

mgr inż. ANNA JEŻEWSKA¹
prof. dr hab. BOGUSŁAW
BUSZEWSKI²

¹ Centralny Instytut Ochrony Pracy –
Państwowy Instytut Badawczy
00-701 Warszawa

ul. Czerniakowska 16

² Uniwersytet Mikołaja Kopernika

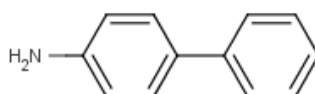
87-100 Toruń

ul. Gagarina 7/11

Bifenylo-4-amina

– metoda oznaczania

Numer CAS: 92-67-1



Słowa kluczowe: bifenylo-4-amina, metoda analityczna, metoda chromatografii cieczowej, powietrze na stanowiskach pracy.

Keywords: 4-aminobiphenyl, determination method, workplace air, liquid chromatographic analysis.

Metoda polega na przepuszczeniu badanego powietrza zawierającego bifenylo-4-aminę przez filtr z włókna szklanego z naniesionym kwasem siarkowym, wymyciu osadzonej na filtrze substancji wodą i roztworem wodorotlenku sodu, ekstrakcji do fazy stałej w celu wzbogacenia analitu oraz wymiany rozpuszczalnika na metanol, a następnie analizie otrzymanego roztworu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

Oznaczalność metody wynosi 0,1 µg/m³.

UWAGI WSTĘPNE

Bifenylo-4-amina jest krystalicznym ciałem stałym otrzymywanym przez redukcję 4-nitrobifenyłu. Narażenie zawodowe na tę substancję występuje w przemyśle: gumowym, tworzyw sztucznych, barwników anilinowych i farmaceutycznym. Bifenylo-4-amina najczęściej występuje jako zanieczyszczenie aniliny oraz innych amin aromatycznych i ich pochodnych (np.: barwników azowych). Narażeni na bifenylo-4-aminę są także pracownicy laboratoriów chemicznych stosujący tę substancję. Bifenylo-4-amina występuje w dymie tytoniowym.

Zgodnie z rozporządzeniem ministra zdrowia z dnia 28 września 2005 r. w sprawie wykazu substancji niebezpiecznych wraz z ich klasyfikacją i oznakowaniem (DzU nr 201, poz. 1674 wraz z załącznikiem wydanym dnia 14 października 2005 r.) bifenylo-4-amina jest sklasyfikowana jako substancja rakotwórcza kategorii 1., może powodować raka, działa szkodliwie po połyknięciu.

Wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) podana w rozporządzeniu ministra pracy i polityki społecznej z dnia 30 sierpnia 2007 r. (DzU nr 161, poz. 1142) zmieniającym rozporządzenie ministra pracy i polityki społecznej z dnia 29 listopada 2002 r. (DzU 217, poz. 1833) dla bifenylo-4-aminy wynosi $0,001 \text{ mg/m}^3$ ($1 \text{ }\mu\text{g/m}^3$).

PROCEDURA ANALITYCZNA

1. Zakres metody

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania zawartości bifenylo-4-aminy w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją fluorescencyjną. Metodę stosuje się podczas badania warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie bifenylo-4-aminy, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonywania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi $0,1 \text{ }\mu\text{g/m}^3$.

2. Norma powołana

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 przepuszczeniu badanego powietrza zawierającego bifenylo-4-aminę przez filtr z włókna szklanego z naniesionym kwasem siarkowym, wymyciu osadzonej na filtrze substancji wodą i roztworem wodorotlenku sodu, ekstrakcji do fazy stałej w celu wzbogacenia analitu oraz wymiany rozpuszczalnika na metanol i analizie otrzymanego roztworu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

4. Wytyczne ogólne

4.1. Czystość odczynników

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

4.2. Dokładność ważenia

Substancje stosowane w analizie należy ważyć z dokładnością do $0,0002 \text{ g}$.

4.3. Postępowanie z substancjami niebezpiecznymi

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 unieszkodliwianiem.

5. Odczynniki, roztwory i materiały

5.1. Acetonitryl

Stosować acetonitryl według punktu 4.1.

5.2. Bifenylo-4-amina

Stosować bifenylo-4-aminę według punktu 4.1.

