

Toluilenodiizocyjanian

Oznaczanie izomerów
toluilenodiizocyjanianu metodą
wysokosprawnej chromatografii cieczowej¹

Toluene diisocyanate

Determination of toluene diisocyanate isomers
with high performance liquid chromatography

mgr MARZENA BONCZAROWSKA

e-mail: marzena@imp.lodz.pl

dr SŁAWOMIR BRZEŹNICKI

e-mail: slawek@imp.lodz.pl

Instytut Medycyny Pracy

im. prof. dr. med. Jerzego Nofera

91-348 Łódź

ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

Numer CAS 584-84-9 - 2,4-toluilenodiizocyjanian

Numer CAS 91-08-7 - 2,6-toluilenodiizocyjanian

Słowa kluczowe: toluilenodiizocyjaniany, narażenie zawodowe, powietrze na stanowisku pracy, wysokosprawna chromatografia cieczowa.

Keywords: diisocyanates, occupational exposure, workplace air, high performance liquid chromatography.

Streszczenie

Toluilenodiizocyjanian (TDI) stosowany w przemyśle występuje w postaci bezbarwnej lub jasnożółtej cieczy o ostrym zapachu i stanowi mieszaninę dwóch izomerów – diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu (2,4-TDI) oraz diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu (2,6-TDI). Związki te są stosowane jako monomery do produkcji tworzyw poliuretanowych i wykorzystywane w takich gałęziach przemysłu, jak: budownictwo, prze-

mysł meblarski, samochodowy, stoczniowy czy chemiczny. Narażenie na izocyjaniany może powodować silne podrażnienia: błon śluzowych górnych i dolnych dróg oddechowych oraz oczu, a także ataki astmy oskrzelowej.

Celem pracy było opracowanie odpowiednio czulej metody oznaczania izomerów toluilenodiizocyjanianu w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie od 1/10 do 2 wartości najwyż-

¹ Publikacja opracowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach III etapu programu wieloletniego: „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy” dofinansowanego w latach 2014-2016 w zakresie służb państwowych przez Ministerstwo Pracy i Polityki Społecznej (Ministerstwo Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej).

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

szego dopuszczalnego stężenia (NDS), zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482:2012.

Badania wykonano przy zastosowaniu chromatografu cieczowego Waters Alliance z detektorem spektrofluorymetrycznym i kolumny Supelcosil RP-Amide 150 × 2,1 mm o uziarnieniu 5 μm.

Metoda polega na: zatrzymaniu obecnych w powietrzu izomerów toluilenodiizocyjanianu na filtrze z włókna szklanego nasączonego roztworem 1-(2-pyridylo)piperazyny (1,2-PP), ekstrakcji powstałych pochodnych za pomocą mieszaniny acetonitrylu i dimetylosulfotlenku oraz chromatograficznym oznaczeniu stężeń badanych związków. Średnia wartość współczynnika odzysku (dla trzech stężeń) dla diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu (2,4-TDI) i diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu (2,6-TDI) wynosi odpowiednio: 103,4 i 101,8%. Zależność wskazań detektora spektrofluorymetrycznego od analizowanych stężeń izomerów

toluilenodiizocyjanianu ma charakter liniowy ($r = 0,999$) w zakresie stężeń $0,028 \div 2,8 \mu\text{g}/2 \text{ ml}$ ($0,00014 \div 0,014 \text{ mg}/\text{m}^3$ dla próbki powietrza 200 l). Granica oznaczania ilościowego dla diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu i diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu wynosi odpowiednio: 0,0006 i 0,0003 μg/ml.

Opisana w niniejszym artykule metoda pozwala na selektywne oznaczanie izomerów toluilenodiizocyjanianu w obecności innych diizocyjanianów. Zapisana w formie przepisu analitycznego metoda oznaczania izomerów toluilenodiizocyjanianu spełnia wymagania zawarte w normie europejskiej PN-EN 482:2012 pod kątem czułości oznaczeń, precyzji i dokładności.

Opracowana metoda oznaczania izomerów toluilenodiizocyjanianu w powietrzu na stanowiskach pracy została zapisana w postaci procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku.

Summary

Toluene-2,4 and 2,6-diisocyanate (2,4-TDI; 2,6-TDI) are colorless to pale yellow liquids with a sharp acrid odor. 2,4-TDI and 2,6-TDI are two commonly used isomers of toluenediisocyanate (TDI). TDI mixture is most often used in manufacturing polyurethane plastics and widely used in different kinds of industry like furniture, car, chemical, shipbuilding and construction industry. Occupational exposure to TDI vapors can cause severe irritant effects on mucous membranes, the respiratory tract, the eyes, and an acute attack of an asthma-like syndrome.

The aim of this study was to develop and validate a sensitive method for determining 2,4 and 2,6-TDI concentrations in workplace air in the range from 1/40 to 2 MAC values, in accordance with the requirements of Standard No. PN-EN 482. The study was performed using a liquid chromatograph equipped with spectrofluorimetric detector (FLD). All chromatographic analysis were performed with Supelcosil LC-RP-Amide 150 × 3 mm analytical column, which was eluted with a mixture of acetonitrile:dimethylsulfoxide (9: 1). The method is based on the collection of TDI on

glassfiberfilter coated with 1 (2-pyridyl)piperazine solution, extraction of formed derivatives with a mixture of acetonitrile:dimethylsulfoxide and chromatographic determination of resulted solution with HPLC technique. The average extraction efficiency of TDI from filters was 103% (2,4-TDI and 108% (2,6-TDI). The method is linear ($r = 0.999$) within the investigated working range 0.028–2.8 μg/ml, which is equivalent to air concentrations from 0.00014 to 0.014 mg/m³ for a 200-L air sample. The limit of quantification (LOQ) of 2,4-TDI and 2,6-TDI was 0.0006 and 0.0003 μg/ml, respectively.

The analytical method described in the form of Analytical Procedure (see appendix), makes it possible to selectively determine 2,4-TDI and 2,6-TDI in workplace air in the presence of other compounds. The method is precise, accurate and it meets the criteria for procedures for measuring chemical agents listed in Standard No. PN-EN 482. The method can be used for assessing occupational exposure to 2,4-TDI and 2,6-TDI and associated risk to workers' health.

