Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy 2025, nr 2(124), s. 127–139 DOI: 10.54215/PiMOSP/4.124.2025
Nadesłano: 27.11.2024 r.
Przyjęto do druku: 14.03.2025 r.
https://www.ciop.pl/pimosp_strona PRACA ORYGINALNA

# Oznaczanie frakcji wdychalnej antrachinonu w powietrzu środowiska pracy[1]

## Determination of inhalable fraction of anthraquinone in workplace air

ELŻBIETA DOBRZYŃSKA
https://orcid.org/0000-0003-1595-9663
e-mail: eleki@ciop.pl
MAŁGORZATA SZEWCZYŃSKA
http://orcid.org/0000-0003-3319-3024

Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy
Central Institute for Labour Protection – National Research Institute, Warsaw, Poland

**Numer CAS:** 84-65-1

**Streszczenie**

Antrachinon jest powszechnie stosowanym środkiem chemicznym. Naturalnie występuje w przyrodzie w postaci minerałów (hoelit, morkit) oraz jako składnik roślin. W przemyśle papierniczym i farbiarskim znajduje zastosowanie jako składnik farb, pigmentów i masy papierniczej. Może być uwalniany z pojazdów z silnikami wysokoprężnymi i benzynowymi. Antrachinon jest substancją stwarzającą zagrożenie dla zdrowia człowieka. Ma klasyfikację jako substancja Carc. 1B – substancja, która ma potencjalne działanie rakotwórcze dla ludzi. Zaproponowanie wartości NDS dla frakcji wdychalnej antrachinonu na poziomie 0,5 mg/m$^3$ spowodowało konieczność opracowania nowej metody oznaczania antrachinonu, spełniającej wymagania normy PN-EN 482:2021. Metoda polega na zatrzymaniu zawartego w powietrzu antrachinonu na filtrze z włókna szklanego umieszczonym w próbniku IOM do frakcji wdychalnej, wymyciu dichlorometanem i analizie otrzymanego roztworu z zastosowaniem chromatografii gazowej z detekcją spektrometrii mas. W ustalonych warunkach antrachinon może być oznaczany w obecności takich wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, jak: naftalen, acenaftylen, acenaften, fluoren, fenantren, antracen, antrachinon, fluoranten, piren, benzo[*a*]antracen, chryzen, benzo[*k*]fluoranten. Opracowana metoda oznaczania antrachinonu w powietrzu na stanowiskach pracy została przedstawiona 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:** antrachinon, metoda analityczna, powietrze na stanowiskach pracy, metoda chromatografii gazowej ze spektrometrią mas, nauki o zdrowiu, inżynieria środowiska.

[1] Zrealizowano na podstawie wyników VI etapu programu wieloletniego pn. „Rządowy Program Poprawy Bezpieczeństwa i Warunków Pracy", finansowanego w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Projekt nr III.PN.02 pt. „Opracowanie 9 nowych metod oznaczania szkodliwych substancji chemicznych dla potrzeb oceny środowiska pracy". Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

**Abstract**

Anthraquinone is a widely used chemical agent. It occurs naturally in nature in the form of minerals (hoelite, morcite) and as a component of plants. In the paper and dye industry, it is used as an ingredient in paints, pigments and pulp. It can be released from diesel and gasoline vehicles. Anthraquinone is a substance that poses a risk to human health. It is classified as a Carc. 1B – a substance that has potential carcinogenicity to humans. The proposed NDS value for the inhalable fraction of anthraquinone of 0.5 mg/m$^3$ made it necessary to develop a new method for the determination of anthraquinone, meeting the requirements of PN-EN 482:2021. The method involves trapping airborne anthraquinone on a glass fiber filter placed in an IOM sampler for the inhalable fraction, eluting with dichloromethane and analyzing the resulting solution with gas chromatography with mass spectrometry detection. Under established conditions, anthraquinone can be determined in the presence of polycyclic aromatic hydrocarbons such as naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, anthracene, anthraquinone, fluoranthene, pyrene, benzo[a]anthracene, chrysene, benzo[k]fluoranthene. The developed method for the determination of anthraquinone in workplace air is presented in the form of an analytical procedure, which is included in the Appendix. This article discusses the problems of occupational safety and health, which are covered by health sciences and environmental engineering.

**Keywords:** anthraquinone, analytical method, air at workplaces, gas chromatographic method with mass spectrometry, health sciences, environmental engineering.

Adres do korespondencji/Contact details: Elżbieta Dobrzyńska, Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czerniakowska 16, 00-701 Warszawa, e-mail: eleki@ciop.pl

## WPROWADZENIE

Antrachinon (AQ), (numer CAS: 84-65-1) to organiczny związek chemiczny z grupy chinonów, pochodna antracenu zawierająca dwie grupy karbonylowe w położeniu 9 i 10, należąca do rodziny chemicznej wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. Antrachinon jest praktycznie bezwonnym, nierozpuszczalnym w wodzie ciałem stałym o niskiej prężności par. Jest związkiem bardzo trwałym, który sublimuje w wyższej temperaturze. Po wyizolowaniu ma wygląd stałego, krystalicznego proszku o barwie od żółtej i jasnoszarej do szarozielonej. Wybrane właściwości fizykochemiczne związku przedstawiono w tabeli 1.

