

## Bilaga 3. Kemisk analys för bestämning av miljögifter i miljöprover

Denna bilaga beskriver kortfattat hur det går till att bestämma halten av miljögifter i ett prov men ger även tips på sådant man bör tänka på när man beställer kemiska analyser.

### Hur en kemisk analys går till:

Den analytiska processen består generellt av extraktion, upprening och analys/bestämning (Figur 1). Den analytiska processen är för vissa ämnen och prover mycket komplex, medan den exempelvis för metaller består av färre steg. Nedan beskrivs generellt och förenklat de viktigaste stegen som ingår i den analytiska processen. Bestämningsgränser (limit of quantification; LOQ), priser och analysnoggrannhet för analys av de prioriterade ämnena, de 8 övriga ämnena samt de särskilt förorenande ämnena (SFÄ) finns redovisade i Tabell 1-4 nedan. Observera att både LOQ och analysnoggrannhet kan variera för olika typer av prover.

### Extraktion

För att separera ämnet/ämnena (analyten) man önskar bestämma från dess matris (vatten, passiv provtagare, sediment eller biota) behandlas provet med ett lösningsmedel vilket löser ut analyten. Vilket lösningsmedel som används bestäms utav vilka ämnen man önskar analysera; beroende på ämnets kemiska egenskaper löses de olika bra i olika lösningsmedel. För metaller används syror för att sluta upp provet, ofta i mikrovågsugn. För organiska ämnen finns många olika lösningsmedel att välja mellan. Några vanligt förekommande är t ex aceton, hexan, toluen och acetonitril. För vattenprover kan extraktionen ske med vätske-vätskefasextraktion, där vattnet skakas med ett lösningsmedel. Vattenprovet kan också appliceras på en fastfaskolonn. Analyten binder till materialet i kolonnen, och därefter löser man ut den igen genom att applicera ett lösningsmedel på kolonnen. Fasta matriser (passiva provtagare, sediment och biota) extraheras ofta i en speciell apparatur där lösningsmedel värms upp, och dess ånga sköljs återupprepade gånger genom provet.

Slutprodukten efter extraktion är ett extrakt, som innehåller analyten/analyterna samt ett stort antal andra ämnen som också löstes ut från provet.

### Upprening

I det här steget försöker man separera analyten från andra ämnen och orenheter i provet; det är med andra ord en rening av extraktet. Ju bättre man lyckas med reningen, desto lägre kan man ofta få ner detektions- och bestämningsgränsen. Uppreningen sker ofta genom att applicera provet på en kolonn, varefter analyten löses ut igen med ett annat lösningsmedel. Man kan variera både typen av kolonn (packningsmaterial) samt lösningsmedel. För en del ämnen (ex klorerade och bromerade) behandlas provet också med svavelsyra i det här steget; som en extra rening.

### Analys/bestämning

Nu skall koncentrationerna av analyterna i provet bestämmas. För organiska ämnen används då ofta antingen GC (gaskromatografi) eller LC (vätskekromatografi). Båda teknikerna är ett ytterligare sett separationssteg, där analyterna separeras sinsemellan för att inte alla ska komma till detektorn samtidigt. En GC separerar ämnen i gasfas, medan en LC separerar ämnena i vätskefas. För LC är val av lösningsmedel även här mycket viktigt. GCn och LCn är sedan ansluten till en detektor, ofta en masspektrometer (MS). Andra detektorer som ofta används är exempelvis FID, DAD, ECD. Hur väl olika detektorer fungerar beror helt på vilka ämnen som skall bestämmas i provet. Mycket generellt kan sägas att masspektrometern är den mest känsliga detektorn.

Metaller bestäms med hjälp av en ICP (inductively coupled plasma) som är kopplad till en detektor, exempelvis en MS. Vissa metaller bestäms med atomfluorescens (AFS). Liksom för de organiska ämnena finns detektorer som lämpar sig olika bra för olika ämnen.

## Andra viktiga begrepp/steg i analysprocessen:

### Blank

Parallellt med proverna bör också ett eller flera blankprov analyseras. Detta prov skall behandlas på samma sätt som de ”riktiga” proverna, för att kunna visa på eventuell kontamination av provet under analysprocessen.

