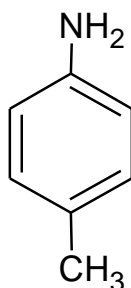


dr SŁAWOMIR BRZEŹNICKI  
mgr MARZENA BONCZAROWSKA  
dr JAN GROMIEC  
Instytut Medycyny Pracy  
im. prof. dr med. Jerzego Nofera  
91-348 Łódź  
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

# 4-Toliloamina

## – metoda oznaczania



Numer CAS: 106-49-0

---

**Słowa kluczowe:** 4-toliloamina, analiza powietrza, stanowisko pracy, chromatografia cieczowa.

**Keywords:** *p*-toluidine, air analysis, workplace, HPLC.

Metodę stosuje się do oznaczania stężeń 4-toliloaminy w powietrzu na stanowiskach pracy.

Metoda polega na ekstrakcji 4-toliloaminy zatrzymanej na nasączonym roztworem kwasu siarkowego filtrze z włókna szklanego za pomocą metanolowo-wodnego roztworu wodorotlenku sodu oraz oznaczaniu tego związku z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

Oznaczalność metody wynosi 0,4 mg/m<sup>3</sup> (dla próbki o objętości 100 l).

### UWAGI WSTĘPNE

4-Toliloamina (*p*-toluidyna; 1-amino-4-metylobenzen; 4-aminotoluen; 4-metyloanilina; 4-metylobenzoamina) występuje w postaci białych, połyskujących płatków o charakterystycznym zapachu, przypominającym zapach wina. Związek ten stosunkowo słabo rozpuszcza się w wodzie. Znacznie lepiej rozpuszcza się w etanolu, metanolu, acetonie, eterze, rozcieńczonych kwasach i olejach.

Najważniejsze właściwości fizykochemiczne 4-toliloaminy:

- |                               |                                 |
|-------------------------------|---------------------------------|
| – wzór sumaryczny             | C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> N |
| – ciężar molowy               | 107,16                          |
| – gęstość par (powietrze = 1) | 3,9                             |

– temperatura topnienia	44 °C
– temperatura wrzenia	200,5 °C
– ciężar właściwy	0,8095 (w temp. 20 °C/4 °C)
– prężność par	38,1 Pa
– gęstość	0,9619 g/cm <sup>3</sup> (w temp. 20 °C)
– stała dysocjacji (pKa)	4,98 (szacowana)
– współczynnik podziału	oktanol-woda jako log Kow 1,39
– rozpuszczalność w wodzie	6,64 g/l (w temp. 20 °C).

4-Toliloamina jest otrzymywana przez redukcję *p*-nitrotoluenu w obecności żelaza i kwasu solnego. Stosowana jest jako półprodukt przy produkcji: barwników, pestycydów, żywic jonowymiennych oraz niektórych leków. Związek ten jest również obecny w dymie papierosowym. Do organizmu osób narażonych 4-toliloamina może wchłaniać się głównie drogą inhalacyjną oraz przez skórę.

4-Toliloaminę, zgodnie z tabelą 3.2. załącznika VI do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (DzUrz UE z dnia 31.12.2008 r. L 353), zakwalifikowano jako:

- R40 – ograniczone dowody działania rakotwórczego (Rakotw. Kat. 3.)
- T – substancja toksyczna
- R23/24/25 – działa toksycznie przez drogi oddechowe, w kontakcie ze skórą i po połknięciu
- Xi – substancja drażniąca
- R36 – działa drażniąco na oczy
- R43 – może powodować uczulenie w kontakcie ze skórą
- N – substancja niebezpieczna dla środowiska
- R50 – działa bardzo toksycznie na organizmy wodne.

W 2010 r. minister pracy i polityki społecznej ustanowił wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla 4-toliloaminy w powietrzu na stanowiskach pracy równą 8 mg/m<sup>3</sup>.

## PROCEDURA ANALITYCZNA

### 1. Zakres stosowania metody

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

Najmniejsze stężenie 4-toliloaminy, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi 0,4 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 osadzaniu 4-toliloaminy na filtrze z włókna szklanego nasączonego roztworem kwasu siarkowego, ekstrakcji za pomocą metanolowo-wodnego roztworu wodorotlenku sodu oraz oznaczaniu tego związku za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

## 4. Wytyczne ogólne

### 4.1. Czystość odczynników

Do analizy należy stosować, o ile nie zaznaczono inaczej, odczynniki i substancje wzorcowe 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 toksycznymi

Wszystkie czynności, podczas których używa się substancji wzorcowych, 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. 4-Toliloamina

Stosować według punktu 4.

