



Izopren

Metoda oznaczania w powietrzu na stanowiskach pracy¹

Isopren

Determination in workplace air

PAWEŁ WASILEWSKI

<https://orcid.org/0000-0001-6735-4207>

e-mail: pawas@ciop.pl

JOANNA KOWALSKA

<https://orcid.org/0000-0002-1431-3089>

Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy

Central Institute for Labour Protection – National Research Institute, Warsaw, Poland

Numer CAS 78-79-5

Streszczenie

Izopren to wysoce lotna ciecz o nieprzyjemnym i drażniącym zapachu, która w powietrzu łatwo ulega polimeryzacji z wydzieleniem energii. Izopren jest stosowany w przemyśle głównie do produkcji opon, dętek, węży ogrodowych, uszczelki oraz odzieży. Pozyskuje się go przemysłowo jako produkt uboczny krakingu termicznego benzyny i ropy lub jako produkt uboczny produkcji etylenu. Jest wytwarzany przez rośliny, w których jest wykorzystywany podczas produkcji terpenoidów, karotenoidów oraz barwników. Zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE 1272/2008) izopren został sklasyfikowany jako substancja rakotwórcza, mutagenna oraz skrajnie łatwopalna. Celem badań było opracowanie metody oznaczania izoprenu do oceny narażenia zawodowego w zakresie $1/10 \div 2$ zaproponowanej wartości NDS. Metoda polega na pobraniu izoprenu zawartego w powietrzu na rurkę wypełnioną sorbentem ORBO 351, desorpcji disiarczkiem węgla, a następnie oznaczeniu zawartości izoprenu w próbce z zastosowaniem chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID). Podczas wykonywania badań spełniono wymagania walidacyjne przedstawione w normie europejskiej PN-EN 482. Metoda umożliwia oznaczanie w powietrzu izoprenu o stężeniach $0,8 \div 16 \text{ mg/m}^3$. Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny środowiska pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu i inżynierii środowiska.

Słowa kluczowe: izopren, substancje rakotwórcze, chromatografia gazowa, narażenie zawodowe, powietrze na stanowiskach pracy, nauki o zdrowiu, inżynieria środowiska.

¹ Opracowano i wydano na podstawie wyników V etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w zakresie zadań służb państwowych ze środków ministra właściwego ds. pracy. Zadanie nr 1.SP.03 pt.: „Opracowanie znowelizowanych metod oznaczania 9 szkodliwych substancji chemicznych w powietrzu na stanowiskach pracy do oceny narażenia zawodowego”.

Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy

Abstract

Isoprene is a highly volatile liquid with an unpleasant and irritating odor, which is easily polymerized in the air with the release of energy. Isoprene is used in industry mainly for the production of tires, inner tubes, garden hoses, gaskets and clothing. It is extracted industrially as a byproduct of the thermal cracking of gasoline and oil, or as a byproduct of ethylene production. It can also be produced during condensation of isobutene with formaldehyde or by catalytic dehydrogenation of isopentane. It is made by plants, where it is used during the production of terpenoids, carotenoids and dyes. According to the Regulation of the European Parliament and of the Council (WE 1272/2008), isoprene has been classified as a carcinogen, mutagen and extremely flammable substance. The aim of the study was to develop a method for determining isoprene to assess occupational exposure within 1/10–2 of the proposed MAC value. The method involves collecting airborne isoprene onto a tube filled with ORBO 351 sorbent, desorbing it in carbon disulfide, and then determining the isoprene content of the sample using gas chromatography with a flame ionization detector (GC-FID). Validation requirements presented in European standard PN-EN 482 were fulfilled during the tests. The method enables determination of isoprene in air at concentrations of 0,8–16 mg/m³. The method for determining isoprene has been recorded in the form of 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: isoprene, carcinogens, gas chromatography, occupational exposure, workplace air, health sciences, environmental engineering.

WPROWADZENIE

Właściwości i zastosowanie

Izopren (CAS: 78-79-5) jest organicznym związkiem należącym do grupy dienów, czyli nienasyconych węglowodorów z dwoma wiązaniami podwójnymi. Występuje w formie bardzo lotnej, bezbarwnej cieczy o nieprzyjemnym, drażniącym zapachu przypominającym zapach benzyny. Może polimeryzować z wydzielaniem energii, jeśli był podgrzewany lub wydostał się na zewnątrz instalacji i miał kontakt z powietrzem. Jeśli polimeryzacja zachodzi wewnątrz zamkniętego naczynia, może dojść do silnej eksplozji. Izopren jest mniej gęsty niż woda, z którą się nie miesza, jest również cięższy od powietrza (ChemPył 2022; GESTIS 2022; PubChem 2022).

