

BACHELOROPPGAVE

BACHELOROPPGAVENS TITTEL Optimalisering av ekstraksjon og renseprosedyre for miljøprøver til analyse av polysykliske aromatiske hydrokarboner (PAH)	DATO 25.05.22
	ANTALL SIDER / BILAG 50/67
FORFATTERE Kaia Catherine Macleod og Cynthia Hoang Nguyen	INTERN VEILEDER Per Ola Rønning

UTFØRT I SAMARBEID MED Norsk Institutt for luftforskning - NILU	EKSTERN VEILEDER Ellen Katrin Enge, Anne Karine Halse og Maja Nipen
--	---

SAMMENDRAG

Hensikten med denne oppgaven var å optimalisere ekstraksjoner og renseprosedyrer av PAH i mikrosilika og sammenlikne dette med den standard metoden som bruker Soxhlet og PAH-silika.

Det brukt 3 forskjellige mikrosilika prøver fra samme industrielle anlegg med allerede kjente konsentrasjoner som ble brukt for forskjellige prøveopparbeidelser. Resultatene ble sammenliknet og et optimalisert program på ASE ble laget.

Det ble konkludert at den allerede grunnlagte metoden med Soxhlet og PAH-silika ga best utbytte for ekstraksjon med mikrosilika. Videre arbeid inkluderer å utvikle en ASE metode for en annen matriks som for eksempel sedimenter, og teste en MIPs kolonne for solide matrikser.

3 STIKKORD

PAH

ASE

MIPs

FORORD

Denne oppgaven er et avsluttende bachelorprosjekt for ingeniørfag i bioteknologi og kjemi, ved Oslo Metropolske storbyuniversitet, institutt for Maskin, Elektronikk og Kjemi (MEK). Bachelorprosjektet ble utført hos Norsk institutt for luftforskning (NILU), vårsemesteret 2022.

Takk til NILU for muligheten til å fullføre forsøket hos dere. Dere tok oss godt imot med tanke på at halve prosjektet ble fullført under koronapandemien.

Til våre eksterne veiledere Seniorforsker, Ellen Katrin Enge, forsker Anne Karine Halse og forsker Maja Mipen som har tatt så godt vare på oss:

Takk til Ellen Katrin for at du forklarte oss hva bacheloren vår egentlig handlet om under oppstarten, fikset alle blindprøvene våre, ga oss tilgang til alle dokumentene IT ikke ville at vi skulle ha tilgang til og for god oppfølging under prosjektet.

Takk til Anne Karine for å være den beste skrivehjelpen vi kunne noensinne ha håpet på, vi er så takknemlige for på dine kommentarer og innspill for utformingen av rapporten vår. Takk for mange spennende samtaler om isbjørner og koalaer.

Takk til Maja for opplæring og hjelp med ASE, og gode råd for utformingen av rapporten vår.


Ved deres engasjerte i vårt prosjekt fikk vi inspirasjon og motivasjon.

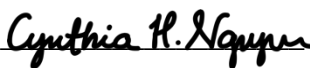
Vi vil også gjerne takke laboratorietekniker Tsige Birhane Muhtsun for grundig opplæring av ekstraksjon på Soxhlet, opprensing med PAH-silika kolonne og diverse andre metoder benyttet på laboratoriet. Takk til ingeniør Kirsten Davanger og laboratorietekniker Inger Christin Steen for gode løsninger og råd for våre problemer. Takk til seniorforsker Mebrat Ghebremeskel og seniorforsker Anders Røsrud Borgen for at dere analyserte prøvene våre og hjalp oss med kvalifisering og kvantifisering, samt tolkning av resultatene.

Takk til alle hyggelige og imøtekommende personale på laboratoriet for gode samtaler og smarte «inhouse» tips og triks for å effektivisere arbeidet.

Sist med ikke minst vil vi rette en hyllest til vår internveileder Per Ola Rønning på OsloMet. Med god oppfølging, rådgivning og samtaler kom vi oss i mål, og kunne ikke gjort det uten han.

Oslo, 25 Mai 2022


Kaia Catherine Macleod


Cynthia Hoang Nguyen

INNHOILDSFORTEGNELSE

FORORD	I
SAMMENDRAG	IV
Liste over Forkortelser:	V
1 Introduksjon	1
1.1 <i>Bakgrunn</i>	1
1.2 <i>Hensikt med denne oppgaven</i>	2
2 Teori	3
2.1 <i>Polysykliske aromatiske hydrokarboner (PAH)</i>	3
2.1.1 <i>Klassifisering av PAH</i>	5
2.2 <i>Mikrosilika</i>	5
2.3 <i>Ekstraksjon</i>	6
2.3.1 <i>Soxhlet</i>	6
2.3.2 <i>Accelerated solvent extraction (ASE)</i>	7
2.4 <i>Opprensing</i>	10
2.4.1 <i>PAH-Silika kolonne</i>	10
2.4.2 <i>AFFINIMIP® PAH</i>	10
2.5 <i>GC-MS</i>	10
2.6 <i>Kvalitetssikring og kvalitetskontroll (QA/QC)</i>	12
2.6.1 <i>Deteksjonsgrense og kvantifiseringsgrense</i>	13
2.6.2 <i>Analyse/kvantifisering av analytt</i>	13
2.6.3 <i>¹²C PAH Prøvespike</i>	14
3 Metode	15
3.1 <i>Forsøksdesign</i>	15
3.2 <i>Materialer, kjemikalier og utstyr</i>	16
3.2.1 <i>Intern- og gjenvinningsstandard</i>	18
3.3 <i>Soxhlet ekstraksjon</i>	19
3.4 <i>Ekstraksjon med ASE</i>	19
3.4.1 <i>Pakking av ASE-celler</i>	19
3.4.2 <i>Utgangsmetode for ASE</i>	21
3.4.3 <i>Innstillinger på programvaren til ASE</i>	21
3.4.4 <i>Parametere til ekstraksjon</i>	22
3.5 <i>Opprensing</i>	23
3.5.1 <i>Inndamping med TurboVap</i>	23
3.5.2 <i>Opprensing med PAH-silika kolonne</i>	23
3.5.3 <i>Opprensing med MIPs kolonne</i>	24
3.6 <i>Analyse med GC-MS</i>	25
3.7 <i>Metoder for Kvalitetssikring</i>	25
3.7.1 <i>Blindprøver</i>	25
3.7.2 <i>Sertifisert referanse materialet (SRM) prøve</i>	25
3.7.3 <i>Spike-løsning</i>	25
4 Resultater	26

4.1	Resultat fra spike forsøk.....	26
4.2	Resultat fra Soxhlet ekstraksjon.....	26
4.3	Resultat fra ASE ekstraksjon	30
4.3.1	Utgangsmetode.....	30
4.3.2	Resultat fra endringer av parameter	31
4.4	Resultat av MS-kromatogram for ASE ekstraksjon	34
4.5	Opprensning med AFFINIMIP® PAH.....	36
4.5.1	Resultatet av pakkemetodene	37
4.6	Kvalitetssikring og kvalitetskontroll	38
4.6.1	Blindprøver	38
4.6.2	Resultater av SRM1944	40
5	Diskusjon	43
5.1	Diskusjon til Soxhlet ekstraksjon	43
5.2	ASE resultater.....	43
5.3	Temperaturendringer.....	44
5.4	Statisk ekstraksjonstid.....	45
5.5	Opprensning	45
5.5.1	MIPs VS PAH-Silika	45
5.5.2	Opprensning under ekstraksjon på ASE.....	45
5.5.3	Mulig tap av komponenter under inndamping	46
5.6	Kvalitetssikring	46
5.6.1	Kontaminering i blindprøver	46
5.6.2	SRM1944	46
6	Konklusjon og videre arbeid.....	47
6.1	Videre arbeid.....	47
	Referanseliste	49
	Vedleggliste	51
	Vedlegg A: Rådata av Soxhlet ekstraksjon	52
	Vedlegg B: Rådata fra endring av parameter som temperatur, statisk ekstraksjonstid og løsemiddel sammensetting.....	55
	Vedlegg C: Rådata for to ulike pakkemetoder i ASE-celler.....	58
	Vedlegg D: Rådata av blindprøver.....	59
	Vedlegg E: Rådata av spike-løsninger	62
	Vedlegg F: Komplikasjoner under prøveopparbeidelse	64
	Vedlegg F.1: Feilkoder som oppsto under ekstraksjon med ASE	64
	Vedlegg F.2: Komplikasjoner under inndamping.....	64
	Vedlegg F.3: Komplikasjoner under PAH-silika opprensning	65
	Vedlegg G: Utstyr og absorbenter.....	66
	Vedlegg G.1: Absorbenter	66
	Vedlegg G.2: Utstyr.....	66
	Vedlegg G.2: Rensing av ASE celler	66
	Vedlegg I: Skjermbilde av programvaren Chromeleon 7.....	67

SAMMENDRAG

PAH er type miljøgift som består av en gruppe aromatiske ringer som kun inneholder karbon og hydrogenatomer. PAH blir dannet gjennom fra ufullstendig forbrenning av organisk materiale som ved og kull for oppvarming søppelforbrenning, samt industriell virksomhet som anodeproduksjon og produksjon av aluminium via Soederberg prosessen., Det foreligger også naturlige kilder til PAH som skogbranner og vulkanutbrudd, Mange av disse PAH er også giftige og kreftfremkallende. Under 1998 Aarhus protokollen er det strenge regelasjoner og restriksjoner til utslipp av PAH, og det stilles krav for overvåkning av PAH i industrier. Med forventninger fra samfunnet og staten til industrienes miljøinnsats, åpnes et muligheter for analytiske fremskritt. Eksponering av PAH skjer på en daglig basis, enten om man spiser brent kjøtt eller går langs en trafikkert vei. PAH-utslippet vi har fokusert på i denne oppgaven er den som er produsert ved ferrosilisium og mikrosilika som gjennom produksjon blir kontaminert med PAH.

Mikrosilika er matriksen for dette oppgaven og er et biprodukt av ferrosilisium produksjonen. Matriksen inneholder amorft silisiumdioksid og fremstilles som et veldig fint grått pulver. Ekstraksjon av PAH fra mikrosilika med Soxhlet og opprensning på PAH-silika kolonne er en etablert metode som fungerer bra, men den tar lang tid og bruker mye løsemiddel. Dionex ASETM 350 bruker ny teknologi som krever mindre løsemiddel og kortere tid for ekstraksjon, ved bruk at høyt trykk og høy temperatur. Hensikten med denne oppgaven er derfor å undersøke og optimalisere nye parametere for ekstraksjon og opprensning av PAH fra prøver av mikrosilika, for å oppnå mer effektiv ekstraksjon og mindre bruk av løsemiddel.

Det ble valgt ut tre forskjellige prøver av mikrosilika fra samme industri anlegg, hvor de tre prøvene hadde unike kjente konsentrasjoner. Disse prøve ble brukt til å optimalisere et program for ASE ekstraksjon. Det ble så gjort et spike-forsøk hvor en løsning av kjent konsentrasjon ble opparbeidet på en MIPs kolonne og PAH-silika kolonne for å teste effektiviteten av opprensningen.

Resultatene viste at prøven med høyest konsentrasjon ga best utbytte ved bruk av ASE, mens prøven med lav konsentrasjon resulterte til lav/ingen og gjenvinning (0-1%) på utvalgte PAH komponenter. Det viste seg også at det var liten endring i utbytte ved å endre parametere Opprensingen på PAH-silika kolonnene ga bedre resultat enn MIPs kolonnene, dette er muligens fordi kolonnen brukt for dette eksperimentet egnet seg mer for oljete matrikser ikke solide matrikser.

LISTE OVER FORKORTELSER:

Acenaft	-	Acenaften
Acenenftyl	-	Acenaftylen
Antr	-	Antracen
ASE	-	Akselerert løsningsmiddelekstraksjon, trykksatt væskeekstraksjon
BaAntr	-	Benz(a)antracen
BaP	-	Benzo(a)pyren
BbFlant	-	Benzo(b)fluoranten
BghiPer	-	Benzo(ghi)perylen
BkFlant	-	Benzo(k)fluoranten
DBahAntr	-	Dibenzo(ah)antracen
DE	-	Kiselgur
EI	-	Elektronstøt ionisasjon
EPA	-	United States Environmental Protection Agency
Fen	-	Fenantren
Fl	-	Fluoren
Flant	-	Fluoranten
GC-MS	-	Gasskromatografi-Massespektrometri
GSTD	-	Gjenvinningstandard
I123cdPyr	-	Indeno(1,2,3-cd)pyren
ISTD	-	Internstandard
Krys	-	Krysen
LoD	-	Deteksjonsgrense
LoQ	-	Kvantifiseringsgrense
MIPs	-	Molecularly imprinted polymers
MQ	-	MilliQ
Naft	-	Naftalen
NILU	-	Norsk Institutt for luftforskning
Pa	-	Penantren
PAH	-	Polysykliske aromatiske hydrokarboner
PCB	-	Polyklorerte bifenyler
POP	-	Persistente organiske miljøgifter
Pyr	-	Pyren
QA	-	Kvalitetsikring
QC	-	Kvalitetskontroll
SIM	-	Selected ion monitoring
SVOC	-	Semiflyktige forbindelser
TIC	-	Totalionekromatogrammet
VOC	-	flyktige organiske forbindelser

7 INTRODUKSJON

7.1 Bakgrunn

Utvikling av ekstraksjonsteknikker og prøveopparbeidelse er tett knyttet til miljøet. Det er essensielt å kunne forbedre metoder med minimal miljøskadelig forurensning samt at flere miljøgifter blir oppdaget og må bli regulert. Dette skaper økt bevissthet for miljøvern og ønske om å forbedre analyseteknikker, som åpner et stort marked for teknologiske fremskritt. Det er ikke alltid lett eller gunstig å oppgradere til nye instrumenter, da det ofte er kostbart og tidkrevende.

Potensielt skadelige kjemikalier er brukt i mange av dagens produserte varer, og i mange industrielle prosesser. Selv om disse kjemikalierne er nødvendige for prosessene, så medfører bruken av dem til utslipp av uønskede kjemikalier, som miljøgifter, og disse har en negativ påvirkning på naturen og miljøet (Benedé et al., 2021). På grunn av utslippet av kjemikalier til miljøet, foreligger det nasjonale, regionale og internasjonale avtaler for å regulere og kontrollere og eventuelt forby utslipp. Den første internasjonale avtalen som påvirket Norge, var «Geneva Convention on transboundary Air pollution» (CLRTAP) som var signert av 32 europeiske land i 1979 (UNECE, 2004). I 1998 ble den mer regionale avtalen, Aarhus protokollen introdusert. Den fokuserer på 16 kjemiske grupper og individuell regulering av disse. En av disse miljøskadelige forbindelsene er polysykliske aromatiske hydrokarboner (PAH), som er en gruppe kjemiske forbindelser bestående av aromatiske ringer som kun inneholder karbon og hydrogenatomer. Protokollen krevde derfor reduksjon i bruken av dioksider, furaner, PAH og PCB (Polyklorerte bifenyler) i store deler av Europa da den ble innført (UNECE, 2014).

En skulle tro at luften var mindre forurenset av miljøskadelig forbindelser i mindre tett bygdesteder, som for eksempel Svalbard, men dette viser seg å ikke være tilfelle. Dette skyldes trolig atmosfærisk transport i luft fra lavere til høyere breddegrader, som skjer blant annet på Svalbard. Men når det gjelder PAH, så eksisterer også lokale kilder til denne på Svalbard som eksempel utslipp fra kullkraftverk, scooter, båt og biltrafikk (Drotikova et al., 2020). På grunn av atmosfærisk transport og beskyttelse av miljøet stilles det strenge krav til industrier som har utslipp av PAH. Blant annet Forurensningsforskriften del 3 omhandler lokal luftkvalitet. Denne forskriften synliggjør ansvaret anleggseierne har, grenseverdier og vurderingsterskler (Forurensningsforskriften, 2004).

Når det gjelder industri, så foreligger det en måte å redusere utslippet av til luft på, og det er ved å filtrere gassen før den forlater anlegget ved bruk av mikrosilika (se kapittel 8.2). Mikrosilika har en stor overflate som gjør mikrosilika til en godt egnet matris for utslipp og gir en direkte indikasjon på PAH utslippet til industrielle anlegget.

7.2 Hensikt med denne oppgaven

Hensikten med denne oppgaven er å utvikle og optimalisere ekstraksjon og renseprosedyre for PAH til GC-MS analyse, med utgangspunkt i prøver av mikrosilika. Oppgaven sammenlikner ekstraksjon med Soxhlet og ASE (Dionex 350TM), og opprensning med PAH-silika kolonne og MIPs kolonne (AFFINIMIP[®] PAH), samt opprensning i ASE-celler under ekstraksjon. Parametere på ASE som eks. løsemiddel, løsemiddelforhold, temperatur, statisk tid og sykluser ble optimalisert. Videre ble opprensning med MIPs kolonne studert for å finne den mest gunstige prøveopparbeidelsen, fremfor PAH-silika kolonne.

8 TEORI

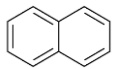
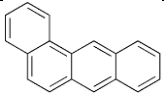
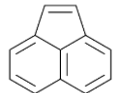
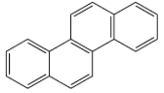
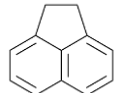
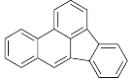
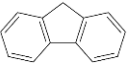
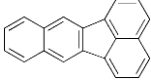
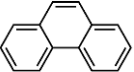
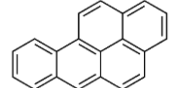
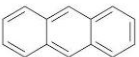
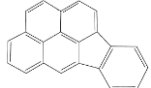
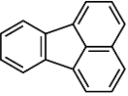
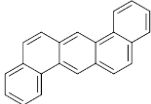
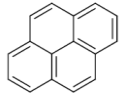
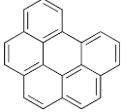
8.1 Polysykliske aromatiske hydrokarboner (PAH)

PAH blir dannet fra ufullstendig forbrenning av organisk materiale, og kalles ofte tjærestoffer (Folkehelseinstituttet, 2018). Andre kilder til utslipp av PAH inkluderer oppvarming av ved eller kull, søppelforbrenning, skogbranner, vulkanutbrudd, anodeproduksjon og produksjon av aluminium gjennom Soederberg prosessen (UNECE, 2010). En annen sekundær kilde til utslipp av PAH er biltrafikk (Folkehelseinstituttet, 2018). Tabell 1 viser de sentrale 16 PAH undersøkt i denne oppgaven og inkluderer molekylstruktur og molekylvekt.

En senere oppdaget vesentlig kilde til utslipp av PAH er kunstgressbaner som inneholder granulater eller flak fra oppmalte bildekk. Granulat brukes ofte i asfalt som fyll materiale eller som mykt underlag på lekeplasser. For å beskytte brukere av lekeplasser eller sportsarenaer, samt vedlikeholdsarbeidere, skrev EU Reach-forordningen om granulitter og flak. Forordningen reduserer bruk av granulater eller flak fra 1mg/kg per PAH komponent til totalt 20mg/kg summen av PAH komponenter (Regjeringen, 2020).

De generelle karakteristikkene til PAH er høyt kokepunkt, lavt damptrykk og lav vannløselighet, samt at damptrykk og vannløselighet avtar ved økning i molekylvekt. Forbindelsene er upolare/lipofile og svært løselige i organiske løsninger. PAH er fettløselige stoffer som kan absorberes i lungene og er derfor giftige ved inhalering (Folkehelseinstituttet, 2018). Giftige og kreftfremkallende PAH er benz(a)antren (BaAntr), benzo(b)fluoranten (BbFlant), benzo(a)pyren (BaP), indeno(1,2,3-cd)pyren (I123cdPyr) og dibenzo(ah)antracen (DBahAntr) (Folkehelseinstituttet, 2018).

Tabell 1: Navn, CAS nummer, molekylær struktur og molekylærvækt av de 16 viktigste PAH.

Navn	CAS	Struktur	Molekylærvækt (g/mol)	Navn	CAS	Struktur	Molekylærvækt (g/mol)
Naftalen (Naft)	91-20-3		128,17	Benz(a)antracen (BaAntr)	56-55-3		228,29
Acenaftylen (Acenaftyl)	208-96-8		152,19	Krysen (Krys)	218-01-9		228,28
Acenaften (Acenaft)	83-32-9		154,21	Benzo(b)fluoranten (BbFlant)	205-99-2		252,31
Fluoren (Fl)	86-73-7		166,22	Benzo(k)fluoranten (BkFlant)	207-08-9		252,31
Fenantren (Fen)	85-01-8		178,23	Benzo(a)pyren (BaP)	50-32-8		252,31
Antracen (Antr)	120-12-7		178,23	Indeno(1,2,3-cd)pyren (I123cdPyr)	193-39-5		267,33
Fluoranten (Flant)	206-44-0		202,26	Dibenzo(ah)antracen (DBahAntr)	53-70-3		278,35
Pyren (Pyr)	129-00-0		202,25	Benzo(ghi)perylen (BghiPer)	191-24-2		276,33

8.1.1 Klassifisering av PAH

Fordi det eksisterer flere hundre PAH forbindelser er det vanskelig å kategorisere komponentene og bestemme hvilke som skal brukes til å utarbeide utslippsreglementer. EPA har kategorisert 16 PAH som de mest helse og miljøfarlige kjemikalier basert på toksisitet og potensial for eksponering av mennesker, disse 16 PAH komponentene er vist i Tabell 1 (EPA, 2021)

«International Agency for Research on Cancer» (IARC) har også gjort studier på PAH og deres effekt på helse. De har kun klassifisert BaP som kreftfremkallende, men også BaAntr, BbFlant, Bkflant og 1123cdPyr som muligens er kreftfremkallende (Jameson, 2019).

