

Etylenodiamina

Metoda oznaczania w powietrzu
na stanowiskach pracy z zastosowaniem
wysokosprawnej chromatografii cieczowej
z detekcją spektrofotometryczną¹

Ethylenediamine

Determination in workplace air with
high performance liquid chromatography –
spectrophotometric technique

dr MAREK ZIELIŃSKI

<https://orcid.org/0000-0001-8439-1229>

e-mail: marek.zielinski@imp.lodz.pl

mgr EWA TWARDOWSKA

<https://orcid.org/0000-0001-9158-3536>

e-mail: ewa.twardowska@imp.lodz.pl

mgr MARZENA BONCZAROWSKA

<https://orcid.org/0000-0003-3612-0656>

e-mail: marzena.bonczarowska@imp.lodz.pl

Institut Medycyny Pracy

im. prof. dr. med. Jerzego Nofera

91-348 Łódź

ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

Numer CAS: 107-15-3

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

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

Streszczenie

Etylenodiamina (EDA) jest gęstą, bezbarwną cieczą o słabym amoniakalnym zapachu. Jest stosowana głównie jako półprodukt do otrzymywania: związków chelatujących, fungicydów, barwników, wosków syntetycznych, żywic poliamidowych i formaldehydowo-mocznikowych, środków antykorozyjnych oraz jako

emulgator i stabilizator gumy. Etylenodiamina wykazuje działanie drażniące na błony śluzowe: górnych dróg oddechowych, oczu i skóry. Narażenie zawodowe na ten związek może być również powodem wystąpienia reakcji alergicznych, a nawet astmy. Etylenodiamina nie jest klasyfikowana jako czynnik rakotwórczy

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.

dla ludzi. Celem pracy było opracowanie i walidacja czulej metody umożliwiającej oznaczenie stężeń tego związku na poziomie 1/10 NDS zgodnie z wymaganiami normy europejskiej PN-EN 482.

Badania wykonano z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii ciekowej z detekcją spektrofotometryczną (HPLC-UV-VIS). Wszystkie analizy chromatograficzne wykonano przy zastosowaniu kolumny Supelcosil LC-18 (150 × 3 mm, 5 μm) eluowanej mieszaniną acetonitrylu i wody (62:38 v/v).

Zasada metody polega na: zatrzymaniu par etylenodiaminy na żelu krzemionkowym nasączonym kwasem siarkowym, ekstrakcji mieszaniną acetonitrylu i wody (62:38 v/v), przeprowadzeniu wyekstrahowanego związku w pochodną w reakcji z chloromrówczanem 9-fluorenylometylu i chromatograficznym oznaczeniu powstałego związku.

Metoda jest liniowa ($r = 0,9994$) w zakresie stężeń 0,1 ÷ 2 μg/ml, co odpowiada zakresowi 2 ÷ 40 mg/m³ dla próbki powietrza o objętości 10 l. Obliczone granice wykrywalności (*LOD*) i oznaczania ilościowego (*LOQ*) wynoszą odpowiednio 0,04 i 0,13 μg/ml. Wydajność ekstrakcji etylenodiaminy z żelu wynosi 86%, a pobrane próbki przechowywane w chłodziarce zachowują trwałość przez 10 dni. Opracowana metoda charakteryzuje się dobrą precyzją oraz dokładnością i spełnia wymagania normy PN-EN 482. Metoda oznaczania etylenodiaminy została zapisana 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

Ethylenediamine (EDA) is a colorless, viscous liquid with ammonia-like odor. It is used as an intermediate in manufacturing chelating agents (EDTA), fungicide, polyamide and formaldehyde-urea resins, surfactants, corrosion inhibitors, emulsifying agents and stabiliser of rubber products. EDA may cause irritation of the upper respiratory tract, eye and skin. Occupational exposure to EDA may lead to allergic reactions and asthma. EDA is not classified as carcinogenic to humans. The aim of this study was to develop and validate a sensitive method for determining hydrazine concentrations in 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 analyses were performed with a Supelcosil LC-18 (150 × 3 mm, 5 μm) analytical column, which was eluted with a mixture of acetonitrile and water (6:4 v/v). The method is based on the collection of EDA on silica gel impregnated with sulfuric acid, extraction with a mixture of acetonitrile and water (62:38 v/v), derivatization of extracted compound with

9-fluorenylmethyl chloroformate and chromatographic determination of the resulting solution with HPLC. The method is linear ($r = 0.9994$) within the investigated working range 0.1–2 μg/ml (2–40 mg/m³ for a 10-L air sample). The calculated limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were 0.04 μg/ml and 0.13 μg/ml, respectively. The average extraction efficiency of EDA from silica gel was 86% and samples stored in a refrigerator are stable for 10 days. The analytical method described in this paper enables determination of EDA 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 EDA and associated risk to workers' health. The developed method of determining EDA 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

Etylenodiamina (EDA) jest gęstą, bezbarwną cieczą o słabym amoniakalnym zapachu. Etylenodiamina jest wytwarzana głównie w drodze reakcji chlorku etylenu z ciekłym amoniakiem w temperaturze około 100 °C. Etylenodiamina jest substancją bardzo dobrze rozpuszczającą się w wodzie. Rozpuszcza się w: alkoholach, acetonie, eterze etylowym. Słabo rozpuszcza się w niższych węglowodorach. Jest

stosowana głównie jako półprodukt do otrzymywania: związków chelatujących, fungicydów, barwników, wosków syntetycznych, żywic poliamidowych i formaldehydowo-mocznikowych, środków antykorozyjnych oraz jako emulgator i stabilizator gumy. U ludzi etylenodiamina wykazuje, zależne od stężenia, umiarkowane do silnego, działanie drażniące na błony śluzowe: górnych dróg oddechowych,

oczu i skóry. Zawodowe narażenie na ten związek może być również powodem wystąpienia reakcji alergicznych, a nawet astmy.

Do organizmu człowieka etylenodiamina może dostawać się: w drodze bezpośredniego kontaktu ze skórą, drogą inhalacyjną lub pokarmową. Nie stwierdzono działania mutagennego lub rakotwórczego etylenodiaminy (CHEMPYL 2018; HSDB 2014; Sapota, Ligocka 1997).

