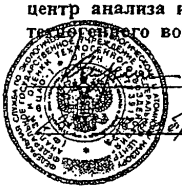
ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ЭКОЛОГИЧЕСКОМУ, ТЕХНОЛОГИЧЕСКОМУ И АТОМНОМУ НАДЗОРУ

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФГУ «Федеральный центр анализа и оценки техногенного воздействия»



_____ К.А. Сапрыкин

_____ 2008 г.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЧВ

МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ СУММАРНОГО СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ ДИБЕНЗО- П-ДИОКСИНОВ И ДИБЕНЗОФУРАНОВ В ПЕРЕСЧЕТЕ НА 2,3,7,8-ТЕТРАХЛОРДИБЕНЗО- П-ДИОКСИН В ПРОБАХ ПОЧВ, ГРУНТОВ, ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ МЕТОДОМ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

ПНД Ф 16.1:2:2.2.56-08

Методика допущена для целей государственного экологического контроля

gost.e-ecolog.ru

Право тиражирования и реализации принадлежит разработчикам.

Методика рассмотрена и одобрена ФГУ «Федеральный центр анализа и оценки техногенного воздействия» (ФГУ «ФЦАО»).

Заместитель директора ФГУ «ФЦАО» М.Ю.Гавриков

Разработчики:
Институт проблем эволюции и экологии им. А.Н. Северцова РАН
Адрес: 117071. г. Москва, В-71, Ленинский пр., д. 33
Телефон: (499) 135 13 80

ФГУП «Российский научно-исследовательский центр чрезвычайных ситуаций» ФМБА России
Адрес: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 40
Телефон: (499) 7204324

ГУ «Научно-производственное объединение «Тайфун», Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды
Адрес: 243020. г. Обнинск, ул. Победы, д.4
Телефон: (48439) 4 39 20

ОГЛАВЛЕНИЕ

1	Назначение и область применения	4
2	Значения характеристик погрешности методики	4
3	Термины и определения	5
4	Сущность методики	5
5	Средства измерений	6
6	Вспомогательные устройства и лабораторная посуда	6
7	Реактивы и материалы	7
8	Стандартные растворы	8
9	Требования безопасности	9
10	Требования к квалификации оператора	9
11	Отбор, хранение и транспортировка проб	9
12	Подготовка к проведению анализа	10
13	Подготовка проб к анализу	13
14	Проведение анализа	14
15	Вычисление результатов измерений	17
16	Оформление результатов измерений	18
17	Оценка приемлемости результатов получаемых в условиях воспроизводимости	19
18	Контроль качества результатов анализа	19
19	Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории	20
20	Приложение (обязательное). Форма представления результатов анализа	22

1. Назначение и область применения

Методика предназначена для идентификации и выполнения измерений массовой доли 17 высокотоксичных 2,3,7,8-замещенных полихлорированных дибензо-п-диоксинов (ПХДД) и дибензофуранов (ПХДФ): 2,3,7,8-ТетраХДД; 1,2,3,7,8-ПентаХДД; 1,2,3,4,7,8-ГексаХДД; 1,2,3,6,7,8-ГексаХДД; 1,2,3,7,8,9-ГексаХДД; 1,2,3,4,6,7,8-ГептаХДД; ОктаХДД; 2,3,7,8-ТетраХДФ; 1,2,3,7,8-ПентаХДФ; 2,3,4,7,8-ПентаХДФ; 1,2,3,4,7,8-ГексаХДФ; 1,2,3,6,7,8-ГексаХДФ; 2,3,4,6,7,8-ГексаХДФ; 1,2,3,7,8,9-ГексаХДФ; 1,2,3,4,6,7,8-ГептаХДФ; 1,2,3,4,7,8,9-ГептаХДФ; ОктаХДФ в пробах почв, грунтов, илов, донных отложений, шлаке, летучей золе методом хромато-масс-спектрометрии и расчета на их основе суммарного содержания токсичных полихлорированных дибензо-п-диоксинов и дибензофуранов в пересчете на 2,3,7,8-тетрахлордибензо-п-диоксин с помощью установленных диоксиновых эквивалентов токсичности, в лабораториях, имеющих соответствующее оборудование и доказавших свою компетентность в проведении этих анализов.

Предел определения (по ГОСТ Р 52361-2005) тетра-, пента-, гекса-, гепта- и октахлорированных изомеров составляет соответственно 1, 1, 2, 5, 10 нг/кг при массе анализируемой пробы 10 г.

Диапазон определяемых массовых концентраций ПХДД и ПХДФ составляет 1-1000 нг/кг при массе анализируемой пробы 10-100 г.

Влияние возможных мешающих соединений устраняется в процессе подготовки пробы к анализу.

2. Значения характеристики погрешности методики

2.1. Воспроизводимость результатов измерений по методике согласно ГОСТ 17.4.3.03-85 «Охрана природы. Почвы. Общие требования к методам определения загрязняющих веществ» не должна превышать 30%.

2.2. Методика выполнения измерений при соблюдении всех регламентированных ею условий проведения измерений обеспечивает получение результатов измерений суммарного содержания полихлорированных дибензо-п-диоксинов и дибензофуранов в пересчете на 2,3,7,8-тетрахлордибензо-п-диоксин с погрешностью, не превышающей значений, приведённых в таблице 1.

Таблица 1 -Диапазон измерений, значения показателей точности, правильности, воспроизводимости

Диапазон измерений, нг/кг	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Показатель правильности (границы относительной систематической погрешности при вероятности P=0,95), $\pm\delta_c$, %	Показатель точности (границы относительной погрешности при вероятности P=0,95), $\pm\delta$, %
от 1 до 1000 вкл.	30	48	75

2.3. Значения показателя точности методики ($\pm\delta$, %) используют при:

- оформлении результатов измерений, выдаваемых лабораторией;
- оценке деятельности лабораторий по части качества проведения испытаний;
- оценке возможности использования результатов измерений при реализации методики выполнения измерений в конкретной лаборатории.

3. Термины и определения

В настоящем документе применяют следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 Полихлорированные дибензо-п-диоксины/дибензофураны (ПХДД/ПХДФ) - все конгенеры дибено-п-диоксинов и дибензофуранов с содержанием в молекуле от 1 до 8 атомов хлора.

3.2 Конгенер ПХДД/ПХДФ - любой из индивидуальный изомеров дибензо-п-диоксина и дибензофурана с содержанием хлора от 1 до 8 атомов в молекуле.

3.3 ТХДД – любой изомер тетрахлордибензо-п-диоксина;
ПеХДД - любой изомер пентахлордибензо-п-диоксина;
ГкХДД - любой изомер гексахлордибензо-п-диоксина;
ГпХДД - любой изомер гептахлордибензо-п-диоксина;
ОХДД - октахлордибензо-п-диоксин;
ТХДФ - любой изомер тетрахлордибензофурана;
ПеХДФ - любой изомер пентахлордибензофурана
ГкХДФ - любой изомер гексахлордибензофурана;
ГпХДФ - любой изомер гептахлордибензофурана;
ОХДФ - октахлордибензофуран.

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

3.4 Стандарт-имитатор (SIS) – смесь конгенеров ПХДД/ПХДФ, изотопно-меченных углеродом $^{13}C_{12,}$ вводимая в пробу на стадии обработки для контроля полноты извлечения и количественных расчетов.

