

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.155 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành:30/03/2018 Trang: 1/10
---	----------------------------------	--

XÁC ĐỊNH PCBs TRONG ĐẤT VÀ CHẤT THẢI NGUY HẠI

BẢNG SẮC KÝ KHÍ GHÉP KHỐI PHỔ - GC/MS

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
NGÔ QUANG DUY KHANG	DIỆP THỊ HỒNG TƯƠI	TRẦN THÁI VŨ

THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1		Thay đổi format SOP	30/03/2018

A. TỔNG QUAN

I. Phạm vi áp dụng.

Phương pháp này được áp dụng để xác định PCB thành phần trong mẫu đất, bùn thải và các chất thải nguy hại. Giới hạn phát hiện của phương pháp cho từng PCBs là 5 $\mu\text{g/kg}$.

S T T	Hợp chất	Đồng phân
1	2, 4, 4' - Trichlorobiphenyl	PCB - 28
2	2, 2', 5, 5'-Tetrachlorobiphenyl	PCB – 52
3	2, 2', 4, 5, 5'-Pentachlorobiphenyl	PCB – 101
4	2, 3', 4, 4', 5 – Pentachlorobiphenyl	PCB – 118
5	2, 2', 3, 4, 4', 5' – Hexachlorobiphenyl	PCB – 138
6	2, 2', 4, 4', 5, 5' – Hexachlorobiphenyl	PCB – 153
7	2, 2', 3, 4, 4', 5, 5' - Heptachlorobiphenyl	PCB – 180

II. Tài liệu tham khảo.

Tiêu chuẩn này được xây dựng dựa theo:

[1] EPA Method 8082A (SW-846) – Polychlorinated Biphenyls (PCBs) by Gas Chromatography.

[2] EPA Method 3550C: Ultrasonic extraction

[3] EPA 8275A - Semivolatile organic compounds (PAHS AND PCBS) in soils

sludges and solid wastes using thermal extraction/gas chromatography/mass spectrometry (TE/GC/MS).

[4] EPA 3630C – Silica gel cleanup

III. Nguyên tắc.

Mẫu đất, bùn thải, trầm tích đem về phòng thí nghiệm, mẫu được chiết bằng kỹ thuật đánh siêu âm với hỗn hợp dung môi Hexan: Aceton (1:1), sau đó dịch chiết sẽ được cô quay và làm sạch để loại bỏ các hydrocarbon, màu và những chất khác gây cản nhiễu đến tín hiệu chất phân tích, cuối cùng phân tích mẫu trên GC/MS

VI. Thông tin an toàn phòng thí nghiệm.

Sử dụng tủ hút, kính bảo hộ và găng tay khi thao tác với mẫu cũng như chuẩn có chứa PCBs.

Các hóa chất thải từ quá trình phân tích PCBs phải được thu gom vào thùng chứa riêng, có dán nhãn cảnh báo độc hại và có quy trình xử lý riêng.

B. PHÂN TÍCH

I. Thiết bị và dụng cụ phân tích.

1. Thiết bị cơ bản.

- Phễu lọc thủy tinh
- Becher 100mL, 250mL
- Bình cô quay 250mL
- Muối Na_2SO_4 khan.
- Bông gòn thủy tinh
- Máy cô quay
- Bồn đánh siêu âm
- Dung môi methylene chloride, hexan, acetone, isooctane
- Micropipet các loại 20 μL , 200 μL , 1000 μL .

2. Thiết bị phân tích

Hệ thống sắc ký khí ghép khối phổ một tứ cực GC 6890 – MS 5973 hoặc tương đương.

Cột mao quản HP 5MS (30m, 0.25mm ID, 0.25µm) hoặc tương đương.

II. Hoá chất và chất chuẩn.

1. Hoá chất.

- Dung môi hexan, isooctane và acetone của J.T Baker hoặc tương đương.
- Muối Na₂SO₄ của Trung Quốc
- Silica của Merk hoặc tương đương

2. Chất chuẩn.

a. Chuẩn gốc:

- PCBs Mix 15 chất 10 µg/ml và PCB 209 của ChemService hoặc tương đương.
- Bảo quản và lưu trữ: Các chuẩn được lưu trữ theo đúng nhiệt độ khuyến cáo của nhà sản xuất

b. Dung dịch chuẩn

- Dung dịch chuẩn gốc PCB 209 1000 µg/ml: Cân chính xác khoảng 10 mg các chất chuẩn vào bình định mức 10 mL, hoà tan bằng Isooctane và định mức đến vạch bằng Isooctane. Lưu ý đến độ tinh khiết của chất chuẩn. Khi đó nồng độ chất chuẩn trong dung dịch được tính được theo công thức sau:

$$C (mg/L) = \frac{m (mg) \times 1000}{V (ml)} \times P$$

Trong đó: C là nồng độ chất chuẩn có trong dung dịch (mg/L).

m là khối lượng cân của chất chuẩn (mg).

