

Nitrobenzen

Metoda oznaczania w powietrzu na stanowiskach pracy¹

Nitrobenzene

Determination in workplace air

dr inż. ANNA JEŻEWSKA
e-mail: anjez@ciop.pl
inż. AGNIESZKA WOŹNICA
e-mail: agwoz@ciop.pl
Centralny Instytut Ochrony Pracy –
Państwowy Instytut Badawczy
00-701 Warszawa
ul. Czerniakowska 16

Numer CAS 98-95-3

Słowa kluczowe: nitrobenzen, metoda analityczna, chromatografia cieczowa, powietrze na stanowiskach pracy.

Keywords: nitrobenzene, determination method, liquid chromatography, workplace air.

Streszczenie

Nitrobenzen jest żółtawą oleistą cieczą o zapachu gorzkich migdałów. Na skalę przemysłową jest otrzymywany przez nitrowanie benzenu mieszaniną nitrującą. Substancja ta jest wykorzystywana głównie do produkcji aniliny. Podejrzewa się, że powoduje raka.

Celem pracy było opracowanie metody oznaczania nitrobenzenu, która umożliwi oznaczanie jego stężeń w powietrzu na stanowiskach pracy, w zakresie od 1/10 do 2 wartości NDS.

Opracowana metoda polega na: adsorpcji nitrobenzenu na żelu krzemionkowym, ekstrakcji metanolem i analizie chromatograficznej otrzymana-

nego roztworu. Badania wykonano z zastosowaniem chromatografu cieczowego (HPLC) serii 1200 firmy Agilent Technologies z detektorem diodowym (DAD). Oznaczenia prowadzono z zastosowaniem kolumny Ultra C18 (25 cm x 4,6 mm, o uziarnieniu 5 µm). Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482+A1: 2016. Na podstawie wyników przeprowadzonych badań ustalono zakres pomiarowy metody 1,8 ÷ 36 µg/ml, co odpowiada 0,1 ÷ 2 mg/m³ przy pobieraniu 18 l powietrza. W podanym zakresie uzyskana krzywa kalibracji miała przebieg liniowy,

¹ Publikacja opracowana na podstawie wyników IV etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2017-2019 w zakresie zadań służb państwowych przez Ministerstwo Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej.

Koordinator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

o czym świadczy współczynnik regresji na poziomie 1. Całkowita precyzja badania wyniosła 5,38%, a niepewność rozszerzona metody 23,42%. Opisywana metoda analityczna umożliwia selektywne oznaczanie nitrobenzenu w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie stężeń $0,1 \div$

2 mg/m^3 w obecności takich substancji współwystępujących, jak: metanol, benzen i anilina. Metoda oznaczania nitrobenzenu została zapisana w postaci procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku.

Summary

Nitrobenzene is a pale yellow oil with an almond-like odor. On an industrial scale it is obtained by nitration of benzene with a mixture of concentrated sulfuric acid, water and nitric acid. The compound is used in the production of aniline. Nitrobenzene is possibly carcinogenic to humans.

The aim of this study was to develop a method for determining concentrations of nitrobenzene in workplace air in the range from 1/10 to 2 of MAC values.

The developed method is based on the adsorption of nitrobenzene on a silica gel, extraction with methanol and chromatographic analysis of the resulting solution. The tests were performed using a liquid chromatograph (HPLC) 1200 series of Agilent Technologies with a diode array detector (DAD). Determinations were performed using an

Ultra C18 column (25 cm \times 4.6 mm, $d_p = 5 \mu\text{m}$). The procedure was validated according to Standard No. EN 482. On the basis of obtained results, the concentration range was established as 1.8–36 $\mu\text{g/ml}$, which corresponds to 0.1–2 mg/m^3 for 18-L air sample. In the following range, the obtained calibration curve was linear, as evidenced by the regression coefficient at the level of 1. The overall accuracy of the method was 5.38% and its relative total uncertainty was 23.42%.

This method enables selective determination of nitrobenzene in workplace air at concentrations of 0.1–2 mg/m^3 in the presence of other compounds, such as methanol, benzene and aniline. The method for determining nitrobenzene is presented in the form of analytical procedure in the Annex.

