

Oznaczanie 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w powietrzu na stanowiskach pracy metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej¹

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

Numer CAS: 5392-40-5

Słowa kluczowe: 3,7-dimetylookta-2,6-dienal, cytral, metoda analityczna, metoda chromatografii cieczowej, powietrze na stanowiskach pracy.

Keywords: 3,7-dimethyl-2,6-octadienal, citral, determination method, workplace air, liquid chromatographic analysis.

Streszczenie

Na podstawie wyników badań opracowano czułą i selektywną metodę oznaczania stężenia 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym. Metoda polega na adsorpcji par 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu na żelu krzemionkowym, desorpcji me-

tanołem i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu. Metoda umożliwia oznaczanie 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w zakresie stężeń $2,7 \div 54 \text{ mg/m}^3$. Oznaczalność metody wynosi $1,9 \text{ }\mu\text{g/m}^3$. Opracowaną metodę oznaczania 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu zapisaną w postaci procedury analitycznej zamieszczono w Załączniku.

Summary

A new procedure has been developed for the assay of 3,7-dimethylocta-2,6-dienal (citral) with high-performance liquid chromatography with an diode array detector. This method is based on the adsorption of 3,7-dimethyl-2,6-octadienal vapors on a silica gel, desorption with methanol and chromatographic analysis of the obtained solution. The

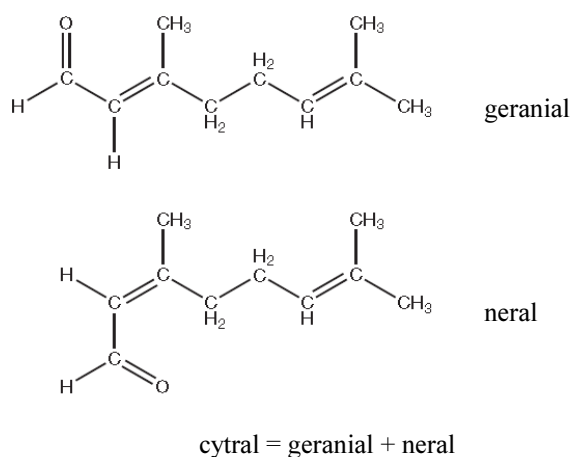
working range is 2.7 to 5.4 mg/m^3 for a 24-L air sample. Limit of quantification: $1.9 \text{ }\mu\text{g/m}^3$. The developed method of determining 3,7-dimethyl-2,6-octadienal has been recorded as an analytical procedure, which is available in the Appendix.

¹ Publikacja przygotowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach II etapu programu wieloletniego: „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy” dofinansowanego w latach 2011-2013 w zakresie służb państwowych przez Ministerstwo Pracy i Polityki Społecznej. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

WPROWADZENIE

3,7-Dimetylookta-2,6-dienal (cytral) jest to oleista ciecz o barwie bladożółtej i intensywnym cytrynowym zapachu. 3,7-Dimetylookta-2,6-dienal jest mieszaniną dwóch izomerów – geranialu (*E*-3,7-dimetylookta-2,6-dienalu) i neralu (*Z*-3,7-dimety-

lookta-2,6-dienalu), występuje zwykle w mieszaninie o zawartości około 55 ÷ 70% geranialu i około 35 ÷ 45% neralu (rys. 1.). Jest składnikiem olejków zapachowych.



Rys. 1. Struktura dwóch izomerów 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu: izomeru *E* – geranialu i izomeru *Z* – neralu (Gironi i in. 2011)

3,7-Dimetylookta-2,6-dienal słabo rozpuszcza się w wodzie, natomiast dobrze w takich rozpuszczalnikach organicznych, jak: etanol, glikol propylenowy, ftalan dietylu, gliceryna, benzoesan benzylu czy olej mineralny. Podczas ogrzewania może polimeryzować (OECD SIDS 2001; ICSC 2008).

Związek jest składnikiem olejków eterycznych uzyskiwanych z liści trawy cytrynowej, zwanej też palczatką cytrynową (*Cymbopogon citratus* lub *Cymbopogon schoenanthus* – gatunki traw z rodziny wiechlinowatych) lub z olejku *listea cubeba* (wyciąg z owoców krzewu *Cubeba* podobnego do pieprzu). 3,7-Dimetylookta-2,6-dienal może być otrzymywany w procesie destylacji parą wodną liści palczatki cytrynowej (Bedoukian 1967) lub na drodze syntezy z izoprenu przez dehydrogenację mieszaniny geranialu i neralu otrzymanej z β -pinenu bądź na drodze utleniania: geraniolu, nerolu lub linalolu w wyniku działania kwasem chromowym. Ze względu na pikantno-kwaśny smak 3,7-dimetylookta-2,6-dienal jest chętnie stosowanym dodatkiem do: napojów, zup (np. *Tom Yum*), lodów, cukierków, żelatyny i przypraw, natomiast ze względu na cytrynowy

aromat jest powszechnie stosowany w preparatach zapachowych takich produktów kosmetycznych, jak np.: mydła, żele pod prysznic, detergenty, kremy i balsamy (np.: do masażu), perfumy, odświeżacze powietrza (Lalko i in. 2008; Szymańska i in. 2010). 3,7-Dimetylookta-2,6-dienal jest substratem do produkcji jononów. Jonony są to związki chemiczne z grupy cyklicznych ketonów nienasyconych, które są zaliczane do terpenoidów (ze względu na duże zastosowanie w przemyśle perfumeryjnym są produkowane na skalę przemysłową). Z jononów jest także wytwarzana witamina A.