V là thể tích định mức (mL).

P: Độ tinh khiết của chất chuẩn (%).

- Dung dịch chuẩn PCB 209 20.0 µg/ml: Rút 0.2 mL chuẩn gốc 1000 µg/ml trong ampul vào bình mức 10 mL. Định mức đến vạch bằng isooctane.

- Bảo quản và lưu trữ: Các dung dịch chuẩn gốc sau khi chuẩn bị được lưu trữ trong các ống thủy tinh, dán nhãn, bảo quản ở nhiệt độ mát (4-8°C), sử dụng trong thời gian 2 năm.

c. Dung dịch chuẩn hỗn hợp làm việc

- Pha các dung dịch chuẩn có nồng độ PCBs thay đổi từ 10ppb, 25ppb, 50ppb, 100ppb, 200ppb, bằng cách rút 10 µl, 20 µl, 50 µl, 100 µl, 200 µl từ dung dịch chuẩn 10.0 µg/ml vào bình định mức 10 mL, định mức đến vạch bằng isooctane.
- PCB 209 có nồng độ được giữ không đổi 200ppb trong tất cả các chuẩn (100 µl PCB 209 20 µg/ml).
- Bảo quản và lưu trữ: Dung dịch chuẩn hỗn hợp làm việc sau khi chuẩn bị được lưu trữ trong các ống thủy tinh, dán nhãn, bảo quản ở nhiệt độ mát (4-8°C), sử dụng trong thời gian 1 năm.

III. Kiểm soát QA/QC.

Trong mỗi đợt phân tích, nhân viên phân tích thực hiện các mẫu sau để kiểm soát chất lượng phân tích.

- Mẫu Blank hóa chất:
- Mẫu QC: Mẫu spike trên nền mẫu Blank matrix với nồng độ kiểm soát mức LOQ

a. Mẫu blank hóa chất

- Phân tích ít nhất một mẫu blank hóa chất trong mỗi lần thực hiện phân tích.
- Nếu mẫu blank hóa chất ngoài giới hạn kiểm soát (>LOD), kiểm tra xem dụng cụ, hoá chất, chất chuẩn có bị nhiễm bẩn không. Nếu bị nhiễm bẩn, làm sạch dụng cụ bằng acetone hoặc metanol. Kiểm tra chất lượng nguồn nước của phòng thí nghiệm. Sử dụng hóa chất và chất chuẩn mới nếu thấy cần thiết.

b. Mẫu thêm chuẩn (QC)

- Phân tích 01 mẫu thêm chuẩn với nồng độ thêm là 15.0 µg/kg sau khi phân tích 20 mẫu hoặc một mẻ mẫu. Mẫu thêm chuẩn được thực hiện cùng lúc với lô mẫu phân tích.

- Tính toán độ thu hồi theo phương trình

$$R(\%) = \frac{C_s - C}{S} \times 100$$

Trong đó:

R = Độ thu hồi

C_s = Nồng độ mẫu thêm chuẩn

C = Nồng độ của mẫu nền

S = Nồng độ của chất phân tích thêm vào mẫu

VI. Xử lý mẫu.

- Cân chính xác 2g mẫu vào bình thủy tinh 250 mL. Thêm 200 µL chuẩn kiểm soát PCBs 209 nồng độ 1 µg/ml để đạt nồng độ 100ppb tính trên 2g mẫu.
- Sau 30 phút, thêm 10g NaCl và 10g Na₂SO₄ khan, tiến hành nghiền và trộn mẫu với hỗn hợp muối này sao cho mẫu tơi ra.
- Giai đoạn chiết mẫu được thực hiện 4 lần:
 - o 3 lần đầu: mỗi lần với 25mL hỗn hợp Aceton: Hexane (1:1), đánh siêu âm 30 phút ở 50⁰C. Dịch chiết sau mỗi lần siêu âm được chuyển sang ống ly tâm 50 mL, ly tâm rồi chuyển lớp dung môi phía trên vào bình cầu 250 mL (có lớp Na₂SO₄ khan phía trên). Dùng 25mL hỗn hợp Aceton: Hexane (1:1) tráng ống ly tâm này và đổ vào bình ban đầu để tiếp tục chiết mẫu lần tiếp theo.
 - o Lần thứ 4: chiết với 25mL hỗn hợp Aceton: Hexan (1:1), đánh siêu âm 30 phút ở 60⁰C. Thu toàn bộ dịch chiết vào bình cô quay 250mL.
- Cô quay toàn bộ hỗn hợp dịch chiết của 4 lần đến khoảng 1mL bằng thiết bị cô chân không. Chuyển dịch đã cô từ bình cầu 250 mL sang ống 10 mL, tráng bình cầu 3 lần bằng 6 ml hexane (2ml hexan/1 lần). Cô dịch trong ống về 1 ml bằng khí N₂.