WPROWADZENIE

Nitrobenzen (olejek mirbanowy) to żółtawa oleista ciecz o zapachu gorzkich migdałów. Nitrobenzen jest bardzo dobrym rozpuszczalnikiem wielu organicznych substancji chemicznych. Jest słabo rozpuszczalny w wodzie, natomiast dobrze w: eterze dietylowym, etanolu, benzenie i acetonie. Masa molowa nitrobenzenu wynosi 123,12 g/mol, a jego temperatury: wrzenia 211 °C, topnienia 6 °C, zapłonu 88 °C i samozapłonu 480 °C. Prężność par w temperaturze 20 °C wynosi $0,2 \div 0,3 \text{ hPa}$ w zależności od źródła, z którego pochodzą dane (CHEMPYŁ 2017; GESTIS 2017).

Nitrobenzen jest otrzymywany na skalę przemysłową przez nitrowanie benzenu mieszaniną nitrującą. Przeważająca ilość nitrobenzenu jest używana do produkcji aniliny. W laboratorium jest on stosowany jako polarny, wysokowrzący rozpuszczalnik (Mastalerz 1984; Ullmann's... 2003; Szymańska, Bruchajzer 2009).

Nitrobenzen to substancja toksyczna, drażniąca, powodująca zahamowanie funkcji hemoglobiny krwi (methemoglobinemę) prowadzące do niedotlenienia: mózgu, serca i innych narządów. Może działać uczulająco. W wyniku zatrucia ostrego pary nitrobenzenu mogą spowodować łą-

wienie oczu, zaczerwienienie spojówek, a w dużych stężeniach: sinoniebiskie zabarwienie warg, paznokci i skóry oraz ból i zawroty głowy. Mogą też wystąpić: mdłości, ogólne osłabienie, zaburzenia świadomości, utrata przytomności. W wyniku zatrucia przewlekłego nitrobenzen powoduje: przewlekłe zapalenie skóry, zmiany uczuleniowe, niedokrwistość, przewlekłe zmiany w wątrobie (CHEMPYŁ 2017). Ze względu na zagrożenia dla zdrowia ludzi nitrobenzen został sklasyfikowany w rozporządzeniu WE 1272/2008 jako substancja: rakotwórcza (kategoria zagrożenia 2.), szkodliwa na rozrodczość (kategoria zagrożenia 2.), wykazująca toksyczność ostrą (drogą oddechową – kategoria zagrożenia 3., drogą pokarmową – kategoria zagrożenia 3., przez skórę – kategoria zagrożenia 3.) i działanie toksyczne na narządy docelowe – narażenie powtarzane, kategoria zagrożenia 1. (Rozporządzenie... 2008). Substancji tej przypisano następujące zwroty zagrożenia:

- H301: działa toksycznie po połyknięciu
- H311: działa toksycznie w kontakcie ze skórą
- H331: działa toksycznie w następstwie wdychania

- H351: podejrzewa się, że powoduje raka
- H372: powoduje uszkodzenie narządów poprzez długotrwałe lub powtarzane narażenie
- H412: działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

Ustalona wartość normatywu higienicznego – najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla nitrobenzenu w powietrzu na stanowiskach pracy wynosi 1 mg/m^3 (Obwieszczenie... 2017).

Do oznaczania zawartości nitrobenzenu w powietrzu na stanowiskach pracy jest stosowana metoda, która w 2005 r. stała się Polską Normą PN-Z-04036-5: 2005 (*Wróblewska-Jakubowska* 1998). W tej normie nitrobenzen był oznaczany z zastosowaniem chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną. Metoda polega na: adsorp-

cji par nitrobenzenu na żelu krzemionkowym, ekstrakcji metanolem i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu. Metoda umożliwia oznaczenie $0,33 \text{ mg}$ nitrobenzenu w 1 m^3 powietrza, co stanowi 1/3 wartości NDS, a także nie spełnia wymagań podanych w normie PN-EN 482+A1: 2016. W wyniku przeglądu, przeprowadzonego w 2016 r. przez Komitet Techniczny nr 159 działający przy PKN, norma PN-Z-04036-5: 2005 została zakwalifikowana do nowelizacji. Nowelizacja normy PN-Z-04036-5: 2005 jest niezbędna w celu umożliwienia oznaczania stężeń nitrobenzenu w powietrzu na stanowiskach pracy, w zakresie od 1/10 do 2 wartości NDS, tj. $0,1 \div 2 \text{ mg/m}^3$, oraz przeprowadzenia walidacji metody zgodnie z wytycznymi zawartymi w normie PN-EN 482+A1: 2016.

CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA

Aparatura

Do wykonania oznaczeń stosowano chromatograf cieczowy firmy Agilent Technologies (Niemcy) serii 1200 z detektorem diodowym (DAD) sprzężonym on-line oraz automatycznym dozownikiem próbek. Do sterowania procesem, oznaczania i zbierania danych wykorzystano z oprogramowania ChemStation. W badaniu stosowano kolumnę Ultra C18 o długości 25 cm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm, o uziarnieniu $5 \mu\text{m}$, z przedkolumną o wymiarach: $10 \times 4,0 \text{ mm}$ (Restek, USA).

Do pobierania próbek powietrza stosowano aspiratory typu Gilian LFS (Sensidyne, USA).

Do przeprowadzenia ekstrakcji analitów z żelu krzemionkowego wykorzystano z wytrząsarki mechanicznej WL-2000 (JWElectronic, Polska). Wzorce odważano na wadze analitycznej Sartorius TE214S

(Sartorius Corporation, USA). Próbki przechowywano w eksykatorze szafkowym serii EKS (WSL, Polska) i w zamrażalniku chłodziarki ARDO CO23B-2H (Merloni, Polska).

Odczynniki i materiały

W badaniach stosowano następujące odczynniki o czystości co najmniej cz.d.a.: nitrobenzen, anilina (Sigma-Aldrich, Niemcy), benzen (J.T. Baker, Holandia) i metanol (Merck, Niemcy).

Stosowano także wodę wysokiej czystości uzyskaną z aparatu Milli-Q (Millipore, USA).

Ponadto stosowano: rurki szklane wypełnione żelazem krzemionkowym (200/100 mg), (Zakład Usługowo Produkcyjny „Analityk”, Polska), szkło laboratoryjne oraz strzykawki do cieczy.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

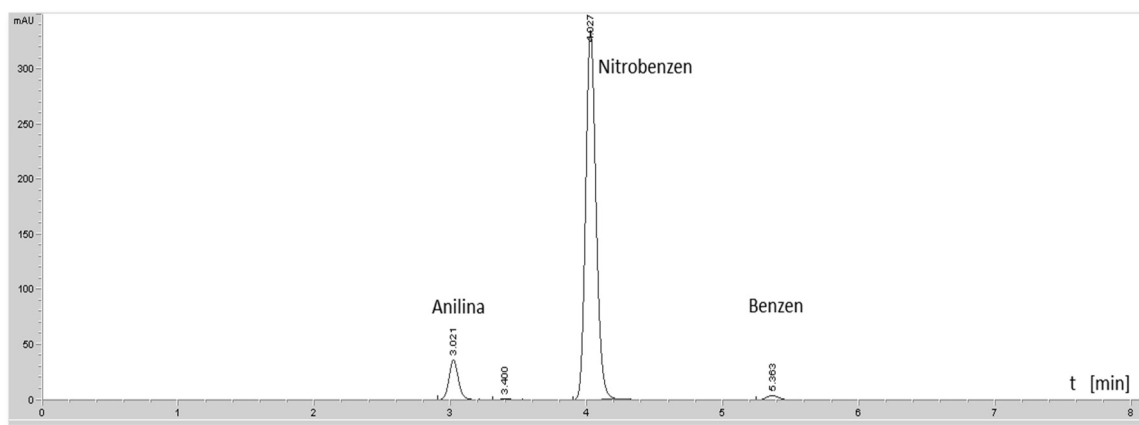
Ustalenie warunków oznaczania chromatograficznego

W wyniku badań wstępnych zauważono, że detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID) nie jest najlepszym detektorem do oznaczania nitrobenzenu. Do dozownika chromatografu gazowego wprowa-

dzono roztwory nitrobenzenu w metanolu. Na podstawie powierzchni pików nitrobenzenu odczytanych za pomocą analitycznej stacji komputerowej wykazano znaczne różnice między wynikami dla tego samego roztworu. Różnica między wynikami a wartością średnią była większa niż 5% wartości średniej. Na podstawie danych z piśmiennictwa

ustalono, że do oznaczania nitrobenzenu stosowano także detektor wychwytu elektronów (ECD), (Bartulewicz i in. 1996; Fuwei i in. 2012, Hable i in. 1991) i chromatograf gazowy sprzężony ze spektrometrem mas (Xiaohua 2010; Zhang i in. 2014). W U.S. Environmental Protection Agency (EPA 2006) nitrobenzen oznaczano z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją spektrofotometryczną (UV-Vis). Na podstawie informacji z przeglądu piśmiennictwa zdecydowano się oznaczać nitrobenzen z zastosowaniem chromatografu cieczowego

z detektorem diodowym (DAD). Ustalono następujące warunki oznaczania chromatograficznego dla nitrobenzenu: kolumna Ultra C18 o temperaturze 23 °C, faza ruchoma (metanol: woda) w stosunku objętościowym 80: 20 (v/v), natężenie przepływu fazy ruchomej 1 ml/min, dozowanie próbki 10 µl, ustalona długość fali analitycznej detektora DAD, $\lambda = 262$ nm. Sprawdzono możliwość oznaczania nitrobenzenu w tych warunkach w obecności: metanolu, benzenu i aniliny (rys. 1.).



