

NILU : TR 1/97
REFERANSE : E-97014
DATO : JANUAR 1997
ISBN : 82-425-0849-6

**Bestemmelse av
karboksylsyrer i luft**
**Hovedfagsoppgave i analytisk
kjemi**

Chris Lunder



NILU

Norsk institutt for luftforskning
Norwegian Institute for Air Research
Postboks 100 - N-2007 Kjeller - Norway

Forord

Hovedfagsoppgaven ble utført ved Norsk institutt for luftforskning (NILU), Kjeller, i perioden januar 1994 til november 1996.

Ekstern veileder har vært Prof. Dr. Michael Oehme, NILU og Universitetet i Basel, Sveits. Veileder ved Kjemisk Institutt, Universitetet i Oslo, har vært Prof. Dr. Tyge Greibrokk. Jeg vil benytte anledningen til å takke veilederne for hjelpen i gjennomføringen av arbeidet. Spesielt gjelder dette Michael Oehme, som jeg har hatt mest kontakt med.

En spesielt stor takk går til Christian Dye og Norbert Schmidbauer ved NILU for god støtte og mange lange faglig nyttige og inspirerende samtaler.

Uten Hans Gundersen ved NILU ville jeg antagelig sisset ved MS'en fortsatt. En stor takk til han for opplæring, tips og råd i forbindelse med GC/MS analysene.

Jeg takker Martin Schlabach, Adler Mikalsen og Christian Dye for korrekturlesing av oppgaven.

Helst skulle jeg takket alle på avdeling for organisk analyse (NILU). De har alle bidratt til at jeg stortrivdes med å utføre oppgaven ved avdelingen.

Takk til trykkeriet ved NILU som velvillig trykket oppgaven.

Kjeller, november 1996.

Chris Lunder

Innhold

	Side
Forord	1
Sammendrag.....	7
1. Innledning.....	9
1.1 Formål	9
1.2 Karboksylsyrer i atmosfæren	9
1.3 Dannelse og tilførsel av karboksylsyrer i atmosfæren	9
1.4 Hvorfor bestemme forekomsten av karboksylsyrer i atmosfæren?.....	10
1.5 Valg av metode	10
1.6 Derivatisering med 2-nitrofenylhydrazin (2-NPH)	11
1.7 Uttesting av etablert metode	11
Del 1 – Utvikling av metode for bestemmelse av karboksylsyrer i luft.....	13
2. Utstyr og kjemikalier	15
2.1 HPLC-UV/VIS	15
2.1.1 Beskrivelse av instrumentet.....	15
2.1.2 Analysebetingelser.....	16
2.2 Diverse utstyr	16
2.3 Kjemikalier.....	18
2.4 Gasser.....	19
3. Metoder	19
3.1 Fremgangsmåte	19
3.1.1 Reaksjonsmekanismer	19
3.1.2 Sidereaksjoner/biprodukter.....	20
3.1.3 Reagenser.....	20
3.2 Derivatiseringsprosedyre	21
3.3 Rensing av prøveløsningen ved hjelp av fastfase-ekstraksjon.....	22
3.4 Preparering av Sep-PAK C ₁₈ -rør til prøvetaking.....	22
3.5 Syntetisering av standarder	22
3.6 Prøvetaking av luft.....	23
3.7 Utbyttet av derivatisering i væskeløsning.....	23
4. Resultater og diskusjon	24
4.1 Derivatisering av syrene.....	24
4.1.1 Derivatiseringsprosessen	24
4.1.2 Reaksjonstemperatur	24
4.1.3 Reaksjonshastighet	25
4.1.4 Derivatiseringsreagensene	26
4.1.5 Optimalisering av derivatiseringen i væskeløsning ved 60°C.....	31
4.2 Analyse av syre-hydrazidene på HPLC-UV/VIS.....	33
4.2.1 Isokratisk eluering	33
4.2.2 Gradienteluering	33
4.3 Derivatisering og separasjon av maursyre-hydrazid	36
4.4 Rensing av prøveløsning ved hjelp av fastfase ekstraksjon.....	36

4.5 Syntetisering av standarder	37
4.6 Interferens fra aldehyd/keton	38
4.7 Analyse av syre-hydrazidene ved bruk av LC-MS	39
4.8 Prøvetaking av syrer i gassfase ved hjelp av impregnerte Sep-PAK- rør	40
5. Konklusjon	42
Vedlegg A UV-spektre til derivatene av eddiksyre, propionsyre, heptansyre og uidentifisert forbindelse.....	43
Vedlegg B NCI-massespektre av syrederivatene	47
Vedlegg C EI-massespektre av eddiksyrederivat og ukjent	57
Del 2 – Undersøke anvendbarheten av en benyttet metode for bestemmelse av karboksylsyrer i luft.....	61
2. Utstyr og kjemikalier	63
2.1 HP G1800A GCD-System	63
2.1.1 Beskrivelse av instrumentet.....	63
2.1.2 Analysebetingelser	63
2.2 HP 5989A MS Engine	64
2.2.1 Beskrivelse av instrumentet.....	64
2.2.2 Analysebetingelser	65
2.3 Diverse utstyr	65
2.4 Kjemikalier	67
3. Metoder	67
3.1 Fremgangsmåte	67
3.1.1 Reaksjonsmekanismer	68
3.1.2 Prøvetaking.....	68
3.1.3 Reagenser	69
3.2 Derivatiseringsprosedyre	70
3.3 Syntetisering av p-bromfenacylestre.....	70
3.4 Preparering av kationbytter.....	71
3.5 Impregnering av glassfiberfilter.....	71
3.6 Prøvetaking av karboksylsyrer i uteluft.	71
3.7 Kvantifisering	72
4. Resultater og diskusjon	72
4.1 Syntetisering av p-bromfenacylestre.....	72
4.2 Analysemetoden.....	73
4.2.1 Prøveopparbeidelse.....	73
4.2.2 Blindverdier	74
4.3 Analyse på GC/MS	76
4.3.1 HP GCD	76
4.3.2 HP Engine, negativ ion, kjemisk ionisering	77
4.4 Identifisering og kvantifisering.....	82
4.5 Reelle prøver	85
5. Konklusjon	88
6. Til videre arbeid.....	89

7. Referanser	89
Vedlegg A Beregning av responsfaktor, mengde analytt og gjenvinning	95
Vedlegg B NCI- og EI-massespektre	99

Sammendrag

Arbeidet med hovedfagsoppgaven ble delt i to deler.

I del 1 ble det arbeidet med å utvikle en analysemetode for karboksylsyrer i luft. Formålet var å utvikle en metode for alkansyrene, maursyre til nonansyre.

Til prøvetaking var det ønskelig å benytte et derivatiseringsreagens som kunne impregneres på et Sep-PAK-rør, og som samtidig derivatiserte syrene til mindre flyktige forbindelser.

Derivatiseringsreagenset som ble valgt var 2-nitrofenylhydrazin (2-NPH). 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl) karbodiimid hydroklorid (EDC·HCl) ble benyttet som koplingsreagens for derivatiseringen. Karboksylsyrene ble derivatisert til syre-hydrazider. Separasjon og identifisering ble utført på HPLC med UV/VIS- og masseselektiv (MS)-detektor.

I løøsning derivatiserte C₂-C₉ av alkansyrene til syre-hydrazider uten store problemer. Metoden var lite egnet for derivatisering av maursyre. Det måtte benyttes fem ganger høyere konsentrasjon av maursyre, enn de øvrige alkansyrene, for at den skulle derivatisere. Mulige årsaker til dette var at maursyre fordampet eller dekomponerte under derivatiseringen ved 60°C.

Utbyttet av derivatisert eddiksyre i løøsning ved 60°C var 75 ± 5%.

Gassfase av alkansyrene C₂-C₉ derivatiserte i et Sep-PAK-rør impregnert med 2-NPH+EDC·HCl, men utbyttet var dårligere enn derivatisering i løøsning.

Utbyttet av derivatisert eddiksyre i et impregnert Sep-PAK-rør var 8 ± 1,5%.

Det optimale molforholdet mellom EDC·HCl og 2-NPH ved derivatisering var 6:1. Små variasjoner i molforholdet viste store variasjoner i utbytte av eddiksyrederivat.

Molforholdet mellom EDC·HCl og 2-NPH i Sep-PAK-rørene etter impregnering var vanskelig å kontrollere. Dette var trolig den vesentligste årsaken til at ca. 40% av eddiksyra passerte Sep-PAK-røret uten å bli derivatisert.

På grunn av at metoden krevde god kontroll på molforholdet mellom EDC·HCl og 2-NPH, samt at det var komplikasjoner med derivatisering og separering av maursyre, var ikke denne metoden egnet til prøvetaking av karboksylsyrer i luft.

I del 2 skulle anvendbarheten av en benyttet metode for analyse av karboksylsyrer i atmosfæren (27) undersøkes.

Karboksylsyrer i atmosfæren ble samlet opp på et kaliumhydroksid-impregnert filter. Syrene ble derivatisert med α,p-dibromacetofenon til p-bromfenacylestre. cis-dicykloheksano-18-crown-6 ble benyttet som katalysator.

p-Bromfenacylestrene ble separert ved høyoppløsende gasskromatografi. Identifisering ble utført med elektronstøttonisering- og negativ-ion-kjemisk-ionisering (NCI) massespektrometri. Kvantifiseringen ble utført ved bruk av NCI-massespektrometer.

Metoden viste høy blindverdi av eddiksyre. Metodeblind med KOH-impregnerte filtre inneholdt $4,90 \pm 0,53 \mu\text{g}$ eddiksyre. Dette var 50% av måleverdiene i uteluftprøver med et prøvolum på $5,5 \text{ m}^3$. Den høye blindverdien oppstod når glassfiberfiltret ble tatt med i metodeblindene. Blindverdien av eddiksyre i metodeblind uten filter var 10% av blindverdien med filter.

Dersom 1/4 av filtrene ble benyttet i metodeblinden, ble blindverdien av eddiksyre halvert. Den høye blindverdien kan ha sin begrunnelse i at filteroverflaten ble svært aktiv etter gløding. Det kan ha forårsaket dekomponering eller oksidering av reagenser, forurensninger eller løsningsmidler i prøveløsningen.

Metoden som ble benyttet til å syntetisere eddiksyre- og propionsyrederivat var ikke egnet til syntetisering av maursyrederivat. Det ble ikke funnet noen annen metode for syntetisering av maursyrederivatet.

Luftprøve- og metodeblindanalysene viste høye verdier av heksansyre. Årsaken var trolig fordampning av heksansyre fra malte veggoverflater.

Tidligere arbeid viste at deteksjonsgrensen for bromfenacylestrene var ca. 10 pmol ~ $2,5 \text{ ng}$ eddiksyrederivat ved bruk av EI (56). NCI-scan analysene i dette arbeidet detekterte $0,5 \text{ ng}$ eddiksyrederivat uten problemer.

Ved NCI fikk derivatene haledannelse i kromatogrammene. Dette var ikke å se med EI. NCI-Ioneprofiler viste at kun brom av fragmentene til derivatene dannet hale. Årsaken var trolig at brom dannet binding til overflaten i ionekilden.

Dersom videre arbeid med metoden kan redusere blindverdien av eddiksyre, og komme fram til en syntesemetode som syntetiserer maursyre til bromfenacylester, har metoden et potensiale til å bli benyttet som rutineanalyse for karboksylsyrer i luft.

Bestemmelse av karboksylsyrer i luft

Hovedfagsoppgave i analytisk kjemi

1. Innledning

1.1 Formål

Denne oppgaven har vært delt i to.

Utgangspunktet for oppgaven var å utvikle en metode for å bestemme karboksylsyrer i luft. Metoden skulle omfatte alkansyrene, maursyre til nonansyre. I del 1 ble det valgt en metode som var basert på derivatisering av syrene ved prøvetaking.

I del 2 skulle anvendbarheten av en etablert metode for bestemmesle karboksylsyrer i luft undersøkes. Metoden var basert på derivatisering av karboksylsyrene med α , p-dibromacetofenon, hvor derivatene ble analysert med GC/MS. KOH-impregnerte filter ble benyttet til prøvetaking.

1.2 Karboksylsyrer i atmosfæren

Karboksylsyrer er en av de mest dominante gruppene av organiske forbindelser i atmosfæren. Syrene, hovedsakelig maursyre og eddiksyre, gir et betydelig bidrag til sur nedbør både i urbane og ikke-urbane strøk over hele verden (1-13).

Det er rapportert karboksylsyrer i tåke, dugg og snø (14-16), samt i urbane- og marine aerosoler (17-19).

Gassfasekonsentrasjonen av maursyre og eddiksyre i luft fra urbane strøk ligger i det lave ppb_v området. Dette er som oftest høyere verdi enn hovedkomponentene av de uorganiske syrene (20-23).

1.3 Dannelse og tilførsel av karboksylsyrer i atmosfæren

Karboksylsyrer tilføres atmosfæren som følge av antropogen ("som skyldes menneskelig aktivitet") og/eller biogen aktivitet, samt fotokjemisk oksidasjon av organisk materiale i gass- og væskefase (24-26).

Utslippskilder av syrene er eksos fra biltrafikk (27-28), bruk av fossilt brensel (11), vegetasjon (29) og fordampning fra sjøene (30).

Ozon-alkan reaksjoner er foreslått som en viktig kilde til dannelse av karboksylsyrer i gassfase (31). En annen potensiell viktig kilde er gassfase oksidasjon av hydrokarboner og aldehyder (32-33).

Biogent utslipp fra vegetasjon blir sett på som en svært viktig naturlig kilde for maursyre og eddiksyre, spesielt i vekstperiodene (34).

På grunn av at karboksylsyrer i gassfase har lav reaktivitet, blir de i svært liten grad fjernet fra atmosfæren ved kjemiske reaksjoner. Hovedsakelig blir syrene

fjernet ved utvasking (nedbør), binding til partikler eller transportert til øvre troposfære (35).

1.4 Hvorfor bestemme forekomsten av karboksylsyrer i atmosfæren?

- Det er behov for målinger av karboksylsyrer i urbane- og ikke-urbane strøk for å få økt forståelse av atmosfærisk nedbrytning av organiske forbindelser.
- Målingene av karboksylsyrene er av interesse for de som lager modeller for fotokjemiske oksidasjonsmekanismer av atmosfæriske hydrokarboner.
- Karboksylsyrenes bidrag til sur nedbør gjør at de også fører til økt korrosjon av bygningsmateriale.
- Med henblikk til innemiljø har enkelte av syrene sjenerende lukt og luktterskel i lave ppb_v-området.

1.5 Valg av metode

De fleste metoder som er utviklet for analyse av karboksylsyrer har et oppkonsentreringstrinn, etterfulgt med identifisering og kvantifisering som hovedsakelig er væskekromatografi teknikker med dertil egnede detektorer (36).

På grunn av karboksylsyrenes polaritet og flyktighet har prøvetakingen vært den største utfordringen ved utvikling av metode.

Til prøvetaking av karboksylsyrer i luft er det bl. a. blitt benyttet :

- KOH-impregnerte filtre eller glass kuler (27, 37-39)
- adsorpsjon i vandig spray (11)
- adsorpsjon på silika og aktiv kullkolonne (40-41)

Disse metodene hadde enten kompliserte prøveopparbeidelser eller så var metoden kun egnet for C₁-C₄-karboksylsyrer.

Ved utvikling av en ny metode var det derfor ønskelig å finne en prøvetakingsmetode som var egnet for C₁-C₉, etterfulgt av en enkel prøveopparbeidelse.

Miwa et al (43,45-46) og Sj. van der Wal (44) derivatiserte karboksylsyrer (C₂-C₉) i væske med 2-nitrofenylhydrazin (2-NPH) til syre-hydrazider for analyse på HPLC-UV/VIS. NILU benytter et lignende reagens for bestemmelse av lette karbonylforbindelser. 2,4-dinitrofenylhydrazin (DNPH) blir benyttet til impregnering av Sep-PAK for prøvetaking. Karbonylforbindelsene blir derivatisert til mindre flyktige forbindelser under prøvetakingen. De derivatiserte karbonylene vaskes ut av Sep-PAK-rørene og injiseres direkte på HPLC.

Det ble besluttet å videreutvikle 2-NPH-metoden til analyse av karboksylsyrer i luft ved å overføre mye av den samme teknikken som benyttes for karbonylforbindelsene. Ideen var å impregnere Sep-PAK-rør med

derivatiseringsreagenset. Etter prøvetaking og eluering fra Sep-PAK-rørene, kunne derivatiserte karboksylsyrer injiseres direkte på HPLC.

1.6 Derivatisering med 2-nitrofenylhydrazin (2-NPH)

2-NPH derivatiserte syrene til syre-hydrazider. Disse var mindre flyktige enn rene syrer og kunne separeres og detekteres på HPLC med UV/VIS detektor. Derivatiseringen med 2-NPH ble utført i nærvær av et vannløselig karbodiimid, 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl) karbodiimid hydroklorid (EDC·HCl), som fungerte som et koplingsreagens (42).

Historikk

Legradi (47) omdannet karboksylsyrer til syreklorider før derivatisering med 2-NPH, hvorpå syre-hydrazidene ble påvist ved at de skiftet farge fra lilla i basisk løsning til gult i sur løsning. 2-NPH ikke hadde de samme indikatoregenskapene. Munson og Bilous (48) benyttet også syreklorider, men tilførte disykloheksylkarbodiimid (DDC) som koplingsreagens ved derivatisering med 2-NPH. Derivatiseringen foregikk i en ikke vandig løsning og kun alifatiske syrer derivatiserte.

Miwa, Yamamoto og Momose (49) klarte å derivatisere både alifatiske og aromatiske syrer i vandig løsning ved at de benyttet 2-NPH·HCl og DDC. På grunn av DDC's dårlige vannløslighet, krevde derivatiseringen allikevel et miljø med høye konsentrasjoner av organiske løsningsmidler. Horikawa og Tanimura (42) benyttet derfor et vannløslig karbodiimid, EDC·HCl.

Miwa et al (43 og 45) og Sj. van der Wal (44) helautomatiserte derivatiseringen av karboksylsyrer (C_2 - C_8) med 2-NPH·HCl og EDC·HCl til syre-hydrazider for analyse på HPLC-UV/VIS.

1.7 Uttesting av etablert metode

Formålet med denne delen av hovedfagsarbeidet var å undersøke anvendbarheten av Kimitaka Kawamuras og Isaac R. Kaplans arbeid med bestemmelse av karboksylsyrer (C_1 - C_{10}) i atmosfæren (27).

Prøvetakingen ble utført ved bruk av KOH-impregnerte filtre. Filtrene ble ekstrahert med vann, og syrene derivatisert med α ,p-dibromacetofenon til p-bromfenacylestre. cis-Disykloheksano-18-crown-6 ble benyttet som katalysator.

Bromfenacylestrene ble analysert ved bruk av høyopløsende gasskromatografi kombinert med massespektrometrisk deteksjon (HR-GC/MS).

Del 1 – Utvikling av metode for bestemmelse av karboksylsyrer i luft

2. Utstyr og kjemikalier

2.1 HPLC-UV/VIS

2.1.1 Beskrivelse av instrumentet

Instrumentet var et Hewlett Packard 1050 (Avondale, USA) modulsystem bestående av følgende komponenter:

Pumpe: 798852 AX kvarternær stempelpumpe

Væskehastighet	: 0,001 - 9.999 ml/min
Trykk	: 0-400 bar (5880 psi) opp til 5 ml/min 0-200 bar (2950 psi) opp til 10 ml/min
Trykkpuls	: < 2% amplitude ved trykk over 10 bar
Stempelvolum	: 20-100 µl, automatisk- og manuell
Væskehastighetvariasjon:	< 0,3% RSD, basert på retensjons tid ved 0,5 og 2,5 ml/min.
Lavtrykks kvarternær	: Blandingsområde : 0-100%, med 0,1% gradering Blandingspresisjon: ± 0,25%

Degassingsenhet: HP 1050 On-line helium degasser

He-gasshastighet	: 10 ml/min pr. kanal
Ant. kanaler	: 4 uavhengige
Degassingskapasitet	: 1,1 ppm ved 1 ml/min 1,3 ppm ved 8 ml/min 1,5 ppm ved 10 ml/min
Dødvolum	: 36 ml pr. kanal

Injektor: 79855 A autoinjektor

Injeksjonsvolum	: 0,1 µl til 100 µl
100-5 µl injeksjonsvolum	: RSD < 0,5%
5 µl-2 µl injeksjonsvolum	: RSD < 1%
Injeksjonsprinsipp	: Regulert av 6-ports ventil, ved at mobilfase ledes utenom injeksjonsloopen før injeksjon, men gjennom injeksjonsloopen etter injeksjon og ut analysetiden.

Detektor: 79854 A UV/VIS detektor

Støy	: < ± 2,5 · 10 ⁻⁵ AU, ved 254 nm, 4 nm båndbredde
Drift	: < 2 · 10 ⁻³ AU/time, ved 254 nm
Bølgelengdeområde	: 190-600 nm
Nøyaktighet (bølgelengde)	: ± 1 nm
Lineæritet	: < 1% opp til 1,5 AU, ved 254 nm
Lyskilde	: Deuteriumlampe
Flow celle	: 8 µl volum, 6 mm lysvei

Integrator: HP 3396 A integrator

Kolonne: Chromsep, glasskolonne, kat. no.28267, Chrompack

Lengde	: 2·100 mm
Indre diameter	: 3,0 mm
Pakkemateriale	: ChromSpher 5 C ₁₈ ;
Partikkelstørrelse	: 5 µm silika partikler
Porestørrelse	: 13 nm
Partikkelform	: Sfærisk
Stasjonærfase	: C ₁₈
Overflateareal til silika	: 160 m ² /g
% Karbon	: 13
Beleggingstetthet	: 4,0 µmol/m ²
pH-område	: 2 <pH< 7

Mobilfasefilter: 0,50 µm stålfiler

2.1.2 Analysebetingelser

Kolonnetemperatur : Romtemperatur

Mobilfase : Binær, acetonitril-vann.

Acetonitril-vann blandingen ble prøvet ut ved forskjellige gradienter (se pkt. 4.2.2).

Injeksjonsvolum : 5 µl

Mobilfasehastighet : 0,4 ml/min

Mobilfasereservoarene ble degasset kontinuerlig med helium, både før og under analysene.

UV absorbansen ble målt ved 400 nm med båndbredde 22 nm. Referansebølgelengde ble satt til 550 nm med båndbredde 50 nm. (Se UV-spektrene av syrederivatene i vedlegg A). Det ble valgt bredere båndbredde ved referansebølgelengden enn ved deteksjonsbølgelengden, da midling over flere dioder ga mindre støy på grunnlinjen.

2.2 Diverse utstyr

Varmebad : Grant, med kontinuerlig omrøring i vann badet.
Temperaturområde : romtemperatur - 99,9°C med 0,1°C gradering.

C₁₈ (Environmental) Sep-PAK-rør : Millipore, Waters Chromatography,
 art.no. 23635
 Bæremateriale : Silika
 Partikkelstørrelse : 80 µm
 Porestørrelse : 12,5 nm
 Stasjonærfase : C₁₈ (mono
 funksjonell, -
 Si(CH₃)₂C₁₈H₃₇)
 % karbon : 12
 Overflate pH : 7
 Mengde pakkemateriale : 840 mg
 Væskevolum : 1,60 ml/fylte rør
 (inkl. inn- og utgang
 på røret)

Gassur: Contador Gas, Remus 3 G1, 6 Compania de Contadores Industries
 Måleområde : 0,25-41 l/min
 Nøyaktighet : ± 3%

Gassvaskeflaske: Desaga, 15 ml med 5 ml gradering, rør med innsnevring (ikke
 fritt), art.no.170050.

Glassfiberfilter: Micron Separations Inc., Westboro, MA PreSep TCLP filter.
 Retensjon : 0,7 µm partikler
 Filterdiameter : 47 mm
 Katalognummer : G07WP04700

Pumpe: Gast Corp, modell DOA-p101-BN
 Kapasitet : ~26 l/min (uten belastning).

Filtreringsutstyr:

Erlenmeyerkolbe, 500 ml med vakuumfiltreringsoppsats.
 Glassinterfilteroppsats, porøsitet 1G3., i.d. 30 mm, volum 30 ml.
 Vannstrålepumpe, kjemiresistent, 4m³/t, sluttvakuum 1,5 kPa.

Generelt glassutstyr :

- Begerglass, 50 og 100 ml
- Målekolber, 5 ± 0,01, 10 ± 0,02, 25 ± 0,03, 50 ± 0,08, 100 ± 0,1 ml med glasspropp.
- Stavpipetter, 5 ± 0,03 ml
- Pasteurpipetter, Brand, 145 mm, klart glass, engangs, kat. no. 747715.
- Glassprøyte med teflonstempel og luer-tilkobling, 5 ml, Hamilton 1005.
- Engangspipetter, Pyrex Brand, 1 ml, 1/100 graderte, ikke-sterile, borosilikat glass, part.no. 401645.
- Prøveglass til autoinjektor, 1,5 ml, hvitt glass, Kimble, Vinland, NY, USA, art.no. 60820-1232, aluminiumkrympkork med teflonpakning, art. no. 73824-11.

2.3 Kjemikalier

Tabell 1: Kjemikalier som ble benyttet under arbeidet.

Kjemikalie	Leverandør	Kvalitet
Metansyre	Merck (Nr.1.00264)	Pro analysis (p.a.) > 98%
Etansyre	Merck (Nr.1.00063)	p.a. > 99,8%
Propansyre	Merck (Nr. 800605)	for syntese > 99%
Butansyre	Merck (Nr. 800457)	for syntese > 99%
Pentansyre	Merck (Nr. 800821)	for syntese > 99% (GC)
Heksansyre	Merck (Nr. 800198)	for syntese > 98% (GC)
Heptansyre	Merck (Nr. 807582)	for syntese > 99% (GC)
Oktansyre	Merck (Nr. 193.0250)	for biokjemi > 99% (GC)
Nonansyre	Merck (Nr. 818791)	for syntese > 98%
2-nitrofenylhydrazin hydroklorid	TCI, Tokyo Kasei	purum > 98%
2-nitrofenylhydrazin	Fluka (Nr. 73680)	purum > 98% (N)
1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)- karbodiimid hydroklorid	Fluka (Nr. 03449)	purum > 99% (Cl)
1-hydroksybenzotriazol	Aldrich (36,244-1)	< 5% vann
Pyridin	Merck (Nr. 9728)	p.a. > 99,5% (GC)
Metanol	Merck (Nr. 1.06007)	Gradient grade > 99,8%
Metanol	Merck (Nr. 1.06011)	til sporstoff analyse
Etanol	A/S Vinmonopolet	Absolutt Prima
Acetonitril	Rathburn Chem. Ltd. (RH 1016)	HPLC grad S
Natriumacetat, vannfri	Fluka (Nr. 71180)	p.a. ≥ 99%
Kaliumhydroksid	Merck (Nr. 5033.1000)	p.a. > 85%

Rensing av vann

Vannet ble renset i følgende rekkefølge:

1. Filter med salttabletter, for oppsamling av Ca^{2+}
2. Partikkelfilter , 10 μm
3. Partikkelfilter , 1 μm
4. ROPAK kolonne som fjerner partikler, fritt klor og mineraler
5. Omvendt osmose
6. Deionisasjon

Trinnene 4-6, utføres av en MILLI-RX45 enhet fra Millipore.

Vannet fra denne ble benyttet som fødevann til en Milli-Q Plus enhet. Etter rensing på Milli-Q Plus hadde vannet, ifølge instrumentets spesifikasjoner, denne kvaliteten:

Tungmetaller: < 1 ppb
 Silikater : < 0,1 ppb
 Totalt organisk karbon (TOC) : < 15 ppb
 Mikroorganismer : < 10 cfu/ml
 Partikkelstørrelse : < 0,22 μm
 Spesifikk motstand (ved 25°C) : 18,2 Mohm·cm

Alt vann som ble benyttet ble tappet fra Milli-Q Plus enheten.

2.4 Gasser

Nitrogen 4.8,
99,998% renhet, Norsk Hydro.

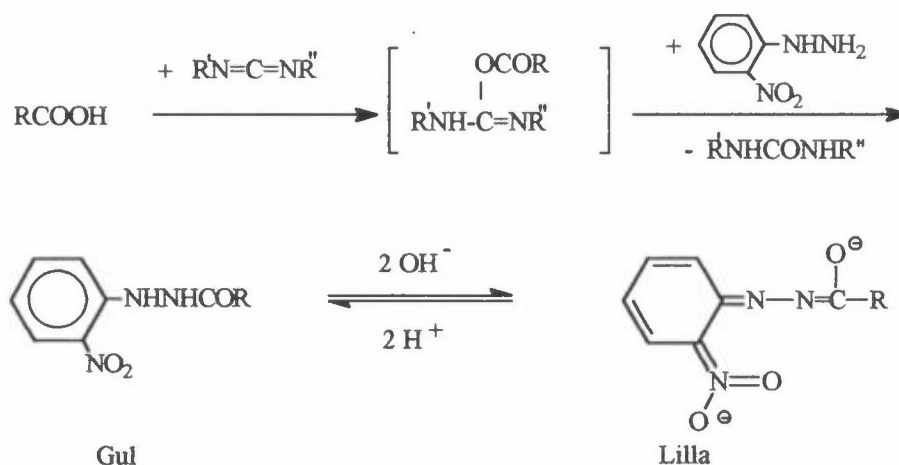
He 4.6,
99,996% renhet, Norsk Hydro.

3. Metoder

3.1 Fremgangsmåte

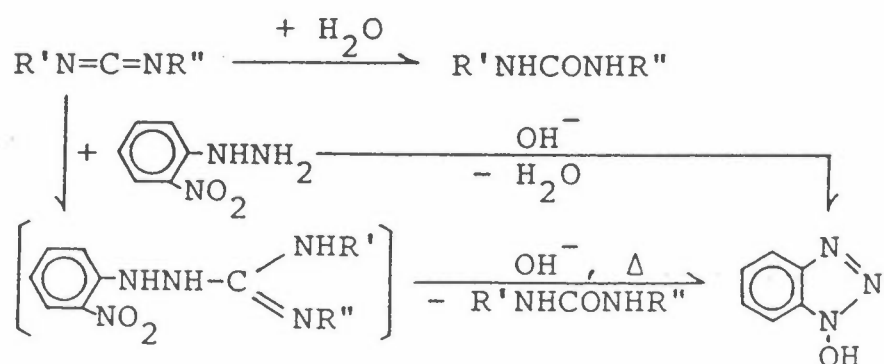
Karboksylysyrer ble derivatisert til syre-hydrazider enten ved bruk av 2-nitrofenylhydrazin (2-NPH) eller 2-nitrofenylhydrazin-hydroklorid (2-NPH·HCl) som derivatiseringsreagens og 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl) karbodiimid-hydroklorid (EDC·HCl) som koplingsreagens. Syre-hydrazidene ble separert ved bruk av omvendt fase på HPLC, og identifisert ved bruk av UV/VIS- og MS-detektor.

3.1.1 Reaksjonsmekanismer



Figur 1: Derivatiseringsmekanisme for karboksylysyrer med 2-NPH hvor EDC·HCl ble benyttet som koplingsreagens (42).
($\text{R}' = \text{CH}_3\text{CH}_2-$, $\text{R}'' = \text{Cl} \cdot (\text{CH}_3)_2\text{N}^+\text{H}(\text{CH}_2)_3-$)

3.1.2 Sidereaksjoner/biprodukter



Figur 2: Sidereaksjoner og biprodukter i derivatisering av karboksylsyrer med 2-NPH hvor EDC·HCl ble benyttet som koplingsreagens (42).

($\text{R}' = \text{CH}_3\text{CH}_2-$, $\text{R}'' = \text{Cl} \cdot (\text{CH}_3)_2\text{N}^+\text{H}(\text{CH}_2)_3-$)

2-NPH

2-NPH ble raskt omdannet til 1-hydroksi-1,2,3-benzotriazol ved intramolekylær syklodehydratisering i sterkt basisk miljø (42).

2-NPH+EDC

2-NPH+EDC dannet trolig et aminoguanidinderivat som ved oppvarming i det alkaliske miljøet dekomponerte til 1-hydroksi-1,2,3-benzotriazol og 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)urea. Dette kan være årsaken til at løsningen ble avfarget i det alkaliske miljøet (47), (se resultat og diskusjonsdel).

EDC

1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimid (EDC) kunne i nærvær av vann omdannes til 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)urea. Omdanningen økte med temperaturen (1).

Syre-hydrazidet

Syre-hydrazidet kan dekomponere i det alkaliske miljøet, og spesielt ved høyere temperaturer. En økning fra 60°C - 80°C i 10 min resulterte i 10 % lavere intensitet (absorbans) av benzosyre-hydrazid (42).

3.1.3 Reagenser

Følgende løsninger ble benyttet i forsøkene:

2-NPH-løsning (0,02 M) ble laget ved å tilsette 0,0306 g 2-NPH til en 10 ml målekolbe og fortynne til merket med etanol eller etanol-vann (35:65).

2-NPH·HCl-løsning (0,02 M) ble laget ved å tilsette 0,0379 g 2-NPH·HCl til en 10 ml målekolbe og fortynne til merket med etanol eller etanol-vann (15:85).

Pyridinløsning (1,5%, v/v) i etanol ble laget ved å tilsette 0,15 ml pyridin til en 10 ml målekolbe og fortynne med etanol til merket.

EDC·HCl løsning (0,124 M) i etanol ble laget ved å tilsette 0,238 g EDC·HCl til en 10 ml målekolbe og fortynne med etanol til merket.

Det ble laget en **EDC-arbeidsløsning** ved å blande pyridin- og EDC·HCl løsningen 1:1, v/v.

Kaliumhydroksidløsning, (15% w/v, tilsvarende 2,67 M) i metanol-vann (80:20) ble laget ved å løse 150 g KOH i 1 l metanol-vann (80:20).

KOH-løsningen ble oppbevart på flaske av polyetylen.

3.2 Derivatiseringsprosedyre

Metode 1:

Alkansyrene ble løst i etanol. Konsentrasjon av syrene var ca. 1 $\mu\text{mol/ml}$.

0,1 ml av syreløsningen (0,1 μmol) ble tilsatt 0,2 ml av 2-NPH løst i etanol (4 μmol) og 0,4 ml av EDC·HCl arbeidsløsning (25 μmol).

Prøven ble satt på vannbad ved 60°C i 20 min, før den ble tilsatt 0,1 ml av KOH-løsningen (267 μmol). KCl felles ut i løsningen.

Prøven ble satt på vannbad i ytterligere 15 min (45).

Løsningen ble fortynnet til merket i en 5 ml målekolbe med vann og 5 μl ble injisert på HPLC.

Metode 2:

Som metode 1, men 2-NPH ble løst i etanol-vann (35:65)

Metode 3:

Som metode 1, men 2-NPH·HCl ble benyttet og løst i etanol-vann (15:85).

Utbyttet av eddiksyre-hydrazid ble optimalisert ved forandring av molforholdet mellom EDC·HCl, 2-NPH og pyridin. Konsentrasjonen til en av de tre varierte, samtidig som konsentrasjonen til de to andre ble holdt konstant (se pkt. 4.1.5).

Utbyttet av derivatisering ved romtemperatur, mot derivatisering ved 60°C ble bestemt ved at derivatiseringen og reaksjonen med KOH foregikk ved romtemperatur og ikke ved 60°C (se pkt. 4.1.2).

Reaksjonstiden for maksimalt utbytte av eddiksyrederivat ble bestemt. Eddiksyre stod mellom 1 til 30 minutter og reagere med 2-NPH ved 60°C, før 0,1 ml 2.67 M KOH ble tilsatt (punkt 3.2). Det var ikke mulig å derivatisere syrene etter at KOH var tilsatt, da 2-NPH omdannes raskt til 1-hydroksi-1,2,3-benzotrazol i sterk basisk løsning (punkt 3.1.2). Forsøket ble gjentatt 3 ganger og utbyttets middelværdi presenteres i figur 5 punkt 4.1.3.

3.3 Rensing av prøveløsningen ved hjelp av fastfase-ekstraksjon

Holdbarheten til derivatene i basisk løsning mot holdbarheten i acetonitril - vann ble undersøkt ved at noen prøver ble rensset ved bruk av fastfase.

Prøveopparbeidelsen på fastfase-kolonnen ble utført på følgende måte:

1. Sep-PAK C₁₈ rør ble vasket ved å sprøyte 5 ml acetonitril gjennom røret.
2. Røret ble kondisjonert ved å sprøyte 5 ml vann igjennom.
3. Hele prøveløsningen (0,9 ml) ble påsatt røret ved hjelp av sprøyte med luer-tilkobling.
4. Polare forurensninger ble vasket ut av røret med 2 ml vann.
5. Derivatet og mindre polare forbindelser ble eluert med 2 ml acetonitril.

3.4 Preparering av Sep-PAK C₁₈-rør til prøvetaking

1. Sep-PAK C₁₈-rør ble vasket ved å sprøyte 5 ml acetonitril gjennom røret.
2. Rørene ble impregnert med 3 ml av en blanding bestående av 1 ml 2-NPH (0,02 M) i etanol og 2 ml EDC·HCl arbeidsløsning (0,062 M). (Molforhold h.h.v. 1:6). Impregneringsløsningen ble sprøytet sakte gjennom røret ved hjelp av en 5 ml sprøyte med luer-tilkobling.
3. Rørene ble tørket ved å blåse finrenset nitrogen gjennom dem i 2 timer.
4. Etter tørking ble rørene plugget i hver ende med en plastplugg og oppbevart mørkt ved 4°C til de ble tatt i bruk.