- Làm sạch dịch chiết bằng H_2SO_4 : Thêm 1 ml H_2SO_4 98% vào ống Hatch chứa 1 ml dịch trên. Lắc mạnh. Thêm 5 ml hexan vào và lắc đều. Ly tâm phân lớp giữa hexan và lớp axit, hút bỏ phần acid phía dưới. Tiếp tục rửa axit phía dưới nếu phần hexan vẫn còn màu. Rửa hết axit của lớp hexan bằng nước deion 3 lần, mỗi lần 1-2 ml, lắc mạnh, để phân lớp và hút bỏ phần nước phía dưới. Cho 1-2g Na_2SO_4 khan vào để loại nước. Hút dịch chiết trong hexan sang ống Hatch khác. Định mức 10ml.
- Làm sạch chiết phân tán dịch chiết với 1g Silica, vortex 30-45s, ly tâm 1 phút. Rút dịch chiết đi cô quay đến khô.
- Hòa tan bằng 1mL Isooctan, tiến hành phân tích trên GC/MS

IV. **Phân tích**

1. **Thông tin thiết bị**

a. **Điều kiện GC**

Cột HP-5MS (30 m x 0.25mm x 0.25 μm)

Thể tích tiêm 1 μL

Chương trình nhiệt: 120 $^{\circ}\text{C}$ (1 phút) --- (10 $^{\circ}\text{C}$ / phút) \rightarrow 320 $^{\circ}\text{C}$ (2 phút)

Thời gian cân bằng nhiệt độ lò cột: 5 phút

Nhiệt độ đầu cột: 300 $^{\circ}\text{C}$

Tốc độ dòng khí Helium: 1mL/ phút

Kiểu tiêm: không chia dòng (lưu 1.0 phút)

Solvent delay 6 phút

Nhiệt độ detector: 300 $^{\circ}\text{C}$

b. **Điều kiện MS**

- Nguồn ion hóa: EI , nhiệt độ 230 $^{\circ}\text{C}$
- Dòng phát xạ: 34.6 μA
- Chế độ: SIM

D w e l l	Tên theo IUPAC	Q u a n i o n	Q u a l 1	Q u a l 2	Q u a l 3
35	PCB 28	256	258	150	186
50	PCB 52	291.9	289. 9	293. 9	2220
20	PCB 101	325.9	323. 9	327. 9	256
20	PCB 138	359.9	357. 9	361. 9	289. 9
20	PCB 153	359.9	357. 9	361. 9	289. 9
50	PCB 180	393.8	391	395	324

			.	.	
			8	8	
			4	4	
5	PCB 209	49	9	9	
0	(SS)	7.	5	9	
		7	.	.	
			7	7	

2. Trình tự của quá trình tiêm mẫu trên thiết bị phân tích.

Dung môi trắng → Các chuẩn có nồng độ từ thấp tới cao → Dung môi trắng
→ Mẫu cần kiểm nghiệm → Mẫu thêm chuẩn → Chuẩn kiểm tra.

C. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ.

a. Công thức tính toán:

Hàm lượng trong mẫu được tính toán theo công thức:

$$C = \left(\frac{C_0 \times V_{\text{extract}}}{m} \times f \right)$$

- C: nồng độ chất phân tích trong mẫu, ng/g (µg/L)
- C₀: nồng độ chất phân tích trong dịch chiết tính trên đường chuẩn, ng/mL
- V_{extract}: Thể tích dịch chiết
- f: hệ số pha loãng
- m: khối lượng cân (g)

D. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC

- ✓ Đồ thị tuyến tính ít nhất 5 điểm chuẩn với R² ≥ 0.99
- ✓ Độ thu hồi: giá trị từ XNGTSD của phương pháp.
- ✓ Tỷ số ion.

Cường độ tương đối của ion định tính so với ion định lượng phải nằm trong khoảng cho phép

Cường độ tương đối (so với ion định lượng)	Sai số cho phép GC-EI-MS
>50%	± 10%
20-50%	± 15%
10%-20%	± 20%
<10%	±50%

✓ Biểu đồ kiểm soát xu hướng diễn biến kết quả phân tích (Control chart).

Kiểm soát xu hướng diễn biến kết quả phân tích PCB 28 và PCB138 ở mức LOQ sau mỗi lô mẫu phân tích.

E. BÁO CÁO KẾT QUẢ.

Kết quả phân tích được báo cáo theo biểu mẫu: BM.15.04a, BM.15.06