

MASTEROPPGAVE I KJEMI

**Utvikling av metodikk for screening og bestemmelse  
av sølvnanopartikler i blåskjell ved bruk av DLS, sp-  
ICP-MS og EM**

Av

Anders Grødem



Kjemisk Institutt, Universitetet i Bergen

Havforskningsinstituttet

November 2020

# 1 Forord

Oppgaven ble i hovedsak utført på Havforskningsinstituttet, der ICP-MS instrumentet var. Jeg ønsker å takke de ansatte på laboratoriet der, for hjelp og veiledning i det eksperimentelle arbeidet.

Videre vil jeg takke mine veiledere Kristine Spildo (UiB) og Stig Valdersnes (HI) for god veiledning og tilbakemeldinger underveis på oppgaven. Deres hjelp har hatt stor betydning.

Jeg vil også takke «fredagsmøtene» for gode innspill og ideer underveis i utviklingene av metoden.

Vil også takke EIMILAB og spesielt Irene Heggstad for hjelp til å ta EM bilder under strenge koronarestriksjoner.

Til slutt vil jeg takke familie, venner og medstudenter for den motivasjonen de har gitt.

## 2 Innhold

1	Forord .....	1
2	Innhold .....	2
3	Sammendrag .....	6
4	Innledning.....	7
4.1	Bakgrunn .....	7
4.2	Spormetaller.....	8
4.3	Nanomaterialer .....	8
4.4	Miljøanalyser og blåskjell som indikator for både spormetaller og nanomaterialer ...	9
4.5	Analysekvalitet, metodeutvikling og validering/metodeparametere .....	9
4.6	Mål med oppgaven .....	10
4.7	Analyseteknikker .....	11
5	Metodeutvikling og eksperimentelt.....	25
5.1	Opparbeiding blåskjell.....	25
5.2	DLS bestemmelse .....	26
5.3	ICP-MS bestemmelser .....	28
5.4	Bestemmelse av Gull (kalibrering).....	28
5.5	Bestemmelse av sølv (kalibrering med sølv).....	32
5.6	Bestemmelse av sølv (kalibrering med gull) .....	36
5.7	EM Bestemmelser.....	37
6	Resultater og diskusjon .....	39
6.1	DLS.....	39
6.2	Oppsummering DLS.....	52
6.3	ICP-MS Resultat.....	52
6.4	Metodeutvikling for bestemmelsen av sølvnanopartikler: .....	53

6.5	Oppsummering Sp-ICP-MS .....	66
6.6	EM .....	67
6.7	Oppsummering av DLS, ICP og EM.....	69
7	Resultater fra beregning av valideringsparametere .....	71
7.1	Nebuliseringseffektivitet .....	71
7.2	Selektivitet.....	71
7.3	Måleområdet.....	71
7.4	Bestemmelsesgrenser.....	73
7.5	Riktighet .....	76
7.6	Måleusikkerhet .....	85
7.7	Robusthet .....	89
7.8	Konklusjon metode- og valideringsparametere .....	89
8	Forslag til metode.....	90
9	Konklusjon og beskrivelse av videre arbeid .....	96
10	Referanseliste .....	97
11	Vedlegg .....	100

**Forkortelser:**

AN –	Analytt
BED –	Bakgrunnsekvivalent diameter
BMM –	Blank med matriks
BUM –	Blank uten matriks
CPS	Tellinger per sekund
DLS -	Dynamisk lysspredning
EM –	Elektronmikroskop
LO –	Lineært område
LOD –	Deteksjonsgrense
LOQ –	Kvantifiseringsgrense
MO –	Måleområde
MU -	Måleusikkerhet
NE -	Nebuliseringseffektivitet
NIST -	National Institute of Standards and Technology
NP -	Nanopartikkel
PDI -	Polydispersitetsindeks
RF-	Radiofrekvens
RM -	Referansemateriale
RSD –	Relativt standardavvik
SD –	Standardavvik
SEM	Skannende elektronmikroskop
sp-ICP-MS -	Enkeltpartikkel-induktivkobletplasma-massespektrometri
ULOQ –	Øvre kvantifiseringsgrense
VKM –	Vitenskapskomiteen for mat og miljø
z-Ave -	Hydrodynamisk gjennomsnittsstørrelse



### 3 Sammendrag

Utgangspunktet for denne oppgaven er en stadig større bruk av nanomaterialer og etterspørselen etter informasjon om nanomaterialer og -partikler er stor da en har lite kunnskap om virkninger og spesielt langtidsvirkninger disse kan ha i miljøet, biota og mat. Det må derfor etableres metodikk for å påvise og kvantifisere nanopartikler i miljø, biota og mat.

Metodikken i denne oppgaven er en videreutvikling av en eksisterende metode for bestemmelse av gullnanopartikler som HI har utviklet og validert for rutinebruk på laboratoriet. Underveis i arbeidet med denne oppgaven ble det avdekket problemer med sølvstandardene som gjorde at resultatene når det ble kalibrert med sølv, ikke stemte overens med det som var forventet. Etter flere undersøkelser for å finne ut hva som var feil i bestemmelsen, ble det avdekket at størrelsen til sølvnanopartiklene var oppgitt feil fra leverandør. Etter at størrelsen var justert til riktig størrelse, ble det gjort en repressering av dataene, utført en beregning metode/valideringsparameterne for metoden og skrevet et utkast til metode for bestemmelse av sølvnanopartikler som kan implementeres på HI sitt laboratorium.

Beregningen av metodeparametere består av bestemmelse av en rekke parametere som spesifisitet, presisjon og riktighet, som danner grunnlaget for beregning av måleusikkerhete, samt nedre og øvre begrensninger og robusthet. De viktigste metodeparametere er oppsummert i Tabell 1. Metoden ble funnet egnet til å bestemme sølvnanopartikler i blåskjell innenfor de begrensninger som er angitt i Tabell 1.

Tabell 1 Bestemmelsesgrenser med tilhørende måleusikkerhet

Parameter	LOD	LOQ	ULOQ	MU, %
Totalkonsentrasjon. (ppb)	0,010	0,030	10	50
Massekonsentrasjon. (ng/L)	0,2	0,5	10 000	55
Partikkelkonsentrasjon. (partikler/L)	$1,6 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$		45
Partikkelstørrelse		20	300	15

## 4 Innledning

### 4.1 Bakgrunn

Norge er et langstrakt land med en lang kystlinje på 102 936 km, verdens nest lengste etter Canada (1). Langs denne langstrakte kysten er det et marint liv, her lever alt fra fisk, krabber, skjell til tang, tare og alger. Dette er organismer som kan ta opp eller få i seg diverse partikler fra vannet de lever i og ev. maten de spiser.

En Litteraturgjennomgang fra 2011, mente at det da ikke var mulig å konkludere med toksisitet, og hvor farlige nanopartikler er, men at en generelt kan si at metallnanopartikler er noe mer toksiske enn karbonbaserte nanopartikler(2). Det ble i 2019 publisert en litteraturgjennomgang av toksisitet til sølvnanopartikler i planktonorganismer. Her kommer det fram at man har for liten kunnskap til at man kan si noe helt sikkert om toksisiteten til sølvnanopartikler og dessuten at i flere tilfeller er sølvnanopartikler mindre farlige enn ionisk sølv(3, 4). På grunn av denne mangelen på kunnskap har blant annet vitenskapskomiteen for mat og miljø (VKM) etterspurt mer data om nanopartikler i mat og kosmetikk(5)

Havforskningsinstituttet er et av Europas største marine forskningsinstitutter med fokus på å være en ledende kunnskapsleverandør for en bærekraftig forvaltning av ressursene de marine økosystemene med ansvar for hele kjeden fra hav til mat(6). Havforsknings-instituttet ønsker å utvikle metodikk for screening og bestemmelse av både plast og metallholdige nanopartikler i det marine miljø, biota og sjømat. HI har utviklet og validert en enkeltpartikkel induktivkobletplasma massespektromteri (sp-ICP-MS)-metode for kalibrering og screening av gullnanopartikler. Ønsket er å inkludere flere elementer som er mer relevante i miljø og mattrygghetssammenheng for på sikt å utvikle en generell metode for både ulike elementer og prøvetyper. HI ønsker også undersøke muligheten får bruke komplementære analyseteknikker både for å gjøre hurtig screening av partikler i miljørelevante konsentrasjoner med dynamisk lysspredning (DLS) samt teknikker som kan bekrefte partikkelfunn slik som elektronmikroskopi (EM). I første omgang ønsket man å undersøke muligheten for å inkludere et mer miljørelevant element som sølv og sølvnanopartikler i sp-ICP-MS-metoden for gull. Ønsket var å utvikle en metode for sølvnanopartikler som kan bruke samme opparbeiding av prøver som man allerede har validert i gullbestemmelsen. Målet er å ende opp med en sp-ICP-MS-metode som finner størrelse på sølvnanopartiklene og også konsentrasjon både som totalkonsentrasjon, konsentrasjon av partikler (massekonsentrasjon),



partikkelkonsentrasjon og muligens også ionisk konsentrasjon. I første omgang er det mest aktuelt å se på blåskjell som en modellmatrise for marin biota, og på sikt bygge metoden videre ved å inkludere andre prøver

## 4.2 Spormetaller

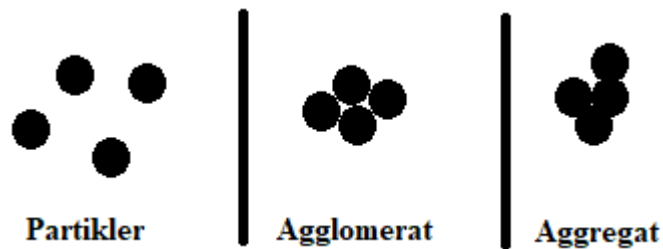
Spormetaller er metalliske grunnstoff som er funnet i lave konsentrasjoner i marine/vannmiljøer og geologiske miljøer. I marine/vannmiljøer er spormetaller alle metaller som finnes i en konsentrasjon mellom  $10^{-15}$  mol/L og  $10^{-5}$  mol/L(7). Den naturlige konsentrasjonen av sølv i sjøvann er lav (0,1-0,3 ng/L)(8). derfor kan selv små antropogene utslipp øke konsentrasjonen av sølv 100-300ganger(9). Det er påvist sølv i en rekke marine arter(8). En vanlig kilde til sølv i marinemiljøer er utslipp fra renseanlegg(10).

## 4.3 Nanomaterialer

Et nanomateriale er definert av EU som et materiale der 50% eller mer av materialet består av partikler som har en størrelsesorden i nanoskalaen 1-100 nm(11) Hvis et resultat av en hurtig screening viser en partikkelstørrelse mellom 100-250 nm, er det høy sannsynlighet for at det er nanopartikler tilstede i prøven som ble screenet(12) . Nanomaterialer finnes naturlig i naturen, men framstilles også industrielt og brukes i flere og flere produkter. Nanomateriale har et stort overflate per volum forhold. Det vil si jo mindre partiklene er, jo flere av atomene i partikkelen vil relativt sett befinne seg på overflaten. Dette gjør at nanomaterialer ofte er mye mer reaktive enn materialer bestående av samme atomer, som ikke er i nanostørrelse (13). Nanomaterialer er nyttig i flere sammenhenger som f.eks. medisin(14), og i kosmetikk, blant annet i solkrem(15). Dessverre har vi begrenset kunnskap om nanomaterialers helseeffekt. Siden vi vet lite om nanomaterialers egenskaper, jobber EU med å kartlegge nanomaterialer som brukes og egenskapene deres, senest i 2020 for kosmetikk(16)

Egenskapene til nanomaterialer varierer etter omgivelsene de er i. Nanosølvpartikler har vært ansett som trygt å bruke og de har gode antibakterielle egenskaper, men i den senere tid har det vist seg at sølvnanopartiklene trekker seg inn i blodstrømmen og andre vitale organer som lever, nyre og hjerte(17)

I en suspensjon av nanopartikler kan det dannes agglomerater, partikler som er svakt bundet sammen, og aggregater, partikler som er sterkere bundet sammen. Nanopartikler i høye konsentrasjoner har en tendens til danne aggregater/agglomerater, ofte større enn 100nm.(17). Det er vanskelig å skille mellom agglomerater og aggregater under eksperimenter og forsøk, skille er mer teoretisk enn praktisk(12)



Figur 1 Illustrering av partikler, agglomerater og aggregater

#### 4.4 Miljøanalyser og blåskjell som indikator for både spormetaller og nanomaterialer

Blåskjell (*Mytilus edulis*) er en filtrerende organisme og blåskjell kan derfor fange opp partikler som er suspendert i vannet(18). I motsetning til fisk og andre dyr lever blåskjell på et fast sted. Det betyr at en kan bruke blåskjell som indikator for det lokale marine miljøet for å overvåke forurensing(19).

#### 4.5 Analysekvalitet, metodeutvikling og validering/metodeparametere

For sikre riktig analysekvalitet er det viktig å benytte analysemetoder som er egnet til formålet. Som en del av dette er det viktig at parameterne for den utviklede metoden er innenfor visse numeriske krav. Codex alimentarius utarbeider internasjonale standarder og veiledninger for å sikre forbrukernes helse og rettferdig handel med mat og har nedfelt en rekke numeriske krav til analysemetoders metodeparametere for blant annet riktighet som gjenvinning og presisjon i forhold til Horwitz ratioen(20). Etter beregningen av metodeparametere for denne metoden blir metodens numeriske verdier sammenlignet med de numeriske kravene fra Codex Alimentarius(20).

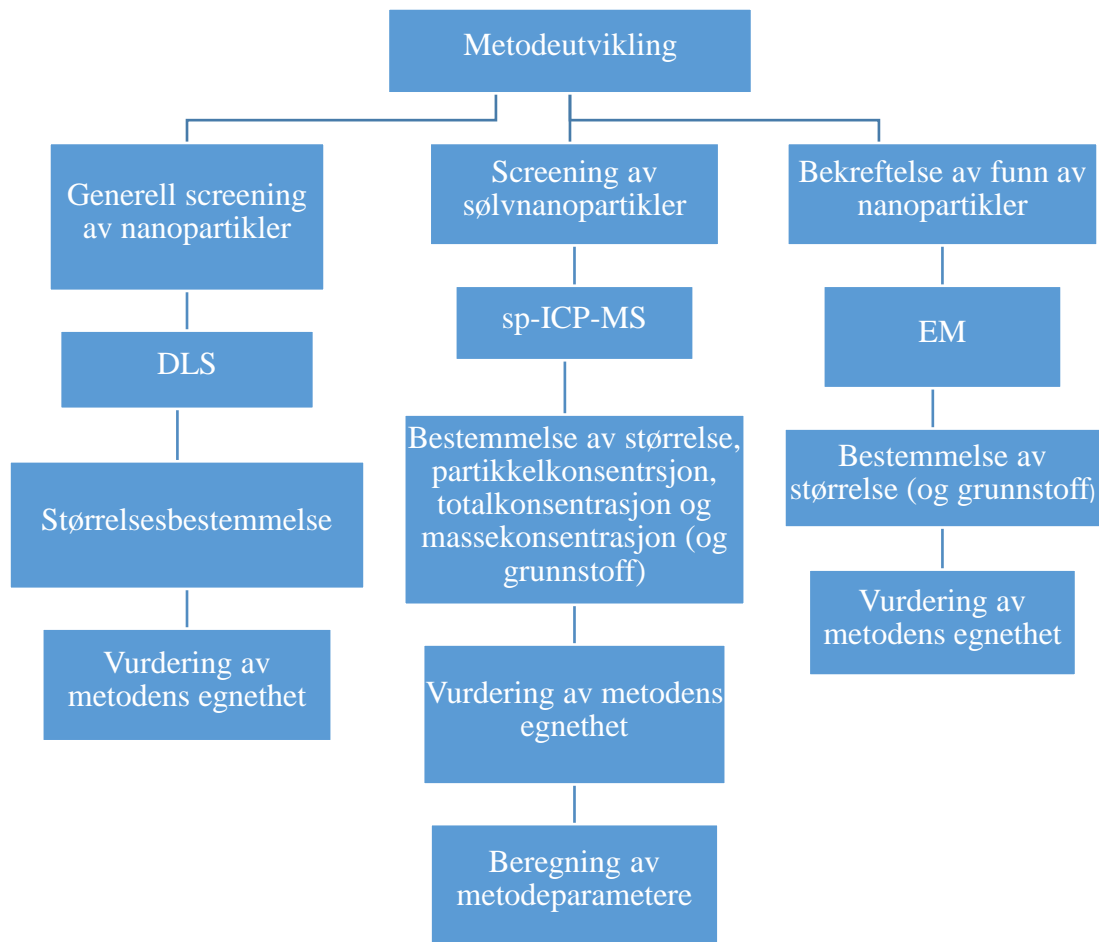
I denne oppgaven blir det sett på metodeparameterne Tabell 2, for målestørrelsene partikkelstørrelse og konsentrasjon (total, masse og partikler). Det blir også sett på riktighet og presisjon som intern reproduserbarhet

Tabell 2 Metodeparametere (20)

Metodeparameter	Beskrivelse
Deteksjonsgrense (LOD)	er den laveste konsentrasjon en kan si at det er noe tilstede i prøven med rimelig sikkerhet, men en kan ikke si noe sikkert om mengden
Kvantifiseringsgrense (LOQ)	er den laveste konsentrasjon hvor en innenfor rimelig sikkerhet kan si noe om konsentrasjon
Øvrekvantifiseringsgrense (ULOQ)	er den høyeste konsentrasjonen som kan bestemmes
Riktighet	i denne oppgaven blir det samme som gjenvinning da det blir sett på mengden «spiket» tilsatt de forskjellige prøvene, deretter blir det sett på om disse er innenfor codex.
Presisjon	er funnet ved intern reproduserbarhet
Måleusikkerhet (MU)	er satt som $2RSD + 5\%$

#### 4.6 Mål med oppgaven

Målet med oppgaven var å utvikle metodikk som kan brukes til screening og bestemmelse av sølvnanopartikler i blåskjell. Dette ble gjort ved å undersøke muligheten for å bruke DLS til hurtig screening for nanopartikler i en prøve, sp-ICP-MS for videre screening og bestemmelse av størrelse samt konsentrasjoner med komplementær EM for bekreftende analyse. sp-ICP-MS metoden skal bases på HI metode for gullnanopartikler (21) siden ønsket er å få til en generell metode for flere metaller. Se Figur 2 skjematisk oversikt over oppgaven.



Figur 2 Skjematisk oversikt over oppgaven

## 4.7 Analyseteknikker

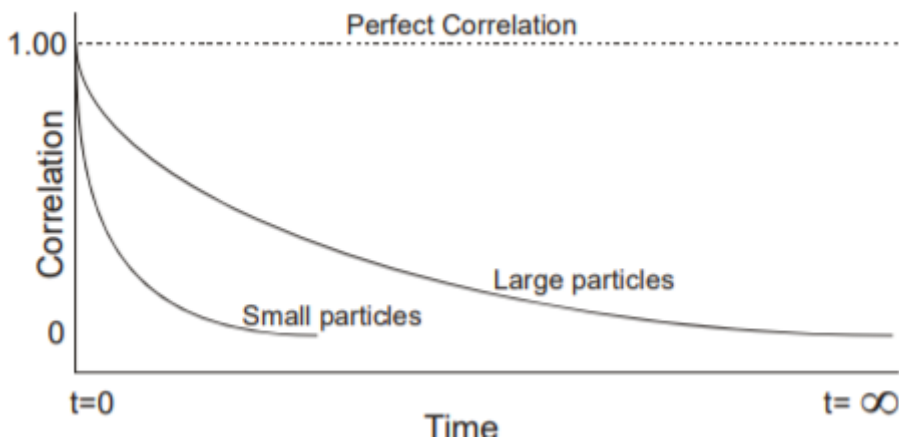
### 4.7.1 Dynamisk lysspredning (DLS):

DLS er også kjent som PCS (foton korrelasjons spektroskopi). Teknikken baserer seg på partiklers Brownske bevegelser, som er partiklenes tilfeldige bevegelse som kommer av tilfeldige kollisjoner mellom partikler i suspensjoner, og partiklenes endring i spredning av lys. Sammenhengen mellom de Brownske bevegelsene og partikkelstørrelsen er beskrevet i Stokes-Einstein ligningen, Formel 4-1

$$D_T = \frac{k_B T}{3\pi\eta d}$$

Der  $D_T$  er diffusjonen,  $k_B$  Boltzmannkonstant,  $T$  er temperaturen,  $\eta$  er viskositeten og  $d$  er den hydrodynamiske diameteren av partikkelen.

Størrelsen til partiklene finnes av instrumentet og programvaren ved å se på tiden det tar fra korrelasjon mellom partiklene er 1 til den blir 0. Det blir først tatt et bilde av systemet, når korrelasjonen er 1 er partiklene i neste bilde på så godt som samme plassen som i første bilde. Når korrelasjon er 0 kan en ikke se at bildet er tatt av samme system, pga. de tilfeldige bevegelsene til partiklene. Større partikler beveger seg langsomt og mindre partikler beveger seg raskt. Figur 3 som illustrer tiden det tar for henholdsvis en liten og en stor partikkel å gå fra korrelasjon 1 til 0. Tiden det tar er typisk i intervallet 1 til 10 millisekunder. (22)



Figur 3 Illustrasjon stor og liten partikkel, hentet fra brukermanual Zetasizer nano(22)

Z-ave er den hydrodynamiske gjennomsnittsstørrelsen funnet i analysen. Parameteren topp, eller fordelingsstørrelse, er gjennomsnittsstørrelsen funnet for en topp. Hvis det bare er en topp vil parameteren Z-ave og topp gi samme diameter som svar, men dette er vanligvis ikke tilfelle. Dette kan skyldes løsemiddel i prøven, det kan også være fordi algoritmen for utregningen er litt forskjellig(23).

Polydispersitetsindeksen (Pdi) sier noe om størrelsesfordelingen av partiklene. Er denne høyere enn 0,5 anbefaler produsenten Malvern Panalytical at en bruker parameteren topp, for å avgjøre størrelse, da det er for stor spredning til at Z-Ave gir et riktig bilde(22).

Den hydrodynamiske diameteren er den hypotetiske diameteren til en fullstendig sfærisk partikkel som har samme diffusjon som partikkelen en måler. Det legger seg et vannlag utenpå partikkelen som også blir målt av instrumentet og dette gjør at DLS ofte finner en større partikkelstørrelse enn andre teknikker som sp-ICP-MS og EM (24). Figur 4 illustrerer en partikkel, med den hydrodynamiske diameteren rundt.

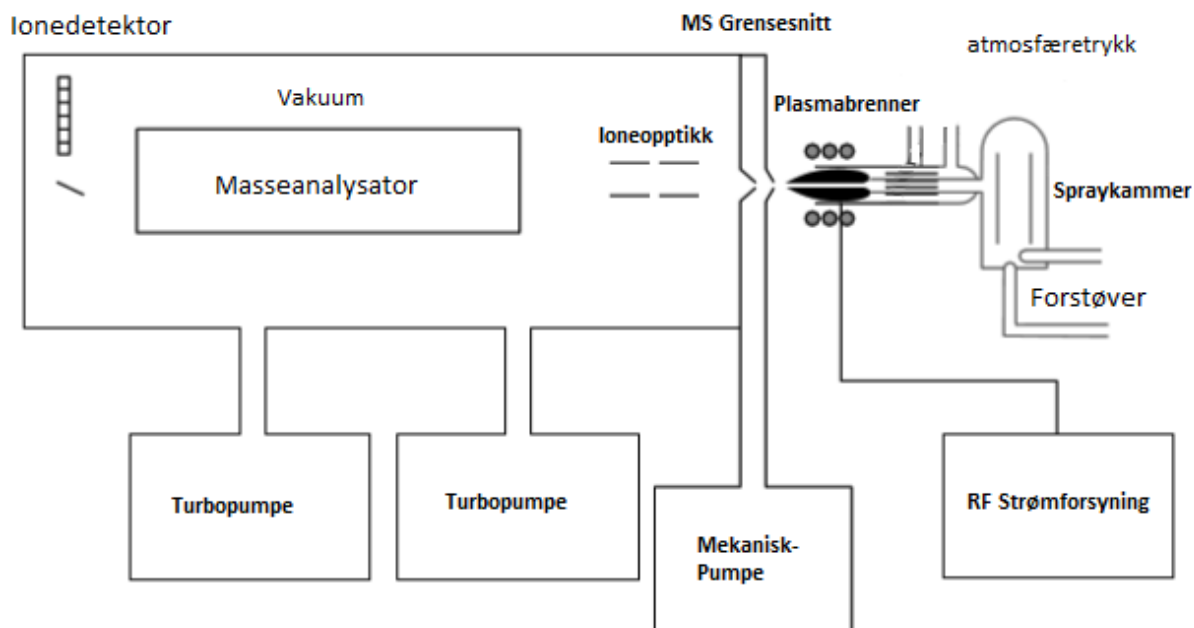


Figur 4 Partikkel med hydrodynamiskdiameter

#### 4.7.2 ICP-MS

Induktivkobletplasma massespektrometri er et analyseinstrument brukt i analytisk kjemi som har vært kommersielt tilgjengelig i nesten 40 år(25). Teknikken er en form for atomspektrometri, der stoffer atomiseres av flammer, elektriske ovner eller induktivt koblet plasma(26).

For å lage plasmaet trengs det en plasmabrenner, en radiofrekvens (RF)-spole, og en strømforsyning. Plasmabrenneren består av tre konsentriske rør, normalt laget av kvarts. Det er et ytrerør, midtrør og prøveinjektorrør. Plasmagassen, som regel argon, passerer mellom ytre- og midtrør med strømmehastighet ~12-17 L/min. En hjelpegass (argon) passerer mellom midtre- og prøveinjeksjonsrør ~1L/min, denne justerer plasmabasen relativt til røret og injektoren. En tredje gasstrøm ~1L/min bringer prøven gjennom sentrum av plasmaet(25). Argonet som danner plasmaet holder en stabil temperatur mellom 6 000 – 10 000 K, avhengig av hvor en måler. Argon er en god gass å bruke da den er relativt inert og det er bare He, Ne og F som har høyere ioniseringsenergi(26). Figur 5 viser en oversikt over de vanlige komponentene i en ICP-MS, der prøven kommer inn til forstøver som løsning eller suspensjon ved hjelp av en Peristaltisk pumpe. Der blir prøven forstøvet og ført videre til spraykammeret. I spraykammeret blir de minste dråpene <10µm sent til plasmabrenner for ionisering. Dråpene som er >10µm blir skilt ut, ofte av tyngdekraft og går til avløp(25).



Figur 5 Enkel oversikt over ICP-MS oppbygging(25)

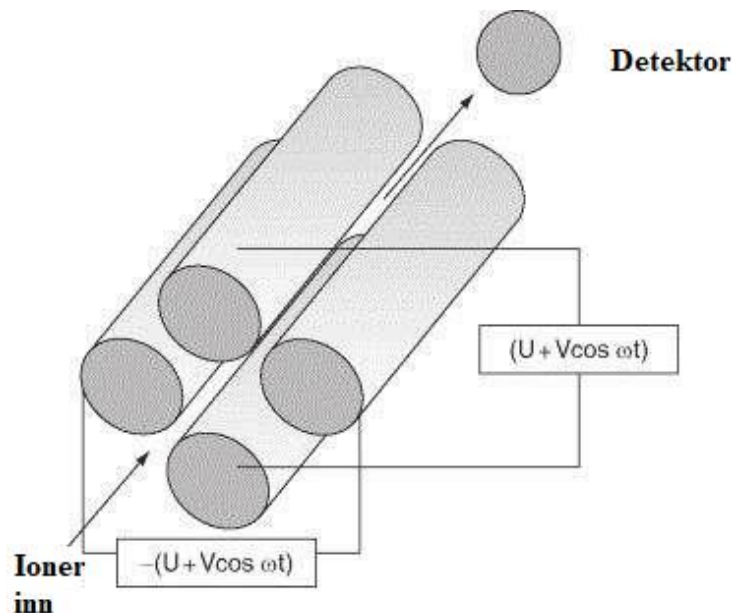
Prøven kommer så gjennom prøveinjeksjonsrøret og inn gjennom sentrum av plasmaet. På veien gjennom plasmaet går prøven fra aerosol til tørt faststoff, videre til gass som blir atomisert, for til slutt å bli ionisert. Ioner dannes ved at argonelektroner og i noe mindre grad argonatomer krasjer i prøveatomene og danner ioner.(25)

Etter å ha vært gjennom plasmaet går ionene gjennom MS grensesnittet. I dette området går ionene fra plasmaet som er i atmosfæretrykk (1 atm) til vakuum (ca.  $10^{-9}$  atm), som er trykket i analyseområdet til massespektrometeret. Grensesnittet består ofte av to til tre metalliske kjegler med veldig små åpninger. Den første kjeglen kalles ofte «sampler cone», denne har en åpning på 0,8-1,2 mm indre diameter. Den neste kjeglen er en «skimmer cone» denne er ofte litt spissere og har en enda smalere åpning 0,4-0,8 mm indre diameter. Noen design har også en tredje kjegle, en såkalt «hyper skimmer cone». Kjeglene fungerer ved at en «stråle» med ioner treffer åpningen, noen går igjennom, resten blir ledet vekk, når de har kommet gjennom åpningen reduseres trykket, slik at strålen blir bredere igjen og treffer neste åpning, der noen ioner går igjennom og resten ledes vekk. Hvis instrument har tre kjegler skjer dette enda engang, hovedforskjellen er at trykkreduseringen da skjer over flere steg.(25)

Etter å ha vært gjennom kjeglene går ionene til den optiske delen av instrumentet. Den ioneoptiske delens oppgave er å styre ionene i retning mot detektoren, og skille ut andre partikler, nøytrale atomer og elektroner. Det optiske delene er som regel metallplater, rør eller ionespeil. Disse blir individuelt tilsatt spenning og kan da «styre ionene». Andre partikler hindres i å nå detektoren, enten ved fysiske barrierer, sette masseanalysatoren utenfor banen til ionestrålen eller ved å bøye ionene elektrostatiske 90° inn i masseanalysatoren. Alt dette skjer i vakuum(25).

Oppgaven til kvadrupolen er å velge ut de ionene som skal nå detektoren. Felles for alle kvadrupolmasseanalytatorer er at ionene blir skilt basert på masse per ladning. Siden dette er i et betydelig vakuum betyr det at det er få andre partikler som prøven kan kollidere med og sende den ut av kurs.

En kvadrupol består av fire polariserte staver, derav navnet, der stavene opererer i par, hvor to har likestrøm og to har vekselstrøm. Stavene som er plassert diametralt (Figur 6) motsatt i forhold til hverandre har begge samme polarisering. Ved å stille spenningen i stavparene kan ønskede ioner transporteres mellom stavene til detektoren mens uønskede ioner blir styrt vekk fra detektoren.(25)

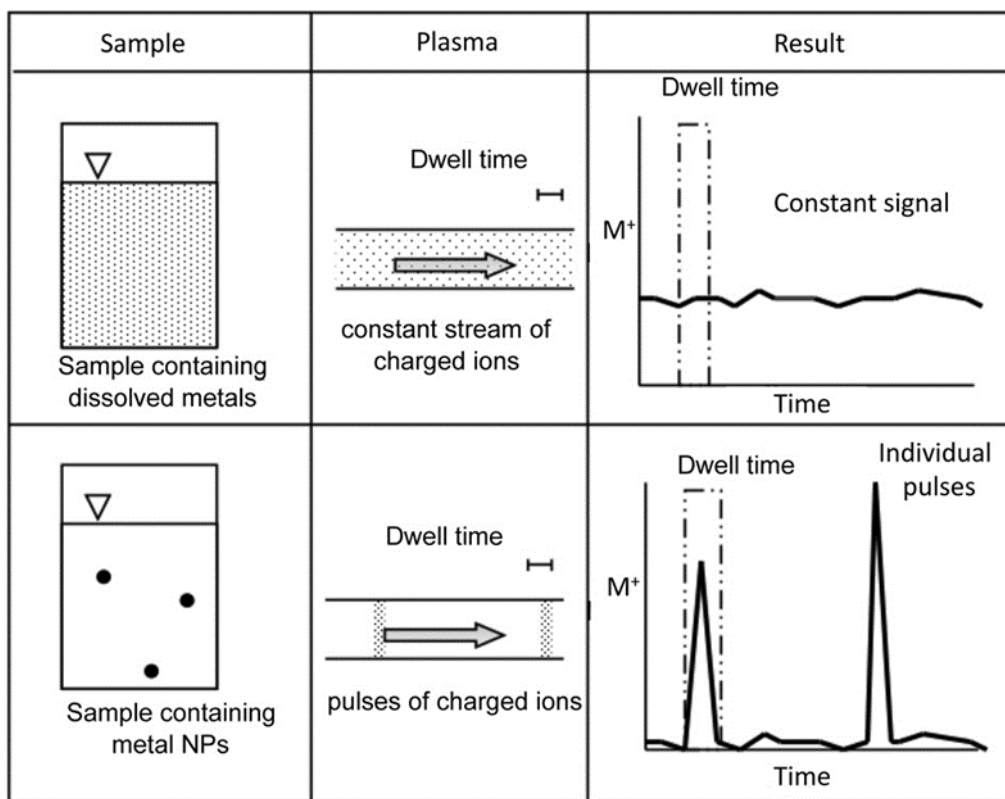


Figur 6 Illustrasjon av kvadrupol



### 4.7.3 sp-ICP-MS

Den viktigste forskjellen fra vanlig ICP-MS analyse og sp-ICP-MS analyse er vist i Figur 7. Når analyttene er løst i væsken får man en konstant strøm av ioner inn i systemet som gir et konstant signal, men hvis en analyserer en suspensjon av nanopartikler vil hver partikkel i suspensjonen produsere et signal som typisk har en varighet på noen få millisekund. Eldre instrumenter med måletider i millisekundområde kunne dermed detektere partiklene med et punkt per nanopartikkel. Ved å bruke et nyere instrument, med en rask detektor med måletider i mikrosekund skalaen, kan en få flere punkter per nanopartikkelhendelse og resultatet ligner da et tradisjonelt kromatogram der hver detektert partikkel utgjør en topp.



Figur 7 Forskjellen på vanlig ICP-MS og sp-ICP-MS(27)

Enkeltpartikkelapplikasjonen i programvaren på instrumentet gjør at en kan måle konsentrasjon, diameter, grunnstoff og størrelsesfordeling av nanopartikler ved bruk av ICP-MS. Når suspensjonen av nanopartiklene er tilstrekkelig fortynnet er det kun en og en partikkel som kommer inn i plasmaet. Nanopartikkelen blir så ionisert og danner en tynn ionesky. Hvis masse, tetthet og responsfaktor er kjent for elementet, hvis en ikke bruker RM må en ha NE i tillegg, kan partikkelstørrelse, partikkelstørrelsesfordeling og partikkelkonsentrasjon bestemmes.(28, 29)

Analysene i denne oppgaven benyttet NE beregnet i programvaren med utgangspunkt i partikkelstørrelsen til referansematerialet (RMSize). For en analyse trenger en da et referansemateriale (RM), som må ha kjente parametere, da NE bestemmes av antall telte RM partikler, som igjen bestemmer størrelsen i de ukjente prøvene.

En må ha ionisk standard både for RM (IonicStd (RM)) og analytt (AN) (IonicStd (AN)), da denne brukes til å regne responsfaktor for hvert grunnstoff.

Det må også lages en ionisk blank (IonicBlk) for de ioniske standardene, som vanligvis er milliQ-vann.

