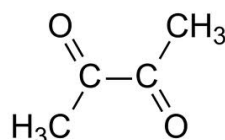


mgr inż. ANNA JEŻEWSKA
Centralny Instytut Ochrony Pracy –
Państwowy Instytut Badawczy
00-701 Warszawa
ul. Czerniakowska 16

Diacetyl

– metoda oznaczania



Numer CAS: 431-03-8

Słowa kluczowe: diacetyl, metoda analityczna, metoda chromatografii cieczowej, powietrze na stanowiskach pracy.

Keywords: diacetyl, a determination method, workplace air, liquid chromatographic analysis.

Metoda polega na zatrzymaniu par diacetylu na żelu krzemionkowym, desorpcji roztworem wody w metanolu, derywatywacji 2,4-dinitrofenylohydrazyną i analizie chromatograficznej otrzymanej pochodnej diacetylu.

Oznaczalność metody wynosi 0,04 mg/m³.

UWAGI WSTĘPNE

Diacetyl jest cieczą o barwie żółtej i intensywnym zapachu – związek o dużych stężeniach ma zapach podobny do zapachu chinonu, a o mniejszych stężeniach przypomina zapach świeżego masła. Związek jest stosowany jako olejek zapachowy (aromat masła) przy produkcji żywności – głównie bułek i ciastek.

Diacetyl dobrze rozpuszcza się w wodzie, w etanolu i eterze dietylowym. Jest wrażliwy na działanie światła.

Narażenie zawodowe na działanie diacetylu występuje głównie podczas produkcji żywności, np. prażonej kukurydzy oraz wszędzie tam, gdzie diacetyl jest dodawany jako aromat, np. do margaryny, ciasteczek maślanych, bułek czy batonów. Może także wydzielać się z produktów żywnościowych podczas obróbki termicznej.

Zgodnie z rozporządzeniem WE nr 1272/2008 diacetyl wykazuje toksyczność ostrą przez wdychanie (kategoria 3.) i doustnie (kategoria 4.), działanie drażniące na skórę (kategoria 2.), powoduje poważne uszkodzenie oczu (kategoria 1.), działa toksycznie na narządy docelowe po jed-

norazowym narażeniu (kategoria 3.). Działa szkodliwie po połknięciu (H302), działa drażniąco na skórę (H315), powoduje poważne uszkodzenie oczu (H318), działa toksycznie w następstwie wdychania (H331) i może powodować podrażnienie dróg oddechowych (H335).

Wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) diacetylu w Polsce nie została jeszcze ustalona. Zespół Ekspertów przy Międzyresortowej Komisji ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy jest w trakcie prac nad ustaleniem wartości NDS diacetylu, a proponowana wartość normatywu higienicznego wynosi $0,4 \text{ mg/m}^3$.

PROCEDURA ANALITYCZNA

1. Zakres procedury

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania zawartości diacetylu w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem spektrofotometrycznym.

Najmniejsze stężenie diacetylu, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi $0,04 \text{ mg/m}^3$.

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 par diacetylu na żelu krzemionkowym, desorpcji roztworem wody w metanolu, derywatyzacji za pomocą 2,4-dinitrofenylohydrazyny i analizie otrzymanego roztworu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

4. Wytyczne ogólne

4.1. Czystość odczynników

Do analizy należy stosować, o ile nie zaznaczono inaczej, odczynniki o stopniu czystości co najmniej cz.d.a. oraz wodę destylowaną o czystości do HPLC, zwaną wodą w dalszej części procedury.

4.2. Dokładność ważenia

Substancje stosowane w analizie należy ważyć z dokładnością do $0,0002 \text{ g}$.

4.3. Postępowanie z substancjami niebezpiecznymi

Czynności związane z rozpuszczalnikami organicznymi należy wykonywać pod sprawnie działającym wyciągiem laboratoryjnym.

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

5. Odczynniki, roztwory i materiały

5.1. Acetonitryl

Stosować acetonitryl wg punktu 4.1.

5.2. Diacetyl

Stosować diacetyl wg punktu 4.1.

5.3. 2,4-Dinitrofenylohydrazyna

Stosować handlową 2,4-dinitrofenylohydrazynę o 50-procentowej zawartości wody.

5.4. Kwas fosforowy(V)

Stosować kwas fosforowy(V) 85-procentowy o gęstości $1,691 \div 1,721$ g/ml w temperaturze 20 °C.

5.5. Metanol

Stosować metanol wg punktu 4.1.

5.6. Roztwór wody w metanolu, w stosunku objętościowym 5: 95

Stosować wodę i metanol wg punktu 4.1. zmieszane w stosunku objętościowym 5: 95.

