

NOWA METODA OZNACZANIA NAFTYLOAMIN W POWIETRZU DO OCENY NARAŻENIA ZAWODOWEGO

A NEW METHOD FOR THE DETERMINATION OF NAPHTHYLAMINES
IN WORKPLACE AIR FOR OCCUPATIONAL EXPOSURE ASSESSMENT

Anna Jeżewska, Dorota Kondej, Agnieszka Woźnica

Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy / Central Institute for Labour Protection – National Research Institute,
Warsaw, Poland
Zakład Zagrożeń Chemicznych, Pyłowych i Biologicznych / Department of Chemical, Aerosol and Biological Hazards

STRESZCZENIE

Wstęp: Naftyloaminy (NA), tzn. 1-naftyloamina (1-NA) oraz 2-naftyloamina (2-NA) i jej sole (chlorowodorek i octan 2-naftyloaminy), to bezbarwne krystaliczne ciała stałe. Znalazły one zastosowanie m.in. w produkcji farb i barwników. W Unii Europejskiej sklasyfikowano 1-NA jako substancję toksyczną, a 2-NA i jej sole jako substancje rakotwórcze kategorii 1A. Celem pracy było opracowanie nowej metody oznaczania NA, która umożliwi ich oznaczanie w środowisku pracy w zakresie stężeń 0,3–6 µg/m³. **Materiał i metody:** Metoda polega na zatrzymaniu NA na filtrze zaimpregnowanym kwasem siarkowym(VI). Po rozpuszczeniu w wodzie, zalkalizowaniu roztworem wodorotlenku sodu i ekstrakcji metanolem na kolumnkach Oasis HLB roztwory w metanolu analizowano z zastosowaniem wysokosprawnego chromatografu cieczonego z detektorem fluorescencyjnym. **Wyniki:** Opracowana metoda umożliwia oznaczanie 1-NA oraz 2-NA i jej soli w zakresie stężeń 0,3–6 µg/m³. Granica wykrywalności (*limit of detection* – LOD) wynosi 81 pg/ml dla 1-NA i 80,6 pg/ml dla 2-NA. **Wnioski:** Metoda charakteryzuje się dobrą precyzją i dokładnością, spełnia wymagania zawarte w normie europejskiej PN-EN 482 i może być wykorzystywana przez laboratoria higieny pracy do wykonywania pomiarów zawartości 1-NA oraz 2-NA i jej soli w powietrzu na stanowiskach pracy w celu oceny narażenia pracowników na te substancje. Med. Pr. 2021;72(2):145–154

Słowa kluczowe: metoda analityczna, powietrze na stanowiskach pracy, HPLC, inżynieria środowiska, nauki o zdrowiu, naftyloamina

ABSTRACT

Background: Naphthylamine (NA), i.e., 1-naphthylamine (1-NA) and 2-naphthylamine (2-NA) and its salts (2-naphthylamine hydrochloride and 2-naphthylamine acetate) are colorless crystalline solids. They have been used, among others, in the production of paints and dyes. In the European Union, 1-NA is classified as a toxic substance, and 2-NA and its salts as carcinogenic category 1A. The aim of this study was to develop a new method for the determination of NA, which will enable the determination of 1-NA and 2-NA and its salts in the working environment, in the concentration range of 0.3–6 µg/m³. **Material and Methods:** The method consists in passing the test air containing the substances to be determined through a glass fiber filter impregnated with sulphuric acid(VI). After recovery with water and sodium hydroxide solution followed by extraction into a solid on Oasis HLB columns, the solutions in methanol are analyzed using a high-performance liquid chromatograph with a fluorescence detector and Ultra C18 column. **Results:** The method developed allows determining 1-NA and 2-NA and its salts in the concentration range of 0.3–6 µg/m³. The limit of detection for 1-NA is 81 pg/ml and for 2-NA – 80.6 pg/ml. **Conclusions:** The method is characterized by good precision and accuracy; it meets the requirements of European Standard PN-EN 482 and can be used by occupational hygiene laboratories to measure the level of 1-NA and 2-NA and its salts in workplace air to assess workers' exposure to these substances. Med Pr. 2021;72(2):145–54

Key words: determination method, workplace air, HPLC, environmental engineering, health sciences, naphthylamine

Autorka do korespondencji / Corresponding author: Anna Jeżewska, Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Zagrożeń Chemicznych, Pyłowych i Biologicznych, ul. Czerniakowska 16, 00-701 Warszawa, e-mail: anjez@ciop.pl
Nadesłano: 5 sierpnia 2020, zatwierdzono: 15 stycznia 2021

WSTĘP

Naftyloaminy (NA), tzn. 1-naftyloamina (1-NA) oraz 2-naftyloamina (2-NA) i jej sole (chlorowodorek i octan 2-naftyloaminy), to bezbarwne krystaliczne ciała stałe ciemniejące na powietrzu. Podczas ogrzewania $>100^{\circ}\text{C}$ rozkładają się, wydzielając silnie toksyczne pary i aerozole. Naftyloaminy rozpuszczają się w etanolu i eterze dietylowym oraz – słabo – w wodzie. 1-Naftyloamina jest substancją o nieprzyjemnym zapachu, którego próg wyczuwalności wynosi $140\text{--}290\ \mu\text{g}/\text{m}^3$. Właściwości fizykochemiczne 1-NA oraz 2-NA i jej soli przedstawiono w tabeli 1 [1–8].

1-Naftyloamina jest stosowana do produkcji farb i barwników w przemyśle włókienniczym, farmaceutycznym, spożywczym, kosmetycznym (środki higieny osobistej, kosmetyki, tusze do tatuażu, farby do włosów) oraz elektronicznym (komputery), w laboratoriach do celów analitycznych, a także jako środek smarowy (do smarowania silników, w płynach hamulcowych, olejach) oraz do syntezy innych substancji chemicznych, takich jak N-fenyl-1-naftyloamina, 1-naftol i innych [6,9].