WPROWADZENIE

Toluilenodiizocyjanian (TDI) stosowany w przemyśle występuje w postaci bezbarwnej lub jasnożółtej cieczy o ostrym zapachu i stanowi mieszaninę dwóch izomerów – diizocyjanianu

tolueno-2,4-diyłu (2,4-TDI) oraz diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu (2,6-TDI). W mieszaninach technicznych stosowanych w procesach produkcyjnych izomery te występują najczęściej

w stosunku 80: 20. Toluilenodiizocyjanian jest stosowany jako monomer do produkcji polimerów poliuretanowych mających wszechstronne zastosowanie w przemyśle: samochodowym, stoczniowym, chemicznym czy w budownictwie. Toluilenodiizocyjanian jest stosowany również do produkcji elementów z: tworzywa sztucznych, lakierów, klejów, farb, powłok antykorozyjnych oraz jako środek do impregnacji tkanin. W medycynie izocyjaniany stosuje się do wypełniania ubytków po resekcji płuc oraz jako bezpośredni opatrunek w ciężkich oparzeniach. Rosnąca z roku na rok produkcja poliuretanów jest powodem coraz większej liczby osób potencjalnie narażonych na te związki. Szacuje się, iż w Polsce narażonych na toluilenodiizocyjaniany może być około tysiąca osób.

Toluilenodiizocyjanian wchłania się do organizmu człowieka przede wszystkim drogą inhalacyjną. Kontakt z diizocyjanianami (w tym z toluilenodiizocyjanianami) może powodować: silne podrażnienia błon śluzowych górnych i dolnych dróg oddechowych, zaczerwienienie i łzawienie oczu, podrażnienia nosa, a także zaburzenia żołądkowo-jelitowe. Stosunkowo rzadziej występują: bóle głowy i bezsenność, zaburzenia równowagi oraz nerwice lękowe (CHEMPYŁ 2015; HSDB 2006; 2012; Soćko,

Czerczak 2010). Diizocyjaniany (w tym toluilenodiizocyjaniany) są również odpowiedzialne za powstawanie astmy zawodowej (Palczyński 2011). Grupa Ekspertów Międzynarodowej Agencji ds. Badań nad Rakiem (IARC) zaliczyła diizocyjanian tolueno-2,6-dyilu i diizocyjanian tolueno-2,4-dyilu do grupy 2.B, tj. do grupy związków uznawanych za przypuszczalnie rakotwórcze dla ludzi (IARC 2015). Unia Europejska związek ten zaliczyła do kategorii 2., tj. do grupy związków sklasyfikowanych jako rakotwórcze dla ludzi. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących negatywnego wpływu toluilenodiizocyjanianu na rozrodczość oraz na prenatalny i postnatalny rozwój u ludzi (Soćko, Czerczak 2010).

Zharmonizowaną klasyfikację oraz oznakowanie diizocyjanianu tolueno-2,6-dyilu i diizocyjanianu tolueno-2,4-dyilu, zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 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 z dnia 31.12.2008 r) przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1.

Klasyfikacja i oznakowanie diizocyjanianu tolueno-2,4-dyilu (2,4-TDI) i diizocyjanianu tolueno-2,6-dyilu (2,6-TDI) zgodnie z obowiązującymi aktami prawnymi

Klasyfikacja	Oznakowanie
Rakotwórczość, kategoria zagrożeń 2. Toksyczność ostra, wdychanie, kategoria zagrożeń 2. Poważne uszkodzenia oczu/działanie drażniące na oczy, kategoria zagrożeń 2. Działanie żrące/drażniące na skórę, kategoria zagrożeń 2. Działanie uczulające na drogi oddechowe/skórę, kategoria zagrożeń 2.	H351 – podejrzewa się, że powoduje raka H330 – wdychanie grozi śmiercią H319 – działa drażniąco na oczy H317 – działa drażniąco na skórę H334 – może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania H335 – może powodować podrażnienie dróg oddechowych H315 – może powodować reakcję alergiczną skóry
Działanie toksyczne na narządy docelowe – narażenie jednorazowe, kategoria zagrożeń 3. Stwarzające zagrożenie dla środowiska wodnego, kategoria zagrożeń 3.	H412 – działa szkodliwie na organizmy wodne

Zgodnie z rozporządzeniem ministra pracy i polityki społecznej wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu i diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu w powietrzu na stanowiskach pracy wynosi $0,007 \text{ mg/m}^3$, a najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe (NDSCh) – $0,021 \text{ mg/m}^3$.

Celem pracy było opracowanie odpowiednio czulej i selektywnej metody oznaczania izomerów tego związku w powietrzu na stanowiskach pracy umożliwiającej pomiary ich stężeń, a następnie pozwalającej na dokonanie oceny narażenia zawodowego zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482: 2012.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Założenia opracowanej metody

Z dostępnych danych piśmiennictwa wynika, iż izocyjaniany mogą być oznaczane przy zastosowaniu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), (EPA 2015; OSHA 1989a; 1989b). Do pobierania próbek powietrza (w celu oznaczania stężeń izocyjanianów) wykorzystuje się filtry z włókna szklanego nasączone roztworem 1-(2-pyridylo)piperazyny (1,2-PP) lub płuczki z toluenowym roztworem 1-(2-metoksyfenylo)piperazyny (NIOSH 1994; OSHA 1989a; 1989b). Zawarte w powietrzu izocyjaniany zostają zatrzymane na filtrze (lub w roztworze) w postaci pochodnych. Zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482:2012, metoda analityczna stosowana do oznaczania stężeń danego związku w powietrzu na stanowiskach pracy powinna być już zwalidowana dla zakresu od 1/10 obowiązującej wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS). Z wymienionych wcześniej powodów przyjęto następujące założenia opracowywanej metody:

- oznaczanie izomerów toluilendiizocyjanianu techniką HPLC w postaci pochodnych z 1,2-PP
- pobieranie dwóch próbek w ciągu zmiany roboczej
- objętość pobranej próbki powietrza około 200 l
- zakres pomiarowy $0,0007 \div 0,014 \text{ mg/m}^3$.

Aparatura i wyposażenie pomocnicze

W badaniach zastosowano chromatograf cieczowy firmy Waters, model Alliance 2695 wyposażony w: pompę poczworną, termostat, detektor spektrofluorymetryczny Waters 2475 (FLD), automatyczny dozownik próbek i komputer z programem sterowania i zbierania danych. Do pobierania próbek powietrza stosowano aspiratory średnioprzepływowe GilAir 3 (Glilian) umożliwiające pobieranie powietrza ze strumieniem objętości około 60 l/h. Ekstrakcji analizowanych związków z filtrów dokonywano przy zastosowaniu wytrząsarki rotacyjnej Bühler SM 30 Control. Do odważania odczynników stosowano wagę analityczną Sartorius. Do przygotowywania roztworów wykorzystano pipety automatyczne oraz szkło miarowe klasy A.