Når de overnevnte suspensjonene og løsningene er på plass mangler bare prøvene (Sample) som skal analyseres, disse bør ha en konsentrasjon mellom 5-100 ng/L (28).

**Formler brukt av programvaren er vist i kronologiske rekkefølge nedenfor.**

### **Respons faktor (cps/ppb)**

Først beregnes responsfaktoren, S, ved å trekke gjennomsnittssignal av ionisk blank (cps) fra gjennomsnittssignal av ioniskstandard (cps) delt på konsentrasjonen av ioniskstandard (ppb i programvaren) Formel for responsfaktor vist i Formel 4-2

*Formel 4-2 Responsfaktor*

$$S = \frac{I_{\text{ion}} - I_{\text{blk}}}{C_{\text{ion}}}$$

$I_{\text{ion}}$  gjennomsnittet av signaler fra ionisk standard

$I_{\text{blk}}$  gjennomsnittet av signaler fra ionisk blank

$C_{\text{ion}}$  Konsentrasjonen av ionisk standard (ppb / ng/L)

## Signalfordeling

Programvaren som er satt til toppintegreringsmodus, siden vi har flere datapunkter per nanopartikkel, finner deretter toppene, for så å summere signalene for hver topp. De summerte signalene fra hver topp blir plottet i tid mot tellinger per sekund (time vs cps) og vider dermed en signalfordeling.

## Detekterte partikler

Deretter telles antall partikler. Når «peak integration mode» er på, telles antall topper over «Particle detection threshold»

## Nebuliseringseffektivitet (NE)

Formel 4-3 bli brukt når NE,  $\eta_n$ , skal beregnes utfra størrelsen til RM (RMSize). Når en benytter RM størrelse trenger en diameter, responsfaktor for RM, tetthet for RM og element massefraksjon for RM.

*Formel 4-3 RMSize for å beregne Nebuliseringseffektivitet*

$$\eta_n = \frac{\frac{4}{3}\pi * \left(\frac{d_{std}}{2}\right)^3 * \rho_{std} * S * 60}{I_p * t_d * V * f_d * 10^{12}}$$

Der  $d_{std}$  er standard partikkeldiameter (nm),  $\rho_{std}$  er tettheten til elementet i RM (g/mL), S er responsfaktoren (cps/ppb),  $t_d$  er integreringstiden (sekunder), V er hastighet til prøveopptaksstrømmen (mL/min),  $f_d$  molarmasse til partikkel/molarmasse analytt spesifisert for RM og  $I_p$  er toppintensiteten til RM (cps)

Et alternativ for grunnstoff som mangler RM med kjent størrelse eller konsentrasjon er å finne NE manuelt, men denne metoden gir ofte en mer unøyaktig NE(30). NE kan på denne måten finnes ved hjelp av Formel 4-4, NE,  $\eta_n$  for så å skrive NE inn i programvaren

*Formel 4-4 Manuell nebuliseringseffektivitet*

$$\eta_n = \frac{\text{Prøveopptaksstrøm}\left(\frac{\text{mL}}{\text{min}}\right) - \text{avløpstrøm}\left(\frac{\text{mL}}{\text{min}}\right)}{\text{Prøveopptaksstrøm}\left(\frac{\text{mL}}{\text{min}}\right)}$$

En tredje mulighet er å bruke et nanomateriale RM med kjent konsentrasjon (RMConc) for å finne NE i programvaren. Da må standard partikkel masse,  $m_{std}$  (fg) beregnes først.

*Formel 4-5 Standard partikkel masse (fg)*

$$m_{std} = \frac{4}{3}\pi * \left(\frac{d_{std}}{2 * 10^7}\right)^3 * \rho_{std} * 10^{15}$$

Standard partikkelmasse ( $m_{std}$ , fg) bestemmes ved å multiplisere 4 over 3 med pi, deretter multipliseres dette med parentes referanse materialets diameter ( $d_{std}$ , nm) over 2 multiplisert med 10 opphøyd i 7 parenteslutt opphøyd i 3 multiplisert med tettheten til referansematerialet ( $\rho_{std}$ , g/cm<sup>3</sup>) multiplisert med 10 opphøyd i 15.

Standard partikkelmasse settes så inn i Formel 4-6, som gir NE beregnet med RMConc metoden.

*Formel 4-6 Nebuliseringseffektivitet RM konsentrasjon*

$$\eta_n = \frac{N_p}{\frac{C_{std} * 10^3}{m_{std}} * V * T}$$

NE regnes ut ved å sette antall partikler ( $N_p$ ) over parentes konsentrasjon av referansematerialet ( $C_{std}$ , ng/L) multiplisert med 10 opphøyd i 3 dividert på standard partikkelmasse ( $m_{std}$ , fg) og deretter multiplisere med opptaksstrøm (V, ml/L) og totalopptakstid (T, min)

## Konsentrasjon til referansematerialet

Konsentrasjonen av referansematerialet blir gjort i tre steg:  
Først blir partikkelkonsentrasjonen  $C_p$  (partikkel/L) beregnet med Formel 4-7.

*Formel 4-7 Partikkelkonsentrasjon RM*

$$C_p = N_p * \frac{1}{\eta_n} * \frac{1}{V} * \frac{1}{T} \cdot 10^3$$

Partikkelkonsentrasjon ( $C_p$ , partikkel/L) ble funnet ved å multiplisere antall telte partikler ( $N_p$ ) med 1 over NE ( $\eta_n$ ) multiplisert med 1 over opptaksstrømmen ( $V$ , mL/min) multiplisert med 1 over total opptakstid ( $T$ , min) og til slutt ble dette ganget med  $10^3$ .

Videre ble partikkelmassene regnet ut med Formel 4-8. Dette blir gjort for hver eneste detekterte partikkel.

*Formel 4-8 Partikkelmasse RM*

$$m_{p\_n} = \frac{I_{m\_n}}{\bar{I}_{m}} \cdot m_{std}$$

Partikkelmassen ( $m_{p\_n}$ , fg) blir beregnet partikkelsignal ( $I_{m\_n}$ , cps) delt på gjennomsnittspartikkelsignal ( $\bar{I}_{m}$ , cps) multiplisert med standard partikkelmasse ( $m_{std}$ , fg).

Siste steg i beregningen av massekonsentrasjon til RM er Formel 4-9

*Formel 4-9 Konsentrasjon RM*

$$C_m = \frac{\sum m_p}{10^3} \cdot \frac{1}{\eta_n} \cdot \frac{1}{V} \cdot \frac{1}{T}$$

Konsentrasjon ( $C_m, ng/L$ ) blir beregnet ved å dele summen av partikkelmassen ( $m_p, fg$ ) på  $10^3$ , for deretter å multiplisere med 1 over NE ( $\eta_n$ ) ganget med 1 over opptaksstrømmen ( $V, mL/min$ ) ganget med 1 over total opptakstid ( $T, min$ ).

$N_p$ : Antall detekterte partikler

$\eta_n$ : Nebuliseringseffektivitet

$V$ : inntaksstrøm (ml/min)

$T$ : Total anskaffelses tid (min)

$m_p$ : partikkelmasse (fg)

$I_{rm}$ : Partikkelsignal for RM (cps)

$\bar{I}_{rm}$ : Gjennomsnittspartikkelsignal for RM (cps)

$m_{std}$ : Standard partikkelmasse (fg)

$C_{std}$ : konsentrasjon RM (ng/L)

## Medianstørrelse av referansematerialet

For å finne medianstørrelsen ble diameteren for hver partikkel beregnet med Formel 4-10

*Formel 4-10 Diameter RM*

$$d_{p,n} = \sqrt[3]{\frac{6}{\pi} * \frac{m_{p,n}}{10^{15} * \rho_p}} * 10^7$$

Partikkeldiameter ( $d_{p,n}$ , nm) for referansematerialet ble beregnet ved å ta kubikkroten av 6 over  $\pi$  der 6 over  $\pi$  er multiplisert med partikkelmasse ( $m_{p,n}$ , fg) over  $10^{15}$  multiplisert med tettheten ( $\rho_p$ , g/cm<sup>3</sup>) alt dette blir til slutt multiplisert med  $10^7$ .

$M_p$ : Partikkelmasse (fg)  
 $\rho_p$ : RM tetthet (g/cm<sup>3</sup>)

Etter at diameterne er beregnet kan en finne gjennomsnittstørrelse, medianstørrelse og mest hyppige størrelse ved å bruke vanlige statistikkformler for dette.

## Konsentrasjon ukjente prøver

Etter at beregninger er gjort for referansematerialet, blir de samme parameterne beregnet for de ukjente prøvene. Partikkelkonsentrasjon blir funnet på samme måte som for RM, se Formel 4-7 med tilhørende forklaring

Formelen for partikkelmassen til ukjente prøver er litt annerledes ut, se Formel 4-11.

*Formel 4-11 partikkelmasse ukjent prøve*

$$m_{p_n} = I_{p_n} * \frac{1}{s} * t_d * V * \eta_n * 10^6 * f_d * \frac{1}{60}$$

Partikkelmassen ( $m_{p_n}$ , fg) ble funnet ved å gange partikkelsignalet ( $I_{p_n}$ , cps) I med 1 over responsfaktoren ( $s$  cps/ppb) ganget med integrasjonstid ( $t_d$ , sekunder) ganget med inntaksstrømmen ( $V$ , mL/min) ganget med nebuliseringseffektiviteten ( $\eta_n$ ) ganget med  $10^6$  ganget med massefraksjonen ( $f_d$ , molar partikkelmasse/molarmasse analytt) ganget med 1 over 60.

$N_p$ : Antall detekterte partikler

$\eta_n$ : Nebuliseringseffektivitet

$V$ : inntaksstrøm (ml/min)

$T$ : Total anskaffelses tid (min)

$m_p$ : Partikkelmasse (fg)

$I_p$ : Partikkelsignal (cps)

$S$ : Responsfaktor (cps/ppb)

$t_d$ : Integrasjonstid (sek)

$f_d$ : Massefraksjon (molarmasse partikkel/molarmasse analytt)

Konsentrasjonen blir funnet med samme formel som for RM, se Formel 4-9 og tilhørende forklaring

### **Medianstørrelse ukjente prøver**

Dette ble beregnet på samme måte som for RM, se Formel 4-10 og tilhørende forklaring.

### **Ionisk konsentrasjon**

I tillegg til massekonsentrasjonen kan også den ioniske konsentrasjonen beregnes, vist i Formel 4-12



$$C_{ion} = \frac{I_{støy}}{s}$$

Den ioniske konsentrasjonen ( $C_{ion}$ , ppb) blir funnet ved å dele intensiteten av støysignalet ( $I_{støy}$ , cps) på responsfaktoren ( $s$ , cps/ppb)

S: Responsfaktor (cps/ppb)

$I_{støy}$ : Intensitet støysignal(cps)

### **BED. Background equivalent diameter (Bakgrunn ekvivalent diameter)**

BED gir et estimat på den minste detekterbare partikkelstørrelsen og er dermed en form for bestemmelsesgrense for partikkelstørrelse.

$m_{bk\text{gnd}}$  blir funnet med formel Formel 4-8 og Formel 4-11, men partikkelsignal ( $I_{p\_n}$ ) blir erstattet støysignalet ( $I_{støy}$ ) deretter brukes samme formel for størrelse som tidligere Formel 4-10

Formlene er hentet fra brukermanualen for programvaren(28) og alle beregningene blir gjort av programvaren

#### **4.7.4 SEM**

Det var egentlig meningen å bruke TEM, men da dette var ute av drift ble det benyttet SEM. SEM basers på sekundæremisjon av elektroner. Disse elektronene blir emittert når analytten blir truffet av en elektronstråle produsert av instrumentet. Instrumentet skanner etter disse sekundæremitterte elektronene som danner et bilde av analytten(31), derav navnet SEM (Scanning electron Microspy). Dette er god komplementærmetode som kan brukes til å bekrefte sp-ICP-MS resultatene(12)

## 5 Metodeutvikling og eksperimentelt

Metoden tar som nevnt utgangspunkt i tidligere arbeid gjort på HI for gullnanopartikler. I denne arbeidet var målet å undersøke sølvnanopartikler i blåskjell som modellmatrise både med DLS og sp-ICP-MS. Både sølv og gull kan brukes til kalibrering av sp-ICP-MS-metoden, og begge muligheter for kalibrering ble derfor undersøkt, i tillegg til metodeutvikling for å undersøke muligheten for å bestemme sølvnanopartikler med både DLS, sp-ICP-MS og EM. Til slutt ble metode/valideringsparameterne for sp-ICP-MS-metoden for sølvnanopartikkelbestemmelse i blåskjell bestemt.

### 5.1 Opparbeiding blåskjell

Blåskjell (*Mytilus edulis*) til metodeutvikling ble tatt fra HI sin skjellovervåkning og ble opparbeidet etter prosedyre brukt ved Havforskningsinstituttet(32). En samleprøve av skjell ble tatt ut av fryseren og lagt til tining over natten. Neste dag ble de vasket/skrubbet i springen. Under vaskingen var det viktig å passe på å holde skjellene lukket for å unngå kontaminering. Skjellene ble åpnet ved å kutte lukkemuskelen med vanlig matkniv. Skjellene ble så satt på høykant med den spisse siden ned (stående) på et fat med papir for avrenning av vann i minst fem minutter. Hvis det befant seg fremmedlegemer som sand eller lignende i innmaten ble dette spylt vekk med destillert vann. Videre ble innmaten skrapet ut, med matkniv, etter ca. 25 skjell ble innmaten overført til en sil for avrenning i minst 5 min. Etter at dette var gjort ble alle skjellene slått sammen til en samleprøve. Skjellene var nå klar for homogenisering.

Homogeniseringen av hele samleprøven ble gjort med kjøkkenmaskin først. Etterpå ble samleprøven blandet og knust enda finere med en ultraturax. Etter homogeniseringen ble de homogeniserte blåskjellene fordelt i plastbeger i forskjellige størrelser, korken skrudd på, og begerne ble lagt i vanlig dypfryser (-20°C). Før videre analyse på instrumentet ble et beger tatt opp minst en dag i forveien for tining i kjøleskap over natten(33).

## 5.2 DLS bestemmelse

### 5.2.1 Prinsipp

Prøvene ble analysert med DLS før noen prøver ble fortynnet ved å tilsette destillertvann, mengden destillert vann ble lest av på prøverøret. De ble så analysert med DLS på nytt. Dette ble gjentatt noen ganger for å se hvor lavt i konsentrasjon det var mulig å gå

### 5.2.2 Prosedyre

Arbeidet med DLS ble utført på UIB. For opparbeiding av blåskjellmatriks se 5.1. For fortynningsserie 100 ng/L se Tabell 11 og Tabell 12. Disse prøvene ble tatt med fra HI og analysert på UiB, prøvene var allerede analysert med sp-ICP-MS. Senere ble det tatt med 1 mL av utgangskonsentrasjonen av nanopartikkelløsningene, med unntak av for RM8017der hele prøven ble tatt med siden denne bare var 2 mL i utgangspunktet. Får å ha nok løsning til kyvetten, dvs. mellom 1-1,5 mL, ble prøvene som var tatt med først fortynnet til 2 mL ved å tilsette destillertvann til det nådde 2mL merket på prøverøret, slik at konsentrasjonen ble halvert. Etter måling på DLS ble løsningen helt tilbake til prøverøret og fortynnet videre til 10mL ved å tilsette destillert vann. Fortynningen ble utført i prøverøret og det ble brukt øyemål og de volumetriske markeringene på røret ble brukt. Forsøket ble gjort for å undersøke nedre bestemmelsesgrense for konsentrasjon for å undersøke hvilket konsentrasjonsområde prøvene må ligge i og om det var realistisk å måle de lave konsentrasjonene en kan forvente av nanopartikler i miljøprøver. Noen av prøvene ble fortynnet ytterligere ved å ta ut 1mL med automatpipette som ble overført til en nytt rør og fortynnet 10 ganger ved å tilsette destillertvann opptil 10mL merket på prøverøret. Se Tabell 3 og Tabell 4 for fortynningsserie

Tabell 3 Fortynningsserie fra utgangskons 50mg/L AuNP 100nm/60nm/30 nm for å bestemme nedre konsentrasjonsområde for DLS-bestemmelse

utgangskons. (mg/L)	pippetert ut (mg/L)	sluttvolum (mg/L)	ny kons. (mg/L)
50	1	2	25
25	2	10	5
5	1	10	0,5
0,5	1	10	0,05

Tabell 4 Fortynningsserie fra utgangskons. 20mg/L AgNP 100 nm/40 nm for å bestemme nedre konsentrasjonsområde for DLS-bestemmelse

utgangskons. (mg/L)	pipetert ut (mg/L)	sluttvolum (mg/L)	ny kons. (mg/L)
20	1	2	10
10	1	10	2
2	1	10	0,2

### 5.2.3 Analyse på DLS-instrument

Tabell 5 viser en oversikt over viktige instrumentparametere for DLS

Tabell 5 Instrument parametere DLS

parameter	
instrument	Zetasizer Nano ZS
måleområde	0.3nm – 10.0 um(diameter).
lyskilde	He-Ne laser 633nm, Maks 4mW.
opptikk	NIBS (Non-Invasive Back Scatter)

Et par av prøvene ble også behandlet med ultralydbad i 5-7minutter, se 6.1 DLS resultat.

### 5.2.4 Kvalitetssikring

Målte verdier ble sammenlignet med resultat fra sp-ICP-MS analyser og oppgitte verdier fra produsent.

### 5.3 ICP-MS bestemmelser

### 5.4 Bestemmelse av Gull (kalibrering)

#### 5.4.1 Prinsipp

Prøvene ble brutt ned enzymatisk med Protamex (Novozymes) etter at nanopartikkelanalyttene hadde blitt tilsatt. Etter nedbrytning av blåskjellmatrisen ble prøvene fortynnet totalt 500 ganger før de ble analysert med sp-ICP-MS. Kalibrering ble gjort med ionisk gullstandard i ulike konsentrasjoner (0,5 µg/L, 5 µg/L og 10 µg/L) med ionisk blank som nullpunkt i kalibreringskurven. Nebuliserings effektiviteten ble beregnet av programvaren (Masshunter 4.5) med utgangspunkt i RMSize beregningsmetoden. En standard av 60 nm AuNP med konsentrasjon 100 ng/L ble brukt som referansemateriale.

#### 5.4.2 Prosedyre

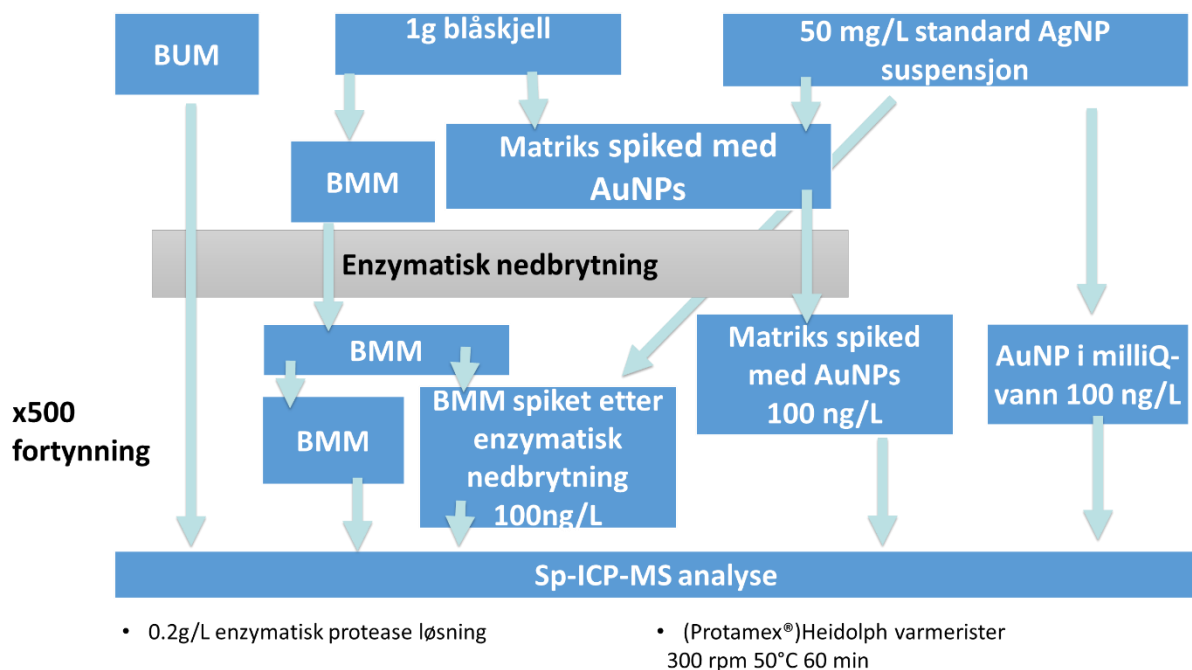
Enzymløsningen, Protamex (Novozymes) ble laget ved å veie inn 5g enzym som ble overført til en 25mL målekolbe. Deretter ble enzymet løst ved å tilsette ca. 10 ml milliQ-vann og riste prøven ved å bruke swirlmixer før milliQ-vann ble tilsatt til merket slik at slutt-konsentrasjonen ble 200 g/L.

En oversikt over prøveopparbeidingen er vist i Figur 8. Det ble veid inn ca. et gram våt prøve av blåskjell i rør med gulkork og rund bunn. Den runde bunnen gjorde at prøven ble bedre blandet sammen under ristingen senere i prosedyren. Det ble veid inn tre prøver av blåskjell, to som ble tilsatt 100 µL av 500 µg/L 60 nm Au NP og en som ble tilsatt 100 µL milliQ-vann. Etter at prøvene hadde blitt spiket og lokket skrudd på, ble prøvene tilsatt 3 mL med enzymløsning og blandet godt både for hånd og på Wirlmixer. Videre ble prøvene lagt horisontalt og tapet fast i stativ før prøvene ble lagt horisontalt på en varmerister med en ristehastighet på ca. 300 rpm i 50°C i ca. en time.

Etter varmeristingen ble prøvene, som var spiket med nanopartikler, fortynnet to ganger ved å tilsette 4 mL milliQ-vann med automatpipette slik at totalt volum ble 8 mL. Deretter ble prøvene blandet godt, både for hånd og på Wirlmixer før prøvene ble fortynnet videre fem ganger ved å ta ut 2 mL av prøven med en automatpipette og pipettere volumet over i et prøverør med 8 mL milliQ-vann som var gjort klart slik at totalt volum ble 10 mL. Den fortynnede prøven ble deretter blandet godt både for hånd og med Whirlmixer. Til slutt ble det gjort en videre fortynning for å få en sluttkonsentrasjon på 100 ng/L ved at det ble tatt ut 1 mL av prøve med en automatpipette. Volumet ble overført til et nytt prøverør som

inneholdt 11,5 mL milliQ-vann slik at prøven ble fortynnet 12,5 ganger til. Prøven ble deretter blandet godt for hånd og på wirlmixer. De fortynnete prøvene var nå klare for analyse med sp-ICP-MS.

Prøven som ble spiket med 100µL milliQ-vann, og ikke nanopartikler, ble nå splittet i to. Dette ble gjort ved å ta ut to ganger en mL i hvert sitt nye prøverør. Den ene prøven ble så tilsatt 25µL 500 µg/L AuNP60nm før prøven ble blandet godt og tilsatt 975µL milliQ-vann. Prøven hadde da totalt volum 2 mL. Prøven ble deretter videre fortynnet til 10mL ved å tilsette 8 mL milliQ-vann med 5 mL automatpippette. Etter at prøven ble blandet godt ble den igjen fortynnet 12,5ganger ved å ta ut 1 mL og overføre til et nytt rør som allerede inneholdt 11,5 mL milliQ-vann, Prøven var da klar for å bli analysert på instrumentet. Prøven som ikke ble tilsatt nanopartikler og besto nå av 1mL av den opprinnelige prøven som bare ble spiket med vann. Denne prøven ble bare fortynnet videre med milliQ-vann. Først tilsatt 1 mL milliQ-vann, videre 8 mL milliQ-vann og til slutt, som alle de tidligere nevnte prøvene ble det tatt en mL over i et nytt rør med 11,5mL milliQ-vann(Fortynnet 12,5 ganger), prøven var da klar for å bli analysert på instrumentet. Se Figur 9, det er samme opparbeiding, men fortynningen var 500 ganger og ikke 200.



Figur 8 oversikt over prøveoppbeiding av AuNP for sp-ICP-MS

Ioniske gullstandarder ble laget etter følgende fortynningsserie vist i Tabell 6:

Tabell 6 Fortynningsserie for ionisk gull

<b>utgangskons.</b> <b>(mg/L)</b>	<b>pipetert ut</b> <b>(uL)</b>	<b>sluttvolum</b> <b>(mL)</b>	<b>ny kons.</b> <b>(ug/L)</b>
1000	100	10	10000
10	100	10	100
0,1	50	10	0,5
0,1	100	10	1
0,1	1000	10	10

Det ble laget RM av samme partikler som ble tilsatt prøvene, etter følgende fortynningsserie vist i Tabell 7

Tabell 7 Fortynningsserie NP gull standard

<b>utgangskons.</b> <b>(mg/L)</b>	<b>pipetert ut</b> <b>(uL)</b>	<b>sluttvolum</b> <b>(mL)</b>	<b>ny kons.</b> <b>(ug/L)</b>
50	100	10	500
0,5	100	10	5
0,005	200	10	0,1

### 5.4.3 Analyse med sp-ICP-MS-instrument innstillinger

Analysene ble gjort på et Agilent 7900 ICP-MS-instrument med enkeltpartikkelapplikasjonen installert i programvaren Mass Hunter 4.5. Instrumentet var satt opp med følgende parametere vist i Tabell 8

Tabell 8 ICP-MS parametere AuNP

ICP-MS parameter	Verdi
RF power	1550 W
Nebulizing gas	1.05 L/min
Nebulizer	Micromist
Nebulizer pump	0.1 rps
Torch	1.5 mm
Tubing ID	1.02 mm
Integration time	0.1 msec (peak integration mode)
Isotopes monitored	197Au
Analysis time per isotope	120 sec
Probe rinse	Rinse 1: 60 s 5% HNO <sub>3</sub> Rinse 2: 90 s MilliQ
Reference material	Au 60 nm
Ionic standards	Au (0.5, 1 og 10 µg/L)

Generell prøvesekvens på instrumentet ved analysene av gull nanopartikler er vist i Tabell 9.

Tabell 9 Prøverekkefølge ved analyse av gull med sp-ICP-MS

Type	Prøvenavn
IonicBlk	vann
Sample	BUM
Sample	BMM uspiked
Sample	BMM spiked
Sample	vann
Sample	1 blaskjell 60nm 100ng/L
Sample	2 blaskjell 60nm 100 ng/L
Sample	vann
Sample	0,5 ug/L
Sample	1 ug/L
Sample	10ug/L
Sample	vann
RM	60nm Au 100 ng/L
Sample	vann



#### 5.4.4 Kvalitetssikring

Resultatene for gull ble sammenlignet med tidligere utførte analyser og validering utført av HI i tillegg til paralleller internt i hver analyseserie.

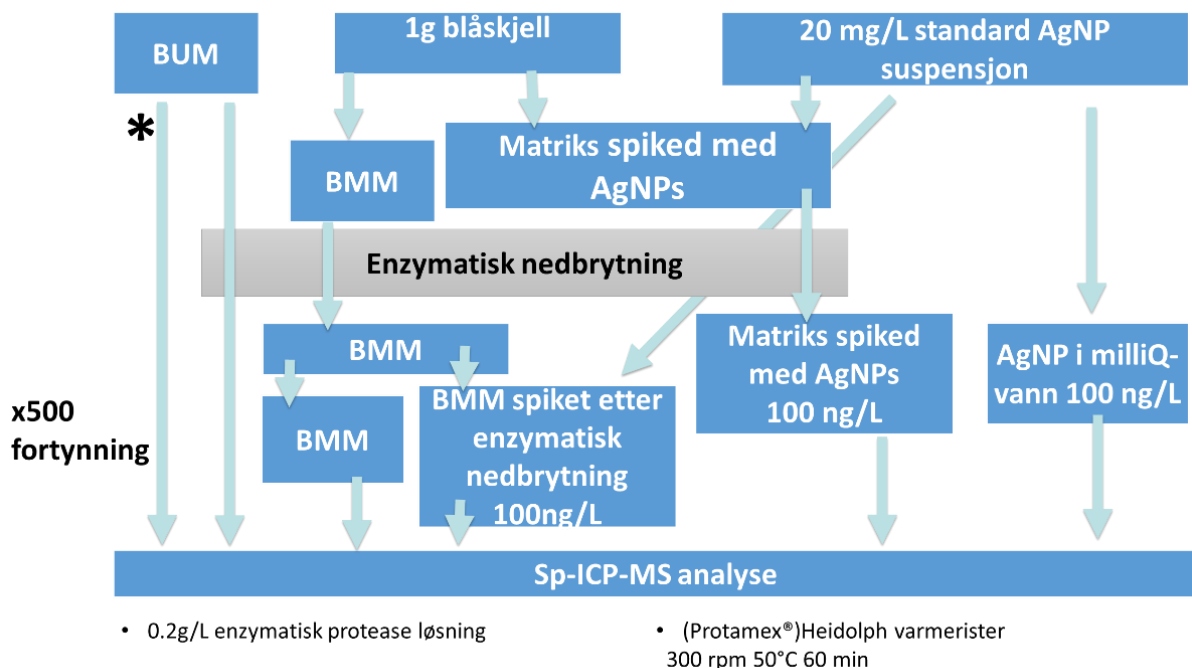
### 5.5 Bestemmelse av sølv (kalibrering med sølv)

#### 5.5.1 Prinsipp

Bruker samme prinsipp som for bestemmelse av gull (5.4.1).

#### 5.5.2 Prosedyre

For prøveopparbeiding se kapittel 5.4.2 da samme fremgangsmåte ble brukt bortsett fra at det ble oparbeidet flere prøver med sølvpartikler i dette tilfellet. De ioniske standardene i fortynningsserien er vist i Tabell 10. Sølvnanopartiklene hadde en annen utgangskonsentrasjon enn for gullnanopartiklene og fortynningsserien er vist i Tabell 11. Det ble også laget en suspensjon av RM8017, som er et RM for sølvnanopartikler fra NIST, og fortynningsserien er vist i Tabell 12. Se oversikt over prøveopparbeiding Figur 9.



\*Ikke behandlet med enzymatisk nedbrytning

Figur 9 oversikt over prøveopparbeiding av AgNP for sp-ICP-MS

<b>utgangskons.</b> <b>(mg/L)</b>	<b>pipetert ut</b> <b>(uL)</b>	<b>sluttvolum</b> <b>(mL)</b>	<b>ny kons.</b> <b>(ug/L)</b>
1000	100	10	10000
10	100	10	100
0,1	50	10	0,5
0,1	100	10	1
0,1	1000	10	10

Tabell 10 sp-ICP-MS Fortynningsserie Ionisk sølvstandard

<b>utgangskons.</b> <b>(mg/L)</b>	<b>pipetert ut</b> <b>(uL)</b>	<b>sluttvolum</b> <b>(mL)</b>	<b>ny kons.</b> <b>(ug/L)</b>
20	250	10	500
0,5	100	10	5
0,005	200	10	0,1

Tabell 11 sp-ICP-MS Fortynningsserie for AgNP 40/100 nm standard

<b>utgangskons.</b> <b>(mg/L)</b>	<b>pipetert ut</b> <b>(uL)</b>	<b>sluttvolum</b> <b>(mL)</b>	<b>ny kons.</b> <b>(ug/L)</b>
1 000	10	10	1000
1	10	10	1
0,001	1000	10	0,1

Tabell 12 sp-ICP-MS Fortynningsserie for AgNP RM8017

### 5.5.3 Analyse sp-ICP-MS-innstillinger, observasjoner

Analysene ble gjort med et Agilent 7900 ICP-MS instrument med enkeltpartikkel applikasjonen (Versjonsnummer) installert i programvaren Mass Hunter 4.5. Instrumentparametere vist i Tabell 13 ble brukt i analysene.

Tabell 13 ICP-MS parameter AgNP, som RM

ICP-MS Parameter	Verdi
RF power	1550 W
Nebulizing gas	1.05 L/min
Nebulizer	Micromist
Nebulizer pump	0.1 rps
Torch	1.5 mm
Tubing ID	1.02 mm
Integration time	0.1 msec (peak integration mode)
Isotopes monitored	107Ag
Analysis time per isotope	120 sec
Probe rinse	Rinse 1: 60 s 5% HNO <sub>3</sub> Rinse 2: 90 s MilliQ
Reference material	Ag 40/75/100 nm
Ionic standards	Ag (0.5, 1 og 10 µg/L)

En generell rekkefølge for analyse med sølv som kalibrering er vist i Tabell 14. Det var små avvik fra denne rekkefølgen f.eks. når det gjaldt antallet ioniske standarder.

Tabell 14 sp-ICP-MS rekkefølge analyse sølv

Type	Prøvenavn
IonicBlk	vann
Sample	BUM
Sample	BMM uspiked
Sample	BMM NP40
Sample	BMM NP100
Sample	vann
Sample	1 blåskjell NP40 100ng/L
Sample	2 blåskjell NP40 100ng/L
Sample	3 blåskjell NP100 100ng/L
Sample	4 blåskjell NP100 100ng/L
Sample	NP 40 100ng/L
Sample	NP100 100ng/L
Sample	RM8017 NP75 100 ng/L
Sample	vann
Sample	0,5 ug/L gammel
Sample	1ug/L gammel
Sample	10ug/L gammel
Sample	vann
Sample	0,5ug/L ny
Sample	1 ug/L ny
Sample	10 ug/L ny
Sample	vann
Sample	0,5 ug/L multi
Sample	1ug/L multi
Sample	10 ug/L multi

#### 5.5.4 Kvalitetssikring

Resultatene ble sammenlignet med gullresultater fra HIs tidligere analyser og valideringsrapport og internt ved å sammenligne paralleller. Resultatene ble til slutt brukt til å beregne metode/valideringsparametere for sølvmetoden i kapittel 7.

## 5.6 Bestemmelse av sølv (kalibrering med gull)

### 5.6.1 Prinsipp

Prøvene ble brutt ned som beskrevet tidligere i 5.4.1. Kalibrering ble gjort med ionisk gull standard for RM og ionisk sølvstandard for AN i ulike konsentrasjoner (0,5 µg/L, 5 µg/L og 10 µg/L).

### 5.6.2 Prosedyre

Prøvene ble opparbeidet på samme måte som 5.4.2 og 5.5.2. De spikete prøvene ble tilsatt sølvnanopartikler 40 nm og 100 nm. Det ble opparbeidet en gullnanopartikkelstandard etter fortynningsserie vist i Tabell 7, og en ionisk gullstandard fortynnet som vist i Tabell 6. Sølvnanopartiklene ble fortynnet som vist i Tabell 11 og Tabell 12. Ionisk sølvstandard ble fortynnet som angitt i Tabell 10.

### 5.6.3 Analyse sp-ICP-MS-instrument innstillinger, observasjoner

Analysene ble gjort med et Agilent 7900 ICP-MS instrument med enkeltpartikkel applikasjonen installert i programvaren Mass Hunter 4.5. Instrumentparametere vist i Tabell 15 ble brukt i analysene.

