

DIOXIN FREE



DR. Supeno Surya

<http://www.dioxinfree.com>
Email : supeno@dioxinfree.com

“Demi Kepentingan Umum & Kepentingan Pendidikan, buku ini dapat diperbanyak tanpa perlu memperoleh izin penulis”.

Perpustakaan Nasional : Katalog Dalam Terbitan (KDT)

Penerbitan I : 2007

Cetakan I : 2007

ISBN : 978-979-99063-1-1

*Buku ini saya persembahkan untuk Indra Surya, Megawati,
Ely, Roderick dan Michelle.*

DAFTAR ISI

Kata Pengantar

I. Memahami Dioxin

1. Identifikasi Dioxin
2. Arti Dioxin
3. Sumber Dioxin
4. Masalah yang ditimbulkan Dioxin
5. Identifikasi mata rantai Dioxin
6. Dioxin vs Alam
7. Sistem akumulasi Dioxin

II. Memahami Sistem Dioxin Free

1. Konsep Dioxin Free
2. Langkah-langkah membangun dan mengembangkan Sistem Dioxin Free
3. Manfaat penerapan Sistem Dioxin Free

III. Persyaratan Standard dari Dioxin Free

1. Ruang lingkup
2. Metode Chlor Free
3. Sertifikasi Dioxin Free

IV. Metode Pengujian Kandungan Dioxin

1. Pengujian dengan US-FDA Method
2. Pengujian dengan US-EPA Method

V. Prinsip-prinsip Manajemen Dioxin Free

1. Identifikasi proses yang dibutuhkan untuk Sistem Dioxin Free
2. Menentukan sekuens (urutan) dan interaksi dari proses
3. Menentukan kriteria dan metode yang dibutuhkan untuk memantau efektivitas operasional dan pengendalian dari proses

VI. Petunjuk untuk Dokumentasi	185
1. Manfaat pendokumentasian Sistem Dioxin Free	185
2. Cakupan dokumentasi Sistem Dioxin Free	186
3. Organisasi.....	187
VII. Daftar Pustaka	189
VIII. Definisi & Acronym	195

KATA PENGANTAR

Mencegah lebih baik daripada mengobati, itulah ungkapan yang sangat berharga & mendasari penulisan buku ini. Sebuah perjalanan panjang untuk memperjuangkan pencegahan penyakit yang disinyalir berasal dari Dioxin. Dioxin masuk ke tubuh manusia melalui makanan dan minuman serta kosmetik yang kemudian menyebabkan berbagai penyakit antara lain : kanker, kelainan janin, penyebab kemandulan, rusaknya kekebalan tubuh, retardasi mental pada balita, diabetes, gangguan perilaku, terjadinya masalah pada alat reproduksi anak-anak menjelang pubertas.

Penulis mengembangkan “**Konsep Dioxin Free**” pada makanan dan minuman serta kosmetik dengan metode teknis pengujian dan metode perbaikan sistem produk olahan yang disimpulkan dalam 7 (tujuh) langkah produk bebas Dioxin yang terdaftar sebagai hak cipta dan merek. Langkah “**Dioxin Free**” sebagai penemuan penulis merupakan yang pertama di dunia berdasarkan penelitian keadaan dan keberhasilan penanggulangan Dioxin selama ini.

Ternyata belum adanya usulan yang berhasil untuk mencegah masuknya Dioxin ke dalam tubuh manusia melalui makanan, minuman, obat dan kosmetik, padahal 90% dari Dioxin masuk ke dalam tubuh manusia melalui makanan. Pencegahan selama ini dilakukan dengan merobah pola makanan dengan pengurangan konsumsi lemak dan minyak (penulis menyebutnya jalur kedua). Dan cara berikutnya adalah mengkampanyekan usaha lingkungan hidup bersih Dioxin (penulis menyebutnya jalur ketiga).

Kedua jalur yang selama ini dilakukan menurut penulis cukup baik, hanya saja untuk mewujudkannya membutuhkan waktu yang lama sedangkan **KORBANSUDAH**

BERJATUHAN.

Sebagai Pioner dan Penemu “**Konsep Dioxin Free**“, penulis berharap dukungan dari semua Pihak terutama produsen makanan, minuman, obat dan kosmetik yang sampai saat ini masih secara tidak sadar “menyertakan” Dioxin dalam produknya.

Penulis sambil bersyukur kepada Tuhan Yang Maha Esa juga mengucapkan terima kasih kepada :

- William A. Nitze (US - EPA)
- Angela Bandemehr (US - EPA)
- Douglas G. Hayward (US - FDA)
- W.A Telliard (US - EPA)
- Brian K. Gullett (US - EPA)
- Jeffrey V. Ryan (US - EPA)
- Dennis Tabor (Arcadis)
- Roland Hutapea (POM - RI)
- Joseph Ferrario
- Christian Byrne
- Danny Mc. Daniel
- Aubry Dupuy, Jr.
- Robert Harless
- Rose Ng
- Robert Siahaan
- dr. F. Tjahjono
- Arief Wibowo

Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran membangun.

Medan, Oktober 2005

Penulis,

DR. Supeno Surya

BAB. I

MEMAHAMI DIOXIN

I.1. IDENTIFIKASI DIOXIN

Pada tahun 1949, Monsanto PLANT di NITRO, West Virginia meledak. Akibatnya Pabrik Herbisida 2,4,5 – T itu meracuni 250 pekerja dengan penyakit CHLORACNE (penyakit kulit berupa gatal-gatal memerah). Baru tahun 1955, Karl Schultz (seorang dokter Jerman) mensinyalir bahwa chloracne adalah akibat racun Dioxin.

Pada tahun 1960 – 1970, Amerika menggunakan Herbisida Agent Orange dalam perang Vietnam. Agent Orange yang mengandung Dioxin digunakan untuk merontokkan dedaunan agar hutan-hutan Vietnam tidak bisa digunakan untuk bersembunyi tentara Vietkong. Tahun 1983, Kantor Veteran Chicago mencatat ada 17 ribu lebih veteran yang mengklaim ganti rugi akibat Dioxin sewaktu bertugas di Vietnam.

Pada tahun 1976, Pabrik Kimia Hoffman La – Roche di Seveso, Italia meledak, dan sejumlah besar TCDD terlepas sampai ke atmosfer. Di daerah sekitar pabrik, hewan-hewan mati, terjadi destruksi vegetasi, penduduk mengalami keracunan akut, kasus chloracne, abortus dan kelainan kongenital. Dan pada tahun 1993 Bertozzi dan kawan-kawan menemukan peningkatan kasus kanker.

Pada tahun 1977, terbakarnya kabel PVC di Beverly Hill Supper Club bahkan merengut 161 nyawa orang. Kebakaran ini menimbulkan asap putih. Menurut salah seorang pekerja di situ, asap pedas yang mengandung

gas hydrogen chloride (HCl) itu bisa bereaksi dengan pewarna kuku. Bahkan hasil reaksi itu dapat memakan kuku. Ketika terhirup dan masuk ke dalam paru-paru bersama udara yang mengandung air, HCl adalah asam klorida yang korosif. Akibatnya yang selamat pun mengalami luka parah pada saluran pernapasannya.

Biaya pemulihan daerah yang tercemar Dioxin tidaklah sedikit. Kasus di Time Beach, Missouri, pada tahun 1971 bisa menjadi contoh. Sebuah perusahaan herbisida sembarangan saja membuang sampah industri ke tempat pembuangan oli bekas. Lalu oli bekas itu terpakai untuk menyemprot lapangan pacuan kuda, jalanan, serta tempat-tempat berdebu. Selain gangguan berupa chloracne dan radang kandung kemih yang akut, penyemprotan itu juga menimbulkan kematian dan penyakit pada ternak. Daerah itu kemudian dibeli oleh EPA (Badan Perlindungan Lingkungan AS) dan biaya yang dikeluarkan untuk membersihkan Dioxin mencapai AS\$ 100 juta.

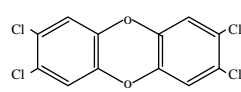
I.2. ARTIDIOXIN

Dioxin adalah peristilahan generik untuk sekelompok bahan yang dicurigai sebagai penyebab kanker (lebih dikenal sebagai CARCINOGENS), merupakan bahan beracun yang kuat dan berbahaya terhadap manusia dan hewan serta resisten/kebal terhadap penguraian biologi.

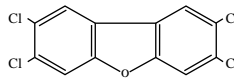
Dioxin adalah sebutan umum bagi senyawa-senyawa kimia yang ditemukan di lingkungan dimana senyawa yang mudah bereaksi ini dihasilkan dari industri yang menggunakan bahan baku yang mengandung chlorine dan carbon.

Jika orang berbicara tentang Dioxin, pada umumnya yang dimaksud adalah kelompok chlorodibenzo-p-dioxin (CDD). Dari kelompok ini, yang dianggap paling beracun adalah 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), termasuk turunan kimia sejenis lainnya.

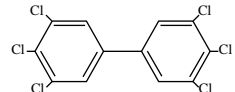
Adapun struktur kimia dari Dioxin adalah sebagai berikut :



2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin



2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran



3,3',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl

I.3. SUMBER DIOXIN

Dioxin terbentuk ketika terjadi pembakaran dari semua sampah yang mengandung chlorine, pabrik dari PVC/polyvinyl chloride/plastik, produksi dari bahan kimia seperti herbisida, pestisida dan chlorinated benzenes, industri kertas dan pulp yang menggunakan pemutih chlorine.

PVC sering digunakan dalam kemasan, juga sebagai bahan baku berbagai produk yang ada di rumah seperti sepatu, sandal, film, kulit imitasi, pipa air, bahan isolasi kabel, karpet, pelapis tekstil, kertas maupun logam, bahan tenunan dan sarung tangan. Dalam bahasa awam, setiap produk senyawa kimia organik yang mengandung chlorine adalah sumber Dioxin.

Selain itu alam juga turut menyumbang Dioxin. Pundi-pundinya berasal dari kebakaran hutan maupun aktivitas gunung berapi. Dalam tingkatan yang rendah Dioxin juga bisa ditemukan di semua lingkungan (udara,

air dan tanah). Karena sifat fisik dan kimianya, Dioxin terutama dapat ditemukan di lapisan tanah, sedimen dan biota. Aktivitas pembakaran sampah plastik merupakan sumber penyebaran Dioxin.

Berikut ini disajikan informasi dari US-EPA perihal sumber Dioxin :

SOURCES OF DIOXIN

Incinerators Burning Chlorine – Containing Wastes

- ❖ Trash incinerators
- ❖ Hospital waste incinerators
- ❖ Hazardous waste incinerators
- ❖ Cement kilns burning hazardous wastes
- ❖ Sewage sludge incinerators

Bleaching Pulp and Paper with Chlorine

- ❖ Pulp and paper mills use chlorine-based bleachers in making paper

PVC Plastic

- ❖ Manufacture of PVC
- ❖ Incineration of waste from PVC manufacture and products (including open burn dumps, back yard burn and barrel burning)
- ❖ Recycling of cars, cables, and other PVC products

Manufacture of Other Chlorinated Chemicals

- ❖ Pesticides, solvents, dyes, intermediates, etc.

Other Uses of Chlorine and Organochlorines

- ❖ Production of chlorine
- ❖ Metallurgical processing and smelting
- ❖ Use of chlorinated gasoline additives

- ❖ Wood treatment with chlorinated pesticides
- ❖ Oil refining and chlorinated catalysts
- ❖ Manufacture of inorganic chlorine chemicals
- ❖ Water disinfection with chlorine

I.4. MASALAH YANG DITIMBULKAN DIOXIN

I.4.a. Salah Satu Penyebab Kanker dan Kelainan Janin

Dioxin yang masuk ke dalam tubuh melalui selaput sel, selanjutnya bersatu dengan protein dasar reseptor. Maka Dioxin pun diizinkan masuk ke dalam inti sel. Di sini ia berinteraksi dengan DNA dan menyerang gen yang mengontrol banyak reaksi biokimia, seperti sintesa dan metabolisme hormon, enzim, maupun faktor pertumbuhan, sehingga bisa menimbulkan dampak dari kelainan janin sampai kanker.

Dioxin bisa berpindah melalui plasenta maupun ASI (Air Susu Ibu). Padahal janin maupun bayi sedang pada tahap perkembangan yang krusial. Jika sang Ibu terpapar Dioxin, maka bayi akan terkena racun Dioxin juga. Menurut informasi yang diberikan US-EPA, ASI wanita Amerika paling parah konsentrasi Dioxinnya yakni 500 kali lebih tinggi daripada susu sapi.

Tahun 1998, WHO menetapkan ambang batas aman konsumsi Dioxin, yakni 1-4 pikogram (sepertriliun gram) Dioxin per kilogram bobot badan. Seandainya manusia memiliki berat badan 60 kg, batas amannya adalah 240 pikogram Dioxin. Padahal menurut pemerintah Belgia, ayam yang sudah

tercemar memiliki kandungan Dioxin sebesar 700-1.000 pikogram per satu gram lemak.

Dengan begitu, berapa ambang batas aman Dioxin? Dalam jumlah sedikit saja sudah berbahaya, dan akan terakumulasi dalam tubuh manusia. Paparan dalam konsentrasi tidak terlalu tinggi saja akan menimbulkan penyakit kulit chloracne.

Sifat karsinogenik Dioxin membuat tingkat kasus kanker prostat naik dua kali lipat dan kanker testis berlipat tiga. Pada perempuan keadaan untuk terbentuknya kanker buah dada selama hidupnya meningkat dari 5% pada tahun 1960 menjadi 20% pada saat ini.

I.4.b. Salah Satu Penyebab Kemandulan dan Rusaknya Kekebalan Tubuh

Penelitian lain juga mengungkapkan bahwa Dioxin berpengaruh terhadap hormon reproduksi pria, meskipun hal ini memerlukan penelitian lebih lanjut.

Saat ini, jumlah sperma pria turun hingga 50% dibandingkan 50 tahun silam.

Dioxin juga menyebabkan penyakit endometriosis. Ini adalah keadaan dimana jaringan selaput lendir rahim yang masih berfungsi tumbuh di luar rongga rahim, bisa di indung telur, dinding rahim, rongga panggul atau tempat lain. Sebelumnya penyakit ini jarang menyerang wanita Amerika. Kini jumlahnya mencapai lima juta. Selain masih banyak gangguan-gangguan yang ditimbulkan oleh zat bioakumulasi ini, yakni : gangguan perilaku, meningkatnya penyakit diabetes dan rusaknya kekebalan tubuh.

Dioxin menimbulkan malapetaka pada banyak proses biokimia alami tubuh. Wajar jika Dioxin menjadi momok. Apalagi 90% Dioxin masuk ke tubuh manusia melalui makanan. Sisanya baru lewat pernafasan dan kulit.

I.4.c. Akibat Lainnya

Janin dari balita yang terkontaminasi Dioxin akan mengalami perubahan hormonal, cacat kelahiran dan terhambatnya pertumbuhan. Dan yang paling berbahaya, sedikit dosis dari Dioxin saja dapat berakibat sangat buruk bagi mereka seperti retardasi mental pada balita, kemandulan, terjadinya masalah pada alat reproduksi anak-anak menjelang pubertas, diabetes, gangguan perilaku, rusaknya kekebalan tubuh.

Dioxin bertindak seperti “Hormon Lingkungan” yang menimbulkan kerusakan banyak proses biokimia alamiah pada tubuh manusia.

Saat Dioxin masuk ke dalam tubuh, dia akan menerobos membran sel dan menyatu dengan protein reseptor alamiah yang memungkinkan Dioxin memasuki inti sel. Dioxin kemudian berinteraksi dengan DNA, mempengaruhi dan merusak semua “Cetak Biru” yang mengontrol reaksi biokimia seperti sintesa dan metabolisme dari hormon, enzim dan faktor pertumbuhan dan faktor kimia lainnya. Dengan perkataan lain, Dioxin merusak dan merobah semua sistem dalam tubuh manusia.

Menurut informasi US-EPA, penduduk asli pedalaman akan menghadapi resiko yang lebih besar

dari sakit akibat keracunan selama kekurangan enzim. Federal Agency for Toxic Substances and Diseases Registry (Badan Pemerintah Amerika untuk Substansi Racun dan Pendaftaran Penyakit) melaporkan bahwa suku Indian mungkin menghadapi resiko lebih besar daripada populasi rata-rata Amerika Serikat jika mengkonsumsi hewan liar yang tercemar oleh sumber Dioxin, level radioaktif yang tinggi dan untuk yang cenderung mengkonsumsi ikan dalam jumlah besar.

Toxic Response Syndrome (TRS = Sindrom Respon Keracunan) merupakan epidemi tidak nyata pada suku pedalaman, karena symptom yang muncul merupakan mimik dari penyakit lainnya. Karena itu penelitian atas Multiple Chemical Sensitivity (MCS = Sensitivitas Berbagai Bahan Kimia) merupakan keharusan yang perlu ditingkatkan pada beberapa suku penduduk pedalaman.

I.5. IDENTIFIKASI MATA RANTAI DIOXIN

Dioxin adalah sebutan umum bagi senyawa-senyawa kimia yang ditemukan di lingkungan dimana senyawa yang mudah bereaksi ini dihasilkan dari industri yang menggunakan bahan baku yang mengandung chlorine dan carbon.

Dioxin terbentuk ketika terjadi pembakaran dari semua sampah yang mengandung chlorine, pabrik dari PVC/Plastik, produksi dari bahan kimia seperti herbisida, pestisida dan chlorinated benzenes, industri kertas dan pulp yang menggunakan pemutih chlorine.

Dioxin yang dibuang ke alam tidak dapat diuraikan. Dioxin ini diserap oleh tumbuhan di darat

seperti sapi sedangkan tumbuhan di laut dimakan oleh ikan. Dioxin yang dimakan oleh sapi dan ikan akan terakumulasi dalam tubuh mereka. Menurut US-EPA ikan dalam air akan mengandung Dioxin dalam tubuhnya 100.000 kali lebih banyak dari lingkungannya. Demikian juga halnya dengan daging dan susu sapi akan tercemar Dioxin ribuan kali lebih banyak dari lingkungan sekitarnya.

Daging sapi, susu sapi dan ikan inilah kemudian dikonsumsi manusia. Akhirnya manusialah “pengumpul” Dioxin terbanyak, karena “berhasil” mengumpulkan Dioxin dari semua makanan yang dikonsumsi.

I.6. DIOXIN vs ALAM

Dioxin adalah bahan kimia yang sangat stabil dan kebal terhadap proses penguraian alamiah untuk suatu jangka waktu yang sangat panjang. Pemerintah Amerika Serikat dalam hal ini US-EPA (Environmental Protection Agency) memperkirakan Dioxin dalam tanah dapat bertahan terhadap penguraian alam untuk jangka waktu 10 tahun sampai dengan 30 tahun.

Karena rentang waktu penguraian yang demikian panjang maka Dioxin merupakan akumulasi bahan kimia yang sangat berbahaya bagi lingkungan hidup, walaupun setiap manusia di muka bumi ini hanya merupakan penyumbang kecil terhadap terbentuknya Dioxin.

Apalagi keadaan dimana sering kita jumpai industri dan manusia yang sengaja ataupun tidak telah memperbanyak Dioxin dengan cara-cara yang sangat menakutkan.

Dan menurut penelitian US-EPA, beruang kutub, n

ikan paus dan hewan maupun manusia di daerah yang terpencil telah mengandung kadar Dioxin yang sangat tinggi di dalam tubuh mereka.

I.7. SISTEM AKUMULASI DIOXIN

Dioxin tidak larut dalam air maupun udara, tetapi sangat mudah berinteraksi dengan lemak dan minyak. Titik didih dari Dioxin adalah pada suhu 305 derajat celcius dan destruksi termal baru terjadi pada suhu 700 derajat celcius, sehingga untuk menghancurkannya secara sempurna perlu suhu 1.000 sampai dengan 1.500 derajat celcius. Sebagai akibatnya, dalam jaringan otot semua makhluk hidup telah terkumpul Dioxin dan terus bertambah dengan konsumsinya atas semua makanan yang berminyak atau berlemak.

Menurut informasi US-EPA, suku asli atau pedalaman cenderung memiliki Dioxin dalam tubuh mereka jutaan kali lebih banyak dari Dioxin di lingkungan sekitarnya.

Lebih dari 90% dari Dioxin terbentuk dalam tubuh manusia berasal dari makanan seperti ikan, daging, susu dan produk olahannya.

Akibatnya, Dioxin akan terakumulasi dalam jaringan makhluk hidup dan berlipat dalam konsentrasinya setelah ia naik ke jenjang yang lebih tinggi dalam rantai makanan. Dengan begitu, makhluk hidup terakhir menjadi penampung kandungan Dioxin terbesar. Pada posisi inilah manusia berada.

Dengan begitu, mata rantai Dioxin dari sumbernya ke manusia tidak saja melalui udara dan air minum. Tapi

juga dari sayur, buah, daging dan bahan makanan lain yang tercemar oleh Dioxin. Ini memang jalur kuno bagi material beracun untuk bisa masuk ke tubuh manusia.

BAB. II

MEMAHAMI SISTEM DIOXIN FREE

II.1. KONSEP DIOXIN FREE

Metode ini merupakan ciptaan asli penulis, yang didaftarkan pada Departemen Kehakiman & HAM RI, dimana semua produk makanan, minuman, obat dan kosmetik haruslah berlabel “Dioxin Free”. Dengan demikian semua industri harus melalui fase-fase dimana produknya telah benar-benar bebas Dioxin, sebelum diberi label “Dioxin Free”.

Penulis mengusulkan Pemerintah, LSM untuk mendorong masyarakat untuk mengkonsumsi dan mempergunakan produk aman yang berlabel “Dioxin Free”, disamping parameter lain.

Yang dapat memberikan label “Dioxin Free” tentunya perusahaan dengan mempergunakan cara, metode, sistim dan prosedur yang diciptakan oleh penulis.

Adapun Metode Teknis Pengujian (MTP) dan Metode Perbaikan Sistem Produk Olahan (MPSP) merupakan langkah perbaikan produksi menuju “Dioxin Free” yang akan didaftarkan “Hak Paten”nya. Dan bagian ini akan dijelaskan penulis pada makalah tersendiri.

Yang dimaksud Dioxin Free adalah produk makanan, minuman, obat, kosmetik yang tidak mengandung Dioxin kalau dikonsumsi ataupun dipergunakan. Dioxin Free tidak mencakup pembungkus yang dapat dibuat menjadi Dioxin dengan sengaja.

Prosedur yang harus ditempuh untuk mencapai kategori “Dioxin Free” :

1. Pengujian bahan dasar dan bahan pembantu yang tidak mengandung atau mendorong terbentuknya Dioxin. Dengan demikian produsen diharuskan untuk membentuk laboratorium dan penguji sendiri.
Contoh : bahan untuk pembuatan mie instant adalah tepung terigu, bahan pewarna dan bahan-bahan lainnya. Kesemua bahan tersebut harus diuji secara sampling sebelum diperkenankan untuk diolah.
2. Pengujian alat dan proses pengolahan yang tidak mengandung atau mendorong terbentuknya Dioxin dalam makanan/minuman, obat dan kosmetik.
Contoh : bahan pengaduk dan pengocok mie instant haruslah terbuat dari bahan yang tidak larut dan tidak mencemari bahan baku pada butir 1 di atas.
3. Pengujian bahan pembungkus yang tidak larut ke dalam produk yang tersebut pada butir 2.
Contoh : bahan pembungkus bumbu atau cabe dari mie instant tersebut haruslah terbuat dari bahan yang tidak larut.
4. Pengujian proses pengisian ke dalam pembungkus yang tidak mendorong terbentuknya Dioxin.
Contoh : bumbu atau cabe dari mie instant tersebut jika diisi ke dalam kantong plastik dalam keadaan panas tentunya akan melarutkan pembungkusnya dan membentuk Dioxin.
5. Adanya pengujian hasil akhir yang tidak mengandung Dioxin.
Contoh : semua mie instant produksi akhir haruslah diuji secara sampling, sebelum didistribusikan.

6. Pengujian proses penyimpanan dan proses distribusi yang tidak mendorong terbentuknya Dioxin.
Contoh : pembungkus bumbu atau cabe mie instant haruslah teruji dan tidak larut karena goncangan dan perbedaan suhu dalam pengangkutan.
7. Pengujian prosedur konsumsi yang tidak mendorong terbentuknya Dioxin.
Contoh : mie instant banyak kita jumpai dalam gelas plastik dimana untuk mengkonsumsinya cukup ditambah air panas dan ditutup kembali. Keadaan ini cenderung akan membentuk Dioxin dalam mie tersebut.

Label “Dioxin Free” hanya boleh dipergunakan jika produsen telah lulus ketujuh prosedur yang tersebut di atas.

Semua produk yang berlabel “Dioxin Free” haruslah diuji ulang oleh Badan yang ditunjuk pemerintah setiap 12 bulan sekali dengan sistim sampling yang diambil dari supermarket, pasar-pasar tradisional.

II.2. LANGKAH-LANGKAH MEMBANGUN DAN MENGEMBANGKAN SISTEM DIOXIN FREE

Dari hasil penelitian literatur dan hasil observasi lapangan, penulis membagi usaha penanggulangan masuknya Dioxin ke dalam tubuh manusia menjadi 3 jalur, yaitu :

1. Menerapkan Dioxin Free pada setiap produk makanan, minuman, obat dan kosmetika.
2. Merobah pola makanan dengan pengurangan konsumsi lemak dan minyak.
3. Mengkampanyekan usaha lingkungan bersih Dioxin.

Jalur pertama merupakan hasil ciptaan murni penulis bukan saduran/jiplakan. Jalur pertama ini telah didaftarkan sebagai “Hak Cipta” pada Departemen Kehakiman & HAM RI. Menurut penulis jalur pertama merupakan usaha memutus mata rantai akumulasi Dioxin. Karena itu menurut penulis, kegiatan ini merupakan yang terbaik dari semua jalur yang mungkin ditempuh untuk mencegah masuknya Dioxin ke dalam tubuh manusia.

Sedangkan jalur kedua dan jalur ketiga merupakan usaha-usaha yang selama ini dianjurkan para pakar biologi/kimia, pakar kesehatan, pakar organisasi/LSM lingkungan hidup.

Menurut penulis jalur pertama akan semakin baik jika dilakukan bersama-sama dengan jalur kedua dan ketiga, walaupun jalur kedua dan ketiga tidaklah seefektif jalur pertama.

Perlu diingat bahwa jalur pertama ini memiliki kelebihan-kelebihan dibandingkan jalur kedua dan jalur ketiga, yaitu :

1. Pemerintah, LSM, YLKI dan masyarakat akan lebih mudah menentukan pilihan produk makanan, minuman, obat dan kosmetika yang benar-benar bebas Dioxin.
2. Mata rantai akumulasi Dioxin dapat segera diputus.
3. Konsumen tidak perlu harus memperoleh pendidikan tinggi ataupun tambahan pengetahuan untuk mengetahui produk yang mengandung Dioxin.
4. Konsumen tidak perlu merubah pola makanannya. Hal ini lebih mudah dibandingkan jalur kedua dimana konsumen harus diajak untuk merubah polanya.
5. Jalur pertama jika diikuti semua produsen maka akan

membutuhkan waktu yang lebih singkat dibandingkan usaha mengkampanyekan arti Dioxin yang kita jumpai pada jalur ketiga.

6. Menurut US EPA lebih dari 90% Dioxin masuk ke dalam tubuh manusia melalui makanan dan minuman sedangkan 10% adalah melalui kulit, pernafasan dan lainnya.
Karena itu usaha jalur pertama merupakan kegiatan yang paling efisien dan efektif.
7. Usaha mengkampanyekan “Dioxin Free” jauh lebih murah dan mudah.
8. Masyarakat dengan tanpa memandang jenjang pendidikan maupun kemampuan ekonomi dan sosial, akan lebih mudah mengingat label “Dioxin Free”.
9. Pemerintah akan lebih mudah dan tanpa biaya untuk mencegah penyakit yang ditimbulkan Dioxin.
10. Sasaran dan tujuan LSM yang mengkampanyekan kegiatan “Dioxin” akan lebih mudah tercapai.
11. Untuk industri makanan, minuman, obat dan kosmetika, label “Dioxin Free” merupakan “Nilai Tambah” terhadap konsumen dalam negeri. Sedangkan untuk konsumen luar negeri dan pemerintah luar negeri tentunya memberikan tambahan kepercayaan yang pada gilirannya mendorong ekspor dan devisa nasional.
12. Keadaan produk yang bebas Dioxin untuk jangka waktu yang panjang akan menciptakan manusia produktif tanpa penyakit, rendah biaya kesehatan dan terwujudnya generasi yang tidak memikul perubahan genetik yang mengerikan.

Dalam jalur kedua menganjurkan perubahan pola makanan dengan pengurangan konsumsi lemak dan minyak.

Menurut metode ini jika mengeliminasi makanan tertentu yang dianggap sebagai sumber residu Dioxin tidak

akan menyelesaikan masalah, malah justru bisa menambah masalah. Akibatnya seseorang dapat kekurangan zat makanan tertentu yang esensial, contoh : susu. Mengeliminasi susu bisa menyebabkan tubuh kekurangan kalsium dan laktosa yang sangat dibutuhkan bayi untuk mengembangkan sel-sel otaknya.

Menurut metode ini, solusi yang tepat adalah mencari susu rendah lemak, contohnya: SKIM. Bagi ibu hamil atau menyusui jangan minum susu yang “FULL MILK/FULL CREAM”. Karena yang dibutuhkan bukan lemaknya tetapi laktosa dan proteinnya.

Usaha lain yang mungkin dilakukan, yaitu :

1. meminimalkan atau mengurangi konsumsi makanan/minuman yang memiliki paparan Dioxin.
2. mengurangi konsumsi daging yang berlemak, jeroan dan kulit yang diolah. (Kerupuk kulit)
3. makanlah lebih banyak sayuran dan buah-buahan yang telah dicuci dan direndam dalam air bersih.

Pencegahan bisa diawali dengan melindungi tubuh dari kontaminasi Dioxin. Menurut Arnold Schecter, guru besar pengobatan pencegahan dari State University of New York Health Science Center di Binghamton, caranya dengan mengurangi atau kalau bisa menghindari konsumsi daging, ikan dan produk olahan susu. Alasannya, makanan tersebut memiliki konsentrasi Dioxin yang lebih tinggi dibandingkan dengan buah-buahan dan sayuran. Asisten Administrator EPA, Lynn Goldman, juga menekankan, kadar Dioxin dalam tumbuhan sangat rendah.

Dengan jalur ketiga, LSM, Pemerintah Mengkampanyekan Usaha Lingkungan Bersih Dioxin

Usaha-usaha lingkungan bersih Dioxin harus terus

menerus dilakukan, yaitu :

1. Pembakaran sampah plastik juga harus dihindari.
2. Pembakaran hutan dengan tujuan komersial harus dikurangi.
3. Hindarkan pengawetan kayu dengan PENTA-CHLORPHENOL.
4. Hindarkan deodoran dan medicated soap yang mengandung hexachlorphen.
5. Hindarkan obat anti jamur yang mengandung hexachlorbenzene.
6. Hindarkan penggunaan bahan-bahan yang mengandung DDT, ALDRIN, DIELDRIN, ENDRIN dan semua bahan yang dikategorikan PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS (POPS).
7. Hindarkan pembuangan oli bekas di sembarang tempat.
8. Semua klinik, rumah sakit dan laboratorium harus memiliki sistim pembuangan limbah yang tidak “memperkaya” Dioxin di lingkungan.
9. Semua pabrik pengolahan yang mengandung bahan chlorine dan PVC harus meningkatkan mutu dan fungsi fasilitas pengolahan limbah, sehingga semua limbah yang dilepas ke alam telah terbebas dari Dioxin. Cerobong udara pada pabrik-pabrik tersebut haruslah ditingkatkan mutu penyaringannya yang pada akhirnya udara di sekitar pabrik terlepas dari pencemaran Dioxin.

Contoh : - Pabrik Semen

- Pabrik Plastik

- Pabrik Pulp dan Kertas

- Pabrik Kabel

- Pabrik Tekstil

- Pabrik Logam

- dan lain - lain

10. Pemerintah wajib meningkatkan kontrol penggunaan

pestisida dan herbisida.

Langkah-langkah di atas harus segera dilakukan untuk menciptakan Lingkungan Bersih Dioxin, sungguhpun penulis sangat pesimis, hal ini dapat terwujud dalam jangka waktu tidak terlalu lama.

Hal ini dapat penulis jelaskan karena :

1. Ketidak mau tauhan pabrik dan pengusaha yang ada.
2. Kelemahan dan ketidakmampuan pemerintah baik dalam segi teknis maupun dana.
3. Keengganan pengusaha untuk menginvestasikan tambahan dana untuk meningkatkan fasilitas anti Dioxin.
4. Masih terbatasnya teknologi yang dimiliki pabrik tersebut di atas.
5. Lemahnya peraturan dan penegakan hukum yang berlaku.
6. Terbatasnya aparat pemerintah yang idealis, penuh tanggung jawab dan mengerti bahayanya Dioxin.
7. Lemahnya LSM lingkungan hidup dalam melobi pemerintah dan pengusaha untuk mewujudkan lingkungan bersih Dioxin.
8. Masih banyaknya masyarakat belum memahami bahaya Dioxin.

Sulitnya penerapan jalur kedua dan ketiga dalam mengatasi Dioxin ini, mendorong pengembangan jalur pertama yang penulis namakan konsep “Dioxin Free”.

Dengan dukungan pemerintah, LSM Lingkungan Hidup, YLKI, penulis yakin penerapan konsep “Dioxin Free” akan mencapai sasaran tidak bertambahnya kadar Dioxin dalam tubuh manusia dalam waktu yang tidak terlalu lama.

Dengan perkataan lain konsep “Dioxin Free” dapat mencegah jatuhnya korban yang lebih banyak karena ketidaksengajaan mengkonsumsi produk yang terlanjur mengandung Dioxin.

II.3. MANFAAT PENERAPAN SISTEM DIOXIN FREE

Dengan adanya penerapan Sistem Dioxin Free pada produk makanan, minuman, obat, kosmetika maka banyak manusia atau konsumen yang akan tertolong dari berbagai penyakit berbahaya seperti : kanker, perubahan genetik, kerusakan sel, menurunnya kekebalan tubuh, retardasi mental pada balita, kerusakan organ reproduksi pada generasi muda, kelainan janin, gangguan perilaku dll.

Penulis sangat berharap konsep-konsep pengujian pada berbagai makanan, minuman, obat dan kosmetika dapat dilakukan berdasarkan 7 langkah yang distandarkan pada setiap produk olahan.

Dalam pengembangannya akan dijumpai perbaikan yang terus menerus untuk setiap industri pengolahan produk. Walaupun berbagai jenis produk tersebut berlainan, namun konsep penerapannya tetaplah sama. Dan dalam hal ini sangat dibutuhkan keseriusan pabrikan untuk terus menerus melakukan pengembangan 7 langkah “Dioxin Free” tersebut.

Label Dioxin Free pada produk akan mendorong penjualan dan mengalahkan pesaing yang tidak menerapkan sistem “Dioxin Free”.

Pada pengusaha yang berkeyakinan kepada Tuhan Yang Maha Esa, memang sudah saatnya beramal bukan hanya dengan menyerahkan bantuan uang ataupun materi

lain tetapi juga harus menjual produk yang tidak menimbulkan penyakit pada orang lain.

Kita melihat banyak produk olahan baik makanan, minuman, obat maupun kosmetika yang mengandung paparan Dioxin ataupun dalam proses produksinya menyebarkan Dioxin ke lingkungan sekitarnya baik sengaja ataupun tidak.

Dengan menerapkan Konsep “Dioxin Free”, penulis berandai kalau “**karma**” itu ada, dia dapat mewujudkan “**akibat**“ kepada **semua orang** yang berjuang mencegah penyebaran penyakit yang disebabkan Dioxin.

BAB. III

PERSYARATAN STANDARD DARI DIOXIN FREE

III.1. RUANGLINGKUP

Persyaratan standar dari Sistem Dioxin Free adalah 7 langkah seperti yang telah dijelaskan pada Bab II.1. Langkah-langkah tersebut harus diterapkan untuk memastikan produk telah mengalami proses yang sesuai dengan konsep dan Sistem Dioxin Free.

Jika langkah-langkah tersebut tidak dapat diterapkan, manajemen harus dapat memastikan bahwa kualitas produk akhir harus lolos uji kadar Dioxin.

Sertifikasi Dioxin Free tidak akan diberikan kepada produk yang tidak lolos uji akhir tersebut.

III.2. METODE CHLOR FREE

Identifikasi Dioxin yang dilakukan dalam makalah ini mengacu pada metode yang dikembangkan Douglas G. Hayward, Center for Food Safety and Applied Nutrition Division of Pesticides and Industrial Chemicals (US - FDA) yaitu Quadrupole Ion Storage Mass Spectrometry/ Mass Spectrometry Application to the Analysis of all 17-2,3,7,8 substituted chlorodibenzo-p-dioxins (Dioxins) dan chlorodibenzofurans (furans) untuk produk susu dan bahan makanan berkadar lemak tinggi.

Pengujian atas kuantitas dan kualitas Dioxin dalam preparat membutuhkan peralatan dan biaya yang sangat tinggi. Salah satu peralatan yang dibutuhkan adalah mass spectrometry dengan harga yang cukup mahal. Dengan demikian perusahaan besar apalagi perusahaan kecil pasti mengalami kesulitan pengadaan peralatan tersebut.

Jika pengujian diserahkan kepada badan independen, maka biaya rutin yang harus dikeluarkan tetap dalam jumlah yang tidak sedikit.

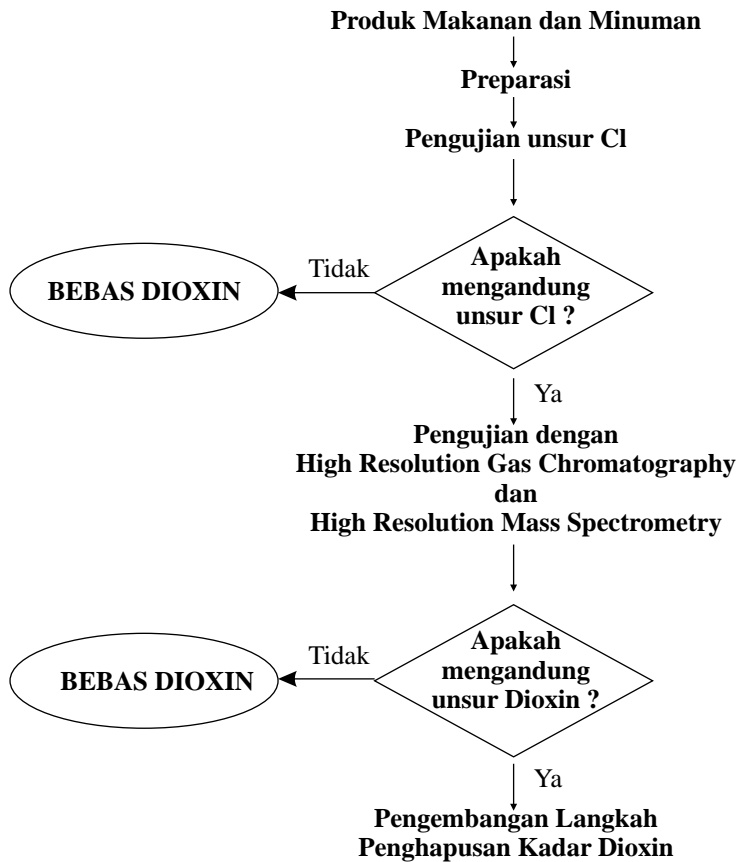
Menghadapi masalah ini penulis menciptakan metode pengujian awal sebelum melangkah ke pengujian Dioxin. Metode pengujian awal dapat diterapkan pada makanan dan minuman yang tidak mengandung garam NaCl dalam produknya.

Adapun pengujian ini didasarkan pada ada tidaknya kandungan unsur Cl (chloride / chlor) dalam produknya. Jika produk tersebut tercemar dengan kandungan unsur Cl maka pengujian baru akan dilanjutkan pada pengujian yang diterapkan US-FDA.

Dalam penerapan metode ini harus dicatat bahwa makanan dan minuman yang mengandung unsur Cl (chloride / chlor) belum tentu mengandung Dioxin karena bisa saja kandungan tersebut dalam bentuk NaCl (garam dapur). Tetapi setiap makanan dan minuman yang tidak mengandung unsur Cl dapat dipastikan tidak mengandung Dioxin.

Dengan cara ini biaya yang dikeluarkan untuk pengujian ini menjadi sangat rendah dan dapat dijangkau dan diterapkan pada semua produk minyak goreng. Walaupun sederhana, pengujian ini menurut penulis cukup efektif dan efisien.

Adapun Diagram Proses Implementasi Metode Chlor-Free adalah sebagai berikut : (lihat Gambar III.2.)



Gambar III.2. Diagram Proses Implementasi Sistem Pengujian Dioxin Free

Contoh Analisa Chloride di dalam Minyak Goreng

Ruang Lingkup Dokumen ini merupakan metode/prosedur yang dapat digunakan untuk mendeteksi kontaminasi air laut dalam minyak goreng. Metode/Prosedur ini dapat digunakan pada semua minyak-minyak, kecuali minyak-minyak yang diketahui telah diperlakukan dengan hydrochloric acid (misalnya, acid oils).

Prinsip Pengujian secara kualitatif keberadaan ion-ion chloride dalam kontaminan cairan berair yang terdapat dalam minyak-minyak. Jika keberadaan ion-ion chloride terdeteksi maka penetapan secara kuantitatif untuk chloride dan ion-ion lainnya mungkin saja dapat dilakukan asalkan banyaknya fase cairan berair yang terdapat dalam minyak mencukupi.

Referensi

- Official, Standardized and Recommended Methods of Analysis. The Society for Analytical Chemistry, London, 1973.
- Analysis of Raw, Potable and Waste Waters, HMSO, 1972.
- Methods for the examination of Water and Associated Materials. The National Water Council, Department of the Environment.
- Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 13th edition, Washington, 1980.

Reagensia

1. Larutan silver nitrate, AgNO_3 , $\pm 0.1 \text{ N}$
2. Nitric acid, HNO_3 , pekat

Peralatan

- Timbangan analitik, ketelitian sampai dengan 1/10000g

Cara Kerja • Penting adanya bahwa laboratorium menerima suatu sample yang sungguh-sungguh mewakili.

1. Jika sifat bawaan sample memungkinkan maka komponen cairan berair dan komponen minyak dipisahkan secara pemusingan atau membiarkan sample agar kedua komponen tersebut memisah dengan sendirinya. Ukurlah volume kontaminan cairan berair yang terdapat dalam sample.
2. Jika kontaminan jumlahnya sedikit maka kontaminan diekstrak dengan cara mengocok minyak dengan sejumlah aquadest, yang diketahui volumenya, yang bebas dari ion-ion pembentuk kontaminan agar diperoleh cairan berair yang volumenya mencukupi untuk keperluan pengujian. Pengenceran minyak dengan petroleum ether bisa membantu pemisahan lapisan cairan berair. Jika cara-cara tersebut memberikan hasil uji yang kurang memuaskan, maka minyak diabukan pada temperatur yang tidak melebihi 450°C. Abu dilarutkan dalam aquadest yang bebas ion-ion pembentuk kontaminan dan pengujian dilakukan terhadap larutan abu tersebut.
3. Secuplikan fase cairan berair diasamkan dengan beberapa tetes HNO₃ pekat, dan kedalamnya ditambahkan beberapa tetes larutan AgNO₃ 0.1N. Suatu endapan putih yang terbentuk yang mengeruh jika dihadapkan pada cahaya, khususnya sinar cahaya matahari (atau hanya berbentuk suatu kekeruhan jika larutan sample sangat encer) menunjukkan keberadaan chloride dan dapat diperkirakan bahwa sample mungkin telah terkontaminasi dengan air laut misalnya.
4. Perhitungan

$$\text{Kadar Chloride} = \frac{\text{ml titrasi} \times 0.1 \times 35.5 \times 100}{\text{Berat sample (mg)}}$$

III.3. SISTEM SERTIFIKASI DIOXIN FREE

Sistem Dioxin Free diharapkan dapat diaplikasikan kepada semua produk makanan, minuman & kosmetik dengan pelatihan dan penjelasan kepada semua produsen.

Pemahaman ini sangat penting untuk kepentingan semua pihak. Dalam proses penerapan Sistem Dioxin Free, produsen diharuskan mengadakan pendokumentasian semua kegiatan dan usaha-usaha yang telah dilakukan untuk itu.

Jika produsen telah menerapkan Sistem Dioxin Free, maka produknya akan diuji ada tidaknya kandungan Dioxin Free. Pengujian ini dapat dilakukan oleh tim yang dibentuk produsen itu sendiri.

Jika ternyata Konsep dan Metode dalam Sistem Dioxin Free telah dilakukan dengan baik maka produsen dapat mengajukan permohonan kepada Pusat Penelitian dan Pengembangan Dioxin Free untuk diuji implementasi dari Sistem Dioxin Free.

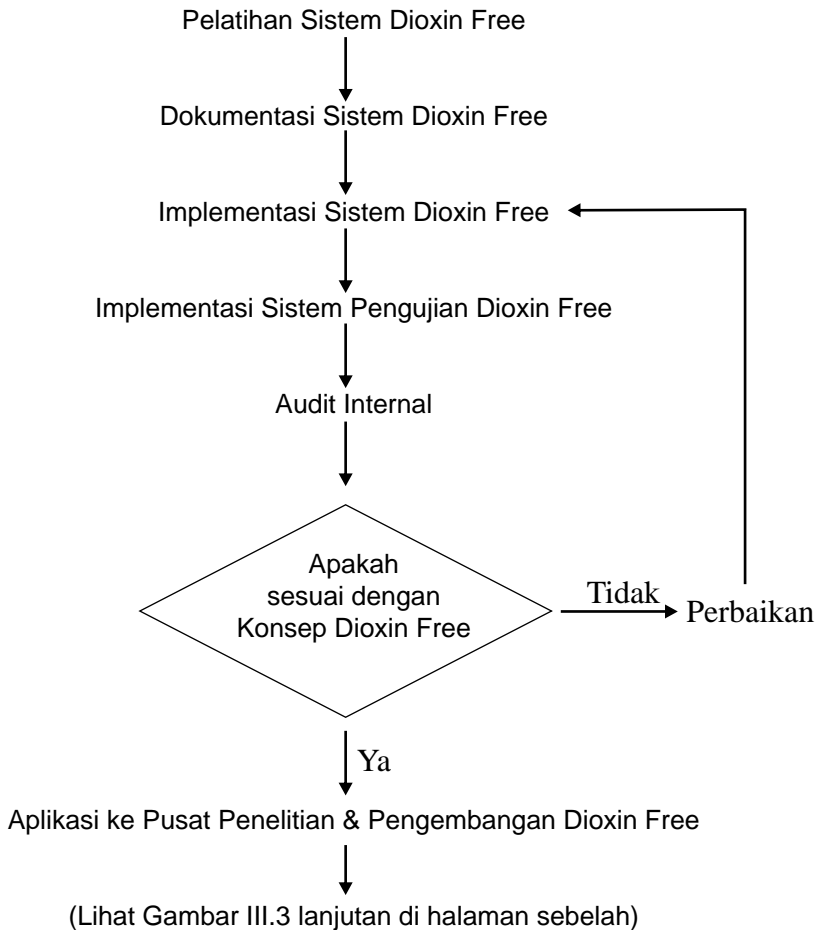
Pusat Penelitian dan Pengembangan Dioxin Free (P3DF) merupakan Badan Hukum yang memberikan sertifikasi label Dioxin Free. Tim P3DF akan menganalisa dan memberikan saran perbaikan untuk penerapan Sistem Dioxin Free. Jika produk akhir yang diuji P3DF tidak mengandung Dioxin maka Tim Ahli P3DF akan merekomendasikan pemberian sertifikat Dioxin Free.

