

Tiuram

Oznaczanie w powietrzu na stanowiskach pracy¹

Thiram

Determination in workplace air

dr Elżbieta Dobrzyńska
e-mail: eleki@ciop.pl
inż. Agnieszka Woźnica
e-mail: agwoz@ciop.pl
Centralny Instytut Ochrony Pracy –
Państwowy Instytut Badawczy
00-701 Warszawa
ul. Czerniakowska 16

Numer CAS: 137-26-8

Słowa kluczowe: tiuram, metoda analityczna, powietrze na stanowiskach pracy, HPLC-DAD.

Keywords: thiram, analytical method, workplace air, HPLC-DAD.

Streszczenie

Wstęp Tiuram jest bezbarwną substancją: stałą, palną i nielotną o charakterystycznym zapachu, nierozpuszczalną w wodzie. Substancja znalazła zastosowanie w Polsce przede wszystkim w rolnictwie jako substancja aktywna chemicznych środków ochrony roślin (głównie fungicydów) oraz w przemyśle chemicznym jako, tzw. przyspieszacz procesów wulkanizacji w produkcji gumy. Tiuram jest stosowany również

w medycynie i kosmetologii, jako filtr przeciwsłoneczny i środek przeciwgrzybiczny. Mechanizm toksycznego działania tiuramu jest wielokierunkowy. Głównymi objawami zatrucia substancją są: bóle głowy, nudności i wymioty, zaburzenia rytmu serca oraz trudności w oddychaniu. Często w następstwie zatrucia ostrego rozwija się: zapalenie spojówek, zapalenie oskrzeli, pokrzywka i wypryski skórne.

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

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

Metody Badania wykonano techniką wysokosprawną chromatografię ciekłą (HPLC) przy zastosowaniu chromatografu ciekłego firmy Agilent Technologies z detektorem diodowym (DAD) i automatycznym podajnikiem próbek. W badaniu stosowano kolumnę Ultra C18 o wymiarach: $250 \times 4,6$ mm o $dp = 5$ μ m, z przedkolumną o wymiarach: $10 \times 4,0$ mm.

Wyniki Metoda polega na: przepuszczeniu badanego powietrza przez filtr polipropylenowy, wymyciu osadzonego na filtrze tiuramu acetonitrylem i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu. Na podstawie wyników badań ustalono warunki oznaczania tiuramu w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie stężeń $0,05 \div 1$ mg/m³ metodą wysokosprawną chromatografii ciekłej z detektorem diodowym. Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej

PN-EN 482:2012. Uzyskano następujące dane walidacyjne:

- zakres pomiarowy: $3,6 \div 72$ μ g/ml ($0,05 \div 1$ mg/m³ dla próbki powietrza 360 l)
- granica wykrywalności, LOD: 1,29 ng/ml
- granica oznaczalności, LOQ: 86 ng/ml
- całkowita precyzja badania: 5,19 %
- względna niepewność całkowita: 11,38 %.

Współczynnik korelacji R charakteryzujący liniowość krzywej wzorcowej dla tiuramu wynosi 0,9999.

Wnioski Metoda analityczna umożliwia selektywne oznaczenie tiuramu w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie stężenia równego $0,05$ mg/m³ ($1/10$ wartości NDS), w obecności takich substancji, jak: anilina, buta-1,3--dien i styren. Metoda charakteryzuje się dobrą precyzją i dokładnością, spełnia wymagania zawarte w normie europejskiej PN-EN 482 dla procedur dotyczących oznaczania czynników chemicznych.

Opracowaną metodę oznaczania tiuramu zapisano w postaci procedury analitycznej, którą zamieszczono w Załączniku.

Summary

Introduction Thiram is a colorless, combustible and non-volatile solid substance with a characteristic odor, practically insoluble in water. In Poland, thiram is used mainly as an agricultural chemical active ingredient of plant protection products (mainly fungicides) and as an accelerator in the chemical industry. In medicine or cosmetology, it is used as a sunscreen and antifungal agent. The mechanism of toxicity of thiram is multidirectional. The main symptoms of poisoning with thiram are headache, nausea and vomiting, heart rhythm disturbances, and difficulty in breathing. Often, as a result of acute poisoning conjunctivitis, bronchitis, urticaria and skin eruptions develop.

