

Izocyjanian cykloheksylu

Metoda oznaczania w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej¹

Cyclohexyl isocyanate

Determination in workplace air with high-performance liquid chromatography

dr SŁAWOMIR BRZEŹNICKI

<https://orcid.org/0000-0002-0542-8538>

slawomir.brzeznicki@imp.lodz.pl

mgr MARZENA BONCZAROWSKA

<https://orcid.org/0000-0003-3612-0656>

marzena.bonczarowska@imp.lodz.pl

Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera

Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź

Numer CAS

3173-53-3

Streszczenie

Izocyjanian cykloheksylu (ICH) powstaje w wyniku reakcji dehydratacji *N*-cykloheksyloformamidu. Związek ten występuje w postaci bezbarwnej lub lekko żółtawej cieczy o nieprzyjemnym ostrym zapachu. ICH stosowany jest głównie (jako produkt pośredni) w produkcji leków, pestycydów i innych związków karbaminowych. Stosowany jest również jako inicjator procesu polimeryzacji przy produkcji poliuretanów, gumy oraz mas plastycznych. Szkodliwe działanie tego związku wynika z jego silnych właściwości drażniących i uczulających. Jak inne izocyjaniany jest czynnikiem drażniącym skórę, błony śluzowe oczu i górnych dróg oddechowych. Zawodowe narażenie na pary ICH może powodować astmę.

Celem pracy badawczych było opracowanie odpowiednio czulej metody oznaczania ICH w powietrzu na stanowiskach pracy umożliwiającej, zgodnie z wymaganiami PN-EN 482, oznaczanie stężeń tych związków w zakresie $1/10 \div 2$ wartości NDS.

Wszystkie badania wykonano przy zastosowaniu chromatografu cieczowego Waters Alliance wyposażonego w detektor spektrofotometryczny i kolumnę Ascentis Express RP-Amide 250 \times 3 mm o uziarnieniu 5 μ m.

Metoda polega na: zatrzymaniu obecnego w powietrzu ICH na filtrze z włókna szklanego impregnowanego roztworem 1-(2-pyridylo)piperazyny (1,2-PP), ekstrakcji powstałej pochodnej za pomocą mieszaniny acetonitrylu i dimetylosulfotlenku, a następnie chromatograficznym oznaczeniu stężenia badanego związku. Średnia (dla trzech stężeń) wartość współczynnika odzysku pochodnej ICH z filtrów wynosi 0,97. Zależność wskazań detektora spektrofotometrycznego od analizowanych stężeń ICH ma charakter liniowy ($r = 0,9991$) w zakresie $0,27 \div 5,33 \mu\text{g/ml}$ ($0,004 \div 0,08 \text{ mg/m}^3$ dla próbki powietrza o objętości 200 l). Granica wykrywalności i oznaczalności wynosi odpowiednio

¹ Publikacja opracowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach IV etapu programu wieloletniego: „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2017-2019 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Narodowe Centrum Badań i Rozwoju.

Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

0,0056 i 0,019 µg/ml. Opisana metoda pozwala na selektywne oznaczanie ICH w obecności innych izocyjanianów. Metoda spełnia opisane w normie PN-EN 482 kryteria czułości, precyzji i dokładności. Metoda oznaczania ICH została przedstawiona w postaci procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku. Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny środowiska pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

Słowa kluczowe: izocyjaniany, narażenie zawodowe, powietrze na stanowisku pracy, wysokosprawna chromatografia cieczowa, nauki o zdrowiu, inżynieria środowiska.

Abstract

Cyclohexyl isocyanate (ICH) is produced in dehydration reaction of N-cyclophosphorylamide. ICH is a colorless to pale yellow liquid with a sharp acrid odor. ICH is mainly used in manufacturing cyclohexyl carbamates or ureas for agricultural chemicals or pharmaceutical use. It is also used in polyurethane plastics, rubber or other plastics. Adverse effect of ICH is related to its irritant and sensitizing properties. As other isocyanates, it is irritating to the skin, mucous membranes, eyes and respiratory tract. Occupational exposure to ICH vapors can cause asthma. The aim of this study was to develop and validate a sensitive method for determining ICH concentrations in workplace air in the range from 1/10 to 2 MAC values, in accordance with the requirements of standard PN-EN 482. The study was performed using a liquid chromatograph equipped with spectrofluorometric detector (FLD). All chromatographic analysis were performed with Ascentis Express RP-Amide 250 × 3 mm analytical column, which was eluted with acetonitrile and water mixture. This method is based on the collection of ICH on glass fiber filter coated with 1-(2-pyridyl)piperazine solution, extraction of formed derivatives with mixture of acetonitrile with dimethylsulfoxide and chromatographic determination of resulted solution with HPLC technique. The average recovery of ICH from filters was 0.93. This method is linear ($r = 0.9991$) within the investigated working range of 0.27–5.33 µg/ml, which is equivalent to air concentrations from 0.004–0.08 mg/m³ for a 200-L air sample. Calculated limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of ICH were 0.0056 and 0.019 µg/ml respectively. The method described in this paper makes it possible to selectively determine ICH in workplace air in the presence of other compounds at concentrations of 0.004 mg/m³ (< 1/10 MAC value). This method is precise, accurate and it meets the criteria for procedures for measuring chemical agents listed in standard PN EN 482. This method can be used for assessing occupational exposure to ICH and associated risk to workers' health. The developed method of determining ICH has been recorded as an analytical procedure (see Appendix). This article discusses the problems of occupational safety and health, which are covered by health sciences and environmental engineering.

Keywords: isocyanates, occupational exposure, workplace air, high performance liquid chromatography, health sciences, environmental engineering.

WPROWADZENIE

Izocyjanian cykloheksylu (ICH) powstaje w reakcji dehydratacji N-cykloheksyloformamidu. Związek ten występuje w postaci bezbarwnej lub lekko żółtawej cieczy o nieprzyjemnym, ostrym zapachu. ICH dobrze rozpuszcza się w dimetylu sulfotlenku (DMSO), 95-procentowym roztworze etanolu i acetonie. W kontakcie z wodą ulega hydrolizie. W podwyższonej temperaturze ulega samoczynnej polimeryzacji z uwolnieniem ditlenku węgla i ciepła. Gwałtownie reaguje ze środkami utleniającymi takimi jak alkohole, kwasy, zasady, aminy lub metale. ICH stosowany jest głównie (jako produkt

pośredni) w produkcji leków, pestycydów i innych związków karbaminowych. Stosowany jest również jako inicjator procesu polimeryzacji przy produkcji poliuretanów, gumy oraz mas plastycznych (HSDB 2014; Skowroń 2005).

