

Joanna Kowalska  
Anna Jeżewska

## OPTIMALIZACJA METODY OZNACZANIA SIARCZANU DIETYLU NA STANOWISKACH PRACY

OPTIMIZATION OF THE METHOD FOR THE DETERMINATION  
OF DIETHYL SULFATE AT WORKPLACES

Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy / Central Institute for Labour Protection – National Research Institute,  
Warsaw, Poland  
Zakład Zagrożeń Chemicznych, Pyłowych i Biologicznych / Department of Chemical, Aerosol and Biological Hazards

### STRESZCZENIE

**Wstęp:** Siarczan dietylu (diethyl sulfate – DES) 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 DES w krajowych przedsiębiorstwach zaistniała potrzeba opracowania czulej metody oznaczania siarczanu dietylu 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). W badaniu wykorzystano kolumnę kapilarną Rtx-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm) (prod. Restek, USA). Przebadano możliwość wykorzystania rurek pochłaniających zawierających: węgiel aktywny (100 mg/50 mg), żel krzemionkowy (100 mg/50 mg) oraz Porapak Q (150 mg/75 mg), do pochłaniania siarczanu dietylu. **Wyniki:** Opracowano metodę pobierania próbek powietrza zawierających siarczan dietylu. Z sorbentów wybrano Porapak Q do pochłaniania par DES. Oznaczanie zaadsorbowanego DES polega na jego desorpcji mieszaniną dichlorometanu i metanolu (95:5, v/v) i analizie chromatograficznej tak otrzymanego roztworu. Krzywa kalibracji w zakresie stężeń 0,27–5,42 μg/ml jest liniowa ( $r = 0,999$ ), co odpowiada zakresowi 0,0075–0,15 mg/m<sup>3</sup> dla próbki powietrza o objętości 36 l. **Wnioski:** Opisana metoda analityczna umożliwia selektywne oznaczenie DES w powietrzu na stanowiskach pracy w obecności siarczanu dimetylu, etanolu, dichlorometanu, trietyloaminy, 2-(dietyloamino)etanolu i N,N'-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy. Metoda spełnia wymagania normy PN-EN 482 dla procedur dotyczących oznaczania czynników chemicznych. Med. Pr. 2018;69(3)

**Słowa kluczowe:** stanowisko pracy, czynnik rakotwórczy, analiza powietrza, chromatografia gazowa, spektrometria mas, siarczan dietylu

### ABSTRACT

**Background:** Diethyl sulfate (DES) is a substance classified to the group of carcinogens. The value of maximum admissible concentration for this substance in workplace air is not specified in Poland. Due to the use of DES in domestic companies there is a need to develop a sensitive method for the determination of diethyl sulfate in the work environment. **Material and Methods:** Studies were performed using gas chromatography (GC) technique. An Agilent Technologies chromatograph, series 7890A, with a mass selective detector (5975C, Agilent Technologies, USA) was used in the experiment. Separation was performed on a capillary column with Rtx-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) (Restek, USA). The possibility of using sorbent tubes filled with activated carbon (100 mg/50 mg), silica gel (100 mg/50 mg) and Porapak Q (150 mg/75 mg) for absorption of diethyl sulphate was investigated. **Results:** The method of sampling air containing diethyl sulfate was developed. Among the sorbents to absorb DES Porapak Q was chosen. Determination of the adsorbed vapor includes desorption of DES, using dichloromethane/methanol mixture (95:5, v/v) and chromatographic analysis of so obtained solution. Method is linear ( $r = 0.999$ ) within the investigated working range of 0.27–5.42 μg/ml, which is an equivalent to air concentrations 0.0075–0.15 mg/m<sup>3</sup> for a 36 l air sample. **Conclusions:** The analytical method described in this paper allows for selective determination of diethyl sulfate in the workplace air in the presence of dimethyl sulfate, ethanol, dichloromethane, triethylamine, 2-(diethylamino)ethanol, and triethylenetetramine. The method meets the criteria for performing procedures aimed at measuring chemical agents, listed in EN 482. Med Pr 2018;69(3)

**Key words:** workplace, carcinogens, analysis of air, gas chromatography, mass spectrometry, diethyl sulfate

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: 14 listopada 2017, zatwierdzono: 18 stycznia 2018

Finansowanie / Funding: publikacja opracowana na podstawie wyników 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 (projekt nr II.N.06 pt. „Badania w zakresie oznaczania wybranych rakotwórczych zanieczyszczeń powietrza na stanowiskach pracy z zastosowaniem technik chromatograficznych”, kierownik projektu: dr Joanna Kowalska).

## WSTĘP

Siarczan dietylu (diethyl sulfate – DES, numer CAS (Chemical Abstracts Service): 64-67-5) [1] jest bezbarwną oleistą cieczą o zapachu mięty, dobrze rozpuszczalną w wodzie i bardzo dobrze rozpuszczalną w etanolu i eterze dietylowym. Siarczan dietylu może dostawać się do organizmu człowieka drogą oddechową, pokarmową i przez skórę. W Rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 [1] siarczan dietylu zaklasyfikowano jako:

- substancję rakotwórczą kategorii 1B (Carc. 1B) z przypisanym zwrotem wskazującym rodzaj zagrożenia dla zdrowia H350 – „może powodować raka”,
- substancję mutageną kategorii 1B (Muta. 1B) z przypisanym zwrotem wskazującym rodzaj zagrożenia dla zdrowia H340 – „może powodować wady genetyczne”,
- substancję toksyczną kategorii 4 (Acute Tox. 4) z przypisanym zwrotem wskazującym rodzaj zagrożenia dla zdrowia H332 – „działa szkodliwie w następstwie wdychania”,
- substancję toksyczną kategorii 4 (Acute Tox. 4) z przypisanym zwrotem wskazującym rodzaj zagrożenia dla zdrowia H312 – „działa szkodliwie w kontakcie ze skórą”,
- substancję toksyczną kategorii 4 (Acute Tox. 4) z przypisanym zwrotem wskazującym rodzaj zagrożenia dla zdrowia H301 – „działa szkodliwie po połknięciu”.