Izopren pozyskuje się przemysłowo jako produkt uboczny krakingu termicznego benzyny i ropy lub jako produkt uboczny produkcji etyleny. Może być również produkowany podczas kondensacji izobutenu z formaldehydem lub poprzez katalityczne odwodornienie izopentanu. Izopren jest wytwarzany przez rośliny, takie jak kauczuk i gutaperka. U roślin odgrywa on kluczową rolę podczas syntezy terpenoidów, rozpuszczalnych w tłuszczach witamin, karotenoidów oraz barwników. Izopren jest przede wszystkim wykorzystywany do syntezy (Z)-1,4-poliizoprenu (tzw. guma

izoprenowa), który strukturą oraz właściwościami przypomina kauczuk naturalny. Gumę izoprenową stosuje się do produkcji opon, dętek, węży ogrodowych, uszczelki, niezatapialnych tratw oraz odzieży. Izopren wykorzystuje się również do produkcji kopolimeru (styren-izopren-styren), tzw. gumy butylowej, która ma właściwości zbliżone do gumy izoprenowej (PubChem 2022; Ulmann's encyclopedia... 2000). Izopren jest produkowany w Europejskim Obszarze Gospodarczym i/lub przywożony do niego w ilości $\geq 100\ 000$ ÷ $< 1\ 000\ 000$ ton rocznie (ECHA 2022).

W państwach Unii Europejskiej izopren sklasyfikowano jako substancję rakotwórczą (kat. 1B), łatwopalną (kat. 1), mutageną (kat. 2) i stwarzającą zagrożenie dla środowiska (kat. 3). Substancji tej przypisano następujące zwroty określające rodzaj zagrożenia (WE 1272/2008):

- H224: skrajnie łatwopalna ciecz i pary
- H350: może powodować raka
- H341: podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne
- H412: działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

Obowiązująca w Polsce wartość normatywu higienicznego – najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla izoprenu w powietrzu na stanowiskach

pracy wynosi 100 mg/m^3 , a najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) – 300 mg/m^3 (Rozporządzenie... 2018).

W 2022 r. Zespół Ekspertów ds. Czynników Chemicznych działający przy Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy zaproponował nowe wartości normatywów higienicznych dla izoprenu: NDS – 8 mg/m^3 , NDSCh – nie ustalono (Klimczak, Kilanowicz 2023).

W Polsce do oznaczania zawartości izoprenu w powietrzu na stanowiskach pracy wykorzystywano normę PN-Z-04271:2000 oraz metodę opublikowaną w 1997 r. (Wróblewska-Jakubowska 1997). Metoda ta polegała na adsorpcji par izoprenu na węglu aktywnym, desorpcji zatrzymanej substancji z sorbentu disiarczkiem węgla i podda-

niu otrzymanego roztworu analizie z wykorzystaniem chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID). Najmniejsze stężenie izoprenu, jakie można oznaczyć tą metodą, wynosiło 10 mg/m^3 .

Artykuł zawiera metodę oznaczania izoprenu w powietrzu na stanowiskach pracy opracowaną w celu nowelizacji normy PN-Z-04271:2000, aby możliwe było oznaczanie związku w zakresie stężeń $1/10 \div 2$ wartości NDS zaproponowanej przez Zespół Ekspertów ds. Czynników Chemicznych, czyli $0,8 \div 16 \text{ mg/m}^3$, zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482.

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

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Aparatura i sprzęt

W badaniach zastosowano chromatograf gazowy Agilent Technologies 7820A (Agilent Technologies, USA) z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym oraz automatycznym podajnikiem próbek. Do zbierania danych wykorzystano oprogramowanie Agilent OpenLAB, które steruje także chromatografem. Do oznaczania izoprenu zastosowano kapilarną kolumnę DB-VRX o wymiarach $60 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm} \times 14 \text{ }\mu\text{m}$ (Agilent Technologies, USA). Próbkę powietrza zostały pobrane za pomocą aspiratorów Gilian LFS-113DC (Sensidyne, USA).

Przy ekstrakcji analitów z rurek sorpcyjnych korzystać z wytrząsarki mechanicznej WL-2000

(JWElectronic, Polska). Wzorzec odważano na wadze analitycznej Sartorius TE214S (Sartorius Corporation, USA).

Odczynniki i materiały

W badaniach stosowano następujące odczynniki o czystości co najmniej cz.d.a: izopren (Sigma-Aldrich, Niemcy), disiarczek węgla (Sigma-Aldrich, Niemcy). Stosowano również rurki pochłaniające z węglem aktywnym (100/50 mg), (Analityk, Polska) i ORBO 351, wypełnione węglem aktywnym pokrytym 4-*tert*-butylokatecholem (4-TBC), (100/50 mg, Supelco, USA), szkło laboratoryjne oraz strzykawkę do cieczy.

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Ustalenie warunków oznaczania chromatograficznego

Na podstawie danych z normy PN-Z-04271:2000 oraz badań wstępnych ustalono warunki oznaczania chromatograficznego izoprenu. Sprawdzone przydatność metanolu, acetonitrylu oraz disiarcz-

ku węgla jako rozpuszczalnika izoprenu do badań chromatograficznych. Do oznaczeń analitycznych zastosowano technikę chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną i kolumnę kapilarną DB-VRX ($60 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm} \times 14 \text{ }\mu\text{m}$). Strumień objętości gazu nośnego (hel) ustalono na $1,5 \text{ ml/min}$.