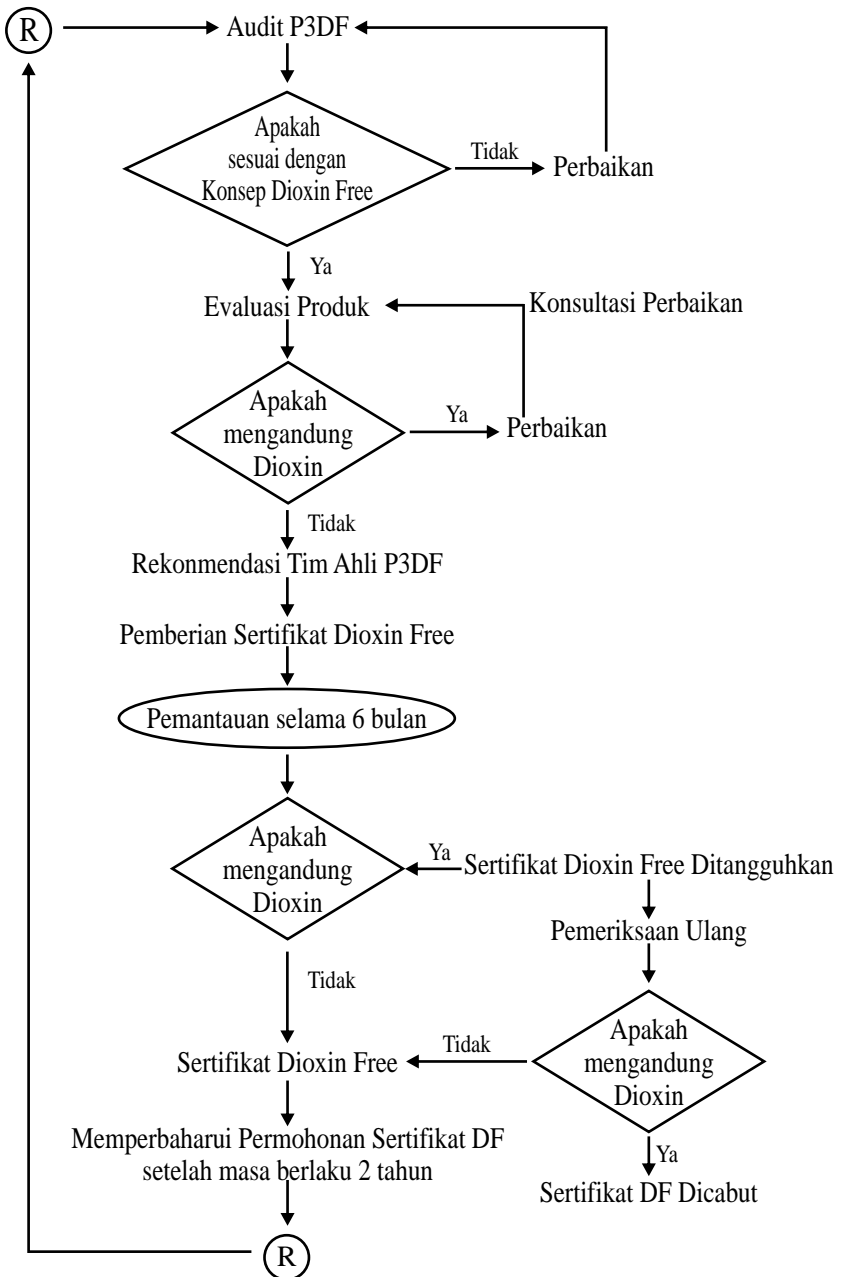
Dalam proses pemberian ini, P3DF akan terus menerus memantau produk tersebut selama 6 bulan. Jika hasil akhir menunjukkan produk bebas Dioxin maka pemberian sertifikat Dioxin Free akan diberikan untuk

masa berlaku selama 2 tahun.

Produk yang telah diberikan Sertifikat Dioxin Free tetap akan dipantau. Jika ternyata suatu saat produknya mengandung Dioxin, maka sertifikat Dioxin Free akan dicabut dan dilarang menggunakan label Dioxin Free.

Adapun diagram proses implementasi sistem Sertifikasi Dioxin Free adalah sebagai berikut :





Gambar III.3 Diagram Proses Implementasi Sistem Sertifikasi Dioxin Free

BAB IV

METODE PENGUJIAN KANDUNGAN DIOXIN

IV.1. Pengujian dengan US-FDA METHOD

Metode Pengujian ini dikutip dan disadur dari Laboratory Information Bulletin No. 4084 dari USA-FDA dengan persetujuan dari Douglas G. Hayward, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Division of Pesticides and Industrial Chemicals, Washington, DC.

IV.1.1. Dasar Pengujian

Pengujian dikenal dengan nama “Quadrupole Ion Storage Mass Spectrometry / Mass Spectrometry Application to the Analysis of all 17-2,3,7,8 substituted Chlorodibenzo-p-dioxins (Dioxins) and Chlorodibenzofurans (furans) in Diary Products and High Fat Foods”.

Pengujian ini dikembangkan oleh Douglas G. Hayward dari Pusat Pengamanan Makanan & Penerapan Nutrisi Divisi Pestisida dan Kimia Industri US-FDA (Badan POM Amerika Serikat).

Selama lebih dari 25 tahun US-FDA (Pengawasan Obat & Makanan Amerika Serikat / POM) mengawasi Dioxin & furans pada ikan dan makanan lain.

Analisa terbaru untuk mengukur sisa pestisida organik diterangkan dalam FDA PAM I yang memerlukan sebuah langkah ekstraksi umum dan langkah pemurnian diikuti dengan separasi GLC dengan detektor khusus atau lebih dari sebuah HPLC. Pendekatan ini mengurangi biaya dan lebih mudah untuk mengukur sampai sepertrilyun (ppb / parts perbillion) yang dibutuhkan dalam Metode

Batasan deteksi (Method Detection Limits / MDLs).

Semua metode FDA terdahulu tidak menunjukkan semua substitusi Dioxin/ furans/ 17-2,3,7,8 chlorodibenzo-p-dioxins/ furans (Firestone 1979, Niemann 1983).

Jasinski (1989) mencoba memodifikasi methodology FDA yang ada, tetapi prosedur yang dicapai tidak dapat meliputi semua senyawa dan lebih sulit digunakan dibandingkan metode aslinya.

Gardner menerbitkan sebuah LIB (3990) (1996) yang menjelaskan cara yang lebih baik dalam pengambilan sample.

Penemuan Gardner menggunakan teknik pencampuran dan ekstraksi untuk Dioxin yang ditemukan oleh Smith (1984) digabung dengan ruang pemurnian dan penyerapan dari Lamparski (1979, 1980), selain itu juga tanpa menggunakan bahan silica Dasar. Langkah terakhir pada Metode Gardner menggunakan carbon dan alumina sebagai pengganti 2 tahap HPLC pada metode sebelumnya (Niemann 1983).

Prosedur di atas dapat mengidentifikasi semua Dioxin dan furans termasuk non ortho PCBs (Smith 1984). Metode hanya menggunakan GC/MS dan itu sebabnya memerlukan pemakaian $^{13}\text{C}_{12}$ Dioxin dan furan standards yang tersedia (biasanya ada 15). Alat untuk separasi dan metode pendeteksian yang dipilih adalah HRGC (50 atau 60 M batasan) dan High Resolution Mass Spectrometry / HRMS. Penggunaan HRMS memperbolehkan pengurangan dari ion yang diawasi dari 10 menjadi 5 (257, 259, 320, 322, 324 pada kasus dari 2,3,7,8-TCDD).

Biaya yang nyata dalam pembelian dan pengoperasian HRMS ini membatasi analisa Dioxin yang dapat dilakukan bahkan pada prosedur penyediaan contoh yang paling

Peralatan quadrupole ion storage (ion trap) merupakan alat mass spectrometers (MS) yang paling murah di pasaran saat ini. Alat ini dapat dibeli dan dioperasikan dengan biaya yang sama dengan sebuah GC yang memiliki auto sampling dan computer pengendali.

Formasi dan penyimpan ion di atas detektor disamping menterjemahkan (quadrupole LRMS dan sektor HRMS) juga memiliki perangkap ion (ion trap) yang sangat peka (very high sensitivity) dimana kekhususannya dan kepekaannya dapat ditingkatkan untuk target analisis dengan menggunakan MS.

Langkah prosedur berikutnya akan menjelaskan jumlah Dioxin di dalam produk susu pada ukuran 0.2 s/d 2 ppt dengan menggunakan quadrupole ion storage MS / MS. Lima induk ion akan dimonitor setiap 2.5 detik dengan menggunakan $^{13}\text{C}_{12}$ dilusi isotop berlabel. Isomer khusus akan membagi semua Dioxin pengganti 2,3,7,8 dan furans dalam waktu 40 menit dengan menggunakan ruang capillary 40 minibore DB-5ms.

IV.1.2. Ikhtisar Pengujian

Bahan keju Amerika yang dibuat dengan mengacu pada metode gardner (LIB 3990), susu lembu, minyak kacang dan mentega disiapkan dengan metode modifikasi (Hayward 1995) dari Smith (1984). Dalam hal ini susu lembu diekstrak dengan prosedur AOAC (1993) dan pemurnian langsung dengan silica gel, carbon AX21 di atas fiber kaca diikuti dengan campuran sulfuric acid dan silica gel dan terakhir alumina penetral.

Semua contoh diperkuat dengan Dioxin pengganti $^{15}\text{C}_{12}$ berlabel 2,3,7,8 dan furans.

Methylene chloride yang terpisah dari alumina dipersiapkan sesuai metode Gardner atau Hayward dalam jumlah 5 ml zat aktif dengan kandungan 5 μL standard perbaikan dalam nonane dan 2 μL dari tetradecane. Kelebihan cairan ini dibuang di bawah aliran nitrogen dan contoh akan terkumpul kembali ke 10 μL dengan nonane.

Tiga μL ekstrak akan diteliti dan dianalisa dengan GC/MS/MS. Program penjumlahan Saturn 5.1 akan digunakan untuk menghitung jumlah zat asli. Perbaikan dari $^{13}\text{C}_{12}$ berlabel standar akan dihitung secara manual.

Langkah-langkah selanjutnya untuk penyediaan bahan, regen dan perlengkapan dilakukan sesuai dengan metode Hayward (1995). Semua bahan, regen dan perlengkapan adalah sesuai atau sama dengan yang dilakukan dalam metode LIB 3981 dan 3990.

IV.1.3. Pengamanan Pengujian

Para analis harus mengambil langkah pencegahan yang dianggap perlu untuk mencegah hal yang mungkin terjadi pada diri sendiri atau pada orang lain, karena adanya bahan yang diduga mengandung PCDDs atau PCDFs. Tempat pembuangan limbah khusus mungkin bukan merupakan suatu alat yang memuaskan untuk pembuangan bahan yang terkontaminasi tinggi oleh PCDDs atau PCDFs. PCDD/Fs sangat beracun dan dapat menyebabkan chloracne dan diduga penyebab carcinogenic dan teratogenic. Bahan yang mengandung zat tersebut biasanya juga mengandung PCBs atau senyawa beracun lainnya.

Memegang bahan ini harus dengan cukup hati-hati untuk menghindari kontak dengan kulit dan terhisapnya melalui debu dan udara.

Dalam kondisi normal, penguapan yang lambat mencegah penguapan PCDD/Fs ke dalam atmosfer. Perlindungan khusus selama penyediaan bahan percobaan, bahan kimia dan peralatan laboratorium lainnya meliputi baju lab berlengan panjang, penutup kaki, kacamata dan sarung tangan dari butyl nitrile atau bahan pelindung cairan yang tahan terhadap bahan kimia.

Penyediaan bahan percobaan dan bahan kimia menimbulkan potensi racun dalam bentuk debu, udara dan uap. Jika terjadi kontak kulit dengan PCDD/Fs atau racun lain, maka harus dicuci dengan sabun dan air bersih yang mengalir selama beberapa menit. Setelah proses uji lab selesai, para analisis juga harus mencuci tangan dengan sabun dan air bersih.

PCDD atau sisa penelitian atas bahan-bahan tersebut harus ditempatkan sebagai “limbah PCB”.

IV.1.4. APPARATUS (Perlengkapan Laboratorium/ Pengujian)

1. Peralatan Sampling

- A. Sample biologi membutuhkan container/ stoples yang tahan beku yang terbuat dari teflon atau kaca dan memiliki kelengkungan pada semua sisinya. Container tersebut harus dicuci dengan air bersih. Jika terbuat dari bahan Borosilicate glass, maka container tersebut harus dipanaskan pada suhu 550°C selama 2 jam.
- B. Container harus memiliki penutup yang dapat diputar dan permukaan yang licin di dalamnya. Jika sampel telah diisi ke dalam container, tutup container harus segera ditutup rapat dan diselotip.
Peralatan sampling harus bebas dari bahan

polyvinyl chloride, tabung karet dan material yang dapat mengkontaminasi sampel atau bersifat menyerap.

Semua peralatan yang terbuat dari kaca harus dicuci dengan detergen dan dicuci dengan air yang telah diionisasi.

2. Teflon separatory funnels screw capped, 500 ml dan 1 L dengan pemutar stop terbuat dari teflon.
3. Pipets, disposable
 - A. Pasteur, s $\frac{3}{4}$ " long x 5 mm ID, controlled drop (VWR Scientific No. 14672-608 atau equivalent), digunakan untuk silica dan kolom alumina dan Narrow_tip, panjang $5\frac{3}{4}$ " dan 9" untuk transfer sample.
 - b. Serological, 10 dan 25 ml (pyrex, "shorty", VWR scientific), digunakan untuk kolom cleanup dan dengan teflon sleeve untuk mencuci reservoirs.
4. Reacti vials, 5 ml, clear glass (altech).
Vials ini harus memiliki bagian bawah yang meruncing untuk mengumpulkan bahan sample sampai dengan 10 μ L dan dapat mengeluarkan 2 μ L aliquots (kelipatan 2 μ L) untuk injeksi.
5. Glass vials, 40 ml, 8 ml dan 1.5 ml, jernih dan satu warna dengan solid teflon lined screw caps.
6. Ampoules, 2 ml dan 5 ml.
7. Glass fiber filter sheets, 8" x 10" (nuclepore) dan discs: 12.5cm dan 4.7 cm (nuclepore SN211107); dan silanized glass wool.

8. Wrist action shaker (VWR No.57040-049 atau equivalent).
9. Rotary vacum evaporator (Buchi RE-III A atau equivalent) dengan liquid nitrogen traps untuk penguapan cairan dan air, yang dapat dipanaskan sampai dengan 40°C.
10. Econo-column racks (Bio-Rad) untuk pasteur kolom pipet (silica/alumina cleanup).
11. 300 mm x 48 mm glass kolom chromatographic dengan teflon fittings pada semua sisinya (KONTES).
12. Polytron homogenizer (Brinkmann Instruments).
13. Rotary vane pump (Stokes pump).
(kapasitas 0.01 torr) untuk rotary evaporator (Edwards E2M2 atau equivalent) atau water aspirator.
14. Nitrogen blowdown apparatus (N-Evap Analytical Evaporator, Model 112, Organomation Associates Inc., Northborough, Massachusetts atau equivalent) dengan sand bath, yang dapat dipanaskan sampai 40°C dan Tabung teflon yang disambung ke traps dan gas regulator.
15. Low pressure gas regulator dengan control 0-30 psig, stainless steel diaphragm (j+w Scientific).
16. Solvent Reservoir (digunakan untuk pengisian cairan ke dalam kolom carbon / lihat gambar 2); 125 ml separatory funnel, dengan leher kontrol dan kran pemutar dan ½" heavy wall glass tubing (12.7 mm OD, dengan kemampuan alir ½" union ; 9.0 mm OD, sampai dengan ⅜" union). Atau kontes / ACE kolom

(50 ml atau lebih) yang mampu untuk $\frac{1}{8}$ " teflon tubing.

17. Stainless steel pengurangan union (swagelok) dengan teflon ferrules : $\frac{3}{8}$ " s/d $\frac{1}{8}$ " dan $\frac{1}{2}$ " s/d $\frac{1}{8}$ ".

18. Hamilton HVP 4 lobang di belakang dan 4 lobang valve 2 arah dengan PTFE plugs, $\frac{1}{8}$ " HPLC tubing adapters dan $\frac{1}{8}$ " clear teflon tubing.

19. Reusable Carbon Column. Ace Glass Column (1.1 cm ID x 6 cm special order) yang dapat disambung ke teflon fitting yang digunakan. Reusable ACE kolom dibungkus bersama 50 mg AX 21 carbon butiran di dalam 600 mg serat kaca. Serat ini diperoleh dari Lembaran serat kaca (GELMAN Corp.) yang dipotong menjadi ukuran kecil (0.5 s/d 1 cm) dan dilarutkan di dalam 75 ml 50 dichloromethane dengan polytron homogenizer. Cairan yang berlebih dibuang dan AX 21 carbon dicampur dengan serat. Bagian yang tidak dapat larut dibungkus ke dalam ACE kolom (tweezers digunakan untuk memindahkan serat dan carbon). Pembungkusan membutuhkan hanya 3 cm dari 1.1 cm kolom ID; sisa volume diambil dengan 11 mm glass fiber discs. Discs tersebut dapat dipotong dari 8 x 11 inci lembaran filter serat kaca dengan menggunakan pembuka minuman (cork borer). Kolom masih dapat digunakan kembali jika bagian yang kosong tidak kotor.

20. Heating Tape, Flexible; 0.5" lebar x 2" (thermolyne)

21. Muffle furnace, pemanas s/d 550°C yang memiliki program temperatur dan oven, pemanas s/d 130°C.

22. Gas Chromatograph / Mass Spectrometer / Data System.

A. Gas Chromatograph : harus memiliki program temperatur dan semua perlengkapan termasuk syringes, gases, dan fused silica columns capillary (DB-5 ms 40 meter x 0.18 mm, 0.18 μ m film thickness). Temperatur diprogram untuk pemisahan bahan kimia yang berkaitan pada temperatur 140°C 2 min, 20°/min s/d 260°C, 1°/min s/d 300°C.

Program temperatur untuk khusus pemisahan isomer dari campuran yang rumit : 140°C 2° min, 20°/min s/d 200°C, 5°/min. s/d 240°C, 10°/min s/d 280°C 12 min.

Dianjurkan pemisahan dengan membrane yang dapat diprogram pada injeksi kolom atau injeksi terpadu.

B. Mass Spectrometer :

Quadrupole ion storage (ion trap) adalah alat yang menggunakan 70 volts (nominal) electron energy di dalam benturan elektron (Electron Impact /EI) untuk ionisasi.

Saturn 4D GC/MS dengan versi 5.1 atau versi di atasnya dengan opsi MS/MS.

Sistem tersebut harus mampu memonitor serentak beragam reaksi untuk 5 ion (Multiple Reaction Monitoring /MRM) dalam waktu 0.5 detik.

Waktu Maksimum integrasi dari MRM adalah 125 ms per m/z.

Satu set dari sejumlah tayangan segmentasi MRM harus digunakan untuk menghilangkan kebutuhan untuk injeksi berulang atas satu ekstrak sampel (tabel IV).

IV.1.5. Reagents dan Material

1. Silica gel 60 (70-230 mesh) (EM Science 7754-3), soxhletex tracted atau pencucian awal dengan dichloromethane / cyclohexane atau cairan sejenis dan disimpan pada suhu 130°C.
2. Acid Silica Gel : Sulfuric Acid (ACS)
Dengan perbandingan berat 40:60, concentrated ACS (98%) dicampur dengan silica gel. Campuran dibuat homogen dengan alat pengocok mekanik selama 30 menit.
3. Methylene chloride, hexane, benzene, methanol, acetone, toluene, acetonitrile xylene (Burdick and Jackson yang sangat murni atau sejenis) ethanol (Gold Shield) dan ethyl ether (Mallinckrodt lebih diutamakan), didestilasi / disuling di dalam gelas dimana kemurnian tertinggi yang dapat dicapai untuk analisa residu organik.
Tetradecane, nonane dan isooctane yang tinggi kemurniaannya.
4. Standard Stock dari campuran konsentrat dibuat dengan Cambridge Isotopes. Konsentrat (200 ng/ml ^{12}C native dicampur ^{17}C standard yang berkaitan), 40 ng/ml TCDD + TCDF 400 ng/ml OCDD, OCDF disimpan di tempat gelap pada suhu 4°C, di dalam ampul atau ReactiVials ukuran 1 ml.
Primary $^{13}\text{C}_{12}$ dicampur standard (100 ng/ml untuk contoh) dan kalibrasi internal terakhir akan dibuat pada 25 ng/ml di dalam volumetric flask 1 ml. Kelipatan darinya untuk mencampur stok standard dikombinasikan di dalam jumlah bervariasi dari nonane untuk menyediakan kurva kalibrasi yang

sesuai.

$^{13}\text{C}_{12}$ berlabel standard akan dipertahankan pada 25 ng/ml pada semua solusi Kalibrasi. $^{13}\text{C}_{12}$ berlabel dianalisa dapat diperoleh dari Cambridge Isotope Laboratory, Woburn, Massachusetts, EDF, 5999,7999,8999.

5. Potassium Silicate (penyerap tambahan) (semua operasi harus dapat bebas dari air).

Larutkan 56.6 g KOH di dalam 300 ml methanol, masukkan ke dalam botol labu ukuran 1 liter.

Tambahkan 100 g silica gel 60 (70-230 mesh), diaduk dan dihancurkan dengan tangkai kaca.

Tempatkan di penguap yang berputar dengan botol labu yang dicelupkan di air yang bersuhu 60°C dan berputar selama 105 menit pada tekanan atmosfer.

Suspensi kemudian menuang dengan cepat ke dalam Kolom chromaflex (yang besar) yang terhubung ke Nuclepore filter disc dan tersambung ke saluran nitrogen.

Cuci penampung dengan sejumlah methanol (cek pH dari cucian methanol) diikuti dengan dichloromethane (perhatian : bahan tersebut harus dicuci dengan methanol untuk membuang sisa KOH karena OCDD, HpCDD dan HxCDFs tertentu akan beraksi dan diserap tanpa dapat dipisahkan lagi).

Pompakan nitrogen ke dalam Hood. Simpan penyerap di dalam oven pada suhu 130°C.

6. Penyediaan sampel\ dengan Metode Smith dan Stalling (carbon column system). Kontes kolom chromaflex , 4.8 cm x 30 cm (atau 60 cm) dan penyedia cucian (corong pemisah yang dimodifikasi, botol labu, atau ACE yang kecil atau kontes kolom 100-250 ml) dihubungkan dengan $\frac{1}{8}$ " Tabung berdinding teflon ke valve 4 lobang 2 arah dengan menggunakan

sambungan PTFE. Kemudian disambung ke valve Hamilton 4 lobang 4 sisi untuk memungkinkan penyambungan ke kolom chromaflex yang besar atau washing reservoir (penyedia cucian).

Valve 4 sisi memiliki kolom carbon melekat pada 2 sisinya, sementara sisa keempat memiliki bukaan di sebelah kiri untuk menampung cucian (figure 2).

7. Kolom chromaflex dan washing reservoir dilengkapi dengan $\frac{1}{8}$ " tabung teflon dengan valve jarum pengontrol, yang memungkinkan aliran gas nitrogen bertekanan rendah.
8. Kolom carbon dicuci dengan pelarut (sebelumnya gunakan kolom dengan 100 mL toluene, 50 mL methanol, 50 mL 50:50 dichloromethane/hexane) dengan arah yang berlawanan dengan masuknya sampel.
9. 2 buah glass fiber filter disc ditempatkan di dasar dari penyambungan kolom chromaflex (lihat figure 2, sampel\ kolom), dan sambungan disisipkan ke dalam kolom glass. Sodium sulphate (tanpa air) dituang ke dalam kolom setinggi 2 cm.
Silica gel (30 g) kemudian dimasukkan, dan diikuti sodium sulphate sampai ketinggian 2 cm (tambahkan 5 g potassium silicate dan lapisinya kerang dengan sodium sulphate setebal 1 cm). Untuk sampel\ susu, hanya menggunakan sodium sulphate, dan tidak menggunakan silica gel.
10. Woelm Activity I Neutral Alumina (ICN Chemicals).
Setelah dibuka, simpan Activity I alumina pada suhu 130°C.
11. Penyediaan Silica/Kolom Alumina.

Bungkus setiap dari kedua Pipet Pengontrol Tetesan Pasteur dengan glass wool plug dan 0.5 cm Na_2SO_4 (tanpa air).

Satu pipet kemudian dibungkus dengan 2 cm (± 0.5 g) Woelm Activity I Neutral alumina diikuti dengan 0.5 cm Na_2SO_4 .

Pipet yang lain diisi dengan 2.5 cm acid silica gel dilanjutkan dengan 0.5 cm Na_2SO_4 ; 2.5 cm potassium silicate (optional) dan 0.5 cm Na_2SO_4 (figure 3).

12. 25 ml Reservoir (disposable pipet yang pendek, yang dapat naik turun dengan ujung yang mudah diatur) dihubungkan ke kolom silica dengan OD teflon sleeve $\frac{1}{4}$ " dan bersihkan kolom dengan 10 ml hexane.

Pastikan gelembung udara tidak terjadi & saluran tidak terjadi gelembung udara.

Buanglah cairan cucian hexane dan gunakan kolom secara tepat.

13. Gas nitrogen murni (99,9995%) & gas helium (99,9995 atau 99,9999%), disaring melalui oxygen dan perangkat hydrocarbon.

14. Sodium sulphate tanpa air (reagent grade) dibakar selama 2 jam di muffle furnace (tungku perapian) pada suhu 550°C dan disimpan pada suhu 130°C .

15. Sodium oxalate (analytical reagent).

IV.1.6. Kalibrasi

Dua tipe prosedur kalibrasi akan diperlukan. Kalibrasi awal dibutuhkan untuk membentuk kisaran liner dari GC/MS dan dibutuhkan melalui analisis sampel sebagaimana dinyatakan oleh

hasil prosedur kalibrasi rutin. Kalibrasi rutin terdiri dari penganalisaan larutan pengecek performan kolom dan larutan kalibrasi 2 ng/mL. Standar performan kolom umumnya tidak dibutuhkan untuk analisis jaringan vertebrata, cairan dan sekresinya. Campuran abu terbang standar diketahui mengandung sejumlah isomer yang digunakan untuk menilai performan kolom dan mendefinisikan celah pembuangannya. Response factor akan diverifikasi dari standar kalibrasi tunggal yang diinjeksikan selama analisis. Response factor yang diperoleh haruslah berada di dalam 30% dari yang diperoleh dari kalibrasi multi level.

Kalibrasi awal memerlukan persiapan standar kalibrasi multi level yang dapat mempertahankan standar perolehan dan standar awal ada konsentrasi 25 dan 400 ng/mL. Kualifikasi yang tepat menuntut pemakaian isomer berlabel spesifik untuk setiap congener untuk dapat ditentukan. Ketika PCDD dan PCDF label dari setiap homolog tidak tersedia, pemakaian PCDD atau PCDF closet sesuai dengan teknik dilusi isotop. Setiap standar kalibrasi haruslah memuat senyawa seperti yang tercatat dalam table 1.

Level konsentrasi untuk analyte standar 12C adalah 2,10,25,75 ng/mL untuk elektron impact MS2. Dua μ L injeksi standar kalibrasi akan dibuat. Standar haruslah dalam pelarut yang sama seperti ekstrak sampel akhir. Semua standar haruslah disimpan di dalam refrigerator terisolasi pada suhu 4°C dan dilindungi dari cahaya matahari. Sensitivitas MRM yang dapat diterima diverifikasi oleh pencapaian rasio sinyal minimum dengan kebisingan sebesar 10:1 untuk m/z 259 ion 2,3,7,8 TCDD yang diperoleh dari injeksi dua μ L dari standar kalibrasi 2 ng/mL (0.8 pg dari 2,3,7,8 TCDD).

Dari injeksi 4 kalibrasi standar, hitunglah Relative Response Factor (RRF) dari analyte melalui standar internal yang sesuai. Perhitungan relative response factor adalah diturunkan dalam bagian perhitungan. Lihat table II untuk contoh response factor khusus pada kisaran kalibrasi.

Untuk setiap analyte hitunglah relative response factor rata-rata, standar deviasi dan koefisien variasi dari determinasi relative response factor. Koefisien variasi dari relative response factor untuk setiap larutan standar kalibrasi haruslah tidak melebihi 30 persen. Jika kondisi ini tidak terpenuhi, maka aksi remedial haruslah digunakan (misalnya pengecekan integrasi dari respon ion atau pengecekan standar dengan instrumen lain atau persiapan standar dari sumber atau instrumen pengecekan yang berbeda terutama data akusisi). Pada tingkat minimum, kriteria kalibrasi haruslah dapat memenuhi satu standar yang memuat semua analyte konsentrat yang berhubungan dengan level sampel.

IV.1.7. Kalibrasi rutin

Injeksi 2 μL aliquot dari campuran pengecekan performan kolom (abu terbang, figure 1). Dicapai pada level lima dengan data yang ditunjuk untuk setiap puncak GC.

Catatan : parameter akusisi data yang sama seperti yang dijelaskan sebelumnya untuk menganalisa larutan kalibrasi konsentrat selama kalibrasi awal haruslah digunakan untuk larutan pengecekan performan. Tentukan dan dokumentasikan kinerja kolom yang dapat diterima.

Injeksikan 2 μL aliquot dari larutan standar kalibrasi (konsentrat tengah dari kisaran kalibrasi seperti 10 ng/mL). Tentukan dan catat kalibrasi yang dapat diterima seperti dinyatakan di atas yaitu sensitivitas MRM dan kriteria jumlah ion relatif. RRF yang telah diukur untuk semua analyte haruslah dalam 30 persen dari nilai rata-rata yang ditetapkan oleh analisis awal dari larutan standar kalibrasi.

Kriteria untuk kalibrasi yang dapat diterima : % CV untuk relative response factor rata-rata haruslah tidak melebihi $\pm 30\%$. S/N untuk sinyal GC hadir pada setiap profil arus ion tunggal (SICP) (termasuk salah satu untuk standar berlabel) yang harus

setidaknya mencapai 10 (Lihat table III dan IV untuk daftar dari ion lain yang terkait yang terdeteksi pada 2 ng/nL).

IV.1.8. Ekstraksi dan Tambahan Internal Standard

Duapuluh lima gram bagian test dari padatan lemak tinggi (butter, keju, dll) dihaluskan dan kemudian dihomogenisasi dengan polytron homogenizer atau dilarutkan dalam 50:50 dichloromethane/hexane (8 mL per g jaringan, berat basah) hingga tersuspensi di dalam larutan. Sodium sulphate dimasukkan hingga mencapai rasio 4 g (8g untuk bagian test dengan kelembaban > 50%) $\text{Na}_2\text{SO}_4/\text{g}$ padatan yang telah diperoleh. homogenisasi terus berlangsung hingga sampel akan menjadi serbuk yang mengalir bebas yang tersuspensi di dalam pelarut ekstraksi. Sampel ini akan difortifikasi dengan 100 pg $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8 – dengan PCDD dan PCDF yang telah disubsitusikan. Pindahkan ke 30 cm kolom ekstraksi kontes.

Sampel susu diaduk sebelum ekstraksi dimulai. 200 g (atau lebih baik 150g) sampel susu dipindahkan ke botol Teflon mulut pipih 500 ml dan 1 g natrium oksalat ditambahkan, diikuti dengan ethanol dalam jumlah yang sama. Volume 50:50 hexane/ethyl ether ditambahkan dan campuran diaduk pada pengaduk mekanis selama 15 menit. Fase ini dipisahkan dan fase cair diekstrak dengan $\frac{1}{2}$ g volume ekstraksi original 50:50 hexane/ ethyl ether dengan dua penambahan. Masing-masing fase organik yang terpisah diberikan pada sampel 30 cm kolom kontes (yang mengandung 5 cm Na_2SO_4).

Enam kuning telur ayam dipisahkan, dicampur dan 25 g ditimbang ke dalam botol Teflon 500 mL. Diperkuat dengan 100 pg/congener $^{13}\text{C}_{12}$ yang berlabel 2,3,7,8 dengan standar campuran PCDD/F campuran. Tambahkan 250 mL 50:50 dichloromethane dan n-hexane dan aduk atau campur selama 10 detik dengan polytron homogenizer. Tambahkan 6 gram anhydrous natrium

sulphate per gram kuning telur dan campur dengan polytron 20 detik. Decant supernatant ke dalam 30 cm kontes chromoflex ekstraksi kolom yang mengandung 30 g silica gel 60 dengan 2 cm natrium sulphate di atas dan di bawah lapisan silikat. Tambahkan 50 ml pelarut ekstraksi pada sampel dan aduk seluruhnya dan decant ke dalam kolom ekstraksi. Kuning telur yang dipersiapkan dengan prosedur ini akan selalu mengandung partikel protein halus yang tersuspensi dalam supernatant selama ekstraksi. Perlu diperhatikan bahwa gumpalan bahan tersebut yang berada akan memperlambat aliran di dalam kolom. Jika curahan halus tidak mengalir (dalam 5 menit), maka sentrifugal botol sampel selama 5 menit pada kecepatan rendah.

Dua puluh lima gram bagian test dari fillet ikan homogenisasi dihaluskan dan dihomogenisasi dengan polytron homogenizer (20 mg CD generator) ke dalam 50:50 dichloromethane/hexane (10 ml/g jaringan) hingga halus seluruhnya. Sodium sulphate dimasukkan ke dalam porsi yang kecil dan dicampur dengan porsi test (10 hingga 20%) hingga mencapai rasio 8 g/ g jaringan berat basah. Homogenisasi berlangsung hingga sampel menjadi suspensi homogen yang mengalir bebas tanpa gumpalan. Sampel kemudian diperkuat dengan standar PCDD/F berlabel 2,3,7,8 dengan empat picogram per gram berat basah. Pindahkan seluruh sampel dan ekstrak pada kolom kontes 60 cm yang dikemas di bagian atas dan bawah dengan 2 cm sodium sulphate, 5 g potassium silicate, 1 cm sodium sulphate, 30 g silica gel 60 dan 2 cm sodium sulphate.

IV.1.9 Pengayaan kolom carbon

Sebelum sampel diberikan, kolom chromaflex diencerkan dengan 75 mL hexane. Katup ditutup sebelum level cairan berkurang tepat di bagian bawah bed kolom. Ekstrak sampel diberikan. Ini dilewatkan secara perlahan (2-3 mL/menit) melalui kolom chromaflex, dengan meninggalkan komponen polar dan tidak larut yang terikat pada bed k`olom. Ekstrak ini dimasukkan

ke kolom carbon, meninggalkan PCDD, PCDF dan juga lipid polar yang diikat pada carbon AX21. Pelarut pengencer mengalir melalui tabung pengumpul. Enceran ini dibantu dengan gas nitrogen pada 1-5 psig. 50 mL cucian hexane ditambahkan ketika sampel masuk ke dalam bed kolom sampel. Katup dua arah akan diswitch ke reservoir pencucian dan 30 ml methylene chloride yang dilewatkan melalui kolom carbon.

Disini empat katup yang berlawanan akan diputar 90°C sehingga arah aliran melalui kolom carbon dapat dibalikkan. Reservoir dimuat dengan 40 mL toluene, dipanaskan sebelumnya hingga 40°C dengan menempatkannya di dalam bak pasir dan tabung outflow ditempatkan dalam 125 mL tabung mendidih. Dengan bantuan gas nitrogen (1-5 psig), toluene mengencerkan kolom carbon pada 2 mL/menit. Enceran toluene akan diputar dan diuapkan hingga kering setelah penambahan 10 µL tetradecane. Lanjutan proses ini ke dalam fraksi alumina.

IV.1.10. Fraksionasi Alumina

Operasi kolom silica/alumina : dua kolom disusun pada rack econocolom untuk memudahkan effluent dari kolom silica gel mengalir langsung ke dalam kolom alumina. Encerkan residu dalam 1 mL hexane dan letakkan di bagian atas kolom silica gel. Secara kuantitatif pindahkan sampel dengan mengalirkan dua x 1 mL hexane pada wadah atau kontainer sampel. Cucilah seluruh sistem kolom dengan 1 mL hexane dan kemudian bersihkan kolom silica. Jika menggunakan alumina woelm neutral reguler, cucilah kolom dengan 2 ml hexane, kumpulkan eluate dalam botol 8 mL. Simpan fraksi ini (FR # 1)

Untuk mengumpulkan fr#2 (fraksi yang mengandung PCDD dan PCDF), tempatkan reacti vials 5 ml secara terpisah dan encerkan kolom dengan 2 mL dichloromethane (volume yang tepat tergantung pada kalibrasi seperti diuraikan di atas). Botol reaktif ini haruslah mengandung 100 pg 1,2,3,4-TCDD

+1,2,3,7,8,9- HxCDD Recovery standar (10 pg/ μ L dalam nonane) dan 2 μ L tetradecane sebagai “penjaga”.

Setelah langkah alumina, uapkan fraksi Dioxin (hindari sampel menjadi kering) dibawah aliran nitrogen, dengan suhu 40°C. Uapkan isi dari Reacti vials ke dalam 2 μ L dibawah nitrogen dan tambahkan 8 μ L nonane sebelum melakukan analisis GC/MS/MS.

IV.1.11. Analisis GC/MS/MS.

Setelah memverifikasi response factor dan elusi dengan kalibrasi standar dan menginjeksi pelarut bersih dan standar perolehan untuk memverifikasikan bahwa sistem GC/MS/MS bebas dari kontaminasi, injeksikan 2 atau 3 μ L ekstrak sampel terkonsentrasi ke dalam kolom kapiler. Kolom dan kondisi yang digunakan adalah : DB-5 ms (40 meter x 0.18 mm, 0.18 μ m dalam ketebalan lapisan) suhu yang diprogram untuk pemisahan congener ada 140°C selama 2 menit, 20°/menit hingga 260°C, 1°/menit hingga 300°C. Program akuisisi MRM tersegmentasi akan digunakan. Kelompok congener yang berbeda (tetrachloro, pentachloro, dll) dimonitor secara berurutan. Demikian juga non-2,3,7,8-PCDD/Fs tersubstitusi (kolom kiri, table VI) tidak dapat dilarutkan dari 2,3,7,8 congener substitusi (kolom kanan) dengan phase DB-5 atau DB-5 ms. DB-5 ms fase kolom (J&W Scientific) akan memisahkan 2,3,7,8 – TCDF, 1,2,3,7,8 – PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,7,8,9-HxCDD dengan program suhu berikut : 140°C 2 menit 20°/menit hingga 200°C 5 menit sampai 240°C 10 menit untuk menahan 10°/menit hingga 280°C 12 menit. (lihat gambar untuk pemisahan abu terbang pada DB-5 ms). Konsentrat internal standard dalam ekstrak sampel haruslah sama atau sama dengan standar ion kalibrasi yang digunakan untuk mengukur response factor.

Analisa sampel dengan menggunakan monitoring reaksi ion yang dicatat dalam tabel V.GC/MS yang dijalankan dibagi ke

dalam enam segmen waktu monitoring reaksi pilihan. Minimum dua karakteristik yang berdekatan atau dalam kasus ion induk (yaitu kuantitasi dan ion konfirmasi, yang dicatat di dalam table II, III dan IV) haruslah ada di dalam chromatogram ion yang telah direkonstruksi. Ion ini haruslah memiliki jumlah yang relatif besar setidaknya di dalam 30% jumlah yang diharapkan untuk spektrum ion anak yang normal dalam kondisi reaksi yang digunakan di dalam kalibrasi.

Intensitas maksimum dari setiap ion karakteristik haruslah disesuaikan di dalam 2 scan atau 2 detik dari internal standard. GC mencapai puncak pada seri homologi yang harus memiliki waktu retensi relatif di dalam kerangka yang dikembangkan untuk seri larutan kolom performan (standard abu terbang & standard kalibrasi).

Hitung puncak PCDD dan PCDF dari relative response terhadap internal standard yang sesuai. Perolehan dari setiap internal standard haruslah lebih besar dari 40 persen. Sampel dengan perolehan tepat di bawah 40 persen atau lebih dibandingkan dengan 120 persen haruslah diekstrak dan dianalisis kembali.

IV.1.12. Perhitungan

Relative Response Factor (RRF) dari non 2,3,7,8 congener yang tersubstitusi di dalam seri ini diasumsikan sama dengan 2,3,7,8 congener yang tersubstitusi di dalam seri tersebut. Semua perhitungan RRF untuk non 2,3,7,8-isomer yang tersubstitusi seri adalah didasarkan atas $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-isomer yang disubstitusikan dan telah tersedia secara komersial.

Tentukan konsentrasi 2,3,7,8 isomer substitusi untuk setiap homolog sesuai dengan contoh di bawah ini. Jika congener yang sesuai tidak dapat digunakan, maka gunakan yang terdekat dan hanya menggunakan polychlorinated dibenzo-p-dioxin

congeners untuk mengukur polychlorinated dibenzo-p-dioxin polychlorodibenzofuran congener untuk mengukur polychlorodibenzofurans.

$$\text{Konsentrat (pg/g) 2,3,7,8-TCDD dalam sampel} = \frac{(\text{Qis} \times \text{As})}{\text{Q} \times \text{Ais} \times \text{RRF}}$$

Dimana

As = Luas ion kuantitasi (m/z 259 (M+2-COCl) + ion anak dari 322) dari 2,3,7,8- TCDD.

Ais = Luas ion kuantitasi (m/z 270 ion anak dari 334) dari standar internal, $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TCDD.

G = Gram sampel yang diekstrak.

Qis = pg dari internal standard $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TCDD, ditambahkan pada sampel sebelum ekstraksi.

RRF = Relative Response Factor dari ion kuantitasi 2,3,7,8-TCDD yang berhubungan terhadap $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TCDD.

Hitung konsentrat dari setiap congener dengan menggunakan RRF yang diturunkan dari relative response terhadap respon isomer berlabel $^{13}\text{C}_{12}$ yang memungkinkan. Relative response factor rata-rata untuk PCDD dan PCDF diberikan dalam Table II. Relative response factor dihitung dengan menggunakan data yang diperoleh dari kurva kalibrasi awal dengan persamaan sebagai berikut :

$$\text{RRF} = \frac{\text{As} \times \text{Cis}}{\text{As} \times \text{Cs}}$$

Dimana :

As = Luas ion kuantitasi dari senyawa yang dituju.

Ais = Luas ion kuantitasi dari internal standard yang sesuai (contoh : m/2 270 untuk $^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,7,8-TCDD dan m/2 408 untuk $^{13}\text{C}_{12}$ -OCDD).

Cs = Konsentrat senyawa yang dituju di dalam larutan kalibrasi.

Cis = Konsentrat internal standard yang sesuai dalam larutan kalibrasi.

Hitung persentase perolehan, Ris, untuk setiap internal standard di dalam ekstrak sampel, dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Ris} = \frac{\text{Arc} \times \text{Aisa} \times \text{Cisc} \times \text{Qrsa}}{\text{Arsa} \times \text{Aisc} \times \text{Qisa} \times \text{Crc}} \times 100$$

Dimana :

Arc = Luas ion kuantitasi dari standar perolehan (octachloronaphthalene) di dalam larutan kalibrasi.

Arsa = Luas ion kuantitasi dari standar perolehan dalam ekstrak sampel.

Aisa = Luas ion kuantitasi dari internal standard di dalam ekstrak sampel.

Aisc = Luas ion kuantitasi dari internal standard di dalam larutan kalibrasi.

Crc = Konsentrat standar perolehan di dalam larutan kalibrasi.

Qrsa = Jumlah standar perolehan dalam sampel yang diinjeksikan.

Cisc = Konsentrat internal standard di dalam larutan kalibrasi.

Qisa = Jumlah internal standard yang ditambahkan pada sampel x fraksi dari ekstrak yang diinjeksikan.

Jika konsentrat di dalam ekstrak akhir dari setiap senyawa 2,3,7,8-substitusi PCDD/PCDF melebihi batasan Method Calibration Limits (MCL), maka kisaran Liner dari respon versus konsentrat dapat dilampaui; analisis kedua dari sampel haruslah dilakukan. Hitunglah total konsentrat dari semua isomer di dalam setiap congener seri PCDD dan PCDF.

Total konsentrat = Jumlah konsentrat isomer individual di dalam seri.

IV.1.13. Hasil.

Semua bagian test yang telah difortifikasi menyediakan pengukuran PCDD dan PCDF di dalam 67-125% dari nilai teoritis selama analisis MS/MS (tingkat fortifikasi nominal) (table VII & IX). Susu lembu misalnya berhasil diukur dengan MS/MS pada 0.19 parts pertrillion (ppt) (tabel VII). MS/MS adalah memberikan hasil yang jelas, dimana full scan dengan resolusi MS yang rendah (EI-MS) tidak ada. Hasil untuk minyak kacang dan mentega dalam table IX memperlihatkan metode QLs 0.5 pg/g lemak untuk sebagian besar PCDD/Fs dan 0.2 pg/g untuk 2,3,7,8 TCDD atau TCDF. Hasil untuk minyak kacang dan mentega dalam table IX menggunakan penyinaran frekwensi multi dengan monitoring reaksi beragram dengan penggunaan standar internal PCDD/Fs berlabel $^{13}\text{C}_{12}$ (non K+ silica akan digunakan). Analisis yang tidak diperkuat dari minyak kacang, lemak dan mentega diperlihatkan dalam table VIII. Tidak ada PCDD/Fs yang diidentifikasi dalam minyak kacang atau lemak. Sembilan congener PCDD/F dikonfirmasi dalam mentega dan tujuh di bawah 1 pg/g lemak.

Table VII memberikan perbandingan dari keju yang diperkuat dan yang tidak, dengan menggunakan metode gardner (LIB 3990) dan dianalisa oleh EI-MS dan MS/MS. Dua ekstrak

akan dipisahkan dan masing-masing setengah akan disubjeksikan untuk EI-MS atau MS/MS. Hasil yang difortifikasi pada 1 ppt adalah sama kecuali untuk congener heptachloro dan octachloro yang tidak dapat diukur oleh EI-MS. Nilai yang terfortifikasi diperoleh dari dua metode adalah berbeda. Estimasi MDL atau QL menggunakan EI-MS adalah berada diantara 0.3 dan 3 ppt. MS/MS mendeteksi semuanya tetapi tiga congener pada level 10 kali lebih rendah dari EI-MS. Dalam analisis ini, baik EI-MS dan MS/MS mampu mengukur accidental 2,3,7,8-TCDF dan 2,3,4,7,8-PeCFD kontaminan di dalam sampel pada sub level ppt 0.34/ 0.38 dan 0.42/ 0.43 ppt. QL yang rendah di dalam EI-MS ini tidak dicapai secara rutin, tetapi tergantung pada kondisi kolom dan latar belakang matriks setelah pembersihan. Juga dicatat bahwa ITEQ diukur oleh MS/MS (0.11 ppt) yaitu 20 kali lebih rendah dari pada 2.33 ppt ITEQ yang dihasilkan oleh EI-MS dari ekstrak keju yang sama.

