



## FOI MEMO

Projekt/Project

Sidnr/Page no

Operativ och fältanpassad metodik C

1 (15)

Projektnummer/Project no Uppdragsgivare/Client

A401022

Försvarsdepartementet

FoT-område

Inget FoT-område

Författare/Author

Roger Magnusson, Håkan Wingfors, Lina Mörén,  
Kristina Arnoldsson

Datum/Date

2023-03-17

Memo nummer/Number

FOI Memo 8143

# Utvärdering av en metod för bestämning av fördelningskoefficienter mellan vätska och luft för flyktiga toxiska ämnen

Titel/Title

Memo nummer/Number

Utvärdering av en metod för bestämning av fördelningskoefficienter mellan FOI Memo 8143  
vätska och luft för flyktiga toxiska ämnen

## 1 Inledning

Analys av flyktiga organiska ämnen (VOC) i utandningsluft är ett område där antalet applikationer avseende exponeringsbedömning och sjukdomsdiagnostik ökat de senaste åren och fått mycket spridning [Alonso och Sanches 2013, Sun *et al.* 2016, Catino *et al.* 2019]. Användning av sådan analysmetodik för bedömning av personexponering skulle potentiellt kunna vara tillämpligt för den grupp flyktiga, reaktiva och toxiska gaser som nyligen studerats inom FOI-projektet ”Operativ och fältanpassad metodik C” [Mörén *et al.* 2021, Wingfors *et al.* 2022]. Antagandet i ovannämnda exponeringsstudier bygger på att utandningsluften i lungorna speglar gasutbytet mot kroppens blodreservoar och därmed den dos som återfinns i kroppen. Detta antagande gäller oavsett exponeringsväg (inhalation, hud eller mage-tarm) och metodiken bygger på icke-invasiv och enkel provtagning som är snabb att genomföra och därför väl lämpad att utföra i fält.

En grundläggande parameter för att förstå hur utandningsluft kan användas som provtagningsmedium för exponeringsbedömning är ämnets fördelning mellan blod och luft, vilket beskrivs av blod/luft-fördelningskoefficienten,  $\lambda_{b:a}$  [King *et al.* 2011]. Blod består till största delen av vatten och för ökad förståelse av ett ämnes  $\lambda_{b:a}$  (enhetslös) behövs även kännedom om ämnets fördelningskoefficient, även kallad Henrys löslighetskonstant, mellan vatten/luft,  $\lambda_{w:a}$ , vilken enligt Henrys lag kan definieras som:

$$\lambda_{w:a} = \frac{C_w}{C_a}$$

där  $C_w$  och  $C_a$  är ämnets koncentration i vatten- respektive gasfas. En mängd olika namn och beteckningar har genom åren använts i litteraturen för denna enhetslösa definition av Henrys löslighetskonstant och  $\lambda_{w:a}$ , som används i denna rapport, motsvaras enligt IUPAC-rekommendationen av beteckningen  $H_s^{cc}$  [Sander 2021]. Namnet till trots är inte  $\lambda_{w:a}$  en sann konstant utan varierar icke-linjärt med temperatur. Vanligen mäts och redovisas därför  $\lambda_{w:a}$  vid 25 °C [Sander *et al.* 2022] utifrån vilket  $\lambda_{w:a}$  vid andra temperaturer kan uppskattas [Harvey och Smith 2007]. För blod ( $\lambda_{b:a}$ ) används dock vanligen 37 °C [Wingfors *et al.* 2021].

Experimentell bestämning av vätske/luft-fördelningskoefficienter kan utföras med olika typer av metodik [Mochalski *et al.* 2011, Wingfors *et al.* 2021] vilka huvudsakligen kan uppdelas i statiska respektive dynamiska metoder. Statische metoder bygger på mätning och beräkning av gas- och vätskekonzentrationer av ämnet i ett slutet kärl vid jämvikt, medan dynamiska metoder baseras på mätning av ämnets koncentrationsminskning i gasfas eller vätskefas då en ren bärgas kontinuerligt får bubbla genom vätska innehållande ämnet i en flödesreaktor, och bygger på att gasbubblorna står i jämvikt med omgivande vätska. Det finns även metodik baserad på så kallad Multipel *Headspace*-Extraktion, MHE [Kolb och Ettre, 1991, Chai och Zhu 1998, Mochalski *et al.* 2011], vilket kan beskrivas som ett mellanting mellan statiskt och dynamiskt tillvägagångssätt. MHE har likheter med dynamisk bestämning men utförs genom ett antal upprepade och separata statiska steg.

Syftet med denna rapport är att beskriva och undersöka en specifik MHE-baserad metod för bestämning av  $\lambda_{w:a}$  och  $\lambda_{b:a}$  och med hjälp av metoden bedöma tillämpligheten för bedömning av personexponering via utandningsprover för perfluoroisobuten (PFIB), vätecyanid och klorpikrin, några av de flyktiga föreningar som nyligen studerats på FOI [Mörén *et al.* 2021, Wingfors *et al.* 2022] och som omfattas av C-vapenkonventionen (OPCW:s lista 2 och 3). Strategin var att validera metoden med referensämnen, utföra tester med vatten för de utvalda toxiska ämnena och avslutningsvis även utföra tester med blod.

Titel/Title

Memo nummer/Number

Utvärdering av en metod för bestämning av fördelningskoefficienter mellan FOI Memo 8143 vätska och luft för flyktiga toxiska ämnen

## 2 Multipel *Headspace*-extraktion, MHE

MHE bygger på att en viss massa av ett ämne introduceras i ett slutet kärl, vanligen en *headspace*-vial (HS-vial) med totalvolym  $V_{\text{tot}}$ , innehållande kända volymer av vätska (oftast vatten,  $V_w$ ) och gas ( $V_a$ ), där gasfasen vanligen benämns *headspace* (HS). Efter att jämvikt uppnåtts, som fördelar ämnet mellan vätske- och gasfas, trycksätts vialen med en inert gas, vanligen luft. Därefter tas en viss volym HS-gas ut tills HS-trycket återgått till initialvärdet. Mängden ämne i den ventilerade gasvolymen analyseras med konventionella analysystem baserade på *headspace*-gaskromatografi (HS-GC). Tiden för trycksättning/ventilering är tillräckligt kort för att jämvikten antas bibehållas oförändrad. För den på detta sätt reducerade mängden ämne i systemet inställer sig en ny jämvikt mellan vätske- och gasfas varpå en ny trycksättning/ventilering och en ny HS-GC analys utförs. Vätskefasen fungerar därmed som en reservoar vilken tillför ämne till gasfasen tills en ny jämvikt ställt in sig. Genom att upprepa denna procedur ett antal ( $n$ ) gånger kan  $\lambda_{w:a}$  bestämmas. Detta görs genom att i ett koordinatsystem avsätta ämnets topparea för den  $i$ :te ventileringen på X-axeln mot summan av ämnets toppareor för de första ( $i-1$ ) ventileringarna på Y-axeln och utifrån linjär regression beräkna regressionskoefficienten ( $b$ ). Fördelningskoefficienten ( $\lambda_{w:a}$ ) beräknas sedan utifrån följande samband:

$$\lambda_{w:a} = -(1 + \varphi \cdot b) \cdot \beta$$

där  $\beta$  är kvoten mellan volymen gas och vätska i systemet ( $V_a/V_w$ ) och  $\varphi$  är massfraktionen ämne ( $m_{\text{ex}}/m_a$ ) som extraheras från vialens gasfas vid varje enskilt ventileringssteg. Här betecknar  $m_{\text{ex}}$  extraherad massa av ämnet vid varje ventileringssteg och  $m_a$  total massa av ämnet i vialens gasfas innan trycksättning/ventilering. Parametrarna  $\beta$  och  $\varphi$  är konstanter för vilka värdet bestäms utifrån aktuell försöksdesign.  $\beta$  kan enkelt beräknas medan  $\varphi$  vanligen kräver experimentellt bestämning utifrån ett annat ämne med känd fördelningskoefficient eller måste beräknas utifrån data för HS-trycket, vilket kan vara svårt. Tillräcklig noggrannhet vid bestämning av  $b$  uppnås i praktiken genom att utföra 5-10 MHE-cykler. Då vätskefasen består av blod kan MHE användas på motsvarande sätt för bestämning av  $\lambda_{b:a}$  [Mochalski *et al.* 2011]. Henrys lag gäller dock för gaser som uppför sig idealt i en vätska, dvs. är opåverkade av andra processer såsom om ämnets molekyler bildar aggregat (slås samman), dissocierar (delas upp i mindre beståndsdelar) eller reagerar med vätskan. Metodiken är därför inte alltid direkt användbar för blod som har en betydligt mer komplex sammansättning (av exempelvis proteiner och lipider). Uppmätta värden på  $\lambda_{b:a}$  skiljer sig för många ämnen också markant från värdet på Henrys löslighetskonstant i vatten,  $\lambda_{w:a}$ .

