

Hydrazyna

Metoda oznaczania w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej¹

Hydrazine

Determination in workplace air with high performance liquid chromatography

mgr MARZENA BONCZAROWSKA
<https://orcid.org/0000-0003-3612-0656>
marzena.bonczarowska@imp.lodz.pl
inż. PATRYK PIĄTEK
patrykjanpiatek@gmail.pl
dr SŁAWOMIR BRZEŹNICKI
<https://orcid.org/0000-0002-0542-8538>
slawomir.brzeznicki@imp.lodz.pl
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
91-348 Łódź
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

CAS: 302-01-02

Słowa kluczowe: hydrazyna, metoda oznaczania, wysokosprawna chromatografia cieczowa, powietrze na stanowiskach pracy, nauki o zdrowiu, inżynieria środowiska.

Keywords: hydrazine, determination method, high performance liquid chromatography workplace air, health sciences, environmental engineering.

Streszczenie

Bezwodna hydrazyna w temperaturze pokojowej jest bezbarwną, oleistą i dymiącą cieczą o zapachu przypominającym amoniak. Substancja jest związkiem chemicznym stosowanym w wielu gałęziach przemysłu jako materiał do galwanicznej obróbki szkła i tworzyw sztucznych oraz półprodukt do produkcji: pestycydów i insektycydów, leków i barwników włókienniczych.

Hydrazyna jest również używana w energetyce jako substancja do uzdatniania wody, a także jako: inhibitor korozji, materiał wybuchowy lub paliwo raketowe. Długotrwałe narażenie na hydrazynę zwiększa ryzyko wystąpienia zmian na skórze i powstawania reakcji alergicznych. Rozcieńczone wodne roztwory tego związku mogą działać drażniąco na skórę, a także na

¹ Publikacja opracowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach IV etapu programu wieloletniego: „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2017-2019 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Naukowe Centrum Badań i Rozwoju.

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

blony śluzowe oczu i górnych dróg oddechowych. Na podstawie wyników przeprowadzonych badań wykazano, że długotrwałe zawodowe narażenie na hydrazynę zwiększa ryzyko wystąpienia raka.

Unia Europejska zakwalifikowała hydrazynę do grupy substancji rakotwórczych (kategoria zagrożenia 1B), natomiast Międzynarodowa Grupa Ekspertów ds. Badań nad Rakiem (IARC) do grupy 2A, tj. do grupy czynników przypuszczalnie rakotwórczych dla ludzi (IARC 2018).

Z powodu zmniejszenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla hydrazyny konieczne było opracowanie i walidacja czulej metody umożliwiającej oznaczenie stężeń tego związku na poziomie 1/10 NDS, zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482.

Do badań wykorzystano zestaw do wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną (HPLC-UV-VIS). Wszystkie analizy chromatograficzne wykonano przy zastosowaniu kolumny Discovery LC-18 (150 × 2,1 mm, 5 μm) eluowanej mieszaniną acetonitrylu i wody (6:4 v/v).

Zasada metody polega na: zatrzymaniu hydrazyny na filtrach z włókna szklanego nasączonych kwasem

siarkowym, ekstrakcji hydrazyny mieszaniną diwodorofosforanu sodu i EDTA, przeprowadzeniu wyekstrahowanej hydrazyny w barwną pochodną w reakcji z aldehydem benzoowym i chromatograficznym oznaczeniu powstałego związku.

Metoda jest liniowa ($r = 0,9989$) w zakresie stężeń 0,15 ÷ 3,5 μg/ml, co odpowiada stężeniom 0,00125 ÷ 0,029 mg/m³ dla próbki powietrza o objętości 240 l. Wydajność ekstrakcji hydrazyny z filtrów wynosi 97%. Pobrane próbki przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość przez czternaście dni.

Opracowana metoda oznaczania charakteryzuje się dobrą precyzją oraz dokładnością i spełnia wymagania zawarte w normie PN-EN 482.

Opracowaną metodę oznaczania hydrazyny w powietrzu na stanowiskach pracy zapisano w postaci procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku.

Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny środowiska pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

Summary

Anhydrous hydrazine in room temperature is colorless fuming oily liquid with ammonia-like odor. It is used in various industries for electrolytic plating of metals on glass and plastics, as a chemical intermediate for the synthesis of pesticides, insecticides, medicines and dyes. It is used also as water treatment agent in energy industry (corrosion inhibitor), rocket propellant and as explosives material. Long term exposure to hydrazine may cause to skin irritation and allergic reactions. Diluted aqueous solutions of hydrazine may be irritating for skin, eye and respiratory tract. Epidemiologic studies shows that chronic exposure to hydrazine may cause cancer. In European Union hydrazine is classified as a carcinogenic substance (cat. 1B). Experts from International Agency for Research on Cancer (IARC) have classified hydrazine as a compound probably carcinogenic to humans (Group 2A). Due to decreasing of MAC value for hydrazine in Poland it was necessary to develop and validate a sensitive method for determining hydrazine concentrations in the workplace air in the range from 1/10 to 2 MAC values, in accordance with the requirements of Standard No. PN-EN 482. The study was performed using a liquid chromatograph with spectrophotometric detection. All chromatographic analysis were performed with Discovery LC-18 150 × 2,1 mm analytical column, which was

eluted with mixture of acetonitrile and water (6:4 v/v). The method is based on the collection of hydrazine on glass fiber filter impregnated with sulfuric acid, extraction with mixture of sodium dihydrogen phosphate and EDTA, derivatization of extracted compound with benzaldehyde and chromatographic determination of resulted solution with HPLC technique. The method is linear ($r = 0.9989$) within the investigated working range 0.15–3.5 μg/ml (0.00125–0.029 mg/m³ for a 240-L air sample). Calculated limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were 0.0007 μg/ml and 0.0023 μg/ml, respectively. The average extraction efficiency of hydrazine from filters was 97% and samples stored in refrigerator are stable for 14 days. The analytical method described in this paper enables determination of hydrazine in workplace air. The method is precise, accurate and it meets the criteria for procedures for measuring chemical agents listed in Standard No. PN-EN 482. The method can be used for assessing occupational exposure to hydrazine and associated risk to workers' health. The developed method of determining hydrazine has been recorded as an analytical procedure (see appendix). This article discusses the problems of occupational safety and health, which are covered by health sciences and environmental engineering.