Materiały i odczynniki

Do przygotowywania roztworów stosowano następujące odczynniki: acetonitryl – ACN (JT Baker), kwas octowy, octan amonu, dimetylu sulfotlenek – DMSO (POCH S.A.), 1-(2-pyridylo)piperazyna – 1,2-PP (Sigma-Aldrich) oraz pochodne: diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu (2,4-TDI), diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu (2,6-TDI), diizocyjanianu heksano-1,6-diyłu (1,6-HDI) i 4,4'-metylenobis(fenyloizocyjanianu), (MDI) odpowiednio: *N,N'*-(4-metylo-1,3-fenyleno)bis[4-(2-pirydylo)piperazyno-1-karboksyamid], *N,N'*-(2-metylo-1,3-fenyleno)-

-bis[4-(2-pirydylo)piperazyno-1-karboksyamid], *N,N'*-1,6-heksadiylobis[4-(2-pirydylo)piperazyno-1-karboksyamid], *N,N'*-(metylenodifenyleno)bis[4-(2-pirydylo)piperazyno-1-karboksyamid]. Woda o czystości do HPLC pocho-

dziła ze stacji Millipore Plus.

Do badań wykorzystano również filtry z włókna szklanego Whatman GF/A 37 mm oraz filtry strzykawkowe z membraną z poli(tetrafluoroetyleny) – PTFE (Supelco).

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Dobór optymalnych warunków rozdziału chromatograficznego

Celem określenia selektywnych warunków oznaczania diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu (2,4-TDI) i diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu (2,6-TDI) w obecności innych izocyjanianów przygotowano roztwory pochodnych: diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu, diizocyjanianu tolu-

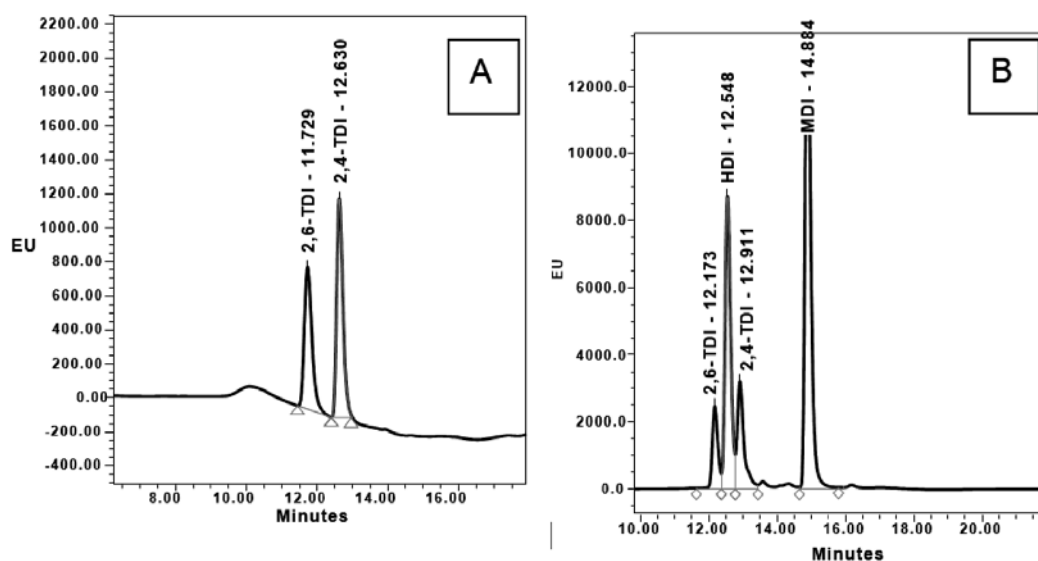
eno-2,6-diyłu, diizocyjanianu heksano-1,6-diyłu (HDI) i 4,4'-metylenobis(fenylizocyjanianu), (MDI) z 1-(2-pirydylo)piperazyną (1,2-PP). Pochodne poddano analizie chromatograficznej. W badaniach zastosowano chromatograf cieczowy wyposażony w kolumnę analityczną Supelco RP-Amide 150 x 2,1 o uziarnieniu 5 µm. Warunki pracy chromatografu cieczowego podano w tabeli 2.

Tabela 2.
Warunki pracy chromatografu cieczowego

Kolumna analityczna/ faza ruchoma	Supelco RP-Amide 150 x 2,1; o uziarnieniu 5 µm		
	czas, min	acetonitryl (A): acetonitryl – bufor octanowy (B) (0,01mol/l pH 5) – 15: 85	
		A (%)	B (%)
Program – gradient	0	10	90
	7	10	90
	12	50	50
	15	50	50
	16	10	90
	31	10	90
Strumień objętości	0,5 ml/min		
Temperatura kolumny	40 °C		
Długość fali analitycznej	Ex/Em 265/360 nm		
Objętość próbki	10 µl		

Zastosowanie w analizach diizocyjanianów kolumny analitycznej Supelco RP-Amide 150 x 2,1 o uziarnieniu 5 µm oraz warunków rozdziału chromatograficznego podanych w tabeli 2. umożliwia selektywne oznaczenie obu izomerów toluilenodiizocyjanianu. Podane warunki rozdziału chromatograficznego umożli-

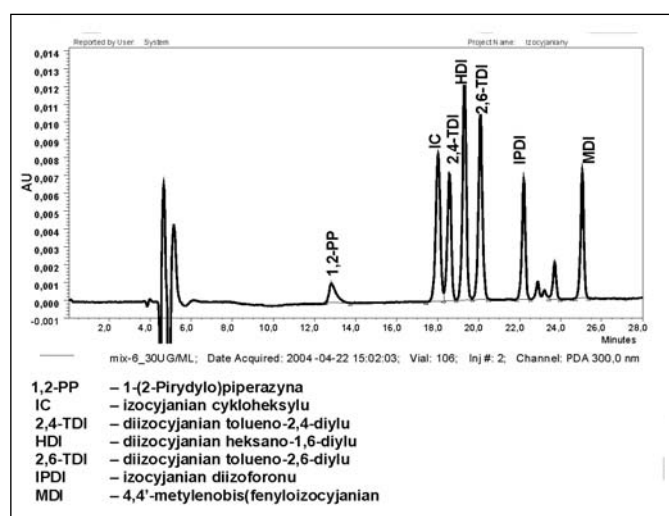
wiają także selektywne oznaczenie stężeń 2,4-TDI i 2,6-TDI w obecności innych diizocyjanianów. Przykładowe chromatogramy obrazujące możliwość selektywnego oznaczenia izomerów toluilenodiizocyjanianu przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Chromatogram rozdziłu pochodnych izomerów toluilenodiizocyjanianu (A) oraz mieszaniny czterech pochodnych diizocyjanianów (2,6-TDI, 2,4-TDI, HDI i MDI) uzyskany przy zastosowaniu kolumny Supelco RP-Amide (B)

