

2-Toliloamina

Metoda oznaczania w powietrzu na stanowiskach pracy¹

2-Tolyloamine

Determination in workplace air

dr inż. ANNA JEŻEWSKA
e-mail: anjez@ciop.pl
inż. AGNIESZKA WOŹNICA
e-mail: agwoz@ciop.pl
Centralny Instytut Ochrony Pracy –
Państwowy Instytut Badawczy
00-701 Warszawa
ul. Czerniakowska 16

Numer CAS 95-53-4

Słowa kluczowe: *o*-toluidyna, czynnik rakotwórczy, metoda analityczna, chromatografia cieczowa, powietrze na stanowiskach pracy.

Keywords: *o*-toluidine, carcinogen, determination method, liquid chromatography, workplace air.

Streszczenie

2-Toliloamina, znana jako *o*-toluidyna (2-TA), występuje jako lekko żółta ciecz ciemniejąca pod wpływem światła i na powietrzu. 2-Toliloamina jest stosowana przede wszystkim do produkcji barwników, a także: pestycydów, gumy i w syntezie organicznej. 2-Toliloamina może powodować raka.

Celem pracy było opracowanie metody oznaczania 2-toliloaminy, która umożliwi oznaczenie stężeń tej substancji w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie od 1/10 do 2 wartości proponowanego najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS).

Badania wykonano, stosując chromatograf cieczowy (HPLC) z detektorem diodowym (DAD), wyposażony w kolumnę Ultra C18 (250 x 4,6 mm; 5 µm).

Metoda polega na: zatrzymaniu obecnej w powietrzu 2-toliloaminy na filtrze z włókna szklanego z naniesionym kwasem siarkowym(VI) i wymyciu substancji z filtra roztworem wodorotlenku sodu. Po derywatywacji chlorkiem 3,5-dinitrobenzoilu pochodna 2-toliloaminy jest analizowana chromatograficznie. Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482.

¹ Publikacja opracowana na podstawie wyników IV etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2017-2019 w zakresie zadań służb państwowych przez Ministerstwo Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej.

Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

Metoda umożliwia oznaczanie 2-toliloaminy w zakresie stężeń $0,05 \div 1 \text{ mg/m}^3$ dla próbki powietrza o objętości 36 l. Uzyskano następujące parametry walidacyjne: granica wykrywalności 3,48 ng/ml, granica oznaczalności 10,43 ng/ml, całkowita precyzja badania 5,22%, względna niepewność całkowita 11,45 %.

Opracowana metoda analityczna umożliwia selektywne oznaczanie 2-toliloaminy w powietrzu na stanowiskach pracy o stężeniach od $0,05 \text{ mg/m}^3$,

czyli od 1/10 proponowanej wartości NDS w obecności substancji współwystępujących. Metoda charakteryzuje się dobrą precyzją i dokładnością, spełnia wymagania zawarte w normie europejskiej PN-EN 482 dla procedur oznaczania czynników chemicznych.

Opracowaną metodę oznaczania 2-toliloaminy zapisano w postaci procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku.

Summary

o-Toluidine (2-TA) exists at ambient temperature as a light yellow liquid which rapidly darkens when exposed to air and light. It is used primarily in manufacturing dyestuffs, it is also used in the production of pesticides, rubber and in organic synthesis. 2-TA may cause cancer.

The aim of this study was to determine concentrations of 2-TA in workplace air in the range from 1/10 to 2 MAC values.

The study was performed using a liquid chromatograph (HPLC) with a diode array detector (DAD) with a column Ultra C18 ($250 \times 4.6 \text{ mm}$; $5 \mu\text{m}$).

This method is based on the adsorption of 2-TA on a glass fiber filter coated with sulfuric acid and extraction with sodium hydroxide solution. After derivatization with 3,5-dinitrobenzoyl chloride, 2-TA is analyzed as derivative with chromatography. The method was validated in

accordance with Standard No. EN 482. The working range was from 0.05 to 1 mg/m^3 for a 36-L air sample. The following validation parameters were determined: detection limit 3.48 ng/ml , determination limit 10.43 ng/ml , overall accuracy of the method 5.22% , relative total uncertainty of the method 11.45% .

The analytical method described in this paper enables selective determination of 2-TA in workplace air in the presence of other substances at concentrations from 0.05 mg/m^3 (1/10 MAC value). The method is precise, accurate and it meets the criteria for the procedures for measuring chemical agents listed in Standard No. EN 482.

The developed method of determining 2-TA has been recorded as an analytical procedure (see Appendix).