Monitoring reaksi tunggal menghasilkan sensitivitas yang tinggi dan tingkat kebisingan yang rendah dibandingkan dengan monitoring reaksi beragam. Selain itu juga ada beberapa kelemahan. Pertama, elusi spesies kimia akan membutuhkan perubahan yang cepat dalam monitoring reaksi. Perubahan yang tercepat dalam satu monitoring reaksi adalah enam detik. Hasil di dalam artifak dan di dalam massa dasar yang menyebabkan kuantifikasi sulit dilakukan. Coelusi berlabel standar tidak dapat dimonitor secara bersamaan. Fakta ini mencegah koreksi otomatis untuk perolehan di dalam perhitungan dan oleh karena itu koreksi harus dilakukan secara manual.

Monitoring reaksi multi memerlukan setidaknya dua ion (Table V). Monitoring beberapa ion ini disamping kita dapat menghasilkan kebisingan yang tinggi dan interfase di dalam ion anakan tertentu yang membangun chromatogram ion. Oleh karena itu, bila dimungkinkan chlorodioksin haruslah dimonitor terpisah dari chlorofuran. Ini hanya diperlukan dengan menggunakan program suhu spesifik isomer yang disebutkan di bagian awal.

Monitoring dari beberapa ion, dengan sementara tetap mempertahankan sensitivitas juga membutuhkan rating scan yang tinggi (0.5 detik). Minimum dari 125 ms dibutuhkan untuk setiap microscan yang dibutuhkan pada ion tunggal selama scan analisis. Interval waktu ini mengizinkan waktu CID dari 30 ms dan 25 ms waktu ionisasi (waktu ion maksimum) 5 ms waktu isolasi, 10 hingga 30 ms waktu scan ion anakan untuk scan dari range antara 50-150 m/z. Selama kalibrasi itu dilakukan diantara massa 69 dan 131 m/z, kalibrasi otomatis MS/MS tidaklah akurat untuk kisaran massa yang tinggi. Saturn software berusaha untuk mengoreksi perbedaan ini, tetapi biasanya tidak mampu memprediksikan frekwensi sekuler ion. Ini berarti bahwa gelombang frekwensi tunggal menghitung besaran massa pada PCDD dan PCDF tidak akan akurat dan menyebabkan inefisien deposisi energi pada frekwensi yang tepat (scanning dengan CID Bandwidth = nol).

Error ini akan mengakibatkan buruknya efisiensi konversi dari ion induk ke ion anakan dan mengurangi sensitivitas. Modulasi rf kuadropole dapat menyelesaikan permasalahan ini, (secular frequency modulation), tetapi tentu membutuhkan waktu CID yang panjang untuk mengkonversi ion induk tanpa kehilangan ion secara berlebihan (100-150 ms). Energi hanya dapat disimpan secara efisien ketika ion beresonansi dengan bentuk gelombang terapan (hanya bagian dari 100 s/d 150 ms waktu CID) rating scan yang lebih panjang akan mengurangi sensitivitas oleh jumlah yang lebih besar dari pada efisiensi konversi.

Iradiasi frekwensi multi digunakan dalam metode ini guna memperbaiki efisiensi konversi sementara tetap mempertahankan rating kecepatan scan yang tinggi dan juga sensitivitas tertinggi di dalam monitoring reaksi multi. Teknik ini menggunakan 3 atau 5 ruang bentuk gelombang setiap 500 Hz pada setiap sisi frekwensi ion induk yang dihitung. Energi didistribusikan merata ke semua frekwensi secara serentak. Table V mencatat bandwith CID yang

digunakan untuk PCDD atau PCDF sepanjang amplitudo pembangkitan dan penyimpanan rf. Arus emisi adalah 100 μ amps dan multi elektron diset 100 volt di atas 10^5 .

IV.1.14. Tabel, Grafik & Peralatan

Table I. Internal Standards, Target Analytes and Recovery Standard

$^{13}\text{C}_{12}$ 2,3,7,8 TCDD	2,3,7,8 TCDD	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,4 TCDD
$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,7,8 PeCDD	1,2,3,7,8 PeCDD	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,4 TCDD
$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,4,7,8 HxCDD	1,2,3,4,7,8 HxCDD	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,7,8,9 HxCDD
$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,6,7,8 HxCDD	1,2,3,6,7,8 HxCDD	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,7,8,9 HxCDD
$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,6,7,8 HxCDD	1,2,3,7,8,9 HxCDD	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,7,8,9 HxCDD
$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,7,8,9 HxCDD
$^{13}\text{C}_{12}$ OCDD	OCDD	
$^{13}\text{C}_{12}$ 2,3,7,8 TCDF	2,3,7,8 TCDF	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,4 TCDD
$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,7,8 PeCDF	1,2,3,7,8 PeCDF	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,4 TCDD
$^{13}\text{C}_{12}$ 2,3,4,7,8 PeCDF	2,3,4,7,8 PeCDF	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,4 TCDD
$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,4,7,8 HxCDF	1,2,3,4,7,8 HxCDF	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,4 TCDD
$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,6,7,8 HxCDF	1,2,3,6,7,8 HxCDF	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,7,8,9 HxCDD
$^{13}\text{C}_{12}$ 2,3,4,6,7,8 HxCDF	2,3,4,6,7,8 HxCDF	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,7,8,9 HxCDD
$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,7,8,9 HxCDF	1,2,3,7,8,9 HxCDF	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,7,8,9 HxCDD
$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,7,8,9 HxCDD
$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,7,8,9 HxCDD
$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	OCDF	$^{13}\text{C}_{12}$ 1,2,3,7,8,9 HxCDD

Figure 1. Fly ash separation on a DB-5 ms 60 meter capillary column (8.25 mm id)

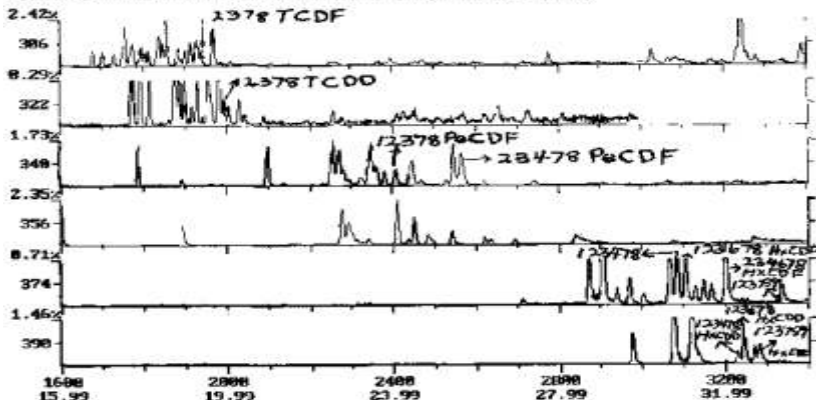


Figure 2. Sample column and Carbon column enrichment apparatus

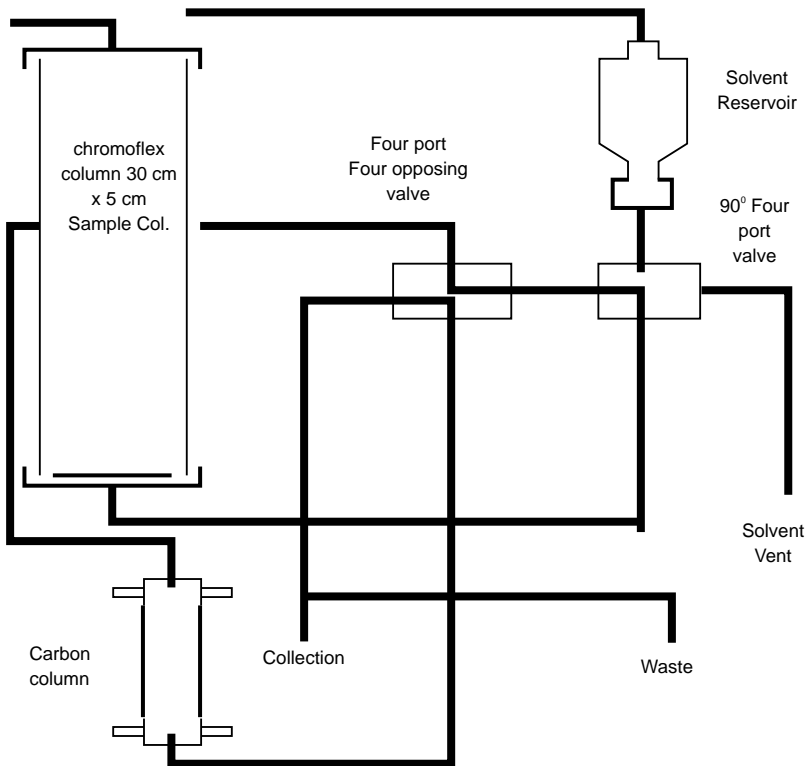


Figure 3. Acid silica and alumina column separation

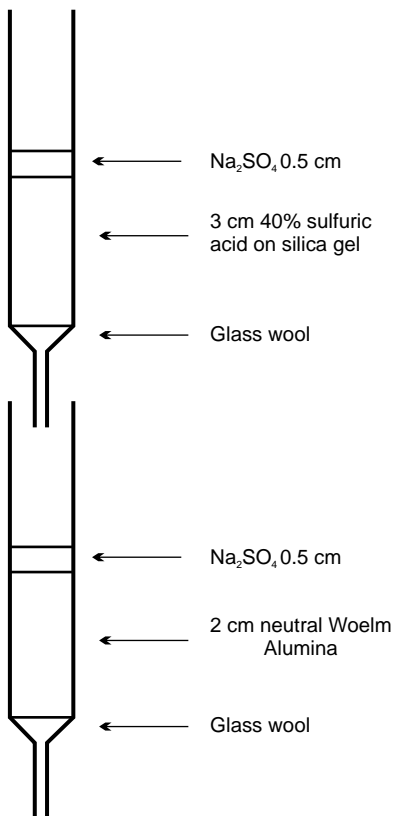


Table II. Calibration using MRM, MFI and 3 ions/segment 0.5 sec/scan. Quadrupole ion storage MS/MS calibration for PCDDs and PCDFs.

7/1/97								
cal std amt pg								
TCDD/F		0.8	4	10	30			
PeCDD/F to HpCDD/F		4	20	50	150			
OCDD/F		8	45	150	300			
	m/e		RRF	RRF	RRF	avg	sd	RSD

2,3,7,8 TCDF	241	1.01	1.215	1.211	1.215	1.16	0.102	9
2,3,7,8 TCDF	243	0.682	0.639	0.539	0.606	0.62	0.060	10
2,3,7,8 TCDD	257	1.508	1.592	1.527	1.56	1.547	0.04	2.4
2,3,7,8 TCDD	259	1.108	1.371	1.044	1.188	1.18	0.142	12
2,3,7,8 TCDD	287	0.557	0.507	0.374	0.347	0.45	0.102	23
1,2,3,7,8 PeCDF	275	0.827	0.971	1.049	1.047	0.97	0.104	11
1,2,3,7,8 PeCDF	277	1.116	1.115	1.003	0.944	1.04	0.085	8
2,3,4,7,8 PeCDF	275	0.765	0.917	0.986	0.984	0.91	0.104	11
2,3,4,7,8 PeCDF	277	1.038	1.093	0.909	0.839	0.97	0.116	12
1,2,3,7,8 PeCDD	291	1.04	1.165	1.033	1.3	1.135	0.126	11
1,2,3,7,8 PeCDD	293	1.397	1.61	1.489	1.421	1.48	0.095	6
1,2,3,7,8 PeCDD	295	0.478	0.554	0.515	0.445	0.50	0.047	9
1,2,3,4,7,8 HxCDF	309	0.75	0.749	0.915	0.859	0.82	0.083	10
1,2,3,4,7,8 HxCDF	311	1.122	1.202	1.210	1.118	1.16	0.050	4
1,2,3,6,7,8 HxCDF	309	0.868	0.826	0.870	0.866	0.86	0.021	2
1,2,3,6,7,8 HxCDF	311	1.021	1.17	1.109	1.073	1.09	0.063	6
2,3,4,6,7,8 HxCDF	309	0.684	0.719	0.1001	0.729	0.73	0.049	7
2,3,4,6,7,8 HxCDF	311	0.759	0.847	0.956	0.899	0.87	0.084	10
1,2,3,7,8,9 HxCDF	309	0.952	0.892	0.879	0.83	0.888	0.05	5.7
1,2,3,7,8,9 HxCDF	311	1.235	1.256	1.104	1.067	1.17	0.094	8
1,2,3,4,7,8 HxCDD	327	1.453	1.25	1.532	1.004	1.30	0.227	17
1,2,3,4,7,8 HxCDD	329	0.675	0.661	0.583	0.412	0.583	0.12081	21

1,2,3,6,7,8 HxCDD	327	1.165	1.178	1.394	1.274	1.25	0.106	8
1,2,3,6,7,8 HxCDD	329	0.633	0.571	0.49	0.459	0.538	0.07886	15
1,2,3,7,8,9 HxCDD	327	1.109	1.02	1.1	0.957	1.05	0.072	7
1,2,3,7,8,9 HxCDD	329	0.1009	0.646	0.562	0.483	0.625	0.13956	22
1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	345	1.167	1.263	1.365	1.375	1.29	0.098	8
1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	347	0.604	0.727	0.751	0.783	0.72	0.078	11
1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	458	0.734	0.661	1.079	1.142	0.904	0.24167	27
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	359	0.7	0.921	0.882	0.819	0.83	0.097	12
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	361	1.961	2.342	2.464	2.468	2.31	0.239	10
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	363	1.483	1.921	1.919	1.794	1.78	0.206	12
1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	345	1.265	1.452	1.468	1.52	1.41	0.110	8
1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	347	0.832	0.894	0.937	0.96	0.91	0.056	6
1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	458	1.335	0.748	0.777	0.917	0.944	0.27075	29
OCDD	395	0.926	0.989	1.037	0.943	0.97	0.050	5
OCDD	397	1.966	2.429	2.062	1.742	2.05	0.286	14
OCDD	458	2.294	2.217	2.52	2.61	2.41	0.185	8
OCDD	334	0.528	0.679	0.655	0.515	0.59	0.085	14
OCDD	399	0.503	0.423	0.473	0.492	0.473	0.03541	7.5
OCDF	379	1.063	0.873	0.891	0.93	0.94	0.086	9
OCDF	381	0.824	0.854	0.973	1.042	0.92	0.102	11
average RSD = 9.8% Ions in bold not routinely used for quantitation; not included in mean RSD								

	M-COCl	M+2-(COCl)	M+4-(COCl)	M+6-(COCl)	M-Cl	M+2-Cl	M+4-Cl	M-(2COCl)	M+2-(2COCl)	M+4-(2COCl)	M	M+2
2,3,7,8 TCDD	257	259	261		285	287						
1,2,3,7,8 PeCDD	291	293	295		319	321	323	228	230			
1,2,3,4,7,8 HxCDD	325	327	329		353	355	357	262	264			
1,2,3,6,7,8 HxCDD	325	327	329		353	355	357	262	264			
1,2,3,7,8,9 HxCDD	325	327	329		353	355	357	262	264			
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	359	361	363		387	389	391					
OCDD	393	395	397	399		423	425		332	334	456	458

Bolded Ions are not detected at the lowest calibration point (0.8 pg TCDD, 4 pg all others, OCDD 8 pg)

	M-COCl	M+2-(COCl)	M+4-(COCl)	M-Cl	M+2-Cl	M-(COCl ₂)	M+2-(COCl ₂)	M-(COCl ₃)	M+2-(COCl ₃)	M+2
2,3,7,8 TCDF	241	243	245			206	208			
1,2,3,7,8 PeCDF	275	277	279	303	305	240	242	205	207	
2,3,4,7,8 PeCDF	275	277	279	303	305	240	242	205	207	
1,2,3,4,7,8 HxCDF	309	311	313	337	339		276	241		
1,2,3,6,7,8 HxCDF	309	311	313	337	339		276	241		
2,3,4,6,7,8 HxCDF	309	311	313	337	339		276	241		
1,2,3,7,8,9 HxCDF	309	311	313	337	339		276	241		
1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	343	345	347				310	312	275	408
1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	343	345	347				310	312	275	408
OCDF	379	381	383			344	346	309	311	444

Bolded Ions are not detected at the lowest calibration point (0.8 pg, TCDF 4 pg all others, OCDF 8 pg)

mod. range (DACs) = 0		CID time (ms) =30			
Ion (m/z)	storage (m/z)	excit. amp. (volts)	CID width (kHz)	Mass win. (m/z)	
segment one					
304	136	1.3	2	3	
306	136	1.3	2	3	
318	136	1.3	1	3	
segment two					
322	142	1	2	3	
320	142	1	2	3	
334	142	1	1	3	

segment three				
338	151	1,6	2	3
340	151	1,6	2	3
352	151	1.6	2	3
segment four				
354	158	1,2	2	3
356	158	1,2	2	3
368	158	1.2	2	3
segment five				
372	166	1,5	2	3
374	166	1,5	2	3
386	166	1.5	2	3
segment six				
372	166	1,5	2	3
374	166	1,5	2	3
386	166	1.5	2	3
390	173	1.3	1	6
402	173	1.3	1	3
segment seven				
372	166	1,5	2	3
374	166	1,5	2	3
386	166	1.5	2	3
segment eight				
404	130	0,55	1	6
segment nine				
408	180	1,6	1	3
410	180	1,6	1	3
422	187	1.8	1	3
424	187	1.3	2	6
436	187	1.5	2	3
segment ten				
442	197	1,6	2	3
444	197	1,6	2	3
458	204	1.6	1	3
460	204	1.6	1	6
472	204	1.6	2	3

Table VI. Congeners not separated on a normal DB-5 60 meter narrow bore column	
1,2,4,9- TCDF	2,3,7,8-TCDF
2,3,4,6- TCDF	÷
2,3,4,8- TCDF	÷
1,2,7,9- TCDF	÷
2,3,4,7- TCDF	÷
1,2,3,4,8- PeCDF	1,2,3,7,8- PeCDF
1,2,3,6,9- PeCDF	2,3,4,7,8- PeCDF
1,3,4,8,9- PeCDF	÷
2,3,4,8,9- PeCDF	÷
1,2,3,4,6,7- HxCDF	1,2,3,4,7,8- HxCDF
1,2,3,6,8,9- HxCDF	2,3,4,6,7,8- HxCDF
1,2,3,4,6,7- HxCDD	1,2,3,7,8,9- HxCDD

Table VII. Single reaction monitoring MS/MS determinations of PCDDs and PCDFs in cow's milk, ng/g weight. Florida milk fortified at 0.19 ng/kg and Washington DC milk fortified at 0.96 ng/kg; OCDD and OCDF not fortified. Fortified american cheese (1.0 pg/g) analyzed by full scan MS and CID MS/MS.

Analyte	Unfortified American cheese				Fortified American cheese				Fortified Florida cow's milk		Fortified Wash. DC cow's milk	
	CID MS/MS	EL-LRMS	CID MS/MS	EL-LRMS	CID MS/MS	EL-LRMS	CID MS/MS	EL-LRMS				
2,3,7,8-TCDD	0.02	*	0.3	*	0.5		0.46	B	0.198			0.85
1,2,3,7,8-PeCDD	0.049	B	3	*	0.87		0.89	I	0.273			1.03
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.108	B	1	*	0.61		0.64	I	0.215			0.97
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.171	B	1	*	1.06		1.24	B	0.276			1.29
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.068	B	1	*	0.8		0.92	I	0.214			0.87
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.45		2.5	*	2.38	L	2	*	0.401	L		0.81
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD	2.48	L	3	L	2.01	L	2.8	I	0.63	L		ND
2,3,7,8-TCDF	0.34 [^]		0.38 [^]	B	0.75		1.08	B	0.222			1.1
1,2,3,7,8-PeCDF	0.072	B	0.16	B	0.88		0.91	B	0.229			1.19

2,3,4,7,8-PeCDF	0.42 [^]		0.43 [^]	B	0.76		0.9	B	0.249		1.03
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.084	B	0.5	*	0.95		0.85	B	0.249		0.98
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.053	B	0.5	*	0.93		0.79	I	0.241		1.07
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.017	*	0.5	*	0.98		0.68	I	0.172		1.03
2,3,4,6,7,8-HxCDF	3.3 [^]		3.3 [^]	B	1.04		0.64	I	0.241		1.02
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.19	B	1.5	*	0.82		2	*	0.298	L	1.1
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.018	*	3	*	0.85		3	*	0.216		1.07
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	0.23	B	3	*	0.64		3	*	0.112	L	ND
I-TEQ	0.11		2.33		2.61		2.69		0.66		2.80

All values corrected for recovery; ND = Not determined; * = MDL
 B = Less than QL L = Upper Limit; analyte detected in blank
 MDL = 10 times the noise level on all ions; QL = 3 times the MDL
[^] Samples contaminated by these congeners during extraction and clean up.

Table VIII. PCDD/F background in unfortified high fat foods Washington, DC (pg/g; 30 g test portions); Multiple reaction monitoring MS/MS

	peanut oil n=7			shortening n=6			butter n=4		
	mean		%RSD	mean		%RSD	mean		%RSD
2,3,7,8-TCDD	0.04	*	30	0.04	*	41	mean	B	%RSD
1,2,3,7,8-PeCDD	0.23	*	32	0.18	*	61	0.08	B(I)	44
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.11	*	53	0.20	*	17	0.35		17
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.09	*	51	0.13	*	19	0.61		24
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.11	*	68	0.14	*	17	1.28	B	22
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1.04	L	60	0.93	L	40	0.40		19
OCDD	32.0	L	72	24.8	L	58	2.5	L	7
2,3,7,8-TCDF	0.04	*	35	0.06	*	43	5.11	B	14
1,2,3,7,8-PeCDF	0.05	*	57	0.07	*	71	0.09	*	51
2,3,4,7,8-PeCDF	0.04	*	73	0.07	*	47	0.08	B	44
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.09	*	36	0.11	*	55	0.30		14
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.07	*	35	0.09	*	59	0.46	B	30
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.07	*	63	0.22	*	40	0.27	*	19
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.14	*	59	0.14	*	58	0.15	B	nd
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.83	L	88	0.51	L	55	0.28	L	19
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.12	*	70	0.11	*	84	0.89	L	9
OCDF	6.3	L	112	3.2	L	67	0.18	L	54

*= below MDL; B= between MDL and QL; L= Upper limit analyte detected in blanks
 I=interference may be present
 nd= not determined
 RSD= relative standard deviation

Table IX. Multiple reaction monitoring, multiple frequency irradiation MS/MS analysis of butter and peanut oil as per Hayward 1995. Fortification of butter at 1.92 pg/g wet wt.; OCDD and OCDF not fortified.

Matrix	peanut oil mean n=3; 0.5 pg/g TCDD/F =0.1 pg/g			peanut oil mean n=3; 1.0 pg/g TCDD/F =0.2 pg/g			unforti- fied butter n=1		fortified minus unfort. butter n=1	
	%RSD %rec			%RSD %rec						
Analyte										
2,3,7,8-TCDD	0.06	34	56	0.15	18	75	0.12	B	2.09	109
1,2,3,7,8-PeCDD	0.47	6	94	0.83	5	83	0.377		2.13	111
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.59	21	118	1.03	9	103	0.45	I	2.13	111
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.52	9	105	1.07	16	107	0.707		2.30	120
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.50	13	99	0.98	17	98	0.5	*	2.29	120
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.96	16	191	1.30	16	130	2.8	L	1.39	72
OCDD	15	13	NA	15	15	NA	15.5	L	NA	NA
2,3,7,8-TCDF	0.15	16	153	0.23	14	117	0.048	I	2.40	125
1,2,3,7,8-PeCDF	0.44	8	87	0.87	12	87	0.083	B	2.40	125
2,3,4,7,8-PeCDF	0.43	10	86	0.82	2	82	0.186	B	2.30	120
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.55	12	111	0.87	11	87	0.25	I	1.64	85
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.37	10	75	0.90	17	90	0.187	I	1.29	67
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.49	9	98	1.07	17	107	0.25	*	1.29	67
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.50	17	100	0.97	4	97	0.263	*	1.48	77
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.81	20	161	1.27	3	127	0.77	L	2.00	104

1,2,3,4,7,8,9- HpCDF	0.51	20	102	1.16	13	116	0.24	I	2.00	104
OCDF	1.4	5	139	2.2	7	109	12	L	NA	NA
I-TEQ							0.74		5.96	
<p>ND=Not determined NA=Not Applicable * =Less than MDL B=Less than QL I=Interference L=Upper Limit 20 g butter samples were fortified at 1.92 µg/g RSD= relative standard deviation * butter collected in 1994</p>										

Table X. Mean surrogate recoveries and standard deviations for fortified and unfortified butter, shortening and peanut oil

	unfortified		unfortified		unfortified		fortified	
	shortening n=6		peanut oil n=7		butter n=4		peanut oil n=6	
	mean	s	mean	s	mean	s	mean	s
2,3,7,8-TCDD	99	21	84	16	100	20	90	19
1,2,3,7,8-PeCDD	95	18	101	12	99	2	82	10
1,2,3,4,7,8-HxCDD	87	11	76	23	92	17	64	20
1,2,3,6,7,8-HxCDD	87	11	76	23	91	10	69	12
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	96	24	101	14	94	9	73	12
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD	91	19	101	15	95	11	72	8
2,3,7,8-TCDF	90	6	96	11	102	15	74	25
1,2,3,7,8-PeCDF	101	15	101	11	110	6	79	15
2,3,4,7,8-PeCDF	102	15	102	9	113	8	84	16
1,2,3,4,7,8-HxCDF	90	23	94	7	114	14	82	17
1,2,3,6,7,8-HxCDF	87	21	93	8	94	8	81	15
1,2,3,7,8,9-HxCDF	76	14	79	12	89	14	58	25
2,3,4,6,7,8-HxCDF	99	18	85	8	93	9	72	12
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	96	16	91	12	89	9	73	12
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	97	22	101	15	97	13	79	11
grand mean recovery	93		92		98		75	

IV.2. Pengujian dengan US-EPA METHOD

Metode ini dikembangkan oleh US-EPA (Badan Lingkungan Hidup Amerika) di bawah arahan William A. Telliard, Divisi Engineering & Analisa.

Metode ini dikenal sebagai Metode 1613, Revisi B tetra through octa – chlorinated Dioxins and furans by Istope Dilution HRGC / HRMS.

Bab ini dikutip dan diterjemahkan dari penerbitan EPA sesuai dengan contract No. 68-C₃-0337 oleh DynCorp Environmental Services Division dengan bantuan subkontraktor Interface, Inc.

Pertanyaan yang berhubungan dengan metode ini atau penerapannya harap dialamatkan ke :

W.A Telliard
US EPA Office of Water
Staff Metode Analitikal
Mail Code 4303
401 M Street, SW
Washington, DC. 20460
202/260-7120

1.0 Materi Pembahasan dan Penerapan

1.1 Metode ini adalah untuk menunjukkan tetra sampai octa-chlorinated dibenzo-p-dioxins (CDDs) dan dibenzofurans (CDFs) di dalam air, minyak kotor, endapan, lumpur, bahan tissue dan matriks sample lainnya dengan gas chromatography resolusi tinggi / mass spectrometer resolusi tinggi (HRGC/HRMS). Metode ini digunakan oleh pihak EPA dalam mengumpulkan data dan mengawasi program yang berkenaan dengan tindakan pembersihan air, tindakan konservasi sumber air minum, respon comprehensive untuk lingkungan hidup, kompensasi dan liability dan untuk air minum yang baik. Metode ini berdasarkan penggabungan dari metode EPA, Industri, laboratorium komersial dan metode akademik (penjelasan 1 - 6).

1.2 Ketujuh belas senyawa pengganti 2,3,7,8 CDDs/CDFs disusun dalam Table XI yang dapat memperjelas metode ini. Spesifikasi juga disediakan untuk penjelasan secara terpisah dari 2,3,7,8 tetra chlorodibenzo-p-dioxin (2,3,7,8 TCDD) dan 2,3,7,8 tetrachloro-dibenzofurans (2,3,7,8-TCDF).

1.3 Batasan-batasan yang didapati dan jumlah tingkatan dalam metode ini biasanya tergantung pada tingkat pencampuran daripada batasan-batasan pelaksanaannya. Tingkat terendah (MLs) pada Table XII adalah tingkat CDDs/CDFs dapat diperjelas tanpa adanya pencampuran. Pada batasan metode deteksi (MDL) untuk 2,3,7,8-TCDD seperti yang telah dijelaskan sebagai 4,4 ppq /L (seperquadrillion bagian) dengan menggunakan metode ini.

1.4 Bagian dari GC/MS dalam metode ini hanya digunakan oleh para analis yang sudah berpengalaman dengan HRGC/HRMS atau berada dibawah pengawasan ketat dari teknisi yang pandai atau ahli. Setiap laboratorium yang menggunakan metode ini harus memperagakan kemampuannya agar dapat memberikan hasil yang memuaskan dengan menggunakan prosedur pada bagian 9.2.

1.5. Metode ini adalah “Dasar Pekerjaan“. Para analis diizinkan untuk memodifikasi metode ini untuk mengatasi pengaruh perubahan atau untuk menekan biaya agar bisa lebih rendah pada semua pekerjaan dalam metode ini sehingga di jumpai permintaan kriteria untuk meningkatkan keselarasan metode, keterangan ini dapat dijumpai pada bagian 9.1.2.

1.6. Pembaharuan apa saja pada metode ini di luar dari yang diberikan akan dianggap sebagai pokok modifikasi utama dalam pelaksanaan persetujuan pada prosedur test alternative di bawah 40 CFR 136.4 dan 136.5.

2.0 Ringkasan Metode

Diagram yang memberikan ringkasan prosedur seperti penyediaan sample, ekstraksi dan analisis yang diberikan pada figure 4 untuk sample berbentuk cairan dan padat. Figure 5 untuk sample yang memerlukan tahap yang banyak dan figure 6 untuk sample sel/tissue.

2.1 Ekstraksi

2.1.1 Sample berbentuk cairan (sample mengandung bahan kurang dari 1% zat padat) – Isotop stabil yang berlabel analog 15 dari pengganti 2,3,7,8-CDDs/CDFs dipakai dalam sample 1L dan sample ini diekstraksi dengan salah satu dari 3 prosedur.

2.1.1.1 Contoh yang mengandung partikel yang tidak nampak diekstraksi dengan menggunakan methylene chloride dalam cerobong yang terpisah atau dengan teknik ekstraksi tahap padat yang terdapat pada ringkasan 2.1.1.3 (hasil ekstraksi dikumpulkan untuk dibuang).

2.1.1.2 Contoh yang mengandung partikel yang dapat dilihat dengan mata, diisap melalui saringan kaca fiber. Hasil saringan di ekstraksi dalam sebuah Soxhlet /Dean-Stark (SDS) extractor (penjelasan 7) dan hasil penyaringan diekstraksi dengan methylene chloride dalam sebuah cerobong terpisah. Ekstraksi

methylene chloride dikumpulkan dan digabung dengan hasil SDS extractor lainnya sebelum dibuang.

2.1.1.3 Contoh yang diisap dengan penyaringan melalui sebuah kaca fiber diatas piringan tahap ekstraksi padat (SPE), pada saringan dan piringan diekstraksi bersama-sama dalam sebuah SDS extractor dan hasil ekstraksi dikumpulkan untuk dibuang.

2.1.2 Padat, semi padat dan contoh dengan beragam tahap (tetapi bukan berbentuk tissue), senyawa yang berlabel dimasukkan ke dalam contoh yang berisi 10 g (berat kering) zat padat. Contoh yang mengandung fase bertahap, dipaksa masuk ke penyaringan dan cairan akan dibuang. Zat padat yang kasar diendapkan dan dikumpulkan, zat yang bukan berbentuk cairan dari contoh beragam tahap digabung dengan zat padat dan diekstraksi dalam sebuah SDS extractor, hasil ekstraksi dikumpulkan dan dibuang.

2.1.3 Ikan dan bahan berbentuk tissue lainnya, contoh ekstraksi dengan memakai salah satu dari 2 prosedur.

2.1.3.1 Soxhlet atau ekstraksi SDS – 20 gr contoh aliquote disusun sesama jenis dan 10 gr digabung dengan senyawa berlabel. Sample dicampur dengan sodium sulphate, kemudian harus dikeringkan selama 12-24 jam, dan diekstraksi selama 18-24 jam dengan menggunakan methylene chloride: hexane (1:1) di dalam soxhlet extractor, hasil ekstrak dibiarkan sampai kering dan akan didapatkan hasil yang dikehendaki.

2.1.3.2 Proses HCl, 20 gr sample disusun yang sejenis dan 10 gr ditempatkan dalam dalam suatu botol dan kemudian senyawa ini diberi label. Setelah mencapai keseimbangan, 200 ml dari hydrochloric acid dan 200 ml methylene chloride: hexane (1:1) ditambahkan ke dalam botol dan kemudian botol dikocok selama 12-24 jam, hasil ekstraksi dibiarkan sampai kering dan akan didapat sisa yang diinginkan.

2.2 Setelah ekstraksi $^{37}\text{Cl}_4$ - bertanda 2,3,7,8 TCDD ditambahkan ke dalam setiap ekstraksi untuk mengukur tingkat efisiensi pada

proses pembersihan. Sample yang dibersihkan mungkin masih mengandung ekstraksi akhir dengan asam dan atau dasar dari zat perantara alumina, silica gel, dan carbon chromatography aktif. Pemisahan dengan cairan chromatography performan tinggi (HPLC) dapat digunakan untuk pemisahan lebih lanjut dari 2,3,7,8 isomer atau isomer khusus lainnya atau congeners. Proses pembersihan yang diutamakan seperti yang disebutkan di atas, ekstraksi berbentuk tissue, dibersihkan dengan menggunakan sebuah kolom anthropoganik, penyerapan gel silica atau sulfuric acid dan ekstraksi dasar bergantung pada prosedur ekstraksi yang digunakan.

2.3 Setelah pembersihan, hasil ekstraksi dipekatkan sampai mencapai tingkat kekeringan. Dengan segera diutamakan pada injeksi, internal standards ditambahkan kedalam setiap tahap ekstraksi dan sebahagian dari hasil ekstraksi disuntikkan ke dalam gas chromatography. Analisis dipisah dengan menggunakan GC dan dideteksi dengan menggunakan mass spectrometer resolusi tinggi (10,000) dan diekstraksi pada tahap m/z dengan diawasi oleh setiap analis.

2.4 Setiap CDD /CDF diidentifikasi dengan menggunakan perbedaan waktu retensi GC dan ratio ion yang berlimpah dari 2 ekstraksi m/z dengan waktu correspondence retention standard autentik dan secara teori ratio ion yang berlimpah pada 2 ekstraksi m/z . isomer yang tidak diganti dan congener diidentifikasi pada setiap waktu retensi dan ratio ion yang berlimpah disusun dalam suatu batasan tertentu. Kekhususan isomer untuk 2,3,7,8-TCDD dan 2,3,7,8-TCDF dicapai dengan menggunakan kolom GC, yang dapat menemukan kembali isomer dari tetra isomer lainnya.

2.5 Analisis kuantitatif dihasilkan dengan menggunakan area ion profile yang baru terpilih (SICP), dengan menggunakan salah satu dari 3 cara :

2.5.1 Karena dalam 15-2,3,7,8-CDDs/CDFs pengganti dengan analog (dapat dilihat pada table XI) GC/MS sistem dikalibrasi dan dikonsentratkan pada setiap senyawa dan dijelaskan dengan menggunakan teknik dilusi isotop.

2.5.2 Untuk 1,2,3,7,8,9-HxCDD, OCDF dan senyawa berlabel lainnya, Sistem GC/MS dikalibrasi dan dikonsentratkan pada setiap senyawa dan dijelaskan dengan menggunakan teknik internal standard.

2.5.3 Untuk isomer 2,3,7,8 yang tidak dapat digantikan dan untuk semua isomer pada tingkat chlorinasi yang diberikan (sebagai contoh, total TCDD) konsentrat didapatkan dengan menggunakan faktor-faktor batasan dari kalibrasi dan CDDs/CDFs pada tingkat chlorinasi yang sama.

2.6 Kualitas dari analisis dipastikan melalui kalibrasi yang dihasilkan dan testing dari ekstraksi, pembuangan dan sistem GC/MS.

3.0 Defenisi- defenisi

Defenisi-defenisi diberikan pada daftar kata-kata di akhir metode.

4.0 Kontaminasi dan pencampuran

4.1 Solven, zat aktif, barang yang terbuat dari kaca dan sample lain dalam proses yang mungkin akan menghasilkan zat lain dan atau meningkatkan bagian dasar yang menyebabkan salah melakukan pembacaan chromatogram (Penjelasan 8-9). Zat aktif yang dipilih khusus dan telah melalui pemurnian solven, penyulingan pada setiap sistim botol kaca mungkin diperlukan. Bila memungkinkan zat aktif dibersihkan dengan ekstrakso atau solven cucian.

4.2 Pembersihan yang baik pada barang yang terbuat dari kaca sangat perlu dilakukan karena barang terbuat dari kaca mungkin

tidak hanya akan membuat kontaminasi pada sample tetapi mungkin akan mengurangi hasil analisa disebabkan oleh pengendapan yang terjadi pada permukaan kaca.

4.2.1 Barang terbuat dari kaca harus dibilas dengan solven, dicuci dengan air sabun segera setelah digunakan. Pembersihan dengan alat sonikasi yang berisi cairan sabun memerlukan kurang dari 30 detik akan membantu dalam pembersihan. Barang terbuat dari kaca dengan bagian yang dapat dilepas, cerobong terpisah yang khusus dengan fluoropolymer harus dicuci dengan sabun secara terpisah.

4.2.2 Setelah mencuci dengan cairan sabun, barang dari kaca harus dibilas dengan cepat, pertama dengan methanol lalu air panas diikuti dengan pembilasan methanol yang lainnya kemudian aseton dan terakhir methylene chloride.

4.2.3 Jangan pernah memanaskan barang terbuat dari kaca ke dalam oven sebagai bagian dari tahap pembersihan yang rutin. Pemanasan mungkin diperlukan setelah dijumpai bagian dari sample yang kotor. Tetapi demikian harus diminimalkan karena pemanasan yang terus menerus pada barang terbuat dari kaca akan mengakibatkan bagian yang aktif permukaan kaca akan menyerap CDDS/CDFS.

4.2.4 Penggunaan utama, alat soxhlet harus diekstraksi dengan toluene selama kurang dari 3 jam (lihat bagian 12.3.1 sampai 12.3.3) Cerobong terpisah harus dikocok dengan methylene chloride / toluene (Campuran 80/20) selama 2 menit, dialirkan dan kemudian dikocok dengan methylene chloride murni sekali lagi selama 2 menit.

4.3 Semua bahan yang digunakan dalam analisis akan dibuktikan bebas dari pengaruh metode matrix yang sedang dipergunakan. Dan dengan setiap batch sample (sample yang dimulai sampai proses ekstraksi yang memerlukan waktu 12 jam, dengan maksi-

mal sebanyak 20 sample).

4.3.1 Matriks yang ditunjuk harus bersimulasi sedekat mungkin dengan sample matrix yang sedang dicoba. Sebaiknya matriks yang ditunjuk tidak boleh mengandung CDDS/CDFS dalam jumlah yang dapat dideteksi tetapi harus mengandung campuran potensial dalam jumlah yang diperlukan dalam sebuah sample untuk dapat dianalisis. Sebagai contoh, campuran yang diambil dari tubuh manusia yang mengandung pentachloronaphthalene dapat dipergunakan untuk proses pembersihan sistim ketika sample yang mengandung pentachloronaphthlene diperlukan.

4.3.2 Ketika sebuah campuran matriks tidak dapat bersimulasi dengan sample matriks yang sedang diuji coba, cairan zat aktif (penjelasan 7.6.1) dapat digunakan untuk menyimulasikan sample air, pasir bertanah (penjelasan 7.6.2) atau pasir putih (penjelasan 7.3.2) dapat digunakan untuk bersimulasi dengan kotoran tanah, kertas penyaring (penjelasan 7.6.3) atau dapat bersimulasi dengan kertas dan bahan sejenis dan minyak jagung (penjelasan 7.6.4) atau dapat bersimulasi dengan bahan tissue.

4.4 Campuran ekstrak dari sample akan mempengaruhi setiap sumber, tergantung pada tempat yang digunakan pada sample. Campuran pada senyawa mungkin akan terkumpul menjadi beberapa susunan yang besar melebihi CDDS/CDFS. Campuran yang paling banyak digunakan adalah chlorinated biphenyls, methoxy biphenyls, hydroxidiphenyl ethers, benzylphenyl ethers, polynuclear aromatics dan pesticides. Karena begitu rendahnya tingkat CDDs/CDFs yang terukur pada metode ini, penghapusan campuran sangatlah perlu. Tahap pembersihan yang diberikan pada bagian 13 dapat digunakan untuk mengurangi atau menghilangkan pengaruh yang mungkin timbul dan dengan demikian dapat memberikan penjelasan dari keadaan CDDs/CDFs pada suatu tingkat seperti yang dijelaskan pada tabel XII.

4.5 Setiap bagian dari barang terbuat dari kaca yang dipergunakan

kembali, harus diberi nomor disesuaikan dengan bahagian sample yang sedang dalam proses. Hal ini akan membantu pihak laboratorium untuk mengetahui dengan cepat sumber kontaminasi yang terjadi pada setiap sample secara terpisah, memberikan identitas sesuai dengan tingkat kontaminasi tertinggi pada sample sehingga memerlukan pembersihan khusus dan memastikan apabila barang kaca tersebut harus dibuang.

4.6 Pembersihan bahan tissue. Kandungan alami pada bahan tissue akan berpengaruh pada analisa sample tissue itu sendiri. Pada tingkat CDDs/CDFs, kandungan yang berbeda pada setiap porsi bahan tissue sangat jarang dijumpai. Kandungan lipid merupakan solusi untuk menunjukkan tingkatan solven organik yang bervariasi dan dapat menunjukkan kekurangan kuantitas pada kolom prosedur pembersihan chromatographic yang digunakan untuk membersihkan ekstrak dari sample. Lipid yang dihilangkan dengan prosedur penghapusan lipid pada penjelasan 13.7, diikuti dengan alumina (penjelasan 13.4) atau florisil (penjelasan 13.8) dan carbon (penjelasan 13.5) sebagai tahap pembersihan tambahan minimum. Jika chlorodiphenyl eter terdeteksi, yang diindikasikan dengan adanya puncak pada m/z 's monitor pada pengaruh ini, penghapusan alumina dan atau florisil harus dilakukan untuk mengurangi akibat yang ditimbulkan.

5. Keamanan

5.1 Tingkat keracunan pada setiap senyawa atau zat aktif yang digunakan pada metode ini belum diteliti dengan sempurna, bagaimanapun setiap senyawa kimia harus diperhitungkan dapat membahayakan kesehatan. Penggunaan senyawa yang berbahaya harus dikurangi sampai tingkat paling rendah.

5.1.1 Isomer 2,3,7,8-TCDD dijumpai telah menjadi acnegenic, carcinogenic dan teratogenic pada penelitian laboratorium binatang. Bahan ini bercampur dengan air pada kurang lebih 200 ppt dan dalam solven organik 0.14%. Dengan dasar adanya

toxicological dan kandungan physical dari 2,3,7,8-TCDD, semua CDDs/CDFs hanya ditangani oleh orang-orang yang benar terlatih, pastinya mereka harus mengetahui bagaimana cara menangani dan prosedur pengawasan serta resiko yang mungkin ditimbulkan.

5.1.2 Disarankan untuk pemakaian bahan standard pencampur yang dibeli oleh pihak laboratorium untuk menganalisis dengan memakai metode ini. Bagaimanapun jika bahan pencampur dasar yang disediakan, harus disediakan dengan baik dan sebuah NIOSH/MESA sebuah alat penghisap gas beracun juga harus dipergunakan bila sedang memegang bahan berkonsentrasi tinggi.

5.2 Laboratorium bertanggung jawab untuk memelihara pengetahuan tentang peraturan OSHA, khususnya bagaimana cara memegang bahan kimia dengan baik pada metode khusus ini. File pendukung mengenai lembaran pemakaian material dengan aman (MSDSs) harus tersedia bagi setiap orang yang terlibat dalam analisis ini. Juga disarankan bahwa pihak laboratorium juga mengawasi keselamatan para analis.

Informasi tambahan mengenai keselamatan di dalam laboratorium dapat dijumpai pada penjelasan 10-13. Keterangan dan ringkasan pada akhir referensi 13 sangat penting dalam menangani masalah yang umum di dalam laboratorium.

5.3 CDDs/CDFs dan sample yang diduga mengandung senyawa yang perlu ditangani dengan menggunakan teknik yang sama dilakukan pada penanganan radioaktif atau bahan yang mematikan lainnya. Ventilasi yang baik, mengontrol udara yang masuk dan keluar ruangan dalam laboratorium merupakan hal yang sangat penting.

5.3.1 Fasilitas.

Ketika contoh sudah dipisah (debu, tanah, bahan kimia kering lainnya) dan sudah ditangani, semua tahap (termasuk pemisahan contoh dari kotak, pengukuran berat, pemindahan dan etat atau di

pencampuran) harus dilakukan dengan memakai sarung tangan yang ketat atau di dalam ruangan yang memiliki sirkulasi udara yang baik. Berat kotor yang hilang pada sistem ventilasi laboratorium harus dibiarkan. Penanganan cairan dilusi yang biasa digunakan pada analisis dan percobaan pada binatang, menunjukkan tidak adanya bahaya pada pernapasan kecuali terjadi kecelakaan kerja.

5.3.2 Perlindungan alat kerja.

Sarung tangan sekali pakai, kain apron atau jubah laboratorium, kacamata pelindung atau masker, dan kotak sarung tangan atau bahan yang mengandung zat radioaktif harus dipergunakan. Selama pelaksanaan analisis yang mungkin akan meningkatkan cairan pembasmi atau debu, orang yang bekerja harus memakai peralatan perlindungan pernapasan yang aktif dengan penyaring carbon active. Peralatan untuk perlindungan mata (lebih baik yang menutup seluruh muka) harus dipakai selama bekerja meneliti sample atau memakai standar analisis murni. Sarung tangan karet biasanya digunakan untuk mengurangi terjadinya sentuhan pada tangan. Ketika sedang memegang sample atau yang mengandung konsentrasi CDDs/CDFs yang tinggi, bahan sarung tangan tambahan juga perlu dipakai di dalam sarung tangan karet.

5.3.3 Pelatihan-Pekerja harus dilatih dengan menggunakan metode yang baik, bagaimana membuang sarung tangan yang telah terkontaminasi tanpa tersentuh permukaan luar.

5.3.4 Kebersihan perorangan-Tangan dan lengan harus dibilas seluruhnya setelah selesai atau sebelum waktu istirahat (minum kopi, makan siang dan pertukaran kerja).

5.3.5 Pembatasan-Daerah kerja dipisah sesuai dengan tanda yang diberikan, barang terbuat dari kaca dan peralatan dan kertas penyerap plastik pada bangku akan membantu mengurangi kontaminasi.

