



جمهوری اسلامی ایران  
Islamic Republic of Iran  
سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization



استاندارد ملی ایران

۲۱۴۵۱

چاپ اول

۱۳۹۵

INSO

21451

1st. Edition

2017

لجن، پسماند زیستی تصفیه شده و خاک -  
تعیین بی فنیل‌های چند کلره (PCB) با  
کروماتوگرافی گازی با آشکارسازی انتخابی  
جرمی (GC-MS) و کروماتوگرافی گازی با  
آشکارسازی ربایش الکترون (GC-ECD)

**Sludge, treated biowaste and soil -  
Determination of polychlorinated biphenyls  
(PCB) by gas chromatography with  
mass selective detection (GC-MS) and gas  
chromatography with electron-capture  
detection (GC-ECD)**

ICS:13.030.01;13.080.10

سازمان ملی استاندارد ایران

تهران، ضلع جنوب غربی میدان ونک، خیابان ولیعصر، پلاک ۲۵۹۲

صندوق پستی: ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵ تهران- ایران

تلفن: ۵-۸۸۸۷۹۴۶۱

دورنگار: ۸۸۸۸۷۰۸۰ و ۸۸۸۸۷۱۰۳

کرج، شهر صنعتی، میدان استاندارد

صندوق پستی: ۱۶۳-۳۱۵۸۵ کرج- ایران

تلفن: ۸-۳۲۸۰۶۰۳۱ (۰۲۶)

دورنگار: ۳۲۸۰۸۱۱۴ (۰۲۶)

رایانامه: [standard@isiri.org.ir](mailto:standard@isiri.org.ir)

وبگاه: <http://www.isiri.gov.ir>

**Iranian National Standardization Organization (INSO)**

No.1294 Valiasr Ave., South western corner of Vanak Sq., Tehran, Iran

P. O. Box: 14155-6139, Tehran, Iran

Tel: + 98 (21) 88879461-5

Fax: + 98 (21) 88887080, 88887103

Standard Square, Karaj, Iran

P.O. Box: 31585-163, Karaj, Iran

Tel: + 98 (26) 32806031-8

Fax: + 98 (26) 32808114

Email: [standard@isiri.org.ir](mailto:standard@isiri.org.ir)

Website: <http://www.isiri.gov.ir>

## به نام خدا

## آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

سازمان ملی استاندارد ایران به موجب بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

تدوین استاندارد در حوزه‌های مختلف در کمیسیون‌های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب‌نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و واردکنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان‌های دولتی و غیردولتی حاصل می‌شود. پیش‌نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی‌نفع و اعضای کمیسیون‌های مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادهای در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذی‌صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند در کمیته ملی طرح، بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مقررات استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که در سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می‌شود به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین‌المللی استاندارد (ISO)<sup>۱</sup>، کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)<sup>۲</sup> و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی (OIML)<sup>۳</sup> است و به عنوان تنها رابط<sup>۴</sup> کمیسیون کدکس غذایی (CAC)<sup>۵</sup> در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست‌محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری کند. سازمان می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استانداردهای کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری کند. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده‌کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدورگواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه‌ها و مراکز واسنجی (کالیبراسیون) وسایل سنجش، سازمان ملی استاندارد این‌گونه سازمان‌ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آن‌ها اعطا و بر عملکرد آن‌ها نظارت می‌کند. ترویج دستگاه بین‌المللی یکاها، واسنجی وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

1- International Organization for Standardization

2- International Electrotechnical Commission

3- International Organization for Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legals)

4- Contact point

5- Codex Alimentarius Commission

## کمیسیون فنی تدوین استاندارد

«لجن، پسماند زیستی تصفیه شده و خاک - تعیین بی فنیل های چند کلره (PCB) با کروماتوگرافی گازی با آشکارسازی انتخابی جرمی (GC-MS) و کروماتوگرافی گازی با آشکارسازی ربایش الکترون (GC-ECD)»

### سمت و/یا محل اشتغال:

### رئیس:

واحد کشت و صنعت تکدانه

اسدی قشلاق، یعقوب  
(دکتری شیمی)

### دبیر:

شرکت پیشگامان کیفیت هستی آذر

رحیم اوقلی، شاهین  
(کارشناسی ارشد محیط زیست - ارزیابی و آمایش سرزمین)

### اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

اداره کل استاندارد آذربایجان شرقی

اخپاری، شهاب  
(دکتری شیمی)

شرکت آب و فاضلاب روستایی استان آذربایجان شرقی

بنی تراب، فرانک  
(کارشناسی ارشد شیمی)

سازمان حفاظت محیط زیست

جعفری، اکرام  
(کارشناسی ارشد شیمی)

اداره کل حفاظت محیط زیست آذربایجان شرقی

جوادی، افسانه  
(کارشناسی ارشد شیمی)

شرکت آب و فاضلاب شهری استان آذربایجان شرقی

فخری، محمدرضا  
(کارشناسی ارشد محیط زیست)

اداره کل استاندارد آذربایجان شرقی

قدیمی، فریده  
(کارشناسی ارشد شیمی)

شرکت آب و فاضلاب شهری استان آذربایجان شرقی

کاظمیان، نعیمه  
(کارشناسی ارشد شیمی)

سازمان مدیریت پسماند شهرداری تهران

مرادی کیا، سعید  
(کارشناسی ارشد بازیافت پسماندهای چوب و کاغذ)

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

ملازاده، میکائیل

(دکتری شیمی)

مقدس، جعفرصادق

(دکتری مهندسی شیمی)

نهرلی، آيسان

(کارشناسی ارشد مهندسی محیط زیست)

هراتی، حبیبه

(کارشناسی ارشد مهندسی محیط زیست و منابع طبیعی)

ویراستار:

قدیمی، فریده

(کارشناسی ارشد شیمی)

سمت و/یا محل اشتغال:

اداره کل استاندارد آذربایجان شرقی

دانشگاه صنعتی سهند

عضو مستقل

سازمان مدیریت پسماندهای شهرداری تبریز

اداره کل استاندارد آذربایجان شرقی

فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ز	پیش‌گفتار
ح	مقدمه
۱	۱ هدف و دامنه کاربرد
۲	۲ مراجع الزامی
۲	۳ اصطلاحات و تعاریف
۳	۴ اصول آزمون
۴	۵ مزاحمت‌ها
۵	۶ ملاحظات ایمنی
۵	۷ واکنشگرها
۱۴	۸ دستگاه‌ها
۱۵	۹ نگهداری و حفظ نمونه
۱۶	۱۰ روش آزمون
۳۵	۱۱ مشخصه‌های عملکرد
۳۵	۱۲ دقت
۳۵	۱۳ گزارش آزمون
۳۶	پیوست الف (آگاهی‌دهنده) داده‌های تکرارپذیری و تجدیدپذیری
۳۸	پیوست ب (آگاهی‌دهنده) مثال‌هایی از زمان‌های بازداری بی‌فنیل‌های چندکله
۳۹	کتاب‌نامه

## پیش‌گفتار

استاندارد «لجن، پسماند زیستی تصفیه شده و خاک- تعیین بی‌فنیل‌های چند کلره (PCB) با کروماتوگرافی گازی با آشکارسازی انتخابی جرمی (GC-MS) و کروماتوگرافی گازی با آشکارسازی ربایش الکترون (GC-ECD)» که پیش‌نویس آن در کمیسیون‌های مربوط تهیه و تدوین شده است، در یکصد و پنجاه و سومین اجلاس هیئت کمیته ملی استاندارد محیط زیست مورخ ۱۳۹۵/۱۲/۰۲ تصویب شد. اینک این استاندارد به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

استانداردهای ملی ایران بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۵ (استانداردهای ملی ایران- ساختار و شیوه نگارش) تدوین می‌شوند. برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در صورت لزوم تجدیدنظر خواهند شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدیدنظر در کمیسیون‌های مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی ایران استفاده کرد.

منبع و مأخذی که برای تهیه و تدوین این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است:

BS EN 16167: 2012, Sludge, treated biowaste and soil - Determination of polychlorinated biphenyls (PCB) by gas chromatography with mass selective detection (GC-MS) and gas chromatography with electron-capture detection (GC-ECD)

## مقدمه

بی‌فنیل‌های چندکلره (PCB) به عنوان افزودنی در کاربردهای صنعتی که پایداری شیمیایی مورد نیاز می‌باشد، به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. از طرف دیگر، هنگامی که بی‌فنیل‌های چندکلره در نهایت در محیط زیست منتشر می‌شوند، این پایداری شیمیایی، مسائل زیست محیطی ایجاد می‌کنند. از آنجایی که برخی از ترکیبات بی‌فنیل‌های چندکلره خیلی سمی هستند، حضور آنها در محیط زیست (هوا، آب، خاک، لجن و پسماند) به طور مرتب پایش و کنترل می‌شود. در حال حاضر، تعیین بی‌فنیل‌های چندکلره در این ماتریس‌ها در بسیاری از آزمایشگاه‌های معمول پس از مراحل نمونه‌برداری، پیش‌تصفیه، استخراج، پاک‌سازی با اندازه‌گیری بی‌فنیل‌های چندکلره با کروماتوگرافی گازی با آشکارسازی اسپکترومتری جرمی (GC-MS) یا کروماتوگرافی گازی با آشکارسازی ربایش الکترون (GC-ECD) انجام می‌شود.

این استاندارد، نتیجه یک مطالعه کتابخانه‌ای بر روی «بی‌فنیل چندکلره 12-3»، با هدف ارزیابی و بررسی آخرین تحولات در بررسی بی‌فنیل‌های چندکلره در لجن، خاک، زیست‌پسماندهای تصفیه شده و زمینه‌های مشابه است. با در نظر گرفتن ماتریس‌های مختلف و ترکیبات مزاحم احتمالی، این استاندارد شامل یک روش منفرد کاری نمی‌باشد. چندین گزینه مخصوصاً در ارتباط با پاک‌سازی وجود دارد. آشکارسازی با اسپکتروسکوپی جرمی و آشکارسازی ربایش الکترون امکان‌پذیر است. دو روش استخراج مختلف و ۱۱ روش پاک‌سازی توصیف شده است. استفاده از استانداردهای داخلی و تزریق به منظور کنترل داخلی برای انتخاب استخراج روش‌های پاک‌سازی توصیف شده است. روش تا حد ممکن در توافق با روش توصیف شده برای اندازه‌گیری هیدروکربن‌های آروماتیک چندحلقه‌ای (PAH) است (به استاندارد CEN/TS 16181 مراجعه شود). برای تعیین استواری<sup>۱</sup> انجام شده است.

این استاندارد برای چند نوع ماتریس مشخص شده در جدول ۱ کاربرد دارد و تایید شده است (برای مشاهده نتایج تایید به پیوست الف مراجعه شود).

جدول ۱- ماتریس‌هایی که این استاندارد برای آنها کاربرد دارد و تایید شده است

ماتریس	مواد مورد استفاده برای تایید
لجن	لجن فاضلاب شهری
پسماند زیستی	پوسال <sup>۱</sup>
	<sup>۱</sup> - Compost



لجن، پسماند زیستی عمل آوری شده و خاک - تعیین بی فنیل های چند کلره (PCB) با کروماتوگرافی گازی با آشکارسازی انتخابی جرمی (GC-MS) و کروماتوگرافی گازی با آشکارسازی ربایش الکترون (GC-ECD)

هشدار - در این استاندارد تمام موارد ایمنی و بهداشتی درج نشده است. در صورت مواجهه با چنین مواردی، مسئولیت برقراری شرایط بهداشت و ایمنی مناسب و اجرای آن بر عهده کاربر این استاندارد است.

### ۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، ارائه روشی برای اندازه گیری هفت بی فنیل چندکلره (PCB28، PCB52، PCB101، PCB118، PCB138، PCB153 و PCB180) در لجن، پسماند زیستی تصفیه شده و خاک با استفاده از GC-MS و CG-ECD است (به جدول ۲ مراجعه شود).

### جدول ۲- آنالیت های هدف در این استاندارد

نام آنالیت	علامت اختصاری آنالیت
۴ و ۲-تری کلرو بی فنیل	PCB28
۵ و ۲-تتراکلرو بی فنیل	PCB52
۴ و ۲-پنتاکلرو بی فنیل	PCB101
۴ و ۳-پنتاکلرو بی فنیل	PCB118
۴ و ۳ و ۲-هگزاکلرو بی فنیل	PCB138
۴ و ۳ و ۲-هگزاکلرو بی فنیل	PCB153
۴ و ۳ و ۲-هپتاکلرو بی فنیل	PCB180

حد تشخیص به ترکیبات اندازه گیری شونده، تجهیزات مورد استفاده، کیفیت مواد شیمیایی مورد استفاده برای استخراج نمونه و پاک سازی محصولات استخراج بستگی دارد.

تحت شرایط مشخص شده در این استاندارد، حد تشخیص  $1 \mu\text{g}/\text{kg}$  (بر حسب ماده خشک) قابل دستیابی است.

خواص، میزان آلودگی های قابل انتظار و مواد مزاحم ممکن است در لجن و پسماند زیستی تصفیه شده متفاوت باشند. این تفاوت ها ممکن است توصیف یک روش کلی را ناممکن سازد. جداول مربوط به دقت ارائه شده در این استاندارد مبتنی بر خواص نمونه و روش های استخراج و پاک سازی مورد استفاده است.

## ۲ مراجع الزامی

در مراجع زیر ضوابطی وجود دارد که در متن این استاندارد به صورت الزامی به آن‌ها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب، آن ضوابط جزئی از این استاندارد محسوب می‌شوند.

در صورتی که به مرجعی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن برای این استاندارد الزام‌آور نیست. در مورد مراجعی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن‌ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدیدنظر و اصلاحیه‌های بعدی برای این استاندارد الزام‌آور است.

استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است:

- 2-1 EN 15934, Sludge, treated biowaste, soil and waste — Calculation of dry matter fraction after determination of dry residue or water content
  - 2-2 EN 16179, Sludge, treated biowaste and soil — Guidance for sample pretreatment
  - 2-3 EN ISO 5667-15, Water quality — Sampling — Part 15: Guidance on the preservation and handling of sludge and sediment samples (ISO 5667-15)
  - 2-4 EN ISO 16720, Soil quality — Pretreatment of samples by freeze-drying for subsequent analysis (ISO 16720)
  - 2-5 EN ISO 22892, Soil quality — Guidelines for the identification of target compounds by gas chromatography and mass spectrometry (ISO 22892)
- یادآوری - استاندارد ملی ایران شماره ۱۲۶۴۸: سال ۱۳۸۸، کیفیت خاک - راهنمای شناسایی ترکیبات هدف با روش کروماتوگرافی گازی و اسپکترومتری جرمی، با استفاده از استاندارد ISO 22892: 2006 تدوین شده است.
- 2-6 ISO 8466-1, Water quality — Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics — Part 1: Statistical evaluation of the linear calibration function
  - 2-7 ISO 18512, Soil quality — Guidance on long and short term storage of soil samples

## ۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد، اصطلاحات و تعاریف زیر به کار می‌رود:

۱-۳

بی‌فنیل چندکلره

polychlorinated biphenyl (PCB)

بی فنیل استخلاف شده با یک تا ده اتم کلر را گویند.

