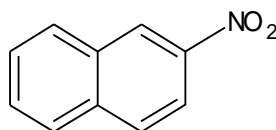


dr SŁAWOMIR BRZEŹNICKI
mgr MARZENA BONCZAROWSKA
dr JAN P. GROMIEC
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
91-348 Łódź
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

2-Nitronaftalen

– metoda oznaczania II

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 2-nitronaftalenu na sorbencie Amberlit XAD-2, desorpcji metanolem, przeprowadzeniu w pochodną aminową za pomocą mieszaniny borowodorku sodu i chlorku miedzi i oznaczaniu otrzymanego 2-aminonaftalenu za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofлуorymetryczną (FLD).

Oznaczalność metody wynosi 0,025 µg/m³.

UWAGI WSTĘPNE

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

– wzór sumaryczny	C ₁₀ H ₇ 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 jest natomiast dobrze rozpuszczalny w takich rozpuszczalnikach organicznych, jak: chlorek metylenu, heksan lub toluen. Podobnie jak inne nitrowe pochodne wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych

nych (nitro-WWA) 2-nitronaftalen powstaje w wyniku niekompletnego spalania substancji organicznych.

W środowisku 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. 2-Nitronaftalen może, podobnie jak inne 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 procesy związane 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 podczas przeprowadzania kontroli warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie 2-nitronaftalenu, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonywania oznaczania opisanych w metodzie wynosi 0,025 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 normy PN-Z-04008-7:2002 /Az1:2004.

3. Zasada metody

Metoda polega na adsorpcji par 2-nitronaftalenu na sorbencie Amberlit XAD-2, desorpcji metanolem, przeprowadzeniu w pochodną aminową za pomocą mieszaniny

borowodoru sodu i chlorku miedzi oraz oznaczaniu otrzymanego 2-aminonaftalenu za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofluorometryczną.

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 ich unieszkodliwianiem.

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. 2-Aminonaftalen do HPLC

Stosować 2-aminonaftalen do HPLC według punktu 4.1.

5.2. Azot sprężony

Stosować azot sprężony według punktu 4.1.

5.3. Borowodorek sodu

Stosować borowodorek sodu według punktu 4.1.

5.4. Chlorek miedzi

Stosować chlorek miedzi według punktu 4.1.

5.5. Metanol

Stosować metanol do HPLC.

5.6. 2-Nitronaftalen

Stosować 2-nitronaftalen według punktu 4.1.

5.7. Roztwór chlorku miedzi

Odważyć taką ilość chlorku miedzi wg punktu 5.4., aby po przeniesieniu do kolby pomiarowej o pojemności 25 ml i rozpuszczeniu w wodzie otrzymać roztwór o stężeniu 0,05-procentowym.

Roztwór chlorku miedzi przygotować bezpośrednio przed wykonywaniem oznaczeń.

5.8. Roztwór redukcyjny

Odważyć 100 mg borowodoru sodu według punktu 5.3., przenieść do kolby stożkowej o pojemności 50 ml i rozpuścić w 15 ml metanolu. Dodać 3 ml wody oraz 1 ml roztworu chlorku miedzi według punktu 5.7.

Roztwór redukcyjny należy przygotować bezpośrednio przed wykonywaniem oznaczeń.

5.9. Roztwór wzorcowy podstawowy 2-nitronaftalenu

Odważyć 1 mg 2-nitronaftalenu, przenieść do kolby pomiarowej o pojemności 10 ml i rozpuścić w metanolu. Stężenie związku w tak przygotowanym roztworze wynosi 0,1 mg/ml. Tak przygotowany roztwór przechowywany w lodówce jest trwały przez 30 dni.

5.10. Roztwór wzorcowy pośredni 2-nitronaftalenu.

Do kolby pomiarowej o pojemności 10 ml odmierzyć 1 ml roztworu podstawowego 2-nitronaftalenu według punktu 5.9. Stężenie tego związku w tak przygotowanym roztworze wynosi 0,01 mg/ml.

5.11. Roztwory wzorcowe robocze 2-nitronaftalenu

Do siedmiu kolb pomiarowych o pojemności 10 ml odmierzyć odpowiednio, w mililitrach: 0; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2 i 3 ml roztworu wzorcowego pośredniego 2-nitronaftalenu według punktu 5.10. i uzupełnić metanolem do kreski. Stężenie 2-nitronaftalenu w tak przygotowanych roztworach wynosi: 0; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2 i 3 µg/ml.

5.12. Woda do HPLC

Stosować wodę do HPLC według punktu 4.1.

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

6.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem spektrofotometrycznym FLD, umożliwiającym wykonanie oznaczeń przy długości fali 213 nm.

6.2. Filtry strzykawkowe

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

6.3. Kolby pomiarowe

Stosować kolby pomiarowe o pojemności 10 i 25ml.

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) ze szkła oranżowego o pojemności 2 i 4 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 i przed którymi umieszczono filtr z włókna szklanego. Dopuszcza się stosowanie dostępnych w handlu gotowych rurek sorpcyjnych.

6.10. Wytrząsarka rotacyjna

Stosować wytrząsarkę 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-nitronaftalenu od substancji współwystępujących. W przypadku stosowania kolumny chromatograficznej wg punktu 6.5. oznaczanie można wykonać przy zastosowaniu warunków podanych w tabeli.