WPROWADZENIE

2-Toliloamina (2-TA), znana jako *o*-toluidyna, jest lekko żółtą cieczą o charakterystycznym zapachu, podobnym do zapachu aniliny. 2-TA jest słabo rozpuszczalna w wodzie, a dobrze rozpuszcza się w: dimetyloformamidzie, alkoholach, eterze dietylowym i acetonie. Masa molowa 2-TA wynosi $107,15 \text{ g/mol}$, temperatura wrzenia $200 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatura topnienia $-16,4 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatura zapłonu $85 \text{ }^\circ\text{C}$, prężność par w $20 \text{ }^\circ\text{C}$ wynosi $0,18 \text{ hPa}$ (GESTIS 2015; CHEMPYL 2017). Na skalę przemysłową 2-TA jest otrzymywana w wyniku redukcji 2-nitrotoluenu (Szymczyk i in. 2002). 2-TA jest stosowana do produkcji: barwników, pigmentów i wybielaczy optycznych, w przemyśle farmaceutycznym (do produkcji środków miejscowo-znieczulających), w przemyśle gumowym (do produkcji przyspieszaczy wulkanizacji), w laboratoriach klinicznych (do oznaczeń glukozy i hemoglobiny), do produkcji

herbicydów oraz w syntezie organicznej (Szymczyk i in. 2002). W warunkach narażenia zawodowego 2-TA wchłania się do organizmu drogą inhalacyjną i przez skórę.

Jak wynika z Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje Chemiczne, ich Mieszalniny, Czynniki lub Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym, w Polsce, w 2015 r. na 2-TA było narażonych 318 osób (Konieczko 2017).

2-TA jest substancją toksyczną, silnie drażniącą. Wywołuje zmiany we krwi – powstawanie methemoglobiny, prowadzące do niedotlenienia tkanek oraz uszkodzenie krwinek czerwonych – a także w układzie moczowym (nerkach i pęcherzu moczowym). Może powodować raka pęcherza moczowego. W wyniku zatrucia ostrego 2-TA może wywołać łzawienie oczu i zaczerwienienie

spojówek. W stężeniach około 25 mg/m³ powoduje: ból i zawroty głowy, znaczne osłabienie, sinoniebiskie zabarwienie warg, paznokci i skóry wskutek methemoglobinemii, krwimocz, duszność, senność, zaburzenia świadomości, utratę przytomności. W wyniku zatrucia przewlekłego może powodować: krwotoczne zapalenie pęcherza moczowego, uszkodzenie wątroby, zapalenie skóry (CHEMPYL 2017).

2-TA ma przypisane następujące zwroty określające rodzaj zagrożenia (Rozporządzenie... 2008):

- H301: działa toksycznie po połknięciu
- H319: działa drażniąco na oczy
- H331: działa toksycznie w następstwie wdychania
- H350: może powodować raka
- H400: działa bardzo toksycznie na organizmy wodne.

Obowiązująca wartość normatywu higienicznego – najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) – w powietrzu na stanowiskach pracy dla 2-TA wynosi 3 mg/m³ (Obwieszczenie... 2017), ale Międzyresortowa Komisja ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy podjęła prace nad ustaleniem nowej wartości NDS dla 2-TA na poziomie 0,5 mg/m³ (Koradecka, Skowroń 2016). Z tego powodu powstała konieczność opracowania nowej metody oznaczania tej substancji, przystosowanej do nowej wartości NDS.

Znanych jest wiele metod oznaczania 2-TA w powietrzu. Według metodyk NIOSH (*The National Institute for Occupational Safety and Health*) próbki powietrza zawierającego aminy (w tym 2-TA) pobiera się na żel krzemionkowy lub na filtr z włókna szklanego pokryty kwasem siarkowym(VI) połączony z rurką szklaną wypełnioną

żelem krzemionkowym, a roztwór uzyskany po ekstrakcji etanolem jest analizowany z zastosowaniem chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (GC-FID), (O'Connor i in. 1994; Pendergrass 1998). Według metodyk OSHA (*Occupational Safety and Health Administration*) 2-TA oznacza się po uprzednim przeprowadzeniu jej w pochodną (reakcja z bezwodnikiem kwasu heptafluorobutyrowego) z zastosowaniem chromatografii gazowej z detektorem wychwytu elektronów (GC-ECD), (Elskamp 1988). Według metodyk HSE (*Health and Safety Executive*) próbki powietrza zawierającego aminy aromatyczne pobiera się na filtr z włókna szklanego pokryty kwasem siarkowym(VI) połączony z rurką szklaną wypełnioną Tenaxem. Do desorpcji stosuje się roztwór wodorotlenku sodu i metanol. Do roztworów po desorpcji dodawany jest *p*-dimetyloaminobenzaldehyd. Otrzymane po derywatywacji roztwory są analizowane z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem spektrofotometrycznym (HSE 2014). W Polsce 2-TA oznaczano z zastosowaniem chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID). Metoda polega na: adsorpcji par 2-TA na żywicy XAD-7 z naniesionym kwasem ortofosforowym(V), zmiany środowiska na zasadowe za pomocą roztworu NaOH, desorpcji toluenem i analizie chromatograficznej warstwy toluenowej. Oznaczalność metody wynosi 0,3 mg/m³ (Jeżewska 2007; PN-Z-04031-11: 2011). W warunkach opisanych w tej metodzie nie można oznaczać 2-TA w obecności 4-toliloaminy.