2-Naftyloamina powstaje podczas pirolizy związków organicznych zawierających azot [10–12]. Już od 1922 r. produkowano ją w celach handlowych, powszechnie wykorzystując przy tym reakcję 2-naftolu z amoniakiem i siarczynem amonu [13]. Dawniej 2-NA była wykorzystywana jako półprodukt do produkcji 21 barwników, a także jako przeciwutleniacz w przemyśle gumowym [13]. Obecnie jest stosowana w laboratoriach, m.in. jako substancja modelowa w badaniach nad rakiem. Do narażenia na 2-NA może dojść podczas pirolizy związków organicznych zawierających azot, a także podczas ogrzewania olejów spożywczych i poprzez narażenie na dym tytoniowy [14,15].

W Polsce zakazana jest produkcja, obrót lub stosowanie 2-NA i jej soli jako substancji w postaci własnej lub substancji wchodzącej w skład innej substancji oraz w mieszaninach, w stężeniu $\geq 0,1\%$ masy. Pod pewnymi warunkami dopuszczalna jest produkcja 2-NA i jej soli, obrót nimi lub ich stosowanie w celach naukowych i rozwojowych oraz do przeprowadzania analiz chemicznych [16]. Według Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje, Mieszaniny, Czynniki i Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagennym w Polsce w 2017 r. na działanie 2-NA i jej soli było narażonych 208 osób (201 na 2-NA i 7 na jej sole). Osoby narażone pracowały w laboratoriach

uczelnianych, instytucjach, inspekcjach, urządach kontrolnych, laboratoriach zakładów farmaceutycznych i w zakładzie produkującym farby [15,17].

1-Naftyloamina jest substancją szkodliwą, która wchłania się do organizmu głównie drogą pokarmową i przez skórę. Do objawów zatrucia drogą pokarmową należą sinoniebieskie zabarwienie warg, błon śluzowych i skóry, bóle i zawroty głowy, zaburzenia świadomości oraz utrata przytomności [1].

2-Naftyloamina i jej sole wchłaniają się do organizmu głównie drogą oddechową i przez skórę. Po kilkugodzinnym narażeniu na 2-NA w bardzo dużych stężeniach mogą wystąpić: sinoniebieskie zabarwienie błon śluzowych (warg, jamy ustnej), paznokci i skóry, bóle i zawroty głowy oraz narastająca duszność. Objawy skażenia skóry w wysokiej temperaturze otoczenia mogą po kilku godzinach przypominać zatrucie inhalacyjne. Skażenie oczu może wywołać łzawienie, ból i zaczerwienienie spojówek z ryzykiem uszkodzenia rogówki. Długotrwałe narażenie prowadzi do kontaktowego zapalenia skóry oraz przewlekłego zapalenia pęcherza moczowego i jego nowotworów [1].

W Unii Europejskiej 1-NA sklasyfikowano jako substancję toksyczną (toksyczność ostra kat. 4 – droga pokarmowa) i stwarzającą zagrożenie dla środowiska wodnego (kat. 2). Substancji tej przypisano następujące zwroty określające rodzaj zagrożenia [18]:

- H302: działa szkodliwie po połknięciu,
- H411: działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

2-Naftyloaminę i jej sole sklasyfikowano natomiast jako substancje rakotwórcze kategorii 1A (stężenie graniczne $C \geq 0,01\%$), toksyczne (toksyczność ostra kat. 4 – drogi oddechowe) i stwarzające zagrożenie dla środowiska wodnego (kat. 2). Substancjom tym przypisano następujące zwroty określające rodzaj zagrożenia [18]:

- H350: może powodować raka,
- H302: działa szkodliwie po połknięciu,
- H411: działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

W światowej literaturze opisano różne metody oznaczania stężeń 1-NA i 2-NA w powietrzu na stanowiskach pracy.

Metoda nr 5518 opracowana w National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) jest stosowana do oznaczania 1- i 2-NA. Polega ona na pobieraniu próbki powietrza na filtr z włókna szklanego i żel krzemionkowy, ekstrakcji za pomocą roztworu kwasu octowego w propan-2-olu (0,05%, v/v) oraz analizie z zastosowaniem chromatografu gazowego z detektorem

Tabela 1. Wybrane właściwości fizykochemiczne naftyloamin (NA) [1–8]
Table 1. Selected physicochemical properties of naphthylamine (NA) [1–8]

Parametr Parameter	1-Naftyloamina 1-Naphthylamine	2-Naftyloamina 2-Naphthylamine	Chlorowodorek 2-naftyloaminy 2-Naphthylamine hydrochloride	Octan 2-naftyloaminy 2-Naphthylamine acetate
Numer CAS / CAS No.	134-32-7	91-59-8	612-52-2	553-00-4
Postać / Form	ciało stałe / solid	ciało stałe / solid	ciało stałe / solid	ciało stałe / solid
Masa molowa / Molecular weight	143,18 g/mol	143,19 g/mol	179,65 g/mol	203,24 g/mol
Temperatura topnienia / Melting point	50°C	110,2°C [1] 113°C [2] 110,2–113°C [3]	254°C	
Temperatura wrzenia / Boiling point	300°C	306°C	307,5°C	307,5°C
Temperatura zapłonu / Flash point	157°C	109°C 157°C [7]	157,1°C	157,1°C
Gęstość / Density	1,13 g/cm ³ (20°C)	1,049 g/cm ³ (115,8°C) 1,061 g/cm ³ (98°C) [7]	1,41 g/cm ³ [8]	
Gęstość par względem powietrza (powietrze = 1) / Relative vapor density (air = 1)	4,93	4,95		
Prężność par / Vapor pressure	0,003 hPa (20°C) 1,33 hPa (104°C)	0,007 hPa (20°C) 1,33 hPa (108°C)	0,001 hPa (25°C) [8]	0,001 hPa (25°C) [8]
Współczynnik podziału oktanol/woda (log P) / / Octanol/water partition coefficient (logP)	2,25	2,28 [1, 7] 2,34 [2]	3,8 [8]	3,09 [8]
Rozpuszczalność w rozpuszczalnikach organicznych / Solubility in organic solvents	rozpuszcza się w: etanolu, eterze etylowym / dissolved in: ethanol, ethyl ether	rozpuszcza się w: etanolu, eterze etylowym / dissolved in: ethanol, ethyl ether	rozpuszcza się w: etanolu, eterze i innych / dissolved in: ethanol, ether and other	
Rozpuszczalność w wodzie / Solubility in water	0,17% wag. (20°C)	0,09% wag. (23°C)	6,4 mg/l (18°C)	
Synonimy / Synonyms	a-naftyloamina / a-naphthylamine 1-aminonafalen / 1-aminonaph- thalene	b-naftyloamina / b-naphthylamine 2-aminonafalen / 2-aminonaph- thalene	chlorowodorek naftaleno-2-aminy / naphthalen-2-amine hydrochlori- de (IUPAC) chlorek 2-naftyloamoni / 2-naphthylammonium chloride	kwas naftaleno-2-aminooctowy / acetic acid naphthalen-2-amine (IUPAC) octan 2-naftyloamoni / 2-naphthy- lammonium acetate

płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID). Zakres pomiarowy metody wynosi 3–70 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ dla próbki powietrza o objętości 50 l [19].