Zastosowanie kolumny kapilarnej DB-VRX w temperaturze programowanej ($50 \div 190^\circ\text{C}$) pozwoliło na rozdzielenie izoprenu od 1,3-butadienu, disiarczku węgla oraz toluenu (których sygnały nie pokrywały się z sygnałem izoprenu), (ryc. 1). Metanol i acetonitryl dawały silne sygnały zasłaniające sygnał izoprenu. Do dalszych badań wykorzystano więc jako rozpuszczalnik disiarczek węgla.

Próbkę o objętości 5 μl dozowano w temperaturze 200°C do komory wstrzykowej chromatografu, dzielnik próbki ustalono na 5: 1. Temperatura detektora FID wynosiła 280°C , strumień objętości wodoru wynosił 30 ml/min, azotu 25 ml/min, a powietrza 400 ml/min.

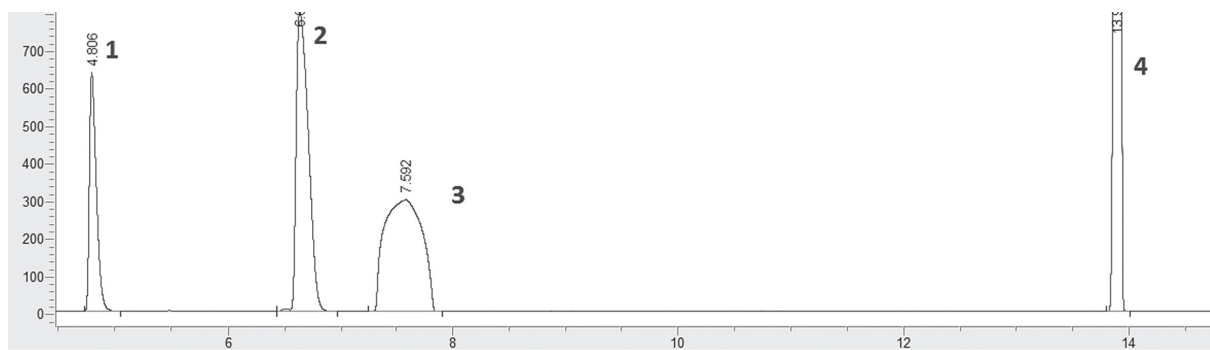
Pobieranie próbek powietrza

W nowelizowanej normie stosowano rurki wypełnione węglem aktywnym. Przeprowadzono wstępne badania współczynnika desorpcji z węgla aktywnego. W tym celu na pierwszą warstwę rurki wypełnionej dwiema warstwami węgla aktywnego (100/50 mg) nanoszono po 15 μl roztworu izoprenu w disiarczku węgla o stężeniu 24 mg/ml. Po odparowaniu rozpuszczalnika przeprowadzono desorpcję w naczynku za pomocą 1 ml disiarczku węgla. Po 30 min wytrząsania uzyskane roztwory oznaczono chromatograficznie. Przeprowadzono również oznaczenie w roztworach porównawczych wykonanych w taki sam sposób, lecz bez węgla aktywnego. Współczynnik desorpcji izoprenu z węgla aktywnego wyniósł 0,90. Zbadano również współczynnik desorpcji z węgla aktywnego z naniesionym 4-*tert*-butylokatheolem (4-TBC),

(ORBO 351) – sorbentem zalecanym do pobierania 1,3-butadienu w metodzie OSHA 56. 4-TBC zapobiega fotoutlenianiu i polimeryzacji. Zastosowano taką samą procedurę jak podczas badania współczynnika odzysku dla węgla aktywnego, ale jako sorbent zastosowano ORBO 351. Współczynnik desorpcji izoprenu z ORBO 351 wyniósł 0,97.

Do pobierania próbek powietrza zawierającego izopren zastosowano rurki pochłaniające ORBO 351 zawierające dwie warstwy (100 i 50 mg) węgla aktywnego z 4-TBC. W tym celu do rurek pochłaniających, na wate z włókna szklanego umieszczoną przed pierwszą warstwą sorbentu, nanoszono w trakcie pobierania powietrza po 15 μl roztworu izoprenu w disiarczku węgla o stężeniu 24 mg/ml. Przez rurki przepuszczono 2 l powietrza ze strumieniem objętości 1 l/h. Następnie przeprowadzono desorpcję izoprenu z pierwszej i drugiej warstwy sorbentu za pomocą 1 ml disiarczku węgla. Po 30 min wytrząsania uzyskane roztwory oznaczono chromatograficznie. Przeprowadzono również oznaczenie w roztworach porównawczych wykonanych w taki sam sposób, lecz bez sorbentu. Wyniki badań z zastosowaniem ORBO 351 zostały przedstawione w tabeli 1. W drugich warstwach sorbentów nie wykryto izoprenu bądź było go poniżej 10%. Uzyskano średnią wydajność desorpcji na poziomie 0,97.

Do dalszych badań wykorzystano ORBO 351, ponieważ ma on lepszą wydajność desorpcji niż sam węgiel aktywny, a podczas pobierania powietrza do drugiej warstwy sorbentu nie przechodzi więcej niż 10% izoprenu.