Några fördelar med MHE-metodiken är att GC-data inte behöver kalibreras mot kända koncentrationer då bestämning av regressionskoefficienten baseras direkt på uppmätta toppareor för ämnet vid GC-analys. Därför behöver inte heller den initiala massan av ämnet vara exakt bestämd och förfarandet med många upprepade mätningar innebär en ökad statistisk noggrannhet.

En MHE-metod för både vatten och blod presenterad av Mochalski *et al.* (2011) innehåller två modifieringar av den ursprungliga metodiken:

- Trycksättning/ventilering av HS-vialen utfördes genom tillsats/uttag av en specifik volym inert gas ( $V_s$ ) med hjälp av en gastät spruta.
- Vid analys användes fastfas-mikroextraktion (SPME) för uppkoncentrering och analys av ämnet vilket sänker detektionsgränsen.

Genom trycksättning/ventilering på detta sätt kan konstanten  $\varphi$  beräknas betydligt enklare baserat enbart på tillsatt/uttagen volym ( $V_s$ ) och volymen gasfas i HS-vialen ( $V_a$ ) enligt:

$$\varphi = \frac{V_s}{(V_a + V_s)}$$

Försöken i detta memo baserades på MHE-metoden enligt Mochalski *et al.* (2011). Den beskrivna modifieringen avseende trycksättning/ventilering med gastät spruta tillämpades men däremot utfördes analyserna utan föregående uppkoncentrering med SPME (se avsnitt 4.7).

Titel/Title

Memo nummer/Number

Utvärdering av en metod för bestämning av fördelningskoefficienter mellan FOI Memo 8143 vätska och luft för flyktiga toxiska ämnen

### 3 Design av MHE-försök

Några av de parametrar som är viktiga att kontrollera och anpassa vid design av MHE-försök är kvoten mellan volym gas och vätska i systemet ( $\beta$ ), volymen på tillsatt/uttagen gas ( $V_s$ ), storleken och utformningen av kärl och gastäta spruta, temperatur, omrörning, jämviktstid, inital mängd ämne och analysteknik. Beroende på vilket ämne och vätskemedium bestämningen avser kan den optimala försöksdesignen variera väsentligt. Nedan ges en beskrivning av vilken inverkan dessa parametrar har samt ett resonemang kring hur dessa kan anpassas vid design av MHE-försök.

#### 3.1 Gas- och vätskevolym i kärlet samt volym för tillsats/uttag

Kvoten mellan gas- och vätskevolym ( $\beta$ ) har en betydande roll för noggrannhet vid bestämning av fördelningskoefficienter med MHE [Chai och Zhu 1998]. Det är därför viktigt att volymen gasfas och vätskefas är noggrant bestämda. Chai och Zhu (1998) visar att det för varje specifikt ämne även finns ett optimalt värde på  $\beta$  med avseende på mätosäkerhet vid användning av MHE. Med vatten som vätskefas sammanfaller detta optimala värde ( $\beta_{opt}$ ) med Henrys löslighetskonstant för ämnet, dvs  $\beta_{opt} = \lambda_{w:a}$  och mätosäkerheten ökar brant om värdet på  $\beta$  avviker från  $\beta_{opt}$ . I praktiken innebär detta att man för att designa ett optimalt MHE-försök måste känna till värdet på den fördelningskoefficient man avser bestämma redan vid utformningen av försöket. Detta är givetvis inte möjligt, men genom att inleda med ett försök designat utifrån en bra uppskattning av  $\lambda_{w:a}$ , exempelvis baserat på litteraturdata för ämnet eller utifrån ett ämne med liknande egenskaper, kan försöksresultatet sedan användas för att justera  $\beta$  i kommande försök.

Följande utgångspunkter är behjälpliga för att uppnå det optimala värdet på  $\beta$ :

- För mer vattenlösliga ämnen vars jämvikt är förskjuten mot vattenfas ( $\lambda_{w:a} > 1$ ) ska volymen gasfas vara större än volymen vätskefas, ofta avsevärt större, exempelvis 600 ggr större för acetone ( $\lambda_{w:a} \approx 600$ ) och 4700 ggr större för etanol ( $\lambda_{w:a} \approx 4700$ ).
- För mindre vattenlösliga ämnen vars jämvikt är förskjuten mot gasfas ( $\lambda_{w:a} < 1$ ) ska volymen gasfas vara mindre än volymen vätskefas, exempelvis 56 ggr mindre för n-hexan ( $\lambda_{w:a} \approx 0,018$ ) och 125 ggr mindre för n-oktan ( $\lambda_{w:a} \approx 0,008$ ).

Vätskan fungerar som en reservoar för ämnet som efter uttag vid varje enskild MHE-cykel avger ämne till gasfasen tills ny jämvikt ställt in sig. För lyckad MHE-analys måste reservoarens volym därför anpassas utifrån ämnets löslighet så att den totala mängden ämne i systemet minskar lagom mycket vid varje HS-uttag. För mer vattenlösliga ämnen kan ett  $\beta$ -värde nära  $\beta_{opt}$  uppnås relativt enkelt genom att i ett specifikt kärl variera volymen vätska, även ned till mycket små mängder om så behövs. Den tillsatta volymen vätska får dock inte vara så liten att eventuell avdunstning leder till signifikant minskad vätskevolym. För ämnen som är starkt förskjutna mot gasfas kan det däremot vara svårt att uppnå  $\beta_{opt}$  då detta kan innebära en så liten gasvolym att det blir praktiskt svårt att utföra HS-provtagning. För att åstadkomma en större gasvolym och ändå bibehålla optimalt  $\beta$  måste i så fall kärlets totalvolym ökas, vilket inte alltid är praktiskt möjligt.

När ett värde på  $\beta$  väl bestämts för försöksdesignen kan sedan minskningen i topparea mellan varje uttag anpassas genom att ändra volymen för tillsats/uttag ( $V_s$ ), vilket ändrar  $\varphi$ -värdet. Med givna värden på  $\beta$  och  $\varphi$  är den procentuella areaminskningen teoretiskt densamma för varje enskilt MHE-uttag och alltså konstant genom ett helt försök. Ju större  $V_s$ , desto större procentuell areaminskning, och desto säkrare bestämning av regressionskoefficienten ( $b$ ) som ligger till grund för beräkning av fördelningskoefficienten. Detta förutsatt att areaminskningen mellan varje uttag inte är så stor att ämnets detektionsgräns underskrids innan alla MHE-cykler är utförda. Den tryckökning som en ökning av  $V_s$  innebär medför också ökad risk för läckage från kärlet under försökets gång, exempelvis genom hål efter sprutan i kärlets förslutning (septum). Effekten av  $V_s$  på den procentuella areaminskningen avtar då  $V_s$  närmar sig  $V_a$ . Exempelvis ökar den procentuella areaskillnaden 3,7 ggr när  $V_s$  ökar från  $0,1 \times V_a$  till  $0,5 \times V_a$  medan en ökning av  $V_s$  från  $0,5 \times V_a$  till

Titel/Title

Memo nummer/Number

Utvärdering av en metod för bestämning av fördelningskoefficienter mellan FOI Memo 8143 vätska och luft för flyktiga toxiska ämnen

$0,9 \times V_a$  endast ökar den procentuella areaskillnaden 1,4 ggr. En vettig kompromiss kan därför vara att nöja sig med ett  $V_s$  som är cirka 50 % av  $V_a$ , vilket motsvarar ett  $\varphi$ -värde kring 0,33. För att bättre förstå vilken inverkan  $\beta$  och  $\varphi$  har och varför  $\beta = \lambda_{w:a}$  är optimalt, utfördes beräkningar utifrån ett antal simulerade MHE-fördelningsförsök. Dessa beräkningar presenteras i bilaga A.

En generell strategi för både vatten och blod vid design av MHE-försök, med avseende på  $\beta$  och  $\varphi$ , kan därför sammanfattas enligt följande:

1. Designa förhållandet mellan gas- och vätskevolym så att  $\beta$  ligger så nära ämnets vätske/luft-fördelningskoefficient som möjligt. Utgå om möjligt från litteraturvärden för ämnet eller ämnen med liknande egenskaper, i fallet där vätskefasen består av vatten så används data för Henrys löslighetskonstant (oftast rapporterade under beteckningen  $H_s^{cc}$ ).
2. För ett givet  $\beta$ -värde, välj volymen för tillsats/uttag,  $V_s$ , så att skillnad i topparea mellan individuella uttag är så stor som möjligt utan att ämnets detektionsgräns passeras innan alla MHE-cykler är utförda och utan att tryckökningen innebär läckage från kärlet.