WPROWADZENIE

Bezwodna hydrazyna w temperaturze pokojowej jest bezbarwną, oleistą i dymiącą cieczą o zapachu przypominającym amoniak. Jest substancją dobrze rozpuszczalną w wodzie i alkoholach, słabo rozpuszcza się w węglowodorach i ich halogenowych pochodnych, nie rozpuszcza się w eterze i chloroformie. Hydrazyna jest otrzymywana w reakcji utleniania amoniaku podchlorynem sodowym o temperaturze 5 °C (np. w procesie Raschiga). Powstała w wyniku tej reakcji chloramina jest dodawana gwałtownie (30 razy) do nadmiaru bezwodnego amoniaku (20 ÷ 30 hPa, 130 °C). Powstała uwodniona hydrazyna jest następnie zatężana na drodze destylacji azeotropowej w obecności aniliny. Hydrazyna jest związkiem o wszechstronnym zastosowaniu w wielu gałęziach przemysłu. Jest stosowany jako (HSDB 2010; *Jakubowski, Kupczewska-Dobecka* 2015):

- materiał do galwanicznej obróbki szkła i tworzyw sztucznych,
- półprodukt do produkcji pestycydów i insektycydów, leków i barwników włókienniczych,
- substancja do uzdatniania wody w energetyce ciepłej,
- inhibitor korozji,
- materiał wybuchowy,
- paliwo raketowe.

Tabela 1.

Zharmonizowana klasyfikacja hydrazyny

Klasyfikacja zagrożenia i kody kategorii	Kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia
Carc. 1B – rakotwórczość (kategoria zagrożenia 1B)	H350 – może powodować raka
Acute Tox. 3 – toksyczność ostra – droga oddechowa (kategoria zagrożenia 2)	H331 – działa toksycznie w następstwie wdychania
Acute Tox. 3 – toksyczność ostra – skóra (kategoria zagrożenia 3)	H311 – działa toksycznie w kontakcie ze skórą
Acute Tox. 3 – toksyczność ostra – droga pokarmowa (kategoria zagrożenia 3)	H301 – działa toksycznie po połyknięciu
Skin Corr. 1B – działanie żrące/drażniące na skórę (kategoria zagrożenia 1B)	H314 – powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu
Skin Sens. 1 – działanie uczulające na skórę (kategoria zagrożenia 1)	H317 – może powodować reakcję alergiczną skóry
Aquatic Acute 1 – stwarzające zagrożenie dla środowiska wodnego, zagrożenie ostre (kategoria zagrożenia 1)	H400 – działa bardzo toksycznie na organizmy wodne
Aquatic Chronic 1 – stwarzające zagrożenie dla środowiska wodnego, zagrożenie przewlekłe (kategoria zagrożenia 1)	H410 – działa bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki
Flam Liq. 3 – substancje ciekłe, łatwopalne (kategoria zagrożenia 3)	H226 – łatwopalna ciecz i pary

W Polsce zawodowe narażenie na hydrazynę występuje głównie w zakładach energetyki ciepłej wykorzystujących hydrazynę do uzdatniania wody. Długotrwałe narażenie na hydrazynę zwiększa ryzyko wystąpienia zmian na skórze i powstawania reakcji alergicznych (*Jakubowski, Kupczewska-Dobecka* 2015). Rozcieńczone wodne roztwory tego związku mogą działać drażniąco na skórę i błony śluzowe oczu. Na podstawie wyników przeprowadzonych badań epidemiologicznych stwierdzono, że długotrwałe zawodowe narażenie na hydrazynę zwiększa ryzyko wystąpienia raka (*Ritz i in.* 1999; *Ritz i in.* 2006). Unia Europejska zakwalifikowała hydrazynę do grupy substancji rakotwórczych (kategoria zagrożenia 1B), natomiast Międzynarodowa Grupa Ekspertów ds. Badań nad Rakiem (IARC) do grupy 2A, tj. do grupy czynników przypuszczalnie rakotwórczych dla ludzi (IARC 2018).

Zharmonizowaną klasyfikację hydrazyny oraz oznakowanie wg tabeli 3.1. załącznika VI do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywę 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006, zwanego rozporządzeniem CLP (Dz. Urz. WE L 353, 1–1355 z późniejszymi zmianami) zamieszczono w tabeli 1.

Zgodnie z rozporządzeniem Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej z dnia 12.12.2018 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy, wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) i najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) dla hydrazyny zostały obniżone z 0,05 mg/m³ i 0,1 mg/m³ i wynoszą obecnie odpowiednio: 0,013 i 0,039 mg/m³.

Metodyka oznaczania hydrazyny w środowisku pracy została opisana w Polskiej Normie PN-Z-04148-5:2011. Z uwagi na ponad 3-krotne obniże-

nie wartości NDS, norma ta nie spełnia wymagań normy EN-PN 482 w aspekcie czułości oznaczeń (1/10 wartości NDS).

Celem pracy było opracowanie odpowiednio czulej metody oznaczania hydrazyny w powietrzu na stanowiskach pracy, umożliwiającej pomiary stężeń tego związku, a następnie pozwalającej na dokonanie oceny narażenia zawodowego.

Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny środowiska pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA

Aparatura analityczna

Do badań zastosowano chromatograf cieczowy firmy Waters, model Alliance 2695, wyposażony w: poczwórny system pomp wysokociśnieniowych, detektor diodowy (UV-VIS) Waters 2996, termostat kolumny analitycznej, automatyczny dozownik próbek i komputer z programem sterowania i akwizycji danych. Rozdziałów chromatograficznych dokonywano na kolumnie analitycznej Supelco Discovery o długości 150 mm i średnicy wewnętrznej 2,1 mm, wypełnionej fazą oktadecylową o średnicy ziaren 5 µm. Do pobierania próbek powietrza wykorzystano aspiratory indywidualne GilAir-3 wyposażone w głowicę, umożliwiającą pobieranie próbek powietrza na dwa umieszczone szeregowo filtry. Do odważania odczynników i substancji wzorcowych stosowano wagę analityczną Sartorius Research, a do ekstrakcji filtrów wykorzystano wytrząsarke mechaniczną GRANT-BIO PTR-35.

Odczynniki i materiały

W badaniach wykorzystano: hydrazynę (Merck), siarczan hydrazyny (Merck), aldehyd benzoesowy (Sigma-Aldrich), diwodorofosforan sodu (Avantor), wersenian sodu (EDTA) (Avantor), metanol (JT Baker), acetonitryl (JT Baker), kwas siarkowy (Avantor), kwas ortofosforowy (Fluka) oraz wodę o czystości do HPLC pochodzącą ze stacji uzdatniania wody firmy Hydro-lab R10. Do przygotowania roztworów wykorzystano typowe szkło laboratoryjne, tj.: kolby miarowe, pipety, zlewki. Do pobierania próbek powietrza i oczyszczania ekstraktów zastosowano filtry: z włókna szklanego o średnicy 37 mm oraz strzykawkowe z membraną z PTFE o średnicy 13 mm i średnicy porów 0,45 µm.

