

# 2,2-Bis(4-hydroksyfenylo)propan – frakcja wdychalna

Metoda oznaczania w powietrzu  
na stanowiskach pracy<sup>1</sup>

2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)propane –  
inhalable fraction

Determination method in workplace air

---

*mgr* MARZENA BONCZAROWSKA  
*e-mail:* marzena.bonczarowska@imp.lodz.pl  
*dr* SŁAWOMIR BRZEŹNICKI  
*e-mail:* slawomir.brzezniczki@imp.lodz.pl  
Instytut Medycyny Pracy  
*im. prof. dr. med. Jerzego Nofera*  
91-348 Łódź  
*ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8*

Numer CAS 80-05-7

**Słowa kluczowe:** bisfenol A, metoda analityczna, chromatografia cieczowa, powietrze na stanowiskach pracy.

**Keywords:** bisphenol A, analytical method, liquid chromatography, workplace air.

## Streszczenie

2,2-Bis(4-hydroksyfenylo)propan (BPA, bisfenol A) jest substancją stałą, występuje w postaci płatków lub kryształków, ma delikatny zapach fenolu. Związek ten jest stosowany do produkcji różnego rodzaju żywic (epoksydowych, poliwęglanowych i polisulfonowych), klejów i płynów hamulcowych. Stosuje się go także jako środek zmniejszający palność oraz jako środek grzybobójczy – fungicyd. Zawodowe narażenie na 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propan może powodować podrażnienia: skóry, górnych dróg oddechowych lub błon śluzowych oka. 2,2-Bis(4-hydroksyfenylo)propan wykazuje również negatywny wpływ na rozrodczość. Celem pracy było opracowanie i walidacja metody

oznaczania stężeń 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu w powietrzu na stanowiskach pracy w zakresie od 1/10 do 2 zaproponowanej wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS), zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN-482+A1:2016-01.

Do badań wykorzystano zestaw do wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną (UV-VIS) i spektrofluorymetryczną (FLD). Rozdziałów chromatograficznych dokonywano przy zastosowaniu kolumny analitycznej Supelcosil LC-18 150 x 3 mm o uziarnieniu 3 µm. Jako fazę ruchomą stosowano mieszaninę acetonitrylu i wody (1: 1).

---

<sup>1</sup> Publikacja opracowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach III etapu programu wieloletniego: „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy” dofinansowanego w latach 2014-2016 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Naukowego Centrum Badań Rozwoju. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

Metoda polega na: zatrzymaniu obecnego w powietrzu 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu na filtrze z włókna szklanego, ekstrakcji filtra za pomocą acetonitrylu i chromatograficznej analizie otrzymanego roztworu. Średnia wartość współczynnika odzysku z filtrów wynosi około 90%. Zależność wskazań detektora mas w funkcji stężeń 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu ma charakter liniowy ( $r = 0,9996$ ) w zakresie stężeń  $0,125 \div 5 \text{ mg/m}^3$  (dla próbki powietrza 720 l). Obliczone granice wykrywalności i oznaczania ilościowego wynoszą odpowiednio: 0,02 (UV-VIS) i 0,013  $\mu\text{g/ml}$  (FLD) oraz 0,068 (UV-VIS) i 0,042  $\mu\text{g/ml}$  (FLD).

Opisana w niniejszym artykule metoda analityczna umożliwia selektywne oznaczanie 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu w środowisku pracy w przypadku obecności w próbce związków współwystępujących. Opracowana metoda charakteryzuje się dobrą precyzją oraz dokładnością i spełnia wymagania zawarte w normie europejskiej PN-EN 482+A1:2016-01 dla procedur oznaczania czynników chemicznych.

Opracowaną metodę oznaczania 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu zapisano w postaci procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku.

### Summary

2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)propane (bisphenol A BPA) is a substance in a form of a solid crystals or flakes with a mild phenolic odor. BPA is commonly used in the production of epoxide, polycarbonate or polysulfone resins, glues, breaks fluids or as a flame retardants and fungicides. Exposure to BPA can cause irritation of skin, BPA can also act as a nefro or hepatotoxic factor and upper respiratory tract or mucous membranes of the eye. BPA has a negative effects on human fertility.

The aim of this study was to develop and validate a sensitive method for determining BPA 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 (UV-VIS) and spectrofluorimetric (FLD) detection. All chromatographic analyses were performed with Supelcosil LC 18 (150  $\times$  3 mm) analytical column, which was eluted with mixture of acetonitrile and water (1: 1). This method was based on collecting BPA on glass

fiber filter, extracting with acetonitrile, and chromatographic determining resulted solution with HPLC technique. The average extraction efficiency of BPA from filters was 90%. The method was linear ( $r = 0.9996$ ) within the investigated working range 0.125 – 5  $\text{mg/m}^3$  for a 720-L air sample. The calculated limit of detection (LOD) and the limit of quantification (LOQ) was to 0.02  $\mu\text{g/ml}$  (UV-VIS) and 0.013  $\mu\text{g/ml}$  (FLD), and 0.068  $\mu\text{g/ml}$  (UV-VIS) and 0.042  $\mu\text{g/ml}$  (FLD), respectively.

The analytical method described in this paper enables specific and selective determination of BPA in workplace air in presence of other compounds. The method is precise, accurate and it meets the criteria for measuring chemical agents listed in Standard No. PN-EN 482+A1:2016-01. The method can be used for assessing occupational exposure to BPA and associated risk to workers' health. The developed method of determining BPA has been recorded as an analytical procedure (see appendix).

## WPROWADZENIE

2,2-Bis(4-hydroksyfenylo)propan (BPA, bisfenol A) jest otrzymywany w wyniku reakcji fenolu i acetonu, prowadzonej w obecności katalizatorów – kwasu solnego (HCl) lub sulfonowanej żywicy polistyrenowej. Związek jest substancją stałą, występuje w postaci płatków lub kryształów o delikatnym zapachu fenolu. 2,2-Bis(4-hydroksyfenylo)propan nie rozpuszcza się w wodzie. Związek ten jest słabo rozpuszczalny w czterochlorku węgla, natomiast dobrze rozpuszczalny w alkoholu

i eterze. 2,2-Bis(4-hydroksyfenylo)propan jest stosowany do produkcji różnego rodzaju żywic (epoksydowych, poliwęglanowych i polisulfonowych), klejów i płynów hamulcowych. Stosuje się go także jako środek zmniejszający palność oraz jako środek grzybobójczy – fungicyd (HSDB 2013).

