



Metoda oznaczania kwasu cyjanurowego (1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu; 1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu) w powietrzu na stanowiskach pracy¹

Method for determining cyanuric acid (1,3,5-triazine-2,4,6-trione; 1,3,5-triazine-2,4,6-triol) in the air at workplaces

JOANNA KOWALSKA

<https://orcid.org/0000-0002-1431-3089>

e-mail: jokow@ciop.pl

MAŁGORZATA SZEWCZYŃSKA

<https://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 108-80-5

Streszczenie

W artykule przedstawiono i omówiono wyniki oznaczania kwasu cyjanurowego (CYA) w powietrzu na stanowiskach pracy. Pobieranie próbek powietrza polega na zatrzymaniu obecnej w powietrzu substancji na filtrze z poli(chlorku winylu). Po wymyciu zatrzymanej substancji mieszaniną metanolu z buforem fosforanowym analizuje się otrzymane roztwory techniką chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną. Najmniejsze stężenie frakcji wdychalnej kwasu cyjanurowego, jakie można oznaczyć przedstawioną metodą, wynosi 1 mg/m³ (dla próbki powietrza o objętości 120 l). 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: 1,3,5-triazinano-2,4,6-trion, 1,3,5-triazyno-2,4,6-triol, chromatografia cieczowa, powietrze na stanowiskach pracy, nauki o zdrowiu, inżynieria środowiska.

Abstract

The article presents and discusses the results of determining cyanuric acid (CYA) in the air at workplaces. Air sampling consists of trapping the substance present in the air on a poly(vinyl chloride) filter. After elution of the trapped substance with a mixture of methanol and phosphate buffer, the obtained solutions are analysed by liquid chromatography with

¹ Opracowano i wydano 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.03 pt.: „Opracowanie 9 znowelizowanych metod oznaczania szkodliwych substancji chemicznych dla potrzeb oceny środowiska pracy”. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

spectrophotometric detection. The lowest concentration of the inhalable fraction of CYA that can be determined is 1 mg/m³ (for an air sample of 120 l). This article discusses the problems of occupational safety and health, which are covered by health sciences and environmental engineering.

Keywords: 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, sym-triazine-2,4,6-triol, liquid chromatography, workplace air, health sciences, environmental engineering.

Adres do korespondencji/Corresponding author: Joanna Kowalska, Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy, 00-701 Warszawa, ul. Czerniakowska 16, e-mail: jokow@ciop.pl

WPROWADZENIE

Kwas cyjanurowy (CYA), (numer CAS: 108-80-5) jest białym, higroskopijnym ciałem stałym, słabo rozpuszczalnym zarówno w rozpuszczalnikach organicznych (aceton, benzen, eter dietylowy, etanol, heksan), jak i w wodzie (2 g/l w temp. 20°C), (GESTIS 2023; PubChem 2023). Kwas cyjanurowy w roztworach wodnych występuje jako mieszanina związku o strukturze enolowej (1,3,5-triazyno-2,4,6-triol; 2,4,6-trihydroxy-s-triazine; 2,4,6-s-triazinetiol) i ketonowej (1,3,5-triazinano-2,4,6-trion; 2,4,6-trioxo-s-triazine; 2,4,6(1H,3H,5H)-s-triazinetion). Występowanie tych postaci silnie zależy od pH roztworu. W środowisku zasadowym w roztworze kwas cyjanurowy występuje w postaci enolowej, podczas gdy w roztworach kwaśnych forma ketonowa jest bardziej stabilna (Cantu i in. 2000; Wojtowicz 2001).

Kwas cyjanurowy jest stosowany w laboratoriach jako źródło kwasu cyjanowego oraz jako składnik preparatów dezynfekujących, wybielaczy domowych, środków czyszczących (m.in. do automatycznych zmywarek) i stabilizatorów chloru, które są stosowane w celu zapobiegania całkowitemu fotolitycznemu rozkładowi chlorowych środków dezynfekujących. Większość kwasu cyjanurowego (produkowanego w przemyśle) jest przekształcana w syntezie organicznej w chlorowane pochodne. Kwas cyjanurowy i jego chlorowe pochodne stosuje się do produkcji melaminy, gumy gąbczastej, herbicydów, szerokiej gamy środków odkażających (Cantu i in. 2000; PubChem 2023; Yao i in. 2020).

Ze względu na szkodliwe działanie kwasu cyjanurowego są prowadzone badania dotyczące oznaczania substancji w: wodzie (Cantu i in. 2000, Downes i in. 1984), moczu (Briggle i in. 1981), mięsie, rybach, owocach morza, produktach zbożowych (Zhu, Kannan 2019), a także w mieszkankach i odżywkach dla niemowląt (Braekevelt i in. 2011; Draher i in. 2014). Ze względu na selektywność

i czułość do oznaczania zawartości kwasu cyjanurowego najczęściej stosuje się metody chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją spektrofotometryczną (UV), (Cantu i in. 2000). Metody te zalecają kontrolę pH eluentu przy zastosowaniu buforu (m.in. mieszaniny buforu fosforanowego i metanolu, 95/5, v/v) i wąskiego zakresu pH 7,2 ÷ 7,4 (Cantu i in. 2000).