5.3.6 Penguapan yang berbahaya- Penguapan dari tetesan sample dari gas chromatography (GC) dan dari pompa pada mass spectrometer (MS) harus melalui salah satu dari kolom yang diaktifkan dengan batubara atau uap yang mengandung minyak atau alkohol yang mendidih untuk menekan penguapan CDD/CDF.

5.3.7 Penanganan limbah – Teknik baik termasuk di dalamnya meminimalkan limbah yang terkontaminasi. Plastik pembungkus harus digunakan pada kaleng yang tidak dipakai lagi. Janitor dan sekelompok orang harus dilatih untuk mengetahui cara menangani limbah.

5.3.8 Dekontaminasi.

5.3.8.1 Dekontaminasi perorangan – Gunakan sabun yang cukup pada daerah yang terkontaminasi.

5.3.8.2 Barang terbuat dari kaca dan permukaan – solven chlorothene NU adalah racun yang terendah yang diketahui. Kepuasan dalam membersihkan mungkin perlu dilengkapi dengan pembilasan memakai chlorothene, kemudian mencuci dengan sabun dan air.

Jika barang dari kaca pertama telah dibilas dengan solven, kemudian peralatan tersebut harus sudah dibuang. Karena adanya tingkat biaya dalam hal pembuangan ini, sangatlah penting untuk meminimalkan limbah solven.

5.3.9 Pencucian-Kain yang diketahui telah terkontaminasi harus dikumpulkan dalam plastik pembungkus. Orang yang mengirim bungkusan ini dan mencucinya harus diberitahukan mengenai tingkat keracunannya dan dilatih untuk memegangnya dengan baik. Kain tersebut mungkin akan dimasukkan ke dalam mesin pencuci tanpa bersentuhan dengan pemegang jika tukang cuci mengetahui akibat yang ditimbulkannya. Mesin pencuci harus dibilas sekali sebelum digunakan untuk mencuci kain yang lain.

5.3.10 Test Pengeringan – Sebuah metode yang berguna dalam

menemukan kebersihan permukaan yang sedang diteliti dan peralatan adalah dengan mengeringkan permukaan dengan selembar kertas penyaring. Ekstraksi dan analisis dengan GC melalui electron capture detector (ECD) dapat mencapai sebuah batasan deteksi dari 0.1 μg per setiap pengeringan. Analisa dengan menggunakan metode ini dapat mencapai batasan deteksi yang rendah. Jika angka yang ditunjukkan kurang dari 0.1 μg pada setiap pengeringan maka tingkat kebersihan telah memenuhi syarat, dan tidak perlu diikuti dengan pembersihan lanjutan. Jika lebih dari 10 μg pada sebuah pengeringan menyebabkan resiko yang besar dan memerlukan pembersihan segera sebelum melanjutkan ke tahap berikutnya.

5.3.11 Tabel atau diagram.

Kegunaan dari tabel atau diagram untuk ekstraksi tissue yang menunjukkan kemungkinan terjadinya kebocoran pada tabung ekstraksi dan tumpahnya cairan dan solven organic yang mudah terbakar. Sistim shaker harus dikendalikan sedemikian rupa untuk mencegah menyebarnya cairan dan solven pada saat bocor. Kecepatan dan intensitas mengaduk harus disesuaikan untuk meminimalkan terjadinya kebocoran.

6.0 Peralatan dan Bahan

Catatan: Nama merek, supplier dan part no hanya merupakan ilustrasi semata dan tidak perlu adanya catatan tambahan yang dikehendaki. Hasil yang sama mungkin didapatkan dengan menggunakan peralatan dan bahan lain yang tidak disebutkan di sini. Untuk mendapatkan hasil dalam metode ini merupakan tanggung jawab pihak laboratorium.

6.1 Peralatan sampling untuk penyusunan sample.

6.1.1 Sample botol yang bertutup.

6.1.1.1 Sample cairan (air, oli kotor dan bahan yang sama

mengandung 5% bahan padat atau kurang)--- Sample botol, gelas yang berwarna kekuningan, minimal 1.1 L dengan tutup yang dapat dibuka.

6.1.1.2 Sample padat-(tanah, endapan, oli kotor, serbuk kayu, penyaring roti, kompos dan bahan yang sama mengandung lebih dari 5% zat padat) Sample dimasukkan dalam botol bermulut lebar, gelas yang berwarna kekuningan dengan minimal 500 mL.

6.1.1.3 Jika Botol gelas yang berwarna kekuningan ini tidak tersedia, sample harus dilindungi dari sinar cahaya.

6.1.1.4 Tutup Botol -- Terikat dengan baik pada botol sample. Tutup harus dilingkari dengan fluoropolymer.

6.1.1.5 Cara pembersihan.

6.1.1.5.1 Botol-botol dicuci dengan air detergen, bilas dengan air sabun sebelum dipergunakan.

6.1.1.5.2 Liner dicuci dengan air detergen, kemudian dibilas dengan air yang mengandung zat aktif (bagian 7.6.1) diikuti dengan solven dan dipanaskan hampir mencapai 200°C dengan minimal 1 jam sebelum digunakan.

6.1.2 Menyusun Peralatan.

Secara otomatis atau manual harus disusun sistim pemakaian wadah yang terbuat dari kaca, membersihkan setiap botol sesuai dengan prosedur pembersihan seperti yang disebutkan di atas. Hanya kaca atau selang fluoropolymer yang akan dipakai, jika pengambilan contoh menggunakan pompa peristaltic. Sebelum penggunaan, selang tersebut harus dibilas lebih dahulu secara menyeluruh dengan methanol dan diikuti dengan bilasan air yang mengandung zat aktif dengan berulang kali untuk mencegah kontaminasi pada sample. Alat pengukur aliran yang canggih harus digunakan untuk mendapatkan komposisi sample yang proporsional setelah dibersihkan.

6.2 Pembersihan peralatan yang terbuat dari bahan kaca--Laboratorium akan dipenuhi bau yang menyengat hidup.

6.3 Peralatan untuk penyediaan sample.

6.3.1 Laboratorium harus memberikan takaran yang cukup untuk menyediakan sample seperti yang tercantum pada daftar peralatan sebagai berikut :

6.3.2 Kotak sarung tangan.

6.3.3 Tissue homogenizer – VirTis model 45 macro homogenizer (American Scientific Products H-3515 atau sejenisnya) dengan bahan stainless steel macro shaft dan turbo shear blade.

6.3.4 Penghancur daging – Hobart atau alat sejenis dengan lubang 3-5 mm pada piringan di dalam.

6.3.5 Alat pengukur kelembaban.

6.3.5.1 Oven – mempunyai kemampuan untuk menjaga suhu $110 \pm 5^{\circ}\text{C}$.

6.3.5.2 Dessicator.

6.3.6 Timbangan.

6.3.6.1 Analytical – mempunyai kemampuan menimbang 0.1 mg.

6.3.6.2 Top Loading – mempunyai kemampuan menimbang 10 mg.

6.4 Peralatan ekstraksi.

6.4.1 Sample Air

6.4.1.1 PH meter dengan kombinasi elektroda kaca.

6.4.1.2 Lembaran kertas PH yang besar (kertas Hydrion atau yang sejenisnya).

6.4.1.3 Silinder yang mempunyai kapasitas 1 L.

6.4.1.4 Ekstraksi cairan-- Tabung yang terpisah, 250 mL, 500 mL dan 2000 ml dengan fluoropolymer stopcock.

6.4.1.5 Ekstraksi pada tahap padat.

6.4.1.5.1 1 Liter perlengkapan penyaringan termasuk di dalamnya botol bercerobong, botol pencampur bahan, pengapit, botol

penyesuaian, penghentian, botol penyaring dan selang pengisap (figure 7). Untuk sample air limbah, perlengkapan harus mampu menampung 90 atau 144 mm piringan. Untuk air minuman atau sample lainnya yang mengandung sedikit zat padat, piringan yang lebih kecil mungkin diperlukan.

6.4.1.5.2 Sumber penyerapan harus mampu mengatur keadaan pada 25 in.Hg, dilengkapi dengan valve penutup dan alat pengukur penyerapan.

6.4.1.5.3 Penyaring kaca fiber-- Whatman GMF 150 (atau alat sejenisnya) ukuran 1 micron cocok digunakan pada alat ini. (Penjelasan 6.4.1.5.1).

6.4.1.5.4 Piringan Ekstraksi tahap padat mengandung octadecyl (C18) berikatan dengan silica terbentuk dalam satu susunan pada suatu matriks. Fisher Scientific 14-378F (atau yang sejenis) sesuai dengan peralatan penyaringan pada penjelasan 6.4.1.5.1.

6.4.2 Soxhlet / Dean-Stark (SDS) extractor (Gambar 5)-untuk alat penyaring dan sample padat.

6.4.2.1 Soxhlet – 50 mm diameter dalam, kapasitas 200 ml dengan isi 500 ml (Cal-glass LG-6900 atau yang sejenis kecuali penggantinya botol berbentuk bulat 500 mL untuk botol 300 mL).

6.4.2.2 Thimble – 43 x 123 dapat dipakai untuk soxhlet (Cal-glass LG 6901-122 atau sejenisnya).

6.4.2.3 Pengukur kelembaban – Dean Stark atau Barret dengan penutup fluoropolymer yang sesuai dengan soxhlet.

6.4.2.4 Alat pemanas – Hemispherical yang sesuai dengan botol bulat berisi 500 mL (Cal-glass LG – 8801-112 atau yang sejenisnya).

6.4.2.5 Transformer variabel- Powerstat (atau yang sejenisnya) 110 volt, 10 amp.

6.4.3 Perlengkapan ekstraksi bahan tissue.

6.4.3.1 Botol untuk ekstraksi (jika pencampuran/ekstraksi dengan menggunakan HCl) 500-600 mL, botol yang bermulut besar dan jernih, tutup juga dikelilingi oleh fluoropolymer.

6.4.3.2 Botol untuk ekstraksi pembalik-100-200 mL botol kaca

bermulut dangkal dengan tutup dikelilingi fluoropolymer.

6.4.3.3 Pengocok mekanikal-alat pemutar atau pengocok rotary yang dapat menghasilkan agitasi yang kuat (Sybron Thermolyne Model LE”Big Hill” rotator/shaker atau yang sejenisnya).

6.4.3.4 Rak yang dibentuk bersamaan dengan alat pengocok untuk memberikan agitasi pada 4 dari 9 sample secara terus-menerus.

6.4.4 Beakers – 400 – 500 mL.

6.4.5 Spatulas - Bahan dari stainless steel.

6.5 Peralatan untuk menyaring.

6.5.1 Pyrex glass wool – ekstraksi solven oleh SDS dengan minimal selama 3 jam.

Catatan: baking glass wool mungkin akan mengakibatkan permukaan aktif menyerap CDDs/CDFs.

6.5.2 Botol bercerobong – 125-250 mL.

6.5.3 Kertas penyaring fiber kaca – Whatman GF/D (atau yang sejenisnya) untuk dipakai pada botol bercerobong seperti penjelasan 6.5.2.

6.5.4 Kolom pengeringan – 15-20 mm diameter bagian dalam dari pyrex chromatographic dilengkapi dengan frit coarse glass atau plug wool glass.

6.5.5 Cerobong Buchner – 15 cm.

6.5.6 Kertas penyaring fiber kaca-- untuk dipakai pada cerobong Buchner pada penjelasan 6.5.5.

6.5.7 Flask penyaring – 1.5-2.0 L yang memiliki bagian samping.

6.5.8 Peralatan tekanan pada penyaringan – Millipore YT30 142HW atau yang sejenisnya.

6.6 Peralatan sentrifugal.

6.6.1 Sentrifugal – Sebuah botol yang mampu berotasi, botol sentrifugal 500 mL atau 15 mL sentrifugal tube pada 5.000 rpm minimumnya.

6.6.2 Botol sentrifugal – 500 mL, dengan penutup yang dapat dibuka, disesuaikan dengan sentrifugal yang dipakai.

6.6.3 Tube sentrifugal – 12-15 mL, dengan tutup yang dapat dibuka, disesuaikan dengan sentrifugal yang dipakai.

6.7 Perlengkapan untuk membersihkan.

6.7.1 Automated gel permeation chromatograph (Analytical Biochemical Labs.Inc, Columbia MO, Model GPC Autoprep 1002 atau yang sejenisnya).

6.7.1.1 Kolom – 600-700 mm panjang x 25 mm diameter bagian dalam dipacking dengan 70 g dari SX-3 Bio-Beads (Bio-Rad Laboratories, Richmond Ca atau yang sejenisnya).

6.7.1.2 Alat injeksi – 10 mL dengan sambungan di luar.

6.7.1.3 Pegangan saringan pada alat injeksi – terbuat dari bahan stainless steel dan fiberglass atau fluoropolymer filter (Gelman 4310 atau yang sejenisnya).

6.7.1.4 Alat deteksi UV- 254 nm, preparative atau sel aliran semi preparative (Isco Inc type 6 Schimadzu, 5 mm bagian panjang, Beckman-Altex 152 W, 8 μ L, aliran sel micro –prep, bagian 2 mm Pharmacia UV-1 aliran sel 3 mm, LDC Milton – Roy UV-3, monitor #1203 atau yang sejenisnya).

6.7.2 Tahap pembalik pemisahan cairan dengan tingkat akurasi tinggi.

6.7.2.1 Kolom oven dan detector-perkin-elmer Model LC 65T

(atau yang sejenisnya) yang dioperasikan pada 0.02 AUFS pada 235 nm.

6.7.2.2 Injektor - Rheodyne 7120 (atau yang sejenisnya) dengan sample 50 μ L.

6.7.2.3 Kolom - dua 6.2 mm x 250 mm zorbax-ODS Kolom pada serinya (Dupont Instruments Division, Wilmington, DE atau yang sejenisnya) yang dioperasikan pada 50°C dengan 2.0 mL / min methanol isocratic effluent.

6.7.2.4 Pompa – Altex 110 A (atau yang sejenisnya).

6.7.3 Pipet.

6.7.3.1 Pasteur yang dibuang setelah dipergunakan-- 150 mm panjang x 5 mm diameter bagian dalam (Fisher Scientific 13-678-6A atau yang sejenisnya).

6.7.3.2 Serological yang dibuang setelah dipergunakan, 10 mL (6 mm diameter bagian dalam).

6.7.4 Kolom chromatography dari kaca.

6.7.4.1 150mm panjang x 8 mm diameter bagian dalam (Kontes K-420155 atau yang sejenisnya dengan frit glass coarse atau plug wool glass dan penampung air 250 mL).

6.7.4.2 200mm panjang x 15 mm diameter bagian dalam dengan frit glass coarse atau plug wool glass dan penampung air 250 mL.

6.7.4.3 300mm panjang dan 25 mm diameter bagian dalam dengan penampung 300 mL dan terbuat dari kaca atau stopcock fluoropolymer.

6.7.5 Peralatan pengaduk untuk pembuangan batch silica dari ekstraksi tissue.

6.7.5.1 Pengaduk mekanikal – Corning Model 320 atau yang sejenisnya.

6.7.5.2 Botol – 500-600 mL dengan mulut botol yang lebar.

6.7.6 Oven- Untuk mendidihkan dan menyimpan penyerapan, mampu menjaga agar tetap pada suhu konstan ($\pm 5^\circ\text{C}$) pada daerah 105-250°C.

6.8 Perlengkapan untuk mengentalkan/pemekatan.

6.8.1 Evaporator Rotary – Buchi/Brinkman – American Scientific No. E5045-10 atau yang sejenisnya dilengkapi dengan pengukur suhu air variabel.

6.8.1.1 Sumber penyerapan untuk alat pengukur penguapan rotary dilengkapi dengan valve penutup pada evaporator dan vacuum gauge.

6.8.1.2 Sebuah pompa air pendingin yang berfungsi untuk menyirkulasikan air disarankan untuk dipakai, karena penggunaan kran air untuk pendinginan di evaporator membuat air terbuang sangat banyak dan dapat mengakibatkan keadaan yang tidak tetap pada suhu air dan berbagai tekanan air akan timbul.

6.8.1.3 Botol berbentuk bulat – isi 100 mL dan 500 mL atau yang lebih besar dengan sambungan memanjang ke bawah dan disambungkan ke alat pengukur penguapan rotary.

6.8.2 Pemekatan dengan Kuderna-Danish (K-D).

6.8.2.1 Tube konsentrat – 10 mL, sudah diperiksa kualitasnya dengan berbagai kalibrasi (Kontes K-570050-1025 atau yang sejenisnya). Penghentian pada tabung kaca yang memanjang (ukuran 19/22 dengan sambungan) digunakan untuk mencegah penguapan ekstraksi.

6.8.2.2 Botol untuk penguapan--500 mL (kontes K-570001-0500 atau yang sejenis dengannya) menunjang alat pengkonsentrasi dengan pegas (Kontes K-662750-0012 atau sejenis dengannya).

6.8.2.3 Kolom Snyder--three ball macro (Kontes K-503000-0232 atau yang sejenis dengannya).

6.8.2.4 Komponen pemanas.

6.8.2.4.1 Kaca atau silicon carbide – yang mencapai sekitar 10/40 mesh diekstraksi dengan menggunakan methylene chloride dan dididihkan pada suhu 450°C selama 1 jam.

6.8.2.4.2 Fluoropolymer (hanya pendukung) – diekstraksi dengan methylene chloride.

6.8.2.5 Water Bath-- Dipanaskan dengan penutup berbentuk cincin

berkonsentrasi tinggi, mampu menjaga suhu agar tetap dalam keadaan $\pm 2^{\circ}\text{C}$ di dalam suhu ruangan.

6.8.3 Peralatan yang mengeluarkan nitrogen – dilengkapi dengan pengontrolan suhu air agar tetap di dalam daerah $30\text{-}60^{\circ}\text{C}$ (N-Evap, Organomation Associates Inc, South Berlin MA atau yang sejenis dengannya) dan dilengkapi dengan sebuah alat pengukur bau.

6.8.4 Tempat Sample.

6.8.4.1 Botol amber -- 2-5 mL dengan penutup dikelilingi oleh fluoropolymer yang dapat dibuka.

6.8.4.2 Botol gelas -- 0.3 mL Conical dengan penutup dikelilingi oleh fluoropolymer yang dapat dibuka.

6.9 Gas chromatograph -- Cakan terdapat kolom yang kosong atau port untuk kolom injeksi capillary, suhu diatur dengan pegangan Isothermal dan akan sesuai dengan semua spesifikasi pada penjelasan 10.

6.9.1 Kolom GC untuk CDDs/CDFs dan untuk isomer yang khusus untuk 2,3,7,8-TCDD -- 60 μm panjang x 0.32 μm diameter bagian dalam; 0.25 μm 5% phenyl, 94% methyl, 1% vinyl silicone pada tahap pelekatan fuse dengan silica pada kolom capillary (J&W DB-5 atau yang sejenis dengannya).

6.9.2 Kolom GC yang khusus untuk isomer 2,3,7,8-TCDF -- 30 μm panjang x 0.32 μm diameter bagian dalam, 0.25 μm dengan tahap penempelan fuse dengan silica pada kolom capillary (J&W DB-225 atau yang sejenis dengannya).

6.10 Mass spectrometer -- 28-40eV dampak ionisasi electron akan dapat memonitor secara terus menerus 12 m/z minimum-nya pada resolusi tinggi (> 10.000) selama sebuah periode hampir mencapai 1 detik dan akan bertemu dengan spesifikasi yang dijelaskan pada bagian 10.

6.11 GC/MS Interface – mass spectrometer (MS) akan dihubungkan ke GC sedemikian rupa hingga berakhir pada ujung kolom capillary yang akan memotong 1 cm pada sumber ion tetapi tidak menangkap elektron atau ion penyanggah.

6.12 Data system-mampu untuk mengumpulkan, merekam dan menyimpan MS data.

7.0 Zat aktif dan standard

7.1 Penyesuaian PH dan ekstraksi balik.

7.1.1 Potassium hydroxide – campurkan 20 gr zat aktif jenis KOH dalam 100 mL air.

7.1.2 Sulfuric acid – jenis zat aktif (gravitasi khusus 1.84).

7.1.3 Hydrochloric acid – zat aktif jenis 6N.

7.1.4 Sodium chloride – jenis zat aktif yang disediakan pada 5% (w/v) cairan dalam air.

7.2 Cairan pengering dan penguapan.

7.2.1 Cairan pengering – sodium sulphate jenis zat aktif, granular, anhydrous (Baker 3375 atau yang sejenis dengannya) dibilas dengan methylene chloride (20mL/g), dididihkan pada 400°C dengan minimal selama 1 jam, didinginkan dengan dessicator, disimpan pada botol yang telah dibersihkan terlebih dahulu dengan tutup yang dapat dibuka untuk mencegah lembab. Setelah pemanasan, sodium sulphate akan berubah menjadi cairan berwarna keabu-abuan (karena munculnya carbon dalam matriks crystal), batch untuk zat aktif tidak perlu dipakai dan harus diabaikan. Ekstraksi dengan methylene chloride (dipakai untuk mempermudah pembilasan) dan pemanasan dengan suhu rendah

sehingga dapat menghasilkan sodium sulphate yang diinginkan.

7.2.2 Pengeringan bahan tissue – sodium sulphate, sejenis zat aktif berbentuk tepung, diperlakukan sedemikian rupa dan disimpan seperti penjelasan di atas.

7.2.3 Nitrogen yang telah dimurnikan.

7.3 Ekstraksi.

7.3.1 Solven---acetone, toluene, cyclohexane, hexane, methanol, methylene chloride dan nonane, disuling dalam botol dari kaca, dengan mutu pestisida, dipastikan bebas dari pengaruh zat lainnya.

7.3.2 White quartz sand, 60/70 mesh---untuk soxhlet / ekstraksi Dean-Stark (aldrich chemical, cat No.27-437-9 atau yang sejenis dengannya) dididihkan pada 450°C selama 4 jam paling sedikitnya.

7.4 Cairan Kalibrasi GPC.

Sediakan cairan yang mengandung 300 mg/mL minyak jagung, 15 mg/mL bis (2-ethylhexyl) phthalate, 1.4 mg/mL pentachlorophenol, 0.1 mg/mL perylene dan 0.5 mg/mL sulfur.

7.5 Penyerapan pada pembersihan sample.

7.5.1 Silica gel.

7.5.1.1 Silica gel aktif---100-200 mesh, supelco 1-3651 (atau yang sejenis dengannya) dibilas dengan methylene chloride, dididihkan pada suhu 180°C selama minimal 1 jam, didinginkan di dalam dessicator dan disimpan pada botol dari kaca yang telah dibersihkan sebelumnya dengan tutup yang dapat dibuka untuk mencegah masuknya lembab/air.

7.5.1.2 Acid silica gel (30% w/v)---Melalui campuran 44.0 g dari konsentrasi sulfuric acid dengan 100.0 g dari silica gel aktif di dalam sebuah kotak bersih. Hancurkan serpihan dengan sebuah

alat pengaduk sampai terbentuk campuran yang sudah larut. Simpan dalam sebuah botol dengan tutup dikelilingi fluoropolymer.

7.5.1.3 Basic silica gel---Melalui campuran 30 g dari 1N sodium hydroxide dengan 100 g silica gel yang aktif di dalam sebuah tempat. Hancurkan serpihan dengan alat pengaduk sampai terbentuk campuran yang sudah larut. Simpan dalam sebuah botol yang tutupnya dikelilingi oleh fluoropolymer.

7.5.1.4 Potassium silicate.

7.5.1.4.1 Pisahkan 56 g dari potassium hydroxyde yang murni (aldrich atau yang sejenis dengannya) dalam 300 mL methanol yang ditempatkan dalam botol ukuran 750-1000 mL yang dasarnya berbentuk rata.

7.5.1.4.2 Tambahkan 100 g silica gel dan aduk dengan sebuah tongkat, dan aduk dalam piringan bersuhu 60-70°C selama 1 sampai 2 jam.

7.5.1.4.3 Keluarkan cairan tersebut dan bilas potassium silicate sebanyak dua kali dengan 100 mL bagian methanol, diikuti dengan pembilasan sekali memakai 100 mL methylene chloride.

7.5.1.4.4 Sebarkan potassium silicate pada aluminium foil yang sudah dibilas dan dikeringkan selama dua sampai empat jam di dalam ruangan.

7.5.1.4.5 Dilakukan semalaman pada suhu 200-250°C.

7.5.2 Alumina – salah satu dari dua tipe alumina, acid dan basic, dapat digunakan untuk pembersihan ekstraksi sample, yang disediakan di dalam laboratorium untuk dipakai sesuai dengan penampilan spesifikasi senyawa berlabel seperti yang dijelaskan pada bagian 9.3. Tipe alumina yang sama harus digunakan pada semua sample, termasuk bagian yang ditunjukkan oleh penempatan inisial (bagian 9.2) yang diiringi ketelitian dan keseksamaan (bagian 15.5).

7.5.2.1 Acid alumina –supelco 19996-6C (atau yang sejenisnya), digunakan dengan memanaskan pada suhu 130°C dengan minimal selama 12 jam.

7.5.2.2 Basic alumina – supelco 19944-6C (atau yang sejenis pada

dengannya), digunakan dengan memanaskan pada suhu 600°C minimal selama 24 jam. Cara yang lainnya, lakukan dengan memanaskan dalam selang tanur pada suhu 650-700°C di bawah aliran udara yang mencapai kurang lebih 400 cc / menit. Jangan panaskan melebihi 700°C, karena ini akan mengakibatkan penurunan mutu untuk kegunaan analisa. Simpan pada suhu 130°C dan di dalam botol yang tertutup rapat sehingga dapat digunakan selama jangka waktu lima hari.

7.5.3 Carbon.

7.5.3.1 Carbopak C---(supelco 1-0258 atau yang sejenis dengannya).

7.5.3.2 Celite 545- (supelco 2-0199 atau yang sejenis dengannya).

7.5.3.3 Campurkan 9.0 g carbopak C dan 41.0 g celite 545 secara merata untuk menghasilkan campuran 18% w/v. Aktifkan campuran pada 130°C selama minimal 6 jam dan simpan dalam dessicator.

7.5.4 Kolom anthropogenic isolasi – dikemas pada sebuah kolom seperti yang dijelaskan pada bagian 6.7.4.3 dari bawah sampai atas seperti keterangan berikut :

7.5.4.1 2 g Silica gel (bagian 7.5.1.1).

7.5.4.2 2 g Potassium silicate (bagian 7.5.1.4).

7.5.4.3 2 g Granular anhydrous sodium sulphate (bagian 7.2.1).

7.5.4.4 10 g Acid silica gel (bagian 7.5.1.2).

7.5.4.5 2 g Granular anhydrous sodium sulphate.

7.5.5 Kolom florisil.

7.5.5.1 Florisil – 60-100 mesh, flordin Corp (atau yang sejenis dengannya). Ekstraksi soxhlet dalam 500 g bagian selama 24 jam.

7.5.5.2 Masukkanlah plug wool kaca ke dalam bagian ujung pipet serological (bagian 6.7.3.2). Dikemas dalam 1.5 g (lebih kurang 2 mL) dari florisil sampai mencapai 1 mL dari sodium sulphate (bagian 7.2.1) dan plug wool kaca.

7.5.5.3 Dimasukkan ke dalam oven pada suhu 130-150°C selama

minimal selama 24 jam dan didinginkan selama 30 menit. Digunakan pada jangka waktu 90 menit pendinginan.

7.6 Pengaruh matriks- matriks yang di dalamnya CDDs/CDFs dan adanya pengaruh senyawa yang tidak terdeteksi pada metode ini.

7.6.1 Air yang mengandung zat aktif – Air dalam kemasan yang dibeli dari lokal atau diproduksi melalui perjalanan aktivasi carbon.

7.6.2 Matriks dengan zat padat yang tinggi – Pasir playground atau bahan sama yang dihasilkan dengan ekstraksi dari methylene chloride dan atau yang dididihkan pada suhu 450°C selama minimal empat jam.

7.6.3 Matriks dengan bahan kertas---Penyaring dari fiber kaca, Gelman type A atau yang sejenis dengannya. Potongan kertas digunakan untuk mensimulasikan daerah permukaan pada sample yang sedang diujicoba.

7.6.4 Matriks dari bahan tissue---Jagung atau minyak sayur lainnya yang dihasilkan dengan ekstraksi dari methylene chloride.

7.6.5 Matriks lainnya---Metode ini harus diverifikasi pada semua matriks yang saling berhubungan dengan melakukan percobaan seperti yang dijelaskan pada bagian 9.2. Sebaiknya harus dibebaskan dari CDDs/CDFs, tetapi tidak ada masalah yang akan melatarbelakangi tingkatan CDDs/CDFs matriks yang berhubungan akan muncul sebanyak tiga kali dari tingkat terbawah yang terdapat dalam table XII. Dimana tingkat yang berlatar belakang rendah pada CDDs/CDFs akan muncul pula matriks. Tingkatan yang digunakan para analis pada bagian 9.2 harus dinaikkan untuk menghasilkan ratio latar mencapai 1:1 sampai 5:1 (penjelasan 15).

7.7 Cairan standard – Dibeli sebagai cairan atau campuran dengan

ketepatan tingkat konsentrasi pemurnian dan autentitas (atau disediakan bahan yang telah diakui kemurniannya dan komposisinya). Jika kemurnian dari bahan kimia adalah 98% atau lebih besar, beratnya mungkin akan digunakan tanpa perlu perbaikan guna mendapatkan konsentrasi standard. Jika tidak digunakan bahan standard ini disimpan dalam ruangan yang gelap, bersuhu ruangan dengan tutup terbuka dikelilingi dengan fluoropolymer. Sebuah tanda ditempatkan pada bagian depan, menunjukkan tingkat cairan sehingga adanya solven yang hilang melalui penguapan akan diketahui. Jika telah terjadi pengurangan solven, cairan ini segera dipindahkan ke tempat lain.

7.8 Stock Cairan.

7.8.1 Persediaan – Sediakan dalam bentuk nonane untuk setiap tahap di bawah atau dibeli dalam solusi dilusi (Cambridge Isotop Laboratories (CIL), Woburn MA atau yang sejenis dengannya). Teliti terlebih dahulu penjelasan mengenai alat perlindungan dalam bagian 5 dan saran-saran yang diberikan pada bagian 5.1.2.

7.8.2 Pisahkan sejumlah seperti disebutkan dalam penjelasan bahan solven. Sebagai contoh berat 1-2 mg dari 2,3,7,8-TCDD untuk tiga gambar yang jelas dalam 10 mL botol kaca volumetric yang memanjang ke bawah dan berikanlah tanda dengan nonane. Setelah TCDD dipisahkan semuanya, pindahkan cairan ini ke dalam tempat 15 mL yang telah dibersihkan sebelumnya dengan tutup dikelilingi fluoropolymer.

7.8.3 Stock cairan standard harus diperiksa tanda-tanda penurunannya sehubungan dengan persiapan kalibrasi atau uji coba standard. Standard yang berhubungan dapat digunakan untuk menunjukkan ketepatan standard kalibrasi yang tersedia CAL dan mungkin dapat diperoleh dari penjual lain.

7.9 Stock Cairan PAR.

7.9.1 Semua CDDs/CDFs –Gunakanlah cairan pada bagian 7.8, sediakan stock cairan PAR yang mengandung CDDs/CDFs pada konsentrasi yang ditunjukkan pada table XIII. Jika sedang didilusikan, cairan ini menjadi PAR (bagian 7.14).

7.9.2 Jika hanya 2,3,7,8-TCDD dan 2,3,7,8-TCDF yang ditunjukkan, sediakanlah stok cairan PAR yang hanya mengandung senyawa ini.

7.10 Cairan senyawa berlabel.

7.10.1 Semua CDDs/CDFs- dari stok cairan atau yang dari campuran yang dibeli, sediakanlah cairan yang mengandung senyawa berlabel dalam nonane dengan konsentrasi yang ditunjukkan pada table XIII. Cairan ini didilusikan dengan acetone dan digunakan seperlunya (bagian 7.10.3).

7.10.2 Jika hanya 2,3,7,8-TCDD dan 2,3,7,8-TCDF yang ditunjukkan, sediakanlah cairan senyawa berlabel yang hanya mengandung senyawa ini. Cairan ini didilusikan dengan acetone dan digunakan seperlunya (bagian 7.10.3).

7.10.3 Dilusikan jumlah secukupnya dari senyawa cairan berlabel (bagian 7.10.1 atau 7.10.2) dengan sebuah factor 50 dari acetone untuk menghasilkan cairan dilusi. Setiap sample memerlukan 1.0 mL cairan dilusi dan tidak ada cairan yang disediakan yang dapat digunakan dalam satu hari.

7.11 Standard Pembersihan – Sediakan $^{37}\text{C}_{14}$ - 2,3,7,8-TCDD dalam nonane seperti pada konsentrasi yang ditunjukkan pada table XIII. Standard pembersihan ditambahkan pada setiap ekstrak sebelum dibersihkan untuk mengukur efisiensi dari proses pembersihan.

7.12 Internal Standard (s).

7.12.1 Semua CDDs/CDFs – Sediakanlah cairan internal standard

yang mengandung $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4,-TCDD dan $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDD dalam nonane seperti konsentrat yang ditunjukkan pada tabel XIII.

7.12.2 Jika hanya 2,3,7,8-TCDD dan 2,3,7,8-TCDF yang diperlukan, sediakan cairan internal standard yang hanya mengandung $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4-TCDD.

7.13 Standard Kalibrasi (CS1 sampai CS5)- gabungkan semua cairan di bagian 7.9 sampai 7.12 untuk menghasilkan lima jenis kalibrasi seperti yang ditunjukkan tabel XIV dalam nonane. Cairan ini menerima relative response (dari yang berlabel sampai yang umum) dan response factor yang dapat diukur dari fungsi konsentrasinya. Standard CS3 digunakan untuk verifikasi kalibrasi (VER). Bila hanya 2,3,7,8-TCDD dan 2,3,7,8-TCDF yang diperlukan, gabungkanlah cairan secukupnya ke dalam senyawa ini.

7.14 Standard Penempatan dan Ketepatan (PAR)--Digunakan untuk mendapatkan sebuah nama (bagian 9.2) dan penempatan yang akan datang (bagian 15.5). Dilusikan 10 μL atas standard penempatan dan ketepatan (bagian 7.9.1 atau 7.9.2) ke dalam 2 mL acetone untuk setiap sample matriks pada setiap batch sample. Setiap satu mL diperlukan untuk matriks kosong dan OPR pada setiap batch matriks.

7.15 Cairan GC retention time window defining dan Standard uji coba isomer khusus – gunakan batasan untuk permulaan dan akhir dari perpanjangan waktu untuk Dioxin dan isomer furans serta untuk menunjukkan kekhususan isomer pada kolom GC yang dilakukan dalam menemukan 2,3,7,8-TCDD dan 2,3,7,8-TCDF. Standard ini harus mengandung senyawa yang terdapat dalam tabel XV (CAL EDF-4006 atau yang sejenis dengannya) pada minimumnya. Tidak perlu adanya pengawasan pada pembatas senyawa jika hanya 2,3,7,8-TCDD dan 2,3,7,8-TCDF yang dihasilkan. Pada kasus ini, ujicoba standard isomer khusus yang

mengandung isomer yang lebih banyak seperti yang terdapat pada tabel XV (CAL EDF-4033 atau yang sejenis dengannya) mungkin akan digunakan.

7.16 Pemeriksaan sample oleh QC--Seorang QC pemeriksa sample harus diperoleh dari sumber luar yang tidak berhubungan dengan standard kalibrasi. Yang pasti, pemeriksaan sample ini akan mendapatkan keterangan yang resmi dari bahan yang mengandung CDDs/CDFs yang telah diketahui konsentrasinya dalam sample matriks yang sama dengan sample matriks yang sedang diujicoba.

7.17 Stabilitas cairan – cairan standard yang digunakan pada sejumlah tujuan (bagian 7.9 sampai 7.15) harus dianalisa secara berkala dan harus disebutkan sebelum berlawanan dengan penjelasan standard (bagian 7.8.3) jika digunakan lebih lanjut.

8.0 Pengumpulan sample, pemeliharaan, penyimpanan dan waktu pemakaian.

8.1 Kumpulkan sample pada kotak amber kaca mengikuti cara tradisional pelaksanaan sample (penjelasan 16). Sample yang berbentuk air yang mengalir dengan bebas dikumpulkan dengan botol memakai peralatan sample otomatis. Sample zat padat yang dikumpulkan sebagai sample tangkapan dengan menggunakan derigen bermulut lebar.

8.2 Jagalah sample berbentuk air di dalam ruangan gelap bersuhu 0-4°C dari waktu pengumpulan sampai diterima oleh pihak laboratorium. Bila sisa chlorine dijumpai pada sample yang berbentuk air ini, tambahkanlah 80 mg sodium thiosulphate pada setiap liter air. Standard EPA 330.4 dan 330.5 mungkin akan digunakan untuk mengukur sisa chlorine (penjelasan 17). Bila pH sample lebih besar dari 9, sesuaikanlah ke pH 7-9 dengan sulfuric acid.

Tempatkanlah sample zat padat, setengah padat, yang berminyak

di dalam ruangan gelap bersuhu di bawah 4°C dari waktu pengumpulan sampai diterima oleh pihak laboratorium.

Simpanlah sample berbentuk air ini di dalam ruangan bersuhu di bawah 4°C. Simpan zat padat, setengah padat, berminyak, sample beraneka tahap dan sample bahan tissue di dalam ruangan bersuhu di bawah 10°C.

8.3. Ikan dan sample tissue.

8.3.1 Ikan akan dibersihkan, diambil dagingnya atau diproses dengan cara lain di lapangan sehingga pihak laboratorium dapat berharap semua ikan, daging ikan dan bahan tissue lainnya untuk dianalisa.

8.3.2 Ikan yang dikumpulkan di lapangan harus dibungkus dengan aluminium foil dan harus dijaga dengan suhu di bawah 4°C dari mulai pengumpulan sampai diterima oleh pihak laboratorium.

8.3.3 Sample harus dibekukan begitu diterima oleh pihak laboratorium dan dimasukkan ke dalam ruangan gelap bersuhu di bawah -10°C. Jagalah sample yang tidak dipergunakan di dalam ruangan bersuhu di bawah -10°C.

8.4 Waktu pemakaian.

8.4.1 Tidak ada batasan maksimum untuk waktu pemakaian, disesuaikan dengan CDDs/CDFs dalam air, zat padat, setengah padat, tissue atau matriks dari sample lainnya. Bila disimpan dalam ruangan gelap bersuhu 0-4°C dan dijaga seperti yang dijelaskan di atas (jika memang diperlukan) sample berbentuk air mungkin dapat disimpan lebih dari satu tahun. Begitu juga jika di dalam ruangan gelap bersuhu di bawah -10°C zat padat, setengah padat, sample beraneka tahap dan sample tissue mungkin dapat disimpan lebih dari satu tahun.

8.4.2 Simpan ekstraksi sample di dalam ruangan bersuhu di bawah -10°C untuk dianalisa. Bila disimpan di ruangan gelap bersuhu di bawah -10°C ekstraksi sample mungkin dapat disimpan lebih dari satu tahun.

9.0 Quality Assurance / Quality Control.

9.1 Setiap laboratorium yang menggunakan metode ini memerlukan pelaksanaan sebuah program quality assurance (penjelasan 18). Permintaan minimal untuk program yang terdiri dari sejumlah langkah ini dapat ditunjukkan oleh pihak laboratorium sesuai kemampuannya. Analisis sample dengan senyawa berlabel ditujukan untuk evaluasi dan mutu data dokumen, sesuai analisa standard dan tidak standard sebagai uji coba yang berkelanjutan. Hasil pekerjaan pihak laboratorium dibandingkan sedemikian rupa untuk meningkatkan kriteria yang terdahulu jika hasil para analis telah mendapatkan karakter dari suatu metode.

Jika metode ini dilakukan pada sample matriks selain dari air (sebagai contoh endapan, filter cake, kompos, bahan tissue) maka matriks akan berhubungan satu dengan yang lainnya (bagian 7.6.2 sampai 7.6.5) dan akan digantikan oleh matriks zat aktif air (bagian 7.6.1) pada setiap cara pengujian.

9.1.1 Para analis akan memberi nama yang menunjukkan kemampuan, meningkatkan ketepatan yang dapat diterima dan sebuah metode yang baik. Kemampuan ini dilakukan sesuai dengan penjelasan yang diberikan pada bagian 9.2.

9.1.2 Dalam pengetahuan, kemajuan-kemajuan yang terjadi pada teknologi analitikal, memberikan ide kepada para analis untuk mengatasi pemisahan dan untuk menurunkan biaya pengukuran. Cara ini termasuk di dalamnya ekstraksi alternatif, konsentrat, prosedur pembersihan, perubahan yang terjadi pada kolom dan detektor serta teknik percobaan lainnya, seperti penggantian pada Spectroscopic atau teknik Immuno-Assay. Tetapi perubahan yang

dapat menurunkan hasil tidak diizinkan. Jika sebuah teknik analitikal selain dari teknik khusus lainnya pada setiap metode yang digunakan, teknik tersebut harus memiliki kesesuaian khusus atau harus lebih baik dari teknik sebelumnya untuk meningkatkan minat para analis.

9.1.2.1 Setiap kali adanya modifikasi yang dilakukan terhadap metode ini, para analis perlu melakukan prosedur ulang seperti pada penjelasan 9.2. Jika batasan deteksi dari metode ini cukup berpengaruh, maka pihak laboratorium perlu mempraktekkan bahwa MDL (40CFR bagian 136 lampiran B) harus lebih rendah dari sepertiga tingkat regulator atau sepertiga dari ML pada metode ini. Jika kalibrasi juga menimbulkan perubahan, para analis harus melakukan kalibrasi kembali pada setiap instrument seperti pada penjelasan 10.

9.1.2.2 Pihak laboratorium perlu mendokumentasikan catatan dari modifikasi yang dilakukan pada metode ini, catatan tersebut adalah sebagai berikut di bawah ini :

9.1.2.2.1 Nama, judul, alamat dan no telepon dari para analis yang melakukan analisa dan modifikasi serta petugas quality control (QC) yang menyaksikan harus melakukan verifikasi pada analisa dan modifikasi.

9.1.2.2.2 Sebuah daftar zat polusi yang diukur, melalui nama dan No Daftar CAS.

9.1.2.2.3 Alasan yang diperlukan untuk melakukan modifikasi.

9.1.2.2.4 Hasil ujicoba dari semua quality control (QC) dibandingkan ke metode yang telah dimodifikasi ke metode baru termasuk di dalamnya :

- a) Kalibrasi (bagian 10.5 sampai 10.7)
- b) Verifikasi kalibrasi (bagian 15.3)
- c) Penempatan nama (bagian 9.2)
- d) Penempatan senyawa berlabel (bagian 9.3)
- e) Metode analisa kosong (bagian 9.5)
- f) Ketepatan penelitian (bagian 9.4)

9.1.2.2.5 Data harus diberikan ke pemeriksa yang independen untuk menvalidasi setiap penemuan dengan mengikuti pemakaian instrumen dari luar (ketinggian puncak, area dan tanda lainnya) i

untuk mendapatkan hasil terakhir dan data yang termasuk di dalamnya adalah :

- a) No sample dan tanda pengenal lainnya.
- b) Tanggal ekstraksi.
- c) Waktu dan tanggal analisa.
- d) Kronologis penelitian.
- e) Volume dan berat sample (bagian 11).
- f) Volume ekstraksi sebelum dilakukan tahap pembersihan (bagian 13).
- g) Volume ekstraksi setelah dilakukan tahap pembersihan (bagian 13).
- h) Ekstraksi akhir sebelum adanya pemompaan (bagian 14).
- i) Volume setelah dilakukan pemompaan (bagian 14.3).
- j) Dilusi data, perbedaan dilusi antara sample dan ekstrak (bagian 17.5).
- k) Peralatan dan cara-cara penggunaannya.
- l) Kolom (ukuran, tahap cairan, zat padat penunjang, ketebalan film dll).
- m) Cara-cara penggunaan (suhu, program suhu, ukuran aliran).
- n) Detektor (tipe, cara-cara penggunaan dll).
- o) Chromatogram, isolasi printer dan rekaman data awal.
- p) Jumlah laporan, output data sistem dan data lain yang menghubungkan data awal ke hasil yang didapat.

9.1.3 Analisa metode kosong perlu dilakukan untuk membebaskan sample dari kontaminasi (bagian 4.3). Prosedur dan kriteria untuk analisa metode blank dijelaskan pada bagian 9.5 dan 15.6.

9.1.4 Pihak laboratorium harus menyusun semua sample dengan senyawa berlabel untuk mengawasi adanya perubahan yang terjadi dalam metode (ujicoba dijelaskan pada bagian 9.3). Jika hasil dari pencampuran ini mengindikasikan adanya sebuah perubahan yang sangat jelas pada sample, maka sample ini harus didilusikan untuk mendapatkan perubahan dalam metode dengan batasan yang masih dapat diterima. Prosedur untuk dilusi diberikan pada bagian 17.5.

9.1.5 Pihak laboratorium akan melakukan pembatasan pada basis yang sedang berjalan, melalui verifikasi kalibrasi dan penempatan analisa yang sedang berjalan dimana sistem analitikal dapat dikendalikan. Prosedur ini dijelaskan pada bagian 15.1 sampai 15.5.

9.1.6 Pihak laboratorium harus mendokumentasikan catatan mutu dari data yang diperbaharui. Pengembangan ketepatan dari pernyataan ini dijelaskan pada bagian 9.4.

9.2 Initial Precision and Recovery (IPR) – untuk meningkatkan kemampuan penempatan sample, para analis harus melakukan tindakan berikut :

9.2.1 Untuk sample zat padat tingkat rendah, ekstraksi, konsentrasi dan analisa 1 L dari air yang mengandung zat aktif dicampur dengan senyawa dilusi berlabel (bagian 7.10.3) dan standard penempatan dan pengembangan (bagian 7.14) sesuai dengan prosedur di bagian 11 sampai 18. Sebagai matriks sample alternatif, empat campuran matriks alternatif (bagian 7.6) akan digunakan. Semua sample diproses sesuai langkah yang biasa digunakan dalam memproses sample, termasuk di dalamnya persediaan sample (bagian 11), ekstraksi (bagian 12) dan tahap pembersihan (bagian 13).

9.2.2 Dengan menggunakan cara empat analisa, menghitung konsentrasi rata-rata (\bar{X}) dalam ng/mL dan standard deviasi dari konsentrasi dalam ng/mL dalam setiap senyawa, dengan dilusi isotope untuk CDDs/CDFs, dengan analog berlabel dan internal standard untuk 1,2,3,7,8,9-HxCDD, OCDF dan senyawa berlabel.

9.2.3 Untuk setiap CDD/CDF dan senyawa berlabel, bandingkan s dan \bar{X} dengan batasan yang sesuai untuk penempatan dan pengembangan nama dalam table XVI. Bila hanya 2,3,7,8-TCDD dan 2,3,7,8-TCDF yang dikehendaki, bandingkan s dan \bar{X} dengan

batasan yang sesuai untuk penempatan dan pengembangan sesuai dengan table XVI A. Bila s dan X untuk semua senyawa sesuai dengan kriteria dan perubahan sistem yang dapat diterima, maka analisa blank dan sample sudah dapat dimulai. Dalam penerapan berbagai langkah yang dilakukan secara tersendiri untuk mendapatkan batasan yang tepat, akan tetapi X individual berada di luar keakuratan, maka sistem tersebut tidak relevan untuk analisa senyawa tersebut. Untuk itu perbaiki langkah tersebut dan ulangi ujicoba (bagian 9.2).

