

Bezwodnik octowy

Oznaczanie w powietrzu na stanowiskach pracy¹

Acetic anhydride

Determination in workplace air

inż. AGNIESZKA WOŹNICA
e-mail: agwoz@ciop.pl
mgr JOANNA KOWALSKA
e-mail: jokow@ciop.pl
Centralny Instytut Ochrony Pracy –
Państwowy Instytut Badawczy
00-701 Warszawa
ul. Czerniakowska 16

Numer CAS: 108-24-7

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

Keywords: acetic anhydride, analytical method, workplace air, HPLC-DAD.

Streszczenie

W artykule przedstawiono metodę oznaczania bezwodnika octowego w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem diodowym (DAD).

Metoda polega na: adsorpcji bezwodnika octowego na filtry z włókna szklanego z naniesioną 3,4-dimetoksybenzyloaminą i ftalanem dioktylu, ekstrakcji utworzonej pochodnej roztworem amoniaku i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu.

Analizę prowadzono w układzie faz odwróconych (faza ruchoma: acetonitryl: kwas fosforowy) z zastosowaniem kolumny Ultra C₁₈.

Zakres pomiarowy wynosi 1,2 ÷ 24 mg/m³ dla próbki powietrza o objętości 7,5 l. Granica wykrywalności (LOD) metody wynosi 3,1 ng/ml, natomiast granica oznaczalności (LOQ) 9,3 ng/ml.

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

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 (nr zadania I.Z.02).

Summary

This method describes how to measure acetic anhydride in workplace air using high-performance liquid chromatography (HPLC) with a diode array detector (DAD). Samples are collected onto glass fiber filters coated with 3,4-dimethoxybenzylamine and di-n-octyl phthalate. Samples are extracted with aqueous ammonium hydroxide and analysed with HPLC. The determination was carried out in the reverse-phase

system (mobile phase: acetonitrile : phosphoric acid) using an Ultra C18 column. The measurement range was 1.2 - 24 mg/m³ for a 7.5-L air sample. Limit of detection (LOD): 3.1 ng/ml; limit of quantification (LOQ): 9.3 ng/ml. The developed method of determining acetic anhydride has been recorded as an analytical procedure, which is available in the Appendix.

WPROWADZENIE

Bezwodnik octowy jest bezbarwną cieczą o ostrym zapachu octu. Reaguje z wodą, tworząc kwas octowy i etanolem, tworząc octan etylu. Dobrze rozpuszcza się w: chloroformie, tetrachlorku węgla, eterze i benzenie. Bezwodnik octowy jest substancją palną, tworzy mieszaninę wybuchową z powietrzem (CHEMPYŁ 2014; GESTIS 2014).

Bezwodnik octowy stosuje się w przemyśle chemicznym do wytwarzania: octanu celulozy, kwasu acetylosalicylowego, nitrofuranów, sulfonamidów, witaminy B. Bezwodnik octowy znalazł również zastosowanie jako substancja do wytwarzania: włókna sztucznego, barwników, perfum, materiałów wybuchowych i innych. Związek jest jednym z odczynników najczęściej stosowanych w laboratoriach.

Bezwodnik octowy może być otrzymywany kilkoma metodami. Jedną z metod polega na przyłączeniu kwasu octowego do acetyleny i pirolizy otrzymanego dioctanu etylidenu. Inną metodą polega na utlenianiu aldehydu octowego tlenem w fazie ciekłej w obecności katalizatorów. W wyniku utlenienia tworzy się mieszanina kwasu octowego i bezwodnika octowego. Jeszcze inną metodą polega na pirolitycznym odwodnieniu kwasu octowego do ketenu, który reaguje z następną cząsteczką kwasu octowego,

tworząc bezwodnik (Wójtowicz 2012; Mastalerz 1984; Bobrański 1992).

Bezwodnik octowy wchłania się do organizmu przez układ oddechowy i pokarmowy. Pary bezwodnika octowego działają silnie drażniąco na spojówkę oczu i na błony śluzowe górnych dróg oddechowych. Wywołują również: łzawienie i ból oczu, światłowstręt, obrzęk rogówki, uczucie pieczenia w nosie i w gardle, kaszel oraz duszność. W dużych stężeniach może wystąpić obrzęk płuc po okresie utajenia. W wyniku narażenia przewlekłego może rozwinąć się zapalenie skóry (CHEMPYŁ 2014).

Ze względu na zagrożenia dla zdrowia ludzi bezwodnik octowy został sklasyfikowany w WE (nr 1272/2008) jako substancja: ciekła łatwopalna (kat. 3.), toksyczna przez wdychanie (kat. 4.), toksyczna doustnie (kat. 4.) i wykazująca działanie żrące na skórę (kat. 1.B). Bezwodnik octowy ma przypisane następujące zwroty zagrożenia:

- H226: łatwopalna ciecz i pary
- H302: działa szkodliwie po połknięciu
- H314: powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu
- H332: działa szkodliwie w następstwie wdychania.

W 2013 r. wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) i najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) dla bezwodnika octowego zostały skorelowane przez Zespół Ekspertów przy Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy z wartościami ustalonymi w WE do wartości $NDS = 12 \text{ mg/m}^3$ i $NDSCh = 2412 \text{ mg/m}^3$. Odpowiedni wniosek został przedłożony ministrowi pracy i polityki społecznej w celu wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 części A wykazu wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy (Jankowska, Czerczak 2013; Skowroń 2014).