Głównymi drogami narażenia na ICH w warunkach ekspozycji zawodowej są drogi oddechowe i bezpośredni kontakt ze skórą. Szkodliwe działanie tego związku wynika z jego silnych właściwości drażniących i uczulających. U pracowników narażonych na ICH drogą inhalacyjną stwierdzano trudności w oddychaniu, duszność i suchy

kaszel. Bezpośrednie działanie na skórę objawia się pojawianiem obrzęków i zaczerwienień. ICH może także działać szkodliwie na błony śluzowe oczu i powodować oparzenia lub uszkadzać rogówkę (Skowroń 2005).

Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny środowiska pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

Klasyfikacja izocyjanianu cykloheksylu

ICH nie jest klasyfikowany urzędowo w Unii Europejskiej i nie ma klasyfikacji zharmonizowanej

zgodnej z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r.

W tabeli 1. przedstawiono zgodną z największą liczbą zgłoszeń klasyfikację producentów i importerów ICH zamieszczoną w zgłoszeniu rejestracyjnym do Europejskiej Agencji Chemicznych (ECHA).

Tabela 1.

Klasyfikacja i oznakowanie izocyjanianu cykloheksylu (ICH) podane przez producentów i importerów w zgłoszeniu rejestracyjnym do ECHA

Klasyfikacja zagrożenia i kody kategorii	Kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia
Flam. Liq. 3 Substancja ciekła łatwopalna (kat. 3)	H226 – łatwopalna ciecz i pary
Acute Tox. 4, oral Toksyczność ostra – droga pokarmowa (kat. 4)	H302 – działa szkodliwie po połknięciu
Acute Tox. 4, derma Toksyczność ostra – skóra (kat. 4)	H312 – działa szkodliwie w kontakcie ze skórą
Acute Tox. 2, inhal. Toksyczność ostra – droga oddechowa (kat. 2)	H330 – wdychanie grozi śmiercią
Skin Irrit. 2 Działanie żrące/drażniące na skórę (kat. 1B)	H315 – działa drażniąco na skórę
Skin Sens 1 Działanie uczulające na skórę (kat. 1)	H317 – może powodować reakcję alergiczną skóry
Resp. Sens 1 Działanie mutagenne na komórki rozrodcze – po podaniu drogą dożołądkową (kat. 1B)	H334 – może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania
STOT 3 SE Działanie toksyczne na narządy docelowe – narażenie jednorazowe (kat. 3)	H335 – może powodować podrażnienie dróg oddechowych

Obowiązująca wartość NDS

Zgodnie z rozporządzeniem Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej z dnia 12 czerwca 2018 r. najwyższe dopuszczalne stężenie (NDS) dla izocyjanianu cykloheksylu w powietrzu na stanowiskach pracy wynosi 0,04 mg/m³.

Z uwagi na niespełnianie przez polską normę PN-Z-04131-5:2008 wymagań normy EN-PN 482 w zakresie czułości oznaczeń ICH na stanowiskach pracy konieczne było opracowanie odpowiednio czulej i selektywnej metody oznaczania tego związku w powietrzu na stanowiskach pracy, umożliwia-

jącej pomiary stężeń, a następnie dokonanie oceny narażenia zawodowego zgodnie z zaleceniami zawartymi w normie PN-EN 482.

Metody analityczne stosowane w oznaczeniach izocyjanianów

Do oznaczania izocyjanianów w powietrzu wykorzystywana jest technika wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Oznaczenie izocyjanianów tą techniką wymaga uprzedniego przekształcenia obecnych w powietrzu związków w trwałe pochodne (derywatywacja). Metodę

oznaczania izocyjanianów w powietrzu zaproponował National Institute of Occupational Safety and Health (NIOSH 1998). Polega ona na przepuszczeniu badanego powietrza przez płuczkę zawierającą toluenowy roztwór 1-(2-metoksyfenylo)piperazyny i oznaczeniu powstałych trwałych pochodnych techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Kolejne metody oznaczania izocyjanianów opracowane w NIOSH zakładały wykorzystanie do celów derywatywacji tryptaminy (NIOSH 1998) i 1-(9-antracenylo)metylo-piperazyny (NIOSH 2003). Metoda opracowana w laboratoriach Health and Safety Executive (HSE) zakładała wykorzystanie do derywatywacji 1-(2-metoksyfenylo)piperazyny (płuczka i filtr)

oraz oznaczenie powstałej pochodnej techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną lub elektrochemiczną (HSE 2014). Metody opracowane przez pracowników Occupational Safety and Health Administration (OSHA) zakładały zastąpienie płuczek filtrami z włókna szklanego, które nasączano roztworem 1-(2-pirydylo)piperazyny (1,2-PP). Powstałe pochodne po ekstrakcji oznaczają się techniką HPLC z detekcją spektrofotometryczną lub fluorescencyjną (OSHA 1989a; 1989b). Oznaczanie izocyjanianów (w postaci pochodnej z dibutyloaminą) możliwe jest również przy zastosowaniu wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z detektorem mas (Nordquist i in. 2003; Driffield i in. 2007).

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Założenia opracowanej metody

Na podstawie dostępnych w piśmiennictwie danych dotyczących oznaczania izocyjanianu w powietrzu do opracowania metody postanowiono wykorzystać technikę chromatografii cieczowej z detekcją spektrofluorymetryczną zapewniającą największą czułość oznaczeń. Do pobierania próbek powietrza postanowiono zastosować technikę dozimetrii indywidualnej z wykorzystaniem filtrów szklanych nasączonych roztworem 1,2-PP z uwagi na powszechność stosowania tego czynnika derywatywującego w oznaczeniach izocyjanianów oraz dostępność w handlu gotowych filtrów impregnowanych 1,2-PP. Opracowując metodę oznaczania ICH w powietrzu, przyjęto następujące założenia:

- pobieranie dwóch próbek na zmianę roboczą,
- objętość pobranego powietrza około 200 l,
- zakres pomiarowy $0,27 \div 5,33 \mu\text{g/ml}$, co odpowiada stężeniu czystego związku w granicach $0,004 \div 0,08 \text{ mg/m}^3$ (dla próbki powietrza o objętości 200 l).

Aparatura

W badaniach wykorzystano chromatograf cieczowy firmy Waters model Alliance 2695 wyposażony w pompę poczwórną, termostat, detektor spektrofluorymetryczny Waters 2475 (FLD), ko-

lumnę analityczną Ascentis Express RP Amide ($250 \times 3 \text{ mm}$, średnica ziaren $5 \mu\text{m}$, wypełniona żelazem krzemionkowym modyfikowanym łańcuchami węglowymi (C-18) z wbudowanymi grupami amidowymi), automatyczny dozownik próbek i komputer z programem sterowania i zbierania danych. Do pobierania próbek powietrza zastosowano średnioprzepływowe aspiratory indywidualne (GilAir 3 firmy Gililian) umożliwiające pobieranie próbek powietrza ze strumieniem objętości około 60 l/h. Ekstrakcji analizowanych związków z filtrów dokonywano przy zastosowaniu wytrząsarki mechanicznej Buhler SM 30 Control. Do odważania odczynników stosowano wagę analityczną firmy Sartorius.

