# سازمان حفاظت محیط زیست ایران

## بخش هیدروکربنهای نفتی و سموم آزمایشگاه مرجع

# دستورالعمل اندازه گیری ترکیبات PCB در نمونه های رسوب، بافت زنده و آب

# Determination of PCBs in Sediment, Biota &Water


**تهیه کنندگان :**

**اعظم صادق اسدی**

**المیرا دارابی**

**آزاده اکرام جعفری**

**هنگامه اکبرنژاد**



**نسخه :**

**۰۰ – ۱۳۸۸**



سازمان حفاظت محیط زیست

## ۱- هدف :

اندازه‌گیری PCB در نمونه‌های خاک، رسوب، آب و بافت زنده توسط دستگاه GC بادتکتور ECD.

## ۲- دامنه کاربرد :

این دستورالعمل برای کلیه نمونه های رسوب، خاک، آب و Biota کاربرد دارد.

## ۳- تجهیزات :

- ترازوی آنالیتیکال با دقت ۰,۱ mg
- ترازوی الکتروبالانس با دقت ۱µg
- سوکسله و هیتر
- روتاری
- آون
- دسیکاتور
- بورت شیشه ای جهت کروماتوگرافی
- ژنراتور نیتروژن
- دستگاه GC/ECD

## ٤- مواد مصرفی :

- اسید سولفوریک غلیظ ٪۹۸-۹۵ Extra pure
- اسید کلریدریک غلیظ ٪۳۷ Extra pure
- هگزان نرمال for liquid chromatography
- دی کلرومتان Dichloromethane for chromatography
- متانول Gradient grade for liquid chromatography

سازمان حفاظت محیط زیست

- فلورسیل با مش ۱۰۰-۶۰
- پودر مس با مش ۲۰۰
- پشم شیشه
- تیمبل با سایز cm ۳*۹
- سولفات سدیم بدون آب Extra pure
- سنگ جوش
- استون Acetone for residue analysis
- استانداردهای PCB۲۹, PCB۱۹۸

## ۵- آماده سازی نمونه :

### ۵-۱- شستشو :

- کلیه ظروف مورد استفاده جهت آنالیز مقادیر کم ترکیبات آلی از جنس Pyrex می باشد.
- جهت شستشوی این ظروف ابتدا آنها را با آب داغ و برس تمیز کرده و سپس به مدت چند ساعت (یک شب) داخل محلول رقیق شده مایع ظرفشویی گذاشته و بعد از این مرحله ده مرتبه با آب داغ آنها را تمیز می کنیم. (در مورد قطعات کوچک ظروف می توان آنها را به مدت ده دقیقه در حمام اولتراسونیک با دترجنت قرار داد و سپس با آب داغ آنها را شستشو داد.) بعد از این مرحله ظروف را با آب دیونیزه شستشو داده سپس در داخل آون در دمای ۲۰۰ درجه برای چند ساعت قرار داده می شود.

نکته ۱) بایستی دقت نمود این دما برای ظروف شیشه ای حجم سنجی استفاده نمی شود.

نکته ۲) از آونی که جهت تمیز کردن ظروف شیشه ای استفاده می شود نباید جهت موارد دیگر استفاده کرد.

نکته ۳) از آنجا که ممکن است آلودگیهای محیطی بر روی سطح ظروف شیشه ای جمع شوند، باید بلافاصله بعد از شستشوی ظروف آنها را با استون و هگزان آب کشی نموده و از آنها استفاده گردد یا در هود لامینار نگهداری شود. در صورت در دسترس نبودن این هود از فویل آلومینیومی که با حلال استون یا هگزان تمیز شده است جهت حفاظت ظروف شیشه ای استفاده می گردد.

نکته ۴) با توجه به موارد ذکر شده زمان نگهداری ظروف شسته شده محدود می باشد.