W związku z planowanym sześciokrotnym obniżeniem wartości NDS zaistniała konieczność opracowania nowej metody oznaczania 2-TA w powietrzu na stanowiskach pracy.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

W wyniku przeprowadzonego przeglądu piśmiennictwa i badań wstępnych zdecydowano, że próbki powietrza zawierającego 2-TA będą pobierane na filtry z włókna szklanego z naniesionym kwasem siarkowym(VI). W celu rozdzielenia 2-TA od 4-toliloaminy oraz obniżenia granicy oznaczalności analitu 2-TA będzie oznaczana jako pochodna w wyniku reakcji z chlorkiem 3,5-dinitrobenzoilu

(DNB-Cl), który według danych literaturowych (Jeżewska, Buszewski 2010; Jeżewska, Buszewski 2011; Buszewski i in. 2012; Kowalska, Jeżewska 2017) reaguje z aminami, dając trwałą pochodną. Pochodne 2-TA będą analizowane z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem diodowym.

Aparatura

W badaniach zastosowano chromatograf cieczerw firmy Agilent Technologies (Niemcy) serii 1200 z detektorem diodowym (DAD) sprzężonym on-line oraz z automatycznym dozownikiem próbek. Do sterowania procesem oznaczania i zbierania danych zastosowano oprogramowanie ChemStation. W badaniu stosowano kolumnę Ultra C18 o wymiarach 250 x 4,6 mm, o uziarnieniu 5 μm , z przedkolumną o wymiarach: 10 x 4,0 mm (Restek, USA).

Do pobierania próbek powietrza skorzystano z aspiratorów Gilian LFS-113 (Sensidyne, USA). Do przeprowadzenia ekstrakcji analitów z filtrów korzystano z wytrząsarki mechanicznej WL-2000 (JWElectronic, Polska). Do ogrzewania mieszaniny reakcyjnej korzystano z kuchenki mikrofalowej (Panasonic, Japonia). Wzorce odważano na

wadze analitycznej Sartorius TE214S (Sartorius Corporation, USA). Próbki przechowywano w eksykatorze szafkowym serii EKS (WSL, Polska) oraz w chłodziarce ARDO CO23B-2H (Merloni, Polska).

Odczynniki i materiały

W badaniach korzystano z następujących odczynników: 2-TA, metanol, acetonitryl, chlorek 3,5-dinitrobenzoilu (Merck, Niemcy), 4-toliloamina, kwas siarkowy(VI), wodorotlenek sodu (POCh, Polska), 3-toliloamina, 2-nitrotoluen (Fluka, USA), toluen (J.T. Baker, Holandia). Do badań używano odczynników o czystości co najmniej cz.d.a. Ponadto stosowano: filtry z włókna szklanego o średnicy 37 mm Whatman GF/A (Whatman, Anglia), szkło laboratoryjne oraz strzykawkę do cieczy.

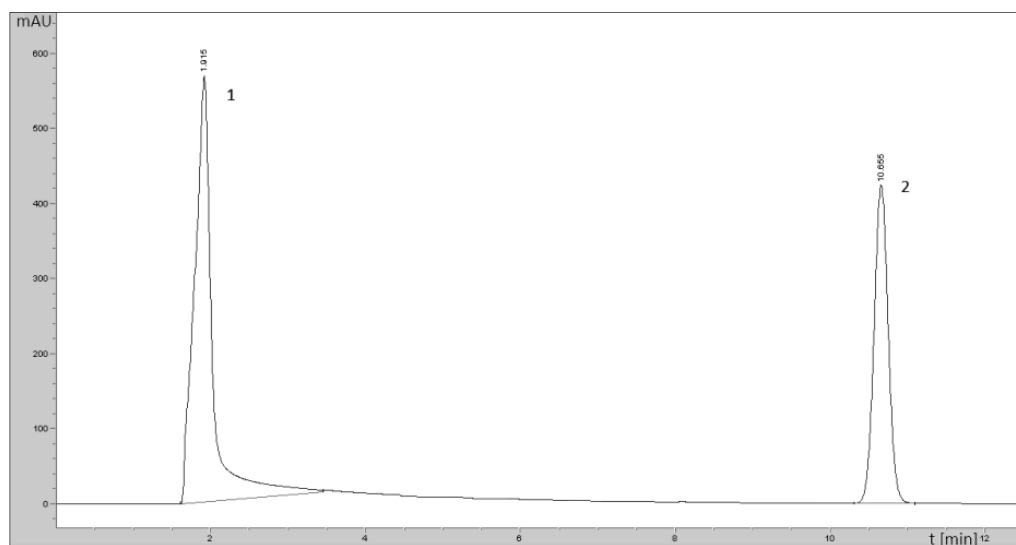
WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Ustalenie warunków oznaczania

Parametry oznaczania chromatograficznego pochodnej 2-TA były następujące: kolumna Ultra C18 – temperatura kolumny 23 $^{\circ}\text{C}$, faza ruchoma – acetonitryl: woda (55: 45, v/v), natężenie przepływu fazy ruchomej 1 ml/min, długość fali

analitycznej detektora DAD, $\lambda = 232 \text{ nm}$, dozowanie próbek 5 μl .