### 5.2. Kwas siarkowy

Stosować według punktu 4.

### 5.3. Metanol do HPLC

Stosować według punktu 4.

### 5.4. Sodu wodorotlenek

Stosować według punktu 4.

### 5.5. Roztwór kwasu siarkowego

Przygotować roztwór kwasu siarkowego o stężeniu 0,135 mol/l.

### 5.6. Roztwór wodorotlenku sodu

Odważyć dokładnie 0,54 g wodorotlenku sodu według punktu 5.4., przenieść do kolby pomiarowej o pojemności 100 ml i rozpuścić w wodzie według punktu 5.10. Po ostygnięciu uzupełnić kolbę wodą do kreski, a 40 ml tego roztworu zmieszać z 60 ml metanolu według punktu 5.3.

### 5.7. Roztwór wzorcowy podstawowy 4-toliloaminy

Odważyć około 600 mg 4-toliloaminy według punktu 5.1., przenieść do kolby pomiarowej o pojemności 10 ml i rozpuścić w metanolu według punktu 5.3. Obliczyć stężenie tego związku w tak przygotowanym roztworze.

#### 5.8. Roztwór wzorcowy pośredni 4-toliloaminy

Do kolby pomiarowej o pojemności 25 ml odmierzyć taką ilość roztworu wzorcowego podstawowego 4-toliloaminy według punktu 5.7., aby po uzupełnieniu metanolem końcowe stężenie 4-toliloaminy wynosiło 16 mg/ml.

#### 5.9. Roztwory wzorcowe robocze 4-toliloaminy

Do siedmiu kolb pomiarowych o pojemności 10 ml odmierzyć w mililitrach odpowiednio: 0,00; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0 i 10,0 roztworu wzorcowego pośredniego 4-toliloaminy według punktu 5.8. i uzupełnić metanolem do kreski. Stężenia 4-toliloaminy w tak przygotowanych roztworach wynoszą: 0,0; 0,4; 0,8; 1,6; 4,0; 8,0 i 16,0 mg/ml.

#### 5.10. Woda do HPLC

Stosować według punktu 4.

## 6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

### 6.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem spektrofotometrycznym umożliwiającym wykonanie oznaczeń przy długości fali 234 nm.

### 6.2. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną stalową o długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 3 mm wypełnioną żel krzemionkowym modyfikowanym grupami CN o średnicy ziaren 5 µm.

### 6.3. Filtry szklane

Stosować filtry z włókna szklanego o średnicy 37 mm i wielkości porów 1,6 µm. Filtry nasączyć 200 ml roztworu kwasu siarkowego według punktu 5.5. Filtry suszyć w suszarce w temperaturze 100 °C. Wysuszone filtry przechowywać w ekzykatorze.

### 6.4. Naczynka (wialki)

Stosować naczynka (wialki) o pojemności 2 i 20 ml.

### 6.5. Pipeta automatyczna

Stosować pipety automatyczne o pojemności 100 i 200 µl.

### 6.6. Pompa ssąca

Stosować pompę ssącą z przepływomierzem, umożliwiającą pobieranie powietrza w strefie oddychania pracownika ze stałym strumieniem objętości według punktu 7.

### 6.7. Sączki z politetrafluoroetyleny

Stosować sączki z politetrafluoroetyleny (PTFE) o średnicy 25 mm i średnicy porów 0,45 µm.

### 6.8. Wytrząsarka/mieszadło hematologiczne

Stosować wytrząsarkę rotacyjną lub mieszadło hematologiczne.

## 7. Pobieranie próbek powietrza

Podczas pobierania próbek powietrza należy stosować zasady zawarte w normie PN-Z-04008-07. Za pomocą pompy według punktu 6.6. przepuścić przez filtry szklane według punktu 6.3. do 100 l powietrza ze stałym strumieniem objętości do 60 l/h. Filtry z pobranymi próbkami powietrza umieścić w hermetycznie zamykanych pojemnikach i przechowywać w lodówce do czasu przeprowadzenia analizy. Pobrane w ten sposób próbki powietrza przechowywane w szczelnie zamkniętych pojemnikach są trwałe przez 30 dni.

