

3,4-Dichloroanilina

Chromatograficzne oznaczanie¹

3,4-Dichloroaniline

Determining 3,4-dichloroaniline with chromatography

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

Numer CAS: 95-76-1

Słowa kluczowe: 3,4-dichloroanilina, metoda analityczna, metoda chromatografii cieczowej, powietrze na stanowiskach pracy.

Keywords: 3,4-dichloroaniline, determination method, workplace air, liquid chromatographic analysis.

Streszczenie

Opracowano metodę oznaczania 3,4-dichloroaniliny (DCA) w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem diodowym (DAD), która polega na: adsorpcji 3,4-dichloroaniliny na żelu krzemionkowym, ekstrakcji metanolem i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu.

Metoda umożliwia oznaczanie 3,4-dichloroaniliny w zakresie stężeń 0,56 ÷ 11,2 mg/m³ dla próbki powietrza o objętości 30 l. Granica oznaczalności (LOQ) metody wynosi 0,53 µg/m³.

Opracowaną metodę oznaczania 3,4-dichloroaniliny zapisano w postaci procedury analitycznej, którą zamieszczono w Załączniku.

¹ Publikacja przygotowana na podstawie wyników badań uzyskanych w ramach II etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy” – w zakresie służb państwowych dofinansowanego w latach 2011-2013 przez Ministerstwo Pracy i Polityki Społecznej. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

Summary

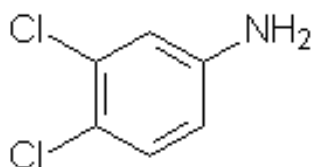
A new procedure has been developed for the assay of 3,4-dichloroaniline (DCA) using high-performance liquid chromatography with diode array detector. This method is based on the adsorption of DCA on a silica gel, extraction with methanol and chromatographic analysis of the

obtained solution. The working range is 0.56 to 11.2 mg/m³ for a 30-L air sample. Limit of quantification (LOQ): 0.53 µg/m³. The developed method of determining 3,4-dichloroaniline has been recorded as an analytical procedure, which is available in the Appendix.

WPROWADZENIE

3,4-Dichloroanilina (DCA) jest krystaliczną substancją stałą o brązowej barwie i charakterystycznym zapachu (rys. 1). Jest łatwopalna, wrażliwa na światło i kontakt z powietrzem. Podczas ogrzewania może tworzyć z powietrzem mieszaninę wybuchową. Produktami rozkładu są: tlenki azotu, tlenki węgla i chlor. 3,4-Dichloroanilina może reago-

wać niebezpiecznie z utleniaczami, kwasami, chlorkami i bezwodnikami kwasowymi. 3,4-Dichloroanilina dobrze rozpuszcza się w etanolu i eterze dietylowym, słabo w benzenie i bardzo słabo w wodzie (Merck 2010; Sigma-Aldrich 2011; GESTIS 2012).



Rys. 1. Wzór strukturalny 3,4-dichloroaniliny (DCA) (GESTIS 2012). Numer CAS: 95-76-1

3,4-Dichloroanilina jest otrzymywana w wyniku katalitycznego uwodornienia 1,2-dichloro-4-nitrobenzenu. Substancja jest wykorzystywana głównie do wytwarzania izocyjanianu 3,4-dichlorofenyłu, który powstaje w wyniku reakcji 3,4-dichloroaniliny z fosgenem. Izocyjanian 3,4-dichlorofenyłu jest substratem do wielotonażowej produkcji środków ochrony roślin: diuronu i linuronu oraz środka bakteriostatycznego i odkażającego 3,4,4'-trichlorokarbonylidu (triklokarbanu) dodawanego do mydeł i środków czyszczących. Z 3,4-dichloroaniliny jest również wytwarzany herbicyd o nazwie propanil stosowany na plantacjach ryżu. Niewielkie ilości 3,4-dichloroaniliny (około 0,2% produkcji) wykorzystuje się do wytwarzania barwników (ECB 2006; Sorokin i in. 2012).

Produkcja 3,4-dichloroaniliny oraz wytwarzanie izocyjanianu 3,4-dichlorofenyłu na skalę przemysłową są prowadzone w systemach zamkniętych, dlatego narażenie zawodowe na 3,4-dichloroanilinę może występować jedynie podczas:

konserwacji, czyszczenia lub naprawy instalacji albo podczas pobierania próbek do badań i w trakcie ich analizy.

