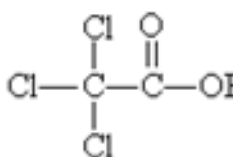


Kwas trichlorooctowy

- metoda oznaczania

dr inż. ANNA JEŻEWSKA
Centralny Instytut Ochrony Pracy –
Państwowy Instytut Badawczy
00-701 Warszawa
ul. Czerniakowska 16



Numer CAS: 76-03-9

Słowa kluczowe: kwas trichlorooctowy, TCA, metoda analityczna, metoda chromatografii cieczowej, powietrze na stanowiskach pracy.

Keywords: trichloroacetic acid, determination method, workplace air, liquid chromatographic analysis.

Streszczenie

Metoda polega na pobieraniu zawartego w powietrzu kwasu trichlorooctowego na filtr bibułowy, ekstrakcji osadzonej substancji wodą i analizie

chromatograficznej otrzymanego roztworu. Oznaczalność metody wynosi 0,2 mg/m³.

Summary

Determination of a worker's exposure to airborne trichloroacetic acid is carried out by use of a paper filters (37 mm). Air samples are collected at a maximum flow rate of 60 L/h until a maximum collection volume of 36 L is reached. Samples are

extracted with water and analyzed by HPLC using a DAD detector. The working range is 0.2 to 4 mg/m³ for a 36-L air sample.

UWAGI WSTĘPNE

Kwas trichlorooctowy (TCA) jest krystalicznym ciałem stałym. Na skalę przemysłową jest otrzymywany przez utlenianie aldehydu trichlorooctowego (chloralu) lub w wyniku reakcji kwasu octowego czy chlorooctowego z podchlorynem wapnia. W Europie (głównie w Niemczech) produkuje się go w ilościach około $5 \div 10$ tys. ton rocznie.

Kwas trichlorooctowy bardzo dobrze rozpuszcza się w wodzie, a także w większości rozpuszczalników organicznych, zwłaszcza w: acetonie, benzenie, metanolu, eterze etylowym i *o*-ksylenie. Efekt indukcyjny spowodowany obecnością w cząsteczce trzech atomów chloru zamiast trzech atomów wodoru sprawia, że moc kwasu trichlorooctowego jest znacznie większa niż kwasu octowego (około 10 000 razy).

Kwas trichlorooctowy stosuje się w medycynie jako środek antyseptyczny i ściągający, w kosmetyce do peelingu chemicznego w celu zniwelowania zmarszczek, zaburzeń pigmentacyjnych i blizn potrądzikowych oraz do usuwania tatuaży. W analityce medycznej jest stosowany do odbiałczania pełnej krwi/surowicy przed oznaczeniem glukozy (do diagnostyki w warunkach *in vitro*). Największe ilości kwasu

trichlorooctowego są zużywane w rolnictwie, gdzie sól sodowa kwasu trichlorooctowego jest stosowana jako selektywny herbicyd.

Narażenie zawodowe na kwas trichlorooctowy może wystąpić podczas syntezy substancji lub w trakcie jej stosowania.

Ze względu na zagrożenia dla zdrowia ludzi kwas trichlorooctowy został sklasyfikowany zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE 1272/2008) jako substancja o działaniu żrącym/drażniącym na skórę (kat. 1A). Kwas trichlorooctowy powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu, a także jest substancją stwarzającą zagrożenie dla środowiska wodnego, gdyż działa bardzo toksycznie na organizmy wodne.

Wartości normatywów higienicznych w Polsce dla kwasu trichlorooctowego nie zostały jeszcze ustalone. Zespół Ekspertów Międzyresortowej Komisji ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy zaproponował przyjęcie stężenia 2 mg/m^3 kwasu trichlorooctowego za wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) związku oraz stężenia 4 mg/m^3 za wartość jego najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh).

PROCEDURA ANALITYCZNA

1. Zakres procedury

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania zawartości kwasu trichlorooctowego w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem spektrofotometrycznym. Metodę stosuje się podczas kontroli warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie kwasu trichlorooctowego, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczenia opisanych w procedurze, wynosi $0,2 \text{ mg/m}^3$.

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 pobieraniu zawartego w powietrzu kwasu trichlorooctowego na filtr bibułowy, ekstrakcji osadzonej substancji wodą i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu.