Aim of the study The aim of this study was to develop and validate a sensitive method for determining concentrations of thiram in the working environment in the range of $1/10 - 2$ MAC values in accordance with the requirements of PN-EN-482.

Methods The tests were performed with high performance liquid chromatography (HPLC). A

liquid chromatograph of Agilent Technologies equipped with a diode array detector (DAD) and an autosampler was used. In the test, an Ultra C18 column (250×4.6 mm, $dp = 5$ mm) with a 10×4.0 mm precolumn (Restek, USA) was used.

Results The method was based on passing air through a polypropylene filter, elution of thiram deposited on the filter with acetonitrile and its further chromatographic analysis. As a result, the conditions of thiram sampling in workplace air and its analysis in the concentration range of $0.05 - 1$ mg/m³ with HPLC were determined. Validation of the method was carried out in accordance with European Standard EN 482: 2012. The following validation parameters were determined: measuring range: $3.6 - 72$ mg/ml ($0.05 - 1$ mg/m³ for air samples of 360 L), limit of detection (LOD) of 1.29 ng/ml, the limit of quantification $LOQ = 3.86$ ng / ml, the overall accuracy of the method 5.19%, the relative total uncertainty of the method 11.38%. The correlation factor R that characterizes the linearity of the calibration curve for the thiuram was 0.9999.

Conclusions The analytical method described in this paper makes it possible to selectively determine thiram in workplace air in the presence of aniline; 1,3-butadiene and styrene at concentrations from 0.05 mg/m³ (1/10 MAC value). The

method is precise, accurate and meets the criteria for procedures for measuring chemical agents listed in EN 482:2006. The developed method of determining thiram has been recorded as an analytical procedure (see Appendix).

WPROWADZENIE

Tiuram jest bezbarwną substancją stałą o charakterystycznym zapachu, praktycznie nierozpuszczalną w wodzie. Dobrze rozpuszcza się w: etanolu, eterze, acetonie, trichlorometanie i disiarczku węgla. Jest substancją palną i nie- lotną (CHEMPYŁ 2014; GESTIS 2014).

Tiuram (disulfid tetrametylotiuramu) jest związkiem chemicznym należącym do grupy ditiokarbaminianów (dokładnie alkiloditiokarbaminianów). Tiuram nie jest produkowany w Polsce, niemniej jednak jest on wykorzystywany w krajowym przemyśle chemicznym.

Produkcję tiuramu na skalę przemysłową rozpoczęto w 1925 r. w Stanach Zjednoczonych. Przemysłowa synteza tiuramu jest procesem dwuetapowym – w pierwszym etapie, na drodze reakcji: disiarczku węgla, wodorotlenku sodu i dimetyloaminy powstaje dimetylokarbaminian metylu; w drugim etapie, pod wpływem utleniającego działania, np. mieszaniny nadtlenu wodoru i kwasu siarkowego, z dwóch cząsteczek dimetylokarbaminianu metylu powstaje cząsteczka tiuramu (*Struciński* 2006).

Tiuram znalazł zastosowanie w Polsce przede wszystkim w rolnictwie jako substancja aktywna chemicznych środków ochrony roślin (głównie fungicydów) oraz w przemyśle chemicznym jako, tzw. przyspieszacz procesów wulkanizacji w produkcji gumy (*Struciński* 2006). Ma on również wiele innych zastosowań, m.in. jako: aktywator w produkcji tworzyw sztucznych, dodatek do farb i lakierów, środek przeciwświerzbowy w kosmetologii, filtr przeciwsłoneczny oraz środek przeciwgrzybiczy w mydłach. Jest także stosowany

w przemyśle papierniczym i w medycynie (*Kurpios-Piec* i wsp. 2010; *Struciński* 2006).