W Polsce do oznaczania bezwodnika octowego w powietrzu na stanowiskach pracy stosowano metodę zgodną z wymaganiami zawartymi w normie PN-Z-04061-02:1971. Metoda ta polega na działaniu na kwas octowy lub bezwodnik octowy azotanem lantanowym i amoniakiem w obecności jodu, a następnie porównaniu powstałego w wyniku tej reakcji żółtozielonego zabarwienia ze skalą wzorców. Próbkę powietrza pobierano na dwie płuczki bełkotkowe wypełnione wodą. Przez płuczki przepuszczano 40 l powietrza. Metody tej nie należy stosować w obecności estrów kwasu octowego oraz związków redukujących jod w warunkach reakcji. Oznaczalność tej metody wynosi $4,2 \text{ mg/m}^3$ dla próbki powietrza 40 l.

W metodzie NIOSH próbki powietrza zawierające bezwodnik octowy przepuszczano z szybkością 1 l/min przez płuczki wypełnione alkalicznym roztworem hydroksyloaminy (Kurimo 1994). Następnie dodawano chlorek żelaza(III) i kwas chlorowodorowy, a utworzo-

ny kompleks o czerwonym zabarwieniu oznaczano spektrofotometrycznie przy długości fali analitycznej $\lambda = 540 \text{ nm}$. Zakres pomiarowy tej metody wynosi $5 \div 40 \text{ mg/m}^3$ dla próbki powietrza 100 l.

W OSHA opracowano dwie metody oznaczania bezwodnika octowego. Pierwsza metoda polega na przepuszczeniu 0,75 l powietrza zawierającego bezwodnik octowy przez filtry z naniesioną 1-(2-pirydylo)piperazyną (Chan 1990). Powstałą pochodną ekstrahowano mieszaniną: propan-2-ol: toluen (1: 1, v/v) i analizowano metodą chromatografii gazowej (GC) z detektorem azotowo-fosforowym (NPD). Granica wykrywalności LOD metody wynosi $0,68 \text{ mg/m}^3$. Powstałą pochodną można również oznaczać metodą HPLC/UV, ale według autora metoda ta jest mniej czuła od zastosowanej GC/NPD.

Druga metoda OSHA polega na przepuszczeniu 7,5 l powietrza przez filtry z naniesioną 3,4-dimetoksybenzyloaminą i naniesionym ftalanem dioktylu (Chan 1993), który dodaje się w celu poprawy kontaktu między reagentami. Utworzoną pochodną, podobnie jak poprzednio, ekstrahowano mieszaniną: propan-2-ol: toluen (1:1, v/v) i analizowano metodą GC-NPD. Tak jak poprzednią, można ją również analizować metodą HPLC/UV. Granica wykrywalności LOD metody wynosi $0,12 \text{ mg/m}^3$.

Z danych piśmiennictwa wynika, że 3,4-dimetoksybenzyloamina jest często stosowana jako odczynnik derywatyzujący w oznaczaniu innych bezwodników, np. bezwodnika maleinowego, gdzie próbki pobierano na filtry z włókna szklanego pokryte 3,4-dimetoksybenzyloaminą, następnie poddawano ekstrakcji mieszaniną: acetonitrylu i dimetylosulfotlenku (90: 10 v/v) i analizowano metodą HPLC z de-

tekcją UV. Stosowano kolumnę Alltech C8, a jako fazę ruchomą – acetonitryl/woda/kwas fosforowy 30: 70: 0,1 (v/v/v). Granica wykrywalności LOD metody wynosi $33\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Chan 1990).

W metodzie opracowanej do pobierania bezwodnika ftalowego użyto jako próbnika filtrów z włókna szklanego z naniesioną 3,4-dimetoksybenzylaminą i ekstrahowano jak poprzednio mieszaniną: acetonitrylu i dimetylosulfotlenku (90: 10 v/v). Analizowano metodą HPLC z detekcją UV. Zastosowano kolumnę Novapak C18 i taką samą fazę jak w przypadku bezwodnika maleinowego – acetonitryl/woda/kwas fosforowy 27: 73: 0,1 (v/v/v). Granica wykrywalności LOD wynosi $0,031\text{ mg}/\text{m}^3$ (Chan 1991).

Natomiast bezwodnik trimelitowy oznaczano, przepuszczając powietrze przez filtry z włókna szklanego pokryte 3,4-dimetoksybenzylaminą i ftalanem dioktylu. Próbkę ekstrahowano wodnym roztworem wodorotlenku amonu i analizowano metodą HPLC z detekcją UV. Do rozdzielania zastosowano kolumnę Novapak C18 i jak w przypadku wcześniej opi-

sanych bezwodników fazę acetonitryl/woda/kwas fosforowy 22,5:77,5:0,1 (v/v/v). Granica wykrywalności LOD metody jaką uzyskano to $0,221\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Chan 1992).