Ze względu na zagrożenia dla zdrowia ludzi 3,4-dichloroanilina została sklasyfikowana (Rozporządzenie... nr 1272/2008) jako substancja wykazująca toksyczność ostrą w następstwie wdychania (kat. 3.), poprzez skórę (kat. 3.) i doustnie (kat. 3.), powoduje poważne uszkodzenie oczu (kat. 1.), uczulenie skóry (kat. 1.) i jest niebezpieczna dla środowiska wodnego. 3,4-Dichloroanilinie przypisano następujące zwroty zagrożenia:

H331: działa toksycznie w następstwie wdychania

H311: działa toksycznie w kontakcie ze skórą

H301: działa toksycznie po połknięciu

H318: powoduje poważne uszkodzenie oczu

H317: może powodować reakcję alergiczną skóry

H410: działa bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

Wartości normatywów higienicznych w Polsce dla 3,4-dichloroaniliny nie zostały jeszcze ustalone. Zespół Ekspertów ds. Czynników Chemicznych Międzyresortowej Komisji ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy (*Sapota, Skrzypińska-Gawrysiak* 2013) zaproponował określenie wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla 3,4-dichloroaniliny na poziomie $5,6 \text{ mg/m}^3$. Nie ustalono wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) ani wartości dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) dla 3,4-dichloroaniliny.

W piśmiennictwie nie znaleziono informacji na temat metod oznaczania 3,4-dichloroaniliny

w powietrzu na stanowiskach pracy, ale na stronie internetowej Agencji rządu USA – Occupational Safety and Health Administration (Ministerstwa Bezpieczeństwa Zawodowego i Zdrowia) (OSHA 1992), zawierającej informacje na temat pobierania próbek powietrza i oznaczania substancji, zaproponowano pobieranie 100 l powietrza na filtr z poli(chloroku winylu), ekstrahowanie metanolem i zastosowanie wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją spektrofotometryczną (przy długości fali $\lambda = 254 \text{ nm}$) do oznaczania 3,4-dichloroaniliny.

Celem badań było opracowanie metody oznaczania 3,4-dichloroaniliny, która umożliwi oznaczanie jej stężeń w powietrzu na stanowiskach pracy, w zakresie od 1/10 do 2 wartości NDS, tj. $0,56 \div 11,2 \text{ mg/m}^3$, zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie PN-EN 482:2012.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Aparatura

W badaniach zastosowano chromatograf cieczowy firmy Agilent Technologies (Waldbronn, Germany) seria 1200 z detektorem diodowym (DAD) sprzężonym on-line. Próbkę wprowadzano automatycznym podajnikiem próbek G2258-90010 (Agilent Technologies). Do sterowania procesem oznaczania i zbierania danych zastosowano oprogramowanie ChemStation. Stosowano kolumnę Ultra C18 o wymiarach (250 x 4,6 mm) o $dp = 5 \mu\text{m}$, z przedkolumną o wymiarach: 10 x 4,0 mm (Restek, USA). Używano aspiratorów do pobierania próbek powietrza: Pocket pump (SKC Inc., USA), zakres pracy: 20 ml/min (1,2 l/h) \div 225 ml/min (13,5 l/h), aspiratorów AP-8 (Two-Met, Polska) zakres pracy przy zastosowaniu adaptera niskich przepływów: 5 ml/min (0,3 l/h) \div 4500 ml/min (270 l/h). Do przeprowadzenia desorpcji analitów z żelu krzemionkowego korzystano z wytrząsarki mechanicznej WL-2000 (JWElectronic, Polska). Wzorce odważano na wadze analitycznej Sartorius TE214S (Sartorius Corporation, USA). Próbki przecho-

wywano w eksykatorze szafkowym serii EKS (WSL, Polska).

