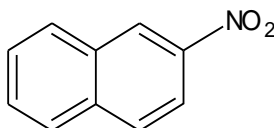


dr SŁAWOMIR BRZEŹNICKI
mgr MARZENA BONCZAROWSKA
dr JAN P. GROMIEC
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
91-348 Łódź
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

2-Nitronaftalen

– metoda oznaczania I

Numer CAS: 581-89-5



Słowa kluczowe: 2-nitronaftalen, substancje rakotwórcze, analiza powietrza, stanowisko pracy, chromatografia cieczowa.

Key words: 2-nitronaphthalene, cancerogenic substances, air analysis, workplace HPLC.

Metodę stosuje się do oznaczania stężeń 2-nitronaftalenu w powietrzu na stanowiskach pracy.

Metoda polega na adsorpcji par 2-nitronaftalenu na sorbencie Amberlit XAD-2, desorpcji metanolem i analizie otrzymanego roztworu za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją UV-VIS.

Oznaczalność metody wynosi $0,25 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

UWAGI WSTĘPNE

Najważniejsze właściwości fizykochemiczne 2-nitronaftalenu (β -nitronaftalenu):

- | | |
|-------------------------------|--------------------------------------|
| – wzór sumaryczny | $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NO}_2$ |
| – masa cząsteczkowa | 173,2 |
| – gęstość par (powietrze = 1) | 5,89 |
| – temperatura topnienia | 79 °C |
| – temperatura wrzenia | 304 °C (101,3 kPa) |
| – prężność par | 0,000032 kPa w temp. 25 °C). |

2-Nitronaftalen jest substancją stałą występującą w postaci żółtych igieł lub płytek. Związek ten słabo rozpuszcza się w wodzie, natomiast jest dobrze rozpuszczalny w takich rozpuszczalnikach organicznych, jak: chlorek metylenu, heksan lub toluen. Podobnie jak inne nitrowe pochodne wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (nitro-WWA) 2-nitronaftalen powstaje w wyniku niekompletnego spalania substancji organicznych.

W środowisku 2-nitronaftalen występuje w mieszaninie innych nitro-WWA, ich prekursorów, tj. wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) oraz innych pochodnych WWA. 2-Nitronaftalen występuje w środowisku głównie w postaci gazowej oraz, w mniejszym stopniu, zaadsorbowany na cząsteczkach pyłu. Może podobnie do innych nitro-WWA ulegać fotolizie, a czas jego zaniku z atmosfery jest około 22 razy dłuższy (11 h) niż czas zaniku 1-nitronaftalenu (0,5 h). Izomery nitronaftalenu jako jedne z niewielu nitro-WWA są produkowane przemysłowo.

Otrzymywanie 1-nitronaftalenu i 2-nitronaftalenu polega na reakcji naftalenu z mieszaniną kwasów siarkowego i azotowego w temperaturze 60 °C. Powstałe izomery nitronaftalenu (głównie 1-nitronaftalen) są wykorzystywane w syntezie chemicznej. Głównym źródłem nitro-WWA (w tym i 2-nitronaftalenu) są spaliny silników Diesla oraz, w mniejszym stopniu, silników benzynowych, a także procesy spalania paliw (drewna, węgla lub ropy naftowej) służących celom przemysłowym lub związanych z codziennym życiem (ogrzewanie mieszkań czy gotowanie). Związek ten może powstawać również w wyniku zachodzącej, głównie w fazie gazowej, reakcji naftalenu z występującymi w powietrzu rodnikami hydroksylowymi lub azotanowymi.

Zawodowe narażenie na 2-nitronaftalen jest związane w większości przypadków z narażeniem na spaliny silników – głównie silników Diesla.

W Polsce nie ustalono wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla 2-nitronaftalenu w powietrzu na stanowiskach pracy, natomiast zgodnie z rozporządzeniem ministra zdrowia i opieki społecznej z dnia 1 grudnia 2004 r. w sprawie substancji, preparatów, czynników lub procesów technologicznych o działaniu rakotwórczym lub mutagennym w środowisku pracy (DzU nr 280, poz. 2771) substancja ta została sklasyfikowana jako substancja rakotwórcza kategorii 2.