Tiuram łatwo się wchłania do organizmu przez układ oddechowy i pokarmowy. Ulega on szybkiemu metabolizmowi i jest wydalany głównie z wydychanym powietrzem i z moczem. Mechanizm toksycznego działania tiuramu jest wielokierunkowy. Głównymi objawami zatrucia tiuramem są: bóle głowy, nudności i wymioty, zaburzenia rytmu serca oraz trudności w oddychaniu. Często w następstwie zatrucia ostrego obserwowano: zapalenie spojówek, zapalenie oskrzeli, pokrzywkę i wypryski skórne (*Struciński* 2006). Przewlekłe narażenie na tiuram wywołuje wiele różnorodnych objawów, m.in.: uczucie senności, dezorientację, zaburzenia koordynacji ruchowej, osłabienie oraz zaburzenia neurologiczne. Ponadto narażeniu przewlekłemu towarzyszą również mniej nasilone objawy charakterystyczne dla narażenia ostrego, m.in.: bóle głowy, łzawienie, podrażnienie oczu i gardła czy swędzenie i zaczerwienienie skóry, a w rzadkich przypadkach objawy uszkodzenia układu nerwowego i nerek (CHEMPYŁ 2014). Ponadto na skutek powtarzanego czy przewlekłego narażenia na tiuram może dojść do rozwinięcia się reakcji alergicznych – zapalenia skóry lub zapalenia spojówek (*Struciński* 2006).

Tiuram stosunkowo często wywołuje różne reakcje alergiczne, przede wszystkim kontaktowe zapalenie skóry (*Kieć-Świerczyńska* 2011). W badaniach na zwierzętach tiuram nie wykazuje działania rakotwórczego i został zaklasyfikowany przez ekspertów IARC do grupy 3.

Ze względu na zagrożenia dla zdrowia ludzi tiuram został sklasyfikowany (WE nr 1272/2008) jako substancja: toksyczna, kategoria 4., drażniąca, kategoria 2., uczulająca na skórę, kategoria 1. i niebezpieczna dla środowiska wodnego. Substancji tej przypisano następujące zwroty zagrożenia:

- H332: działa szkodliwie w następstwie wdychania
- H410: działa bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki
- H302: działa szkodliwie po połknięciu
- H373: może powodować uszkodzenie narządów przez długotrwałe lub wielokrotne narażenie
- H319: działa drażniąco na oczy
- H315: działa drażniąco na skórę
- H317: może powodować reakcję alergiczną skóry.

Wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) podana w rozporządzeniu ministra pracy i polityki społecznej z dnia 6.06.2014 r. (DzU 2014, poz. 817) dla tiuramu (frakcja wdychalna) wynosi 0,5 mg/m³.

W Polsce do oznaczania tiuramu w powietrzu na stanowiskach pracy stosowano metodę zgodną z wymaganiami zawartymi w normie PN-Z-04153-02: 1986, która jest obecnie wycofana. Metoda ta polegała na: adsorpcji tiuramu na sorbencie stałym w rurkach pochłaniających, ekstrakcji acetonem, reakcji tiuramu z hydrochinonem i octanem miedziowym oraz analizie kolorymetrycznej powstałego kompleksu miedziowego. Najmniejsze stężenie tiuramu, jakie można oznaczyć tą metodą, wynosi 0,15 mg/m³, co stanowi około 1/3 wartości NDS. Norma ta nie spełnia wymagań dotyczących cha-

rakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych zawartych w obowiązującej normie europejskiej PN-EN 482: 2012, zgodnie z którą procedura oznaczania czynników chemicznych w powietrzu na stanowiskach pracy powinna umożliwiać oznaczanie stężeń czynników chemicznych na poziomie 1/10 wartości NDS.

Większość opisanych w piśmiennictwie metod oznaczania tiuramu wiąże się z zastosowaniem chromatografii cieczowej i dotyczy próbek wody oraz żywności, a jedynie nieliczne dotyczą powietrza środowiska pracy (Crnogorac i wsp. 2009; Irth i wsp. 1986; Perugia i wsp. 2012; Rodero Ubeda i wsp. 1990; Singh Aulakh i wsp. 2005).

Coldwell i wsp. (2003) opracowali metodę oznaczania ditiokarbaminianów, w tym tiuramu, w powietrzu środowiska pracy z zastosowaniem ATD-GC/MS. Próbkę pobierano na filtry z włókna szklanego i analizowano chromatograficznie. Metoda polega na termicznym rozkładzie (automatyczna termiczna desorpcja, ATD) ditiokarbaminianów do disiarczku węgla, który jest stosowany do ich ilościowej analizy metodą chromatografii gazowej połączonej ze spektrometrią mas (GC/MS).