Klasyfikację oraz oznakowanie etylenodiaminy zgodne z tabelą 3.1. załącznika VI do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE), zwanego rozporządzeniem CLP, przedstawiono w tabeli 1. (Rozporządzenie... 2008). Minister Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej ustanowił najwyższe dopuszczalne stężenie (NDS) dla etylenodiaminy

w powietrzu na stanowiskach pracy w wysokości 20 mg/m³, a najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe (NDSC_h) – równe 50 mg/m³ (Rozporządzenie... 2018).

Z uwagi na wycofanie ze stosowania Polskiej Normy PN-Z-04191-02:1988 celem pracy było opracowanie odpowiednio czulej i selektywnej metody oznaczania tego związku w powietrzu na stanowiskach pracy, umożliwiającej pomiary jego stężeń, 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.

Tabela 1.

Klasyfikacja i oznakowanie etylenodiaminy zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE), tzw. rozporządzeniem CLP (Rozporządzenie... 2008)

Klasyfikacja zagrożenia i kody kategorii	Kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia
Flam. Liq 3: Substancja ciekła łatwopalna (kat. 3)	H226: Łatwopalna ciecz i pary
Acute Tox. 4* oral: Toksyczność ostra – droga pokarmowa (kat. 4)	H302: Działa szkodliwie po połknięciu
Acute Tox 4* dermal: Toksyczność ostra – skóra (kat. 4)	H312: Działa szkodliwie w kontakcie ze skórą
Resp. Sens 1: Działanie uczulające na drogi oddechowe/skórę (kat. 1)	H334: Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania
Skin Sens. 1: Działanie uczulające na skórę, (kat. 1)	H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry
Skin corr. 1B: Działanie żrące/drażniące na skórę, (kat. 1B)	H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu

Objaśnienie: * – minimum klasyfikacji.

CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA

Aparatura analityczna

W badaniach zastosowano chromatograf cieczowy Waters 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 Supelcosil LC-18 o długości 150 mm i średnicy wewnętrznej 3 mm wypełnionej fazą oktadecylową o średnicy ziaren 5 µm.

Do pobierania próbek powietrza wykorzystano aspiratory indywidualne SKC umożliwiające pobór

próbek powietrza ze strumieniem przepływu około 0,05 l/min.

Do odważania odczynników i substancji wzorcowych stosowano wagę analityczną Sartorius Research, a do ekstrakcji stosowano wytrząsarkę mechaniczną GRANT-BIO PTR-35.

Odczynniki i materiały

W badaniach stosowano: etylenodiaminę (Aldrich), chloromrówczan 9-fluorenylometylu Fmoc Cl (Fluka), acetonitryl (JT Baker), kwas borowy (Avantor), chlorek sodu (Avantor) oraz wodę o czystości do HPLC ze stacji uzdatniania wody Hydrolab R10. Do

przygotowania roztworów wykorzystywano typowe szkło laboratoryjne (kolby miarowe, pipety, zlewki), a do pobierania próbek dostępne w handlu rurki z żelazem krzemionkowym pokryte kwasem siarkowym (SKC).

Założenia opracowanej metody

W wycofanej ze stosowania Polskiej Normie PN-Z-04191-02:1988 zakładano zastosowanie do oznaczania stężeń etylenodiaminy w powietrzu metody chromatografii gazowej polegającej na: zatrzymaniu par etylenodiaminy na węglu aktywnym, ekstrakcji etanolem i chromatograficznym oznaczeniu stężeń tego związku. Z danych literaturowych wynika, iż etylenodiamina może być oznaczana przy zastosowaniu kapilarnej chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (Vincent i in. 1979) lub za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), (Buranaphalin 2009; NIOSH 1994; OSHA 1986; Paseiro-Cerrato 2011). Do oznaczania związków aminowych (aminokwasów, amin alifatycznych i aromatycznych, poliamin) często wykorzystuje się zdolność tych substancji do tworzenia pochodnych z takimi czynnikami derywatyzyjącymi, jak: chlorek dansylu (Molins-Luega i in. 1999; Spizzirri i in. 2016), chlorek benzoilu (Sethi 2011) bądź chloromrówczan 9-fluorenylometylu (Brzeźnicki i in. 2014; Buranaphalin 2009). Na podstawie wcześniejszych doświadczeń autorów niniejszej publikacji związanych z opracowywaniem metod analitycznych dla innych amin pierwszo- i drugorzędowych podjęto próbę opracowania metody oznaczania etylenodiaminy w powietrzu z wykorzystaniem techniki HPLC po uprzedniej derywatacji tego związku w reakcji z chloromrówczanem 9-fluorenylometylu (FMO C I).

Do pobierania próbek powietrza do oznaczania stężeń amin wykorzystuje się rurki sorpcyjne wypełnione żywicą XAD-2 pokrytą roztworem 1-naftyloizitiocyjanianu (NIOSH 1994; OSHA 1986) lub żelazem krzemionkowym (Vincent i in. 1979). Z uwagi na niską trwałość etylenodiaminy w próbkach powietrza pobranych na czysty żel krzemionkowy zalecane jest pobieranie próbek z wytworzeniem na żelu odpowiedniej soli etylenodiaminy (siarczanu, chlorowodoru). Z tego względu zdecydowano o zastosowaniu do pobierania próbek powietrza stosowanych do oznaczeń stężeń dimetyloaminy, dostępnych w handlu, rurek szklanych wypełnionych dwiema warstwami (150/75 mg) żelazem krzemionkowego pokrytego kwasem siarkowym.

Próbki powietrza do oznaczania etylenodiaminy należy pobierać zgodnie z zasadami podanymi w normie PN-Z-04008-7: za pomocą niskoprzepływowych aspiratorów indywidualnych umożliwiających pobieranie powietrza ze strumieniem objętości około 0,05 l/min.

Pozostałe założenia opracowywanej metody:

- pobieranie dwóch próbek w ciągu zmiany roboczej,
- objętość pobranego powietrza na próbkę: 10 l,
- zakres pomiarowy: $2 \div 40 \text{ mg/m}^3$ ($1/10 \div 2$ NDS).