W warunkach narażenia zawodowego 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propan do organizmu człowieka może dostawać się drogą inhalacyjną i dermalną. U osób narażonych zawodowo na 2,2-bis-

(4-hydroksyfenylo)propan obserwowano podrażnienia: skóry, oczu i górnych dróg oddechowych. 2,2-Bis(4-hydroksyfenylo)propan wykazuje również negatywny wpływ na rozrodczość (przez wiązanie się z receptorami estrogenowymi), jednak nie we wszystkich badaniach wykazano takie działanie. Badania przeprowadzone na ludziach i zwierzętach (w warunkach in vivo) nie wykazały działania mutagennego 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu. Brak jest również informacji na temat rakotwórczego działania tego związku (Szymańska i in. 2006).

2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propan został urzędowo sklasyfikowany (zgodnie z przepisami zawartymi w ustawie z dnia 11.01.2001 r. o substancjach i preparatach chemicznych w wykazie niebezpiecznych substancji chemicznych) jako substancja drażniąca (Xi) z przypisanym zwrotem określającym zagrożenie: "działa drażniąco na oczy, skórę i drogi oddechowe (R 36/37/38), oraz może powodować uczulenie w kontakcie ze skórą (R 43)".

Zespół Ekspertów ds. Czynników Chemicznych Międzyresortowej Komisji ds. NDS i NDN zaproponował przyjęcie wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu na poziomie 2 mg/m<sup>3</sup>,

stwierdzając jednocześnie, że nie ma merytorycznych podstaw do ustalenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh), (Gromiec 2016).

Zgodnie z tabelą 3.2. 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 dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (Dz. Urz. UE z dnia 31.12.2008 r., L 353, 1–1355 ze zm.) 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propan został zaklasyfikowany jako substancja powodująca:

- działanie uczulające na skórę (kat. 1.)
- poważne uszkodzenia oczu (kat. 1.)
- działanie toksycznie na narządy docelowe – narażenie jednorazowe (kat. 3.)
- działanie szkodliwe na rozrodczość (kat. 2.).

Klasyfikację oraz oznakowanie 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu, zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r., przedstawiono w tabeli 1.

**Tabela 1.**  
**Klasyfikacja i oznakowanie 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (BPA) zgodnie z obowiązującymi aktami prawnymi**

Klasa zagrożenia i kody kategorii	Kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia
Skin sens. 1 – działanie uczulające na skórę (kat. 1.)	H 317 – może powodować reakcję alergiczną skóry
Eye Dam. 1 – poważne uszkodzenia oczu (kat. 1.)	H 318 – powoduje poważne uszkodzenia oczu
STOT SE 3 – działanie toksycznie na narządy docelowe – narażenie jednorazowe (kat. 3.)	H 335 – może powodować podrażnienia dróg oddechowych
Repr. 2 – działanie szkodliwe na rozrodczość (kat. 2.)	H 361f – podejrzewa się, że działa szkodliwie na płodność

Celem pracy było opracowanie odpowiednio czulej i selektywnej metody oznaczania 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu w powietrzu na stanowiskach pracy, umożliwiającej pomiary jego stężeń,

a następnie pozwalającej na dokonanie oceny narażenia zawodowego.

## CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

### Materiały i odczynniki

W badaniach zastosowano: acetonitryl (JTBaker), 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propan (Aldrich) oraz wodę o czystości do HPLC pochodzącą ze stacji uzdatniania wody firmy Millipore. Do pobierania próbek powietrza zastosowano filtry z włókna szklanego Whatman GF/A o średnicy 25 mm. Roztwory przygotowano, stosując szkło miarowe (kolby, pipety szklane) oraz pipety automatyczne.

### Aparatura

Do badań wykorzystano: chromatograf cieczowy firmy Waters model Alliance 2695 LC System wyposażony w pompę poczworną, detektor Waters PDA 2996 (detektor diodowy UV-VIS) i spektrofluorymetryczny detektor Waters 2475 (FLD), kolumnę analityczną Supelcosil LC-18 o wymiarach 150 mm × 3,0 mm wypełnioną modyfikowanym żelem krzemionkowym typu C18 o uziarnieniu 3 μm, termostat kolumny analitycznej, automatyczny dozownik próbek i komputer z programem sterowania i akwizycji danych. Do pobierania próbek powietrza stosowano aspiratory indywidualne GilAir-3 (Gilian). Do ekstrakcji próbek stosowano wytrząsarkę rotacyjną. Do odważania substancji wzorcowych stosowano wagę analityczną Sartorius Research.

### Warunki oznaczania chromatograficznego

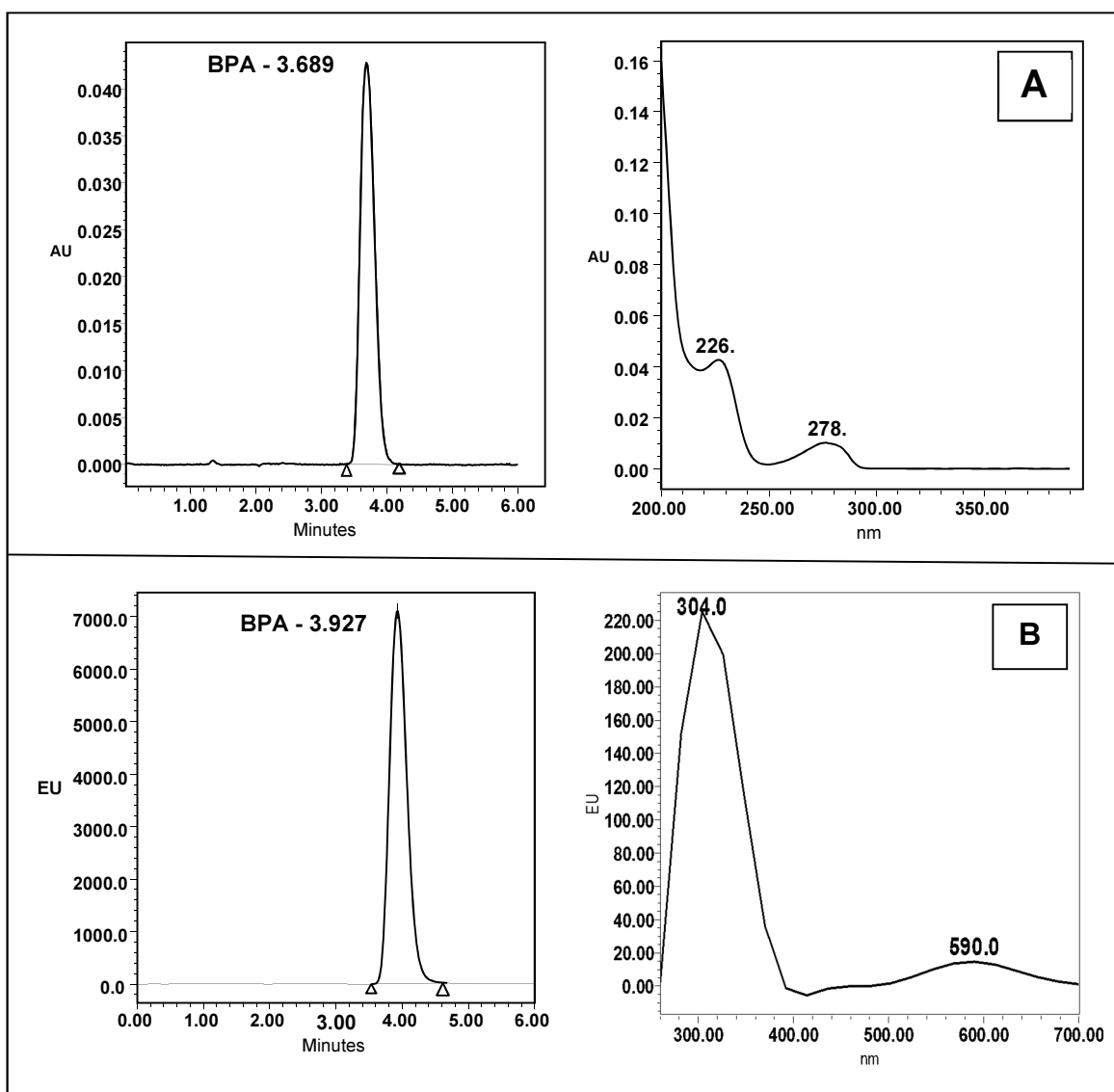
Na podstawie danych piśmiennictwa ustalono, że 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propan (BPA) może być oznaczany z zastosowaniem chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną lub spektrofluorymetryczną (Aurand 2012; Ng i in. 2015; Pearce, Bisphenol 2013; Poskrobko i in 2000; Yoon i in. 2003).