9.3 Pihak laboratorium harus mendilusi setiap sampel dengan senyawa dilusi berlabel dengan suatu cairan (bagian 7.10.3) untuk kepentingan penerapan metode pada sample matriks.

9.3.1 Analisa setiap sample sesuai dengan prosedur pada bagian 11 sampai 18.

9.3.2 Hitunglah persentase pengembangan dari senyawa berlabel dan standard pembersihan dengan menggunakan metode internal standard (bagian 17.2).

9.3.3 Pengembangan dari setiap senyawa berlabel harus berada di dalam batasan yang ditunjukkan oleh table XVII. Ketika semua 2,3,7,8 digantikan oleh CDDs/CDFs yang dikehendaki dan dalam batasan pada table XVII A, maka hanya 2,3,7,8-TCDD dan 2,3,7,8-TCDF yang dijumpai. Jika pengembangan senyawa apapun jatuh di luar dari batasan, penerapan metode tidak dapat dilakukan untuk senyawa di dalam sample. Untuk mengatasi masalah ini sample air didilusikan dan jumlah yang lebih sedikit dari endapan, oli kotor, sedimen dan matriks lainnya dianalisa kembali berdasarkan bagian 18.4.

9.4 Pengembangan dari senyawa berlabel dari sample harus diteliti dan catatan harus didokumentasikan (BAB VI).

9.4.1 Setelah analisa dari lima sample yang diberikan oleh matriks

(air, tanah, endapan, serbuk kayu dan lain-lain) dimana senyawa berlabel ini telah melewati ujicoba pada bagian 9.3, hitunglah persentase rata-rata pengembangan (R) dan persentase standard deviasi dari pengembangan (S_R) untuk hanya senyawa berlabel. Perhatikan penelitian ini sebagai interval pengembangan dari $R-2S_R$ sampai $R+2S_R$ untuk setiap matriks. Sebagai contoh, jika $R = 90\%$ dan $S_R = 10\%$ untuk kelima analisa dari bubuk kayu, pengembangan interval ditunjukkan sebagai 70-110%.

9.4.2 Perbaharui ketepatan penelitian pada setiap senyawa berlabel dalam setiap matriks berdasarkan cara yang umum (sebagai contoh setelah 5-10 pengukuran baru).

9.5 Metode blank-metode penjelasan supaya matriks blank dianalisa dan diterapkan bebas dari kontaminasi (bagian 4.3).

9.5.1 Persiapan, ekstraksi, pembersihan dan konsentrasikan pada sebuah metode blank dengan setiap batch sample (sample yang mempunyai matriks yang sama mulai dengan proses ekstraksi pada waktu yang sama selama 12 jam pada maksimal 20 sample) matriks pada metode blank akan sama dengan sample matriks pada batch, sebagai contoh 1 L air zat aktif (bagian 7.6.1), matriks dengan zat padat yang tinggi (bagian 7.6.2), matriks kertas (bagian 7.6.3), tissue (bagian 7.6.4) atau matriks alternative lainnya (bagian 7.6.5). Analisalah kekosongan ini dengan segera dan setelah itu OPR (bagian 15.5) akan diketahui bebas dari kontaminasi.

9.5.2 Jika hanya 2,3,7,8 digantikan oleh CDD/CDF (table XI) dan ditemukan kekosongan lebih besar dari tingkat minimum (table XII) atau sepertiga dari tingkatan yang umum, mana saja yang lebih besar atau jika adanya kemungkinan senyawa yang mempengaruhi ditemukan dalam kekosongan ini pada tingkat minimum untuk setiap tingkatan chlorinasi yang diberikan pada table XII (dengan anggapan sebuah response factor yang sesuai dengan $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4-TCDD dengan standard senyawa internal

yang tidak tercantum dalam table XI). Analisa sample ini dihentikan sampai ditemukan kekosongan yang cocok dengan batch sample yang tidak terkontaminasi pada tingkat ini. Semua sample harus disesuaikan dengan sebuah metode kekosongan yang tidak terkontaminasi sebelum hasil dari sample ini dilaporkan untuk kepentingan umum.

9.6 QC memeriksa sample – Analisa dari QC untuk memeriksa sample (bagian 7.16) dilakukan secara berkala untuk memastikan keakuratan standard kalibrasi dan menutup kemungkinan kehilangan kepercayaan pada proses analitikal. Hal ini disarankan untuk pihak QC memeriksa sample paling sedikit empat bulan sekali.

9.7 Spesifikasi yang menggunakan metode ini harus sesuai dengan peralatan yang digunakan dan telah dikalibrasi dengan baik dan dalam keadaan selalu dikalibrasi. Standard yang digunakan untuk kalibrasi (bagian 10), verifikasi kalibrasi (bagian 15.3), untuk penamaan (bagian 9.2), dan sample yang diujicoba (bagian 15.5) serta penempatan dan pengembangan harus diidentifikasi, sehingga kebanyakan hasil yang diperoleh sudah benar. Sebuah alat GC /MS akan menghasilkan hasil (ditunjukkan dengan setting dan keadaan yang diperlukan) untuk analisa CDDs/CDFs dengan menggunakan metode ini.

9.8 Tergantung pada pemakaian program khusus, penggantian tempat mungkin akan dilakukan untuk mendapatkan teknik sample yang tepat. Ketelitian dalam memperlakukan sampel merupakan hal yang sangat penting untuk analisa yang akurat jika metode internal standard digunakan.

10.0 Kalibrasi

10.1 Meningkatkan keadaan pengerjaan yang diperlukan untuk mendapatkan perpanjangan waktu minimal untuk internal standard pada bagian 10.2.4 dan perpanjangan waktu relatif untuk

CDDs/CDFs pada tabel XII.

10.1.1 Keadaan pengerjaan GC yang disarankan :

- Suhu injector : 270oC
- Suhu interface : 290oC
- Suhu awal : 200oC
- Waktu awal : 2 menit
- Suhu : 200-220oC pada 5oC/ menit
- Program : 220oC untuk 16 menit
220-235oC pada 5oC/ menit
235oC untuk 7 menit
235-330oC pada 5oC/ menit

Catatan : Semua bagian dari kolom yang menghubungkan GC dengan sumber ion akan tetap pada suhu interface di atas yang disebutkan berlaku selama analisa untuk menghindari terjadinya kondensasi pada senyawa yang mudah menguap.

Optimalisasikan keadaan GC untuk pemisahan senyawa dan sensitivitas. Sekali saja dioptimalkan, keadaan GC yang sama harus digunakan untuk menganalisa semua blanko standard, IPR dan OPR dan sample.

10.1.2 Resolusi mass spectrometer (MS)-- Dapatkan sebuah profile ion yang sudah diseleksi (SICP) pada setiap analisa dalam table XIII untuk kedua m/z yang dijelaskan dalam table XVIII dan pada 10.000 tenaga yang dihasilkan dengan memasukkan sebuah standard autentik dari CDDs/CDFs baik secara seluruh atau sebagian campuran yang tidak terdapat interferensi sesama senyawa.

10.1.2.1 Waktu untuk menganalisa CDDs/CDFs mungkin akan diperpanjang untuk kestabilan massa jangka panjang pada mass spectrometer. Karena semua peralatan dikerjakan dalam keadaan resolusi tinggi, massa yang mengapung dalam satuan ppm (sebagai contoh 5 ppm dalam massa) dapat mengakibatkan hal yang buruk pada penggunaan peralatan. Itulah sebabnya sebuah perbaikan massa yang menguap harus dikerjakan dan sebuah

massa m/z dikunci dari PFK yang digunakan untuk perbaikan. Massa yang terkunci tergantung pada setiap m/z 's yang diawasi oleh setiap descriptor, seperti yang ditunjukkan table XVIII. Tingkat PFK yang diukur dengan HRMS selama analisa harus disesuaikan sehingga amplitudo dari massa yang sering terpilih tanda m/z signalnya (tanpa memperhatikan nomor descriptor) tidak dapat menunjukkan 10% skala yang diberikan oleh satu set parameter detector. Di bawah keadaan ini, sensitivitas mungkin berubah selama analisa sehingga lebih efektif untuk diawasi.

Catatan : PFK yang terjadi secara terus menerus (atau zat lain yang disarankan) mungkin akan mengakibatkan suara dan kontaminasi dari sumber ion yang akan meningkatkan frekwensi pembersihan yang diperlukan.

10.1.2.2 Jika HRMS memiliki kemampuan untuk mengawasi resolusi selama analisa, maka akan digunakan untuk menghapus analisa bila resolusi jatuh di bawah 10.000 untuk menghemat waktu analisa.

10.1.2.3 Dengan menggunakan sebuah PFK molekular, frekuensi untuk peralatan yang sesuai kekuatan minimum untuk menghasilkan adalah 10.000 (10% dari lembah) pada m/z 304.9824 (PFK) atau signal referensi yang mendekati ke m/z 304 (dari TCDF). Untuk setiap descriptor (table XVIII), pengawasan dan catatan resolusi dari setiap tiga sampai lima m/z 's puncak akan menutupi daerah massa pada descriptor. Resolusi harus lebih besar dari atau sama dengan 10.000 dan deviasi antara setiap m/z dan teoritikal m/z (table XVIII) untuk setiap m/z yang diawasi harus lebih rendah dari 5 ppm.

10.2 Ratio Penghapusan ion, tingkat minimum, signal to noise ratio dan waktu perpanjangan absolute--- Pilihlah sebuah pompa volume salah satu dari 1 μ L atau 2 μ L, dan konsisten dengan kemampuan dari peralatan HRGC/HRMS. Masukkan 1 μ L atau 2 μ L cairan kalibrasi CS1 (table XIV) dengan menggunakan keadaan GC dari bagian 10.1.1. Jika hanya 2,3,7,8-TCDD dan

2,3,7,8-TCDF yang dihasilkan, gunakanlah keadaan dan spesifikasi di bawah yang dilakukan untuk menganalisa hanya sebagian senyawa.

10.2.1 Ukurlah daerah SICP untuk setiap analisa dan hitunglah ratio penghapusan ion pada setiap m/z 's yang dijelaskan pada table XVIII. Bandingkan perhitungan ratio dengan angka teoritis yang ada pada table XIX.

10.2.1.1 Setiap m/z 's yang dimonitor dalam setiap descriptor yang ditunjukkan pada table XVIII, dimana setiap kelompok atau descriptor akan dimonitor secara baik sebagai fungsi waktu perpanjangan GC untuk memastikan bahwa semua CDDs/CDFs terdeteksi. Tambahan m/z 's mungkin akan dimonitor dalam setiap descriptor dan m/z 's mungkin akan dipisah antara lebih dari lima descriptor yang terdapat dalam table XVIII. Pastikan pihak laboratorium dapat memonitor m/z 's dari semua CDDs/CDFs yang mungkin dielus dari GC pada waktu perpanjangan yang diberikan. Jika hanya 2,3,7,8-TCDD dan 2,3,7,8-TCDF yang dihasilkan, descriptor akan dimodifikasi untuk memasukkan setiap m/z 's untuk tetra dan penta isomer, diphenyl ether dan kunci m/z 's.

10.2.1.2 Mass spectrometer harus dioperasikan dalam sebuah mode perbaikan massa drift dan gunakan per fluorokerosene (PFK) untuk memberikan penguncian m/z 's. Penguncian massa untuk setiap kelompok m/z 's diperlihatkan pada table XVIII. Setiap penguncian massa akan dimonitor dan tidak akan melebihi $\pm 20\%$ waktu perpanjangan yang diharapkan. Variasi dari penguncian massa yang melebihi 20% menunjukkan munculnya pengaruh coeluting yang secara nyata akan menurunkan sensitivitas dari mass spectrometer.

Dimasukkannya kembali ekstraksi sample yang lain tidak akan menyelesaikan masalah. Pembersihan tambahan untuk ekstraksi mungkin diperlukan untuk menghilangkan masalah.

10.2.2 Semua CDDs/CDFs dan senyawa berlabel dalam standard CS1 akan berada di dalam batasan QC yang diperlihatkan table

XIX khusus untuk ratio penghapusan ion yang diharapkan, kalau tidak mass spectrometer akan menyesuaikan dan uji coba harus diulang kembali sampai ratio m/z jatuh ke dalam batasan khusus. Jika penyesuaian dilakukan terhadap resolusi mass spectrometer, resolusi ini harus diverifikasi (bagian 10.1.2) sebelum ujicoba diulang kembali.

10.2.3 Verifikasi peralatan HRGC/HRMS agar cocok dengan tingkat minimum dalam table XII. Puncak akan menunjukkan CDDs/CDFs dan senyawa berlabel dalam standard kalibrasi CS1. Kesemua senyawa yang ada harus memiliki ratio signal to noise lebih besar dari atau sama dengan 10.0 kalau tidak mass spectrometer akan disesuaikan dan ujicoba diulang sampai tingkat terendah seperti tertera pada Table XII.

10.2.4 Perpanjangan waktu yang pasti dari $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4-TCDD (bagian 7.12) adalah 25 menit dalam kolom DB-5 dan 15 menit dalam kolom DB-225. Jika hal ini tidak dapat diwujudkan maka program dalam suhu GC akan disesuaikan dan ujicoba akan diulang sampai kriteria perpanjangan waktu yang disebutkan di atas ditemukan.

10.3 Retention time window--- Analisalah window pembatas campuran (bagian 7.15) dengan menggunakan program suhu yang dioptimalkan pada bagian 10.1. Tabel XV memberikan susunan elusi (awal / akhir) dari window pembatas senyawa. Jika hanya 2,3,7,8-TCDD dan 2,3,7,8-TCDF yang perlu dianalisa, ujicoba ini tidak perlu dilakukan.

10.4 Kekhususan isomer.

10.4.1 Analisa standard ujicoba khusus isomer (bagian 7.15) dengan menggunakan prosedur-prosedur pada bagian 14 dan keadaan optimal dari analisa sample (bagian 10.1.1).

10.4.2 Hitunglah besarnya persentase lembah antara puncak-

puncak GC yang berelusi mendekati 2,3,7,8-TCDD dan isomer TCDF pada kolom yang diharapkan seperti yang diperlihatkan oleh figure 9 dan 10.

10.4.3 Verifikasilah ketinggian dari lembah antara yang paling dekat dengan isomer elusi dan isomer pengganti 2,3,7,8 yang lebih sedikit dari 25 % (dihitung sebagai $100 \times y$ pada figure 9 dan 10) Jika lembah tersebut menunjukkan 25%, sesuaikanlah kondisi analitikal dan ulangi ujicoba atau ulangi kolom GC dan kalibrasi kembali (bagian 10.1.2 sampai 10.7).

10.5 Kalibrasi dengan dilusi Isotop – Kalibrasi dilusi isotop digunakan untuk kelima belas 2,3,7,8 sebagai pengganti CDDs/CDFs dimana senyawa berlabel ditambahkan ke sample sebelum diekstraksi. Senyawa pendukung untuk setiap CDD/CDF ditunjukkan pada table XII.

10.5.1 Kurva kalibrasi mengarah ke daerah konsentrat yang disediakan untuk setiap senyawa yang dikehendaki. Relative response (RR) (dari yang berlabel sampai umum) dibandingkan konsentrat di dalam cairan standard yang diperkirakan atau dihitung dengan menggunakan regresi linear. Relative response diperoleh sesuai dengan prosedur yang dijelaskan di bawah ini, (lima petunjuk yang harus dikerjakan).

10.5.2 Respons pada setiap CDD/CDF berhubungan dengan label analog yang dikehendaki dengan menggunakan daerah rangsangan dari tahap pertama dan kedua pada setiap m/z 's seperti yang dijelaskan dalam table XVIII. Perhitungan untuk setiap standard kalibrasi

$$RR = \frac{(A_{1n} + A_{2n})C_1}{(A_{1l} + A_{2l})C_n}$$

dimana : A_{1n} dan A_{2n} = Area dari pertama dan kedua m/z 's untuk CDD/CDF

A_{1l} dan A_{2l} = Area dari pertama dan kedua m/z 's untuk senyawa berlabel

- C_1 = Konsentrat dari senyawa berlabel dalam standard kalibrasi
- C_n = Konsentrat dari senyawa asal dalam standard kalibrasi

10.5.3 Untuk kalibrasi dari sistim analitikal dengan dilusi isotop, masukkan sebuah volume dari standard kalibrasi CS1 sampai CS5 (bagian 7.13 dan table XIV), identifikasikan ke volume yang dipilih pada bagian 10.2 dengan menggunakan prosedur pada bagian 14 dan syarat-syaratnya pada bagian 10.1.1 dan table XII. Hitunglah relative response (RR) pada setiap konsentrat.

10.5.4 Perhitungan garis sejajar – Jika relative response untuk semua senyawa adalah konstan (kurang dari 20% dari koefisien variasi) melebihi daerah kalibrasi lima point, sebuah relative response rata-rata harus digunakan untuk senyawa tersebut. Kalau tidak kurva kalibrasi yang lengkap untuk senyawa tersebut harus dipakai melebihi daerah lima petunjuk kalibrasi.

10.6 Kalibrasi dengan internal standard --- Metode internal standard dilakukan untuk menghapus 1,2,3,7,8,9-HxCDD (bagian 17.1.2), OCDF (bagian 17.1.1) senyawa yang tidak tergantung oleh 2,3,7,8 dan untuk menghapus senyawa berlabel untuk statistik intra laboratorium (bagian 9.4 dan 15.5.4).

10.6.1 Response Factor – kalibrasi memerlukan perhitungan Response Factor (RF) yang dibatasi dengan rumus di bawah ini :

$$RF = \frac{(A_{1s} + A_{2s}) C_{is}}{(A_{1is} + A_{2is}) C_s}$$

dimana: A_{1s} dan A_{2s} = Daerah pertama dan kedua dari m/z 's untuk CDD/CDF

A_{1is} dan A_{2is} = Daerah pertama dan kedua dari m/z 's untuk internal standard

C_{is} = Konsentrat internal standard (table XIV)

Cs = Konsentrat dari senyawa dalam standard kalibrasi (table XIV)

Catatan : hanya ada satu m/z untuk Cl-2,3,7,8-TCDD lihat table XVIII

10.6.2 Untuk melakukan kalibrasi sistim analitikal dengan internal standard, masukkan 1.0 μ L atau 2 μ L dari standard kalibrasi CS1 sampai CS5 (bagian 7.13 table XIV) dengan menggunakan prosedur pada bagian 14 dan syarat – syarat dalam bagian 10.1.1 dan table XII. Hitunglah Response Factor (RF) pada setiap konsentrat.

10.6.3 Garis sejajar – Jika Response Factor (RF) untuk semua senyawa adalah konstan (kurang dari 35% koefisien variasi) dan melebihi lima petunjuk daerah kalibrasi, sebuah response factor rata-rata mungkin akan digunakan untuk senyawa tersebut. Kalau tidak, kurva kalibrasi yang lengkap untuk senyawa ini harus dipakai melebihi daerah lima petunjuk kalibrasi.

10.7 Kalibrasi Gabungan – Dengan menggunakan cairan kalibrasi (bagian 7.13 dan table XIV) yang mengandung CDDs/CDFs dan senyawa berlabel dan internal standard, satu set dari analisa dapat digunakan untuk menghasilkan kurva kalibrasi untuk dilusi isotop dan metode internal standard. Kurva ini mengverifikasikan setiap bagian (bagian 15.3) dengan menganalisa standard verifikasi kalibrasi (VER table XIV). Kalibrasi ulang diperlukan jika ada kriteria verifikasi kalibrasi (bagian 15.3) yang tidak dijumpai.

10.8 Penyimpanan Data - MS data akan dikumpulkan, dicatat dan disimpan.

10.8.1 Permintaan data – Tanda pada setiap m/z akan dikumpulkan secara terus menerus dari mulai periode pengawasan dan disimpan dalam sebuah alat penyimpanan.

10.8.2 Response factor dan kalibrasi multi point – sistim data akan digunakan untuk mencatat dan menjaga daftar dari response factor (rasio responsive untuk dilusi Isotop) dan kurva kalibrasi multipoint. Perhitungan standard deviasi relative (variasi koefisien) akan digunakan untuk ujicoba kalibrasi garis lurus. Statistik pada penampilan nama (bagian 9.2) dan penampilan selanjutnya (bagian 15.5) harus dihitung dan dijaga baik pada peralatan data system atau pada computer system yang terpisah.

11.0 Persiapan Sample

11.1 Persiapan sample melibatkan modifikasi format fisik dari sample sehingga CDDs/CDFs dapat diekstraksi dengan efisien. Secara umum sample harus berbentuk cair, atau dalam format zat padat yang telah terpisah dengan baik, agar efisiensi dalam ekstraksi dapat dilakukan. Table XX adalah daftar dari berbagai tahap dan jumlah yang disarankan untuk ekstraksi dari berbagai matriks sample.

Untuk sample yang telah diketahui dan diharapkan mengandung tingkatan tinggi CDDs/CDFs, ukuran sample terkecil mewakili seluruh sample yang digunakan (lihat bagian 17.5). Untuk semua sample blank dan IPR /OPR harus diproses melalui tahap yang sama karena sample harus diperiksa apakah ada terkontaminasi dan kehilangan kandungan dalam masa proses persiapan.

11.1.1 Untuk sample yang mengandung partikel, kadar zat padat dan ukuran partikel ditentukan dengan menggunakan prosedur-prosedur di masing-masing bagian 11.2 dan 11.3.

11.1.2 Sample berbentuk cairan – Karena CDDs/CDFs dapat merubah partikel tertentu, persiapan untuk sample berbentuk air tergantung pada kandungan zat padat yang terdapat pada sample itu sendiri.

11.1.2.1 Sample yang berbentuk air mengandung partikel yang dapat dilihat seperti yang terdapat pada bagian 11.4 dan ekstraksi langsung dengan menggunakan cerobong terpisah atau teknik SPE

pada bagian 12.1 atau 12.2.

11.1.2.2 Sample berbentuk air yang mengandung partikel yang dapat dilihat dan mengandung satu persen campuran zat padat atau kurang dari itu, disiapkan dengan menggunakan proses pada bagian 11.4. Setelah persiapan selesai, sample diekstraksi langsung dengan menggunakan teknik SPE pada 12.2 atau penyaring pada bagian 11.4.3. Setelah penyaringan, partikel dan hasil penyaringan diekstraksi dengan menggunakan prosedur SDS pada bagian 12.3 dan hasil penyaringan diekstraksi lagi dengan menggunakan prosedur cerobong terpisah pada bagian 12.1.

11.1.2.3 Untuk sample berbentuk air yang mengandung zat padat lebih besar dari 1%, sebuah sample harus memiliki 10 gr zat padat kering untuk dipakai, seperti yang dijelaskan pada bagian 11.5.

11.1.3 Sample zat padat disediakan dengan menggunakan proses yang dijelaskan pada bagian 11.5 diikuti dengan ekstraksi melalui prosedur SDS pada bagian 12.3.

11.1.4 Sample multi tahap – Tahap-tahap yang terdiri dari CDDs/CDFs yang dipisah dari tahap non CDD/CDF dengan menggunakan tekanan pada penyaringan dan sentrifugasi, seperti yang dijelaskan pada bagian 11.6. CDDs/CDFs akan berada pada tahap organik dalam sample multi tahap yang terdapat tahap organik di dalamnya.

11.1.5 Prosedur untuk memisahkan, homogenisasi dan mencampur dari berbagai tahap sample yang diberikan pada bagian 11.7.

11.1.6 Sample bahan tissue – Prosedur persiapan untuk ikan dan bahan tissue lainnya dijelaskan pada bagian 11.8.

11.2 Penentuan persentase zat padat.

Catatan : aliquot ini digunakan untuk menetapkan jumlah zat padat dalam sample dan tidak untuk menetapkan CDDs/CDFs.

11.2.1 Campuran air dan sample multi tahap terdiri dari bahan utama berbentuk air.

11.2.1.1 Dinginkan dan timbang sebuah saringan GF/D (bagian 6.5.3) seperti yang diperlihatkan dengan jelas pada ketiga gambar.

11.2.1.2 Saringlah 10.00 ± 0.02 mL dari sample yang sudah tercampur baik dengan memakai saringan.

11.2.1.3 Keringkan saringan paling sedikit selama 12 jam pada $110^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ dan dinginkan ke dalam dessicator.

11.2.1.4 Hitunglah persentase zat padat dengan cara sebagai berikut :

$$\% \text{ zat padat} = \frac{\text{berat sample setelah pengeringan (g)} - \text{berat dari saringan (g)} \times 100}{10 \text{ g}}$$

11.2.2 Campuran tidak berbentuk air, zat padat, sample setengah padat dan sample multi tahap yang bahan utamanya bukan berbentuk cairan dan juga bukan tissue.

11.2.2.1 Timbang 5-10 g sample ke dalam tiga bagian besar pada sebuah beaker timbang.

11.2.2.2 Keringkan selama minimal 12 jam pada $110^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ dan dinginkan ke dalam sebuah dessicator.

11.2.2.3 Hitunglah persentase zat padat sebagai berikut :

$$\% \text{ zat padat} = \frac{\text{Berat sample aliquot setelah pengeringan}}{\text{Berat sample aliquot sebelum pengeringan}} \times 100$$

11.3 Penentuan Ukuran Partikel.

11.3.1 Sebarkan sample yang sudah dikeringkan dari bagian 11.2.2.2 di atas selembur kertas saring atau aluminium foil dalam ruangan tertutup atau kotak sarung tangan.

11.3.2 Perkirakan ukuran dari partikel pada sample. Jika ukuran partikel terbesar lebih dari 1 mm, partikel ini harus dikurangi menjadi 1 mm atau kurang dari itu sebelum diekstraksi dengan menggunakan prosedur pada bagian 11.7.

11.4 Persiapan sample berbentuk air yang mengandung 1% zat padat atau kurang dari itu.

11.4.1 Sample berbentuk cairan yang memiliki partikel yang dapat dilihat dengan mata disediakan berdasarkan prosedur di bawah dan langsung diekstraksi dengan menggunakan cerobong terpisah atau teknik SPE pada bagian 12.1 atau 12.2. Sample berbentuk air yang mengandung partikel yang dapat dilihat dengan mata dan mengandung 1% zat padat atau kurang dari 1% disiapkan dengan menggunakan prosedur di bawah dan diekstraksi dengan menggunakan salah satu dari teknik SPE pada bagian 12.2 atau persiapan selanjutnya dengan menggunakan prosedur penyaringan pada bagian 11.4.3. Prosedur penyaringan diikuti dengan ekstraksi SDS pada filter dan partikel (bagian 12.3) dan diekstraksi dengan cerobong terpisah pada penyaringan (bagian 12.1). Prosedur SPE diikuti dengan ekstraksi SDS pada filter dan piringan.

11.4.2 Persiapan sample dan aliquot QC

11.4.2.1 Tandai tingkat dasar sample pada botol sample untuk referensi. Timbang sample bersama dengan botol sebesar ± 1 g.

11.4.2.2 Masukkan 1.0 mL dari senyawa cairan dilusi berlabel (bagian 7.10.3) ke dalam botol sample. Tutup botol tersebut dan campur sample itu dengan pengocokan yang hati-hati. Biarkan sample bercampur dengan baik selama satu sampai dua jam, dengan mengocok secara berselang waktu.

11.4.2.3 Untuk setiap sample atau batch sample (maksimal sampai 20 sample) untuk diekstraksi selama waktu 1 shift yaitu 12 jam, tempatkan dua 1.0 L aliquot dari cairan aktif dalam botol sample yang bersih atau termos.

11.4.2.4 Masukkan 1.0 mL cairan senyawa dilusi berlabel (bagian 7.10.3) ke dalam kedua aliquot cairan aktif tersebut. Salah satu dari aliquot itu akan bertindak sebagai metode blank.

11.4.2.5 Masukkan 1.0 ml dari standard PAR (bagian 7.14) dalam sisa cairan zat aktif. aliquot ini akan bertindak sebagai OPR (bagian 15.5)

11.4.2.6 Jika SPE yang digunakan, tambahkan 5 ml methanol ke sample, tutup dan kocok sample hingga bercampur dengan baik dan lanjutkan ke bagian 12.2 untuk diekstraksi. Jika tidak menggunakan SPE dan sample mengandung partikel yang tidak terlihat, lanjutkan ke bagian 12.1 untuk diekstraksi. Jika SPE tidak digunakan dan sample mengandung partikel yang dapat dilihat, lanjutkan ke bagian berikut ini untuk penyaringan partikel.

11.4.3 Penyaringan partikel.

11.4.3.1 Pasanglah sebuah cerobong Buchner (bagian 6.5.5) pada bagian atas dari penyaringan yang bersih, pindahkan dari vacuum ke termos dan tuang semua isi sample dari botol ke sebuah fiberglass (bagian 6.5.6) cerobong buchner, turunkan sample, sisakan di dalam botol untuk campuran partikel lainnya.

11.4.3.2 Bilaslah botol sample sebanyak 2 kali dengan memakai kurang lebih 5 mL cairan aktif untuk memindahkan sisa partikel ke dalam saringan.

11.4.3.3 Bilaslah semua partikel pada bagian cerobong Buchner dengan sedikit cairan aktif.

11.4.3.4 Timbanglah botol sample yang sudah kosong hingga mencapai ± 1 g, Catatlah berat sample secara terpisah, simpanlah botol untuk digunakan di waktu yang akan datang.

11.4.3.5 Ekstraksi hasil penyaringan dengan menggunakan prosedur cerobong terpisah seperti yang dijelaskan pada bagian 12.1.

11.4.3.6 Ekstraksi penyaring yang mengandung partikel dengan menggunakan prosedur SDS pada bagian 12.3.

11.5 Persiapan sample yang mengandung zat padat lebih besar dari 1%.

11.5.1 Timbanglah aliquot yang sudah bercampur dengan baik pada setiap sample (dengan tipe matriks yang sama) secukupnya untuk mendapatkan 10 gr zat padat yang kering (berdasarkan catatan zat padat pada bagian 11.2) ke dalam beaker yang sudah bersih atau jar dari kaca.

11.5.2 Masukkan 1.0 mL dari dilusi senyawa berlabel (bagian 7.10.3) ke dalam sample.

11.5.3 Untuk setiap sample atau batch sample (sampai maksimal sebanyak 20 sampel) untuk diekstraksi selama satu shift 12 jam, timbang dua dari masing-masing 10 g aliquot dengan referensi matriks secukupnya (bagian 7.6) ke dalam Beakers yang sudah bersih atau jar dari kaca.

11.5.4 Masukkan 1.0 mL dari cairan dilusi berlabel (bagian 7.10.3) ke dalam setiap referensi matriks, satu aliquot akan bertindak sebagai metode blank. Masukkan 1.0 mL standard PAR (bagian 7.14) ke dalam referensi matriks. aliquot ini akan bertindak sebagai OPR (bagian 15.5).

11.5.5 Aduk atau kocok dan ratakan aliquot selama satu atau dua jam.

11.5.6 Tuang air secara terus menerus. Jika memungkinkan untuk memindahkan air, dari sample filter sampai filter fiberglass dan hilangkan campuran.

11.5.7 Jika partikel lebih besar dari 1 mm diperoleh dalam sample (seperti yang ditunjukkan oleh bagian 11.3.2) sebarkan sample ke atas aluminium foil yang sudah bersih di dalam sebuah ruangan. Setelah sample telah kering, hancurkan untuk mengurangi ukuran partikel (bagian 11.7).

11.5.8 Ekstraksi sample dan QC aliquot dengan menggunakan

prosedur SDS pada bagian 12.3.

11.6 Sample Multi tahap.

11.6.1 Dengan menggunakan persentase zat padat yang dijelaskan pada bagian 11.2.1 atau 11.2.2 untuk menunjukkan volume sample yang disediakan dengan 10 g zat padat sampai 1 L sample.

11.6.2 Berilah tekanan saringan untuk sejumlah sample yang ditunjuk oleh bagian 11.6.1 sampai Whatman GF/D kertas penyaring fiberglass (bagian 6.5.3). Tekanlah penyaring dan aliquot OPR sampai juga kertas GF/D. Jika memungkinkan untuk memisahkan tahap – tahap dan atau dapat menyelesaikan zat padat, sentrifugal semua aliquot ini sebelum diekstraksi.

11.6.3 Hilangkan tahap cairan apa saja yang muncul. Buanglah campuran yang tidak berbentuk air yang muncul dan simpan jumlah maksimal dari penyaringan sample (bagian 11.6.1) atau 10 gr, yang seharusnya kurang dari 10 g untuk dikombinasikan dengan tahap zat padat (bagian 12.3.5).

11.6.4 Jika partikel lebih besar dari 1 mm muncul di dalam sample ini (seperti yang ditunjukkan pada bagian 11.3.2) dan sample masih dapat dikeringkan, sebarkan sample dan aliquot QC pada aluminium foil yang kering di dalam sebuah ruangan. Setelah aliquot kering atau bila sample tidak dapat dikeringkan, kurangi ukuran partikel dengan menggunakan prosedur pada bagian 11.7 dan ekstraksikan untuk mengecilkan partikel menggunakan prosedur SDS pada bagian 12.3. Jika partikel lebih besar dari 1 mm tidak muncul, ekstraksikan partikel dan saringlah sample dan QC aliquot secara langsung dengan menggunakan prosedur SDS pada bagian 12.3.

11.7 Penghancuran sampel, homogenisasi atau mencampur. Sample dengan ukuran partikel yang lebih besar dari 1 mm (seper-

ti yang ditunjukkan pada bagian 11.3.2) cenderung akan dihancurkan, homogenisasi atau dicampur. Metode untuk mengecilkan ukuran partikel menjadi lebih kecil dari 1 mm adalah metode matriks bebas. Secara umum partikel yang keras akan dikecilkan dengan cara dihancurkan memakai mortar atau pestle. Partikel yang lebih lembut dapat dikecilkan dengan cara dihancurkan memakai wiley mill atau penghancur daging, melalui homogenisasi atau di dalam sebuah blender.

11.7.1 Setiap ukuran –Prosedur persiapan pengecilan pada setiap matriks harus diverifikasi dengan menjalani ujicoba pada bagian 9.2 sebelum prosedur ini dipakai secara rutin.

11.7.2 Prosedur penghancuran, homogenisasi dan pencampuran akan dilakukan dengan memakai kotak sarung tangan atau di dalam sebuah ruangan tertutup untuk mencegah partikel terkontaminasi dengan lingkungan kerja luar.

11.7.3 Menghancurkan – Kertas dan serbuk kayu tertentu, lapisan lumpur dan zat padat yang tidak berbentuk dapat dihancurkan dengan wiley mill atau alat penghancur daging berkekuatan besar. Dalam beberapa kasus, menurunkan suhu sample untuk membekukan atau mengeringkan es atau cairan nitrogen, suhu dapat membantu proses penghancuran. Hancurkan aliquot sample pada bagian 11.5.7 atau 11.6.4 di dalam alat penghancur yang sudah bersih sampai mencapai suhu 50°C. Hancurkan ruang kosong dan referensi matriks aliquot dengan menggunakan alat penghancur yang bersih.

11.7.4 Homogenisasi atau penghancuran – Partikel yang tidak dapat dihancurkan dengan efektif atau partikel yang lebih besar dari 1 mm setelah penghancuran biasanya dapat dikecilkan dengan homogenisasi berkecepatan tinggi dan menghancurkan. Homogenisasi dan atau menghancurkan partikel diikuti filter pada bagian 11.5.7 atau 11.6.4 dari sample, blank dan aliquot OPR.

11.7.5 Ekstraksi aliquot dengan menggunakan prosedur SDS pada bagian 12.3.

11.8 Ikan dan bahan tissue lainnya – Sebelum memproses sample bahan tissue, pihak laboratorium harus mencatat jumlah tissue yang hendak dianalisa. Permintaan umum untuk analisa bahan tissue ikan termasuk keseluruhan ikan, semua kulit ikan yang dikeluarkan, daging ikan (yang dipotong di lapangan atau oleh pihak laboratorium), organ khusus dan bagian yang lainnya. Sekali sejumlah tissue sudah ditemukan, sample tersebut harus dihomogenisasi.

11.8.1 Homogenisasi

11.8.1.1 Sample yang sudah dihomogenisasi kemudian dibekukan. Jika pihak laboratorium harus memotong semua ikan untuk memperoleh bahan tissue yang hendak dianalisa, tissue yang tidak dipergunakan mungkin dapat dicairkan dan disimpan dalam sebuah jar dari kaca untuk pemakaian di kemudian hari.

11.8.1.2 Setiap analisa memerlukan 10 g tissue (berat dalam keadaan basah). Itulah sebabnya pihak laboratorium harus melakukan homogenisasi paling sedikit 20 g bahan tissue untuk diekstraksi kembali pada aliquot kedua dengan sample homogenisasi yang sama jika analisa kembali diperlukan. Jika seluruh analisa ikan memungkinkan, maka seluruh ikan dihomogenisasi.

11.8.1.3 Homogenisasi sample dalam tissue homogenizer (bagian 6.3.3) atau hancurkan di dalam alat penghancur daging (bagian 6.3.4). Potong bahan tissue dalam ukuran besar untuk dimasukkan ke dalam alat penghancur sehingga menjadi bagian yang lebih kecil. Untuk memastikan homogenisasi, hancurkan sebanyak tiga kali.

11.8.1.4 Pindahkan kurang lebih 10 g (berat dalam keadaan basah) bahan tissue yang bersih, ditimbang dalam beaker 400-500 mL. Untuk ekstraksi /pemasukkan HCl, pindahkan bahan tissue ke dalam botol 500-600 mL yang bermulut lebar. Catat berat yang paling dekat ke 10 mg.

11.8.1.5 Pindahkan sisa bahan tissue yang sudah dihomogenisasi ke dalam jar yang sudah bersih dengan fluoropolymer. Tutup rapat jar tersebut dan simpan bahan tissue pada suhu dibawah -10°C . Kembalikan bahan tissue yang tidak homogenisasi ke kotaknya semula dan simpan di bawah suhu -10°C .

11.8.2 QC aliquot.

11.8.2.1 Sediakan metode blank dengan menambahkan ± 10 g referensi aliquot matriks berminyak (bagian 7.6.4) ke dalam 400-500 mL beaker. Untuk cara alternatif yang lain ekstraksi / pemakaian HCl, tambahkan referensi matriks ke dalam 500-600 mL botol bermulut lebar, catat berat yang terdekat ke 10 mg.

11.8.2.2 Sediakan ketepatan dan penempatan aliquot dengan menambahkan sejumlah 10 g referensi matriks aliquot berminyak (bagian 7.6.4) ke sebuah beaker 400-500 mL yang terpisah atau botol dengan mulut lebar. Tergantung pada prosedur ekstraksi yang digunakan. Catat berat yang terdekat ke angka 10 mg. Jika uji ketepatan dan penempatan inisial harus digunakan, pakailah empat macam aliquot, jika ujicoba ketepatan dan penempatan selanjutnya harus dilakukan gunakanlah 1 buah aliquot.

11.8.3 Penggabungan.

11.8.3.1 Campurkan 1.0 mL dari senyawa cairan berlabel (bagian 7.10.3) ke dalam sample blank dan aliquot OPR.

11.8.3.2 Campurkan 1.0 mL dari standard PAR (bagian 7.14) ke dalam aliquot OPR.

11.8.4 Ekstraksikan aliquot tersebut dengan menggunakan prosedur pada bagian 12.4.

12.0 Ekstraksi dan Proses Konsentrat

Prosedur ekstraksi termasuk di dalamnya corong pisah (bagian 12.1) dan tahap zat padat (bagian 12.2) untuk campuran berbentuk air, soxhlet / Dean Stark (bagian 12.3) untuk zat padat filter dan piringan SPE dan ekstraksi soxhlet (bagian 12.4.1) dan pemakaian HCl (bagian 12.4.2) untuk bahan tissue. Asam / basa untuk ekstraksi balik (bagian 12.5) digunakan untuk pembuangan ekstraksi.

Prosedur proses konsentrat makro yang termasuk didalamnya penguapan rotary (bagian 12.6.1), pemanasan (bagian 12.6.2) dan penguapan Kuderna Danish (K-D) (bagian 12.6.3). Proses konsentrat mikro menggunakan penghembusan nitrogen (bagian 12.7).

12.1 Hasil penyaringan cerobong terpisah dan sample berbentuk air yang memiliki partikel yang tidak terlihat.

12.1.1 Tuangkan sample yang sudah bercampur (bagian 11.4.2.2) atau penyaringan (bagian 11.4.3.5) ke dalam 2 L cerobong terpisah. Bilaslah botol atau termos sebanyak dua kali dengan 5 mL air zat aktif dan tambahkan hasil bilasan ini ke cerobong terpisah.

12.1.2 Tambahkan 60 ml methylene chloride ke dalam botol sample yang kosong (bagian 12.1.1) tutup dengan rapat dan kocok selama 60 detik untuk membersihkan permukaan bagian dalam. Pindahkan solven tersebut ke cerobong terpisah dan ekstraksi sample dengan mengocok cerobong selama dua menit dengan waktu berkala. Biarkan lapisan organik terpisah dari tahap air selama minimal 10 menit. Jika bentuk campuran telah melebihi dari sepertiga dari volume lapisan solven, lakukan teknik mekanikal untuk melengkapi tahap pemisahan (lihatlah catatan di bawah ini). Alirkan ekstraksi methylene chloride melalui cerobong kaca yang telah dibilas dengan solven selama sepenuh granular anhydrous sodium sulphate (bagian 7.2.1) dengan didukung oleh kertas pembersih fiberglass di dalam alat pembilas konsentrat solven (bagian 12.6).

Catatan : Jika terdapat bentuk campuran, para analis harus melakukan teknik mekanikal untuk melengkapi tahap pemisahan. Teknik optimum tergantung pada sample tetapi mungkin memerlukan pengadukan, penyaringan dengan memakai glass wool, gunakan juga kertas pemisah, separator, gunakan sebuah

ultrasonic dengan es, tambahkan NaCl atau metode fisik lainnya. Secara alternatif tahap zat padat atau teknik ekstraksi lainnya mungkin perlu digunakan untuk mencegah timbulnya formasi campuran. Teknik alternatif lainnya dapat diterima sejauh memenuhi permintaan di bagian 9.

Pengalaman dengan sample berbentuk air sangat besar dalam memisahkan bahan organik (seperti, limbah pabrik kertas) seperti yang ditunjukkan bahwa sifat keasaman sample sebelum ekstraksi akan menurunkan formasi campuran. Metode perusahaan kertas menganjurkan bahwa penambahan sampai 400 mL dari ethanol ke dalam 1 L sample juga akan menurunkan formasi campuran. Bagaimanapun penelitian yang dilakukan oleh EPA menyarankan bahwa pengaruh dari dilusi sample dan penambahan dari cairan zat aktif mungkin akan menghasilkan fungsi yang sama. Teknik mekanikal mungkin masih perlu digunakan untuk melengkapi tahap pemisahan. Jika suatu keasaman atau penambahan etanol dilakukan, pihak laboratorium harus melakukan ujicoba permulaan yang dijelaskan pada bagian 9.2 dengan menggunakan teknik yang sama.

12.1.3 Ekstraksikan sample air lebih dari dua kali dengan 60 mL bagian dari methylene chloride. Alirkan setiap bagian melalui sodium sulphate ke dalam konsentrator. Setelah ekstraksi yang ketiga, bilaslah cerobong terpisah dengan paling sedikitnya 20 mL dari methylene chloride dan alirkan hasil bilasan ini melalui sodium sulphate ke dalam konsentrator. Ulangi pembilasan ini paling sedikit sebanyak dua kali. Kesampingkan cerobong dengan sodium sulphate jika ekstraksi harus digabung dengan ekstraksi dari partikel.

12.1.4 Proses konsentratkan ekstraksi dengan menggunakan salah satu dari prosedur proses konsentrat makro pada bagian 12.6.

12.1.4.1 Jika ekstraksi berasal dari sample dengan partikel yang tidak dapat dilihat (bagian 11.1.2.1) maka sesuaikan volume akhir dari konsentrat ekstraksi sebanyak kurang lebih 10 mL dengan

hexane, pindahkan 250 mL ke cerobong terpisah dan ekstraksi kembali dengan menggunakan prosedur pada bagian 12.5.

12.1.4.2 Jika hasil ekstraksi berasal dari penyaringan air (bagian 11.4.3.5), kesampingkan peralatan konsentrator untuk penambahan ekstraksi SDS dari partikel (bagian 12.3.9.1.2).

12.2 Sample SPE yang mengandung kurang dari 1 % zat padat (Penjelasan 19-20).

12.2.1 Persiapan piringan.

12.2.1.1 Tempatkan sebuah piringan SPE pada dasar pegangan saringan (figure 7) dan basahi dengan toluene. Selagi sedang memegang saringan GMF 150 di atas piringan SPE dengan tang, basahi saringan dengan toluene dan letakkan saringan ini diatas piringan SPE. Jepit saringan dan piringan SPE diantara corong penampung dari kaca dan 1 L botol suction flask.

12.2.1.2 Bilaslah bagian samping dari flask penyaring dengan menggunakan 15 mL toluene melalui botol penyedot atau syringe. Pakailah penghisap secara berkala sampai diperoleh beberapa tetesan keluar dari bagian ujung. Lepaskan alat penghisap dan biarkan penyaring / piringan menyerap selama kurang lebih satu menit. Pasanglah alat penghisap dan tariklah semua toluene melalui penyaring / piringan. Ulangi cara pencucian dengan kurang lebih 15 mL acetone dan biarkan penyaring / piringan sampai menjadi kering.

12.2.1.3 Basahi kembali penyaring / piringan dengan kurang lebih 15 mL methanol, biarkan penyaring / piringan menyerap selama kurang lebih satu menit. Tariklah semua methanol dari penyaring / piringan dengan menggunakan alat penyedot tetapi sisakan lapisan methanol dengan kurang lebih tebal 1 mm pada saringan. Jangan biarkan piringan menjadi kering dari tahap ini sampai akhir ekstraksi.

12.2.1.4 Bilaslah saringan / piringan dengan dua 50 mL bagian cairan aktif dengan menambahkan air ke bagian penampung dan biarkan keluar melalui lapisan yang tertinggal pada permukaan saringan.

12.2.2 Ekstraksi.

12.2.2.1 Tuangkan sample yang bercampur (bagian 11.4.2.2) blank (bagian 11.4.2.4) atau aliquot IPR/OPR (bagian 11.4.2.5) ke dalam alat penampung dan hidupkan alat penyedot untuk memulai ekstraksi. Sesuaikan alat penyedot untuk melengkapi ekstraksi agar tidak lebih dari 10 menit. Untuk sample yang mengandung konsentrasi partikel yang tinggi (campuran zat padat) waktu penyaringan mungkin harus selama delapan jam atau lebih dari itu.

12.2.2.2 Sebelum semua sample dikeluarkan melalui saringan / piringan, bilaslah botol sample dengan kurang lebih 50 mL cairan zat aktif untuk menghilangkan zat padat yang ada dan tuangkan ke dalam alat penampung. Tarik melalui saringan / piringan. Gunakan cairan aktif tambahan untuk membersihkan sampai semua zat padat yang ada menjadi hilang.

12.2.2.3 Sebelum semua sample dan pembilasan dikeluarkan dari saringan / piringan, bilaslah bagian samping dari alat penampung dengan sebahagian kecil dari cairan aktif.

12.2.2.4 Biarkan saringan / piringan sampai kering, kemudian lepaskan saringan dan piringan. Selanjutnya tempatkan ke dalam petri dish dari kaca. Ekstraksikan saringan dan piringan sesuai dengan penjelasan bagian 12.3.

