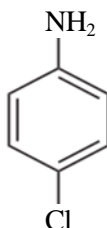


mgr inż. ANNA JEŻEWSKA¹
prof. dr hab. BOGUSŁAW BUSZEWSKI²
¹Centralny Instytut Ochrony Pracy –
Państwowy Instytut Badawczy
00-701 Warszawa
ul. Czerniakowska 16
²Uniwersytet Mikołaja Kopernika
87-100 Toruń
ul. Gagarina 7/11

4-Chloroanilina

– metoda oznaczania



Numer CAS: 479-18-5

Słowa kluczowe: 4-chloroanilina, *p*-chloroanilina, metoda analityczna, metoda chromatografii cieczowej, powietrze na stanowiskach pracy.

Keywords: 4-chloroaniline, a determination method, workplace air, liquid chromatographic analysis.

Metodę stosuje się do oznaczania stężeń 4-chloroaniliny w powietrzu na stanowiskach pracy podczas przeprowadzania kontroli warunków sanitarnohigienicznych.

Metoda polega na przepuszczeniu badanego powietrza zawierającego 4-chloroanilinę przez filtr z włókna szklanego z naniesionym kwasem siarkowym, wymyciu osadzonej na filtrze substancji wodą i roztworem wodorotlenku sodu, ekstrakcji do fazy stałej w celu wzbogacenia analitu, wymiany rozpuszczalnika na metanol oraz analizie otrzymanego roztworu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

Oznaczalność metody wynosi 0,005 mg/m³.

UWAGI WSTĘPNE

4-Chloroanilina w warunkach normalnych jest krystalicznym ciałem stałym stosowanym do produkcji: mocznika, herbicydów, insektycydów, barwników i pigmentów, a ze względu na aktywność bakteriobójczą także kosmetyków i leków. Barwniki na bazie 4-chloroaniliny są stosowane do drukowania wzorów na tkaninach.

Zgodnie z rozporządzeniem WE nr 1272/2008 4-chloroanilina jest substancją rakotwórczą (kategoria 1.B), wykazuje ostrą toksyczość (kategoria 3.), działanie uczulające na skórę (kategoria 1.), toksyczość ostrą dla środowiska wodnego (kategoria 1.), przewlekłą toksyczość dla śro-

dowiska wodnego (kategoria 1.). 4-Chloroanilina działa toksycznie po połknięciu (H301), działa toksycznie w kontakcie ze skórą (H311), może powodować reakcję alergiczną skóry (H317), działa toksycznie w następstwie wdychania (H331), może powodować raka (H350), a także działa bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki szkodliwe (H410).

4-Chloroanilina działa methemoglobinotwórczo i hemolizująco. W przypadku zatrucia ostrego pyły lub pary 4-chloroaniliny mogą spowodować: łzawienie oczu, zaczerwienienie spojówek, ból oczu, podrażnienie górnych dróg oddechowych z kaszlem, sinoniebieskie zabarwienie skóry, duszność oraz zaburzenia świadomości. Może nastąpić także utrata przytomności. Skażenie skóry 4-chloroaniliną wywołuje: sinoniebieskie zabarwienie błon śluzowych i skóry, ból i zawroty głowy, a także duszność i zaburzenia świadomości. Skażenie oczu powoduje ich zaczerwienienie, ból i łzawienie, a także może doprowadzić do uszkodzenia rogówki. Narażenie na działanie 4-chloroaniliny drogą pokarmową wywołuje: nudności, wymioty, ból brzucha oraz podobne objawy jak w zatruciu przez skórę. Może wystąpić także przemijające krwiste zabarwienie moczu wskutek hemolizy (uszkodzenia) krwinek czerwonych.

PROCEDURA ANALITYCZNA

1. Zakres procedury

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania zawartości 4-chloroaniliny w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną. Metodę stosuje się podczas badania warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie 4-chloroaniliny, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonywania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi 0,005 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 przepuszczeniu badanego powietrza zawierającego 4-chloroanilinę przez filtr z włókna szklanego z naniesionym kwasem siarkowym, następnie wymyciu osadzonej na filtrze substancji wodą i roztworem wodorotlenku sodu, ekstrakcji do fazy stałej w celu wzbogacenia analitu oraz wymiany rozpuszczalnika na metanol 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.