3.5 Инструментальный внутренний стандарт (RIS) - изотопно-меченные углеродом $^{13}C_{12}$ конгенеры ПХДД/ПХДФ, не входящие в состав SIS, вводимые в подготовленный к анализу экстракт для контроля эффективности экстракции конгенеров, входящих в состав SIS, проверки стабильности работы масс-спектрометра и оперативного контроля эффективности хроматографического разделения изомеров.

3.6 Ионная масс-хроматограмма – масс-хроматограмма, полученная компьютерной обработкой результатов анализа и показывающая величину сигнала, создаваемого ионами с заданной массой, характеристической для конгенеров ПХДД/ПХДФ с определенной степенью хлорирования.

3.7 Диоксиновый эквивалент токсичности (ДЭ) каждого конгенера ПХДД/ПХДФ определяется в соответствии с классификацией в ГН 2.1.6.014-94, аналогичной международной классификации (I-TEF), и выражается в относительных единицах по отношению к токсичности конгенера 2,3,7,8- тетрахлордибензо-п-диоксина, принимаемой за 1. (Приложение 1).

3.8 Суммарная токсичность пробы (суммарная концентрация в ДЭ, Приложение 1) представляет собой сумму произведений концентраций каждого конгенера на соответствующий эквивалент токсичности. Именно эта величина нормируется в гигиенических нормативах.

4. Сущность методики

Методика основана на экстракции ПХДД/ПХДФ из пробы почвы органическим растворителем, в которую предварительно внесен изотопно-меченый стандарт-имитатор ПХДД/ПХДФ (SIS), очистке экстракта от сопутствующих соединений, мешающих определению ПХДД/ПХДФ, внесении инструментального изотопно-меченого внутреннего стандарта (RIS), концентрировании экстракта и последующем его анализе с помощью сочетания высокоэффективной капиллярной газовой хроматографии и масс-спектрометрии (ГХ-МС).

Идентификацию конгенеров ПХДД/ПХДФ осуществляют по хроматографическим временам удерживания, наличию характеристических ионов в масс-спектрах хроматографически выделенного конгенера и соотношению интенсивностей (площадей) пиков, отвечающих характеристическим ионам идентифицируемых компонентов и стандартов-имитаторов, на регистрируемых ионных масс-хроматограммах.

Концентрации конгенеров ПХДД/ПХДФ определяют по площадям соответствующих хроматографических пиков на ионных масс-хроматограммах по методу изотопного разбавления и внутреннего стандарта.

5. Средства измерений

5.1. Хромато-масс-спектрометрическая система, включающая:

- газовый хроматограф, (Trace GC, Agilent Technology 6890 или другой с характеристиками, не уступающими указанным хроматографам), позволяющий работать с капиллярными колонками, инжектором split-splitless или on-column, соединенный с масс-спектрометром высокого или низкого разрешения, позволяющим регистрировать отдельные ионы 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 0,5 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;
- капиллярные хроматографические колонки длиной 25-60 м, внутренним диаметром 0,15-0,32 мм с неполярной или слабополярной неподвижной фазой типа DB-5ms, SGE BPX5, Ultra-2 и др. и полярной неподвижной фазой SP 2331, CP Sil 88, DB-DIOXIN, (допускается использование и других колонок с неподвижными фазами, обеспечивающими разделение 2,3,7,8-замещенных и других изомеров ПХДД и ПХДФ);

5.2. Микрошприцы хроматографические, на 10 мм^3, ценой деления 0,1 мм^3, например Hamilton #700.

5.3. Термометр технический ртутный прямой с диапазоном измеряемой температуры от 0 до 100°С и ценой деления 1°С, ТУ 25-2022.0006.90.

5.4. Термометр технический ртутный прямой с диапазоном измеряемой температуры от 0 до 500°С и ценой деления 2° С, ТУ 25-2022.0006.90.

5.5. Автоматические дозаторы на объем 100-1000 мм^3, точность ±0,8%, например Eppendorf #3111.000.165.

5.6. Автоматические дозаторы на объем 10-100 мм^3, точность ±0,6%, например Eppendorf #3111.000.149.

5.7. Цилиндры мерные исполнения 3 вместимостью 25, 50, 100, 1000 см3 , ГОСТ 1770-74.

5.8. Колбы мерные наливные 2-25-2, 2-50-2, ГОСТ 1770-74.

5.9. Пипетки 1-2-1, 2-2-5, ГОСТ 29227-91.

5.10. Весы лабораторные специального или высокого класса точности с ценой деления не более 0,1 мг, наибольшим пределом взвешивания не более 210 г, ГОСТ 24104-2001.

6 . Вспомогательные устройства и лабораторная посуда

6.1. Ротационный испаритель типа ИР-1 М2 по ТУ 25-1173 102-84.

6.2. Сушильный шкаф типа 2В- 151 по МРТУ 42-1411-61 или аналогичный .

6.3. Плитка электрическая с закрытой спиралью мощностью 800 Вт типа ЭПШ-1-0,8/200 по ГОСТу 14919-83.

6.4. Устройство для встряхивания жидкостей любого типа.

6.5. Концентратор Кудерна-Даниша с испарительной колбой вместимостью 50 $см^3$, концентрирующей пробиркой вместимостью 10 $см^3$ и трехшариковой колонкой Снайдера фирмы Supelco или аналогичный.

6.6. Эксикатор 2-250 ГОСТ 25336-82.

6.7. Колонка стеклянная длиной 500 мм и внутренним диаметром 25 мм.

6.8. Колонка стеклянная длиной 200 мм и внутренним диаметром 14 мм.

6.9. Колонка стеклянная длиной 150 мм и внутренним диаметром 10 мм.

6.10. Флаконы для образцов с коническим дном и герметичной пробкой типа Wheaton Mini-Vials вместимостью 1, 3, 5 и 10 $см^3$.

6.11. Флаконы для образцов с герметичной пробкой вместимостью 1, 3, 5 ,10 и 30 $см^3$.

6.12. Резервуар стеклянный Мишель-Миллер с тефлоновыми пробками длиной 450 см и внутренним диаметром 25 мм, Aldrich Chemical Company Z 17, 951-5.

6.13. Посуда и оборудование лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336-82:

воронки лабораторные В-36-50, В-100-150;

дефлегматор 250-14/23-29/32-ТС;

колбы конические вместимостью $К_н$-1-100-14/23 ТС, $К_н$-1-250-24/29 ТС;

колбы круглодонные К-1-500-29/32 ТС, К-1-1000-29/32 ТС, К-1-2000-29/32 ТС;

колбы грушевидные К-1-50-14/23, К-1-100-14/23, К-1-250-29/32;

насос водоструйный;

стаканы В-1-50 ТС, В-1-100 ТС;

холодильник ХПТ-1-300-14/23 ХС;

Трубка стеклянная длиной 15 см, внешним диаметром 7 мм, внутренним диаметром 3,5 мм.

6.14. Трубки полиэтиленовые внешним диаметром 2 мм.

6.15. Трубки из силиконовой резины.

6.16. Резистор ПЭВ-15 8200 Ом, ТУ - ОЖО467546.

6.17. Баллон со сжатым воздухом.

6.18. Редуктор кислородный.

Допускается использование вспомогательных устройств и лабораторной посуды других марок, обеспечивающих проведение анализа с заданной погрешностью.

7. Реактивы и материалы

7.1. Ацетон о.с.ч., ТУ-6-09-3513-86.

