

Joanna Kowalska

Anna Jeżewska

METODA OZNACZANIA 1,2:3,4-DIEPOKSYBUTANU W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY

METHOD FOR DETERMINING 1,2:3,4-DIEPOXYBUTANE IN WORKPLACE AIR

Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy / Central Institute for Labour Protection – National Research Institute, Warszawa, Poland

Zakład Zagrożeń Chemicznych, Pyłowych i Biologicznych / Department of Chemical, Aerosol and Biological Hazards

STRESZCZENIE

Wstęp: 1,2:3,4-Diepoksybutan (DEB) jest substancją zaklasyfikowaną do grupy substancji rakotwórczych. W Polsce nie ustalono wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia dla tej substancji w powietrzu na stanowiskach pracy. W związku ze stosowaniem DEB w krajowych przedsiębiorstwach zaistniała potrzeba opracowania czulej metody oznaczania 1,2:3,4-diepoksybutanu w środowisku pracy. **Materiał i metody:** Badania wykonano techniką chromatografii gazowej (gas chromatography – GC) przy zastosowaniu chromatografu gazowego Agilent Technologies 7890A sprzężonego ze spektrometrem mas 5975C (prod. Agilent Technologies, USA) i kolumny kapilarnej Rtx-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm) (prod. Restek, USA). **Wyniki:** Opracowana metoda oznaczania polega na przepuszczeniu znanej objętości badanego powietrza przez rurkę pochłaniającą wypełnioną węglem aktywnym w celu osadzenia na nim par 1,2:3,4-diepoksybutanu, desorpcji pochłoniętego DEB mieszaniną dichlorometanu i metanolu (95:5, v/v) i analizie tak otrzymanego roztworu. Krzywa kalibracji w zakresie stężeń 0,09–2,06 μg/ml jest liniowa ($r = 0,999$), co odpowiada zakresowi 5–114 μg/m³ dla próbki powietrza o objętości 18 l. Granica wykrywalności (limit of detection – LOD) wynosi 9,89 ng/ml, a granica oznaczalności (limit of quantification – LOQ) – 29,67 ng/ml. **Wnioski:** Opisana metoda analityczna umożliwia selektywne oznaczenie 1,2:3,4-diepoksybutanu w powietrzu na stanowiskach pracy w obecności buta-1,3-dieniu, 1,2-epoksypropanu, toluenu, styrenu i 1,2-epoksy-3-fenoksypropanu. Metoda charakteryzuje się dobrą precyzją i dokładnością oraz spełnia wymagania normy PN-EN 482:2012 dla procedur dotyczących oznaczania czynników chemicznych. Med. Pr. 2016;67(5):645–652

Słowa kluczowe: stanowisko pracy, czynnik rakotwórczy, analiza powietrza, chromatografia gazowa, spektrometria mas, diepoksybutan

ABSTRACT

Background: 1,2:3,4-Diepoxybutane (DEB) is a substance classified to a group of carcinogens. The maximum admissible concentration (MAC) value for this substance in workplace air is not specified in Poland. Due to the fact that DEB has been used in domestic companies there is a need to develop a sensitive method for determining 1,2:3,4-diepoxybutane in the work environment. **Material and Methods:** The studies were performed using gas chromatography (GC) technique. An Agilent Technologies chromatograph, series 7890A, with a mass selective detector (5975C, Agilent Technologies, USA) was employed in the experiment. Separation was performed on a capillary column with Rtx-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) (Restek, USA). **Results:** The developed method consists in passing the known volume of air through sorbent tube filled with activated carbon, desorpting the DEB vapor with dichloromethane/methanol mixture (95:5, v/v) and analyzing the obtained solution. The method is linear ($r = 0.999$) within the investigated working range of 0.09–2.06 μg/ml, which is equivalent to air concentrations of 5–114 μg/m³ for a 18 l air sample; limit of detection (LOD) – 9.89 ng/ml and limit of quantification (LOQ) – 29.67 ng/ml. **Conclusions:** The described analytical method enables selective determination of 1,2:3,4-diepoxybutane in the workplace air in the presence of 1,3-butadiene, 1,2-epoxypropane, toluene, styrene and 1,2-epoxy-3-phenoxypropane. The method is characterized by good precision and accuracy and meets the criteria for measurement of chemical agents, listed in PN-EN 482:2012. Med Pr 2016;67(5):645–652

Key words: workplace, carcinogens, analysis of air, gas chromatography, mass spectrometry, diepoxybutane

Autorka do korespondencji / Corresponding author: Joanna Kowalska, Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Zagrożeń Chemicznych, Pyłowych i Biologicznych, ul. Czerniakowska 16, 00-701 Warszawa, e-mail: jokow@ciop.pl
Nadesłano: 9 grudnia 2015, zatwierdzono: 17 marca 2016

Finansowanie / Funding: publikacja przygotowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach III etapu programu wieloletniego pn. „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy” finansowanego w latach 2014–2016 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego / Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy. Projekt nr II.P.04 pt. „Identyfikowanie grup ryzyka związanego z narażeniem na wytypowane substancje rakotwórcze”. Kierownik projektu: dr Joanna Kowalska.

