

N,N'-bis(2-Aminoetylo)- etylenodiamina

Oznaczanie w powietrzu na
stanowiskach pracy¹

Triethylenetetramine

Determination in workplace air

dr JOANNA KOWALSKA
e-mail: jokow@ciop.pl
Centralny Instytut Ochrony Pracy –
Państwowy Instytut Badawczy
00-701 Warszawa
ul. Czerniakowska 16

Numer CAS 112-24-3

Słowa kluczowe: *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiamina, trietylenoteteramina, TETA, metoda analityczna, metoda chromatografii cieczowej, powietrze na stanowiskach pracy.

Keywords: triethylenetetramine, TETA, determination method, liquid chromatographic analysis, workplace air.

Streszczenie

N,N'-bis(2-Aminoetylo)etylenodiamina (TETA) jest żółtawą, lekko oleistą cieczą, bardzo dobrze rozpuszczalną w wodzie. *N,N'*-bis(2-Aminoetylo)etylenodiamina jest powszechnie stosowana jako: utwardzacz żywic epoksydowych, półprodukt przy produkcji środków pomocniczych (w przemyśle papierniczym, włókienniczym i do produkcji klejów) oraz półprodukt przy produkcji emulgatorów asfaltowych.

Celem pracy było opracowanie i walidacja czulej metody oznaczania stężeń *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w środowisku pracy w zakresie $1/10 \div 2$ wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS), zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN-482. Opracowana metoda oznaczania polega na przepuszczeniu badanego powietrza (zawierającego TETA) przez płuczkę wypełnioną roztworem

¹ Publikacja opracowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach III etapu programu wieloletniego: „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy” dofinansowanego w latach 2014-2016 w zakresie służb państwowych przez Ministerstwo Pracy i Polityki Społecznej (Ministerstwo Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej).
Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

kwasu chlorowodorowego. *N,N'*-bis(2-Aminoetylo)etylenodiaminę oznaczano w sposób pośredni – przez oznaczenie produktu jej reakcji z izotiocyanianem 1-naftyłu (NIT). Badania wykonano techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) przy zastosowaniu chromatografu cieczowego Agilent Technologies (Niemcy) seria 1200 z detektorem diodowym (DAD). Do badań wykorzystano kolumnę Ultra C18 o wymiarach: 250 × 4,6 mm o $dp = 5 \mu\text{m}$, z przedkolumną o wymiarach: 10 × 4,0 mm (Restek, USA). Opracowana metoda jest liniowa ($r = 0,999$) w zakresie stężeń $0,6 \div 12 \mu\text{g/ml}$, co odpowiada zakresowi $0,1 \div 2 \text{mg/m}^3$ dla próbki powietrza o objętości 60 l.

Zastosowana metoda pobierania próbek umożliwia ilościowe pochłonięcie analitu w roztworze

kwasu chlorowodorowego podczas przepuszczania badanego powietrza przez płuczkę. Opracowana metoda analityczna pozwala na selektywne oznaczenie *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w powietrzu na stanowiskach pracy w obecności innych amin. Metoda charakteryzuje się dobrą precyzją i dokładnością, spełnia wymagania zawarte w normie europejskiej PN-EN 482 dla procedur dotyczących oznaczania czynników chemicznych. Metoda może być wykorzystana do oceny narażenia zawodowego na *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminę w powietrzu na stanowiskach pracy.

Opracowana metoda oznaczania *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w powietrzu na stanowiskach pracy została zapisana w postaci procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku.

Summary

Triethylenetetramine (TETA) is a yellowish, slightly oily liquid very soluble in water. Triethylenetetramine is frequently used as a curing agents for epoxy resins, intermediary for auxiliary agents used in the paper industry, the textile industry and in glues or intermediate for asphalt emulsifiers.

The aim of this study was to develop and validate a sensitive method for determining concentrations of TETA in workplace air in the range from 1/10 to 2 MAC values, in accordance with the requirements of Standard No. PN-EN 482.

The method was based on passing the air which contains TETA through impinger filled with hydrochloric acid solution. TETA was determined indirectly by determining the product of its reaction with 1-naphtyl isothiocyanate (NIT). Studies were performed using high-performance liquid chromatography (HPLC) technique. An Agilent Technologies (Germany) chromatograph,

series 1200, with a diode-array detector (DAD) was used in the experiment. An Ultra C18 column (250 × 4.6 mm, $dp = 5 \mu\text{m}$), with a precolumn (10 × 4.0 mm) was applied.

The method is linear ($r = 0.999$) within the working range 0.6–12 $\mu\text{g/ml}$, which is equivalent to air concentrations from 0.1 to 2.0 mg/m^3 for a 60-L air sample.

The analytical method described in this paper makes it possible to selectively determine TETA in workplace air in the presence of other amines. The method is precise, accurate and it meets the criteria for procedures for measuring chemical agents listed in Standard No. PN-EN 482. This method can be used for assessing occupational exposure to TETA and associated risk to workers' health.

The developed method of determining TETA has been recorded as an analytical procedure (see appendix).

WPROWADZENIE

N,N'-bis(2-Aminoetylo)etylenodiamina (TETA) jest żółtawą, lekko oleistą cieczą, bardzo dobrze rozpuszczalną w wodzie. Właściwości fizyko-

chemiczne tej substancji przedstawiono w tabeli 1. (GESTI 2015; HSDB 2015).

Tabela 1.