Tabell 15 ICP-MS parametere for AgNP med Au som RM

ICP-MS parameter	Verdi
RF power	1550 W
Nebulizing gas	1.05 L/min
Nebulizer	Micromist
Nebulizer pump	0.1 rps
Torch	1.5 mm
Tubing ID	1.02 mm
Integration time	0.1 msec (peak integration mode)
Isotopes monitored	107Ag, 197Au(RM)
Analysis time per isotope	120 sec
Probe rinse	Rinse 1: 60 s 5% HNO <sub>3</sub> Rinse 2: 90 s MilliQ
Reference material	Au 60nm
Ionic standards	Ag (0.5, 1 og 10 µg/L) Au(0.5, 1 og 10 µg/L)

I Tabell 16 er det vist en generell rekkefølge for et forsøk der gull er brukt for kalibrering for bestemmelse av sølv.

Tabell 16 sp-ICP-MS rekkefølge Gull som kalibrering for sølv

Type	Prøvenavn
IonicBlk	vann
Sample	BUM
Sample	BUM
Sample	BMM uspiked
Sample	BMM spiket 3 NP40
Sample	BMM spiket 7 NP100
Sample	vann
Sample	1 blåskjell 40nm 100ng/L
Sample	2 blåskjell 40nm 100ng/L
Sample	5 blåskjell 100nm 100ng/L
Sample	6 blåskjell 100nm 100ng/L
Sample	vann
Sample	0,5 ug/L sølv
Sample	1 ug/L sølv
Sample	10 ug/L sølv
Sample	vann
Sample	0,5 ug/L gull
Sample	1 ug/l Gull
Sample	10 ug/L gull
Sample	vann
Sample	RM8017 100ng/l 75nm sølv
Sample	100ng/L NP40nm sølv
Sample	100ng/L NP 100nm cølv
Sample	vann
Sample	100ng/L NP30nm gull
Sample	100ng/L NP60 nm gull

#### 5.6.4 Kvalitetssikring

Resultatene ble sammenlignet med gullresultater fra HIs tidligere analyser og valideringsrapport og internt ved å sammenligne paralleller i samme analyseserie. Resultatene fra analysene ble til slutt brukt til å beregne metode/valideringsparametere for sølvmetoden.

#### 5.7 EM Bestemmelser

Det ble analysert to prøver med sølvnanopartikler, en med 100 nm og en med 40nm. Dette ble utført av ansatte på UiB pga. Koronanedstenging av universitetet. Analysene ble gjort på SEM da TEM var ute av drift.

### 5.7.1 Prinsipp

Et skannende elektronmikroskop (SEM) tar bilde av overflaten til partiklene med en fokusert stråle av elektroner.

### 5.7.2 Prosedyre

To suspensjoner 40 nm og 100 nm 20 mg/L sølvnanopartikler ble levert på UiB, der personalet utførte opparbeiding og analyse. Nanopartiklene ble lagt på en carbontape limt på en nagle av aluminium, og deretter coatet med gull og palladium (40/60) Alt dette for å gjøre preparatet stabilt og elektrisk ledende for detektering.

### 5.7.3 Analyse SEM instrument innstillinger

Tabell 17 gir en oversikt over instrumentparameterne for SEM.

Tabell 17 Instrumentparametere SEM

parameter	
Instrument	Zeiss Supra 55 VP
KV range:	100 V - 30 kV.
oppløsning	1nm @ 15 kV
forstørring	12 - 900.000×
	In-lens secondary electron detector (in-lens SE)
	secondary electron detector (ET)
	angle selective backscatter detector (AsB)
detektor	4 quadrant STEM detector
	Energy dispersive spectroscopy (EDS)
	Wavelength dispersive spectroscopy (WDS)
	Cathodoluminescence detector (CL)

### 5.7.4 Kvalitetssikring

Resultatene fra EM ble sammenlignet med resultater fra sp-ICP-MS.

## 6 Resultater og diskusjon

### 6.1 DLS

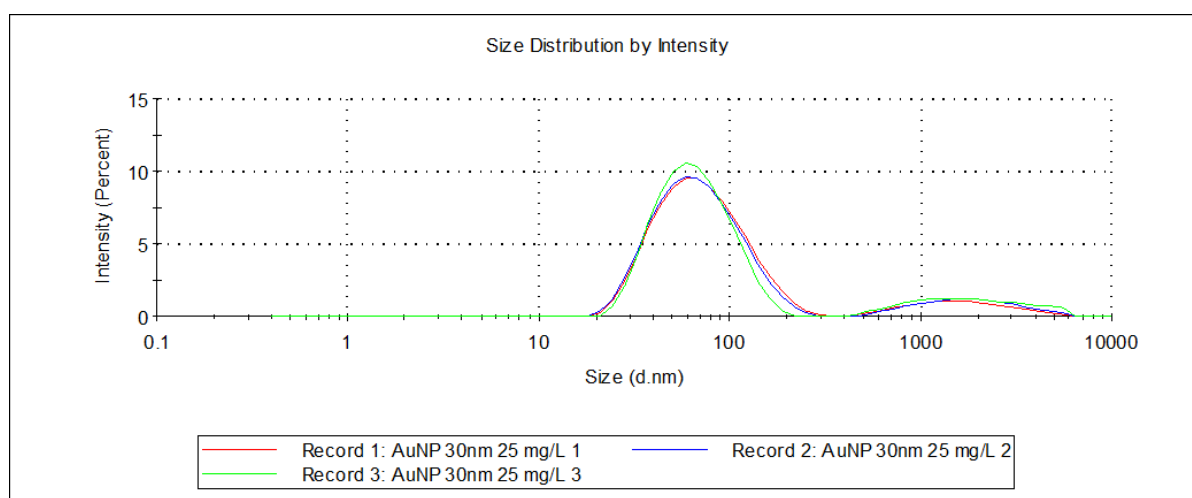
#### 6.1.1 Vannløsninger: Undersøkelse av bestemmelsesgrense for gull

Resultatene fra DLS analyse av 30 nm AgNP i milliQ-vann er vist i Tabell 18

Tabell 18 DLS Resultat AuNP30nm

kons. (mg/L)		Parallell			Gjennomsnitt (nm)	SD	RSD%
		1	2	3			
25	<b>Z-Ave</b>	67	66	66	66	0	0
	<b>topp 1</b>	78	75	70	74	4	6
	<b>topp 2</b>	1815	2012	2086	1971	140	7
	<b>Pdi</b>	0,334	0,340	0,397	0,357	0,035	10

Analysen av AuNP30 nm bestemte en størrelse på ca. 70 nm som var mer enn dobbelt av forventet størrelse. PDI verdien var relativt høy. I Tabell 18 viser at DLS-en har funnet to størrelsesfordelinger av partikler, i Figur 10 er det to topper. Til tross for at det ble funnet to topper, var ingen av disse den forventede størrelsen på 30nm. Siden resultatet avvek så mye fra den antatte verdien ble det besluttet å ikke fortynne denne prøven videre. Figur 10 viser at det ble funnet to topper. Begge toppene ble ganske brede 20-200 nm og 500-6000 nm. Dette kan tyde på kontaminering av prøven eller at det ble dannet agglomerater eller aggregater i prøven før den ble analysert.



Figur 10 DLS Størrelses fordeling AuNP30nm



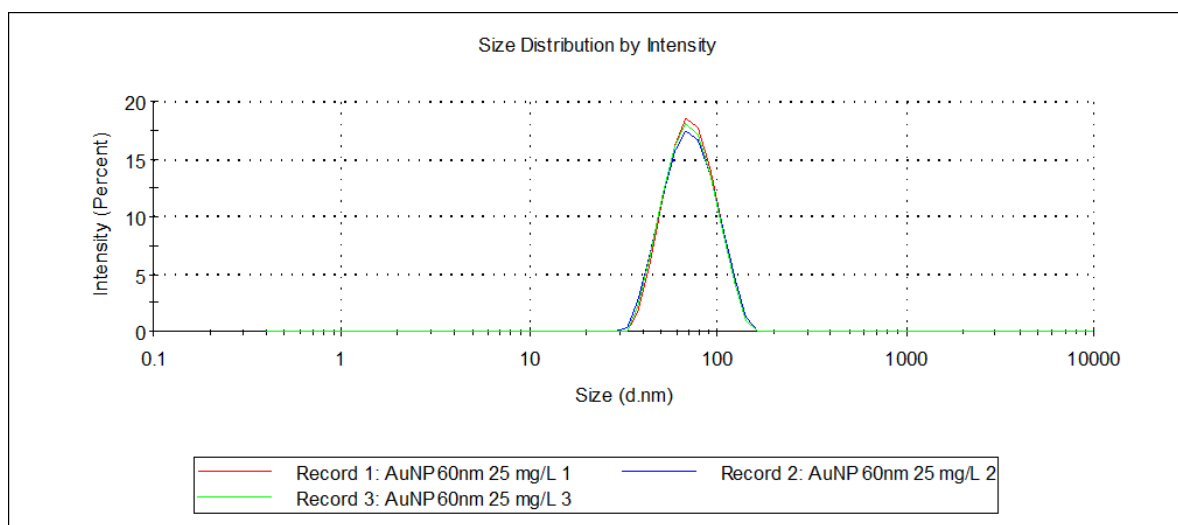
Tabell 19 er en oversikt over resultatene fra bestemmelsen av 25 mg/L AuNP60nm i milliQ-vann

Tabell 19 DLS Resultat 25 mg/L AuNP60nm i milliQ-vann

kons. (mg/L)		Parallell			Gjennomsnitt (nm)	SD	RSD%
		1	2	3			
25	<b>Z-Ave</b>	68	67	67	68	0	1
	<b>topp</b>	74	74	73	74	0	0
	<b>Pdi</b>	0,064	0,073	0,070	0,069	0,005	7

Denne prøven ble bare analysert engang, det med høy konsentrasjon, 25 mg/L. Utfra Tabell 19 er en oversikt over resultatene fra bestemmelsen av 25 mg/L AuNP60nm i milliQ-vann

Tabell 19 ser en at DLS-en bestemte en størrelse på ca. 70 nm, med lav PdI verdi. Den bestemte størrelsen var ikke veldig langt fra den antatte størrelsen 60 nm. At den var litt høyere, kan skyldes den hydrodynamiske diameter. Figur 11 viser en fin størrelses fordeling, på tre ganske like paralleller. Figuren viser at fordelingen lå mellom 30nm-150nm.



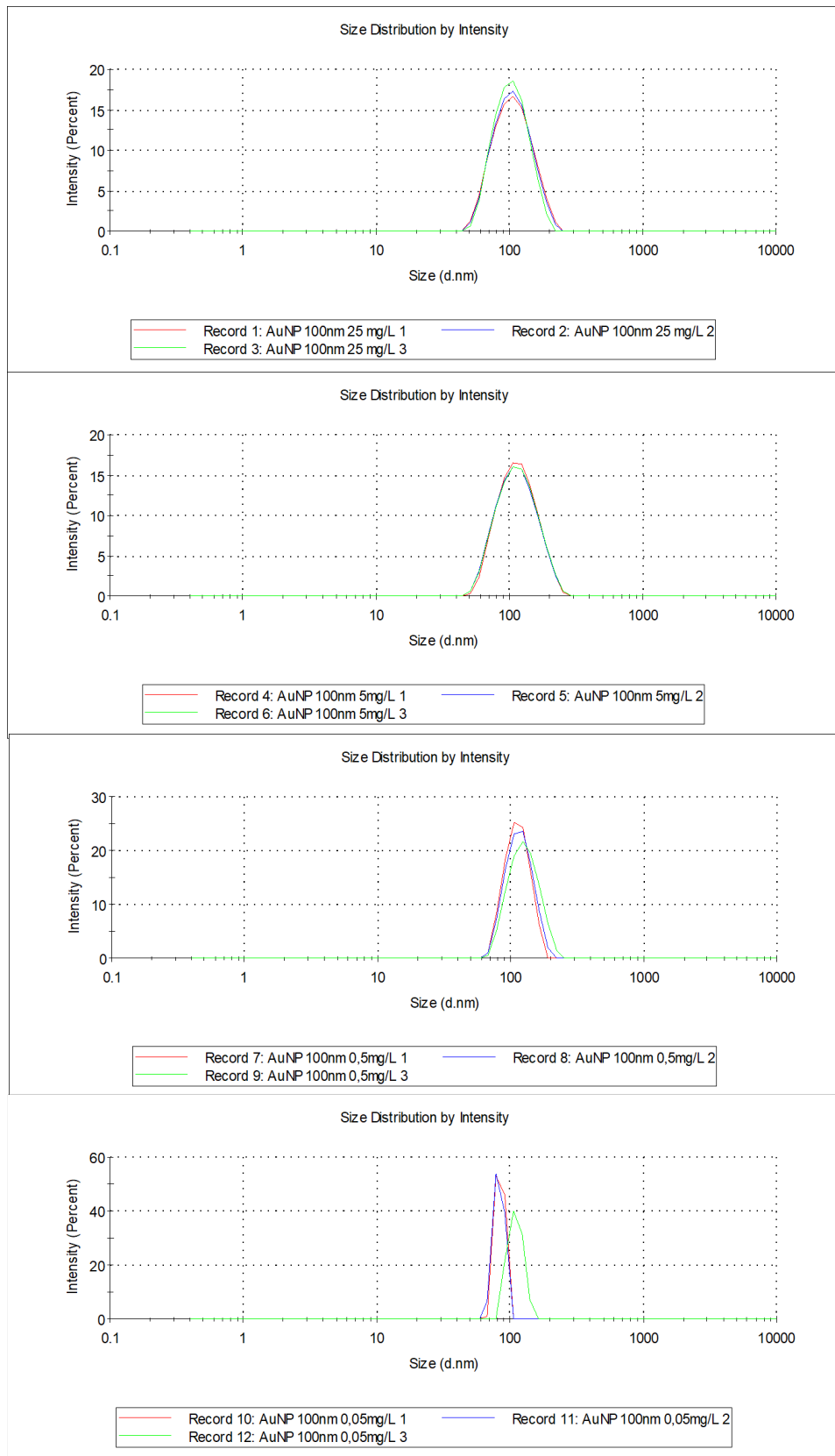
Figur 11 DLS Størrelsesfordeling 25 mg/L 60AuNP 60 nm i milliQ-vann

I Tabell 20 er det en oversikt over resultatene av analysene for AuNP100nm.

Tabell 20 DLS Resultat AuNP100nm i dest.vann

kons. (mg/L)		Parallell			Gjennomsnitt (nm)	SD	RSD%
		1	2	3			
25	<b>Z-Ave</b>	100	99	98	99	1	1
	<b>topp</b>	110	109	106	109	2	2
	<b>Pdi</b>	0,088	0,081	0,06	0,076	0,015	19
5	<b>Z-Ave</b>	108	106	106,300	107	1	1
	<b>topp</b>	119	118	119	119	1	0
	<b>Pdi</b>	0,099	0,101	0,098	0,099	0,002	2
0,5	<b>Z-Ave</b>	131	133	130	131	1	1
	<b>topp</b>	114	118	128	120	7	6
	<b>Pdi</b>	0,222	0,216	0,209	0,216	0,007	3
0,05	<b>Z-Ave</b>	456	502	327	428	91	21
	<b>topp</b>	84	83	111	93	15	17
	<b>Pdi</b>	0,510	0,467	0,312	0,430	0,104	24

Denne prøven ga det beste resultatet og bestemmelsesgrensen ble derfor undersøkt for dette nanomateriale. Etter hver analyse ble prøven fortynnet med destillert vann, og det ble analysert tre nye paralleller. Grunnen til at det ble brukt destillert vann og ikke milliQ-vann, var at DLS-en var på UiB og der var det destillert vann som var tilgjengelig. Første analyse bestemte gjennomsnitts diameteren til 99 nm, som var forventet størrelse, mens toppen bestemte til 109 nm. Denne størrelsen ble funnet når konsentrasjonen var høyest; 25 mg/L. Ettersom prøvene ble fortynnet så det ut til at DLS-en fikk mer og mer vanskeligheter med å avgjøre størrelsen. En indikasjon på dette var PDI verdien som ble høyere, i snitt 0,430 ved kons. 0,05 mg/L, sammen med diverse feilmeldinger fra programvaren. Figur 12 viser størrelsesfordelingen bestemt av DLS. Den viser fordelingen til kons. 25 mg/L til å være 45-250nm, kons 5 mg/L til å være 45-300 nm, for kons. 0,5 mg/L til 60-175 nm og kons 0,05 mg/L til 60-150 nm. En kan anslå at bestemmelsesgrensen ligger mellom 5-0,5 mg/L, da Pdi begynner å bli høy. Selv om toppen fortsatt kan gi en indikasjon på størrelsesorden partiklene er i, men med noe høyere usikkerhet.



Figur 12 DLS Størrelsesfordeling AuNP100nm i dest.vann

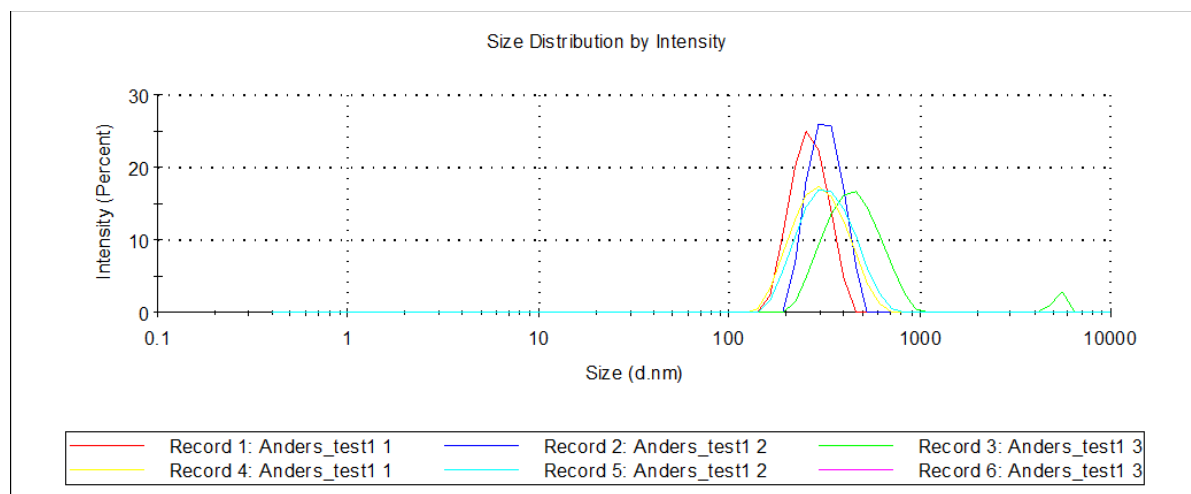
## 6.1.2 Sølv – test av sensitivitet til DLS med 100 ng/L kalibreringsstandard

Tabell 21 viser resultatene av første test med AgNP40nm i milliQ-vann.

Tabell 21 DLS Resultat 100 ng/L AgNP40nm i milliQ-vann

kons.		parallell					Gjennomsnitt (nm)	SD	RSD%
(ng/L)		1	2	3	4	5			
100	<b>Z-Ave</b>	561	804	521	263	266	483	227	47
	<b>Pdi</b>	0,515	0,638	0,313	0,220	0,277	0,393	0,177	45

Prøven hadde etter fortyning en konsentrasjon på 100 ng/L. Det ble analysert 3 paralleller ved hver analyse. Prøven ble analysert med varierende resultat 520nm-804nm. Dette var langt over 40 nm som var den forventede størrelsen. Andre analyse gav to gode paralleller, ca. 264nm, men siden disse også var langt over 40nm, ble 3. parallell avbrutt. Figur 13 under viser størrelsesfordelingene for parallellene, som lå mellom 150-1000nm, med alle toppene lik eller høyere enn 200nm. Dette var betydelig høyere enn 40nm. Det ble derfor besluttet å gjøre nye analyser med høyere konsentrasjon.



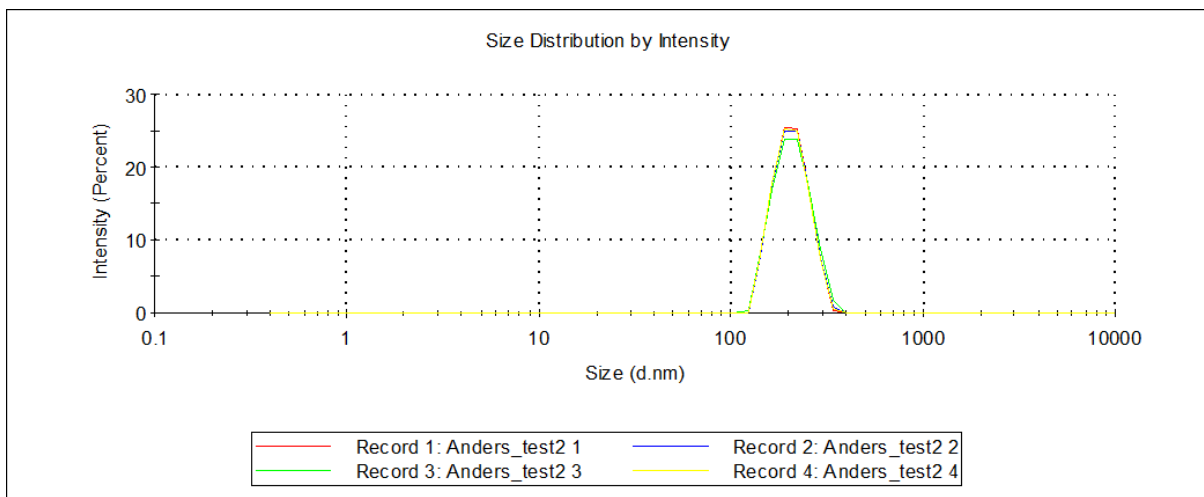
Figur 13 DLS Størrelsesfordeling 100 ng/L AgNP40nm i milliQ-vann

Tabell 22 viser 4 paralleller av analyse av AgNP75nm fortynnet i milliQ-vann.

Tabell 22 DLS resultat 100 ng/L AgNP75nm i milliQ-vann.

kons.	parallell				Gjennomsnitt (nm)	SD	RSD%
(ng/L)	1	2	3	4			
100	<b>Z-Ave</b>	204	202	204	203	1	0
	<b>Pdi</b>	0,025	0,013	0,011	0,028	0,009	44

Det ble gjort et forsøk med AgNP75nm (RM8017), også denne med konsentrasjon 100 ng/L. Det ble fire gode paralleller med lav PDI, som tyder på gode resultater. Det bestemte størrelsen er nesten tredobbelt av forventet størrelse på 75 nm. I Figur 14 ser de også ut som gode resultater, men toppene ble på ca. 200 nm, tilsvarende z-Ave.



Figur 14 DLS Størrelsesfordeling 100 ng/L AgNP75nm i milliQ-vann

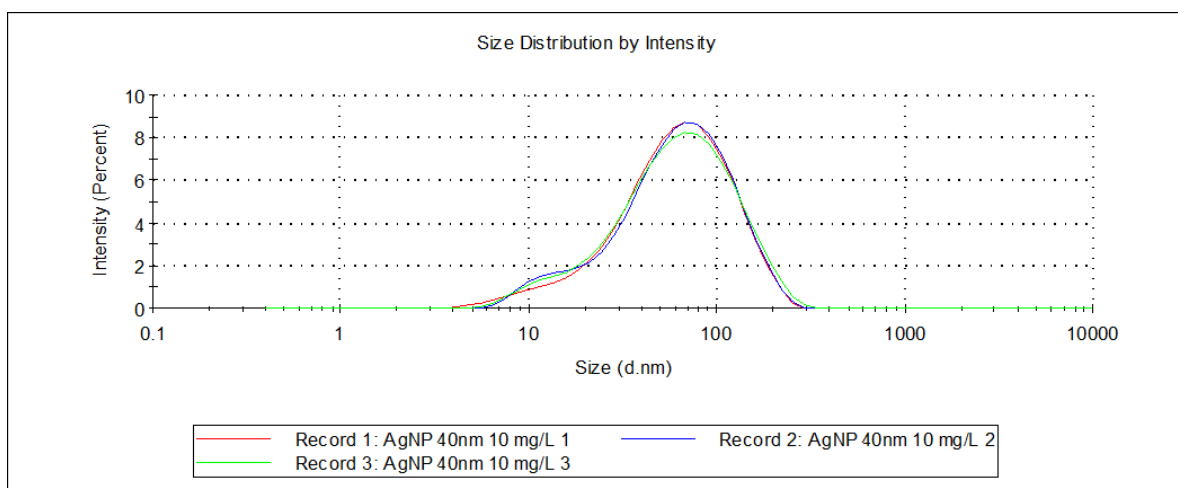
### 6.1.3 Sølv – undersøkelse av bestemmelsesgrense

I Tabell 23 er det en oversikt over tre paralleller det ble tatt av AgNP40nm.

Tabell 23 DLS resultat AgNP40nm 10mg/L

kons. (mg/L)	parallell	Gjenno msnitt (nm)			SD	RSD%
		1	2	3		
10	<b>Z-Ave</b>	47	46	46	46	0
	<b>topp</b>	71	72	73	72	1
	<b>Pdi</b>	0,374	0,377	0,376	0,376	0,002

Størrelsen (72 nm) funnet for toppen var en del større enn forventet verdi, men gjennomsnitts størrelsen (46 nm) var ganske nærme de antatte 40 nm. PDI-en ble noe høy, tyder på ulike partikkelstørrelser. Dette ble bekreftet i Figur 15, som viser at størrelsesfordelingen fant en topp for hver parallell. Men under analysen var det anløp til topper. Fordelingen ble funnet fra 4 - 300 nm. Anløpet til topper kan tyde på at det har vært to forskjellige størrelsesordener av partikler i prøven. Det ble derfor besluttet og ikke fortynne denne prøven videre.



Figur 15 DLS Størrelsesfordeling AgNP40nm

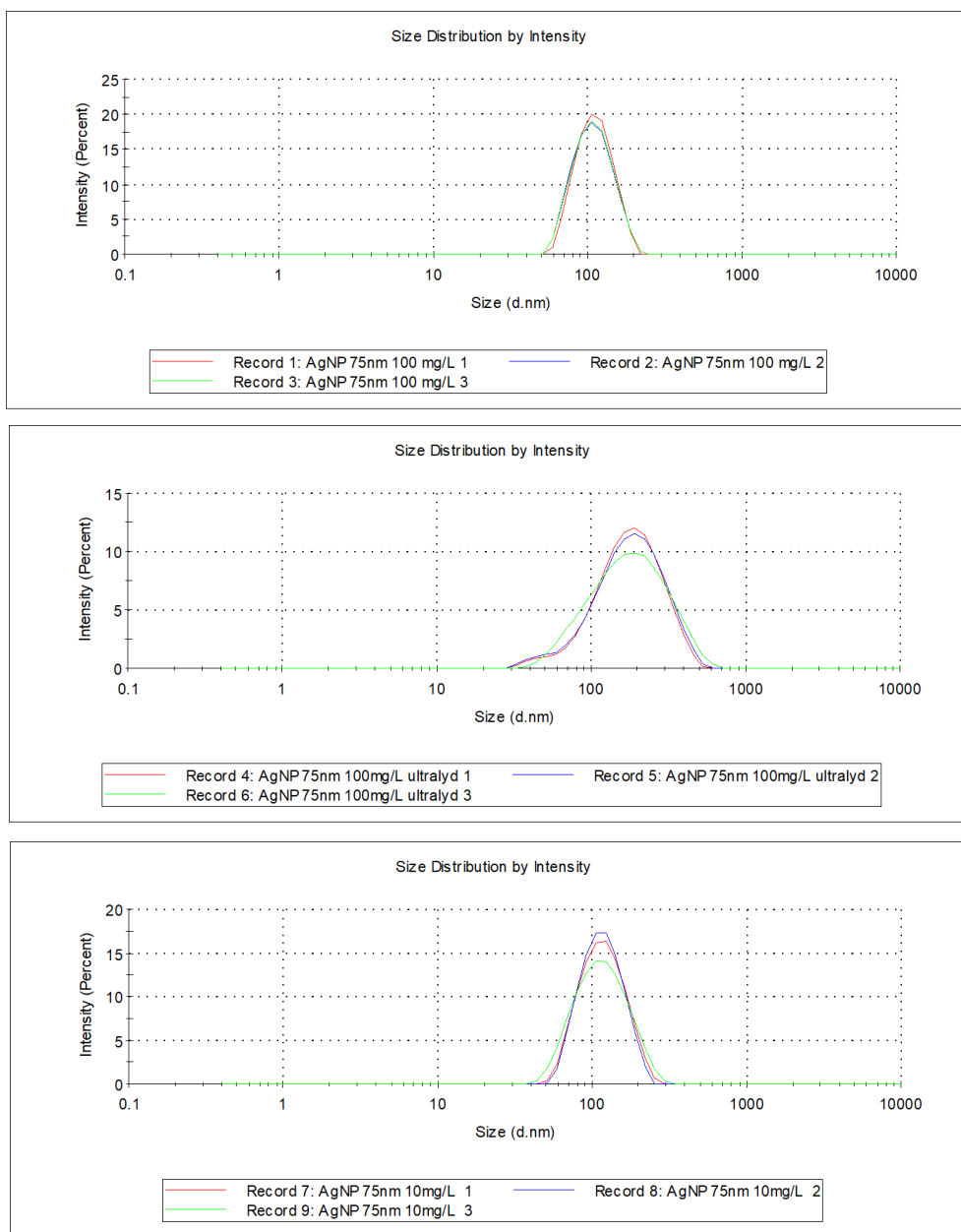
Tabell 24 viser AgNP75nm ble analysert tre ganger, med to forskjellige konsentrasjoner og engang etter ultralydbad (5-7 min).

Tabell 24 DLS Resultat AgNP75nm

kons. (mg/L)		Parallell			Gjennomsnitt (nm)	SD	RSD%
		1	2	3			
10	<b>Z-Ave</b>	107	104	104	105	2	2
	<b>topp</b>	114	112	112	112	1	1
	<b>Pdi</b>	0,042	0,057	0,057	0,052	0,009	17
10*	<b>Z-Ave</b>	153	153	150	152	2	1
	<b>topp</b>	191	195	197	194	3	2
	<b>Pdi</b>	0,193	0,206	0,217	0,205	0,012	6
1	<b>Z-Ave</b>	108	108	106	107	1	1
	<b>topp</b>	122	119	122	121	1	1
	<b>Pdi</b>	0,098	0,09	0,124	0,104	0,018	17

\*Reanalysert etter ultralydbad

Størrelsen ble funnet til noe over den forventede 75 nm for prøvene som ikke ble behandlet på ultralydbad. Det ser ikke ut til at fortynningen fra 10 mg/L 1 mg/L hadde stor innvirkning på prøven, da den bestemte gjennomsnittsstørrelsen ble funnet til 105-107 nm. Pdi-en ble dobbelt så høy for 1 mg/L enn 10 mg/L, men fortsatt lav sammenlignet med bestemmelsen etter ultralydbad. I motsetning til AgNP100 (Tabell 25), kan det se ut til at RM8017 ble påvirket av ultralydbadet. Dette var litt som forventet da det står «DO NOT SONICATE» i sertifikatet til RM8017 (24). Kurvene i Figur 16 viser en fin fordeling av størrelse for kjøring kons 10 mg/L 1,2,3 og kons 1 mg/L 1,2 og 3, (i Figur 16 record 1, 2, 3, 7, 8 og 9). Kurvene for prøven som ble behandlet med ultralydbad var bredere og ujevn, underveis i kjøringen var dette to topper, men ble etter hvert til en. Det kan bety det ble dannet nye større partikler, agglomerater eller aggregater, det kan også se ut til at noen av partiklene ble mindre. Da størrelsesfordelingen av toppene for prøven behandlet med ultralyd går fra 30-700 nm, mens prøven som ikke er behandlet med ultralyd går fra 40 – 300 nm.



Figur 16 DLS størrelsesfordeling AgNP75nm



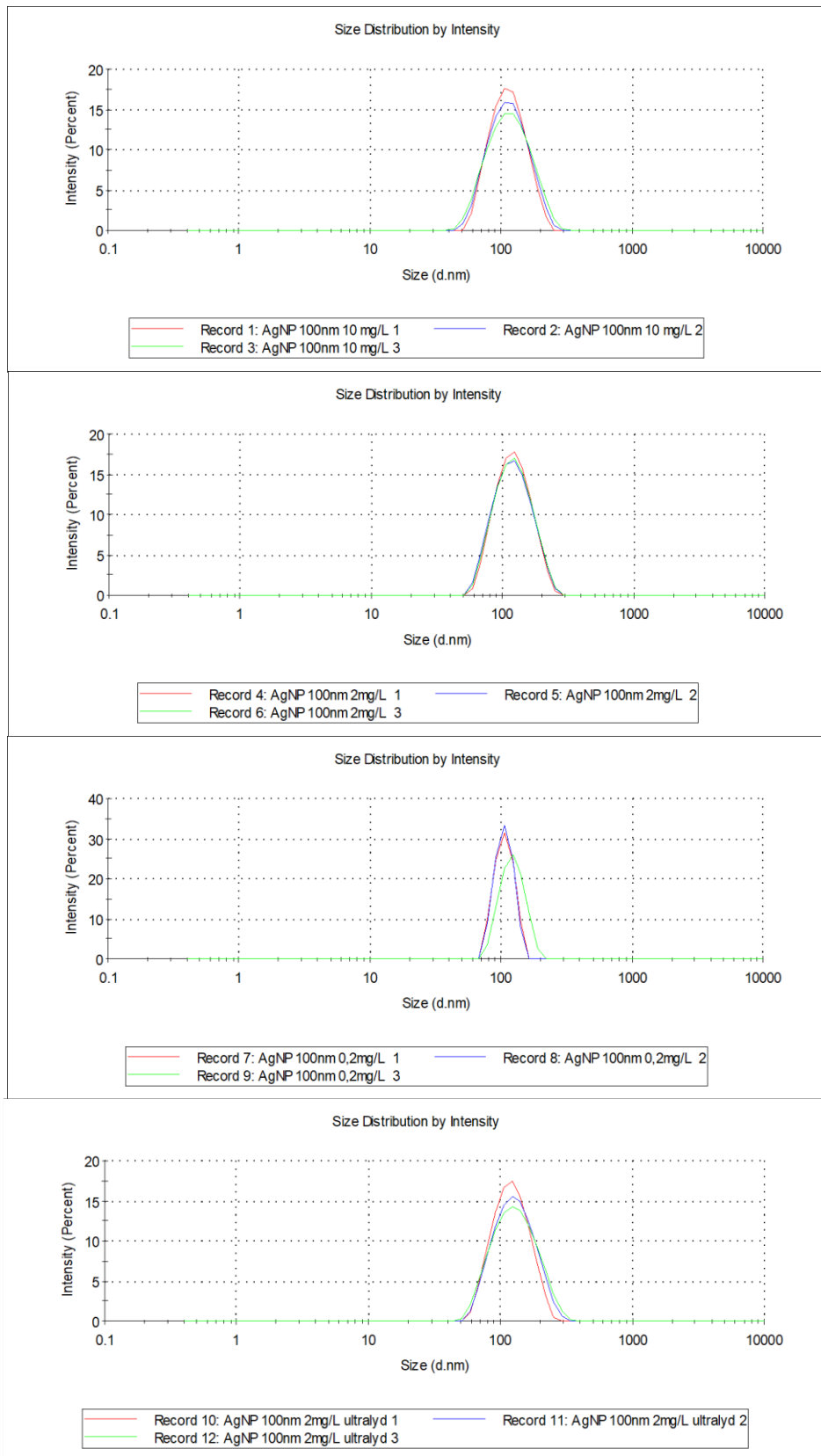
I Tabell 25 er det en oversikt over resultatene fra bestemmelsen av AgNP100nm.