W kwartalniku *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* opisano metodę oznaczania bezwodnika trimelitowego, która polega na: pobieraniu zawartego w powietrzu bezwodnika trimelitowego na filtr z włókna szklanego z naniesioną 3,4-dimetoksybenzylaminą i naniesionym ftalanem dioktylu, ekstrakcji utworzonych pochodnych wodnym roztworem amoniaku i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu z zastosowaniem HPLC z detektorem DAD. Kolumna była wypełniona oktadecylosiloksanem (Ultra C18) i do rozdzielania zastosowano tą samą fazę ruchomą – acetonitryl: kwas fosforowy(V): roztwór 0,1-procentowy (v/v). Oznaczalność metody wynosi $0,004\text{ mg}/\text{m}^3$ (Jeżewska 2012).

W artykule przedstawiono opracowaną metodę oznaczania bezwodnika octowego w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie stężeń $1,2 \div 24\text{ mg}/\text{m}^3$, zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie PN-EN 482: 2012.

CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA

Aparatura

W badaniach zastosowano chromatograf cieczowy firmy Agilent Technologies (Niemcy) seria 1200 z detektorem diodowym (DAD). Próbkę wprowadzano za pomocą automatycznego podajnika próbek model G2258-90010 (Agilent Technologies). Do sterowania procesem oznaczania i zbierania danych zastosowano oprogramowanie ChemStation. Zastosowano również kolumnę Ultra C₁₈ o wymia-

rach: 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 zawierających bezwodnik octowy wykorzystano aspirator Pocket pump (SKC Inc., USA). Do przeprowadzenia desorpcji analitów z filtrów korzystano z łaźni ultradźwiękowej Ultrasonic Cleaners 8890 (Cole-Parmer, USA). Wzorce odważano na wadze analitycznej Sartorius TE214S (Sartorius Corporation, USA). Próbkę

przechowywano w eksykatorze szafkowym serii EKS (WSL, Polska).

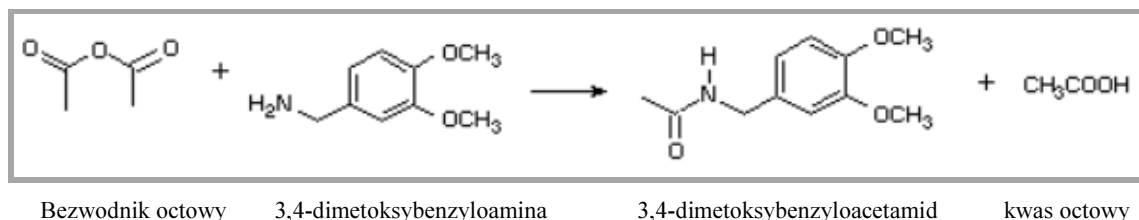
Odczynniki i materiały

W badaniach zastosowano następujące odczynniki: bezwodnik octowy, ftalan dioktylu i 3,4-dimetoksybenzyloaminę (Sigma-Aldrich, USA), acetonitryl (Merck, Niemcy), 25-procentowy amoniak (POCH, Polska), kwas ortofosforowy(V), (Ridel-de Haën, Niemcy) oraz wodę o dużej czystości uzyskaną z aparatu Milli-Q (Millipore, USA). Ponadto wykorzystano: filtry z włókna szklanego GF/A o średnicy 37 mm (Whatman, Anglia) do pobierania próbek powietrza, filtry strzykawkowe nylonowe o średnicy 25 mm i wielkości porów 0,45 μm (Alltech, USA) do filtrowania roztworów przed analizą, a także szkło laboratoryjne, tj.: kolby miarowe, kolby stożkowe

Erlenmayera o pojemności 25 ml (wyposażone w korki), pipety oraz strzykawki do cieczy.

Warunki oznaczania chromatograficznego

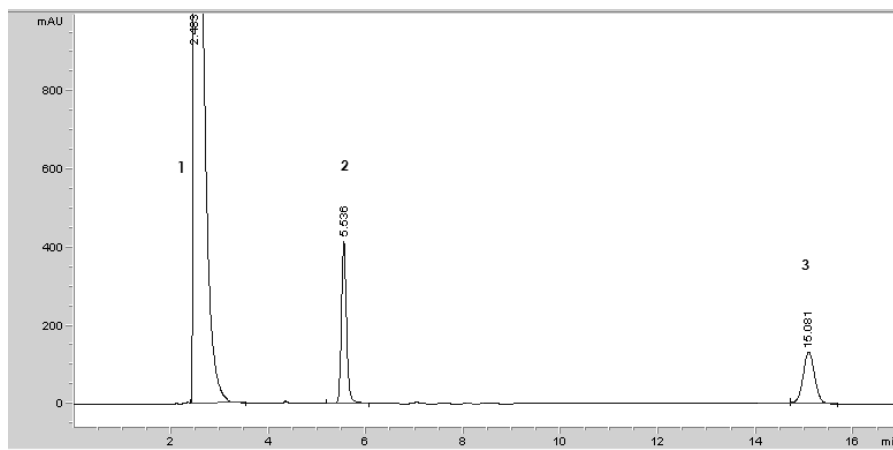
Na podstawie danych literaturowych oraz badań wstępnych ustalono, że próbki powietrza zawierające bezwodnik octowy będą pobierane na filtry z włókna szklanego z nanieśioną 3,4-dimetoksybenzyloaminą i ftalanem dioktylu (Chan 1992; Jeżewska 2012). W wyniku reakcji bezwodnika octowego i 3,4-dimetoksybenzyloaminy powstaje 3,4-dimetoksybenzyloacetamid, który może być oznaczany z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem diodowym (DAD), (Chan 1992; Jeżewska 2012). Reakcję bezwodnika octowego z 3,4-dimetoksybenzyloaminą przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Reakcja bezwodnika octowego z 3,4-dimetoksybenzyloaminą (Chan 1993)

