ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 53184— 2008

РЫБА, МОРСКИЕ БЕСПОЗВОНОЧНЫЕ И ПРОДУКТЫ ИХ ПЕРЕРАБОТКИ

Определение содержания диоксинов и диоксинподобных полихлорированных бифенилов хромато-масс-спектральным методом

Издание официальное

БЗ 1—2009/630

Москва
Стандартинформ
2010

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН ГУ «НПО «Тайфун» Федеральной службы по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды, ФГУП «Атлантический научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (ФГУП «Атлант НИРО»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 18 декабря 2008 г. № 634-ст

4 Настоящий стандарт разработан с учетом основных нормативных положений международных стандартов ИСО 18073:2004 «Качество воды. Определение содержания от тетра- до октахлористых диоксинов и фуранов. Метод изотопного разведения HRGC/HRMS», ИСО 17858:2007 «Качество воды. Определение содержания диоксинподобных PCB. Метод GC/MS» и основных положений МУК МЗ РФ от 01.06.99 «Методические указания по идентификации и изомерспецифическому определению полихлорированных дибензо-n-диоксинов и дибензофуранов в мясе, птице, рыбе, продуктах и субпродуктах из них, а также других жиросодержащих продуктах и кормах методом хромато-масс-спектрометрии»

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2010

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Нормативные ссылки . . . 1
3 Термины, определения и сокращения . . . 2
4 Требования безопасности . . . 3
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы, материалы . . . 3
5.1 Средства измерений . . . 3
5.2 Вспомогательные устройства и лабораторная посуда . . . 4
5.3 Реактивы и материалы . . . 5
5.4 Стандартные растворы и контрольные образцы . . . 5
6 Определение полихлорированных дибензо-п-диоксинов и дибензофуранов . . . 7
6.1 Подготовка посуды, сорбентов и реактивов . . . 7
6.2 Калибровка колонки Bio-Beads SE-X3 . . . 8
6.3 Подготовка градуировочных растворов ПХДД/ДФ и растворов изотопно-меченых суррогатных и внутренних стандартов . . . 9
6.4 Подготовка проб для анализа . . . 11
7 Проведение испытаний . . . 11
7.1 Экстракция ПХДД/ДФ . . . 11
7.2 Очистка экстракта методом колоночной хроматографии . . . 12
7.3 Выполнение измерений . . . 13
7.4 Обработка результатов измерений . . . 18
7.5 Характеристика погрешности измерений . . . 18
7.6 Оформление результатов измерений . . . 19
7.7 Контроль качества измерений . . . 19
8 Определение диоксинподобных (планарных) полихлорированных бифенилов . . . 20
8.1 Подготовка калибровочных растворов ПХБ и растворов изотопно-меченых суррогатных и внутренних стандартов . . . 20
8.2 Подготовка проб для анализа . . . 22
8.3 Экстракция планарных ПХБ . . . 23
8.4 Очистка экстракта методом колоночной хроматографии . . . 23
8.5 Выполнение измерений . . . 23
8.6 Обработка результатов измерений . . . 26
8.7 Характеристики погрешности измерений . . . 27
8.8 Оформление результатов измерений . . . 27
8.9 Контроль качества измерений . . . 28
Приложение А (справочное) Диоксиновый эквивалент токсичности (*TEQ*) конгенеров ПХДД/ДФ и диоксинподобных ПХБ . . . 29
Приложение Б (справочное) Колонки для анализа . . . 30
Приложение В (справочное) Форма представления результатов анализа на содержание ПХДД/ПХДФ . . . 32
Приложение Г (справочное) Форма представления результатов анализа на содержание планарных полихлорированных бифенилов . . . 34
Библиография . . . 35

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

РЫБА, МОРСКИЕ БЕСПОЗВОНОЧНЫЕ И ПРОДУКТЫ ИХ ПЕРЕРАБОТКИ

Определение содержания диоксинов и диоксинподобных полихлорированных бифенилов хромато-масс-спектральным методом

Fish, marine invertebrates and products of their processing.
Determination of dioxins and dioxin-like biphenyls content by GC-MS method

Дата введения — 2010—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт предназначен для идентификации и выполнения измерений массовых концентраций 17 высокотоксичных полихлорированных дибензо-п-диоксинов и дибензофуранов: 2,3,7,8-тетрахлордибензо-п-диоксина, 2,3,7,8-пентахлордибензо-п-диоксина; 1,2,3,4,7,8-гексахлордибензо-п-диоксина; 1,2,3,6,7,8-гексахлордибензо-п-диоксина; 1,2,3,7,8,9-гексахлордибензо-п-диоксина; 1,2,3,4,6,7,8-гептахлордибензо-п-диоксина; октахлордибензо-п-диоксина; 2,3,7,8-тетрахлордибензофурана; 1,2,3,7,8-пентахлордибензофурана; 2,3,4,7,8-пентахлордибензофурана; 1,2,3,4,7,8-гексахлордибензофурана; 1,2,3,6,7,8-гексахлордибензофурана; 2,3,4,6,7,8-гексахлордибензофурана; 1,2,3,7,8,9-гексахлордибензофурана; 1,2,3,4,6,7,8-гептахлордибензофурана; 1,2,3,4,7,8,9-гептахлордибензофурана; октахлордибензофурана, а также 14 диоксиноподобных планарных полихлорированных бифенилов (ПХБ): 3,3′,4,4′-тетрахлорбифенила; 3,4,4′,5-тетрахлорбифенила; 2,3,3′,4,4′-пентахлорбифенила; 2,3,4,4′,5-пентахлорбифенила; 2,3′,4,4′,5-пентахлорбифенила; 2′,3,4,4′,5-пентахлорбифенила; 3,3′,4,4′,5-пентахлорбифенила; 2,3,3′,4,4′,5-гексахлорбифенила; 2,3,3′,4,4′,5′-гексахлорбифенила; 2,3′,4,4′,5,5′-гексахлорбифенила; 3,3′,4,4′,5,5′-гексахлорбифенила; 2,2′,3,3′,4,4′,5-гептахлорбифенила; 2,2′,3,4,4′,5,5′-гептахлорбифенила; 2,3,3′,4,4′,5,5′-гептахлорбифенила в рыбе, морских беспозвоночных и продуктах их переработки.

Метод анализа основан на экстракции аналитов органическими растворителями, последовательной очистке экстракта с применением гель-фильтрации и колоночной хроматографии на различных сорбентах и количественном анализе методом хромато-масс-спектрометрии с использованием суррогатных изотопно-меченых стандартов — аналогов определяемых соединений, вводимых в пробу на стадии пробоподготовки.

Предел обнаружения различных конгенеров составляет соответственно от 0,1 до 0,5 нг/кг. Определению не мешает присутствие в образцах пестицидов, полихлорированных бифенилов и прочих галогенированных соединений.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р 52161.2.15—2006 (МЭК 60335-2-15:2005) Безопасность бытовых и аналогичных электрических приборов. Часть 2.15. Частные требования для приборов для нагревания жидкостей

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 201—76 Тринатрийфосфат. Технические условия

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

Издание официальное

ГОСТ 2652—78 Калия бихромат технический. Технические условия
ГОСТ 4166—76 Реактивы. Натрий сернокислый. Технические условия
ГОСТ 4204—77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия
ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия
ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия
ГОСТ 6995—77 Реактивы. Метанол-яд. Технические условия
ГОСТ 7636—85 Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа
ГОСТ 9293—74 Азот газообразный и жидкий. Технические условия
ГОСТ 9968—86 Метилен хлористый технический. Технические условия
ГОСТ 20010—93 Перчатки резиновые технические. Технические условия
ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования
ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры
ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний
ГОСТ 29227—91 (ИСО 835—80) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины, определения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1.1 **полихлорированные дибензо-n-диоксины/дибензофураны;** ПХДД/ДФ: Все конгенеры дибензо-n-диоксинов и дибензофуранов с содержанием в молекуле от одного до восьми атомов хлора.

3.1.2 **суррогатный стандарт;** *SIS*: Смесь конгенеров ПХДД/ДФ или ПХБ, изотопно-меченых по углероду $^{13}C_{12}$, вводимая в пробу на стадии обработки для контроля полноты извлечения и количественных расчетов.

3.1.3 **внутренний стандарт;** *RIS*: Изотопно-меченый по углероду $^{13}C_{12}$ изомер ПХДД/ДФ, не входящий в состав *SIS*, вводимый в подготовленный к анализу экстракт для контроля конечного объема экстракта, проверки стабильности работы масс-спектрометра и оперативного контроля эффективности хроматографического разделения изомеров.

3.1.4 **реконструированная масс-хроматограмма:** Масс-хроматограмма, полученная компьютерной обработкой результатов анализа и показывающая значение сигнала, создаваемого ионами с заданной массой, а.е.м., характерной для конгенеров ПХДД/ДФ с определенной степенью хлорирования.

3.1.5 **диоксиновый эквивалент токсичности;** *TEQ*: Конгенеры ПХДД/ДФ или ПХБ — значение, выраженное в относительных величинах токсичности, установленных Всемирной организацией здравоохранения при условии, что токсичность изомера 2,3,7,8-тетрахлордибензо-n-диоксина принята равной 1 (приложение А).

3.1.6 **суммарный диоксиновый эквивалент токсичности пробы:** Суммарная токсичность пробы, создаваемая токсичными конгенерами ПХДД/ДФ и планарными ПХБ, определяемая как сумма произведений концентраций каждого конгенера на соответствующий эквивалент токсичности (Σ *TEQ*, пг/г).

3.2 В настоящем стандарте применены следующие сокращения для нижеследующих конгенеров:
ТХДД — любой изомер тетрахлордибензо-n-диоксина;
ПеХДД — любой изомер пентахлордибензо-n-диоксина;
ГкХДД — любой изомер гексахлордибензо-n-диоксина;
ГпХДД — любой изомер гептахлордибензо-n-диоксина;

ОХДД — октахлордибензо-п-диоксин;
ТХДФ — любой изомер тетрахлордибензофурана;
ПеХДФ — любой изомер пентахлордибензофурана;
ГкХДФ — любой изомер гексахлордибензофурана;
ГпХДФ — любой изомер гептахлордибензофурана;
ОХДФ — октахлордибензофуран;
ПХБ — любой конгенер полихлорбифенила.

Примечание — Порядок замещения для конкретного изомера указывается цифровым индексом, согласно правилам IUPAC, например, 1,2,3,4,5- пентахлордибензо-п-диоксин.

3.3 Для обозначения конгенеров планарных полихлорированных бифенилов (ПХБ) используют следующие сокращения:

ПХБ 77 — 3,3′,4,4′-тетраХБ;
ПХБ 81 — 3,4,4′,5-тетраХБ;
ПХБ 105 — 2,3,3′,4,4′-пентаХБ;
ПХБ 114 — 2,3,4,4′,5-пентаХБ;
ПХБ 118 — 2,3′,4,4′,5-пентаХБ;
ПХБ 123 — 2′,3,4,4′,5-пентаХБ;
ПХБ 126 — 3,3′,4,4′,5-пентаХБ;
ПХБ 156 — 2,3,3′,4,4′,5-гексаХБ;
ПХБ 157 — 2,3,3′,4,4′,5′-гексаХБ;
ПХБ 167 — 2,3′,4,4′,5,5′-гексаХБ;
ПХБ 169 — 3,3′,4,4′,5,5′-гексаХБ;
ПХБ 170 — 2,2′,3,3′,4,4′,5-гептаХБ;
ПХБ 180 — 2,2′,3,4,4′,5,5′-гептаХБ;
ПХБ 189 — 2,3,3′,4,4′,5,5′-гептаХБ;

3.4 Для обозначения масс-спектрометрического режима анализа с использованием химической ионизации и детектированием отрицательно заряженных ионов используется сокращение ХИ ОИ.

4 Требования безопасности

Конгенеры ПХДД/ДФ относятся к высокотоксичным соединениям, обладающими канцерогенным, мутагенным и тератогенным действием. Для наиболее токсичного 2,3,7,8-ТХДД LD_{50} = 0,05 мг/кг, класс опасности 1.

Требования безопасности при работе с препаратами, содержащими ПХДД/ДФ, устанавливают в соответствии со специальными инструкциями по работе с диоксином [1], [2] и ГОСТ 12.1.007.

Помещения, в которых проводится подготовка проб, должны быть оборудованы приточно-вытяжной вентиляцией. Исходные стандартные образцы для приготовления градуировочных растворов и аттестованных смесей следует хранить в запираемом металлическом шкафу.

Все операции по приготовлению аттестованных смесей и градуировочных растворов, содержащих ТХДД и его меченые аналоги, добавление стандартов к образцу, подготовку образца к анализу, следует проводить под тягой в вытяжном шкафу.

Пробы, подготовленные к анализу, и растворы стандартных образцов, градуировочных и контрольных растворов, аттестованных смесей следует держать в ампулах, закрытых завинчивающейся или запрессованной крышкой с тефлонированной резиновой прокладкой, прокалываемой микрошприцем.

Меры по оказанию первой помощи при попадании диоксина и его растворов на кожу, в глаза и желудок проводят в соответствии с [2].

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы, материалы

5.1 Средства измерений

Хромато-масс-спектрометр высокого или низкого разрешения, позволяющий вести регистрацию отдельных ионов с заданными массами в диапазоне 50 — 600 а.е.м. при ионизации пробы в режиме электронного удара или химической ионизации с детектированием отрицательно заряженных ионов,

оснащенный компьютерной системой обработки данных и имеющий предел обнаружения 2,3,7,8-ТХДД в режиме селективного детектирования ионов (соотношение сигнал/шум) при инжекции 1,0 пг данного вещества в прибор не хуже 5:1(например, MAT-95XP, DFS, JMS-700, Agilent-5975, Varian-320MS, ITMS-240MS, ITQ 900GC/MS, TSQ Quantum или другие с подобными характеристиками).