Tabell 25 DLS Resultat AgNP100nm

kons. (mg/L)		Parallell			Gjennomsnitt (nm)	SD	RSD%
		1	2	3			
10	<b>Z-Ave</b>	107	107	107	107	0	0
	<b>topp</b>	117	119	122	119	2	2
	<b>Pdi</b>	0,076	0,091	0,108	0,092	0,016	17
2	<b>Z-Ave</b>	118	116	116	117	1	1
	<b>topp</b>	125	125	126	125	1	0
	<b>Pdi</b>	0,172	0,155	0,154	0,160	0,010	6
2*	<b>Z-Ave</b>	118	118	116	117	1	1
	<b>topp</b>	125	133	136	131	6	4
	<b>Pdi</b>	0,187	0,167	0,155	0,170	0,016	10
0,2	<b>Z-Ave</b>	166	198	154	172	23	13
	<b>topp</b>	107	107	124	112	10	9
	<b>Pdi</b>	0,244	0,237	0,221	0,234	0,012	5

\*Reanalyisert etter ultralydbad

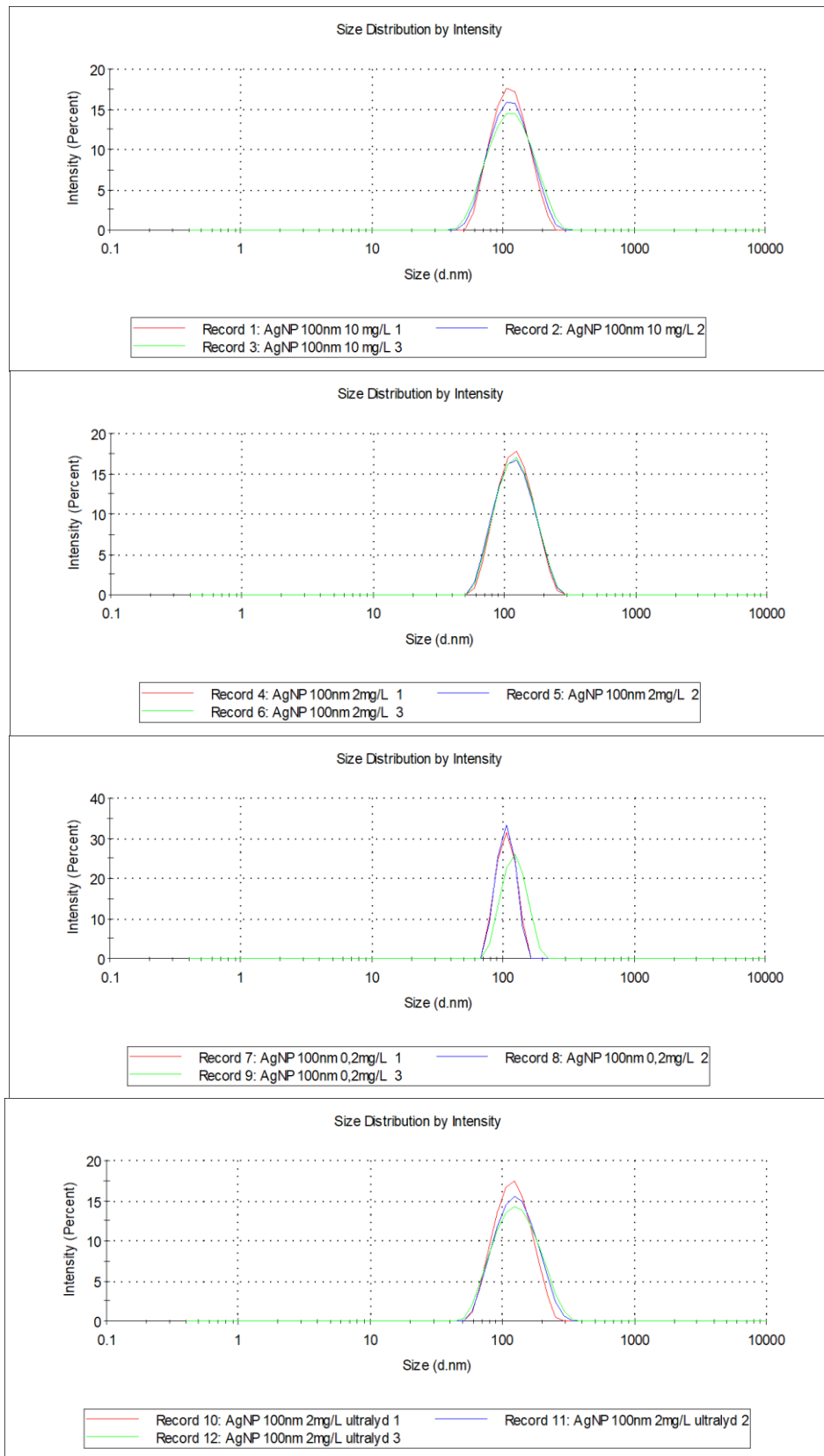
Prøven med AgNP100nm ble analysert totalt fire ganger, ved tre forskjellige konsentrasjoner der den ene konsentrasjonen (2 mg/L) ble satt 5-7 min på ultralydbad før reanalysering. Som med 100 nm prøven for gull, ble det funnet at prøven med høyest konsentrasjon ble bestemt nærmest den antatte verdien. Det ser ikke ut til ultralydbadet hadde noen innvirkning på prøven, se kons. 2 og 2\* i Tabell 25. Som for analysene av gull økte Pdi for bestemmelsene ved lavere konsentrasjoner. Ved den lavest analyserte konsentrasjonen 0,2 mg/L viste programvaren flere feilmeldinger. Se Figur 17



under for

størrelsesfordeling. Ved 0,2 mg/L er størrelsen funnet av toppen for to av tre av parallellene i nærheten av den oppgitte verdien 100 nm. Men Z- Ave ble bestemt til å være mellom 154 og

198 nm, som var betydelig større enn 100 nm.



Figur 17 DLS Størrelsesfordeling 100nmAgNP i milliQ-vann

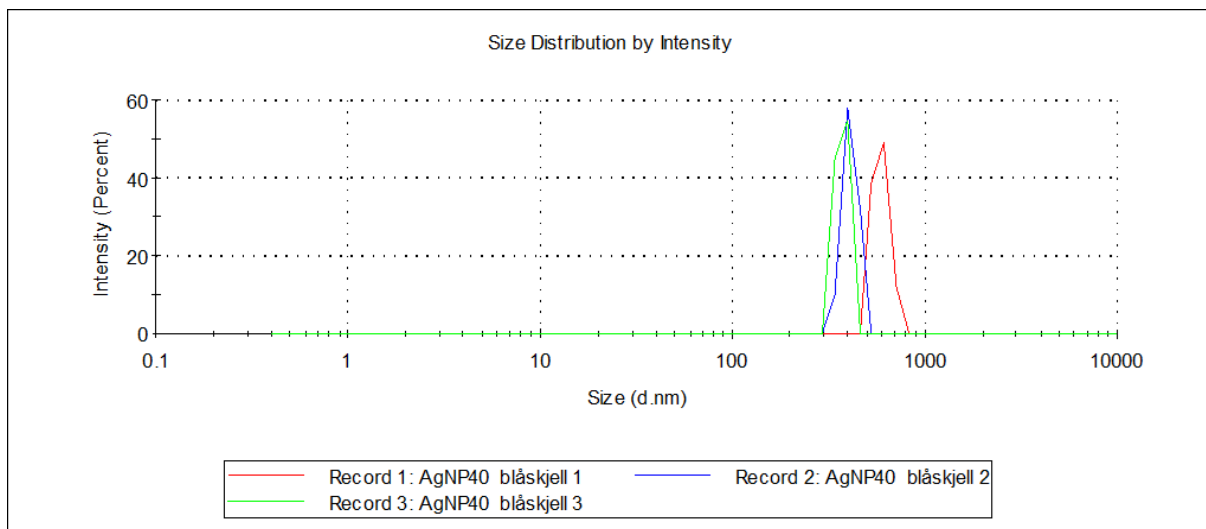
#### 6.1.4 Blåskjell Sølv – test av spiket blåskjell 100 ng/L

I Tabell 26 er det en oversikt over et forsøk der det ble sett på 40 nm AgNP i blåskjellmatriks.

Tabell 26 DLS resultat 100 ng/L AgNP40nm i blåskjellmatriks

kons. (ng/L)	Parallell			Gjennomsnitt (nm)	SD	RSD%	
	1	2	3				
100	Z-Ave	1138	1115	995	1083	77	7
	Pdi	0,834	0,822	0,874	0,843	0,027	3

I dette forsøket ble partiklene bestemt til å være over 1000 nm, det ble funnet en PdI over 0,8, som tyder på en stor blanding av partikkelstørrelser, mulig interferens av matriks. Se Figur 18 for størrelsesfordelingen funnet av DLS mellom 300-500 nm for parallell 2 og 3, parallell 1 lå mellom 450-850 nm. Ser at de funnede toppene ikke samsvarer med den bestemte Z-ave.



Figur 18 DLS størrelsesfordeling av AgNP40nm i blåskjellmatriks

## 6.2 Oppsummering DLS

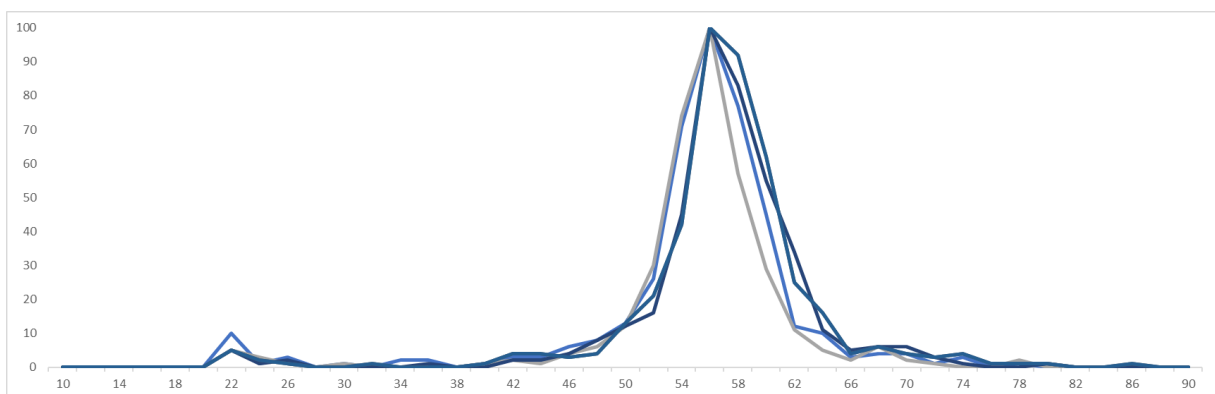
Utfra tabellene med DLS resultater kan det se ut som om målingene ble dårligere når konsentrasjonen ble lavere. En indikasjon på dette er at Pdi ble høyere for hver fortykning. Den var spesielt høy (0,843) ved 100 ng/L 40 nm AgNP i blåskjellmatriks, det er trolig at matriks har innvirket, men Pdi var også relativt høy i og ustabil i 100 ng/L AgNP fortynnet i milliQ-vann (0,220-0,638). Det ser ut til at partikler målt i mindre konsentrerte prøver blir funnet til å være større, enn i mer konsentrerte prøver, selv om partiklene i utgangspunktet var samme prøve. En faktor som ikke ble testet, var tidens innvirkning. Analysen av utgangskonsentrasjonen ble gjort for alle prøvene, før enkelte av prøvene ble fortynnet videre og analysert på nytt. Det er derfor mulig at det er tiden som resulterer i at partiklene vokste. Ettersom det kreves relativt høy konsentrasjon, i mg/L orden, samt det så ut til at matriks (Tabell 26) innvirket på resultatet. Ble det besluttet å ikke jobbe videre med DLS, denne metoden egnet seg ikke, da konsentrasjon i reelle miljøprøver mest sannsynlig er for lav, lavere enn det som ble testet. Utfra resultatene i disse analysene ser det ut til at metoden ikke er spesielt god under 1 mg/L.

## 6.3 ICP-MS Resultat

All prosessering ble gjort med programvaren satt til å bruke RMSize for kalibrering.

### 6.3.1 Verifisering av bestemmelse av gullnanopartikler

Det ble to forsøk, på to forskjellige dager der det ble sett på gull. Disse ble analysene ble gjort for å se om metoden ble behersket, da metoden skulle være utgangspunktet for videre metodeutvikling for sølv. Figur 19 viser størrelsesfordelingen for fire paralleller av 100 ng/L 60 nm AuNP.



Figur 19 Størrelses fordeling 60 nm AuNP

Parallellene er fra to forskjellige forsøk. Som det kommer fram av fordelingen var disse fordelingen ganske like og størrelsene var Normalfordelt, tyder på en monodispersløsning. Figuren viser at den størrelsen det ble funnet mest av var 56nm. For disse to kjøringene ble NE funnet til  $5,5 \pm 0,5\%$ , som var innenfor forventet verdi. Tabell 27 vider en oversikt over gjennomsnittsverdier fra prøvene med AuNP spiket i blåskjellmatriks fra verifiseringsanalysene sammenlignet med valideringsresultatene fra HI, rådata er vist i vedlegg (Tabell 63 Tabell 64).

Tabell 27 sp-ICP-MS verifisering Gull

Parameter	Hi		verifisering	
	snitt	usikkerhet	snitt	2SD
<b>Nebuliseringseffektivitet</b>	0,055	0,006	0,055	0,011
<b>Totalkons. (ppb)</b>	0,052	0,029	0,057	0,003
<b>Masse kons (ng/L)</b>	35	19	34	4
<b>Partikkelkons. (partikler/L)<math>\times 10^6</math></b>	22	9	19	1
<b>gjennomsnittsstørrelse (nm)</b>	53	5	55	2
<b>medianstørrelse (nm)</b>	53	5	55	2
<b>mest hyppige størrelse (nm)</b>	54	5	56	0

NE ble funnet til å være den samme 5,5%. Totalkonsentrasjon og massekonsentrasjon ble funnet til å ha et overlappende intervall med beregnet måleusikkerheten bestemt av HI. Partikkelkonsentrasjonen er godt innenfor. Det samme stemmer for størrelsesparameterne. Siden parameterne stemte overens med det som var forventete verdier ble besluttet å fortsette med sølv, for å se om en kan bruke samme metode med sølv som for gull.

#### 6.4 Metodeutvikling for bestemmelsen av sølvnanopartikler:

Metoden tok som nevnt utgangspunkt i gullmetoden. Ønsket var å beholde opparbeidelsen av prøver som var utviklet for gull, hvis det var mulig, fordi hensikten var å utvide metoden for gullbestemmelse med både mulighet for kalibrering med sølv og bestemmelse av sølv. Kalibrering med både gull og sølv ble derfor undersøkt for sølvbestemmelsen.

### 6.4.1 Kalibrering med gull for bestemmelsen av sølv

En oversikt over resultatene fra bestemmelsen av sølvnanopartikler etter kalibrering med gull er vist i Tabell 18, se vedlegg (Tabell 63) for rådata.

Tabell 28 *sp-ICP-MS Resultat gull kalibrering for sølv*

Type	Prøve	# of Particles	totalkonsentrasjon (ppb)		Partikkelkonsentrasjon (partikler/L) ( $\times 10^6$ )		massekonsentrasjon (ng/L)		Gjennomsnittstørrelse (nm)	
			teoretisk	målt	teoretisk	målt	teoretisk	målt	teoretisk	målt
IonicBlk	vann		0,0000	0,000						
IonicStd (RM)	10 ug/L gull		10,000	10,000						
IonicStd (AN)	10 ug/L sølv		10,000	10,000						
RM	100ng/L NP60 nm gull	601	0,100	0,034	46	14	100	31	60	59
	bum 4	30		0,058	0	1		0		29
	bum 8	318		0,060	0	7		5		47
	bmm uspiked 3	10		0,004	0	0		0		36
	bmm uspiked 7	6		0,004	0	0		0		29
	bmm spiked 3 NP40	9765	0,100	0,077	284	227	100	66	40	36
	bmm SPIKED 7 NP100	1041	0,100	0,093	18	24	100	86	40	84
Prøve	1 blåskjell 40nm 100ng/L	3739	0,100	0,062	284	87	100	31	40	36
	2 blåskjell 40nm 100ng/L	4075	0,100	0,064	284	95	100	33	40	36
	5 blåskjell 100nm 100ng/L	974	0,100	0,082	18	23	100	72	100	79
	6 blåskjell 100nm 100ng/L	999	0,100	0,083	18	23	100	73	100	80

I denne analysen ble gull (AuNP60nm) brukt som RM. Prøvesekvensen bestod av instrumentblank (vann), metodeblank (blank uten matrise/BUM), matriseblank (blank med matrise/BMM) spiket matriseblank der blåskjellmatriksen ble spiket med enten 40 nm eller 100 nm NP enten før enzymbehandling eller etter. NE ble funnet til 6,2% som var innenfor forventet verdi. Teoretisk konsentrasjonen av nanopartikler i prøvene var 100 ng/L, mens målt totalkonsentrasjon i prøvene varierte fra 0,62-0,93 (ppb) og målt massekonsentrasjon varierte fra 30 – 86 ng/L. Størrelsene funnet er ca. 36 nm for partiklene oppgitt til å være 40 nm og ca.80 nm for partiklene oppgitt til å være 100 nm.

## 6.4.2 Kalibrering med sølv for bestemmelsen av sølv

I Tabell 29 er resultat fra første forsøk med kalibrering med sølv for bestemmelse av sølv.

Tabell 29 sp-ICP-MS Sølv som RM og AN

Type	Prøve	# of Particles	totalkonsentrasjon (ppb)		Partikkelkonsentrasjon (partikler/L) ( $\times 10^6$ )		massekonsentrasjon (ng/L)		Gjennomsnittstørrelse (nm)	
			teoretisk	målt	teoretisk	målt	teoretisk	målt	teoretisk	målt
IonicBlk	vann		0,0000	0,000						
IonicStd (AN)	10 ug/L sølv		10,000	10,000						
RM	100ng/L NP40 nm sølv	7068	0,100	0,030	284	69	100	24	40	37
	bum	9706		0,054		9		7		23
	bmm uspiked	14		0,005		95		0		25
	bmm spiked NP40	10499	0,100	0,065	284	0	100	54	40	42
Prøve	1 blåskjell 40nm 100ng/L	11169	0,100	0,060	284	103	100	32	40	31
	2 blåskjell 40nm 100ng/L	11781	0,100	0,062	284	109	100	34	40	32
	RM8017 100ng/l	939	0,100	0,025	43	115	100	20	75	73

100 ng/L AgNP40nm ble brukt som er referansemateriale. Denne blir da gitt størrelsen 40 nm, som blir brukt til å regne ut NE, som ble funnet til 15%, dette var omtrent det dobbelte av det som var forventet. Det kan da være grunn til å lure på om partiklene brukt som RM var stabile, og hadde den størrelsen som var oppgitt, eller om den ioniske standarden hadde riktig konsentrasjon og var stabil. Totalkonsentrasjonen ble funnet til å være fra 0,060-0,065 ppb for prøvene med blåskjellmatriks, den var noe lavere for NP fortynnet i milliQ-vann 0,025-0,030 ppb. Massekonsentrasjonen ble funnet til å være mellom 20-54 ng/L. Størrelsen for de oppgitte 40 nm partiklene ble funnet til 31-42 nm, der prøvene som ble spiket før enzymbehandling var under 40nm, mens BMM spiket etter ble funnet over 40 nm. RM8017 ble funnet til 73 nm, mens kons. og partikkelkons. avviker fra teoretisk.



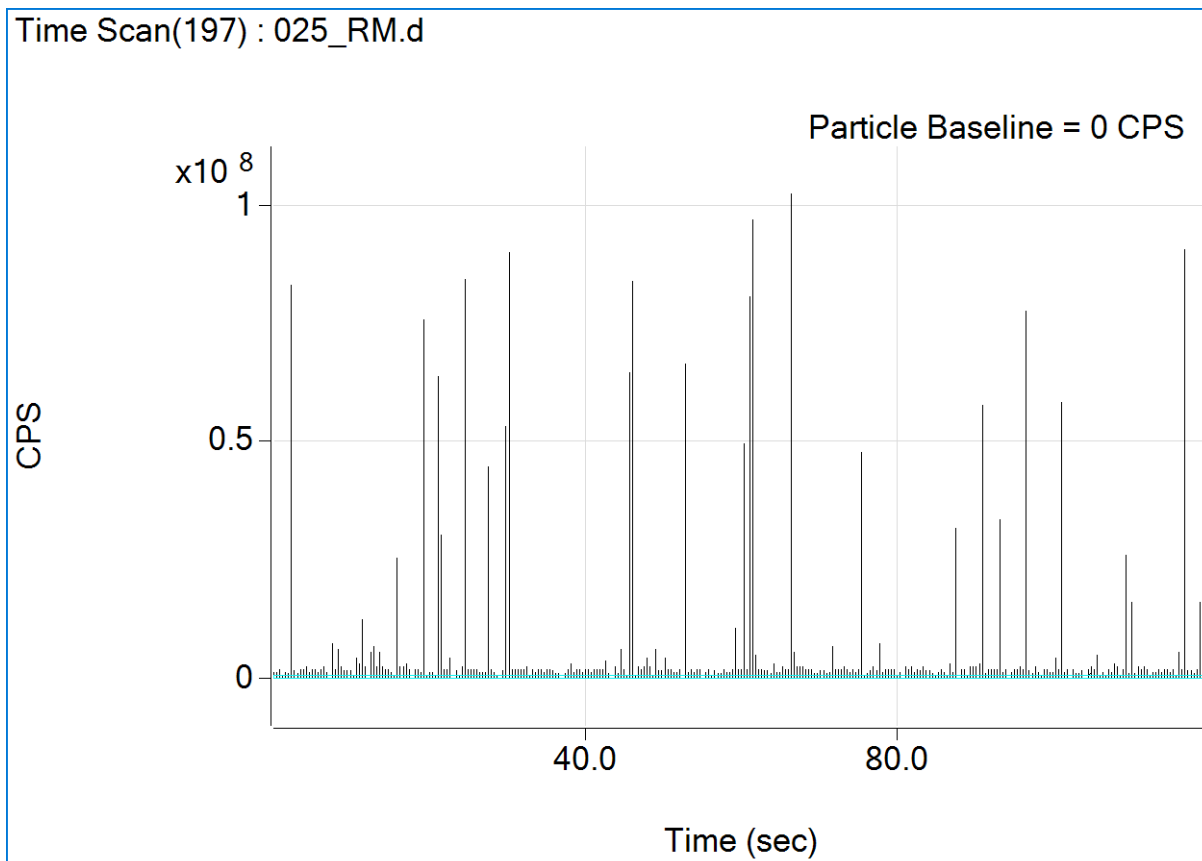
### 6.4.3 Kalibrering med gull og bruk av stabilisator for bestemmelsen av sølv

Tabell 30 viser oversikt over resultatene av forsøk med kalibrering med gull for bestemmelse av sølv. I dette forsøket ble det brukt stabilisator.

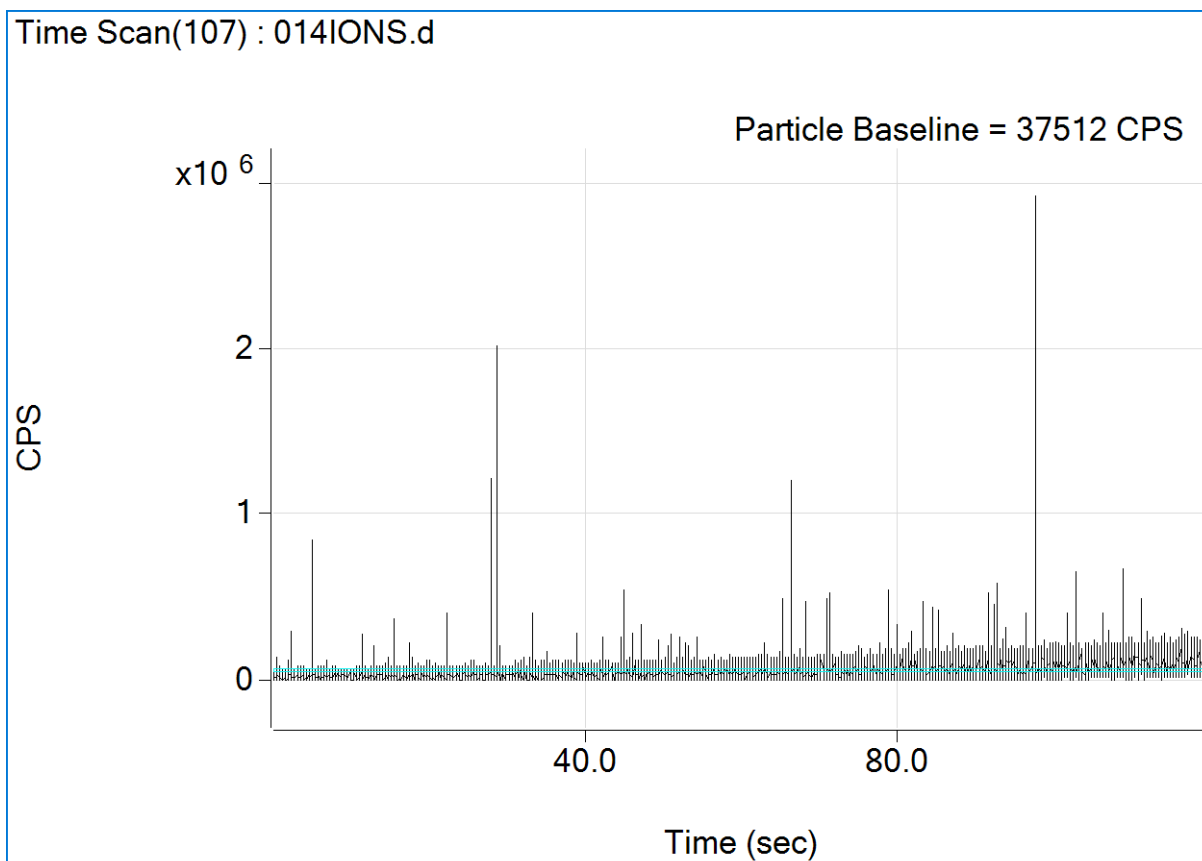
Tabell 30 sp-ICP-SM resultat sølv som RM, test med stabilisator

Type	Prøve	# of Particles	totalkonsentrasjon (ppb)		Partikkelkonsentrasjon (partikler/L) ( $\times 10^6$ )		massekonsentrasjon (ng/L)		Gjennomsnittsstørrelse (nm)	
			teoretisk	målt	teoretisk	målt	teoretisk	målt	teoretisk	målt
IonicBlk	vann		0,0000	0,006						
IonicStd (RM)	10 ug/L gull		10,000	10,000						
IonicStd (AN)	10 ug/L sølv		10,000	10,006						
RM	100ng/L NP60 nm gull	1062	0,100	0,186	46	79	100	173	60	44
	bum	10		0,037		1		1		46
	bmm spiked	43		0,056		3		2		47
	bmm spiked NP40	10006	0,100	1,090	284	745	100	919	40	58
	bmm SPIKED NP100	1101	0,100	1,310	18	82	100	1220	100	131
Prøve	1 blåskjell 40nm 100ng/L	3791	0,100	1,018	284	282	100	493	40	63
	2 blåskjell 40nm 100ng/L	1450	0,100	1,011	284	108	100	339	40	79
	5 blåskjell 100nm 100ng/L	1051	0,100	1,173	18	78	100	1008	100	122
	6 blåskjell 100nm 100ng/L	1019	0,100	1,186	18	76	100	1023	100	126
	RM8017 100ng/l 75nm sølv	3240	0,100	1,495	43	241	100	1392	75	101
	100ng/L NP40nm sølv	11776	0,100	1,226	284	876	100	1058	40	57
	100ng/L NP 100nm sølv	1218	0,100	1,524	18	91	100	1444	100	136

I dette forsøket ble AuNP60nm (Gull) brukt som RM for å finne AN sølvnanopartikler i form av AgNP40nm, AgNP75nm (RM8017) og AgNP100nm. Alle fortyninger ble gjort med 0,1% Natriumnitrat i milliQ-vann. Det kan se ut til å ha påvirket resultatet. Som vist i Tabell 30 har dette gitt en NE på bare 2%. De funnede størrelsene 58-79 nm for prøvene spiket med 40 nm og 122-136 nm for prøvene spiket med 80 nm ble en del større enn de oppgitte størrelsene, dette til motsetning av tidligere forsøk der størrelsen ble funnet til å være mindre enn antatt. Konsentrasjon ble funnet til å være mer mellom 5-15 ganger høyere enn 100 ng/L som var den teoretiske konsentrasjonen. Alle fortynningsstegene var de samme som tidligere med det unntak av det ble brukt milliQ-vann med 0,1% natriumsitrat. Også de ioniske standardene, det har gitt utslag i partikkelsignaler fra det ioniske standardene, se Figur 20 og Figur 21. Det ble ikke gjort videre forsøk med stabilisator, da dette ikke fikset NE, i tillegg til at størrelse og kons. ble helt feil. Dette forsøket ble ikke brukt i valideringen senere, da det ikke hjalp å reprocessere dataene.



Figur 20 sp-ICP-MS signal Ioniskgullstandard stabilisator



Figur 21 sp-ICP-MS signal ionisk sølvstandard stabilisator

#### 6.4.4 Kalibrering med sølv og undersøkelse av ulike ioniske standarder og ufrivillig lagringsforsøk

Under i Tabell 31 er en oversikt over resultatene fra første forsøk med forskjellige ioniske standarder rådata i vedlegg. Dette ble gjort for å avgjøre om den ioniske standarden gjorde at NE avvok fra den forventede verdien.

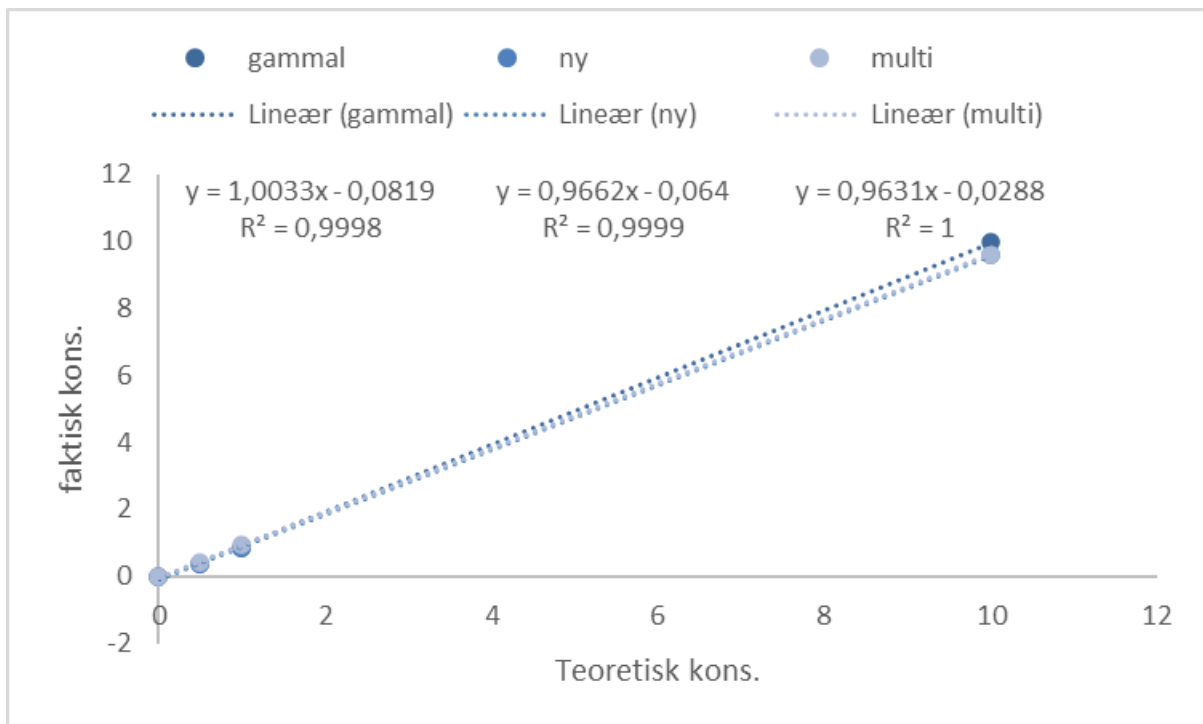
Tabell 31 sp-ICP-MS Multielement som standardløsning

Type	Prøve	# of Particles	totalkonsentrasjon (ppb)		Partikkelkonsentrasjon (partikler/L) ( $\times 10^6$ )		massekonsentrasjon (ng/L)		Gjennomsnittstørrelse (nm)	
			teoretisk	målt	teoretisk	målt	teoretisk	målt	teoretisk	målt
IonicBlk	vann		0,000	0,001						
IonicStd (RM)	10 ug/L multi		10,000	10,001						
RM	NP100 100ng/L	1093	0,100	0,064	18	10	100	54	100	87
	bum	3		0,002		0		0	0	24
	bmm uspiked	182		0,003		2		1	0	31
	bmm NP40	10931	0,100	0,062	284	99	100	50	40	42
	bmm NP100	1449	0,100	0,071	18	13	100	65	100	77
Prøve	1 blåskjell NP40 100ng/L	9902	0,100	0,057	284	89	100	40	40	37
	2 blåskjell NP40 100ng/L	13800	0,100	0,060	284	125	100	34	40	31
	3 blåskjell NP100 100ng/L	13833	0,100	0,072	18	125	100	43	100	32
	4 blåskjell NP100 100ng/L	14124	0,100	0,073	18	127	100	45	100	33
	RM8017	80437	0,100	0,504	43	726	100	497	75	42
	NP 40 100ng/L	6523	0,100	0,035	284	59	100	25	40	39

I dette forsøket var planen å se om det gjorde et utslag med en annen ionisk standard. Det ble da opparbeidet tre ioniske standarder en av gammel standardløsning, en av ny og det ble også laget standardløsning av en multielementstandard. Det var ingen store forskjeller mellom de ioniske standardene. Det mest interessante i dette forsøket var hvilke(n) innvirkninger alle forsøkene underveis hadde på resultatet. Etter enzym og varmebehandlingen av prøvene ble laboratoriet stengt på grunn av vedlikeholdsarbeid, dette medførte at prøvene ble stående på benken i 4 dager før de ble analysert på sp-ICP-MS. Dette har gitt utslag i resultatene. I dette forsøket er NE (16%) over forventet verdi. I AgNP40nm og AgNP100nm i milliQ-vann, var størrelsen tilsvarende tidligere forsøk. I BMM prøvene er størrelsene tilsvarende tidligere forsøk, henholdsvis 42 nm for 40 nm og 77 nm for 100 nm. Disse har gjennomgått enzym- og varmebehandlingen, men ble ikke spiket med NP før samme dag som de ble analysert på instrumentet. Blåskjellprøvene 1,2 spiket med NP40nm, gir et resultat på 30 nm, mindre enn forventet, dette kan være vanlig avvik. Det var interessant at blåskjellprøvene 3 og 4, spiket med NP100nm gav nesten samme resultat som 1 og 2, de ble bestemt til 33 og 32 nm og mange flere partikler enn i tidligere forsøk. Dette indikerer at

partiklene ikke tåler å stå på benken over lengre tid i lav konsentrasjon. De kan også ha blitt påvirket av enzymbehandlingen.