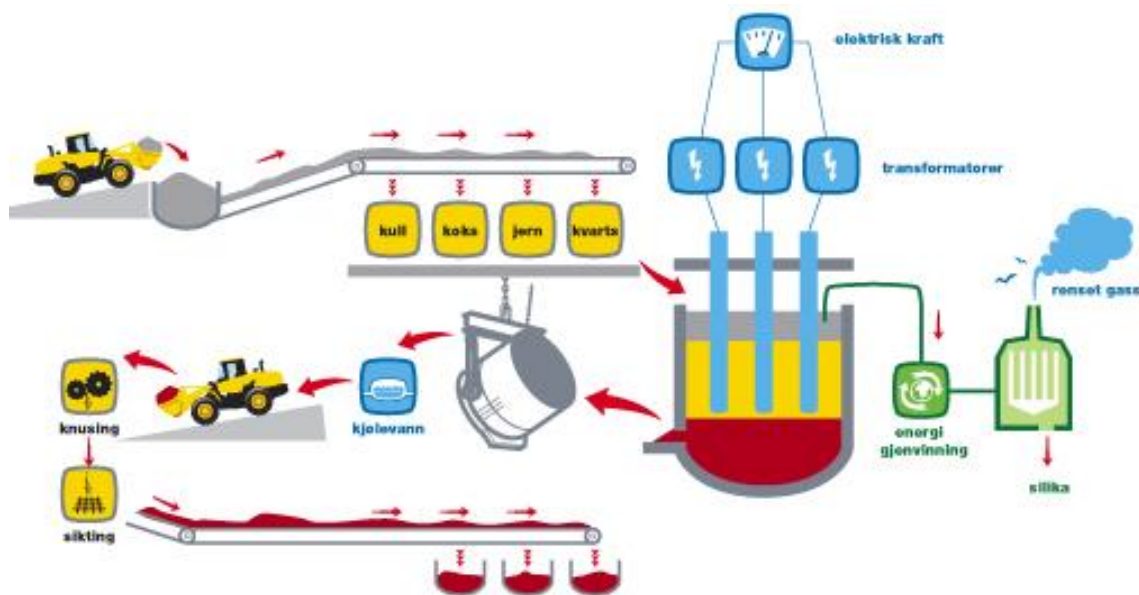
For deteksjon av PAH i industrielle prosesser bruker UNECE POP protokollen kun 4 PAH. De er BbFlant, BkFlant, BaP og 1123cdPyr. Disse fire PAH er brukt som indikatorer i industrier som koks industrien, anode produksjon, aluminiumsindustrien eller treverk konservering (impregnering) (UNECE, 2014).

En ECE-protokoll foreslår bruken av 6 PAH for indikerende komponenter til observering av industriell utslipp kalt Borneff 6. Det inkluderer BaP, Fluoranten (Flant), BbFlant, benzo(k)fluoranten (BkFlant), IP og Benzo(ghi)perylene (BghiPer) (Haakonsen et al., 1998).

8.2 Mikrosilika

Mikrosilika er et fint pulver som hovedsakelig inneholder amorft silisiumdioksid (SiO_2). Det er et biprodukt under produksjon av silisiummetall eller ferrosilisiumlegeringer brukt i stålindustri. Grunnet produksjonsvilkårene (se Figur 1) vil mikrosilika inneholde PAH.

Mikrosilika har mange bruksområder. Biproduktet produsert av kvarts degradering kan effektivt filtrere gassen produsert i ferrosilisium. Figur 1 viser hvordan ferrosilisium er laget, samt beskriver hvordan gassen blir rensert ved bruk av mikrosilika. Dette gjør mikrosilika til et avfallsprodukt som er fremdeles hovedsakelig sett på som et avfallsprodukt. For å bruke de store volumene av mikrosilika ble storskala og intensiv forskningsinnsats utført av de største norske smelteselskapene (Lewis & Fidjestøl, 2019). Resultatene viste at mikrosilika kunne brukes i sement for å styrke betongen.



Figur 1: Illustrasjonen beskriver hvordan ferrosilisium er produsert, hvor tre elektroder varmer opp organiske materiale som kull, koks, jern og kvarta og så ved 200 grader produseres flytende silisium ved at oksygenet i kvartsen reagerer med kull eller koks. Smeltet jern blandes med silisium for å lage silisium metall og kjøles ned. Gassen som blir produsert av smeltingen blir energigjenvunnet og renset, fra denne prosessen blir silika til et biprodukt og kan være kontaminert av PAH (Finnfjord, 2022).

Mikrosilika er matriksen som ble brukt til opparbeidelse og analyse for denne oppgaven. Når kvarts smelter produseres en silikabasert gass som kjøles sakte ned og blir fanget i et filtreringssystem som kalles «baghouse» der det blir pakket for kommersielt bruk. Mikrosilika består av små, amorf partikler, med en partikkel størrelse på rundt $0,1-0,3 \mu m$ og overflate på $20m^2/g$. Mikrosilika har fysiske og kjemiske egenskaper som gjør den unik for en rekke forskjellige industrier (Superior, 2018).

8.3 Ekstraksjon

8.3.1 Soxhlet

Soxhlet er en væskevæskeekstraksjonsmetode mye brukt til å ekstrahere analytter fra faste matrikser. Prinsippet bak metoden er at matriksen blir plassert i en hylse i et eget ekstraksjonskammer i en Soxhlet-oppsats. Et passende løsemiddel fylles i en rundkolbe, og løsemiddelet blir deretter oppvarmet til kokepunktet. Løsemiddeldampen vil stige opp til en kondensator som vil gjøre at løsemiddelet drypper i hylsen og løsemiddelet kan ekstrahere analytten fra matriksen. Når løsemiddelet i ekstraksjonskammeret når et visst fyllingspunkt, vil en hevertrør sørge for at løsemiddelet med analytt renner ned i rundkolben igjen. Denne prosessen skjer gjentatte ganger. Ekstraksjonstid ligger på rundt 8-10 timer og det brukes 500mL med løsemiddel. Denne metoden er ikke veldig miljøvennlig fordi den krever store

mengder løsemiddel, tar lang tid, og kan ikke stå på over natt på grunn av fare for tørrkoking (Zygler et al., 2012).

8.3.2 Accelerated solvent extraction (ASE)

«Pressurized liquid extraction» (PLE) er en avansert ekstraksjonsteknikk fordi metoden bruker løsemiddelekstraksjon ved høye temperaturer og trykk. Denne teknikken blir også referert til som «accelerated solvent extraction» (ASE), og er en teknikk brukt i dette prosjektet. Andre navn for teknikken inkluderer: trykksatt væskeekstraksjon (PFE), trykksatt varm løsemiddelekstraksjon (PHSE), høytrykks løsemiddelekstraksjon (HPSE), høytrykk høytemperatur løsemiddelekstraksjon (HPHTSE) og subkritisk løsningsmiddelekstraksjon (SSE) (Alvarez-Rivera et al., 2020).



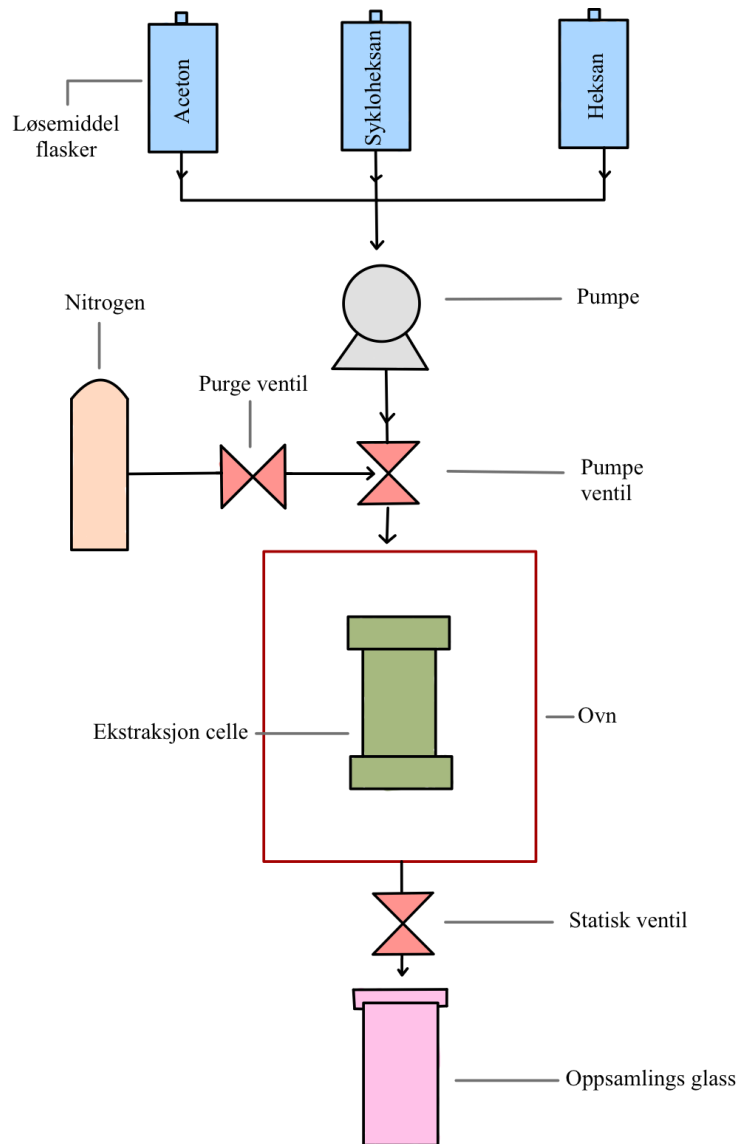
Figur 2: Bilde av Dionex ASETM 350 og dens deler; A: løsemiddel flasker og pumpe koblet til. B: informasjon panel for innstillinger og ekstraksjon. C: Ekstraksjons celler. D: Roterende holder for ekstraksjons celler. E: oppsamlingsflasker. F: roterende holder for oppsamlingsflasker. G: celle brukt for rens. H: Oppsamlings flasker for vask.

Med teknikker som involverer høyt trykk og temperatur kan man optimalisere ekstraksjonen ved å forandre på løsemiddelets fysiokjemiske egenskaper. For eksempel, ved temperatur og trykkøkning vil løseligheten til analytten øke, mens overflatespenning og viskositet avta. Disse forandringene tillater løsemiddelet å ekstrahere analytten fra matrisen på en lettere og mer

effektiv måte. Denne teknikken gir et høyere utbytte enn tradisjonelle metoder som Soxhlet. ASE er også ofte automatisert, som gjør metoden mindre arbeidskrevende (Alvarez-Rivera et al., 2020).

Ekstraksjonseffektivitet avhenger av både kinetiske og termodynamiske parametere, og påvirkes derfor av tre overlappende egenskaper; matrikseffekt, masseoverføring og løselighet. Disse forskjellige egenskapene i ASE er påvirket av ulike hensyn som trykk, temperatur, ekstraksjonstid og løsemiddel. I denne oppgaven ble løsemiddel valgt basert på de kjemiske egenskapene ved matriksen og analytten. Generelt har løsemiddelblandingen aceton/heksan (1:1) gitt gode resultater ved ekstraksjon av PAH, da det er et effektivt løsemiddel fordi det er en kombinasjon av polart og upolart løsemiddel. Temperatur er også en viktig parameter da løsemiddelstyrken øker med temperaturen og vil påvirke effektiviteten av ekstraksjonen. Det er viktig å vurdere bruken av temperatur, fordi økt temperatur kan også øke løselighet av komponenter i matriksen (som kan være ønskelig eller ikke). Trykk bidrar med å fukte matriksen, og kan derfor resultere i en mer effektiv ekstraksjon (1500Pa), men generelt har det ikke påvirkning på løsemiddelet. Ekstraksjonstid er tiden som løsemiddelet er i kontakt med matriksen ved ønsket trykk og temperatur. Ekstraksjonsmetoder brukt for dette prosjektet er statiske ekstraksjoner. Som betyr at løsemiddelet ikke er erstattet kontinuerlig, men hvis mer enn en ekstraksjons syklus er brukt, erstattes løsemiddelet delvis eller helt ved bruk av nitrogengass (Alvarez-Rivera et al., 2020).

Studier viser at ASE er en effektiv ekstraksjonsmetode for PAH fra faste prøver. Eksempel viste jordprøver ekstrahert med ASE positive resultater, med gjenvinninger mellom 86,7%-116,2% (Jinshui et al., 2013). En annen artikkel fra 2014 som analyserte Dicumyl Peroxide i sand ved bruk av ASE for ekstraksjon rapporterte gjenvinninger på 91,1-101% (Ezzell, 2014). Det foreligger lite informasjon om annen matriks for ekstraksjon av PAH på ASE. I denne oppgaven har vi dermed jobbet med en relativ ukjent matriks for ASE, mikrosilika. Ved å utvikle en ASE ekstraksjonsmetode for mikrosilika, vil dette bidra til å redusere kunnskapshullet knyttet til analyse av PAH i denne matriksen.



Figur 3: Beskriver mekanikken bak ASE. Først blir ekstraksjon cellen fylt opp med løsemiddel ved hjelp av pumpen, så varmes cellen opp ved riktig trykk og temperatur inni ovnen. Prøven og løsemiddel blir holdt i cellen for statisk ekstraksjon og sluttet ned i oppsamlings glasset. Til slutt kjøres ekstraksjons cellen gjennom med ferskt løsemiddel og rensing med nitrogen gas. Denne prosessen kan skje gjentatte ganger.

ASE metoden er en mer miljøvennlig og effektiv metode enn Soxhlet siden den bruker mindre løsemiddel (10-40mL) og tar mindre tid (10-20min). Metoden er basert på pakkingen av celler av ulikt volum og pakkemateriale (se Kapittel 2.4). Under ekstraksjonen så blir cellene fylt med løsemiddel, for deretter ekstrahere analytten fra matriksen. Nitrogengass blir brukt for å presse analytten og løsemiddelet ned i prøveopsamlingsglass. Denne prosessen kan gjentas med flere sykluser (se Kapittel 2.4.1 for mer informasjon) (Jinshui et al., 2013). Figur 3 beskriver mekanismen til ASE fra pumping av løsemiddel til rensing med nitrogen.

Pakking av celler utgjør en del av effektiviteten til ASE ekstraksjonene, og formålet med måten cellene pakkes er å passe på at det er tilstrekkelig kontakt mellom analytten og løsemiddelet.

Det finnes fyllmaterialer som Ottawasand, florisil og Kiselgur (DE). Ottawasand er behandlet silika sand produsert i nærheten av Ottawa, og brukes som et fyllmateriale for å skape porøse celler, slik at løsemiddelet lettere kan treffe alle kanter av prøvematerialet (Sigma-Aldrich, 2014). Florisil er syntetisk amorft magnesiumsilikat, og brukes som et rensmateriale ved analytiske analyser. Materialet er polart og vil interagerer/adsorbere veldig polare løsninger som syrer eller alkoholer (Construction, n.d). Kiselgur er laget sand laget av små fossiliserte organismer kalt kiselalger og kan brukes til å rense vann for urenheter (Bhardwaj & Mirliss, 2005).

8.4 Opprensing

8.4.1 PAH-Silika kolonne

Silika (SiO_2) er en polar stasjonærfase som er brukt som pakkematerialet for normal fase ekstraksjon. For å kunne ekstrahere PAH, som er upolare, må silika deaktiveres ved bruk av MilliQ (MQ) vann. MQ-vann som har blitt deionisert med ionebytte patroner for å øke renheten. Hvis ikke silika er deaktivert vil PAH feste seg til kolonnen (se Kapittel 9.5.2) (Raynie & Watson, 2014). Sykloheksan er brukt som elueringsmiddel fordi det er polart nok til å bryte analyttens binding med sorbenten.

8.4.2 AFFINIMIP® PAH

«Molecular imprinting» er en prosess hvor mål-molekylet (PAH) brukes til å lage et avtrykk i et polymermateriale. Polymeren danner et støpt skall rundt disse mål-molekylene under syntesen av materialet. I utgangspunktet danner monomerene et kompleks med mål-molekylet ved kovalent eller ikke-kovalent interaksjoner. Etter endt polymerisering fjernes mål-molekylene, og vi får eksponert bindingssteder som er komplementære til mål-molekylene i størrelse, form og plassering av funksjonelle grupper, (BelBruno, 2019).

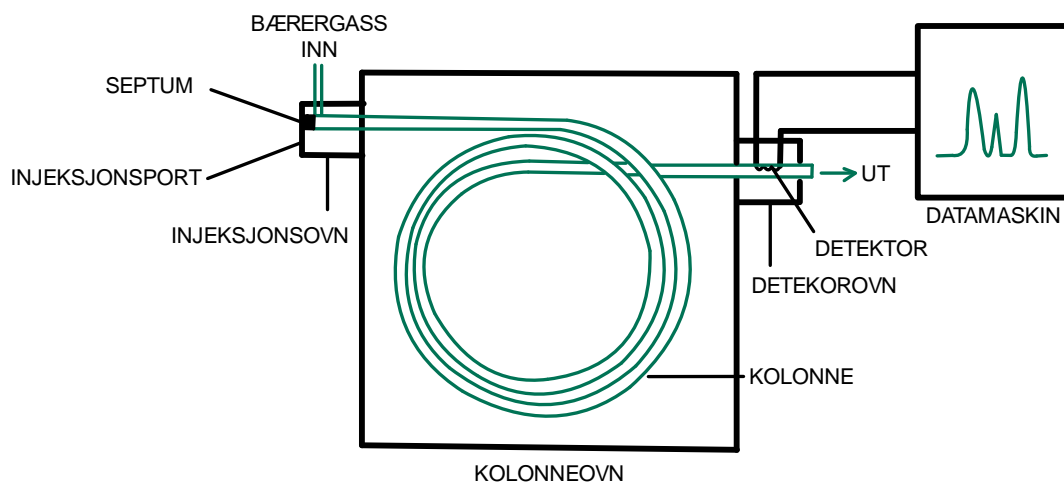
AFFINIMIP® PAH er en selektiv fastfase ekstraksjon kolonne for oljete matrikser som isolerer og renser PAH før analyse med HPLC. Fordelen ved å bruke denne er at den bruker mindre løsemiddel, tar kortere tid, og har en enkel prosedyre (Affinisep., 2022).

8.5 GC-MS

Gasskromatografi-massespektroskopi (GC-MS) er en separasjons og analyseteknikk som bruker en kombinasjon av teknikkene gasskromatografi (GC) og massespektroskopi (MS) se figur 4. Massespektroskopi måler masse-til-landingsforhold (m/z) av atomiske eller

molekylære ioner. Massespekteret viser antall ioner oppdaget for hver m/z verdi. Det eksisterer ulike MS-instrumenter, to eksempler er lineær kvadrupol ionefelle (2D-ionefelle) og transmisjonskvadrupol MS. Hvor kvadrupol elementet er opplaget av 4 parallelle, hyperbolske eller sylindriske metall poler hvor det blir påført spenning. Det som separerer linear kvadrupol ionefelle fra transmisjonskvadrupol er at lineær kvadrupol ionefelle har en 10 ganger så høy fangeeffektivitet og 30 ganger så høy ionelagringskapasitet (Harris D.C, 2020).

GC er en teknikk som brukes for å separere analytter i gassform gjennom en kolonne med en bæregass. På enden av kolonnen er det en detektor som detekterer når ulike komponenter kommer ut av kolonnen tidsmessig, prinsippsskisse er vist i Figur 4. GC-MS kan enten ha en universal eller selektiv detektor. Universal eller kalt skann-modus skanner over et område av forskjellige m/z områder og alle deteksjonen måles over dette området. Mens bruken av selektiv detektorer, kalt «selectived ion monitoring» (SIM) modus betyr at MS instrumentet kun plukker opp signalene ved ett m/z -signal, og senker deteksjonsgensen fordi effektiviteten øker når mer tid blir brukt på å samle inn data for kun et m/z -signal (Harris D.C, 2020).

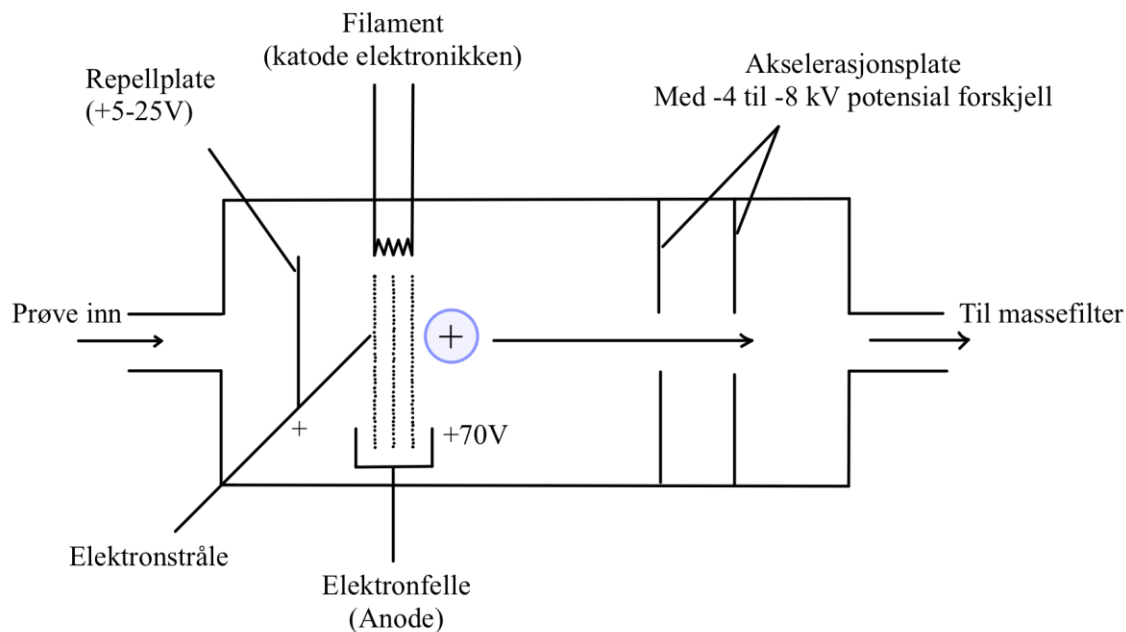


Figur 4: Skisse av GC-systemet med hovedkomponentene, injektor, kolonne, kolonneovn og detektor. Basert på figur fra *Innføring i massespektrometri* av P. O. Rønning (Rønning, 2019b).

Første steget i en GC-MS analyse er injeksjon og for dette forsøket ble det brukt trykkpuls splittfri injeksjon (pulsed splitless injection). Splitt-løs injeksjon bruker samme injeksjons teknikk som splitt injeksjon, eneste forskjellen er at bæregassen og analytt ikke blir presset gjennom en splittventil og gjør at mer av analytten ledes inn i kolonnen. Tykkpuls delen av injeksjonen betyr at analytten og bæregassen blir injisert ved høyt trykk. Bruken av splitt-løs

injeksjon egner seg når prøvene har lave konsentrasjoner og fordeler med splittfri injeksjon er at det vil gi høy oppløsning og mindre diskriminering (Rønning, 2019a).