**Tabela 1.** Charakterystyka antrachinonu (GESTIS 2024; PubChem 2024)
**Table 1.** Characteristics of anthraquinone (GESTIS 2024; PubChem 2024)

| Nazwa parametru | Właściwości antrachinonu |
|---|---|
| Numer CAS # | 84-65-1 |
| Masa cząsteczkowa | 208,22 g/mol |
| Gęstość względna | 1,44 g/cm$^3$ |
| Stan skupienia | krystaliczne ciało stałe |
| Kolor | bezbarwny/żółtawy |
| Zapach | słaby zapach |
| Temperatura topnienia | 286°C |
| Temperatura wrzenia | 380°C |
| Temperatura zapłonu | 185°C |
| Współczynnik podziału n-oktanol-woda (log Kow) | 3,39 (30°C, pH = 7) |
| Prężność par | 1,54 · 10$^{-5}$ Pa (25°C) |
| Rozpuszczalność w wodzie | praktycznie nierozpuszczalny, 1,4 mg/l (temp. 25°C) |
| Rozpuszczalność | w alkoholu, toluenie i gorącym benzenie |
| Synonimy | 9,10-dihydro-9,10-dioksoantracen, antraceno-9,10-chinon (ang. *anthra-9,10-quinone*), antraceno-9,10-dion (ang. *anthracene-9,10-dione*), Anthradione, 9,10-antrachinon, antracen-9,10-chinon; nazwy zwyczajowe: antranoid, hoelit, morkit, corbit |

Antrachinon naturalnie występuje w przyrodzie w postaci minerałów (hoelit, morkit) oraz jako składnik roślin, m.in. w rabarbarze, aloesie, ogóreczniku, a także w grzybach i porostach. Jest również substancją czynną w produktach fitosanitarnych lub pestycydach. Na skalę przemysłową otrzymuje się go w procesie destylacji smoły węglowej i/lub w reakcji bezwodnika ftalowego i benzenu. AQ może powstawać również w procesach bezpośredniego spalania paliw w silnikach pojazdów mechanicznych lub w wyniku degradacji (utleniania w atmosferze) wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (IARC 2013).

Antrachinon jest powszechnie stosowanym środkiem chemicznym. Znajduje zastosowanie w przemyśle papierniczym i farbiarskim. Jest składnikiem farb, pigmentów i masy papierniczej. Stosuje się go w syntetycznych barwnikach dyspersyjnych, barwnikach kwasowych i barwnikach reaktywnych. Jest używany jako półprodukt chemiczny do pigmentów i dodatek w przetwórstwie masy celulozowej, a także jako katalizator w przemyśle celulozowym w celu poprawy delignifikacji drewna i zwiększenia wydajności masy celulozowej (*Xie* i in. 2020). Ponadto jest stosowany jako katalizator w przetwórstwie olejów roślinnych, przyspieszacz w galwanizacji niklu, dodatek w produkcji opon oraz w medycynie. Ze względu na działanie przeczyszczające jego metabolity stosuje się w leczeniu zaburzeń żołądkowo-jelitowych (zaparcia, laksofobia, kolopatia czynnościowa itp.). Wykorzystuje się go także jako zaprawę nasienną chroniącą zbiory przed szkodnikami oraz do odstraszania ptaków wokół pasów startowych lotnisk. Narażenie zawodowe na AQ występuje podczas jego produkcji, stosowania w produkcji innych chemikaliów lub bezpośredniego użycia głównie w rolnictwie, przemyśle chemicznym (produkcja barwników) i papierniczym. Pracownicy w branżach związanych z transportem są również potencjalnie narażeni na antrachinon podczas jego uwalniania z pojazdów z silnikami wysokoprężnymi i benzynowymi (*Delgado-Saborit* i in. 2013; IARC 2013). Liczba narażonych pracowników nie jest dokładnie znana. W 2021 r. na AQ było narażonych w Polsce 78 osób (w 6 zakładach pracy), (*Skowroń* 2024).

Ze względu na potencjalne zagrożenie dla zdrowia monitorowanie i pomiar poziomów stężeń antrachinonu mają kluczowe znaczenie dla zapewnienia bezpieczeństwa różnych produktów i środowiska (*Valduga* i in. 2023). Wykazano obecność AQ jako zanieczyszczenia w wodach przybrzeżnych, osadach rzecznych, glebie, powietrzu atmosferycznym oraz opakowaniach żywności. Wykrycie związku w liściach herbaty wzbudziło obawy ze względu na potencjalne zagrożenie dla zdrowia związane z antrachinonem, co spowodowało nałożenie przez Unię Europejską maksymalnego limitu pozostałości (MRL) w wysokości 0,02 mg/kg dla antrachinonu w suszonych liściach herbaty (*Li* i in. 2023; *Valduga* i in. 2023).

Antrachinon jest substancją stwarzającą zagrożenie dla zdrowia człowieka. Jest on klasyfikowany jako Carc. 1B – substancja, która ma potencjalne działanie rakotwórcze dla ludzi, przy czym klasyfikacja opiera się na badaniach przeprowadzonych na zwierzętach, z przypisem „H350: Może powodować raka". Klasyfikacja jest zgodna z wykazem CLP.

Podczas 108. posiedzenia Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy zaproponowano wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla frakcji wdychalnej antrachinonu na poziomie 0,5 mg/m$^3$ (*Skowroń* 2024). Za skutek krytyczny działania antrachinonu przy ustalaniu wartości NDS w powietrzu środowiska pracy przyjęto działanie układowe związku na nerki i wątrobę u zwierząt doświadczalnych. Nie zaproponowano wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) ani wartości dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB). W związku z zaproponowanymi przez Komisję ds. NDS i NDN wartościami normatywu zaistniała konieczność opracowania nowej metody oznaczania antrachinonu, spełniającej wymagania normy PN-EN 482:2021.

Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że do oznaczania antrachinonu stosuje się wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC) oraz chromatografię gazową (GC). Technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną (HPLC-UV-Vis) zastosowano do oznaczania antrachinonu w naparze z komercyjnej indonezyjskiej herbaty (*Yusiasih* i in. 2019) oraz w próbkach kory cascara sagrada (*Rhamnus purshiana*) stosowanej jako środek przeczyszczający w leczeniu zaparć (*Migues* i in. 2022). Do oznaczenia antrachinonu w liściach i korzeniach drzew jako pozostałość środka odstraszającego ptaki

w Tajlandii (*Khoomsab*, *Khoomsab* 2019) stosowano również technikę spektrofotometrii UV-Vis przy długości fali 325 nm.

Jak przedstawiono w przeglądzie *Shahida* i in. (2019), naturalne antrachinony w historycznych tekstyliach oznaczano z wykorzystaniem techniki HPLC z detekcją (foto)diodową (DAD/PDA), detekcją fluorescencyjną (FLD) lub spektrometrią mas (MS). Wysokosprawna chromatografia cieczowa z detekcją diodową (HPLC-DAD) została opisana jako najbardziej odpowiednia technika analityczna do identyfikacji tych barwników, szczególnie w mikropróbkach z tkanin lub warstw pigmentowych w obrazach i rzeźbach polichromowanych (*Careaga* i in. 2023). Do rozdzielania i identyfikacji antrachinonu w referencyjnych źródłach naturalnych, jeziorach i próbkach z dzieł sztuki stosowano również chromatografię gazową i elektroforezę kapilarną (*Sihadid* i in. 2019). Podobnie do analiz antrachinonu w próbkach herbaty, liściach herbaty czy w procesie wytwarzania herbaty stosowano metody chromatografii cieczowej (*Panichayupakaranant* i in. 2009; *Yusiasih* i in. 2019) i gazowej (*Kartasasmita* i in. 2020; *Wang* i in. 2018; *Xie* i in. 2020; *Yu* i in. 2022). *Sousa* i in. (2015) opisali zastosowanie chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS) do oznaczania chinonów, w tym antrachinonu w formie bezpośredniej i acetylowanej pochodnej, w próbkach drobnego pyłu zawieszonego (DP < 2,5 μm) pobranych pod terminalem autobusowym. Granica oznaczalności metody była w zakresie 0,05 ÷ 4,37 mg/l dla chinonów oznaczanych w formie niederywatyzowanej i 0,35 ÷ 0,47 mg/l dla pochodnych acetylowanych.

Celem prac badawczych było opracowanie metody pobierania i oznaczania stężeń frakcji wdychalnej antrachinonu w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie 1/10 ÷ 2 zaproponowanej wartości NDS, tj. 0,05 ÷ 1 mg/m$^3$.

Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny środowiska pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

## WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

### Aparatura

W badaniach zastosowano chromatograf gazowy 7890A z detektorem spektrometrii mas 5975C firmy Agilent Technologies. Do oznaczania antrachinonu zastosowano kolumnę RTX-5 silMS o długości 30 m, średnicy wewnętrznej 0,25 mm i grubości filmu 0,25 μm firmy Restek. Do pobierania próbek powietrza zawierających antrachinon wykorzystano aspiratory Gilian Air 5 (prod. Sensidyne, USA). Wzorce odważano na wadze analitycznej Sartorius TE214S (prod. Sartorius Corporation, USA). Próbki przechowywano w chłodziarko-zamrażarce ARDO CO23B-2H (prod. Merloni, Polska).

### Odczynniki i materiały

W badaniach stosowano wzorzec antrachinonu (prod. Sigma-Aldrich, Niemcy) oraz dichlorometan (prod. Sigma-Aldrich, Niemcy) o czystości co najmniej cz.d.a. (czysty do analizy). Do pobierania próbek wykorzystano filtry z włókna szklanego (prod. Whatman, Anglia). Stosowano także szkło laboratoryjne, tj. kolby miarowe, naczynka do desorpcji wyposażone w korki, strzykawki do cieczy i inne.

### Ustalenie warunków oznaczania chromatograficznego

Zastosowanie detektora spektrometrii mas pracującego w trybie monitorowania wybranych jonów do oznaczania AQ zapewnia wysoką specyficzność i umożliwia ilościowe oznaczanie badanej substancji w złożonych mieszaninach, nawet jeżeli sygnały nie są w pełni rozdzielone chromatograficznie.

W badaniach do rozdzielenia chromatograficznego mieszaniny substancji współwystępujących i antrachinonu zastosowano kolumnę analityczną RTX-5silMS (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm) i chromatograf gazowy z detektorem spektrometrii mas MS w pracujący w następujących warunkach:

- temperatura pieca programowana: 100°C (4 min), Δ*t* 20°C/min do 300°C (2 min)
- temperatura komory nastrzykowej: 300°C
- temperatura linii transferowej: 250°C
- przepływ gazu nośnego: 1 ml/min
- objętość nastrzyku: 1 μl
- dzielnik próbki: 10: 1
- gaz nośny: hel
- tryb: SIM

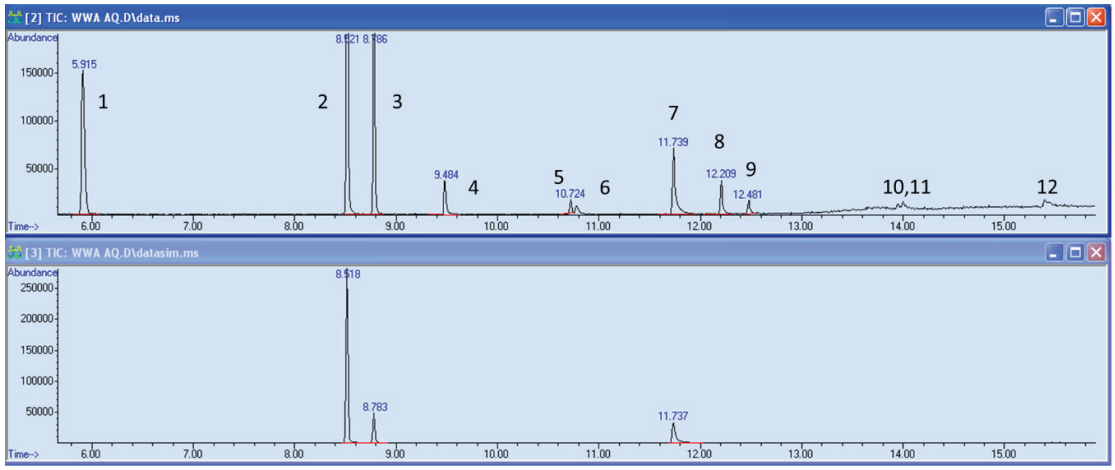
– monitorowane jony dla AQ [m/z] 152, 180 i 208.