7.2. Толуол, х.ч., ТУ 6-09-4305-76.

7.3. Метанол, х.ч, ГОСТ 6995-77.

7.4. н-Гексан х.ч., ТУ 6-09-3375-73.

7.5. Метиленхлорид х.ч., ТУ 6-09-06-856-71.

7.6. Спирт этиловый ГОСТ 18300-87.

7.7. н-Тридекан ч., ТУ 6-09-3732-74.

7.8. Кислота серная, хч, ГОСТ 4204-77.

7.9. Натрий сернокислый безводный, хч, ГОСТ 4166-76.

7.10. Натрий хлористый х.ч., ГОСТ 4233-77, водный раствор с массовой долей 5%.

7.11. Кальций хлористый безводный ч., ТУ 6-09-4711-81.

7.12. Цезий гидроксид 1-водный, х.ч., ТУ 6-09-04-88.

7.13. Калия гидроокись х.ч., ГОСТ 24363-80, водный раствор с массовой долей 20%.

7.14. Алюминий оксид для хроматографии, 100-200 mech, Bio-Rad, кат.№132-1340.

7.15. Гелий марки В, ТУ 51-940-80.

7.16. Азот о.с.ч., ГОСТ 9293-74.

7.17. Целит 545, Alltech.

7.18. Силикагель Kieseigel 60, 70-230 мкм (E.Merk).

7.19. Уголь активированный марки - Anderson АХ-21 или ФАС-МД (Институт физической химии РАН, Лаборатория синтеза и исследования сорбентов)

7.20. Вата медицинская гигроскопическая, ГОСТ 5556-81.

7.21. Вода дистиллированная, ГОСТ 6709-72.

7.22. н-Декан.

Допускается использование реактивов и материалов других марок, номинальные и метрологические характеристики которых не хуже вышеприведенных, после их проверки путем проведения всей процедуры анализа с применением этих реагентов для холостого опыта и проанализированных ранее проб с добавлением известного количества определяемых компонентов и оценки полученных результатов с учетом характеристик погрешности.

8. Стандартные растворы[1]

8.1. Стандартный раствор изотопно-меченого стандарта-имитатора – SIS, (код по каталогу CIL # EDF4053), с погрешностью содержания каждого компонента не хуже ± 10 % состава (таблица 2).

Таблица 2 - Состав стандарта-имитатора EDF-4053

Конгенер ПХДД/ПХДФ	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 ($^{13}C_{12}$ 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

8.2. Стандартный раствор изотопно-меченого инструментального внутреннего стандарта – RIS, (код по каталогу CIL # EDF4055), с погрешностью содержания каждого компонента не хуже ± 10 % состава:

1,2,3,4 – ТХДД ($^{13}C_{12}$ 99%)	0,5 мкг/см3
1,2,3,7,8,9 – ГхХДД ($^{13}C_{12}$ 99%)	0,5 мкг/см3

8.3. Стандартный раствор 17 токсичных конгенеров ПХДД/ПХДФ, производства Cambridge Isotope Laboratory (номер по каталогу CIL # EDF-7999-10x), с погрешностью содержания каждого компонента не хуже ± 10 % состава (таблица 3):

---

[1] **Примечание 1: В настоящее время синтетические аналоги ПХДД/ПХДФ, меченные изотопом углерода $^{13}C_{12}$, выпускаются компаниями Cambridge Isotope Laboratory (CIL), США, Wellington Laboratories (Канада). Для анализа могут быть использованы также аттестованные стандарты производства других производителей, метрологические характеристики которых не уступают вышеприведенным. (В методике приводится наиболее оптимальный, по мнению разработчиков, вариант).**

Таблица 3 -Состав стандартного раствора EDF-7999-10x

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

9. Требования безопасности

Всего существуют 75 различных ПХДД и 135 ПХДФ, отличающихся количеством и местом присоединения атомов хлора. Наиболее токсичны 17 изомеров ПХДД и ПХДФ, замещенные атомами хлора в 2,3,7,8-положениях. Самым токсичным является 2,3,7,8-тетрахлордибензо-п-диоксин (2,3,7,8-ТХДД), который представляет собой кристаллическое вещество с температурой плавления 305-307°С, растворимостью в воде $2x10^{-8}$ %, химически инертное, термостойкое, не разлагаемое кислотами и щелочами. 2,3,7,8-ТХДД высокотоксичен даже в малых концентрациях. Токсичность других ПХДД и ПХДФ выражается в эквивалентах токсичности (диоксиновых эквивалентах, ДЭ) - долях от токсичности 2,3,7,8-ТХДД, принятой за единицу (см. Приложение).

Требования безопасности устанавливают в соответствии со специальными инструкциями по работе с диоксином (например, "Инструкция по технике безопасности по работе с 2,3,7,8 -ТХДД", утверждена 3 ГУ при МЗ СССР от 02.12.1986 г.).

Помещения лаборатории должны соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004-91.

Помещения, в которых проводятся подготовка проб, должны быть оборудованы приточно-вытяжной вентиляцией. Исходные стандартные образцы для приготовления градуировочных растворов и аттестованных смесей должны храниться 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 "Временной инструкцией по лечению отравлений диоксином", утвержденной заместителем Министра здравоохранения СССР от 10 сентября 1986 г.

10. Требования к квалификации оператора

Подготовку проб может производить специалист с образованием не ниже среднего, прошедший соответствующую подготовку и имеющий навыки работы в химической лаборатории. Анализ может проводить специалист с образованием не ниже среднего,

имеющий навыки работы на газовом хроматографе и масс-спектрометре. Все работающие должны быть проинструктированы о работе с веществами 1-2 класса опасности, органическими растворителями, правилах работы в химической лаборатории и работы с электроустановками.

11. Отбор, хранение и транспортировка проб

Пробы почв отбирают в соответствии с ГОСТ 17.4.4.02-84 и ГОСТ 17.4.3.01-83.

Отобранные почвы и донных отложений в состоянии естественной влажности помещают в стеклянную банку, снабженную крышкой с тефлонированной прокладкой. Масса влажной пробы не менее 100 г. Пробы хранят при температуре -20^0 С не более 2 месяцев. Консервации пробы не требуется. На каждую пробу составляют протокол отбора проб с привязкой к местности.

Транспортировка проб к месту анализа производится любым транспортом. Пробы перевозят в защищенном от света контейнере в замороженном виде. Если время транспортировки не превышает 5 суток, допускается перевозка проб при температуре окружающей среды.

Пробы почвы, предназначенные для анализа, размещают на листе оберточной или пергаментной бумаги и удаляют из них корни, камни и другие инородные включения, доводят до воздушно-сухого состояния на воздухе или в сушильном шкафу при температуре не выше 40°С и тщательно перемешивают.

Пробы почвы, высушенные до воздушно-сухого состояния, помещенные в стеклянные банки или полиэтиленовые пакеты и защищенные от прямого солнечного света, могут храниться до 30 суток при температуре до 4°С или до 60 суток при температуре -18°С.

12. Подготовка к проведению анализа

12.1. Подготовка растворителей и сорбентов.

12.1.1. Подготовка растворителей. Органические растворители перегоняют в стеклянной посуде.

К 4 $дм^3$ гексана добавляют 150 г силикагеля, импрегнированного серной кислотой (способ приготовления см. п. 12.1.3.) и встряхивают в течение 6-8 часов. Растворитель декантируют и перегоняют с дефлегматором "елочкой" длиной 50 см, отбрасывая предгон (5%) и кубовый остаток (~5%).