### 3.2 Storlek och utformning av kärlet och spruta

Kärlet måste vara försett med ett septum så att gas kan tillsättas och tas ut med gastät spruta och samtidigt hålla tätt under hela försöket. Kärlet av vanligt glas är i de flesta fall tillräckligt för att undvika förluster på grund av adsorption mot ytor. Storleken på kärlet måste väljas så att det går åstadkomma en tillräckligt stor HS-volym för att HS-uttag ska gå att utföra problemfritt. För ämnen med mycket låg löslighet i vätskan kan detta innebära att större kärlet än kommersiellt tillgängliga HS-vialer måste användas för att uppnå  $\beta_{opt}$ . Kärlet måste även vara anpassat så att det praktiskt går att hantera utifrån vald metodik i övrigt. Om analysen till exempel utförs med ett dedikerat HS-GC-instrument med autoinjektor passar ofta endast ett begränsat urval av vialstorlekar, vilket kan omöjliggöra försök vid optimalt  $\beta$  för ämnen med mycket låg vattenlöslighet. Den gastäta sprutan bör vara utrustad med så smal kanyl som möjligt för att undvika läckage genom kärlets septum vid upprepade penetrationer.

### 3.3 Temperatur, omrörning och jämviktstid

På grund av temperaturberoendet är det av stor vikt att bestämning av  $\lambda_{w:a}$  utförs vid en kontrollerad temperatur, vanligen vid 25 °C [Sander *et al.* 2022]. För blod ( $\lambda_{b:a}$ ) används dock vanligen 37 °C [Wingfors *et al.* 2021]. Tiden för varje MHE-cykel måste vara tillräckligt lång för att jämvikt ska hinna uppnås. Tiden för jämvikt att ställa in sig beror i sin tur på kontaktytan mellan gas och vätska och påskyndas genom god omrörning. Vår empiriska erfarenhet säger att jämvikten uppnås relativt snabbt (på <10 minuter), men det har varit svårt att hitta vederhäftiga referensdata som bekräftar det.

### 3.4 Initial mängd ämne och analysmetod

Startmängden av ämne i kärlet kan varieras i ett relativt brett spann utan att inverka på bestämningen av fördelningskoefficienten då Henrys lag gäller för utspädda lösningar i koncentrationer upp till 1000-10000 ppm [Mackay och Shiu, 1981; Vallero, 2014].

GC är en snabb analysteknik som ofta används för MHE då den lämpar sig väl för HS-analys av organiska ämnen. Uttaget från gasfasen med gastät spruta kan hanteras på olika sätt, till exempel kan hela uttaget injiceras direkt från sprutan till en GC. För större volymer är detta inte alltid praktiskt genomförbart och då kan ett mindre delprov analyseras reproducerbart. Om istället högre känslighet krävs kan en del av eller hela den uttagna gasvolymen koncentreras upp innan GC-analys, exempelvis med hjälp av adsorbenttrör eller SPME. Analysens känslighet kan också varieras genom att växla mellan splitless- och split-injektion och i det senare fallet även genom att variera splitförhållandet. I metoden publicerad av Mochalski [Mochalski *et al.*, 2011] utfördes hela MHE-proceduren inklusive SPME-koncentrering och injektion med hjälp av ett multifunktionellt autosampler-system. Motsvarande procedur går också att utföra manuellt.

Titel/Title

Memo nummer/Number

Utvärdering av en metod för bestämning av fördelningskoefficienter mellan vätska och luft för flyktiga toxiska ämnen FOI Memo 8143

## 4 Material och metod

MHE-metoden testades för bestämning av vätske/luft-fördelningskoefficienter för PFIB, vätecyanid, klorpikrin, hexan och aceton i både vatten (avjoniserat, MilliQ) och blod (Blodcentralen, Umeå).

### 4.1 Preparering av gasstandarder

Gasstandarder av vätecyanid, klorpikrin, hexan och aceton preparerades var för sig genom att med Hamilton-spruta injicera 6,0-15,3 µl rent ämne till en gastät Tedlar-påse med 1,0 liter kvävgas (N<sub>2</sub>), för att åstadkomma en gaskoncentration på 10 mg/l (i några fall användes högre koncentration, 100 mg/l). Tedlar-påsen fick ligga i rumstemperatur tills all vätska förångats. Pipetteringen av vätecyanid (smältpunkt -13 °C, kokpunkt 26 °C) utfördes på isbad precis efter upptining från frys. För PFIB (smältpunkt -130 °C, kokpunkt 7 °C) utfördes pipetteringen i frys vid -20 °C med en förkyld (-20 °C) 10 µL Gilson-mikropipett (kapillärkolv). Då Tedlar-påsarnas injektionsventil ej passade för mikropipett användes för PFIB istället en 1 liter polytetrafluoretylen (PTFE)-behållare fylld med med N<sub>2</sub>. Kontrollanalys av gasstandarderna utfördes inför varje försöksomgång och om koncentrationen sjunkit för mycket preparerades nya standarder.

### 4.2 Provkärl och gastäta sprutor

Försöken genomfördes dels i HS-vialer med nominell volym 20 ml och dels i Schott-flaskor med nominell volym 100 ml eller 1000 ml. Totalvolymen av varje enskilt kärl bestämdes genom invägning av vatten i kärlet. Till HS-vialerna användes en metallkork med dubbla septum av silikon/PTFE. Till Schott-flaskorna användes ett rött skruvlock i polybutentereftalat-plast med ett hål (Ø = 4 mm) uppborrat i mitten. Locket var invändigt försedd med en silikon/PTFE-packning. Denna packning samt ett GC-septum (Shimadzu, Standard Type), vilket fyllde det borrade hålet, användes som injektionsseptum. De gastäta sprutorerna (5, 10 eller 50 ml) var försedda med smala kanyler av typen 23G (0,6 x 25 mm) med Luer-fattning. Vid tillsats/uttag stacks kanylen på olika ställen genom kärlets septum för att ytterligare minska risken för läckage.

### 4.3 Temperatur, omrörning och jämviktstid

Både vatten- och blodförsök utfördes för jämförelsens skull huvudsakligen vid samma temperatur (25 °C) men blod testades i ett fall även vid 37 °C. Korrekt temperatur säkerställdes genom att kärlet var placerat i ett tempererat vattenbad. Vid försök utförda i 20 ml HS-vial utfördes omrörning med hjälp av Vortex-omrörare (VX 100, Modell S0100-230V, Labnet International Inc., USA) inställd på maximal hastighet. För försök utförda i de betydligt större Schott-flaskorna fanns inte tillgång till utrustning för skakning med tillräcklig effekt. Omrörning utfördes därför genom att skaka flaskorna intensivt för hand. Jämviktstiden hölls relativt kort, 5-10 minuter.

### 4.4 Vätske- och gasvolym i kärlet

Proportionerna mellan gas- och vätskevolym,  $\beta$ , anpassades så långt det var möjligt till det optimala värdet,  $\beta_{opt}$ . Som utgångspunkt för justering av  $\beta$  användes publicerade data för experimentellt bestämda fördelningskoefficienter. Vid bestämning av fördelningskoefficienter för blod reducerades kärlets totala volym till 20 mL på grund av tillgången på blod. Tillsatt/uttagen gasvolym ( $V_g$ ) i de olika försöken varierade mellan 20-50 % av gasfasen ( $V_a$ ), vilket motsvarade  $\varphi$ -värden mellan 0,2 - 0,33. En sammanställning över kärlestorlekar och valda vätske- och gasvolym i de utförda försöken visas i tabell 1. Försöksupplägget kom till viss del att styras och ändras utifrån uppkomna resultat. Till exempel visade det sig användbart att utföra MHE-försök för två ämnen samtidigt, där det ena var ett referensämne som fungerade som intern standard, vilket gav möjlighet till simultan validering av metoden. Mer information relaterat till urvalet och designen av försök återfinns i avsnitt 5. *Resultat och diskussion.*

Titel/Title

Memo nummer/Number

Utvärdering av en metod för bestämning av fördelningskoefficienter mellan FOI Memo 8143 vätska och luft för flyktiga toxiska ämnen

**Tabell 1.** Storlek på käril samt val av vätske- och gasvolym och resulterande värden på  $\beta$  och  $\varphi$  vid MHE-försök för respektive ämne, samt litteraturdata för Henrys löslighetskonstant ( $\lambda_{w:a}$ , Sander, 2015) och blod/luft-fördelningskoefficienten ( $\lambda_{b:a}$ ).

