomsnitt	48 \pm 1	1,21%	5 \pm 3	51,75%	66	79	
Absolutt avvik 5-7	0,4		2,2		5,3 3	10,2	
8	44		7		76	95	0,1
9	43		6		63	85	0,1
10	50		5		62	81	0,1
8-10 gjennomsnitt	46 \pm 4	8,47%	6 \pm 1	17,24%	67	87	
Absolutt avvik 8-10	2,9		0,7		6,00	5,3	

Tabell 4.5.2: Tabellen viser de relative responsfaktorene beregnet fra tallene til kvantifiseringsstandard. Tallene kan ses i appendiks B. Standarden inneholdt 100ng PFOS + PFOA og 5ng IS + RS

RRFi		RRFg	
PFOS	PFOA	MPFOS	MPFOA
2,09	0,83	0,35	0,36

Tabell 4.5.3: Tabellen viser forholdstall mellom arealet til kvantifiserings- og refereranseionene. Det er også regnet ut relativt standardavvik og absolutt standardavvik fra gjennomsnittet.

Prøve	PFOS/ PFOS2 Areal	% rsd fra gjennom- snitt	MPFOS/ MPFOS2 Areal	% rsd fra gjennom- snitt	PFOA/ PFOA2 Areal	% rsd fra gjennom- snitt	MPFOA/ MPFOA 2 Areal	% rsd fra gjennom- snitt
1 (blank)	7,85	9,19	0,76	63,49	0,07	5,77	1,26	34,55
2	9,40	8,75	1,89	8,68	0,16	0,72	0,52	5,79
3	8,52	1,44	2,30	11,13	0,13	1,58	0,63	0,01
4	8,61	0,37	2,08	0,41	0,11	2,45	0,62	0,31
5	8,32	3,73	2,41	16,42	0,17	1,09	0,48	8,00
6	8,74	1,17	2,35	13,33	0,24	5,98	0,34	15,66
7	8,42	2,52	2,39	15,48	0,12	2,25	0,80	9,50
8	9,58	10,92	1,90	8,06	0,13	1,24	0,63	0,01
9	8,52	1,36	2,12	2,44	0,14	0,78	0,57	3,49
10	8,44	2,28	2,48	19,89	0,19	2,93	0,42	11,60
Gjennom- snitt	8,64		2,07		0,15		0,63	
Absolutt Standard- avvik	0,36		0,33		0,04		0,16	

4.6 Resultater for aktivt kull – Tidstest

Følgende tabell bruker prøve 8-10 fra «Kull mengdetest» som resultater for 24 timer behandlingstid (fra tabell 4.5.1). Appendiks C viser rådata for måling 1-8. Det ble valgt å ikke ta med prøve 5 i gjennomsnittet, se diskusjonsdelen (pkt 5.5) for aktivt kull tid for begrunnelse.

Tabell 4.6.1: Tabellen viser utregnede verder for mengde stoff i hver prøve. Mengde før behandling var på 50ng PFOS og PFOA. Gjenvinning %, RSD % og S/N verdier er tatt med. Startmengde 50ng PFOS + PFOA. Gjennomsnittet er regnet for hver prøvegruppe.

Prøve (n=1)	ng PFOS	RSD PFOS	ng PFOA	RSD PFOA	IS gjenvinning % (MPFOS)	IS gjenvinning % (MPFOA)	Behandling
1	46		24		76	125	Blank
2	60		52		81	110	Ingen behandling
3	70		60		74	92	1 time
4	62		53		78	93	1 time
5 (Utelatt)	87		62		71	142	1 time
3-4 gjennomsnitt	66 ±5	8,19%	56±5	8,73%	76	93	
3-4 Absolutt avvik	4,0		3,5		2	0,5	
6	63		46		91	112	6 timer
7	53		34		79	100	6 timer
8	49		27		89	133	6 timer
6-8 gjennomsnitt	55±7	12,77%	35±9	25,57%	86	115	
6-8 absolutt avvik	5,3		6,9		4,9	12,0	
9	44		7		76	95	24 timer
10	43		6		63	85	24 timer
11	50		5		62	81	24 timer
9 – 11 gjennomsnitt	46±4	8,47%	6±1	17,24%	67	87	
9-11 absolutt avvik	2,9		0,7		6,0	5,3	

Tabell 4.6.2: Tabellen viser de relative responsfaktorene beregnet fra kvantifiseringsstandard. Tallene kan sees i appendiks B. Standarden inneholdt 100ng PFOS + PFOA og 10ng IS +18,5 RS

RRFi		RRFg	
PFOS	PFOA	MPFOS	MPFOA
2,99	0,96	0,30	0,28

Tabell 4.6.3: Tabellen viser forholdstall mellom arealet til kvantifiserings- og refereranseionene. Det er også regnet ut relativt standardavvik og absolutt standardavvik fra gjennomsnittet. Tabellen viser kun prøvene 1-8, prøvene 9-11 er tatt fra prøvesettet «Mengdetest kull», og er derfor utelatt.

Prøve (n=1)	PFOS/ PFOS2 Areal	% rsd fra gjennomsnitt	MPFOS/ MPFOS2 Areal	% rsd fra gjennomsnitt	PFOA/ PFOA2 Areal	% rsd fra gjennomsnitt	MPFOA/ MPFOA2 Areal	% rsd fra gjennomsnitt
1 (blank)	8,46	25,42	7,79	11,34	1,69	4,39	1,81	1,68
2	11,38	0,26	6,75	3,57	1,53	5,33	1,71	4,02
3	11,36	0,12	7,48	6,88	1,77	9,41	1,69	5,06
4	11,77	3,72	6,72	3,96	1,58	2,17	1,60	10,15
5	11,69	3,02	5,99	14,48	1,75	8,02	2,41	35,27
6	13,02	14,07	7,19	2,73	1,60	1,41	1,58	11,37
7	11,93	5,15	7,59	8,37	1,66	2,28	1,66	6,73
8	11,19	1,45	6,49	7,29	1,37	15,34	1,76	1,24
Gjennomsnitt	11,35		7,00		1,62		1,78	
Absolutt standardavvik	0,76		0,50		0,10		0,17	

4.7 Aktivt kull - Temperaturtest

Se appendiks E for rådata. Denne prøven viste urealistisk høyt nivå av PFOS og PFOA, og resultatene er derfor ikke tatt med.

4.8 Resultater for test med nytt fiber fra Sweco

Analysene ble utført ved Institutt for matsikkerhet og infeksjonsbiologi (MatInf, NMBU) og ga følgende resultater:

Tabell 4.8.1: Tabellen viser utregnede verdier for mengde stoff i hver prøve. Mengde før behandling var på 50ng PFOS og PFOA. Gjenvinning % verdier er tatt med. Startmengde 100ng PFOS + PFOA

Prøve (n=1)	ng PFOS	PFOS RSD	ng PFOA	PFOA RSD	IS gjenvinning % (MPFOS)	IS gjenvinning % (MPFOA)
Blind	69	-	1	-	101	94
1	120	-	56	-	74	61
2	110	-	53	-	86	61
3	115	-	56	-	87	83
Gjennomsnitt 1-3	115±5	4,25%	55±2	3,15%	82	68
Absolutt Avvik 1-3	3,33		1,3		5,6	9,8

Se appendiks F for rådata.

4.9 Resultater fra Folkerepublikken Kina

Tabell 4.9.1: Tabellen viser kalkulert konsentrasjon for PFOS, PFOA og PFBS tatt fra elven i Beijing. S/N og gjenvinning % er også tatt med. Nf = ikke detektert.

Prøve (n=1)	ng/L PFOS	S/N PFOS	ng/L PFOA	S/N PFOA	ng/L PFBS	S/N PFBS	IS gjenvinning % (MPFOS)	IS gjenvinning % (MPFOA)	Behandling
1	nf	nf	3,7	26,7	22,9	234,8	97,6	88,7	Ingen
2	0,7	10,5	3,0	34,1	19,2	179,39	113,7	82,5	Ingen
3	0,8	7,9	4,8	52,8	22,4	223,6	96,4	73,6	Ingen
4	nf	nf	3,4	48,1	41,3	93,0	45,1	86,2	Fiber x4
5	nf	nf	3,5	48,1	15,7	166,0	106,3	72,7	Fiber x4
6	0,7	5,6	2,9	29,7	22,5	114,7	68,6	75,7	Fiber x4
7	nf	nf	nf	nf	0,2	7,3	-	-	Aktiv Kull
8	nf	nf	nf	nf	0,1	3,9	83,1	72,8	Aktiv Kull
9	nf	nf	nf	nf	0,3	6,4	78,1	80,8	Aktiv Kull
10	nf	nf	nf	nf	nf	nf	91,2	72,3	Blank

Gjennomsnittet (basert på tall med to siffer bak komma) ble regnet ut. PFBS tall for prøve 4 er utelatt

Tabell 4.9.2: Tabellen viser gjennomsnitt og STD for prøvegruppene.

Behandling	Gjennomsnitt ng/L PFOS	STD PFOS ng/L	Gjennomsnitt PFOA ng/L	STD PFOA ng/L	Gjennomsnitt Ng/L PFBS	STD PFBS Ng/L
Ingen	0,76	0,03	3,84	0,73	21,51	1,63
Fiber 4x	0,71	0,00	3,28	0,25	19,10	3,44
Aktivt kull	Ikke funnet		Ikke funnet		0,17	0,09

Det ble også foretatt en test med aktivt kull hvor flere ulike perfluorerte forbindelser var tilstede. Dette forsøket ble mislykket fordi alle analyttene og IS ble mistet under SPE. Ved en feiltakelse ble det benyttet et annet løsemiddel enn metanol ved rensesteget i kjøringen.

5 Diskusjon

5.1 Linearitetstest og gjenvinningstest

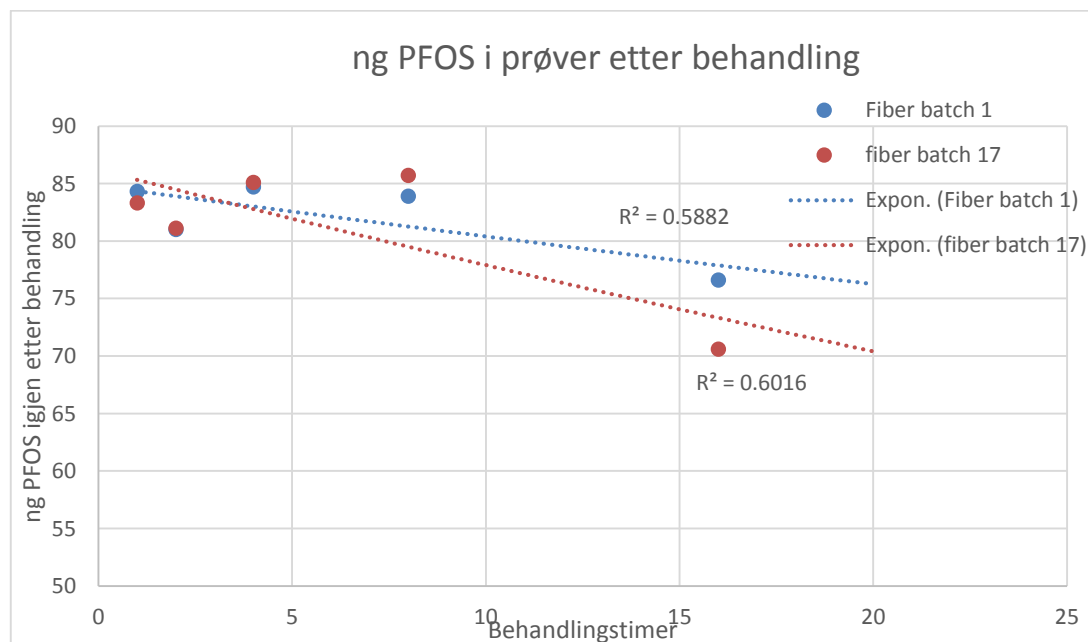
MS-en viser en god linearitet for PFOS ($R=0,9975$) og PFOA ($R=0,9966$), se figur 4.1.1 og 4.1.2. Det er forskjellige grenser for hva som er en godkjent R-verdi, den mest brukte normalen, er verdier over 0,975. ^[61] Fra appendiks H kan en se at standardene på 10ng/mL og til dels 20ng/mL passer dårlig inn med resten av målingene. Denne vesentlige feilen kan komme av pipettering, da løsninger med lave konsentrasjoner er ekstra følsomme for unøyaktigheter. Fordi det ble brukt så høye konsentrasjoner i prøvene, ble ikke verdier for LOD og LOQ undersøkt. Det har tidligere blitt gjort tester på MS-instrumentet som har vist grenser under 0,2ng/mL for PFOS. ^[60]

Gjenvinningstesten viser at det er enkelt å få kontaminering ved bruk av denne metoden (se tabell 4.1.1). Testene gir 10% høyere tall enn forventet. Det var ingen merkbar kontaminering ved kjøring av 100% metanol gjennom HPLC-MS.