Materiały i odczynniki

W badaniach wykorzystano filtry z włókna szklanego Whatman GF/A 37 mm, filtry strzykawkowe z membraną z PTFE (Supelco), pipety automatyczne oraz szkło miarowe klasy A. Do badań stosowano odczynniki o czystości co najmniej cz.d.a. lub do HPLC firm JT Baker (acetonitryl, toluen, metanol), Sigma – Aldrich (1-(2-pirydylo)-piperazyna), POCh (dimetylu sulfotlenek). Wzorzec pochodnej ICH z 1-(2-pirydylo)piperazyną zsyntetyzowano w laboratorium. Woda o czystości do HPLC pochodziła ze stacji oczyszczania wody Hydrolab R-10.

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Dobór optymalnych warunków rozdzielania chromatograficznego

Oznaczanie izocyjanianów techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej wymaga przekształcenia badanych związków w trwałe pochodne możliwe do oznaczenia metodą spektrofotometryczną lub spektrofluorymetryczną. Każda substancja reagująca z czynnikiem derywatyżującym np. 1,2-PP może interferować z pochodną ICH. Obecność w badanej próbce substancji interferujących wymaga dobrania warunków rozdzielania chromatograficznego (rodzaj kolumny analitycznej, modyfikacja składu fazy ruchomej, pH fazy ruchomej), tak by umożliwić selektywne oznaczenie pochodnej ICH. Dane literaturowe wskazują, że izocyjaniany w postaci pochodnych można oznaczać techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej przy zastosowaniu kolumn analitycznych wypełnionych złożem C-8 (NIOSH 1998; 2003; OSHA 1994), C-18 (HSE 2014; NIOSH 1998) i CN (OSHA 1994), lub fazą oktadecylołą z wbudowanymi w łańcuch węglowy grupami amidowymi (Cramer 2005). Zastosowanie tej ostatniej fazy stacjonarnej umożliwia analizę pochodnych izocyjanianów z wykorzystaniem fazy ruchomej złożonej z acetonitrylu i wody bez konieczności używania nietrwałych roztworów buforowych. Celem określenia warunków selektywnego oznaczania ICH w obecności innych izocyjanianów w mieszaninie acetonitrylu i dimetylu sulfotlenku (ACN: DMSO 9: 1; $v: v$) przygotowano roztwory pochodnych izocyjanianu cykloheksylu (ICH), izocyjanianu 3-izocyjanianometylo-3,5,5-trimetylocykloheksylu (DIF), diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu (2,4-TDI), diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu (2,6-TDI), diizocyjanianu heksano-1,6-diyłu (HDI) i 4,4'-metyleno-

bis(fenyloizocyjanianu (MDI) z 1,2-PP. Mieszaninę roztworów pochodnych poddano analizie chromatograficznej. Optymalne warunki rozdzielania chromatograficznego dla pochodnej ICH i pochodnych pozostałych izocyjanianów mogących występować w badanym powietrzu dobierano przy zastosowaniu kolumny Ascentis Express RP-Amide 250 × 3 mm wypełnionej złożem o średnicy ziaren 5 μm . Jako fazę ruchomą zastosowano mieszaninę acetonitrylu i wody o zmiennym w trakcie trwania analizy składzie procentowym (elucja gradientowa). Długość fali wzbudzenia i emisji detektora FLD ($\lambda_{\text{ex}} = 240$ i $\lambda_{\text{em}} = 370$ nm) dobrano na podstawie danych literaturowych (OSHA 1988).

Zastosowane w analizie warunki pracy chromatografu cieczowego (tabela 2.) umożliwiają selektywne oznaczenie pochodnej ICH w obecności nadmiaru czynnika derywatyżującego (1,2-PP), jak również w mieszaninie innych, najczęściej stosowanych w przemyśle izocyjanianów (izocyjanianu 3-izocyjanianometylo-3,5,5-trimetylocykloheksylu (DIF), diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu (2,4-TDI), diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu (2,6-TDI), diizocyjanianu heksano-1,6-diyłu (HDI) i 4,4'-metylenobis(fenyloizocyjanianu (MDI)). Chromatogram mieszaniny sześciu pochodnych izocyjanianów rozdzielonych na kolumnie Ascentis Express RP-Amide przy zastosowaniu podanych w tabeli 2. warunków pracy chromatografu cieczowego przedstawiono na rysunku 1. Podane warunki oznaczania ICH można modyfikować (zmiana kolumny, fazy ruchomej), dostosowując zdolność rozdzielczą układu chromatograficznego do konkretnych potrzeb wynikających z obecności w badanym środowisku pracy substancji innych niż badana.

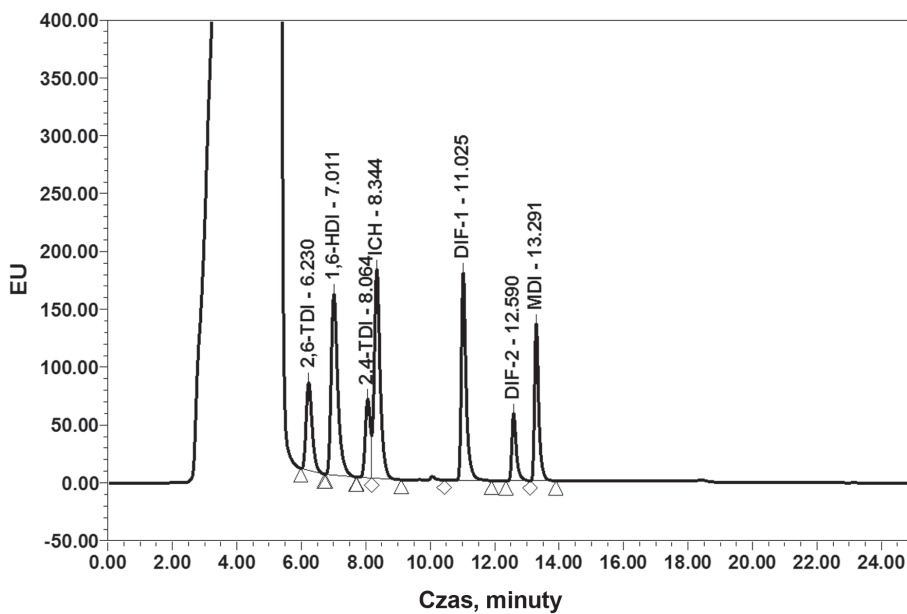
Tabela 2.