Ämne	V <sub>tot</sub> (ml)	V <sub>w</sub> , V <sub>b</sub> (ml)	V <sub>a</sub> (ml)	V <sub>s</sub> (ml)	$\beta$	$\varphi$	n	Litteraturdata $\lambda_{w:a}$ eller $\lambda_{b:a}$
<u>Vatten</u>								
Hexan	1120	1100	20	7,1	0.018	0,26	4	0,017
PFIB	1120	1109,4	10,6	4,1	0,0096	0,28	2	0,0007 <sup>a</sup>
PFIB/Hexan	1120	1109,4	10,6	4,1	0,0096	0,28	1	
Vätecyanid/Aceton	20,6	0,1	20,5	10	205	0,33	3	242/635
Klorpikrin	134	11	123	30	11	0,20	2	12
Klorpikrin	20,6	1,6	19	10	12	0,34	3	12
<u>Blod</u>								
Vätecyanid/Aceton	20,6	0,1	20,5	10	205	0,33	3+1 <sup>b</sup>	- <sup>c</sup> /224 <sup>d</sup>
Klorpikrin	20,6	0,1	20,5	10	205	0,33	1	- <sup>c</sup>
Klorpikrin/Aceton	20,6	0,1	20,5	10	205	0,33	1	- <sup>c</sup> /224 <sup>d</sup>

V<sub>tot</sub> = kärlets totala volym, V<sub>w</sub> = volym vatten, V<sub>b</sub> = volym blod, V<sub>a</sub> = volym gas, V<sub>s</sub> = tillsatt/uttagen volym,  $\beta = V_w/V_a$  eller  $V_b/V_a$ ,  $\varphi$  = andelen ämne som extraheras från V<sub>a</sub> vid varje uttag, n = antal försök.

<sup>a</sup>Osäkrare beräknat värde, <sup>b</sup>Ett försök vid 37 °C, <sup>c</sup>Data saknas, <sup>d</sup>Data vid 37 °C sammanställt av Abraham *et al.* 2005.

#### 4.5 Preparering av systemet och etablering av inledande jämvikt

Preparering av kärlet och etablering av en inledande jämvikt mellan gas- och vätskefas utfördes i typfallet enligt följande procedur:

1. En bestämd volym vatten, V<sub>w</sub>, eller blod, V<sub>b</sub>, tillsattes i en glasflaska/HS-vial med känd totalvolym (V<sub>tot</sub>) försedd med lock med dubbla septa.
2. Kärlets septum penetrerades med gastät spruta och en specifik volym gasfas sögs ut.
3. Motsvarande gasvolym drogs från gasstandarder av ämnet/ämnena som skulle bestämmas, tillsattes till kärlet och sedan togs sprutan ut.
4. Kärlet skakades kraftigt i 2 minuter och placerades sedan i tempererat vattenbad (25 °C) under minst 5 minuter.

#### 4.6 MHE-cykler

En typisk procedur för hur MHE-cyklerna utfördes beskrivs nedan:

1. Tidtagareuret nollställdes och startades.
2. En specifik volym luft, V<sub>s</sub> tillsattes med gastät spruta till det preparerade kärlets gasfas.
3. Sprutnålen fick sitta kvar i cirka 10 s och därefter sögs en gasvolym motsvarande V<sub>s</sub> – 100 µl upp. Sprutan togs ut och denna gasvolym kasserades.
4. Omedelbart därefter, sögs 100 µl gasfas ut med gastät Hamilton-spruta (före varje provtagning med sprutan säkerställdes att PTFE-kolvspetsen höll ordentligt tätt genom att försiktigt pressa den mot en plan yta och känna att kolven gav ett motstånd i sprutan när den fördes upp och ner).
5. Gasprovet (100 µl) i Hamilton-sprutan injicerades på GC och analys startades.
6. Kärlet skakades kraftigt i 1 minut och placerades sedan i det tempererade vattenbadet tills tidtagareuret visade 7 minuter från start i punkt 1.
7. Punkt 1-6 upprepades tills 10 st MHE-cykler med efterföljande analys utförts.

#### 4.7 Analys

Analys utfördes med en GC/MS (Agilent 7890A GC/5975C MSD) där gasprovet (100 µl) injicerades manuellt med ett splitförhållande på 1:10 vid injektortemperaturen 200 °C.

Titel/Title

Memo nummer/Number

Utvärdering av en metod för bestämning av fördelningskoefficienter mellan vätiska och luft för flyktiga toxiska ämnen FOI Memo 8143

Kort analysstid var eftersträvansvärd, då detta i vårt fall med snabb jämvikt minskade den totala försökstiden. Låg men tillräcklig retention kunde generellt åstadkommas med en DB-5MS kolonn (DB-5MS, 30 m x 0,25 mm i.d. x 0,25 µm filmtjocklek). För att separera vätecyanid från lufttoppen krävdes dock en annan typ av kolonn (DB-1701, 30 m x 0,25 mm i.d. x 0,25 µm filmtjocklek). Försöken utfördes vid konstant kolonn-temperatur och med ett konstant heliumflöde genom kolonnen (0,9 ml/min). Masspektrometern kördes i läget för elektronjonisering (EI) och med växelvis mätning av fullt spektrum och av utvalda joner (selected ion monitoring, SIM). Ytterligare GC/MS-inställningar redovisas i tabell 2.

**Tabell 2.** GC/MS-inställningar för de tre analysmetoder som användes vid kombinerade försök. Vid försök med enskilda ämnen användes motsvarande instrumentinställningar.

Ämne	Kolonn	Temp-program	RT (min)	Scan (m/z)	SIM-joner (m/z)
PFIB/Hexan	DB-5MS	30 °C i 2 min	2,16 3,29	29-550	PFIB: 181, 200 Hexan: 57, 86
Klorpikrin/Aceton	DB-5MS	70 °C i 4,5 min	3,53 2,21	29-550	Klorpikrin: 117, 119 Aceton : 43, 58
Vätecyanid/Aceton	DB-1701	30 °C i 4 min	1,79 2,32	20-300	Vätecyanid: 26, 27 Aceton : 43, 58

## 5 Resultat och diskussion

Valet av PFIB, vätecyanid och klorpikrin som testämnen gjordes utifrån en tidigare publicerad lista över flyktiga och reaktiva toxiska ämnen [Mörén *et al.* 2021]. Dessa ämnen omfattas av C-vapenkonventionen, bedömdes vara direkt analyserbara med GC-MS och sannolikt ha avsevärd skillnad i värden på fördelningskonstanten, men tillgången på publicerade data var begränsad. Hexan och aceton adderades som referensämnen då betydligt mer litteraturdata fanns tillgängligt och då Henrys löslighetskonstant bedömdes ligga nära motsvarande värden för PFIB respektive vätecyanid. Strategin var att validera MHE-metoden med dessa referensämnen, utföra tester med vatten för de utvalda toxiska ämnena och avslutningsvis även utföra tester med blod. Avseende vatten hämtades litteraturdata för  $\lambda_{w,a}$  från en större sammanställning av jämviktskonstanter enligt Henrys lag [Sander 2015] och för blod användes publicerade data för  $\lambda_{b,a}$  [Abraham *et al.* 2005]. Inledningsvis utfördes försök med endast ett enskilt ämne i kärlet, men i ett senare skede utfördes kombinerade försök med två ämnen där antingen hexan eller aceton adderades som en typ av intern standard som användes för simultan validering av metoden och det specifika försöket, till exempel för att klargöra att inget läckage uppstått. Resultaten visade att detta förfarande inte inverkar på bestämningen av de enskilda föreningarnas fördelningskoefficient.