PROCEDURA ANALITYCZNA

1. Zakres metody

Metodę stosuje się do oznaczania stężeń par 2-nitronaftalenu w powietrzu na stanowiskach pracy.

Najmniejsze stężenie 2-nitronaftalenu, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonywania oznaczania opisanych w metodzie, wynosi 0,25 µg/m³.

2. Norma powołana

PN-Z-04008-7:2002 Ochrona czystości powietrza – Pobieranie próbek – Zasady pobierania próbek powietrza w środowisku pracy i interpretacji wyników wraz z późniejszą zmianą – PN-Z-04008-7:2002 /Az1:2004.

3. Zasada metody

Metoda polega na adsorpcji 2-nitronaftalenu na sorbencie Amberlit XAD-2, desorpcji metanolem i analizie otrzymanego ekstraktu za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją UV-VIS.

4. Wytyczne ogólne

4.1. Czystość odczynników

Do analizy należy stosować 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 niebezpiecznymi

Czynności, podczas których używa się rozpuszczalników organicznych, należy wykonywać pod sprawnie działającym wyciągiem. Zużyte roztwory i odczynniki należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i przekazywać do zakładów zajmujących się unieszkodliwianiem chemikaliów.

4.4. Postępowanie z pobranymi próbkami powietrza

Wszystkie czynności związane z przygotowaniem próbek do oznaczeń należy wykonywać, ograniczając maksymalnie dostęp światła.

5. Odczynniki, roztwory i materiały

5.1. Azot sprężony

Stosować azot sprężony według punktu 4.1.

5.2. Metanol

Stosować metanol do HPLC.

5.3. 2-Nitronaftalen

Stosować 2-nitronaftalen według punktu 4.1.

5.4. Roztwór wzorcowy podstawowy 2-nitronaftalenu

Odważyć 2 mg 2-nitronaftalenu, przenieść do kolby pomiarowej o pojemności 25 ml i rozpuścić w metanolu. Stężenie związku w tak przygotowanym roztworze wynosi 0,08 mg/ml. Tak przygotowany roztwór przechowywany w lodówce jest trwały przez 20 dni.

5.5. Roztwory wzorcowe robocze 2-nitronaftalenu

Do siedmiu kolb pomiarowych o pojemności 10 ml odmierzyć odpowiednio, w mililitrach: 0; 0,125; 0,25; 0,5; 1,25; 2,5 i 5 ml roztworu podstawowego 2-nitronaftalenu i uzupełnić metanolem do kreski. Stężenie 2-nitronaftalenu w tak przygotowanych roztworach wynosi: 0; 1; 2; 5; 10; 20 i 40 µg/ml.

5.6. Woda

Stosować wodę do HPLC.

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

6.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem spektrofotometrycznym UV-VIS, który umożliwia wykonanie oznaczeń przy długości fali 213 nm.

6.2. Filtry strzykawkowe

Stosować filtry z politetrafluoroetyleny o średnicy 13 mm i wielkości porów 0,45 µm.

6.3. Kolby pomiarowe

Stosować kolby pomiarowe o pojemności 10 i 25 ml.

6.4. Kolby stożkowe

Stosować kolby stożkowe o pojemności 25 ml.

6.5. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną stalową o długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 3 mm wypełnioną fazą oktadecylową (C-18) o średnicy ziaren 5 µm.

6.6. Naczynka (wiale)

Stosować naczynka (wiale) o pojemności 2 ml.

6.7. Pipeta automatyczna

Stosować pipetę automatyczną o pojemności 100 µl.

6.8. Pompa

Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobieranie powietrza w strefie oddychania pracownika, ze strumieniem objętości do 1 l/h.