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
Prędkość przepływu	0,4 ml/min
Objętość próbki	10 µl
Temperatura kolumny	25 °C
Długość fali wzbudzenia i emisji (FLD)	$\lambda_{wzb} - 273 \text{ nm}$, $\lambda_{em} - 415 \text{ nm}$

9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Na siedem rurek sorpcyjnych wg punktu 6.9. nanieść za pomocą pipety automatycznej wg punktu 6.7. po 100 µl roztworów wzorcowych roboczych 2-nitronaftalenu wg punktu 5.11. Zawartość 2-nitronaftalenu na rurkach sorpcyjnych wynosi odpowiednio, w mikrogramach: 0; 0,01; 0,02; 0,05; 0,1; 0,2 i 0,3. Rozpuszczalnik odparować w delikatnym strumieniu 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., następnie 1 ml ekstraktu przenieść do naczynek o pojemności 4 ml i dodać 1 ml świeżo przygotowanego roztworu redukcyjnego wg punktu 5.8. Naczynka pozostawić przez godzinę w zaciemnionym miejscu. Po tym czasie część mieszaniny przenieść do naczynek o pojemności 2 ml i poddać analizie chromatograficznej w warunkach podanych w punkcie 8. Sporządzić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych zawartość 2-nitronaftalenu w rurce sorpcyjnej, a na osi rzędnych – wartość pola powierzchni (wysokości) piku 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. 1,5 ml ekstraktu przenieść do naczynek o pojemności 2 ml i oznaczyć w nich zawartość 2-aminonaftalenu. Z pozostałej części ekstraktu przenieść do naczynek o pojemności 4 ml 1 ml roztworu i dodać do niego 1 ml świeżo przygotowanego roztworu redukcyjnego wg punktu 5.8. Naczynka pozostawić przez godzinę w zaciemnionym miejscu. Po tym czasie część mieszaniny przenieść do naczynek o pojemności 2 ml i poddać analizie chromatograficznej w warunkach podanych w punkcie 8. Masa aminonaftalenu oznaczona w krótszej warstwie nie powinna przekraczać 10% masy 2-aminonaftalenu oznaczonej w dłuższej warstwie. Próbkę, dla której pola powierzchni (wysokości) pików przekraczają pola powierzchni (wysokości) piku 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 5.11. 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 wg punktu 6.10. 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 filtra szklanego i Amberlitu XAD-2) oraz dwa roztwory porównawcze 2-nitronaftalenu o stężeniu 1 µg/ml i poddać je analizie chromatograficznej. Współczynnik desorpcji 2-nitronaftalenu obliczyć na podstawie wzoru:

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

w którym:

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

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

12. Badanie współczynnika wydajności reakcji redukcji 2-nitronaftalenu do 2-aminonaftalenu

Do pięciu naczynek o pojemności 4 ml przenieść za pomocą pipety automatycznej wg punktu 6.7. po 100 μl roztworu wzorcowego roboczego 2-nitronaftalenu o stężeniu 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Do każdego z naczynek dodać po 0,9 ml metanolu i 1 ml świeżo przygotowanej mieszaniny redukującej wg punktu 5.8. Naczynia zamknąć i pozostawić w ciemnym miejscu przez godzinę. Jednocześnie przygotować roztwór porównawczy 2-aminonaftalenu o stężeniu 0,1 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Wszystkie roztwory poddać analizie chromatograficznej. Współczynnik wydajności reakcji redukcji (R) obliczyć na podstawie wzoru:

$$R = \frac{R_r}{R_a},$$

w którym:

- R_r – pole powierzchni pików 2-aminonaftalenu odczytane z chromatogramu ekstraktu poddanego redukcji
- R_a – pole powierzchni pików 2-aminonaftalenu odczytane z chromatogramu roztworu porównawczego 2-aminonaftalenu.

Obliczyć średnią wartość współczynnika wydajności reakcji redukcji 2-nitronaftalenu. Współczynnik wydajności reakcji redukcji należy wyznaczać dla każdej serii oznaczeń.

13. Obliczanie wyniku oznaczania

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

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

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
- R – średnia wartość współczynnika wydajności reakcji redukcji.

INFORMACJE DODATKOWE

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

Na podstawie przeprowadzonych badań otrzymano następujące dane walidacyjne:

- zakres pomiarowy 0,01 ÷ 0,3 $\mu\text{g}/3 \text{ ml}$ i 0,025 maksymalnie 0,75 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ dla próbki powietrza 400 l

- granica oznaczania ilościowego, X_{ozn} 0,0005 $\mu\text{g/ml}$
- granica wykrywalności, X_{gw} 0,00015 $\mu\text{g/ml}$
- współczynnik korelacji charakteryzujący liniowość krzywej wzorcowej, r 0,999
- całkowita precyzja badania, V_c 5,9%
- niepewność całkowita metody 16,1%.

SŁAWOMIR BRZEŹNICKI, MARZENA BONCZAROWSKA, JAN P. GROMIEC

2-Nitronaphthalene – determination method II

Abstract

Air samples are collected by drawing a certain volume of air through sorbent tubes filed 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. Extracted 2-nitronaphthalene is then reduced to its amino derivative by mixture of sodium borohydride and copper (II) chloride. Arised 2-aminonaphthalene is analyzed by high performance liquid chromatography using fluorimetric detection ($\lambda_{\text{ex}} = 273 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 415 \text{ nm}$).

The working range of the analytical method is from 0.01 to 0.3 $\mu\text{g}/3\text{ml}$ (0.025 – 0.75 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ for 400 l air sample).