5.7. Roztwór do derywatywacji

Do zważonej kolby pomiarowej o pojemności 25 ml odważyć 100 mg 2,4-dinitrofenylohydrazyny wg punktu 5.3., dodać 0,5 ml kwasu fosforowego(V) wg punktu 5.4. i uzupełnić do kreski acetonitrylem wg punktu 5.1.

5.8. Roztwór wzorcowy podstawowy diacetylu

Do zważonej kolby pomiarowej z ciemnego szkła o pojemności 100 ml należy odważyć 40 mg diacetylu wg punktu 5.2., kolbę zważyć, uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 5.5. i dokładnie wymieszać. Stężenie diacetylu w tak przygotowanym roztworze wynosi 0,4 mg/ml. Obliczyć dokładną zawartość tego związku w 1 ml roztworu.

5.9. Roztwór wzorcowy pośredni diacetylu

Do kolby pomiarowej z ciemnego szkła o pojemności 10 ml należy odmierzyć 1 ml roztworu wzorcowego podstawowego diacetylu wg punktu 5.8. i uzupełnić do kreski roztworem wg punktu 5.6. Stężenie diacetylu w tak przygotowanym roztworze wynosi 40 µg/ml. Obliczyć dokładną zawartość tego związku w 1 ml roztworu.

5.10. Roztwory wzorcowe robocze

Do sześciu kolb pomiarowych z ciemnego szkła o pojemności 2 ml odmierzyć kolejno: 10; 15; 25; 50; 100 i 200 µl roztworu wzorcowego pośredniego wg punktu 5.9., uzupełnić do kreski roztworem wg punktu 5.6. i wymieszać. Stężenia diacetylu w tak przygotowanych roztworach wynoszą odpowiednio: 0,2; 0,3; 0,5; 1; 2 i 4 µg/ml. Należy obliczyć dokładną zawartość diacetylu w 1 ml roztworu.

Roztwory przygotowane wg punktów: 5.8., 5.9. i 5.10. przechowywane w zamrażalniku chłodziarki są trwale przez co najmniej 4 dni.

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

6.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem spektrofotometrycznym i elektronicznym integratorem.

6.2. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną umożliwiającą oznaczenie pochodnej diacetylu, np.: kolumnę stalową oktadecylową o długości 250 mm, średnicy wewnętrznej 4,6 mm i uziarnieniu 5 µm.

6.3. Strzykawki do cieczy

Stosować strzykawki do cieczy o pojemności 10 µl ÷ 2,5 ml.

6.4. Naczynka do desorpcji

Stosować naczynka szklane do desorpcji o pojemności około 3 ml z nakrętkami wyposażonymi w zawory i uszczelki silikonowe, co umożliwi pobieranie roztworu bez otwierania naczynek.

6.5. Naczynka do automatycznego podajnika próbek

Stosować naczynka szklane do automatycznego podajnika próbek o pojemności 2 ml.

6.6. Pompa ssąca

Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobieranie próbek powietrza ze stałym strumieniem objętości wg punktu 7.

6.7. Rurki pochłaniające

Stosować dostępne w handlu rurki szklane wypełnione jedną 600 mg warstwą żelu krzemionkowego, zabezpieczone od strony wlotu powietrza filtrem z włókna szklanego i ograniczone z obu stron włóknem szklanym.

7. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobrać zgodnie z zasadami podanymi w normie PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek przez dwie, połączone szeregowo i zabezpieczone przed dostępem światła, rurki pochłaniające wg punktu 6.7. należy przepuścić 10 l badanego powietrza ze stałym, nie większym niż 3,5 l/h, strumieniem objętości. Pobrane próbki przechowywane w zamrażalniku chłodziarki są trwałe przez 2 dni.

8. Warunki pracy chromatografu

W przypadku stosowania kolumny o parametrach wg punktu 6.2. oznaczanie można wykonać w następujących warunkach:

– temperatura kolumny	40 °C
– faza ruchoma (acetonitryl: metanol: woda)	55: 1: 44
– strumień objętości fazy ruchomej	1 ml/min
– długość fali analitycznej detektora spektrofotometrycznego	360 nm
– objętość próbki	20 µl.

9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do sześciu naczynek wg punktu 6.5. przenieść 0,5 ml każdego roztworu wg punktu 5.10., dodać 25 µl roztworu do derywatywacji wg punktu 5.7. i pozostawić przez co najmniej 1 h w temperaturze pokojowej. Do chromatografu wprowadzić po 20 µl tych roztworów. 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 masę diacetylu w mikrogramach, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików pochodnej diacetylu.

Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

10. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza przenieść żel krzemionkowy razem z filtrem z włókna szklanego z pierwszej rurki i oddzielnie z drugiej rurki pochłaniającej do naczynek wg punktu 6.4., dodać strzykawką wg punktu 6.3. po 2 ml roztworu wg punktu 5.6., naczynka szczelnie zamknąć i pozostawić na 30 min, wstrząsając ich zawartością co pewien czas. Następnie pobrać 0,5 ml roztworu znad żelu i przenieść do naczynek wg punktu 6.5., dodać 25 μ l roztworu do derywatyzacji wg punktu 5.7. i pozostawić roztwory na 1 h w temperaturze pokojowej. Po tym czasie wykonać analizę chromatograficzną. Z każdego roztworu należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików pochodnej diacetylu wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami nie powinna być większa niż $\pm 5\%$ tej wartości. Masę diacetylu odczytać z krzywej wzorcowej.

11. Wyznaczanie współczynnika desorpcji

Do pięciu naczynek wg punktu 6.4. przesypać 600 mg warstwę żelu krzemionkowego z rurki pochłaniającej wg punktu 6.7. Następnie dodać po 10 μ l roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 5.8. W szóstym naczynku przygotować próbkę kontrolną zawierającą tylko żel. Naczynka szczelnie zamknąć i pozostawić do następnego dnia. Następnie dodać strzykawką wg punktu 6.3. po 2 ml roztworu wg punktu 5.6. Naczynka ponownie zamknąć i przeprowadzić desorpcję w ciągu 30 min, wstrząsając zawartością naczynek co pewien czas. Następnie pobrać 0,5 ml roztworu znad żelu i przenieść do naczynek wg punktu 6.5., dodać 25 μ l roztworu do derywatyzacji wg punktu 5.7. i pozostawić roztwory przez 1 h w temperaturze pokojowej. Jednocześnie wykonać oznaczanie badanej substancji co najmniej w trzech roztworach porównawczych, przygotowanych przez dodanie do 2 ml roztworu wg punktu 5.6. po 10 μ l roztworu wg punktu 5.8. Następnie pobrać 0,5 ml roztworu i przenieść do naczynek wg punktu 6.5., dodać 25 μ l roztworu do derywatyzacji wg punktu 5.7. i pozostawić roztwory przez 1 h w temperaturze pokojowej. Oznaczanie badanej substancji wykonać według punktu 10.

Współczynnik desorpcji dla diacetylu (d) obliczyć na podstawie wzoru:

$$d = \frac{P_d - P_o}{P_p},$$

w którym:

P_d – średnia powierzchnia pików pochodnej diacetylu na chromatogramach roztworów po desorpcji,

P_o – średnia powierzchnia pików o czasie retencji pochodnej diacetylu na chromatogramach roztworu kontrolnego,

P_p – średnia powierzchnia pików pochodnej diacetylu na chromatogramach roztworów porównawczych.

Następnie obliczyć średnią wartość współczynników desorpcji dla diacetylu (\bar{d}) jako średnią arytmetyczną otrzymanych wartości (d).

Współczynnik desorpcji należy zawsze oznaczać dla każdej nowej partii żelu.

12. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenia diacetylu (X) w badanym powietrzu obliczyć w miligramach na metr sześcienny na podstawie wzoru:

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

w którym:

m_1 – masa diacetylu z żelu krzemionkowego z pierwszej rurki odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach,

m_2 – masa diacetylu z żelu krzemionkowego z drugiej rurki odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach,

V – objętość przepuszczonego powietrza przez rurkę pochłaniającą, w litrach,

\bar{d} – średnia wartość współczynnika desorpcji wyznaczonego zgodnie z punktem 11.

INFORMACJE DODATKOWE

Badania wykonano z zastosowaniem chromatografu cieczowego firmy Agilent Technologies serii 1200 z detektorem diodowym (DAD) umożliwiającym oznaczanie przy długości fali 190 ÷ 950 nm, z automatycznym podajnikiem próbek, z dozowaniem próbki w zakresie 1 ÷ 100 μ l i oprogramowaniem Chemstation sterującym oraz zbierającym dane.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań uzyskano następujące dane walidacyjne:

- | | |
|-------------------------------------|--|
| – zakres pomiarowy | 0,2 ÷ 4 μ g/ml
(0,04 ÷ 0,8 mg/m ³ dla próbki powietrza 10 l) |
| – granica wykrywalności, LOD | 0,043 ng/ml |
| – granica oznaczalności, LOQ | 0,13 ng/ml |
| – współczynnik korelacji, R | 0,9992 |
| – całkowita precyzja badania, V_c | 5,28% |
| – względna niepewność całkowita | 11,53%. |

ANNA JEŻEWSKA

Diacetyl – a determination method

A b s t r a c t

Determination of a worker's exposure to airborne diacetyl is made using two silica gel tubes connected in a series. After sampling the silica gel tube is desorbed in methanol/water (95:5) and derivatized with 2,4-dinitrophenylhydrazine. Samples are analyzed with HPLC with UV detection.

The working range is 0.04 to 0.8 mg/m³ for a 10 l air sample.