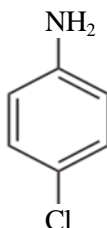


mgr inż. ANNA JEŻEWSKA<sup>1</sup>  
prof. dr hab. BOGUSŁAW BUSZEWSKI<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Centralny Instytut Ochrony Pracy –  
Państwowy Instytut Badawczy  
00-701 Warszawa  
ul. Czerniakowska 16  
<sup>2</sup>Uniwersytet Mikołaja Kopernika  
87-100 Toruń  
ul. Gagarina 7/11

# 4-Chloroanilina

## – metoda oznaczania



Numer CAS: 479-18-5

---

**Słowa kluczowe:** 4-chloroanilina, *p*-chloroanilina, metoda analityczna, metoda chromatografii cieczowej, powietrze na stanowiskach pracy.

**Keywords:** 4-chloroaniline, a determination method, workplace air, liquid chromatographic analysis.

Metodę stosuje się do oznaczania stężeń 4-chloroaniliny w powietrzu na stanowiskach pracy podczas przeprowadzania kontroli warunków sanitarnohigienicznych.

Metoda polega na przepuszczeniu badanego powietrza zawierającego 4-chloroanilinę przez filtr z włókna szklanego z naniesionym kwasem siarkowym, wymyciu osadzonej na filtrze substancji wodą i roztworem wodorotlenku sodu, ekstrakcji do fazy stałej w celu wzbogacenia analitu, wymiany rozpuszczalnika na metanol oraz analizie otrzymanego roztworu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

Oznaczalność metody wynosi 0,005 mg/m<sup>3</sup>.

### UWAGI WSTĘPNE

4-Chloroanilina w warunkach normalnych jest krystalicznym ciałem stałym stosowanym do produkcji: mocznika, herbicydów, insektycydów, barwników i pigmentów, a ze względu na aktywność bakteriobójczą także kosmetyków i leków. Barwniki na bazie 4-chloroaniliny są stosowane do drukowania wzorów na tkaninach.

Zgodnie z rozporządzeniem WE nr 1272/2008 4-chloroanilina jest substancją rakotwórczą (kategoria 1.B), wykazuje ostrą toksyczość (kategoria 3.), działanie uczulające na skórę (kategoria 1.), toksyczość ostrą dla środowiska wodnego (kategoria 1.), przewlekłą toksyczość dla śro-

dowiska wodnego (kategoria 1.). 4-Chloroanilina działa toksycznie po połknięciu (H301), działa toksycznie w kontakcie ze skórą (H311), może powodować reakcję alergiczną skóry (H317), działa toksycznie w następstwie wdychania (H331), może powodować raka (H350), a także działa bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki szkodliwe (H410).

4-Chloroanilina działa methemoglobinotwórczo i hemolizująco. W przypadku zatrucia ostrego pyły lub pary 4-chloroaniliny mogą spowodować: łzawienie oczu, zaczerwienienie spojówek, ból oczu, podrażnienie górnych dróg oddechowych z kaszlem, sinoniebieskie zabarwienie skóry, duszność oraz zaburzenia świadomości. Może nastąpić także utrata przytomności. Skażenie skóry 4-chloroaniliną wywołuje: sinoniebieskie zabarwienie błon śluzowych i skóry, ból i zawroty głowy, a także duszność i zaburzenia świadomości. Skażenie oczu powoduje ich zaczerwienienie, ból i łzawienie, a także może doprowadzić do uszkodzenia rogówki. Narażenie na działanie 4-chloroaniliny drogą pokarmową wywołuje: nudności, wymioty, ból brzucha oraz podobne objawy jak w zatruciu przez skórę. Może wystąpić także przemijające krwiste zabarwienie moczu wskutek hemolizy (uszkodzenia) krwinek czerwonych.

## **PROCEDURA ANALITYCZNA**

### **1. Zakres procedury**

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

Najmniejsze stężenie 4-chloroaniliny, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonywania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi 0,005 mg/m<sup>3</sup>.