Det er ingen vesentlig forskjell resultatmessig mellom bruk av WAX- eller HLB-kolonne for SPE kjøring. Av praktiske årsaker ble HLB benyttet, da denne er mindre arbeidskrevende å behandle og fordi den kan gå tørr uten at det skal påvirke ekstraksjonen.

5.2 Tidstest - Fiberbatch 1 og 17

Resultatene fra tabell 4.2.1 og 4.2.2 danner et grunnlag til figur 5.2.1 og 5.2.2 hvor mengde PFOS og PFOA er plottet mot behandlingstid for fibrene

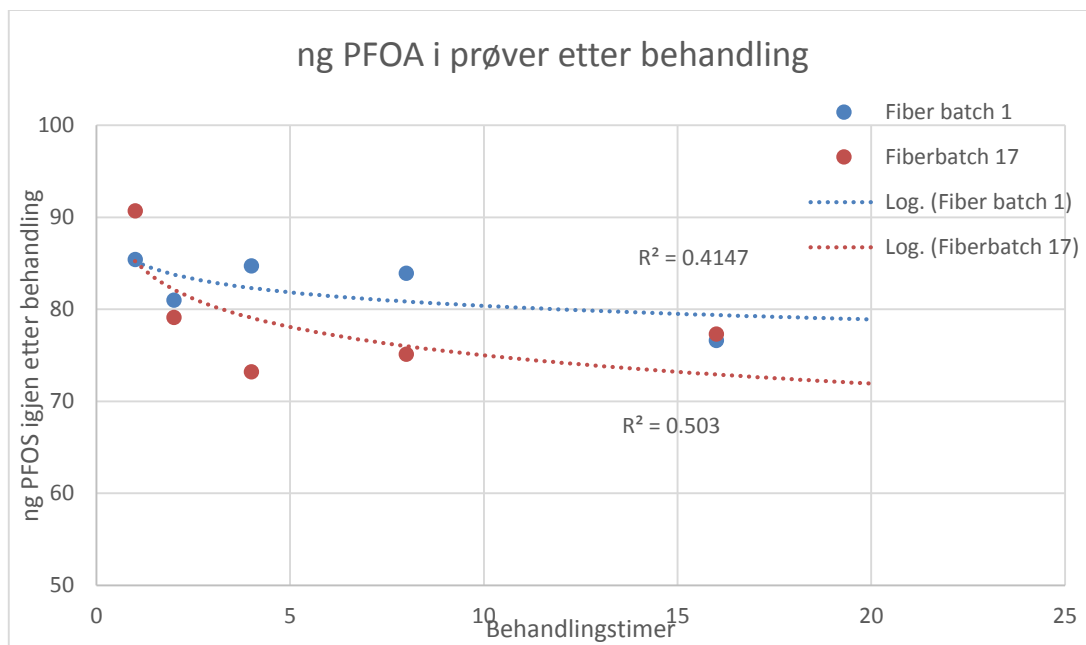


Figur 5.2.1: Figuren viser gjenværende masse PFOS i prøver som funksjon av behandlingstid med fibertype 1 eller 17. Det er laget trendlinjetyper som har gitt størst mulig R-verdi. Startverdi var 100ng

PFOS viser en svak trend for at en høyere behandlingstid gir økt adsorpsjon av PFOS. Det er imidlertid kun prøven med 16 timers filtrering som gir utslag for dette. Kortere behandlingstider viser ingen signifikant forskjell. Det ser ut som om adsorberingen av PFOS og PFOA kommer i gang etter at behandlingen har pågått en stund.

Graden av adsorpsjon er lav. Litt under 25% av PFOS ble fjernet ved behandling med fiberbatch 1 og cirka 30 % med fiberbatch 17 ved 16 timers behandlingstid. Det er usikkert om adsorpsjon vil forbedres ved lenger behandlingstid. Forsøksserien kunne derfor med fordel vært utvidet for å klarlegge dette. Temperaturtest ved 20 °C på fibertype 17 ble behandlet i 24 timer og hadde bare en fjerningsprosent på 25%. Dette kan tyde på at en økt eksponeringstid utover 16 timer ikke vil gi noen merkbar effekt. Se kapittel 5.3 som omhandler temperaturtesten for fiberbatch 17 for flere detaljer.

Forskjellen mellom fiber 1 og 17 er under 10%, noe som må sies å være lite, og kan bare registreres ved siste måling. Med kun to målinger for fiber 1 ved 16 timer, og en måling for fiber 17 ved 16 timer, er det for dårlig statistisk grunnlag å kunne konkludere med at fibrene har ulik effektivitet. Resultatet er likevel en indikasjon på at fibertype 17 kan være den mest effektive.



Figur 5.2.2: Figuren viser masse PFOA igjen i prøver som har fått en gitt behandlingstid med fibertype 1 eller 17. Det er laget trendlinjetyper som har gitt størst mulig R-verdi. Startverdi for mengde var 100ng

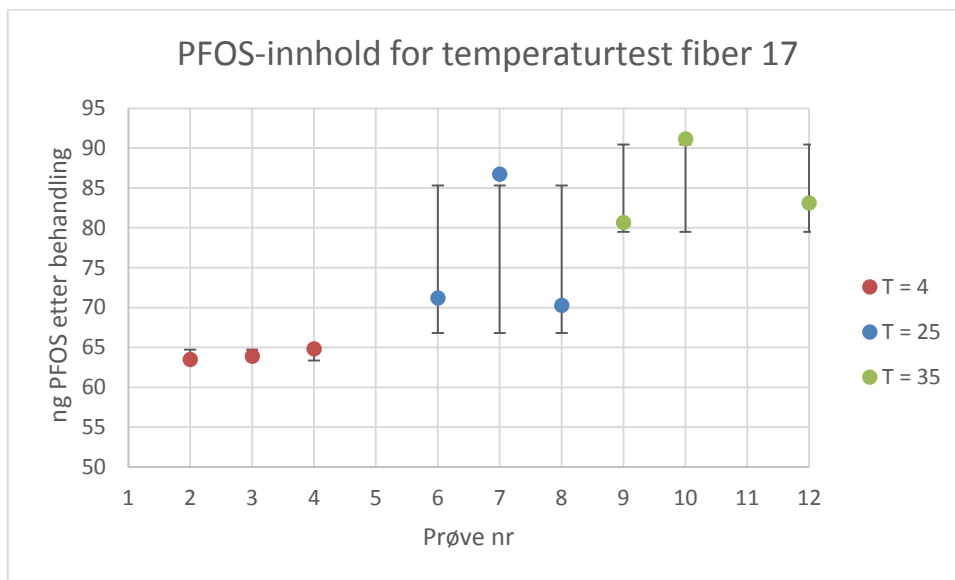
I figur 5.2.2 viser fibertype 1 en svak økende trend for adsorpsjonseffektivitet for PFOA ved økende behandlingstid. Denne effekten er imidlertid ikke stor. Fibertype 17 viser også en svak trend med litt mer utslag. Det er tidlig i prosessen en liten, men sporbar effekt av økt behandlingstid. Lengre behandlingstider ser ikke ut til å bidra til større effektivitet.

Fiber 17 ser ut til å oppnå topp effektivitet tidligere enn fiber 1. Temperaturtesten (se punkt 5.4) gir et gjennomsnittlig innhold av PFOA etter 24 timers behandling med fiber 17 på cirka 90ng mot 100ng ved start.

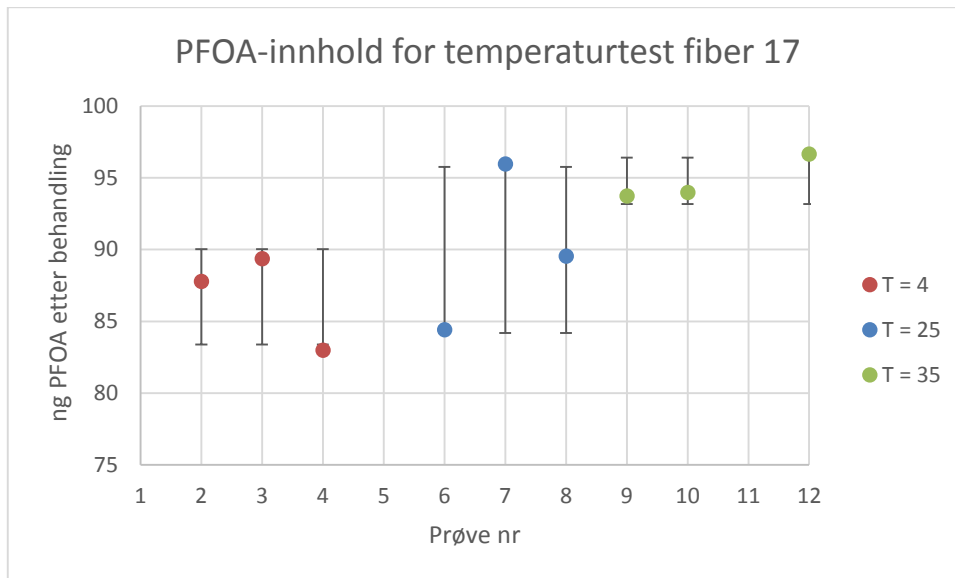
Tabell 4.2.1 og 4.2.2 viser at det er gjennomgående høy presisjon ved målingene for PFOS. Enkelte målinger av PFOA viser imidlertid noe variasjon. Dette skyldes en svak kontaminering i HPLC systemet. Mer om dette i kapittel 5.9

5.3 Temperaturtest - Fiberbatch 17

Etter tid og massetesten for fiberbatch 1 og 17, ble videre bruk av type 1 avsluttet da det var funnet liten forskjell mellom fibertypene. Derfor ble kun fiberbatch 17 brukt ved temperaturtesten.



Figur 5.3.1: Figuren viser den gjenværende massen av PFOS. Streket område angir standardavviket for hver gruppe. Startverdi var på 100ng. T = temperatur i °C



Figur 5.3.2: Figuren viser den gjenværende massen av PFOA etter test. Streket område angir standardavviket for hver gruppe. Startverdi var på 100ng. T = temperatur i °C

Av figur 5.3.1 og 5.3.2 fremgår det at gjennomsnittlig innhold av PFOS og PFOA synker ved lavere behandlingstemperatur. Presisjonen er meget god med unntak av prøve 6-8. For prøve 2-4 er relativt standardavvik helt nede i 0,85% for PFOS. PFOS målingene for prøvene 6-8 viser en RST på hele 12,17%. Dette noe høye tallet kommer av at prøve 7 har høyere verdi enn resten av gruppen. Ser en bort fra denne målingen, kan gjennomsnittet justeres ned til 71ng/mL og RST kan justeres ned til 0,94%. Grubs test for avvik, med $P = 0,01$ viser at prøve 7 er en signifikant prøve, og den kan derfor ikke forkastes. Denne variasjonen kunne ha blitt dempet ved bruk av større antall prøver i hver gruppe, men det ble ikke prioritert. Ekstra prøver ville ha sprengt kapasiteten på SPE og oppkonsentreringen og disse måtte derfor ha blitt gjort i flere omganger enn de to som ble gjennomført.