Założenia opracowanej metody

Na podstawie danych literaturowych można stwierdzić, że do oznaczania hydrazyny w różnych matrycach (powietrze, woda, farmaceutyki) są stosowane takie techniki chromatograficzne, jak: spektrofotometria (NIOSH 1994; OSHA 1980), chromatografia gazowa (Elder i in. 2011; Kramer i in. 2017) lub wysokosprawną chromatografię cieczową z różnymi systemami detekcji (Cui i in. 2016; Dobrzyńska 2007; HSE 2014; Isenberg i in. 2016; OSHA 1980, OSHA 1997, Smolenkov, Shpigun 2012; Tamas i in. 2018). Do pobierania próbek powietrza najczęściej są wykorzystywane: płuczki z roztworami kwasów nieorganicznych, filtry nasączone roztworami kwasu siarkowego bądź fosforowego lub rurki sorpcyjne wypełnione żywicą XAD 2 nasączoną 2,4-pentanodionem lub sorbentem GasChrom R nasączonym kwasem siarkowym (HSE 2014; Kramer i in. 2017; NIOSH 1994; OSHA 1980; OSHA 1997). Oznaczanie stężeń hydrazyny metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną (HPLC-UV-VIS) wymaga, ze względu na brak grup chromoforowych w cząsteczce hydrazyny, przeprowadzenia jej w barwną pochodną, możliwą do oznaczenia w świetle widzialnym lub ultrafioletcie (Dobrzyńska 2007; HSE 2014; OSHA 1980; OSHA 1997).

Trzykrotne obniżenie obowiązującej dotychczas wartości NDS dla hydrazyny było bezpośrednim powodem konieczności znowelizowania zapisów normy PN-Z-04148-5:2011 pod kątem czułości oznaczeń zgodnie z wymaganiami normy EN-PN 482. Po przeglądzie literatury zdecydowano o wykorzystaniu (do celów pobierania próbek powietrza) filtrów z włókna szklanego. Zastosowanie

próbek z filtrami umożliwia pobieranie większych objętości powietrza niż w przypadku rurek sorpcyjnych co może mieć istotny wpływ na czułość metody analitycznej.

Filtry do pobierania próbek powietrza nasącza- no roztworem kwasu siarkowego (0,5 ml) o stężeniu 0,26 mol/l, suszono w eksykatorze i przechowywa- no w szczelnie zamkniętych pojemnikach. W celu ograniczenia możliwości strat analitu zdecydowano o zastosowaniu (do pobierania próbek 3-częścio- wych) opravek zawierających dwa filtry z włókna szklanego, przedzielone separatorem.

Próbki powietrza do oznaczania hydrazyny należy pobierać zgodnie z zasadami podanymi

w normie PNZ04008-7:2002 wraz z jej późniejszą zmianą (PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004) za pomo- cą aspiratorów indywidualnych umożliwiających pobieranie powietrza ze strumieniem objętości do 120 l/h. Pozostałe założenia opracowywanej meto- dy zakładały:

- pobieranie dwóch próbek powietrza w ciągu zmiany roboczej,
- objętość próbki powietrza około 240 l,
- zakres pomiarowy $0,15 \div 3,5 \mu\text{g/ml}$ ($0,00125 \div 0,029 \text{ mg/m}^3$).

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Dobór optymalnych warunków rozdziału chromatograficznego

Wszystkie badania, dotyczące opracowania meto- dy oznaczania hydrazyny techniką HPLC, wyko- nywano z użyciem kolumny analitycznej Supelco Discovery LC-18 $150 \times 2,1 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$. Jako fazy ruchomej (elucja izokratyczna) używano miesza- niy acetonitrylu i wody zmieszanych w proporcjach 6:4. Doboru optymalnej długości fali analitycznej dla pochodnej hydrazyny dokonano na podstawie analiz widma UV benzalazyny powstałej w wyniku reakcji hydrazyny z aldehydem benzoesowym.

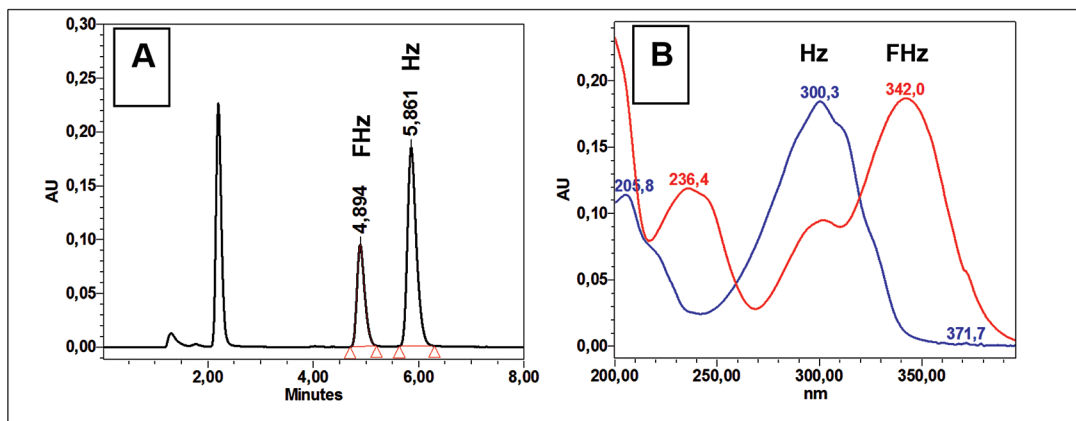
Optymalne warunki pracy stosowanego podczas opracowywania metody zestawu HPLC-UV podano

w tabeli 2. Zastosowanie w oznaczeniach hydrazy- ny kolumny Supelco Discovery C-18 $150 \times 2,1 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$ i podanych w tabeli 2. parametrów pracy chro- matografu cieczowego pozwala na selektywne ozna- czenie tego związku w obecności innych substancji o podobnym charakterze. Przykładowy chromo- gram mieszaniny pochodnych hydrazyny i fenylo- hydrazyny oraz widma UV oznaczanych substancji przedstawiono na rysunku 1. Analiza widma pochod- nej hydrazyny w zakresie $200 \div 400 \text{ nm}$ wskazuje, iż maksymalną czułość oznaczeń można osiągnąć przy długości fali analitycznej $\lambda = 300 \text{ nm}$.

Tabela 2.

Warunki pracy chromatografu cieczowego z detektorem UV-VIS

Kolumna analityczna Supelco Discovery TM LC-18 ($150 \text{ mm} \times 2,1 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$)	
Faza ruchoma (izokratycznie)	acetonitryl: woda ($60 \div 40$)
Natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej	0,3 ml/min
Temperatura kolumny	30°C
Długość fali analitycznej	300 nm
Objętość próbki	10 μl



Rys. 1. Chromatogram (A) i widmo UV (B) pochodnych fenylodhydrazyny (FHZ) i hydrazyny (Hz) z aldehydem benzoesowym rozdzielonych na kolumnie Discovery LC-18 150 × 2,1 mm, 5 μm