## 8. Warunki pracy chromatografu

Należy tak dobrać skład fazy ruchomej, aby zapewnić selektywne oznaczanie 4-toliloaminy od substancji współwystępujących. W przypadku stosowania kolumny chromatograficznej według punktu 6.2., oznaczanie można wykonać przy zastosowaniu warunków podanych w poniższej tabeli.

**Tabela 1.**

**Warunki pracy chromatografu cieczowego**

Kolumna	Supelcosil CN 250 x 3 mm, ziarno 5 $\mu$ m
Faza ruchoma	metanol (A) : woda (B)
Program gradientu	0 min 20% A 4 min 40% A 6 min 80% A 15 min 80% A
Prędkość przepływu	0,3 ml/min
Objętość próbki	5 $\mu$ l
Temperatura kolumny	25 °C
Długość fali analitycznej	$\lambda$ – 234 nm

## 9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Na siedem filtrów szklanych według punktu 6.3. nanieść za pomocą pipety automatycznej po 100  $\mu$ l roztworów wzorcowych roboczych 4-toliloaminy według punktu 5.9. Po wysuszeniu filtry umieścić w zakręcanych naczynkach szklanych o pojemności 20 ml według punktu 6.4., dodać 5 ml roztworu wodorotlenku sodu według punktu 5.6. i ekstrahować przez 1 h na mieszadle hematologicznym według punktu 6.8. Zawartości 4-toliloaminy w tak przygotowanych roztworach wynoszą: 0,0; 0,04; 0,08; 0,16; 0,4; 0,8 i 1,6 mg/5 ml. Ekstrakty przesączyć przez sączi z PTFE według punktu 6.7. do naczynek o pojemności 2 ml według punktu 6.4. i poddać analizie chromatograficznej. Sporządzić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych ilość 4-toliloaminy naniesioną na filtr, a na osi rzędnych – wartość pola powierzchni (wysokości) piku tego związku. Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

## 10. Wykonanie oznaczania

Filtry z pobranymi próbkami powietrza umieścić w zakręcanych naczynkach szklanych o pojemności 20 ml według punktu 6.4., następnie dodać 5 ml roztworu wodorotlenku sodu według punktu 5.6. i ekstrahować przez 1 h na mieszadle hematologicznym według punktu 6.8. Ekstrakty przesączyć przez sączi z PTFE według punktu 6.7. do wialek o pojemności 2 ml według punktu 6.4. Roztwory poddać analizie chromatograficznej. Próbkę, których wartości pola powierzchni (wysokości) pików przekraczają wartości pola powierzchni (wysokości) piku wzorca o najwyższym stężeniu, należy rozcieńczyć metanolem według punktu 5.3. Dodatkowe rozcieńczenie uwzględnić w obliczeniach.

## 11. Obliczanie wyniku oznaczania

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

$$X = \frac{c}{V},$$

w którym:

- $c$  – zawartość 4-toliloaminy odczytana z krzywej wzorcowej, w miligramach,
- $V$  – objętość przepuszczonego powietrza, w metrach sześciennych.

## INFORMACJE DODATKOWE

Badania wykonano, stosując chromatograf cieczowy firmy Waters model Alliance wyposażony w pompę poczwórną, automatyczny dozownik próbek, detektor spektrofotometryczny oraz kolumnę analityczną.

Na podstawie przeprowadzonych badań uzyskano następujące dane walidacyjne:

- zakres pomiarowy 0,04 ÷ 1,6 mg/5 ml  
0,4 ÷ 16 mg/m<sup>3</sup> (dla próbki powietrza 100 l)
- granica oznaczania ilościowego,  $X_{ozn}$  0,09 µg/ml (UV-VIS)
- granica wykrywalności 0,3 µg/ml (UV-VIS)
- współczynnik korelacji charakteryzujący liniowość krzywych wzorcowych,  $r$  0,999
- całkowita precyzja badania,  $V_c$  3,5%
- niepewność całkowita metody 16,5%.

---

SŁAWOMIR BRZEŹNICKI, MARZENA BONCZAROWSKA, JAN GROMIEC

### *p*-Toluidine – a determination method

#### A b s t r a c t

Air samples are collected by drawing a known volume of air through acid-coated glass fiber filters. *p*-Toluidine is desorbed with 5 ml of a methanolic solution of sodium hydroxide (0.135 mole). The resulting solutions are then analyzed with high performance chromatography using ultraviolet ( $\lambda = 234$  nm) detection.

The working range of the analytical method is from 0.04 to 1.6 µg/5ml (0.4 – 16 mg/m<sup>3</sup> for an air sample of 100 l).