W metodzie wg NIOSH próbki powietrza zawierające tiuram pobierano na filtry teflonowe, a następnie tiuram wymywano z filtra acetonitrylem (Gognon 1994). Uzyskany roztwór oznaczano z zastosowaniem wysoko-sprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną (HPLC-UV). Zakres pomiarowy tej metody wynosi: 3 ÷ 12 mg/m³ dla próbki powietrza 240 l.

Celem badań było opracowanie metody oznaczania tiuramu w powietrzu środowiska pracy w zakresie stężeń 0,05 ÷ 1 mg/m³, zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie PN-EN 482:2012.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Aparatura

W badaniach zastosowano chromatograf cieczowy firmy Agilent Technologies (Niemcy) seria 1200 z detektorem diodowym (DAD) sprzężonym on-line. Próbkę wprowadzano za pomocą automatycznego podajnika próbek G2258-90010 (Agilent Technologies). Do sterowania procesem oznaczania i zbierania danych zastosowano oprogramowanie Chem-Station. W badaniu stosowano kolumnę Ultra C₁₈ o wymiarach: 250 x 4,6 mm o $dp = 5 \mu\text{m}$, z przedkolumną o wymiarach: 10 x 4,0 mm (Restek, USA). Do pobierania próbek powietrza wykorzystano Aspirator Gilian 3500 (SKC Inc., USA). Do przeprowadzenia odzysku analitów z filtrów zastosowano wytrząsarkę mechaniczną WL-2000 (JWElectronic, Polska).

Wzorce odważano na wadze analitycznej Sartorius TE214S (Sartorius Corporation, USA). Próbkę przechowywano w ekcykatorze szafkowym serii EKS (WSL, Polska).

Odczynniki i materiały

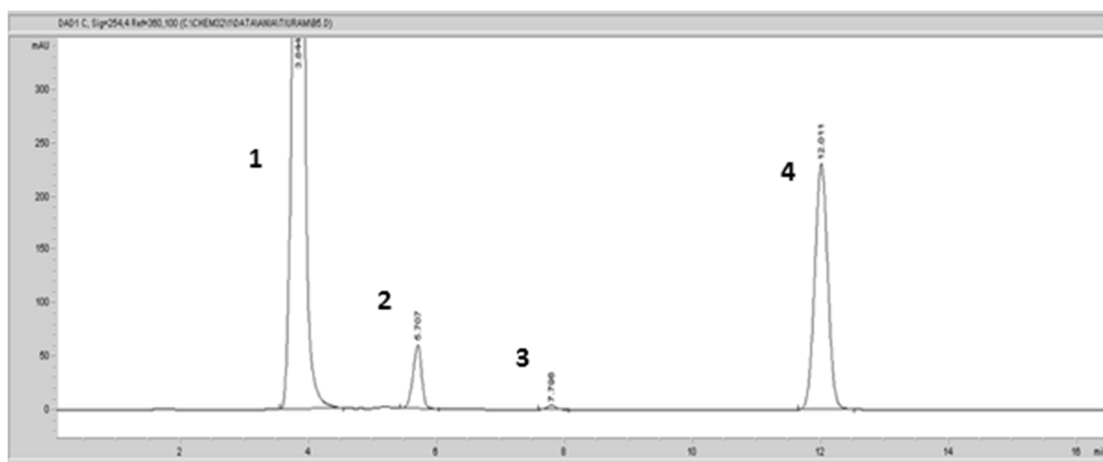
W badaniach korzystano z następujących odczynników: tiuramu (Sigma-Aldrich, USA), aniliny, acetonitrylu (Merck, Niemcy), wody o wysokiej czystości uzyskanej z aparatu Milli-Q (Millipore, USA). Ponadto stosowano filtry polipropylenowe o średnicy 37 mm FIPRO 37 (Instytut Włókiennictwa, Polska) oraz szkło laboratoryjne, tj.: kolby miarowe, kolby stożkowe o pojemności 25 ml, a także pipety, strzykawki do cieczy i inne.