Badania dotyczące uzyskania optymalnych warunków analizy 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu techniką HPLC wykonywano przy zastosowaniu kolumny analitycznej Supelcosil LC-18 150 × 3,0 mm, ziarno 3 μm. Jako fazę ruchomą (elucja izokratyczna) zastosowano mieszaninę acetonitrylu i wody.

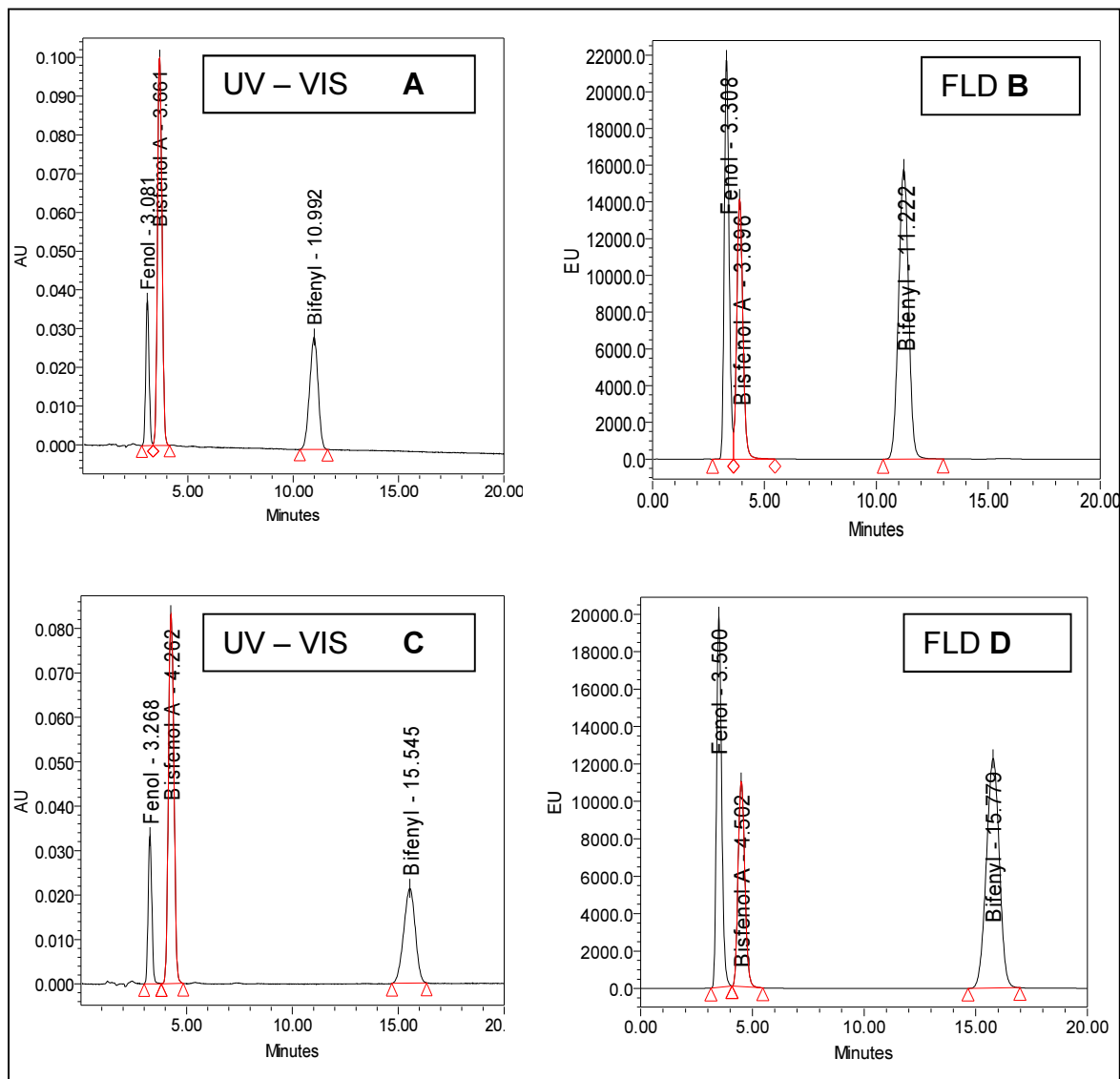
2,2-Bis(4-hydroksyfenylo)propan jest wykorzystywany głównie do produkcji żywic epoksydowych powstających w reakcji tego związku z epichlorohydryną, która w środowisku pracy może występować w postaci par. Z tego względu do jej oznaczania wykorzystuje się chromatografię gazową (Arnold 2003; OSHA 2000). Należy jednak pamiętać, iż w środowisku pracy mogą współwystępować 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.