WSTĘP

1,2:3,4-Diepoksybutan (DEB, bioxiran; numer CAS (Chemical Abstracts Service): 1464-53-5) jest bezbarwną lub białą cieczą bez zapachu, dobrze rozpuszczalną w wodzie i bardzo dobrze rozpuszczalną w etanolu. 1,2:3,4-Diepoksybutan może dostawać się do organizmu drogą oddechową, pokarmową i przez skórę. W Rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 [1] 1,2:3,4-diepoksybutan zaklasyfikowano jako:

- substancję rakotwórczą kategorii 1B (Carc. 1B) z przypisanym zwrotem wskazującym rodzaj zagrożenia dla zdrowia H350 – „może powodować raka”,
- substancję mutagenną kategorii 1B (Muta. 1B) z przypisanym zwrotem wskazującym rodzaj zagrożenia dla zdrowia H340 – „może powodować wady genetyczne”,
- substancję toksyczną kategorii 2 (Acute Tox. 2) z przypisanym zwrotem wskazującym rodzaj zagrożenia dla zdrowia H330 – „wdychanie grozi śmiercią”,
- substancję toksyczną kategorii 3 (Acute Tox. 3) z przypisanym zwrotem wskazującym rodzaj zagrożenia dla zdrowia H311 – „działa toksycznie w kontakcie ze skórą”,
- substancję toksyczną kategorii 3 (Acute Tox. 3) z przypisanym zwrotem wskazującym rodzaj zagrożenia dla zdrowia H301 – „działa toksycznie po połknięciu”,
- substancję działającą żrąco na skórę kategorii 1B (Skin Corr. 1B) z przypisanym zwrotem wskazującym rodzaj zagrożenia dla zdrowia H314 – „powoduje poważne poparzenia skóry i uszkodzenie oczu”.

1,2:3,4-Diepoksybutan otrzymywany jest z buta-1,3-dienu w wyniku reakcji chlorowania, a następnie epoksydacji z kwasem nadctowym, hydrolizy grup epoksydowych i procesu reepoksydacji w obecności wodorotlenku sodu. Inną metodą otrzymywania jest destylacja zwrotna 1,4-dichloro-2,3-butanediolu otrzymanego z erytrytolu dichlorohydryny, w obecności wodorotlenku sodu [2].

1,2:3,4-Diepoksybutan jest metabolitem buta-1,3-dienu, który jest surowcem powszechnie stosowanym w przemyśle chemicznym – przede wszystkim jako półprodukt do syntez chemicznych (m.in. erytrytolu i farmaceutyków) oraz czynnik sieciujący włókna i polimery w przemyśle tekstylnym [2–4]. W środowisku pracy w Polsce 1,2:3,4-diepoksybutan jest stosowany głównie w laboratoriach, gdzie używa się go do celów analitycznych, np. w testach diagnostycznych niedokrwistości Fanconiego [5].

W piśmiennictwie nie ma metod oznaczania zawartości 1,2:3,4-diepoksybutanu w powietrzu środowiska pracy, natomiast można znaleźć metody oznaczania tej substancji w próbkach środowiskowych, tj. odpadach, glebie lub wodzie [6,7]. Zarówno metoda analityczna nr 8260B [6], jak i 5030C [7] amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska (Environmental Protection Agency – EPA) pozwalają oznaczyć DEB wśród innych lotnych związków organicznych przy użyciu metody chromatografii gazowej ze spektrometrią mas (gas chromatography with mass spectrometry – GC-MS). Na podstawie wyników uzyskanych w badaniach *in vitro* i *in vivo* uważa się, że zarówno u ludzi, jak i zwierząt główny szlak przemian buta-1,3-dienu jest związany z syntezą epoksydów. Stąd wiele artykułów poświęcono oznaczaniu DEB w płynach ustrojowych (krwi, moczu) organizmów żywych podczas badań toksykologicznych dotyczących narażenia na buta-1,3-dien [8–10].

Do tej pory nie ustalono wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia 1,2:3,4-diepoksybutanu ani nie opracowano metody oznaczania stężeń tej substancji w powietrzu w środowisku pracy, z czego wynika ograniczona możliwość oceny i dokumentowania ryzyka zawodowego.

MATERIAŁ I METODY

Odczynniki i materiały

W badaniach wykorzystano 1,2:3,4-diepoksybutan (prod. Fluka, Niemcy), roztwór buta-1,3-dienu w toluenie (20%_{wag.}) (prod. Sigma-Aldrich, Niemcy), disiarczki węgla (prod. Sigma-Aldrich, Niemcy), styren (prod. POCH, Polska), 1,2-epoksypropan (propylene oxide) (prod. Aldrich, Niemcy), 1,2-epoksy-3-fenoksypropan (prod. Aldrich, Niemcy) i toluen (prod. JTBaker, Holandia). Ponadto używano roztworu metanolu (MeOH) (prod. Sigma-Aldrich, Niemcy) w dichlorometanie (DCM) (prod. Riedel de Hæn, Niemcy) – DCM/MeOH (95:5, v/v).