Warunki pracy chromatografu cieczowego z detektorem FLD

Kolumna analityczna Ascentis Express RP-Amide 250 × 3 mm, 5 μm		
Faza ruchoma Program – gradient ($v: v$)	acetonitryl (A)	woda (B)
0 min	35	65
2 min	35	65
10 min	60	40
12 min	60	40
12,5 min	35	65
23 min	35	65

cd. tab. 2.

Kolumna analityczna Ascentis Express RP-Amide 250 × 3 mm, 5 μm	
Natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej	0,4 ml/min
Temperatura kolumny	40 °C
Długość fali wzbudzenia/emisji	240 nm / 370 nm
Objętość próbki	2 μl



Rys. 1. Chromatogram mieszaniny 6 związków (pochodne: 2,6-TDI; 1,6-HDI; 2,4-TDI; ICH, izomery DIF oraz MDI). Kolumna Ascentis Express RP-Amide. Detektor FLD

Badanie zakresu stosowania liniowości i precyzji metody analitycznej

W celu zbadania zakresu roboczego metody oznaczania ICH przygotowano 3 serie po 7 filtrów szklanych nasączonych roztworem 1,2-PP, na które naniesiono po 100 μl roztworów wzorcowych pochodnej ICH o stężeniach: 19,8; 39,5; 98,8; 197,5; 296,3 i 395 μg/ml, co odpowiada stężeniom czystego związku: 0; 8; 16; 40; 80; 120 i 160 μg/ml. Po odparowaniu rozpuszczalnika filtry umieszczono w naczynkach szklanych o pojemności 4 ml, a następnie poddano 30-minutowej ekstrakcji przy użyciu 3 ml roztworu do ekstrakcji (ACN: DMSO) i wytrząsarki mechanicznej. Stężenia czystego związku w 1 ml ekstraktu wynoszą odpowiednio: 0,27; 0,53; 1,33; 2,67; 4,0 i 5,33 μg. Tak uzyskane roztwory wzorców ICH przepuszczano przez filtry strzykawkowe z membraną z PTFE o średnicy porów 0,45 μm i poddano analizie chromatograficznej.

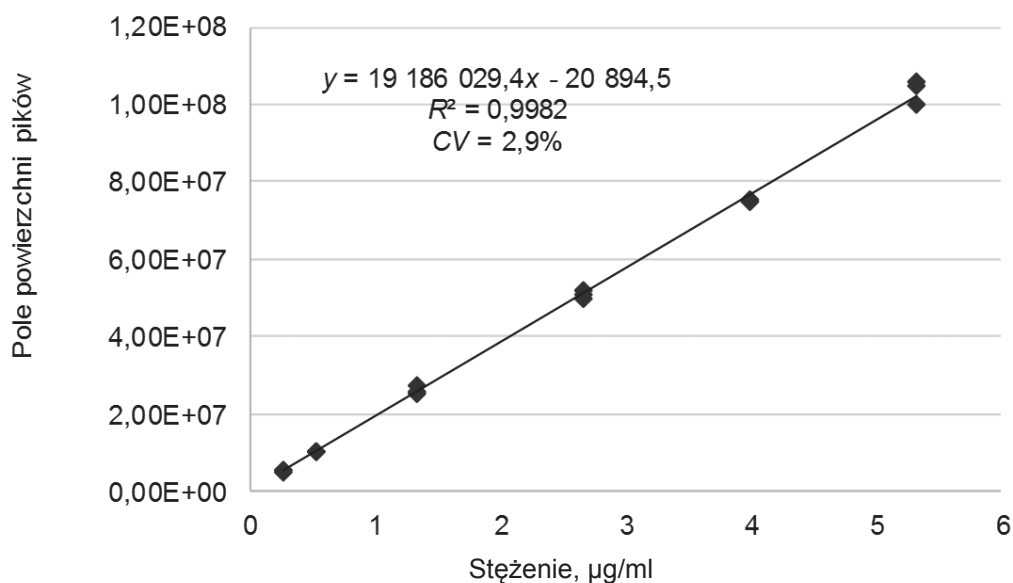
Wyniki badania liniowości metody w badanym zakresie stężeń przedstawiono w tabeli 3. i graficznie na rysunku 2. Z uzyskanych danych wynika, że zależność odpowiedzi detektora spektrofluorymetrycznego w badanym zakresie stężeń 0,27 ÷ 5,33 μg/ml ma charakter liniowy. Zależność tę opisuje równanie $y = 19186029,4x - 20894,5$. Wyrażony w procentach współczynnik zmienności (CV) dla trzech serii kalibracyjnych wynosi 2,9%, współczynnik regresji $r = 0,9991$.

Precyzję oznaczeń sprawdzono w oparciu o analizy ($n = 10$) roztworów ICH o stężeniach czystego związku wynoszących: 0,27; 1,33 i 5,33 μg/ml. Wyniki tych badań przedstawiono w tabeli 4. Wartości względnego odchylenia standardowego rozrzułów uzyskanych wyników w stosunku do wartości średnich dla badanych stężeń wynoszą odpowiednio: 3,1; 2,9 i 2,8%, co świadczy o wysokiej precyzji oznaczeń.

Tabela 3.

Wyniki wzorcowania izocyjanianu cykloheksylu (ICH) na filtrach z włókna szklanego nasączonych roztworem 1,2-PP

Badane parametry	Stężenie ICH, µg/ml					
	0,27	0,53	1,33	2,67	4,00	5,33
Pola powierzchni pików	5 111 460,8 5 308 960,5 5 433 558,7	9 993 047,7 10 487 495,5 10 117 365,4	25 219 572,0 25 846 611,6 27 298 216,7	49 709 024,2 51 937 202,9 50 718 547,5	74 725 152,4 75 302 029,0 75 020 072,0	99 972 266,4 105 918 306,4 104 800 796,3
Średnia wartość pola powierzchni pików	5 284 659,9	10 199 302,9	26 121 466,8	50 788 258,2	75 015 751,1	103 563 789,7
Odchylenie standardowe, SD	162 418,1	257 206,0	1 066 231,7	1 115 723,9	288 462,6	3 160 140,3
Współczynnik zmienności, CV, %	3,1	2,5	4,1	2,2	0,4	3,1



Rys. 2. Krzywa wzorcową izocyjanianu cykloheksylu (ICH) na filtrach z włókna szklanego nasączonych roztworem 1,2-PP

Tabela 4.