[منبع: EN 15308:2008, 3.1]

۲-۳

هم نوع

**congener**

عضوی از یک نوع، طبقه یا گروهی از مواد شیمیایی، مانند هر کدام از دوپست و نه بی فنیل چندکاره را گویند.

یادآوری - شماره‌های هم‌نوع ایوپاک برای شناسایی آسان آنها می‌باشد و از نظر کروماتوگرافی همزمان شویب نمی‌شوند.

[منبع: EN 15308:2008, 3.2]

۳-۳

دوتایی بحرانی

**critical pair**

یک هم‌نوع دوتایی که با درجه مشخصی از هم تفکیک می‌شوند (به عنوان مثال  $R = 0.5$ ) برای اطمینان از این که تفکیک کروماتوگرافی کمینه معیار کیفی را برآورده می‌کند.

[منبع: EN 15308:2008, 3.6]

## ۴ اصول آزمون

با توجه به ماهیت این استاندارد، استفاده از روش‌های مختلف برای مراحل (مدول‌های) مختلف مجاز است. مدول‌های مورد استفاده بستگی به نمونه دارد. یک توصیه در این استاندارد ارائه شده است. معیار عملکرد توصیف شده و این مسئولیت آزمایشگاه است که نشان دهد این معیارها برآورده می‌شوند. استفاده از استانداردهای اسپایک شده<sup>۱</sup> (استانداردهای داخلی)، اجازه می‌دهد تا یک بررسی کلی از کارایی ترکیب خاصی از مدول‌ها برای یک نمونه خاص انجام گیرد، اما لزوماً هیچ‌گونه آگاهی درباره کارایی استخراج گسترده بی فنیل‌های چندکلره اصلی متصل به ماتریکس ارائه نمی‌دهد.

پس از پیش تصفیه مطابق روش‌های مندرج در زیربند ۹-۲، نمونه با حلال مناسب استخراج می‌شود.

حاصل استخراج با تبخیر تغلیظ می‌شود: در صورت لزوم، ترکیبات مزاحم با روش‌های پاک‌سازی مناسب برای ماتریکس خاص، حذف می‌شوند. محلول شویب شده با تبخیر تغلیظ می‌شود.

---

<sup>1</sup> Spiking standards

حاصل استخراج با کروماتوگرافی گازی آنالیز می‌شود. ترکیبات مختلف با استفاده از ستون موئین با فاز ساکن با قطبیت کم جدا می‌شوند. آشکارسازی با اسپکترومتری جرمی یا آشکارساز ربایش الکترون انجام می‌شود (به زیربند ۸-۲-۱ مراجعه شود).

بی‌فنیل‌های چندکلره با مقایسه زمان بازداری نسبی و ارتفاع نسبی پیک‌ها (یا مساحت پیک‌ها) نسبت به استانداردهای داخلی افزوده شده، شناسایی و اندازه‌گیری می‌شوند. کارایی روش‌ها بستگی به ترکیب ماتریکس مورد بررسی دارد.

## ۵ مزاحمت‌ها

### ۱-۵ مزاحمت در مرحله نمونه‌برداری و استخراج

از ظروف نمونه‌برداری از جنس ترجیحاً فولاد، آلومینیم یا شیشه که در مدت تماس با نمونه، آن را تغییر نمی‌دهد استفاده کنید. از به‌کار بردن مواد پلاستیکی و مواد آلی دیگر در حین نمونه‌برداری، نگهداری نمونه یا استخراج خودداری کنید. نمونه‌ها را دور از نور مستقیم خورشید نگهدارید و به مدت طولانی در معرض نور نگهداری نکنید.

در مدت نگهداری نمونه‌ها، ممکن است مقدار بی‌فنیل‌های چندکلره به دلیل جذب روی دیواره ظروف کاهش یابد. مقدار کاهش نمونه بستگی به زمان نگهداری دارد.

### ۲-۵ مزاحمت‌های GC

موادی که با بی‌فنیل‌های چندکلره هم‌شویی می‌شوند، ممکن است بر اندازه‌گیری مزاحمت ایجاد کنند. این مزاحمت‌ها ممکن است بسته به بزرگی آنها منجر به سیگنال‌های ناقص شده و بردقت و درستی نتایج تجزیه‌ای تاثیر داشته باشند. همپوشانی پیک‌ها تفسیر نتیجه را ناممکن می‌کند. پیک‌های نامتقارن و پیک‌های پهن‌تر از پیک‌های مواد مرجع اشاره بر مزاحمت دارند.

جداسازی کروماتوگرافی مابین زوج ترکیبات زیر می‌تواند حساس باشد. برای انتخاب ستون موئین، از دو ترکیب PCB28 و PCB31 استفاده می‌شود (به زیربند ۸-۲-۲ مراجعه شود). در صورت وجود اختلاف جرم مولکولی، می‌توان اندازه‌گیری را با آشکارسازی انتخابی یون انجام داد. در صورت موجود نبودن آشکارسازی انتخابی یون یا استفاده از ECD، بی‌فنیل چندکلره خاصی به‌عنوان مجموع کل بی‌فنیل‌های چندکلره موجود در پیک گزارش می‌شود. به طور نوعی، غلظت ترکیبات هم‌نوع هم‌شوی شده در مقایسه با ترکیبات هم‌نوع هدف کم هستند. در صورت مواجهه با تفکیک‌پذیری ناقص، انتگراسیون پیک باید بررسی و در صورت لزوم تصحیح شود.

PCB28-PCB31 -

PCB52-PCB73 -

PCB101-PCB89/PCB90 -

PCB118-PCB106 -  
PCB138-PCB164/PCB163 -

وجود مقادیر چشمگیر روغن معدنی در نمونه ممکن است بر اندازه‌گیری بی‌فنیل‌های چندکلره در GC-MS مزاحمت ایجاد کند. در صورت وجود روغن معدنی، ممکن است روش GC-ECD ارجح باشد یا می‌توان روغن را با استفاده از روش پاکسازی G (زیربند ۱۰-۴-۸) با استفاده از دی‌متیل‌فرمامید/نرمال هگزان (DMF/n-hexane) پاک‌سازی کرد.

وجود مخلوط‌های تتراکلرو بنزیل تولوئن (TCBT) ممکن است بر اندازه‌گیری بی‌فنیل‌های چندکلره در GC-ECD مزاحمت ایجاد کند.

## ۶ ملاحظات ایمنی

بی‌فنیل‌های چندکلره بسیار سمی بوده و باید با احتیاط زیاد با آنها کار کرد. از تماس بدن با مواد جامد، حاصل استخراج حلالها و محلول‌های بی‌فنیل‌های چندکلره استاندارد جدا خودداری شود. قویا توصیه می‌شود که محلول‌های استاندارد به طور متمرکز در آزمایشگاه‌های مجهز مناسب تهیه شوند یا از تامین‌کننده‌های اختصاصی خریداری شوند.

محلول‌های حاوی بی‌فنیل‌های چندکلره باید به شیوه مورد تایید برای دفع پسماندهای سمی دفع شوند.

به دلیل خاصیت مخدر اعصاب هگزان، به هنگام کارکردن با آن باید خیلی احتیاط شود.

در خصوص خطرات مرتبط با این روش، مقررات ملی باید رعایت شود.

## ۷ واکنشگرها

### ۱-۷ کلیات

تمامی واکنشگرها باید دارای خلوص تجزیه‌ای مشخص باشد. خلوص واکنشگرهای مورد استفاده باید با انجام آزمون بلانک مطابق زیربند ۱-۱۰ بررسی شود. بلانک باید کمتر از ۵۰٪ پایین‌ترین حد گزارش‌دهی باشد.

### ۲-۷ واکنشگرهای لازم برای استخراج

۱-۲-۷ استون (۲-پروپانون)،  $(CH_3)_2CO$ .

۲-۲-۷ n-هپتان،  $C_7H_{16}$ .

۳-۲-۷ اتر نفت، گستره دمای جوش  $40^{\circ}C$  تا  $60^{\circ}C$ .

حلال‌های شبیه هگزان با گستره دمای جوش  $30^{\circ}C$  تا  $69^{\circ}C$  مجاز هستند.

۴-۲-۷ سدیم سولفات بدون آب،  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . سدیم سولفات بدون آب باید به دقت به صورت درزبندی شده نگهداری شود.

۵-۲-۷ آب مقطر یا آبی با کیفیت معادل،  $\text{H}_2\text{O}$ .

۶-۲-۷ سدیم کلرید،  $\text{NaCl}$ ، بدون آب.

۷-۲-۷ نگهدارنده ماده. ترکیبی با ماده جوش بالا مانند اکتان یا نونان.

۳-۷ واکنشگرهای پاکسازی

۱-۳-۷ پاکسازی الف با استفاده از آلومینیم اکسید

۱-۱-۳-۷ آلومینیم اکسید،  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

قلیایی یا خنثی، سطح خاص  $200 \text{ m}^2/\text{g}$ ، فعالیت سوپر I مطابق با براکمن.

۲-۱-۳-۷ آلومینیم اکسید غیرفعال شده

غیرفعال شده با آب تقریبی ۱۰٪.

حدود ۱۰ g آب (زیربند ۵-۲-۷) را به ۹۰ g آلومینیم اکسید (زیربند ۱-۱-۳-۷) بیفزایید. تکان دهید تا تمام کلوخه‌ها ناپدید شوند. قبل از استفاده، به مدت ۱۶ h شرایطی<sup>۱</sup> کنید، نسبت به نفوذ هوا درزبندی کنید و بیشینه تا دو هفته آن را استفاده کنید.

یادآوری - فعالیت بستگی به مقدار آب دارد. در صورت لزوم می‌توان مقدار آب را تنظیم کرد.

۲-۳-۷ پاکسازی ب با استفاده از سیلیکاژل ۶۰ برای ستون کروماتوگرافی

۱-۲-۳-۷ سیلیکاژل ۶۰، اندازه ذرات  $63 \mu\text{m}$  تا  $200 \mu\text{m}$ .

۲-۲-۳-۷ سیلیکاژل ۶۰، کسر جرمی آب  $w(\text{H}_2\text{O}) = 10\%$ .

سیلیکاژل ۶۰ (زیربند ۱-۲-۳-۷) به مدت ۳ h در دمای  $450^\circ\text{C}$  حرارت داده، در یک خشکانه خنک و در ظرف حاوی منیزیم پرکلرات یا عامل خشک‌کننده مناسب نگهداری کنید. قبل از استفاده دست کم به مدت ۵ h در دمای  $130^\circ\text{C}$  در یک آون خشک‌کننده گرم کنید. سپس در خشکانه خنک کنید و در یک بالن به اندازه ۱۰٪ (کسر جرمی) آب بیفزایید. به مدت ۵ min با دست به شدت تکان دهید تا تمام کلوخه‌ها ناپدید

شود و سپس به مدت ۲ h روی وسیله تکاننده (شیکر) بگذارید. سیلیکاژل غیرفعال شده را در غیاب هوا نگهدارید، بیشینه تا دو هفته استفاده کنید.

۷-۳-۳ پاک سازی پ با استفاده کروماتوگرافی ژل تراوایی (GPC)<sup>۱</sup>

۷-۳-۳-۱ دانه های زیستی S-X3<sup>®</sup>

۷-۳-۳-۲ اتیل استات، C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>

۷-۳-۳-۳ سیکلو هگزان، C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>

برای آماده سازی GPC، به عنوان مثال: ۵۰ g دانه های زیستی S-X3<sup>®</sup> (زیربند ۷-۳-۳-۱) به ارلن مایر ۵۰۰ ml بریزید و ۳۰۰ ml مخلوط شویش متشکل از سیکلو هگزان (زیربند ۷-۳-۳-۲) و اتیل استات (زیربند ۷-۳-۳-۳) به نسبت حجمی ۱ به ۱ بیفزایید تا دانه ها متورم شوند. پس از متورم شدن دانه ها طی یک مدت کوتاه، بدون این که کلوخه ای برجای ماند، ارلن را به مدت ۲۴ h سربسته نگهدارید. ماده آبکی را به درون لوله کروماتوگرافی GPC بریزید. پس از تقریباً سه روز، پیستون ستون را تا حدی فشار دهید تا ارتفاع مواد پر شده تقریباً به ۳۵ cm برسد. برای متراکم تر شدن ژل، حدود ۲ l مخلوط شویش را با سرعت ۵ ml/min پمپ کنید و پیستون را فشار دهید تا ارتفاع مواد پر شده تقریباً به ۳۳ cm برسد.

۷-۳-۴ پاک سازی ت با استفاده از فلوریسیل<sup>®</sup>

۷-۳-۴-۱ فلوریسیل<sup>®</sup>، که به مدت ۲ h در کوره با دمای ۶۰۰ °C قرار گرفته است. اندازه ذرات آن ۱۵۰ μm تا ۷۵۰ μm است.

۷-۳-۴-۲ ایزواکتان، C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>

۷-۳-۴-۳ تولوئن، C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>

۷-۳-۴-۴ ایزواکتان/تولوئن (نسبت حجمی ۵/۹۵).

۷-۳-۵ پاک سازی ت با استفاده از سیلیکا H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> / سیلیکا NaOH

۷-۳-۵-۱ سیلیکا، SiO<sub>2</sub>، اندازه ذرات ۷۰ μm تا ۲۳۰ μm. که حداقل به مدت ۱ h در کوره با دمای ۱۸۰ °C قرار گرفته است و برای جلوگیری از جذب رطوبت، در یک بطری شیشه ای از قبل تمیز شده با

1 - Gel permeation chromatography

۲ - دانه های زیستی (Bio-Beads) یک مثال از مواد موجود تجاری بوده و به منزله تایید سازمان ملی استاندارد ایران نمی باشد.

۳ - فلوریسیل یک مثال از مواد موجود تجاری بوده و به منزله تایید سازمان ملی استاندارد ایران نمی باشد.

سرپوش پیچی نگهداری می شود.

۲-۵-۳-۷ سیلیکا، تصفیه شده با سولفوریک اسید.

۶۵ g سیلیکا (زیربند ۱-۵-۳-۷) و ۴۴ g سولفوریک اسید (زیربند ۱-۸-۳-۷) را مخلوط کنید.

۳-۵-۳-۷ محلول سدیم هیدروکسید،  $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/l}$ .

۴-۵-۳-۷ سیلیکا، تصفیه شده با سدیم هیدروکسید.

۳۳ g سیلیکا (زیربند ۱-۵-۳-۷) و ۱۷ g سدیم هیدروکسید (زیربند ۳-۵-۳-۷) را مخلوط کنید.