Wybrane właściwości fizykochemiczne *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy (TETA), (GESTIS 2015, HSDB 2015)

Nazwa parametru	Właściwości <i>N,N'</i> -bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy
Wzór sumaryczny	C ₆ H ₁₈ N ₄
Masa molowa	146,24 g/mol
Gęstość	0,98 g/cm ³ (20 °C)
pH	silna zasada (pH = 10 w 1-procentowym roztworze wodnym)
Temperatura topnienia	12 °C
Temperatura wrzenia	278 °C
Prężność pary	0,013 hPa (20 °C)
Gęstość par (powietrze = 1)	5,05
Temperatura zapłonu	135 °C
Temperatura rozkładu	277 °C
Współczynnik przeliczeniowy	1 ppm = 5,98 mg/m ³
Rozpuszczalność	całkowicie mieszalna/rozpuszczalna z wodą, rozpuszcza się w alkoholach i kwasach
Synonimy	trietylenotetramina, triethylene-tetramine, tetraazadecane, 1,4,7,10-tetraaza-decane, 1,8-diamino-3,6-diazaoctane, 3,6-diazaoctane-1,8-diamine, araldite HY 951, araldite hardener HY 951, DEH 24; HY 951, <i>N,N'</i> -bis(2-aminoethy-1)-1,2-diaminoethane, TETA, tecza, trien, trientina, trientine, trientinum

N,N'-bis(2-Aminoetylo)etylenodiamina jest otrzymywana w wyniku kontrolowanej reakcji amoniaku z 1,2-dichloroetanem. *N,N'*-bis(2-Aminoetylo)etylenodiamina jest stosowana głównie jako (HSDB 2015; OECD 2002, *Dopico-Garcia* i in. 2010; *Drobot* i in. 2013):

- utwardzacz żywic epoksydowych
- półprodukt do produkcji środków pomocniczych stosowanych w przemyśle papierniczym i włókienniczym oraz klejów (np. składnik kleju i fugi do płytek ceramicznych, składnik kleju epoksydowego do: metali, ceramiki, betonu, styropianu, granitu, marmuru i tworzyw)
- półprodukt do produkcji emulgatorów asfaltowych.

N,N'-bis(2-Aminoetylo)etylenodiamina znalazła także zastosowanie w laboratoryjnych badaniach wody oraz płynów ustrojowych, jako czynnik chelatujący jony: miedzi, żelaza, cynku, rtęci, kadmu lub ołowiu (*Cerrada-Gimenez* i in. 2011; *Liu* i in. 2010, *Lu* 2010; *Xiong, Yao* 2009).

Ze względu na zagrożenia dla zdrowia ludzi *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiamina została zaklasyfikowana w WE (nr 1272/2008) jako substancja wykazująca: toksyczność ostrą (kat. 4.),

działanie żrące/drażniące na skórę (kat. 1.B), działanie uczulające na drogi oddechowe/skórę (kat. 1.). *N,N'*-bis(2-Aminoetylo)etylenodiamina ma przypisane następujące zwroty zagrożenia:

- H312: działa szkodliwie w kontakcie ze skórą
- H314: powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu
- H317: może powodować reakcję alergiczną skóry.

Obowiązująca w Polsce wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) wynosi dla *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy – 1 mg/m³, a wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) – 3 mg/m³ (DzU 2014, poz. 817).

Oznaczanie amin i poliamin często się wiąże z ich przeprowadzaniem w pochodne przed analizą. Derywatywacja ma na celu zwiększenie czułości wykrywania substancji przez przekształcenie substancji w związki: łatwiejsze do wyekstrahowania, bardziej stabilne i lotne lub anality o odpowiednich właściwościach chromatograficznych. Metody analityczne oznaczania *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy

w środowisku lub próbkach biologicznych polegają na przeprowadzeniu tej poliaminy w pochodną przed jej chromatograficznym oznaczeniem (*Dopico-Garcia* i in. 2010; *Lu* i in. 2007; *Nakano* i in. 2002; *Othman* i in. 2007).

Metoda zalecana przez OSHA (nr 60) do oznaczania w powietrzu na stanowiskach pracy amin alifatycznych, tj.: etylenodiaminy, dietylenotriaminy i trietylenotetraaminy (TETA), oparta jest na reakcji amin z izotiocyjanianem 1-naftyli (NIT), naniesionym na żywicy XAD-2. *N,N'*-bis(2-Aminoetylo)etylenodiamina (podobnie jak aminy 1- i 2-rzędowe) reaguje z izotiocyjanianem 1-naftyli (NIT), dając pochodną tiomocznikową. Pochodną oznaczono z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją spektrofotometryczną przy długości fali analitycznej 254 nm (*Elskamp* 1986).

W Polsce metoda oznaczania *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w powietrzu na stanowiskach pracy istnieje od 1991 r. Metoda ta polega na: absorpcji substancji w roztworze kwasu chlorowodorowego (HCl), otrzymaniu pochod-

nej z chlorkiem dansylu i po przeprowadzeniu jej do roztworu w acetonitrylu – analizie techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną przy długości fali 250 nm (PN-Z-04220-02:1991). Oznaczalność metody wynosi 0,25 mg w 1 metrze sześciennym powietrza, co odpowiada ¼ obowiązującej wartości NDS. Metoda jest czasochłonna i wymaga stosowania chlorku dansylu – odczynnika dość kosztownego i o niskiej trwałości. Niewystarczająca oznaczalność tej metody skłoniła do poszukiwania metody pozwalającej oznaczyć zawartość *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w powietrzu na stanowiskach pracy na poziomie 1/10 wartości NDS, tj. na poziomie 0,1 mg/m³ w obecności substancji współwystępujących.

