

Nadtlenek wodoru

Metoda oznaczania w powietrzu na stanowiskach pracy metodą spektrofotometryczną¹

Hydrogen peroxide

Determination in workplace air with spectrophotometric method

mgr inż. WIOLETTA MYSUR
e-mail: wioletta.mysur@imp.lodz.pl

lic. NADIA KUCHARSKA

mgr MARZENA BONCZAROWSKA
<https://orcid.org/0000-0003-3612-0656>

dr SŁAWOMIR BRZEŹNICKI
<https://orcid.org/0000-0002-0542-8538>

Instytut Medycyny Pracy im. prof. dra med. Jerzego Nofera w Łodzi
Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź, Poland

Numer CAS 7722-84-1

Streszczenie

Nadtlenek wodoru w temperaturze pokojowej występuje w postaci bezbarwnej, przezroczystej cieczy, o słabym zapachu ozonu. Nadtlenek wodoru jest wykorzystywany jako wybielacz w przemyśle papierniczym, spożywczym i kosmetycznym oraz do produkcji paliwa raketowego. Właściwości utleniające nadtlenu wodoru są wykorzystywane w procesie oczyszczania ścieków oraz w medycynie do odkażania ran (woda utleniona). W chemii analitycznej związek ten wykorzystywany jest w oznaczeniach śladowych ilości metali. Szkodliwe działanie nadtlenu wodoru polega na działaniu drażniącym na skórę, błony śluzowe oczu i górnych dróg oddechowych. Celem prac badawczych było opracowanie i walidacja metody oznaczania nadtlenu wodoru w powietrzu na stanowiskach pracy. Opracowana metoda oznaczania polega na pochłanianiu nadtlenu wodoru w wodzie, a następnie na spektrofotometrycznym oznaczeniu kompleksu oranżu ksylenolowego z utlenionymi przez nadtlenek wodoru jonami żelaza (Fe III). Do badań wykorzystano spektrofotometr UNICAM umożliwiający wykonanie oznaczeń przy długości fali 560 nm. Opracowana metoda jest liniowa w zakresie stężeń $0,02 \div 0,4 \mu\text{g/ml}$, co odpowiada zakresowi $0,04 \div 0,8 \text{ mg/m}^3$ dla próbki powietrza o objętości 10 l. Opracowana metoda umożliwia oznaczanie nadtlenu wodoru w powietrzu na stanowiskach pracy w obecności substancji współwystępujących. Metoda charakteryzuje się dobrą precyzją i dokładnością i spełnia wymagania normy PN-EN 482 dla procedur dotyczących oznaczania czynników chemicznych. Opracowana metoda oznaczania nadtlenu wodoru w powietrzu na stanowiskach pracy została zapisana w postaci procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku. Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny środowiska pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

Słowa kluczowe: nadtlenek wodoru, metoda analityczna, narażenie zawodowe, spektrofotometria, nauki o zdrowiu, inżynieria środowiska.

¹ Opracowano na podstawie wyników V etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2020-2022 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych przez ministra właściwego ds. nauki/Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (projekt nr IL.PB.02 pt.: Opracowanie metod oznaczania 12 szkodliwych substancji chemicznych w powietrzu na stanowiskach pracy do oceny narażenia zawodowego).

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

Abstract

Hydrogen peroxide at room temperature is a colourless clear liquid with weak ozone like odour. It is used as a bleach in paper, food and cosmetics industry and in rocket fuel production. It is also used in waste water and waste gas treatment and as a disinfectant in wounds treatment. In analytical chemistry, hydrogen peroxide is used to determine trace amounts of metals. Hydrogen peroxide may cause irritation of eyes, skin, and respiratory tract. The goal of this research was to develop and validate a method for determining hydrogen peroxide in workplace air. Developed method is based on the collection of hydrogen peroxide with water filled bubbler and spectrophotometric determination of xylenol orange and ferrum (III) ions complex. Developed method is linear in the concentration range of 0.2-4.0 µg/ml, which corresponds to the range of 0.04-0.8 mg/m³ for 10-L air sample. The analytical method described in this paper makes it possible to determine hydrogen peroxide in workplace air in the presence of other substances. The method is precise, accurate and it meets the criteria for procedures for determining chemical agents listed in Standard No. PN-EN 482. The developed method of determining hydrogen peroxide in workplace air has been recorded as an analytical procedure (see Appendix). This article discusses the problems of occupational safety and health, which are covered by health sciences and environmental engineering.

Keywords: hydrogen peroxide, analytical method, occupational exposure, spectrophotometry, health sciences, environmental engineering.

