

VILNIAUS UNIVERSITETAS
FIZINIŲ IR TECHNOLOGIJOS MOKSLŲ CENTRAS

RASA GODLIAUSKIENĖ

PATVARIŲ HALOGENINTŲ ORGANINIŲ TERŠALŲ TYRIMAI MAISTO
PRODUKTUOSE IR PAŠARUOSE MASIŲ SPEKTROMETRIJOS
METODU

Daktaro disertacija
Fiziniai mokslai, chemija (03P)

Vilnius, 2016

Disertacija rengta 2010 – 2015 metais Fizinių ir technologijos mokslų centre ir Nacionaliniame maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo institute.

Mokslinis vadovas:

Dr. Evaldas Naujalis (Fizinių ir technologijos mokslų centras, fiziniai mokslai, chemija - 03P)

TURINYS

PAGRINDINĖS SANTRUMPOS.....	5
ĮVADAS	8
1. LITERATŪROS APŽVALGA	11
1.1. Patvarieji organiniai teršalai	11
1.1.1. POT šaltiniai	13
1.1.2. PCDD/PCDF savybės.....	19
1.1.3. PCB savybės	20
1.1.4. PBDE savybės	25
1.1.5. Polichlorintų bifenilų toksikologija	26
1.1.6. Polichlorintų dibenzo- <i>p</i> -dioksinų, polichlorintų dibenzofuranų toksikologija	29
1.1.7. Polibromintų bifenileterių toksikologija.....	30
1.2. POT analizė	32
1.2.1. Mėginių ekstrakcija	34
1.2.2. Mėginių gryninimas ir frakcionavimas.....	37
1.2.3. Analizių identifikavimas ir nustatymas	38
1.3. Masių spektrometrai, naudojami POT nustatymui	39
1.3.1. Masių analizatoriai.....	43
1.4. Maisto sauga Europos sąjungoje	47
2. EKSPERIMENTO METODIKA.....	56
2.1. Aparatūra	56
2.2. Reagentai ir tirpalai.....	58
2.3. Mėginių paruošimo procedūros	62
2.4. Metodų patvirtinimo procedūros	65
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	65
3.1. Analizinių sąlygų parinkimas	65
3.1.1. Mėginių paruošimas analizei ir ekstrakcija	65
3.1.1.1. „Šaltoji“ ekstrakcija	67
3.1.1.2. Soksleto ir Tviselmano ekstrakcija.....	68
3.1.1.3. Ekstrakcija naudojant aukštą slėgį.....	70
3.1.2. Mėginių gryninimas ir frakcionavimas.....	71

3.1.2.1. Mėginių gryninimas ir frakcionavimas naudojant automatinę mėginio paruošimo sistemą	71
3.1.2.2. Mėginių gryninimas ir frakcionavimas naudojant rankinį mėginio paruošimo būdą.....	72
3.1.3. Chromatografinio atskyrimo sąlygų parinkimas	75
3.1.4. Masių spektrometrinių sąlygų parinkimas.....	79
3.1.5. Metodo analizinės charakteristikos.....	82
3.1.5.1. POT nustatymo ribos	83
3.1.5.2. Tuščių mėginių taršos lygis	87
3.1.5.3. POT analizinio metodo tiesiškumas	89
3.2. Rezultatų palyginimas naudojant skirtingus mėginio paruošimo būdus	95
3.3. POT rezultatų palyginimas tirtuose maisto ir pašarų mėginiuose	97
3.4. Toleruojamųjų ribų nustatymas	107
IŠVADOS	111
Literatūros sąrašas.....	116

PAGRINDINĖS SANTRUMPOS

ABS – akrilnitrilo-butadieno-stirenas

AhR – arilo angliavandenilio receptorių

Aroclor, Kaneclor – polichlorintų bifenių mišiniai

BDE – brominti bifenioliai

BZ - Ballschmied ir Zell taikoma numeracija

CYP1A1 – citochromas P450 1A1

CYP1A2 – citochromas P450 1A2

DDT – 1,1,1-trichlor-2,2-bis (4-chlorfenil) etanas

DLK – didžiausia leistina koncentracija

DT-PCB – dioksinų tipo polichlorinti bifenioliai

ECD – elektronų gaudymo detekcija

ESS – ekstrakcija superkritiniais skysčiais

GC – dujų chromatografija

GC×GC-ECD – dvidimensinė dujų chromatografija – elektronų gaudymo detekcija

GC×GC-HRMS – dvidimensinė dujų chromatografija – indukciškai sujungtos plazmos masių spektrometrija

GC×GC-MS/MS – dvidimensinė dujų chromatografija – tandeminė masių spektrometrija

GC×GC-TOF-MS – dvidimensinė dujų chromatografija – skriejimo trukmės masių spektrometrija

GC-ICP-MS - dujų chromatografija – indukciškai sujungtos plazmos masių spektrometrija

GC-MS – dujų chromatografija – masių spektrometrija

GC-MS-MS – dujų chromatografija – tandeminė masių spektrometrija
GC-QISTMS/MS – dujų chromatografija – kvadrupolinė jonų gaudyklės masių spektrometrija
HBCD – heksabromciklododekanas
HCB – heksachlorbenzenas
HRMS – didelės skiriamosios gebos masių spektrometrija
IARC – tarptautinė vėžio tyrimų agentūra
IUPAC – angl. International Union of Pure and Applied Chemistry
KFE – kietafazė ekstrakcija
m/z – masės ir krūvio santykis
MS – masių spektrometrija
Ne DT-PCB – ne dioksinų tipo polychlorinti bifenilai
PBB – polibrominti bifenilai
PBDE – polibrominti bifenileteriai
PCB – polichlorinti bifenilai
PCDD – polichlorinti dibenzo-*p*-dioksinai
PCDD/PCDF, PCDD/F – polichlorinti dibenzo-*p*-dioksinai ir polichlorinti dibenzofuranai
PCDF – polichlorinti dibenzofuranai
PFK – perfluorokerosenas
POT – patvarieji organiniai teršalai
PSO – Pasaulio Sveikatos Organizacija
QIT – kvadrupolinė jonų gaudyklė
S/N – chromatografinio signalo ir triukšmo santykis
T2 – 3,5-dijodtironinas
T3 – 3,3,5-trijodtironinas

T4 – 3,3,5,5-tetraiodtironinas

TBBPA – tetrabrombisfenolis A

TCDD – tetrachlordibenzo-*p*-dioksinas

TDR – toleruojamoji dienos riba

TE – toksinis ekvivalentas

TE₁₉₉₈ PCDD/PCDF – polichlorintų dibenzo-*p*-dioksinų ir polichlorintų dibenzofuranų toksinis ekvivalentas naudojant 1998 metų toksinius ekvivalentinius faktorius

TE₁₉₉₈ PCDD/PCDF, PCB – polichlorintų dibenzo-*p*-dioksinų ir polichlorintų dibenzofuranų toksinis ekvivalentas naudojant 1998 metų toksinius ekvivalentinius faktorius

TE₂₀₀₅ PCDD/PCDF – polichlorintų dibenzo-*p*-dioksinų ir polichlorintų dibenzofuranų toksinis ekvivalentas naudojant 2005 metų toksinius ekvivalentinius faktorius

TE₂₀₀₅ PCDD/PCDF, PCB – polichlorintų dibenzo-*p*-dioksinų ir polichlorintų dibenzofuranų toksinis ekvivalentas naudojant 2005 metų toksinius ekvivalentinius faktorius

TMR - toleruojamoji mėnesio riba

TOF-MS – skriejimo trukmės masių spektrometrija

TSR - toleruojamoji savaitės riba

U.S. EPA – Jungtinių Amerikos Valstijų aplinkos apsaugos agentūra

ĮVADAS

Įvairios patvariųjų organinių teršalų grupės, tokios kaip polichlorinti dibenzo-*p*-dioksinai (PCDD), polichlorinti dibenzofuranai (PCDF), polichlorinti dioksinų tipo (DT-PCB) ir ne dioksinų tipo bifenilai (ne DT-PCB) bei polibrominti bifenileteriai (PBDE) yra žinomos kaip ksenobiotikai, pasižymintys bioakumuliacinėmis savybėmis, toksikologiniu, kancerogeniniu, neurotoksikologiniu bei tetratogeniniu poveikiu. Neabejotinai tokiomis medžiagomis užteršti maisto produktai gali sukelti eilę ligų, tarp kurių dominuoja ir vėžiniai susirgimai (porfirija, chloraknė, dermatitas, imuninės ir neurologinės sistemos sutrikimai). PCDD/PCDF grupę sudaro 210 izomerų, iš kurių išskiriamas 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-*p*-dioksinas (tetraCDD), kaip toksiškiausias. Polichlorinti bifenilai (PCB) yra 209 organinių junginių klasė, besiskiriantys dviem benzeno žiedais sujungtais C-C jungtimi. 209 brominti bifenileteriai yra aromatiniai junginiai, kuriuose nuo 1 iki 10 vandenilio atomų yra pakeisti bromu. Polibrominti bifenileteriai (PBDE) nuo 2 iki 10 bromo atomais yra naudojami komerciniuose antipirenuose ir skirstomi į tri- (3), tetra- (4), penta- (5), hekso- (6), hepta- (7), okta- (8), nona- (9) ir dekabrombifenileterius. Pastarieji, kaip antipirenai, sumažina liepsnos riziką. POT cheminis stabilumas lėmė didėjančią aplinkos taršą, todėl palaiptniui buvo atsisakyta šių junginių gamybos produkcijos, tačiau iki šių dienų susiduriama su taršos problema.

Kadangi šie patvarieji organiniai teršalai itin mažomis koncentracijomis 10^{-12} g/g ar net 10^{-15} g/g gali sukelti neigiamą poveikį žmogui, todėl reikalingi preciziški ir jautrūs analizės metodai jų identifikavimui. Pastaraisius 30 metų dioksinų ir furanų kokybiniam ir kiekybiniam identifikavimui buvo naudojamas dujų chromatografijos-masių spektrometrijos metodas (GC-MS), tačiau mažėjant reglamentuojamoms didžiausioms leidžiamoms koncentracijoms, didelės skiriamosios gebos masių spektrometriniai analizės metodai tapo nepakeičiami dėl didelio jautrumo ir galimybės nustatyti mažas koncentracijas.

Patvarių organinių teršalų toksiškumas mažomis koncentracijomis ne tik lemia sudėtingos instrumentinės analizės naudojimą, bet ir reikalauja kruopščių mėginių paruošimo būdų. Pastaraisiais metais išrastas ne vienas instrumentas gebantis automatizuoti dalį mėginių paruošimo procedūros, kas bent dvigubai sumažina analizės trukmę, taršos lygį bei padidina jautrumą. Tačiau ilgus metus naudotas rankinis mėginio paruošimo būdas pastarajam nenusileidžia ir atitinka visus Europos Komisijos POT analizei keliamus reikalavimus.

Net 90 % teršalų į žmogaus organizmą patenka su maistu, ypač su gyvūninės kilmės maistu, todėl svarbu įvertinti toleruojamąją POT paros ribą ir ją kontroliuoti. Taip pat dideli teršalų kiekiai saugomi jūros dugno nuosėdose, susikaupę per kelis dešimtmečius, kas labai svarbu Lietuvai, turinčiai pakrantę su Baltijos jūra.

Šioje daktaro disertacijoje apibendrintų mokslinių tyrimų tikslas – sukurti, optimizuoti ir įdiegti patvarių organinių teršalų (PCDD/PCDF, DT-PCB, ne DT-PCB ir PBDE) analizės metodą maisto produktuose ir pašaruose, panaudojant didelės skiriamosios gebos dujų chromatografijos-masių spektrometrijos metodą.

Disertacinio darbo uždaviniai:

1. Ištirti ir optimizuoti patvarių organinių teršalų ekstrakcijos sąlygas iš įvairių riebalinių maisto produktų ir pašarų matricių;
2. Ištirti ir optimizuoti patvarių organinių teršalų ekstraktų valymo procedūrą, panaudojant rankinį ir automatinį mėginio paruošimo būdus;
3. Optimizuoti PCDD/PCDF, DT-PCB, ne DT-PCB ir PBDE chromatografinio atskyrimo ir MS detektavimo sąlygas, naudojant didelės skiriamosios gebos dujų chromatografijos-masių spektrometrijos metodą;
4. Įvertinti metodo analizines charakteristikas remiantis ES reikalavimais;

5. Nustatyti patvarių organinių teršalų toleruojamąsias dienos ribas Lietuvoje skirtingose maisto grupėse 2007-2014 metais;
6. Ištirti ir apibendrinti patvarių organinių teršalų taršos lygį maisto produktuose ir pašaruose, esančiuose Lietuvos rinkoje.

Darbo mokslinis naujumas:

Darbe buvo analizuojami 55 patvarūs halogeninti organiniai teršalai. Pirmą kartą atlikti tyrimai, kurie leido palyginti skirtingus mėginių paruošimo ir išvalymo būdus. Ne tik Lietuvoje, bet ir visame pasaulyje, dėl didelio POT toksiškumo mažomis koncentracijomis yra būtinybė taikyti jautrius analizės metodus, todėl vienas iš disertacinio darbo uždavinių ir buvo sukurti bei pasiūlyti tinkamą nustatymo metodiką. Maisto produktuose ir pašaruose toks platus tyrimas Lietuvoje atliktas pirmą kartą, todėl neabejotinai turi didelę praktinę reikšmę. Polibrominti bifenileteriai yra junginiai, kurių taršos lygiai kol kas nėra reglamentuojami EU dokumentais. Disertacinis darbas pateikia nemažai naujų duomenų, bei analizės metodo charakteristikų, galinčių turėti įtakos, tolimesniems POT tyrimams ir reglamentavimui Lietuvoje.

Ginamieji teiginiai:

1. Sukurtų ir optimizuotų POT ekstrakcijos iš maisto produktų ir pašarų metodų išgavos yra tinkamos naudoti analizei;
2. Rankinis ir automatinis mėginio paruošimo būdai atitinka ES keliamus reikalavimus ir gali būti taikomi, tačiau automatinis mėginio paruošimas yra efektyvesnis ir tikslesnis;
3. Pasiūlytas didelės skiriamosios gebos dujų chromatografijos-masių spektrometrijos metodas yra pakankamai jautrus ir įgalina nustatyti 10^{-12} g/g - 10^{-15} g/g koncentracijos halogenintus patvariuosius organinius teršalus maisto produktuose ir pašaruose;
4. Tirti maisto produktai ir pašarai yra saugūs POT koncentracijų atžvilgiu, išskyrus kai kurias Baltijos jūros žuvis ir žuvies produktus.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Patvarieji organiniai teršalai

Ypatingai pavojingi chemikalai, šiandien žinomi kaip patvarieji organiniai teršalai (POT), daug metų buvo naudojami žemės ūkyje kaip labai veiksmingi pesticidai arba pramonėje, pvz., polichlorinti bifenilai. Dalis POT – dioksinai ir furanai – susidaro degimo metu. Patvarieji organiniai teršalai yra chlorinti angliavandeniliai, turi daug agresyvaus chloro, bromo.

POT yra pavojingi dėl tam tikrų jiems būdingų savybių:

- toksiškumas;
- patvarumas;
- kaupimasis gyvuosiuose organizmuose (bioakumuliacija);
- ilgalaikis neigiamas poveikis organizmams;
- mobilumas, tai yra pernešimų dideliais atstumais galimybės.

Patvariųjų organinių teršalų grupei priskiriama:

- pesticidai: aldrinas, dieldrinas, endrinas, 1,1,1-trichlor-2,2-bis(4-chlorfenil)etanas (DDT), chlordanas, heptachloras, heksachlorbenzenas, mireksas, toksafenas;
- pramoninės medžiagos: PCB, HCB;
- netikslinio susidarymo medžiagos: polichlorinti dibenzo-*p*-dioksinai, polichlorinti dibenzofuranai, PCB, HCB;
- kitos medžiagos turinčios POT savybių, tokios kaip brominti antipirenai (ateityje bus įtrauktos į Stokholmo konvencijos ar Orhuso protokolo reglamentuojamų medžiagų sąrašą).

Patvarieji organiniai teršalai pasižymi ilgalaikiu neigiamu poveikiu sveikatai ir aplinkai, todėl dabar yra uždrausti gaminti ir naudoti daugelyje šalių, tame tarpe ir Lietuvoje.

POT pesticidų likučiai, nors ir neviršijantys leistinų normų, randami vištų skerdienoje, žuvyje, kiaušiniuose, jūriniuose gyvūnuose, kaip dvigeldžių moliuskų dreisenų minkštuosiuose audiniuose.

Šių teršalų platų pritaikymą įvairiose pramonės srityse lėmė jų fiziko cheminės savybės, kaip:

- tirpūs angliavandeniliniuose tirpikliuose ir riebaluose;
- termiškai atsparūs;
- nesikristalizuoja esant žemai temperatūrai;
- labai geri šilumos laidininkai;
- blogai praleidžia elektrą;
- beveik netirpsta vandenyje [1-2].

Šiuo metu rinkoje yra žinoma daugiau nei 175 antipirenai. Pastarieji toliau skirstomi į grupes, išvardintas žemiau.

Neorganiniai antipirenai – dažniausiai naudojami plastikuose, kurių veikimas išlieka stabilus prie plastiko skilimo temperatūros (150 – 400°C). Skirtingai nuo organinių, pastarieji antipirenai neišgaruoja prie aukštų temperatūrų. Pagrindiniai neorganiniai antipirenai yra aliuminio ir magnio hidroksidai. Šių junginių antipireninės savybės pasireiškia tuo, kad veikiant aukštai temperatūrai, vyksta endoterminė reakcija ir susidaro oksidas ir vanduo.

Fosforo turintys antipirenai – veiksmingi medžiagose, turinčiose didelį deguonies kiekį, kaip celiuliozė ir deguonies turintys plastikai. Halogeninti alifatiniai fosfatai daugiausiai yra naudojami poliuretanuose.

Azoto turintys antipirenai – naudojami polimeruose. Melaminas naudojamas poliuretano putose ir melamino dariniai poliamiduose.

Halogeninti organiniai antipirenai – klasifikuojami kaip turintys chloro arba bromo atomą. Chloro ir bromo turintys antipirenai naudojami sintetinėse medžiagose, ypač plastikuose. Brominti antipirenai yra efektyvesni, kainuoja mažiau bei turi platesnes pritaikymo galimybes, nei chlorinti. Brominti antipirenai komercijoje pasirodė 1960-aisiais. Brominti antipirenai kaupiasi aplinkoje, atokiose vietovėse kaip Arktuje bei giliai jūrose. Pastarieji junginiai skirstomi į kelias grupes:

- polibrominti bifeniliteriai;
- heksabromciklododekanas;

- tetrabrombisfenolis A;
- polibrominti bifenilai [9-11].

Šiame darbe bus nagrinėjama polibromintų bifenileterių grupė.

1.1.1. POT šaltiniai

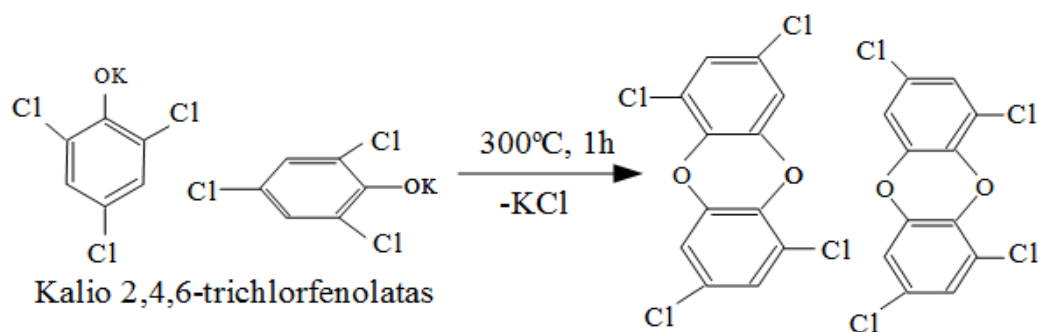
PCDD/PCDF gali susidaryti terminių arba cheminių procesų metu. Jų išmetimai į aplinką vyksta degimo metu ir šių medžiagų susidarantis kiekis labiausiai priklauso nuo to, kas deginama. Palankios sąlygos šiems junginiams susidaryti yra laisvų chloro radikalų ir organinės anglies buvimas, 200 – 450°C temperatūra, nepilnas degimas, šarminė terpė, UV spinduliai. Degimo produktai pelenai su savo sudedamosiomis dalimis, kaip organinė anglis, chloridai, metalų katalizatoriai ir yra pagrindiniai pirmtakai PCDD/PCDF formavimuisi. Vienas iš rodiklių, parodantis, kiek iš vienos ar kitos rūšies išsiskirs PCDD/PCDF, yra chloro junginių kiekis tame kure. Kuo daugiau chloro, tuo didesnė tikimybė, kad susidarys toksiški polichlorinti dariniai.

Pasaulyje daugiausia PCDD/PCDF į aplinką patenka dėl pramonės taršos. PCDD/PCDF, į orą išmesti su kietosiomis dalelėmis, atmosferoje pernešami, su krituliais nusėda ant pasėlių, patenka į dirvožemį ir vandens ekosistemas, kaupiasi naminiuose gyvūnuose ir vandens organizmuose. Lietuvoje aktualūs šie pramoniniai išmetimų šaltiniai:

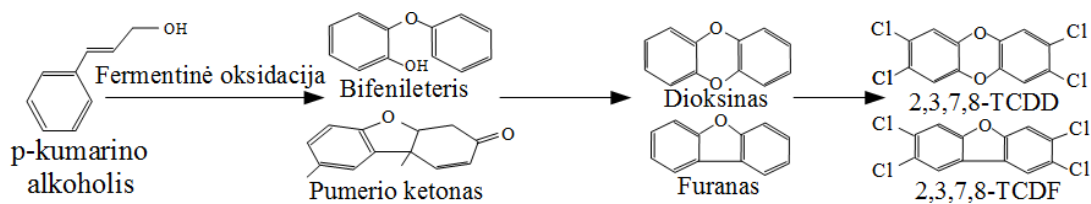
- pavojingų atliekų deginimas;
- medicininių atliekų deginimas;
- gyvūnų kaulų deginimas;
- liejyklos;
- iškastinį kurą deginančios jėgainės ir katilinės;
- biomasę deginančios jėgainės;
- cemento, kalkių, plytų, stiklo, keramikos gaminių gamyba;
- asfalto paruošimas;
- popieriaus gamyba iš antrinių žaliavų;
- mėsos gaminių rūkyklos.

Kadangi Lietuvoje nėra plačiai išvystytos sunkiosios pramonės, pagrindiniai PCDD/PCDF šaltiniai šalyje yra žmonių deginamos atliekos, žolė. Ypač daug šių kenksmingų medžiagų susidaro deginant buitines atliekas, plastmasę, padangas, naftos produktus (degalus, alyvas), senus baldus, impregnuotą medieną. Minėtų nekontroliuojamų procesų įvertinimas yra gana problematiškas, kadangi neįmanoma nustatyti konkrečių šaltinių. Užterštų atliekų šalinimas žemėje, sąvartynai, pramonės procesų nuotekų dumblo ar užterštų liekanų šalinimas žemėje taip pat priskiriami prie potencialių taršos šaltinių. Žemiau pateikti PCDD/PCDF susidarymo mechanizmai kai kurių pramoninių procesų metu [7-8].

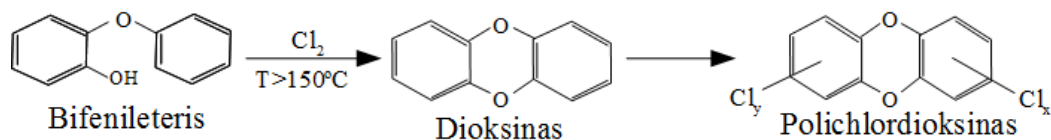
- Šaltinis – insekticidai, fungicidai, konservantai, pramoninės alyvos ir dažai, kurių pirmtakas – chlorofenoliai;



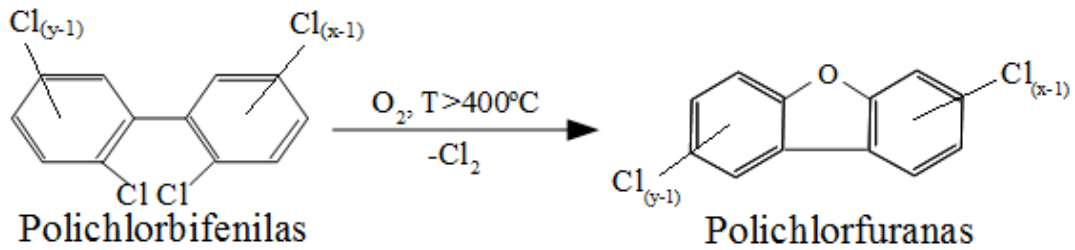
- Dirvožemio gerinimas. Pirmtakas – p-kumarino alkoholis;



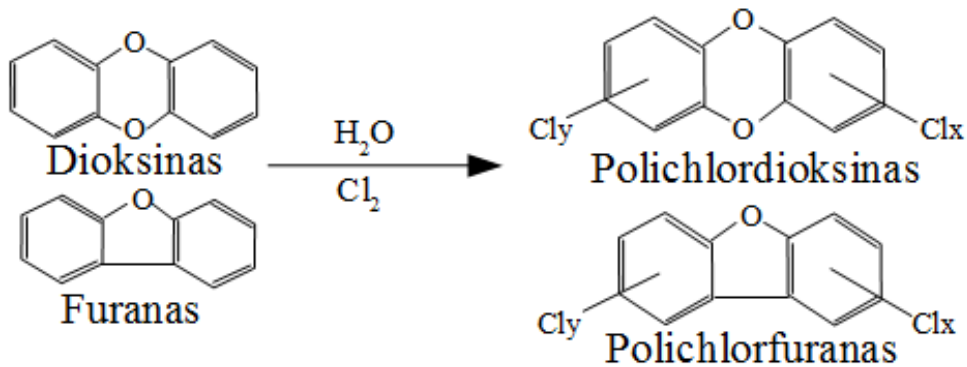
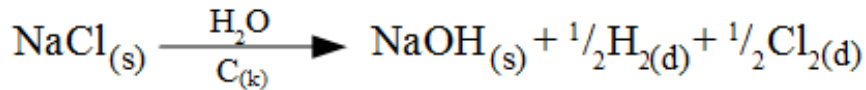
- Šaltinis herbicidai, kurių pirmtakas – bifenoleters;



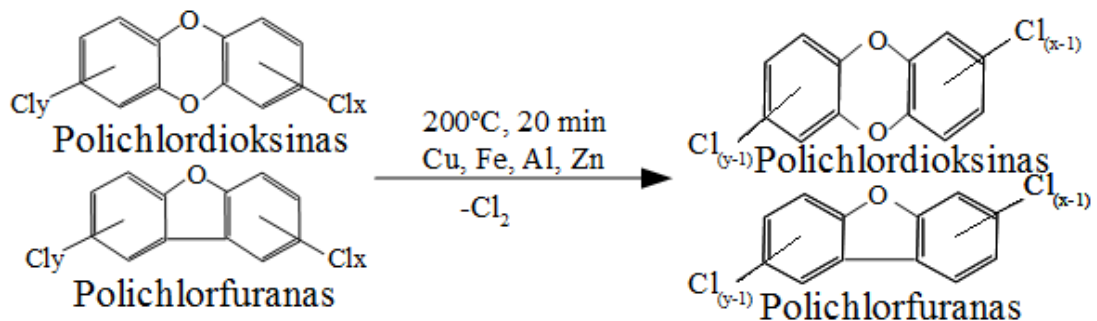
- Techninės kombinacijos. Pirmtakas – polichlorinti bifenilai;



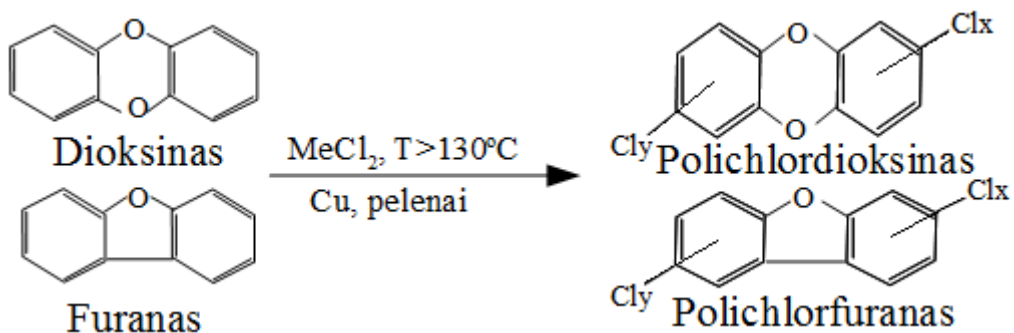
- Pirmtakas – vandenilis;



- Neišvengiami industrinių procesų produktai. Pirmtakas – daugiau chlorinti dibenzo-*p*-dioksinai ir dibenzofuranai;



- Neišvengiami industrinių procesų produktai. Pirmtakas – non-mono chlorinti dibenzo-*p*-dioksinai ir dibenzofuranai [1, 12-13]:



Pav. 1.1 PCDD/PCDF susidarymo mechanizmai.

Svarbus PCDD/PCDF išmetamų į aplinką šaltinis yra medicininių atliekų deginimas. Blogiausia, kad didžioji dalis šių atliekų sudeginama nenaudojant jokių išmetimo į orą valymo įrenginių [1, 12].

2002 m. gegužės 24 d. Lietuvos Respublikos Vyriausybė pasirašė Stokholmo konvenciją dėl patvariųjų organinių teršalų, kurios tikslas – sumažinti ir galiausiai sustabdyti POT gamybą ir naudojimą bei sumažinti netikslinio susidarymo POT išmetimą į aplinką. Konvencija siekiama apsaugoti žmonių sveikatą ir aplinką nuo patvariųjų organinių teršalų.

Išmetamųjų teršalų koncentracijos, esant standartiniam deguonies kiekiui, apskaičiuojamos pagal šią formulę:

$$E_S = (21 - O_S) / (21 - O_M) \times E_M \quad (\text{Formulė 1.1})$$

kur, E_S – apskaičiuota išmetamųjų teršalų koncentracija, esant standartiniam deguonies kiekiui (ng/m^3); E_M – išmatuota išmetamųjų teršalų koncentracija (ng/m^3); O_S – standartinis deguonies kiekis (%); O_M – išmatuotas deguonies kiekis (%) [7-8].

PCB pradėti gaminti 1929 m. ir ilgainiui jų gamyba apėmė visą pasaulį – Austriją, Kiniją, Čekoslovakiją, Prancūziją, Vokietiją, Italiją, Japoniją, Tarybų Sąjungą, Ispaniją, Didžiąją Britaniją, JAV ir kitas šalis. 1993 m. šių medžiagų gamyba ir prekyba jomis ar naudojimas buvo visiškai uždrausti. Manoma, kad nuo 1929 m. iki 1993 m. buvo pagaminta apie 2 milijonai tonų PCB. Manoma, kad šiuo metu apie 40% šių teršalų jau išleisti į aplinką ir jų kontrolė nebegalima. Likę 60% PCB vis dar naudojami įvairioje įrangoje, todėl būtent jiems šiuo metu skiriamas didelis dėmesys – šie PCB turi būti surinkti ir sutvarkyti, padarant kuo mažesnę neigiamą poveikį aplinkai ir žmogui. PCB medžiagos buvo plačiai naudojamos uždaroje, pusiau uždaroje ir atvirose sistemose.

PCB panaudojimas atvirose sistemose:

- tepimas: mikroskopų alyva, stabdžių sistemos, pjaustymo, tepimo alyva;

- paviršiaus apsauginės dangos: dažai (apatinės laivų korpusų dalies dažai), tekstilės pramonė, kopijavimo kalkių gaminimas.
- PCB panaudojimas pusiau uždaroje sistemoje:
- neorganinė ir organinė chemija, plastikai, sintetinės medžiagos ir naftos valymo pramonė, šilumos transportavimo skysčiai;
- kasybos įranga, aliuminis, varis, plieno ir geležies formavimo pramonė, hidrauliniai skysčiai;
- atskirų elektronikos komponentų gamyba, laboratorijos, nuotekų valymo sistemos: vakuuminiai siurbliai;
- elektros įranga: jungikliai, įtampos reguliatoriai;
- elektros įranga ir elektros generavimo įranga: skysčiu pildomi elektros kabeliai;
- elektros įranga: skysčiu užpildomi srovės pertraukikliai.
- PCB panaudojimas uždaroje sistemoje:
- elektros transformatoriai;
- elektros kondensatoriai;
- apšvietimo sistemos pastovumo palaikymo sistemos;
- šaldymo, šildymo įranga, plaukų džiovintuvų ir vandens tiekimo gręžinių varikliai;
- įvairios elektroninės įrangos kondensatoriai, įskaitant televizorius ir mikrobangų krosneles;
- elektros varikliai;
- elektromagnetai.

Būtent uždaros sistemos įrangos apskaitai ir kontrolei šiuo metu yra skiriamas didžiausias dėmesys. Manoma, kad būtent uždarų sistemų įranga žmonėms tarnauja ilgiausiai ir nemaža dalis jos eksploatuojama iki šiol [1, 7].

Pagrindiniai antipirenų industriniai sektoriai yra elektros inžinerija ir elektronika, laidai ir kabeliai, statyba ir transportas [10].

Pramonėje plačiai naudojami polibrominti antipirenai ir jų šaltiniai:

Pentabrombifenileteris - poliuretano putos: čiužiniai, pagalvės, kiti minkšti, baldai ir putų pakuotės. Taip pat: kiliminė danga, medienos imitacija, dažai, garso izoliacinės plokštės, mažos elektroninės dalys, audinių dangos, epoksidinės dervos;

Oktabrombifenileteris - akrilnitrilo-butadieno-stireno (ABS) plastikai: faksavimo įrenginių korpusai, kompiuteriai ir kita elektronika. Taip pat: automobilių apdaila, telefonų rageliai, virtuvės prietaisų korpusai, mažos elektronikos dalys, garso / vaizdo technika, nuotolinio valdymo įrenginiai;

Dekabrombifenileteris – aukšto poveikio polistirenas: televizorių korpusai, kompiuteriai, stereo ir kita smulki elektronika, mobilieji telefonai. Įvairūs plastikai: polikarbonatai, poliesterio dervos, poliamidų, polivinilo chloridas, polipropilenai, tereftalatai (PBT ir PET) ir gumos. Taip pat: baldinė tekstilė (sofos, biuro kėdės), dažai, guminiai kabeliai, šviestuvai (plokštės, lempų lizdai), dūmų detektoriai, elektros įranga (jungtys, laidai, kabeliai, saugikliai, korpusai, dėžutės, jungikliai), stadionų sėdynės.

Tetrabrombisfenol A - epoksidinės dervos ir polikarbonato gumos, biuro įrangos korpusai, įvairūs plastikai, popierius ir tekstilė, kompiuterių korpusai, monitoriai, TV, tapetai.

Heksabromciklodekanas - įvairūs plastikai: polistirenas, polipropilenas. Taip pat tekstilė ir kilimai, televizijos ir kompiuterių korpusai, tekstilė automobiliuose, statybinės medžiagos (izoliacinės plokštės, statybiniai blokai, šilumos izoliacija, stogai), minkštos putos, latekso rišikliai.

Pastarąjį dešimtmetį mokslininkai aptiko, kad brominti antipirenai randami ne tik buitinėje, sveikatos, inžinerinėje, statybinėje ir transporto aplinkose, tačiau jų randama ir žmogaus ir biotos audiniuose, namų dulkėse, nuosėdose, nuotekų dumble, ore, dirvožemyje ir vandenyje. Polibrominti antipirenai paprastai yra labai stabilūs ir atsparūs degradacijai aplinkoje [9].

Tyrimai parodė, kad mažiau brominti antipirenai yra toksiškiausi, todėl didžiuliais kiekiais kaupiasi biotos ir žmogaus organizmų audiniuose. Mažiau brominti antipirenai gamtoje yra labiau stabilūs nei daugiau brominti. Tyrimais įrodyta, kad daugiau brominti bifenileteriai tokie kaip deka-BDE degraduoja

pašalindami bromo atomus ir taip sudarydami stabilesnius ir toksiškesnius antipirenus [17].

Deka-BDE skilimas vyksta greičiau UV šviesoje (gyvavimo pusamžis < 30 min.) palyginti su natūralia saulės šviesa (gyvavimo pusamžis 53 val.). Dirvožemyje šis pusamžis siekia net 150-2000 val. [18].

Žmogaus organizmas PBDE įsisavina kvėpuojant, absorbuojant per odą ir vartojant užterštą maistą [28].

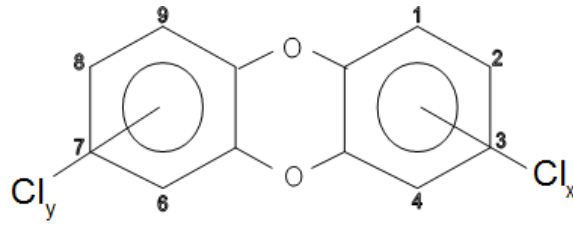
1.1.2. PCDD/PCDF savybės

Polichlorintų dibenzo-*p*-dioksinų (PCDD) ir polichlorintų dibenzofuranų (PCDF) grupė sudaryta iš 210 toksinių junginių, iš kurių išskiriamas 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-*p*-dioksinas (tetraCDD), kaip toksiškiausias [79]. Polichlorinti bifenilai (PCB) sudaro 209 junginių grupę, PCDD - 75 ir PCDF - 135. Galimi izomerai apibendrinti 1.1. lentelėje.

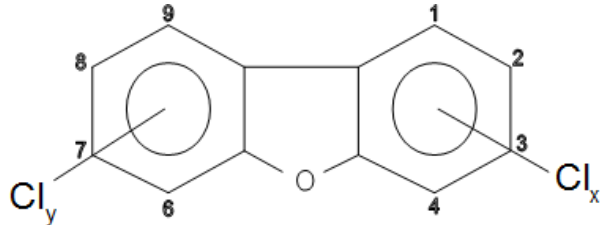
1.1. lentelė. Galimi PCDD ir PCDF izomerai.

Chloro atomų skaičius = homologai	Galimas izomerų skaičius			
	Dibenzo- <i>p</i> - dioksinai (PCDD)	Akronimas	Dibenzofuranai (PCDF)	Akronimas
Monochloro-	2	Cl ₁ DD	4	Cl ₁ DF
Dichloro-	10	Cl ₂ DD	16	Cl ₂ DF
Trichloro-	14	Cl ₃ DD	28	Cl ₃ DF
Tetrachloro-	22	Cl ₄ DD	38	Cl ₄ DF
Pentachloro-	14	Cl ₅ DD	28	Cl ₅ DF
Heksachloro-	10	Cl ₆ DD	16	Cl ₆ DF
Heptachloro-	2	Cl ₇ DD	4	Cl ₇ DF
Oktachloro-	1	Cl ₈ DD	1	Cl ₈ DF
Viso	75		135	

Dioksinai ir furanai – junginiai, kuriuose chloro atomas/ai prisijungę prie anglies stomų 1 – 4 ir 6 – 9 pozicijose. (Pav 1.2.)



Polichlorintas dibenzo-*p*-dioksinas



Polichlorintas dibenzofuranas

Pav. 1.2. Struktūrinės PCDD/PCDF formulės ir anglies atomų numeracija.

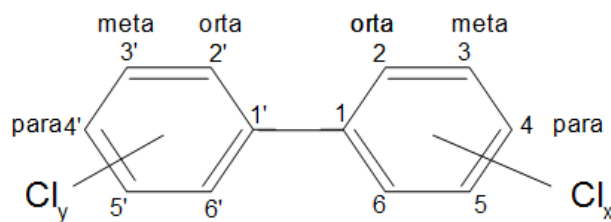
17 iš 210 PCDD/PCDF turi chloro atomą mažiausiai 2, 3, 7 ir 8 pozicijose. Fizinės ir cheminės PCDD/PCDF savybės:

- žemas garų slėgis (nuo 4.0×10^{-8} mm Hg tetrachlordibenzofuranui iki 8.2×10^{-13} mm Hg oktachlordibenzo-*p*-dioksinui);
- mažas tirpumas vandenyje (nuo 419 ng L^{-1} tetrachlordibenzofuranui ir 19.3 ng L^{-1} tetrachlordibenzo-*p*-dioksinui iki 0.0074 ng L^{-1});
- tirpumas organinėse/riebalinėse matricose ($\log K_{OW}$ svyruoja nuo 5.6 tetrachlordibenzofuranui ir 6.1/7.1 tetrachlordibenzo-*p*-dioksinui iki 8.2 oktachlordibenzo-*p*-dioksinui);
- aukštos virimo temperatūros ($>400^\circ\text{C}$).

Pasiskirstymas tarp dalelių ir dujinės būsenos, priklauso nuo PCDD/PCDF fizikinių ir cheminių savybių [12-14, 79].

1.1.3. PCB savybės

Polichlorinti bifenilai (PCB) yra organinių junginių klasė, su dviem benzeno žiedais sujungtais C-C jungtimi, kurių yra 209 giminingų junginių su bendra formule:



Pav. 1.3. PCB struktūrinė formulė ir anglies atomų numeracija [16].

PCB nomenklatūra vadovaujasi tomis pačiomis taisyklėmis kaip PCDD/PCDF, tačiau pagal Tarptautinės Gryniosios ir Taikomosios chemijos sąjungą (IUPAC, 1988), dėmesys turi būti atkreiptas į chloro atomo padėtį molekulėje:

- Dviejų aromatinių žiedų numeracija pradedama nuo C-C jungties, kaip atskaitos taško, sekant 2-6 ir 2'-6' chloro atomo pozicijomis molekulėje;
- Numeracija vykdoma sekančia tvarka $2 < 2'$ ir $2' < 3$;
- Neapostrofuoti numeriai naudojami prie žiedo, kuriame yra daugiau chloro atomų. Su tuo pačių chloro atomų skaičiumi žieduose, pirmenybė neapostrofuotai numeracijai teikiama žiedui, kuriame chloro atomai išsidėstę žemesnėse pozicijose. Jei abu žiedai chloro atomus turi 2 ir 2' pozicijose, numeracija vykdoma pagal chloro atomus 3 ir 3' pozicijose ir t.t.
- Junginio pavadinime privaloma pateikti tokią informaciją: chloro atomų skaičius ir pozicija molekulėje, homologinė eilė, junginio klasė, kuriai jis priklauso.

Tačiau IUPAC pasiūlytas numeracijos variantas yra itin sudėtingas naudoti. Todėl 1980 m. Ballschmitter and Zell pasiūlė numeraciją, kuri pateikta 1.2. lentelėje.

1.2. lentelē. Ballschmiter ir Zell taikoma numeracija.