Podczas ustalania metody pobierania próbek powietrza stosowano rurki adsorpcyjne z węglem aktywnym (wypełnienie 100 mg/50 mg) (prod. ZUP Analityk, Polska).

W badaniach wykorzystywano odczynniki o czystości co najmniej cz.d.a. (czysty do analizy) i szkło laboratoryjne, tj. kolby miarowe, pipety, naczynka szklane do desorpcji o pojemności 3 ml.

Aparatura i wyposażenie pomocnicze

W badaniach zastosowano chromatograf gazowy (prod. Agilent Technologies, USA) model 7890A ze spektrometrem mas (mass spectrometry – MS) model

5975C (prod. Agilent Technologies, USA) oraz programem sterującym ChemStation (prod. Agilent Technologies, USA) z biblioteką widm masowych Wiley 8th Edition. Rozdzielenie chromatograficzne mieszaniny substancji współwystępujących przeprowadzono na kolumnie kapilarnej Rtx-5MS o długości 30 m, średnicy wewnętrznej 0,25 mm z usieciowanym poli(5%-difenyl-95%-dimetylosiloksanem) o grubości filmu 0,25 μm (prod. Restek, USA).

Do poboru próbek powietrza zawierających 1,2:3,4-diepoksybutan wykorzystano aspiratory Gilian LFS-113 (prod. Sensidyne, USA). Wzorce odważano na wadze analitycznej Sartorius TE214S (prod. Sartorius Corporation, USA).

WYNIKI I OMÓWIENIE

Warunki oznaczania chromatograficznego

Sprawdzono technikę GC-MS do oznaczania 1,2:3,4-diepoksybutanu, korzystając z parametrów podanych w artykule Valentine i wsp. [8]. Analizę 1,2:3,4-diepoksybutanu w mieszaninie DCM/MeOH (w stosunku objętościowym 95:5) prowadzono metodą GC-MS, stosując chromatograf gazowy Agilent Technologies 7890A sprzężony ze spektrometrem mas 5975C i kolumnę kapilarną Rtx-5MS (30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm).

Warunki pracy GC-MS:

- temperatura kolumny programowana:
 - temperatura początkowa – 45°C przez 3 min,
 - przyrost temperatury – 20°C/min do 125°C (3 min),
 - przyrost temperatury – 50°C/min do 245°C,
 - temperatura końcowa – 245°C przez 1 min,
- temperatura dozownika – 200°C,

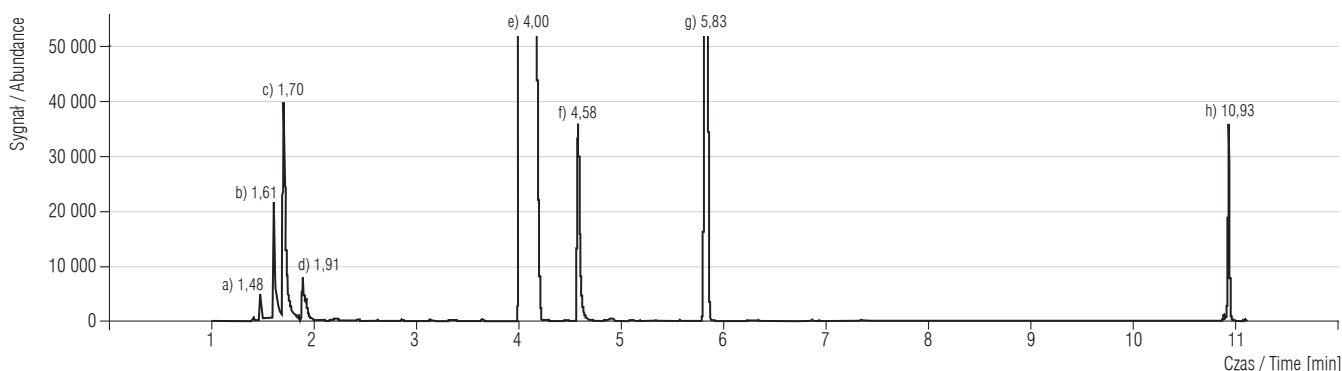
- strumień objętości gazu nośnego (helu) – 1 ml/min,
- dzielnik próbki – 10:1,
- objętość wstrzykiwanej próbki – 2 μl ,
- temperatura źródła jonów – 230°C,
- stosowano jonizację elektronami o energii – 70 eV,
- tryb przemiatań z rejestracją pełnego widma masowego – 35–260 amu,
- masy monitorowanych jonów podczas oznaczania DEB w trybie monitorowania wybranych jonów – 39, 55, 56 m/z.