Растворители с маркой "pesticide grade" (для анализа пестицидов) могут использоваться без дополнительной очистки.

12.1.2. Активирование силикагеля и оксида алюминия.

Силикагель активируют в сушильном шкафу при 130-140° С в течение 17 ч.

Оксид алюминия активируют при 400-450°С в течение 17 ч в стеклянных ампулах по 4 г в каждой, после чего ампулы запаивают, не допуская их охлаждения ниже 200°С.

12.1.3. Силикагель, импрегнированный серной кислотой. Смесь 150 г активированного силикагеля и 100 г концентрированной серной кислоты помещают в колбу с притертой пробкой и перемешивают на встряхивателе или качалке до отсутствия комков (не менее 30 мин.).

12.1.4. Силикагель, импрегированный щелочами.

12.1.4.1. Силикагель, импрегнированный гидроксидом цезия.

Готовят раствор гидроксида цезия в метаноле, для чего 150 г гидроокиси цезия растворяют в 50 $см^3$ метанола.

К 250 г активированного силикагеля приливают раствор гидроксида цезия в метаноле и перемешивают до отсутствия комков, добавляют еще 250 $см^3$ метанола и кипятят в течение 1,5 ч., фильтруют под вакуумом, промывают 500 $см^3$ метанола и 500 $см^3$ хлористого

метилена, сушат в эксикаторе в вакууме. Возможна замена гидроксида цезия на гидроксид калия.

12.1.4.2. Силикагель, импрегнированный гидроксидом калия.

Готовят раствор гидроксида калия в метаноле, для чего 150 г гидроксида калия растворяют в 500 $см^3$ метанола.

К 500 г силикагеля приливают 500 $см^3$ раствора гидроксида калия в метаноле и перемешивают до отсутствия комков. Смесь выдерживают ночь в закрытой посуде, отфильтровывают и сушат током воздуха (воздух для сушки пропускают через трубку, заполненную *гидроксидом натрия для удаления* CO_2). *Импрегнированный силикагель активируют* в сушильном шкафу при 130 -140°С в течение 17 часов.

12.1.5. Натрий сернокислый прокаливают при температуре 300- 400°С в течение 17 часов.

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 других растворителей и сорбентов, обеспечивающих проведение анализа с заданной погрешностью.

12.2. Приготовление градуировочных растворов, растворов изотопно-меченых стандартов-имитаторов, а также инструментального внутреннего стандарта.

Градуировочные растворы, представляющие собой смеси индивидуальных нативных и изотопно-меченых ПХДД/ПХДФ используют для проверки времен удерживания определяемых ПХДД/ПХДФ, линейности диапазона детектирования и расчета коэффициентов чувствительности анализируемых конгенеров.

В качестве базового раствора смеси нативных конгенеров ПХДД/ПХДФ используется смесь индивидуальных ПХДД/ПХДФ в нонане, EDF-7999-10x, производства компании Cambridge Isotope Laboratories, Inc., США.

В качестве базового раствора стандарта-имитатора используют стандартный раствор по п.8.1 (смесь изотопно-меченных углеродом $^{13}C_{12}$ конгенеров ПХДД/ПХДФ в нонане, EDF-4053, производства компании Cambridge Isotope Laboratories, Inc., США).

12.2.1. Приготовление градуировочных растворов.

а) Раствор CS1.

Используя регулируемые автоматические дозаторы Eppendorf на объемы 100-1000 $мм^3$ и 10-100$мм^3$ последовательно вносят в виалу емкостью 4 $см^3$ 3830 $мм^3$ н-декана, 10 $мм^3$ базового раствора EDF-7999-10x и 160 $мм^3$ раствора EDF-4053.

б) Раствор CS2.

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

в) Раствор CS3.

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

г) Раствор CS4.

Используя регулируемые автоматические дозаторы Eppendorf на объемы 100-1000 $мм^3$ и 10-100$мм^3$ последовательно вносят в виалу емкостью 2 $см^3$ 860 $мм^3$ н-декана, 100 $мм^3$ базового раствора EDF-7999-10x и 40 $мм^3$ раствора EDF-4053.

д) Раствор CS5.

Используя регулируемые автоматические дозаторы Eppendorf на объемы 100-1000 $мм^3$ и 10-100$мм^3$ последовательно вносят в виалу емкостью 2 $см^3$ 760 $мм^3$ н-декана, 200 $мм^3$ базового раствора EDF-7999-10x и 40 $мм^3$ раствора EDF-4053.

Концентрации градуировочных растворов (нг/$см^3$) приведены в таблице 4.

Приготовленные градуировочные растворы могут храниться в герметически закрытых виалах при температуре не выше -10^0С без доступа солнечного света не долее 6 месяцев, в стеклянных запаянных ампулах не более 2 лет.

Таблица 4. -Концентрации градуировочных растворов (нг/см^3)

Конгенер ПХДД/ПХДФ	CS1	CS2	CS3	CS4	CS5
2,3,7,8-ТХДД	1	10	20	40	80
1,2,3,7,8-ПеХДД	5	50	100	200	400
1,2,3,4,7,8-ГкХДД	5	50	100	200	400
1,2,3,6,7,8-ГкХДД	5	50	100	200	400
1,2,3,7,8,9-ГкХДД	5	50	100	200	400
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДД	5	50	100	200	400
ОХДД	10	100	200	400	800
2,3,7,8-ТХДФ	5	50	100	200	400
1,2,3,7,8-ПеХДФ	5	50	100	200	400
2,3,4,7,8-ПеХДФ	5	50	100	200	400
1,2,3,4,7,8-ГкХДФ	5	50	100	200	400
1,2,3,6,7,8-ГкХДФ	5	50	100	200	400
2,3,4,6,7,8-ГкХДФ	5	50	100	200	400
1,2,3,6,7,8-ГкХДФ	5	50	100	200	400
2,3,4,6,7,8-ГкХДФ	5	50	100	200	400
1,2,3,7,8,9-ГкХДФ	5	50	100	200	400
1,2,3,4,6,7,8-ГпХДФ	5	50	100	200	400
ОХДФ	10	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

12.2.2. Приготовление рабочего раствора изотопно-меченого стандарта-имитатора.

Для приготовления рабочего раствора изотопно-меченого стандарта-имитатора SIS-1 в мерную колбу емкостью 50 см^3 вносят автоматическим регулируемым дозатором Eppendorf 1000 мм^3 стандартного раствора по п. 8.1 (EDF4053) и доводят объем раствора до метки н-деканом. Обозначают полученный рабочий раствор как SIS-1. Концентрации конгенеров имитаторов в рабочем растворе (нг/см^3) приведены в таблице 5.

Таблица 5. -Концентрации конгенеров имитаторов в рабочем растворе (нг/см^3)

Конгенер ПХДД/ПХДФ	SIS	SIS-1
2,3,7,8– ТХДД ($^{13}C_{12}$ 99%)	1000	20
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 1см^3. Ампулы запаивают и хранят до использования без доступа солнечного света не более 2 лет.

12.2.3. Приготовление рабочего раствора инструментального внутреннего стандарта.