Ze względu na zagrożenia dla zdrowia ludzi 3,7-dimetylookta-2,6-dienal został sklasyfikowany zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 jako substancja o działaniu drażniącym na skórę (kat. 2.; H315) i uczulającym (kat. 1.). Związek może powodować reakcję alergiczną skóry (H317).

Narażenie na 3,7-dimetylookta-2,6-dienal wywołuje takie objawy, jak: kaszel, skrócony oddech, ból głowy, mdłości oraz wymioty (Sigma-Aldrich 2011). Wystąpienie zmian skórnych, świadczących o działaniu drażniącym 3,7-dimetylookta-2,6-die-

nalu, zaobserwowano m.in. u barmanów (Szymańska i in. 2010).

Wartości normatywów higienicznych dla 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu – zgodne z rozporządzeniem ministra pracy i polityki społecznej z dnia 16.12. 2011 r. (DzU 274, poz. 1621) zmieniającym rozporządzenie ministra pracy i polityki społecznej z dnia 29.11.2002 r. (Rozporządzenie... 2002) – wynoszą 27 mg/m^3 najwyższe dopuszczalne stężenie (NDS) oraz 54 mg/m^3 najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe (NDSCh).

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono metod oznaczania 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w powietrzu, natomiast były prowadzone badania identyfikacyjne i ilościowe olejków uzyskanych z liści lub trawy. Lotne olejki uzyskane ze świeżej trawy cytrynowej (*Cymbopogon citratus*) przez ekstrakcję n-heksanem badał Rauber i in. (2005). Identyfikację prowadzono z zastosowaniem chromatografii gazowej z detektorem mas (GC-MS), a ilościowe oznaczanie zidentyfikowanego 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną (HPLC-UV) w normalnym układzie faz. Zastosowano kolumnę Spherisorb[®] CN (250 x 4,6 mm, 5 μm), fazę ruchomą o skła-

dzie n-heksan: etanol (85: 15, v/v), natężenie przepływu strumienia próbki wynosi 0,3 ml/min. Długość fali detektora UV do oznaczania 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu wynosi $\lambda = 233 \text{ nm}$. Granica oznaczalności tej metody wynosi 0,36 $\mu\text{g/ml}$.

Yu i in. (2007) oznaczali zawartość składników olejku *Listea cubeba* (w tym 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu). Oznaczanie wykonano z zastosowaniem chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (GC-FID). Stosowano 30-metrową niepolarną kolumnę kapilarną SE-54. Temperatura kolumny była programowana w zakresie $75 \div 230 \text{ }^\circ\text{C}$. Temperatura dozownika i detektora wynosiła $250 \text{ }^\circ\text{C}$. Gazem nośnym był azot. Granica oznaczalności 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu wynosi 0,079 mg/ml.

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono opisu metody oznaczania 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w powietrzu środowiska pracy. Podjęto badania w celu opracowania nowej metody, zgodnej z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482:2012, umożliwiającej selektywne oznaczanie 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu, w zakresie stężeń od 1/10 do 2 wartości NDS, tj. $2,7 \div 54 \text{ mg/m}^3$.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Aparatura

Do oznaczania 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu zastosowano następującą aparaturę:

- chromatograf cieczowy firmy Agilent Technologies (Waldbronn, Germany) seria 1200 z detektorem diodowym (DAD) sprzężonym on-line. Próbki wprowadzano za pomocą automatycznego podajnika próbek G2258-90010 (Agilent Technologies). Do sterowania procesem oznaczania i zbierania danych zastosowano oprogramowanie ChemStation
- 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, Bellefonte, PA, USA)
- aspiratory Pocket pump (SKC Inc., Eighty Four, PA, USA), zakres pracy: od 20 ml/min (1,2 l/h) do 225 ml/min (13,5 l/h) do pobierania próbek powietrza

- wytrząsarke mechaniczną WL-2000, (JWElectronic, Warszawa, Polska) do przeprowadzenia desorpcji analitów z żelu krzemionkowego
- wagę analityczną Sartorius TE214S (Sartorius Corporation, Edgewood, NY, USA) do odważania wzorców
- komputer HP EliteBook 8540p z oprogramowaniem Windows 7 Professional, Office Edition 2007 (Hewlett-Packard, Houston, TX, USA) do opracowywania wyników i obliczeń statystycznych.