W podanych warunkach pracy chromatografu i spektrometru mas zaprogramowanego w trybie przemiatań z rejestracją pełnego widma masowego uzyskano rozdział 1,2:3,4-diepoksybutanu od buta-1,3-dieniu, 1,2-epoksypropanu, dichlorometanu, disiarczku węgla, etanolu, toluenu, styrenu i 1,2-epoksy-3-fenoksypropanu (ryc. 1).

Zmiana trybu monitorowania w spektrometrze mas – monitorowanie wybranych jonów – umożliwiła oznaczanie badanego związku na poziomie 20-krotnie niższych stężeń.

Pobieranie próbek powietrza i badanie stopnia desorpcji

W atmosferze środowiska pracy 1,2:3,4-diepoksybutan może występować w postaci par, dlatego warunki pobierania próbek powietrza dobrano tak, żeby zapewnić ilościowe wyodrębnienie tej substancji z powietrza. Do badań zastosowano rurki pochłaniające zawierające węgiel aktywny przez analogię do metod oznaczania w powietrzu epoksyetanu, 1,2-epoksypropanu, 2,3-epoksy-1-propanolu, 1,2-epoksy-3-fenoksypropanu i 3-(2,3-epoksypropoksy)propenu [11–15].



Chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (GC-MS), kolumna Rtx-5MS (30 m \times 0,25 mm \times 250 nm), programowana temperatura pieca, pełne widmo masowe / Gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS), Rtx-5MS column (30 m \times 0,25 mm \times 250 nm), programmed oven temperature, total ion current (TIC).

Ryc. 1. Chromatogram roztworu wzorcowego 1,2:3,4-diepoksybutanu i substancji współwystępujących: a) buta-1,3-dieniu, b) 1,2-epoksypropanu, c) dichlorometanu i disiarczku węgla, d) etanolu, e) toluenu, f) 1,2:3,4-diepoksybutanu, g) styrenu, h) 1,2-epoksy-3-fenoksypropanu
Fig. 1. Chromatogram of standard solution of 1,2:3,4-diepoksybutane and coexisting substances: a) buta-1,3-diene, b) 1,2-epoxypropane, c) dichloromethane and carbon disulfide, d) ethanol, e) toluene, f) 1,2:3,4-diepoksybutane, g) styrene, h) 1,2-epoxy-3-phenoxypropane

Badania wstępne stopnia desorpcji przeprowadzono, dodając do 3 naczynek po 100 mg węgla aktywnego, a następnie nanosząc na węgiel po 1,55 µg 1,2:3,4-diepoksybutanu. W 4. naczynku przygotowano próbkę kontrolną zawierającą tylko węgiel. Naczynka szczelnie zamknięto i pozostawiono do następnego dnia w zamrażarce. Następnie dodano po 1 ml wytypowanego desorbentu. Naczynka ponownie zamknięto i przeprowadzono desorpcję w ciągu 30 min, wstrząsając co pewien czas ich zawartością. Do badań wybrano disiarczki węgla, dichlorometan, mieszaninę disiarczku węgla

i metanolu oraz mieszaninę dichlorometanu i metanolu, jako rozpuszczalniki skutecznie desorbujące substancje chemiczne pochłonięte na węglu aktywnym. Roztwory znad warstwy węgla analizowano chromatograficznie.

Stwierdzono, że mieszanina dichlorometanu i metanolu (w stosunku objętościowym 95:5) jest dobrym desorbentem dla 1,2:3,4-diepoksybutanu z węgla aktywnego (współczynnik desorpcji wyniósł powyżej 0,97) (tab. 1).

Przebadano możliwość pochłaniania par 1,2:3,4-diepoksybutanu na rurki szklane zawierające 100 mg

Tabela 1. Desorpcja statyczna 1,2:3,4-diepoksybutanu (DEB)* z węgla aktywnego
Table 1. 1,2:3,4-Diepoxybutane (DEB)* static adsorption from activated carbon

Rozpuszczalnik Solvent	Średnia powierzchnia pików roztworów porównawczych Average peak area of reference solution	Średnia powierzchnia pików roztworów po desorpcji Average peak area of solution after liquid desorption	Współczynnik desorpcji statycznej Coefficient of static desorption [%]
Disiarczek węgla / Carbon disulfide	38 129	20 524	53,8
Mieszanina disiarczku węgla i metanolu (99:1, v/v) / Carbon disulfide/methanol mixture (99:1, v/v)	40 624	36 254	89,2
Dichlorometan / Dichloromethane	42 889	50 120	116,9
Mieszanina dichlorometanu i metanolu / Dichloromethane/methanol mixture (95:5, v/v)	38 769	38 717	99,9

* Około / Approximately: 1,55 µg DEB.