Denne testen ble utført 4 ganger over to måneder og med dårlige resultater på grunn av feil i stamløsningene. Det var ikke indikasjoner på feil under testene for tid og masse av fiber. Etter disse testene gikk det imidlertid cirka 2 måneder før temperaturtesten ble gjennomført. Muligens har blandingen endret seg i perioden mellom forsøkene. Stamløsning ble oppbevart i GC-glass i kjøleskap under hele oppholdet. Det ble laget nye stamløsninger og kontrollprøver fra gammel og ny stamløsning ble sammenlignet for RRFi. Det ble da funnet en signifikant forskjell. Gammel løsning gav en RRFi på 1,65 for PFOS mens ny løsning gav en RRFi på 2,08. Se kapittel 5.9 for mulig forklaring av fenomenet

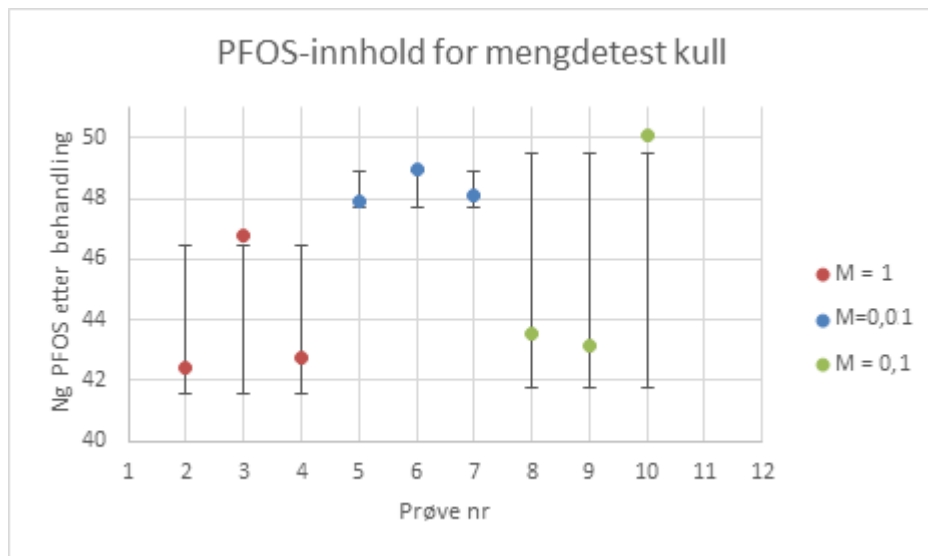
Gjenvinningstallene som fremgår i tabell 4.4.1, viser både lave og høye verdier. Appendix A viser en trend hvor arealet til RS øker for hver måling, fra 19400 for prøve 1 til 54900 for prøve 12, samtidig som IS ikke viste en slik trend. Dette kan bety at RS ikke er optimal i bruk for PFOS- og PFOA-analyser, eller at det er nødvendig å operere med høyere konsentrasjon av RS. Konsentrasjonen av RS ble økt i de siste prøvesettene, og problemet med varierende RS-verdier kom da ikke tilbake. For prøve 9-12 (med unntak av prøve 11) er det sprang fra over 100% ned og til 50-60%. Dette kommer av at disse fire prøvene måtte bli laget på nytt, da det ble glemt å tilsette intern standard i dem.

Blankprøvene viser en kontaminering, spesielt for PFOA. Mer om dette i kapittel 5.9. For prøve 9-12

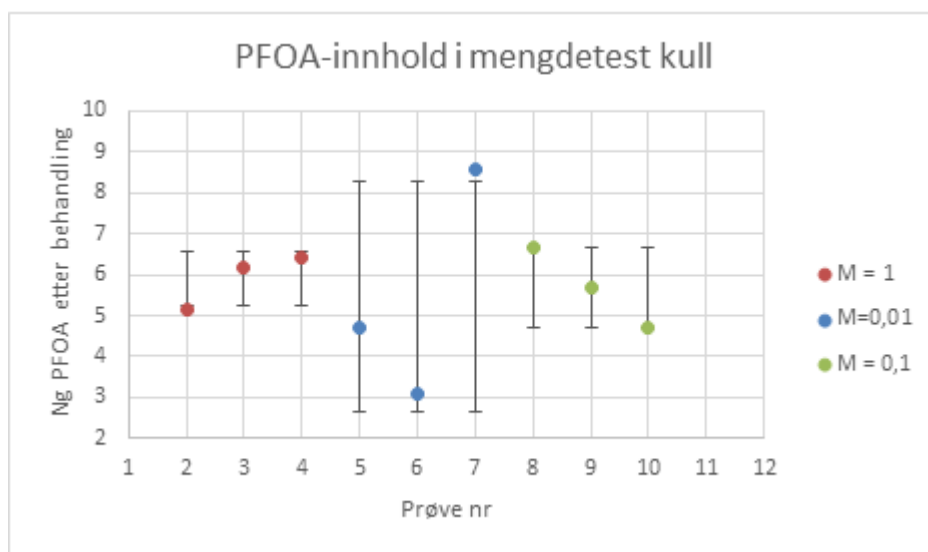
ble blankprøven ved en feiltakelse tilsatt PFOS og PFOA. For prøve 11 må tilsetning av PFOA ha blitt glemt. Det resulterte i et PFOA innhold som samsvarer med resultat fra blankprøvene.

Forholdstallene mellom referansen og kvantifiseringsionet viser for det meste en jevn trend, med unntak av prøve 10 som avviker noe. Det har imidlertid liten betydning, da resultatene viser en akseptabel presisjon og en klar trend: Synkende temperatur gir positiv effekt for fiberens egenskaper for adsorpsjon av PFOS. Det er imidlertid fortsatt en lav grad av adsorpsjon, bare 36% av PFOS og 14% av PFOA har blitt fjernet.

5.4 Kullprøver - Mengdetest



Figur 5.4.1: Figuren viser gjenværende masse av PFOS etter test. Streket område angir standardavviket for hver gruppe. Startinnhold var på 50ng. M = masse i gram



Figur 5.4.2: Figuren viser gjenværende masse av PFOA etter test. Streket område angir standardavviket for hver gruppe. Startinnhold var på 50ng. M = masse i gram

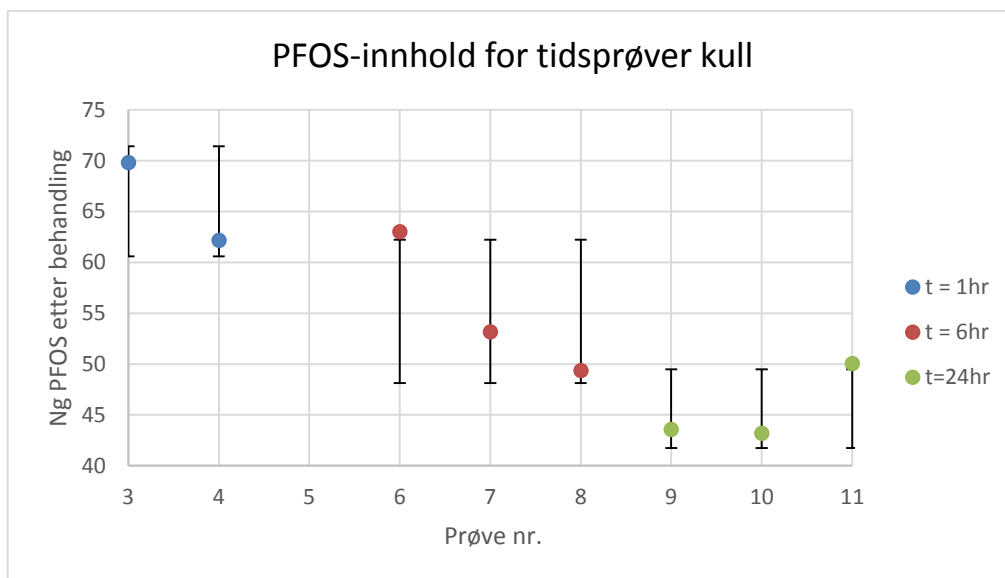
Fra figur 5.4.1 og 5.4.2 er det vanskelig å skille ut en klar trend. For PFOS er det mindre effektivitet i fjerningen ved bruk av 0,01g aktivt kull. En fjerningsprosent på bare 15% kan tyde på at det anvendte aktive kullet ikke er et optimalt middel for å fjerne PFOS fra vann. Dette er bare litt over halvparten av det fiberbatch 17 oppnådde ved 4 °C. Fra figur 5.4.2 kan det observeres at aktivt kull har en veldig god interaksjon med PFOA. En fjerningsprosent på rundt 90%, gir en klar indikasjon på at aktivt kull kan være et veldig effektivt middel for fjerning av PFOA. Kontaminasjon fra PFOA fører til en variasjon i resultatene, dette er synlig for prøve nr 7.

Kullet som ble brukt er mest sannsynlig et mikroporøst kull, da det er rapportert om lav adsorbering for PFOS ved bruk av dette, selv ved 20 timer behandlingstid. ^[29] Bruk av mesoporøst kull, ville gitt en mer optimal adsorbering, men om dette ville gitt effekt på PFOA er ikke vist. Fordi det mikroporøse kullet som er brukt i denne oppgaven viser å være effektiv på PFOA, kunne det ha vært en ide å lage en blanding av mesoporøst og mikroporøst kull. En mulig hypotese ville da være at en kombinasjon av disse kulltypene ville fjerne vesentlige mengder av både PFOS og PFOA.

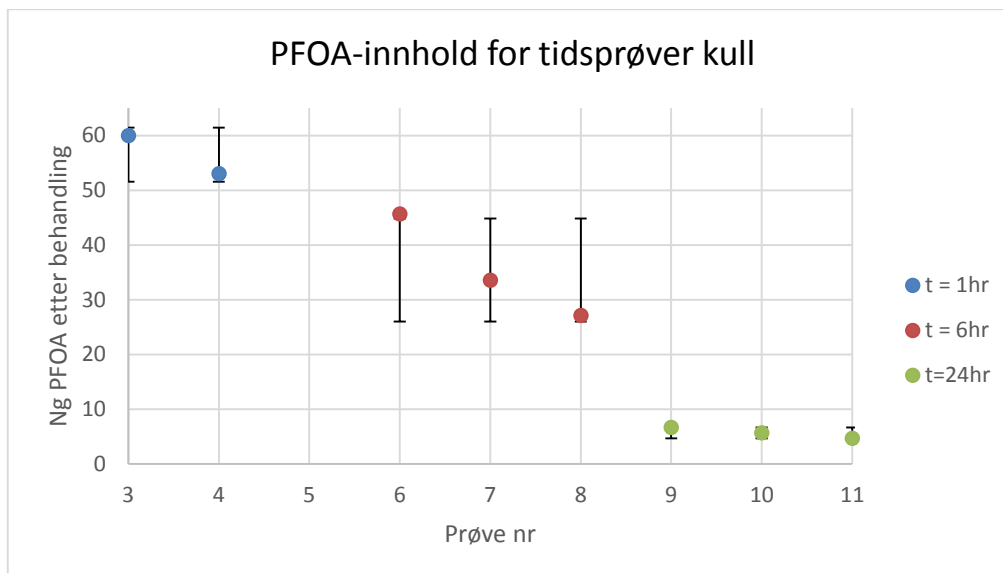
Presisjonen i dette forsøket er akseptabelt for PFOS. For PFOA er det også god presisjon, med unntak av gruppe M = 0,01g

Fra tabell 4.5.1, kan det observeres at blankprøven viser et høyt innhold av både PFOS og PFOA. Det er i dette tilfellet mer PFOA i blank enn i prøvene, noe som er rart, da begge fikk samme behandling. Mer om dette i kapittel 5.9. Ser en på forholdstallene i tabell 4.5.3, vil en finne at tallene for både MPFOS og MPFOA viser noen sprik. Dette betyr at ikke alle prøvene viser god presisjon. En årsak kan være integreringen over toppene, som i dette tilfellet viste lange haler.

5.5 Kullprøver - Tidstest

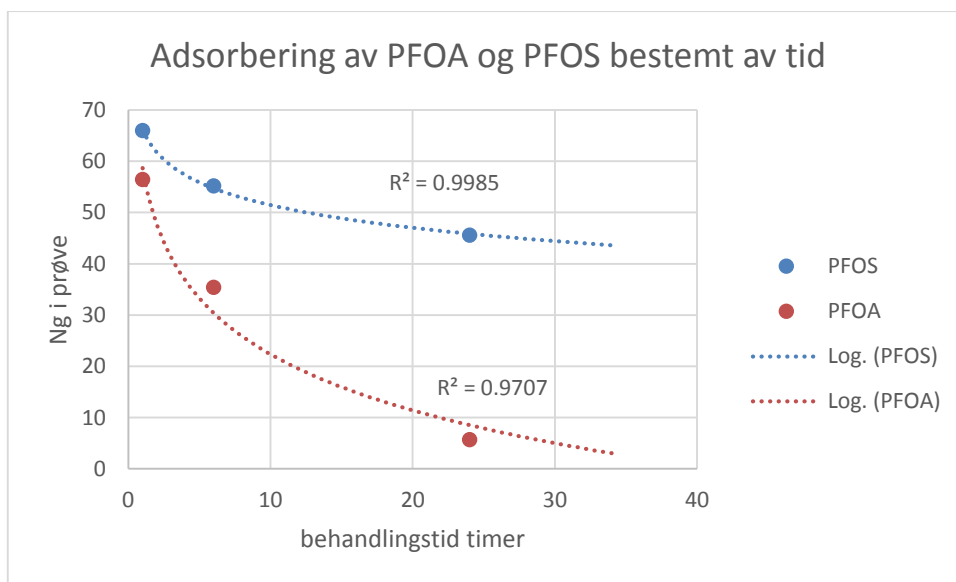


Figur 5.5.1: Figuren viser gjenværende masse for PFOS etter behandling. Streket område angir standardavviket for hver gruppe. Startinnhold var på 50ng. T = tid i timer



Figur 5.5.2: Figuren viser gjenværende masse for PFOA etter behandling. Streket område angir standardavviket for hver gruppe. Startinnhold var på 50ng- t = tid i timer

I figur 5.5.1 og 5.5.2 er det en observerbar trend som tyder på en økt adsorbering av både PFOS og PFOA ved økt behandlingstid. Mest fremtredende er dette for PFOA, hvor det er begrenset effekt ved 1 og 6 timers behandlingstid. Det ser ut til at adsorberingsraten for PFOA øker logaritmisk med tiden, noe som er typisk for adsorbsjonskurver hvor konsentrasjon er plottet mot tid. [62]



Figur 5.5.3: Figuren viser gjennomsnittlig innhold i hver prøvegruppe. En trendlinje gir en foreslått trend for mengde mot behandlingstid.