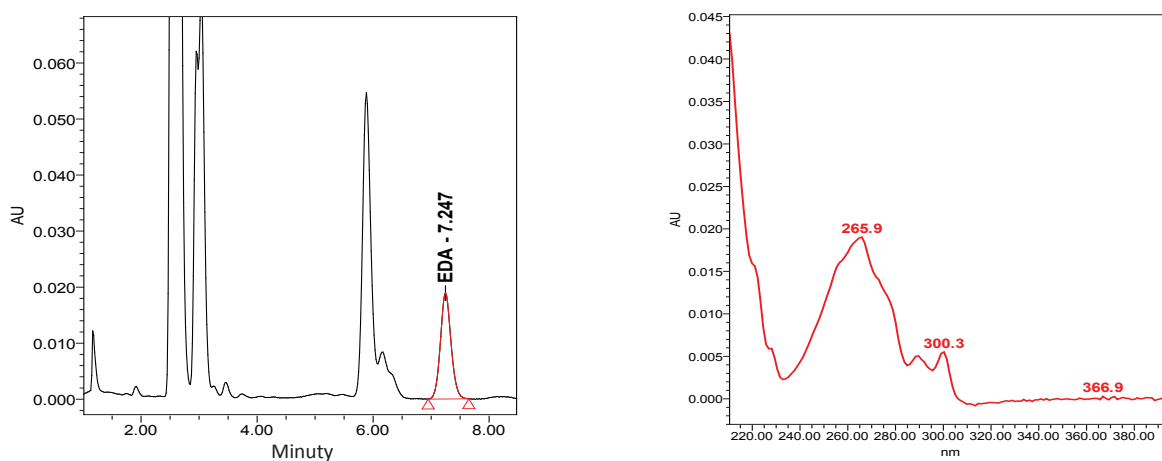
Dobór warunków rozdzielania chromatograficznego

Badania dotyczące: doboru optymalnych warunków rozdzielania chromatograficznego, doboru długości fali analitycznej i selektywności oznaczeń wykonano przy zastosowaniu chromatografu Waters Alliance z użyciem kolumny analitycznej SUPELCOSIL LC-18 150 × 3 mm, o średnicy ziaren 5 μm, wypełnionej złożem oktadecylowym (C-18). Próbki z kolumny eluowano roztworem acetonitrylu i wody (elucja izokratyczna) zmieszanych w stosunku 62:38 (v:v). Na podstawie wyników wstępnych badań wykonanych przy zastosowaniu warunków rozdzielania chromatograficznego podanych w tabeli 2. wykazano możliwość rozdzielania analizowanego związku (pochodnej etylenodiaminy) od czynnika derywatyzyzującego (FMO C I) i nieznanego produktu reakcji (rys 1.).

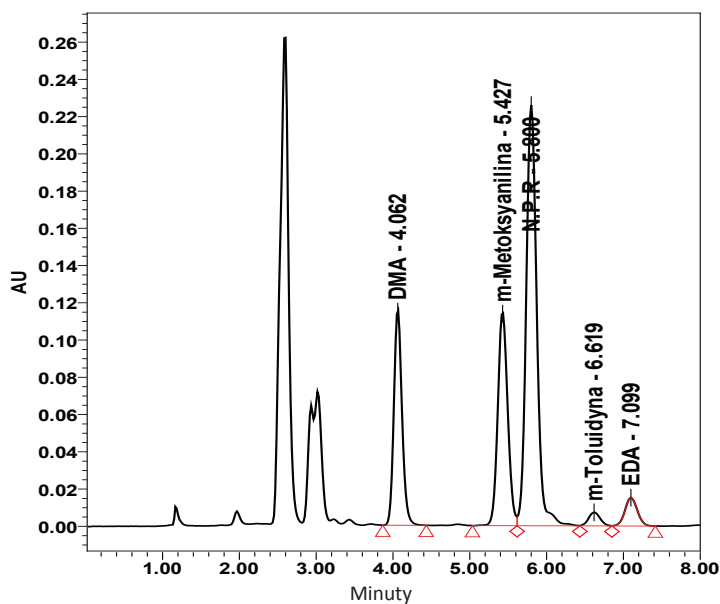
Z analizy widma badanej pochodnej wynika, że optymalną długością fali analitycznej do oznaczania stężeń tego związku za pomocą detektora UV-VIS jest $\lambda = 265 \text{ nm}$. Zastosowane w opisanych badaniach warunki rozdzielania chromatograficznego oraz użycie kolumny analitycznej wypełnionej fazą oktadecylową (C-18) pozwalają na selektywne oznaczanie etylenodiaminy w obecności innych związków aminowych. Przykładowy chromatogram obrazujący możliwość selektywnego oznaczenia pochodnej etylenodiaminy w obecności pochodnych innych amin przedstawiono na rysunku 2. Należy jednak pamiętać, iż w środowisku pracy mogą występować inne substancje, mogące interferować z substancją oznaczaną, dlatego podane warunki analityczne należy traktować jako przykładowe i w razie konieczności modyfikować skład fazy ruchomej (elucja gradientowa) lub zastosować kolumnę analityczną wypełnioną fazą o innej polarności.

Tabela 2.
Warunki pracy chromatografu cieczowego

Kolumna analityczna	SUPELCOSIL LC-18 150 × 3 mm, 5 μm	
Faza ruchoma	acetonitryl	woda
Program – izokratycznie (v:v)	62	38
Natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej	0,5 ml/min	
Temperatura kolumny	30 °C	
Długość fali analitycznej	265 nm (UV-VIS)	
Objętość próbki	10 μl	



Rys 1. Chromatogram i widmo UV pochodnej etylenodiaminy z Fmoc Cl w zakresie 200 ÷ 400 nm



Rys 2. Chromatogram pochodnych Fmoc Cl z etylenodiaminą i innymi związkami: 1) dimetyloaminą (DMA), 2) 4-metoksyaniliną, 3) *m*-toluidyną

Badanie zakresu stosowania metody analitycznej

W celu określenia zakresu roboczego i liniowości metody przygotowano trzy serie po osiem wial o pojemności 8 ml, do których wsypano po 150 mg żelu krzemionkowego pokrytego kwasem siarkowym. Na żel naniesiono za pomocą mikropipety po 10 μ l acetonitrylowych roztworów etylenodiaminy o stężeniach: 0; 2; 4; 8; 10; 20; 30 i 40 mg/ml. Po odparowaniu rozpuszczalnika do każdej z wial dodano po 5 ml mieszaniny acetonitryl:woda (62:38) i całość poddano 30-minutowej ekstrakcji za pomocą wytrząsarki mechanicznej. Po tym czasie do kolb miarowych o pojemności 1 ml przenoszono po 0,1 ml ekstraktów, a kolby uzupełniano do kreski mieszaniną acetonitrylu i wody (62:38). Po dokładnym wymieszaniu do naczynek o pojemności