Cl, Br	0	2	3	4	23	24	25	26	34	35	234	235	236	245	246	345	2345	2346	2356	23456	
23456																					209
2356																				202	208
2346																		197	201	207	
2345																	194	196	199	206	
345																169	189	191	193	205	
246															155	168	182	184	188	204	
245														153	154	167	180	183	187	203	
236													136	149	150	164	174	176	179	200	
235												133	135	146	148	162	172	175	178	198	
234											128	130	132	138	140	157	170	171	177	195	
35										80	107	111	113	120	121	127	159	161	165	192	
34									77	79	105	109	110	118	119	126	156	158	163	190	
26								54	71	73	89	94	96	102	104	125	143	145	152	186	
25							52	53	70	72	87	92	95	101	103	124	141	144	151	185	
24						47	49	51	66	68	85	90	91	99	100	123	137	139	147	181	
23					40	42	44	46	56	58	82	83	84	97	98	122	129	131	134	173	
4				15	22	28	31	32	37	39	60	63	64	74	75	81	114	115	117	166	
3			11	13	20	25	26	27	35	36	55	57	59	67	69	78	106	108	112	160	
2		4	6	8	16	17	18	19	33	34	41	43	45	48	50	76	86	88	93	142	
0	0	1	2	3	5	7	9	10	12	14	21	23	24	29	30	38	61	62	65	116	

Pagal 1.2 lentelę matyti, kad Ballschmitter ir Zell numeracija paremta pagal halogenų padėtį abiejuose benzeno žieduose. Pvz.: PCB 105 viename žiede turi prijungtus halogeno atomus 3 ir 4 pozicijose, kitame žiede – 2, 3 ir 4 pozicijose (2,3,3',4,4'-pentaCB). Dvylika lentelėje paminėtų junginių yra vadinami „dioksinų tipo“ PCB. Šiems junginiams pagal toksiškumo lygį priskirti toksiniai faktoriai (žr. PCDD/PCDF ir PCB toksikologija). 28, 52, 101, 138, 153 ir 180 PCB yra ne dioksinų tipo polichlorinti bifenilai.

Pavieniai PCB yra bespalviai ar šiek tiek gelsvi, dažnai bekvapiai, kristaliniai junginiai. Komerciniai šių produktų mišiniai yra klampūs skysčiai, kurių klampumas didėja kartu su chlorinimo laipsniu ir spalva vyrauja nuo šviesiai iki tamsiai geltonos. Tirpumas vandenyje yra labai mažas, kuris siekia nuo 0,0012 µg/l iki 480 µg/l. Kuomet orto pozicija yra laisva, tirpumas sparčiai mažėja, ir ypač jei para pozicija yra su chloro atomu. PCB lengvai tirpsta nepoliniuose organiniuose tirpikliuose, aliejuose ir biologiniuose lipiduose. Aukštose temperatūrose PCB yra degūs ir degimo produktai yra polichlorinti dibenzofuranai ir vandenilio chloridas bei polichlorinti dibenzo-*p*-dioksinai. PCB savybės aptariamoms 1.3. lentelėje.

1.3. lentelė. Fizikinės ir cheminės PCB savybės.

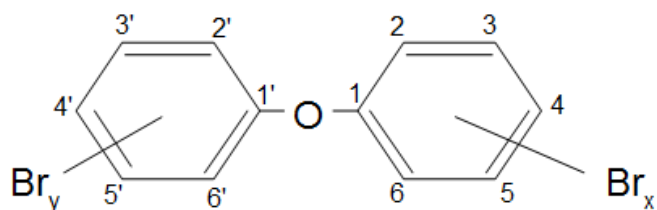
Homologinė eilė	Formulė	Izomerų skaičius	BZ Nr.	Santykinė molekulinė masė	Cl (% , m/m)	Garų slėgis (Pa, 25°C)	Lydimosi temp. (°C)	Virimo temp. (°C)
Monochlor-	C ₁₂ H ₉ Cl	3	1-3	188.66	18.79	1.1	25-77.9	285
Dichlor-	C ₁₂ H ₈ Cl ₂	12	4-15	223.10	31.77	0.24	24.4-149	312
Trichlor-	C ₁₂ H ₇ Cl ₃	24	16-39	257.55	41.30	0.054	28-87	337
Tetrachlor-	C ₁₂ H ₆ Cl ₄	42	40-81	291.99	48.65	0.012	47-180	360
Pentachlor-	C ₁₂ H ₅ Cl ₅	46	82-127	326.44	54.30	2.6×10 ⁻³	76.5-124	381
Heksachlor-	C ₁₂ H ₄ Cl ₆	42	128-169	360.88	58.93	5.8×10 ⁻⁴	77-200	400
Heptachlor-	C ₁₂ H ₃ Cl ₇	24	170-193	395.33	62.77	1.3×10 ⁻⁴	83-149	417
Oktachlor-	C ₁₂ H ₂ Cl ₈	12	194-205	429.77	65.98	2.8×10 ⁻⁵	159-162	432
Nonachlor-	C ₁₂ HCl ₉	3	206-208	464.22	68.73	6.3×10 ⁻⁶	182.8-206	445
Dekachlor-	C ₁₂ Cl ₁₀	1	209	498.66	71.10	1.4×10 ⁻⁶	305.9	456

Dėl savo cheminių ir fizikinių savybių PCB degradacija yra labai sudėtinga. Taip pat stiprios lipofilinės savybės padidina šių junginių kaupimosi riziką žmogaus organizme ir biotoje. Cheminės ir fizikinės savybės, kaip ir giminingų junginių biologinis aktyvumas yra tiesiogiai priklausomi nuo chlorinimo laipsnio ir padėties molekulėje [13, 16].

1.1.4. PBDE savybės

Polibrominti bifenileteriai yra aromatiniai junginiai, kuriuose nuo 1 iki 10 vandenilio atomų yra pakeisti bromu. PBDE nuo 2 iki 10 bromo atomais yra naudojami komerciniuose antipirenuose ir skirstomi į tri- (3), tetra- (4), penta- (5), hekso- (6), hepta- (7), okta- (8), nona- (9) ir dekabrombifenileterius. Komerciniai produktai nėra grynos medžiagos ir jos dažniausiai išskiriamos kaip penta-, okta- ir dekabrom bifenileteriais, tačiau kiekvienas šių produktų yra PBDE mišinys [19]. PBDE taikoma Ballschmiter ir Zell klasifikacija, kaip ir PCB. Skirtumas tik tas, kad PBDE molekulėje vietoj chloro yra bromo atomas ir papildomai deguonies atomas (žr. 2 lentelė). PBDE yra 209 junginiai taip pat.

Mažiau brominti bifenileteriai (nuo tetra- iki hepta-) yra daugiau tirpūs vandenyje, lagesni ir lengviau transportuojasi aplinkoje nei daugiau brominti. Atmosferoje šie homologai linkę pasiskirstyti tarp dalelių. Daugiau brominti bifenileteriai atmosferoje linkę egzistuoti kietoje formoje. Bendra struktūrinė PBDE formulė ir anglies atomų numeracija pateikta pav. 1.4. Pagrindinės fizikinės ir cheminės PBDE savybės pateiktos 1.4. lentelėje.



Pav. 1.4. PBDE struktūrinė formulė ir anglies atomų numeracija.

1.4. lentelė. PBDE fizikinės ir cheminės savybės

Savybė	PentaBDE	OktaBDE	DekaBDE
Molekulinė masė	485.8 (tetraBDE) 564.7 (pentaBDE)	643.6 (heksaBDE) 722.3 (heptaBDE) 801.4 (oktaBDE)	880.4 (nonaBDE) 959.2 (dekaBDE)
Fizinė būseną (20°C; 101.325 kPa)	Klampus skystis arba pusiau kieta medžiaga. Grynas pentaBDE – balta kristalinė medžiaga.	Balkšvi milteliai	Balkšvi milteliai
Lydomosi temperatūra, °C	Nuo -7 iki -3	Nuo 85 iki 89	Nuo 290 iki 306
Virimo temperatūra, °C	> 300	> 300	> 300
Garų slėgis prie 25 °C (mm Hg)	Nuo 2.2×10^{-7} iki 5.5×10^{-7}	Nuo 9.0×10^{-10} iki 1.7×10^{-9}	3.2×10^{-8}
Pasiskirstymo koeficientas $L_{og} K_{OW}$	Nuo 6.64 iki 6.97	6.29 (komercinis)	6.265
Pasiskirstymo koeficientas $L_{og} K_{OC}$	Nuo 4.89 iki 5.10	Nuo 5.92 iki 6.22	6.80
Tankis, g/ml prie 25°C	2.28	2.76	3.0
Henrio konstanta prie 25°C, (atm·m ³ /mol)	1.2×10^{-5}	7.5×10^{-8}	1.62×10^{-6}

[20-22].

Mažiau bromintų antipirenų transportavimo kelias yra didesnis nei daugiau bromintų. Kadangi duomenų apie fotolizinį ir mikrobiologinį okta ir dekaBDE irimą aplinkoje trūksta, manoma, kad daugiau brominti BDE gali degraduoti į mažiau bromintus junginius, kaip tetra-, penta-, heksaBDE. Yra žinoma, kad okta- ir deka-BDE skyla į bromintus dibenzofuranus ir dioksinus veikiant aukštai temperatūrai. Taigi mažiau brominti bifenileteriai yra labiau patvarūs junginiai aplinkoje [28].

1.1.5. Polichlorintų bifenilų toksikologija

Pirmą kartą PCB buvo pagaminti 1930-ųjų pradžioje ir taikomi dažų, mikroskopų panardinimo alyvų, savaiminio kopijavimo popieriaus, vaškų liejimo, spausdinimo rašalo, elektrinių kondensatorių gamyboje. Nuo tada į aplinką pateko net keli šimtai milijonų kilogramų PCB. Nepaisant nekontroliuojamo šių medžiagų naudojimo masinėje gamybose, PCB nebuvo laikomi teršalais iki 1966-ųjų.

Atlikus daugelį tyrimų su laboratorinėmis pelėmis, t. y. šeriant PCB junginių mišiniais tokiais, kaip Aroclor 1016, 1242, 1254 ir 1260, Kanechlor

500, nustatyta, kad PCB sukelia kepenų pažeidimus panašiai kaip cikliniai halogeninti insekticidai, kurie buvo uždrausti realizuoti prekyboje. Kepenų pažeidimai pasireiškė padidėjusiu serumo fermentų aktyvumu, cholesterolio koncentracija, mažėja hematologiniai parametrai, pasireiškia kepenų ląstelių hipertrofija. Kanechlor 500 pasižymi tetrogeniniu poveikiu. Šeriant laboratorines peles Aroclor 1260 ir 1254, pastebėta, kad sumažėjo gyvų jauniklių skaičius.

PCB, kaip ir kiti halogeniniai angliavandeniliai, tokie kaip heksachlorbenzenas, metilchloridas, vinilchloridas sukelia porfirinų kaupimąsi kepenyse. Porfirijos – tai ligų grupė, kurioms būdingas hemo sintezės cheminių reakcijų sekos fermentų defektai.

PCP sukelia chloraknės ligą. Tai buvo pirmoji liga nustatyta dėl pastarųjų junginių toksiškumo 1952-aisiais, kuri pasireiškia dermatitu ir hyperpigmentacija.

Keletas halogenintų hidrokarbonatų pesticidų yra žinomi kaip turintys anti-skydliaukės poveikį, t. y. pakeičia skydliaukės hormoninę pusiausvyrą. Tyrimai su laboratorinėmis pelėmis rodo, kad Aroclor 1254 mažina T3 ir T4 kiekius, tuo pačiu didina skydliaukės svorį. Mokslininkai taip pat bandė PCB, DDT ir jo metabolitus, chloro pesticidus (acetochlorą, alachlorą, metopreną) prijungti prie žmogaus skydliaukės hormonų receptorių bei skydliaukės hormonų transporto baltymų. Tyrimai parodė, kad tik hidroksilintas PCB prisijungia prie žmogaus skydliaukės receptoriaus, tačiau didesnis susirišimo giminiškumas buvo prie skydliaukės transportavimo baltymo – transtiretino.

Esant PCB ir kitų cheminių junginių oraliniam poveikiui suaugusiems ir mažiems vaikams pasireiškia imuninės sistemos sutrikimai.

Plačiai tirti PCB neurologiniai reiškiniai su žmonėmis ir gyvūnais. Tyrimų rezultatai rodo, kad PCB smarkiai įtakoja naujagimių ir mažų vaikų neurofunkcionavimui. Epidemiologiniai duomenys parodė, kad esant tęstiniam oraliniam PCB vartojimui kūdikiams ir mažiems vaikams pasireiškė atminties stoka, blogas mokymasis ir intelekto koeficientas.

PCB yra gerai žinomi junginiai, kurie pasižymi turintys kancerogeninį poveikį. Remiantis mokslininkų išvadomis, susijusiomis su vėžio diagnostika dėl PCB, išskiriamos pagrindinės jo formos: kepenų, tulžies takų, žarnyno ir odos (melanos) [3-6].

Pradžioje rizikos vertinimui buvo naudojamas 2,3,7,8-TCDD. Netrukus šis teršalas buvo pripažintas kaip toksiškiausias iš visų, mažiausiai 2, 3, 7 ar 8 pozicijose turinčiuose chloro atomus PCDD/PCDF junginių, kurie laikomi patvariais ir kaupiasi maisto grandinėje. Šių junginių rizikos vertinimui 1988 metais buvo nustatyti toksiniai ekvivalentiniai faktoriai (TEF). Šie faktoriai remiasi toksiškumo *in vivo* ir *in vitro* studijomis [6].

1997 metais birželio 15 – 18 dienomis įvyko Pasaulio Sveikatos Organizacijos (PSO) ekspertų grupės susitikimas, kurioje buvo nustatyti toksiniai ekvivalentiniai faktoriai (TEF₁₉₉₈) [24]. 2005 metų birželį Ženevoje, papildžius duomenų bazę ir įvertinus naujus duomenis, Pasaulio Sveikatos Organizacijos ekspertai tarptautinėje cheminės saugos programoje nustatė naujus Toksinius Ekvivalentinius Faktorius (TEF₂₀₀₅) [23]. Polichlorintų bifenilų TEF₁₉₉₈ ir TEF₂₀₀₅ pateikti 1.5. lentelėje.

1.5. lentelė. PCB toksiniai ekvivalentiniai faktoriai.

	PSO TEF₁₉₉₈	PSO TEF₂₀₀₅
3,3',4,4'-tetraCB (PCB 77)	0.0001	0.0001
3,4,4',5-tetraCB (PCB 81)	0.0001	0.0003
3,3',4,4',5-pentaCB (PCB 126)	0.1	0.1
3,3',4,4',5,5'-heksaCB (PCB 169)	0.01	0.03
2,3,3',4,4'-pentaCB (PCB 105)	0.0001	0.00003
2,3,4,4',5-pentaCB (PCB 114)	0.0005	0.00003
2,3',4,4',5-pentaCB (PCB 118)	0.0001	0.00003
2',3,4,4',5-pentaCB (PCB 123)	0.0001	0.00003
2,3,3',4,4',5-heksaCB (PCB 156)	0.0005	0.00003
2,3,3',4,4',5'-heksaCB (PCB 157)	0.0005	0.00003
2,3',4,4',5,5'-heksaCB (PCB 167)	0.00001	0.00003
2,3,3',4,4',5,5'-heptaCB (PCB 189)	0.0001	0.00003

Individualių junginių TEF kombinuojant su jų cheminėmis koncentracijomis, apskaičiuojamas toksinis ekvivalentas (angl. TEQ – *Toxic Equivalent*). Šis faktorius apskaičiuojamas pagal žemiau pateiktą formulę:

$$TE = \sum (PCDD_i \times TEF_i) + \sum (PCDF_i \times TEF_i) + \sum (PCB_i \times TEF_i)$$

(Formulė 1.2.) [25]

Kur: $PCDD_i$ – individualių polichlorintų dibenzo-*p*-dioksinų koncentracija ($ng\ kg^{-1}$), $PCDF_i$ – individualių polichlorintų dibenzofuranų koncentracija ($ng\ kg^{-1}$), PCB_i – individualių polichlorintų bifenilų koncentracija ($ng\ kg^{-1}$), TEF_i – toksinis ekvivalentinis faktorius, naudojamas kiekvienam PCDD/PCDF ir PCB atskirai (žr. 1.5. ir 1.6 lentelės).

1.1.6. Polichlorintų dibenzo-*p*-dioksinų, polichlorintų dibenzofuranų toksikologija

Kaip ir kiti POT, dioksinai ir furanai pasižymi bioakumuliacinėmis savybėmis, patvarumu, mobilumu ir ilgalaikiu neigiamu poveikiu. PCDD/PCDF kenkia žmogaus odai, kepenims, nervų, imuninei sistemai, reprodukcijai, pasižymi tetratogeniniu poveikiu (galimi išsigimimai) ir kancerogeninėmis savybėmis [1].

PCDF, kaip teršalai, pirmą kartą įvardinti 1970-iais. PCDD buvo nustatyti 1973-siais kaip jaunikių edemos ligą įtakojantis faktorius ir aptiktas chlorfenolyje. 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-*p*-dioksino (TCDD) toksiškumas atsitiktinai nustatytas 1957-siais. Dėl išskirtinio šio junginio toksiškumo iki šiol visa PCDD, PCDF grupė junginių vadinama tiesiog „dioksinais“ visame pasaulyje [3-4]. 2,3,7,8-Cl₄DD pasižymi gebėjimu jungtis prie arilo angliavandenilio receptoriaus (AhR). Taip pat kitų PCDD ir PCDF junginių santykinis toksiškumas apibūdinamas gebėjimu jungtis prie receptoriaus, kuris yra visų graužikų ir žmonių audiniuose. Manoma, kad PCDD ir PCDF demonstruoja tokį pat toksiškumo modelį. PCDD/PCDF toksiškumas pasireiškia ląsteliniu lygiu, susijungiant su specifiniu baltymu (AhR) ląstelės citoplazmoje. Pastarieji junginiai susiriša su Ah receptoriu ir sukelia CYP1A1 (citochromas P450 1A1) ir CYP1A2 (citochromas P450 1A2) genų ekspresiją. Didėjant chloro atomų skaičiui PCDD/PCDF molekulėje, prisijungimo galimybė prie Ah receptoriaus mažėja.

Tarptautinė vėžio tyrimų agentūra (IARC) pripažino 2,3,7,8-tetraCDD esant kancerogenu gyvūnams ir žmogui. 2,3,7,8-tetraCDD ypač mažomis

koncentracijomis sukelia kepenų auglius. Dioksinai ir furanai nėra genotoksiški, t.y. neinicijuoja vėžio vystymosi, bet yra stiprūs promotoriai [12].

Remiantis mokslininkų pateiktais duomenimis (surinkti duomenys nuo 1976 iki 1996, po dioksinų avarijos 1976 Sevesas, Italija), gyvenant PCDD padidintos rizikos zonose (20 metų), padidėjo mirtingumas sergančiųjų tiesiosios žarnos ir plaučių vėžiu. Ypač išaugo mirtingumas sergant leukemija. Moterų tarpe spačiai išaugo diabeto atvejų. Padaugėjo kraujotakos ir kvėpavimo takų ligų [26]. Eksperimentiniai duomenys rodo, kad biotoje ir žmogaus organizme, endokrininė ir reprodukcinė sistemos yra jautriausios dioksinų poveikiui [27].

Kaip polichlorinti bifenilai, taip dioksinai ir furanai turi toksinius ekvivalentinius faktorius. Pastarieji pateikti 1.6. lentelėje [23, 25].

1.6. lentelė. PCDD/PCDF Toksiniai Ekvivalentiniai Faktorai.

Junginys	PSO TEF ₁₉₉₈	PSO TEF ₂₀₀₅
2,3,7,8-tetraCDD	1	1
1,2,3,7,8-pentaCDD	1	1
1,2,3,4,7,8-heksaCDD	0.1	0.1
1,2,3,6,7,8-heksaCDD	0.1	0.1
1,2,3,7,8,9-heksaCDD	0.1	0.1
1,2,3,4,6,7,8-heptaCDD	0.01	0.01
OktaCDD	0.0001	0.0003
2,3,7,8-tetraCDF	0.1	0.1
1,2,3,7,8-pentaCDF	0.05	0.03
2,3,4,7,8-pentaCDF	0.5	0.3
1,2,3,4,7,8-heksaCDF	0.1	0.1
1,2,3,6,7,8-heksaCDF	0.1	0.1
1,2,3,7,8,9-heksaCDF	0.1	0.1
2,3,4,6,7,8-heksaCDF	0.1	0.1
1,2,3,4,6,7,8-heptaCDF	0.01	0.01
1,2,3,4,7,8,9-heptaCDF	0.01	0.01
OktaCDF	0.0001	0.0003

1.1.7. Polibromintų bifenileterių toksikologija

Polibrominti bifenileteriai yra randami žmogaus kraujyje, serume, riebaliniame audinyje, motinos piene, placentos audinyje ir smegenyse. Priešingai nei okta- ir deka-BDE, junginiai su bromo atomu nuo tri- iki

heksa- yra tirpūs riebaluose, atsparūs metabolizmui ir gali kauptis riebaliniame audinyje nuo gimimo iki mirties.

PBDE sukelia kepenų navikus, sutrikdo neurologinį vystymąsi ir skydliaukės funkcionavimą. Pasireiškia nuovargis, sumažėjęs darbingumas, galvos skausmas, svaigimas ir irzlumas. Visi šie simptomai pasirodo kartu su skrandžio ir žarnyno ligomis, įskaitant sumažėjusį apetitą, svorio netekimą, pilvo skausmus, diarėją [28]. Aplinkoje irstančios elektroninių prietaisų atliekos išskiria į aplinką PCB ir PBDE, kurie kaupiasi žmogaus organizme ir sukelia skydliaukės, hormonų, kraujo ir inkstų pažeidimus [30].

PBDE pasižymi neurotoksikologiniu poveikiu. Šis sutrikimas daugiau liečia kūdikius ir mažus vaikus. Jau 10 dieną po gimimo įkvėpus tetra- ar pentaBDE, pasireiškia sutrikęs elgesys, atminties stoka. Veikiant PBDE, nervų sistemos vystymosi toksikologija sukelia cholinerginės sistemos pokyčius, taip pat susijusi su skydliaukės homeostazės pokyčiais. Visuotinai pripažinta, kad smegenų vystymąsis priklauso nuo skydliaukės hormonų. HidroksiPBDE junginiai struktūriškai panašūs į skydliaukės hormonus 3,5-dijodtironiną (T2), 3,3,5-trijodtironiną (T3) ir 3,3,5,5-tetrajodtironiną (T4), kurie jungiasi prie alfa ir beta skydliaukės hormonų receptorių. PCB ir PBDE pakeičia skydliaukės hormonų pusiausvyrą ir sutrikdo smegenų vystymąsi. Taigi, net ir trumpas mažiau brominti bifenileterių poveikis sutrikdo skydliaukės funkcionavimą ir hormonų pusiausvyrą. Šeriant peles daugiau bromintais bifenileteriais, taip pat pastebėtas skydliaukės hormonų disbalansas, padidėjo skydliaukės hiperplazija ir navikų skaičius.

PBDE sutrikdo estrogenų veiklą. Aukštas estrogeninis aktyvumas stebimas PBDE-100, PBDE-75, PBDE-51. Aktyvumas atsiranda turint du orto (2,6) padėtyje bromo atomus viename benzeno žiede ir bent bromo atomą kitame benzeno žiede para padėtyje.

Manoma, kad PBDE yra kancerogenai. Vieno tyrimo rezultatai Švedijos ligoninėje buvo susieti su PBDE koncentracija riebaliniame audinyje su Hodkinso limfomos rizika [28]. Esant kontaktui su PBDE, riziką susirgti vėžiu patvirtina ir kiti autoriai. Yu Bon Mana ir kiti tvirtina, kad BDE-209

sukelia vėžio susirgimo riziką [29]. Vadovaujantis Europos Komisijos rekomendacija 2014/118/ES, valstybės narės turėtų analizuoti BDE-28, BDE-47, BDE-49, BDE-99, BDE-100, BDE-138, BDE-153, BDE-154, BDE-183, BDE-209 [31].

1.2. POT analizė

POT analizės istorija nelabai skiriasi nuo kitų toksinių aplinkos junginių. Kai POT problema buvo globaliai pripažinta, kuri sekė pasaulinių įvykių, susijusių su toksinių junginių išsiskyrimu į aplinką, jų identifikavimas ir kiekybinė analizė tapo reikalinga. Pirmasis iššūkis buvo natyvinių ($^{12}\text{C}_{12}$) ir žymėtų ($^{13}\text{C}_{12}$) POT junginių sintezė, išgryninimas ir sertifikavimas [33].

Kadangi POT junginiai yra labai toksiški (žr. Polichlorintų bifenilų toksikologija, polichlorintų dibenzo-*p*-dioksinų ir furanų toksikologija, polibromintų bifenileterių toksikologija), atsirado būtinybė sukurti jautrius analizės metodus, siekiančius 10^{-12} g/g ir/ar 10^{-15} g/g nustatymo ribas [34].

Jau 1994 metais Jungtinių Amerikos valstijų aplinkos apsaugos agentūra (angl. U.S. EPA) publikavo 17 PCDD/PCDF (EPA 1613, EPA 8290), 12 PCB (EPA 1668) analizės metodus, kurie buvo kelis kartus atnaujinti 2007, 2008, 2010 metais. PBDE analizės metodas, publikuotas 2007 metais (EPA 1614) [35-41].

POT analizė apima keletą stadijų: dominančių junginių ekstrakcija, gryninimas, frakcionavimas, atskyrimas, identifikavimas ir nustatymas.

1. Ekstrakcija. Yra keletas POT ekstrakcijos metodų – Soksleto ekstrakcija, kietafazė ekstrakcija, ekstrakcija tirpikliais ir t.t. Toliau vykdomas nugarinimo etapas, kuris paprastai atliekamas veikiant vakuumu arba azotu. Reikia pastebėti, kad garinant ekstraktus, būtina išvengti sauso nugaravimo. Prieš ekstrakciją arba po ekstrakcijos iš mėginio būtina pašalinti drėgmę, lipidus, baltymus. Drėgmės eliminavimas atliekamas, mėginio matricą veikiant bevandeniu natrio sulfatu ar kitu dehidratuojančiu agentu. Lipidų valymas atliekamas su sieros rūgštimi arba naudojant gelių chromatografiją po

ekstrakcijos. Baltymų denatūravimas atliekamas naudojant oksalatą. Prieš ekstrakciją į mėginio matricą reikia įdėti vidinių standartų, kad būtų įvertintas ekstrakcijos efektyvumas.

2. Gryninimo ir fracionavimo stadija reikalinga atskirti trukdančius junginius nuo analičių. Gryninimas turėtų būti pakankamai efektyvus, kad mėginio matrica neįtakotų chromatografinio atskyrimo (ypač jei nenaudojami žymėti $^{13}\text{C}_{12}$ vidiniai standartai arba netaikoma specifinių masių detekcija). Gryninimas atliekamas naudojant įvairius adsorbentus ir skirtingus tirpiklius priklausomai nuo selektyvumo, kondicionavimo ir tėkmės srauto. Šio etapo metu analizuojamų analičių profilis santykinai privalo išlikti vienodas, t.y. analičių sudėtis po valymo privalo atitikti pradinę sudėtį prie tenkinančių išgavų.

3. Atskyrimas – etapas, kurio metu POT atskiriami naudojant dujų chromatografiją kartu su elektronų gaudymo detektoriumi (angl. ECD – electron capture detector), masių spektrometriniu detektoriumi (angl. MS – mass selective detector) arba, jei yra galimybė, naudojant didelės skiriamosios gebos masių spektrometrinę detekciją (angl. HRMS – high resolution mass spectrometry detection). Vienas pagrindinių atskyrimo etapų yra dujų chromatografinės kolonėlės parinkimas. Parenkamos tinkamos chromatografinės sąlygos: rezoliucija, analitės smailės simetriškumas, atkuriamumas ir sulaikymo laikai, dujų grynumas, skirtingo poliškumo kolonėlės naudojimas POT patvirtinimui, instrumento linijškumo patvirtinimas. Kalibravimo kreivė privalo turėti mažiausiai 5 kalibravimo taškus.

4. Identifikavimas. Norint identifikuoti POT junginius, privaloma tikrinti:

- Analčių sulaikymo laikai privalo sutapti su vidinių standartų sulaikymo laikais;
- Natyvinių ir žymėtų standartų sulaikymo laikai negali skirtis daugiau nei 3 sekundės;

- Patartina papildomai atlikti mėginių su žinoma atitinkamų POT koncentracija analizę arba atlikti papildomas injekcijas.
 - Naudojant didelės skiriamosios gebos dujų chromatografiją – masių spektrometriją rekomenduojama: nešančios dujos – helis, deaktyvuota įvedimo sistema, instrumento vakuumo palaikymas, masių kalibravimas ir reguliavimas, identifikacijos atveju – izotopų santykis turėtų būti +/- 15% teorinės vertės.
5. Kiekybinė analizė. Analizės rekomendacijos:
- Analizuojamų junginių koncentracijos privalo būti nustatytame detektoriaus linijiname intervale;
 - Tuščių mėginių koncentracijos lygis privalo būti žymiai mažesnis nei analizuojamų mėginių (rekomenduojama < 10 kartų);
 - Nustatymo ribos 1/5 dominančios koncentracijos (didžiausios leidžiamos koncentracijos) [42].

1.2.1. Mėginių ekstrakcija

Daugeliu atveju patvarių organinių teršalų analizė nesiskiria nuo kitų cheminių analizės metodų. Vis dėlto, yra specifinių kriterijų, į kuriuos būtina atsižvelgti. POT analizė atliekama įvairiose matricose ir jų koncentracijos gali labai skirtis (nuo polichlorintų bifenių mg/kg transformatorinėse alyvose iki PCDD/PCDF fg/m³ aplinkos ore) [42].

Ekstrakciją lemia analičių, matricos bei ekstrahento savybės. Analčių transportui tarp dviejų nesimaišančių fazių ypač svarbus garų slėgis, tirpumas, molekulinė masė, hidrofobiškumas ir galima analčių disociacija [57].

Klasikiniai metodai kaip ekstrakcija tirpikliais, Soksleto ekstrakcija naudojami išskirti pagrindinius POT, kaip PCDD/PCDF, PAH, PCB, polibrominti antipirenai, HCH, HCB, DDT. Pastaruoju metu dažniau naudojami ir kiti ekstrakcijos metodai: ekstrakcija superkritiniais skysčiais, pagreitinta ekstrakcija tirpikliais, ekstrakcija panaudojant mikrobangas,

kietafazė ekstraktacija, kietafazė mikroekstraktacija, vandens ekstraktacija panaudojant pusiau pralaidžias membranas [11, 22, 56, 77]. PCB ir PBDE analizės rezultatai dirvožemio ir žuvies mėginiuose, taikant pagreitintą ekstraktaciją tirpikliais ir ekstraktaciją panaudojant mikrobangas yra palyginami su rezultatais naudojant klasikinę Soksleto ekstraktaciją, o kai kuriais atvejais, PCB išgavos buvo geresnės. Tačiau, ekstraktacijos metodas panaudojant mikrobangas, turi būti kruopščiai įvertintas atsižvelgiant į mėginio ir analizių charakteristikas, kad galima būtų išvengti daugiau chlorintų PBDE degradacijos [60].

Ekstraktacijos tirpikliais atveju, abi fazės, tarp kurių pasiskirsto analizė, yra tarpusavyje nesimaišantys skysčiai [57]. Šiuo metodu ekstrahuojami vandens, gyvūninės kilmės bei žmogaus organizmo mėginiai. Ekstrahuojant sudėtingus mėginius (kraują, šlapimą, nutekamuosius vandenius) gali susidaryti putos ar emulsija. Ši problema pašalinama ekstraktą šaldant, centrifuguojant ar pridėdant druskų. Taip pat galima naudoti nepertraukiamą ekstraktaciją tirpikliais [57]. Šis POT ekstraktacijos metodas naudojamas daugelio autorių [11, 32, 34-41, 48, 51-52, 56, 58-59, 90, 92-93, 99].

Soksleto ekstraktacija – plačiausiai naudojamas kietų mėginių ekstraktacijos metodas. Ekstrahuojantis tirpiklis parenkamas taip, kad būtų kuo giminingesnis analitėms, kuo mažiau giminingas matricai, kuo lakesnis, kuo mažiau klampus (tada jį lengviau pašalinti iš mėginio) [57]. Šiuo metu tai bene plačiausiai naudojamas ekstraktacijos metodas įvairioms matricoms [32, 35-41, 49, 52-53, 56, 60-62, 65, 75, 88, 93].

Efektvyvioji ekstraktacija tirpikliais – tai ekstraktacija įprastiniais tirpikliais, naudojant aukštesnę temperatūrą (100 – 180°C) ir slėgį (1500 – 2000 psi). Šis ekstraktacijos metodas pasiūlytas 1995 m. ir naudojamas ekstrahuojant iš kietų matricų. Padidintas slėgis ir temperatūra daro poveikį tirpikliui, mėginiui ir jų sąveikai. Padidintame slėgyje padidėja tirpiklio virimo temperatūra, todėl ekstraktaciją galima atlikti aukštoje temperatūroje. Aukštas slėgis palengvina tirpiklio prasiskverbimą į mėginio matricą ir taip palengvina matricos porose sulaikytų analizių ekstraktaciją. Aukštose temperatūrose

padidėja analičių tirpumas ir greičiau vyksta masės perdavimas. Aukštose temperatūrose susilpnėja Van der Valso jėgos, dipolių sąveikos bei vandeniliniai ryšiai tarp analitės ir matricos. Be to, aukštose temperatūrose sumažėja tirpiklio klampa ir paviršiaus įtempimas, o tai savo ruožtu palengvina tirpiklio skverbimąsi į matricą. Visos išvardintos priežastys palengvina ekstrakciją ir pagerina ekstrakcijos išgavą [57]. Nors šis ekstrakcijos metodas yra efektyvus, tačiau nedaugelis jį taiko [11, 32, 47-48, 56, 61, 65-68, 75, 81, 88, 90-91, 94, 95, 108].

Ekstrakcija, panaudojant mikrobangas, taikoma kietoms matricoms. Ji remiasi tirpiklio ir matricos kaitimu, vykstančiu sąveikaujant mikrobangoms su medžiaga. Dėl dipolių rotacijos ir dėl joninio laidumo mikrobangų energija virsta šiluma. Naudojamas 300 – 300000 MHz elektromagnetinių bangų dažnių intervalas. Dažniausiai naudojamas 2450 MHz dažnis (toks bangų dažnis ir buitinėse mikrobangų krosnelėse). Mikrobangų energija neveikia nepolinių tirpiklių, todėl ekstrakcijai naudojant nepolinius tirpiklius, reikia pridėti polinių priedų. Mikrobangos kaitina visą mėginį vienu metu, tačiau nešildo paties indo, todėl tirpalas savo virimo temperatūrą pasiekia labai greitai ir, palyginus su rankine ekstrakcija, labai sumažėja ekstrakcijos trukmė. Ji siekia vos 10-20 min. [11, 32, 57, 61]. Kai kurie autoriai pristato ekstrakciją panaudojant mikrobangas taikomą skystos būsenos mėginiams [56, 65, 95].

Analizės tikslams superkritiniai skysčiai pirmąkart buvo panaudoti 1981 m., o po keleto metų ekstrakcija superkritiniais skysčiais (ESS) buvo komercializuota. Šiuo metodu ekstrahuojama iš kietų matricų. Skystis yra superkritiniame būvyje tada, kai tiek jo temperatūra, tiek slėgis yra virš jų kritinio taško. Jei virš kritinio taško yra tik vienas iš šių parametru, sakoma, kad skystis yra subkritiniame būvyje. Ekstrakcija superkritiniais skysčiais greita (10 – 60 min), naudoja mažai arba visai nenaudoja įprastinių tirpiklių. CO₂ netoksiškas, nedegus, nekenksmingas aplinkai. Pridedant modifikatorių, reguliuojant ekstrakcijos sąlygas galima atranki ekstrakcija. Gauta ekstrakto nereikia papildomai filtruoti. Antra vertus, ekstrakcijos superkritiniais

skysčiais prietaisai gana brangūs. Be to ekstrakcijos išgava priklauso nuo matricos [57, 65, 95].

Kietafazė ekstrakcija, palyginus su ekstrakcija tirpikliais, turi keletą privalumų: mažesnė ekstrakcijos trukmė, mažesnė kaina, sunaudojama mažiau tirpiklių, ekstrahuojant nesusidaro emulsija. Kietafazės ekstrakcijos pagalba pasiekiamas didesnis sukonzentravimo laipsnis, analites galima saugoti sorbuotas, ant sorbento analites galima derivatizuoti. Metodas suteikia daugiau galimybių atrankiai perskirti analites, mėginį galima frakcionuoti į keletą junginių grupių [27]. Visos analitės sorbuojamos iš tekančio per kietą sorbentą skysčio, po to analitės eliuojamos iš sorbento tinkamu tirpikliu [57]. Apie šio ekstrakcijos metodo naudojimą POT analizėje byloja kiti autoriai [35-41, 56, 65, 74, 95].

1.2.2. Mėginių gryninimas ir frakcionavimas

Po riebalų ekstrakcijos seka mėginio gryninimo ir frakcionavimo etapai. Šie mėginio paruošimo būdai gali būti atliekami rankiniu arba automatiniu būdu. Rankinius analizės metodus aprašo pagrindiniai aplinkos apsaugos agentūros aprašai [35-41]. Bendrai galima išskirti pagrindinius etapus: riebalų valymas ir atitinkamų junginių frakcijų atskyrimas. Rankinis mėginio valymo metodas kartais reikalauja iki kelių dienų darbo. Toks paruošimo būdas pagrįstas riebalų valymu naudojant sluoksniuotą parūgštinto silikagelio kolonėlę. Paprastai PCDD/PCDF ir PCB, PBDE atskiriami naudojant florisilio kolonėlę [63]. Kiti autoriai naudoja aliuminio oksido kolonėlę [32]. Tolesnis frakcionavimas vykdomas naudojant skirtingo aktyvumo anglies kolonėles. PCB ir PBDE grupė gali būti išskiriama kaip *non-orto* PCB ir *mono-orto*, *di-orto* PCB ir PBDE. Todėl iki šių dienų mokslininkai ieško efektyvių ir mažiau laiko reikalaujančių analizės metodų [63]. Todėl daugelis laboratorijų rankinius mėginio paruošimo metodus stengiasi pakeisti efektyvesniais automatiniiais. Pagrindiniai POT analizės rankinio ir automatinio mėginio paruošimo būdai pateikti 1.7. lentelėje.

1.7. lentelė. POT gryninimo ir frakcionavimo metodų apžvalga

Mėginio matrica	Gryninimas ir frakcionavimas	Autorius
Gyvūninės kilmės produktai, jūros gėrybės, žmogaus kraujas, maisto produktai ir pašarai, žuvis, vanuo, dirvožemis, biologinės matricos	Automatinės mėginio paruošimo sistemos – Power-Prep™ DEXTech	[48-49, 52, 63-64, 68, 71, 74-75, 78, 81, 84, 85-86, 89, 91, 94-96]
Vaisiai ir daržovės	„Extrelut“ kolonėlė → Aliuminio oksido kolonėlė	[53, 108]
Serumas	Daugiasluoksnė silikagelio kolonėlė	[101-102]
Žmogaus kraujas, Zooplanktonas (Baltijos Jūra)	Daugiasluoksnė silikagelio kolonėlė → Aliuminio oksido kolonėlė → Aktyvuotos anglies kolonėlė	[32, 47]
Pieno produktai, kiti maisto produktai	Daugiasluoksnė silikagelio kolonėlė → Aktyvuotos anglies kolonėlė	[45, 51, 92]
Kraujas	Daugiasluoksnė silikagelio kolonėlė → Aktyvuotos anglies kolonėlė → Florisilio kolonėlė → Aliuminio oksido kolonėlė	[103]
Atliekų kietosios medžiagos, dirvožemis, dumblas, vandeniniai tirpalai, žuvis, kraujas	Daugiasluoksnė silikagelio kolonėlė → Aliuminio oksido kolonėlė	[69, 78, 87, 104]
Išmetamųjų dujų kondensatas	Daugiasluoksnė silikagelio kolonėlė → Florisilio kolonėlė	[98]
Žuvis, ožkos ir karvės pienas, dirvožemis, žolė, kiaušiniai	Daugiasluoksnė silikagelio kolonėlė → Florisilio kolonėlė → Aktyvuotos anglies kolonėlė	[70, 72-73, 80, 88, 99]
Žuvis	Daugiasluoksnė silikagelio kolonėlė → Aliuminio oksido kolonėlė → Florisilio kolonėlė	[82]
Kiaušiniai, vandens paukščių kiaušiniai	Gelių filtracinė chromatografija → Aliuminio oksido kolonėlė → Aktyvuotos anglies kolonėlė	[83, 97]
Dirvožemis	Daugiasluoksnė silikagelio kolonėlė → Florisilio kolonėlė → Aliuminio oksido kolonėlė	[90]
Maisto produktai	Aktyvuotos anglies kolonėlė → Aliuminio oksido kolonėlė	[93]

1.2.3. Analinių identifikavimas ir nustatymas

Pastaruosius 30 metų dioksinų ir furanų identifikavimui ir nustatymui buvo naudojamas dujų chromatografijos-masių spektrometrijos metodas (GC-MS) [71]. Pastarasis metodas buvo optimizuotas jau 1973 metais. Straipsnyje pademonstruota galimybė didelės skiriamosios gebos dujų chromatografijos-masių spektrometrijos metodu (HRGC-HRMS) nustatyti 2,3,7,8-TCDD įvairiose matricose su 10^{-12} g/g aptikimo riba [76]. Buvo tirta daugelis detekcijos technikų, tačiau selektyvumu ir jautrumu nei viena jų neprilygo didelės skiriamosios gebos masių spektrometrijai [71]. Bendra instrumentinių metodų apžvalga pateikta 1.8. lentelėje.

1.8. lentelė. POT instrumentinių metodų apžvalga.