Кварцевые капиллярные хроматографические колонки 30(60) м, диаметром 0,25 мм с неподвижной неполярной фазой типов (DB-5MS, VF-5MS) и (или) полярной фазой типов SP-Sil88, DB-DIOXIN (допускается использование и других колонок с неподвижными фазами, обеспечивающими разделение 2,3,7,8-замещенных изомеров и других ПХДД и ПХДФ).

Термометр технический ртутный прямой с диапазоном измеряемой температуры от 0 °С до 100 °С с ценой деления 1 °С и температуры 300 °С с ценой деления 2 °С по ГОСТ 28498.

Весы лабораторные общего назначения среднего класса точности с пределом допустимой погрешности до 0,1 мг по ГОСТ 24104.

5.2 Вспомогательные устройства и лабораторная посуда

Микрошприцы хроматографические на 10 мкл, ценой деления 0,1 мкл, например фирмы Hamilton № 700, по нормативным документам.

Автоматические дозаторы переменного объема (100 — 1000 мм^3), с пределом погрешности не более ± 0,8 %, например фирмы Eppendorf № 3111.000.165, по нормативным документам.

Автоматические дозаторы переменного объема (10 — 100 мм^3), с пределом погрешности не более ± 0,6 %, например Eppendorf № 3111.000.149, по нормативным документам.

Ротационный испаритель ИР — 1 М2 по [3] или аналогичный по нормативным документам.

Аппарат для встряхивания проб типа АВУ-1 по [4] или аналогичный по нормативным документам.

Микроизмельчитель тканей, Brinkmann Instr., PT-10/35, мощностью 300 — 500 Вт по нормативным документам.

Шкаф сушильный типа 2В-151 по нормативным документам.

Холодильник бытовой любой марки по нормативным документам.

Муфельная печь любой марки, обеспечивающая нагрев в диапазоне температур 300 °С — 800 °С по нормативным документам.

Пипетки 1-2-1, 2-2-5 по ГОСТ 29227.

Перчатки резиновые технические по ГОСТ 20010.

Цилиндры мерные исполнения 3, вместимостью 25, 50, 100, 250 см^3 по ГОСТ 1770.

Стаканы мерные вместимостью 100, 500, 800 см^3 по ГОСТ 25336.

Колбы круглодонные, исполнения 4, вместимостью 500 см^3, 100 см^3 по ГОСТ 25336.

Колбы плоскодонные конические исполнения 4, вместимостью 1000, 500, 250, 100 см^3 по ГОСТ 25336.

Колбы мерные, 10, 50 см^3 класса-2 по ГОСТ 1770.

Колбы грушевидные, 100 см^3 исполнения 4 по ГОСТ 25336.

Воронки стеклянные конические 36 — 50, В-100-150 по ГОСТ 25336.

Колонки стеклянные, диаметром 8 мм, длиной 300 мм с верхним резервуаром по нормативным документам (приложение Б).

Колонки стеклянные, диаметром 6 мм, длиной 150 мм с верхним резервуаром по нормативным документам (приложение Б).

Колонки стеклянные для гель-фильтрации диаметром 18 мм, длиной 600 мм по нормативным документам (приложение Б).

Колонки стеклянные диаметром 30 мм, длиной 400 мм, с фильтром Шотта по нормативным документам (приложение Б).

Палочки стеклянные по нормативным документам.

Краны тефлоновые типа Cole-Parmer № А-30503-00 по нормативным документам.

Воронки делительные ВД-1-100 ХС по ГОСТ 25336.

Дефлегматор 250-14/23-29/32-ТС по ГОСТ 25336.

Холодильник ХПТ-1-300-14/23 ХС по ГОСТ 25336.

Эксикатор 2-250 по ГОСТ 25336.

Микрофлаконы на 0,9 см^3 с коническим дном, типа Wheaton, Supelco № 27333 по нормативным документам.

Стеклянные флаконы с завинчивающейся крышкой (Mini-Vials) вместимостью 2 см^3 типа Supelco № 27023 по нормативным документам.

Стеклянные флаконы с завинчивающейся крышкой (Mini-Vials) вместимостью 4 см^3 типа Supelco № 27024 по нормативным документам.

Тефлонированные прокладки (септы) диаметром 10 мм, для виал, типа Supelco № 27360-U по нормативным документам.

Кримпер (устройство для герметизации виал) типа Supelco № 33195 по нормативным документам.

Ампулы темного стекла, медицинские, вместимостью 5 см^3 типа Jena-Vitropack [5].

Насос водоструйный по ГОСТ 25336.

Баня водяная ультразвуковая типа В-12 по ГОСТ Р 52161.2.15.

5.3 Реактивы и материалы

Дихлорметан, х.ч., по ГОСТ 9968 или по [6].

Метанол, х.ч., по ГОСТ 6995.

Силикагель Kieseigel 60, 70 — 230 мкм, импортный, например Merck № 7734.9025 по нормативным документам.

Алюминия окись 90, основная, например фирмы Merck № 1097.9050 по нормативным документам.

Натрий сернокислый безводный, х.ч., по ГОСТ 4166.

Калия бихромат, х.ч, по ГОСТ 2652.

Тринатрий фосфат, ч., по ГОСТ 201.

Гидроокись натрия, х.ч., по ГОСТ 4328.

Серная кислота концентрированная, ос.ч., по ГОСТ 4204.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Гелий марки А по [7].

Азот, ос.ч., по ГОСТ 9293.

Газовая смесь аргон-метан, 10 % об. метана, ос.ч. по [8] или [9].

н-гексан, для следового анализа, импортный, например фирмы Merck, № 4368.2500 по нормативным документам.

н-декан, для следового анализа, импортный, например фирмы Merck, № 803405.0250 по нормативным документам.

н-нонан, для следового анализа, импортный, например фирмы Merck, № 806838.0250 по нормативным документам.

Волокнистый кварцевый материал СКВ по [10].

Сорбент Bio-Beads S-X3, 200-400 mesh, Bio-Rad.Lab., № 152-2750 по нормативным документам.

5.4 Стандартные растворы и контрольные образцы

Изотопно-меченые суррогатные и внутренние стандарты ПХДД/ДФ включающие:

а) $SIS_{ПХДД/ДФ}$ — раствор смеси изотопно-меченых по углероду $^{13}C_{12}$ конгенеров ПХДД/ДФ в нонане, EDF-4053, производства компании Cambridge Isotope Laboratories, Inc., US (код по каталогу CIL № EDF4053), с погрешностью содержания каждого компонента ± 10 % (таблица 1).

Таблица 1 — Состав раствора $SIS_{ПХДД/ДФ}$

Компоненты	Концентрация, мкг/см^3
2,3,7,8-ТХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0
1,2,3,7,8-ПеХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0
1,2,3,6,7,8-ГхХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0
ОХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	2,0
2,3,7,8-ТХДФ (13C_{12} 99 %)	1,0
1,2,3,7,8-ПеХДФ ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0
1,2,3,6,7,8-ГхХДФ ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДФ ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0

б) $RIS_{ПХДД/ДФ}$ — раствор смеси внутренних стандартов ПХДД/ДФ в нонане EPA 23RIS производства Cambridge Isotope Laboratory, Inc., US (код по каталогу CIL № EDF4055), с погрешностью содержания каждого компонента ± 10 % (таблица 2).

Таблица 2 — Состав раствора $RIS_{ПХДД/ДФ}$

Компоненты	Концентрация, мкг/см^3
1,2,3,4-ТХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	0,5
1,2,3,7,8,9-ГхХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	0,5

Калибровочный стандарт, включающий раствор 18 токсичных конгенеров ПХДД/ДФ, производства Cambridge Isotope Laboratory, Inc., US (номер по каталогу CIL № EDF-7999-10x), с погрешностью содержания каждого компонента ± 10 % (таблица 3), раствор в нонане.

Таблица 3 — Состав калибровочного стандарта

Конгенер ПХДД	Концентрация, нг/ см^3	Конгенер ПХДФ	Концентрация, нг/см^3
2,3,7,8-ТХДД	400	2,3,7,8-ТХДФ	400
1,2,3,7,8-ПеХДД	2000	1,2,3,7,8-ПеХДФ	2000
1,2,3,4,7,8-ГкХДД	2000	2,3,4,7,8-ПеХДФ	2000
1,2,3,6,7,8-ГкХДД	2000	1,2,3,4,7,8-ГкХДФ	2000
1,2,3,7,8,9-ГкХДД	2000	1,2,3,6,7,8-ГкХДФ	2000
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДД	2000	2,3,4,6,7,8-ГкХДФ	2000
ОХДД	4000	1,2,3,6,7,8-ГкХДФ	2000
2,3,4,6,7,8-ГкХДФ	2000	1,2,3,7,8,9-ГкХДФ	2000
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДФ	2000	ОХДФ	4000

Контрольный образец тканей рыбы с аттестованным содержанием ПХДД/ДФ и диоксинподобных планарных ПХБ (код по каталогу CIL № EDF2526), с содержанием конгенеров ПХДД/ДФ в диапазоне 10 — 50 нг/кг и конгенеров ПХБ в диапазоне 100 — 500 нг/кг.

Изотопно-меченые суррогатные и внутренние стандарты ПХБ включающие:

а) $SIS_{ПХБ}$ — раствор смеси изотопно-меченых суррогатных планарных ПХБ в нонане, (код по каталогу CIL № EC4995), с погрешностью содержания каждого компонента ± 10 % (таблица 4).

Таблица 4 — Состав $SIS_{ПХБ}$

Конгенер ПХБ	Концентрация, мкг/ см^3	Конгенер ПХБ	Концентрация, мкг/ см^3
ПХБ 77 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0	ПХБ 156 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0
ПХБ 81 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0	ПХБ 157 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0
ПХБ 105 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0	ПХБ 167 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0
ПХБ 114 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0	ПХБ 169 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0
ПХБ 118 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0	ПХБ 170 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0
ПХБ 123 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0	ПХБ 180 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0
ПХБ 126 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0	ПХБ 189 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1,0

б) $RIS_{ПХБ}$ — раствор 2,3,4,4',5,6-гексахлорбифенила в нонане (код по каталогу CIL PCB № 166), с концентрацией 100 ± 5 мкг/см³.

Калибровочный стандарт, включающий раствор 14 планарных конгенеров ПХБ, производства Cambridge Isotope Laboratory (номер по каталогу CIL № EC-5000), с погрешностью содержания каждого компонента ± 10 % (таблица 5), раствор в нонане.

Таблица 5 — Состав $RIS_{ПХБ}$

Конгенер ПХБ	Концентрация, мкг/ см³	Конгенер ПХБ	Концентрация, мкг/ см³
ПХБ 77	2,0	ПХБ 156	2,0
ПХБ 81	2,0	ПХБ 157	2,0
ПХБ 105	2,0	ПХБ 167	2,0
ПХБ 114	2,0	ПХБ 169	2,0
ПХБ 118	2,0	ПХБ 170	2,0
ПХБ 123	2,0	ПХБ 180	2,0
ПХБ 126	2,0	ПХБ 189	2,0

Допускается применение других средств измерений и оборудования с метрологическими характеристиками, а также других реактивов и материалов по качеству не ниже указанных в настоящем стандарте.

6 Определение полихлорированных дибензо-n-диоксинов и дибензофуранов

6.1 Подготовка посуды, сорбентов и реактивов

6.1.1 Подготовка посуды

Стеклянную химическую посуду замачивают в растворе тринатрийфосфата на 6—7 ч, затем промывают водопроводной водой, моют горячей хромовой смесью, ополаскивают водопроводной водой, а затем трижды дистиллированной водой и сушат при температуре 300 °С в сушильном шкафу.

6.1.2 Подготовка реактивов и материалов

Очистку растворителей н-гексана и дихлорметана осуществляют путем перегонки при атмосферном давлении с использованием стеклянной химической посуды в соответствии с правилами перегонки органических веществ.

Используемые растворители квалификации «для следового анализа» производства фирмы Merck или аналогичные используются без очистки.

Натрий сернокислый безводный марки ос.ч. прокаливают в муфельной печи 4 ч при температуре 400 °С, охлаждают в эксикаторе, хранят в колбе со шлифом не более месяца.

Смесь гексан-дихлорметан (1:1) готовится смешением равных объемов гексана и дихлорметана в емкости вместимостью 5 дм³ из темного стекла, снабженной притертой пробкой.

Смесь гексан-дихлорметан (97:3) готовится смешением 970 см³ гексана и 30 см³ дихлорметана в емкости вместимостью 1 дм³ из темного стекла, снабженной притертой пробкой.

Смесь гексан-дихлорметан (40:60) готовится смешением 400 см³ гексана и 600 см³ дихлорметана в емкости вместимостью 1 дм³ из темного стекла, снабженной притертой пробкой.

Кварцевый волокнистый материал СКВ прокаливают в муфельной печи при 700 °С в течение 30 мин и хранят в герметичной стеклянной таре не более месяца.

При подготовке и использовании каждой новой партии реактивов и материалов или замене одного из них проводят проверку путем выполнения всей процедуры анализа для холостого опыта и контрольной аттестованной смеси, оценивая результаты с учетом характеристик погрешности. Допускается использование растворителей и сорбентов других марок, обеспечивающих проведение анализа с заданной погрешностью.

6.1.3 Подготовка сорбентов

6.1.3.1 Активирование оксида алюминия

Навеску оксида алюминия массой 200 г помещают в кварцевый стакан и прокаливают в муфельной печи при 700 °С в течение 8 ч. Активированную окись алюминия хранят в герметичной стеклянной таре не более 3 сут.