Rys. 1. Chromatogram roztworu wzorcowego nitrobenzenu w obecności substancji współwystępujących. Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD, $\lambda = 262$ nm

Ustalenie warunków pobierania próbek powietrza

Do pobierania próbek powietrza zawierającego nitrobenzen przyjęto taką samą metodykę (z zastosowaniem rurek szklanych wypełnionych dwiema warstwami żelu krzemionkowego 200 i 100 mg), którą zastosowano w normie podlegającej nowelizacji. Badania adsorpcji nitrobenzenu (stężenie odpowiadające wartościom 5 i 10 NDS) przeprowadzono w następujący sposób: na włókno szklane

znajdujące się przed dłuższą warstwą żelu krzemionkowego w rurce naniesiono nitrobenzen i przepuszczono 18 l powietrza ze stałym strumieniem objętości: 18 i 3 l/h. Nitrobenzen zatrzymany na żelu krzemionkowym desorbowano metanolem (1 ml). Roztwory uzyskane po desorpcji z pierwszej i drugiej warstwy żelu krzemionkowego oznaczano chromatograficznie w opisanych warunkach. Wyniki badań przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1.

Badania adsorpcji nitrobenzenu na żelu krzemionkowym. Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD, $\lambda = 262$ nm

Strumień objętości pochłanianego powietrza, l/h	Czas pochłaniania, h	Przybliżone stężenie substancji w powietrzu, mg/m ³	Powierzchnia pików nitrobenzenu w roztworach po desorpcji		Zawartość substancji w II warstwie żelu (w % ilości oznaczonej w pierwszej warstwie żelu)
			I warstwa	II warstwa	
18	1	10	6675,8	0	–
18	1	5	3627,6	0	–
3	6	10	7305,7	407,3	5,6
3	6	5	3528,8	0	–

Na podstawie wyników badań wykazano, że w przypadku dużych stężeń nitrobenzenu w powietrzu (10 NDS) i gdy próbki są pobierane przez 6 h ze strumieniem objętości powietrza 3 l/h, do drugiej warstwy żelu przedostaje się około 5,6% nitrobenzenu w stosunku do ilości zatrzymanej w pierwszej warstwie żelu. Taka sytuacja nie występuje przy mniejszych stężeniach nitrobenzenu w powietrzu, np. odpowiadających wartości 5 NDS.

Badanie stopnia desorpcji

Badanie stopnia desorpcji nitrobenzenu z żelu krzemionkowego przeprowadzano w następujący sposób: do sześciu rurek pochłaniających, na włókno szklane umieszczone przed warstwą żelu krzemionkowego (200 mg), наносzono w trakcie

pobierania próbek powietrza po: 1; 5 i 10 µl roztworu nitrobenzenu w metanolu o stężeniu 1,8 mg/ml, co odpowiadało zawartości: 1,8; 9 i 18 µg nitrobenzenu. Przez rurki przepuszczano 18 litrów powietrza ze strumieniem objętości 3 l/h, po czym przeprowadzano desorpcję substancji z żelu metanolem. Po 30-minutowym wytrząsaniu uzyskane roztwory oznaczano chromatograficznie. W drugiej zabezpieczającej warstwie żelu nie stwierdzono obecności badanej substancji. Wykonano także oznaczanie nitrobenzenu w roztworach porównawczych wykonanych w identyczny sposób, ale bez żelu krzemionkowego.

Po odczytaniu powierzchni pików z chromatogramów badanych roztworów obliczono współczynniki desorpcji. Średni współczynnik desorpcji dla trzech poziomów stężeń wynosi 0,96. Wyniki przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2.