Instrumentika ^a	POT	Mėginio matrica	Autorius	
GC-ICP-MS	PBDE	Žmogaus serumas, dirvožemis dulkės, ežero vanduo	[11]	
HRGC-HRMS	PCDD/PCDF, PCB, PBDE, PBDD/PBDF, PBB, HBCD, TBBPA, PCN, PCDE	Zooplanktonas (Baltijos Jūra), oras, jūros gėrybės, maisto produktai (pienas, vaisiai, daržovės), vėžiagyviai, pašarai, žuvis, dirvožemis, dumblas, midijos, vandeniniai tirpalai, biologinės kilmės matricos, išmetamųjų dujų kondensatas, ruoniai	[43-53, 70, 77-78, 80-83, 85-91, 93-98, 100-101, 104, 108]	
GC × GC-HRMS	PCDD/PCDF, PCB, PBDE	Kraujas	[103]	
GC-ECD	PCB	Aplinkos mėginiai	[54, 86]	
GC × GC-ECD	PCDD/PCDF, PCB	Maisto produktai	[92]	
GC × GC-TOF-MS			[55, 85, 86, 95]	
GC-MS			[102]	
GC × GC-MS/MS			PCB	[89]
				[109]
GC-MS-MS	PCDD/PCDF, PCB	Augalinės kilmės riebalai, maisto produktai	[84, 89, 95, 99]	
GC-QITMS/MS	PCDD/PCDF, PCB, PBDE	Biologinės kilmės matricos	[86]	

^a GC-ICP-MS – dujų chromatografija – indukciškai sujungtos plazmos masių spektrometrija; HRGC-HRMS – didelės skiriamosios gebos dujų chromatografija – masių spektrometrija; GC × GC-HRMS - dvidimensinė dujų chromatografija - didelės skiriamosios gebos masių spektrometrija; GC-ECD - dujų chromatografija – elektronų gaudymo detekcija; GC × GC-ECD - dvidimensinė dujų chromatografija- elektronų gaudymo detekcija; GC × GC-TOF-MS – dvidimensinė dujų chromatografija – skriejimo trukmės masių spektrometrija; GC-MS - dujų chromatografija – masių spektrometrija; GC × GC-MS/MS - dvidimensinė dujų chromatografija – tandeminė masių spektrometrija; GC-MS-MS - dujų chromatografija – tandeminė masių spektrometrija; GC-QITMS/MS - dujų chromatografija – kvadrupolinė jonų gaudyklės masių spektrometrija;

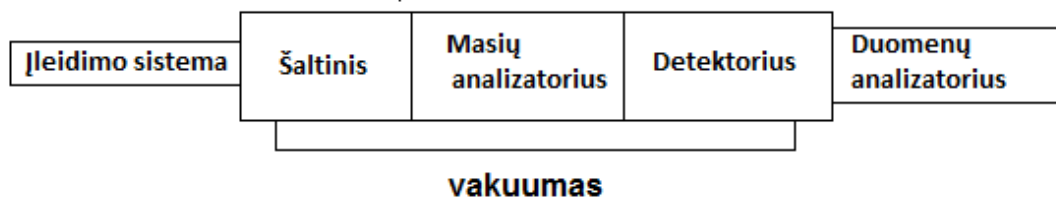
Dioksinai, furanai ir dioksinų tipo polichlorinti bifenilai Europos Sąjungoje analizuojami daugiausia su HRGC/HRMS (62,2%), mažiau su GC/HRMS (20,6%) ir GC/MS (17,1%). Ne dioksinų tipo polichlorinti bifenilai analizuojami su GC/ECD (16,8%), GC/MS (42,7%), GC/HRMS (14,8%) ir HRGC/HRMS (25,7%) [119].

1.3. Masių spektrometrai, naudojami POT nustatymui

DCh-MS sistemos buvo komercializuotos jau 1967 m., o maždaug nuo 1975-1980 m. DCh-MS tapo rutininio metodu be kurio neapsiejo nei viena rimtesnė analizės laboratorija [110].

Paprastai mėginių analizavimo instrumentika apibūdinama kaip atskiros jos dalys: jonizacijos tipas, masių analizatorius ir detekcija (Pav. 1.5.) [105, 107].

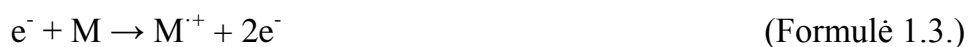
Vieno magnetinio sektoriaus masių analizatorius naudojamas atskirti jonus turinčius skirtingus m/z santykius. Jonai, greitinami elektrinio lauko, patenka į masių analizatorių ir praleidžiami tik turintys krūvį jonai [106].



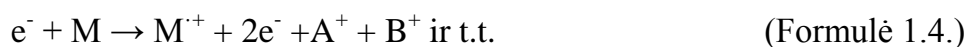
Pav. 1.5. Masių spektrometro blokinė diagrama [107].

Įleidimo sistema skirta perduoti mėginį į vakuumo veikiamą masių spektrometrą.

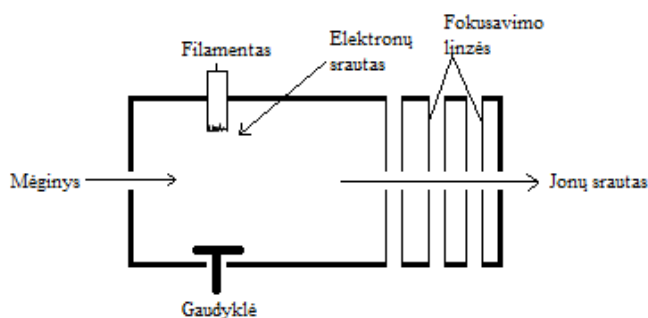
Didelės skiriamosios gebos masių spektrometruose POT analizei naudojama elektroninė jonizacija (angl. EI). Kai elektronai patenka į elektrinį lauką, jie įgauna kinetinę energiją. Pastarieji (e^-) sąveikaudami su neįkrautomis, neutraliomis molekulėmis (M), išstumia iš jos elektronus ir molekulė tampa teigiamai įkrautu radikalų-katijonu. Veikimo principas pateiktas 1.3. formulėje.



Prie 70 eV, esant vakuui, teigiamai įkrautas radikalas-jonas turi daug papildomos energijos, todėl skyla sudarydamas mažesnės masės fragmentus (1.4. formulė).



Jonų šaltinyje elektronai yra formuojami kaitinimo siūlelio, kuris yra kaitinamas ir veikiamas 70 eV įtampos. Elektronų srautas sąveikauja su mėginio molekulėmis, kurios įpurškiamos į šaltinį. Susidarę jonai ir jų fragmentai, veikiami elektrinio lauko yra išstumiami į analizatorių. Šie molekuliniai ir fragmentiniai jonai formuoja masių spektrą, kuris yra jonų masės ir kiekio koreliacija. Principinis elektroninės jonizacijos šaltinis pavaizduotas 1.6. paveikslėlyje.

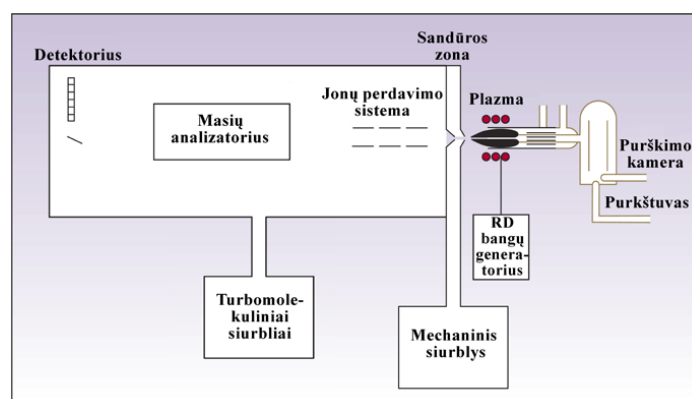


Pav. 1.6. Principinis elektroninės jonizacijos šaltinis [105].

Neutralios mėginio molekulės šaltinyje yra jonizuojamos ir pagreitinamos judėti link masių analizatoriaus. Ši sekcija atskiria jonus erdvėje ar laike pagal m/z santykį. Kai jonai atskiriami, jie detektuojami ir signalas nusiunčiamas duomenų apdorojimo sistemai. Naudojama vakuuminė terpė, minimalizuoja jonų-molekulių reakcijas, išsibarstymą ir neutralizavimą [105-107].

Kiekybinis POT nustatymas dažnai atliekamas naudojant žemos skiriamosios gebos kvadrupolinius arba jonų sulaikymo analizatoriai. Didelės skiriamosios gebos (angl. HR) sistemos (masių rezoliucija 10000 ir daugiau) turi didesnę jautrumą nei kvadrupolinės, net jei sistema veikia žemos skiriamosios gebos (angl. LR) režime. Taip pat didelės skiriamosios gebos masių spektrometrai pasižymi dideliu selektyvumu net esant palyginti aukštam analizei trukdančių junginių lygiui [106].

Nedažnai POT analizė atliekama induktyviai susietos plazmos masių spektrometrijos metodu. Induktyviai susietos plazmos masių spektrometrija (ICP-MS) yra vienas iš jautriausių šiuo metu naudojamų elementų analizės metodų, apjungiantis induktyviai susietos plazmos jonizacijos šaltinį bei masių spektrometriją. Metodo principas yra gana nesudėtingas: į dujų išlydžio plazmą išpurškiamas mėginio tirpalas, jame esantys elementai yra atomizuojami ir jonizuojami bei nukreipiami į masių spektrometrą, kuriame elektrinio ir/arba magnetinio lauko pagalba atskiriami pagal masės (m) ir krūvio (z) santykį m/z ir detektuojami. Taip gaunamas masių spektras – registruojamų jonų intensyvumo (matuojamo impulsų skaičiumi per sekundę) priklausomybė nuo jų m/z vertės. Spektrai suteikia galimybę nustatyti tiriamų mėginių kokybinę bei kiekybinę sudėtį. Principinė induktyviai susietos plazmos masių spektrometro schema pateikta 1.7. pav.



Pav. 1.7. Induktyviai susietos plazmos spektrometro schema [117].

Masių analizatoriaus paskirtis - atskirti praėjusius lęšių sistemą jonus pagal jų masės ir krūvio santykį (m/z). Šiuo metu populiariausi yra dvigubo fokusavimo ir kvadrupoliniai masių analizatoriai, rečiau naudojami skriejimo trukmės bei susidūrimų/sąveikos celės masių analizatoriai [92]. Nors visų išvardintų masių analizatorių veikimo principai ir skiriasi, tačiau jie atlieka tą pačią funkciją – atskiria skirtingo masės ir krūvio santykio jonus ir nukreipia juos į detektorius.

Masių analizatoriuje atskirtus jonus būtina detektuoti. Tam dažniausiai naudojamas elektronų daugintuvas (naudojamas jonams detektuoti mažo intensyvumo jonų sraute). Iš masių analizatoriaus į detektorius nukreipiami

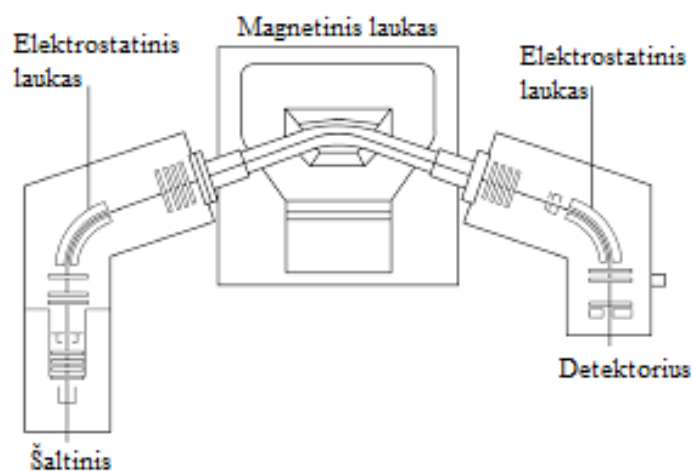
jonai vakuume išmuša iš specialių elektrodų (dinodų) elektronus. Registruojamas elektronų srauto sukeliamas srovės stipris. Kadangi iš masių analizatoriaus į detektorių patenkančių jonų kiekis, o tuo pačiu ir jais išmušamų elektronų skaičius yra palyginti nedideli, gauto signalo intensyvumą (srovės stiprį) būtina sustiprinti. Tam panaudojamas antrinės emisijos reiškinys. Elektronų daugintuvą sudaro vakuuminis vamzdelis, kuriame patalpinta serija dinodų – elektrodų su didėjančiu teigiamu potencialu. Kiekvieno sekančio dinodo potencialas 90-100 V teigiamesnis už ankstesniojo. Iš masių analizatoriaus atskriejantis jonas nukreipiamas į pirmą dinodą, iš kurio išmuša elektroną. Išmuštas elektronas pagreitinamas elektriniu lauku ir iš antro dinodo jau išmuša nuo 1 iki 3 elektronų. Tai vadinama antrine emisija. Elektronai vėl pagreitinami ir iš trečio dinodo papildomai kiekvienas išmuša dar po 1-3 elektronus. Ir taip kartojama daug kartų. Gaunamas intensyvus elektronų srautas – elektros srovė, kurios stipris proporcingas į detektorių patekusių jonų skaičiui [117].

1.3.1. Masių analizatoriai

Masių analizatoriaus paskirtis - atskirti praėjusius lęšių sistemą jonus pagal jų masės ir krūvio santykį (m/z). Šiuo metu populiariausi yra dvigubo fokusavimo ir kvadrupoliniai masių analizatoriai, rečiau naudojami skriejimo trukmės bei susidūrimų/sąveikos celės masių analizatoriai. Nors visų išvardintų masių analizatorių veikimo principai ir skiriasi, tačiau jie atlieka tą pačią funkciją – atskiria skirtingo masės ir krūvio santykio jonus ir nukreipia juos į detektorių [151].

Paprastai vieno sektoriaus analizatoriumi galima atskirti tik vieną pasirinkto m/z joną. Jonai iš šaltinio į magnetinį sektorių patenka veikiami nuo 1 iki 10 kV elektrinio lauko. Ši akceleracija yra žymiai aukštesnė nei 100 V naudojamų kvadrupoliniuose analizatoriuose. Įkrauti jonai magnetiniame sektoriuje juda lanku. Šio lanko spindulys priklauso nuo jonų pagreičio, krūvio ir magnetinio lauko stiprumo. Didesnį pagreitį turinčių jonų spindulys yra didesnis, todėl toks atskyrimas vadinamas impulsiniu [105-107].

POT junginiams analizuoti dažnai naudojami masių spektrometrai su magnetiniu ir elektrostatiniu sektoriais. Veikimo principas remiasi jonų atskyrimu pagal m/z santykį bendram jonų srautui keliaujant per magnetinį bei elektrostatinį laukus. Masių analizatoriuose elektrinis laukas yra patalpinamas statmenai skersiniam magnetiniam laukui. Patekę į magnetinį lauką jonai, priklausomai nuo jų krūvio, masės bei energijos, yra fokusuojami skirtingais judėjimo kampais. Iš magnetinio sektoriaus ištekantis jonų srautas yra sudarytas iš vienodos masės, bet skirtingos energijos jonų. Elektrostatiniame lauke jonai papildomai atskiriami pagal energijas [52-53, 94, 101, 103, 105, 107-108, 117]. Dažnai naudojami trijų sektorių analizatoriai, kuriuos sudaro du elektrostatiniai ir vienas magnetinis sektorius [47-49, 51, 96, 98, 100, 102, 104]. Trijų sektorių masių spektrometro schema pavaizduota 1.8. paveiklėlyje.

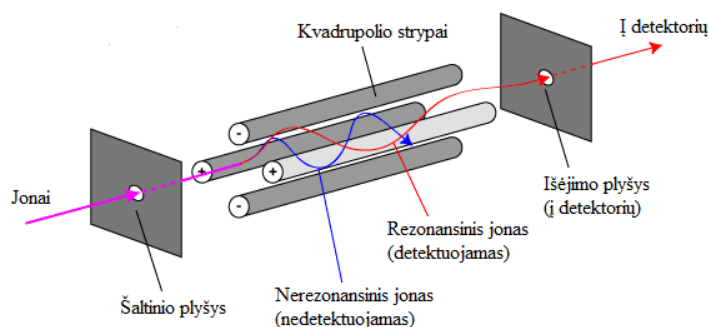


Pav. 1.8. Trijų sektorių masių spektrometro schema.

Kvadrupolinis masių analizatorius yra vienas iš paprasčiausių ir seniausiai naudojamų MS analizatorių, sukurtas 6-ajame XX a. dešimtmetyje [115]. Jis sudarytas iš keturių vienodų, lygiagrečiai vienas kitam išdėstytų metalinių strypų. Strypai prijungti prie kintamos (dažnis artimas radiobangų dažniams) bei nuolatinės įtampos generatoriaus. Strypams, esantiems vienas priešais kitą suteikiama vienodo ženklo įtampa. Tokiu būdu sudaromas aukšto dažnio kintamas elektrinis laukas. Jonas, patekęs į šį lauką pradeda virpėti

plokštumoje, statmenoje jo judėjimo kryptčiai. Jei elektrinio lauko stipris atitinka jono energiją, kuri priklauso nuo jo m/z santykio, toks jonas praskrenda tarp strypų ir gali būti užregistruotas. Priešingu atveju jis atsitrenkia į kažkurį iš strypų ir neregistruojamas. Taigi, keičiant elektrinio lauko amplitudę yra atliekamas m/z skenavimas [113].

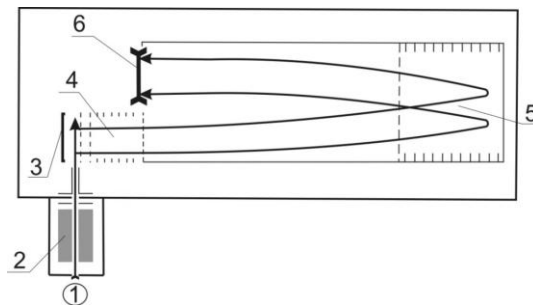
Kvadrupoliniai masių analizatoriai nepasižymi itin didele skiriamąja geba bei masių skenavimo tikslumu. Skenuojant per analizatorių tam tikru laiko momentu praleidžiami tiksliai tam tikro m/z diapazono jonai, o siaurinant šį diapazoną (didinant skiriamąją gebą) nustatymo jautris krenta. Įprastas m/z diapazonas - 25-2000, o pasiekiamas skenavimo greitis iki 4000 (m/z)/s. Tai vieni pigiausių naudojamų spektrometrų dėl jų nesudėtingos konstrukcijos [110, 117].



Pav. 1.9. Kvadrupolinio masių analizatoriaus principinė schema.

Vienas paprasčiausių - skriejimo trukmės masių analizatorius (angl. TOF) sukurtas 1946 m., tačiau tik apie 1990 m., pritaikius ortogonalų greitinimo technologiją, pasirodė pirmieji TOF tipo masių spektrometrai su nuolatinio veikimo jonų šaltiniais [111-112]. Pradiniu laiko momentu visi vienodo krūvio jonai išskridę iš greitintuvo turės tą pačią kinetinę energiją, tačiau dėl skirtingos masės skries skirtingais greičiais. Todėl jiems skriejant vakuume be elektrinio lauko, detektorius jie pasieks skirtingu laiku, kuris priklausys nuo jono m/z vertės. Tokio spektrometro skiriamoji geba yra tiesiogiai proporcinga jonų skriejimo kelio ilgiui. Siekiant prailginti jonų kelią, sukurti prietaisai reflektoriais atspindintys jonų srautą. TOF masių

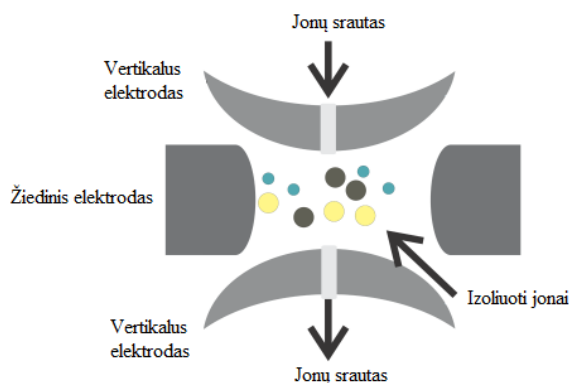
spektrometrai yra vieni greičiausių prietaisų – jie neturi teorinės greičio ir masių skenavimo diapazono ribos. Tai didelės skiriamosios gebos masių analizatoriai, pasižymintys geru m/z matavimo tikslumu bei dideliu jautriu. Tačiau, kadangi visi (analitės ir pašaliniai) jonai patenka į detektorių, detektoriai greitai persipildo ir tai labai susiaurina dinaminį m/z matavimo diapazoną. Skriejimo trukmės analizatoriaus schema pavaizduota 1.10. pav.



Pav. 1.10. Ortogonalus skriejimo trukmės masių analizatorius. 1 – jonai ateinantis iš jonizacijos šaltinio, 2 – fokusuojanti optika, 3 – nukreipiantis elektrodas, 4 – greitintuvas, 5 – reflektorius, 6 – detektorius [110].

Kvadrupolinė jonų gaudyklė (angl. QIT) veikia panašiu principu kaip kvadrupolinis masių analizatorius. Pagrindinis skirtumas yra prietaiso geometrijoje ir skenavimo principu (1.10. pav.). QIT sudaro žiedinis elektrodas ir du vertikalieji elektrodai, išdėstyti virš žiedinio elektrodo ir po juo. Patekę į analizatoriaus sektorių, jonai yra kaupiami elektriniame lauke. Derinant kintamos bei nuolatinės įtampos vertes ant žiedinio ir vertikaliųjų elektrodų pasiekama, kad visi jonai įgytų stabilias skriejimo elektriniame lauke trajektorijas. Helio dujos, užpildančios gaudyklės vidų, padeda jonams išsklaidyti perteklinę energiją ir taip papildomai juos stabilizuoja. Po to, keičiant elektrinio lauko stiprį, jonai yra emituojami jų m/z didėjimo tvarka. Panaudojus papildomą radiodažnių įtampą ant vertikaliųjų elektrodų atliekamas osciliacinis skenavimas, kai skirtingo m/z jonai osciliuoja skirtinga amplitude, taip palikdami gaudyklės modulį. Osciliacinio skenavimo principas gali būti panaudotas specifinei m/z frakcijai izoliuoti gaudyklėje, o suderinus jį su elektrinio lauko kitimu specifinį joną galima fragmentuoti. Kintant

elektriniam laukui, kinta ir jonų greitis, o dideliu greičiu skriejantys jonai susidūrę su dujų atomais fragmentuojasi. Šis reiškinys vadinamas susidūrimu indukuota disociacija. Taip izoliavus konkretų joną ir jį fragmentavus, pasiekiamos MSn (tandeminė masių spektrometrija, n - fragmentacijų skaičius) sąlygos [110, 114-115].



Pav. 1.11. Kvadrupolinės jonų gaudyklės analizatoriaus schema [116].

1.4. Maisto sauga Europos sąjungoje

ES, kaip ir kitose pasaulio šalyse maisto sauga įgauna vis didesnę reikšmę. Siekiant užtikrinti saugaus maisto mainus (prekybą), pasaulinė prekybos organizacija inicijavo tarptautinį sanitarinių ir fitosanitarinių priemonių susitarimą, kuris leidžia kiekvienos šalies vyriausybei nusistatyti moksliskai pagrįstus reikalavimus maisto saugai savo šalyje, atsižvelgiant į kitų tarptautinių organizacijų siūlymus/rekomendacijas. Susitarimas įgalioja kiekvieną jį pasirašiusią šalį, užtikrinti, kad maistas jos rinkoje yra saugus, nepriklausomai nuo to, ar jis pagamintas šalies viduje, ar importuotas iš trečiųjų šalių [118].

Polichlorintų organinių teršalų analizės metodus ir jų leidžiamas koncentracijas maisto produktuose ir pašaruose aprašo Europos Sąjungos Reglamentai. Dioksinų, furanų ir dioksinų tipo polichlorintų bifenilų didžiausios leidžiamos koncentracijos nustatomos jau 2006 metais Komisijos Reglamente (EC) Nr. 1881/2006 [121]. Jau 2011 metais paskelbiamas Komisijos Reglamentas (EC) Nr. 1259/2011, kuriuo iš dalies keičiamas (EC)

Nr. 1881/2006 nusakantis dioksinų, furanų, dioksinų tipo ir ne dioksinų tipo polichlorintų bifenių didžiausias leidžiamas koncentracijas maisto produktuose [122]. Šiame reglamente rizikos vertinimui taikomi Pasaulio Sveikatos Organizacijos Toksiniai Ekvivalentiniai Faktoriai pagrįsti Pasaulio Sveikatos Organizacijos (PSO) ir Tarptautinės cheminės saugos programos ekspertų susitikimo, kuris vyko 2005 metais Ženevoje, išvadomis [23].

2002 metais Europos Sąjungos Reglamentu 2002/32/EC patvirtinamos dioksinų, furanų ir dioksinų tipo PCB didžiausios leidžiamos koncentracijos pašaruose [123]. Šis reglamentas papildytas 2012 metais (EC) Nr. 277/2012, kuriuo iš dalies keičiamas 2002/32/EC. Reglamentas reglamentuoja PCDD/PCDF, dioksinų tipo ir ne dioksinų tipo polichlorintų bifenių veiksmo ribas ir didžiausias leidžiamas koncentracijas, taikant TEF₂₀₀₅ [23, 124]. Nepaisant galiojančių didžiausių leidžiamų koncentracijų, Europos Sąjunga pristato rekomendacijas 516/2011 ir 711/2013, nurodančias veiksmo ribas, kuriomis siekiama sumažinti dioksinų, furanų ir dioksinų tipo polichlorintų bifenių aptikimą tam tikruose maisto produktuose [132-133].

Europos Sąjungos Direktyva 2002/69/EC nusako mėginių ėmimo ir analizės metodų kriterijus, o Europos Sąjungos Reglamentas 2006/1883/EC nusako monitoringui tinkamus analizės metodus ir patvirtinamųjų metodų kriterijus [120, 125-126]. Europos Sąjungos Reglamentas (EC) Nr. 252/2012 iš dalies keičia pastarąjį ir papildomai reglamentuoja ne dioksinų tipo PCB analizės metodų reikalavimus maisto produktuose [127]. Šiuo metu galioja reglamentai (EC) Nr. 589/2014 ir (EC) Nr. 709/2014 (keičiantis reglamentą (EC) Nr. 152/2009 [134]) nusakantys teršalų analizės metodų reikalavimus kai kuriems maisto produktams ir pašarams [129-130]. 2012 metais Europos Sąjunga publikuoja standartą EN 16215:2012, kuriuo apibendrinama dioksinų, furanų dioksinų tipo ir ne dioksinų tipo polichlorintų bifenių analizė GC/HRMS metodu pašaruose [128].

1.9., 1.10. ir 1.11. lentelėse pateikiamas PCDD/PCDF, DT-PCB ir ne dioksinų tipo PCB veiksmo ribų, didžiausių leidžiamų koncentracijų ir analizės reikalavimų maisto produktuose ir pašaruose palyginimas atitinkamais Europos

Sjungos reglamentais ir rekomendacijomis. Veiksmų ribos ir didžiausios leidžiamos koncentracijos pašaruose (1.11. lentelė) pateiktos mėginyje turinčiame 12% drėgmės.

1.9. lentelė. Veiksmo ribų maisto produktuose palyginimas

Maisto produktas	Rekomendacija 516/2011 (veiksmo riba)		Rekomendacija 711/2013 (veiksmo riba)	
	PCDD/PCDF (PSO-TE ₂₀₀₅)	DT-PCB (PSO-TE ₂₀₀₅)	PCDD/PCDF (PSO-TE ₂₀₀₅)	DT-PCB (PSO-TE ₂₀₀₅)
Mėsa ir mėsos produktai, išskyrus valgomuosius subproduktus:				
- galvijai ir avys	1,75 pg/g riebalų	1,75 pg/g riebalų	1,75 pg/g riebalų	1,75 pg/g riebalų
- paukštiena	1,25 pg/g riebalų	0,75 pg/g riebalų	1,25 pg/g riebalų	1,25 pg/g riebalų
- kiauliena	0,75 pg/g riebalų	0,5 pg/g riebalų	0,75 pg/g riebalų	0,5 pg/g riebalų
Maišyti riebalai	1 pg/g riebalų	0,75 pg/g riebalų	1 pg/g riebalų	0,75 pg/g riebalų
Ūkiuose auginamų žuvų raumuo ir jų produktai	1,5 pg/g drėgno svorio	2,5 pg/g drėgno svorio	1,5 pg/g drėgno svorio	2,5 pg/g drėgno svorio
Žaliavinis pienas, jo produktai, įskaitant sviestą	1,75 pg/g riebalų	2 pg/g riebalų	1,75 pg/g riebalų	2 pg/g riebalų
Vištų kiaušiniai ir jų produktai	1,75 pg/g riebalų	1,75 pg/g riebalų	1,75 pg/g riebalų	1,75 pg/g riebalų
Mineralinės medžiagos kaip maisto papildai	-	-	0,5 pg/g drėgno svorio	0,35 pg/g drėgno svorio
Vaisiai, daržovės ir grūdinės kultūros	0,3 pg/g drėgno svorio	0,1 pg/g drėgno svorio	-	-
Vaisiai, daržovės, įskaitant šviežius žolinius prieskonius ir grūdinės kultūros	-	-	0,3 pg/g drėgno svorio	0,1 pg/g drėgno svorio

1.10. lentelė. Didžiausių leidžiamų koncentracijų maisto produktuose palyginimas skirtinguose reglamentuose.

Maisto produktas	Reglamentas 1881/2006		Reglamentas 1259/2011		
	PCDD/PCDF (PSO-TE ₁₉₉₈)	PCDD/PCDF, DT-PCB (PSO-TE ₁₉₉₈)	PCDD/PCDF (PSO-TE ₂₀₀₅)	PCDD/PCDF, DT-PCB (PSO-TE ₂₀₀₅)	Suma ne DT- PCB ^a
Mėsa ir mėsos produktai, išskyrus valgomoosius subproduktus: - galvijai ir avys - paukštiena - kiaušiena	3 pg/g riebalų 2 pg/g riebalų 1 pg/g riebalų	4,5 pg/g riebalų 4 pg/g riebalų 1,5 pg/g riebalų	2 pg/g riebalų 1,75 pg/g riebalų 1 pg/g riebalų	4 pg/g riebalų 3 pg/g riebalų 1,25 pg/g riebalų	40 ng/g riebalų 40 ng/g riebalų 40 ng/g riebalų
Galvijų, avių, paukščių, kiaušių kepenys ir jų išvestiniai produktai	6 pg/g riebalų	12 pg/g riebalų	4,5 pg/g riebalų	10 pg/g riebalų	40 ng/g riebalų
Žuvų raumenų mėsa, žuvininkystės produktai ir jų produktai, išskyrus europinių upinių ungurių. Taikoma vėžiagyviams, išskyrus rudąją krabų mėsą ir omarų bei kitų panašių stambiųjų vėžiagyvių (Nephropidae ir Palinuridae) galvas ir krūtinės dalies mėsą.	4 pg/g drėgno produkto svorio	8 pg/g drėgno produkto svorio	3,5 pg/g drėgno produkto svorio	6,5 pg/g drėgno produkto svorio	75 ng/g drėgno produkto svorio
Europinių upinių ungurių (Anguilla anguilla) raumenų mėsa ir jų produktai	4,0 pg/g drėgno produkto svorio	12,0 pg/g drėgno produkto svorio	3,5 pg/g drėgno produkto svorio	10,0 pg/g drėgno produkto svorio	300 ng/g drėgno produkto svorio
Laisvėje sužvejotų gėlavandenių žuvų, išskyrus gėlame vandenyje sužvejotas diadromines žuvis, raumenų mėsa ir jos gaminiai	-	-	3,5 pg/g drėgno produkto svorio	6,5 pg/g drėgno produkto svorio	125 ng/g drėgno produkto svorio
Jūros gyvūnų taukai (žuvų kūno taukai, žuvų kepenų taukai ir kitų jūros organizmų taukai, skirti maistui)	-	-	1,75 pg/g riebalų	6,0 pg/g riebalų	200 ng/g riebalų
Žuvų kepenys ir jų šaltinių produktų gaminiai, išskyrus aukščiau nurodytus jūros gyvūnų taukus	-	-	-	20,0 pg/g drėgno produkto svorio	200 ng/g drėgno produkto svorio
Žalias pienas ir pieno produktai, įskaitant sviesto riebalus	3,0 pg/g riebalų	6,0 pg/g riebalų	2,5 pg/g riebalų	5,5 pg/g riebalų	40 ng/g riebalų
Vištų kiaušiniai ir kiaušinių produktai	3,0 pg/g riebalų	6,0 pg/g riebalų	2,5 pg/g riebalų	5 pg/g riebalų	40 ng/g riebalų
Šių gyvūnų riebalai: - galvijų ir avių; - naminių paukščių; - kiaušių	3 pg/g riebalų 2 pg/g riebalų 1 pg/g riebalų	4,5 pg/g riebalų 4 pg/g riebalų 1,5 pg/g riebalų	2,5 pg/g riebalų 1,75 pg/g riebalų 1 pg/g riebalų	4 pg/g riebalų 3 pg/g riebalų 1,25 pg/g riebalų	40 ng/g riebalų 40 ng/g riebalų 40 ng/g riebalų
Sumaišyti gyvūnų riebalai	2 pg/g riebalų	3 pg/g riebalų	1,5 pg/g riebalų	2,5 pg/g riebalų	40 ng/g riebalų
Augalinis aliejus ir riebalai	0,75 pg/g riebalų	1,5 pg/g riebalų	0,75 pg/g riebalų	1,25 pg/g riebalų	40 ng/g riebalų
Jūros gyvūnų taukai (žuvų kūno taukai, žuvų kepenų taukai ir kitų jūros organizmų taukai, skirti žmonėms vartoti)	2 pg/g riebalų	10 pg/g riebalų	-	-	-
Kūdikiams ir mažiems vaikams skirti maisto produktai	-	-	0,1 pg/g drėgno produkto svorio	0,2 pg/g drėgno produkto svorio	1,0 ng/g drėgno produkto svorio

^a – PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153, PCB 180 suma

1.11. lentelė. Veiksmo ribų ir didžiausių leidžiamų koncentracijų pašaruose palyginimas.

Pašarai	Reglamentas 32/2002				Reglamentas 277/2012				
	PCDD/ PCDF (PSO- TE ₁₉₉₈) veiksmo riba	DT-PCB (PSO- TE ₁₉₉₈) veiksmo riba	PCDD/ PCDF (PSO- TE ₁₉₉₈) DLK	PCDD/ PCDF DT-PCB (PSO- TE ₁₉₉₈) DLK	PCDD/ PCDF (PSO- TE ₂₀₀₅) veiksmo riba	DT-PCB (PSO- TE ₂₀₀₅) veiksmo riba	PCDD/P CDF (PSO- TE ₂₀₀₅) DLK	PCDD/ PCDF DT-PCB (PSO- TE ₂₀₀₅) DLK	Suma ne DT-PCB ^a DLK
Augalinės kilmės pašarinės žaliavos, išskyrus - augalinius aliejus ir jų šalutinius produktus	0,5 pg/g 0,5 pg/g	0,35 pg/g 0,5 pg/g	0,75 pg/g 0,75 pg/g	1,25 pg/g 1,5 pg/g	0,5 pg/g 0,5 pg/g	0,35 pg/g 0,5 pg/g	0,75 pg/g 0,75 pg/g	1,25 pg/g 1,5 pg/g	10 pg/g -
Mineralinės kilmės pašarinės žaliavos	0,5 pg/g	0,35 pg/g	1 pg/g	1,5 pg/g	0,5 pg/g	0,35 pg/g	0,75 pg/g	1,0 pg/g	10 ng/g
Gyvūninės kilmės pašarinės žaliavos: - gyvūnų riebalai, įskaitant pieno riebalus ir kiaušinių riebalus	1 pg/g	0,75 pg/g	2 pg/g	3 pg/g	0,75 pg/g	0,75 pg/g	1,5 pg/g	2 pg/g	10 ng/g
- kiti sausumos gyvūnų produktai, įskaitant pieną ir pieno gaminius, kiaušinius ir kiaušinių gaminius	0,5 pg/g	0,35 pg/g	0,75 pg/g	1,25 pg/g	0,5 pg/g	0,35 pg/g	0,75 pg/g	1,25 pg/g	10 ng/g
- žuvų taukai	5 pg/g	14 pg/g	6 pg/g	24 pg/g	4 pg/g	11 pg/g	5 pg/g	20 pg/g	175 ng/g
- žuvis, kiti vandens gyvūnai ir iš jų gauti produktai, išskyrus žuvų taukus ir žuvų baltymų hidrolizatus, kuriuose yra daugiau kaip 20 % riebalų	1 pg/g	2,5 pg/g	1,25 pg/g	4,5 pg/g	0,75 pg/g	2 pg/g	1,25 pg/g	4 pg/g	30 ng/g
- žuvų baltymų hidrolizatai, kuriuose yra daugiau kaip 20 % riebalų	1,75 pg/g	7 pg/g	2,25 pg/g	11 pg/g	1,25 pg/g	5 pg/g	1,75 pg/g	9 pg/g	50 ng/g
Rišiklių ir lipnumą mažinančių medžiagų funkcinėms grupėms priklausantys pašarų priedai: kaolinitinis molis, vermikulitas, natrolitas-fonolitas, sintetiniai kalcio aluminatai ir nuosėdinės kilmės klinoptilolitas	0,5 pg/g	0,5 pg/g	0,75 pg/g	1,5 pg/g	0,5 pg/g	0,5 pg/g	0,75 pg/g	1,5 pg/g	10 ng/g
Mikroelementų junginių funkcinėi grupei priklausantys pašarų priedai	0,5 pg/g	0,35 pg/g	1 pg/g	1,5 pg/g	0,5 pg/g	0,35 pg/g	1 pg/g	1,5 pg/g	10 ng/g
Premiksai	0,5 pg/g	0,35 pg/g	1 pg/g	1,5 pg/g	0,5 pg/g	0,35 pg/g	1 pg/g	1,5 pg/g	10 ng/g
Kombinuotieji pašarai, išskyrus: - kombinuotuosius pašarus, skirtus gyvūnams augintiniams ir žuvisms	0,5 pg/g 1,75 pg/g	0,5 pg/g 3,5 pg/g	0,75 pg/g 2,25 pg/g	1,5 pg/g 7 pg/g	- 1,25 pg/g	0,5 pg/g 2,5 pg/g	0,75 pg/g 1,75 pg/g	1,5 pg/g 5,5 pg/g	10 ng/g 40 ng/g

^a – PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153, PCB 180 suma

1.12. lentelė. POT analizės reikalavimų palyginimas pašaruose ir maisto produktuose.

Analizės reikalavimai	Reglamentas 152/2009	Reglamentas 709/2014	Reglamentas 69/2002	Reglamentas 1883/2006	Reglamentas 252/2012	Reglamentas 589/2014
	Pašarai		Maisto produktai			
Jautris ir aptikimo ribos	10 ⁻¹² g/g PCDD/PCDF 10 ⁻⁹ g/g DT-PCB	10 ⁻¹⁵ g/g PCDD/PCDF 10 ⁻⁹ g/g DT-PCB	10 ⁻¹² g/g PCDD/PCDF 10 ⁻⁹ g/g DT-PCB	10 ⁻¹² g/g PCDD/PCDF 10 ⁻⁹ g/g DT-PCB	10 ⁻¹⁵ g/g PCDD/PCDF 10 ⁻⁹ g/g DT-PCB	10 ⁻¹⁵ g/g PCDD/PCDF 10 ⁻¹² g/g DT-PCB
Tikrumas (patvirtinamieji metodai)	+/- 20 %	+/- 20 %	+/- 20 %	+/- 20 %	+/- 20 %	+/- 20 %
Atkuriamumas (patvirtinamieji metodai)	< 15 %	< 15 %	< 15 %	< 15 %	< 15 %	< 15 %
Atrankos metodai	Bioanalitiniai, GC-MS	Bioanalitiniai, GC-MS	Bioanalitiniai, GC-MS	Bioanalitiniai, GC-MS	Bioanalitiniai, GC-MS	Bioanalitiniai, GC-MS
Patvirtinamieji metodai	HRGC-HRMS	HRGC-HRMS	HRGC-HRMS	HRGC-HRMS	HRGC-HRMS	HRGC-HRMS
Išgavos (¹³ C ₁₂) (patvirtinamieji metodai)	60 – 120 %	60 – 120 %	60 – 120 %	60 – 120 %	60 – 120 %	60 – 120 %
Išgavos (¹³ C ₁₂) (atrankos metodai)	30 – 140 %	30 – 140 %	30 – 140 %	30 – 140 %	30 – 140 %	30 – 140 %
Izomerų 1,2,3,4,7,8-HeksaCDF ir 1,2,3,6,7,8-HeksaCDF atskyrimas	< 25 %	< 25 %	< 25 %	< 25 %	< 25 %	< 25 %
Skirtumas tarp viršutinės ir apatinės ribos	< 20 %	< 20 %	< 20 %	< 20 %	< 20 %	< 20 %
Skirtumas tarp viršutinės ir apatinės ribos, esant žemam POT užteršimui	25 – 40 %	-	25 – 40 %	25 – 40 %	25 – 40 %	-
Skirtumas tarp viršutinės ir apatinės ribos, norint patvirtinti POT	-	< 20 %	-	-	-	< 20 %
Kiekybinio nustatymo riba	1/5 PSO-TE (DLK)	1/5 PSO-TE (DLK)	-	1/5 PSO-TE (DLK)	1/5 PSO-TE (DLK)	1/5 PSO-TE (DLK)
Santykinis jonų intensyvumo nuokrypis	-	+/- 15 %	-	-	-	+/- 15 %

1.12. lentelėje pateiktas POT teršalų analizės reikalavimų palyginimas skirtinguose Europos Sąjungos Reglamentuose. Iš duomenų matyti, kad daugelis reikalavimų POT analizei pašaruose ir maisto produktuose nesikeitė, išskyrus jautrumą, kuris pastaraisiais metais privalo siekti 10^{-15} g/g PCDD/PCDF ir 10^{-12} g/g DT-PCB.

2014 metais Europos Sąjungos Komisija priėmė rekomendaciją 118/2014 dėl maisto produktuose esančių bromintų antipirenų. Pastaroji nurodo bromintus antipirenus, kurie rekomenduojami analizuoti maisto produktuose pagal valstybines stebėsenos programas [131]. Dėl statistinių duomenų trūkumo, didžiausių leidžiamų koncentracijų bromintiems antipirenams nėra.

Šiuo metu polichlorinti teršalai egzistuoja visur, todėl maisto grandine patenka ir į žmogaus organizmą. Periodiškai aptinkami ypač užteršti maisto produktai [138]. Pastaruoju metu paukščių, kiaušinių, kaulienos ir jautienos produktai buvo užteršti dėl gyvūnams šeriamų užterštų pašarų. Taigi didelė dalis maisto produktų buvo pašalinta iš rinkos ir sunaikinta [82, 136, 139-143]. Net 90% teršalų į žmogaus organizmą patenka su maistu, ypač su gyvūninės kilmės maistu, todėl svarbu įvertinti toleruojamąją POT paros normą ir ją kontroliuoti [25]. Taip pat dideli kiekiai saugomi jūros dugno nuosėdose, susikaupę per kelis dešimtmečius, kas labai svarbu Lietuvai, turinčiai pakrantę su Baltijos jūra. POT koncentracijos riebiose žuvyse, tokiose kaip atlantinės silkės, šprotai ir lašišos, dažnai viršija EK nustatytas normas [66, 135, 140, 144-145]. Toleruojamoji paros norma apskaičiuojama pagal 1.5. formulę:

$$Y_i \text{ (pg TE d}^{-1}\text{)} = CX_i \quad \text{(Formulė 1.5.)}$$

- kur Y_i - individo i POT suvartojimas su konkrečiu maisto produktu (pg TE per parą, savaitę, mėnesį ir t.t.); C – POT koncentracija konkrečiame maisto produkte (pg TE g^{-1} šviežio produkto arba pg TE g^{-1} riebalų); X_i – individo i konkretaus maisto produkto suvartojimas (g produkto arba g

riebalų) [136]. 1998 metais nustatytos toleruojamos paros ribos dioksinams, furanams ir DT-PCB 1 – 4 PSO-TE pg kg^{-1} kūno svorio [25, 137].