W opisanych warunkach sprawdzono możliwość oznaczania 2-TA w obecności: 3-toliloaminy, 4-toliloaminy, 2-nitrotoluenu, toluenu i chlorku 3,5-dinitrobenzoilu (rys. 1., tab. 1.).



Rys. 1. Chromatogram roztworu wzorcowego pochodnej 2-toliloaminy. Kolumna Ultra C18, detektor DAD, $\lambda = 232 \text{ nm}$.: 1) chlorek 3,5-dinitrobenzoilu, 2) pochodna 2-toliloaminy

Tabela 1.

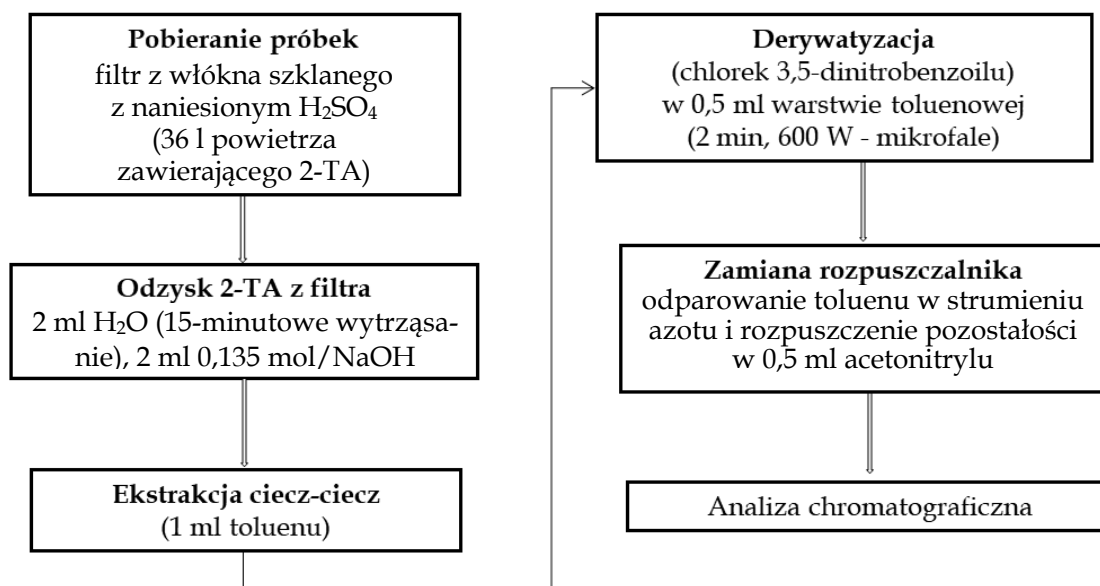
Czasy retencji substancji, które mogą współwystępować z 2-toliloaminą w powietrzu środowiska pracy. Kolumna Ultra C18, detektor DAD, $\lambda = 232 \text{ nm}$

Substancja	Czas retencji, min
Chlorek 3,5-dinitrobenzoilu	1,92
Pochodna 2-toliloaminy	10,66
Pochodna 3-toliloaminy	15,24
Pochodna 4-toliloaminy	15,35
Pochodna 2-nitrotoluenu	brak pików w ciągu 17 min analizy
Toluen	14,065
2-Toliloamina	5,16
3-Toliloamina	5,14

Ustalenie warunków pobierania próbek powietrza

W celu ustalenia warunków pobierania próbek powietrza złożono układ składający się z: pipety szklanej o pojemności 1 litra, dwóch filtrów z włókna szklanego z naniesionym kwasem siarkowym(VI) połączonych szeregowo i pompy ssącej o stałym strumieniu objętości powietrza, kontrolowanym za pomocą rotametu. Do pipety wprowadzano 10 μl roztworu 2-TA w metanolu o stężeniu 9 mg/ml. Przez układ przepuszczano 36 l powietrza ze stałym strumieniem objętości 12 l/h. Po pobraniu próbek filtry pozostawiono w eksykatorze do

następnego dnia. Analogiczne badania przeprowadzono bez udziału pipety szklanej. Na filtry z kwasem siarkowym(VI) naniesiono po: 25; 50 i 100 μl roztworu 2-TA w metanolu o stężeniu 1,8 mg/ml i pozostawiono do wyschnięcia. Następnie złożono układ składający się z dwóch filtrów połączonych szeregowo, gdzie pierwszy filtr miał naniesioną 2-TA, a drugi nie. Przez filtry przepuszczano 36 l powietrza ze strumieniem objętości 6 i 12 l/h. Następnego dnia próbki analizowano po uprzednim przygotowaniu ich do analizy wg schematu przedstawionego na rys 2.