Celem pracy było opracowanie metody oznaczania *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy, która umożliwi oznaczanie stężeń tej substancji w powietrzu na stanowiskach pracy, w zakresie od 1/10 do 2 wartości NDS, tj. od 0,1 mg/m³ do 2 mg/m³.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Odczynniki i materiały

W badaniach zastosowano *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminę (TETA), (Sigma-Aldrich, Niemcy) oraz roztwór izotiocyjanianu 1-naftyli (NIT), (Fluka, Niemcy) w acetonie (Sigma-Aldrich, Niemcy) o stężeniu 5 mg/ml. Ponadto stosowano następujące odczynniki: roztwór wodny kwasu chlorowodorowego (Fluka, Niemcy) o stężeniu 0,1 mol/l, wodorowęglan sodu (POCH, Polska), anilinę (Merck, Niemcy), diaminoetan (Fluka, Niemcy), dietyloaminę (POCH, Polska), *n*-butyloaminę (Riedel de Häen, Niemcy), tetraetylenopentaaminę (Aldrich, Niemcy), metanol (Merck, Niemcy), *N,N*-dimetyloformamid (POCH, Polska), acetonitryl (Merck, Niemcy) oraz wodę o wysokiej czystości uzyskaną z aparatu Milli-Q (Millipore, USA).

W dalszym etapie pracy, w celu optymalizacji sposobu pobierania próbek powietrza i odzysku analitu oraz przeprowadzenia walidacji metody analitycznej, przygotowano roztwór *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w metanolu do pochłaniania o stężeniu 30 mg/ml oraz roztwór podstawowy *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy o stężeniu 6 mg/ml w roztworze kwasu chlorowodorowego. Ponadto przygotowano roztwór pośredni o stężeniu 0,06 mg/ml i roztwory robocze o stężeniach 0,6 ÷ 12,0 µg/ml w roztworach kwasu chlorowodorowego. Roztwory robocze używane do oznaczeń kalibracyjnych i przechowywane w szczelnie zamkniętych kolbach w chłodziarce nie zmieniły swoich stężeń przez czternaście dni. Ponadto wykorzystano: rurki adsorpcyjne z żywicą XAD-2 pokrytą 10-procentowym izotiocyja-

nianem 1-naftyłu (NIT), wypełnienie 80/40 mg (SKC, USA), rurki adsorpcyjne ORBO™ 655 z żywicą XAD-7 pokrytą kwasem fosforowym(V), (H_3PO_4), wypełnienie 80/40 mg (Supelco, Niemcy) oraz płuczki ze szkłem spiekany o pojemności 25 ml (SKC, USA) wypełnione roztworem kwasu chlorowodorowego (HCl), (0,1 mol/l).

Do badań zastosowano odczynniki o czystości co najmniej cz.d.a. oraz szkło laboratoryjne, tj.: kolby miarowe, pipety, naczynka szklane o pojemności 10 ml z nakrętkami.

Aparatura i wyposażenie pomocnicze

W badaniach zastosowano chromatograf cieczo-owy firmy Agilent Technologies (Niemcy) seria 1200 z detektorem diodowym (DAD) sprzężonym *on-line*. Próbkę wprowadzano za pomocą automatycznego podajnika próbek G2258-

-90010 (Agilent Technologies). Do sterowania procesem oznaczania i zbierania danych zastosowano oprogramowanie ChemStation. Rozdział chromatograficzny mieszanin substancji współwystępujących przeprowadzono na kolumnie chromatograficznej Ultra C18 o długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm ($dp = 5 \mu m$), z przedkolumną o wymiarach: 10 x 4,0 mm (Restek, USA).

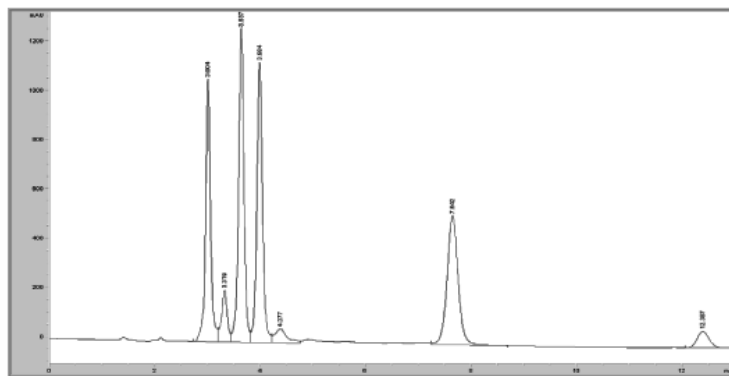
Do pobierania próbek powietrza zawierających *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminę (TETA) wykorzystano aspiratory AirChek 2000 (SKC, USA) i Gilian LFS-113 (Sensidyne, USA). Podczas reakcji tworzenia pochodnych amin używano łaźni wodnej z termostatem LP-T typ T105N (Conbest, Polska) umożliwiającej utrzymywanie temperatury 55 °C. Wzorce odważano na wadze analitycznej Sartorius TE214S (Sartorius Corporation, USA).