Rekomenduojamųjų paros ribų atitikimas dioksinams, furanams ir DT-PCB 1 – 4 PSO-TE pg kg^{-1} kūno svorio skaičiuojamos statistiniam 65 kg žmogaus kūno svoriui [139]. Vidutinis maisto produktų suvartojimo kiekis asmeniui Lietuvoje yra:

- pienas ir pieno produktai 270 kg (739 g diena^{-1});
- kiauliena ir jos produktai 45 kg (123 g diena^{-1});
- jautiena ir jos produktai 6 kg ($16,4 \text{ g diena}^{-1}$);
- vištiena ir jos produktai 22 kg (60 g diena^{-1});
- žuvis ir jos produktai 17 kg (47 g diena^{-1});
- kiaušiniai 190 vienetų/11,4 kg (statistinis kiaušinio svoris 60 g), (31 g diena^{-1}) [146].

2. EKSPERIMENTO METODIKA

2.1. Aparatūra

Instrumentinė analizė buvo atliekama su Agilent 6890 N (Santa Clara, USA) dujų chromatografu, sukomplektuotu iš CTC Analytics, Swiss įleidimo sistemos, termostatuojamų kolonėlių ir magnetinio sektoriaus didelės skiriamosios gebos masių spektrometru Micromass Autospec Premier (Manchester, UK) naudojant teigiamą jonizaciją.

PCDD/PCDF ir PCB dujų chromatografinis atskyrimas atliekamas naudojant $60\text{ m} \times 0,251\text{ mm} \times 0,10\text{ }\mu\text{m}$ DB-5MS (Agilent Technologies, Belgium) kolonėlę, kurios temperatūrų intervalas yra – 60 iki $325\text{ }^{\circ}\text{C}$. PBDE atskyrimas atliekamas naudojant $30\text{ m} \times 0,251\text{ mm} \times 0,10\text{ }\mu\text{m}$ DB-5MS ir 209-PBDE – naudojant $15\text{ m} \times 0,251\text{ mm} \times 0,10\text{ }\mu\text{m}$ DB-5MS (Agilent Technologies, Belgium) kolonėlę. Kiti naudojami parametrai:

Injekoriaus temperatūra: 275°C ;

Formuojamas PCDD/PCDF temperatūros gradientas:

1. 120°C (2 min)
2. $25^{\circ}\text{C}/\text{min}$ – 250°C
3. $2,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ – 285°C
4. $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ – 340°C (4 min);

Formuojamas DT-PCB ir ne DT-PCB temperatūros gradientas:

1. 120°C (2 min)
2. $30^{\circ}\text{C}/\text{min}$ – 200°C
3. $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$ – 280°C
4. $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ – 320°C (5 min);

Formuojamas tri – hepta PBDE temperatūros gradientas:

1. 100°C (3 min)
2. $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ – 320°C (15 min);

Formuojamas PBDE - 209 temperatūros gradientas:

1. 100°C (4 min)

2. 40°C/min – 200°C (3,5 min);

3. 10°C/min – 325°C (3,5 min);

Sujungimo kapiliaro temperatūra: 200°C; nešančios dujos: helis; pradinis slėgis: 1,0 bar; injekcijos tūris: 2 μl (PCDD/PCDF), 1 μl (PCB), 2 μl (PBDE); skalavimo laikas: 1 min; referentinių dujų rezervuaro temp.: 160°C.

Naudojamos masių spektrometrinės sąlygos: emisija: 3 mA; gaudyklė – 700 μA, elektronų energija – 40 eV, rezoliucija – 10000 ir daugiau, kalibruojamosios dujos – PFK (Perfluorokerosenas), detektorius – 380 V, šaltinio temperatūra – 250°C, signalo matavimų intervalas – 0,02.

Vienas iš eksperimente naudotų ekstrakcijos metodų – automatinis ekstrakcijos metodas naudojant aukšto slėgio ekstraktorių ASE 200 (angl. Accelerated Solvent Extraction, DIONEX ASE 200 su DIONEX tirpiklių kontrolieriu, Dionex kompanija, JAV).

Mėginio paruošimas atliekamas rankiniu būdu ir naudojant automatinę mėginio paruošimo sistemą DEXTech (LCTech GmbH, Dorfenas, Vokietija).

Žaliaviniai duomenys apdorojami „TargetLynx“ programa. Kiekvienam PCDD/PCDF, PBDE ir PCB sukuriama atitinkamas kiekybinio įvertinimo ir integravimo metodas. Po analizės patikrinamas automatinis integravimas, o esant reikalui perintegruojama.

Koncentracija mėginyje gaunama iš kalibracinės kreivės pagal formulę:

$$RF_n = (A_n^1 + A_n^2) * C_{is} / (A_{is}^1 + A_{is}^2) * C_n \quad (2.1. formulė)$$

$$RF_{is} = (A_{is}^1 + A_{is}^2) * C_{RS} / (A_{RS}^1 + A_{RS}^2) * C_{is} \quad (2.2. formulė)$$

$$RF_{RS} = RF_n * RF_{is} \quad (2.3. formulė)$$

Kur,

A_n^1 ir A_n^2 – pirmos ir antros masės smailių plotai;

A_{is}^1 ir A_{is}^2 – pirmos ir antros masės vidinių standartų smailių plotai;

A_{RS}^1 ir A_{RS}^2 – pirmos ir antros masės išgavos standartų smailių plotai;

C_{is} – vidinio standarto koncentracija kalibraciniame tirpale;

C_n – natyvinio standarto koncentracija kalibraciniame tirpale;

C_{RS} – išgavos standarto koncentracija kalibraciniame taške;

RF – atsako faktorius.

Galutinė natyvinių junginių ($^{12}C_{12}$) koncentracija apskaičiuojama pagal žemiau pateiktą formulę:

$$C_x = (A_{n \text{ extract}}^1 + A_{n \text{ extract}}^2) * C_{is \text{ extract}} / (A_{is \text{ extract}}^1 + A_{is \text{ extract}}^2) * M/V * RF_n;$$

(2.4. formulė)

Kur,

C_x – ieškomos analitės kiekis, ng kg⁻¹, ng g⁻¹ arba pg g⁻¹;

M – analizei paimto mėginio kiekis, g;

V – galutinis mėginio tūris, μl.

2.2. Reagentai ir tirpalai

Darbe naudotos šios medžiagos:

Toluenas, skirtas analizei, grynumas 99,9%, VWR International GmbH/B. D. H., Viena, Austria;

Cikloheksanas, skirtas DCh analizei, grynumas 99,8%, VWR International GmbH/B. D. H., Viena, Austria;

N-heksanas, skirtas DCh analizei, grynumas 96%, VWR International GmbH/B. D. H., Viena, Austrija;

Dichlormetanas, skirtas DCh analizei, grynumas 99,9%, VWR International GmbH/B. D. H., Vienna, Austria;

MeOH – grynumas 99,9%, VWR International GmbH/B. D. H., Viena, Austria;

Acetonas – grynumas 99,8%, VWR International GmbH/B. D. H., Viena, Austria;

Rektifikuotas etilo alkoholis, grynumas 96,3%, AB „Stumbras, Lietuva“;

Sieros rūgštis, grynumas 95 – 97%, Merck, KGaA, Vokietija;

Natrio hidroksidas, kietas, grynumas 99%, Merck, KGaA, Vokietija;

Silikagelis 60, 70 – 230 aktyvumas, dalelių dydis 0,063 – 0,2 mm, Merck, KGaA, Vokietija. Iškaitintas 550 °C temperatūroje per naktį. Atvėsinus pridedama 5% antro kokybės lygio vandens (taip paruoštas reagentas laikomas eksikatoriuje);

Florisilis, 60 – 100 akėtumas, Merck, KGaA, Vokietija. Iškaitintas 550 °C temperatūroje per naktį. Atvėsinus pridedama 3% antro kokybės lygio vandens (taip paruoštas reagentas laikomas eksikatoriuje);

Celitas 545, 106 μ, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Šveicarija. Iškaitintas 550 °C temperatūroje 5 val. (taip paruoštas reagentas laikomas eksikatoriuje);

Aktyvuota anglis (Carbopack C), 80/100 akėtumas, RESTEK Corp., Jungtinės Amerikos Valstijos;

Aktyvuota anglis (Carbopack B), 60/80 akėtumas, RESTEK Corp., Jungtinės Amerikos Valstijos;

Perfluorokeroseno dujos, skirtas masių spektroskopijai, t_{vir} 210 – 260 °C;

Natrio sulfatas iškaitintas 550°C temperatūroje 12 val.

Poliakrilinės rūgšties polimeras (angl. poly(acrylic acid), partial sodium salt-graft-poly(ethylene oxide), cross-linked), Aldrich chemistry, Vokietija.

Darbe naudojamos standartinės medžiagos, Cerilliant, Cambridge Isotope Laboratory, Inc. (CIL), (Jungtinės Amerikos Valstijos) arba Sigma-Aldrich kompanijos Cerrilant (Jungtinės Amerikos Valstijos) pateikti 2.1. lentelėje. PBDE standartinės medžiagos gautos iš Centrinės Referentinės Laboratorijos (Freiburgas, Vokietija).

2.1. lentelė. PCDD/PCDF ir DT PCB standartai.

Nr.	Analitė	Koncentracija	Grynumas, %
1.	2,3,7,8 – tetrachlorodibenzofuranas	400 µg/ml	99
	1,2,3,7,8 – pentachlorodibenzofuranas	2000 µg/ml	98
	2,3,4,7,8 – pentachlorodibenzofuranas	2000 µg/ml	99
	1,2,3,4,7,8 – heksachlorodibenzofuranas	2000 µg/ml	99
	1,2,3,6,7,8 – heksachlorodibenzofuranas	2000 µg/ml	98
	1,2,3,7,8,9 – heksachlorodibenzofuranas	2000 µg/ml	98
	2,3,4,6,7,8 – heksachlorodibenzofuranas	2000 µg/ml	98
	1,2,3,4,6,7,8 – heptachlorodibenzofuranas	2000 µg/ml	99
	1,2,3,4,7,8,9 – heptachlorodibenzofuranas	2000 µg/ml	99
	Oktachlorodibenzofuranas	4000 µg/ml	99
	2,3,7,8 – tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioksinas	400 µg/ml	99
	1,2,3,7,8 – pentachlorodibenzo- <i>p</i> -dioksinas	2000 µg/ml	99
	1,2,3,4,7,8 – heksachlorodibenzo- <i>p</i> -dioksinas	2000 µg/ml	99
	1,2,3,6,7,8 – heksachlorodibenzo- <i>p</i> -dioksinas	2000 µg/ml	99
	1,2,3,7,8,9 – heksachlorodibenzo- <i>p</i> -dioksinas	2000 µg/ml	99
	1,2,3,4,6,7,8 – heptachlorodibenzo- <i>p</i> -dioksinas	2000 µg/ml	99
	Oktachlorodibenzo- <i>p</i> -dioksinas	4000 µg/ml	99
2.	2,3,7,8 – tetrachlorodibenzofuranas ¹³ C ₁₂	1 µg/ml	99
	1,2,3,7,8 – pentachlorodibenzofuranas ¹³ C ₁₂		
	2,3,4,7,8 – pentachlorodibenzofuranas ¹³ C ₁₂		
	1,2,3,4,7,8 – heksachlorodibenzofuranas ¹³ C ₁₂		
	1,2,3,6,7,8 – heksachlorodibenzofuranas ¹³ C ₁₂		
	1,2,3,7,8,9 – heksachlorodibenzofuranas ¹³ C ₁₂		
	2,3,4,6,7,8 – heksachlorodibenzofuranas ¹³ C ₁₂		
	1,2,3,4,6,7,8 – heptachlorodibenzofuranas ¹³ C ₁₂		
	1,2,3,4,7,8,9 – heptachlorodibenzofuranas ¹³ C ₁₂		
	Oktachlorodibenzofuranas ¹³ C ₁₂		
	2,3,7,8 – tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioksinas ¹³ C ₁₂		
	1,2,3,7,8 – pentachlorodibenzo- <i>p</i> -dioksinas ¹³ C ₁₂		
	1,2,3,4,7,8 – heksachlorodibenzo- <i>p</i> -dioksinas ¹³ C ₁₂		
	1,2,3,6,7,8 – heksachlorodibenzo- <i>p</i> -dioksinas ¹³ C ₁₂		
1,2,3,7,8,9 – heksachlorodibenzo- <i>p</i> -dioksinas ¹³ C ₁₂			
1,2,3,4,6,7,8 – heptachlorodibenzo- <i>p</i> -dioksinas ¹³ C ₁₂			
Oktachlorodibenzo- <i>p</i> -dioksinas ¹³ C ₁₂			
3.	1,2,3,4 – tetrachlorodibenzodiioksinas ¹³ C ₁₂ (išgavos standartas)	51,9 µg/ml	99
4.	(# 77 PCB) 3,3',4,4' tetrachlorbifenilas	2 µg/ml	≥ 98
	(# 81 PCB) 3,4,4',5' tetrachlorbifenilas		
	(# 105 PCB) 2,3,3',4,4' pentachlorbifenilas		
	(# 114 PCB) 2,3,4,4',5' pentachlorbifenilas		
	(# 118 PCB) 2,3',4,4',5' pentachlorbifenilas		
	(# 123 PCB) 2',3,4,4',5' pentachlorbifenilas		
	(# 126 PCB) 3,3',4,4',5' pentachlorbifenilas		
	(# 156 PCB) 2,3,3',4,4',5' heksachlorbifenilas		
	(# 157 PCB) 2,3,3',4,4',5' heksachlorbifenilas		
	(# 167 PCB) 2,3',4,4',5,5' heksachlorbifenilas		
	(# 169 PCB) 3,3',4,4',5,5' heksachlorbifenilas		
(# 189 PCB) 2,3,3',4,4',5,5' heptachlorbifenilas			
5.	(# 77 PCB) 3,3',4,4' tetrachlorbifenilas ¹³ C ₁₂	1 µg/ml	≥ 98
	(# 81 PCB) 3,4,4',5' tetrachlorbifenilas ¹³ C ₁₂		
	(# 105 PCB) 2,3,3',4,4' pentachlorbifenilas ¹³ C ₁₂		
	(# 114 PCB) 2,3,4,4',5' pentachlorbifenilas ¹³ C ₁₂		
	(# 118 PCB) 2,3',4,4',5' pentachlorbifenilas ¹³ C ₁₂		
	(# 123 PCB) 2',3,4,4',5' pentachlorbifenilas ¹³ C ₁₂		
	(# 126 PCB) 3,3',4,4',5' pentachlorbifenilas ¹³ C ₁₂		
	(# 156 PCB) 2,3,3',4,4',5' heksachlorbifenilas ¹³ C ₁₂		
	(# 157 PCB) 2,3,3',4,4',5' heksachlorbifenilas ¹³ C ₁₂		
	(# 167 PCB) 2,3',4,4',5,5' heksachlorbifenilas ¹³ C ₁₂		
	(# 169 PCB) 3,3',4,4',5,5' heksachlorbifenilas ¹³ C ₁₂		
(# 189 PCB) 2,3,3',4,4',5,5' heptachlorbifenilas ¹³ C ₁₂			
6.	(# 28 PCB) 2,4,4' trichlorbifenilas	10 mg/l	≥ 98
	(# 52 PCB) 2,2',5,5' tetrachlorbifenilas		
	(# 101 PCB) 2,2',4,5,5' pentachlorbifenilas		
	(# 138 PCB) 2,2',3,4,4',5' hexachlorbifenilas		
	(# 153 PCB) 2,2',4,4',5,5' hexachlorbifenilas		
(# 180 PCB) 2,2',3,4,4',5,5' heptachlorbifenilas			
7.	(# 28 PCB) 2,4,4' trichlorbifenilas ¹³ C ₁₂	5	≥ 98
	(# 52 PCB) 2,2',5,5' tetrachlorbifenilas ¹³ C ₁₂		
	(# 101 PCB) 2,2',4,5,5' pentachlorbifenilas ¹³ C ₁₂		
	(# 138 PCB) 2,2',3,4,4',5' hexachlorbifenilas ¹³ C ₁₂		
	(# 153 PCB) 2,2',4,4',5,5' hexachlorbifenilas ¹³ C ₁₂		
(# 180 PCB) 2,2',3,4,4',5,5' heptachlorbifenilas ¹³ C ₁₂			

8.	(#15 PBDE) 4,4' dibromo bifenileteris	5 µg/ml	-
	(#17 PBDE) 2,2',4' tribromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#28 PBDE) 2, 4, 4' tribromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#47 PBDE) 2, 2', 4, 4' tetrabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#66 PBDE) 2, 3', 4, 4' tetrabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#71 PBDE) 2, 3', 4', 6' tetrabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#75 PBDE) 2, 4, 4', 6' tetrabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#77 PBDE) 3, 3', 4, 4' tetrabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#85 PBDE) 2, 2', 3, 4, 4' pentabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#99 PBDE) 2, 2', 4, 4', 5' pentabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#100 PBDE) 2, 2', 4, 4', 6' pentabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#119 PBDE) 2, 3', 4, 4', 6' pentabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#126 PBDE) 3, 3', 4, 4', 5' pentabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#138 PBDE) 2, 2', 3, 4, 4', 5' heksabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#153 PBDE) 2, 2', 4, 4', 5, 5' heksabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#154 PBDE) 2, 2', 4, 4', 5, 6' heksabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#183 PBDE) 2, 2', 3, 4, 4', 5', 6' heptabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#190 PBDE) 2, 3, 3', 4, 4', 5, 6' heptabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#203 PBDE) 2, 2', 3, 4, 4', 5, 5', 6' oktabromo bifenileteris	5 µg/ml	
	(#209 PBDE) 2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 5', 6, 6' dekabromo bifenileteris	10 µg/ml	
9.	(#15 PBDE) 4,4' dibromo bifenileteris ¹³ C ₁₂	5 µg/ml	-
	(#28 PBDE) 2, 4, 4' tribromo bifenileteris ¹³ C ₁₂	5 µg/ml	
	(#47 PBDE) 2, 2', 4, 4' tetrabromo bifenileteris ¹³ C ₁₂	5 µg/ml	
	(#77 PBDE) 3, 3', 4, 4' tetrabromo bifenileteris ¹³ C ₁₂ (išgavos standartas)	5 µg/ml	
	(#99 PBDE) 2, 2', 4, 4', 5' pentabromo bifenileteris ¹³ C ₁₂	5 µg/ml	
	(#100 PBDE) 2, 2', 4, 4', 6' pentabromo bifenileteris ¹³ C ₁₂	5 µg/ml	
	(#126 PBDE) 3, 3', 4, 4', 5' pentabromo bifenileteris ¹³ C ₁₂	5 µg/ml	
	(#153 PBDE) 2, 2', 4, 4', 5, 5' heksabromo bifenileteris ¹³ C ₁₂	5 µg/ml	
	(#183 PBDE) 2, 2', 3, 4, 4', 5', 6' heptabromo bifenileteris ¹³ C ₁₂	5 µg/ml	
	(#209 PBDE) 2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 5', 6, 6' dekabromo bifenileteris ¹³ C ₁₂	10 µg/ml	

Standartiniai tirpalai ruošiami toluene ir laikomi tamsiuose induose 4°C temperatūroje. Darbinių standartinių tirpalų koncentracijos yra:

1. ¹²C₁₂ TetraCDD/F 48 ng/ml
¹²C₁₂ Pe, Hx, HpCDD/F 240 ng/ml
¹²C₁₂ OctaCDD/F 480 ng/ml
2. ¹²C₁₂ TetraCDD/F 2 ng/ml
¹²C₁₂ Pe, Hx, HpCDD/F 10 ng/ml
¹²C₁₂ OctaCDD/F 20 ng/ml
3. ¹²C₁₂ TetraCDD/F 0,1 ng/ml
¹²C₁₂ Pe, Hx, HpCDD/F 0,5 ng/ml
¹²C₁₂ OctaCDD/F 1 ng/ml
4. ¹³C₁₂1,2,3,4-TCDD 10 ng/ml
5. ¹³C₁₂1,2,3,4-TCDD 5 ng/ml
6. ¹³C₁₂ PCDD/PCDF 60 ng/ml
7. ¹³C₁₂ PCDD/PCDF 1 ng/ml
8. ¹²C₁₂ PCB 50 ng/ml
9. ¹²C₁₂ PCB 5 ng/ml
10. ¹³C₁₂ PCB 120 ng/ml

11. $^{13}\text{C}_{12}$ PCB 10 ng/ml
12. $^{13}\text{C}_{12}$ PBDE 50 ng/ml (išskyrus #209 PBDE)
13. $^{13}\text{C}_{12}$ PBDE 20 ng/ml (išskyrus #209 PBDE)
14. $^{13}\text{C}_{12}$ #209 PBDE 100 ng/ml
15. $^{12}\text{C}_{12}$ PBDE 50 ng/ml (išskyrus #209 PBDE)
16. $^{12}\text{C}_{12}$ PBDE 5 ng/ml (išskyrus #209 PBDE)
17. $^{12}\text{C}_{12}$ #209 PBDE 100 ng/ml
18. $^{12}\text{C}_{12}$ #209 PBDE 10 ng/ml
19. $^{13}\text{C}_{12}$ ne DT-PCB 3000 ng/ml
20. $^{13}\text{C}_{12}$ ne DT-PCB 100 ng/ml
21. $^{13}\text{C}_{12}$ ne DT-PCB 10 ng/ml
22. $^{12}\text{C}_{12}$ ne DT-PCB 3000 ng/ml
23. $^{12}\text{C}_{12}$ ne DT-PCB 200 ng/ml
24. $^{12}\text{C}_{12}$ ne DT-PCB 5 ng/ml

2.3. Mėginių paruošimo procedūros

Visų mėginių paruošimo analizei tyrimai buvo atliekami su realių mėginių matricomis (žuvis, mėsa, pašarai, kiaušiniai). Mėginio paruošimo procedūra yra gana sudėtinga, nes apima kelis etapus: ekstrakcija, gryninimas ir frakcionavimas, identifikavimas ir nustatymas. Mėginiai ruošiami rankiniu ir automatinio metodu, kuriam naudojama DEXTech (LCTech, Vokietija) – automatinė mėginių ruošimo sistema.

Kadangi POT kaupiasi riebaluose, todėl svarbu išekstrahuoti visus matricoje esančius riebalus tolimesnei analizei. Pagal paruošimo procedūrą, mėginio imama tiek, kad galima būtų išekstrahuoti daugiau nei 2 g riebalų. Žuvies ir mėsos imama po 20 – 30 g, kiaušinių 20 g, pašarų – apie 50 g. Mažiau riebalingoms matricoms mėginio analizei imama daugiau. Visoms matricoms paruošimo procedūros yra vienodos, išskyrus analičių ekstrakciją. Žuviai, mėsai ir kiaušiniams naudojama klasikinė „šalta“ ekstrakcija, o pašarų matricai Soksleto arba Tviselmano ekstrakcija. „Šalta“ ekstrakcija vykdoma su 250 ml cikloheksanu/dichlormetanu (1/1 (v/v)). Pašarų didžiausios leidžiamos

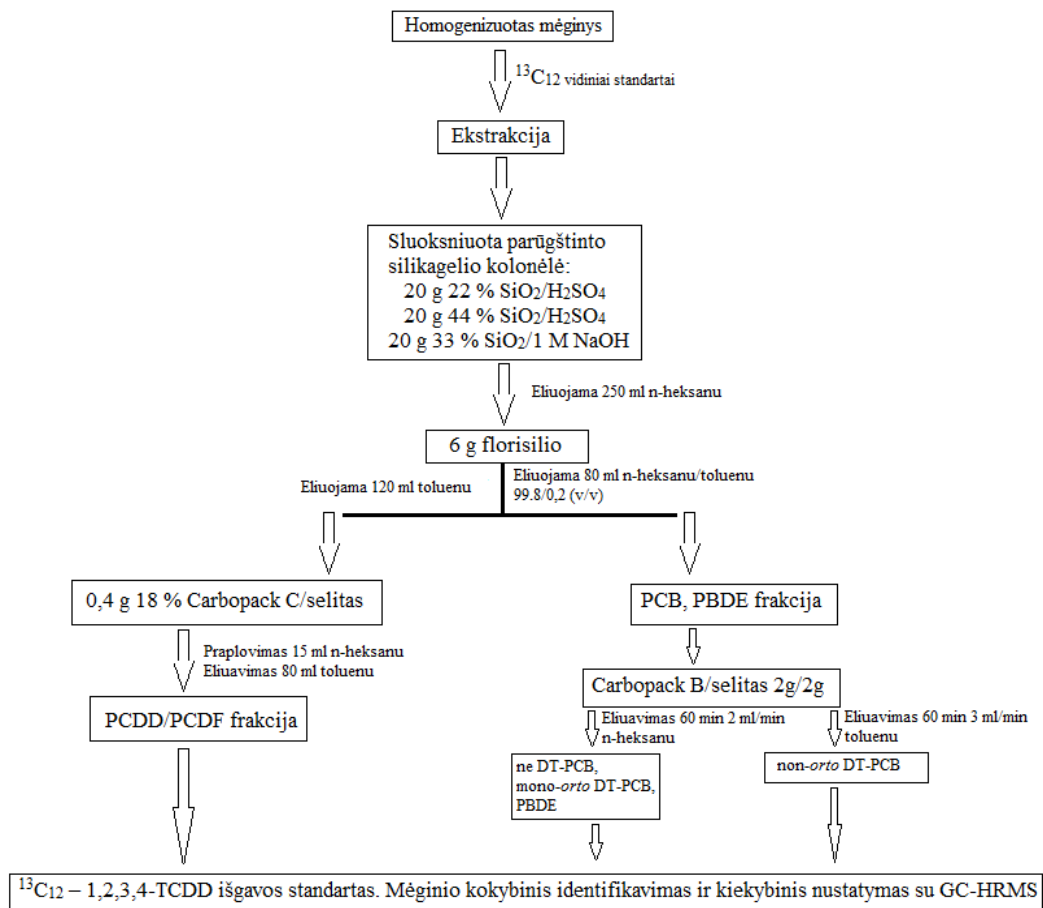
koncentracijos [123-124] pateikiamos mėginiams, turintiems 12% drėgmės, todėl prieš riebalų ekstrahavimą reikalinga nustatyti drėgmės kiekį. Tai atliekama mėginį džiovinant 110 °C temperatūroje apie 12 valandų ir apskaičiuojama pagal 2.5. formulę:

$$\text{Drėgmės kiekis (\%)} = \frac{\text{Iškaitinto mėginio masė (g)}}{\text{Gryno mėginio masė (g)}} \times 100; \text{ (Formulė 2.5.)}$$

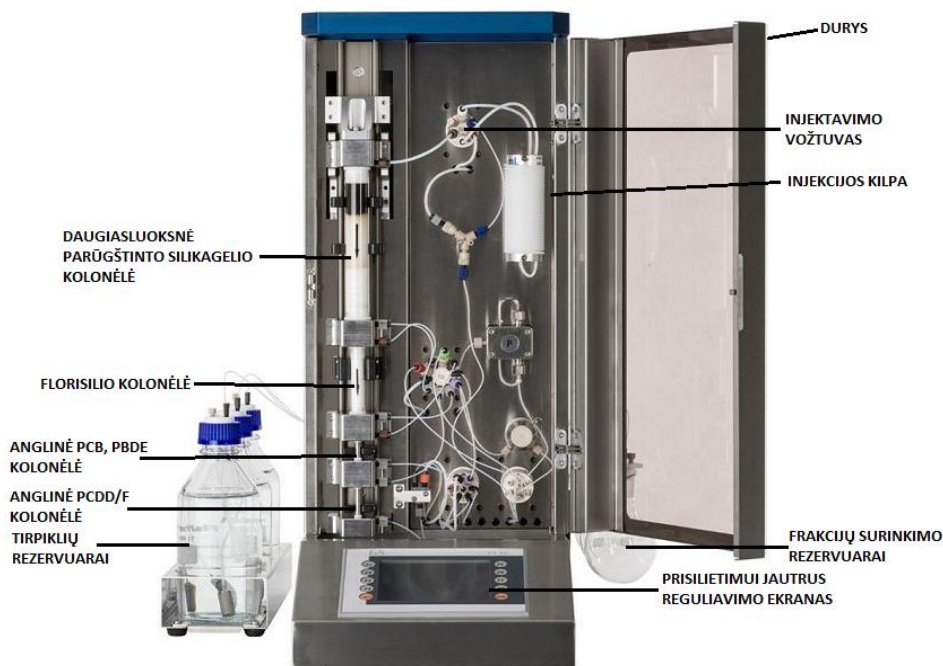
Toliau vykdoma riebalų Soksletu arba Tviselmanu ekstrahavimas. Soksleto arba Tviselmano ekstraktoriai sujungiami su grįžtamuju kondensatoriumi ir ekstrahuojama 350 ml cikloheksanu/toluenu (1/1 (v/v)) mažiausiai 6 val. ir 350 ml etilo alkoholiu/toluenu (7/3 (v/v)) mažiausiai 6 val. Riebalų kiekis visoms matricoms apskaičiuojamas pagal 2.6. formulę:

$$\text{Riebalų kiekis (\%)} = \frac{\text{Išekstrahuota riebalų masė (g)}}{\text{Analizei imto mėginio masė (g)}} \times 100; \text{ (Formulė 2.6.)}$$

Toliau seka kiti mėginių paruošimo procedūros etapai: gryninimas ir frakcionavimas, identifikavimas ir nustatymas. Mėginių gryninimas atliekamas naudojant sluoksniuotą skirtingo rūgštingumo silikagelio kolonėlę, o frakcionavimas – naudojant florisilio ir aktyvintos anglies kolonėles. Visa tolimesnė rankinė mėginių paruošimo procedūra pavaizduota 2.1. pav. ir automatinė mėginių paruošimo sistema – 2.2. pav.



Pav. 2.1. Rankinės mėginių paruošimo procedūros schema



Pav. 2.2. Automatinės DEXTech mėginių paruošimo procedūros schema

2.4. Metodų patvirtinimo procedūros

Patvarių organinių teršalų analizinių metodų patvirtinimui žuvyje, mėsoje, kiaušiniuose, augalinės ir gyvūninės kilmės pašaruose ir piene buvo vertinamos charakteristikos: jautrumas, kalibracinės kreivės tiesiškumas, nustatymo riba, teisingumas ir glaudumas pakartojamumo ir atkuriamumo sąlygomis, vidinių standartų išgavos, pridėtinių natyvinių standartų išgavos. Visi patvirtinimo tyrimai buvo atliekami su realiais mėginiais, pridodant į juos skirtingus analičių standartų kiekius ir fiksuotus vidinio standarto kiekius.

Vertinti metodų patvirtinimo procedūrų kriterijai atitinka Europos Komisijos patvarių organinių teršalų analizei keliamus reikalavimus. Jautrumas siekia 10^{-15} g/g individualiems PCDD/PCDF ir 10^{-12} g/g – individualiems PCB, 10^{-9} g/g – individualiems PBDE. Kalibracinės kreivės santykinis standartinis nuokrypis < 20%. Įvertintos nustatymo ribos PSO-TE_{1998, 2005} PCDD/PCDF ir PSO-TE_{1998, 2005} PCDD/PCDF, PCB < 1/5 dominančios koncentracijos (didžiausios leidžiamos koncentracijos). Teisingumas +/- 20%. Glaudumas (atkuriamumo sąlygomis) < 15%. Vidinių standartų išgavos taip pat atitinka EK keliamus reikalavimus POT analizei ir yra 60 – 120% intervale.

3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1. Analizinių sąlygų parinkimas

3.1.1. Mėginių paruošimas analizei ir ekstrakcija

Kaip minėta literatūros apžvalgoje, POT analizei naudojami keli ekstrakcijos metodai: „šaltoji“ ekstrakcija, automatini ekstrakcijos metodas, Soksleto ar Tviselmano ekstrakcija. Pagrindinis šio etapo tikslas – riebalų ekstrakcija, kadangi POT yra tirpūs riebaluose.

Prieš ekstrakciją mėginiai atitinkamai paruošiami. Paruošimas vykdomas mėginį sumalant, homogenizuojant, nuvandeninant ir pridodant atitinkamą koncentraciją vidinių ¹³C₁₂ standartų. Visi mėginiai (raumuo,

pašarai, kietos būsenos riebalingi maisto produktai) prieš analizę privalo būti sumalti kiek įmanoma smulkiau ir kruopščiai maišant homogenizuojami. Žuvies mėginiams prieš analizę būtina kruopščiai pašalinti odą, nuimti nuo kaulų, nes didžiausia teršalų koncentracija yra žuvies raumenyje. Kiaušiniai privalo būti atskirti nuo lukšto, gerai išplakami, o pieno mėginiai gerai sumaišomi. Pridėjus vidinių standartų ir gerai išmaišius, mėginius privaloma palikti bent porai valandų pastovėti tamsioje vietoje, geriausiai per naktį, kad nusistovėtų pusiausvyra ir išgaruotų standartiniuose tirpaluose esantis toluenas.

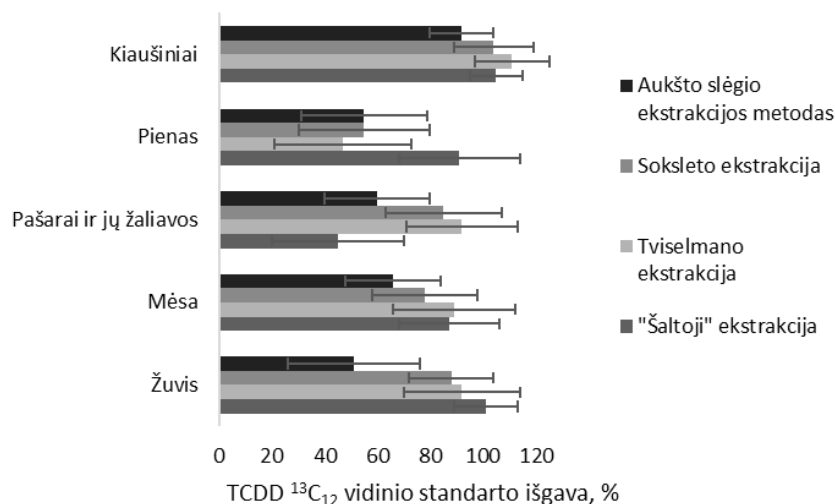
Mėginio analizei imama tiek, kad galima būtų išekstrahuoti apie 10 procentų riebalų, todėl analizei imamo mėginio kiekis priklauso nuo mėginio riebalingumo. Paprastai analizei sveriamas 10 – 50 g mėginio. Paprastai žuvies ir kiaušinių sveriamas apie 10 g mėginio, mėsos – apie 30 g, pieno, pašarų ir jų žaliavų – apie 50 g.

Prieš analizę privalu mėginius nuvandeninti. Tai vykdoma naudojant atitinkamus reagentus (bevandenis natrio sulfatas ir poliakrilinės rūgšties polimeras). Reagento dedama tiek, kad mėginio konsistencija pasidarytų panaši į miltelius.

Darbe naudojamos kelios ekstrakcijos metodikos:

- „Šaltoji“ ekstrakcija;
- Tviselamo ekstrakcija;
- Soksleto ekstrakcija;
- Aukšto slėgio ekstrakcijos metodas (ASE – angl. Accelerated Solvent Extraction);

Skirtingi ekstrakcijos metodai naudojami skirtingoms matricoms. Mėginio paruošimo tyrimams buvo naudojami skirtingi mėginiai su žinomomis $^{12}\text{C}_{12}$ ir $^{13}\text{C}_{12}$ polichlorintų organinių teršalų koncentracijomis. Ekstrakcijos efektyvumas vertintas pagal vieno iš toksiškiausio TCDD išgavą. Išgavų palyginimas skirtingose matricose naudojant skirtingas ekstrakcijos metodikas pateiktas 3.1. pav.



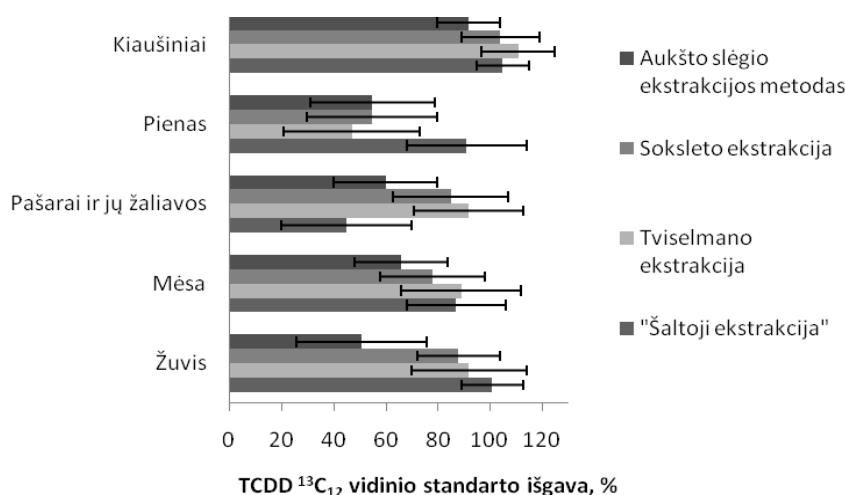
Pav. 3.1. TCDD $^{13}\text{C}_{12}$ išgavų palyginimas skirtingose matricose naudojant skirtingus ekstrakcijos metodus (n=13).

Iš 3.1. pav. matyti, kad automatizuotas ekstrakcijos metodas tinkamas ne visoms matricoms. Šį ekstrakcijos metodą galima taikyti mėsos ir kiaušinių matricoms. Kitoms matricoms TCDD vidinio standarto išgavos nesiekia 60 % o tai neatitinka Europos Komisijos analiziniams metodams keliamų reikalavimų (pagal EK reikalavimus išgavos privalo būti intervale 60 – 120 %). Soksleto ir Tviselmano ekstrakcijos metodai tinkami visoms matricoms išskyrus pieną. Pastarojo matricos TCDD vidinio standarto išgava siekia vos 50 %. Tačiau šie ekstrakcijos metodai turi trūkumą (laikas). Ekstrakcija vykdoma mažiausiai 12 val. Pašarų matricai tai vienintelis tinkamas riebalų ekstrakcijos metodas. Tradicinė „šaltoji“ ekstrakcija tinka žuvies, mėsos, pieno ir kiaušinių matricoms.

3.1.1.1. „Šaltoji“ ekstrakcija

Vienas iš paprastesnių riebalų ekstrakcijos metodų yra „šaltoji“ ekstrakcija. Šis ekstrakcijos metodas taikytinas žuvies, mėsos, kiaušinių ir pieno mėginiams. Riebalų ekstrahavimas vykdomas su cikloheksanu/dichlormetanu (1/1(v/v)). Ekstrakcija atliekama stiklinių chromatografinių kolonėlių pagalba. Mėginiai sumaišomi su paruoštu nuvandeninimo reagentu ir patalpinami į kolonėles. Mėsos, žuvies, kiaušinių ir

jų produktų mėginiai nuvandeninami su bevandeniu natrio sulfatu. Pieno, jų produktų mėginiai nuvandeninami su poliakrilinės rūgšties polimeru (angl. Poly(acrylic acid), partial sodium salt-graft-poly(ethylene oxide), cross-linked). POT eliuojami su 250 ml paruošto tirpalo į apačioje esančią apvaliadugnę kolbą. Pieno mėginiai eliuojami su 500 ml cikloheksanu/dichlormetanu (1/1(v/v)) tirpalo, kadangi žaliavinio pieno analizei imamo kiekio tūris yra didesnis. Riebalų kiekis nustatomas gravimetriniu būdu (formulė 2.6.). 3.2. pav. pateikta „šaltosios“ ekstrakcijos efektyvumo priklausomybė nuo eliuojamojo tirpiklio kiekio.



3.2. pav. TCDD ¹³C₁₂ vidinio standarto išgavų priklausomybė nuo eliuojamojo tirpiklio kiekio (n=5).

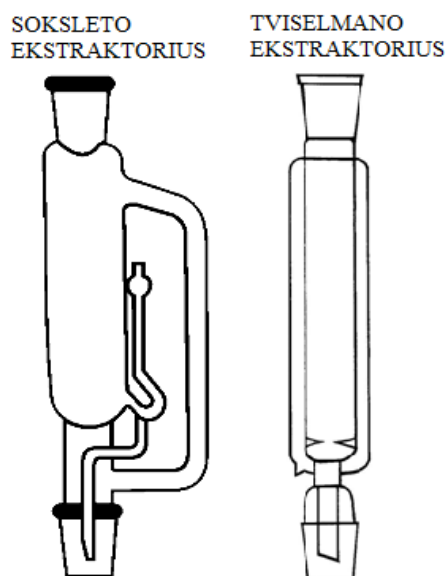
3.1.1.2. Soksleto ir Tviselmano ekstrakcija

Soksleto ir Tviselmano ekstrakcijos metodas taikomas pašarų ir jų žaliavų ekstahavimui (žr. 3.1. pav.). Pastarojo ekstrakcijos metodo principas yra mėginio virimas tam tikruose tirpikliuose tam tikrą laiką. Pašarų mėginiai verdami su skirtingais reagentais mažiausiai po 6 val.

1. 350 ml cikloheksanas toluenas (1/1 (v/v)), mažiausiai 6 val.
2. 350 ml etilo alkoholis/toluenas (7/3 (v/v)), mažiausiai 6 val.

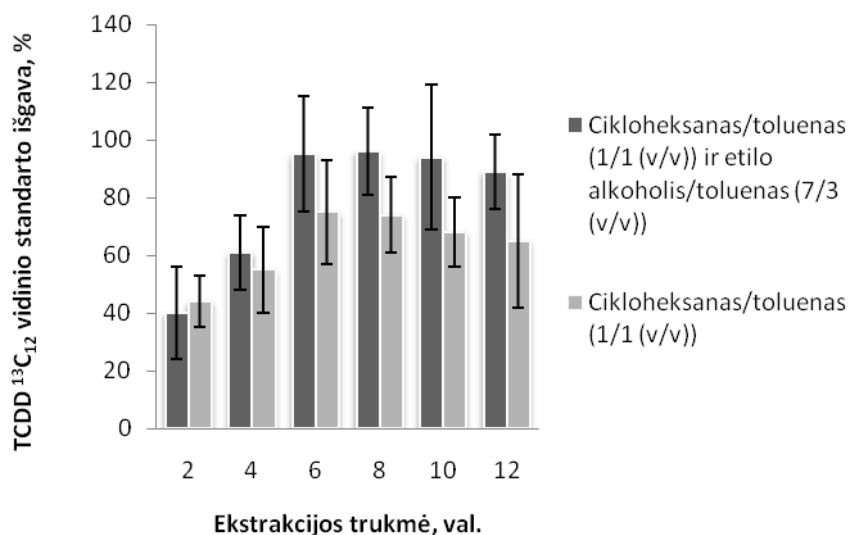
Riebalų kiekis nustatomas gravimetriniu būdu pagal 2.6. formulę.

Soksleto ekstrakcijos principas – ekstrahavimas ciklais, tuo tarpu Tviselmano ekstrakcija pagrįsta tiesioginiu kontaktu tarp tirpiklio ir matricos. Soksleto ir Tviselamo ekstraktoriai pavaizduoti 3.3 paveikslėlyje:



3.3. pav. Soksleto ir Tviselamo ekstraktoriai.