Badanie warunków pobierania próbek powietrza do oznaczeń hydrazyny

W celu badania odzysku związku, zatrzymanego na filtrach z włókna szklanego nasączonych roztworem kwasu siarkowego o stężeniu 0,26 mol/l (0,5 ml), przygotowano trzy serie po sześć filtrów, na które naniesiono po 20 μl roztworów wzorcowych siarczanu hydrazyny o stężeniach: 15; 150 i 350 μg/ml. Po wysuszeniu filtry (2 filtry) umieszczono w głowicy do pobierania próbek, którą podłączono do aspiratorów i przepuszczano 240 l powietrza z prędkością około 80 l/h. Każdy filtr przenoszono do oddzielnych naczynek o pojemności 4 ml, dodawano po 2 ml roztworu do ekstrakcji przygotowanego przez odważenie do kolby miarowej o pojemności 100 ml 1,38 g diwodorofosforanu sodu, który rozpuszczono w 0,05 mol/l roztworze wersenianu sodu i po dodaniu 200 μl kwasu ortofosforowego uzupełniano do kreski roztworem EDTA. Filtry ekstrahowano za pomocą wytrząsarki przez 30 min, a następnie 1 ml ekstraktu przenoszono do naczynek o pojemności 2 ml, przepuszczając je przez filtry strzykawkowe z membraną z PTFE

o średnicy porów 0,45 μm. Następnie dodawano 0,5 ml acetonitrylowego roztworu do derywatywacji (1 μl/ml aldehydu benzoesowego) i po wymieszaniu odstawiano na godzinę. Mieszaninę reakcyjną poddawano analizie chromatograficznej. Wartości pól powierzchni pików pochodnej hydrazyny, uzyskane w analizach ekstraktów, porównano z wynikami analiz roztworów wzorcowych tego związku o takich samych stężeniach.

Wyniki badań warunków pobierania próbek powietrza zestawiono w tabeli 3. Przyjęty sposób pobierania próbek powietrza nie powoduje istotnych ilościowych strat hydrazyny z filtrów. Obecności tego związku nie stwierdzono w żadnym z ekstraktów drugich filtrów. Średnie wartości współczynników wydajności ekstrakcji hydrazyny z filtrów, przez które przepuszczono 240 l powietrza, wynoszą dla zawartości hydrazyny na filtry równych: 0,3; 3 i 7 μg odpowiednio: 98,7% (SD – 4,0), 93,1% (SD – 4,3) i 99,2% (SD – 3,3). Średnia (dla trzech stężeń) wartość współczynnika wydajności ekstrakcji wynosi 97,0% (SD – 4,6).

Tabela 3.

Badanie warunków pobierania próbek powietrza do oznaczeń hydrazyny

Medium pochłaniające	Zawartość hydrazyny na filtrze, μg	Pole powierzchni pików pochodnej		Wydajność ekstrakcji, %	Średnia wydajność ekstrakcji, %
		roztwór kontrolny	ekstrakt		
Filtr z włókna szklanego, nasączony kwasem siarkowym (0,26 mol/l)	0,3		78 405,8	99,8	98,7
			77 973,8	99,3	
		78 405,8	78 265,3	99,6	
		82 032,3	71 859,0	91,5	
		75 187,8	81 365,9	103,6	
			77 323,7	98,4	
				SD 4,0 CV, % 4,0	

cd tab. 3.

Medium pochłaniające	Zawartość hydrazyny na filtrze, μg	Pole powierzchni pików pochodnej		Wydajność ekstrakcji, %	Średnia wydajność ekstrakcji, %
		roztwór kontrolny	ekstrakt		
Filtr z włókna szklanego, nasączony kwasem siarkowym (0,26 mol/l)	3		914 129,5	87,6	93,1
			947 856,9	90,8	
		1 033 268,2	943 496,5	90,4	
		1 051 699,2	981 027,5	94,0	
		1 047 233,4	1 025 297,8	98,2	
			1 020 786,6	97,8	
			<i>SD</i> 4,3		
			<i>CV</i> , % 4,6		
	7		2 404 598,3	95,5	99,3
			2 421 315,6	96,2	
2 457 416,2		2 464 054,6	97,9		
2 516 574,1		2 575 744,8	102,3		
2 580 470,7		2 517 915,8	100,0		
		2 610 882,3	103,7		
		<i>SD</i> 3,3			
		<i>CV</i> , % 3,3			
Średni współczynnik odzysku, \bar{S}_r , %		97,0			
Odchylenie standardowe, <i>SD</i>		4,6			
Współczynnik zmienności, <i>CV</i> , %		4,8			

Badanie zakresu stosowania i precyzja metody analitycznej

W celu określenia zakresu roboczego metody przygotowano trzy serie po siedem filtrów nasączonych kwasem siarkowym, na które naniesiono po 20 μl roztworów wzorcowych o stężeniach: 0; 15; 35; 75; 150; 250 i 350 $\mu\text{g/ml}$, co odpowiada zawartości: 0; 0,3; 0,7; 1,5; 3; 5 i 7 μg hydrazyny na filtrze. Po wysuszeniu filtry umieszczono w naczynkach o pojemności 4 ml, dodawano 2 ml mieszaniny ekstrakcyjnej i poddawano ekstrakcji za pomocą wytrząsarki mechanicznej przez 30 min. Ekstrakty (1 ml) przeniesiono do wial o pojemności 2 ml, przepuszczając je przez filtry strzykawkowe z membraną PTFE o średnicy porów 0,45 μm , a następnie dodawano 0,5 ml

roztworu do derywatyzacji i po wymieszaniu odstawiano na godzinę. Mieszaninę reakcyjną poddawano analizie chromatograficznej.

Wyniki badania liniowości metody przedstawiono w tabeli 4. oraz graficznie na rysunku 2.

Z przedstawionych danych wynika, iż zależność odpowiedzi detektora od stężenia pochodnej hydrazyny ma charakter liniowy w zakresie 0,15 ÷ 3,5 $\mu\text{g/ml}$. Podany zakres dla próbki powietrza 240 l odpowiada stężeniom hydrazyny w granicach 0,00125 ÷ 0,029 mg/m^3 . Zależność odpowiedzi detektora od analizowanych stężeń hydrazyny opisuje równanie $y = 763\,809,2x - 100\,659,4$. Wyrażony w procentach błąd względny (*CV*) wynosi 17, a współczynnik korelacji (*r*) wynosi 0,9989.

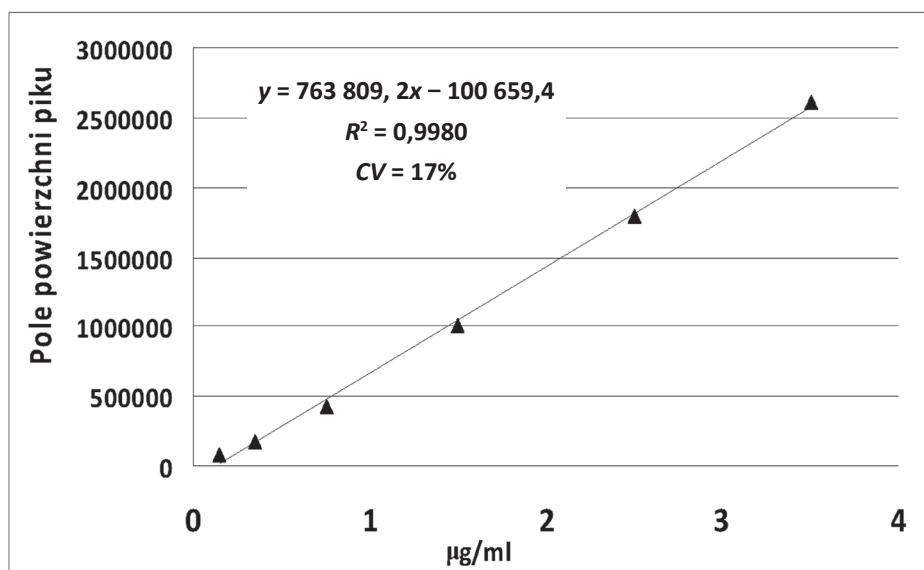
Tabela 4.

