

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN. Ngày ban hành: Lần ban hành: Trang: 1/7
--	----------------------------------	--

**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG BENZO(a)PYRENE TRONG  
NƯỚC ĂN UỐNG BẰNG HỆ THỐNG SẮC KÝ KHÍ GHEP  
KHỐI PHỔ (GC/MS)**

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
LA THỊ TRÂM	DIỆP THỊ HỒNG TƯƠI	TRẦN THÁI VŨ

**THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU**

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1			
2			
3			

## **Phần A TỔNG QUAN**

### **I. PHẠM VI ÁP DỤNG**

Phương pháp này được áp dụng để xác định hàm benzo(a)pyrene trong nước ăn uống. Giới hạn phát hiện của phương pháp là 0.5 µg/L.

### **II. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

EPA Method 8270D (SW-846): Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC-MS).

### **III. NGUYÊN TẮC**

Mẫu được chiết trực tiếp với dung môi Dichlometan bằng kỹ thuật chiết lỏng lỏng và được phân tích trên hệ thống sắc ký khí ghép đầu dò khối phổ GCMS.

### **IV. THÔNG TIN AN TOÀN PHÒNG THÍ NGHIỆM**

Tuân thủ các nguyên tắc hoạt động phòng thí nghiệm

Sử dụng tủ hút, kính bảo hộ và găng tay khi cần thiết.

Các dung môi hữu cơ và các chất thải như Dichlorometan (DCM), Acetone phải được thu hồi vào các thùng chứa có dán nhãn và lưu giữ như các hóa chất thải độc hại.

### **V. THIẾT BỊ VÀ DỤNG CỤ PHÂN TÍCH**

#### **1. Dụng cụ và thiết bị cơ bản**

Cân phân tích, độ chính xác 0.1mg,

Bình định mức 10 mL

Micropipet các loại 20 µL, 200 µL, 1000 µL, 5000 µL

Ống ly tâm 50 mL, 15 mL.

Màng lọc 0.45µm, vial và xy lạnh.

Bình cầu 100mL.

Pipet 5mL.

#### **2. Thiết bị phân tích**

Hệ thống sắc ký khí ghép khối phổ GCMS 5973 hoặc tương đương.

## VI. HÓA CHẤT VÀ CHẤT CHUẨN

### 1. Hóa chất

Nước cất một lần và nước cất khử ion.

Dung môi Dichlorometan hãng J.Backer hoặc tương đương

Dung môi Acetone hãng J.Backer hoặc tương đương

Dung môi Acetonitril hãng J.Backer hoặc tương đương

Muối magie sulfat khan.

Muối natriclorua khan.

### 2. Chất chuẩn

Chất chuẩn Benzo(a)pyrene, Anthracene-D10 của hãng Sigma Aldrich hoặc tương đương.

Dung dịch chuẩn Benzo(a)pyrene 1000 mg/kg: cân chính xác khoảng 10 mg chuẩn rắn vào bình định mức 10 mL, hoà tan và định mức đến vạch bằng Acetone.

Nội chuẩn Anthracene-D10 500 mg/kg: cân chính xác khoảng 5 mg chuẩn rắn vào bình định mức 10 mL, hoà tan và định mức đến vạch bằng Acetone.

Khi đó nồng độ các chất chuẩn được tính được theo công thức sau:

$$C = m \cdot 1000 / V \cdot P$$

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

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 Benzo(a)pyrene 100 mg/kg: Từ dung dịch gốc trên (1000 mg/kg) tương ứng lấy 1 mL cho vào bình định mức 10 mL, định mức đến vạch với Aceton.

Dung dịch chuẩn Benzo(a)pyrene 10 mg/kg: Rút 0.1mL của dung dịch chuẩn 1000 mg/kg ở trên vào bình định mức 10 mL, hoà tan và định mức đến vạch bằng Acetone.

Dung dịch chuẩn Benzo(a)pyrene 1 mg/kg: Rút 1mL của dung dịch chuẩn 10 mg/kg ở trên vào bình định mức 10 mL, hoà tan và định mức đến vạch bằng Acetone.

Dung dịch Anthracene-D10 10 mg/L: Rút 0.2mL dung dịch nội chuẩn gốc cho vào bình định mức 10mL, định mức đến vạch bằng acetone.

#### Đường chuẩn

	ST1 (5µg/kg)	ST2 (10µg/kg)	ST3 (25µg/kg)	ST4 (50µg/kg)	ST5 (100µg/kg)
V (µL) Chuẩn 10 mg/kg	5	10	25	50	100
V(µL) IS 10 mg/kg	10				
V (µL) ACN	Định mức đến 10 mL				

Bảo quản và lưu trữ:

Chuẩn rắn được lưu trữ theo đúng nhiệt độ khuyến cáo của nhà sản xuất.