Tabela 2. Wyniki adsorpcji 1,2:3,4-diepoksybutanu (DEB) na rurkach pochłaniających wypełnionych węglem aktywnym (100 mg/50 mg)
Table 2. Results of adsorption of 1,2:3,4-diepoxybutane (DEB) on sorbent tubes filled with activated carbon (100 mg/50 mg)

Strumień objętości powietrza Air flow [ml/min]	Czas pochłaniania Time of sampling [min]	Przybliżone stężenie substancji w powietrzu Approximate substance concentration in the air [mg/m ³]	Powierzchnia pików DEB w roztworach po desorpcji DEB peak area in solutions after desorption		Zawartość substancji w II warstwie (w ilości oznaczonej w I warstwie) Content of the substance on layer II (in amount found in layer I) [%]
			warstwa I layer I	warstwa II layer II	
100	60	1,035	196 721	475	0,2
			192 390	465	0,2
			192 914	390	0,2
200	60	0,518	197 914	240	0,1
			185 835	300	0,2
			184 926	280	0,2
100	180	0,345	190 659	1 100	0,6
			189 151	750	0,4
			196 330	990	0,5
50	360	0,345	186 308	600	0,3
			192 041	540	0,3
			190 933	350	0,2

i 50 mg węgla aktywnego. W tym celu nakropiono na włókno szklane umieszczone przed I warstwą (100 mg) węgla aktywnego po 2 μ l roztworu DEB o stężeniu 3,1 mg/ml i natychmiast przepuszczono przez próbki 6 l, 12 l i 18 l powietrza. Strumień objętości powietrza wynosił 50 ml/min, 100 ml/min i 200 ml/min. Roztwór uzyskany po desorpcji substancji z węgla aktywnego za pomocą mieszaniny dichlorometanu i metanolu oznaczono chromatograficznie. Uzyskano całkowitą adsorpcję DEB w pierwszej warstwie węgla. Wyniki przedstawiono w tabeli 2.

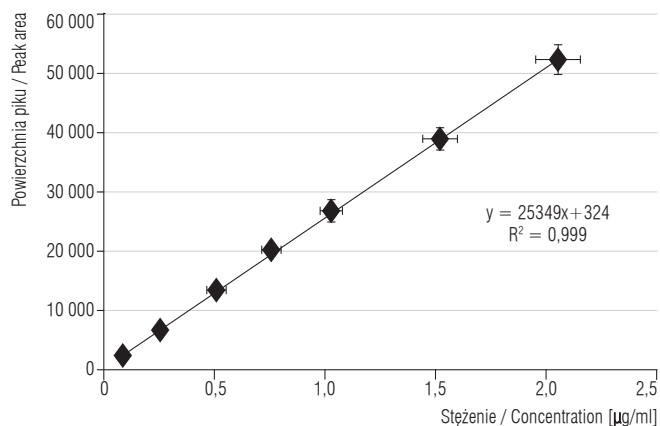
Na podstawie uzyskanych wyników ustalono następujący sposób pobierania próbek powietrza zawierającego 1,2:3,4-diepoksybutan: przez rurkę pochłaniającą zawierającą 2 warstwy węgla aktywnego (100 mg i 50 mg), rozdzielone i ograniczone od strony wlotu powietrza włóknem szklanym, przepuszczano 18 l powietrza ze strumieniem objętości nie większym niż 200 ml/min.

Kalibracja i precyzja

Oznaczanie kalibracyjne wykonywano, stosując roztwory wzorcowe 1,2:3,4-diepoksybutanu w mieszaninie DCM/MeOH (95:5, v/v).

Przygotowano po 3 serie roztworów kalibracyjnych o wzrastającym stężeniu od 0,052 μ g do 2,06 μ g DEB w 1 ml DCM/MeOH, które poddano analizie chromatograficznej w ustalonych warunkach. Następnie sporządzono wykres zależności powierzchni pików badanej substancji od jej stężeń w roztworach wzorcowych. Uzyskane krzywe kalibracyjne były liniowe w zakresie stężeń 0,091–2,06 μ g/ml (ryc. 2, tab. 3), a współczynnik korelacji wyniósł 0,999.

Precyzję oznaczeń kalibracyjnych oceniono za pomocą roztworu podstawowego o stężeniu 10,3 μ g/ml



R^2 – współczynnik determinacji / coefficient of determination

Ryc. 2. Zależność powierzchni pików od stężenia 1,2:3,4-diepoksybutanu

Fig. 2. Dependence of peak area on 1,2:3,4-diepoxybutane concentration

DEB w DCM/MeOH. Wykonano z niego 3 serie po 8 roztworów roboczych o stężeniach: 0,155 μ g/ml, 0,515 μ g/ml i 0,762 μ g/ml. Obliczone współczynniki zmienności dla kolejnych poziomów stężenia wyniosły odpowiednio: 3,6%, 2% i 3,2% (tab. 4).