Figur 22 er tre mulige kalibreringskurver, konsentrasjonen er beregnet med Ionisk multistandard som utgangspunkt. Kurvene for ny og gammel standard blir da relativt i forhold til multistandarden. Programvaren bruker bare to punkter for å lage kalibreringskurven, det er ionisk standard og ionisk blank. Men legger en inn de to andre konsentrasjonene (0,5 µg/L og 1 µg/L) målt, får en at disse ligger på linjen mellom blank og ionisk standard 10 µg/L med  $R^2$  lavest 0,9998. Den gamle standarden ble funnet til å ha litt høyere konsentrasjon, enn ny- og multielementstandard.



Figur 22 sp-ICP-MS Kalibreringskurver for ulike ioniske standarder

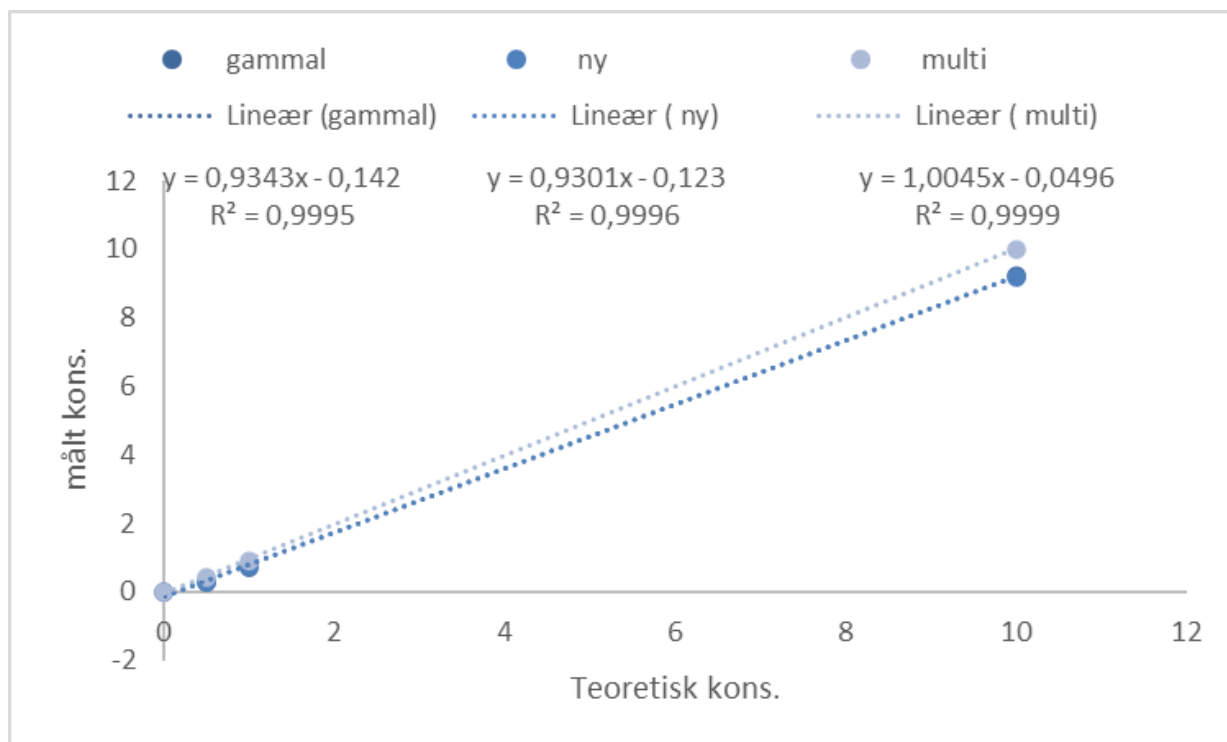
## 6.4.5 Kalibrering med sølv og undersøkelse av ulike ioniske standarder

Tabell 32 viser resultatene av andre forsøk på flere ioniske standarder, rådata i vedlegg. Prøveopparbeiding og analyse ble gjort samme dag.

Tabell 32 sp-ICP-MS Resultat flere ioniske standarder

Type	Prøve	# of Particles	totalkonsentrasjon (ppb)		Partikkelkonsentrasjon (partikler/L) ( $\times 10^6$ )		massekonsentrasjon (ng/L)		Gjennomsnittstørrelse (nm)	
			teoretisk	målt	teoretisk	målt	teoretisk	målt	teoretisk	målt
IonicBlk	vann		0,000	0,000						
IonicStd (RM)	10 ug/L multi		10,000	10,000						
RM	NP100 100ng/L	1093	0,100	0,070	18	12	100	68	100	91
	bum	1		0,001		0		0	0	24
	bmm uspiked	5		0,003		0		0	0	36
	bmm NP40	9503	0,100	0,065	284	108	100	49	40	41
	bmm NP100	1331	0,100	0,088	18	15	100	81	100	90
Prøve	1 blåskjell NP40 100ng/L	10143	0,100	0,062	284	115	100	46	40	39
	2 blåskjell NP40 100ng/L	10541	0,100	0,069	284	119	100	46	40	38
	3 blåskjell NP100 100ng/L	1272	0,100	0,075	18	14	100	59	100	77
	4 blåskjell NP100 100ng/L	1296	0,100	0,073	18	15	100	56	100	75
	RM8017	1730	0,100	0,041	43	20	100	37	75	67
	NP 40 100ng/L	7640	0,100	0,029	284	87	100	24	40	34

NE ble funnet til 13%, nesten dobbelt av forventet verdi. Konsentrasjon i blåskjellmatriks ble funnet til å være mellom 46-81 ng/L, dette tilsvarer tidligere forsøk med sølv som kalibrering. Størrelsen i matriks ble funnet til å være 38-41 nm for 40 nm partiklene og 75-90 nm for 100 nm partiklene. Figur 23 viser kalibreringskurvene. Konsentrasjonen er beregnet med Ionisk multistandard som utgangspunkt. Denne gangen var det ny og gammel standard som ble likest.  $R^2$  ble ikke lavere enn 0,9995, punktene ligger på linje.



Figur 23 sp-ICP-MS kalibreringskurver for ulike ioniske standarder 2

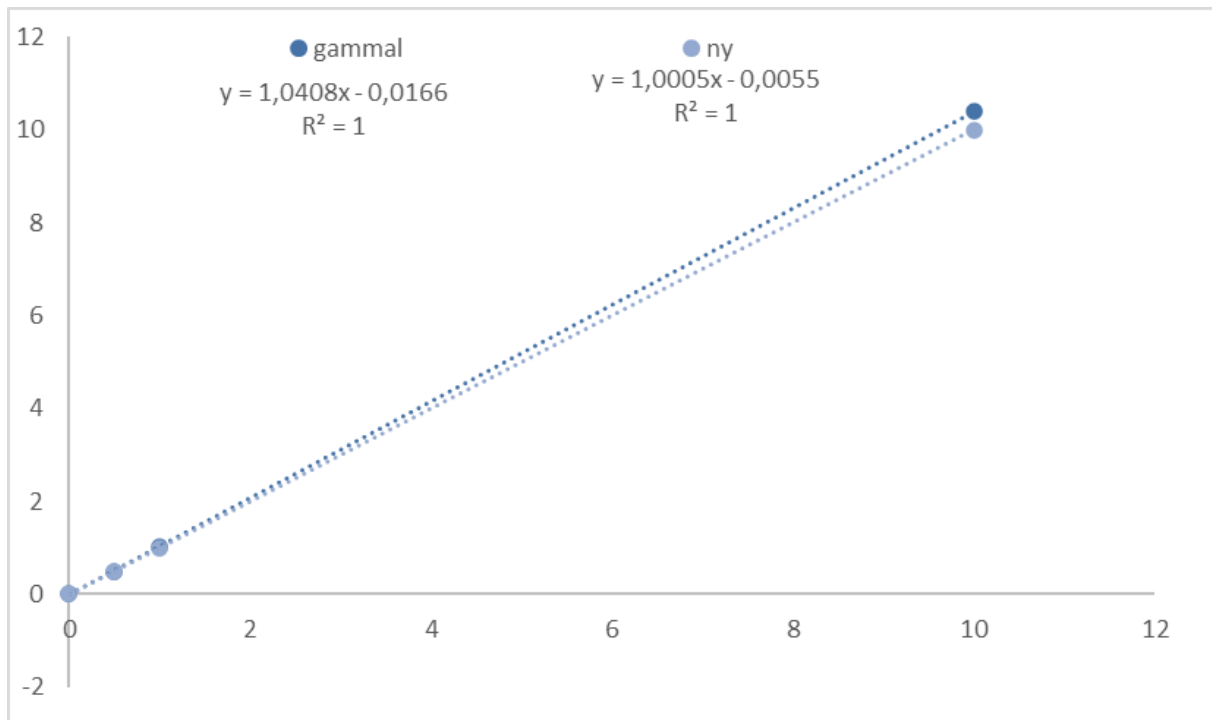
#### 6.4.6 Kalibrering med sølv og undersøkelse av effekt av pH på ioniske standarder

I Tabell 33 er det en oversikt over et forsøk der ionisk standard ble fortynnet i 5% HNO<sub>3</sub>.

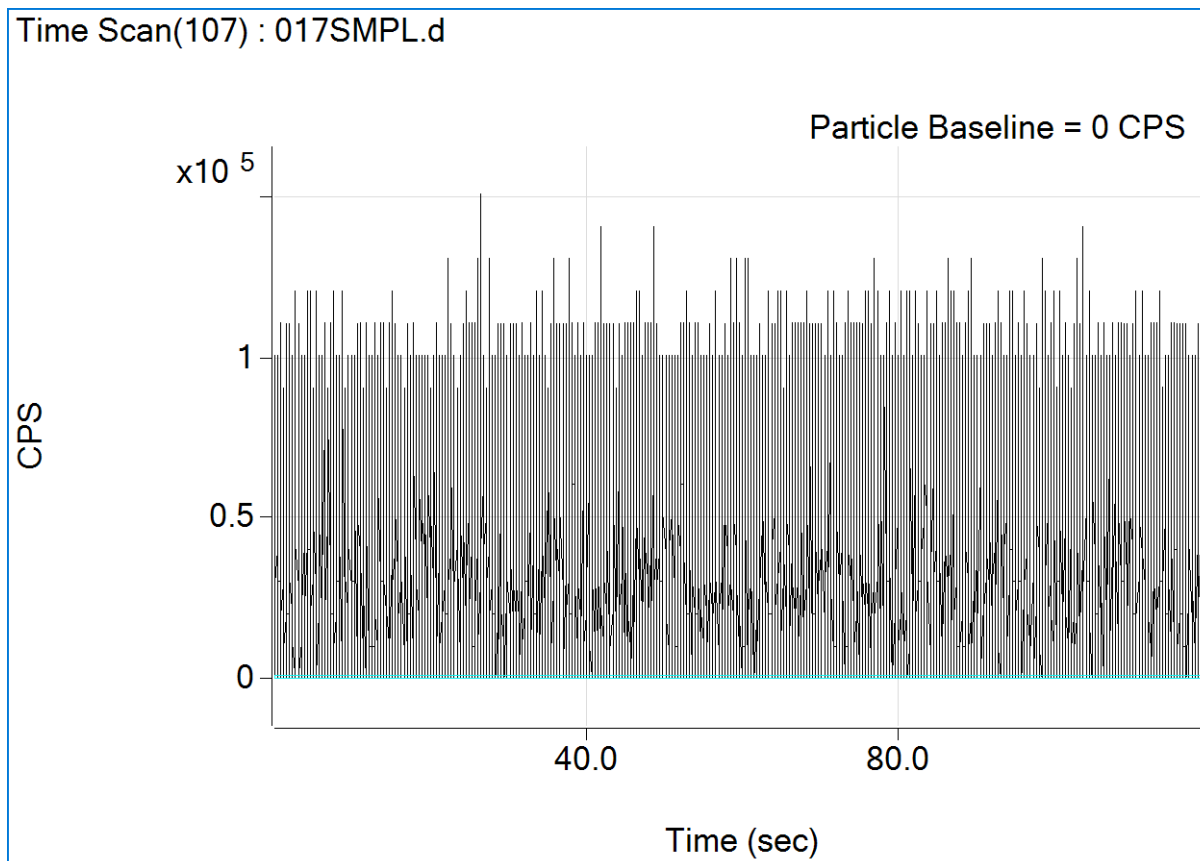
Tabell 33 sp-ICP-MS Resultat Ioniskstandard fortynnet i Syre

Type	Prøve	# of Particles	totalkonsentrasjon (ppb)		Partikkelkonsentrasjon (partikler/L) (x10 <sup>6</sup> )		massekonsentrasjon (ng/L)		Gjennomsnittstørrelse (nm)	
			teoretisk	målt	teoretisk	målt	teoretisk	målt	teoretisk	målt
IonicBlk	vann		0,000	0,000						
IonicStd (RM)	10 ug/L multi		10,000	10,001						
RM	NP100 100ng/L	1136	0,100	0,092	18	14	100	78	100	96
	bum	4		0,004		0		0		32
	bmm uspiked	20		0,048		0		0		35
	bmm NP40	8100	0,100	0,065	284	101	100	39	40	39
	bmm NP100	1036	0,100	0,001	18	13	100	58	100	85
Prøve	1 blåskjell NP40 100ng/L	9457	0,100	0,057	284	118	100	40	40	37
	2blåskjell NP40 100ng/L	9662	0,100	0,074	284	120	100	42	40	37
	3blåskjell NP100 100ng/L	893	0,100	0,070	18	11	100	64	100	100
	4blåskjell NP100 100ng/L	1060	0,100	0,001	18	13	100	60	100	85
	NP 40 100ng/L	9733	0,100	0,029	284	121	100	30	40	33

I dette forsøket ble det brukt 5% HNO<sub>3</sub> ved fortynning av ioniskstandard, da dette er vist å være mer nøyaktig (34). Det ser ikke ut til at det har hatt noen innvirkning på resultatet. NE ble fortsatt funnet til 12%. Konsentrasjon var en del lavere enn spiket, i matriks ble den funnet fra 39-64 ng/L. Størrelsen funnet for 40 nm var funnet fra 37-39 nm og 85-100 nm. I Figur 24 er to kalibreringskurver for gammel og ny ionisk standard fortynnet i syre, det er ny ionisk standard som ble brukt til kalibrering av programvaren. Figuren viser at punktene for hver av konsentrasjonene lå på linje  $R^2 = 1$ , det var også liten forskjell på gammel og ny ionisk standard. Figur 25 viser heller ingen tydelige partikkelsignal Etter dette forsøket ble det bestilt nye nanopartikelstandarder for sølv, i de samme størrelsene, 40 nm og 100 nm for å se om det har vært disse som gjør gir uforventet NE, og om det også gjør et utslag på konsentrasjon. Disse ble aldri testet da de ikke kom fram i tide.



Figur 24 sp-ICP-MS kalibreringskurve Ioniskstandard i syre



Figur 25 sp-ICP-MS signal ioniskstandard i syre

#### 6.4.7 Lagringsforsøk

Etter det ufrivillige lagringsforsøket (6.4.4), ble det bestemt å gjøre et kontrollert lagringsforsøk, resultatene av dette er vist i Tabell 34, med rådata i vedlegg.

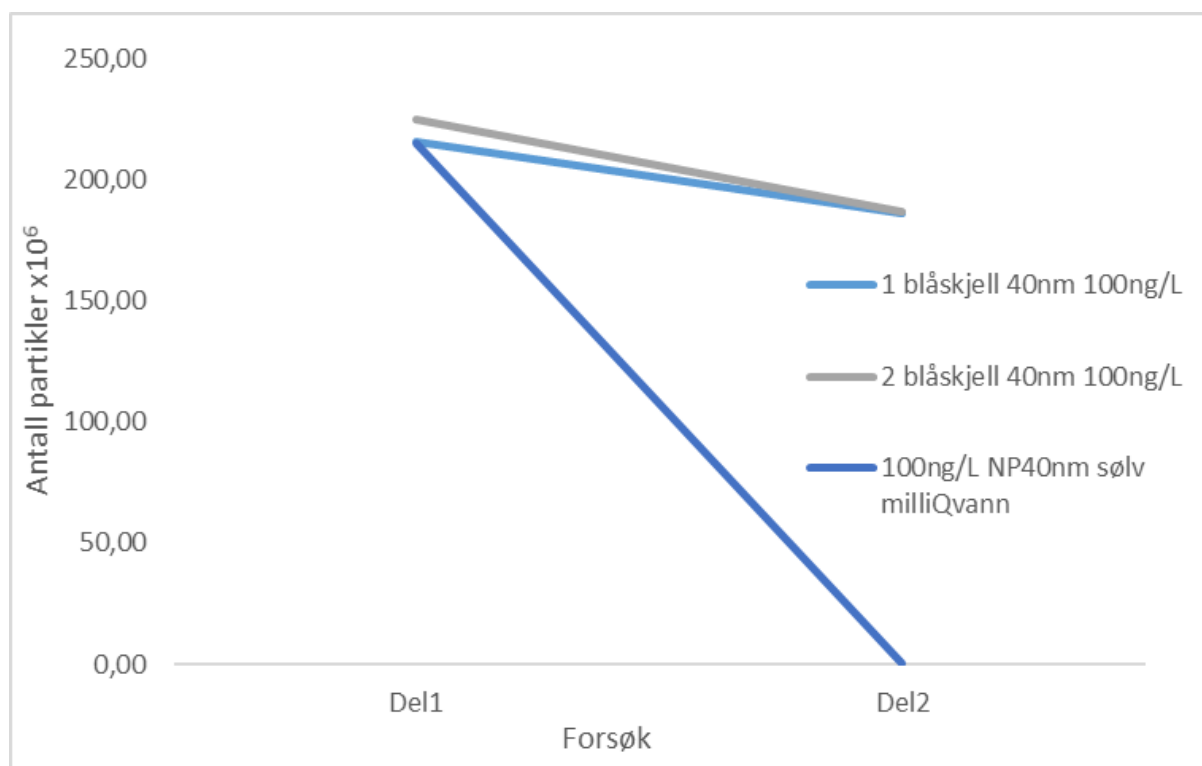
Tabell 34 sp-ICP-MS resultat Lagringsforsøk

Type	Prøve	# of Particles		totalkonsentrasjon (ppb)			Partikkelkonsentrasjon (partikler/L) (x10 <sup>6</sup> )			massekonsentrasjon (ng/L)			Gjennomsnittsstørrelse (nm)		
		del 1	del 2	teoretisk	del 1	del 2	teoretisk	del 1	del 2	teoretisk	del 1	del 2	teoretisk	del 1	del 2
IonicBlk	vann			0,000	0,000	0,001									
IonicStd (RM)	10 ug/L gull			10,000	10,000	10,000									
IonicStd (AN)	10 ug/L sølv			10,000	10,000	10,001									
RM	100ng/L NP60 nm gull	1538	1334	0,100	0,085	0,072	46	38	32	100	82	70	60	59	59
	bum	0	0		0,001	0,001		0	0		0	0		0	0
	bmm uspiked	3	26		0,003	0,003		0	1		0	0		25	23
	bmm spiket NP31	9752	9355	0,100	0,079	0,064	611	238	224	100	65	49	31	35	32
	bmm spiket NP82	976	1053	0,100	0,098	0,085	33	24	25	100	91	76	82	86	77
Prøve	1 blåskjell 31nm 100ng/L	8832	7786	0,100	0,063	0,050	611	216	186	100	35	28	31	29	28
	2 blåskjell 31nm 100ng/L	9228	7828	0,100	0,064	0,049	611	226	187	100	34	27	31	29	28
	3 blåskjell 82nm 100ng/L	785	722	0,100	0,079	0,062	33	19	17	100	58	44	82	81	76
	4 blåskjell 82nm 100ng/L	736	657	0,100	0,072	0,055	33	18	16	100	52	39	82	79	75
	AgNP31 100ng/L	8804	1282	0,100	0,059	0,025	611	215	31	100	52	5	31	33	30
	AgNP82 100 ng/L	89	18	0,100	0,001	0,001	33	2	0	100	1	0	82	34	25



Dette forsøket ble prosessert etter at det ble bestemt å justere ned størrelsen av sølvpartiklene (kap. 6.7). Det ble brukt gull for kalibrering av sølv, da dette tidligere gav en forventet NE. NE ble funnet til 6% ved begge forsøkene. RM ble opparbeidet på nytt for hver av analysene. Ser at for denne prøven varierer konsentrasjonen noe (totalkonsentrasjon 0,72-0,85 og massekonsentrasjon 70-82 ng/L), men gjennomsnittsstørrelsen ble funnet til 59 nm begge gangene. Parallellene spiket med sølv ble gode, de hadde omtrent samme konsentrasjon (0,63-0,64 og 0,79-0,72), antall partikler ((216-226 og 18-19)10<sup>6</sup>) og størrelse (29 nm og 79-81 nm). Det er usikkert hva som har skjedd med prøven med «AgNP100 100 ng/L», men den burde hatt parametere tilsvarende øvrige prøver spiket med «100 nm» AgNP. Det kan se ut til at det har skjedd en feil under opparbeiding av prøven. Ser at med unntak av BMM spiket med 82 nm partikler har alle parameteren blitt lavere på del 2, som er etter en uke på benken. I BMM prøven ble det funnet flere partikler i del 2 (1053), enn det ble i del 1 (976), men totalkonsentrasjon, massekonsentrasjon og gjennomsnittsstørrelse gikk ned. Det kan tenkes at partiklene ble brutt ned til mindre og flere partikler, gjennomsnittsstørrelsen gikk fra 86-77 nm. I Figur 26 er den største forskjellen fra del 1 til del 2 vist.

Figur 26 viser Antall partikler for «31nm» AgNP i stabilitetsforsøket.

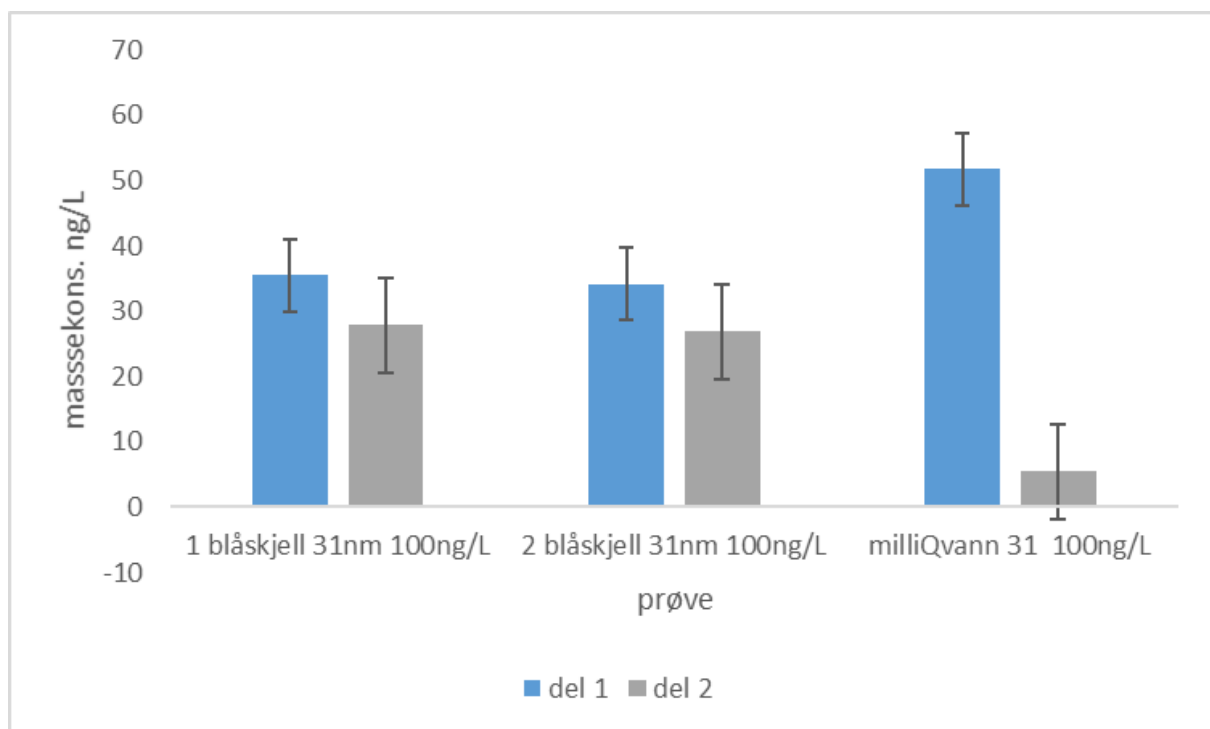


Figur 26 Antall "40" AgNP partikler i blåskjell og milliQ-vann

Figuren viser at det ble detektert færre partikler etter en uke på benken da sølvpartikler i tynne løsninger er ganske ustabile(35). Resultatet tyder på at blåskjell matriksen virker stabiliserende, da antall partikler funnet igjen i blåskjellprøvene er betydelig flere enn det som blir funnet igjen i partiklene som kun var fortynnet i milliQ-vann. Utgangskonsentrasjonen var den samme.

Figur 27 viser den målte massekonsentrasjonen for de samme prøvene.

Figur 27 sp-ICP-MS stabilitet massekons. 100 ng/L 31AgNP



Ser at forskjellen i blåskjellmatriksen kan skyldes tilfeldige feil, det kan ikke sies om prøven som kun var fortynnet i milliQ-vann. Tatt milliQ-vann prøven i betraktning, med tydelig nedgang i konsentrasjon og nedgang for samtlige parametere i resten av prøvene stående på benken, kan det konkluderes at prøvene bør analyseres raskest mulig etter opparbeiding. Blåskjellprøvene bør opparbeides først da disse er mest stabile.

## 6.5 Oppsummering Sp-ICP-MS

Det ble gjort en rekke forsøk med sølv. Prøvene ble spiket med forskjellige partikkelstørrelser, i utgangspunktet 40 nm, 75 nm og 100 nm. Den første utfordringen som viste seg var NE, da NE i første forsøk med kalibrering med sølv (0) ble nesten dobbelt av forventet verdi. Den doble NE verdien fortsatte for hvert forsøk der sølv ble brukt til kalibrering. Derfor ble det forsøkt å bruke forskjellige ioniske standarder for å se om dette gjorde et utslag, det gjorde det ikke. Det ble også gjort et forsøk der den ioniske standarden ble fortynnet med 5% HNO<sub>3</sub>, dette hadde heller ikke betydelig innvirkning på resultatet. Hver gang det ble brukt gull for kalibrering ble NE funnet til en forventet verdi  $5,5 \pm 3\%$ . Konsentrasjonen ble alltid funnet til å være noe lavere enn det som ble spiket, men dette var som forventet da tidligere forsøk med gull av HI(21) viste det samme. Derfor ble hovedfokus på NE og størrelse. Størrelsen ble ofte funnet lavere enn forventet, tydeligst var dette for 100 nm partiklene, som ofte ble funnet rundt 75-85 nm. 100 nm partiklene ble ofte brukt som RM, når det ble brukt sølv til kalibrering, som blir brukt til å beregne NE der størrelse er en viktig faktor (Formel 4-3).

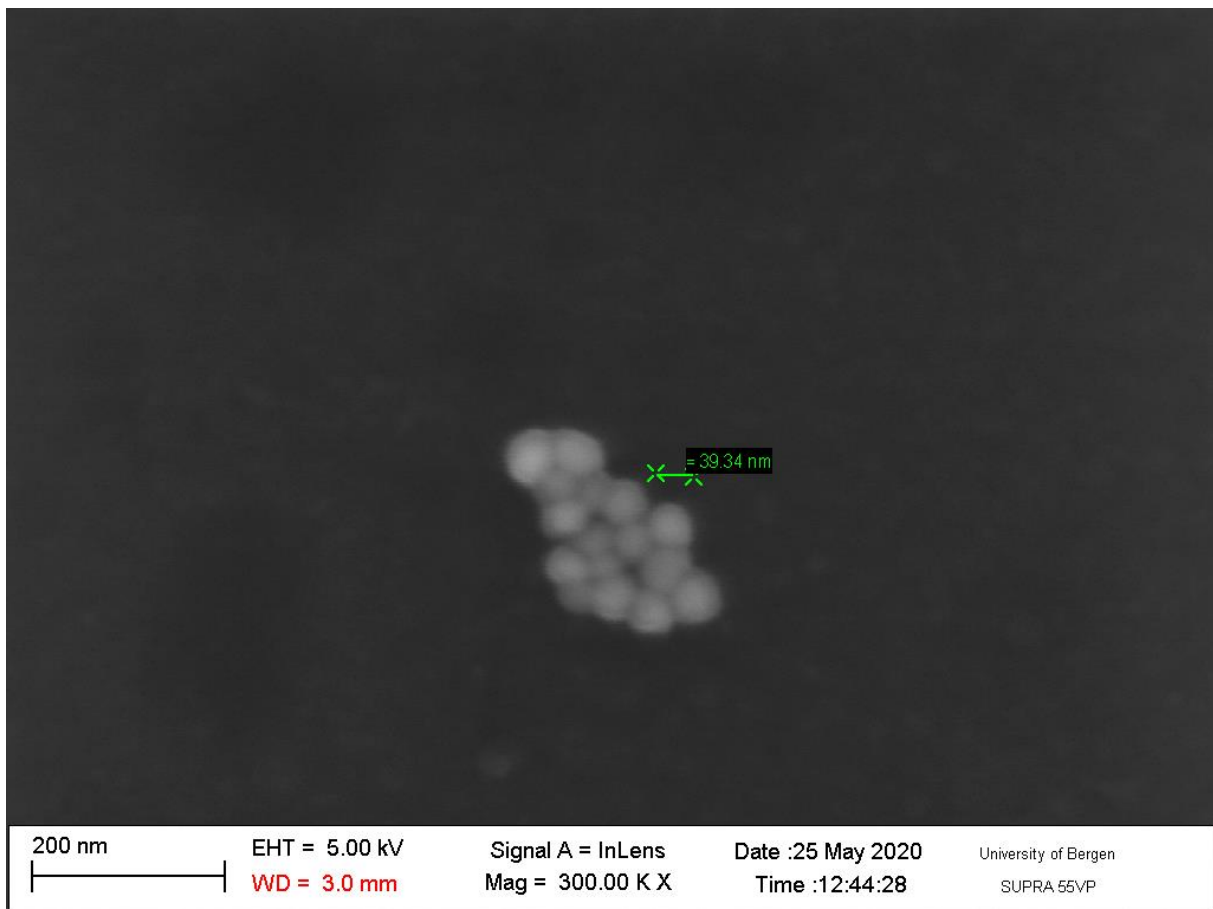
På grunn av at det ikke så ut til å hjelpe med endring av ionisk standard ble det besluttet å gå til innkjøp av nye standarder. Disse ble aldri testet, da de ikke dukket opp i tide. Det ble derfor bestemt å bruke EM for å bekrefte eller avkrefte mistanken om at størrelsen på partiklene ikke var som antatt, da EM er en god komplementærmetode(12). Standardene som ble brukt til å spike prøvene viste seg å være for gamle. SEM bilder av 40 nm og 100 nm partiklene er vist i kapittel 0.

## 6.6 EM

Det ble benyttet som SEM, opparbeidingen og analysene ble utført av personalet på UiB, da dette ble utført under strenge koronatiltak på UiB.

### 6.6.1 SEM av AgNP 40 nm

Figur 28 viser et av de bedre bildene tatt med SEM av sølvnanopartikkelstandarden med oppgitt partikkelstørrelse på 40 nm.



Figur 28 SEMbilde "40nm" AgNP

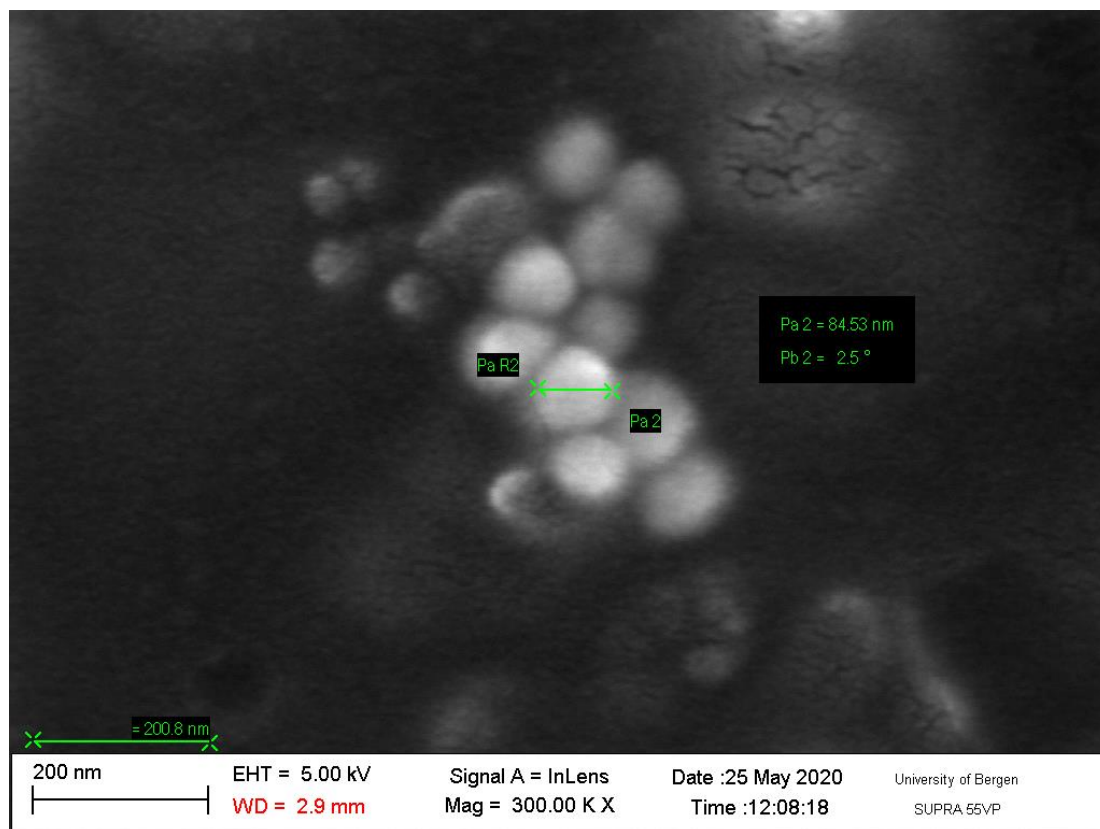
Bildene ble noe utydelige og uskarpe, men viser at partiklene ble målt til å være i underkant av 40 nm. Bildene viser også at det var variasjon i størrelsen og at noen partikler var litt større, men også at det var en del mindre partikler. Det er uansett for få partikler til å si sikkert hva gjennomsnittsstørrelsen var.

## 6.6.2 SEM av AgNP 100 nm

Figur 29 og Figur 30 er to av de tydeligste SEM bildene tatt av AgNP med oppgitt størrelse på 100 nm.



Figur 29 SEM bild 1 "100nm"



Figur 30 SEM bilde 2 "100nm"

Bildene av sølvpartiklene som var oppgitt til å være 100 nm av produsenten, ble heller ikke helt skarpe og det var vanskelig avgjøre nøyaktig diameter. Bildene viser at partiklene brukt som RM ikke var 100nm, men at de var nærmere 80 nm.