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Ustalenie warunków oznaczania

Na podstawie przeprowadzonych badań ustalono następujące warunki oznaczania chromatograficznego: kolumna Ultra C₁₈ o długości 250 mm, faza ruchoma: acetonitryl: woda (60:40), natężenie przepływu strumienia fazy ru-

chovej 1 ml/min. Objętość dozowanej próbki wynosiła 20 μl . Do detekcji wykorzystano detektor DAD za pomocą którego mierzono absorbancję przy długości fali analitycznej $\lambda = 254 \text{ nm}$. Takie warunki umożliwiły oznaczenie tiuramu w obecności takich substancji, jak: anilina, buta-1,3-dien i styren (rys. 1.).



Rys. 1. Chromatogram roztworu wzorcowego tiuramu w obecności substancji współwystępujących. Kolumna Ultra C₁₈, faza ruchoma: acetonitryl: woda 60: 40 (v/v): 1 – anilina, 2 – tiuram, 3 – buta-1,3-dien, 4 – styren

Badania sorpcji tiuramu i warunków pobierania próbek powietrza

Do pobierania próbek powietrza zawierającego tiuram wytypowano filtry polipropylenowe o średnicy 37 mm, a jako rozpuszczalnik do wymywania tiuramu z filtrów – acetonitryl. Przeprowadzono wstępne badania stopnia odzysku tiuramu z filtrów. W pięciu kolbach stożkowych Erlenmayera umieszczono filtry polipropylenowe i naniesiono 50 µl roztworu tiuramu w acetonitrylu o stężeniu 3,6 mg/ml. Filtry pozostawiono do wyschnięcia. Następnie do kolb dodano po 5 ml acetonitrylu i intensywnie wytrząsano przez 30 min. Roztwory porównawcze przygotowano w identyczny sposób, ale bez filtrów. Współczynnik odzysku wyniósł 0,98.

Badania pochłaniania tiuramu z powietrza prowadzono, stosując dwa filtry polipropylenowe połączone szeregowo. Na pierwszy filtr naniesiono 50 µl roztworu tiuramu w acetonitrylu o stężeniu 3,6 mg/ml, a na drugi filtr naniesiono badanej substancji i przepuszczano 360 l powietrza ze strumieniem o objętości 60 l/h. Kolejny zestaw przygotowano analogicznie i przepuszczono 360 l powietrza ze strumieniem o objętości 120 l/h. Analit wymywano z filtrów acetonitrylem (5 ml). Badania wykazały, że tiuram zatrzymuje się na pierwszym filtrze polipropylenowym. Drugi filtr nie zawierał badanej substancji w żadnym z testowanych zestawów. Przykładowe wyniki badań przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1.

Przykładowe wyniki pochłaniania tiuramu na filtry polipropylenowe. Kolumna Ultra C18, detektor DAD

Strumień objętości pochłanianego powietrza, l/h	Czas pochłaniania, min	Przybliżone stężenie substancji w powietrzu, mg/m ³	Pole powierzchni pików tiuramu w roztworach po odzysku (wg wskazań integratora)	
			I filtr	II filtr
60	360	0,5	2537,7	n.w.
60	360	0,5	2480,0	n.w.
60	360	2,5	11119,5	n.w.
120	180	2,5	10260,8	n.w.
120	180	2,5	10240,2	n.w.

Objaśnienia:

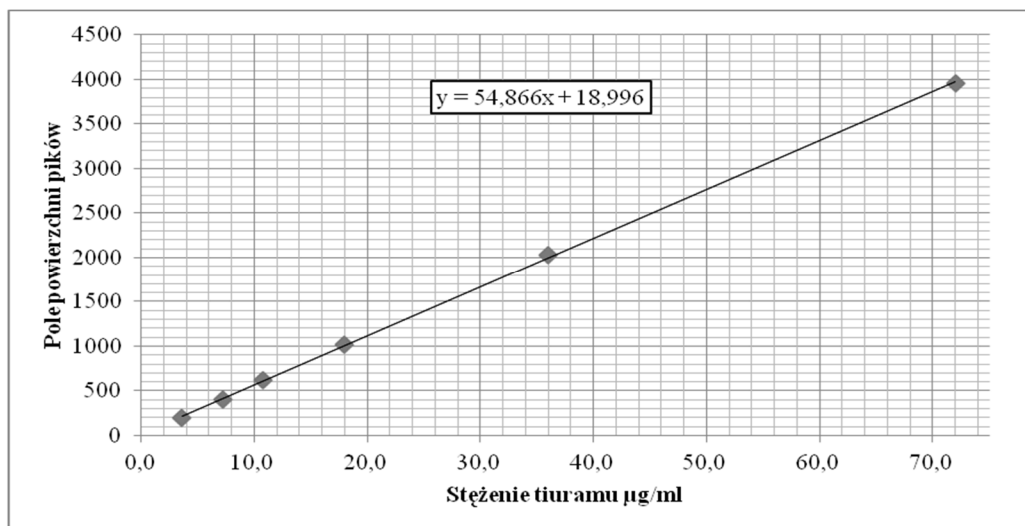
n.w. – nie wykryto.