4. Odczynniki, roztwory i materiały

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

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

4.1. Metanol

4.2. Kwas fosforowy(V), roztwór 0,1-procentowy (v/v)

4.3. Kwas trichlorooctowy

4.4. Roztwór wzorcowy podstawowy kwasu trichlorooctowego

Do zważonej kolby miarowej o pojemności 100 ml należy odważyć 24 mg kwasu trichlorooctowego wg punktu 4.3., kolbę zważyć, uzupełnić do kreski wodą i dokładnie wymieszać. Stężenie kwasu trichlorooctowego w tak przygotowanym roztworze wynosi 0,24 mg/ml. Obliczyć dokładną zawartość tego związku w 1 ml roztworu.

Roztwór przechowywany w chłodziarce jest trwały przez co najmniej trzy dni.

4.5. Roztwory wzorcowe robocze

Do sześciu kolb miarowych o pojemności 10 ml odmierzyć kolejno: 0,1; 0,15; 0,25; 0,5; 1 i 2 ml roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 4.4., uzupełnić do kreski wodą i wymieszać. Zawartość kwasu trichlorooctowego w 1 ml tak przygotowanych roztworów wynosi odpowiednio: 2,4; 3,6; 6; 12; 24 i 48 µg.

Roztwory przechowywane w chłodziarce są trwałe przez co najmniej trzy dni.

4.6. Roztwór do wyznaczenia współczynnika odzysku

Do zważonej kolby miarowej o pojemności 10 ml odważyć około 14 mg kwasu trichlorooctowego wg punktu 4.3., zważyć, uzupełnić do kreski metanolem wg punktu 4.1. i dokładnie wymie-

szać. Obliczyć dokładną zawartość kwasu trichlorooctowego. Stężenie kwasu trichlorooctowego w tak przygotowanym roztworze wynosi 1,4 mg/ml.

4.7. Filtry

Stosować filtry z bibuły filtracyjnej jakościowej o średniej szybkości sączenia i średnicy 37 mm z oprawkami.

5. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

Należy stosować następujący typowy sprzęt laboratoryjny:

5.1. Chromatograf cieczowy

Chromatograf cieczowy z detektorem spektrofotometrycznym i elektronicznym integratorem.

5.2. Kolumna chromatograficzna

Kolumna chromatograficzna umożliwiająca oznaczanie kwasu trichlorooctowego, np. kolumna Allure Organic Acids o długości 15 cm, średnicy wewnętrznej 4,6 mm i uziarnieniu 5 µm z przedkolumną.

5.3. Strzykawki do cieczy

Strzykawki do cieczy o pojemności 10 ÷ 2500 µl.

5.4. Kolby

Stosować wyposażone w korki kolby stożkowe Erlenmeyera o pojemności 25 ml.

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 dwa filtry wg punktu 4.7., połączone szeregowo i umieszczone w oprawkach, należy przepuścić do 36 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości, nie większym niż 60 l/h.

Pobrane próbki przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość przez co najmniej trzy dni.

7. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy tak obrać, aby uzyskać rozdział kwasu trichlorooctowego od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu.

W przypadku stosowania kolumny o parametrach podanych w punkcie 5.2., oznaczenie można wykonać w następujących warunkach:

- temperatura kolumny 23 °C
- faza ruchoma (metanol: kwas fosforowy(V) wg punktu 4.2.) 25: 75
- natężenie przepływu fazy ruchomej 1 ml/min
- długość fali analitycznej detektora spektrofotometrycznego 210 nm
- objętość wstrzykiwanej próbki 50 µl.

8. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do chromatografu wprowadzić po 50 µl roztworów wzorcowych roboczych kwasu trichlorooctowego 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 zawartość kwasu trichlorooctowego w mikrogramach, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików.

Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

9. Wykonanie oznaczenia

Po pobraniu próbki powietrza na filtry (na każdy filtr osobno) przenieść je do kolb wg punktu 5.4. Następnie dodać 3 ml wody, kolbę zamknąć i wytrząsać przez 15 min. Po tym czasie roztwór znad filtra badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 7. Pomiar

wykonać dwukrotnie. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików kwasu trichlorooctowego według wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Zawartość kwasu trichlorooctowego w próbce odczytać z wykresu krzywej wzorcowej.