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 ich unieszkodliwianiem.

5. Odczynniki, roztwory i materiały

5.1. Acetonitryl

Stosować acetonitryl wg punktu 4.1.

5.2. 4-Chloroanilina

Stosować 4-chloroanilinę wg punktu 4.1.

5.3. Kwas siarkowy

Stosować roztwór kwasu siarkowego o stężeniu 0,26 mol/l.

5.4. Metanol

Stosować metanol wg punktu 4.1.

5.5. Wodorotlenek sodu

Stosować wodorotlenek sodu o stężeniu 0,135 mmol/l.

5.6. Wodorotlenek sodu

Stosować wodorotlenek sodu o stężeniu 0,135 mol/l.

5.7. Roztwór wzorcowy podstawowy 4-chloroaniliny

Należy odważyć około 10 mg 4-chloroaniliny wg punktu 5.2. i przenieść do kolby pomiarowej z ciemnego szkła o pojemności 10 ml, uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 5.4. i zawartość dokładnie wymieszać. Stężenie 4-chloroaniliny w tak przygotowanym roztworze wynosi 1 mg/ml.

Roztwór przechowywany w chłodziarce jest trwały co najmniej 2 tygodnie.

5.8. Roztwór wzorcowy pośredni 4-chloroaniliny

Do kolby pomiarowej o pojemności 10 ml należy przenieść 1 ml roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 5.7., uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 5.4. i zawartość dokładnie wymieszać. Stężenie 4-chloroaniliny w tak przygotowanym roztworze wynosi 0,1 mg/ml.

Roztwór przechowywany w chłodziarce jest trwały co najmniej 2 tygodnie.

5.9. Roztwory wzorcowe robocze 4-chloroaniliny

Na sześć filtrów wg punktu 5.10., umieszczonych w kolbach stożkowych o pojemności 25 ml wg punktu 6.5., nanieść roztwór wzorcowy pośredni wg punktu 5.8. w ilości: 5; 10; 20; 30; 50 i 100 μ l. Filtry pozostawić do wyschnięcia. Następnie dodać po 2 ml wody, kolby zamknąć i zostawić na około 1 h, następnie dodać 3 ml wodorotlenku sodu wg punktu 5.6. i pozostawić kolby na 30 min, wstrząsając co pewien czas ich zawartością. Po tym czasie roztwory z nad filtrów przenieść na kolumny wg punktu 5.11. wcześniej kondycjonowane: 1 ml metanolu wg punktu 5.4. i 1 ml wodorotlenku sodu wg punktu 5.5. Po sorpcji analitu złoże przemyć 1 ml wody i suszyć co najmniej przez 5 min pod próżnią wg punktu 6.7. Po tym czasie desorbować analizę ze złoża 1 ml metanolu wg punktu 5.4. W 1 ml tak uzyskanego roztworu znajduje się odpowiednio: 0,5; 1; 2; 3; 5 i 10 μ g 4-chloroaniliny.

Roztwory szczelnie zamknięte i przechowywane w chłodziarce są trwałe co najmniej 7 dni.

5.10. Filtry

Stosować filtry z włókna szklanego o średnicy 37 mm. Na filtry nanosić po 0,5 ml kwasu siarkowego wg punktu 5.3. i pozostawić do wyschnięcia. Suche filtry przechowywać w szczelnie zamkniętym naczyniu.

5.11. Kolumny do ekstrakcji, do fazy stałej

Stosować dostępne w handlu kolumny do ekstrakcji, do fazy stałej o pojemności 1 ml wypełnione 30 mg warstwą sorbentu (kopolimer *N*-winylopirolidonu i diwinylobenzenu).