Kwas cyjanurowy nie ma zharmonizowanej klasyfikacji i oznakowania – nie jest wpisany do tabeli 3 załącznika VI do rozporządzenia WE nr 12/72 (CLP), (Rozporządzenie Parlamentu... 2008). Zgodnie z klasyfikacją przedstawioną przez producentów i importerów w dokumentacjach rejestracyjnych REACH i CLP substancja ta (wg kryteriów klasyfikacji podanych w CLP) działa drażniąco na oczy (H319), może powodować podrażnienie dróg oddechowych (H335), działa drażniąco na skórę (H315), szkodliwie po połknięciu (H302) i szkodliwie w następstwie wdychania (H332), (ECHA 2023).

Wartość normatywu higienicznego ustanowionego w Polsce dla kwasu cyjanurowego (1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu; 1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu) wynosi 10 mg/m³ – wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla frakcji wdychalnej aerozolu (DzU 2018, poz. 1286).

W Polsce od 1997 r. istnieje metoda oznaczania kwasu cyjanurowego w powietrzu na stanowiskach pracy. Metoda polega na zatrzymaniu substancji na sączku bibułowym, wymyciu substancji z sączka wodą i analizie otrzymanego roztworu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną przy długości fali 214 nm (Gawęda 1997). Oznaczalność metody wynosi 2,5 mg w 1 metrze sześciennym powietrza, co odpowiada ¼ obowiązującej wartości NDS. Metoda na etapie pobierania próbek nie uwzględnia wyodrębnienia frakcji wdychalnej aerozolu 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu.

Do oznaczania kwasu cyjanurowego (*cyanuric acid*) w powietrzu na stanowiskach pracy jest zalecana opracowana przez NIOSH metoda nr 5030, która polega na przepuszczeniu $10 \div 1000$ l powietrza przez filtr z poli(chlorku winylu) o średnicy 37 mm. Następnie wymywa się zatrzymaną substancję z filtra za pomocą 3 ml mieszaniny metanolu z buforem fosforanowym (pH 7, 0,005 M Na_2HPO_4), (5/95; v/v) z wykorzystaniem fal ultradźwiękowych (10 min). Roztwór znad filtra jest analizowany metodą chromatografii cieczowej (kolumna μ -Bondapak C18, 10- μm particle, size; Radial PAK cartridge, 11 cm $\times$ 8-mm ID) z detekcją spektrofotometryczną (długość fali 225 nm). Zakres roboczy metody wynosi $0,01 \div 10 \text{ mg/m}^3$ dla próbki powietrza o objętości 100 l (NIOSH 1994).

Celem pracy było opracowanie metody oznaczania kwasu cyjanurowego (frakcji wdychalnej), która umożliwi oznaczanie stężeń tej substancji w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie $1/10 \div 2$ wartości NDS, tj. $1,0 \div 20 \text{ mg/m}^3$. Metoda ta będzie podstawą do opracowania projektu polskiej normy.

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Aparatura i sprzęt

W badaniach zastosowano chromatograf cieczowy firmy Agilent Technologies (Niemcy) seria 1200 wyposażony w kolumnę chromatograficzną Ultra C18 (250 mm, 4,6 mm, 5 μm), (Restek, USA), sprzężony z detektorem diodowym (DAD). Podczas pobierania próbek powietrza stosowano aspiratory do pobierania próbek powietrza typ GilAir Plus (Sensidyne, USA). Próbki do analizy przygotowywano, używając łaźni ultradźwiękowej (POLSONIC, Polska) oraz suszarki ED115/E2 z naturalnym obiegiem powietrza (BINDER, Niemcy). Wykorzystano także wagę analityczną Sartorius TE214S (Sartorius Corporation, USA).

Odczynniki i materiały

W badaniach wykorzystano następujące odczynniki: kwas cyjanurowy (*cyanuric acid*, CAS 108-80-5), (Sigma-Aldrich, Chiny), 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazynę (chlorek kwasu cyjanurowego, CAS 108-77-0), (Sigma-Aldrich, Niemcy), mocznik >99,5% (urea), (Sigma-Aldrich, Niemcy), wodorofosforan disodu

bezwodny Na_2HPO_4 (POL-AURA, Polska), kwas fosforowy(V) o stężeniu 85% (POCH, Polska), metanol (Merck, Niemcy) oraz wodę wysokiej czystości uzyskaną z aparatu Milli-Q (Millipore, USA). Do pobierania próbek powietrza zastosowano filtr membranowy z poli(chlorku winylu), (PVC) o średnicy 25 mm i średnicy porów 5,0 μm (Sensidyne, USA) umieszczony w próbniku do pobierania frakcji wdychalnej (Ekohigiena, Polska).

Roztwory

Do przeprowadzenia badań przygotowano:

- bufor fosforanowy 0,005 mol/l Na_2HPO_4 , pH 7 – poprzez rozpuszczenie odważonych około 0,71 g wodorofosforanu disodu w 1000 ml wody i dodaniu kwasu fosforowego(V) o stężeniu 85% do uzyskania pH = 7,0,
- roztwór identyczny jak faza ruchoma do chromatografu cieczowego (zwany dalej fazą ruchomą) o składzie metanol: bufor fosforanowy (0,005 mol/l Na_2HPO_4 – H_3PO_4 , pH 7), (5/95; v/v),
- roztwory kwasu cyjanurowego w fazie ruchomej o stężeniu 1 mg/ml i 1,6 mg/ml.