سازمان حفاظت محیط زیست

## ۵-۲- تمیز کردن واکنشگرها :

تمامی پودرها یا واکنشگرهای کریستالی مانند سولفات سدیم، هیدروکسیدپتاسیم، پشم شیشه و سنگ جوش باید قبل از استفاده تمیز شوند. برای این کار ابتدا هشت ساعت با هگزان و سپس هشت ساعت دیگر با متانول یا دی کلرومتان سوکسله می شوند و پس از آن ۲۴ ساعت در کوره ۴۰۰ درجه خشک می شوند.

## ٦- شرح انجام آزمون :

### ٦-۱ - نمونه های خاک و رسوب

**- استخراج :**

ابتدا نمونه فریز شده را داخل هاون ریخته و خرد میکنیم. سپس نمونه را از الک ۲۵۰ µm عبور داده ۲۰ گرم از این نمونه را وزن کرده، داخل تیمبل می ریزیم. (برای این کار نباید تیمبل را با دست گرفت.) به همین دلیل آن را با پنس گرفته یا دور انگشتان فویل آلومینیومی می پیچیم. یک میلی لیتر از محلول PCB۲۹,PCB۱۹۸ با غلظت حدود ۲۰ ng/ml به عنوان استاندارد داخلی به تیمبل اضافه می کنیم. عمل استخراج به مدت ۸ ساعت با ۲۵۰ میلی لیتر مخلوط حلال هگزان-دی کلرومتان (۵۰: ۵۰) و تعدادی سنگ جوش انجام می گیرد.

لازم است استاندارد داخلی جزء اجزا تشکیل دهنده نمونه نبوده و پیک آن هم خارج محدوده پیک نمونه بیافتد. علت افزایش استاندارد داخلی این است که می توان بازده استخراج را تعیین نمود. برای تهیه blank، یک میلی لیتر استاندارد داخلی را داخل تیمبل ریخته و عمل سوکسله انجام می شود.

محاسبه بازده استخراج به صورت زیر می باشد :

$$Q\ PCB\ ۲۹ = \frac{\text{سطح زیر پیک استاندارد داخلی در نمونه} * \text{مقدار استاندارد داخلی (pg)} * \text{حجم نهایی (µl)}}{\text{سطح زیر پیک استاندارد داخلی به تنهایی} * \text{حجم تزریق (µl)}}$$

$$R = \frac{Q\ PCB\ ۲۹}{\text{مقدار استاندارد داخلی در (ml) ۱}} \times ۱۰۰$$

به همین روش بازده استخراج **PCB ۱۹۸** را نیز محاسبه کرده و میانگین می گیریم.

$$Q\ PCB\ ۱۹۸ = \frac{\text{سطح زیر پیک استاندارد داخلی در نمونه * مقدار استاندارد داخلی (pg) * حجم نهایی (µl)}}{\text{سطح زیر پیک استاندارد داخلی به تنهایی * حجم تزریق (µl)}}$$

$$R = \frac{Q\ PCB\ ۱۹۸}{\text{مقدار استاندارد داخلی در (ml)۱}} \times ۱۰۰$$

$$\bar{R} = \frac{R\ PCB\ ۲۹ + R\ PCB۱۹۸}{۲}$$

**- تغلیظ :**

نمونه استخراج شده با سوکسله را با روتاری تغلیظ کرده به حجم ۱۵ میلی لیتر می رسانیم. دمای حمام آب روتاری نباید بیشتر از $۳۰^{\circ}C$ باشد. سپس آن را با سولفات سدیم بدون آب خشک کرده و با نیتروژن به حجم یک میلی لیتر می رسانیم. مقدارماده آلی قابل استخراج را طبق روش زیر محاسبه می کنیم :

حجم مشخصی از رسوب را روی صفحهٔ ترازوی الکتروبالانس قرار می دهیم تا حدود ۱۰۰ میکرو لیتر آن تبخیر شود. سپس باقیمانده را با دقت حدود ۱µg ± وزن می کنیم. اگر باقیمانده کمتر از ۲ میکرو گرم باشد، نمونه اصلی باید تغلیظ شود.