Na podstawie uzyskanych wyników badań ustalono, że filtry polipropylenowe zapewniają ilościowe wyodrębnienie tiuramu z powietrza, a acetonitryl jest odpowiednim rozpuszczalnikiem do wymywania tiuramu z filtrów.

Kalibracja i precyzja

Oznaczenia kalibracyjne wykonano dla trzech serii roztworów. Każda seria składała się z sześciu roztworów roboczych o stężeniach w zakresie 3,6 ÷ 72 µg/ml tiuramu w acetonitrylu,

przygotowanych przez naniesienie na filtry odpowiednich ilości roztworu wzorcowego podstawowego i wymytego 5 ml acetonitrylu. Do chromatografu wprowadzano po 20 µl roztworów wzorcowych o wzrastających stężeniach. Współczynnik nachylenia „b” krzywej kalibracji o równaniu $y = bx + a$ charakteryzujący czułość metody wynosi 54,86. Współczynnik korelacji R charakteryzujący liniowość krzywej wzorcowej dla tiuramu wynosi 0,9999. Wyniki przedstawiono graficznie na rysunku 2.



Rys. 2. Wykres zależności powierzchni pików od stężenia tiuramu w roztworach znad filtrów

Ocenę precyzji wykonano dla trzech serii po osiem roztworów tiuramu w acetonitrylu o stężeniach kolejno: 3,6; 36 i 72 µg/ml. Na podstawie pól powierzchni pików uzyskanych po analizie chromatograficznej obliczono odchylenie standardowe i współczynnik zmienności. Wartości charakteryzujące precyzję oznaczeń kalibracyjnych, tj. współczynniki zmienności dla kolejnych poziomów stężenia wyniosły odpowiednio: 1,58; 1,34 i 1,21%.

w następujący sposób: na osiem filtrów nanoszono po 50 µl roztworu tiuramu w acetonitrylu o stężeniu 3,6 mg/ml tiuramu. Przez rurki przepuszczono 360 l powietrza ze strumieniem objętości 60 l/h. Dwie próbki badano bezpośrednio po przepuszczeniu 360 l powietrza oraz po: jednym, dwóch, trzech i czterech dniach przechowywania w ekzykatorze. Wyniki badań przedstawiono w tabeli 2. Uzyskane wyniki wskazują na to, że próbki są trwałe przez cztery dni.

Badanie trwałości próbek

Trwałość pobranych próbek badano, w zależności od czasu ich przechowywania,

Tabela 2.
Wyniki badania trwałości pobranych próbek powietrza

Numer filtra	Czas przechowywania, dni	Średnie pola powierzchni pików	Średnia	Odchylenie standardowe	Współczynnik zmienności, %
1 2	0	2019,30 2018,50	2018,90	0,6	0,0
1 2	1	2003,65 1987,80	1995,73	11,2	0,6
1 2	2	2090,70 2056,15	2073,43	24,4	1,2
1 2	4	2121,50 2006,50	2064,00	81,3	3,9

Walidacja

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

Granice wykrywalności (LOD) oraz granice oznaczalności (LOQ) wyznaczono na podstawie wyników analizy trzech ślepych prób.

Uzyskano następujące dane walidacyjne:

- zakres pomiarowy: 3,6 ÷ 72 µg/ml
(0,05 ÷ 1 mg/m³ dla próbki powietrza 360 l)

- granica wykrywalności, LOD 1,29 ng/ml
- granica oznaczalności, LOQ 3,86 ng/ml
- całkowita precyzja badania, V_c 5,19%
- względna niepewność całkowita 11,38%.