Для приготовления рабочего раствора изотопно-меченого инструментального внутреннего стандарта в мерную колбу емкостью 10 см^3 вносят автоматическим регулируемым дозатором Eppendorf 1000 мм^3 стандартного раствора по п.8.2 (EDF4055) и доводят объем раствора до метки н-тридеканом. Обозначают полученный рабочий раствор внутреннего стандарта как RIS-1. Концентрации конгенеров в рабочем растворе внутреннего стандарта RIS-1 (нг/см^3) приведены в таблице 6.

Таблица 6.- Концентрации конгенеров в рабочем растворе RIS-1 (нг/см^3)

Конгенер ПХДД/ПХДФ	RIS	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 1см^3. Ампулы запаивают и хранят до использования без доступа солнечного света не более 2 лет.

13. Подготовка проб к анализу

13.1. Экстракция.

13.1.1. Высушенные почвы тщательно измельчают и просеивают через сито с размерами ячеек 0,25 мм.

13.1.2. 10-50 г измельченной пробы смешивают с 20-100 г безводного сульфата натрия, смесь тщательно растирают в фарфоровой ступке. В пробу с помощью дозатора или пипетки вводят 0,05 см^3 рабочего раствора изотопно-меченых стандартов-имитаторов SIS-1 (по п.12.2.2.), и оставляют для уравновешивания в течение времени не менее 2 ч. (до полного испарения растворителя). Смесь количественно переносят в стеклянную экстракционную колонку длиной 500 мм и внутренним диаметром 25 мм, в нижнюю часть которой помещают фильтр из стекловолокна. Через колонку пропускают 400 см^3 смеси гексана и метиленхлорида (50:50 по объему).

13.2. Очистка экстрактов.

13.2.1. Очистка экстракта на "многослойной" колонке с модифицированным силикагелем.

13.2.1.1. Подготовка колонки. В стеклянную колонку длиной 500 мм и внутренним диаметром 25 мм помещают подложку из стеклянной ваты, на которую помещают (снизу вверх), 10 см^3 нейтрального силикагеля, 10 см^3 силикагеля, импрегнированного гидроксидом цезия (калия), 10 см^3 сульфата натрия, 10 см^3 силикагеля, импрегнированного серной кислотой, 10 см^3 сульфата натрия, 10 см^3 силикагеля, импрегнированного серной кислотой, 10 см^3 сульфата натрия, 10 см^3 силикагеля, импрегнированного 10 см^3 сульфата натрия, 10 см^3 силикагеля, импрегнированного гидроксидом цезия (калия) и 10 см^3 нейтрального силикагеля.

13.2.1.2. Очистка экстракта. Экстракт пропускают через колонку, затем колонку промывают 200 см^3 смеси гексана и метиленхлорида (50:50 по объему), полученный экстракт очищают далее на угольной колонке.

13.2.2. Выделение ПХДД/ПХДФ из экстракта на колонке с активированным углем.

13.2.2.1. Подготовка угольной колонки. На стеклянной трубке длиной 150 мм, внешним диаметром 7 мм и внутренним диаметром 3,5 мм делают перетяжку на расстоянии 30 мм от края. С противоположной от перетяжки стороны вводят тампон из кварцевой ваты длиной 10 мм. В колонку помещают 200 мг смеси активированного угля Anderson AX-21

или ФАС-МД с целитом (1:10) и уплотняют колонку постукиванием. Вводят аналогичный тампон из кварцевой ваты, окончательно уплотняя сорбент. Вторую перетяжку делают на расстоянии 10 мм от второго тампона. Концы трубки оплавляют. К изготовленной угольной колонке присоединяют резервуар Мишель-Миллер посредством полиэтиленовой трубки, уплотненной силиконовым шлангом.

13.2.2.2. Выделение ПХДД/ПХДФ. Экстракт переносят в резервуар, создают в резервуаре давление не более 2 атм., устанавливая скорость пропускания раствора через колонку 2 см3 /мин. После пропускания всего раствора давление в резервуаре сбрасывают, помещают в резервуар 20 $см^3$ смеси ацетона и гексана (50:50 объем.) и промывают ею колонку, пропуская ее с такой же скоростью. Элюат отбрасывают, колонку отсоединяют от резервуара и присоединяют к нему другим концом. Включают в сеть 220 В резистор ПЭВ-15 и через 10 мин после его нагрева колонку помещают внутрь резистора. В резервуар помещают 5 см3 толуола и устанавливают давление, достаточное для пропускания толуола со скоростью 2 $см^3$ /мин. Элюат собирают для дальнейшей очистки.

13.2.3. Очистка экстракта на "многослойной" колонке с модифицированным силикагелем.

13.2.3.1. Подготовка колонки. В стеклянную колонку длиной 150 мм и внутренним диаметром 14 мм помещают подложку из стеклянной ваты, на которую помещают 1 $см^3$ нейтрального силикагеля, 1 $см^3$ силикагеля, импрегнированного гидроксидом цезия (калия), 1 $см^3$ сульфата натрия, 1 $см^3$ силикагеля, импрегнированного серной кислотой, 1 $см^3$ сульфата натрия, 1 $см^3$ силикагеля, импрегнированного серной кислотой, 1 $см^3$ сульфата натрия и 1 $см^3$ нейтрального силикагеля.

13.2.3.2. Очистка экстракта. Толуольный экстракт разбавляют 45 $см^3$ гексана, перемешивают и вносят в колонку с модифицированным силикагелем. Смывают остатки с колбы двумя порциями по 5 $см^3$ гексана и также переносят в колонку. После прохождения раствора колонку промывают 50 $см^3$ гексана, выдувая остаток растворителя током воздуха. Экстракты объединяют и далее очищают на колонке с оксидом алюминия.

13.2.4. Очистка на колонке с оксидом алюминия.

13.2.4.1. Подготовка колонки с оксидом алюминия. В стеклянную колонку длиной 150 мм и внутренним диаметром 10 мм помещают подложку из волокнистого кварцевого материала и 4 г оксида алюминия, а сверху - 2 $см^3$ сернокислого натрия.

13.2.4.2. Очистка экстракта. Экстракт пропускают через колонку с оксидом алюминия. Колонку промывают последовательно 30 $см^3$ гексана, 40 $см^3$ смеси гексана и метиленхлорида (95:5 объем.) и элюируют 50 $см^3$ смеси гексана и метиленхлорида (50:50 объем.). Элюат упаривают до объема около 2 $см^3$ в колбе с дефлегматором. Последовательно, по частям (~0,5 $см^3$) элюат переносят во флакон Mini-Vial с коническим дном вместимостью 1 $см^3$, добавляют 0,01 $см^3$ рабочего раствора инструментального внутреннего стандарта RIS-1 (по п.12.2.3) и упаривают в токе азота до полного испарения растворителя (кроме тридекана).

Подготовленные для анализа пробы могут храниться до 40 суток при температуре не выше 4°С.

14. Проведение анализа

14.1. Подготовка аппаратуры.

Хромато-масс-спектрометрическую систему готовят к работе в соответствии с инструкцией по эксплуатации для проведения анализа в режиме селективного детектирования характеристических ионов аналитов и изотопно-меченых стандартов.

Устанавливают программу анализа для хроматографического разделения конгенеров ПХДД/ПХДФ с использованием неполярной колонки типа DB-5MS.