$$EOM\ (\mu g/g) = \frac{\text{۱۰۰۰ × حجم استخراج(میلی لیتر) × وزن باقی مانده (میکرو گرم)}}{\text{وزن اولیه نمونه (گرم ) × حجم تبخیر شده (میلی لیتر)}}$$

سازمان حفاظت محیط زیست

نکته : قدرت خلأ و دمای حمام دو عامل وابسته به یکدیگر در روتاری می باشند. زمانیکه خلأ ضعیف باشد دمای حمام آب باید افزایش یابد. (۳۵-۴۰°C)

**- جداسازی و فراکسیون گیری :**

هدف از جداسازی، حذف چربی ها - زمانیکه زیاد باشد – و گوگرد و ترکیبات گوگرد دار می باشد. این ترکیبات می توانند باعث ایجاد مزاحمت در دستگاه GC شوند.

**گوگرد زدایی با استفاده از پودر مس :**

از پودر مس برای حذف گوگرد آزاد و مرکاپتانهای موجود استفاده می شود. آماده سازی به صورت زیر می باشد :

۲۰گرم از پودر مس را داخل ارلن مایر ریخته و به آن اسید HCl غلیظ اضافه می کنیم تا سطح پودر مس را بگیرد. آن را تکان می دهیم سپس به مدت ۱۰دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار می دهیم. ارلن را از حمام در آورده، تکان می دهیم و ده دقیقه دیگر در حمام قرار می دهیم. اسید استفاده شده را دور ریخته، مقداری HCl تازه به آن اضافه کرده و ۲۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار می دهیم. این عمل را ۴ بار تکرار می کنیم. سپس اسید را دور ریخته و آب مقطر اضافه می کنیم. ارلن را تکان می دهیم و آب را دور می ریزیم. مجدد آب اضافه کرده و ۱۰ دقیقه در حمام اولترا سونیک قرار می دهیم. پس از آن آب را دور ریخته و این عمل را تا خنثی شدن pH تکرار می کنیم. سپس مس را با استون شسته، تکان می دهیم و به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار می دهیم. این عمل را نیز۴ بار تکرار می کنیم. همین کار را با حلال هگزان نیز انجام می دهیم. در پایان مس را داخل هگزان نگهداری می کنیم. ( مس باید سریع استفاده شود و سطح آن با هوا تماس نداشته باشد.) مقداری از پودر مس را به نمونه استخراج شده می زنیم و اجازه می دهیم یک شب بماند تا مس واکنش دهد. حضور گوگرد و ترکیبات آن در نمونه، با سیاه شدن رنگ مس مشخص می شود.

**فراکسیون گیری :**

برای جداسازی از ستون فلوریسیل که به صورت زیر آماده می شود، استفاده می کنیم. به منظور حذف هر گونه آلودگی ابتدا فلوریسیل را هشت ساعت با هگزان و سپس هشت ساعت دیگر با متانول یا دی کلرومتان سوکسله و در آون خشک می کنیم. فلوریسیل را با قرار دادن در آون ۱۳۰° C به مدت ۸

ساعت فعال می کنیم. سپس با آب مقطر به مقدارنیم درصد وزنی فلوریسیل، آن را غیر فعال کرده در ظرف شیشه ای با در محکم ریخته و خوب تکان می دهیم. اجازه می دهیم یک شب بماند تا به تعادل برسد.

از یک بورت شیشه ای ۵۰ میلی لیتری با قطر cm یک و شیر تفلونی جهت کروماتوگرافی ستونی استفاده می کنیم. انتهای ستون را با پشم شیشه پر می کنیم. ۱۸گرم فلوریسیل وزن کرده، داخل بشر ریخته و به آن مقداری هگزان اضافه می کنیم. با یک همزن میله ای شیشه ای همزده و مخلوط دوغابی شکل را داخل ستون می ریزیم. اجازه می دهیم به تدریج فلوریسیل داخل ستون بنشیند. سپس یک گرم سولفات سدیم بدون آب بالای ستون اضافه می کنیم تا از سطح فلوریسیل محافظت کند.

نمونه را روی سولفات سدیم و داخل بورت ریخته و در نهایت فراکسیون $F_1$ از ستون خارج می شود.