Odczynniki i materiały

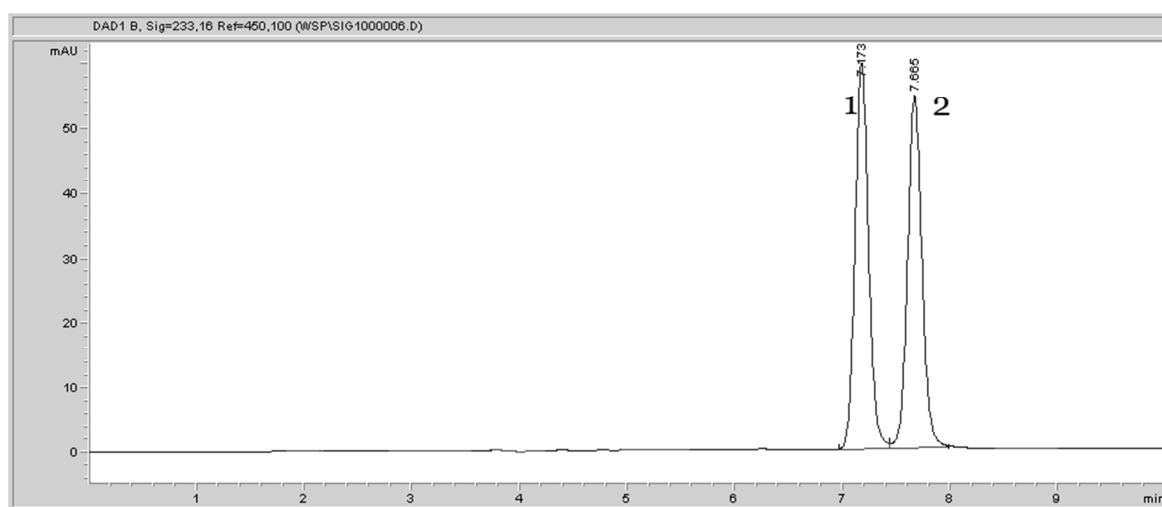
W badaniach zastosowano następujące odczynniki: acetonitryl (Sigma-Aldrich, Steinheim, Niemcy), 3,7-dimetylookta-2,6-dienal, metanol (Merck, Darmstadt, Niemcy) oraz wodę o wysokiej czystości uzyskaną z aparatu Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA). Do badań zastosowano odczynniki o czystości do HPLC. Ponadto wykorzystano rurki

adsorpcyjne z żelom krzemionkowym (Zakład Usługowo Produkcyjny „Analityk”, Nowa Wieś, Polska) do pobierania próbek powietrza, a także szkło laboratoryjne, strzykawki do cieczy.

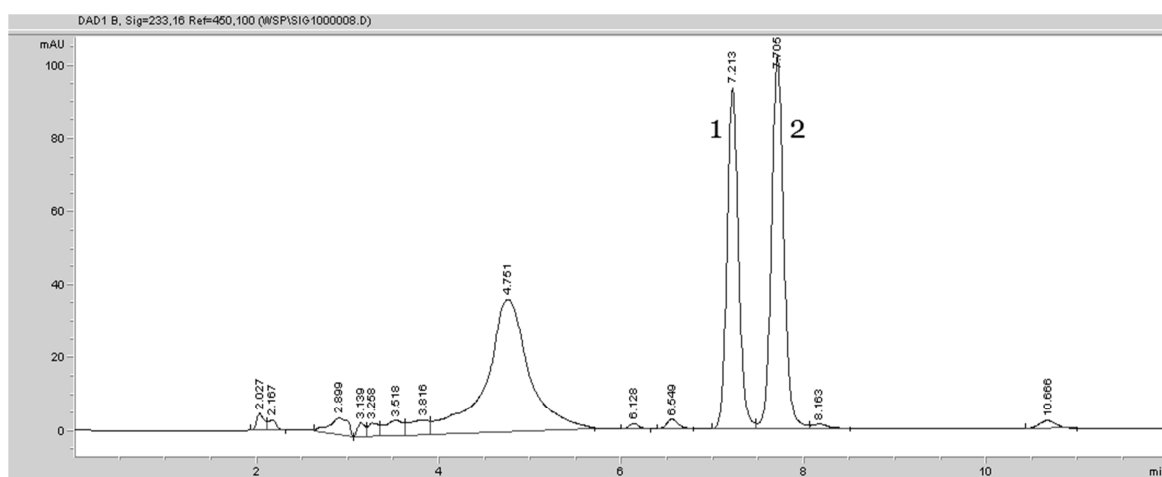
Ustalenie warunków oznaczania

Na podstawie danych literaturowych oraz badań wstępnych ustalono, że próbki powietrza zawierające 3,7-dimetylookta-2,6-dienal będą pobierane na rurki szklane wypełnione żelom krzemionkowym. Uzyskany roztwór po desorpcji metanolem będzie oznaczany z zastosowaniem wysokosprawnej chro-

matografii cieczowej (HPLC) z detektorem diodowym w odwróconym układzie faz. Badania wykonano, stosując kolumnę do HPLC typu Ultra C18 z przedkolumną, w temperaturze 20 °C. Natężenie przepływu fazy ruchomej wynosiło 1 ml/min. Jako fazę ruchomą zastosowano: metanol, acetonitryl i wodę (60: 20: 20, v/v). Objętość dozowanej próbki wynosiła 10 µl. Do detekcji wykorzystano detektor DAD o długości fali analitycznej $\lambda = 233$ nm. Takie warunki umożliwiły oznaczanie obu izomerów 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu (rys. 2.) w obecności substancji współwystępujących w preparacie do czyszczenia szyb (rys. 3.).