6.1.3.2 Активирование силикагеля

Навеску силикагеля массой 200—400 г промывают последовательно двойными объемами метанола, а затем активируют в муфельной печи 8 ч при 350 °С. Активированный силикагель хранят в герметически закрытой стеклянной таре не более двух недель.

6.1.3.3 Приготовление силикагеля, модифицированного серной кислотой

Для приготовления партии силикагеля, модифицированного кислотой (SiO_2/H_2SO_4), тщательно смешивают 56 г активированного SiO_2 и 24 см^3 концентрированной H_2SO_4 (плотность 1,83 г/см^3). Кислоту необходимо приливать небольшими порциями в колбу с активированным SiO_2, встряхивая содержимое колбы. Готовый модифицированный сорбент должен представлять собой однородную массу без комков. Хранят приготовленный сорбент в колбе, закрытой притертой стеклянной пробкой, в эксикаторе и используют в течение 1 мес. По истечении этого срока остатки сорбента утилизируют.

6.1.3.4 Приготовление силикагеля, модифицированного гидроксидом натрия

Силикагель, модифицированный щелочью, готовят на основе активированного силикагеля со сроком хранения не более одного дня. Для приготовления 100 г SiO_2 + щелочь тщательно смешивают 67 г активированного SiO_2 и 31 см^3 1М водного раствора NaOH. Раствор щелочи приливают небольшими порциями в колбу с активированным SiO_2 и встряхивают содержимое колбы. Готовый модифицированный сорбент должен представлять собой однородную массу без комков. Хранят приготовленный сорбент в колбе, закрытой стеклянной пробкой, вне эксикатора, используют в течение одного месяца.

6.1.3.5 Подготовка колонки для гель-фильтрации Bio-Beads SE-X3

20 г сухого полистирольного геля Bio-Beads SE-X3 помещают в чистую колбу вместимостью 250 см^3, заливают смесью гексан-дихлорметан (1:1) и выдерживают 24 ч.

В колонку для гель-фильтрации, представляющую собой стеклянную трубку длиной 70 см и диаметром 20 мм с впаянным в нижней части пористым стеклянным фильтром Шотта и тефлоновым краном (рисунок Б.1, приложение Б.1), помещают слой кварцевого волокнистого материала СКВ и уплотняют его стеклянной палочкой. При закрытом кране наливают в колонку смеси гексан-дихлорметан (1:1) на 1/3 высоты рабочей части колонки. Переносят количественно сорбент в колонку, используя смесь гексан-дихлорметан (1:1). Пропускают через колонку 600 см^3 смеси гексан-дихлорметан (1:1).

Подготовленный полистирольный материал для гель-фильтрации Bio-Beads SE-X3 хранят в набухшем состоянии в колонке под слоем растворителя.

6.2 Калибровка колонки Bio-Beads SE-X3

Калибровка колонки для гель-фильтрации заключается в определении объема элюента *F*I, после пропускания которого начинается выделение целевой фракции, содержащей ПХДД/ДФ, и объема элюента *F*II, пропускание которого обеспечивает полное выделение целевой фракции из колонки.

В мини-виалу вместимостью 2 см^3 вносят 1 см^3 смеси гексан-дихлорметан (1:1), затем добавляют автоматическим дозатором 5 мкл раствора смеси калибровочного стандарта ПХДД/ДФ. Перемешивают содержимое виалы на ультразвуковой бане 30 с и количественно переносят в колонку для гель-фильтрации.

Элюируют колонку после внесения в нее раствора ПХДД/ДФ смесью гексан-дихлорметан (1:1) объемом 110 см^3, пропуская растворитель со скоростью 1 мл/мин.

Отбирают в мерные цилиндры фракции в следующих объемах:

*F*1 — 0 — 40 (40 см^3);

*F*2 — 40 — 50 (10 см^3);

*F*3 — 50 — 60 (10 см^3);

*F*4 — 60 — 100 (40 см^3);

*F*5 — 100 — 110 (10 см^3).

Концентрируют каждую фракцию на роторном испарителе до объема около 0,5—1,0 см^3 и переносят количественно в мини-виалу, выпаривают потоком азота до 100—200 мкл, добавляют внутренний стандарт и определяют содержание ПХДД/ДФ в каждой фракции, как описано ниже.

Результат калибровки считается удовлетворительным, если суммарное содержание ПХДД/ДФ во фракциях *F*I, *F*III, *F*IV, *F*V не превышает 5 % внесенного количества и составляет не менее 95 % ПХДД/ДФ во фракции *F*II. В противном случае требуется повторный опыт и корректировка объемов отбрасываемой и собираемой фракций.

6.3 Подготовка градуировочных растворов ПХДД/ДФ и растворов изотопно-меченых суррогатных и внутренних стандартов

Градуировочные растворы смеси индивидуальных и изотопно-меченых ПХДД/ДФ используют для проверки времен удерживания конгенеров, линейного диапазона детектирования и расчета фактора отклика анализируемых конгенеров.

В качестве базового раствора смеси индивидуальных конгенеров ПХДД/ДФ используют смесь индивидуальных ПХДД/ДФ в нонане *EDF*-7999-10x.

В качестве базового раствора суррогатного стандарта используют смесь изотопно-меченых по углероду $^{13}C_{12}$ конгенеров ПХДД/ДФ в нонане *EDF*-4053.

В качестве базового раствора внутреннего стандарта ПХДД/ДФ используют смесь изотопно-меченых по углероду $^{13}C_{12}$ конгенеров ПХДД/ДФ в нонане *EDF*-4055.

6.3.1 Приготовление градуировочных растворов

6.3.1.1 Приготовление раствора *C*1

Используя регулируемые автоматические дозаторы на объемы 100—1000 мкл и 10—100 мкл, последовательно вносят в виалу вместимостью 2 см^3 950 мкл н-декана, 10 мкл базового раствора *EDF*-7999-10x и 40 мкл раствора *EDF*-4053.

6.3.1.2 Приготовление раствора *C*2

Используя регулируемые автоматические дозаторы на объемы 100—1000 мкл и 10—100 мкл, последовательно вносят в виалу вместимостью 4 см^3 1870 мкл н-декана, 50 мкл базового раствора *EDF*-7999-10x и 80 мкл раствора *EDF*-4053.

6.3.1.3 Приготовление раствора *C*3

Используя регулируемые автоматические дозаторы на объемы 100—1000 мкл и 10—100 мкл, последовательно вносят в виалу вместимостью 2 см^3 910 мкл н-декана, 50 мкл базового раствора *EDF*-7999-10x и 40 мкл раствора *EDF*-4053.

6.3.1.4 Приготовление раствора *C*4

Используя регулируемые автоматические дозаторы на объемы 100—1000 мкл и 10—100 мкл, последовательно вносят в виалу вместимостью 2 см^3 860 мкл н-декана, 100 мкл базового раствора *EDF*-7999-10x и 40 мкл раствора *EDF*-4053.

6.3.1.5 Приготовление раствора *C*5

Используя регулируемые автоматические дозаторы на объемы 100—1000 мкл и 10—100 мкл, последовательно вносят в виалу вместимостью 4 см^3 760 мкл н-декана, 200 мкл базового раствора *EDF*-7999-10x и 40 мкл раствора *EDF*-4053.

Концентрации градуировочных растворов (нг/см^3) приведены в таблице 6.

Приготовленные градуировочные растворы можно хранить в герметически закрытых виалах при температуре не выше минус 10 °С без доступа солнечного света не более 6 мес, в стеклянных запаянных ампулах не более двух лет.

Таблица 6 — Концентрации градуировочных растворов в нанограммах/см^3

Конгенер ПХДД/ДФ	*C*1	*C*2	*C*3	*C*4	*C*5
2,3,7,8-ТХДД	4	10	20	40	80
1,2,3,7,8-ПеХДД	20	50	100	200	400
1,2,3,4,7,8-ГкХДД	20	50	100	200	400
1,2,3,6,7,8-ГкХДД	20	50	100	200	400
1,2,3,7,8,9-ГкХДД	20	50	100	200	400
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДД	20	50	100	200	400
ОХДД	40	100	200	400	800

Окончание таблицы 6

Конгенер ПХДД/ДФ	С1	С2	С3	С4	С5
2,3,7,8-ТХДФ	20	50	100	200	400
1,2,3,7,8-ПеХДФ	20	50	100	200	400
2,3,4,7,8-ПеХДФ	20	50	100	200	400
1,2,3,4,7,8-ГкХДФ	20	50	100	200	400
1,2,3,6,7,8-ГкХДФ	20	50	100	200	400
2,3,4,6,7,8-ГкХДФ	20	50	100	200	400
1,2,3,6,7,8-ГкХДФ	20	50	100	200	400
2,3,4,6,7,8-ГкХДФ	20	50	100	200	400
1,2,3,7,8,9-ГкХДФ	20	50	100	200	400
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДФ	20	50	100	200	400
ОХДФ	40	100	200	400	800
2,3,7,8-ТХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
1,2,3,7,8-ПеХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
1,2,3,6,7,8-ГхХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
ОХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	80	80	80	80	80
2,3,7,8-ТХДФ ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
1,2,3,7,8-ПеХДФ ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
1,2,3,6,7,8-ГхХДФ ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДФ ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40

6.3.2 Приготовление рабочего раствора изотопно-меченого суррогатного стандарта

Для приготовления рабочего раствора *SIS*-1 в мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят автоматическим регулируемым дозатором 1000 мкл базового раствора *EDF*-4053 и доводят объем раствора до метки н-деканом. Обозначают полученный рабочий раствор как *SIS*-1. Концентрации суррогатных стандартов в рабочем растворе (нг/см^3) приведены в таблице 7.

Таблица 7 — Концентрации суррогатных стандартов в рабочем растворе в нанограммах/см^3

Конгенер ПХДД/ДФ	$SIS_{ПХДД/Де}$ базовый	*SIS*-1
1,2,3,7,8-ПеХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	20
1,2,3,6,7,8-ГхХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	20
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	20
ОХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	2000	40
2,3,7,8-ТХДФ ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	20
1,2,3,7,8-ПеХДФ ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	20
1,2,3,6,7,8-ГхХДФ ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	20
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДФ ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	20

Приготовленный раствор перемешивают на ультразвуковой бане 10 мин, расфасовывают в стеклянные ампулы по 1 см^3. Ампулы запаивают и хранят до использования без доступа солнечного света не более двух лет.

6.3.3 Приготовление рабочего раствора изотопно-меченого внутреннего стандарта

Для приготовления рабочего раствора внутреннего стандарта в мерную колбу вместимостью10 см^3 вносят автоматическим регулируемым дозатором 1000 мкл базового раствора *EDF*-4055 и доводят объем раствора до метки н-деканом. Обозначают полученный рабочий раствор внутреннего стандарта как *RIS*-1. Концентрации внутренних стандартов в рабочем растворе (нг/см^3) приведены в таблице 8.

Таблица 8 — Концентрации внутренних стандартов в рабочем растворе в нанограммах/см^3

Конгенер ПХДД/ДФ	*RIS*-1 базовый	*RIS*-1
1,2,3,4-ТХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	500	50
2,3,7,8,9-ГхХДД ($^{13}C_{12}$ 99 %)	500	50

Приготовленный раствор перемешивают на ультразвуковой бане 10 мин, расфасовывают в стеклянные ампулы по 1 см^3. Ампулы запаивают и хранят до использования без доступа солнечного света не более двух лет.

6.4 Подготовка проб для анализа

Образцы рыбы и морепродуктов хранят замороженными при температуре минус 20 °С не более двух месяцев.

Для анализа отбирают из каждой партии рыбы не менее трех тушек общей массой 0,5—1,0 кг, при необходимости размораживают образцы при комнатной температуре.

Примечание — Если экземпляры рыбы имеют массу свыше 1 кг, допускается использовать для анализа серединную часть тушки от трех экземпляров рыбы общей массой 1 кг.

Отделяют голову и внутренности рыбы и гомогенизируют тушку на шнековой мясорубке с диаметром отверстий измельчителя не более 3 мм. Полученный фарш пропускают через мясорубку повторно. Отбирают для анализа образец фарша массой 50 г, остаток замораживают при минус 20 °С и хранят в стеклянной таре до завершения анализа.

Печень рыбы размораживают, гомогенизируют образец массой не менее 100 г на шнековой мясорубке. Если рыба не разделана, размораживают тушки и извлекают печень не менее чем от трех экземпляров, так чтобы масса образца была не менее 100 г.

Неочищенные щупальца кальмара размораживают, отбирают пробу массой 0,5—1 кг, гомогенизируют на шнековой мясорубке с диаметром отверстий измельчителя не более 3 мм. Полученный фарш пропускают через мясорубку повторно. Отбирают для анализа образец фарша массой 50 г, остаток замораживают при минус 20 °С и хранят до завершения анализа.

У мелких ракообразных (креветок) отделяют голову и кишечный канал, гомогенизируют не очищенные от панциря тушки так, чтобы масса пробы составляла не меньше 100 г.

Пробы рыбьего жира используют без подготовки.

7 Проведение испытаний

7.1 Экстракция ПХДД/ДФ

Извлечение ПХДД/ДФ из образца проводится методом колоночной экстракции. Навеску гомогенизированного образца взвешивают в стакане вместимостью 250 см^3 с точностью до 0,01 г, добавляют к нему 120—150 г безводного Na_2SO_4 и тщательно перемешивают стеклянной палочкой. Образец с добавленным Na_2SO_4 выдерживают в течение 1 ч, периодически перемешивая, при необходимости добавляя некоторое количество Na_2SO_4. Перетирают образец пестиком в стеклянной ступке. Полностью высушенный образец представляет собой легко пересыпающуюся массу.