## 6.7 Oppsummering av DLS, ICP og EM

Det ble tidlig avslørt at DLS ikke kunne brukes til screening av reelle prøver for eventuell forekomst av nanopartikler, da de reelle konsentrasjonene i prøver ofte kan være enda lavere enn de 100 ng/L som det ble spiket med i disse forsøkene. Hovedfokuset til oppgaven endret seg dermed til sp-ICP-MS delen da arbeidet i denne oppgaven skulle bygge videre på den allerede etablerte gullmetoden ved HI. For sp-ICP-MS delen var den største utfordringen at NE var minst dobbelt av forventet verdi når det ble kalibrert med sølv i forhold til det som ble funnet når gull ble brukt til kalibrering. Når det ble kalibrert med gull ble NE som forventet og funnet tidligere i valideringen av gullmetoden, men da ble utfordringen at den bestemte størrelsen av sølvnanopartiklene ble nærmere 80 nm enn de 100 nm som var oppgitt av leverandøren. Når det ble kalibrert med sølv var det større variasjon i bestemmelsesparameterne både for parallellene i hvert forsøk og mellom forsøkene.

Mistanken ble da til slutt at det var noe feil med sølvpartiklene som ble brukt som standard, og da dette ble bekreftet av SEM-bilder ble det bestemt en ny størrelse for partiklene. Denne størrelsen ble satt til 82 nm for 100 nm partiklene og 31 nm for 40 nm partiklene. Disse nye størrelsene ble bestemt etter å ha sett på de gjennomsnittsstørrelsene man fant når det ble kalibrert med gull og ved å sammenligne med SEM bildene. Dataene fra sp-ICP-MS analysene ble så reprocessert med riktig størrelse på nanopartiklene brukt som referansemateriale og det gjorde at resultatene når det var kalibrert med sølv tilsvarte resultatene når det ble kalibrert med gull. Den mest merkbare parameteren var da at NE nå ble funnet til et snitt på 6,2% som tilsvarte det vi fant ved å kalibrere med gull hele tiden. Se Figur 31 for oversikt over funnet NE. Det er ikke sikkert at de nye størrelsene vi fant for sølvnanopartiklene var helt riktige, men de var trolig mer riktige enn de oppgitte størrelsene.



Figur 31 NE% Basert på RMSize, der RM er 60nmAuNP, "100nm"AgNP og 82nmAgNP

Etter at dataene ble reprocessert med justerte RM størrelser kunne dataene fra fire av dagene brukes til å beregne metode/valideringsparametere for en metodeutvidelse av gullmetoden til å inkludere sølv.

## 7 Resultater fra beregning av valideringsparametere

### 7.1 Nebuliseringseffektivitet

Tabell 35 viser NE beregnet av programvaren.

Tabell 35 Nebuliseringseffektivitet

Referansematriell	nebuliseringseffekt					Snitt	SD	RSD%
RM AuNP60nm	0,052	0,059	0,062	0,059	0,060	0,059	0,004	7
RM AgNP82nm	0,064	0,059	0,063			0,062	0,002	4
RM AgNP31nm	0,064					0,064	0	0
<b>Totalt</b>						0,060	0,004	6

NE i snitt av alle NP-standardene ble funnet til  $6,0 \pm 0,4\%$ . Dette er innenfor den forventet verdien på  $5,5 \pm 3\%$ . Tabellen viser at en kan bruke enten gull- eller sølvstandard for å finne NE når en bruker RMsizer innstillingen. Det viktigste er at den oppgitte størrelsen på standarden er riktig, som diskutert på side 69

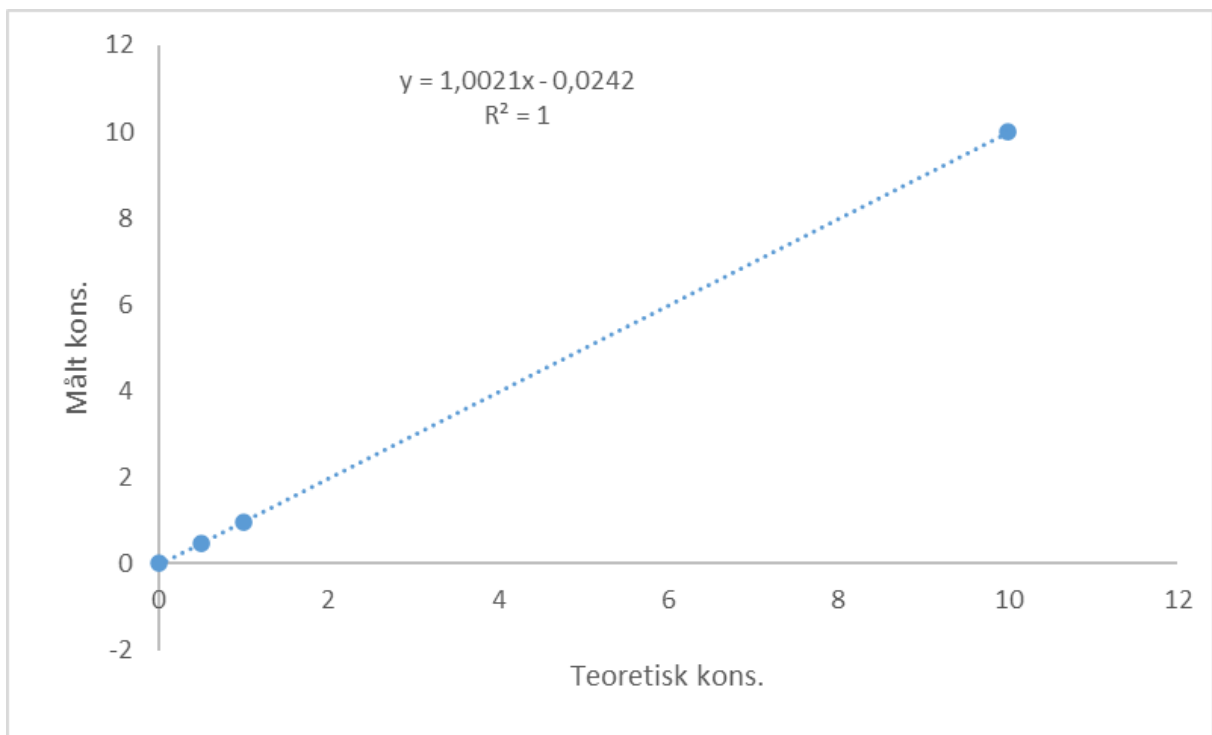
### 7.2 Selektivitet

Analytteten var  $^{107}\text{Ag}$  og det er ingen kjente isobare interferenser på denne massen. Polyatomisk interferens kan være  $^{91}\text{Zr}^{16}\text{O}^{+(36)}$ . Sølv er et tungt metal(37), så det er heller ingen realistiske dobbelt ladete interferenser.  $^{107}\text{Ag}$  ble valgt da det naturlig forekommer mer av denne isotopen enn  $^{109}\text{Ag}$ , forholdsvis 52% mot 48%. Det er heller ingen kjent isobare interferenser av  $^{109}\text{Ag}$ .  $^{92}\text{Zr}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$  er en mulig polyatomiskinterferens for  $^{109}\text{Ag}(36)$ .

### 7.3 Måleområdet

Måleområdet for totalkonsentrasjon og massekonsentrasjon er begrenset nedover av bakgrunnsstøy. Oppover er område begrenset av høyeste konsentrasjon av ionisk standard, i dette tilfellet  $10 \mu\text{g/L}$ . Instrumentet og programvaren bruker kun en ionisk standard samt ionisk blank(vann) for å lage det lineære området til metoden. Noen av dagene ble det brukt flere ioniske standarder i forskjellige konsentrasjoner slik at linearitet kunne undersøkes. Ved å plote de målte konsentrasjonene mot de teoretiske konsentrasjonene ble  $R^2$  funnet til å være minst 0,999 og som regel nærmere 1,00000. I Figur 32 er det vist en kalibreringskurve som viser at de fire punktene (ionisk blank, 0,5, 1 og  $10 \mu\text{g/L}$ ) i en kalibreringskurve ligger på rett linje med  $R^2 = 1$ . Det betyr at en kan kalibrere med 0,5, 1 eller  $10 \mu\text{g/L}$  ioniskstandard avhengig av hvilke konsentrasjoner en ønsker å måle i en prøve.





Figur 32 Typisk kalibreringskurve som viser undersøkt lineært område for måling av sølv med metoden

Måleområdet for partikkelkonsentrasjon er begrenset nedover av om konsentrasjonen av partikler i prøvene, som sendes inn i instrumentet, er lavere enn konsentrasjonen funnet i blankprøvene. Oppover vil området være begrenset av de ioniske standardene og partikkeltettheten. ULOQ for totalkonsentrasjon settes til  $10 \mu\text{g/L}$  da det var den høyest målte standarden og kurven var lineær. Måleområdet for sølv settes dermed likt det lineære området for metoden.

## 7.4 Bestemmelsesgrenser

### 7.4.1 Deteksjons- og kvantifiseringsgrense for total-, masse- og partikkelkonsentrasjon

Deteksjonsgrense og kvantifiseringsgrensen for størrelse ble beregnet av programvaren og er vist i 7.4.2. LOD for andre parametere ble beregnet som gjennomsnitt + 3 x SD, mens LOQ ble satt til 3 x LOD. Beregning av LOD og LOQ for ulike parametere er vist i Tabell 36, Tabell 37 og Tabell 38 under, for instrument- og metodeblank med og uten enzym henholdsvis.

Tabell 36 Bestemmelse av LOD og LOQ med instrumentblank

Instrument blank	snitt	SD	RSD (%)	LOD	LOQ	Antall prøver (N)
Totalkonsentrasjon (cps)	285	393	138	1465	4395	
Totalkonsentrasjon (ppb)	0,0035	0,0049	137,0	0,018	0,054	
Antall partikler	2	1,6	97	7	20	17
Massekonsentrasjon (ng/L)	0,03	0,04	126	0,14	0,41	
Partikkelkonsentrasjon (partikler/L) x10 <sup>6</sup>	0,04	0,0	98	0,16	0,47	

Instrumentblanken var milliQ-vann prøver som ble analysert imellom standarder og andre prøver i instrumentsekvensen. Instrumentblank ble funnet til å ha et gjennomsnittsignal til 285 cps, med SD på 393 cps som betyr at det var store variasjoner i prøvene. Det er mulig det er «carry over» og «memory effekter», som gjorde at noen av instrumentblankprøvene ble høyere enn andre og at dette skapte stor variasjon. Dette fører til at LOD og LOQ blir høyt da de er basert på standardavviket. Sannsynligvis kan dette forbedres med bedre vaskeprosedyrer på instrumentet

Tabell 37 validering metodeblank med enzym

Metodeblank med Enzym	snitt	SD	RSD (%)	LOD	LOQ	Antall prøver (N)
Totalkonsentrasjon (cps)	4896	153	3	5354	16061	
Totalkonsentrasjon (ppb)	0,049	0,016	33	0,098	0,294	
Antall partikler	129	164,2	128	621	1863	3
Massekonsentrasjon (ng/L)	1,50	2,47	165	9	27	
Partikkelkonsentrasjon (partikler/L) x10 <sup>6</sup>	2,97	3,8	128	14	43	

Tabell 38 Validering metodeblank uten enzym

Metodeblank uten enzym	snitt	SD	RSD (%)	LOD	LOQ	Antall prøver (N)
Totalkonsentrasjon (cps)	170	75	44	394	1182	
Totalkonsentrasjon (ppb)	0,003	0,001	47	0,007	0,021	
Antall partikler	0	0,6	173	2	6	3
Massekonsentrasjon (ng/L)	0,00	0,01	173	0,021	0,062	
Partikkelkonsentrasjon (partikler/L) x10 <sup>6</sup>	0,01	0,01	173	0,02	0,06	

Det ble to tabeller med LOD og LOQ med metodeblank, det var fordi i de første forsøkene ble denne prøven spiket med enzymer før den ble varmeristet, mens for de siste analysene ble den ikke spiket med enzymer.

Det var tydelig at enzymene hadde en innvirkning på LOD og LOQ. I den ene enzymprøven ble det funnet opp mot ti ganger så mange partikler som i resten og dette har gitt tydelig utslag i antall partikler og partikkelkonsentrasjon, men ikke totalkonsentrasjon

Det var tre metodeblanker som ikke ble tilsatt enzymer, det ble bare funnet en partikkel i en av disse, derfor ble det høy usikkerhet for parameterne antall partikler, massekonsentrasjon og partikkelkonsentrasjon.

Det er lite trolig at LOD og LOQ skal være så høy som det blir funnet av metodeblank med enzym, da matriseblanken (Tabell 39) som også ble tilsatt enzymer ikke hadde så høye verdier og prøvene som skal analyseres ved bruk av metoden i første omgang er blåskjell. Ved å bruke LOD og LOQ basert på instrumentblanken ble LOD totalkonsentrasjon da 1500cps og LOQ 4500 cps og dette gir da en LOD på 0,01ppb og en LOQ på 0,03 ppb. For partikler ble da LOD på 7 partikler og LOQ ble 20 partikler. For massekonsentrasjon ble LOD beregnet til 0,15 ng/L og LOQ beregnet til 0,45 ng/L. Partikkelkonsentrasjon får da LOD på 160 000 partikler/L med en LOQ på 500 000 partikler/L

Tabell 39 Validering Matriseblank

Matriseblank	snitt	SD	RSD (%)	LOD	LOQ	Antall prøver (N)
Totalkonsentrasjon (cps)	318	127	40	1500	4500	
Totalkonsentrasjon (ppb)	0,004	0,001	15	0,01	0,03	
Antall partikler	14	20,3	140	7	20	7
Massekonsentrasjon (ng/L)	0,09	0,15	167	0,15	0,45	
Partikkelkonsentrasjon (partikler/L) x10 <sup>6</sup>	0,33	0,5	139	0,16	0,50	

Tabell 39 viser at ved nåværende LOD og LOQ kan ikke verdiene funnet i matriseplanken bestemmes eller kvantifiseres. De eneste parameterne over LOD og LOQ var antall partikler og partikkelkonsentrasjon, men medberegnet SD kan innholdet i blåskjellprøven brukt som matriseblank være under bestemmelsesgrensene. Vi kan derfor ikke med sikkerhet påstå at det var sølvpartikler i blåskjellmatriksen som ble brukt som matriseblank.

#### 7.4.2 Deteksjons- og kvantifiseringsgrense størrelse

Programvaren har en egen funksjon som finner Deteksjonsgrense (LOD) med hensyn til størrelse kalt bakgrunnsekvivalente diameter (BED). Tabell 40 viser at den ble funnet til omtrent 7 nm for sølvpartiklene og noe lavere for gullpartiklene. BED for samtlige av 82 nm og 31 nm i milliQ-vann og i blåskjellmatriks ble funnet til å være 7±1 nm, Derfor ble LOD satt til 7 nm og LOQ ble funnet ved å bruke at  $LOQ = 3 \times LOD = 21 \text{ nm}$  som ble rundet av til 20nm, dette tilsvarer nedre bestemmelsesgrense for størrelser funnet i en samling av deteksjons/kvantifiseringsgrenser(38).

Tabell 40 Overskirt over gjennomsnitt BED

type	størrelse diameter(nm)	matriks		BED			Antall prøver (N)
		milliQvann	blåskjell	snitt	SD	RSD(%)	
AuNP	60	X		5	0	5	4
			X	6	0	2	4
AgNP	82	X		7	1	10	3
			X	7	0	4	8
	31	X		6	1	12	5
			X	8	0	6	10

Det lineære området for partikkelstørrelse er begrenset nedover av BED/LOD 7 nm. Oppover er måleområde begrenset av konsentrasjonen til den ioniske standarden, området er også begrenset fysisk ved diameter på slanger, nebuliser etc. på instrumentet. I disse forsøkene ble det ikke kjørt partikler større enn de angivelige 100 nm sølvpartiklene, funnet til å være nærmere 80 nm. Men da det blant annet er brukt samme standarder som i valideringen av gull, er det ikke urimelig å sette ULOQ for sølvnanopartikler til 300 nm, som HI foreløpig har gjort for gull(21).

## 7.5 Riktighet

Riktigheten ble beregnet ved å beregne gjenvinning i spikete prøver ved å se på de målte verdiene mot de teoretiske verdiene. Gjenvinning ble beregnet ved å sett målt verdi over teoretisk verdi multiplisert med 100, det ble bestemt at det ikke var nødvendig å trekke matriseblank verdien fra den målte verdien, da matriseblank var tilsvarende 0. Beregnet gjenvinning ble deretter vurdert om den var innenfor kriterier satt i Codex Alimentarius(39).

Tabell 41 er en oversikt over riktigheten/gjenvinningen av totalkonsentrasjonen av de spikete prøvene.

Tabell 41 Riktighet totalkonsentrasjon

Nanopartikkel kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	Matriks		Spiket		SD	antall prøver (n)	Kriterie riktighet (%)
		milliQvann	blåskjell	før	etter			
100	82	X				75	15	40-120%
			X	X		78	5	
				X	88	15		
	X				42	14		
	31	X		X		63	6	
			X		X	68	12	

Gjenvinning ble funnet til 78±5% for 82 nm spiket i blåskjell før opparbeiding med enzym, mens den var noe høyere, men også mer variabel, for prøver spiket etter enzymbehandling med 88±15 %. AgNPene suspendert i milliQ-vann har en generell større usikkerhet enn prøvene suspendert i blåskjell, noe som kan tyde på at matrisen stabiliserer

nanopartiklene. Riktighet som gjenvinning er innenfor codexkriteriene for alle typer prøver selv om 31 nm partiklene fortynt i milliQ-vann er helt på grensen.

Tabell 42 viser riktighet som gjenvinningen av spiket sølvmassekonsentrasjon i blåskjellmatriks og i milliQ-vann.

Tabell 42 Riktighet massekonsentrasjon, ng/L

Nanopartikkel kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	Matriks		Spiket		SD	antall prøver (n)	Kriterie riktighet (%)	
		milliQvann	blåskjell	før	etter				riktighet (%)
100	82	X				67	10	3	
				X		63	7	8	
		X		X	81	14	4	40-120%	
		X			28	13	5		
	31			X		35	8		10
			X		X	53	11		5

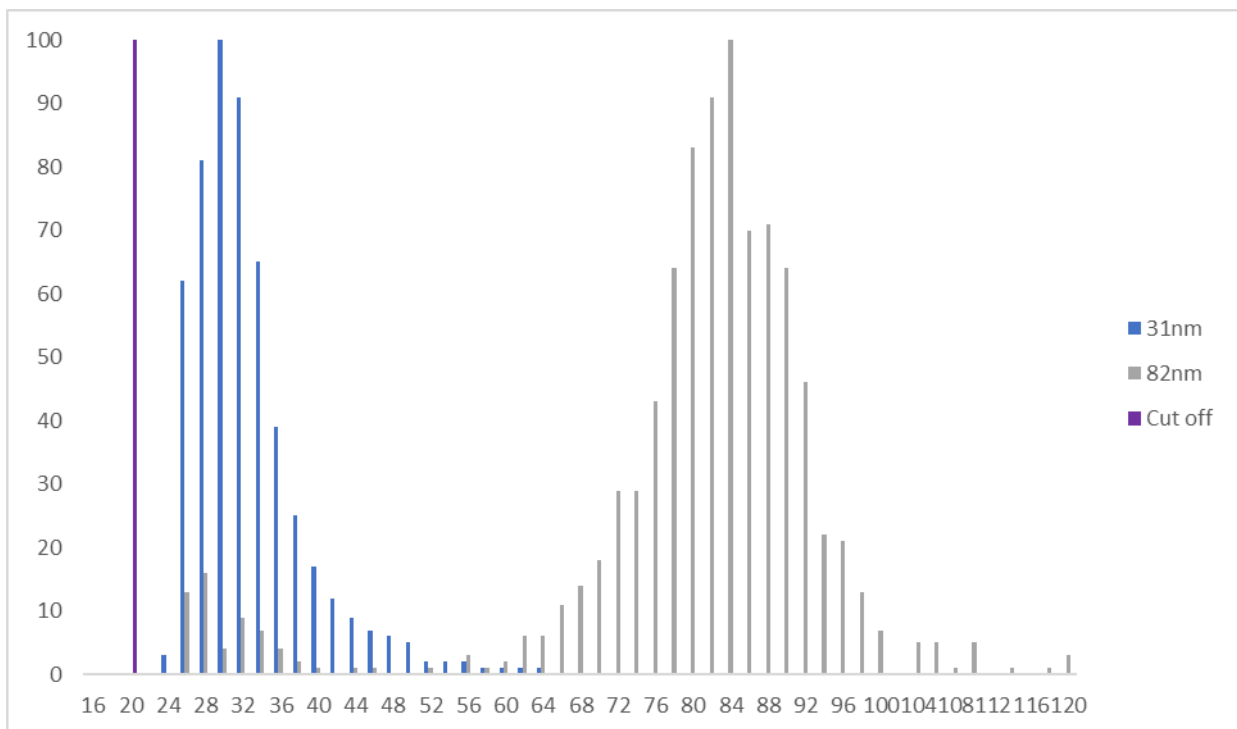
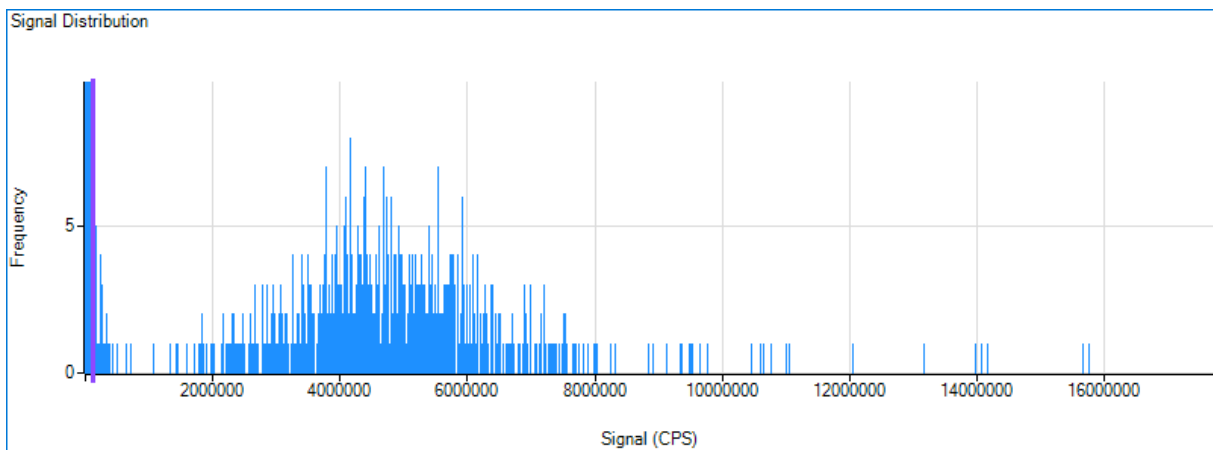
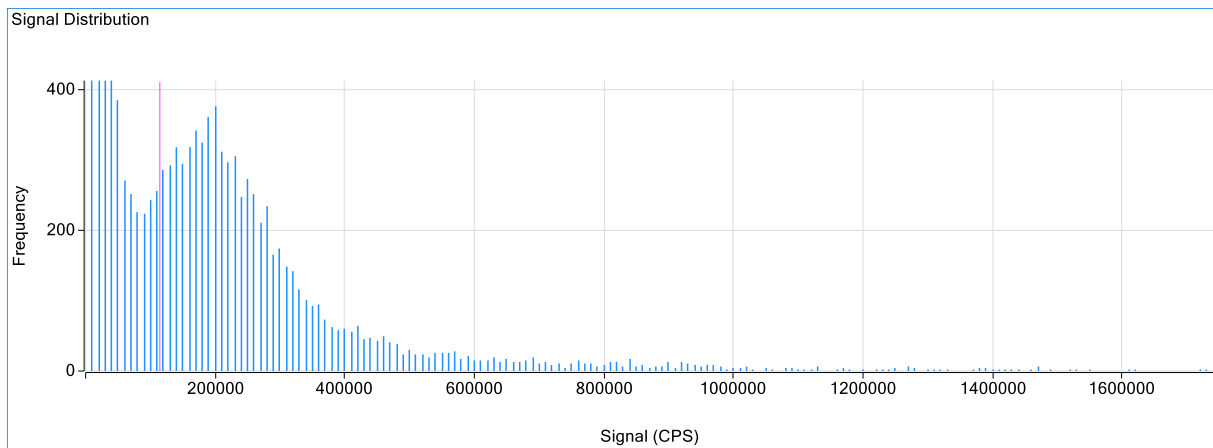
Riktighet er innenfor codex for prøver spiket med 82 nm partikler. (63-81%) der kravet er minst 40% gjenvinning. For 31 nm partiklene er det bare prøvene der partiklene ble spiket etter enzym og varmebehandling som er innenfor kriteriet. En ser at gjenvinningen av konsentrasjon er generelt lav for samtlige av prøvene spiket med 31 nm sølvpartikler, og noen er også under kravet fra codex. NP standardene som ble brukt hadde mest sannsynlig gått ut på dato, det kan ha gjort at konsentrasjonen var lavere enn oppgitt av leverandør. Det er derfor tenkelig at de mindre partiklene også vil kunne være innenfor kravet om standardløsningen ikke hadde vært gammel. Grunnen til at de er innenfor i totalkonsentrasjon målingen kan være måleusikkerhet, eller at prøven inneholder ionisk sølv. Ionisk sølv er ikke tatt med i beregninger for massekonsentrasjon, vil heller ikke være en del av beregninger for partikkelkonsentrasjon.

I Tabell 43 er riktigheten til den målte partikkelkonsentrasjonen beregnet i forhold til den teoretiske riktigheten.

Tabell 43 Riktighet partikkel konsentrasjon partikler/L

Nanopartikkel		Matriks	Spiket			antall	Kriterie
kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	milliQvann	blåskjell	før	etter	prøver (n)	riktighet (%)
100	82	X				3	40-120%
				X		8	
		X		X	4		
	X				5		
	31	X		X	10		
			X		5		

Trenden fra de tidligere tabellene for riktighet er her tilsvarende som for de andre konsentrasjonene ved at riktigheten er høyest for 82 nm partiklene (65-67%). For de små partiklene på 31 nm var gjenvinningen i det lavere sjiktet (24-26%). For partikkelkonsentrasjon er det bare 82 nm partiklene som er innenfor kravet på 40-120%. Årsakene til at de små partiklene ikke er innenfor kravet kan være av samme grunn som diskutert over. En annen mulig forklaring kan være at flere av partiklene har vært så små at de har havnet under cut-off grensen i particle treshold satt på ca. 20 nm og derfor ikke ble telt. Figur 33 illustrer cut-off for to prøver med tilhørende størrelsesfordeling. Cut-offen er satt til samme diameter (20 nm). Dette gjør at for 31 nm partiklene ble ikke hele normalfordelingen tatt med, mens for 82 nm der signalintensiteten ligger lengre til høyre blir ikke fordelingen påvirket på samme måte som for nanopartikler rundt 20 nm. Det er grunn til å tro at småpartikler mindre enn 20 nm i 31 nm partiklene har gått tapt i prosesseringen da de er under cut-offen, noe som har stor innvirkning på resultatet og gir lav gjenvinning for disse småpartiklene.



Figur 33 Signalfordeling, med cutoff og tilhørende størrelsesfordeling



Tabell 44 viser riktigheten av gjennomsnittstørrelsen funnet til partiklene.

Tabell 44 Riktighet gjennomsnittstørrelse

Nanopartikkel kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	Matriks		Spiket		SD	antall prøver (n)	Kriterie riktighet (%)
		milliQvann	blåskjell	før	etter			
100	82	X				98	1	3
				X		96	3	8
			X		X	100	5	4
		X				99	5	5
	31			X	X	104	7	10
				X	X	110	3	5

Denne ble ganske høy for samtlige av prøvene (96-110%) og med relativt lavt avvik, spesielt for partiklene på 82 nm. Riktigheten blir ganske høy fordi den gjennomsnittstørrelsen som ble funnet ble brukt til å justere ned partikkel størrelsen fra oppgitte 100 og 40 nm ned til henholdsvis 82 og 31 nm. Riktighet for størrelse er godt innenfor codexkravet 40-120% for samtlige av prøvene og ville nok fortsatt vært innenfor kravet uten at størrelsen av partiklene hadde blitt justert som diskutert tidligere.

Tabell 45 viser en oversikt over riktigheten til medianstørrelsen, der alle er prøven er innenfor kravet fra codex.

Tabell 45 Riktighet medianstørrelse

Nanopartikkel kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	Matriks		Spiket		SD	antall prøver (n)	Kriterie riktighet (%)
		milliQvann	blåskjell	før	etter			
100	82	X				99	0	3
				X		98	1	8
			X		X	102	4	4
		X				94	5	5
	31			X	X	98	10	10
				X	X	105	5	5

At tabellen ble veldig lik som oversikten over gjennomsnittsstørrelsen tyder på at det var en normalfordeling av partiklene siden både gjennomsnitts- og medianstørrelse var svært lik, dette bekreftes senere av riktigheten til mest hyppige størrelse. Riktigheten for medianstørrelsen ligger mellom (94-105%), med litt høyere standardavvik for de små partiklene, noe som var gjennomgående for alle størrelsesparameterne

Tabell 46 viser at riktigheten for 82 nm partiklene er svært nær 100% (99-101%) med lavt standardavvik.

Tabell 46 Riktigheten mest hyppige størrelse

Nanopartikkel kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	Matriks		Spiket		antall prøver (n)	Kriterie riktighet (%)	
		milliQvann	blåskjell	før	etter			riktighet (%)
100	82	X				99	1	3
				X		101	2	8
		X		X	105	3	4	
		X			92	7	5	
	31			X	X	88	11	10
				X	X	105	3	5

Riktigheten (99-105%) for 82 nm partiklene var tilsvarende de to andre størrelsesparameterne, dette bekrefter igjen en normalfordeling av 82 nm partiklene. Riktigheten for alle størrelsesparameterne for 31 nm partiklene (110-88%) har en synkende trend, dette kan tyde på en skeiv størrelsesfordeling. Men riktigheten er uansett godt innenfor codexkravet.

### 7.5.1 Presisjon som intern reproduserbarhet

Intern reproduserbarhet er regnet som det relative standardavviket av de målte resultatene i hver analyse for hver av de tilsvarende prøvene.

Tabell 47 viser internreproduserbarheten av totalkonsentrasjonen.

Tabell 47 intern reproduserbarhet totalkonsentrasjon ppb

Nanopartikkel kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	Matriks		Spiket		SD	RSD(%)	antall prøver	Kriterie RSD(%)
		milliQvann	blåskjell	før	etter				
100	82	X				0,015	20	3	≤44
			X	X		0,005	6	8	
				X		0,015	18	4	
		X				0,014	33	5	
	31	X		X		0,006	9	10	
			X		X	0,012	18	5	

RSD% til 82 nm partiklene ble funnet til å være 6-20%, der prøvene det er flest av og i blåskjell er de mest reproduserbare. Det samme kan sies om 31 nm partiklene, hvor RSD ble funnet til å være 9-33%. begge størrelsene er innenfor codexkravet på  $RSD\% \leq 44\%$ . Dette codexkravet gjelder egentlig reproduserbarhet, ofte settes kravet for intern reproduserbarhet til 2/3 av reproduserbarhetskravet, i dette tilfellet ca. 30%. Samtlige 82 nm prøver var innenfor dette kravet, men det var noen av 31 nm prøvene som falt utenfor kravet for intern reproduserbarhet, men var innenfor reproduserbarhetskravet.

Tabell 48 er oversikt over den internereproduserbarheten for massekonsentrasjon (ng/L).

Tabell 48 Oversikt over intern reproduserbarhet masse konsentrasjon(ng/L)

Nanopartikkel		Matriks		Spiket		SD	RSD(%)	antall prøver (n)	Kriterie RSD(%)	
kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	milliQvann	blåskjell	før	etter					
100	82	X				10	15	3	≤44	
			X	X		7	10	8		
	31				X		14	18		4
		X					13	46		5
			X	X			8	23		10
					X		11	21		5

RSD% ligger mellom 10-18% for 82 nm partiklene. Den er noe høyere for 31 nm partiklene i blåskjell (21-23%). RSD er betydelig høyere, og utenfor kriteriet fra codex, for 31 nm på 46% dette er ganske høyt og skyldes en prøve som skiller seg ut og kan være en uteligger, se vedlegg Tabell 71. Ellers er intern reproduserbarheten relativt god.

Tabell 49 viser intern reproduserbarheten for partikkelkonsentrasjon.

Tabell 49 intern reproduserbareheten partikkelkonsentrasjon /Partikler/L)

Nanopartikkel		Matriks		Spiket		SD	RSD(%)	antall prøver (n)	Kriterie RSD(%)	
kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	milliQvann	blåskjell	før	etter					
100	82	X				4	16	3	≤44	
			X	X		2	9	8		
	31				X		3	11		4
		X					41	28		5
			X	X			58	37		10
					X		30	15		5

Det er mindre variasjon for de større partiklene med RSD fra 9-16% og 15-37% for de mindre partiklene. Dette kan være fordi små partikler er vanskelige å skille fra bakgrunnsstøy og partikler som egentlig skulle vært telt av programvaren er mindre enn LOQ og cut-offen som ble satt i programvaren. I motsetning til gjenvinning er intern reproduserbarhet for partikkelkonsentrasjon innenfor kravene til codex, med unntak av 31 nm spiket i blåskjell før enzymbehandling, denne er bare innenfor reproduserbarhetskravet.

Tabell 50 er en oversikt over internreproduserbarheten av gjennomsnittsstørrelse.

Tabell 50 intern reproduserbarhet gjennomsnittsstørrelse

Nanopartikkel kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	Matriks		Spiket		SD	RSD(%)	antall prøver (n)	Kriterie RSD(%)
		milliQvann	blåskjell	før	etter				
100	82	X				1	1	3	≤44
			X	X		2	3	8	
				X		3	4	4	
	X				1	4	5		
	31	X	X		2	7	10		
			X	X	1	2	5		

Som for konsentrasjonsparameterne var variasjonen lavest for de største partiklene med RSD fra 1-4% og 2-7% for de små partiklene. Det er sannsynlig at den større usikkerheten skyldes det samme som beskrevet for partikkelkonsentrasjon med hensyn på «cut off» satt i programvaren. Til tross for den noe høyere variasjonen for de mindre partiklene er RSD godt innenfor codexkravet.

Tabell 51 viser intern reproduserbarheten av medianstørrelsen

Tabell 51 intern reproduserbarhet medianstørrelse

Nanopartikkel kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	Matriks		Spiket		SD	RSD(%)	antall prøver (n)	Kriterie RSD(%)
		milliQvann	blåskjell	før	etter				
100	82	X				0	0	3	≤44
			X	X		1	2	8	
				X		3	4	4	
	X				1	5	5		
	31	X	X		2	7	10		
			X	X	1	3	5		

Trenden i resultatene var den samme som for gjennomsnittsstørrelse. Resultatene viser lav RSD 0-7%, godt innenfor codexkravet, der variasjonen var lavest for 82 nm partiklene og høyest for 31 nm partikler.

Tabell 52 viser intern reproduserbarheten til den mest hyppige størrelsen.

Tabell 52 intern reproduserbarhet mest hyppige størrelse

Nanopartikkel		Matriks		Spiket		antall prøver (n)	Kriterie RSD(%)		
kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	milliQvann	blåskjell	før	etter			RSD (%)	RSD (%)
100	82	X				1	1	3	
				X		2	2	8	
			X		X	3	3	4	
	31	X					2	8	5
				X		X	3	12	10
			X			X	1	3	5

Der ble RSD funnet til 1-3% for 82 nm partiklene. Dette er tilsvarende RSD som for de andre størrelsesparameterne for 82 nm partiklene og er ganske lav variasjon. For 31 nm partiklene ble RSD funnet til 3-12% som er noe høyere enn de foregående 2-7% for medianstørrelse, men variasjonen er fortsatt ikke veldig høy. Samtlige prøver har resultater for intern reproduserbarhet som er innenfor codexkravet.