W przedstawionych powyżej warunkach antrachinon można oznaczać w obecności innych związków z grupy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (ryc. 1).

## Ustalenie warunków pobierania próbek

Ponieważ wartość NDS ustalona jest dla frakcji wdychalnej, do pobierania AQ z powietrza zastosowano próbniki typu IOM z ustalonym przepływem powietrza 2 l/min przez umieszczone w próbniku filtry. W badaniach zastosowano filtry z włókna szklanego.

W celu sprawdzenia warunków pobierania próbek powietrza na sześć filtrów z włókna szklanego GF/A (o średnicy 25 mm) naniesiono po 120 µl roztworu antrachinonu w dichlorometanie (DCM) o stężeniu 6 mg/ml. Filtry pozostawiono do wyschnięcia w temperaturze pokojowej. Przez filtry z naniesionym antrachinonem umieszczonym w próbniku IOM do frakcji wdychalnej przepuszczono odpowiednio 120 l, 360 l i 720 l powietrza z ustalonym strumieniem objętości zalecanym przez producenta próbnika, tj. 2 l/min. Następnie filtry zalewano 5 ml dichlorometanu i wytrząsano przez 30 min. Roztwory znad filtrów analizowano chromatograficznie. Uzyskane powierzchnie pików antrachinonu porównano z powierzchniami pików roztworów porównawczych. Wyniki badań pochłaniania i ekstrakcji AQ przedstawiono w tabeli 2.




**Rycina 1.** Chromatogram wzorca antrachinonu w obecności substancji współwystępujących (1 – naftalen; 2 – acenaftylen; 3 – acenaften; 4 – fluoren; 5 – fenantren; 6 – antracen; 7 – antrachinon; 8 – fluoranten; 9 – piren; 10 – benzo[*a*]antracen; 11 – chryzen; 12 – benzo[*k*]fluoranten)
**Figure 1.** Chromatogram of the antraquinone in the presence of co-occurring substances (1 – naphtalene; 2 – acenaphtylene; 3 – acenaphtene; 4 – fluorene; 5 – phenantrene; 6 – anthracene; 7 – antraquinone; 8 – fluorantene; 9 – pirene; 10 – benzo[*a*]anthracene; 11 – chryzene; 12 – benzo[*k*]fluorantene)

**Tabela 2.** Wstępne badanie zatrzymywania i ekstrakcji antrachinonu z filtra przy użyciu DCM
**Table 2.** Preliminary studies on anthraquinone retention and extraction from the filter using DCM

| Rodzaj próbnika | Strumień objętości powietrza, l/h | Czas, h | Przybliżone stężenie substancji, µg/ml | Średnia powierzchnia pików antrachinonu w roztworach kontrolnych | Powierzchnia pików antrachinonu w roztworach po ekstrakcji z filtra z włókna szklanego | Odzysk, % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| IOM | 120 | 1 | 144 | 31 918 711 | 31 686 087 | 99,3 |
| | | | | | 31 071 694 | 97,3 |
| | 120 | 3 | 144 | 28 390 815 | 29 677 680 | 104,5 |
| | | | | | 29 144 922 | 102,7 |
| | 120 | 6 | 144 | 28 148 774 | 28 140 032 | 100,0 |
| | | | | | 27 659 817 | 98,3 |

Na podstawie uzyskanych wyników przyjęto następujący sposób pobierania próbek powietrza: przez filtr z włókna szklanego umieszczony w próbniku IOM należy przepuścić 720 l powietrza ze strumieniem objętości powietrza zalecanym przez producenta próbnika, najczęściej 2 l/min.