Siarczan dietylu nie występuje naturalnie w przyrodzie, natomiast produkowany jest na skalę przemysłową m.in. w Azji i Stanach Zjednoczonych Ameryki [2]. Ciecz ta powstaje w wyniku reakcji etylenu ze stężonym kwasem siarkowym(VI) [3,4]. Zwykle jest więc produktem pośrednim podczas otrzymywania syntetycznego etanolu z etylenu w obecności kwasu siarkowego(VI) jako katalizatora [5,6].

Siarczan dietylu jest stosowany głównie jako czynnik alkilujący w syntezie organicznej przy produkcji etylowych pochodnych fenoli, amin i tioli, wykorzystywanych do produkcji barwników, pigmentów, farmaceutyków oraz kosmetyków [2,3,5,7]. Dostępne są doniesienia o stosowaniu siarczanu dietylu jako odczynnika laboratoryjnego przy pracach badawczych (jako czynnika mutagenego) dotyczących otrzymywania nowych odmian roślin uprawnych, np. rzepaku, wspięgi wężowatej (rośliny strączkowej) i chili [7–9], lub badaniach nowych leków [10].

Z zasobów Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje, Preparaty, Czynniki lub Procesy Techno-

logiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagenym prowadzonego w Instytucie Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi wynika, że w Polsce w latach 2013–2015 w swojej pracy narażonych na DES było 156–293 osób. Byli to przede wszystkim pracownicy zakładów farmaceutycznych i przetwórstwa chemicznego, a także uczelni i instytutów naukowych.

Dla siarczanu dietylu nie ma w Polsce prawnie obowiązujących wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń w powietrzu na stanowiskach pracy. W Austrii i Szwajcarii wartość normatywu higienicznego dla DES ustalono na poziomie 0,2 mg/m<sup>3</sup> dla pomiarów 8-godzinnych, a dla pomiarów krótkoterminowych – 0,8 mg/m<sup>3</sup> [11].

W piśmiennictwie dostępne są metody oznaczania zawartości siarczanu dietylu jednocześnie z siarczanem dimetylu (dimethyl sulphide – DMS) [12–14].

Gilland i Bright [12] stosowali do pobierania próbek powietrza zawierających siarczan dimetylu i siarczan dietylu rurki pochłaniające wypełnione żelem krzemionkowym. Siarczan dimetylu i DES z sorbentu desorbowano acetonem, a następnie oznaczano metodą chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-fotometryczną (flame photometric detector – FPD). Najmniejsze stężenie w powietrzu, jakie można oznaczyć tą metodą, wynosi 0,25 mg/m<sup>3</sup> (0,04 ppm) DMS i 0,64 mg/m<sup>3</sup> (0,1 ppm) DES dla próbki powietrza o objętości 20 l.

W Wielkiej Brytanii metodą zalecaną do oznaczania DES i DMS jest MDHS nr 89 [13] polegająca na adsorpcji substancji oznaczanych na stałym adsorbencie polimerowym (Tenax TA), późniejszej desorpcji termicznej analitów i analitycznym oznaczaniu techniką chromatografii gazowej połączonej ze spektrometrią mas (gas chromatography–mass spectrometry – GC-MS). Zakres stężeń oznaczanych analitów wynosi 0,05–1 mg/m<sup>3</sup> [13,14].

W Polsce do tej pory nie ustalono wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia siarczanu dietylu. Ustalono natomiast wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń dla siarczanu dimetylu i opracowano metodę oznaczania tej substancji w powietrzu w środowisku pracy [15–17].

Metoda oznaczania DMS opisana w normie PN-Z-04273-1:2001 [16] polega na adsorpcji par siarczanu(VI) dimetylu na sorbencie Tenax TA, desorpcji analitu metanolem i analizie otrzymanego roztworu metodą chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną. Najmniejsze stężenie siarczanu(VI) dimetylu, jakie można oznaczyć tą metodą, wynosi 0,2 mg/m<sup>3</sup> [16], co odpowiada 0,4-krotności obowiązującej wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) (0,5 mg/m<sup>3</sup>) [15].

Także metoda OSHA nr PV2147 [18] służy do oznaczania DMS w powietrzu na stanowiskach pracy. W tej metodzie badaną próbkę powietrza o objętości 10 l przepuszczano przez rurkę pochłaniającą wypełnioną sorbentem Porapak Q (100/50 mg) ze strumieniem objętości powietrza nie większym niż 100 ml/min. Siarczan dimetylu po desorpcji acetonem oznaczano z zastosowaniem chromatografu gazowego z detektorem płomieniowo-fotometrycznym. Zakres oznaczanych stężeń DMS: 2–265 µg/ml (0,2–26,5 mg/m<sup>3</sup> dla próbki powietrza o objętości 10 l) [18].

Ze względu na występowanie DES w środowisku pracy w Polsce i klasyfikacji tej substancji do substancji rakotwórczych kategorii 1B (Carc. 1B) konieczne stało się oznaczanie jego stężeń w powietrzu na stanowiskach pracy na odpowiednio niskim poziomie. Celem badań było opracowanie metody pobierania próbek powietrza na stanowisku pracy spełniającej następujące założenia: indywidualny sposób pobierania próbek, w którym próbnik umieszczony jest w strefie oddychania pracownika; sorbent odpowiedni do pochłaniania par obu estrów kwasu siarkowego(VI) – dietylu i dimetylu; trwałość próbek powietrza oraz rozpuszczalnik, który w sposób ilościowy wymyje siarczany z sorbentu.

