

Kwas nadoctowy

Oznaczanie w powietrzu na stanowiskach pracy¹

Peracetic acid

Determination in workplace air

dr JOANNA KOWALSKA

e-mail: jokow@ciop.pl

inż. AGNIESZKA WOŹNICA

e-mail: agwoz@ciop.pl

Centralny Instytut Ochrony Pracy –
Państwowy Instytut Badawczy

00-701 Warszawa

ul. Czerniakowska 16

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

Keywords: peracetic acid, determination method, liquid chromatographic analysis, workplace air.

Streszczenie

Kwas nadoctowy (PAA) jest bezbarwną cieczą. Najczęściej występuje w postaci mieszaniny, w której pozostaje w stanie równowagi chemicznej z nadtlenkiem wodoru i kwasem octowym. Kwas nadoctowy jest powszechnie stosowany jako substancja: wybielająca, utleniająca i silnie dezynfekująca.

Celem pracy było opracowanie i walidacja czułej metody oznaczania stężeń kwasu nadoctowego w środowisku pracy w zakresie $1/10 \div 2$ NDS zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN-482.

Opracowana metoda oznaczania kwasu nadoctowego polega na przepuszczeniu powietrza zawierającego kwas nadoctowy przez płuczkę wypełnioną wodą. Kwas nadoctowy oznaczano w sposób pośredni przez oznaczenie produktu jego reakcji z sulfidem metylo-*p*-tolilowym

(MTS). Badania wykonano techniką wysoko-sprawną chromatografię cieczową (HPLC) przy zastosowaniu chromatografu cieczowego Agilent Technologies (Niemcy) seria 1200 z detektorem diodowym (DAD). Stosowano kolumnę Ultra C18 o wymiarach: 250 x 4,6 mm o $dp = 5 \mu\text{m}$, z przedkolumną o wymiarach: 10 x 4,0 mm (Restek, USA).

Metoda umożliwia oznaczenie kwasu nadoctowego w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie stężeń $0,08 \div 1,6 \text{ mg/m}^3$. Zastosowanie kolumny chromatograficznej Ultra C18 pozwala oznaczyć kwas nadoctowy w obecności nadtlenku wodoru.

Reakcja zaabsorbowanego w wodzie kwasu nadoctowego z sulfidem metylo-*p*-tolilowym (MTS) i powstanie odpowiedniego sulfotlenku zapewnia trwałość próbek. Metoda charakte-

¹ Publikacja opracowana na podstawie wyników III etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2014-2016 w zakresie zadań służb państwowych przez Ministerstwo Pracy i Polityki Społecznej.

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

ryzuje się dobrą precyzją i dokładnością, spełnia wymagania zawarte w normie europejskiej PN-EN 482 dla procedur dotyczących oznaczania czynników chemicznych.

Opracowana metoda oznaczania kwasu nadoctowego została zapisana w postaci procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku.

Summary

Peracetic acid (PAA) is a colorless liquid. It occurs in a form of a mixture in which it remains in a state of chemical equilibrium with hydrogen peroxide and acetic acid. PAA is frequently used as a bleach, disinfectant and oxidizing agent.

The aim of this study was to develop and validate a sensitive method for determining PAA concentrations in workplace air in the range from 1/10 to 2 MAC values, in accordance with the requirements of standard PN-EN 482.

The method is based on passing the air with PAA through impinger filled with water. PAA was determined indirectly by determining the product of its reaction with methyl-*p*-tolyl sulfide (MTS). Studies were performed using high-performance liquid chromatography (HPLC). An Agilent Technologies (Germany) chromatograph, series 1200, with a diode-array detector (DAD) was used in the

experiment. An Ultra C18 column (250 x 4.6 mm, $d_p = 5 \mu\text{m}$) with a precolumn (10 x 4.0 mm; Restek, USA) was applied.

PAA could be determined in workplace air at the concentration range from 0.08 to 1.6 mg/m³. The use of ultra C18 column makes it possible to determine PAA.

PAA absorbed in water with methyl-*p*-tolyl sulphide (MTS) and corresponding sulphoxide ensure the stability of a sample. The method is precise, accurate and it meets the criteria for procedures for measuring chemical agents listed in EN 482:2006. This method can be used for assessing occupational exposure to PAA and associated risk to workers' health. The developed method of determining PAA has been recorded as an analytical procedure (see appendix).

WPROWADZENIE

Kwas nadoctowy (PAA), (CAS 79-21-0) jest bezbarwną cieczą. Najczęściej występuje w postaci mieszaniny, w której pozostaje w stanie równowagi chemicznej z nadtlenkiem wodoru i kwasem octowym. Stężone roztwory kwasu nadoctowego są stabilne, natomiast: rozcieńczanie, ogrzewanie i zanieczyszczenia mogą powodować rozkładanie się tego związku. Kwas nadoctowy jest substancją palną, po podgrzaniu jego pary mogą tworzyć mieszaniny wybuchowe z powietrzem. Handlowa mieszanina może zawierać 30 ÷ 40% kwasu nadoctowego oraz około 10% nadtlenu wodoru, natomiast w celu zmniejszenia ryzyka narażenia dostępne produkty zawierają najczęściej do 15% kwasu nadoctowego (GESTIS 2014).

Kwas nadoctowy rozpuszcza się w: wodzie, etanolu, eterze dietylowym i kwasie siarkowym (GESTIS 2014; HSDB 1997).

Kwas nadoctowy jest otrzymywany w wyniku reakcji nadtlenu wodoru z kwasem

octowym, w obecności mocnego kwasu mineralnego (zwykle kwasu siarkowego) jako katalizatora (Harms i in. 1999; Sójka-Ledakowicz i in. 2003). Produkcja kwasu nadoctowego odbywa się w systemie zamkniętym. Narażenie zawodowe może występować podczas takich operacji, jak załadunek i rozładunek kwasu nadoctowego oraz podczas jego stosowania (Pakulska i in. 2014).

Kwas nadoctowy jest stosowany jako substancja: wybielająca, utleniająca i silnie dezynfekująca. Związek zapewnia skuteczną dezynfekcję: pomieszczeń, urządzeń gospodarczych i przemysłowych (Olesiak i in. 2012). Kwas nadoctowy jest używany w procesie bieleńia tkanin (Sójka-Ledakowicz i in. 2003) oraz w przemyśle: spożywczym (przy produkcji napojów), kosmetycznym i farmaceutycznym, a także w sektorze medycznym, np. do dezynfekcji endoskopów i innych termolabilnych wyrobów medycznych (Szumska i in. 2012).

Popularność stosowania kwasu nadooctowego wynika z jego właściwości przyjaznych dla środowiska (rozkłada się do substancji neutralnych chemicznie).

Kwas nadooctowy został sklasyfikowany w WE (nr 1272/2008) jako substancja: ciekła łatwopalna (kat. 3.), wykazująca działanie żrące na skórę (kat. 1.A), toksyczna ostra (kat. 4.) i wykazująca toksyczność ostrą dla środowiska wodnego (kat. 1.). Kwas nadooctowy ma przypisane następujące zwroty zagrożenia:

- H226: łatwopalna ciecz i pary
- H242: ogrzanie może spowodować pożar
- H332: działa szkodliwie w następstwie wdychania
- H312: działa szkodliwie w kontakcie ze skórą
- H302: działa szkodliwie po połknięciu
- H314: powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu
- H400: działa bardzo toksycznie na organizmy wodne.