## Badanie stopnia odzysku

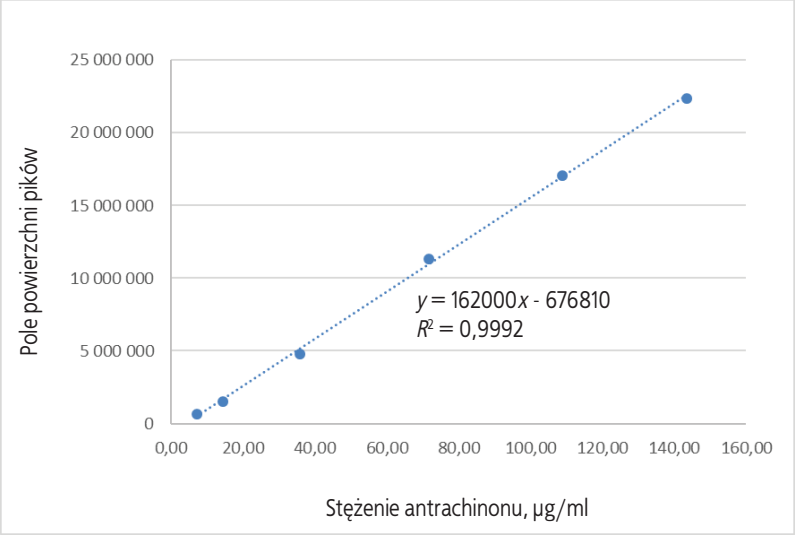
W celu zbadania stopnia odzysku antrachinonu z filtrów z włókna szklanego przygotowano trzy serie po sześć filtrów każda. Filtry umieszczono w naczynkach do ekstrakcji i na pierwszą serię sześciu filtrów nakroplono po 50 µl roztworu antrachinonu w dichlorometanie o stężeniu 720 µg/ml, na drugą serię po 60 µl roztworu antrachinonu w dichlorometanie o stężeniu 6 mg/ml i na trzecią serię po 120 µl roztworu antrachinonu w dichlorometanie o stężeniu 6 mg/ml. W ten sposób na filtrach uzyskano zawartość antrachinonu odpowiednio 36 µg, 360 µg i 720 µg. Naczynka pozostawiono na noc w temperaturze pokojowej, a następnie filtry ekstrahowano 5 ml dichlorometanu w wytrząsarce przez 30 min. Uzyskane ekstrakty analizowano chromatograficznie w ustalonych warunkach. Przygotowano jednocześnie po dwa roztwory porównawcze o stężeniach odpowiednio 7,2 µg/ml, 72 µg/ml i 144 µg/ml. Współczynnik zmienności mieścił się w zakresie 2,00 ÷ 4,22%. Średni współczynnik odzysku antrachinonu z filtrów wynosił 1. Uzyskane wyniki potwierdzają, że dichlorometan jest odpowiednim rozpuszczalnikiem do wymywania antrachinonu z filtrów z włókna szklanego.

## Kalibracja i precyzja

Oznaczanie kalibracyjne wykonywano dla roztworów wzorcowych antrachinonu w dichlorometanie. Stężenie tych roztworów ustalono na podstawie następujących założeń:

- zakres pomiarowy 0,05 ÷ 1 mg/m$^3$
- objętość powietrza pobranego do analizy 720 l
- objętość rozpuszczalnika stosowanego do ekstrakcji 5 ml.

Zakres stężeń tak uzyskanych roztworów wzorcowych wynosił 7,2 ÷ 144,0 µg/ml. Przygotowano po trzy serie roztworów kalibracyjnych, które poddano analizie chromatograficznej w opisanych wyżej warunkach. Wstrzykiwano po 1 µl roztworów wzorcowych o wzrastających stężeniach. Dla każdego stężenia wykonano po dwa oznaczenia. Następnie sporządzono wykres zależności powierzchni pików badanej substancji od jej stężeń w roztworach wzorcowych (ryc. 3). Współczynnik nachylenia $b$ krzywej kalibracji o równaniu $y = bx + a$, charakteryzujący czułość metody, wynosi 162 000. Liniowość krzywej wzorcowej charakteryzowana jest wartością współczynnika korelacji. Współczynnik korelacji $R$ wynosi 0,9992.




**Rycina 3.** Wykres zależności powierzchni pików chromatograficznych od stężenia antrachinonu w roztworach wzorcowych
**Figure 3.** Plot of peak area dependence of anthraquinone concentration in calibration solutions

W celu oceny precyzji oznaczeń kalibracyjnych przygotowano roztwór podstawowy antrachinonu w dichlorometanie o stężeniu 0,72 mg/ml. Wykonano z niego trzy serie po osiem roztworów roboczych o stężeniach odpowiednio 7,2 µg/ml, 72 µg/ml i 144 µg/ml AQ. Wykonano po dwa pomiary chromatograficzne z każdego roztworu w warunkach identycznych jak przy wykonaniu oznaczeń kalibracyjnych. Na podstawie odczytanych powierzchni pików uzyskanych na chromatogramach obliczono odchylenie standardowe i współczynnik zmienności. Wartości charakteryzujące precyzję oznaczeń kalibracyjnych zestawiono w tabeli 3. Współczynniki zmienności dla kolejnych poziomów stężenia wynoszą odpowiednio: 2,32%, 3,51% i 3,57%.

## Badanie trwałości roztworów i próbek

Trwałość pobranych próbek powietrza i roztworów antrachinonu o stężeniu 72 µg/ml badano w zależności od czasu ich przechowywania zarówno w temperaturze pokojowej, jak i w chłodziarce.

Trwałość pobranych próbek powietrza badano w dniu naniesienia antrachinonu na filtry oraz po 1, 2, 3, 4 i 7 dniach przechowywania próbek w temperaturze pokojowej. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że próbki mogą być przechowywane do 3 dni. Z kolei wyniki badań trwałości roztworów po 1, 2, 3, 4 i 7 dniach przechowywania w chłodziarce wskazują, że roztwory antrachinonu przechowywane w temperaturze około 5°C są trwałe do 2 dni.

**Tabela 3.** Precyzja oznaczeń kalibracyjnych antrachinonu
**Table 3.** Precision of calibration determinations of anthraquinone