### Intern standard

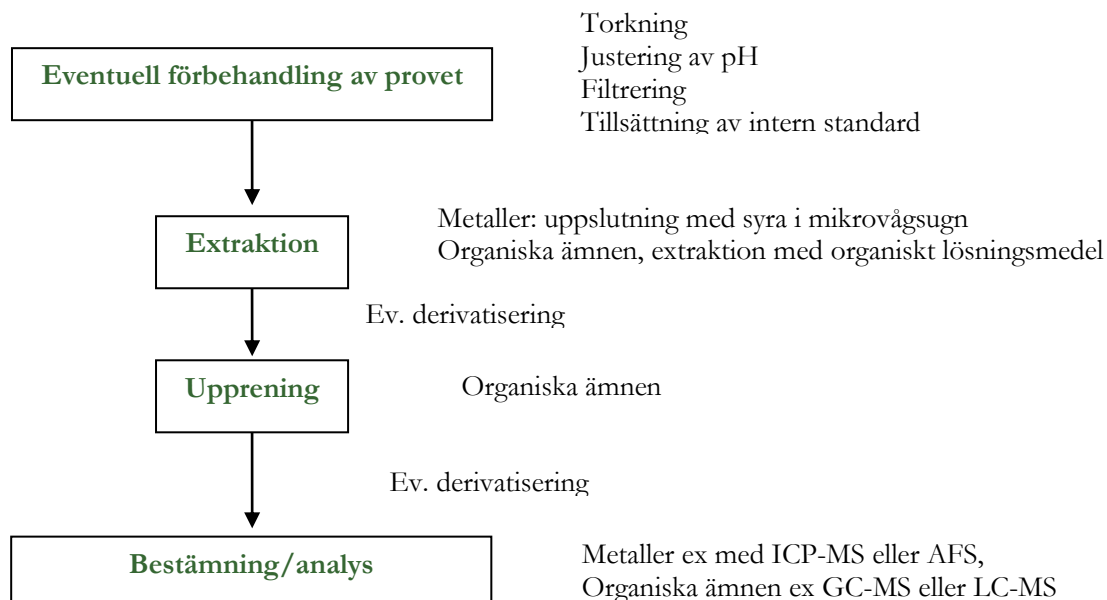
Intern standard är ett ämne som sätts till provet före extraktion. Ämnets kemiska egenskaper skall vara så likt analytens egenskaper som möjligt, helst skall det vara deutererade eller kol-13 inmärkt ämnen (ex för PAH'er och PCB'er används detta frekvent). Eventuella förluster av den interna standarden under analysprocessen korrigeras sedan för även för analyten. Man utgår med andra ord från att analyt och intern standard fungerar likadant i provet. Förluster av prov under analysprocessen kan ske exempelvis genom förångning (förlust till luft), att analyten binder till glasvaror, pipetter etc. Det kan också hända att en del av provet spills ut och då är det viktigt att man har en intern standard som kan korrigera för detta.

### Extern standard

Detta är en lösning som innehåller de ämnen man önskar bestämma i provet. Standarden injiceras till detektorn i anslutning till provet som skall analyseras. Genom att känna till koncentrationen av analyten i standarden kan man sedan beräkna koncentrationen i det okända provet.

### Derivatisering

En del ämnen som skall analyseras med GC + detektor, behöver modifieras för att lättare för gasas. Detta kallas deuterering, och innebär lite förenklat att man tillsätter ett ämne till provet som binder till analyten och hjälper den igenom GC-kolonnen.



**Figur 1.** Schematiskt flödesdiagram över analysprocessen för att bestämma halter av miljögifter i olika typer av prover.

## Kemiska screeninganalyser

Breda/halvbreda kemiska screeninganalyser kan vara användbara för att hitta substanser som man kanske annars inte letar efter (omvandlingsprodukter som bildats, substanser som ingår i komplexa och okända utsläpp mm). Dessa breda analyser går ut på att hitta kandidater att gå vidare med och undersöka mera riktat. I de bredare analyserna är detektionsgränserna ofta höga för respektive ämne varför det är extra viktigt att fokusera på ”hot spots” (utsläppspunkter, ackumulationsbottnar eller biologiskt material). Den här typen av analyser sker med hjälp av masspektrometri, där man identifierar ämnena exempelvis utifrån hur de fragmenterar i masspektrometern. Fragmenteringsmönstret jämförs sedan mot ett referensbibliotek, med ca 70-80% säkerhet. Innan provet kan injiceras måste det extraheras och till viss del renas. Extraktion och rening görs utifrån vilka ämnen man vill behålla i provet, vilket innebär att en viss sällning av ämnen sker redan här, exempelvis utifrån ämnets polaritet (vattenlöslighet). Metoden ger endast semikvantitativa halter och skall främst användas för att få en uppfattning om vilka ämnen som kan finnas i provet. En förutsättningslös screening av ett (extraherat och renat) prov blir dyrare än standardiserade analyser. Ett annat sätt att ”screena” ett prov är att utgå från de analyspaket som de kommersiella labben erbjuder, och analysera ett prov på ett stort antal ämnen.