Z uwagi na możliwość występowania w środowisku pracy innych substancji mogących interferować z substancją oznaczaną, podane w tabeli 2. warunki analityczne należy traktować jako przykładowe i w razie konieczności modyfikować skład fazy ruchomej (elucja gradientowa) lub zastosować kolumnę analityczną wypełnioną fazą o innej polarności. Wcześniejsze doświadczenia własne oraz dane literaturowe wskazują, iż do oznaczania stężeń diizocyjanianów metodą HPLC można zastosować również

kolumnę wypełnioną fazą cyjanową, np. Supelcosil LC-CN 250 x 3 o uziarnieniu 5 μm (OSHA 1989a; 1989b). Przykładowy chromatogram rozdziłu mieszaniny izocyjanianów uzyskany przy zastosowaniu takiej kolumny przedstawiono na rysunku 2. Zastosowanie kolumny Supelco RP-Amide 150 x 2,1 o uziarnieniu 5 μm pozwala na skrócenie czasu analizy o ponad jedenaście minut. Przekłada się to bezpośrednio na zmniejszone zużycie rozpuszczalników.



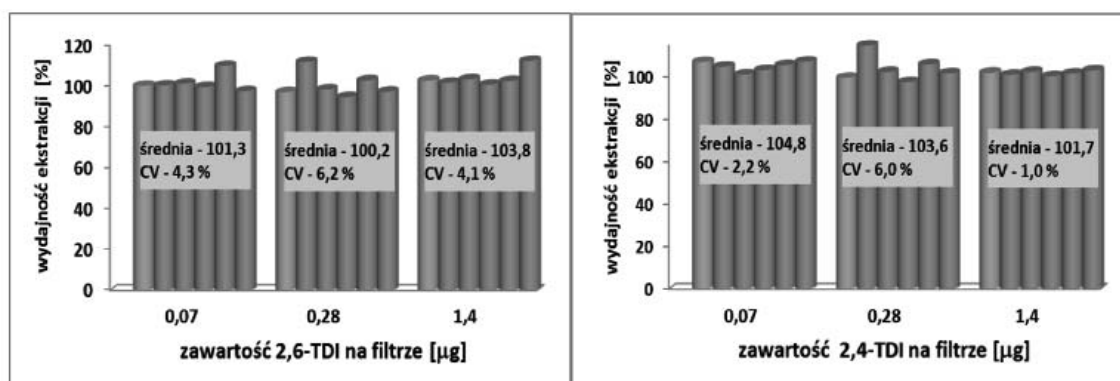
Rys. 2. Chromatogram mieszaniny pochodnych izocyjanianów uzyskany przy zastosowaniu kolumny Supelcosil LC-CN 250 x 3 mm, 5 μm eluowanej (0,4 ml/min) mieszaniną acetonitrylu (ACN) i buforu octanowego (0,01 mM, pH 4,6). Gradient: 0 - 0% ACN, 25 - 55% ACN, 30 - 0% ACN

Badanie wydajności ekstrakcji diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu (2,4-TDI) i diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu (2,6-TDI) z filtrów nasączonych 1-(2-pyridylo)-piperazyną (1,2-PP) i poddanych aeracji

W celu określenia wydajności ekstrakcji oraz sprawdzenia powstania ewentualnych strat analizowanych substancji podczas pobierania próbek powietrza użyto trzyczęściowej głowicy umożliwiającej zainstalowanie drugiego filtra. Przygotowano trzy serie po sześć filtrów z włókna szklanego nasączonych roztworem 1,2-PP, na które naniesiono po 0,1 ml mieszaniny roztworów wzorcowych (pochodne 2,4-TDI i 2,6-TDI) o stężeniach: 0,7; 2,8 i 14 µg/ml czystych związków. W pierwszej części głowicy umieszczono filtr nasączony roztworem 1,2-PP (0,5 mg/filtr) z naniesionym roztworem wzorcowym, w drugiej części umieszczono filtr zerowy nasączony roztworem 1,2-PP. Głowice z filtrami podłączono do aspiratorów średnio-przepływowych. Przez filtry przepuszczano powietrze ze strumieniem objętości 1 l/min przez około 200 min. Po tym czasie filtry z naniesionym roztworem wzorcowym oraz filtry zerowe

przenoszono do wial o pojemności 4 ml i poddano 60-minutowej ekstrakcji na wytrząsarce rotacyjnej za pomocą 2 ml mieszaniny ekstrakcyjnej (ACN: DMSO). Ekstrakty przenoszono do wial o pojemności 2 ml, przepuszczając je przez filtry strzykawkowe (PTFE). Otrzymane roztwory poddano analizie chromatograficznej. W celu sprawdzenia strat analitu podczas aeracji, wielkości pól powierzchni pików w ekstraktach pierwszych filtrów porównano z polami powierzchni pików ekstraktów filtrów, które nie zostały poddane aeracji.

Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono na rysunku 3. Z przedstawionych danych wynika, że zaproponowany sposób pobierania próbek powietrza nie powoduje powstawania strat analizowanych związków. Na filtrach zerowych nie stwierdzono obecności badanych substancji. Zastosowany sposób ekstrakcji (mieszanina ACN: DMSO i wytrząsarka) zapewnia wysoką wydajność ekstrakcji obu związków. Średnia (dla trzech stężeń) wartość współczynnika odzysku wynosi 103,4% (101,7 ÷ 104,8) dla 2,4-TDI oraz 101,8% (100,2 ÷ 103,8) dla 2,6-TDI.