Badania wykonano, stosując kolumnę typu Ultra C18 o długości 250 mm (Chan 1992; Jeżewska 2012). Zastosowano jako fazę ruchomą: acetonitryl, kwas ortofosforowy(V) i roztwór 0,1-procentowy (25: 75), (Chan 1992). Natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej

wynosiło 1 ml/min. Objętość dozowanej próbki w badaniach wynosiła 10 μl . Do detekcji wykorzystano detektor DAD, mierzący absorbancję, przy długości fali analitycznej $\lambda = 228 \text{ nm}$. Chromatogram roztworu pochodnej bezwodnika octowego przedstawiono na rysunku 2.



Rys. 2. Chromatogram roztworu pochodnej bezwodnika octowego. Kolumna Ultra C₁₈, detektor DAD: 1-3,4-dimetoksybenzyloamina, 2-pochodna bezwodnika octowego, 3-ftalan dioktylu

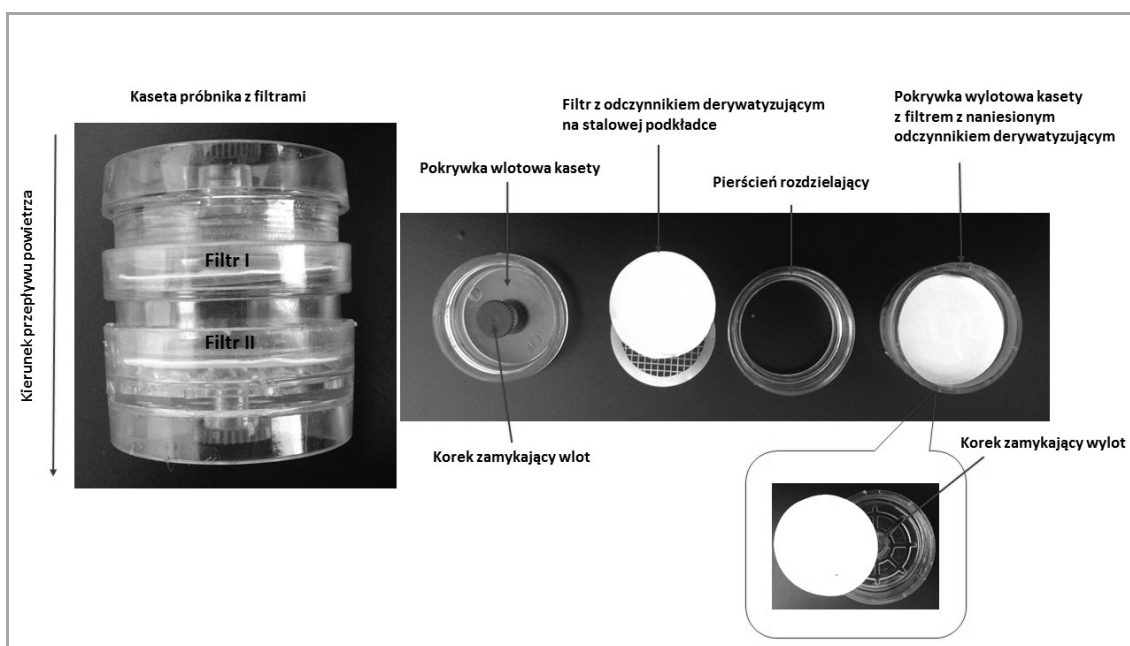
WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Badania chemisorpcji bezwodnika octowego i warunków pobierania próbek powietrza

Do pobierania próbek powietrza zawierającego bezwodnik octowy zastosowano filtry z włókna szklanego z naniesioną 3,4-dimetoksybenzyloaminą i ftalanem dioktylu o średnicy 37 mm połączone szeregowo. Użyte do badań filtry z naniesionym odczynnikiem derywatyżującym przygotowywano samodzielnie. Roztwór pokrywający do nanoszenia na filtry sporządzono zgodnie z procedurą opisaną w OSHA – w kolbie stożkowej o pojemności 25 ml umieszczono: 0,36 ml (około 0,4 g) 3,4-dimetoksybenzyloaminy, 0,4 ml (około 0,4 g) ftalanu dioktylu, 16 ml metanolu i następnie roztwór wymieszano (Chan 1993). Na każdy filtr naniesiono 0,4 ml tak sporządzonego roztworu, suszono na powietrzu przez 5 min i w eksykatorze przez około 12 h. Filtry przechowywano w ciemnym naczyniu, w zamrażalniku chłodziarki.