Wyniki wzorcowania hydrazyny na filtrach z włókna szklanego (nasączonych kwasem siarkowym po derywatywacji aldehydem benzoesowym)

Parametry badane	Stężenie hydrazyny, $\mu\text{g/ml}$					
	0,15	0,35	0,75	1,5	2,5	3,5
Pole powierzchni pików	80 726,5	171 873,2	412 217,4	996 222,5	1 703 212,0	2 555 857,8
	79 752,4	174 146,4	416 979,5	973 616,2	1 894 161,3	2 720 038,3
	81 798,8	167 320,0	434 754,7	1 047 328,4	1 778 749,2	2 551 762,3

cd tab. 4.

Parametry badane	Stężenie hydrazyny, $\mu\text{g/ml}$					
	0,15	0,35	0,75	1,5	2,5	3,5
Średnia wartość absorbancji	80 759,2	171 113,2	421 317,2	1 005 722,4	1 792 040,8	2 609 219,5
Odchylenie standardowe, <i>SD</i>	1 023,6	3 476,1	11 878,3	37 763,2	96 166,0	95 993,8
Współczynnik zmienności, <i>CV</i> , %	1,3	2,0	2,8	3,8	5,4	3,7

Rys. 2. Krzywa wzorcowa hydrazyny w zakresie stężeń $0,15 \div 3,5 \mu\text{g/ml}$

W celu zbadania zgodności wyników, przy wielokrotnym powtarzaniu oznaczenia, przygotowano trzy roztwory wzorcowe hydrazyny o stężeniach: 0,15, 1,5 i 3,5 $\mu\text{g/ml}$, które poddano derywatywacji za pomocą acetonitrylowego roztworu aldehydu benzoowego (1 $\mu\text{l/ml}$). Otrzymane roztwory pod-

dano 10-krotnej analizie chromatograficznej. Współczynniki zmienności (*CV*) rozrzutów uzyskanych wyników w stosunku do wartości średnich dla analizowanych stężeń wynoszą odpowiednio: 0,9; 0,3 i 0,2%, a precyzja oznaczeń w całym zakresie wynosi 11,5% (tab. 5.).

Tabela 5.

Wyniki badania precyzji metody oznaczania hydrazyny w powietrzu

Numer analizy	Stężenie hydrazyny, $\mu\text{g/ml}$		
	0,15	1,5	3,5
1	92 852,4	1 200 577,5	2 745 148,2
2	92 876,0	1 195 259,7	2 745 905,1
3	91 537,1	1 199 149,1	2 747 947,2
4	93 525,3	1 192 762,3	2 749 638,6
4	91 579,0	1 200 875,6	2 738 765,9
6	92 507,3	1 193 677,0	2 742 619,9
7	92 098,8	1 198 301,3	2 743 946,1
8	92 859,7	1 200 554,2	2 740 039,2
9	93 176,1	1 195 082,7	2 730 246,1
10	90 890,1	1 198 697,3	2 731 259,8

cd tab. 5.

Numer analizy	Stężenie hydrazyny, $\mu\text{g/ml}$		
	0,15	1,5	3,5
Średnia	92 390,2	1 197 493,6	2 741 551,6
Odchylenie standardowe, SD	837,4	3 035,2	6 573,1
Współczynnik zmienności, CV , %	0,9	0,3	0,2
Średni współczynnik zmienności, V_c , % – 11,5			

Wyznaczanie granic wykrywalności i oznaczalności

Badanie granicy wykrywalności i oznaczalności hydrazyny przeprowadzono zgodnie z wytycznymi zawartymi w opracowaniu *Dobeckiego* (2000). Wykonano dziesięć analiz chromatograficznych ekstraktów filtrów z włókna szklanego nasączonych kwasem siarkowym, odczytując pole powierzchni pików o czasie retencji pochodnej hydrazyny. Dla

uzyskanych wyników obliczono wartość średnią i odchylenie standardowe, a następnie obliczono granicę wykrywalności (GW) i granicę oznaczalności (GO).

Wyniki analiz dotyczących wyznaczania granic wykrywalności i oznaczalności hydrazyny przy zastosowaniu techniki HPLC-UV przedstawiono w tabeli 6. Obliczone granice wykrywalności i oznaczalności ilościowego metody wynoszą odpowiednio: 0,0003 i 0,0011 $\mu\text{g/ml}$.

Tabela 6.

Wyznaczanie granic wykrywalności (GW) i oznaczalności (GO) hydrazyny

Wyznaczone parametry	Wartości sygnału (pole powierzchni pików)	
	0,15	3,5
	1 059,2	1 226,0
	1 288,4	1 102,2
	1 026,3	1 208,4
	1 067,2	1 196,1
	1 132,6	1 222,6
Średnie pole powierzchni, $n = 10$	1 152,9	
Odchylenie standardowe, S	87,3	
Współczynnik zmienności, CV , %	7,6	
Granica wykrywalności, GW , $\mu\text{g/ml}$	0,0003	
Granica oznaczalności, GO , $\mu\text{g/ml}$	0,0011	