Rys. 2. Chromatogram roztworu wzorcowego 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu (neral i geranial). Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 20 °C, detektor DAD



Rys. 3. Chromatogram preparatu do czyszczenia szyb – Sidolin Zitrus, firmy Henkel, który zawiera 3,7-dimetylookta-2,6-dienal (piki 1 i 2). Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 20 °C, detektor DAD

Badania sorpcji 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu

Badania sorpcji 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu z powietrza wykonano, stosując laboratoryjny układ składający się z rurki pochłaniającej wypełnionej dwiema warstwami (100/50 mg) żelu krzemionkowego oraz pompy ssącej o regulowanym i kontrolowanym za pomocą rotametu strumieniu objętości. Do rurki (na włókno szklane poprzedzające pierwszą warstwę żelu krzemionkowego) wprowadzono za pomocą strzykawki 7,2 i 3,6 µl czystej substancji i przepuszczano 24 l powietrza ze strumieniem objętości 12 i 6 l/h. Po zakończeniu pochłaniania przeprowadzono desorpcję z dłuższej warstwy żelu i oddzielnie z krótszej warstwy kontrolnej. Do desorpcji stosowano 2 ml metanolu. Roztwór uzyskany po desorpcji oznaczano chromatograficznie. Na podstawie wyników badań stwierdzono obecność 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w drugiej warstwie żelu krzemionkowego. Z tego powodu dalsze badania przeprowadzono dla dłuższej (200 mg), pierwszej warstwy żelu. Zau-

ważono również, że pewne ilości 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu zatrzymują się na włóknie szklanym poprzedzającym pierwszą warstwę żelu. Z tego powodu desorpcję 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu należy przeprowadzać jednocześnie z włókna szklanego i 200 mg warstwy żelu krzemionkowego. Drugie warstwy żelu nie zawierały 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu. Wyniki badań przedstawiono w tabeli 1. Na podstawie wyników badań ustalono następujący sposób pobierania próbek powietrza zawierającego 3,7-dimetylookta-2,6-dienal: przez rurkę adsorpcyjną zawierającą dwie warstwy żelu krzemionkowego (200 mg/50 mg) przepuszcza się 24 l powietrza ze strumieniem objętości nie większym niż 12 l/h. Taki sposób postępowania umożliwia pobieranie jednej próbki powietrza przez 6 h w strefie oddychania pracownika, a więc zgodnie z zasadami dozymetrii indywidualnej zawartymi w normie PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004. Stosując metodę dozymetrii indywidualnej, uzyskuje się najbardziej wiarygodne wyniki oceny narażenia zawodowego.

Tabela 1.

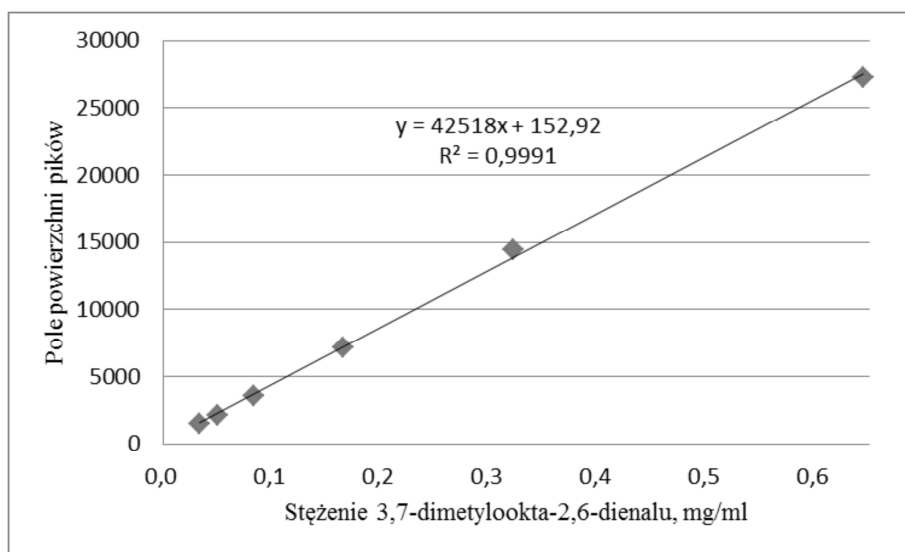
Wyniki adsorpcji 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu (cytral) na żelu krzemionkowym. Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 20 °C, detektor DAD

Rodzaj próbника	Strumień objętości pochłanianego powietrza, l/h	Przybliżone stężenie substancji w powietrzu, mg/m ³	Powierzchnia pików 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w roztworach po desorpcji, wg wskazań integratora		Zawartość substancji w II warstwie (procent ilości oznaczonej w pierwszej warstwie)
			I warstwa + włókno szklane	II warstwa	
Rurka z żelem krzemionkowym (100/50 mg)	12	270	188042,5	408	0,22
		135	61686,3	6,8	0,011
Rurka z żelem krzemionkowym (200/50 mg)	12	270	169949,0	–	–
		135	62283,1	–	–
	6	270	175026,1	–	–
		135	62310,6	–	–