۵-۵-۳-۷ نرمال هگزان،  $\text{C}_6\text{H}_{14}$ .

۶-۳-۷ پاک سازی ج با استفاده از بنزن سولفونیک اسید/سولفوریک اسید

۱-۶-۳-۷ ستون ۳ ml سیلیکاژل، جرم جاذب ۵۰۰ mg، اندازه ذرات ۴۰  $\mu\text{m}$ .

۲-۶-۳-۷ ستون ۳ ml بنزن سولفونیک اسید، جرم جاذب ۵۰۰ mg، اندازه ذرات ۴۰  $\mu\text{m}$ .

۷-۳-۷ پاک سازی چ با استفاده از تقسیم<sup>۱</sup> هگزان/DMF

۱-۷-۳-۷ دی متیل فرمامید (DMF)،  $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$ .

۸-۳-۷ پاک سازی ح با استفاده از سولفوریک اسید غلیظ

۱-۸-۳-۷ سولفوریک اسید،  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ، با خلوص ۹۶٪ تا ۹۸٪ (کسر جرمی).

۹-۳-۷ پاک سازی خ با استفاده از واکنشگر تترابوتیل آمونیم - سولفیت<sup>۲</sup>

۱-۹-۳-۷ واکنشگر تترابوتیل آمونیم (واکنشگر TBA سولفیت)

محلولی از تترابوتیل آمونیم هیدروژن سولفات با غلظت  $c((\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{NHSO}_4) = 0,1 \text{ mol/l}$  را با سدیم سولفیت در مخلوط ۱ به ۱ آب و ۲-پروپانول، اشباع کنید.

یادآوری - ۲۵ g سدیم سولفیت برای ۱۰۰ ml محلول کافی خواهد بود.

1 - Partitioning

2 - Tetrabutylammonium (TBA) - Sulfite



۲-۹-۳-۷ پروپانول،  $C_3H_8O$ .

۳-۹-۳-۷ سدیم سولفیت،  $Na_2SO_3$ .

۱۰-۳-۷ پاک‌سازی د با استفاده از مس قابل اشتعال<sup>۱</sup>

اخطار- مس قابل اشتعال به خودی خود اشتعال‌زاست. اقدامات احتیاطی لازم باید انجام شود.

۱-۱۰-۳-۷ مس (II) - سولفات پنج آبه،  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ .

۲-۱۰-۳-۷ هیدروکلریک اسید،  $c(HCl) = 2 \text{ mol/l}$ .

۳-۱۰-۳-۷ گرانول‌های روی، Zn، اندازه ذرات ۰٫۳ mm تا ۱٫۴ mm.

۴-۱۰-۳-۷ محلول آبی پاک‌کننده آنیونی (به عنوان مثال ۳۵ g / ۱۰۰ ml، نمک n- دودکان -۱-

سولفونیک اسید سدیم  $(CH_3(CH_2)_{11}SO_3Na)$ .

یادآوری- پاک‌کننده‌های تجاری موجود دیگر نیز می‌تواند مناسب باشند.

۵-۱۰-۳-۷ آب اکسیژن‌زدایی شده

۶-۱۰-۳-۷ مس قابل اشتعال

۴۵ g مس (II) سولفات پنج آبه (زیربند ۱-۱۰-۳-۷) را درون یک بشر ۱۰۰۰ ml، در ۴۸۰ ml آب حاوی

۲۰ ml هیدروکلریک اسید (زیربند ۲-۱۰-۳-۷) حل کنید.

۱۵ g گرانول روی (زیربند ۳-۱۰-۳-۷) بردارید، ۲۵ ml آب و یک قطره محلول پاک‌کننده آنیونی (زیربند

۴-۱۰-۳-۷) را درون بشر ۱۰۰۰ ml دیگری بریزید.

با همزن مغناطیسی با سرعت زیاد هم بزنید تا دوغاب تشکیل شود. سپس در حال هم‌زدن با همین سرعت

بالا، به دقت محلول مس (II) سولفات پنج آبه را قطره قطره با استفاده از میله شیشه‌ای اضافه کنید.

هیدروژن آزاد می‌شود و مس قابل اشتعال عنصری (رسوب قرمز رنگ) ته نشین می‌شود.

هم‌زدن را ادامه دهید تا تولید هیدروژن متوقف شود. سپس اجازه دهید مس ته‌نشین شود. آب رویی را خالی

کنید و محصول را سه مرتبه با آب اکسیژن‌زدایی شده (زیربند ۵-۱۰-۳-۷) شستشو دهید تا نمک‌های

باقی‌مانده حذف شود.

سپس در حالی که مخلوط را به هم می‌زنید، آب را به دقت با ۲۵۰ ml استون (زیربند ۷-۲-۱) جایگزین کنید. برای اطمینان از حذف آب، این عملیات را دو مرتبه دیگر تکرار کنید.

سپس مراحل بالا را سه مرتبه با ۲۵۰ ml هگزان (زیربند ۷-۳-۵) تکرار کنید تا از حذف استون اطمینان حاصل کنید.

مس را همراه با هگزان به دقت به یک ارلن مایر منتقل کنید و در هگزان نگهداری کنید. ارلن باید درزبندی شود تا از ورود هوا جلوگیری شود و در یخچال ضدانفجار در دمای °C ۲ تا °C ۸ نگهداری شود.

عمر مفید مس قابل اشتعال حداقل دو ماه است. سپس قدرت پاک‌سازی موثر آن کم می‌شود. تغییر رنگ مس به معنی کاهش قدرت پاک‌سازی آن است.

#### ۷-۳-۱۱ پاک‌سازی ذ با استفاده از سیلیکا/نقره نیترات

۷-۳-۱۱-۱ نقره نیترات،  $AgNO_3$ .

۷-۳-۱۱-۲ جاذب نقره نیترات/سیلیکا

g ۱۰ نقره نیترات (زیربند ۷-۳-۱۱-۱) را در ۴۰ ml آب حل کنید و این مخلوط را به ۹۰ g سیلیکا (زیربند ۷-۳-۱۱-۵) بیفزایید. مخلوط را تکان دهید تا همگن شود و به مدت ۳۰ min بگذارید بماند. مخلوط را درون آون خشک کننده در دمای °C  $(70 \pm 5)$  بگذارید. طی ۵ h دما را به طور منظم از °C ۷۰ به °C ۱۲۵ افزایش دهید. مخلوط را به مدت ۱۵ h در دمای °C ۱۲۵ فعال کنید. مخلوط را در بطری‌های شیشه‌ای قهوه‌ای نگهداری کنید.

#### ۷-۴ آنالیز کروماتوگرافی گازی

گازهای عامل برای کروماتوگرافی گازی با ECD یا MS، دارای خلوص زیاد و مطابق با ویژگی‌های سازنده هستند.

#### ۷-۵ استانداردها

۷-۵-۱ کلیات

موادی را به‌عنوان استانداردهای داخلی انتخاب کنید که خواص فیزیکی و شیمیایی آنها مانند رفتار استخراج، زمان بازداری مشابه ترکیبات مورد آنالیز باشد. بهتر است برای ارزیابی نتایج در GC-MS از بی‌فنیل‌های چندکلره نشان‌دار شده با  $^{13}C$  استفاده شود. پایداری استانداردهای داخلی را به طور مرتب بررسی کنید.

یادآوری - محلول‌های گواهی شده بی‌فنیل‌های چندکلره، و تک‌تک بی‌فنیل‌های چندکلره جامد با خلوص گواهی شده به طور تجاری در دسترس هستند.

۲-۵-۷ استانداردهای کالیبراسیون

استانداردهای کالیبراسیون شامل ترکیبات زیر است:

۴و۴و۲-تری کلرو بی فنیل	PCB28
۵و۲و۲-تتراکلرو بی فنیل	PCB52
۴و۲و۲ و ۵-پنتاکلرو بی فنیل	PCB101
۴و۳و۲ و ۴و۴-پنتاکلرو بی فنیل	PCB118
۴و۲و۲ و ۴و۳و۴ و ۵-هگزاکلرو بی فنیل	PCB138
۴و۲و۲ و ۴و۴و۵ و ۵-هگزاکلرو بی فنیل	PCB153
۴و۲و۲ و ۴و۴و۵ و ۵-هپتاکلرو بی فنیل	PCB180

یادآوری - اعداد ۲۸ و ۵۲ و غیره با شماره‌های متوالی کلروبی فنیل‌ها با قوانین آیوپاک برای نامگذاری ترکیبات آلی مطابقت دارد.

۳-۵-۷ استانداردهای داخلی و تزریق

۱-۳-۵-۷ کلیات

بی فنیل‌های چندکلره هم‌نوع که فهرست آنها در زیر ارائه شده است، به عنوان استانداردهای داخلی و تزریق در نظر گرفته می‌شوند. استاندارد داخلی باید به نمونه افزوده شود. برای آشکارسازی MS، بی فنیل‌های چندکلره هم‌نوع نشان‌دار شده توصیه می‌شود.

به هنگام آنالیز نمونه‌های خیلی آلوده، کسری از حاصل استخراج معمولاً برای پاک‌سازی بیشتر استفاده می‌شود. این کار باعث می‌شود که هزینه آنالیز به هنگام استفاده از استاندارد نشان‌دار خیلی بالا باشد. در این موارد، افزایش استاندارد داخلی در دو مرحله مجاز می‌باشد. مرحله ۱، افزایش استاندارد داخلی بدون نشان‌دار به نمونه و مرحله ۲ افزایش هم‌نوع‌های نشان‌دار به کسری از محصول استخراج مورد استفاده برای پاک‌سازی. دست‌کم از سه هم‌نوع، پوشش‌دهنده کروماتوگرام باید به عنوان استاندارد داخلی استفاده شود.

از بی فنیل‌های چندکلره دیگر که در نمونه وجود ندارند، یا بی فنیل‌های چندکلره نشان‌دار شده با  $^{13}C_{12}$  که به عنوان استاندارد داخلی استفاده نمی‌شوند، می‌توان به عنوان استاندارد تزریق استفاده کرد.

یادآوری ۱- برخی از مخلوط‌های بی فنیل‌های چندکلره شامل بیش از ۲/۵٪ از PCB155 هستند.

یادآوری ۲- PCB30، PCB143 و PCB207 به عنوان استاندارد داخلی توصیه می‌شوند.

یادآوری ۳- PCB198 یا PCB209 به دلیل مزاحمت‌های کمتر، به عنوان استانداردهای تزریق برای آشکارسازی ECD توصیه می‌شوند.

۲-۳-۵-۷ بی فنیل های چندکلره هم نوع نشان دار

$C_{12}^{13}$ - ۲ و ۴ و ۴-تری کلرو بی فنیل	PCB28
$C_{12}^{13}$ - ۲ و ۲ و ۵ و ۵-تتراکلرو بی فنیل	PCB52
$C_{12}^{13}$ - ۲ و ۲ و ۴ و ۵ و ۵-پنتاکلرو بی فنیل	PCB101
$C_{12}^{13}$ - ۲ و ۲ و ۳ و ۴ و ۴ و ۵-پنتاکلرو بی فنیل	PCB118
$C_{12}^{13}$ - ۲ و ۲ و ۳ و ۴ و ۴ و ۵-هگزاکلرو بی فنیل	PCB138
$C_{12}^{13}$ - ۲ و ۲ و ۴ و ۴ و ۵ و ۵-هگزاکلرو بی فنیل	PCB153
$C_{12}^{13}$ - ۲ و ۲ و ۳ و ۴ و ۴ و ۵ و ۵-هپتاکلرو بی فنیل	PCB180

۳-۳-۵-۷ بی فنیل های چندکلره هم نوع نشان دار نشده

۲ و ۴ و ۵-تری کلرو بی فنیل	PCB29
۲ و ۴ و ۶-تری کلرو بی فنیل	PCB30
۲ و ۲ و ۳ و ۴ و ۵ و ۶-هگزا کلرو بی فنیل	PCB143
۲ و ۲ و ۴ و ۴ و ۶ و ۶-هگزا کلرو بی فنیل	PCB155
۲ و ۲ و ۳ و ۳ و ۴ و ۵ و ۵ و ۶-اکتا کلرو بی فنیل	PCB198
۲ و ۲ و ۳ و ۳ و ۴ و ۴ و ۵ و ۵ و ۶-نونا کلرو بی فنیل	PCB207
۲ و ۲ و ۳ و ۳ و ۴ و ۴ و ۵ و ۵ و ۶ و ۶-دکا کلرو بی فنیل	PCB209

۴-۳-۵-۷ بی فنیل های چندکلره هم نوع برای بررسی تفکیک پذیری

۲ و ۴ و ۴-تری کلرو بی فنیل	PCB28
۲ و ۴ و ۵-تری کلرو بی فنیل	PCB31

۶-۷ آماده سازی محلول های استاندارد

۱-۶-۷ آماده سازی محلول های استاندارد کالیبراسیون بی فنیل های چندکلره

هر یک از محلول های استاندارد اولیه تغلیظ شده با غلظت  $0.4 \text{ mg/ml}$  را در n-هپتان (زیربند ۲-۲-۷) با توزین حدود  $10 \text{ mg}$  از هر یک از محلول های کالیبراسیون (زیربند ۲-۵-۷) با دقت  $0.1 \text{ mg}$  و حل کردن در  $25 \text{ ml}$  n-هپتان تهیه کنید.

مقادیر کمی (۲ ml تا ۱۰ ml) از هر یک از این محلول‌های استاندارد اولیه را با محلول استاندارد مخلوط شده بی‌فینیل چندکلره ترکیب کنید.

**یادآوری-** به دلیل ماهیت خطرناک مواد مورد استفاده، محلول‌های استاندارد یا محلول‌های استاندارد مخلوط شده موجود تجاری (ترجیحاً گواهی شده) ارجح هستند. از تماس آن‌ها با پوست خودداری کنید.

محلول‌های استاندارد کاری و محصولات استخراج باید درون حلال یکسان باشند.

محلول‌های استاندارد اولیه و رقیق شده را در محل تاریک در دمای °C (۳ ± ۵) نگهداری کنید. محلول‌ها حداقل برای یک سال پایدار هستند، مشروط بر این که تبخیر حلال ناچیز باشد.

ترکیبات موجود در محلول‌های استاندارد مخلوط شده بهتر است با ستون‌های مورد استفاده در کروماتوگرافی گازی به طور کامل جدا شوند.

#### ۲-۶-۷ آماده‌سازی محلول استاندارد داخلی

محلول استاندارد داخلی اولیه تغلیظ شده را که حاوی حداقل سه ترکیب مختلف (زیربند ۷-۵-۳) است، با غلظت ۰٫۴ mg/ml در n-هپتان (زیربند ۷-۲-۲) با توزین حدود ۱۰ mg از هر یک از محلول‌های داخلی انتخاب شده با دقت ۰٫۱ mg و حل کردن در ۲۵ ml هپتان نرمال تهیه کنید. از این محلول، محلول داخلی ثانویه را با غلظتی که مقدار افزوده شده منجر به پیکی با ارتفاع قابل اندازه‌گیری در کروماتوگرام شود، تهیه کنید (حداقل ده برابر حد تشخیص).