W Occupational Safety and Health Administration (OSHA) opracowano taką samą metodę (nr 93) oznaczania dla kilku amin aromatycznych – bifenilo-4-aminy oraz 1-NA i 2-naftyloaminy. Metoda polega na pobieraniu powietrza zawierającego aminę aromatyczną na 2 połączone szeregowo filtry z włókna szklanego z naniesionym kwasem siarkowym. Aminę wymywano z filtra wodą, a po zmianie środowiska na zasadowe ekstrahowano toluenem i oznaczano jako pochodną bezwodnika kwasu heptafluorobutyrowego (HFAA) z zastosowaniem chromatografu gazowego z detektorem wychwytu elektronów (GC-ECD). Zakres pomiarowy dla 1-NA i 2-NA wynosi 2,95–11,8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ dla próbki powietrza o objętości 100 l [20].

W Polsce 1-NA i 2-NA oznaczano według Polskiej Normy PN-Z-04147-02:1985 [21]. Metoda ta polega na adsorpcji par NA żelu krzemionkowym, desorpcji octanem metylu i analizie chromatograficznej (GC-FID) otrzymanego roztworu. Norma ta została wycofana ze zbioru Polskich Norm.

Wartości normatywu higienicznego najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla 1-NA i 2-NA w Polsce wynoszą 0 mg/m^3 [22]. W 2019 r. Zespół Ekspertów ds. Czynników Chemicznych i Pyłowych działający przy Międzyresortowej Komisji ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy ustalił nową wartość NDS dla 2-NA oraz dodatkowo dla jej soli octanu i chlorowodoru 2-naftyloaminy w przeliczeniu na 2-NA na poziomie 0,003 mg/m^3 [17].

Celem niniejszej pracy było opracowanie nowej metody oznaczania NA, która umożliwi oznaczanie 1-NA oraz 2-NA i jej soli w środowisku pracy w zakresie stężeń 0,3–6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, zgodnie z wytycznymi zawartymi w normie PN-EN 482 [23].

MATERIAŁ I METODY

W badaniach stosowano:

- chromatograf cieczowy firmy Agilent Technologies seria 1200 z detektorem diodowym (DAD) i fluorescencyjnym (FLD) z automatycznym podajnikiem próbek, z możliwością dozowania próbki w zakresie 1–100 μl i z oprogramowaniem Chemstation sterującym oraz zbierającym dane;
 - kolumnę chromatograficzną Ultra C18 o długości 25 cm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm, wypełnioną fazą oktadecylową o uziarnieniu 5 μm , z przedkolumną (prod. Restek, USA);
 - aspiratory do pobierania próbek powietrza: Gilian LFS (prod. Sensidyne, USA), zakres pracy: 1–350 ml/min (0,06–21 l/godz.), i GilAir plus (prod. Sensidyne, USA), zakres pracy: 20–5000 ml/min (1,2–300 l/godz.);
 - wytrząsarkę mechaniczną do przeprowadzenia ekstrakcji analitów z sorbentów: WL-2000 (prod. JWElectronic, Polska);
 - wagę analityczną Sartorius BP221S (prod. Sartorius Corporation, USA) do odważania wzorców;
 - chłodziarko-zamrażarkę ARDO CO23B-2H (prod. Merloni Indesit, Polska) do przechowywania roztworów i próbek;
 - eksykator szafkowy serii EKS (prod. WSL, Polska) do przechowywania próbek;
 - zestaw próżniowy do SPE (prod. Supelco, USA);
 - kolumnienki do SPE, Oasis HLB – 1 ml (prod. Waters, USA);
 - pompę próżniową (prod. Laboport, USA).
- W badaniach wykorzystano następujące odczynniki: 1-NA, 2-NA, benzydynamę (prod. Sigma-Aldrich, Niemcy), bifenilo-4-aminę, kwas octowy (prod. Riedel-de Haën, Niemcy), metanol, acetonitryl (prod. Honeywell, USA), kwas siarkowy, wodorotlenek sodu (prod. POCh, Polska) i wodę o czystości do HPLC uzyskaną z aparatu MiliQu.

Do pobierania próbek powietrza używano filtrów z włókna szklanego o średnicy 37 mm Whatman GF/A (prod. Whatman, Wielka Brytania) umieszczone w oprawkach do filtrów o średnicy 37 mm (prod. SKC, USA).

WYNIKI I OMÓWIENIE

Ustalenie warunków oznaczania

Aminy aromatyczne utleniają się na powietrzu, dlatego już na etapie pobierania próbek powietrza powinny być zabezpieczone przed tym niekorzystnym zjawiskiem. Aminy wykazują właściwości zasadowe i łatwo ulegają działaniu kwasów, tworząc sole, które pod wpływem wodnych roztworów wodorotlenków przechodzą z powrotem w aminy. Wykorzystując właściwości zasadowe amin i łatwość, z jaką tworzą sole z kwasami, postanowiono 1-NA i 2-NA wyizolować z badanego powietrza za pomocą filtrów z naniesionym kwasem siarkowym [20,24–28]. Filtry takie zatrzymują także sole 2-NA (octan i chlorowodorek). Sole amin dobrze rozpuszczają się w wodzie i – słabo – w rozpuszczalnikach organicznych, dlatego do ekstrakcji z filtra

z naniesionym kwasem stosuje się wodę. Po ekstrakcji z filtra wodą i zmiany środowiska na zasadowe (przez reakcję z wodorotlenkiem np. sodu) sole aminy przechodzą z powrotem w aminę. Amina w rozpuszczalniku organicznym uzyskana w wyniku ekstrakcji ciecz-ciecz [20,27,28] lub ekstrakcji do fazy stałej (SPE) [24,25] jest oznaczana chromatograficznie.