Для анализа рыбы и тканей с низким содержанием липидов используют навеску 15—20 г, при анализе печени, гонад, мышц с высоким содержание липидов — 6—8 г.

Экстракцию образца проводят в стеклянной колонке с внутренним диаметром 30 мм и высотой рабочей части 30 см, имеющей в своей нижней части впаянный стеклянный фильтр Шотта и снимающийся тефлоновый кран. На стеклянный фильтр помещают слой кварцевой ваты СКВ и уплотняют ее стеклянной палочкой. Помещают 1/3 массы образца в колонку; в следующую 1/3 массы сначала вносят 50 мкл изотопно-меченого раствора суррогатного стандарта *SIS*-1, перемешивают стеклянной палочкой, а затем помещают в колонку; после этого в колонку переносят остаток пробы и уплотняют содержимое колонки постукиванием.

Экстрагируют ПХДД/ДФ, пропуская через колонку с пробой 300 см^3 смеси гексан-дихлорметан (1:1) со скоростью 3—4 мл/мин. Вытекающий из колонки экстракт-элюат собирают в круглодонную колбу вместимостью 500 см^3.

Экстракт-элюат концентрируют на роторном испарителе при температуре 50 °С до объема около 50 см^3. Взвешивают грушевидную колбу 100 см^3 и количественно переносят в нее сконцентрированный экстракт, обмывая стенки колбы смесью гексан-дихлорметан (1:1). Экстракт концентрируют на роторном испарителе до объема около 1 см^3, добавляют около 1 см^3 дихлорметана и очищают методом колоночной хроматографии.

Пробу рыбьего жира массой 1 г растворяют в 20 см^3 смеси гексан-дихлорметан (1:1) и очищают методом колоночной хроматографии.

7.2 Очистка экстракта методом колоночной хроматографии

7.2.1 Отделение липидов и высокомолекулярных соединений методом гель-фильтрации

Из подготовленной колонки Bio-Beads SE-X3 сливают через тефлоновый кран растворитель и, не допуская высыхания верхнего слоя, промывают колонку, пропуская последовательно 35 см^3 смеси метанол-дихлорметан (1:4) и 65 см^3 смеси гексан-дихлорметан (1:1). Смесь такого же состава, гексан-дихлорметан (1:1), используют в качестве элюента.

После окончания промывки сорбента под колонку ставят мерный цилиндр вместимостью 50 см^3 и вносят в колонку сконцентрированный экстракт. Стенки колбы из-под экстракта обмывают не менее пяти раз элюентом и смывки также вносят в колонку.

Пропускают элюат со скоростью 1 мл/мин, регулируя скорость тефлоновым краном. После пропускания 50 см^3 элюата (фракция *F*I) заменяют цилиндр и отбирают целевую фракцию *F*II. Когда объем целевой фракции достигнет 50 см^3, цилиндр с собранной фракцией *F*II извлекают из-под колонки.

Переносят фракцию *F*II в грушевидную колбу и концентрируют на роторном испарителе до объема ~ 1 см^3 и далее очищают на колонке с активированным и модифицированным силикагелем.

7.2.2 Очистка на колонке с силикагелем

Помещают в стеклянную колонку с внутренним диаметром 8 мм и длиной рабочей части 200 мм, с резервуаром для элюата в верхней части слой кварцевой ваты заполняют в следующем порядке:

- 1 см^3 SiO_2акт;
- 1 см^3 SiO_2/NaOH;
- 1 см^3 SiO_2акт;
- 3 см^3 SiO_2/H_2SO_4;
- 1 см^3 SiO_2акт;
- слой безводного Na_2SO_4 на 1,0—1,5 см по высоте колонки.

Каждый вносимый слой уплотняют постукиванием.

Для смачивания сорбентов через колонку пропускают 10 см^3 гексана. Под колонку подставляют чистую грушевидную колбу вместимостью 50 см^3 для сбора элюата. Затем вносят сконцентрированную фракцию *F*II, собранную с колонки Bio-Beads SE-X3. Элюируют аналиты 50 см^3 гексана. Стенки колбы обмывают гексаном не менее пяти раз, смывки вносят в колонку последовательно. Элюат концентрируют на роторном испарителе до объема около 1 см^3.

7.2.3 Очистка на активированном оксиде алюминия

Используют колонку с внутренним диаметром 6 мм и длиной рабочей части 150 мм, с резервуаром для элюента в верхней части. На слой кварцевой ваты вносят 5 г сорбента. Пропускают через колонку 5 см^3 гексана. После прохождения гексана в колонку вносят сконцентрированный элюат, собранный после колонки с силикагелем. Пропускают через колонку 50 см^3 смеси гексан-дихлорметан (97:3), обмывают стенки колбы элюатом не менее пяти раз, смывы вносят в колонку последовательно. Отобранную фракцию утилизируют. Далее пропускают через колонку 50 см^3 смеси гексан-дихлорметан (40:60) (об.), отбирая в чистую грушевидную колбу целевую фракцию Ф2, содержащую ПХДД/ДФ. Фракцию Ф2 концентрируют на роторном испарителе под вакуумом до объема около 0,5 см^3.

7.2.4 Концентрирование для инструментального анализа

Сконцентрированную фракцию Ф2 после колонки с активированным оксидом алюминия количественно переносят с помощью гексана во флакон mini-Vial с оттянутым донышком. Избыток гексана осторожно удаляют потоком азота. Когда объем растворителя во флаконе достигнет примерно 100 мкл, автоматическим дозатором добавляют 20 мкл раствора внутреннего стандарта в декане *RIS*-1 и продолжают отдув до объема добавленного декана. Герметизируют флакон тефлонированной прокладкой и крышкой и передают для инструментального анализа.

7.3 Выполнение измерений

7.3.1 Хромато-масс-спектрометрия низкого разрешения в режиме химической ионизации пробы с детектированием отрицательно заряженных ионов (ХИ ОИ)

Данный метод анализа обладает всеми преимуществами масс-спектрометрии и характеризуется высокой специфичностью ионизации аналитов ПХДД/ДФ, за счет чего снижается мешающее влияние посторонних веществ, присутствующих в пробе, и повышается надежность идентификации и чувствительность анализа. Метод позволяет использовать сравнительно недорогую аппаратуру низкого разрешения.

7.3.1.1 Подготовка хромато-масс-спектрометра

Хромато-масс-спектрометр готовят для анализа в режиме химической ионизации пробы с детектированием отрицательно заряженных ионов (ХИ ОИ) в соответствии с инструкцией по эксплуатации. В качестве газа-реагента используют смесь аргон-метан. Проверяют настройку и соответствие паспортной чувствительности прибора. Устанавливают программу анализа для хроматографического разделения конгенеров ПХДД/ДФ с использованием малополярной колонки типа DB-5MS. Примерный вид программы приведен ниже:

а) хроматографическая программа:

режим инжектора . . . . . splitless;
задержка продувки инжектора . . . . . 1 мин;
время сброса растворителя . . . . . 5 мин;
тип колонки DB-5MS;
длина колонки. . . . . 30 м;
диаметр колонки . . . . . 25 мм;
толщина пленки фазы . . . . . 25 мкм.

Программирование температуры:

начальная температура колонки . . . . . 160 °С;
начальное время задержки . . . . . 1 мин;
скорость нагрева колонки . . . . . 10 °С/мин до 220 °С, 3 °С/мин до 300 °С;
температура инжектора . . . . . 290 °С;
скорость потока гелия через колонку . . . . . 1 $см^3$/мин;

б) режим масс-спектрометра

температура интерфейса . . . . . 290 °С;
температура ионного источника. . . . . 200 °С;
селективное сканирование . . . . . массы ионов (см. таблицу 9);
газ-реагент . . . . . аргон-метан, 10 % об. метана;
давление газа-реагента . . . . . 2,2—2,5 мм рт. ст.;
инжектируемый объем . . . . . 1 мкл.

Масс-спектрометрический анализ проводят в режиме селективного сканирования характеристических ионов аналитов. При химической ионизации ПХДД/ДФ максимальную интенсивность в спектре показывают ионы молекулярного кластера и ионы, образованные выбросом атома хлора из молекулярного иона. Значения масс характеристических ионов, используемых в анализе, приведены в таблице 9.

Таблица 9

Анализируемая группа конгенеров ПХДД/ДФ	Тип иона	Характеристические ионы. m/e, а.е.м.	Соотношение интенсивностей сигнала ионов
ТХДД	M^-,$(M + 2)^-$, $(M + 4)^-$	320; 322; 324	0,8:1:0,5
[$^{13}C_{12}$]-2,3,7,8-ТХДД	$(M + 2)^-$, $(M + 4)^-$	334; 336	1:0,5

Окончание таблицы 9

Анализируемая группа конгенеров ПХДД/ДФ	Тип иона	Характеристические ионы, m/e, а.е.м.	Соотношение интенсивностей сигнала ионов
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,4-ТХДД	$(M + 2)^-$, $(M + 4)^-$	334; 336	1:0,5
ПеХДД	M^-, $(M + 2)^-$, $(M + 4)^-$	354; 356; 358	0,7:1:0,5
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,7,8-ПеХДД	M^-, $(M + 2)^-$	366; 368	0,7:1
ГхХДД	$(M–Cl)^-$,$(M–Cl + 2)^-$ $(M–Cl + 4)^-$	353; 355; 357	0,6:1:0,6
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,6,7,8-ГхХДД	$(M–Cl + 2)^-$, $(M–Cl + 4)^-$	367; 369	1:0,6
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,7,8,9-ГхХДД	$(M–Cl + 2)^-$, $(M–Cl + 4)^-$	367; 369	1:0,6
ГпХДД	$(M–Cl)^-$,$(M-Cl + 2)^-$, $(M–Cl + 4)^-$	387; 389; 391	0,3:1:0,7
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,4,6,7,8-ГпХДД	$(M–Cl + 2)^-$, $(M-Cl + 4)^-$	401; 403	1:0,7
ОХДД	$(M–Cl + 2)^-$,$(M–Cl + 4)^-$ $(M–Cl + 6)^-$	423; 425; 427	0,4:1:0,3
[$^{13}C_{12}$]-ОХДД	$(M–Cl + 2)^-$,$(M–Cl + 4)^-$	435; 437	0,4:1
ТХДФ	M^-,$(M + 2)^-$, $(M + 4)^-$	304; 306; 308	0,7:1:0,5
[$^{13}C_{12}$]-2,3,7,8-ТХДФ	$(M + 2)^-$, $(M + 4)^-$	316; 318	0,7:1
ПХДФ	M^-,$(M + 2)^-$, $(M + 4)^-$	338; 340; 342	0,6:1:0,7
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,7,8-ПеХДФ	$(M + 2)^-$, $(M + 4)^-$	352; 354	1:0,7
ГхДФ	M^-,$(M + 2)^-$, $(M + 4)^-$	372, 374; 376	0,5:1:0,8
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,6,7,8-ГхХДФ	$(M + 2)^-$, $(M + 4)^-$	386; 388	1:0,8
ГпХДФ	M^-,$(M + 2)^-$, $(M + 4)^-$	406, 408; 410	0,4:1:0,9
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,4,6,7,8-ГпХДФ	$(M + 2)^-$, $(M + 4)^-$	420; 422	1:0,9
ОХДФ	M^-,$(M + 2)^-$, $(M + 4)^-$	442; 444; 446	0,9:1:0,7

Для повышения чувствительности анализа режим масс-спектральной съемки разбивают на пять сегментов, в течение которых прибор фиксирует те или иные группы ионов. Примерная длительность сегментов и детектируемые ионы приведены в таблице 10.

Таблица 10

Сегмент	Время начала сканирования группы ионов, мин	Детектируемые массы, m/e, а.е.м.
1	9,0	304, 306, 308, 316, 318, 320, 322, 324, 334, 336
2	15,5	338, 340, 342, 352, 354, 356, 358, 366, 368
3	19,0	353, 355, 357, 367, 369, 372, 374, 376, 386, 388
4	23,0	387, 389, 391, 401, 403, 406, 408, 410, 420, 422
5	28,0	423, 425, 427, 435, 437, 442, 444, 446

Длительность сегментов корректируют при анализе калибровочной смеси.

7.3.1.2 Проведение градуировки

Градуировка заключается в определении времен удерживания и факторов отклика анализируемых конгенеров ПХДД/ДФ. Градуировка выполняется путем анализа калибровочных смесей *С1* — *С5*.

Для оценки фона (чистоты аналитической системы) перед началом работы инжектируют в прибор 1 мкл чистого растворителя и записывают масс-хроматограмму. Наличие в фоне прибора ионов, мешающих анализу, проверяется путем построения реконструированных хроматограмм по всем характеристическим ионам, приведенным в таблице 9. При нормально работающем приборе на реконструированных хроматограммах не должно присутствовать пиков.

Каждый приготовленный градуировочный раствор *С*1 — *С*5 анализируют в условиях, приведенных в 7.3.1.1. Записывают масс-хроматограмму каждого раствора и с помощью программы обработки на реконструированных масс-хроматограммах, по сигналам характеристических ионов и соответствующих суррогатных стандартов определяют времена удерживания и площади пиков, соответствующие каждому анализируемому конгенеру.