| Powierzchnia pików wg wskazań analitycznej stacji komputerowej | Średnia z powierzchni | Powierzchnia pików wg wskazań analitycznej stacji komputerowej | Średnia z powierzchni | Powierzchnia pików wg wskazań analitycznej stacji komputerowej | Średnia z powierzchni |
|---|---|---|---|---|---|
| roztwór o stężeniu 7,2 µg/ml | | roztwór o stężeniu 72 µg/ml | | roztwór o stężeniu 144 µg/ml | |
| I seria | | II seria | | III seria | |
| 570 330 | 565 117,50 | 10 589 701 | 10 761 409,50 | 24 254 987 | 24 356 158,50 |
| 559 905 | | 10 933 118 | | 24 457 330 | |
| 574 245 | 584 679,00 | 10 363 911 | 10 132 008,50 | 25 492 446 | 24 508 535,00 |
| 595 113 | | 9 900 106 | | 23 524 624 | |
| 588 154 | 582 259,50 | 10 653 257 | 10 713 290,00 | 24 341 515 | 24 469 918,00 |
| 576 365 | | 10 773 323 | | 24 598 321 | |
| 592 487 | 586 602,50 | 11 006 036 | 10 717 166,00 | 24 507 303 | 24 713 791,50 |
| 580 718 | | 10 428 296 | | 24 920 280 | |
| 595 573 | 589 541,00 | 10 917 623 | 10 879 953,00 | 27 226 085 | 26 172 098,50 |
| 583 509 | | 10 842 283 | | 25 118 112 | |
| 565 364 | 578 656,50 | 11 233 396 | 11 013 291,50 | 23 634 896 | 24 029 001,50 |
| 591 949 | | 10 793 187 | | 24 423 107 | |
| 578 921 | 566 172,00 | 11 088 892 | 11 199 124,50 | 23 838 232 | 23 924 982,00 |
| 553 423 | | 11 309 357 | | 24 011 732 | |
| 570 330 | 565 117,50 | 11 263 387 | 11 230 245,50 | 24 807 451 | 24 952 360,00 |
| 559 905 | | 11 197 104 | | 25 097 269 | |
| Średnia powierzchnia piku | 577 268,19 | średnia powierzchnia piku | 10 830 811,06 | średnia powierzchnia piku | 24 640 855,63 |
| Odchylenie standardowe *S* | 13 397,06 | odchylenie standardowe *S* | 380 212,52 | odchylenie standardowe *S* | 878 927,60 |
| Współczynnik zmienności $n_1$, % | 2,32 | współczynnik zmienności $n_2$, % | 3,51 | współczynnik zmienności $n_3$, % | 3,57 |
| Średnia precyzja średni współczynnik zmienności dla zakresu $n_{zakresu}$, % | | | 3,19 | | |

### Dane walidacyjne metody

Dla przyjętego sposobu pobierania próbek i metody oznaczania z zastosowaniem chromatografu gazowego z detektorem spektrometrii mas wyznaczono parametry walidacyjne na podstawie publikacji *Dobeckiego* (2012) w celu sprawdzenia zgodności z wymaganiami normy europejskiej PN-EN 482. Wyznaczono zakres pomiarowy metody, powtarzalność, współczynniki korelacji krzywych kalibracyjnych, granice wykrywalności i granice oznaczalności instrumentu pomiarowego, jak również względne niepewności całkowitą i rozszerzoną.

Granicę wykrywalności (LOD) oraz granicę oznaczalności (LOQ) wyznaczono na podstawie wyników analizy trzech ślepych prób (próbka przygotowana w identyczny sposób jak próbka rzeczywista – bez analitu).

Uzyskano następujące dane walidacyjne:

- zakres pomiarowy 7,2 ÷144 µg/ml (0,05 ÷ 1 mg/m$^3$ dla próbki powietrza 720 l)
- granica wykrywalności LOD = 0,09 ng/ml
- granica oznaczalności LOQ = 0,27 ng/ml
- współczynnik korelacji $R$ = 0,9996
- całkowita precyzja badania $Vc$ = 6%
- względna niepewność całkowita 12,98%
- niepewność rozszerzona 25,96%.

Niepewność rozszerzoną procesu analitycznego podano przy prawdopodobieństwie około 95% i współczynniku rozszerzenia $k$ = 2.

## PODSUMOWANIE

Opracowano metodę oznaczania stężeń antrachinonu w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie 1/10 ÷ 2 wartości NDS, tj. 0,05 ÷ 1 mg/m$^3$. Metoda polega na zatrzymaniu zawartego w powietrzu antrachinonu na filtrze z włókna szklanego umieszczonym w próbniku IOM do frakcji wdychalnej, wymyciu dichlorometanem i analizie otrzymanego roztworu z zastosowaniem chromatografii gazowej z detekcją spektrometrii mas. W ustalonych warunkach antrachinon może być oznaczany w obecności wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, takich jak: naftalen, acenaftylen, acenaften, fluoren, fenantren, antracen, antrachinon, fluoranten, piren, benzo[*a*]antracen, chryzen, benzo[*k*]fluoranten. Opracowana metoda oznaczania stężeń antrachinonu może być stosowana przez środowiskowe laboratoria higieny pracy do pomiarów i oznaczania stężeń tej substancji w powietrzu na stanowiskach pracy w celu oceny narażenia zawodowego.

## PIŚMIENNICTWO


*Careaga V.P., Blanco Guerrero A., Siracusano G.* i in. (2023). High performance liquid chromatography as a micro-destructive technique for the identification of anthraquinone red dyestuffs in cultural heritage objects. Chem. Teacher Int. 5(1), 1–9. DOI: 10.1515/cti-2022-0018.

*Delgado-Saborit J.M., Alam M.S., Godri Pollitt K.J.* i in. (2013). Analysis of atmospheric concentrations of quinones and polycyclic aromatic hydrocarbons in vapour and particulate phases. Atmos. Environ. 77, 974–982. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2013.05.080.

*Dobecki M.* (2012). Walidacja metod pomiarowych i szacowanie niepewności pomiaru czynników chemicznych w powietrzu na stanowiskach pracy. Med. Pr. 63(6), 723–732.

GESTIS database (2024). https://gestis-database.dguv.de/search [dostęp: 15.10.2024].

IARC, International Agency for Research on Cancer (2013). Anthraquinone. Some chemicals present in industrial and consumer products, food and drinking-water. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol. 101. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK373184/ [dostęp: 15.10.2024].

