

Rakotwórcze wielopierścieniowe substancje organiczne występujące we frakcji cząstek drobnych – metoda oznaczania¹

Carcinogenic polycyclic organic substances in the fine particles – determination method

dr MAŁGORZATA SZEWCZYŃSKA
e-mail: mapol@ciop.pl
dr MAŁGORZATA POŚNIAK
e-mail: mapos@ciop.pl
Centralny Instytut Ochrony Pracy –
Państwowy Instytut Badawczy
00-701 Warszawa
ul. Czerniakowska 16

Słowa kluczowe: substancje rakotwórcze, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, frakcje drobne, spaliny.

Keywords: carcinogens, polycyclic aromatic hydrocarbons, fraction of fine particles, fumes.

Streszczenie

Zagadnienia związane z emisją substancji chemicznych ze spalin z silników Diesla są wciąż przedmiotem wielu badań, których wyniki mogą się przyczynić, między innymi, do redukcji zanieczyszczeń oraz określenia ich składu chemicznego. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) zmieniła klasyfikację cząstek spalin z silników Diesla z grupy 2.A. – mieszaniny

prawdopodobnie rakotwórcze, na grupę 1., czyli substancje rakotwórcze dla człowieka.

W danych GUS z 2010 r. podano, że przeciętne zatrudnienie w Polsce na podstawie stosunku pracy w transporcie ogółem wynosi 480 tys. osób, natomiast liczba osób narażonych na spaliny silnika Diesla wynosi 20 719 osób.

¹ Publikacja opracowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach III etapu programu wieloletniego pn. „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2014-2016 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Narodowego Centrum Badań i Rozwoju.
Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

Celem pracy było opracowanie metody oznaczania rakotwórczych wielopierścieniowych substancji (WWA) organicznych występujących we frakcji cząstek drobnych emitowanych do środowiska, podczas eksploatacji pojazdów samochodowych z silnikiem Diesla.

Do pobierania frakcji cząstek stałych emitowanych do środowiska zastosowano kaskadowe próbniki SPCI (*sioutas personal cascade impactor*) oraz 13-poziomowy niskociśnieniowy impaktor kaskadowy ELPI (*electric low pressure impactor*). Ustalono, że najlepsze rezultaty, w przypadku zastosowania próbników SPCI oraz ELPI, uzyskuje się przy pobieraniu próbek na filtry teflonowe i filtry aluminiowe. Analizy zaadsorbowanych na cząstkach stałych substancji rakotwórczych, w tym wielopierścieniowych węglowod-

rów aromatycznych, prowadzono metodą wysokosprawną chromatografię cieczową z detekcją fluorescencyjną w układzie faz odwróconych.

Zastosowanie metody wysokosprawną chromatografię cieczową z detekcją fluorescencyjną HPLC/FL umożliwia oznaczanie 9 rakotwórczych węglowodórów w zakresie stężeń $0,0025 \div 1,00 \text{ mg l}^{-1}$. Współczynnik korelacji krzywej kalibracji wynosi 0,99.

Na podstawie otrzymanych wyników opracowano procedurę oznaczania wielopierścieniowych węglowodórów aromatycznych występujących we frakcjach cząstek emitowanych ze spalin silników z wykorzystaniem próbniaka kaskadowego SPCI, którą zamieszczono w Załączniku.

Summary

Issues associated with the emission of chemical substances from diesel exhaust are still the subject of many studies that lead to, among others, the reduction of pollution and determination of their chemical composition. The International Agency for Research on Cancer (IARC) reclassified exhaust particles from diesel engines from group 2A (probably carcinogenic mixture) to group 1 (carcinogen for humans). According to GUS data from 2010, 480 thousand people were employed in the transport industry, while the number of people exposed to the diesel exhaust was a total of 20719.

The aim of this paper was to develop a method for determining carcinogenic polycyclic organic substances occurring in the fraction of fine particles emitted into the environment during the operation of vehicles with diesel engines.

Sioutas personal cascade impactor (SPCI) and a 13-tier low-pressure cascade impactor ELPI were

used to collect the fraction of particles emitted into the environment. The best results are obtained when using teflon and aluminum filters for samples. The analysis of carcinogens including polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed on particular matter was performed with high-performance liquid chromatography with fluorescence detection in reverse phase.

Application of high performance liquid chromatography with fluorescence detection HPLC/FL makes it possible to determine 9 carcinogenic hydrocarbons in the concentration range of $0.0025\text{--}1.00 \text{ mg l}^{-1}$. The correlation coefficient of the calibration curve was 0.99.

The procedure for determining PAH present on fractions of particles emitted from engine exhaust gases with a commercial probe SPCI was developed on the basis of the results.

WPROWADZENIE

W powietrzu atmosferycznym, a także w powietrzu otaczającym człowieka w pomieszczeniach pracy oraz życia są zawieszane cząstki, które mogą wywoływać negatywny wpływ na zdrowie człowieka. Jednym z istotnych źródeł niebezpiecznych dla zdrowia czynników są spaliny silników Diesla, czyli mieszaniny związków chemicznych powstające w wyniku niedoskonałego spalania oleju napędowego i silnikowego, a także zawartych w nich modyfikatorów i zanieczyszczeń. Te niepożądane produkty spalania są wydzielane do atmosfery w postaci cząstek stałych o różnych wymiarach i kształtach, jak również w postaci gazów i par.

Spalinami silników, przede wszystkim Diesla, interesują się naukowcy zarówno w Polsce, jak i na świecie, o czym świadczą liczne publikacje wyników analiz: składu spalin, oceny narażenia zawodowego i środowiskowego, badań toksykologicznych i epidemiologicznych, jak również publikacje przeglądowe wskazujące kierunki dalszych badań w tym obszarze (*Maricq 2007; Bunn i in. 2007; Ozsezen i in. 2009*). Publikacje te dotyczą głównie spalin emitowanych podczas spalania konwencjonalnych paliw.

W związku z koniecznością ograniczenia emisji zanieczyszczeń przez silniki spalinowe, na całym świecie zwiększa się zainteresowanie

stosowaniem paliw przyjaznych środowisku. W wielu państwach są prowadzone badania w kierunku zastępowania konwencjonalnego paliwa (petrodiesel) takimi paliwami alternatywnymi, jak biodiesel czy etanol. Pojawia się jednak pytanie, czy paliwa te przynoszą jedynie korzyści, czy może będą również wywoływały niekorzystne skutki dla środowiska i zdrowia człowieka, podobne do tych, których przyczyną są powstające w wyniku spalania konwencjonalnego paliwa wieloskładnikowe mieszaniny szkodliwych ksenobiotyków (m.in. rakotwórczych, mutagennych i działających szkodliwie na rozrodczość), emitowanych do środowiska zarówno jako faza gazowa, jak również w postaci cząstek drobnych i bardzo drobnych (*Demirbas 2009; Basha i in. 2009; Sharma i in. 2008*).

Warunki zimnego rozruchu silnika sprzyjają emisji zwiększonej ilości emitowanych cząstek stałych oraz zmianie składu frakcyjnego. Wzrost udziału cząstek stałych (PM), pochodzących z niespalonego paliwa, jest związany z dużą ilością powstających w tych warunkach węglowodorów. Niska temperatura w cylindrze i w układzie wylotowym sprzyja kondensacji tych związków na cząsteczkach sadzy.

CZĄSTKI STAŁE POCHODZĄCE Z SILNIKÓW DIESLA

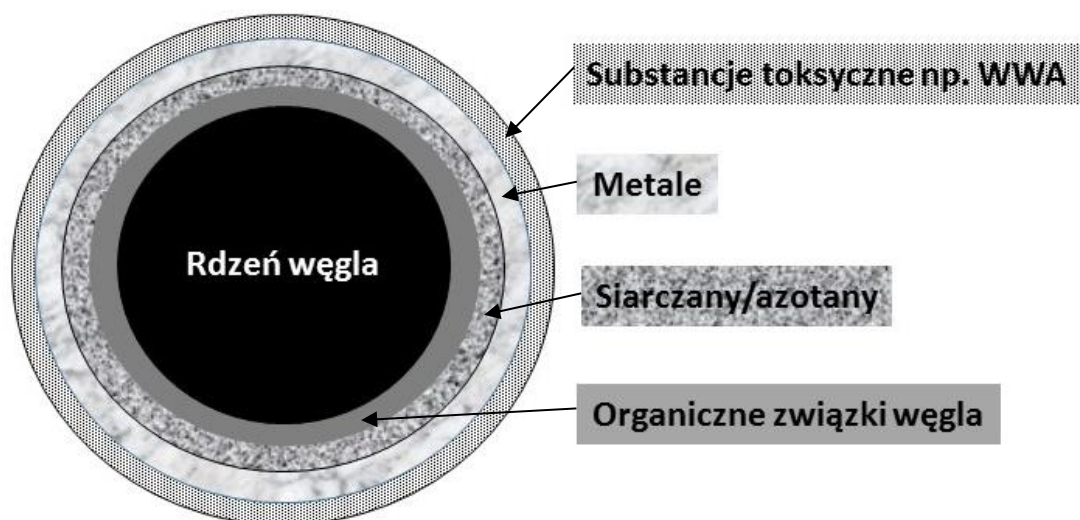
Cząstki stałe pochodzące z silników Diesla są mieszaniną sadzy i rozpuszczalnej frakcji organicznej (SOF). Sadza składa się z cząstek pierwotnych, które są połączone razem w agregaty o koloidalnych rozmiarach. Organiczna frakcja rozpuszczalna zawarta w cząstkach stałych w spalinach z Diesla jest wagowo znacznie większa niż frakcja sadzy. Ekstrakt z organicznej części cząstek stałych zawiera głównie nie-