Odczynniki i materiały

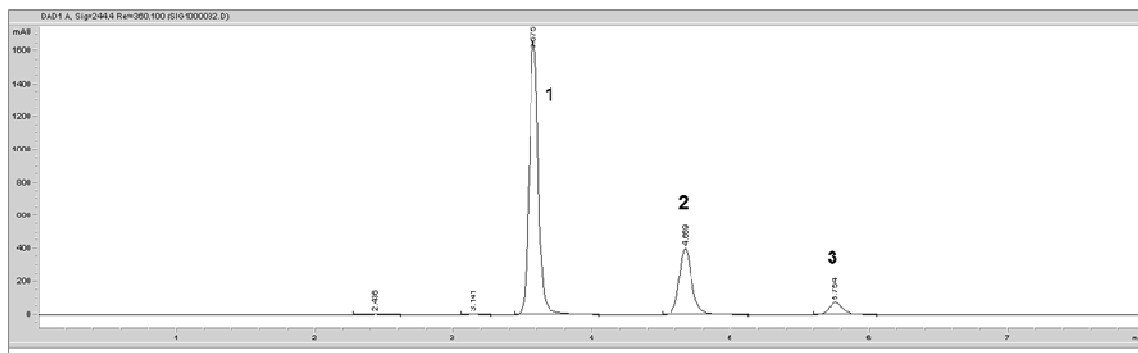
W badaniach korzystano z następujących odczynników: 3,4-dichloroaniliny, metanolu (Merck, Niemcy), izocyjanianu 3,4-dichlorofenylny, 1,2-dichloro-4-nitrobenzenu (Sigma-Aldrich, Niemcy), wody o dużej czystości uzyskanej z aparatu Milli-Q (Millipore, USA). Do badań używano odczynników o czystości do wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Ponadto stosowano, np.: rurki szklane wypełnione żelazem krzemionkowym (400/200 mg), (ZUP Analityk, Polska) do pobierania próbek powietrza, szkło laboratoryjne, a także strzykawkę do cieczy.

Ustalenie warunków oznaczania

Wstępnie ustalono, że roztwory 3,4-dichloroaniliny w metanolu można oznaczać z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem diodowym (DAD) w od-

wróconym układzie faz, w obecności izocyjanianu 3,4-dichlorofenyli i 1,2-dichloro-4-nitrobenzenu (rys. 2). Badania prowadzono, stosując kolumnę do wysokosprawnej chromatografii cieczej (HPLC) typu Ultra C18 z przedkolumną, w temperaturze 23 °C. Natężenie przepływu strumienia

fazy ruchomej wynosiło 1 ml/min. Stosowano jako fazę ruchomą: metanol, wodę (85: 15, v/v). Objętość analizowanej próbki wynosiła 10 µl. Analizy wykonywano przy długości fali $\lambda = 244$ nm z zastosowaniem detektora DAD.



Rys. 2. Chromatogram roztworu wzorcowego 3,4-dichloroaniliny (DCA) w obecności substancji współwystępujących. Kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD: 1 – 3,4-dichloroanilina, 2 – izocyjanian 3,4-dichlorofenyli, 3 – 1,2-dichloro-4-nitrobenzen

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Badania sorpcji

Badania sorpcji 3,4-dichloroaniliny z powietrza prowadzono, stosując laboratoryjny układ składający się z rurki pochłaniającej wypełnionej dwiema warstwami (400/200 mg) żelu krzemionkowego i pompy ssącej o regulowanym i kontrolowanym za pomocą rotametu strumieniu objętości. Do rurki (na włókno szklane poprzedzające pierwszą warstwę żelu krzemionkowego) wprowadzono po 5 i 10 µl roztworu 3,4-dichloroaniliny w metanolu o stężeniu 339,8 mg/ml i przepuszczano 60 l powietrza ze strumieniem objętości 60 i 30 l/h oraz 30 l powietrza ze strumieniem objętości 30 l/h. Po zakończeniu pochłaniania przeprowadzono desorpcję metanolem z dłuższej warstwy żelu i oddzielnie z krótszej warstwy kontrolnej. Roztwór uzyskany po desorpcji

oznaczano chromatograficznie. Wyniki przedstawiono w tabeli 1. Określone początkowo warunki pobierania powietrza (60 l powietrza i desorpcja 1 ml rozpuszczalnika) spowodowały trudności podczas integrowania pola powierzchni pików 3,4-dichloroaniliny przez oprogramowanie ChemStation. Absorbancja pików 3,4-dichloroaniliny w ekstraktach o dużych stężeniach związku (> 3 mg/ml) przekraczała zakres liniowości stosowanego detektora. Z tego powodu zmieniono założenia i zdecydowano o pobieraniu 30 l powietrza ze strumieniem objętości nie większym niż 60 l/h i zwiększeniu ilości desorbentu do 2 ml. Takie warunki powodowały zmniejszenie stężenia roztworów wzorcowych i umożliwiły właściwą integrację pików 3,4-dichloroaniliny przez analityczną stację komputerową.

Tabela 1.