6.9. Rurki sorpcyjne

Stosować rurki szklane o średnicy wewnętrznej 13 mm i długości 75 mm, wypełnione dwiema warstwami (270/140 mg) Amberlitu XAD-2, przed którymi umieszczono filtr z włókna szklanego. Dopuszcza się stosowanie dostępnych w handlu gotowych rurek sorpcyjnych.

6.10. Wyrząsarka rotacyjna

Stosować wyrząsarkę rotacyjną umożliwiającą pracę z prędkością 150 obr/min.

7. Pobieranie próbek powietrza

Podczas pobieraniu próbek powietrza należy stosować się do wymagań zawartych w normie PN-Z-04008-7:2002 (wraz z późniejszą zmianą PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004).

Za pomocą pompy wg punktu 6.8. przepuścić przez rurki sorpcyjne wg punktu 6.9. do 400 l powietrza ze strumieniem objętości do 1 l/min. Rurki z pobranymi próbkami powietrza zabezpieczyć zatyczkami i przechowywać w lodówce do czasu analizy. Pobrane w ten sposób próbki powietrza przechowywane bez dostępu światła w szczelnie zamkniętych pojemnikach są trwałe przez 20 dni.

8. Warunki pracy chromatografu

Należy tak dobrać skład fazy ruchomej, aby zapewnić selektywne oznaczanie 2-nitro-naftalenu od substancji współwystępujących. W przypadku stosowania kolumny chromatograficznej wg punktu 6.5. oznaczanie można wykonać przy zastosowaniu warunków podanych w tabeli 1.

Tabela 1.

Warunki pracy chromatografu

Kolumna	C-18 250 · 2,1 mm ziarno 5 µm
Faza ruchoma	A – acetonitryl B – woda
Program gradientu	0 ÷ 3 min 40% A 13 min 95% A 35 min 95% A 36 min 40% A 50 min 40% A

cd. tab. 1.

Kolumna	C-18 250 · 2,1 mm ziarno 5 µm
Prędkość przepływu	0,4 ml/min
Objętość próbki	10 µl
Temperatura kolumny	25 °C
Długość fali analitycznej (UV-VIS)	λ – 213 nm

9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Na siedem rurek sorpcyjnych wg punktu 6.7. nanieść za pomocą pipety automatycznej wg punktu 6.6. po 100 µl roztworów wzorcowych roboczych 2-nitronaftalenu wg punktu 5.5. Rozpuszczalnik odparować delikatnym strumieniem azotu. Po wysuszeniu filtr szklany i pierwszą warstwę Amberlitu XAD-2 przenieść do kolb stożkowych wg punktu 6.4., dodać 3 ml metanolu i ekstrahować przez godzinę na wytrząsarce rotacyjnej wg punktu 6.10. Ekstrakty przesączyć przez filtr wg punktu 6.2. i część przesącza przenieść do naczynek wg punktu 6.6. Zawartości 2-nitronaftalenu w 3 ml tak przygotowanych roztworów wynoszą: 0; 0,1; 0,2; 0,4; 1; 2 i 4 µg. Roztwory poddać analizie chromatograficznej. Sporządzić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych zawartość 2-nitronaftalenu na rurce, a na osi rzędnych – wartość pola powierzchni (wysokości) pików tego związku.

10. Wykonanie oznaczania

Przenieść filtr szklany i dłuższą warstwę Amberlitu XAD-2 z rurki sorpcyjnej do kolby stożkowej wg punktu 6.4., dodać 3 ml metanolu i ekstrahować przez godzinę za pomocą wytrząsarki rotacyjnej wg punktu 6.10. Podobnie postąpić z krótszą warstwą Amberlitu XAD-2. Wszystkie ekstrakty przesączyć przez filtry wg punktu 6.2., część przesącza przenieść do naczynek wg punktu 6.6. i poddać analizie chromatograficznej. Masa substancji oznaczona w krótszej warstwie nie powinna przekraczać 10% masy 2-nitronaftalenu oznaczonej w dłuższej warstwie. Próbkę, których wartości pola powierzchni (wysokości) pików przekraczają wartości pola powierzchni (wysokości) pików wzorca o najwyższym stężeniu, należy rozcieńczyć metanolem. Dodatkowe rozcieńczenie uwzględnić w obliczeniach.