Etter injeksjon blir prøven forgasset og introdusert til en ionekilde hvor molekylene ioniseres. Høyenergielektroner dannes fra en oppvarmet katode (filament) som det går en konstant strøm gjennom. Når prøvemolekylene i prøven kolliderer med elektronene dannes molekylioner og denne teknikk kalles elektronionisasjon (EI).



Figur 5: Skisse av elektronionisasjon basert på figur fra Innføring i massespektrometri av P. O. Rønning (Rønning, 2019b)

8.6 Kvalitetssikring og kvalitetskontroll (QA/QC)

Kvantifisering og kvalitetssikring av prøvene følger en ISO akkreditert standard (ISO 17025). Kvantifisering av analyttene i prøven skjer i forhold til tilsatt internstandard (ISTD) (se Kapittel 9.2.1), med bruk av gjenvinningsstandard (GSTD) (se Kapittel 9.2.1), og en kvantifiseringsstandard. Kvantifiseringsstandard er en blanding som inneholder alle komponentene, ISTD og GSTD, og har en konsentrasjon på 300ng/g for komponentene i løsningen.

I tillegg blir blindprøver benyttet for kvalitetssikring. I dette prosjektet blir prøver uten PAH komponentene, brukt som blindprøven. Blindprøvene ble opparbeidet parallelt med prøvene, for å avdekke mulig kontaminasjon av komponenter (se Kapittel 9.7.1)

8.6.1 Deteksjonsgrense og kvantifiseringsgrense

Deteksjonsgrense (Limit of detection, LoD) er den minste konsentrasjonen eller absolutte mengden forbindelser som har et signal, som er signifikant større enn signalet fra en blindprøve. I praksis vil det si at forbindelsenes signal i en prøve i GC-MS må være 3 ganger høyere enn støy fra grunnlinjen.

Kvantifiseringsgrense (Limit of quantification, LoQ) derimot er 10 ganger støyen, og er definert som den laveste grensen en forbindelse kan bli kvantifisert.

8.6.2 Analyse/kvantifisering av analytt

Gjenvinning, gitt i prosent, forteller hvor mye vi finner igjen av internstandard (ISTD). Gjenvinningstandard (RSTD) blir tilsatt før analyse, for å finne gjenvinningen av internstandard. Gjenvinning informere om hvor god en metode er. En god gjenvinning vil si at metoden fungerer og analyseresultatene er sikrere. Ved en lavere gjenvinning er det mindre god metode, ved at en mister endel av komponentene som medfører at analyseresultatet er mer usikkert.

Kvantifisering av prøvene gjennomføres ved hjelp av internstandard metode (se Kapittel 9.2.1). For beregning av konsentrasjonene i prøven kalkuleres Relative responsfaktorer (RRF_i) for komponentene i prøven i forhold til ISTD (se Likning 1) på grunnlag av kvantifiseringsstandarder.

$$RRF_i = \frac{Mengde_{ISTD} * Areal_i}{Mengde_i * Areal_{ISTD}} \quad (1)$$

RRF_i : Relativ responsfaktor av komponent i .

$Mengde_{ISTD}$: Konsentrasjon av internstandard * volum injisert.

$Mengde_i$: Konsentrasjon av komponent i * volum injisert.

$Areal_i$: Areal av komponent i .

$Areal_{ISTD}$: er areal av internstandard.

Med RRF_i , mengden ISTD og areal av hver komponent i kan mengden av komponent i beregnes (se Likning 2).

$$Mengde_i = \frac{Mengde_{ISTD} * Areal_i}{RRF_i * Areal_{ISTD}} \quad (2)$$

Mengde_i: Mengde av komponent *i* i prøven.

Mengde_{ISTD}: Konsentrasjon av internstandard * volum tilsatt.

Areal_i: Areal av komponent *i*.

RRF_i: Relativ responsfaktor for komponent *i*.

Areal_{ISTD}: Areal av internstandard.

Gjenvinning av ISTD, gitt i %, beregnes på grunnlag av mengden ISTD tilsatt før kvantifiseringen. Relative responsfaktorer for gjenvinningsstandarden (RRF_g) beregnes for hver komponent (se Likning 3) og blir brukt videre for å kalkulere gjenvinningen (se Likning 4).

$$RRF_g = \frac{Mengde_{GSTD} * Areal_{ISTD}}{Mengde_{ISTD} * Areal_{GSTD}} \quad (3)$$

$$Gjenvinning (\%)_{ISTD} = \frac{Mengde_{GSTD} * Areal_{ISTD} * 100}{RRF_g * Mengde_{ISTD} * Areal_{GSTD}} \quad (4)$$

Mengde_{ISTD}: Konsentrasjon av internstandard * volum tilsatt.

Mengde_{GSTD}: Konsentrasjon av gjenvinningsstandard * volum tilsatt.

Areal_{ISTD}: Areal av internstandard.

Areal_{GSTD}: Areal av gjenvinningsstandard.

For spike-forsøket beregnes gjenvinning, gitt i %, av komponentene ved kjent mengde komponenter tilsatt under prøveopparbeidelsen og mengden komponenter beregnet etter analysen (se Likning 5).

$$Gjenvinning (\%) = \frac{Mengde \text{ funnet}}{Mengde \text{ tilsatt}} * 100 \quad (5)$$

I tillegg blir det beregnet prosentavvik og standardavvik av resultatene for å bestemme hvor stor variasjon resultatene har.

8.6.3 ¹²C PAH Prøvespike

PAH prøvespike er i denne sammenhengen en ¹²C blanding av de aktuelle komponentene. Det ble benyttet en spike-prøve (se Kapittel 9.7.3). Med resultatet fra prøvespike kan det bli vurdert om opprensingsmetodene er egnet for prøver av mikrosilika (se Kapittel 10.1).

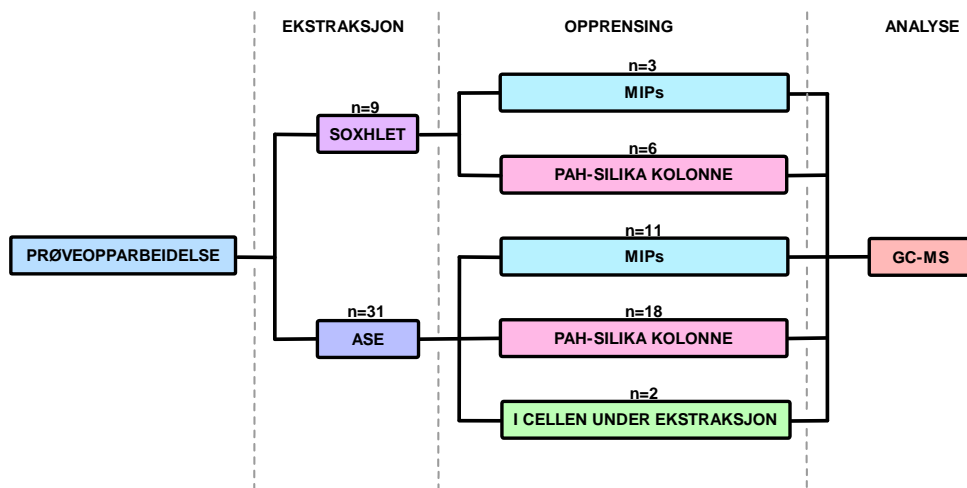
9 METODE

9.1 Forsøksdesign

Prøveopparbeidelse er et viktig tema innen analytisk kjemi fordi det innebærer å kondisjonere prøver for en effektiv analyse. Dette stadiet er spesielt relevant og komplekst fordi det brukes til å isolere analytten fra matriksen uten å ta med videre forstyrrende forbindelser (Benedé et al., 2021).

Hovedfokuset med oppgaven er å optimalisere en metode for ekstraksjon og opparbeidelse av prøver av mikrosilika til analyse av PAH. Prosjektet deles inn i fire hoveddeler, ekstraksjon med Soxhlet, ekstraksjon med ASE (Dionex 350TM), opprensing med PAH-silika kolonne og opprensing med MIPs kolonne (AFFINIMIP[®] PAH).

Prosjektet sammenlikner to ulike ekstraksjonsmetoder (ASE og Soxhlet) og to ulike rensesprosedyrer (PAH-silika og MIPs). Standard metoden for prøveopparbeidelse for mikrosilika benytter Soxhlet ekstraksjon som bruker mye løsemiddel og krever lang tid og mye tilsyn. Ved å utvikle en ekstraksjonsmetode med et automatisert instrument (ASE) sparer det både miljøet i form av mindre løsemiddel, den er mer effektiv, trenger mindre tilsyn og den kan gå over natt. Det samme vil gjelde for opparbeidelsen. Normalt blir prøvene opprenset ved bruk av en PAH-silika kolonne, som viser seg å gi god opprensing, mens «nyere» opprensningsmetode med bruk av MIPs kolonne kan være mer effektiv. I tillegg til de to mer eksterne opprensningsmetodene, vil det være gunstig med opprensing i selve cellen under ASE ekstraksjon for mest effektiv og miljøvennlig opprensing (se Kapittel 9.4.1). Ulike kombinasjoner av ekstraksjonsmetodene og opprensningsprosedyrene ble testet for mest gunstig sammenlikning av resultatene (se Figur 6). 9 prøver ble ekstrahert med Soxhlet, hvor 3 prøver ble opprenset med MIPs kolonne og 9 prøver ble rensset med PAH-silika kolonne. 31 prøver ble ekstrahert med ASE, hvor 11 prøver ble opprenset med MIPs kolonne, 18 med PAH-silika kolonne og 2 prøver i cellen under ASE ekstraksjon.



Figur 6: Visuell skissering av ulike kombinasjoner av ekstraksjonsmetodene og opprensingsprosedyrene før analyse, samt. Antall prøver per ekstraksjonsmetode og per opprensingsprosedyre.

9.2 Materialer, kjemikalier og utstyr

Mulig kontaminering av prøvene ble redusert ved bruk glassutstyr i stedet for plastutstyr (pga ftalater) i prøveopparbeidelsen. Andre tiltak ble gjort med utstyr og adsorbenter (se Vedlegg I) for å forhindre kontaminering. Prøvene ble oppbevart i brune glassflasker grunnet PAH sensitivitet for lys. I Tabell 2 listes alle prøvemateriale og kjemikalier, og tilhørende artikkelnummer, leverandør, produsent og produksjonssted, som ble brukt for både ekstraksjon eller renseprosessen.

Tabell 2: Oversikt over kjemikalier/løsninger og deres artikkelnummer, leverandør, produsent og produksjonssted, samt hvor i metodeutviklingen den benyttes.

Hoveddel	Kjemikalier/løsninger	Artnr.	Leverandør	Produsent	Land
Prøveopparbeidelse	Mikrosilika, 562ng/g, 1531ng/g, 4689ng/g	–	–	Elkem/ NILU	Norge
Soxhlet/ ASE	Aceton	83656.320	VWR/Avantor	VWR/BDH	Polen
Soxhlet/ ASE	n-Heksan	83661.320	VWR/Avantor	VWR/BDH	Polen
Soxhlet/ ASE	ISTD: PAH I	–	–	NILU	Norge
Soxhlet/ ASE	GSTD: PAH G	–	–	NILU	Norge
Soxhlet/ ASE	Silikagel	1.07734.1000	VWR/Avantor	Merck/Millipore	Tyskland
ASE	Ottawasand	S/0365/60	Thermo Fisher	Fisher scientific	USA
ASE	Kisulgur	–	NerliensMezansky	Dionex	USA
ASE	Fluorisil	–	–	NILU	Norge
ASE	n-Pentan	1.07288.2500	VWR/Avantor	Merck/Supelco	Tyskland
ASE/ PAH-silika/ MIPs	Sykloheksan	1.02817.2500	VWR/Avantor	Merck/Supelco	Tyskland
PAH-silika	Natriumsulfat	1.06649.1000	VWR/Avantor	Merck/Supelco	Tyskland
PAH-silika	MQ-vann	–	NILU	NILU	Norge
MIPs	Etylacetat	1.10972.2500	VWR/Avantor	Merck/Supelco	Tyskland
Inndamping	Nitrogen, Komprimert	500743	Nippon Gases	Nippon	Norge

I Tabell 3 listes alt utstyr og tilhørende artikkelnummer, leverandør, produsent og produksjonssted, kategorisert etter ekstraksjonsmetoden eller renseprosessen de var brukt til.

Tabell 3: Oversikt over utstyr og deres artikkelnummer, leverandør, produsent og produksjonssted, samt hvor i metodeutviklingen den benyttes.

Hoveddel	Utstyr	Artnr.	Leverandør	Produsent	Land
Soxhlet	Soxhlet ekstraktor	201-8380	VWR/Avantor	PYREX QUICKFIT UK	England
Soxhlet	Hylse, 41 x 123 mm	515-0081	VWR/Avantor	Whatman	Kina
Soxhlet	Glødet fiberglass filter 150mm Ø	513-5233	VWR/Avantor	Whatman	Kina
Soxhlet	Oppsamlings rundkolbe	271-1309	VWR/Avantor	SCHOTT DURAN	Tyskland
Soxhlet	Kondensator	–	VWR/Avantor	PYREX QUICKFIT UK	England
Soxhlet	Varmemantel	454-1405	VWR/Avantor	Electrothermal	England
ASE	Celler, 34 mL	–	Thermo Fisher	Thermo scientific	USA
ASE	Glassfiber Filter, 34mL	56781	Life Technologies	Thermo scientific	USA
ASE	Oppsamlingsflasker, 60 mL, 250 mL	–	NerliensMezansky	Dionex	USA
ASE	ASE 350	–	NerliensMezansky	Dionex	USA
PAH-silika	Kolonne	–	VWR/Avantor	PYREX QUICKFIT UK	England
PAH-silika	Hane	lenz05310011	VWR/Avantor	Lenz	USA
PAH-silika	Reservar	–	VWR/Avantor	SCHOTT DURAN	Tyskland
MIPs	AFFINIMIP SPE PAH, 6mL	–	Affinisep	Affinisep	Frankrike
MIPs	Oppsamlingsglass	–	Biotage	Biotage	USA
MIPs	Vakuumanifold	–	Biotage	Biotage	USA
MIPs	TILT glasspipette, 3mL, 2mL	–	VWR/Avantor	Lenz	Tyskland
Oppkonsentrering	Turbovap 500	–	Biotage	Biotage/Bergman	USA
Prøveopparbeidelse	Glasspipette, 230mm	612-3814	VWR/Avantor	DURAN WHEATON KIMBLE	Tyskland
Prøveopparbeidelse	mikropipette, 20µL	612-1404	VWR/Avantor	BLAUBRAND intraMARK	Danmark
Prøveopparbeidelse	Brune glass, 40mL	27182	Merck	Thermo scientific	USA
Prøveopparbeidelse	vials, 40mL amber	27185-U	Merck	Thermo scientific	USA
Prøveopparbeidelse	Korker til Vials, 40mL	27186	Merck	Thermo scientific	USA
Inndamping	Kanyle, 0,6mm x 25mm	613-3924	VWR/Avantor	BD Micrelance 3	USA
Inndamping	Vials spissbunnet	1.1 STVG	Teknolab	Thermo scientific	Tyskland
Analyse	MS-glass	600000750CV	Waters	Thermo scientific	USA
Analyse	Autosampler 7693	–	Matriks	Agilent Technologies	Kina
Analyse	MSD 5977A	–	Matriks	Agilent Technologies	USA
Analyse	MS System 7890B	–	Matriks	Agilent Technologies	Kina

9.2.1 Intern- og gjenvinningsstandard

Under prøveopparbeidelsen vil komponenter i prøven gå tapt. For identifikasjon og kvantifisering av analyttene ble internstandard (ISTD) benyttet. ISTD har kjent konsentrasjon av ulike forbindelser som er representativt for komponenter i prøven (PAH-komponenter), og tilsettes til prøven i starten av opparbeidelsen, før ekstraksjon. Kvantifiseringen av analyttene i prøvene skjedde i forhold til ISTD og en gjenvinningsstandard (GSTD). Ved tilsettelse av GSTD mot slutten av opparbeidelsen og ISTD før ekstraksjon kan total konsentrasjon av komponentene beregnes i utgangsprøven selv om de tapes under opparbeidelse.

ISTD som brukt under prøveopparbeidelsen inneholdte en blanding av syv deutererte komponenter (se Tabell 4). Siden mikrosilika-prøvene hadde lave konsentrasjoner av PAH, ble et lavt konsentrasjonsnivå av ISTD, ca. 10 ng/μL, benyttet.

Tabell 4: Liste over deutererte komponenter i ISTD.

Deutererte komponenter
D10 2-Metylnaftalen
D10 Acenaften
D10 Antracen
D10 Pyren
D12 Benz(a)antracen
D12 Benzo(e)pyren
D12 Benzo(ghi)perylene

GSTD var en blanding av tre deutererte komponentene (se Tabell 5). Lavt nivå av GSTD ble også benyttet med en konsentrasjon på ca. 1,5 ng/μL.

Tabell 5: Liste over deutererte komponenter i GSTD.

Deutererte komponenter
D10 Bifenyl
D10 Fluoranten
D12 Perylen

9.3 Soxhlet ekstraksjon

For å kunne utvikle og optimalisere ekstraksjon og opparbeidelsesmetode for miljøprøver til analyse av PAH, ble metoden opprettet av NILU brukt til sammenlikning. Deres metode, er en inhousemetode akkreditert etter ISO/IEC-17025, og går ut på først å gjennomføre ekstraksjon med Soxhlet med aceton/heksan (1:1) hvor ekstraksjonstiden er ca. 10 timer. For opprensing ble en PAH-silika kolonne benyttet (se Kapittel 9.5.2). Tre prøver med forskjellige summer av EPA 16 konsentrasjoner ble valgt ut. Disse var 562ng/g, 1531ng/g og 4689ng/g, og ble kalt henholdsvis lav nivå konsentrasjon, middels nivå konsentrasjon og høy konsentrasjons nivå. Det ble gjort tre ekstraksjoner for hver prøve.

3g mikrosilika ble veid ut på hvert sitt glødet glassfiberfilter og filteret ble brettet og plassert inn i hylsen. Bomull ble plassert i toppen av hylsen ved bruk av pinsett. Hylsen ble plassert i Soxhlet ekstraktoret, over en rundkolbe med ca. 500mL aceton/heksan (1:1).

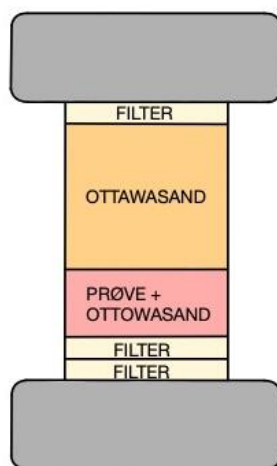
Internstandard ble tilsatt i hylsen med glasspipette og ekstraksjon ble satt på i 10 timer.

9.4 Ekstraksjon med ASE

Hovedfokuset med oppgaven er å optimalisere ekstraksjon av PAH i prøver av mikrosilika med ASE. For metodeutviklingen tok vi utgangspunkt fra en satt utgangsmetode (se Tabell 6) og endret parametere ut fra resultatet (se Kapittel 10.3.2). Løsemiddel og løsemiddelforhold ble endret og det mest gunstige resultatet ble tatt videre i bruk ved vurdering av ovn temperatur i ASE, og gjentatt for vurdering av statisk tid. Se Kapittel 9.4.4 og Tabell 7 for hvordan metodeutvikling ble benyttet.

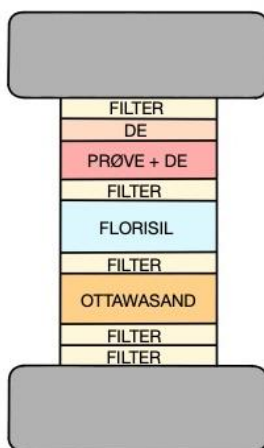
9.4.1 Pakking av ASE-celler

Etter vask av celler (se Vedlegg G.2) ble ASE cellen ble pakket med to filtre i bunn, etterfulgt av mikrosilika blandet med Ottawasand, og resterende volum fylt med Ottawasand med filter på topp, se Figur 7. Både brent og ubrent Ottawasand ble benyttet hver for seg for å vurdere påvirkningen av dette (se Kapittel 10.5.1). Det er mest effektivt og lønnsomt å pakke cellen så tett som mulig for å redusere løsemiddel bruket under ekstraksjon.



Figur 7: Skisse av pakkemetode 1 av celler til ASE.

Etter liten forbedring av resultater (se Kapittel 10.3.1), ble en ny pakkemetode testet, med fokus på opprensing i selve cellen under ekstraksjon. Her ble florisil og DE tilsatt til cellen i tillegg til øvrig fra tidligere forsøk (se Figur 8). I pakkemetode 2 ble prøven blandet med DE før ekstraksjon. DE er porøst og vil hjelpe til med å hindre klumpdannelse av prøven under ekstraksjon.



Figur 8: Skisse pakkemetode 2 av celler til ASE.

Det ble også opparbeidet en SRM-prøve (se Kapittel 9.7.2). SMR-prøven benyttet opprensing i ASE-cellen under ekstraksjon. Cellen ble pakket i rekkefølgen; to filtre i bunn, 5,5g Ottawasand, et filter, 5,5 florisil, et filter, 2g mikrosilika prøve blandet med DE og resterende volum fylt med DE, med et filter på topp (se Figur 8).

9.4.2 Utgangsmetode for ASE

For mest effektiv metodeutvikling ble kun lav konsentrasjons prøve benyttet for å for enklere sammenlikning av resultater.

En utgangsmetode ble etablert og deretter optimalisert ved endring av parametere ut fra resultatene oppnådd. Utgangsmetoden ble valgt fra standard innstillinger fra programvaren til ASE (Chromeleon 7). For utgangsmetoden ble 34mL celler og 60mL oppsamlingsflasker benyttet, med aceton/heksan (1:1) som løsemiddel. 5g mikrosilika ble pakket i cellen er 5g med pakkemetode 1. Innstillingene på programvaren ble satt til 2 sykluser i 5min, ved 100°C og 1500psi. Purge volumet ble satt til 40mL og purge tid til 60s (se Tabell 6).

Tabell 6: Innstillinger og parameter for utgangsmetoden.