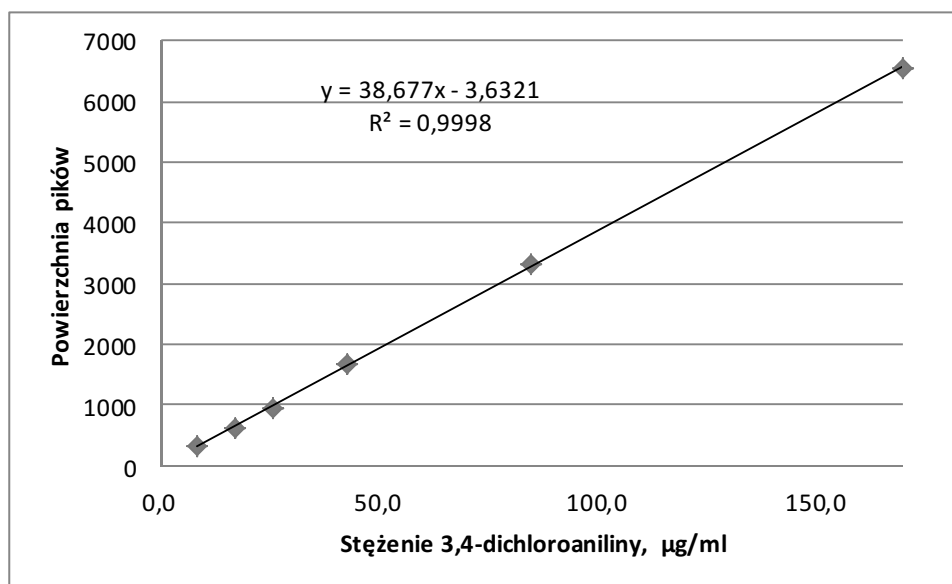
Wyniki adsorpcji 3,4-dichloroaniliny (DCA) na żelu krzemionkowym (kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD)

Strumień objętości pochłanianego powietrza, l/h	Objętość powietrza, l	Przybliżone stężenie substancji w powietrzu, mg/m ³	Powierzchnia pików DCA w roztworach po desorpcji, wg wskazań ChemStation		Zawartość substancji w II warstwie, procent ilości oznaczonej w pierwszej warstwie
			włókno szklane + I warstwa żelu	II warstwa żelu	
60	60	56	19 919	83	0,4
30	60	28	17 892	–	–
30	30	28	15 982	–	–

Kalibracja

Oznaczanie kalibracyjne wykonano dla trzech serii roztworów kalibracyjnych. Sporządzono roztwory wzorcowe 3,4-dichloroaniliny w metanolu. Zakres roztworów wzorcowych wyniósł: 8,4 ÷ 168 µg/ml. Do chromatografu wprowadzono po 10 µl roztworów wzorcowych o wzra-

stających stężeniach. Następnie sporządzono wykres zależności powierzchni pików 3,4-dichloroaniliny od stężenia roztworów kalibracyjnych. Współczynnik nachylenia „b” krzywej kalibracji (rys. 3) o równaniu $y = bx + a$ charakteryzujący czułość metody wynosi 36,68. Współczynnik korelacji (R^2) charakteryzujący liniowość krzywej wzorcowej wynosi 0,9998.



Rys. 3. Wykres zależności powierzchni od stężenia 3,4-dichloroaniliny (DCA) w roztworach kalibracyjnych: kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD

Precyzja

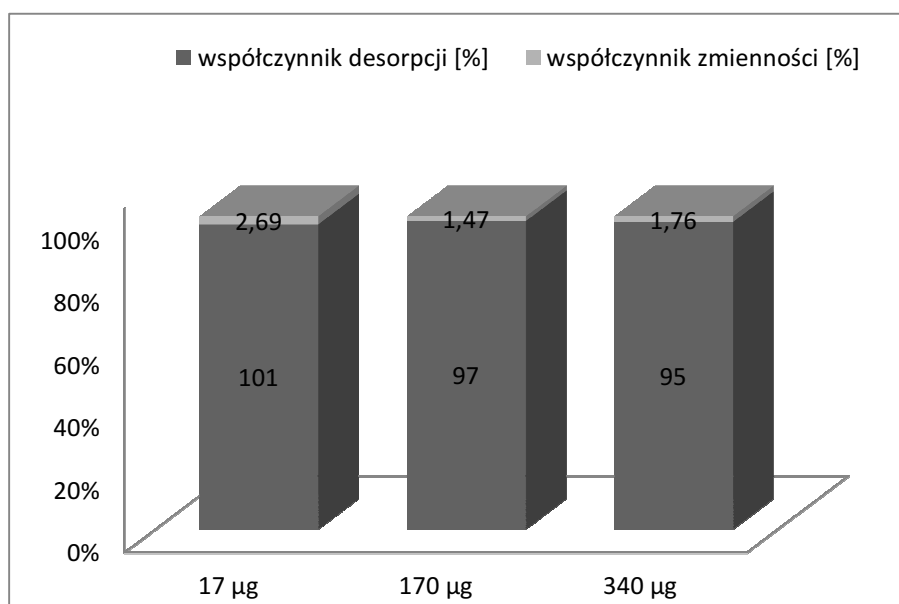
Ocenę precyzji oznaczeń kalibracyjnych wykonano dla trzech serii roztworów sporządzonych z jednego roztworu podstawowego 3,4-dichloroaniliny w metanolu o stężeniu 17 mg/ml. Z tego roztworu wykonano trzy serie po osiem roztworów

roboczych o stężeniach kolejno: 17 (I seria); 85 (II seria); 170 µg/ml (III seria). Dla każdej serii obliczono odchylenie standardowe i współczynnik zmienności po wykonaniu analizy chromatograficznej. Współczynniki zmienności dla kolejnych poziomów stężenia wyniosły odpowiednio: 0,69; 1,00 i 0,44%.

Badanie stopnia desorpcji

W trakcie pobierania próbek powietrza nanoszono do sześciu rurek adsorpcyjnych na włókno szklane umieszczone przed 400 mg warstwą żelu krzemionkowego po: 1; 10 i 20 μl (razem osiemnaście rurek) roztworu 3,4-dichloroaniliny w metanolu o stężeniu 17 mg/ml, co odpowiadało 17; 170 i 340 μg 3,4-dichloroaniliny. Przez rurki przepuszczano 30 l powietrza ze strumieniem objętości 60 l/h. Następnie przeprowadzo-

no desorpcję 3,4-dichloroaniliny (2 ml metanolu) z pierwszej warstwy żelu i włókna szklanego oraz z drugiej warstwy zabezpieczającej. Po 30-minutowym intensywnym wytrząsaniu uzyskane roztwory oznaczano chromatograficznie. Wykonano także oznaczenie 3,4-dichloroaniliny w roztworach porównawczych wykonanych w identyczny sposób, ale bez żelu krzemionkowego. Wyniki badań przedstawiono na rysunku 4. Średni współczynnik desorpcji dla trzech poziomów stężeń wynosi 0,98.



Rys. 4. Współczynniki desorpcji uzyskane po naniesieniu 17; 170 i 340 μg 3,4-dichloroaniliny (DCA) na żel krzemionkowy, przepuszczeniu 30 l powietrza i ekstrakcji metanolem oraz odchylenie standardowe ($n = 6$) wyrażone w procentach (współczynnik zmienności)

Badanie trwałości pobranych próbek powietrza

Trwałość pobranych próbek powietrza badano, w zależności od czasu i miejsca ich przechowywania, w następujący sposób: do czternastu rurek adsorpcyjnych na włókno szklane umieszczone przed 400 mg warstwą żelu krzemionkowego nanoszono po 10 μl roztworu 3,4-dichloroaniliny w metanolu o stężeniu 17 mg/ml. Przez rurki przepuszczano 30 l powietrza ze

strumieniem objętości 60 l/h. Dwie próbki badano (desorpcja 2 ml metanolu) bezpośrednio po pobraniu, sześć próbek umieszczono w chłodziarce (temperatura około 4 °C), a pozostałe sześć w eksykatorze (temperatura około 20 °C) i analizowano w różnym czasie (po pięciu i dziewięciu dniach). Wyniki badań przedstawiono w tabeli 2. Bez względu na miejsce przechowywania próbki są trwałe co najmniej przez dziewięć dni.