3.5 Syntetisering av standarder

2-NPH-derivat av eddiksyre

Metode 1:

A. Bischler (50) syntetiserte 2-NPH-derivat av eddiksyre ved at 2-NPH·HCl og vannfritt natriumacetat ble tilsatt iseddik og satt på vannbad i en time.

Ved avkjøling fikk han utkrystallisering av syrederivatet. Krystallene ble omkrystallisert fra alkohol og sitrongule nåler ble dannet. Bischler oppga ingen mengdeforhold av reaktantene. Ved forsøk på syntetisering ble det benyttet følgende mengdeforhold: 0,40 g 2-NPH·HCl (2,1 mmol) og 0,17 g natriumacetat (2,4 mmol) ble løst i 5 ml eddiksyre (87,4 mmol) (molforhold h.h.v. 1:1:36). Temperatur på vannbadet var 60°C og derivatet ble omkrystallisert fra etanol. Det ble tilsatt ca. 0,5 ml vann for å unngå utfelling av NaCl.

Metode 2:

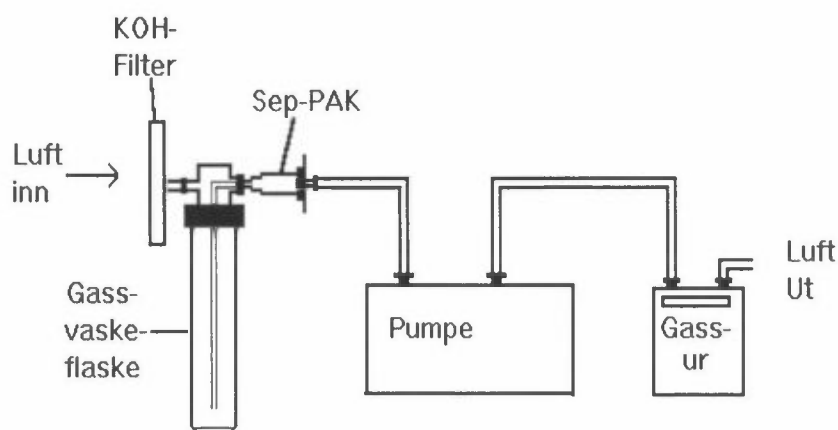
Som metode 1, men 2-NPH ble benyttet i stedet for 2-NPH·HCl. Da ble det ingen utfelling av NaCl. Vann ble derfor ikke tilsatt. Derivatene ble ikke omkrystallisert fra etanol, men dampet inn og løst i acetonitril. Løsningen ble så rensset på fastfase (pkt. 3.3). Etter fastfase-ekstraksjon, ble derivatet dampet inn til tørrhet.

3.6 Prøvetaking av luft

De impregnerte Sep-PAK-rørene ble testet ved at 0,1 ml av en syreløsning (ca. 0,1 μmol av hver alkansyre) ble tilsatt en gassvaskeflaske. En pumpe sugde luft gjennom systemet (se figur 3), slik at lufta tok med seg gassfasen av syrene gjennom Sep-PAK-røret. Pumpa var regulert slik at den ga en luftstrøm på ca. 1,5 l/min gjennom røret. To glassfiberfiltre som var impregnert med 0,18 M KOH-løsning ble montert i forkant av gassvaskeflasken. De forhindret karboksylsyrer i laboratorieluften i å bli sugd inn på Sep-PAK-røret. Filtrene ble impregnert ved å dynke dem i KOH-løsningen (se pkt. 3.5 del 2). Det ble sugd luft gjennom Sep-PAK-røret helt til syreløsningen var fordampet fra gassvaskeflasken. Gassvaskeflasken ble så satt i varmt vann (60-70°C) slik at eventuelle rester av syrene fordampet.

Med samme molforhold som i metode 1, ble 2-NPH + EDC tilsatt gassvaskeflasken for å derivatisere rester av syrer.

To rør ble satt i serie for å undersøke eventuelle gjennombrudd på første rør. Et gassur viste totalmengde luft gjennom rørene i eksponeringstiden.



Figur 3: Apparatur for prøvetaking av syrer i gassfase.

Reagenser og reaksjonsprodukt i Sep-PAK-røret ble eluert motsatt vei av den luften ble sugd inn. 3 ml etanol ble ført sakte inn i røret ved hjelp av sprøyte med luer-tilkobling. Eluatet ble samlet opp i en 5 ml målekolbe. Løsningen ble tilsatt 0,1 ml (2,67 M) KOH-løsning, og satt på vannbad (60°C) i 15 min. Etter avkjøling ble løsningen fortynnet til merket med vann og injisert (5 μl) på HPLC.

3.7 Utbyttet av derivatisering i væskeløsning

5 standarder ble laget ved at en kjent mengde eddiksyrederivat ble løst og fortynnet i acetonitril. Konsentrasjonsområdet tilsvarte 6,9 ng til 31,3 ng injisert derivat (5 μl injisert). Standarden med høyest konsentrasjon ble analysert på gaskromatograf med masseselektiv detektor og HPLC-DAD. Med dette ble renheten til standardene kontrollert både med hensyn på termostabile forurensninger og termolabile UV-absorberende forurensninger.

Det ble utført 3 analyser av hver standard på HPLC-DAD. Middelveidien av disse ble benyttet til å danne en kalibreringskurve for eddiksyrederivatet.

Det ble laget en 1,05 mM eddiksyreløsning. 0,1 ml av denne ble derivatisert etter metode 1. Ved injeksjon av 5 µl og 100% utbytte, ville 20,45 ng av eddiksyrederivatet blitt injisert. Det ble tatt ut 5 paralleller av syreløsningen til derivatisering i væskeløsning. Videre ble det utført 3 analyser av hver parallell på HPLC med diode array detektor (DAD). Reproduserbarheten ble undersøkt med gjentatte forsøk over en 3 ukers periode. Det beregnede utbyttet ble korrigert etter renheten til standarden (97%).

4. Resultater og diskusjon

4.1 Derivatisering av syrene

4.1.1 Derivatiseringsprosessen

Etter at syre (0,1 µmol), 2-NPH (4 µmol) og EDC·HCl (25 µmol) hadde reagert i 20 min på vannbad (60°C), fikk løsningen en kraftig fargeforandring idet KOH-løsningen ble tilsatt.

Hydrazid-derivatet som ble dannet hadde pH-indikatoregenskaper som ga lilla farge i basisk løsning og gul farge i sur løsning. Derivatiseringsreagenset 2-NPH hadde ikke den samme egenskap. I sur løsning var 2-NPH gult, mens i basisk løsning ble 2-NPH omdannet til 1-hydroksi-1,2,3-benzotriazol som var fargeløs (42). Følgelig ble metodeblind fargeløs, mens løsningene med hydrazid-derivatene ble lilla.

Det ble utfelling av KCl etter tilsetning av KOH når 2-NPH ble løst i etanol (metode 1).

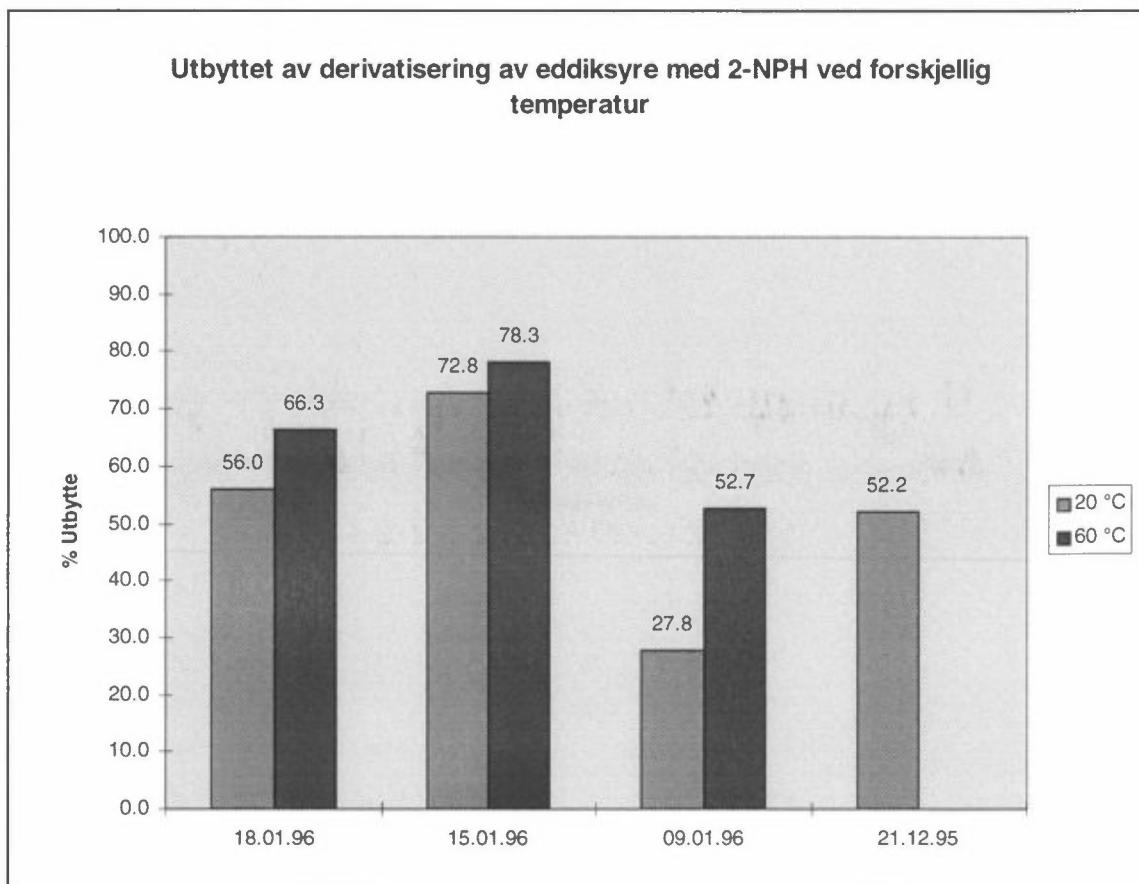
Ved å løse 2-NPH i etanol-vann (35:65) (metode 2) eller 2-NPH·HCl i etanol-vann (15:85) (metode 3), ble det ingen utfelling av KCl. Årsaken var at mengde vann i løsningen var økt og dermed også løsligheten av KCl.

Ved å fortynne løsningen til 5 ml med vann etter derivatisering ble det ingen utfelling av KCl.

4.1.2 Reaksjonstemperatur

Derivatisering i væske av eddiksyre-hydrazid ved 60°C, ga i snitt ca. 12% bedre utbytte enn ved romtemperatur (se figur 4).

Variasjonen av utbyttet ved de forskjellige analysedatoene skyldes forskjellig konsentrasjon av EDC-arbeidsløsning ved derivatisering (se pkt. 4.1.5, fig. 10).



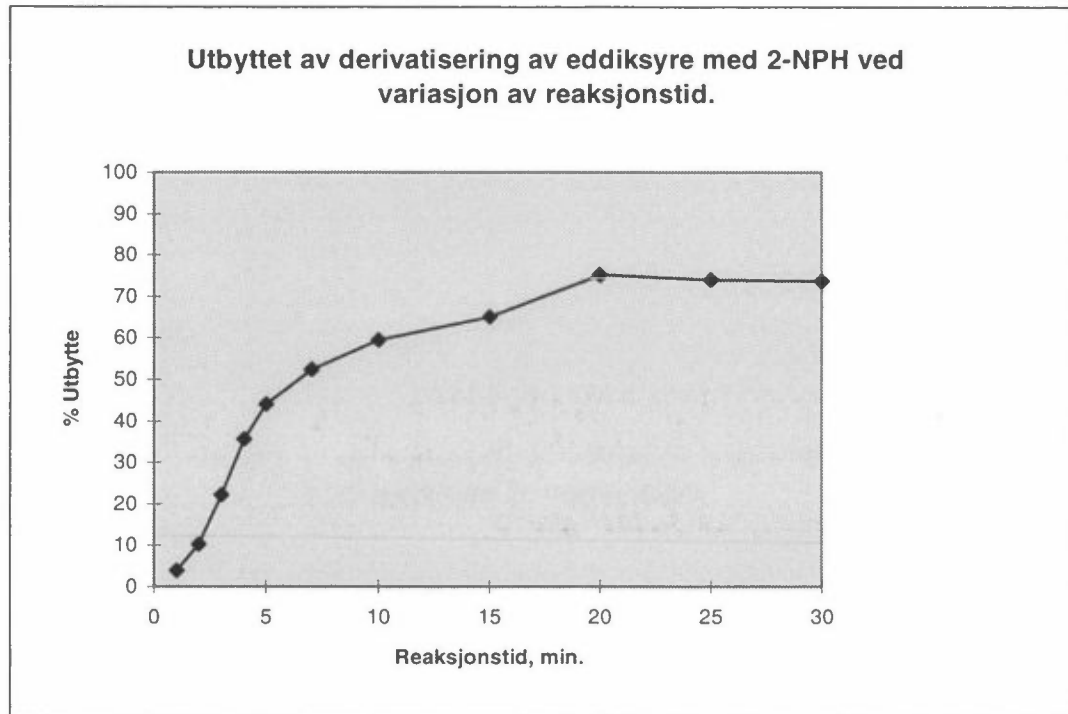
Figur 4: Utbyttet av eddiksyre-2-NPH derivatisert i væske ved romtemperatur og 60°C

Det ble tatt 5 paralleller (n=5) for hver analysedato og tre injeksjoner av hver parallell.

Det ble valgt å utføre optimalisering av derivatiseringen ved 60°C. Dette fordi det ga et bedre utbytte og forholdet mellom utbyttet ved 60°C og utbyttet ved romtemperatur ikke var konstant.

4.1.3 Reaksjonshastighet

Av figur 5 framgår det at derivatene trengte en viss reaksjonstid før maksimalt utbytte var nådd. Etter 20 minutter ved 60°C var utbyttet av eddiksyrederivat ca. 75% og dette økte ikke med videre øking av reaksjonstiden. Dette var i samsvar med tidligere arbeid (45).



Figur 5: Utbyttet av eddiksyrederivat av 2-NPH ved 60°C og variasjon av reaksjonstid.

4.1.4 Derivatiseringsreagensene

2-NPH / 2-NPH·HCl

Analyser av både 2-NPH og 2-NPH·HCl løst i etanol viste flere UV-absorberende forbindelser. Selv om de kom fra forskjellige produsenter var forurensningene de samme (se tabell 1). Ved å tilsette 0,1 ml 2,67 M KOH (267 μmol) til 0,2 ml 0,02 M 2-NPH- eller 0,02 M 2-NPH·HCl -løsning (4 μmol), ble nesten alle forurensningene omformet slik at de ikke ga respons ved deteksjonsbølglengden (400 nm). Tre topper sto igjen og disse eluerte etter ca. 10,7 min og i noen tilfeller to etter ca. 16 min.

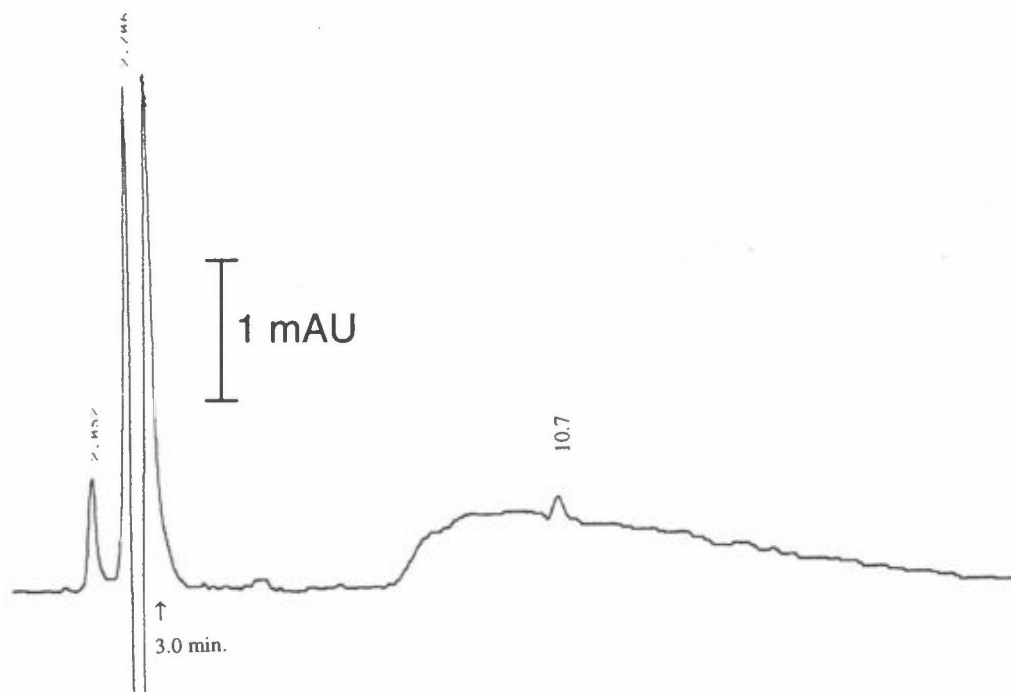
Metodeblinder viste at konsentrasjonen av forbindelsene økte ettersom 2-NPH/2-NPH·HCl-løsningene ble eldre (2-3 dager).

Konsentrasjonen av forbindelsen som eluerte etter ca 10,7 min konstant dersom 2-NPH ble løst i etanol eller etanol-vann.

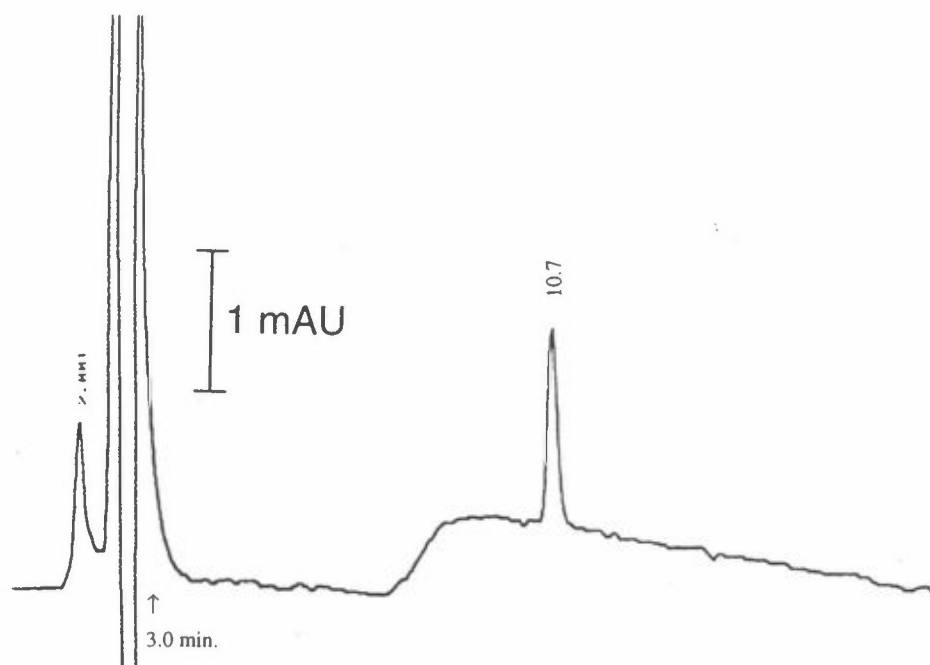
Nye løsninger av 2-NPH·HCl ga lavest topp og var derfor å foretrekke framfor 2-NPH løst i etanol.

2-NPH ble omkrystallisert fra etanol uten at det resulterte i et renere produkt.

Figur 6 viser kromatogrammet til metodeblind av metode 3 med ny løsning av 2-NPH·HCl løst i etanol-vann. Figur 7 viser kromatogrammet til metodeblind hvor 2-NPH var løst i etanol-vann (metode 2).



Figur 6: Metodeblind av metode 3, hvor 2-NPH·HCl ble løst i etanol-vann. Forbindelsen som erluerte ved 10,7 min var forurensning i 2-NPH.



Figur 7: Metodeblind av metode 2, hvor 2-NPH ble løst i etanol-vann. Forbindelsen som ble eluert ved 10,7 min var forurensning i 2-NPH.

Smeltepunktbestemmelse av 2-NPH :

Smeltepunktet til 2-NPH ble bestemt til 91,2°C. Det var i samsvar med oppgitt verdi på flasken som 2-NPH ble oppbevart i (91-93°C). Dette indikerte at 2-NPH alene (ikke oppløst) hadde omtrent den renhet som var oppgitt (98%).

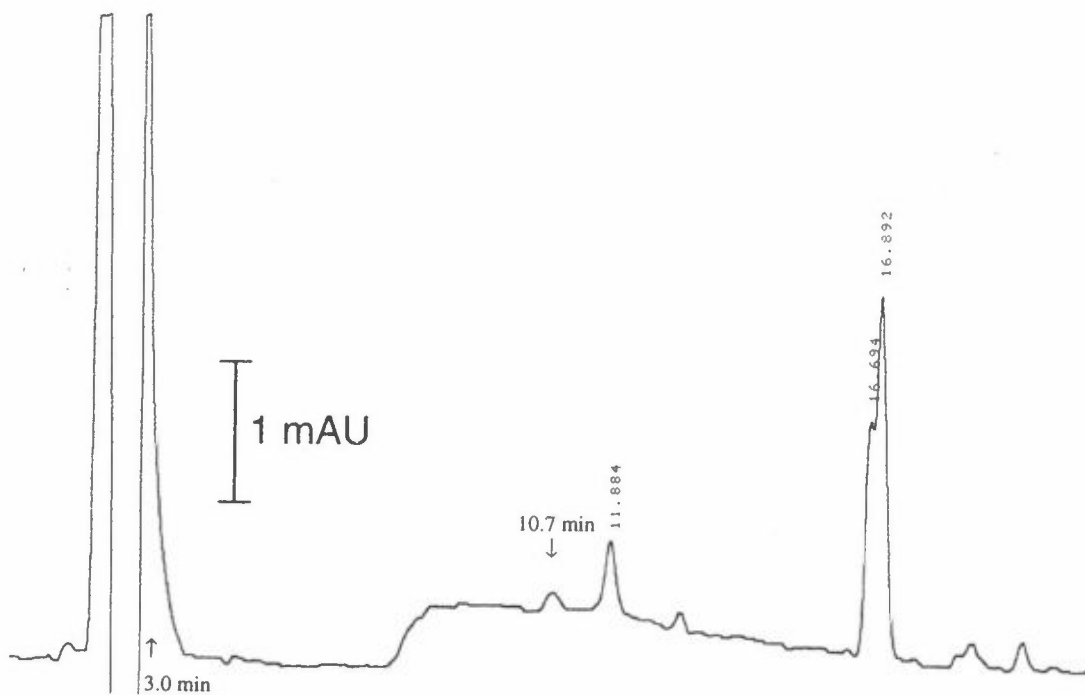
Antagelser om at forurensningene oppstod som følge av reaksjon med etanol, var årsaken til at det ble forsøkt å løse 2-NPH/2-NPH·HCl i acetonitril istedenfor etanol. Det resulterte i et mye renere kromatogram (fig. 9).

Analyse på GC med masseselektiv detektor og HPLC-DAD viste at ny løsning av 2-NPH løst i etanol hadde arealprosent av 2-NPH på ca. 90%. Arealprosenten avtok til ca. 65% etter 4 dager. Løsningen var da oppbevart mørkt og ved 4°C. Dersom 2-NPH var løst i acetonitril, var arealprosenten på ca. 93% den samme etter 7 dager ved lik oppbevaring.

2-NPH løst i etanol er benyttet i tidligere arbeid (45-52, 55-57), men var altså ustabil.

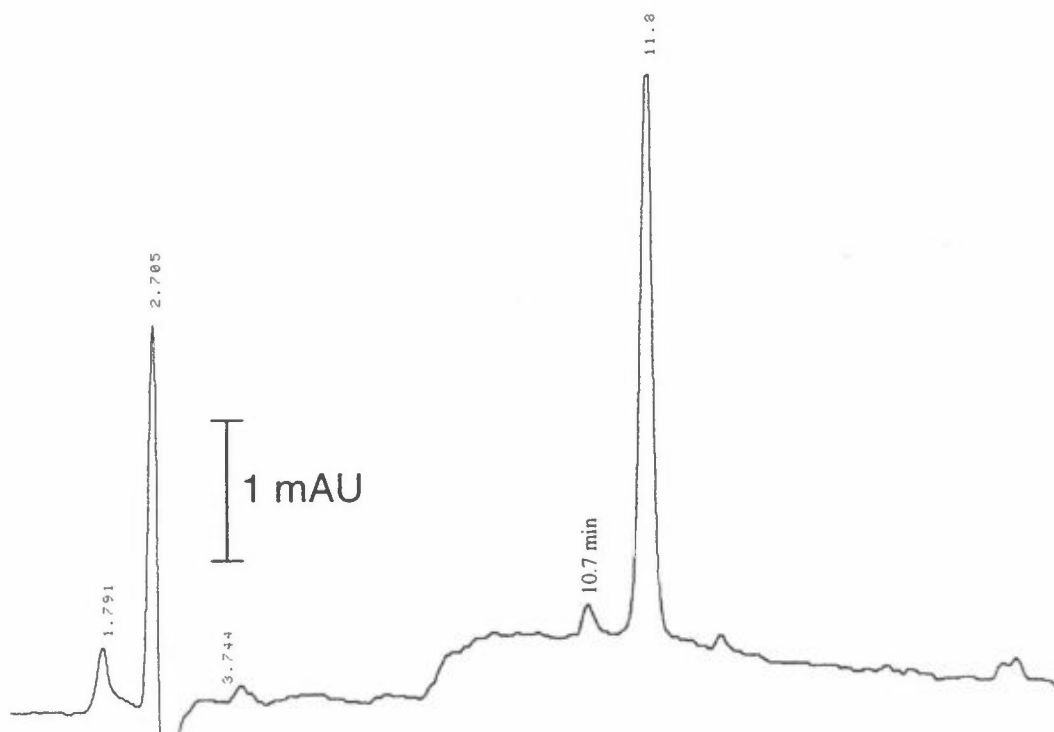
Forurensningene som ble dannet skapte ikke problemer for analysene, da de ble brutt ned i den sterkt alkaliske løsningen (pH>12).

Det var mulighet for forurensning av syntetisert derivat dersom etanol ble benyttet som løsningsmiddel for 2-NPH/2-NPH·HCl. Acetonitril ble benyttet i dette arbeidet.



Figur 8: Kromatogram av 2-NPH (11,8 min) løst i etanol. 1 uke gammel løsning.

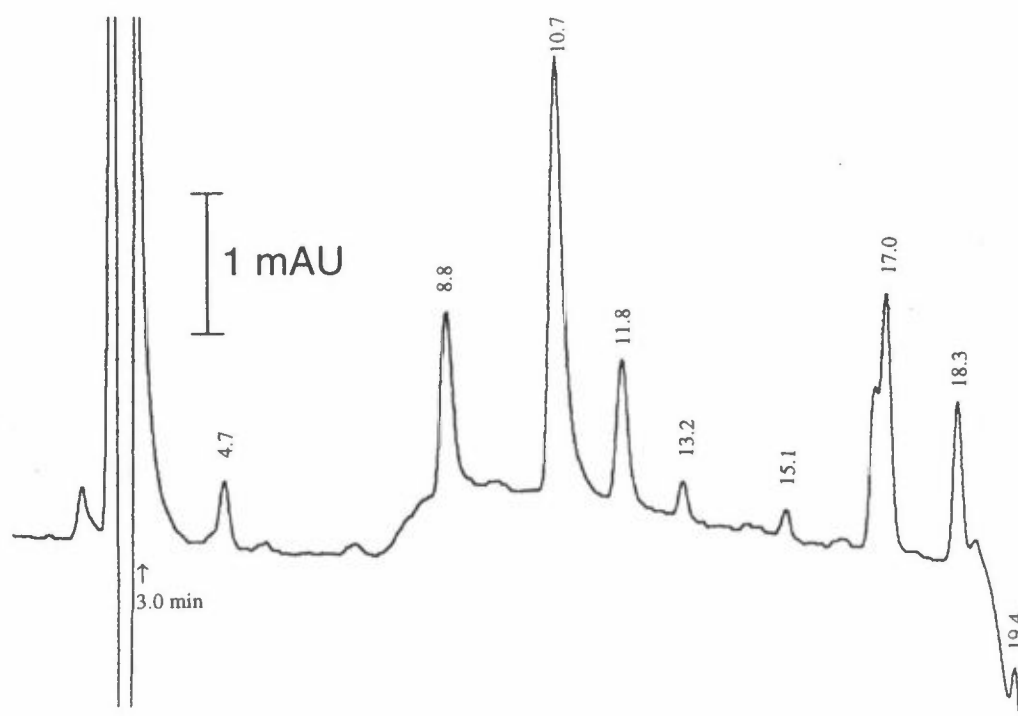
Kromatogrammet i figur 8 viser analyse av 2-NPH (11,8 min) løst i etanol. Av kromatogrammet ser en at 2-NPH-løsningen inneholdt mange forurensninger som ga absorbans ved 400 nm. Analysene av 2-NPH-HCl viste de samme toppene (forurensningene).



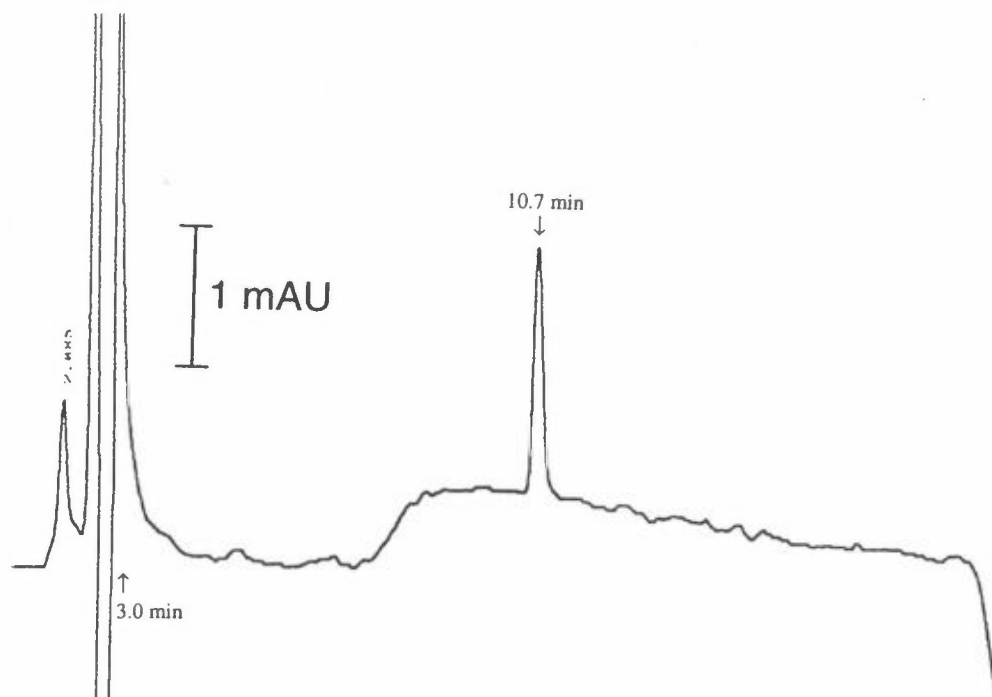
Figur 9: Kromatogram av 2-NPH (11,8 min) løst i acetonitril. 1 uke gammel løsning.

Forskjellen mellom en metodeblind som ikke ble tilsatt KOH og en som ble tilsatt KOH vises med h.h.v. figur 10 og 11.

En kan se av figurene at det oppstod mange topper i kromatogrammet dersom løsningen ikke ble gjort alkalisk etter derivatisering. De fleste av disse toppene var de samme som en så ved analyse av 2-NPH løst i etanol (figur 8). Ved tilsetning av KOH-løsningen ble alle bortsett fra en dekomponert. Toppen ved 10,7 min var forurensning i 2-NPH og ble ikke identifisert. 2-NPH (11,8 min i fig. 10) ble også dekomponert etter tilsetning av KOH-løsningen. (Jfr. pkt. 3.1.2)

KOH-løsningen

Figur 10: Metodeblind uten KOH-løsning.

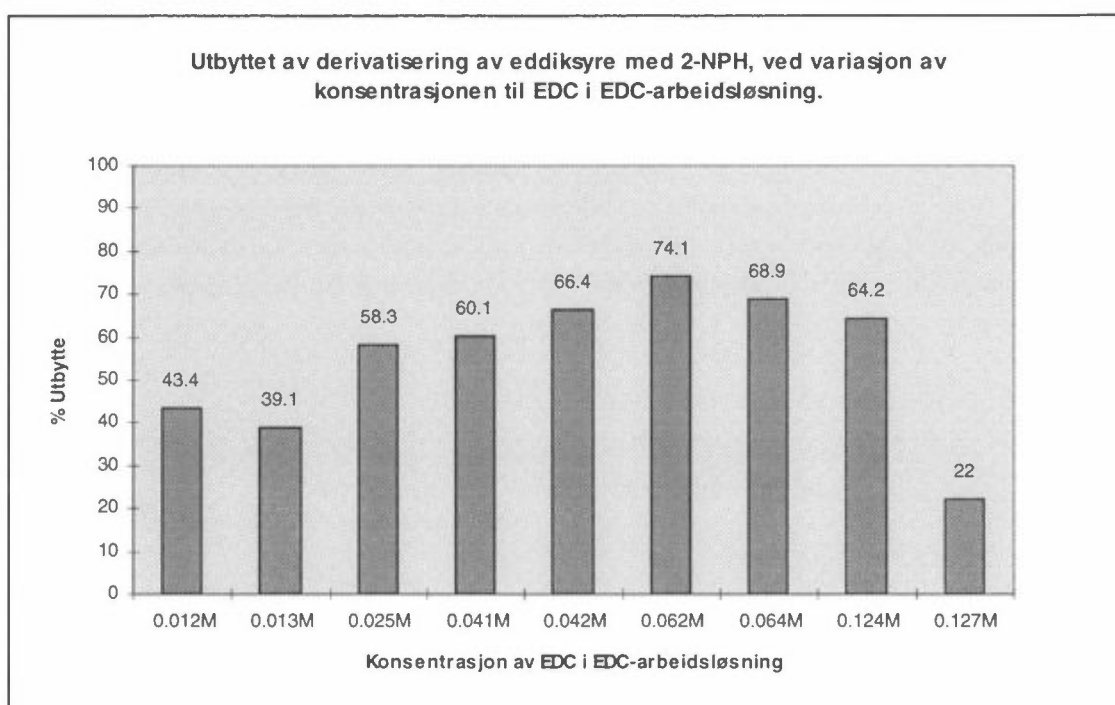


Figur 11: Metodeblind tilsatt KOH-løsning. Toppen ved 10,7 min er ikke identifisert.

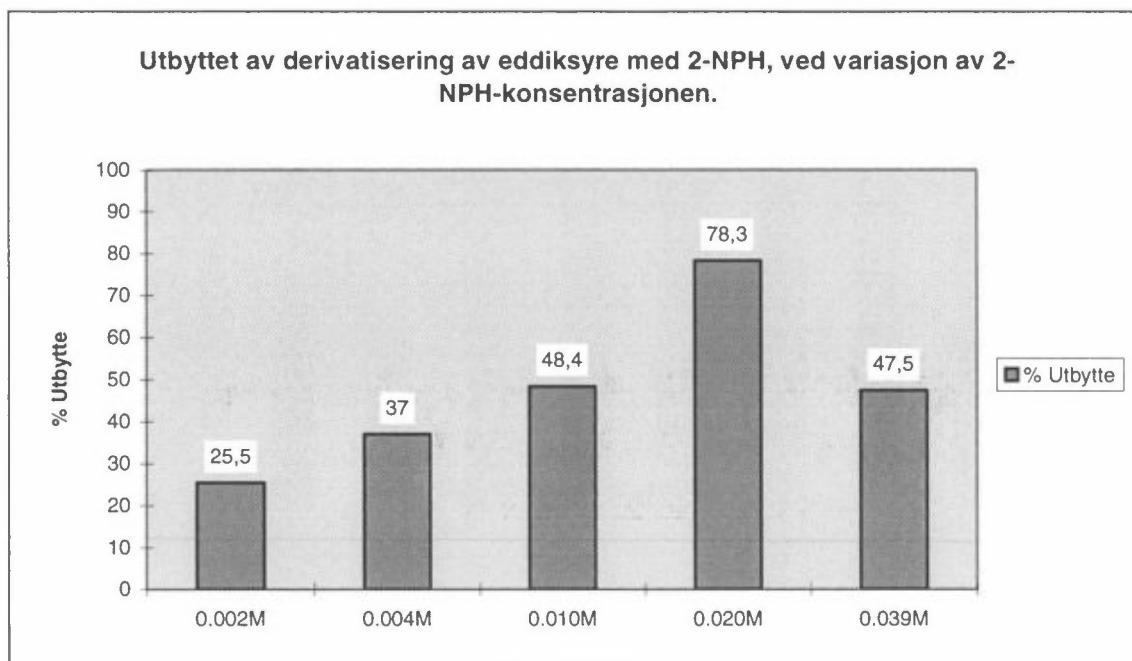
4.1.5 Optimalisering av derivatiseringen i væskeløsning ved 60°C.