WPROWADZENIE

Nadtlenek wodoru w temperaturze pokojowej występuje w postaci bezbarwnej, przejrzystej cieczy, o słabym zapachu ozonu. Wodne roztwory nadtlenku wodoru wykazują słabe własności kwasowe. Związek ten jest otrzymywany w reakcji autooksydacji antrachinonu przez utlenianie 2-etylo-9,10-antracenodiolu za pomocą gazowego tlenu przepuszczanego przez roztwór tego związku w mieszaninie rozpuszczalników. Nadtlenek wodoru jest stosowany jako silny utleniacz w reakcjach chemicznych przy produkcji np. nadboranu sodu, hydrochinonu, hydrazyny oraz nadtlenków organicznych. Wykorzystywany jest także jako wybielacz w przemyśle papierniczym, spożywczym i kosmetycznym oraz do produkcji paliwa rakietowego. Właściwości utleniające nadtlenku wodoru wykorzystuje się w procesie oczyszczania ścieków oraz w medycynie do odkażania ran (woda utleniona). W chemii analitycznej związek ten wykorzystywany jest w oznaczeniach śladowych ilości metali. Do organizmu człowieka nadtlenek wodoru może dostawać się drogą inhalacyjną lub przez bezpośredni kontakt ze skórą. Do grup zawodowo narażonych na nadtlenek wodoru zaliczyć należy pracowników zatrudnionych przy produkcji tego związku oraz pracowników zakładów kosmetycznych. Szkodliwe działanie nadtlenku wodoru polega na działaniu drażniącym na skórę oraz błony śluzowe oczu i górnych dróg oddechowych.

W wysokich stężeniach może powodować zaczerwienienia i oparzenia skóry, uszkodzenia rogówki oraz nudności, wymioty, bóle i zawroty głowy, a w skrajnych przypadkach obrzęk płuc, drgawki i utratę przytomności. Brak danych dotyczących rakotwórczego działania nadtlenku wodoru na ludzi. Międzynarodowa Agencja ds. Badań nad Rakiem zaliczyła ten związek do grupy 3, tj. do związków nieklasyfikowanych jako rakotwórcze dla ludzi. W badaniach na zwierzętach laboratoryjnych nie stwierdzono również zaburzeń funkcji rozrodczych (IARC 1999; PubMed 2003; Soćko 2013). Klasyfikację nadtlenku wodoru zgodnie z tabelą 3.1. załącznika VI do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006, zwanego rozporządzeniem CLP (Dz. Urz. UE L 353 z dnia 31.12.2008 r.), przedstawiono w tabeli 1.

Celem prac badawczych było opracowanie odpowiednio czułej i selektywnej metody oznaczania nadtlenku wodoru w powietrzu na stanowiskach pracy, umożliwiającej pomiary jego stężeń, a także dokonanie oceny narażenia zawodowego.

Konieczność opracowania nowej metody analitycznej wynikała z faktu blisko 4-krotnego

obniżenia wartości NDS dla nadtlenku wodoru do poziomu 0,4 mg/m³.

Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagrożenia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny

środowiska pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

Tabela 1. Zharmonizowana klasyfikacja oraz oznakowanie nadtlenku wodoru zgodnie z obowiązującymi aktami prawnymi
Table 1. Harmonized classification and labelling of hydrogen peroxide in accordance with the applicable legal acts

Klasyfikacja zagrożenia i kody kategorii	Kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia
Ox. Liq. 1 Substancja ciekła utleniająca	H271 Może spowodować pożar lub wybuch; silny utleniacz
Acute Tox. Inhal. 4 Toksyczność ostra drogą inhalacyjną, kat. zagrożenia 4	H332 Toksyczność ostra droga oddechowa
Acute Tox. Oral. 4 Toksyczność ostra drogą pokarmową, kat. zagrożenia 4	H302 Toksyczność ostra droga pokarmowa
Skin Corr. 1A Substancja żrąca, kat. zagrożenia 1A	H314 Działanie żrące/drażniące na skórę

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Aparatura, materiały i odczynniki

Wszystkie badania wykonano z zastosowaniem aparatury analitycznej, materiałów i odczynników wymienionych poniżej:

Aparatura:

- aspiratory indywidualne EHA Air-350,
- spektrofotometr UNICAM UV-VIS Spectrometr UV 4,
- waga analityczna (Sartorius).

Materiały:

- płuczki bełkotkowe ze szkłem spekanym,
- kolby miarowe o pojemności: 5, 10, 250 i 500 ml,
- kuwety,
- pipety automatyczne nastawne o pojemności: 0,010 ÷ 0,1; 0,1 ÷ 1 i 0,5 ÷ 5 ml.

Odczynniki:

- nadtlenek wodoru 30% (Sigma-Aldrich),
- metanol do HPLC (JT Baker),
- woda o czystości do HPLC,
- kwas siarkowy (POCH),
- oranż ksylenowy (Sigma-Aldrich),
- sól Mohra (NH₄)₂Fe(SO₄)₂, (Sigma-Aldrich),
- sorbitol (Pol Aura),
- roztwór kompleksujący (FOX): do kolby miarowej o pojemności 250 ml odważyć 17,92 mg oranżu ksylenowego i 4,55 g

sorbitolu i dodać 24,51 mg soli Mohra rozpuszczonej w 0,350 ml stężonego kwasu siarkowego. Kolbę uzupełnić do kreski wodą.