Badania stopnia desorpcji nitrobenzenu z żelu krzemionkowego. Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD, $\lambda = 262$ nm

Masa nitrobenzenu naniesiona na żel, µg	Średnia powierzchnia pików z roztworów po desorpcji	Średnia powierzchnia pików z roztworów porównawczych	Średni współczynnik desorpcji
1,8	70,7	73,2	0,97
9	320,3	338,7	0,95
18	613,7	639,6	0,96

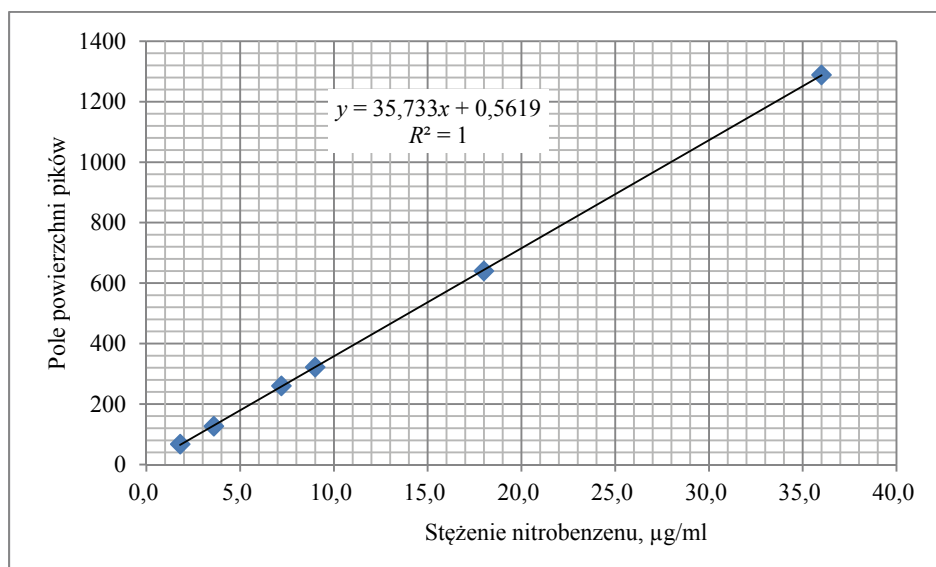
Na podstawie uzyskanych wyników badań ustalono, że rurka pochłaniająca zawierająca żel krzemionkowy zapewnia ilościowe wyodrębnienie nitrobenzenu z powietrza, a metanol jest odpowiednim rozpuszczalnikiem do desorpcji nitrobenzenu z żelu krzemionkowego.

Kalibracja i precyzja

Oznaczanie kalibracyjne wykonywano dla roztworów nitrobenzenu w metanolu. Zakres roztworów wzorcowych wynosi: 1,8 ÷ 36 µg/ml. Do oznaczeń kalibracyjnych przygotowano po trzy serie roztworów, które poddano analizie chromatograficznej w warunkach omówionych wcześniej. Uzyskany w wyniku badań wykres zależności powierzchni pików nitrobenzenu od jego stężeń w roztworach wzorcowych przedstawiono na

rys. 2. Współczynnik nachylenia „b” krzywej kalibracji o równaniu $y = bx + a$, charakteryzujący czułość metody, wynosi 35,7. Współczynnik korelacji „r” charakteryzujący liniowość krzywej wzorcowej wynosi 1.

W celu oceny precyzji oznaczeń kalibracyjnych przygotowano trzy serie po osiem roztworów roboczych nitrobenzenu w metanolu o stężeniach: 1,8; 18 i 36 µg/ml. Wykonano pomiary chromatograficzne po dwa z każdego roztworu w identycznych warunkach, jak przy wykonaniu oznaczeń kalibracyjnych. Na podstawie odczytanych powierzchni pików uzyskanych na chromatogramach obliczono odchylenie standardowe i współczynnik zmienności. Wartości charakteryzujące precyzję oznaczeń kalibracyjnych zestawiono w tabeli 3. Współczynniki zmienności dla kolejnych poziomów stężeń wynoszą odpowiednio: 2,54; 1,75 i 1,49%.



Rys. 2. Wykres zależności powierzchni pików od stężenia nitrobenzenu. Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD, $\lambda = 262$ nm

Tabela 3.

Precyzja oznaczeń kalibracyjnych nitrobenzenu. Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD, $\lambda = 262$ nm.

Seria pomiarów ($n = 8$)	I	II	III
Stężenie roztworu	1,8 µg/ml	18 µg/ml	36 µg/ml
Średnia powierzchnia pików	63,46	650,53	1269,58
Odchylenie standardowe	1,61	11,39	18,94
Współczynnik zmienności, %	2,54	1,75	1,49
Średnia precyzja – średni współczynnik zmienności, %	1,98		

Badanie trwałości próbek

Trwałość pobranych próbek powietrza badano po jednym dniu oraz po: czterech, ośmiu i dziesięciu dniach przechowywania w chłodziarce. Wyniki przedstawiono w tabeli 4.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że próbki zachowują trwałość przez co najmniej 10 dni.