Parametere	Utgangsmetode
Løsemiddel	Aceton/heksan
Løsemiddel forhold	1:1 v/v
Filter	glassfiber
Prøve mengde, g	5
Antall syklus	2
Statisk tid, min	5
Temperatur, °C	100
Trykk, psi	1500
Purge volum, mL	40
Purge tid, s	60

9.4.3 Innstillinger på programvaren til ASE

For å kunne programmere bruk av ASE, ble programvaren Chromeleon 7 benyttet. I metodesequensen ble cellenummer parett opp med vialnummer og ønsket instrument metode valgt for hver prøve (se Vedlegg I.1), under data vinduet. Under ekstraksjon kan prosessen følges opp på instrument siden (se Vedlegg I.2). Her opplyses det om verdiene til parameterne i sanntid, og oppdateringer underveis. Ved komplikasjoner i instrumentet informeres det om en feilkode (se Vedlegg F), og den automatiske ekstraksjonen blir stoppet.

9.4.4 Parametere til ekstraksjon

Ut fra utgangsmetoden ble nye metoder etablert, men hvor få parametere ble endret. Totalt seks metoder ble etablert (se Tabell 7). Metodene har endringer i løsemiddelet samt løsemiddelforhold, prøvemengde, antall sykluser, statisk tid og temperatur.

Tabell 7: Parameter for seks ulike ASE-metoder. Forskjellene utgangsmetoden og metoder etablert etter er markert i rødt.

Parametere	Metode 1	Metode 2	Metode 3	Metode 4	Metode 5	Metode 6
Løsemiddel	Aceton/heksan	Aceton/heksan	Aceton/sykloheksan	Aceton/heksan	Aceton/heksan	Aceton/heksan
Løsemiddel forhold	1:1	1:3, 1:1, 3:1	1:3, 1:1, 3:1	1:1	1:1	1:1
Prøve mengde, g	5	5	5	5	2	2
Antall syklus	2	2	2	3	3	3
Statisk tid, min	5	5	5	10	10	10, 20, 30, 40
Temperatur, °C	80, 100, 120	100	100	140, 160, 180	160	160
Trykk, psi	1500	1500	1500	1500	1500	1500
Purge volum, mL	30	40	40	40	40	40
Purge tid, s	60	60	60	60	60	60

Løsemiddelet brukt under ekstraksjon på ASE er aceton/heksan (1:1). Likefullt, ble ulike forhold av aceton/heksan benyttet der forholdet på 25%, 50% og 75% ble testet (se Tabell 7). Ekstraksjon med Aceton/sykloheksan som løsemiddel ble testet i likt forhold som med Aceton/heksan (se Kapittel 10.3.2.2).

Ekstraksjon ble utført med temperaturer fra 80°C til 180°C i intervaller på 20 (se Tabell 7) for å finne den gunstige oven temperaturen (se Kapittel 10.3.2.1).

Ved sammenlikning med ekstraksjon med Soxhlet som bruker 10t var det også nødvendig å øke den statiske tiden. Ekstraksjon med to og tre sykluser ble gjort, samt. Endringer i statisk tid fra 5min opptil 40min (se Kapittel 10.3.2.310.3.2.3).

9.5 Opprensing

9.5.1 Inndamping med TurboVap

Etter ekstraksjon ble prøvene overført til et inndamperglass og prøvemengden inndampet til 0,5mL med TurboVap 500. For prøver ekstrahert med Soxhlet, ble halve prøven inndampet til 0,5mL, før resterende prøve ble tilført og dampet inn. Prøvene ble løsemiddelskiftet til sykloheksan, og dette ble gjort ved tre pipetter sykloheksan ble tilsatt to ganger under inndampingen.

9.5.2 Opprensing med PAH-silika kolonne

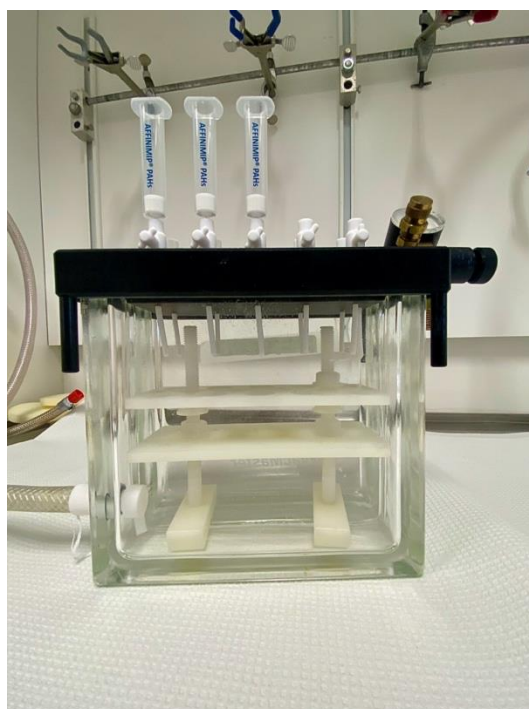
Bomull ble plassert nederst i kolonnen, og ca. 5g deaktivert silika (se Vedlegg G.1) ble veid ut og løst i 15mL sykloheksan, til å danne en slurry. Denne slurryen ble overført til kolonnen, og ble rensert med 40mL sykloheksan. Deretter ble prøven påsatt kolonnene og eluert med 100mL sykloheksan. Prøven ble samlet opp i et inndamperglass plassert under kolonnen (se Figur 9).



Figur 9: Visuell representasjon av oppsettet til PAH-silika kolonner.

9.5.3 Opprensing med MIPs kolonne

AFFINIMIP[®] PAH kolonner med 3mL MIPs, ble plassert på vakuumanifold (se Figur 10) og kolonnen ble rensset med 3mL sykloheksan. Prøven ble tilsatt kolonnene og vasket med 2mL sykloheksan. Deretter ble analyttene eluert ut med 3mL etylacetat.



Figur 10: AFFINIMIP[®] PAH kolonner plassert på et vakuumanifold.

9.6 Analyse med GC-MS

Etter opprensingen med PAH-silika kolonne eller MIPs kolonne ble prøvene oppkonsentrert til 0,5mL ved 35°C, ved bruk av TurboVap. Løsemiddel ble løsemiddelskiftet til sykloheksan under inndampingen. Prøvene ble så inndampet til 0,1mL med nitrogen gass før tilsetning av 20mL GSTD. Deretter ble 20mL av prøven overført til MS-glass for MS-analyse.

Analysen ble utført i henhold til en «in-house» metode akkreditert etter IOS/IEC-17025.

Trykkpuls splitt-løs injeksjon med 300°C ble brukt under analysen. En PAH-selektiv kolonne fra Agilent ble benyttet, og konstant trykk ble satt til 16.8psi. Ovn temperaturen var satt fra 50°C til 350°C og analysen tok 51.3 min. Initieringssystemet benyttet var EI i SIM modus med temperatur 300°C, og MS kvadrupol med temperatur på 150°C.

9.7 Metoder for Kvalitetssikring

9.7.1 Blindprøver

Blindprøver ble opparbeidet parallelt med prøvene for hver runde. Blindprøvene bestod av silika, og fulgte ekstraksjonsmetoden og renseprosedyren på samme måte prøvematerialet. Blindprøven blir brukt for å vurdere mulig kontaminering som kan forkomme under prøveoppbeidelsen. Resultatet fra blindprøver kan anslå grader av mulig kontaminering av prøvene under oppbeidelsen (se Kapittel 10.6.1)

9.7.2 Sertifisert referanse materialet (SRM) prøve

Prøven SRM1944 er en sediment-prøve, og brukes som en kontrollprøve. SRM1944 blir jevnlig analysert for å kontrollere metoden, og prøven ble pakket med pakkemetode 2 (se Figur 8) og ekstrahert med ASE med innstillingene i metode 2 (se Tabell 7), med løsemiddelforhold (1:1). Videre opprensing ble gjort med liten gimmer og PAH-silika kolonne. Gjennomsnittlig konsentrasjon for hver PAH-komponent er kalkulert etter mange analyser av prøven. Dette gjennomsnittet blir brukt til sammenlikning av resultatet, hvor standardavviket fra snittet blir benyttet til vurdering av metoden (se Kapittel 10.6.2).

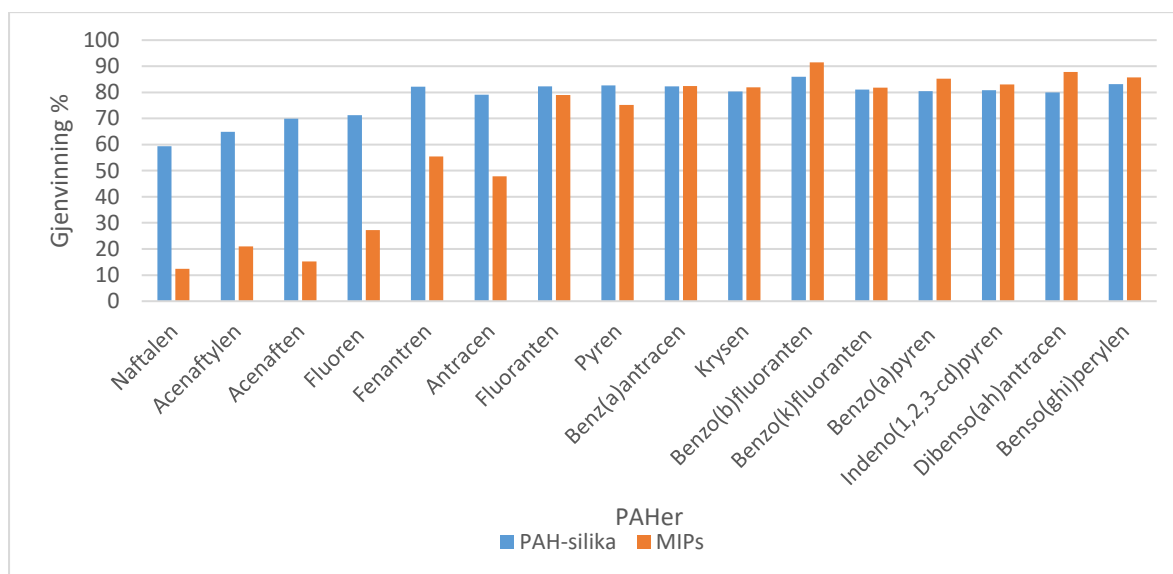
9.7.3 Spike-løsning

For testing av opprensningsprosedyrene ble tre paralleller med 20mL spike-løsning opparbeidet med PAH-silika kolonne og tre paralleller med MIPs kolonner. I tillegg ble en kontrollstandard med 20mL spike-løsning, 20mL ISTD og 20mL GSTD lagd. Kontrollstandarden ble ikke opprenset, og de syv prøvene ble sendt til analyse.

10 RESULTATER

10.1 Resultat fra spike forsøk

Ved sammenlikning av ulike opprensingsmetoder med samme ekstraksjonsmetode var det utfordrende å konkludere hvilken metode for opprensing av mikrosilika som var mest passende. For å teste opprensingsmetodene ble det utført et «spike»-forsøk med en av kjent konsentrasjon (spike-løsning). Tre paralleller av spike løsningen ble påsatt hver sin pakkede PAH-silika kolonne og 3 paralleller med MIPs kolonne, samt en kontroll løsning som ikke gjennomgikk en opprensingsprosedyre (se Vedlegg E for rådata). Ved kjent konsentrasjon av kontroll løsningen ble gjenvinningen til prøvene renset med PAH-silika kolonne og MIPs kolonne beregnet ved Likning 1. Konsentrasjonene er presentert i Figur 11.



Figur 11: Søylediagram for gjennomsnittsgjenvinning gitt i %, for 16 PAH for spike-løsninger, renset med PAH-silika kolonne og MIPs kolonne.

Gjenvinningen av de 2-3 ringende PAH komponenter som Naft, Acenaftyl og Acenaft var lavere for prøvene renset med MIPs kolonne enn for prøvene renset med PAH-silika kolonne, mens gjenvinningen av de 4-6 ringede PAH var omtrent like som sett i Figur 11.

10.2 Resultat fra Soxhlet ekstraksjon

Rådata uthentet fra Soxhlet er presentert i Vedlegg A. Tabell 8 viser konsentrasjonen av PAH komponenter ekstrahert og opprensning på PAH-silika kolonne gjort av NILU personal, og studentenes arbeid basert på % avvik fra «fasit verdien». Dette ble gjort for de 3 konsentrasjonsnivåene (lav-høy) med tre paralleller for hvert nivå. For å vise hvor gunstig og repeterbar Soxhlet metoden er, ble prosentavvik brukt til å sammenlikne våre paralleller med resultatene kjørt av ingeniørene. Resultatene for prosent avviket i forhold til referanse

resultatene gjort av lab-arbeiderene er vist i sammen med konsentrasjonen til referanse resultatene. Et akseptabelt prosentavvik er 30-40%, hvor fleste av komponentene er innenfor det. Acenaft og Fl har avvikende henholdsvis verdier på 129,6% og 151,9% avvik for lav konsentrasjonsprøve, Acenaft på 120% avvik for middels konsentrasjonsprøve som sett i Tabell 8.

Tabell 12 viser blindprøven kjørt parallelt med Soxhlet. Blindene viser at det er størst kontaminasjon av komponent Fen som har gjennomsnittlig konsentrasjon på 15ng/g. Acenaft har en konsentrasjon på 0ng/g, mens Fl har konsentrasjon på 2ng/g. Dette tyder på lav kontaminasjon av disse komponentene i disse prøvene og at de avvikende prosentavvikene må komme fra en annen kilde (se mer om blindprøver i kapittel 10.6.1).

Tabell 8: Viser konsentrasjonen til PAH komponenter analysert av NILU ansatte, gjennomsnittlig prosentavvik basert på studentenes resultat av samme prøver. Prøvene er ekstrahert med ASE og opprenset med PAH-silika. Viser prosentavviket til kjent konsentrasjon kjørt av ingeniørene mot våre resultater.

Komponent	Lavt nivå konsentrasjon		Middels nivå konsentrasjon		Høyt nivå konsentrasjon	
	«in-house» (n=1) Konsentrasjon ng/g	Gjennomsnitt % avvik	«in-house» (n=1) Konsentrasjon ng/g	Gjennomsnitt % avvik	«in-house» (n=1) Konsentrasjon ng/g	Gjennomsnitt % avvik
Naftalen	36	9,3	45	2,8	74	31
Acenaftalen	3,4	8,9	6,7	6	3,6	48*
Acenaften	1,7	130*	1,8	120*	5,0	17
Fluoren	6,6	152*	21	23	35,4	32
Fenantren	129	1,9	386	3,9	1510	65,6*
Antracen	3,3	9,6	5,5	18	20	37
Fluoranten	149	9,1	407	0,7	822	11
Pyren	70	7,0	84	0,4	375	7,9
Benz(a)antracen	23	17	56	6,2	314	2,1
Krysen	51	17	189	9	732	18
Benzo(b)fluoranten	54	22	178	8,4	459	6,9
Benzo(k)fluoranten	12	16	50	8,3	122	4,1
Benzo(a)pyren	2,9	24	5,6	4,2	37	87*
Indeno(1,2,3-cd)pyren	8,0	1,3	49	4,7	77	12
Dibenzo(ah)antracen	1,5	32	9,4	11	21	8,4
Benzo(ghi)perylene	10,9	16	38	1,1	81	11

*Høyt gjennomsnitt prosentavvik.

Tabell 9 viser gjennomsnittlig konsentrasjon for tre paralleller for hver konsentrasjons nivå prøver renset med PAH-silika kolonne, samt to prøver renset med MIPs kolonne sammen med standardavvik. Gjenvinningen for PAH komponentene renset med MIPs kolonne er presentert i Vedlegg A.1 og viser at det er betydelige lavere gjenvinning. Spesielt for 5-6 PAH komponenter som 1123cdPyr, DBahAntr og BghiPer, som hadde range fra 50-57% for prøver renset med PAH-silika kolonne, men kun 32% for prøver renset med MIPs kolonne (se Vedlegg A.1). For 2-4 ringede komponenter som Naft var range % gjenvinning for opprensning med PAH-silika kolonne på 22,0-29,3%, og MIPs kolonne hadde 24% gjenvinning. For 2-4 ringede komponenter ligger Gjenvinning for MIPs kolonne opprensning innenfor eller rett utenfor rangen for prøver opprenset med PAH-silika kolonne.

Tabell 9: Gjennomsnittskonsentrasjon i ng/g og standardavvik for lavt, middels og høyt nivå konsentrasjon prøver kjørt med Soxhlet ekstraksjon. standardavviket ble kalkulert fra 3 paralleller for hver konsentrasjonsprøve. Det ble kjørt to paralleller av Soxhlet ekstraksjoner opparbeidet med MIPs kolonne, og standardavviket og snitt konsentrasjon er fremstilt.

Komponenter	Lavt nivå konsentrasjon (n=3)	Middels nivå konsentrasjon (n=3)	Høyt nivå konsentrasjon (n=3)	MIPs lavt nivå konsentrasjon (n=2)
	Snitt konsentrasjon ng/g ± Std.avvik	Snitt konsentrasjon ng/g ± Std.avvik	Snitt Konsentrasjon ng/g ± Std.avvik	Snitt Konsentrasjon ng/g ± Std.avvik
Naftalen	38 ± 3	46 ± 1	59 ± 13	59 ± 19
Acenaftylen	3,6 ± 0,4	6,5 ± 1,1	4,8 ± 1,3	4,1 ± 0,2
Acenaften	3,2 ± 1,3	3,2 ± 2,0	5,6 ± 1,2	2,6 ± 0,8
Fluoren	13 ± 6	18 ± 4	28 ± 7	9,1 ± 3,2
Fenantren	131 ± 2	376 ± 44	850 ± 574	205 ± 78
Antracen	3,5 ± 0,2	6,2 ± 0,6	15 ± 4	5,5 ± 1,3
Fluoranten	158 ± 8	405 ± 14	881 ± 112	194 ± 23
Pyren	73 ± 3	84 ± 2	395 ± 19	96 ± 13
Benz(a)antracen	25 ± 2	53 ± 3	310 ± 4	40 ± 8
Krysen	57 ± 5	178 ± 10	642 ± 79	106 ± 27
Benzo(b)fluoranten	62 ± 7	168 ± 9	480 ± 27	109 ± 25
Benzo(k)fluoranten	13 ± 2	47 ± 3	125 ± 5	25 ± 5
Benzo(a)pyren	3,3 ± 0,5	5,8 ± 0,9	59 ± 22	4,4 ± 0,5
Indeno(1,2,3-cd)pyren	8,0 ± 0,3	47 ± 1,4	83 ± 9	16 ± 3
Dibenzo(ah)antracen	1,2 ± 0,3	8,7 ± 0,7	22 ± 3	3,1 ± 0,6
Benzo(ghi)perylene	12 ± 1	38 ± 1	88 ± 6	26 ± 5

*høyt standardavvik.

10.3 Resultat fra ASE ekstraksjon

10.3.1 Utgangsmetode

For utgangsmetoden til ASE ekstraksjon (se Tabell 6) ble det pakket to celler med pakkemetode 1 med lav konsentrasjons nivå prøve. Disse cellene var pakket med kun Ottawasand og prøvemateriale (se Figur 7), hvor variabelen forandret var bruken av brent og ubrent Ottawasand. Utgangsmetoden ble rensset med PAH-silika kolonne, og resultater fra begge prøvene viste høyere nivå av PAH, enn prøver ekstrahert med Soxhlet og rensset med PAH-silika kolonne. For eksempel for ASE hadde BbFlant en konsentrasjon på 1150 og 1160ng/g mens Soxhlet ekstraherte prøver hadde 62ng/g for samme komponent i samme prøve. Gjenvinningen for 2-4 ringede PAH var akseptable, mens gjenvinningen av 5-6 ringede PAH var 0, og tolkes som at de ikke var til stede (se Tabell 10).

MS-kromatogrammet viser fine avskilte topper som indikerer at opprensingen var bra, men trolig lite effektiv ekstraksjon (se Kapittel 10.4). Ut fra dette resultatet ble parametere som løsemiddel samt forhold, temperatur, antall sykluser og statisk tid endret for å få de 5-6 ringede PAH ut av matriksen. Ved at det var liten forskjell i bruk av brent eller ubrent Ottawasand i pakkemetoden (se Tabell 10), så ble ubrent Ottawasand brukt til videre metodeutvikling ved at det er lettere tilgjengelig på laboratoriet.

Tabell 10: Konsentrasjon i ng/g og gjenvinning i % av to paralleller med lavt nivåkonsentrasjons prøver. Prøvene er pakket med pakkemetode 1, en med brent og en med ubrent Ottawasand, ekstrahert med utgangsmetoden på ASE og rensset med PAH-silika kolonne.