Warunki oznaczania nadtlenku wodoru

Przegląd dostępnej literatury fachowej wskazuje, że nadtlenek wodoru w powietrzu i w innych matrikach (woda, materiał biologiczny) oznaczany jest głównie z wykorzystaniem metody spektrofotometrycznej przy zastosowaniu różnych czynników kompleksujących. Opracowana w Occupational Safety and Health Administration (OSHA) metoda zakładała oznaczanie nadtlenku wodoru w postaci kompleksu z jonami tytanu metodą pulsacyjnej polarografii różnicowej (OSHA 1978). Opracowana w 1997 roku w Centralnym Instytucie Ochrony Pracy metoda oznaczania nadtlenku wodoru polegała na spektrofotometrycznym oznaczaniu tego związku w postaci kompleksu utlenionych przez nadtlenek wodoru jonów żelaza z jonami rodankowymi (Kijeńska 1997). Związek ten można oznaczać spektrofotometrycznie przy długości fali 560 nm po wywołaniu barwnej reakcji oranżu ksylenolowego z jonami żelaza (sól Mohra – (NH₄)₂Fe(SO₄)₂) utlenionymi przez nadtlenek wodoru (lub inne nadtlenki) w obecności sorbitolu (Banerjee 2002; Gay 1999; Wolff 1994). Metoda ta umożliwiła oznaczanie bardzo niskich

stężeń nadtlenu wodoru, a jedna z jej modyfikacji umożliwia blisko 20-krotne zwiększenie czułości oznaczeń (Wolff 1994). Metodą spektrofotometryczną można oznaczać nadtlenek wodoru po reakcji tego związku z tytanem(IV) i wytworzeniu barwnego kompleksu z 4-(2-pyridylazo)rezorcynolem (PAR). Powstały kompleks oznaczany jest przy długości fali 505 nm (Possanzini, Di Palo 1995; Takamura, Matsumoto 2020). Opisywana w publikacji Possanziniego i Di Palo metoda zakładała również pobieranie próbek powietrza na filtry impregnowane roztworem chlorku tytanu w kwasie siarkowym. Metoda ta została opracowana na potrzeby badań środowiskowych i zakładała pobieranie godzinnych próbek z prędkością 10 l/min. Opracowana w 1997 roku metoda oznaczania nad-

tlenu wodoru zakładająca oznaczanie tego związku w postaci kompleksu utlenionych przez nadtlenek wodoru jonów żelaza z jonami rodankowymi (NCS) umożliwiała oznaczenie stężeń tego związku w granicach $0,5 \div 4 \text{ mg/m}^3$ i w związku z obniżeniem wartości NDS z $1,5 \text{ mg/m}^3$ do $0,4 \text{ mg/m}^3$ nie spełnia wymagań normy europejskiej PN-EN 482.

Biorąc pod uwagę konieczność oznaczania niskich stężeń nadtlenu wodoru w środowisku pracy, zdecydowano o wykorzystaniu do tego celu metody spektrofotometrycznej przy zastosowaniu kompleksowania utlenionych przez nadtlenek wodoru jonów żelaza oranżem ksylenolowym. Do pobierania próbek powietrza zastosowano płuczki bełkotkowe, a jako medium pochłaniające wodę.

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Badanie zakresu stosowania i precyzji metody analitycznej

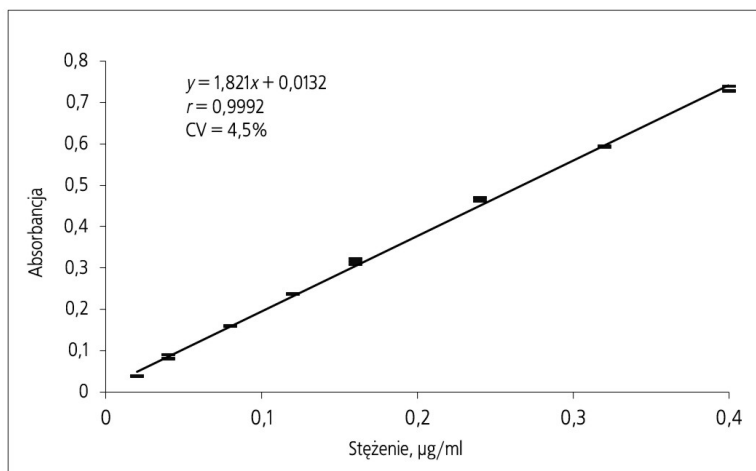
W celu zbadania zakresu roboczego metody oznaczania nadtlenu wodoru przygotowano 3 serie kalibracyjne. Do 9 kolb miarowych o pojemności 10 ml odmierzone po: 0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8 i 1 ml wzorca nadtlenu wodoru o stężeniu $8 \text{ } \mu\text{g/ml}$. Kolby uzupełniono do kreski wodą. Stężenia nadtlenu wodoru w tak przygotowanych roztworach wynoszą: 0; 0,04; 0,08; 0,16; 0,24; 0,32; 0,48; 0,64 i $0,80 \text{ } \mu\text{g/ml}$. Do kolb miarowych o pojemności 1 ml pobrano po 0,5 ml każdego wzorca, dodano 0,25 ml metanolu i 0,25 ml roztworu kompleksującego. Próbkę poddano 30-minutowej inkubacji w temperaturze pokojowej. Po zakoń-