PODSUMOWANIE

Na podstawie wyników badań ustalono warunki oznaczania tiuramu w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie stężeń 0,05 ÷ 1 mg/m³ metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym. Zastosowanie kolumny wypełnionej fazą oktadecylową o długości 250 mm umożliwia selektywne oznaczanie tiuramu w obecności: aniliny, buta-1,3-dieny i styrenu.

Filtry polipropylenowe zapewniają ilościowe wyodrębnienie tiuramu z powietrza. Acetonitryl jest odpowiednim rozpuszczalnikiem do wmywania tiuramu z filtrów.

Opracowana metoda oznaczania stężeń tiuramu może być wykorzystywana przez środowiskowe 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.

Opracowaną metodę oznaczania tiuramu zapisano w postaci procedury analitycznej, którą zamieszczono w Załączniku.

PIŚMIENNICTWO

CHEMPYŁ (2014) Baza wiedzy o zagrożeniach chemicznych i pyłowych. Warszawa, CIOP-PIB.

Coldwell M.R., Pengelly I., Rimmer D.A. (2003) Determination of dithiocarbamate pesticides in occupational hygiene sampling devices using the iso-octane method and comparison with an automatic thermal desorption (ATD) method. *Journal of Chromatography A*, 984, 81–88.

Crnogorac G., Schwack W. (2009) Residue analysis of dithiocarbamate fungicides. *Trends in Analytical Chemistry* 28(1), 40–50.

Gagnon Y.T. (1994) Thiram. Method 5005. NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM). Fourth Edition, Cincinnati, OH. National Institute for Occupational Safety and Health. Issue 2, dated 15 August 1994.

GESTIS (2014) Substance database. BG Institute for Occupational Safety and Health. Sankt Augustin, Germany.

Irth H., De Jong G.J., Brinkman U.A.Th., Frei, R.W. (1986) Metallic copper-containing post-column reactor for the detection of thiram and disulfiram in

- liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, vol. 370, 439–447.
- Kieć-Świerczyńska M.* (2011) Alergiczne kontaktowe zapalenie skóry. Uczulenie na gumę. *Alergia* 4, 40–43.
- Kurpios-Piec D., Grosicka-Maciąg E., Czczot H., Szumilo M., Grzela T., Rahden-Staroń I.* (2010) Ochronny wpływ n-acetylocysteiny na prooksydacyjne i proapoptotyczne działanie tiuramu w komórkach $\sqrt{79}$ chomika chińskiego. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLIII, 3, 354–361.
- Peruga A., Grimalt S., López F.J., Sancho J.V., Hernández F.* (2012) Optimisation and validation of a specific analytical method for the determination of thiram residues in fruits and vegetables by LC–MS/MS. *Food Chemistry* 135(1), 186–192.
- PN-EN 482: 2012 Powietrze na stanowiskach pracy. Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych.
- PN-Z-04153-02:1986 Ochrona czystości powietrza. Badanie zawartości tiuramu. Oznaczanie tiuramu na stanowiskach pracy metodą kalorymetryczną.
- Rodero Ubeda M., Sevilla Escribano M.T., Hernandez L.* (1990) Determination of thiram by high-performance liquid chromatography with amperometric detection in river water and fungicide formulations. *Microchemical Journal* 41(1), 22–28.
- 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 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 (zwane rozporządzeniem GHS). Dz. Urz. UE 2008 r. (L 353).
- Singh Aulakh J., Malik A.K., Mahajan R.K.* (2005) Solid phase microextraction-high pressure liquid chromatographic determination of nabam, thiram and azamethiphos in water samples with UV detection. Preliminary data. *Talanta*, vol. 66. Issue 1, 266–270.
- Struciński P.* (2006) Tiuram – pyły. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy 3(49), 145–180.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA TIURAMU

1. Zakres procedury

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczenia zawartości tiuramu (nr CAS: 137-26-8) w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym. Metodę stosuje się podczas kontroli warunków sanitarno-higienicznych.

Najmniejsze stężenie tiuramu, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczenia opisanych w procedurze, wynosi 0,05 mg/m³.

2. Powołania normatywne

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

3. Zasada metody

Metoda polega na: przepuszczeniu badanego powietrza przez filtr polipropylenowy, wymyciu osadzonego na filtrze tiuramu acetonitrylem 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. oraz wodę destylowaną o czystości do wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), zwaną w dalszej części procedury wodą.