اگر دو مرحله روش برای GC-MS مورد استفاده قرار گیرد، دو محلول استاندارد داخلی مختلف تهیه کنید، که یکی حاوی ترکیبات نشان‌دار نشده باشد. در اولین محلول استاندارد داخلی حداقل دو هم‌نوع نشان‌دار نشده و در دومین محلول، حداقل باید سه ترکیب هم‌نوع نشان‌دار مورد استفاده قرار گیرد.

#### ۳-۶-۷ آماده‌سازی محلول استاندارد تزریق

محلول استاندارد تزریق اولیه تغلیظ شده را که حاوی حداقل دو ترکیب مختلف (زیربند ۷-۵-۳) است، با غلظت ۰٫۴ mg/ml در n-هپتان (زیربند ۷-۲-۲) با توزین حدود ۱۰ mg از هر یک از استانداردهای تزریق انتخاب شده با دقت ۰٫۱ mg و حل کردن در ۲۵ ml هپتان نرمال تهیه کنید. از این محلول، محلول داخلی ثانویه را با غلظتی که مقدار افزوده شده منجر به پیکی با ارتفاع قابل اندازه‌گیری در کروماتوگرام شود، تهیه کنید (حداقل ده برابر حد تشخیص).

## ۸ دستگاها

### ۱-۸ روش‌های استخراج و پاک‌سازی

#### ۱-۱-۸ شیشه‌آلات معمول آزمایشگاهی

تمامی شیشه‌آلات و مواد که در تماس با ماده یا حاصل استخراج قرار می‌گیرند، باید کاملاً تمیز باشند.

۲-۱-۸ بطری‌های نمونه، از جنس شیشه، فولاد زنگ‌نزن یا آلومینیم با درپوش شیشه‌ای یا درپوش پیچی و درزبندی پلی‌تترافلورواتیلن (PTFE) با حجم مناسب.

اخطار- به دلایل ایمنی، نمونه‌های لجن بیولوژیکی فعال نباید در ظروف درزبندی شده نگهداری شوند.

۳-۱-۸ وسیله تکاننده، با حرکت افقی (۲۰۰ ضربه تا ۳۰۰ ضربه در دقیقه).

۴-۱-۸ حمام آب، با قابلیت تنظیم در دمای ۱۰۰ °C.

۵-۱-۸ قیف‌های جداکننده، با حجم مناسب.

۶-۱-۸ ارلن‌های مخروطی، با حجم مناسب.

۷-۱-۸ دستگاه استخراج سوکسله، شامل بالن ته‌گرد، ۱۰۰ ml، استخراج کننده سوکسله و استوانه‌های سوکسله، برای مثال ۱۰۰ mm × ۲۷ mm، مبردهای عمودی، برای مثال ۳۰۰ mm، وسیله گرمایش.

۸-۱-۸ تغلیظ کننده، نوع کودرنا دانیش.

تبخیرکن‌های دیگر مانند تبخیرکن چرخان نیز در صورت مناسب بودن استفاده می‌شود.

۹-۱-۸ سنگ جوش، دانه‌های شیشه‌ای یا چینی.

۱۰-۱-۸ الیاف کوارتز یا پشم شیشه سیلانیزه شده.

اخطار- کار کردن با الیاف کوارتز به لحاظ آزاد کردن ذرات ریز کوارتز برای سلامتی خطرناک است. با استفاده از هود و پوشیدن ماسک غبار از استنشاق این مواد جلوگیری کنید.

۱۱-۱-۸ لوله‌های آزمون کالیبره، با ظرفیت اسمی ۱۰ ml تا ۱۵ ml و درپوش شیشه‌ای.

۸-۱-۱۲ لوله‌های کروماتوگرافی، از جنس شیشه به قطر داخلی ۵ mm تا ۱۰ mm و طول ۶۰۰ mm.

۸-۲ کروماتوگراف گازی

۸-۲-۱ کلیات

مجهز به ستون موئین، آشکارساز طیف‌سنجی جرمی (MS) یا ربایش الکترون (ECD) بر پایه  $^{63}\text{Ni}$ .  
یادآوری - کار کردن با منبع رادیواکتیو محصور مانند منبع موجود در یک ECD نیاز به گواهی بر اساس قوانین ملی دارد.  
با استفاده از ECD، کروماتوگراف‌های گازی مجهز به دو آشکارساز و امکان اتصال دو ستون به یک سیستم تزریق، برای این آنالیز بسیار مناسب بوده، با چنین دستگاه‌هایی آنالیز می‌تواند همزمان انجام شود.

۸-۲-۲ ستون‌های موئین، هر کدام متشکل از ۵٪ فاز ثابت فنیل-متیل سیلیکون پوشانده شده روی سیلیکای ذوب شده ستون موئین یا فاز که به طور شیمیایی به ستون متصل شده است. پیک‌های کروماتوگرافی PCB28 و PCB31 باید برای یکپارچه‌سازی پیک PCB28 به طور کافی از هم تفکیک شوند (تفکیک حداقل ۰/۵). در کل بهتر است طول ستون ۲۵ m تا ۶۰ m باشد. قطر داخلی ستون ۰/۱۸ mm تا ۰/۳۲ mm و ضخامت فیلم ۰/۱  $\mu\text{m}$  تا ۰/۵  $\mu\text{m}$  است.

در حالت استفاده از آشکارسازی ECD، برای تایید نتیجه حاصل باید از ستون دوم که با فاز با قطبیت ملایم (مانند CP-Sil 19, OV 1701)<sup>۱</sup> پوشانده شده، استفاده شود.

یادآوری - زمان‌های بازداری بی‌فنیل چندکلره روی ستون‌های مختلف در پیوست ب ارائه شده است.

## ۹ نگهداری و حفظ نمونه

۹-۱ نگهداری نمونه

نمونه‌ها باید بلافاصله پس از نمونه‌برداری آنالیز شوند، به خصوص اگر بررسی مواد جامدی مورد نظر باشد که از نظر میکروبیولوژی فعالند.

در صورت لزوم، نمونه‌های لجن باید طبق استاندارد ISO 5667-15 نگهداری شوند.

نمونه‌های خشک شده را می‌توان در محل تاریک در دمای اتاق تا یک ماه نگهداری کرد. نمونه‌های جامد باید طبق استاندارد ISO 18512 نگهداری شوند.

---

۱ - CP-Sil 19, OV 1701 یک مثال از مواد موجود تجاری بوده و به منزله تایید سازمان ملی استاندارد ایران نمی‌باشد.

۲-۹ پیش تصفیه نمونه

اگر هیچ روش دیگری مشخص نشده باشد، نمونه‌ها را طبق استاندارد EN 16179 با در نظر گرفتن روش‌های خشک کردن مشخص شده طبق جدول ۳، برای به دست آوردن نمونه پیش تصفیه کنید.

برای کاهش مقدار رطوبت به منظور توانایی استخراج بی‌فیل‌های چندکله و افزایش همگنی، پیش تصفیه ضروری است.

خشک کردن کامل نمونه در صورت استفاده از سوکسله برای استخراج یا برای افزایش همگنی ضروری است.

خشک کردن کامل در صورتی که نمونه برای مدت طولانی نگهداری شود، نیز توصیه می‌شود.

جدول ۳- شیوه‌های خشک کردن نمونه‌ها با ماتریس‌های مختلف برای آنالیز بعدی بی‌فیل چندکله

بدون خشک کردن	شیوه‌های خشک کردن			ماتریس
	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	خشک کردن در یخچال (ISO 16720)	خشک کردن در هوا	
	×	<sup>a</sup> ×	×	لجن
×	×	×		پسماند زیستی (پوسال، پسماند مخلوط)
×	×	×	×	خاک (مانند شن و خاک رس)

<sup>a</sup> Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> می‌تواند برای محافظت لجن خشک شده هیدروسکوپی مورد استفاده قرار گیرد.

۱۰ روش آزمون

۱-۱۰ آزمون بلانک

آزمون بلانک را با پیروی از روش به کار رفته (روش‌های منتخب برای استخراج و پاک‌سازی) با استفاده از مقادیر یکسان واکنشگرهای مورد استفاده برای پیش تصفیه، استخراج، پاک‌سازی و آنالیز نمونه انجام دهید. بلانک را برای اثبات رهایی از آلودگی‌ها، بلافاصله قبل از آنالیز نمونه‌ها آنالیز کنید. بلانک باید کمتر از ۵۰٪ پایین‌ترین حد گزارش شده باشد.



## ۱۰-۲ استخراج

### ۱۰-۲-۱ کلیات

بسته به نمونه (ماتریس و مقدار رطوبت)، روش استخراج مناسبی انتخاب کنید (به جدول ۴ مراجعه شود). اگر شکستن توده در نمونه برای دسترسی به بی‌فنیل‌های چندکلره مهم باشد، روش‌های استخراج ۱ (زیربند ۱۰-۲-۲) یا ۳ (زیربند ۱۰-۲-۴) توصیه می‌شوند. این روش‌ها باید در نمونه‌های مرطوب برای حذف آب به کار گرفته شوند. اگر انحلال بی‌فنیل‌های چندکلره، مرحله خیلی مهمی باشد (پسماند و مواد غنی از مواد آلی) و نمونه خشک باشد، روش استخراج ۲ (زیربند ۱۰-۲-۳) با استفاده از سوکسله توصیه می‌شود. معلوم شده است که روش سوکسله برای لجن، قابل استفاده است. در صورت وجود پلاستیک‌ها، نباید از استون استفاده شود، چون که استفاده از استون منجر به مقادیر زیادی از هم‌استخراج‌ها، می‌شود. با این وجود، نمی‌توان از یک قاعده کلی استفاده کرد، چون نمونه‌ها ممکن است شامل همه مواد توده شده، ماده آلی و پسماند (پلاستیک) باشد.

از روش‌های دیگر استخراج، مانند استخراج فراصوتی، میکروویو یا استخراج مایع با فشار زیاد به شرط زیر می‌توان استفاده کرد:

- آزمایشگاه بتواند اثبات کند که کارایی استخراج برابر روش‌های استخراج ۱، ۲ و ۳ توصیف شده در این استاندارد است،
- نمونه به رویکرد دیگری نیاز دارد که توسط آزمایشگاه ارائه شده و نتایج حاصل از روش‌ها در توافق با معیار عملکرد توصیف شده در زیربندهای ۱۰-۷-۴ و ۱۰-۸-۶ است.

**یادآوری** - معلوم شده است برای استفاده از این استاندارد در برخی انواع پسماندها، افزایش استون به استخراج سوکسله موثر بوده است.

روش‌های استخراج توصیف شده در این استاندارد، برای استخراج g ۲۰ نمونه خشک مناسب هستند. اگر نمونه چگالی کمی داشته باشد (برخی پسماندها) یا اگر نمونه همگن باشد، بسته به مقدار قابل انتظار بی‌فنیل چندکلره و همگنی نمونه، می‌توان از نمونه کمتری استفاده کرد. در کل مقادیر زیر از نمونه می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد: g ۲ تا g ۱۰ لجن شهری، g ۵ تا g ۲۰ پوسال و g ۲ تا g ۲۰ پسماند زیستی. مقدار نمونه باید با دقت حداقل ۱٪ توزین شود.

جدول ۴- روش های استخراج مورد استفاده برای ماتریس های مختلف

ملاحظات	روش استخراج	فن استخراج	حلال استخراج	ماتریس	وضعیت نمونه از نظر رطوبت
	روش استخراج ۱ (زیربند ۱۰-۲-۲)	همزدن (تکان دادن شدید)	استون/اتر نفت	مواد شبه خاک، لجن، پسماند زیستی، پوسال	خشک
	روش استخراج ۲ (زیربند ۱۰-۲-۳)	سوکسله، استخراج مایع تحت فشار	اتر نفت	لجن، پسماند زیستی، پوسال	
برای نمونه های مرطوب با ماده خشک % ۷۵ □ نیز کاربرد دارد.	روش استخراج ۱ (زیربند ۱۰-۲-۲)	همزدن (تکان دادن شدید)	استون/اتر نفت	مواد شبه خاک، پسماند زیستی، پوسال	مرطوب
	روش استخراج ۳ (زیربند ۱۰-۲-۴)	همزدن (تکان دادن شدید)	استون/اتر نفت / NaCl	مواد شبه خاک، پسماند زیستی، پوسال	

۱۰-۲-۲ روش استخراج ۱: استفاده از استون/اتر نفت و همزدن نمونه ها

آزمونه را در بطری (زیربند ۸-۱-۱) قرار دهید. حجم مشخصی از محلول استاندارد داخلی ثانویه (زیربند ۷-۵-۲) بیفزایید. ۵۰ ml استون (زیربند ۷-۲-۱) به آزمونه بیفزایید و به مدت ۳۰ min تکان دهید تا مواد توده ای بشکنند و استخراج شوند. سپس ۵۰ ml اترنفت (زیربند ۷-۲-۳) بیفزایید و دوباره دست کم به مدت ۱۲ h به طور کامل تکان دهید. از یک وسیله افقی برای تکان دادن (زیربند ۸-۱-۲) استفاده کنید که تا حد امکان حلال در بطری حرکت (وضعیت افقی) داشته باشد. پس از ته نشین شدن مواد جامد، مایع رویی را سرریز کنید. فاز جامد را با ۵۰ ml اترنفت (زیربند ۷-۲-۳) شستشو دهید و دوباره سرریز کنید. حاصل استخراج را در قیف جداکننده (زیربند ۸-۱-۴) بریزید و استون را با تکان دادن و با افزودن دو مرتبه و هر بار ۴۰۰ ml آب (زیربند ۷-۲-۵) خارج کنید. حاصل استخراج را با سدیم سولفات بدون آب (زیربند ۷-۲-۴) خشک کنید. سدیم سولفات را با اترنفت (زیربند ۷-۲-۳) بشویید و حاصل شستشو را به محصول استخراج بیفزایید.

یادآوری ۱- معلوم شده است که آب شیر به دلیل عدم وجود ترکیبات هدف، برای حذف استون قابل استفاده است.

اگر آب نمونه تا ۲۵٪ باشد، از همان روش می‌توان استفاده کرد. اگر مقدار آب نمونه بیش از ۲۵٪ باشد، این روش کمتر موثر بوده و مقدار استون باید افزایش یابد. بهتر است نسبت استون به آب ۹ به ۱ و نسبت استون به اتر نفت در حد ۲ به ۱ ثابت نگهداشته شود.