spalone węglowodory, które również znajdują się pierwotnie w paliwie – oleju napędowym. W emitowanych cząstkach stałych rozróżnia się dwie zasadnicze fazy: organiczna frakcja rozpuszczalna i frakcja nierozpuszczalna, której podstawową częścią jest węgiel stały. Organiczna część frakcji rozpuszczalnej składa się z niespalonych węglowodorów, które pochodzą z:

- zbyt ubogiej lub zbyt bogatej mieszanki paliwowo-powietrznej
- uderzenia strugi paliwa o ścianki komory spalania lub porywania kropeł
- paliwa z kolektorów dolotowych
- wygaszania płomienia w okolicy ścianek
- obniżania temperatury ładunku w czasie rozprężania.

Składnikami frakcji nierozpuszczalnej są, między innymi: azotany, metale i pozostałe cząsteczki zawierające węgiel (rys.1.).

Na ilość sadzy wydzielonej znaczny wpływ ma jakość rozpylenia paliwa oraz przygotowanie mieszanki palnej. W warunkach zimnego rozruchu rozpylenie nie jest właściwe, dominują duże krople, które mają stosunkowo małą powierzchnię parowania (Sharma i in. 2008).

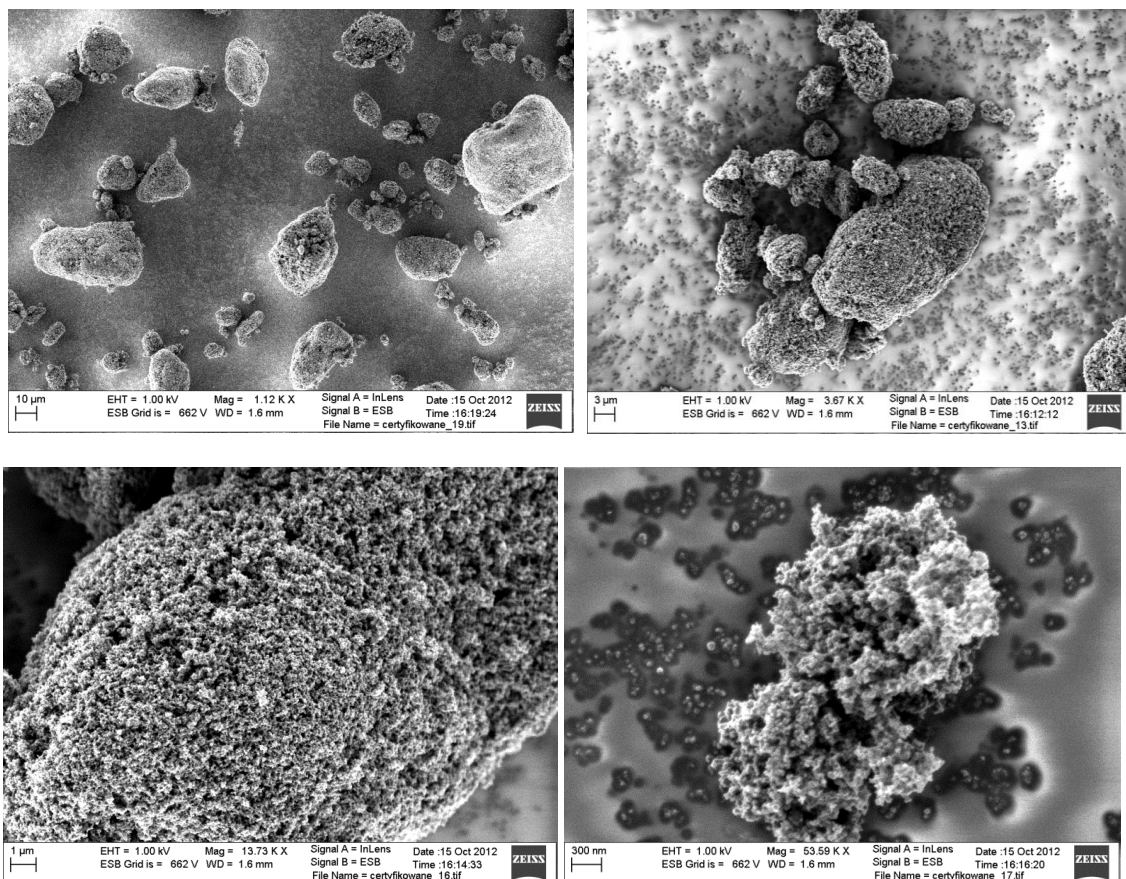


Rys. 1. Cząstka spalin z silnika Diesla

Na rysunku 2. przedstawiono obrazy z mikroskopu skaningowego certyfikowanego materiału odniesienia pyłów drobnodispersyjnych (SRM2975, Diesel Particular Matter – DPM, Industrial Forklift, NIST).

Wzorcowy pył DPM jest to agregat cząstek ultradrobnych frakcji $< 0,25 \mu\text{m}$, które powstają z pierwotnych cząstek aerozolu. Na podstawie wyników badań mikroskopem skaningowym potwierdzono powstawanie agregatów o dużej powierzchni zewnętrznej.

Na węglowym rdzeniu istnieją dogodne warunki do adsorpcji licznych związków, głównie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA), metali ciężkich i wielu innych o udowodnionym działaniu rakotwórczym.



Rys. 2. Obrazy mikroskopowe (SEM) materiału certyfikowanego SRM 2975

Aparatura, odczynniki i materiały

Do analizy jakościowej i ilościowej substancji chemicznych zaadsorbowanych na cząstkach emitowanych ze spalin z silników Diesla wykorzystano: chromatograf ciekłowy *elitachrom* z detektorem DAD i dedektorem fluorescencyjnym firmy Merck Hitachi; kolumnę *pinnacl* II PAH o długości 15 cm, średnicy wewnętrznej 3,2 mm i uziarnieniu złoża 4,6 µm.

Do ważenia filtrów stosowano ultramikrowagę XP2U/M (zakres ważenia do 2 g z działką odczytową 0,0001 mg).

W badaniach korzystano z następujących odczynników: acetonitryl, dichlorometan firmy J.T. Baker (USA); 65-procentowy kwas azotowy stężony; 37-procentowy kwas solny stężony firmy J.T. Baker (USA); wodę MilliQ; olej napędowy ecodiesel oraz verwa ON;

paliwo ze stacji koncernu Orlen; bioester B100 z rafinerii Trzebinia koncernu Orlen; zestaw certyfikowanych wzorców wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) EPA 610 *polynuclear aromatic hydrocarbons* Mix 100-2000 µg ml⁻¹ MEOH:CH₂Cl₂ (1:1).