W taki sam sposób wykonać oznaczenie kwasu trichlorooctowego w roztworze znad drugiego filtra. Masa kwasu trichlorooctowego oznaczona w roztworze znad drugiego filtra nie powinna przekraczać 10% masy oznaczonej w roztworze znad pierwszego filtra, w przeciwnym razie wynik należy traktować jako orientacyjny.

10. Wyznaczanie współczynnika odzysku

W pięciu kolbach wg punktu 5.4. umieścić czyste filtry wg punktu 4.7. Na każdy filtr nałóż po 50 µl roztworu do wyznaczenia współczynnika odzysku wg punktu 4.6. i pozostawić do wyschnięcia. W szóstej kolbie przygotować próbkę kontrolną zawierającą tylko filtr. Dodać do kolb po 3 ml wody, następnie zamknąć je i wytrząsać przez 15 min. Po tym czasie roztwór znad filtra należy badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 7. Pomiar wykonać dwukrotnie.

Jednocześnie wykonać oznaczenie kwasu trichlorooctowego co najmniej w trzech roztworach porównawczych, przygotowanych przez dodanie strzykawką wg punktu 5.3. po 50 µl roztworu do wyznaczenia współczynnika odzysku wg punktu 4.6. do 3 ml wody. Tak uzyskane roztwory należy badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 7.

Współczynnik odzysku kwasu trichlorooctowego (d) obliczyć na podstawie wzoru:

$$d = \frac{P_d - P_o}{P_p}$$

w którym:

P_d – średnia powierzchnia pików kwasu trichlorooctowego na chromatogramach roztworów po odzysku,

P_o – średnia powierzchnia pików o czasie retencji kwasu trichlorooctowego na chromatogramach roztworu kontrolnego,

P_p – średnia powierzchnia pików kwasu trichlorooctowego na chromatogramach roztworów porównawczych.

Następnie obliczyć średnią wartość współczynników odzysku dla kwasu trichlorooctowego (\bar{d}) jako średnią arytmetyczną otrzymanych wartości (d).

Współczynnik odzysku należy wyznaczać dla każdej nowej partii filtrów.

11. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie kwasu trichlorooctowego (X) w badanym powietrzu obliczyć, w miligramach na

metr sześcienny, na podstawie wzoru:

$$X = \frac{3 \cdot (m_1 + m_2)}{V \cdot \bar{d}},$$

w którym:

m_1 – masa kwasu trichlorooctowego w roztworze znad pierwszego filtra odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach,

m_2 – masa kwasu trichlorooctowego w roztworze znad drugiego filtra odczytana z krzywej wzorcowej, w mikrogramach,

V – objętość powietrza przepuszczonego przez filtr, w litrach,

\bar{d} – średnia wartość współczynnika odzysku wyznaczana zgodnie z punktem 10.,

3 – stosunek całkowitej objętości badanego roztworu do objętości wziętej do analizy.

INFORMACJE DODATKOWE

W badaniach zastosowano:

- chromatograf cieczowy firmy Agilent Technologies seria 1200 z detektorem diodowym (DAD) i fluorymetrycznym (FLD) sprzężonym on-line. Próbkę wprowadzano za pomocą automatycznego podajnika próbek G2258-90010 (Agilent Technologies). Do sterowania procesem oznaczania i zbierania danych zastosowano oprogramowanie ChemStation
- kolumnę chromatograficzną Allure Organic Acids o wymiarach (150 x 4,6 mm) o $dp = 5 \mu\text{m}$, z przedkolumną o wymiarach: 10 x 4,0 mm
- bibułę filtracyjną jakościową o średniej szybkości sączenia (POCH, Gliwice, Polska), z której wycięto krążki o średnicy 37 mm.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań uzyskano następujące dane walidacyjne:

- zakres pomiarowy 2,4 ÷ 48 $\mu\text{g/ml}$ (0,2 ÷ 4 mg/m^3 dla próbki powietrza 36 l)
- granica wykrywalności, LOD 8,5 ng/ml
- granica oznaczalności, LOQ 25,5 ng/ml
- współczynnik korelacji, R 1
- całkowita precyzja badania, V_c 5,13%
- względna niepewność całkowita 11,27%.