Rycina 1. Chromatogram roztworu wzorcowego izoprenu i substancji współwystępujących. Kolumna DB-VRX, detektor FID.
Legenda: 1) butadien (4,8 min), 2) izopren (6,6 min), 3) disiarczek węgla (7,6 min), 4) toluen (13,9 min)

Figure 1. Chromatogram of a standard solution of isoprene and co-occurring substances. DB-VRX column, FID detector.
Legend: 1) butadiene (4,8 min), 2) isoprene (6,6 min), 3) carbon disulfide (7,6 min), 4) toluene (13,9 min)

Tabela 1. Desorpcja izoprenu z ORBO 351**Table 1.** Desorption of isoprene from ORBO 351

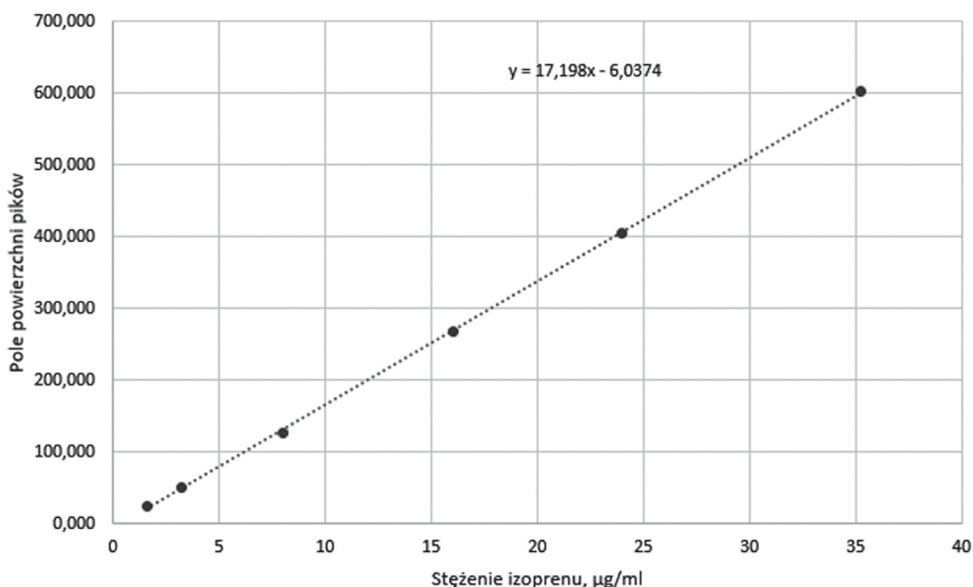
Rodzaj próbnika	Strumień objętości pochłanianego powietrza, l/h	Czas pochłaniania, min	Powierzchnia pików izoprenu po desorpcji		Średnia powierzchnia pików roztworów porównawczych	Zawartość izoprenu w II warstwie, %	Wydajność desorpcji z sorbentu
			I warstwa	II warstwa			
Rurka z ORBO 351 (100/50 mg)	1	120	340,9	9,33	363,75	2,74	0,96
	1	120	355,5	0		0	0,98

Wyznaczanie parametrów kalibracyjnych metody

W celu wyznaczenia zakresu krzywej wzorcowej przygotowano po trzy serie roztworów kalibracyjnych izoprenu w disiarczku węgla. Stężenie w roztworach wzorcowych ustalono na podstawie danych:

- zakres pomiarowy $0,8 \div 16 \text{ mg/m}^3$,
- objętość powietrza pobrana do analizy 2 l,
- objętość rozpuszczalnika do desorpcji 1 ml.

Roztwory izoprenu w disiarczku węgla o stężeniach $1,6 \div 35,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$ poddano analizie chromatograficznej. Do chromatografu wprowadzono po 5 μl roztworów wzorcowych o wzrastających stężeniach. Następnie sporządzono wykres zależności średniej powierzchni pików izoprenu od jego stężenia w roztworach wzorcowych (ryc. 2). Uzyskane krzywe kalibracyjne miały charakter liniowy, uzyskany współczynnik korelacji r wynosi 0,9999. W tabeli 2 przedstawiono wyniki oznaczeń kalibracyjnych dla izoprenu dla trzech serii pomiarów.



Rycina 2. Wykres zależności powierzchni pików od stężenie izoprenu w roztworach wzorcowych GC-FID, kolumna DB-VRX
Figure 2. Plot of peak area dependence of isoprene concentration in GC-FID standard solutions, DB-VRX column

Tabela 2. Wyniki oznaczeń kalibracyjnych izoprenu
Table 2. Results of isoprene calibration determinations