W celu sprawdzenia warunków pobierania próbek powietrza (Chan 1993) złożono układ

składający się z: pipety gazowej, dwóch połączonych szeregowo filtrów z naniesionym odczynnikiem derywatyżującym oraz pompy ssącej o regulowanym i kontrolowanym strumieniu objętości powietrza za pomocą rotametu (rys. 3.). Do pipety wprowadzano 5 µl roztworu bezwodnika octowego w acetonitrylu o stężeniu 72 mg/ml. Następnie korzystając z warunków pobierania ustalonych w publikacji OSHA, przepuszczano 7,5 l powietrza ze stałym strumieniem objętości 2,5 l/h (Chan 1993). Następnie ekstrahowano filtry roztworem amoniaku (0,02 mol/l) z pierwszego filtra i oddzielnie z drugiego filtra (kontrolnego). Tak uzyskane roztwory oznaczano chromatograficznie. Drugie (kontrolne) filtry nie zawierały pochodnej bezwodnika octowego. Badanie powtórzono dla 10 µl bezwodnika octowego o stężeniu 72 mg/ml. Na podstawie uzyskanych wyników badań ustalono, że filtry z naniesioną 3,4-dimetoksybenzyloaminą i ftalanem dioktylu zapewniają ilościowe wyodrębnienie pochodnej bezwodnika octowego z powietrza w ustalonych warunkach.



Rys. 3. Kasetka próbnika z filtrami

Kalibracja i precyzja

W celu uwzględnienia stopnia odzysku w krzywej kalibracji sporządzono trzy serie roztworów kalibracyjnych przez naniesienie na impregnowane aminą filtry po: 5; 10; 20; 30; 50 i 100 μl roztworu bezwodnika octowego w acetonitrylu o stężeniu 1,8 mg/ml. Filtry po-

zostawiono w eksykatorze do wyschnięcia. Następnie przeprowadzono odzysk pochodnej bezwodnika octowego roztworem amoniaku (5 ml) i tak uzyskane roztwory oznaczano chromatograficznie. Uzyskane parametry krzywych kalibracji dla III serii pomiarowych przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1.

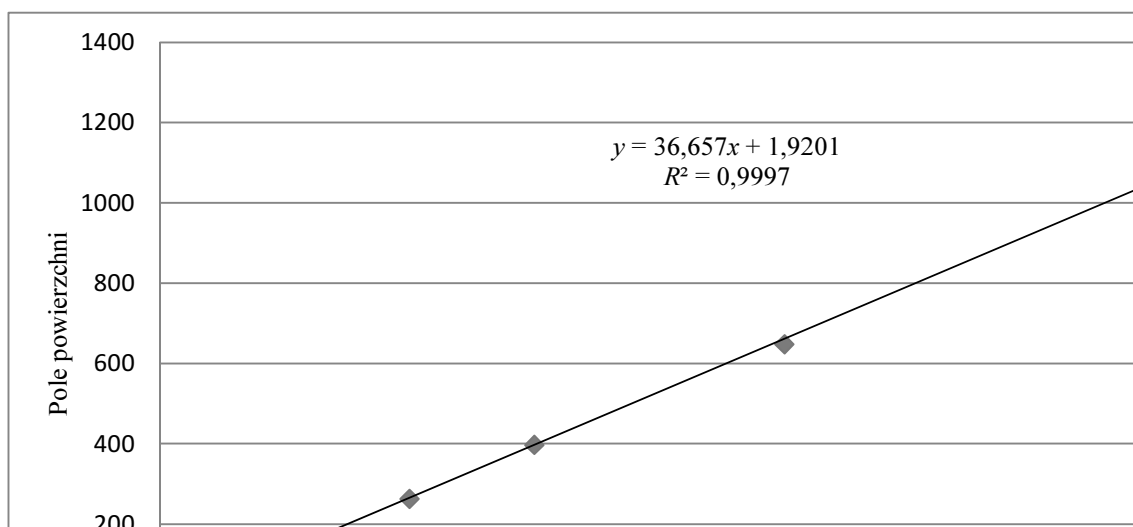
Parametry kalibracji dla trzech serii pomiarowych

Parametr	I seria	II seria	III seria
Krzywa kalibracji $Y = Bx + A$	$y = 35,99x + 3,87$	$y = 36,42x + 6,48$	$y = 37,56x - 4,59$
Współczynnik korelacji, R	0,9998	0,9995	0,9986
Średnia wartość współczynnika kalibracji	37,66		
Odchylenie standardowe współczynnika kalibracji, S_b	1,97		
Współczynnik zmienności współczynnika kalibracji, n_{kal} , %	5,23		

Przykładową krzywą kalibracji w zakresie stężeń 1,8 ÷ 36 $\mu\text{g/ml}$, czyli zależność powierzchni pików pochodnej bezwodnika

octowego od stężenia bezwodnika octowego w roztworach uzyskanych z ekstrakcji filtrów, przedstawiono graficznie na rysunku 4.

Linijowość krzywej wzorcowej jest charakteryzowana wartością współczynnika korelacji. Współczynnik korelacji R dla krzywej wzorcowej bezwodnika octowego wynosi 0,9998.