Kalibracja i precyzja

Oznaczanie kalibracyjne wykonano dla trzech serii roztworów kalibracyjnych. Sporządzono roztwory wzorcowe 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w metanolu. Zakres roztworów wzorcowych wynosił 0,0324 ÷ 0,648 mg/ml. Do chromatografu wprowadzono po 10 µl roztworów wzorcowych o wzrastających stężeniach. Dla każdego stężenia wykonano po dwa oznaczenia. Następnie odczytano powierzchnie pików obu izomerów

3,7-dimetylookta-2,6-dienalu według wskazań oprogramowania ChemStation, a po zsumowaniu sporządzono wykres zależności sumy powierzchni pików obu izomerów 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu od stężenia roztworów kalibracyjnych. Współczynnik nachylenia „b” krzywej kalibracji (rys. 4.) o równaniu $y = bx + a$, charakteryzujący czułość metody wynosi 42518,24. Liniowość krzywej wzorcowej charakteryzowana wartością współczynnika korelacji $R^2 = 0,9991$.



Rys. 4. Wykres zależności pola powierzchni pików od stężenia 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w roztworach kalibracyjnych. Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 20 °C, detektor DAD

Ocenę precyzji oznaczeń kalibracyjnych wykonano dla trzech serii roztworów sporządzonych z jednego roztworu podstawowego 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w metanolu o stężeniu 6,1 mg/ml. Wykonano z niego trzy serie po osiem roztworów roboczych przez odmierzenie do kolb miarowych o pojemności 2 ml po 10 μ l (I seria), 100 μ l (II seria) oraz 200 μ l (III seria) roztworu wzorcowego podstawowego i dopełnienie metanolem do kreski; 1 ml roztworu zawierał kolejno: 0,0305; 0,305 i 0,61 mg związku.

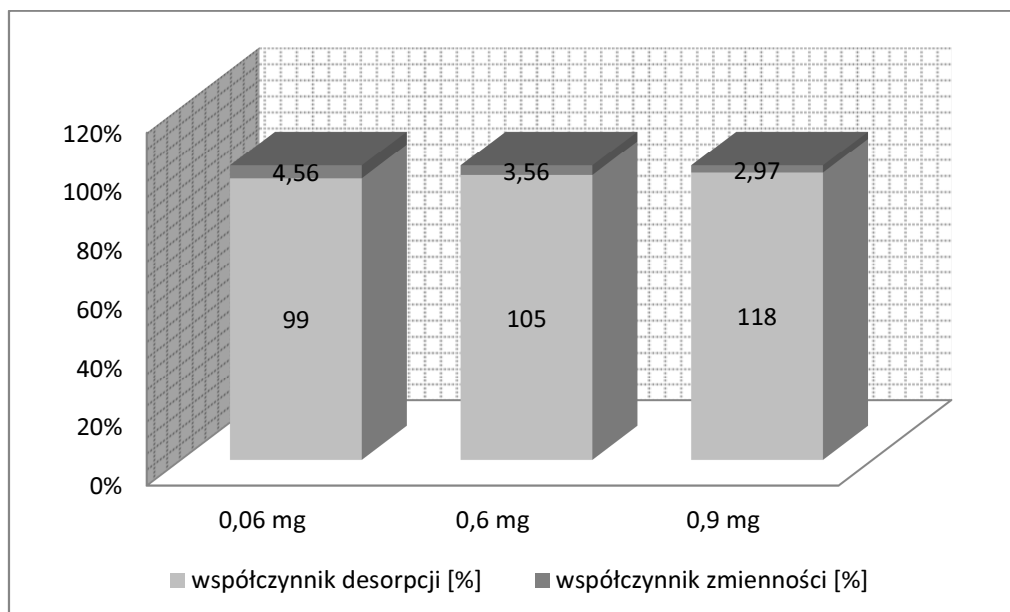
Wykonano pomiary chromatograficzne po dwa z każdego roztworu w takich identycznych warunkach, jak przy wykonaniu oznaczeń kalibracyjnych. Na podstawie zsumowanych powierzchni pików uzyskanych na chromatogramach obliczono odchylenie standardowe i współczynnik zmienności. Współczynniki zmienności dla kolejnych poziomów stężenia wyniosły odpowiednio: 0,82; 0,41; 0,92%.

Badanie stopnia desorpcji dla trzech stężeń zakresu pomiarowego

W celu potwierdzenia poprawności ustalonych warunków wykonano trzy serie badań. Do sześciu

rurek adsorpcyjnych, na włókno szklane umieszczone przed 200 mg warstwą żelu krzemionkowego, nanoszono w trakcie pobierania próbek powietrza po: 1; 10 i 15 μ l (razem 18 rurek) roztworu 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w metanolu o stężeniu 60,8 mg/ml, co odpowiadało: 60,8; 608 i 912 μ g 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu. Przez rurki przepuszczano 24 l powietrza ze strumieniem objętości 12 l/h. Następnie przeprowadzono desorpcję 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu z pierwszej warstwy żelu i włókna szklanego oraz z drugiej warstwy zabezpieczającej za pomocą 2 ml metanolu. Po 30-minutowym intensywnym wstrząsaniu uzyskane roztwory oznaczano chromatograficznie. Wykonano również oznaczanie 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w roztworach porównawczych wykonanych w identyczny sposób, lecz bez żelu krzemionkowego.