**F۱ :**

برای خارج کردن این فراکسیون ۶۵ میلی لیتر هگزان را داخل ستون می ریزیم. سرعت عبور حلال باید طوری باشد که نه زیاد پیوسته و نه خیلی کند باشد. زمانیکه نیم تا ۱ میلی لیتر هگزان در بالای ستون است شیر بورت را می بندیم. در طی این مرحله ظرف زیر ستون حاوی فراکسیون $F_1$ است که شامل OC ها مثل HCB (هگزا کلرو بنزن) و PCB و PP',OP' DDE و آلدرین و هپتاکلر و DDMU (DDE متابولیزه شده) می باشد.

## ٦-۲- نمونه های Biota

**- استخراج :**

ابتدا نمونه فریز شده را داخل هاون ریخته و خوب خرد میکنیم. ۱۰-۵ گرم از این نمونه را وزن کرده، داخل تیمبل می ریزیم. (برای این کار نباید تیمبل را با دست گرفت.) به همین دلیل آن را با پنس گرفته یا دور انگشتان فویل آلومینیومی می پیچیم. یک میلی لیتر از محلول PCB۲۹,PCB۱۹۸ با غلظت حدود ۲۰ng/ml به عنوان استاندارد داخلی به تیمبل اضافه می کنیم. عمل استخراج به مدت ۸ ساعت با ۲۵۰میلی لیتر حلال هگزان و تعدادی سنگ جوش انجام می گیرد. جریان برگشتی در سوکسله باید حدود ۵-۴ دور در ساعت باشد.

لازم است استاندارد داخلی جزء اجزا تشکیل دهنده نمونه نبوده و پیک آن هم خارج محدوده پیک نمونه بیفتد. علت افزایش استاندارد داخلی این است که می توان بازده استخراج را تعیین نمود. برای تهیه blank ، ۱ میلی لیتر استاندارد داخلی را داخل تیمبل ریخته و عمل سوکسله را انجام می دهیم.

محاسبه بازده استخراج به صورت زیر می باشد :

$$Q\ PCB\ ۲۹ = \frac{\text{سطح زیر پیک استاندارد داخلی در نمونه} * \text{مقدار استاندارد داخلی (pg)} * \text{حجم نهایی (µl)}}{\text{سطح زیر پیک استاندارد داخلی به تنهایی} * \text{حجم تزریق (µl)}}$$

$$R = \frac{Q\ PCB\ ۲۹}{\text{مقدار استاندارد داخلی در ۱(ml)}} \times ۱۰۰$$

به همین روش بازده استخراج **PCB ۱۹۸** را نیز محاسبه کرده و میانگین می گیریم.

$$Q\ PCB\ ۱۹۸ = \frac{\text{سطح زیر پیک استاندارد داخلی در نمونه} * \text{مقدار استاندارد داخلی (pg)} * \text{حجم نهایی (µl)}}{\text{سطح زیر پیک استاندارد داخلی به تنهایی} * \text{حجم تزریق (µl)}}$$

$$R = \frac{Q\ PCB\ ۱۹۸}{\text{مقدار استاندارد داخلی در ۱(ml)}} \times ۱۰۰$$

$$\bar{R} = \frac{R\ PCB\ ۲۹ + R\ PCB ۱۹۸}{۲}$$

**- تغلیظ :**

نمونه استخراج شده با سوکسله را با روتاری تغلیظ کرده به حجم ۱۵ میلی لیتر می رسانیم. دمای حمام آب روتاری نباید بیشتر از $۳۰^{\circ}C$ باشد. سپس آن را با سولفات سدیم بدون آب خشک کرده و با نیتروژن به حجم یک میلی لیتر می رسانیم. مقدارماده آلی قابل استخراج را طبق روش زیر محاسبه می کنیم :