W celu ustalenia optymalnych warunków oznaczania 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu przygotowano mieszaninę wzorców zawierającą: 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propan (BPA, bisfenol A), fenol i bifenył, którą poddano analizie chromatograficznej z wykorzystaniem kolumny Supelcosil LC-18 i faz ruchomych o zmiennym składzie (acetonitryl: woda – 55: 45 i 50: 50). Ponadto badania obejmowały analizę widmową wzorca 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (dobór odpowiedniej długości fal analitycznych) oraz wpływ zmian składu fazy ruchomej na rozdział chromatograficzny mieszaniny trzech związków (BPA, fenol i bifenył).

Analiza widmowa wzorca 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (rys. 1.) wykazała, iż optymalną, zapewniającą odpowiednią czułość oznaczeń na detektorze UV-VIS jest długość fali  $\lambda = 227$  nm. Widmo emisji 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (detektor FLD) wykonane przy długości fali wzbudzenia  $\lambda = 227$  nm wskazuje, że optymalną, zapewniającą najwyższą czułość oznaczeń jest długość fali  $\lambda = 305$  nm. Niewielkie zmiany składu fazy ruchomej (rys. 2.) mają wpływ na jakość rozdziału chromatograficznego, co umożliwia wykonanie selektywnych oznaczeń 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu w przypadku współwystępowania w środowisku pracy innych substancji, mogących interferować z substancją oznaczaną.



**Rys. 1.** Chromatogramy i widmo UV 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (BPA) w zakresie 200 ÷ 400 nm (A – detektor DAD) oraz widmo emisji w zakresie 250 ÷ 700 nm (B – detektor FLD), zarejestrowane przy długości fali wzbudzenia  $\lambda = 227$  nm



Rys 2. Rozdział chromatograficzny mieszaniny – fenolu, 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (BP) i bifenyłu

Zastosowanie w oznaczeniach 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu kolumny Supelcosil LC-18 oraz podanych w tabeli 2. warunków rozdziału

chromatograficznego umożliwi selektywne oznaczenie tego związku.

Tabela 2.  
Warunki pracy chromatografu

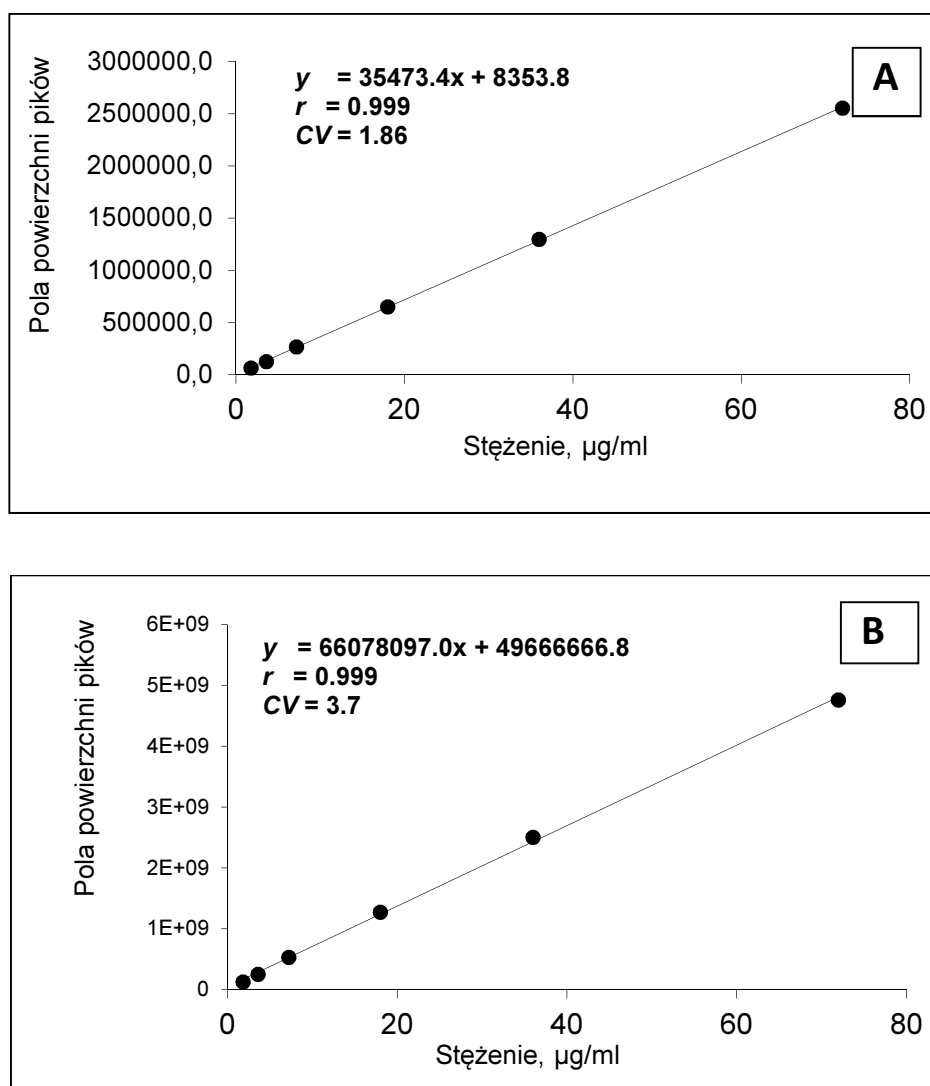
Kolumna analityczna Supelcosil™ LC-18 150 mm x 3 mm, 3 μm		
Faza ruchoma	acetonitryl	woda
Program – izokratycznie (v: v)	50%	50%
Natężenie przepływu fazy ruchomej	0,3 ml/min	
Temperatura kolumny	30 °C	
Długość fali analitycznej	227 nm (UV-VIS)	Ex/Em 275/305 nm (FLD)
Objętość próbki	10 μl	

### Badanie zakresu stosowania metody analitycznej

Celem określenia zakresu roboczego i liniowości metody przygotowano trzy serie po siedem filtrów, na które naniesiono za pomocą pipety automatycznej po 20  $\mu\text{l}$  acetonitrylowych roztworów wzorcowych o stężeniach: 0; 4,5; 9; 18; 45; 90 i 180  $\text{mg/ml}$ . Po odparowaniu rozpuszczalnika, filtry z naniesionymi wzorcami umieszczono w wialach o pojemności 8 ml i eluowano 5 ml acetonitrylu za pomocą wytrząsarki rotacyjnej przez okres 30 min. Ze względu na wysoki sygnał fluorescencji eluaty rozcieńczano dziesięciokrotnie, przenosząc 100  $\mu\text{l}$  eluatu do kolb miarowych o pojemności 1 ml. Kolby uzupełniano do kreski

acetonitrylem. Uzyskane roztwory po wymieszaniu przenoszono do wial o pojemności 2 ml, a następnie poddano analizie chromatograficznej.

Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono graficznie na rysunku 3. Z przedstawionych danych wynika, iż zależność odpowiedzi detektorów od stężenia 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu ma charakter liniowy w zakresie  $1,8 \div 72 \mu\text{g/ml}$ , co odpowiada stężeniom  $0,125 \div 5 \text{ mg/m}^3$  (dla próbki powietrza 720 l). Zależności te opisują równania:  $y = 35473.4x + 8353.8$  (detektor UV-VIS) i  $y = 66078097.0x + 49666666.8$  (detektor FLD). Współczynnik korelacji, niezależnie od rodzaju detekcji, wynosi  $r = 0,999$ , a współczynnik zmienności CV odpowiednio 1,9 i 3,7%.



Rys. 3. Zależność odpowiedzi detektora UV-VIS (A) i FLD (B) na analizowane stężenia 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (BPA) w zakresie od  $1,8 \div 72 \mu\text{g/ml}$

## Dobór warunków pobierania próbek powietrza

Zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie PN-EN 482+A1:2016-01 metoda analityczna stosowana do oznaczania stężeń danego związku w powietrzu na stanowiskach pracy powinna być zwalidowana dla zakresu już od  $1/10 \div 2$  wartości obowiązującego najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS). Próbkę powietrza do oznaczania 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (BPA) należy pobierać zgodnie z zasadami podanymi w normie PN-Z-04008-7:2002 (wraz z późniejszą zmianą w normie PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004). Metoda zakłada pobór jednej próbki powietrza w ciągu zmiany roboczej.

Do pobierania próbek zastosowano filtry z włókna szklanego Whatman GF/A o średnicy 25 mm oraz odpowiednią głowicę, umożliwiającą pobór frakcji wdychalnej.

## Badanie warunków pobierania, ekstrakcji i przechowywania próbek powietrza do oznaczeń 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu

Do wyznaczenia współczynnika odzysku z filtrów poddanych aeracji przygotowano trzy serie po sześć filtrów, na które naniesiono po 20  $\mu$ l roztworów wzorcowych 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (BPA) o stężeniach: 9; 45 i 180 mg/ml. Filtry

umieszczono w polipropylenowych głowicach przeznaczonych do pobierania frakcji wdychalnej. Głowice podłączono do aspiratorów. Przez filtry przepuszczano powietrze ze strumieniem objętości 2 l/min przez okres 420 min. Po tym czasie filtry przenoszono do naczynek o pojemności 8 ml, dodawano 5 ml acetonitrylu i ekstrahowano przez 30 min za pomocą wytrząsarki rotacyjnej. Ekstrakty rozcieńczano dziesięciokrotnie, a następnie poddawano analizie chromatograficznej. W celu sprawdzenia strat analitu podczas pobierania próbek, wielkości pól powierzchni pików uzyskane z analiz ekstraktów porównano z wynikami analiz ekstraktów filtrów, na które naniesiono takie same stężenia 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu, ale nie poddano aeracji.

Wyniki badań zebrano w tabelach (tab. 3. i tab. 4.). Przeprowadzone badania wskazują, że przyjęty sposób pobierania próbek powietrza nie powoduje istotnych ilościowych strat 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu naniesionego na filtr. Wartości współczynników odzysku dla trzech analizowanych ilości 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (0,18; 0,90 i 3,6 mg/filtr) wynoszą odpowiednio: 94,6; 98,2 i 97,3% dla detektora UV-VIS (średnia 96,7%,  $CV - 2,9\%$ ) oraz 92,7; 97,8 i 97,3% dla detektora FLD (średnia 95,9%,  $CV - 3,2\%$ ).

Tabela 3.

Badanie warunków pobierania próbek powietrza do oznaczeń 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (BPA) - detektor UV-VIS

Medium pochłaniające	Zawartość BPA na filtrze, mg/ml	Pole powierzchni pików		Wydajność ekstrakcji, %	Średnia wydajność ekstrakcji, %
		roztwór kontrolny	ekstrakt		
Filtr z włókna szklanego	0,18	129377,3	115718,7	90,3	94,6
		126170,8	123656,1	96,5	
		129069,0	122424,6	95,5	
			125817,5	98,1	
			121231,1	94,6	
			119172,5	93,0	
			$SD$ 2,8		
			$CV$ 2,9%		



cd. tab. 3.

Medium pochłaniające	Zawartość BPA na filtrze, mg/ml	Pole powierzchni pików		Wydajność ekstrakcji, %	Średnia wydajność ekstrakcji, %
		roztwór kontrolny	ekstrakt		
Filtr z włókna szklanego	0,9	668504,4	649419,6	98,0	98,2
		665824,8	638991,3	96,4	
		654171,5	641100,2	96,7	
			651014,9	98,2	
			668592,6	100,9	
			655194,8	98,8	
			<i>SD</i> 1,6		
			<i>CV</i> 1,6%		
	3,6	2580429,5	2586574,8	100,2	97,3
		2568906,5	2464720,8	95,5	
		2592538,9	2493165,9	96,6	
			2423691,5	93,9	
			2556048,0	99,0	
			2547023,2	98,7	
			<i>SD</i> 2,4		
		<i>CV</i> 2,5%			
Średnia wydajność ekstrakcji, <i>Śr</i>		96,7			
Odchylenie standardowe, <i>SD</i>		2,7			
Współczynnik zmienności, <i>CV</i> , %		2,9			

Tabela 4.

Badanie warunków pobierania próbek powietrza do oznaczeń 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (BPA) - detektor FLD

Medium pochłaniające	Zawartość BPA na filtrze, mg/ml	Pole powierzchni pików		Wydajność ekstrakcji, %	Średnia wydajność ekstrakcji, %
		roztwór kontrolny	ekstrakt		
Filtr z włókna szklanego	0,18	250861020,3	221615341,7	89,6	92,7
		244381056,1	232321138,8	93,9	
		246989673,1	229634134,4	92,8	
			239181668,0	96,7	
			228859347,9	92,5	
			225100293,4	91,0	
			<i>SD</i> 2,4		
			<i>CV</i> 2,6		
	0,9	1269569711,1	1231100701,4	97,6	97,8
		1263255579,5	1213917897,5	96,9	
		1249620479,3	1216885628,0	96,5	
			1233180917,0	97,8	
			1265438254,2	100,4	
			1237834106,8	98,2	
			<i>SD</i> 1,5		
		<i>CV</i> 1,5			
3,6	4617960363,5	4611856166,8	99,9	97,3	
	4596102775,1	4415915211,4	95,7		
	4630805822,2	4455269819,2	96,5		
		4343986132,4	94,1		
		4560452439,5	98,8		
		4549547823,5	98,6		
		<i>SD</i> 2,2			
		<i>CV</i> 2,3			
Średnia wydajność ekstrakcji, <i>Śr</i>		95,9			
Odchylenie standardowe, <i>SD</i>		3,1			
Współczynnik zmienności, <i>CV</i> , %		3,2			