Na podstawie przeprowadzonych badań wstępnych zdecydowano, że 1-NA oraz 2-NA i jej sole będą pobierane na filtry z włókna szklanego z naniesionym kwasem siarkowym(VI). Po pobraniu powietrza sole amin będą wmywane z filtra wodą i za pomocą roztworu wodorotlenku sodu przeprowadzane z powrotem w aminy. W celu wzbogacenia analitów i wymiany rozpuszczalnika na metanol aminy będą poddane ekstrakcji do fazy stałej (SPE) na kolumnkach Oasis HLB (kopolimer N-winylopirolidonu i diwinylobenzenu). Schemat przygotowania próbki do analizy przedstawiono na rycinie 1. Roztwór 1-NA i 2-NA w metanolu oznaczano z zastosowaniem wysokosprawnego chromatografu cieczowego (HPLC) z detektorem fluorescencyjnym (FLD) w następujących warunkach oznaczania:

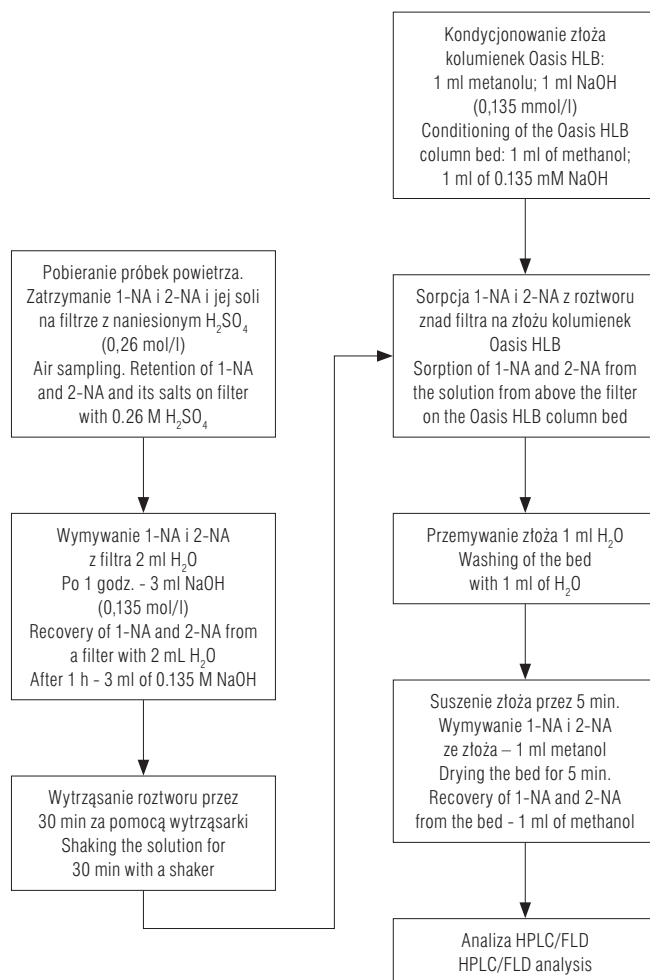
- kolumna Ultra C18 o długości 25 cm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm, wypełniona fazą oktadecylową o uziarnieniu 5 μm , z przedkolumną;
- faza ruchoma: acetonitryl:metanol:0,1% kwas octowy 50:5:45 (v/v);
- strumień objętości fazy ruchomej 0,6 ml/min;
- temperatura kolumny: 40°C;
- długość fali wzbudzenia i emisji detektora FLD: $\lambda_{\text{ex}} = 250 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 410 \text{ nm}$;
- dozowanie próbki: 10 μl .

W przedstawionych warunkach 1-NA i 2-NA można oznaczać w obecności benzydyny i bifenylu-4-aminy (rycina 2).

Badanie warunków pobierania próbek powietrza

Badania warunków pobierania próbek powietrza z zawartością NA przeprowadzono, stosując połączone szeregowo filtry z włókna szklanego o średnicy 37 mm z naniesionym kwasem siarkowym(VI). Przygotowano je następująco: na każdy filtr naniesiono po 0,5 ml kwasu siarkowego(VI) o stężeniu 0,26 mol/l, a po wysuszeniu filtry przechowywano w eksykatorze.

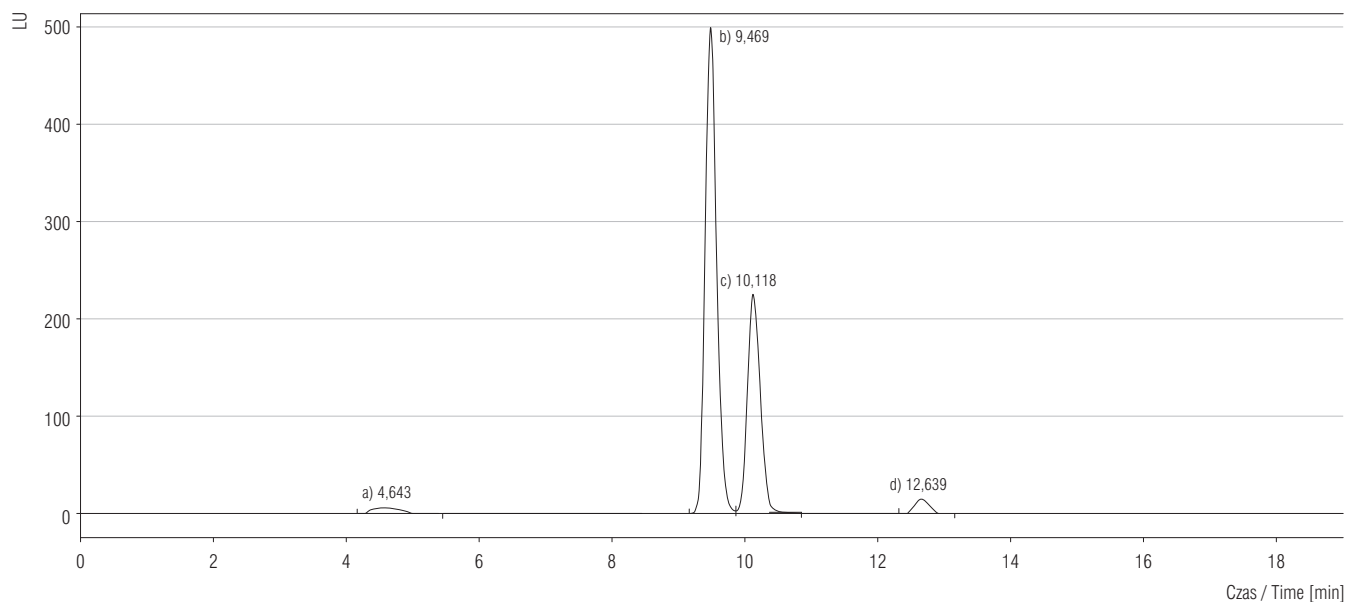
Sprawdzono możliwość zastosowania sposobu pobierania próbek powietrza podanego w metodzie OSHA nr 93. Na filtry pokryte kwasem siarkowym(VI) naniesiono 50 μl roztworu 1-NA w metanolu o stężeniu 72 $\mu\text{g/ml}$, co odpowiada 3,6 μg 1-NA (30 $\mu\text{g/m}^3$), i 50 μl roztworu 2-NA w metanolu o stężeniu 72 $\mu\text{g/ml}$,