Prøve nr. 5 ble strøket. Resultatene for denne prøven viste ikke tegn til avvik, men det var likevel en stor forskjell i PFOS resultatene sammenlignet med prøve 4 og 3. Grunnen til at prøve 5 ikke er tatt med kommer klarere frem i appendiks C. Prøve 5 har topper som er 10% av de andre prøvene i samme gruppe. Denne prøven ble kjørt sist i serien, og det ble avdekket at MS-en hadde fått et stort

sensitivitetsproblem etter kjøringen. Se kapittel 5.9 for mer informasjon angående problemer rundt MS-systemet som ble benyttet på NMBU.

Tabell 4.6.1 fremgår at det er akseptable usikkerheter, med unntak av høye tall for prøve 6-11 for PFOA.

Nøyaktigheten for tallene til PFOS-målingene er ikke god. Det er svært urealistisk at behandlingen har bidratt til økt PFOS-innhold. Se kapittel 5.9 angående kontamineringsproblemer for PFOS

5.6 Kullprøver - Temperaturtest

Fra kullprøver-temperaturtest ble det valgt å ikke ta med resultatene. Resultatene fra temperaturprøvene er ikke realistiske da sluttverdier har langt høyere innhold av PFOS og PFOA enn ved oppstart. Det ble detektert PFOS og PFOA innhold som var 200 – 1600 % høyere i forhold til startmengden. Resultatene kan derfor ikke brukes til å si noe om hvordan temperaturen påvirker adsorpsjonen. Det er vesentlige lavere deteksjonsintensiteter for både analytt, IS og RS.

Mengden PFOS, PFOA, IS og RS skulle være lik mengden som ble brukt i nytt-fiber testen, men rådataene viser seg å være svært forskjellige. Mest sannsynlig har den lange oppbevaringstiden i GC-glassene ikke vært fordelaktig for prøvene. Disse ble laget i juni, og oppbevart i kjøleskap frem til midten av november før de ble analysert ved Institutt for Matsikkerhet og Infeksjonsbiologi i Oslo. Under denne tiden har forholdet mellom IS og analytter endret seg kraftig, sannsynligvis ved adsorbering til beholdervegg. Det samme skjedde også med en stamløsning av PFOS og PFOA. Denne endret seg dramatisk etter 3 måneder med oppbevaring i en plasttube med kork, og det forårsaket omfattende problemer ved temperaturtesten for fiber. Etter opparbeidelse av ny stamløsning som ble benyttet uten lang lagringstid, ble feilkilden eliminert. Dette viser klart at alle PFOS/PFOA-prøver og stamløsninger bør ha så kort oppbevaringstid som mulig før MS-analyse. Det er videre ikke optimalt å bruke en kvantifiseringsstandard som ikke er laget samtidig som prøvene. Kvantifiseringsstandard bør oppbevares sammen med prøvene og oppbevaringstid burde være sammenfallende.

Fordi fibertestene viste en høyere adsorbering ved lavere temperatur, kan en mulig hypotese være at dette også er tilfelle for aktivt kull. Appendiks E inneholder rådata for temperaturtest kull.

5.7 Nytt fiber fra Sweco

Fordi både fiberbatch 1 og 17 var uegnet til bruk til adsorbering, ble det tilsendt en ny fibertype som skulle testes. Også denne ble levert av Sweco. Prøveresultat fremgår av punkt 4.8. Ved sammenligning mot resultat av fiberbatch 1 og 17 (se punkt 4.2 og 4.4), er det mulig å se en vesentlig forskjell i adsorbering. Det nye fibret er i stand til å fjerne rundt 45% av PFOA. Fiberbatch 17, som gav best resultater av batch 1 og 17, fjernet bare rundt 13 % ved samme betingelser.

For PFOS er det vanskelig å konkludere noe. Også her var blankprøven veldig kontaminert. Det er derfor ikke mulig å si noe om nøyaktig mengde for PFOS i prøvene, da disse også kan være kontaminert. Da dette er et helt nytt fiber som ikke har blitt testet før, finnes det ikke parallelle resultater fra annen forskning.

5.8 Matriksprøve i Folkerepublikken Kina

Fra resultatene i tabell 4.2, kan følgende fjerningsprosent beregnes:

Tabell 5.8.1: Tabellen viser gjennomsnittlig andel PFOA og PFBS som er fjernet fra vannprøvene.

Fjerning %	PFOA	PFBS
Fiber	16%	11%
Kull	90-100%	Cirka 99%

Fra tabell nummer 4.9.1 ser en at PFOS ikke er tilstede i et stort kvantum. Prøve 4 viser et høyt tall for PFBS, samtidig som den har en lav gjenvinning for MPFOS. Her må noe derfor ha gått galt under prøveopparbeidelsen. MPFOA og MPFOS var i en mix, så ved lekkasje ville en også ha observert en lav gjenvinning på MPFOA. Mest sannsynlig har det oppstått en feil under SPE kjøringen, hvor MPFOS har hatt liten adsorpsjon på SPE-materialet. Dette fenomenet er også observert for noen av prøvene som ble spiket i Norge. Det ble derfor valgt å ikke ta med resultatene for PFBS i prøve 4. Ellers er det bedre gjenvinning for resten av prøvene, hvor MPFOS har litt høyere prosent enn MPFOA.

Fra elveprøvene ble det funnet en høy konsentrasjon av PFBS. Dette er et stoff med samme sulfonatgruppe som PFOS, men med et kortere karbonkjede. Sammenligner en PFBS med PFOS og ser bort fra matrikseffekten, blir PFBS i mye større grad adsorbent av aktivt kull. I spiket vann ble cirka 50% av PFOS fjernet, mot rundt 99% for PFBS i elveprøvene. Det er tidligere rapportert at lengden på CF₂ – kjeden kan ha noe å si for adsorpsjonen til aktivt karbon, men videre forskning på dette er nødvendig for å si noe sikkert. ^[63]

Det er ingen observerbar endring av adsorpsjon av PFOA ved sammenligning mellom elvevannmatriks og spiket vann. For begge er det ved optimale forhold en adsorbering på rundt 90-100%. Det hadde vært ønskelig med vannprøver med PFOS. En sammenligning mellom PFOS i spiket vann og PFBS i matriks, vil ikke være optimal, fordi karbonlengdens kjedelengde muligens har en effekt på adsorberingen.

Ved forsøk gjort på vann fra andre elver i Folkerepublikken Kina, har PFOS har vært detektert i en kvantifiserbar mengde. ^[64-66] PFBS som i dette forsøket viste seg å være det dominante kontaminanten, har i de samme forsøkene vært lite tilstede. En mulig grunn til lite PFOS og mye PFBS, er at elven ikke er stor i forhold til elvene som er studert i andre rapporter. Xiaoqinghe er en kort sideelv, og vil derfor være utsatt for mindre typer PFAS-utslipp enn lange elver som strekker seg gjennom byer.

Det nye fibret fra Sweco viser seg å være uegnet for fjerning av PFOA og PFBS, hvor effektiviteten er langt under aktivt kull. Alle testene har gitt et favoriserende resultat for aktivt kull, som også tilsynelatende er enda mer effektiv for mindre stoffer i samme stoffgruppe som PFOS.

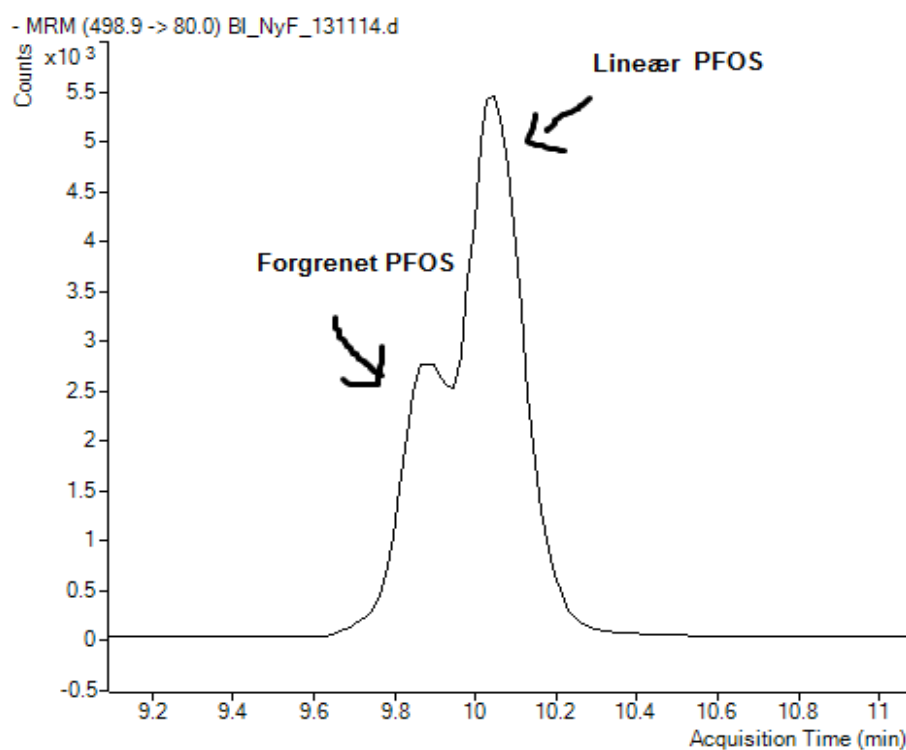
5.9 Metodeevaluering og valg av metode

5.9.1 Metodebeskrivelse

Metodene som ble brukt for å holde fiber under vannoverflaten og for enkelt å fjerne aktivt kull, har ikke blitt brukt tidligere. De første prøvekjøringene viste at filterpapiret og filterhysene ikke ville være en kilde til PFOS eller PFOA kontaminering. Fibret måtte holdes under vann i hele behandlingstiden. Dette ble et problem under prøveforsøk fordi fibret alltid ville legge seg flytende på overflaten av det kontaminerte vannet. Å sette prøvene til risting i hele behandlingstiden ville vært en grei løsning på problemet, men dette var ikke mulig. Ristemaskin med temperaturinnstilling var ikke tilgjengelig til vår bruk. Fjerning av filterpapir + fiber og aktivt kull + ekstraksjonshylse ble gjort med to stålpinsetter og skvising av absorbert vann. Dette bidrar til at variasjonen blir høyere, men de fleste målingene viser likevel en god presisjon.

For prøvene som kun inneholdt 5ng IS og RS, var det vanskelig å få til en presis integrasjon av IS- og RS-toppene på kromatogrammene. Toppene hadde store haler som gjorde det nødvendig å integrere manuelt. Tallene endret seg en god del når halene ble kappet av på ulike steder. Det ble derfor bestemt å øke innholdet av RS og IS ved kulltestene og testing av nytt fiber.