Rys. 2. Schemat przygotowania próbek do analizy chromatograficznej

Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że 2-TA zatrzymuje się na pierwszym filtrze. Nie- wielkie ilości osadzone na drugim filtrze podczas dozowania substancji z zastosowaniem pipety

gazowej nie przekraczają 5% w stosunku do ilości osadzonej na pierwszym filtrze. Wyniki badań przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2.

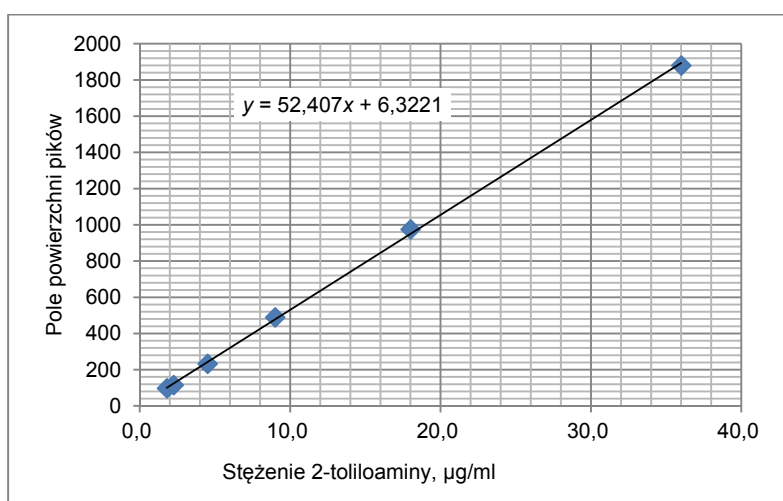
Badania adsorpcji 2-toliloaminy na filtrach z włókna szklanego z naniesionym H₂SO₄. Kolumna Ultra C18, detektor DAD, $\lambda = 232$ nm

Sposób dozowania substancji	Przybliżone stężenie substancji w powietrzu, mg/m ³	Czas pochłaniania, h	Strumień objętości pochłanianego powietrza, l/h	Powierzchnia pików pochodnej 2-TA w roztworach po odzysku		Zawartość substancji na II filtrze (w % ilości oznaczonej w I filtrze)
				I filtr	II filtr	
Do pipety	2,5	3	12	1762,7	63,8	3,6
	2,5	3	12	1860,3	1,2	0,06
Na filtr	1,25	3	12	2877,4	0	0
	2,5	3	12	4989,05	0	0
	5	3	12	9809,55	0	0
	2,5	6	6	4931,7	0	0
	5	6	6	9460,9	0	0

Kalibracja i precyzja

W celu uwzględnienia stopnia odzysku w krzywej kalibracji sporządzono trzy serie roztworów wzorcowych roboczych przez odmierzenie do 6 kolb miarowych o pojemności 5 ml po: 20; 25; 50; 100; 200 i 400 μ l roztworu 2-TA w metanolu o stężeniu 9 mg/ml. Przygotowano trzy serie takich roztworów. Na filtry impregnowane kwasem siarkowym(VI), (18 sztuk) naniesiono po 50 μ l roztworów wzorcowych roboczych i filtry pozostawiono

do wyschnięcia. Odzysk 2-TA przeprowadzono, postępując według schematu przedstawionego na rys. 2. Roztwory uzyskane po odzysku 2-TA z filtrów, a następnie ekstrakcji i derywatyzacji, poddano analizie chromatograficznej. Zakres stężeń tak uzyskanych roztworów wynosi $1,8 \div 36$ μ g/ml. Wyniki oznaczeń kalibracyjnych przedstawiono graficznie na rys 3.



Rys. 3. Wykres zależności powierzchni pików pochodnej 2-toliloaminy od stężenia 2-toliloaminy w roztworach uzyskanych po odzysku analitu z filtrów. Kolumna Ultra C18, detektor DAD, $\lambda = 232$ nm

Współczynnik nachylenia „b” krzywej kalibracji o równaniu $y = bx + a$, charakteryzujący czułość metody, wynosi 52,41. Liniowość krzywej wzorcowej charakteryzowana jest wartością współczynnika korelacji. Współczynnik korelacji „r” wynosi 0,9998.

Ocenę precyzji oznaczeń kalibracyjnych wykonano przez naniesienie na filtry (8 sztuk) po: 20; 40 i 160 μl roztworu wzorcowego podstawowego 2-TA w metanolu o stężeniu 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Po wysuszeniu filtry poddano procedurze analitycznej podanej na rys. 2. Roztwory (3 serie) uzyskane po odzysku pochodnej 2-TA z filtrów poddano analizie chromatograficznej. Dla każdej serii obliczono odchylenie standardowe i współczynnik zmienności.

Współczynniki zmienności dla kolejnych poziomów stężenia wyniosły odpowiednio: 1,06; 1,56 i 1,82%.

Badanie trwałości próbek

Trwałość pobranych próbek powietrza badano po jednym dniu oraz po: trzech, siedmiu i dziesięciu dniach przechowywania w ekcykatorze i w chłodziarce. Wyniki badań przedstawiono w tabeli 3.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że próbki bez względu na sposób przechowywania zachowują trwałość przez co najmniej 10 dni.