مقدار استاندارد داخلی افزوده شده در تمامی روش‌های استخراج باید در حدی باشد که غلظت آنها در حاصل استخراج نهایی در گستره کاری روش اندازه‌گیری قرار گیرد. برای مثال غلظت تک‌تک استانداردهای داخلی در حاصل استخراج نهایی  $0.1 \mu\text{g/ml}$  است. به منظور مرطوب کردن کامل نمونه، توصیه می‌شود کمینه مقدار استاندارد داخلی  $100 \mu\text{l}$  باشد.

**یادآوری ۲-** در ماتریس‌های حاوی مقدار زیاد ماده آلی (مانند برخی لجن‌ها)، ممکن است روش‌های استخراج طولانی‌تر ضرورت داشته باشد. ممکن است استفاده از روش استخراج ۲ (زیربند ۱۰-۲-۳) برای این نمونه‌ها ارجح باشد.

**۱۰-۲-۳ روش استخراج ۲: استفاده از سوکسله برای نمونه‌ها**

آزمونه را در لوله استخراج (زیربند ۸-۱-۶) بریزید. مقدار مشخصی محلول استاندارد داخلی ثانویه (زیربند ۷-۵-۳) بیفزایید و حدود  $70 \text{ ml}$  حلال استخراج (زیربند ۷-۲-۲) به ظرف استخراج بریزید. نمونه را با دستگاه استخراج سوکسله (زیربند ۸-۱-۶) استخراج کنید. مدت استخراج بهتر است حداقل  $100$  چرخه استخراج باشد.

**یادآوری-** اگر نمونه جاذب رطوبت<sup>۱</sup> باشد و قبل از آنالیز خشک نشده باشد، به نمونه  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  بیفزایید تا ماده سیال آزاد را جذب کند.

ممکن است از استخراج مایع تحت فشار نیز استفاده شود.

**۱۰-۲-۴ روش استخراج ۳: نمونه‌ها با استفاده از استون/اتر نفت / سدیم کلرید و هم‌زدن**

مقداری نمونه را بردارید و در بطری ۱ لیتری (زیربند ۸-۱-۱) بریزید. مقدار مشخصی محلول استاندارد داخلی ثانویه (زیربند ۷-۵-۳) بیفزایید. اگر نمونه خشک باشد،  $50 \text{ ml}$  آب بیفزایید. برای نمونه‌های مرطوب، مقدار آبی که افزوده می‌شود از فرمول ۱ محاسبه می‌شود:

$$m_W = 50 - \frac{m_E \cdot m_{H_2O}}{100} \quad (1)$$

که در آن:

$m_W$  جرم آبی که افزوده می‌شود، بر حسب گرم (g)؛

$m_E$  جرم نمونه الک شده، بر حسب گرم (g)؛

$m_{H_2O}$  جرم مقدار آب نمونه که طبق استاندارد EN 15934 تعیین می‌شود، بر حسب درصد (%).

۴۰ g سدیم کلرید (زیربند ۶-۲-۷)، ۱۰۰ ml استون (زیربند ۱-۲-۷) و ۵۰ ml اترنفت (زیربند ۳-۲-۷) برای آماده‌سازی‌های مرطوب کردن بیفزایید، بطری نمونه را ببندید و با استفاده از وسیله تکان دهنده (زیربند ۲-۱-۸) به مدت ۱۲ h تکان دهید.

فاز آلی در صورت لزوم باید با استفاده از سانتریفیوژی با کاپ‌های قابل درزبندی جدا شود. حاصل استخراج را در یک قیف جدا کننده به گنجایش ۱ l جمع‌آوری کنید و استون را دو مرتبه با تکان دادن با ۴۰۰ ml آب (زیربند ۵-۲-۷) خارج کنید. محصول استخراج را با سدیم سولفات بدون آب (زیربند ۴-۲-۷) خشک کنید و محصول استخراج خشک شده را به تغلیظ کننده (زیربند ۷-۱-۸) منتقل کنید. سدیم سولفات را با اترنفت (زیربند ۳-۲-۷) شستشو دهید و حاصل شستشو را به حاصل استخراج اضافه کنید.

### ۳-۱۰ تغلیظ

سنگ جوش (زیربند ۸-۱-۸) را به محصول استخراج بیفزایید و محصول استخراج را با عمل تبخیر با استفاده از تغلیظ کننده (زیربند ۷-۱-۸) تا حدود تقریبی ۱۰ ml تغلیظ کنید. محصول استخراج تغلیظ شده را به لوله آزمون کالیبره شده (زیربند ۱۰-۱-۸) منتقل کنید و با استفاده از جریان ملایم گاز نیتروژن یا گاز بی‌اثر دیگر در دمای اتاق تا ۱ ml تغلیظ کنید. در صورت استفاده از روش پاک‌سازی ح، تغلیظ ضروری نیست. حجم نهایی محصول استخراج را ثبت کنید.

در نمونه‌های به شدت آلوده، کسری از نمونه را برای پاک‌سازی بیشتر مورد استفاده قرار دهید. کسر  $f$  محصول استخراج مورد استفاده برای پاک‌سازی بیشتر را پایدار کنید. اگر از ترکیبات هم‌نوع نشان‌دارنده به عنوان استاندارد داخلی افزوده شده به نمونه استفاده می‌شود، مقدار مشخصی از محلول استاندارد داخلی ثانویه حاوی هم‌نوع‌های  $^{13}C_{12}$  را بیفزایید.

برای جلوگیری از کاهش فرارترین بی‌فنیل‌های چندکلره، تبخیر تا خشک شدن کامل مجاز نیست. افزایش مقدار کم (یک قطره) نگهدارنده ماده (زیربند ۷-۲-۷) توصیه می‌شود.

### ۴-۱۰ پاک‌سازی محصول استخراج

#### ۱-۴-۱۰ کلیات

در صورت وجود ترکیباتی که بر ترکیبات هم‌نوع بی‌فنیل‌های چندکلره مورد نظر در کروماتوگرام گازی مزاحمت ایجاد می‌کنند، یا ترکیباتی که بر روش GC (یعنی آلودگی سامانه کروماتوگرافی) تاثیر دارند، از پاک‌سازی باید استفاده شود. اگر مواد مزاحم وجود نداشته باشند یا مقدار آن‌ها قابل چشم‌پوشی باشند، پاک‌سازی ضرورتی ندارد. بسته به نوع موادی که باید حذف شود، از جدول ۵ باید استفاده شود. در صورتی

که حذف ترکیبات قطبی ضروری باشد، بازیافت‌های بی‌فنیل‌های چندکلره کم کلردار شده باید مورد توجه قرار گیرد.

جدول ۵- روش‌های پاک‌سازی

روش	پاک‌سازی	برای حذف	مناسب برای	ملاحظات
پاک‌سازی الف	آلومینیم اکسید	ترکیبات قطبی		تنظیم مقدار آب مشکل بوده و آن را ثابت نگه دارید.
پاک‌سازی ب	سیلیکا	ترکیبات قطبی		توجه: برخی سیلیکاها می‌توانند حاوی آلودگی‌های کم بی‌فنیل‌های چندکلره باشد
پاک‌سازی پ	زل تراوایی	ترکیبات با مولکول‌های درشت، چربی‌ها	MS	
پاک‌سازی ت	فلوریسیل <sup>®</sup>	ترکیبات قطبی		پس از این پاک‌سازی، آنالیز آفت‌کش‌ها ممکن است
پاک‌سازی ث	NaOH سیلیکا/ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			مناسب برای نمونه‌های حاوی چربی
پاک‌سازی ج	بنزن سولفونیک اسید/ سولفوریک اسید	ترکیبات قطبی، آروماتیک‌ها، بازها، ترکیبات هترو، روغن		مناسب برای نمونه‌های حاوی روغن‌های معدنی با غلظت زیاد
پاک‌سازی چ	DMF/هگزان	هیدروکربن‌های آلیفاتیک، روغن	MS	
پاک‌سازی ح	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> غلیظ	چربی‌ها		
پاک‌سازی خ	TBA	سولفور	ECD	
پاک‌سازی د	Cu	سولفور	ECD	
پاک‌سازی ذ	سیلیکا/ AgNO <sub>3</sub>	سولفور+ ترکیبات قطبی	ECD	MS نیز قابل به‌کارگیری است

قبل از اعمال پاک‌سازی در نمونه‌های واقعی، آزمایشگاه باید اطمینان حاصل کند که پس از استفاده پاک‌سازی برای یک استاندارد، بازیابی تمامی ترکیبات هم‌نوع مربوط (شامل استانداردهای داخلی) دست‌کم ۸۰٪ است.

از روش‌های دیگر پاک‌سازی هم به شرطی می‌توان استفاده کرد که پیک‌های مزاحم در کروماتوگرام حذف شوند و پس از استفاده از پاک‌سازی حداقل ۸۰٪ ترکیبات هم‌نوع مربوط (شامل استانداردهای داخلی) بازیابی شوند.

محصول استخراج حاصل از زیربند ۱۰-۳ در مرحله پاک‌سازی قبلی باید به طور کمی به سامانه پاک‌سازی منتقل شود، ولی ممکن است کسری از آن نیز مورد استفاده قرار گیرد.

#### ۱۰-۴-۲ پاک سازی الف- آلومینیم اکسید

یک ستون جاذب را بدین ترتیب آماده کنید: تکه کوچکی الیاف کوارتز (زیربند ۸-۱-۹) در لوله کروماتوگرافی (زیربند ۸-۱-۱۱) بگذارید و آن را با  $g \pm 0.1$  ۲۱۰ آلومینیم اکسید خشک پر کنید.

محصول استخراج را به ستون جاذب پر شده خشک وارد کنید. لوله آزمایش را دو مرتبه با ۱ ml اترنفت (زیربند ۷-۲-۳) بشویید و محلول شستشو را با همان پی‌پت، با سرعتی که سطح مایع به کناره بالایی ستون پر شده برسد، به ستون منتقل کنید. شویش را با حدود ۲۰ ml اترنفت انجام دهید. همه محلول حاصل از شویش را جمع‌آوری کنید.

نگهدارنده ماده (زیربند ۷-۲-۷) را به محلول شویش بیفزایید و حجم آن را تا حد مطلوب کاهش دهید (به زیربند ۱۰-۳ مراجعه شود).

اگر از بچ جدید آلومینیم اکسید استفاده می‌کنید، حجم حلال برای شویش بی‌فنیلهای چندکلره هم‌نوع مشخص شده از ستون باید با استفاده از محلول استاندارد بی‌فنیله چندکلره مناسب تعیین شود.

**یادآوری-** در صورت مناسب بودن، می‌توان از کارتریج‌های آلومینیم اکسید تجاری موجود استفاده کرد. اگر عملکرد ستون در توافق با زیربند ۸-۲-۲ باشد، ستون مناسب است.

#### ۱۰-۴-۳ پاک سازی ب- سیلیکاژل

درون لوله کروماتوگرافی (زیربند ۸-۱-۱۱)، مقداری الیاف شیشه (زیربند ۸-۱-۹) و ۱۰ g سیلیکاژل (زیربند ۷-۲-۳-۲) بریزید. سپس لایه‌ای از سدیم سولفات (زیربند ۷-۲-۴) به اندازه ۱ cm بیفزایید و ۲۰ ml اترنفت (زیربند ۷-۲-۳) بریزید. وقتی سطح مخلوط حلال تا ۰/۵ سانتی‌متری بالای ستون پُر شده، رسید، محصول استخراجی را به ستون اعمال کنید.

شویش را با ۱۰ ml اترنفت (زیربند ۷-۲-۳) انجام دهید. نگهدارنده ماده (زیربند ۷-۲-۷) را به محلول شویش بیفزایید و سپس حجم محلول را تا حجم مطلوب برسانید (به زیربند ۱۰-۳ مراجعه شود).

#### ۱۰-۴-۴ پاک سازی پ- کروماتوگرافی ژل تراوایی

حجم استخراجی را تحت جریان ملایم گاز نیتروژن به دقت کاهش دهید. باقی‌مانده را بلافاصله در ۵ ml مخلوط حلال اتیل استات (زیربند ۷-۳-۲) و سیکلوهگزان (زیربند ۷-۳-۳) به نسبت ۱ به ۱ حل کنید. باقی‌مانده حل شده را روی ستون GPC قرار دهید.

مخلوط حلال برای GPC برای شویش مورد استفاده قرار می‌گیرد.

تنظیمات سامانه GPC به شرح زیر است:

۵ ml/min

دبی جریان:

حجم حلقه نمونه:	۵ ml
اولین کسر (جزء)	۱۲۰ ml (۲۴ min)
شویش بی فنیل چندکلره	۱۵۵ ml (۳۱ min)
آخرین کسر (جزء)	۲۰ ml (۴ min)

حجم‌های شویش اولین کسر، محلول شویش شده و آخرین کسر باید مطابق مقادیر توصیه شده باشند و باید به طور منظم با محلول استاندارد PCB چندجزئی تصدیق شوند.

نگهدارنده ماده (زیربند ۷-۲-۷) را به محلول شویش شده بیفزایید و سپس حجم آن را تا حجم مطلوب کاهش دهید (به زیربند ۱۰-۳ مراجعه شود).

یادآوری - در مدت استفاده از ستون ژل تراوایی ممکن است تغییر کوچکی در حجم روی دهد. این عمل در کم شدن بازیابی استانداردهای داخلی قابل مشاهده است. در این حالت، ممکن است تنظیم دوباره حجم ضروری باشد.

#### ۱۰-۴-۵ پاک‌سازی ت-فلوریسیل®

درون لوله کروماتوگرافی (زیربند ۸-۱-۱۱)، ۵ mm سدیم سولفات (زیربند ۷-۲-۴)، ۱/۵ g فلوریسیل (زیربند ۷-۳-۴-۱) و دوباره ۵ mm سدیم سولفات بریزید. برای تثبیت مخلوط، الیاف پشم شیشه (زیربند ۸-۱-۹) روی آن قرار دهید. ستون را با حدود ۵۰ ml ایزواکتان (زیربند ۷-۳-۴-۲) شستشو دهید. محصول استخراج را به ستون اعمال کنید. لوله/ظرف استخراج را دو مرتبه با ۱ ml ایزواکتان/تولون با نسبت ۹۵ به ۵ (زیربند ۷-۳-۴-۳) بشویید و به ستون بیفزایید. پس از آن با ۷ ml ایزواکتان/تولون بشویید. یک قطره نگهدارنده ماده (زیربند ۷-۲-۷) به محلول شویش شده بیفزایید و حجم آن را به حجم مطلوب برسانید (به زیربند ۱۰-۳ مراجعه شود).

#### ۱۰-۴-۶ پاک‌سازی ت- NaOH سیلیکا / H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> سیلیکا

فاز ترکیبی NaOH سیلیکا / H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> سیلیکا برای حذف ترکیبات قطبی، ترکیبات آروماتیک چندحلقه‌ای و تری‌گلیسریدها موثر است.