1-NA – 1-naftyloamina / 1-naphthylamine, 2-NA – 2-naftyloamina / 2-naphthylamine, FLD – detektor fluorescencyjny / fluorescence detector, HPLC – wysokosprawnny chromatograf cieczowy / high performance liquid chromatography.

Rycina 1. Schemat przygotowania próbek do analizy
Figure 1. Scheme of sample preparation for analysis

co odpowiada 3,6 μg 2-NA (30 $\mu\text{g/m}^3$, 10 NDS). Filtry po wyschnięciu umieszczono w oprawkach i połączono szeregowo: I filtr z naniesioną substancją i II filtr bez naniesionych substancji. Następnie złożono układ składający się z połączonych szeregowo filtrów i pompy ssącej o regulowanym i kontrolowanym za pomocą rotametry strumieniu objętości powietrza. Przez ten układ przepuszczono 120 l powietrza ze stałym strumieniem objętości: 120 l/godz., 60 l/godz. i 20 l/godz. Takie same badania przeprowadzono, gdy na filtry z włókna szklanego pokryte kwasem siarkowym(VI) naniesiono po 25 μl roztworu 1-NA i 2-NA w metanolu o stężeniu 72 $\mu\text{g/ml}$, co odpowiada 1,8 μg każdej badanej substancji (15 $\mu\text{g/m}^3$). Rezultaty badań przedstawiono w tabeli 2. Uzyskane wyniki wskazują na całkowite zatrzymanie NA na I filtrze.



* HPLC-FLD ($\lambda_{exc/em} = 250/410$ nm).

Kolumna Ultra C18 (250 mm), temperatura kolumny 40°C, faza ruchoma: acetonitryl:metanol i kwas octowy, roztwór 0,1% (50:5:45, v/v), natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej przez kolumnę 0,6 ml/min: a) benzydina ($t_R = 4,643$ min), b) 2-naftyloamina ($t_R = 9,469$ min), c) 1-naftyloamina ($t_R = 10,118$ min), d) bifenylo-4-amina ($t_R = 12,639$ min) / Ultra C18 column (250 mm), column temperature 40°C, mobile phase: acetonitrile: methanol and acetic acid, solution 0.1% (50:5:45, v/v), mobile phase flow rate through the column 0.6 ml/min: a) benzidine ($t_R = 4.643$ min), b) 2-naphthylamine ($t_R = 9.469$ min), c) 1-naphthylamine ($t_R = 10.118$ min), d) biphenyl-4-amine ($t_R = 12.639$ min).

Rycina 2. Chromatogram roztworu wzorcowego 1-naftyloaminy i 2-naftyloaminy w metanolu w obecności benzydiny i bifenylo-4-aminy*
Figure 2. Chromatogram of a standard solution of 1-naphthylamine and 2-naphthylamine in the presence of benzidine and biphenyl-4-amine*

Tabela 2. Badanie adsorpcji 1-naftyloaminy i 2-naftyloaminy na filtrach z włókna szklanego z naniesionym kwasem siarkowym(VI)
Table 2. Tests of adsorption of 1-naphthylamine and 2-naphthylamine on fiberglass filters impregnated with sulphuric acid(VI)

Strumień objętości powietrza substancji Substance air flow rate	Czas pobierania prób powietrza Sampling time [h]	Przybliżone stężenie substancji w powietrzu Approximate substance concentration in the air [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]	Ilość substancji w roztworach po odzysku Amount of substance after recovery [ng]	
			I filtr filter I	II filtr filter II
1-Naftyloamina / 1-Naphthylamine				
120 l/h	1	30	3618,1	–
60 l/h	2	30	3508,9	–
20 l/h	6	30	3092,5	–
120 l/h	1	15	1507,3	–
60 l/h	2	15	1550,2	–
20 l/h	6	15	1428,2	–
2-Naftyloamina / 2-Naphthylamine				
120 l/h	1	30	3301,8	–
60 l/h	2	30	3164,5	–
20 l/h	6	30	3703,5	–
120 l/h	1	15	1892,1	–
60 l/h	2	15	2064,0	–
20 l/h	6	15	1760,2	–

Kalibracja i precyzja

Krzywą kalibracyjną przygotowano dla roztworów 1-NA i 2-NA w metanolu w zakresie stężeń 36–720 ng/ml. Stężenie tych roztworów ustalono na podstawie następujących założeń:

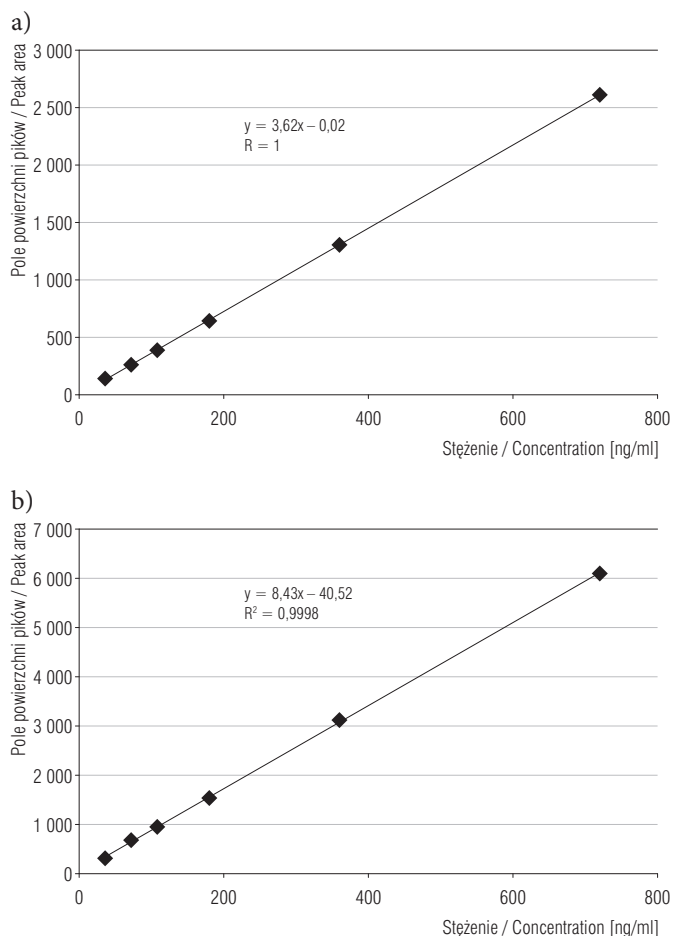
- zakres pomiarowy: 0,3–6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$,
- objętość powietrza pobranego do analizy: 120 l,
- objętość rozpuszczalnika: 1 ml.

Przygotowano po 3 serie roztworów kalibracyjnych, które poddano analizie chromatograficznej, i sporządzono wykres zależności powierzchni pików badanej substancji od jej stężeń w roztworach wzorcowych (ryciny 3a i 3b). Współczynnik nachylenia „b” krzywej kalibracji 1-NA (rycina 3a) o równaniu $y = bx + a$, charakteryzujący czułość metody, wynosi 3,62. Współczynnik korelacji r charakteryzujący liniowość krzywej wzorcowej wynosi 1, współczynnik nachylenia „b” krzywej kalibracji 2-NA (rycina 3b) – 8,43, a współczynnik korelacji r – 0,9999.

W celu oceny precyzji oznaczeń kalibracyjnych przygotowano roztwór wzorcowy podstawowy 1-NA i 2-NA w metanolu o stężeniu 720 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Wykonano z niego 4 roztwory wzorcowe pośrednie o stężeniu 3,6 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Z każdego roztworu wykonano 3 serie po 2 roztwory robocze przez odmierzenie do kolb miarowych o pojemności 1 ml po 10 μl (I seria), 100 μl (II seria), 200 μl (III seria) roztworu pośredniego i uzupełnienie metanolem do objętości 1 ml. Każda seria składała się z 8 roztworów roboczych. Stężenie roztworów w I serii wynosiło 36 ng/ml, II serii – 360 ng/ml i III serii – 720 ng/ml. Wykonano pomiary chromatograficzne, a na podstawie odczytanych powierzchni pików uzyskanych na chromatogramach obliczono współczynniki zmienności dla kolejnych stężeń, które wyniosły, odpowiednio, dla 1-NA: 1,28%, 1,39%, 3,13%, oraz dla 2-NA: 1,23%, 1,41%, 3,14%.

Badanie odzysku/desorpcji

Badania odzysku/desorpcji 1-NA i 2-NA z filtrów dla 3 stężeń zakresu pomiarowego (0,1 NDS, 1 NDS i 2 NDS) przeprowadzono w następujący sposób: na 6 filtrów naniesiono, odpowiednio, po 10 μl , 100 μl i 200 μl roztworu 1-NA i 2-NA w metanolu o stężeniu 3,6 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Złożono zestawy składające się z filtrów z naniesionymi substancjami (umieszczonych w oprawkach) i pompy ssącej o regulowanym i kontrolowanym za pomocą rotametu strumieniu objętości powietrza. Przez te filtry przepuszczano 120 l czystego powietrza ze strumieniem objętości 20 l/godz. Następnie filtry przeniesiono do kolb i dalej postępowano według schematu



Rycina 3. Zależność powierzchni pików a) 1-naftyloaminy (1-NA) i b) 2-naftyloaminy (2-NA) od ich stężenia w roztworach wzorcowych (HPLC-FLD, kolumna Ultra C18)

Figure 3. a) 1-Naphthylamine (1-NA) and b) 2-naftyloamina (2-NA) peak area dependence on its concentration in the standard solutions (HPLC-FLD, ultra C18 column)

przedstawionego na rycinie 1. Roztwory uzyskane po wzbogacaniu analitów oznaczano chromatograficznie. Wyniki badań przedstawiono w tabeli 3. Średni współczynnik odzysku/desorpcji dla 1-NA wynosi 0,89, a dla 2-NA – 0,92.

Badanie trwałości próbek

Trwałość pobranych próbek powietrza badano po 1 dniu oraz po 3, 5, 7 i 10 dniach przechowywania w laboratorium. Część filtrów przechowywano w kolbach z dodatkiem 2 ml wody (w stanie mokrym), ponieważ w metodzie OSHA 93 wskazywano na taki właśnie sposób przechowywania próbek. Wyniki badań dotyczących trwałości próbek przedstawiono w tabeli 4. Próbkę przechowywane w temperaturze pokojowej ($20 \pm 2^\circ\text{C}$), bez względu na sposób przechowywania, zachowują trwałość co najmniej 7 dni.