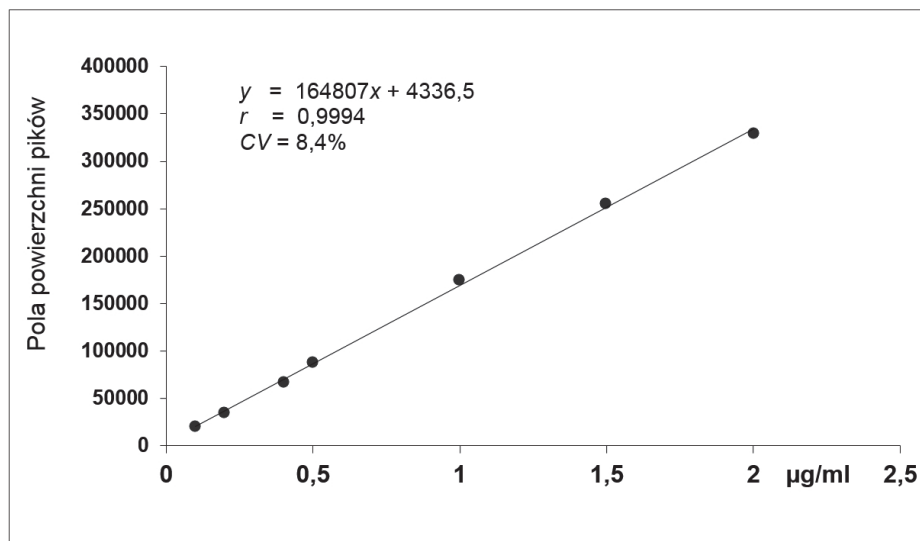
2 ml przeniesiono po 0,25 ml z każdego ekstraktu oraz dodawano po 0,25 ml: buforu boranowego (0,2 mol/l, pH 8,5), acetonitrylowego roztworu FMOC Cl (5 mmol/l) i mieszaniny acetonitrylu i wody (62:38). Całość po wymieszaniu pozostawiono na 5 minut w temperaturze pokojowej, a następnie roztwory poddano analizie chromatograficznej.

Wyniki badania liniowości metody przedstawiono w tabeli 3. oraz graficznie na rysunku 3. Z przedstawionych danych wynika, iż zależność odpowiedzi detektora od stężenia dimetyloaminy ma charakter liniowy w zakresie 0,1 ÷ 2 μ g/ml, co odpowiada zakresowi 2 ÷ 40 mg/m³ dla próbki powietrza o objętości 10 l. Zależność tę opisuje równanie: $y = 164807x + 4336$. Wyrażony w procentach błąd względny (CV) wynosi 8,4%, a współczynnik korelacji (r), jest równy 0,9994.

Tabela 3.

Wyniki wzorcowania etylenodiaminy na żelu krzemionkowym pokrytym kwasem siarkowym

Stężenie etylenodiaminy, μ g/ml	PPP (pole powierzchni piku)	Średnia	Odczylenie standardowe (SD)	Współczynnik zmienności, (CV), %
0,1	21 852,21	20 869,9	1 623,9	7,8
	18 995,53			
	21 762,11			
0,2	33 473,34	34 279,8	1 139,9	3,3
	33 782,18			
	35 583,99			
0,4	68 872,95	67 376,7	2 165,0	3,2
	64 894,16			
	68 363,04			
0,5	92 520,74	88 343,7	3 617,9	4,1
	86 314,82			
	86 195,43			
1	168 373,98	174 565,8	6 173,6	3,5
	180 721,00			
	174 602,29			
1,5	267 759,93	255 782,3	11 602,5	4,5
	254 991,60			
	244 595,32			
2,0	343 687,52	328 538,5	19 153,5	5,8
	334 918,84			
	307 009,31			



Rys. 3. Krzywa wzorcową wykonana po naniesieniu etylenodiaminy na żel krzemionkowy pokryty kwasem siarkowym

Badanie warunków pobierania próbek powietrza do oznaczeń etylenodiaminy

W celu sprawdzenia możliwości powstania strat analizowanej substancji w wyniku przepuszczania powietrza przeprowadzono badania, w których użyto rurek sorpcyjnych wypełnionych żel krzemionkowy z naniesionym kwasem siarkowym (150/75 mg). Dla każdego z analizowanych stężeń przygotowano po sześć rurek, nanosząc na dłuższą warstwę (150 mg) po 10 ml roztworu etylenodiaminy o stężeniach: 2; 10 i 40 mg/ml. Po odparowaniu rozpuszczalnika przez rurki przepuszczono 10 l powietrza ze strumieniem objętości około 0,05 ml/min. Każdą z warstw żelu krzemionkowego przenoszono oddzielnie do wial o pojemności 8 ml i desorbowano 5 ml mieszaniny acetonitrylu i wody (62:38) przez 30 min za pomocą wytrząsarki mechanicznej. Do kolb miarowych o pojemności 1 ml przenoszono po 0,1 ml ekstraktów i kolby uzupełniano do kreski mieszaniną acetonitrylu i wody (62:38). Po dokładnym wymieszaniu do naczynek o pojemności 2 ml przenoszono po 0,25 ml z każdego ekstraktu oraz

dodawano po 0,25 ml: buforu boranowego (0,2 mol/l, pH 8,5), acetonitrylowego roztworu FMOC Cl (5 mmol/l) i mieszaniny acetonitrylu i wody (62:38). Całość po wymieszaniu zostawiono na 5 minut w temperaturze pokojowej, a następnie roztwory poddano analizie chromatograficznej. W celu oceny ewentualnych strat analitu, powstałych w następstwie przepuszczania powietrza przez rurkę sorpcyjną, uzyskane wyniki porównano z wynikami analiz roztworów kontrolnych, którymi były ekstrakty żelu bez przepuszczania przez niego powietrza.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań (przedstawionych w tabeli 4.) wykazano, że przyjęty sposób pobierania próbek powietrza nie powoduje istotnych ilościowych strat etylenodiaminy naniesionej na żel krzemionkowy pokryty kwasem siarkowym. Średnie wartości wydajności desorpcji dla trzech analizowanych stężeń (20; 100 i 400 µg/żel) wynoszą 86,3% (*SD* – 6,9). W ekstraktach drugiej warstwy żelu krzemionkowego stwierdzono obecność etylenodiaminy w ilościach nie przekraczających 5% zawartości w pierwszej warstwie (1,1 ÷ 4,6%).