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

6.1. Chromatograf ciekowy

Stosować chromatograf ciekowy z detektorem spektrofotometrycznym, z możliwością dozowania próbki o pojemności 20 µl i z elektronicznym integratorem.

6.2. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną umożliwiającą rozdział 4-chloroaniliny od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu, np.: kolumnę stalową z fazą oktadecylową o długości 25 cm, średnicy wewnętrznej 4,6 mm i o uziarnieniu 5 µm.

6.3. Strzykawki do cieczy

Stosować strzykawki do cieczy o pojemności 10 µl ÷ 2,5 ml.

6.4. Pipety szklane

Stosować pipety do cieczy o pojemności 5 ml.

6.5. Kolby stożkowe

Stosować wyposażone w korki kolby stożkowe o pojemności 25 ml.

6.6. Pompa ssąca

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

6.7. Zestaw próżniowy do ekstrakcji

Stosować zestaw próżniowy do ekstrakcji, do fazy stałej.

7. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać wg zasad zawartych w normie PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek przez dwa filtry wg punktu 5.10., połączone szeregowo i umieszczone w oprawce, należy przepuścić do 100 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości, nie większym niż 20 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 4-chloroaniliny od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu.

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

- faza ruchoma acetonytryl: metanol: woda 50: 1: 49
- strumień objętości fazy ruchomej 1 ml/min

– temperatura kolumny	23 °C
– długość fali analitycznej detektora UV	242 nm
– dozowanie próbek	20 µl.

9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do chromatografu wprowadzić po 20 µl roztworów wzorcowych roboczych wg punktu 5.9. Z każdego roztworu wzorcowego należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać powierzchnie pików według 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 4-chloroaniliny w próbce w mikrogramach, 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 każdy filtr przenieść do oddzielnej kolby wg punktu 6.5. Następnie należy tak postępować jak przy sporządzaniu roztworów wzorcowych roboczych wg punktu 5.9. i krzywej wzorcowej wg punktu 9.

11. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie 4-chloroaniliny (X) w badanym powietrzu obliczyć w miligramach na metr sześcienny, na podstawie wzoru:

$$X = \frac{(m_1 + m_2)}{V},$$

w którym:

m_1 – masa 4-chloroaniliny w roztworze uzyskanym po odzysku/desorpcji z nad pierwszego filtra odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach,

m_2 – masa 4-chloroaniliny w roztworze uzyskanym po odzysku/desorpcji z nad drugiego filtra odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach,

V – objętość przepuszczonego powietrza przez filtr, w litrach.

INFORMACJE DODATKOWE

Badania wykonano, stosując chromatograf cieczowy firmy Agilent Technologies serii 1200 z detektorem diodowym (DAD), z automatycznym podajnikiem próbek, z dozowaniem próbki w zakresie 1 ÷ 100 µl i oprogramowaniem Chemstation sterującym oraz zbierającym dane. Do ekstrakcji, do fazy stałej stosowano dostępne w handlu kolumnienki Oasis™ HLB firmy Waters.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań uzyskano następujące dane walidacyjne:

– zakres pomiarowy 0,5 ÷ 10 µg/ml
(0,005 ÷ 0,1 mg/m³ dla próbki powietrza 100 l)

- granica wykrywalności, x_{gw} 0,04 ng/ml
- granica oznaczalności, x_{ozn} 0,12 ng/ml
- współczynnik korelacji, R 0,9999
- całkowita precyzja badania, V_c 5,32%
- względna niepewność całkowita 11,6%.

ANNA JEŻEWSKA, BOGUSŁAW BUSZEWSKI

4-Chloroaniline - a determination method

A b s t r a c t

This method is based on the chemisorption of 4-chloroaniline on a glass fiber filter treated with sulphuric acid, followed by extraction of 4-chloroaniline sulphate with water and NaOH solution. 4-Chloroaniline is eluted from SPE cartridge using 1 ml of methanol. The obtained solution is analyzed with HPLC with UV detection.

The working range is 0.005 to 0.1 mg/m³ for a 100 l air sample.