Tabela 3. Badanie odzysku/desorpcji 1-naftyloaminy i 2-naftyloaminy z filtrów*
Table 3. Tests of recovery/desorption of 1-naphthylamine and 2-naphthylamine from filters*

NA naniesiona na filtr NA applied on the filter	NA z roztworów po odzysku/desorpcji NA from recovery/desorption solutions [ng]	NA w roztworach porównawczych NA in comparison solutions [ng] (M)	Współczynnik odzysku/desorpcji Recovery/desorption coefficient	Średni współczynnik odzysku/desorpcji Average recovery/desorption coefficient
1-Naftyloamina / / 1-Naphthylamine				0,89
36 ng	29,4	34,6	0,85	
360 ng	326,9	362,1	0,90	
720 ng	659,0	726,1	0,91	
2-Naftyloamina / / 2-Naphthylamine				0,92
36 ng	26,1	28,1	0,93	
360 ng	306,5	337,5	0,91	
720 ng	606,5	653,5	0,93	

* HPLC-FLD, kolumna Ultra C18 / HPLC-FLD, Ultra C18 column.

NA – naftyloamina / naphthylamine.

Tabela 4. Wyniki badania trwałości próbek zawierających 1-naftyloaminę lub 2-naftyloaminę*
Table 4. Results of the stability test of samples containing 1-naphthylamine or 2-naphthylamine*

Czas i miejsce przechowywania Storage time and place	1-Naftyloamina 1-Naphthylamine [ng]		2-Naftyloamina 2-Naphthylamine [ng]	
	M	SD	M	SD
1 dzień / day				
szafka / locker	302,9	14,7	340,0	27,3
woda / water	314,0	3,7	340,6	32,0
3 dni / days				
szafka / locker	312,7	25,9	340,6	26,2
woda / water	301,5	14,7	350,9	22,7
5 dni / days				
szafka / locker	279,1	7,1	313,8	4,4
woda / water	264,3	35,9	306,1	17,5
7 dni / days				
szafka / locker	271,7	20,9	310,4	0,8
woda / water	270,0	23,6	331,7	14,7
10 dni / days				
szafka / locker	342,0	15,5	389,6	19,0
woda / water	345,6	22,4	393,1	3,2

* HPLC-FLD, kolumna Ultra C18 / HPLC-FLD, Ultra C18 column.

Dane walidacyjne metody

Walidację metody przeprowadzono według wytycznych zawartych w normie PN-EN 482 [23]. Granicę wykrywalności (*limit of detection* – LOD) obliczono na podstawie wartości odchylenia standardowego zbioru sygnałów dla ślepej próby i kąta nachylenia krzywej kalibracji – współczynnika kierunkowego b.

Do obliczenia wartości LOD wykorzystano zależność

$$\text{LOD} = \frac{3,3 \times S_0}{b} \quad (1)$$

gdzie:

b – współczynnik kierunkowy krzywej kalibracji (współczynnik kalibracji) uzyskany przy wyznaczaniu liniowości,

Tabela 5. Dane walidacyjne metody oznaczania 1-naftyloaminy i 2-naftyloaminy
Table 5. Validation parameters of the method for the determination of 1-naphthylamine and 2-naphthylamine

Parametr Parameter	1-Naftyloamina 1-Naphthylamine	2-Naftyloamina 2-Naphthylamine
Zakres pomiarowy / Measurement range [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]	0,3–6	0,3–6
Objętość pobieranego powietrza / Sampled air volume [l]	120	120
Zakres krzywej kalibracji / Range of calibration curve [ng/ml]	36–720	36–720
Granica wykrywalności (LOD) / Limit of detection (LOD) [pg/ml]	81,0	80,6
Całkowita precyzja badania / Overall precision of examination [%]	5,43	5,43
Względna niepewność całkowita / Relative total uncertainty [%]	12	12
Niepewność rozszerzona / Relative expanded uncertainty [%]	24	24

S_o – odchylenie standardowe wyników uzyskanych dla serii próbek ślepych.

W celu obliczenia odchylenia standardowego wyników uzyskanych dla serii próbek ślepych przeprowadzono 3 serie po 10 niezależnych pomiarów powierzchni pików przy czasie retencji badanego analitu (próbka przygotowana w identyczny sposób jak próbka rzeczywista, bez analitu).

Wyniki wyznaczania granicy wykrywalności dla wartości parametrów regresyjnych krzywej wzorcowej 1-NA i 2-NA sporządzonej z filtrów z uwzględnieniem odzysku/desorpcji przedstawiono w tabeli 5.

WNIOSKI

Opracowano nową metodę oznaczania 1-NA i 2-NA w powietrzu na stanowiskach pracy, która ma także zastosowanie do oznaczania soli 2-NA – chlorowodoru i octanu – w przeliczeniu na 2-NA. Zakres analityczny metody wynosi 0,3–6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Polega ona na przepuszczeniu badanego powietrza zawierającego oznaczane substancje przez filtr z włókna szklanego z naniesionym kwasem siarkowym(VI). Sole amin zatrzymane na filtrze po wypłukaniu z filtra wodą i zalkalizowaniu roztworem wodorotlenku sodu są poddawane ekstrakcji do ciała stałego na kolumnkach Oasis HLB. Roztwory amin w metanolu są analizowane z zastosowaniem wysokosprawnego chromatografu cieczowego z detektorem fluorescencyjnym i kolumną Ultra C18 (250 mm \times 4,5 mm, 5 μm). Sporządzenie krzywej kalibracji z naniesieniem substancji na filtry eliminuje konieczność wyznaczania współczynnika odzysku/desorpcji, a tym samym skraca czas analizy i zmniejsza zużycie odczynników. Metoda charakteryzuje się dobrą precyzją i dokładnością, spełnia wymagania zawarte w normie europejskiej PN-EN 482 i może być wykorzystywana przez laboratoria higieny pracy do wykonywania pomiarów zawartości 1-NA oraz 2-NA i jej soli w powietrzu na stanowiskach pracy w celu oceny narażenia pracowników na te substancje.