Badanie warunków przechowywania pobranych próbek

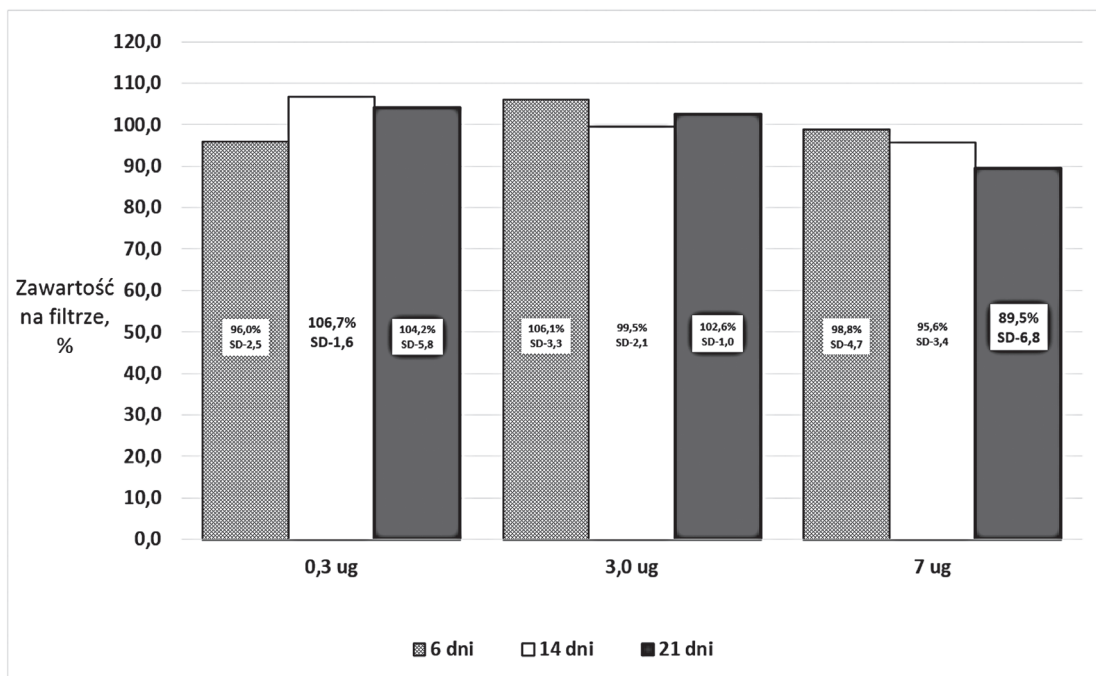
W celu zbadania trwałości hydrazyny pobranej na filtry nasączone roztworem kwasu siarkowego, przygotowano trzy serie po sześć filtrów, na które naniesiono po 20 μl roztworów wzorcowych siarczanu hydrazyny o stężeniach: 15; 150 i 350 $\mu\text{g/ml}$. Po wysuszeniu filtry umieszczano w hermetycznych pojemnikach i przechowywano w chłodziarce przez okres: 6; 14 i 21 dni. W dniu badania filtry ekstrahowano 2 ml mieszaniny ekstrakcyjnej, następnie 1 ml ekstraktu przenoszono do naczynek o pojemności 2 ml, przepuszczając je przez filtry strzykawkowe

z membraną PTFE o średnicy porów 0,45 μm . Następnie dodawano 0,5 ml acetonitrylowego roztworu aldehydu benzoowego, mieszano i odstawiano na godzinę. Mieszaninę reakcyjną poddawano analizie chromatograficznej. Uzyskane wartości pól powierzchni pików hydrazyny porównano z wynikami analiz ekstraktów z filtrów przygotowanych w dniu badania.

Wyniki badań warunków przechowywania próbek hydrazyny (pobranych na filtry z włókna szklanego nasączone roztworem kwasu siarkowego) przedstawiono na rysunku 3. Z zebranych danych wynika, iż pobrane próbki hydrazyny, umieszczone w hermetycznych pojemnikach i przechowywane w chłodziarce, są trwałe 14 dni. Po tym okresie

przechowywania próbek zmierzona zawartość hydrazyny na filtrach dla zawartości: 0,3; 3 i 7 $\mu\text{g}/\text{filtr}$ wynosiła odpowiednio: 106,7; 99,5 i 102,6% (średnio 100,6% $SD - 5,2$). Dłuższy okres przechowywa-

nia próbek (21 dni) skutkuje, w przypadku wyższych stężeń (3,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$), spadkiem zawartości hydrazyny do 89,5% oraz dużymi rozrzutami wyników ($82,7 \div 99,6\%$, $SD - 6,8$).



Rys. 3. Trwałość próbek hydrazyny na filtrach z włókna szklanego

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań opracowano metodę oznaczania hydrazyny w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną. Do pobierania próbek powietrza w celu oznaczania stężeń hydrazyny zastosowano zestaw pomiarowy złożony z dwóch umieszczonych szeregowo filtrów z włókna szklanego nasączonych uprzednio roztworem kwasu siarkowego o stężeniu 0,26 mol/l. Zatrzymaną na filtrze hydrazynę ekstrahowano mieszaniną: diwodorofosforanu sodu, wersenianu sodu i kwasu fosforowego. Zaproponowany sposób pobierania i ekstrakcji próbek zapewnia odzysk analitu z filtra na poziomie 97%. Wyekstrahowany zwią-

zek poddawano reakcji z aldehydem benzoowym, a powstałą w jej wyniku pochodną (benzalazynę) analizowano chromatograficznie, którą eluowano mieszaniną acetonitrylu i wody (6:4 v/v). Określone w badaniach warunki rozdzielania chromatograficznego umożliwiają selektywne oznaczenie hydrazyny w obecności nadmiaru czynnika derywatyżującego oraz innych związków o podobnym charakterze. Opracowana metoda oznaczania stężeń hydrazyny może być wykorzystana przez laboratoria higieny pracy do wykonywania pomiarów w środowisku pracy w celu dokonywania oceny narażenia zawodowego.

PIŚMIENNICTWO

- Cui L., Jiang K., Liu D.Q., Facchine K.L. (2016). Simultaneous quantitation of trace level hydrazine and acetohydrazide in pharmaceuticals by benzaldehyde derivatization with sample 'matrix matching' followed by liquid chromatography – mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1462, 73–79.
- Dobecki M. (2000). Walidacja metod badań chemicznych i pyłowych zanieczyszczeń powietrza na stanowiskach pracy [Validation of methods for testing dust and chemical contaminants in the air at work places]. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* 3(25), 5–14 [Principles and Methods of Assessing the Working Environment 3(25)].
- Dobrzyńska E. (2007). Hydrazyna – metoda oznaczania [Hydrazine – determination method]. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* [Principles and Methods of Assessing the Working Environment] 4(54), 63–68.
- Elder D.P., Snodin D., Teasdale A. (2011). Control and analysis of hydrazine, hydrazides and hydrazones. Genotoxic impurities in active pharmaceutical ingredients (APIs) and drug products. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 54, 900–910.
- HSDB, Hazardous Substances Data Bank (2010). Hydrazine [https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?/.temp/~QViHyY:1].
- HSE, Health and Safety Executive (2014). Methods for the Determination of Hazardous Substances (MDHS) guidance. MDHS56/2 Hydrazine in air. Laboratory method with sampling either onto acid-coated glass fibre filters followed by solvent desorption or directly into modified impingers. Analysis by liquid chromatography after derivatisation [http://www.hse.gov.uk/pubns/mdhs/pdfs/mdhs86-2.pdf].
- IARC, International Agency for Research on Cancer (2018). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Industrial Chemicals. Hydrazine. Volume 115 [https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono115.pdf].
- Isenberg S.L., Carter M.D., Crow B.S., Graham L.A., Johnson D., Beninato N., Steele K., Thomas J.D., Johnson R.C. (2016). Quantification of Hydrazine in Human Urine by HPLC-MS/MS. *J. Anal. Toxicol.* 40(4), 248–254.
- Jakubowski M., Kupczewska-Dobecka M. (2015). Hydrazyna. Dokumentacja proponowanych dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego [Hydrazine. Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs). *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* 3(85), 35–65 [Principles and Methods of Assessing the Working Environment 3(85)].
- Kramer W., Brock T.H., Hebisch R., Hartwig A. (2017). Method for the determination of hydrazine in workplace air using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The MAK Collection for Occupational Health and Safety 2(3), 1372–1381.
- NIOSH, National Institute for Occupational Safety and Health (1994). Manual of Analytical Methods (NMAM), Fourth Edition. Hydrazine Method 3503. 1994 https://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/3503.pdf
- Occupational Safety and Health Administration (OSHA) (1980). Sampling and Analytical Methods. Hydrazine. Method #20. 1980 [https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/organic/org020/org020.html].
- OSHA, Occupational Safety and Health Administration (1997). Sampling and Analytical Methods. Hydrazine. Method #108. 1997 [https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/organic/org108/org108.html].
- PN-EN 482+A1: 2016-01 Narażenie na stanowiskach pracy. Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych [Workplace exposure – General requirements for the performance of procedures for the measurement of chemical agents].
- PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004 Ochrona czystości powietrza – Pobieranie próbek – Zasady pobierania próbek powietrza w środowisku pracy i interpretacji wyników [Air purity protection – Sampling methods – Principles of air sampling in work place and interpretation of results].
- PN-Z-04148-5: 2011 Ochrona czystości powietrza – Badań zawartości hydrazyny i jej pochodnych – Część 5: Oznaczanie hydrazyny na stanowiskach pracy metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej [Polish standard].
- Ritz B., Morgenstern H., Froines J., Moncau J. (1999). Chemical exposures of rocket-engine test-stand personnel and cancer mortality in a cohort of aerospace workers. *J. Occup. Environ. Med.* 41, 154–161.
- Ritz B., Zhao Y., Krishnadasan A., Kennedy N., Morgenstern H. (2006). Estimated effects of hydrazine exposure in cancer incidence and mortality in aerospace workers. *Epidemiology* 17, 154–161.
- Rozporządzenie Ministra Rodziny Pracy i Polityki Społecznej z dnia 12.06.2018 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU 2018, poz. 1286 [Polish legal act].
- 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 dyrektywę 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (zwanego rozporządzeniem GHS). Dz. Urz. UE z dnia 31.12.2008 (L 353)[Regula-