Tabela 4.

Badanie warunków pobierania próbek powietrza etylenodiaminy na żel krzemionkowy pokryty kwasem siarkowym

Medium pochłaniające	Zawartość etylenodiaminy na żelu krzemionkowym, mg	Pola powierzchni pików		Wydajność ekstrakcji, %	Średnia wartość wydajności ekstrakcji, %
		roztwór kontrolny	ekstrakt		
Żel krzemionkowy pokryty kwasem siarkowym	20		18 676,78	90,9	89,4
			19 314,67	94,0	
			19 478,73	94,8	
			17 522,32	85,2	
			16 913,58	82,3	
			<i>SD</i> 5,5		
			<i>CV</i> 6,1		
	100		76 024,57	88,8	88,7
			75 130,29	87,7	
		67 946,11	79,4		
		78 732,52	92,0		
		79 548,73	92,9		
		85 923,39	91,4		
		<i>SD</i> 5,0			
		<i>CV</i> 5,6			
400		280 883,28	82,4	84,2	
		289 509,08	85,0		
		323 107,67	94,8		
		286 135,36	84,0		
		268 028,67	78,7		
		273 243,75	80,2		
			<i>SD</i> 5,7		
			<i>CV</i> 6,8		
Średnia wydajność ekstrakcji,		<i>Śr</i> , %	86,3		
Odchylenie standardowe,		<i>SD</i>	5,7		
Współczynnik zmienności,		<i>CV</i> , %	6,8		

Wyznaczanie granic wykrywalności i oznaczalności

Badanie granicy wykrywalności i oznaczalności etylenodiaminy przeprowadzono zgodnie z wytycznymi zawartymi w opracowaniu *Dobeckiego*

(2000), obliczając odchylenie standardowe sygnału tła uzyskanego przez dziesięciokrotny nastrzyk roztworu ekstrakcyjnego. Wyniki analiz zebrano w tabeli 5. Obliczone granice wynoszą odpowiednio 0,04 i 0,134 µg/ml.

Tabela 5.

Wyznaczanie granicy wykrywalności (*GW*) i oznaczalności (*GO*) etylenodiaminy

Wyznaczone parametry	Wartości sygnału (pole powierzchni pików)	
		14 485,56
	19 990,78	16 799,31
	14 708,14	15 537,87
	18 870,59	19 150,81
	18 077,32	20 740,63
Średnie pole powierzchni, $n = 10$	17 720,65	
Odchylenie standardowe, S	2 215,81	
Współczynnik zmienności, CV , %	12,50	
Granica wykrywalności, X_{gn} , µg/ml	0,04	
granica oznaczalności, X_{ozn} , µg/ml	0,134	

Badanie czasu przechowywania pobranych próbek powietrza

W celu zbadania trwałości etylenodiaminy znajdującej się w rurkach sorpcyjnych przygotowano trzy serie po osiemnaście rurek, na które naniesiono po 10 μ l roztworów etylenodiaminy o stężeniach: 2; 10 i 40 mg/ml. Po odparowaniu rozpuszczalnika rurki szczelnie zamykano i umieszczano w hermetycznych pojemnikach w chłodziarce. Po: 3, 7 i 10 dniach przechowywania pierwszą warstwę żelu przenoszono do wial o pojemności 8 ml i ekstrahowano przez 30 min za pomocą 5 ml mieszaniny acetonitrylu i wody. Do kolb miarowych o pojemności 1 ml przenoszono po 0,1 ml ekstraktów i kolby uzupełniano do kreski mieszaniną acetonitrylu i wody (62:38). Po dokładnym wymieszaniu do naczynek o pojemności 2 ml przeniesiono po 0,25 ml z każ-

dego ekstraktu oraz dodawano po 0,25 ml: buforu boranowego (0,2 mol/l, pH 8,5), acetonitrylowego roztworu FMOC Cl (5 mmol/l) i mieszaniny acetonitrylu i wody (62:38). Całość po wymieszaniu zostawiono na 5 minut w temperaturze pokojowej, a następnie roztwory poddano analizie chromatograficznej. Wyniki oznaczeń porównywano z wynikami analiz ekstraktów etylenodiaminy o takich samych stężeniach wyekstrahowanych z żelu krzemionkowego i poddanych reakcji z FMOC Cl w dniu analizy.

Wyniki badań warunków przechowywania próbek zebrano w tabeli 6. Na ich podstawie wykazano, że próbki etylenodiaminy pobrane na żel krzemionkowy pokryty kwasem siarkowym mogą być przechowywane przez 10 dni. Po upływie tego czasu średnie współczynniki odzysku dla trzech analizowanych stężeń wynosiły: 96,0; 101,5 i 96,4% (średnia 98,0 SD – 6,2).

Tabela 6.

Wpływ czasu przechowywania na trwałość etylenodiaminy pobranej na żel krzemionkowy pokryty kwasem siarkowym