Po odczytaniu powierzchni pików z chromatogramów badanych roztworów (według oprogramowania ChemStation) obliczono współczynniki desorpcji. Średni współczynnik desorpcji dla trzech poziomów stężeń wynosił $R = 102 \pm 3\%$. Roztwory kontrolne uzyskane po desorpcji drugiej warstwy żelu nie zawierały badanej substancji ($R = 0$). Wyniki badań przedstawiono na rysunku 5.



Rys. 5. Współczynniki desorpcji 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu uzyskane z żelu krzemionkowego po naniesieniu na włókno szklane: 0,06; 0,6 i 0,9 mg substancji i przepuszczeniu 24 l powietrza, odchylenie standardowe wyrażone w procentach (współczynnik zmienności)

Badanie trwałości pobranych próbek powietrza

Trwałość pobranych próbek powietrza w zależności od czasu ich przechowywania badano w następujący sposób: do dwunastu rurek adsorpcyjnych na włókno szklane, umieszczone przed 200 mg warstwą żelu krzemionkowego, nanoszono po 10 µl roztworu 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w metano-

lu o stężeniu 62 mg/ml, co odpowiadało 0,62 mg 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu. Przez rurki przepuszczano 24 l powietrza ze strumieniem objętości 12 l/h. Dwie próbki badano (desorpcja – 2 ml metanolu) bezpośrednio po pobraniu, natomiast pozostałe umieszczono w chłodziarce (temperatura około +4 °C) i analizowano w różnych odstępach czasu (po 6 i 12 dniach). Wyniki badań przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2.

Wyniki badania trwałości próbek powietrza zawierających 0,62 mg 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu przechowywanych w chłodziarce. Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 20 °C, detektor DAD

Numer rurki	Czas przechowywania, liczba dni	Średnie pole powierzchni pików	Średnia	Odchylenie standardowe	Współczynnik zmienności, %
1	0	14 574,75	15 222,83	916,5	6,0
2		15 870,90			
1	6	16 790,30	16 670,75	389,5	2,3
2		16 662,00			
3		16 991,20			
4		16 239,50			
1	12	17 367,00	15 686,75	2532,4	16,1
2		15 180,20			
3		16 414,10			
4		13 785,70			

Walidacja

Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482:2012.

Wyznaczono parametry walidacyjne:

- zakres pomiarowy metody wynosi od 1/10 do 2 wartości NDS
- uzyskane krzywe kalibracyjne charakteryzują się wysoką wartością współczynnika korelacji ($R^2 = 0,9991$), który świadczy o

liniowości wskazań detektora chromatografu cieczowego

- wyznaczono: granice wykrywalności i oznaczalności, współczynniki desorpcji 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu z żelu krzemionkowego na trzech poziomach stężeń, całkowitą precyzję i względną niepewność całkowitą metody.

Walidacja metody potwierdziła jej przydatność do zamierzonego zastosowania. Na podstawie wyników przeprowadzonych badań uzyskano dane walidacyjne, które przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3.

Dane walidacyjne metody

Zakres pomiarowy: 0,0324 ÷ 0,648 mg/ml (2,7 ÷ 54 mg/m ³ dla próbki powietrza 24 l)	
Granica wykrywalności, LOD	7,5 ng/ml (0,625 µg/m ³)
Granica oznaczalności, LOQ	22,5 ng/ml (1,875 µg/m ³)
Współczynnik korelacji, <i>R</i>	0,9995
Całkowita precyzja badania	5,06%
Względna niepewność całkowita	11,19%

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań opracowano czułą i selektywną metodę oznaczania 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym.

Ustalono sposób pobierania próbek powietrza:

- rurka adsorpcyjna wypełniona żelem krzemionkowym (200 mg/50 mg) zapewnia ilościowe wyodrębnienie 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu z badanego powietrza
- próbki przechowywane w chłodziarce są trwałe przez co najmniej sześć dni.

Dobrano parametry chromatograficznego oznaczania:

- do oznaczania wytypowano kolumnę Ultra

C₁₈ o długości 250 mm, ponieważ ten typ kolumny umożliwił rozdzielenie izomerów 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu od substancji występujących w naturalnym olejku z trawy cytrynowej

- dobrano skład fazy ruchomej: metanol/ acetonitryl/woda.

Opracowana metoda oznaczania stężeń 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu może być wykorzystana przez laboratoria higieny pracy i stacje sanitarno-epidemiologiczne do wykonywania pomiarów stężeń tej substancji w powietrzu na stanowiskach pracy, w celu oceny narażenia pracowników i oceny ryzyka zawodowego stwarzanego przez tę substancję.