Kadangi vidinių standartų išgavos gaunamos labai panašios naudojant abu ekstrakcijos metodus, todėl 3.4. pav. priklausomybė nuo ekstrahavimo trukmės pateikiama apjungiant abiejų metodų rezultatus.



3.4. pav. TCDD ¹³C₁₂ vidinio standarto išgavų ir ekstrakcijos trukmės priklausomybė pašaruose (n=5).

Kaip matome iš 3.4. pav., vidinio TCDD standarto išgava jau po 6 ekstrakcijos valandų skiriasi tik apie 20 % su ir be etilo alkoholio/tolueno

(7/3 (v/v)) mišinio. Kadangi išgava gaunama didesnė naudojant ekstrakciją alkoholio/tolueno mišiniu, todėl POT nustatymui pašarų ir jų žaliavų mėginiuose pasirinkta ekstrakcija naudojant Soksleto ir Tviselamo metodą ir ekstrahuojant cikloheksano/tolueno (1/1 (v/v)) mišiniu mažiausiai 6 val. ir etilo alkoholio/tolueno (7/3 (v/v)) mišiniu mažiausiai 6 val.

3.1.1.3. Ekstrakcija naudojant aukštą slėgį

Tai metodas, kuomet riebalai iš matricos išskiriami naudojant aukštą slėgį. Šis ekstrakcijos metodas turi tiek privalumų tiek trūkumų. Tai gana greitas, nebrangus ir automatizuotas metodas. Tačiau išlieka nemaža kryžminės taršos rizika, bei kai kurių matricių blokavimas celėse. Celės talpina daugiausiai 50 g mėginio. Tačiau nuvandeninus mėginius, jų kiekis beveik padvigubėja. Tai reiškia, kad vienam mėginiui tenka pildyti dvi, kartais net tris celes. Eksperimento metu buvo naudojama DIONEX ASE 200 (JAV) (3.5. pav.). Nepaisant greito ir nebrangaus riebalų išskyrimo iš matricos, metodas gana nepatogus, nes mėginio kiekį riboja celių dydis. O tai svarbu norint pasiekti atitinkamą analizinį jautrį, tuo labiau, kad POT koncentracijos mėginiuose siekia net 10^{-15} g/g. Iš 3.2. pav. matyti, kad TCDD vidinio standarto išgava gaunama žemesnė nei naudojant kitus ekstrakcijos metodus.



3.5. pav. DIONEX ASE 200 ekstraktorius.

3.1.2. Mėginių gryninimas ir frakcionavimas

Tolimesnis mėginio paruošimas vykdomas gautų riebalų gryninimo ir frakcionavimo etapais. Šio etapo atlikimas galimas rankiniu (2.1. pav.) ir automatiniu (2.2. pav.) būdais. Pats eigos principas yra identiškas abiejuose metoduose, išskyrus kelis esminius skirtumus: analizės trukmė, kaina, individualių analičių nustatymo riba ir tuščių mėginių užteršimo lygis. Mėginių gryninimas ir frakcionavimas apima kelias stadijas: riebalų valymas naudojant parūgštinto silikagelio kolonėlę, florisilio ir aktyvuotos anglies kolonėles.

3.1.2.1. Mėginių gryninimas ir frakcionavimas naudojant automatinę mėginio paruošimo sistemą

Mėginių gryninimui ir frakcionavimui buvo naudojama automatinė DEXTech (LCTech, Vokietija) sistema (2.2. pav.). Skirtingai nei rankinio, šio metodo privalumas yra tai, kad visos kolonėlės yra paruoštos. Sluoksniuota parūgštinto silikagelio ir florisilio kolonėlės yra vienkartinės, o aktyvuotos anglies kolonėles galima naudoti iki 20 mėginių. Visa analizės trukmė, įskaitant kolonėlių kondicionavimą, siekia vos 70 min. ir procesas yra nepertraukiamas, kas labai svarbu PBDE analizei dėl tuščių mėginių užteršimo.

3.1.1. Gauti riebalai (iki 5 g, sluoksniuotos parūgštinto silikagelio kolonėlės geba) praskiedžiami su 7 ml n-heksano ir 2 ml tolueno. Apvaliadugnė kolba su riebalais praplaunama su dar 6 ml n-heksano ir tirpalas prijungiamas. Sumoje gauti 15 ml (injekcijos kilpos tūris) injektuojami į injekcijos kilpą. Parūgštintoje silikagelio kolonėlėje sulaikomi riebalai. Florisilio kolonėlėje atsiskiria PCB nuo PCDD/PCDF. Po anglinių kolonėlių valymo gaunamos šios frakcijos:

1. Ne DT-PCB, DT-mono *orto*-PCB, PBDE;
2. DT-non *orto*-PCB;
3. PCDD, PCDF.

3.1.2.2. Mėginių gryninimas ir frakcionavimas naudojant rankinį mėginio paruošimo būdą

Rankinio mėginio paruošimo būdo etapai yra vienodi, kaip ir naudojant automatinę mėginių paruošimo sistemą. Šio metodo trūkumas – analizės trukmė, reikalaujanti iki 2 savaičių darbo. Visa procedūra pavaizduota 2.1. pav.

Šis valymas reikalingas išvalyti riebalus, t.y. riebalai užlaikomi kolonėlėje, o dominančios analitės eliuojamos. Ši stadija taip pat naudojama tam, kad išvengtumėm polinių ir nepolinių junginių interferencijos.

Silikagelio paruošimas:

- 44% konc. sieros rūgštimi parūgštintas silikagelis. Vienai kolonėlei dedama 11,2 g silikagelio ir 8,8 g H₂SO₄. Silikagelis turi būti iškaitintas 550 °C temperatūroje ir deaktyvuotas su 5 % vandens.
- 22 % konc. sieros rūgštimi parūgštintas silikagelis. Vienai kolonėlei dedama 15,6 g silikagelio ir 4,4 g H₂SO₄. Silikagelis turi būti iškaitintas prie 550 °C temperatūroje ir deaktyvuotas su 5 % vandens.
- 33 % 1M šarmintas silikagelis: vienai kolonėlei imama 13,4 g iškaitinto silikagelio ir 6,6 g 1 M NaOH.

Pasiruošus reagentus pildoma stiklinė chromatografinė kolonėlė (aukštis 54 cm, vidinis diametras – 2 cm):

Kolonėlės gale dedamas gabalėlis stiklo vatos (jei reikia)



~ 2 cm iškaitintas silikagelis



20 g 33 % 1M šarmintas silikagelis



~ 2 cm iškaitintas silikagelis



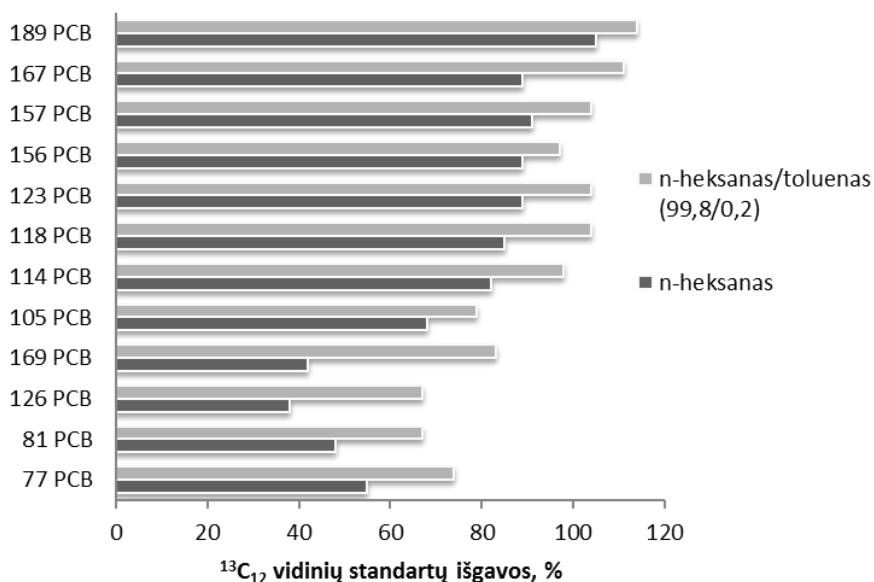
20 g 44% parūgštintas silikagelis



~ 2 cm iškaitintas silikagelis
 ↓
 20 g 22 % parūgštintas silikagelis
 ↓
 ~ 2 cm iškaitintas silikagelis
 ↓
 ~ 2 cm iškaitintas Na₂SO₄

Eliuojama su 250 ml n-heksanu. Po eliuavimo tirpiklis nugarinamas iki ~ 1 ml ir vykdomas sekantis mėginio valymo etapas naudojant florisilio kolonėlę.

6 g per naktį 550 °C temperatūroje iškaitinto ir deaktyvuoto su 3% vandens florisilio patalpinami į stiklinę chromatografinę kolonėlę (aukštis 34 cm, vidinis diametras - 1 cm), kondicionuojami apie 15 ml n-heksanu, paliekama 10 min pastovėti. Po 10 min n-heksanas išpilamas. Kolonėlės viršuje užnešamas po parūgštinto silikagelio gautas ekstraktas. Dioksinų tipo non-orto, mono-orto polichlorinti bifenilai, ne dioksinų tipo bifenilai ir PBDE eliuojami 80 ml n-heksano/tolueno (99,8/0,2 (v/v)) mišiniu.



3.6. pav. ¹³C₁₂ vidinių DT-PCB standartų išgavų priklausomybė nuo eliuojamojo tirpiklio sudėties.

Iš 3.6. pav. matyti, kad naudojant tik n-heksaną DT-PCB eliuavimui, išgavos yra mažesnės, o ypač DT non-*orto* PCB. Problema, buvo išspręsta pridėjus 0,2% tolueno. Išgavos ženkliai pagerėjo, todėl PCB, PBDE analizei buvo pasirinktas n-heksanas/toluenas (99,8/0,2 (v/v)). Dioksinų ir furanų frakcija eliuojama su 120 ml tolueno. Po eliuavimo abiejų frakcijų tirpikliai nugarinami iki ~ 1 ml su rotaciniu garintuvu, o toliau garinama azoto srove iki ≈1 lašo, kuris ištirpinamas 1 ml n-heksano ir vykdomas sekantis mėginio valymo etapas naudojant celito/aktyvuotos anglies kolonėlę.

Prieš sekantį mėginio paruošimo etapą reikalinga pasiruošti reagentą. Celitas maišomas su anglimi (carbopack C) 1/4,5 dalimis, t.y. 18% v/v. Aktyvuojame mišinį 550 °C temperatūroje minimaliai 6 val. ir PCDD, PCDF valymas atliekamas žemiau užpildytoje kolonėlėje (aukštis 34 cm, vidinis diametras - 1 cm):

Kolonėlės gale dedamas gabalėlis stiklo vatos (jei reikia)



0,4 g celitas/aktyvuota anglis (carbopack C)



Užkemšama mažu stiko vatos gabalėliu.

Gryninimo eiga :

1. 5 ml tolueno (kondicionavimas);
2. 15 ml n-heksano (kondicionavimas);
3. Ant kolonėlės viršaus užnešama po florisilio kolonėlės gauta

PCDD/PCDF frakcija;

4. Plauname kolonėlę su 15 ml n-heksano;
5. Eliuojame su 80 ml tolueno;

DT-PCB frakcionavimas atliekamas naudojant pusiau automatinę sistemą. Pildoma omnifit kolonėlė: celitas/carbopack B (60/80 aktyvumas) santykiu 1/1 (1g/1g). Intensyviai kondicionuojame su n-heksanu. Ši kolonėlė reikalinga atskirti mono-*orto*, PBDE ir non-*orto* PCB frakcijas.

1. Kolonėlės kondicionavimas 5 ml/min n-heksanu apie 1 val;
2. Automatinis injektavimas;

3. Pirmosiomis 10 min, 2 ml/min išelijuojami ne dioksinų tipo PCB;
4. DT mono-orto PCB, PBDE eliuojami n-heksanu 2 ml/min 30 min;
5. DT non-orto PCB eliuojami toluenu 3 ml/min 45 min.

Gaunamos ne DT-PCB, DT mono-orto PCB, DT non-orto PCB ir PBDE frakcijos.

Gautas ekstraktas nugarinamas rotaciniame garintuve iki ~ 0,5 ml. Tirpiklio likutis pašalinamas prapučiant silpna azoto srove. Garinant tirpiklius, svarbu sausai nugarinti (galimas analičių praradimas). Prieš kiekvieną analizės etapą, naudojami laboratoriniai indai praplaunami su tame analizės etape naudojamu tirpikliu.

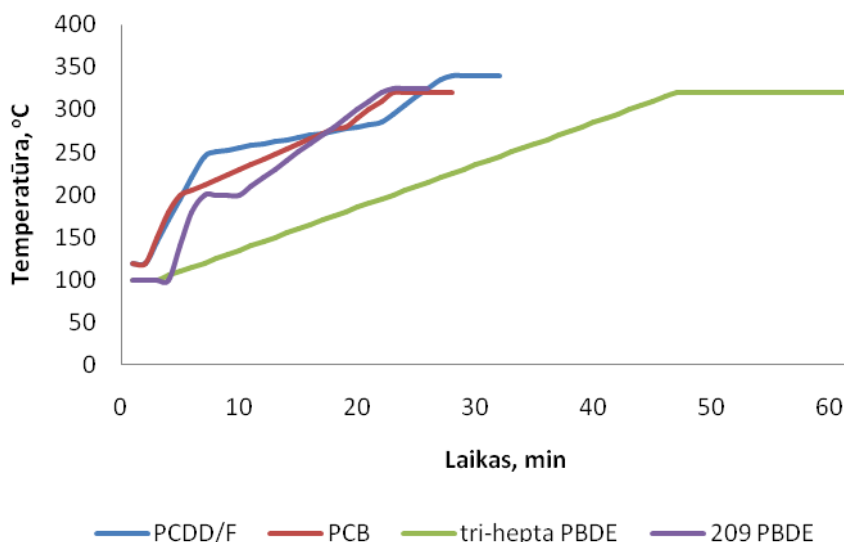
Naudojant n-heksaną, PCDD/PCDF kiekybiškai pernešami į 50 µl stiklinį įdėkliuką, o PCB į 250 µl įdėkliuką. N-heksanas nupučiamas naudojant silpną azoto srovę. PCDD/PCDF likutis tirpinamas 10 µl 1,2,3,4-TCDD ¹³C₁₂ 10 ng/ml koncentracijos išgavos standarte, o DT-PCB ir ne DT-PCB tirpinami 100 µl 1,2,3,4-TCDD ¹³C₁₂ 10 ng/ml koncentracijos išgavos standarte (esant didesnėms koncentracijoms, galutinis tūris gali keistis). PBDE tirpinami 50 µl tolueno, kur išgavos standarto (¹³C₁₂ 77 PBDE) koncentracija yra 20 ng/ml.

Toliau seka PCDD/PCDF, DT-PCB, ne DT-PCB ir PBDE nustatymas didelės skiriamosios gebos dujų chromatografijos–masių spektrometrijos metodu.

3.1.3. Chromatografinio atskyrimo sąlygų parinkimas

Patvarių halogenintų teršalų chromatografinis atskyrimas atliekamas su dujų chromatografu Agilent 6890N (Santa Clara, USA). Išanalizavus literatūrą, POT chromatografiniam atskyrimui buvo pasirinkta DB-5MS (fenil aryl polimeras, prilygstantis 5% fenil metilpolisiloksanui). PCDD/PCDF, PCB atskyrimas atliekamas naudojant DB-5MS 60 m × 0,251 mm × 0,10 µm kolonėlę, PBDE – DB-5MS 30 m × 0,251 mm × 0,10 µm ir PBDE 209 15 m × 0,251 mm × 0,10 µm (Agilent Technologies, Belgium). Nešančios dujos – helis. Eksperimento eigoje buvo ieškoma tinkamo temperatūrinio gradiento.

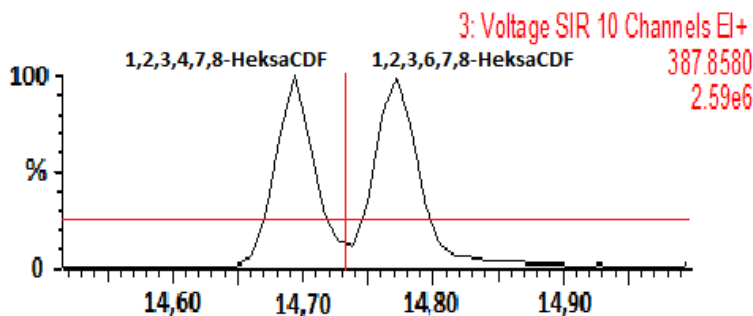
Kadangi galutinis ekstraktas skiedžiamas su tolueno tirpiklyje gamintu standartiniu tirpalu, kurio t_{vir} yra 110,6 °C, todėl pradinė pasirinkta temperatūra 100-120 °C, kad išgaruotų injektuotas mėginio tūris.



3.7. pav. POT dujų chromatografijos temperatūrinio gradiento formavimas.

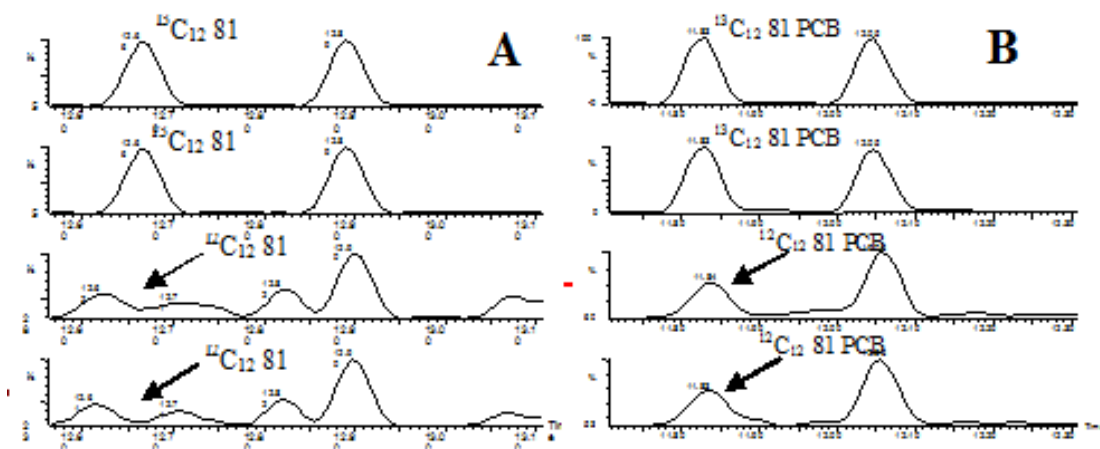
Pastarajame paveikslėlyje pavaizduoti PCDD/F, PCB ir PBDE temperatūriniai gradientai. Matyti, kad PCDD/F, PCB ir 209 PBDE chromatogramų trukmė siekia 30 min, o tri-hepta PBDE – 60 min.

Kai kurių furanų, tokių kaip 1,2,3,4,7,8-HeksaCDF ir 1,2,3,6,7,8-HeksaCDF atskyrimas taikant dujų chromatografiją yra sudėtingas. Pagal reglamentą šių junginių smailių atskyrimas privalo būti < 25%. 3.8. pav. parodo, kad šių smailių atskyrimas siekia apie 13%.



3.8. pav. $^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,4,7,8-HeksaCDF ir 1,2,3,6,7,8-HeksaCDF smailių atskyrimas.

Eksperimento metu išaiškėjo, kad mėginio paruošimo procedūroje analičių atskyrimui būtina naudoti aktyvuotos anglies kolonėlę (žr. 3.9. pav.)

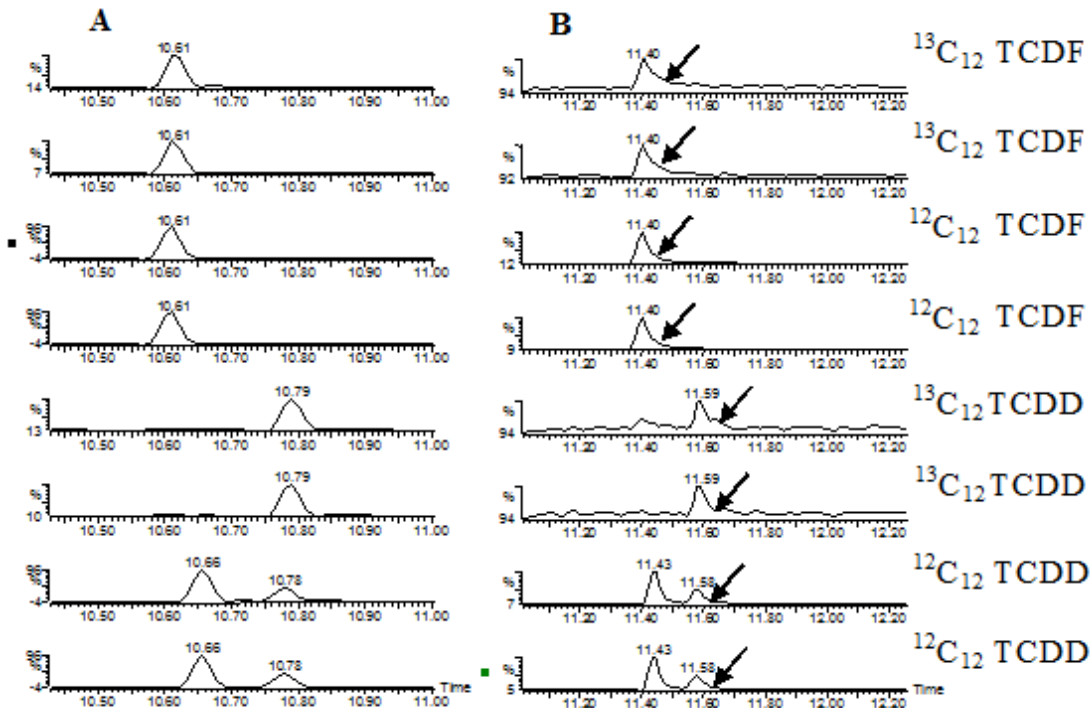


3.9. pav. $^{12}\text{C}_{12}$ 81 PCB ir $^{13}\text{C}_{12}$ 81 PCB GC-HRMS chromatogramos. A – rankinis mėginio paruošimo būdas, nenaudojant aktyvuotos anglies kolonėlės ir B - rankinis mėginio paruošimo būdas, naudojant aktyvuotos anglies kolonėlę.

Iš 3.9. pav. matyti, kad naudojant rankinį mėginio paruošimo būdą be aktyvuotos anglies kolonėlės, t.y. neatskiriant DT mono-orto PCB, PBDE ir DT non-orto PCB frakcijų, ne visi bifenilai atsiskiria. 3.9. paveikslėlio A chromatogramose, kur aktyvuotos anglies kolonėlė nebuvo naudojama, o mėginys analizuojamas po florisilio kolonėlės, matyti, kad $^{12}\text{C}_{12}$ 81 PCB neatsiskiria. 3.9. paveikslėlio B chromatogramose, kur aktyvuotos anglies kolonėlė buvo naudojama, matyti, kad $^{12}\text{C}_{12}$ 81 PCB atsiskiria. Tai reiškia, kad mėginio paruošimo metu, aktyvuotos anglies kolonėlė privaloma dėl kai kurių individualių analičių atskyrimo. Taip pat ši kolonėlė privaloma dėl $^{12}\text{C}_{12}$ 126, 169 PCB jautrumo pagerinimo, t.y. geresnių nustatymo ribų. Šių bifenilų toksiniai ekvivalentiniai faktoriai yra nemaži (126 PCB – 0,1 ir 169 PCB – 0,03), todėl jie daro didelę įtaką toksiniam ekvivalentui.

Kadangi patvarių organinių teršalų nustatymo ribos yra mažos, o dažnai chromatografo injektoriaus įvedimo sistema ir chromatografinė kolonėlė užsiteršia, todėl prieš kiekvieną chromatografinę seką būtina patikrinti analičių atskyrimą, t.y. analizinio signalo jautrumą ir analizinės smailės simetriškumą. 3.10. paveikslėlyje pavaizduotos $^{13}\text{C}_{12}$ ir $^{12}\text{C}_{12}$ TCDD ir

TCDF chromatografinis atskyrimas pašalinus kolonėlės dalį, pakeitus injektoriaus įvedimo sistemą ir tarpines (A), ir esant užsiteršusiai kolonėlei (B).



3.10.¹ pav. $^{13}\text{C}_{12}$ ir $^{12}\text{C}_{12}$ TCDD ir TCDF chromatografinis atskyrimas pašalinus kolonėlės dalį, pakeitus injektoriaus įvedimo sistemą ir tarpines (A), ir esant užsiteršusiai kolonėlei (B).

Iš 3.10. paveikslėlio matyti, kad užsiteršus chromatografinėi kolonėlei mažėja analizinio signalo intensyvumas bei didėja analizinės smailės asimetriškumas.

¹ Didelės skiriamosios gebos dujų chromatografinio-masių spektrometrinio metodo sąlygos: 60 m × 0,251 mm × 0,10 μm DB-5MS kolonėlė. PBDE atskyrimas atliekamas naudojant 30 m × 0,251 mm × 0,10 μm DB-5MS ir 15 m × 0,251 mm × 0,10 μm DB-5MS. Formuojamas PCDD/PCDF temperatūros gradientas: 120 oC (2 min), 25oC/min – 250oC, 2,5oC/min – 285oC, 10oC/min – 340oC (4 min), DT-PCB ir ne DT-PCB temperatūros gradientas: 120 oC (2 min), 30oC/min – 200oC, 6oC/min – 280oC, 10oC/min – 320oC (5 min), tri – hepta PBDE temperatūros gradientas: 100 oC (3 min), 5oC/min – 320oC (15 min), 209 PBDE temperatūros gradientas 100 oC (4 min), 40oC/min – 200oC (3,5 min), 10oC/min. – 325oC (3,5 min). Injektoriaus temperatūra 275oC. Naudotas savitzky golay analizinės smailės paviršiaus lyginimas 2:2.

3.1.4. Masių spektrometrinių sąlygų parinkimas

Pagal Europos Komisijos reikalavimus, POT analizę privaloma atlikti naudojant visus 17 PCDD/F 2,3,7,8 padėtyse pakeistus vidinius etalonus su žymėtais $^{13}\text{C}_{12}$ atomais ir visus 12 dioksinų tipo PCB vidinius etalonus su žymėtais $^{13}\text{C}_{12}$ atomais. Kadangi Europos Komisija nėra reglamentavusi PBDE analizės reikalavimų, todėl eksperimentui buvo pasirinkta bent vienas vidinis etalonas su žymėtu $^{13}\text{C}_{12}$ atomu homologinei eilei. 3.1. lentelėje pateikti analizuojamųjų polihalogenintų organinių teršalų skenuojamos monoizotopinės masės, izotopų santykiai.

3.1. lentelė. Polihalogenintų organinių teršalų skenuojamos monoizotopinės masės ir izotopų santykiai.

Analytė	$^{12}\text{C}_{12}$ masė	m/z	Izotopų santykis	$^{13}\text{C}_{12}$ masė	m/z	Izotopų santykis
PCDD/PCDF						
TetraCDF	303.9016	[M] ⁺	0,77	315.9419	[M] ⁺	0,77
	305.8987	[M+2] ⁺		317.9389	[M+2] ⁺	
TetraCDD	319.8965	[M] ⁺	0,77	331.9368	[M] ⁺	0,77
	321.8936	[M+2] ⁺		333.9339	[M+2] ⁺	
Fiksavimo masė	330.9792	-	-	330.9792	-	-
PentaCDF	339.8597	[M+2] ⁺	0,65	351.9000	[M+2] ⁺	0,65
	341.8586	[M+4] ⁺		353.8970	[M+4] ⁺	
PentaCDD	353.8576	[M] ⁺	0,65	365.8978	[M] ⁺	0,65
	355.8546	[M+2] ⁺		367.8949	[M+2] ⁺	
Fiksavimo masė	366.9792	-	-	366.9792	-	-
HexaCDF	373.8207	[M+2] ⁺	0,81	385.8610	[M+2] ⁺	0,81
	375.8178	[M+4] ⁺		387.8580	[M+4] ⁺	
HexaCDD	389.8156	[M+2] ⁺	0,81	401.8559	[M+2] ⁺	0,81
	391.8127	[M+4] ⁺		403.8530	[M+4] ⁺	
Fiksavimo masė	380.9760	-	-	380.9760	-	-
HeptaCDF	407.7818	[M+2] ⁺	0,95	419.8220	[M+2] ⁺	0,95
	409.7788	[M+4] ⁺		421.8191	[M+4] ⁺	
HeptaCDD	423.7767	[M+2] ⁺	0,95	435.8169	[M+2] ⁺	0,95
	425.7737	[M+4] ⁺		437.8140	[M+4] ⁺	
Fiksavimo masė	430.9728	-	-	430.9728	-	-

OCDF	441.7428	[M+2] ⁺	0,89	453.7830	[M+2] ⁺	0,89
	443.7398	[M+4] ⁺		455.7801	[M+4] ⁺	
OCDD	459.7348	[M+4] ⁺	0,65	471.7750	[M+4] ⁺	0,65
	461.7320	[M+6] ⁺		473.7721	[M+6] ⁺	
Fiksavimo masė	454.9728	-	-	454.9728	-	-
Dioksinų tipo PCB						
TetraCB	289.9223	[M] ⁺	0,77	301.9626	[M] ⁺	0,77
	291.9194	[M+2] ⁺		303.9597	[M+2] ⁺	
Fiksavimo masė	318.9792	-	-	318.9792	-	-
PentaCB	325.8804	[M+2] ⁺	1,55	337.9206	[M+2] ⁺	1,55
	327.8775	[M+4] ⁺		339.9178	[M+4] ⁺	
Fiksavimo masė	330.9292	-	-	330.9292	-	-
HexaCB	359.8415	[M+2] ⁺	1,24	371.8817	[M+2] ⁺	1,24
	361.8385	[M+4] ⁺		373.8788	[M+4] ⁺	
Fiksavimo masė	368.9760	-	-	368.9760	-	-
HeptaCB	393.8025	[M+2] ⁺	1,05	405.8428	[M+2] ⁺	1,05
	395.7995	[M+4] ⁺		407.8398	[M+4] ⁺	
Fiksavimo masė	404.9760	-	-	404.9760	-	-
PBDE						
DiBDE	325.8942	[M] ⁺	0,51	337.9344	[M] ⁺	0,51
	327.8921	[M+2] ⁺		339.9324	[M+2] ⁺	
Fiksavimo masė	292.9824	-	-	292.9824	-	-
TriBDE	405.8027	[M+2] ⁺	1,03	417.8429	[M+2] ⁺	1,03
	407.8002	[M+4] ⁺		419.8409	[M+4] ⁺	
Fiksavimo masė	392.9755	-	-	392.9755	-	-
TetraBDE	483.7132	[M+2] ⁺	0,7	497.7514	[M+4] ⁺	1,54
	485.7111	[M+4] ⁺		499.7493	[M+6] ⁺	
Fiksavimo masė	480.9696	-	-	480.9696	-	-
PentaBDE	563.6216	[M+4] ⁺	1,03	575.6619	[M+4] ⁺	1,03
	565.6296	[M+6] ⁺		577.6598	[M+6] ⁺	
Fiksavimo masė	580.9633	-	-	580.9633	-	-
HexaBDE	641.5322	[M+4] ⁺	0,77	655.5704	[M+6] ⁺	1,37
	643.5302	[M+6] ⁺		657.5683	[M+8] ⁺	
Fiksavimo	630.9601	-	-	630.9601	-	-

masė	666.9601			666.9601		
HeptaBDE	721.4406	[M+6] ⁺	1,03	733.4809	[M+6] ⁺	1,03
	723.4386	[M+8] ⁺		735.4788	[M+8] ⁺	
Fiksavimo masė	716.9569	-	-	716.9569	-	-
	735.4788			735.4788		
¹² C ₁₂ – OctaBDE	639.5165	[M-2Br+4] ⁺	0,77	733.4809	[M-2Br+4] ⁺	0,77
	641.5144	[M-2Br+6] ⁺		735.4788	[M-2Br+6] ⁺	
Fiksavimo masė	630.9601	-	-	630.9601	-	-
	666.9601			666.9601		
DecaBDE	797.3355	[M-2Br+6] ⁺	0,82	809.3757	[M-2Br+6] ⁺	0,82
	799.3334	[M-2Br+8] ⁺		811.3737	[M-2Br+8] ⁺	
Fiksavimo masė	630.9601	-	-	630.9601	-	-
	666.9601			666.9601		
Ne dioksinų tipo PCB						
TriCB	255.9613	[M] ⁺	1,03	268.0016	[M] ⁺	1,03
	257.9584	[M+2] ⁺		269.9986	[M+2] ⁺	
TetraCB	289.9224	[M] ⁺	0,77	301.9626	[M] ⁺	0,77
	291.9194	[M+2] ⁺		303.9597	[M+2] ⁺	
Fiksavimo masė	304.9824	-	-	304.9824	-	-
PentaCB	325.8804	[M+2] ⁺	1,55	337.9206	[M+2] ⁺	1,55
	327.8775	[M+4] ⁺		339.9178	[M+4] ⁺	
Fiksavimo masė	330.9792	-	-	330.9792	-	-
HexaCB	359.8415	[M+2] ⁺	1,24	371.8817	[M+2] ⁺	1,24
	361.8385	[M+4] ⁺		373.8788	[M+4] ⁺	
Fiksavimo masė	330.9792	-	-	330.9792	-	-
HeptaCB	393.8025	[M+2] ⁺	1,04	405.8428	[M+2] ⁺	1,04
	395.7995	[M+4] ⁺		407.8398	[M+4] ⁺	
Fiksavimo masė	330.9792	-	-	330.9792	-	-

Kiekvienos analizės metu sudaroma standartinių tirpalų, reagento mėginių, tuščių mėginių ir kokybės kontrolės mėginių chromatografinė seka. Pastaroji sudaroma šiuo būdu eiliškumo tvarka: kalibracinės kreivės standartiniai taškai, reagento mėginys (toluenas), tuščias mėginys, mėginiai (tarp kurių, kas 3 mėginius įterpiamas reagento mėginys), kokybės kontrolės mėginys, trečias kalibracinės kreivės taškas. Chromatografinės sekos

pabaigoje, trečias kalibracinės kreivės taškas papildomai analizuojamas patikrinti rezoliuciją ir individualių analizių atskyrimą.

3.1.5. Metodo analizinės charakteristikos

Metodo analizinės charakteristikos vertintos vadovaujantis Komisijos Reglamentu (ES) Nr. 589/2014 maisto produktuose ir Komisijos Reglamentu (ES) Nr. 709/2014 pašaruose ir jų žaliavose prie 0,5/1/2 didžiausios leidžiamos koncentracijos, tačiau kiekviena matrica turi skirtingas DLK (1.10. ir 1.11. lentelės). Naudojant rankinį mėginio paruošimo būdą analizinės sąlygos tikrintos žuvyje ir jos produktuose (prie TE PCDD/F 3,40 pg/g, TE PCDD/F, PCB 8,09 pg/g), mėsoje ir jos produktuose (prie TE PCDD/F 0,76 pg/g, TE PCDD/F, PCB 3,42 pg/g) bei pašaruose ir jų žaliavose (prie TE PCDD/F 2,28 pg/g, TE PCDD/F, PCB 7,5 pg/g gyvūninės kilmės pašaruose ir TE PCDD/F 1,14 pg/g, TE PCDD/F, PCB 3,75 pg/g augalinės kilmės pašaruose). Naudojant automatinį mėginio paruošimo būdą, patvirtinimas atliktas apjungiant visas riebalinių produktų matricas bei pašarus. Metodo patvirtinimo koncentracijos naudojant automatinį mėginio paruošimo būdą, pateiktos 3.2. lentelėje.

3.2. lentelė. POT metodo patvirtinimo koncentracijos.

Analitė	TEF ₂₀₀₅	Koncentracija mėginyje 0,5/1/2 DLK, pg/g	TE 0,5/1/2 DLK, pg/g
2,3,7,8-tetraCDD	1	0,05/0,2/0,5	0,05/0,2/0,5
1,2,3,7,8-pentaCDD	1	0,25/1,0/2,5	0,25/1,0/2,5
1,2,3,4,7,8-heksaCDD	0.1	0,25/1,0/2,5	0,025/0,1/0,25
1,2,3,6,7,8-heksaCDD	0.1	0,25/1,0/2,5	0,025/0,1/0,25
1,2,3,7,8,9-heksaCDD	0.1	0,25/1,0/2,5	0,025/0,1/0,25
1,2,3,4,6,7,8-heptaCDD	0.01	0,25/1,0/2,5	0,0025/0,01/0,025
OktaCDD	0.0003	0,5/2,0/5,0	0,0002/0,0006/0,0015
2,3,7,8-tetraCDF	0.1	0,05/0,2/0,5	0,005/0,02/0,05
1,2,3,7,8-pentaCDF	0.03	0,25/1,0/2,5	0,0075/0,03/0,075
2,3,4,7,8-pentaCDF	0.3	0,25/1,0/2,5	0,075/0,3/0,75
1,2,3,4,7,8-heksaCDF	0.1	0,25/1,0/2,5	0,025/0,1/0,25
1,2,3,6,7,8-heksaCDF	0.1	0,25/1,0/2,5	0,025/0,1/0,25
1,2,3,7,8,9-heksaCDF	0.1	0,25/1,0/2,5	0,025/0,1/0,25
2,3,4,6,7,8-heksaCDF	0.1	0,25/1,0/2,5	0,025/0,1/0,25
1,2,3,4,6,7,8-heptaCDF	0.01	0,25/1,0/2,5	0,0025/0,01/0,025
1,2,3,4,7,8,9-heptaCDF	0.01	0,25/1,0/2,5	0,0025/0,01/0,025
OktaCDF	0.0003	0,5/2,0/5,0	0,0002/0,0006/0,0015

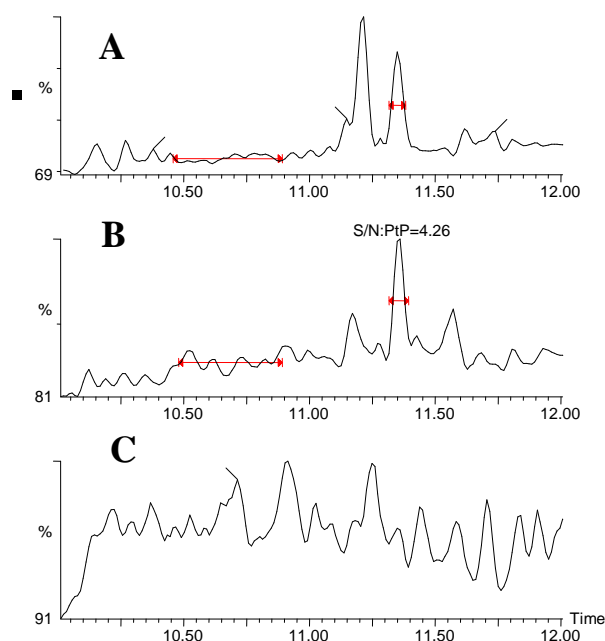
TE₂₀₀₅ PCDD/PCDF			0,57/2,28/5,7
3,3',4,4'-tetraCB (77 PCB)	0.0001	5/60/110	0,0005/0,006/ 0,011
3,4,4',5-tetraCD (81 PCB)	0.0003	5/60/110	0,0015/0,018/ 0,033
3,3',4,4',5-pentaCB (126 PCB)	0.1	5/60/110	0,5/6/11
3,3',4,4',5,5'-heksaCB (169 PCB)	0.03	5/60/110	0,15/1,8/3,3
2,3,3',4,4'-pentaCB (105 PCB)	0.00003	5/60/110	0,00015/0,0018/ 0,0033
2,3,4,4',5-pentaCB (114 PCB)	0.00003	5/60/110	0,00015/0,0018/ 0,0033
2,3',4,4',5-pentaCB (118 PCB)	0.00003	5/60/110	0,00015/0,0018/ 0,0033
2',3,4,4',5-pentaCB (123 PCB)	0.00003	5/60/110	0,00015/0,0018/ 0,0033
2,3,3',4,4',5-heksaCB (156 PCB)	0.00003	5/60/110	0,00015/0,0018/ 0,0033
2,3,3',4,4',5'-heksaCB (157 PCB)	0.00003	5/60/110	0,00015/0,0018/ 0,0033
2,3',4,4',5,5'-heksaCB (167 PCB)	0.00003	5/60/110	0,00015/0,0018/ 0,0033
2,3,3',4,4',5,5'-heptaCB (189 PCB)	0.00003	5/60/110	0,00015/0,0018/ 0,0033
TE₂₀₀₅ PCDD/PCDF, PCB			1,22/10,12/20
2,4,4' trichlorbifenilas (28 PCB)	-	1,5/15/50	1/15/50
2,2',5,5' tetrachlorbifenilas (52 PCB)	-	1,5/15/50	1/15/50
2,2',4,5,5' pentachlorbifenilas (101 PCB)	-	1,5/15/50	1/15/50
2,2',3,4,4',5' hexachlorbifenilas (138 PCB)	-	1,5/15/50	1/15/50
2,2',4,4',5,5' hexachlorbifenilas (153 PCB)	-	1,5/15/50	1/15/50
2,2',3,4,4',5,5' heptachlorbifenilas (180 PCB)	-	1,5/15/50	1/15/50
Suma ne DT-PCB			9/90/300

Pagal 3.2. lentelėje pateiktus koncentracijų intervalus buvo vykdomas metodo patvirtinimas pakartojamumo ir atkuriamumo sąlygomis. Eksperimento metu vertinti: metodo jautrumas (nustatymo ribos), metodo tiesiškumas (kalibracinės kreivės), vidinių standartų ¹³C₁₂ išgavos atkuriamumo sąlygomis.

3.1.5.1. POT nustatymo ribos

Pagal Komisijos Reglamentus (ES) Nr. 589/2014 ir (ES) Nr. 709/2014 POT analizinio metodo TE PCDD/PCDF ir TE PCDD/PCDF, PCB nustatymo riba (3 S/N) privalo būti < 1/5 DLK. Vertinant metodo nustatymo ribas būtina įvertinti analizei imamo mėginio kiekį, galutinį ekstrakto tūrį, injekcijos tūrį. Kadangi imamo mėginio kiekis priklauso nuo jo riebalingumo, todėl riebalinių maisto produktų imama 10-20 g, neriebalinių – 20-50 g mėginio.

Eksperimento metu tikrinti 1, 2 ir 3 μl injekcijos tūriai naudojant standartinius POT tirpalus (mažiausias kalibracinės kreivės taškas). 3.11. paveikslėlyje pateiktos $^{12}\text{C}_{12}$ TCDD chromatogramos prie skirtingų injekcijų.