Kwas nadooctowy o większym stężeniu niż 1-procentowy wykazuje działanie toksyczne na narządy docelowe (narażenie jednorazowe – kategoria 3. z przypisanym zwrotem określającym rodzaj zagrożenia: H335 – może powodować podrażnienie dróg oddechowych).

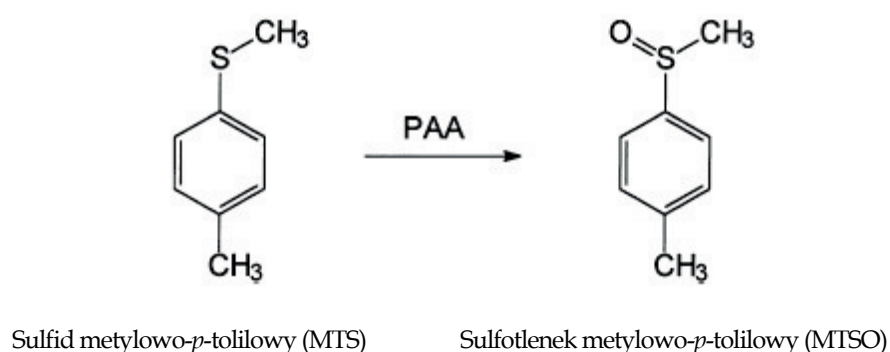
Zespół Ekspertów Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynn timerów Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy zaproponował przyjęcie stężenia 0,8 mg/m³ za wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) kwasu nadooctowego, a stężenia 1,6 mg/m³ za wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh), (Pakulska i in. 2014).

Do pomiaru stężeń kwasu nadooctowego w środowisku pracy zastosowano różne metody. Ponieważ rozcieńczone wodne roztwory kwasu nadooctowego są bardzo niestabil-

ne, Pinkernell i in. metodę oznaczania kwasu w roztworach wodnych oparli na reakcji utleniania siulfidu metylowo-*p*-tolilowego (MTS) do siulfotlenku metylowo-*p*-tolilowego (MTSO), (1994). Siulfotlenek analizowano z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem spektrofotometrycznym (HPLC-UV) przy długości fali analitycznej 230 nm (Pinkernell i in. 1994; 1997). Zastosowano również kolumnę chromatograficzną Supelcosil C-18 o wymiarach: 250 x 4,6 mm i izokratyczną fazę ruchomą metanol/woda (75/25, v/v), (Pinkernell i in. 1994).

Pacienti i in. wykorzystali reakcję utleniania siulfotlenku do oznaczenia kwasu nadooctowego w powietrzu na stanowiskach pracy pielęgniarek podczas dezynfekowania sprzętu medycznego w szpitalach (Pacienti i in. 2010). Do zatrzymania i zatężania kwasu nadooctowego wykorzystano specyficzne włókno do mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej. Produkt reakcji – MTSO analizowano z zastosowaniem chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem mas (GC-MS), (Pacienti i in. 2010). W artykule przedstawiono etapy opracowywania metody wykorzystującej siulfid metylowo-*p*-tolilowy, która ma umożliwić laboratoriom środowiskowym w Polsce ocenę narażenia zawodowego na kwas nadooctowy.

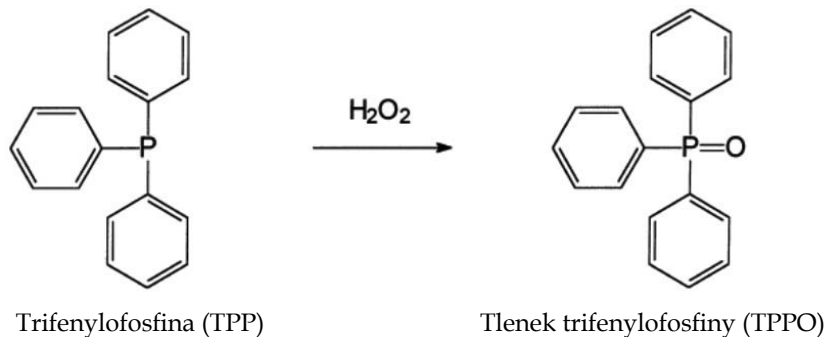
Zasadę opracowanej metody oparto na właściwościach utleniających kwasu nadooctowego. Ponieważ odczynnik ADS nie jest dostępny w handlu, a jego synteza jest długotrwała i skomplikowana, wykorzystano reakcję utleniania siulfidu metylowo-*p*-tolilowego przez kwas nadooctowy (Effkemann i in. 1999; Harms i in. 1999; Pinkernell i in. 1997; Schuh 2013). W wyniku reakcji powstaje siulfotlenek metylowo-*p*-tolilowy (Pinkernell i in. 1994; Harms i in. 1999). Reakcję utleniania siulfidu metylowo-*p*-tolilowego przez kwas nadooctowy przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Reakcja utleniania sulfidu metylo-*p*-tolilowego (MTS) przez kwas nadoctowy (PAA) do sulfotlenku metylo-*p*-tolilowego (MISO), (Harms i in. 1999)

Reakcja utleniania sulfidu metylo-*p*-tolilowego przez kwas nadoctowy jest szybka, produkt tej reakcji powstaje po 2 min (Pinkernell i in. 1994). Inni autorzy zalecają pozostawienie próbek kwasu nadoctowego z sulfidem metylo-*p*-tolilowym na 5 lub 15 min (Harms i in. 1999; Schuh 2013). Jeśli po tym czasie do

roztworu dodamy tryfenylofosfiny w roztworze, wówczas zajdzie kolejna reakcja utleniania (rys. 2.), która może zostać wykorzystana do pośredniego oznaczenia ditlenku wodoru (po upływie 15 ÷ 30 min), (Harms i in. 1999; Schuh 2013).



Rys 2. Reakcja utleniania tryfenylofosfiny (TPP) przez ditlenek wodoru (H_2O_2) do tlenku tryfenylofosfiny (TPPO), (Harms i in. 1999)

Pinkernell i in. (1994) zbadali, że jednoczesne występowanie ditlenku wodoru (H_2O_2) w roztworze o stężeniu 1000-krotnie większym niż kwasu nadoctowego może dopiero dawać zawiżone wyniki oznaczania: w wyniku utlenienia sulfidu metylo-*p*-tolilowego przez ditlenek wodoru o stężeniu 1,3 mol/l otrzymano pik o powierzchni odpowiadającej reakcji kwasu nadoctowego o stężeniu $1,3 \cdot 10^{-3}$ mol/l

(Pinkernell i in. 1994). Mieszaniny dostępne w Polsce, służące jako preparaty dezynfekujące, zawierają najczęściej mieszaninę: kwasu nadoctowego, ditlenku wodoru i kwasu octowego, w stosunku wagowym 1: 3: 2. Inne substancje utleniające, tj.: chlor, chloran(I) sodu, brom i nadmanganian mogą przeszkadzać w oznaczaniu kwasu nadoctowego z użyciem MTS (Pinkernell i in. 1994).

CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA

Odczynniki i materiały

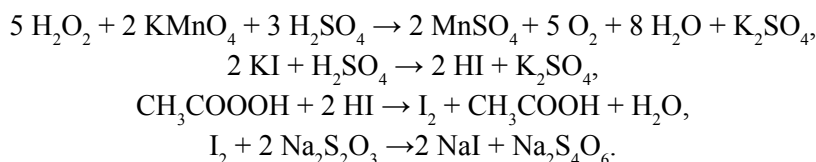
Jako wzorzec, w badaniach wykorzystano roztwór kwasu nadoctowego (PAA) w kwasie octowym o stężeniu do 39% (nr kat. 77240), (Sigma-Aldrich, Niemcy) oraz roztwór sulfidu metylowo-*p*-tolilowego (MTS), (Aldrich, Niemcy) w acetonitrylu (Aldrich, Niemcy) jako reagent. Ponadto stosowano następujące odczynniki: roztwór ditlenku wodoru (Sigma-Aldrich, Niemcy) o stężeniu 30%_{wag}, wodę o wysokiej czystości uzyskaną z aparatu Milli-Q (Millipore, USA) oraz acetonitryl (Merck, Niemcy).

Kwas nadoctowy jest otrzymywany w wyniku reakcji nadtlenu wodoru z kwasem octowym w obecności katalizatora. Reakcja ta jest reakcją odwracalną, kwas nadoctowy rozkłada się do kwasu octowego i ditlenku wodoru. Kwas nadoctowy, w roztworach dostępnych w handlu, występuje jako roztwór równowa-

gowy: kwasu nadoctowego, nadtlenu wodoru i kwasu octowego. Istniała więc konieczność oznaczenia dokładnej zawartości kwasu nadoctowego w odczynniku stosowanym jako wzorzec. Zawartość nadtlenu wodoru oznaczano metodą miareczkową z zastosowaniem roztworu nadmanganianu potasu o stężeniu 0,01 mol/l w obecności 25-procentowego kwasu siarkowego(VI), (POCH, Polska). W tym samym roztworze ustalano stężenie kwasu nadoctowego przez miareczkowanie tiosiarczanu sodu o stężeniu 0,01 mol/l (POCH, Polska) w obecności skrobi i jodku potasu (POCH, Polska), (Schuh 2013).

Oznaczenie zawartości kwasu nadoctowego w roztworze wzorcowym

Oznaczenie zawartości kwasu nadoctowego prowadzono, korzystając z następujących reakcji chemicznych (Pinkernell i in. 1997):



W tym celu przygotowano roztwór kwasu nadoctowego do miareczkowania przez odważenie 50 µl roztworu kwasu nadoctowego (w kwasie octowym o stężeniu do 39%) w kolbie 100 ml i uzupełnieniu jej do kreski wodą destylowaną, a następnie jego rozcieńczenie 1000-krotnie; 25 ml tak przygotowanego roztworu do miareczkowania przeniesiono do 100 ml kolby Erlenmeyera i dodano 20 ml 25-procentowego kwasu siarkowego (POCH, Polska). Roztwór ten miareczkowano roztworem nadmanganianu potasu o stężeniu 0,01 mol/l (POCH, Polska) do uzyskania lekko różowego zabarwienia roztworu.

Do lekko różowego roztworu dodano niewielką ilość jodku potasu i 2 ml 1-procento-

wego wodnego roztworu skrobi, miareczkowano roztworem tiosiarczanu sodu (0,01 mol/l), (POCH, Polska) aż do zaniku niebieskiego zabarwienia. W taki sam sposób wykonano oznaczenie kwasu nadoctowego jeszcze w dwóch próbkach roztworu kwasu nadoctowego do miareczkowania oraz próbkach zerowych (25 ml wody).

Stężenia kwasu nadoctowego obliczono w miligramach na mililitr, na podstawie wzoru:

$$C = \frac{2 \cdot (V - V_0) \cdot N \cdot M}{V_w},$$

w którym:

- 2 – współczynnik stechiometryczny z równania reakcji kwasu nadoctowego

- z tiosiarczanem sodu,
- V – średnia objętość roztworu tiosiarczanu sodu użyta do miareczkowania roztworu kwasu nadoctowego, w mililitrach,
- V_0 – średnia objętość roztworu tiosiarczanu sodu użyta do miareczkowania próbek zerowych, w mililitrach,
- N – stężenie molowe roztworu tiosiarczanu sodu (0,01 mol/l),
- M – masa molowa kwasu nadoctowego (76,05 g/mol),
- V_w – objętość roztworu wzorcowego kwasu nadoctowego odmierzona podczas przygotowywania roztworu (0,05 ml).

w roztworze wzorcowym wynosiła 32,94%_{wag} (408,5 mg/ml).

W dalszym etapie pracy, w celu optymalizacji sposobu pobierania i odzysku próbek powietrza oraz zwalidowania metody analitycznej, przygotowano roztwór podstawowy kwasu nadoctowego o stężeniu 3,2 mg/ml przez rozcieńczenie wodą odmierzonej objętości roztworu wzorcowego kwasu nadoctowego w kwasie octowym wodą oraz wodne roztwory – pośredni o stężeniu 0,032 mg/ml i robocze kwasu nadoctowego o stężeniach $0,29 \div 6,41 \mu\text{g/ml}$. Roztwory robocze z dodanym siarczkiem metylowo-*p*-tolilowym (MTS), używane do oznaczeń kalibracyjnych i przechowywane w szczelnie zamkniętych kolbach w chłodziarce, nie zmieniły swoich stężeń w ciągu sześciu dni (tab. 1.).

W wyniku przeprowadzonych miareczkowań ustalono, że zawartość kwasu nadoctowego

Tabela 1.

Wyniki badania trwałości roztworów sulfotlenku metylo-*p*-tolilowych (MTSO) w wodzie (przechowywanych w chłodziarce). Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD

Numer	Stężenie, $\mu\text{g/ml}$	Czas przechowywania, liczba dni	Średnie pola powierzchni pików	Średnia	Odchylenie standardowe	Czas przechowywania, liczba dni	Średnie pola powierzchni pików	Średnia	Odchylenie standardowe	Zmiana powierzchni po przechowywaniu w chłodziarce, %	Czas przechowywania, liczba dni	Średnie pola powierzchni pików	Średnia	Odchylenie standardowe	Zmiana powierzchni po przechowywaniu w chłodziarce, %
1			88,60				93,00					96,10			
2	0,29	0	91,20	90,03	1,08	4	88,60	90,33	1,91	0,33	6	88,00	90,93	3,66	1,00
3			90,30				89,40					88,70			
1			477,70				470,80					471,80			
2	1,6	0	469,60	474,27	3,42	4	462,90	482,63	22,55	1,76	6	462,30	482,13	21,68	1,66
3			475,50				514,20					512,30			
1			1361,40				1353,40					1350,00			
2	4,6	0	1338,40	1347,70	9,89	4	1243,60	1333,87	67,16	1,03	6	1291,00	1345,23	42,47	0,18
3			1343,30				1404,60					1394,70			

Objaśnienia:

Podczas ustalania metody pobierania próbek powietrza stosowano filtry z włókna szklanego GF/A o średnicy 37 mm (Whatman, Anglia) z naniesionym siarczkiem metylo-*p*-tolilowym (przygotowane samodzielnie) oraz płuczki bełkotkowe ze szkłem spiekany wypełnione wodą.

Do badań stosowano odczynniki o czystości, co najmniej cz.d.a., a także szkło laboratoryjne, tj.: kolby miarowe, pipety, kolby stożkowe i biurety.