Stężenie izoprenu (x), $\mu\text{g/ml}$	Średnia powierzchnia pików (y_{sr}) wg wskazań analitycznej stacji komputerowej			Średnia powierzchnia z serii I-III ($y_{\text{sr(I-III)}}$)	Odchylenie standardowe, S	Współczynnik zmienności, V , % $V=(S/y_{\text{sr(I-III)}})100\%$	Współczynnik kalibracji, b $f(c) = y/x$
	I seria	II seria	III seria				
1,6	24,15	22,25	25,95	24,117	1,850	7,67	15,07
3,2	49,95	48,10	55,25	51,100	3,711	7,26	15,97
8,0	125,40	117,50	138,95	127,283	10,848	8,52	15,91
16,0	262,20	250,45	292,05	268,233	21,446	8,00	16,77
24,0	400,35	378,70	435,05	404,700	28,426	7,02	16,86
35,2	597,25	552,00	656,10	601,783	52,198	8,67	17,10
Krzywa kalibracji $y = bx + a$	$y = 17,06x +$ $- 7,03$	$y = 15,84x +$ $- 4,15$	$y = 18,69x +$ $- 6,93$	$y = 17,2x +$ $- 6,04$			
Współczynnik korelacji, r	0,9999	0,9999	0,9998	0,9999			
Średnia wartość współczynnika kalibracji							16,28
Odchylenie standardowe współczynnika kalibracji, S_b							0,77
Współczynnik zmienności współczynnika kalibracji, n_{kal} , %							4,73

Precyzja

W celu wyznaczenia precyzji oznaczeń kalibracyjnych przygotowano roztwór podstawowy o stężeniu 0,32 mg/ml izoprenu w disiarczku węgla. Następnie wykonano trzy serie po osiem roztworów roboczych, które wykonano poprzez dodanie do kolb miarowych o pojemności 10 ml po: 100, 400 i 800 μl roztworu podstawowego i dopełnienie do kreski disiarczkiem węgla. Wykonano po dwa pomiary chromatograficzne dla każdego roztworu w tych samych warunkach, jak przy wykonywaniu oznaczeń kalibracyjnych. Na podstawie odczytanych powierzchni pików izoprenu obliczono odchylenie standardowe i współczynnik zmienności. Wartości precyzji oznaczeń kalibracyjnych przedstawiono w tabeli 3. Współczynniki zmienności dla kolejnych poziomów stężenia wynoszą odpowiednio: 1,54; 0,90 i 0,95%.

Badanie trwałości próbek i roztworów

W celu zbadania trwałości próbek w zależności od czasu ich przechowywania przygotowano: osiem rurek pochłaniających z naniesionym na dłuższą warstwę izoprenem (po 10 μl roztworu izoprenu w disiarczku węgla o stężeniu 1,6 mg/ml). Zamknięte zatyczkami rurki z naniesionym izoprenem umieszczono w zamrażalniku. Próbkę (dwie sztuki) analizowano w dniu przygotowania oraz po: 1, 3 i 7 dniach przechowywania. Wyniki przedstawiono w tabeli 4.

Pobrane próbki przechowywane w zamrażarce zachowują trwałość do 7 dni.

Badanie stopnia desorpcji

Do zbadania stopnia desorpcji izoprenu z sorbentu ORBO 351 wykonano desorpcję dla trzech stężeń zakresu pomiarowego. W tym celu dla każdego poziomu na sześć warstw sorbentu (100 mg) naniesiono po: 5,0; 10,0 i 15,0 μl roztworu izoprenu w disiarczku węgla o stężeniu 1,6 mg/ml. Rurki pochłaniające pozostawiono w warunkach laboratoryjnych na 30 min. Następnie wmywano warstwę z pochłoniętym izoprenem z użyciem disiarczku węgla (1 ml) przez 30-minutowe wytrząsanie. Uzyskane w ten sposób roztwory poddawano analizie chromatograficznej. Dodatkowo dla każdego poziomu przygotowano po trzy roztwory porównawcze, które zostały wykonane w taki sam sposób, lecz bez użycia sorbentu. Wyniki badań wydajności desorpcji podano w tabeli 5. Średni współczynnik desorpcji dla izoprenu wynosi 0,97.

Walidacja metody

Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482. Do wyznaczenia granicy wykrywalności oraz granicy oznaczalności wykorzystano wyniki analizy trzech prób ślepych, wyniki te przedstawiono w tabeli 6. Dane walidacyjne metody oznaczania izoprenu przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 3. Precyzja oznaczeń kalibracyjnych izoprenu
Table 3. Precision of isoprene calibration determinations

I seria		II seria		III seria	
Roztwór o stężeniu 3,2 µg/ml		Roztwór o stężeniu 12,8 µg/ml		Roztwór o stężeniu 24 µg/ml	
Powierzchnia pików wg wskazań analitycznej stacji komputerowej	Średnia z powierzchni	Powierzchnia pików wg wskazań analitycznej stacji komputerowej	Średnia z powierzchni	Powierzchnia pików wg wskazań analitycznej stacji komputerowej	Średnia z powierzchni
59,1	59,9	209,3	209,4	399,2	399,1
60,7		209,4		399,0	
62,6	62,0	209,5	209,5	401,2	399,5
61,3		209,5		397,7	
60,6	61,0	208,7	209,3	397,6	397,5
61,4		209,9		397,3	
61,5	61,1	206,8	206,1	398,0	396,4
60,7		205,3		394,8	
60,1	59,7	211,7	212,1	392,9	390,4
59,3		212,5		387,8	
60,8	60,5	211,5	211,6	395,1	395,1
60,2		211,6		395,0	
60,3	59,8	211,8	211,3	391,9	391,5
59,2		210,8		391,0	
60,0	60,0	210,0	209,6	390,9	391,4
59,9		209,2		391,8	
Średnia powierzchnia pików	60,48	Średnia powierzchnia pików	209,84	Średnia powierzchnia pików	395,08
Odchylenie standardowe S	0,93	Odchylenie standardowe S	1,89	Odchylenie standardowe S	3,74
Współczynnik zmienności v_1 , %	1,54	Współczynnik zmienności v_2 , %	0,90	Współczynnik zmienności v_3 , %	0,95
Średnia precyzja			1,2		
średni współczynnik zmienności dla zakresu $v_{zakresu}$, %					
Całkowita precyzja badania – średni współczynnik zmienności v_c , %			5,1		