12.3 Ekstraksi SDS pada sample yang mengandung partikel dengan saringan dan atau piringan.

12.3.1 Pakailah sebuah ekstraksi thimble yang bersih (bagian 6.4.2.2) dengan 5.0 g dari 100/200 mesh silica (bagian 7.5.1.1) dengan bagian atas 100 g pasir pengukur waktu (bagian 7.3.2).

Catatan : Jangan ganggu lapisan silica selama proses ekstraksi.

12.3.2 Tempatkan thimble pada ekstraktor yang bersih. Tempatkan 30-40 mL toluene dalam penerima dan 200-250 mL toluene di dalam sebuah flask.

12.3.3 Peralatan kaca ekstraksi sebelum digunakan terlebih dahulu dengan memanaskan flask sampai toluene tersebut mendidih. Bila telah disesuaikan dengan baik, satu sampai dua tetesan toluene akan jatuh setiap detik sampai ujung condensor masuk ke bagian penerima. Ekstraksi dijalankan untuk minimal tiga jam.

12.3.4 Setelah selesai diekstraksi, dinginkan dan lepaskan peralatan. Bilaslah thimble dengan toluene dan biarkan sampai kering.

12.3.5 Pindahkan sample yang basah ini, saringan dan atau piringan dari bagian 11.4.3.6,11.5.8,11.6.4,11.7.3,11.7.4 atau 12.2.2.4 dan semua campuran yang tidak berbentuk air dari bagian 11.6.3 ke dalam thimble dan secara manual campurkan dengan lapisan pasir dengan sebuah spatula metal yang sudah dibersihkan, hancurkan dengan hati-hati hingga diperoleh bongkahan besar dari sample.

12.3.6 Pasang kembali peralatan ekstraksi SDS dan tambahkan toluene yang baru ke dalam penerima dan kocok kembali flask tersebut. Hidupkan alat pemanas untuk memulai pencairan kembali. Sesuaikan angka pencairan agar sesuai dengan perkolasi pada pasir dan silica sampai air melonggarkan pembatasan pada aliran toluene. Periksalah secara teratur peralatan untuk pelaksanaannya selama dua jam pertama pada proses ekstraksi. Jika muncul busa, kurangi angka pencairan sampai busa tersebut hilang.

12.3.7 Alirkan air dari alat penampung pada satu atau dua jam dan delapan sampai sembilan jam atau secepat mungkin jika alat penerima penuh dengan air. Cairkan kembali sample untuk selama 16-24 jam, dinginkan dan lepaskan kembali peralatan. Catat jumlah volume dari air yang terkumpul.

12.3.8 Lepaskan flask penyulingan, alirkan air dari alat penerima

Dean Stark dan tambahkan sejumlah toluene ke dalam alat penerima untuk mengekstraksikan sample di dalam flask tersebut.

12.3.9 Proses konsentratkan hasil ekstraksi dengan menggunakan satu dari prosedur proses konsentrat makro pada bagian 12.6 seperti berikut ini :

12.3.9.1 Ekstraksi dari partikel di dalam sample berbentuk air yang mengandung kurang dari 1 % zat padat (bagian 11.4.3.6).

12.3.9.1.1 Proses konsentratkan hasil ekstraksi sampai mencapai kurang lebih 5 mL dengan menggunakan alat penguapan rotary atau prosedur alat pemanas pada bagian 12.6.1 atau 12.6.2.

12.3.9.1.2 Jumlah ekstraksi yang dipindahkan dengan sodium sulphate (bagian 12.1.3) ke dalam peralatan yang disusun secara menyamping (bagian 12.1.4.2) dan proses konsentrat kembali pada tingkat toluene.

12.3.9.1.3 Sesuaikan sampai kurang lebih 10 mL dengan hexane, pindahkan ke sebuah 250 mL cerobong terpisah dan diproses dengan ekstraksi balik (bagian 12.5).

12.3.9.2 Hasil ekstraksi partikel (bagian 11.5 sampai 11.6) atau dari saringan SPE dan piringan (bagian 12.2.24) --- Proses konsentratkan sampai mencapai 10 mL dengan menggunakan alat penguapan rotary atau alat pemanas (bagian 12.6.1 atau 12.6.2), pindahkan ke dalam 250 mL cerobong terpisah dan diproses dengan ekstraksi balik (bagian 12.5).

12.4 Ekstraksi bahan tissue – Dua prosedur disediakan untuk ekstraksi bahan tissue.

12.4.1 Ekstraksi soxhlet (figure 8).

12.4.1.1 Tambahkan 30-40 g tepung anhydrous sodium sulphate pada setiap beakers (bagian 11.8.4) dan campur sampai rata. Tutup beakers dengan aluminium foil dan biarkan merata selama 12-24 jam. Aduk kembali sebelum diekstraksi untuk mencegah penggumpalan.

12.4.1.2 Pasang dan ekstraksi peralatan soxhlet seperti pada bagian 12.3.1 sampai 12.3.4, kecuali untuk penggunaan campuran

dengan perbandingan methylene chloride : hexane (1:1) untuk ekstraksi dan pembilasan. Dean stark penyerap kelembaban akan dihilangkan jika diinginkan.

12.4.1.3 Pasang kembali peralatan ekstraksi soxhlet dan tambahkan pemakaian methylene chloride dan hexane untuk mencairkan kembali.

12.4.1.4 Pindahkan sample / campuran sodium sulphate (bagian 12.4.1.1) ke dalam soxhlet thimble dan pasang thimble ke peralatan soxhlet.

12.4.1.5 Bilaslah beaker dengan beberapa bagian dari campuran solven dan tambahkan ke dalam thimble. Isilah thimble / alat penerima dengan solven. Ekstraksi selama 18-24 jam.

12.4.1.6 Setelah diekstraksi, dinginkan dan buka kembali peralatan.

12.4.1.7 Pindahkan sejumlah hasil ekstraksi ke alat konsentrator makro (bagian 12.6) dan proses konsentratkan ke dekat pengeringan. Rawatlah peralatan konsentrator untuk digunakan kembali di waktu yang akan datang.

12.4.1.8 Lengkapi penghapusan solven dengan menggunakan prosedur penghembusan nitrogen (bagian 12.7) dan suhu di waterbath 60°C. Timbang alat penerima, catat berat dan kembalikan alat penerima ke peralatan penghembusan, proses konsentratkan sisa sampai berat yang konstan diperoleh.

12.4.1.9 Penentuan persentase lipid – Kandungan lipid ditentukan dengan ekstraksi tissue dengan sistim solven yang sama (methylene chloride : hexane) yang digunakan oleh Penelitian Nasional Dioxin EPA sehingga kandungan lipid dapat diteliti.

12.4.1.9.1 Pisahkan residu pada alat penerima dalam hexane dan campurkan 1.0 mL standard pembersihan (bagian 7.11) ke dalam cairan.

12.4.1.9.2 Pindahkan residu / hexane ke dalam anthropogenic isolasi kolom (bagian 13.7.1) atau botol untuk silica gel keasaman dengan batch pembersihan (bagian 13.7.2). Pegang dengan baik alat pemanas di dalam peralatan konsentrator. Gunakan beberapa pembilasan untuk memastikan semua bahan sudah dipindahkan. Jika memungkinkan sedikit sonikasi atau panaskan alat penerima

untuk memastikan semua bahan dipisahkan kembali. Biarkan alat penerima menjadi kering. Timbang alat penerima tersebut beserta dengan komponen pemanasnya.

12.4.1.9.3 Hitunglah kandungan lipid sesuai penjelasan seperti berikut ini:

$$\text{Persentase Lipid} = \frac{\text{Berat residu (g)}}{\text{Berat bahan tissue (g)}} \times 100$$

12.4.1.9.4 Diperlukan untuk mencatat kandungan lipid dari blank, IPR atau aliquot OPR.

12.4.2 Ekstraksi / pemakaian HCl dan proses konsentratkan (23-26).

12.4.2.1 Tambahkan 200 mL dari 6N HCl dan 200 mL methylene chloride : hexane (1:1) ke dalam sample dan QC aliquot (bagian 11.8.4).

12.4.2.2 Tutup dan kocok setiap botol satu sampai tiga kali. Longgarkan tutup pada daerah untuk menghindari tekanan yang beruntun. Kocok setiap botol selama 10-30 detik dan keluarkan.

12.4.2.3 Tutup rapat dan tempatkan pada alat pengocok. Sesuaikan aktifitas pengocok dan kecepatannya sehingga asam, solven dan bahan tissue berada dalam keadaan konstan. Bagaimanapun, waspadalah untuk menghindari tindakan kasar sehingga memungkinkan botol terlepas dari alat pengocok. Kocok selama 12-24 jam.

12.4.2.4 Setelah proses pencampuran, lepaskan botol dari alat pengocok. Biarkan botol dalam posisi berdiri sehingga solven dan zat asam akan berpisah.

12.4.2.5 Tuang dengan perlahan solven ke sebuah cerobong dari kaca dengan menggunakan saringan fiberglass (bagian 6.5.2 sampai 6.5.3) yang mengandung kurang lebih 10 g granular anhydrous sodium sulphate (bagian 7.2.1) ke dalam peralatan konsentrat makro (bagian 12.6). Bilaslah isinya dengan botol dua dari 25 mL bagian hexane dan tuang melalui sodium sulphate ke dalam peralatan.

12.4.2.6 Proses konsentratkan solven sampai mendekati

kekeringan dengan menggunakan sebuah prosedur proses konsentrat makro (bagian 12.6).

12.4.2.7 Lengkapi pembuangan solven dengan menggunakan peralatan peniupan nitrogen (bagian 12.7) dan suhu waterbath 60°C. Timbanglah berat alat penampung, catat berat yang diperoleh dan kembalikan alat penerima ke peralatan peniupan, proses konsentratkan residu sampai sebuah berat yang konstan diperoleh.

12.4.2.8 Penentuan persentase lipid – Kandungan lipid ditentukan melalui sistim solven yang sama (methylene chloride : hexane (1:1) seperti yang digunakan oleh Penelitian Nasional Dioxin EPA sehingga kandungan lipid selalu konsisten dengan penelitian terkini.

12.4.2.8.1 Pisahkan residu di dalam alat penerima dalam hexane dan campurkan 1.0 mL dari standard pembersihan (bagian 7.11) ke dalam cairan.

12.4.2.8.2 Pindahkan residu / hexane ke sebuah botol 100-200 mL yang bermulut kecil. Botol dipasang dengan baik ke alat pemanas di dalam penampung. Gunakanlah beberapa pembilasan untuk memastikan bahwa semua bahan sudah dipindahkan, sehingga mencapai volume hexane yang maksimal kurang lebih 70 mL. Biarkan alat penerima menjadi kering. Timbang alat penerima tersebut berikut dengan komponen pemanasnya.

12.4.2.8.3 Hitunglah persentase lipid seperti bagian 12.4.1.9.3. Tidaklah perlu dicatat kandungan lipid pada blank, IPR atau aliquot OPR.

12.4.2.9 Bersihkan hasil ekstrak sesuai dengan bagian 13.7.3.

12.5 Ekstraksi balik dengan basa dan asam

12.5.1 Campurkan 1.0 mL standard pembersihan (bagian 7.11) ke dalam cerobong terpisah yang mengandung sample dan ekstraksi QC dari bagian 12.1.4.1, 12.3.9.1.3 atau 12.3.9.2.

12.5.2 Pisahkan setiap bagian dari ekstraksi menggunakan 50 mL cairan potassium hydroxyde (bagian 7.1.1). Kocoklah selama dua

menit secara periodik di dalam suhu ruangan. Lepaskan dan buanglah lapisan berbentuk air. Ulangi pembersihan dengan basa sampai tidak terdapat warna yang nampak pada lapisan air, sampai maksimal empat kali pencucian. Kurangi waktu yang berdekatan antara ekstraksi dan basa untuk mencegah penurunan CDDs/CDFs. Cairan potassium hydroxyde yang kuat akan menghasilkan ekstraksi balik, pastikan bahwa pihak laboratorium akan memenuhi spesifikasi untuk penempatan senyawa berlabel dan menunjukkan tampilan yang dapat diterima dengan menggunakan prosedur pada bagian 9.2.

12.5.3 Pemisahan setiap bagian pada 50 mL cairan sodium chloride (bagian 7.1.4) dengan cara yang sama dengan basa. Buanglah lapisan yang terbentuk pada air.

12.5.4 Pemisahan setiap bagian pada 50 mL cairan sulfuric acid (bagian 7.1.2) dengan cara yang sama dengan basa. Ulangi pencucian asam sampai cairan tersebut kelihatan tidak berwarna, maksimum empat kali pencucian.

12.5.5 Ulangi pembagian pada cairan sodium chloride dan buanglah lapisan air yang terbentuk.

12.5.6 Tuanglah setiap ekstraksi melalui kolom pengering yang mengandung 7-10 cm dari granular anhydrous sodium sulphate (bagian 7.2.1). Bilaslah cerobong terpisah dengan solven sebanyak 30-50 mL dan tuanglah ke dalam kolom pengering. Kumpulkan setiap ekstraks ke dalam flask berbentuk bulat, proses konsentrasi kembali sample dan QC aliquot seperti pada bagian 12.6 sampai 12.7 dan bersihkan sample dan QC Aliquot seperti pada bagian 13.

12.6 Proses konsentrat makro – Ekstrasikan toluene yang berbentuk konsentrat dengan menggunakan alat penguapan rotary atau alat pemanas. Ekstraks di dalam methylene chloride atau hexane dipekatan dengan menggunakan rotary penguapan,alat

pemanas atau peralatan kuderna danish.

12.6.1 Penguapan rotary – Proses konsentratkan hasil ekstraksi secara terpisah ke dalam flask berbentuk bulat.

12.6.1.1 Pasanglah alat penguap rotary sesuai dengan instruksi dari pabrik dan panaskan air sehangat 45°C. Pada keadaan biasa bersihkan terlebih dahulu alat penguap rotary dengan mempekatkan 100 mL ekstraksi solven yang bersih dengan sebuah sistim. Satukan kedua solven yang sudah berbentuk konsentrat dan solven di dalam flask untuk pemeriksaan kontaminasi jika memungkinkan. Diantara sample, 2-3 mL aliquot solven harus dibilas keluar dari beaker pembuang sebanyak 3 kali.

12.6.1.2 Masukkan flask berbentuk bulat yang mengandung ekstraksi sample ke dalam alat penguapan rotary. Dengan perlahan pasanglah alat penghisap ke bagian sistim dan mulai rotasikan flask sample.

12.6.1.3 Tekan flask ke waterbath dan sesuaikan kecepatan dari rotasi dan suhu yang diperlukan untuk menyelesaikan proses konsentrat selama 15-20 menit. Pada angka yang biasa dari suatu proses konsentrat, aliran solven ke dalam flask penerima akan tetap, dan tidak ada riak atau kelihatan mendidih dari ekstraksi.

Catatan : Bila angka proses konsentrat terlalu cepat, data analisa mungkin akan hilang.

12.6.1.4 Jika campuran dalam flask konsentrat telah mencapai volume sebesar 2 mL, lepaskan flask dari air dan hentikan rotasi. Dengan perlahan dan hati-hati berikan udara masuk ke dalam sistim. Pastikan untuk membuka valve dengan cepat sehingga sample dapat dipaksa keluar dari flask. Bilaslah tabung dengan memakai kurang lebih 2 mL solven.

12.6.1.5 Lanjutkan ke bagian 12.6.4 untuk persiapan ekstraksi kembali atau proses konsentrat mikro dan penggantian solven.

12.6.2 Selimut pemanas – Proses konsentratkan hasil ekstraksi secara terpisah di dalam flask berbentuk bulat.

12.6.2.1 Tambahkan satu atau dua komponen pemanas yang bersih ke dalam flask berbentuk bulat dan pasang ke kolom Snyder makro tiga bola. Basahi terlebih dahulu kolom dengan menambahkan kurang lebih 1 mL solven dari bagian atas. Tempatkan flask berbentuk bulat ke dalam selimut pemanas dan berikan panas secukupnya untuk menyelesaikan proses konsentrat selama 15-20 menit. Pada angka yang wajar untuk penyulingan, bola pada kolom akan berbunyi dengan aktif tetapi ruangan tidak akan menjadi penuh.

12.6.2.2 Bila campuran sudah mencapai volume tertentu dengan kurang lebih 10 mL, lepaskan flask berbentuk bulat dari selimut pemanas dan biarkan solven mengalir keluar dan didinginkan selama paling sedikit 10 menit. Lepaskan kolom Snyder dan bilaslah sambungan kaca ke dalam alat penerima dengan sebagian kecil dari solven.

12.6.2.3 Lanjutkan ke bagian 12.6.4 untuk persiapan ekstraksi kembali atau proses konsentrat mikro dan penggantian solven.

12.6.3 Kuderna Danish (K-D) -- Proses konsentratkan hasil ekstraksi secara terpisah di dalam 500 mL flask K-D dilengkapi dengan tabung pengkonsentrat 10 mL. Teknik K-D digunakan untuk solven seperti methylene chloride dan hexane. Toluene sangat sulit digunakan dalam teknik K-D kecuali dikonsentratkan dengan air yang dijalankan memakai generator uap.

12.6.3.1 Tambahkan satu atau dua komponen pemanas pada alat penerima. Lampirkan sebuah kolom Snyder makro dengan tiga bola. Basahi terlebih dahulu kolom dengan menambahkan kurang lebih 1 mL solven dari bagian atas. Tempatkan peralatan K-D ke dalam siraman air hangat sehingga permukaan bulat yang lebih rendah dari flask akan dibasahi oleh uap.

12.6.3.2 Sesuaikan posisi vertikal dari peralatan dan suhu air yang diperlukan untuk menyelesaikan proses konsentrat dalam waktu 15-20 menit. Pada angka tertentu pada penyulingan, bola tersebut dalam kolom akan berbunyi secara aktif tetapi ruangan tidak akan penuh.

12.6.3.3 Bila campuran telah mencapai volume tertentu 1 mL,

lepaskan peralatan K-D dari siraman dan biarkan solven mengalir keluar dan didinginkan paling sedikit selama 10 menit. Lepaskan kolom Snyder dan bilaslah termos dan tabung konsentrator penghubung yang lebih rendah dengan 1-2 mL solven. Sebuah syringe 5 mL disarankan digunakan untuk percobaan ini.

12.6.3.4 Lepaskan kolom Snyder tiga bola dan tambahkan komponen pemanas yang baru dan lampirkan sebuah kolom Snyder mikro dua bola ke tabung konsentrator. Basahi terlebih dahulu kolom dengan menambahkan kurang lebih 0.5 mL dari solven dari bagian atas. Tempatkan peralatan ini di bawah siraman air panas.

12.6.3.5 Sesuaikan posisi vertikal dan suhu air seperti yang diminta untuk menyelesaikan proses konsentrat selama 5-10 menit. Pada angka tertentu dari penyulingan, bola di dalam kolom akan berbunyi dengan aktif tetapi kamar tidak akan penuh.

12.6.3.6 Bila campuran telah mencapai volume tertentu sebesar 0.5 mL, lepaskan peralatan dari siraman air dan biarkan mengalir keluar dan dinginkan selama paling sedikit 10 menit.

12.6.3.7 Lanjutkan ke bagian 12.6.4 untuk persiapan ekstraksi kembali atau proses konsentrat mikro dan penggantian solven.

12.6.4 Persiapan untuk ekstraksi kembali atau proses konsentrat mikro dan penggantian solven.

12.6.4.1 Untuk ekstraksi kembali (bagian 12.5) pindahkan hasil ekstraksi ke cerobong terpisah 250 mL. Bilaslah tempat konsentrat dengan sejumlah kecil hexane, sesuaikan volume hexane di dalam cerobong terpisah sampai 10-20 mL dan lanjutkan ke ekstraksi balik (bagian 12.5).

12.6.4.2 Untuk mengetahui berat residu dari hasil ekstraksi atau untuk prosedur pembersihan selain dari ekstraksi balik, pindahkan hasil ekstraksi ke alat peniupan dengan menggunakan dua dari tiga solven pembilasan. Lanjutkan dengan proses konsentrat mikro dan penggantian solven (bagian 12.7).

12.7 Proses konsentrat mikro dan penggantian solven.

12.7.1 Hasil ekstrak yang diutamakan dipakai oleh GPC atau pembersihan HPLC yang diganti oleh methylene chloride. Hasil ekstraksi harus dibersihkan dengan menggunakan silica gel, alumina, carbon dan atau florisil yang diubah ke hexane.

12.7.2 Pindahkan vial yang mengandung ekstraksi sample ke alat peniupan nitrogen, sesuaikanlah aliran nitrogen sehingga perubahan pada permukaan solven dapat dilihat dengan mata.

Catatan : sebuah vortek yang besar pada solven dapat mengakibatkan kehilangan data analisis.

12.7.3 Rendahkan vial pada siraman air bersuhu 45°C dan mulai proses konsentrat.

12.7.3.1 Jika hasil ekstraksi yang dikonsentratkan sudah kering serta mencapai berat yang diinginkan (bagian 12.4.1.8, 12.4.2.7 dan 13.7.1.4), hembuslah sampai kering dan diperoleh berat konstan.

12.7.3.2 Bila hasil ekstraksi yang sudah dikonsentratkan hendak diinjeksikan ke dalam GC/MS, solven harus diubah untuk pembersihan ekstraksi, kemudian lanjutkan proses berikut ini :

12.7.4 Bila volume dari campuran telah mencapai kurang lebih 100 μ L, tambahkan 2-3 mL solven yang diinginkan (methylene chloride untuk GPC dan HPLC atau hexane untuk pembersihan yang lainnya) dan dilanjutkan proses konsentrat lebih kurang 100 μ L. Ulangi penambahan solven dan proses konsentrat sekali lagi.

12.7.5 Bila hasil ekstraksi harus dibersihkan dengan GPC sesuaikan volume dari hasil ekstraksi sampai mencapai 5.0 mL dengan methylene chloride. Kemudian dibersihkan semuanya dengan memakai HPLC, dan dilanjutkan dengan proses konsentrat hasil ekstraksi sampai mencapai 30 μ L, serta diikuti dengan pembersihan GPC atau HPLC (bagian 13.2 atau 13.6 secara berurutan).

12.7.6 Bila hasil ekstraksi harus dibersihkan dengan menggunakan kolom chromatography (alumina, silica gel, carbopak / celite atau florisil) bawalah volume akhir sebesar 1.0 mL dengan hexane teruskan dengan tahap pembersihan kolom (bagian 13.3 sampai 13.5 dan 13.8).

12.7.7 Bila hasil ekstraksi harus diproses konsentrat untuk dimasukkan ke dalam GC/MS (bagian 14) sejumlah hasil ekstraksi yang akan dipindah harus mencapai angka 0.3 ml pada proses konsentrat akhir, kemudian bilaslah vial yang lebih besar dengan hexane dan tambahkan tahap pembilasan sampai ke vial conical, kurangi volume sampai mencapai 100 μ L, tambahkan 10 μ L nonane ke vial dan uapkan solven ke tingkatan nonane, tutup rapat vial dan berilah label dengan nomor sample serta simpan di tempat gelap dengan suhu ruangan sampai siap untuk dianalisa dengan GC/MS. Jika analisa tidak dilakukan pada hari yang sama simpanlah vial ini dengan suhu di bawah -10°C .

13.0 Pembersihan hasil ekstrak

13.1 Pembersihan mungkin tidak perlu dilakukan untuk sample tertentu, yang sudah bersih (sebagai contoh : air yang sudah disuling, air bawah tanah, air minum). Pada keadaan tertentu dimana memerlukan penggunaan prosedur pembersihan, para analis mungkin menggunakan sebagian atau semua prosedur di bawah atau prosedur lain yang berhubungan. Sebelum menggunakan prosedur pembersihan, para analis harus melakukan percobaan sehingga permintaan pada bagian 9.2 dapat dipakai dengan melakukan prosedur pembersihan. Jika hanya 2,3,7,8-TCDD dan 2,3,7,8-TCDF yang ditemui maka prosedur pembersihan harus dioptimalkan untuk pengumpulan kedua senyawa ini.

13.1.1 Chromatography gel permeation (bagian 13.2) akan

memberikan berat molekul yang tinggi sehingga mempengaruhi dan mengakibatkan penurunan pada tampilan kolom GC. Hal ini seharusnya digunakan untuk semua oli kotor dan ekstraksi sedimen serta mungkin digunakan untuk ekstraksi air yang diharapkan akan mengandung senyawa organik yang berat dan bermolekul besar (sebagai contoh bahan polymeric, asam).

13.1.2 Asam netral dan basic silica gel (bagian 13.3), alumina (bagian 13.4) dan florisil (bagian 13.8) digunakan untuk menghilangkan pengaruh nonpolar dan polar. alumina dan florisil digunakan untuk menghilangkan chlorodiphenyl ethers.

13.1.3 Carbopak/celite (bagian 13.5) digunakan untuk menghilangkan pengaruh non polar.

13.1.4 HPLC (bagian 13.6) yang digunakan untuk menemukan kekhususan dari 2,3,7,8 pengganti dan CDD yang lain serta isomer CDF yang lain.

13.1.5 Kolom anthropogenic isolation (bagian 13.7.1), prosedur penyerapan batch acidified silica gel (bagian 13.7.2) dan asam sulfuric dan dasar ekstraksi balik (bagian 13.7.3) yang digunakan untuk menghilangkan kandungan lipid pada sample berbahan tissue.

13.2 Chromatography Gel Permeation (GPC).

13.2.1 Bentuk Kolom.

13.2.1.1 Tempatkan 70-75 g dari SX3-Bio Beads (bagian 6.7.1.1) di dalam sebuah beaker 400-500mL.

13.2.1.2 Tutupi butiran ini dengan methylene chloride dan biarkan sampai mengembang lebih dari satu malam (minimal 12 jam).

13.2.1.3 Pindahkan butiran yang sudah mengembang ke dalam kolom (bagian 6.7.1.1) dan pompa solven ke dalam kolom, dari bawah ke atas pada 4.5 – 5.5 mL/ menit sebelum disambungkan ke

kolom detektor.

13.2.1.4 Setelah purging kolom dengan solven selama satu sampai dua jam, sesuaikanlah tekanan bagian atas kolom menjadi 7-10 psig dan purge selama empat sampai lima jam untuk mengeluarkan udara. Jagalah tekanan bagian atas agar tetap 7-10 psig, sambungkan kolom ke bagian detektor (bagian 6.7.1.4).

13.2.2 Kalibrasi kolom

13.2.2.1 Tempatkan 5 mL dari cairan kalibrasi (bagian 7.4) ke dalam tempat sample.

13.2.2.2 Masukkan cairan kalibrasi dan catat tanda yang keluar dari detektor. Pola elusi akan menjadi minyak jagung, bis(2-ethylhexyl) phthalate, pentachlorophenol, perylene dan sulfur.

13.2.2.3 Atur waktu "Dump Time" untuk pembuangan minyak jagung >85% dan pengumpulan phthalate sebesar >85%.

13.2.2.4 Atur "Collect Time" untuk puncak minimum antara perylene dan sulfur.

13.2.2.5 Verifikasi kalibrasi dengan cairan kalibrasi setelah setiap 20 ekstraksi, kalibrasi diverifikasi jika perkembangan dari pentachlorophenol lebih besar dari 85%. Jika kalibrasi tidak diverifikasi, sistim harus dikalibrasi kembali dengan menggunakan cairan kalibrasi dan kedua puluh sample sebelumnya akan diekstraksi dan dibersihkan kembali dengan menggunakan sistim GPC yang sudah dikalibrasi.

13.2.3 Pembersihan ekstraksi – Permintaan GPC adalah agar kolom tidak terlalu penuh, kolom yang dispesifikasikan pada metode ini dirancang untuk menangani maksimal 0.5g berat molekul terbesar pada bahan ekstraksi sebanyak 5 mL. Bila hasil ekstraksi diketahui atau diperkirakan mengandung lebih dari 0.5 g, hasil ekstraksi harus dibuang ke bentuk aliquot pada GPC dan aliquot ini digabung setelah dielusi dari kolom. Residu yang berasal dari ekstrak mungkin akan memiliki gravimetric dengan cara menguapkan solven sebesar 50 μ L aliquot.

13.2.3.1 Saringlah ekstrak atau tuang ke dalam pegangan saringan (bagian 6.7.1.3) untuk membuang partikel. Isi 5.0 mL ekstrak ke dalam kolom.

13.2.3.2 Elusikan ekstrak dengan menggunakan data kalibrasi yang diperoleh pada bagian 13.2.2. Kumpulkan hasil Elusi ke dalam beaker bersih 400-500 mL.

13.2.3.3 Bilaslah sample yang sudah diisi semuanya melalui tabung menggunakan methylene chloride antara ekstraksi untuk persiapan sample berikutnya.

13.2.3.4 Jika ekstraksi yang kotor secara khusus terjadi, 5.0mL methylene chloride harus dijalankan melalui sistim blank untuk dapat mengatasi masalah ini.

13.2.3.5 Proses konsentratkan elusi sesuai dengan bagian 12.6 dan 12.7 untuk pembersihan selanjutnya atau penginjeksian ke dalam GC/MS.

13.3 Pembersihan Silica Gel.

13.3.1 Tempatkan sebuah sambungan glasswool ke sebuah kolom chromatography dengan lebar 15 mm diameter (bagian 6.7.4.2). Bentuklah kolom dari bagian bawah ke atas dengan 1 g silica gel (bagian 7.5.1.1), 4 g Basic silica gel (bagian 7.5.1.3) 1 g silica gel, 8 g acid silica gel (bagian 7.5.1.2), 2 g silica gel dan 4 g granular anhydrous sodium sulphate (bagian 7.2.1).Pasang kolom untuk mengatasi penyerapan.

13.3.2 Elusikan sebelumnya kolom dengan 50-100mL hexane. Rapatkan dengan tutup gabus bila sudah berada 1 mm dari sodium sulphate. Buanglah elusi tersebut. Periksalah penyambungan ke kolom. Bila penyambungan sudah ada, lepaskan kolom dan siapkan yang lain.

13.3.3 Pasanglah ekstraksi yang sudah diproses konsentratkan ke kolom. Bukalah tutup gabus sampai hasil ekstrak berada 1 mm dari sodium sulphate.

13.3.4 Bilaslah alat penerima sebanyak dua kali dengan 1 mL bagian hexane dan lakukan secara terpisah pada kolom. Elusikan CDDs/CDFs dengan 100 mL hexane dan kumpulkan hasil elusi.

13.3.5 Lakukan proses konsentrasi pada elusi sesuai dengan bagian 12.6 dan 12.7 untuk tahap pembersihan selanjutnya atau injeksikan ke dalam HPLC atau GC/MS.

13.3.6 Untuk ekstraksikan sample yang diketahui mengandung jumlah yang besar dari senyawa organik lain (seperti limbah pabrik kertas), mungkin akan disarankan untuk meningkatkan kapasitas kolom silica gel. Mungkin ini juga akan sejalan dengan meningkatkan kemampuan sifat asam dan basa pada silica gel. Keasaman silica gel (bagian 7.5.1.2) mungkin akan ditingkatkan kemampuan sebesar 44% w/v (7.9 g sulfuric acid ditambahkan ke 10 g silica gel). Basic silica gel (bagian 7.5.1.3) mungkin akan ditingkatkan kemampuannya sebesar 33% w/v (50 ml 1N NaOH ditambahkan ke 100 g silica gel) atau potassium silicate (bagian 7.5.1.4) mungkin perlu digunakan.

Catatan : Pemakaian acid silica gel yang lebih kuat (44% w/v) mungkin akan menimbulkan senyawa organik dalam beberapa ekstrak. Bahan yang timbul ini mungkin akan meninggalkan sebagian pada alat penelitian dan hal ini dapat mengakibatkan perbaikan yang rendah pada CDDs/CDFs. Meningkatkan kemampuan dari asam dan basic silica gel mungkin juga menghasilkan perubahan volume hexane, lain dari yang disebutkan di atas untuk mengelusikan peralatan kolom analisis. Itulah sebabnya, tampilan metode setelah modifikasi harus diverifikasikan melalui prosedur bagian 9.2.

13.4 Pembersihan Alumina.

13.4.1. Tempatkan sebuah sambungan glasswool pada 15 mm diameter dalam kolom chromatography (bagian 6.7.4.2).

13.4.2 Jika menggunakan asam alumina, susunlah kolom dengan

menambahkan 6 g asam alumina (bagian 7.5.2.1). Jika menggunakan alumina basic, gantikan dengan 6 g alumina basic (bagian 7.5.2.2), pasangkan ke kolom untuk menghindari penyerapan.

13.4.3 Elusikan sebelumnya kolom dengan 50-100 mL hexane. Rapatkan dengan tutup gabus ketika hexane berada 1 mm dari alumina.

13.4.4 Buang elusi. Periksa kolom untuk saluran. Bila saluran ada lepaskan kolom dan persiapkan yang lainnya.

13.4.5 Masukkan ekstraksi yang sudah dikonsentratkan ke dalam kolom. Buka tutup gabus sampai ekstraksi berada 1 mm dari alumina.

13.4.6 Bilaslah alat penerima sebanyak dua kali dengan 1 mL bagian dari hexane dan lakukan secara terpisah di dalam kolom. Elusikan senyawa yang mempengaruhi ini dengan 100 mL hexane dan buanglah hasil elusi.

13.4.7 Pilihan untuk solven tergantung pada pemakaian alumina (asam atau basa) dijelaskan pada bagian 13.4.2.

13.4.7.1 Bila menggunakan alumina asam elusikan CDDs/CDFs dari kolom dengan 20 mL methylene chloride : hexane (20:80 v/v), kumpulkan hasil elusi.

13.4.7.2 Jika menggunakan alumina basa, elusikan CDDs/CDFs dari kolom dengan 20 mL methylene chloride : hexane (50:50 v/v). Kumpulkan hasil elusi.

13.4.8 Proses konsentratkan elusi sesuai dengan bagian 12.6 dan 12.7 untuk tahap pembersihan selanjutnya atau injeksikan ke dalam HPLC atau GC/MS.

13.5 Kolom Carbon.

13.5.1 Potong kedua ujung dari 10 mL pipet serological (bagian 6.7.3.2) sampai menghasilkan kolom sebesar 10 cm. Kedua ujung dipolish dengan api dan flare kedua ujung ini bila diperlukan. Sisipkan sebuah sambungan glass wool dan bentuklah kolom dengan 0.55 g carbopak/celite (bagian 7.5.3.3) untuk membentuk sebuah penyerapan yang mencapai kurang lebih panjang 2 cm. Sisipkan sambungan glasswool pada bagian atas untuk menahan penyerapan pada tempat tersebut.

13.5.2 Elusikan sebelumnya kolom dengan 5 mL toluene diikuti dengan 2 mL methylene chloride :methanol:toluene (15:4:1 v/v), 1 mL methylene chloride : cyclohexane (1:1 v/v) dan 5 mL hexane. Bila angka aliran dari elusi menunjukkan 0.5 mL/menit, lepaskan kolom.

13.5.3 Jika solven berada dalam jarak 1 mm dari susunan kolom, pasangkan ekstraksi sample ke bagian kolom. Bilaslah kotak sample dua kali dengan menggunakan 1 mL bagian dari hexane dan lakukan secara terpisah ke kolom. Pakailah 2 mL dari hexane untuk melengkapi pemindahan.

13.5.4 Elusikan senyawa yang berpengaruh dengan dua dari 3 mL bagian hexane, 2 mL methylene chloride : cyclohexane (1:1 v/v) dan 2mL dari methylene chloride : methanol : toluene (15:4:1 v/v). Buanglah hasil elusi yang muncul.

13.5.5 Balikkan kolom dan elusikan CDDs/CDFs dengan 20 mL toluene. Bila partikel carbon muncul dalam elusi ini, saringlah melalui kertas saring fiberglass.

13.5.6 Lakukan proses konsentrat pada elusi pada setiap bagian 12.6 dan 12.7 untuk pembersihan selanjutnya atau diinjeksikan ke dalam HPLC atau GC/MS.

13.6 HPLC (penjelasan 6).

13.6.1 Kalibrasi kolom.

13.6.1.1 Persiapkan sebuah standard kalibrasi yang mengandung 2,3,7,8 isomer pengganti dan atau isomer lainnya yang memiliki tingkat kepekatan mencapai 500 pg/ μ L methylene chloride.

13.6.1.2 Masukkan 30 μ L cairan kalibrasi ke dalam HPLC dan catat tanda yang keluar dari detektor, kumpulkan hasil elusi untuk digunakan kembali. Susunan dari elusi akan menjadi tetra sampai octa isomer.

13.6.1.3 Aturilah waktu pengumpulan dari tetra isomer dan untuk isomer lainnya yang berhubungan. Sesudah kalibrasi, siramlah sistim injeksi dengan sejumlah methylene chloride termasuk minimal dari kelima 50 μ L injeksi sewaktu alat detektor sedang diawasi. Hal ini untuk memastikan residu dari CDDs/CDFs yang dibuang dari sistim.

13.6.1.4 Verifikasi kalibrasi dengan cairan kalibrasi setelah 20 kali ekstraksi. Kalibrasi diverifikasi jika penempatan CDDs/CDFs dari standard kalibrasi (bagian 13.6.1.1) adalah 75-125% dibandingkan dengan kalibrasi (bagian 13.6.1.2). Jika kalibrasi tidak diverifikasi, sistim yang harus dikalibrasi kembali dengan menggunakan cairan kalibrasi dan kedua puluh sample sebelumnya akan diekstraksi kembali dan dibersihkan dengan menggunakan sistim kalibrasi.

13.6.2 Pembersihan hasil ekstraksi.

HPLC menghendaki kolom tidak terlalu penuh, kolom yang dispesifikasikan pada metode ini dirancang untuk menangani maksimal 30 μ L ekstraksi. Jika hasil ekstraksi tidak dapat mencapai tingkat kepekatan yang lebih kecil dari 30 μ L, maka hal ini akan mengakibatkan pemecahan dan pecahan ini akan digabung kembali setelah dielusi dari kolom.

13.6.2.1 Bilaslah bagian dari botol kecil sebanyak dua kali dengan 30 μ L methylene chloride dan dikurangi sampai 30 μ L dengan menggunakan peralatan penguapan (bagian 12.7).

13.6.2.2 Masukkan 30 μ L dari hasil ekstrak ke dalam HPLC.

13.6.2.3 Elusikan hasil ekstraksi dengan menggunakan data kalibrasi, yang terdapat pada bagian 13.6.1 kemudian kumpulkan

serpihan-serpihan ke dalam tabung konsentrat yang bersih ukuran 20 mL dan mengandung 5 mL hexane : acetone (1:1 v/v).

13.6.2.4 Jika Total CDD atau CDF yang ditemukan dalam ekstraksi lebih besar dari 100ng/mL, maka 30 μ L methylene chloride murni harus digunakan sebagai sistem pengecekan.

13.6.2.5 Lakukan proses konsentrat pada hasil elusi sesuai dengan bagian 12.7 untuk diinjeksikan ke dalam GC/MS.

13.7 Pembersihan lipid pada bahan tissue -- lipid yang dipindahkan dari alat ekstraksi soxhlet dengan menggunakan kolom anthropogenic isolation (bagian 13.7.1) atau silica gel asam (bagian 13.7.2) atau dipindahkan dari proses ekstraksi HCl dengan menggunakan asam sulfuric dan ekstraksi balik basa (bagian 13.7.3).

13.7.1 Kolom anthropogenic isolation (penjelasan 22 dan 27) – digunakan untuk menghilangkan kandungan lipid dari ekstraksi soxhlet/SDS (bagian 12.4.1).

13.7.1.1 Persiapkan kolom seperti yang diberikan pada bagian 7.5.4.

13.7.1.2 Elusikan terlebih dahulu kolom dengan 100 mL hexane, kemudian alirkan lapisan hexane ke bagian atas kolom tetapi jangan biarkan sodium sulphate timbul.

13.7.1.3 Tempatkan sample dan hasil pembilasan (bagian 12.4.1.9.2) ke dalam kolom dengan mengalirkan setiap bagian ke atas. Elusikan CDDs/CDFs dari kolom ke dalam peralatan yang digunakan untuk proses konsentrat (bagian 12.4.1.7) dengan menggunakan 200 ml hexane.

13.7.1.4 Lakukan proses konsentrat pada hasil ekstraksi melalui pembersihan (bagian 12.6 sampai 12.7) pada berat konstan seperti pada bagian 12.7.3.1. Jika lebih dari 500 mg bahan tertahan, ulangi pembersihan dengan menggunakan kolom anthropogenic isolation yang baru.

13.7.1.5 Pisahkan kembali ke dalam sebuah solven yang cocok dengan pembersihan tambahan bila perlu dilakukan (bagian 13.2 sampai 13.6 dan 13.8).

13.7.1.6 Campurkan 1.0 mL dari standard pembersihan (bagian 7.11) ke dalam residu/solven.

13.7.1.7 Bersihkan hasil ekstraksi dengan menggunakan prosedur pada bagian 13.2 sampai 13.6 dan 13.8. alumina (bagian 13.4) atau florisisil (bagian 13.8) dan carbon (bagian 13.5) disarankan sebagai tahap pembersihan yang minimal.

13.7.1.8 Pembersihan berikutnya dilakukan dengan proses konsentrat atas hasil ekstrak sampai 10 μ L seperti yang dijelaskan pada bagian 12.7 dan lanjutkan dengan analisa pada bagian 14.

13.7.2 Silica gel acidified (penjelasan 28) – Prosedur alternatif pada kolom anthropogenic isolation (bagian 13.7.1) yang digunakan untuk menghilangkan kandungan lipid dari soxhlet / SDS ekstraksi (bagian 12.4.1).

13.7.2.1 Sesuaikan volume hexane di dalam sebuah botol (bagian 12.4.1.9.2) sampai mencapai kurang lebih 200 mL.

13.7.2.2 Campurkan 1.0 mL dari standard pembersihan (bagian 7.11) di dalam residu/solven.

13.7.2.3 Masukkan alat pengaduk ke dalam botol, tempatkan botol pada piringan pengaduk dan mulailah pengadukan.

13.7.2.4 Tambahkan 30-100 g silica gel asam (bagian 7.5.1.2) ke dalam botol selagi waktu pengadukan sedang berjalan, jagalah pergerakan silica gel, aduk selama dua sampai tiga jam.

Catatan : 30 gram silica gel akan cocok untuk hampir semua sample dan akan meminimalkan sumber penyebab kontaminasi.

13.7.2.5 Setelah pengadukan, tuanglah hasil ekstraksi sampai mencapai kurang lebih 10 g dari granular anhydrous sodium sulphate (bagian 7.2.1) melalui sebuah corong dengan penyaring fiberglass ke dalam alat konsentrat makro (bagian 12.6). Bilaslah botol dan sodium sulphate dengan hexane untuk melengkapi pemindahan.

13.7.2.6 Lakukan proses konsentrat pada hasil ekstraksi sesuai dengan bagian 12.6 sampai 12.7 dan bersihkan hasil ekstraksi dengan menggunakan prosedur pada bagian 13.2 sampai 13.6 dan

13.8. Alumina (bagian 13.4) atau florisil (bagian 13.8) dan carbon (bagian 13.5) disarankan sebagai tahap pembersihan tambahan yang paling minimum harus dikerjakan.

13.7.3 Asam sulfuric dan ekstraksi balik basa digunakan dengan proses ekstraksi HCl (bagian 12.4.2).

13.7.3.1 Campurkan 1.0 ml standard pembersihan (bagian 7.11) ke dalam residu / solven (bagian 12.4.2.8.2).

13.7.3.2 Tambahkan 10 mL sulfuric asam yang sudah diproses menjadi konsentrat ke dalam sebuah botol. Segeralah tutup dan kocok satu sampai tiga kali. Longgarkan tutup botol untuk mencegah tekanan terus menerus di dalam ruangan botol. Tutup dan kocok botol tersebut sehingga residu / solven bersatu dengan asam dalam waktu selama kurang lebih 45 detik.

13.7.3.3 Tuangkan hexane ke dalam corong terpisah sebanyak 250 mL dan memastikan tidak ada asam yang ikut tertuang. Lengkapi jumlah yang dipindahkan dengan beberapa pembilasan hexane.

13.7.3.4 Balikkan ekstraksi solven / residu dengan 50 mL potassium hydroxide solution sesuai dengan bagian 12.5.2, diikuti dengan pembilasan air yang mengandung zat aktif.

13.7.3.5 Alirkan hasil ekstraksi melalui corong penyaring yang mengandung kurang lebih 10 g granular anhydrous sodium sulphate pada sebuah penyaring fiberglass ke dalam alat konsentrasi makro (bagian 12.6).

13.7.3.6 Lakukan proses konsentrat pada hasil ekstrak yang sudah bersih ke sebuah volume yang cocok untuk tahap pembersihan tambahan yang diberikan pada bagian 13.2 sampai 13.6 dan 13.8. Gel permeation chromatography (bagian 13.2), alumina (bagian 13.4) atau florisil (bagian 13.8) dan carbopak / celite (bagian 13.5) yang disarankan sebagai tahap pembersihan tambahan minimum yang harus dilakukan.

13.7.3.7 Pembersihan selanjutnya, lakukan proses konsentrat pada hasil ekstraksi sampai 10 μ L seperti yang diterangkan pada bagian 12.7 dan lanjutkan dengan analisa pada bagian 14.

13.8 Pembersihan florisil (penjelasan 29).

13.8.1 Elusikan terlebih dahulu kolom florisil yang sedang aktif (bagian 7.5.3.) dengan 10 mL methylene chloride diikuti dengan 10 mL hexane : methylene chloride (98:2 v/v) dan buanglah solven.

13.8.2 Ketika solven berada dalam jarak 1 mm dari susunan, masukkan ekstrak sample (dalam hexane) ke dalam kolom. Bilaslah kotak sample sebanyak dua kali dengan 1 mL bagian dari hexane dan masukkan ke kolom.

13.8.3 Elusikan senyawa yang saling berhubungan dengan 20 ml dari hexane : methylene chloride (98:2) dan hentikan elusi.

13.8.4 Elusikan CDDs/CDFs dengan 35 mL dari methylene chloride dan kumpulkan hasil elusi. Lakukan proses konsentrat pada hasil elusi seperti pada bagian 12.6 sampai 12.7 untuk pembersihan selanjutnya atau untuk diinjeksikan ke dalam HPLC atau GC/MS.

14.0 Analisa HRGC/HRMS

14.1 Susunlah proses pengerjaan seperti yang dijelaskan pada bagian 10.1.

14.2 Tambahkan 10 μ L cairan internal standard yang sesuai (bagian 7.12) ke dalam hasil ekstraksi sample segera sebelum diinjeksikan untuk mengecilkan kemungkinan kehilangan pada saat penguapan, penyerapan atau reaksi. Bila sebuah hasil ekstraksi harus dianalisa kembali dan telah terjadi penguapan, jangan tambahkan cairan ke internal standard. Kemudian ambil hasil ekstraksi kembali ke volume sebelumnya (sebagai contoh 19 μ L) dengan nonane yang murni (18 μ L jika 2 μ L injeksi yang dipakai).