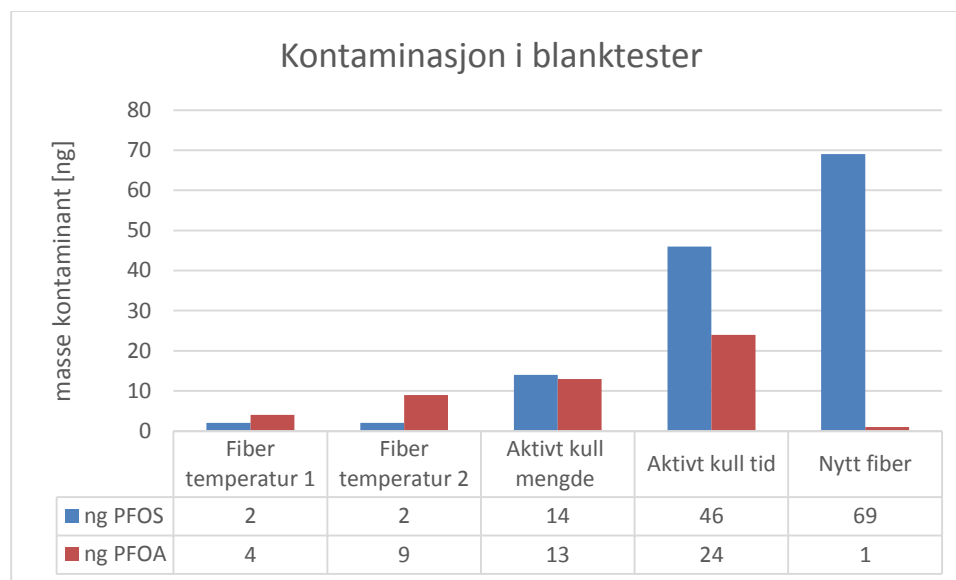
Alle toppene kom over LOQ, noe som kan forklares med de relativt høye konsentrasjonene som ble brukt.



Figur 5.9.1: Figuren viser et ekstrahert kromatogram for PFOS i blankprøven for nytt fiber.

5.9.2 Kontaminasjonsproblemer

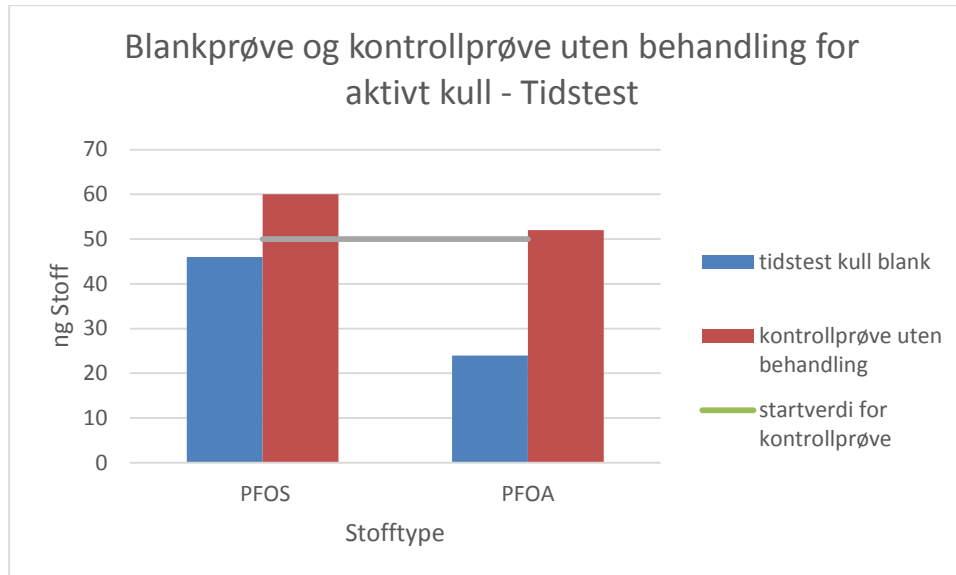
I kullprøvene, var det et problem med et urealistisk høyt innhold av PFOS i prøver og blankprøver. Blankprøvene viste svært høyt innhold av PFOS, og i vanlige prøver var det ofte høyere innhold av PFOS etter behandling. Kontamineringstoppene i blankprøvene inneholdt både forgrenet og lineært PFOS, noe som betyr at kontaminasjonen kommer fra en teknisk blanding (se figur 5.9.1). En slik blanding ble benyttet for alle PFOA- og PFOS-løsninger. Det kan derfor tenkes at laboratorie-utstyr har bygd opp en vesentlig konsentrasjon av PFOS i en periode med gjentatte prøvekjøringer. Det er kjent at dette kan være et problem ved analyse av perfluorerte stoffer. ^[18] Derfor er det logisk at blankprøvene gir en økende trend med PFOS-innhold. I testene utført på fiberbatch 17 var det ikke noe PFOS å observere i blankprøvene. I testene for aktivt kull, som ble utført etter fibertestene, gir prøveblankene en markant økning i PFOS-innhold (se figur 5.9.2).



Figur 5.9.2: figuren gir en oversikt over hvordan blankprøvene har endret seg over tid. Prøvene ble utført i rekkefølgen fra venstre til høyre.

MS-kjøring utført i Oslo viste også PFOS-topp i blankprøven. Dette betyr at PFOS-kontaminasjonskilden ligger et sted i prøveprepareringen, og ikke i MS-systemet på NMBU. TurboVap II bruker glassbeholdere for å oppbevare prøvene under oppkonsentreringen. Glass har en stor evne til å adsorbere PFOS og PFOA. Når prøver med høyt innhold av PFOS og PFOA holdes i glass, vil glasset derfor ta opp PFOS og PFOA. Det kan tenkes at fiberprøvene bidro til en kontaminering av glassene, som videre kontaminerte testene for aktivt kull og ny fibertype.

For tidstesten med aktivt kull ble det bestemt å teste hvor stor påvirkning PFOS-kontamineringen hadde for prøveresultatene. En kontrollprøve med 50ng PFOS og PFOA ble laget. Kontrollen fikk ikke behandling med aktivt kull, men fulgte ellers vanlig prosedyre (se kapittel 3.2.2 for gjennomføring). Resultater for aktivt kull – tidstest fremgår av tabell 4.6.1. Tabellen danner grunnlag for figur 5.9.3 på neste side.



Figur 5.9.3: Figuren viser forskjellen i kontaminasjon mellom blankprøve og kontrollprøve for tidstest på aktivt kull.

Det fremgår av figur 5.9.3 at det er en vesentlig forskjell mellom kontrollprøve og blankprøve. Blankprøven som verken inneholdt PFOS eller PFOA fra starten av, viser en stor grad av kontaminasjon. For kontrollprøven er graden av kontaminasjon mye mindre. Kontaminering fører til en økning på 20% for PFOS og 4% for PFOA i kontrollprøven. Resultatet kan bety at blankprøvene ikke gir et nøyaktig mål for kontaminasjon av spikede prøver. Kontaminasjonen ser ut til å være tilfeldig, og vil ramme prøvene ulikt. For å avdekke graden av kontaminasjonsproblemet, kunne kontrollprøver blitt benyttet i hvert forsøk. Dette ble imidlertid ikke gjort.

Vasking av utstyr skjedde mellom hver prøvebehandling. Glassene ble spylt med rent metanol og 250mL HDPE beholdere ble vasket i oppvaskmaskin for kjemisk utstyr. Muligens kan dette også være en kilde til kontaminering, men i så fall burde dette ha slått ut tidligere.

PFOA kontaminasjon i blankprøver har vært gjennomgående og på et lavere nivå enn PFOS. Problemet ble kun oppdaget ved HPLC-MS kjøring på NMBU, hvor rent metanol viste topper. Fordi blankkjøring med direkte injisering i MS-en ikke gav PFOA-topper, er det grunn til å tro at HPLC-systemet var kilden for kontaminering. Det ble kjørt renseprogram med rent metanol på HPLC-systemet, som resulterte i en reduksjon av kontamineringstoppene. Det lyktes imidlertid ikke å fjerne toppene totalt, selv ved bytte av mobilfase og kolonne. Underveis i HPLC-analysene ble det ved annenhver kjøring brukt ren metanol for å holde kontamineringen så konstant som mulig. Når HPLC systemet sto urørt i lenger tid, eller kjørte mange prøver uten blank imellom, kunne det observeres en høy økning av PFOA kontaminering. Både blankprøve og spiket prøve fikk lik behandling med aktivt kull, så det er derfor rart at blankprøvene i tidstest og mengdetest for aktivt kull har høyere innhold av

PFOA enn de spikede prøvene. En mulig forklaring er et kontaminasjonen ikke påvirker hver prøve likt.

PFOS og PFOA kontamineringen bidrar til en usikkerhet med tanke på nøyaktigheten til resultatene. I de siste testene gir resultatene et PFOS-sluttinnhold over startnivå. Det er imidlertid en god presisjon i resultatene, og det er observerbart hvordan endringene i betingelsene virker inn på resultatene.

En metanol-blank ble kjørt mellom hver prøve for å unngå at kontamineringen skulle øke underveis i MS-kjøringen.

5.9.3 MS-problemer

Gjennomføringen av denne oppgaven har vært preget av mange problemer med MS-systemet som ble brukt på NMBU i Norge. Det største problemet har vært sensitiviteten, som har gått opp og ned underveis i kjøringene. I prøvesettene har det vært enkelte prøver som har gitt 10 ganger svakere signal enn normalen. Dette har vært den største kilden til variasjon i prøveresultatene. Enkelte dager kunne MS-en ikke detektere noe. På grunn av dette, ble antall paralleller i prøvesettene økt fra 2 til 3 ved testingene av aktivt kull. MS-en har gjentatte ganger blitt sjekket og justert av en reparatør fra AB Sciex, som til slutt fant en stor rustskade i systemet.

Ved alle prøvekjøringene utført på NMBU, ble det observert at RFFi varierte mellom 2 til 4 for PFOS og 0,6 til 1 for PFOA. Denne variasjonen kan komme av mange metodiske og instrumentelle feil. Pipettering vil alltid gi en liten variasjon, men pipettene ble jevnlig justert med milliQ-vann og elektronisk vekt.

Gjentatte målinger på samme kvantifiseringsstandard har gitt sprikende resultater (20-30% variasjon) for RFFi og RFFg, noe som har innvirkning på nøyaktigheten av metoden. Problemet kunne ha blitt redusert ved å kjøre kvantifiseringsstandard flere ganger i et prøvesett, men dette ble ikke gjort. MS-systemet viste tendens til å være mest ustabil ved lengre kjøring.

5.9.4 Metodeevaluering

Metoden som blir brukt i denne oppgaven er en rask, billig og simpel behandlingsmetode hvor det kreves lite forarbeid. En uproblematisk behandling og analyse vil ta 4-5 dager, avhengig av mengden prøver. Metoden gir en god presisjon, og vil være nøyaktig og repeterbar så lenge det ikke oppstår kontamineringsproblemer. Det er imidlertid en metode hvor det enkelt kan oppstå kontaminasjon, så det er viktig å være påpasselig med dette. Prøver og stamløsninger kan lagres i kortere tid, men ikke for lenge. Det er nødvendig å teste PFAS-løsninger for eventuelle endringer over tid.

5.10 Resultatene sammenlignet med andre internasjonale studier

Resultatene som viser at PFOS gir dårlig adsorbering til mikroporøst kull, stemmer god overens med andre forsøk.^[29] Det er rapportert at mesoporøst kull gir bedre effektivitet mot fjerning av PFOS.^{[29, 67], [68]} Forskjeller i effektivitet mellom de ulike aktive kulltypene er store.

Det er rapportert at PFOS-adsorpsjon med aktivt kull virker bedre hvis kullet blir preparert ved å varme det opp til temperaturer på rundt 600-900 °C.^[68] Dette inngikk ikke i prøveprogrammet i denne masteroppgaven. Det er mulig at dette ville ha forbedret den dårlige PFOS-adsorpsjonen.

Flere rapporter konkluderer med at granulært aktivert karbon har en adsorpsjonskapasitet på henholdsvis 160-229mg PFOS/g aktivert karbon og 112-161mg PFOA/g aktivert karbon^[68-69]. For aktivt karbon i pulverform er dette tallet 2-3 ganger høyere.^[69] Med en økt mengde adsorberingsmateriale, vil tilgjengelig overflateareal for adsorpsjon øke, noe som igjen fører til en mer effektiv adsorbering. Mengdetesten for aktivt kull viste ingen korrelasjon mellom masse og adsorpsjon. Dette kommer sannsynligvis av den store mengden aktivt kull som ble benyttet (0,01g-1g) i forhold til benyttet mengde PFOS og PFOA (50-100ng). Mengden av benyttet aktivt kull ligger i et meget høyt intervallområde, noe som forårsaker liten til ingen endring i adsorpsjonseffektivitet.

Det er kun en rapport fra 2009 som omtaler PFOA fjerning med aktivt kull under ulike temperaturbetingelser^[70]. Denne beskriver hvordan to ulike temperatureffekter påvirker adsorpsjonen:

- 1- Løseligheten til PFOA i vann øker med temperaturen
- 2- Adsorbent PFOA vil med økende temperatur få økende energi i form av vibrasjon. Med økende temperatur kan denne energien vinne over interaksjonen mellom PFOA og det aktive kullet.

I samme rapport ble det funnet at maksimal adsorpsjon skjedde ved en temperatur på rundt 40 °C. Effektiviteten sank hvis temperaturen ble satt høyere eller lavere. I nevnte rapport, ble det testet adsorberingseffekt ved tre temperaturer; 30 °C, 40 °C og 50 °C med en behandlingstid i 2 timer.