Opracowanie metody, która umożliwi oznaczenie siarczanu dietylu (w obecności siarczanu dimetylu) w powietrzu na stanowisku pracy umożliwi ocenę ryzyka zawodowego i dokumentowanie tego ryzyka.

## MATERIAŁ I METODY

### Odczynniki i materiały

W badaniach stosowano siarczan dietylu (prod. Aldrich, Niemcy), siarczan dimetylu, trietyloaminę, 2-(dietyloamino)etanol, metanol, disiarczek węgla, aceton (prod. Sigma-Aldrich, Niemcy), N,N'-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminę (prod. Fluka, Niemcy), etanol (prod. POCH, Polska) i dichlorometan (prod. Riedel de Hën, Niemcy). Ponadto sporządzono roztwory metanolu (methanol – MeOH) (prod. Sigma-Aldrich, Niemcy) w dichlorometanie (dichloromethane – DCM) (prod. Riedel de Hën, Niemcy): DCM/MeOH (95:5, v/v) i metanolu (MeOH) (prod. Sigma-Aldrich, Niemcy) w disiarczku węgla (CS<sub>2</sub>) (prod. Sigma-Aldrich, Niemcy): CS<sub>2</sub>/MeOH (95:5, v/v).

Podczas ustalania metody pobierania próbek powietrza wykorzystano dostępne w handlu rurki adsorpcyjne z węglem aktywnym (wypełnienie: 100 mg/50 mg) (prod. ZUP Analityk, Polska), żelem krzemionkowym (wypełnienie: 100 mg/50 mg) (prod. ZUP Analityk,

Polska) i Porapakiem Q (wypełnienie: 150 mg/75 mg) (prod. SKC, USA).

W badaniach stosowano 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) i 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).

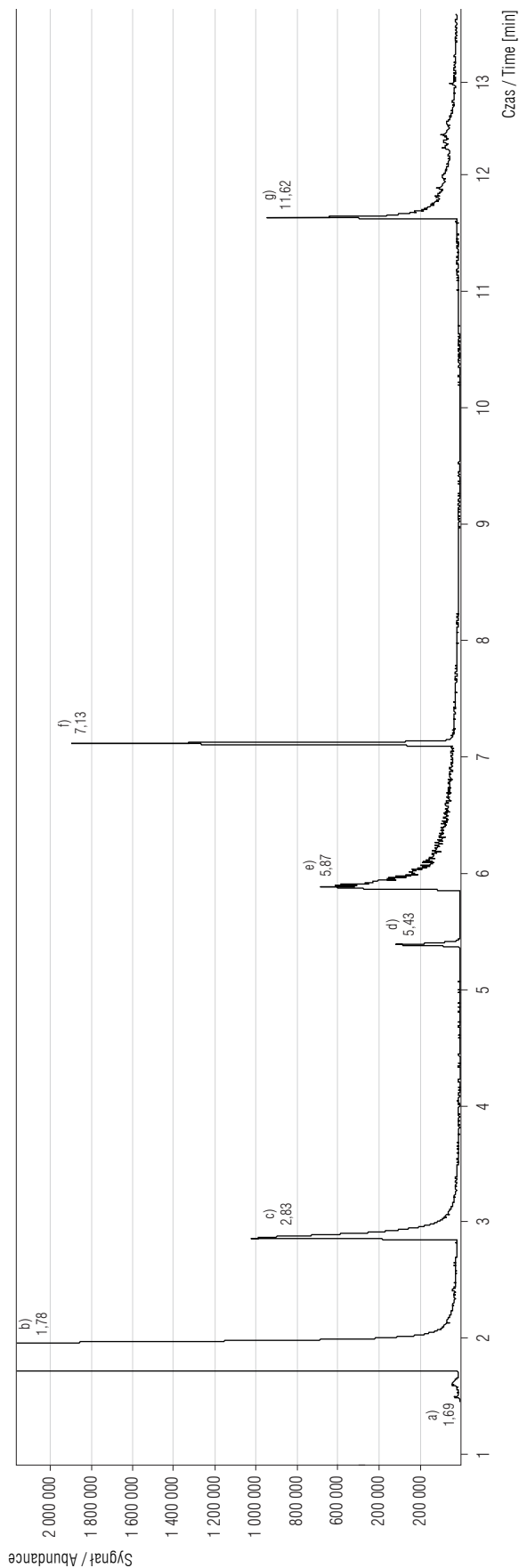
Pobieranie próbek powietrza zawierających siarczan dietylu prowadzono przy użyciu aspiratorów Gilian LFS-113 (prod. Sensidyne, USA). Wzorce odważano na wadze analitycznej Sartorius TE214S (prod. Sartorius Corporation, USA). Podczas badania odzysku analitów z sorbentów korzystano z wytrząsarki mechanicznej WL-2000 (prod. JWElectronic, Polska).

### Warunki oznaczania chromatograficznego

Do oznaczania siarczanu dietylu zastosowano technikę GC-MS, korzystając z parametrów podanych w metodzie MDHS nr 89 [13].

Rozdział chromatograficzny analitów przeprowadzono na kolumnie kapilarnej Rtx-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) w następującym programie temperaturowym: temperatura początkowa 45°C/3 min, przyrost temperatury 20°C×min<sup>-1</sup> do temperatury 125°C/3 min, kolejny przyrost temperatury 50°C×min<sup>-1</sup>, do temperatury końcowej 245°C/1 min, ze stałym przepływem helu 1 ml×min<sup>-1</sup>. Temperatura dozownika wynosiła 280°C, dzielnik próbki – 10:1. Z zastosowaniem jonizacji elektronami o energii 70 eV rejestrowano pełne widma masowe w zakresie 35–260 amu. Masy monitorowanych jonów podczas oznaczania DES w trybie monitorowania wybranych jonów wynosiły 45 m/z, 59 m/z, 99 m/z, 111 m/z, 125 m/z i 139 m/z.