### **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 zawierającego 4-chloroanilinę przez filtr z włókna szklanego z naniesionym kwasem siarkowym, następnie wymyciu osadzonej na filtrze substancji wodą i roztworem wodorotlenku sodu, ekstrakcji do fazy stałej w celu wzbogacenia analitu oraz wymiany rozpuszczalnika na metanol i analizie otrzymanego roztworu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

### **4. Wytyczne ogólne**

#### **4.1. Czystość odczynników**

Do analizy należy stosować, o ile nie zaznaczono inaczej, odczynniki o stopniu czystości co najmniej cz.d.a. oraz wodę destylowaną o czystości do HPLC, zwaną wodą w dalszej części procedury.

#### 4.2. Dokładność ważenia

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

#### 4.3. Postępowanie z substancjami niebezpiecznymi

Czynności związane z rozpuszczalnikami organicznymi 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. Acetonitryl

Stosować acetonitryl wg punktu 4.1.

#### 5.2. 4-Chloroanilina

Stosować 4-chloroanilinę wg punktu 4.1.

#### 5.3. Kwas siarkowy

Stosować roztwór kwasu siarkowego o stężeniu 0,26 mol/l.

#### 5.4. Metanol

Stosować metanol wg punktu 4.1.

#### 5.5. Wodorotlenek sodu

Stosować wodorotlenek sodu o stężeniu 0,135 mmol/l.

#### 5.6. Wodorotlenek sodu

Stosować wodorotlenek sodu o stężeniu 0,135 mol/l.

#### 5.7. Roztwór wzorcowy podstawowy 4-chloroaniliny

Należy odważyć około 10 mg 4-chloroaniliny wg punktu 5.2. i przenieść do kolby pomiarowej z ciemnego szkła o pojemności 10 ml, uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 5.4. i zawartość dokładnie wymieszać. Stężenie 4-chloroaniliny w tak przygotowanym roztworze wynosi 1 mg/ml.

Roztwór przechowywany w chłodziarce jest trwały co najmniej 2 tygodnie.

#### 5.8. Roztwór wzorcowy pośredni 4-chloroaniliny

Do kolby pomiarowej o pojemności 10 ml należy przenieść 1 ml roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 5.7., uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 5.4. i zawartość dokładnie wymieszać. Stężenie 4-chloroaniliny w tak przygotowanym roztworze wynosi 0,1 mg/ml.

Roztwór przechowywany w chłodziarce jest trwały co najmniej 2 tygodnie.

#### 5.9. Roztwory wzorcowe robocze 4-chloroaniliny

Na sześć filtrów wg punktu 5.10., umieszczonych w kolbach stożkowych o pojemności 25 ml wg punktu 6.5., nanieść roztwór wzorcowy pośredni wg punktu 5.8. w ilości: 5; 10; 20; 30; 50 i 100  $\mu$ l. Filtry pozostawić do wyschnięcia. Następnie dodać po 2 ml wody, kolby zamknąć i zostawić na około 1 h, następnie dodać 3 ml wodorotlenku sodu wg punktu 5.6. i pozostawić kolby na 30 min, wstrząsając co pewien czas ich zawartością. Po tym czasie roztwory z nad filtrów przenieść na kolumnieki wg punktu 5.11. wcześniej kondycjonowane: 1 ml metanolu wg punktu 5.4. i 1 ml wodorotlenku sodu wg punktu 5.5. Po sorpcji analitu złoże przemyć 1 ml wody i suszyć co najmniej przez 5 min pod próżnią wg punktu 6.7. Po tym czasie desorbować analizę ze złoża 1 ml metanolu wg punktu 5.4. W 1 ml tak uzyskanego roztworu znajduje się odpowiednio: 0,5; 1; 2; 3; 5 i 10  $\mu$ g 4-chloroaniliny.

Roztwory szczelnie zamknięte i przechowywane w chłodziarce są trwałe co najmniej 7 dni.

#### 5.10. Filtry

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

#### 5.11. Kolumny do ekstrakcji, do fazy stałej

Stosować dostępne w handlu kolumny do ekstrakcji, do fazy stałej o pojemności 1 ml wypełnione 30 mg warstwą sorbentu (kopolimer *N*-winylopirolidonu i diwinylobenzenu).

### 6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

#### 6.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem spektrofotometrycznym, z możliwością dozowania próbki o pojemności 20  $\mu$ l i z elektronicznym integratorem.