سازمان حفاظت محیط زیست

حجم مشخصی از رسوب را روی صفحهٔ ترازوی الکتروبالانس قرار می دهیم تا حدود ۱۰۰ میکرو لیتر آن تبخیر شود. سپس باقیمانده را با دقت حدود$\mu g$ ۱ ± وزن می کنیم. اگر باقیمانده کمتر از ۲میکرو گرم باشد، نمونه اصلی باید تغلیظ شود.

$$\text{EOM } (\mu g/g) = \frac{\text{۱۰۰۰× حجم استخراج(میلی لیتر) × وزن باقی مانده (میکرو گرم)}}{\text{وزن اولیه نمونه (گرم ) × حجم تبخیر شده (میلی لیتر)}}$$

**نکته** : قدرت خلأ و دمای حمام دو عامل وابسته به یکدیگر در روتاری می باشند. زمانیکه خلأ ضعیف باشد دمای حمام آب باید افزایش یابد. (۳۵°C-۴۰)

**- جداسازی و فراکسیون گیری :**

هدف از جداسازی، حذف چربی ها -زمانیکه زیاد باشد- می باشد. این ترکیبات می توانند باعث ایجاد مزاحمت در دستگاه GC شوند.

**حذف چربی با استفاده از اسید سولفوریک غلیظ :**

در صورتی که مقدار چربی نمونه استخراج شده بیش از mg ۱۵۰-۱۰۰ باشد، یک مرحله مقدماتی برای حذف این چربیها قبل از جداسازی نمونه ضروری است این کار با استفاده از اسید سولفوریک غلیظ صورت می گیرد. یک قسمت از نمونه که دارای mg ۲۰۰ چربی است را در یک قیف دکانتور ریخته و حدود ۵۰-۴۰ میلی لیتر هگزان به آن افزوده تا نمونه رقیق شود. سپس ۱۰-۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ به آن افزوده و تکان می دهیم. سپس فاز هگزان را جدا کرده و به آن سولفات سدیم بدون آب افزوده و با گاز N۲ تا حدود ml ۱ تغلیظ می کنیم.

**فراکسیون گیری :**

برای جداسازی از ستون فلوریسیل که به صورت زیر آماده می شود، استفاده می کنیم. به منظور حذف هر گونه آلودگی ابتدا فلوریسیل را هشت ساعت با هگزان و سپس هشت ساعت دیگر با متانول یا دی کلرومتان سوکسله و در آون خشک می کنیم. فلوریسیل را با قرار دادن در آون C °۱۳۰ به مدت ۸ ساعت فعال می کنیم. سپس با آب مقطر به مقدار نیم درصد وزنی فلوریسیل آن را غیر فعال کرده در

ظرف شیشه ای با در محکم ریخته و خوب تکان می دهیم. اجازه می دهیم یک شب بماند تا به تعادل برسد.

از یک بورت شیشه ای ۵۰ میلی لیتری با قطر cm ۱۰ و شیر تفلونی جهت کروماتوگرافی ستونی استفاده می کنیم. انتهای ستون را با پشم شیشه پر می کنیم. ۱۸گرم فلوریسیل وزن کرده، داخل بشر ریخته و به آن مقداری هگزان اضافه می کنیم. با یک همزن میله ای شیشه ای همزده و مخلوط دوغابی شکل را داخل ستون می ریزیم. اجازه می دهیم به تدریج فلوریسیل داخل ستون بنشیند. سپس۱ گرم سولفات سدیم بدون آب بالای ستون اضافه می کنیم تا از سطح فلوریسیل محافظت کند.

نمونه را روی سولفات سدیم و داخل بورت ریخته و در نهایت فراکسیون $F_1$ از ستون خارج می شود.

**F۱ :**

برای خارج کردن این فراکسیون ۶۵ میلی لیتر هگزان را داخل ستون می ریزیم. سرعت عبور حلال باید طوری باشد که نه زیاد پیوسته و نه خیلی کند باشد. زمانی که نیم تا ۱ میلی لیتر هگزان در بالای ستون است شیر بورت را می بندیم. در طی این مرحله ظرف زیر ستون حاوی فراکسیون $F_1$ است که شامل OC ها مثل HCB (هگزا کلرو بنزن) و PCB و PP',OP' DDE و آلدرین و هپتاکلر و DDMU ( DDE متابولیزه شده) می باشد.