یک ستون جاذب را با ریختن متوالی ۱ g NaOH سیلیکا (زیربند ۷-۳-۵-۴)، ۵ g H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> سیلیکا (زیربند ۷-۳-۵-۲) و ۲ g سدیم سولفات (زیربند ۷-۲-۴) در یک ستون کروماتوگرافی تمیز (زیربند ۸-۱-۱۱) آماده کنید. مقدار مناسبی نرمال هگزان (زیربند ۷-۳-۵-۵) بیفزایید و تا زمانی که فاز هگزان به بالای لایه سدیم سولفات برسد، شویش را ادامه دهید. محصول استخراج را بالای لایه سدیم سولفات اعمال کنید و درون لایه سدیم سولفات نفوذ دهید. با حدود ۶۰ ml هگزان شویش کنید و کسر هگزان را به طور کامل جمع‌آوری کنید. یک قطره نگهدارنده ماده (زیربند ۷-۲-۷) به محلول شویش شده بیفزایید و حجم آن را به حجم مطلوب برسانید (به زیربند ۱۰-۳ مراجعه شود).

## ۷-۴-۱۰ پاک‌سازی ج - بنزن سولفونیک اسید/سولفوریک اسید

اگر نمونه حاوی مقادیری زیادی روغن باشد، پیش تصفیه بنزن سولفونیک اسید/سولفوریک اسید موثر است. کارتریج سیلیکا را با سه مرتبه شویش توسط ۲ ml هگزان شرایطدهی کنید. محلول شویش را دور بریزید و ستون را خشک کنید. ۵۰۰ µl محصول استخراج را به ستون اعمال کنید و اجازه دهید به آرامی در ستون نفوذ کند. پس از ۳۰ s، دو مرتبه ۱ ml حلالی شبیه هگزان (زیربند ۷-۳-۵-۵) به ستون بیفزایید و ۳۰ s دیگر منتظر بمانید. PCB را سه مرتبه و هر بار با ۰.۵ ml حلال شبیه هگزان (زیربند ۷-۳-۵-۵) شویش دهید. نگهدارنده ماده (زیربند ۷-۲-۷) به محلول شویش شده بیفزایید و حجم آن را به حجم مطلوب برسانید (به زیربند ۱۰-۳ مراجعه شود).

## ۸-۴-۱۰ پاک‌سازی چ - DMF/ هگزان برای حذف هیدروکربن‌های آلیفاتیک

استخراجی‌های حاصل از نمونه‌ها با مقادیر زیاد ترکیبات آلیفاتیک (مانند روغن)، به پاک‌سازی بیشتری با دی‌متیل‌فرمامید/هگزان نیاز دارند. این مرحله پاک‌سازی بیشتر فقط باید در حالت GC-MS استفاده شود نه در حالت GC-ECD. در واقع در حالت اخیر (GC-ECD)، محصولات استخراج رقیق‌تر می‌شوند و مزاحمت‌های ناشی از هیدروکربن‌های آلیفاتیک در سیگنال ECD قابل انتظار نیستند.

محصول استخراج را به قیف جداکننده ۱۰۰ ml منتقل کنید و PCB را با ۲۵ ml دی‌متیل‌فرمامید (زیربند ۷-۳-۷-۱) استخراج کنید. این عمل را دوبار تکرار کنید. محصول استخراج‌های حاصل از دو بار استخراج را به قیف جداکننده ۵۰۰ ml منقل کنید، ۱۰۰ ml آب (زیربند ۷-۲-۵) بیفزایید و PCB را با ۵۰ ml هگزان (زیربند ۷-۳-۵-۵) استخراج کنید. این عمل را یک بار تکرار کنید. یک قطره نگهدارنده ماده (زیربند ۷-۲-۷) به محلول شویش شده بیفزایید و حجم آن را به حجم مطلوب برسانید (به زیربند ۱۰-۳ مراجعه شود).

## ۹-۴-۱۰ پاک‌سازی ج - سولفوریک اسید غلیظ

در صورت وجود ترکیبات قابل سولفون‌شدن، استفاده از این روش تصفیه توصیه می‌شود. استفاده از ماسک صورت، دستکش‌ها و لباس‌های محافظ ضروری است.

محصول استخراج را به یک ویال شیشه‌ای سرپوش‌دار منتقل کنید. محصول استخراج را با ۲۰ ml اترنفت (زیربند ۷-۲-۳) رقیق کنید. در ۵ ml سولفوریک اسید غلیظ (زیربند ۷-۳-۸-۱) بریزید و با فواصل زمانی ۵ min به شدت تکان دهید. پس از ۱۵ min به طور کامل جدا کنید. لایه بالایی را بردارید، سولفوریک اسید باقی‌مانده را با اترنفت شستشو دهید. نگهدارنده ماده (زیربند ۷-۲-۷) را به محلول شویش شده بیفزایید و حجم آن را به حجم مطلوب برسانید (به زیربند ۱۰-۳ مراجعه شود).



#### ۱۰-۴-۱۰ پاک‌سازی خ- واکنشگر سولفیت TBA

۲ ml واکنشگر سولفیت TBA (زیربند ۷-۳-۹-۱) را به ۱ ml محصول استخراج تغلیظ‌شده بیفزایید و به مدت ۱ min تکان دهید. ۱۰ ml آب (زیربند ۷-۲-۵) بیفزایید و دوباره به مدت ۱ min تکان دهید. فاز آلی را با پیپت پاستور از آب جدا کنید و برای حذف باقیمانده جزئی آب، چند بلور سدیم سولفات بدون آب (زیربند ۷-۲-۴) بیفزایید.

#### ۱۱-۴-۱۰ پاک‌سازی د- پاک‌سازی با استفاده از مس قابل اشتعال برای حذف سولفور عنصری و برخی ترکیبات آلی دیگر سولفور

۱ ml محصول استخراج (در اترنفت) به یک لوله سانتریفیوژ بیفزایید. ۱۰۰ mg پودر مس قابل اشتعال (که طبق روش زیربند ۷-۳-۱۰ تهیه شده است) بیفزایید. به مدت بیش از ۵ min با دور ۳۵۰۰ rpm سانتریفیوژ کنید. اطمینان حاصل کنید که هیچ کدورت قابل مشاهده‌ای وجود ندارد. محصول استخراج را بردارید و در صورت لزوم با کروماتوگرافی ستونی بیشتر پاک‌سازی کنید.

#### ۱۲-۴-۱۰ پاک‌سازی ذ- سیلیکا/AgNO<sub>3</sub>

به یک لوله کروماتوگرافی (زیربند ۸-۱-۱۱) سدیم سولفات (زیربند ۷-۲-۴) مثلاً به ارتفاع ۵ mm و ۲ g مخلوط سیلیکا/AgNO<sub>3</sub> (زیربند ۷-۳-۱۱-۲) و دوباره به ارتفاع ۵ mm سدیم سولفات (زیربند ۷-۲-۴) بیفزایید. ستون را با حدود ۵۰ ml هگزان (زیربند ۷-۳-۵-۵) بشویید. محصول استخراج را به ستون پر شده اعمال کنید. ظرف استخراج را سه مرتبه با ۲ ml هگزان بشویید و روی ستون قرار دهید، زمانی که قسمت زیرین حلال محصول استخراج به سطح سدیم سولفات (زیربند ۷-۲-۴) رسید. به همان روش ۴۰ ml هگزان را روی ستون بیفزایید. نگهدارنده ماده (زیربند ۷-۲-۷) به محلول شویش شده بیفزایید و حجم آن را به حجم مطلوب برسانید (به زیربند ۱۰-۳ مراجعه شود).

اگر محلول شویش شده پس از استخراج رنگی باشد، بهتر است روش را تکرار کنید.

#### ۱۰-۵ افزایش استاندارد تزریق

پس از پاک‌سازی محصول استخراج، مقدار مناسبی از استاندارد تزریق ثانویه (زیربند ۷-۶-۳) را به محصول استخراج بیفزایید (این مقدار باید با غلظت استاندارد کالیبراسیون هماهنگ باشد). حجم نهایی V را ثبت کنید.

#### ۱۰-۶ آنالیز کروماتوگرافی گازی (GC)

##### ۱۰-۶-۱ کلیات

هر دو آشکارساز GC و ECD مجاز هستند، اما در حالت‌های خاص، فقط یکی از این دو مورد منجر به

نتیجه مناسب می‌شود. در کل، استفاده از آشکارساز MS توصیه می‌شود. در موارد زیر ممکن است استفاده از آشکارساز ECD ارجح باشد:

- وجود روغن معدنی. حذف روغن معدنی ممکن است مشکل باشد، چون که قطبیت این ترکیبات می‌تواند با قطبیت PCBها قابل مقایسه باشد. یک آشکارساز ECD به روغن معدنی و پاک‌سازی حساس نیست و پاک‌سازی با کارایی کمتر نیز امکان‌پذیر است.
  - با استفاده از آشکارساز ECD، الگوی PCBها با آسانی بیشتری شناسایی می‌شود.
  - یک آشکارساز ECD می‌تواند برای غربال‌سازی اولیه برای انتخاب نمونه‌های حاوی بی‌فنیل‌های چندکلره با غلظت بیشتر از کمینه مقدار گزارش شده مورد استفاده قرار گیرد.
- برای کمی‌سازی در هر دو فن آشکارسازی، از روش استاندارد داخلی استفاده می‌شود.

#### ۱۰-۶-۲ تنظیمات کروماتوگراف گازی

کروماتوگراف گازی (زیربند ۸-۲) را به روشی تنظیم کنید که بی‌فنیل‌های چندکلره به طور مناسب جداسازی شوند (به زیربند ۵-۲ مراجعه شود). کروماتوگراف گازی را با شروع از شرایط زیر بهینه کنید:

- ستون جداسازی
- برنامه دمایی آون
- ستون موئین (به زیربند ۸-۲-۲ مراجعه شود)
- ۶۰ °C، ۲ min؛
- ۳۰ °C/min تا ۱۲۰ °C؛
- ۵ °C/min تا ۳۰۰ °C؛
- ۳۰۰ °C، ۱۵ min؛
- ۲۶۰ °C؛

دمای دریچه تزریق

تزریق تقسیم نشده

گاز حامل

پیوست ب، ترتیب شویش بی‌فنیل‌های چندکلره هدف را در دو ستون مختلف ارائه می‌دهد.

#### ۱۰-۷ طیف‌سنجی جرمی (MS)

##### ۱۰-۷-۱ شرایط طیف‌سنجی جرمی

طیف‌سنجی جرمی را مطابق دستورالعمل سازنده تنظیم کنید. کروماتوگرام‌ها با روبش کامل یا حالت پایش/ثبت یون انتخابی (SIM/SIR)<sup>۱</sup> ثبت می‌شوند. یون‌هایی که انتخاب می‌شوند در جدول ۶ ارائه شده‌اند. برای

1 - Selected ion monitoring/recording mode

هر هم‌نوع اصلی، دو یون با ساخت قسمتی از خوشه ایزوتوپ کلر یون مولکول و قطعات یونی خاص انتخاب می‌شوند.

جدول ۶- یون تشخیصی بی‌فنیل‌های چندکلره برای استفاده با آشکارساز MS

ترکیب	یون تشخیصی ۱ $m/z$	یون تشخیصی ۲ $m/z$	یون تشخیصی ۳ $m/z$
PCB28	۲۵۶ (۱۰۰)	۲۵۸ (۷۴)	۱۸۶ (۸۲)
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -PCB28	۲۶۸	۲۷۰	
PCB52	۲۹۲ (۱۰۰)	۲۹۴ (۴۹)	۲۲۰ (۹۵)
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -PCB52	۳۰۴	۳۰۶	
PCB101	۳۲۶ (۱۰۰)	۳۲۸ (۶۵)	۲۵۶ (۶۲)
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -PCB101	۳۳۸	۳۴۰	
PCB118	۳۲۶ (۱۰۰)	۳۲۸ (۶۲)	۲۵۴ (۵۷)
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -PCB118	۳۳۸	۳۴۰	
PCB138	۳۶۰ (۱۰۰)	۳۵۸ (۴۲)	۲۹۰ (۱۰۶)
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -PCB138	۳۷۲	۳۷۴	
PCB153	۳۶۰ (۱۰۰)	۳۶۲ (۹۲)	۳۲۴ (۷۳)
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -PCB153	۳۷۲	۳۷۴	
PCB180	۳۹۴ (۱۰۰)	۳۹۶ (۹۶)	۳۲۴ (۸۴)
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -PCB180	۴۰۶	۴۰۸	

یادآوری - مقادیر داخل پرانتز مقادیر مرزی هستند که برای یون تشخیصی ۱ نرمالیزه شده‌اند. مقادیر یون‌های تشخیصی ۱ و ۲ می‌تواند به سامانه MS و شرایط واقعی آن بستگی داشته باشند. بهتر است مقادیر نشان داده شده به عنوان نشانه در نظر گرفته شوند.

#### ۱۰-۷-۲ کالیبراسیون روش با استفاده از استاندارد داخلی

##### ۱۰-۷-۲-۱ کلیات

این یک روش مستقل برای تعیین غلظت‌های جرمی است و از خطاهای تزریق، حجم آب موجود در نمونه یا اثرات ماتریس در نمونه متاثر نمی‌شود، مشروط بر این که بازیابی ترکیبات مورد آنالیز با بازیابی استاندارد داخلی برابر باشد.

جرم خاص استاندارد داخلی و استاندارد تزریق (زیربند ۷-۵-۳) را به رقت‌های محلول کالیبراسیون مخلوط (زیربند ۷-۵-۲) بیفزایید. غلظت جرمی هر دو استاندارد باید برای همه محلول‌های کالیبراسیون برابر و با غلظت هر دو استاندارد در محصول استخراج نهایی قابل مقایسه باشد. آنالیز GC-MS را با محلول‌های کالیبراسیون که مطابق زیربند ۷-۵-۲ آماده شده است، اجرا کنید. نسبت پاسخ نسبی PCB اصلی و PCB

نشان دار شده با  $^{13}\text{C}_{12}$  را پس از به دست آوردن نمودار کالیبراسیون با رسم نسبت غلظت جرمی در برابر نسبت سطح پیک (یا ارتفاع پیک) با استفاده از فرمول (۲) محاسبه کنید:

$$\frac{A_n}{A_{C13}} = s \cdot \frac{\rho_n}{\rho_{C13}} + b \quad (2)$$

که در آن:

- $A_n$  پاسخ اندازه‌گیری شده PCB اصلی، مانند سطح پیک؛
- $A_{C13}$  پاسخ اندازه‌گیری شده PCB نشان‌دار شده با  $^{13}\text{C}_{12}$  به عنوان استاندارد داخلی، مانند سطح پیک؛
- $s$  شیب ضریب کالیبراسیون؛
- $\rho_n$  غلظت جرمی PCB اصلی، در محلول کالیبراسیون، بر حسب میکروگرم بر لیتر ( $\mu\text{g/l}$ )؛
- $\rho_{C13}$  غلظت جرمی PCB نشان‌دار شده با  $^{13}\text{C}_{12}$  به عنوان استاندارد داخلی در محلول کالیبراسیون، بر حسب میکروگرم بر لیتر ( $\mu\text{g/l}$ )؛
- $b$  عرض از مبدا نمودار کالیبراسیون.