Примерный вид программы приведен ниже:

а) хроматографическая программа

Режим инжектора	без деления потока (splitless)
Задержка продувки инжектора	1 мин
Время сброса растворителя	5 мин
Тип колонки	DB-5MS
Длина колонки	30 м
Диаметр колонки	0,25 мм
Толщина плёнки неподвижной фазы	0,25 μ
Программирование температуры:	
Начальная температура колонки	160°С
Начальное время задержки	1 мин
Скорость нагрева колонки	10 ^{0}С/мин до 220 ^{0}С, 3 ^{0}С/мин до 300 ^{0}С
Температура инжектора	290^0 С
Скорость потока гелия через колонку	1 см3 /мин
б) режим масс-спектрометра	
Температура интерфейса	290^{0}С
Температура ионного источника	250^{0}С
Селективное сканирование	массы ионов в табл. 7.
Энергия ионизирующих электронов	50-70 эВ
Инжектируемый объём	1 мм3

Устанавливают программу работы масс-спектрометра для селективного детектирования характеристических ионов аналитов с массами, указанными в таблице 7.

Таблица 7.-Массы регистрируемых ионов и соотношение площадей их пиков на масс-хроматограммах

Соединение	M1	M2	Соотношение площадей пиков
ТХДД	319,897	321,894	0,77
ТХДФ	303,902	305,899	0,77
ПеХДД	355,855	357,852	1,32
ПеХДФ	339,860	341,857	1,32
ГкХДД	389,816	391,813	1,24
ГкХДФ	373,821	375,818	1,24
ГпХДД	423,777	425,774	1,05
ГпХДФ	407,782	409,779	1,05
ОХДД	557,738	559,735	0,89
ОХДФ	441,743	443,740	0,89
$^{13}C_{12}$ -ТХДД	331,937	333,934	0,77
$^{13}C_{12}$ -ТХДФ	315,942	317,939	0,77
$^{13}C_{12}$ -ПеХДД	367,895	369,892	1,32
$^{13}C_{12}$ -ПеХДФ	351,900	353,897	1,32
$^{13}C_{12}$ -ГкХДД	401,856	403,853	1,24
$^{13}C_{12}$ -ГкХДФ	383,864	385,861	1,24
$^{13}C_{12}$ -ГпХДД	435,817	437,814	1,05
$^{13}C_{12}$ -ГпХДФ	417,825	419,822	1,05
$^{13}C_{12}$ -ОХДД	469,778	471,775	0,89

ПРИМЕЧАНИЯ

1. При использовании масс-спектрометра низкого разрешения регистрируются ионы с соответствующими номинальными массами, напр. вместо 319,897 - 320 и т.д.

2. Для обеспечения большей достоверности результатов регистрировать три иона молекулярного кластера каждого аналита, - $(M)^+$, $(M+2)^+$, $(M+4)^+$, например , ионы м/z 320,322,324 а.е.м. для ТХДД.

3. При использовании других изотопно-меченых стандартов в таблицу масс регистрируемых ионов включают массы их молекулярных ионов.

14.2. Проверяют функционирование ГХ-МС системы, вводя в инжектор хроматографа растворитель, Определяют общую чувствительность прибора, фон, наличие эффектов "памяти" и артефактов. Для проверки чувствительности анализируют градуировочный раствор CS1 (п.12.2.1.) так, как описано п. 14.4. Оценивают чувствительность прибора по соотношению величины сигнала к шуму пика 2,3,7,8-ТХДД, которое должно быть не ниже 5:1.

14.3. Определяют времена удерживания 2,3,7,8-замещенных ПХДД/ПХДФ и внутренних стандартов, анализируя несколько раз градуировочный раствор CS4 (п.12.2.1.), и измеряя в каждом опыте времена удерживания конгенеров ПХДД/ПХДФ. По результатам измерений рассчитывают средние значения времен удерживания и доверительные интервалы. Времена удерживания зависят от типа колонки и условий работы.

Относительные времена удерживания некоторых 2,3,7,8-замещенных ПХДД/ПХДФ *на двух разных неподвижных фазах (полярной и неполярной) приведены в таблице.8*

Таблица 8.- Относительные времена удерживания некоторых 2,3,7,8-замещенных ПХДД/ПХДФ

№ п/п	Соединение	Неподвижная фаза	
		Неполярная DB-5MS	Полярная SP-2331
1	1,2,3,4-ТХДД	0,99	1,02
2	2,3,7,8-ТХДД	1,00	1,00
3	1,2,3,7,8-ПеХДД	1,23	1,40
4	1,2,3,4,7,8-ГкХДД	1,46	2,08
5	1,2,3,6,7,8-ГкХДД	1,47	1,94
6	1,2,3,7,8,9-ГкХДД	1,50	2,15
7	1,2,3,4,6,7,8-ГпХДД	1,76	2,98
8	ОХДД	2,17	4,50
9	2,3,7,8-ТХДФ	0,96	0,96
10	1,2,3,7,8-ПеХДФ	1,18	1,31
11	2,3,4,7,8-ПеХДФ	1,22	1,35
12	1,2,3,4,7,8-ГкХДФ	1,39	2,01
13	1,2,3,6,7,8-ГкХДФ	1,39	2,03
14	2,3,4,6,7,8-ГкХДФ	1,43	2,07
15	1,2,3,7,8,9-ГкХДФ	1,48	2,09
16	1,2,3,4,6,7,8-ГпХДФ	1,61	2,83
17	1,2,3,4,7,8,9-ГпХДФ	1,74	2,96
18	ОХДФ	2,12	4,45

14.4. Получение градуировочной зависимости для определяемых компонентов.

Для получения градуировочной зависимости последовательно анализируют градуировочные растворы CS1-CS5 содержащие изопно-меченые стандарты и нативные вещест-

ва в широком интервале концентраций, (таблица 4) инжектируя по 1 мм^3 каждого раствора. Регистрируют масс-хроматограммы для ионов с массами, указанными в таблице 7.

С помощью системы обработки данных для каждого градуировочного раствора определяют относительный коэффициент чувствительности RRF_n каждого индивидуального конгенера ПХДД/ПХДФ относительно соответствующего изотопно-меченого конгенера стандарта-имитатора, который рассчитывают по формуле:

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

где: S_{ns} – площадь пика конгенера ПХДД/ПХДФ, полученная для соответствующего градуировочного раствора;

S_{is} – площадь пика соответствующего изотопно-меченого конгенера в градуировочном растворе;

m_{ns} – масса конгенера ПХДД/ПХДФ в градуировочном растворе, нг;

m_{is} – масса соответствующего изотопно-меченого конгенера в градуировочном растворе, нг.

При наличии линейности детектирования различие величины относительного коэффициент чувствительности RRF не должно превышать ± 20% для всех градуировочных растворов.

Проводят три измерения в условиях повторяемости для каждого раствора и рассчитывают относительные коэффициенты чувствительности для каждого индивидуального конгенера ПХДД/ПХДФ для трех измерений.

Примечание. Зависимость считается линейной, если коэффициент вариации значения функции RRF в каждой точке не превышает 20%.

14.5. Получение масс-хроматограмм анализируемой пробы.

Отбирают микрошприцем 0,001 см^3 анализируемого раствора и вводят в инжектор газового хроматографа в режиме splitless или on-column. Регистрируют ионные масс-хроматограммы для ионов, соответствующих определяемым ПХДД/ПХДФ и используемым стандартам-имитаторам (SIS) и внутренним стандартам (RIS) (таблица 7).

14.5.1. Условия проведения анализа.