PIŚMIENNICTWO

- Bedoukian P.Z.* (1967) *Perfumery and flavoring synthetics*. 2nd rev. ed. New York, Elsevier Publishing Co., NY, 182.
- GESTIS (2011) Substances Database. [online] Citral. [2012-01-11 <http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll?f=templates&fn=default.htm&vid=gestiseng:sdbeng>].
- Gironi F., Maschiotti M.* (2011) High-pressure gas-liquid equilibrium of the system carbon dioxide-citral at 50 and 70 °C. *J. of Supercritical Fluids* 57, 25–30.
- ICSC (2008) [online] Citral. International Chemical Safety Cards: 1725. NIOSH [2012-01-09 <http://www.cdc.gov/niosh/ipcsneng/neng1725.html>].
- Lalko J., Api A.M.* (2008) Citral: Identifying a threshold for induction of dermal sensitization. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 52, 62–73.
- Milne G.W.A.* (2005) *Gardner's commercially important chemicals: synonyms, trade names, and properties*. New Jersey, John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, 1216.
- OECD SIDS (2001) Citral [online] SIDS Initial Assessment Report for 13th SIAM. UNEP Publications, Switzerland, November 6-9 [2012-01-09 <http://www.inchem.org/documents/sids/sids/5392-40-5.pdf>].
- PN-EN 482:2012 Powietrze na stanowiskach pracy. Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych.
- PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004 Ochrona czystości powietrza – Pobieranie próbek – Zasady pobierania próbek powietrza w środowisku pracy i interpretacji wyników.
- Rauber C.S., Guterres S.S., Schapoval E.E.S.* (2005) LC determination of citral in *Cymbopogon citratus* volatile oil. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 37, 597–601.
- Rozporządzenie ministra pracy i polityki społecznej z dnia 29.11.2002 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU nr 217, poz. 1833; (zm.: DzU 2005, nr 212, poz. 1769; DzU 2007, nr 161, poz. 1142; DzU 2009, nr 105, poz. 873; DzU 2010, nr 141, poz. 950; DzU 2011, nr 274, poz. 1621.
- Sigma-Aldrich (2011) [online] Citral. Karta Charakterystyki zgodnie z Rozporządzeniem WE 1907/2006. Wersja 4.1. z dnia 8.11.2011 [2012-01-10 <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/DisplayMSDSContent.do>].
- Szymańska J.A., Frydrych B.* (2010) 3,7-dimetylookta-2,6-dienal. Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego. PiMOSP nr 4(70).
- 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, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (zwanego rozporządzeniem GHS), (Dz. Urz. UE z dnia 31.12.2008 r. (L 353).
- Yu S., Chen X., Tong L. Bi K.* (2007) Simultaneous determination of the 6-methyl-5-hepten-2-one, limonene, linalool and citral in essential oil from *litsea cubeba* (Lour.) Pers by Capillary Gas Chromatography. *Asian Journal of Traditional Medicines* 2, 66–69.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA 3,7-DIMETYLOOKTA-2,6-DIENALU W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY

1. Zakres stosowania procedury

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania zawartości 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu (nr CAS: 5392-40-5) w powietrzu na stanowiskach pracy, z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym. Metodę stosuje się podczas badania warunków sanitarnohigienicznych w środowisku pracy. Najmniejsze stężenie 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi 2,7 mg/m³.

2. Zasada metody

Metoda polega na adsorpcji par 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu na żelu krzemionkowym, desorpcji metanolem i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu.

3. Odczynniki, roztwory i materiały

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

Substancje stosowane w analizie należy ważyć z dokładnością do 0,000 2 g.

Czynności związane z rozpuszczalnikami organicznymi powinny być wykonywane pod sprawnie działającym wyciągiem laboratoryjnym.

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

3.1. Acetonitryl

3.2. 3,7-Dimetylookta-2,6-dienal

3.3. Metanol

3.4. Roztwór wzorcowy podstawowy 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu

Kolbę miarową o pojemności 10 ml należy zważyć, następnie dodać 32,4 mg 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu wg punktu 3.2., ponownie zważyć, a następnie uzupełnić metanolem wg punktu 3.3. zawartość kolby do kreski i dokładnie wymieszać. Stężenie 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w tak przygotowanym roztworze wynosi 3,24 mg/ml. Obli-

czyć dokładną zawartość tego związku w 1 ml roztworu.

Roztwór należy przygotować bezpośrednio przed użyciem.

3.5. Roztwory wzorcowe robocze

Do sześciu kolb miarowych o pojemności 10 ml odmierzyć kolejno: 0,1; 0,15; 0,25; 0,5; 1 i 2 ml roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 3.4., uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 3.3. i wymieszać. Zawartość 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w 1 ml tak przygotowanych roztworów wynosi odpowiednio w miligramach: 32,4; 48,6; 81; 162; 324 i 648.

Roztwory należy przygotować bezpośrednio przed użyciem.

3.6. Roztwór do wyznaczania współczynnika desorpcji

Do zważonej kolby miarowej o pojemności 1 ml odmierzyć około 65 mg 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu wg punktu 3.2., kolbę zważyć, uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 3.3. i dokładnie wymieszać.

3.7. Rurki adsorpcyjne

Stosować dostępne w handlu gotowe rurki szklane wypełnione dwiema warstwami (200 i 50 mg) żelu krzemionkowego rozdzielonego i ograniczonego włóknem szklanym.

4. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

4.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem diodowym i elektronicznym integratorem.

4.2. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną umożliwiającą oznaczanie 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu, np.: kolumnę oktadecylową o długości 25 cm, średnicy wewnętrznej 4,6 mm i uziarnieniu 5 µm z przedkolumną.

4.3. Naczynka do desorpcji

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

4.4. Strzykawki do cieczy

Stosować strzykawki do cieczy o pojemności 10 ÷

2500 µl.