14.3 Masukkan 1.0 μL atau 2.0 μL dari hasil ekstraksi yang diproses menjadi konsentrat dan mengandung cairan internal standard, gunakan kolom atau injeksi yang rendah. Volume yang dimasukkan harus cocok dengan volume yang digunakan untuk kalibrasi (bagian 10). Mulailah dengan kolom GC bertanda Isothermal sampai bagian injeksi. Mulailah dengan pengumpulan data setelah puncak solven telah dielusi. Hentikan pengumpulan data setelah OCDD dan OCDF telah selesai dielusi. Bila hanya 2,3,7,8-TCDD dan 2,3,7,8-TCDF yang dijumpai, hentikan pengumpulan data setelah elusi selesai pada semua senyawa ini. Kembalikan kolom ke suhu semula untuk dianalisa ekstraksi selanjutnya atau standard.

15. Sistim dan tampilan laboratorium

15.1 Pada permulaan setiap 12 jam selama suatu analisa sedang dilakukan, tampilan sistim GC/MS dan kalibrasi harus diverifikasikan pada setiap CDDs/CDFs dan diberi label pada setiap senyawa. Untuk ujicoba ini, analisa dari standard verifikasi kalibrasi CS3 (VER) (bagian 7.13 dan table XIV) dan uji coba standard kekhususan isomer (bagian 7.15 dan table XV) akan digunakan untuk verifikasi semua kriteria pada tampilan. Penyesuaian dan atau kalibrasi ulang (bagian 10) akan dilakukan sampai semua kriteria tampilan diperoleh. Hanya setelah semua kriteria tampilan diperoleh pada sample, IPRs, dan OPRs yang sedang dianalisa.

15.2 Resolusi MS-- Sebuah kekuatan perkembangan yang tetap sedikitnya 10.000 (10 % definisi dari lembah) harus dilakukan uji coba sewajarnya pada m/z sebelum analisa apa saja dilakukan. Pemeriksaan kekuatan perkembangan yang tetap harus dilakukan pada awal dan akhir setiap waktu 12 jam sesuai dengan prosedur pada bagian 10.1.2. Tindakan koreksi harus dilakukan kapan saja bila kekuatan perkembangan tidak dapat dipenuhi.

15.3 Verifikasi kalibrasi.

15.3.1 Masukkan standard VER dengan menggunakan prosedur bagian 14.

15.3.2 Rasio pelepasan m/z untuk semua CDDs/CDFs akan berada dalam batasan table XIX, kalau tidak mass spectrometer akan disesuaikan sampai ratio pelepasan m/z akan jatuh pada batasan yang ditentukan dan ujicoba verifikasi akan diulangi. Bila penyesuaian mengubah resolusi dari mass spectrometer, resolusi akan diverifikasi (bagian 10.1.2) sebelum diulangi verifikasi uji coba.

15.3.3 Puncak-puncak akan menunjukkan setiap CDD/CDF dan senyawa berlabel pada standard VER sehingga perlu ditunjukkan dengan S/N sekurang - kurangnya 10, kalau tidak mass spectrometer akan disesuaikan lagi dan ujicoba verifikasi akan diulangi.

15.3.4 Hitunglah konsentrat pada setiap senyawa CDD/CDF dengan dilusi isotop (bagian 10.5) untuk semua senyawa yang memiliki label analog (table XI). Hitunglah konsentrat pada senyawa berlabel dengan menggunakan metode internal standard (bagian 10.6). Konsentrat ini diperhitungkan berdasarkan data kalibrasi pada bagian 10.

15.3.5 Untuk semua senyawa, bandingkan konsentrat dengan batasan verifikasi kalibrasi yang terdapat pada table XVI. Jika hanya 2,3,7,8-TCDD dan 2,3,7,8-TCDF yang dijumpai, bandingkan konsentrat pada batasan dalam table XVI A. Jika semua senyawa cocok dengan kriteria yang dikehendaki, kalibrasi telah diverifikasi dan standard analisa dan sample ekstraksi dapat diproses. Bagaimanapun senyawa yang jatuh pada batasan yang dihendaki sistim pengukuran tidak akan bekerja dengan baik pada senyawa. Pada masalah ini, persiapkan standard kalibrasi yang baru atau perbaiki masalah yang menyebabkan kegagalan dan

ulangi kembali resolusi (bagian 15.2) dan ujicoba verifikasi (bagian 15.3) atau kalibrasi ulang (bagian 10).

15.4 Waktu perpanjangan dan resolusi GC.

15.4.1 Waktu perpanjangan.

15.4.1.1 Hal-hal yang mutlak – Hal hal yang mutlak pada perpanjangan waktu dari $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4-TCDD dan $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDD, GCMS internal standard pada ujicoba verifikasi (bagian 15.3) akan dilakukan dalam waktu ± 15 detik dari perpanjangan waktu yang diperoleh selama kalibrasi (bagian 10.2.1 dan 10.2.4).

15.4.1.2 Relatif – Perpanjangan waktu relatif dari CDDs/CDFs dan senyawa berlabel dalam ujicoba verifikasi (bagian 15.3) akan berada dalam batasan yang diberikan pada tabel XII.

15.4.2 Resolusi GC

15.4.2.1 Masukkan standard kekhususan isomer (bagian 7.15) pada kolom yang dikehendaki.

15.4.2.2 Ketinggian lembah antara 2,3,7,8-TCDD dan isomer tetra Dioxin yang lain pada 319.8965 m/z dan antara 2,3,7,8-TCDF dan isomer tetra furans yang lain pada 303.9016 m/z serta hal ini tidak akan melebihi 25% dari kolom yang dikehendaki (figure 9 dan 10).

15.4.3 Bila perpanjangan waktu absolute dari senyawa apa saja tidak berada dalam batasan yang khusus atau bila 2,3,7,8 isomer tidak ditemukan, GC tidak akan bekerja dengan baik. Pada saat ini, sesuaikan GC dan ulangi ujicoba verifikasi (bagian 15.3) atau kalibrasi ulang (bagian 10) atau ganti kolom GC dan verifikasi kalibrasi yang lain atau kalibrasi ulang.

15.5 Penempatan dan keseksamaan yang sedang berlangsung.

15.5.1 Analisa hasil ekstraksi atas keseksamaan dan penempatan yang sedang berlangsung (OPR) (bagian 11.4.2.5, 11.5.4, 11.6.2, 11.7.4 atau 11.8.3.2) sebelum dilakukan analisa pada sample yang

memiliki batch yang sama.

15.5.2 Hitunglah konsentrasi pada setiap CDD/CDF melalui dilusi isotop untuk semua senyawa yang memiliki label analog (bagian 10.5). Hitunglah konsentrasi dari 1,2,3,7,8,9-HxCDD, OCDF dan setiap senyawa berlabel dengan menggunakan metode internal standard (bagian 10.6).

15.5.3 Untuk setiap CDD/CDF dan senyawa berlabel, bandingkan konsentrasi pada batas OPR yang diberikan pada table XVI. Bila hanya 2,3,7,8-TCDD dan 2,3,7,8-TCDF yang dijumpai, bandingkan konsentrasi sesuai dengan batasan yang diberikan pada table XVI A. Jika semua senyawa sesuai dengan kriteria yang diminta, tampilan sistim juga dapat diterima dan analisa dari ruang kosong dan sample dapat dilanjutkan. Jika konsentrasi jatuh di luar daerah yang diberikan, hasil ekstraksi / proses konsentrasi tidak dapat bekerja dengan baik pada senyawa. Pada masalah ini, perbaiki problem dengan mempersiapkan kembali ekstraksi yaitu bersihkan batch sample dan ulangi keseksamaan dan ujicoba penempatan yang sedang berlangsung (bagian 15.5).

15.5.4 Tambahkan hasil-hasil yang telah memenuhi spesifikasi pada bagian 15.5.3 pada data yang sebelumnya dan sedang berlangsung pada setiap senyawa dalam matriks. Perbaiki diagram QC akan terbentuk grafik yang menunjukkan tampilan laboratorium yang sedang berlanjut. Temukan sebuah pernyataan tentang keakuratan pihak laboratorium untuk setiap CDD/CDF dalam setiap matriks dengan menghitung persentase rata-rata penempatan (R) dan standard deviasi pada persentase penempatan (S_R). Tunjukkan keakuratan sebagai sebuah interval penempatan dari $R-2S_R$ sampai $R+2S_R$. Sebagai contoh bila $R = 95\%$ dan $S_R=5\%$, keakuratannya adalah 85-105%.

15.6 Ruang kosong – Analisa metode ruang kosong yang diekstraksi dengan setiap batch sample dan diikuti analisa dari aliquot OPR untuk bebas dari kontaminasi dan masalah dari

analisa OPR. Hasil-hasil dari analisa ruang kosong harus memenuhi spesifikasi pada bagian 9.5.2 sebelum analisa sample dilanjutkan.

16.0 Penentuan Secara Kualitatif.

Sebuah CDD,CDF atau senyawa berlabel yang diidentifikasi dalam standard, ruang kosong atau sample supaya semua kriteria pada bagian 16.1 sampai 16.4 dapat dipenuhi.

16.1 Tanda – tanda untuk kedua eksak m/z dalam table XVIII harus dapat ditunjukkan dan dapat dimaksimalkan secara bersamaan dalam waktu dua detik.

16.2 Rasio signal to noise (S/N) untuk puncak GC pada setiap eksak m/z harus lebih besar atau sama dengan 2,5 bagi setiap CDD/CDF yang terdeteksi pada ekstraksi sample dan lebih besar dari dan atau sama dengan 10 dari semua CDDs/CDFs dalam standard kalibrasi (bagian 10.2.3 dan 15.3.3).

16.3 Rasio pada daerah yang telah disatukan dari kedua eksak m/z dijelaskan pada table XVIII juga harus berada dalam batasan table XIX atau dalam $\pm 10\%$ dari rasio midpoint (CS3) kalibrasi atau verifikasi kalibrasi (VER) yang terakhir.

16.4 Waktu perpanjangan relatif pada puncak menunjukkan 2,3,7,8 yang tidak tergantikan oleh CDDs/CDFs dimana harus berada dalam waktu perpanjangan yang diberikan pada bagian 10.3.

16.5 Analisa confirmatory – kekhususan isomer untuk 2,3,7,8-TCDF tidak dapat dicapai dengan DB-5kolom. Itulah sebabnya semua sample yang 2,3,7,8 – TCDF yang diidentifikasi dengan menggunakan analisa pada kolom DB-5, harus memiliki analisa confirmatory yang dilakukan pada DB-225, SP-2330 atau kolom GC yang sejenis. Syarat-syarat pengerjaannya terdapat pada

bagian 10.1.1 mungkin akan disesuaikan untuk mengoptimalkan analisa pada kolom kedua GC. Tetapi GC/MS harus cocok dengan resolusi massa dan spesifikasi kalibrasi dalam bagian 10.

16.6 Jika kriteria untuk mengidentifikasi yang terdapat pada bagian 16.1 sampai 16.5 tidak sesuai, CDD atau CDF harus diidentifikasi dan hasilnya tidak untuk digunakan secara umum. Jika pengaruh yang muncul pada proses identifikasi, sebuah aliquot baru dari sample harus diekstraksi, dibersihkan dan selanjutnya dianalisa.

17.0 Penentuan Secara Kuantitatif.

17.1 Dilusi isotop kuantitatif – Tambahkan sejumlah senyawa berlabel yang telah diketahui ke dalam setiap sample sebelum diekstraksi. Penempatan dari CDD/CDF dapat dilakukan karena CDD/CDF dan analog berlabel hampir sama pengaruhnya pada ekstraksi, konsentrat dan gas chromatography. Relative Response (RR) yang nilainya digunakan bersamaan dengan data kalibrasi tertentu telah dijelaskan pada bagian 10.5 untuk mendapatkan konsentrat secara langsung. Untuk senyawa berlabel yang dicampur untuk mencapai tingkat yang konstan, dapat mempergunakan persamaan berikut ini :

$$C_{ex} \text{ (ng/nL)} = \frac{(A_{1n}+A_{2n}) C_1}{(A_{1i}+A_{2i}) RR}$$

Dimana : C_{ex} = konsentrat dari CDD/CDF dalam ekstrak dan benda lain seperti yang didefinisikan dalam bagian 10.5.2.

17.1.1 Disebabkan karena pengaruh yang besar, analog berlabel dari OCDF tidak ditambahkan ke sample. Itulah sebabnya jumlah dari OCDF berlawanan dengan OCDD berlabel. Sebagai hasilnya, konsentrat dari OCDF akan diperbaiki untuk ditempatkan pada OCDD berlabel. Sebagai contohnya, dimana OCDD dan OCDF berbeda pola selama proses ekstraksi sample. Konsentrat dan prosedur pembersihan, mungkin akan menurunkan keakuratan

hasil dari OCDF. Bagaimanapun, dengan memberikan tingkat racun yang rendah dari senyawa relatif ini pada Dioxin yang lain atau furan, penurunan yang potensial pada keakuratan tidaklah besar.

17.1.2 $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDD yang digunakan sebagai alat internal standard (sebagai contoh, tidak ditambahkan sebelum ekstraksi sample), tidak dapat digunakan untuk menjumlah 1,2,3,7,8,9-HxCDD dengan menggunakan prosedur dilusi isotop. Itulah sebabnya 1,2,3,7,8,9-HxCDD dijumlahkan dengan menggunakan rata-rata respon dari analog berlabel pada kedua 2,3,7,8 pengganti HxCDD's : 1,2,3,4,7,8-HxCDD dan 1,2,3,6,7,8-HxCDD. Sebagai hasilnya adalah konsentrat dari 1,2,3,7,8,9-HxCDD yang diperbaiki untuk penempatan rata-rata pada kedua HxCDD's.

17.1.3 Setiap puncak yang muncul menunjukkan 2,3,7,8 tidak tergantikan oleh CDDs/CDFs yang dijumlahkan memakai sebuah rata-rata dari Response Factor dari semua isomer berlabel 2,3,7,8 yang pada tingkat chlorinasi yang sama.

17.2 Internal Standard kwantitatif dan penempatan senyawa berlabel.

17.2.1 Hitunglah konsentrat dari 1,2,3,7,8,9-HxCDD, OCDF, analog berlabel ^{13}C dan standard pembersihan ^{37}C berlabel di dalam hasil ekstraksi dengan menggunakan Response Factor yang diperoleh dari data kalibrasi tertentu (bagian 10.6) dan persamaan berikut :

$$C_{\text{ex}} (\text{ng/nL}) = \frac{(A_{1s} + A_{2s}) C_{is}}{(A_{1is} + A_{2is}) \text{RF}}$$

dimana C_{ex} = konsentrat dari CDD/CDF di dalam ekstraks dan bahan yang lain seperti yang dijelaskan dalam bagian 10.6.1.

Catatan : Hanya terdapat satu m/z untuk setiap standard ³⁷Cl berlabel.

17.2.2 Gunakan konsentrasi di dalam ekstraks yang diperoleh di atas, perhitungkan persentase dari penempatan senyawa ¹³C berlabel dan standard pembersihan ³⁷C berlabel dengan menggunakan persamaan berikut :

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{\text{Konsentrat yang ada } (\mu\text{g/nL})}{\text{Konsentrat campuran } (\mu\text{g/nL})} \times 100$$

17.3 Konsentrat sebuah CDD/CDF dalam tahap padat dalam sebuah sample dihitung dengan menggunakan konsentrat senyawa di dalam ekstraks dan berat dari zat padat (bagian 11.5.1) seperti berikut ini :

$$\text{Konsentrat dalam padat (ng/kg)} = \frac{(C_{\text{ex}} \times V_{\text{ex}})}{W_s}$$

Dimana : C_{ex} = Konsentrat dari senyawa di dalam ekstraks

V_{ex} = Volume ekstraks dalam mL

W_s = Berat sample (berat bersih) dalam kg

17.4 Konsentrat dari sebuah CDD/CDF dalam tahap cair dari sebuah sample dihitung dengan menggunakan konsentrat dari senyawa di dalam ekstraks dan volume air yang diekstraksi (bagian 11.4 atau 11.5) seperti berikut ini :

$$\text{Konsentrat dalam phase cair (pg/L)} = \frac{(C_{\text{ex}} \times V_{\text{ex}})}{V_s}$$

dimana : C_{ex} = Konsentrat dari senyawa di dalam ekstrak

V_{ex} = Volume ekstraksi dalam mL

V_s = Sample volume dalam liter

17.5 Bila daerah SICP berada pada kuantitatif m/z untuk senyawa apa saja yang muncul pada daerah sistim kalibrasi, sebuah sample aliquot yang lebih kecil akan dihasilkan.

17.5.1 Untuk sample berbentuk cair dan mengandung 1 % zat padat atau kurang dari itu, dilusikan 100 mL, 10 mL dan lain-lain dari sample ke dalam 1 liter cairan zat aktif dan persiapkan kembali, ekstraksi, dibersihkan dan analisa sesuai dengan bagian 11 sampai 14.

17.5.2 Untuk sample yang mengandung zat padat lebih besar dari 1%, ekstraksi sejumlah sample sampai sama dengan 1/10, 1/100 dan lain-lain dari jumlah yang digunakan pada bagian 11.5.1, persiapkan kembali, ekstraksi, dibersihkan dan analisa sesuai dengan bagian 11 sampai 14.

17.5.3 Bila sebuah sample berukuran lebih kecil tidak akan menunjukkan semua sample, dilusikan ekstraksi sample dengan faktor sepersepuluh, sesuaikan konsentrat pada peralatan internal standard sampai 100 pg/ μ L di dalam ekstraksi dan analisa sebuah aliquot dari dilusi ekstraksi ini dengan menggunakan metode internal standard.

17.6 Hasil – hasil yang dilaporkan pada ketiga gambar yang lengkap untuk CDDs/CDFs dan senyawa berlabel akan dijumpai pada semua standard, blanks dan sample.

17.6.1 Unit dan tingkat pelaporan.

17.6.1.1 Sample berbentuk cair – Laporkan hasilnya dalam pg/L (bagian seperquadriillion).

17.6.1.2 Sample yang mengandung zat padat lebih besar dari 1 % (oli kotor, sedimen, penyaringan, kompos) – Laporkan hasil dalam ng/kg berdasarkan berat bersih dari sample. Laporan dari persentase zat padat akan diperbaiki bila ada perubahan.

17.6.1.3 Bahan tissue – Laporkan hasil dalam ng/kg dari bahan

tissue basah, tidak berdasarkan kandungan lipid dari sample. Laporan persentase kandungan lipid, akan membuat pengguna data dapat menghitung konsentrasi pada dasar lipid jika diinginkan.

17.6.1.4 Tingkat pelaporan.

17.6.1.4.1 Standard (VER, IPR, OPR) dan sample – Laporkan hasil pada atau di atas tingkat minimum (Table XII). Laporan hasil di bawah tingkat minimum tidak terdeteksi.

17.6.1.4.2 Blanks – Laporkan hasil di atas sepertiga dari ML.

17.6.2 Hasil – Hasil untuk CDDs/CDFs dalam sample yang telah didilusikan dilaporkan paling tidak pada tingkat dilusi dimana area kuantitatif m/z 's berada di dalam daerah kalibrasi (bagian 17.5).

17.6.3 Untuk CDDs/CDFs yang memiliki label analog, hasil akan dilaporkan pada tingkat dilusi terendah dimana area kuantitatif m/z berada di daerah kalibrasi (bagian 17.5) dan penempatan senyawa berlabel berada dalam daerah normal untuk metode (bagian 9.3 dan table XVI, XVIA, XVII dan XVIII).

17.6.4 Sebagai tambahan, jika diperlukan, seluruh konsentrasi semua isomer berada dalam tingkat chlorinasi tersendiri (sebagai contoh Total TCDD, Total TCDF, Total PCDD dan lain-lain) mungkin akan dilaporkan dengan menjumlahkan konsentrasi pada semua isomer yang diidentifikasi pada tingkat chlorinasi, termasuk di dalamnya kedua isomer pengganti 2,3,7,8 dan 2,3,7,8 yang tidak tergantikan.

18.0 Analisa sample kompleks

18.1 Beberapa sample mungkin mengandung tingkat yang tinggi (>10 ng/L : >1000 ng/kg) dari senyawa, senyawa yang terpengaruh, dan atau bahan baku polymeric. Beberapa hasil ekstraksi tidak akan memiliki kepekatan sampai $10 \mu\text{L}$ (bagian 12.7), yang lain mungkin akan berlebihan di dalam kolom GC dan atau mass spectrometer.

18.2 Analisa sample aliquot yang lebih kecil (bagian 17.5) ketika tingkat kepekatan berada di bawah 10 μL setelah semua prosedur pembersihan telah dilaksanakan dengan baik.

18.3 Chlorodiphenyl ethers – Bila puncak chromatographic sudah terdeteksi pada waktu perpanjangan CDDs/CDFs dalam corong m/z yang mana saja, (bagian 8) prosedur pembersihan harus dilakukan sampai pengaruh hilang. Alumina (bagian 13.4) dan florisil (bagian 13.8) disarankan dilakukan untuk menghilangkan chlorodiphenil ethers.

18.4 Penempatan senyawa berlabel – Dalam sample kebanyakan, penempatan dari senyawa berlabel hampir sama dengan apa yang dilakukan pada cairan zat aktif atau pada matriks alternatif (bagian 7.6).

18.4.1 Bila penempatan mana saja dari senyawa berlabel berada di luar daerah normal (table XVII), sebuah sample dilusi akan perlu dianalisa (bagian 17.5).

18.4.2 Bila penempatan dari senyawa berlabel mana saja dalam sample dilusi berada di luar daerah normal, standard verifikasi kalibrasi (bagian 7.13) akan perlu dianalisa dan kalibrasi diverifikasi kembali (bagian 15.3).

18.4.3 Bila kalibrasi tidak dapat diverifikasi, sebuah kalibrasi yang baru harus dilakukan dan sample ekstraksi yang asli akan dianalisa kembali.

18.4.4 Bila kalibrasi sudah diverifikasi dan dilusi sample tidak sesuai dengan batasan untuk penempatan senyawa berlabel, metode tidak akan dilakukan pada sample yang sedang dianalisa dan hasil mungkin tidak akan dilaporkan untuk pemakaian secara umum. Untuk masa ini, ekstraksi alternatif dan prosedur

pembersihan dalam metode ini harus dilakukan untuk menghilangkan pengaruh yang muncul. Bila semua prosedur pembersihan pada metode ini telah dilakukan dan penempatan senyawa berlabel tetap berada di luar daerah normal, ekstraksi dan atau prosedur pembersihan yang berada di luar dari kawasan metode ini akan perlu dianalisa pada semua sample ini.

19.0 Pencegahan Polusi

19.1 Solven yang dipakai dalam metode memberikan sedikit ancaman pada lingkungan walaupun telah diatur dengan baik. Teknik penguapan solven digunakan dalam metode ini dapat diterima oleh penempatan kembali solven dan ini disarankan bahwa pihak laboratorium mendaur ulang solven dimana dapat dikerjakan dengan mudah.

19.2 Standard harus dipersiapkan dalam volume yang disesuaikan untuk laboratorium dimana hal ini untuk memperkecil pembuangan limbah.

20.0 Pengaturan Limbah

20.1 Adalah merupakan tanggung jawab pihak laboratorium untuk tunduk pada peraturan negara dan peraturan lokal yang dibuat pemerintah untuk penanganan limbah, khususnya peraturan untuk limbah berbahaya tertentu dan peraturan pembuangan limbah dan untuk melindungi udara, air dan tanah dengan mengecilkan dan mengontrol semua pembuangan dari lingkungan rumah tangga dan pembuangan industri. Permohonan juga diperlukan untuk peraturan dan izin pembuangan limbah.

20.2 Sample yang mengandung HCl dengan pH <2 adalah berbahaya dan harus dinetralisir kembali sebelum dibuang ke saluran atau harus diperlakukan sebagai limbah yang berbahaya.

20.3 Pembentukan CDDs/CDFs di atas 800°C. Limbah tingkat rendah seperti kertas penyerap, tissue, sisa hewan dan sarung tangan plastik mungkin perlu dibakar dalam sebuah alat yang khusus. Jumlah kotor (milligrams) harus dibungkus dengan baik dan dibuang melalui wakil pemerintahan atau komersial yang mampu menangani masalah limbah beracun.

20.4 Limbah cair atau yang dapat larut harus dipisahkan dengan methanol atau ethanol dan diradiasi dengan sinar ultraviolet yang bergelombang pendek dari 290 nm selama beberapa hari. Gunakan F40BL atau lampu yang sejenis dengannya. Analisa limbah cair dan buanglah campuran ini bila CDDs/CDFs tidak dapat lagi dideteksi.

20.5 Untuk informasi selanjutnya pada penanganan limbah, merujuk “The Waste Management Manual for Laboratory Personnel” dan “Less is Better” – Laboratory Chemical Management for Waste Reduction” yang diperoleh dari American Chemical Society's Department of Government Relations and Science Policy, 1155 16th street, N.W., Washington D.C 20036.

21.0 Tables and Figures

TABLE XI. CHLORINATED DIBENZO-*p*-DIOXINS AND FURANS DETERMINED BY ISOTOPE DILUTION AND INTERNAL STANDARD HIGH RESOLUTION GAS CHROMATOGRAPHY (HRGC)/HIGH RESOLUTION MASS SPECTROMETRY (HRMS)

CDDs/CDFs ¹	CAS Registry	Labeled analog	CAS Registry
2,3,7,8-TCDD	1746-01-6	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDD ³⁷ Cl ₄ -2,3,7,8-TCDD	76523-40-5 85508-50-5
Total TCDD	41903-57-5	—	—
2,3,7,8-TCDF	51207-31-9	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDF	89059-46-1
Total-TCDF	55722-27-5	—	—
1,2,3,7,8-PeCDD	40321-76-4	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDD	109719-79-1
Total-PeCDD	36088-22-9	—	—
1,2,3,7,8-PeCDF	57117-41-6	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDF	109719-77-9
2,3,4,7,8-PeCDF	57117-31-4	¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeCDF	116843-02-8
Total-PeCDF	30402-15-4	—	—
1,2,3,4,7,8-HxCDD	39227-28-6	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD	109719-80-4
1,2,3,6,7,8-HxCDD	57653-85-7	¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDD	109719-81-5
1,2,3,7,8,9-HxCDD	19408-74-3	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	109719-82-6
Total-HxCDD	34465-46-8	—	—
1,2,3,4,7,8-HxCDF	70648-26-9	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF	114423-98-2
1,2,3,6,7,8-HxCDF	57117-44-9	¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF	116843-03-9
1,2,3,7,8,9-HxCDF	72918-21-9	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF	116843-04-0
2,3,4,6,7,8-HxCDF	60851-34-5	¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8-HxCDF	116843-05-1
Total-HxCDF	55684-94-1	—	—
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	35822-46-9	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	109719-83-7
Total-HpCDD	37871-00-4	—	—
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	67562-39-4	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	109719-84-8
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	55673-89-7	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	109719-94-0
Total-HpCDF	38998-75-3	—	—
OCDD	3268-87-9	¹³ C ₁₂ -OCDD	114423-97-1
OCDF	39001-02-0	not used	—

¹Chlorinated dibenzo-*p*-dioxins and chlorinated dibenzofurans

TCDD = Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin
 PeCDD = Pentachlorodibenzo-*p*-dioxin
 HxCDD = Hexachlorodibenzo-*p*-dioxin
 HpCDD = Heptachlorodibenzo-*p*-dioxin
 OCDD = Octachlorodibenzo-*p*-dioxin

TCDF = Tetrachlorodibenzofuran
 PeCDF = Pentachlorodibenzofuran
 HxCDF = Hexachlorodibenzofuran
 HpCDF = Heptachlorodibenzofuran
 OCDF = Octachlorodibenzofuran

TABLE XII. RETENTION TIME REFERENCES, QUANTITATION REFERENCES, RELATIVE RETENTION TIMES, AND MINIMUM LEVELS FOR CDDS AND CDFS

CDD/CDF	Retention time and quantitation reference	Relative retention time	Minimum level ¹		
			Water (pg/L; ppq)	Solid (ng/kg; ppt)	Extract (pg/μL; ppb)
<i>Compounds using ¹³C₁₂-1,2,3,4-TCDD as the injection internal standard</i>					
2,3,7,8-TCDF	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDF	0.999–1.003	10	1	0.5
2,3,7,8-TCDD	¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDD	0.999–1.002	10	1	0.5
1,2,3,7,8-PeCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDF	0.999–1.002	50	5	2.5
2,3,4,7,8-PeCDF	¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeCDF	0.999–1.002	50	5	2.5
1,2,3,7,8-PeCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDD	0.999–1.002	50	5	2.5
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TCDD	0.923–1.103			
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TCDD	0.976–1.043			
³⁷ Cl ₄ -2,3,7,8-TCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TCDD	0.989–1.052			
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TCDD	1.000–1.425			
¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TCDD	1.011–1.526			
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TCDD	1.000–1.567			
<i>Compounds using ¹³C₁₂-1,2,3,7,8,9-HxCDD as the injection internal standard</i>					
1,2,3,4,7,8-HxCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.999–1.001	50	5	2.5
1,2,3,6,7,8-HxCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.997–1.005	50	5	2.5
1,2,3,7,8,9-HxCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.999–1.001	50	5	2.5
2,3,4,6,7,8-HxCDF	¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8,-HxCDF	0.999–1.001	50	5	2.5
1,2,3,4,7,8-HxCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.999–1.001	50	5	2.5
1,2,3,6,7,8-HxCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8,-HxCDD	0.998–1.004	50	5	2.5
1,2,3,7,8,9-HxCDD	— ²	1.000–1.019	50	5	2.5
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.999–1.001	50	5	2.5
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.999–1.001	50	5	2.5
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.999–1.001	50	5	2.5
OCDF	¹³ C ₁₂ -OCDD	0.999–1.008	100	10	5.0
OCDD	¹³ C ₁₂ -OCDD	0.999–1.001	100	10	5.0
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.944–0.970			
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.949–0.975			
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.977–1.047			
¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8,-HxCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.959–1.021			
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.977–1.000			
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.981–1.003			
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	1.043–1.085			

TABLE XII. RETENTION TIME REFERENCES, QUANTITATION REFERENCES, RELATIVE RETENTION TIMES, AND MINIMUM LEVELS FOR CDDS AND CDFS

CDD/CDF	Retention time and quantitation reference	Relative retention time	Minimum level ¹		
			Water (pg/L; ppq)	Solid (ng/kg; ppt)	Extract (pg/L; ppb)
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	1.057–1.151			
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	1.086–1.110			
¹³ C ₁₂ -OCDD	¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	1.032–1.311			

¹The Minimum Level (ML) for each analyte is defined as the level at which the entire analytical system must give a recognizable signal and acceptable calibration point. It is equivalent to the concentration of the lowest calibration standard, assuming that all method-specified sample weights, volumes, and cleanup procedures have been employed.

²The retention time reference for 1,2,3,7,8,9-HxCDD is ¹³C₁₂-1,2,3,6,7,8-HxCDD, and 1,2,3,7,8,9-HxCDD is quantified using the averaged responses for ¹³C₁₂-1,2,3,4,7,8-HxCDD and ¹³C₁₂-1,2,3,6,7,8-HxCDD.

TABLE XIII. CONCENTRATION OF STOCK AND SPIKING SOLUTIONS CONTAINING CDDS/CDFS AND LABELED COMPOUNDS

CDD/CDF	Labeled Compound Stock Solution ¹ (ng/mL)	Labeled Compound Spiking Solution ² (ng/mL)	PAR Stock Solution ³ (ng/mL)	PAR Spiking Solution ⁴ (ng/mL)
2,3,7,8-TCDD	—	—	40	0.8
2,3,7,8-TCDF	—	—	40	0.8
1,2,3,7,8-PeCDD	—	—	200	4
1,2,3,7,8-PeCDF	—	—	200	4
2,3,4,7,8-PeCDF	—	—	200	4
1,2,3,4,7,8-HxCDD	—	—	200	4
1,2,3,6,7,8-HxCDD	—	—	200	4
1,2,3,7,8,9-HxCDD	—	—	200	4
1,2,3,4,7,8-HxCDF	—	—	200	4
1,2,3,6,7,8-HxCDF	—	—	200	4
1,2,3,7,8,9-HxCDF	—	—	200	4
2,3,4,6,7,8-HxCDF	—	—	200	4
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	—	—	200	4
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	—	—	200	4
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	—	—	200	4
OCDD	—	—	400	8
OCDF	—	—	400	8
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDD	100	2	—	—
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDF	100	2	—	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDD	100	2	—	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDF	100	2	—	—
¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeCDF	100	2	—	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD	100	2	—	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDD	100	2	—	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF	100	2	—	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF	100	2	—	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF	100	2	—	—
¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8-HxCDF	100	2	—	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	100	2	—	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	100	2	—	—
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	100	2	—	—
¹³ C ₁₂ -OCDD	200	4	—	—
	Concentration (ng/mL)			
<i>Cleanup Standard</i> ⁵				
³⁷ Cl ₄ -2,3,7,8-TCDD	0.8			
<i>Internal Standards</i> ⁶				
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TCDD	200			
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	200			

¹ Section 7.10—prepared in nonane and diluted to prepare spiking solution.

² Section 7.10.3—prepared in acetone from stock solution daily.

³ Section 7.9—prepared in nonane and diluted to prepare spiking solution.

⁴ Section 7.14—prepared in acetone from stock solution daily.

⁵ Section 7.11—prepared in nonane and added to extract prior to cleanup.

⁶ Section 7.12—prepared in nonane and added to the concentrated extract immediately prior to injection into the GC (Section 14.2).

TABLE XIV. CONCENTRATION OF CDDS/CDFS IN CALIBRATION AND CALIBRATION VERIFICATION SOLUTIONS (section 15.3)

	CDD/CDF	CS2 (ng/mL)	CS3 (ng/mL)	CS4 (ng/mL)	CS5 (ng/mL)
2,3,7,8-TCDD	0.5	2	10	40	200
2,3,7,8-TCDF	0.5	2	10	40	200
1,2,3,7,8-PeCDD	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,7,8-PeCDF	2.5	10	50	200	1000
2,3,4,7,8-PeCDF	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,7,8,9-HxCDD	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,4,7,8-HxCDF	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,6,7,8-HxCDF	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,7,8,9-HxCDF	2.5	10	50	200	1000
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	2.5	10	50	200	1000
OCDD	5.0	20	100	400	2000
OCDF	5.0	20	100	400	2000
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDD	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDD	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -PeCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDD	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -OCDD	200	200	200	200	200
<i>Cleanup Standard</i>					
³⁷ Cl ₄ -2,3,7,8-TCDD	0.5	2	10	40	200
<i>Internal Standards</i>					
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4-TCDD	100	100	100	100	100
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDD	100	100	100	100	100

TABLE XV. GC RETENTION TIME WINDOW DEFINING SOLUTION AND ISOMER SPECIFICITY TEST STANDARD (SECTION 7.15)

DB-5 Column GC Retention-Time Window Defining Solution		
CDD/CDF	First Eluted	Last Eluted
TCDF	1,3,6,8-	1,2,8,9-
TCDD	1,3,6,8-	1,2,8,9-
PeCDF	1,3,4,6,8-	1,2,3,8,9-
PeCDD	1,2,4,7,9-	1,2,3,8,9-
HxCDF	1,2,3,4,6,8-	1,2,3,4,8,9-
HxCDD	1,2,4,6,7,9-	1,2,3,4,6,7-
HpCDF	1,2,3,4,6,7,8-	1,2,3,4,7,8,9-
HpCDD	1,2,3,4,6,7,9-	1,2,3,4,6,7,8-

DB-5 Column TCDD Specificity Test Standard

1,2,3,7+1,2,3,8-TCDD

2,3,7,8-TCDD

1,2,3,9-TCDD

DB-225 Column TCDF isomer Specificity Test Standard

2,3,4,7-TCDF

2,3,7,8-TCDF

1,2,3,9-TCDF

TABLE XVI. ACCEPTANCE CRITERIA FOR PERFORMANCE TESTS WHEN ALL CDDS/CDFS ARE TESTED ¹

CDD/CDF	Test Conc. (ng/mL)	IPR ^{2,3}		OPR (ng/mL)	VER (ng/mL)
		s (ng/mL)	X (ng/mL)		
2,3,7,8-TCDD	10	2.8	8.3-12.9	6.7-15.8	7.8-12.9
2,3,7,8-TCDF	10	2.0	8.7-13.7	7.5-15.8	8.4-12.0
1,2,3,7,8-PeCDD	50	7.5	38-66	35-71	39-65
1,2,3,7,8-PeCDF	50	7.5	43-62	40-67	41-60
2,3,4,7,8-PeCDF	50	8.6	36-75	34-80	41-61
1,2,3,4,7,8-HxCDD	50	9.4	39-76	35-82	39-64
1,2,3,6,7,8-HxCDD	50	7.7	42-62	38-67	39-64
1,2,3,7,8,9-HxCDD	50	11.1	37-71	32-81	41-61
1,2,3,4,7,8-HxCDF	50	8.7	41-59	36-67	45-56
1,2,3,6,7,8-HxCDF	50	6.7	46-60	42-65	44-57
1,2,3,7,8,9-HxCDF	50	6.4	42-61	39-65	45-56
2,3,4,6,7,8-HxCDF	50	7.4	37-74	35-78	44-57
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	50	7.7	38-65	35-70	43-58
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	50	6.3	45-56	41-61	45-55
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	50	8.1	43-63	39-69	43-58
OCDD	100	19	89-127	78-144	79-126
OCDF	100	27	74-146	63-170	63-159
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDD	100	37	28-134	20-175	82-121
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDF	100	35	31-113	22-152	71-140
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDD	100	39	27-184	21-227	62-160
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDF	100	34	27-156	21-192	76-130
¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeCDF	100	38	16-279	13-328	77-130
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD	100	41	29-147	21-193	85-117
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDD	100	38	34-122	25-163	85-118
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF	100	43	27-152	19-202	76-131
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF	100	35	30-122	21-159	70-143
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF	100	40	24-157	17-205	74-135
¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8-HxCDF	100	37	29-136	22-176	73-137
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	100	35	34-129	26-166	72-138
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	100	41	32-110	21-158	78-129
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	100	40	28-141	20-186	77-129
¹³ C ₁₂ -OCDD	200	95	41-276	26-397	96-415
³⁷ Cl ₄ -2,3,7,8-TCDD	10	3.6	3.9-15.4	3.1-19.1	7.9-12.7

¹ All specifications are given as concentration in the final extract, assuming a 20 µL volume.

² s = standard deviation of the concentration.

³ X = average concentration.

TABLE XVI A. ACCEPTANCE CRITERIA FOR PERFORMANCE TESTS WHEN ONLY TETRA COMPOUNDS ARE TESTED ¹

CDD/CDF	Test Conc. (ng/mL)	IPR ^{2,3}		OPR (ng/mL)	VER (ng/mL)
		s (ng/mL)	X (ng/mL)		
2,3,7,8-TCDD	10	2.7	8.7–12.4	7.3–14.6	8.2–12.3
2,3,7,8-TCDF	10	2.0	9.1–13.1	8.0–14.7	8.6–11.6
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDD	100	35	32–115	25–141	85–117
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDF	100	34	35–99	26–126	76–131
³⁷ Cl ₄ -2,3,7,8-TCDD	10	3.4	4.5–13.4	3.7–15.8	8.3–12.1

¹ All specifications are given as concentration in the final extract, assuming a 20 µL volume.

² s = standard deviation of the concentration.

³ X = average concentration.

TABLE XVII. LABELED COMPOUND RECOVERY IN SAMPLES WHEN ALL CDDs/CDFs ARE TESTED

Compound	Test Conc. (ng/mL)	Labeled Compound Recovery	
		(ng/mL) ¹	(%)
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDD	100	25–164	25–164
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDF	100	24–169	24–169
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDD	100	25–181	25–181
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8-PeCDF	100	24–185	24–185
¹³ C ₁₂ -2,3,4,7,8-PeCDF	100	21–178	21–178
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDD	100	32–141	32–141
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8,-HxCDD	100	28–130	28–130
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8-HxCDF	100	26–152	26–152
¹³ C ₁₂ -1,2,3,6,7,8-HxCDF	100	26–123	26–123
¹³ C ₁₂ -1,2,3,7,8,9-HxCDF	100	29–147	29–147
¹³ C ₁₂ -2,3,4,6,7,8,-HxCDF	100	28–136	28–136
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	100	23–140	23–140
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	100	28–143	28–143
¹³ C ₁₂ -1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	100	26–138	26–138
¹³ C ₁₂ -OCDD	200	34–313	17–157
³⁷ Cl ₄ -2,3,7,8-TCDD	10	3.5–19.7	35–197

¹ Specification given as concentration in the final extract, assuming a 20 µL volume.

TABLE XVII A. LABELED COMPOUND RECOVERY IN SAMPLES WHEN ONLY TETRA COMPOUNDS ARE TESTED

Compound	Test Conc. (ng/mL)	Labeled compound recovery	
		(ng/mL) ¹	(%)
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDD	100	31-137	31-137
¹³ C ₁₂ -2,3,7,8-TCDF	100	29-140	29-140
³⁷ Cl ₄ -2,3,7,8-TCDD	10	4.2-16.4	42-164

¹Specification given as concentration in the final extract, assuming a 20 µL volume.

TABLE 8. DESCRIPTORS, EXACT M/Z's, M/Z TYPES, AND ELEMENTAL COMPOSITIONS OF THE CDDs AND CDFs

Descriptor	Exact M/Z ¹	M/Z Type	Elemental Composition	Substance ²	
1	292.9825	Lock	C ₇ F ₁₁	PFK	
	303.9016	M	C ₁₂ H ₄ ³⁵ Cl ₄ O	TCDF	
	305.8987	M+2	C ₁₂ H ₄ ³⁵ Cl ₃ ³⁷ Cl O	TCDF	
	315.9419	M	¹³ C ₁₂ H ₄ ³⁵ Cl ₄ O	TCDF ³	
	317.9389	M+2	¹³ C ₁₂ H ₄ ³⁵ Cl ₃ ³⁷ Cl O	TCDF ³	
	319.8965	M	C ₁₂ H ₄ ³⁵ Cl ₄ O ₂	TCDD	
	321.8936	M+2	C ₁₂ H ₄ ³⁵ Cl ₃ ³⁷ Cl O ₂	TCDD	
	327.8847	M	C ₁₂ H ₄ ³⁷ Cl ₄ O ₂	TCDD ⁴	
	330.9792	QC	C ₇ F ₁₃	PFK	
	331.9368	M	¹³ C ₁₂ H ₄ ³⁵ Cl ₄ O ₂	TCDD ³	
	333.9339	M+2	¹³ C ₁₂ H ₄ ³⁵ Cl ₃ ³⁷ Cl O ₂	TCDD ³	
	375.8364	M+2	C ₁₂ H ₄ ³⁵ Cl ₅ ³⁷ Cl O	HxCDFE	
	2	339.8597	M+2	C ₁₂ H ₃ ³⁵ Cl ₄ ³⁷ Cl O	PeCDF
		341.8567	M+4	C ₁₂ H ₃ ³⁵ Cl ₃ ³⁷ Cl ₂ O	PeCDF
		351.9000	M+2	¹³ C ₁₂ H ₃ ³⁵ Cl ₄ ³⁷ Cl O	PeCDF
		353.8970	M+4	¹³ C ₁₂ H ₃ ³⁵ Cl ₃ ³⁷ Cl ₂ O	PeCDF ³
354.9792		Lock	C ₉ F ₁₃	PFK	
355.8546		M+2	C ₁₂ H ₃ ³⁵ Cl ₄ ³⁷ Cl O ₂	PeCDD	
357.8516		M+4	C ₁₂ H ₃ ³⁵ Cl ₃ ³⁷ Cl ₂ O ₂	PeCDD	
367.8949		M+2	¹³ C ₁₂ H ₃ ³⁵ Cl ₄ ³⁷ Cl O ₂	PeCDD ³	
369.8919		M+4	¹³ C ₁₂ H ₃ ³⁵ Cl ₃ ³⁷ Cl ₂ O ₂	PeCDD ³	
409.7974		M+2	C ₁₂ H ₃ ³⁵ Cl ₆ ³⁷ Cl O	HpCDFE	
3	373.8208	M+2	C ₁₂ H ₂ ³⁵ Cl ₅ ³⁷ Cl O	HxCDF	
	375.8178	M+4	C ₁₂ H ₂ ³⁵ Cl ₄ ³⁷ Cl ₂ O	HxCDF	
	383.8639	M	¹³ C ₁₂ H ₂ ³⁵ Cl ₆ O	HxCDF ³	
	385.8610	M+2	¹³ C ₁₂ H ₂ ³⁵ Cl ₅ ³⁷ Cl O	HxCDF ³	
	389.8157	M+2	C ₁₂ H ₂ ³⁵ Cl ₅ ³⁷ Cl O ₂	HxCDD	
	391.8127	M+4	C ₁₂ H ₂ ³⁵ Cl ₄ ³⁷ Cl ₂ O ₂	HxCDD	

TABLE XVIII. DESCRIPTORS, EXACT M/Z's, M/Z TYPES, AND ELEMENTAL COMPOSITIONS OF THE CDDs AND CDFs

Descriptor	Exact M/Z ¹	M/Z Type	Elemental Composition	Substance ²
4	392.9760	Lock	C ₉ F ₁₅	PFK
	401.8559	M+2	¹³ C ₁₂ H ₂ ³⁵ Cl ₅ ³⁷ Cl O ₂	HxCDD ³
	403.8529	M+4	¹³ C ₁₂ H ₂ ³⁵ Cl ₄ ³⁷ Cl ₂ O ₂	HxCDD ³
	430.9729	QC	C ₉ F ₁₇	PFK
	445.7555	M+4	C ₁₂ H ₂ ³⁵ Cl ₆ ³⁷ Cl ₂ O	OCDFE
	407.7818	M+2	C ₁₂ H ³⁵ Cl ₆ ³⁷ Cl O	HpCDF
	409.7789	M+4	C ₁₂ H ³⁵ Cl ₅ ³⁷ Cl ₂ O	HpCDF
	417.8253	M	¹³ C ₁₂ H ³⁵ Cl ₇ O	HpCDF ³
	419.8220	M+2	¹³ C ₁₂ H ³⁵ Cl ₆ ³⁷ Cl O	HpCDF ³
	423.7766	M+2	C ₁₂ H ³⁵ Cl ₆ ³⁷ Cl O ₂	HpCDD
	425.7737	M+4	C ₁₂ H ³⁵ Cl ₅ ³⁷ Cl ₂ O ₂	HpCDD
	430.9729	Lock	C ₉ F ₁₇	PFK
	435.8169	M+2	¹³ C ₁₂ H ³⁵ Cl ₆ ³⁷ Cl O ₂	HpCDD ³
	437.8140	M+4	¹³ C ₁₂ H ³⁵ Cl ₅ ³⁷ Cl ₂ O ₂	HpCDD ³
	479.7165	M+4	C ₁₂ H ³⁵ Cl ₇ ³⁷ Cl ₂ O	NCDPE
	5	441.7428	M+2	C ₁₂ ³⁵ Cl ₇ ³⁷ Cl O
442.9728		Lock	C ₁₀ F ₁₇	PFK
443.7399		M+4	C ₁₂ ³⁵ Cl ₆ ³⁷ Cl ₂ O	OCDF
457.7377		M+2	C ₁₂ ³⁵ Cl ₇ ³⁷ Cl O ₂	OCDD
459.7348		M+4	C ₁₂ ³⁵ Cl ₇ ³⁷ Cl ₂ O ₂	OCDD
469.7779		M+2	¹³ C ₁₂ ³⁵ Cl ₇ ³⁷ Cl O ₂	OCDD ³
471.7750		M+4	¹³ C ₁₂ ³⁵ Cl ₆ ³⁷ Cl ₂ O ₂	OCDD ³
513.6775		M+4	C ₁₂ ³⁵ Cl ₆ ³⁷ Cl ₂ O	DCDPE

¹ Nuclidic masses used:

H = 1.007825	C = 12.00000	¹³ C = 13.003355	F = 18.9984
O = 15.994915	³⁵ Cl = 34.968853	³⁷ Cl = 36.965903	

² TCDD = tetrachlorodibenzo- <i>P</i> -dioxin	TCDF = tetrachlorodibenzofuran
PeCDD = pentachlorodibenzo- <i>P</i> -dioxin	PeCDF = pentachlorodibenzofuran
HxCDD = Hexachlorodibenzo- <i>P</i> -dioxin	HxCDF = Hexachlorodibenzofuran
HpCDD = Heptachlorodibenzo- <i>P</i> -dioxin	HpCDF = Heptachlorodibenzofuran
OCDD = Octachlorodibenzo- <i>P</i> -dioxin	OCDF = Octachlorodibenzofuran
HxCDPE = Hexachlorodiphenyl ether	HpCDPE = Heptachlorodiphenyl ether
OCDFE = Octachlorodiphenyl ether	NCDPE = Nonachlorodiphenyl ether
DCDPE = Decachlorodiphenyl ether	PFK = Perfluorokerosene

³ Labeled compound.