Для каждого градуировочного раствора определяют относительный фактор отклика $(RRF)_n$ каждого индивидуального конгенера ПХДД/ДФ относительно соответствующего изотопно-меченого конгенера суррогатного стандарта, который рассчитывают по формуле

$$(RRF)_n = (S_{ns})m_{is}/(S_{is})\, m_{ns}, \quad (1)$$

где S_{ns} — площадь пика конгенера ПХДД/ДФ в калибровочном растворе;

m_{is} — масса соответствующего изотопно-меченого конгенера суррогатного стандарта в калибровочном растворе, нг;

S_{is} — площадь пика соответствующего изотопно-меченого конгенера суррогатного стандарта в калибровочном растворе;

m_{ns} — масса конгенера ПХДД/ДФ в калибровочном растворе, нг.

При наличии линейности детектирования вариация значения относительного фактора отклика (*RRF*) не должна превышать ± 20 % для всех калибровочных растворов.

Проводят измерения для каждого раствора и рассчитывают относительные факторы отклика для каждого индивидуального конгенера ПХДД/ДФ для трех параллельных измерений.

Вариация значений относительных факторов отклика (*RRF*), рассчитанных для трех параллельных измерений, не должна превышать ± 10 %.

Перед началом анализа каждой новой партии проб проводят проверку линейного диапазона и постоянства факторов отклика путем хроматографирования не менее трех градуировочных растворов смеси ПХДД/ДФ, приготовленных в соответствии с 6.3.1 При отсутствии постоянства линейности $(RRF)_i$ выясняются и устраняются причины нестабильной работы прибора. Заменяя неполярную хроматографическую колонку на полярную, например, DB-5MS на DB-Dioxin, определяют времена удерживания конгенеров на этом типе колонки. Примерные относительные значений времени удерживания для полярной и малополярной колонок приведены в таблице 11.

Таблица 11

Соединение	Неподвижная фаза	
	DB-5MS	DB-Dioxin
1,2,3,4-ТХДД	0,99	1,02
2,3,7,8-ТХДД	1,00	1,00
1,2,3,7,8-ПеХДД	1,23	1,40
1,2,3,4,7,8-ГхХДД	1,46	2,08
1,2,3,6,7,8-ГхХДД	1,47	1,94
1,2,3,7,8,9-ГхХДД	1,50	2,15
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДД	1,76	2,98
ОХДД	2,17	4,50
2,3,7,8-ТХДФ	0,96	0,96
1,2,3,7,8-ПеХДФ	1,18	1,31

Окончание таблицы 11

Соединение	Неподвижная фаза	
	DB-5MS	DB-Dioxin
2,3,4,7,8-ПеХДФ	1,22	1,35
1,2,3 Т,4,7,8-ГкХДФ	1,39	2,01
1,2,3,6,7,8-ГхХДФ	1,39	2,03
2,3,4,6,7,8-ГхХДФ	1,43	2,07
1,2,3,7,8,9-ГхХДФ	1,48	2,09
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДФ	1,61	2,83
1,2,3,4,7,8,9-ГпХДФ	1,74	2,96
ОХДФ	2,12	4,45

7.3.1.3 Хромато-масс-спектральный анализ полученных экстрактов

Отбирают микрошприцем 1 мкл анализируемого экстракта, подготовленного как описано в 7.2, и вводят его в инжектор газового хроматографа. Записывают масс-хроматограммы, идентифицируют индивидуальные конгенеры ПХДД/ДФ и изотопно-меченые конгенеры суррогатного стандарта по масс-спектру и совпадению времен удерживания.

Наличие в пробе или контрольном образце индивидуального конгенера ПХДД/ДФ считают установленным при соблюдении следующих условий:

а) на всех реконструированных масс-хроматограммах, построенных по массам характеристических ионов для данного конгенера, присутствуют пики, имеющие соотношение интенсивности сигнал/шум больше или равное трем, при этом времена удерживания, определяемые по разным характеристическим пикам данного конгенера, совпадают (пики синхронны);

б) хроматографическое время удерживания конгенера, определяемое по положению максимума пика характеристичекого иона, не отличается более чем ± 1 с от времени удерживания, определенного для данного конгенера при анализе градуировочного раствора;

в) соотношение интенсивностей характеристических ионов на вершине пиков не отличается более чем на 15 % от значений, приведенных в таблице 9.

При наличии плохо разделенных хроматографических пиков конгенеров ПХДД/ДФ меняют малополярную колонку на полярную. Приемлемым хроматографическим разделением считается выполнение условий для неполностью разделенных пиков:

$$2h/(H_1 + H_2) < 0,7,$$

где h — высота долины между ними;

H_1 и H_2 — высоты неразрешенных пиков.

7.3.2 Хромато-масс-спектрометрия высокого или низкого разрешения с ионизацией пробы электронным ударом

Хромато-масс-спектрометрия высокого разрешения ($R \geq 10000$) обладает чрезвычайно высокой специфичностью выделения характеристических ионов аналитов, масса которых определяется с точностью до 0.001 а.е.м. Ионы, имеющие массу, отличную от заданной, не детектируются прибором, что резко снижает мешающее влияние посторонних веществ, присутствующих в пробе. При анализе ПХДД/ДФ методом хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения для надежной идентификации аналитов достаточно фиксировать наличие двух характеристических ионов конгенера, масса которых определяется с точностью 0,001 а.е.м.

7.3.2.1 Подготовка хромато-масс-спектрометра

Хромато-масс-спектрометр типа DFS, JMS-700, MAT-95XP или аналогичный готовят для анализа в режиме ионизации пробы электронным ударом в соответствии с инструкцией по эксплуатации. Устанавливают энергию ионизации 70 эВ. Проверяют масс-спектрометрическое разрешение и соответствие паспортной чувствительности прибора.

Устанавливают программу анализа для хроматографического разделения конгенеров ПХДД/ДФ с использованием малополярной колонки типа DB-5MS. Примерный вид программы приведен в 7.3.1.1.

Масс-спектрометрический анализ проводят в режиме селективного сканирования характеристических ионов аналитов. При ионизации ХДД/ДФ электронным ударом максимальную интенсивность в спектре показывают ионы молекулярного кластера. Значения масс характеристических ионов, используемых в анализе, приведены в таблице 12.

Таблица 12 — Значения масс характеристических ионов

Конгенеры ПХДД/ДФ и соответствующие изотопно-меченые конгенеры	Характеристические ионы, m/e, а.е.м.		Соотношение интенсивностей сигнала ионов
	*M*1	*M*2	
ТХДД	319,897 (M^+)	321,894 $(M + 2)^+$	0,77
[$^{13}C_{12}$]-2,3,7,8-ТХДД	331,937 (M^+)	333,934 $(M + 2)^+$	0,77
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,4-ТХДД	331,931(M^+)	333,934 $(M + 2)^+$	0,77
ПеХДД	355,855 $(M + 2)^+$	357,852 $(M + 4)^+$	1,55
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,7,8-ПеХДД	367,895 $(M + 2)^+$	396,892 $(M + 2)^+$	1,55
ГхХДД	389,816 $(M + 2)^+$	391,813 $(M + 4)^+$	1,24
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,6,7,8-ГхХДД	401,856 $(M + 2)^+$	403,853 $(M + 4)^+$	1,24
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,7,8,9-ГхХДД	401,856 $(M + 2)^+$	403,853 $(M + 4)^+$	1,24
ГпХДД	423,777 $(M + 2)^+$	425,774 $(M + 4)^+$	1,05
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,4,6,7,8-ГпХДД	435,817 $(M + 2)^+$	437,814 $(M + 4)^+$	1,05
ОХДД	457,738 $(M + 2)^+$	459,735 $(M + 4)^+$	0,89
[$^{13}C_{12}$]-ОХДД	469,778 $(M + 2)^+$	471,775 $(M + 4)^+$	0,89
ТХДФ	303,902 (M^+)	305,899 $(M + 2)^+$	0,77
[$^{13}C_{12}$]-2,3,7,8-ТХДФ	315,942 (M^+)	317,939 $(M + 2)^+$	0,77
ПХДФ	339,860 $(M + 2)^+$	341,857 $(M + 4)^+$	1,55
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,7,8-ПеХДФ	351,900 $(M + 2)^+$	353,897 $(M + 4)^+$	1,55
ГхДФ	373,821 $(M + 2)^+$	375,818 $(M + 4)^+$	1,24
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,6,7,8-ГхХДФ	383,864 $(M)^+$	385,861 $(M + 2)^+$	0,51
ГпХДФ	407,782 $(M + 2)^+$	409,779 $(M + 4)^+$	1,05
[$^{13}C_{12}$]-1,2,3,4,6,7,8-ГпХДФ	417,825 $(M)^+$	419,822 $(M + 2)^+$	0,44
ОХДФ	441,743 $(M + 2)^+$	443,740 $(M + 4)^+$	0,89

При использовании масс-спектрометра низкого разрешения регистрируют ионы с соответствующими номинальными массами, например, вместо 319,897 — 320 и т.д.

Для обеспечения большей достоверности результатов регистрируют по три иона в кластере для каждого соединения, например, $(M)^+$, $(M + 2)^+$, $(M + 4)^+$.

7.3.2.2 Проведение градуировки

Градуировка прибора проводится по схеме, аналогичной приведенной в 7.3.1.2, и включает определение времен удерживания и относительных факторов отклика $(RRF)_n$ конгенеров ПХДД/ДФ.

7.3.2.3 Анализ экстрактов

Анализ экстрактов проводят согласно 7.3.1.3. Вычисляют отношение площадей хроматографических пиков на масс-хроматограммах ионов *M*1 и *M*2, регистрируемых для каждого определяемого соединения и внутреннего стандарта, и сравнивают его с теоретическим значением, приведенным в

таблице 12. Это отношение должно быть в пределах ± 15 % от теоретического значения, например, для ТХДД — от 0,65 до 0,89 (теоретическое отношение равно 0,77). Если хроматографические пики в указанной области времен удерживания имеются, но отношение площадей пиков выходит за эти пределы, то говорить о положительной идентификации по этим пикам ПХДД или ПХДФ в данной пробе нельзя, и требуется дополнительный анализ — на хроматографической колонке с другой неподвижной фазой или в режиме химической ионизации с детектированием отрицательно заряженных ионов. Если время удерживания данного компонента совпадает с временем удерживания соответствующего изотопно-меченого внутреннего стандарта (отличается от него не более чем на 1 с или на 1 скан) или отличается от времени удерживания, измеренного для стандартного образца, не более чем на 0,01 % и отношение площадей пиков находится в указанных пределах, то этот конгенер ПХДД/ДФ в данной пробе считается идентифицированным.

7.4 Обработка результатов измерений

По окончании анализа с помощью системы обработки данных фиксируют на реконструированных масс-хроматограммах пики в области времен удерживания, соответствующих выходу 2,3,7,8-замещенных ПХДД/ДФ и суррогатных стандартов.

Массовую концентрацию конгенеров ПХДД/ДФ в экстракте анализируемой пробы C_i, нг/кг, рассчитывают на основании полученных сигналов для каждого конкретного конгенера по формуле

$$C_i = (S_n)\, m_i / (S_i)\, (RRF)_n\, M, \qquad (2)$$

где S_n — площадь пика конгенера ПХДД/ДФ на реконструированной хроматограмме;

m_i — количество введенного изотопно-меченого суррогатного стандарта, нг;

S_i — площадь пика соответствующего конгенера изотопно-меченого суррогатного стандарта ПХДД/ДФ;

$(RRF)_n$ — относительный фактор отклика для индивидуального конгенера ПХДД/ДФ, рассчитанный по формуле (1);

M — масса образца, взятого для анализа, кг.

Коэффициент извлечения конкретного конгенера изотопно-меченого суррогатного стандарта $(REC)_s$ рассчитывают по формуле

$$(REC)_s = (S_{sur}) m_r / (S_r) m_s\, (RRF)_{sr}, \qquad (3)$$

где S_{sur} — площадь пика конкретного конгенера изотопно-меченого суррогатного стандарта на реконструированной хроматограмме анализируемого образца;

m_r — количество введенного в анализируемый образец изотопно-меченого внутреннего стандарта, нг;

S_r — площадь пика конкретного конгенера изотопно-меченого внутреннего стандарта на реконструированной хроматограмме анализируемого образца;

m_s — количество введенного в анализируемый образец изотопно-меченого суррогатного стандарта, нг;

$(RRF)_{sr}$ — относительный фактор отклика для индивидуального конгенера изотопно-меченого суррогатного стандарта, рассчитываемый из градуировочного раствора по формуле

$$(RRF)_{sr} = (S_{surs}) m_{rs} / (S_{rs}) m_{surs}, \qquad (4)$$

где S_{surs} — площадь пика индивидуального конгенера изотопно-меченого суррогатного стандарта на реконструированной хроматограмме градуировочного раствора;

m_{rs} — массовая доля изотопно-меченого внутреннего стандарта в градуировочном растворе, нг;

S_{rs} — площадь пика индивидуального конгенера изотопно-меченого внутреннего стандарта на реконструированной хроматограмме градуировочного раствора;

m_{surs} — массовая доля изотопно-меченого суррогатного стандарта в градуировочном растворе, нг.

Определение площадей S_n, S_i, S_{sur}, S_r, S_{surs}, S_{rs} проводят по масс-хроматограммам либо для одного из двух ионов $M1$ или $M2$, указанных в таблице 12, либо для двух ионов с усреднением результатов, либо по сумме площадей соответствующих пиков на обеих масс-хроматограммах.

7.5 Характеристика погрешности измерений

Диапазон измеряемых концентраций конгенеров ПХДД/ДФ и показатели сходимости и воспроизводимости приведены в таблице 13.