دو نوع کالیبراسیون مشخص شده است: کالیبراسیون اولیه (زیربند ۱۰-۷-۲-۲) و کالیبراسیون روزانه (بررسی تاییدی کالیبراسیون اولیه)؛ که مورد دوم به عنوان کالیبراسیون تاییدی (زیربند ۱۰-۷-۲-۳) نامیده می‌شود.

روش‌های کالیبراسیون غیرخطی نیز ممکن است به کار برده شود.

#### ۱۰-۷-۲-۲ کالیبراسیون اولیه

کالیبراسیون اولیه برای تثبیت گستره کاری خطی نمودار کالیبراسیون استفاده می‌شود. این کالیبراسیون زمانی که روش برای اولین بار مورد استفاده قرار می‌گیرد و پس از نگهداری و یا تعمیر تجهیزات اجرا می‌شود.

کروماتوگرام گازی یک مجموعه حاوی حداقل پنج محلول استاندارد (که اختلاف هر غلظت با غلظت بعدی ثابت باشد)<sup>۱</sup> از جمله حلال بلانک را انتخاب کنید. با استفاده از MS یا کروماتوگرام‌های گازی تک‌تک ترکیبات، پیک‌ها را شناسایی کنید. نمودار کالیبراسیون هر ترکیب را تهیه کنید. خطی بودن را مطابق استاندارد ISO 8466-1 بررسی کنید.

استفاده از کالیبراسیون غیرخطی با استفاده از تمامی پنج استاندارد مجاز است. در این حالت، برای

بازکالیبراسیون، پنج استاندارد یکسان باید مورد استفاده قرار گیرد و نه انتخابی از دو کالیبراسیون زیرین (به زیربند ۱۰-۷-۲-۳) مراجعه شود).

#### ۱۰-۷-۲-۳ تصدیق کالیبراسیون

تصدیق کالیبراسیون، گستره کاری خطی نمودار کالیبراسیون اولیه را تایید می کند و باید قبل از هر مجموعه نمونه انجام شود.

برای هر بیج نمونه، حداقل دو استاندارد کالیبراسیون با غلظت  $(20 \pm 10)\%$  و  $(80 \pm 10)\%$  گستره کاری تثبیت شده تزریق کنید و خط مستقیمی از این اندازه گیری ها محاسبه کنید. اگر خط مستقیم در  $\pm 10\%$  مقادیر مرجع خط کالیبراسیون اولیه قرار گیرد، فرض می شود خط کالیبراسیون اولیه تایید شده است. در غیر این صورت، خط کالیبراسیون جدید باید طبق زیربند ۱۰-۷-۲-۲ تثبیت شود.

#### ۱۰-۷-۳ اندازه گیری

کروماتوگرام های گازی محصول استخراجی حاصل را طبق زیربند ۱۰-۵ اندازه گیری کنید. با کمک زمان های بازداری مطلق، پیک های مورد استفاده برای محاسبه زمان های بازداری نسبی را شناسایی کنید. از استاندارد داخلی یا استاندارد تزریقی که تا حد ممکن مشابه پیک PCB کمی شده باشد، استفاده کنید. برای پیک های مربوط دیگر در کروماتوگرام های گازی، زمان های بازداری نسبی را تعیین کنید.

اگر غلظت بیشتر از مقدار لازم برای شناسایی یا کمی سازی مناسب باشد، برای شناسایی یا کمی سازی مناسب بی فنیل های چندکلره از محصول استخراج رقیق شده استفاده کنید یا مقدار کمتری از نمونه را بازاستخراج کنید.

اگر در نتیجه رقت، استاندارد داخلی خارج از گستره خطی قرار گیرد، فرمول ۴ در زیربند ۱۰-۷-۵، کمی سازی مناسبی ارائه نمی دهد و انحراف از خطی بودن باید مورد توجه قرار گیرد.

#### ۱۰-۷-۴ شناسایی

برای شناسایی بی فنیل های چندکلره از استاندارد ISO 22892 استفاده کنید. در استاندارد ISO 22892، معیار کروماتوگرافی و معیار MS لازم برای شناسایی مناسب توصیف شده است. از یون های تشخیصی ارائه شده در جدول ۶ استفاده کنید.

#### ۱۰-۷-۵ بررسی عملکرد روش

از آنجایی که در این استاندارد، استفاده از مدول های مختلف مجاز است، مقایسه پاسخ اندازه گیری شده استاندارد های داخلی و استانداردهای تزریق در هر دو محلول استاندارد عملکرد تزریق شده و نمونه تزریق شده، یک بررسی برای عملکرد کل روش است.

در این آنالیز، حجم‌های زیر باید برای نمونه‌ها یکسان باشد:

- حجم نهایی،
- حجم مشخص استاندارد داخلی،
- حجم مشخص استاندارد تزریق.

این استاندارد عملکردی می‌باشد.

استاندارد عملکردی ممکن است یکی از استانداردهای کالیبراسیون باشد، مشروط بر این که نسبت حجم‌ها (استاندارد داخلی/استاندارد تزریق) یکسان باشد.

برای هر استاندارد داخلی، نسبت بین محلول استاندارد عملکردی و نمونه را با استفاده از نزدیک‌ترین استاندارد تزریق با فرمول ۳ محاسبه کنید:

$$U = \frac{A_1(S)}{A_2(S)} \times \frac{A_2(ps)}{A_1(ps)} \times 100 \quad (3)$$

که در آن:

$U$  نرخ بازیابی، بر حسب درصد (%):

$A_1$  پاسخ اندازه‌گیری شده PCB نشان‌دار شده با  $^{13}\text{C}_{12}$  استاندارد داخلی، مانند سطح پیک؛

$A_2$  پاسخ اندازه‌گیری شده PCB نشان‌دار شده با  $^{13}\text{C}_{12}$  استاندارد تزریق، مانند سطح پیک؛

$ps$  استاندارد عملکردی؛

$S$  نمونه.

نسبت میانگین در نمونه باید دست کم ۷۰٪ و نباید بیش‌تر از ۱۱۰٪ نسبت در استاندارد باشد. در هر یک از بی‌فنیل‌های چندکلره بهتر است نسبت حداقل ۶۰٪ باشد. اگر این مقادیر حاصل نشوند، آنالیز نمونه باید با استفاده از مدول مناسب‌تری تکرار شود.

اگر پاک‌سازی چندگانه ضروری باشد، نسبت‌های کمتری می‌تواند یافت شود، چون که کاهش مراحل پاک‌سازی در این استاندارد پذیرفته شده است. نسبت‌های کمتر در صورتی قابل قبول هستند که بتوان آن را با کاهش پذیرفته شده در هر مرحله پاک‌سازی توضیح داد. حداقل نسبت باید ۵۰٪ باشد.

اگر روش دو مرحله‌ای برای افزایش استاندارد داخلی مورد استفاده قرار بگیرد، نسبت استخراج را بین بی‌فنیل‌های چندکلره نشان‌دار نشده افزوده شده به نمونه و بی‌فنیل‌های چندکلره نشان‌دار شده به محصول استخراج، با استفاده از فرمول ۴ محاسبه کنید:

$$E = \frac{A_{1,\text{mean}}(S) \times f}{A_3(S)} \times \frac{A_3(ps)}{A_{1,\text{mean}}(ps)} \times 100 \quad (۴)$$

که در آن:

$E$	نرخ بازیابی استخراج، بر حسب درصد (./)؛
$A_{1,\text{mean}}$	پاسخ اندازه‌گیری شده میانگین PCB نشان‌دار شده با $^{13}\text{C}_{12}$ به عنوان استاندارد داخلی، مانند سطح پیک؛
$A_3$	پاسخ اندازه‌گیری شده PCB نشان‌دار نشده به عنوان استاندارد داخلی، مانند سطح پیک؛
$f$	جزء استخراج شده اصلی مورد استفاده برای پاک‌سازی؛
$ps$	استاندارد عملکردی؛
$S$	نمونه.

بازیابی محصول استخراج استاندارد نشان‌دار نشده باید حداقل ۷۵٪ باشد.

مقادیر محاسبه شده برای غلظت‌های هم‌نوع‌های اصلی در نمونه فقط زمانی قابل قبول در نظر گرفته می‌شوند که بازیابی‌های استاندارد داخلی در گستره حدودی که قبلاً تعریف شده است، قرار بگیرد. در بقیه موارد، بهتر است مقادیر همان گونه که نشان داده شده‌اند، گزارش شوند.

#### ۱۰-۷-۶ محاسبه

مقدار جرم تک‌تک بی‌فنیل‌های چندکلره را با کالیبراسیون چندنقطه‌ای با استفاده از فرمول ۵ محاسبه کنید. به طور کلی، می‌توان از یون تشخیصی ۱ برای این محاسبه استفاده کرد.

$$w_n = \frac{\left(\frac{A_n}{A_{C13}}\right) - b}{s \cdot m \cdot d_s} \cdot \rho_{C13} \cdot f_e \cdot f_t \cdot V \quad (۵)$$

که در آن:

$w_n$  مقدار تک‌تک بی‌فنیل‌های چندکلره یافت شده در نمونه، بر پایه ماده خشک، بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم (mg/kg)؛

$A_{C13}$  پاسخ اندازه‌گیری شده PCB نشان‌دار شده با  $^{13}\text{C}_{12}$  به عنوان استاندارد داخلی، در محصول استخراج نمونه؛

$A_n$  پاسخ اندازه‌گیری شده PCB اصلی در محصول استخراج نمونه؛

$\rho_{C13}$  جرم PCB نشان‌دار شده با  $^{13}\text{C}_{12}$  به عنوان استاندارد داخلی افزوده شده به نمونه، بر حسب میکروگرم بر لیتر ( $\mu\text{g/l}$ )؛

- $m$  جرم آزمون مورد استفاده برای استخراج، بر حسب گرم (g)؛
- $d_s$  کسر ماده خشک در نمونه مرطوب میدانی که بر اساس استاندارد EN15934 تعیین شده است، بر حسب درصد (/.)؛
- $f_e$  نسبت حجم حلال آلی کل مورد استفاده برای استخراج به کسر مورد استفاده برای آنالیز؛ اگر همه محصول استخراج مورد استفاده قرار گیرد،  $f = 1$ ؛
- $f_i$  ضریب افزایش؛
- $V$  حجم محلول نهایی، بر حسب میلی‌متر (ml)؛
- $s$  شیب ضریب بازکالیبراسیون؛
- $b$  عرض از مبدا نمودار بازکالیبراسیون.
- نتیجه باید بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم (mg/kg) ماده خشک بیان شود و تا دو رقم معنی‌دار گرد شود.

#### ۸-۱۰ آشکارسازی ربایش الکترون (ECD)

##### ۱-۸-۱۰ کلیات

برای استفاده از ECD، به غیر از نکات توصیف شده زیر برای همه مراحل خاص در اندازه‌گیری، می‌توان از همان روش MS پیروی کرد. در ECD، همان ترتیب پاراگراف زیربند ۱۰-۷ مورد استفاده قرار می‌گیرد، فقط تفاوت‌ها توصیف می‌شوند.

##### ۲-۸-۱۰ شرایط ECD

ECD باید در دمای °C ۳۰۰ تا °C ۳۵۰ اجرا شود. برای داشتن بهترین شرایط برای خطی بودن پاسخ آشکارساز از تنظیمات توصیه شده توسط سازنده استفاده کنید.

##### ۳-۸-۱۰ کالیبراسیون روش با استفاده از استانداردهای داخلی

به هنگام استفاده از ECD، بی‌فنیل‌های چندکلره نشان‌دار شده با  $^{13}\text{C}_{12}$  به عنوان استانداردهای داخلی و تزریق استفاده نمی‌شوند ولی استانداردهای توصیف شده در زیربند ۷-۵-۳-۳ به عنوان استانداردهای داخلی و تزریق استفاده می‌شوند. PCB نشان‌دار شده با  $^{13}\text{C}_{12}$  با استاندارد داخلی استفاده شده در فرمول ۲ را جایگزین کنید.

فرمول ۲ باید با جایگزین کردن  $A_{C13}$  به جای  $A_{IS,i}$  و جایگزین کردن  $\rho_{C13}$  به جای  $\rho_{IS,i}$  استفاده شود که:

$A_{IS,i}$  پاسخ اندازه‌گیری شده استاندارد داخلی  $i$ ، برای مثال سطح پیک؛



$\rho_{IS,i}$  غلظت جرمی استاندارد داخلی  $i$  در محلول کالیبراسیون، بر حسب میکروگرم بر لیتر ( $\mu\text{g/l}$ ) است.

#### ۴-۸-۱۰ اندازه‌گیری

به زیربند ۳-۷-۱۰ مراجعه شود.

#### ۵-۸-۱۰ شناسایی

وجود هر گونه ترکیب اختصاصی را با تکرار آنالیز کروماتوگرافی گازی از زیربند ۱-۸-۱۰، با استفاده از GC-MS (مطابق بالا) یا با استفاده از ستونی با فاز قطبیت متوسط (زیربند ۲-۲-۸) در ترکیب با ECD بررسی کنید. طبق استاندارد ISO 22892، سه نقطه شناسایی باید حاصل شود. در اندازه‌گیری با ECD، دست‌کم نتایج را با ستون دیگری بررسی کنید و شناسایی الگوی PCB ضروری است. بهتر است در صورت استفاده از ستون دوم، نتایج در گستره ۱۰٪ باشد. اگر هر دو مورد صحیح باشند، برای شناسایی طبق استاندارد ISO 22892 سه نقطه شناسایی حاصل می‌شوند. اگر یکی اشتباه باشد، فقط نشانه می‌تواند گزارش شود.

#### ۶-۸-۱۰ بررسی عملکرد روش ECD

هنگامی که پیک یک ترکیب مزاحم در موقعیت یکسانی با استاندارد داخلی در کروماتوگرام ظاهر می‌شود، وقوع اشتباه محتمل است. بنابراین، روش زیر برای بررسی ترکیبات مزاحم موجود استفاده می‌شود.

وجود یا عدم وجود ترکیبات مزاحم از روی پاسخ اندازه‌گیری شده استانداردهای تزریق تعیین می‌شود. در صورتی که هیچ ترکیب مزاحمی در محصول استخراج موجود نباشد، نسبت بین پاسخ‌های استانداردهای تزریق در محصولات استخراج با نسبت در محلول‌های استاندارد برابر است. خارج قسمت این نسبت‌ها، نسبت پاسخ نسبی،  $RRR$ ، نامیده می‌شود. در صورتی که هیچ ترکیب مزاحمی در محصول استخراج موجود نباشد، مقدار  $RRR$  در اصل برابر ۱۰۰ است. در این استاندارد، فرض می‌شود که اگر  $RRR = 100 \pm 0.5$  باشد، هیچ ترکیب مزاحمی در محصول استخراج وجود ندارد.