В связи с тем, что в настоящее время не существует капиллярных колонок, способных разделить все изомеры, в ряде случаев анализ проводят в два этапа. Сначала, применяют неполярную колонку типа DB-5MS. Если обнаруживают: 1,2,3,7,8,9-ГкХДД; 2,3,7,8-ТХДФ; 2,3,4,7,8-ПеХДФ; 1,2,3,4,7,8-ГкХДФ, то ту же пробу анализируют на полярной колонке, например, SP2331, для определения именно этих изомеров.

15. Вычисление результатов измерений

По окончании анализа с помощью системы обработки данных фиксируют на масс-хроматограммах пики в области времен удерживания, соответствующих выходу 2,3,7,8-замещенных ПХДД/ПХДФ, стандарта-имитатора и инструментального внутреннего стандарта.

15.1. Идентификация определяемых компонентов

Наличие в пробе или контрольном образце индивидуального конгенера ПХДД/ПХДФ 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 3, при этом времена удерживания, определяемые по разным характеристическим пикам данного конгенера совпадают,

б) хроматографическое время удерживания конгенера, определяемое по положению максимума пика характеристичекого иона не отличается более чем ±1с. 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 7.

Если хроматографические пики в области времен удерживания конгенеров ПХДД/ПХДФ имеются, но отношение площадей характеристичесих пиков отличается более, чем на 15% от значений, приведенных в таблице 7, то говорить о положительной идентификации ПХДД или ПХДФ в данной пробе нельзя, и требуется дополнительный анализ с использованием хроматографической колонки с полярной неподвижной фазой или же повторный анализ после дополнительной очистки на колонке с активированным углем и на колонке с окисью алюминия.

15.2. Вычисление концентраций определяемых компонентов

Массовую концентрацию конгенеров ПХДД/ПХДФ в экстракте анализируемой пробы C_i, нг/кг рассчитывают на основании площадей хроматографических пиков, соответствующих каждому определяемому конгенеру по следующей формуле:

$$C_i = (S_{ni})m_i/(S_i)\,(RRF)_i\,M, \qquad (2)$$

где: S_{ni} – площадь пика *i*-го конгенера ПХДД/ПХДФ на реконструированной хроматограмме;

S_i – площадь пика соответствующего изотопно-меченого стандарта-имитатора ПХДД/ПХДФ;

M – масса образца, взятого для анализа, кг.

m_i – количество введенного *i*-го изотопно-меченого стандарта-имитатора, нг;

$(RRF)_i$ – относительный коэффициент чувствительности *i*-го конгенера ПХДД/ПХДФ, рассчитанный по формуле (1);

Коэффициент извлечения *s*-го конгенера изотопно-меченого стандарта-имитатора E_s определяется по формуле:

$$E_s = (S_s)\,m_r\,/(S_r)m_s(RRF_{sr}), \qquad (3)$$

где: S_s – площадь пика *s*-го конгенера изотопно-меченого стандарта-имитатора на реконструированной хроматограмме анализируемого образца;

S_r – площадь пика *r*-го конгенера изотопно-меченого инструментального внутреннего стандарта на реконструированной хроматограмме анализируемого образца;

m_s – количество введённого в анализируемый образец изотопно-меченого стандарта-имитатора, нг;

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

$(RRF)_{sr}$ – относительный коэффициент чувствительности s-го конгенера изотопно-меченого стандарта-имитатора определяется из градуировочного раствора по формуле:

$$RRF_{sr} = (S_{ss})\,m_{rs}\,/(S_{rs})\,m_{ss} \qquad (4)$$

где: S_{ss} – площадь пика s-го конгенера изотопно-меченого стандарта-имитатора на реконструированной хроматограмме градуировочного раствора.

S_{rs} - площадь пика *r*-го конгенера изотопно-меченого инструментального внутреннего стандарта на реконструированной хроматограмме градуировочного раствора.

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

m_{ss} - массовая доля изотопно-меченого стандарта-имитатора 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 7, либо для двух ионов с усреднением результатов, либо по сумме площадей соответствующих пиков на обеих масс-хроматограммах.

16. Оформление результатов измерений

Результат анализа, выраженный в диоксиновых эквивалентах (ДЭ), получают путем умножения значений концентраций определяемых компонентов на соответствующие коэффициенты токсичности, приведенные в Приложении 1.

Результат измерения X суммарного содержания полихлорированных дибензо-п-диоксинов и дибензофуранов, выраженного через диоксиновые эквиваленты токсичности представляют в виде:

$$X \pm \Delta, \text{ нг/кг},$$

где: X- массовая концентрация суммы определяемых компонентов в пробе,

Δ - граница интервала, в котором абсолютная погрешность измерений находится с доверительной вероятностью P=0,95.

Характеристику погрешности Δ вычисляют как:

$$\Delta = 0{,}01\delta X$$

где δ - значения показателя точности методики,

Результаты анализа вносят в Протокол испытаний, оформленный в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025-2006, по форме таблицы Приложения 1.

Допустимо представлять результат в виде:

$X \pm \Delta л$, P=0,95, при условии $\Delta л < \Delta$,

где Δл - значение характеристики погрешности результатов измерений, установленное при реализации методики в конкретной лаборатории и обеспечиваемое контролем стабильности результатов измерений.

Примечание. Допустимо характеристику погрешности результатов измерений при внедрении методики в лаборатории устанавливать на основе выражения: $\Delta_л = 0{,}84\ \Delta$, с последующим уточнением по мере накопления информации в процессе контроля стабильности результатов измерений.

Результат измерений оканчивается тем же десятичным разрядом, что и погрешность. Результаты измерений оформляют записью в журнале. Результаты измерений удостоверяются лицом, проводившим измерение, а при необходимости – руководителем организации.

17. Оценка приемлемости результатов, получаемых в условиях воспроизводимости

Расхождение между результатами измерений, полученными в двух лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости. При выполнении этого условия приемлемы оба результата измерений и в качестве окончательного может быть использовано их общее среднее значение. Значения предела воспроизводимости приведены в таблице 9.

При превышении предела воспроизводимости могут быть использованы методы оценки приемлемости результатов измерений согласно разделу 5 ГОСТ Р ИСО 5725-6.

Таблица 9- Диапазон измерений, значения предела воспроизводимости при доверительной вероятности P=0,95

Диапазон измерений, нг/кг	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), R, %
от 1 до1000 вкл.	83

18. Контроль качества результатов анализа

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/ПХДФ и процедурный холостой образец.
- Оперативный контроль точности и правильности измерений обеспечивается анализом изотопно-меченых стандартов – имитаторов, аналогов определяемых веществ, вводимых в каждый образец на стадии пробоподготовки.

Допускаемые критерии качества анализа:

Содержание индивидуальных конгенеров ПХДД/ПХДФ в процедурном холостом образце меньше 1 пг.

- Определяемое содержание конгенеров ПХДД/ПХДФ в референтном сертифицированном материале должно соответствовать сертификату материала 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 E_s, рассчитанные по формуле (3), находятся в диапазоне 50-110%.
- Чувствительность прибора определяют один раз в день (или после настройки прибора) путём анализа стандартного градуировочного раствора ПХДД/ПХДФ. Приемлемый критерий качества – соотношение сигнал-шум больше 5:1 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 1,2,3,6,7,8-ГХДФ соответствует условию:

$$2h/(H_1+H_2)<0,7 \qquad (5)$$

где H_1 и H_2 – высоты пиков конгенеров, h - высота долины между ними.