⁴ There is only one m/z for ³⁷Cl₄-2,3,7,8,-TCDD (cleanup standard).

TABLE XIX. THEORETICAL ION ABUNDANCE RATIOS AND QC LIMITS

Number of Chlorine Atoms	M/Z's Forming Ratio	Theoretical Ratio	QC Limit ¹	
			Lower	Upper
4 ²	M/(M+2)	0.77	0.65	0.89
5	(M+2)/(M+4)	1.55	1.32	1.78
6	(M+2)/(M+4)	1.24	1.05	1.43
6 ³	M/(M+2)	0.51	0.43	0.59
7	(M+2)/(M+4)	1.05	0.88	1.20
7 ⁴	M/(M+2)	0.44	0.37	0.51
8	(M+2)/(M+4)	0.89	0.76	1.02

¹ QC limits represent $\pm 15\%$ windows around the theoretical ion abundance ratios.

² Does not apply to ³⁷Cl₄-2,3,7,8-TCDD (cleanup standard).

³ Used for ¹³C₁₂-HxCDF only.

⁴ Used for ¹³C₁₂-HpCDF only.

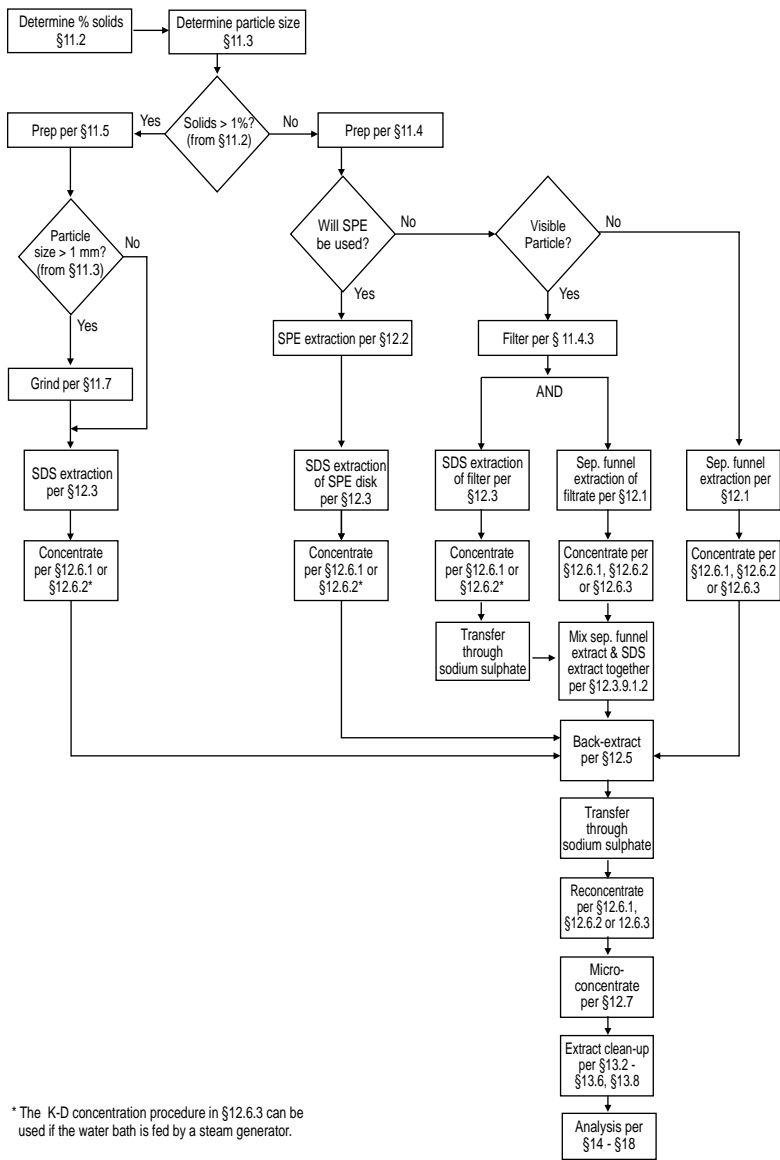
TABLE XX. SUGGESTED SAMPLE QUANTITIES TO BE EXTRACTED FOR
VARIOUS MATRICES ¹

Sample Matrix ²	Example	Percent Solids	Phase	Quantity Extracted
<i>Single-phase</i>				
Aqueous	Drinking water Groundwater Treated wastewater	<1	— ³	1000 mL
Solid	Dry soil Compost Ash	>20	Solid	10 g
Organic	Waste solvent Waste oil Organic polymer	<1	Organic	10 g
Tissue	Fish Human adipose	—	Organic	10 g
<i>Multi-phase</i>				
<i>Liquid/Solid</i>				
Aqueous/Solid	Wet soil Untreated effluent Digested municipal sludge Filter cake Paper pulp	1-30	Solid	10 g
Organic/solid	Industrial sludge Oily waste	1-100	Both	10 g
<i>Liquid/Liquid</i>				
Aqueous/organic	In-process effluent Untreated effluent Drum waste	<1	Organic	10 g
Aqueous/organic/solid	Untreated effluent Drum waste	>1	Organic & solid	10 g

¹The quantity of sample to be extracted is adjusted to provide 10 g of solids (dry weight). One liter of aqueous samples containing 1% solids will contain 10 g of solids. For aqueous samples containing greater than 1% solids, a lesser volume is used so that 10 g of solids (dry weight) will be extracted.

²The sample matrix may be amorphous for some samples. In general, when the CDDs/CDFs are in contact with a multiphase system in which one of the phases is water, they will be preferentially dispersed in or adsorbed on the alternate phase because of their low solubility in water.

³Aqueous samples are filtered after spiking with the labeled compounds. The filtrate and the materials trapped on the filter are extracted separately, and the extracts are combined for cleanup and analysis.



52-028-1A

Figure 4. Flow Chart for Analysis of Aqueous and Solid Samples

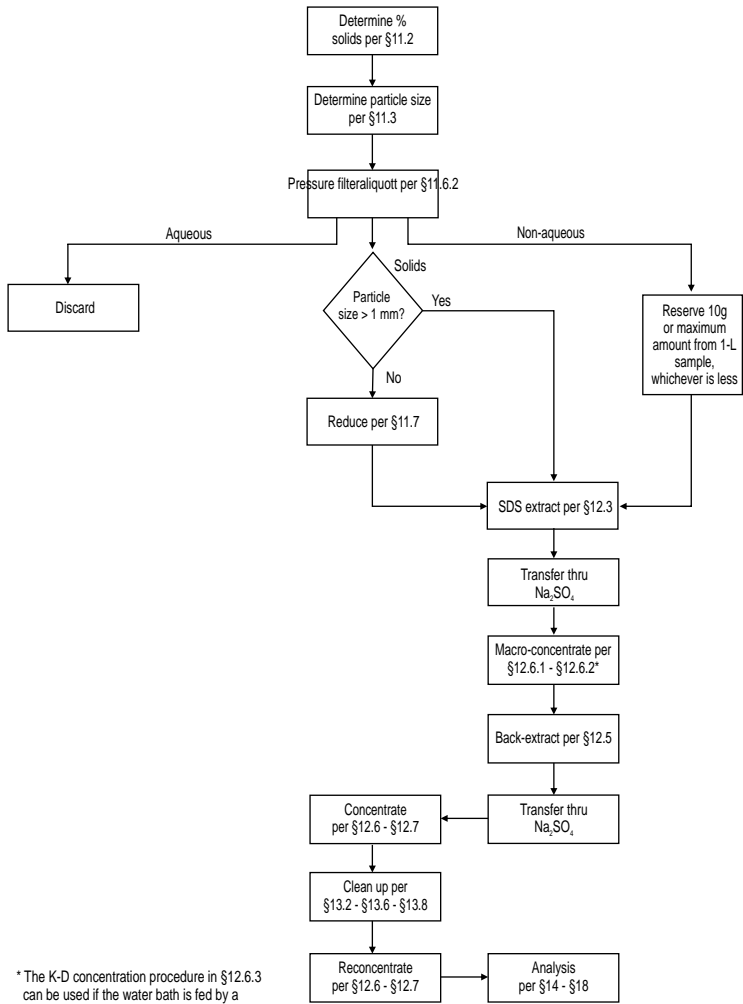
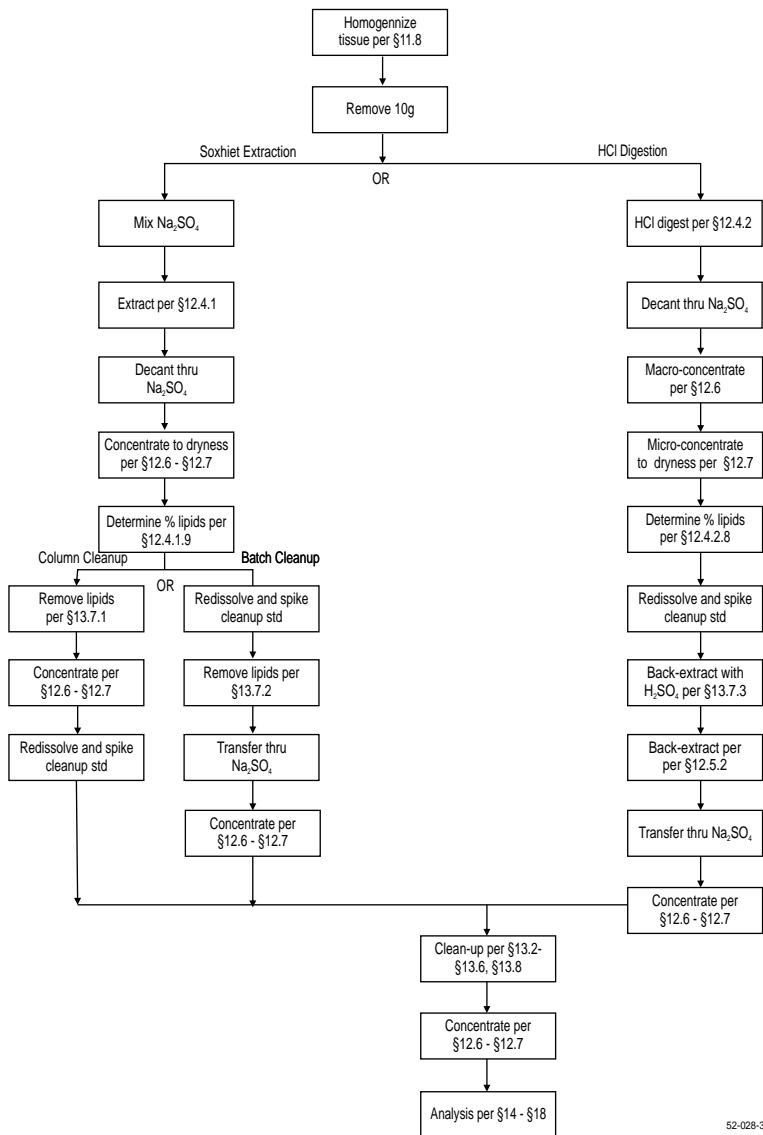


Figure 5. Flow Chart for Analysis of Multi-Phase Samples

52-028-2A



52-028-3A

Figure 6. Flow Chart for Analysis of Tissue Samples

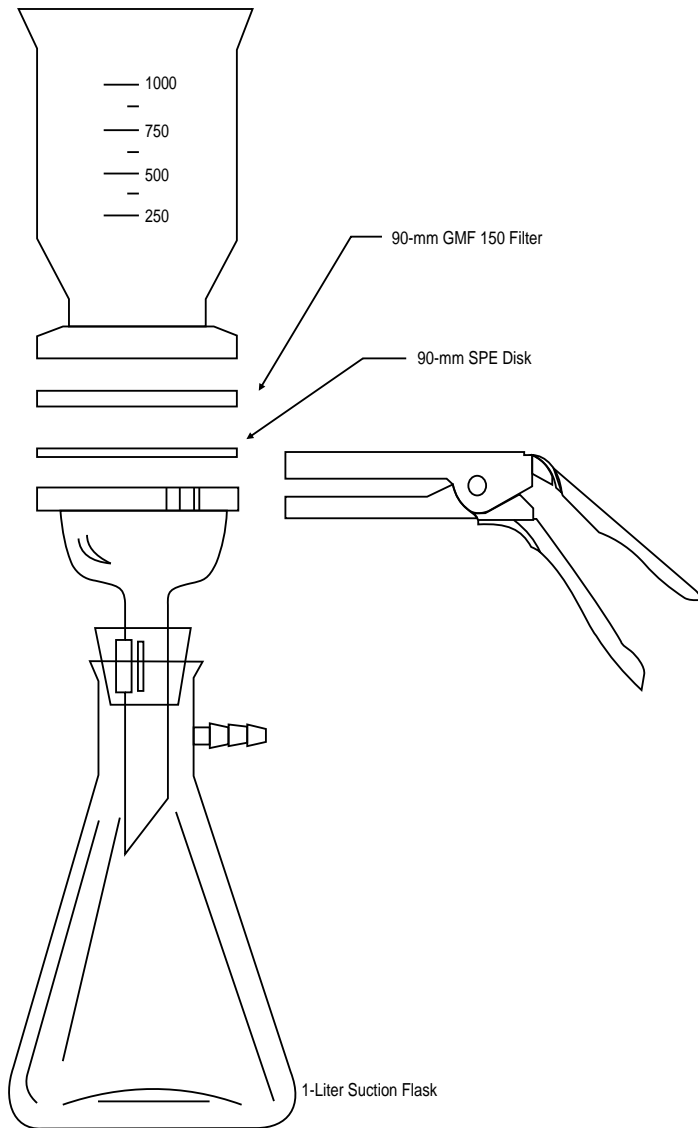
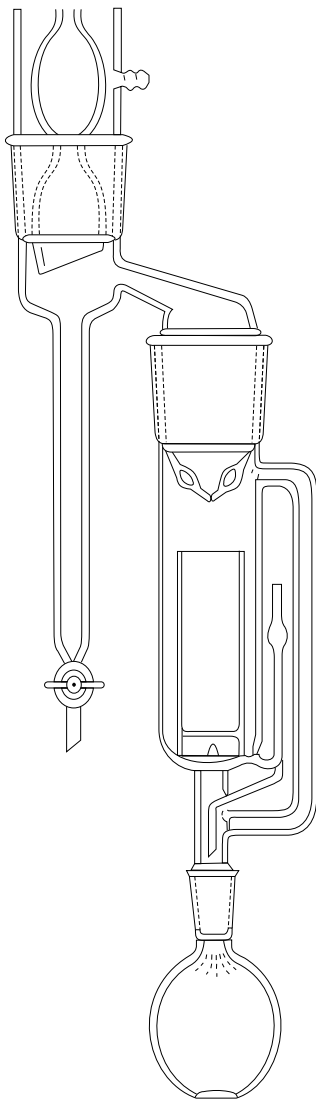


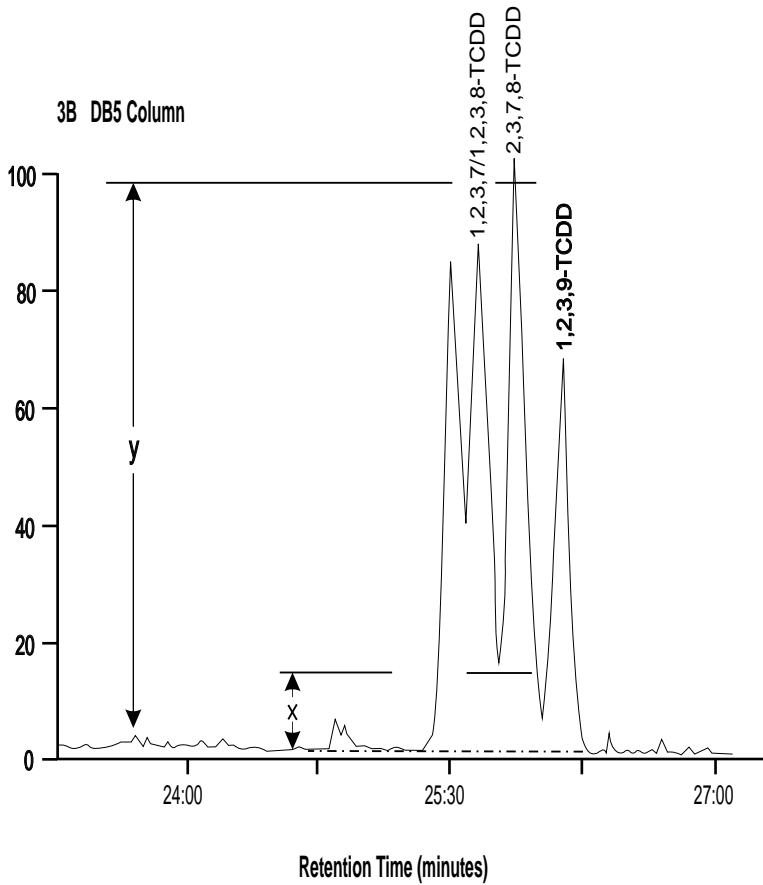
Figure 7. Solid-Phase Extraction Apparatus

52-027-1A



52-027-2A

Figure 8. Soxhlet/Dean-Stark Extractor



52-027-03

Figure 9. Isomer-Specific Separation of 2,3,7,8-TCDD on DB-5 Column

6-May-88
Sample 1 Injection 1
Text: Column Performance

Sir: Voltage 705
Group 1 Mass 305.8987

Sys: DB5US

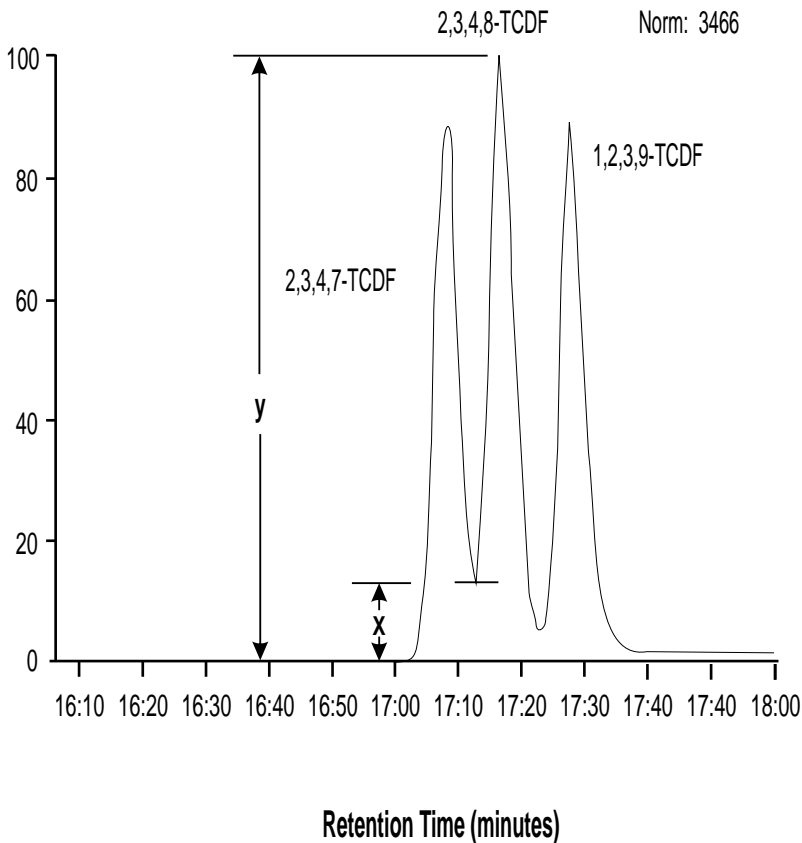


Figure 10. Isomer-Specific Separation of 2,3,7,8-TCDD on DB-5 Column

52-027-4A

V. PRINSIP-PRINSIP MANAJEMEN DIOXIN FREE

Ada beberapa prinsip-prinsip manajemen Dioxin Free yang harus diperhatikan, antara lain :

1. Identifikasi proses yang dibutuhkan untuk Sistem Dioxin Free.
2. Menentukan sekuens (urutan) dan interaksi dari proses.
3. Menentukan kriteria dan metode yang dibutuhkan untuk memantau efektivitas operasional & pengendalian dari proses.

V.1. IDENTIFIKASI PROSES YANG DIBUTUHKAN UNTUK SISTEM DIOXIN FREE

Setiap produsen harus menjabarkan kembali semua proses produksi dengan 7 langkah Sistem Dioxin Free seperti yang digambarkan pada bagian II.1. Setiap jenis produk pada umumnya akan memiliki proses yang berbeda tetapi pada prinsipnya setiap proses harus dipastikan tidak mendorong terbentuknya Dioxin.

Proses produksi diperinci dalam diagram alir yang lebih jelas. Penggunaan bahan pengolah, penampung, pengaduk, pemanas, pembakar, pengering, penyimpan, penguap, lingkungan, limbah, saluran dan lainnya dapat saja menjadi sumber pembentuk Dioxin. Kesemua peralatan utama, peralatan pendukung / pelengkap, dan lingkungan pabrik penghasil harus diuji kembali apakah dapat mendorong atau bahkan penyumbang *Dioxin Tersembunyi (Disquished Source of Dioxin)*.

Ketelitian, kehati-hatian dan penganalisaan yang tepat akan menghilangkan sumber pembentukan Dioxin.

Semua unit pekerja, supervisor dan manajemen pabrik harus dilibatkan untuk menyadari begitu berbahayanya Dioxin bagi kesehatan manusia.

Jadi walaupun bahan baku yang sebelum diproses telah bebas Dioxin, namun hasil akhir dari Produk bisa juga mengandung Dioxin yang bersumber dari proses produksi dan lingkungan produksi.

Dari hasil penelitian penulis, banyak Air Minum Dalam Kemasan (AMDK) mengandung Dioxin dalam kadar yang cukup tinggi. Demikian juga halnya air yang dari Perusahaan Daerah Air Minum (PDAM) mengandung Dioxin. Dapat dipastikan bahwa produsen menggunakan chlorine sebagai bahan kimia pembunuh kuman (bakteri/virus) dalam jumlah yang cukup besar.

Penulis sangat menyayangkan langkah yang diambil pihak produsen AMDK dalam menggunakan chlorine. Menurut penulis chlorine sebagai pembunuh kuman dapat digantikan dengan Metode Ozonisasi yang lebih efektif. Selain itu, air yang dihasilkan akan mengandung lebih banyak kadar oksigen.

V.2. MENENTUKAN SEKUENS (URUTAN) DAN INTERAKSI DARI PROSES

Urutan dalam proses sangat berguna sebagai *Alat Cut Off* untuk mencari sumber Dioxin pada setiap titik proses produksi.

Jika pada proses pertama hasil pengujian tidak mengandung Dioxin, tetapi pada proses akhir dijumpai adanya Dioxin. Berdasarkan hal itu, produsen dapat menggunakan *Sekuens* ini sebagai *Alat Cut Off* untuk menentukan titik proses produksi yang menjadi sumber penyumbang Dioxin.

Dengan adanya sekuens ini, perlahan tapi pasti produsen dapat meniadakan Dioxin dalam setiap langkah proses produksinya.

Interaksi dari proses produksi terkadang mengaburkan.

Untuk itu perlu membuat diagram alir yang sangat terperinci di dalam interaksi dari proses produksi. **Contohnya** : Hasil produk akhir yang akan dibungkus dengan plastik pembungkus. Karena sesuatu hal alat pendingin dari produk tidak berfungsi optimal, sehingga produk tersebut dibungkus dengan plastik dalam kondisi yang cukup panas. Hal ini cenderung mendorong terbentuknya Dioxin. Sepintas lalu, semua proses telah berlangsung dengan baik maka mungkin terjadi kesalahan analisa seolah produk tersebut sewaktu diolah telah terkontaminasi Dioxin.

Hal sederhana seperti ini harus mendapat perhatian Produsen dengan menentukan secara tepat, teliti semua sekuens (urutan) dari interaksi dari proses.

V.3. MENENTUKAN KRITERIA DAN METODE YANG DIBUTUHKAN UNTUK MEMANTAU EFEKTIVITAS OPERASIONAL & PENGENDALIAN DARI PROSES.

Produsen harus memahami benar bahwa semua butir VI.1. & VI.2 yang telah dilaksanakan dengan baik harus disertai serangkaian pemantauan yang teratur dan efektif.

Hal ini perlu disadari karena tanpa pemantauan & pengendalian dari proses maka Identifikasi proses dan sekuens ini menjadi mandul.

Kriteria dan metode tersebut harus dikembangkan terus menerus karena sumber bahan baku yang terkadang tidak konsisten mutunya. Demikian juga halnya alat pembungkus ataupun bahan pengolah produksi yang harus diganti lebih awal.

Kriteria dan Metode pemantauan yang melekat pada 7 langkah Sistem Dioxin Free (Bagian II.1) haruslah efektif dan efisien, dengan contoh antara lain:

- **KRITERIA :**

- a. Semua penginderaan harus mudah dilaksanakan.
- b. Pengeluaran biaya untuk semua penginderaan harus dengan biaya yang minimal.
- c. Metode penginderaan yang dilakukan terus menerus.
- d. Jika semua berlangsung lancar, maka hanya hasil akhir yang diuji kadar Dioxin.
- e. Dan lain-lain.

- **METODE :**

- a. Penentuan penginderaan setiap proses bebas Dioxin.
- b. Penentuan penginderaan lingkungan proses bebas Dioxin.
- c. Penentuan penginderaan interaksi proses bebas Dioxin.
- d. Pengujian untuk minyak goreng dengan Metode Chlor Free.
- e. Dan lain-lain.

VI. PETUNJUK UNTUK DOKUMENTASI

VI. 1. MANFAAT PENDOKUMENTASIAN SISTEM DIOXIN FREE

Terdapat manfaat utama dari pendokumentasian Sistem Dioxin Free, antara lain :

1. Dokumentasi merupakan suatu alat untuk menyalurkan dan mengkomunikasikan informasi. Jenis dan pengembangan dokumentasi akan tergantung pada keadaan produk dan proses produksi. Contoh 7 langkah proses produksi yang dijelaskan pada Bab II.1., diterjemahkan pada setiap langkah proses produksi secara terperinci. Demikian pula parameter-parameternya harus jelas. Selanjutnya setiap langkah proses produksi dibuat catatan yang rutin. Hal ini akan memudahkan jika ada pergantian personel yang melaksanakan proses produksi. Kesulitan-kesulitan dan kesalahan yang terjadi dapat ditrasir (dilacak) dengan mempelajari kembali semua dokumentasi pelaksanaan yang terdahulu.

Dokumentasi atas proses produksi merupakan catatan untuk Tim Pusat Penelitian & Pengembangan Dioxin Free (P3DF) untuk menentukan apakah produsen telah berusaha untuk menerapkan Sistem Dioxin Free.

Adanya dokumentasi dalam proses produksi, memperkecil kerumitan yang timbul antar bagian dalam proses produksi. Kekurangan yang timbul dalam proses produksi dapat ditelaah kembali melalui catatan harian setiap proses produksi.

2. Bukti dari kesesuaian terhadap persyaratan-persyaratan bahwa hal-hal yang direncanakan telah secara aktual dilaksanakan.

Contoh : Semua proses produksi yang digariskan manajemen produsen untuk mencapai tingkat Dioxin Free dapat dilihat dari catatan harian proses produksi.

3. Spesifikasi–spesifikasi teknik (gambar-gambar teknik) yang terdokumentasi baik, akan dapat digunakan sebagai landasan untuk desain dan pengembangan produk Dioxin Free.

Contoh : Produk yang masih mengandung Dioxin dapat ditelaah kembali spesifikasi teknik produksinya. Ada kemungkinan bahan dasar peralatan yang dipergunakan cenderung mendorong terbentuknya Dioxin dalam produk.

VI.2. CAKUPAN DOKUMENTASI SISTEM DIOXIN FREE

Sistem Dokumentasi akan lebih mudah, rapi, teratur jika mengacu kepada standard yang telah dikembangkan oleh ISO 9001: 2000.

Dokumentasi Sistem Dioxin Free harus mencakup :

- a. Pernyataan terdokumentasi dari kebijakan kualitas dan tujuan kualitas dengan mengacu kepada Standar International ISO 9001 : 2000, antara lain :
 - Klausul 4.2.3 (Pengendalian Dokumen).
 - Klausul 5.3 (Kebijakan Kualitas).
 - Klausul 5.4.1 (Tujuan Kualitas).
- b. Manual kualitas dengan mengacu kepada Standar International ISO 9001:2000, antara lain :
 - Klausul 4.2.2 (Manual Kualitas).
- c. Prosedur-prosedur terdokumentasi dengan mengacu kepada Standar International ISO 9001 : 2000, antara lain :
 - Klausul 4.2.3 (Pengendalian Dokumen).

- Klausul 4.2.4 (Pengendalian Catatan-catatan).
 - Klausul 8.2.2 (Audit Internal).
 - Klausul 8.3 (Pengendalian Produk Nonkonformans).
 - Klausul 8.5.2 (Tindak Korektif).
 - Klausul 8.5.3 (Tindak Preventif).
- d. Dokumen–dokumen yang dibutuhkan oleh organisasi agar *menjamin efektivitas perencanaan, pengoperasian dan pengendalian proses-proses* dengan mengacu kepada Standar International ISO 9001 : 2000, sesuai dengan butir a, antara lain :
- diagram alir proses dan deskripsi proses produksi.
 - spesifikasi-spesifikasi proses produksi.
 - instruksi kerja.
 - jadwal produksi.
 - daftar supplier.
 - rencana inspeksi.
 - rencana kualitas.
 - dan lain-lain.
- e. Catatan yang dibutuhkan oleh Standar International ISO 9001 : 2000, antara lain sesuai dengan :
- Klausul 5.
 - Klausul 6.
 - Klausul 7.
 - Klausul 8.

VI.3. ORGANISASI

Organisasi yang menerapkan Sistem Manajemen Kualitas ISO 9001 : 2000 akan lebih mudah untuk mengimplementasikan Sistem Dioxin Free dalam proses produksi dan produknya.

Walaupun demikian, organisasi yang belum menerapkan sistem Manajemen Kualitas ISO 9001 : 2000 dapat

mengimplementasikan Sistem Dioxin Free dengan lebih menekankan pada 7 langkah yang tersebut pada Bagian II.1. tulisan ini.

Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam Implementasi Sistem Dioxin Free, antara lain :

- a. Mengidentifikasi proses-proses yang diperlukan untuk efektivitas implementasi dari Sistem Dioxin Free beserta pemahaman terhadap interaksi di antara proses-prosesnya.
- b. Mendokumentasikan proses-proses itu agar menjamin efektivitas pengoperasian dan pengendalian. Proses-proses akan lebih mudah didokumentasikan menggunakan peta-peta proses atau diagram alir proses.
- c. Proses-proses yang mencakup manajemen, sumber-sumber daya, realisasi produk, dan pengukuran adalah relevan untuk efektivitas pengoperasian Sistem Dioxin Free.

Analisis dari proses-proses harus menjadi faktor pendorong untuk mendefinisikan organisasi sebagai lokomotif untuk pencapaian produk bebas Dioxin. Tetapi harus diperhatikan bahwa bukan dokumentasi yang mengendalikan proses, tetapi analisis terhadap 7 langkah proses Dioxin Free yang harus menjadi landasan pokok.

Produsen yang telah menunjukkan kesesuaian terhadap persyaratan-persyaratan Sistem Dioxin Free, untuk tujuan sertifikasi/registrasi, kontraktual, atau alasan lain, perlu memberikan bukti-bukti objektif tentang efektivitas dari proses-proses dan implementasi Sistem Dioxin Free.

Bukti-bukti objektif adalah data yang mendukung keberadaan atau yang membuktikan sesuatu, yang dapat diperoleh melalui observasi, pengukuran, pengujian atau pendekatan lain.

Bukti-bukti objektif dapat juga diperoleh melalui prosedur-prosedur terdokumentasi, catatan-catatan dan dokumen lain.

VII. Daftar Pustaka

1. "Analysis of Multi-media, Multi-concentration Samples for Dioxins and Furans, PCDD/PCDF Analyses Data Package", Narrative for Episode 4419, MRI Project No.3091-A, op.cit. February 12, 1993, Available from the EPA Sample Control Center operated by DynCorp Viar Inc, 300 N Lee St, Alexandria, VA 22314 (703-519-1140).
2. "Analytical Procedures and Quality Assurance Plan for the Determination of PCDD/PCDF in Fish," USEPA, Environmental Research Laboratory, 6201 Congdon Boulevard, Duluth, MN 55804, April 1988.
3. "Analytical Procedures and Quality Assurance Plan for the Determination of PCDD/PCDF in Fish", U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Research Laboratory, Duluth, MN 55804, EPA/600/3-90/022, March 1990.
4. Afghan, B.K., Carron, J., Goulden, P.D., Lawrence, J., Leger, D., Onuska, F., Sherry, J., and Wilkenson, R.J., "Recent Advances in Ultratrace Analysis of Dioxins and Related Halogenated Hydrocarbons", Can J. Chem., 65: 1086-1097, 1987.
5. Barkowski, Sarah. Fax to Sue Price, August 6, 1992, available from the EPA Sample Control Center operated by DynCorp Viar, Inc., 300 N Lee St, Alexandria VA 22314, 703-519-1140.
6. Barnstadt, Michael. "Big Fish Column", Triangle Laboratories of RTP, Inc., SOP 129-90, 27 March 27, 1992.
7. "Determination of Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins (PCDD) and Dibenzofurans (PCDF) in Environmental Sam-

- ples Using EPA Method 1613", Chemical Sciences Department, Midwest Research Institute, 425 Volker Boulevard, Kansas City, MO 44110-2299, Standard Operating Procedure No. CS-153, January 15, 1992.
8. Fat-containing foods 970.52H AOAC Official Methods of Analysis. vol 2 (edited by K. Helrich) p.278 the William Byrd press, Richmond Va. (1993).
 9. Firestone D, (1977). Determination of polychlorodibenzo-p-dioxins and polychlorodibenzofurans in commercial gelatins by gas-liquid chromatography. *J. agric.Food Chem.* **25**, 1274-1280.
 10. Gardner, A. M. and Adrzejewski, D. (1996) Laboratory Information Bulletin 12, No. 3981.
 11. Gardner, A. M., Andrzejewski, D. and Hayward, D. G. (1996) Laboratory Information Bulletin 12, No. 3990.
 12. "Handbook of Analytical Quality Control in Water and Wastewater Laboratories," USEPA EMSL, Cincinnati, OH 45268, EPA-600/4-79-019, March 1979.
 13. Hayward DG (1995) Polychlorinated dibenzo-p-dioxin and polychlorinated dibenzofuran background determination in milk and cheese using quadrupole ion storage MS/MS. *Chemosphere* **34**, (5-7), 929-939.
 14. Jasinski JS (1989). Multiresidue procedures for the determination of chlorinated dibenzodioxins and dibenzofurans in a variety of foods using capillary gas chromatography-electron capture detection. *Journal of Chromatography* **478**, 349-367.
 15. Lamparski LL, Nestrick TJ and Stehl RH (1979).

- Determination of part-per-trillion concentrations of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in fish. *Analytical Chemistry* **51**(9)1453-1458.
16. Lamparski, L.L. and Nestruck, T.J. "Determination of Tetra-, Hexa-, Hepta-, and Octachlorodibenzo-p-dioxin Isomers in Particulate Samples at Parts per Trillion Levels," *Analytical Chemistry*, 52: 2045-2054, 1980.
 17. Lamparski, L.L. and Nestruck, T.J. "Novel Extraction Device for the Determination of Chlorinated Dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and Dibenzofurans (PCDFs) in Matrices Containing Water," *Chemosphere*, 19:27-31, 1989.
 18. Langhorst ML and Shadoff LA (1980). Determination of parts-per-trillion concentrations of tetra-, hexa-, and octachlorodibenzo-p-dioxins in human milk samples. *Analytical Chemistry* **52**, 2037-2044.
 19. "Measurement of 2,3,7,8-Tetrachlorinated Dibenzo-p-dioxin (TCDD) and 2,3,7,8-Tetrachlorinated Dibenzofuran (TCDF) in Pulp, Sludges, Process Samples and Wastewaters from Pulp and Paper Mills," Wright State University, Dayton, OH 45435, June 1988.
 20. "Method 613—2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin," 40 CFR 136 (49 FR 43234), October 26, 1984, Section 4.1.
 21. "Methods 330.4 and 330.5 for Total Residual chlorine," USEPA, EMSL, Cincinnati, OH 45268, EPA 600/4-79-020, March 1979.
 22. "NCASI Procedures for the Preparation and isomer Specific Analysis of Pulp and Paper Industry Samples for 2,3,7,8-TCDD and 2,3,7,8-TCDF," National Council of the Paper Industry for Air and Stream Improvement Inc., 260 Madison

Avenue, New York, NY 10016, Technical Bulletin No. 551, Pre-Release Copy, July 1988.

23. Nestrick, Terry L. DOW Chemical Co., personal communication with D.R. Rushneck, April 8, 1993. Details available from the U.S. Environmental Protection Agency Sample Control Center operated by DynCorp Viar Inc, 300 N Lee St, Alexandria, VA 22314, 703-519-1140.
24. Niemann RA, Brumley WC, Firestone D and Sphon JA (1983). Analysis of fish for 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin by electron capture capillary gas chromatography. *Anal.Chem.* **55**, 1497-1504.
25. "OSHA Safety and Health Standards, General Industry," OSHA 2206, 29 *CFR* 1910.
26. Patterson, D.G., et. al. "Control of Interferences in the Analysis of Human Adipose Tissue for 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin," *Environmental Toxicological Chemistry*, 5:355-360, 1986.
27. "Preliminary Fish Tissue Study", Results of Episode 4419, available from the EPA Sample Control Center operated by DynCorp Viar, Inc., 300 N Lee St, Alexandria, VA 22314, 703-519-1140.
28. Provost, L.P. and Elder, R.S. "Interpretation of Percent Recovery Data," *American Laboratory*, 15: 56-83, 1983.
29. Ryan, John J. Raymonde Lizotte and William H. Newsome, *J. Chromatog.* 303 (1984) 351-360.
30. "Results of the International Interlaboratory Validation Study of USEPA Method 1613", October 1994, available from the EPA Sample Control Center operated by DynCorp

- Viar, Inc., 300 N Lee St, Alexandria, VA 22314, 703-519-1140.
31. Sherry, J.P. and Tse, H. "A Procedure for the Determination of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins in Fish", *Chemosphere*, 20: 865-872, 1990.
 32. "Safety in Academic Chemistry Laboratories," ACS Committee on Chemical Safety, 1979.
 33. Smith, L.M., Stalling, D.L. and Johnson, J.L. (1984). Determination of part-per-trillion levels of polychlorinated dibenzofurans and dioxins in environmental samples. *Analytical Chemistry* **56**, 1830-1842.
 34. Stanley, John S. and Sack, Thomas M. "Protocol for the Analysis of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin by High Resolution Gas Chromatography/High Resolution Mass Spectrometry," USEPA EMSL, Las Vegas, Nevada 89114, EPA 600/4-86-004, January 1986.
 35. "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater," 18th edition and later revisions, American Public Health Association, 1015 15th St, N.W., Washington, DC 20005, 1-35: Section 1090 (Safety), 1992.
 36. "Standard Practice for Sampling Water," ASTM Annual Book of Standards, ASTM, 1916 Race Street, Philadelphia, PA 19103-1187, 1980.
 37. Telliard, William A., McCarty, Harry B., and Riddick, Lynn S. "Results of the Interlaboratory Validation Study of USEPA Method 1613 for the Analysis of Tetrachloro Octachlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution GC/MS," *Chemosphere*, 27, 41-46 (1993).

38. Tondeur, Yves. "Method 8290: Analytical Procedures and Quality Assurance for Multimedia Analysis of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans by High Resolution Gas Chromatography/High Resolution Mass Spectrometry," USEPA EMSL, Las Vegas, Nevada, June 1987.
39. Tondeur, Yves. "Proposed GC/MS Methodology for the Analysis of PCDDs and PCDFs in Special Analytical Services Samples," Triangle Laboratories, Inc., 801-10 Capitola Dr, Research Triangle Park, NC 27713, January 1988; updated by personal communication September 1988.
40. Williams, Rick. Letter to Bill Telliard, June 4, 1993, available from the EPA Sample Control Center operated by DynCorp Viar, Inc., 300 N Lee St, Alexandria, VA 22314, 703-519-1140.
41. "Working with Carcinogens," Department of Health, Education, & Welfare, Public Health Service, Centers for Disease Control, NIOSH, Publication 77-206, August 1977, NTIS PB277256.

VIII. DEFINISI & ACRONYM

Glossary of Definitions and Purposes

These definitions and purposes are specific to this method but have been conformed to common usage as much as possible.

VIII.1 Units of weight and Measure and Their Abbreviations

VIII.1.1 Symbols

°C	degrees Celsius
μL	microliter
μm	micrometer
<	less than
>	greater than
%	percent

VIII.1.2. Alphabetical abbreviations

amp	ampere
cm	centimeter
g	gram
h	hour
ID	inside diameter
in.	inch
L	liter
M	Molecular ion
m	meter
mg	milligram
min	minute
mL	milliliter
mm	millimeter
m/z	mass-to-charge ratio
N	normal; gram molecular weight of solute divided by hydrogen equivalent of solute, per liter of

	solution
OD	outside diameter
pg	picogram
ppb	part-per-billion
ppm	part-per-million
ppq	part-per-quadrillion
ppt	part-per-trillion
psig	pounds-per-square inch gauge
v/v	volume per unit volume
w/v	weight per unit volume

VIII.2. Definitions and Acronyms (in Alphabetical Order)

Analyte—A CDD or CDF tested for by this method. The analytes are listed in Table XI.

Calibration Standard (CAL)—A solution prepared from a secondary standard and/or stock solutions and used to calibrate the response of the instrument with respect to analyte concentration.

Calibration Verification Standard (VER)—The mid-point calibration standard (CS3) that is used in to verify calibration. See Table XIV.

CDD—Chlorinated Dibenzo-p-Dioxin—The isomers and congeners of tetra- through octa-chlorodibenzo-p-dioxin.

CDF—Chlorinated Dibenzofuran—The isomers and congeners of tetra- through octa-chlorodibenzofuran.

CS1, CS2, CS3, CS4, CS5—See Calibration standards and Table XIV.

Field Blank—An aliquot of reagent water or other reference matrix that is placed in a sample container in the laboratory or the field, and treated as a sample in all respects, including exposure to

sampling site conditions, storage, preservation, and all analytical procedures. The purpose of the field blank is to determine if the field or sample transporting procedures and environments have contaminated the sample.

GC—Gas Chromatograph or Gas Chromatography.

GPC—Gel Permeation Chromatograph or Gel Permeation Chromatography.

HPLC—High Performance Liquid Chromatograph or High Performance Liquid Chromatography.

HRGC—High Resolution GC.

HRMS—High Resolution MS.

IPR—Initial Precision and Recovery; four aliquots of the diluted PAR standard analyzed to establish the ability to generate acceptable precision and accuracy. An IPR is performed prior to the first time this method is used and any time the method or instrumentation is modified.

K-D—Kuderna-Danish concentrator; a device used to concentrate the analytes in a solvent.

Laboratory Blank—See method blank.

Laboratory Control Sample (LCS)—See ongoing precision and recovery standard (OPR).

Laboratory Reagent Blank—See method blank.

May—This action, activity, or procedural step is neither required nor prohibited.

May Not—This action, activity, or procedural step is prohibited.

Method Blank—An aliquot of reagent water that is treated exactly as a sample including exposure to all glassware, equipment, solvents, reagents, internal standards, and surrogates that are used with samples. The method blank is used to determine if analytes or interferences are present in the laboratory environment, the reagents, or the apparatus.

Minimum Level (ML)—The level at which the entire analytical system must give a recognizable signal and acceptable calibration point for the analyte. It is equivalent to the concentration of the lowest calibration standard, assuming that all method-specified sample weights, volumes, and cleanup procedures have been employed.

MS—Mass Spectrometer or Mass Spectrometry.

Must—This action, activity, or procedural step is required.

OPR—Ongoing Precision and Recovery standard (OPR); a laboratory blank spiked with known quantities of analytes. The OPR is analyzed exactly like a sample. Its purpose is to assure that the results produced by the laboratory remain within the limits specified in this method for precision and recovery.

PAR—Precision and recovery standard; secondary standard that is diluted and spiked to form the IPR and OPR.

PFK—Perfluorokerosene; the mixture of compounds used to calibrate the exact m/z scale in the HRMS.

Preparation Blank—See method blank.

Primary Dilution Standard—A solution containing the specified analytes that is purchased or prepared from stock solutions and

diluted as needed to prepare calibration solutions and other solutions.

Quality Control Check Sample (QCS)—A sample containing all or a subset of the analytes at known concentrations. The QCS is obtained from a source external to the laboratory or is prepared from a source of standards different from the source of calibration standards. It is used to check laboratory performance with test materials prepared external to the normal preparation process.

Reagent Water—Water demonstrated to be free from the analytes of interest and potentially interfering substances at the method detection limit for the analyte.

Relative Standard Deviation (RSD)—The standard deviation times 100 divided by the mean. Also termed "coefficient of variation."

RF—Response factor. See Section 10.6.1 (page 110).

RR—Relative response. See Section 10.5.2 (page 109).

RSD—See relative standard deviation.

SDS—Soxhlet/dean-stark extractor; an extraction device applied to the extraction of solid and semi-solid materials (Reference 7).

Should—This action, activity, or procedural step is suggested but not required.

SICP—Selected ion current profile; the line described by the signal at an exact m/z .

SPE—Solid-phase extraction; an extraction technique in which an analyte is extracted from an aqueous sample by passage over or through a material capable of reversibly adsorbing the analyte.

Also termed liquid-solid extraction.

Stock Solution—A solution containing an analyte that is prepared using a reference material traceable to EPA, the National Institute of Science and Technology (NIST), or a source that will attest to the purity and authenticity of the reference material.

TCDD—Tetrachlorodibenzo-p-dioxin.

TCDF—Tetrachlorodibenzofuran.

VER—See calibration verification standard.