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Warunki oznaczania chromatograficznego

W wyniku przeprowadzonych badań ustalono następujące warunki oznaczania chromatograficznego dla *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy (TETA): kolumna z fazą oktadecylową Ultra C18 o długości 25 cm, średnicy wewnętrznej 4,6 mm i o uziarnieniu 5 μm ; faza ruchoma programowana acetonitryl: woda (80: 20); natę-

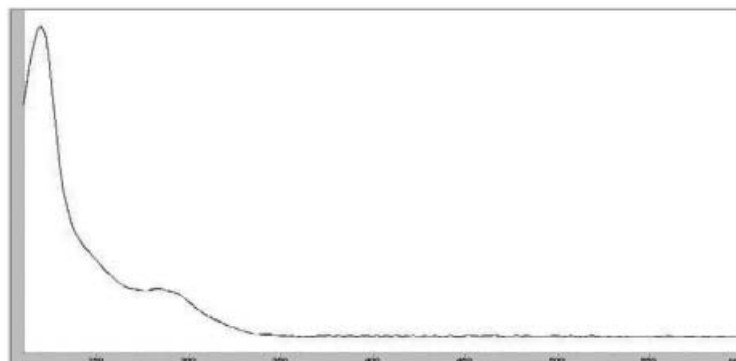
żenie przepływu fazy ruchomej 1 ml/min; objętość dozowanej próbki 20 μl ; temperatura kolumny 23 °C. Do detekcji wykorzystano detektor DAD o długości fali analitycznej $\lambda = 220 \text{ nm}$. Takie warunki umożliwiły oznaczanie produktu reakcji *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy z izotiocyjanianem 1-naftyłu w obecności innych amin (rys. 1.).



Rys. 1. Chromatogram roztworu wzorcowego zawierającego produkty reakcji izotiocyjanianu 1-naftyłu (NIT), ($t_R = 12,39 \text{ min}$) z: aniliną ($t_R = 3,00 \text{ min}$), diaminoetanem ($t_R = 3,32 \text{ min}$), dietyloaminą ($t_R = 3,64 \text{ min}$), n-butyloaminą ($t_R = 3,98 \text{ min}$), tetraetylenopentaaminą ($t_R = 4,37 \text{ min}$), *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminą ($t_R = 7,64 \text{ min}$). Kolumna Ultra C18, detektor DAD (220 nm)

Długość fali analitycznej wybrano, korzystając z widma pochodnej aminy z izotiocyjanianem 1-naftyłu (rys. 2.). Z analizy widma badanej

pochodnej wynika, że optymalną długością fali analitycznej do oznaczania stężeń tego związku za pomocą detektora DAD jest $\lambda = 220$ nm.



Rys. 2. Widmo UV pochodnej N,N' -bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy (TETA) z izotiocyjanianem 1-naftyłu (NIT) w zakresie stężeń 190 ÷ 600 nm

Pobieranie próbek powietrza

W celu zapewnienia ilościowego wyodrębnienia par N,N' -bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy (TETA) z powietrza wykorzystano metodę OSHA (nr 60) opisaną przez *Elskamp* (1986). Do pobierania próbek powietrza zawierającego N,N' -bis(2-aminoetylo)etylenodiaminę zastosowano rurki pochłaniające, które zawierają dwie warstwy: 80 i 40 mg żywicy XAD-2 pokrytej 10-procentowym izotiocyjanianem 1-naftyłu (NIT). W celu ustalenia warunków pobierania próbek powietrza złożono układ składający się z: pipety gazowej, rurki z sorbentem oraz pompy ssącej o regulowanym i kontrolowanym strumieniu objętości powietrza. Do pipety wprowadzano 2 μ l roztworu N,N' -bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w metanolu o stężeniu 30 mg/ml i przepuszczano różne objętości powietrza ze stałym strumieniem objętości. Następnie zbadano odzysk (zgodnie z metodą OSHA nr 60) za pomocą 2 ml N,N -dimetyloformamidu z pierwszej warstwy sorbentu i oddzielnie z drugiej warstwy

(kontrolnej). Tak uzyskane roztwory oznaczano chromatograficznie. Wyniki przedstawione w tabeli 2. wskazują, że N,N' -bis(2-aminoetylo)etylenodiamina pochłania się zarówno w pierwszej, jak i drugiej warstwie sorbentu. Dla porównania nakropiono 2 μ l roztworu o stężeniu 30 mg/ml N,N' -bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w metanolu na 80 mg żywicy XAD-2 z naniesionym izotiocyjanianem 1-naftyłu, a następnie przeprowadzono desorpcję 2 ml N,N -dimetyloformamidu. W wyniku analizy chromatograficznej roztworu znad sorbentu otrzymano pik pochodnej N,N' -bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy o bardzo dużej powierzchni. Zsumowane powierzchnie pików pochodnej N,N' -bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy, utworzonej w pierwszej i w drugiej warstwie żywicy XAD-2 (pokrytą 10-procentowym roztworem izotiocyjanianu 1-naftyłu), nie przekroczyły 1% powierzchni piku porównawczego. N,N' -bis(2-aminoetylo)etylenodiamina nie zatrzymywała się na sorbencie. Wyniki badań wykazały nieprzydatność rurek pochłaniających z żywicą XAD-2.

Tabela 2.

Przykładowe wyniki adsorpcji *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy (TETA) na rurkach adsorpcyjnych. Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD

Rodzaj sorbentu w rurkach adsorpcyjnych	Strumień objętości pochłanianego powietrza, ml/min	Czas pochłaniania, min	Przybliżone stężenie substancji w powietrzu, mg/m ³	Powierzchnia pików pochodnej TETA	
				I warstwa	II warstwa
XAD -2 (z 10-procentowym NIT)	100	60	10	50,5	4,2
	100	120	5	48,5	14,9
XAD-7 (z H ₃ PO ₄)	100	120	5	brak pików	brak pików

Podjęto próby zastosowania (jako próbników) rurek wypełnionych sorbentem z nanie-sionym kwasem nieorganicznym, który reagując z aminami daje trwałe produkty.