czeniu reakcji z czynnikiem kompleksującym i osiągnięciu ostatecznej barwy (od żółtej do niebieskofioletowej) zmierzono absorbancję roztworów wzorcowych przy długości fali analitycznej 560 nm.

Wyniki badania liniowości metody w badanym zakresie stężeń przedstawiono w tabeli 2. i graficznie na rycinie 1. Z uzyskanych danych wynika, że wartość absorbancji w funkcji stężenia nadtlenu wodoru w badanym zakresie stężeń $0,02 \div 0,4 \text{ } \mu\text{g/ml}$ ma charakter liniowy. Zależność tę opisuje równanie $y = 1,821x + 0,0132$. Wyrażony w procentach współczynnik zmienności (CV) dla 3 serii kalibracyjnych wynosi 4,48%, a współczynnik regresji $r = 0,9992$.

Tabela 2. Badanie liniowości metody oznaczania nadtlenu wodoru w postaci kompleksu z oranżem ksylenolowym
Table 2. Linearity testing of hydrogen peroxide determination method in the form of a complex with xylene orange

Badany parametr	Stężenie, $\mu\text{g/ml}$							
	0,04	0,08	0,16	0,24	0,32	0,48	0,64	0,80
Absorbancja	0,037 0,038 0,039	0,081 0,079 0,089	0,158 0,159 0,158	0,235 0,236 0,237	0,314 0,308 0,321	0,460 0,467 0,469	0,591 0,593 0,594	0,726 0,739 0,728
Średnia absorbancja	0,038	0,083	0,158	0,236	0,314	0,465	0,593	0,731
Odchylenie standardowe, SD	0,001	0,005	0,001	0,001	0,007	0,005	0,002	0,007
Współczynnik zmienności, CV, %	2,63	6,38	0,36	0,42	2,07	1,02	0,26	0,96



Ryc. 1. Krzywa wzorcowa nadtlenku wodoru w zakresie stężeń 0,02 ÷ 0,4 µg/ml

Fig. 1. Hydrogen peroxide calibration curve in the range of 0.02 ÷ 0.4 µg/ml

W celu zbadania zgodności wyników przy wielokrotnym powtarzaniu oznaczenia przygotowano 3 stężenia nadtlenku wodoru: 0,04; 0,24 i 0,8 µg/ml. Z każdego stężenia przygotowano do badań po 10 próbek. Do kolby miarowej o pojemności 1 ml pobrano po 0,5 ml roztworów wzorcowych, do których dodano 0,25 ml metanolu i 0,25 ml odczynnika FOX. Próbkę poddano 30-minutowej inkubacji w temperaturze pokojowej. Po zakończeniu reakcji z czynnikiem kompleksującym i osiągnięciu ostatecznej barwy próbki poddano analizie spektrofotometrycznej.

Wyniki badań precyzji przy wielokrotnym powtarzaniu oznaczenia, uwzględniając współczynnik nachylenia krzywej wzorcowej, przedstawiono w tabeli 3. Współczynniki zmienności (CV) rozrzutów uzyskanych wyników w stosunku do wartości średnich dla stężeń: 0,04; 0,24 i 0,8 µg/ml wynoszą odpowiednio: 3,9; 4,62 i 1,68%. Średnia wartość współczynnika zmienności (CV) dla 3 stężeń wynosi 6,41%, co wskazuje na dobrą precyzję oznaczeń nadtlenku wodoru przy zastosowaniu metody spektrofotometrycznej.

Tabela 3. Wyniki badania precyzji metody oznaczania nadtlenku wodoru

Table 3. The results of the precision study of a hydrogen peroxide determination method

Numer analizy	Absorbancja	Oznaczone stężenie nadtlenku wodoru, µg/ml	Absorbancja	Oznaczone stężenie nadtlenku wodoru, µg/ml	Absorbancja	Oznaczone stężenie nadtlenku wodoru, µg/ml
1	0,037	0,020	0,232	0,127	0,678	0,372
2	0,037	0,020	0,231	0,127	0,692	0,380
3	0,038	0,021	0,234	0,129	0,709	0,389
4	0,039	0,021	0,234	0,129	0,712	0,391
4	0,035	0,019	0,236	0,130	0,694	0,381
6	0,036	0,020	0,232	0,127	0,699	0,384
7	0,039	0,021	0,236	0,130	0,702	0,386
8	0,038	0,021	0,233	0,128	0,678	0,372
9	0,037	0,020	0,268	0,147	0,692	0,380
10	0,035	0,019	0,236	0,130	0,701	0,385
Średnia		0,020		0,130		0,382
SD		0,001		0,006		0,006
CV, %		3,91		4,63		1,64