Tabela 2.**Wyniki badania trwałości próbek powietrza (kolumna Ultra C18, temperatura kolumny 23 °C, detektor DAD)**

Nr rurki	Miejsce przechowywania	Czas przechowywania, dni	Średnie pola powierzchni pików	Średnia	Odchylenie standardowe	Współczynnik zmienności, %
1	eksykator	0	3160,7	3112,9	67,7	2,2
2			3065,0			
1	eksykator	5	3090,8	3133,2	60,0	1,9
2			3175,6			
1	chłodziarka	5	3123,4	3140,2	23,9	0,8
2			3157,1			
1	eksykator	9	3246,1	3260,3	19,9	0,6
2			3242,7			
3			3277,9			
4			3274,3			
1	chłodziarka	9	3282,9	3280,1	5,7	0,2
2			3288,9			
3			3273,8			
4			3274,8			

Walidacja

Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482:2012. Granicę wykrywal-

ności (LOD) oraz granicę oznaczalności (LOQ) wyznaczono na podstawie wyników analizy ślepej próbki. Dane walidacyjne przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3.**Dane walidacyjne metody oznaczania 3,4-dichloroaniliny (DCA)**

Walidowane parametry	Wartość
Zakres pomiarowy	0,56 ÷ 11,2 mg/m ³
Ilość pobranego powietrza	30 l
Ilość rozpuszczalnika użytego do desorpcji	2 ml
Zakres krzywej wzorcowej	8,4 ÷ 168 µg/ml
Granica wykrywalności (LOD)	2,7 ng/ml (0,18 µg/m ³)
Granica oznaczalności (LOQ)	8 ng/ml (0,53 µg/m ³)
Całkowita precyzja badania	5,06%
Względna niepewność całkowita	11,09%

PODSUMOWANIE

Na podstawie wyników badań opracowano metodę oznaczania 3,4-dichloroaniliny w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem diodowym (DAD). Zastosowane

rurki szklane wypełnione żelom krzemionkowym (400/200 mg) zapewniają ilościowe wyodrębnienie 3,4-dichloroaniliny z badanego powietrza. Pobrane próbki powietrza przechowywane w laboratorium, w temperaturze 20(±0,1) °C, są trwałe

przez co najmniej dziewięć dni. Zastosowana kolumna oktadecylowa Ultra C18 o wymiarach 250 mm x 4,6 mm umożliwia oznaczanie 3,4-dichloroaniliny w obecności izocyjanianu 3,4-dichlorofenylu i 1,2-dichloro-4-nitrobenzenu.

Opracowana metoda umożliwia oznaczanie 3,4-dichloroaniliny w zakresie stężeń 0,56 ÷

11,2 mg/m³ dla próbki powietrza 30 l. Granica oznaczalności (LOQ) tej metody wynosi 0,53 µg/m³. Opracowana metoda może być wykorzystywana do oznaczania zawartości 3,4-dichloroaniliny w powietrzu na stanowiskach pracy.

PIŚMIENNICTWO

ECB (2006) European risk assessment report 3,4-dichloroaniline (3,4-DCA). 3rd Priority list Vol. 65. European Chemicals Bureau. Institute for Health and Consumer Protection. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.

GESTIS (2012) GESTIS Substance Database. IFA. [2013-02-11, [http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll?f=templates\\$fn=default.htm\\$vid=gestiseng:sdbeng](http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll?f=templates$fn=default.htm$vid=gestiseng:sdbeng)].

Merck (2010) 3,4-Dichloroanilina do syntezy. Karta Charakterystyki zgodnie z rozporządzeniem WE 1907/2006. Wersja 6.6 z dnia 9.11.2010.

OSHA (1992) Occupational Safety & Health Administration. Chemical Sampling Information. 3,4-Dichloroaniline. [2013-03-05, http://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_232750.html].

PN-EN 482:2012 Powietrze na stanowiskach pracy. Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych.

Sapota A., Skrzypińska-Gawrysiak M. (2013) 3,4-Dichloroanilina. Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego. PiMOŚP 2(76), 57–72.

Sigma-Aldrich (2011) 3,4-Dichloroanilina. Karta Charakterystyki zgodnie z rozporządzeniem WE 1907/2006. Wersja 4.1 z dnia 7.11.2011.

Sorokin N., Johnson I., Rockett L., Aldous E. (2012) Proposed EQS for Water Framework directive Annex VIII substances: 3,4-dichloroaniline (For consultation). Water Framework Directive – United Kingdom Technical Advisory Group (WFD-UKTAG). Edinburg, 101.

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 (zwane rozporządzeniem GHS), (Dz. Urz. UE z dnia 31.12.2008 r. (L 353).