Tabela 4. Trwałość próbek izoprenu w zamrażarce
Table 4. Persistence of isoprene samples in the freezer

Numer rurki	Czas przechowywania, liczba dni	Średnie pola powierzchni pików	Średnia	Odchylenie standardowe	Zmiana powierzchni po przechowywaniu, %
1 2	0	246,4 244,2	245,3	1,6	0
1 2	1	243,0 241,3	242,2	1,2	-1,28
1 2	3	237,6 239,7	238,7	1,5	-2,71
1 2	7	238,5 236,1	237,3	1,7	-3,26

Tabela 6. Wyznaczenie granicy wykrywalności i oznaczalności izoprenu**Table 6.** Determination of the limit of detection and quantification of isoprene

Ślepe próby		
1	2	3
Odpowiedź detektora wg wskazań analitycznej stacji komputerowej Powierzchnia piku chromatograficznego o czasie retencji izoprenu		
2,80	2,23	1,14
1,07	1,54	1,10
1,00	1,02	1,01
1,30	1,47	1,07
1,20	1,23	3,29
1,25	1,32	1,15
2,27	1,29	1,31
1,34	1,08	1,69
1,04	1,69	3,04
1,63	1,30	1,25
Odchylenie standardowe wyników uzyskanych dla serii próbek ślepych, S_0		
0,5929	0,349	0,846
Odchylenie standardowe wyników uzyskanych dla serii próbek ślepych, S_0		0,713
Równanie krzywej kalibracji: $y = bx + a$		$y = 17,2x - 6,04$
Współczynnik kierunkowy krzywej kalibracji, b		17,20
Granica wykrywalności LOD, ng/ml		136,85
Granica oznaczalności LOQ, ng/ml		410,55

Tabela 7. Parametry walidacyjne metody oznaczania izoprenu**Table 7.** Validation parameters of the isoprene determination method

Parametr	Wartość
Zakres pomiarowy metody	0,8 ÷ 16 mg/m ³
Ilość pobranego powietrza	2 l
Zakres krzywej wzorcowej	1,6 ÷ 35,2 µg/ml
Granica wykrywalności	136,85 ng/ml 68,43 µg/m ³
Granica oznaczalności	410,55 ng/ml 205,28 µg/m ³
Całkowita precyzja badania	5,13%
Względna niepewność całkowita	11,23%
Niepewność rozszerzona	22,47%

PODSUMOWANIE

Znowelizowano normę PN-Z-04271:2000 do oznaczania izoprenu w powietrzu na stanowiskach pracy metodą chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną. Zakres metody oznaczania wynosi $0,8 \div 16 \text{ mg/m}^3$, co odpowiada zakresowi $1/10 \div 2$ zaproponowanej wartości NDS.

Metoda polega na zatrzymaniu na sorbencie ORBO 351 izoprenu obecnego w powietrzu na stanowiskach pracy, desorpcji w 1 ml disiarczku węgla i analizie chromatograficznej.

Metoda spełnia wymagania zawarte w normie PN-EN 482 i ma dobrą precyzję oznaczeń. Metoda może być wykorzystywana przez laboratoria higieny pracy przy oznaczaniu zawartości izoprenu w powietrzu. Opracowaną metodę oznaczania izoprenu w formie procedury analitycznej zamieszczono w załączniku.

PIŚMIENNICTWO

ChemPył (2022). Baza wiedzy o zagrożeniach chemicznych i pyłowych. CIOP-PIB, Warszawa.

ECHA (2022). Isoprene, <https://echa.europa.eu/pl/substance-information/-/substanceinfo/100.001.040> [dostęp: 25.10.2022].

GESTIS (2022). GESTIS Substance database. Germany, Sankt Augustin, BG Institute for Occupational Safety and Health.

Klimczak M., Kilanowicz A. (2023). Izopren. Dokumentacja proponowanych dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego. *Podst. Met. Oceny Środow. Pr.* 1(115), 151–175.

PN-EN 482:2021 Narażenie na stanowiskach pracy – Procedury oznaczania stężenia czynników chemicznych – Podstawowe wymagania dotyczące parametrów procedur.

PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004 Ochrona czystości powietrza – Pobieranie próbek – Zasady pobierania próbek powietrza na stanowiskach pracy i interpretacji wyników.

PN-Z-04271:2000 Ochrona czystości powietrza – Oznaczanie izoprenu na stanowiskach pracy metodą chromatografii gazowej.

PubChem (2022). National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary. Isoprene, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Isoprene> [dostęp: 25.10.2022].