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 utylizacją.

4.1. Acetonitryl

4.2. Tiuram

4.3. Roztwór wzorcowy podstawowy tiuramu

Odważyć około 36 mg tiuramu i przenieść do kolby pomiarowej o pojemności 10 ml, uzupełnić do kreski acetonitrylem wg punktu 4.1. i dokładnie wymieszać. Zawartość tiuramu w 1 ml tak przygotowanego roztworu wynosi około 3,6 mg. Obliczyć dokładną zawartość tiuramu w 1 ml roztworów.

Roztwór należy przygotować bezpośrednio przed użyciem.

4.4. Filtry polipropylenowe

Stosować filtry polipropylenowe o średnicy 37 mm lub inne równoważne.

5. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

Stosować typowy sprzęt laboratoryjny oraz wymieniony niżej:

5.1. Chromatograf cieczowy

Chromatograf cieczowy wyposażony w detektor diodowy lub spektrofotometryczny.

5.2. Kolumna chromatograficzna

Kolumna chromatograficzna umożliwiająca oznaczanie tiuramu w mieszaninie substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu, np. kolumna o długości 250 mm i

średnicy wewnętrznej 4,6 mm, wypełniona fazą oktadecylową o uziarnieniu 5 µm.

5.3. Strzykawki do cieczy

Strzykawki do cieczy o pojemności 5 ÷ 2,5 ml.

5.4. Kolby

Kolby stożkowe Erlenmayera o pojemności 25 ml wyposażone w korki.

5.5. Pompa ssąca

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

5.6. Próbniki

Próbniki do wyodrębnienia frakcji wdychalnej z filtrem wg punktu 4.4.

5.7. Wytrząsarka mechaniczna

Wytrząsarka mechaniczna WL-2000.

6. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek przez próbnik wg punktu 5.6. przepuścić do 360 l badanego powietrza. Pobrane próbki zachowują trwałość co najmniej cztery dni.

7. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy tak dobrać, aby uzyskać rozdział tiuramu od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu. W przypadku stosowania kolumny o parametrach podanych w punkcie 5.2., oznaczenie można wykonać w następujących warunkach:

– faza ruchoma:

acetonitryl: woda	60: 40
– natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej	1 ml/min
– temperatura kolumny	23 °C
– długość fali analitycznej detektora diodowego	254 nm
– objętość dozowanej próbki	20 µl.

8. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Na sześć filtrów wg punktu 4.4. umieszczonych w kolbach wg punktu 5.4. nanieść za pomocą strzykawek wg punktu 5.3. roztwór wzorcowy podstawowy tiuramu wg punktu 4.3. kolejno: 5; 10; 15; 25; 50 i 100 µl. Filtry pozostawić do wyschnięcia (około 3 h). Następnie dodać po 5 ml acetonitrylu wg punktu 4.1., kolby zamknąć i pozostawić na 30 min, intensywnie wstrząsając na wytrząsarce co pewien czas ich zawartością. W 1 ml tak uzyskanych roztworów zawiera się odpowiednio: 3,6; 7,2; 10,8; 18; 36 i 72 µg tiuramu. Wykonać dwukrotną analizę każdego z roztworów wzorcowych. Odczytać powierzchnie pików tiuramu 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 zawartość tiuramu w 1 ml roztworów wzorcowych, w mikrogramach, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików.

Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

9. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza przenieść filtr do kolby wg punktu 5.4. Następnie dodać 5 ml acetonitrylu wg punktu 4.1., kolbę zamknąć i pozostawić na 30 min, intensywnie wstrząsając co pewien czas ich zawartością. Następnie pobrać po 20 µl roztworu znad filtra i badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 7. Wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików tiuramu wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną.

tyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Zawartość tiuramu w badanym roztworze odczytać z wykresu krzywej wzorcowej, w mikrogramach.

10. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie tiuramu (X) w badanym powietrzu obliczyć w miligramach na metr sześcienny na podstawie wzoru:

$$X = \frac{5 \cdot m}{V},$$

w którym:

- m – zawartość tiuramu w roztworze uzyskanym po wymyciu filtra, odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach,
- V – objętość powietrza przepuszczonego przez filtr, w litrach,
- 5 – współczynnik wynikający z objętości roztworu użytego do odzysku.