Ved tidligere arbeid (45) ble det optimale molforholdet mellom EDC·HCl og 2-NPH bestemt til 12:1 i derivatiseringsmiljøet.

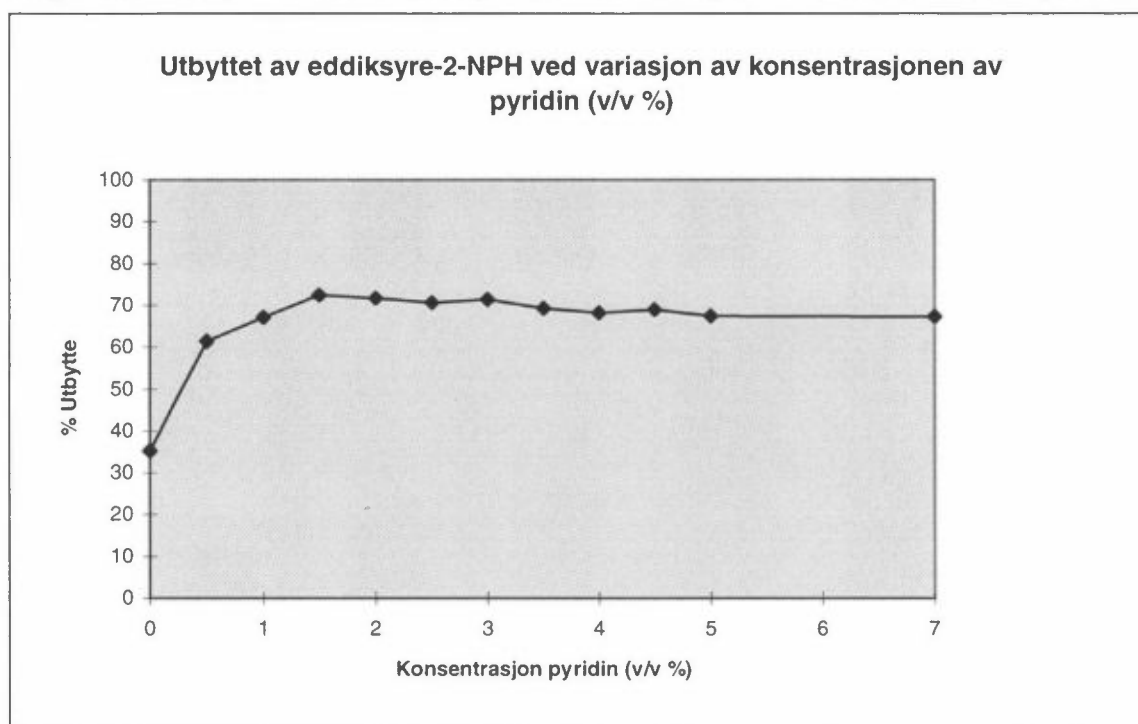
Det ble utført forsøk hvor konsentrasjonen av EDC-arbeidsløsning ble variert, mens alle andre variabler ble holdt konstant og med opprinnelig konsentrasjon (metode 1). Det samme ble utført med konsentrasjonen av 2-NPH og pyridin. Figur 12 viser en tabell over utbyttet av eddiksyrehydrazid ved variasjon av konsentrasjonen til EDC-arbeidsløsning. Figur 13 viser en tabell over utbyttet av eddiksyrehydrazid ved variasjon av konsentrasjonen til 2-NPH. Figur 14 viser en graf over utbyttet ved variasjon av pyridinkonsentrasjonen (% v/v). Utbyttet ble beregnet ved bruk av ekstern kalibreringskurve av syntetisert eddiksyre-hydrazid.



Figur 12: Utbyttet av eddiksyre-hydrazid ved variasjon av konsentrasjonen til EDC-arbeidsløsning



Figur 13: Utbyttet av eddiksyre-hydrazid ved variasjon av 2-NPH-konsentrasjonen.



Figur 14: % utbytte av eddiksyre-2-NPH ved variasjon av pyridinkonsentrasjonen (% v/v).

Optimalt molforhold mellom EDC·HCl og 2-NPH ved derivatisering ble bestemt til h.h.v. 6:1 og ikke 12:1 som tidligere arbeid kom fram til (45).

EDC-arbeidsløsningen hadde begrenset holdbarhet så ny løsning ble laget samme dag som derivatisering.

4.2 Analyse av syre-hydrazidene på HPLC-UV/VIS

4.2.1 Isokratisk eluering

Helt i starten av arbeidet, ble det prøvd å separere derivatene ved isokratisk eluering.

Prøveløsningen inneholdt flere komponenter enn derivater og reaktanter. Det førte til opphopninger på kolonnen og forstyrrelser for kromatografien ved isokratisk eluering. Det ble derfor besluttet å benytte gradienteluering for videre arbeid.

4.2.2 Gradienteluering

Det ble valgt en mobilfase bestående av acetonitril og vann til gradienteluering. Acetonitril ble valgt framfor metanol da acetonitril har større elueringsstyrke enn metanol ved omvendt fase kromatografi. Ved spyling av kolonnen med 100% acetonitril etter hver analyse, ble en kvitt problemet med opphopninger av komponenter på kolonnen.

Grاديenter som ble benyttet i dette arbeidet er gjengitt i tabell 2 og 3.

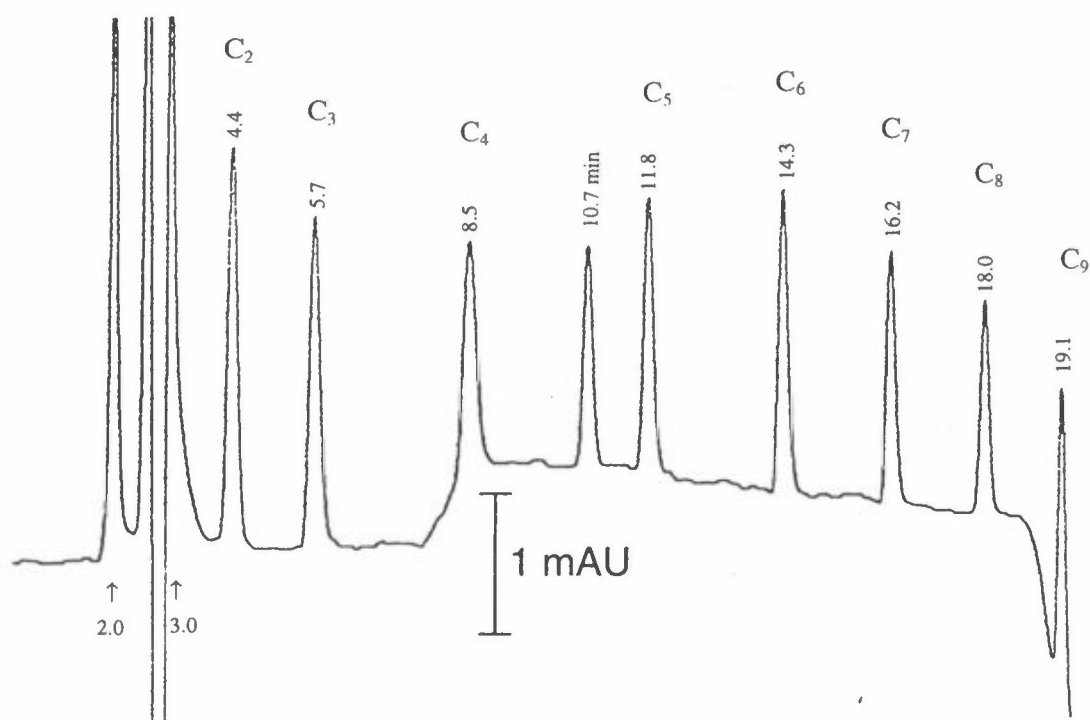
Tabell 2: Gradient 1

Tid (min.)	%Vann	%Acetonitril
0-3,0	70	30
15,0	30	70
15,5	0	100
18,0	0	100

Tabell 3: Gradient 2

Tid (min.)	%Vann	%Acetonitril
0	70	30
3,0	70	30
18,0	20	80
20,0	0	100

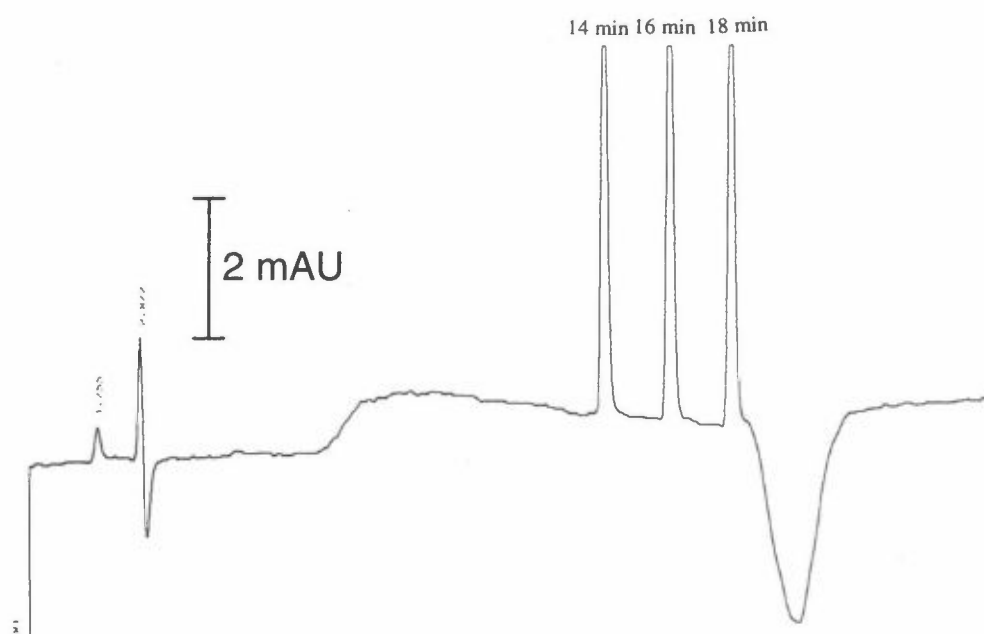
Figur 15 viser kromatogrammet av hydrazid-derivater av C₂-C₉ alkansyrer (tilsvarende 40-100 nmol), med gradient 1.



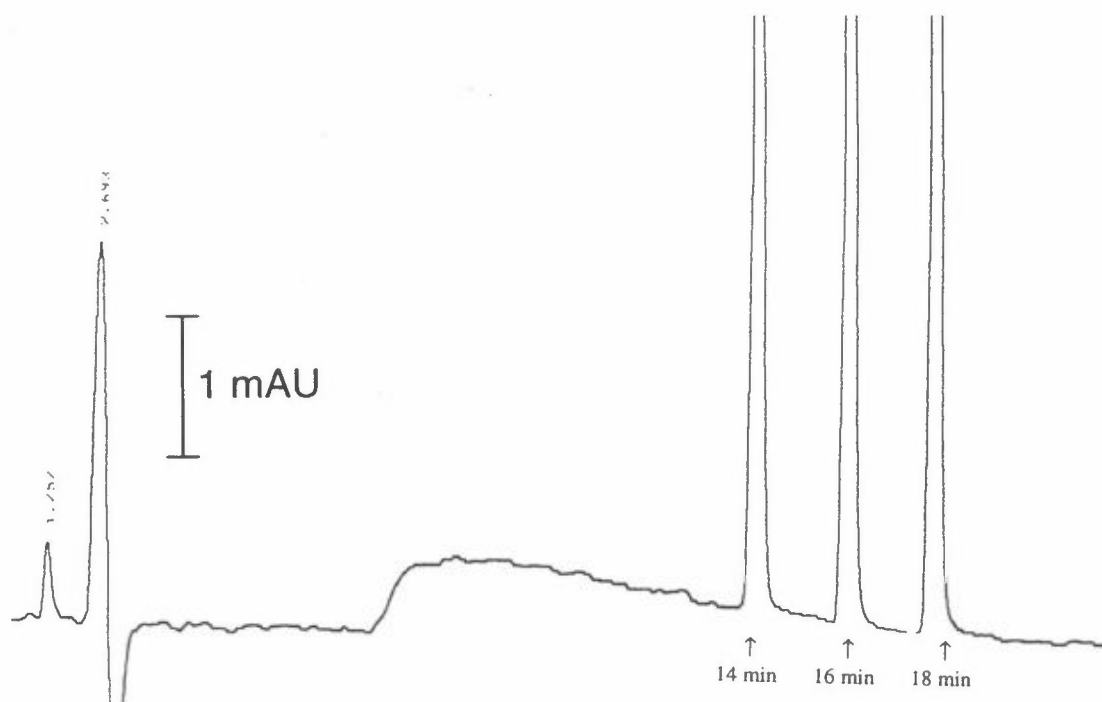
Figur 15: Kromatogrammet av hydrazid-derivater av C₂-C₉ alkansyrer (tilsvarende 40-100 nmol) med gradienteluering (gradient 1).

Toppen som eluerte ved 3,0 min var forårsaket av etanol, (t₀). Nedbrytningsproduktet 1-hydroksibenzotriazol, eluerte etter 2,0 min. Toppen ved 10,7 min skyldes forurensninger i 2-NPH.

Den raske gradienten fra 70%-100% acetonitril ved 15-15,5 min forårsaket at grunnlinja fikk en negativ topp etter ca. 18,5 min (figur 16). Ved å benytte en saktere gradient (gradient 2) forsvant den negative toppen (figur 17). Årsaken til dette ble ikke bestemt, men det er mulig at det var noe feil med flowcella på HPLC'en. Den negative toppen var ikke tilstede i kromatogrammet når gradient 1 ble benyttet på et annet HPLC-system med diode array detektor.



Figur 16: Drift i grunnlinja ved gradient 1.



Figur 17: Drift i grunnlinja ved gradient 2.

Toppene ved 14, 16 og 18 min skyldes 3 hydrazoner i referanseløsningen som ble benyttet til å kontrollere eventuelle drift i kromatografisystemet fra analysedag til analysedag. (kolonneeffekter, gradientpumpe m.m.).

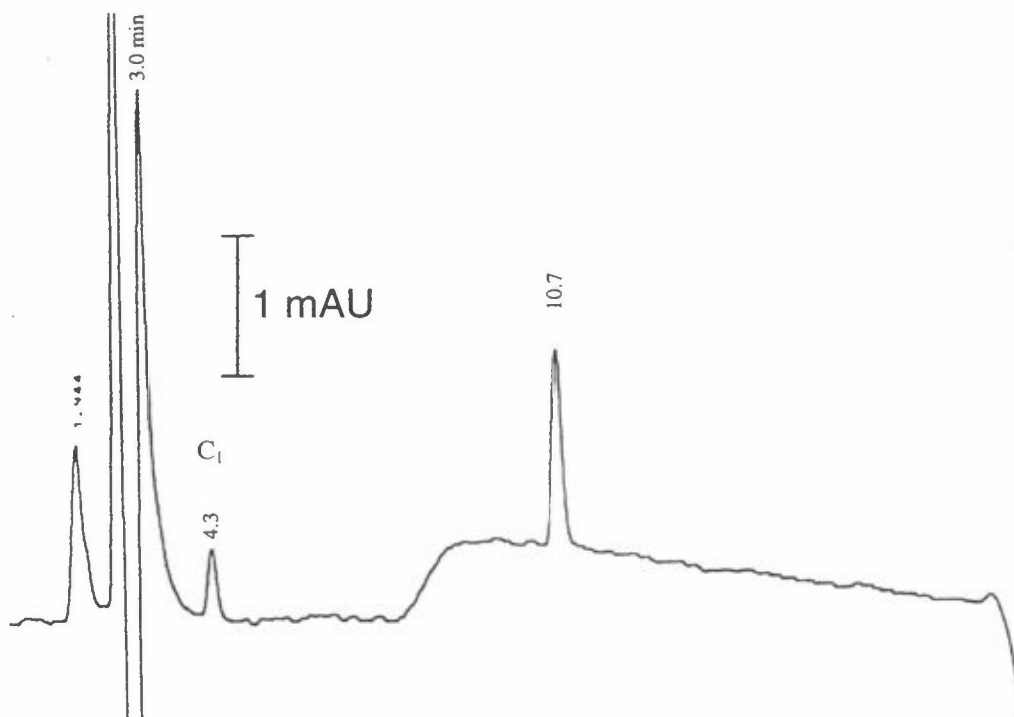
4.3 Derivatisering og separasjon av maursyre-hydrazid

Maursyre derivatiserte ikke med 2-NPH dersom en benyttet den samme mengde som de andre alkansyrene (100 nmol) ved derivatisering,.

Selv om maursyremengden var 5 ganger større (500 nmol) enn eddiksyre (100 nmol) ble utbytte av maursyrederivatet mindre (figur 18).

Årsaker til at det var behov for høyere konsentrasjon av maursyre enn for de andre alkansyrene, kan være at maursyra fordampet eller at den dekomponerte under derivatisering (60°C).

Maursyrederivatet eluerte omtrent samtidig som eddiksyrederivatet ved bruk av gradient 1. Figur 18 viser at maursyrederivatet eluerte ved 4,3 min. Med samme gradient eluerte eddiksyrederivatet ved 4,4 min. Det ble forsøkt med høyere prosentandel vann i starten av mobilfasegradienten uten at separasjonen ble betydelig bedre.



Figur 18: 2-NPH-derivatet av maursyre (4,3 min).

4.4 Rensing av prøveløsning ved hjelp av fastfase ekstraksjon

På grunn av at hydrazid-derivatene viste forskjellig stabilitet i den basiske løsningen, ble det foretatt forsøk på å rense løsningene ved bruk av fastfase ekstraksjon på et C₁₈-materiale. Ved fastfase-ekstraksjon ble derivatene holdt igjen, mens den basiske løsningen ble spylt rett igjennom. Etter vask med vann, ble derivatene eluert med ren acetonitril.

Det ble valgt å prøve ut løsninger med maursyrederivatet, da disse hadde vist mindre stabilitet enn de øvrige derivatene.

3 løsninger av maursyrederivat ble splittet i to, hvor den ene delen ble rensset ved hjelp av fastfase ekstraksjon og den andre uten fastfase.

Etter en måned, viste ingen av de tre parallellene som var rensset på fastfase noen nedbrytning av derivatene. De tre parallellene som ikke var rensset på fastfase fikk derimot flere små topper i sine kromatogrammer. Dette indikerte at det var nedbrytning av derivatet i den basiske løsningen over tid. Av den grunn var det behov for å rense derivatløsningene ved bruk av fast fase hvis løsningene skulle stå noen dager før analyse.

Prøveopparbeidelse på fastfase kunne føre til tap av prøvemateriale, samt at total arbeidstid per analyse ville øke. Derfor ble ikke fastfase benyttet på prøver som ble analysert samme dag som de ble opparbeidet.

4.5 Syntetisering av standarder

For å kunne kvantifisere og bestemme utbyttet av derivatiseringen var det behov for å syntetisere syrederivater med kjent renhet.

Det ble prøvet en metode hentet fra eldre litteratur (50).

Fremgangsmåtene er beskrevet i pkt. 3.6 og metodene ble prøvet ut med eddiksyre.

Metode 1:

Eddiksyra derivatiserte og nok produkt ble dannet slik at omkrystallisering var mulig. NaCl falt ut under syntetiseringen. Dette var ikke nevnt i litteraturen fra 1889, men en mulig forklaring var at kjemikaliene den gang inneholdt nok vann til at NaCl ikke falt ut. Det ble derfor tilsatt litt vann ved syntetiseringen slik at NaCl ikke falt ut.

Ved omkrystallisering fra etanol ble ikke alle krystallene løst. Dette kan ha vært forurensninger fra 2-NPH·HCl.

Analyse av derivatet på HPLC med UV/VIS detektor viste at derivatet inneholdt mye forurensninger. Forurensningene var de samme som i analysene av de "rene" 2-NPH·HCl- og 2-NPH-løsningene (se fig 8).

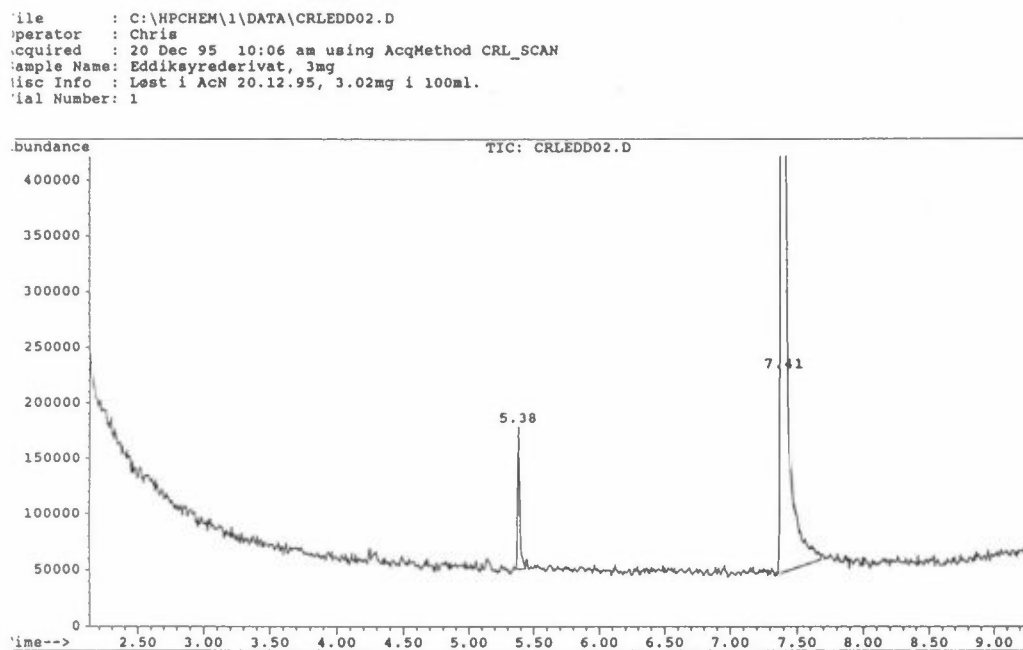
Metode 2:

Etter at 2-NPH, natriumacetat og eddiksyre hadde reagert i en time ved 60°C ble eddiksyrederivatet rensset ved bruk av fastfase (C₁₈)-ekstraksjon. Derivatet ble eluert med ren acetonitril. Acetonitril ble dampet av og derivatet tørket ved bruk av nitrogengass.

Analyse på gasskromatograf med masseselektiv detektor og HPLC-DAD, tilsa at eddiksyrederivatet hadde en renhet på ca. 97% når det var løst i acetonitril.

Det ble ikke testet om de andre syrene lot seg derivatisere ved hjelp av denne metoden.

Figur 19 viser kromatogram av eddiksyrederivatet (7,41 min) analysert på GC med masseselektiv detektor. En kan se at forbindelsen som eluerte ved 5,38 min, (ikke identifisert) utgjorde den største forurensningen. Massespektrene til eddiksyrederivatet og den ukjente forbindelsene er gjengitt i vedlegg C.



Figur 19: Kromatogram av syntetisert eddiksyrederivat (7,14 min) løst i acetonitril og analysert ved bruk av GC med masseselektiv detektor.

4.6 Interferens fra aldehyd/keton

Det var behov for å undersøke om aldehyder og ketoner ville føre til problemer for derivatisering av karboksylsyrer i luft.

Blant aldehyder og ketoner i atmosfæren er det mest av formaldehyd og aceton. Rapporterte mengder av disse i uteluft var ca. 1 ppb (51). Den samme mengden ble også rapportert for maursyre og eddiksyre i uteluft i USA (52).

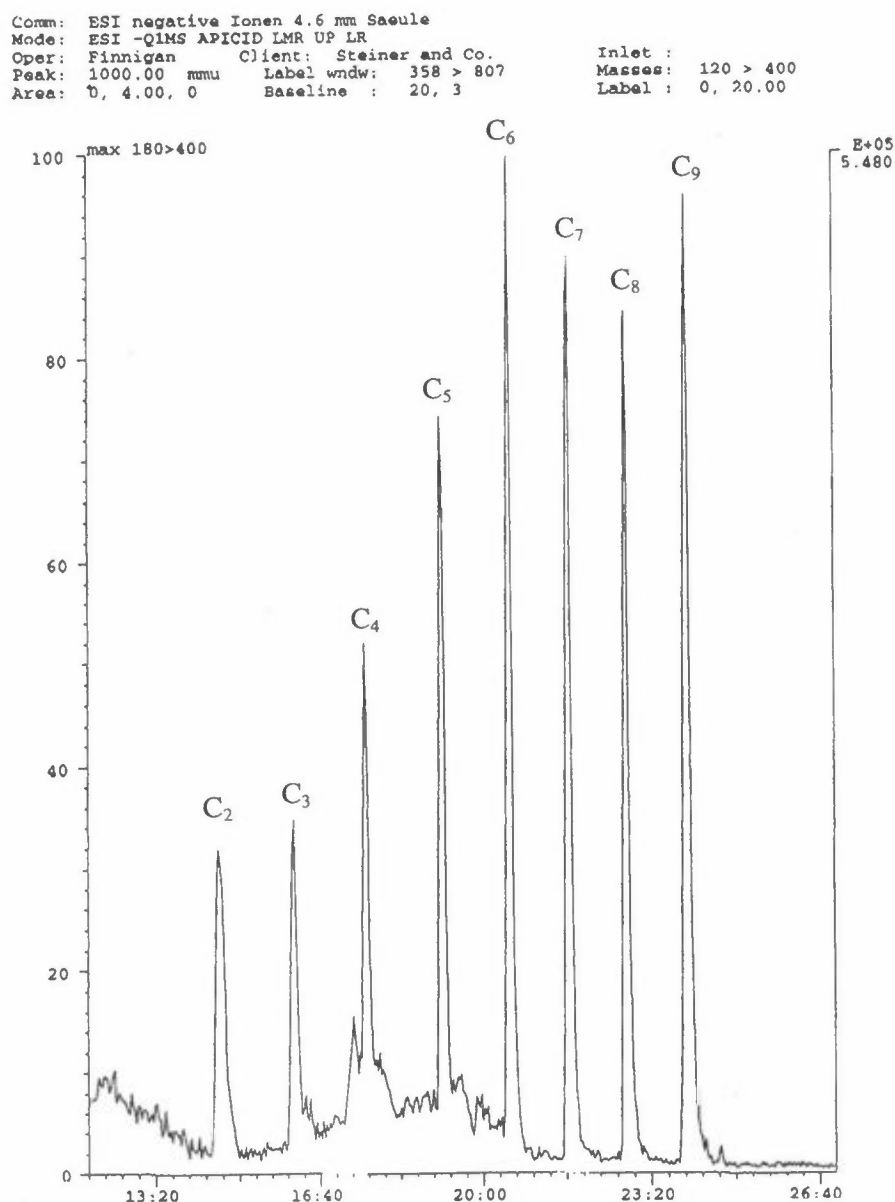
Det ble valgt ut formaldehyd, acetaldehyd, propionaldehyd og aceton. 100 nmol av hver ble blandet i etanol og tilsatt gassvaskeflasken. Aldehyd- og ketonblandingen fordampet og ble sugd gjennom et Sep-PAK-rør som var impregnert med 2-NPH og EDC-arbeidsløsning (se pkt. 3.6).

Kromatogrammet av aldehyd/ketonblandingen viste at ingen av aldehydene eller ketonet ble derivatisert på Sep-PAK.

4.7 Analyse av syre-hydrazidene ved bruk av LC-MS

Som et bevis på at toppene i kromatogrammene virkelig var syrederivater av 2-NPH, ble derivatløsningene analysert på LC-MS. Det ble benyttet omvendt fase (C_{18}) og samme mobilfase/mobilfasegradient som ved analysene på LC-UV/VIS.

Figur 20 viser kromatogrammet av C_2 - C_9 blanding av syrederivatene (kons. ca. 10 ng/ μ l) analysert på LC-MS. Analysen ble utført med deteksjon på negative ioner med scan fra masse 120 til 400. Den uidentifiserte toppen som eluerte mellom C_4 og C_5 ved bruk av UV-detektor var ikke i kromatogrammet. NCI-spektrene til syrederivatene er gitt i vedlegg B.



Figur 20: NCI analyse av C_2 - C_9 blanding av syrederivatene ved bruk av LC-MS. Ca. 10 ng/ μ l. Scanområdet var $m/z = 120-400$.

Deteksjon av positive ioner førte til en stor bakgrunn som "druknet" alle andre topper. Denne bakgrunnen skyldes ureaderivatet (1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl) urea) som ble dannet i løsningen (pkt. 3.1.1). Ureaderivatet hadde ingen absorpsjon ved 400 nm og skapte derfor ingen problemer når det ble benyttet UV/VIS-deteksjon.

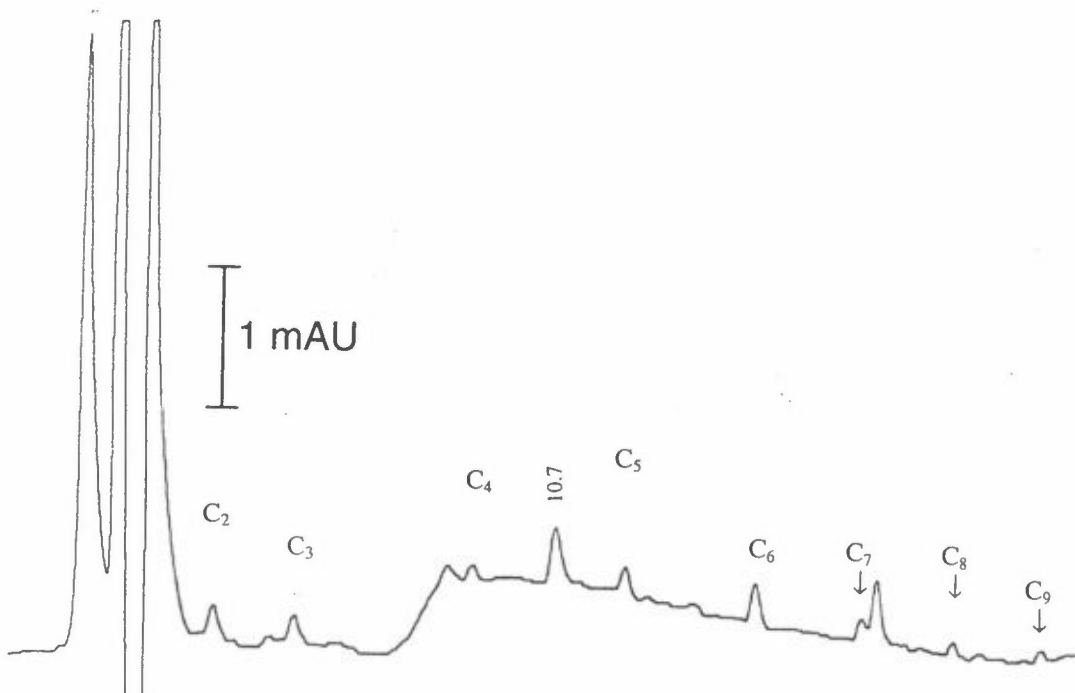
4.8 Prøvetaking av syrer i gassfase ved hjelp av impregnerte Sep-PAK-rør

Utstyr ble satt opp som vist i figur 3, punkt 3.6, og 0,1 ml av en blanding av C₂-C₉ av alkansyrene (40-100 nmol av hver syre) ble overført til gassvaskeflasken.

Det ble utført 3 forsøk hvor Sep-PAK-røret ble impregnert med kun EDC-arbeidsløsning. Den videre derivatiseringen med 2-NPH ble utført i væskeløsning etter prøvetakingen. Ingen av de 3 forsøkene ga noen derivatisering med syrene. Syrene derivatiserte heller ikke i Sep-PAK-rør impregnert med kun 2-NPH.

Derimot derivatiserte syrene når Sep-PAK-rørene var impregnert med både 2-NPH og EDC-arbeidsløsning.

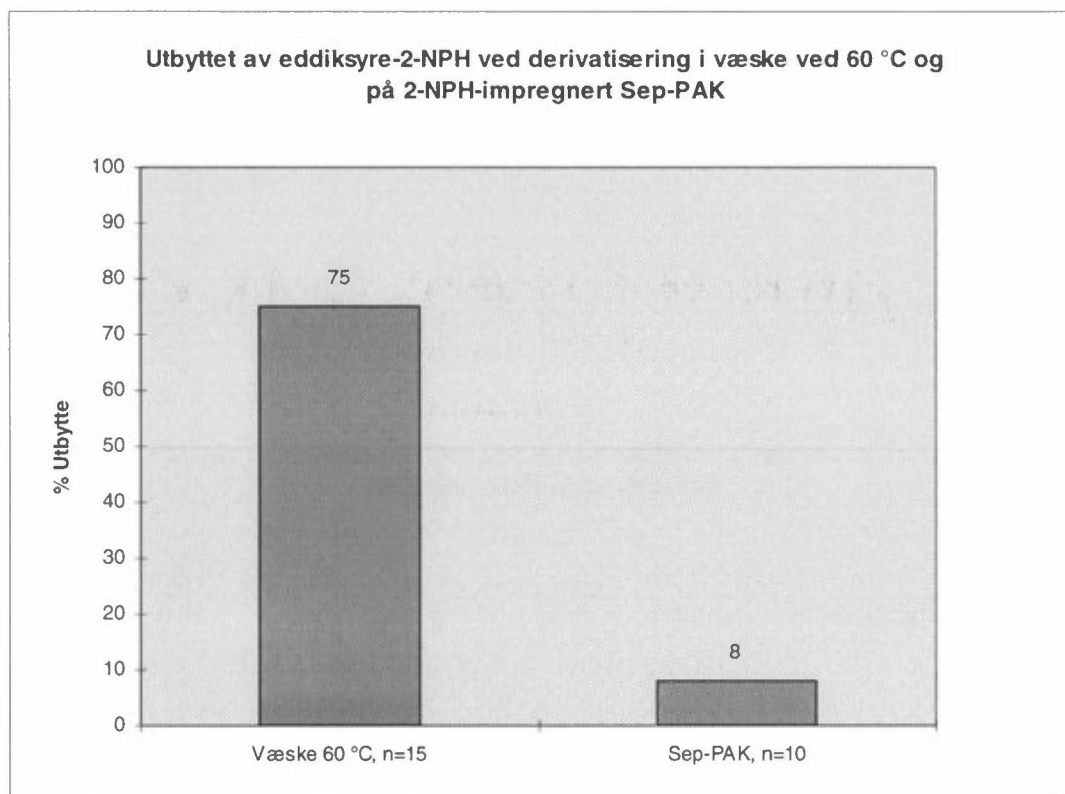
Figur 21 viser kromatogrammet av C₂-C₉ alkansyrene etter derivatisering i et Sep-PAK-rør.



Figur 21: Kromatogram av C₂-C₉ etter derivatisering i Sep-PAK-rør. 40-100 nmol av hver syre ble overført til gassfase.

Utbyttet av eddiksyre derivatisert i væskeløsning og på Sep-PAK impregnert med 2-NPH og EDC-arbeidsløsning ble beregnet ved bruk av en ekstern kalibreringskurve dannet av syntetisert eddiksyrederivat. Utbyttet av eddiksyre

som ble derivatisert på Sep-PAK ble bestemt til $8 \pm 1,5\%$, $n=10$. Utbyttet av eddiksyre som ble derivatisert i væskeløsning ble bestemt til $75 \pm 5\%$, $n=15$.



Figur 22: Utbytte av eddiksyre ved derivatisering på Sep-PAK-rør impregnert med 2-NPH og EDC-arbeidsløsning og i væskeløsning ved 60°C.

Utbyttet på impregnert Sep-PAK var for dårlig til at en metode med denne kunne etableres. For å forklare det dårlige utbyttet ble følgende undersøkt:

Samme mengde av derivatiseringsreagensene som ble benyttet ved metode 1 (punkt 3.2), ble tilsatt gassvaskeflasken for å bestemme mengden av syre som satt igjen på glassveggen. Ingen rester av eddiksyre ble funnet.

To rør ble satt i serie under prøvetakingen, men eddiksyre hadde ikke derivatisert på rør nummer to. Det var derfor grunn til å tro at syrene ble adsorbent i det første røret eller gikk rett igjennom uten å bli derivatisert.

Et KOH-impregnert filter plassert etter Sep-PAK-røret viste at ca. $40 \pm 5\%$ av eddiksyra gikk rett gjennom filtret.

Trolig var hovedårsaken til det dårlige utbytte på Sep-PAK-røret at molforholdet mellom 2-NPH og EDC ikke var optimalt. På grunn av forskjellig retensjon på C_{18} -materialet ble ikke fordelingen mellom disse lik gjennom hele røret. Dette kan være årsaken til at så mye av eddiksyra gikk rett igjennom, og at mye av eddiksyra som ble igjen på røret ikke derivatiserte.

Maursyre derivatiserte ikke på impregnert Sep-PAK.