Ustalenie parametrów oznaczania chromatograficznego

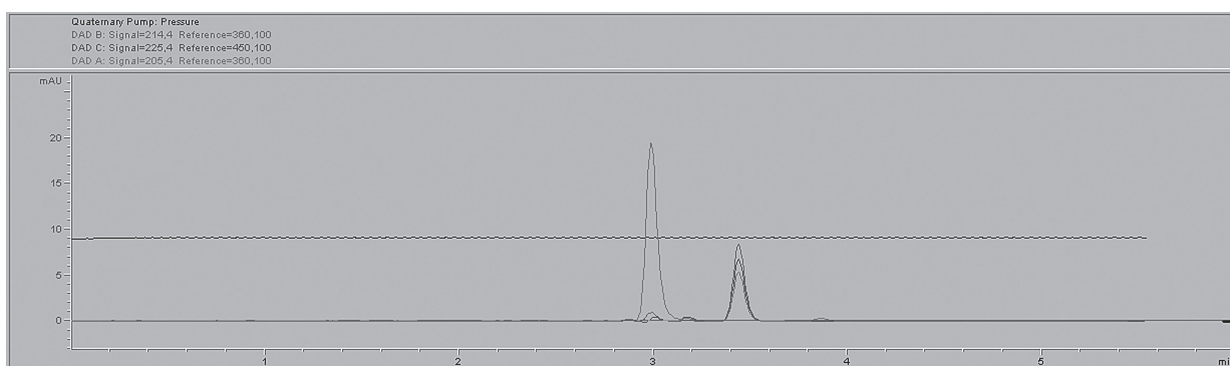
Zoptymalizowano warunki oznaczania chromatograficznego kwasu cyjanurowego (CYA) metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną przedstawione w metodzie NIOSH 5030 (1994).

W wyniku przeprowadzonych badań ustalono następujące warunki oznaczania chromatograficznego kwasu cyjanurowego:

- temperatura kolumny Ultra C18 25°C
- faza ruchoma
(metanol: bufor fosforanowy) 5: 95
- natężenie przepływu fazy ruchomej 0,8 ml/min
- długość fali analitycznej detektora 225 nm
- objętość wstrzykiwanej próbki 1 μl .

Należy zaznaczyć, że czas retencji oraz wielkość piku pochodzącego od kwasu cyjanurowego zależą od pH przygotowanego buforu wchodzącego w skład fazy ruchomej.

Przyjęte warunki chromatograficzne umożliwiają oznaczanie kwasu cyjanurowego w obecności mocznika (ryc. 1).



Rycina 1. Chromatogram roztworu zawierającego mocznik i kwas cyjanurowy (CYA) w buforze fosforanowym. Kolumna Ultra C18, detektor DAD. Piki o czasach retencji: 3,0 min – mocznik i 3,4 min – kwas cyjanurowy

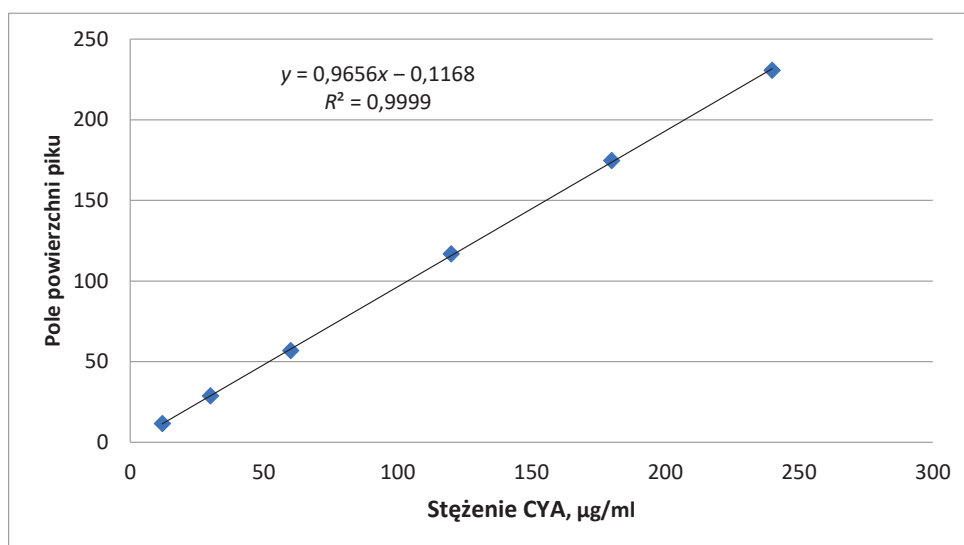
Figure 1. Chromatogram of a solution of urea and cyanuric acid (CYA) in phosphate buffer. Ultra C18 column, DAD. Peaks with retention times: 3.0 min – urea and 3.4 min – cyanuric acid

Analiza roztworu 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazy-ny (chlorku kwasu cyjanurowego o stężeniu około 0,5 mg/ml) w fazie ruchomej wykazała obecność piku o czasie retencji kwasu cyjanurowego. Na podstawie danych literaturowych stwierdzono, że kwas trichloroizocyjanurowy (*trichloroisocyanuric acid*, numer CAS: 87-90-1) jest czynnikiem zakłócającym oznaczanie, ponieważ reaguje z wodą (obecna w eluencie), tworząc kwas cyjanurowy (NIOSH 5030; Tucker, Blade 1992). Oznaczanie kwasu cyjanurowego z wykorzystaniem zaproponowanej metody analitycznej w obecności chlorku kwasu

cyjanurowego i kwasu trichloroizocyjanurowego w powietrzu jest obarczone błędem.