Komponent	Brent Ottawasand		Ubrent Ottawasand	
	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %
Naftalen	40,9	40	38,4	38
Acenaftylen	5,43		4,87	
Acenaften	2,33	50	2,33	47
Fluoren	9,91		9,91	
Fenantren	134		135	
Antracenen	4,65	46	4,41	41
Fluoranten	204		214	
Pyren	91,3	52	93,3	45
Benz(a)antracenen	116	17	127	11
Krysen	258		299	
Benzo(b)fluoranten	1150	4	1160	3
Benzo(k)fluoranten	264		268	
Benzo(a)pyren	64,8		64,1	
Indeno(1,2,3-cd)pyren	1050		1590	
Dibenzo(ah)antracenen	215		331	
Benzo(ghi)perylene	1330	0	1970	0
Sum 16 EPA PAH 1	4 940		6 311	

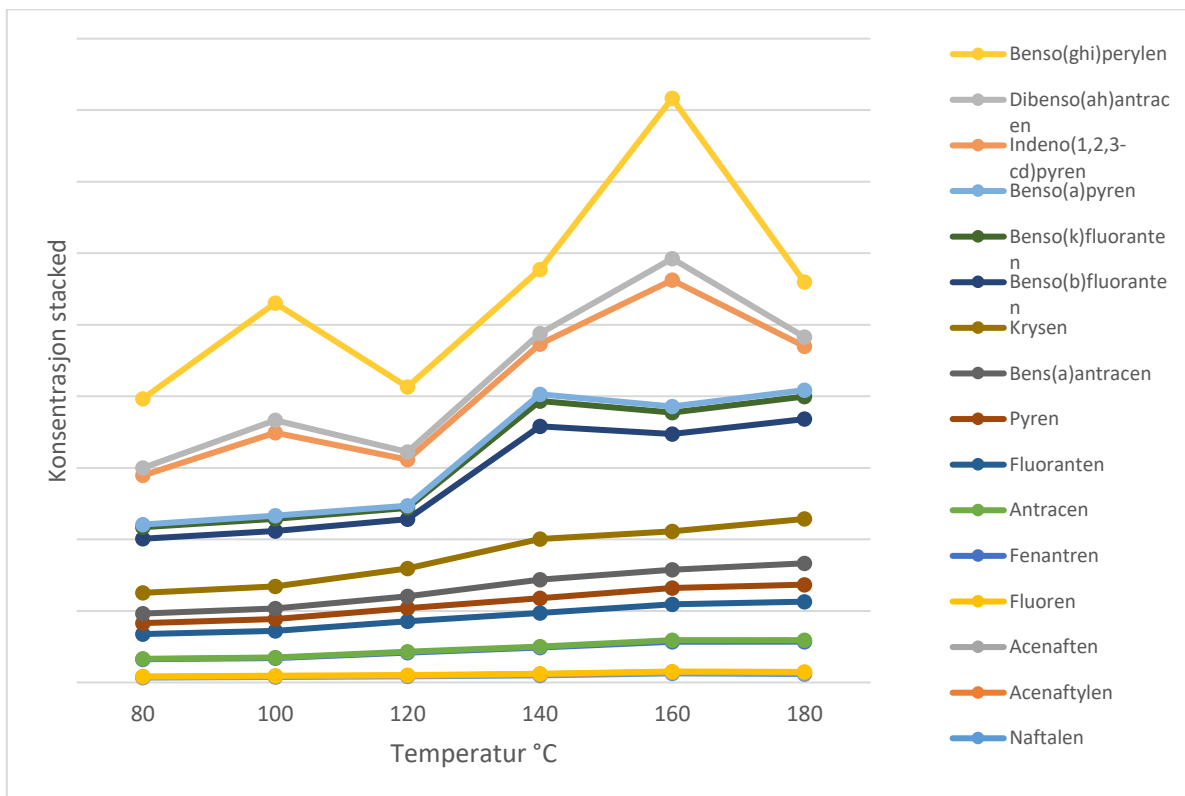
10.3.2 Resultat fra endringer av parameter

Hovedformålet med oppgaven var å optimalisere et ASE program for ekstraksjon av PAH fra fast matriks, i denne omgang; mikrosilika. Dette ble gjort ved å forandre på de tre viktigste parameteren altså temperatur, løsemiddel forhold og statisk tid på prøven med lavest konsentrasjon PAH. For å holde metodeutviklingen simpel ble prøven med lav konsentrasjons nivå brukt til optimalisert av parametere opprenset med MIPs kolonne. Resultatene for prøvene ekstrahert med Soxhlet og opprenset med PAH-silika kolonne ble brukt til sammenlikning for optimaliseringen av ASE metoden ved å se på % gjenvinning av de ulike komponentene og er presentert i Tabell 9.

10.3.2.1 Temperatur

All data for temperatur forandring er vist i Bilag B.1, samt i Figur 12. Resultere viser samme tendens som utgangsmetoden, med lav gjenvinning for 5-6 ringede PAH. For de komponentene lå % gjenvinning på 0-1% (se Figur 12). Her kan man se at det er en økende trend av PAH

parallelt med økning av temperatur. Spennende nok så synker konsentrasjonen til 5-6 ringede PAH komponenter som BghiPer, DBahAntr, og I123cdPyr etter 160°C, mens 2-4 ringede PAH komponenter som Pyr og Krys har stabile økninger med temperatur. 160°C ble valgt ut til å være den optimale temperaturen og denne innstillingen ble brukt til videre optimalisering av de andre parameterne.

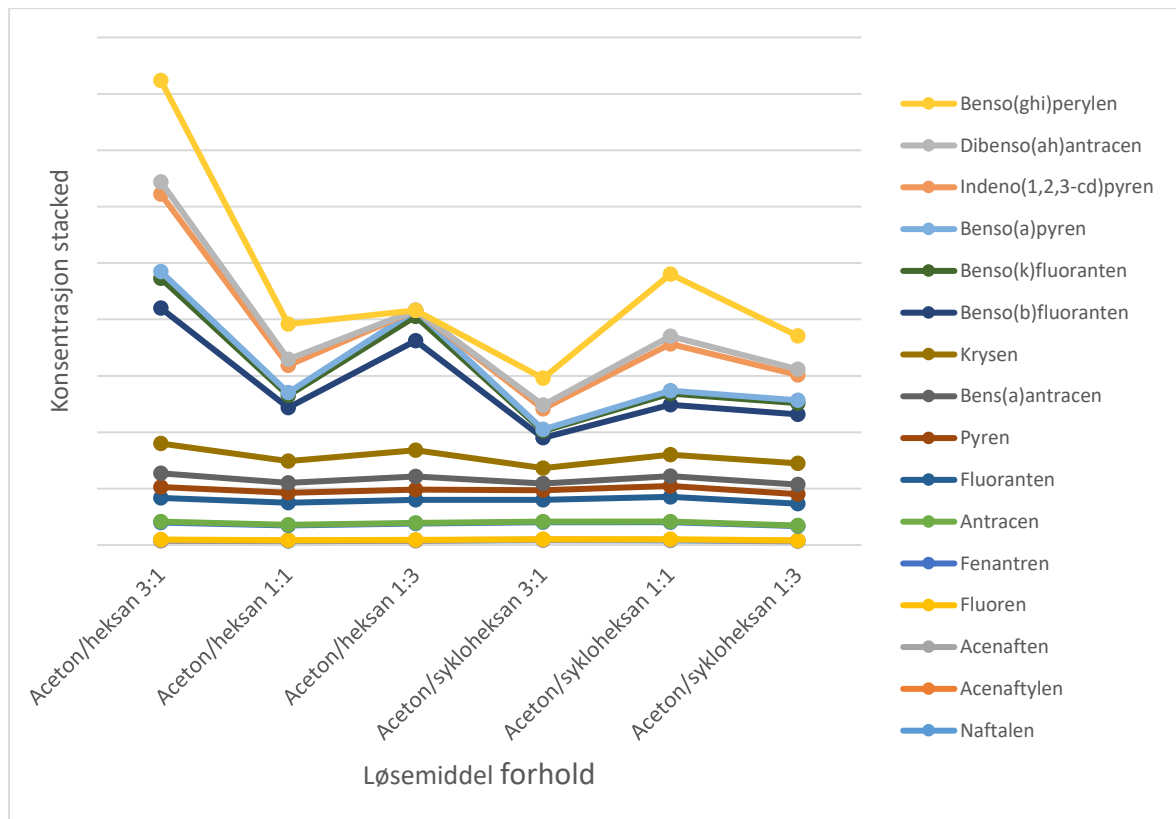


Figur 12: Punktdiagram av temperatur forandring på lavt nivå konsentrasjon prøve som er ekstrahert med ASE og opprensing med PAH-silika kolonne. Y-aksen viser konsentrasjon av komponentene i forhold til hverandre og X-aksen viser temperatur.

10.3.2.2 Løsemiddelkombinasjoner

Det ble testet to forskjellige sammensetninger av løsemiddel (acetone i kombinasjon med heksan og sykloheksan) og 3 forskjellige løsemiddel forhold. Resultatene viste det var kun BghiPer, DbahAntr, BaP, BkFlant og Bbflant som var påvirket av forandring på løsemiddel forhold. Løsemiddelkombinasjonen acetone/heksan 3:1 viste seg å gi uforventet høye verdier av PAH ekstrahert. BghiPer hadde en konsentrasjon på 1200ng/g, som skilte seg ut fordi for ekstraksjon med 1:1 acetone/heksan hadde konsentrasjon på 474 ng/g, og range fra 268-444ng/g for ekstraksjon med sykloheksan/acetone. Fra Vedlegg D.2 kan man se blindprøvene brukt for løsemiddel kombinasjoner, range for tre blindprøvene kjørt hadde konsentrasjon på 0,04-0,3ng/g for BghiPer. Basert på resultatene ble det bestemt at Acetone/heksan (1:1) var den beste

løsemiddelkombinasjonen. Når det gjelder % gjenvinningen for PAH for de ulike løsemiddelkombinasjonene, var forskjellen liten. Det var fremdeles lav gjenvinning for 5-6 ringede PAH (0-1%), men opp til 43% for 2-4 ringede PAH (se Billag B.2). Resultatene fra løsemiddel kombinasjoner gir utydelige og ukonsekvante resultater og trenger videre arbeid.

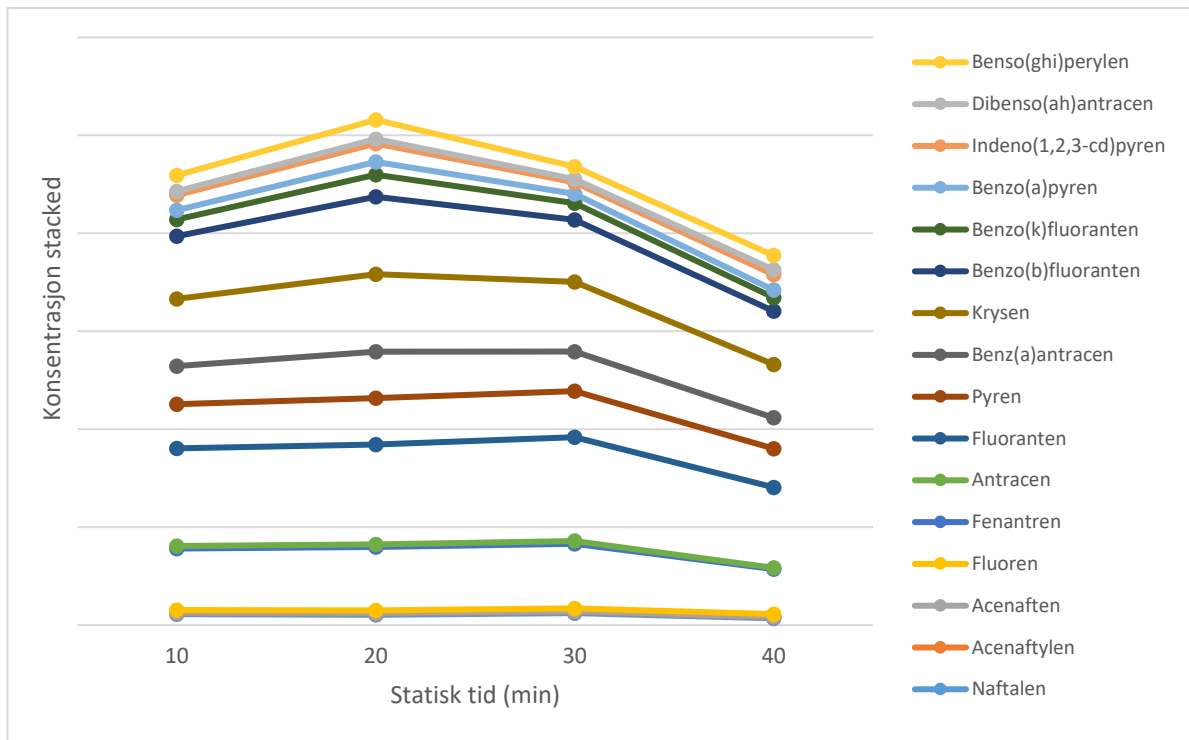


Figur 13: Punktdiagram av løsemiddel forandring på lavt nivå konsentrasjonsprøve ekstrahert med ASE og opprensing med PAH-silika kolonne.

10.3.2.3 Statisk ekstraksjonstid

For optimalisering av statisk tid ble prøven med høyest konsentrasjon benyttet, siden denne ga bedre resultater for 5-6 ringede PAH for temperatur og løsemiddelkombinasjon. For prøver med høyere konsentrasjon varierte % gjenvinningen for 5-6 ringede PAH mellom 25-33%, mens for 2-4 ringede PAH var gjenvinning opp til 60% (se Billag B.3).

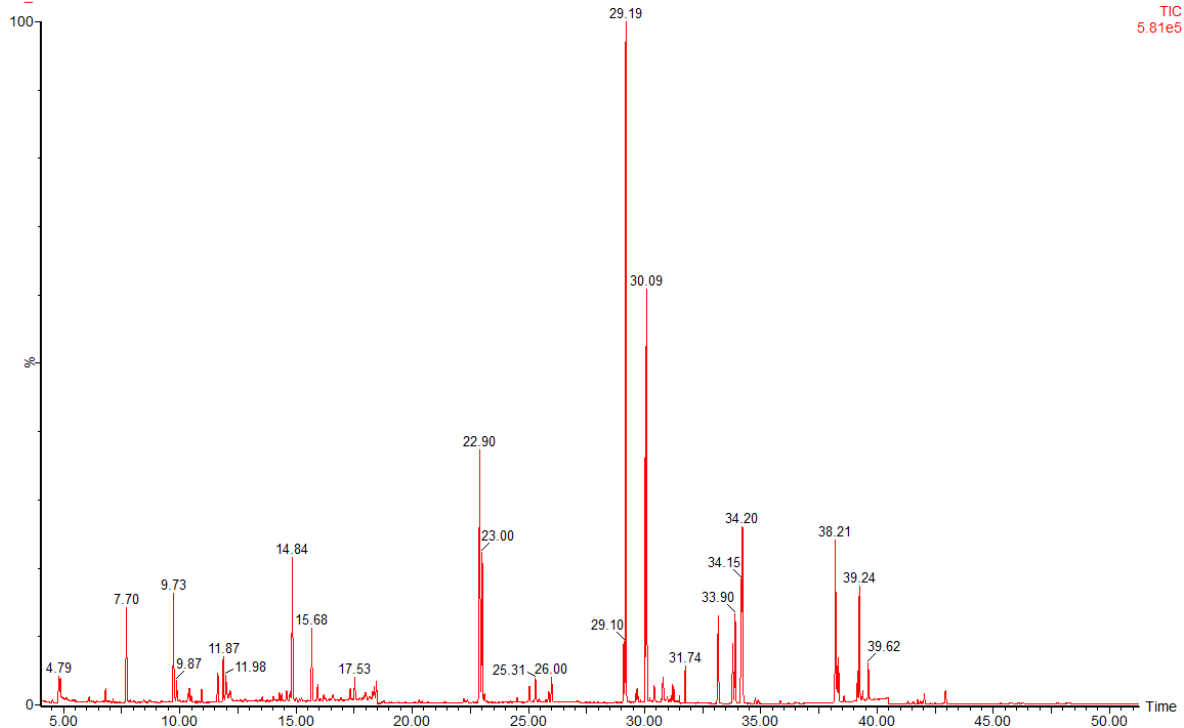
Forandring av statisk tid for ekstraksjon med ASE er presentert i Figur 14. Figuren viser tydelig økning av BghiPer, DbahAntr, BaP, Bkflant og Bbflant fra 10min til 20min, men deretter minker gradvis etter 20min. Ved endring av statisk tid oppførte alle komponentene seg stort sett likt og hadde høyest verdier ved 20min.



Figur 14: Punktdiagram av statisk tid på høyt nivå konsentrasjon prøve som er ekstrahert med ASE og opprensing med PAH-silika kolonne.

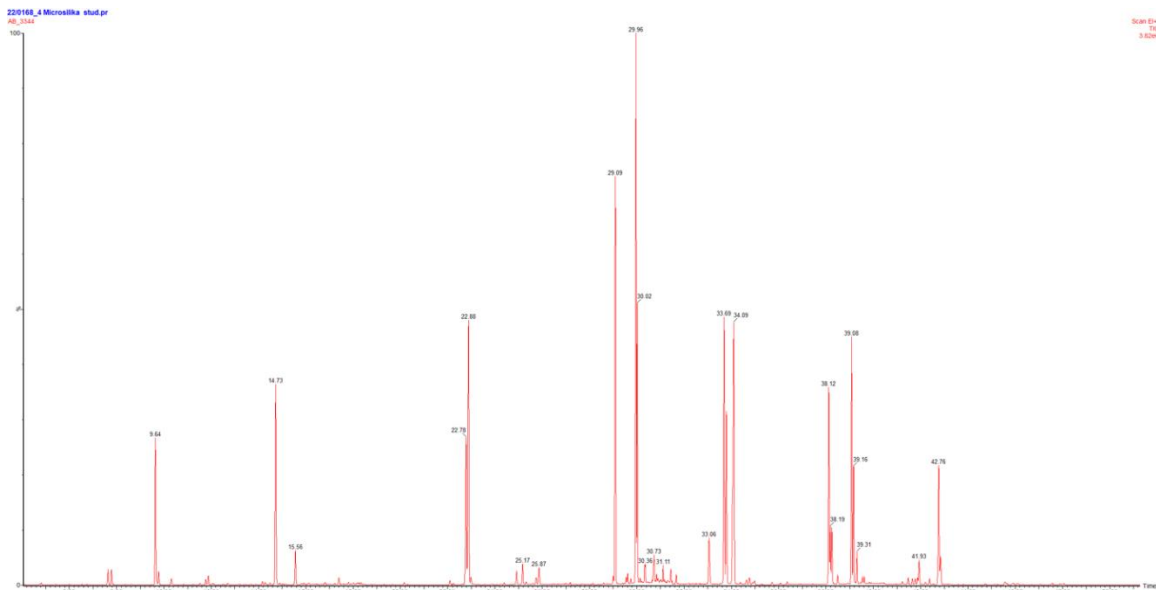
10.4 Resultat av MS-kromatogram for ASE ekstraksjon

Ved å se på totalionekromatogrammet (TIC) kan man se hvordan de ulike PAH komponentene separeres i PAH selektive kolonnen og kan vise hvilke analytiske metode som fungerer og hvilke analytter eller matrikskomponenter som er funnet i prøven etter ekstraksjon og opprensing. Figur 15 og 16 viser fullstendige kromatogram til to prøver kjørt med ASE, hvor Figur 15 er en prøve kjørt med utgangsmetoden (se kapittel 9.4.2), mens Figur 16 viser optimalisert metode. Man kan se at ved bruk av utgangsmetoden kommer det fram litt støy og uklare topper, som kan tyde på at det har kommet med litt matriks i prøvematerialet.



Figur 15: Viser kromatogrammet til prøve ekstrahert med utgangsmetoden til ASE og opprenset med PAH-silika. Hovedtoppene tilhører relevante PAH topper. Y-aksen er topp intensiteten i % i forhold til den høyest toppen i kromatogrammet og x-aksen viser retensjonstiden.

I kromatogrammet vist i Figur 15 kan man se at det er minimalt med små topp støy og toppene ser klare og tydelige ut. Dette tyder på at prøveopparbeidelsen har vært godt og effektiv og at det er lite matriks med etter opprensning. Sammenliknet med utgangsmetoden er det færre topper mellom 0-20min i optimalisert metode som tyder på at færre mindre forurensninger kan blitt med gjennom ekstraksjon og rensing.



Figur 16: Viser kromatogrammet til prøve ekstrahert med optimalisert metode til ASE og opprenset med PAH-silika. Hovedtoppene tilhører relevante PAH topper. Y-aksen er topp intensiteten i % i forhold til den høyest toppen i kromatogrammet og x-aksen viser retensjonstiden.

10.5 Opprensning med AFFINIMIP® PAH

Opprensning med bruk av en MIPs kolonne ble sammenliknet med opprensning med en PAH-silika kolonne. I Vedlegg B.3 og E blir % gjenvinning for høy konsentrasjons prøve opprenset med MIPs kolonne og PAH-silika kolonne sammenliknet. MIPs kolonne hadde en gjenvinning for 5-6 ringede PAH på mellom 11-22%, mens PAH-silika kolonne hadde 25-33%. Det viste at for prøver med høy konsentrasjon var PAH-silika kolonne mer effektiv enn MIPs kolonne.

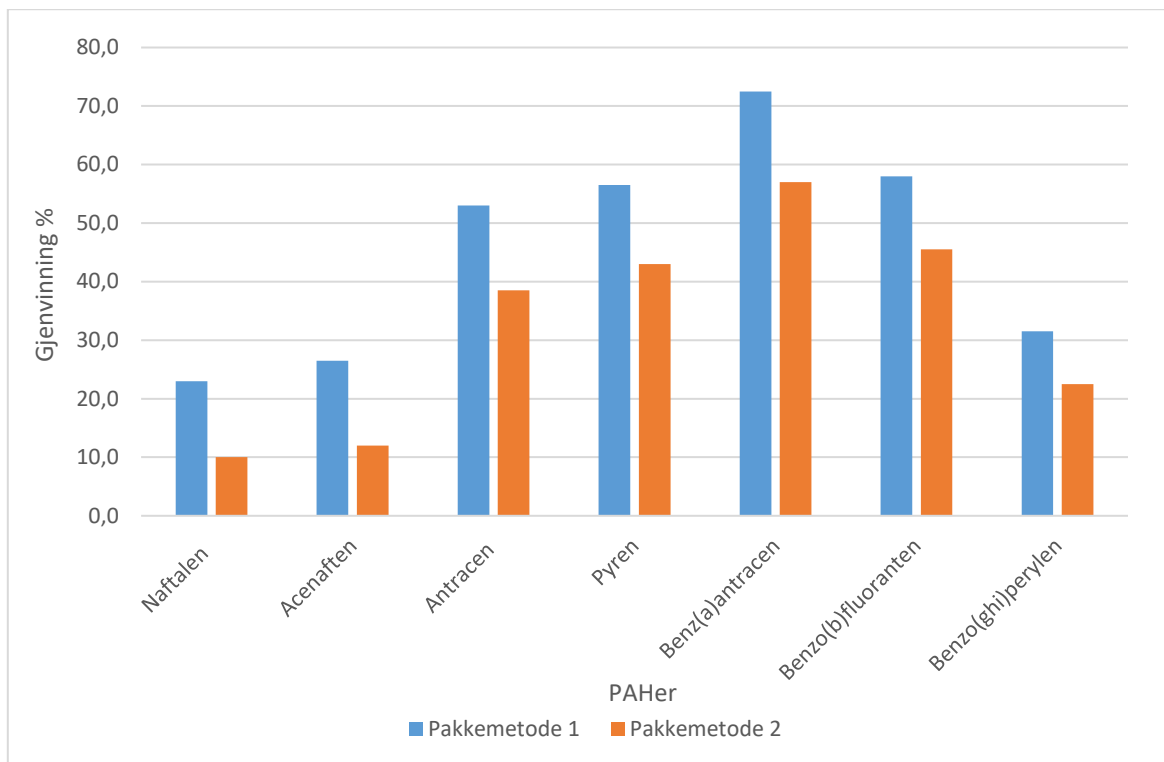
Endring av statisk tid ble også sammenliknet på tvers av de ulike konsentrasjonsnivåene i prøvene ved bruk av ASE og opprensning med MIPs kolonne. Resultatet for dette er vist i Tabell 11. Man kan se at det var lav gjenvinning for 5-6 ringede PAH komponentene I123cdPyr, DBahAntr og BghiPer i prøver med lav konsentrasjon. Der var % gjenvinning mellom 4-6%, mens for høy konsentrasjons prøven var det 11-22% for de samme 5-6 ringede PAH. Gjenvinningen for 2-4 ringede PAH komponenter som Naft var relativt like på mellom 8-18%. Resultatene fra MIPs kolonne og sammenlikning mellom de forskjellige prøvene diskuteres videre i kapittel 11.5.1.