## ٦-۳- نمونه های آب

حدود ۱ لیتر از آب مورد نظر را داخل دکانتور ریخته و ۸۰ میلی لیتر هگزان نرمال به آن اضافه نموده، سپس یک میلی لیتر از محلول PCB۲۹, PCB۱۹۸ با غلظت حدود ۲۰ng/ml که به عنوان استاندارد داخلی به کار می رود به محتویات دکانتور اضافه می نماییم. حال آن را ۳ بار و هر بار به مدت یک دقیقه تکان داده (بهتر است تکان دادن بصورت عدد ۸ باشد.) پس از تشکیل دو فاز، فاز زیرین (آبی) را در دکانتور دیگری ریخته و فاز رویی (آلی) را در یک بالون ۲۵۰ میلی لیتری جمع می کنیم. به محتویات دکانتور مجددا۸۰ میلی لیتر هگزان نرمال افزوده و دوباره تکان می دهیم. صبر می کنیم تا دو فاز مورد نظر (آبی و آلی) تشکیل شود. حجم فاز زیرین (آبی) را به وسیله استوانه مدرج اندازه گرفته و فاز رویی (آلی) را در بالون قبلی جمع آوری می کنیم. لازم به ذکر است پارامترهای مورد نظر در فاز آلی جمع آوری می شوند. برای تهیه blank ۱ میلی لیتر استاندارد داخلی را داخل قیف دکانتور ریخته و عمل استخراج را انجام می دهیم .

سازمان حفاظت محیط زیست

محاسبه بازده استخراج به صورت زیر می باشد :

$$Q\ PCB\ ۲۹ = \frac{\text{سطح زیر پیک استاندارد داخلی در نمونه} * \text{مقدار استاندارد داخلی (pg)} * \text{حجم نهایی (µl)}}{\text{سطح زیر پیک استاندارد داخلی به تنهایی} * \text{حجم تزریق (µl)}}$$

$$R = \frac{Q\ PCB\ ۲۹}{\text{مقدار استاندارد داخلی در ۱(ml)}} \times ۱۰۰$$

به همین روش بازده استخراج **PCB ۱۹۸** را نیز محاسبه کرده و میانگین می گیریم :

$$Q\ PCB\ ۱۹۸ = \frac{\text{سطح زیر پیک استاندارد داخلی در نمونه} * \text{مقدار استاندارد داخلی (pg)} * \text{حجم نهایی (µl)}}{\text{سطح زیر پیک استاندارد داخلی به تنهایی} * \text{حجم تزریق (µl)}}$$

$$R = \frac{Q\ PCB\ ۱۹۸}{\text{مقدار استاندارد داخلی در ۱(ml)}} \times ۱۰۰$$

$$\bar{R} = \frac{R\ PCB\ ۲۹ + R\ PCB۱۹۸}{۲}$$

**-تغلیظ**

نمونه را با روتاری اواپریتور به حجم ۱۵-۱۰ میلی لیتر رسانده و سپس آن را با گاز نیتروژن خشک و تمیز با درجه خلوص (۹۹/۹۹۹۵٪) به حجم یک میلی لیتر می رسانیم. لازم است روتاری اواپریتور با دور ۹۰ r/min تنظیم شده و دمای حمام بیش از ۳۰ °C نباشد.

**نکته :** قدرت خلأ و دمای حمام دو عامل وابسته به یکدیگر در روتاری اواپریتور می باشند. زمانیکه خلأ ضعیف باشد دمای حمام آب باید افزایش یابد. (۴۰-۳۵°C)

سازمان حفاظت محیط زیست

**-جداسازی**

برای جداسازی از ستون فلورسیل، که به صورت زیر آماده می شود، استفاده می کنیم. به منظور حذف هر گونه آلودگی ابتدا فلورسیل را هشت ساعت با هگزان و سپس هشت ساعت دیگر با متانول یا دی کلرومتان (یا۸ ساعت مخلوط هگزان : دی کلرومتان به نسبت۱:۱) سوکسله و در آون خشک می کنیم. فلورسیل را با قرار دادن در آون C °۱۳۰ به مدت ۱۲ ساعت فعال می کنیم. سپس با آب مقطر به مقدار نیم درصد وزنی فلورسیل آن را غیر فعال کرده در ظرف شیشه ای با در محکم ریخته و خوب تکان می دهیم. اجازه می دهیم یک شب بماند تا به تعادل برسد.

