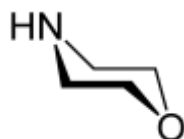


mgr JOANNA KOWALSKA
Centralny Instytut Ochrony Pracy –
Państwowy Instytut Badawczy
00-701 Warszawa
ul. Czerniakowska 16

Morfolina

– metoda oznaczania

Numer CAS: 110-91-8



Słowa kluczowe: morfolina, metoda oznaczania, metoda chromatografii cieczowej, powietrze na stanowiskach pracy.

Key words: morpholine, determination method, workplace air, HPLC method.

Metoda polega na adsorpcji par morfoliny na żywicy XAD-2 pokrytej izotiocyanianem 1-naftyłu, desorpcji acetonitrylem otrzymanej pochodnej morfoliny i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu.

Oznaczalność metody wynosi 3,6 mg/m³.

UWAGI WSTĘPNE

Morfolina (tetrahydro-1,4-oksazyna) jest bezbarwną, łatwo palną, żrącą i lepłą cieczą o charakterystycznym zapachu. Jej pary tworzą mieszaniny wybuchowe z powietrzem. Pary są cięższe od powietrza i gromadzą się przy powierzchni ziemi oraz w dolnych częściach pomieszczeń. Podczas ogrzewania lub spalania wydzielają się silnie toksyczne tlenki azotu.

Morfolina znajduje zastosowanie jako surowiec do produkcji farb, farmaceutyków, środków przeciwkorozyjnych, dodatków w przemyśle gumowym oraz jako środek nawilżający i emulgujący w produkcji kosmetyków i materiałów higienicznych, także jako rozpuszczalnik żywic, wosków, barwników, przy produkcji fungicydów, herbicydów oraz środków antyseptycznych.

Zgodnie z klasyfikacją figurującą w załączniku do rozporządzenia ministra zdrowia z dnia 28 września 2005r. w sprawie wykazu substancji niebezpiecznych wraz z ich klasyfikacją i oznakowaniem (DzU 2005 nr 201, poz. 1674), morfolina jest sklasyfikowana jako substancja łatwo palna (R10); szkodliwa (Xn), która działa szkodliwie przez drogi oddechowe, w kontakcie ze skórą i po połknięciu (R20/21/22) oraz powoduje oparzenia (R34).

Wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń podane w rozporządzeniu ministra pracy i polityki społecznej z dnia 30 sierpnia 2007 r. (DzU 2007, nr 161, poz. 1142) dla morfoli-

ny wynoszą: NDS (najwyższe dopuszczalne stężenie) 36 mg/m³, NDSCh (najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe) 72 mg/m³.

PROCEDURA ANALITYCZNA

1. Zakres procedury

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania zawartości morfoliny w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną.

Najmniejsze stężenie morfoliny, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi 3,6 mg/m³.

2. Norma powołana

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 adsorpcji par morfoliny na żywicy XAD-2 pokrytej izotiocyanianem 1-naftyli, desorpcji acetonitrylem otrzymanej pochodnej morfoliny i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu.

4. Wytyczne ogólne

4.1. Czystość odczynników

Podczas analizy, jeżeli nie zaznaczono inaczej, należy stosować odczynniki o stopniu czystości co najmniej cz.d.a.

4.2. Dokładność ważenia

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

4.3. Postępowanie z substancjami niebezpiecznymi

Czynności związane z rozpuszczalnikami organicznymi należy wykonywać pod sprawnie działającym wyciągiem. Zużyte roztwory i odczynniki należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i przekazywać do utylizacji do uprawnionych instytucji.

5. Odczynniki, roztwory i materiały

5.1. Morfolina

Stosować morfolinę wg punktu 4.1.

5.2. Izotiocyanian 1-naftyli (NIT)

Stosować izotiocyanian 1-naftyli wg punktu 4.1.

5.3. Woda destylowana

Stosować wodę destylowaną o czystości do HPLC.

5.4. Acetonitryl

Stosować acetonitryl wg punktu 4.1.

5.5. Roztwór izotiocyanianu 1-naftyłu (NIT) w acetonitrylu

Do zważonej kolby pomiarowej o pojemności 50 ml należy odmierzyć około 750 mg izotiocyanianu 1-naftyłu wg punktu 5.2., kolbę zważyć, uzupełnić do kreski acetonitrylem wg punktu 5.4. i dokładnie wymieszać. Stężenie izotiocyanianu 1-naftyłu w tak przygotowanym roztworze wynosi około 15 mg/ml.

5.6. Roztwór wzorcowy podstawowy

Do zważonej kolby pomiarowej o pojemności 10 ml należy odmierzyć około 21,6 mg morfoliny wg punktu 5.1., kolbę zważyć, uzupełnić do kreski roztworem NIT w acetonitrylu wg punktu 5.5. i dokładnie wymieszać. Stężenie morfoliny w tak przygotowanym roztworze wynosi około 2,16 mg/ml. Obliczyć dokładną zawartość tego związku w 1 ml roztworu.