Dung dịch chuẩn gốc sau khi chuẩn bị được lưu trữ trong các ống thủy tinh, dán nhãn, bảo quản ở nhiệt độ lạnh (-18<sup>0</sup>C), sử dụng trong thời gian 3 năm, theo EPA 8270D

Dung dịch chuẩn làm việc và đường chuẩn sau khi chuẩn bị được lưu trữ trong các ống thủy tinh, dán nhãn, bảo quản ở nhiệt độ mát (8<sup>0</sup>C), sử dụng trong thời gian 1 tháng,

## **VII. 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 matrix: Mẫu blank phù hợp với nền mẫu phân tích.

Mẫu QC: Mẫu spike trên nền mẫu blank với nồng độ kiểm soát 2.0 µg/kg .

### **1. Mẫu Blank matrix:**

Mẫu blank không phát hiện chất phân tích hoặc phát hiện ở nồng độ nhỏ hơn LOD

## **2. Mẫu thêm chuẩn (QC)**

Tiến hành xử lý mẫu blank theo quy trình.

Nồng độ chuẩn thêm vào ở mức 2 µg/kg.

Khoảng 10 mẫu thông thường thì thực hiện kèm theo 1 mẫu QC.

Tính toán độ thu hồi theo phương trình

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

Trong đó:

R = Độ thu hồi

C<sub>s</sub> = Nồng độ mẫu thêm chuẩn

C = Nồng độ của mẫu nền

S = Nồng độ chất phân tích thêm vào mẫu

## **Phần B PHÂN TÍCH MẪU**

### **I. XỬ LÝ MẪU**

Cân 10 g mẫu vào ống thủy tinh 25 ml. Thêm 10 ml Dichlorometan. Vặn chặt nắp. Lắc đều 1 phút, Thêm 1 g muối NaCL khan, lắc mạnh đến tan hết muối. Để yên 30s chờ tách lớp, lặp lại quá trình chiết 3 lần, gom dịch chiết vào bình cầu.

Cô quay đến cạn, định mức lại bằng 1ml ACN. Lọc vào vial và phân tích trên GC/MS

### **II. Điều kiện phân tích**

Điều kiện GC

Cột DB-5MS (30 m x 0.25mm x 0.25µm)

- Khí mang: Heli

- Chương trình nhiệt: 120 °C (1 phút), tăng 20 °C/phút đến 320 °C (8phút), Chế độ tiêm: không chia dòng.

- Tốc độ dòng: 2.3 ml/phút ở chế độ đẳng áp P=22.6 PSI tại 90 °C.

- Nhiệt độ buồng tiêm: 220 °C.

- Nhiệt độ transferline: 220 °C.

### 3. Điều kiện MS

- Nguồn ion hóa: EI , nhiệt độ 220 °C

- Dòng phát xạ: 34.6 µA

- Tứ cực: nhiệt độ 280 °C

- Chế độ: SIM

Hợp chất	Ion 1	Ion 2	Ion 3	Ion 4
Benzo(a)pyrene	252	250	253	251
Anthracene-D10	188	189	184	186

### 4. 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.

## III. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ

Xây dựng đường chuẩn biểu thị mối quan hệ giữa tỷ lệ diện tích của chuẩn và nội chuẩn so với tỷ lệ nồng độ của chuẩn và nội chuẩn

Hàm lượng chất phân tích trong mẫu được tính toán theo công thức:

C: nồng độ chất phân tích trong mẫu, µg/kg. (ppb)

C<sub>o</sub>: nồng độ chất phân tích trong dịch chiết tính trên đường chuẩn, µg/kg

V<sub>extract</sub>: thể tích dịch chiết

f: hệ số pha loãng

m: khối lượng cân, g

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

#### IV. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC

Đồ thị tuyến tính ít nhất 5 điểm chuẩn với  $R^2 \geq 0.99$

Độ thu hồi: giá trị từ XNGTSD của phương pháp.

Tỷ số ion: Cường độ tương đối của ion định tính phải nằm trong khoảng cho phép.

Cường độ tương đối(so với ion định lượng)	Sai số cho phép
>50%	±20%
20-50%	±25%
10%-20%	±30%
<10%	±50%

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

Giá trị hiệu suất thu hồi được ghi nhận vào biểu đồ ở mức thêm chuẩn 2 ug/l.

#### V. BÁO CÁO KẾT QUẢ.

Kết quả phân tích được báo cáo theo biểu mẫu: BM.15.04-01