Tabela 4.

Trwałość próbek przechowywanych w chłodziarce. Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD, $\lambda = 262$ nm

Nr rurki	Czas przechowywania, liczba dni	Średnie pola powierzchni pików	Średnie pole powierzchni uzyskane z dwóch rurek
1	1	830,10	855,80
2		881,50	
1	4	904,00	884,25
2		864,50	
1	4	883,50	873,85
2		864,20	
1	8	906,20	904,70

cd. tab.4.

Nr rurki	Czas przechowywania, liczba dni	Średnie pola powierzchni pików	Średnie pole powierzchni uzyskane z dwóch rurek
2	8	903,20	848,05
1		864,20	
2	10	831,90	873,90
1		882,50	
2	10	865,30	860,70
1		856,70	
2		864,70	

Walidacja metody

Walidację metody przeprowadzono według wytycznych zawartych w normie PN-EN 482+A1: 2016. Granice wykrywalności oraz oznaczalności

wyznaczono na podstawie wyników analizy dziesięciu niezależnych pomiarów powierzchni pików o czasie retencji nitrobenzenu dla trzech niezależnie przygotowanych ślepych prób. Wyniki przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 5.
Parametry walidacyjne metody oznaczania nitrobenzenu

Parametr	Wartość
Zakres pomiarowy	0,1 ÷ 2 mg/m ³
Ilość pobranego powietrza	18 l
Zakres krzywej wzorcowej	1,8 ÷ 36 µg/ml
Granica wykrywalności	2,02 ng/ml
Granica oznaczalności	6,07 ng/ml
Całkowita precyzja badania	5,38%
Względna niepewność całkowita	11,71%

PODSUMOWANIE

W artykule przedstawiono metodę oznaczania nitrobenzenu w powietrzu na stanowiskach pracy. Metoda polega na: adsorpcji par nitrobenzenu na żelu krzemionkowym, desorpcji metanolem i oznaczeniu tak uzyskanego roztworu z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Zastosowanie kolumny Ultra C18 o długości 25 cm pozwoliło na rozdzielenie nitrobenzenu od: metanolu, benzenu i aniliny, tj. substancji, które mogą występować w środowisku pracy. Metoda umożli-

wia oznaczanie nitrobenzenu w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie stężeń 0,1 ÷ 2 mg/m³, tj. od 1/10 do 2 wartości NDS. W tym zakresie stężeń metoda została poddana walidacji, zgodnie z wytycznymi zawartymi w normie PN-EN 482+A1: 2016. Wyznaczono takie parametry walidacyjne, jak: granica wykrywalności, granica oznaczalności, całkowita precyzja badania, względna niepewność całkowita i niepewność rozszerzona. Uzyskano dobre wyniki walidacyjne.

PIŚMIENNICTWO

- Bartulewicz J., Bartulewicz E., Gawłowski J., Niedzielski J.* (1996). Gas Chromatographic Determination of Aniline and Nitrobenzene in Ambient Air. *Chem. Anal. (Warsaw)* 41, 949–957.
- CHEMPYŁ (2017). Baza wiedzy o zagrożeniach chemicznych i pyłowych. Warszawa, CIOP-PIB.
- EPA (2006). Method 8330b. Nitroaromatics, Nitramines, and Nitrate Esters by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Revision 2. SW-846. Washington, D.C: U. S. Environmental Protection Agency.
- Fuwei X., Jingjing S., Jizhao G., Zhao G., Shusheng Z.* (2012). Determination of Seven Nitrobenzene Compounds in Mainstream Cigarette Smoke with Heart-Cutting Two-Dimensional Gas Chromatography. *Journal of Chromatographic Science* 50, 387–392.
- GESTIS (2017). Substance database. Germany, Sankt Augustin, BG Institute for Occupational Safety and Health.
- Hable M.C., Stern C., Asowata C., Williams K.* (1991). Determination of nitroaromatics and nitramines in ground and drinking water by wide-bore capillary gas chromatography. *Journal of Chromatographic Science* 29, 131–135.
- Mastalerz P.* (1984). *Chemia organiczna*. Warszawa, PWN.
- Obwieszczenie ministra rodziny, pracy i polityki społecznej z dnia 7.06.2017 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia ministra pracy i polityki społecznej w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. *DzU 2017, poz. 1348*.
- PN-Z-04008-7 Ochrona czystości powietrza – Pobieranie próbek – Zasady pobierania próbek powietrza w środowisku pracy i interpretacji wyników.
- PN-Z-04036-5: 2005 Ochrona czystości powietrza – Badania zawartości nitrobenzenu – Część 5: Oznaczenie nitrobenzenu na stanowiskach pracy metodą chromatografii gazowej.
- PN-EN 482+A1: 2016 Narażenie na stanowiskach pracy – Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (zwane rozporządzeniem GHS). *Dz. Urz. UE L 353 z 31.12.2008*.
- Szymańska J., Bruchajzer E.* (2009). Nitrobenzen. Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* 4(62), 113–150.
- Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry (2003). Vol 1: 2003 to Present. Federal Republic of Germany, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 6th ed., V23, 131.
- Wróblewska-Jakubowska K.* (1998). Nitrobenzen. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* z. 19, 138–142.
- Xiaohua L.* (2010). Fast Method for Determination of Nitrobenzene in Water using Agilent 5975T LTM GC/MSD. Application Note. China, Shanghai, Environmental. Agilent Technologies Co., Ltd.
- Zhang G.-J., Zhou X., Zang X.-H., Zhi L., Wang C., Wang Z.* (2014). Analysis of nitrobenzene compounds in water and soil samples by graphene composite-based solid-phase microextraction coupled with gas chromatography – mass spectrometry. *Chinese Chemical Letters* 25, 1449–1454.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA NITROBENZENU W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY

1. Zakres procedury

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczenia nitrobenzenu w powietrzu na stanowiskach pracy, z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym. Metodę stosuje się podczas kontroli warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie nitrobenzenu, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczenia opisanych w procedurze, wynosi $0,1 \text{ mg/m}^3$ (dla próbki powietrza o objętości 18 l).

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: zatrzymaniu obecnego w badanym powietrzu nitrobenzenu na żelu krzemionkowym, ekstrakcji metanolem i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu.

4. Wytyczne ogólne

4.1. Dokładność ważenia

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

4.2. Postępowanie z substancjami niebezpiecznymi

Czynności podczas których używa się rozpuszczalników organicznych należy wykonywać z użyciem środków ochrony indywidualnej, pod sprawnie działającym wyciągiem laboratoryjnym. Pozostałe po analizie roztwory odczynników i wzorców należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i przekazywać do utylizacji w uprawnionych instytucjach.

5. Odczynniki, roztwory i materiały

O ile nie zaznaczono inaczej, do analizy należy stosować substancje o stopniu czystości co najmniej cz.d.a.

Do przygotowania wszystkich roztworów należy stosować wodę destylowaną o czystości do HPLC.

5.1. Nitrobenzen

5.2. Metanol, o czystości do HPLC

5.3. Roztwór wzorcowy podstawowy nitrobenzenu

Do zważonej kolby pomiarowej o pojemności 10 ml odważyć około 9 mg nitrobenzenu, uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 5.2. i dokładnie wymieszać. Stężenie nitrobenzenu w tak przygotowanym roztworze wynosi około 0,9 mg/ml.

Roztwór przechowywany w chłodziarce zachowuje trwałość przez co najmniej 7 dni.

5.4. Roztwory wzorcowe robocze nitrobenzenu

Do sześciu kolb pomiarowych pojemności 5 ml odmierzyć kolejno: 10; 20; 40; 50; 100 i 200 μl roztworu wzorcowego podstawowego nitrobenzenu wg punktu 5.3, uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 5.2. i wymieszać. Stężenie nitrobenzenu w tak przygotowanych roztworach wynosi odpowiednio: 1,8; 3,6; 7,2; 9; 18 i 36 $\mu\text{g/ml}$.

Roztwory przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość przez co najmniej 7 dni.

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

Stosować typowy sprzęt laboratoryjny oraz następujący:

6.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem UV-VIS, umożliwiającym wykonanie oznaczeń przy długości fali 262 nm.

6.2. Kolumna chromatograficzna

Kolumna chromatograficzna umożliwiająca oznaczenie nitrobenzenu w obecności innych substancji

występujących jednocześnie w badanym powietrzu, np. kolumna wypełniona fazą oktadecylową o uziarnieniu 5 μm , o długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm.

6.3. Pompa ssąca

Pompa ssąca umożliwiająca pobieranie powietrza ze stałym strumieniem objętości wg punktu 7.

6.4. Naczynka do desorpcji

Naczynka szklane, o pojemności około 3 ml z nakrętkami i uszczelkami silikonowymi, wyposażone w zawory umożliwiający pobieranie roztworu bez otwierania naczynek.