W celu ustalenia warunków pobierania próbek powietrza złożono układ składający się z: pipety gazowej, rurki z sorbentem XAD-7 pokrytym kwasem fosforowym(V), pompy ssącej o regulowanym i kontrolowanym strumieniu objętości powietrza za pomocą rotametu. Do pipety wprowadzano 2 µl roztworu *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w metanolu o stężeniu 30 mg/ml i przepuszczano 12 l powietrza ze stałym strumieniem objętości 100 ml/min. Następnie przeprowadzono odzysk mieszaniną 0,1 ml acetonitrylu i 1,9 ml roztworu kwasu chlorowodorowego z pierwszej warstwy sorbentu i oddzielnie z drugiej warstwy (kontrolnej). Po 60 min wytrząsania z sorbentu pobrano 1 ml roztworu i przeprowadzono reakcję z izotiocyanianem 1-naftyłu. Sposób desorpcji i reakcji derywatywacji sprawdzono wcześniej podczas wykonania prób desorpcji statycznej. Wyniki przedstawione w tabeli 2. wskazują, że *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiamina nie zatrzymuje się na sorbencie.

Zrezygnowano z próbników zawierających sorbent na rzecz płuczek ze szkłem spiekającym.

Sprawdzono możliwość absorpcji *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w roztworze kwasu chlorowodorowego. Badania prowadzono, stosując laboratoryjny układ składający się z połączonych szeregowo dwóch płuczek bełkotkowych wypełnionych 10 ml roztworu kwasu chlorowodorowego o stężeniu 0,1 mol/l

i pompy ssącej o regulowanym i kontrolowanym (za pomocą rotametu) strumieniu objętości. Do pipety gazowej połączonej z układem płuczek wprowadzono za pomocą strzykawki 4 µl roztworu o stężeniu 30 mg/ml *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w metanolu i przepuszczono 60 l powietrza o strumieniu objętości 10 l/h. Po zakończeniu pochłaniania z płuczek pobierano (do osobnych naczynek) po 1 ml roztworów i dodawano: 30 mg wodorowęglanu sodu, 0,1 ml roztworu izotiocyanianu 1-naftyłu o stężeniu 5 mg/ml w acetonie oraz 1 ml acetonitrylu. Mieszaninę ogrzewano w łaźni wodnej przez 4 h w temperaturze 55 °C. Po ostudzeniu powstałe roztwory poddano analizie chromatograficznej.

W następnym badaniu do pipety gazowej, połączonej z układem płuczek, wprowadzono za pomocą strzykawki (w pierwszym przypadku) 10 µl roztworu o stężeniu 30 mg/ml *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w metanolu i przepuszczono 60 l powietrza o strumieniu objętości 20 l/h. Po zakończeniu pochłaniania (z pobranymi próbkami powietrza) postępowano w taki sam sposób, jak w poprzednim przypadku. Badania wykazały przydatność płuczeki wypełnionej roztworem kwasu chlorowodorowego do pochłaniania *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy z powietrza (tabela 3.).

Sprawdzono również możliwość pobierania 15-minutowych próbek powietrza do wyznaczania stężenia chwilowego (NDSCh). W tym celu do pipety gazowej, połączonej z układem płuczek, wprowadzono za pomocą strzykawki 10 µl roztworu o stężeniu 30 mg/ml

N,N'-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w metanolu i przepuszczono 10 l powietrza o strumieniu objętości 40 l/h. Po zakończeniu pochłaniania z pobranymi próbkami powietrza postępowano w taki sam sposób, jak w po-

przednim przypadku. Badania wykazały przydatność płuczki (wypełnionej roztworem kwasu chlorowodorowego) do pobierania próbek powietrza w celu oceny zgodności warunków pracy z NDSC (tabela 3.).

Tabela 3.

Przykładowe wyniki adsorpcji *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy (TETA) w płuczkach wypełnionych roztworem kwasu chlorowodorowego. Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD

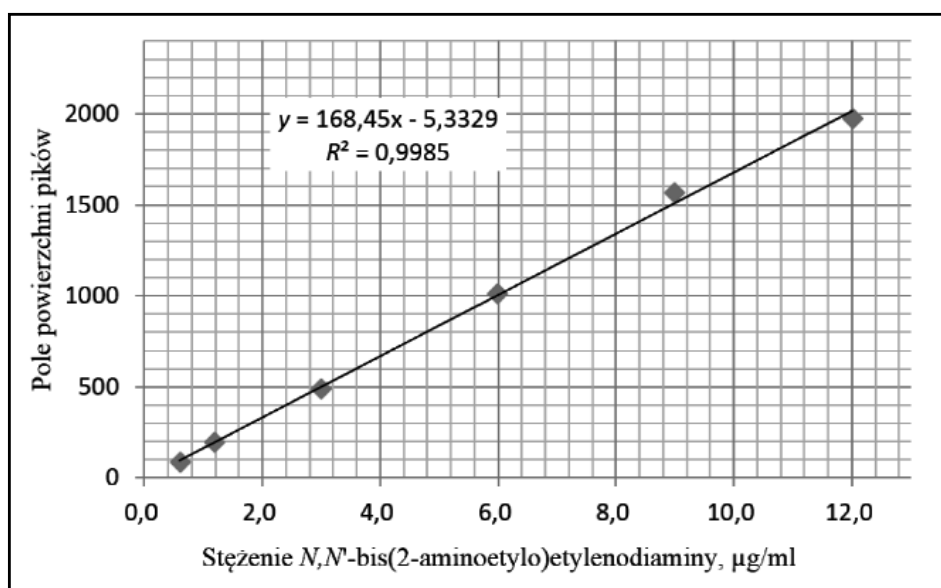
Strumień objętości pochłanianego powietrza, l/h	Czas pochłaniania, h	Przybliżone stężenie substancji w powietrzu, mg/m ³	Powierzchnia pików pochodnej	
			I płuczka	II płuczka
10	6	2	1978,6	–
20	3	5	5391,6	–
40	0,25	30	5039,9	–