Rys. 4. Wykres zależności pola powierzchni pików pochodnej bezwodnika octowego od stężenia bezwodnika octowego w roztworach znad filtrów. Kolumna Ultra C18, detektor DAD

W celu oceny precyzji oznaczeń kalibracyjnych przygotowano roztwór podstawowy bezwodnika octowego w taki sam sposób, jak do kalibracji z roztworów. Wykonano z niego trzy serie po osiem roztworów roboczych o stężeniach: 1,8; 18 i 36 $\mu\text{g/ml}$. Wykonano pomiary chromatograficzne po dwa z każdego roztworu w takich samych warun-

kach, jak przy wykonaniu oznaczeń kalibracyjnych. Na podstawie odczytanych powierzchni pików uzyskanych na chromatogramach obliczono odchylenie standardowe i współczynnik zmienności. Szczegółowe wyniki przedstawiono w tabeli 2. Całkowita precyzja badania wynosi 5,27%.

Tabela 2.

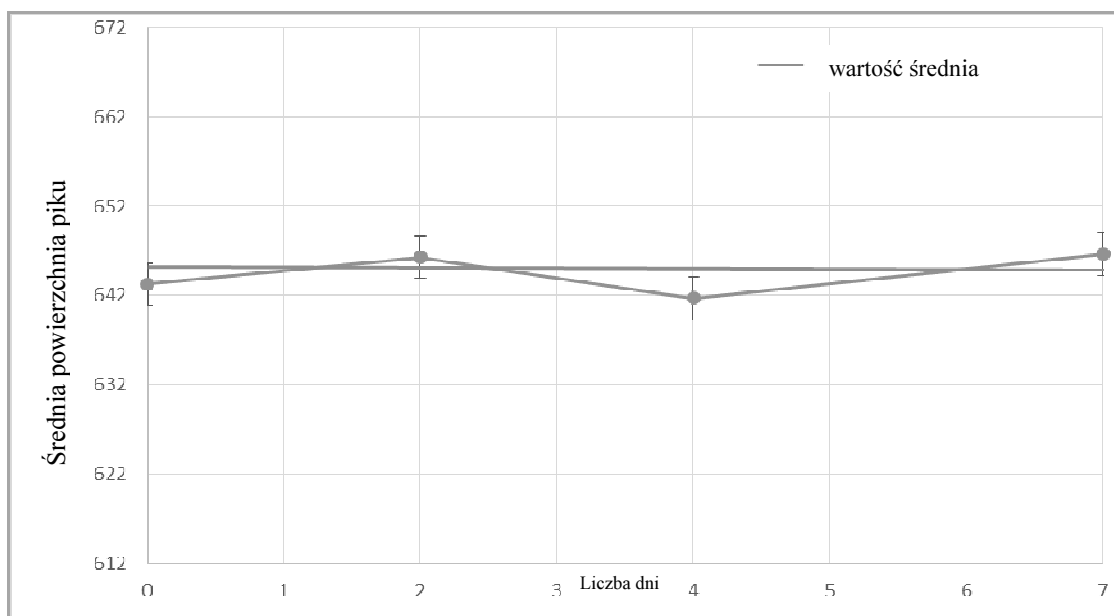
Precyzja oznaczeń kalibracyjnych bezwodnika octowego

Roztwór o stężeniu 1,8 $\mu\text{g/ml}$ I seria		Roztwór o stężeniu 18 $\mu\text{g/ml}$ II seria		Roztwór o stężeniu 36 $\mu\text{g/ml}$ III seria	
Średnia powierzchnia piku	64,76	Średnia powierzchnia piku	646,25	Średnia powierzchnia piku	1 289,64
Odchylenie standardowe, S	1,72	Odchylenie standardowe, S	4,72	Odchylenie standardowe, S	10,03
Współczynnik zmienności, n_1 , %	2,66	Współczynnik zmienności, n_2 , %	0,73	Współczynnik zmienności, n_3 , %	0,78
Średnia precyzja – średni współczynnik zmienności dla zakresu $n_{zakresu}$, %				1,65	
Całkowita precyzja badania – średni współczynnik zmienności n_c , %				5,27	

Badanie trwałości próbek

Trwałość pobranych próbek powietrza badano, w zależności od czasu ich przechowywania, w następujący sposób: na osiem filtrów nanoszono po 50 μl roztworu bezwodnika octowego w acetonitrylu o stężeniu 1,8 mg/ml. Przez rurki

przepuszczono 7,5 l powietrza ze strumieniem objętości 2,5 l/h. Dwie próbki badano bezpośrednio po przepuszczeniu 7,5 l powietrza oraz po: dwóch, czterech i siedmiu dniach przechowywania w zamrażalniku chłodziarki. Wyniki badań przedstawiono na rysunku 5.



Rys. 5. Wykres trwałości próbek przechowywanych w zamrażalniku chłodziarki

Średnie odchylenie standardowe powierzchni pików w ciągu siedmiu dni wynosiło 2,4. Średnia wartość powierzchni pików dla wszystkich próbek wynosiła 644,4. Uzyskane wyniki trwałości na podstawie powierzchni pików były w zakresie poniżej $\pm 5\%$ wartości średniej ($644,4 \pm 5\%$), co świadczy o trwałości próbek przez siedem dni.