PIŚMIENNICTWO

1. Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy [Internet]. Instytut, 2021 [cytowany 20 kwietnia 2020]. Baza wiedzy o zagrożeniach chemicznych i pyłowych CHEMPYŁ. Adres: https://www.ciop.pl/CIOPPortalWAR/appmanager/ciop/pl?_nfpb=true&_pageLabel=P13800141641345795944292
2. Institute for Occupational Safety and Health of the German Social Accident Insurance [Internet]. The Institute [cytowany 20 kwietnia 2020]. GESTIS Substance database. Adres: <https://www.dguv.de/ifa/gestis/gestis-stoffdatenbank/index-2.jsp>
3. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database [Internet]. Center [cytowany 20 kwietnia 2020]. 2-Naphthylamine, CID=7057. Adres: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2-Naphthylamine>
4. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database [Internet]. Center [cytowany 20 kwietnia 2020]. beta-Naphthylaminehydrochloride, CID=12208544. Adres: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/beta-Naphthylamine-hydrochloride>
5. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database [Internet]. Center [cytowany 20 kwietnia 2020]. 2-Naphthylammonium acetate, CID=71097. Adres: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2-Naphthylammonium-acetate>
6. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database [Internet]. Center [cytowany 20 kwietnia 2020]. 1-Naphthylamine, CID=8640. Adres: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1-Naphthylamine>
7. International Chemical Safety Cards. ICSC Database [Internet]. International Labour Organization [cytowany 16 kwietnia 2020]. 2-Naftyloamina, ICSC:0610. Adres: http://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_card_id=0610&p_version=1&p_lang=pl
8. A Smart Chem-Search Engine [Internet]. ChemSrc [cytowany 20 kwietnia 2020]. Adres: <https://www.chemsrc.com/en/>

9. Carl Roth [Internet]. MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG, Düren 2019 [cytowany 20 kwietnia 2020]. Karta Charakterystyki Substancji: MACHEREY-NAGEL.: VISOCOLOR alpha Nitrate. Ref. 935066. Adres: <https://www.carlroth.com/medias/SDB-X320-PL-PL.pdf?context=bWFzdGVyYmFhbnR5b3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyMjI4NTF8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oMTgvaGY5Lzg5NzU3NTY5NTE1ODIucGRmfDZlMzJyThmMT RjZjWjMnN2NlZGRmN2E0ODI2ZDgxOTk2MjJkNTBkNDNjNTJjNWVxNDgyZTRhODIhYTU5NzQ3ZmE>
10. Masuda Y., Mori K., Kuratsune M.: Studies on bladder carcinogens in the human environment. I. Naphthylamines produced by pyrolysis of amino acids. *Int. J. Cancer* 1967;2(5):489–493, <https://doi.org/10.1002/ijc.2910020509>
11. Talukder M., Kates C.R.: Naphthalene derivatives. *Kirk-Othmer Ency. Chem. Tech.* 2000;16:979–1017, <https://doi.org/10.1002/0471238961.1401160820011221.a01>
12. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Some aromatic amines, organic dyes, and related exposures. Vol. 99. International Agency for Research on Cancer, Lyon 2010, ss. 370–405
13. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Some aromatic amines, hydrazine and related substances, N-nitroso compounds and miscellaneous alkylating agents. Vol. 4. International Agency for Research on Cancer, Lyon 1974, ss. 97–111
14. Starek A., Podolak I.: Rakotwórcze działanie dymu tytoniowego. *Rocz. Państw. Zakł. Hig.* 2009;60(4):299–310
15. Czubačka E., Czerczak S.: 2-Naphthylamine toxicity. *Med. Pr.* 2020;70(2):205–220, <https://doi.org/10.13075/mp.5893.00921>
16. Obwieszczenie Ministra Przedsiębiorczości i Technologii z dnia 14 czerwca 2019 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Gospodarki w sprawie ograniczeń produkcji, obrotu lub stosowania substancji i mieszanin niebezpiecznych lub stwarzających zagrożenie oraz wprowadzania do obrotu lub stosowania wyrobów zawierających takie substancje lub mieszaniny. *DzU* z 2019 r., poz. 1226
17. Czubačka E., Czerczak S.: 2-Naftyloamina i jej sole – w przeliczeniu na 2-naftyloaminę. Dokumentacja proponowanych dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego. *Podst. Metod. Ocen. Środ. Pr.* 2020;2(104):5–38, <https://doi.org/10.5604/01.3001.0014.1920>
18. Rozporządzenie Komisji (UE) nr 2018/669 z dnia 16 kwietnia 2018 r. zmieniające, w celu dostosowania do postępu naukowo-technicznego, rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin. *DzU* z 2018 r., L 115/1
19. Foley G.D.: Naphthylamines, α and β . Method 5518. W: NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM). National Institute for Occupational Safety and Health, Cincinnati 1994
20. Elskamp C.J.: 4-Aminodiphenyl, α -Naphthylamine, β -Naphthylamine. Method 93. W: Sampling and Analytical Methods. Occupational Safety and Health Administration, Salt Lake City 1992
21. PN-Z-04147-02:1985. Ochrona czystości powietrza – Badania zawartości alfa- i beta-naftyloaminy – Oznaczanie alfa- i beta-naftyloaminy na stanowiskach pracy metodą chromatografii gazowej. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa 1985
22. Rozporządzenie Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej z dnia 12 czerwca 2018 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. *DzU* z 2018 r., poz. 1286
23. PN-EN 482+A1:2016. Narażenie na stanowiskach pracy – Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych. Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa 2016
24. Jeżewska A., Buszewski B.: Bifenilo-4-amina – metoda oznaczania. *Podst. Metod. Ocen. Środ. Pr.* 2010;1(63):101–106
25. Jeżewska A., Buszewski B.: Isolation and determination of 4-biphenylamine for air sample by SPE-HPLC coupling. *J. Liq. Chromatogr. R. T.* 2011;34(6):397–407, <https://doi.org/10.1080/10826076.2011.547065>
26. Jeżewska A., Buszewski B.: A new method for the determination of 2,2'-dichloro-4,4'-methylenedianiline in workplace air samples by HPLC-DAD. *Toxicol. Mech. Methods* 2011;21(7):554–560, <https://doi.org/10.3109/15376516.2011.571726>
27. Kowalska J., Jeżewska A.: Badania nad skuteczną metodą oznaczania 3,3'-dimetylobenzydyny w powietrzu na stanowiskach pracy. *Med. Pr.* 2016;67(1):43–50, <https://doi.org/10.13075/mp.5893.00194>
28. Kowalska J., Jeżewska A.: 3,3'-Dimetoksybenzydyna. Metoda oznaczania w powietrzu na stanowiskach pracy. *Podst. Metod. Ocen. Środ. Pr.* 2019;100(2):113–125, <https://doi.org/10.5604/01.3001.0013.2527>