Badanie warunków pobierania próbek powietrza

W celu zbadania wpływu założonych warunków pobierania próbek powietrza na retencję nadtlenu wodoru przygotowano 3 serie po 6 płuczek bełkotkowych, do których dodano po 10 ml roztworów wzorcowych nadtlenu wodoru zawierających następujące stężenia badanego związku: 0,04; 0,24 i 0,8 $\mu\text{g}/\text{ml}$, oraz po 6 płuczek zawierających wodę. Płuczki zawierające roztwory wzorcowe połączono szeregowo z płuczkami zawierającymi wodę i przy użyciu aspiratorów niskoprzepływowych przepuszczono przez płuczki 10 l powietrza ze stałym strumieniem objętości 3 l/h. Po przepuszczeniu założonej objętości powietrza z każdej płuczki pobrano do kolby miarowej o pojemności 1 ml po 0,5 ml próbki badanej, dodano 0,25 ml metanolu i 0,25 ml roztworu FOX. Próbki poddano 30-minutowej inkubacji w temperaturze pokojowej. Po zakończeniu reakcji z czynnikiem kompleksującym i osiągnięciu niebieskofioletowej barwy roztwory poddano analizie spektrofotometrycznej.

Wartości osiągniętej absorpcji badanego związku porównano z wynikami absorpcji roztworów wzorcowych o takich samych stężeniach, poddanych identycznej procedurze co próbki, przez które nie przepuszczano powietrza.

Wyniki badań dotyczących warunków pobierania próbek powietrza przedstawiono w tabeli 4. Przyjęty sposób pobierania próbek powietrza nie powoduje powstawania istotnych strat analitu. Średnie wartości współczynnika odzysku nadtlenu wodoru z medium pochłaniającego, przez które przepuszczono 10 l powietrza, dla analizowanych stężeń (0,04; 0,24 i 0,8 $\mu\text{g}/\text{ml}$) wynoszą odpowiednio: 0,91 (SD – 0,06); 1,09 (SD – 0,05) i 1,0 (SD – 0,02). Średnia wartość współczynnika odzysku dla 3 analizowanych stężeń wynosi 1,0 (SD – 0,09), co świadczy o pełnym odzysku analitu z zastosowanego medium pochłaniającego.

W analizowanych roztworach z płuczek zawierających czystą wodę nie stwierdzono obecności nadtlenu wodoru.

Tabela 4. Badanie warunków pobierania próbek powietrza do oznaczania nadtlenu wodoru
Table 4. Test of air sampling conditions for determining hydrogen peroxide

Medium pochłaniające	Zawartość nadtlenu wodoru w płuczce, μg	Absorbancja		Współczynnik odzysku	Średni współczynnik odzysku
		średnia absorbancja roztworów kontrolnych	roztwory badane		
Woda	0,4	0,038	0,034	0,89	0,91
			0,039	1,03	
			0,034	0,89	
			0,032	0,84	
			0,035	0,92	
			0,033	0,87	
			SD	0,06	
	CV	2,04%			
	2,4	0,236	0,263	1,11	1,09
0,275			1,17		
0,255			1,08		
0,248			1,05		
0,256			1,08		
0,246			1,04		
SD			0,05		
CV	4,14%				
8	0,731	0,769	1,05	1,0	
		0,729	1,00		
		0,727	0,99		
		0,728	1,00		
		0,719	0,98		
		0,728	1,00		
		SD	0,02		
CV	2,43%				
Średni współczynnik odzysku, \bar{r} , %			1,00		
Odchylenie standardowe, SD			0,09		
Współczynnik zmienności, CV, %			8,84		

Badanie warunków przechowywania próbek

W celu zbadania trwałości pobranych próbek przygotowano 3 serie po 6 kolb miarowych o pojemności 5 ml, w których umieszczono roztwory wzorcowe nadtlenku wodoru o stężeniach: 0,04; 0,24 i 0,8 µg/ml. Kolby szczelnie zamknięto i umieszczono w chłodziarce. Po 1, 2 i 3 dniach przechowywania poddano analizie po 6 próbek z każdego stężenia. Do kolb miarowych o pojemności 1 ml pobrano po 0,5 ml próbki badanej i dodano po 0,25 ml metanolu oraz 0,25 ml odczynnika FOX. Próbki poddano 30-minutowej inkubacji w temperaturze pokojowej. Po zakończeniu reakcji z czynnikiem kompleksującym próbki poddano analizie spektrofotometrycznej.

Osiągnięte wartości absorbancji badanego związku porównano z wartościami absorbancji roztworów wzorcowych o takich samych stężeniach przygotowanych w dniu analizy.