Tabela 3.

Wyniki badania trwałości próbek powietrza, przechowywanych w temperaturze pokojowej i w chłodziarce. Kolumna Ultra C18, detektor DAD, $\lambda = 232 \text{ nm}$

Nr filtra	Miejsce przechowywania	Czas przechowywania, liczba dni	Średnie pola powierzchni pików	Średnie pole powierzchni pików z dwóch filtrów
1	ekcykator	1	1010,20	1010,00
2			1009,80	
1	ekcykator	3	1004,20	1005,10
2			1006,00	
1	chłodziarka	3	1057,20	1056,35
2			1055,50	
1	ekcykator	7	1052,00	1052,45
2			1052,90	
1	chłodziarka	7	957,10	977,10
2			997,10	
1	ekcykator	10	962,00	960,00
2			958,00	
1	chłodziarka	10	952,40	953,75
2			955,10	

Walidacja metody

Parametry walidacyjne wyznaczano zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną i wymaganiami zawartymi w normie europejskiej (PN-EN 482+A1: 2016). Granice: wykrywalności oraz oznaczalności

wyznaczono na podstawie wyników analizy dziesięciu niezależnych pomiarów powierzchni pików o czasie retencji pochodnej 2-TA dla trzech niezależnie przygotowanych ślepych prób. Uzyskane dane walidacyjne przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4.

Dane walidacyjne metody oznaczania 2-toliloaminy

Walidowane parametry	Wartość
Zakres pomiarowy	0,05 ÷ 1 mg/m^3
Ilość pobranego powietrza	36 l
Zakres krzywej wzorcowej	1,8 ÷ 36 $\mu\text{g}/\text{ml}$
Granica wykrywalności	3,48 ng/ml
Granica oznaczalności	10,43 ng/ml
Całkowita precyzja badania	5,22%
Względna niepewność całkowita	11,45%

PODSUMOWANIE

W artykule przedstawiono metodę oznaczania 2-toliloaminy (2-TA) w powietrzu na stanowiskach pracy. Metoda polega na: przepuszczaniu badanego powietrza zawierającego 2-TA przez dwa filtry z włókna szklanego z naniesionym kwasem siarkowym(VI) połączone szeregowo. Po derywatyzacji chlorkiem 3,5-dinitrobenzoilu 2-TA analizowano jako pochodną z zastosowaniem kolumny Ultra C18 (250 x 4,6 mm; 5 µm). Roztwory do krzywej kalibracji zostały sporządzone poprzez nanoszenie 2-TA na filtry z włókna szklanego. Przy takim sposobie przeprowadzania kalibracji

wydajność odzysku jest uwzględniona w krzywej wzorcowej, co powoduje skrócenie czasu analizy i zmniejszenie zużycia odczynników.

Opracowana metoda umożliwia oznaczanie 2-TA w powietrzu środowiska pracy w zakresie stężeń $0,05 \div 1 \text{ mg/m}^3$, tj. od 1/10 do 2 wartości zaproponowanego najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS). Metoda może być wykorzystana przez laboratoria badań środowiska pracy do wykonywania pomiarów stężeń tej substancji w powietrzu na stanowiskach pracy, a także do oceny narażenia zawodowego na 2-TA.

PIŚMIENNICTWO

Buszewski B., Olszowy P., Szultka M., Jeżewska A. (2012). New approaches to extraction techniques in determination of 4,4'-methylenebis(2-chloroaniline) in air and water solutions. *Talanta* 93, 117–121.

CHEMPYŁ (2017). Baza wiedzy o zagrożeniach chemicznych i pyłowych. Warszawa, CIOP-PIB.

Elskamp C.J. (1988). *o*-Toluidine, *m*-toluidine, *p*-toluidine. Method No 73. Occupational Safety & Health Administration, U.S. Department of Labor (OSHA), Organic Methods Evaluation Branch, OSHA Salt Lake Technical Center, Sandy UT 84070-6406.

GESTIS (2015). Substance database. Germany, Sankt Augustin, BG Institute for Occupational Safety and Health.

HSE (2014). Aromatic amines in air and on surfaces. MDHS method no. 75/2. Health and Safety Executive, Occupational Medicine and Hygiene Laboratory.

Jeżewska A., Buszewski B. (2010). 2,2'-Dichloro-4,4'-metylenodianilina – metoda oznaczania. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* 1(63), 125–130.

Jeżewska A., Buszewski B. (2011). A new method for the determination of 2,2'-dichloro-4,4'-methylenedianiline in workplace air samples by HPLC-DAD. *Toxicology Mechanisms and Methods* 21(7), 554–560.

Jeżewska A. (2007). 2-Toliloamina – metoda oznaczania. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* 54, 91–96.

Konieczko K. (2017). Centralny Rejestr Danych o Narażeniu na Substancje Chemiczne, ich Mieszanki, Czynniki lub Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym. Łódź, IMP.