Minskningen i topparea mellan individuella uttag låg i medeltal på 10-20 % vid de olika MHE-försöken ( $\varphi$ -värden mellan 0,2 - 0,33), vilket visade sig vara tillräckligt för korrekta bestämningar trots att spridningen vid manuell GC-injektion var 4-11%, mätt som relativ standardavvikelse. Med valda värden på  $\beta$  och  $\varphi$  låg toppareorna över detektionsgränsen efter fullbordade försök. Metoden var relativt enkel att sätta upp då förfarandet endast krävde tillgång till gastäta kärl, ett antal gastäta sprutor, tempererat vattenbad, en GC-MS i standardutförande samt gasstandarder, i detta fall preparerade i egen regi. Injicering av gasfasen direkt på GC innebar snabbare analyser jämfört med användning av SPME eller adsorbenttrör. Detta, i kombination med att inledande försök med hexan visade att en jämviktstid på 5-10 minuter var tillräcklig, innebar att tiden för varje enskild MHE-cykel kunde hållas kort. Tidsåtgången för en enstaka bestämning av ett ämnes fördelningskoefficient i vatten eller blod låg ändå kring två timmar inklusive förberedelser samt inledande och avslutande blankinjektioner. Det manuella förfarandet avseende både MHE-cykler och analys innebar också att bemanning krävdes under hela försöket. En GC utrustad med automatiserad provbehandling hade underlättat förfarandet, möjliggjort ökad försöksfrekvens och dessutom ökat reproducerbarheten vid

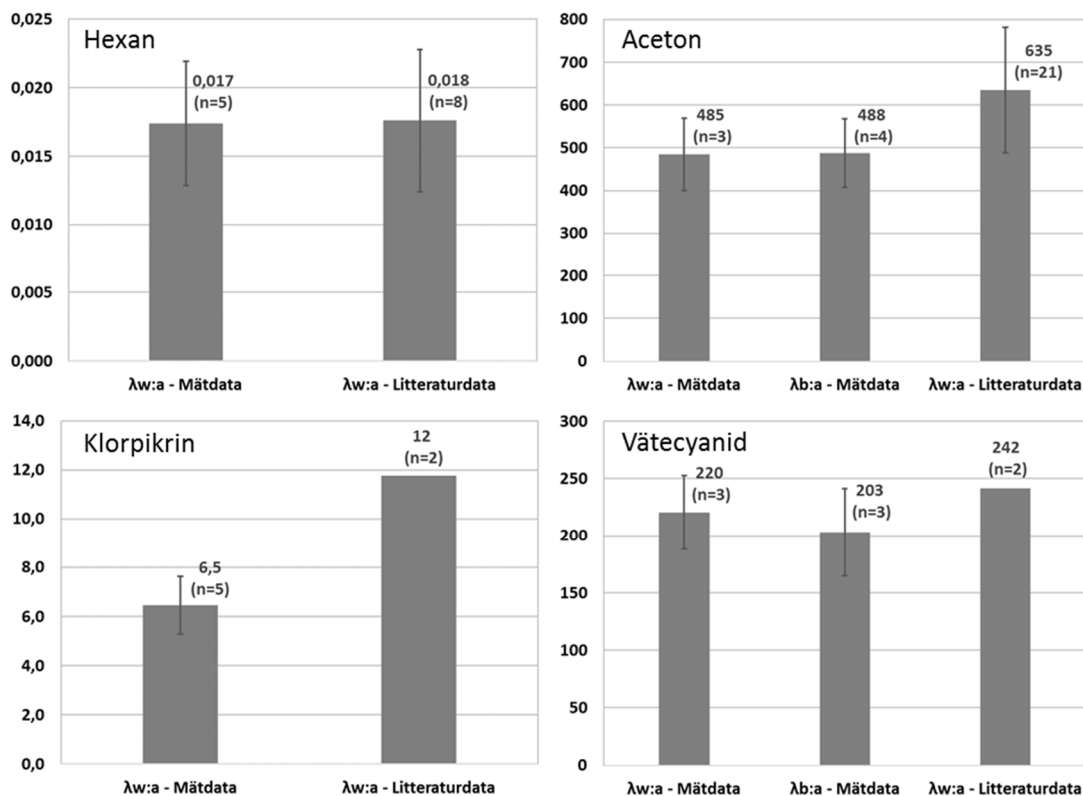


Titel/Title

Memo nummer/Number

Utvärdering av en metod för bestämning av fördelningskoefficienter mellan vatska och luft för flyktiga toxiska ämnen FOI Memo 8143

injektion och därmed precisionen i mätdata. För de större kärlen hade dock inte automatisering med sådan utrustning varit möjlig.



**Figur 1.** Uppmätta värden på fördelningskoefficienter mellan vatten och luft ( $\lambda_{w:a}$  - Mätdata) vid upprepade MHE-försök med hexan, klorpikrin, aceton och vätecyanid, och mellan blod och luft ( $\lambda_{b:a}$  - Mätdata) för de ämnen koefficient var möjlig att bestämma, jämfört med experimentellt bestämda litteraturvärden för vatten ( $\lambda_{w:a}$  - Litteraturdata) [Sander, 2015]. Staplarna visar medelvärde och standardavvikelse där n anger antalet upprepade MHE-försök eller för litteraturdata antalet separata studier.

I figur 1 redovisas resultatet för genomförda MHE-försök i form av uppmätta värden på fördelningskoefficienter, vilka också jämförs med tillgängliga litteraturvärden. Detaljerad information om försöken avseende storlek på kärl, design av vätske- och gasvolym och resulterande värden på  $\beta$  och  $\phi$  återfinns i tabell 1.

Initialt utfördes luft/vatten-försök med hexan respektive PFIB. Båda dessa ämnen utgjorde en stor experimentell utmaning då de karakteriseras av högt ångtryck och låg vattenlöslighet, vilket medför mycket låga  $\lambda_{w:a}$ -värden, för hexan är  $\lambda_{w:a} = 0,017$  enligt litteraturdata. För PFIB är  $\lambda_{w:a}$  antagligen ännu lägre, men experimentella data saknas och det enda tillgängliga litteraturvärdet på 0,0007 bygger på osäkrare teoretiska beräkningar. Detta innebär att en optimal försöksdesign för hexan och PFIB innebär en mycket stor vätskevolym i förhållande till gasvolym, vilket i försöken föranledde valet av 1 liter Schottflaska fylld med så mycket vatten att gasfasen endast utgjorde 10 respektive 20 ml. Detta motsvarar lämpliga  $\beta$ -värden för hexan (0,0096 respektive 0,018), medan ett  $\beta$ -värde på 0,0007, vilket skulle kunna vara mest optimalt för PFIB, dock inte var praktiskt möjligt att uppnå.

Trots stor vätskevolym, relativt kort jämviktstid (5-10 minuter) och viss spridning vid den linjära regressionen ( $r^2 = 0,946 \pm 0,002$ ), kunde fördelningskoefficienten för hexan bestämmas vid fem upprepade försök med relativt god precision ( $\lambda_{w:a} = 0,017 \pm 0,004$ ) och med mycket god överrensstämmelse med litteraturdata (figur 1), vilket visade att metodiken fungerade. Försök med PFIB gav däremot signifikant negativa värden för  $\lambda_{w:a}$  vid tre upprepade försök ( $\lambda_{w:a} = -0,0033 \pm 0,0005$ ,  $r^2 = 0,998 \pm 0,002$ ). Förutsatt att analysresultaten var korrekta kan negativa

Titel/Title

Memo nummer/Number

Utvärdering av en metod för bestämning av fördelningskoefficienter mellan FOI Memo 8143 vätska och luft för flyktiga toxiska ämnen

värden för  $\lambda_{w:a}$  endast uppstå om PFIB på något sätt försvunnit eller blivit otillgängligt i systemet. Teoretiska beräkningar visade att detta skulle kunna motsvara en förlust på omkring 20% av totala massan PFIB i systemet vid varje MHE-cykel utöver det uttag som görs med sprutan. I ett av försöken gjordes dessutom en kombinerad bestämning av både hexan och PFIB, vilket visade på korrekt bestämning för hexan ( $\lambda_{w:a} = 0,020$ ) men samma negativa värde för PFIB ( $\lambda_{w:a} = -0,0032$ ). Detta låg till grund för antagandet att resultatet för PFIB inte var orsakat av läckage utan snarare av att PFIB försvinner från systemet på annat sätt, mest troligt genom en reaktion med vatten. Även om det finns tidigare uppgifter om att PFIB sönderfaller i vatten [Hoenig, 2007] framgår det inte där hur snabb den processen är. Ytterligare analyser utfördes för att identifiera eventuella flyktiga nedbrytningsprodukter i vattnet, som skulle kunna vara aktuella som utandningsmarkörer, men utan entydiga resultat. Kompletterande statistiska försök visade även dessa på en förlust av PFIB i gasfas som ökade markant om flaskan skakades. Då PFIB uppvisade nedbrytning i vatten genomfördes inte fullständiga MHE-försök med blod, som till ca 80 % består av vatten och en ytterligare mer komplex matrissammansättning. Statiska tester med blod i 20 ml HS-vialer visade dock 36 gånger lägre PFIB-koncentrationer i gasfasen jämfört med vatten, vilket ligger stärkte beslutet att inte gå vidare med blod/luft-försök för PFIB.