#### 6.2. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną umożliwiającą rozdział 4-chloroaniliny od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu, np.: kolumnę stalową z fazą oktadecylową o długości 25 cm, średnicy wewnętrznej 4,6 mm i o uziarnieniu 5  $\mu$ m.

#### 6.3. Strzykawki do cieczy

Stosować strzykawki do cieczy o pojemności 10  $\mu$ l ÷ 2,5 ml.

#### 6.4. Pipety szklane

Stosować pipety do cieczy o pojemności 5 ml.

#### 6.5. Kolby stożkowe

Stosować wyposażone w korki kolby stożkowe o pojemności 25 ml.

#### 6.6. Pompa ssąca

Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobieranie próbek powietrza ze stałym strumieniem objętości wg punktu 7.

#### 6.7. Zestaw próżniowy do ekstrakcji

Stosować zestaw próżniowy do ekstrakcji, do fazy stałej.

### 7. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać wg zasad zawartych w normie PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek przez dwa filtry wg punktu 5.10., połączone szeregowo i umieszczone w oprawce, należy przepuścić do 100 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości, nie większym niż 20 l/h. Pobrane próbki przechowywane w chłodziarce są trwałe co najmniej 7 dni.

### 8. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy tak dobrać, aby uzyskać rozdział 4-chloroaniliny od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu.

W przypadku stosowania kolumny chromatograficznej o parametrach podanych w punkcie 6.2. przykładowe warunki wykonania oznaczania są następujące:

- faza ruchoma acetonytryl: metanol: woda 50: 1: 49
- strumień objętości fazy ruchomej 1 ml/min

– temperatura kolumny	23 °C
– długość fali analitycznej detektora UV	242 nm
– dozowanie próbek	20 µl.

## 9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do chromatografu wprowadzić po 20 µl roztworów wzorcowych roboczych wg punktu 5.9. Z każdego roztworu wzorcowego należy wykonać dwukrotny pomiar. 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 zawartość 4-chloroaniliny w próbce w mikrogramach, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików.

Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

## 10. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza każdy filtr przenieść do oddzielnej kolby wg punktu 6.5. Następnie należy tak postępować jak przy sporządzaniu roztworów wzorcowych roboczych wg punktu 5.9. i krzywej wzorcowej wg punktu 9.

## 11. Obliczanie wyniku oznaczania

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

$$X = \frac{(m_1 + m_2)}{V},$$

w którym:

$m_1$  – masa 4-chloroaniliny w roztworze uzyskanym po odzysku/desorpcji znad pierwszego filtra odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach,

$m_2$  – masa 4-chloroaniliny w roztworze uzyskanym po odzysku/desorpcji znad drugiego filtra odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach,

$V$  – objętość przepuszczonego powietrza przez filtr, w litrach.

## INFORMACJE DODATKOWE

Badania wykonano, stosując chromatograf cieczowy firmy Agilent Technologies serii 1200 z detektorem diodowym (DAD), z automatycznym podajnikiem próbek, z dozowaniem próbki w zakresie 1 ÷ 100 µl i oprogramowaniem Chemstation sterującym oraz zbierającym dane. Do ekstrakcji, do fazy stałej stosowano dostępne w handlu kolumnienki Oasis™ HLB firmy Waters.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań uzyskano następujące dane walidacyjne:

– zakres pomiarowy 0,5 ÷ 10 µg/ml  
(0,005 ÷ 0,1 mg/m<sup>3</sup> dla próbki powietrza 100 l)

- granica wykrywalności,  $x_{gw}$  0,04 ng/ml
- granica oznaczalności,  $x_{ozn}$  0,12 ng/ml
- współczynnik korelacji,  $R$  0,9999
- całkowita precyzja badania,  $V_c$  5,32%
- względna niepewność całkowita 11,6%.

---

*ANNA JEŻEWSKA, BOGUSŁAW BUSZEWSKI*

### **4-Chloroaniline - a determination method**

#### **A b s t r a c t**

This method is based on the chemisorption of 4-chloroaniline on a glass fiber filter treated with sulphuric acid, followed by extraction of 4-chloroaniline sulphate with water and NaOH solution. 4-Chloroaniline is eluted from SPE cartridge using 1 ml of methanol. The obtained solution is analyzed with HPLC with UV detection.

The working range is 0.005 to 0.1 mg/m<sup>3</sup> for a 100 l air sample.