I denne masteroppgaven, ble temperaturmålinger for PFOA ved behandling med aktivt kull ikke vellykket. Mengdetesten og tidstesten for aktivt kull ble utført ved 20 °C og viste kun en kontaminert mengde PFOA igjen etter behandling. Fiberprøvene viste en optimal temperatur på 4 °C, og da spesielt for PFOS. Prøvene som ble tatt i Folkerepublikken Kina og behandlet med aktivt kull i 4 °C, fikk adsorbent opp mot 100% av opprinnelig mengde PFOA. Rapporten fra 2009 opererer i et annet temperaturområde, og det er derfor vanskelig å sammenligne resultatene.

Tidstestene for PFOS og PFOA ved behandling med aktivt kull gir en kurve som er logaritmisk (se figur 5.6.4). Lignende kurve fremgår i en rapport for granulært aktivert karbon.^[69] Der viser resultatene også en hurtig økning i adsorbent PFOS- og PFOA-mengde de første seks timer, deretter går det langsommere fram til et likevektspunkt. For aktivt karbon i pulverform, ble likevektspunktet nådd etter maks 2 timer behandlingstid og etterfulgt av en stagnasjon. Det ble ikke oppnådd like god fjerningsprosent for PFOA som det ble gjort i denne oppgaven. Dette kommer mest sannsynlig av at det opereres med PFOS og PFOA i ng nivå, mens det i rapporten fra 2009 er brukt mengder i mg nivå. Mengde adsorbent er lik for begge.

5.11 Relevans og implikasjoner for resultatene

Fordi PFAS er løselig i vann, er det ønskelig for myndigheter å redusere forekomst av disse stoffene i naturen. Bruk av aktivt karbon har stort potensial for å redusere nivået av perfluorerte stoffer i vann. Resultatene i denne rapporten viser en dårlig adsorpsjonseffekt til PFOS, men dette skyldes mest sannsynlig at en ikke-optimal kulltype ble benyttet i forsøkene og en høy grad av PFOS-kontaminering. I forhold til andre rensemetoder som for eksempel revers osmose og ulike oksidasjonsteknologier, er bruken av aktivt kull både enkelt, effektivt, billig og naturvennlig.

Behandling med aktivt karbon er funnet å være effektivt ved 4 °C (se resultatene fra Folkerepublikken Kina), og det kreves derfor ikke mye energi for å drive behandlingen. Optimal behandlingstid for PFOA ser ut til å være rundt 24 timer og det ble oppnådd en adsorberingseffektivitet på 90 %. Effektiviteten kan imidlertid være enda høyere da kontaminert HPLC har virket forstyrrende på resultatet. Med unntak av metanol, benyttes ikke miljøskadelige eller giftige kjemikalier ved behandlingen.

Denne metoden vil ikke fjerne kontaminanter for godt. Aktivert kull som er brukt i behandling vil inneholde miljøskadelig PFAS. Dette må derfor oppbevares eller sendes til destruksjon. Da det fortsatt er lovlig med produksjon og bruk av PFOS og PFOA i noen spesifikke industrier, kunne en gjenvinningsordning vært interessant. Aktivt kull som har vært benyttet for rensing av vann kan bli sendt til industrien for desorpsjon og gjenbruk av PFOS og PFOA.

5.12 Videre forskning

Videre forskning bør gjenta forsøkene for aktivt kull med bruk av laboratorie-utstyr og instrumenter som gir mindre risiko for kontaminasjon.

Det er også muligheter for å teste adsorbering for flere ulike perfluorerte forbindelser, ikke bare PFOS og PFOA. Forsøkene viser at det er potensiale for bruk av aktivt kull for PFAS-fjerning, og det er derfor nødvendig å finne en metode for skalere opp rensingen til bruk i industri og vannrensing. Kombinasjoner mellom meso- og mikroporøst kull er også et tema som det kan arbeides videre med.

6 Konklusjon

Det lyktes med å finne en metode for å rense drikkevann for PFOA. Ved bruk av mikroporøst aktivt kull, var det mulig å fjerne rundt 90% av PFOA. Resultatene fra Folkerepublikken Kina viser enda høyere prosenttall (rundt 99-100%), og disse er mer pålitelige da det ikke var kontaminering tilstede i HPLC-MSMS systemet.

Ved fjerning av PFOS, er det ikke tilstrekkelig å kun bruke mikroporøst aktivt. En mulighet for optimal fjerning kan være å blande dette med meso- og mikroporøst aktivt kull.

Alle de tre karbonfibrene fra Sweco kom dårlig ut i testene og ble ikke funnet egnet som en effektiv adsorbent for PFOS og PFOA.

Av parameterne tid, temperatur og mengde adsorberingsmaterialet, er det funnet at det er temperaturen som har størst påvirkning. Ved 4 °C ble det adsorbent 35% PFOS og 10% PFOA med karbonfiber. Ved 35 °C ble resultatet 15% PFOS og 10% PFOA. Effekten av temperatur er derfor bare gjeldende på PFOS. Samme forsøk med aktivt kull ble mislykket, men det kan hende at det er et lignende mønster for PFOS ved bruk av aktivt kull.

Behandlingstid påvirker til en viss grad effektiviteten. Optimal adsorbering skjer først etter 16-24 timer. Adsorberingseffekten øker mest med aktivt kull, men det er noe økning også for fibertestene.

Metoden som ble brukt gir god presisjon, men det er usikkert hvor nøyaktig tallene for PFOS er. Usikkerhet synliggjøres gjennom høy kontaminering av blankprøve. Metoden er sårbar for kontaminering når laboratorie-utstyret inneholder stoffer som perfluorerte forbindelser bindes godt til.

Relativ responsfaktor varierer mye mellom hver kvantifiseringsstandard. Gjenvinningstallene holdt seg, med unntak av en testgruppe, på rundt 70-80%.

Det ble funnet økt grad av adsorbering for PFBS, som er en kortere variant av PFOS. Om dette skyldes endret karbonkjedelengde må det imidlertid forskes mer på.

7 Kilder

Uncategorized References

- [1] A. G. Paul, K. C. Jones and A. J. Sweetman, *Environmental Science & Technology* **2008**, *43*, 386-392.
- [2] T. H. Nost, R. Vestergren, V. Berg, E. Nieboer, J. O. Odland and T. M. Sandanger, *Environ Int* **2014**, *67*, 43-53.
- [3] T. S. Galloway, T. Fletcher, O. J. Thomas, B. P. Lee, L. C. Pilling and L. W. Harries, *Chemosphere* **2015**, *120*, 555-562.
- [4] M. de Cock, M. R. de Boer, M. Lamoree, J. Legler and M. V. van de Bor, *Environmental Health* **2014**, *13*.
- [5] L. Y. Zhang, X. M. Ren and L. H. Guo, *Environmental Science & Technology* **2013**, *47*, 11293-11301.
- [6] A. D. Benninghoff, G. A. Orner, C. H. Buchner, J. D. Hendricks, A. M. Duffy and D. E. Williams, *Toxicological Sciences* **2012**, *125*, 69-78.
- [7] N. Jacquet, M. A. Maire, C. Rast, M. Bonnard and P. Vasseur, *Environmental Science and Pollution Research* **2012**, *19*, 2537-2549.
- [8] E. T. Chang, H. O. Adami, P. Boffetta, P. Cole, T. B. Starr and J. S. Mandel, *Critical Reviews in Toxicology* **2014**, *44*, 1-81.
- [9] U. S. E. P. Agency in *Emerging Contaminants - Perfluorooctane sulfonates (PFOS) and Perfluorooctanoic Acids (PFOA)*, Vol. (Ed. E. P. Agency), http://www2.epa.gov/sites/production/files/2014-04/documents/factsheet_contaminant_pfos_pfoa_march2014.pdf 17.09.2014, **2014**.
- [10] G. W. Olsen, J. M. Burris, D. J. Ehresman, J. W. Froehlich, A. M. Seacat, J. L. Butenhoff and L. R. Zobel, *Environmental Health Perspectives* **2007**, *115*, 1298-1305.
- [11] B. Gonzalez-Gaya, J. Dachs, J. L. Roscales, G. Caballero and B. Jimenez, *Environmental Science & Technology* **2014**, *48*, 13076-13084.
- [12] S. P. J. v. Leeuwen, A. Kaerrman, A. Zammit, B. v. Bavel, I. v. d. Veen, C. J. A. F. Kwadijk, J. d. Boer and G. Lindstroem in *1st worldwide interlaboratory study on perfluorinated compounds in human and environmental matrices : final report*, Vol. RIVO, IJmuiden, **2005**, p. 23.
- [13] K. J. Hansen, L. A. Clemen, M. E. Ellefson and H. O. Johnson, *Environmental Science & Technology* **2001**, *35*, 766-770.
- [14] D. O'Hagan, *Chemical Society Reviews* **2008**, *37*, 308-319.
- [15] V. Dinoiu. in *Electrochemical fluorination of organic compounds*, Vol. Romanian Academy, Institute of Organic Chemistry "C. D. Nenitzescu", Spl. Independentei 202B, 77141 Bucharest, Roumania, **2006**, pp. 453-466.
- [16] J. W. Martin, B. J. Asher, S. Beeson, J. P. Benskin and M. S. Ross, *Journal of Environmental Monitoring* **2010**, *12*, 1979-2004.
- [17] R. Renner, *Environmental Science & Technology* **2001**, *35*, 154A-160A.
- [18] C. R. Powley, S. W. George, T. W. Ryan and R. C. Buck, *Anal Chem* **2005**, *77*, 6353-6358.
- [19] S. convention in *What are POPs?*, Vol. <http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/tabid/673/Default.aspx> 19.11.2014, chm.pops.int, **2014**.
- [20] D. R. Taves, *Nature* **1968**, *217*, 1050-1051.
- [21] J. P. Giesy and K. Kannan, *Environmental Science & Technology* **2001**, *35*, 1339-1342.
- [22] T. D. C. Public Health England, PHE in *PFOS and PFOA, Toxicological Overview Vol.* http://www.hpa.org.uk/webc/hpawebfile/hpaweb_c/1246260032570 24.04.2014, **2009**.
- [23] S. C. Panchangam, A. Y.-C. Lin, K. L. Shaik and C.-F. Lin, *Chemosphere* **2009**, *77*, 242-248.
- [24] H. Park, C. D. Vecitis, J. Cheng, N. F. Dalleska, B. T. Mader and M. R. Hoffmann, *Photochemical & Photobiological Sciences* **2011**, *10*, 1945-1953.
- [25] H. Hori, A. Yamamoto, K. Koike, S. Kutsuna, I. Osaka and R. Arakawa, *Chemosphere* **2007**, *68*, 572-578.