Koradecka D., Skowroń J. (2016). Działalność Międzyresortowej Komisji ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy w latach 2014-2016. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* 4(90), 5–39.

Kowalska J., Jeżewska A. (2017). Nowa metoda oznaczania tolueno-2,4-diaminy i tolueno-2,6-diaminy w powietrzu na stanowisku pracy. *Medycyna Pracy* 68(4), 497–505.

O'Connor P.F., Okenfuss J.R., Williamson G. (1994). Amines, Aromatic. Method No 2002. NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM). Fourth Edition, Cincinnati, OH: National Institute for Occupational Safety and Health.

Obwieszczenie ministra rodziny, pracy i polityki społecznej z dnia 7 czerwca 2017 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia ministra pracy i polityki społecznej w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. *DzU* 2017 poz. 1348.

Pendergrass S.M. (1998). Aniline, *o*-Toluidine, and Nitrobenzene. Method No 2017. NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM). Fourth Edition, Cincinnati, OH: National Institute for Occupational Safety and Health.

PN-Z-04031-11: 2011 Ochrona czystości powietrza – Badania zawartości aniliny i jej pochodnych – Część 11: Oznaczanie 2-toliloaminy na stanowiskach pracy metodą chromatografii gazowej.

PN-EN 482+A1: 2016 Narażenie na stanowiskach pracy – Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych.

Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (zwane rozporządzeniem GHS). *Dz. Urz. UE L* 353 z dnia 31.12.2008 r.

Szymczyk I., Hanke W., Szymczak W. (2002). *o*-Toluidyna. Wytyczne Szacowania Ryzyka Zdrowotnego dla Czynn timerakotwórczych. Łódź, IMP, 14, 77–104.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA 2-TOLILOAMINY W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY

1. Zakres stosowania metody

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania zawartości 2-toliloaminy w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem chromatografu cieczowego z detektorem diodowym. Metodę stosuje się podczas kontroli warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie 2-toliloaminy, jakie można oznaczyć w warunkach: pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania, opisanych w procedurze, wynosi $0,05 \text{ mg/m}^3$ (dla próbki powietrza o objętości 36 l).

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 przez dwa filtry z włókna szklanego z naniesionym kwasem siarkowym(VI) połączone szeregowo, ekstrakcji 2-toliloaminy roztworem wodorotlenku sodu i toluenem, derywatywacji chlorkiem 3,5-dinitrobenzoilu i analizie chromatograficznej pochodnej 2-toliloaminy.

4. Wytyczne ogólne

4.1. Dokładność ważenia

O ile nie zaznaczono inaczej, substancje stosowane w analizie należy ważyć z dokładnością do 0,0002 g.

4.2. Postępowanie z substancjami niebezpiecznymi

Czynności, podczas których używa się rozpuszczalników organicznych, należy wykonywać z użyciem środków ochrony indywidualnej, pod sprawnie działającym wyciągiem laboratoryjnym. Pozostałe po analizie roztwory odczynników i wzorców należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i przekazywać do utylizacji w uprawnionych instytucjach.

5. Odczynniki, roztwory i materiały

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

- 5.1. Acetonitryl
- 5.2. Chlorek 3,5-dinitrobenzoilu
- 5.3. Kwas siarkowy(VI), roztwór o stężeniu $0,26 \text{ mol/l}$
- 5.4. Metanol
- 5.5. 2-Toliloamina
- 5.6. Toluen
- 5.7. Wodorotlenek sodu, roztwór o stężeniu $0,135 \text{ mol/l}$
- 5.8. Roztwór wzorcowy podstawowy 2-toliloaminy

Do zważonej kolby miarowej o pojemności 10 ml odważyć około 90 mg 2-toliloaminy wg punktu 5.5., kolbę uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 5.4. i dokładnie wymieszać. Stężenie 2-toliloaminy w tak przygotowanym roztworze wynosi około 9 mg/ml. Obliczyć dokładne stężenie roztworu.

Roztwór przechowywany w chłodziarce zachowuje trwałość przez co najmniej siedem dni.

5.9. Roztwory wzorcowe robocze 2-toliloaminy

Do sześciu kolb miarowych o pojemności 5 ml odmierzyć kolejno: 20; 25; 50; 100; 200 i 400 μl roztworu wzorcowego podstawowego 2-toliloaminy wg punktu 5.8., uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 5.4. i wymieszać. Stężenie 2-toliloaminy w tak uzyskanych roztworach wynosi, w mikrogramach na mililitr, odpowiednio: 36; 45; 90; 180; 360 i 720.

Roztwory przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość przez co najmniej siedem dni.

5.10. Roztwór chlorku 3,5-dinitrobenzoilu

Odważyć około 20 mg chlorku 3,5-dinitrobenzoilu wg punktu 5.2. i przenieść do kolby miarowej o pojemności 10 ml, uzupełnić do kreski toluenem wg punktu 5.6. i zawartość dokładnie wymieszać. Zawartość chlorku 3,5-dinitrobenzoilu w 1 ml tak przygotowanego roztworu wynosi około 2 mg.

