

mgr inż. ANNA JEŻEWSKA<sup>1</sup>  
prof. dr hab. BOGUSŁAW BUSZEWSKI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centralny Instytut Ochrony Pracy –  
Państwowy Instytut Badawczy  
00-701 Warszawa

ul. Czerniakowska 16

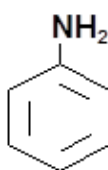
<sup>2</sup>Uniwersytet Mikołaja Kopernika

87-100 Toruń

ul. Gagarina 7/11

# Anilina

## – metoda oznaczania



Numer CAS: 62-53-3

---

**Słowa kluczowe:** anilina, metoda analityczna, metoda chromatografii cieczowej, powietrze na stanowiskach pracy.

**Keywords:** aniline, a determination method, workplace air, liquid chromatographic analysis.

Metoda polega na adsorpcji par aniliny na żywicy XAD-7 pokrytej kwasem fosforowym(V), zmiany środowiska na zasadowe za pomocą roztworu wodorotlenku potasu w metanolu i analizie otrzymanego roztworu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

Oznaczalność metody wynosi 0,194 mg/m<sup>3</sup>.

### UWAGI WSTĘPNE

Anilina jest bezbarwną, oleistą cieczą o charakterystycznym zapachu, która na powietrzu i pod wpływem światła brązowieje. Anilina jest trudno rozpuszczalna w wodzie (około 36 g/l w temp. 20 °C), natomiast dobrze rozpuszcza się w alkoholu, benzenie i w większości rozpuszczalników organicznych. Jest stosowana w przemyśle: chemicznym (izocyjaniany), farmaceutycznym, gumowym, rolniczym (herbicydy, fungicydy) i barwiarskim, a także do produkcji farb, żywic, pigmentów i in. Anilina może powstawać w zakładach karbonizujących węgiel jako produkt rozkładu w odlewniach oraz podczas wulkanizacji gumy. Anilinę stosuje się głównie do produkcji 4,4'-metylenodianiliny – surowca do wytwarzania poliuretanów i do produkcji takich substancji dla przemysłu gumowego, jak: 2-merkaptobenzotiazol, 1,3-difenyloguanidyna, difenyloamina i in. Narażenie zawodowe występuje podczas produkcji, transportu i stosowania aniliny.

Ze względu na zagrożenia dla zdrowia ludzi (rozporządzenie WE 1272/2008) anilina została sklasyfikowana jako: substancja rakotwórcza kategoria 2. (podejrzewa się, że powoduje raka), mutagenna kategoria 2. (podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne), wykazująca toksyczność ostrą (działa toksycznie w kontakcie ze skórą i po połknięciu), o działaniu toksycznym na narządy docelowe po narażeniu powtarzanym (powoduje uszkodzenie narządów podczas narażenia długotrwałego lub powtarzanego), o działaniu drażniącym na oczy i uczulającym na skórę (powoduje poważne uszkodzenie oczu, może powodować reakcję alergiczną skóry). Działa toksycznie w następstwie wdychania.

## **PROCEDURA ANALITYCZNA**

### **1. Zakres procedury**

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania zawartości aniliny w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym.

Najmniejsze stężenie aniliny, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi 0,194 mg/m<sup>3</sup>.

### **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 adsorpcji par aniliny na żywicy XAD-7 pokrytej kwasem fosforowym(V), zmiany środowiska na zasadowe za pomocą roztworu wodorotlenku potasu w metanolu i analizie otrzymanego roztworu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

### **4. Wytyczne ogólne**

#### **4.1. Czystość odczynników**

Do analizy należy stosować, o ile nie zaznaczono inaczej, odczynniki o stopniu czystości co najmniej cz.d.a. oraz wodę destylowaną o czystości do HPLC, zwaną wodą w dalszej części procedury wodą.

#### **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 laboratoryjnym.

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

## 5. Odczynniki, roztwory i materiały

### 5.1. Acetonitryl

Stosować acetonitryl wg punktu 4.1.

### 5.2. Anilina

Stosować anilinę wg punktu 4.1.

### 5.3. Kwas fosforowy(V)

Stosować kwas fosforowy(V) 85-procentowy wg punktu 4.1.

### 5.4. Metanol

Stosować metanol wg punktu 4.1.