Czas, dni	Ilość etylenodiaminy naniesionej na żel krzemionkowy, mg								
	20			100			400		
3	101,7	107,3	96,6	102,3	100,4	98,8	102,4	96,9	109,4
	93,5	98,1	95,5	100,5	102,3	94,9	107,0	108,3	99,0
	$\bar{S}r$	98,8		$\bar{S}r$	99,8		$\bar{S}r$	103,8	
	SD	5,0		SD	2,8		SD	5,2	
	CV	5,1		CV	2,8		CV	5,0	
Średni współczynnik odzysku, $\bar{S}r$ 100,8									
Odchylenie standardowe, S 4,7									
Współczynnik zmienności, $CV, \%$ 4,7									
7	98,4	90,3	88,1	100,5	101,0	94,4	96,5	106,1	92,2
	91,3	89,2	100,9	101,1	103,9	94,5	93,3	97,7	94,8
	$\bar{S}r$	93,0		$\bar{S}r$	99,3		$\bar{S}r$	96,8	
	SD	5,3		SD	3,9		SD	5,0	
	CV	5,7		CV	3,9		CV	5,2	
Średni współczynnik odzysku, $\bar{S}r$ 96,4									
Odchylenie standardowe, S 5,2									
Współczynnik zmienności, $CV, \%$ 5,4									
10	90,5	107,3	92,5	102,8	108,4	96,5	99,3	101,0	89,0
	93,9	101,8	90,2	100,8	104,0	96,7	98,3	102,4	88,3
	$\bar{S}r$	96,0		$\bar{S}r$	101,5		$\bar{S}r$	96,4	
	SD	7,0		SD	4,6		SD	6,2	
	CV	7,3		CV	4,5		CV	6,4	
Średni współczynnik odzysku, $\bar{S}r$ 98,0									
Odchylenie standardowe, S 6,2									
Współczynnik zmienności, $CV, \%$ 6,3									

Badanie precyzji metody

W celu zbadania zgodności wyników przy wielokrotnym powtarzaniu oznaczenia przygotowano w mieszaninie acetonitryl:woda (62:38) trzy roztwory etylenodiaminy o stężeniach: 0,4; 2,5 i 8,0 µg/ml. Z każdego wzorca pobrano po 0,25 ml, przeniesiono do wial o pojemności 2 ml, a następnie przekształcono w pochodną, dodając po 0,25 ml: buforu boranowego (0,2 mol/l, pH 8,5), acetonitrylowego roz-

tworu FMOCl (5 mmol/l) i 62% r-ru acetonitrylu. Każdy roztwór analizowano dziesięciokrotnie.

Wyniki badań precyzji metody zebrano w tabeli 7. Wartości względnego odchylenia standardowego (*CV*) rozrzutów uzyskanych wyników w stosunku do wartości średnich dla stężeń: 0,1; 0,5 i 2,0 µg/ml przy wykorzystaniu detektora UV-VIS wynoszą odpowiednio: 4,2, 4,9 i 1,0%. Średnia wartość współczynnika zmienności (*CV*) dla całego badanego zakresu stężeń wynosi 16,9%.

Tabela 7.
Wyniki badania precyzji metody oznaczania etylenodiaminy, detektor UV-VIS

Lp.	Stężenie etylenodiaminy		
	0,1 mg/ml	0,5 mg/ml	2 mg/ml
1	28 540,4	108 120,1	380 953,6
2	27 228,6	110 602,6	381 405,6
3	25 582,0	113 798,5	372 822,8
4	28 428,8	110 361,6	378 790,7
4	28 974,0	112 850,3	376 780,2
6	28 610,6	116 464,0	374 962,5
7	28 632,6	120 695,1	384 021,4
8	29 996,8	125 015,2	380 178,9
9	28 472,3	112 314,1	382 446,1
10	29 064,9	122 436,6	385 287,1
Średnia, \bar{S}_r	28 353,1	115 265,8	379 764,9
<i>SD</i>	1 189,6	5685,7	3 960,8
<i>CV</i> , %	4,2	4,9	1,0
Całkowita precyzja badania – średni współczynnik zmienności, V_c , % 16,9			

PODSUMOWANIE

W wyniku przeprowadzonych badań opracowano metodę oznaczania etylenodiaminy w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną. Do pobierania próbek powietrza w celu oznaczania stężeń etylenodiaminy zastosowano zestaw pomiarowy złożony z rurki sorpcyjnej wypełnionej dwiema sekcjami żelu krzemionkowego pokrytego kwasem siarkowym. Zatrzymaną na żelu etylenodiaminę ekstrahowano mieszaniną acetonitrylu i wody (62:38). Zaproponowany sposób pobierania i ekstrakcji próbek zapewnia odzysk analitu z wydajnością 86%. Wyekstrahowany związek poddawano reakcji z chloromrówczanem

9-fluorenylometylu, a powstałą w jej wyniku pochodną analizowano chromatograficznie przy użyciu kolumny wypełnionej fazą oktadecylową, którą eluowano mieszaniną acetonitrylu i wody (62:38 v/v). Określone w badaniach warunki rozdzielania chromatograficznego umożliwiają selektywne oznaczenie etylenodiaminy w obecności czynnika derywatyizującego oraz innych związków o podobnym charakterze. Opracowana metoda oznaczania stężeń etylenodiaminy może być wykorzystana przez laboratoria higieny pracy do wykonywania pomiarów tej substancji w środowisku pracy w celu dokonywania oceny narażenia zawodowego.