Badanie precyzji analiz pochodnej izocyjanianu cykloheksylu (ICH)

Numer analizy	Stężenie ICH, µg/ml		
	0,27	1,33	5,33
1	5 225 880,28	32 327 794,97	106 424 898,96
2	4 814 824,78	30 231 545,90	105 287 086,64
3	4 947 651,67	30 279 878,53	100 344 807,66
4	5 022 642,41	29 226 636,52	101 595 637,91
4	5 251 657,50	31 232 834,35	109 922 052,56
6	5 048 861,34	31 037 089,26	108 427 848,19
7	5 347 200,97	30 814 238,90	107 184 267,74
8	5 002 606,89	31 075 539,27	104 054 383,39
9	5 015 052,50	30 481 551,37	107 508 318,06
10	5 111 589,68	31 900 492,66	105 314 970,64
Średnia	5 078 796,80	30 860 760,17	105 606 427,21
Odchylenie standardowe, SD	158 264,4	881 826,0	2 976 361,3
Współczynnik zmienności, CV, %	3,12	2,86	2,82

Badanie warunków pobierania próbek powietrza

W celu zbadania ewentualnych strat ICH podczas pobierania próbek powietrza przygotowano 3 serie po 6 filtrów z włókna szklanego pokrytych roztworem 1,2-PP, na które naniesiono po 100 μ l roztworów wzorcowych pochodnej ICH o stężeniach czystego związku wynoszących 8; 40 i 160 μ g/ml. Po odparowaniu rozpuszczalnika filtry umieszczono w głowicach do pobierania próbek i przepuszczono przez nie za pomocą średnioprzepływowych aspiratorów indywidualnych 200 l powietrza ze stałym strumieniem objętości 1 l/min. Następnie filtry przeniesiono do naczynek szklanych o pojemności 4 ml i poddano 30-minutowej ekstrakcji przy użyciu 3 ml mieszaniny ACN: DMSO oraz wytrząsarki mechanicznej. Ekstrakty przesączono przez filtry strzykawkowe z PTFE o średnicy porów 0,45 μ m i poddano analizie chromatograficznej w usta-

lonych wcześniej warunkach. Wartości pól powierzchni pików badanego związku uzyskane w analizach ekstraktów porównano z wynikami analiz ekstraktów filtrów, na które naniesiono takie same ilości pochodnej ICH i przez które nie przepuszczano powietrza.

Wyniki badań dotyczących warunków pobierania próbek powietrza przedstawiono w tabeli 5. Przyjęty sposób pobierania próbek powietrza nie powoduje powstawania istotnych strat analitu. Średnie wartości współczynnika odzysku ICH z filtrów z włókna szklanego pokrytych roztworem 1,2-PP, przez które przepuszczono próbkę powietrza o objętości 200 l, dla trzech analizowanych zawartości czystego ICH na filtrach (0,8; 4 i 16 μ g/na filtrze) wynoszą odpowiednio: 0,97 ($SD - 0,024$); 0,97 ($SD - 0,019$) i 0,9 ($SD - 0,019$). Średnia dla trzech stężeń wartość współczynnika odzysku wynosi 0,94 ($SD - 0,037$).

Tabela 5.

Badanie warunków pobierania próbek powietrza do oznaczeń izocyjanianu cykloheksylu (ICH)

Medium pochłaniające	Zawartość ICH na filtrze, μ g	Pole powierzchni pików		Współczynnik odzysku	Średnia wartość współczynnika odzysku	
		roztwór kontrolny	ekstrakt			
Filtr z włókna szklanego nasączony roztworem 1,2-PP	0,8	4 515 849,573	4 363 356,024	0,98	0,97	
		4 740 022,320	4 201 115,333	0,94		
		4 169 944,318	4 227 684,520	0,95		
	4	4 399 636,688	4 399 636,688	0,98		
		4 456 742,893	4 456 742,893	1,00		
		4 435 610,707	4 435 610,707	0,99		
				SD 0,024		0,96
				CV 2,5 %		
		23 914 165,399	23 580 298,605	0,97		
24 096 500,313	23 409 942,642	0,97				
24 752 674,207	22 743 419,777	0,94				
23 094 622,337	23 094 622,337	0,95				
16	22 490 333,195	22 490 333,195	0,93			
	23 653 780,071	23 653 780,071	0,98			
			SD 0,019	0,90		
			CV 2,0 %			
	103 819 719,531	98 701 707,409	0,89			
	118 491 740,300	99 835 844,025	0,90			
111 075 916,123	104 277 389,298	0,94				
99 853 713,753	99 853 713,753	0,90				
		98 266 620,436	0,88			
		99 687 672,554	0,90			
				SD 0,019		
				CV 2,1 %		
Średni współczynnik odzysku, \bar{r} , %		0,94				
Odchylenie standardowe, SD		0,037				
Współczynnik zmienności, CV , %		3,9				

Badanie warunków przechowywania próbek izocyjanianu cykloheksylu (ICH) pobranych na filtry nasączone roztworem 1,2-PP

W celu zbadania trwałości próbek ICH pobranych na filtry nasączone roztworem 1,2-PP przygotowano 3 serie po 18 filtrów, na które naniesiono po 100 μ l roztworów wzorcowych pochodnej ICH o stężeniach czystego związku: 8; 40 i 160 mg/ml. Po odparowaniu rozpuszczalnika filtry szczelnie zamknięto w naczynkach szklanych o pojemności 4 ml i umieszczono w chłodziarce. Po 10; 20 i 30 dniach przechowywania poddawano ekstrakcji po 6 filtrów z każdego stężenia (30 min, 3 ml mieszaniny ekstrakcyjnej ACN: DMSO, wytrząsarka mechaniczna). Ekstrakty przepuszczono przez filtry strzykawkowe z membraną z PTFE o średnicy porów 0,45 μ m i poddano analizie chromato-

graficznej. Wartości pól powierzchni pików badanego związku uzyskane w analizach ekstraktów porównano z wynikami analiz ekstraktów wzorców o takich samych stężeniach przygotowanych w dniu analizy.

Wyniki badań warunków przechowywania ICH na filtrach z włókna szklanego pokrytych roztworem 1,2-PP przedstawiono w tabeli 6. Z zamieszczonych danych wynika, że przechowywane w chłodziarce próbki ICH pobrane na filtry z włókna szklanego nasączone roztworem 1,2-PP są trwałe przez 30 dni. Wyrażone w procentach średnie wartości odzysku ICH dla próbek (0,8; 4 i 16 μ g czystego ICH na filtrze) po 30 dniach przechowywania wynoszą 100,4%; (*SD* – 4,4); 98,1% (*SD* – 2,9) i 95,1% (*SD* – 11,4). Średnia dla trzech stężeń wartość odzysku wynosi 95,8% (*SD* – 7,1).

Tabela 6.