4.5. Pompa ssąca

Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobieranie próbek powietrza ze stałym strumieniem objętości wg punktu 5.

5. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać zgodnie z procedurą zawartą w normie PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek przez rurkę adsorpcyjną wg punktu 3.7. przepuścić do 24 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości nie większym niż 12 l/h. Pobrane próbki przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość przez sześć dni.

6. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy tak dobrać, aby uzyskać rozdział 3,7-dimetylookta-2,6-dianalu od innych substancji jednocześnie występujących w badanym powietrzu.

W przypadku stosowania kolumny chromatograficznej o parametrach wg punktu 4.2., przykładowe warunki wykonania oznaczania są następujące:

- faza ruchoma: metanol: acetonitryl: woda
60: 20: 20
- natężenie przepływu strumienia
fazy ruchomej 1 ml/min
- temperatura kolumny 20 °C
- długość fali analitycznej
detektora diodowego 233 nm
- objętość próbki 10 µl.

7. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do chromatografu wprowadzić po 10 µl roztworów wzorcowych roboczych 3,7-dimetylookta-2,6-dianalu wg punktu 3.5. Z każdego roztworu wzorcowego należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać powierzchnie pików obu izomerów 3,7-dimetylookta-2,6-dianalu według wskazań integratora, podsumować je i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Następnie wykreślić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych stężenie 3,7-dimetylookta-2,6-dianalu w mikrogramach na mililitr, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie sumy obu pików. Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych oraz sporządzanie krzywej wzorcowej.

8. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza należy oddzielnie przesypać z rurki pochłaniającej wg punktu 4.3. do naczynek każdą warstwę żelu krzemionkowego, dodając do dłuższej warstwy żelu również włókno szklane znajdujące się przed tą warstwą. Następnie dodać strzykawką wg punktu 4.4. po 2 ml metanolu wg punktu 3.3. Naczynka szczelnie zamknąć i pozostawić na 30 min, intensywnie wstrząsając, co pewien czas, ich zawartością. Następnie dodać po 10 µl roztworu znad sorbenta i badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 6. Z każdego roztworu należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików obu izomerów 3,7-dimetylookta-2,6-dianalu wg wskazań integratora, zsumować je i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami nie powinna być większa niż ±5% tej wartości. Z krzywych wzorcowych odczytać zawartość oznaczanej substancji w 1 ml badanego roztworu.

W taki sam sposób wykonać oznaczanie 3,7-dimetylookta-2,6-dianalu w roztworze znad krótszej warstwy żelu. Ilość substancji oznaczonej w krótszej warstwie żelu nie powinna przekraczać 10% ilości oznaczonej w dłuższej warstwie, gdyż w przeciwnym razie wynik należy traktować jako orientacyjny.

9. Wyznaczanie współczynnika desorpcji

Do pięciu naczynek wg punktu 4.3. przesypać z rurki adsorpcyjnej wg punktu 3.7. dłuższą (200 mg) warstwę żelu krzemionkowego. Następnie dodać po 10 µl roztworu do desorpcji wg punktu 3.6. W szóstym naczynku przygotować próbkę kontrolną zawierającą tylko żel. Naczynka szczelnie zamknąć i pozostawić do następnego dnia. Następnie dodać strzykawką wg punktu 4.4. po 2 ml metanolu wg punktu 3.3. Naczynka ponownie zamknąć i przeprowadzić desorpcję w ciągu 30 min, intensywnie wstrząsając ich zawartością co pewien czas.

Jednocześnie wykonać oznaczanie badanej substancji co najmniej w trzech roztworach porównawczych, które przygotowuje się przez dodanie wg punktu 3.3. mikrostrzykawką do 2 ml metanolu wg punktu 3.6. po 10 µl roztworu do desorpcji. Tak uzyskane roztwory należy badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 6.

Współczynnik desorpcji dla 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu (d) obliczyć na podstawie:

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

w którym:

P_d – średnia powierzchnia sumy pików 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu z chromatogramów roztworu po desorpcji,

P_o – średnia powierzchnia sumy pików o czasie retencji obu izomerów 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu z chromatogramów roztworu kontrolnego,

P_p – średnia powierzchnia sumy pików 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu z chromatogramów roztworów porównawczych.

Następnie obliczyć średnią wartość współczynnika desorpcji dla 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu (\bar{d}) jako średnią arytmetyczną otrzymanych wartości (d). Współczynnik desorpcji należy oznaczać dla każdej nowej partii rurek adsorpcyjnych.

10. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu (X) w badanym powietrzu obliczamy w miligramach na metr sześcienny na podstawie wzoru:

$$X = \frac{2 \cdot (c_1 + c_2)}{V \cdot \bar{d}},$$

w którym:

c_1 – stężenie 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w roztworze znad pierwszej warstwy żelu odczytane z krzywej wzorcowej, w mikrogramach na mililitr,

c_2 – stężenie 3,7-dimetylookta-2,6-dienalu w roztworze znad drugiej warstwy żelu odczytane z krzywej wzorcowej, w mikrogramach na mililitr,

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

\bar{d} – średnia wartość współczynnika desorpcji oznaczona według punktu 9.,

2 – ilość rozpuszczalnika stosowanego do desorpcji, w mililitrach.