PIŚMIENNICTWO

- Brzeźnicki S., Bonczarowska M., Gromiec J.P. (2014). Metoksyanilina. Oznaczanie w powietrzu środowiska pracy metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej [Methoxyaniline. Determining in workplace air with HPLC]. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy [Principles and Methods of Assessing the Working Environment]* 1(79), 113–130.
- Buranaphalin S. (2009). *Pharmaceutical Analysis of Polyamines and Aminoglycosides*. A thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy University of Bath [<https://purehost.bath.ac.uk/ws/portalfiles/portal/341431/Buranaphalin-June-2009.pdf>].
- CHEMPYL (2018). Baza wiedzy o zagrożeniach chemicznych i pyłowych. Etylenodiamina. Warszawa, CIOP-PIB.
- Dobecki M. (2000). Walidacja metod badań chemicznych i pyłowych zanieczyszczeń powietrza na stanowiskach pracy [publication in Polish]. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy [Principles and Methods of Assessing the Working Environment]* 3(25), 5–14.
- HSDB, Hazardous Substances Data Bank (2014). Ethylenediamine [<https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?/temp/~DIJ3Yq:1>].
- Molins-Leuga C., Campins-Falcó P., Sevillano-Cabeza A., Pedrón-Pons M. (1999). Urine polyamines determination using dansyl chloride derivatization in solid-phase extraction cartridges and HPLC. *Analyst* 124, 477–482.
- NIOSH, National Institute for Occupational Safety and Health (1994). *Manual of Analytical Methods (NMAM)*. Fourth Edition. Ethylenediamine Method 2540 [<https://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/2540-2.pdf>].
- OSHA, Occupational Safety and Health Administration (1986). *Sampling and Analytical Methods*. Ethylenediamine, Diethylenetriamine, Triethylenetetramine. Method #60 [<https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/organic/org060/org060.html>].
- Paseiro-Cerrato R., de Quirós A.R., Sendón R., Bustos J., Ruíz E., Cruz J.M., Paseiro-Losada P. (2011). Analytical method for the simultaneous determination of polyfunctional amines used as monomers in the manufacture of food packaging materials. *J. Chromatogr. A*. 1218, 7105–7109.
- PN-Z-04008-7 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-04191-02:1988 Ochrona czystości powietrza – Badania zawartości etylenodwuaminy – Oznaczanie etylenodwuaminy na stanowiskach pracy metodą chromatografii gazowej z wzbogacaniem próbki [Polish standard].
- 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 dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (zwanego rozporządzeniem GHS). Dz. Urz. UE z dnia 1.12.2008 (L 353).
- Sapota A., Ligocka D. (1997). Etylenodiamina. Uzasadnienie wartości dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego. IMP [publication in Polish].
- Sethi R. (2011). An Improved High Performance Liquid Chromatographic Method for Identification and Quantization of Polyamines as Benzoyl Derivatives. *Am. J. Anal. Chem.* 2, 456–469.
- Spizzirri U.G., Picci N., Restuccia D. (2016). Extraction Efficiency of Different Solvents and LC-UV Determination of Biogenic Amines in Tea Leaves and Infusions. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1–10.
- Vincent W.J., Hahn K.J., Ketcham N.H. (1979). Monitoring personal exposure to ethylenediamine in the occupational environment. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 40, 512–516.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA ETYLENODIAMINY W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY Z ZASTOSOWANIEM WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ Z DETEKcją SPEKTROFOTOMETRYCZNĄ

1. Zakres stosowania metody

Metodę podaną w niniejszej procedurze stosuje się do oznaczania etylenodiaminy w powietrzu na stanowiskach pracy, z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii ciekowej (HPLC). Metodę stosuje się podczas badania warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie etylenodiaminy, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczeń opisanych w metodzie, wynosi 2 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: zatrzymaniu obecnej w powietrzu etylenodiaminy na żelu krzemionkowym pokrytym kwasem siarkowym, wymyciu zatrzymanej substancji mieszaniną acetonitrylu i wody, derywatywacji z chloromrówczanem 9-fluorenylometylu i chromatograficznym oznaczeniu tak uzyskanej 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 $0,0002 \text{ g}$.

4.3. Postępowanie z substancjami toksycznymi

Wszystkie czynności, podczas których używa się substancji wzorcowych, należy wykonywać pod sprawnie działającym wyciągiem laboratoryjnym.

Zużyte roztwory i odczynniki należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i prze-

kazywać do zakładów zajmujących się ich unieszkodliwianiem.

5. Odczynniki, roztwory i materiały

5.1. Acetonitryl do HPLC

Stosować acetonitryl o czystości do HPLC.

5.2. Di-sodu tetraboran

Stosować di-sodu tetraboran wg punktu 4.

5.3. Chloromrówczan 9-fluorenylometylu

Stosować chloromrówczan 9-fluorenylometylu wg punktu 4.

5.4. Chlorek sodu

Stosować chlorek sodu wg punktu 4.

5.5. Etylenodiamina

Stosować etylenodiaminę wg punktu 4.

5.6. Kwas borowy

Stosować kwas borowy wg punktu 4.

5.7. Roztwór buforu boranowego

Za pomocą wagi analitycznej wg punktu 6.8. odważyć $1,2404 \text{ g}$ kwasu borowego wg punktu 5.6. oraz $0,2892 \text{ g}$ chlorku sodu wg punktu 5.4., przenieść do kolby miarowej o pojemności 100 ml wg punktu 6.3., rozpuścić w wodzie wg punktu 5.13. i uzupełnić kolbę wodą do kreski.

Odważyć $1,9108 \text{ g}$ tetraboranu sodu wg punktu 5.2., przenieść do kolby miarowej o pojemności 100 ml , rozpuścić w wodzie i uzupełnić wodą do kreski.

W celu otrzymania roztworu o pH $8,5$ należy zmieszać roztwór kwasu borowego i chlorku sodu z roztworem tetraboranu sodu w stosunku $1:1$. Stężenie tak przygotowanego buforu boranowego wynosi $0,05 \text{ mol/l}$.

5.8. Roztwór chloromrówczanu 9-fluorenylometylu

Za pomocą wagi analitycznej wg punktu 6.8. odważyć dokładnie $0,12935 \text{ g}$ chloromrówczanu 9-fluorenylometylu wg punktu 5.3., przenieść do kolby miarowej o pojemności 100 ml wg punktu 6.3. i rozpuścić w acetonitrylu wg punktu 5.1. Stężenie związku w tak przygotowanym roztworze wynosi $0,005 \text{ mol/l}$.

5.9. Roztwór ekstrakcyjny

Sporządzić mieszaninę acetonitrylu wg punktu 5.1. i wody wg punktu 5.13. w stosunku 62:38.

5.10. Roztwór wzorcowy podstawowy etylenodiaminy

Do zważonej kolby o pojemności 10 ml wg punktu 6.3. odmierzyć za pomocą pipety automatycznej wg punktu 6.5. około 0,45 ml etylenodiaminy. Kolbę uzupełnić do kreski acetonitrylem wg punktu 5.1. i dobrze wymieszać. Obliczyć zawartość związku w 1 ml roztworu.

5.11. Roztwór wzorcowy pośredni etylenodiaminy

Do kolby miarowej o pojemności 10 ml wg punktu 6.3. odmierzyć za pomocą pipety automatycznej wg punktu 6.5. taką ilość roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 5.10., aby końcowe stężenie roztworu wynosiło 40 mg/ml. Kolbę uzupełnić acetonitrylem do kreski i wymieszać zawartość.

5.12. Roztwory wzorcowe robocze etylenodiaminy

Do siedmiu kolb miarowych o pojemności 2 ml odmierzyć za pomocą pipet wg punktu 6.5. odpowiednio: 0,1; 0,2; 0,4; 0,5; 1,0; 1,5 i 2 ml roztworu wzorcowego roboczego wg punktu 5.11. Kolby uzupełnić do kreski acetonitrylem wg punktu 5.1. Stężenia etylenodiaminy w tak przygotowanych roztworach wynoszą odpowiednio: 2,0; 4,0; 8,0; 10,0; 20,0; 30,0 i 40,0 mg/ml.