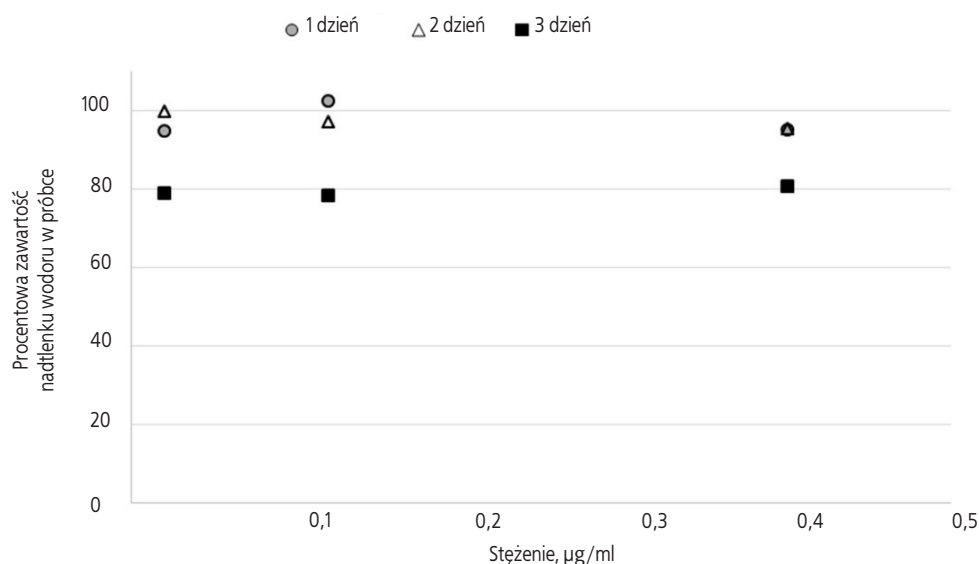
Wyniki badań warunków przechowywania próbek przedstawiono graficznie na rycinie 2. Z przedstawionych danych wynika, że próbki nadtlenku wodoru są nietrwałe i mogą być

przechowywane najdłużej 2 dni. Wyrażona w procentach średnia zawartość nadtlenku wodoru w roztworach wzorcowych o stężeniach: 0,04; 0,24 i 0,8 µg/ml po 2 dniach przechowywania wynosi odpowiednio: 90,3 (SD – 6,0); 97,2 (SD – 1,6) i 98,8 (SD – 2,1). Oznaczona po 3 dniach przechowywania procentowa zawartość nadtlenku wodoru w roztworach wzorcowych (0,04; 0,24 i 0,8 µg/ml) wynosiła odpowiednio: 85,5 (SD – 7,5); 78,0 (SD – 3,9) i 69,4 (SD – 10,2).

Walidacja metody

Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482. Na podstawie przeprowadzonych badań uzyskano następujące dane walidacyjne:

- zakres pomiarowy 0,04 ÷ 0,8 µg/ml
- współczynnik korelacji charakteryzujący liniowość krzywej wzorcowej $r = 0,9992$
- niepewność rozszerzona metody 19,6%.



Ryc. 2. Trwałość próbek nadtlenku wodoru w funkcji czasu przechowywania próbek
Fig. 2. Stability of hydrogen peroxide samples as a function of sample storage time

PODSUMOWANIE

Na podstawie przeprowadzonych badań zaproponowano metodę oznaczania nadtlenku wodoru w powietrzu na stanowiskach pracy z wykorzystaniem spektrofotometrii w świetle widzialnym.

Nadtlenek wodoru pobierany jest na płuczki z wodą, a następnie oznaczany pośrednio w postaci kompleksu oranżu ksylenolowego z utlenionymi przez nadtlenek wodoru jonami żelaza

(Fe II). Opisana metoda umożliwiła oznaczenie stężeń nadtlenu wodoru w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie $0,04 \div 0,8 \text{ mg/m}^3$, tj. $\sim 0,1 \div 2$ wartości NDS. Metoda została poddana

walidacji zgodnie z wymaganiami normy PN-EN 482+A1:2016-01 i opisana w formie procedury analitycznej zamieszczonej w załączniku.

PIŚMIENNICTWO

Banerjee D., Kumar P.A., Kumar B., Madhusoodanan U.K., Nayak S., Jacob J. (2002). Determination of absolute hydrogen peroxide concentration by spectrophotometric method. *Curr. Sci.* 83(10), 1193–1194.

Gay C., Collins J., Gebicki J.M. (1999). Hydroperoxide assay with the ferric–xylenol orange complex. *Anal. Biochem.* 273(2), 149–155.

International Agency for Research on Cancer (IARC), (1999). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide (Part 1, Part 2, Part 3) 71, 671–689 [<https://ncbi.nlm.gov/books/NBK498701/>, dostęp: 2021].