5.7. Roztwory wzorcowe robocze

Do sześciu kolb pomiarowych o pojemności 10 ml odmierzyć kolejno: 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 i 1 ml roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 5.6., uzupełnić do kreski acetonitrylem wg punktu 5.4. i wymieszać. Obliczyć zawartość morfoliny w 1 ml tak przygotowanych roztworów.

5.8. Roztwór do wyznaczania współczynnika desorpcji

Do zważonej kolby pomiarowej o pojemności 5 ml odmierzyć około 370 mg morfoliny wg punktu 5.1., kolbę zważyć ponownie, uzupełnić do kreski acetonitrylem wg punktu 5.4. i dokładnie wymieszać. Stężenie morfoliny w tak przygotowanym roztworze wynosi około 74 mg/ml. Obliczyć dokładnie zawartość tego związku w 1 ml roztworu.

Roztwory przygotowane wg punktów: 5.5, 5.6., 5.7. i 5.8. w szczelnie zamkniętych kolbach przechowywane w chłodziarce są trwałe przez 5 dni.

5.9. Rurki pochłaniające

Stosować rurki szklane dostępne w handlu, wypełnione rozdzielonymi i ograniczonymi włóknem szklanym dwiema warstwami (80 i 40 mg) żywicy XAD-2 pokrytej izotiocyanianem 1-naftyłu (NIT). Stosowane rurki należy zbadać chromatograficznie oraz wyznaczyć współczynnik desorpcji morfoliny wg punktu 12.

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

6.1. Chromatograf ciekłowy

Stosować chromatograf ciekłowy z detektorem spektrofotometrycznym UV/VIS i pętlą dozowniczą o pojemności 5 µl oraz elektronicznym integratorem.

6.2. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną umożliwiającą rozdział morfoliny od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu, np.: kolumnę stalową Nucleosil 100-C18 o długości 25 cm, średnicy wewnętrznej 4,6 mm i o uziarnieniu 5 µm, w temperaturze 25 °C.

6.3. Mikrostrzykawki

Stosować mikrostrzykawki do cieczy o pojemności: 10; 100; 500; 1000 i 2500 µl.

6.4. Naczynka do desorpcji

Stosować naczynka szklane do desorpcji o pojemności około 3 ml z nakrętkami i uszczelkami silikonowymi, wyposażone w zawory umożliwiające pobranie roztworu bez ich otwierania.

6.5. Pompa ssąca

Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobieranie próbek powietrza ze stałym strumieniem objętości wg punktu 7.

6.6. Kolby pomiarowe

Stosować kolby szklane o pojemności: 5; 10; 25 i 50 ml.

6.7. Pipeta szklana

Stosować pipetę do cieczy o pojemności 5 ml.

7. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać zgodnie z zasadami podanymi w normie PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004. W miejscu pobierania próbek przez rurkę pochłaniającą wg punktu 5.8. przepuścić 6 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości nie większym niż 50 ml/min. Przy pobieraniu próbek powietrza w celu oceny zgodności z wartością NDSC_h należy pobrać 0,75 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości 50 ml/min. Pobrane próbki przechowywane w zamrażarce są trwałe 4 dni.

9. Warunki pracy chromatografu

Należy tak dobrać warunki pracy chromatografu, aby uzyskać rozdział morfoliny od substancji współwystępujących. W przypadku stosowania kolumny o parametrach wg punktu 6.2., oznaczenie można wykonać w następujących warunkach:

- kolumna stalowa Nucleosil 100-C18, 250 · 4,6 mm, 5 µm
- faza ruchoma programowana:

Czas, min	Acetonitryl, %	Woda, %
0	50	50
8	50	50
10	0	100
17	0	100
19	50	50
21	50	50
25	50	50

- przepływ fazy ruchomej 1,0 ml/min
- temperatura kolumny 25 °C
- długość fali analitycznej 254 nm
- pętla dozownicza 5 µl.

10. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do chromatografu wprowadzić za pomocą pętli dozowniczej po 5 µl roztworów wzorcowych roboczych wg punktu 5.7. Z każdego roztworu wzorcowego należy wykonać pomiar dwukrotnie. Odczytać powierzchnie pików wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami nie powinna być większa niż ± 5% tej wartości. Następnie wykreślić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych zawartość morfoliny w 1 ml roztworów wzorcowych w miligramach, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików.

Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

11. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza przesypać oddzielnie dłuższą warstwę żywicy XAD-2 pokrytej NIT i oddzielnie krótszą warstwę kontrolną wg punktu 5.9. do naczynek wg punktu 6.4. Następnie dodać po 2 ml roztworu acetonitrylu wg punktu 5.5., naczynka szczelnie zamknąć i pozostawić na 30 min, energicznie wstrząsając co pewien czas ich zawartością. Następnie wykonać oznaczenie chromatograficzne roztworu znad dłuższej warstwy żywicy XAD-2 pokrytej NIT w warunkach określonych wg punktu 9. Z każdego roztworu należy pomiar wykonać dwukrotnie. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików pochodnej morfoliny z NIT wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami nie powinna być większa niż $\pm 5\%$ tej wartości. Z krzywych wzorcowych odczytać zawartość oznaczanej substancji w 1 ml badanego roztworu.

W taki sam sposób wykonać oznaczenie morfoliny w roztworze znad krótszej warstwy żywicy. Ilość substancji oznaczonej w krótszej warstwie żywicy nie powinna przekraczać 10% ilości oznaczonej w dłuższej warstwie. W przeciwnym razie wynik należy traktować jako orientacyjny.

12. Wyznaczanie współczynnika desorpcji

Do pięciu naczynek wg punktu 6.4. dodać żywicy XAD-2 pokrytej NIT w ilości odpowiadającej dłuższej warstwie w rurce pochłaniającej wg punktu 5.9., tj. po 80 mg. Następnie dodać po 5 μ l roztworu do wyznaczenia współczynnika desorpcji wg punktu 5.8. mikrostrzykawką o pojemności 10 μ l wg punktu 6.3. W szóstym naczynku przygotować próbkę kontrolną zawierającą tylko żywicę. Naczynka szczelnie zamknąć i pozostawić do następnego dnia w chłodniarce. Następnie dodać po 2 ml acetonitrylu wg punktu 5.4. Przed wykonaniem oznaczenia chromatograficznego wstrząsać co pewien czas zawartością naczynek w ciągu 30 min.

Jednocześnie wykonać oznaczenie badanej substancji co najmniej w trzech roztworach porównawczych, przygotowanych przez dodanie do 2 ml roztworu NIT w acetonitrylu wg punktu 5.6. po 5 μ l roztworu do wyznaczenia współczynnika desorpcji wg punktu 5.8. mikrostrzykawką o pojemności 10 μ l wg punktu 6.3. Oznaczenie badanej substancji wykonać wg punktu 11.

Współczynnik desorpcji dla morfoliny (d) obliczyć na podstawie wzoru:

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

w którym:

- P_d – średnia powierzchnia piku pochodnej morfoliny na chromatogramach roztworów po desorpcji
- P_o – średnia powierzchnia piku o czasie retencji pochodnej morfoliny na chromatogramach roztworu kontrolnego
- P_p – średnia powierzchnia piku pochodnej morfoliny na chromatogramach roztworów porównawczych.

Następnie obliczyć średnią wartość współczynników desorpcji dla morfoliny (\bar{d}) jako średnią arytmetyczną otrzymanych wartości (d).

Współczynnik desorpcji należy zawsze oznaczać dla każdej nowej partii rurek pochłaniających.

13. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenia morfoliny (X) w badanym powietrzu obliczyć w miligramach na metr sześcienny, na podstawie wzoru:

$$X = \frac{(m_1 + m_2)}{V \cdot \bar{d}} \cdot 2,$$

w którym:

- m_1 – masa morfoliny w roztworze znad dłuższej warstwy żywicy odczytana z krzywej wzorcowej, w miligramach
- m_2 – masa morfoliny w roztworze znad krótszej warstwy żywicy odczytana z krzywej wzorcowej, w miligramach
- V – objętość przepuszczonego powietrza przez rurkę pochłaniającą, w metrach sześciennych
- \bar{d} – średnia wartość współczynnika desorpcji wyznaczonego wg punktu 12.

INFORMACJE DODATKOWE

Badania wykonano, stosując chromatograf cieczowy LaChrom Elite, firmy Merck Hitachi z detektorem UV/VIS z kolumną stalową Nucleosil 100-C18, 250 · 4,6 mm, 5µm.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań, otrzymano następujące dane walidacyjne:

- zakres pomiarowy: 0,0108 ÷ 0,216 mg/ml (3,6 ÷ 72 mg/m³ dla próbki powietrza 6 l)
- granica wykrywalności, x_{gw} : 1,5 ng/ml
- granica oznaczania ilościowego, x_{ozn} : 5,0 ng/ml
- współczynnik korelacji, R : 0,9994
- całkowita precyzja badania, V_c : 5,24%
- niepewność całkowita metody: 13,73%.

JOANNA KOWALSKA

Morpholine – determination method

A b s t r a c t

The determination method is based on the adsorption of morpholine vapours on sampling tubes containing 80/40 mg sections of XAD-2 resin coated with 1-naphtylisothiocyanate (NIT), desorption with 2 ml of acetonitrile and high performance liquid chromatographic (HPLC/UV) analysis of the resulting solution.

The determination limit of the method is 3.6 mg/m³.