## 7.6 Måleusikkerhet

Det ble lagt til fem prosentpoeng til måleusikkerheten. Dette er pga. at det ikke ble benyttet sertifisert RM i beregningene, i tillegg var standardene gått ut på dato. MU er beregnet som  $2 \times \text{RSD} + 5\%$  av den beregnede riktigheten.

Måleusikkerheten ble funnet til å ligge mellom 20-75% vist i Tabell 53

Tabell 53 Måleusikkerhet for totalkonsentrasjon

Nanopartikkel		Matriks		Spiket		RSD (%)	2RSD (%) +5%	MU (%)	antall prøver (n)	
kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	milliQvann	blåskjell	før	etter					
100	82	X				20	45	45	3	
				X		6	18	20	8	
			X		X	18	40	40	4	
	31	X					33	71	75	5
				X		X	9	23	25	10
			X			X	18	41	45	5

Måleusikkerheten ble funnet til å ligge mellom 20-75% vist i Tabell 53. I blåskjell ble MU funnet til å ligge mellom 20-45%. For hver partikkelstørrelse er usikkerheten størst i prøvene i milliQ-vann. Prøvene med lavest usikkerhet er prøvene spiket i matriks før enzymbehandling. Grunnen til at usikkerheten er lavere kan både være at matriksen er stabiliserende, og det ble analysert to paralleller av disse prøvene i hvert forsøk, som gjør at hver enkelt prøve har mindre innvirkning på usikkerheten. MU for totalkonsentrasjon i blåskjellmatriks kan settes til 50%. Dette er 5% lavere enn 55% som HI(21) bestemte og det kan da vurderes om MU skal justeres opp for å matche.

Tabell 54 viser at måleusikkerheten for massekonsentrasjon

Tabell 54 Måleusikkerhet massekonsentrasjon (ng/L)

Nanopartikkel kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	Matriks		Spiket		RSD (%)	2RSD (%) +5%	MU (%)	antall prøver
		milliQvann	blåskjell	før	etter				
100	82	X				15	34	35	3
			X	X		10	26	30	8
				X		18	41	45	4
	31	X				46	97	100	5
			X	X		23	51	55	10
					X	21	47	50	5

Måleusikkerheten ble lavest for 82 nm partiklene 30-45%. for 31 nm partiklene ble MU funnet fra 50-100%, noe som er veldig høyt. MU kan settes til, i det minste for større NPs, 55% for massekonsentrasjon, men det bør sees nærmere på 31 nm i milliQ-vann.

Trenden fortsatte i Tabell 55

Tabell 55 Måleusikkerhet partikkelkonsentrasjon (partikler/L)

Nanopartikkel		Matriks		Spiket		RSD (%)	2RSD (%) +5%	MU (%)	antall prøver (n)	
kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	milliQvann	blåskjell	før	etter					
100	82	X				16	38	40	3	
			X	X		9	24	25	8	
				X	X	11	26	30	4	
	31	X					28	62	65	5
			X	X			37	79	80	10
				X	X		15	34	35	5

MU ble lavest for 82 nm partiklene (25-40%) og da i prøven med blåskjellmatriks. MU relativt høy for 31 nm partiklene, riktigheten til 31 nm prøven er også veldig lave, se Tabell 43. Dette kan skyldes at løsningen var for gammel. For 82 nm partiklene derimot er det rimelig å sette MU til 45% da riktigheten er mye høyere 65-73% (Tabell 43).

Tabell 56 er en oversikt over MU for gjennomsnittsstørrelse.

Tabell 56 Måleusikkerhet gjennomsnittsstørrelse

Nanopartikkel		Matriks		Spiket		RSD (%)	2RSD (%) +5%	MU (%)	antall prøver	
kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	milliQvann	blåskjell	før	etter					
100	82	X				1	7	10	3	
			X	X		3	11	15	8	
				X	X	5	15	15	4	
	31	X					5	14	15	5
			X	X			7	19	20	10
				X	X		3	10	15	5

Den ble funnet til å være 10-20% med beregnet begge størrelsene, usikkerheten er noe høyere for de mindre partiklene. På grunn av både høy riktighet (Tabell 44) og høy presisjon som intern reproduserbarhet kan MU settes til 15%.



I Tabell 57 er MU for medianstørrelse fremstilt.

Tabell 57 Måleusikkerhet medianstørrelse

Nanopartikkel kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	Matriks		Spiket		RSD (%)	2RSD (%) +5%	MU (%)	antall prøver
		milliQvann	blåskjell	før	etter				
82	100	X				0	6	10	3
			X	X		1	7	10	8
31	100				X	4	12	15	4
		X				5	16	20	5
31	100		X	X		11	26	30	10
					X	5	14	15	5

Som for gjennomsnittsstørrelsen er MU relativt lav (10-15%) for 82 nm partiklene, og noe høyere (15-30%) for 31 nm partiklene. På grunn av høy riktighet (Tabell 45) og høy presisjon, kan MU settes til 15%.

MU for den mest hyppige partikkelstørrelsen vist i Tabell 58.

Tabell 58 Måleusikkerhet mest hyppige størrelse

Nanopartikkel kons. (ng/L)	Størrelse (nm)	Matriks		Spiket		RSD (%)	2RSD (%) +5%	MU (%)	antall prøver
		milliQvann	blåskjell	før	etter				
82	100	X				1	8	10	3
			X	X		2	9	10	8
31	100				X	3	12	15	4
		X				8	20	20	5
31	100		X	X		12	30	30	10
					X	3	11	15	5

Tilsvarende resultater som for median og gjennomsnittsstørrelse ble funnet for mest hyppige størrelse i Tabell 58, med lav (10-15%) MU for de større partiklene og noe høyere (15-30) MU for de mindre partiklene.

## 7.7 Robusthet

Metodens robusthet ble testet ved at analysene var spredt utover flere dager og da fordelt over et langt tidsrom som strakte seg fra høsten og utover påfølgende vår. Under opparbeiding ble det brukt engangsutstyr. Nye standarder ble fortynnet for hver analyse. Det ble brukt forskjellige ioniske standarder, både med og uten pH-justering og det ble brukt både gull og sølv for kalibrering. Ingenting av dette så ut til å påvirke resultatet i betydelig grad. Når RMSize ble benyttet til å finne NE var det viktig å være sikker på størrelsen av RM. Fortynnede suspensjoner av nanopartikler i milliQ-vann bør ikke opparbeides i god tid på forhånd, disse bør analyses raskest mulig etter opparbeiding. Suspensjoner i blåskjellmatriks var betydelig mer stabile, men heller ikke disse bør stå i lang tid. Bruk av stabilisator bør undersøkes nærmere da det ene forsøket utført i denne oppgaven gav svært avvikende resultater.

## 7.8 Konklusjon metode- og valideringsparametere

Metoden ble funnet egnet til formålet og kan benyttes til å bestemme sølvnanopartikler i blåskjell innenfor de grenser som er angitt for de ulike parameterne i Tabell 59.

Tabell 59 Validering oppsummering

Parameter	LOD	LOQ	ULOQ	MU, %
Totalkonsentrasjon. (ppb)	0,010	0,030	10	50
Massekonsentrasjon. (ng/L)	0,2	0,5	10 000	55
Partikkelkonsentrasjon. (partikler/L)	$1,6 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$		45
Partikkelstørrelse		20	300	15

## 8 Forslag til metode

### 1. Anvendelsesområde

Generell kalibrering av instrument for bestemmelse av nanopartikler, samt spesifikt måling av sølv (Ag) som nanopartikler (NP), for bestemmelse av partikkelstørrelse, partikkelantallkonsentrasjon, massekonsentrasjon og totalkonsentrasjon. Metoden er validert for sølvbestemmelse i blåskjell.

### 2. Prinsipp

Kalibrering av instrument for bestemmelse av andre element gjøres med standard av gullnanopartikler og ionisk gullstandard. For bestemmelse av prøver brytes blåskjell ned med enzymløsning (Protamex) for å friggi NP. Prøven ristes deretter opp etter enzymbehandling og fortynnes med vann. Fortynnet løsning analyseres på ICPMS i enkeltpartikkelmodus.

### 3. Sikkerhet

Protamex kan virke irriterende ved kontakt med hud eller øyne samt at støv irriterer luftveiene. Innveing av Protamex skal foregå i avtrekk og det skal benyttes engangs hansker

### 4. Kjemikalier

Tabell 60 Kjemikalier

	Navn	Kjemikalienavn
4.1	Protamex	Protease from Bacillus sp
4.2	Vann	Filtrert og ionebyttet
4.3	NP-standard	Au-standard 60 nm, 50 mg/L
4.4	NP-standard	Au-standard 30 nm, 50 mg/L
4.5	NP-Standard	Ag-standard 100nm 20 mg/L
4.6	NP-standard	Ag-standard 40nm 20 mg/L
4.7	Ionisk Standard	Au-standard 1000 mg/L
4.8	Ionisk Standard	Ag-Standard 1000 mg/L

## 5. Løsninger og standarder

20 % Protamex løsning: 20 g Protamex veies inn og løses i en 100 mL målekolbe med vann. Holdbarhet: en måned i kjøleskap.

NP-standard 100 ng/L fra 60 nm eller 30 nm standard: 100 µl standard (4.3 eller 4.4) fortynnes til 10 ml med vann og løsningen blandes. Vi har nå en 500 µg/L løsning (5.2.1), og fra denne pipetteres ut 100 µl som fortynnes til 10 ml med vann og løsningen blandes. Vi har nå en 5 µl/L løsning (5.2.2), og fra denne pipetteres 200 µl som fortynnes til 10ml med vann. Dette gir oss en 100 ng/L nanopartikkel løsning (5.2.3). Holdbarhet: Fortynnete løsninger bør brukes samme dag.

NP-standard 100 ng/L fra 100 nm eller 40 nm standard: 250 µl standard (4.5 eller 4.6) fortynnes til 10 ml med vann og løsningen blandes. Vi har nå en 500 µg/L løsning (5.3.1), og fra denne pipetteres ut 100 µl som fortynnes til 10 ml med vann og løsningen blandes. Vi har nå en 5 µl/L løsning (5.3.2), og fra denne pipetteres 200 µl som fortynnes til 10ml med vann. Dette gir oss en 100 ng/L nanopartikkel løsning (5.3.3). Holdbarhet: Fortynnete løsninger bør brukes samme dag.

Ionisk standard Au 10 µg/L: 100 µl av elementstandarden (4.7) fortynnes til 10 ml med vann og løsningen blandes. Vi har nå en 10 mg/L løsning og fra denne pipetteres 10 µl som fortynnes til 10 ml med vann og blandes. Dette gir oss en 10 µg/L løsning. Holdbarhet: Fortynnete løsninger bør brukes samme dag.

Ionisk standard Ag 10 µg/L: 100 µl av elementstandarden (4.8) fortynnes til 10 ml med vann og løsningen blandes. Vi har nå en 10 mg/L løsning og fra denne pipetteres 10 µl som fortynnes til 10 ml med vann og blandes. Dette gir oss en 10 µg/L løsning. Holdbarhet: Fortynnete løsninger bør brukes samme dag.

## 6. Instrumenter og utstyr

- 6.1 Homogenisator, ultraturax
- 6.2 Plastrør med gul skrukork og rund bunn til enzymbehandling, 13 ml PP
- 6.3 Plast sentrifugerør til fortynning, 15 ml PP
- 6.4 Vannrensseanlegg Milli-Q fra Milipore for filtrering og ionebytting av vann (2397)
- 6.5 Finnpipetter og tips
- 6.6 Inkubator med ristebord, Heidolph (1498)
- 6.7 Wirlmixer, MS1 minishaker (1418)
- 6.8 ICPMS Agilent 7900, med mikromist nebulizer og programvare Masshunter og modul for NP-software (3450)
- 6.9 Autosampler SPS4 (3229)

## 7. Eksperimentelt

Instrumentparametere er angitt i Tabell 61.

Tabell 61: Instrumentparametere

Pkt	Parameter	Verdi
7.1	RF power	1000-1600 W
7.2	Torch posisjon	6-10 mm
7.3	Nebulizer gass	0,8-1,2 L/min
7.4	Elementmasse	197 Au, 107 Ag
7.5	Integrasjonstid pr punkt	0,0001 sekund (100 $\mu$ s)
7.6	Måletid pr. prøve	2 minutter (120 sekunder)
7.7	Nebuliseringspumpehastighet	0,1 rps

## 8. Prosedyre

- 8.1 For bestemmelse av Ag i prøver start fra punkt 8.2, for kalibrering av instrument for bestemmelse av andre element start fra punkt 8.8
- 8.2 Våt prøve homogeniseres med ultraturax (6.1) og oppbevares i frys/kjøleskap.
- 8.3 For bestemmelse av Ag i prøver. Vei inn 1 g av våte prøver og matriseblank unntatt eventuell metodeblank som istedenfor består av 1 ml vann. Matriseblank spikes med

100 µl 500 µg/L NP løsning (5.2.1), enten 100 nm eller 40 nm. Tilsett deretter 3 mL 20% Protamex (5.1) til alle rør.

- 8.4 Prøvene korkes godt og legges på ristebordet i inkubator (6.5) ved 50 °C i 1 time
- 8.5 Deretter tilsettes prøven 4 mL vann og blandes med wirlmixer (1418) i 15 sekunder på maksimal hastighet
- 8.6 2 mL av denne prøven pipetteres umiddelbart ut og fortynnes med vann til 10 mL og mikses som pkt 8.4
- 8.7 1 mL av fortynnet prøve (8.5) pipetteres og fortynnes med vann til 12,5 mL. Dette gir en total fortynning av prøven på 500 ganger.
- 8.8 Standarder for kalibrering av instrument og bestemmelse av transporteffektivitet (TE)/nebuliseringseffektivitet (NE) gjøres med 100 ng/L løsning med Au nanopartikler (5.2.3), 10 µg/L Au ionisk standard (5.4) og blank (4.2) ev. med 100 ng/L løsning med Ag nanopartikler (5.3.3), 10 µg/L Ag ionisk standard (5.5) og blank (4.2)

For oppstart på instrument, tillaging av batch og beregning av resultat se arbeidsbeskrivelse for instrumentanalyse og beregninger.

## 9. Valideringsparametere

Tabell 62 Valideringsparametere

Parameter	LOD	LOQ	ULOQ	MU, %
Totalkonsentrasjon. (ppb)	0,010	0,030	10	50
Massekonsentrasjon. (ng/L)	0,2	0,5	10 000	55
Partikkelkonsentrasjon. (partikler/L)	1,6 x 10 <sup>5</sup>	5,0 x 10 <sup>5</sup>		45
Partikkelstørrelse		20	300	15

## 9.1 Selektivitet

Det finnes ikke isobare interferenser for  $^{107}\text{Ag}$  og det er heller ikke avdekket at polyatomiske specier vil interferere i en grad som kan påvirke resultatene innenfor de feilgrenser metoden opererer med.

## 9.2 Lineært område

Det lineære området er begrenset nedover av LOD/LOQ (se punkt 9.3) og oppover av ULOQ. ULOQ er vist i Tabell 3. For partikkelantallkonsentrasjon er ULOQ funnet å være tilsvarende 12 000 partikler detektert på to minutter på instrumentet. Ved høyere antall partikler bør prøven fortynnes.

## 9.3 Deteksjonsgrense/kvantifiseringsgrense

LOD og LOQ er vist i Tabell 3. For partikkelantallkonsentrasjon bør man detektere over 20 partikler i løpet av en analysetid på to minutter før man kvantifiserer. Helst bør man ha flere hundre partikler før man kan si hvilken størrelsesfordeling man har på partiklene.

## 9.4 Riktighet

Metodens riktighet, for de undersøkte parameterne som metoden kan bestemme, undersøkt ved spiking, lå stort sett innenfor intervallet 40-120% som er angitt som akseptabelt intervall for slike lave konsentrasjoner av Codex Alimentarius. Presisjon

## 9.5 Presisjon

Presisjon for de parametere som kan bestemmes med metoden var bedre enn Codex Alimentarius kriterie på  $< 44\%$ .

## 9.6 Måleområde

Måleområde er tilsvarende det lineære området for metoden og er angitt i tabell 3

## 9.7 Måleusikkerhet

Metodens måleusikkerhet for ulike parametere er angitt i Tabell 3. Vurdering av usikkerhetsbidrag er vist i Tabell 4

## 9.8 Robusthet

Metodens robusthet er testet ved at analysene er spredt utover flere dager og da fordelt over høst og påfølgende vår. Under opparbeiding ble det brukt engangsutstyr. Hver standard ble fortynnet for hver analyse. Det ble brukt forskjellige ioniske standarder, både med og uten pH-justering. Det ble brukt både gull og sølv for kalibrering. Ingenting av dette ser ut til å påvirke resultatet i en betydelig grad. Fortynnede suspensjoner av nanopartikler i milliQ-vann bør ikke opparbeides i god tid på forhånd, disse bør analyseres raskest mulig etter opparbeiding. Suspensjoner i blåskjellmatriks var betydelig mer stabile, men heller ikke disse bør stå i lang tid. Bruk av stabilisator bør undersøkes nærmere da det ene forsøket utført i denne oppgaven gav svært avvikende resultater.

## 10. Kvalitetskontroll

Kontroll av metodens pålitelighet utføres ved hjelp av:

1. Respons på Agilent tuningløsning føres automatisk ved oppstart og logges automatisk av software i elektronisk loggbok.
2. RMSize skal brukes til beregning av resultater med programvaren og funnet transporteffektivitet (TE)/nebuliseringseffektivitet (NE) føres i loggbokskjema.
3. I hver analyseserie der Au skal bestemmes i prøver skal det inngå en spiket kontrollprøve eller ringtestmateriale for kontroll av at gjenvinning er innenfor 40-120% (se valideringsrapport).
4. Deltakelse i ringtester.

## 11. Beregninger

Beregninger skal gjøres med RMSize metoden i instrumentprogramvaren

## 12. Rapportering

Resultatene for partikkelstørrelse (median, gjennomsnitt og hyppigste), partikkelantallkonsentrasjon, massekonsentrasjon og totalkonsentrasjon kan rapporteres etter omregning til verdier i innveid prøve, se arbeidsbeskrivelse. Rapportert verdi oppgis med to signifikante siffer.



## 9 Konklusjon og beskrivelse av videre arbeid

Målet med oppgaven var å utvikle en metode som kan brukes til screening og bestemmelse av sølvnanopartikler i blåskjell. DLS viste seg tidlig til å ikke være egnet som en rask screeningmetode i dette arbeidet, da det kreves mye høyere konsentrasjoner enn det som finnes i reelle miljøprøver. sp-ICP-MS viste seg å være en god teknikk for å finne partikkelparametere som størrelse og total-, masse og partikkelkonsentrasjon. Men når RMSize brukes for å beregne nebuliseringseffektiviteten er det viktig å være sikker på størrelsen av referansematerialet da dette er avgjørende for størrelsen som bestemmes av sp-ICP-MS. En god måte å kontrollere referansematerialet på var å benytte seg av EM og/eller gjøre en sp-ICP-MS analyse der en bruker en annen sikker standard.

Videre arbeid bør være å se på andre alternative, mulig bedre opparbeidings metoder for sølv som kan håndtere både fett og karbohydrater i tillegg til protein slik at nye prøvetyper kan undersøkes og man kan utvide metoden til andre marine matrikser. Akkurat som denne metoden er en utvidelse av metoden for gull med sølv, bør metoden også utvides videre til å dekke flere elementer. Det bør også vurderes å gjøre en ny validering med en standard som ikke er for gammel og der man kan være sikker på størrelse og konsentrasjon.

## 10 Referanseliste

1. Kartverket. Norges Kystlinje kartverket.no karverket  
2019 [Available from: <https://www.kartverket.no/kunnskap/Fakta-om-Norge/norges-kystlinje/kystlinjen-i-kilometer/>].
2. Aschberger K, Micheletti C, Sokull-Klüttgen B, Christensen FM. Analysis of currently available data for characterising the risk of engineered nanomaterials to the environment and human health — Lessons learned from four case studies. *Environment International*. 2011;37(6):1143-56.
3. Kalantzi I, Mylona K, Toncelli C, Bucheli TD, Knauer K, Pergantis SA, et al. Ecotoxicity of silver nanoparticles on plankton organisms: a review. *Journal of Nanoparticle Research*. 2019;21(3):65.
4. Roma J, Matos AR, Vinagre C, Duarte B. Engineered metal nanoparticles in the marine environment: A review of the effects on marine fauna. *Marine Environmental Research*. 2020;161:105110.
5. Andersen LF, Elvevoll EO, Hemre GI HB, Hofshagen M, Iversen PO , Krogdahl Å, et al. Kunnskapsbehov av betydning for mattrygghet og biologisk mangfold. Oppsummering fra VKMs vitenskapelige uttalelser i perioden 2005 – 2015. Oslo; 2016
6. Havforskningsinstituttet. Om oss Havforskningsinstituttet.no2020 [Available from: <https://www.hi.no/hi/om-oss>].
7. Robbins LJ, Mänd K, Planavsky NJ, Alessi DS, Konhauser KO. Trace Metals. In: Gargaud M, Irvine WM, Amils R, Cleaves HJ, Pinti D, Cernicharo Quintanilla J, et al., editors. *Encyclopedia of Astrobiology*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2019. p. 1-5.
8. Ratte HT. Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 1999;18(1):89-108.
9. Luoma SN, Ho YB, Bryan GW. Fate, bioavailability and toxicity of silver in estuarine environments. *Marine Pollution Bulletin*. 1995;31(1):44-54.
10. Alexander GV, Young DR. Trace metals in southern Californian mussels. *Marine Pollution Bulletin*. 1976;7(1):7-9.
11. Commission E. Commission recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial (2011/696/EU). *Official Journal of the European Communities: Legis*. 2011;275:38.
12. Rauscher et al. Identification of nanomaterials through measurements. Luxembourg: Publications Office of the European Union,; 2019
13. Xu L, Liang HW, Yang Y, Yu SH. Stability and Reactivity: Positive and Negative Aspects for Nanoparticle Processing. *Chem Rev*. 2018;118(7):3209-50.
14. Salata OV. Applications of nanoparticles in biology and medicine. *Journal of Nanobiotechnology*. 2004;2(1):3.
15. Bocca B, Caimi S, Senofonte O, Alimonti A, Petrucci F. ICP-MS based methods to characterize nanoparticles of TiO<sub>2</sub> and ZnO in sunscreens with focus on regulatory and safety issues. *Science of the Total Environment*. 2018;630:922-30.
16. (SCCS) SCOCS. Request for a scientific advice on the safety of nanomaterials in cosmetics. In: Directorate-General for Internal Market, Industry EaSDG, editors. 2020

17. Buzea C, Pacheco II, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*. 2007;2(4):MR17-MR71.
18. RAINBOW PS. Biomonitoring of Heavy Metal Availability in the Marine Environment. Great Britain: Elsevier Science Ltd; 1995.
19. Viarengo A, Canesi L. Mussels as biological indicators of pollution. *Aquaculture*. 1991;94(2):225-43.
20. FAO/WHO. Codex Alimentarius Commission – Procedural Manual twenty-seventh edition. 27 ed. Rome 2019.
21. Valdernesnes S, Bienfait AM, Solli B, Bruvoll A. 600 - Kalibrering av instrument for nanopartikkelbestemmelse og bestemmelse av gullnanopartikler i blåskjell med ICPMS. 2020.
22. Malvern. Zetasizer Nano User Manual. MAN0485 Issue 11 April 2013. United Kingdom: Malvern 2013  
p. (11-1)-(-8).
23. Nobbmann U. FAQ: PEAK SIZE OR Z-AVERAGE SIZE – WHICH ONE TO PICK IN DLS? : Malvern Panalytical Ltd is a Spectris company; 2014 [Available from: <https://www.materials-talks.com/blog/2014/07/10/faq-peak-size-or-z-average-size-which-one-to-pick-in-dls/>].
24. Small JA, Watters J, Robert L. Report of Investigation Reference Material 8017 Polyvinylpyrrolidone Coated Silver Nanoparticles (Nominal Diameter 75 nm). Gaithersburg: National Institute of Standards & Technology; 2015.
25. Thomas R. A beginner's guide to ICP-MS. *Spectroscopy*. 2001;16(4):38.
26. Harris DC. Quantitative chemical analysis. 9th ed. ed. Lucy CA, editor. New York: Freeman; 2016.
27. Mitrano DM, Leshner EK, Bednar A, Monserud J, Higgins CP, Ranville JF. Detecting nanoparticulate silver using single-particle inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2012;31(1):115-21.
28. Technologies A. MassHunter Workstation Single Nanoparticle Application. Rev. A, June 2017 ed. USA: © Agilent Technologies, Inc. 2017; 2017
29. Sannac S. Single particle analysis of nanomaterials using the Agilent 7900 ICP-MS. Application Note, Agilent Technologies. 2015.
30. Pace HE, Rogers NJ, Jarolimek C, Coleman VA, Higgins CP, Ranville JF. Determining Transport Efficiency for the Purpose of Counting and Sizing Nanoparticles via Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*. 2011;83(24):9361-9.
31. Egerton RF. *Physical Principles of Electron Microscopy*: Springer, Boston, MA; 2005.
32. Havforskningsinstituttet. Instruks for opparbeiding av prøver ved prøvemottak, Nordnesboder 3. 28.01 ed. Bergen: Havforskningsinstituttet; 2019.
33. HI. Instruks for opparbeiding av prøver ved prøvemottak, Nordnesboder 3. 2019.
34. Reed RB, Higgins CP, Westerhoff P, Tadjiki S, Ranville JF. Overcoming challenges in analysis of polydisperse metal-containing nanoparticles by single particle inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2012;27(7):1093-100.
35. Tejamaya M, Römer I, Merrifield RC, Lead JR. Stability of Citrate, PVP, and PEG Coated Silver Nanoparticles in Ecotoxicology Media. *Environmental Science & Technology*. 2012;46(13):7011-7.

36. May TW, Wiedmeyer RH. A Table of Polyatomic Interferences in ICP-MS. Atomic Spectroscopy; 1998
37. Kofstad PK, Pedersen B. sølv. Store norske leksikon. snl.no  
2019
38. Laborda F, Bolea E, Jiménez-Lamana J. Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: A Powerful Tool for Nanoanalysis. Analytical Chemistry. 2014;86(5):2270-8.
39. WHO Fa. Codex Alimentarius Commission – Procedural Manual twenty-seventh edition. 27 ed. Rome2019.

## 11 Vedlegg

Tabell 63 Rådata sp-ICP-MS analyse 1

Sample					197 Au																		
Rict	Data File	Acq Date-Time	Type	Sample Name	Nebulization Efficiency	FullQuant Signal (CPS)	FullQuant Conc. (ppb)	Ionic Conc. (ppb)	# of Particles	Mass Conc. (ng/l)	Particle Conc. (particles/l)	Mean Size (nm)	Median Size (nm)	Most Freq. Size (nm)	BED (nm)	Mean Particle Signal (CPS)	Particle Baseline (CPS)	Particle Detection Threshold (CPS)	oppqitt full quant (ppb)	oppqitt mass conc. (ng/l)	oppqitt Particle conc. (particles/l)	oppqitt Particle Size (nm)	
USANN	001ISMPL.d	30.08.2019 13:23	IonicBlk	vann		476.6	0.007	0									0	120000		10	10000		60
USANN	011ISMPL.d	30.08.2019 14:35	RM	60nm Au 100 ng/L		699423	10.007	9.565									668523	7150000		0.1	100	4.58E+07	60
USANN	013SMPL.d	30.08.2019 14:49			0.052	3444	0.049	0.039	687	42.04	19240474	59	59	60	5	5132696	2751	189855	0	0	0		
USANN	002SMPL.d	30.08.2019 13:30	Sample	bum	0.052	2038	0.029	0.000	16	0.10	448104	24	21	22	0	533238	0	189855	0	0	0		
USANN	003SMPL.d	30.08.2019 13:37	Sample	bum uspike	0.052	2801	0.040	0.000	48	0.75	1344313	33	28	26	0	1311131	0	189855	0	0	0		
USANN	004SMPL.d	30.08.2019 13:44	Sample	bum spiked	0.052	5237	0.075	0.079	880	43.09	24645729	55	55	54	6	4106536	5534	189855	0.1	100	4.58E+07	60	
USANN	006SMPL.d	30.08.2019 13:59	Sample	1 blaskjell 60nm 100ng/L	0.052	4116	0.059	0.070	661	32.31	18512303	54	55	56	6	4099334	4900	189855	0.1	100	4.58E+07	60	
USANN	007SMPL.d	30.08.2019 14:06	Sample	2 blaskjell 60nm 100 ng/L	0.052	3853	0.055	0.065	660	32.03	18484298	54	54	56	6	4070316	4560	189855	0.1	100	4.58E+07	60	
USANN	009SMPL.d	30.08.2019 14:20	Sample	0.5 ug/L	0.052	31606	0.452	0.385	2397	6.60	67131606	21	21	22	10	230873	26928	189855	0.5	500		60	
USANN	010SMPL.d	30.08.2019 14:27	Sample	1 ug/L	0.052	68711	0.983	0.907	7404	21.41	207360211	22	21	22	14	242530	63374	189855	1	1000			
USANN	005SMPL.d	30.08.2019 13:51	Sample	vann	0.052	757	0.011	0.000	29	0.17	812189	25	23	22	0	486880	0	189855					
USANN	008SMPL.d	30.08.2019 14:13	Sample	vann	0.052	738	0.011	0	10	0.03	280065	21	21	22	0	238543	0	189855					
USANN	012SMPL.d	30.08.2019 14:42	Sample	vann	0.052	707	0.010	0	13	0.06	364085	24	22	22	0	368345	0	189855					
USANN	014SMPL.d	30.08.2019 14:56	Sample	vann	0.052	547	0.008	0	22	0.32	616143	27	21	22	0	1236366	0	189855					

Tabell 64 Rådata sp-ICP-MS analyse 2 Gull

Sample											197 Au												
Rjct	Date File	Acq. Date-Time	Type	Sample Name	Nebulization Efficiency	FullQuant Signal (CPS)	FullQuant Conc. (ppb)	Ionic Conc. (ppb)	# of Particles	Mass Conc. (ng/l)	Particle Conc. (particles/l)	Mean Size (nm)	Median Size (nm)	Most Freq. Size (nm)	BED (nm)	Mean Particle Signal (CPS)	Particle Baseline (CPS)	Particle Detection Threshold (CPS)	oppqitt full quant (ppb)	oppqitt mass conc. (ng/l)	oppqitt Particle conc. (particles/l)	oppqitt Size (nm)	
###	005SMPL.d	12.09.2019 13:56	IonicBk	vann		2029	0.0301	0.000															
###	011SMPL.d	12.09.2019 14:39	IonicStd (AN)	10ug/L		676048	10.0301	9.547												10	10000		
###	013SMPL.d	12.09.2019 14:54	RM	60nm Au 100 ng/L		2953	0.0438	0.035	712	38	17426818	59	59	60	5	4325641	2330	166469.39	0.1	100	4.58E+07	60	
###	002SMPL.d	12.09.2019 13:34	Sample	burn		3999	0.0593	0.092	310	12	7587519	50	55	56	7	3058831	6176	166469	0	0		0	
###	003SMPL.d	12.09.2019 13:42	Sample	brm usplked		1738	0.0258	0.000	29	1	709800	37	33	22	1	1534166	4	166469	0	0		0	
###	004SMPL.d	12.09.2019 13:49	Sample	brm spiked		4379	0.0650	0.067	896	42	21930378	56	57	58	6	3797516	4484	166469	0.1	100	4.58E+07	60	
###	006SMPL.d	12.09.2019 14:03	Sample	1 blaskjell 60nm 100ng/L		3857	0.0572	0.067	738	34	18063190	56	56	56	6	3683852	4514	166469	0.1	100	4.58E+07	60	
###	007SMPL.d	12.09.2019 14:10	Sample	2 blaskjell 60nm 100 ng/L		3790	0.0562	0.061	806	37	19727549	56	56	56	6	3666813	4126	166469	0.1	100	4.58E+07	60	
###	009SMPL.d	12.09.2019 14:25	Sample	0.5 ug/L		32610	0.4838	0.405	5535	14	135473932	22	21	22	11	210474	27273	166469	0.5	500		60	
###	010SMPL.d	12.09.2019 14:32	Sample	1 ug/L		66489	0.9865	0.864	20454	59	500629399	22	22	22	14	232062	58224	166469	1	1000			
###	012SMPL.d	12.09.2019 14:46	Sample	vann		1794	0.0266	0.000	43	0	1062462	29	23	22	0	764704	0	166469					
###	014SMPL.d	12.09.2019 15:01	Sample	vann		1682	0.0250	0.000	71	1	1737787	29	24	22	0	791974	0	166469					
###	008SMPL.d	12.09.2019 14:18	Sample	vann		2332	0.0346	0.000	93	1	2276256	28	24	22	0	784246	0	166469					
###	001SMPL.d	12.09.2019 13:27	Sample	vann		2061	0.0306	0.058	83	2	2031497	38	30	22	6	2166620	3906	166469					

Tabell 65 Rådata sp-ICP-MS analyse 3

Sample										107 Ag													
Rct	Date File	Acq Date-Time	Type	Sample Name	Nebulization Efficiency	FullQuant Signal (CPS)	FullQuant Conc. (ppb)	Ionic Conc. (ppb)	# of Particles	Mass Conc. (ng/l)	Particle Conc. (particles/l)	Mean Size (nm)	Media n Size (nm)	Most Freq. Size (nm)	BED (nm)	Mean Particle Signal (CPS)	Particle Baseline (CPS)	Particle Detection Threshold (CPS)	oppgit full quant (ppb)	oppgit mass conc. (ng/l)	oppgit Particle conc. (particles/l)	oppgit Size (nm)	
###	005SM.P.L.d	18.09.2019 12:24	Ionicblk	vann		17	0.000	0.000										0	0	0			0
###	015SM.P.L.d	18.09.2019 14:12	RM	100ng/l NP 40nm		878219	10.000	10.083									885486	0	50000	10	10000		0
###	014SM.P.L.d	18.09.2019 13:29	RM	100ng/l NP 40nm		2677	0.030	0.027	6147	22.63	138165871	29	27	28	6	387959	2347	105032	0.1	100	6.11E+08	31	
###	002SM.P.L.d	18.09.2019 12:03	Sample	burn		4750	0.054	0.063	42	0.06	944032	23	22	22	8	157482	5522	105032	0	0		0	
###	003SM.P.L.d	18.09.2019 12:10	Sample	burn uspked		435	0.005	0.000	2	0.01	44954	29	29	32	0	310668	0	105032	0	0		0	
###	004SM.P.L.d	18.09.2019 12:17	Sample	burn uspked		5713	0.065	0.058	9298	48.92	208990771	33	31	32	7	554500	5082	105032	0.1	100	6.11E+08	31	
###	006SM.P.L.d	18.09.2019 12:31	Sample	1 blaskjeil 40nm 100ng/L		5262	0.060	0.078	4149	24.43	93256908	31	27	22	8	620459	6837	105032	0.1	100	6.11E+08	31	
###	007SM.P.L.d	18.09.2019 12:39	Sample	2 blaskjeil 40nm 100 ng/l		5412	0.062	0.069	4584	25.95	103034387	31	27	22	8	596680	6065	105032	0.1	100	6.11E+08	31	
###	013SM.P.L.d	18.09.2019 13:22	Sample	RM8017 100ng/l		2154	0.025	0.024	955	20.13	21465497	55	55	56	5	2221023	2104	105032	0.1	100	4.31E+07	75	
###	009SM.P.L.d	18.09.2019 12:53	Sample	0.5 ug/l		15298	0.174	0.070	38969	129.81	875904675	28	26	20	8	351048	6176	105032	1	1000			
###	010SM.P.L.d	18.09.2019 13:00	Sample	1 ug/l		51775	0.590	0.478	55293	187.66	1242818604	29	27	22	15	357658	42022	105032	10	10000			
###	011SM.P.L.d	18.09.2019 13:07	Sample	10 ug/l		795689	9.060	8.561	116900	946.34	2627556659	35	32	24	39	853114	751871	105032	0	0		0	
###	012SM.P.L.d	18.09.2019 13:15	Sample	vann		1169	0.013	0.000	3	0.01	67431	24	24	28	0	190423	0	105032	0	0		0	
###	008SM.P.L.d	18.09.2019 12:46	Sample	vann		21	0.000	0.000	2	0.06	44954	63	63	64	0	324462	0	105032	0	0		0	
###	001SM.P.L.d	18.09.2019 11:55	Sample	vann		18	0.000	0.000	2	0.06	44954	62	62	64	0	3085760	0	105032	0.5	500		0	