Kalibracja i precyzja

W celu wyznaczenia zakresu pomiarowego metody zbadano trzy serie roztworów kalibracyjnych o wzrastającym stężeniu kwasu cyjanurowego 12 ÷ 240 µg/ml w fazie ruchomej przez rozcieńczenie roztworu substancji o stężeniu 1 mg/ml. Współczynnik regresji krzywej kalibracji (ryc. 2) o równaniu $y = bx + a$ wyniósł 0,9999.



Rycina 2. Krzywa wzorcowania kwasu cyjanurowego (CYA)

Figure 2. Cyanuric acid calibration curve (CYA)

Oceniono precyzję oznaczeń kalibracyjnych poprzez analizę roztworów kwasu cyjanurowego o stężeniach: 12 µg/ml, 120 µg/ml i 240 µg/ml w fazie ruchomej. Po analizie ośmiu roztworów dla każdego stężenia obliczono odchylenie standardowe i współczynnik zmienności uzyskanych powierzchni pików (tab. 1). Współczynniki zmienności dla kolejnych poziomów stężenia związku wyniosły odpowiednio: 3,01%, 2,89% i 1,44%, co wskazuje na bardzo dobrą powtarzalność oznaczeń.

Badanie stopnia odzysku

Do wyodrębnienia kwasu cyjanurowego z powietrza zastosowano zgodnie z metodą NIOSH 5030 (1994) filtry z poli(chlorku winylu). Stopień odzysku kwasu cyjanurowego z filtrów PVC (o średnicy 25 mm) sprawdzono dla trzech poziomów masy substancji, tj.: 120 µg, 600 µg i 1200 µg. W tym celu na filtry z I serii (osiem sztuk) nanoszono po 75 µl roztworu o stężeniu 1,6 mg/ml kwasu cyjanurowego w fazie ruchomej. Następnie filtry umieszczono na 30 min w suszarce laboratoryjnej (o temp. 65°C) do wyschnięcia. Wysuszone filtry poddano ekstrakcji 10 ml fazy ruchomej w łaźni ultradźwiękowej przez 30 min. Po ekstrakcji roztwory znad filtra analizowano w ustalonych warunkach chromatograficznych.

Ze względu na słabą rozpuszczalność kwasu cyjanurowego w wodzie i innych rozpuszczalnikach organicznych naniesienie większej masy substancji na filtry wymagałoby naniesienia 375 µl i 750 µl roztworu wzorcowego o stężeniu 1,6 mg/ml

(i zalanie filtrów). Dlatego, aby sprawdzić odzysk większych ilości kwasu cyjanurowego z filtrów, powtarzano czynność nanoszenia 75 µl roztworu związku na pojedynczy filtr i suszenia w temperaturze 65°C. Przygotowano dwie serie filtrów (każda po osiem filtrów) poprzez naniesienie po 5 razy 75 µl roztworu kwasu cyjanurowego (600 µg CYA na filtr) i po 10 razy 75 µl roztworu kwasu cyjanurowego (1200 µg CYA na filtr).

Przeprowadzono ekstrakcję kwasu cyjanurowego z kolejnych serii filtrów (10 ml fazy ruchomej przez 30 min w łaźni ultradźwiękowej). Związek w roztworach znad filtrów oznaczano chromatograficznie. Dla każdej serii pomiarowej przygotowano również po trzy roztwory porównawcze, które także poddano analizie. Wyniki przedstawione w tabeli 2 wskazują, że zastosowany sposób ekstrakcji oraz faza ruchoma bardzo dobrze wymywiają kwas cyjanurowy z filtrów PVC. Współczynniki odzysku są powtarzalne. Średni współczynnik odzysku wyznaczony z trzech serii pomiarowych wyniósł 0,99.

Sprawdzenie warunków pobierania próbek powietrza

Do pobierania próbek powietrza wybrano próbniiki do frakcji wdychalnej z umieszczonym w środku filtrem PVC o średnicy 25 mm. W celu sprawdzenia sposobu pobierania próbek powietrza dla próbek o stężeniu kwasu cyjanurowego odpowiadającym 10 mg/m³ (najpierw etapami – podobnie jak przy badaniu stopnia odzysku) naniesiono na

Tabela 1. Wyniki precyzji (powtarzalności) oznaczania kwasu cyjanurowego (CYA)
Table 1. Results of precision (repeatability) determinations of cyanuric acid (CYA)

Numer serii	Stężenie roztworu CYA, µg/ml	Średnia powierzchnia pików (n = 8)	Odchylenie standardowe	Współczynnik zmienności, %	Średni współczynnik zmienności dla zakresu, %
1	12	11,61	0,35	3,01	2,52
2	120	118,23	3,33	2,82	
3	200	231,07	3,32	1,44	

Tabela 2. Wyniki badania odzysku kwasu cyjanurowego (CYA) z filtra PVC (10 ml fazy ruchomej, 30 min w łaźni ultradźwiękowej)
Table 2. Results of cyanuric acid (CYA) recovery tests from a PVC filter (10 ml mobile phase, 30 min in an ultrasonic bath)