5. Konklusjon

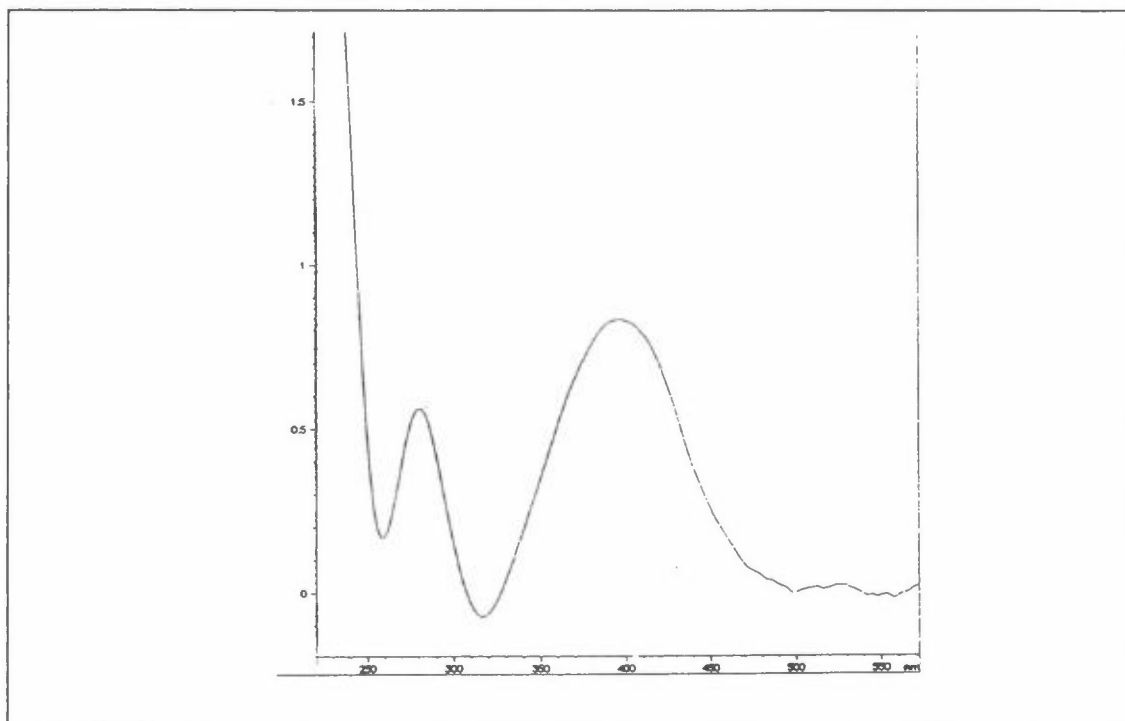
2-nitrofenylhydrazin (2-NPH) og 1-etyl-3-(3-dimetylamino)propyl karbodiimid hydroklorid (EDC·HCl) var ikke egnet til impregnering av Sep-PAK-rør for prøvetaking av karboksylsyrer i luft.

Molforholdet mellom derivatiseringsreagenset (2-NPH) og koplingsreagenset (EDC·HCl) var svært avgjørende for utbyttet. 2-NPH og EDC·HCl hadde forskjellig retensjon på Sep-PAK-røret. Det førte til at molforholdet mellom disse ikke var homogent på røret. Utbyttet av derivatiserte karboksylsyrer ved prøvetaking av luft ble av den grunn lavt (8% for eddiksyrederivat). Maursyre derivatiserte ikke på impregnert Sep-PAK-rør.

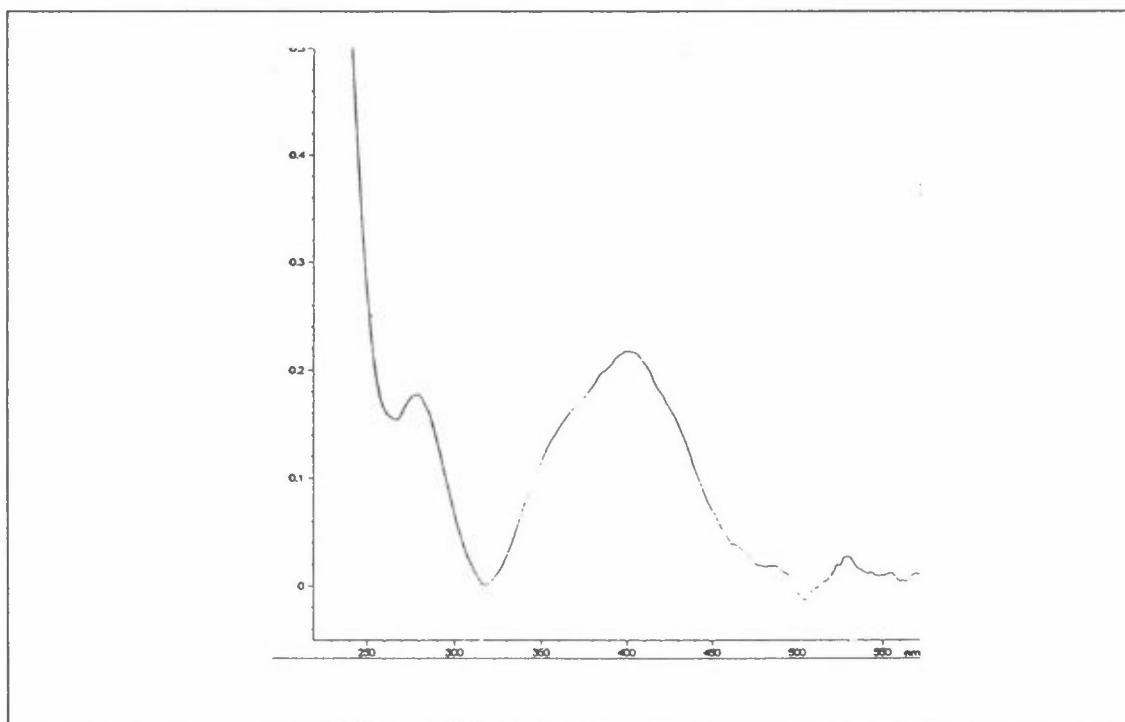
En analysemetode for karboksylsyrer i luft som ikke kan måle maursyre og som har et utbytte av eddiksyre på under 10% er ikke egnet som metode, da disse er hovedkomponentene av karboksylsyrer i luft.

Vedlegg A

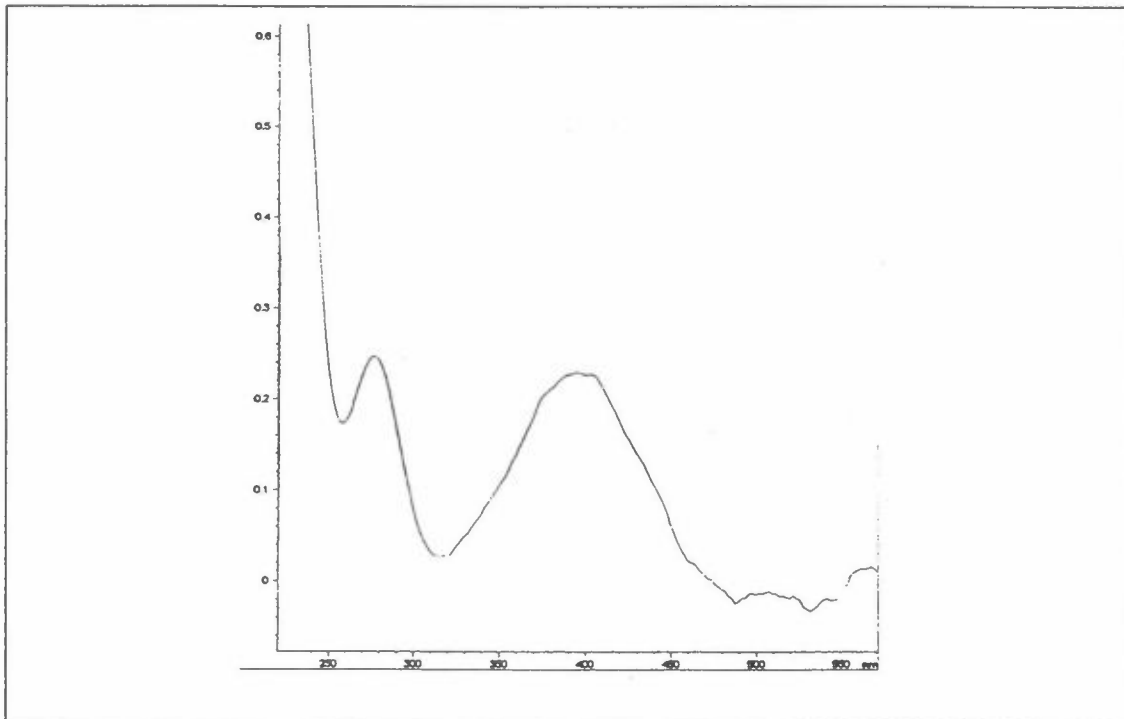
**UV-spektre til derivatene av eddiksyre,
propionsyre, heptansyre og uidentifisert
forbindelse**



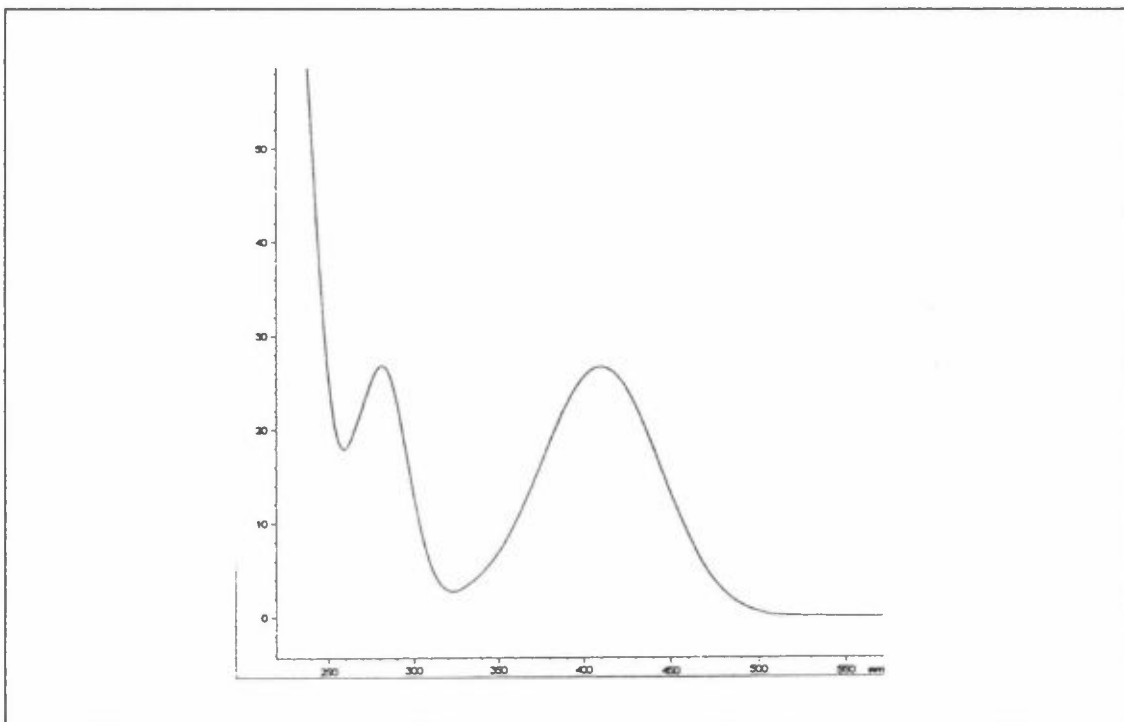
Figur 25: UV-spektrum av N'-2-nitrofenyletanohydrazid.



Figur 26: UV-spektrum av N'-2-nitrofenylpropionohydrazid.



Figur 27: UV-spektrum av N'-2-nitrofenylheptanohydrazid.



Figur 28: UV-spektrum av ukjent forbindelse som eluerte ved 10,7 min i kromatogrammene.

Vedlegg B

NCI-massespektre av syrederivatene

Alle spektrene viser (M-H)⁻ som basision, samt en del molekylfragmenter

SPEC: mix3
Samp: Cap 220 APICID=15 (100 ul)
Comm: ESI negative Ionen 4.6 mm Saeule
Mode: ESI -Q1MS APICID LMR UP LR
Oper: Finnigan Client: Steiner and Co.
Base: 193.9 Inten : 94382
Norm: 193.9 RIC : 200480
Peak: 1000.00 mmu
Data: +/430>440 - /414>420,451>455

25-JUL-95 DERIVED SPECTRUM #9
Start : 15:49:34 943
Inlet :
Masses: 120 > 400
#peaks: 160

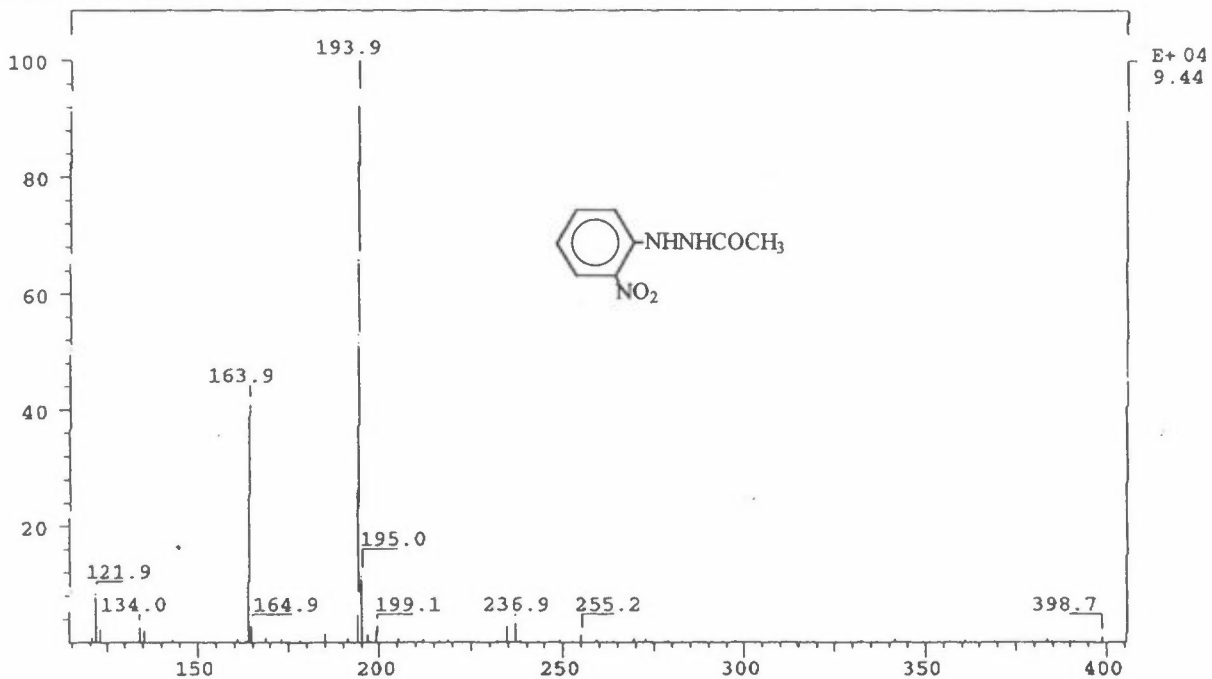


Fig. 29: NCI-spektrum av eddiksyrederivat.

SPEC: mix3 25-JUL-95 DERIVED SPECTRUM #9
Samp: Cap 220 APICID=15 (100 ul) Start : 15:49:34 943
Comm: ESI negative Ionen 4.6 mm Saeule
Mode: ESI -Q1MS APICID LMR UP LR
Oper: Finnigan Client: Steiner and Co. Inlet :
Base: 208.1 Inten : 106671 Masses: 120 > 400
Norm: 208.1 RIC : 203101 #peaks: 191
Peak: 1000.00 mmu
Data: +/477>484 - /466>468,497>500

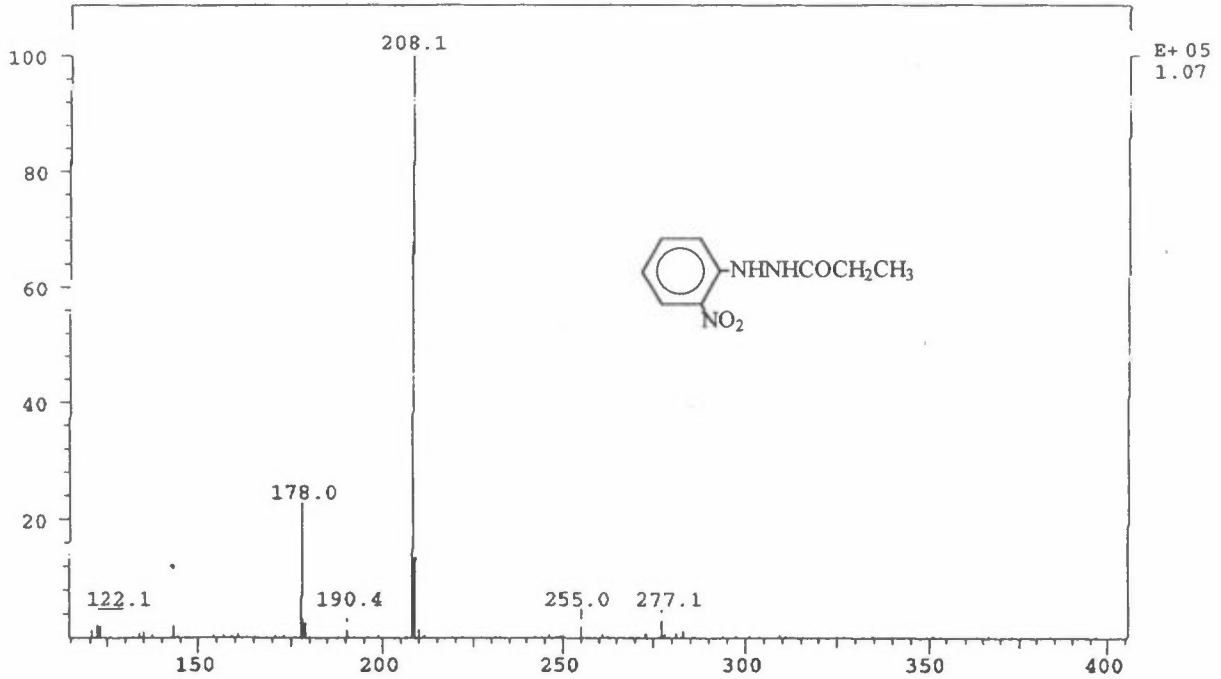


Fig. 30: NCI-spektrum av propionsyrederivat.

SPEC: mix3 25-JUL-95 DERIVED SPECTRUM #9
Samp: Cap 220 APICID=15 (100 ul) Start : 15:49:34 943
Comm: ESI negative Ionen 4.6 mm Saeule
Mode: ESI -Q1MS APICID LMR UP LR
Oper: Finnigan Client: Steiner and Co. Inlet :
Base: 222.1 Inten : 147543 Masses: 120 > 400
Norm: 222.1 RIC : 289629 #peaks: 171
Peak: 1000.00 mmu
Data: +/522>529 - /513>514,539>541

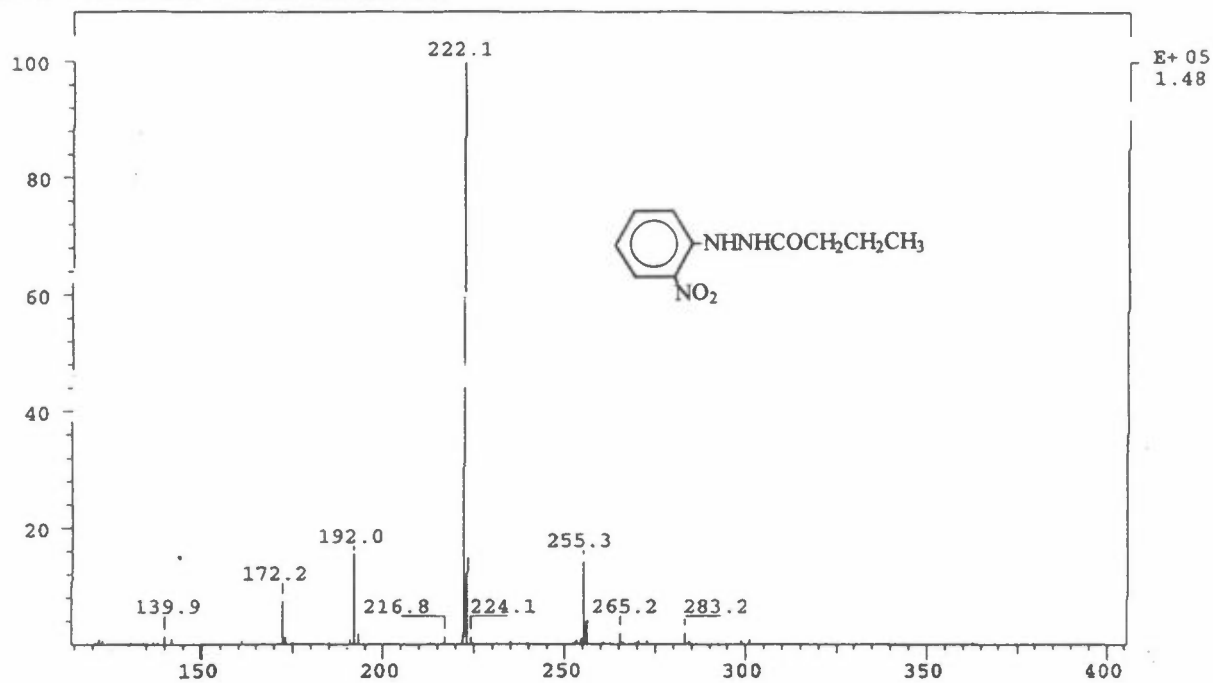


Fig. 31: NCI-spektrum av smørsyrederivat.

SPEC: mix3 25-JUL-95 DERIVED SPECTRUM #9
Samp: Cap 220 APICID=15 (100 ul) Start : 15:49:34 943
Comm: ESI negative Ionen 4.6 mm Saeule
Mode: ESI -Q1MS APICID LMR UP LR
Oper: Finnigan Client: Steiner and Co. Inlet :
Base: 236.0 Inten : 190664 Masses: 120 > 400
Norm: 236.0 RIC : 309779 #peaks: 168
Peak: 1000.00 mmu
Data: +/568>575 - /561>562, 586>589

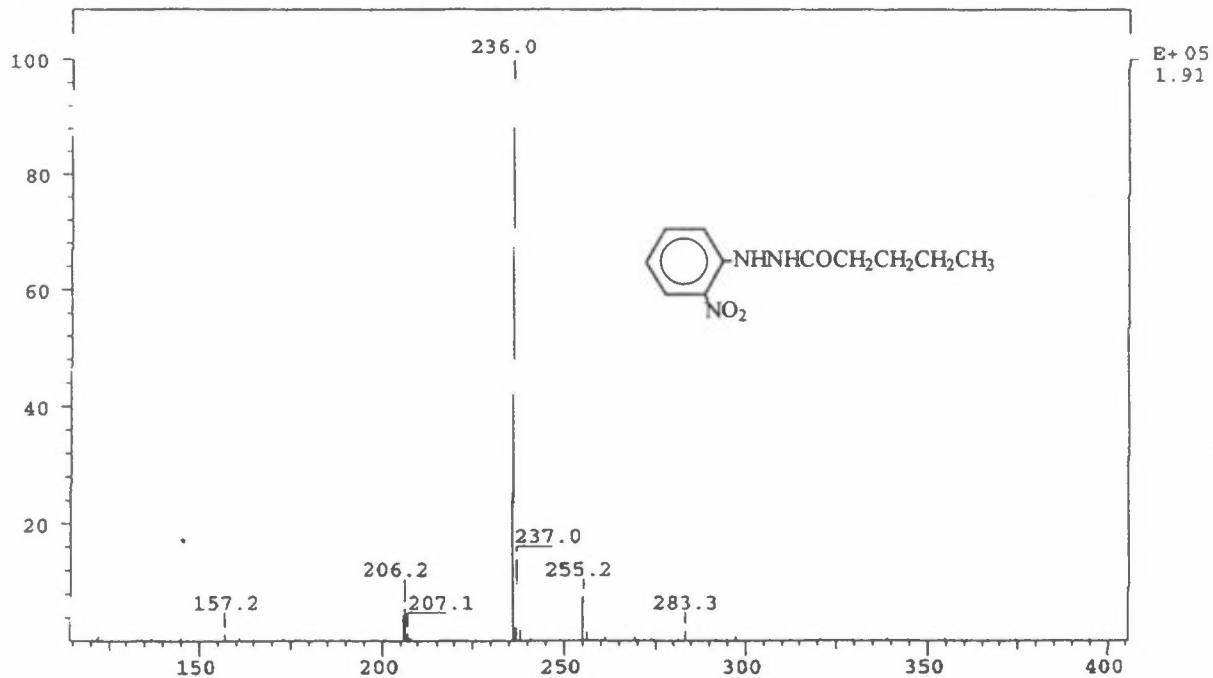


Fig. 32: NCI-spektrum av valeriansyrederivat.

SPEC: mix3
Samp: Cap 220 APICID=15 (100 ul)
Comm: ESI negative Ionen 4.6 mm Saeule
Mode: ESI -QIMS APICID LMR UP LR
Oper: Finnigan Client: Steiner and Co.
Base: 250.1 Inten: 273040
Norm: 250.1 RIC: 390203
Peak: 1000.00 mmu
Data: +/610>616 - /601>606

25-JUL-95 DERIVED SPECTRUM #9
Start: 15:49:34 943
Inlet:
Masses: 120 > 400
#peaks: 157

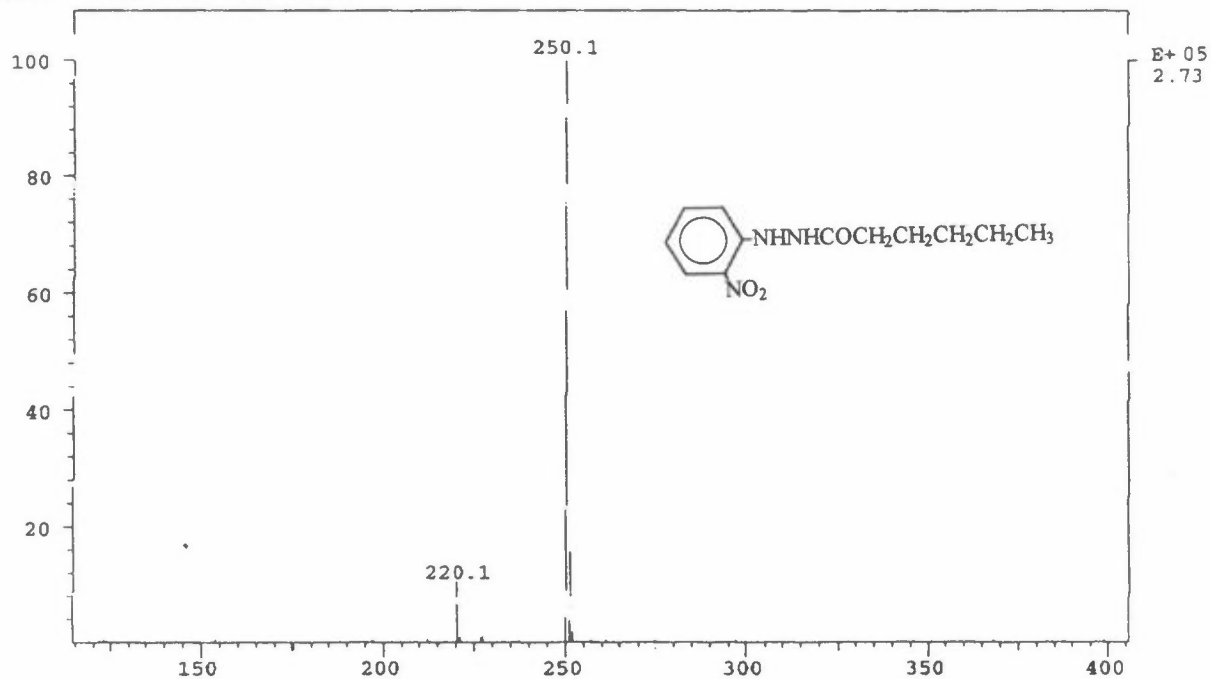


Fig. 33: NCI-spektrum av heksansyrederivat.

SPEC: mix3
Samp: Cap 220 APICID=15 (100 ul)
Comm: ESI negative Ionen 4.6 mm Saeule
Mode: ESI -Q1MS APICID LMR UP LR
Oper: Finnigan Client: Steiner and Co.
Base: 264.2 Inten: 260394
Norm: 264.2 RIC: 376956
Peak: 1000.00 mmu
Data: +/645>651 - /639>643

25-JUL-95 DERIVED SPECTRUM #9
Start: 15:49:34 943
Inlet:
Masses: 120 > 400
#peaks: 157

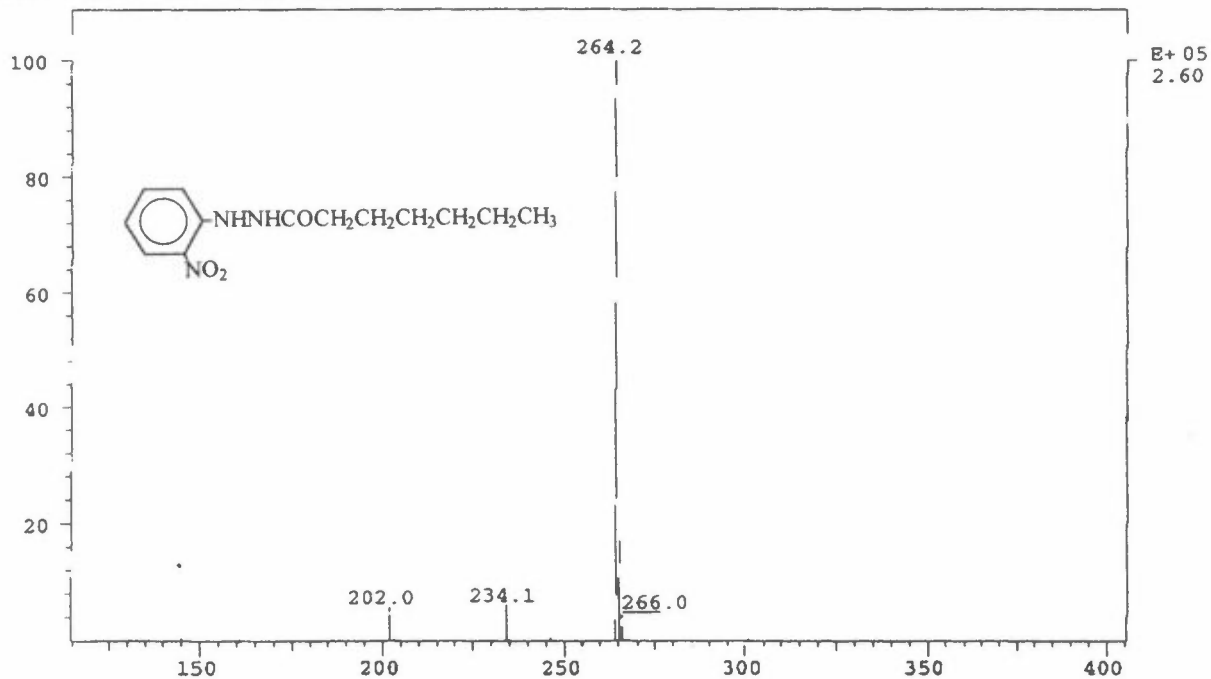


Fig. 34: NCI-spektrum av heptansyrederivat.

SPEC: mix3 25-JUL-95 DERIVED SPECTRUM #9
Samp: Cap 220 APICID=15 (100 ul) Start : 15:49:34 943
Comm: ESI negative Ionen 4.6 mm Saeule
Mode: ESI -QMS APICID LMR UP LR
Oper: Finnigan Client: Steiner and Co. Inlet :
Base: 278.1 Inten : 231317 Masses: 120 > 400
Norm: 278.1 RIC : 328902 #peaks: 173
Peak: 1000.00 mmu
Data: +/679>685 - /672>674

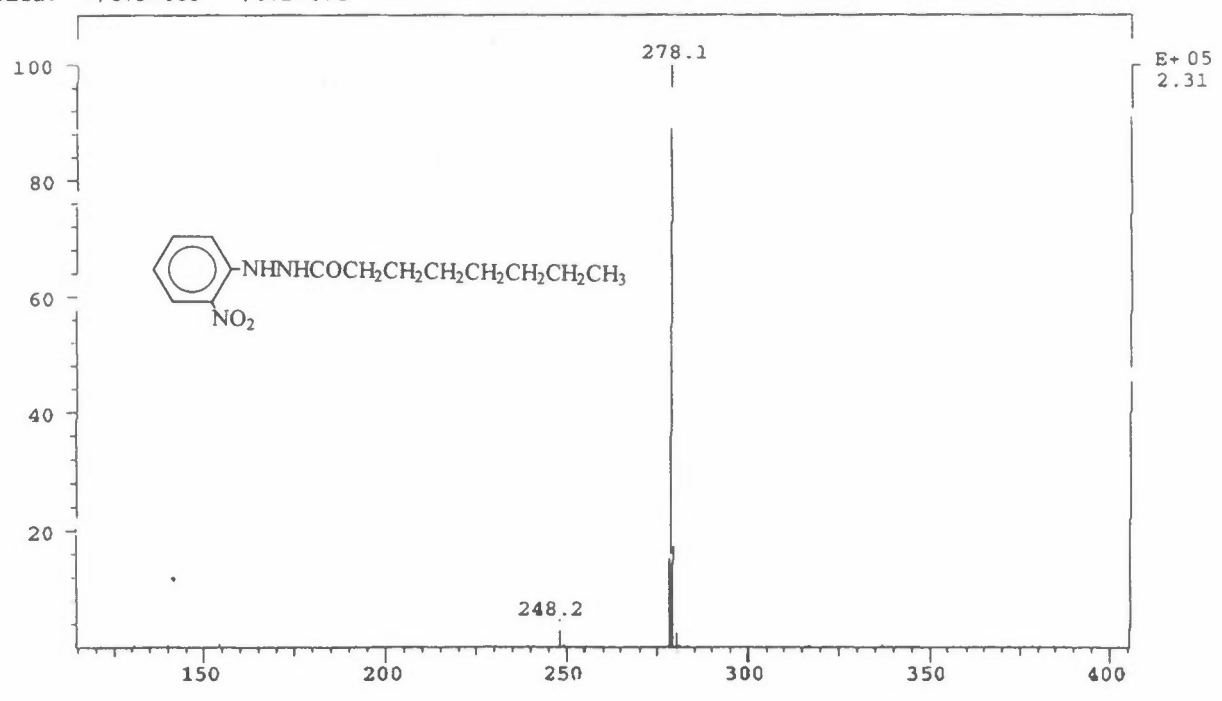


Fig. 35: NCI-spektrum av oktansyrederivat.