Tabell 11: Sammenlikning av økning av statistisk tid mellom to prøver, en med lav konsentrasjon og en med høy konsentrasjon. Begge prøvene ble opprenset med MIPs kolonne og viste av for prøver med lav konsentrasjon så forsvinner de 5-6 ringede PAH med ASE/MIPs.

Komponent	Gjenvinning %					
	Lav konsentrasjonprøve			Høy konsentrasjonsprøve		
	10min	20min	30min	10min	20min	30min
Naftalen	13	7	8	18	15	11
Acenaftylen						
Acenaften	14	9	9	23	18	14
Fluoren						
Fenantren						
Antracen	24	24	24	41	54	45
Fluoranten						
Pyren	31	26	33	51	71	68
Benz(a)antracen	21	24	25	34	45	43
Krysen						
Benzo(b)fluoranten	16	20	21	29	40	40
Benzo(k)fluoranten						
Benzo(a)pyren						
Indeno(1,2,3-cd)pyren						
Dibenzo(ah)antracen						
Benzo(ghi)perylene	4	7	6	11	22	22

10.5.1 Resultatet av pakkemetodene

4 paralleller med middels konsentrasjons nivå ble pakket med to ulike pakkemetoder (se Kapittel 9.4.1), to paralleller på hver, ekstrahert med ASE og rensset med MIPs kolonner. Konsentrasjonen av pakkemetodene var omtrent like (se Vedlegg C), men det var stor forskjell i gjenvinningen, hvor gjenvinningen til alle komponentene i pakkemetode 2 var lavere (se Figur 17).



Figur 17: Gjennomsnitts gjenvinning av komponenter i to prøver pakket med forskjellige pakkemetoder i cellen. Prøvene ble ekstrahert med ASE og opprenset med MIPs kolonne. Y-aksen viser gjenvinning i % og X-aksen viser 7 PAH komponenter.

10.6 Kvalitetssikring og kvalitetskontroll

10.6.1 Blindprøver

I Tabell 12 presenteres range av konsentrasjoner, gjennomsnitt, og standardavvik for blindprøver ekstrahert med Soxhlet og renset med PAH-silika kolonne, Tabell 13 viser for blindprøver ekstrahert med ASE og renset med PAH-silika kolonne og Tabell 14 for MIPs kolonne. Resultatet for blindprøvene er normalisert i forholdt til prøvemengde i de reelle prøvene, og dette ser ut til å være avhengig av metoden brukt for opprensning. Tabell 12 informerer om resultater i 5 blindprøver ekstrahert med Soxhlet og opparbeidet med PAH-silika. Det er en relativ stor variasjons av Naft, som er svært flyktig, men det er også noe forhøyede nivåer av Fl, Fen, Flant og Pyr. Dette kan tyde på en kontaminering av blindprøvene.

Tabell 12: Range av konsentrasjon gitt i ng/g, gjennomsnitts konsentrasjon i ng/g \pm standardavvik og range av gjenvinning gitt i %, av blindprøver ekstrahert med Soxhlet og rensset med PAH-silika kolonne, Range og standardavvik ble valgt kalkulert utfra 5 prøver.

Komponent	Konsentrasjon ng/g Min - Maks	Gjennomsnitt konsentrasjon ng/g \pm std.avvik	Gjenvinning % Min - Maks
Naftalen	3 - 24	8 \pm 9	16 - 38
Acenaftylen	0,1 - 0,3	0,2 \pm 0,1	28 - 45
Acenaften	0,2 - 0,8	0,5 \pm 0,3	
Fluoren	1 - 3,6	2 \pm 1	
Fenantren	13 - 17	15 \pm 2	38 - 63
Antracen	0,2 - 0,7	0,5 \pm 0,2	
Fluoranten	3 - 6	4 \pm 1	49 - 78
Pyren	1 - 4	2 \pm 1	
Benz(a)antracen	0,08 - 0,4	0,3 \pm 0,1	49 - 84
Krysen	0,02 - 0,7	0,4 \pm 0,3	
Benzo(b)fluoranten	0,1 - 0,3	0,2 \pm 0,09	47 - 84
Benzo(k)fluoranten	0,03 - 0,1	0,06 \pm 0,03	
Benzo(a)pyren	0,03 - 0,8	0,05 \pm 0,02	
Indeno(1,2,3-cd)pyren	0,05 - 0,1	0,07 \pm 0,02	43 - 74
Dibenzo(ah)antracen	0,05 - 0,1	0,1 \pm 0,04	
Benso(ghi)perylene	0,04 - 0,1	0,07 \pm 0,03	

Fra Tabell 13 som viser frem 7 resultater for blindprøver ekstrahert på ASE og opparbeidet med PAH-silika, og viser stor variasjon i konsentrasjonen av Naft, Fen, Flant og Pyr.

Tabell 13: Range av konsentrasjon gitt i ng/g, gjennomsnitts konsentrasjon i ng/g \pm standardavvik og range av gjenvinning gitt i %, av blindprøver ekstrahert med ASE og rensset med PAH-silika kolonne, Range og standardavvik ble valgt kalkulert utfra 7 prøver.

Komponent	Konsentrasjon ng/g min - maks	Gjennomsnitt konsentrasjon ng/g \pm Std.avvik	Gjenvinning % min - maks
Naftalen	0,6 - 6	3 \pm 2	27 - 42
Acenaftylen	0,03 - 0,4	0,1 \pm 0,1	35 - 52
Acenaften	0,06 - 1	0,4 \pm 0,4	
Fluoren	0,3 - 5	2 \pm 2	
Fenantren	1 - 19	6 \pm 6	53 - 72
Antracen	0,03 - 1	1 \pm 0,4	
Fluoranten	0,5 - 5	2 \pm 2	53 - 72
Pyren	0,4 - 3	1 \pm 2	
Benz(a)antracen	0,02 - 0,4	0,2 \pm 0,1	48 - 86
Krysen	0,08 - 0,6	0,3 \pm 0,2	
Benzo(b)fluoranten	0,06 - 0,5	0,2 \pm 0,1	50 - 78
Benzo(k)fluoranten	0,01 - 0,1	0,05 \pm 0,03	
Benzo(a)pyren	0,01 - 0,07	0,02 \pm 0,04	
Indeno(1,2,3-cd)pyren	0,01 - 0,08	0,03 \pm 0,03	45 - 69
Dibenzo(ah)antracen	0,01 - 0,2	0,1 \pm 0,07	
Benso(ghi)perylene	0,01 - 0,2	0,05 \pm 0,05	

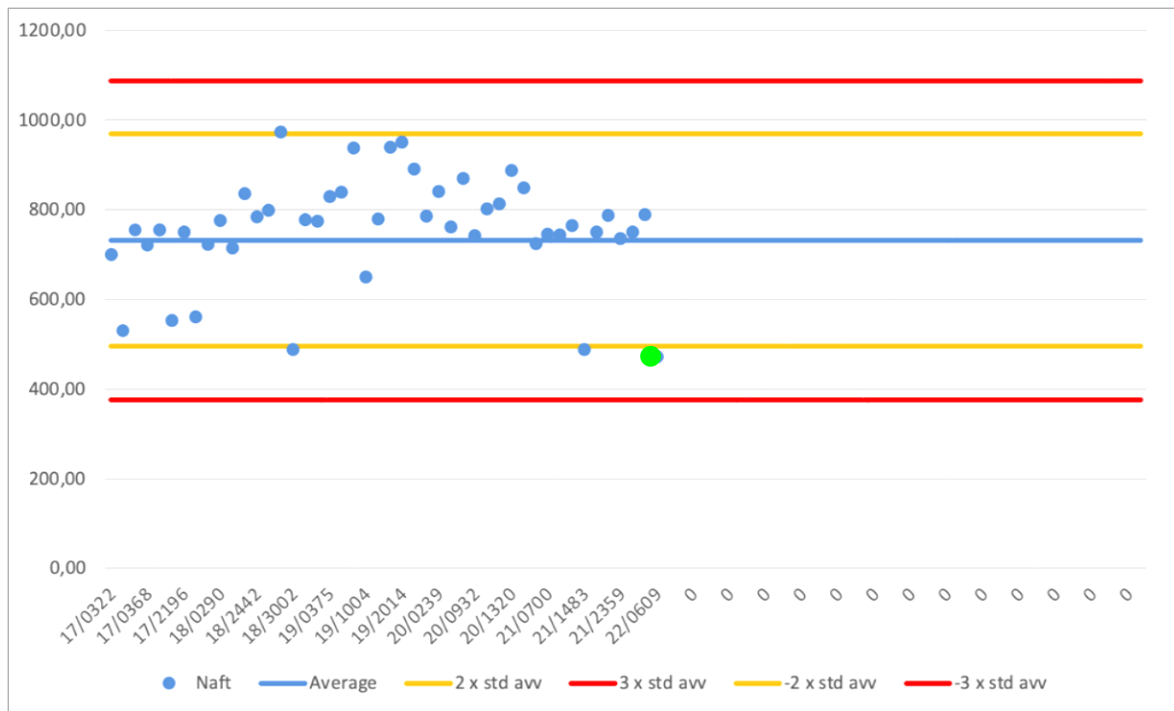
Tabell 14 informerer om resultater for 3 blindprøver som har blitt ekstrahert med ASE og opparbeidet med MIPs. Det var høye nivåer av Naft, Acenaftyl, Fl, Fen, Flant og Pyr i de blindprøvene (se tabell 14), noe som tyder på en kontaminering av blindprøvene. Dette vil bli diskutert ytterligere i diskusjonsdelen.

Tabell 14: Range av konsentrasjon gitt i ng/g, gjennomsnitts konsentrasjon i ng/g \pm standardavvik og range av gjenvinning gitt i %, av blindprøver ekstrahert med ASE og rensset med MIPs kolonne, Range og standardavvik ble valgt kalkulert utfra 3 prøver.

Komponent	Konsentrasjon ng/g min-maks	Gjennomsnitt konsentrasjon ng/g \pm Std.avvik	Gjenvinning % min-maks
Naftalen	27 - 48	34 \pm 12	10 - 26
Acenaftyl	0,6 - 2	1 \pm 0,5	12 - 31
Acenaften	1	1 \pm 0,01	
Fluoren	5	5	
Fenantren	19	19	32 - 67
Antracen	0,8 - 0,9	0,8 \pm 0,08	
Fluoranten	5	5	38 - 97
Pyren	3	3	
Benz(a)antracen	0,4	0,4	42 - 104
Krysen	0,6 - 1	1 \pm 0,2	
Benzo(b)fluoranten	0,4 - 0,8	1 \pm 0,2	43 - 101
Benzo(k)fluoranten	0,1 - 0,4	0,25 \pm 0,2	
Benzo(a)pyren	0,07 - 0,1	0,09 \pm 0,04	
Indeno(1,2,3-cd)pyren	0,1 - 0,3	0,2 \pm 0,09	47 - 98
Dibenzo(ah)antracen	0,2	0,2	
Benzo(ghi)perylene	0,2 - 0,3	0,2 \pm 0,07	

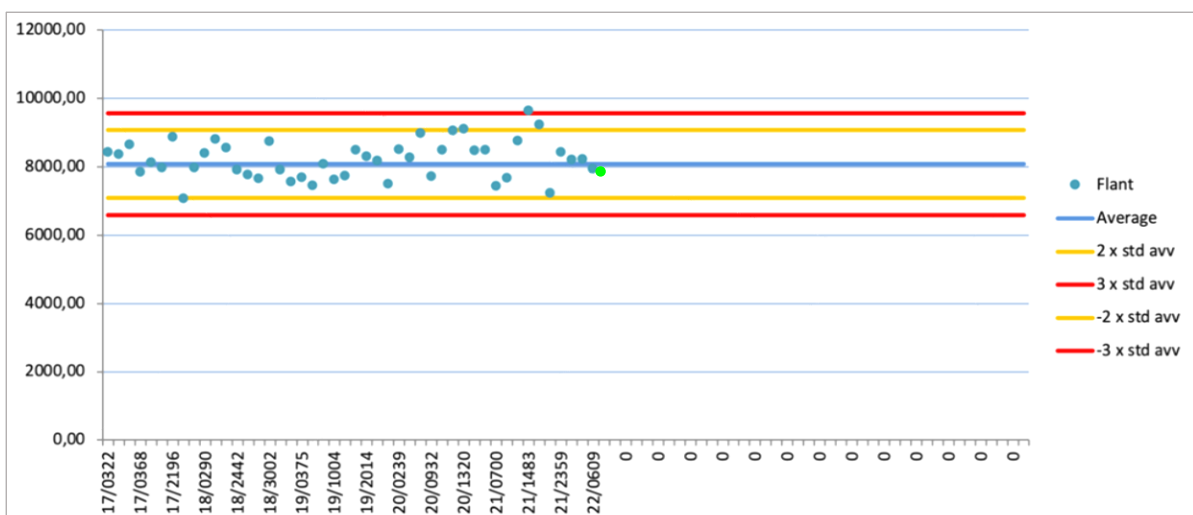
10.6.2 Resultater av SRM1944

Standard referansemateriale (SRM) består av en sediment-prøve med sertifiserte verdier av PAH. For en ytterligere kvalitetssjekk av metoden så ble referansemateriale ekstrahert og opparbeidet på lik linje med blind- og prøver av mikrosilika, analysert for samtlige PAH. Resultatene blir plottet i et kontrollkort, se Figur 18 som illustrerer et kontrollkort for Naft. Avvikende verdier kan tyde på kontaminering av prøvene eller feil i kvantifiseringen. Resultater fra SRM1944 opparbeidet med mikrosilika-prøvene viser høye verdier for Acenaftyl, Fen og Antr.



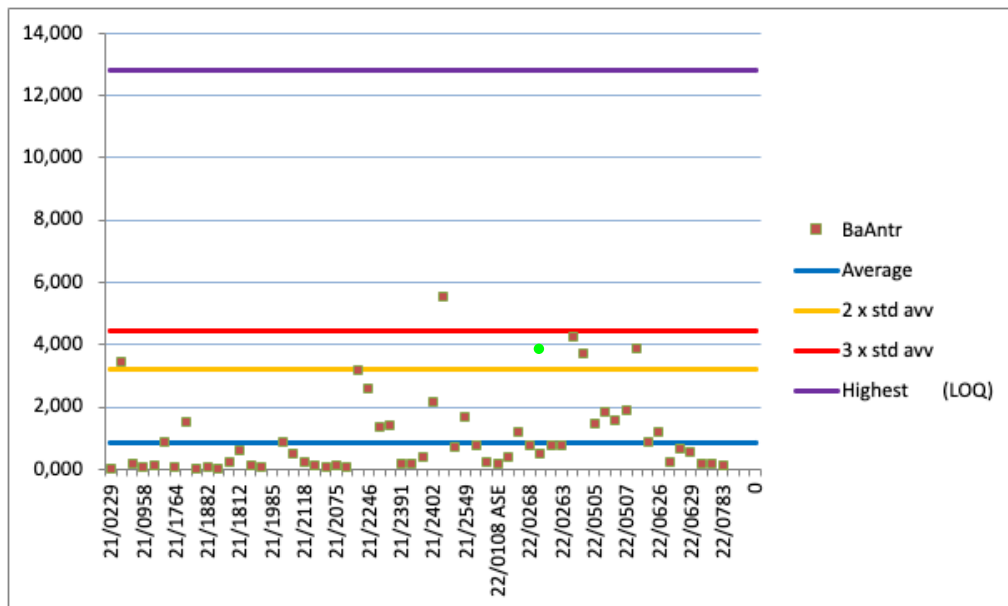
Figur 18: Graf av Naftalkonsentrasjonen i SRM1944. Analyse av SRM-prøven gjort av oss har prøvenummer 22/0609, og er markert i grønt. Y-aksen viser konsentrasjon i ng/g og X-aksen viser prøvenummer.

Konsentrasjonen av naftalen i prøven var ca. 2 ganger lavere enn standardavvik fra kalkulert gjennomsnittskonsentrasjon. Resultatet av naftalen er representativt for 2-4 ringede PAH komponenter som eksempel Fl og Acenaftyl. Resultatet er innenfor kontrollgrensen, men er indikasjoner for kontaminering av nevnte komponenter.



Figur 19: Graf av fluorantenkonsentrasjonen i SRM1944. SRM-prøven analysert av oss har prøve nummer 22/0609, og konsentrasjonen er markert i grønt. Y-aksen viser konsentrasjon i ng/g og X-aksen viser prøvenummer.

Konsentrasjonen til Flant ligger rett under gjennomsnittlig konsentrasjon (se Figur 19), samt innenfor kontrollgrensen. Figuren er representative for 5-6 ringede PAH som eksempel BaAntr, BbFlant, BaP, I123cdPyr og BghiPer.



Figur 20: Graf av Benz(a)antrenkonsentrasjon i blindprøven til SRM1944. Prøvenummeret til blindprøven opparbeidet av oss er 22/0608 og konsentrasjonen er markert i grønt. Y-aksen viser konsentrasjon i ng/g og X-aksen viser prøvenummer.

Resultatet av blindprøven til SRM-prøven viste høy konsentrasjon av BaAntr, ca. 2,5 ganger standardavviket høyere enn gjennomsnittskonsentrasjonen (se Figur 20). Resultatet er representativt for forbindelsene BbFl, BghiFlant, BbFlant, BkFlant, BaFlant og BaP.

11 DISKUSJON

11.1 Diskusjon til Soxhlet ekstraksjon

Basert på resultater fra standardavvik og prosentavvik (se Tabell 8 og 9) så viser det seg at Soxhlet ekstraksjon etterfulgt av opprensing av PAH-silika kolonne er en god metode. Det var noe forhøyet verdier av Acenaft, Fl og Fen (se kapittel 10.2). Fra resultater fra alle blindprøvene brukt for Soxhlet eksperimentet i oppgaven (se vedlegg D.1) kommer det frem av at Fl, Fen og Flant hadde høye verdier i samtlige blindprøver. Acenaft og Fl hadde forhøyet verdier for prøver av lav konsentrasjon, og dette var også tilfellet for Fl i blindprøven som kan tyde på muligens forurensninger/kontaminering på laboratoriet. I Tabell 9 har Fen og Fl henholdsvis standardavvik på 574 og 112 for prøven med høy konsentrasjon som er veldig høyt og kan muligens tyde på at prøven med høy konsentrasjon går i metning.

Rensing med MIPs kolonne ga lavere gjenvinning som var forventet ettersom spike forsøket viste at MIPs kolonne ga mindre utbytte for 2-4 ringede PAH. Det er forklarlig med tap av komponenter under inndamping, men for Soxhlet viste det seg å være lavere gjenvinning for 5-6 ringede PAH (se tabell 9).

11.2 ASE resultater

Ved å sammenlikne resultater fra ekstraksjon med ASE med ekstraksjon fra Soxhlet så var det betydelig forskjell. En av de store forskjellene observert var at nivåene av PAH var høyere for prøver ekstrahert med Soxhlet enn prøver ekstrahert med ASE (se Vedlegg A og B). Dette skyldes trolig de to forskjellige ekstraksjons teknikker og den ene (ASE) bruker høyere temperatur og trykk som ser ut til å påvirke mengden analytt ekstrahert.

Generelt ved bruk av ASE eksisterer det en instrumentell usikkerhet som er en type usikkerhet, som ikke er til stede i Soxhlet. Ved bruk av ASE oppsto det ulike feilkoder under kjøring i (se vedlegg F), og disse innholdet i disse feilkodene kan ha påvirket resultatene. Det var nødvendig å slå av og på ASE, samt pause i ekstraksjonsprogrammet. Feilkoden som indikerte «hydrocarbon vapor alarm» kunne enten indikere lekkasje eller en feil i systemet. Hvis det eksisterer lekkasjer i systemet, kunne analytter blitt sluppet ut av systemet og dette ville ha redusert konsentrasjonen og gjenvinningen av prøvene våre. En annen feilkode som oppsto var at oppsamlingsglassene hadde blitt fulle, dette gjorde art ekstraksjonen stoppet, og vi måtte

manuelt starte sekvensen på nytt. Dette førte til at det ble ekstrahert ulike volum av prøve for hver ekstraksjon og riktigheten kan potensielt blitt påvirket.

Prøvene ekstrahert med ASE kom ut med relativ lav % gjenvinning. Ved å se på MS-kromatogrammene til prøvene ekstrahert med ASE (se kapittel 10.4) er det lite matriser i prøvene, noe som kunne forklart den lave gjenvinningen. Det som fremstår noe uklart er hvordan det var lavere % gjenvinning for prøver av mikrosilika med lav konsentrasjon sammenliknet med prøver med høyere konsentrasjon. Det var lavere gjenvinning på komponenter av 5-6 ringede PAH i prøver med lavt konsentrasjonsnivå, men helt generelt så kan det antyde at ekstraksjon på ASE ikke fungerer like effektivt som Soxhlet.

For å øke utbytte på ASE, så ble flere av parameteren endret (se Tabell 7). Denne optimaliseringen resulterte i minimal forbedring av resultatene. Det ble gjort endringer av prøve mengde, antall sykluser, sammensetting av løsemidler, brent og ubrent Ottawasand, og disse parameterne viste lite forbedring i både utbytte og gjenvinning.

En annen utfordring som oppstod under metodeutviklingen, var mangel på prøve. Ved starten av eksperimentet ble vi tildelt 3 forskjellige prøver av mikrosilika med forskjellig konsentrasjonsnivå, hvor det var mest mengde av lavest konsentrasjonsnivå prøve, og denne ble brukt til optimalisering. Gjennom arbeidet med metodeutviklingen og eksperimentene som fulgt ble det tidlig klart det var for lite prøve av mikrosilika med lav konsentrasjon, og vi besluttet å bruke de andre tildelte prøvene med forventet høyere konsentrasjon. Det viste seg at prøven med høy og middels konsentrasjon ga bedre gjenvinning enn prøve med lav konsentrasjon. Dessverre var det ikke nok prøve av middels eller høy konsentrasjon til å gjøre en full optimalisering på ASE på nytt. Mangel av prøve begrenset muligheten vår til å optimalisere og kjøre alle parameter forsøkene for alle tre nivå prøvene, samt ha 3 paralleller av prøvene for hver metode for å kvalitetssikre resultatet.