tion (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006 (Text with EEA relevance)].

Smolenkov A.D., Shpigun O.A. (2012). Direct liquid chromatographic determination of hydrazines. A review. *Talanta* 102, 93–100.

Tamas K., Watcher-Kiss E., Kormany R. (2018). Hydrazine determination in allopurinol using derivatization and SPE for sample preparation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 152, 25–30.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA HYDRAZYNY Z ZASTOSOWANIEM WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

1. Zakres stosowania metody

Metodę podaną w niniejszej procedurze stosuje się do oznaczania stężeń hydrazyny (CAS: 302-01-2) w powietrzu na stanowiskach pracy, z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną (UV-VIS). Najmniejsze stężenie hydrazyny, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczenia opisanych w procedurze, wynosi 0,00125 mg/m³.

2. Powołania normatywne

PN-Z-04008-7:2002 (wraz z późniejszą zmianą PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004). 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 filtr impregnowany uprzednio roztworem kwasu siarkowego, ekstrakcji powstałego w wyniku reakcji siarczanu hydrazyny mieszaniną diwodorofosforanu sodu i wersenianu disodu, przeprowadzeniu obecnej w roztworze hydrazyny w pochodną za pomocą aldehydu benzoowego i analizy chromatograficznej otrzymanej pochodnej.

4. Wytyczne ogólne

4.1. Czystość odczynników

Do analizy, o ile nie zaznaczono inaczej, należy stosować 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 chemicznych, 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 utylizacją.

5. Odczynniki

5.1. Acetonitryl

Stosować acetonitryl o czystości do HPLC.

5.2. Aldehyd benzoowy

Stosować aldehyd benzoowy wg punktu 4.1.

5.3. Diwodorofosforan sodu

Stosować diwodorofosforan sodu uwodniony wg punktu 4.1.

5.4. Kwas fosforowy(V)

Stosować 85-procentowy roztwór kwasu fosforowego(V) wg punktu 4.1.

5.5. Kwas siarkowy(VI)

Stosować 96-procentowy kwas siarkowy(VI) wg punktu 4.1.

5.6. Metanol

Stosować metanol o czystości do HPLC.

5.7. Siarczan hydrazyny

Stosować siarczan hydrazyny wg punktu 4.1.

5.8. Wersenian disodu

Stosować naważkę analityczną 0,05 mol/l wersenianu disodu (sól sodowa kwasu etylenodiaminotetraoctowego) wg punktu 4.1.

5.9. Woda destylowana

Stosować wodę destylowaną o czystości do HPLC.

5.10. Roztwór ekstrakcyjny

Do zważonej kolby miarowej o pojemności 100 ml odważyć 1,38 g diwodorofosforanu sodu wg punktu 5.3., dodać 90 ml roztworu wersenianu disodu wg punktu 5.8. i 200 µl kwasu fosforowego(V) wg punktu 5.4., następnie uzupełnić do kreski roztworem wersenianu disodu wg punktu 5.8.

5.11. Roztwór do derywatywacji

Do kolby miarowej o pojemności 50 ml odmierzyć 50 µl aldehydu benzoowego wg punktu 5.2. i uzu-

pełnić do kreski 50 ml acetonitrylem wg punktu 5.1. Roztwór przygotować w dniu analizy.

5.12. Faza ruchoma

Do kolby miarowej o pojemności 1 000 ml odmierzyć 600 ml acetonitrylu wg punktu 5.1. i uzupełnić do kreski wodą wg punktu 5.9. Zawartość kolby wymieszać i odgazować za pomocą ultradźwięków.

5.13. Roztwór wzorcowy podstawowy siarczanu hydrazyny

Do zważonej kolby miarowej o pojemności 10 ml odważyć dokładnie 20 mg siarczanu hydrazyny wg punktu 5.7. na wadze analitycznej wg punktu 6.10., następnie dodać dokładnie 4 ml wody destylowanej wg punktu 5.9., uzupełnić acetonitrylem wg punktu 5.1. do kreski i dokładnie wymieszać. Stężenie siarczanu hydrazyny w tak przygotowanym roztworze wynosi 2 mg/ml, co odpowiada stężeniu 0,4928 mg/ml czystej hydrazyny.

5.14. Roztwór wzorcowy pośredni hydrazyny

Do kolby miarowej o pojemności 10 ml wg punktu 6.4. odmierzyć taką ilość roztworu podstawowego siarczanu hydrazyny, aby otrzymać stężenie 0,350 mg/ml. Kolbę uzupełnić do kreski roztworem wg punktu 5.12. i dokładnie wymieszać.

5.15. Roztwory wzorcowe robocze

Do siedmiu kolb miarowych o pojemności 2 ml wg punktu 6.4. odmierzyć za pomocą pipet automatycznych nastawnych wg punktu 6.7. następujące ilości roztworu wzorcowego pośredniego hydrazyny wg punktu 5.14.: 0; 0,086; 0,200; 0,429; 0,857; 1,429 i 2 ml. Uzupełnić do kreski roztworem wg punktu 5.12. i dokładnie wymieszać. Stężenie hydrazyny w tak przygotowanych roztworach wynosi odpowiednio: 0; 15; 35; 75; 150; 250; 350 µg/ml.