- [26] S. T. M. L. D. Senevirathna, S. Tanaka, S. Fujii, C. Kunacheva, H. Harada, B. R. Shivakoti and R. Okamoto, *Chemosphere* **2010**, *80*, 647-651.
- [27] M. Nassi, E. Sarti, L. Pasti, A. Martucci, N. Marchetti, A. Cavazzini, F. Di Renzo and A. Galarneau, *Journal of Porous Materials* **2014**, *21*, 423-432.
- [28] F. Wang and K. Shih, *Water Research* **2011**, *45*, 2925-2930.
- [29] F. Schuricht, W. Reschetilowski, A. Reich and E. Giebler, *Chemical Engineering & Technology* **2014**, *37*, 1121-1126.
- [30] Miljødirektoratet in *Miljøstatus i Norge, Vol.* <http://www.miljostatus.no/Tema/Kjemikalier/Noen-farlige-kjemikalier/PFOS-PFOA-og-andre-PFCs/> 30.11.2014, **2014**.
- [31] J. Kenkel in *Analytical Chemistry for Technicians, Fourth Edition*, Taylor & Francis, **2013**, pp. 19-20.
- [32] F. T. Peters, O. H. Drummer and F. Musshoff, *Forensic Science International* **2007**, *165*, 216-224.
- [33] T. R. Dulski in *Encyclopædia Britannica - Sample preparation Vol.* <http://global.britannica.com/EBchecked/topic/1444036/sample-preparation> 13.02.2014.
- [34] J. M. Miller in *Chromatography: Concepts & Contrasts, Vol. 2* John Wiley & Sons, Inc, **2009**, pp. 387 - 390, 405 - 407.
- [35] J. M. Miller in *Chromatography: Concepts & Contrasts*, John Wiley & Sons, Inc., **2009**, pp. 389-407.
- [36] J. M. Miller in *Chromatography: concepts and contrasts, Vol. 2* John Wiley & Sons Inc. , **2009**, p. 490.
- [37] W. M. A. Niessen in *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Third Edition, Vol. 3* CRC Press, **2006**, pp. 1-12.
- [38] T. I. Pharmacopoeia in *Methods of Analysis: 1. Physical and Physicochemical Methods: 1.14 Chromatography: 1.14.4 High-performance liquid chromatography, Vol.* WHO, <http://apps.who.int/phint/en/p/docf/> 13.02.2015.
- [39] J. Dolan in *Fundamental Resolution Equation – k*, Vol. <http://www.sepscience.com/Techniques/LC/Articles/373-/HPLC-Solutions-52-Back-to-Basics-10-Fundamental-Resolution-Equation--k> 14.05.2014.
- [40] U. D. Chemwiki in Vol. http://chemwiki.ucdavis.edu/Analytical_Chemistry/Analytical_Chemistry_2.0/12_Chromatographic_and_Electrophoretic_Methods/12B%3A_General_Theory_of_Column_Chromatography 15.02.2015.
- [41] J. M. Miller in *Chromatography: Concepts & Contrasts, Vol. 2* John Wiley & Sons, Inc., **2009**, pp. 67-92.
- [42] U. D. Chemwiki in Vol. http://chemwiki.ucdavis.edu/Analytical_Chemistry/Analytical_Chemistry_2.0/12_Chromatographic_and_Electrophoretic_Methods/12C%3A_Optimizing_Chromatographic_Separations.
- [43] Ionsource.com in *Reverse HPLC basics, Vol.* <http://www.ionsource.com/tutorial/chromatography/rphplc.htm#The%20Column> 01.09.2014, **2014**.
- [44] J. Dolan in *A Guide to HPLC*

and LC-MS

- Buffer Selection, Vol.* ACE, http://www.hplc.eu/Downloads/ACE_Guide_BufferSelection.pdf 09.01.2014.
- [45] E. d. H. a. V. Stroobant in *Mass Spectrometry: Principles and Applications, Third edition*, John Wiley & Sons Inc. , **2007**, pp. 1-5.
- [46] T. Greibrokk, E. Lundanes and K. E. Rasmussen in *Kromatografi: separasjon og deteksjon*, Pensumtjeneste, Oslo, **2005**, pp. 255-274.
- [47] shodex.net in *Lesson 6: Detectors for HPLC, Vol.* <http://www.shodex.net/index.php?seitenid=1&applic=1485> 14.02.2015.
- [48] E. d. H. a. V. Stroobant in *Mass Spectrometry: Principles and Applications, Third edition*, John Wiley & Sons Inc. , **2007**, pp. 15-65.
- [49] Lamondelab in *Electrospray Ionisation (ESI) and Ion Source Overview, Vol.* <http://www.lamondlab.com/MSResource/LCMS/MassSpectrometry/electrosprayionisation.php> 12.2.2015.
- [50] J. B. Fenn in *Electrospray and Maldi Mass Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation, Practicaities, and Biological Applications, Second Edition, Vol. 2* (Ed. R. B. Cole), John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ, USA., **2012**, pp. 1-2.
- [51] E. d. H. a. V. Stroobant in *Mass Spectrometry: Principles and Applications, Third edition*, John Wiley & Sons Inc. , **2007**, pp. 86-169.

- [52] A. Schreiber in *Advantages of using triple quadrupole over single quadrupole mass spectrometry to quantify and indentify the presence og pesticides in water and soil samples*, Vol. <http://www.absciex.com/Documents/Downloads/Literature/mass-spectrometry-TripleQuad-Pesticides-Testing-0701310.pdf> 2014.11.09.
- [53] S. diagnostics in *Introduction to Mass Spec*, Vol. <http://www.sciexdiagnostics.com/about-mass-spec/basics> 10.09.2014.
- [54] S. a. sciences in *How Electron Multipliers work*, Vol. <http://www.sge.com/products/electron-multipliers/how-electron-multipliers-work> 2014.11.09.
- [55] A. Maccoll in *M. E. Rose and R. A. W. Johnston. Mass spectrometry for chemists and biochemists. Cambridge University Press, Cambridge, 1982. pp 307+viii. Price £27.50 (hardback), £9.95 (softback), Vol. 18* John Wiley & Sons, Ltd., **1983**, pp. 1-10.
- [56] I. G. Zenkevich and E. D. Makarov, *J Chromatogr A* **2007**, *1150*, 117-123.
- [57] T. Greibrokk, E. Lundanes and K. E. Rasmussen in *Kromatografi: separasjon og deteksjon*, Pensumtjeneste, Oslo, **2005**, pp. 288-294.
- [58] D. C. o. L. Vanatta in *Statistics in Analytical Chemistry: Part 19—Internal Standards*, Vol. <http://www.americanlaboratory.com/913-Technical-Articles/1233-Part-19-Internal-Standards/>, **13.02.2014**.
- [59] D. A. A. e. al., *Clinical Chemistry* **1994**, *40*, 1233-1238.
- [60] B. Nazari in *Masteroppgave: Metodeutvikling for kvantitative analyser av perfluorerte alylerte stoffer i vann med høyopløselig væske kromatografi og tandem massespektrometri (HPLC-MS/MS) Vol. NMBU, IKBM, 2014*.
- [61] Dietmar Stöckl, K. D. and and L. M. Thienpont.
- [62] W. L. McCabe in *Unit Operations of Chemical Engineering 7th Edition*, Vol. 7 (Ed. M. Hill), McGraw Hill, **2005**, pp. 846-847.
- [63] M. Hansen, M. Børresen, M. Schlabach and G. Cornelissen, *Journal of Soils and Sediments* **2010**, *10*, 179-185.
- [64] S. Wang, H. Wang and W. Deng, *Environmental Monitoring and Assessment* **2013**, *185*, 8517-8524.
- [65] B. Wang, M. Cao, H. Zhu, J. Chen, L. Wang, G. Liu, X. Gu and X. Lu, *Chemosphere* **2013**, *93*, 468-473.
- [66] G.-H. Lu, Y.-L. Yang, S. Taniyasu, L. W. Y. Yeung, J. Pan, B. Zhou, P. K. S. Lam and N. Yamashita, *Environmental Chemistry* **2011**, *8*, 407-418.
- [67] S. Deng, Y. Nie, Z. Du, Q. Huang, P. Meng, B. Wang, J. Huang and G. Yu, *Journal of Hazardous Materials* **2015**, *282*, 150-157.
- [68] V. Ochoa-Herrera and R. Sierra-Alvarez, *Chemosphere* **2008**, *72*, 1588-1593.
- [69] Q. Yu, R. Zhang, S. Deng, J. Huang and G. Yu, *Water Research* **2009**, *43*, 1150-1158.
- [70] Y. Qu, C. Zhang, F. Li, X. Bo, G. Liu and Q. Zhou, *Journal of Hazardous Materials* **2009**, *169*, 146-152.

8 Appendikser

8.1 Appendiks A – Arealer for Temperaturtest Batch 17.

Prøve	Pfos Areal	Pfos2 Areal	Mpfos Areal	MPFOS2 Areal	PFOA Areal	PFOA2 Areal	MPFOA Areal	MPFOA2 Areal	RS Areal	Behandling
Blank 1	19600	2440	22800	4540	16100	12600	21500	12300	19400	4 °C
2	609000	80700	29000	5520	404000	279000	23000	10800	24100	4 °C
3	465000	66100	22000	5460	338000	234000	18900	9980	22900	4 °C
4	568000	87700	26500	6970	382000	274000	23000	11100	26100	4 °C
Blank 5	7130	953	10500	3160	13000	10300	7000	4290	29100	20 °C
6	650000	79300	27600	5670	397000	284000	23500	11300	27900	20 °C
7	964000	135000	33600	6700	532000	353000	27700	14100	39300	20 °C
8	667000	94100	28700	5970	439000	313000	24500	13300	32300	20 °C
9	677000	86100	20200	4080	337000	216000	19700	11900	42800	35 °C
10	534000	79100	14100	2530	211000	134000	12300	8790	28700	35 °C
11	535000	62300	20500	4590	14100	10500	29300	16800	46600	35 °C
12	936000	102000	27100	5320	374000	232000	21200	13000	51100	35 °C
Kvantifiseringsprøve 7 mai										
1.	1370000	173000	40700	8660	634000	401000	29900	15400	52700	Standard
2.	1450000	180000	44600	9550	670000	471000	35600	17600	45500	standard

Innhold i prøvene: 100ng PFOS + PFOA, 5 ng RS og IS

8.2 Appendiks B: Arealer for mengdeprøver aktiv kull

Prøve	Pfos Areal	Pfos2 Areal	Mpfos Areal	MPFOS2 Areal	PFOA Areal	PFOA2 Areal	MPFOA Areal	MPFOA2 Areal	RS Areal	Behandling [g kull]
1	102000	13000	17200	3370	50400	28700	22800	10100	29100	blank
2	389000	41400	21900	4200	26200	16000	30500	16600	44400	2
3	476000	55900	24300	4160	32700	20100	31900	19100	50200	2
4	433000	50300	24200	4220	36800	21600	34600	19500	53400	2
5	445000	53500	22200	4160	25100	15500	32000	18000	49700	0,02
6	486000	55600	23700	4180	17700	11900	34500	21600	54900	0,02
7	459000	54500	22800	3410	29000	16300	20300	12900	43700	0,02
8	414000	43200	22700	4270	32300	18400	29200	18100	42300	0,2
9	450000	52800	24900	4540	32700	19600	34600	20600	55900	0,2
10	461000	54600	22000	4440	23100	12400	29600	18900	50200	0,2
Kvantifiseringsprøve	1620000	197000	38700	6850	666000	392000	40100	25400	110000	Ingen

Innhold i prøvene: 50ng PFOS + PFOA, 5 ng RS og IS

8.3 Appendiks C: Arealer for tidsprøver aktivt kull

Prøve	Pfos Areal	Pfos2 Areal	Mpfos Areal	MPFOS2 Areal	PFOA Areal	PFOA2 Areal	MPFOA Areal	MPFOA2 Areal	RS Areal	Behandling
1	474000	56000	63600	8160	104000	61500	98100	54200	151000	Blank
2	833000	73200	86400	12800	296000	193000	109000	63800	192000	Ingen
3	800000	70400	71000	9490	257000	145000	82300	48700	172000	1 time
4	877000	74500	87400	13000	271000	171000	98200	61400	203000	1 time
5	73200	6260	5220	872	31500	18000	9800	4070	13300	1 time
6	414000	31800	40700	5660	111000	69500	46700	29600	80500	6 timer
7	944000	79100	110000	14500	227000	137000	130000	78300	252000	6 timer
8	972000	86900	122000	18800	240000	175000	170000	96700	247000	6 timer
Standard	1070000	92200	66300	9420	327000	197000	62800	28100	120000	Ingen

Innhold i prøvene: 100ng PFOS + PFOA, 20ng RS og 18,5ng IS

8.4 Appendiks D: Arealer for matriksprøver fra Kina

Tabell D1: Tabellen viser rådata for hvert av stoffene i hver prøve.

