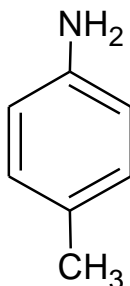


dr SŁAWOMIR BRZEŹNICKI
mgr MARZENA BONCZAROWSKA
dr JAN GROMIEC
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr med. Jerzego Nofera
91-348 Łódź
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

4-Toliloamina

– metoda oznaczania



Numer CAS: 106-49-0

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

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

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

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

Oznaczalność metody wynosi 0,4 mg/m³ (dla próbki o objętości 100 l).

UWAGI WSTĘPNE

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

Najważniejsze właściwości fizykochemiczne 4-toliloaminy:

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

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

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

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

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

W 2010 r. minister pracy i polityki społecznej ustanowił wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla 4-toliloaminy w powietrzu na stanowiskach pracy równą 8 mg/m³.

PROCEDURA ANALITYCZNA

1. Zakres stosowania metody

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

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

4. Wytyczne ogólne

4.1. Czystość odczynników

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

4.2. Dokładność ważenia

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

4.3. Postępowanie z substancjami toksycznymi

Wszystkie czynności, podczas których używa się substancji wzorcowych, należy wykonywać pod sprawnie działającym wyciągiem laboratoryjnym.

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

5. Odczynniki, roztwory i materiały

5.1. 4-Toliloamina

Stosować według punktu 4.

5.2. Kwas siarkowy

Stosować według punktu 4.

5.3. Metanol do HPLC

Stosować według punktu 4.

5.4. Sodu wodorotlenek

Stosować według punktu 4.

5.5. Roztwór kwasu siarkowego

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

5.6. Roztwór wodorotlenku sodu

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

5.7. Roztwór wzorcowy podstawowy 4-toliloaminy

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

5.8. Roztwór wzorcowy pośredni 4-toliloaminy

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

5.9. Roztwory wzorcowe robocze 4-toliloaminy

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

5.10. Woda do HPLC

Stosować według punktu 4.

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

6.1. Chromatograf cieczowy

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

6.2. Kolumna chromatograficzna

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

6.3. Filtry szklane

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

6.4. Naczynka (wialki)

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

6.5. Pipeta automatyczna

Stosować pipety automatyczne o pojemności 100 i 200 µl.

6.6. Pompa ssąca

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

6.7. Sączki z politetrafluoroetyleny

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

6.8. Wytrząsarka/mieszadło hematologiczne

Stosować wytrząsarkę rotacyjną lub mieszadło hematologiczne.

7. Pobieranie próbek powietrza

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

8. Warunki pracy chromatografu

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

Tabela 1.

Warunki pracy chromatografu cieczowego

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

9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

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

10. Wykonanie oznaczania

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

11. Obliczanie wyniku oznaczania

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

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

w którym:

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

INFORMACJE DODATKOWE

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

Na podstawie przeprowadzonych badań uzyskano następujące dane walidacyjne:

- zakres pomiarowy 0,04 ÷ 1,6 mg/5 ml
0,4 ÷ 16 mg/m³ (dla próbki powietrza 100 l)
- granica oznaczania ilościowego, X_{ozn} 0,09 µg/ml (UV-VIS)
- granica wykrywalności 0,3 µg/ml (UV-VIS)
- współczynnik korelacji charakteryzujący liniowość krzywych wzorcowych, r 0,999
- całkowita precyzja badania, V_c 3,5%
- niepewność całkowita metody 16,5%.

SŁAWOMIR BRZEŹNICKI, MARZENA BONCZAROWSKA, JAN GROMIEC

p-Toluidine – a determination method

A b s t r a c t

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

The working range of the analytical method is from 0.04 to 1.6 µg/5ml (0.4 – 16 mg/m³ for an air sample of 100 l).