Numer serii	Masa CYA naniesiona na filtr PVC, µg	Średnia powierzchnia pików roztworów po odzysku (n = 8)	Średnia powierzchnia pików roztworów porównawczych (n = 3)	Średni współczynnik odzysku	Współczynnik zmienności, %
1	120	11,9	12,06	0,99	2,10
2	600	58,5	58,55	1,00	3,26
3	1200	122,6	122,73	1,00	1,46

cztery filtry PVC po 1200 µg związku. Po wysuszeniu pojedyncze filtry umieszczono w próbnikach do pobierania frakcji wdychalnej. Przez próbnyki (przy użyciu pompki) przepuszczono po 120 l powietrza ze stałym strumieniem objętości 2 l/min, po czym filtry pozostawiono w ekzykatorze. Następne dnia przeprowadzono ekstrakcję kwasu cyjanurowego z filtrów (10 ml fazy ruchomej). Tak uzyskane roztwory analizowano chromatograficznie. Wyniki oznaczenia kwasu cyjanurowego w roztworach porównano z wynikami roztworów porównawczych uzyskanych dla III serii pomiarowej przy badaniu współczynnika odzysku (tab. 3). Różnica między średnimi polami powierzchni pików związku oznaczonego w ekstraktach z filtrów PVC a roztworami porównawczymi była mniejsza niż 0,2%. Uzyskane wyniki wskazują na zatrzymywanie się kwasu cyjanurowego na filtrze z poli(chlorku winylu).

Badanie trwałości roztworów

Do badania trwałości roztworów stosowano roztwory kwasu cyjanurowego w fazie ruchomej o stężeniach: 12,0 µg, 60,0 µg i 120,0 µg związku w 1 ml, które przechowywano w chłodziarce. Wyniki badań trwałości roztworów po 5, 8 i 15 dniach przechowywania w obniżonej temperaturze i bez dostępu światła przedstawiono w tabeli 4. Maksymalne zmiany powierzchni pól w funkcji czasu przechowywania w chłodziarce zaobserwowano w 8. dniu przechowywania roztworów. Ich wartości nie przekraczały 2%. Uzyskane wyniki wskazują, że roztwory kwasu cyjanurowego przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość co najmniej 15 dni.

Tabela 3. Badania adsorpcji kwasu cyjanurowego (CYA) na filtrach PVC
Table 3. Cyanuric acid (CYA) adsorption studies on PVC filters

Przybliżone stężenie CYA w powietrzu	Strumień objętości pochłanianego powietrza	Powierzchnia pików CYA w roztworze:	
		po ekstrakcji z filtra	porównawczym
10 mg/m³	2 l/min	121,95	122,73
		121,35	
		123,90	
		123,15	
		122,25	
		122,40	
		122,85	
		122,40	

Tabela 4. Wyniki badania trwałości roztworów kwasu cyjanurowego (CYA) przechowywanych w chłodziarce
Table 4. Results of a stability study of cyanuric acid (CYA) solutions stored in a refrigerator

Stężenie CYA, µg/ml	Czas przechowywania, liczba dni	Średnia powierzchnia pików (n = 2)	Odchylenie standardowe	Zmiana powierzchni pól w funkcji czasu przechowywania w chłodziarce, %
12	0	11,55	0,30	0
	5	11,55	0,27	0
	8	11,69	0,06	1,21
	15	11,42	0,06	-1,13
60	0	56,66	0,85	0
	5	56,60	0,21	-0,11
	8	57,15	0,39	0,86
	15	56,92	0,32	0,46
120	0	116,13	0,61	0
	5	115,33	1,75	-0,69
	8	114,25	0,06	-1,62
	15	114,39	0,39	-1,50

Badanie trwałości próbek

W celu zbadania trwałości próbek powietrza przygotowano filtry PVC: dwanaście filtrów z naniesionymi po 80 µl roztworu 1,6 mg/ml kwasu cyjanurowego w fazie ruchomej (I seria) i dwanaście filtrów z naniesionymi 5 razy po 80 µl roztworu 1,6 mg/ml kwasu cyjanurowego w fazie ruchomej (II seria). W dniu przygotowania próbek przeprowadzono analizę trzech filtrów z każdej serii. Pozostałe filtry zabezpieczono przed dostępem wilgoci i przechowywano w temperaturze pokojowej. Wyniki badań trwałości próbek I i II serii (po trzy filtry), przechowywanych przez 3, 9 i 14 dni, przedstawiono w tabeli 5. Maksymalną zmianę powierzchni pól kwasu cyjanurowego w funkcji czasu przechowywania próbek zaobserwowano w 14. dniu przechowywania próbek z naniesionymi 640 µg związku. Do 9. dnia przechowywania próbek zmiany powierzchni pól pików kwasu cyjanurowego nie przekroczyły 5%. Próbkę zawierającą kwas cyjanurowy szczelnie zamkniętą i przechowywaną w temperaturze pokojowej zachowują trwałość co najmniej 9 dni.

Dane walidacyjne metody

Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482:2021, która określa podstawowe wymagania dotyczące procedur oznaczania stężenia czynników chemicznych w atmosferze w miejscu pracy. Wymagania te mają zastosowanie do wszystkich etapów procedur pomiarowych, niezależnie od fizycznej postaci czynnika chemicznego (gaz, para, cząstki unoszące się w powietrzu), procedur pomiarowych z oddzielnymi metodami pobierania próbek i metodami analitycznymi.