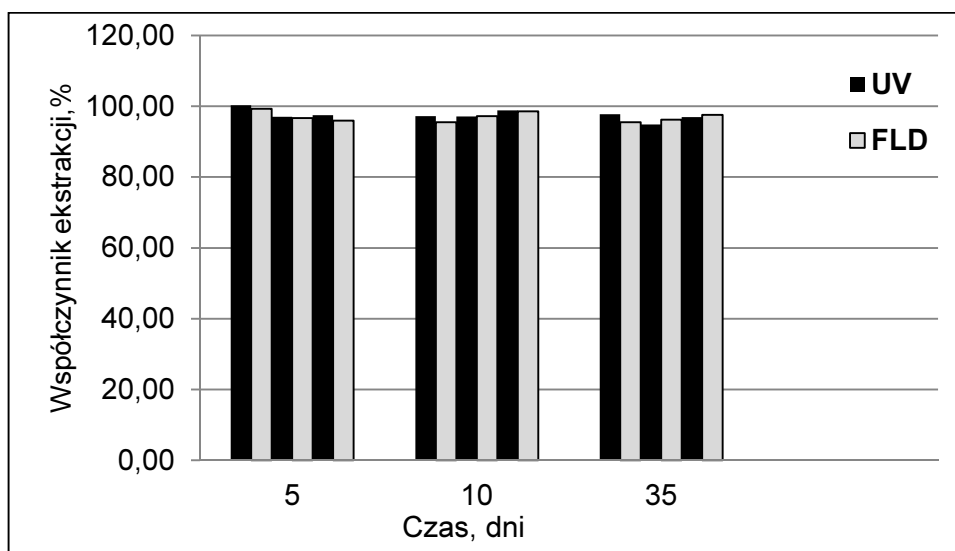
Celem zbadania trwałości 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu pobranego na filtry z włókna szklanego przygotowano trzy serie po osiemnaście filtrów, na które naniesiono po 20  $\mu\text{l}$  roztworów wzorcowych o stężeniach: 9; 45 i 180 mg/ml. Po odparowaniu rozpuszczalnika, filtry umieszczano w hermetycznych pojemnikach i przechowywano w chłodziarce. Po: 5, 10 i 35 dniach przechowywania poddano analizie po sześć filtrów z każdego stężenia. Filtry eluowano 5 ml acetonitrylu za pomocą wytrząsarki rotacyjnej. Eluaty rozcieńczano dziesięciokrotnie, a następnie poddano analizie chromatograficznej. Uzyskane wartości pól powierzchni pików 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu porównano z wynikami analiz ekstraktów filtrów przygotowanych w dniu badania.

Wyniki badania warunków przechowywania próbek przedstawiono na rysunku 4. Zebrane dane

wskazują, iż próbki 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu pobrane na filtry, umieszczone w hermetycznych pojemnikach i przechowywane w chłodziarce są trwale co najmniej 35 dni. Po tym okresie przechowywania próbek stwierdzono następujące odzyski w stosunku do pierwotnej ilości 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu:

- dla stężenia 0,18 mg/filtrze – 97,8% UV-VIS; 95,5% FLD
- dla stężenia 0,90 mg/filtrze – 94,8% UV-VIS; 96,2% FLD
- dla stężenia 3,6 mg/filtrze – 96,9% UV-VIS; 97,5% FLD.

Średnia wartość wydajności ekstrakcji (oznaczona przy użyciu detektorów UV-VIS i FLD) wynosi odpowiednio: 96,5% ( $CV - 2,6\%$ ) i 96,4% ( $CV - 2,2\%$ ).

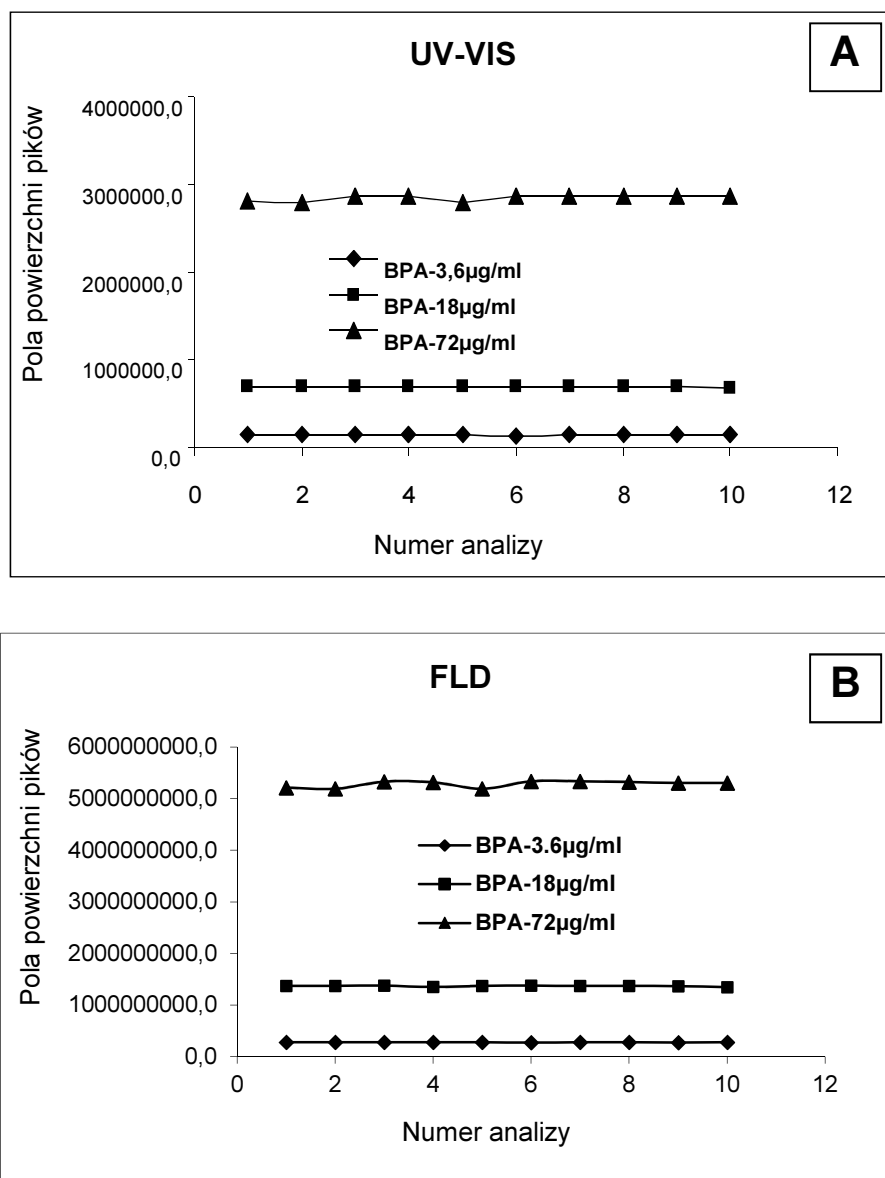


Rys. 4. Wpływ czasu przechowywania na trwałość 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (BPA) pobranego na filtry z włókna szklanego

### Precyzja oznaczeń

Celem zbadania zgodności wyników przy wielokrotnym powtarzaniu oznaczenia, przygotowano trzy roztwory wzorcowe 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu o stężeniach: 3,6; 18 i 72  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Zawartość 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu w roztworach oznaczano chromatograficznie, analizując każdy wzorzec dziesięciokrotnie.