SPEC: mix3 25-JUL-95 DERIVED SPECTRUM #9
Samp: Cap 220 APICID=15 (100 ul) Start : 15:49:34 943
Comm: ESI negative Ionen 4.6 mm Saeule
Mode: ESI -Q1MS APICID LMR UP LR
Oper: Finnigan Client: Steiner and Co. Inlet :
Base: 292.1 Inten : 302975 Masses: 120 > 400
Norm: 292.1 RIC : 416031 #peaks: 153
Peak: 1000.00 mmu
Data: +/715>721 - /706>709

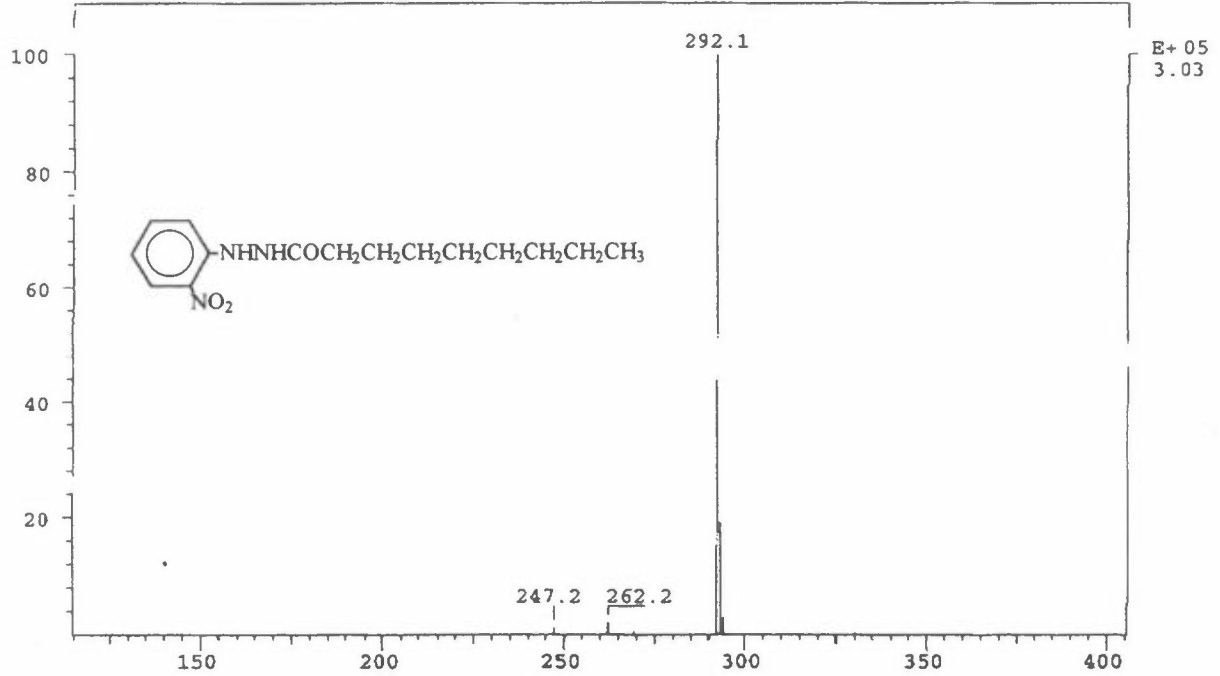
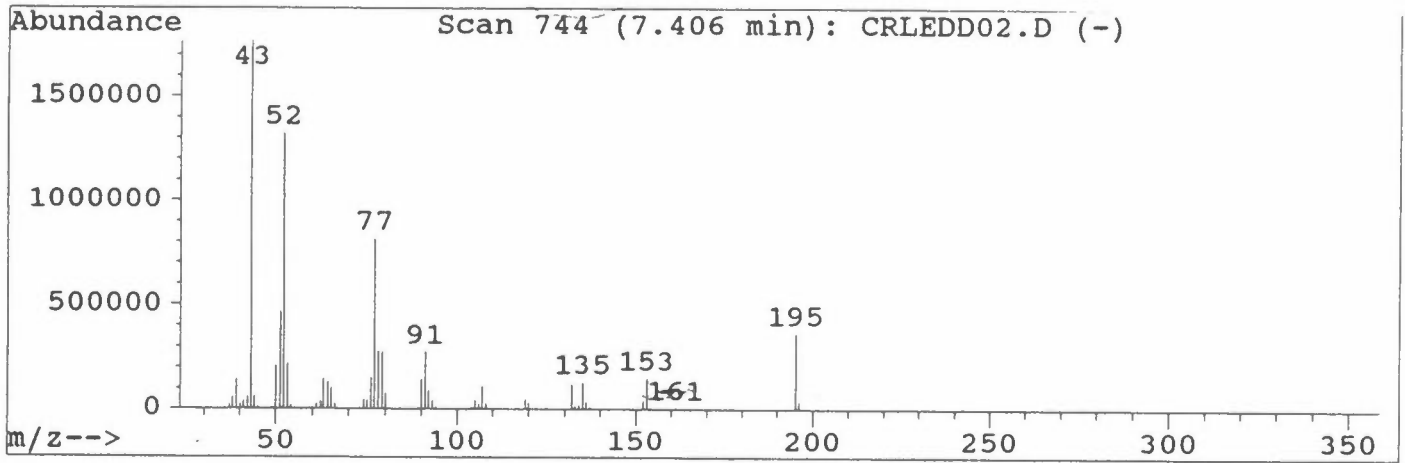


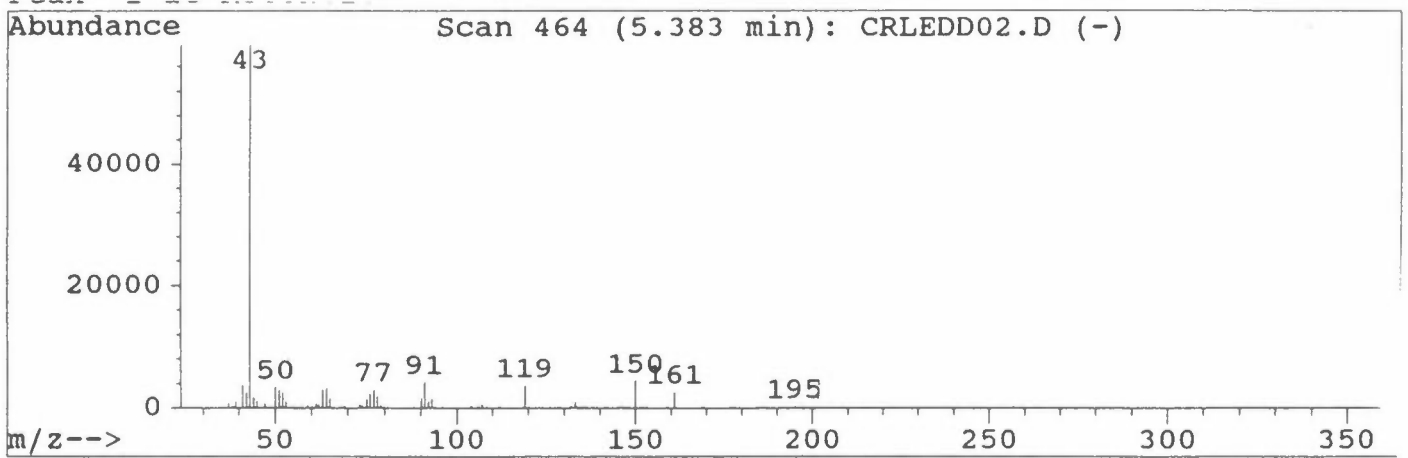
Fig. 36: NCI-spektrum av nonansyrederivat.

Vedlegg C

EI-massespektre av eddiksyrederivat og ukjent



Figur 37: EI-spektrum av eddiksyrederivat.



Figur 38: EI-spektrum av ukjent forurensning i eddiksyrederivat-standard.

Guel s. 1

Gronn s. 35, 39, 49

Del 2 – Undersøke anvendbarheten av en benyttet metode for bestemmelse av karboksylsyrer i luft

2. Utstyr og kjemikalier

2.1 HP G1800A GCD-System

2.1.1 Beskrivelse av instrumentet

HP G1800A GCD-System er et integrert GC/MS detektor system. Systemet er PC-styrt ved bruk av HP G1074A GCD software.

GC : HP 5890 Series II
 Splitt/splittløs injektor
 Elektronisk trykk- / flowkontroll
 Temperaturområde : 4°C over romtemperatur til 450°C med ± 1 % (K) nøyaktighet.
 Temperaturgradienter fra 0,1°C til 70°C per minutt

Detektor : elektron multiplikator
 Massefilter : Kvadrupol
 Masseområde : 10-450 amu, enhetsoppløsning
 Ionekildetemperatur : 200°C
 Elektronstøtjonisering : 70 eV
 Automatisk tune
 Scan- og SIM (selected ion monitoring) modus

Vakuumpumpe : Edwards E2M2, 2 Trinn

Bæregass : Helium 4.8
 99,998% renhet, Norsk Hydro
 Bæregassen ble renset med aktivt kullfilter, molekulsievefilter og oksygenfilter.

Kolonne : HP-5 (5% difenyl-95% dimetylpolysiloksan) kapillar
 Lengde : 30 m
 Indre diameter 0,25 mm
 Filmtykkelse : 0,25 μ m

2.1.2 Analysebetingelser

Bæregasshastighet : 1 ml/min (konstant flow)

Injeksjonsvolum : 1 μ l, manuell injeksjon

Splittløs injeksjon

Injektortemperatur : 250°C

Detektortemperatur : 300°C

Tabell 1 : Temperaturgradient 1 (56)

Starttemperatur	Gradient	Sluttemperatur
40°C i 6 min	30°C/min	160°C
160°C	8°C/min	290°C

Tabell 2 : Temperaturgradient 2

Starttemperatur	Gradient	Sluttemperatur
70°C i 1 min	30°C	175°C
175°C	8°C	290°C

2.2 HP 5989A MS Engine

2.2.1 Beskrivelse av instrumentet

HP 5989A MS Engine GC/MS-instrumentet kunne benytte elektronstøt-ionisering (EI) og kjemisk ionisering (CI). Instrumentet ble PC-styrt ved bruk HP G1034C MS ChemStation Software.

GC: HP 5890 Series II
Splitt/splittløs injektor
Temperaturområde : 4°C over romtemperatur til 450°C med $\pm 1\%$ (K) nøyaktighet.
Temperaturgradienter fra 0,1°C til 70°C per minutt.

MS: Elektronmultiplikator (detektor)
Kvaprupol (massefilter)
Elektronstøt- og kjemisk-ionisering
Masseområde 10-1000 amu, enhetsoppløsning
Ioniseringsenergi 10-250 eV
Ionekildetemperatur opp til $374 \pm 2^\circ\text{C}$
Automatisk- og manuell tune
Scan- og SIM (selected ion monitoring) modus

Injektor : HP 7673A Autoinjektor

Reaksjonsgass: Metan 4.5,
99,995% renhet, Norsk Hydro

Bæregass : Helium 4.8
99,998% renhet, Norsk Hydro
Bæregassen ble rensed med aktivt kullfilter, molekularsievefilter og oksygenfilter.

Kolonne : HP-Ultra 2 (5% difenyl-95% dimetylpolysiloksan) kapillar
Lengde : 30 m
Indre diameter 0,20 mm
Filmtykkelse : 0,11 μm

2.2.2 Analysebetingelser

Bæregasshastighet : 1 ml/min (konstant flow)

Injeksjonsvolum : 1 µl, automatisk injeksjon

Splittløs injeksjon

Injektortemperatur : 250°C

Detektortemperatur : 300°C

Ionekildetemperatur : 190°C ved negativ-ion-kjemisk-ioniserings-massespektrometri (NCI).

Scanområde ved scananalyser : (m/z = 33 - 450)

Tabell 3 : Temperaturgradient 3

Starttemperatur	Gradient	Sluttemperatur
70°C i 1 min	30°C	175°C
175°C	8°C	210°C
210°C	30°C	290°C i 3 min

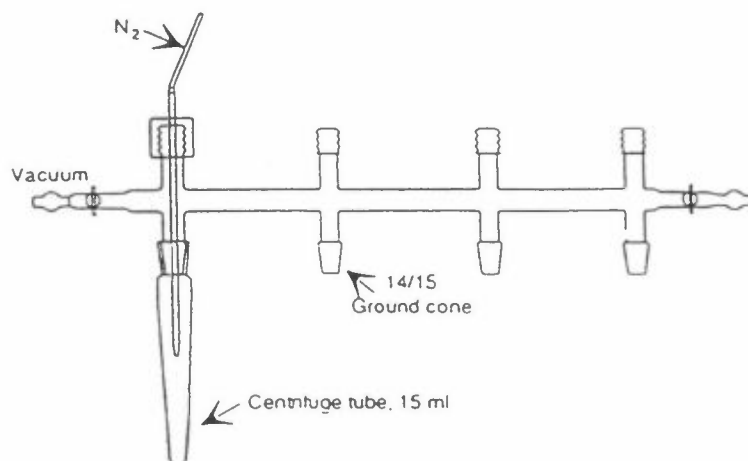
Tabell 4: Oversikt over de forskjellige ioner som ble detektert ved forskjellige retensjonstider i SIM-modus.

Analytt	Fra retensjonstid, min.	m/z som ble målt
Maursyrederivat	5,30	45, 79, 81, 242, 244
Eddiksyrederivat	5,80	59, 79, 81, 256, 258
D3-Eddiksyrederivat	5,80	62, 79, 81, 259, 261
Propionsyrederivat	6,40	73, 79, 81, 270, 272
i-Butansyrederivat	6,75	79, 81, 87
Butansyrederivat	6,75	79, 81, 87
TCN	7,50	79, 81, 266, 268
Pentansyrederivat	7,95	79, 81, 101
Heksansyrederivat	8,70	79, 81, 115
Heptansyrederivat	9,50	79, 81, 129
Oktansyrederivat	10,10	79, 81, 143
Benzosyrederivat	10,40	79, 81, 121
Nonansyrederivat	10,70	79, 81, 157

2.3 Diverse utstyr

Foruten det som ble beskrevet under Del 1:

Inndampningsmanifold med overblåsing av nitrogengass, tilkoblet vakuumpumpe og plassert i vannbad, se figur 1.



Figur1: Inndampningsmanifold

Glassfiberfilter : Micron Separations Inc., Westboro, MA

PreSep TCLP filter.

Retensjon : 0,7 μm partikler

Filterdiameter : 47 mm

Katalognummer : G07WP04700

Mikropipetter : Brand, 100 \pm 0,25 % μl og 50 \pm 0,25 % μl

pH-meter : Radiometer PHM 64 pH-meter med en GK 2401C kombinert glasselektrode (kombinert glass og referanselektrode). Nøyaktighet på \pm 0,05 pH-enheter.

GC-sprøyte : Hamilton 701N, 10 μl , Supelco, art. nr. 2-0779.

Kationbytter : Varian, Bond Elut, art. nr. 1210-2012

Sterk kationbytter (Propylsulfonsyre (PRS) på 40 μm silika bæremateriale)

100 mg sorbent masse

Retensjons kapasitet opp til 5 mg

Minimum elueringsvolum 250 μl

2.4 Kjemikalier

Tabell 5 : Kjemikalier som ble benyttet.

Kjemikalie	Leverandør	Kvalitet
Metansyre	Merck (Nr.1.00264)	Pro analysis (p.a.) > 98%
Etansyre	Merck (Nr.1.00063)	p.a. > 99,8%
Propansyre	Merck (Nr. 800605)	for syntese > 99%
Butansyre	Merck (Nr. 800457)	for syntese > 99%
Pentansyre	Merck (Nr. 800821)	for syntese > 99% (GC)
Heksansyre	Merck (Nr. 800198)	for syntese > 98% (GC)
Heptansyre	Merck (Nr. 807582)	for syntese > 99% (GC)
Oktansyre	Merck (Nr. 193.0250)	for biokjemi > 99% (GC)
Nonansyre	Merck (Nr. 818791)	for syntese > 98%
D4-Etansyre	Acros (Nr. 16621-0050)	99,5 atom % Deuterium
Benzosyre	Merck (Nr. 1.00136)	p.a. > 99,9%
1,2,3,4-Tetraklor-naftalen (TCN)	Dr. Ehrenstorfer (L 173600)	
Acetonitril	Rathburn Chem. Ltd. (RH 1016)	HPLC grad S
Diklormetan	Merck (Nr 1.06054)	99,8%
Heksan	Merck (Nr 1.04371)	> 95%
Metanol	Merck (Nr. 1.06011)	til sporstoff analyse
Metanol	Merck (Nr. 1.06007)	Gradient grade > 99,8%
Pentan	Merck (Nr 1.07288)	> 95%
α ,p-Dibromacetofenon	Aldrich (D 3,830-8)	98%
cis-Dicykloheksano-18-crown-6	Aldrich (15,840-2)	98%
Kaliumhydroksid	Merck (Nr. 5033.1000)	p.a. > 85%
Natriumacetat, vannfri	Fluka (Nr. 71180)	p.a. \geq 99%
Silika gel 60 (230-400 mesh ASTM)	Merck (Nr. 1.09385)	Cl ⁻ <0,02%, Fe<0,02%, Overflate: 490m ² /g
Silika gel 60 (70-230 mesh ASTM)	Merck (Nr. 1.07794)	Cl ⁻ <0,02%, Fe<0,02%, Overflate: 490m ² /g

Alt vann som ble benyttet, ble tappet fra Milli-Q Pluss enheten. (Dette er beskrevet i Del 1).

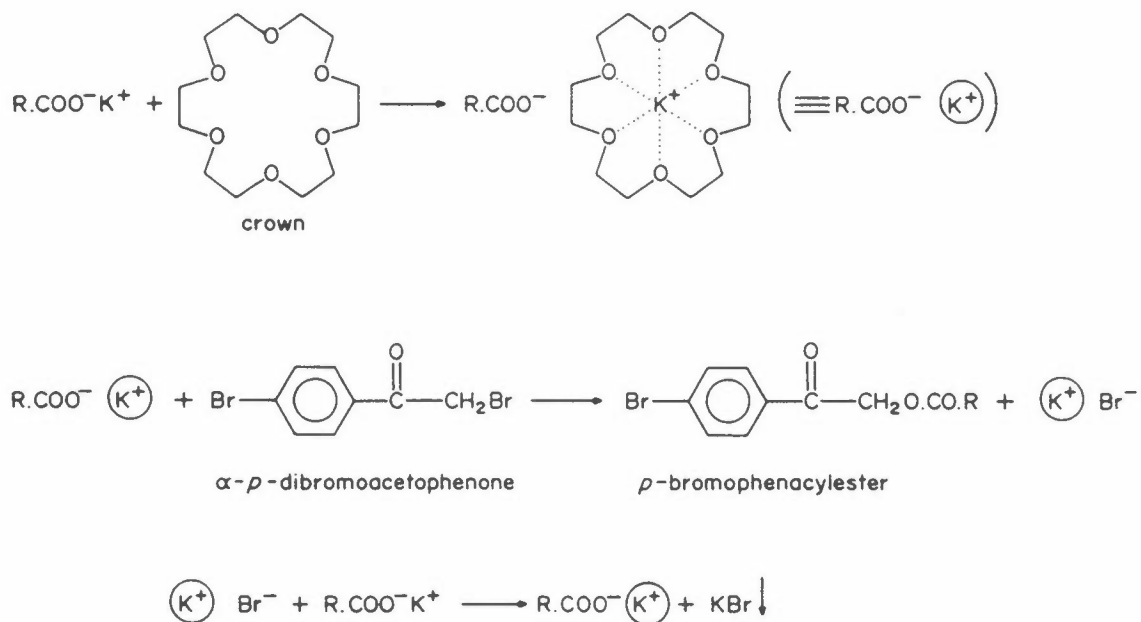
3. Metoder

3.1 Fremgangsmåte

Karbonsyrsyrer i atmosfæren ble samlet opp ved å suge luft gjennom et kaliumhydroksid-impregnert filter. Filtrene ble ekstrahert med vann, og syrene derivatisert med α ,p-dibromacetofenon til p-bromfenacylestre. cis-Disykloheksano-18-crown-6 ble benyttet som koplingsreagens.

Bromfenacylestrene ble analysert ved bruk av høyoppløsende gasskromatografi kombinert med massespektrometrisk deteksjon (HR-GC/MS).

3.1.1 Reaksjonsmekanismer



Figur 2: Reaksjonsmekanisme for derivatisering av karboksylsyrer med α , p -dibromoacetofenon, hvor *cis*-disykhloheksano-18-crown-6 ble benyttet som katalysator (55).

3.1.2 Prøvetaking

Luftstrømhastighet

Kawamura og Kaplan skrev i sin publikasjon at de hadde luftstrøm (flow) på 10 l/min gjennom KOH-filtrene ved prøvetaking av karboksylsyrer i luft (27). M. Schilling og D. Klockow viste at PTFE-filtre impregnert med NaOH + trietanolamin (TEA), hadde adsorpsjonseffektivitet av maur-, eddik- og propionsyre under 60 % ved 10 l/min. Maksimal luftstrøm for 100 % adsorpsjonseffektivitet var 6 l/min (36). D. Grosjean adsorbte lettflyktige karboksylsyrer på KOH-impregnerte glassfiberfilter med en luftstrøm på 4 l/min. Oppsamlingseffektiviteten for maursyre og eddiksyre ved 4 l/min var ca. 90 % (59).

Dette kan indikere at prøvetakingen ble utført ved for høy luftstrøm i den opprinnelige metoden (27).

På bakgrunn av det som er beskrevet over, ble det valgt å utføre prøvetakingen med luftstrøm på ca. 4 l/min.

Interferenser

På grunn av den sterkt alkaliske overflaten ble flere forbindelser enn bare syrene samlet opp på filtrene. Disse var som følger:

- Nitrat fra HNO_3
- Klorid fra HCl
- Nitritt fra NO_2 og alkalisk dekomponering av peroksyacetyl nitrat (PAN).
- Aldehyder
- Karbonat og bikarbonat fra CO_2

CO_2 nøytraliserte raskt KOH , men bidraget var ikke nok til at det ga noen større innvirkning på adsorpsjonseffekten av karboksylsyrer (60). Tatt i betraktning av alt som adsorberes til filtret, var prøvevolum i størrelsesorden 6 m^3 mulig uten gjennombrudd (22).

Aldehydene vil oksideres til syrer på den sterkt alkaliske overflaten. Dette kan gi et bidrag av formiat og acetat fra henholdsvis formaldehyd og acetaldehyd. Dette bidraget var imidlertid forsvinnende lite og kan elimineres ved å plassere en DNPH (2,4-dinitrofenylhydrazin)-denuder i forkant av filtret. DNPH-denuderen hadde ingen innvirkning på prøvetakingen av karboksylsyrer (60).

Alkalisk hydrolyse av PAN vil gi et bidrag av acetat (61). Men den raske nøytraliseringen fra CO_2 gjorde at bidraget av acetat, som følge av hydrolytisk nedbrytning av PAN, var neglisjerbart (60).

3.1.3 Reagenser

Løsningene ble laget på følgende måte :

0,20 M α ,p-dibromacetofenon : 0,1667 g i 3 ml acetonitril.

0,020 M cis-disykhloheksano-18-crown-6 : 0,02235 g i 3 ml acetonitril.

0,18 M KOH -løsning til impregnering av glassfiberfiltrene: 0,101 g KOH i 10 ml vann, etter at KOH -tablettene var vasket i metanol.

Internstandard: 50 μl D4-eddiksyre ble overført til en 50 ml målekolbe og fortynnet til merket med vann. 1 ml av denne løsningen ble overført til en 10 ml målekolbe og fortynnet til merket med vann. Den mest fortynnete løsningen hadde da en konsentrasjon på 105,1 $\mu\text{g/ml}$. 50 μl av denne ble tilsatt prøvene som intern standard.

Gjenvinningsstandard: 5,172 mg tetrakloro-naftalen (TCN) ble overført til en 50 ml målekolbe og fortynnet til merket med iso-oktan (grunnstandard). 50 μl av grunnstandard ble overført til en 10 ml målekolbe og fortynnet til merket med heksan (gjenvinningsstandard). Konsentrasjonen var 2,59 $\mu\text{g/ml}$.

25 μl av gjenvinningsstandard ble tilsatt prøven rett før analyse på GC/MS.

Kvantifiseringsstandard: Bestod av eddiksyrederivat (standard), D3-eddiksyrederivat (intern standard) og TCN (gjenvinningsstandard).

4,91 mg eddiksyrederivat ble overført til en 50 ml målekolbe og fortynnet til merket med heksan (grunnstandard).

5,10 mg D3-eddiksyrederivat ble overført til en 50 ml målekolbe og fortynnet til merket med heksan (grunnstandard).

1 ml av grunnstandardene til D3-eddiksyre- og eddiksyrederivat, samt 50 µl gjenvinningsstandard ble overført til en 5 ml målekolbe og fortynnet til merket med heksan (kvantifiseringsstandard). Konsentrasjonene i kvantifiseringsstandard var 19,64 µg/ml eddiksyrederivat, 20,40 µg/ml D3-eddiksyrederivat og 25,86 ng/ml TCN.

Se pkt. 3.6 og vedlegg A for nærmere definering og bruk av de forskjellige standarder.

3.2 Derivatiseringsprosedyre

Alt utstyr som ble benyttet ble skylt godt med metanol og vann før det ble tatt i bruk.

Karboksylyser i atmosfæren ble samlet opp ved å suge luft gjennom et kaliumhydroksid (KOH)-impregnert filter. Filtret ble overført til et 16 ml prøveglass og tilsatt 50 µl (105,1 ng/µl) intern standard. Filtret ble ekstrahert 10 min i ultralydbad med 2 · 4 ml vann. Ekstraktet ble overført til et 10 ml sentrifugeglass. pH i ekstraktet ble så justert med 0,1 M HCl og 0,02 M KOH til 8,0-9,0. Ekstraktet ble dampet inn til 0,5 ml på inndampningsmanifolden og overført på en kationbytter på K⁺-form. 2 ml vann ble benyttet til å eluere prøveløsningen gjennom ionebytteren. Prøveløsningen ble så dampet inn til tørrhet på inndampningsmanifolden. 4 ml acetonitril, 50 µl (0,20 M) α,p-dibromacetofenon og 50 µl (0,02 M) cis-disykloheksano-18-crown-6 ble tilsatt prøven. Løsningen ble blandet godt og satt på vannbad ved 80°C i 1 time.

Etter derivatisering ble løsningen dampet inn til tørrhet på inndampningsmanifolden og løst i 0,5 ml heksan/diklormetan (2:1). Prøveløsningen ble overført på en aktivert (500°C i 3 timer) silikakolonne (2 cm i en pasteurpipette med 0,5 cm i.d.). På silikakolonnen ble prøven vasket med 7 ml heksan/diklormetan (2:1). Bromfenacylestrene ble eluert med 2 ml diklormetan/metanol (95:5). Eluatet ble dampet inn til tørrhet med N₂-gass. Prøven ble tilsatt 25 µl gjenvinningsstandard og fortynnet til 3 ml med heksan. 1 µl ble injisert på GC/MS (56).

3.3 Syntetisering av p-bromfenacylestre

Ett gram av syra ble tilsatt 5 ml vann i en 100 ml rundkolbe og nøytralisert forsiktig med 0,1 M NaOH-løsning. Litt av syra ble så tilsatt slik at løsningen akkurat ga sur reaksjon i litmus (rød, pH=4.5 (57)). 10 ml etanol og 1 gram α,p-dibromacetofenon ble tilført. Løsningen ble kokt på reflux i 1 time, avkjølt og omkrystallisert fra etanol (58).

3.4 Preparering av kationbytter

Preparering av 1 mg Varian (PRS) kationbytter fra H^+ -form til K^+ -form ble utført på følgende måte (56):

1. Kationbytteren ble vasket med 1 ml metanol.
2. 1 ml 1M HCl ble spylt gjennom kationbytteren.
3. Så ble den vasket med 1 ml vann, før 1 ml med mettet KCl løsning ble ført sakte gjennom.
4. Kationbytteren var klar til bruk etter at 1 ml vann hadde vasket ut overskudd av KCl-løsningen.

3.5 Impregnering av glassfiberfilter.

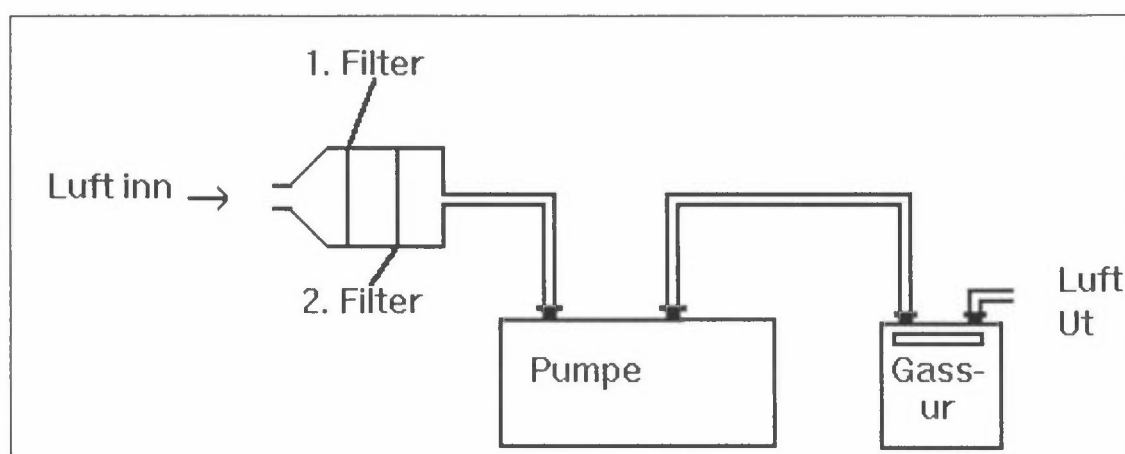
For å unngå organisk kontaminering ble filtrene glødet 3 timer i ovn ved $500^{\circ}C$ før de ble impregnert. De rene filtrene ble så dyppet i 0,18 M KOH-løsning og tørket. Tørkingen ble utført enten i varmeskap ($80^{\circ}C$, 1 time) eller mørkt ved undertrykk og romtemperatur i eksikator. Filtrene som ikke ble benyttet rett etter tørking, ble pakket inn i aluminiumsfolie og oppbevart ved $4^{\circ}C$ i plastpose med lynlås. Impregnerte filtre som var eldre enn 2 døgn ble ikke benyttet på grunn av mulighet for kontaminering fra labluften.

3.6 Prøvetaking av karboksylsyrer i uteluft.

Prøvetakingsutstyret bestod av en pumpe (Gast Corp), et gassur (Contador Gas), teflonslanger, filterholder og filter. Oppsett av utstyret vises skjematisk i figur 3.

Ved prøvetaking ble filterholderne pakket inn i aluminiumsfolie for å unngå fotokjemisk oksidasjon av oppsamlet materiale (27). Pumpa var regulert slik at luftstrømmen gjennom filtrene var ca. 4 l/min (59).

Gassuret viste totalmengde luft gjennom filtrene i eksponeringstiden.



Figur 3: Utstyr for prøvetaking av karboksylsyrer i luft.

3.7 Kvantifisering

Kvantifiseringskurve ble dannet ved at forholdet mellom mengde standard og internstandard ble plottet mot forholdet mellom arealet av standard og internstandard.

Kurven ble trukket på grunnlag av 3 injeksjoner av kvantifiseringsstandard (se pkt. 3.1.2). Responsfaktor mellom standard (analytt) og internstandard ble bestemt og benyttet til å beregne mengde analytt i prøven.

Kvantifiseringsstandard ble plassert i begynnelsen, i midten og slutten av en prøveserie. Ved lange prøveserier ble det kjørt standard hver 5. injeksjon. Dette for å ta opp drifter i kromatogrammet og tap av følsomhet.

For å kunne anngi tap av internstandard ble gjenvinningsstandard (TCN) tilsatt prøven før injeksjon på GC/MS. Responsfaktoren mellom internstandard og gjenvinningstandard ble beregnet utifra analysene av kvantifiseringsstandard. Ved bruk av teoretiske og beregnede verdier av internstandard og gjenvinningstandard ble tap av internstandard bestemt. I vedlegg A er det vist hvordan mengde analytt og gjenvinning av internstandard ble bestemt.

4. Resultater og diskusjon

4.1 Syntetisering av p-bromfenacylestre

Eddiksyre-, D3-eddiksyre-, propionsyre-, og benzosyrederivat av α , p-dibromacetofenon ble syntetisert uten komplikasjoner. Utbyttet av derivatiseringen ble ikke bestemt. Utbyttet kunne likevel ikke relateres til analysemetoden, fordi syntetisering ble utført uten katalysator (cis-disykloheksano-18-crown-6).

Arealene i fullscananalysene ($m/z = 33 - 450$) av derivatene på HP-GCD og HPLC-DAD viste at derivatene hadde renhet i arealprosent på 99%.

Metoden var ikke egnet for syntetisering av maursyrederivat. Når maursyrederivatet ble forsøkt syntetisert, ble α , p-dibromacetofenon brutt ned til p-bromacetofenon og metyl, p-bromfenylester.

Maursyre derivatiserte derimot til p-bromfenacylester ved vanlig prøveopparbeidelse (pkt. 3.2).

I syntesemetoden ble ikke cis-disykloheksano-18-crown-6 benyttet. Det er mulig at den måtte være tilstede ved syntetiseringen for at maursyre skulle derivatisere. En annen årsak kan være at koking på reflux med maursyre til stede førte til dekomponering av α , p-dibromacetofenon og maursyre også. Mulighet for tap av maursyre ved fordampning var større med økt temperatur.

Det ble ikke forsøkt å syntetisere de øvrige syrene (C_4-C_9). Det er grunn til å anta at disse ville derivatisert, da de kjemiske egenskapene er mer lik eddiksyre og propionsyre enn hva maursyre er (51).

4.2 Analysemetoden

4.2.1 Prøveopparbeidelse

Inndampning :

Opprinnelig metode tilsa at prøveløsningen skulle dampes inn til tørrhet etter at den hadde vært gjennom kationbytteren (27). Det var ikke nødvendig. Inndampning til ca. 0,5 ml før tilsetning av acetonitril og derivatiseringsreagensene førte til bedre gjenvinning enn inndampning til tørrhet. Tap av internstandard (og analytt) ved inndampning til tørrhet var trolig den største årsaken til bedre gjenvinning.

Kationbytteren :

Ved tidligere arbeid er det blitt benyttet kationbytter (på K^+ -form) under prøveopparbeidelsen. Opprinnelsen til bruken av kationbytteren var analyse på karboksylsyrer i sjøvann. I sjøvann vil interferenser som Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} gi konkurranse i dannelsen av K^+ -karboksylater (62).

Konsentrasjonen av kationene i atmosfæren ved bakgrunnstasjoner i Norge var ca. $0,06 \mu\text{g}/\text{m}^3$ Ca^{2+} , $0,02 \mu\text{g}/\text{m}^3$ Mg^{2+} og $0,18 \mu\text{g}/\text{m}^3$ Na^+ i 1995 (63). Konsentrasjonene var så høye at det var mulighet for konkurranse i dannelsen av K^+ -karboksylater. Kationbytteren kunne ikke utelukkes ved opparbeidelse av luftprøver.

Silikakolonnen :

I silikakolonnen ble det i opprinnelig metode benyttet silika med partikkelstørrelse 230-400 mesh.

Ved pakking av kolonnen ble det benyttet rensset bomull i bunnen. Silika med partikkelstørrelse 230-400 mesh skapte problemer ved at silikapartikler passerte bomullen og ble med i prøveløsningen som skulle injiseres på GC/MS. Ved bruk av silika med større partikler (70-230 mesh), passerte ingen av silikapartiklene bomullen.

Silikapartikler med størrelse 70-230 mesh viste de samme renseegenskapene som 230-400 mesh. Ved bruk av større partikler eluerte væsken raskere gjennom kolonnen. Som følge av det ble tiden det tok å rense prøvene på silikakolonnen halvert til 10-15 min.

Prøveopparbeidelsestid :

Det tok omtrent 7 timer fra ekstraksjon av KOH-filtret til prøven var klar til analyse på GC/MS. På 8 timer var det mulig å opparbeide 4-5 prøver.

Ved analyse av kun en prøve ville dette blitt en kostbar metode. Med litt effektivisering i prøveopparbeidelsen ville kostnaden pr. analyse blitt redusert betraktlig ved analyse av en prøveserie.

4.2.2 Blindverdier

Metodeblind uten filter :

Det var av interesse å undersøke om reagensene og utstyret som ble benyttet kontaminerte prøvene. Opparbeidelsen ble utført som vanlig (pkt. 3.2), men uten filter. I tilfelle eventuelle matrixeffekter, ble det forsøkt å skape lik matrix som metodeblind med filter. Dette ble utført ved at 8 ml vann ble tilsatt internstandard og lik mengde 0.1 M HCl som med filter. Løsningen ble så pH-justert mellom 8,0-9,0 med KOH før videre opparbeidelse.

Blindverdien av eddiksyre i metodeblindene uten filter var $0,45 \pm 0,15 \mu\text{g}$. Dette utgjorde ca. 5,5 % av måleverdien til eddiksyre ved reelle prøver. Oversikt over blindverdiene er gjengitt i tabell 6.

Blindverdien av eddiksyre ble ikke forandret da det ble forsøkt å rense α , β -dibromacetofenon-løsningen gjennom en silikakolonne før derivatisering.

Metodeblind med filter :

Metodeblind med filter ble utført etter vanlig prøveoppbehandling (pkt. 3.2). Det ble utført metodeblind med filtre som var:

- Glødet ("nøytralt")
- KOH-impregnert
- 1/4 av et KOH-impregnert filter

Betegnelsen nøytralt filter er litt misvisende, da glassfiber har en svakt basisk overflate. Sammenlignet med KOH-impregnert ble filtrene som ikke var KOH-impregnerte omtalt som nøytrale.

Tabell 6 : Blindverdier av eddiksyre i metodeblind uten-, med- og deler av filter.

Filter	μg eddiksyre	Antall paralleller
KOH	$4,90 \pm 0,53$	10
Nøytralt	$4,19 \pm 0,31$	10
1/4 av KOH-filter	$2,58 \pm 0,40$	5
Uten filter	$0,45 \pm 0,15$	5

Forskjellen i blindverdi mellom nøytrale filtre og KOH-impregnerte filtre var liten. Kontaminering av KOH-løsningen var derfor ikke hovedårsaken til den høye blindverdien.

Det var ingen forskjell i blindverdien av eddiksyre når filtrene var tørket ved romtemperatur i eksikator eller 80°C i ovn etter KOH-impregnering.

Oppbevaringen av filter etter impregnering hadde ingen innvirkning på blindverdien av eddiksyre. Analyse av nyimpregnerte filtre og filtre som var oppbevart i 2 døgn viste like blindverdier.

Ved analyse av 1/4 av KOH-filtrene ble mengde eddiksyre halvert.

Blindverdien av eddiksyre i metodeblind uten filter var omtrent 10% av blindverdien med filter.

Ut fra dette kan det konkluderes at filtrene hadde en innvirkning på den høye blindverdien av eddiksyre. Årsaken til at filtret hadde denne innvirkningen var uklar. En mulig årsak var at filtret ble aktivert under gløding. Når filtret kom i løsningen hadde det en katalytisk effekt slik at reagenser, løsemidler eller forurensninger ble dekomponert/oksidert til acetat.