Aparatura i wyposażenie pomocnicze

Produkty reakcji utleniania sulfidu metylo-*p*-tolilowego (MTS) kwasem nadoctowym i trifenylofosfiny (TPP) ditlenkiem wodoru na podstawie piśmiennictwa były oznaczane z zastosowaniem chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją spektrofotometryczną (UV/Vis), (*Schuh* 2013). W badaniach zastosowano chromatograf cieczowy firmy Agilent Technologies (Niemcy) seria 1200 z detektorem diodowym (DAD) sprzężonym on-line. Próbkę wprowadzano za pomocą auto-

matycznego podajnika próbek G2258-90010 (Agilent Technologies). Do sterowania procesem oznaczania i zbierania danych zastosowano oprogramowanie ChemStation. Rozdział chromatograficzny mieszanin substancji współwystępujących przeprowadzono na kolumnie chromatograficznej Ultra C18 o długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm ($dp = 5 \mu\text{m}$), z przedkolumną o wymiarach: 10 x 4,0 mm (Restek, USA).

Do pobierania próbek powietrza zawierających kwas nadoctowy wykorzystano aspiratory GilAir5 i Gilian LFS-113 (Sensidyne, USA).

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

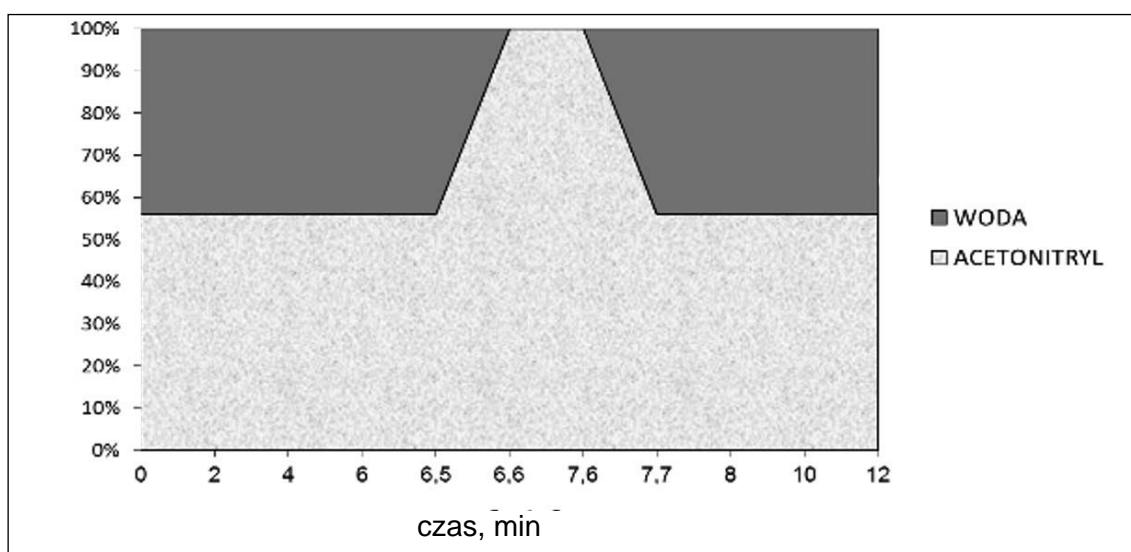
Warunki oznaczania chromatograficznego

Sprawdzono warunki oznaczania chromatograficznego przedstawione w pracy *Schuh* (2013).

Na podstawie przeprowadzonych badań ustalono następujące warunki oznaczania chromatograficznego:

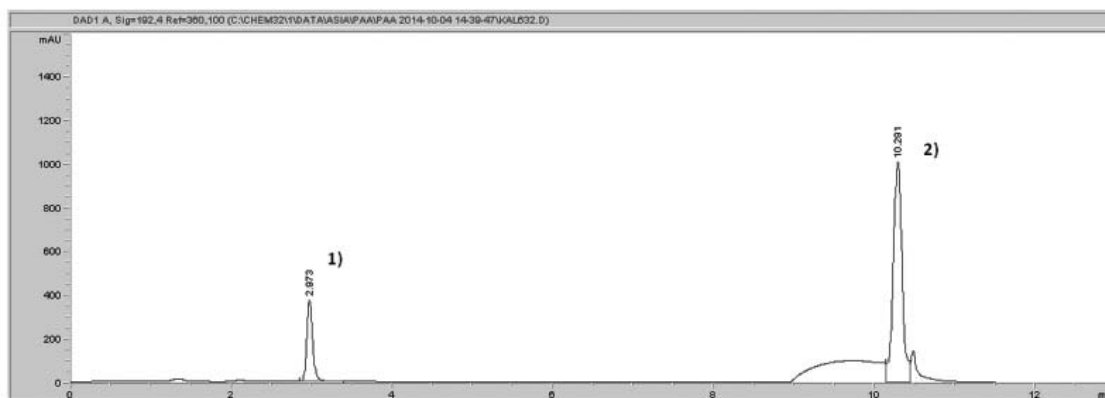
- kolumna z fazą oktadecylową Ultra C18 o długości 25 cm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm, o uziarnieniu 5 μm

- temperatura kolumny 23 °C
- faza ruchoma programowana (rys. 3.)
- natężenie przepływu fazy ruchomej 1,1 ml/min
- długość fali analitycznej detektora DAD 192 nm
- objętość próbki 10 μl .



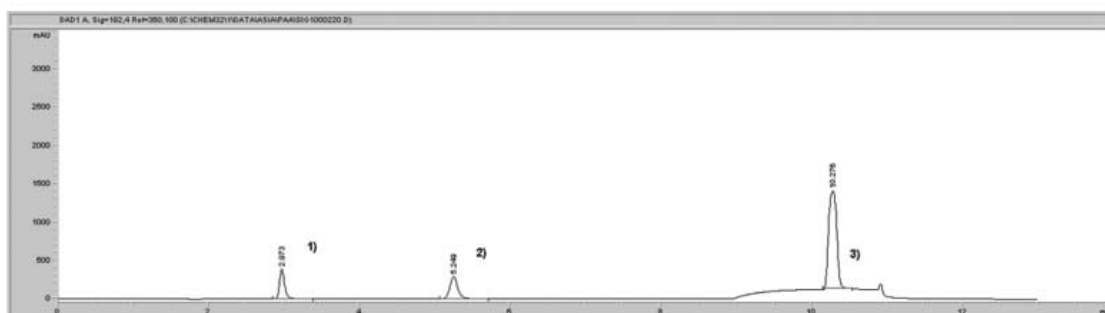
Rys. 3. Skład fazy ruchomej

Takie warunki umożliwiły oznaczenie sulfotlenku metylowo-*p*-tolilowego (MTSO), który powstał po utlenianiu sulfidu metylowo-*p*-tolilowego (MTS) przez kwas nadoctowy (rys. 4).



Rys. 4. Chromatogram roztworu wzorcowego zawierającego: 1) sulfotlenek metylowo-*p*-tolilowy (MTSO) i 2) nieprzereagowany sulfid metylowo-*p*-tolilowy (MTS). Kolumna Ultra C18, detektor DAD (192 nm)

Warunki umożliwiają oznaczenie w tym samym roztworze tlenku trifenylfosfiny (TPPO), który powstaje po dodaniu trifenylfosfiny (TPP) w wyniku utleniania przez H_2O_2 (rys. 5).