Wpływ czasu przechowywania na trwałość izocyjanianu cykloheksylu (ICH) pobranego na filtr nasączony roztworem 1,2-PP

Czas, liczba dni	Zawartość ICH na filtrze, μ g					
	0,8 [% odzysku]		4 [% odzysku]		16 [% odzysku]	
10	99,9%	103,4%	99,2%	97,7%	97,9%	97,8%
	105,5%	102,4%	98,9%	98,6%	92,9%	87,9%
	103,4%	101,4%	98,3%	116,3%	97,2%	98,1%
	<i>Śr</i>	102,7 %	<i>Śr</i>	101,5 %	<i>Śr</i>	95,3%
	<i>SD</i>	1,9	<i>SD</i>	7,3	<i>SD</i>	4,1
	<i>CV</i>	1,9%	<i>CV</i>	7,2%	<i>CV</i>	4,3%
	Średnia wydajność ekstrakcji,		<i>Śr</i> 99,8%			
	Odchylenie standardowe,		<i>SD</i> 5,7			
	Współczynnik zmienności,		<i>CV</i> 5,7%			
20	97,6%	97,0%	100,8%	99,5%	97,3%	95,4%
	97,8%	97,7%	100,0%	99,8%	97,9%	97,7%
	98,4%	84,0%	95,9%	101,4%	96,2%	95,1%
	<i>Śr</i>	95,4 %	<i>Śr</i>	99,6 %	<i>Śr</i>	96,6 %
	<i>SD</i>	5,6	<i>SD</i>	1,9	<i>SD</i>	1,2
	<i>CV</i>	5,9%	<i>CV</i>	1,9%	<i>CV</i>	1,2%
	Średnia wydajność ekstrakcji,		<i>Śr</i> 101,6%			
	Odchylenie standardowe,		<i>SD</i> 2,3			
	Współczynnik zmienności,		<i>CV</i> 2,2%			
30	100,4%	102,6%	96,6%	98,3%	97,1%	95,0%
	91,7%	102,5%	97,4%	99,9%	99,2%	113,1%
	102,9%	101,1%	102,4%	93,9%	85,1%	81,0%
	<i>Śr</i>	100,4%	<i>Śr</i>	98,1%	<i>Śr</i>	95,1%
	<i>SD</i>	4,4	<i>SD</i>	2,9	<i>SD</i>	11,4
	<i>CV</i>	4,4%	<i>CV</i>	3,0%	<i>CV</i>	11,9%
	Średnia wydajność ekstrakcji,		<i>Śr</i> 97,8%			
	Odchylenie standardowe,		<i>SD</i> 7,1			
	Współczynnik zmienności,		<i>CV</i> 7,3%			

Wyznaczanie granic wykrywalności i oznaczalności

Badanie granicy wykrywalności i oznaczalności ICH przeprowadzono zgodnie z wytycznymi zawartymi w opracowaniu Dobeckiego (Dobecki 2000). Obliczono wartość średnią i odchylenie standardowe sygnału tła o czasie retencji izomerów pochodnych ICH uzyskanych z analizy ekstraktów 20 filtrów pokrytych roztworem 1,2-PP (próbki zerowe), a następnie, uwzględniając współczynnik nachylenia krzywej wzorcowej, obliczono granicę wykrywalności (GW) i granicę oznaczalności (GO) na podstawie wzorów:

$$GW = \frac{SD \cdot 3}{b} \text{ i } GO = \frac{SD \cdot 10}{b},$$

Tabela 7.

Wyznaczanie granic wykrywalności (GW) i oznaczalności (GO) izocyjanianu cykloheksylu (ICH) oznaczonego techniką HPLC-FLD

Wyznaczone parametry	Wartości sygnału (pola powierzchni pików)	
		125 623,0 221 946,8 150 128,2 126 789,2 165 298,3 148 113,8 131 682,3 125 871,1 151 410,1 81 085,8
Średnie pole powierzchni, $n = 20$	133 799,4	
Odchylenie standardowe, SD	35 859,6	
Współczynnik zmienności, CV , %	26,8	
Granica wykrywalności, X_{GW} , $\mu\text{g/ml}$	0,0056	
Granica oznaczalności, X_{GO} , $\mu\text{g/ml}$	0,019	

Walidacja metody

Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami normy PN-EN 482.

Na podstawie przeprowadzonych badań uzyskano następujące dane walidacyjne:

- granica wykrywalności 0,0056 $\mu\text{g/ml}$
- granica oznaczalności 0,019 $\mu\text{g/ml}$
- zakres pomiarowy metody 0,27 ÷ 5,33 $\mu\text{g/ml}$

gdzie:

- SD – odchylenie standardowe,
- b – współczynnik nachylenia krzywej kalibracyjnej.

Wyniki analiz dotyczących wyznaczania granic wykrywalności i oznaczalności ICH z zastosowaniem techniki HPLC-FLD przedstawiono w tabeli 7. Obliczone granice wykrywalności i oznaczalności metody wynoszą odpowiednio: 0,0056 $\mu\text{g/ml}$ i 0,0187 $\mu\text{g/ml}$.

(stężenia czystego związku)
0,004 ÷ 0,08 mg/m^3
(dla próbki powietrza 200 l)

- współczynnik korelacji $r = 0,9992$
- precyzja badania 9,2%
- względna niepewność całkowita 11%.

Podsumowanie

Do oznaczania stężeń ICH w powietrzu na stanowiskach pracy zaproponowano metodę polegającą na zatrzymaniu tych związków (w postaci pochodnych) na filtrach z włókna szklanego nasączonych roztworem 1,2-PP. Powstałe pochodne można z wysoką (ok. 100%) wydajnością ekstrahować z filtrów przy użyciu mieszaniny acetonitrylu i dimetylu sulfotlenku zmieszanych w stosunku 9: 1. Zastosowanie w analizie kolumny Ascentis

Exspress RP-Amide o wymiarach 250 × 3 mm i elucji gradientowej pozwala na selektywne oznaczenie ICH w obecności innych izocyjanianów (TDI, DIF, HDI, MDI). Opracowana metoda umożliwiła oznaczenie stężeń tych związków w granicach 0,004 ÷ 0,08 mg/m³ (1/10 ÷ 2 wartości NDS). Opracowaną metodę oznaczania ICH w powietrzu na stanowiskach pracy przedstawiono w postaci procedury analitycznej zamieszczonej w załączniku.

PIŚMIENNICTWO

Cramer H.M. (2005). Analysis of 1-(2-pyridyl)-piperazine (12PP) Derivatives of Diisocyanates Using Ascentis™ RP-Amide. Application Report 220. Sigma-Aldrich [https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Supelco/Application_Notes/t005220.pdf].

Dobecki M. (2000). Walidacja metod badań chemicznych i pyłowych zanieczyszczeń powietrza na stanowiskach pracy. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy [Principles and Methods of Assessing the Working Environment] 3(25), 5–14.

Driffield M., Bradley E.L., Castle L. (2007). A method of test for residual isophorone diisocyanate trimer in new polyester-polyurethane coatings on light metal packaging using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. J. Chromatogr. A. 1141(1), 61–66.