Walidacja metody

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

Granice wykrywalności (LOD) oraz granicę oznaczalności (LOQ) wyznaczono na pod-

stawie wyników analizy trzech ślepych prób. Uzyskano następujące dane walidacyjne:

- zakres pomiarowy 1,8 ÷ 3,6 $\mu\text{g/ml}$ (1,2 ÷ 24 mg/m^3 dla próbki powietrza 7,5 l)
- granica wykrywalności, LOD 3,1 ng/ml
- granica oznaczalności, LOQ 9,3 ng/ml
- całkowita precyzja badania, V_c 5,27%
- względna niepewność całkowita 11,53%.

PODSUMOWANIE

Przeprowadzone badania doświadczalne pozwoliły na ustalenie warunków oznaczania bezwodnika octowego w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie stężeń $1,2 \div 24 \text{ mg/m}^3$ metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym. Zastosowana kolumna oktadecylowa Ultra C18 o długości 250 mm i fazy ruchomej: acetonitryl/woda/kwas ortofosforowy(V), 25: 75: 0,1 (v/v/v) umożliwia selektywne oznaczanie pochodnej bezwodnika octowego w obecności 3,4-dimetoksybenzylaminy i ftalanu dioktylu.

Filtry z włókna szklanego z naniesioną

3,4-dimetoksybenzylaminą i ftalanem dioktylu zapewnią ilościowe wyodrębnienie bezwodnika octowego z badanego powietrza. Roztwór amoniaku (0,02 mol/l) jest odpowiednim rozpuszczalnikiem do ekstrakcji pochodnej bezwodnika octowego z filtrów.

Opracowana metoda oznaczania stężeń bezwodnika octowego może być wykorzystywana przez środowiskowe laboratoria higieny pracy do pomiarów stężeń tej substancji w powietrzu na stanowiskach pracy, w celu oceny narażenia pracowników i oceny ryzyka zawodowego stwarzanego przez tę substancję.

PIŚMIENNICTWO

- Bobrański B.* (1992) *Chemia organiczna*. Warszawa, PWN.
- Chan Y.* (1990) OSHA Method No. 82. Acetic Anhydride. OSHA Salt Lake Technical Center. Salt Lake City, Utah.
- Chan Y.* (1990) OSHA Method No. 86. Maleic Anhydride. OSHA Salt Lake Technical Center. Salt Lake City, Utah.
- Chan Y.* (1991) OSHA Method No. 90. Phthalic Anhydride. OSHA Salt Lake Technical Center. Salt Lake City, Utah.
- Chan Y.* (1992) OSHA Method No. 98. Trimellitic Anhydride. OSHA Salt Lake Technical Center. Salt Lake City, Utah.
- Chan Y.* (1993) OSHA Method No. 102. Acetic Anhydride. OSHA Salt Lake Technical Center. Salt Lake City, Utah.
- CHEMPYŁ (2014) Baza wiedzy o zagrożeniach chemicznych i pyłowych. Warszawa, CIOP-PIB.
- GESTIS (2014) Substance database. BG Institute for Occupational Safety and Health., Sankt Augustin, Germany.
- Jankowska A., Czerczak S.* (2013) Bezwodnik octowy. Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy 4(78), 33–46.
- Jeżewska A.* (2012) Bezwodnik trimelitowy – metoda oznaczania. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy 1(71), 59–64.
- Kurimo R.W.* (1994) Acetic Anhydride. Method 3506. NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM). Fourth Edition. Cincinnati, OH. National Institute for Occupational Safety and Health. Issue 2.
- Mastalerz P.* (1984) *Chemia organiczna*. Warszawa, PWN.
- PN-EN 482:2012 Narażenie na stanowiskach pracy. Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych.
- PN-Z-04061-02:1971 Ochrona czystości powietrza. Badania zawartości kwasu octowego i jego bezwodnika. Oznaczanie kwasu octowego i jego bezwodnika na stanowiskach pracy metodą z azotanem lantanowym.
- 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.
- Skowroń J.* (2014) Sprawozdanie z działalności Międzyresortowej Komisji ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy w latach

2011-2013. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy 1(79), 161–184.

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 zmieniające-

go rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (zwane rozporządzeniem GHS). Dz. Urz. UE 2008 r. (L 353).

Wójtowicz A. (2012) Otrzymywanie bezwodnika octowego metodą utleniania aldehydu octowego. Studenckie Naukowe Czasopismo Internetowe TH!NK 4(12), 75–86.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA BEZWODNIKA OCTOWEGO

1. Zakres procedury

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania zawartości bezwodnika octowego (nr CAS: 108-24-7) w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem spektrofotometrycznym. Metodę stosuje się podczas kontroli warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie bezwodnika octowego, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonywania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi 1,2 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: pobieraniu zawartego w powietrzu bezwodnika octowego na filtr z włókna szklanego z naniesioną 3,4-dimetoksybenzyloaminą i naniesionym ftalanem dioktylu, ekstrakcji utworzonej pochodnej roztworem amoniaku 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 ich utylizacją.