Uzyskano następujące parametry walidacyjne metody oznaczania kwasu cyjanurowego:

- zakres pomiarowy 12 ÷ 240 µg/ml (1 ÷ 20 mg/m³ dla próbki powietrza 120 l)
- granica wykrywalności, LOD 0,49 µg/ml
- granica oznaczalności, LOQ 1,5 µg/ml
- współczynnik korelacji krzywej wzorcowania, r 0,9999
- współczynnik odzysku 0,99
- precyzja badania 2,52%
- względna niepewność złożona 12,2%
- względna niepewność rozszerzona (dla poziomu ufności 95% i współczynnika rozszerzenia, k = 2) 24,4%.

Opracowana metoda spełnia wymagania stawiane procedurom oznaczania stężeń substancji w powietrzu na stanowiskach pracy.

PODSUMOWANIE

Na podstawie wyników badań ustalono warunki oznaczania kwasu cyjanurowego (CYA) w powietrzu na stanowiskach pracy.

Opracowana metoda polega na zatrzymaniu obecnego w badanym powietrzu kwasu cyjanurowego na filtrze z poli(chlorku winylu)

Tabela 5. Wyniki badania trwałości próbek przechowywanych w temperaturze pokojowej
Table 5. Results of stability testing of samples stored at room temperature

Masa CYA, µg	Czas przechowywania, liczba dni	Średni współczynnik odzysku (n = 3)	Zmiana współczynnika odzysku CYA w funkcji czasu przechowywania, %
128	0	0,99	–
	3	0,97	-2,0
	9	0,99	0
	14	0,98	-1,0
640	0	1,00	–
	3	0,97	-3,0
	9	0,96	-4,0
	14	0,94	-6,0

umieszczonym w próbniku umożliwiającym wyodrębnienie z badanego powietrza frakcji wdychalnej, wymyciu zatrzymanej substancji mieszaniną metanolu z buforem fosforanowym i analizie uzyskanego roztworu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną. Metody nie stosuje się w przypadku obecności w powietrzu chlorku kwasu cyjanurowego i kwasu trichloroizocyjanurowego.

PIŚMIENNICTWO

Brakevelt E., Lau B.P.Y., Feng S. i in. (2011). Determination of melamine, ammeline, ammelide and cyanuric acid in infant formula purchased in Canada by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 28(6), 698–704.

Briggle T.V., Allen L.M., Duncan R.C. i in. (1981). High performance liquid chromatographic determination of cyanuric acid in human urine and pool water. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 64(5), 1222–1226.

Cantu R., Evans O., Kawahara F.K. i in. (2000). An HPLC method with UV detection, pH control, and reductive ascorbic acid for cyanuric acid analysis in water. *Anal. Chem.* 72, 5820–5828.

Downes C.J., Mitchell J.W., Viotto E.S. i in. (1984). Determination of cyanuric acid levels in swimming pool waters by U.V. absorbance, HPLC and melamine cyanurate precipitation. *Wat. Res.* 18(3), 277–280.

Draher J., Pound V., Reddy T.M. (2014). Validation of a rapid method of analysis using ultrahigh-performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry for nitrogen-rich adulterants in nutritional food ingredients. *J. Chromatogr. A* 1373, 106–113.

ECHA, European Chemicals Agency (2023). Cyanuric acid. Brief Profile, <https://echa.europa.eu/pl/brief-profile/-/brief-profile/100.003.290> [dostęp: 25.04.2023].

Gawęda E. (1997). Kwas cyjanurowy. *Podst. Met. Oceny Środow.* Pr. 17, 79–82.

GESTIS (2023). GESTIS Substance database. Germany, Sankt Augustin, BG Institute for Occupational Safety and Health, <https://gestis-database.dguv.de/data?name=027480> [dostęp: 25.04.2023].

NIOSH, National Institute for Occupational Safety and Health (1994). Method No. 5030. Cyanuric acid. NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM).

Opracowana metoda umożliwia oznaczanie kwasu cyjanurowego w zakresie stężeń $1/10 \div 2$ wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS), tj. $1 \div 20 \text{ mg/m}^3$ dla próbki powietrza 120 l. Spełnia wymagania zawarte w normie europejskiej PN-EN 482. Metoda może być wykorzystana do oceny narażenia zawodowego na stanowiskach pracy.

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

PubChem (2023). Cyanuric acid (compound). National Library of Medicine, 8600 Rockville Pike, Bethesda, MD 20894, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7956#section=Use-Classification> [dostęp: 16.05.2023].

Rozporządzenie Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej z dnia 12 czerwca 2018 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. *DzU* 2018, poz. 1286 ze zm.

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 dyrektywę 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (zwanego rozporządzeniem GHS) *Dz. Urz. UE L* 353 z 31.12.2008 ze zm.

Tucker S.P., Blade L.M. (1992). Determination of cyanuric acid or trichloroisocyanuric acid in air. *Anal. Lett.* 25(12), 2265–2277.

Wojtowicz J.A. (2001). Cyanuric acid technology, <https://www.poolhelp.com/home/jspsi/>. *J. Swimming Pool Spa Ind.* 4(2), 9–16.

Yao Y., Wen Y., Yang C. i in. (2020). Determination and correlation for solubilities of urea and cyanuric acid in organic solvents from 300.75 K to 369.45 K. *Thermochimica Acta* 689, 178613.