- Относительные хроматографические времена удерживания ПХДД/ПХДФ (по отношению к внутреннему стандарту) не должны отличаться от измеренных для стандартных образцов ПХДД/ПХДФ более, чем на 0,01%, а в случае использования соответствующего изотопномеченого внутреннего стандарта - не более чем на 1 с или на 1-2 скана от времени удерживания внутреннего стандарта;
- Отношение площадей хроматографических пиков на парных масс-хроматограммах ионов М1 и М2, регистрируемых для каждого определяемого компонента и внутреннего стандарта должно быть в пределах ±15% от теоретического, приведенного в табл.3;
- Масс-спектральное разрешение – определенное при настройке прибора составляет для низкого разрешения не хуже 0,8 а.е.м, во всем диапазоне масс проводимых измерений и для прибора высокого разрешения $R \geq 10000$.
- Линейность градуировки прибора определяют по анализу 5-ти градуировочных растворов ПХДД/ПХДФ. Критерий качества - допустимое стандартное отклонение рассчитанного относительного коэффициента чувствительности $(RRF)_i$ должно быть меньше 20%.
- Стабильность работы прибора подтверждается до и после анализа серии образцов путем анализа градуировочного раствора ПХДД/ПХДФ CS2. Критерий качества - различия значений величины относительного коэффициента чувствительности $(RRF)_i$, рассчитанные до и после анализа серии образцов, не должны превышать ±15%.
- Проверку чистоты прибора на содержание анализируемых компонентов проводят после каждого анализа градуировочного стандартного раствора путем инжекции декана. Приемлемый критерий - величина вносимой ошибки за счет фона инструмента не должна превышать 1% от среднего значения определяемых концентраций.

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

19. Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории предусматривает:

- контроль исполнителем процедуры выполнения измерений (на основе оценки погрешности при реализации отдельно взятой контрольной процедуры);

- контроль стабильности результатов измерений (на основе контроля стабильности среднеквадратического отклонения внутрилабораторной прецизионности, погрешности).

Алгоритм контроля процедуры выполнения измерений с использованием метода добавок.

Контроль исполнителем процедуры выполнения измерений проводят путем сравнения результата отдельно взятой контрольной процедуры $K_к$ с нормативом контроля $K_д$.

Результат контрольной процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = | X' - X - C |,$$

где X' – результат контрольного измерения массовой доли определяемых компонентов в пробе с известной добавкой определяемых компонентов;

X – результат контрольного измерения массовой доли определяемых компонентов в рабочей пробе;

C – величина добавки.

Норматив контроля $K_д$ рассчитывают по формуле

$$K_д = \sqrt{(\Delta_{лX'})^2 + (\Delta_{лX})^2},$$

где $\Delta_{лX'}$, $\Delta_{лX}$ - значения характеристики погрешности результатов измерений, установленные в лаборатории при реализации методики, соответствующие массовой доле определяемых компонентов в пробе с добавкой и в рабочей пробе, соответственно.

$\Delta_{лX} = 0{,}01\ \delta_{лX} X$ (X- массовая доля определяемых компонентов в пробе);

$\Delta_{лX'} = 0{,}01\ \delta_{лX} X'$ (X '- массовая доля определяемых компонентов в пробе с добавкой).

Значения $\delta_{лX}$ ($\delta_{лX'}$) установлены в лаборатории.

Качество контрольной процедуры признают удовлетворительным, при выполнении условия:

$$K_к \le K_д \qquad (1)$$

При невыполнении условия (1) эксперимент повторяют. При повторном невыполнении условия (1) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам.

Периодичность контроля исполнителем процедуры выполнения измерений, а также реализуемые процедуры контроля стабильности результатов выполняемых измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории. Контроль качества результатов измерений обязательно проводить при смене партий реактивов и материалов, при замене или ремонте средств измерений.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

Государственный научный метрологический центр

ФГУП «Уральский научно-исследовательский институт метрологии»

СВИДЕТЕЛЬСТВО

об аттестации методики выполнения измерений

№ 224.03.12.220/2008

Методика выполнения измерений суммарного содержания полихлорированных
наименование измеряемой величины;
дибензо-*п*-диоксинов и дибензофуранов в пересчете на 2,3,7,8-тетрахлородибензо-*п*-диоксин в пробах почв, грунтов, донных отложений методом хромато-масс-спектрометрии
объекта и метода измерений

разработанная Институт проблем эволюции и экологии им. А.Н. Северцова РАН;
ФГУП «Российский научно-исследовательский центр чрезвычайных ситуаций» ФМБА России;
ГУ «Научно-производственное объединение «Тайфун», Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды
наименование организации (предприятия), разработавшей МВИ

аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563

Аттестация осуществлена по результатам метрологической экспертизы материалов по разработке МВИ
вид работ: метрологическая экспертиза материалов по разработке МВИ, теоретическое или экспериментальное исследование МВИ, другие виды работ

В результате аттестации установлено, что МВИ соответствует предъявляемым к ней метрологическим требованиям и обладает следующими основными метрологическими характеристиками, приведенными в приложении.
диапазон измерений, характеристики погрешности измерений (неопределенность измерений) и (или) характеристики составляющих погрешности (при необходимости – нормативы контроля)

Приложение: метрологические характеристики МВИ на 1 листе

Зам. директора по научной работе С.В. Медведевских

Зав. лабораторией В.И. Панева

Дата выдачи: 23.12.2008 г.

Срок действия: 23.12.2013 г.

МП

Россия, 620000, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская,4
тел.: (343) 350-26-18, факс: (343) 350-20-39. E-mail: unilm@unilm.ru

METRON

Приложение к свидетельству № 224.03.12.220 / 2008
об аттестации методики выполнения измерений суммарного содержания полихлорированных дибензо-*п*-диоксинов и дибензофуранов в пересчете на 2,3,7,8-тетрахлородибензо-*п*-диоксин в пробах почв, грунтов, донных отложений методом хромато-масс-спектрометрии

1 Диапазон измерений, значения показателей точности, воспроизводимости и правильности.

Диапазон измерений, нг/кг	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Показатель правильности (границы относительной систематической погрешности методики при доверительной вероятности P=0,95), $\pm\delta_c$, %	Показатель точности (границы относительной погрешности методики при доверительной вероятности P=0,95), $\pm\delta$, %
от 1 до 1000 вкл.	30	48	75

2 Диапазон измерений, значения предела воспроизводимости при вероятности P=0,95.

Диапазон измерений, нг/кг	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), R, %
от 1 до 1000 вкл.	83

3 При реализации методики в лаборатории обеспечивают:
- оперативный контроль процедуры выполнения измерений (на основе оценки погрешности при реализации отдельно взятой контрольной процедуры);
- контроль стабильности результатов измерений (на основе контроля стабильности среднеквадратического отклонения внутрилабораторной прецизионности, погрешности).

Алгоритм контроля исполнителем процедуры выполнения измерений приведен в документе на методику выполнения измерений.
Процедуры контроля стабильности результатов измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

Зам. зав. лаб. 224
ФГУП «УНИИМ» Ю.С. Бессонов

---

* соответствует расширенной неопределенности $U_{отн}$ (в относительных единицах) при коэффициенте охвата k=2.

gost.e-ecolog.ru