- 4.1. Acetonitryl
- 4.2. Amoniak – roztwór o stężeniu 0,02 mol/l
- 4.3. Bezwodnik octowy
- 4.4. 3,4-Dimetoksybenzyloamina
- 4.5. Ftalan dioktylu
- 4.6. Kwas ortofosforowy(V) – roztwór 0,1-procentowy (v/v)
- 4.7. Metanol
- 4.8. Roztwór wzorcowy podstawowy bezwodnika octowego

Do zważonej kolby miarowej o pojemności 10 ml odmierzyć 17 µl (około 18 mg) bezwodnika octowego wg punktu 4.3., kolbę zważyć, uzupełnić do kreski acetonitrylem wg punktu 4.1. i dokładnie wymieszać. Zawartość bezwodnika octowego w 1 ml tak przygotowanego roztworu wynosi około 1,8 mg.

Roztwór należy przygotować bezpośrednio przed użyciem.

4.9. Roztwór pokrywający

Do kolby miarowej o pojemności 25 ml odmierzyć 0,36 ml (około 0,4 g) 3,4-dimektoksybenzyloaminy i 0,4 ml (około 0,4 g) ftalanu dioktylu wg punktu 5.5., dodać 16 ml metanolu i dokładnie wymieszać.

Roztwór przechowywany w zamrażalniku chłodziarki zachowuje trwałość przez trzydzieści dni.

4.10. Filtry

Stosować filtry z włókna szklanego o średnicy 37 mm. Na filtry nanosić po 0,4 ml roztworu pokrywającego wg punktu 4.9., pozostawić na powietrzu przez 5 min, a następnie w eksykatorku przez około 12 h. Filtry umieścić w ciemnym naczyniu i szczelnie zamknąć. Przechowywać w zamrażalniku chłodziarki nie dłużej niż trzydzieści dni.

5. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

Stosować typowy sprzęt laboratoryjny oraz wymieniony niżej:

5.1. Chromatograf cieczowy

Chromatograf cieczowy wyposażony w detektor spektrofotometryczny i elektroniczny integrator.

5.2. Kolumna chromatograficzna

Kolumna chromatograficzna umożliwiająca oznaczanie pochodnej bezwodnika octowego w badanym powietrzu, np. kolumna o długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm, wypełniona żelem krzemionkowym modyfikowanym grupą oktadecylową, o uziarnieniu 5 μm z przedkolumną.

5.3. Filtry strzykawkowe

Filtry nylonowe o średnicy 25 mm i wielkości porów 0,45 μm .

5.4. Łaźnia ultradźwiękowa

5.5. Kolby

Kolby stożkowe Erlenmayera o pojemności 25 ml wyposażone w korki.

5.6. Strzykawki do cieczy

Strzykawki do cieczy o pojemności 5 ÷ 5000 μl .

5.7. Pompa ssąca

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

6. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek przez dwa filtry umieszczone w oprawkach i połączone szeregowo wg punktu 4.10. przepuścić do 7,5 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości nie większym niż 2,5 l/h.

Pobrane próbki przechowywane w zamrażalniku chłodziarki zachowują trwałość co najmniej siedem dni.

7. Warunki pracy chromatografu

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

- faza ruchoma: acetonitryl: kwas ortofosforowy(V)
- natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej
- długość fali analitycznej detektora spektrofotometrycznego
- objętość próbki.

8. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Na sześć filtrów wg punktu 4.10. umieszczonych w kolbach stożkowych wg punktu 5.5. nanieść za pomocą strzykawek wg punktu 5.6 roztwór wzorcowy podstawowy bezwodnika octowego wg punktu 4.8. kolejno: 5; 10; 20; 30; 50 i 100 μl . Filtry pozostawić do wyschnięcia. Następnie dodać po 5 ml amoniaku wg punktu 4.2., kolby zamknąć i umieścić na 15 min w łaźni ultradźwiękowej. Następnie roztwór z nad filtra przesączyć za pomocą filtrów strzykawkowych wg punktu 5.3. W 1 ml tak uzyskanych roztworów zawiera się odpowiednio: 1,8; 3,6; 7,2; 10,8; 18 i 36 μg bezwodnika octowego. Tak uzyskane roztwory badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 7. Z każdego roztworu wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać powierzchnie pików bezwodnika octowego wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Następnie wykreślić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych stężenie bezwodnika octowego, w mikrogramach na mililitr, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików.

Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

9. Wykonanie oznaczenia

Po pobraniu próbki powietrza przenieść filtry do kolb wg punktu 5.5. Następnie dodać 5 ml amoniaku wg punktu 4.2., kolby zamknąć i

pozostawić na 15 min w łaźni ultradźwiękowej. Następnie przesączyć roztwór z nad filtra za pomocą filtrów strzykawkowych wg punktu 5.3. i badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 7. Wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików pochodnej bezwodnika octowego wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Stężenie bezwodnika octowego w badanym roztworze odczytać z wykresu krzywej wzorcowej, w mikrogramach na mililitr.

10. Obliczanie wyniku oznaczenia

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

$$X = \frac{5 \cdot (c_1 + c_2)}{V},$$

w którym:

c_1 – stężenie bezwodnika octowego w roztworze z nad pierwszego filtra odczytane z krzywej wzorcowej, w mikrogramach na mililitr,

c_2 – stężenie bezwodnika octowego w roztworze z nad drugiego filtra odczytane z krzywej wzorcowej, w mikrogramach na mililitr,

V – objętość powietrza przepuszczonego przez filtry, w litrach,

5 – całkowita objętość badanego roztworu, w mililitrach.