W podanych warunkach pracy chromatografu i spektrometru mas zaprogramowanego w trybie przemieszczania z rejestracją pełnego widma masowego uzyskano rozdział siarczanu dietylu od siarczanu dimetylu, etanolu,



Chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (GC-MS), kolumna Rtx-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm), programowana temperatura pieca, przepływ 1 ml·min<sup>-1</sup>, pełne widmo masowe / Gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS), Rtx-5MS column (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm), programmed oven temperature, flow 1 ml·min<sup>-1</sup>, total ion current (TIC).

**Ryc. 1.** Chromatogram roztworu siarczanu dietylu oraz współwystępujących: a) etanol (1,69 min), b) dichlorometan (1,78 min), c) trietyloamina (2,83 min), d) siarczan dimetylu (5,43 min), e) 2-(dietyloamino)etanol (5,87 min), f) siarczan dietylu (7,13 min), g) N,N'-bis(2-aminoetylo)etylenodiamina (11,62 min)  
**Fig. 1.** Chromatogram of standard solution of diethyl sulfate and coexisting substances: a) ethanol (1.69 min), b) dichloromethane (1.78 min), c) triethylamine (2.83 min), d) dimethyl sulfate (5.43 min), e) 2-(diethylamino)ethanol (5.87 min), f) diethyl sulfate (7.13 min), g) triethylenetetramine (11.62 min)

trietylaminy, dichlorometanu, 2-(dietyloamino)etanolu, N,N'-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy (ryc. 1).

Oznaczenia ilościowe siarczanu dietylu w dalszych badaniach prowadzono w trybie monitorowania wybranych jonów.

## WYNIKI I OMÓWIENIE

Przeprowadzone badania miały na celu ustalenie warunków pobierania próbek powietrza zawierających siarczan dietylu, żeby zapewnić jego ilościowe wyodrębnienie z powietrza na stanowisku pracy. Na podstawie piśmiennictwa do opracowania sposobu pobierania próbek powietrza wybrano różne sorbenty. Do badań stosowano rurki pochłaniające zawierające węgiel aktywny, żel krzemionkowy i sorbent Porapak Q [12,18], które można łatwo umieścić w strefie oddychania pracownika w czasie indywidualnego sposobu pobierania próbek.

Podczas optymalizacji etapu pobierania próbek powietrza sprawdzono zdolność różnych rozpuszczalników do wymywania DES z wybranych sorbentów, zdolność tych sorbentów do zatrzymania siarczanu podczas przepuszczania powietrza ze stałym natężeniem przez rurki pochłaniające i trwałość próbek powietrza w postaci analitu zaadsorbowanego na sorbencie w rurce pochłaniającej.

### Badanie współczynnika desorpcji

Sprawdzono zdolność różnych rozpuszczalników do wymywania DES z wybranych sorbentów. W tym celu wyznaczono współczynniki desorpcji siarczanu dietylu w następujący sposób: przygotowano zestawy po 12 na-

czynek do desorpcji, zawierających po 100 mg żelu krzemionkowego, 150 mg Porapaku Q i 100 mg węgla aktywnego osobno. Na sorbenty naniesiono po 5 µl roztworu DES o stężeniu ok. 1 mg/ml. Zamknięte naczynka do desorpcji z zawartością pozostawiono na 2 godz. w temperaturze pokojowej. Naniesioną na sorbenty substancję wymywano 1 ml mieszaniny dichlorometanu i metanolu (95:5, v/v), 1 ml metanolu, 1 ml mieszaniny disiarczku węgla i metanolu (95:5, v/v) lub 1 ml acetonu. W ten sposób otrzymano po 3 próbki dla każdego sorbentu i każdego rozpuszczalnika.

Po 30 min wytrząsania przygotowanych próbek wykonano oznaczenie chromatograficznego DES w roztworach.

Wykonano także oznaczanie siarczanu dietylu w roztworach porównawczych otrzymanych przez wprowadzenie 5 µl roztworu o stężeniu 1 mg/ml do 1 ml każdego eluenta. Sporządzono po 3 roztwory porównawcze dla każdego rozpuszczalnika.

Po odczytaniu powierzchni pików na chromatogramach badanych roztworów obliczono współczynniki desorpcji. Wyniki badań wydajności desorpcji podano w tabelach 1–3.

Po przeprowadzeniu wstępnych badań stwierdzono, że mieszanina dichlorometanu i metanolu (w stosunku objętościowym 95/5) jest dobrym desorbentem dla siarczanu dietylu z Porapakiem Q, węgla aktywnego i żelu krzemionkowego.

### Ustalenie sposobu pobierania próbek powietrza

Następnie przebadano możliwość wykorzystania rurek szklanych zawierających: 100 mg i 50 mg węgla aktywnego, 100 mg i 50 mg żelu krzemionkowego oraz 150 mg

**Tabela 1.** Desorpcja siarczanu dietylu (DES)\* z żelu krzemionkowego  
**Table 1.** Diethyl sulfate (DES)\* adsorption from silica gel

Rozpuszczalnik Solvent	Powierzchnia pików Peak area (M)		Współczynnik desorpcji Coefficient of desorption [%]
	roztwory porównawcze reference solution	roztwory po desorpcji solution after liquid desorption	
Mieszanina dichlorometanu i metanolu / / Dichloromethane/methanol mixture (95:5, v/v)	336 745	301 886	89,6
Metanol / Methanol	294 665	237 358	80,6
Mieszanina disiarczku węgla i metanolu / / Carbon disulfide/methanol mixture (95:5, v/v)	322 776	35 818	11,1
Aceton / Acetone	355 682	315 669	88,8

\* Około / Approximately: 5 µg DES.