Wyniki badania precyzji metody przedstawiono graficznie na rysunku 5. Współczynniki zmienności ( $CV$ ) dla rozrzutów uzyskanych wyników w stosunku do wartości średnich dla stężeń: 3,6; 18 i 72  $\mu\text{g}/\text{ml}$  wynoszą odpowiednio: 0,9; 0,8 i 1,1%, niezależnie od sposobu detekcji.



Rys. 5. Precyzja oznaczeń 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (BPA) przy zastosowaniu detektora UV-VIS (A) i FLD (B)

### Walidacja

Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482+A1:2016-01.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań uzyskano następujące dane walidacyjne:

- zakres pomiarowy 0,125 – 5 mg/m<sup>3</sup> (dla próbki powietrza 720 l)

- granica oznaczalności,  $X_{ozn}$  0,068 µg/ml (UV-VIS) i 0,042 µg/ml (FLD)
- granica wykrywalności,  $X_{gw}$  0,02 µg/ml (UV-VIS) i 0,013 µg/ml (FLD)

– współczynniki korelacji charakteryzujące liniowość krzywych wzorcowych, $r$	– całkowita precyzja badania, $V_c$	10,74% (UV-VIS) i 10,66% (FLD)
0,9999 (UV-VIS) i 0,9996 (FLD)	– niepewność całkowita metody	12,52% (UV-VIS) i 11,85% (FLD).

## PODSUMOWANIE

Na podstawie przeprowadzonych badań opracowano metodę oznaczania 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (BPA) w powietrzu środowiska pracy z wykorzystaniem techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z detektorem spektrofotometrycznym i spektrofluorymetrycznym. Zastosowanie w analizie kolumny analitycznej Supelcosil LC-18 (150 × 3,0 mm, 3 μm) eluowanej mieszaniną acetonitrylu i wody pozwala na selektywne oznaczenie 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu w obecności innych związków.

Opracowana metoda umożliwia oznaczanie stężeń frakcji wdychalnej 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu w powietrzu w środowisku pracy w zakresie 0,125 ÷ 5 mg/m<sup>3</sup>, tj. od 1/16 do 2,5 wartości proponowanego najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS). Metoda została poddana walidacji zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie PN-EN 482+A1:2016-01 i opisana w formie procedury analitycznej zamieszczonej w załączniku.

## PIŚMIENNICTWO

Arnold J.E. (2003). Epichlorohydrin. The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). Manual of analytical methods (NMAM). Fourth Edition [dostęp: <https://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/method-e.html>].

Aurand C. (2012). Determination of bisphenol a in drinking water sigma – aldrich. Reporter US. Volume 30.1. [dostęp: <http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/analytical/food-beverage/bisphenol-a-water.html>].

Gromiec J. (2016). 2,2-Bis(4-hydroksyfenylo)propan (bisfenol A) – frakcja wdychalna. Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego [praca nieopublikowana].

HSDB, Hazardous Substances Data Bank (2013). National Library of Medicine. Bisphenol A [dostęp: <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~ce5Xdy>].

Ng C.M., Reuter W.M. (2015). Analysis of bisphenol. A in toys by HPLC with fluorescence detection. Application note. Perkin Elmer [dostęp: <http://www.perkinelmer.com/pl/searchResult?searchName=bisphenol%20a&N=4nqc4l&searchType=otherContent&pushBackURL=/tools/resourcelibrary&Ns=>].

OSHA, Occupational Safety & Health Administration (2000). Index of sampling & analytical methods. Method No 07 Organic vapors [dostęp: <https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/organic/org007/org007.html>].

Pearce D., Bisphenol A. (2013). Diglycidyl ether of bisphenol A. Occupational Safety and Health Administration. OSHA, Index of sampling and analytical methods.#1018 [dostęp: <https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/validated/1018/1018.html>].

PN-EN 482+A1:2016-01 Powietrze na stanowiskach pracy. Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych.

PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004 Ochrona czystości powietrza. Pobieranie próbek powietrza. Zasady pobierania próbek powietrza i interpretacji wyników.

Poskrobko J., Dejnega M., Kiedik M. (2000). High-performance liquid chromatography with multi-wavelength detection of the bisphenol A impurities. J. Chromatogr. A. 23, 883 (1-2), 291–7.

Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji oraz mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/548/EWG

i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006. Dz. Urz. UE z dnia 31.12.2008 r. (L 353), 1–1355 z późn. zm.

*Szymańska J., Frydrych B.* (2006). 2,2-Bis(4-hydroksyfenylo)propan – pyły. Dokumentacja dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy 3(49), 101–117.

Ustawa z dnia 11.01.2001 r. o substancjach i preparatach

chemicznych. DzU 2001, nr 11, poz. 84.

*Yoon Y., Westerhoff P., Synder S.A., Esparza M.* (2003). HPLC – fluorescence detection and adsorption of bisphenol A, 17b-estradiol and 17a-ethynyl estradiol on powdered activated carbon. Water Research 37, 3530–3537.



**PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA  
2,2-BIS(4-HYDROKSYFENYLO)PROPANU (BISFENOLU A)  
W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY**

### 1. Zakres stosowania metody

Metodę podaną w niniejszej procedurze stosuje się w celu oznaczania stężeń frakcji wdychalnej 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (BPA) w powietrzu na stanowiskach pracy, z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną (UV-VIS) i/lub spektrofluorymetryczną (FLD). Metodę stosuje się podczas badania warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w metodzie, wynosi 0,125 mg/m<sup>3</sup> (przy pobieraniu próbki powietrza o objętości 720 l).