11. Wyznaczanie współczynnika desorpcji

Do każdej z pięciu kolb stożkowych wg punktu 6.4. włożyć filtr z włókna szklanego i wsypać po 270 mg Amberlitu XAD-2. Za pomocą pipety automatycznej wg punktu 6.7. dodać po 100 µl roztworu wzorcowego roboczego 2-nitronaftalenu wg punktu 5.5. o stężeniu 10 µg/ml.

Po odparowaniu rozpuszczalnika w strumieniu azotu do kolb dodać po 3 ml metanolu i poddać godzinnej ekstrakcji za pomocą wytrząsarki rotacyjnej. Ekstrakty przesączyć przez filtr wg punktu 6.2. i część przesącza przenieść do wial o pojemności 2 ml i poddać analizie chromatograficznej. Jednocześnie przygotować dwa roztwory kontrolne (ekstrakty z filtra szklanego i Amberlitu XAD-2) oraz dwa roztwory porównawcze 2-nitronaftalenu o stężeniu 1 µg/ml i poddać je analizie chromatograficznej.

Współczynnik desorpcji dla 2-nitronaftalenu (d) obliczyć na podstawie wzoru:

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

w którym:

- P_d – pole powierzchni pików 2-nitronaftalenu odczytane z chromatogramu roztworu poddanego desorpcji
- P_o – pole powierzchni pików o czasie retencji 2-nitronaftalenu odczytane z chromatogramu próbki kontrolnej
- P_p – pole powierzchni pików 2-nitronaftalenu odczytane z chromatogramu roztworu porównawczego.

Obliczyć średnią wartość współczynnika desorpcji 2-nitronaftalenu. Współczynnik desorpcji należy wyznaczać dla każdej nowej partii Amberlitu XAD-2.

12. Obliczanie wyniku oznaczenia

Stężenie 2-nitronaftalenu (X) w badanym powietrzu obliczyć w miligramach na metr sześcienny, na podstawie wzoru:

$$X = \frac{m}{V} \cdot \bar{d},$$

w którym:

- m – zawartość 2-nitronaftalenu odczytana z krzywej wzorcowej, w miligramach
- V – objętość przepuszczonego powietrza, w metrach sześciennych
- \bar{d} – średnia wartość współczynnika desorpcji 2-nitronaftalenu.

INFORMACJE DODATKOWE

Badania wykonano, stosując chromatograf ciekłowy firmy Waters model Alliance wyposażony w automatyczny dozownik próbek, detektor spektrofotometryczny i kolumnę analityczną.

Na podstawie przeprowadzonych badań otrzymano następujące dane walidacyjne:

- granica wykrywalności 0,001 $\mu\text{g/ml}$
- granica oznaczania ilościowego, X_{ozn} 0,004 $\mu\text{g/ml}$
- zakres pomiarowy dla próbki powietrza 400 l 0,1 ÷ 4,0 $\mu\text{g/3 ml}$ i 0,25 ÷ 1 $\mu\text{g/m}^3$
- współczynnik korelacji charakteryzujący liniowość krzywej wzorcowej, r 0,999
- całkowita precyzja badania, V_c 5,3%
- niepewność całkowita metody 14,9%.

SŁAWOMIR BRZEŹNICKI, MARZENA BONCZAROWSKA, JAN P. GROMIEC

2-Nitronaphtalene – determination method I

Abstract

Air samples are collected by drawing a certain volume of air through sorbent tubes filled with glass fibre filters followed by two sections of Amberlite XAD-2 resin. Glass fibre filter and the first section of resin are thereafter extracted with methanol by means of a rotary shaker. The resulting extracts are analyzed by high – performance liquid chromatography using ultraviolet detection ($\lambda = 213$ nm).

The determination limit of the method is $0.25 \mu\text{g}/\text{m}^3$ for 400 l air sample.