ECHA (2019). Cyclohexyl isocyanate. Summary of Classification and Labelling [https://echa.europa.eu/pl/information-on-chemicals/cl-inventory-database/-/discli/details/62578].

HSDB (2012). Cyclohexyl isocyanate [https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~t8nAQQ:1].

HSE (2014). Methods for the Determination of Hazardous Substances. MDHS 25/4. Organic isocyanates in air [http://www.hse.gov.uk/pubns/mdhs/].

NIOSH (1994). Manual of Analytical Methods. Isocyanates. Monomeric. Method 5521. Fourth Edition [https://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/5521.pdf].

NIOSH (1998). Manual of Analytical Methods. Isocyanates. Method 5522. Fourth Edition [https://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/5522.pdf].

NIOSH (2003). Manual of Analytical Methods. Isocyanates Total (MAP). Method 5525. Fourth Edition [https://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/5525.pdf].

Nordqvist Y., Nilsson U., Colmsjö A. (2003). Evaluation of denuder sampling for a mixture of three common gaseous diisocyanates. Anal. Bioanal. Chem. 375(6), 786–791.

OSHA (1988). Sampling and Analytical Methods Organic Method #PV2034. Isophorone Diisocyanate (IPDI) [https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/partial/pv2034/2034.html].

OSHA (1989a). Sampling and Analytical Methods Organic Method #42. Diisocyanates [https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/organic/org042/org042.html].

OSHA (1989b). Sampling and Analytical Methods Organic Method #47. Methylene Bisphenyl Isocyanate (MDI) [https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/organic/org047/org047.html].

PN-Z-04131-5:2008 Ochrona czystości powietrza. Badania zawartości izocyjanianów. Część 5: Oznaczanie izocyjanianu cykloheksylu na stanowiskach pracy metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej [Polish standard].

PN-EN 482+A1: 2016 Narażenie na stanowiskach pracy. Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych [Polish standard].

Rozporządzenie Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej z dnia 12 czerwca 2018 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. Dz.U. 2018, poz. 1286 [Polish legal act].

Skowroń J. (2005). Izocyjanian cykloheksylu. Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego [Cyclohexyl isocyanate. Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)]. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy [Principles and Methods of Assessing the Working Environment] 4(46), 71–82.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA IZOCYJANIANU CYKLOHEKSYLU METODĄ WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ Z DETEKcją SPEKTROFLUORYMETRYCZNĄ

1. Zakres stosowania metody

Metodę podaną w niniejszej procedurze stosuje się do oznaczania stężeń izocyjanianu cykloheksyłu (CAS:3173-53-3) w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczonej z detekcją spektrofotometryczną (FLD). Najmniejsze stężenie izocyjanianu cykloheksyłu, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczenia opisanych w procedurze, wynosi 0,004 mg/m³ (dla próbki powietrza o objętości 200 l).

2. Powołania normatywne

PN-Z-04008-7:2002 (wraz z późniejszą zmianą PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004) Ochrona czystości powietrza – Pobieranie próbek – Zasady pobierania próbek powietrza w środowisku pracy i interpretacji wyników.

3. Zasada metody

Metoda polega na: przepuszczeniu badanego powietrza przez filtr impregnowany roztworem 1-(2-pirydylo)piperazyny, ekstrakcji powstałej pochodnej mieszaniną acetonitrylu i dimetylu sulfotlenku oraz chromatograficznym oznaczeniu powstałej pochodnej.

4. Wytyczne ogólne

4.1. Czystość odczynników

Do analizy, o ile nie zaznaczono inaczej, należy stosować odczynniki i substancje wzorcowe o stopniu czystości co najmniej cz.d.a.

4.2. Dokładność ważenia

Substancje stosowane w analizie należy ważyć z dokładnością do 0,0002 g.

4.3. Postępowanie z substancjami toksycznymi

Wszystkie czynności, podczas których używa się substancji chemicznych, należy wykonywać pod sprawnie działającym wyciągiem laboratoryjnym.

Zużyte roztwory i odczynniki należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i przekazywać do zakładów zajmujących się ich utylizacją.

5. Odczynniki i roztwory

5.1. Acetonitryl

Stosować acetonitryl o czystości do HPLC.

5.2. Dimetylu sulfotlenek

Stosować dimetylu sulfotlenek wg punktu 4.1.

5.3. Izocyjanian cykloheksyłu

Stosować izocyjanian cykloheksyłu wg punktu 4.1.

5.4. 1-(2-Pirydylo)piperazyna (1,2-PP)

Stosować 1-(2-pirydylo)piperazynę wg punktu 4.1.

5.5. Toluen

Stosować toluen o czystości do HPLC.

5.6. Metanol

Stosować metanol o czystości do HPLC.

5.7. Woda destylowana

Stosować wodę o czystości do HPLC.

5.8. Roztwór do ekstrakcji

Zmieszać ze sobą acetonitryl wg punktu 5.1. i dimetylu sulfotlenek wg punktu 5.2. w stosunku 9: 1 (v: v).

5.9. Pochodna izocyjanianu

Rozpuścić 500 mg izocyjanianu cykloheksyłu wg punktu 5.3. w 25 ml sulfotlenku dimetylu wg punktu 5.2. Roztwór ten powoli dodawać do roztworu przygotowanego przez rozpuszczenie 1 g 1-(2-pirydylo)piperazyny wg punktu 5.4. w 25 ml sulfotlenku dimetylu wg punktu 5.2. Otrzymany roztwór podgrzać za pomocą gniazda grzejnego do temperatury 60 ÷ 90 °C i mieszać przez około 30 min. Po tym czasie do mieszaniny dodać 300 ml wody wg punktu 5.7. Powstały osad odsączyć i wysuszyć w temperaturze około 75 °C. Wysuszony osad rozpuścić w 150 ml toluenu wg punktu 5.5., a następnie podgrzać do temperatury około 60 °C i bardzo powoli dodawać odpowiednią do wytrącenia osadu ilość metanolu wg punktu 5.6. Roztwór pozostawić do wystygnięcia, osad przefiltrować i wysuszyć pod próżnią. Otrzymaną

pochoďną przechowywać w szczelnie zamkniętym pojemniku.

5.10. Roztwór wzorcowy podstawowy izocyjanianu cykloheksylu

Do kolby miarowej o pojemności 5 ml wg punktu 6.5. odważyć 1,86 mg pochodnej izocyjanianu cykloheksylu i rozpuścić w roztworze do ekstrakcji wg punktu 5.8. 1 ml tak przygotowanego roztworu zawiera 0,372 mg pochodnej izocyjanianu cykloheksylu.