Kijeńska D. (1997). Nadtlenek wodoru [Hydrogen peroxide]. *Podst. Metod. Ocen. Środ. Pr.* 1(17), 101–104.

Occupational Safety and Health Administration (OSHA), (1978). Sampling and analytical methods. Organic method #ID-126-SG. Hydrogen peroxide in workplace atmosphere [<https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/partial/pv2034/2034.html>, dostęp: 2020].

PN-EN 482+A1:2016 Narażenie na stanowiskach pracy – Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych [Workplace exposure – General requirements for the performance of procedures for the measurement of chemical agents].

Possanzini M., Di Palo V. (1995). Improved titanium method for determination of atmospheric H_2O_2 . *Anal. Chim. Acta* 315(1–2), 225–230.

PubChem, National Library of Medicine (2003). Hydrogen peroxide. Compound summary [<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hydrogen-peroxide>, dostęp: 2020].

Rozporządzenie Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej z dnia 12 czerwca 2018 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. *Dz.U.* 2018, poz. 1286 [Polish legal act].

Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 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. *Dz. Urz. UE* L 353 z 31 grudnia 2008 r. [Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006. *OJEU* L 353].

Soćko R. (2013). Nadtlenek wodoru. Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego [Hydrogen peroxide. Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)]. *Podst. Metod. Ocen. Środ. Pr.* 1(75), 21–55.

Takamura K., Matsumoto M. (2020). UV-visible spectral analysis for the characterization of the titanium(IV)–4-(2-pyridylazo)resorcinol complex as a reagent for determining hydrogen peroxide. *Dalton Trans.* 49, 690–696.

Wolff S. (1994). Ferrous ion oxidation in presence of ferric ion indicator xylenol orange for measurement of hydroperoxides. *Method. Enzymol.* 233, 182–189.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA NADTLENUK WODORU W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY METODĄ SPEKTROFOTOMETRYCZNĄ

1. Zakres stosowania metody

W niniejszej normie podano metodę oznaczania zawartości nadtlenuku wodoru (CAS 7722-84-1) w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem metody spektrofotometrycznej (UV-VIS).

Metodę stosuje się podczas kontroli warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie nadtlenuku wodoru, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w normie, wynosi 0,04 mg/m³ (dla próbki powietrza o objętości 10 l).

2. Powołania normatywne

Do stosowania niniejszego dokumentu są niezbędne podane niżej dokumenty, które w całości lub w części zostały w nim normatywnie powołane. W przypadku powołań datowanych ma zastosowanie wyłącznie wydanie cytowane. W przypadku powołań niedatowanych stosuje się ostatnie wydanie dokumentu powołanego (łącznie ze zmianami).

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: przepuszczeniu przez płuczkę bełkotkową zawierającą 10 ml wody obecnego w powietrzu nadtlenuku wodoru, reakcji nadtlenuku wodoru z jonami żelaza (Fe II) i reakcji utlenionych jonów żelaza (Fe III) z oranżem ksylenolowym. Powstały barwny kompleks oznaczany jest spektrometrycznie przy długości fali 560 nm.

4. Postanowienia ogólne

4.1. Dokładność ważenia

O ile nie zaznaczono inaczej, substancje stosowane w analizie należy ważyć z dokładnością do 0,0002 g.

4.2. Postępowanie z substancjami niebezpiecznymi

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

Pozostałe po analizie roztwory odczynników i wzorców należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i przekazywać do utylizacji w uprawnionych instytucjach.

5. Odczynniki, roztwory i materiały

Podczas analizy, jeśli nie ma innych wymagań, należy stosować substancje o stopniu czystości co najmniej cz.d.a.

5.1. Nadtlenek wodoru

Certyfikowany wzorzec analityczny o stężeniu 30%.

5.2. Metanol

Metanol o czystości do HPLC.

5.3. Woda

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

5.4. Oranż ksylenolowy

Sól sodowa kwasu *o*-krezolosulfoftaleino-3,3''-bis-metyloiminooctowego.

5.5. Sól Mohra

Siarczan(VI) amonu i żelaza(II).

5.6. Sorbitol

5.7. Kwas siarkowy(VI)

Stosować kwas siarkowy(VI) o stężeniu 95%.

5.8. Roztwór wzorcowy podstawowy nadtlenuku wodoru

Do kolby pomiarowej wg punktu 6.5. o pojemności 500 ml odmierzyć za pomocą pipety automatycznej wg punktu 6.4. 133,35 µl 30-procentowego nadtlenuku wodoru wg punktu 5.1., kolbę uzupełnić do kreski wodą wg punktu 5.3. i dokładnie wymieszać. Stężenie tak przygotowanego roztworu wynosi 80 µg/ml.

Roztwór należy przygotować w dniu analizy.

5.9. Roztwór wzorcowy pośredni nadtlenu wodoru

Do kolby miarowej wg punktu 6.5. o pojemności 10 ml odmierzyć 1 ml roztworu podstawowego nadtlenu wodoru wg punktu 5.8., kolbę uzupełnić do kreski wodą wg punktu 5.3. i dokładnie wymieszać. Stężenie tak przygotowanego roztworu wynosi 8 µg/ml.