Zhu H., Kannan K. (2019). Melamine and cyanuric acid in foodstuffs from the United States and their implications for human exposure. *Environ. Int.* 130, 104950.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA KWASU CYJANUROWEGO (1,3,5-TRIAZINANO-2,4,6-TRIONU / 1,3,5-TRIAZYNO-2,4,6-TRIOLU) W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY

1. Zakres procedury

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania frakcji wdychalnej 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu (kwas cyjanurowy, numer CAS: 108-80-5) w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną. Metodę stosuje się podczas kontroli warunków sanitarnohigienicznych. Najmniejsze stężenie frakcji wdychalnej 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi 1 mg/m^3 (dla próbki powietrza o objętości 120 l). Metody nie stosuje się w przypadku obecności w powietrzu chlorku kwasu cyjanurowego i kwasu trichloroizocyjanurowego.

2. Powołania normatywne

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

PN-EN 481 Atmosfera miejsca pracy – Określenie składu ziarnowego dla pomiaru cząstek zawieszonych w powietrzu.

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 obecnego w badanym powietrzu 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu na filtrze z poli(chlorku winylu), wymyciu zatrzymanej substancji mieszaniną metanolu z buforem fosforanowym i analizie chromatograficznej tak uzyskanego roztworu.

4. Postanowienia ogólne

4.1. Dokładność ważenia

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

4.2. Postępowanie z substancjami niebezpiecznymi

Czynności związane z substancjami niebezpiecznymi należy wykonywać pod sprawnie działającym wyciągiem laboratoryjnym.

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

5. Odczynniki, roztwory i materiały

Do analizy, o ile nie zaznaczono inaczej, należy stosować substancje o stopniu czystości co najmniej cz.d.a. (czysty do analizy) oraz wodę destylowaną o czystości do HPLC, zwaną w dalszej części normy – wodą.

5.1. 1,3,5-Triazinano-2,4,6-trion/ 1,3,5-triazyno-2,4,6-triol

5.2. Metanol, o czystości do HPLC

5.3. Wodorofosforan disodu

Stosować wodorofosforan(V) disodu bezwodny.

5.4. Kwas fosforowy(V), stężony o ułamku masowym 85%

Stosować kwas fosforowy(V) o stężeniu 85%.

5.5. Bufor fosforanowy

Stosować bufor fosforanowy $0,005 \text{ mol/l Na}_2\text{HPO}_4$ przygotowany w następujący sposób: odważyć około 0,71 g wodorofosforanu disodu bezwodnego wg punktu 5.3 i przenieść do kolby miarowej o pojemności 1000 ml, uzupełnić do kreski wodą i zawartość dokładnie wymieszać. Następnie dodać taką ilość kwasu fosforowego(V) wg punktu 5.4, aby uzyskać roztwór o wartości $\text{pH} = 7$. Czas retencji pików i wielkość pików 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu zależą od pH , dlatego należy przygotować taką ilość buforu, aby wystarczyła do przeprowadzenia całości oznaczania.

5.6. Faza ruchoma

Stosować roztwór metanolu wg punktu 5.2 w buforze fosforanowym wg punktu 5.5 w stosunku objętościowym metanol: bufor fosforanowy (5: 95). Roztwór ten stosować także jako rozpuszczalnik do przygotowywania roztworów i ekstrakcji.

5.7. Roztwór wzorcowy podstawowy 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu

Do zważonej kolby miarowej o pojemności 25 ml odważyć około 25 mg 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu wg punktu 5.1, kolbę uzupełnić do kreski fazą ruchomą wg punktu 5.6 i dokładnie wymieszać. Stężenie 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu w tak przygotowanym roztworze wynosi około 1 mg/ml. Obliczyć dokładne stężenie roztworu.

Roztwór przechowywany w chłodziarce zachowuje trwałość co najmniej 9 dni.

5.8. Roztwory wzorcowe robocze 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu

Do sześciu kolb miarowych o pojemności 10 ml odmierzyć kolejno: 0,12 ml, 0,3 ml, 0,6 ml, 1,2 ml, 1,8 ml i 2,4 ml roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 5.7, uzupełnić do kreski roztworem wg punktu 5.6 i wymieszać. Stężenie w tak przygotowanych roztworach wynosi odpowiednio: 12 µg/ml, 30 µg/ml, 60 µg/ml, 120 µg/ml, 180 µg/ml i 240 µg/ml.

Roztwory przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość co najmniej 15 dni.

5.9. Roztwór wzorcowy 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyn-2,4,6-triolu do badania odzysku

Do zważonej kolby miarowej o pojemności 10 ml odważyć około 16 mg 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu, uzupełnić do kreski fazą ruchomą wg punktu 5.6 i dokładnie wymieszać. W miarę potrzeby zastosować łąźnię ultradźwiękową do rozpuszczenia substancji. Stężenie 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu w tak przygotowanym roztworze wynosi około 1,6 mg/ml. Obliczyć dokładne stężenie roztworu.

Roztwór przechowywany w chłodziarce zachowuje trwałość co najmniej 15 dni.

5.10. Filtry

Filtry z poli(chlorku winylu) o średnicy 25 mm i średnicy porów 5,0 µm.