### 2. Powołania normatywne

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

Zasada metody polega na zatrzymaniu obecnego w powietrzu aerozolu 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu na filtrze z włókna szklanego, wymyciu zatrzymanego związku za pomocą acetonitrylu oraz oznaczeniu przy zastosowaniu wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

### 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. 2,2-Bis(4-hydroksyfenylo)propan (Bisfenol A)

Stosować według punktu 4.

#### 5.3. Woda

Stosować wodę o czystości do HPLC.

### 6. Roztwory

#### 6.1. Roztwór wzorcowy podstawowy 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu

Do kolby miarowej o pojemności 10 ml odważyć na wadze analitycznej (wg punktu 7.9.) około 2 g wzorca 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (wg punktu 5.2.). Wzorzec rozpuścić w acetonitrylu, a po rozpuszczeniu się wzorca, kolbę uzupełnić do kreski acetonitrylem i obliczyć zawartość 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu w jednym mililitrze roztworu.

#### 6.2. Roztwór wzorcowy pośredni 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu

Do kolby miarowej o pojemności 10 ml (wg punktu 7.3.) odmierzyć pipetą (wg punktów 7.6. i 7.7.) taką ilość wzorca podstawowego 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu (wg punktu 6.1.), aby końcowe stężenie wynosiło 180 mg/ml.

#### 6.3. Roztwory wzorcowe robocze

Do siedmiu kolb miarowych o pojemności 5 ml (wg punktu 7.3.) odmierzyć pipetami (wg punktów 7.6. i 7.7.) odpowiednio: 0; 0,125; 0,25; 0,5; 1,25; 2,5 i 5 ml roztworu wzorcowego pośredniego wg punktu 6.2. Kolby uzupełnić do kreski acetonitrylem. Stężenia 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu

w tak przygotowanych roztworach wynoszą: 0; 4,5; 9; 18; 45; 90 i 180 mg/ml.

## 7. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

7.1. Chromatograf cieczowy  
Stosować chromatograf cieczowy z detektorem spektrofotometrycznym i/lub spektrofluorymetrycznym.

7.2. Filtry z włókna szklanego  
Stosować filtry z włókna szklanego o średnicy 25 mm i średnicy porów 1,6 µm.

7.3. Kolby miarowe  
Stosować kolby miarowe o pojemności: 1; 2; 5 i 10 ml.

7.4. Kolumna chromatograficzna  
Stosować kolumnę analityczną Supelcosil LC-18 (150 mm x 3 mm x 3 µm).

7.5. Naczynka szklane (wiale)  
Stosować wiale o pojemności 2 i 8 ml.

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

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

7.8. Pompa ssąca  
Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobranie próbki powietrza ze stałym strumieniem objętości 2 l/min.

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

7.10. Wyrząsarka  
Stosować wyrząsarkę mechaniczną rotacyjną.

## 8. Pobieranie próbek powietrza

Podczas pobierania próbek powietrza należy stosować zasady zawarte w normie PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004. Filtr wg punktu 7.2. umieścić w głowicy do poboru frakcji wdychalnej. Za pomocą pompy (wg punktu 7.8.) przepuścić przez filtr z włókna szklanego (wg punktu 7.2.) 720 l powietrza ze stałym strumieniem objętości 2 l/min. Pobrane próbki powietrza zabezpieczyć i do czasu analizy przechowywać w chłodziarce. Tak przechowywane próbki są trwałe przez okres co najmniej 35 dni.

## 9. Warunki pracy chromatografu

Należy tak dobrać skład fazy ruchomej, aby zapewnić selektywne oznaczanie 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu w obecności substancji współwystępujących.

W przypadku stosowania kolumny chromatograficznej wg punktu 7.4., oznaczanie można wykonać przy zastosowaniu warunków podanych w tabeli 1. Podane warunki należy traktować jako warunki przykładowe.

**Tabela 1.**  
Przykładowe warunki pracy chromatografu

Kolumna analityczna Supelcosil™ LC-18 (150 mm x 3 mm, 3µm)		
Faza ruchoma	acetonitryl	woda
Program – izokratycznie (v:v)	50%	50%
Natężenie przepływu fazy ruchomej	0,3 ml/min	
Temperatura kolumny	30 °C,	
Długość fali analitycznej	227 nm (UV-VIS)	Ex/Em 275/305 nm (FLD)
Objętość próbki	10 µl	

## 10. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Na siedem filtrów (wg punktu 7.2.) nanieść za pomocą pipety automatycznej (wg punktu 7.6.) po 20 µl roztworów wzorcowych roboczych (wg

punktu 6.3.). Masa 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu naniesiona na filtr wynosi odpowiednio: 0,09; 0,18; 0,36; 0,9 1,8 i 3,6 mg. Po odparowaniu rozpuszczalnika filtry przenieść do naczynek o pojemności 8 ml ( wg punktu 7.5.). Do każdej wiali dodać



po 5 ml acetonitrylu (wg punktu 5.1.) i poddać 30-minutowej ekstrakcji przy użyciu wytrząsarki (wg punktu 7.10.).

Stężenia 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu w roztworach po ekstrakcji wynoszą odpowiednio: 0; 18; 36; 72; 180; 360 i 720 µg/ml. Każdy ekstrakt rozcieńczyć dziesięciokrotnie, przenosząc po 100 µl z każdego ekstraktu do kolb miarowych o pojemności 1 ml. Kolby uzupełnić do kreski acetonitrylem, dokładnie wymieszać, przenieść zawartość do naczynka o pojemności 2 ml wg punktu 6.5. i poddać analizie chromatograficznej. Sporządzić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych masę wzorca nanieśionego na filtr (w miligramach), a na osi rzędnych – wartość pola powierzchni (wysokości) pików danego związku. Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

### 11. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbek powietrza filtry przenieść do naczynek o pojemności 8 ml (wg punktu 6.5.), dodać 5 ml acetonitrylu i poddać 30-minutowej ekstrakcji przy użyciu wytrząsarki rotacyjnej (wg

punktu 7.10.). Ekstrakty rozcieńczyć dziesięciokrotnie i przenieść do naczynek o pojemności 2 ml wg punktu 6.5. Naczynka szczelnie zamknąć i zawartość poddać analizie chromatograficznej. W przypadku próbek, których wartości pola powierzchni analizowanych pików przekraczają zakres roboczy metody, należy wykonać powtórne oznaczenie, rozcieńczając dodatkowo próbkę. Dodatkowe rozcieńczenie należy uwzględnić w obliczeniach.

### 12. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu ( $X$ ) w badanym powietrzu obliczyć w miligramach na metr sześcienny na podstawie wzoru:

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

w którym:

- $c$  – zawartość 2,2-bis(4-hydroksyfenylo)propanu na filtrze odczytana z krzywej wzorcowej, w miligramach,
- $V$  – objętość przepuszczonego powietrza, w metrach sześciennych.