Rozporządzenie Komisji (UE) 2018/669 z dnia 16 kwietnia 2018 r. zmieniające, w celu dostosowania do postępu naukowo-technicznego, rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin. *Dz. Urz. UE L 115/1 z 4.05.2018 r.* [Commission Regulation (EU) 2018/669 of 16 April 2018 amending, for the purposes of its adaptation to technical and scientific progress, Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council on classification, labelling and packaging of substances and mixtures].

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. *DzU 2018, poz. 1286 ze zm.*

Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry (2000). [Red.] H. Weitz, E. Loser. 7th ed. New York.

Wróblewska-Jakubowska K. (1997). Izopren. *Podst. Met. Oceny Środ. Pr.* 16, 137–147.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA IZOPRENU W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY

1. Zakres procedury

Metodę podaną w niniejszej procedurze stosuje się do oznaczania izoprenu (CAS: 78-79-5) w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną. Metodę stosuje się podczas kontroli warunków sanitarnohigienicznych. Najmniejsze stężenie izoprenu, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi $0,8 \text{ mg/m}^3$ (dla próbki powietrza o objętości 2 l).

2. Powołania normatywne

PN-Z-04008-7 Ochrona czystości powietrza – Pobieranie próbek – Zasady pobierania próbek powietrza w środowisku pracy i interpretacji wyników.

3. Zasada metody

Metoda polega na adsorpcji zawartych w badanym powietrzu par izoprenu na węglu aktywnym pokrytym 4-*tert*-butylokatheolem, desorpcji roztworem disiarczku węgla i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu.

4. Postanowienia ogólne

4.1. Dokładność ważenia

O ile nie zaznaczono inaczej, substancje stosowane w analizie należy ważyć z dokładnością do 0,0001 g.

4.2. Postępowanie z substancjami niebezpiecznymi Czynności, podczas których używa się rozpuszczalników organicznych, należy wykonywać z użyciem środków ochrony indywidualnej, pod sprawnie działającym wyciągiem laboratoryjnym. Pozostałe po analizie roztwory odczynników i wzorców należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i przekazywać do utylizacji w uprawnionych instytucjach.

5. Odczynniki, roztwory i materiały

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

5.1. Izopren

5.2. Disiarczek węgla

5.3. Roztwór wzorcowy podstawowy izoprenu

Do zważonej kolby pomiarowej o pojemności 10 ml odważyć 3,2 mg izoprenu, kolbę uzupełnić do kreski disiarczkiem węgla i dokładnie wymieszać. Obliczyć dokładną zawartość izoprenu w 1 ml roztworu.

5.4. Roztwór do wyznaczania współczynnika desorpcji

Do zważonej kolby pomiarowej o pojemności 10 ml odważyć 16 mg izoprenu, kolbę uzupełnić do kreski disiarczkiem węgla i dokładnie wymieszać. Obliczyć dokładną zawartość izoprenu w 1 ml roztworu.

5.5. Roztwory wzorcowe robocze

Do sześciu kolb pomiarowych o pojemności 10 ml odmierzyć kolejno: 0,05; 0,10; 0,25; 0,50; 0,75 i 1,10 ml roztworu wzorcowego podstawowego izoprenu wg punktu 5.3, uzupełnić do kreski disiarczkiem węgla i wymieszać. Zawartość izoprenu w 1 ml tak przygotowanych roztworów wynosi odpowiednio: 1,60; 3,20; 8,00; 16,0; 24,0 i 35,2 μg . Roztwory przechowywane w zamrażarce są trwałe do 7 dni.

5.6. Gazy sprężone do chromatografu

Hel jako gaz nośny, wodór i powietrze do detektora o czystości wg instrukcji do chromatografu.

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

6.1. Chromatograf gazowy

Chromatograf gazowy z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym oraz dozownikiem umożliwiającym dzielenie próbki.

6.2. Kolumna chromatograficzna

Kolumna chromatograficzna umożliwiająca rozdzielanie izoprenu od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu, np. kolumna DB-VRX z niepolarną fazą polisiloksanową (60 m × 0,25 mm; 1,4 μm).

6.3. Pompa ssąca

Pompa ssąca umożliwiająca pobieranie próbek powietrza ze stałym strumieniem objętości wg rozdziału 7.

6.4. Naczynka do desorpcji

Naczynka szklane o pojemności około 3 ml z nakrętkami i uszczelkami silikonowymi, wyposażone w zawory, umożliwiające pobieranie roztworu bez otwierania naczynek.

6.5. Rurki pochłaniające

Gotowe rurki szklane wypełnione dwiema warstwami węgla aktywnego pokrytego 4-*tert*-butylo-katecholem (ORBO 351), (100 i 50 mg), rozdzielone i ograniczone włóknem szklanym.

6.6. Strzykawki

Strzykawki do cieczy o pojemności 50 ÷ 1500 μl.

6.7. Kolby

Kolby szklane o pojemności 10 ml.

6.8. Wytrząsarka

7. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać wg normy PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek przez rurkę pochłaniającą wg punktu 6.5 przepuścić do 2 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości nie większym niż 1 l/h. Pobrane próbki przechowywane w zamrażarce zachowują trwałość do 7 dni.

8. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy dobrać tak, aby uzyskać dobre rozdzielanie izoprenu i rozpuszczalnika.

W przypadku wykorzystania kolumny wg punktu 6.2 zastosowano przykładowe warunki wykonania oznaczania:

- temperatura dozowania 200°C
- temperatura kolumny programowana:
 - temperatura początkowa 50°C (5 min)
 - przyrost temperatury 10°C/min
 - temperatura końcowa 190°C
- temperatura detektora 280°C

- strumień objętości gazu nośnego (hel) 1,5 ml/min
- strumień objętości wodoru 30 ml/min
- strumień objętości azotu 25 ml/min
- strumień objętości powietrza 400 ml/min
- stosunek dzielenia próbki 5: 1
- dozowanie próbki 2 μl.

9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do chromatografu wprowadzić po 5 μl roztworów wzorcowych roboczych izoprenu wg punktu 5.5. Z każdego roztworu należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać powierzchnie pików wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Następnie wykreślić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych zawartość izoprenu w 1 mililitrze roztworów wzorcowych, w mikrogramach, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików.

10. Wykonanie oznaczenia

Po pobraniu próbki powietrza przesypać oddzielnie każdą warstwę ORBO 351 z rurki pochłaniającej wg punktu 6.5 do naczynek do desorpcji wg punktu 6.4. Następnie dodać strzykawką wg punktu 6.6 po 1 ml disiarczku węgla wg punktu 5.2, naczynka szczelnie zamknąć i wytrząsać na wytrząsarce wg punktu 6.8 przez 30 min. Następnie pobrać po 5 μl roztworu znad dłuższej warstwy węgla aktywnego i badać chromatograficznie w warunkach określonych w rozdziale 8. Z każdego roztworu należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików izoprenu wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Zawartość izoprenu w badanym roztworze odczytać z krzywej wzorcowej, w mikrogramach.

W taki sam sposób wykonać oznaczanie izoprenu w roztworze znad krótszej warstwy sorbentu. Zawartość izoprenu oznaczona w krótszej warstwie nie powinna przekraczać 10% zawartości oznaczonej w dłuższej warstwie sorbentu. W przeciwnym razie wynik należy traktować jako orientacyjny.

11. Wyznaczanie współczynnika desorpcji

Do sześciu naczynek do desorpcji wg punktu 6.4 wsypać dłuższą warstwę sorbentu, tj. 100 mg z rurek pochłaniających wg punktu 6.5. Następnie dodać po 10 µl roztworu do wyznaczania współczynnika desorpcji wg punktu 5.4. W siódmym naczynku przygotować roztwór kontrolny zawierający tylko dłuższą warstwę węgla aktywnego. Naczynka szczelnie zamknąć i pozostawić do następnego dnia. Następnie dodać strzykawką wg punktu 6.6 po 1 ml disiarczku węgla wg punktu 5.2. Naczynka ponownie zamknąć i wytrząsać na wytrząsarce wg punktu 6.8 przez 30 min. Jednocześnie wykonać oznaczanie izoprenu co najmniej w trzech roztworach porównawczych, przygotowanych przez dodanie do 1 ml disiarczku węgla wg punktu 5.2 po 10 µl roztworu do wyznaczania współczynnika desorpcji wg punktu 5.4. Tak uzyskane roztwory badać chromatograficznie w warunkach określonych w rozdziale 8.

Współczynnik desorpcji izoprenu (d) obliczyć wg wzoru:

$$d = \frac{(P_d - P_o)}{P_p}$$

w którym:

- P_d – średnia powierzchnia piku izoprenu na chromatogramach roztworów po desorpcji;
- P_o – średnia powierzchnia piku o czasie retencji izoprenu na chromatogramach roztworu kontrolnego;
- P_p – średnia powierzchnia piku izoprenu na chromatogramach roztworów porównawczych.

Następnie obliczyć średnią wartość współczynnika desorpcji izoprenu (\bar{d}) jako średnią arytmetyczną otrzymanych wartości (d).

Współczynnik desorpcji należy wyznaczyć dla każdej nowej partii rurek pochłaniających wg punktu 6.5.

12. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie izoprenu (X) w badanym powietrzu obliczyć w miligramach na metr sześcienny wg wzoru:

$$X = \frac{m_1 + m_2}{V \cdot \bar{d}}$$

w którym:

- m_1 – zawartość izoprenu w roztworze znad dłuższej warstwy węgla aktywnego, odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach;
- m_2 – zawartość izoprenu w roztworze znad krótszej warstwy węgla aktywnego, odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach;
- V – objętość powietrza przepuszczonego przez rurkę pochłaniającą, w litrach;
- \bar{d} – średnia wartość współczynnika desorpcji wyznaczona zgodnie z rozdziałem 11.

Adres do korespondencji/Contact details:

PAWEŁ WASILEWSKI
 e-mail: pawas@ciop.pl
 Centralny Instytut Ochrony Pracy –
 Państwowy Instytut Badawczy
 00-701 Warszawa, ul. Czerniakowska 16
 POLAND