Roztwór przechowywany w chłodziarce zachowuje trwałość przez co najmniej trzy dni.

5.11. Filtry

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

5.12. Azot analizowany czysty, N 5.0.

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

Stosować przyrządy pomiarowe i wymieniony sprzęt pomocniczy:

6.1. Chromatograf cieczowy

Chromatograf cieczowy z detektorem UV-VIS umożliwiającym wykonanie analizy przy długości fali analitycznej $\lambda = 232$ nm.

6.2. Kolumna chromatograficzna

Kolumna chromatograficzna umożliwiająca oznaczenie 2-toliloaminy w obecności innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu, np. kolumna wypełniona fazą oktadecylową o uziarnieniu 5 μ m, o długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm.

6.3. Pompa ssąca

Pompa ssąca umożliwiająca pobieranie próbek powietrza ze stałym strumieniem objętości wg punktu 7.

6.4. Kolby

Kolby stożkowe Erlenmeyera o pojemności 25 ml (wyposażone w korki).

6.5. Probówki

Probówki o średnicy około 10 mm, o pojemności powyżej 5 ml.

6.6. Naczynka

Naczynka o pojemności około 2 ml z nakrętką (np.: takie jak do automatycznego dozownika chromatografu).

6.7. Strzykawki do cieczy

Strzykawki do cieczy o pojemności 5 μ l \div 5 ml.

6.8. Łaźnia wodna, z termostatem

6.9. Kuchenka mikrofalowa o mocy 600 W.

7. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek, przez dwa filtry wg punktu 5.11. umieszczone w oprawce i połączone szeregowo, przepuścić do 36 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości nie większym niż 12 l/h.

Pobrane próbki, przechowywane w chłodziarce, zachowują trwałość przez co najmniej dziesięć dni.

8. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy tak dobrać, aby uzyskać rozdział 2-toliloaminy od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu. W przypadku stosowania kolumny o parametrach podanych w punkcie 6.2., przykładowe warunki oznaczania są następujące:

- faza ruchoma: acetonitryl: woda 55: 45
- natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej 1 ml/min
- długość fali analitycznej 232 nm
- dozowanie próbek 5 μ l.

9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Na sześć filtrów, wg punktu 5.11. umieszczonych w kolbach stożkowych wg punktu 6.4., nanieść kolejno po 50 μ l każdego roztworu wzorcowego roboczego 2-toliloaminy wg punktu 5.9. Filtry pozostawić do wyschnięcia. Następnego dnia dodać po 2 ml wody, kolby zamknąć i pozostawić na około 15 min. Dodać 2 ml wodorotlenku sodu wg punktu 5.7., 1 ml toluenu wg punktu 5.6. i pozostawić kolby na 15 min, wstrząsając co pewien czas ich zawartością. Po tym czasie roztwory z nad filtrów przenieść do probówek wg punktu 6.5. Po osiągnięciu stanu równowagi między fazą wodną i toluenową pobrać za pomocą strzykawki wg punktu 6.7. po 0,5 ml warstwy toluenowej i przenieść do naczynka wg punktu 6.6. Do każdego naczynka dodać 30 μ l roztworu chlorku 3,5-dinitrobenzoilu wg punktu 5.10. i umieścić je w łaźni wodnej wg punktu 6.8. w temperaturze 80 °C, na 30 min lub w kuchence mikrofalowej wg punktu 6.9., na 2 min. Następnie odparować toluen w strumieniu azotu wg punktu 5.12., a suchą pozostałość rozpuścić w 0,5 ml acetonitrylu wg punktu 5.1. Zawartość 2-toliloaminy w 1 mililitrze tak uzyskanych roztworów wynosi odpowiednio: 1,8; 2,25; 4,5; 9; 18 i 36 μ g.

Wykonać dwukrotną analizę roztworów wzorcowych. Odczytać powierzchnie pików wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Następnie wykreślić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych zawartość 2-toliloaminy

w 1 mililitrze roztworu, w mikrogramach, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchni- nie pików pochodnej 2-toliloaminy.

10. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza wg punktu 7. każdy filtr przenieść do oddzielnej kolby stożkowej wg punktu 6.4., dodać po 2 ml wody i dalej postępować tak jak przy sporządzaniu krzywej wzorcowej wg punktu 9. Wykonać dwukrotną analizę roztworów w acetonitrylu. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików pochodnej 2-toliloaminy wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Zawartość 2-toliloaminy w mikrogramach odczytać z krzywej wzorcowej.

11. Obliczanie wyniku oznaczania

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

$$X = \frac{m_1 - m_2}{V},$$

w którym:

- m_1 – masa 2-toliloaminy w roztworze uzyskanym z pierwszego filtra, odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach,
- m_2 – masa 2-toliloaminy w roztworze uzyskanym z drugiego filtra, odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach,
- V – objętość powietrza przepuszczonego przez filtr, w litrach.