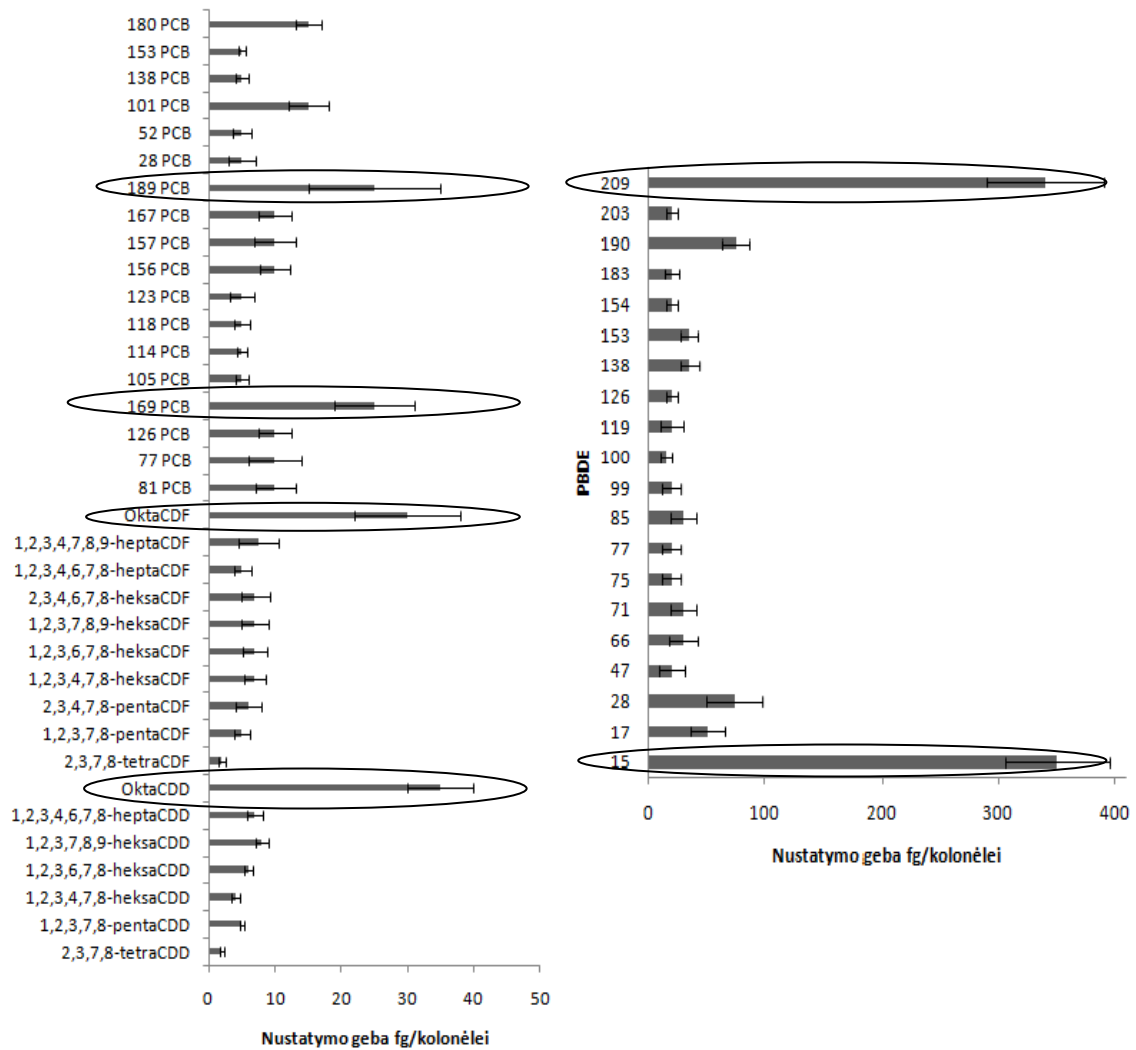


Paveikslėlyje A injekcijos tūris sudaro 15 fg/kolonėlei (S/N:PtP = 10), B – 10 fg/kolonėlei (S/N:PtP = 4.6) ir C – 5 fg/kolonėlei (S/N:PtP = 0). Analizuojant mėginius didelės skiriamosios gebos masių spektrometrijos metodu svarbu paminėti, kad jautrumas yra labai svyruojantis dydis, kuris priklauso nuo mėginio išvalymo ir jonizacijos šaltinio užteršimo.

3.11. pav. TCDD nustatymo riba prie skirtingų injekcijų: A – 3 μl , B – 2 μl , C – 1 μl .

Kiekvienoje analizės sekoje individualių junginių nustatymo ribos gali nežymiai keistis. Todėl optimaliausias PCDD/PCDF injekcijos tūris yra 2 μl , ir 10 – 20 fg/kolonėlei.

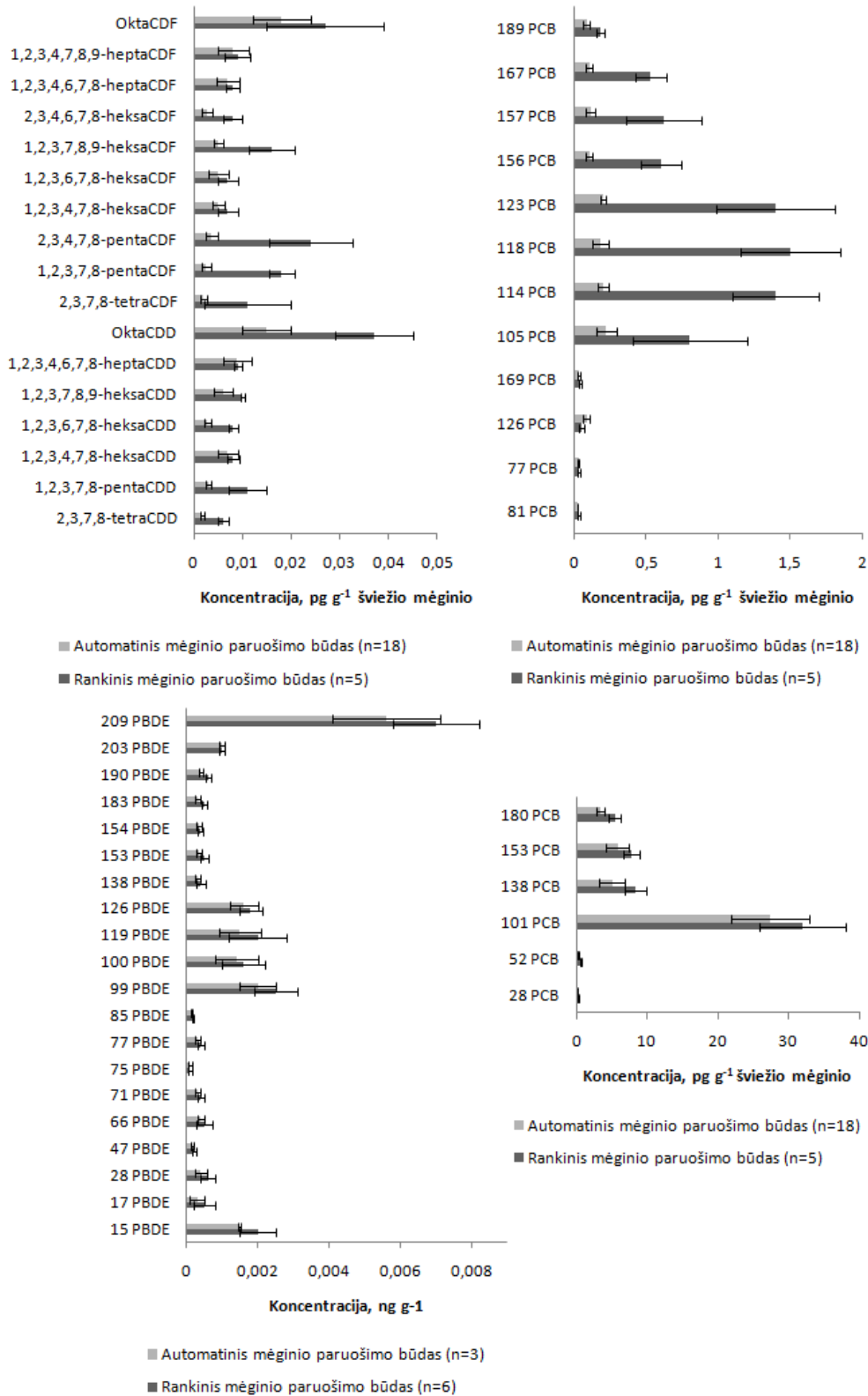
Pasirinktas PCDD/PCDF ir PBDE injekcijos tūris 2 μl , PCB – 1 μl . Visų individualių junginių nustatymo riba pavaizduota 3.11. pav. Iš paveikslėlio matyti, kad mažiausią nustatymo ribą demonstruoja PCDD/PCDF, iš kurių tetra- dioksinai ir furanai sudaro 2 fg/kolonėlei, penta-, hekso-, hepta- 5 – 10 fg/kolonėlei, o okta- 30 fg/kolonėlei. Dioksinų tipo ir ne dioksinų tipo polichlorintų bifenilų nustatymo riba yra intervale nuo 5 iki 30 fg/kolonėlei.



3.12. pav. Individualių POT nustatymo riba PCDD/PCDF ir PCB (n=10), PBDE (n=3) naudojant didelės skiriamosios gebos dujų chromatografijos-masių spektrometrijos metodą.

Realių mėginių nustatymo ribos įvertintos naudojant rankinį ir automatinį mėginio paruošimo būdą. Eksperimento metu, naudojant rankinį mėginio paruošimo būdą, vertintos trys matricos: žuvis, mėsa, pašarai. Naudojant automatinio mėginio paruošimo procedūrą, nustatymo ribos vertintos: pieno, aliejaus, pašarų ir žuvies matricos. PBDE nustatymo ribos naudojant abu mėginio paruošimo būdus, tikrintos tik žuvies matricoje.

Pagal gautus duomenis, tiek rankiniu mėginio paruošimo būdu tiek automatinio, nustatymo ribos atitinka POT Europos Komisijos keliamus reikalavimus. Nustatymo ribos pateiktos 3.13. pav.



3.13. pav. PCDD/PCDF, DT-PCB, ne DT-PCB ir PBDE nustatymo ribos žuvyje naudojant didelės skiriamosios gebos dujų chromatografijos-masių spektrometrijos metodą.

3.13. pav. nustatymo ribos paskaičiuotos naudojant 10 g žuvies mėginio. Galutinis PCDD/PCDF ekstrakto tūris yra 10 µl, DT-PCB ir ne DT-PCB – 100 µl, PBDE – 50 µl. Dioksinų, furanų ir bifenilų koncentracijos pateiktos pg g⁻¹ šviežio mėginio, tuo tarpu PBDE – ng g⁻¹ šviežio mėginio. Iš pastarojo paveikslėlio matyti, kad nustatymo ribos atitinka POT analizei keliamus Europos Komisijos reikalavimus, t.y. TE_{1998, 2005} PCDD/PCDF (0,038 pg g⁻¹, 0,033 pg g⁻¹ naudojant rankinį mėginio paruošimo būdą ir 0,01 pg g⁻¹, 0,02 pg g⁻¹ naudojant automatinį mėginio paruošimo būdą), TE_{1998, 2005} PCDD/PCDF, DT-PCB (0,07 pg g⁻¹, 0,05 pg g⁻¹ naudojant rankinį mėginio paruošimo būdą ir 0,02 pg g⁻¹, 0,05 pg g⁻¹ naudojant automatinį mėginio paruošimo būdą) ir suminė ne DT-PCB vertė (54,4 pg g⁻¹ naudojant rankinį mėginio paruošimo būdą ir 42,1 pg g⁻¹ naudojant automatinį mėginio paruošimo būdą) < 1/5 DLK. Pagal Europos Komisijos rekomendaciją, PBDE nustatymo ribos turi būti ≤ 1 ng g⁻¹ (suminė PBDE vertė yra 0,02 pg g⁻¹ naudojant rankinį mėginio paruošimo būdą ir 0,018 pg g⁻¹ naudojant automatinį mėginio paruošimo būdą).

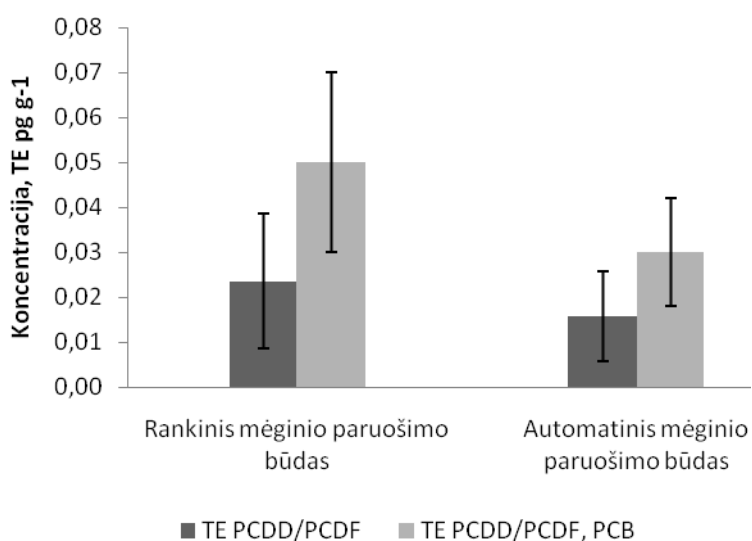
Kitų matricų (mėsa, pašarai, pienas, aliejus) nustatymo ribos taip pat atitinka Europos Komisijos analizės metodui keliamus reikalavimus <1/5 DLK. Iš 3.13. pav. matome, kad naudojant rankinį mėginio paruošimo būdą, nustatymo ribos atitinka Europos Komisijos keliamus reikalavimus, tačiau naudojant automatinį mėginio paruošimo būdą, nustatymo ribos yra mažesnės t.y. pasiekiamas geresnis metodo jautrumas. Tai reiškia, kad naudojant automatinį mėginio paruošimo metodą, individualios analitės yra geriau atskiriamos nuo pašalinių junginių ir taršos lygis tuščiuose mėginiuose yra mažesnis nei naudojant rankinį mėginio paruošimo būdą.

3.1.5.2. Tuščių mėginių taršos lygis

Analizuojant mėginius patvarių organinių teršalų atžvilgiu, svarbu analizuoti tuščių mėginių taršos lygį. Tuščias mėginys – tai mėginys, kuris analizuojamas be matricos efekto, t.y. mėginio paruošimas atliekamas be

mėginio. Kadangi POT yra itin patvarūs ir ilgai jie tik kaupiasi, todėl analizės metu būtina įvertinti visų metodikoje naudojamų reagentų ir tirpalų taršos lygį. Taip pat tušti mėginiai analizuojami, naudojamų indų kryžminės taršos kontroliavimo tikslais.

Ekspimento metu tušti mėginiai buvo analizuojami polichlorintų dibenzo-*p*-dioksinų, dibenzofuranų ir dioksinų tipo polichlorintų bifenilų atžvilgiu. Rezultatai pateikti 3.14. paveikslėlyje. $n=32$ naudojant rankinį mėginio paruošimo būdą, $n=9$ naudojant automatinį mėginio paruošimo būdą.



3.14. pav. Tuščių mėginių koncentracijų palyginimas naudojant rankinį ir automatinį mėginio paruošimo būdus.

Iš paveikslėlio matyti, kad naudojant automatinį mėginio paruošimo būdą, TE PCDD/PCDF taršos lygis yra 33% mažesnis ir TE PCDD/PCDF, PCB – 40% mažesnis nei naudojant rankinį mėginio paruošimo būdą. Rezultatas paaiškinamas tuo, kad naudojant automatinį mėginio paruošimo būdą, daugiau etapų yra automatizuota, t.y. naudojama mažiau laboratorinių indų ir kitos instrumentikos.

3.1.5.3. POT analizinio metodo tiesiškumas

POT analizinio metodo tiesiškumas matuojamas, naudojant standartinius tirpalus su atitinkamom individualiom analitėm ir žinomomis koncentracijomis. PCDD/PCDF ir DT-PCB kalibracinės kreivės sudarytos iš 9 taškų, ne DT-PCB iš 7 taškų, PBDE – iš 5 taškų. Darbinių ribų intervalai visiems POT pateikti 3.3. lentelėje.

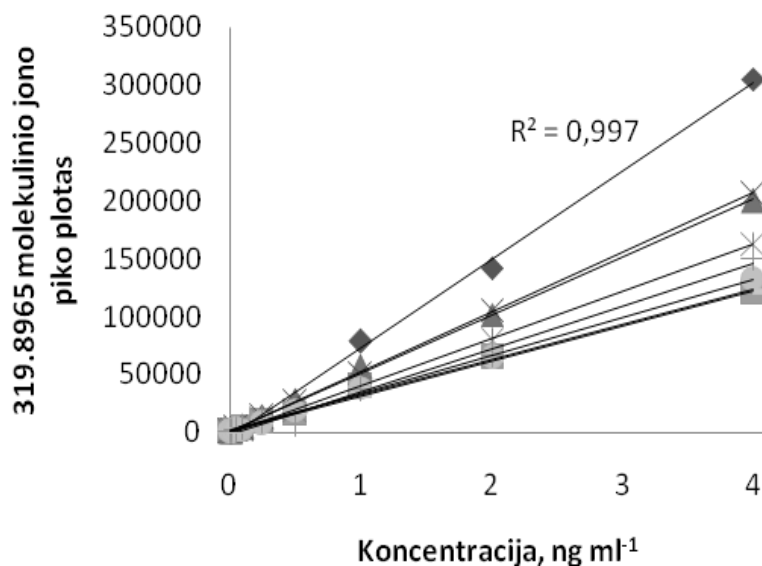
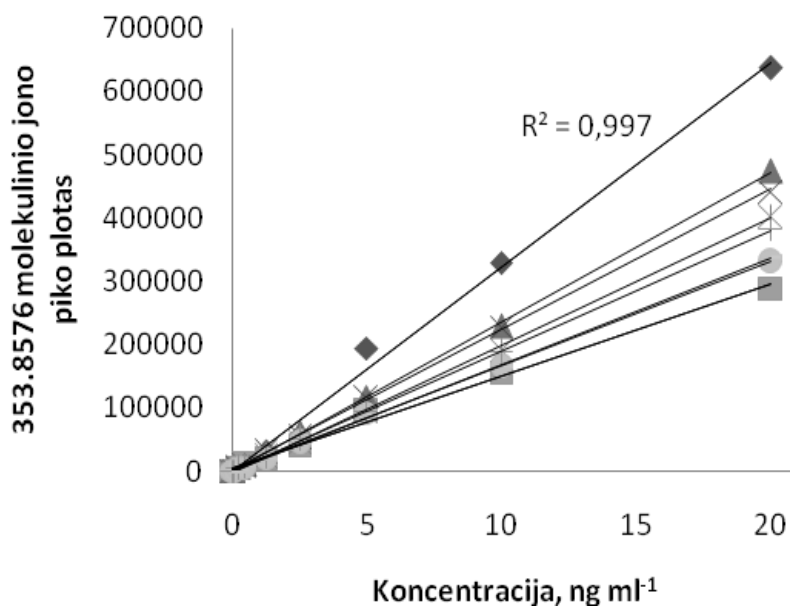
3.3. Lentelė. Polihalogenintų organinių teršalų kalibracinių kreivių intervvalai.

Nr.	Analičių standartinio tirpalo mišinys	Koncentracija, ng ml ⁻¹	Vidinių standartų ¹³ C ₁₂ koncentracija ng ml ⁻¹	Išgavos standarto ¹³ C ₁₂ koncentracija ng ml ⁻¹
1.	PCDD/F	TetraCDD/F 0,005 Penta, Heksa, HeptaCDD/F 0,025 OctaCDD/F 0,05	2,5	5
2.		TetraCDD/F 0,01 Penta, Heksa, HeptaCDD/F 0,05 OctaCDD/F 0,1		
3.		TetraCDD/F 0,05 Penta, Heksa, HeptaCDD/F 0,25 OctaCDD/F 0,5		
4.		TetraCDD/F 0,1 Penta, Heksa, HeptaCDD/F 0,5 OctaCDD/F 1		
5.		TetraCDD/F 0,25 Penta, Heksa, HeptaCDD/F 1,25 OctaCDD/F 2,5		
6.		TetraCDD/F 0,5 Penta, Heksa, HeptaCDD/F 2,5 OctaCDD/F 5		
7.		TetraCDD/F 1 Penta, Heksa, HeptaCDD/F 5 OctaCDD/F 10		
8.		TetraCDD/F 2 Penta, Heksa, HeptaCDD/F 10 OctaCDD/F 20		
9.		TetraCDD/F 4 Penta, Heksa, HeptaCDD/F 20 OctaCDD/F 40		
1.	DT-PCB	0,1	2,5	5
2.		0,25		
3.		0,5		
4.		1		

5.		2,5		
6.		5		
7.		10		
8.		50		
9.		100		
1.	Ne DT-PCB	0,1	2,5	5
2.		0,5		
3.		1		
4.		10		
5.		50		
6.		250		
7.		500		
1.	PBDE	Tetra, penta-BDE 1 Heksa, hepta, okta-BDE 2 Deka-BDE 5	10 20 150	20
2.		Tetra, penta-BDE 5 Heksa, hepta, okta-BDE 10 Deka-BDE 25	10 20 150	
3.		Tetra, penta-BDE 10 Heksa, hepta, okta-BDE 20 Deka-BDE 50	10 20 150	
4.		Tetra, penta-BDE 50 Heksa, hepta, okta-BDE 100 Deka-BDE 250	10 20 150	
5.		Tetra, penta-BDE 100 Heksa, hepta, okta-BDE 200 Deka-BDE 500	10 20 150	

PCDD/PCDF, DT-PCB ir ne DT-PCB kalibracinėse kreivėse naudojamas $^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,4-TCDD išgavos standartas, PBDE - $^{13}\text{C}_{12}$ 77 PBDE.

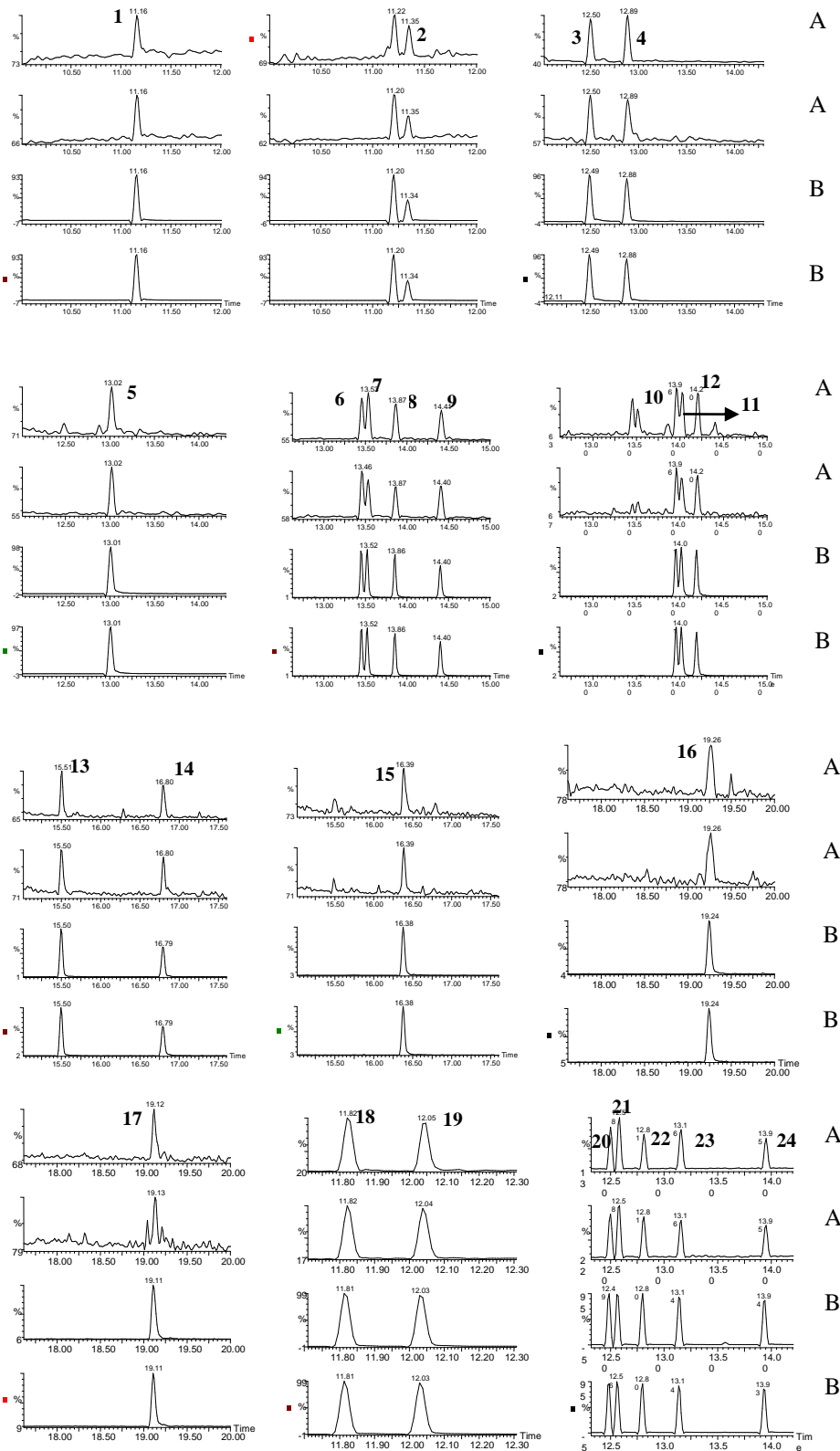
Kalibracinių kreivių tiesiškumas, vertinamas tiek pagal vidinių ($^{13}\text{C}_{12}$) tiek pagal natyvinių ($^{12}\text{C}_{12}$) standartų atsako santykinis standartinius nuokrypius <20%.



3.15. pav. $^{12}\text{C}_{12}$ tetraCDD 319.8965 molekulinio jono ir $^{12}\text{C}_{12}$ pentaCDD 353.8576 molekulinio jono teisiškumas skirtingomis dienomis.

3.15. paveikslėlyje pavaizduoti toksiškiausių teršalų (tetrachlordibenzo-*p*-dioksinas ir pentachlordibenzo-*p*-dioksinas) molekulinų jonų linijiškumas. Vidutinė koreliacijos koeficiento vertė $R^2=0,997$ ($n=8$). Kiekviename kalibracinės kreivės taške vidutinės vertės santykinis standartinis nuokrypis yra intervale nuo 11 iki 33%.

Visų kitų individualių teršalų tiesiškumas atitinka analizės metodo reikalavimus, t.y. atsako santykinis standartinis nuokrypis $<20\%$. 3.16. paveikslėlyje pavaizduotos visų individualių teršalų chromatogramos atitinkančios mažiausią kalibracinės kreivės tašką.



1-2,3,7,8 – tetrachlorodibenzofuranas

3-1,2,3,7,8 – pentachlorodibenzofuranas

5- 1,2,3,7,8 – pentachlorodibenzo-*p*-dioksinas

7-1,2,3,6,7,8 – heksachlorodibenzofuranas

9-1,2,3,7,8,9 – heksachlorodibenzofuranas

11-1,2,3,6,7,8 – heksachlorodibenzo-*p*-dioksinas

13-1,2,3,4,6,7,8 – heptachlorodibenzofuranas

15-1,2,3,4,6,7,8 – heptachlorodibenzo-*p*-dioksinas

17- Oktachlorodibenzo-*p*-dioksinas

19-(# 77 PCB) 3,3',4,4' tetrachlorbifenilas

21-(# 118 PCB) 2,3',4,4',5 pentachlorbifenilas

23-(# 105 PCB) 2,3,3',4,4' pentachlorbifenilas

2-2,3,7,8 – tetrachlorodibenzo-*p*-dioksinas

4-2,3,4,7,8 – pentachlorodibenzofuranas

6-1,2,3,4,7,8 – heksachlorodibenzofuranas

8-2,3,4,6,7,8 – heksachlorodibenzofuranas

10-1,2,3,4,7,8 – heksachlorodibenzo-*p*-dioksinas

12-1,2,3,7,8,9 – heksachlorodibenzo-*p*-dioksinas

14-1,2,3,4,7,8,9 – heptachlorodibenzofuranas

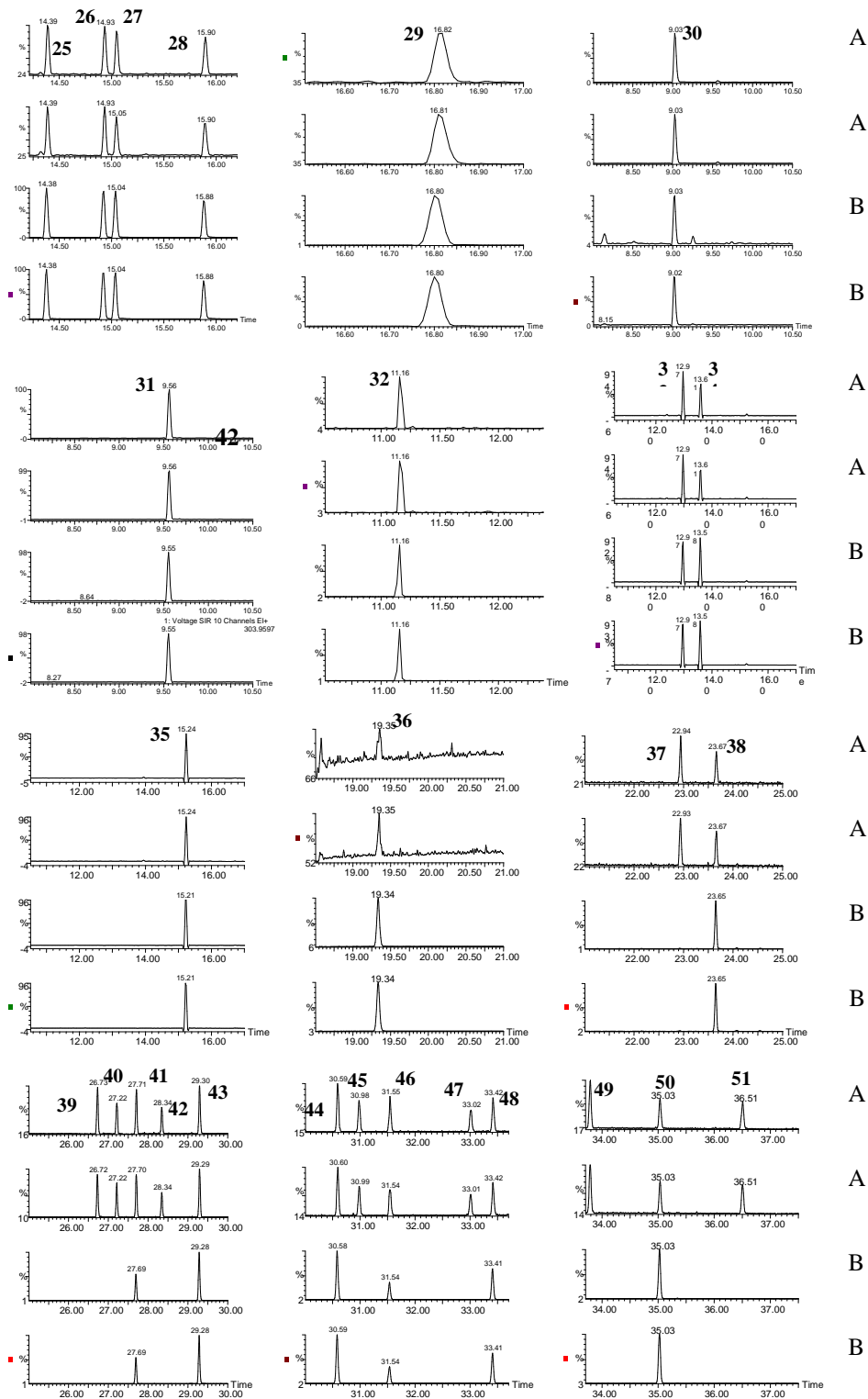
16- Oktachlorodibenzofuranas

18-(# 81 PCB) 3,4,4',5 tetrachlorbifenilas

20-(# 123 PCB) 2',3,4,4',5 pentachlorbifenilas

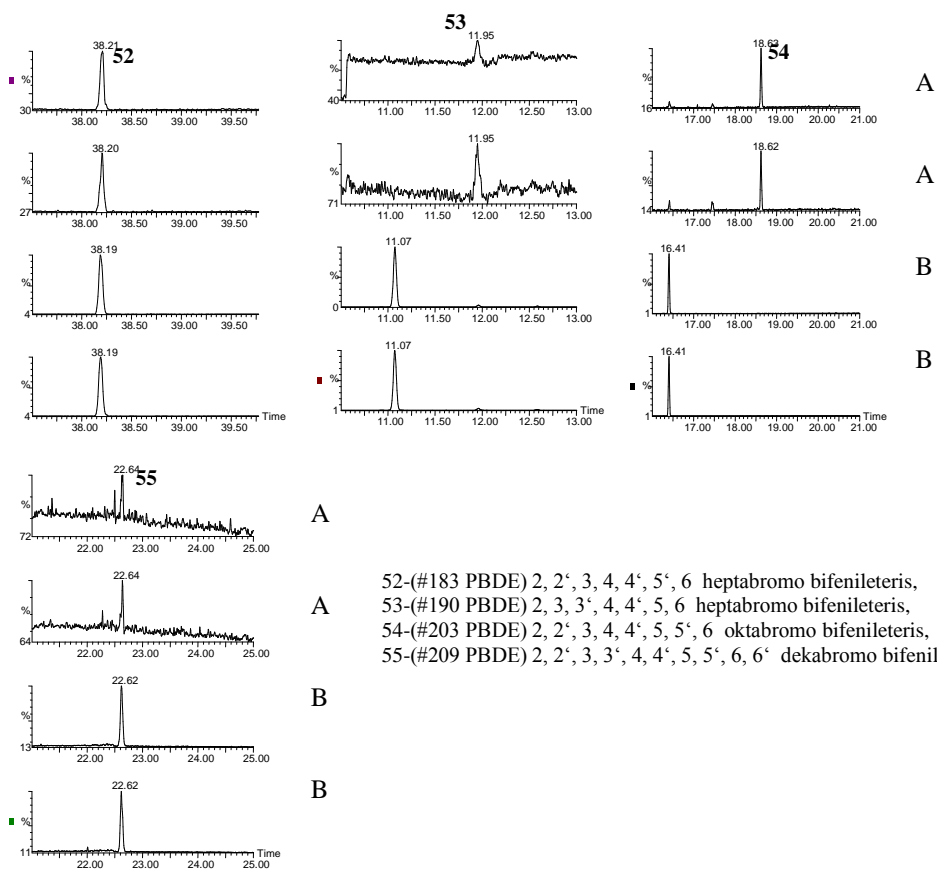
22-(# 114 PCB) 2,3,4,4',5 pentachlorbifenilas

24-(# 126 PCB) 3,3',4,4',5 pentachlorbifenilas



25-(# 167 PCB) 2,3',4,4',5,5' heksachlorbifenilas
 27- (# 157 PCB) 2,3,3',4,4',5' heksachlorbifenilas
 29-(# 189 PCB) 2,3,3',4,4',5,5' heptachlorbifenilas
 31-(# 52 PCB) 2,2',5,5' tetrachlorbifenilas
 33-(# 138 PCB) 2,2',3,4,4',5' hexachlorbifenilas
 35-(# 180 PCB) 2,2',3,4,4',5,5' heptachlorbifenilas,
 37-(#17 PBDE) 2,2',4 tribromo bifenileteris,
 39-(#75 PBDE) 2, 4, 4', 6 tetrabromo bifenileteris,
 41-(#47 PBDE) 2, 2', 4, 4' tetrabromo bifenileteris,
 43-(#77 PBDE) 3, 3', 4, 4' tetrabromo bifenileteris,
 45-(#119 PBDE) 2, 3', 4, 4', 6 pentabromo bifenileteris,
 47-(#85 PBDE) 2, 2', 3, 4, 4' pentabromo bifenileteris,
 49-(#154 PBDE) 2, 2', 4, 4', 5, 6 heksabromo bifenileteris,
 51-(#138 PBDE) 2, 2', 3, 4, 4', 5 heksabromo bifenileteris,

26-(# 156 PCB) 2,3,3',4,4',5 heksachlorbifenilas
 28-(# 169 PCB) 3,3',4,4',5,5' heksachlorbifenilas
 30-(# 28 PCB) 2,4,4' trichlorbifenilas
 32-(# 101 PCB) 2,2',4,5,5' pentachlorbifenilas
 34-(# 153 PCB) 2,2',4,4',5,5' hexachlorbifenilas
 36-(#15 PBDE) 4,4' dibromo bifenileteris,
 38-(#28 PBDE) 2, 4, 4' tribromo bifenileteris,
 40-(#71 PBDE) 2, 3', 4', 6 tetrabromo bifenileteris,
 42-(#66 PBDE) 2, 3', 4', 4' tetrabromo bifenileteris,
 44-(#100 PBDE) 2, 2', 4, 4', 6 pentabromo bifenileteris,
 46-(#99 PBDE) 2, 2', 4, 4', 5 pentabromo bifenileteris,
 48-(#126 PBDE) 3, 3', 4, 4', 5 pentabromo bifenileteris,
 50-(#153 PBDE) 2, 2', 4, 4', 5, 5' heksabromo bifenileteris,



3.16.² Pav. Patvarių organinių teršalų mažiausio kalibracinės kreivės taško chromatogramos naudojant didelės skiriamosios gebos dujų chromatografijos-masių spektrometrijos metodą. A – ¹²C₁₂ molekuliniai jonai, B – ¹³C₁₂ molekuliniai jonai.

3.2. Rezultatų palyginimas naudojant skirtingus mėginio paruošimo būdus

Ekspimento metu, pagal gautus rezultatus, palyginti du mėginio paruošimo būdai: rankinis ir automatinis. Rezultatai pateikiami 3.4. lentelėje.

² Didelės skiriamosios gebos dujų chromatografinio-masių spektrometrinio metodo sąlygos: 60 m × 0,251 mm × 0,10 μm DB-5MS kolonėlė.

PBDE atskyrimas atliekamas naudojant 30 m × 0,251 mm × 0,10 μm DB-5MS ir 15 m × 0,251 mm × 0,10 μm DB-5MS. Formuojamas PCDD/PCDF temperatūros gradientas: 120 oC (2 min), 25oC/min – 250oC, 2,5oC/min – 285oC, 10oC/min – 340oC (4 min), DT-PCB ir ne DT-PCB temperatūros gradientas: 120 oC (2 min), 30oC/min – 200oC, 6oC/min – 280oC, 10oC/min – 320oC (5 min), tri – hepta PBDE temperatūros gradientas: 100 oC (3 min), 5oC/min – 320oC (15 min), 209 PBDE temperatūros gradientas 100 oC (4 min), 40oC/min – 200oC (3,5 min), 10oC/min. – 325oC (3,5 min). Injektoriaus temperatūra 275oC. Naudotas savitzky golay analizinės smailės paviršiaus lyginimas 2:2.

3.4. Lentelė. Rankinio ir automatinio mėginio paruošimo būdų palyginimas.

Parametras	Analitė	Rankinis mėginio paruošimo būdas	Automatinis mėginio paruošimo būdas
Mėginio paruošimo trukmė	TE PCDD/PCDF	≈ 2 savaitės	≈ 3 dienos
	TE PCDD/PCDF, PCB		
	Ne DT-PCB		
	PBDE		
Taršos lygis analizės metu	TE PCDD/PCDF	0-0.1 pg g ⁻¹ (vidurkis 0.024)	0-0.04 pg g ⁻¹ (vidurkis 0.016)
	TE PCDD/PCDF, PCB	0-0.22 pg g ⁻¹ (vidurkis 0.05)	0.018-0.4 pg g ⁻¹ (vidurkis 0.03)
	Ne DT-PCB	-	-
	PBDE	-	-
Nustatymo riba (žuvis)	TE ₁₉₉₈ PCDD/PCDF	0,038 pg g ⁻¹ (< 1/5 DLK)	0,01 pg g ⁻¹ (< 1/5 DLK)
	TE ₂₀₀₅ PCDD/PCDF	0,033 pg g ⁻¹ (< 1/5 DLK)	0,02 pg g ⁻¹ (< 1/5 DLK)
	TE ₁₉₉₈ PCDD/PCDF, PCB	0,07 pg g ⁻¹ (< 1/5 DLK)	0,02 pg g ⁻¹ (< 1/5 DLK)
	TE ₂₀₀₅ PCDD/PCDF, PCB	0,05 pg g ⁻¹ (< 1/5 DLK)	0,05 pg g ⁻¹ (< 1/5 DLK)
	Suma ne DT-PCB	54 pg g ⁻¹ (< 1/5 DLK)	42 pg g ⁻¹ (< 1/5 DLK)
	PBDE	0,02 ng g ⁻¹	0,018 ng g ⁻¹
Individualių POT atskyrimas	PCDD/PCDF	Taip	Taip
	PCDD/PCDF, PCB		
	Ne DT-PCB		
	PBDE		
Vidinių standartų ¹³ C ₁₂ išgava	PCDD/PCDF	60-120%	60-120%
	PCB	60-120%	60-120%
	Ne DT-PCB	60-120%	60-120%
	PBDE	50-130%	50-130%
Teisingumas	TE ₂₀₀₅ PCDD/PCDF	-6.65% (1 DLK)	11,81% (0.5 DLK) -1.36% (1 DLK) 5.54% (2 DLK)
	TE ₂₀₀₅ PCDD/PCDF, PCB	-11.92% (1 DLK)	5.96% (0.5 DLK) -12.1% (1 DLK) -9.4% (2 DLK)
	Ne DT-PCB	-	-4.25% (0.5 DLK) -13.37% (1 DLK) -24.63% (2 DLK)
	PBDE	-	-

Santykinis standartinis nuokrypis	TE ₂₀₀₅ PCDD/PCDF	12.4% (1 DLK)	6.57% (0.5 DLK) 7.48% (1 DLK) 10.91% (2 DLK)
	TE ₂₀₀₅ PCDD/PCDF, PCB	2.22% (1 DLK)	3.38% (0.5 DLK) 3.44% (1 DLK) 6.8% (2 DLK)
	Ne DT-PCB	-	10.2% (0.5 DLK) 2.44% (1 DLK) 18.73% (2 DLK)
	PBDE	-	-

Iš rezultatų matyti, kad abu mėginio paruošimo būdai atitinka Europos Komisijos POT analizei keliamus reikalavimus. Tačiau rezultatai naudojant automatinį mėginio paruošimo būdą yra geresni, kas byloja apie metodo galimybes pasiekti mažesnes nustatymo ribas, kai taršos lygis yra žemas. Taip pat analizės trukmė sumažėja net iki 80% naudojant automatinį mėginio paruošimo būdą.

3.3. POT rezultatų palyginimas tirtuose maisto ir pašarų mėginiuose

Eksperimento metu 2007-2014 metais išanalizuoti 16 kiaušinių mėginių, 18 – pieno, 32 – mėsos (9 – galvijų, 9 – paukštienos, 14 - kiaulienos), 8 – augalinės kilmės riebalų (rapsų, saulėgrąžų, kokoso aliejus), 27 – gyvūninės kilmės riebalų (galvijų, vištienos, kiaulienos riebalai, žuvų taukai), 114 pašarų mėginiai (aliejai, premiksai, sojos miltai, kombinuoti pašarai, pašarų priedai, rapsų rupiniai, kukurūzai, žuvų miltai, pieno pakaitalai, guaro guma, rapsų aliejus, kvietiniai miltai, žirneliai), 111 – žuvys (šprotai, silkė, lašiša, menkė, karpis), 12 menkės kepenų mėginiai. Analizuojant ir vertinant maisto produktų ir pašarų rezultatus POT atžvilgiu, buvo išskirtos tokios grupės: žuvis, mėsa, kiaušiniai, pienas, pašarai, augalinės ir gyvūninės kilmės riebalai. 3.5., 3.6. ir 3.7. lentelėse pateikti individualių junginių rezultatai.