Таблица 13

Диапазон измеряемых концентраций конгенеров ПХДД/ДФ, нг/кг	Границы интервала, в котором погрешность находится с вероятностью $P = 0,95$, σ, ± %	Относительное стандартное отклонение воспроизводимости σ_R, %
От 0,5 до 10 включ.	48	61
Св. 10 до 200 включ.	25	36
Св. 200 до 1000 включ.	15	13

7.6 Оформление результатов измерений

Протокол испытаний должен содержать, как минимум, следующие сведения:

всю информацию, необходимую для исчерпывающей идентификации пробы;

метод испытания и определяемый элемент со ссылкой на настоящий стандарт;

результаты испытаний с указанием единиц измерений;

содержание липидов в образце по ГОСТ 7636;

дату отбора пробы и способ отбора (если он известен);

дату окончания проведения испытания;

информацию о выполнении требований к повторяемости результатов;

все детали проведения испытания, не оговоренные в настоящем стандарте или не считающиеся обязательными, а также все инциденты, наблюдавшиеся при проведении испытания, которые могли повлиять на конечный результат.

Результаты измерения массовой концентрации индивидуальных конгенеров ПХДД/ДФ представляют в форме

$$C_i \pm \Delta \text{ нг/кг}, \quad (5)$$

где C_i — концентрация конгенера ПХДД/ДФ в пробе, нг/кг;

Δ — граница интервала, в котором абсолютная погрешность измерений концентрации конгенера ПХДД/ДФ, нг/кг, находится с доверительной вероятностью $P = 0,95$.

Характеристику погрешности рассчитывают по формуле

$$\Delta = 0,01\delta C_i, \quad (6)$$

где δ — граница интервала, в котором относительная погрешность измерений концентрации конгенера ПХДД/ДФ,%, находится с доверительной вероятностью $P = 0,95$. Допускается результаты измерений в документах, выдаваемых лабораторией, представлять в виде

$$C_i \pm \Delta_л \text{ нг/кг, при условии, что } \Delta_л < \Delta, \quad (7)$$

где $\Delta_л$ — значение характеристики погрешности результатов измерений, установленное при реализации данной методики в лаборатории и обеспеченное контролем качества результатов. Рекомендуемая форма протокола представлена в приложении В.

7.7 Контроль качества измерений

Контроль качества измерений обеспечивают выполнением следующих условий:

- анализ проб проводят сериями. Каждая серия включает до 11 полевых образцов, один из которых анализируют дважды (дубликат), образец сертифицированного материала с заданным содержанием ПХДД/ДФ и процедурный холостой образец;

- оперативный контроль точности и правильности измерений обеспечивается анализом изотопно-меченых суррогатных стандартов — аналогов определяемых веществ, вводимых в каждый образец на стадии пробоподготовки.

Допускаемые критерии качества анализа:

- содержание индивидуальных конгенеров ПХДД/ДФ в процедурном холостом образце меньше 1 пг;

- определяемое содержание конгенеров ПХДД/ДФ в сертифицированном материале должно соответствовать сертификату анализа для 90 % определяемых соединений;

- отклонение результатов при анализе дубликатов — не более ± 25 % от среднего значения плюс величина предела обнаружения метода для 90 % определяемых соединений (оперативный контроль воспроизводимости);

- значения величины извлечения конгенеров $(REC)_s$, рассчитанные как указано в 7.4, находятся в диапазоне 50 % — 110 %;

- чувствительность прибора определяют один раз в день (или после настройки прибора) путем анализа стандартного градуировочного раствора ПХДД/ДФ;

- приемлемый критерий качества — соотношение сигнал–шум больше 10:1 при инжекции 1 пг 2,3,7,8-ТХДД;

- хроматографическое разрешение подтверждают анализом градуировочного раствора, проводимым до и после анализа аналитической серии;

- приемлемое значение — разделение пиков 1,2,3,4,7,8-ГхДФ и 1,2,3,6,7,8-ГХДФ соответствует условию:

$$h/(H_1 + H_2) < 0{,}7, \qquad (8)$$

где h — высота долины между ними;

H_1 и H_2 — высоты пиков конгенеров;

- масс-спектральное разрешение, определенное при настройке прибора, составляет для низкого разрешения не ниже 0,8 а.е.м, во всем диапазоне измеряемых масс для прибора высокого разрешения $R \geq 10000$;

- линейность калибровки инструмента определяют по анализу пяти градуировочных растворов ПХДД/ДФ. Критерий качества — допустимое стандартное отклонение рассчитанного относительного фактора отклика $(RRF)_n$ должно быть меньше 20 %;

- стабильность работы инструмента подтверждается до и после анализа серии образцов путем анализа градуировочного раствора ПХДД/ДФ *С*2. Критерий качества — различия значений величины относительного отклика $(RRF)_n$, рассчитанные до и после анализа серии образцов, не должны превышать ± 15 %.

Проверку чистоты инструмента на содержание анализируемых компонентов проводят после каждого анализа градуировочного стандартного раствора путем инжекции декана. Приемлемый критерий — значение вносимой ошибки за счет фона инструмента не должно превышать 1 % от среднего значения определяемых концентраций.

При невыполнении любого из перечисленных условий принимаются меры по выявлению причин и повторяется анализ партии проб.

8 Определение диоксиноподобных (планарных) полихлорированных бифенилов

8.1 Подготовка калибровочных растворов ПХБ и растворов изотопно-меченых суррогатных и внутренних стандартов

Градуировочные растворы смеси индивидуальных и изотопно-меченых ПХБ используют для проверки времен удерживания конгенеров, линейного диапазона детектирования и расчета фактора отклика анализируемых конгенеров.

В качестве базового раствора смеси индивидуальных конгенеров планарных ПХБ используется смесь индивидуальных ПХБ в нонане *EC*-5000.

В качестве базового раствора суррогатного стандарта используется смесь изотопно-меченых по углероду $^{13}C_{12}$ конгенеров ПХБ в нонане *EC* № 4995.

8.1.1 Приготовление градуировочных растворов

8.1.1.1 Раствор *B*1

Используя регулируемые автоматические дозаторы на объемы 100—1000 мкл и 10—100 мкл, последовательно вносят в виалу вместимостью 4 см^3 1910 мкл н-нонана 10 мкл базового раствора *EC*-5000 и 80 мкл раствора *EC* № 4995.

8.1.1.2 Раствор *B*2

Используя регулируемые автоматические дозаторы на объемы 100—1000 мкл и 10—100 мкл, последовательно вносят в виалу вместимостью 2 см^3 940 мкл н-нонана, 20 мкл базового раствора *EC*-5000 и 40 мкл раствора *EC* № 4995.

8.1.1.3 Раствор *B*3

Используя регулируемые автоматические дозаторы на объемы 100—1000 мкл и 10—100 мкл, последовательно вносят в виалу вместимостью 2 см^3 920 мкл н-нонана, 40 мкл базового раствора *EC*-5000 и 40 мкл раствора *EC* № 4995.

8.1.1.4 Раствор *B*4

Используя регулируемые автоматические дозаторы на объемы 100—1000 мкл и 10—100 мкл, последовательно вносят в виалу вместимостью 2 см^3 860 мкл н-нонана, 100 мкл базового раствора *EC*-5000 и 40 мкл раствора *EC* № 4995.

8.1.1.5 Раствор *B*5

Используя регулируемые автоматические дозаторы на объемы 100—1000 мкл и 10 — 100 мкл, последовательно вносят в виалу вместимостью 2 см^3 760 мкл н-нонана, 200 мкл базового раствора *EC*-5000 и 40 мкл раствора *EC* № 4995.

Концентрации калибровочных растворов (нг/см^3) приведены в таблице 14.

Приготовленные калибровочные растворы могут храниться в герметически закрытых виалах при температуре не выше минус 10 °С без доступа солнечного света не более 6 мес, в стеклянных запаянных ампулах не более двух лет.

Таблица 14 — Концентрации калибровочных растворов в нанограммах/см^3

Конгенер ПХДД/ДФ	*B*1	*B*2	*B*3	*B*4	*B*5
ПХБ 77	10	40	80	200	400
ПХБ 81	10	40	80	200	400
ПХБ 105	10	40	80	200	400
ПХБ 114	10	40	80	200	400
ПХБ 118	10	40	80	200	400
ПХБ 123	10	40	80	200	400
ПХБ 126	10	40	80	200	400
ПХБ 156	10	40	80	200	400
ПХБ 157	10	40	80	200	400
ПХБ 167	10	40	80	200	400
ПХБ 169	10	40	80	200	400
ПХБ 170	10	40	80	200	400
ПХБ 180	10	40	80	200	400
ПХБ 189	10	40	80	200	400
ПХБ 77 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
ПХБ 81 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
ПХБ 105 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
ПХБ 114 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
ПХБ 118 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
ПХБ 123 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
ПХБ 126 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
ПХБ 156 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
ПХБ 157 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
ПХБ 167 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40

Окончание таблицы 14

Конгенер ПХДД/ДФ	*B1*	*B2*	*B3*	*B4*	*B5*
ПХБ 169 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
ПХБ 170 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
ПХБ 180 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40
ПХБ 189 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	40	40	40	40	40

8.1.2 Приготовление рабочего раствора изотопно-меченого суррогатного стандарта ПХБ

Для приготовления рабочего раствора *SIS* в мерную колбу вместимостью 25 см^3 вносят автоматическим регулируемым дозатором 1000 мкл раствора *EC* № 4995 и доводят объем раствора до метки н-нонаном. Обозначают полученный рабочий раствор как $SIS_{ПХБ}$. Концентрации суррогатных стандартов в рабочем растворе приведены в таблице 15.

Таблица 15 — Концентрации суррогатных стандартов в рабочем растворе в нанограммах/см^3

Конгенер ПХДД/ДФ	$SIS_{ПХБ}$ базовый	$SIS_{ПХБ}$
ПХБ 77 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	40
ПХБ 81 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	40
ПХБ 105 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	40
ПХБ 114 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	40
ПХБ 118 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	40
ПХБ 123 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	40
ПХБ 126 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	40
ПХБ 156 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	40
ПХБ 157 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	40
ПХБ 167 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	40
ПХБ 169 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	40
ПХБ 170 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	40
ПХБ 180 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	40
ПХБ 189 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	1000	40

Приготовленный раствор перемешивают на ультразвуковой бане 10 мин, расфасовывают в стеклянные ампулы по 1 см^3. Ампулы запаивают и хранят до использования без доступа солнечного света не более двух лет.

8.1.3 Приготовление рабочего раствора внутреннего стандарта $RIS_{ПХБ}$

Для приготовления рабочего раствора внутреннего стандарта в мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят автоматическим регулируемым дозатором 50 мкл раствора 2,3,4,4',5,6-гексахлорбифенила (код по каталогу *CIL PCB* № 166), с концентрацией (100 ± 5) мкг/см^3 и доводят объем раствора до метки н-нонаном. Обозначают полученный рабочий раствор внутреннего стандарта как $RIS_{ПХБ}$. Концентрация внутреннего стандарта в рабочем растворе составляет 100 нг/см^3.

Приготовленный раствор перемешивают на ультразвуковой бане 10 мин, расфасовывают в стеклянные ампулы по 1 см^3. Ампулы запаивают и хранят до использования без доступа солнечного света не более двух лет.

8.2 Подготовка проб для анализа

Подготовка проб для анализа планарных ПХБ аналогична процедуре, описанной в 6.4. При этом размораживают, а затем гомогенизируют на шнековой мясорубке образец массой не менее 100 г.

8.3 Экстракция планарных ПХБ

Для анализа рыбы и тканей с низким содержанием липидов используют навеску 7—8 г, при анализе печени, гонад, мышц с высоким содержанием липидов 3—5 г. Извлечение ПХБ из образца проводится методом колоночной экстракции, описанным в 7.1, а в качестве изотопно-меченого суррогатного стандарта используют раствор стандарта $SIS_{ПХБ}$ (см. 8.1.2).

Пробу рыбьего жира массой 1 г растворяют в 20 $см^3$ смеси гексан-дихлорметан (1:1) и очищают методом колоночной хроматографии.

8.4 Очистка экстракта методом колоночной хроматографии

Очистку экстракта проводят методом колоночной хроматографии, описанным в 7.2. При концентрировании экстракта для инструментального анализа, когда объем растворителя во флаконе достигнет примерно 100 мкл, автоматическим дозатором добавляют 20 мкл раствора внутреннего стандарта в нонане $RIS_{ПХБ}$ (см. 8.1.3) и продолжают отдув до объема добавленного нонана. Герметизируют флакон тефлонированной прокладкой и передают для инструментального анализа.

8.5 Выполнение измерений

8.5.1 Подготовка хромато-масс-спектрометра

Хромато-масс спектрометр низкого разрешения типов Varian-320MS, Agilent-5975, ITMS-240MS, ITQ-900GC/MS или аналогичный готовят для анализа в режиме ионизации пробы электронным ударом с селективным детектированием характеристических ионов в соответствии с инструкцией по эксплуатации. Проверяют настройку и соответствие паспортной чувствительности прибора.

Устанавливают программу анализа для хроматографического разделения конгенеров планарных ПХБ с использованием малополярной колонки типа DB-5MS.

Примерный вид программы приведен ниже:

а) хроматографическая программа:

режим инжектора . . . . . splitless;
задержка продувки инжектора . . . . . 1 мин;
время сброса растворителя . . . . . 10 мин;
тип колонки DB-5MS;
длина колонки. . . . . 30 м;
диаметр колонки . . . . . 0,25 мм;
толщина пленки фазы . . . . . 0,25 мкм;
программирование температуры:
начальная температура колонки . . . . . 80 °С;
начальное время задержки . . . . . 1 мин;
скорость нагрева колонки . . . . . 20 °С/мин до 180 °С, 4 °С/мин до 280 °С;
температура инжектора . . . . . 290 °С;
скорость потока гелия через колонку . . . . . 1 мл/мин;

б) режим масс-спектрометра:

температура интерфейса . . . . . 290 °С;
температура ионного источника. . . . . 200 °С;
селективное сканирование . . . . . массы ионов см. таблицу 16;
инжектируемый объем . . . . . 1 мкл.