Rys. 3. Wydajność ekstrakcji pochodnych diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu (2,4-TDI) i diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu (2,6-TDI) z filtrów nasączonych roztworem 1-(2-pyridylo)piperazyny (1,2-PP) i poddanych aeracji

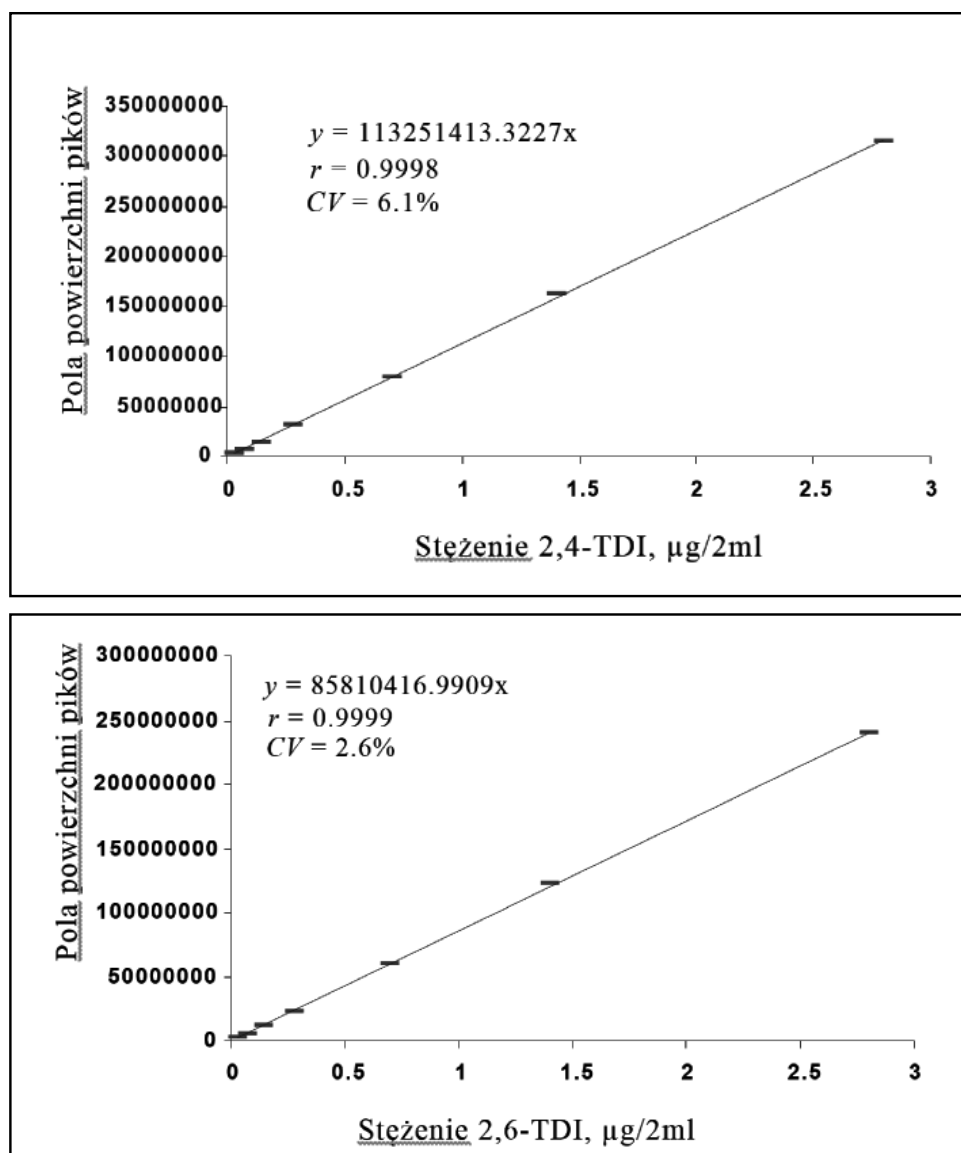
Badanie zakresu stosowania liniowości i precyzji metody analitycznej

Celem określenia zakresu roboczego metody oraz określenia liniowości odpowiedzi detek-

tora na analizowane stężenia izomerów toluilenodiizocyjanianu (TDI) przygotowano trzy serie po osiem filtrów szklanych nasączonych roztworem 1-(2-pyridylo)piperazyny (1,2-PP), na które naniesiono po 0,1 ml roztworów mie-

szaniny wzorcowej pochodnych diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu (2,4-TDI) i diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu (2,6-TDI) o stężeniach: 0; 0,28; 0,7; 1,4; 2,8; 7; 14,0 i 28 $\mu\text{g/ml}$. Po odparowaniu rozpuszczalnika filtry umieszczone w wialach o pojemności 4 ml, zalewano 2 ml mieszaniny ACN: DMSO (9: 1) i ekstrahowano za pomocą wytrząsarki rotacyjnej przez 60 min. Ekstrakty przenoszono do wial o pojemności 2 ml, przepuszczając je przez filtry z PTFE, a następnie poddano analizie chromatograficznej. Wykresy zależności odpowiedzi detektora, w zależności od analizo-

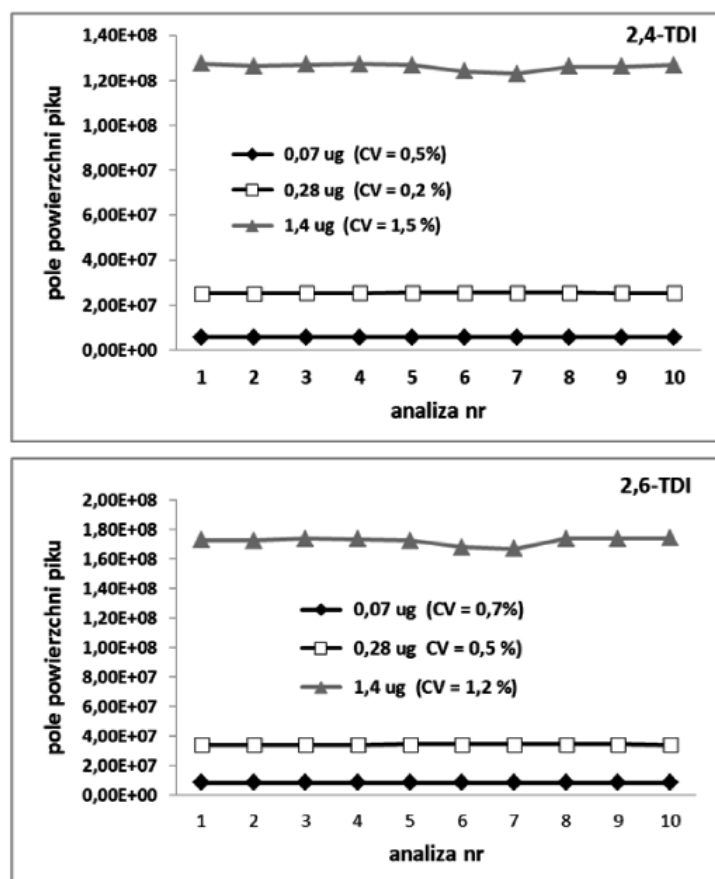
wanego stężenia obu związków, przedstawiono na rysunku 4. Z przedstawionych danych wynika, iż zależność odpowiedzi detektora od stężeń 2,4-TDI i 2,6-TDI (dla obu izomerów) ma charakter liniowy w zakresie $0,028 \div 2,8 \mu\text{g/2 ml}$, co odpowiada stężeniom $0,00014 \div 0,014 \text{ mg/m}^3$ (dla próbki powietrza o objętości 200 l). Zależności te opisano równaniami: $y = 113251413,3x$ (2,4-TDI) i $y = 85810417x$ (2,6-TDI). W obu przypadkach współczynniki korelacji (r) wynoszą 0,999, a współczynniki zmienności (CV) wynoszą odpowiednio: 6,1% (2,4-TDI) i 2,6% (2,6-TDI).