5.11. Roztwory wzorcowe robocze

Do 6 kolb miarowych o pojemności 1 ml odmierzyc 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 i 1 ml roztworu wzorcowego podstawowego pochodnej izocyjanianu cykloheksylu wg punktu 5.10. 1 ml tak przygotowanych roztworów zawiera odpowiednio: 18,6; 37,2; 93; 186; 279,1 i 372 µg pochodnej izocyjanianu cykloheksylu, stężeniom tym odpowiadają stężenia czystego związku: 8; 16; 40; 80; 120 i 160 µg/ml.

5.12. Roztwór pokrywający

Odmierzyc za pomocą pipety wg punktu 6.7. 100 µl 1-(2-pirydylo)piperazyny wg punktu 5.4. i przemieścić do kolby miarowej o pojemności 100 ml. Kolbę uzupełnić do kreski acetonitrylem wg punktu 5.1. Stężenie tak przygotowanego roztworu wynosi 1 mg/ml.

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

6.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem spektrofluorymetrycznym.

6.2. Kolumna chromatograficzna

Stosować chromatograficzną kolumnę analityczną RP-Amide długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 3 mm, o średnicy ziaren 5 µm.

6.3. Filtry z włókna szklanego

Stosować filtry z włókna szklanego o średnicy 37 mm i średnicy porów 1,6 µm.

6.4. Filtry strzykawkowe

Stosować filtry strzykawkowe o średnicy 13 mm z membraną z PTFE o średnicy porów 0,45 µm.

6.5. Kolby miarowe

Stosować kolby miarowe o pojemności: 1; 5 i 100 ml.

6.6. Naczynka szklane (wiale)

Stosować wiale o pojemności: 2 i 4 ml.

6.7. Pipety do cieczy

Stosować pipety o pojemności: 0,1 ÷ 1 ml i 1 ÷ 5 ml.

6.8. Pompa ssąca z głowicą do pobierania próbek powietrza

Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobranie próbki powietrza ze stałym strumieniem objętości około 1 l/min.

6.9. Waga analityczna

Stosować wagę analityczną umożliwiającą ważenie z dokładnością do 0,0002 g.

6.10. Wytrząsarka mechaniczna.

Stosować wytrząsarkę mechaniczną.

7. Przygotowanie filtrów szklanych do pobierania próbek powietrza

Na filtry z włókna szklanego wg punktu 6.3. nanieść 0,5 ml roztworu pokrywającego wg punktu 5.12. Filtry pozostawić do wyschnięcia w ekscykatorku. Suche filtry przechowywać w szczelnie zamkniętym naczyniu.

8. Pobieranie próbek powietrza

Podczas pobierania próbek powietrza należy stosować zasady zawarte w normie PN-Z 04008-7:2002 (wraz z późniejszą zmianą PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004). Filtry z włókna szklanego przygotowane wg punktu 7. umieścić w głowicy do pobierania próbek powietrza. Za pomocą pompy ssącej wg punktu 6.8. przepuścić przez filtr maksymalnie 200 l powietrza ze stałym strumieniem objętości 1 l/min. Pobrane próbki powietrza zabezpieczyć i do czasu analizy przechowywać w chłodziarce.

9. Warunki pracy chromatografu

Przykładowe warunki pracy chromatografu podano w tabeli 1.

Tabela 1.

Warunki pracy chromatografu

Kolumna analityczna Ascentis Express RP-Amide 250 × 3 mm, 5 μm		
Faza ruchoma Program – gradient (v : v)	acetonitryl (A)	woda (B)
0 min	35	65
2 min	35	65
10 min	60	40
12 min	60	40
12,5 min	35	65
23 min	35	65
Natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej	0,4 ml/min	
Temperatura kolumny	40 °C	
Długość fali wzbudzenia/emisji	240 nm / 370 nm	
Objętość próbki	2 μl	

10. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Przygotować 7 filtrów wg punktu 7. Na 6 filtrów nanieść za pomocą pipety wg punktu 6.7. po 100 μl roztworów wzorcowych roboczych pochodnej izocyjanianu cykloheksylu wg punktu 5.11., na 7. filtr nanieść 100 μl roztworu do ekstrakcji wg punktu 5.8. jako próbkę zerową. Po odparowaniu rozpuszczalnika filtry przenieść do naczynek o pojemności 4 ml wg punktu 6.6. Do każdego naczynka dodać po 3 ml roztworu do ekstrakcji wg punktu 5.8. i poddać 30-minutowej ekstrakcji przy użyciu wstrząsarki wg punktu 6.10. Ilości czystego związku izocyjanianu cykloheksylu naniesionego na filtry w mikrogramach wynoszą odpowiednio: 0; 0,8; 1,6; 4,0; 8,0; 12,0; 16,0. Ekstrakty przesączyć przez filtry strzykawkowe wg punktu 6.4. Uzyskane roztwory poddać analizie chromatograficznej w warunkach określonych w punkcie 9. Sporządzić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych ilość izocyjanianu cykloheksylu naniesioną na filtr (w μg), a na osi rzędnych – wartość pola powierzchni pików badanego związku. Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

11. Wykonanie oznaczenia

Po pobraniu próbek powietrza filtry przenieść do naczynek o pojemności 4 ml wg punktu 6.6. Następnie dodać 3 ml roztworu do ekstrakcji wg

punktu 5.8., naczynka szczelnie zamknąć i poddać 30-minutowej ekstrakcji przy użyciu wstrząsarki wg punktu 6.10. Otrzymane roztwory przepuścić przez filtry strzykawkowe wg punktu 6.4. Uzyskane roztwory poddać analizie chromatograficznej w warunkach określonych w punkcie 9. W przypadku próbek, których wartości pól powierzchni analizowanych pików przekraczają zakres roboczy metody, należy wykonać powtarne oznaczenie, rozcieńczając dodatkowo próbkę. Dodatkowe rozcieńczenie uwzględnić w obliczeniach.

12. Obliczanie wyniku oznaczenia

Stężenie izocyjanianu cykloheksylu (X) w badanym powietrzu obliczyć, w miligramach na metr sześcienny, na podstawie wzoru:

$$X = \frac{c}{V}$$

w którym:

c – zawartość izocyjanianu cykloheksylu odczytana z krzywej wzorcowej, w miligramach,

V – objętość przepuszczonego powietrza, w metrach sześciennych.

13. Protokół z badań

W protokole z badań należy podać następujące informacje:

- powołanie na niniejszą procedurę,
- wszystkie dane konieczne do pełnej identyfikacji próbki,
- wyniki wyrażone w sposób podany w punkcie 12.,
- wszystkie szczegóły niepodane w niniejszej procedurze lub pozostawione do wyboru, a także wszelkie czynniki, które mogły wpłynąć na wyniki.

Adres do korespondencji/Contact details:

dr SŁAWOMIR BRZEŹNICKI

e-mail: slawomir.brzeznicki@imp.lodz.pl

Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera

91-348 Łódź, ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

POLAND