Badanie stopnia desorpcji

dla 3 stężeń zakresu pomiarowego

W celu potwierdzenia poprawności ustalonych warunków pobierania próbek powietrza oznaczono wydajność desorpcji DEB z węgla aktywnego dla 3 stężeń zakresu pomiarowego. Badania wykonano w następujący sposób: do 6 rurek adsorpcyjnych, na włókno szklane znajdujące się przed 100 mg warstwą węgla aktywnego naniesiono po 3 μ l, 5 μ l i 7 μ l roztworu do desorpcji DEB w mieszaninie DCM/MeOH o stężeniu 121,2 μ g/ml. Następnie przez rurki przepuszczano 18 l czystego powietrza ze strumieniem objęto-

Tabela 3. Parametry kalibracji oznaczania 1,2:3,4-diepoksybutanu dla 3 serii pomiarowych

Table 3. Calibration parameters for determination of 1,2:3,4-diepoxybutane for the 3 series of measurements

Parametr Parameter	Seria pomiarowa Measurement series		
	I	II	III
Krzywa kalibracji $y = bx + a$ / Calibration curve $y = bx + a$	$y = 25\,267,51x + 290,39$	$y = 25\,972,17x - 10,45$	$y = 24\,808,07x + 693,22$
Współczynnik korelacji r / Correlation coefficient r	0,9998	0,9999	0,9988
Średnia wartość współczynnika kalibracji / Average value of the calibration factor		25 676,22	
Odchylenie standardowe współczynnika kalibracji / Standard deviation of the calibration factor		722,51	
Współczynnik zmienności współczynnika kalibracji / Coefficient of variation of the calibration factor [%]		2,81	

Tabela 4. Parametry charakteryzujące precyzję oznaczeń chromatograficznych
Table 4. Parameters characterizing the precision of chromatographic determination

Parametr Parameter	Seria pomiarowa Measurement series		
	I	II	III
Stężenie roztworu / Concentration of the solution [$\mu\text{g/ml}$]	0,155	0,515	0,763
Średnia powierzchnia pików / Average value of peak area	4 650	13 330	20 404
Odchylenie standardowe / Standard deviation	167	267	649
Współczynnik zmienności / Coefficient of variation [%]	3,6	2,0	3,2

Tabela 5. Wydajność desorpcji 1,2:3,4-diepoksybutanu (DEB) mieszaniną dichlorometanu i metanolu (DCM/MeOH) z węgla aktywnego
Table 5. Desorption efficiency of 1,2:3,4-diepoxybutane (DEB) with dichloromethane/methanol mixture (DCM/MeOH) from activated carbon

Masa DEB Mass of DEB [μg]	Powierzchnia pików DEB w roztworach po desorpcji DEB peak area in solutions after desorption	Powierzchnia pików DEB w roztworach porównawczych DEB peak area in reference solutions	Współczynnik desorpcji Desorption coefficient	Średni współczynnik desorpcji Average desorption coefficient
0,364	8 593,1	8 798,0	0,96	0,98
			0,98	
			0,99	
			1,00	
			0,97	
			0,97	
0,606	14 079,6	14 362,0	0,98	0,98
			0,95	
			0,98	
			0,97	
			1,01	
			0,99	
0,848	19 907,9	20 709,0	0,96	0,96
			0,95	
			0,95	
			0,98	
			0,96	
			0,97	

ści 200 ml/min i przeprowadzono desorpcję 1 ml mieszaniny DCM/MeOH z I warstwy węgla aktywnego i oddzielnie z II warstwy kontrolnej. Roztwory uzyskane po desorpcji oznaczano chromatograficznie.

Wykonano także oznaczanie DEB w 3 roztworach porównawczych, które przygotowano przez dodanie mikrostrzykawką 3 μl , 5 μl i 7 μl roztworu do desorpcji DEB o stężeniu 121,2 $\mu\text{g/ml}$ do 1 ml mieszaniny DCM/MeOH.

Wyniki badań wydajności desorpcji podane w tabeli 5. wskazują, że roztwór metanolu w dichlorometanie jest odpowiednim rozpuszczalnikiem do desorp-

cji DEB z węgla aktywnego. Średni współczynnik desorpcji dla 1,2:3,4-diepoksybutanu wynosi 0,97.

Badanie trwałości próbek

Trwałość pobranych próbek powietrza w zależności od czasu ich przechowywania badano w następujący sposób: na 24 rurki pochłaniające nanoszono po 5 μl roztworu DEB o stężeniu 121,2 $\mu\text{g/ml}$, przepuszczono powietrze przez 180 min ze strumieniem objętości 100 ml/min. Po 9 próbek umieszczono w chłodziarce i zamrażalniku chłodziarki. Próbki (po 3 sztuki) analizowano natychmiast po przepuszczeniu 18 l po-

wietrza i w kolejnych dniach przechowywania w zamrażalniku i chłodziarce. Analizowano obydwie warstwy z każdej rurki pochłaniającej. Obliczono średnią zawartość DEB w każdym zestawie 3 rurek. Na podstawie wyników analizy próbek obliczono parametr – zmianę wyników oznaczenia (w procentach), jako różnicę między średnią wyników próbek analizowanych natychmiast po pobraniu a średnią wyników próbek powtórzeniowych analizowanych po różnym czasie przechowywania.