Rys. 4. Krzywa wzorcowe eluatów pochodnych diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu (2,4-TDI) i diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu (2,6-TDI) z filtrów nasączonych roztworem 1-(2-pyridylo)piperazyny (1,2-PP)

Precyzję oznaczeń sprawdzono na podstawie analiz ($n = 10$) roztworów pochodnych 2,4-TDI i 2,6-TDI o stężeniach: 0,07; 0,28 i 1,4 $\mu\text{g/ml}$. Wyniki tych badań przedstawiono na rysunku 5. Wartości względnego odchylenia standardowego rozrzutów uzyskanych wyników

w stosunku do wartości średnich dla trzech analizowanych stężeń (0,07; 0,28 i 1,4 $\mu\text{g/2 ml}$) wynoszą odpowiednio: 0,5; 0,2 i 1,5% dla 2,4-TDI oraz 0,7; 0,5 i 1,2% dla 2,6-TDI. Świadczy to o wysokiej precyzji oznaczeń.



Rys. 5. Krzywa wzorcowa eluatów pochodnych diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu (2,4-TDI) i diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu (2,6-TDI) z filtrów nasączonych roztworem 1-(2-pyridylo)piperazyny (1,2-PP)

Walidacja metody

Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482:2012. Badanie granicy wykrywalności i oznaczalności diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu (2,4-TDI) i diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu (2,6-TDI) przeprowadzono, obliczając odchylenie standardowe sygnału tła uzyskanego przez dziesięciokrotne wstrzyknięcie roztworu ekstrakcyjnego, a następnie obliczono granicę wykrywalności (GW) i granicę

oznaczalności (GO) na podstawie wzorów:

$$GW = \frac{SD \cdot 3}{b} \text{ i } GO = \frac{SD \cdot 10}{b},$$

gdzie:

- SD – odchylenie standardowe,
- b – współczynnik nachylenia krzywej kalibracyjnej.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań uzyskano następujące dane walidacyjne:		ków);
– granica wykrywalności	0,0001 µg/ml (2,4-TDI); 0,0002 µg/ml (2,6-TDI)	0,00014 ÷ 0,014 mg/m ³ (dla próbki powietrza 200 l)
– granica oznaczalności	0,0003 µg/ml (2,4-TDI); 0,0006 µg/ml (2,6-TDI)	– współczynnik korelacji, <i>r</i> 0,999
– zakres pomiarowy metody	0,028 ÷ 2,8 µg/2 ml (stężenia czystych związ-	– precyzja badania 5,2%
		– względna niepewność całkowita 11,0 (2,4-TDI); 10,5 (2,6-TDI).

PODSUMOWANIE

Do oznaczania stężeń izomerów toluilenodiiizocyjanianu (2,4-TDI i 2,6-TDI) w powietrzu na stanowiskach pracy zaproponowano metodę polegającą na zatrzymaniu tych związków (w postaci pochodnych) na filtrach z włókna szklanego nasączonych roztworem 1,2-PP. Powstałe pochodne można z wysoką (około 100%) wydajnością ekstrahować z filtrów za pomocą mieszaniny acetonitrylu i dimetylosulfotlenku. Zastosowane warunki analizy chromatograficznej (kolumna Supelcosil RP-Amide 150 x 2,1 mm, elucja gradientowa) pozwalają na selektywne oznaczenie izomerów toluilenodiiizo-

cyjanianu w obecności innych diizocyjanianów (HDI, MDI).

Opracowana metoda umożliwia oznaczenie stężeń związków w zakresie 0,00014 ÷ 0,014 mg/m³, tj. od < 1/40 do 2 wartości proponowanego najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS).

Opracowaną metodę oznaczania izomerów diizocyjanianu tolueno-2,4-diyłu (2,6-TDI) i diizocyjanianu tolueno-2,6-diyłu (2,6-TDI) w powietrzu na stanowiskach pracy zapisano w formie procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku.

PIŚMIENNICTWO

CHEMPYŁ (2015) Baza wiedzy o zagrożeniach chemicznych i pyłowych. Warszawa, CIOP-PIB.

EPA, Environmental Protection Agency (2015) Method for measurement of isocyanate compounds in stack emissions. Conditional Test Method 036 [http://www3.epa.gov/ttnemc01/ctm/ctm-036.pdf].

HSDB, Hazardous Substances Data Bank (2006) 2,4-Toluene diisocyanate [http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~03Gneo:2].

HSDB, Hazardous Substances Data Bank (2012) 2,6-Toluene diisocyanate [http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~0kbb4U:3].

IARC, International Agency for Research for Cancer (2015) Agents classified by the IARC. Monographs vol. 1–108 [http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf].

OSHA, Occupational Safety & Health Administration (1989a) Index of sampling and analytical methods.#42. Diisocyanates [http://osha.gov/dts/sltc/methods/organic/org042/org034.html].

OSHA, Occupational Safety & Health Administration (1989b) Index of sampling and analytical methods.#47. Methylene Bisphenyl Isocyanate (MDI) [http://www.osha.gov/dts/sltc/methods/organic/org047/org047html].

Pałczyński C. (2011) Asthma caused by low molecular weight agents. [W:] *Pałczyński C.* Allergenic agents in the work environment. Warszawa, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego 73–83.

PN-EN 482:2012 Narażenie na stanowiskach pracy. Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych.