5.3. Kwas siarkowy

Stosować roztwór kwasu siarkowego o stężeniu 0,26 mol/l.

5.4. Kwas octowy

Stosować roztwór kwasu octowego w wodzie o stężeniu 0,1-procentowym (v/v).

5.5. Metanol

Stosować metanol według punktu 4.1.

5.6. Wodorotlenek sodu

Stosować wodorotlenek sodu o stężeniu 0,135 mmol/l.

5.7. Wodorotlenek sodu

Stosować wodorotlenek sodu o stężeniu 0,135 mol/l.

5.8. Roztwór wzorcowy podstawowy bifenylo-4-aminy

Odważyć około 10 mg bifenylo-4-aminy według punktu 5.2. i przenieść do kolby pomiarowej z ciemnego szkła o pojemności 100 ml, uzupełnić do kreski metanolem według punktu 5.5. i zawartość dokładnie wymieszać. Stężenie bifenylo-4-aminy w tak przygotowanym roztworze wynosi 0,1 mg/ml.

Roztwór przechowywany w chłodziarce jest trwały co najmniej 2 tygodnie.

5.9. Roztwór wzorcowy pośredni bifenylo-4-aminy

Do kolby pomiarowej o pojemności 10 ml przenieść 200 μ l roztworu wzorcowego podstawowego według punktu 5.8., uzupełnić do kreski metanolem według punktu 5.5. i zawartość dokładnie wymieszać. Stężenie bifenylo-4-aminy w tak przygotowanym roztworze wynosi 2 μ g/ml.

Roztwór przechowywany w chłodziarce jest trwały co najmniej 2 tygodnie.

5.10. Roztwory wzorcowe robocze bifenylo-4-aminy

Na sześć filtrów według punktu 5.11. umieszczonych w kolbach stożkowych o pojemności 25 ml według punktu 6.5. nanieść roztwór wzorcowy pośredni według punktu 5.9. w ilości: 5; 10; 20; 40; 50 i 100 μ l. Filtry pozostawić do wyschnięcia. Następnie dodać po 2 ml wody, kolby zamknąć i pozostawić przez 1 h. Dodać 3 ml wodorotlenku sodu według punktu 5.7. i pozostawić kolby na 30 min, wstrząsając co pewien czas ich zawartością. Po tym czasie roztwory z nad filtrów przenieść na kolumnienki według punktu 5.12., wcześniej kondycjonowane 1 ml metanolu według punktu 5.5. i 1 ml wodorotlenku sodu według punktu 5.6. Po sorpcji analitu należy przemyć złoże 1 ml wody i suszyć co najmniej 5 min pod próżnią według punktu 6.7. Po tym czasie desorbować analit ze złoża 1 ml metanolu według punktu 5.5. W 1 ml tak uzyskanego roztworu znajduje się odpowiednio: 10; 20; 40; 80; 100 i 200 ng bifenylo-4-aminy.

Roztwory szczelnie zamknięte i przechowywane w chłodziarce są trwałe co najmniej 7 dni.

5.11. Filtry

Stosować filtry z włókna szklanego o średnicy 37 mm. Na filtry nanosić po 0,5 ml kwasu siarkowego według punktu 5.3. i pozostawić do wyschnięcia. Suche filtry należy przechowywać w szczelnie zamkniętym naczyniu.

5.12. Kolumnienki do ekstrakcji, do fazy stałej

Stosować dostępne w handlu kolumnienki do ekstrakcji, do fazy stałej o pojemności 1 ml, wypełnione 30 mg warstwą sorbentu (kopolimer *N*-winylopirolidonu i diwinylobenzenu).

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

6.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem fluorescencyjnym, z możliwością dozowania próbki o pojemności 20 µl i z elektronicznym integratorem.

6.2. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną umożliwiającą rozdział bifenylo-4-aminy od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu, np.: kolumnę stalową z fazą oktadecylową o długości 25 cm, średnicy wewnętrznej 4,6 mm i o uziarnieniu 5 µm.

6.3. Mikrostrzykawki do cieczy

Stosować mikrostrzykawki do cieczy o pojemności 10 ÷ 2500 µl.