اگر مقدار  $RRR$  از  $100 \pm 0.5$  انحراف داشته باشد، فرض می‌شود که پاسخ یکی از استانداردهای تزریق تحت تاثیر یک ترکیب مزاحم موجود در محصول استخراج قرار گرفته است. در این حالت، عملکرد روش با استفاده از استاندارد تزریق مختل نشده (تحت مزاحمت قرار نگرفته) محاسبه می‌شود.

درستی پاسخ استانداردهای تزریق را به روش زیر تصدیق کنید:

نسبت پاسخ نسبی  $RRR$  را برای استانداردهای تزریق PBD با استفاده از فرمول ۶ محاسبه کنید:

$$RRR = \frac{R_{e,198}}{R_{e,2}} \times \frac{R_{s,2}}{R_{s,209}} \quad (۶)$$

که در آن:

$RRR$  نسبت پاسخ نسبی؛

$R_{e,198}$  پاسخ PCB198 در محصول استخراج؛

$R_{e,2}$  پاسخ دومین استاندارد داخلی انتخاب شده در محصول استخراج؛

$R_{s,209}$  پاسخ PCB209 در محلول استاندارد کاری؛

$R_{s,2}$  پاسخ دومین استاندارد بازیابی منتخب در محلول استاندارد کاری.

**یادآوری** - PCB198 یا PCB209 به عنوان استانداردهای تزریق در آشکارسازی ECD توصیه می‌شوند، چون که به دلیل مزاحمت‌های کمتر می‌توان از استانداردهای داخلی دیگر استفاده کرد.

مقدار نظری نسبت پاسخ نسبی  $RRR$  برابر با ۱٫۰۰ است. اگر  $RRR = ۱٫۰۰ \pm ۰٫۰۵$  باشد، در نظر بگیرید که استانداردهای تزریق به روش صحیح تعیین شده‌اند و برای  $RRR$  در فرمول ۶ مقدار ۱٫۰۰ را وارد کنید. اگر  $RRR \square ۰٫۹۵$  یا  $RRR \square ۱٫۰۵$  باشد، کروماتوگرام گازی باید برای کمی‌سازی درست هر دو استاندارد تزریق، بررسی شود. به شکل پیک‌ها و پهنای پیک‌ها توجه خاصی داشته باشید. اگر کمی‌سازی به درستی انجام شود، در صورتی که  $RRR = ۱٫۰۰ \pm ۰٫۰۵$  باشد، از هر دو استاندارد استفاده کنید. اگر  $RRR \square ۱٫۰۵$  فقط از PBC198 و اگر  $RRR \square ۱٫۰۵$  باشد فقط از PCB209 استفاده کنید.

نسبت بین نمونه و محلول استاندارد عملکردی را برای هر استاندارد داخلی با استفاده از نزدیک‌ترین استاندارد تزریق طبق فرمول ۳ محاسبه کنید (به زیربند ۱۰-۷-۵ مراجعه شود).

نسبت بازیابی میانگین در نمونه باید دست کم ۷۰٪ نسبت در استاندارد باشد. نسبت برای هر PCB بهتر است حداقل ۶۰٪ باشد. اگر این مقادیر حاصل نشوند، آنالیزها باید با استفاده از مدول مناسب‌تری تکرار شوند. اگر یکی از نسبت‌ها بزرگتر باشد و از ۱۰۰٪ فراتر رود، احتمال وجود یک ترکیب مزاحم با زمان بازداری برابر، در نمونه وجود دارد. این استاندارد داخلی نباید برای محاسبات بعدی استفاده شود.

اگر پاک‌سازی چندگانه ضروری باشد، نسبت‌های کمتری می‌تواند یافت شود، چون که کاهش مراحل پاک‌سازی در این استاندارد پذیرفته شده است. نسبت‌های کمتر در صورتی قابل قبول هستند که بتوان آن را با کاهش پذیرفته شده در هر مرحله پاک‌سازی توضیح داد. حداقل نسبت باید ۵۰٪ باشد.

#### ۱۰-۸-۷ محاسبه

استانداردهای داخلی و تزریق، استانداردهای PCB نشان‌دار شده با  $^{13}C_{12}$  نیستند، اما استانداردهای توصیف شده در زیربند ۷-۵-۳ هستند. استاندارد داخلی PCB نشان‌دار شده با  $^{13}C_{12}$  را با استانداردهای داخلی به کار رفته (زیربند ۷-۵-۳) در فرمول ۵ جایگزین کنید.

## ۱۱ مشخصه‌های عملکرد

روش «مبتنی بر عملکرد» است. این روش اجازه می‌دهد تا غلبه بر مزاحمت‌هایی که در این استاندارد مشخص نشده است، بهینه شود، مشروط بر این که معیار عملکرد برآورده شود. استانداردهای داخلی باید برای بررسی روش‌های پیش‌تصفیه، استخراج و پاک‌سازی مورد استفاده قرار گیرند. بازیابی این استانداردها بهتر است % ۷۰ تا % ۱۱۰ باشد. اگر بازیابی کمتر یا بیش‌تر از حدود % ۷۰ تا % ۱۱۰ باشد، روش باید با استفاده از مدول‌های دیگر توصیف شده در این استاندارد بهینه شود. ممکن است بعضی نمونه‌ها در حالت بازیابی‌های کمتر، به پاک‌سازی چندگانه نیاز داشته باشند.

## ۱۲ دقت

مشخصه‌های عملکرد داده‌های روش ارزیابی شده‌اند (به پیوست الف مراجعه شود).

## ۱۳ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید شامل حداقل آگاهی‌های زیر باشد:

الف- ارجاع به این استاندارد ملی ایران؛

ب- شناسایی کامل نمونه؛

پ- مدول استخراج، مدول پاک‌سازی و مدول آشکارسازی مورد استفاده برای آنالیز؛

ت- نتایج اندازه‌گیری طبق زیربند ۱۰-۷ (GC-MS) و زیربند ۱۰-۸ (GC-ECD)؛

ث- هرگونه جزئیات مشخص نشده در این استاندارد یا مواردی که اختیاری هستند، مانند هرگونه عواملی که می‌تواند نتایج را تحت تاثیر قرار دهند.

## پیوست الف

## (آگاهی‌دهنده)

## داده‌های تکرارپذیری و تجدیدپذیری

## الف-۱ مواد مورد استفاده در مطالعه مقایسه بین آزمایشگاهی

مقایسه بین آزمایشگاهی برای تعیین بی‌فنیل‌های چندکلره (PBC) با GC-MS و GC-ECD در لجن و پسماندهای زیستی تصفیه شده توسط ۱۰ تا ۱۳ آزمایشگاه اروپایی روی سه ماده انجام شد که اطلاعات مفصل را می‌توان در گزارش نهایی مطالعه مقایسه‌ای بین آزمایشگاهی بیان شده در مرجع [6] یافت. در جدول الف-۱، فهرست انواع مواد آزمون شده ارائه شده است.

جدول الف-۱- ماده آزمون شده و پارامترهای آنالیز شده در مقایسه بین آزمایشگاهی برای تعیین PBC با GC-MS و GC-ECD در لجن و پسماند زیستی تصفیه شده

اندازه دانه	نمونه	ماده آزمون شده	پارامترها
لجن (۰٫۵ mm)	لجن ۱	مخلوط فاضلاب شهری، لجن کارخانه از نورد راین وستفالن، آلمان	PCB28, PCB52, PCB101, PCB118, PCB138, PCB153, PCB180
دانه‌های ریز (۲٫۰ mm)	پوسال ۱	پوسال تازه از وین، اتریش	PCB28, PCB52, PCB101, <b>PCB118</b> , <b>PCB138</b> , PCB153, PCB180

تصدیق برای آزمون خاک نیز انجام شده است، اما نتایج نشان داده نشده است به خاطر این که غلظت‌ها در مواد آزمون کمتر از حد قابلیت اجرا می‌باشد.

## الف-۲ نتایج مقایسه بین آزمایشگاهی

ارزیابی آماری مطابق استاندارد ISO 5725-2 انجام شد. مقادیر میانگین، انحراف استاندارد تکرارپذیری ( $s_r$ ) و انحراف استاندارد تجدیدپذیری ( $s_R$ ) حاصل شدند (جدول الف-۲).

جدول الف-۲- نتایج مطالعات مقایسه بین آزمایشگاهی اندازه‌گیری بی‌فنیل‌های چندکلره (PCB) با GC-MS و GC-ECD

ماتریس	$l$	$n$	$n_0$	$\bar{x}$	$s_R$	$C_{V,R}$	$s_T$	$C_{V,T}$	$BD$
<b>PBC 28</b>									
لجن ۱	۱۴	۴۷	۱	۵۰٫۱۳	۱۸٫۴۹	۳۷	۳٫۱۹	۶٫۴	۳
پوسال ۱	۶	۱۵	۲	۰٫۷۹	۰٫۰۹	۱۲	۰٫۰۶	۷٫۹	۱۴
<b>PBC 52</b>									
لجن ۱	۱۳	۴۲	۲	۵۳٫۷۲	۲۱٫۰۲	۳۹	۳٫۷۴	۷٫۰	۴
پوسال ۱	۵	۱۸	۰	۰٫۷۸	۰٫۲۶	۳۳	۰٫۰۵	۶٫۲	۱۷
<b>PBC 101</b>									
لجن ۱	۱۳	۴۹	۰	۴۱٫۲۱	۱۶٫۸۶	۴۱	۲٫۵۶	۶٫۲	۴
پوسال ۱	۱۲	۴۰	۱	۳٫۰۴	۱٫۱۸	۳۹	۰٫۲۹	۹٫۵	۱
<b>PBC 118</b>									
لجن ۱	۱۳	۴۷	۰	۲۷٫۰۲	۱۰٫۳۶	۳۸	۱٫۸۴	۶٫۸	۵
پوسال ۱	۸	۲۶	۱	۲٫۲۲	۱٫۰۸	۴۹	۰٫۱۵	۶٫۹	۶
<b>PBC 138</b>									
لجن ۱	۱۲	۴۸	۰	۵۰٫۳۸	۱۷٫۲۱	۳۴	۳٫۸۱	۷٫۶	۴
پوسال ۱	۱۲	۳۹	۲	۶٫۶۲	۲٫۳۸	۳۶	۰٫۵۸	۸٫۷	۰
<b>PBC 153</b>									
لجن ۱	۱۳	۴۷	۱	۴۹٫۶۴	۱۸٫۴۸	۳۷	۳٫۶۴	۷٫۳	۲
پوسال ۱	۱۲	۳۹	۲	۶٫۹۷	۲٫۵۴	۳۶	۰٫۵۸	۸٫۳	۰
<b>PBC 180</b>									
لجن ۱	۱۲	۴۸	۰	۴۰٫۶۳	۱۲٫۹۴	۳۲	۳٫۶۵	۹٫۰	۴
پوسال ۱	۱۲	۴۳	۱	۵٫۸۱	۲٫۱۲	۳۷	۰٫۵۷	۹٫۷	۰
<b>مجموع PCB</b>									
لجن ۱	۱۸	۷۰	۱	۲۰٫۵	۸۴	۴۱	۱۶	۷٫۷	۲
پوسال ۱	۱۲	۴۸	۲	۲۶٫۱	۱۰٫۳	۳۹	۴٫۷	۱۸٫۱	۰
<b>توضیح علائم</b>									
$l$	تعداد آزمایشگاه‌های شرکت‌کننده								
$n$	تعداد نتایج تجزیه‌ای								
$n_0$	تعداد آزمایشگاه‌های رد شده								
$\bar{x}$	میانگین کل نتایج تجزیه‌ای (بدون داده‌های دورافتاده)								
$s_R$	انحراف استاندارد تجدیدپذیری								
$C_{V,R}$	ضریب تغییر تجدیدپذیری								
$s_T$	انحراف استاندارد تکرارپذیری								
$C_{V,T}$	ضریب تغییر تجدیدپذیری								
$BD$	تعداد اندازه‌گیری‌های زیر حد تشخیص								

پیوست ب

(آگاهی دهنده)

مثال هایی از زمان های بازداری بی فنیل های چندکله

جدول ب-۱، مثال هایی از زمان های بازداری بی فنیل های چندکله تعیین شده در ستون های مختلف را نشان می دهد.

جدول ب-۱- مثال هایی از زمان های بازداری بی فنیل های چندکله برای دو ستون موین مختلف

زمان بازداری min		جزء
<sup>b</sup> B	<sup>a</sup> A	
۳۲٫۹۸	۳۳٫۳۲	PCB28
۳۴٫۵۴	۳۴٫۸۵	PCB52
۳۸٫۲۷	۳۸٫۷۱	PCB101
۴۱٫۶۱	۴۱٫۸۹	PCB118
۴۴٫۵۴	۴۵٫۰۰	PCB138
۴۲٫۴۹	۴۳٫۱۸	PCB153
۴۹٫۴۷	۵۰٫۴۱	PCB180
<sup>a</sup> CP-Sil 8 ؛ قطر داخلی ۰٫۲۲ mm ، ضخامت لایه ۰٫۱۲ μm		
<sup>b</sup> CP-Sil 19 ؛ قطر داخلی ۰٫۲۲ mm ، ضخامت لایه ۰٫۱۲ μm		
یادآوری - بسته به ستون مورد استفاده، هم شویی بی فنیل های چندکله بیان شده با هم نوع های دیگر امکان پذیر است. برای اطلاعات در مورد هم شویی به ویژگی های ستون یا دستورالعمل های ستون مراجعه شود.		
۱- CP-Sil 8 و CP-Sil 19 یک مثال از محصولات موجود تجاری بوده و به منزله تایید سازمان ملی استاندارد ایران نمی باشد.		

کتابنامه

- [1] EN 12766-1, Petroleum products and used oils — Determination of PCBs and related products — Part 1: Separation and determination of selected PCB congeners by gas chromatography (GC) using an electron capture detector (ECD)
- [2] EN 15308:2008, Characterization of waste — Determination of selected polychlorinated biphenyls (PCB) in solid waste by using capillary gas chromatography with electron capture or mass spectrometric detection
- [3] EN 61619, Insulating liquids — Contamination by polychlorinated biphenyls (PCBs) — Method of determination by capillary column gas chromatography (IEC 61619)
- [4] EN ISO 6468, Water quality — Determination of certain organochlorine insecticides, polychlorinated biphenyls and chlorobenzenes — Gas chromatographic method after liquid-liquid extraction (ISO 6468)
- [5] ISO 5725-2, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method
- [6] Horizontal Project Interlaboratory Comparison, [www.horizontal.ecn.nl](http://www.horizontal.ecn.nl)