Roztwór należy przygotować w dniu analizy.

5.10. Roztwory wzorcowe robocze nadtlenu wodoru

Do 9 kolb pomiarowych o pojemności 10 ml wg punktu 6.5. odmierzyć za pomocą pipety wg punktu 6.4. odpowiednio: 0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8 i 1 ml wzorca pośredniego wg punktu 5.9. Kolby uzupełnić do kreski wodą wg punktu 5.3. Stężenia nadtlenu wodoru w tak przygotowanych roztworach wynoszą: 0; 0,04; 0,08; 0,16; 0,24; 0,32; 0,48; 0,64 i 0,8 µg/ml.

Roztwory należy przygotować w dniu analizy.

5.11. Roztwór kompleksujący (odczynnik FOX)

Na wadze analitycznej wg punktu 6.7. odważyć 17,92 mg oranżu ksylenowego wg punktu 5.4., 4,55 g sorbitolu wg punktu 5.6. oraz 24,51 mg soli Mohra wg punktu 5.5. Sól Mohra rozpuścić w 0,350 ml kwasu siarkowego wg punktu 5.7. Odważone odczynniki przenieść ilościowo do kolby pomiarowej o pojemności 250 ml wg punktu 6.5., całość rozpuścić w wodzie, a następnie uzupełnić wodą do kreski.

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

Stosować typowy sprzęt laboratoryjny oraz następujący:

6.1. Spektrofotometr UV-VIS

Spektrofotometr umożliwiający wykonanie oznaczeń przy długości fali równej 560 nm.

6.2. Płuczka

Stosować płuczki bełkotkowe ze szkłem spiekającym o pojemności 25 ml.

6.3. Pompa ssąca

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

6.4. Pipety do cieczy

Pipety automatyczne nastawne o pojemności 0,010 ÷ 0,1; 0,1 ÷ 1 i 0,5 ÷ 5 ml.

6.5. Kolby pomiarowe

Kolby o pojemności: 1, 10, 250 i 500 ml.

6.6. Kuwety do spektrometru

Kuwety o pojemności 2 ml.

6.7. Waga

Waga analityczna umożliwiająca ważenie z dokładnością do 0,0002 g.

7. Pobieranie próbek powietrza

Podczas pobierania próbek powietrza należy stosować zasady zawarte w normie PN-Z-04008-7:2002 (wraz z późniejszą zmianą PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004). Przy użyciu zestawu do pobierania próbek powietrza składającego się z pompy ssącej wg punktu 6.3. i płuczki bełkotkowej wg punktu 6.2. zawierającej 10 ml wody przepuścić nie mniej niż 10 l powietrza ze stałym strumieniem objętości 3,0 l/h. Pobrane próbki powietrza zabezpieczyć i do czasu analizy przechowywać w chłodziarce.

Pobrane próbki przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość nie dłużej niż 2 dni.

8. Warunki pracy spektrofotometru UV-VIS

Pomiar absorbancji przeprowadzić przy długości fali wynoszącej 560 nm.

9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do 9 kolb pomiarowych o pojemności 1 ml wg punktu 6.5. odmierzyć po 0,5 ml z każdego wzorca wg punktu 5.10., następnie dodać 0,25 ml metanolu wg punktu 5.2. i 0,25 ml roztworu kompleksującego (FOX) wg punktu 5.11. Całość wymieszać i pozostawić w temperaturze pokojowej na 30 min. Uzyskane roztwory poddać pomiarowi absorbancji wobec próbki ślepej w warunkach podanych w punkcie 8. Sporządzić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych ilość nadtlenu wodoru, a na osi rzędnych wartość absorbancji.

10. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbek powietrza do kolb pomiarowych o pojemności 1 ml wg punktu 6.5. przenieść po 0,5 ml próbki badanej, dodać 0,25 ml metanolu wg punktu 5.2. oraz 0,25 ml roztworu kompleksującego wg punktu 5.11. Zawartość wymieszać i poddać minimum półgodzinnej inkubacji w temperaturze pokojowej. Zmierzyć wartość absorbancji w próbce za pomocą spektrometru UV-VIS przy długości fali wynoszącej 560 nm.

11. Obliczanie wyniku oznaczania

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

$$X = \frac{m}{V} \cdot 20,$$

w którym:

m – masa nadtlenku wodoru odczytana z krzywej wzorcowej, w miligramach,

V – objętość powietrza przepuszczonego, w metrach sześciennych,

20 – współczynnik rozcieńczenia.

Adres do korespondencji/Contact details:

mgr inż. WIOLETTA MYSUR

e-mail: wioletta.mysur@imp.lodz.pl

Instytut Medycyny Pracy

im. prof. dra med. Jerzego Nofera

91-348 Łódź, ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

POLAND