Do pobierania próbek powietrza wykorzystywano następujące urządzenia i materiały: próbniki typu SPCI (*personal cascade sioutas impactor*) firmy SKC; niskociśnieniowy impaktor kaskadowy ELPI (*electric low pressure impactor*) z pompą olejowa 30 l min⁻¹; system rozcieńczania spalin *dekati diluter*; sprężarkę powietrza z osuszaczem; próbniki typu I.O.M do pobierania frakcji wdychalnej i respirabilnej; pompki ssące do pobierania próbek powietrza *leland legacy* o przepływie do 10 l min⁻¹ oraz *gilian* o przepływie 2 l/min; filtry PTFE,

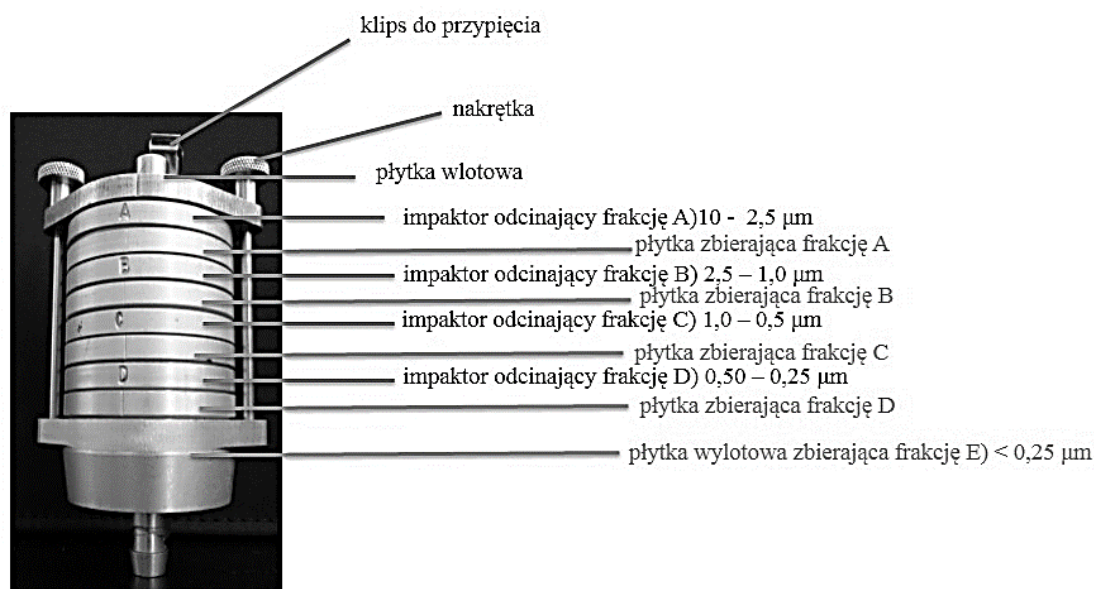
2 μm , o średnicy 37 mm firmy SKC; filtry aluminiowe o średnicy 25 mm firmy SKC; filtry teflonowe (PTFE) o średnicy 37 i 25 mm firmy

SKC; filtry celulozowe (MCE) o średnicy 25 mm firmy SKC.

PRÓBNIKI DO POBIERANIA FRAKCJI DROBNYCH CZĄSTEK SPALIN DO OZNACZANIA WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH

Nowy sposób ujmowania zagadnienia pobierania frakcji cząstek drobnych emitowanych ze spalin obejmuje zagadnienie pobierania próbek mikrośrodowiskowych z jednoczesnym pomiarem: masy, ich wielkości oraz składu chemicznego. Takie możliwości daje impaktor SPCI (*sioutas personal cascade impactor*), (rys. 3). Impactor ten może mieć zastosowanie

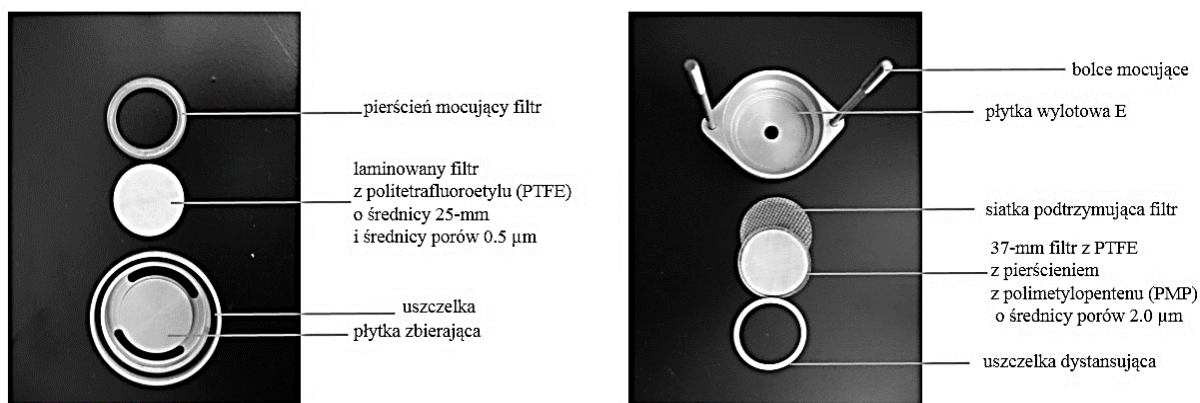
zarówno do indywidualnych pomiarów na stanowisku pracy osób narażonych na działanie pyłu drobnodispersyjnego, jak również do pomiarów powietrza zewnętrznego i wewnętrznego. Impactor rozdziela próbkę na pięć zakresów wielkości, które mogą być analizowane pod względem: masy, wielkości i składu chemicznego cząstek.



Rys. 3. Impactor SPCI (*sioutas personal cascade impactor*)

Na poziomie odcięcia (od A do D) na płytках zbierających należy umieścić cztery laminowane filtry z politetrafluoroetylu (PTFE) o średnicy 25 mm i średnicy porów 0,5 μm .

Na poziomie E opcjonalnie umieszcza się jeden 37-milimetrowy filtr z PTFE z pierścieniem z polimetylopentenu (PMP) o średnicy porów 2,0 μm (rys. 4.).



Rys. 4. Położenie filtrów na płytkach zbierających impaktora SPCI (*sioutas personal cascade impactor*)

Z próbnikiem SPCI (*sioutas personal cascade impactor*) do pobierania cząstek drobnych frakcji stałej spalin Diesla i biodiesla należy stosować wysokowydajne aspira-

tory/pompki typu *leland legacy pumps* umożliwiające pobieranie próbek z przepływem 9 l/min (rys. 5.).



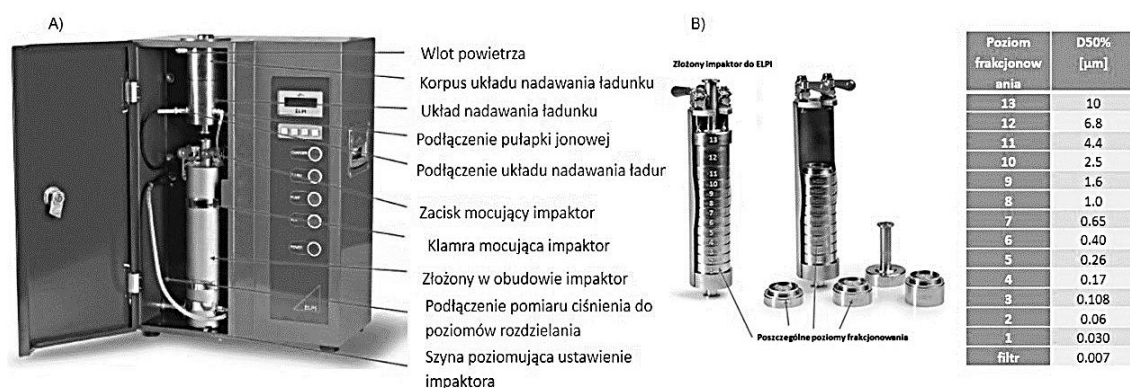
Rys. 5. Zestaw pomiarowy impaktor SPCI (*sioutas personal cascade impactor*) połączony z pompką

Elektryczny impaktor niskociśnieniowy ELPI (*electric low pressure impactor*) jest spektrometrem umożliwiającym zarówno pomiar wielkości cząstek w czasie rzeczywistym w celu określenia rozkładu wielkości cząstek występujących w aerozolu, w tym spalin, jak

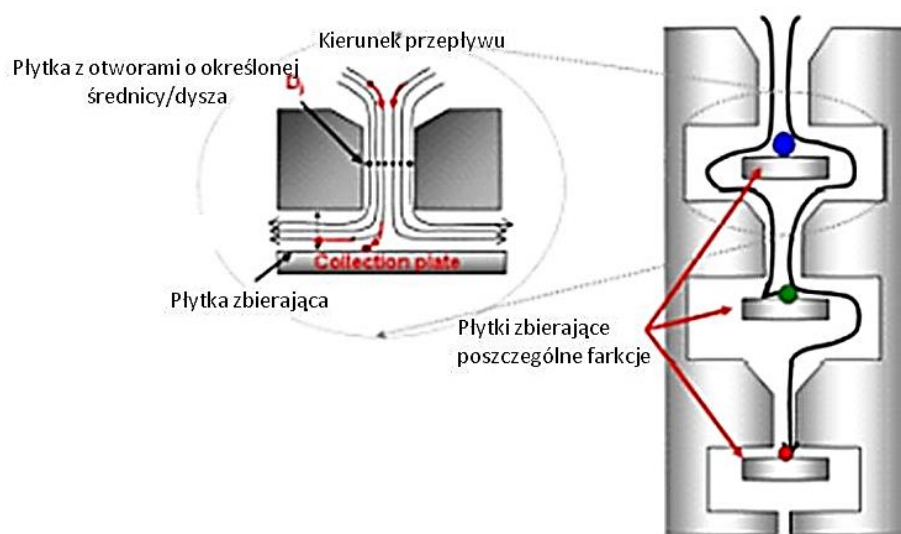
i zbieranie poszczególnych frakcji w celu ich analizy chemicznej. W impaktorze ELPI (rys. 6.) kaskadowy impaktor jest wykorzystywany do gromadzenia cząstek o wybranych wielkościach. Składa się z dwóch współliniowych płytek, z których jedna ma małe otwory

(dysze), a druga jest płytką zbierającą. Aerozol przenika przez otwory z dużą prędkością, robiąc jednocześnie ostry zwrot, tak aby przelecieć między płytkami. Cząstki większe od

określonej wielkości nie są w stanie wykonać tego ruchu i osiadają na płytce zbierającej (rys. 7.).