## Tänk på innan du beställer analyser!

Innan du beställer analystjänster behöver du, förutom att bestämma vilka ämnen som ska analyseras, även avgöra vilka detektions- och kvantifieringsgränser som behöver uppnås, liksom vilken analysosäkerhet som kan accepteras. Analyserna ska utföras enligt internationell standard och den kemanalysmetodik som tillämpas får högst ha 50% i osäkerhet, uppskattad för den halt som anges i kriteriet (EQS värdet). Kvantifieringsgränsen ska dessutom vara lika med eller under ett värde på 30% av det relevanta EQS värdet, det vill säga om EQS värdet är 1 µg/l så måste kvantifieringsgränsen (LOQ, Level of Quantification) för denna analys som högst vara 0,3 µg/l. Om detta inte går att uppfylla ska bästa möjliga analysteknik användas om detta inte innebär onödigt höga kostnader. Vilken kvantifieringsgräns som bör uppnås beror dock inte bara på bedömningsgrunderna utan kan även behöva justeras ytterligare nedåt för att kunna uppskatta trender.

Generellt kan sägas att detektionsgränser sänks vid större volym prov. Därför kommer behov av detektionsgräns i sin tur att styra vilken mängd prov du behöver skicka in.

Om resultaten inte verkar rimliga kan proverna behöva analyseras om. Be därför laboratoriet att spara extrakten till dess att resultaten har kvalitetsgranskats och accepterats av dig som beställare. Man kan även höra sig för om det finns en möjlighet att spara överblivet material (vävnadsprover t ex) i frys ifall man vill göra uppföljande analyser.

Diskutera också med laboratoriet som ska göra analyserna om det behövs några särskilda kärl eller hanteringssätt. Kanske måste man undvika att använda plasthandskar (gäller t ex vid analys av ftalater), kanske måste provet konserveras, kanske behöver de förvaras i glasburkar snarare än i plastkärl. Var ute i god tid när du beställer provtagningskärl och förhör dig om priserna för dessa. I vissa fall får man dem gratis då man anlitar samma lab för analyserna. Leveranstid kan dock variera och du bör ha marginaler. Tänk också igenom provtagningsförfarandet i fält innan. Kanske behövs extra, större kärl för att homogenisera samlingsprover innan de fördelas på mindre kärl som sedan kanske kommer att skickas till olika laboratorier beroende på vad som ska analyseras.

Se till att ha beredskap också när provtagningen är över, så att proverna lämnas in så snart som möjligt. Många laboratorier har särskilda inlämningsställen lokalt men ibland kan man behöva skicka proverna med post och det finns olika typer av företagspaket. Man kan t ex begära att paketet ska levereras på morgonen och inte följande eftermiddag. Om prover ska skickas utomlands är det extra viktigt att ta reda på förutsättningarna och att packa dem väl kyllda, samt att be om bekräftelse på att proverna har kommit fram. Glöm slutligen inte att även lägga ner följesedlar samt information om vart resultat och faktura ska skickas.

Många laboratorier kan tillhandahålla en on line tjänst så att du själv kan ladda ner resultaten i excelformat istället för att bara erhålla resultaten som en pdf fil. Detta underlättar den vidare bearbetningen, i synnerhet om det är många analyser som har gjorts. Du kan även fråga laboratoriet om de kan ordna resultaten på ett sådant sätt att det är lätt att skicka in data till respektive datavärd. Ta därför kontakt med den datavärd som är aktuell och be om deras mall, så att data blir strukturerat på rätt sätt från början, samt förvarna dem om leveransen. Om konsult anlitas för att skicka in resultaten till datavärden behöver du också kontrollera vem som blir "ägaren" till data hos datavärden liksom vilken kvalitetskontroll som kommer att ske (av vem). Länsstyrelser, vattenvårdsförbund eller liknande är nämligen ansvariga för att regionala data är kvalitetssäkrade innan de skickas till en datavärd. Tips inför kvalitetsgranskningen finns i huvuddokumentet.

Vilken datavärd som är aktuell för just dina data kan variera beroende på vilken matris du studerar samt om det är regelbundna mätningar eller om det är en enstaka kartläggning eller kampanj. Information om vilka datavärddar som finns för olika typer av data hittar du på Naturvårdsverkets hemsida.

### **CHECKLISTA VID BESTÄLLNING AV KEMISKA ANALYSER:**

- Ange vilka detektionsgränser som måste uppfyllas!
- Ange vilka osäkerheter i analyserna som kan accepteras!
- Be om information om mängd prov som behövs, för att överenskommen detektionsgräns ska kunna uppnås!
- Inhämta information om lämpliga provtagningskärl och beställ provtagningskärl i god tid!
- Behöver proverna hanteras på något särskilt sätt, kanske konserveras?
- Hur ska de skickas/ var kan de lämnas in? Kom ihåg följesedlarna!
- Kom överens om i vilket format resultaten ska levereras!
- Hur länge sparas extrakten?