Wyniki badań przedstawiono na rycinach 3. i 4.

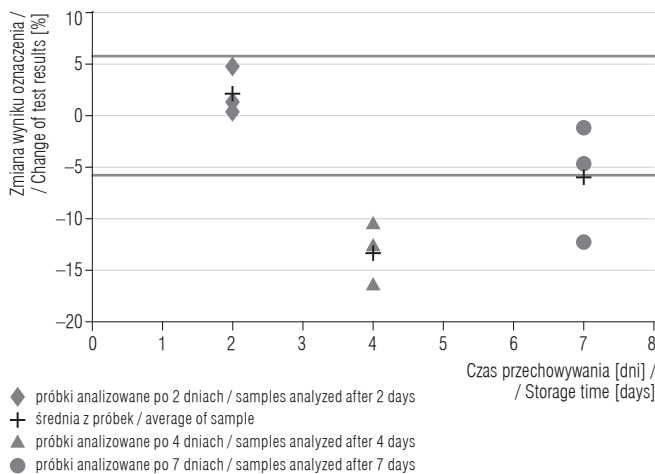
Linie na rycinach 3. i 4. wyznaczono na podstawie wyliczonej wielkości całkowitej precyzji badania (tab. 4).

Dane walidacyjne metody

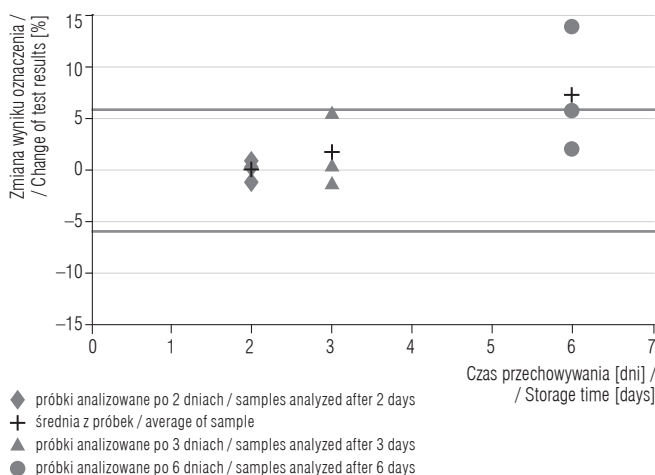
Walidację metody przeprowadzono zgodnie z europejską normą PN-EN 482:2012 [16]. Granice wykrywalności (limit of detection – LOD) i oznaczalności (limit of quantification – LOQ) wyznaczono na podstawie wyników analizy ślepych próbek, które otrzymano przez ekstrakcję stosowanego do pobierania próbek węgla aktywnego (w ilości 100 mg) 1 ml mieszaniny dichlormetanu i metanolu. Do obliczenia LOD i LOQ wykorzystywano wyliczoną wartość odchylenia standardowego próbek i współczynnik nachylenia krzywej kalibracyjnej. Dane walidacyjne metody oznaczania DEB uzyskane na podstawie wyników przeprowadzonych badań przedstawiono w tabeli 6.

WNIOSKI

W wyniku przeprowadzonych badań opracowano sposób pobierania próbek powietrza oraz odpowiednio czułą i selektywną metodę oznaczania stężeń 1,2:3,4-diepoksybutanu w obecności buta-1,3-dienu, 1,2-epoksy-



Ryc. 3. Badanie trwałości próbek 1,2:3,4-diepoksybutanu przechowywanych w chłodziarce
Fig. 3. Stability test of 1,2:3,4-diepoxybutane samples stored in the refrigerator



Ryc. 4. Badanie trwałości próbek 1,2:3,4-diepoksybutanu przechowywanych w zamrażarce
Fig. 4. Stability test of 1,2:3,4-diepoxybutane samples stored in the freezer

Tabela 6. Dane walidacyjne metody oznaczania 1,2:3,4-diepoksybutanu
Table 6. Validation data for the determination of 1,2:3,4-diepoxybutane

Parametr Parameter	Wartość Value
Zakres pomiarowy / Measurement range [mg/m ³]	0,005–0,114
Ilość pobranego powietrza / Air volume sampled for analysis [l]	18
Zakres krzywej wzorcowej / Range of calibration curve [µg/ml]	0,09–2,06
Granica wykrywalności / Limit of detection (LOD) [ng/ml]	9,89
Granica oznaczalności / Limit of quantification (LOQ) [ng/ml]	29,67
Współczynnik korelacji r / Correlation coefficient r	0,9998
Całkowita precyzja badania / Overall precision of the examination [%]	5,83
Względna niepewność całkowita / Relative total uncertainty [%]	12,64