Rys. 6. Impaktor ELPI (A), impaktor (B) i wymiar cząstek na poszczególnych poziomach frakcjonowania



Rys. 7. Zasada działania impaktora ELPI (*electric low pressure impactor*)

Impaktor kaskadowy ELPI składa się z 13 płytek zbierających, połączonych ze sobą dyszami o coraz mniejszych średnicach. Najwyższy stopień (13.) ma średnicę 10 μm, podczas gdy najniższy (1.) – 30 nm. Impaktor ELPI wyznacza rozkład wymiarowy cząstek stałych w powietrzu w zakresie 0,03 ÷ 10 μm, tworząc 12-kanalowy podział w zależności od średnicy cząstek. Wykorzystując dodatkowy

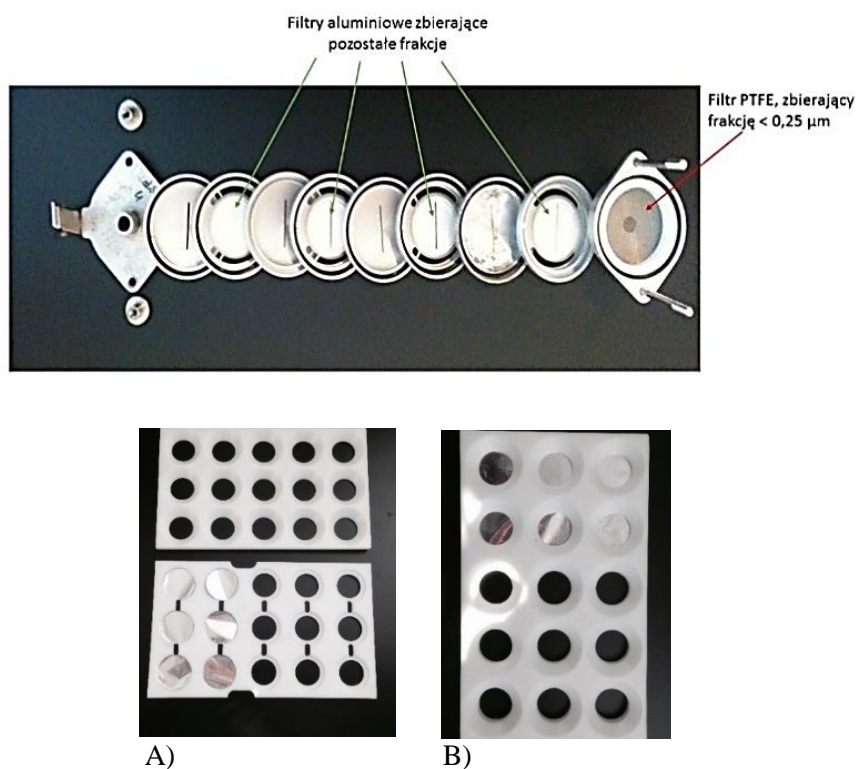
poziom filtracji, można rozszerzyć dolny zakres pomiarowy do 7 nm. Zasada działania urządzenia polega na: nadaniu cząstkom ładunku elektrycznego, ich bezwładnym rozdziale na impaktorze kaskadowym oraz detekcji ładunku elektrycznego na poszczególnych stopniach tego impaktora, przekazanego przez naładowane cząstki.

Przygotowanie filtrów do pobierania próbek

Przed przystąpieniem do pomiarów filtry teflonowe PTFE oraz filtry aluminiowe przechowywano przez 24 h w eksykatorze. W celu uzyskania wyników oznaczania stężenia substancji organicznych na masę frakcji cząstek stałych, konieczne jest zważenie filtrów aluminiowych i teflonowych przed umieszczeniem ich w próbniku.

Filtry aluminiowe stosowane w ELPI przed umieszczeniem w impaktorze układano w specjalnych teflonowych oprawkach

z teflonu (rys. 8.) i spryskiwano roztworem apiezonemu-L w rozpuszczalniku organicznym (tetrachlorek węgla, toluen, aceton), w celu poprawy przyczepności powierzchni aluminium. Po kilku minutach, gdy rozpuszczalnik odparował, pojedyncze filtry umieszczano na odpowiednich płytkach gromadzących w próbniku SPCI oraz w impaktorze ELPI na poziomach od 7. do 13., natomiast filtry aluminiowe z poziomów od 1. do 6. ważono pojedynczo, przed uprzednim włożeniem do impaktora ELPI.



Rys. 8. Przygotowanie filtrów do badań (A – wkładanie filtrów do oprawek, B – złożona oprawka)

Warunki ekstrakcji węglowodorów aromatycznych z filtrów

Po pobraniu próbek cząstek stałych spalin z silnika Diesla filtry z próbników przenoszono do polipropylenowych pudełek i umieszczano

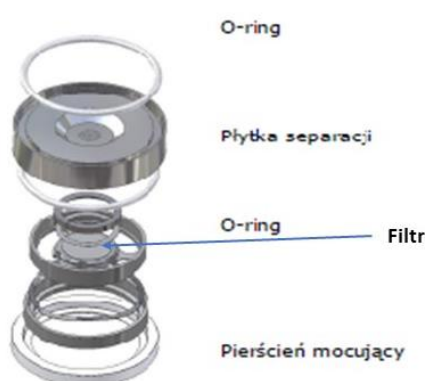
w eksykatorze na 24 h i po tym czasie ponownie ważono:

- filtr teflonowy zbierający frakcję $< 0,25 \mu\text{m}$
- pojedyncze filtry z impaktora EPLI z pozycji od 1. do 6.

Następnie w kolbach Elenmayera o pojemności 10 ml umieszczano oddzielnie filtr teflonowy zbierający frakcję $< 0,25 \mu\text{m}$ oraz razem wszystkie filtry aluminiowe z próbnika SPCI (rys. 9.A). W przypadku filtrów aluminiowych z ELPI oddzielnie umieszczano filtry z pozycji od 1. do 6. oraz razem od 7. do 13. (rys. 9.B).

Filtry ekstrahowano 5 ml dichlorometanu w łaźni ultradźwiękowej z lodem przez 60 min. Ekstrakty z filtrów odparowywano do sucha w atmosferze azotu, suchą pozostałość rozpuszczano w 1 ml acetonitrylu i poddawano analizie chromatograficznej

A)



B)

Rozłożony poziom frakcjonowania

Poziom frakcjonowania	D50%[μm]	
13	10	Analizowane razem
12	6.8	
11	4.4	
10	2.5	
9	1.6	
8	1.0	
7	0.65	
6	0.40	Analizowane pojedynczo
5	0.26	Analizowane pojedynczo
4	0.17	Analizowane pojedynczo
3	0.108	Analizowane pojedynczo
2	0.06	Analizowane pojedynczo
1	0.030	Analizowane pojedynczo
filtr	0.007	Analizowane pojedynczo

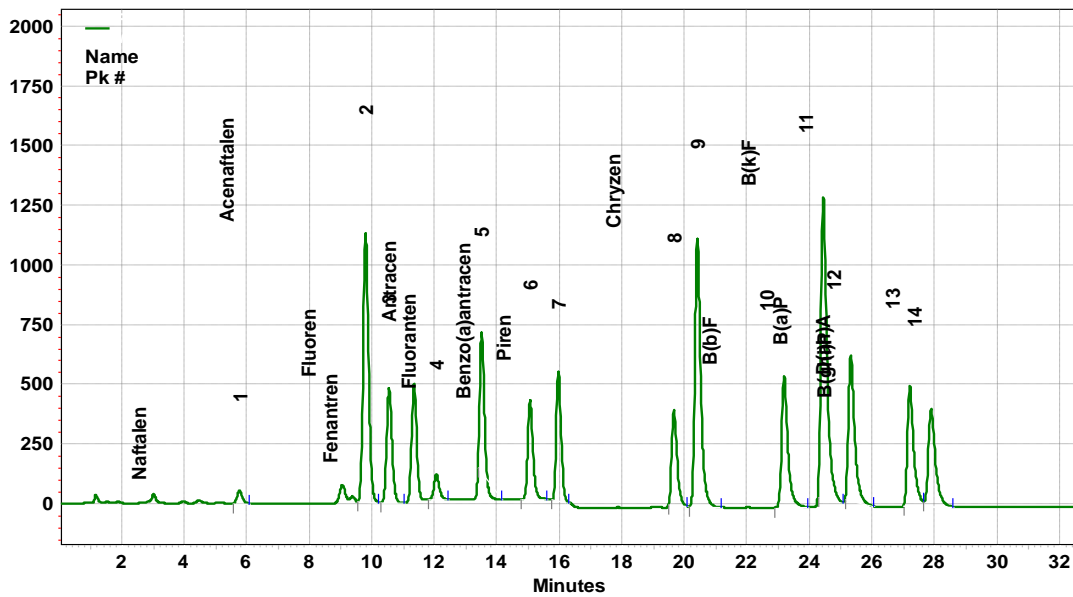
Rys. 9. Rozłożony próbnik SPCI (A) i impaktor ELPI (B) rakotwórczych węglowodorów aromatycznych (WWA) metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją fluorescencyjną (HPLC/FL)

Do oznaczania rakotwórczych węglowodorów aromatycznych (WWA) zastosowano metodę opisaną w normie PN-Z-04240-5: 2006.