Försök med aceton och vätecyanid, vilkas jämvikter är betydligt mer förskjutna mot vattenfasen ( $\lambda_{w:a}$ -värde på 635 respektive 242 enligt litteraturdata) än hexan, utfördes tillsammans i 20 ml-vialer med endast 100  $\mu$ l vatten och resterande gasfas ( $\beta = 205$ ). Tre upprepade försök visade på relativt god precision för både aceton ( $\lambda_{w:a} = 485 \pm 84$ ) och vätecyanid ( $\lambda_{w:a} = 220 \pm 32$ ) trots viss spridning vid den linjära regressionen ( $r^2 = 0,93 \pm 0,04$  respektive  $0,98 \pm 0,01$ ). Den bestämda fördelningskoefficienten för aceton skiljde sig inte signifikant åt jämfört med litteraturdata (figur 1) och för vätecyanid överensstämde fördelningskoefficienten också väl, även om antalet tillgängliga litteraturvärden var få. Vätecyanid, med ett  $pK_a = 9,31$ , dissocierar i vatten men inverkan av detta är endast marginell vid pH 7 då CN<sup>-</sup>-koncentrationen endast utgör 0,5 % av HCN koncentrationen.

Tre upprepade aceton/vätecyanid-försök med blod, utförda på samma sätt som vattenförsöken, gav fördelningskoefficienter för aceton ( $\lambda_{b:a} = 525 \pm 38$ ,  $r^2 = 0,97 \pm 0,01$ ) och vätecyanid ( $\lambda_{b:a} = 203 \pm 38$ ,  $r^2 = 0,99 \pm 0,004$ ) som var mycket lika de för vatten. Inräknat ytterligare ett försök med blod, utfört tillsammans med klorpikrin, blev medelvärdet för aceton  $\lambda_{w:a} = 488 \pm 80$ . Metodiken verkar således fungera väl med blod för både aceton och vätecyanid med en fördelning som uppför sig på samma sätt som mot vatten. Ytterligare ett likadant försök med blod utfördes, fast vid 37 °C, vilket gav  $\lambda_{b:a} = 274$  för aceton och  $\lambda_{b:a} = 246$  för vätecyanid, där värdet för aceton låg rimligt nära ett tillgängligt litteraturvärde på 224 [Abraham *et al.* 2005]. Något litteraturvärde för vätecyanid har inte återfunnits.

För klorpikrin, som har lägre vattenlöslighet än vätecyanid, utfördes försök både i 100 ml flaska och 20 ml vial fylld med 11 ml respektive 1,6 ml vatten och resterande gasfas ( $\beta = 11$  respektive 12), vilket var lämpligt baserat på enstaka litteraturvärden för Henrys löslighetskonstant i vatten ( $\lambda_{w:a} = 12$ ). Trots olika kärvolym gav båda utförandena mycket lika resultat och  $\lambda_{w:a}$  bestämdes till  $6,5 \pm 1,2$  utifrån totalt fem upprepade försök där  $r^2$  vid linjär regression var  $0,97 \pm 0,03$ . Det bestämda värdet på  $\lambda_{w:a}$  var dock 2 ggr lägre än litteraturvärdet. Skillnaden kunde inte förklaras annat än med att litteraturvärdet endast baserades på två enskilda studier där dessutom dynamisk bestämning använts.

Inledande försök med klorpikrin mot blod, under förutsättningar identiska med vattenförsöken (20 ml vial,  $\beta = 12$ , temperatur = 25 °C), uppvisade så låga koncentrationer av klorpikrin i gasfas (1000 ggr lägre än med vatten) att försök inte gick genomföra. Volymen blod reducerades därför avsevärt (100  $\mu$ l,  $\beta = 2$ ) i två ytterligare försök, men dessa uppvisade negativa värden för  $\lambda_{w:a}$  (-94 respektive -84) där  $r^2$  vid linjär regression var 0,999 respektive 0,996. Trots mycket liten volym blod försvinner alltså en stor andel klorpikrin (omkring 40 % av total massan klorpikrin i systemet) irreversibelt vid varje MHE-cykel. På grund av klorpikrins förmodade reaktion med blod kan därför inte en fördelningskoefficient enligt den här definitionen bestämmas.

Titel/Title

Memo nummer/Number

Utvärdering av en metod för bestämning av fördelningskoefficienter mellan vätiska och luft för flyktiga toxiska ämnen FOI Memo 8143

## 6 Slutsats

Sammantaget visar försöken att denna MHE-metod går att använda för att bestämma fördelningskoefficienter för ämnen i ett relativt stort löslighetsspann. Dock är det viktigt att försöken designas med lämplig volym på kärl och med lämpliga värden på  $\beta$  och  $\varphi$  utifrån ämnets förmodade fördelning mellan vätske- och gasfas.

Förfarandet med många upprepade mätningar innebär att  $\lambda_{w:a}$  kan bestämmas med förvånansvärt hög precision och noggrannhet, trots relativt stor mätosäkerhet i indata. En förutsättning är dock att ämnen som undersöks ej påverkas av andra irreversibla processer såsom kemisk reaktion, sönderfall eller adsorption av ämnet i luft/vätske-systemet. I de fall där detta sker kan ändå resultatet som erhålls med metodiken belysa en massförlust i systemet och på så sätt ge en indikation på att ämnet inte är lämpligt som markör i utandningsluft. Den mer komplexa sammansättningen av blod jämfört med vatten som matris ökar sannolikheten för förluster genom irreversibla processer, vilket innebär att ett ämnes fördelning mellan blod och luft kan vara svårt att fastställa, speciellt för reaktiva ämnen.

Bestämning av fördelningskoefficienter mot vatten med MHE-metoden var möjlig för hexan, aceton, klorpikrin och vätecyanid, medan PFIB visade sig vara för reaktivt. Bestämning av fördelningskoefficienter även mot blod var möjlig för vätecyanid och aceton, medan klorpikrin förmodligen reagerade med blodet. För PFIB utfördes inga bestämningar mot blod, på grund av påvisad reaktivitet med vatten, och därför inte heller för dess referensämne hexan. Vår slutsats är därför att av de tre undersökta ämnena är det vätecyanid som potentiellt kan användas som exponeringsmarkör i utandningsluft. För de flesta övriga ämnen som ingår i den tidigare publicerade listan över flyktiga och reaktiva toxiska ämnen [Mörén *et al.* 2021] är vår generella bedömning att de sannolikt också är för reaktiva, medan enstaka ämnen som fosfin och cyanklorid fortsatt bedöms ha viss potential att användas som utandningsmarkörer för exponering. Detta innebär att användning av utandningsprover för en bredare screening av den här typen av ämnen inte är möjlig.

Titel/Title

Memo nummer/Number

Utvärdering av en metod för bestämning av fördelningskoefficienter mellan FOI Memo 8143 vätska och luft för flyktiga toxiska ämnen