Wyniki badań przedstawione w tabeli 3. wykazały także możliwość zastosowania jednej płuczki podczas pobierania próbek powietrza zawierającego *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminę.

Wyznaczenie parametrów kalibracyjnych metody

W celu wyznaczenia zakresu metody zbadano trzy serie roztworów kalibracyjnych o wzrastającym stężeniu *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy (TETA) w roztworze kwasu chlorowodorowego (HCl), (0,6 ÷ 12 µg/ml). Do 1 ml każdego roztworu wzorcowego dodano około: 30 mg wodorowęglanu sodu, 0,1 ml roztworu izotiocyanianu 1-naftyly w acetonie (5 mg/ml) oraz 1 ml acetonitrylu. Próbkę ogrzewano przez 4 h w łaźni wodnej w temperaturze 55 °C. Ostudzony roztwór oznaczano chromatograficznie. Uzyskane krzywe kalibracyjne były liniowe a współczynnik korelacji wyniósł 0,9993. Wyniki badań przedstawiono graficznie na rysunku 3.

noetylo)etylenodiaminy (TETA) w roztworze kwasu chlorowodorowego (HCl), (0,6 ÷ 12 µg/ml). Do 1 ml każdego roztworu wzorcowego dodano około: 30 mg wodorowęglanu sodu, 0,1 ml roztworu izotiocyanianu 1-naftyly w acetonie (5 mg/ml) oraz 1 ml acetonitrylu. Próbkę ogrzewano przez 4 h w łaźni wodnej w temperaturze 55 °C. Ostudzony roztwór oznaczano chromatograficznie. Uzyskane krzywe kalibracyjne były liniowe a współczynnik korelacji wyniósł 0,9993. Wyniki badań przedstawiono graficznie na rysunku 3.



Rys. 3. Wykres zależności powierzchni pików pochodnej od stężenia *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy (TETA). Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD

W celu oceny precyzji oznaczeń kalibracyjnych przygotowano trzy serie po osiem roztworów *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w roztworze kwasu chlorowodorowego (HCl) o stężeniach: 0,6; 6,0 i 12,0 µg/ml. Z przygotowanymi roztworami postępowano w identyczny sposób, jak z roztworami do wyznaczenia krzywej kalibracyjnej. Na podstawie uzyskanych wyników obliczono odchylenie standardowe i współczynnik zmienności. Współczynniki zmienności dla kolejnych poziomów stężenia *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy wyniosły odpowiednio: 4,90; 3,57 i 4,76%. Współczynniki te wskazują na bardzo dobrą precyzję oznaczeń kalibracyjnych.

Dane walidacyjne metody

Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482:2012. Granicę wykrywalności (LOD) oraz granicę oznaczalności (LOQ) wyznaczono na podstawie wyników analizy ślepych próbek uzyskanych przez dodanie do 1 ml roztworu kwasu chlorowodorowego: 30 mg wodorowęglanu sodu, 0,1 ml roztworu izotiocyanianu 1-naftyłu w acetonie i 1 ml acetonitrylu. Do obliczenia LOD i LOQ wykorzystywano wyliczoną wartość standardowego odchylenia próbek oraz współczynnik nachylenia krzywej kalibracyjnej.

Dane walidacyjne metody przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4.

Dane walidacyjne metody oznaczania *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy (TETA)

Walidowane parametry	Wartość
Zakres pomiarowy metody (dla 60 l próbki powietrza)	0,1 ÷ 2,0 mg/m ³
Zakres krzywej wzorcowej	0,6 ÷ 12,0 µg/ml
Granica wykrywalności (LOD)	9,4 ng/ml
Granica oznaczalności (LOQ)	28,3 ng/ml
Współczynnik korelacji, <i>r</i>	0,9993
Całkowita precyzja badania	6,69 %
Względna niepewność całkowita	14,36%

PODSUMOWANIE

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań ustalono warunki oznaczania *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy (TETA) w powietrzu na stanowiskach pracy. Płuczki ze szkłem spiekającym wypełnione roztworem kwasu chlorowodorowego zapewniają ilościowe wyodrębnienie par *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy z badanego powietrza. *N,N'*-bis(2-Aminoetylo)etylenodiaminę oznaczano w sposób pośredni przez oznaczenie jej pochodnej z izotiocyanianem 1-naftyłu z zastosowaniem techniki wysokosprawnej chromatografii

cieczowej z detektorem diodowym.

Opracowana metoda umożliwia oznaczanie *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy na poziomie 1/10 wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) i może być wykorzystana do oceny narażenia zawodowego na stanowiskach pracy. Walidacja metody potwierdziła jej przydatność do zamierzonego zastosowania.