Масс-спектрометрический анализ проводится в режиме селективного сканирования характеристических ионов аналитов. При ионизации ПХБ методом электронного удара максимальную интенсивность в спектре показывают ионы молекулярного кластера и ионы, образованные выбросом атома хлора из молекулярного иона. Значения масс характеристических ионов, используемых в анализе, приведены в таблице 16.

Таблица 16

Анализируемая группа конгенеров ПХБ	Тип иона	Характеристические ионы, m/e, а.е.м.	Соотношение интенсивностей сигнала ионов
ПХБ 77	M^+,$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	290; 292; 294	0,77:1:0,5
ПХБ 77 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	M^+,$(M+2)^+$	302; 304	0,77:0,5

Окончание таблицы 16

Анализируемая группа конгенеров ПХБ	Тип иона	Характеристические ионы, m/e, а.е.м.	Соотношение интенсивностей сигнала ионов
ПХБ 81	M^+,$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	290; 292; 294	0,77:1:0,5
ПХБ 81 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	M^+,$(M+2)^+$	302; 304	0,77:0,5
ПХБ 105	M^+,$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	324; 326; 328	0,6:1.0,65
ПХБ 105 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	M^+,$(M+2)^+$	336; 338	0,6:1
ПХБ 114	M^+,$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	324; 326; 328	0,6:1.0,65
ПХБ 114 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	M^+,$(M+2)^+$	336; 338	0,6:1
ПХБ 118	M^+,$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	324; 326; 328	0,6:1:0,65
ПХБ 118 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	M^+,$(M+2)^+$	336; 338	0,6:1
ПХБ 123	M^+,$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	324; 326; 328	0,6:1:0,65
ПХБ 123 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	M^+,$(M+2)^+$	336; 338	0,6:1
ПХБ 126	M^+,$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	324; 326; 328	0,6:1:0,65
ПХБ 126 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	M^+,$(M+2)^+$	336; 338	0,6:1
ПХБ 156	M^+,$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	358; 360; 362	0,5:1:0,85
ПХБ 156 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	372; 374	1:0,85
ПХБ 157	M^+,$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	358; 360; 362	0,5:1:0,85
ПХБ 157 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	372; 374	1:0,85
ПХБ 167	M^+,$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	358; 360; 362	0,5:1:0,85
ПХБ 167 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	372; 374	1:0,85
ПХБ 169	M^+,$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	358; 360; 362	0,5:1:0,85
ПХБ 169 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	372; 374	1:0,85
ПХБ 170	M^+,$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	394; 396; 398	0,44:1:0,97
ПХБ 170 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	408; 410	1:0,97
ПХБ 180	M^+,$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	394; 396; 398	0,44:1:0,97
ПХБ 180 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	408; 410	1:0,97
ПХБ 189	M^+,$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	408; 410	0,44:1:0,97
ПХБ 189 ($^{13}C_{12}$ 99 %)	$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	408; 410	1:0,97
ПХБ 166 *RIS*	M^+,$(M+2)^+$, $(M+4)^+$	358; 360; 362	0,5:1.0,85

Для повышения чувствительности анализа режим масс-спектральной съемки разбит на три сегмента, в течение которых прибор фиксирует те или иные группы ионов. Примерная длительность сегментов и детектируемые ионы приведены в таблице 17.

Таблица 17

Сегмент	Время начала сканирования группы ионов, мин	Детектируемые массы, m/e, а.е.м.
1	16 — 18,4	290; 292; 294; 302; 304
2	18,4 — 21,5	324; 326; 328; 336; 338; 358; 360; 362
3	21,5 — 27,5	358; 360; 362; 372; 374; 394; 396; 398; 408; 410

Длительность сегментов корректируется при анализе калибровочной смеси.

8.5.2 Проведение градуировки

Градуировка заключается в определении времен удерживания и факторов отклика анализируемых конгенеров ПХБ. Градуировка выполняется путем анализа калибровочных смесей *B*1—*B*5.

Для оценки фона (чистоты аналитической системы) перед началом работы инжектируют в прибор 1 мкл чистого нонана и записывают масс-хроматограмму. Наличие в фоне прибора ионов, мешающих анализу, проверяется путем построения реконструированных хроматограмм по всем характеристическим ионам, приведенным в таблице 16. При нормально работающем приборе на реконструированных хроматограммах должны отсутствовать пики аналитов. Допустимо, если на реконструированных хроматограммах, построенных для иона m/e = 326 а.е.м. в диапазоне времен удерживания ПХБ 118 и ПХБ 105, имеются пики, соотношение сигнал — шум которых не менее 3:1. Если это условие не выполняется, определяют и устраняют причину фоновых сигналов.

Приготовленные градуировочные растворы *B*1 — *B*5 анализируют в условиях, приведенных в 8.5.1 в последовательности *B*1, *B*2, *B*3, *B*4, *B*5. Записывают масс-хроматограмму каждого раствора и с помощью программы компьютерной обработки данных определяют на масс-хроматограммах, реконструированных по сигналам характеристических ионов и соответствующих суррогатных стандартов, времена удерживания и площади пиков, соответствующие каждому анализируемому конгенеру.

Для вычисления площади пиков аналитов используют сигнал иона максимальной интенсивности в кластере или сумму сигналов двух ионов, одинаковых для нативного ПХБ и соответствующего суррогатного стандарта, например, для ПХБ 118 суммируют площади пиков ионов m/e = 324 + 326 и для соответствующего суррогатного стандарта m/e = 336 + 338 а.е.м.

Для каждого градуировочного раствора определяют относительный фактор отклика RRF_n каждого индивидуального конгенера ПХБ относительно соответствующего изотопно-меченого конгенера суррогатного стандарта, который рассчитывают по формуле

$$(RRF)_n = (S_{ns})m_{is}/(S_{is})m_{ns}, \quad (9)$$

где S_{ns} — площадь пика конгенера ПХБ в калибровочном растворе;

m_{is} — масса соответствующего изотопно-меченого конгенера суррогатного стандарта в калибровочном растворе, нг;

S_{is} — площадь пика соответствующего изотопно-меченого конгенера суррогатного стандарта в калибровочном растворе;

m_{ns} — масса конгенера ПХБ в калибровочном растворе, нг.

При наличии линейности детектирования различие величины относительного фактора отклика (*RRF*) не должно превышать ± 20 % для всех калибровочных растворов.

Проводят три параллельных измерения для каждого раствора и рассчитывают относительные факторы отклика для каждого индивидуального конгенера ПХБ для трех измерений.

Различие значений относительных факторов отклика (*RRF*), рассчитанных для трех параллельных измерений, не должно превышать ± 10 %.

Перед началом анализа каждой новой партии проб проводят проверку линейного диапазона и постоянства факторов отклика путем хроматографирования не менее трех рабочих растворов смеси ПХБ, приготовленных в соответствии с 8.1.1. При отсутствии постоянства $(RRF)_n$, т.е. линейности, выясняют и устраняются причины нестабильной работы прибора.

Примерные относительные времена удерживания малополярной колонки DB-5MS приведены в таблице 18.

Таблица 18

Соединение	Неподвижная фаза DB-5MS
ПХБ 77	0,84
ПХБ 81	0,82
ПХБ 105	0,93
ПХБ 114	0,9
ПХБ 118	0,88

Окончание таблицы 18

Соединение	Неподвижная фаза DB-5MS
ПХБ 123	0,87
ПХБ 126	0,99
ПХБ 156	1,07
ПХБ 157	1,08
ПХБ 167	1,03
ПХБ 169	1,15
ПХБ 170	1,16
ПХБ 180	1,10
ПХБ 189	1,22
ПХБ 166 *RIS*	1,00

8.5.3 Хромато-масс-спектральный анализ полученных экстрактов

Отбирают микрошприцем 1 мкл анализируемого экстракта, подготовленного, как описано в 8.4, и вводят в инжектор газового хроматографа. Записывают масс-хроматограммы и идентифицируют индивидуальные конгенеры ПХБ и изотопно-меченые конгенеры суррогатного стандарта по масс-спектру и совпадению значений времени удерживания.

Наличие в пробе или контрольном образце индивидуального конгенера ПХБ считают установленным, если на всех реконструированных масс-хроматограммах, построенных по массам характеристических ионов для данного конгенера, присутствуют синхронные пики, имеющие отношение сигнал/шум больше или равной трем, время удерживания не отличается на ± 2 с от определенного для данного конгенера или соответствующего изотопно-меченого аналога при анализе градуировочного раствора и соотношение интенсивностей характеристических ионов на вершине пиков не отличается более чем на 20 % от теоретического (см. таблицу 16).

8.6 Обработка результатов измерений

По окончании анализа с помощью системы обработки данных фиксируют на реконструированных масс-хроматограммах пики в области времен удерживания, соответствующих выходу планарных ПХБ, суррогатных и внутреннего стандартов.

Массовую концентрацию конгенеров ПХБ в экстракте анализируемой пробы C_i, нг/кг, рассчитывают на основании полученных сигналов для каждого конкретного конгенера по формуле

$$C_i = (S_n)m_i/(S_i)(RRF)_n M, \quad (10)$$

где S_n — площадь пика конгенера ПХБ на реконструированной хроматограмме;

m_i — количество введенного изотопно-меченого суррогатного стандарта, нг;

S_i — площадь пика соответствующего конгенера изотопно-меченого суррогатного стандарта ПХБ;

$(RRF)_n$ — относительный фактор отклика для индивидуального конгенера ПХБ, рассчитанный по формуле (9);

M — масса образца, взятого для анализа, кг.

Коэффициент извлечения конкретного конгенера изотопно-меченого суррогатного стандарта $(REC)_s$ определяется по формуле

$$(REC)_s = (S_{sur})m_r/(S_R)m_s(RRF)_{sr}, \quad (11)$$

где S_{sur} — площадь пика конкретного конгенера изотопно-меченого суррогатного стандарта на реконструированной хроматограмме анализируемого образца;

m_r — количество введенного в анализируемый образец внутреннего стандарта, нг;

S_R — площадь пика внутреннего стандарта на реконструированной хроматограмме анализируемого образца;

m_s — количество введенного в анализируемый образец изотопно-меченого суррогатного стандарта, нг;

$(RRF)_{sr}$ — относительный фактор отклика для индивидуального конгенера изотопно-меченого суррогатного стандарта определяется из градуировочного раствора по формуле

$$RRF_{sr} = (S_{surs})m_{rs}/(S_{rs})m_{surs}, \quad (12)$$

где S_{surs} — площадь пика индивидуального конгенера изотопно-меченого суррогатного стандарта на реконструированной хроматограмме градуировочного раствора;

S_{rs} — площадь пика внутреннего стандарта на реконструированной хроматограмме градуировочного раствора;

m_{rs} — массовая доля внутреннего стандарта в градуировочном растворе, нг;

m_{surs} — массовая доля изотопно-меченого суррогатного стандарта в градуировочном растворе, нг.

Определение площадей пиков проводят по реконструированным масс-хроматограммам либо для одного из двух ионов $M1$ или $M2$, указанных в таблице 16, либо для двух ионов с усреднением результатов, либо по сумме площадей соответствующих пиков на обеих масс-хроматограммах.

8.7 Характеристики погрешности измерений

Характеристики погрешности измерений для различных концентраций конгенеров ПХБ приведены в таблице 19.

Таблица 19

Диапазон измеряемых концентраций конгенеров ПХБ, нг/кг	Границы интервала, в котором погрешность находится с вероятностью $P = 0,95$ σ, ± %	Относительное стандартное отклонение воспроизводимости σ_R, %
От 5 до 50 включ.	22	31
Св. 50 до 500 включ.	13	26

8.8 Оформление результатов измерений

Протокол испытаний должен содержать, как минимум, следующие сведения:

- всю информацию, необходимую для исчерпывающей идентификации пробы;
- метод испытания и определяемый элемент со ссылкой на настоящий стандарт;
- результаты испытаний с указанием единиц измерений;
- содержание липидов в образце по ГОСТ 7636;
- дату отбора пробы и способ отбора (если он известен);
- дату окончания проведения испытания;
- информацию о выполнении требований к повторяемости результатов;
- все детали проведения испытания, не оговоренные в настоящем стандарте или не считающиеся обязательными, а также все инциденты, наблюдавшиеся при проведении испытания, которые могли повлиять на конечный результат.

Результаты измерения массовой концентрации индивидуальных конгенеров планарных ПХБ Ci представляют в форме:

$$Ci \pm \Delta \text{ нг/кг}, \quad (13)$$

где Ci — концентрация конгенера ПХБ в пробе, нг/кг;

Δ — граница интервала, в котором абсолютная погрешность измерений концентрации конгенера ПХБ, нг/кг, находится с доверительной вероятностью $P = 0,95$.

Характеристику погрешности вычисляют по формуле

$$\Delta = 0,01\delta Ci, \quad (14)$$

где δ — граница интервала, в котором относительная погрешность измерений концентрации конгенера ПХБ в %, находится с доверительной вероятностью $P = 0,95$.

Допускается результаты измерений в документах, выдаваемых лабораторией, представлять в виде

$$Ci \pm \Delta_{n,}\ \text{нг/кг, при условии, что } \Delta_n < \Delta\,, \qquad (15)$$

где Δ_n — значение характеристики погрешности результатов измерений, установленное при реализации данной методики в лаборатории и обеспеченное контролем качества результатов.