3.5. Lentelė. Polichlorintų dibenzofuranų koncentracijos skirtingose mėginių grupėse.

	Kiaušiniai	Pienas	Jautiena	Vištiena	Kiauliena	Augalinės kilmės riebalai	Gyvulinės kilmės riebalai	Žuvis	Menkių kepenys	Pašarai
Mėginių skaičius	16	18	9	9	14	8	27	111	12	114
Riebalai, %	9.2 (7.9-10)	4.2 (2.6-5.4)	4.1 (1.6-15)	9.3 (0.98-22)	6.3 (1.7-31)	100 (98-100)	87 (75-99)	12 (0.14-37)	60 (40-93)	11 (0.080 - 100)
	Vidurkis/Mediana eliminuojant LOQ (min-max), pg g ⁻¹ riebalų							Vidurkis/Mediana eliminuojant LOQ (min-max), pg g ⁻¹ šviežio mėginio	Vidurkis/Mediana eliminuojant LOQ (min-max), pg g ⁻¹ 12% drėgmės	
2,3,7,8-tetraCDF	0.14/0.12 (0.11 - 0.21)	n.d.	0.13/0.13 (0.081 - 0.18)	0.089/0.084 (0.020 - 0.23)	0.23/0.10 (0.018 - 0.22)	0.073/0.084 (0.038 - 0.096)	0.23/0.18 (0.054 - 0.49)	2.6/2.5 (0.0025 - 17)	16/18 (2.3 - 31)	0.22/0.024 (0.0013 - 4.2)
1,2,3,7,8- pentaCDF	0.094/0.094 (0.089 - 0.10)	n.d.	0.31/0.054 (0.021 - 0.65)	0.045/0.047 (0.0095 - 0.090)	0.084/0.075 (0.012 - 0.17)	0.031/0.030 (0.030 - 0.034)	0.11/0.097 (0.038 - 0.20)	0.62/0.58 (0.0025 - 3.2)	3.9/3.6 (0.35 - 9.4)	0.046/0.0064 (0.00050 - 0.85)
2,3,4,7,8- pentaCDF	0.097/0.090 (0.080 - 0.12)	0.24/0.25 (0.14 - 0.32)	0.36/0.33 (0.0062 - 0.75)	0.10/0.087 (0.020 - 0.21)	0.13/0.11 (0.0090 - 0.35)	0.081/0.081 (0.081 - 0.081)	0.31/0.32 (0.082 - 0.47)	2.2/2.5 (0.0021 - 10)	5/4.8 (0.47 - 12)	0.13/0.017 (0.00049 - 1.9)
1,2,3,4,7,8- hexaCDF	0.087/0.080 (0.080 - 0.10)	0.14/0.13 (0.080 - 0.20)	0.19/0.12 (0.0033 - 0.64)	0.046/0.063 (0.010 - 0.087)	0.083/0.072 (0.030 - 0.19)	0.026/0.026 (0.022 - 0.032)	0.13/0.14 (0.039 - 0.23)	0.24/0.20 (0.0024 - 1.9)	1/0.83 (0.049 - 2.3)	0.050/0.0090 (0.00087 - 1)
1,2,3,6,7,8- hexaCDF	n.d.	0.11/0.10 (0.058 - 0.19)	0.16/0.090 (0.0044 - 0.52)	0.046/0.054 (0.011 - 0.066)	0.098/0.090 (0.049 - 0.22)	0.028/0.031 (0.019 - 0.035)	0.097/0.11 (0.039 - 0.14)	0.30/0.20 (0.0023 - 4.4)	1.6/1.2 (0.11 - 4.6)	0.029/0.0060 (0.00070 - 0.64)
1,2,3,7,8,9- hexaCDF	n.d.	n.d.	0.12/0.12 (0.017 - 0.21)	0.022/0.022 (0.0091 - 0.036)	0.027/0.030 (0.011 - 0.040)	0.040/0.040 (0.040 - 0.040)	n.d.	0.061/0.017 (0.0020 - 0.62)	n.d.	0.0099/0.0042 (0.00050 - 0.070)
2,3,4,6,7,8- hexaCDF	n.d.	0.12/0.12 (0.10 - 0.14)	0.13/0.12 (0.019 - 0.33)	0.059/0.056 (0.047 - 0.075)	0.081/0.084 (0.060 - 0.099)	0.035/0.035 (0.021 - 0.050)	0.13/0.14 (0.049 - 0.17)	0.22/0.18 (0.0015 - 0.84)	1.4/1.2 (0.12 - 3.2)	0.043/0.0080 (0.00058 - 1.1)
1,2,3,4,6,7,8- heptaCDF	n.d.	n.d.	0.10/0.13 (0.013 - 0.15)	0.079/0.069 (0.066 - 0.13)	0.14/0.10 (0.021 - 0.37)	0.058/0.057 (0.027 - 0.093)	0.14/0.13 (0.067 - 0.23)	0.22/0.050 (0.00060 - 7.8)	0.31/0.21 (0.054 - 0.66)	0.11/0.016 (0.0010 - 4.3)
1,2,3,4,7,8,9- heptaCDF	n.d.	n.d.	0.077/0.077 (0.036 - 0.12)	0.046/0.037 (0.020 - 0.080)	0.033/0.030 (0.018 - 0.050)	0.035/0.035 (0.035 - 0.035)	n.d.	0.34/0.019 (0.0026 - 5.9)	0.073/0.08 (0.028 - 0.096)	0.025/0.0070 (0.00090 - .64)
OctaDF	n.d.	n.d.	0.13/0.13 (0.090 - 0.16)	0.22/0.18 (0.066 - 0.46)	0.098/0.080 (0.036 - 0.16)	0.090/0.090 (0.047 - 0.13)	n.d.	0.32/0.040 (0.0020 - 6.9)	n.d.	0.16/0.024 (0.0024 - 6.8)

n.d. - nedetektuota

3.6. Lentelė. Polichlorintų dibenzo-*p*-dioksinų koncentracijos skirtingose mėginių grupėse.

	Kiaušiniai	Pienas	Jautiena	Vištiena	Kiauliena	Augalinės kilmės riebalai	Gyvūlinės kilmės riebalai	Žuvis	Menkių kepenys	Pašarai
Mėginių skaičius	16	18	9	9	14	8	27	111	12	114
Riebalai, %	9.2 (7.9-10)	4.2 (2.6-5.4)	4.1 (1.6-15)	9.3 (0.98-22)	6.3 (1.7-31)	100 (98-100)	87 (75-99)	12 (0.14-37)	60 (40-93)	11 (0.080 - 100)
	Vidurkis/Mediana eliminuojant LOQ (min-max), pg g ⁻¹ riebalų							Vidurkis/Mediana eliminuojant LOQ (min-max), pg g ⁻¹ šviežio mėginio	Vidurkis/Mediana eliminuojant LOQ (min-max), pg g ⁻¹ 12% drėgmės	
2,3,7,8-tetraCDD	0.12/0.10 (0.070 - 0.19)	0.035/0.035 (0.030 - 0.040)	0.35/0.35 (0.35 - 0.35)	0.044/0.038 (0.031 - 0.069)	0.035/0.035 (0.030 - 0.039)	n.d.	0.072/0.062 (0.039 - 0.14)	0.19/0.16 (0.0035 - 1.1)	1.5/1.4 (0.15 - 3)	0.028/0.0080 (0.00070 - 0.16)
1,2,3,7,8- pentaCDD	0.098/0.11 (0.050 - 0.15)	0.086/0.060 (0.050 - 0.18)	0.30/0.19 (0.064 - 0.76)	0.048/0.049 (0.030 - 0.061)	0.046/0.043 (0.025 - 0.074)	0.027/0.027 (0.027 - 0.027)	0.072/0.062 (0.059 - 0.13)	0.38/0.37 (0.0037 - 2.9)	0.58/0.67 (0.032 - 0.99)	0.032/0.010 (0.0012 - 0.24)
1,2,3,4,7,8- hexaCDD	n.d.	n.d.	0.077/0.043 (0.014 - 0.17)	0.046/0.043 (0.018 - 0.080)	0.061/0.061 (0.040 - 0.082)	0.022/0.022 (0.022 - 0.022)	n.d.	0.11/0.060 (0.0026 - 1.2)	0.034/0.034 (0.027 - 0.040)	0.011/0.0040 (0.00080 - 0.070)
1,2,3,6,7,8- hexaCDD	n.d.	0.26/0.26 (0.030 - 0.48)	0.14/0.14 (0.013 - 0.29)	0.049/0.051 (0.033 - 0.063)	0.052/0.050 (0.035 - 0.071)	0.030/0.030 (0.030 - 0.030)	n.d.	0.23/0.20 (0.0023 - 1.4)	1.7/1.7 (0.13 - 4.4)	0.033/0.0070 (0.00060 - 0.31)
1,2,3,7,8,9- hexaCDD	n.d.	n.d.	0.12/0.075 (0.019 - 0.25)	0.055/0.046 (0.020 - 0.10)	0.050/0.050 (0.050 - 0.050)	n.d.	n.d.	0.091/0.058 (0.0015 - 0.95)	0.44/0.37 (0.014 - 1.8)	0.015/0.0060 (0.00060 - 0.24)
1,2,3,4,6,7,8- heptaCDD	0.35/0.31 (0.26 - 0.52)	0.40/0.26 (0.33 - 0.48)	0.15/0.16 (0.033 - 0.27)	0.19/0.10 (0.074 - 0.46)	0.17/0.15 (0.053 - 0.34)	0.11/0.084 (0.048 - 0.25)	0.12/0.12 (0.063 - 0.18)	0.11/0.064 (0.0016 - 1.6)	0.48/0.52 (0.030 - 0.78)	0.085/0.023 (0.00040 - 2.6)
OctaDD	4.2/3.3 (1.7 - 8.4)	n.d.	0.47/0.40 (0.088 - 1.1)	0.97/0.50 (0.18 - 3.3)	0.46/0.38 (0.13 - 1.2)	0.88/0.044 (0.069 - 3.4)	1.8/0.96 (0.087 - 4.3)	0.80/0.077 (0.0015 - 35)	0.42/0.51 (0.12 - 0.64)	0.45/0.10 (0.0022 - 6.1)

n.d. - nedetektuota

3.7. Lentelė. Polichlorintų dioksinų tipo PCB koncentracijos skirtingose mėginių grupėse.

	Kiaušiniai	Pienas	Jautiena	Vištiena	Kiauliena	Augalinės kilmės riebalai	Gyvūlinės kilmės riebalai	Žuvis	Menkių kepenys	Pašarai	
Mėginių skaičius	16	18	9	9	14	8	27	111	12	114	
Riebalai, %	9.2 (7.9-10)	4.2 (2.6-5.4)	4.1 (1.6-15)	9.3 (0.98-22)	6.3 (1.7-31)	100 (98-100)	87 (75-99)	12 (0.14-37)	60 (40-93)	11 (0.080 - 100)	
	Vidurkis/Mediana eliminuojant LOQ (min-max), pg g ⁻¹ riebalų							Vidurkis/Mediana eliminuojant LOQ (min-max), pg g ⁻¹ šviežio mėginio	Vidurkis/Mediana eliminuojant LOQ (min-max), pg g ⁻¹ 12% drėgmės		
PCB-77	6.6/3.8 (3.1 - 22)	4.8/5 (1.5 - 5.3)	1.4/1.2 (0.13 - 3)	4.1/3.4 (0.96 - 7.5)	1.8/2.2 (0.76 - 2.3)	5.6/1.4 (0.46 - 15)	5.5/5.3 (0.84 - 12)	53/35 (0.062 - 187)	226/183 (5.2 - 573)	2.4/0.70 (0.0056 - 19)	
PCB-81	0.94/0.94 (0.71 - 1.2)	1.3/1.5 (0.70- 1.6)	7.5/7.5 (5.6 - 9.3)	2/2.4 (0.091 - 3.4)	2.3/2.2 (0.92 - 4)	0.78/0.78 (0.78 - 0.78)	3.3/1.8 (0.79 - 16)	6/1.7 (0.069 - 40)	20/10 (5.1 - 65)	0.67/0.15 (0.023 - 5.4)	
PCB-126	1.4/0.99 (0.89 - 2.3)	3/3.1 (1.3 - 5)	5.2/5.1 (0.11 - 13)	1.8/2.1 (0.14 - 3.7)	1.3/1.1 (0.70 - 2.3)	1.5/1.1 (0.23 - 3.7)	5/4.1 (0.28 - 9.9)	15/14 (0.15 - 69)	185/197 (28 - 441)	1.4/0.28 (0.010 - 17)	
PCB-169	n.d.	n.d.	1.4/1.4 (0.080 - 2.7)	1.8/1.6 (0.48 - 3.5)	1.1/1.1 (1 - 1.2)	0.76/0.52 (0.21 - 1.8)	2.3/1.2 (0.51 - 6.4)	3.6/3.3 (0.033 - 21)	45/39 (4.7 - 128)	0.74/0.37 (0.0077 - 4.7)	
PCB-105	67/32 (15 - 478)	100/100 (72 - 126)	118/74 (2.3 - 324)	65/80 (6 - 121)	12/10 (3.8 - 29)	8.7/11 (0.91 - 2.5)	86/59 (5 - 391)	739/700 (0.38 - 6079)	10651/9871 (1606 - 24900)	64/2.1 (0.026 - 1050)	
PCB-114	4.5/2.3 (1.2 - 28)	9.4/9.7 (6.9 - 12)	11/7.2 (0.17 - 34)	4.4/4.7 (1 - 7.5)	6.6/2.6 (1.3 - 20)	0.65/0.60 (0.39 - 1)	11/6.9 (1.2 - 54)	42/41 (0.13 - 270)	565/577 (78 - 1300)	2.4/0.33 (0.0057 - 67)	
PCB-118	175/96 (44 - 1150)	383/377 (270 - 575)	490/309 (7.6 - 1302)	185/202 (1 - 364)	50/37 (11 - 118)	20/23 (7.3 - 26)	404/275 (21 - 1965)	2232/1891 (0.63 - 15841)	31446/27270 (5163 - 74100)	116/5.4 (0.076 - 3380)	
PCB-123	5.3/2.1 (1.1 - 25)	7.1/7.4 (2.5 - 11)	8/3 (0.25 - 40)	4.4/4.7 (1 - 11)	1.7/1.4 (1.1 - 3.7)	1.8/1.8 (1.7 - 1.8)	12/9.3 (1.8 - 35)	123/50 (0.63 - 1280)	593/448 (139 - 1260)	6.6/0.26 (0.0088 - 13)	
PCB-156	13/9.3 (6.5 - 29)	24/24 (15 - 35)	39/53 (0.95 - 88)	15/6.1 (0.48 - 52)	13/12 (4.8 - 30)	2.9/2.7 (0.86 - 5.1)	53/47 (7.1 - 156)	283/274 (0.090 - 970)	4419/3944 (460 - 11900)	14/0.98 (0.0035 - 25)	
PCB-157	2.2/1.5 (0.94 - 5.8)	5.9/5.8 (2.4 - 9.3)	9.2/8.4 (0.26 - 25)	5.8/3.9 (1.3 - 13)	2.5/2.4 (1.8 - 3)	1.2/1.1 (0.59 - 2.1)	11/9 (1.5 - 28)	65/63 (0.031 - 451)	1028/846 (130 - 2780)	4.5/0.33 (0.0037 - 89)	
PCB-167	6.4/6.3 (3 - 9.7)	11/11 (4.4 - 15)	17/17 (0.54 - 40)	7.9/7 (1.2 - 16)	8.8/2 (1.4 - 46)	1.5/1.2 (0.47 - 3)	25/20 (2.7 - 56)	197/144 (0.066 - 830)	2162/1939 (282 - 6250)	8.5/0.51 (0.010 - 138)	
PCB-189	1.3/1.3 (1.3 - 1.3)	1.7/1.6 (1.2 - 2.2)	2.7/2.4 (0.13 - 6)	2.2/1.3 (1 - 6.2)	1.2/1.1 (0.76 - 1.8)	0.56/0.56 (0.56 - 0.56)	4.6/3.5 (0.40 - 18)	23/20 (0.020 - 138)	378/314 (33 - 1060)	2.6/0.52 (0.0037 - 28)	

n.d. - nedetektuota

Kiaušiniuose ir gyvūninės kilmės riebaluose OCDD yra vienintelis dominuojantis junginys su atitinkamomis koncentracijomis 4,2 pg g⁻¹ ir 1,8 pg g⁻¹. PCDD/PCDF profilis kaulių ir pašarų (premiškai, augalinės kilmės pašarai, kombinuotieji pašarai, mineraliniai papildai, augalinis aliejus, žuvų miltai) mėginiuose yra vienodas. Turint omenyje, kad kaulės laikomos uždaruose garduose, jų mityba susideda daugiausiai iš pašarų, todėl šiose matricose OCDD, OCDF, TCDF ir 2,3,4,7,8-PCDF yra vyraujantys junginiai. OCDD koncentracija kaulienoje yra 0,46 pg g⁻¹ riebalų ir pašaruose 0,45 pg g⁻¹ 12% drėgmės, OCDF koncentracija kaulienoje yra 0,098 pg g⁻¹ riebalų, o pašaruose 0,16 pg g⁻¹ 12% drėgmės. Daugiau toksiškų junginių, tokių kaip TCDF koncentracija kaulienoje yra 0,23 pg g⁻¹ riebalų ir pašaruose - 0,22 pg g⁻¹ 12% drėgmės, 2,3,4,7,8-PCDF koncentracija kaulienoje yra 0,13 pg g⁻¹ riebaluose ir pašaruose – 0,13 pg g⁻¹ 12% drėgmės.

Eksperimento metu išanalizuota 111 žuvies mėginių (6 Atlanto lašišos, 4 - Baltijos lašišos, 8 – lašišų produktai, 18 – Baltijos šprotai, 17 – šprotų produktai, 29 – Baltijos silkė, 4 – silkių produktai, 3 – menkės, 22 – karpiai, skumbės, kiti žuvies produktai) ir 12 menkės kepenų mėginių 2007-2014 laikotarpiu. Kadangi, „Dioksinai“ yra paplitę visoje Baltijos jūroje, todėl ši maisto produktų grupė tirama kaip viena rizikingiausių. POT profiliai žuvyje ir menkių kepenyse yra panašūs, išskyrus pavienių junginių koncentracijas. Skirtingai nuo kitų grupių, žuvyje ir menkių kepenyse dominuojantys junginiai yra: TCDF, 1,2,3,7,8-PCDF ir 2,3,4,7,8-PCDF. TCDF koncentracija yra 5 kartus didesnė, 1,2,3,7,8-PCDF – 3 kartus didesnė ir 2,3,4,7,8-PCDF – 2 kartus didesnė menkių kepenyse, lyginant su žuvies mėginiais.

Pieno mėginių POT profilis yra vienintelis neturintis jokių panašumų lyginant su kitomis grupėmis. Vyraujantys junginiai yra HpCDD, 1,2,3,6,7,8-HxCDD ir 2,3,4,7,8-PCDF. Visi 18 pieno mėginiai, išanalizuoti per 2007-2014 laikotarpį, atitiko Europos Komisijos nustatytas didžiausias leidžiamas 2,5 ir 5,5 pg g⁻¹ koncentracijas riebaluose [122].

EFSA 2010 metais pareiškė, kad TE PCDD/PCDF ir TE PCDD/PCDF pieno mėginiuose Europoje atitinka koncentracijas 1,05 pg g⁻¹ riebaluose ir 2,42 pg g⁻¹ riebaluose. Tačiau pagal gautus rezultatus galima teigti, kad Lietuvoje POT lygis yra mažesnis.

Pašaruose dominuojantys teršalai yra OCDD (0,002-6,12 pg g⁻¹ 12% drėgmės), OCDF (0,002-6,8 pg g⁻¹ 12% drėgmės), tetraCDF (0,001-4,24 pg g⁻¹ 12% drėgmės) ir 2,3,4,7,8-pentaCDF (0,0005-1,9 pg g⁻¹ 12% drėgmės)

Polichlorintų bifenilų profiliai visose matricose yra panašūs, išskyrus jų koncentracijas. Tik augalinės kilmės riebalai demonstruoja didesnę 77 PCB koncentraciją 4,8 pg g⁻¹ riebalų.

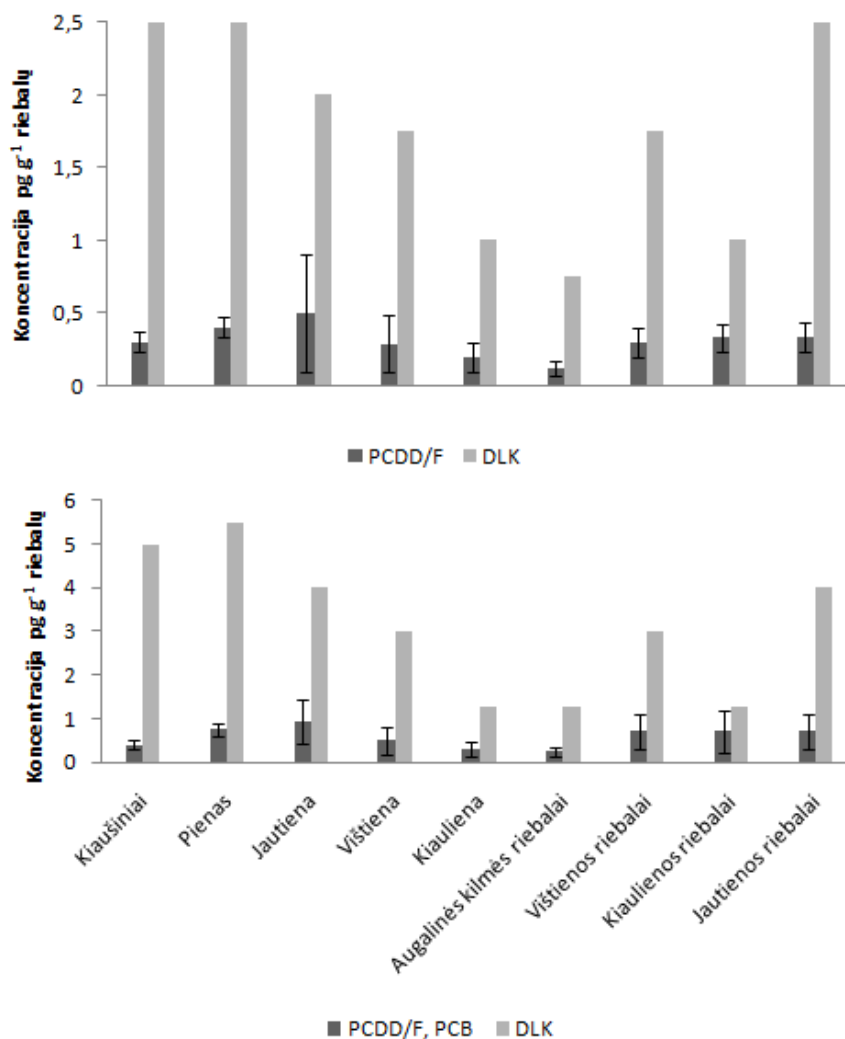
Galima išskirti keletą individualių junginių, kurie daugiausiai įtakoja toksinio ekvivalento koncentraciją. TCDD (28% kiaušiniuose ir 8,9% vištienoje), pentaCDD (23% kiaušiniuose, 9,7% vištienoje, 12% piene, 18% kiaulienoje ir 33% jautienoje), 126 PCB (33% kiaušiniuose, 37% vištienoje, 40% piene, 52% kiaulienoje, 57% jautienoje, 61% augalinės kilmės riebaluose ir net 72% gyvūninės kilmės riebaluose), heptaCDD sudaro 29% ir 118 PCB 70% toksinio ekvivalento piene. Vidutinis toksinis ekvivalentas piene yra 0,74 +/- 0,17 pg g⁻¹ riebalų (nuo 0,45 – iki 1,1 pg g⁻¹ riebalų).

3.8. Lentelė. PSO_{1998,2005}-TE vertės prie skirtingų procentilių maisto ir pašarų produktuose. Rezultatai išreikšti kaip viršutinės ribos (kiekybiškai nenustatytų junginių koncentracija, vertinta kaip nustatymo riba).

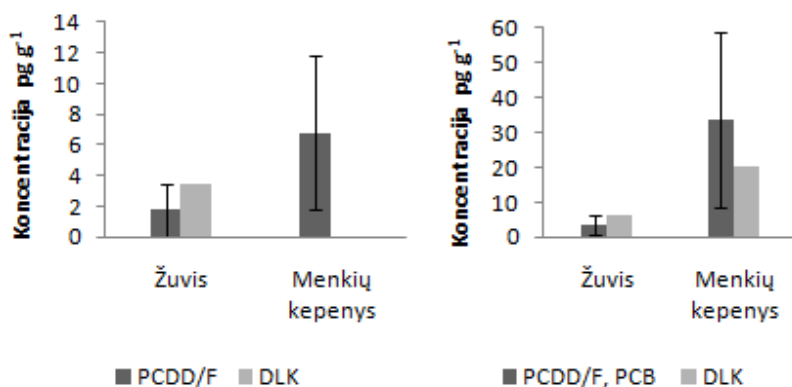
	Kiaušiniai	Pienas	Jautiena	Vištiena	Kiauliena	Augalinės kilmės riebalai	Gyvulinės kilmės riebalai	Žuvis	Menkių kepenys	Augalinės kilmės pašarai	Augalinis aliejus-pašarai	Kombinuoti pašarai	Mineraliniai pašarai	Premiksai	Žuvies miltai
Mėginių skaičius	16	18	9	9	14	8	27	111	12	50	5	21	6	12	17
	pg PSO _{1998, 2005} -TE g ⁻¹ riebalų						pg PSO _{1998, 2005} -TE g ⁻¹ šviežio mėginio			pg PSO _{1998, 2005} -TE g ⁻¹ 12% drėgmės					
	PCDD/PCDF														
Vidurkis ± SN ^a	0.26±0.076	0.35±0.075	0.45±0.44	0.30±0.21	0.16±0.11	0.12±0.048	0.32±0.14	1.8±1.7	6.8±4.7	0.020±0.020	0.10±0.041	0.045±0.038	0.033±0.023	0.026±0.020	0.040±0.040
Ribos	0.17-0.42	0.2-0.53	0.014-1.6	0.090-0.67	0.050-0.43	0.047-0.18	0.0001-0.57	0.010-9.4	0.86-15	0.0023-0.076	0.044-0.16	0.0023-0.12	0.0085-0.058	0.0085-0.058	0.024-1.2
P20	0.2	0.3	0.17	0.13	0.08	0.05	0.17	0.17	1.1	0.004	0.044	0.044	0.0085	0.0027	0.037
P50	0.23	0.37	0.32	0.21	0.13	0.12	0.31	1.7	6.5	0.0074	0.089	0.0039	0.012	0.023	0.13
P75	0.26	0.39	0.46	0.46	0.24	0.16	0.43	2.5	10	0.016	0.14	0.075	0.056	0.04	0.51
P90	0.37	0.4	0.53	0.6	0.31	0.16	0.51	3.6	12	0.039	0.16	0.11	0.056	0.051	0.93
P97.5	0.42	0.53	1.6	0.67	0.43	0.18	0.57	5.7	15	0.071	0.16	0.11	0.058	0.064	1.2
	PCDD/PCDF ir DT-PCBs														
Vidurkis ± SN ^a	0.4 ±0.10	0.74±0.17	0.92±0.51	0.49±0.32	0.25±0.17	0.25 ± 0.14	0.69±0.45	3.5±3.4	33±25	0.030± 0.030	0.18±0.076	0.062±0.055	0.050±0.035	0.033±0.029	0.071±0.070
Ribos	0.31-0.61	0.45-1.1	0.028-1.7	0.15-1.1	0.12-0.65	0.056-0.52	0.046-1.7	0.018-19	4.3-72	0.0031-0.12	0.17-0.29	0.0048-0.19	0.014-0.088	0.014-0.088	0.23-3.3
P20	0.31	0.61	0.3	0.24	0.12	0.08	0.26	0.36	4.5	0.0054	0.17	0.0069	0.014	0.0038	0.089
P50	0.36	0.71	0.84	0.35	0.21	0.28	0.6	3.5	36	0.014	0.1	0.025	0.016	0.023	0.39
P75	0.53	0.83	1.3	0.77	0.31	0.28	0.91	4.9	49	0.035	0.24	0.088	0.085	0.052	0.83
P90	0.54	1	1.5	0.85	0.57	0.4	1.3	7.3	67	0.062	0.29	0.13	0.085	0.073	1.2
P97.5	0.61	1.1	1.7	1.1	0.65	0.52	1.52	13	72	0.11	0.29	0.19	0.088	0.095	3.3
TE PCDD/F įtaka, %	83	47	49	61	64	48	46	51	21	67	56	73	66	79	56
TE DT-PCB įtaka, %	17	53	51	39	36	52	54	49	79	33	44	27	34	21	44

PSO_{1998,2005}-TE vertės prie skirtingų percentilių (P25, P50, P75, P90 ir P97,5) maisto ir pašarų produktuose pateiktos 3.8. lentelėje. Dauguma maisto produktų ir pašarų demonstruoja mažesnes koncentracijas už DLK, išskyrus gyvūlinės kilmės riebalus, žuvį ir menkių kepenis. Gyvūlinės kilmės riebalų koncentracija (1,3 pg PSO-TE g⁻¹ riebalų) viršija Reglamento 1259/2011 didžiausi leidžiamą koncentraciją 1,25 pg PSO-TE g⁻¹ riebalų jau esant P90. Žuvies mėginiai neatitinka Europos Komisijos reglamento 1259/2011 reikalavimų esant P90 (3,6 pg PSO-TE PCDD/PCDF g⁻¹ > 3,5 pg g⁻¹ ir 7,3 pg PSO-TE PCDD/PCDF, PCB > 6,5 pg g⁻¹). Menkių kepenų PSO-TE PCDD/PCDF, PCB koncentracijos viršija didžiausias leidžiamas koncentracijas jau esant P50 (36 pg g⁻¹ > 20 pg g⁻¹). Bendras toksinis ekvivalentas daugiausiai įtakojamas PCDD/PCDF kiaušinių (83%), kombinuotų pašarų (73%) ir premiksų matricoje (79%), tuo tarpu DT-PCB – menkių kepenų matricoje, net 79%.

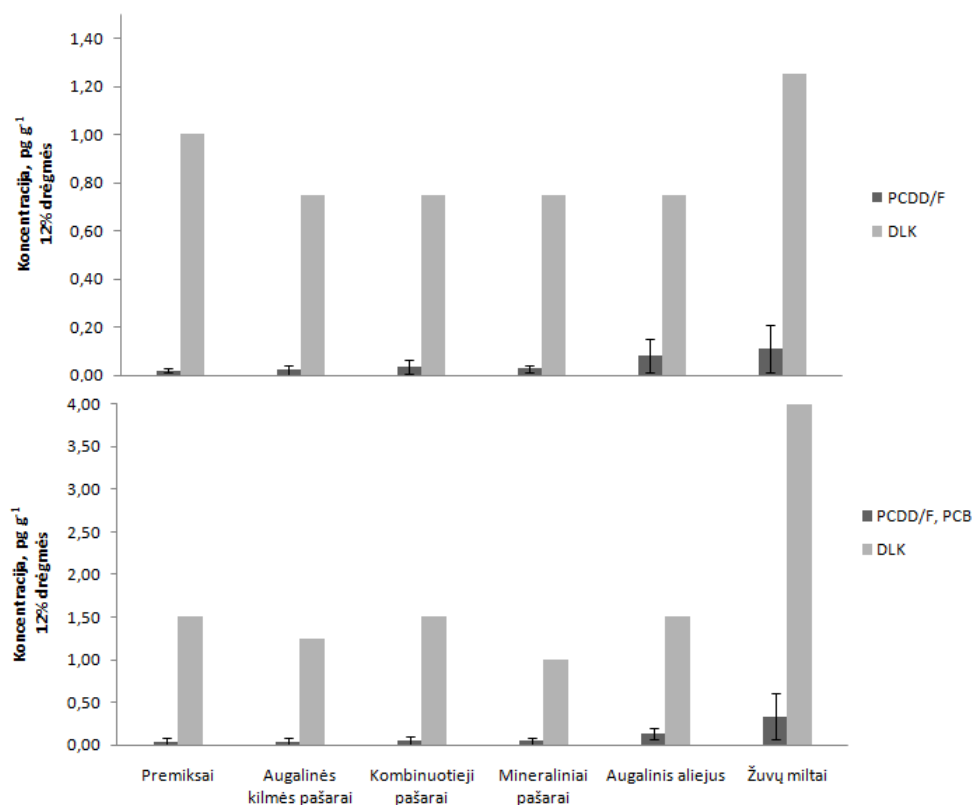
PSO-TE PCDD/PCDF ir PSP-TE PCDD/PCDF, PCB suliginimas su DLK skirtinguose mėginiuose pateikti 3.17., 3.18. ir 3.19. paveikslėliuose.



3.17. pav. PSO-TE PCDD/PCDF ir PSO-TE PCDD/PCDF, PCB koncentracijos skirtinguose maisto produktų mėginiuose ir jų sulyginimas su DLK.



3.18. pav. PSO-TE PCDD/PCDF ir PSO-TE PCDD/PCDF, PCB koncentracijos žuvis ir menkių kepenų mėginiuose ir jų sulyginimas su DLK.



3.19. pav. PSO-TE PCDD/PCDF ir PSO-TE PCDD/PCDF, PCB koncentracijos pašarų mėginiuose ir jų sulyginimas su DLK.

Mažiausia tarša yra augalinės kilmės riebaluose su vidutinėmis koncentracijomis $0,12 \pm 0,048 \text{ pg g}^{-1}$ riebalų PSO-TE PCDD/PCDF ir $0,25 \pm 0,14 \text{ pg g}^{-1}$ riebalų TE PCDD/PCDF, PCB. Koncentracijos piene, kiaušiniuose, mėsoje ir gyvūninės kilmės riebaluose yra Europos Komisijos reglamentuotų didžiausių leidžiamų koncentracijų ribose. Panašios teršalų koncentracijos deklaruojamos ir kitų autorių [147-149].

Žuvyje bendras toksinis ekvivalentas yra ribose $0,018 - 19 \text{ pg g}^{-1}$. 5,4% žuvies mėginių neatitiko Europos Komisijos reglamentuojamų ribų. Polichlorintų organinių teršalų tarša minima ir kitų mokslininkų [147, 150]. 5 žuvies mėginiai (2 – lašišos ir 3 Baltijos silkės mėginiai) bei 7 menkių kepenų mėginiai viršijo DLK reglamentuojamas EK Nr. 1881/2006. 1 žuvies mėginys (džiovinta plekšnė) neatitiko reikalavimų reglamentuojamų EK Nr. 1259/2011. Bendras menkių kepenų toksinis ekvivalentas yra ribose nuo $4,3 \text{ pg g}^{-1}$ iki 72 pg g^{-1} . Menkių kepenų vidutinė PSO-TE PCDD/PCDF vertė

yra 6,8 +/- 4,7 pg g⁻¹ ir vidutinė PSO-TE PCDD/PCDF, PCB yra 33 +/- 25 pg g⁻¹ viršija DLK (20 pg g⁻¹). Daugumos žuvies mėginių, neatitinkančių reikalavimų, kilmė yra Baltijos jūra (34% strimelė, 3% šprotai, 44% lašiša). 58% menkių kepenų mėginių 2007-2014 metais taip pat neatitiko Europos Komisijos reglamentuotų didžiausių leidžiamųjų koncentracijų.

Gauti rezultatai liudija, kad patvarių organinių teršalų koncentracija tirtuose mėginiuose mažėja. 76% mažėjimas stebimas žuvies mėginiuose ir 80% menkių kepenų mėginiuose per 2007-2014 laikotarpį. Po 2011 metų, kai Baltijos menkių kepenys buvo uždraustos naudoti rinkoje, nebuvo aptikta mėginių viršijančių DLK.

3.4. Toleruojamųjų ribų nustatymas

Toleruojamosios dienos ribos buvo apskaičiuotos per 2005-2014 metų periodą naudojant 1.5 formulę. Visoms matricoms šios ribos apskaičiuotos šviežiam mėginiui. Menkių kepenų paros ribos apskaičiuotos suvartojant 1825 g per metus (5 g diena⁻¹, 35 g savaitė⁻¹, 150 g mėnuo⁻¹). Kadangi tirti mėsos mėginiai turėjo skirtingus riebalų kiekius, rezultatai buvo perskaičiuoti su 40% riebalų, jautiena ir vištiena - 30% riebalų. Kiaušinių rezultatai perskaičiuoti su 10% riebalų, o kiaušinių rezultatai pateikti šviežiam mėginiui. Toleruojamosios ribos nustatytos esant mažiausiam, P20, P50, vidutiniam, P75, P90, P97,5 ir didžiausiam taršos lygiui. Rezultatai pateikti 3.8. lentelėje.

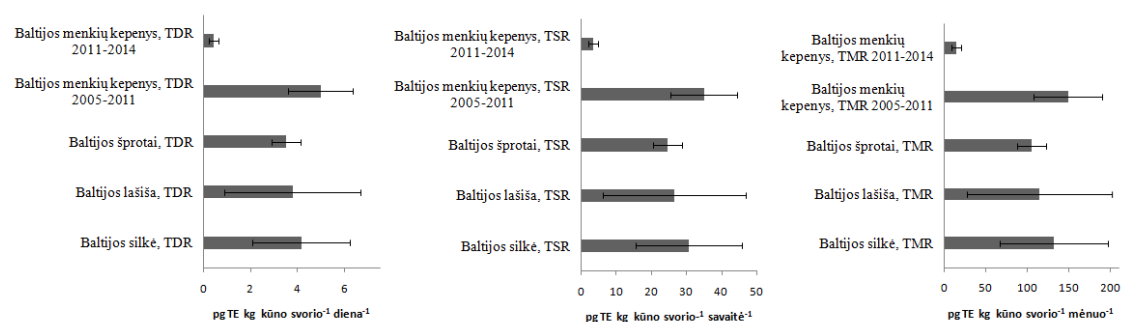
3.9. Lentelė. Toleruojamosios ribos skirtinguose maisto produktuose.

	Kiaušiniai	Pienas	Jautiena	Vištiena	Kiauliena	Žuvis	Menkių kepenys
	pg PSO _{1998, 2005} -TE g ⁻¹ kg ks d ⁻¹ ^a /		pg PSO _{1998, 2005} -TE g ⁻¹ kg ks s ⁻¹ ^b /		pg PSO _{1998, 2005} -TE g ⁻¹ kg ks m ⁻¹ ^c		
PCDD/PCDF							
Min	0.070/0.52/2.2	0.10/0.67/4.3	0.00050/0.003/0.010	0.026/0.18/0.77	0.015/0.10/0.45	0.040/0.28/1.2	0.066/0.46/2.0
P20	0.088/0.61/2.6	0.14/1.0/4.3	0.0060/0.04/0.18	0.037/0.26/1.1	0.024/0.17/0.72	0.12/0.86/3.7	0.085/0.59/2.5
P50	0.10/0.71/3.0	0.18/1.2/5.3	0.010/0.080/0.30	0.06/0.42/1.8	0.039/0.27/1.2	1.2/8.6/37	0.5/3.5/15
Vidurkis	0.11/0.80/3.4	0.18/1.2/5.3	0.016/0.11/0.47	0.086/0.60/2.6	0.048/0.33/1.4	1.3/9.1/39	0.52/3.7/16
P75	0.11/0.80/3.4	0.19/1.3/5.6	0.016/0.11/0.48	0.13/0.92/3.9	0.072/0.50/2.1	1.8/13/54	0.77/5.4/23
P90	0.16/1.1/4.9	0.19/1.3/5.7	0.018/0.13/0.55	0.17/1.2/5.2	0.092/0.65/2.8	2.6/18/78	0.92/6.5/28
P97.5	0.18/1.3/5.5	0.25/1.8/7.6	0.055/0.39/1.7	0.19/1.3/5.8	0.13/0.90/3.8	4.1/29/124	1.2/8.1/35
Max	0.18/1.3/5.5	0.25/1.8/7.6	0.55/0.39/1.7	0.19/1.3/5.8	0.13/0.90/3.8	6.8/48/204	1.2/8.1/35
PCDD/PCDF ir DT-PCB							
Min	0.14/0.95/4.1	0.21/1.5/6.4	0.0010/0.0070/0.029	0.043/0.30/1.3	0.036/0.25/1.1	0.14/1.0/4.3	0.33/2.3/9.9
P20	0.14/0.95/4.1	0.29/2.0/8.7	0.010/0.073/0.31	0.069/0.48/2.1	0.036/0.25/1.1	0.26/1.8/7.8	0.35/2.4/10
P50	0.16/1.1/4.7	0.34/2.4/10	0.029/0.20/0.87	0.10/0.70/3.0	0.063/0.44/1.9	2.5/18/76	2.8/19/83
Vidurkis	0.18/1.2/5.3	0.35/2.5/11	0.032/0.22/0.95	0.14/0.98/4.2	0.075/0.52/2.2	2.5/18/76	2.5/18/76
P75	0.23/1.6/7.0	0.39/2.8/12	0.040/0.31/1.3	0.22/1.5/6.6	0.092/0.65/2.8	3.5/25/98	3.8/26/113
P90	0.24/1.7/7.1	0.48/3.3/14	0.052/0.36/1.6	0.24/1.7/7.3	0.17/1.2/5.1	5.3/37/158	5.2/36/155
P97.5	0.27/1.9/8.0	0.53/3.7/16	0.059/0.41/1.8	0.31/2.2/9.4	0.19/1.4/5.8	9.4/66/282	5.5/39/166
Max	0.27/1.9/8.0	0.53/3.7/16	0.059/0.41/1.8	0.31/2.2/9.4	0.19/1.4/5.8	14/96/412	5.5/39/166

^a - pg PSO_{1998, 2005}-TE g⁻¹ kg kūno svorio diena⁻¹;
^b - pg PSO_{1998, 2005}-TE g⁻¹ kg kūno svorio savaitė⁻¹;
^c - pg PSO_{1998, 2005}-TE g⁻¹ kg kūno svorio mėnuo⁻¹.

Iš 3.9. lentelės matyti, kad mėsos, kiaušinių ir pieno produktams toleruojamosios dienos ribos yra ribose 0 – 1 pg TE kg kūno svorio⁻¹, toleruojamosios savaitės ribos neviršija 14 pg TE kg kūno svorio⁻¹, toleruojamosios mėnesio ribos neviršija 70 pg TE kg kūno svorio⁻¹, kai tuo tarpu žuvies ir menkių kepenų toleruojamosios ribos neatitinka nustatytų reikalavimų. Žuvis, jau esant P 90 lygiui, 18 ir 78 pg PSO-TE PCDD/PCDF kg kūno svorio⁻¹, atitinkamai, ir 18 ir 76 pg PSO-TE PCDD/PCDF, PCB kg kūno svorio⁻¹, esant P50, neatitinka toleruojamųjų savaitės ir mėnesio ribų (TSR ir TMR). Menkių kepenų 19 ir 83 pg PSO-TE PCDD/PCDF, PCB kg kūno svorio⁻¹ TSR ir TMR viršija nustatytas ribas jau esant P50 lygiui, o TDR 5,2 pg PSO-TE PCDD/PCDF, PCB kg kūno svorio⁻¹ viršijama esant P90 lygiui.