11.3 Temperaturendringer

En annen vesentlig parameter for ASE er temperatur, og det ble bestemt å teste ut om den hadde noe å si for utbytte av PAH på ASE: Det ble bestemt at den optimale temperaturen for ekstraksjon var 160°C (se kapittel 10.3.2.1). Det var en stabil økning i konsentrasjon fra 80-160°C, ved 180°C sank konsentrasjonene. I teorien vil utbytte forbedres jo høyere temperatur, men etter et punkt vil analyttene fordampe og brytes ned.

11.4 Statisk ekstraksjonstid

En tredje mulig relevant parameter for å øke utbytte på ASE er statisk ekstraksjonstid i cellen. Ved å endre på de statiske ekstraksjonstid ble det observert at 20 minutter statisk ekstraksjonstid var den mest optimale innstillingen (se kapittel 10.3.2.3). Etter 20min stagnerte utbyttet betraktelig og dette kan forklares ved at en likevekt mellom forbindelsene som fortsatt er knyttet til matriksen, og væskefasen der analyttene allerede er oppløst, kan oppstå. Dette kan medføre at effektiviteten av ekstraksjonstiden ikke vil øke utover dette punktet, og nedbrytningen av enkelte forbindelsene og uønskede kjemiske reaksjoner kan skje lettere. Det er derfor viktig med nøye optimalisering av den statiske ekstraksjonstiden.

11.5 Opprensing

11.5.1 MIPs VS PAH-Silika

Fra resultatet av spike-løsningene (se Kapittel 10.1) var det tydelig at opprensing med bruk av en MIPs kolonne fungerte dårligere enn PAH-silika kolonne for de lettere PAH. Dette kommer tydelig frem ved sammenlikning av prøver med høyt konsentrasjonsnivå ekstrahert med ASE og rensset med PAH-silika kolonne (se Vedlegg B.), og høyt nivå konsentrasjonsprøver ekstrahert med ASE rensset med MIPs kolonne (se Tabell 11). Dette kommer også fram ved sammenlikning av middels nivå konsentrasjonsprøver ekstrahert med Soxhlet og opprenset med ulike metoder (se A.).

MIPs kolonnene benyttet i oppgaven er AFFINIMIP® PAH. Disse kolonnene er lagd og optimalisert for ekstraksjon av oljer, som har en annen type matriks enn mikrosilika. Dette tyder på at opprensingen av mikrosilika på denne typen MIPs kolonner ikke var gunstig.

11.5.2 Opprensing under ekstraksjon på ASE

For sjekk av metoden ved ekstraksjon på ASE ble kontrollprøven SRM194 ekstrahert. Til denne prøven ble pakkemetode 2 benyttet. (se Kapittel 9.4.1). Ved gode resultater av sediment prøven, ble pakkemetoden testet med mikrosilika. Pakkemetode 2 inneholdt florasil som ble benyttet som opprenningsmaterialet. Etersom prøver av mikrosilika er et fint og tørt pulver var det ikke nødvendig med kiselgur i cellen. Etter endt ekstraksjon på ASE var prøveekstraktene grumsete, slik at en videre opprensing med MIPs kolonne ble benyttet.

Resultatet av pakkemetode 2, som ble opprenset i ASE-celle under ekstraksjon og med MIPs kolonne resulterte med betydelig dårligere gjenvinning, enn pakkemetode 1 opprenset med MIPs kolonne (se Kapittel 10.5.1). Ved at pakkemetode 2 ikke ga bedre utbytte av opprensing ble det konkluderte med å benytte pakkemetoden 1 i resterende forsøk.

11.5.3 Mulig tap av komponenter under inndamping

Det var ca. 500mL prøve etter ekstraksjon med Soxhlet, slik at under inndamping med TurboVap 500, ble halve prøven inndampet til 0,5mL før resterende prøve ble tilsatt og dampet inn til samme volum. Dette kan ha påvirket gjenvinning av mer flyktige 2-4 ringede PAH, samt naftalen har vist at komponenten forsvinner lett under prøvehåndteringstrinnene.

11.6 Kvalitetssikring

11.6.1 Kontaminering i blindprøver

Generelt var det lav konsentrasjon av komponentene i blindprøvene. Det var stor variasjon i konsentrasjon til PAH komponentene naftalen, fenantren, fluoranten, pyren, fluoren og acenaftylen i alle blindprøvene, men visse komponenter ga høyere utslag enn andre. Blindprøver ekstrahert på Soxhlet og rensset med PAH-silika kolonne hadde høye konsentrasjoner av naftalen og fenantren. Blindprøver ekstrahert med ASE og rensset med PAH-silika kolonne hadde høye verdier av fenantren, og blindprøver ekstrahert med ASE og rensset med MIPs kolonne hadde høye verdier av naftalen og fenantren. Det konkluderes med at det var generelt lav kontaminering, med unntak til nevnte komponenter.

11.6.2 SRM1944

Resultatet til SRM1944 prøven viser at verdiene var innenfor kontrollgrensen, som er basert på mange analyser av prøven over tid. Dette konkluderes med at metoden er gunstig for sediment prøver basert på metoden vi brukte.

12 KONKLUSJON OG VIDERE ARBEID

Resultatet fra prøver ekstrahert med soxhlet viste at ekstraksjonsmetoden var gunstig og repeterbar. Det var litt metning av prøver av høy konsentrasjon, men generelt lavt standard avviket, høy gjenvinning og lav % avvik for tre paralleller ekstrahert med soxhlet som tyder på at denne metoden er en bra og effektiv referanse metode.

For prøver ekstrahert med ASE viste det seg at de 5-6 ringede PAH ble gjenværende i matriksen, og endringer i parametere ga lite forbedring. Prøven med lavest konsentrasjons nivå ga dårligst gjenvinning, mens prøven med høyest konsentrasjons nivå ga best gjenvinning. Dette var ikke forventet og kan tyde på variasjoner i matriksen fordi ekstraksjonen ble utført ved like ekstraksjons betingelser.

Ved å sammenligne gjenvinning for ASE og soxhlet kan det konkluderes at soxhlet ekstraksjon egnet seg bedre for analyser av PAH i mikrosilika enn ekstraksjon på ASE, i denne oppgaven. Det må tas i betraktning at det ble kjørt få paralleller ved optimaliseringen av ASE og derfor kreves det flere paralleller for å bekrefte denne påstanden.

Resultater fra opprensing med PAH-silika kolonne ga bedre resultater enn det tilsvarende opprensing med bruk av en MIPs kolonne. Men det må understrekes at i denne oppgaven ble AFFINIMIP® PAH benyttet, som er designet for en annen type matriks, og det kan være med på å forklare de dårligere resultater av MIPs opprensing på prøver av mikrosilika..

12.1 Videre arbeid

Det neste steget for optimalisering av ASE er å kjøre flere type prøver av mikrosilika siden en av prøvene ga lavt utbytte og dårlig gjenvinning. Man kunne også prøvd en annen type matriks, som eksempel sedimenter, for å se på hvordan 5-6 ringede PAH oppfører seg. Videre optimalisering av ekstraksjon på ASE så anbefaler det å teste pakking av celler med andre adsorbenter som aktivert silika eller deaktivert silika for å sjekke ut effektiviteten av opprensingen.

På selve ASE må det sjekkes for lekkasjer, og finne ut et godt system så oppsamlingsplassene ikke blir overfyllet, enten ved bruk av mindre ekstraksjons celler eller større oppsamlingsplass.

Det burde også bli laget forskjellige mapper for forskjellige prøve matrikser, med de spesifikke ekstraksjons parameteren på Chromeleon 7 for å lettere velge ut program basert på prøve.

For å vurdere opprensning med MIPs kolonne så anbefales det å bruke MIPs-kolonner for fast matriks, da denne kan være bedre for prøver av mikrosilika. Alternativt så kan andre typer matriks eksempel olje/fett-like prøver opparbeides på MIPs kolonnene for å teste gjenvinning.

REFERANSELISTE

- Affinisep. (2022). *PAHS Ready-to-use kits for the analysis of PAHS from fatty food such as oil*. Affinisep. Retrieved 12. mai from <https://www.affinisep.com/products/ready-to-use-kits-spe-and-mips/pahs/>
- Alvarez-Rivera, G., Bueno, M., Ballesteros-Vivas, D., Mendiola, J. A., & Ibañez, E. (2020). Chapter 13 - Pressurized Liquid Extraction. In C. F. Poole (Ed.), *Liquid-Phase Extraction* (pp. 375-398). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816911-7.00013-X>
- BelBruno, J. J. (2019). Molecularly Imprinted Polymers. *Chemical Reviews*, 119(1), 94-119. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00171>
- Benedé, J. B., Chisvert, A., J., G., Váñez-Gomis, V., Azorín, C., Schettino, L., Peris-Pastor, G., & A., S. (2021). Moving Toward Green and Sustainable Sample Preparation. *LCGC north america*, 39(s11), 18-20. <https://www.chromatographyonline.com/view/moving-toward-green-and-sustainable-sample-preparation>
- Bhardwaj, V., & Mirliss, M. J. (2005). Diatomaceous Earth Filtration for drinking Water. *Tech Brief*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/047147844X.mw1818>
- Construction, M.-H. D. o. A. a. (n.d). *Ottawa sand*. <https://encyclopedia2.thefreedictionary.com/Ottawa+sand>
- Drotikova, T., Ali, A. M., Halse, A. K., Reinardy, H. C., & Kallenborn, R. (2020). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and oxy- and nitro-PAHs in ambient air of the Arctic town Longyearbyen, Svalbard. *Atmos. Chem. Phys.*, 20(16), 9997-10014. <https://doi.org/10.5194/acp-20-9997-2020>
- Ezzell, J. (2014). Investigations of Thermal Degradation During Accelerated Solvent Extraction (ASE). *Thermo Scientific, Technical note 206*. <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/TN-206-Investigations-Thermal-Degradation-TN71096-EN.pdf>
- Folkehelseinstituttet. (2018). *PAH*. FHI. <https://www.fhi.no/nettpub/luftkvalitet/temakapitler/pah/#referanser>
- Forurensningsforskriften. (2004). *Forskrift om begrensning av forurensning*. Lovdata Retrieved from <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2004-06-01-931/kap7#kap7>
- Harris D.C, L. C. A. (2020). *Quantitative Chemical Analysis* (10th ed.). Macmillian learning.
- Haakonsen, G., Rypdal, K., & Tornsjø, B. (1998). Utslippsfaktorer for lokale utlipp. *Statistiske sentralbyrå* https://www.ssb.no/a/histstat/not/not_9829.pdf
- Jameson, C. W. (2019). Polycyclic aromatic hydrocarbons and associated occupational exposures. In (pp. 59-62).
- Jinshui, C., Guifeng, D., Lina, L., & Kettle, A. (2013). Accelerated Solvent Extraction — GC-MS Analysis and Detection of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil. *Thermo Fisher Scientific*. https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/115025-AU313-ASE-Hydrocarbons-Soil-AU70846_E.pdf
- Lewis, R., & Fidjestøl, P. (2019). 11 - Microsilica as an Addition. In P. C. Hewlett & M. Liska (Eds.), *Lea's Chemistry of Cement and Concrete (Fifth Edition)* (pp. 509-535). Butterworth-Heinemann. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100773-0.00011-3>
- Raynie, E. D., & Watson, W. D. (2014). *Understanding and improving solid-phase Extraction*. LCGC North America. <https://www.chromatographyonline.com/view/understanding-and-improving-solid-phase-extraction-1>

- Regjeringen. (2020). *Reach/XVII/PAH i granulater og flak*. Regjeringen. <https://www.regjeringen.no/no/sub/eos-notatbasen/notatene/2020/nov/reachxviipah-i-granulater-og-flak/id2787593/>
- Rønning, P. (2019a). Gasskromatografi. In: Oslomet.instructure.
- Rønning, P. (2019b). Innføring i massespektrometri. In OsloMet (Ed.), *Oslomet.instructure*.
- Sigma-Aldrich. (2014). Analysis of Compounds in Fatty Matrices. In: Supelco.
- Superior. (2018). *What is microsilica?* Henan Superior Abrasives. <http://www.microsilica-fume.com/what-is-microsilica.html>
- UNECE. (2004). *Handbook for the 1997 Convention on long-range transboundary air pollution and its protocols*. https://unece.org/sites/default/files/2021-06/1512881_E_ECE_EBAIR_131.pdf
- The 1998 Protocol on Persistent Organic Pollutants, Including the Amendments Adopted by the Parties on 18 December 2009 (2010). <https://unece.org/sites/default/files/2021-10/ece.eb.air.104.e.pdf>
- UNECE. (2014). *Protocol to the 1979 convention on lon-range transboundary air pollution on persistent organic pollutants*. <https://unece.org/sites/default/files/2021-10/1998.POPs.e.pdf>
- Zygler, A., Słomińska, M., & Namieśnik, J. (2012). 2.04 - Soxhlet Extraction and New Developments Such as Soxtec. In J. Pawliszyn (Ed.), *Comprehensive Sampling and Sample Preparation* (pp. 65-82). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381373-2.00037-5>

VEDLEGGLISTE

Vedlegg A: Rådata av Soxhlet ekstraksjon	s.52
Vedlegg B: Rådata fra endring av parameter som temperatur, statisk ekstraksjonstid og løsemiddel sammensetting	s.55
Vedlegg C: Rådata for to ulike pakkemetoder i ASE-celler	s.58
Vedlegg D: Rådata av blindprøver	s.59
Vedlegg E: Rådata av spike-løsninger	s.62
Vedlegg F: Komplikasjoner under prøveoppbeidelse	s.64
Vedlegg G: Utstyr og absorbenter	s.66
Vedlegg I: Skjerm bilde av programvaren Chromeleon 7	s.67

Vedlegg A: Rådata av Soxhlet ekstraksjon

Resultat fra egen analyse og analyse gjort av NILU ansatte.

Vedlegg A.1: Rådata innhentet fra Soxhlet ekstraksjonen av prøve med Lav konsentrasjon. Sammenlikner tidligere arbeid gjort av ingeniører med arbeid gjort av studentene selv. Viser konsentrasjon av de forskjellige komponentene og gjenvinningen av komponentene. Tabellen viser også sum 16 EPA PAH, Sum possibly carcinogenic, sum borneff 6 og sum 4 PAH.

Lav konsentrasjon	Gjort av lab arbeidere tidligere		PAH-silika		PAH-silika		MIPs		MIPs	
Komponent	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %
Naftalen	36	36	42,1	22	36,6	30	45,3	30	71,7	17
Acenaftylen	3,38		3,99		3,37		3,95		4,3	
Acenaften	1,69	49	3,88	49	3,88	41	2	36	3,17	21
Fluoren	6,55		16,5		16,5		6,8		11,3	
Fenantren	129		131		132		150		260	
Antracen	3,27	49	3,55	33	3,62	44	4,53	47	6,38	25
Fluoranten	149		165		160		178		210	
Pyren	69,6	73	74,2	47	74,7	64	86,1	64	105	51
Benz(a)antracen	22,7	85	27,0	55	25,9	70	34,3	53	45,8	42
Krysen	51		58,8		60,2		87		125	
Benzo(b)fluoranten	54,2	76	68,1	51	64,1	71	91,2	49	126	44
Benzo(k)fluoranten	12,1		15,8		12,2		20,8		28,2	
Benzo(a)pyren	2,85		3,83		3,24		4,03		4,77	
Indeno(1,2,3-cd)pyren	7,95		8,38		7,72		13,3		17,9	
DiBenzo(ah)antracen	1,51		0,934		1,13		2,68		3,58	
Benzo(ghi)perylene	10,9	62	13,3	39	11,9	51	21,7	34	29,2	29
Sum 16 EPA PAH	562		636		617		752		1 052	
Sum possibly carcinogenic	101		124		114		166		226	
Sum Borneff 6	237		274		259		329		416	
Sum 4 PAH	131		158		153		217		302	

Vedlegg A.2: Rådata innhentet fra Soxhlet ekstraksjonen av prøve med medium konsentrasjon. Sammenlikner tidligere arbeid gjort av ingeniører med arbeid gjort av studentene selv. Viser konsentrasjon av de forskjellige komponentene og gjenvinningen av komponenter.

Medium konsentrasjon	Gjort av labarbeidere tidligere		PAH-silika		PAH-silika		MIPs	
Komponent	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %
Naftalen	45,1	30	47,5	12	45,2	24	58,7	19
Acenaftylen	6,72		7,35		5,29		6,97	
Acenaften	1,8	38	5,54	18	2,38	32	6,98	24
Fluoren	20,8		18,2		13,9		18,3	
Fenantren	386		328		414		446	
Antracen	5,54	45	6,4	26	6,72	26	7,38	33
Fluoranten	407		418		390		423	
Pyren	84,1	74	85,9	45	82,9	53	90,2	58
Benz(a)antracen	55,7	65	53,8	55	50,7	54	52,4	46
Krysen	189		173		171		186	
Benzo(b)fluoranten	178	68	166	57	160	64	166	48
Benzo(k)fluoranten	49,8		47,8		43,5		50,7	
Benzo(a)pyren	5,62		6,71		5		4,83	
Indeno(1,2,3-cd)pyren	48,6		45,8		46,8		46,9	
Dibenzo(ah)antracen	9,43		8,13		8,6		9,23	
Benzo(ghi)perylene	37,9	58	37,7	45	38,9	57	41,7	38
Sum 16 EPA PAH	1 531		1 456		1 485		1 615	
Sum possibly carcinogenic	347		328		315		330	
Sum Borneff 6	727		722		684		733	
Sum 4 PAH	428		400		387		409	

Vedlegg A.3: Rådata innhentet fra Soxhlet ekstraksjonen av prøve med høy konsentrasjon. Sammenlikner tidligere arbeid gjort av ingeniører med arbeid gjort av studentene selv. Viser konsentrasjon av de forskjellige komponentene og gjenvinningen av komponenter.

Høy konsentrasjon Komponent	Gjort av ingeniørene tidligere		Student arbeid		Student arbeid	
	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %
Naftalen	45,1	30	47,5	12	45,2	24
Acenaftylen	6,72		7,35		5,29	
Acenaften	1,8	38	5,54	18	2,38	32
Fluoren	20,8		18,2		13,9	
Fenantren	386		328		414	
Antracen	5,54	45	6,4	26	6,72	26
Fluoranten	407		418		390	
Pyren	84,1	74	85,9	45	82,9	53
Benz(a)antracen	55,7	65	53,8	55	50,7	54
Krysen	189		173		171	
Benzo(b)fluoranten	178	68	166	57	160	64
Benzo(k)fluoranten	49,8		47,8		43,5	
Benzo(a)pyren	5,62		6,71		5	
Indeno(1,2,3-cd)pyren	48,6		45,8		46,8	
Dibenzo(ah)antracen	9,43		8,13		8,6	
Benzo(ghi)perylene	37,9	58	37,7	45	38,9	57
Sum 16 EPA PAH	1 531		1 456		1 485	
Sum possibly carcinogenic	347		328		315	
Sum Borneff 6	727		722		684	
Sum 4 PAH	428		400		387	

Vedlegg B: Rådata fra endring av parameter som temperatur, statisk ekstraksjonstid og løsemiddel sammensetting

Resultater fra optimalisering av parametere.

Vedlegg B.1: Rådata av PAH ekstraksjon på ASE og rensed med PAH-silika kolonne. Prøven analysert er av lav konsentrasjon og tabellen viser konsentrasjon i ng/g og gjenvinning av de ulike komponentene av PAH ettersom temperatur øker. Man kan se at ved 160°C så er summen av PAH størst.

Lav konsentrasjon Komponent	80°C		100°C		120°C		140°C		160°C		180°C	
	Konsentrasj on ng/g	Gjenvinn ing %	Konsentrasj on ng/g	Gjenvinn ing %	Konsentrasj on ng/g	Gjenvinn ing %	Konsentrasj on ng/g	Gjenvinn ing %	Konsentrasj on ng/g	Gjenvinn ing %	Konsentrasj on ng/g	Gjenvinn ing %
Naftalen	33,9	33	37,9	36	42,9	40	49,5	35	63,2	38	58,6	26
Acenaftylen	3,45		4,18		3,9		6,7		8,27		9,54	
Acenaften	1,2	45	1,21	44	1,23	49	1,28	44	1,44	48	1,56	38
Fluoren	3,61		3,62		4,04		3,54		3,83		4,19	
Fenantren	120		124		157		183		208		211	
Antracen	3,18	39	4,04	42	5,54	43	7,74	41	9,87	42	10,8	40
Fluoranten	173		186		212		233		252		269	
Pyren	76,3	48	83,1	48	92,5	51	105	52	113	52	119	48
Benz(a)antracen	66,8	18	73,3	19	83,2	28	128	17	128	19	149	15
Krysen	145		154		195		284		268		310	
Benzo(b)fluorante n	378	7	388	8	345	16	789	6	680	7	698	6
Benzo(k)fluorante n	80,8		83,7		76,6		177		151		158	
Benzo(a)pyren	18,6		22,6		15,9		46,7		42,3		44,5	
Indeno(1,2,3- cd)pyren	343		579		322		350		883		306	
DiBenzo(ah)antra cen	52,5		87,5		54,3		74,6		151		66,4	
Benzo(ghi)peryle n	484	1	819	1	455	2	447	1	1120	1	383	2
Sum 16 EPA PAH	1 983		2 651		2 066		2 886		4 083		2 799	
Sum possibly carcinogenic	940		1 234		897		1 565		2 035		1 422	
Sum Borneff 6	1 477		2 078		1 427		2 043		3 128		1 859	
Sum 4 PAH	608		638		639		1 248		1 118		1 202	

Vedlegg B.2: Viser PAH ekstraksjon på ASE og rensed med PAH-silika kolonne. Prøven analysert er av lav konsentrasjon og tabellen viser konsentrasjon i ng/g og gjenvinning i % av de ulike komponentene av PAH ved ekstraksjon av forskjellig løsemiddel. Løsemiddel brukt var Aceton, Heksan og Sykloheksan ved forskjellige forhold fra 33% til 66% av hvert løsemiddel.