M – średnia / mean.

**Tabela 2.** Desorpcja siarczanu dietylu (DES)\* z Porapak Q  
**Table 2.** Diethyl sulfate (DES)\* adsorption from Porapak Q

Rozpuszczalnik Solvent	Powierzchnia pików Peak area (M)		Współczynnik desorpcji Coefficient of desorption [%]
	roztwory porównawcze reference solution	roztwory po desorpcji solution after liquid desorption	
Mieszanina dichlorometanu i metanolu / / Dichloromethane/methanol mixture (95:5, v/v)	333 485	317 421	95,2
Metanol / Methanol	279 923	238 963	85,4
Mieszanina disiarczku węgla i metanolu / / Carbon disulfide/methanol mixture (95:5, v/v)	323 136	188 276	58,3
Aceton / Acetone	371 712	296 828	79,9

\* Około / Approximately: 5 µg DES.

M – średnia / mean.

**Tabela 3.** Desorpcja siarczanu dietylu (DES)\* z węgla aktywnego  
**Table 3.** Diethyl sulfate (DES)\* adsorption from activated carbon

Rozpuszczalnik Solvent	Powierzchnia pików Peak area (M)		Współczynnik desorpcji Coefficient of desorption [%]
	roztwory porównawcze reference solution	roztwory po desorpcji solution after liquid desorption	
Mieszanina dichlorometanu i metanolu / / Dichloromethane/methanol mixture (95:5, v/v)	334 666	325 656	97,4
Metanol / Methanol	282 917	151 603	53,6
Mieszanina disiarczku węgla i metanolu / / Carbon disulfide/methanol mixture (95:5, v/v)	321 109	228 861	71,3
Aceton / Acetone	353 853	261 282	73,8

\* Około / Approximately: 5 µg DES.

M – średnia / mean.

i 75 mg Porapak Q do pochłaniania siarczanu dietylu podczas przepuszczania powietrza ze stałym natężeniem przez rurki pochłaniające. W tym celu nakropiono na włókna szklane umieszczone przed pierwszymi warstwami sorbentów w rurkach po 5 µl roztworu DES o stężeniu 7 mg/ml i przepuszczono przez rurki 36 l powietrza. Strumień objętości powietrza wynosił 200 ml/min. Po przepuszczeniu powietrza dla każdej rurki pochłaniającej wykonano desorpcję DES z dłuższej warstwy sorbentu i oddzielnie krótszej warstwy poprzez wymycie 1 ml mieszaniny dichlorometanu i metanolu.

Chromatograficzne oznaczenia roztworów uzyskanych po desorpcji substancji z sorbentów pozwoliły ocenić ilość siarczanu dietylu zatrzymaną na 1. i 2. warstwach sorbentów w rurkach. Uzyskano zadowalającą

adsorpcję DES w 1. warstwie żelu krzemionkowego i Porapak Q (> 95%) (tab. 4).

Sprawdzono także możliwość zastosowania wybranych rurek pochłaniających do jednoczesnego zaadsorbowania na sorbentach razem z siarczanem dietylu – siarczanu dimetylu. Zawartość siarczanu dimetylu w 2. warstwie żelu krzemionkowego i Porapak Q nie przekroczyła 5% w porównaniu z 1. warstwą (dla stężenia 0,97 mg DMS w 1 m<sup>3</sup> powietrza). Uzyskano także korzystne wyniki badania desorpcji statycznej siarczanu dimetylu przy użyciu 1 ml mieszaniny disiarczku węgla i metanolu (95:5, v/v).

Do dalszych badań stosowano rurki pochłaniające zawierające żel krzemionkowy i Porapak Q oraz sprawdzono trwałość próbek powietrza zawierających siarczan dietylu.

**Tabela 4.** Wyniki adsorpcji siarczanu dietylu (DES) na rurkach pochłaniających  
**Table 4.** Results of adsorption of diethyl sulfate (DES) on sorbent tubes

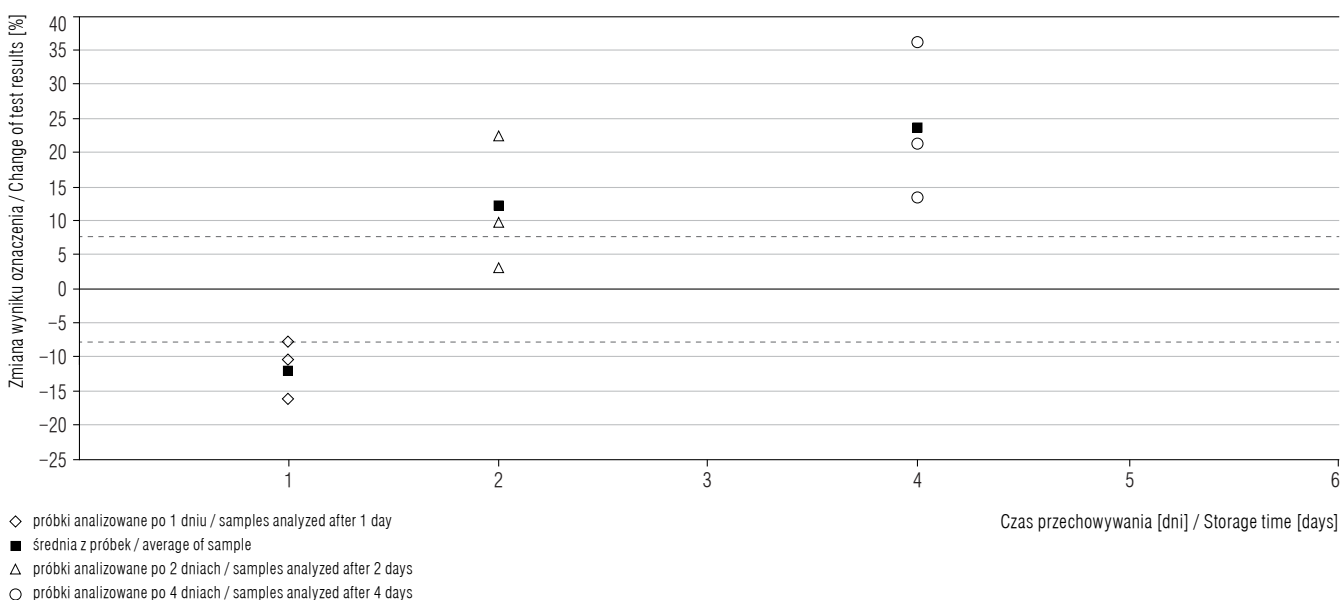
Rurka pochłaniająca Sorbent tube	Strumień objętości powietrza Air flow [ml/min]	Czas pochłaniania Time of sampling [min]	Przybliżone stężenie substancji w powietrzu Approximate substance concentration in the air [mg/m <sup>3</sup> ]	Powierzchnia pików DES w roztworach po desorpcji DES peak area in solutions 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	
Węgiel aktywny / / Activated carbon (100 mg/50 mg)	200	180	0,97	2 087 663	179 145	8,6
Żel krzemionkowy / / Silica gel (100 mg/50 mg)	200	180	0,97	2 388 197	0	0
Porapak Q (150 mg/75 mg)	200	180	0,97	2 392 936	0	0