### 5.5. Roztwór wodorotlenku potasu w metanolu

Stosować roztwór wodorotlenku potasu w metanolu o stężeniu 1 mol/l.

### 5.6. Wodorofosforan disodu

Stosować wodorofosforan disodu bezwodny wg punktu 4.1.

### 5.7. Roztwór wzorcowy podstawowy aniliny

Do zważonej kolby pomiarowej o pojemności 10 ml dodać 23  $\mu$ l (około 23 mg) aniliny wg punktu 5.2., kolbę zważyć, uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 5.4. i dokładnie wymieszać. Obliczyć dokładne stężenie roztworu.

### 5.8. Roztwory wzorcowe robocze aniliny

Do sześciu kolb pomiarowych o pojemności 2 ml odmierzyć kolejno: 1; 2; 4; 6; 10, i 20  $\mu$ l roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 5.7., uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 5.4. i wymieszać. Zawartość aniliny w mikrogramach w 1 ml tak przygotowanych roztworów wynosi odpowiednio: 1,15; 2,3; 4,6; 6,9; 11,5 i 23  $\mu$ g.

Roztwory przechowywane w chłodziarce są trwałe przez co najmniej 7 dni.

### 5.9. Bufor fosforanowy do fazy ruchomej

Odważyć około 7,1 g wodorofosforanu disodu wg punktu 5.6. i przenieść do kolby pomiarowej o pojemności 1000 ml, uzupełnić do kreski wodą i zawartość dokładnie wymieszać. Następnie dodać taką ilość kwasu fosforowego(V) wg punktu 5.3., aby uzyskać roztwór o wartości pH = 7.

## 6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

### 6.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem diodowym, pętlą dozowniczą o pojemności 10  $\mu$ l i z elektronicznym integratorem.

### 6.2. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną umożliwiającą rozdział aniliny od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu, np.: kolumnę stalową z fazą oktadecylową o długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm, o uziarnieniu 5  $\mu$ m z przedkolumną.

### 6.3. Strzykawki do cieczy

Stosować strzykawki do cieczy o pojemności 5 ÷ 1000  $\mu$ l.

### 6.4. Naczynka do desorpcji

Stosować naczynka do desorpcji o pojemności około 3 ml z nakrętkami wyposażonymi w zawory i uszczelki silikonowe, co umożliwi pobieranie roztworu bez otwierania naczynka.

### 6.5. Rurki pochłaniające

Stosować dostępne w handlu rurki szklane wypełnione dwiema (80 i 40 mg) warstwami żywicy XAD-7, rozdzielonymi i ograniczonymi włóknem szklanym, z naniesionym kwasem fosforowym(V) w ilości 10%. Każdą używaną partię rurek należy zbadać zgodnie z punktem 11., ustalając współczynnik desorpcji dla aniliny.

### 6.6. Pompa ssąca

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

## 7. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać zgodnie z zasadami podanymi w normie PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek przez rurkę pochłaniającą wg punktu 6.5. przepuścić do 6 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości, nie większym niż 6 l/h. Pobrane próbki przechowywane w chłodziarce są trwałe co najmniej 7 dni.

## 8. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy tak dobrać, aby uzyskać rozdział aniliny od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu.

W przypadku stosowania kolumny chromatograficznej o parametrach podanych w punkcie 6.2., przykładowe warunki wykonania oznaczania są następujące:

– faza ruchoma: metanol: acetonitryl: bufor fosforanowy wg punktu 5.10.	5: 30: 6 (v/v)
– strumień objętości fazy ruchomej	1 ml/min
– temperatura kolumny	23 °C
– długość fali analitycznej detektora diodowego	234 nm
– dozowanie próbki	10 µl.

## 9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do chromatografu wprowadzić po 10 µl roztworów wzorcowych roboczych 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 nie powinna być większa niż  $\pm 5\%$  tej wartości. Następnie wykreślić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych zawartość aniliny w mikrogramach w 1 ml roztworów wzorcowych, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików.

Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

## 10. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza przesypać oddzielnie każdą warstwę żywicy z rurki pochłaniającej do naczynek wg punktu 6.4. Następnie dodać strzykawką wg punktu 6.3. po 1 ml desorbentu wg punktu 5.5., naczynka szczelnie zamknąć i pozostawić na 30 min, wstrząsając ich zawartością co

pewien czas. Następnie pobrać po 10 µl roztworu z nad dłuższej warstwy sorbentu i badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 8. Wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików aniliny wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami nie powinna być większa niż  $\pm 5\%$  tej wartości. Zawartość aniliny w próbce w mikrogramach odczytać z wykresu krzywej wzorcowej. W taki sam sposób wykonać oznaczanie aniliny w roztworze z nad krótszej warstwy sorbentu. Ilość substancji oznaczonej w krótszej warstwie sorbentu nie powinna przekraczać 10% ilości oznaczonej w dłuższej warstwie, w przeciwnym razie wynik należy traktować jako orientacyjny.

## 11. Wyznaczanie współczynnika desorpcji

Do pięciu naczynek wg punktu 6.4. przesypać dłuższą (80 mg) warstwę żywicy z rurki pochłaniającej wg punktu 6.5. Następnie dodać po 5 µl roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 5.7. W szóstym naczynku przygotować próbkę kontrolną zawierającą tylko żywicę. Naczynka szczelnie zamknąć i pozostawić do następnego dnia. Następnie dodać strzykawką wg punktu 6.3. po 1 ml desorbentu wg punktu 5.5. Naczynka ponownie zamknąć i przeprowadzić desorpcję w ciągu 30 min, wstrząsając ich zawartością co pewien czas. Jednocześnie wykonać oznaczanie badanej substancji co najmniej w trzech roztworach porównawczych, przygotowanych przez dodanie do 1 ml metanolu wg punktu 5.4. po 5 µl roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 5.7. Oznaczanie badanej substancji wykonać według punktu 10.

Współczynnik desorpcji dla aniliny ( $d$ ) obliczyć na podstawie wzoru:

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

w którym:

- $P_d$  – średnia powierzchnia pików aniliny na chromatogramach roztworów po desorpcji,
- $P_o$  – średnia powierzchnia pików o czasie retencji aniliny na chromatogramach roztworu kontrolnego,
- $P_p$  – średnia powierzchnia pików aniliny na chromatogramach roztworów porównawczych.

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

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

## 12. Obliczanie wyniku oznaczania

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

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

w którym:

- $m_1$  – masa aniliny w roztworze z nad dłuższej warstwy sorbentu odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach,

$m_2$  – masa aniliny w roztworze znad krótszej warstwy sorbentu odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach,

$V$  – objętość przepuszczonego powietrza przez rurkę pochłaniającą, w litrach,

$d$  – średnia wartość współczynnika desorpcji wyznaczonego zgodnie z punktem 11.

## INFORMACJE DODATKOWE

Badania wykonano, stosując chromatograf cieczowy firmy Agilent Technologies seria 1200 z detektorem diodowym (DAD) umożliwiającym oznaczanie przy długości fali 190 ÷ 950 nm, z automatycznym podajnikiem próbek, z dozowaniem próbki w zakresie 1 ÷ 100  $\mu$ l i oprogramowaniem Chemstation sterującym oraz zbierającym dane. Dobry rozdział analitów można również uzyskać, stosując kolumnę Allure Basix o długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm i o uziarnieniu 5  $\mu$ m z przedkolumną.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań uzyskano następujące dane walidacyjne:

- zakres pomiarowy 1,164 ÷ 23,28  $\mu$ g/ml (0,194 ÷ 3,88  $\text{mg}/\text{m}^3$  dla próbki powietrza 6 l)
- granica wykrywalności, LOD 0,18 ng/ml
- granica oznaczalności, LOQ 0,54 ng/ml
- współczynnik korelacji,  $R$  0,9999
- całkowita precyzja badania 5,50%
- względna niepewność całkowita 11,3%
- niepewność rozszerzona 22,6%.

---

ANNA JEŻEWSKA, BOGUSŁAW BUSZEWSKI

### Aniline – a determination method

#### Abstract

This method is based on the adsorption of aniline vapors on XAD-7 resin treated with phosphoric acid, followed by desorption of the aniline derivative with 1 mL of KOH in methanol. The obtained solution is analyzed by HPLC with DAD detection.

The working range is 0.194 to 3.88  $\text{mg}/\text{m}^3$  for a 6 l air sample.