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA 3,4-DICHLOROANILINY W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY METODĄ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

1. Zakres stosowania procedury

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania zawartości 3,4-dichloroaniliny (nr CAS: 95-76-1) w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Metodę stosuje się podczas kontroli warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie 3,4-dichloroaniliny, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczenia opisanych w procedurze, wynosi $0,56 \text{ mg/m}^3$.

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: adsorpcji 3,4-dichloroaniliny na żelu krzemionkowym, ekstrakcji metanolem i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu.

4. Odczynniki, roztwory i materiały

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

Substancje stosowane w analizie należy ważyć z dokładnością do $0,0002 \text{ g}$.

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 utylizacją.

4.1. 3,4-Dichloroanilina

4.2. Metanol

4.3. Roztwór wzorcowy podstawowy 3,4-dichloroaniliny

Do zważonej kolby miarowej o pojemności 10 ml należy odważyć 84 mg 3,4-dichloroaniliny wg punktu 4.1., kolbę zważyć, uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 4.2. i dokładnie wymieszać. Stężenie 3,4-dichloroaniliny w tak przygotowanym roztworze wynosi 8,4 mg/ml. Obliczyć dokładną zawartość 3,4-dichloroaniliny w 1 ml roztworu.

Roztwór należy przygotować bezpośrednio przed użyciem.

4.4. Roztwór wzorcowy pośredni 3,4-dichloroaniliny

Do kolby miarowej o pojemności 10 ml odmierzyć 1 ml roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 4.3. i uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 4.2. i dokładnie wymieszać. Stężenie 3,4-dichloroaniliny w tak przygotowanym roztworze wynosi około 0,84 mg/ml.

Roztwór należy przygotować bezpośrednio przed użyciem.

4.5. Roztwory wzorcowe robocze

Do sześciu kolb miarowych o pojemności 10 ml odmierzyć kolejno: 0,1; 0,125; 0,25; 0,5; 1 i 2 ml roztworu wzorcowego pośredniego wg punktu 4.4., uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 4.2. i wymieszać. Zawartość 3,4-dichloroaniliny w 1 ml tak przygotowanych roztworów wynosi odpowiednio: 8,4; 10,5; 21; 42; 84 i 168 μg .

Roztwory należy przygotować bezpośrednio przed użyciem.

4.6. Roztwór do wyznaczenia współczynnika desorpcji

Do zważonej kolby miarowej o pojemności 5 ml

odważyć 84 mg 3,4-dichloroaniliny wg punktu 4.1., zważyć, uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 4.2. i dokładnie wymieszać. Obliczyć dokładną zawartość 3,4-dichloroaniliny. Stężenie 3,4-dichloroaniliny w tak przygotowanym roztworze wynosi 16,8 mg/ml.

4.7. Rurki adsorpcyjne

Stosować dostępne w handlu rurki szklane wypełnione dwiema warstwami (400 i 200 mg) żelu krzemionkowego o uziarnieniu 0,25 ÷ 0,6 mm.

5. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

Stosować typowy sprzęt laboratoryjny oraz wymieniony niżej:

5.1. Chromatograf cieczowy

Chromatograf cieczowy wyposażony w detektor umożliwiający wykonanie analizy przy długości fali 244 nm, np. detektor spektrofotometryczny (UV/VIS) lub diodowy (DAD).

5.2. Kolumna chromatograficzna

Kolumna chromatograficzna umożliwiająca oznaczanie 3,4-dichloroaniliny w mieszaninie substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu, np. kolumna stalowa o długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm, wypełniona fazą oktadecylową o uziarnieniu 5 µm.

5.3. Strzykawki do cieczy

Strzykawki do cieczy o pojemności 5 µl ÷ 2,5 ml.

5.4. Naczynka do desorpcji

Naczynka szklane do desorpcji o pojemności około 3 ml z nakrętkami i uszczelkami silikonowymi oraz z zaworami umożliwiającymi pobieranie roztworu bez otwierania naczynek.

5.5. Pompa ssąca

Pompa ssąca umożliwiająca 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 rurkę adsorpcyjną wg punktu 4.7. przepuścić do

30 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości nie większym niż 60 l/h.

Pobrane próbki zachowują trwałość co najmniej dziewięć dni.

7. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy tak dobrać, aby uzyskać rozdział 3,4-dichloroaniliny od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu. W przypadku stosowania kolumny o parametrach podanych w punkcie 5.2. oznaczanie można wykonać w następujących warunkach:

- temperatura kolumny 23 °C
- faza ruchoma: metanol:
woda 85: 15
- natężenie przepływu
strumienia fazy ruchomej 1 ml/min
- długość fali analitycznej 244 nm
- objętość dozowanej próbki 10 µl.

8. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do chromatografu wprowadzić po 10 µl roztworów wzorcowych roboczych 3,4-dichloroaniliny wg punktu 4.5. Z każdego roztworu wzorcowego należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać powierzchnie pików według 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 stężenie 3,4-dichloroaniliny w mikrogramach na mililitr, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików.

9. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza przesypać oddzielnie każdą warstwę żelu krzemionkowego z rurki adsorpcyjnej do naczynek wg punktu 5.4., dodając do dłuższej warstwy żelu także włókno szklane znajdujące się przed tą warstwą. Następnie dodać strzykawką wg punktu 5.3. po 2 ml metanolu wg punktu 4.2., naczynka szczel-

nie zamknąć i pozostawić na 30 min, intensywnie wstrząsając co pewien czas ich zawartością. Następnie pobrać po 10 μ l roztworu z nad żelu i badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 7. Z każdego roztworu należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików 3,4-dichloroaniliny wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami nie powinna być większa niż $\pm 5\%$ tej wartości. Z krzywych wzorcowych odczytać zawartość oznaczanej substancji w 1 ml badanego roztworu.

W taki sam sposób wykonać oznaczanie 3,4-dichloroaniliny w roztworze z nad krótszej warstwy żelu. Ilość substancji oznaczonej w krótszej warstwie żelu nie powinna przekraczać 10% ilości oznaczonej w dłuższej warstwie, w przeciwnym razie wynik należy traktować jako orientacyjny.

10. Wyznaczanie współczynnika desorpcji

Do pięciu naczynek wg punktu 5.4. przesypać dłuższą (400 mg) warstwę żelu krzemionkowego z rurki adsorpcyjnej wg punktu 4.7. Następnie dodać po 10 μ l roztworu do desorpcji wg punktu 4.6. W szóstym naczynku przygotować próbkę kontrolną zawierającą tylko żel. Naczynka szczelnie zamknąć i pozostawić do następnego dnia. Następnie dodać strzykawką wg punktu 5.3. po 2 ml metanolu wg punktu 4.1. Naczynka ponownie zamknąć i przeprowadzić desorpcję w ciągu 30 min, intensywnie wstrząsając co pewien czas ich zawartością. Jednocześnie wykonać oznaczanie badanej substancji co najmniej w trzech roztworach porównawczych, przygotowanych przez dodanie do 2 ml metanolu wg punktu 4.1. po 10 μ l roztworu do desorpcji wg punktu 4.6. Tak uzyskane roztwory badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 7.

Współczynnik desorpcji dla 3,4-dichloroaniliny (\bar{d}) obliczyć na podstawie wzoru:

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

w którym:

- P_d – średnia powierzchnia pików 3,4-dichloroaniliny na chromatogramach roztworów po desorpcji,
- P_o – średnia powierzchnia pików o czasie retencji 3,4-dichloroaniliny na chromatogramach roztworu kontrolnego,
- P_p – średnia powierzchnia pików 3,4-dichloroaniliny na chromatogramach roztworów porównawczych.

Następnie obliczyć średnią wartość współczynników desorpcji dla 3,4-dichloroaniliny (\bar{d}) jako średnią arytmetyczną otrzymanych wartości (d).

Współczynnik desorpcji należy wyznaczać dla każdej nowej partii żelu.

11. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie 3,4-dichloroaniliny (X) w badanym powietrzu obliczyć w miligramach na metr sześcienny na podstawie wzoru:

$$X = \frac{2 \cdot (c_1 + c_2)}{V \cdot \bar{d}},$$

w którym:

- c_1 – stężenie 3,4-dichloroaniliny w roztworze z nad pierwszej warstwy żelu odczytane z krzywej wzorcowej, w mikrogramach na mililitr,
- c_2 – stężenie 3,4-dichloroaniliny w roztworze z nad drugiej warstwy żelu odczytane z krzywej wzorcowej, w mikrogramach na mililitr,
- V – objętość powietrza przepuszczonego przez rurkę adsorpcyjną, w litrach,
- \bar{d} – średnia wartość współczynnika desorpcji wyznaczana zgodnie z punktem 10.,
- 2 – ilość rozpuszczalnika stosowanego do desorpcji, w mililitrach.