### Badanie trwałości próbek powietrza

Trwałość pobranych próbek powietrza zawierających DES, w zależności od czasu ich przechowywania, badano w następujący sposób: na 12 rurek pochłaniających wypełnionych sorbentem Porapak Q i 12 rurek pochłaniających z żelazem krzemionkowym nanoszono po 5 µl roztworu o stężeniu 0,078 mg/ml DES. Po przepuszczeniu przez rurki 36 l powietrza (przez 180 min ze strumieniem objętości 200 ml/min) część z nich poddano analizie natychmiast (po 3 sztuki tak otrzymanych

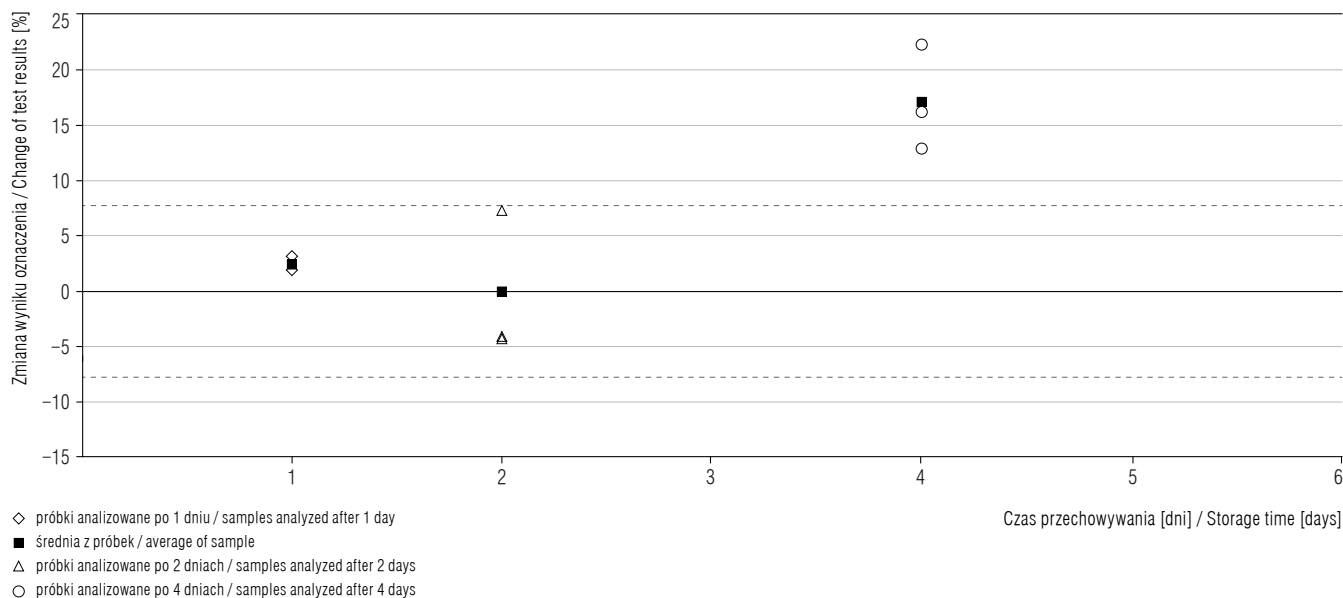
próbek z każdego typu). Pozostałe próbki umieszczono w zamrażalniku chłodziarki i analizowano w kolejnych dniach. Wyniki badań przedstawiono na rycinach 2. i 3.

Rurki pochłaniające wypełnione Porapakiem Q po pobieraniu próbek powietrza zawierających siarczan dietylu powinny być przechowywane w zamrażarce nie dłużej niż 2 dni. Rurki pochłaniające wypełnione żelazem krzemionkowym po pobieraniu próbek powietrza powinny być analizowane najpóźniej następnego dnia po przechowywaniu przez noc w zamrażarce.