Do rozdzielania WWA w HPLC w układzie faz odwróconych zastosowano kolumnę analityczną *pinnacle II PAH* (150 x 32 mm, 5 μm) firmy Restek wraz z kolumną wstępną (20 x 3,2 mm). Prowadzono elucję gradientem, zaczynając od składu – eluent 50%, acetonitryl w wodzie (5 min). Stężenie acetonitrylu zwiększono do 100% w ciągu 25 min, a następnie utrzymywano 100% acetonitrylu przez 5 min. Szybkość przepływu wynosiła 0,97 ml min⁻¹. Objętość nastrzyku wynosiła 10 μl . Poszczególne WWA monitorowano w odpowiednich zakresach fali detektora fluorescencji Ex/Em: naftalen (NA), acenaften (AC), fluoren (FL) (280/330), fenantren (PH) (246/370), antracen

(AN) (250/406), fluoranten (FLR) (280/450), piren (PY) (270/390), chryzen (CH), benzo-[a]antracen (BaA) (265/380), benzo[b]fluoranten (BbF), benzo[k]fluoranten (BkF), benzo[a]piren (BaP) (290/430), dibenzo-[ah]antracen (DBA), benzo[ghi]perylen (BghiP) (290/410), indeno[1,2,3-cd]piren (I123-cdP) (300/500). Dane były gromadzone i przetwarzane za pomocą oprogramowania HP ChemStation. Na rysunku 10. przedstawiono przykładowy chromatogram wzorców WWA z filtra PTFE.

Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie PN-EN 482+A1: 2016-01 Narażenie na stanowiskach pracy – Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych.



Rys. 10. Chromatogramy roztworu wzorcowego rakotwórczych węglowodorów aromatycznych (WWA) z filtra PTFE

Zakres walidacji metody obejmował: ustalenie wyznaczania krzywych kalibracji dla 15 WWA oraz współczynnika korelacji dla krzywych kalibracji na podstawie wartości odchylenia standardowego zbioru sygnałów dla ślepej próby i kąta nachylenia krzywej kalibracji (współczynnika kierunkowego), wyznaczenie granicy wykrywalności (LOD) i granicy oznaczalności (LOQ), która jest trzykrotną wielokrotnością wyznaczonej wartości granicy wykrywalności. Następnie wyznaczono precyzję metody, która jest wyrażana jako stopień zgodności między niezależnymi wynikami analizy otrzymanymi w określonych warun-

kach laboratoryjnych i precyzję całkowitą badania, uwzględniającą precyzję laboratoryjną dla zakresu stężeń i technikę pobierania próbek.

Na podstawie precyzji całkowitej i wartości odzysku annalistów z materiałów sorpcyjnych (filtrów) obliczono względną niepewność całkowitą metody oraz niepewność rozszerzoną. Niepewność rozszerzoną (U) otrzymano, mnożąc niepewność całkowitą przez współczynnik rozszerzenia k . Przyjęto, że wartość współczynnika rozszerzenia k wynosi 2 dla prawdopodobieństwa $p = 95,75\%$. Dane walidacyjne przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1.
Dane walidacyjne metody

Parametry walidacji	Antra-cen	Benzo (a)an-tracen	Chry-zen	Benzo(b)-fluoranten	Benzo(k)-fluoranten	Benzo(a)-piren	Dibenzo(ah)-antracen	Benzo(ghi)-perylene	Indeno (1,2,3-cd)piren
Współczynnik korelacji <i>R</i>	nie mniejszy niż 0,997								
Granica wykrywalności LOD, ng ml ⁻¹	0,1	5	0,2	0,3	0,1	0,8	0,6	1,4	2,7
Granica oznaczenia ilościowego LOQ, ng ml ⁻¹	0,3	15	0,6	0,9	0,3	2,4	1,8	4,2	8
Całkowita precyzja badania, %	6,74	6,23	6,99	5,12	5,47	5,6	5,03	5,76	5,69
Niepewność całkowita U _T , %	14,49	13,48	14,99	11,24	11,94	12,19	11,05	12,51	12,39
Niepewność rozszerzona U, %	28,98	26,96	29,97	22,47	23,89	24,37	22,11	25,02	24,78

**PRZYKŁADOWE WYNIKI ANALIZ
RAKOTWÓRCZYCH WĘGLOWODORÓW
AROMATYCZNYCH (WWA) WE FRAKCJACH DROBNYCH
EMITOWANYCH ZE SPALIN SILNIKA DIESLA**

Próbki spalin paliw: gold, verva i ultimate, wytwarzano na modelowym stanowisku, które składało się z silnika wysokoprężnego – Diesel 2.0 TDI z 2007 r. Próbki powietrza pobierano podczas pracy silnika. W celu oznaczenia WWA cząstki spalin emitowanych z silnika Diesla były zbierane za pomocą:

- 12 próbników SPCI (pobierano ok. 200 ÷ 300 l powietrza)
- niskociśnieniowego impaktora ELPI.

Wyniki analizy rakotwórczych węglowodorów aromatycznych (WWA) z próbników SPCI

W tabeli 2. przedstawiono średnie wyniki oznaczania poszczególnych rakotwórczych węglowodorów aromatycznych (WWA) na cząstkach stałych emitowanych z silnika Diesla zebranych za pomocą próbników SPCI. We frakcji poniżej 0,25 µm w spalinach emitowanych z silnika Diesla pracującego na każdym badanym paliwie oznaczono: fluoren, fenantren, antracen fluoranten i piren (rys. 11.)

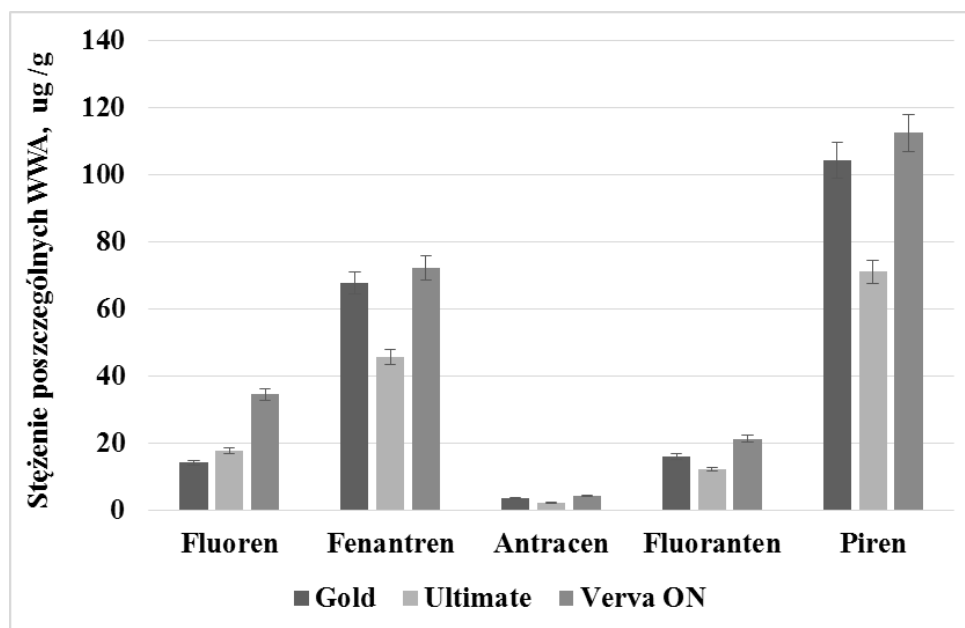
Tabela 2.