Opracowaną metodę oznaczania *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy zapisano w formie procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku.

PIŚMIENNICTWO

- Cerrada-Gimenez M., Weisell J., Hyvonen M.T., Park M.H., Alhonen L., Vepsalainen J., Keinanen T.A.* (2011) Complex *N*-acetylation of triethylenetetramine. *Drug Metabolism and Disposition* 39(12), 2242–2249.
- Dopico-Garcia M.S., Lopez-Vilarino J.M., Fernandez-Martinez G., Gonzalez-Rodriguez M.V.* (2010) Liquid chromatography method to determine polyamines in thermosetting polymers. *Analytica Chimica Acta* 667, 123–129.
- Drobota M., Persin Z., Fras Zemljic L., Mohan T., Stana-Kleinschek K., Doliska A., Bracic M., Ribitsch V., Harabagiu V., Coseri S.* (2013) Chemical modification and characterization of poly(ethylene terephthalate) surfaces for collagen immobilization. *Central European Journal of Chemistry* 11(11), 1786–1798.
- Elskamp C.J.* (1986) OSHA Method No. 60: ethylenediamine (ETA), diethylenetriamine (DETA), triethylenetetraamine (TETA). OSHA Salt Lake Technical Center, Salt Lake City, UT 84165.
- GESTIS (2015) Substance database. BG Institute for Occupational Safety and Health. Sankt Augustin, Germany.
- HSDB, Hazardous Substances Data Bank (2015) Peracetic Acid. TOXNET. Specialized Information Services, U.S. National Library of Medicine, Bethesda, MD [dostęp: <http://toxnet.nlm.nih.gov>].
- Liu C., Bai R., Hong L., Liu T.* (2010) Functionalization of adsorbent with different aliphatic polyamines for heavy metal ion removal. Characteristics and performance. *Journal of Colloid and Interface Science* 345, 454–460.
- Lu J., Chan Y.K., Poppitt S.D., Cooper G.J.S.* (2007) Determination of triethylenetetramine (TETA) and its metabolites in human plasma and urine by liquid chromatography–mass spectrometry (LC–MS) *Journal of Chromatography B* 859, 62–68.
- Lu J.* (2010) Triethylenetetramine Pharmacology and its clinical applications. *Molecular Cancer Therapeutics* 9(9), 2458–2467.
- Nakano Y., Nohta H., Yoshida H., Saita T., Fujito H., Mori M., Yamaguchi M.* (2002) Liquid chromatographic determination of triethylenetetramine in human and rabbit sera based on intramolecular excimer-forming fluorescence derivatization. *Journal of Chromatography B* 774, 165–172.
- OECD (2002) Triethylene tetraamine OECD SIDS UNEP PUBLICATIONS [dostęp: <http://www.inchem.org/documents/sids/sids/112-24-3.pdf>].
- Othman A., Lu J., Sunderland T., Cooper G.J.S.* (2007) Development and validation of a rapid HPLC method for the simultaneous determination of triethylenetetramine and its two main metabolites in human serum. *Journal of Chromatography B* 860, 42–48.
- PN-EN 482:2012E Powietrze na stanowiskach pracy. Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych.
- PN-Z-04220-02:1991 Ochrona czystości powietrza. Badania zawartości trójetylenoczteroaminy. Oznaczanie trójetylenoczteroaminy na stanowiskach pracy metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.
- Rozporządzenie ministra pracy i polityki społecznej z dnia 6.06.2014 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU 2014, poz. 817).
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 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 (zwanego rozporządzeniem GHS). Dz. Urz. UE z dnia 31.12.2008 r. (L 353).
- Xiong C., Yao C.* (2009) Synthesis, characterization and application of triethylenetetramine modified polystyrene resin in removal of mercury, cadmium and lead from aqueous solutions. *Chemical Engineering Journal* 155, 844–850.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA *N,N'*-BIS(2-AMINOETYLO)ETYLENODIAMINY W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY

1. Zakres stosowania metody

Metodę podaną w niniejszej procedurze stosuje się do oznaczania *N,N'*-bis(2-aminoetylo)-etylenodiaminy w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym. Metodę stosuje się podczas badania warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi 0,1 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: absorpcji *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w roztworze kwasu chlorowodorowego o stężeniu 0,1 mol/l, przeprowadzeniu reakcji z izotiocyanianem 1-naftyli i analizie chromatograficznej otrzymanej pochodnej.

4. Odczynniki, roztwory i materiały

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

Substancje stosowane w analizie należy ważyć z dokładnością do 0,0002 g.

Wszystkie czynności, podczas których używa się rozpuszczalników organicznych, należy wykonywać z użyciem środków ochrony indywidualnej i pod sprawnie działającym wyciągiem laboratoryjnym.

Zużyte roztwory i odczynniki należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i przekazywać do zakładów zajmujących się ich utylizacją.

4.1. Woda

Stosować wodę destylowaną o czystości do HPLC, zwaną w dalszej części procedury wodą.

4.2. Acetonitryl

4.3. Roztwór kwasu chlorowodorowego o stężeniu 0,01 mol/l

4.4. *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiamina

4.5. Izotiocyanian 1-naftyli (NIT)

4.6. Wodorowęglan sodu

4.7. Aceton

4.8. Roztwór izotiocyanianu 1-naftyli

Do kolby miarowej o pojemności 10 ml odważyć 50 mg izotiocyanianu 1-naftyli wg punktu 4.5., uzupełnić do kreski acetonem wg punktu 4.7. i dokładnie wymieszać.