از یک بورت شیشه ای ۵۰ میلی لیتری با قطر cm ۱ و شیر تفلونی جهت کروماتوگرافی ستونی استفاده می کنیم. انتهای ستون را با پشم شیشه پر می کنیم. ۱۸گرم فلورسیل وزن کرده، اجازه می دهیم به تدریج فلورسیل داخل ستون بنشیند. سپس۱ گرم سولفات سدیم بدون آب تمیز شده بالای ستون اضافه می کنیم تا از سطح فلورسیل محافظت کند.

نمونه را روی سولفات سدیم داخل بورت ریخته و در نهایت فراکسیون $F_1$ از ستون خارج می شود. نحوه جداسازی هر یک از فراکسیون **F۱** به شرح ذیل می باشد :

**F۱ :**

برای خارج کردن این فراکسیون،۷۰ میلی لیتر هگزان را داخل ستون می ریزیم. سرعت عبور حلال باید طوری باشد که نه زیاد پیوسته و نه خیلی کند باشد. زمانی که نیم تا ۱ میلی لیتر هگزان در بالای ستون است، شیر بورت را می بندیم. در طی این مرحله ظرف زیر ستون حاوی فراکسیون $F_1$ است که شامل OC ها مثل HCB (هگزا کلرو بنزن) و PCB و PP',OP'-DDE و آلدرین و هپتاکلر و DDMU ( DDE متابولیزه شده) می باشد.

**۷- آنالیز :**

اندازه گیری ترکیبات PCB بوسیله دستگاهGC/ECD با ستون کاپیلاری صورت می گیرد. در این روش فراکسیون $F_1$ به دست آمده از مرحله Clean up را تغلیظ کرده و به دستگاه تزریق می کنیم.

.

برنامه دمایی مورد استفاده جهت آنالیز بر طبق روش Moopam به صورت زیر می باشد :

**Carrier gas : N۲**

**Detector = ۳۰۰ °c**

**Inj = ۲۲۵ °c**

**Intial temperature = ۷۰ °c , hold ۲ min**

**Temperature program = ۷۰c to ۲٦۰ °c at ۳ °c /min**

**Final temperature ۲٦۰ °c hold ۱۰min**

**۸-محاسبات :**

**Qy = Quantity of compound Y in the sample injected** مقدار ترکیب Y در نمونه تزریق شده

**QyBl = Quantity of compound Y in the procedural Blank** مقدار احتمالی ترکیب Y در بلانک

$$Qy = \frac{PAySampl. \times QStd \times FVol}{PAyStd \times Vol.Inj.} \times \frac{۱۰۰}{\% \text{ Recovery}}$$

**[ C Y ] = ( Qy - QyBl. ) / Quantity Extracted**

**Where :**
**PAySam. = Peak Area of compound Y in the Sample**
**QStd = Quantity of Standard injected**
**FVol. = Final Volume of the Extract in µl**
**PAyStd. = Peak Area of Standard Y injected**
**Vol.Inj. = Volume of Sample Injected in µl**

سازمان حفاظت محیط زیست

**CY = Concentration of Compound Y in the Sample**

## ۸-گزارش :

موارد زیر در گزارش ذکر شود :

- ارجاع به استاندارد بین المللی
- مشخصات کامل نمونه
- نتیجه آنالیز PCB بادو رقم اعشار
- هر گونه مشکل و وضعیت خاص در طی مراحل آزمون

## ۹- مراجع و مستندات مرتبط :

استاندارد MOOPAM

سازمان حفاظت محیط زیست