**Ryc. 2.** Trwałość próbek powietrza zawierających siarczan dietylu, przechowywanych w zamrażarce (rurki pochłaniające wypełnione żelazem krzemionkowym)

**Fig. 2.** Stability of air samples, each containing diethyl sulfate, stored in the freezer (sorbent tubes filled with silica gel)



**Ryc. 3.** Trwałość próbek powietrza zawierających siarczan dietylu, przechowywanych w zamrażarce (rurki pochłaniające wypełnione Porapakem Q)

**Fig. 3.** Stability of air samples, each containing diethyl sulfate, stored in the freezer (sorbent tubes filled with Porapak Q)

### Badanie współczynnika odzysku DES

Na podstawie uzyskanych wyników badań wybrano do pobierania siarczanu dietylu na stanowiskach pracy rurkę pochłaniającą, zawierającą 2 warstwy sorbentu Porapak Q (150 mg i 75 mg). Przeprowadzono badanie stopnia odzysku DES dla 3 stężeń zakresu pomiarowego (0,0075–0,15 mg/m<sup>3</sup>) w celu potwierdzenia poprawności ustalonych warunków pobierania próbek powietrza. Do 6 rurek pochłaniających z Porapakem Q na włókno szklane znajdujące się przed 150 mg warstwą sorbentu naniesiono po 1 µl, 5 µl i 8 µl roztworu do desorpcji o stężeniu 0,57 mg/ml DES w mieszaninie DCM/MeOH. Przez rurki przepuszczano 36 l czystego powietrza ze strumieniem objętości 200 ml/min. Następnie przeprowadzono desorpcję 1 ml miesza-

ny DCM/MeOH z dłuższej warstwy sorbentu i oddzielnie z krótszej warstwy kontrolnej.

Naczynka szczelnie zamknięto i po wstrząsaniu (30 min) oznaczano chromatograficznie DES w roztworach znad sorbentu. Wykonano także oznaczanie zawartości siarczanu dietylu w roztworach porównawczych otrzymanych przez wprowadzenie 1 µl, 5 µl i 8 µl roztworu do desorpcji do 1 ml mieszaniny DCM/MeOH. Sporządzono po 3 roztwory porównawcze dla każdego poziomu stężeń. Po odczytaniu powierzchni pików na chromatogramach badanych roztworów obliczono współczynniki odzysku. Wyniki badań wydajności odzysku podane w tabeli 5, wskazują, że średni współczynnik odzysku dla siarczanu dietylu wynosi 0,95.

**Tabela 5.** Wydajność odzysku siarczanu dietylu (DES) mieszaniną DCM/MeOH z Porapaku Q

**Table 5.** Recovery efficiency of diethyl sulfate (DES) with DCM/MeOH mixture from Porapak Q

Masa DES DES mass [µg]	Powierzchnia pików DES DES peak area (M)		Współczynnik odzysku Recovery coefficient (M)	Współczynnik zmienności Coefficient of variation [%]
	w roztworach po desorpcji in solutions after desorption	w roztworach porównawczych in reference solutions		
0,57	40 006,8	42 112,0	0,95	3,39
2,85	188 801,2	198 839,0	0,95	4,73
4,56	300 892,4	317 969,0	0,95	3,25

M – średnia / mean.



**Tabela 6.** Dane walidacyjne metody oznaczania siarczanu dietylu (DES)  
**Table 6.** Validation data for the determination of diethyl sulfate (DES)

Parametr Parameter	Wartość Value
Zakres pomiarowy / Measurement range [mg/m <sup>3</sup> ]	0,0075–0,15
Ilość pobranego powietrza / Air volume sampled for analysis [l]	36
Zakres krzywej wzorcowej / Calibration curve, range [µg/ml]	0,27–5,42
Granica wykrywalności / Limit of detection (LOD) [ng/ml]	2,48
Granica oznaczalności / Limit of quantification (LOQ) [ng/ml]	7,43
Całkowita precyzja badania / Overall precision of the examination [%]	7,09
Względna niepewność całkowita / Relative total uncertainty [%]	15,13

### Dane walidacyjne metody

Dla opracowanej metody wyznaczono parametry walidacyjne wymienione w normie PN-EN 482 [19]. W tym celu przeprowadzono oznaczania kalibracyjne 3 serii roztworów DES o wzrastającym stężeniu od 0,27 µg do 5,42 µg w 1 ml DCM/MeOH (95:5, v/v), które poddano analizie chromatograficznej w ustalonych warunkach. Uzyskane krzywe kalibracyjne miały charakter liniowy, a ich średni współczynnik korelacji wyniósł 0,9998.

W celu oceny precyzji oznaczeń kalibracyjnych wykonano analizę chromatograficzną 3 serii po 8 roztworów roboczych DES o stężeniu 0,54 µg/ml (I seria), 1,36 µg/ml (II seria) i 4,014 µg/ml (III seria). Z przygotowanymi próbkami postępowano identycznie jak podczas wyznaczania krzywej kalibracyjnej. Na podstawie uzyskanych wyników obliczono odchylenie standardowe i współczynnik zmienności. Współczynniki zmienności dla poszczególnych serii wynosiły 4,98%, 3,53% i 6,21%, a średni współczynnik zmienności dla zakresu (średnia precyzja) wyniósł 5,03%.

Granice wykrywalności (limit of detection – LOD) i oznaczalności (limit of quantification – LOQ) wyznaczono na podstawie wyników analizy ślepych próbek, które otrzymano przez desorpcję stosowanego do pobierania próbek z Porapakem Q (w ilości 150 mg) 1 ml mieszaniny dichlorometanu i metanolu. Do obliczenia LOD i LOQ wykorzystywano wyliczoną wartość odchylenia standardowego próbek i współczynnik nachylenia krzywej kalibracyjnej. Dane walidacyjne metody oznaczania DES uzyskane na podstawie wyników przeprowadzonych badań przedstawiono w tabeli 6.