PN-Z-04008-7:2002. Az 1:2004 Ochrona czystości powietrza – Pobieranie próbek powietrza – Zasady pobierania próbek powietrza i interpretacji wyników.

Rozporządzenie ministra pracy i polityki społecznej z dnia 6.06.2014 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU 2014, poz. 817.

Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) 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.

Seymour M.J., Key-Schwartz R. (1994) National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). Manual of analytical methods (NMAM). Fourth ed. Isocyanates, monomeric method # 5521 [<http://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/5521.pdf>].

Soćko R., Czerczak S. (2010) Diizocyjanian tolueno-2,6-diylu, diizocyjanian tolueno-2,4-diylu, toluilenodiizocyjanian (TDI). Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy 2(64), 47–77.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA DIIZOCYJANIANU TOLUENO-2,4-DIYLU I DIIZOCYJANIANU TOLUENO-2,6-DIYLU W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY

1. Zakres stosowania metody

Metodę podaną w niniejszej procedurze stosuje się do oznaczania stężeń mieszaniny diizocyjanianu tolueno-2,4-diylu (2,4-TDI, nr CAS: 584-84-9) oraz diizocyjanianu tolueno-2,6-diylu (2,6-TDI, nr CAS: 91-08-7) w powietrzu na stanowiskach pracy, z zastosowaniem wysoko-
sprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Metodę stosuje się podczas badania warunków sanitarnohigienicznych na stanowiskach pracy.

Najmniejsze stężenie diizocyjanianu tolueno-2,4-diylu oraz diizocyjanianu tolueno-2,6-diylu, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w metodzie, wynosi 0,00014 mg/m³.

2. Powołania normatywne

PN-Z-04008-7: 2002 (wraz z późniejszą zmianą normy PN-Z-04008-7: 2002/Az1: 2004) Ochrona czystości powietrza – Pobieranie próbek – Zasady pobierania próbek powietrza w środowisku pracy i interpretacji wyników.

3. Zasada metody

Metoda polega na: pobraniu próbek powietrza zawierającego izocyjaniany, zatrzymaniu ich w postaci pochodnej na filtrze szklanym nasączonym roztworem 1-(2-pirydylo)piperazyny (0,5mg/filtr), wymyciu zatrzymanych związków za pomocą mieszaniny acetonitrylu i dimetylosulfotlenku (9: 1 v/v), ilościowym oznaczeniu przy zastosowaniu wysoko-
sprawnej chromatografii cieczowej z detekcją fluorymetryczną (HPLC/FLD).

4. Wytyczne ogólne

4.1. Czystość odczynników

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

4.2. Dokładność ważenia

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

4.3. Postępowanie z substancjami toksycznymi

Wszystkie czynności, podczas których używa się substancji chemicznych, 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 unieszkodliwianiem.

5. Odczynniki i roztwory

5.1. Acetonitryl (ACN)

Stosować acetonitryl o czystości do HPLC.

5.2. Sulfotlenek dimetylu (DMSO)

Stosować sulfotlenek dimetylu wg punktu 4.

5.3. Kwas octowy

Stosować kwas octowy wg punktu 4.

5.4. *N,N'*-(4-metylo-1,3-fenyleno)bis[4-(2-pirydylo)piperazyno-1-karboksyamid] – pochodna diizocyjanianu tolueno-2,4-diylu

Stosować wg punktu 4.

5.5. *N,N'*-(2-metylo-1,3-fenyleno)bis[4-(2-pirydylo)piperazyno-1-karboksyamid] – pochodna diizocyjanianu tolueno-2,6-diylu

Stosować wg punktu 4.

5.6. Octan amonu

Stosować octan amonu wg punktu 4.

5.7. 1-(2-Pirydylo)piperazyna (1,2-PP)

Stosować 1-(2-pirydylo)piperazynę wg punktu 4.

5.8. Roztwór buforowy octanu amonu 0,01 mol/l

Odważyć na wadze analitycznej 0,77 g octanu amonu wg punktu 5.6., przenieść do kolby miarowej o pojemności 1000 ml, rozpuścić w mieszaninie acetonitrylu wg punktu 5.1. i w wodzie wg punktu 5.13. w stosunku 15: 85. Doprowadzić do pH 5 za pomocą kwasu octowego wg punktu 5.3.

5.9. Roztwór ekstrakcyjny

Sporządzić mieszaninę ekstrakcyjną przez zmieszanie acetonitrylu wg punktu 5.1. i sulfotlenku dimetylu wg punktu 5.2. w stosunku 9: 1 (v: v).

5.10. Roztwór 1-(2-pirydylo)piperazyny

Odmierzyć za pomocą pipety automatycznej wg punktu 6.7. 200 μ l 1-(2-pirydylo)piperazyny wg punktu 5.7., przenieść do kolby miarowej o pojemności 100 ml wg punktu 6.5. i rozpuścić w acetonitrylu wg punktu 5.1. Stężenie tak przygotowanego roztworu wynosi około 2 mg/ml.

5.11. Roztwór wzorcowy podstawowy mieszaniny izomerów toluilenodiizocyjanianu

Roztwór wzorcowy podstawowy przygotować przez rozpuszczenie pochodnych diizocyjanianu tolueno-2,4-diyli i diizocyjanianu tolueno-2,6-diyli (wg punktów 5.4. i 5.5.) w mieszaninie acetonitryl: sulfotlenek dimetylu wg punktu 5.9. Współczynnik przeliczeniowy stosunku czystego związku do pochodnej wynosi 0,3479 (w celu obliczenia zawartości czystego związku należy masę pochodnej pomnożyć przez 0,3479). Do kolby miarowej o pojemności 10 ml należy odmierzyć taką ilość wzorców, aby końcowe stężenie (w przeliczeniu na czysty związek) wynosiło około 28 μ g/ml każdego z izomerów.

5.12. Roztwory wzorcowe robocze mieszaniny izomerów toluilenodiizocyjanianu

Do ośmiu kolb miarowych o pojemności 5,0 ml odmierzyć pipetami (wg punktów 6.7. i 6.8.) odpowiednio: 0; 0,05; 0,125; 0,25; 0,5; 1,25; 2,5 i 5 ml roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 5.11. Kolby uzupełnić do kreski roztworem mieszaniny acetonitryl: sulfotlenek dimetylu wg punktu 5.9. Stężenia izomerów toluilenodiizocyjanianu w tak przygotowanych roztworach wynoszą: 0; 0,28; 0,7; 1,4; 2,8; 7; 14 i 28 μ g/ml.