Rys. 5. Chromatogram roztworu wzorcowego zawierającego: 1) sulfotlenek metylowo-*p*-tolilowy (MTSO), 2) tlenek trifenylfosfiny (TPPO) i 3) nieprzereagowany sulfid metylowo-*p*-tolilowy (MTS). Kolumna Ultra C18, detektor DAD (192 nm)

Długość fali analitycznej (192 nm) wybrano, korzystając z informacji o optymalnych długościach fal analitycznych przy oznaczaniu sulfotlenku metylowo-*p*-tolilowego (poniżej 230 nm) zawartych w publikacji (Effkemanna i in. 1999). Zastosowanie długości fali analitycznej detektora wynoszącej 225 nm (Schuh 2013)

daje także możliwość poprawnego oznaczenia kwasu nadoctowego w zakresie stężeń $0,29 \div 6,41 \mu\text{g/ml}$ (integrowane piki MTSO mają w tym przypadku około 5-krotnie mniejszą powierzchnię). Chromatogram roztworu wzorcowego przedstawiono na rysunku 6.



Rys. 6. Chromatogram roztworu wzorcowego zawierającego: 1) sulfotlenek metylowo-*p*-tolilowy (MISO) i 2) nieprzereagowany sulfid metylowo-*p*-tolilowy (MTS). Kolumna Ultra C18, detektor DAD (225 nm)

Pobieranie próbek powietrza

Przeprowadzono badania dotyczące ustalenia warunków pobierania próbek w celu zapewnienia ilościowego wyodrębnienia kwasu nadooctowego z powietrza.

Podjęto próby zastosowania jako próbników filtrów z włókna szklanego z naniesionym związkiem chemicznym, który zostanie utleniony przez kwas nadooctowy, dając trwały produkt. *Henneken* i in. w swojej pracy wykorzystali filtry z naniesionym 2-([3-{2-[4-amino-2-(methylsulfanyl)phenyl]-1-diazenyl}-phenyl] sulfonyl)-1-ethanolem (ADS), (*Henneken* i in. 2006). Ponieważ odczynnik ADS nie jest dostępny w handlu zastosowano do badań wstępnych filtry z włókna szklanego GF/A o średnicy 37 mm (Whatman, Anglia) pokryte sulfidem metylowo-*p*-tolilowym.

Filtry do badań przygotowywano samodzielnie na podstawie przepisu analitycznego podanego w metodzie OSHA 98 (OSHA 1992). Roztwór pokrywający do nanoszenia na filtry sporządzono w następujący sposób: w kolbie stożkowej o pojemności 25 ml umieszczono

0,36 ml (około 0,4 g) sulfidu metylowo-*p*-tolilowego, 0,4 ml (około 0,4 g) ftalanu dioktylu, (Aldrich, Niemcy) oraz 16 ml metanolu, a następnie roztwór wymieszano. Na każdy filtr naniesiono 0,4 ml tak sporządzonego roztworu, suszono na powietrzu przez 5 min i w eksykatorze (przez noc). Filtry przechowywano w ciemnym naczyniu, w zamrażalniku chłodziarki.

W celu ustalenia warunków pobierania próbek powietrza złożono układ składający się z: pipety gazowej, dwóch filtrów połączonych szeregowo, pompy ssącej o regulowanym i kontrolowanym strumieniu objętości powietrza za pomocą rotametu. Do pipety wprowadzano: 50; 10 i 6 μ l roztworu kwasu nadooctowego w acetonitrylu o stężeniu 0,78 mg/ml i przepuszczano różne objętości powietrza ze stałym strumieniem objętości. Następnie przeprowadzono odzysk 5 ml acetonitrylu z pierwszego filtra i oddzielnie z drugiego filtra (kontrolnego). Tak uzyskane roztwory oznaczano chromatograficznie. Wyniki przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2.

Przykładowe wyniki adsorpcji sulfotlenku metylowo-*p*-tolilowego (MTSO) na filtrach z włókna szklanego pokrytych sulfidem metylowo-*p*-tolilowym (MTS) i ftalanem dioktylu. Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD

Strumień objętości pochłanianego powietrza, l/h	Czas pochłaniania, h	Przybliżone stężenie substancji w powietrzu, mg/m ³	Powierzchnia pików MTSO w roztworach po desorpcji	
			I filtr	II filtr
4	1	9,75	489,5	112 ^a
2,7	3	0,96	220	80 ^a
1,5	2	1,5	90	33 ^a

Objaśnienia:

^a – powyżej 10%.

Otrzymane wyniki adsorpcji wykazały nieprzydatność filtrów z włókna szklanego pokrytych sulfidem metylowo-*p*-tolilowym. Kwas nadoctowy nie zatrzymywał się na filtrze szklanym, a przepuszczane powietrze powodowało dodatkowo uwalnianie siarki z powierzchni filtra.

Przebadano następnie możliwość pochłaniania par kwasu nadoctowego przez wodę znajdującą się w płuczkach bełkotkowych ze szkłem spiekany. Badania prowadzono, stosując laboratoryjny układ składający się z połączonych szeregowo dwóch płuczek bełkotkowych wypełnionych 5 ml wody oraz pompy ssącej o regulowanym i kontrolowanym strumieniu objętości (za pomocą rotametu). Do pipety gazowej połączonej z układem płuczek wprowadzono za pomocą strzykawki 5 µl roztworu

o stężeniu 8,16 mg/ml kwasu nadoctowego w wodzie i przepuszczono 20 l powietrza z różnymi strumieniami objętości. Po zakończeniu pochłaniania do roztworów w płuczkach dodano po około 25 µl roztworu MTS w acetonitrylu i osłonięto próbki przed dostępem światła. Po około 15 min roztwory z obu płuczek poddano analizie chromatograficznej. Na podstawie wyników badań przedstawionych w tabeli 3. przyjęto sposób pobierania próbek powietrza. W miejscu pobierania próbek przez dwie płuczki bełkotkowe ze szkłem spiekany, wypełnione wodą i połączone szeregowo, należy przepuścić do 20 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości nie większym niż 20 l/h, przez czas nie dłuższy niż 1 h.

Tabela 3.

Przykładowe wyniki adsorpcji kwasu nadoctowego (PAA) w płuczkach wypełnionych wodą. Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD

Strumień objętości pochłanianego powietrza, l/h	Czas pochłaniania, h	Przybliżone stężenie substancji w powietrzu, mg/m ³	Powierzchnia pików MTSO ^b w roztworach po desorpcji	
			I płuczka	II płuczka
20	1	2,04	2299	205
10	2	2,04	1155	184 ^a
80	0,25	2,04	1871,3	513,5 ^a

Objaśnienia:

^a – powyżej 10%; ^b – sulfotlenek metylowo-*p*-tolilowy.

Tabela 4.