5.16. Roztwór pokrywający

Do kolby miarowej o pojemności 50 ml odmierzyć 0,75 ml kwasu siarkowego(VI) wg punktu 5.6. i uzupełnić metanolem wg punktu 5.7. Stężenie tak przygotowanego roztworu wynosi 0,26 mol/l.

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

6.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem spektrofotometrycznym umożliwiającym wykonanie analizy przy długości fali $\lambda = 300$ nm.

6.2. Filtry z włókna szklanego

Stosować filtry z włókna szklanego o średnicy 37 mm i średnicy porów 1,6 µm.

6.3. Filtry strzykawkowe

Stosować filtry strzykawkowe o średnicy 13 mm z membraną z PTFE o średnicy porów 0,45 µm.

6.4. Kolby miarowe

Stosować kolby miarowe o pojemności: 2; 10; 50; 100 i 1 000 ml.

6.5. Kolumna chromatograficzna

Stosować chromatograficzną kolumnę analityczną (o długości 150 mm i średnicy wewnętrznej 2,1 mm) wypełnioną fazą oktadecylową o średnicy ziaren 5 µm.

6.6. Naczynka szklane (wiale)

Stosować wiale o pojemności: 2; 4; 8 i 10 ml.

6.7. Pipety automatyczne nastawne

Stosować pipety automatyczne nastawne o pojemności: 0,010 ÷ 0,1 ml i 0,1 ÷ 1 ml.

6.8. Pipety szklane

Stosować pipety szklane jednomiarowe klasy A o pojemności: 1; 2,5 i 5 ml.

6.9. Pompa ssąca

Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobranie próbki powietrza ze stałym strumieniem objętości około 1,3 l/min.

6.10. Waga analityczna

Stosować wagę analityczną umożliwiającą ważenie z dokładnością do 0,0002 g.

6.11. Wytrząsarka mechaniczna.

Stosować wytrząsarkę mechaniczną.

7. Przygotowanie próbników do pobierania próbek powietrza

Na filtry z włókna szklanego wg punktu 6.2. nanieść 0,5 ml roztworu pokrywającego wg punktu 5.16. Filtry pozostawić do wyschnięcia w eksykatorze. Suche filtry przechowywać w szczelnie zamkniętym naczyniu.

8. Pobieranie próbek powietrza

Podczas pobierania próbek powietrza należy stosować zasady zawarte w normie PN-Z 04008-7:2002 (wraz z późniejszą zmianą PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004). Dwa filtry wg punktu 7., rozdzielone separatorem, umieścić szeregowo w głowicy do pobierania próbek. Za pomocą aspiratora wg punktu 6.9. przepuścić przez filtr maksymalnie 240 l powietrza ze stałym strumieniem objętości 1,3 l/min. Pobrane próbki powietrza zabezpieczyć i do czasu analizy przechowywać w chłodziarce.

9. Warunki pracy chromatografu

Przykładowe warunki pracy chromatografu podano w tabeli 1.

Tabela 1.
Warunki pracy chromatografu

Kolumna analityczna Supelco Discovery™ LC-18 150 mm × 2,1mm, 5µm		
Faza ruchoma	woda destylowana	acetonitryl
Program – izokratycznie (v:v)	40%	60%
Natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej	0,3 ml/min	
Temperatura kolumny	30 °C	
Długość fali analitycznej	300 nm (UV-VIS)	
Objętość próbki	20 µl	

10. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Na siedem filtrów wg punktu 7. nanieść za pomocą pipety automatycznej wg punktu 6.7. po 20 µl roztworów wzorcowych roboczych hydrazyny wg punktu 5.15. Po odparowaniu rozpuszczalnika filtry przenieść do naczynek o pojemności 4 ml wg punktu 6.6. Do każdej wiali dodać po 2 ml roztworu ekstrakcyjnego wg punktu 5.10. i poddać 30-minutowej ekstrakcji przy użyciu wytrząsarki wg punktu 6.11. Stężenia hydrazyny w roztworach po ekstrakcji wynoszą odpowiednio: 0; 0,15; 0,35; 0,75; 1,5; 2,5 i 3,5 µg/ml. Ekstrakty przesączyć przez filtry wg punktu punktu 6.3. do naczynek o pojemności 4 ml wg punktu 6.6., 1 ml ekstraktu przenieść do naczynek o pojemności 2 ml i poddać derywatacji za pomocą 0,5 ml roztworu wg punktu 5.11. Wytrząsać przez minutę, a następnie pozostawić w temperaturze pokojowej na 60 min. Uzyskane roztwory poddać analizie chromatograficznej w warunkach określonych w punkcie 9. Sporządzić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych ilość hydrazyny naniesioną na filtr, a na osi rzędnych – wartość pola powierzchni pików badanego związku. Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

11. Wykonanie oznaczenia

Po pobraniu próbek powietrza filtry przenieść do naczynek o pojemności 4 ml wg punktu 6.6. Następnie dodać 2 ml roztworu ekstrakcyjnego wg punktu 5.10., naczynka szczelnie zamknąć i wytrząsać przez

30 min za pomocą wytrząsarki wg punktu 6.11. Otrzymany roztwór przepuścić przez filtr strzykawkowy wg punktu 6.3. Następnie za pomocą pipety automatycznej wg punktu 6.7. przenieść 1 ml roztworu do wiali o pojemności 2 ml i dodać 0,5 ml roztworu do derywatacji wg punktu 5.11. Naczynka szczelnie zamknąć i wstrząsać zawartością przez minutę. Naczynka odstawić na godzinę, a następnie zawartość poddać analizie w warunkach określonych w punkcie 9. Zawartość substancji oznaczonej na drugim filtrze nie powinna przekraczać 10% zawartości oznaczanej na pierwszym filtrze. W przeciwnym wypadku wynik należy traktować jako orientacyjny.

W przypadku próbek, których wartości pól powierzchni analizowanych pików przekraczają zakres roboczy metody należy wykonać powtórne oznaczenie, rozcieńczając dodatkowo próbkę. Dodatkowe rozcieńczenie uwzględnić w obliczeniach.

12. Obliczanie wyniku oznaczenia

Stężenie hydrazyny (X) w badanym powietrzu obliczyć, w miligramach na metr sześcienny, na podstawie wzoru:

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

w którym:

c – zawartość hydrazyny odczytana z krzywej wzorcowej, w miligramach,

V – objętość przepuszczonego powietrza, w metrach sześciennych.

13. Protokół z badań

W protokole z badań należy podać następujące informacje:

- powołanie na niniejszą procedurę,
- wszystkie dane konieczne do pełnej identyfikacji próbki,

- wyniki wyrażone w sposób podany w punkcie 12.,
- wszystkie szczegóły niepodane w niniejszej procedurze lub pozostawione do wyboru, a także wszelkie czynniki, które mogły wpłynąć na wyniki.