Mulighetene til kontamineringskilde var veldig begrenset da kun vann og D4-eddiksyre var i direkte kontakt med filtret. Selv med kun vann og filter sammen var blindverdien like høy. Etter ekstraksjon ble vannfasen overført til et 10 ml sentrifugeglass hvor HCl og KOH ble tilsatt for pH-justering. Løste glassfibre fulgte med vannfasen over i sentrifugeglasset. Etter pH-justering ble vannfasen dampet inn og eluert gjennom en kationbytter. Etter kationbytteren var all glassfiber fjernet fra løsningen.

Det var liten forskjell mellom KOH-impregnerte og nøytrale filtre så KOH-løsningen var ikke kilden. pH i HCl-løsningen var så lav at mesteparten av eddiksyre som eventuelt var i løsningen var protonert og gått over i gassfase. Vannet og labluften kan ha inneholdt etanol og acetaldehyd som ble oksidert, men ikke i de mengder som blindverdien av eddiksyre tilsa. Metanolen som ble benyttet til å vaske glassutstyret kan ha inneholdt litt etanol. En film av metanol på glassveggen etter skylling med vann ville ikke bidratt nok til å forklare den høye blindverdien. Det var med andre ord ikke helt enkelt "å sette finger'n på" hva som var årsaken til den høye blindverdien av eddiksyre.

Blindverdiene av eddiksyre utgjorde nesten 50 % av måleverdien i uteluftprøver med et prøvevolum på 5,5 m³ luft. Kawamura og Kaplan (K & K) rapporterte blindverdier som ikke oversteg 5 % av måleverdiene. Prøvevolumet var det samme, men måleverdiene var omtrent 5 ganger høyere enn resultatene som presenteres i denne rapporten (27). Hadde måleverdiene som presenteres i dette arbeidet også vært 5 ganger høyere ville blindverdien utgjort ca. 10 %. K & K benyttet kvartsfiberfilter i prøvetakingen. Disse var det vanskelig å få tak i. Glassfiberfilter var benyttet tidligere til prøvetaking av karboksylsyrer (59) og av den grunn ble glassfiberfilter valgt til prøvetaking. Så lenge glassfiberfiltret ble glødet, ble det i utgangspunktet antatt at glassfiberfilter ikke skulle by på større problemer med blindverdier enn kvartsfiberfilter. Så lenge det ikke ble utført forsøk med kvartsfiberfilter kan det ikke fastslås om det var forskjell på filtrene.

Ved videre arbeid bør det gjøres forsøk med kvartsfiber- og andre typer filter for å undersøke hvilken innvirkning filtertypen har på blindverdien av eddiksyre. Det bør også prøves ut om det har noen effekt å gjøre filteroverflaten mindre aktiv. Det kan utføres enten ved vask med vann etter gløding eller skape en mer inert overflate ved å silanisere filtret. En annen mulighet er å KOH-impregnere Sep-PAK C₁₈. Impregnerte Sep-PAK er blitt benyttet til prøvetaking av maursyre og eddiksyre med gode resultater (59).

I mangel av internstandarder til de øvrige karboksylsyrer, ble det beregnet arealforhold mellom eddiksyrederivat og de øvrige syrederivatene som ble

detektert i metodeblindene. Forholdene ble benyttet til å anslå blindverdien av de øvrige karboksylsyrene. Arealforholdene vises i tabell 8.

Tabell 8: Arealforhold mellom eddiksyrederivat og de øvrige karboksylsyre-derivatene som ble detektert i metodeblindene.

Syrederivat	C ₁	C ₂	C ₃	i-C ₄	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	B.S	C ₈
Uten filter	0.101	1.000	0.068	0.032	0.036	0.034	0.159	0.026	0.005	0.008	0.004
Nøytralt	0.042	1.000	0.043	0.023	0.020	0.027	0.135	0.019	0.013	0.023	0.021
KOH	0.037	1.000	0.099	0.038	0.041	0.027	0.126	0.008	0.007	0.009	0.007

B.S = Benzosyrederivat

Bortsett fra maursyre- og heksansyre var forholdene mellom de enkelte syrene i metodeblindene med KOH-filter de samme som rapportert i målinger av uteluft (27).

Mengde heksansyre var 5-10 % høyere enn antatt. Innemiljømålinger på NILU har vist at heksansyre var en av de organiske hovedkomponentene. Et samarbeid med Jotun har vist at dersom det males for tykke lag med maling på veggene, vil heksansyre være en av hovedkomponentene som fordamper fra veggoverflaten (64). Trolig var dette hovedårsaken til den høye blindverdien av heksansyre.

Arealforholdet mellom maursyre og eddiksyre var forventet å ligge mellom 50-150 %.

Arealberegningene ble utført på enkelte ioner av derivatene. For maursyrederivatet ble syreresten ($m/z = 45$) valgt til arealberegning. Ionet hadde en relativ respons på ca. 5 % i forhold til basistoppene ($m/z = 79$ og 81). Basistoppene kunne ikke benyttes til arealberegning da det var koeluering mellom maursyre og α , p -dibromacetofenon, hvor sistnevnte også hadde $m/z = 79$ og 81 som basistopper i spektret (vedlegg B). Det var den største årsaken til at arealforholdet var lavt.

4.3 Analyse på GC/MS

4.3.1 HP GCD

I begynnelsen av arbeidet med denne metoden ble analysene utført på HP GCD. GCD'en ble benyttet til:

- "bli kjent med" metoden
- bestemme renhet til syntetiserte syrederivater
- finne egnet temperaturprogram
- identifisering av syrederivatene i kromatogrammet v.h.a EI-spektre.

Analysetiden på GC/MS ble redusert fra 25 min til 14,5 min ved å benytte *temperaturgradient 3* (pkt. 2.2.2). Figur 4 viser en analyse av syrederivatene hvor denne temperaturgradienten ble benyttet.

EI-spektrene av syrederivatene hadde små molekyliontopper og den eneste forskjellen mellom spektrene var stort sett ionet av syreresten (se vedlegg B).

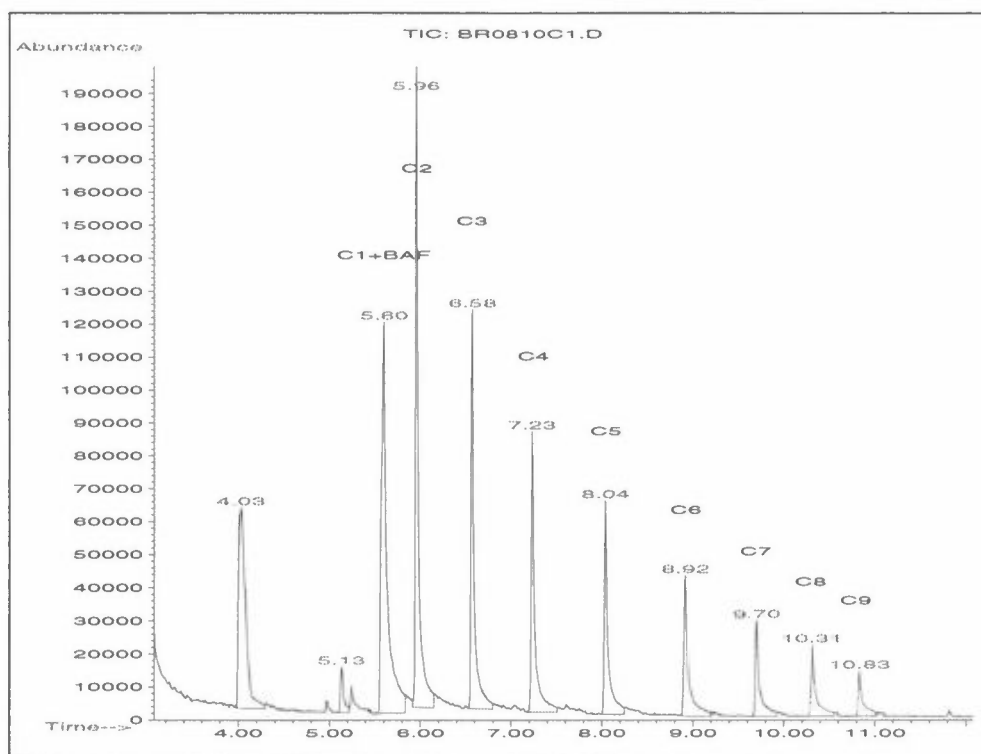
Halogenerte forbindelser har god følsomhet ved bruk av negativ-ion-kjemisk-ionisering-massespektroskopi (NCI). Dette er en mykere ionisering enn EI med større mulighet for dannelsen av molekylion.

Etter at egnet temperaturprogram var funnet, de fleste topper i kromatogrammet identifisert og det var gjort en del forsøk med metoden, ble videre analyse av bromfenacylestre utført på HP-Engine med NCI.

4.3.2 HP Engine, negativ ion, kjemisk ionisering

Scan modus :

Kromatogrammet til en standardløsning hvor ca. 10 ng av hver syre ble derivatisert er gjengitt i figur 4.

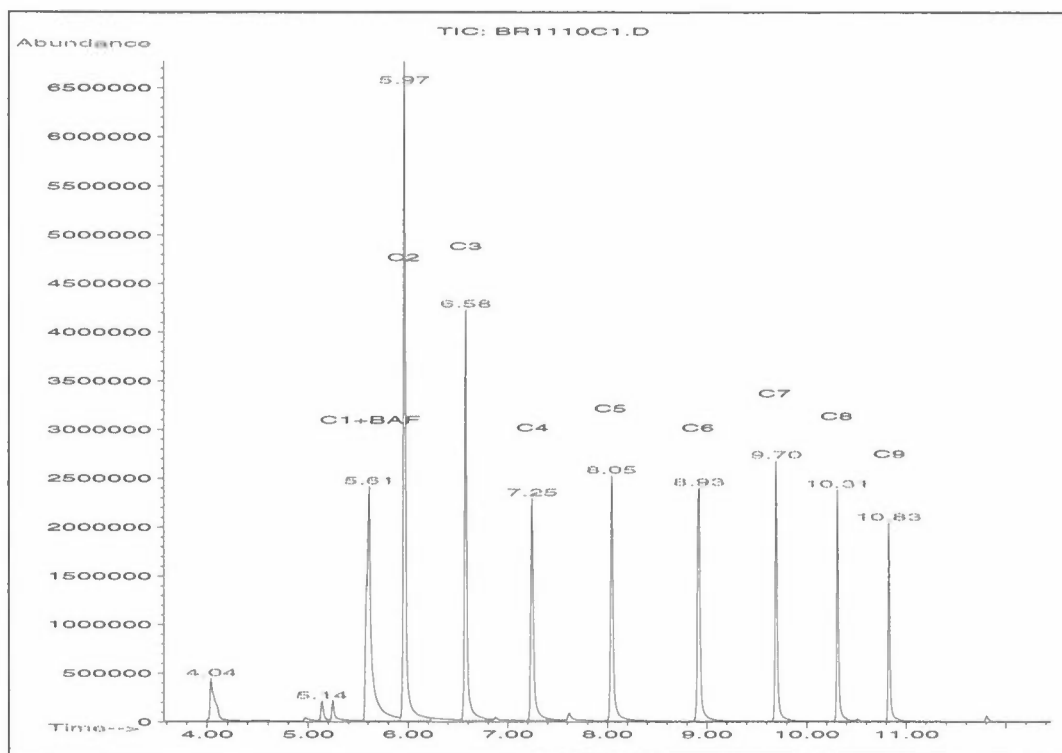


Figur 4: NCI-scan ($m/z=33-450$) av C_1 - C_9 -bromfenacylestre. Ca. 10 ng/ μ l av hver syre ble derivatisert. BAF = α , p-dibromacetofenon.

Det var koelivering mellom maursyrederivatet og derivatiseringsreagenset, α , p-dibromacetofenon. Hverken ionet til syreresten eller molekylionene til maursyrederivatet interfererte med noen av ionene i spektret til α , p-dibromacetofenon. Prøvene som skulle kvantifiseres ble analysert i SIM-modus. Koeliveringen ville derfor ikke skape problemer ved kvantifisering av maursyre.

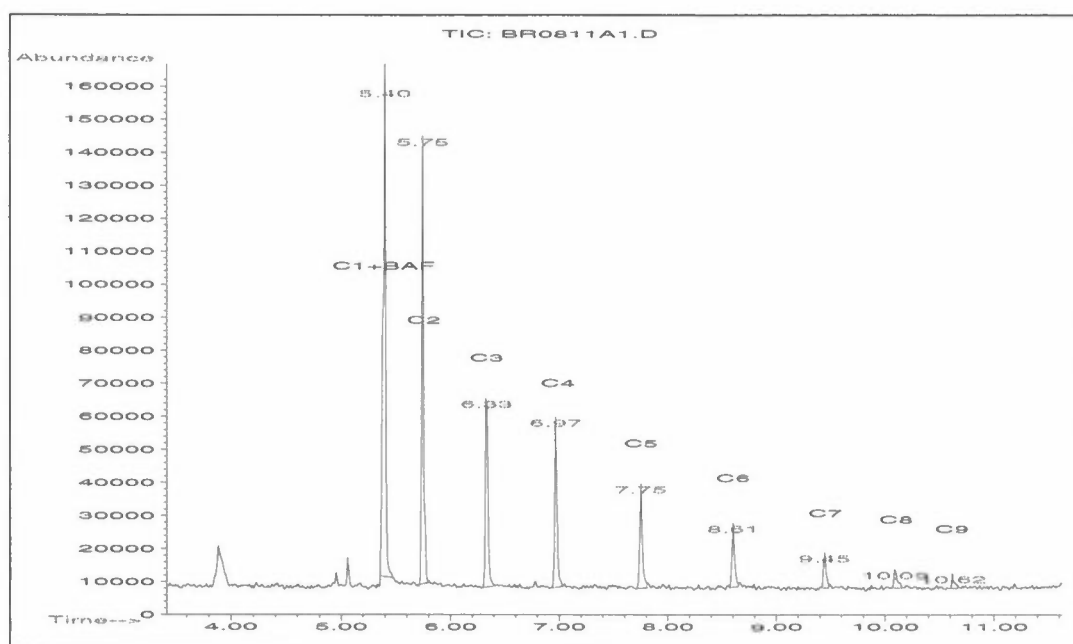
SIM-modus :

Kromatogrammet i figur 5 viser analyse av samme løsning som benyttet i figur 4, men denne gang analysert i SIM-modus. Ionene som ble valgt ut er gjengitt under analysebetingelser, punkt 2.2.2. Ionene var stort sett syrerestene og brom for C_4 - C_9 . For C_1 - C_3 ble også molekylionene målt.



Figur 5: NCI-SIM-analyse av C_1 - C_9 -bromfenacylestre. Ca. 10 ng/ μ l av hver syre ble derivatisert. BAF = α , *p*-dibromacetofenon. Tabell 4 pkt. 2.2.2 viser oversikt over utvalgte ioner.

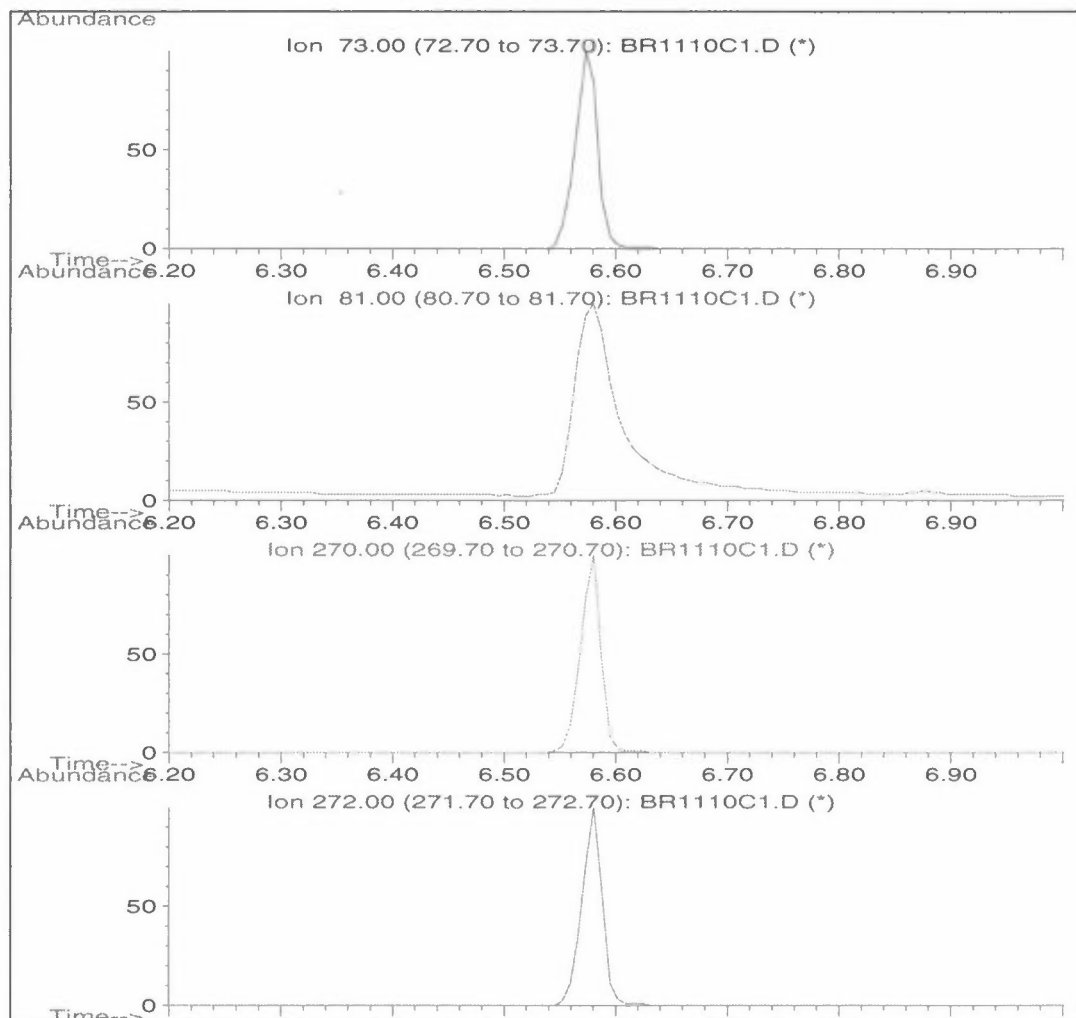
NCI-analysene (Scan og SIM) av bromfenacylestrene i figur 4 og 5 viste at derivatene fikk haledannelse. Ved EI-analysene var ikke haledannelsen å se (figur 6). Ved tidligere arbeid ble analysene utført med EI (27). Det var trolig årsaken til at problemet med haledannelse ikke var nevnt.



Figur 6: EI-scan ($m/z = 33-450$) av C_1 - C_9 av karboksylsyrederivatene. Ca. 10 ng/ μ l av hver syre ble derivatisert. BAF = α , *p*-dibromacetofenon.

NCI-ioneprofilen til syrerestene og molekyllionene var mye bedre og nesten uten haledannelse. Ioneprofilen til brom derimot fikk haledannelse. Ioneprofilen burde i utgangspunktet vært den samme for alle, i og med at de hadde opphav fra samme derivat. Ioneprofilene til propionsyrederivatet vises i figur 7.

En dårlig kolonneoverflate kunne vært årsaken, men analyser med helt ny HP-Ultra 2 kolonne viste fortsatt haledannelse på ioneprofilen til brom.

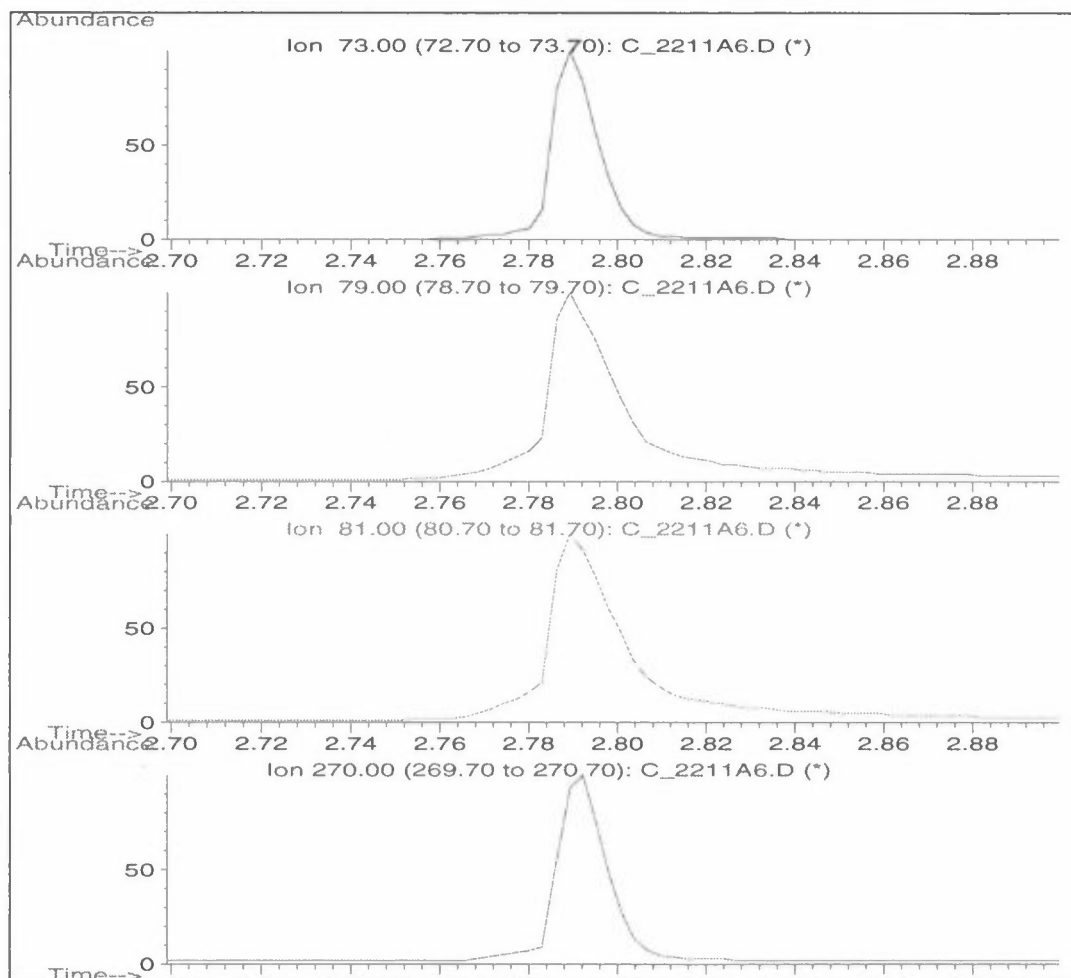


Figur 7: Ioneprofil av ionene til propionsyrederivatet ved NCI-SIM-analyse. $m/z = 73$ målte syreresten, $m/z = 81$ målte brom og $m/z = 270/272$ målte molekyllionene.

NCI-scan viste kun brom i halen til derivatene. Hvis det var en termisk nedbrytning av derivatene på kolonnen, var det rart at de andre nedbrytningsproduktene ikke kunne ses i halen. Dersom det var termisk nedbrytning av derivatene før detektoren ville det bli vanskelig med noen fornuftig kvantifisering.

En annen tenkelig årsak var at noe brom ble sittende igjen på overflaten i ionekilden som metallisk brom og at den ble frigjort etter hvert. Det ble utført forsøk hvor mye kortere og deaktivert kolonne ble benyttet slik at oppholdstiden i GC'en ble så liten som mulig.

2 meter deaktivert silikakolonne med 0,10 mm indre diameter ble benyttet. Temperaturbetingelsene var de samme som benyttet ved vanlig analyse (pkt. 2.2.2) bortsett fra kolonnetemperatur som ble satt til 280°C. Testene ble utført med gasshastighet 1 ml/min. 1 µl av 200 ng/µl propionsyrederivat-løsning ble injisert med ca. 1:50 i splittforhold, slik at eventuell dekomponering i injektor fikk liten innvirkning på resultatet. NCI-ioneprofilene ved disse betingelsene vises i figur 8.



Figur 8: Ioneprofil av ionene til propionsyrederivatet ved NCI-SIM-analyse. $m/z = 73$ målte syreresten, $m/z = 79/81$ målte brom og $m/z = 270$ målte ett av molekyllionene. Analysene ble utført med 2 m deaktivert silikakolonne med 0,10 mm i.d. 1 µl injisert av ca. 200 ng/µl med splittforhold 1:50.

Ioneprofilene i figur 8 viser at ionene av brom fikk mer haledannelse enn syreresten ($m/z = 73$) og molekyllionet ($m/z = 270$). Forskjellen mellom bromionene og de øvrige var ikke så stor som ved ordinær analyse (figur 7). Ved

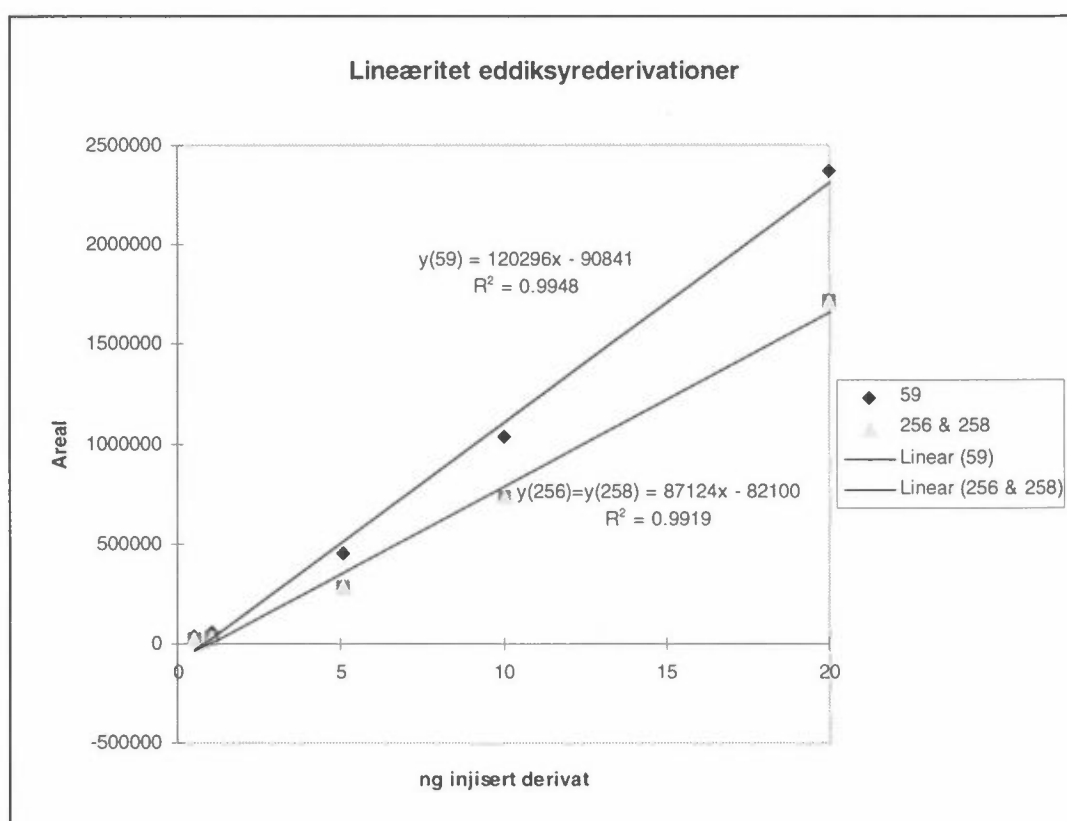
bruk av kort kolonne ble toppbredden ca. halvparten av det den var med lang kolonne. Oppholdstiden i ionekilden var derfor kortere og haledannelseeffekten av den grunn mindre. Dette styrket teorien om at haledannelsen hadde årsak i ionekilden og ikke som følge av termisk nedbrytning på kolonnen.

Deteksjonsgrensen av bromfenacylestrene med GC/MS (EI) ble ved tidligere arbeid bestemt til ca. 10 pmol ~ 2,5 ng eddiksyrederivat (27).

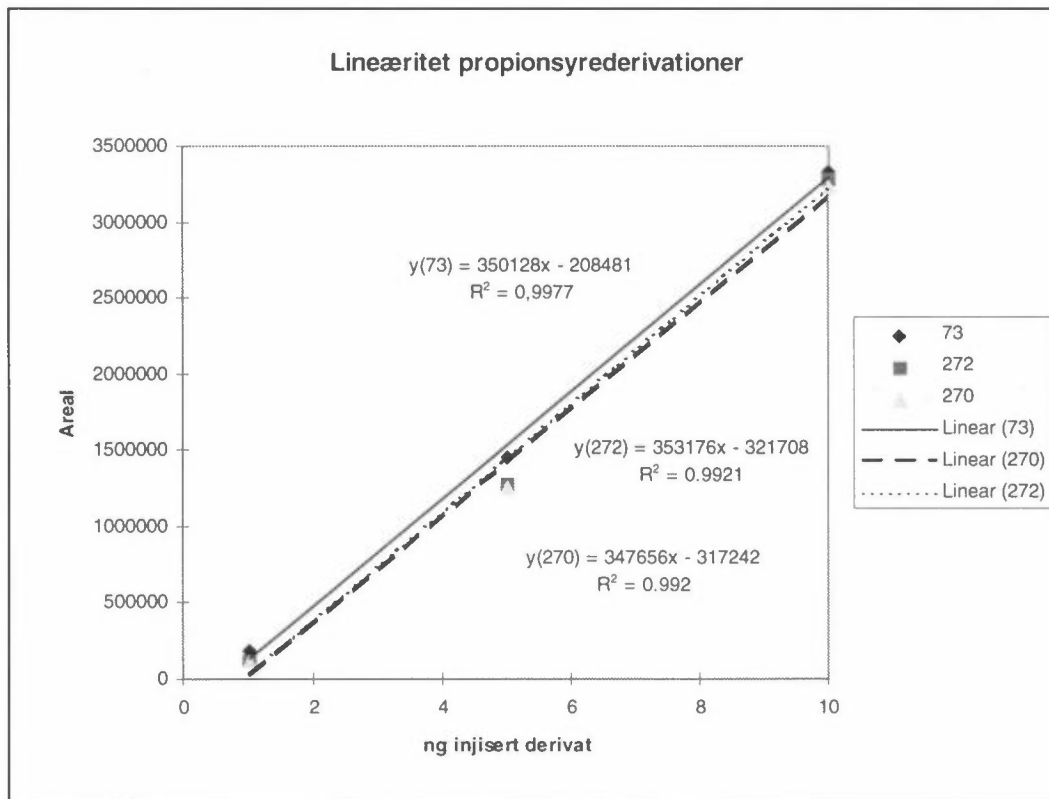
Deteksjonsgrensen av eddiksyrederivat med NCI-scan var ca. 0,5 ng. Ved NCI-SIM ble deteksjonsgrensen senket med mer enn faktor 10.

Lineæritet :

Det ble foretatt lineæritetstest av syrerest- og molekylionene til eddiksyre- og propionsyrederivatet. Figur 9 og 10 viser resultatet av lineæritetstesten.



Figur 9: Lineæriteten til syrerest (59) - og molekylionene (256 og 258) av eddiksyrederivatet.



Figur 10: Lineæriteten til syrerest (73) - og molekylionene (270 og 272) av propionsyrederivatet.

I figur 9 er regresjonen av måleverdiene til 256- og 258-ionene tegnet sammen. Dette ble gjort fordi måleverdiene fulgte hverandre så tett at det var problematisk å separere disse med programvaren som ble benyttet (Excel).

Lineæriteten ble testet fra 0.5 ng til 20 ng injisert eddiksyrederivat og fra 1 ng til 10 ng propionsyrederivat. Ved analyse av reelle prøver var mengde injisert derivat omtrent i dette området. Det lineære forhold mellom mengde derivat injisert og areal av ionene som ble dannet i området, men det kunne virke som om målepunktene hadde en svak krumning. Dersom metoden senere vil bli benyttet til rutineanalyser, bør det lineære området til derivatene bestemmes.

4.4 Identifisering og kvantifisering

Identifisering

Identifisering av p-bromfenacylestrene i kromatogrammene ble utført ved tolkning av deres EI- og NCI-massespektre.

EI-spektrene : (figur 26-34 i vedlegg B)

Felles for alle EI-massespektrene var at de hadde basistopp ved massene $m/z=183/185$ ($\text{COC}_6\text{H}_4\text{Br}$). $\text{C}_1\text{-C}_4$ av syrederivatene hadde svake molekylion-topper. Alle EI-massespektrene viste fragmenter for syrerestene, $m/z=43$ for acetat og $m/z=57$ for propionat osv. Syreresten til maursyrederivatet ville hatt $m/z=29$. Dette var utenfor scanområdet analysene ble utført med ($m/z=33\text{-}450$).

Ellers var ionene $m/z=155/157$ (C_6H_4Br), $m/z=129/131$ (C_4H_2Br), $m/z=104$ (C_6H_4CO), $m/z=76$ (C_6H_4) og $m/z=50$ (C_4H_2) å finne i alle spektrene.

NCI-spektrene : (figur 14-25 i vedlegg B)

Med unntak av maursyre og nonansyre utgjorde syrerestene basistoppen i spektrene. Spektret av maursyre hadde interferenser av α , p-dibromacetofenon. Begge hadde brom i spektrene slik at det ble en kraftig basistopp ved $m/z=79$ og 81 . Syreresten og molekylionene til maursyrederivatet hadde 5% relativ respons i forhold til disse.

Syrerestene i NCI fikk et høyere massetall enn i EI fordi det ble avspalting av hele estergruppa. Spektrene viste syrerestene ved $m/z=45$ for formiat, $m/z=59$ for acetat, $m/z=73$ for propionat osv.

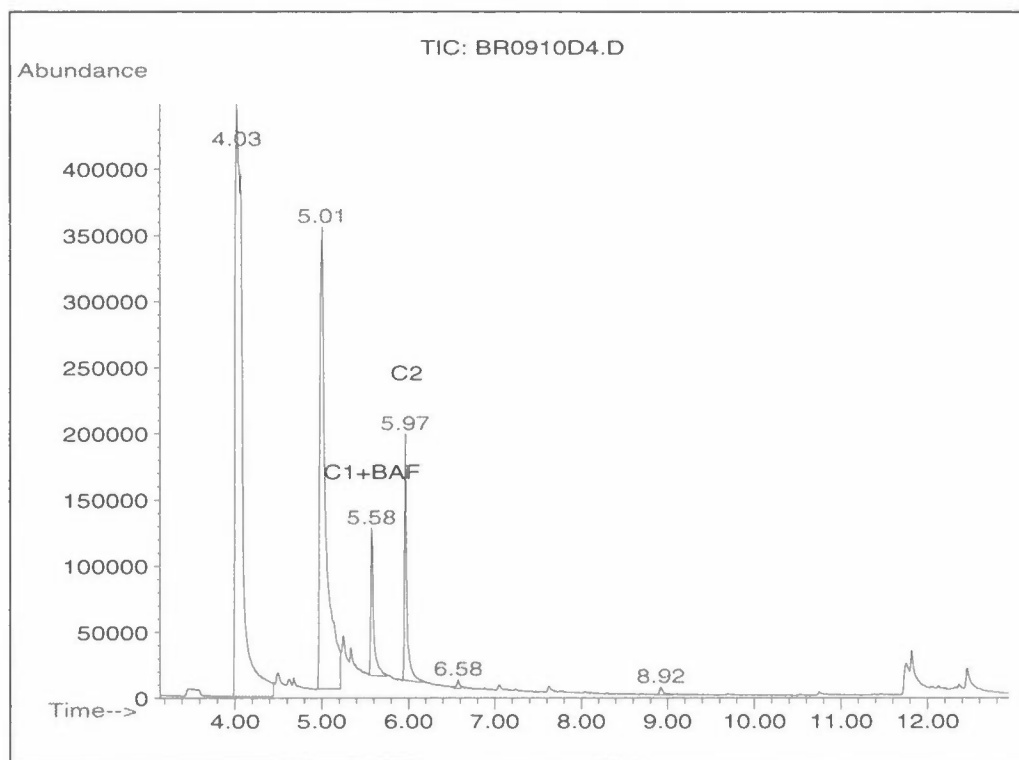
Spektrene viste molekyliontopper for alle bortsett fra oktansyre- og nonansyrederivatet. Relativ responsen av molekylionene til eddiksyrederivatet var ca. 75% i forhold til basisionet. For de øvrige syrederivatene opp til oktansyrederivatet, avtok den relative responsen av molekylionene med kjedelengden til syra.

NCI-spektrene er gjengitt sammen med EI-spektrene i vedlegg B.

Andre detekterte syrederivater og uidentifiserte topper:

i-Butansyrederivat eluerte mellom derivatene av propionsyre og butansyre. Benzosyrederivatet eluerte mellom derivatene av oktansyre og nonansyre. NCI-spektrene av i-butansyre- og benzosyrederivatet vises i vedlegg B.

Ved analyse av metodeblind og reelle prøver eluerte det topper i forkant av maursyrederivatet (se figur 11). De to største toppene var p-bromacetofenon (4,03 min) og metyl, p-bromfenylester (5,01 min). En analyse av α , p-dibromacetofenon løst i heksan viste de samme toppene. Toppene økte ettersom løsningen ble eldre. Analyse av 2 uker gammel standardløsning av syntetisert eddiksyre-, propionsyre- og benzosyrederivat viste ikke disse toppene. Disse derivatene var løst i heksan og kunne ikke sammenlignes med prøvematrix. Man kunne derfor ikke si med sikkerhet at toppene oppstod kun på grunn av nedbrytning av α , p-dibromacetofenon.