### WNIOSKI

W wyniku przeprowadzonych badań opracowano sposób pobierania próbek powietrza zawierającego w swo-

im składzie siarczan dietylu. Przebadano przydatność węgla aktywnego, żelu krzemionkowego i sorbentu Porapak Q do pochłaniania par tej substancji, oceniając wydajność desorpcji i pochłaniania, a także trwałość próbek powietrza. Do pochłaniania DES wybrano rurki pochłaniające wypełnione sorbentem Porapak Q (150 mg/75 mg). Mieszanina dichlorometanu i metanolu (95:5, v/v) jest odpowiednim rozpuszczalnikiem do desorpcji siarczanu dietylu z Porapakiem Q. Współczynnik odzysku wyniósł 0,95.

Badanie stopnia desorpcji DES dla 3 stężeń zakresu pomiarowego potwierdziły poprawność ustalonych warunków pobierania próbek powietrza. Oceniono, że wybrane rurki pochłaniające z zaadsorbowanym siarczanem dietylu powinny być przechowywane w zamrażarce nie dłużej niż 2 dni.

Na podstawie uzyskanych wyników ustalono następujący sposób pobierania próbek powietrza zawierającego siarczan dietylu: przez rurkę pochłaniającą, zawierającą 2 warstwy sorbentu Porapak Q (150 mg i 75 mg), rozdzielone i ograniczone od strony wlotu powietrza włóknem szklanym, należy przepuścić 36 l powietrza ze strumieniem objętości nie większym niż 200 ml/min. Opracowany sposób pobierania próbek i ustalone warunki oznaczania chromatograficznego umożliwiają oznaczanie DES w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie stężeń 0,0075–0,15 mg/m<sup>3</sup> (dla próbki powietrza o objętości 36 l).

### 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. National Toxicology Program: Report on carcinogens. 14th edition. [Internet]: Department of Health and Human Services, Public Health Service, Research Triangle Park 2016 [cytowany 26 czerwca 2017]. Adres: <https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/content/profiles/diethylsulfate.pdf>
3. Wnuk M.: Siarczan dietylowy. Wyt. Szac. Ryzyka Zdr. Czyn. Rak. 1997;5:135–149
4. Theodore S., Sai P.S.T.: Esterification of ethanol with sulfuric acid: A kinetic study. Can. J. Chem. Eng. 2001;79(1): 54–64, <https://doi.org/10.1002/cjce.5450790109>
5. World Health Organization: Diethyl sulfate. IARC Monogr. Carcinog. Risks Hum. 1992;71:1405–1415
6. Panda H.: Handbook on chemical industries (alcohol based). National Institute Of Industrial Research, Delhi 2002, ss. 7–8
7. Zhao Y., Wang M.L., Zhang Y.Z., Du L.F., Pan T.: A chlorophyll-reduced seedling mutant in oilseed rape, *Brassica napus*, for utilization in F1 hybrid production. Plant Breeding 2000;119:119–135, <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2000.00453.x>
8. Dhanavel D., Pavadai P., Mullainathan L., Mohana D., Raju G., Girija M. i wsp.: Effectiveness and efficiency of chemical mutagens in Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. Afr. J. Biotech. 2008;7(22):4116–4117
9. Sanjai Gandhi E., Sri Devi A., Mullainathan L.: The effect of ethyl methane sulphonate and diethyl sulphate on chilli (*Capsicum annuum* L.) in M1 generation. Int. Lett. Nat. Sci. 2014;5:18–23, <https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ILNS.10.18>
10. Fang S.M., Wu C.J., Li C.W., Cui C.B.: A practical strategy to discover new antitumor compounds by activating silent metabolite production in fungi by diethyl sulphate mutagenesis. Mar. Drugs 2014;2(4):1788–1814, <https://doi.org/10.3390/md12041788>
11. Institute for Occupational Safety and Health of the German Social Accident Insurance: GESTIS International Limit Values [Internet]: Institute, Sankt Augustin 2017 [cytowany 1 września 2017]. Adres: <http://limitvalue.ifa.dguv.de>
12. Gilland J.C., Bright A.P.: Determination of dimethyl and diethyl sulfate in air by gas chromatography. Ann. Occup. Hyg. 1998;6(41):459–462
13. Health and Safety Executive: Methods for the Determination of Hazardous Substances (MDHS) guidance: Dimethyl sulphate and diethyl sulphate in air. Laboratory method using thermal desorption, gas chromatography-mass spectrometry [Internet]: Health and Safety Executive, 1998 [cytowany 1 września 2017]. Adres: <http://www.hse.gov.uk/pubns/mdhs/pdfs/mdhs89.pdf>
14. Scobbie E., Groves J.A.: Determination of dimethyl sulphate and diethyl sulphate in air by thermal desorption gas chromatography-mass spectrometry. Ann. Occup. Hyg. 1998;42(3):201–207, [https://doi.org/10.1016/S0003-4878\(98\)00004-0](https://doi.org/10.1016/S0003-4878(98)00004-0)
15. Obwieszczenie Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej z dnia 7 czerwca 2017 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Pracy i Polityki Społecznej w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU z 2017 r., poz. 1348
16. PN-Z-04273-1:2001. Ochrona czystości powietrza – badania zawartości estrów kwasu siarkowego(VI) – oznaczanie siarczianu(VI) dimetylu na stanowiskach pracy metodą chromatografii gazowej. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa 2001
17. Wróblewska K.A.: Siarczan dimetylu – metoda oznaczania. Podst. Met. Oceny Środow. Pr. 1997;16:175–179
18. United States Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration [Internet]: Department, Salt Lake City 2017 [cytowany 28 sierpnia 2017]. Dimethyl sulfate. Adres: <https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/partial/pv2147/pv2147.html>
19. PN-EN 482+A1:2016-01. Narażenie na stanowiskach pracy. Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa 2016