*Kartasasmita R.E., Kurniawan F., Amelia T.* i in. (2020). Determination of anthraquinone in some Indonesian black tea and its predicted risk characterization. ACS Omega 5(32), 20162–20169. DOI: 10.1021/acsomega.0c01812.

*Khoomsab R., Khoomsab K.* (2019). Extraction and determination of anthraquinone from herbal plant as bird repellent. Sci. Tech. Asia 24, 14–20. DOI: 10.14456/scitechasia.2019.2.

*Li C.W.Y., Walters S., Müller J.F.* i in. (2023). Contamination of tea leaves by anthraquinone: the atmosphere as a possible source. Ambio 52, 1373–1388. DOI: 10.1007/s13280-023-01858-9.

*Migues V.H., Mauricio J., Gomes A.F.* i in. (2022). Determination of anthraquinones in Rhamnus purshiana using high-performance liquid chromatography coupled to diode array detector and simple ultraviolet spectroscopic analysis. J. Sep. Sci. 45, 2478–2487. DOI: 10.1002/jssc.202200148.

*Panichayupakaranant P., Sakunpak A., Sakunphueak A.* (2009). Quantitative HPLC determination and extraction of anthraquinones in Senna alata leaves. J. Chromatogr. Sci. 47(3), 197–200. DOI: 10.1093/chromsci/47.3.197.

PN-EN 482:2021 Narażenie na stanowiskach pracy – Procedury oznaczania stężeń czynników chemicznych – Podstawowe wymagania dotyczące parametrów procedur.

PubChem (2024). https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/ [dostęp: 15.10.2024].

Rozporządzenie 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 67/648/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie WE nr 1907/2006. Dz. Urz. UE L 353 z 31.12.2008 r. ze zm.

*Shahid M., Wertz J., Degano I.* i in. (2019). Analytical methods for determination of anthraquinone dyes in historical textiles: a review. Anal. Chim. Acta 1083, 58–87. DOI: 10.1016/j.aca.2019.07.009.

*Skowroń J.* (2024). 108. posiedzenie Międzyresortowej Komisji ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy. Bezp. Pr. 8(635), 26–28.

*Sousa E.T., Cardoso M.P., Silva L.A.* i in. (2015). Direct determination of quinones in fine atmospheric particulate matter by GC–MS. Microchem. J. 118, 26–31. DOI: 10.1016/j.microc.2014.07.013.

*Valduga A.T., Gonçalves I.L., Saorin Puton B.M.* i in. (2023). Anthraquinone as emerging contaminant: technological, toxicological, regulatory and analytical aspects. Toxicol. Res. 40(1), 11–21. DOI: 10.1007/s43188-023-00202-3.

*Wang X., Zhou L., Luo F.* i in. (2018). 9,10-Anthraquinone deposit in tea plantation might be one of the reasons for contamination in tea. Food Chem. 244, 254–259. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.09.123.

*Xie W., Huang C., Hong D.* i in. (2020). Determination of anthraquinone in tea by stable isotope dilution assay-gas chromatography-tandem mass spectrometry. SN Appl. Sci. 2, 1104. DOI: 10.1007/s42452-020-2919-5

*Yu J., Zhou L., Wang X.* i in. (2022). 9,10-Anthraquinone contamination in tea processing using coal as heat source. Beverage Plant Res. 2, 1–6. DOI: 10.48130/BPR-2022-0008

*Yusiasih R., Pitoi M.M., Ariyani M.* i in. (2019). Anthraquinone in Indonesian infusion tea: analysis by HPLC–UV and risk assessment. Chem. Biol. Technol. Agric. 6, 19. DOI: 10.1186/s40538-019-0155-2.

# PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA ANTRACHINONU W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY

## 1. Zakres procedury

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania zawartości antrachinonu (numer CAS: 84-65-1) w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem chromatografii gazowej ze spektrometrią mas. Metodę stosuje się podczas kontroli warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie antrachinonu, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi 0,05 mg/m$^3$ dla próbki powietrza o objętości 720 l.

## 2. Powołania normatywne

PN-Z-04008-7 Ochrona czystości powietrza – Pobieranie próbek – Zasady pobierania próbek powietrza w środowisku pracy i interpretacji wyników.

## 3. Zasada metody

Metoda polega na zatrzymaniu obecnej w badanym powietrzu frakcji wdychalnej antrachinonu na filtrze z włókna szklanego, wymyciu zatrzymanej substancji dichlorometanem i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu.

## 4. Odczynniki, roztwory i materiały

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

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

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

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

4.1. Antrachinon (AQ)

4.2. Dichlorometan (DCM)

4.3. Roztwór wzorcowy podstawowy antrachinonu

Do zważonej kolby miarowej o pojemności 10 ml odważyć około 7,2 mg antrachinonu wg punktu 4.1, kolbę uzupełnić do kreski dichlorometanem wg punktu 4.2 i dokładnie wymieszać. Stężenie antrachinonu w tak przygotowanym roztworze wynosi około 0,72 mg/ml. Obliczyć dokładne stężenie roztworu.

Roztwór przechowywany w chłodziarce zachowuje trwałość przez 2 dni.

4.4. Roztwór do wyznaczania współczynnika odzysku

Do zważonej kolby miarowej o pojemności 5 ml odważyć 30 mg antrachinonu wg punktu 4.1, kolbę zważyć, uzupełnić do kreski dichlorometanem wg punktu 4.2 i dokładnie wymieszać. Stężenie antrachinonu w tak przygotowanym roztworze wynosi 6 mg/ml.

4.5. Filtry

Filtry z włókna szklanego o średnicy 25 mm i średnicy porów 0,7 μm.

4.6. Gazy sprężone do chromatografu

Hel jako gaz nośny do detektora o czystości wg instrukcji do chromatografu.