## 7 Referenser

- Abraham, M. H., Ibrahim, A., Acree W. E. (2005). Air to Blood Distribution of Volatile Organic Compounds: A Linear Free Energy Analysis, *Chemical Research in Toxicology*. 2005, 18, 5, 904–911. <https://doi.org/10.1021/tx050066d>
- Alonso M, Sanchez JM. (2013). Analytical challenges in breath analysis and its application to exposure monitoring. *Trends in Analytical Chemistry*, 44, 78-89. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.11.011>
- Catino A., de Gennaro G. Di Gilio A., Facchini L., Galetta D., Palmisani J., Porcelli F., Varesano N. (2019). Breath Analysis: A Systematic Review of Volatile Organic Compounds (VOCs) in Diagnostic and Therapeutic Management of Pleural Mesothelioma. *Cancers*, 11, 831, 1-19. <https://doi.org/10.3390/cancers11060831>
- Chai, X. S., och Zhu, J. Y. (1998). Simultaneous measurements of solute concentration and Henry's constant using multiple headspace extraction gas chromatography. *Analytical Chemistry*, 70(16), 3481-3487. <https://doi.org/10.1021/ac980198u>
- Harvey, A. H. och Smith, F. L. (2007). Avoid common pitfalls when using Henry's law. *Chemical Engineering Progress*, 103, 33–39.
- Hoening S. L. Compendium of Chemical Warfare Agents, 2007<sup>th</sup> edition. New York, NY: Springer Science + Business Media, LLC, sida 66-67, 2007.
- King, J., Unterkofler, K., Teschl, G. Teschl, G., Teschl, S., Koc, H., Hinterhuber, H., Amann, A. (2011). A mathematical model for breath gas analysis of volatile organic compounds with special emphasis on acetone. *Journal of Mathematical Biology*, 63, 959–999. <https://doi.org/10.1007/s00285-010-0398-9>
- Kolb, B. och Ettre, L. S. (1991). Theory and practice of multiple headspace extraction. *Chromatographia*, 32, 505-513.
- Mackay, D. och Shiu, W. Y. (1981). A critical review of Henry's law constants for chemicals of environmental interest. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 10, 1175-1199. <https://doi.org/10.1063/1.555654>
- Mochalski, P., King, J., Kupferthaler, A., Unterkofler, K., Hinterhuber, H., & Amann, A. (2011). Measurement of isoprene solubility in water, human blood and plasma by multiple headspace extraction gas chromatography coupled with solid phase microextraction. *Journal of Breath Research*, 5(4), Article 046010. <https://doi.org/10.1088/1752-7155/5/4/046010>
- Mörén L., Tengel T., Magnusson R., Forsgren N. and Wingfors H. (2021). Sammanställning av litteraturdata kring analysmetoder för högflyktiga reaktiva gaser. FOI D-rapport, FOI-D--1043—SE, FOI, Umeå.
- Sander, R. (2015). Compilation of Henry's law constants (version 4.0) for water as solvent. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 15(8), 4399-4981. <https://doi.org/10.5194/acp-15-4399-2015>
- Sander, R., Schwartz, S. E., Acree Jr., W. E., DeVisscher, A., Wallington, T. J. (2022). Henry's law constants (IUPAC Recommendations 2021). *Pure and Applied Chemistry*, 94(1), 71-85. <https://doi.org/10.1515/pac-2020-0302>
- Sun X., Shao K. och Wang T. (2016). Detection of volatile organic compounds (VOC) from exhaled breath as noninvasive methods for cancer diagnosis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408, 2759-2780. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-9200-6>
- Vallero, D. Fundamentals of Air Pollution, 5th edition, Kapitel 18: Air Pollutant Kinetics and Equilibrium, Academic Press, Elsevier Inc., 2014. <https://doi.org/10.1016/C2012-0-01172-6>
- Wingfors H., Mörén L., Tengel T., Forsgren N. and Magnusson R. (2021). Metodik för bestämning av gasers blod:luft fördelningskoefficienter. FOI D-rapport, FOI-D--1031—SE, FOI, Umeå.
- Wingfors H., Mörén L., Wikteliuss, D. and Magnusson R. (2022). The potential of thermal desorption-GC/MS-based analytical methods for the unambiguous identification and quantification of perfluoroisobutene and carbonyl fluoride in air samples. *Journal of Separation Science*, 1-9. <https://doi.org/10.1002/jssc.202200251>

Titel/Title

Memo nummer/Number

Utvärdering av en metod för bestämning av fördelningskoefficienter mellan FOI Memo 8143 vätska och luft för flyktiga toxiska ämnen

## 8 Bilaga A - Beräkningar utifrån simulerade MHE-försök

För att bättre förstå vilken inverkan  $\beta$  och  $\varphi$  har på bestämningen av regressionskoefficienten ( $b$ ) och varför  $\beta = \lambda_{w:a}$  är optimalt, utfördes beräkningar för ett antal simulerade fördelningsförsök med MHE (10 cykler) enligt Mochalski et al (2011).

### Metod

Beräkningarna utfördes för tre fiktiva ämnen (ämne 1-3) med varierande värden på Henrys löslighetskonstant ( $\lambda_{w:a} = 0,01$ ,  $\lambda_{w:a} = 1$  respektive  $\lambda_{w:a} = 100$ ) som antogs uppföra sig idealt utifrån Henrys lag, samt för ytterligare ett referensämne med den orimliga egenskapen att det är helt olösligt i vatten ( $\lambda_{w:a} = 0$ ). För vart och ett av ämne 1-3 varierades  $\beta$  i fem nivåer relativt ämnets  $\lambda_{w:a}$  (dvs. relativt  $\beta_{opt}$ ) enligt tabell A1, med  $\beta$  som mest 100 ggr högre än  $\beta_{opt}$  och som minst 100 ggr lägre.

**Tabell A1.** Värden på kvoterna mellan gas- och vätskevolym,  $\beta$ , i de simulerade MHE-försöken.

	Ämne 1	Ämne 2	Ämne 3
$\lambda_{w:a}$	0,01	1	100
$\beta = \beta_{opt} \times 0,01$	0,0001	0,01	1
$\beta = \beta_{opt} \times 0,1$	0,001	0,1	10
$\beta = \beta_{opt}$	0,01	1	100
$\beta = \beta_{opt} \times 10$	0,1	10	1000
$\beta = \beta_{opt} \times 100$	1	100	10000

För varje nivå på  $\beta$  varierades den tillsatta/uttagna volymen ( $V_s$ ) i 5 nivåer så att den utgjorde 10, 30, 50, 70 respektive 90 % av gasvolymen i kärlet ( $V_a$ ), motsvarande  $\varphi$ -värden på 0,09, 0,23, 0,33, 0,41 respektive 0,47. För varje kombination av  $\beta$ - och  $\varphi$ -värde utfördes också beräkningar för ämnet med  $\lambda_{w:a} = 0$ , vilka motsvarar hur systemet uppför sig om ämnet inte skulle ha löst sig alls i vätskan. För varje enskilt simulerat försök inleddes beräkningarna med att bestämma massan av ämnet i varje enskilt uttag utifrån massfördelning mellan faserna enligt ämnets  $\lambda_{w:a}$ . Därefter avsattes motsvarande individuella GC-areor mot summerade GC-areor i ett koordinatsystem följt av linjär regression samt slutligen uträkning av  $b$ . För att i beräkningarna erhålla värden motsvarande areaenheter från GC-analys gjordes tre antaganden: att den initiala massan av ämnet var 0,04  $\mu\text{g}$ , att GC-responsfaktorn var  $10^6$  areaenheter/ $\mu\text{g}$  och att 100 % av uttaget analyserades. De faktiska värdena på dessa tre parametrar inverkar inte på beräkningarna i övrigt. Då både  $\beta$  och  $\varphi$  är relativa mått behöver inte kärlets storlek definieras.

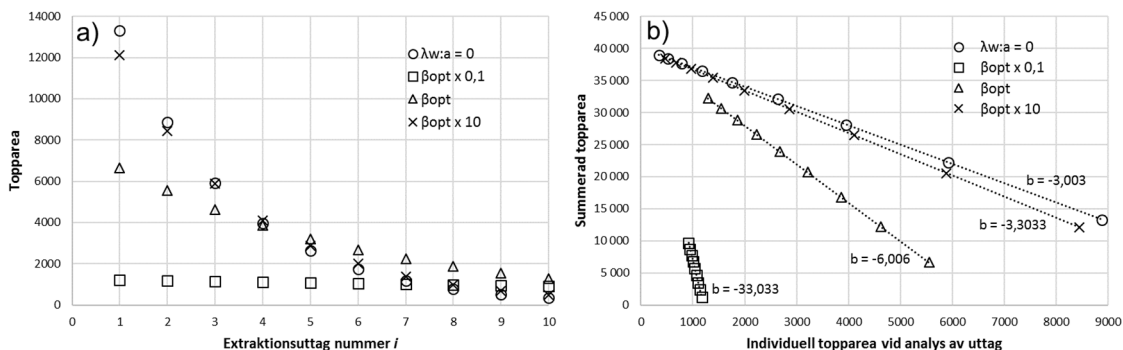
### Resultat och diskussion

Resultat från beräkningarna redovisas i figur A1 och A2. Figur A1 illustrerar simulerade försök vid tre nivåer på  $\beta$  och ett fast  $\varphi$ -värde på 0,333 ( $V_s = 50\%$  av  $V_a$ ). Då figuren visar  $\beta$  uttryckt som multiplar av  $\beta_{opt}$  är de redovisade resultaten oberoende av ämnets faktiska jämviktskonstant  $\lambda_{w:a}$ , dvs. minskning i topparea och bestämda värden på  $b$  är desamma oavsett om  $\lambda_{w:a}$ -värdet är 0,01, 1 eller 100. Att så var fallet var inte uppenbart förrän beräkningarna utförts för alla tre ämnen. Figuren A1a visar att topparean minskar på olika sätt vid olika värden på  $\beta$ , där arean minskar snabbast då  $\beta$  är 10 ggr högre än optimalt och långsammast då  $\beta$  är 10 ggr lägre än optimalt. Detta överensstämmer med att vätskereservoaren då är proportionellt mindre respektive större och därför lagrar olika stor mängd av ämnet vilket i sin tur påverkar påfyllningen av ämnet till gasfas efter varje uttag. Vid " $\beta = \beta_{opt} \times 10$ " är vätskereservoaren så liten att den största massandelen av ämnet befinner sig i gasfas och areaminskningen därför blir väldigt lik ett helt olösligt ämne, dvs. " $\lambda_{w:a} = 0$ " i figuren. Data för " $\lambda_{w:a} = 0$ " blir detsamma för alla tre  $\beta$ -värden och visas därför endast som en punktserie i figur A1a. Vätskereservoaren vid " $\beta = \beta_{opt} \times 0,1$ " är däremot så stor att koncentrationen av ämnet i gasfas nästan återställs efter varje uttag vilket får effekten att mängden ämne och därigenom topparean minskar väldigt lite mellan uttagen från gasfas.