5.13. Woda

Stosować wodę o czystości do HPLC.

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

6.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem spektrofluorymetrycznym umożliwiającym wykonanie analizy przy długości fali wzbudzenia 265 nm i emisji 360 nm.

6.2. Filtry z włókna szklanego GF/A 37 mm
Stosować filtry z włókna szklanego o średnicy 37 mm i średnicy porów 1,6 μ m.

6.3. Filtry z poli(tetrafluoroetyleny), (PTFE)
Stosować filtry strzykawkowe z polipropylenu o średnicy 13 mm z membraną z PTFE o średnicy porów 0,45 μ m.

6.4. Kolumna chromatograficzna
Stosować kolumnę chromatograficzną analityczną wypełnioną fazą stacjonarną umożliwiającą selektywne oznaczenie obu izomerów toluilenodiizocyjanianu.

6.5. Kolby miarowe
Stosować kolby miarowe o pojemności: 5; 10; 100 i 1000 ml.

6.6. Naczynka szklane (wiale)
Stosować wiale o pojemności 2 i 4 ml.

6.7. Pipety automatyczne nastawne
Stosować pipety automatyczne nastawne o pojemności: 0,010 ÷ 0,1 ml i 0,1 ÷ 1 ml.

6.8. Pipety szklane
Stosować pipety szklane jednomiarowe klasy A o pojemności 2,5 i 5 ml.

6.9. Pompa ssąca

Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobranie próbki powietrza ze stałym strumieniem objętości 60 l/h.

6.10. Wytrząsarka rotacyjna.

Stosować wytrząsarkę rotacyjną.

7. Przygotowanie filtrów z włókna szklanego nasączonych 1-(2-pirydylo)piperazyną

Na filtry z włókna szklanego wg punktu 6.2. nanieść po 0,25 ml 1-(2-pirydylo)piperazyny wg punktu 5.10. Filtry przenieść do eksykatora i wysuszyć. Zawartość 1-(2-pirydylo)piperazyny na tak przygotowanym filtrze wynosi około 0,5 mg.

8. Pobieranie próbek powietrza

Podczas pobierania próbek powietrza należy stosować zasady zawarte w normie PN-Z-04008-7:2002 (wraz z późniejszą zmianą normy PN-Z-04008-7: 2002/Az1:2004). Za po-

mocą pompy wg punktu 6.9. przepuścić przez filtr z włókna szklanego wg punktu 7. około 200 l powietrza ze stałym strumieniem objętości 60 l/h. Pobrane próbki powietrza zabezpieczyć i do czasu analizy przechowywać w chłodziarce. Tak przechowywane próbki są trwałe przez co najmniej czterdzieści dni.

9. Warunki pracy chromatografu

Należy tak dobrać skład fazy ruchomej, aby zapewnić selektywne oznaczanie diizocyjanianu tolueno-2,4-dyilu i diizocyjanianu tolueno-2,6-dyilu od substancji współwystępujących. Przykładowe warunki wykonania oznaczeń podano w tabeli 1.

Podane warunki należy traktować jako warunki przykładowe. W przypadku współwystępowania substancji interferujących, należy tak dobrać warunki rozdziału chromatograficznego (zmiana kolumny analitycznej lub składu fazy ruchomej), aby zapewnić selektywne oznaczenie izomerów toluilenodiizocyjanianu.

Tabela 1.

Przykładowe warunki pracy chromatografu cieczowego

Kolumna analityczna/ faza ruchoma	Supelco RP-Amide 150 x 2,1; o uziarnieniu 5 µm		
	czas, min	acetonitryl (A): acetonitryl – bufor octanowy (B) (0,01 mol/l pH 5) – 15: 85	
		A (%)	B (%)
Program – gradient	0	10	90
	7	10	90
	12	50	50
	15	50	50
	16	10	90
	31	10	90
Strumień objętości	0,5 ml/min		
Temperatura kolumny	40 °C		
Długość fali analitycznej	Ex/Em 265/360 nm		
Objętość próbki	10 µl		

10. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Na osiem filtrów wg punktu 7. nanieść za pomocą pipety automatycznej po 0,1 ml roztworów wzorcowych roboczych wg punktu 5.12. Po odparowaniu rozpuszczalnika filtry przenieść do naczynek o pojemności 4 ml wg punk-

tu 6.6. Do każdej wiali dodać po 2 ml roztworu ekstrakcyjnego wg punktu 5.2. i poddać 60-minutowej ekstrakcji przy użyciu wytrząsarki rotacyjnej wg punktu 6.10. Stężenia mieszaniny wzorcowej na filtrach wynoszą odpowiednio: 0; 0,028; 0,07; 0,14; 0,28; 0,7; 1,4 i 2,8 µg. Ekstrakty przenieść do naczynek o pojemności

2 ml, przepuszczając je przez filtry z PTFE wg punktu 6.3. i poddać zawartość analizie chromatograficznej. Sporządzić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych ilość wzorca naniesionego na filtr, a na osi rzędnych – wartość pola powierzchni (wysokości) pików danego związku. Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

11. Wykonanie oznaczenia

Po pobraniu próbek powietrza filtry przenieść do naczynek o pojemności 4 ml, zalać 2 ml roztworu ekstrakcyjnego wg punktu 5.2. i poddać 60-minutowej ekstrakcji przy użyciu wstrząsarki rotacyjnej wg punktu 6.10. Ekstrakty przenieść do naczynek o pojemności 2 ml, przepuszczając je przez filtry z PTFE wg punktu 6.3. Naczynka szczelnie zamknąć i poddać ekstrakty analizie chromatograficznej. W przypadku próbek, których wartości pól powierzchni analizowanych pików przekraczają zakres roboczy metody, należy wykonać powtórne

oznaczenie, rozcieńczając dodatkowo próbkę. Dodatkowe rozcieńczenie należy uwzględnić w obliczeniach.

12. Obliczanie wyniku oznaczenia

Stężenie diizocyjanianu tolueno-2,4-diylu i diizocyjanianu tolueno-2,6-diylu (X) w badanym powietrzu obliczyć na podstawie wzoru, w miligramach na metr sześcienny:

$$X = \frac{c}{V} \cdot R,$$

w którym:

- c – zawartość diizocyjanianu tolueno-2,4-diylu i diizocyjanianu tolueno-2,6-diylu odczytana z krzywej wzorcowej, w miligramach,
- V – objętość przepuszczonego powietrza, w metrach sześciennych,
- R – współczynnik rozcieńczenia próbki.