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

Stosować typowy sprzęt laboratoryjny oraz następujący:

6.1. Wysokosprawny chromatograf cieczowy
Wysokosprawny chromatograf cieczowy z detektorem spektrofotometrycznym umożliwiającym wykonanie analizy przy długości fali analitycznej $\lambda = 225$ nm.

6.2. Kolumna chromatograficzna
Kolumna chromatograficzna umożliwiająca oznaczanie 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu w obecności innych 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 (np. ULTRA C18).

6.3. Pompa ssąca
Pompa ssąca umożliwiająca pobieranie próbek powietrza ze stałym strumieniem objętości wg rozdziału 7.

6.4. Łąźnia ultradźwiękowa

6.5. Próbnik
Dostępne w handlu i stosowane zgodnie z instrukcją producenta próbniaki lub separatory do pobierania frakcji wdychalnej aerozolu.

6.6. Filtry strzykawkowe
Stosować filtry strzykawkowe teflonowe o średnicy porów 0,45 µm i średnicy 25 mm.

6.7. Kolby stożkowe
Kolby stożkowe o pojemności 25 ml, wyposażone w korki.

6.8. Strzykawki
Strzykawki do cieczy o pojemności od 5 µl do 10 ml.

7. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać wg normy PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek przez filtr wg punktu 5.10 umieszczony w próbniku wg punktu 6.5 przepuścić do 120 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości zalecanym przez producenta separatora frakcji (najczęściej 2 l/min) za pomocą pompy wg punktu 6.3.

Pobrane próbki przechowywane w temperaturze pokojowej i szczelnie zamknięte są trwałe przez 10 dni.

8. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy dobrać tak, aby uzyskać rozdzielenie 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu. W przypadku stosowania kolumny wg punktu 6.2 zastosowano przykładowe warunki oznaczania:

- skład fazy ruchomej
(metanol wg punktu 5.2:
bufor fosforanowy
wg punktu 5.5) 5: 95
- strumień objętości
fazy ruchomej 0,8 ml/min
- temperatura kolumny 25°C
- długość fali analitycznej
detektora spektrofotometrycznego 225 nm
- dozowanie próbki 1 µl.

9. Sporządzanie krzywej wzorcowania

Do chromatografu wprowadzić po 1 µl roztworów wzorcowych roboczych 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu wg punktu 5.8. Z każdego roztworu wzorcowego należy 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 wzorcowania, odkładając na osi odciętych stężenie 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu, w mikrogramach na mililitr, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików.

Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowania.

10. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza wg rozdziału 7 z próbnika wg punktu 6.5 przenieść filtr do kolby stożkowej wg punktu 6.7 i dodać 10 ml fazy ruchomej wg punktu 5.6. Jednocześnie, w celu sporządzenia roztworu próbki ślepej, postępować w identyczny sposób z nieużywanym filtrem wg punktu 5.10. Tak przygotowane próbki należy umieścić na 30 min w łaźni ultradźwiękowej wg punktu 6.4. Otrzymane roztwory znad filtrów należy przepuścić przez filtry strzykawkowe wg punktu 6.6

i analizować chromatograficznie w warunkach określonych w rozdziale 8. Wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Stężenie 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu w badanym roztworze odczytać z wykresu krzywej wzorcowania, w mikrogramach na mililitr. W taki sam sposób wykonać oznaczanie substancji w roztworze uzyskanym w próbce ślepej.

11. Wyznaczanie współczynnika odzysku

W pięciu kolbach stożkowych wg punktu 6.7 umieścić filtr wg punktu 5.10. Następnie na filtry nanieść po 80 µl roztworu 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu do badania odzysku wg punktu 5.9. W szóstej kolbie przygotować próbkę kontrolną zawierającą czysty filtr wg punktu 5.10. Kolby zamknąć i pozostawić do następnego dnia. Oznaczanie badanej substancji wykonać wg rozdziału 10. Jednocześnie wykonać oznaczanie badanej substancji co najmniej w trzech roztworach porównawczych, przygotowanych przez dodanie 80 µl roztworu 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu do badania odzysku wg punktu 5.9 do 10 ml fazy ruchomej wg punktu 5.6.

Współczynnik odzysku dla 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu (d) obliczyć wg wzoru:

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

w którym:

- P_d – średnia powierzchnia piku 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu roztworów po ekstrakcji,
- P_o – średnia powierzchnia piku o czasie retencji 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu roztworu kontrolnego,
- P_p – średnia powierzchnia piku 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu roztworów porównawczych.

Następnie obliczyć średnią wartość współczynników ekstrakcji 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/

1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu ($\bar{d}$) jako średnią arytmetyczną otrzymanych wartości (d).

Współczynnik ekstrakcji należy wyznaczać dla każdej nowej partii filtrów.

12. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu (X) w badanym powietrzu obliczyć, w miligramach na metr sześcienny, wg wzoru:

$$X = \frac{C \cdot 10}{V \cdot \bar{d}}$$

w którym:

- C – stężenie 1,3,5-triazinano-2,4,6-trionu/1,3,5-triazyno-2,4,6-triolu w roztworze uzyskanym z nad filtra odczytane z krzywej wzorcowania, w mikrogramach na mililitr,
- 10 – całkowita objętość badanego roztworu, w mililitrach,
- V – objętość powietrza przepuszczonego przez filtr, w litrach,
- $\bar{d}$ – średnia wartość współczynnika odzysku wyznaczona wg rozdziału 11.