6.5. Rurki pochłaniające

Dostępne w handlu rurki szklane zawierające dwie warstwy żelu krzemionkowego (200 i 100 mg), rozdzielone i ograniczone włóknem szklanym.

6.6. Strzykawki

Strzykawki do cieczy, o pojemności 10 ÷ 1000 μl .

7. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać wg zasad podanych w normie PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek, przez rurkę pochłaniającą wg punktu 6.5., przepuścić do 18 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości nie większym niż 18 l/h.

Pobrane próbki przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość przez co najmniej 10 dni.

8. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy dobrać tak, aby uzyskać rozdzielenie nitrobenzenu od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu. W przypadku stosowania kolumny o parametrach podanych w punkcie 6.2. przykładowe warunki oznaczania są następujące:

- faza ruchoma: metanol: woda 80: 20
- temperatura kolumny 23 °C
- natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej 1 ml/min
- długość fali analitycznej detektora diodowego 262 nm
- dozowanie próbek 10 μl .

9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do chromatografu wprowadzić po 10 μl roztworów wzorcowych roboczych nitrobenzenu wg punktu 5.4. Z każdego roztworu należy wykonać

dwukrotny pomiar. Odczytać powierzchnie pików wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Następnie wykreślić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych zawartość nitrobenzenu w 1 mililitrze roztworu, w mikrogramach, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików.

10. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza przesypać oddzielnie każdą warstwę żelu krzemionkowego z rurki pochłaniającej do naczynka do desorpcji wg punktu 6.4. Następnie dodać strzykawką wg punktu 6.6. po 1 ml metanolu wg punktu 5.2., naczynka szczelnie zamknąć i przeprowadzić desorpcję w ciągu 30 min, intensywnie wstrząsając co pewien czas ich zawartością. Następnie pobrać po 10 μl roztworu z nad żelu krzemionkowego i badać chromatograficznie w warunkach określonych w rozdziale 8. Z każdego roztworu należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików nitrobenzenu wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Z krzywych wzorcowych odczytać zawartość nitrobenzenu w 1 ml badanego roztworu.

W taki sam sposób wykonać oznaczanie nitrobenzenu w roztworze z nad krótszej warstwy żelu krzemionkowego. Zawartość nitrobenzenu oznaczona w krótszej warstwie żelu nie powinna przekraczać 10% ilości oznaczonej w dłuższej warstwie.

11. Wyznaczanie współczynnika desorpcji

Do pięciu naczynek do desorpcji, wg punktu 6.4., przesypać dłuższą (200 mg) warstwę żelu krzemionkowego z rurki pochłaniającej wg punktu 6.5. Następnie dodać po 20 μl roztworu wzorcowego podstawowego nitrobenzenu wg punktu 5.3. W szóstym naczynku przygotować roztwór kontrolny zawierający tylko żel. Naczynka szczelnie zamknąć i pozostawić do następnego dnia. Następnie dodać strzykawką wg punktu 6.6. po 1 ml metanolu wg punktu 5.2. Naczynka ponownie

zamknąć i przeprowadzić desorpcję w ciągu 30 min, intensywnie wstrząsając co pewien czas ich zawartością. Jednocześnie wykonać oznaczenie nitrobenzenu, co najmniej w trzech roztworach porównawczych, przygotowanych przez dodanie do 1 ml metanolu wg punktu 5.2. po 20 μ l roztworu wzorcowego podstawowego nitrobenzenu wg punktu 5.3. Tak uzyskane roztwory badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 8.

Współczynnik desorpcji nitrobenzenu (d) obliczyć wg wzoru:

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

w którym:

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

Następnie obliczyć średnią wartość współczynnika desorpcji nitrobenzenu (\bar{d}) jako średnią arytmetyczną otrzymanych wartości (d).

Współczynnik desorpcji należy wyznaczać dla każdej nowej partii rurek pochłaniających wg punktu 6.5.

12. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie nitrobenzenu (X) w badanym powietrzu obliczyć w miligramach na metr sześcienny wg wzoru:

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

w którym:

- m_1 – masa nitrobenzenu w roztworze znad pierwszej warstwy żelu krzemionkowego, odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach,
- m_2 – masa nitrobenzenu w roztworze znad drugiej warstwy żelu krzemionkowego, odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach,
- V – objętość powietrza przepuszczonego przez rurkę pochłaniającą, w litrach,
- \bar{d} – średnia wartość współczynnika desorpcji wyznaczona zgodnie z punktem 11.