Compound 2: MPFOS					
Prøve	#	RT	Area	IS Area	S/N
1	1	4.13	1077.653	1211.26	64.765
2	2	4.13	1539.862	1588.933	165.855
3	3	4.13	1216.581	1530.391	90.471
4	4	4.13	820.418	1267.572	61.489
5	5	4.13	1371.652	1497.904	129.452
6	6	4.09	837.509	1538.948	74.913
7	7	4.13	1269.41	-	232.338
8	8	4.13	1144.549	1640.474	175.376
9	9	4.09	1330.175	1976.745	179.537
10	10	4.09	1076.95	1404.634	221.563
Compound 3: MPFOA					
Prøve	#	RT	Area	IS Area	S/N
1	1	3.62	1535.865	1211.26	299.39
2	2	3.58	1873.559	1588.933	242.539
3	3	3.58	1686.22	1530.391	245.609
4	4	3.58	1715.886	1267.572	302.94
5	5	3.58	1700.013	1497.904	338.553
6	6	3.58	1684.113	1538.948	297.297
7	7	3.62	2053.703	-	365.564
8	8	3.62	1710.285	1640.474	262.496
9	9	3.62	2237.093	1976.745	410.559
10	10	3.62	1459.617	1404.634	292.136
Compound 4: PFBS					
Prøve	#	RT	Area	IS Area	S/N
1	1	1.98	2182.757	1077.653	234.82
2	2	1.98	2675.08	1539.862	179.393
3	3	1.98	2674.785	1216.581	223.597
4	4	1.94	2048.23	820.418	93.041
5	5	1.98	2105.898	1371.652	165.955
6	6	1.98	1893.429	837.509	114.734
7	7	1.94	44.309	1269.41	7.302
8	8	1.98	20.591	1144.549	3.896
9	9	1.94	41.915	1330.175	6.424
10	10			1076.95	

Compound 5: PFHxS					
Prøve	#	RT	Area	IS Area	S/N
1	1	2.88	69.891	1077.653	4.799
2	2	2.88	213.063	1539.862	11.829
3	3	2.91	117.49	1216.581	3.475
4	4			820.418	
5	5	2.99	163.833	1371.652	12.783
6	6	2.91	120.789	837.509	6.65
7	7	2.95	116.83	1269.41	12.054
8	8	2.92	60.129	1144.549	8.579
9	9	2.91	76.84	1330.175	13.011
10	10	2.92	201.569	1076.95	31.452
Compound 6: PFOS					
Prøve	#	RT	Area	IS Area	S/N
1	1			1077.653	
2	2	4.09	145.621	1539.862	10.46
3	3	4.13	119.149	1216.581	7.904
4	4			820.418	
5	5			1371.652	
6	6	4.09	84.391	837.509	5.582
7	7			1269.41	
8	8			1144.549	
9	9			1330.175	
10	10			1076.95	
Compound 7: PFOA					
Prøve	#	RT	Area	IS Area	S/N
1	1	3.62	571.457	1535.865	26.672
2	2	3.66	535.624	1873.559	34.066
3	3	3.62	954.665	1686.22	52.842
4	4	3.58	606.452	1715.886	48.063
5	5	3.62	670.285	1700.013	48.058
6	6	3.58	534.811	1684.113	29.721
7	7			2053.703	
8	8			1710.285	
9	9			2237.093	
10	10			1459.617	

Innhold i prøvene 10ng IS og 10ng RS

8.5 Appendiks E – Temperaturtest Kull

Tabell E1: Tabellen viser rådata for temperaturtest med aktivt kull som adsorberingsmiddel. Analyse utført på Institutt for Matsikkerhet og Infeksjonsbiologi i Oslo

Prøve	Areal PFOS	Areal MPFOS	Areal PFOA	Areal MPFOA	Areal RS	Behandling
Blank	34566	976	399	3388	1844	4 °C
1	48560	995	22903	3613	1710	4 °C
2	53829	1015	27850	3614	1937	4 °C
3	60549	894	28348	3238	2123	4 °C
4	42852	843	20450	2986	1713	35 °C
5	47729	907	33602	3562	1667	35 °C
6	28673	21	2845	82	1056	35 °C
Kvantifiserings-prøve	93769	4340	77295	15936	2881	4°C

Innhold i prøvene: 100ng PFOS + PFOA, 18,5ng IS og 20ng RS

8.6 Appendiks F – Nytt fiber test

Tabell F1: Tabellen viser rådata for nytt fiber fra Sweco. Analysert i Institutt for Matsikkerhet og Infeksjonsbiologi i Oslo

Prøve	Areal PFOS	Areal MPFOS	Areal PFOA	Areal MPFOA	Areal RS	Behandling
Blank	67152	4477	988	15303	2936	4 °C
1	108416	4175	61897	12556	3746	4 °C
2	97039	4079	49719	10611	3144	4 °C
3	102175	4094	70711	14397	3119	4 °C
Kvantifiserings-prøve	93769	4340	77295	15936	2881	4 °C

Innhold i prøvene: 100ng PFOS + PFOA, 18,5ng IS og 20ng RS

8.7 Appendiks G – Gjenvinning for Wax-kolonne

Tabell II: Tabellen viser rådata for gjenvinningsforsøk med Wax-kolonner. Utført i ledelse av MSc. Gao Yan ved IKBM, Ås, Norge

Prøve	Areal PFOS	Areal MPFOS	Areal PFOA	Areal MPFOA
1	1790	4470	1150	2930
2	30800	4110	16100	2290
3	49100	4740	14900	2790
4	29900	4740	17100	2330
STD 1ng/mL analytt	2730	3220	2060	2060
STD 2ng/mL analytt	5950	3190	2900	1430
STD 5ng/mL analytt	13200	3060	5520	1620
STD 20mg/mL analytt	45100	3270	20100	2040

Innhold: 5ng IS + RS + PFOS + PFOA

8.8 Appendiks H – Linearitetstest Ås

Tabell J1: Tabellen viser rådata for linearitetstest utført på IKBM, Ås, Norge

Prøvenavn	Analytt Areal	Analytt konsentrasjon (pg/µL)	IS Areal	Kalkulert konsentrasjon (pg/µL)	Accuracy (%)
Std 10 PFOS	3.07E+04	10	1.61E+04	5.7	57
Std 10 PFOA	2.10E+04	10	1.24E+04	8.15	81.5
Std 20 PFOS	6.38E+04	20	1.78E+04	15.4	77
Std 20 PFOA	3.52E+04	20	1.15E+04	17.5	87.3
Std 40 PFOS	1.32E+05	40	1.62E+04	41.9	105
Std 40 PFOA	7.62E+04	40	1.19E+04	40.1	100
Std 80 PFOS	2.41E+05	80	1.54E+04	85.3	107
Std 80 PFOA	1.36E+05	80	1.04E+04	85	106
Std 100 PFOS	2.78E+05	100	1.44E+04	106	106
Std 100 PFOA	1.63E+05	100	9.96E+03	107	107
Std 150 PFOS	3.71E+05	150	1.37E+04	151	101
Std 150 PFOA	2.10E+05	150	9.96E+03	140	93.1
Std 200 PFOS	5.07E+05	200	1.47E+04	194	97.1
Std 200 PFOA	2.82E+05	200	9.27E+03	202	101

Innhold: 5ng IS + RS

8.9 Appendiks I – Instrumentinfo Institutt for Matsikkerhet og Infeksjonsbiologi (MatInf), NMBU, Oslo.

MS - Instrument: Agilent 6460 Triple Quad

Ionekilde: AJS ESI

Gas Temp (°C): 300

Gas flow (L/min): 5

Nebulizer (psi): 40

SheatGasHeater (°C): 400

SheatGasFlow (µL/min): 8

Capillary (V): 5000

VCharging (V): 2000

HPLC Sampler modell: G1367C, Agilent

Injeksonsvolum: 5.00µL

Binær pumpemodell: G1312B, Agilent

Strømningshastighet: 0.200 mL/min

Løsning A: 10% MeOH + 2Mm NH₄Ac

Løsning B: MeOH + 2Mm NH₄Ac

Pumpeprogram:

Tabell K1: Tabellen viser gradientprogrammet som ble brukt.

Steg	Tid (min)	% A	% B
1	1	15	85
2	5	15	85
3	10	1	99
4	14	1	99
5	22	99	1

Tabell K2: Tabellen viser detaljene til HPLC-kolonnen som ble brukt.

HPLC pakket kolonne	ACE 3 C ₁₈ – 300 75X2,1 mm, 3µm	ACE, Aberdeen, Skottland.
---------------------	--	---------------------------

8.10 Appendiks J Instrumentinfo IKBM, NMBU, Ås

Metoden er utviklet i samarbeid med Behman Nazari

Parametere	Størrelse/enhet
Scan type	MRM
Polarity	Negative
Total Scan Time (includes pauses)	4.4950 (sec)
Duration (total run time)	21 (min)
Delay Time	0 (sec)
Cycles	280
Cycle	4.4950 (sec)
Syringe Size	250 (µL)
Injection Volume	20 (µL)
Pre-inject Flushes	3
Post-inject Flushes	3
Air Cushion	10 (µL)
Excess Volume	10 (µL)
Sample Speed	Medium
Needle Level	10 (%)
Inject Delay Time	0.0
Replicate injections	1 (min)
Analysis Time	0.0 (min)
Lopp Mode	Partial
Loop Volume	10
Flush Volume	250 (µL)
Flush Speed	Medium
Setpoint	20
Curtain Gas	30.0
Collision Gas	4
IonSpray Voltage	-4000.0
Temperature	250.0
Ion Source Gas 1	50
Ion Source Gas 2	0.0

8.11 Appendiks K – Utstyr og kjemikalier

Tabell L1: Tabellen viser ulike instrumenter/artikler som ble brukt i Norge:

Type Materiale	Produktnavn / produktnummer	Produsent
Vekt	ED2245	VWR, Oslo, Norge
Manuell injeksjonssprøyte	509914	Sigma-Aldrich Norway AS, Oslo, Norge
HPLC system	Series 200, pumpe og kolonneovn	Perkin Elmer, Oslo, Norway
MS	API 2000	AB Sciex, Oslo, Norway
Mikro injeksjonspumpe	CMA 100	CMA microdialysis, Kista, Sverige
HPLC pakket kolonne	ACE 3 C ₁₈ – 300 75X2,1 mm, 3µm	ACE, Aberdeen, Skottland.
SPE kolonner, to ulike typer	Oasis HLB 6cc 150mg Extraction Cartridges, Oasis Wax 6cc 150mg Extraction Cartridges	Waters, Kjeller, Norge
SPE Kolonne adapter	Isolute Column Adapt 1, 3, 6M (120-1101)	Biotage Uppsala, Sverige
SPE Vakuum Manifold med pumpe	VacElut 20 Manifold	Agilent Technologies, Oslo, Norge
60mL plasticsprøyte	Plastipak 60mL Syringe	BD, Bedford, USA
Filterpapir	516-0297	VWR, Oslo, Norge
Filter for aktivt karbon	Extraction Thimbles	Schleicher & Schnell, Einbeck, Tyskland
Vannbad	1003 Waterbath 14Liters	GFL, Hanover, Tyskland
Fordamper	TurboVap II	Biotage, Uppsala, Sverige
GC-glass	548-0004	VWR, Oslo, Norge
Gummistrikk	Rubber bands	Hornbill, Ukjent by, Malaysia
Plastflaske 250mL	HDPE 250mL	Nalgene, Rochester, New York, USA
Mikropipette	Finpipette modell 4500 i ulike størrelser (0,5 µm – 10mL)	Thermo Scientific, Oslo, Norway
Polypropen tube 15mL	Falcon 352096	BD, Bedford, USA

Tabell L2: Tabellen viser ulike kjemikalier som ble brukt i Norge

Navn	Kvalitet	Produsent
Ammonium Acetat	95%	Merck, Darmstadt, Tyskland
Perfluor-3,7-dimetyl- oktansyre	50µg/ml	Produkt fra prosjektet: «PERFluorated Organics in Our Diet (PERFOOD). Seventh framework programe (FP7). Amsterdam, Nederland
Internstandard MPFAC mix (13C – Perfluoralkylkarboksylsyre)	2,5 µg/ml	Produkt fra prosjektet: «PERfluorated Organics in Our Diet (PERFOOD). Seventh framework programe (FP7). Amsterdam, Nederland
Internstandard: MPFAC- MXA	2 µg/ml	Wellington Laboratories, Onotario, Canada
PFOS-salt (Natrium-PFOS)	>99.9%	Wellington Laboratories, Ontario, Canada
PFOA-salt (Natrium PFOA)	>99.9%	Wellington Laboratories, Ontario, Canada
Metanol	>99.9%	Fluka, Buch, Sveits
Polypropylen glycol (PPG), negative	3×10^{-4} mol/L	AB Sciex, Framingham, USA
Vann	HPLC-grade	Fluka, Buch, Sveits
Fiberbatch 1		Sweco, Lillestrøm, Norge
Fiberbatch 17		Sweco, Lillestrøm, Norge
Fiber x2 (ny type)		Sweco Lillestrøm, Norge
Aktivt kull	Charcoal activated for analysis, Cas: 7440-44-0	Merck, Darmstadt, Tyskland

Tabell L3: Tabellen viser utstyr brukt i Kina.

Navn	Kvalitet	Produsent
1L flasker av plast m/ kork	HDPE 1000mL	Nalgene, Rochester, New York, USA
Tiosulfat (Huaxue Shiji)	99%	Beijing HonXing Huagong Chang, Kina
Filtersystem	Nalgene rapid flow, 166-0045	Thermo Scientific, Beijing, Kina
Metanol	HPLC-grade	J.T. Baker, Shanghai, Kina
Shaker	Constant Temperature incubator shaker	ZHICHENG, Shanghai, Kina
System for oppkonsentrering	Reacti-therm III #TS-18824 heating module	Thermo Scientific, Beijing, Kina
Vakuumpumpe for SPE	DOA-P504-BN	GAST manufacturing .INC, Michigan, USA



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Postboks 5003
NO-1432 Ås
67 23 00 00
www.nmbu.no