Titel/Title

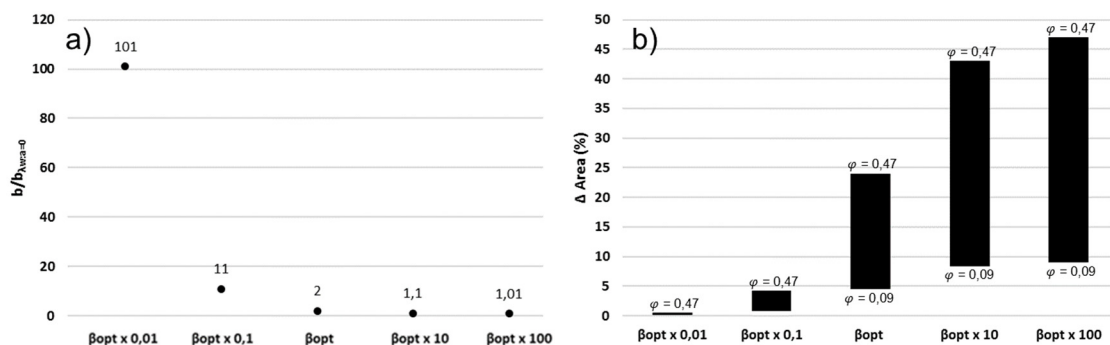
Memo nummer/Number

Utvärdering av en metod för bestämning av fördelningskoefficienter mellan FOI Memo 8143 vätska och luft för flyktiga toxiska ämnen



**Figur A1.** Resultat från simulerade MHE-försök (10 cykler,  $\varphi = 0,333$ ) för ett fiktivt ämne (oberoende av Henrys löslighetskonstant för ämnet,  $0 < \lambda_{w:a} < \infty$ ) där kvoten mellan gas- och vätskevolym ( $\beta$ ) varierades i tre nivåer kring  $\beta_{opt}$  samt för ett fiktivt ämne helt olösligt i vätskan ( $\lambda_{w:a} = 0$ ) vid motsvarande värden på  $\beta$ . Graf a) visar förändringen i topparea vid analys av extraktionsuttag och graf b) visar linjär regression utifrån försöken och resulterande regressionskoefficienter ( $b$ ).

I likhet med areakurvorna visar resultaten från den linjära regressionen (figur A1b) att  $b$  för " $\beta = \beta_{opt} \times 10$ " ( $-3,003$ ) ligger nära  $b$  för " $\lambda_{w:a} = 0$ " ( $-3,3033$ ) vilket innebär att dessa två regressionskoefficienter experimentellt skulle vara svåra att statistiskt skilja åt. Värdet på  $b$  för " $\beta_{opt} \times 0,1$ " ( $-33,033$ ) skiljer sig däremot avsevärt från  $b$  för " $\lambda_{w:a} = 0$ " men kommer att vara bestämd med betydligt större experimentell osäkerhet då de individuella toppareorna skiljer sig så lite åt. För att åstadkomma en noggrann experimentell bestämning av jämviktskonstanten  $\lambda_{w:a}$  med hjälp av MHE måste  $b$  kunna fastställas med tillräckligt hög noggrannhet, vilket i praktiken kan åstadkommas genom att utföra 5-10 MHE cykler [Chai and och Zhu 1998]. Beräkningarna visar att detta uppnås genom att designa försök som resulterar i stor skillnad i topparea mellan individuella uttag och som ger ett värde på  $b$  som statistiskt skiljer sig åt från  $b$  för ett olösligt ämne ( $\lambda_{w:a} = 0$ ). Genom att designa systemet så att  $\beta = \beta_{opt}$  eller nära detta värde åstadkoms en kompromiss mellan dessa två kriterier.



**Figur A2.** Inverkan av  $\beta$  (i fem nivåer kring  $\beta_{opt}$ ) och  $\varphi$  ( $0,09 \leq \varphi \leq 0,47$ ) på förhållandet mellan regressionskoefficienten ( $b$ ) för ett fiktivt ämne (oberoende av Henrys löslighetskonstant för ämnet,  $0 < \lambda_{w:a} < \infty$ ) och regressionskoefficienten för ett ämne med  $\lambda_{w:a} = 0$  ( $b_{\lambda_{w:a}=0}$ , graf a) samt inverkan på den procentuella skillnaden i area mellan extraktionsuttag ( $\Delta$  Area, graf b).

I figur A2 illustreras hur kvoten mellan  $b$  för ett fiktivt ämne och  $b$  för ett ämne med  $\lambda_{w:a} = 0$ , samt hur den procentuella skillnaden i topparea mellan individuella uttag varierar vid olika värden på  $\beta$  när även uttagsvolymen,  $V_s$ , ändras så att  $\varphi$ -värdet varierar mellan 0,09-0,47. För ett givet värde på  $\beta$  är kvoten " $b/b_{\lambda_{w:a}=0}$ " oberoende av värdet på  $\varphi$  och visas därför i figur A2a som enskilda punkter. I likhet med figur A1 gäller resultaten inte bara för ämne 1-3 utan för ämnen med vilken löslighet som helst med  $0 < \lambda_{w:a} < \infty$ .

Titel/Title

Memo nummer/Number

Utvärdering av en metod för bestämning av fördelningskoefficienter mellan FOI Memo 8143 vätska och luft för flyktiga toxiska ämnen

Från figur A2a framgår det att genom att designa MHE-försöket så att  $\beta = \beta_{opt}$  kommer regressionskoefficienten alltid att skilja sig åt med en faktor 2 jämfört med ett ämne som är helt olösligt i vätskan, oberoende av värdet på  $\varphi$ . Värdet på  $\beta$  som är 10 respektive 100 ggr högre än optimalt innebär en skillnad i regressionskoefficient på 10 % respektive 1 %, vilket är en för liten skillnad för att kunna göra en säker experimentell bestämning. Motsvarande skillnad för värden på  $\beta$  som är 10 respektive 100 ggr lägre än optimalt, är 11 ggr respektive 101 ggr. Areaminskningen (figur A2b) påverkas däremot av värdet på  $\varphi$  (valet av  $V_s$ ) på det sättet att en ökning av  $V_s$  ger en större procentuell areaminskning mellan individuella uttag för varje givet  $\beta$ -värde, vilket i figur A2b illustreras som staplar som anger spannet i  $\Delta$  Area då  $\varphi$  ändras mellan 0,09 och 0,47. Vid  $\beta = \beta_{opt}$  kan alltså den procentuella areaminskningen enligt figuren justeras mellan 4,5 % och 24 % genom att ändra den tillsatta/uttagna volymen ( $V_s$ ) mellan 10 % och 90 % av gasvolymen i kärlet ( $V_a$ ). Större procentuell areaskillnad kan uppnås för värden på  $\beta$  som är 10 respektive 100 ggr högre än optimalt, medan det för värden på  $\beta$  som är 10 respektive 100 ggr lägre än optimalt inte går att uppnå areaskillnader som är högre än 4 % respektive 0,5 %. Då precisionen för GC-injektioner mätt som relativ standardavvikelse vanligen ligger kring 1 % med autoinjektor och 5 % vid manuell injektion och reproducerbarheten dessutom påverkas av andra faktorer är det rimligt att areaskillnaden bör anpassas till omkring 10 % eller över. Detta utesluter värden på  $\beta$  som är 10 respektive 100 ggr lägre än optimalt där gränsen för 10 % areaskillnad går vid ett  $\beta$ -värde som är  $\sim 3$  ggr lägre än optimalt om värdet på  $\varphi$  ökas maximalt ( $\varphi = 0,47$ ). Vid designen av MHE-försök är alltså valet av  $\beta$  och  $\varphi$  kritiska för att kunna åstadkomma en korrekt bestämning av fördelningskoefficienten. Tumreglerna blir följaktligen att försöka uppnå ett  $\beta$  så nära  $\lambda_{w:a}$  som möjligt och eftersträva större uttag för säkra bestämningar.