Średnie wyniki oznaczania poszczególnych rakotwórczych węglowodorów aromatycznych (WWA) na cząstkach stałych emitowanych z silnika Diesla zebranych za pomocą próbników SPCI w przeliczeniu na objętość powietrza i masę cząstek frakcji < 0,25 (n = 12)

WWA	Paliwo								
	gold			ultimate			verva		
	μg/m ³		μg/g	μg/m ³		μg/g	μg/m ³		μg/g
Frakcja	< 0,25 μm	0,25 ÷ 10 μm	< 0,25 μm	< 0,25 μm	0,25 ÷ 10 μm	< 0,25 μm	< 0,25 μm	0,25 ÷ 10 μm	< 0,25 μm
Fluoren	0,32		14,12	0,63		17,68	1,55		34,60
Fenantren	1,49		67,73	1,49		45,72	1,69		72,08
Antracen	0,08		3,57	0,08		2,21	0,20		4,21
Fluoranten	0,33	n.w.	15,92	0,36	n.w.	12,19	0,92	n.w.	21,33
Piren	1,33		104,37	2,14		71,10	5,50		112,43
Suma WWA	3,55		205,70	4,70		148,89	9,86		244,66

Objaśnienia:

n.w. – nie wykryto.



Rys. 11. Stężenia poszczególnych rakotwórczych węglowodorów aromatycznych (WWA) we frakcji < 0,25 μm emitowanej ze spalin silnika Diesla (n = 12) oznaczone próbnikiem SPCI

Wyniki analizy rakotwórczych węglowodorów aromatycznych (WWA) z impaktora ELPI

Zastosowanie niskociśnieniowego impaktora ELPI pozwoliło rozdzielić cząstki spalin na

13 frakcji. Próbkę pobierano przez 5 dni w tygodniu średnio 4 ÷ 5 h/dzień z szybkością 30 l/min. W tabeli 3. przedstawiono średnie wyniki oznaczania poszczególnych WWA na cząstkach stałych emitowanych z silnika Diesla zebranych za pomocą impaktora ELPI.

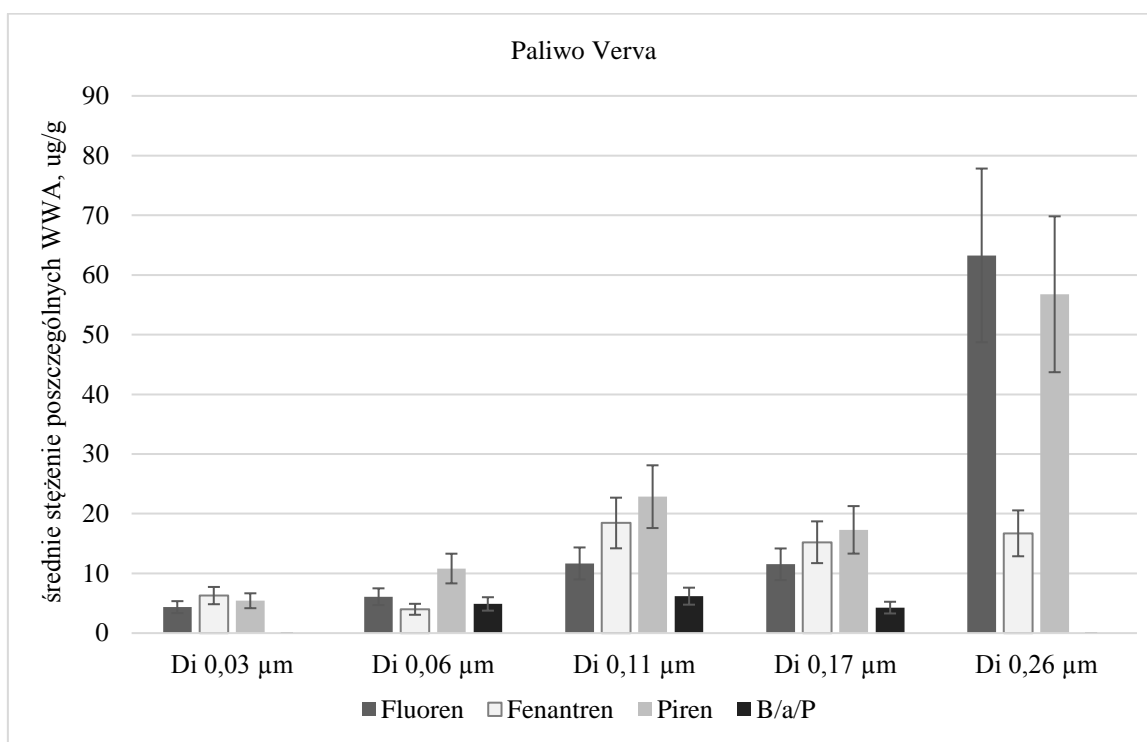
Tabela 3.
Średnie wyniki oznaczenia poszczególnych rakotwórczych węglowodorów aromatycznych (WWA) na cząstkach stałych emitowanych z silnika Diesla zebranych za pomocą impaktora ELPI w przeliczeniu na objętość powietrza i masę cząstek frakcji ($n = 12$)

WWA	Stężenie, ug/m ³														
	Di 0,03 µm			Di 0,06 µm			Di 0,11 µm			Di 0,17 µm			Di 0,26 µm		
	Verva	Ultimate	Gold	Verva	Ultimate	Gold	Verva	Ultimate	Gold	Verva	Ultimate	Gold	Verva	Ultimate	Gold
Fluoren	0,345	0,093	0,079	0,372	0,109	0,288	0,296	0,093	0,337	0,289	0,141	0,310	0,360	0,220	0,336
Fenantren	0,792	n.w.	n.w.	0,906	0,124	n.w.	0,957	0,195	n.w.	0,859	0,346	0,115	0,924	0,220	n.w.
Piren	0,244	0,004	0,215	0,442	0,237	0,150	0,582	0,633	0,142	0,432	1,548	0,167	0,323	1,349	0,112
B/a/P	n.w.	n.w.	0,014	0,026	n.w.	0,054	0,032	n.w.	0,083	0,027	n.w.	0,061	n.w.	n.w.	0,063
Suma	1,380	0,097	0,308	1,747	0,470	0,493	1,868	0,920	0,562	1,606	2,035	0,653	1,606	1,569	0,511
Stężenie, ug/g															
Fluoren	4,352	10,752	12,096	6,095	10,570	4,992	11,668	7,032	8,000	11,529	5,824	12,544	63,273	8,247	9,984
Fenantren	6,285	n.w.	n.w.	3,988	11,934	n.w.	18,448	7,872	n.w.	15,222	14,247	n.w.	16,713	n.w.	n.w.
Piren	5,421	1,311	9,600	10,817	5,568	5,506	22,854	22,080	15,923	17,299	14,272	16,512	56,765	22,080	26,974
B/a/P	n.w.	n.w.	n.w.	4,887	n.w.	13,572	6,188	n.w.	16,962	4,271	n.w.	12,911	n.w.	n.w.	35,102
Suma	16,058	12,063	21,696	25,787	28,072	24,070	59,158	36,984	40,885	48,321	34,343	41,967	136,751	30,327	72,060

Objaśnienia:

n.w. – nie wykryto

Przykładowy rozkład zidentyfikowanych dla spalin Diesla i paliwa verva przedstawiono WWA na poszczególnych poziomach filtracji na rysunku 12.



Rys. 12. Przykładowy rozkład zidentyfikowanych rakotwórczych węglowodorów aromatycznych (WVA) na poszczególnych poziomach filtracji dla spalin Diesla i paliwa verva (B/a/P – benzo/a/piren)