Рекомендуемая форма протокола представлена в приложении Г.

8.9 Контроль качества измерений

Контроль качества измерений обеспечивают выполнением следующих условий:

- анализ проб проводят сериями. Каждая серия включает до 11 полевых образцов, один из которых анализируют дважды (дубликат), образец сертифицированного материала с заданным содержанием ПХБ и процедурный холостой образец;

- оперативный контроль точности и правильности измерений обеспечивается анализом изотопно-меченых суррогатных стандартов — аналогов определяемых веществ, вводимых в каждый образец на стадии пробоподготовки.

Допускаемые критерии качества анализа:

- содержание индивидуальных конгенеров ПХБ в процедурном холостом образце меньше 10 нг;

- определяемое содержание конгенеров ПХБ в сертифицированном материале должно соответствовать сертификату анализа для 90 % определяемых соединений;

- отклонение результатов при анализе дубликатов — не более ± 25 % от среднего значения плюс величина предела обнаружения метода для 90 % определяемых соединений (оперативный контроль воспроизводимости);

- значения величины извлечения конгенеров $(REC)_s$, рассчитанные, как указано в 8.6, находятся в диапазоне 50 % — 110 %;

- чувствительность прибора определяют один раз в день (или после настройки прибора) путем анализа стандартного градуировочного раствора *B*1 ПХБ. Приемлемый критерий качества — соотношение сигнал — шум больше (10:1) для ПХБ 180;

- хроматографическое разрешение подтверждают анализом градуировочного раствора, проводимым до и после анализа аналитической серии. Приемлемое значение — разделение пиков ПХБ 123 и ПХБ 118 соответствует условию:

$$2h/(H_1 + H_2) < 0{,}9, \qquad (16)$$

где h — высота долины между пиками конгенеров;

H_1 и H_2 — высоты пиков;

- масс-спектральное разрешение, определенное при настройке прибора, составляет для низкого разрешения не ниже 0,8 а.е.м во всем диапазоне масс проводимых измерений;

- линейность калибровки инструмента определяют по анализу пяти градуировочных растворов ПХБ. Критерий качества — допустимое стандартное отклонение рассчитанного относительного фактора отклика $(RRF)_n$ должно быть меньше 20 %;

- стабильность работы инструмента подтверждается до и после анализа серии образцов путем анализа градуировочного раствора ПХБ *B*2. Критерий качества — различия значений величины относительного отклика $(RRF)_n$, рассчитанные до и после анализа серии образцов, не должны превышать ± 15 %;

- проверку чистоты инструмента на содержание анализируемых компонентов проводят после каждого анализа градуировочного стандартного раствора путем инжекции декана. Приемлемый критерий — значение вносимой ошибки за счет фона инструмента не должно превышать 1 % от среднего значения определяемых концентраций.

При невыполнении любого из перечисленных условий принимаются меры по выявлению причин и повторяется анализ партии проб.

Приложение А
(справочное)

Диоксиновый эквивалент токсичности (*TEQ*) конгенеров ПХДД/ДФ и диоксинподобных ПХБ

А.1 Диоксиновый эквивалент токсичности (*TEQ*) конгенеров ПХДД/ДФ и диоксиноподобных ПХБ — значение, выраженное в относительных величинах токсичности, установленных Всемирной организацией здравоохранения, приведен в таблице А.1.

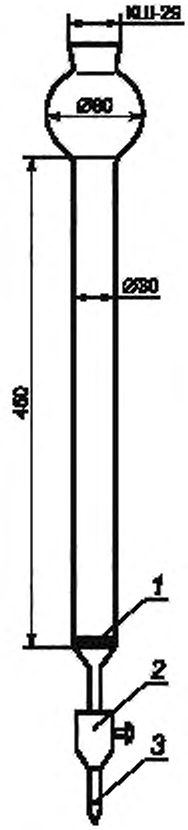
Таблица А.1

Конгенер	TEQ	Конгенер	TEQ
Дибензо-п-диоксины (ПХДД):		Диоксинподобные ПХБ:	
2,3,7,8-ТХДД	1	Не-орто ПХБ:	
1,2,3,7,8-ПеХДД	1	ПХБ 77	0,0001
1,2,3,4,7,8-ГеХДД	0,1	ПХБ 81	0,0001
1,2,3,6,7,8-ГеХДД	0,1	ПХБ 126	0,1
1,2,3,7,8,9-ГеХДД	0,1	ПХБ 169	0,01
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДД	0,01		
ОХДД	0,0001		
Дибензофураны (ПХДФ):			
2,3,7,8-ТХДФ	0,1	Моно-орто ПХБ:	
1,2,3,7,8-ПеХДФ	0,05	ПХБ 105	0,0001
2,3,4,7,8-ПеХДФ	0,5	ПХБ 114	0,0005
1,2,3,4,7,8-ГеХДФ	0,1	ПХБ 118	0,0001
1,2,3,6,7,8-ГеХДФ	0,1	ПХБ 123	0,0001
1,2,3,7,8,9-ГеХДФ	0,1	ПХБ 156	0,0005
2,3,4,6,7,8-ГеХДФ	0,1	ПХБ 157	0,0005
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДФ	0,01	ПХБ 167	0,00001
1,2,3,4,7,8,9-ГпХДФ	0,01	ПХБ 189	0,0001
ОХДФ	0,0001		

Приложение Б
(справочное)

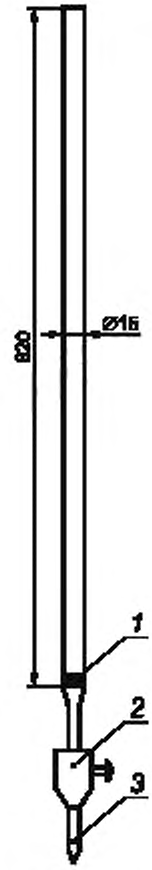
Колонки для анализа

Б.1 Колонки для анализа приведены на рисунках Б.1 — Б.4.



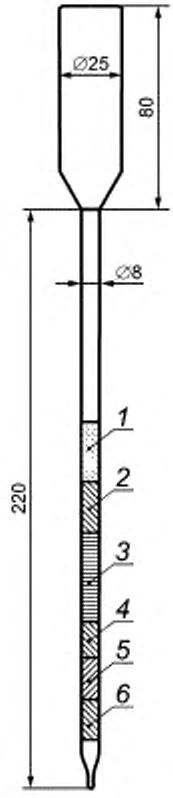
1 — фильтр Шотта, *2* — фторопластовый кран; *3* — стеклянный наконечник

Рисунок Б.1 — Колонка для экстракции



1 — фильтр Шотта; *2* — фторопластовый кран; *3* — стеклянный наконечник

Рисунок Б.2 — Колонка Bio-Beads SE-X3



1 — безводный Na_2SO_4; *2* — активированный SiO_2; *3* — SiO_2/H_2SO_4; *4* — активированный SiO_2; *5* — SiO_2/NaOH; *6* — активированный SiO_2

Рисунок Б.3 — Колонка для мультислойного сорбента

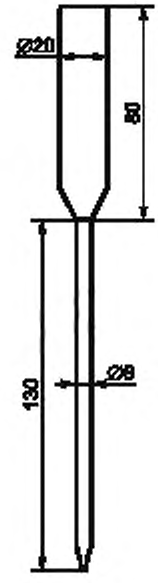


Рисунок Б.4 — Колонка для навески AL_2O_3 массой 5 г

Приложение В
(справочное)

Форма представления результатов анализа на содержание ПХДД/ПХДФ

ПРОТОКОЛ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА №

Заказчик
Описание пробы
Код образца заказчика
Дата получения проб
Дата анализа проб
Определяемые компоненты: полихлорированные дибензо-*п*-диоксины и дибензофураны (ПХДД/ПХДФ)
Метод анализа: ГОСТ Р 53184—2008

Код пробы		Матрица	
Определяемый компонент	Диоксиновый эквивалент, *TEQ*	Результаты анализов	
		Концентрация, нг/кг	Концентрация в *TEQ*, нг/кг
2,3,7,8-ТХДД	1		
1,2,3,7,8-ПеХДД	1		
1,2,3,4,7,8-ГкХДД	0,1		
1,2,3,6,7,8-ГкХДД	0,1		
1,2,3,7,8,9-ГкХДД	0,1		
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДД	0,01		
ОХДД	0,0001		
2,3,7,8-ТХДФ	0,1		
1,2,3,7,8-ПеХДФ	0,5		
2,3,4,7,8-ПеХДФ	0,5		
1,2,3,4,7,8-ГкХДФ	0,1		
1,2,3,6,7,8-ГкХДФ	0,1		
2,3,4,6,7,8-ГкХДФ	0,1		
1,2,3,7,8,9-ГкХДФ	0,1		
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДФ	0,01		
1,2,3,4,7,8,9-ГпХДФ	0,01		
ОХДФ	0,0001		
Суммарная концентрация в *TEQ*, нг/кг			
Другие ТХДД	—		—
Другие ТХДФ	—		—
Другие ПеХДД	—		—
Другие ПеХДФ	—		—
Другие ГкХДД	—		—
Другие ГкХДФ	—		—
Другие ГпХДД	—		—
Другие ГпХДФ	—		—

Окончание таблицы

Суррогатный стандарт	Предел обнаружения, нг/кг	Извлечение, %
($^{13}C_{12}$) 2,3,7,8-ТХДД		
($^{13}C_{12}$) 2,3,7,8-ТХДФ		
($^{13}C_{12}$) 1,2,3,7,8-ПеХДД		
($^{13}C_{12}$) 1,2,3,7,8-ПеХДФ		
($^{13}C_{12}$) 1,2,3,6,7,8-ГкХДД		
($^{13}C_{12}$) 1,2,3,4,7,8-ГкХДФ		
($^{13}C_{12}$) 1,2,3,4,6,7,8-ГпХДД		
($^{13}C_{12}$) 1,2,3,4,6,7,8-ГпХДФ		
($^{13}C_{12}$) ОХДД		
Содержание липидов в пробе, %		

Личная подпись ответственного исполнителя

Приложение Г
(справочное)

Форма представления результатов анализа на содержание планарных полихлорированных бифенилов

ПРОТОКОЛ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА №

Заказчик
Описание пробы
Код образца заказчика
Дата получения проб
Дата анализа проб
Определяемые компоненты: полихлорированные планарные бифенилы
Метод анализа: ГОСТ Р 53184—2008

Код пробы			Матрица	
Конгенер ПХБ	*TEQ*	Результаты анализов		
		Концентрация, нг/кг	Концентрация в *TEQ*, нг/кг	
ПХБ 81	0,0001			
ПХБ 77	0,0001			
ПХБ 123	0,0001			
ПХБ 118	0,0001			
ПХБ 114	0,0005			
ПХБ 105	0,0001			
ПХБ 126	0,1			
ПХБ 167	0,00001			
ПХБ 156	0,0005			
ПХБ 157	0,0005			
ПХБ 169	0,01			
ПХБ 180	—			
ПХБ 170	—			
ПХБ 189	0,0001			
Суммарная концентрация *TEQ*, нг/кг				
Суррогатный стандарт		Предел обнаружения, нг/кг	Извлечение, %	
ПХБ 81 ($^{13}C_{12}$ 99 %)				
ПХБ 77 ($^{13}C_{12}$ 99 %)				
ПХБ 123 ($^{13}C_{12}$ 99 %)				
ПХБ 118 ($^{13}C_{12}$ 99 %)				
ПХБ 114 ($^{13}C_{12}$ 99 %)				
ПХБ 105 ($^{13}C_{12}$ 99 %)				
ПХБ 126 ($^{13}C_{12}$ 99 %)				
ПХБ 167 ($^{13}C_{12}$ 99 %)				
ПХБ 156 ($^{13}C_{12}$ 99 %)				
ПХБ 157 ($^{13}C_{12}$ 99 %)				
ПХБ 169 ($^{13}C_{12}$ 99 %)				
ПХБ 180 ($^{13}C_{12}$ 99 %)				
ПХБ 170 ($^{13}C_{12}$ 99 %)				
ПХБ 189 ($^{13}C_{12}$ 99 %)				
Содержание липидов в пробе, %				

Личная подпись ответственного исполнителя

Библиография

[1] Инструкция по технике безопасности по работе с 2,3,7,8-ТХДД, утвержденная 3-м ГУ при МЗ СССР 02.12.1986 г.)

[2] Временная инструкция по лечению отравлений диоксином, утвержденная заместителем Министра здравоохранения СССР 10 сентября 1986 г.

[3] ТУ 25-1173.102—84	Ротационный испаритель ИР-1 М2
[4] ТУ 64-1-2451—88	Аппарат для встряхивания проб фирмы АВУ-1
[5] ИСО 9187-1:2006	Медицинское оборудование для инъекций. Часть 1. Ампулы для инъекционных растворов
[6] ТУ 6-09-06-856—71	Хлористый метилен
[7] ТУ 0271-135 -31323949—2005	Гелий
[8] ТУ 2114-02 -05015259—97	Смеси газовые
[9] ТУ 51-180—83	Смеси газовые
[10] ТУ 6-11-15-191—81	Волокнистый кварцевый материал СКВ

УДК 664.951.4:006.354 ОКС 67.120.30 Н23 ОКП 92 7110
92 7114

Ключевые слова: диоксины, диоксинподобные полихлорированные бифенилы, хромато-масс-спектрометрия

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *М.В. Бучная*
Компьютерная верста *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 15.12.2009. Подписано в печать 01.02.2010. Формат 60x84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал. Печать офсетная. Усл. печ. л. 4,65. Уч.-изд. л. 4,00. Тираж 238 экз. Зак. 63.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6

gost.e-ecolog.ru