## 5. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

Stosować typowy sprzęt laboratoryjny oraz następujący:

5.1. Chromatograf gazowy

Chromatograf gazowy ze spektrometrem mas.

5.2. Kolumna chromatograficzna

Kolumna chromatograficzna umożliwiająca oznaczanie antrachinonu, np. kolumna RTX-5silMS o długości 30 m, średnicy wewnętrznej 0,25 mm i grubości filmu 0,25 μm.

5.3. Próbnik

Próbnik umożliwiający pobieranie frakcji wdychalnej aerozolu.

5.4. Naczynka do ekstrakcji

Naczynka stożkowe do ekstrakcji wyposażone w korki, o pojemności 3 ml.

5.5. Strzykawki do cieczy

Strzykawki do cieczy o pojemności 5 ÷ 5000 µl.

5.6. Pompa ssąca

Pompa ssąca umożliwiająca pobieranie próbek powietrza ze stałym strumieniem objętości wg rozdziału 6.

## 6. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać wg normy PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek przez filtr wg punktu 4.5 umieszczony w próbniku wg punktu 5.6 przepuścić 720 l powietrza ze strumieniem objętości powietrza zalecanym przez producenta próbnika do pobierania frakcji wdychalnej, najczęściej 2 l/min.

Pobrane próbki przechowywane w temperaturze pokojowej zachowują trwałość przez 3 dni.

## 7. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy dobrać tak, aby uzyskać rozdzielenie antrachinonu od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu.

W przypadku stosowania kolumny wg punktu 5.2 zastosowano przykładowe warunki oznaczania:

- temperatura pieca programowana: 100°C (4 min), $\Delta t$ 20°C/min do 300°C (2 min)
- temperatura komory nastrzykowej: 300°C
- temperatura linii transferowej: 250°C
- przepływ gazu nośnego: 1 ml/min
- objętość nastrzyku: 1 µl
- dzielnik próbki: 10: 1
- gaz nośny: hel
- tryb: SIM
- monitorowane jony dla AQ [m/z]: 152, 180 i 208.

## 8. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do sześciu kolb miarowych o pojemności 5 ml odmierzyć kolejno: 50 µl, 100 µl, 250 µl, 500 µl, 750 µl i 1000 µl roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 4.3, uzupełnić do kreski dichlorometanem wg punktu 4.2 i wymieszać. Stężenie w tak przygotowanych roztworach wynosi odpowiednio: 7,2 µg/ml; 14,4 µg/ml; 36,0 µg/ml; 72,0 µg/ml; 108,0 µg/ml i 144,0 µg/ml. Tak uzyskane roztwory badać chromatograficznie w warunkach określonych w rozdziale 7. Z każdego roztworu wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać powierzchnie pików wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Następnie wykreślić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych stężenie antrachinonu, w mikrogramach na mililitr, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików.

## 9. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza filtr przenieść do kolby wg punktu 5.4, dodać 5 ml dichlorometanu wg punktu 4.2 i przeprowadzić 30-minutową ekstrakcję, intensywnie wstrząsając kolbą. Roztwór znad filtra oznaczyć chromatograficznie w warunkach określonych w rozdziale 7. Wykonać dwukrotny pomiar z każdego uzyskanego roztworu. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików antrachinonu wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Stężenie antrachinonu w badanym roztworze odczytać z wykresu krzywej wzorcowej, w mikrogramach na mililitr.

## 10. Wyznaczanie współczynnika odzysku

W pięciu naczynkach do ekstrakcji wg punktu 5.4 umieścić po jednym filtrze wg punktu 4.5. Następnie na filtry nanieść po 60 µl roztworu antrachinonu wg punktu 4.4. W szóstej kolbie przygotować próbkę kontrolną zawierającą czysty filtr wg punktu 4.5. Kolby zamknąć i pozostawić do następnego dnia. Oznaczanie badanej substancji wykonać wg rozdziału 11. Jednocześnie wykonać oznaczanie badanej substancji co najmniej w trzech roztworach porównawczych, przygotowanych przez dodanie do 5 ml dichlorometanu wg punktu 4.2 po 60 µl roztworu wg punktu 4.4.

Współczynnik odzysku antrachinonu $d$ obliczyć wg wzoru:

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

w którym:

$P_d$ – średnie pole powierzchni pików antrachinonu na chromatogramach roztworów po ekstrakcji;

$P_o$ – średnie pole powierzchni pików o czasie retencji antrachinonu na chromatogramach roztworu kontrolnego;

$P_p$ – średnie pole powierzchni pików antrachinonu na chromatogramach roztworów porównawczych.

Następnie obliczyć średnią wartość współczynnika odzysku antrachinonu $\bar{d}$ jako średnią arytmetyczną otrzymanych wartości $d$.

Współczynnik odzysku wyznaczać dla każdej nowej partii filtrów wg punktu 4.5.

## 11. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie antrachinonu $X$ w badanym powietrzu obliczyć, w miligramach na metr sześcienny, wg wzoru

$$X = \frac{5 \cdot C}{V \cdot \bar{d}}$$

w którym:

$C$ – stężenie antrachinonu w roztworze znad filtra, odczytane z krzywej wzorcowej, w mikrogramach na mililitr;

$V$ – objętość powietrza przepuszczonego przez filtr, w litrach;

$\bar{d}$ – średnia wartość współczynnika ekstrakcji wyznaczona wg rozdziału 10;

5 – objętość rozpuszczalnika stosowanego do odzysku, w mililitrach.

Jeśli tak stanowią przepisy krajowe, wynik oznaczania – stężenie substancji w miligramach na metr sześcienny, sprowadzić do określonych warunków odniesienia np. temperatury 20°C i ciśnienia 101,3 kPa.