3.20. paveikslėlyje pateiktos 2005-2014 metais išanalizuotų Baltijos žuvų vidutinės TDR, TSR ir TMR.



3.20. pav. TDR, TSR ir TMR skirtingose Baltijos žuvyse.

Silkė (4.2 +/- 2.1 kg kūno svorio⁻¹ diena⁻¹, lašiša 3.8 +/- 2.9 kg kūno svorio⁻¹ diena⁻¹, šprotai 3.5 +/- 0.6 kg kūno svorio⁻¹ diena⁻¹) ir Baltijos menkių kepenys (5,0 +/- 1,4 kg kūno svorio⁻¹ diena⁻¹) yra rizikos zonoje ir turėtų būti vykdomas monitoringas. TSR ir TMR viršija 14 pg TE kg kūno svorio⁻¹ ir 70 pg TE kg kūno svorio⁻¹ vartojant produktus kiekvieną dieną. Pagal 3.20. paveikslėlyje nustatytas toleruojamąsias ribas, suvartojamųjų produktų kiekis, nedarantis kenksmingo poveikio žmogaus sveikatai (kilmė – Baltijos jūra) neturėtų viršyti žemiau išvardytųjų:

Baltijos silkė $\leq 45 \text{ g diena}^{-1}$, $\leq 150 \text{ g savaitė}^{-1}$, $\leq 749 \text{ g mėnuo}^{-1}$;

Baltijos menkių kepenys $\leq 4 \text{ g diena}^{-1}$, $\leq 14 \text{ g savaitė}^{-1}$, $\leq 70 \text{ g mėnuo}^{-1}$;

Baltijos lašiša $\leq 47 \text{ g diena}^{-1}$, $\leq 173 \text{ g savaitė}^{-1}$, $\leq 866 \text{ g mėnuo}^{-1}$;

Baltijos šprotai $\leq 47 \text{ g diena}^{-1}$, $\leq 187 \text{ g savaitė}^{-1}$, $\leq 940 \text{ g mėnuo}^{-1}$.

Pagal duomenis, kai kurių Baltijos produktų suvartojamas kiekis per savaitę ir mėnesį turėtų būti $\frac{1}{2}$ šiuo metu suvartojamųjų kiekių. Per 2011-2014 metų periodą buvo išanalizuota 9 menkių kepenų mėginiai (kilmė nežinoma). Visi jie atitiko Europos Komisijos reglamentuotus reikalavimus. Baltijos menkių kepenys dėl itin didelės teršalų taršos buvo uždraustos žmonių vartojimui ir šis draudimas galioja iki šiol.

IŠVADOS

1. Ištirti ir optimizuoti POT ekstrakcijos metodai maisto produktuose ir pašaruose. Efektyviausias ekstrakcijos metodas maisto produktuose yra „šaltoji“ ekstrakcija naudojant 250 ml ir 500 ml pieno mėginiams cikloheksano/dichlormetano (1/1 (v/v)) mišinį, o pašaruose ir jų žaliavose – Soksleto arba Tviselmano ekstrakcija, ekstrahuojant cikloheksano/tolueno (1/1 (v/v)) mišiniu mažiausiai 6 val. ir etilo alkoholio/tolueno (7/3 (v/v)) mišiniu mažiausiai 6 val.

2. Ištirti ir optimizuoti ekstraktų valymo metodai, naudojant rankinį ir automatinį mėginio paruošimo būdus. Rezultatai įrodo, kad abu mėginio paruošimo būdai yra tinkami realių mėginių analizei, tačiau automatinis mėginio paruošimas yra efektyvesnis ir tikslesnis.

3. Optimizuotos patvarių organinių teršalų chromatografinio atskyrimo ir MS detektavimo sąlygos, naudojant didelės skiriamosios gebos masių spektrometrą. 1,2,3,4,7,8-HeksaCDF ir 1,2,3,6,7,8-HeksaCDF smailių atskyrimas siekia 13% (<25%). Optimaliausias PCDD/PCDF injekcijos tūris yra 2 µl (10 – 20 fg/kolonėlei), PBDE – 2 µl (15 – 350 fg/kolonėlei), DT-PCB – 1 µl (5 – 30 fg/kolonėlei) ir ne DT-PCB – 1 µl (5 – 20 fg/kolonėlei). Kiekvieno individualaus junginio kalibracinės kreivės atsako santykinis standartinis nuokrypis <20%.

4. Įvertintos metodo analizinės charakteristikos remiantis ES reikalavimais: vidinių standartų $^{13}\text{C}_{12}$ išgavos 60-120%, nustatymo ribos - <1/5 DLK (PCDD/PCDF, dioksinų tipo ir ne dioksinų tipo PCB), $\leq 0,01 \text{ ng g}^{-1}$ individualių PBDE, teisingumas +/- 15% (TE PCDD/PCDF ir TE PCDD/PCDF, DT-PCB), +/- 20% (suma ne DT-PCB), santykinis standartinis

nuokrypis <20% (TE PCDD/PCDF ir TE PCDD/PCDF, DT-PCB) ir <30% (suma ne DT-PCB).

5. Įdiegtas patvarių organinių teršalų analizės metodas, naudojant dujų chromatografijos masių spektrometrijos metodą yra jautrus ir geba nustatyti 10^{-12} g/g ar net 10^{-15} g/g.

6. Nustatytas teršalų poveikis žmonių sveikatai. Mėsos (kiauliena, jautiena ir paukštiena), kiaušinių ir pieno produktams toleruojamosios dienos ribos yra Europos Komisijos reglamentuojamose ribose 0 – 1 pg TE kg kūno svorio⁻¹ diena⁻¹, kai tuo tarpu Baltijos žuvys (silvė 4.2 +/- 2.1 kg kūno svorio⁻¹ diena⁻¹, lašiša 3.8 +/- 2.9 kg kūno svorio⁻¹ diena⁻¹, šprotai 3.5 +/- 0.6 kg kūno svorio⁻¹ diena⁻¹) ir Baltijos menkių kepenys (5,0 +/- 1,4 kg kūno svorio⁻¹ diena⁻¹) yra rizikos zonoje.

**MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ, APIBENDRINTŲ DAKTARO
DISERTACIJOJE, SĄRAŠAS**

MOKSLINIAI STRAIPSNIAI:

1. Mašaraitė R., Petraitis J., Jarmalaitė I., Naujalis E. "Determination of dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and dioxin like PCBs in fish and meat in Lithuania." *Biologija*, 2011: 55-62.
2. Godliauskienė R., Petraitis J., Jarmalaitė I., Naujalis E. "Analysis of dioxins, furans and DL-PCB in food and feed samples from Lithuania and estimation of human intake." *Food and Chemical Toxicology*, 2012: 4169-4174.
3. Godliauskienė R., Tamošiūnas V., Naujalis E. "Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins/furans and dioxin-like polychlorinated biphenyls in food and feed in the Lithuanian market." *Toxicological and Environmental Chemistry*, <http://dx.doi.org/10.1080/02772248.2016.1174704>, 2016.

KONFERENCIJŲ MEDŽIAGA IR TEZĖS:

1. R. Mašaraitė, J. Petraitis, I. Jarmalaitė, E. Naujalis. Determination of dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and dioxin like PCBs in fish and meat in Lithuania. 5-oji tarptautinė konferencija „The Vital Nature Sign 2011“, Birštonas, Kaunas.
2. R. Mašaraitė, J. Petraitis, I. Jarmalaitė, E. Naujalis. Determination of dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and dioxin-Like PCB's in fish and meat in Lithuania. Konferencija „Chemija 2011“, 2011 spalio 4d., Vilnius.
3. R. Godliauskienė, J. Petraitis, I. Jarmalaitė, E. Naujalis. Polichlorintų dibenzo-*p*-dioksinų, polichlorintų dibenzofuranų ir dioksinų tipo polichlorintų bifenių nustatymas Lietuvoje. Konferencija „FizTeCh 2011“, lapkričio 24-25 d., Vilnius.
4. R. Godliauskienė, J. Petraitis, I. Jarmalaitė, E. Naujalis. Polichlorintų dibenzo-*p*-dioksinų, polichlorintų dibenzofuranų ir dioksinų tipo polichlorintų

bifenilų analizės ypatumai. Užterštumo maisto produktuose palyginimas. Konferencija “FizTeCh 2012”, rugsėjo 25-26 d., Vilnius.

5. R. Godliauskienė, E. Naujalis. Patvarių halogenintų organinių teršalų tyrimai masių spektrometrijos metodu. Konferencija “FizTeCh 2014”, spalio 28-29 d., Vilnius.

6. R. Godliauskienė. Konferencija “FTMC – veikla ir ateitis”. 2012 kovo 8d., Vilnius.

7. Dalyvauta Referentinių laboratorijų suvažiavimuose dibenzo-p-dioksinų, dibenzofuranų ir dioksinų tipo polichlorintų bifenilų analizės maiste ir pašaruose klausimais:

- 2011 gegužės 4-5d. Yorkas, Didžioji Britanija;
- 2011 spalio 25–26d. Freiburgas, Vokietija;
- 2012 gegužės 15–16d., Viena, Austrija;
- 2014 gegužės 22–23d., Nantesas, Prancūzija;
- 2015 gegužės 20–21d., Lisabona, Portugalija;
- 2015 gegužės 27d., CVUA-MEL, Miunsteris, Vokietija.

PADĖKA

Dėkoju Lietuvos Valstybiniam Mokslo ir Studijų Fondui už finansinę paramą. Dėkoju Nacionalinio maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo instituto vadovybei ir kolegoms už visapusišką pagalbą atliekant šį darbą.

Literatūros sąrašas

1. Knyga „Patvarieji organiniai teršalai ir sveikata“. Vilnius, 2005.
2. Aplinkos ministerija, cheminių medžiagų skyrius, „Ką mes žinome apie patvariusius organinius teršalus (POT), jų savybes, sukeltas problemas? Kodėl POT yra ypač pavojingi žmogui ar aplinkai?“ (2007) Vilnius.
3. World Health Organisation, International Agency for Research of Cancer, Ministry of the Environment France, „Environmental Carcinogens Methods of Analysis and Exposure measurement“, Volume 11 – polychlorinated dioxins and dibenzofurans. *IARC Scientific Publications* No. 108 (1991) Lyon.
4. Mayes B. A., McConnellt E. E., Neal B. H., J. Brunner M. J., Hamilton S. B., Sullivan T. M., Peters A. C., Ryan M. J., Toft J. D., Singer A. W., Brown J. F., Jr., Menton R. G., and Moore J. A. Comparative Carcinogenicity in Sprague-Dawley Rats of the Polychlorinated Biphenyl Mixtures Aroclors 1016, 1242, 1254, and 1260. *Toxicological sciences* (1998) 41, 62-76.
5. Cheek AO, Kow K, Chen J and McLachlan JA. Potential Mechanisms of Thyroid Disruption in Humans: Interaction of Compounds with Thyroid Receptor, Transthyretin, and Thyroid-binding Globulin. *Organochlor Environmental Health Perspectives*, (1999)107, 273-278.
6. U.S. Department of health and human services. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological profile for polychlorinated biphenyls (PCBs), 2000.
7. Įgyvendinant Stokholmo Konvencijos reikalavimus, polichlorintų bifenilų nustatymas ir tvarkymas bei dioksinų/furanų išmetimo į aplinką kontrolė. (2005) Vilnius.
8. Lietuvos Respublikos aplinkos ministro įsakymas dėl atliekų deginimo aplinkosauginių reikalavimų patvirtinimo. 2002 m. gruodžio 31 d. Nr. 699, Vilnius.
9. Sarah Janssen, M.D., PHD, M.P.H., Brominated Flame Retardants Rising Levels of Concern, Health care without Harm, 2005.

10. Jürgen H. Troitzsch. Overview of flame retardants. *Chemistry today*, (1998) 16.
11. Qin Xiao, Bin Hu, Jiankun Duan, Man He and Wanqing Zu. Analysis of PBDEs in Soil, Dust, Spiked Lake Water and Human Serum Samples by Hollow Fiber-Liquid Phase Microextraction Combined with GC-ICP-MS. *American Society for Mass Spectrometry*, (2007) vol. 18., No. 10, 1740-1748.
12. Heidelore Fiedler. Dioxins and Furans (PCDD/PCDF). The Handbook of Environmental Chemistry, *Persistent Organic Pollutants*, (2003) vol. 3, part O, 123-201.
13. Márcia de Souza Pereira. Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDD), dibenzofurans (PCDF) and polychlorinated biphenyls (PCB): main sources, environmental behaviour and risk to man and biota. *Quím. Nova* (2004) vol. 27 No.6, 934-943.
14. McKay G. Dioxin characterisation, formation and minimisation during municipal solid waste (MSW) incineration: review. *Chemical Engineering Journal* (2002) 86, 343–368.
15. A consultancy funded by Environment Australia Department of the Environment and Heritage, Incineration and Dioxins Review of Formation Processes, 1999.
16. IARC Monograph - 107. Polychlorinated byphenyls.
17. Birnbaum LS, Staskal DF. Brominated flame retardants: cause for concern? *Environ Health Perspect* (2004) 112, 9-17.
18. Soederstroem G, Sellstroem U, de Wit CA, Tysklind M. Photolytic debromination of decabromodiphenyl ether (BDE 209). *Environ Sci Technol* (2004) 38, 127-132.
19. Carsten Lassen and Søren Løkke COWI A/S, Lina Ivar Andersen Danish Institute of Fire Technology. Brominated Flame Retardants - Substance Flow Analysis and Assessment of Alternatives. *Environmental Project* Nr. 494, 1999.

20. Canadian Environmental Protection Act, 1999 Environmental Screening Assessment Report on Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs). *Environment Canada*, 2004.
21. Technical Fact Sheet – Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) and Polybrominated Biphenyls (PBBs). EPA, 2014.
22. U.S. Department of health and human services. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for polybrominated biphenyls and polybrominated diphenylethers, 2004.
23. Van den Berg M., S. Birnbaum L., Denison M., De Vito M., Farland W., Feeley M., Fiedler H., Hakansson H., Hanberg A., Haws L., Rose M., Safe S., Schrenk D., Tohyama Ch., Tritscher A., Tuomisto J., Tysklind M., Walker N., and E. Peterson R.. Review: The 2005 World Health Organization Reevaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-Like Compounds. *Toxicological sciences* (2006) 93(2), 223–241.
24. Van den Berg M., Birnbaum L., T.C. Bosveld A., Brunstrim B., Cook Ph., Feeley M., P. Giesy J., Hanberg A., Hasegawa R., W. Kennedy S., Kubiak T., Christian Larsen J., Van Leeuwen R., A.K. Djien Liem, Nolt C., E. Peterson R., Poellinger L., Safe S., Schrenk D., Tillitt D., Tysklind M., Younes M., Waern F., and Zacharewsk T. Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and Wildlife. *Environmental Health Perspectives*, Volume 106 (1998) 12.
25. WHO European Centre for Environment and Health International Programme on Chemical Safety. Executive summary. Assessment of the health risk of dioxins: re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI). 1998.
26. Bertazzi P. A., Consonni D., Bachetti S., Rubagotti M., Baccarelli A., Zocchetti C., and Pesatori A. C. Health Effects of Dioxin Exposure: A 20-Year Mortality Study. *American Journal of Epidemiology* (2001)153, 1031-1044.
27. M. Kogevinas. Human health effects of dioxins: cancer, reproductive and endocrine system effects. *Human Reproduction Update* (2001) 7 (3), 331-339.

28. Siddiqi M. A., Laessig R. H., Reed K. D. Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs): New Pollutants-Old Diseases. *Clinical Medicine and Research* (2003) 1(4), 281-290.
29. Mana Y. B., Lopez B. N., Wanga H. Sh., Leung A. O. W., Cowa K. L., Wonga M. H.. Cancer risk assessment of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in former agricultural soils of Hong Kong. *Journal of Hazardous Materials* (2011) 195: 92-99.
30. Xu P., Lou X., Ding G., Shen H., Wu L., Chen Z., Han J., Wang X. Effects of PCBs and PBDEs on thyroid hormone, lymphocyte proliferation, hematology and kidney injury markers in residents of an e-waste dismantling area in Zhejiang, China. *Science of The Total Environment* (2015) 536: 215-222.
31. Komisijos Rekomendacija. Dėl maisto produktuose esančių bromintų antipirenų. 2014/118/ES. 2014.
32. Salihovic S., Nilsson H., Hagberg J., Lindström G. Trends in the analysis of persistent organic pollutants (POPs) in human blood. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* (2013) 46: 129-138.
33. Rymen T. History of the BCR work on dioxins. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* (1994) 348: 9-22.
34. Afgan B. K., Carron J., Goulden P. D., Lawrence J., Leger D., Onuska F., Sherry J., Wilkinso R.. Recent advances in ultratrace analysis of dioxins and related halogenated hydrocarbons. *Can J Chem* (1987) 65 (5): 1086-1097.
35. U. S. Environmental Protection Agency. Method 1613. Tetra- through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS. 1994.
36. U. S. Environmental Protection Agency. Method 8290. Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) by high-resolution gas chromatography/high-resolution mass spectrometry (HRGC/HRMS). 1994.
37. U. S. Environmental Protection Agency. Method 8290A. Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) by

high-resolution gas chromatography/high-resolution mass spectrometry (HRGC/HRMS). 2007.

38. U. S. Environmental Protection Agency. Method 1668 Revision A. Chlorinated Biphenyl Congeners In Water Soil Sediment And Tissue By HRGC/HRMS. 1994.

39. U. S. Environmental Protection Agency. Method 1668 Revision B: Chlorinated Biphenyl Congeners in Water, Soil, Sediment, Biosolids, and Tissue by HRGC/HRMS. 2008.

40. U. S. Environmental Protection Agency. Method 1668 Revision C: Chlorinated Biphenyl Congeners in Water, Soil, Sediment, Biosolids, and Tissue by HRGC/HRMS. 2010.

41. U. S. Environmental Protection Agency. Method 1614: Brominated Diphenyl Ethers in Water Soil, Sediment and Tissue by HRGC/HRMS. 2007.

42. UNEP Chemicals Branch, DTIE. Guidance for Analysis of Persistent Organic Pollutants (POPs). 2007.

43. Roscales JL, Muñoz-Arnanz J, Morales L, Abad E, Jiménez B. PCDD/Fs, dioxin-like PCBs and PBDEs in air. Preliminary results of the spanish monitoring program on POPs under the Stockholm Convention after four years monitoring. *Organohalogen Compounds* (2013) 75, 137-140.

44. Diletti G., Ceci R., Benedictis De A., Migliorati G., Scortichini G. Determination of dioxin-like polychlorinated biphenyls in feed and food of animal origin by gas chromatography and high resolution mass spectrometry. *Veterinaria Italiana* (2007) 43 (1): 129-140.

45. Fernandes A., White S., D'Silva K., Rose M.. Simultaneous determination of PCDDs, PCDFs, PCBs and PBDEs in food. *Talanta* (2004) 63: 1147–1155.

46. Fernandes A., Dicks P., Mortimer D., Gem M., Smith F., Driffield M., White S., Rose M.. Brominated and chlorinated dioxins, PCBs and brominated flame retardants in Scottish shellfish: methodology, occurrence and human dietary exposure. *Mol. Nutr. Food Res* (2008) 52: 238–249.

47. Peltonen H., Ruokojärvi P., Korhonen M., Kiviranta H., Flinkman J., Verta M. PCDD/Fs, PCBs and PBDEs in zooplankton in the Baltic Sea – Spatial and temporal shifts in the congener-specific concentrations. *Chemosphere* (2014) 114: 172–180.
48. Baldassarri L. T., Alivernini S., Carasi S., Casella M., Fuselli S., Iacovella N., Iamiceli A. L., La Rocca C., Scarcella C., Battistelli C. L. PCB, PCDD and PCDF contamination of food of animal origin as the effect of soil pollution and the cause of human exposure in Brescia. *Chemosphere* (2009) 76 (2): 278-285.
49. Shen H., Yu C., Ying Y., Zhao Y., Wu Y., Han J., Xu Q. Levels and congener profiles of PCDD/Fs, PCBs and PBDEs in seafood from China. *Chemosphere* (2009) 77: 1206-1211.
50. Han J., Shen H., Tie X., Zhang W., Zhu G., Ren Y. Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins/furans and polychlorinated biphenyls in fresh fishes from Qiantangjiang River, China. *Chemosphere* (2007) 68(1):112-119.
51. Aránguiz N. P., Malagón C. J. G., Rudolph P. R., Jordan C. A., Maddaleno A., San Martín B. Occurrence, variability and human exposure to Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), Polychlorinated Dibenzofurans (PCDFs) and Dioxin-Like Polychlorinated Biphenyls (DL-PCBs) in dairy products from Chile during the 2011–2013 survey. *Chemosphere* (2015) 126: 78-87.
52. Jana Chovancová, Anton Kočan, Stanislav Jursa. PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in food of animal origin (Slovakia). *Chemosphere* (2005) 61: 1305-1311.
53. Grassi P., Fattore E., Generoso C., Fanelli R., Arvati M., Zuccato E. Polychlorobiphenyls (PCBs), polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in fruit and vegetables from an industrial area in northern Italy. *Chemosphere* (2010) 79: 292-298.
54. Muir D., Sverko E., Author information, Article notes. Analytical methods for PCBs and organochlorine pesticides in environmental monitoring and surveillance: a critical appraisal. *Anal Bioanal Chem* (2006) 386 (4): 769-789.

55. De Vos J., Quinn L., Roos C., Pieters R., Allman P. G., Rohwer E., Giesy J. P., Bouwman H. Experience in South Africa of combining bioanalysis and instrumental analysis of PCDD/Fs. *Trends in Analytical Chemistry* (2013) 46: 189-197.
56. El-Shahawi M.S., Hamza A., Bashammakh A.S., Al-Saggaf W.T.. An overview on the accumulation, distribution, transformations, toxicity and analytical methods for the monitoring of persistent organic pollutants. *Talanta* (2010) 80 (5): 1587-1597.
57. Knyga. Vida Vičkačkaitė. Ekstrakciniai mėginio paruošimo dujų chromatografiniai analizei metodai. 2008.
58. Dasgupta S, Banerjee K, Utture S, Kusari P, Wagh S, Dhumal K, Kolekar S, Adsule PG. Extraction of pesticides, dioxin-like PCBs and PAHs in water based commodities using liquid-liquid microextraction and analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* (2011) 1218 (38): 6780-6791.
59. Ryan J. J., Rawn D. F. K.. Polychlorinated dioxins, furans (PCDD/Fs), and polychlorinated biphenyls (PCBs) and their trends in Canadian human milk from 1992 to 2005. *Chemosphere* (2014) 102: 76-86.
60. Wang P., Zhang Q, Wang Y., Wang T., Li X., Ding L., Jiang G. Evaluation of Soxhlet extraction, accelerated solvent extraction and microwave-assisted extraction for the determination of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in soil and fish samples. *Analytica Chimica Acta* (2010) 663 (1): 43-48.
61. Sporning S., Bøwadt S., Svensmark B., Björklund E. Comprehensive comparison of classic Soxhlet extraction with Soxtec extraction, ultrasonication extraction, supercritical fluid extraction, microwave assisted extraction and accelerated solvent extraction for the determination of polychlorinated biphenyls in soil. *Chromatography A* (2005) 1090: 1-9.
62. Ikonomou M.G., Fraser T.L., Crewe N.F., Fischer M.B., Rogers I.H., He T., Sather P.J., and Lamb R.F. A comprehensive multiresidual ultra-trace analytical method, based on HRGC/HRMS, for the determination of PCDD,

PCDF, PCB, PBDE, PCDE and organochlorine pesticides in six different environmental matrices. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences* (2001) 2389 (1): 95.

63. Bernsmann Th., Albrecht M., Fürst P. Fast sample preparation for routine determination of PCDD/F, PCB and PBDE in food and feed. Conference paper. 2014.

64. Kamińska J., Ligocka D., Zieliński M., Czerska M., Jakubowski M. The use of PowerPrep and HRGC/HRMS for biological monitoring of exposure to PCDD, PCDF and dl-PCB in Poland. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* (2014) 217 (1): 11-16.

65. Roig P. V., Picó Y. Pressurized liquid extraction of organic contaminants in environmental and food samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* (2015) 71: 55-64.

66. Wiberg K., Sparring S., Haglund P., Björklund E. Selective pressurized liquid extraction of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls from food and feed samples. *Chromatography A* (2007) 1138 (1-2): 55-64.

67. Hong J., Miki Y., Honda K., Toita H. Development of the automated cleanup system for the analysis of PCDDs, PCDFs and DL-PCBs. *Chemosphere* (2012) 88 (11): 1287-1291.

68. Laila B. F., Reiner E. J., Kolic T. M., Brunato R., Lega R., MacPherson K. A., Crozier P. W. An automated extraction/sample preparation method for the determination of PCDD/F, DLPCBs, BDEs, and PCNs in biota in a single analysis. *Organohalogen Compounds* (2008) 70, 1296-1299.

69. Guerriero E, Rotatori M, Mosca S, Rossetti G, Manni A. Simplified Gel Permeation method for the analysis of PCDD/Fsin stack emissions and waste solid samples from various thermal industrial processes. *Organohalogen Compounds* (2008) 70: 501-504.

70. Zacs D., Rjabova J., Viksna A., Bartkevics V. Method development for the simultaneous determination of polybrominated, polychlorinated, mixed

polybrominated/chlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in fish. *Chemosphere* (2015) 118: 72-80.

71. Eric J. Reiner, Ray E. Clement, Allan B. Okey, Chris H. Marvin. Advances in analytical techniques for polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and dioxin-like PCBs. *Anal Bioanal Chem* (2006) 386 (4): 791-806.

72. Pliszczynska J. P., Maszewski S., Bany M. W., Mikołajczyk S., Goraj L. Survey of Persistent Organochlorine Contaminants (PCDD, PCDF, and PCB) in Fish Collected from the Polish Baltic Fishing Areas. *The Scientific World Journal* (2012), Article ID 973292, doi: 10.1100/2012/973292.

73. Pliszczynska J. P., Mikołajczyk S., Maszewski S., Bany M. W., Góraj Ł. Study of dioxin levels in raw milk of cows and goats in Poland. *Proceedings of ECOpole* (2012) 6 (1): 77-83.

74. Turner, W.E., DiPietro E.S., Cash T.P., McClure, P.C., Patterson. D.G. Jr. Shirkhan H. An Improved SPE Extraction and Automated Sample Cleanup Method for Serum PCDDs, PCDFs, and Coplanar PCBs. *Organohalogen compounds* (1994) 19: 31-36.

75. Antunes P., Viana P., Vinhas T., Capelo J.L., Rivera J., Gaspar E. M. S. M. Optimization of pressurized liquid extraction (PLE) of dioxin-furans and dioxin-like PCBs from environmental samples. *Talanta* (2008) 75 (4): 916-925.

76. Crummett W B , Stehl R H. Determination of chlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in various materials. *Environ Health Perspect* (1973) 5: 15-25.

77. Mariani G., Amalfitano L., Manni A., Mueller A., Skejo H., Umlauf G. HRGC-HRMS multi-residual POPs analysis method on a novel automated clean up system. *Organhalongen Compounds* (2009) 71: 2796-2801.

78. Kolic T. M., Shen L., MacPherson K., Fayez L., Gobran T., Helm P. A., Marvin Ch. H., Arsenault G., Reiner E. J. The analysis of halogenated flame retardants by GC-HRMS in environmental samples. *Journal of Chromatographic Science* (2009) 47 (1): 83-91.
79. Roeder R. A., Garber M. J., Schelling G. T.. Assessment of dioxins in food from animal origin. *Journal of Animal Science* (1998) 76 (1): 142-151.
80. Mari M., Ferrero J. D., Schuhmacher M., Nadal M., Domingo J. L. Health risk of environmental exposure of PCDD/Fs near a hazardous waste incenerator in Catalonia, Spain. *Journal of Risk Analysis and Crisis Response* (2013) 3 (2): 77-87.
81. Focant J. F., Eppe G., Pirard C., De Pauw E. Fast clean-up for polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and coplanar polychlorinated biphenyls analysis of high-fat-content biological samples. *Chromatography A* (2001) 925 (1-2): 207-221.
82. Roots O., Schramm K. W., Simm M., Henkelmann B., Lankov A. Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in Baltic herring and sprats in the north-eastern part of the Baltic Sea. *Estonian Acad Sci. Biol. Ecol* (2006) 55 (1): 51-60.
83. Kijlstra A., Traag W. A., Hoogenboom L. A. P. Effect of flock size on dioxin levels in egg from chickens kept outside. *Poultry Science* (2007) 86 (9): 2042-2048.
84. Malavia J., Abalos M., Santos F. J., Abad E., Rivera J., Galceran M. T. Analysis of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls in vegetable oil samples by gas chromatography – ion trap tandem mass spectrometry. *Chromatography A* (2007) 1149 (2): 321-332.
85. Focant J. F., Eppe G., Scippo M. L., Massart A. C., Pirard C., Rogister G. M., De Pauw E. Comprehensive two-dimensional gas chromatography with isotope dilution time-of-flight mass spectrometry for the measurement of

dioxins and polychlorinated biphenyls in foodstuffs Comparison with other methods. *Chromatography A* (2005) 1086 (1-2): 45-60.

86. Focant J. F., Eppe G., Pirard C., De Pauw E. Recent advances in mass spectrometric measurement of dioxins. *Chromatography A* (2005) 1067 (1-2): 265-275.

87. Papke O., Furst P., Herrmann T.. Determination of polychlorinated diphenylethers (PBDEs) in biological tissues with special emphasis on QC/QA measures. *Talanta* (2004) 863(5): 1203-1211.

88. Bernsmann T., Furst P. Comparison of accelerated solvent extraction (ASE) with integrated sulphuric acid clean up and soxhlet extraction for determination of PCDD/PCDF, dioxin-like PCB and indicatos PCB in feeding stuff. *Organohalogen Compounds* (2004) 66.

89. Focant J. F., Pirard C., De Pauw E. An improved clean-up strategy for simultaneous analysis of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDD), dibenzofurans (PCDF), polychlorinated biphenyls (PCB) in fatty food samples. *Anal Bioanal Chem* (2002) 372 (2): 373-381.

90. Robinson C., Blow P., Dorman F. Rapid dioxin analysis using accelerated solvent extraction (ASE), multi-column sample cleanup and Rtx-Dioxin2 gas chromatography column. *Organohalogen Copmounds* (2004) 66: 101-106.

91. Holscher K., Maulshagen A., Shirksam H., Lieck G., Behnisch P. A. Automated rapid analysis for dioxins and PCBs in food, feedingstuff and environmental matrices. *Organohalogen Copmounds* (2004) 66: 117-125.

92. Danielsson C., Wiberg K., Korytar P., Bergek S., Brinkman U. A. T., Haglund P. Trace analysis of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and WHO polychlorinated biphenyls in food using comprehensive two-dimensional gas chromatography with electron-capture detection. *Chromatography A* (2005) 1086 (1-2): 61-70.

93. Papadopoulos A., Vassiliadou I., Costopoulou D., Papanicolaou C., Leondiadis L. Levels of dioxins and dioxin-like PCBs in food samples on Greek market. *Chromosphere* (2004) 57 (5): 413-419.

94. Pizzini S. Sarah, Marchiori E., Piazza R., Cozzi G., Barbante C. Determination by HRGC/HRMS of PBDE levels in edible Mediterranean bivalves collected from north-western Adriatic coasts. *Microchemical Journal* (2015) 121: 184-191.
95. Focant J. F., Pirard C., De Pauw E. Automated sample preparation-fractionation for the measurement of dioxins and related compounds in biological matrices: a review. *Talanta* (2004) 63 (5): 1101-1113.
96. Abad E. , Sauló J. , Caixach J., Rivera J. Evaluation of a new automated cleanup system for the analysis of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in environmental samples. *Chromatography A* (2000) 893 (2): 383-391.
97. Wang Y., Lam J. C. W., So M. K., Yeung L. W. Y., Cai Z., Hung C. L. H., Lam P. K. S. Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in waterbird eggs of Hong Kong, China. *Chemosphere* (2012) 86 (3): 242-247.
98. Ortuño N., Lundstedt S., Lundin L. Emissions of PBDD/Fs, PCDD/Fs and PBDEs from flame-retarded high-impact polystyrene under thermal stress. *Chemosphere* (2015) 123: 64-70.
99. Roszko M., Szymczyk K., Jędrzejczak R. Influence of hen breeding type on PCDD/F, PCB & PBDE levels in eggs. *Science of the Total Environment* (2014) 487: 279-289.
100. Ross P. S., Noel M., Lambourn D., Dangerfield N., Calambokidis J., Jeffries S. Declining concentrations of persistent PCBs, PBDEs, PCDEs, and PCNs in harbor seals (*Phoca vitulina*) from the Salish Sea. *Progress in Oceanography* (2013) 115: 160-170.
101. Brasseur C., Pirard C., Scholl G., De Pauw E., Viel J. F., Shen L., Reiner E. J., Focant J. F. Levels of dechloranes and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in human serum from France. *Environment International* (2014) 65C: 33-44.

102. Baars A.J., Bakker M.I., Baumann R.A., Boon P.E., Freijer J.I., Hoogenboom L.A.P., Hoogerbrugge R., van Klaveren J.D., Liem A.K.D., Traag W.A., de Vries J. Dioxins, dioxin-like PCBs and non-dioxin-like PCBs in foodstuffs: occurrence and dietary intake in The Netherlands. *Toxicology Letters* (2004) 151 (1): 51-61.
103. Fromme H., Albrecht M., Appel M., Hilger B., Völkel W., Liebl B., Roscher E. PCBs, PCDD/Fs, and PBDEs in blood samples of a rural population in South Germany. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* (2015) 218 (1): 41-46.
104. Matsumoto R., Tu N. P. C., Haruta S., Kawano M., Takeuchi I. Analysis of all 209 polychlorinated biphenyl (PCB) congeners (with special reference to dioxin-like PCB congeners) in Japanese seabass and related species by high-resolution gas chromatography/high-resolution mass spectrometry (HRGC/HRMS). *Regional Studies in Marine Science* (2016) 3: 119-130.
105. Knyga. Herbert C. G., Johnstone R. A. W. Mass Spectrometry Basics. 2003.
106. Knyga. Hajšlová J., Čajka T. Gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS). Chapter 12. *Food Toxicants Analysis*. 2007.
107. Knyga. Van Bramer S. E. An Introduction to Mass Spectrometry. 1998.
108. Paiano V., Generoso C., Mandich A., Traversi I., Palmiotto M., Bagnati R., Colombo A., Davoli E., Fanelli R., Fattore E. Persistent organic pollutants in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) in two fish farms in the Mediterranean Sea. *Chemosphere* (2013) 93 (2): 338-343.
109. Thomas D. Bucheli, Rahel C. Brändli. Two-dimensional gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry for the unambiguous determination of atropisomeric polychlorinated biphenyls in environmental samples. *Chromatography A* (2006) 1110 (1-2): 156-164.
110. Vytautas Tamošiūnas. Skysčių chromatografija-tandeminė masių spektrometrija antibiotikų nustatymui maisto produktuose. Daktaro disertacija. 2009.

111. Dawson J. H. J., Guilhaus M.. Orthogonal-acceleration time-of-flight mass spectrometer. *Rapid Commun in Mass Spectrometry* (1989) 3: 155-159.
112. Purves R. W., Li L. Development and characterization of an electrospray ionization ion trap/linear time-of-flight mass spectrometer. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* (1998) 8 (10): 1085-1093.
113. Ekman R., Silberring J., Brinkmalm A. W., Kraj A. Mass Spectrometry: Instrumentation, Interpretation, and Applications. Chichester, John Wiley & Sons, 2008.
114. Stafford Jr G. Ion trap mass spectrometry: a personal perspective. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* (2002) 13 (6): 589-596.
115. Steinwedel P. W. H. Apparatus for Separating Charged Particles of Different Specific Charges. German Patent 944,900, 1956; U.S. Patent 2,939,952, 1960.
116. Diogo Ribeiro Demartini. A Short Overview of the Components in Mass Spectrometry Instrumentation for Proteomics Analyses. Biochemistry, Genetics and Molecular Biology "Tandem Mass Spectrometry - Molecular Characterization". 2013.
117. Ina Razmislevičienė. Dispersinė skystafazė mikroekstrakcija metalams nustatyti. Daktaro disertacija. 2013.
118. World Trade Organisation. Agreement of application of sanitary and phytosanitary measures. Geneva: WTO, 1995.
119. European Food Safety Authority (EFSA). Scientific report of EFSA.2010.
120. Chemical Testing ISO/IEC 17025 Application Document. Annex D: Specific criteria relating to the determination of trace and ultra-trace concentrations of dioxins, furans and dioxin-like PCBs. 2013.
- 121 Europos Sąjunga. Reglamentas 2006/1881/EC nustatantis teršalų didžiausias leidžiamas koncentracijas maisto produktuose. 2006.

122. Europos Sąjunga. Reglamentas 2011/1259/EC nustatantis teršalų didžiausias leidžiamas koncentracijas maisto produktuose. 2011.
123. Europos Sąjunga. Reglamentas 2002/32/EC nustatantis teršalų didžiausias leidžiamas koncentracijas pašaruose. 2002.
124. Europos Sąjungos Reglamentas Nr. (EC) Nr. 277/2012 iš dalies keičiantis 2002/32/EC, nusakantis teršalų veiksmo ribas ir leidžiamas koncentracijas pašaruose. 2012.
125. Europos Sąjunga. Reglamentas 2002/69/EC nustatantis mėginių ėmimo ir analizės metodų reikalavimus maisto produktuose. 2002.
126. Europos Sąjungos Reglamentas Nr. (EC) Nr. 1883/2006 nusakantis teršalų analizės metodų reikalavimus. 2006.
127. Europos Sąjungos Reglamentas (EC) Nr. 252/2012 nusakantis teršalų analizės metodų reikalavimus. 2012.
128. Europinis Standartas EN 16215:2012 nusakantis dioksinų, furanų dioksinų tipo ir ne dioksinų tipo polichlorintų bifenilų analizę GC/HRMS metodu pašaruose. 2012.
129. Europos Sąjungos Reglamentas (EC) Nr. 589/2014, panaikina Reglamentą (EC) Nr. 252/2012 ir nusako teršalų analizės metodų reikalavimus maisto produktuose. 2014.
130. Europos Sąjungos Reglamentas (EC) Nr. 709/2014 nusakantis teršalų analizės metodų reikalavimus pašaruose. 2014.
131. Europos Sąjungos rekomendacija 118/2014 dėl maisto produktuose esančių bromintų antipirenų. 2014.
132. Europos Sąjungos rekomendacija 516/2011 dėl maisto produktuose esančių dioksinų, furanų ir dioksinų tipo polichlorintų bifenilų mažinimo maisto produktuose. 2011.
133. Europos Sąjungos rekomendacija 711/2013 dėl maisto produktuose esančių dioksinų, furanų ir dioksinų tipo polichlorintų bifenilų mažinimo maisto produktuose. 2013.
134. Europos Sąjungos Reglamentas (EC) Nr. 152/2009 nusakantis teršalų analizės metodų reikalavimus pašaruose. 2009.

135. Helsinki Commission, Baltic Marine Environment Protection Commission, Dioxins in the Baltic Sea. 2004.
136. Vindal I., Vandevijvere S., Maleki M., Gosciny S., Vinkx C., Focant J. F., Eppe G., Hanot V., Van Loco J. Dietary intake of PCDD/Fs and dioxin-like PCBs of the Belgian population. *Chemosphere* (2010) 79 (3): 334 – 340.
137. Van Leeuwen F. X. R., Younes M. M. Consultation on assessment of the health risk of dioxins: re-evaluation of the tolerable daily intake (TDI) : Executive summary. *Food Additives and Contaminants* (2000) 17 (4): 223-240.
138. Malisch Ra., Kotz A. Dioxins and PCBs in feed and food-Review from European perspective. *Science of The Total Environment* (2014) 491-492.
139. Godliauskienė R., Petraitis J., Jarmalaitė I., Naujalis E. Analysis of dioxins, furans and DL-PCB in food and feed samples from Lithuania and estimation of human intake. *Food and Chemical Toxicology* (2012) 50 (11): 4169-4174.
140. Schecter A., Cramer P., Boggess K., Stanley J., Papke O., Olson J., Silver A., Schmitz M. Intake of dioxins and related compounds from food in the U. S. population. *Toxicology and Environmental Health* (2001) 63 (1): 1-18.
141. Rappe C., Buser H. R., Dodet B., O'Neill I. K. Environmental Carcinogens methods of Analysis and Exposure Measurement. France: *International Agency for Research on Cancer* (1991) 60.
142. Benediktavičiūtė-Kiškienė A., Juoska R., Janušonis S. Cross "Lohmann white LSL" production and morphological indicators of starting line avian egg. *Veterinary and zoo technique* (2002) 38-40.
143. Food Safety Authority. Dioxins and PCBs in Food. Raport, Ireland: Food Safety Authority (2009).
144. European Parliament. Industrial Fisheries in the Baltic Sea. Raport, Belgium: Directorate - general for internal policies, 2011.

145. Kiviranta H., Ovaskainen M-L., Vartiainen T. Market basket study on dietary intake of PCDD/Fs, PCBs and PBDEs in Finland. *Environment International* (2004) 30 (7): 923-932.
146. Lietuvos Statistikos Departamentas. 2013. Priėjimas 2015 metų vasario 29d. Internetinis puslapis: <http://osp.stat.gov.lt/statistiniu-rodikliu-analize?portletFormName=visualization&hash=bd1a2fd2-a868-4c86-b4e1-b6a8d2b7fa86>
147. Zacs D., Bartkevics V.. Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls in food and feed in Latvia in 2009-2011. *Food additives and Contaminants: Part B* (2014) 7(3): 186-201.
148. Adnan H., Bondi G., Basma D., Abraham B., Behnish P. A., Al-Wadi M., Al-Foudari M. Screening for PCDD/Fs and dl-PCBs in local and imported food and feed products available across the State of Kuwait and assessment of dietary intake. *Ecotoxicology and Environmental Safety* (2014) 27-31.
149. Rauscher-Gabernic E., Mischek D., Moche W., Prean M. Dietary intake of dioxins, furans and dioxin-like PCBs in Austria. *Food Additives and Contaminants: Part A* (2013)30 (10): 1770-1779.
150. Blanmco L, Martinez A, Ferreira M, Vieites J, Cabado A. Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans (PCDD/Fs) and dioxin-like polychlorinated biphenyls (dl-PCBs) in fish, seafood products and fish oil in Spain. *Food additives and Contaminants: Part B* (2013) 6 (3): 218-230.