Lav konsentrasjon Komponent	Aceton/heksan 3:1		Aceton/heksan 1:1		Aceton/heksan 1:3		Aceton/sykloheksan 3:1		Aceton/sykloheksan 1:1		Aceton/sykloheksan 1:3	
	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinnin g %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinnin g %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinnin g %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinnin g %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinnin g %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinnin g %
Naftalen	37,2	29	34,4	27	37,3	20	42,3	26	40,9	27	33,5	32
Acenaftylen	4,24		4,58		4,09		4,62		5,05		4,19	
Acenaften	1,74	40	1,36	38	1,39	27	1,33	36	1,26	34	1,03	43
Fluoren	4,4		3,65		3,78		3,68		3,34		2,59	
Fenantren	153		129		145		149		152		127	
Antracen	6,83	33	5,13	37	6,11	23	5,87	31	5,76	29	4,39	34
Fluoranten	211		197		202		193		219		194	
Pyren	94,6	39	87	39	92,6	28	84,7	39	96,3	34	84,4	38
Benz(a)antracen	123	9	88,4	13	115	6	61,6	17	87,1	13	84,9	10
Krysen	264		193		234		136		190		187	
Benzo(b)fluoranten	1200	2	474	5	969	1	268	9	444	5	436	4
Benzo(k)fluoranten	264		107		217		60,1		98		98,5	
Benzo(a)pyren	60,4		26,8		54,2		14,2		25,5		26,3	
Indeno(1,2,3- cd)pyren	686		240		0,0329		183		414		225	
DiBenzo(ah)antracene	109		54		0,0832		33,0		70,0		50,9	
Benzo(ghi)perylene	899	0	313	1	0,0616	0	238	1	549	1	294	1
Sum 16 EPA PAH	4 118		1 958		2 082		1 478		2 401		1 854	
Sum possibly carcinogenic	2 442		990		1 355		620		1 139		922	
Sum Borneff 6	3 320		1 358		1 442		956		1 750		1 274	
Sum 4 PAH	1 647		782		1 372		480		747		734	

Vedlegg B.3: Viser PAH ekstraksjon på ASE og renses med PAH-silika kolonne. Prøven analysert er av høy konsentrasjon og tabellen viser konsentrasjon i ng/g og gjenvinning i % av de ulike komponentene av PAH ekstrahert ved forskjellige statiske ekstraksjons tider. Prøven kjørt med 20min statisk ekstraksjons tid har høyest total PAH konsentrasjon og bra gjenvinning.

Høy konsentrasjon Komponent	10min		20min		30min		40min	
	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %
Naftalen	112	3	107	38	123	34	70,1	18
Acenaftylen	13,5		14,7		15,9		11,2	
Acenaften	5,21	48	5,45	49	5,81	45	6,35	23
Fluoren	23,2		24,7		26,6		25,8	
Fenantren	629		645		659		459	
Antracen	25,4	52	28,7	53	28,5	54	12,8	41
Fluoranten	995		1020		1060		822	
Pyren	453	61	473	60	470	58	395	51
Benz(a)antracen	387	42	474	41	404	45	315	34
Krysen	686		790		710		544	
Benzo(b)fluoranten	642	37	790	37	635	38	544	29
Benzo(k)fluoranten	171		225		170		139	
Benzo(a)pyren	94		131		94,7		76,4	
Indeno(1,2,3-cd)pyren	153		188		118		158	
DiBenzo(ah)antracen	40,1		45,8		31,1		48,9	
Benzo(ghi)perylene	164	25	196	30	130	33	146	11

Vedlegg C: Rådata for to ulike pakkemetoder i ASE-celler

Resultater fra ASE pakke metode testing; pakkemetode 1 med kun Ottowasand og prøvemateriale, og pakkemetode 2 med florosil, DE sand, Ottowasand og prøvemateriale. Prøvene ble ekstrahert på ASE og opparbeidet med MIPs kolonner.

Vedlegg C.1: Rådata av prøver pakket i pakkemetode 1 og 2. Prøvene er ekstrahert med ASE og renset meg MIPs kolonne. Viser konsentrasjon gitt i ng/g og gjenvinning gitt i % for komponenten i prøvene.

Komponent	Pakkemetode 1		Pakkemetode 1		Pakkemetode 2		Pakkemetode 2	
	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %
Naftalen	111	24	120	22	113	10	150	10
Acenaftylen	25,7		26,4		26,6		24,1	
Acenaften	7,91	27	7,06	26	7,24	12	6,06	12
Fluoren	18,7		18,5		20,3		20,7	
Fenantren	423		420		417		380	
Antracen	14,6	52	14,8	54	13,7	37	11,7	40
Fluoranten	518		521		580		488	
Pyren	102	56	104	57	102	35	91,6	51
Benz(a)antracen	73,7	69	76	76	73,5	42	63,4	72
Krysen	222		225		296		259	
Benzo(b)fluoranten	225	56	234	60	237	37	223	54
Benzo(k)fluoranten	62,5		64,5		63,5		58,2	
Benzo(a)pyren	9,52		9,68		10,8		9,04	
Indeno(1,2,3-cd)pyren	72,3		71,4		86		82,3	
Dibenzo(ah)antracen	13,9		13,6		17		16,2	
Benzo(ghi)perylen	53,6	31	52,2	32	65,5	20	60,6	25
Sum 16 EPA PAH 1	1 953		1 978		2 129		1 944	
Sum possibly carcinogenic 2	457		469		488		452	
Sum Borneff 6 3	941		953		1 043		921	
Sum 4 PAH 4	530		545		617		554	

Vedlegg D: Rådata av blindprøver

Resultater av alle blindprøver analysert.

Vedlegg D.1: Rådata av blindprøver ekstrahert med Soxhlet og rensset med PAH-silika kolonne. Viser konsentrasjon gitt i ng/g og gjenvinning gitt i % for komponenten i prøvene.

Komponent	Blind 1		Blind 2		Blind 3		Blind 4		Blind 5**	
	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning g %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning g %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning g %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning g %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning g %
Naftalen	14,1	16	10,2	29	10,1	38	11,8	32	72	21
Acenaftylen	0,391		0,679		0,649		0,797		0,797	
Acenaften	0,955	32	0,741	38	0,646	45	2,4	38	2,4	28
Fluoren	6,06		5,29		3,49		10,8*		10,8*	
Fenantren	42,3*		52,1*		48*		44,3*		38,4*	
Antracen	2,02	38	0,659	46	0,812	56	1,74	39	1,58	63
Fluoranten	12,7		10,4*		8,64		18,4*		10,6*	
Pyren	8,34	55	3,88	59	3,26	72	11*	49	6,22	78
Benz(a)antracen	1,06	75	0,234	70	0,794	84	1,21	56	0,796	49
Krysen	1,81		0,802		0,074		2,05		1,42	
Benzo(b)fluoranten	0,7	79	0,453	77	0,308	84	0,893	61	0,893	47
Benzo(k)fluoranten	0,182		0,0947		0,077		0,339		0,209	
Benzo(a)pyren	0,173		0,089		0,085		0,24		0,138	
Indeno(1,2,3-cd)pyren	0,164		0,141		0,232		0,181		0,298	
Dibenzo(ah)antracen	0,212		0,163		0,252		0,416		0,416	
Benzo(ghi)perylene	0,142	68	0,124	74	0,205	64	0,308	61	0,308	43
Sum 16 EPA PAH 1	91,3		86		77,6		107		147	
Sum possibly carcinogenic 2	2,49		1,17		1,75		3,28		2,75	
Sum Borneff 6 3	14,1		11,3		9,55		20,4		12,4	
Sum 4 PAH 4	3,74		1,58		1,26		4,39		3,25	

*Høy konsentrasjon

**Blind 5 er opprenset med MIPs kolonne istedenfor PAH-silika kolonne.

Vedlegg D.2: Rådata av blindprøver med tilhørende ASE metode og hovedparameter endret. Blindprøvene er ekstrahert med ASE og renset med PAH-silika kolonne. Viser konsentrasjon gitt i ng/g og gjenvinning gitt i % for komponenten i prøvene. *Høy konsentrasjon

Komponent	Utgangsmetode		Metode 1: Temperatur 100 °C		Metode 2: Løsemiddel Aceton/heksan (3:1)		Metode 2: Løsemiddel Aceton/heksan (1:3)		Metode 3: Løsemiddel Aceton/sykloheksan (1:3)		Metode 4: Temperatur 180°C		Metode 6: statisk tid 10min	
	Konsentrasj on ng/g	Gjenvinni ng %	Konsentrasj on ng/g	Gjenvinni ng %	Konsentrasj on ng/g	Gjenvinni ng %	Konsentrasj on ng/g	Gjenvinni ng %	Konsentrasjo n ng/g	Gjenvinnin g %	Konsentrasj on ng/g	Gjenvinni ng %	Konsentrasj on ng/g	Gjenvinni ng %
Naftalen	23,6	42	14,9	39	2,99	28	11,8	27	3,16	32	11,8	34	11,8	37
Acenaftylene	0,209		0,199		0,171		0,797		0,162		0,797		0,797	
Acenaften	0,308	52	0,602	50	0,364	35	2,4	38	0,422	40	2,4	42	2,4	50
Fluoren	2,19		2,79		1,64		10,8		1,36		10,8		10,8	
Fenantren	7,26		8,86		15,8*		38,4*		16,2		38,4*		38,4*	
Antracen	7,02	60	0,125	60	1,85	45	2,59	47	1,72	50	1,58	32	1,58	58
Fluoranten	2,69		2,73		9,2		14,8		10,3		10,6		10,6	
Pyren	1,76	70	1,73	68	4,89	53	7,73	59	5,28	59	6,22	55	6,22	72
Benz(a)antracen	0,105	80	0,377	86	0,702	64	1,25	66	0,682	70	0,796	58	0,796	48
Krysen	0,39		0,923		0,916		1,57		0,976		2,04		1,18	
Benzo(b)fluoranten	0,275	77	0,776	78	0,38	63	0,893	63	0,354	67	1,46	61	0,893	50
Benzo(k)fluoranten	0,0708		0,22		0,12		0,197		0,111		0,37		0,197	
Benzo(a)pyren	0,039		0,058		0,028		0,138		0,038		0,156		0,138	
Indeno(1,2,3-cd)pyren	0,058		0,167		0,051		0,164		0,046		0,233		0,164	
Dibenzo(ah)antracen	0,064		0,182		0,058		0,416		0,071		0,416		0,416	
Benzo(ghi)perylene	0,11	69	0,117	59	0,044	62	0,308	59	0,04	65	0,308	59	0,308	45
Sum 16 EPA PAH 1	46,1		34,8		39,2		94,3		40,9		88,4		86,7	
Sum possibly carcinogenic 2	0,61		1,78		1,34		3,06		1,3		3,43		2,6	
Sum Borneff 6 3	3,24		4,07		9,82		16,5		10,9		13,1		12,3	
Sum 4 PAH 4	0,81		2,13		2,03		3,85		2,05		4,45		3,01	

Vedlegg D.3: Rådata av blindprøver med tilhørende ASE-metode og hovedsendring. Blindprøvene er ekstrahert med ASE og rensert med MIPS kolonne. Viser konsentrasjon gitt i ng/g og gjenvinning gitt i % for komponenten i prøvene.

	Metode 5: Pakkemetode 1		Metode 5: Pakkemetode 2		Metode 6: statisk tid 10 min	
	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %
Naftalen	96,9	10	53,2	25	55,8	26
Acenaftylen	1,12		3,21		2	
Acenaften	2,4	12	2,45	26	2,4	31
Fluoren	10,8		10,8		10,8	
Fenantren	38,4*		38,4*		38,4*	
Antracen	1,85	32	1,58	51	1,58	67
Fluoranten	10,6		10,6		10,6	
Pyren	6,22	38	6,22	57	6,22	97
Benz(a)antracen	0,796	42	0,796	74	0,796	104
Krysen	1,18		2,02		1,18	
Benzo(b)fluoranten	0,893	43	1,52	63	0,893	101
Benzo(k)fluoranten	0,3		0,895		0,284	
Benzo(a)pyren	0,138		0,263		0,138	
Indeno(1,2,3-cd)pyren	0,236		0,548		0,216	
Dibenzo(ah)antracen	0,416		0,416		0,416	
Benzo(ghi)perylene	0,308	47	0,56	52	0,308	98
Sum 16 EPA PAH 1	173		133		132	
Sum possibly carcinogenic 2	2,78		4,44		2,74	
Sum Borneff 6 3	12,5		14,4		12,4	
Sum 4 PAH 4	3,01		4,6		3,01	

*Høy konsentrasjon

Vedlegg E: Rådata av spike-løsninger

Resultat av analysen.

Vedlegg E.1: Rådata av Spikeløsninger renset med PAH-silika kolonne. Tabellen viser konsentrasjon gitt i ng/g og gjenvinning gitt i % for komponentene i tre paralleller.

	PAH-silika ₁		PAH-silika ₂		PAH-silika ₃	
	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %
Naftalen	137	55	155	62	155	62
Acenaftylen	180	60	204	68	204	68
Acenaften	196	67	207	71	207	71
Fluoren	213	69	224	72	224	72
Fenantren	230	80	241	83	241	83
Antracen	224	76	237	81	237	81
Fluoranten	228	79	244	84	244	84
Pyren	236	79	250	84	250	84
Benz(a)antracen	248	81	255	83	255	83
Krysen	262	84	245	79	245	79
Benzo(b)fluoranten	264	84	274	87	274	87
Benzo(k)fluoranten	249	74	284	85	284	85
Benzo(a)pyren	242	75	269	83	269	83
Indeno(1,2,3-cd)pyren	248	76	270	83	270	83
DiBenzo(ah)antracen	246	75	269	82	269	82
Benzo(ghi)perylene	242	80	258	85	258	85
Sum 16 EPA PAH 1	3 645		3 886		3 886	
Sum possibly carcinogenic 2	1 497		1 621		1 621	
Sum Borneff 6 3	1 473		1 599		1 599	
Sum 4 PAH 4	1 016		1 043		1 043	

Vedlegg E.2: Rådata av Spikeløsninger rensset med MIPs kolonne. Tabellen viser konsentrasjon gitt i ng/g og gjenvinning gitt i % for komponentene i tre paralleller og en kontrollprøve.

	MIPs ₁		MIPs ₂		MIPs ₃		Kontrollprøven	
	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %	Konsentrasjon ng/g	Gjenvinning %
Naftalen	34,6	14	32	13	27	11	251	97
Acenaftylen	74	25	67	22	49	16	302	
Acenaften	53	18	47	16	33	11	291	98
Fluoren	97	31	90	29	65	21	309	
Fenantren	179	62	169	58	133	46	289	
Antracen	161	55	148	50	113	38	294	110
Fluoranten	232	80	240	83	215	74	290	
Pyren	231	78	233	78	206	69	297	106
Benz(a)antracen	252	82	264	86	243	79	307	95
Krysen	262	84	249	80	256	82	312	
Benzo(b)fluoranten	285	90	302	96	278	88	315	90
Benzo(k)fluoranten	270	80	290	86	265	79	336	
Benzo(a)pyren	272	84	290	90	264	82	323	
Indeno(1,2,3-cd)pyren	261	80	288	89	260	80	325	
DiBenzo(ah)antracen	281	86	307	94	273	83	327	
Benzo(ghi)perylene	256	84	274	90	252	83	304	92
Sum 16 EPA PAH 1	3200		3289		2932		4872	
Sum possibly carcinogenic 2	1621		1741		1583		1933	
Sum Borneff 6 3	1576		1684		1534		1893	
Sum 4 PAH 4	1071		1105		1041		1257	

Vedlegg F: Komplikasjoner under prøveopparbeidelse

Vedlegg F.1: Feilkoder som oppsto under ekstraksjon med ASE

Ved ekstraksjon med ASE oppstår det gjentatte tekniske feil, slik at ekstraksjonen ikke kjørte automatisert uten tilsyn som ønskelig. Under ekstraksjon kom følgende feilkoder opp:

Feilkode 16 «hydrocarbon vapor alarm» indikerte en mulig lekkasje fra cellen eller andre komponenter. Denne feilkoden ble fikset ved å enten sjekke etter lekkasjer i pumpe tilbakeslagsventiler, pumpekoblinger, pumpetetning mellom hodet og pumpesynderen, løsemiddelledningsfittings, transduserbeslag og trykkavlastningsventilbeslag. Det ble også sjekket løsemiddellekkasjer fra avløpsrørene som er koblet til løsemiddelreservoarer og statisk ventil. Siden denne feilmeldingen kom opp så ofte og det ikke var tydelige tegn til lekkasjer er det anbefalt å deaktivere sensoren eller erstatte sensoren.

Feilkode 2 «system airpressure low» betydde at det ikke kom nitrogengass inn i systemet på ASE-en, denne feilmeldingen ble unngått ved å skru på nitrogengass ventilen. Ved feilkode 2 og 16 var det kun å starte opp ekstraksjonen igjen. Ved at ekstraksjonene ble satt på i slutten av dagen har systemet mest sannsynlig stabilisert seg igjen, før ekstraksjonen ble satt på igjen dagen derpå.

Ved feilkode 64 «Collection vessel full» måtte oppsamlingsflasken byttes. Eneste måten å forhindre denne feilen på er å redusere løsemiddelmengden benyttet under forsøket, ved å redusere antatt sykluser og rense mengde, samt. Pakke celler så tett som mulig. Området på oppsamlingsflasken hvor sensoren detektere full flaske kan være dekket av en merkelapp, slik at det også er vesentlig å være oppmerksom på plasseringen av merkelappen, ca. 1/3 ned fra toppen.

Vedlegg F.2: Komplikasjoner under inndamping

Grunnet feilinformasjon ble første parallell for prøve på lavt konsentrasjonsnivå og tilhørende blindprøve ekstrahert på Soxhlet og rensset med PAH-silika kolonne, dampet til 0,5mL under inndamping med nitrogengass, istedenfor 0,1mL. Denne feilen ga ingen tydelige konsekvenser i resultatet.

Vedlegg F.3: Komplikasjoner under PAH-silika opprensing

Under opprensing av de første parallellene av middels og høy nivåkonsentrasjons prøvene etter ekstraksjon med Soxhlet, ble prøvene rensset i PAH-silika kolonne med aceton/heksan (1:1) ved feil. Videre opprensing med PAH-silika kolonne med riktig løsemiddel, sykloheksan ble gjort for å rette feilen, og ingen tydelige konsekvenser ble oppdaget i resultatet av prøvene (se A. og Vedlegg A.).

Vedlegg G: Utstyr og absorbenter

Vedlegg G.1: Absorbenter

Absorbenter som florisil, silika og Ottawasand glødes i minst 8 timer.

For deaktivering av silika ble 92g silika veid inn i en erlenmeyerkolbe og 8g MQ-vann ble tilsatt. Blandingen ble ristet godt i 1 min, og jevnlig ristet den første timen.

Vedlegg G.2: Utstyr

Diverse glassutstyr ble brent i 12t og rense alt utstyr med løsemiddelet benyttet i prøveopparbeidelsen.

Vedlegg G.2: Rensing av ASE celler

Et beger med ASE-celler ble fylt med aceton og satt i ultralydbad i rom temperatur i 15min. Aceton ble fjernet og begeret ble fylt med heksan og prosessen gjentatt.

Grunnet mangel på heksan ved slutten av det praktiske arbeidet ble celler renset med aceton og deretter med pentan. Pentan har like egenskaper og dampes fort som gjør kjemikalie gunstig som erstatning av heksan under rensing av cellene.

Vedlegg I: Skjermbilde av programvaren Chromeleon 7

Eksempel på hvordan programvaren Chromeleon 7 så ut, bilde eksempel på hvordan man skal sette opp et program og hvordan instrument siden på programmet ser ut.

#	Name	Cell	Val	Instrument Method	Status	Extract Time	Weight	Comment
1	220422 LABBLIND	1	1	13.2022 25%Heksaan	Finished	3/1/2022 1:23:51 PM +	1.0000	
2	220166_8	2	2	13.2022 25%Heksaan	Finished	3/1/2022 1:49:09 PM +	1.0000	
3	220166_9	3	3	13.2022 50%Heksaan	Finished	3/1/2022 2:13:46 PM +	1.0000	
4	220166_10	4	4	13.2022 75%Heksaan	Finished	3/2/2022 9:07:55 AM +	1.0000	
5	220579 LABBLIND	5	5	13.2022 75%Heksaan	Finished	3/2/2022 9:32:19 AM +	1.0000	
6	220166_12	7	7	13.2022 50%Layklohe	Finished	3/2/2022 10:03:19 AM	1.0000	
7	220166_13	8	8	13.2022 75%Layklohe	Finished	3/2/2022 11:23:49 AM	1.0000	
8	220580 LABBLIND	9	9	13.2022 75%Layklohe	Finished	3/2/2022 11:48:57 AM	1.0000	
9	220166_11	6	6	13.2022 25%Layklohe	Finished	3/2/2022 12:19:53 PM	1.0000	

Figur 21: Skjermbilde av en metode sekvens på Chromeleon 7.

Extractor Status
System Status: Idle
Method: ASE
Temperature Set: 100 °C
Temperature Actual: 20 °C
Volume Delivered: 0.0 mL
Time Remaining: 0:00
Step Time: 0:00
Cell Size: ---
Cell Pressure: 0 [psi]

Manual Rinse
Volume: 5 [mL]
Cycles: 1
Ratio A: 0
Ratio B: 0
Ratio C: 0

Date	Time	Retention Time	Device	Message
5/9/2022	2:56:09 PM -02:00	0:000	Extractor	Extraction status = UnloadSottle/lat
5/9/2022	2:56:04 PM -02:00	0:000	Extractor	Method status = Idle
5/9/2022	2:55:56 PM -02:00	0:000	Extractor	Extraction status = UnloadCell
5/9/2022	2:55:54 PM -02:00	0:000	Extractor	Method status = Finished
5/9/2022	2:54:44 PM -02:00	0:000	Extractor	Extraction volume delivered = 93.7 mL
5/9/2022	2:54:44 PM -02:00	0:000	Extractor	Log PumpTotalVolume: 93.7 [mL]
5/9/2022	2:54:44 PM -02:00	0:000	Extractor	Method status = Relief
5/9/2022	2:52:43 PM -02:00	0:000	Extractor	Method status = Purge
5/9/2022	2:52:30 PM -02:00	0:000	Extractor	Method status = Rinsing
5/9/2022	2:47:29 PM -02:00	0:000	Extractor	Method status = Static
5/9/2022	2:47:19 PM -02:00	0:000	Extractor	Method status = Rinsing
5/9/2022	2:42:15 PM -02:00	0:000	Extractor	Method status = Static
5/9/2022	2:42:01 PM -02:00	0:000	Extractor	Method status = Rinsing
5/9/2022	2:37:01 PM -02:00	0:000	Extractor	Method status = Static

Figur 22: Skjermbilde av instrument vinduet til programvaren Chromeleon 7.