6.4. Pipety szklane

Stosować pipety do cieczy o pojemności 5 ml.

6.5. Kolby stożkowe

Stosować wyposażone w korki kolby stożkowe o pojemności 25 ml.

6.6. Pompa ssąca

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

6.7. Zestaw próżniowy do ekstrakcji

Stosować zestaw próżniowy do ekstrakcji, do fazy stałej.

7. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek przez dwa filtry według punktu 5.11., połączone szeregowo i umieszczone w oprawce, należy przepuścić do 100 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości nie większym niż 20 l/h. Pobrane próbki przechowywane w chłodziarce są trwałe co najmniej 7 dni.

8. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy tak dobrać, aby uzyskać rozdział bifenylo-4-aminy od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu.

W przypadku stosowania kolumny chromatograficznej o parametrach podanych w punkcie 6.2., przykładowe warunki wykonania oznaczania są następujące:

- faza ruchoma: metanol : kwas octowy według punktu 5.4. : acetonitryl 10: 40: 50
- strumień objętości fazy ruchomej 1 ml/min
- temperatura kolumny 23 °C
- długość fali analitycznej detektora fluorescencyjnego:
 - wzbudzenie 268 nm
 - emisja 389 nm
- dozowanie próbki 20 µl.

9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do chromatografu wprowadzić po 20 µl roztworów wzorcowych roboczych według punktu 5.10. Z każdego roztworu wzorcowego należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać powierzchnie pików według wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami nie powinna być większa niż ± 5% tej wartości. Następnie wykreślić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych zawartość bifenylo-4-aminy w próbce w nanogramach, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików.

Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

10. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza każdy filtr przenieść do oddzielnej kolby według punktu 6.5. Następnie postępować jak przy sporządzaniu roztworów wzorcowych roboczych według punktu 5.10. i krzywej wzorcowej według punktu 9.

11. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie bifenylo-4-aminy (X) w badanym powietrzu obliczyć w mikrogramach na metr sześcienny na podstawie wzoru:

$$X = \frac{(m_1 + m_2)}{V},$$

w którym:

- m_1 – masa bifenylo-4-aminy w roztworze uzyskanym po odzysku/desorpcji z nad pierwszego filtra odczytana z krzywej wzorcowej, w nanogramach,
- m_2 – masa bifenylo-4-aminy w roztworze uzyskanym po odzysku/desorpcji z nad drugiego filtra odczytana z krzywej wzorcowej, w nanogramach,
- V – objętość przepuszczonego powietrza przez filtr, w litrach.

INFORMACJE DODATKOWE

Badania wykonano, stosując chromatograf cieczowy firmy Agilent Technologies seria 1200 z detektorem fluorescencyjnym (FLD), z automatycznym podajnikiem próbek, z dozowaniem próbki w zakresie 1 ÷ 100 µl i oprogramowaniem Chemstation sterującym oraz zbierającym dane. Do ekstrakcji, do fazy stałej stosowano handlowe kolumny Oasis™ HLB firmy Waters.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań uzyskano następujące dane walidacyjne:

- | | |
|-------------------------------------|---|
| – zakres pomiarowy | 10 ÷ 200 ng/ml (0,1 ÷ 2 µg/m ³ dla próbki powietrza 100 l) |
| – granica wykrywalności, x_{gw} | 17,84 pg/ml |
| – granica oznaczalności, x_{ozn} | 54,05 pg/ml |
| – współczynnik korelacji, R | 0,9997 |
| – całkowita precyzja badania, V_c | 5,08% |

- względna niepewność całkowita 10,16%.
- niepewność rozszerzona 20,32%.

ANNA JEŻEWSKA, BOGUSŁAW BUSZEWSKI

4-Aminobiphenyl – determination method

A b s t r a c t

The method is based on the chemisorption of 4-aminobiphenyl on a glass fiber filter treated with sulphuric acid, followed by extraction of 4-aminobiphenyl sulphate with water and NaOH solution. 4-Aminobiphenyl is eluted from an SPE cartridge using 1 mL of methanol. The obtained solution is analyzed with HPLC with FL detection.

The working range is 0.1–2 µg/m³ for a 100-L air sample.