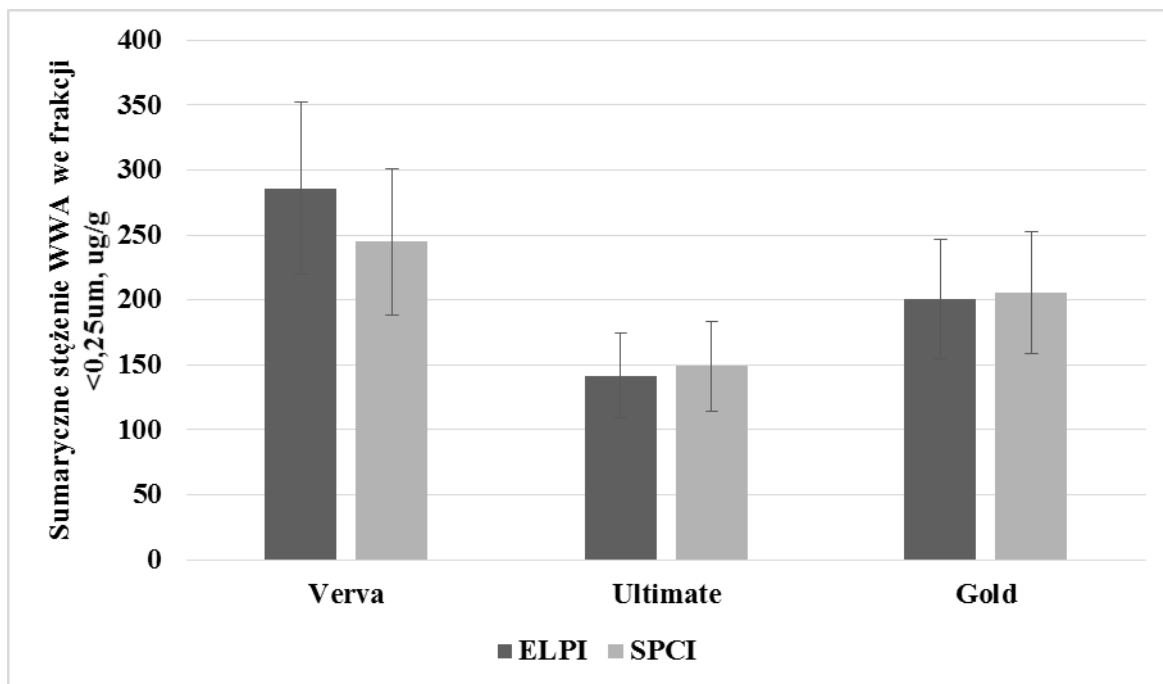
Sumaryczną zawartość WVA we frakcji poniżej 0,25 µm, uzyskaną po zsumowaniu stężeń poszczególnych WVA oznaczonych we frakcjach 0,26 ÷ 0,03 µm impaktora ELPI, przedstawiono w tabeli 4., natomiast na rysunku 13. porównano sumaryczne stężenia WVA we frakcji poniżej 0,25 µm uzyskane

przy pobieraniu spalin próbnikiem SPCI i ELPI. Różnica między wynikami sumarycznego stężenia WVA we frakcji poniżej 0,25 µm przy pobieraniu spalin próbnikiem SPCI i ELPI jest mała (mieści się w granicy błędu metody) i wynosi 1 ÷ 8%.

Tabela. 4.

Sumaryczna zawartość rakotwórczych węglowodorów aromatycznych (WVA) we frakcji poniżej 0,25 µm, uzyskana po zsumowaniu stężeń poszczególnych WVA oznaczonych we frakcjach 0,26 ÷ 0,03 µm impaktora ELPI

Verva		Ultimate		Gold	
µg/m ³	µg/g	µg/m ³	µg/g	µg/m ³	µg/g
8,207	286,074	5,091	141,789	2,527	200,678



Rys. 13. Sumaryczne stężenia rakotwórczych węglowodorów aromatycznych (WWA) we frakcji poniżej $0,25\ \mu\text{m}$ uzyskane przy pobieraniu spalin próbnikiem SPCI i impaktorem ELPI

PODSUMOWANIE

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) są grupą ponad 100 różnych substancji chemicznych, które się tworzą podczas niepełnego spalania: węgla, ropy, gazu, śmieci lub takich substancji organicznych, jak np. tytoń. WWA często adsorbują się na powierzchni cząstek pyłu zawieszonego w powietrzu, a więc drogi oddechowe są głównym narządem narażonym na działanie tych związków. Za pomocą próbnika SPCI (*sioutas personal cascade impactor*) oraz 13-poziomowego niskociśnieniowego impaktora kaskadowego ELPI (*electric low pressure impactor*) możliwe było rozdzielenie frakcji cząstek stałych emitowanych ze spalin silników Diesla do środowiska i przeprowadzenie analizy chemicznej pod kątem obecności wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. W rutynowych analizach środowiskowych, w tym: wody, gleby i powietrza środowiska

pracy, WWA mogą być oznaczane za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem spektrofotometrycznym (UV-VIS) lub fluorescencyjnym (FL).

Zastosowanie metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją fluorescencyjną HPLC/FL i chromatografu EliteLa-Chrom, Merck Hitachi umożliwiło oznaczenie 9 rakotwórczych węglowodorów zaadsorbowanych na cząstkach stałych w zakresie stężeń $0,0025 \div 1,00\ \text{mg l}^{-1}$. Współczynnik korelacji krzywej kalibracji na poziomie 0,99.

Procedurę analityczną oznaczania wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych we frakcjach cząstek stałych $< 0,25\ \mu\text{m}$ z wykorzystaniem komercyjnie dostępnego próbnika SPCI przedstawiono w załączniku.

PIŚMIENNICTWO

- Maricq M.M.* (2007) Chemical characterization of particulate emissions from diesel engines: a review. *Journal of Aerosol Science*, vol. 38, 11, 1079–1118.
- Bunn W.B., Hesterberg T.W., Valberg P.A., Slavin T.J., Georgia Hart G., Lapin Ch.A.* (2007) Reevaluation of the literature regarding the health assessment of Diesel engine exhaust 2004, vol. 16, 14, 889–900. U.S. EPA health assessment for diesel engine exhaust: a review. *Inhal. Toxicol.* 19, 1, 229–39.
- Ozsezen N., Canakci M., Turkcan A., Sayin C.* (2009) Performance and combustion characteristics of a DI diesel engine fuelled with waste palm oil and canola oil methyl esters'. *Fuel* 88 4, 629–636.
- Demirbas A.* (2009) Progress and recent trends in biodiesel fuels. *Energy Conversion and Management* 50,14–34.
- Basha S.A., Gopal K.R., Jebaraj S.* (2009) A review on biodiesel production, combustion, emissions and performance. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 13, 1628–1634.
- Sharma Y.C., B. Singh B., Upadhyay S.N.* (2008) Advancements in development and characterization of bio-diesel. A review. *Fuel* 87, 2355–2373. [http://www.nw.pwr.wroc.pl/~trawczynski/wyklady/Procesy_katalityczne_i_adsorpcyjne_CWICZENIA_lab_INSTRUKCJE].
- PN-Z-04240-5: 2006 Ochrona czystości powietrza – Badania zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych – Część 5: Oznaczenie antracenu, benzo/a/antracenu, chryzenu, benzo/b/fluorantenu, benzo/k/fluorantenu, benzo/a/pirenu, dibenzo/ah/antracenu, benzo/ghi/perylenu i indeno/123 cd/pirenu na stanowiskach pracy metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH WYSTĘPUJĄCYCH WE FRAKCJACH CZĄSTEK STAŁYCH EMITOWANYCH DO POWIETRZA

1. Zakres stosowania metody

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) występujących we frakcjach cząstek stałych emitowanych do powietrza podczas eksploatacji pojazdów samochodowych z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym.

2. Powołania normatywne

PN-Z-04240-5: 2006 Ochrona czystości powietrza – Badania zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych – Część 5: Oznaczanie antracenu, benzo/a/antracenu, chryzenu, benzo/b/fluorantenu, benzo/k/fluorantenu, benzo/a/pirenu, dibenzo/ah/antracenu, benzo/ghi/perylenu i indeno/123cd/pirenu na stanowiskach pracy metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

3. Zasada metody

Metoda polega na: przepuszczeniu powietrza, do którego są emitowane spaliny, przez filtry teflonowe i aluminiowe, wymyciu WWA osadzonych na cząstek stałych spalin na filtrze za pomocą dichlorometanu 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 HPLC, zwaną w dalszej części procedury wodą.

Wszystkie czynności z przygotowywaniem roztworów wzorcowych i przygotowywaniem próbek do badań należy wykonywać pod sprawnie działającym wyciągiem laboratoryjnym. Pracownik powinien być wyposażony w jednorazowe środki ochrony indywidualnej: dwie pary rękawic ochronnych, półmaskę i odzież ochronną.

Zużyte roztwory i odczynniki oraz środki ochrony indywidualnej należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i przekazywać do zakładów zajmujących się utylizacją środków medycznych.

Pozostałe odczynniki i roztwory zgodnie z pkt. 5.1. – 5.5. normy PN-Z-042040-5: 2006.

4.1. Roztwór podstawowy WWA

Roztworem wyjściowym WWA jest zestaw certyfikowanych wzorców wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) EPA 610 *polynuclear aromatic hydrocarbons mix* o stężeniu $100 \div 2000 \mu\text{g/ml}$ MEOH:CH₂Cl₂ (1:1) firmy SUPELCO. Do kolby pomiarowej o pojemności 100 ml przenieść 1 ml mieszaniny wzorcowej WWA i dopełnić do kreski acetonitrylem. Otrzymane w roztworze stężenia poszczególnych WWA w 1 ml roztworu wynoszą odpowiednio:

- antracenu – 1,0 μg
- benzo/a/antracenu – 1,0 μg
- chryzenu – 1,0 μg
- benzo/b/fluorantenu – 2,0 μg
- benzo/k/fluorantenu – 1,0 μg
- benzo/a/pirenu – 1,0 μg
- dibenzo/a,h/antracenu – 2,0 μg
- benzo/ghi/perylenu – 2,0 μg
- indeno/1,2,3-cd/pirenu – 1,0 μg .