Tabell 66 Rådata sp-ICP-MS analys 4

Sample													107 Ag												
Rct	Data File	Acq. Date-Time	Type	Sample Name	Nebulization Efficiency	FullQuant Signal (CPS)	FullQuant Conc. (ppb)	Ionic Conc. (ppb)	# of Particles	Mass Conc. (ng/l)	Particle Conc. (particles/l)	Mean Size (nm)	Median Size (nm)	Most Freq. Size (nm)	BED (nm)	Mean Particle Signal (CPS)	Particle Baseline (CPS)	Particle Detection Threshold (CPS)	ppb/lt full quant (ppb)	ppb/lt mass conc. (ng/l)	ppb/lt Particle conc. (particles/l)	ppb/lt Particle Size (nm)			
###	001SM.PL.d	25.09.2019 13:19	IoncBlk	vann		26	0,000	0,000										0	0	0					
###	020IONS.RM.d	25.09.2019 15:35	IoncStd (RM)	10 ug/L gull		739387	10,000	9,578										0	10	10000					
###	016IONS.d	25.09.2019 15:07	IoncStd (AN)	10 ug/L sølv		847885	10,000	10,113										857278	10	10000					
###	027.RM.d	25.09.2019 16:26	RM	100ng/L NP60 nm gull		2528	0,034	0,027	603	30,52	13967163	59	59	60	5	4490590	2002	168072	0,1	100	4,58E+07	60			
###	002SM.PL.d	25.09.2019 13:26	Sample	bun 4		4882	0,058	0,066	26	0,08	602233	28	27	28	8	299427	5582	168072	0	0					
###	003SM.PL.d	25.09.2019 13:33	Sample	bun 8		5055	0,060	0,065	318	4,35	7365768	46	46	44	8	1392825	5511	168072	0	0					
###	004SM.PL.d	25.09.2019 13:40	Sample	bun uspked 3		316	0,004	0,000	10	0,07	231628	36	35	42	0	670420	0	168072	0	0					
###	005SM.PL.d	25.09.2019 13:47	Sample	bun uspked 7		324	0,004	0,000	10	0,03	231628	27	26	26	0	272823	0	168072	0	0					
###	006SM.PL.d	25.09.2019 13:55	Sample	bun spikED 3 NP40		6524	0,077	0,057	9707	62,24	224841227	35	33	32	7	652168	4844	168072	0,1	100	6,11E+08	31			
###	007SM.PL.d	25.09.2019 14:02	Sample	bun SPKED 7 NP100		7855	0,093	0,052	1035	85,37	23973489	84	86	88	7	8390361	4436	168072	0,1	100	3,30E+07	82			
###	009SM.PL.d	25.09.2019 14:16	Sample	1 blåskjell 40nm 100ng/L		5276	0,062	0,075	3546	28,82	82135258	36	32	26	8	826842	6391	168072	0,1	100	6,11E+08	31			
###	010SM.PL.d	25.09.2019 14:23	Sample	2 blåskjell 100nm 100ng/L		5417	0,064	0,076	3825	29,89	88597678	36	32	26	8	794888	6470	168072	0,1	100	6,11E+08	31			
###	011SM.PL.d	25.09.2019 14:31	Sample	5 blåskjell 100nm 100ng/L		6882	0,082	0,057	957	71,57	22166793	80	83	84	7	7606732	4852	168072	0,1	100	3,30E+07	82			
###	012SM.PL.d	25.09.2019 14:38	Sample	6 blåskjell 100nm 100ng/L		7015	0,083	0,052	984	71,94	22792188	80	83	82	7	7436409	4430	168072	0,1	100	3,30E+07	82			
###	022SM.PL.d	25.09.2019 15:50	Sample	RM8017 100ng/L 75nm sølv		2355	0,028	0,018	1089	25,48	25224281	56	56	56	5	2379845	1553	168072	0,1	100		75			
###	023SM.PL.d	25.09.2019 15:57	Sample	100ng/L NP40nm sølv		2989	0,035	0,032	5316	22,86	123133402	31	29	28	6	437502	2694	168072	0,1	100	6,11E+08	31			
###	024SM.PL.d	25.09.2019 16:04	Sample	100ng/L NP300nm gull		5317	0,063	0,039	787	57,31	18229118	81	81	80	6	7407389	3311	168072	0,1	100	3,30E+07	82			
###	026.RM.d	25.09.2019 16:19	Sample	100ng/L NP300nm gull		4738	0,056	0,031	5532	49,90	128136662	41	41	42	6	917618	2624	168072	0,1	100	3,66E+08	30			
###	014IONS.d	25.09.2019 14:52	Sample	0,5 ug/L sølv		22280	0,263	0,207	18402	54,05	426241712	28	27	26	11	298775	17542	168072	0,5	500					
###	015IONS.d	25.09.2019 14:59	Sample	1 ug/L sølv		62036	0,732	0,625	34829	120,36	806736662	29	28	26	16	351509	53020	168072	1	1000					
###	018IONS.RM.d	25.09.2019 15:21	Sample	0,5 ug/L gull		34971	0,413	0,382	9	0,07	115814	53	39	38	17	3653576	64650	670000	0,5	500					
###	019IONS.RM.d	25.09.2019 15:28	Sample	1 ug/L gull		71385	0,842	0,753	5	0,18	208465	37	32	32	14	8111501	32370	340000	1	1000					
###	021SM.PL.d	25.09.2019 15:43	Sample	vann		119	0,001	0,000	0	0,00	0	0	0	0	0	0	0	168072							
###	023SM.PL.d	25.09.2019 16:11	Sample	vann		120	0,001	0,000	0	0,00	0	0	0	0	0	0	0	168072							
###	013SM.PL.d	25.09.2019 14:45	Sample	vann		29	0,000	0,000	4	0,09	92651	42	27	28	1	2374672	4	168072							
###	017SM.PL.d	25.09.2019 15:14	Sample	vann		681	0,008	0,000	0	0,00	0	0	0	0	0	0	0	168072							
###	008SM.PL.d	25.09.2019 14:09	Sample	vann		23	0,000	0,000	1	0,00	23163	29	29	30	0	321211	0	168072							

Tabell 67 Rådata sp-ICP-MS analyse 5

Sample										107 Ag									
Rid	Daa File	Acq. Daa-Time	Type	Sample Name	Nebulization Efficiency	FullQuant Signal (CPS)	FullQuant Conc. (ppb)	Ionic Conc. (ppb)	# of Particles	Mass Conc. (ng/l)	Particle Conc. (particles/l)	Mean Size (nm)	Median Size (nm)	Most Freq. Size (nm)	BE (m)	Mean Particle Signal (CPS)	Particle Baseline (CPS)	Particle Detection Threshold (CPS)	
USANN	001IONB.d	09.10.2019 12:51	ionStd (RM)	van		30	0.006	0.000									564280	0	
USANN	016IONSRM.d	09.10.2019 14:53	ionStd (RM)	10 ug/L gull		562959	10.000	10.023										37512	428924,251
USANN	014IONS.d	09.10.2019 14:25	ionStd (AN)	10 ug/L saiv		46170	10.006	8.130										3756	428924
USANN	025_FIM.d	09.10.2019 15:44	RM	100ng/L NPe0 nm gull		10449	0.186	0.045	1062	173	78947259	44	40	40	4	10973115	2532	428924,251	
USANN	002SMP.d	09.10.2019 12:58	Sample	bm		170	0.037	0.000	1	0	74338	102	102	104	0	2406019	0	428924	
USANN	003SMP.d	09.10.2019 13:05	Sample	bm unsplked		261	0.056	0.000	5	1	371691	73	70	70	96	0	948180	0	428924
USANN	004SMP.d	09.10.2019 13:13	Sample	bm spiked NP40		5027	1.090	0.814	3578	531	265982391	69	64	60	12	821579	3756	428924	
USANN	005SMP.d	09.10.2019 13:20	Sample	bm SPKED NP100		6046	1.310	0.773	967	1206	71885121	142	143	148	12	6908044	3565	428924	
USANN	007SMP.d	09.10.2019 13:34	Sample	1 blaskell 40nm 100ng/L		4696	1.018	1.132	1763	358	131058401	75	70	60	13	1125258	5225	428924	
USANN	008SMP.d	09.10.2019 13:41	Sample	2 blaskell 40nm 100ng/L		4666	1.011	1.072	1920	366	142729510	74	69	60	13	1056497	4948	428924	
USANN	009SMP.d	09.10.2019 13:49	Sample	3 blaskell 100nm 100ng/L		5414	1.173	0.872	877	992	65194678	137	140	140	12	6260599	4023	428924	
USANN	010SMP.d	09.10.2019 13:56	Sample	4 blaskell 100nm 100ng/L		5473	1.186	0.871	879	1008	6534352	138	140	146	12	6347022	4017	428924	
USANN	020SMP.d	09.10.2019 15:08	Sample	RM8017 100ng/L 75nm saiv		8899	1.495	0.844	3219	1364	239294640	100	101	102	12	2346771	3895	428924	
USANN	021SMP.d	09.10.2019 15:15	Sample	100ng/L NP40nm saiv		5656	1.226	0.844	3800	592	28246494	70	65	60	12	862344	3895	428924	
USANN	022SMP.d	09.10.2019 15:22	Sample	100ng/L NP 100nm saiv		7032	1.524	0.790	1116	1430	82861529	144	145	144	12	7093824	3646	428924	
USANN	006SMP.d	09.10.2019 13:27	Sample	van		17	0.004	0.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	428924	
USANN	011SMP.d	09.10.2019 14:03	Sample	van		17	0.004	0.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	428924	
USANN	019SMP.d	09.10.2019 15:01	Sample	van		1172	0.254	0.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	428924	
USANN	023SMP.d	09.10.2019 15:29	Sample	van		990	0.215	0.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	428924	
USANN	012IONS.d	09.10.2019 14:10	ionStd (AN)	0.5 ug/L saiv		1880	10.161	0.000										0	
USANN	013IONS.d	09.10.2019 14:17	ionStd (AN)	1 ug/L saiv		2061	10.147	0.000										0	
USANN	016IONSRM.d	09.10.2019 14:39	ionStd (RM)	0.5 ug/L gull		33425	10.000	10.209										34124	
USANN	017IONSRM.d	09.10.2019 14:46	ionStd (RM)	1 ug/L gull		61146	10.000	9.983										61044	
USANN	015SMP.d	09.10.2019 14:32	Sample	van		7649	37.666	0.000	24	114.80	1784119	199	174	172	0	1165728	0	428924	
USANN	024_FIM.d	09.10.2019 15:37	RM	100ng/L NP30nm gull		10040	1.642	0.617	7941	1475.80	675410433	49	48	50	8	1363640	3775	200000	

Tabell 68 Rådata sp-ICP-MS analys 6

Sample										107 Ag													
Rct	Data File	Acq. Date-Time	Type	Sample Name	Nebulization Efficiency	FullQuant Signal (CPS)	FullQuant Conc. (ppb)	Ionic Conc. (ppb)	# of Particles	Mass Conc. (ng/l)	Particle Conc. (particles/l)	Mean Size (nm)	Median Size (nm)	Most Freq. Size (nm)	BED Particle Signal (CPS)	Mean Particle Signal (CPS)	Particle Baseline (CPS)	Particle Detection Threshold	oppgit full quant (ppb)	oppgit mass conc. (ng/l)	oppgit Particle conc. (particles/l)	oppgit Particle Size (nm)	
USANN	001SMPL.d	21.10.2019 10:56	Ioniscid (AN)	vann		76	0.001	0.000										0	0	0			0
USANN	021SMPL.d	21.10.2019 13:20	RM	NP100 100ng/L		709498	10.001	9.558										0	10	10000			82
USANN	012SMPL.d	21.10.2019 12:15	RM	NP100 100ng/L		4713	0.066	0.048	814	56	18398537	80	81	82	7	583399	3422	131305.7	0.1	100			0
USANN	002SMPL.d	21.10.2019 11:03	Sample	bum		0.064	0.002	0.000	0	0	1333555	33	29	30	0	621265	0	131306	0	0			0
USANN	003SMPL.d	21.10.2019 11:10	Sample	bum usplked		0.064	0.003	0.000	59	0	1333555	33	29	30	0	621265	0	131306	0	0			0
USANN	004SMPL.d	21.10.2019 11:17	Sample	brm NP40		0.064	0.065	0.057	8647	47	195444905	33	32	32	7	463335	4027	131306	0.1	100	6.11E+08	31	
USANN	005SMPL.d	21.10.2019 11:24	Sample	brm NP100		0.064	0.074	0.047	916	66	20704005	80	84	88	7	6176873	3357	131306	0.1	100	3.30E+07	82	
USANN	007SMPL.d	21.10.2019 11:39	Sample	1 blaskell NP40 100ng/L		0.064	0.060	0.063	4614	35	104288511	36	34	26	8	648470	4481	131306	0.1	100	6.11E+08	31	
USANN	008SMPL.d	21.10.2019 11:46	Sample	2 blaskell NP40 100ng/L		0.064	0.063	0.079	3488	24	78837959	33	30	26	8	579082	5593	131306	0.1	100	6.11E+08	31	
USANN	009SMPL.d	21.10.2019 11:53	Sample	3 blaskell NP100 100ng/L		0.064	0.075	0.053	3824	33	86432439	36	31	26	9	726770	6617	131306	0.1	100	3.30E+07	82	
USANN	010SMPL.d	21.10.2019 12:00	Sample	4 blaskell NP100 100ng/L		0.064	0.076	0.093	4213	35	95224860	36	32	26	9	700841	6583	131306	0.1	100	3.30E+07	82	
USANN	011SMPL.d	21.10.2019 12:08	Sample	NP 40 100ng/L		0.064	0.037	0.037	4995	24	112900115	31	29	28	6	404449	2658	131306	0.1	100	6.11E+08	31	
USANN	013SMPL.d	21.10.2019 12:22	Sample	RM8017		0.064	0.524	0.276	23926	228	540790421	36	28	26	12	810483	19599	131306	0.1	100	4.31E+07	75	
USANN	015SMPL.d	21.10.2019 12:36	Sample	0.5 ug/L gammal		0.064	0.416	0.362	12946	28	292613693	26	25	26	13	182270	25658	131306	0.5	500			0
USANN	016SMPL.d	21.10.2019 12:44	Sample	1 ug/L gammal		0.064	0.926	0.800	44334	118	1002064771	27	26	26	18	225658	56785	131306	1	1000			0
USANN	017SMPL.d	21.10.2019 12:51	Sample	10 ug/L gammal		0.064	10.370	9.861	143029	805	323280831	33	31	26	40	479071	699563	131306					
USANN	019SMPL.d	21.10.2019 13:05	Sample	0.5 ug/L ny		0.064	0.409	0.361	10803	23	244176159	25	25	26	13	17672	2581	131306					
USANN	020SMPL.d	21.10.2019 13:12	Sample	1 ug/L ny		0.064	0.893	0.795	32746	77	740146570	26	26	26	17	201073	56413	131306					
USANN	023SMPL.d	21.10.2019 13:34	Sample	0.5 ug/L mult		0.064	0.451	0.379	13306	28	300750540	25	25	26	14	177169	26911	131306					
USANN	024SMPL.d	21.10.2019 13:41	Sample	1 ug/L mult		0.064	0.960	0.887	23400	51	623901440	26	25	26	18	184804	62923	131306					
USANN	025SMPL.d	21.10.2019 13:48	Sample	10 ug/L mult		0.064	7.8824	10.414	144828	782	3273493087	33	31	26	41	459577	703278	131306					
USANN	006SMPL.d	21.10.2019 11:32	Sample	vann		0.064	70	0.000	3	0	67808	38	38	44	0	606894	0	131306					
USANN	022SMPL.d	21.10.2019 13:27	Sample	vann		0.064	1533	0.022	6	0	135616	47	39	86	0	1948628	0	131306					
USANN	018SMPL.d	21.10.2019 12:58	Sample	vann		0.064	891	0.013	23	0	519860	39	45	46	0	784422	0	131306					
USANN	014SMPL.d	21.10.2019 12:29	Sample	vann		0.064	300	0.000	7	0	158218	53	51	88	0	2235989	0	131306					

Tabell 69 Rådata sp-ICP-MS analyse 7

Sample															107 Ag														
Rct	Data File	Acq. Date-Time	Type	Sample Name	Nebulization Efficiency	FullQuant Signal (CPS)	FullQuant Conc. (ppb)	Ionic Conc. (ppb)	# of Particles	Mass Conc. (ng/l)	Particle Conc. (particles/l)	Mean Size (nm)	Median Size (nm)	Most Freq. Size (nm)	BED (nm)	Mean Particle Signal (CPS)	Particle Baseline (CPS)	Particle Detection Threshold (CPS)	oppoitt full quant (ppb)	oppoitt mass conc. (ng/l)	oppoitt Particle conc. (particles/l)	oppoitt Size (nm)							
###	001SMPL.d	25.10.2019.12.14	IonicBk	nann		12	0.000	0.000										0	0	0	0	0	0						
###	021SMPL.d	25.10.2019.14.38	RM	NP100 100ng/L	0.059	564880	10.000	9.458	915	67	22238122	80	81	82	6	5435492	534238.6	5187.3	0.1	100	3.30E+07	82							
###	072SMPL.d	25.10.2019.13.33	RM	NP100 100ng/L	0.059	4327	0.070	0.040	0	0	0	41	41	56	0	863426	0.0	128358	0	0	0	0							
###	002SMPL.d	25.10.2019.12.21	Sample	bmm	0.059	83	0.001	0.000	2	0	48608	4.1	4.1	32	7	427141	0.0	128358	0	0	0	0							
###	003SMPL.d	25.10.2019.12.29	Sample	bmm uspked	0.059	205	0.004	0.000	0	0	200750700	34	32	32	7	389637	3718.3	128358	0.1	100	6.11E+08	31							
###	004SMPL.d	25.10.2019.12.36	Sample	bmm NP100	0.059	4002	0.071	0.066	8260	52	200750700	34	32	32	7	427141	0.0	128358	0.1	100	3.30E+07	82							
###	005SMPL.d	25.10.2019.12.43	Sample	bmm NP100	0.059	5430	0.096	0.057	1116	88	2713218	81	84	86	7	5332911	3203.8	128358	0.1	100	6.11E+08	31							
###	007SMPL.d	25.10.2019.12.57	Sample	1 blaskvell NP40 100ng/L	0.059	3817	0.068	0.067	8289	48	20145514	33	31	32	7	389637	3800.4	128358	0.1	100	3.30E+07	82							
###	008SMPL.d	25.10.2019.13.05	Sample	2blaskvell NP40 100ng/L	0.059	4244	0.075	0.078	8149	47	198052965	33	31	30	8	388794	4427.3	128358	0.1	100	4.31E+07	82							
###	009SMPL.d	25.10.2019.13.12	Sample	3blaskvell NP100 100ng/L	0.059	4617	0.082	0.069	952	64	23137368	76	79	80	8	4528290	3911.5	128358	0.1	100	3.30E+07	82							
###	010SMPL.d	25.10.2019.13.19	Sample	4blaskvell NP100 100ng/L	0.059	4480	0.079	0.070	958	61	23283193	74	79	80	8	4318930	3939.4	128358	0.1	100	4.31E+07	82							
###	013SMPL.d	25.10.2019.13.41	Sample	FM8017 NP75 100 ng/L	0.059	2528	0.045	0.031	1609	40	39105069	56	56	58	6	1706037	1754.4	128358	0.1	100	3.30E+07	75							
###	015SMPL.d	25.10.2019.13.26	Sample	NP 40 100ng/L	0.059	1766	0.031	0.031	4648	21	112964804	31	28	28	6	309588	1766.1	128358	0.5	500	6.11E+08	31							
###	016SMPL.d	25.10.2019.13.55	Sample	0.5 ug/L gammal	0.059	15986	0.283	0.122	34362	184	83132628	32	29	26	9	362442	6872.5	128358	0.1	1000									
###	017SMPL.d	25.10.2019.14.02	Sample	1ug/L gammal	0.059	43216	0.765	0.651	40761	180	990653676	31	30	26	16	299190	36789.9	128358	0.5	500									
###	019SMPL.d	25.10.2019.14.09	Sample	10ug/L gammal	0.059	566432	10.028	9.425	40761	180	990653676	31	30	26	16	299190	36789.9	128358	0.5	500									
###	020SMPL.d	25.10.2019.14.24	Sample	0.5ug/L ny	0.059	17000	0.301	0.128	40837	192	992500745	31	29	24	9	318741	7231.7	128358	1	1000									
###	020SMPL.d	25.10.2019.14.31	Sample	1 ug/L ny	0.059	45454	0.805	0.691	35771	140	869376918	30	29	26	16	266141	39020.6	128358	1	1000									
###	023SMPL.d	25.10.2019.14.53	Sample	0.5 ug/L multi	0.059	26788	0.474	0.439	4948	12	120255888	26	26	26	14	164965	24809.0	128358	0.5	500									
###	024SMPL.d	25.10.2019.15.00	Sample	1ug/L multi	0.059	56431	0.999	0.873	32887	98	799284299	28	27	26	18	201263	49308.1	128358	1	1000									
###	025SMPL.d	25.10.2019.15.07	Sample	10 ug/L multi	0.059	614837	10.885	10.315	127820	952	3106532070	36	33	28	40	504639	582680.8	128358	10	10000									
###	006SMPL.d	25.10.2019.12.50	Sample	nann		24	0.000	0	0	0	0				0	0	0	128358											
###	022SMPL.d	25.10.2019.14.45	Sample	nann		671	0.012	0	4	0	97216	4.3	4.3	62	0	994697	0	128358											
###	018SMPL.d	25.10.2019.14.17	Sample	nann		708	0.013	0	4	0	97216	3.3	3.1	32	0	376700	0	128358											
###	014SMPL.d	25.10.2019.13.48	Sample	nann		54	0.001	0	0	0	0				0	0	0	128358											

Tabell 70 Rådata sp-ICP-MS analyse 8

Sample													107 Ag										
Rict	Date File	Acq Date-Time	Type	Sample Name	Nebulization Efficiency	FullQuant Signal (CPS)	FullQuant Conc. (ppb)	Ionic Conc. (ppb)	# of Particles	Mass Conc. (ng/l)	Particle Conc. (particles/l)	Mean Size (nm)	Median Size (nm)	Most Freq. Size (nm)	BED (nm)	Mean Particle Signal (CPS)	Particle Baseline (CPS)	Particle Detection Threshold (CPS)	oppgit full quant (ppb)	oppgit mass conc. (ng/l)	oppgit Particle conc. (particles/l)	oppgit Size (nm)	
###	0015MPL.d	05.12.2019 13:12	IoncBlk	vann		35	0.001		1								0	40000	0	0	0		
###	019SMPL.d	05.12.2019 15:21	Sample	10 ug/L ionisk NY		549629	10.000									6.60E+11	0	113658	10	10000	3.30E+07	82	
###	013SMPL.d	05.12.2019 14:38	RM	100ng/L NP100		5052	0.092	0.064	1105	77	25.403413	80	81	82	8	4.60E+06	3529	113658	0.1	100	3.30E+07	82	
###	002SMPL.d	05.12.2019 13:19	Sample	bmm		216	0.004	0.000	1	0	22990	43	43	44	0	6.65E+05	0	113658	0	0			
###	003SMPL.d	05.12.2019 13:26	Sample	bmm usplked		0.663	0.004	0.000	15	0	344843	32	28	28	0	3.41E+05	0	113658	0	0			
###	004SMPL.d	05.12.2019 13:33	Sample	bmm NP40		2645	0.048	0.039	6901	37	15885607	33	31	32	6	3.57E+05	2140	113658	0.1	100	6.11E+08	31	
###	005SMPL.d	05.12.2019 13:40	Sample	bmm NP100		3667	0.065	0.045	907	59	20851490	77	80	82	7	4.32E+06	2488	113658	0.1	100	6.11E+08	31	
###	007SMPL.d	05.12.2019 13:55	Sample	1 blåskjell NP40		3021	0.055	0.049	7562	37	173846707	32	30	30	7	3.23E+05	2717	113658	0.1	100	3.30E+07	82	
###	008SMPL.d	05.12.2019 14:02	Sample	2 blåskjell NP40		3115	0.057	0.049	7843	39	180306761	32	31	30	7	3.30E+05	2886	113658	0.1	100	6.11E+08	31	
###	009SMPL.d	05.12.2019 14:09	Sample	3 blåskjell NP100		4089	0.074	0.050	987	67	22690651	78	81	84	7	4.45E+06	2769	113658	0.1	100	3.30E+07	82	
###	010SMPL.d	05.12.2019 14:16	Sample	4 blåskjell NP100		3828	0.070	0.049	884	62	20322730	79	82	84	7	4.62E+06	2710	113658	0.1	100	3.30E+07	82	
###	012SMPL.d	05.12.2019 14:31	Sample	100ng/L NP40		0.663	0.057	0.065	5708	24	131224148	30	28	26	8	2.72E+05	3573	113658	0.1	100	3.30E+07	82	
###	017SMPL.d	05.12.2019 15:07	Sample	0.5ug/L ionisk NY		0.663	0.480	0.442	7223	15	166053266	25	25	26	14	1.42E+05	25234	113658	0.5	500	6.11E+08	31	
###	018SMPL.d	05.12.2019 15:14	Sample	1 ug/L ionisk NY		0.663	0.947	0.851	33032	81	759389623	27	26	26	18	1.68E+05	48583	113658	0.5	500			
###	014SMPL.d	05.12.2019 14:45	Sample	0.5ug/L ionisk gammel		0.663	0.498	0.459	7533	16	173180007	26	25	26	14	1.43E+05	25210	113658	0.5	500			
###	015SMPL.d	05.12.2019 14:52	Sample	1 ug/L ionisk gammel		0.663	1.011	0.895	37867	98	870543940	27	26	26	18	1.71E+05	49188	113658	1	1000			
###	016SMPL.d	05.12.2019 15:00	Sample	10 ug/L ionisk gammel		0.663	57.165	10.001	9.471	205151	886	4716321873	30	28	22	40	2.96E+05	540913	58564	10	10000		
###	006SMPL.d	05.12.2019 13:48	Sample	vann		0.663	0.001	0.000	1	0	22990	80	80	82	0	4.44E+06	0	113658					
###	011SMPL.d	05.12.2019 14:24	Sample	vann		0.663	0.001	0.000	3	0	68969	50	30	92	0	2.36E+06	0	113658					

Tabell 71 Rådata sp-ICP-MS analys 9

Sample													107 Ag												
Rid	Data File	Acq. Date-Time	Type	Sample Name	Neutritization Efficiency	FuQuant Signal (CPS)	FuQuant Conc. (ppb)	Ionic Conc. (ppb)	# of Particles	Mass Conc. (ng/l)	Particle Conc. (particles/l)	Mean Size (nm)	Median Size (nm)	Most Freq. Size (nm)	BED (nm)	Mean Particle Signal (CPS)	Particle Baseline (CPS)	Particle Detection Threshold (CPS)	oppjit full quant (ppb)	oppjit mass conc. (ng/l)	oppjit Particle conc. (particles/l)	oppjit Size (nm)			
###	001IONS.d	10.03.2020 12:27	ionICP	varn		59	0.000	0.000																	
###	017IONS.RM.d	10.03.2020 14:22	ionICStd (RM)	10ng/L Ionisk Au		1721751	10.000	10.047												10	10000				
###	014IONS.d	10.03.2020 14:00	ionICStd (RM)	10ng/L Ionisk Au		1515766	10.000	10.172												10	10000				
###	016_RM.d	10.03.2020 14:15	RM	AluP 60nm 100ng/L		14679	0.085	0.040	1538	82	37586440	59	59	62	5	11032796	1729872	440552	0.1	100	4.58E+07	60			
###	002SMPL.d	10.03.2020 12:34	Sample	burn usplked		209	0.001	0.000	0	0	0					0		196735	0	0					
###	003SMPL.d	10.03.2020 12:41	Sample	burn usplked		530	0.003	0.000	3	0	73316	25	22	32	0	416257	1542589	196735	0	0					
###	004SMPL.d	10.03.2020 12:48	Sample	burn np40nm		11988	0.079	0.055	9752	65	238324426	35	33	34	7	1214086	8323	196735	0.1	100	6.11E+08	31			
###	005SMPL.d	10.03.2020 12:55	Sample	burn np100nm		14829	0.098	0.050	976	91	23851993	86	87	88	7	16897810	7569	196735	0.1	100	3.30E+07	82			
###	007SMPL.d	10.03.2020 13:10	Sample	1 blaskell 40nm 100ng/L		9622	0.063	0.059	8832	35	215840993	29	28	28	7	730614	8910	196735	0.1	100	6.11E+08	31			
###	008SMPL.d	10.03.2020 13:17	Sample	2 blaskell 40nm 100ng/L		9703	0.064	0.061	9228	34	225518638	29	28	28	7	674460	9226	196735	0.1	100	6.11E+08	31			
###	009SMPL.d	10.03.2020 13:24	Sample	3 blaskell 100nm 100ng/L		11916	0.079	0.058	785	58	19184237	81	81	82	7	13597419	8819	157435	0.1	100	3.30E+07	82			
###	010SMPL.d	10.03.2020 13:31	Sample	4 blaskell 100nm 100ng/L		10924	0.072	0.056	736	52	17986749	79	80	84	7	12921726	8536	152273	0.1	100	3.30E+07	82			
###	012SMPL.d	10.03.2020 13:46	Sample	AgNP40 100ng/L		8888	0.059	0.040	8804	52	215156706	33	31	32	6	1088443	6086	196735	0.1	100	6.11E+08	31			
###	013SMPL.d	10.03.2020 13:53	Sample	AgNP100 100ng/L		178	0.001	0	89	1	2175028	34	31	30	0	1249431	0	196735	0	0	100	3.30E+07			
###	015SMPL.d	10.03.2020 14:08	varn	varn		1015	0.007	0	4	0	9754	23	23	24	0	290661	0	196735	0	0					
###	006SMPL.d	10.03.2020 13:03	Sample	varn		28	0.000	0	0	0	0				0	0	0	196735	0	0					
###	011SMPL.d	10.03.2020 13:39	Sample	varn		38	0.000	0	1	0	24439	41	41	42	0	1660812	0	196735	0	0					

Tabell 72 Rådata sp-ICP-MS analyse 10

Sample											107 Ag												
Rct	Data File	Acq. Date-Time	Type	Sample Name	Nebulization Efficiency	FullQuant Signal (CPS)	FullQuant Conc. (ppb)	Ionic Conc. (ppb)	# of Particles	Mass Conc. (ng/l)	Particle Conc. (particles/l)	Mean Size (nm)	Median Size (nm)	Most Freq. Size (nm)	BED (nm)	Mean Particle Signal (CPS)	Particle Baseline (CPS)	Particle Detection Threshold (CPS)	oppgit full quant (ppb)	oppgit mass conc. (ng/l)	oppgit Particle conc. (particles/l)	oppgit Particle Size (nm)	
###	0011ONB.d	17.03.2020 12:07	ionicBK	vann		137	0,001	0									0		0	0	0		
###	019IONS.RM.d	17.03.2020 14:17	ionicStd (RM)	ionisk Ag 10ug/L		1686796	10,000	10,048								1694866	1708975		10	10000			
###	019IONS.d	17.03.2020 13:48	ionicStd (AN)	ionisk Ag 10ug/L 2		1699364	10,001	10,057											10	10000			
###	017_RM.d	17.03.2020 14:02	RM	AuNP60nm 100ng/L	0,060	12159	0,072	0,035	1334	69,62	31911745	59	60	62	5	10563860	5967	401898,7885	0,1	100	4,58E+07	60	
###	002SMPL.d	17.03.2020 12:14		bmm	0,060	149	0,001	0,000	0	0,00	0				0	0	0	217890,23	0	0			
###	003SMPL.d	17.03.2020 12:21		bmm uspriked	0,060	527	0,003	0,000	26	0,05	621968	23	22	22	0	353072	0	217890,23	0	0			
###	004SMPL.d	17.03.2020 12:29		bmm NP40nm	0,060	10919	0,064	0,048	9355	48,53	223788884	32	31	32	7	1057782	8083	217890,23	0,1	100	6,11E+08	31	
###	005SMPL.d	17.03.2020 12:36		bmm NP100nm	0,060	14441	0,085	0,049	1053	75,90	25189705	77	82	84	7	14696786	8244	217890,23	0,1	100	3,30E+07	82	
###	007SMPL.d	17.03.2020 12:50		Sample	0,060	8562	0,050	0,050	7786	27,87	18625502	28	27	28	7	729817	8472	217890,23	0,1	100	6,11E+08	31	
###	008SMPL.d	17.03.2020 12:57		Sample	0,060	8380	0,049	0,045	7828	26,86	187260220	28	27	26	7	699802	7619	217890,23	0,1	100	6,11E+08	31	
###	009SMPL.d	17.03.2020 13:05		Sample	0,060	10488	0,062	0,051	722	44,34	17271574	76	76	76	7	12523085	8610	1717491,388	0,1	100	3,30E+07	82	
###	010SMPL.d	17.03.2020 13:12		Sample	0,060	9421	0,055	0,048	667	38,88	15716654	75	78	78	7	12065975	8079	1723199,473	0,1	100	3,30E+07	82	
###	012SMPL.d	17.03.2020 13:26		Sample	0,060	4249	0,025	0,028	1282	5,43	30667809	30	27	24	6	864224	4767	217890,23	0,1	100	6,11E+08	31	
###	013SMPL.d	17.03.2020 13:33		Sample	0,060	210	0,001	0,000	18	0,04	430593	25	24	22	0	471240	0	217890,23	0,1	100	6,11E+08	31	
###	006SMPL.d	17.03.2020 12:43		Sample	0,060	95	0,001	0,000	1	0,00	23922	33	33	34	0	997940	0	217890,23	0	0	10000	82	
###	016SMPL.d	17.03.2020 13:55		Sample	0,060	1058	0,006	0,000	2	0,01	47844	28	28	34	0	647984	0	217890,23	0	0	10000		
###	011SMPL.d	17.03.2020 13:19		Sample	0,060	88	0,001	0,000	1	0,00	23922	21	21	22	0	240665	0	217890,23	0	0	10000		
###	018IONS.RM.d	17.03.2020 14:09	ionicStd (RM)	ionisk Au 10ug/L		1682610	10,000	10,047								1690544	0		10	10000			
###	014IONS.d	17.03.2020 13:41	ionicStd (AN)	ionisk Ag 10ug/L		1707394	10,001	10,080									1720903		10	10000			