Wyniki pochłaniania kwasu nadooctowego (PAA) w płuczkach wypełnionych wodą (0,72 mg/m³; 1 h; 20 l/h). Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD

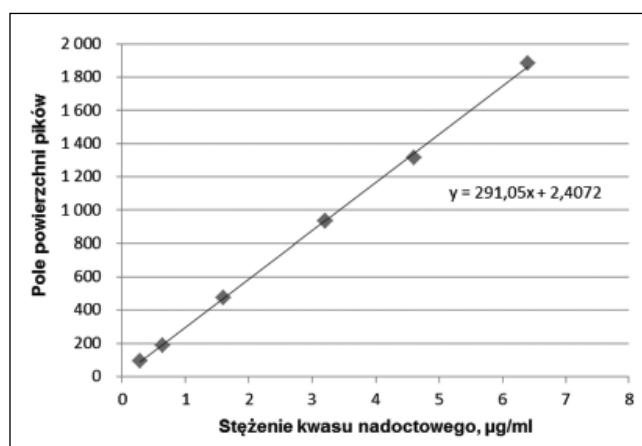
Numer próby	Średnia powierzchnia pików I płuczka	Średnia powierzchnia pików II płuczka	Udział zawartości w II płuczce, %	Średnia powierzchnia pików roztworu porównawczego
1	760,1	80,7	10,6	
2	780,4	66,0	8,5	862,0
3	746,5	65,6	8,8	
4	770,1	84,7	11,0	869,8
5	760,0	75,8	10,0	
6	779,0	73,2	9,4	847,7
7	761,5	72,2	9,5	
Wartość średnia	765,4	74,0	9,7	859,8
Odchylenie standardowe	11,1	6,6	0,9	9,2
Współczynnik zmienności, %	1,4	8,9	8,8	1,1

Wyznaczenie parametrów kalibracyjnych metody

W celu wyznaczenia zakresu metody zbadano próbki o różnych znanych stężeniach kwasu nadooctowego w roztworze wodnym z dodaniem 25 µl sulfidu metyloowo-*p*-tolilowego (MTS) w acetonitrylu i określono zakres stężeń, w którym odpowiedź detektora DAD jest liniowa. Podczas badań laboratoryjnych używano roztworów przygotowanych w dniu przeprowadzania analiz.

Przygotowano po trzy serie roztworów kalibra-

cyjnych o wzrastającym stężeniu kwasu nadooctowego 0,29 ÷ 6,41 µg/ml. Do każdego roztworu dodano sulfid metyloowo-*p*-tolilowy. Po 15 min wprowadzono do chromatografu po 10 µl tak przygotowanych roztworów wzorcowych. Do każdego stężenia wykonano po dwa oznaczenia. Sporządzono wykres zależności powierzchni pików produktu reakcji kwasu nadooctowego z MTS – MTSO od stężenia kwasu nadooctowego w roztworach wzorcowych. Uzyskane krzywe kalibracyjne (w zakresie przygotowanych roztworów kalibracyjnych) były liniowe, współczynnik korelacji wyniósł 0,9998 (rys. 4.).



Rys. 7. Wykres zależności powierzchni pików sulfotlenku metyloowo-*p*-tolilowego (MTSO) od stężenia kwasu nadooctowego (PAA). Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD

W celu oceny precyzji oznaczeń kalibracyjnych przygotowano trzy serie po osiem roztworów o stężeniach: 0,29; 0,64 i 3,20 µg/ml. Wykonano pomiary chromatograficzne po dwa z każdego roztworu w identycznych warunkach, jak przy wykonaniu oznaczeń kalibracyjnych. Na podstawie odczytanych powierzchni pików uzyskanych na chromatogramach obliczono odchylenie standardowe i współczynnik zmienności. Otrzymane współczynniki zmienności dla kolejnych poziomów stężenia kwasu nadoctowego wyniosły odpowiednio: 2,75; 0,97 i 2,12%. Współczynniki te wskazują na bardzo dobrą precyzję oznaczeń kalibracyjnych.

Dane walidacyjne metody

Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482:2012. Granicę wykrywalności (LOD) oraz granicę oznaczalności (LOQ) wyznaczono na podstawie wyników analizy ślepych próbek, otrzymanych przez dodanie do 5 ml wody 25 µl sulfidu metylo-*p*-tolilowego (MTS) w acetonitrylu. Do obliczenia LOD i LOQ wykorzystywano wyliczoną wartość standardowego odchylenia próbek oraz współczynnik nachylenia krzywej kalibracyjnej.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań uzyskano dane walidacyjne metody oznaczania kwasu nadoctowego, które przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 5.
Dane walidacyjne metody oznaczania kwasu nadoctowego (PAA)

Walidowane parametry	Wartość
Zakres pomiarowy	0,072 ÷ 1,602 mg/m ³
Ilość pobranego powietrza	20 l
Zakres krzywej wzorcowej	0,29 ÷ 6,41 µg/ml
Granica wykrywalności (LOD)	5,89 ng/ml
Granica oznaczalności (LOQ)	17,66 ng/ml
Współczynnik korelacji, <i>R</i>	0,9998
Całkowita precyzja badania	5,42%
Względna niepewność całkowita	11,83%

PODSUMOWANIE

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań ustalono warunki oznaczania kwasu nadoctowego w powietrzu na stanowiskach pracy w obecności kwasu octowego i nadtlenu wodoru. Płuczki bełkotkowe ze szkłem spiekany z wodą zapewniają ilościowe wyodrębnienie par kwasu nadoctowego z badanego powietrza. Natychmiast po zakończeniu pobierania próbek do roztworów wodnych kwasu nadoctowego dodawano odczynnik – sulfid metylo-*p*-tolilowy (MTS). Kwas nadoctowy utlenia MTS, tworząc trwałe sulfotlenek (MTSO). Z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczonej z detektorem diodowym oznaczano trwałe w roz-

tworach wodnych produkt reakcji utleniania. Zastosowana kolumna Ultra C18 umożliwia selektywne oznaczenie powstałego MTSO i w sposób pośredni oznaczenie kwasu nadoctowego.

Opracowana metoda umożliwia oznaczanie badanej substancji na poziomie 1/10 wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) i może być wykorzystana do oceny narażenia zawodowego na stanowiskach pracy. Walidacja metody potwierdziła jej przydatność do zamierzonego zastosowania.

Opracowaną metodę oznaczania kwasu nadoctowego zapisano w formie procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku.

PIŚMIENNICTWO

- Effkemann S., Brødsgaard S., Mortensen P., Linde S.A., Karst U.* (1999) Determination of gas phase peroxyacetic acid using pre-column derivatization with organic sulfide reagents and liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 855, 551–561.
- GESTIS (2014) Substance database. BG Institute for Occupational Safety and Health. Sankt Augustin, Germany.
- Harms D., Karst U.* (1999) Rapid and selective determination of peroxyacetic acid in disinfectants using flow injection analysis. *Analytica Chimica Acta* 389, 233–238.
- Henneken H., Assink L., de Wit J., Vogel M., Karst U.* (2006) Passive sampling of airborne peroxyacetic acid. *Anal. Chem.* 78(18), 6547–6555
- HSDB (1997) Hazardous substances data bank. Peracetic Acid. TOXNET, Specialized Information Services. U.S. National Library of Medicine, Bethesda, MD.
- Olesiak P., Stępnia L.* (2012) Skuteczność wybranych związków dezynfekcyjnych wobec przetrwalników *Bacillus*. *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 15(1), 41–50.
- OSHA 98 (1992) Trimellitic anhydride. Organic methods evaluation branch OSHA salt lake technical center. Salt Lake City.
- Pacenti M., Dugheri S., Boccalon P., Arcangeli G., Dolara P., Cupelli V.* (2010) Air monitoring and assessment of occupational exposure to peracetic acid in a hospital environment. *Industrial Health* 48, 217–221.
- Pakulska D., Czerczak S.* (2014) Kwas nadoctowy. Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego. *Podstawy i Metody Oceny Środowiskowa Pracy* 1(79), 25–54.
- Pinkernell U., Karst U., Cammann K.* (1994) Determination of peroxyacetic acid using high-performance liquid chromatography with external calibration. *Anal. Chem.* 66, 2599–2602.
- Pinkernell U., Effkemann S., Karst U.* (1997) Simultaneous HPLC determination of peroxyacetic acid and hydrogen peroxide. *Anal. Chem.* 71, 1513–1520.
- PN-EN 482:2012 Narażenie na stanowiskach pracy. Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych.
- Sójka-Ledakowicz J., Lewartowska J., Gajdzicki B.* (2003) Technologia otrzymywania i właściwości równowagowego kwasu nadoctowego. *Przemysł Chemiczny* 8-9(2), 1171–1173.
- Schuh C.* (2013) Peroxides (peracetic acid and hydrogen peroxide). The MAK-Collection Part III. Air monitoring methods 2013 DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA 1–22.
- Szumska E., Klusewicz K.* (2012) Preparaty oparte na kwasie nadoctowym w dezynfekcji wysokiego poziomu. *Forum Zakażeń* 3(4), 217–219.
- WE 1272/2008 Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 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 (zwanego rozporządzeniem GHS). *Dz. Urz. UE* z dnia 31.12.2008 r., L 353.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA KWASU NADOCTOWEGO W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY

1. Zakres procedury

Metodę podaną w niniejszej procedurze stosuje się do oznaczania kwasu nadooctowego w powietrzu na stanowiskach pracy, z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym. Metodę stosuje się podczas badania warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie kwasu nadooctowego, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w metodzie, wynosi 0,08 mg/m³.

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 absorpcji kwasu nadooctowego w wodzie. Natychmiast po pobraniu próbek powietrza do roztworu wodnego kwasu nadooctowego dodaje się sulfidu metyloowo-*p*-tolilowego (MTS), który pod wpływem kwasu nadooctowego jest utleniany do sulfotlenku metyloowo-*p*-tolilowego (MTSO). Produkt utlenienia jest analizowany metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

4. Odczynniki, roztwory i materiały

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

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

Wszystkie czynności, podczas których używa się rozpuszczalników organicznych, należy wykonywać z użyciem środków ochrony indywidualnej i pod sprawnie działającym wyciągiem laboratoryjnym.

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

4.1. Woda destylowana

Stosować wodę destylowaną o czystości do HPLC, zwaną w dalszej części procedury wodą.

4.2. Acetonitryl

4.3. Roztwór kwasu nadooctowego w kwasie octowym o stężeniach nie większych niż 39-procentowe

4.4. Sulfid metyloowo-*p*-tolilowy (MTS)

4.5. Roztwór mianowany nadmanganianu potasu o stężeniu 0,01 mol/l

4.6. Roztwór mianowany tiosiarczanu sodu o stężeniu 0,01 mol/l

4.7. Jodek potasu KI

4.8. Roztwór wodny skrobi 2-procentowy

4.9. Roztwór kwasu siarkowego(VI) o stężeniu 25-procentowym

4.10. Roztwór sulfidu metyloowo-*p*-tolilowego (MTS)

Do kolby miarowej o pojemności 10 ml odmierzyc 0,1 ml sulfidu metyloowo-*p*-tolilowego wg punktu 4.4., uzupełnić do kreski acetonitrylem wg punktu 4.2. i dokładnie wymieszać.

4.11. Roztwór wzorcowy podstawowy kwasu nadooctowego do miareczkowania

Do kolby miarowej o pojemności 100 ml odmierzyc 50 µl roztworu kwasu nadooctowego wg punktu 4.3., kolbę uzupełnić do kreski wodą wg punktu 4.1. i dokładnie wymieszać.

4.12. Roztwór wzorcowy roboczy kwasu nadoctowego do miareczkowania

Do kolby miarowej o pojemności 100 ml odmierzyć 100 µl roztworu kwasu nadoctowego wg punktu 4.11., uzupełnić do kreski wodą wg punktu 4.1. i dokładnie wymieszać.

4.13. Roztwór wzorcowy podstawowy kwasu nadoctowego do sporządzenia krzywej wzorcowej

Korzystając z dokładnej wartości stężenia roztworu kwasu nadoctowego wg punktu 4.3., uzyskanego metodą miareczkową wg punktu 8., sporządzić roztwór wodny kwasu nadoctowego o stężeniu 3,2 mg/ml.

4.14. Roztwór wzorcowy pośredni kwasu nadoctowego do sporządzenia krzywej wzorcowej

Do kolby miarowej o pojemności 100 ml odmierzyć 1 ml roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 4.13., uzupełnić do kreski wodą wg punktu 4.1. i dokładnie wymieszać. Zawartość kwasu nadoctowego w 1 ml tak przygotowanych roztworów wynosi 0,032 mg.

4.15. Roztwory wzorcowe robocze kwasu nadoctowego

Do kolb miarowych o pojemności 5 ml odmierzyć odpowiednio, w mililitrach: 0,05; 0,10; 0,25; 0,50; 0,72 i 1 roztworu wzorcowego pośredniego wg punktu 4.15., dodać po 25 µl roztworu MTS wg punktu 4.10., uzupełnić do kreski wodą wg punktu 4.1. i dokładnie wymieszać. Zawartość kwasu nadoctowego w 1 ml tak przygotowanych roztworów wynosi odpowiednio: 0,32; 0,64; 1,60; 3,20; 4,60 i 6,40 µg.

Roztwory przechowywane w chłodziarce są trwałe co najmniej sześć dni.

5. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

5.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem diodowym i elektronicznym integratorem.

5.2. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną

umożliwiającą rozdział sulfotlenku metylo-*p*-tolilowego od siarczku metylo-*p*-tolilowego oraz od innych substancji współwystępujących, np.: kolumnę wypełnioną fazą oktadecylową o długości 25 cm, średnicy wewnętrznej 4,6 mm i uziarnieniu 5 µm z przedkolumną.

5.3. Strzykawki do cieczy

Stosować strzykawki do cieczy o pojemności 10 ÷ 1000 µl.

5.4. Pipety szklane

Stosować pipety do cieczy o pojemności: 5; 20 i 25 ml.

5.5. Kolby stożkowe

Stosować kolby stożkowe Erlenmeyera o pojemności 100 ml.

5.6. Biurety do miareczkowania

Stosować biurety do miareczkowania o pojemności 50 ml.

5.7. Płuczki bełkotkowe

Stosować płuczki bełkotkowe małe ze szkłem spiekany.

5.8. Pompa ssąca

Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobieranie próbek powietrza ze stałym strumieniem objętości wg punktu 6.

6. Pobieranie próbek powietrza

Podczas pobierania próbek powietrza należy stosować zasady zawarte w normie PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek przez dwie płuczki bełkotkowe połączone szeregowo wg punktu 5.7. i zawierające po 5 ml wody wg punktu 4.1. przepuścić przez 1 h do 20 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości nie większym niż 20 l/h. Następnie dodać do roztworów w płuczkach po 25 µl roztworu MTS wg punktu 4.10. Tak przygotowane próbki transportować w obniżonej temperaturze i osłonięte przed dostępem światła. Probki przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość co najmniej sześć dni.

7. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy tak dobrać, aby uzyskać rozdział sulfotlenku metylowo-*p*-tolilowego (MTSO), który powstaje po utlenianiu sulfidu metylowo-*p*-tolilowego (MTS) przez kwas nadoctowy od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu. W przypadku stosowania kolumny chromatograficznej o parametrach podanych w punkcie 5.2. oznaczenie można wykonać w następujących warunkach:

- faza ruchoma programowana:

Tabela 1.
Skład fazy ruchomej

Faza ruchoma programowana		
czas, min	acetonitryl wg punktu 4.2., %	woda wg punktu 4.1., %
0	56	44
6,5	56	44
6,6	100	0
7,6	100	0
7,7	56	44
12	56	44

- natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej 1,1 ml/min
- długość fali analitycznej 192 lub 225 nm
- objętość dozowanej próbki 10 µl.

8. Wyznaczenie stężenia wzorca kwasu nadoctowego

Roztwór kwasu nadoctowego w kwasie octowym wg punktu 4.3. zawiera nadtlenek wodoru. Oznaczenie dokładnej zawartości kwasu nadoctowego w roztworze wzorcowym przeprowadza się dwustopniowo (miareczkując).

Przygotowany roztwór do miareczkowania (25 ml) wg punktu 4.12. odmierzyć do kolby Erlenmeyera wg punktu 5.5. i dodać 20 ml kwasu siarkowego wg punktu 4.9. Następnie

roztwór miareczkować roztworem nadmanganianu potasu wg punktu 4.5. do uzyskania lekko różowego zabarwienia roztworu. Następnie do roztworu dodać: szczyptę jodku potasu wg punktu 4.7. oraz 2 ml roztworu skrobi wg punktu 4.8. i miareczkować roztworem tiosiarczanu sodu wg punktu 4.6. aż do zaniku niebieskiego zabarwienia. W taki sam sposób należy wykonać jeszcze dwa oznaczenia roztworu do miareczkowania wg punktu 4.12. oraz trzech próbek wody wg punktu 4.1. – jako próbek zerowych.

Dokładne stężenie kwasu nadoctowego (C) w roztworze wzorcowym wg punktu 4.3. obliczyć w mikrogramach na mililitr, na podstawie wzoru:

$$C = \frac{2 \cdot (V - V_0) \cdot N \cdot M}{V_w},$$

w którym:

2 – współczynnik stechiometryczny z równania reakcji kwasu nadoctowego z tiosiarczanem sodu,

V – średnia objętość roztworu tiosiarczanu sodu (wg punktu 4.6. użyta do miareczkowania roztworu kwasu nadoctowego), w mililitrach,

V_0 – średnia objętość roztworu tiosiarczanu sodu (wg punktu 4.6. użyta do miareczkowania próbek zerowych), w mililitrach,

N – stężenie molowe roztworu tiosiarczanu sodu wg punktu 4.6. (0,01 mol/l),

M – masa molowa kwasu nadoctowego (76,05 g/mol),

V_w – objętość roztworu wzorcowego kwasu nadoctowego (wg punktu 4.3. odmierzona podczas przygotowywania roztworu wg punktu 4.11.), w mililitrach.

9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do chromatografu wprowadzić po 10 µl roztworów wzorcowych roboczych wg punktu

4.15. i badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 7. Wykonać dwukrotny pomiar z każdego roztworu wzorcowego. Odczytać powierzchnie pików według wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami nie powinna być większa niż $\pm 5\%$ tej wartości. Następnie wykreślić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych stężenie kwasu nadoctowego w mikrogramach na mililitr ($\mu\text{g/ml}$), a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików produktu utlenienia MTS – sulfotlenku metylo-*p*-tolilowego (MTSO).

10. Wykonanie oznaczania

Przygotować próbkę zerową przez odmierzenie 25 μl roztworu sulfotlenku metylo-*p*-tolilowego (MTS) wg punktu 4.10. do 5 ml wody wg punktu 4.1. Do chromatografu wprowadzić dwukrotnie po 10 μl roztworów otrzymanych po pobraniu próbek powietrza wg punktu 6. (z każdej płuczki oddzielnie) oraz 10 μl próbki zerowej i badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 7. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików sulfotlenku metylo-*p*-tolilowego wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Stężenie kwasu nadoctowego odpowiadające za powstanie sulfotlenku metylo-*p*-tolilowego odczytać z wykresu krzywej wzorcowej, w mikrogramach na mililitr.

11. Wyznaczanie współczynnika odzysku

Przygotować pięć zestawów do pobierania próbek powietrza, każdy składający się z dwóch płuczek bełkotkowych wg punktu 5.7., połączonych szeregowo i zawierających po 5 ml wody wg punktu 4.1.

Na wlotach pierwszych płuczek umieścić przegródki z waty szklanej. Przez tak

przygotowane zestawy płuczek bełkotkowych przepuścić przez 1 h do 20 l czystego powietrza ze stałym strumieniem objętości nie większym niż 20 l/h, wkraplając kroplami co pewien czas na watkę szklaną 5 μl roztworu wzorcowego podstawowego kwasu nadoctowego do sporządzenia krzywej wzorcowej wg punktu 4.13.

Po zakończeniu pochłaniania dodać do roztworów w płuczkach po 25 μl roztworu MTS wg punktu 4.10. i wykonać oznaczenie wg punktu 10.

Jednocześnie wykonać oznaczanie badanej substancji co najmniej w trzech roztworach porównawczych, przygotowanych przez dodanie do 5 ml wody wg punktu 4.1. po 5 μl roztworu wzorcowego podstawowego kwasu nadoctowego do sporządzenia krzywej wzorcowej wg punktu 4.13. oraz 25 μl roztworu MTS wg punktu 4.10. Oznaczanie badanej substancji wykonać wg punktu 10.

Współczynnik odzysku dla kwasu nadoctowego (d) obliczyć na podstawie wzoru:

$$d = \frac{P_1 + P_2}{P_p},$$

w którym:

P_1 – średnia powierzchnia pików MTSO na chromatogramach roztworu z pierwszej płuczki w zestawie,

P_2 – średnia powierzchnia pików MTSO na chromatogramach roztworu z drugiej płuczki w zestawie,

P_p – średnia powierzchnia pików MTSO na chromatogramach roztworów porównawczych.

Następnie obliczyć średnią wartość współczynników odzysku dla kwasu nadoctowego (\bar{d}) jako średnią arytmetyczną otrzymanych wartości (d).

11. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie kwasu nadoctowego (X) w badanym

powietrzu obliczyć w miligramach na metr sześcienny na podstawie wzoru:

$$X = \left(\frac{5 \cdot (c_1 - c_0)}{V} + \frac{5 \cdot (c_2 - c_0)}{V} \right) \cdot \bar{d}^{-1},$$

w którym:

c_1 – stężenie kwasu nadoctowego w pierwszej płuczce odczytane z krzywej kalibracyjnej, w mikrogramach na mililitr,
 c_2 – stężenie kwasu nadoctowego w drugiej

płuczce odczytane z krzywej kalibracyjnej, w mikrogramach na mililitr,

c_0 – stężenie próbki zerowej odczytane z krzywej kalibracyjnej, w mikrogramach na mililitr,

5 – objętość roztworu w płuczce, w mililitrach,

V – objętość przepuszczonego powietrza przez płuczki, w litrach,

\bar{d} – średni a wartość współczynnika odzysku.