propanu, etanolu, toluenu, styrenu i 1,2-epoksy-3-fenoksypropanu. Przebadano przydatność węgla aktywnego do pochłaniania par 1,2:3,4-diepoksybutanu, oceniając wydajność pochłaniania i desorpcji, a także trwałość próbek powietrza. Oceniono, że rurki pochłaniające po pobieraniu próbek powietrza zawierających 1,2:3,4-diepoksybutan powinny być przechowywane w zamrażarce nie dłużej niż 3 dni. Rurki pochłaniające zawierające 100 mg i 50 mg węgla aktywnego zapewniły ilościowe wyodrębnienie par 1,2:3,4-diepoksybutanu z badanego powietrza w zakresie stężeń 0,005–0,114 mg/m³. Mieszanina dichlorometanu i metanolu (95:5, v/v) jest odpowiednim rozpuszczalnikiem do desorpcji 1,2:3,4-diepoksybutanu z węgla aktywnego. Współczynnik desorpcji wyniósł 0,97. Wskazania w funkcji stężeń 1,2:3,4-diepoksybutanu miały charakter liniowy w badanym zakresie stężeń 0,09–2,06 µg/ml, co odpowiada zakresowi stężeń w powietrzu 5–114 µg/m³ (dla objętości próbki powietrza 18 l i 1 ml mieszaniny rozpuszczalników do desorpcji). Opracowana metoda umożliwia oznaczanie badanej substancji w powietrzu na stanowiskach pracy i może być wykorzystana do oceny narażenia zawodowego.

PIŚMIENNICTWO

1. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006. DzU UE z 2008 r., L 353/1
2. Szymańska J.A., Frydrych B.: 1,2:3,4-Diepoksybutan. Wyt. Szac. Ryzyka Zdr. Czyn. Rak. 2009;27:37–49
3. Boysen G., Georgieva N.I., Bordeerat N.K., Šram R.J., Vacek P., Albertini R.J. i wsp.: Formation of 1,2: 3,4-diepoxycyclohexane-specific hemoglobin adducts in 1,3-butadiene exposed workers. *Toxicol. Sci.* 2012;125(1):30–40, <http://dx.doi.org/10.1093/toxsci/kfr272>
4. United States National Library of Medicine [Internet]: Library, Maryland 2015 [cytowany 9 grudnia 2015]. Toxnet – Toxicology data network. Toxinet database. 1,2:3,4-Diepoxycyclohexane. Adres: [https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~gpu\]G1:3](https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~gpu]G1:3)
5. Kluzek K., Zdzeniecka M.: Kompleksowa rola białek niedokrwistości Fanconiego w utrzymaniu stabilności genomu. *Postępy Biochem.* 2005;51:387–394
6. United States Environmental Protection Agency: Purge-and-trap for aqueous samples [Internet]: Agency, Washington 2003 [cytowany 9 grudnia 2015]. Adres: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/5030c.pdf>
7. United States Environmental Protection Agency: Volatile organic compounds by gas chromatography / mass spectrometry (GC/MS) [Internet]: Agency, Washington 2003 [cytowany 9 grudnia 2015]. Adres: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/8260b.pdf>
8. Valentine J.L., Boogaard P.J., Sweeney L.M., Turner M.J., Bond J.A., Medunsky M.A.: Disposition of butadiene epoxides in Sprague-Dawley rats. *Chem. Biol. Interact.* 1997;104:103–115, [http://dx.doi.org/10.1016/S0009-2797\(97\)03773-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0009-2797(97)03773-3)
9. Henderson R.F., Bechtold W.E., Thornton-Manning J.R., Dahl A.R.: Urinary butadiene diepoxide: A potential biomarker of blood diepoxide. *Toxicol.* 2001;160:81–86, [http://dx.doi.org/10.1016/S0300-483X\(00\)00438-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-483X(00)00438-8)
10. Haglund J., Silvari V., Esmans E., Törnqvist M.: Cobalamin as an analytical tool for analysis of oxirane metabolites of 1,3-butadiene: Development and validation of the method. *J. Chromatogr. A* 2006;1119:246–250, <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2005.11.069>
11. Wesołowski W.: Epoksyetan – metoda oznaczania. *Podst. Met. Oceny Środ. Pr.* 1998;19:63–67
12. Wesołowski W.: 1,2-Epoksypropan – metoda oznaczania. *Podst. Met. Oceny Środ. Pr.* 1998;19:68–72
13. Romanowicz B.: 2,3-Epoksy-1-propanol – metoda oznaczania. *Podst. Met. Oceny Środ. Pr.* 1998;19:73–76
14. Woźnica A., Jeżewska A.: 1,2-Epoksy-3-fenoksypropan – metoda oznaczania. *Podst. Met. Oceny Środ. Pr.* 2011; 67:93–98
15. Jeżewska A.: 3-(2,3-Epoksypropoksy)propen – metoda oznaczania. *Podst. Met. Oceny Środ. Pr.* 2004;67:53–59
16. PN-EN 482:2012. Narażenie na stanowiskach pracy – wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa 2012