Figur 11: NCI-totalionekromatogram av metodeblind som viste høye konsentrasjoner av biproduktene *p*-bromacetofenon (4,03) og metyl, *p*-bromfenylester (5,01).

Internstandard

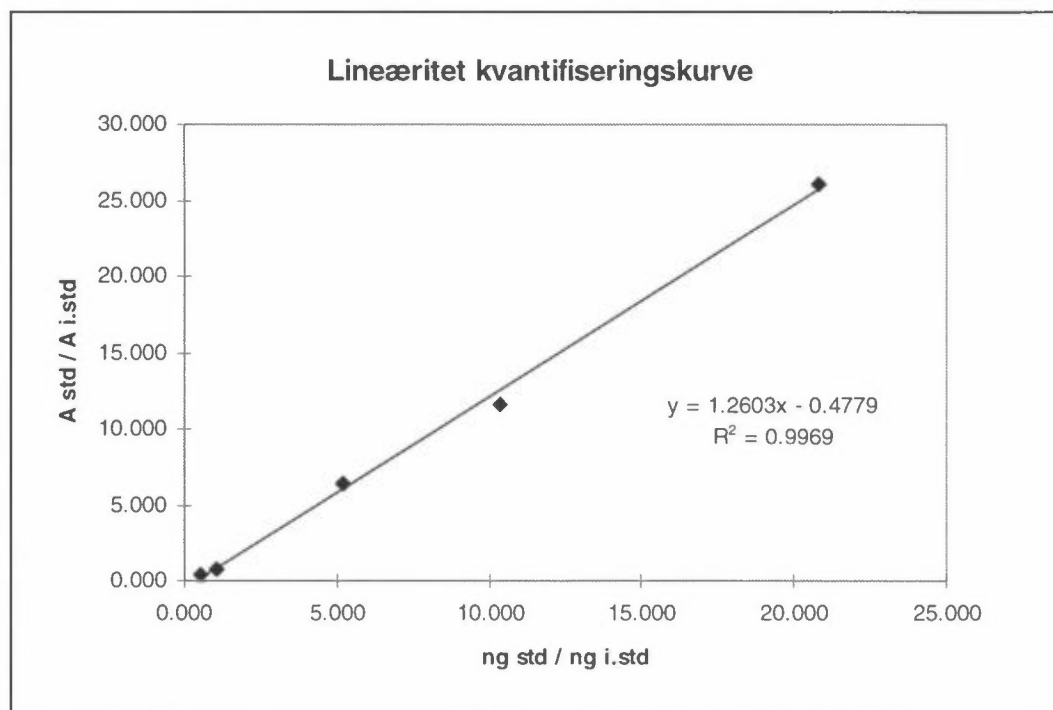
Prøveopparbeidelsen var omfattende, og prøveløsningen varierte fra polar til upolar. Fluorerte syrer kunne vært benyttet som internstandard (i.std). På grunn av mye inndamping under prøveopparbeidelsen, og at fluorerte syrer ville gitt forskjellig damptrykk fra opprinnelige syrer, var isotopmerkede syrer best egnet. Isotopmerkede syrer var kostbart. Derfor ble det kun anskaffet deuterium-merket eddiksyre til uttesting av metoden. Eddiksyra hadde byttet ut alle hydrogen med deuterium. Molekylionene til derivatisert internstandard ble av den grunn 3 masseenheter høyere enn eddiksyrederivatet.

Den første molekyliontoppen ($m/z=259$) interfererte med C_{13} -toppen til den andre molekyliontoppen til eddiksyrederivatet ($m/z=258$). Teoretisk ga C_{13} -toppen et bidrag på 11% av $m/z=258$. Ved kvantifisering ble forholdet mellom 258-ionet og 261-ionet benyttet.

Kvantifisering

Kvantifiseringskurve ble dannet ved at forholdet mellom mengde standard og internstandard ble plottet mot forholdet mellom arealet av standard og internstandard. Kurven som ble dannet (fig. 12) viste god lineæritet. Av den grunn ble 1 punkts "kurve" (trukket mellom origo og punktet) benyttet til kvantifisering av eddiksyrederivatet. I analytisk øyemed er ikke 1 punkts kvantifiseringskurve fullgodt fordi usikkerheten i resultatene vil bli større enn ved bruk av flere punkter. Til det formål dette arbeidet hadde var ikke usikkerheten større enn at

resultatene kunne benyttes. Dersom metoden vil bli tatt i bruk etter videre arbeid, bør kvantifiseringskurven baseres på mer enn 1 punkt.



Figur 12: Lineæriteten til forholdet mellom standard og internstandard (kvantifiseringskurve).

Gjenvinning av internstandard varierte mellom 10-75 % når prøveløsningen ble dampet inn til tørrhet mellom opparbeidelsestrinnene. Gjenvinningen varierte mellom 40-90 % dersom prøveløsningen ikke ble dampet inn til tørrhet mellom opparbeidelsestrinnene.

Forsøkene viste at gjenvinningen økte, men at den fortsatt varierte en del. Trolig var tap ved fordampning og de mange trinnene i opparbeidelsen største årsak til variasjonene.

4.5 Reelle prøver

Det ble foretatt en serie uteluft prøver. Prøvene ble tatt i oktober 1996 ved NILU på Kjeller. Det ble utført parallell prøvetaking hver prøvedag. Forskjellige kombinasjoner av filter ble benyttet. Tabell 8 gir en oversikt over resultatene av disse målingene. Det er ikke korrigert for blindverdiene, men anmerket UB (under blind) der så var tilfelle. Mengde eddiksyre angitt i tabellen var derfor høyere enn reell verdi.

Tabell 8: Mengde eddiksyre i uteluftprøver ved NILU, Kjeller i oktober 1996.

	Prøvedato	Filter	µg/m ³ eddiksyre i uteluft, NILU
Nr 1 Klokkeslett Mengde	2-3.10.96 0823-0903 6,29 m ³	KOH	2,53
Nr 2 Klokkeslett Mengde	2-3.10.96 0823-0903 6,13 m ³	KOH	2,92
Nr 1 Klokkeslett Mengde	3-4.10.96 1007-0840 5,34 m ³	1.filter (KOH) 2.filter (KOH)	1,61 0,58 (UB)
Nr 2 Klokkeslett Mengde	3-4.10.96 1007-0840 5,44 m ³	1.filter (KOH) 2.filter (KOH)	1,30 0,38 (UB)
Nr 1 Klokkeslett Mengde	4-5.10.96 0935-0933 5,65 m ³	1.filter (Nøytralt) 2.filter (KOH)	0,66 2,04
Nr 2 Klokkeslett Mengde	4-5.10.96 0935-0933 5,95 m ³	1.filter (Nøytralt) 2.filter (KOH)	0,76 1,86
Nr 1 Klokkeslett Mengde	8-9.10.96 0900-0838 5,66 m ³	1.filter (Nøytralt) 2.filter (KOH)	0,93 1,96
Nr 2 Klokkeslett Mengde	8-9.10.96 0900-0838 5,81 m ³	1.filter (KOH) 2.filter (KOH)	1,55 0,78 (UB)
Nr 1 Klokkeslett Mengde	20-21.10.96 1500-0835 4,02 m ³	1.filter (KOH) 2.filter (KOH)	1,77 1,16 (UB)
Nr 2 Klokkeslett Mengde	20-21.10.96 1500-0835 4,34 m ³	1.filter (KOH) 2.filter (KOH)	1,93 1,00 (UB)
Nr 1 Klokkeslett Mengde	21-22.10.96 1100-0913 4,98 m ³	1.filter (Nøytralt) 2.filter (KOH)	0,75 1,61
Nr 2 Klokkeslett Mengde	21-22.10.96 1100-0913 5,48 m ³	1.filter (Nøytralt) 2.filter (KOH)	0,57 1,77
Nr 1 Klokkeslett Mengde	23-24.10.96 0853-0852 5,3 m ³	1.filter (Nøytralt) 2.filter (KOH)	0,89 2,19
Nr 2 Klokkeslett Mengde	23-24.10.96 0853-0852 5,73 m ³	1.filter (KOH) 2.filter (KOH)	2,35 0,97

UB = under den beregnede middelværdien av blindverdiene til eddiksyre.

Resultatene viste at noe eddiksyre ble samlet opp på filtrene som ikke var impregneret (nøytralt). Mesteparten av eddiksyra ble samlet opp på det første

KOH-filtret og noe ble samlet opp på KOH-filter nummer to (gjennombrudd filter 1). Dette var i samsvar med tidligere arbeid (27).

De to parallelle måleresultatene pr. analysedag ble sammenlignet for å se om disse var reproducerbare.

Tabell 9: Sammenligning av eddiksyrekonsentrasjonen i de forskjellige parallellene pr. analysedag.

Parallell	2-3.10.96	3-4.10.96	4-5.10.96	21-21.10.96	21-22.10.96
Nr 1	2.53	1.61	2.04	1.77	1.61
Nr 2	2.92	1.3	1.86	1.93	1.77
Snitt	2.72	1.46	1.95	1.85	1.69

Den vesentligste årsaken til forskjellen i parallellene var variasjoner i blindverdiene. Store variasjoner i gjenvinningen kan også ha influert på nøyaktigheten i målingene.

Det ble beregnet arealforhold mellom eddiksyrederivat og de øvrige syrederivatene som ble detektert i luftprøvene. Arealforholdene vises i tabell 10.

Tabell 10: Arealforhold mellom eddiksyrederivat og de øvrige syrederivatene som ble detektert i luftprøvene.

Syrederivat	C ₁	C ₂	C ₃	i-C ₄	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C _n	B.S	C _n
C ₁ /C ₂	0.030	1.000	0.152	0.029	0.051	0.023	0.115	0.007	0.006	0.006	0.007

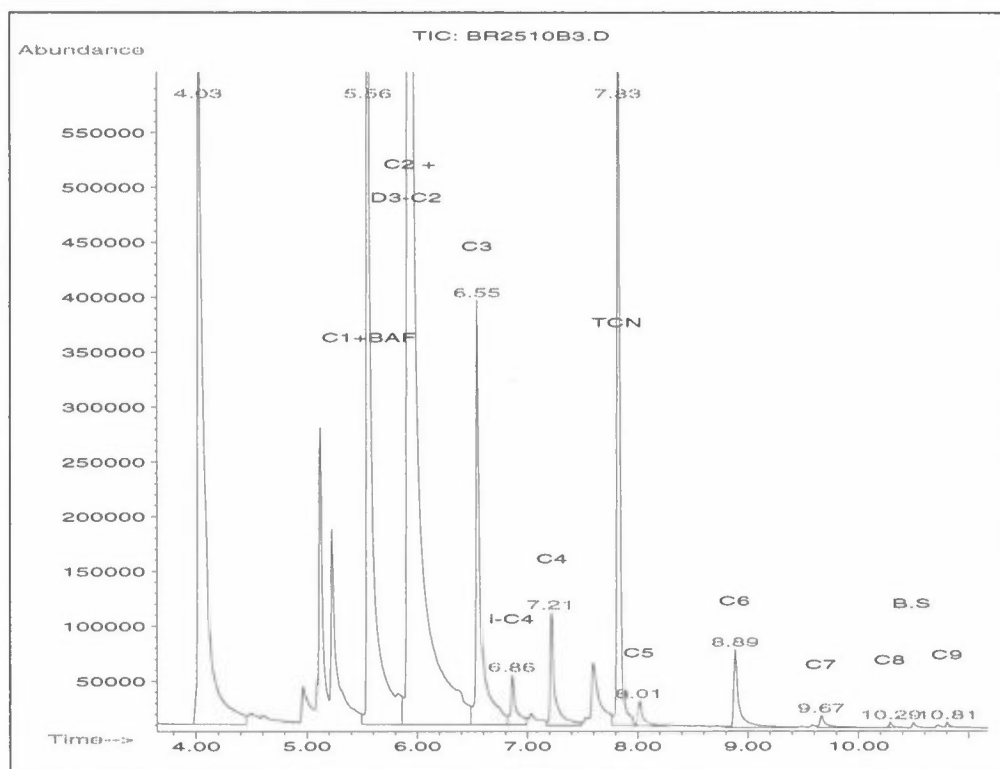
B.S = Benzosyre

For maursyrederivatet var arealforholdene lavere og heksansyrederivatet høyere enn forventet. For de øvrige syrene var det samsvar med det som er rapportert i målinger av uteluft (27).

Mengde heksansyre var 5-10% høyere enn antatt. Det var det samme som ble funnet i metodeblindene. Uteluftprøvene ble tatt ca. 0,5 m utifra veggen til NILU's målebu. Denne veggen var malt og kan ha bidratt til ekstra høye verdier for heksansyre (jf. pkt. 4.2.3).

Det lave arealforholdet mellom maursyre og eddiksyre skyldes hovedsakelig den lave responsen til ionet som maursyre ble målt ved. Fremstillingen var derfor ikke noe godt mål på forholdet mellom disse. Forholdet vil først kunne fastslås når en standard av maursyre er syntetisert.

Figur 13 viser kromatogrammet til en analyse av karboksylsyrer i uteluft.



Figur 13: Karboksylsyrer i uteluft, derivatisert til bromfenacylestre og analysert med GC/MS-NCI i SIM-modus. 1µl injisert. BAF = dibromacetofenon, BS = benzosyre, TCN = tetraklornaftalen (gjenvinningsstandard), D3-C2 = deutrert eddiksyrederivat (internstandard).

5. Konklusjon

Metoden som er blitt testet ga høy blindverdi av eddiksyre. Den høye blindverdien av eddiksyre ble påvist når glassfiberfiltret som ble benyttet til prøvetaking ble tatt med i metodeblindene. Årsaken til at blindverdien var høy, selv for metodeblind med filtre som ikke var impregnert, er foreløpig ikke forstått.

Prøveopparbeidelsen i metoden var omfattende og tidkrevende. Det tok omtrent 7 timer å opparbeide en prøve, mens det tok 8 timer å opparbeide 4-5 prøver. Analyse på GC/MS med NCI istedenfor EI senket deteksjonsgrensen fra ca. 2,5 ng til 0,5 ng eddiksyrederivat med NCI-scan.

NCI-analysene viste haledannelse av derivatene i kromatogrammene. Dette var ikke å se i EI-analysene. Årsaken til haledannelsen hadde trolig opphav i ionekilden.

Dersom videre arbeid med metoden kan redusere blindverdien av eddiksyre, og komme fram til en syntesemetode som syntetiserer maursyre til bromfenacylester, har metoden et potensiale til å bli benyttet som rutineanalyse for karboksylsyrer i luft.

6. Til videre arbeid

Ved videre arbeid må forbehandling av glassfiberfiltre og andre typer filter testes for undersøke om det vil redusere blindverdien av eddiksyre.

En forbehandling av glassfiberfilter vil omfatte vask med vann før impregnering for å deaktivere filteroverflaten. Filteroverflaten kan også gjøres mer inert ved silanisering.

Kvartsfiberfilter og andre typer som f. eks teflonfilter og papirfilter må testes for å undersøke om forskjellige filtertyper har forskjellig innvirkning på blindverdien av eddiksyre.

KOH-impregnert Sep-PAK C₁₈ er en mulighet som også kan forenkle prøvetaking og ekstraksjon av syrene.

For å kunne kvantifisere maursyre må det syntetiseres bromfenacylester av maursyre. En mulighet er å tilsette katalysatoren cis-disylkloheksano-18-crown-6 til den opprinnelige syntesemetoden (pkt. 3.3), hvorpå derivatet blir rensert på stor silikakolonne og eventuelt omvendt fase. Det er mulig at temperaturen må senkes og reaksjonstid økes.

7. Referanser

- (1) Galloway, J.N., Likens, G.E., Keen, W.C. and Miller, J.M. (1982) The composition of precipitation in remote areas in the world. *J. Geophys. Res.*, 87, 8771-8786.
- (2) Keene, W.C., Galloway, J.N. and Holden, J.D. (1983) Measurements of weak organic acidity in precipitation from remote areas of the world. *J. Geophys. Res.*, 88, 5122-5130.
- (3) Kawamura, K. and Kaplan, I.R. (1983) Organic compounds in the rainwater of Los Angeles. *Environ. Sci. Technol.*, 17, 497-501.
- (4) Guiang, S.F., Krupa, S.V. and Pratt, G.C. (1984) Measurements of S(IV) and organic anions in Minnesota rain. *Atmos. Environ.*, 18, 1677-1682.
- (5) Keene, W.C. and Galloway, J.N. (1984) Organic acidity in precipitation of North America. *Atmos. Environ.*, 18, 2491-2497.
- (6) Dayan, U., Miller, J.M., Keene, W.C. and Galloway, J.N. (1985) An analysis of precipitation chemistry data from Alaska. *Atmos. Environ.*, 19, 651-657.
- (7) Norton, R.B. (1985) Measurements of formate and acetate in precipitation at Niwot Ridge and Boulder, Colorado. *Geophys. Res. Lett.*, 12, 769-772.
- (8) Chapman, E.G., Sklarew, D.S. and Flickinger, J.S. (1986) Organic acids in springtime Wisconsin precipitation samples. *Atmos. Environ.*, 20, 1717-1726.
- (9) Likens, G.E., Keene, W.C., Miller, J.M. and Galloway, J.N. (1987) Chemistry of precepitation from a remote, terrestrial site in Australia. *J. Geophys. Res.*, 92, 13299-13214.

- (10) Andreae, M.O., Talbot, R.W., Berresheim, H. and Beecher, K.M. (1990) Precipitation chemistry in Central Amazonia. *J. Geophys. Res.*, *95*, 16987-16999.
- (11) Talbot, R.W., Beecher, K.M., Harriss, R.C. and Cofer, W.R. (1988) Atmospheric geochemistry of formic and acetic acids at a mid-latitude temperate site. *J. Geophys. Res.*, *93*, 1638-1652.
- (12) Sanhueza, E., Ferrer, Z., Romero, J. and Santana, M. (1991) HCHO and HCOOH in tropical rains. *Ambio*, *20*, 115-118.
- (13) Gillett, R.W., Ayers, G.P. and Noller, B.N. (1990) Rainwater acidity at Jabiru, Australia, in the wet season of 1983/84. *Sci. Tot. Environ.*, *92*, 129-144.
- (14) Kawamura, K. and Kaplan, I.R. (1986) Biogenic and anthropogenic organic compounds in rain and snow samples collected in southern California. *Atmos. Environ.*, *20*, 115-124.
- (15) Winiwarter, W., Puxbaum, H., Fuzzi, S., Facchini, M.C., Orsi, G., Beltz, N., Enderle, K. and Jaeschke, W. (1988) Organic acid gas and liquid-phase measurements in Po Valley fall-winter conditions in the presence of fog. *Tellus*, *40B*, 348-357.
- (16) Pierson, W.R. and Brachaczek, W.W. (1990) Dew chemistry and acid deposition in Glendora, California during the 1986 carbonaceous species methods comparison study. *Aerosol Sci. Technol.*, *12*, 8-27.
- (17) Norton, R.B., Roberts, J.M. and Huebert, B.J. (1983) Tropospheric oxalate. *Geophys. Res. Lett.*, *10*, 517-520.
- (18) Andreae, M.O., Talbot, R.W. and Li, S.M. (1987) Atmospheric measurements of pyruvic and formic acid. *J. Geophys. Res.*, *92*, 6635-6645.
- (19) Satsumabayashi, H., Kurita, H., Yokouchi, Y. and Ueda, H. (1990) Photochemical formation of particulate dicarboxylic acids under long-range transport in Central Japan. *Atmos. Environ.*, *24A*, 1443-1450.
- (20) Dawson, G.A. and Farmer, J.C. (1988) Soluble atmospheric trace gases in the southwestern United States. 2. Organic species HCHO, HCOOH, CH₃COOH. *J. Geophys. Res.*, *93*, 5200-5206.
- (21) Hanst, P.L., Wong, N.W. and Bragin, J. (1982) A long-path infra-red study of Los Angeles smog. *Atmos. Environ.*, *16*, 969-981.
- (22) Grosjean, D. (1988) Aldehydes, carboxylic acids and inorganic nitrate during NSMCS. *Atmos. Environ.*, *22*, 1637-1648.
- (23) Grosjean, D. (1990) Liquid chromatography analysis of chloride and nitrate with "negative" ultraviolet detection: Ambient levels and relative abundance of gas-phase inorganic and organic acids in Southern California. *Environ. Sci. Technol.*, *24*, 77-81.
- (24) Jacob, D.J. (1986) Chemistry of OH in remote clouds and its role in the production of formic acid and peroxy monosulfate. *J. Geophys. Res.*, *91*, 9807-9826.
- (25) Atkinson, R. and Lloyd, A.C. (1984) Evaluation of kinetic and mechanistic data for modeling of photochemical smog. *J. Phys. Chem. Ref. Data*, *13*, 315-444.
- (26) Madronich, S. and Calvert, J.G. (1990) Permutation reactions of organic peroxy radicals in the troposphere. *J. Geophys. Res.*, *95D*, 5697-5715.

- (27) Kawamura, K., Lai-Ling, N. and Kaplan, I.R. (1985) Determination of organic acids (C₁-C₁₀) in the atmosphere, motor exhausts, and engine oils. *Environ. Sci. Technol.*, 19, 1082-1086.
- (28) Grosjean, D. (1989) Organic acids in Southern California air: Ambient concentrations, mobile source emissions, in situ formation and removal processes. *Environ. Sci. Technol.*, 23, 1506-1514.
- (29) Talbot, R.W., Andreae, M.O., Berresheim, H., Jacob, D.J. and Beecher, K.M. (1990) Sources and sinks of formic, acetic and pyruvic acids over Central Amazonia, 2, Wet season. *J. Geophys. Res.*, 95, 16799-16811.
- (30) Graedel, T.E. and Weschler, C. J. (1981) Chemistry within aqueous atmospheric aerosols and raindrops. *Rev. Geophys. Space Phys.*, 19, 505-539.
- (31) Calvert, J.G. and Stockwell, W.R. (1983) Acid generation in the troposphere by gas-phase chemistry. *Environ. Sci. Technol.*, 17, 428A-443A.
- (32) Duce, R.A., Mohnen, V.A., Zimmermann, P.R., Grosjean, D., Cautreels, W., Chatfield R., Jaenicke R., Ogren, J.A., Pellizzari, E.D. and Wallace, G.T. (1983) Organic material in the global troposphere. *Rev. Geophys. Space Phys.*, 21, 921-952.
- (33) Su, F., Calvert, J.G. and Shaw, J.H. (1979) Mechanism of the photooxidation of gaseous formaldehyde. *J. Phys. Chem.*, 83, 3185-3191.
- (34) Keene, W.C and Galloway, J.N. (1986) Considerations regarding sources for formic and acetic acids in the troposphere. *J. Geophys. Res.*, 91, 14466-14474.
- (35) Khwaja, H.A.(1994) Atmospheric concentrations of carboxylic acids and related compounds at a semiurban site. *Atmos. Environ.*, 29, 127-139.
- (36) Schilling, M. and Klockow, D. (1993) Determination of C₁-C₃ carboxylic acids in air with diffusion controlled sampling at elevated flow rates. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 346, 738-744.
- (37) Grosjean, D., Van Neste, A. and Parmar, S.S.(1989) Analysis of atmospheric carboxylic acids using single column ion exclusion chromatography with ultraviolet detection. *J. Liq. Chromatogr.*, 12, 3007-3017.
- (38) Brocco, D. and Tappa, R. (1986) Determination of organic and inorganic acid species in the atmosphere and in rain-water by ion chromatography. *J. Chromatogr.*, 367, 240-246.
- (39) Simon, P., Brand, F. and Lemacon, C. (1989) Florisil sorbent sampling and ion chromatographic determination of airborne aliphatic carboxylic acids. *J. Chromatogr.*, 479, 445-451.
- (40) Hekmat, M. and Smith, R.G. (1991) Determination of low molecular weight organic acids collected on silica gel air sampling tubes by using ion-exclusion chromatography. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 52, 332-335.
- (41) Vohra, K. and Gaiind, V.S. (1992) Gas chromatographic determination of airborne organic acids via their anilides. *Analyst*, 117, 1567-1570.
- (42) Horikava. R. and Tanimura, T. (1982) Spectrophotometric determination of carboxylic acids with 2-nitrophenylhydrazine in aqueous solution. *Anal. Lett.*, 15, 1629-42.

- (43) Miwa, H. and Yamamoto, M. (1986) Improved method of determination of biologically important C10:0-C22:6 fatty acids as their 2-nitrophenylhydrazides by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 351, 275-282.
- (44) Coenen, A.J.J.M., Kerkhoff, M.J.G., Heringa, R.M and van der Wal, S. (1992) Comparison of several methods for the determination of trace amounts of polar aliphatic monocarboxylic acids by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 593, 243-252.
- (45) Miwa, H., Hiyama, C. and Yamamoto, M. (1985) High-performance liquid chromatography of short- and long-chain fatty acids as 2-nitrophenylhydrazides. *J. Chromatogr.*, 321, 165-174.
- (46) Miwa, H. and Yamamoto, M. (1988) Reversed-phase ion-pair chromatography of straight- and branched- chain dicarboxylic acids in urine as their 2-nitrophenylhydrazides. *Anal. Biochem.*, 170, 301-307.
- (47) Légrádi, L. (1971) Spot Test of Carboxylic Acids. *Microchem. J.*, 16, 1-4.
- (48) Munson, J.W. and Bilous, R. (1977) Colorimetric determination of aliphatic acids. *J. Pharm. Sci.*, 66, 1403-1405.
- (49) Miwa, H., Yamamoto, M. and Momose, T. (1980) Colometric detection and determination of carboxylic acids with 2-nitrophenylhydrazine hydrochloride. *Chem. Pharm. Bull.*, 28, 599.
- (50) Bischler, A. (1889) Ueber Orthonitrophenylhydrazin. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 22, 2801.
- (51) CRC (1985) Handbook of Chem. and Phys. 66th ed. Boca Raton, CRC Press. D-161.
- (52) Neitzert, V. and Seiler, W. (1981) Measurement of formaldehyde in clean air. *Geophys. Res. Lett.*, 8, 79-82.
- (53) Lawrence, J.E. and Koutrakis, P. (1994) Measurement of atmospheric formic and acetic acids: Methods evaluation and results from field studies. *Environ. Sci. Technol.*, 28, 957-964.
- (54) Sempèrè, R. and Kawamura, K. (1994) Comparative distributions of dicarboxylic acids and related polar compounds in snow, rain and aerosols from urban atmosphere. *Atmos. Environ.*, 28, 449-459.
- (55) Blau, K. and Halket, J. M. (1993) Handbook of derivatives for chromatography 2nd ed. Wiley, Chichester. p.19.
- (56) Kawamura, K. and Kaplan, I.R. (1984) Capillary gas chromatography determination of volatile organic acids in rain and fog samples. *Anal. Chem.*, 56, 1616-1620.
- (57) Merck & Co. (1993) The Merck Index 10th ed. Rahway, N.J. p.5374.
- (58) Shriner, R.L., Fuson, R.C. and Curtin, D.Y. (1964) The systematic identification of organic compounds. 5th ed. New York, Wiley. p.235.
- (59) Grosjean, D. (1990) Formic acid and acetic acid measurements during the Southern California air quality study. *Atmos. Environ.*, 24, 2699-2702.
- (60) Grosjean, D. (1989) Organic acids in Southern California air: Ambient concentrations, mobile source emissions, in situ formation and removal processes. *Environ. Sci. Technol.*, 23, 1506-1514.

- (61) Kumar, N, Kulshreshata, U.C., Saxena, A., Kumari, K.M. and Srivastava, S.S. (1993) Effect of anthropogenic activity on formate and acetate levels in precipitation at four sites in Agra, India. *Atmos. Environ.*, 27, 87-91.
- (62) Barcelona, M.J., Liljestrand, H.M. and Morgan, J.J. (1980) Determination of low molecular weight volatile fatty acids in aqueous samples. *Anal. Chem.*, 52, 321-325.
- (63) Tørseth, K. (1996) Overvåking av langtransportert forurenset luft og nedbør. Atmosfærisk tilførsel, 1995. Kjeller (NILU OR 38/96).
- (64) Schmidbauer, N. (1996) NILU. Ikke-publiserte resultater.

Vedlegg A

Beregning av responsfaktor, mengde analytt og gjenvinning

Responsfaktor :

Responsfaktor, Rf_i , ble beregnet utifra analysene av kvantifiseringsstandarden (se pkt 3.2.1).

Mengde internstandard (I.STD) og standard (i) injisert var kjent.

$$Rf_i = \frac{\text{mengde}_{I.STD} \cdot \text{areal}_i}{\text{mengde}_i \cdot \text{areal}_{I.STD}}$$

Mengde analytt eller gjenvinningstandard i prøven :

$$\text{Mengde}_i = \frac{\text{mengde}_{I.STD} \cdot \text{areal}_i}{Rf_i \cdot \text{areal}_{I.STD}}$$

Mengde_i var den beregnede mengde syrederivat i prøven. Mengde gjenvinningsstandard, GJ.STD, ble beregnet på samme måte.

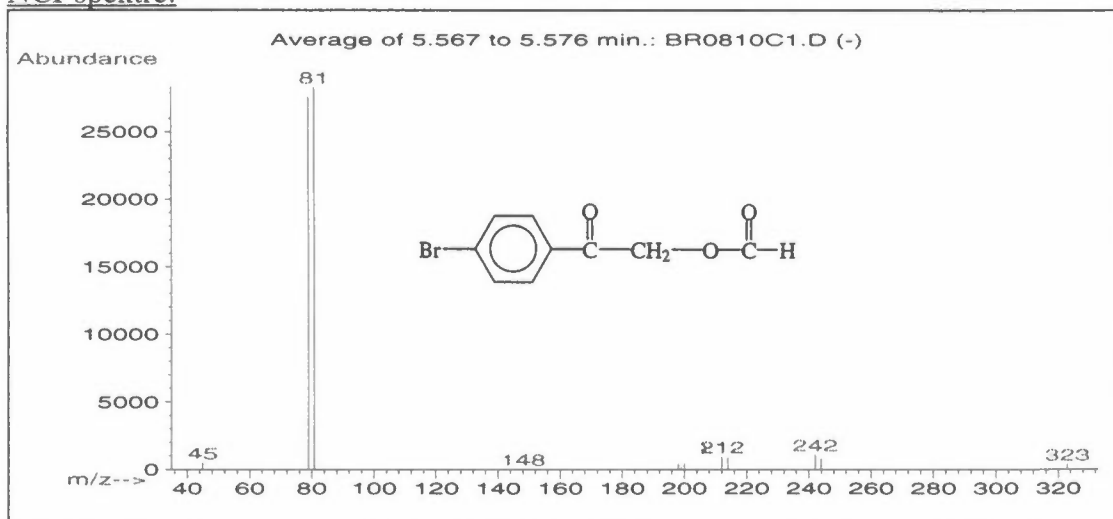
Gjenvinning :

$$\% \text{ Gjenvinning} = \left(\frac{1}{\frac{\text{mengde}_{GJ.STD} \text{ funnet i prøven}}{\text{mengde}_{GJ.STD} \text{ tilsatt i prøven}}} \right) \cdot 100$$

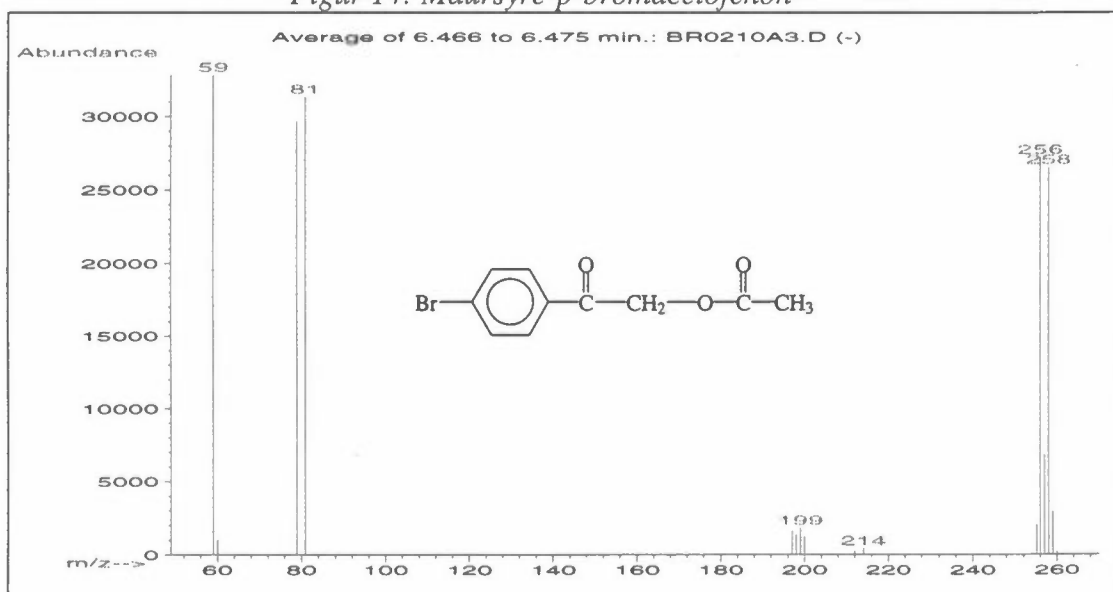
Vedlegg B

NCI- og EI-massespektre

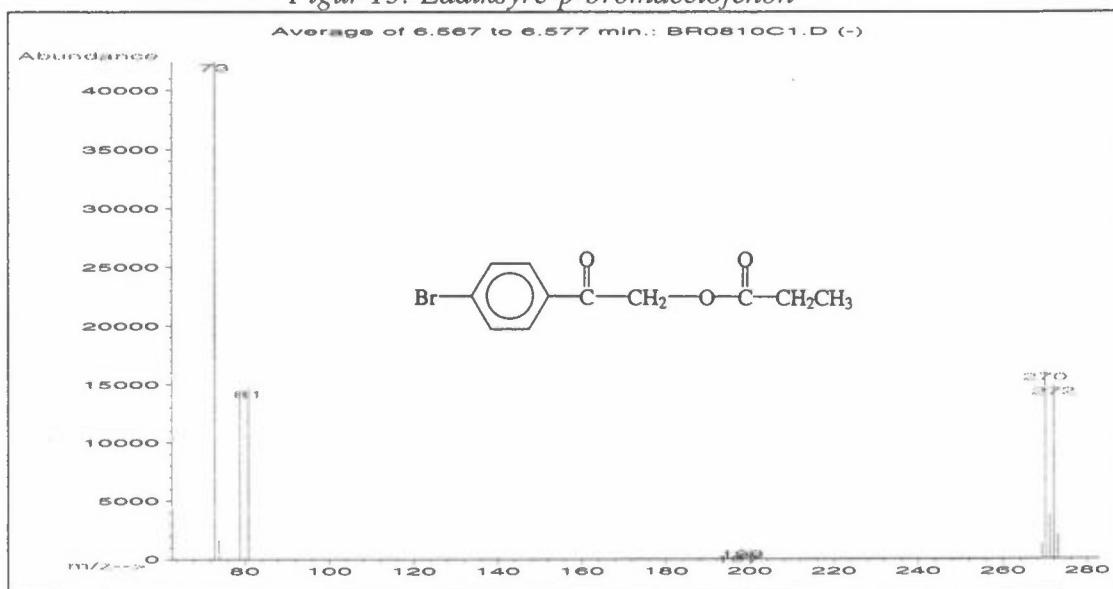
NCI-spektre:



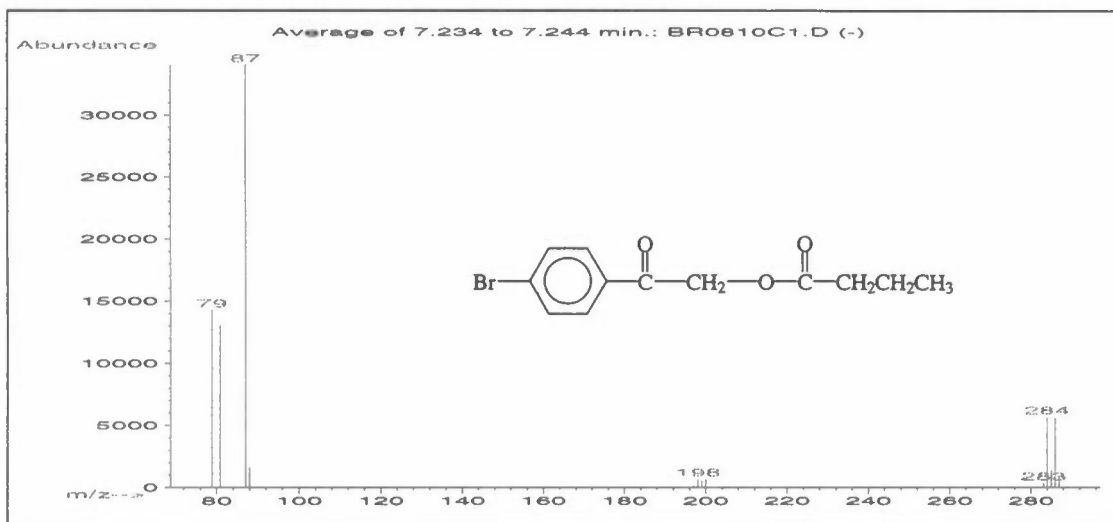
Figur 14: Malsyre-p-bromacetofenon



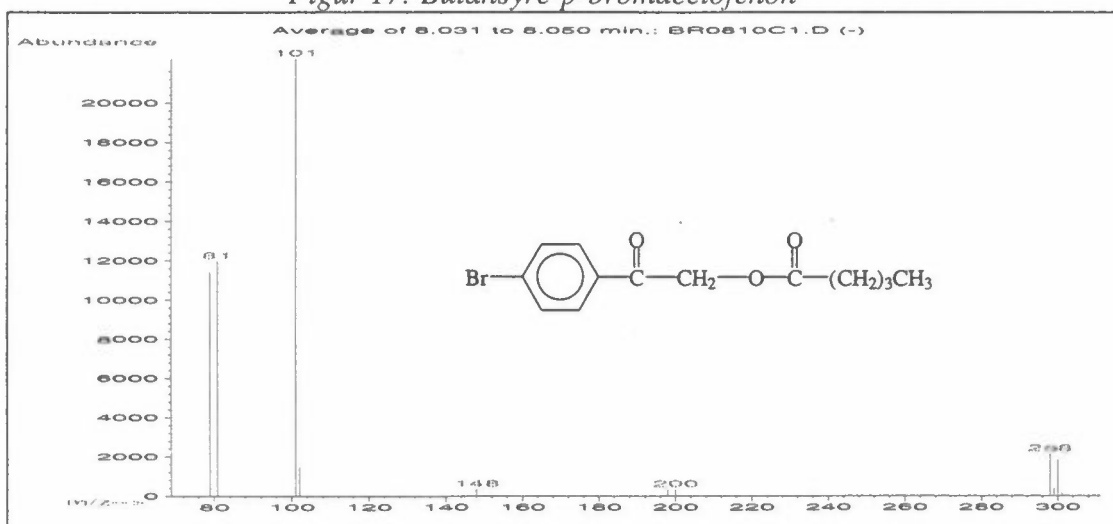
Figur 15: Eddiksyre-p-bromacetofenon



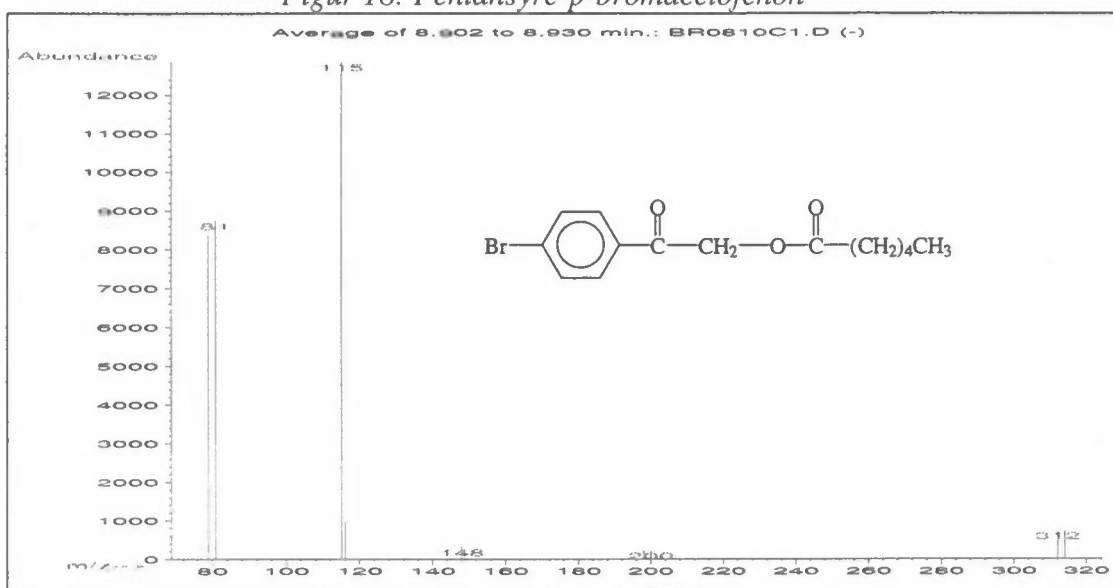
Figur 16: Propionsyre-p-bromacetofenon



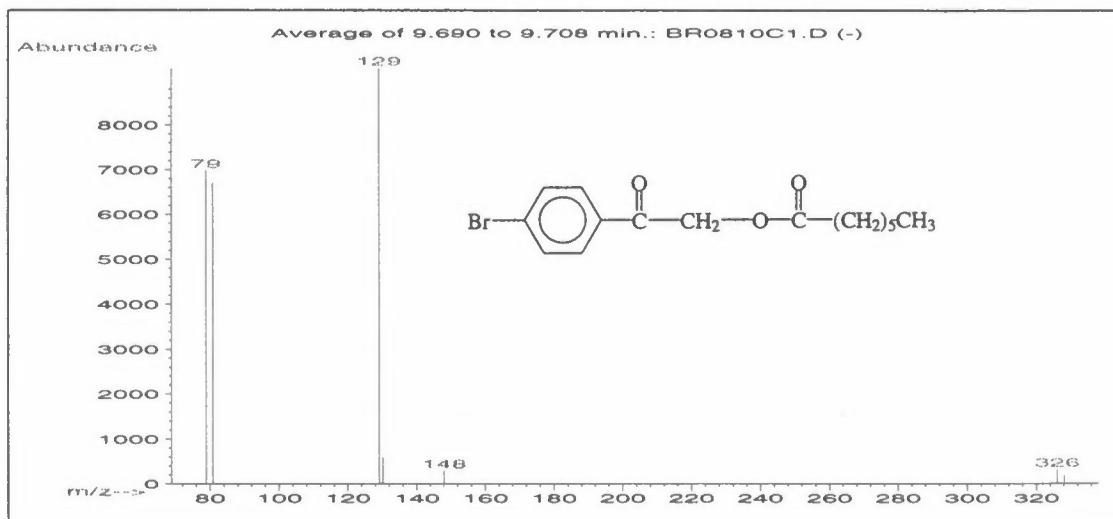
Figur 17: Butansyre-p-bromacetofenon



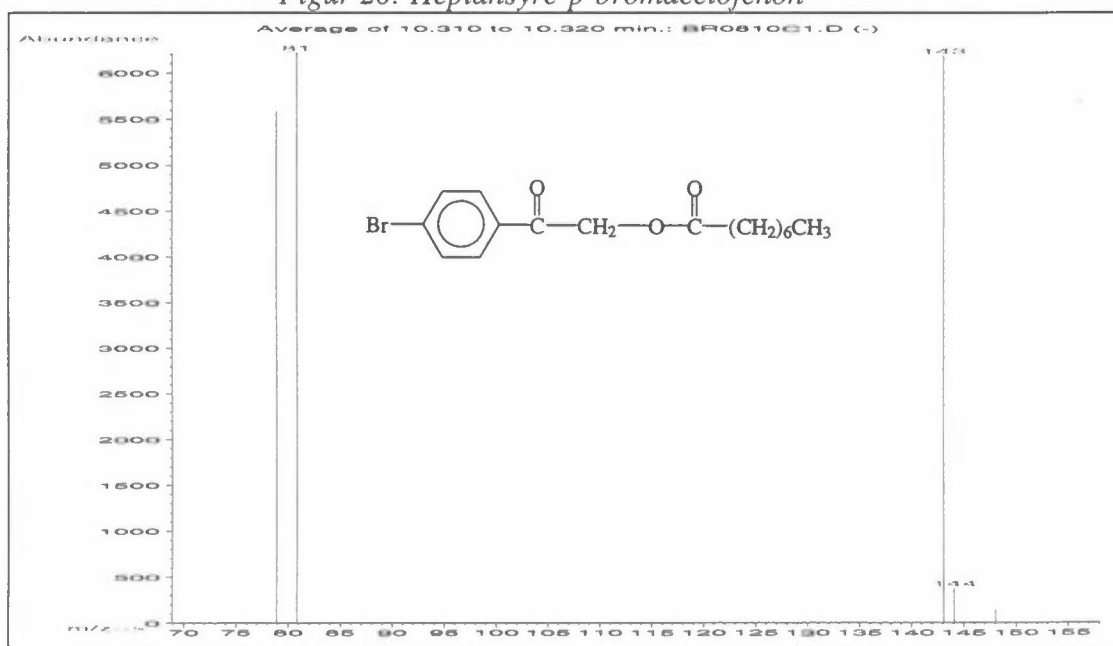
Figur 18: Pentansyre-p-bromacetofenon



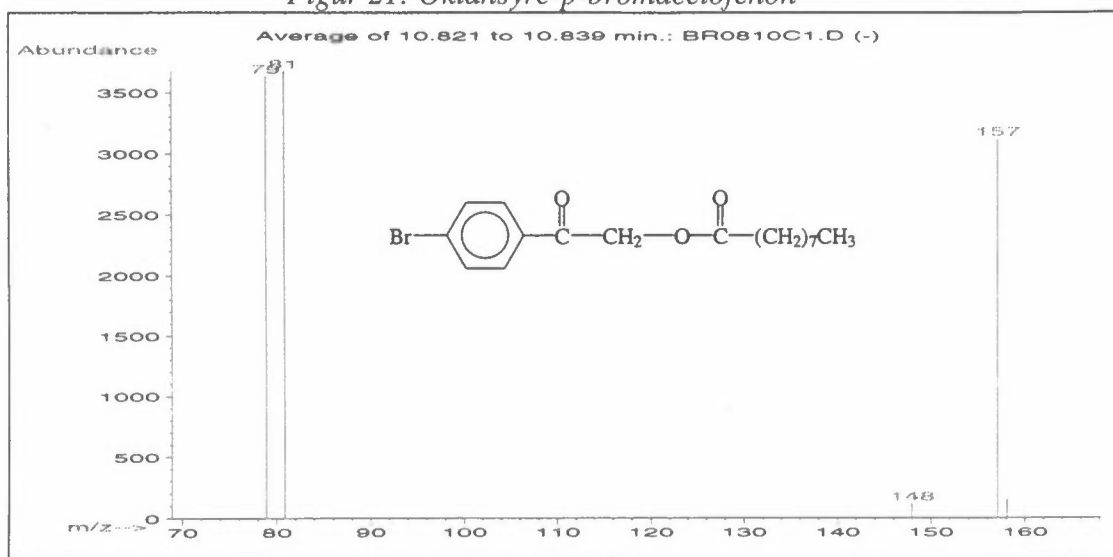
Figur 19: Heksansyre-p-bromacetofenon



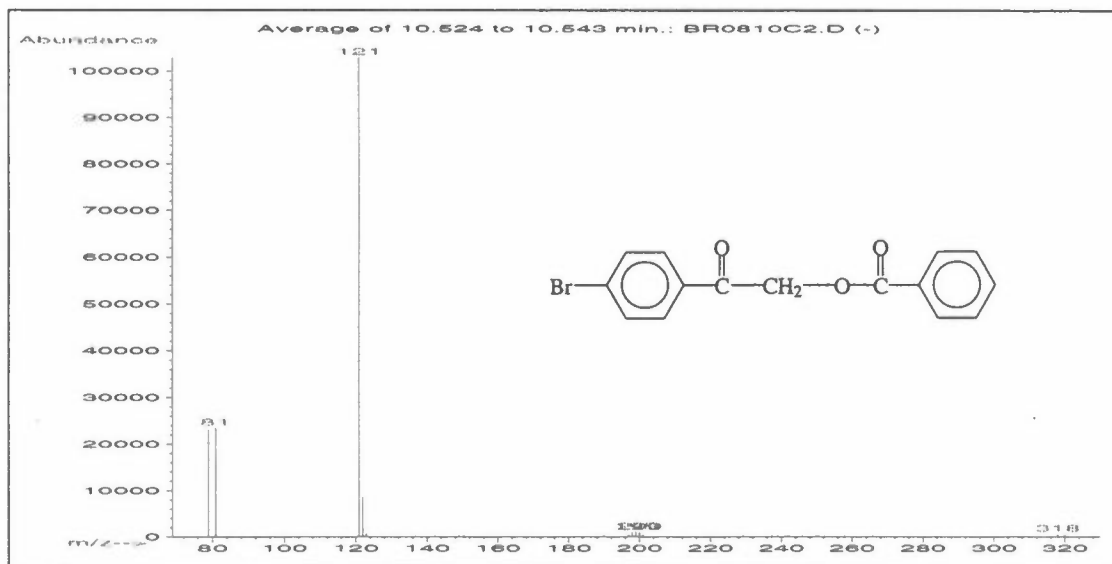
Figur 20: Heptansyre-p-bromacetofenon



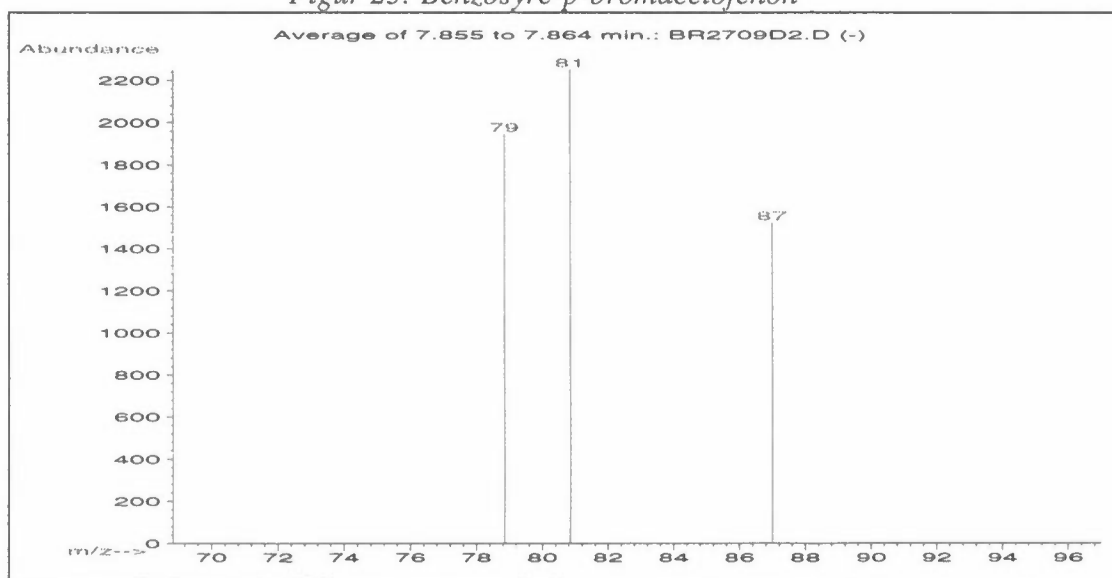
Figur 21: Oktansyre-p-bromacetofenon



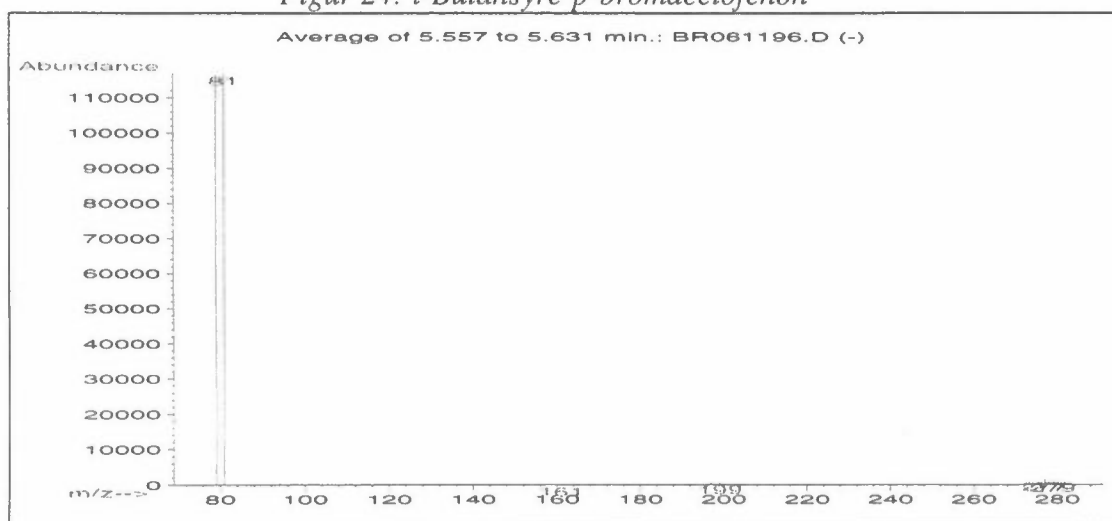
Figur 22: Nonansyre-p-bromacetofenon



Figur 23: Benzosyre-p-bromacetofenon

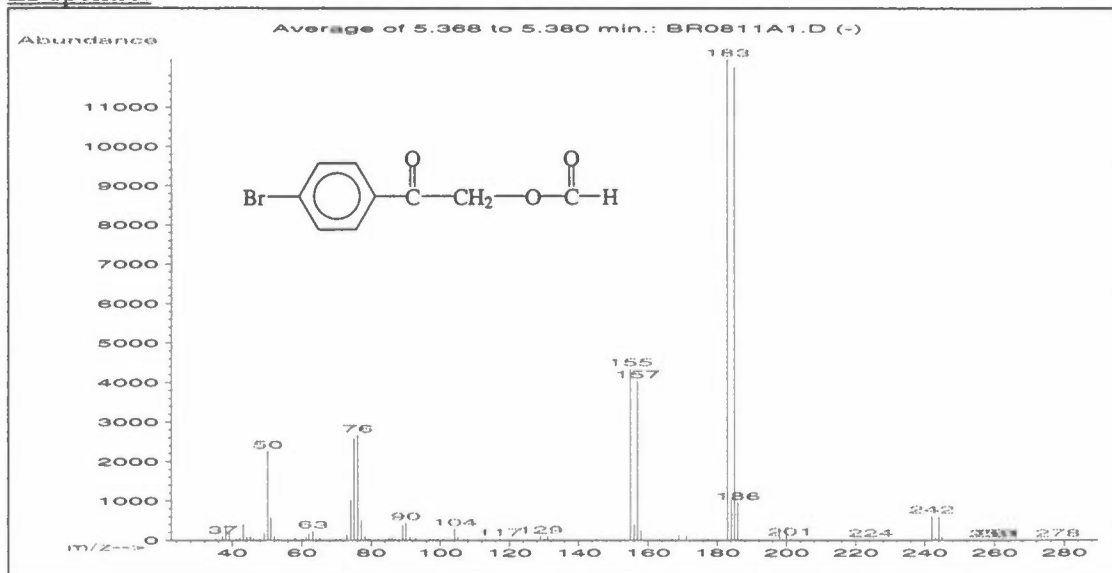


Figur 24: i-Butansyre-p-bromacetofenon

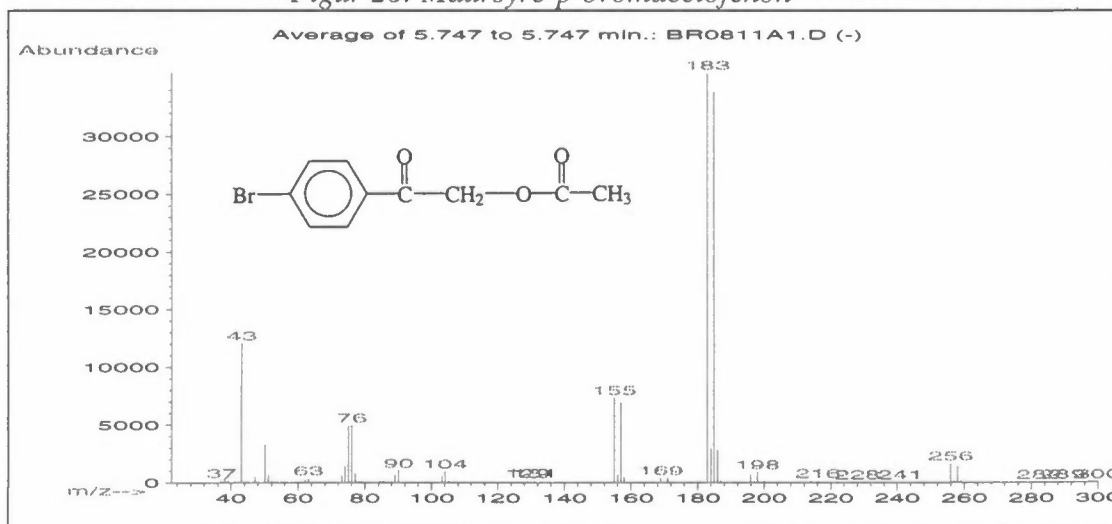


Figur 25: α , p-dibromacetofenon

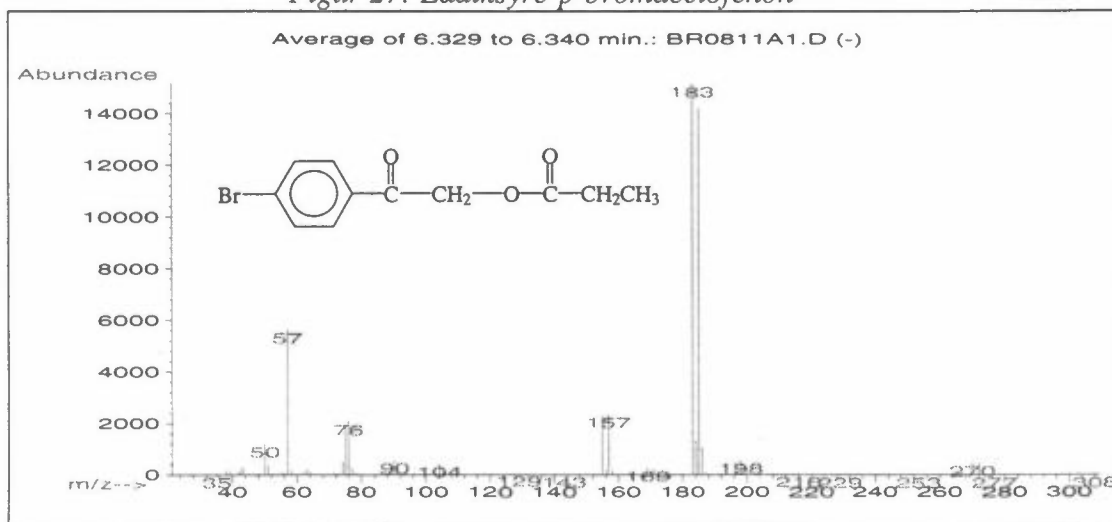
EI-spektre:



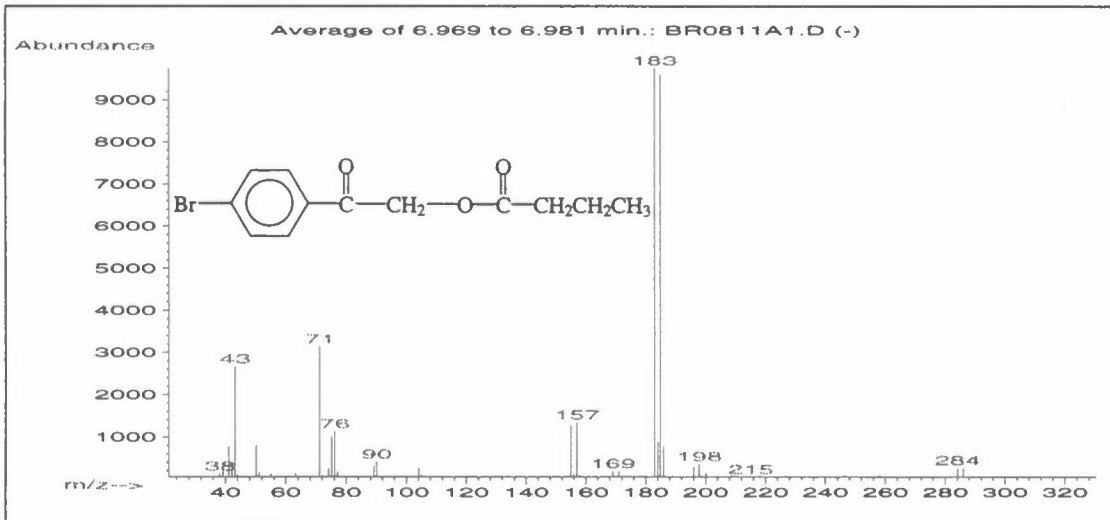
Figur 26: Maursyre-p-bromacetofenon



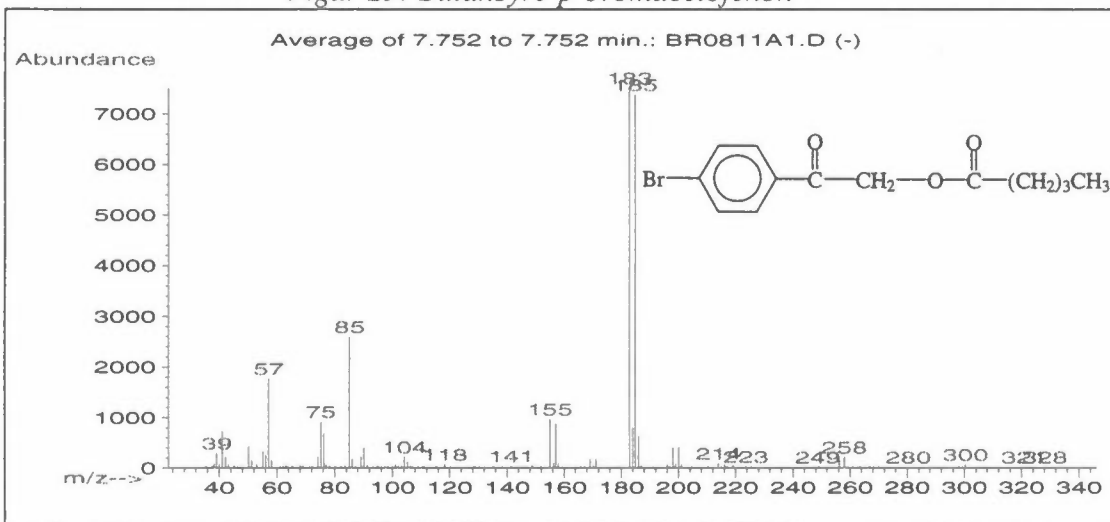
Figur 27: Eddiksyre-p-bromacetofenon



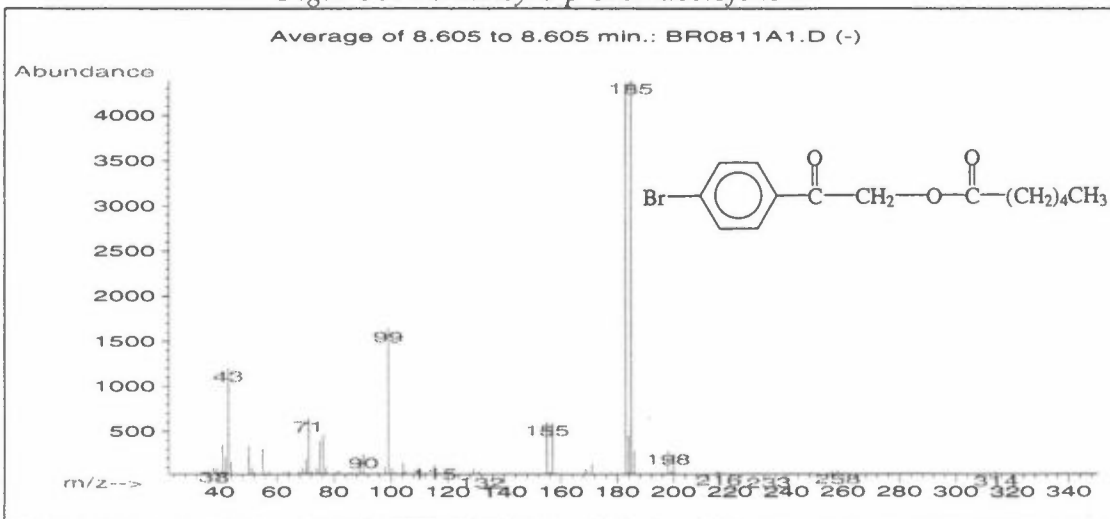
Figur 28: Propionsyre-p-bromacetofenon



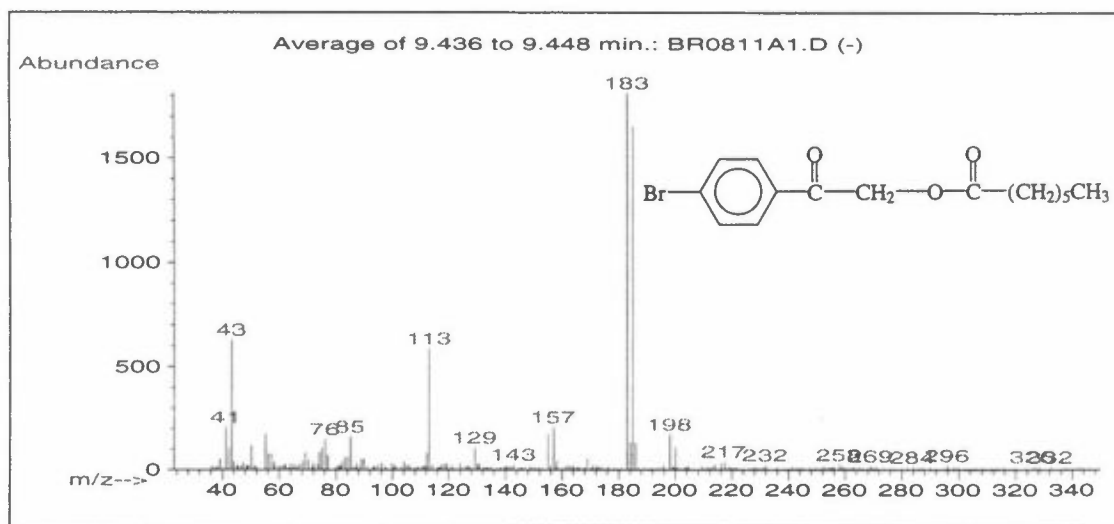
Figur 29: Butansyre-p-bromacetofenon



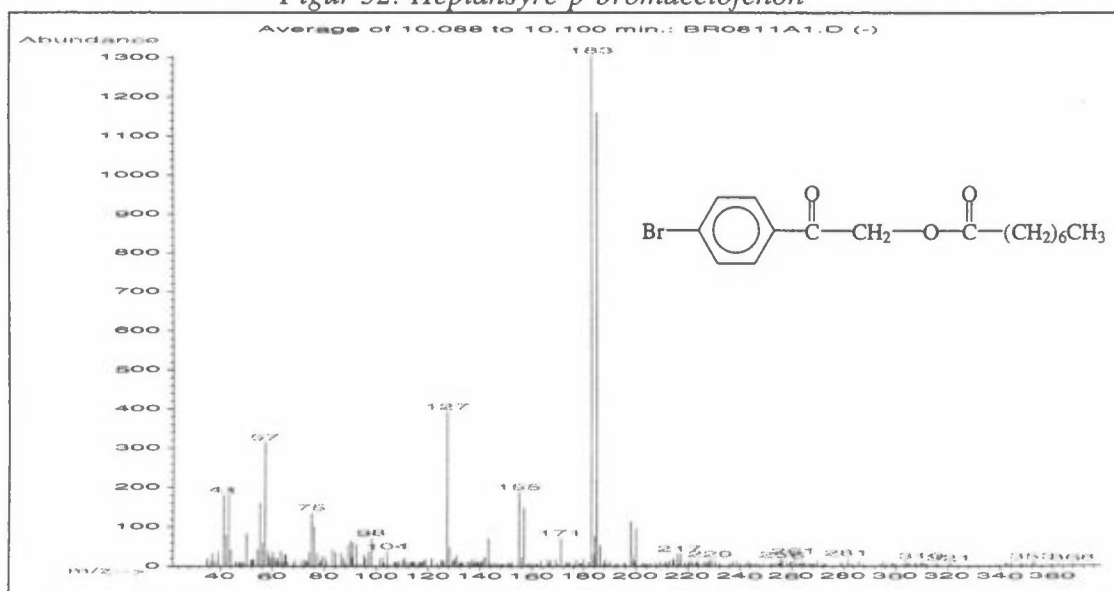
Figur 30: Pentansyre-p-bromacetofenon



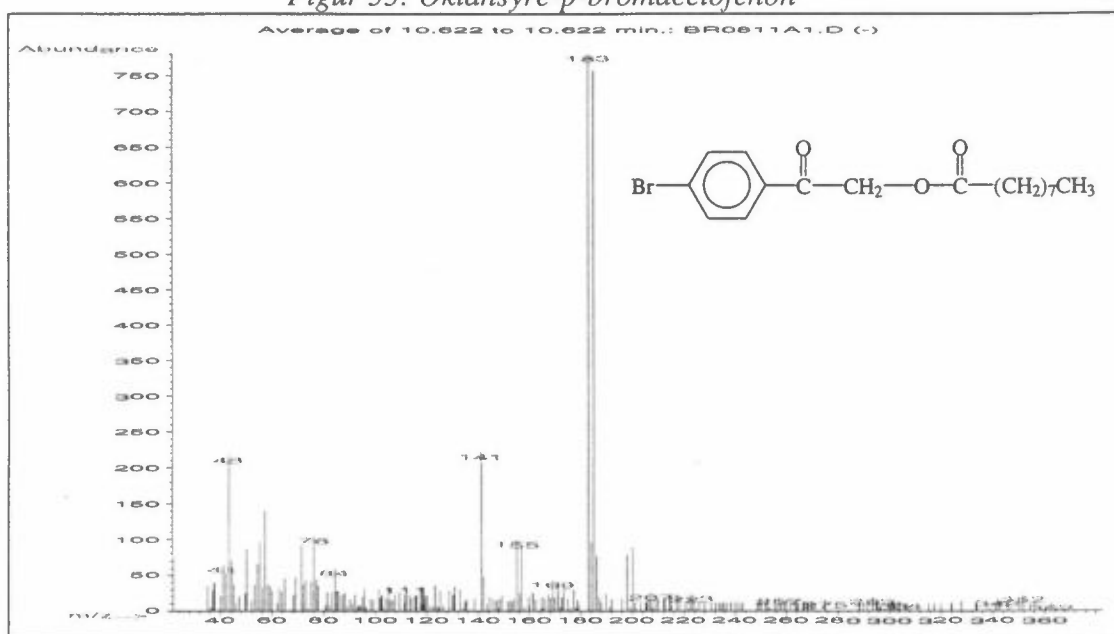
Figur 31: Hexansyre-p-bromacetofenon



Figur 32: Heptansyre-p-bromacetofenon



Figur 33: Oktansyre-p-bromacetofenon



Figur 34: Nonansyre-p-bromacetofenon



Norsk institutt for luftforskning (NILU)

Postboks 100, N-2007 Kjeller

RAPPORTTYPE TEKNISK RAPPORT	RAPPORT NR. TR 1/97	ISBN 82-425-0849-6 ISSN 0807-7185	
DATO 28.2.97	ANSV. SIGN. <i>Øystein Hov</i>	ANT. SIDER 107	PRIS NOK 165,-
TITTEL Bestemmelse av karboksylsyrer i luft Hovedfagsoppgave i analytisk kjemi		PROSJEKTLEDER Chris Lunder	NILU PROSJEKT NR. E-97014
FORFATTER(E) Chris Lunder		TILGJENGELIGHET * A	OPPDRAKSGIVERS REF.
OPPDRAKSGIVER NILU Postboks 100 2007 KJELLER			
STIKKORD Karboksylsyrer	Brom-fenacylestre	KOH-impregnerte filtere	
REFERAT Arbeidet har vært en hovedfagsoppgave som ble delt i to deler. I del 1 ble det forsøkt å utvikle en analysemetode for karboksylsyrer i luft. Til prøvetaking skulle det benyttes et 2-nitrofenylhydrazin-impregnert Sep-PAK-rør. Derivatiseringsutbyttet av eddiksyre var lavere enn 10% og maursyre derivatiserte ikke ved bruk av denne metoden. I del 2 skulle anvendbarheten av en analysemetode for karboksylsyrer i atmosfæren undersøkes. Til prøvetaking ble det benyttet KOH-impregnert glassfiberfiltere. Syrene ble så derivatisert med α ,p-dibromacetofenon til p-bromfenacylestre og analysert på GC-MS. Blindverdiene av eddiksyre utgjorde ca. 50% av måleverdien av eddiksyre i uteluft med prøvevolum på ca. 5 m ³ .			
TITLE Determination of carboxylic acids in the air			
ABSTRACT This work has been a part of a master degree and are presented in two parts . In part 1, it was ment to develop a method for the determination of carboxylic acids in the air. 2-nitrophenylhydrazin-coated SepPAK-cartridges were used for sampling acids by on-line-derivatization. The yield of the derivatization was less than 10% for acetic acid and formic acid did not derivatize at all. In part 2 it was focussed on the applicability of an established method for the determination of carboxylic acids in the air. Atmospheric acids were collected on a KOH-impregnated glass fiber filter and derivatized to p-bromophenacyl esters. The derivatives were analyzed by GC-MS. The blanks of acetic acids in this method was 50% of the measured value of acetic acid in air samples with 5 m ³ sample volume.			

- * Kategorier:
- A Åpen - kan bestilles fra NILU
 - B Begrenset distribusjon
 - C Kan ikke utleveres