5.13. Woda do HPLC

Stosować wodę o czystości do HPLC.

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

6.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy wyposażony w detektor spektrofotometryczny umożliwiający wykonanie oznaczeń przy długości fali 265 nm.

6.2. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną stalową o długości 150 mm i średnicy wewnętrznej 3 mm, wypełnioną fazą oktadecylową (C-18) o średnicy ziaren 5 µm.

6.3. Kolby miarowe

Stosować kolby miarowe o pojemnościach: 1; 2; 10; 25 i 100 ml.

6.4. Naczynka szklane (wiale)

Stosować wiale o pojemności 2 i 8 ml.

6.5. Pipety automatyczne nastawne

Stosować pipety automatyczne nastawne o pojemnościach: 0,010 ÷ 0,1 ml; 0,1 ÷ 1 ml i 0,5 ÷ 5 ml.

6.6. Pompa ssąca

Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobranie powietrza ze stałym strumieniem objętości według punktu 7.

6.7. Rurki sorpcyjne

Stosować dostępne w handlu rurki sorpcyjne wypełnione żelazem krzemionkowym pokrytym kwasem siarkowym (150/75 mg).

6.8. Waga analityczna

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

6.9. Wytrząsarka mechaniczna

Stosować wytrząsarkę mechaniczną.

7. Pobieranie próbek powietrza

Podczas pobierania próbek powietrza należy stosować zasady zawarte w normie PN-Z-04008-7. Za pomocą pompy ssącej wg punktu 6.8. przepuścić przez rurkę szklaną wypełnioną dwoma sekcjami żelazem krzemionkowego (150/75 mg) pokrytego kwasem siarkowym wg punktu 6.7. około 10 l powietrza ze stałym strumieniem objętości do 0,05 l/min. Pobrane próbki powietrza zabezpieczyć i do czasu analizy przechowywać w chłodziarce. Tak przechowywane próbki są trwałe przez 10 dni.

8. Warunki pracy chromatografu

Należy tak dobrać skład fazy ruchomej, aby zapewnić selektywne oznaczanie etylenodiaminy od substancji współwystępujących. W przypadku stosowania kolumny chromatograficznej wg punktu 6.2. oznaczanie można wykonać przy zastosowaniu warunków podanych w tabeli 1. Podane warunki należy traktować jako przykładowe.

Tabela 1.
Przykładowe warunki pracy chromatografu cieczowego

Kolumna analityczna ODS (C-18) 150 × 3 mm, 5 µm	
Faza ruchoma	acetonitryl : woda 62:38
Program	izokratycznie
Natężenie przepływu strumienia fazy ruchomej	0,5 ml/min
Temperatura kolumny	30 °C
Długość fali analitycznej	265 nm (UV-VIS)
Objętość próbki	10 µl

9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Z ośmiu rurek sorpcyjnych wg punktu 6.7. przesy-pać dłuższe warstwy żelu do wial o pojemności 8 ml. Za pomocą pipety automatycznej wg punktu 6.5. nanieść na żel krzemionkowy po 10 µl roztworów wzorcowych roboczych etylenodiaminy wg punktu 5.12. oraz do ostatniej wiali 10 µl ACN jako próbkę zerową. Stężenia etylenodiaminy na żelu wynoszą odpowiednio: 20; 40; 80; 100; 200; 300; 400 oraz 0 µg. Po odparowaniu rozpuszczalnika do każdej wiali dodać po 5 ml roztworu ekstrakcyjnego wg punktu 5.9. i poddać ekstrakcji za pomocą wytrząsarki wg punktu 6.9. przez 30 minut. Każdą próbkę należy rozcieńczyć 10 razy, przenosząc po 0,1 ml ekstraktu do kolb miarowych o pojemności 1 ml. Kolby uzupełnić do kreski roztworem ekstrakcyjnym wg punktu 5.9. Po dokładnym wymieszaniu zawartości pobrać 0,25 ml roztworu, następnie dodać 0,25 ml buforu boranowego wg punktu 5.7., 0,25 ml roztworu chloromrówczanu 9-fluorenylometylu wg punktu 5.8. i pozostawić próbkę na 5 minut, aby substraty przereagowały. Do mieszaniny reakcyjnej dodać 0,25 ml roztworu ekstrakcyjnego wg punktu 5.9., wiale szczelnie zamknąć i dokładnie wymieszać zawartość. Roztwory poddać analizie chromatograficznej. Sporządzić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych ilość etylenodiaminy naniesioną na żel krzemionkowy, a na osi rzędnych wartość pola powierzchni (wysokości) pików tego związku. Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

10. Wykonanie oznaczania

Z rurek sorpcyjnych wg punktu 6.7. z pobranymi próbkami powietrza przesy-pać każdą warstwę żelu

do oddzielnych wial o pojemności 8 ml. Próbki poddać 30-minutowej ekstrakcji za pomocą 5 ml roztworu ekstrakcyjnego i wytrząsarki według punktu 6.9. Ekstrakty rozcieńczyć dziesięciokrotnie. 0,25 ml rozcieńczonej próbki przenieść do wiali o pojemności 2 ml i dodać 0,25 ml buforu boranowego wg punktu 5.7., 0,25 ml roztworu chloromrówczanu 9-fluorenylometylu wg punktu 5.8., odczekać 5 minut, a następnie dodać 0,25 ml roztworu ekstrakcyjnego wg punktu 5.9., próbkę dokładnie wymieszać i poddać analizie chromatograficznej. W przypadku próbek, których wartości pól powierzchni analizowanych pików przekraczają zakres roboczy metody, należy wykonać powtarne oznaczenie, rozcieńczając dodatkowo próbkę. Dodatkowe rozcieńczenie uwzględnić w obliczeniach.

11. Obliczanie wyniku oznaczania

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

$$X = \frac{c}{V} \cdot 200,$$

w którym:

- c – zawartość etylenodiaminy odczytana z krzywej wzorcowej, w miligramach,
- V – objętość przepuszczonego powietrza, w metrach sześciennych,
- 200 – współczynnik rozcieńczenia.