4.9. Roztwór wzorcowy podstawowy *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy do sporządzenia krzywej wzorcowej

Do kolby miarowej o pojemności 25 ml odmierzyć 150 mg *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy wg punktu 4.4., kolbę uzupełnić do kreski roztworem kwasu chlorowodorowego wg punktu 4.3. i dokładnie wymieszać. Roztwór wzorcowy zachowuje trwałość przez czternaście dni.

4.10. Roztwór wzorcowy pośredni *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy do sporządzenia krzywej wzorcowej

Do kolby miarowej o pojemności 10 ml odmie-

rzyć 0,1 ml roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 4.9., uzupełnić do kreski roztworem kwasu chlorowodorowego wg punktu 4.3. i dokładnie wymieszać. Zawartość *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w 1 ml tak przygotowanym roztworze wynosi 0,06 mg.

4.11. Roztwory wzorcowe robocze *N,N'*-bis-(2-aminoetylo)etylenodiaminy

Do kolb miarowych o pojemności 10 ml odmierzyc odpowiednio, w mililitrach: 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 1,5 i 2 roztworu wzorcowego pośredniego wg punktu 4.10., uzupełnić roztworem kwasu chlorowodorowego wg punktu 4.3. i wymieszać. Zawartość *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w 1 ml tak przygotowanych roztworów wynosi odpowiednio: 0,6; 1,2; 3,0; 6,0; 9,0 i 12,0 µg.

Roztwory przechowywane w chłodziarce są trwałe przez czternaście dni.

5. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

5.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem diodowym i elektronicznym integratorem.

5.2. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną umożliwiającą rozdział izotiocyanianu 1-naftyłu od pochodnej *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy oraz od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu, np.: kolumnę wypełnioną fazą oktadecylową o długości 25 cm, średnicy wewnętrznej 4,6 mm i o uziarnieniu 5 µm z przedkolumną.

5.3. Strzykawki do cieczy

Stosować strzykawki do cieczy o pojemności 10 ÷ 2000 µl.

5.4. Pipety szklane

Stosować pipety do cieczy o pojemności: 10; 20 i 25 ml.

5.5. Naczynka

Stosować naczynka szklane z nakrętkami o pojemności 10 ml.

5.6. Łaźnia wodna z termostatem

5.7. Płuczki

Stosować płuczki szklane ze szkłem spekiaknym o pojemności 25 ml.

5.8. Pompa ssąca

Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobieranie próbek powietrza ze stałym strumieniem objętości wg punktu 6.

6. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek przez płuczkę wg punktu 5.7. zawierającą 10 ml roztworu kwasu chlorowodorowego wg punktu 4.3. przepuścić 60 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości nie większym niż 40 l/h. Następnie roztwór w płuczce uzupełnić (w miarę potrzeby) roztworem kwasu chlorowodorowego do 10 ml i szczelnie zamknąć.

Pobrane próbki przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość co najmniej czternaście dni.

7. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy tak dobrać, aby uzyskać rozdział pochodnej *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy od izotiocyanianu 1-naftyłu i innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu. W przypadku stosowania kolumny chromatograficznej o parametrach podanych w punkcie 5.2., oznaczanie można wykonać w następujących warunkach:

- faza ruchoma:

acetonitryl: woda	80: 20
-------------------	--------
- temperatura kolumny 23 °C
- natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej 1 ml/min
- długość fali analitycznej 220 nm
- objętość dozowanej próbki 20 µl.

8. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do sześciu naczynek wg punktu 5.5. odmierzyć po 1 ml roztworów wzorcowych roboczych *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy wg punktu 4.11. Do każdego naczynka odważyć 30 mg wodorowęglanu sodu wg punktu 4.6. i dokładnie wymieszać. Następnie dodać po 0,1 ml roztworu izotiocyanianu 1-naftyłu wg punktu 4.5. i po 1 ml acetonitrylu wg punktu 4.2. Zawartość naczynek dokładnie wymieszać. Naczynka umieścić w łaźni wodnej o temperaturze 55 °C na 4 h. Następnie schłodzić ich zawartość do temperatury pokojowej.

Do chromatografu wprowadzić po 20 µl uzyskanych roztworów i badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 7. Wykonać dwukrotny pomiar z każdego roztworu wzorcowego. 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 stężenie *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w mikrogramach na mililitr (µg/ml), a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików pochodnej *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy.

9. Wykonanie oznaczania

Do naczynka wg punktu 5.5. dodać 1 ml roztworu z płuczki i dalej postępować w taki sam sposób, jak przy sporządzaniu krzywej wzorcowej wg punktu 8. Do chromatografu wprowadzić dwukrotnie po 20 µl roztworu pochodnej *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy i badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 7. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików pochodnej *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Stężenie *N,N'*-bis(2-aminoetylo)

etylenodiaminy w badanym roztworze odczytać z wykresu krzywej wzorcowej, w mikrogramach na mililitr.

10. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy (*X*) w badanym powietrzu obliczyć w miligramach na metr sześcienny na podstawie wzoru:

$$X = \frac{(10 \cdot c)}{V},$$

w którym:

- c* – stężenie *N,N'*-bis(2-aminoetylo)etylenodiaminy w płuczce odczytane z krzywej kalibracyjnej, w mikrogramach na mililitr,
- 10 – objętość roztworu w płuczce, w mililitrach,
- V* – objętość przepuszczonego powietrza przez płuczki, w litrach.