4.2. Roztwory wzorcowe robocze

Do pięciu kolb pomiarowych o pojemności 10 ml odmierzyć: 0,5; 1; 3; 5 i 8 ml roztworu wzorcowego podstawowego wg pkt. 4.1., dopełnić acetonitrylem do kreski i wymieszać. Ostatnim, szóstym roztworem wzorcowym roboczym jest roztwór wzorcowy podstawowy. Otrzymane stężenia poszczególnych WWA w 1 ml roztworu wynoszą odpowiednio:

- antracenu – 0,05; 0,1; 0,3; 0,5; 0,8 i 1,0 µg
- benzo(a)antracenu – 0,05; 0,1; 0,3; 0,5; 0,8 i 1,0 µg
- chryzenu – 0,05; 0,1; 0,3; 0,5; 0,8 i 1,0 µg
- benzo(b)fluorantenu – 0,1; 0,2; 0,6; 1,0; 1,6 i 2,0 µg
- benzo(k)fluorantenu – 0,05; 0,1; 0,3; 0,5; 0,8 i 1,0 µg
- benzo(a)pirenu – 0,05; 0,1; 0,3; 0,5; 0,8 i 1,0 µg
- dibenzo(ah)antracenu – 0,1; 0,2; 0,6; 1,0; 1,6 i 2,0 µg
- benzo(ghi)perylenu – 0,1; 0,2; 0,6; 1,0; 1,6 i 2,0 µg
- inden(1,2,3-cd)pirenu – 0,05; 0,1; 0,3; 0,5; 0,8 i 1,0 µg.

Roztwory wzorcowe należy przechowywać w chłodziarce, w szczelnie zamkniętych kolbach nie dłużej niż przez trzydzieści dni.

5. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

Stosować typowy sprzęt laboratoryjny zgodnie z pkt. 6. w normie PN-Z-042040-5: 2006 oraz następujący sprzęt:

5.1. Chromatograf cieczowy

Chromatograf cieczowy z detektorem fluorescencyjnym.

5.2. Kolumna chromatograficzna

Kolumna chromatograficzna umożliwiająca selektywne oznaczanie WWA, np.: kolumna o długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm, wypełniona fazą oktadecylową o uziarnieniu 5 µm.

5.3. Próbniki do pobierania próbek powietrza

Próbniki zapewniające frakcjonowanie cząstek drobnych w zakresie od poniżej 0,25 do 10 µm

5.4. Strzykawki do cieczy

Strzykawki do cieczy o pojemności od 5 µl do 2,5 ml.

5.5. Kolby Erlenmayera

Kolby Erlenmayera o pojemności 25 ml wyposażone w korki.

5.6. Pompa ssąca

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

5.7. Łażnia ultradźwiękowa

Łażnia ultradźwiękową umożliwiającą ultradźwiękowe wytrzęsanie próbek przez 30 min.

6. Pobieranie próbek powietrza

W miejscu pobierania próbek spalin przez filtr wg pkt. 4.8., umieszczony w próbniku wg pkt. 5.3., przepuścić 300 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości 9 l/min.

Pobrane próbki należy przechowywać w eksykatorze przez 24 h.

7. Warunki analizy chromatograficznej

Analizę należy prowadzić z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) w układzie faz odwróconych z detekcją fluorescencyjną (FL).

Optymalne warunki analizy WWA metodą HPLC/FL (EliteLachrome Merck Hitachi NC3/18) przedstawiono poniżej:

- kolumna analityczna *pinnacle* II PAH 15 cm x 3,2 mm z przedkolumną
- faza ruchoma w gradiencie acetonitryl: woda

Czas, min	ACN, %
0	50
5	50
25	100
30	100

- szybkość przepływu fazy ruchomej 0,97 ml/min
- temperatura kolumny 25 °C
- objętość nastrzyku próbki 10 µl
- detektor fluorescencyjny FL – (ekstynkcja 246 ÷ 300 nm; emisja 370 ÷ 500 nm detektor fluorescencyjny (długości fal wzbudzenia i emisji dla 15 WWA podano w tab. 1.).

Tabela 1.

Długości fal wzbudzenia i emisji dla 15 rakotwórczych węglowodorów aromatycznych (WWA)

Nazwa związku	Czas, min	Długość fali wzbudzenia, nm	Długość fali emisji, nm
Naftalen, acenaften, fluoren	0,0	280	330
Fenantren	10,5	246	370
Antracen	12,2	250	406
Fluoranten	13,6	280	450
Piren	14,8	270	390
Chryzen, benzo[a]antracen	17,0	265	380
Benzo[b]fluoranten, benzo[k]fluoranten, benzo[a]piren	22,0	290	430
Dibenzo[ah]antracen benzo[ghi]perylene	31,0	290	410
Indeno[1,2,3-cd]piren	32,7	300	500

U w a g a: w przypadku przesunięcia się sygnałów WWA należy dostosować czas do monitorowanych długości fal.

8. Sporządzenie krzywych wzorcowych z filtrów

Zgodnie z punktem 8.2. normy PN-Z-042040-5: 2006 na pięć filtrów nanieść po 100 µl roztworów wzorcowych roboczych wg punktu 5.2. instrukcji. Po wyschnięciu filtry przenieść do kolb stożkowych o pojemności 25 ml, zalać 5 ml dichlorometanu i ekstrahować w łaźni ultradźwiękowej przez 30 min, chłodząc je jednocześnie za pomocą lodu. Ekstrakty sączków przesączyć przez filtr, stosując nasadkę filtracyjną do mikro- i ultrafiltracji, do fiolek ze szkła oranżowego o pojemności 10 ml. Odparować rozpuszczalnik do sucha w strumieniu gazu obojętnego. Suchą pozostałość rozpuścić w 1 ml acetonitrylu i przenieść do fiołki o pojemności 2 ml. Fiolkę umieścić w automatycz-

nym podajniku próbek i poddać analizie chromatograficznej wg pkt. 6.1. instrukcji.

Z każdego roztworu wykonać dwukrotnie pomiar, odczytać powierzchnię pików i obliczyć średnią arytmetyczną dla każdego związku z każdego roztworu. Różnica między wynikami oznaczeń nie powinna być większa niż ±5% wartości średniej. Następnie sporządzić krzywą wzorcową.

9. Wykonanie oznaczania

Zgodnie z pkt. 9.1. normy PN-Z-042040-5: 2006 filtry z pobranymi próbkami przenieść do kolb stożkowych o pojemności 25 ml. Poniżej w tabeli 2. przedstawiono rozkład do analizy.

Tabela 2.
Rozkład filtrów do analizy

Próbnik SPCI (<i>sioutas personal cascade impactor</i>)		
A	> 2,5	analizowane razem
B	1,0 ÷ 2,5	
C	0,50 ÷ 1,0	
D	0,25 ÷ 0,50	
E (filtr teflonowy PTFE)	0,25	analizowane osobno

Filtry należy umieścić w kolbach Erlenmayera, dodać 5 ml dichlorometanu i ekstrahować w łaźni ultradźwiękowej przez 30 min, chłodząc je jednocześnie lodem. Ekstrakty sączków przesączyć przez filtry do fiolek ze szkła oranżowego o pojemności 10 ml. Rozpuszczalnik odparować do sucha w strumieniu gazu obojętnego. Suchą pozostałość rozpuścić w 1 ml acetonitrylu i poddać analizie chromatograficznej, zachowując takie same warunki pracy chromatografu jak przy sporządzeniu krzywej wzorcowej. Pomiar wykonać dwukrotnie. Odczytać powierzchnię pików poszczególnych WWA, obliczyć średnie i odczytać z krzywej wzorcowej stężenia poszczególnych WWA (w µg/ml) w badanym roztworze. Jeżeli powierzchnie pików któregokolwiek z analizowanych WWA na chromatogramie roztworu badanego są większe niż powierzchnia pików tego związku na chromatogramie roztworu roboczego o największym stężeniu, należy badany roztwór rozcieńczyć acetonitrylem i powtórzyć oznaczenie, a krotność rozcieńczenia uwzględnić przy obliczaniu zawartości poszczególnych WWA w badanej próbce.

10. Obliczanie wyniku

Stężenie poszczególnych WWA w badanych spalinach obliczyć zgodnie z pkt. 10. w normie PN-Z-042040-5:2006 na podstawie wzoru:

$$X_{PCSI} = \left(\frac{m_1}{V} \right),$$

gdzie:

m_1 – masa danego WWA na filtrze odczytana z krzywej wzorcowej, w mg

V – objętość pobranego powietrza, w m³.