

嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

異氰酸鹽職業災害暴露生物偵測初探—螢光吸收法

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：CNIS-91-01

執行期間：91年1月1日至91年12月31日

計畫主持人：陳連輝

共同主持人：

計畫參與人員：葉慧容

執行單位：工業安全衛生系

中華民國 九十一年 十二月 日

異氰酸鹽職業災害暴露生物偵測初探—螢光吸收法

摘 要

二異氰酸甲苯 (Toluene diisocyanate, TDI) 用途十分廣泛，主要作為聚氨基甲酸乙酯 (polyurethane, PU) 之製造，其產品的種類眾多，包括泡綿、塗料、樹脂、黏著劑、合成皮等。TDI在尿中的代謝物主要為二胺基甲苯 (Toluene diamine, TDA)，包含TDA原體、酯化與結合型式代謝物。本研究係開發一簡單且具高靈敏度的尿中TDA的分析方法，以高效率液相層析儀配合螢光偵測器測定尿中TDA，在樣品前處理方面，將尿液樣品以濃硫酸或氫氧化鈉進行水解後，再經C18及陽離子交換樹脂固相萃尿管以去除基質干擾。研究結果顯示以固相萃取法可以有效的去除干擾，2,6-TDA與2,4-TDA回收率分別為75 %與82 %。

緒 言

二異氰酸甲苯 (toluene diisocyanate, TDI) 用途十分廣泛，主要作為聚氨基甲酸乙酯 (polyurethane, PU) 之製造，其產品的種類眾多，包括：泡綿、塗料、樹脂、合成皮、黏著劑、抗腐蝕劑等。對人體健康的主要危害為職業性氣喘、嚴重肺部刺激、阻塞、過敏性肺炎及皮膚炎等。各國訂定法令及建議標準越來越嚴格，現今美國職業安全衛生署 (Occupational Safety and Health Administration, OSHA) 對 2,4-TDI 的容許濃度為最高容許濃度 0.02 ppm，美國政府工業衛生技師協會 (American Conference of Governmental Industrial Hygienists, ACGIH) (2001) 則建議 2,4-TDI、2,6-TDI 或 2,4-及 2,6-TDI 混合物的 TLV-TWA 是 0.005 ppm，STEL-TLV 是 0.02 ppm，我國為最高容許濃度 0.005 ppm。其進入人體途徑有呼吸吸入、眼睛接觸、皮膚接觸及食入，若暴露評估時只針對空氣測定是不

適當的，因作業環境空氣中有害物濃度不能完全代表勞工的暴露量，故需以有效、敏感度高的生物偵測 (biological monitoring) 來評估有害物進入人體的劑量。TDI 製造可由二胺基甲苯 (toluenediamine, TDA) 光氯化而來，且 TDI 在大鼠體內可經由水解轉變為 TDA，TDI 之生物偵測大多為測定勞工血液及尿液之 TDI 代謝產物 TDA，我國勞工委員會規定空氣中 TDI 容許濃度標準為最高容許濃度 0.005ppm，可預期 TDI 職業暴露勞工尿中 TDA 濃度相當低，故需有一足夠靈敏感度的 TDA 分析方法，目前 TDI 生物偵測方法尚待進一步研究。



橢 橢 跨 跨 □□□□□□□□ □ □ □
□□□□□□□□□□□□,□□□ □□□ □□□ □□□□□□□~□□ś□□□ś□ś□



再加入 6 mL 2 M K_3PO_4 溶液與 7.5 mL 純水。pH 值約在 8~9 間，準備進行淨化步驟。

(2) 鹼水解

取 5 mL 的尿液與 1g 的 NaOH 混合，在 100°C 下進行水解 6 小時，所得尿液再加入 2 M H_3PO_4 7.5 mL 與 8 mL 純水，溶液的 pH 值約為 8~9，準備進行淨化步驟。

結果與討論

HPLC 之參數評估

由於本研究以高效率液相層析儀配合螢光光譜儀進行分離與定量，因此首先對兩種 TDA 異構物以螢光光譜儀找尋最佳激發 (E_X) 與放射 (E_M) 波長。兩種 TDA 在濃度為 13 ng/mL 時以 278 nm 為螢光放射波長所得到的放射光譜。從圖 1 中可以看出對兩種 TDA 異構物分別在 341 nm (2,4-TDA) 與 347 nm (2,6-TDA) 有好的且具相當強度的放射峰。這不僅說明了以 HPLC 配合螢光偵測器進行分離與定量的可行性，也可以有效的降低儀器的偵測下限。

圖 2 則是嚐試許多不同移動相組成後所得的最佳分離條件。由於兩種 TDA 均有 amine 的官能基，在不同的 pH 值範圍會以中性或是陽離子的形式存在，考慮 TDA 在水中有好的溶解度，因此在 HPLC 分離上以離子對層析的方式進行分離，將移動相的 pH 值以 H_3PO_4 / Na_2HPO_4 調至酸性範圍 (pH = 3)，使兩種 TDA 均呈陽離子型態，在移動相中添加 $NaClO_4$ 作為離子對試劑。由層析圖可以看出有相當良好的分離效果。其中 (a) 與 (b) 為兩種不同的層析管柱分離 50 ng/mL TDA 所得的結果，由圖中可以看出 Luna 管柱比 Hypersil 管柱有較佳的分離效果。(c) 則是注射 5 ng/mL 的 TDA 以 Luna 管柱進行分離的結果。在低濃度仍可以清楚的看出其波峰形狀。圖 4 則是以上述分離條件下配製一系列不同濃度所得到的檢量線，在 5 ng/mL 至 200 ng/mL 有相當良好的線性關係。檢量線各濃度相對於檢量線之 CV% 均小於 10%，而檢量線查核之 CV% 亦小於 8%。

真實尿液

圖 3 為尿液添加 50 ng/mL TDA 經上述步驟處理後所得的層析圖，以 0.1 M H_3PO_4 進行 C18 管柱流洗的原因在於其基質干擾較少。2,6-TDA 與 2,4-TDA 的回收率分別為 75% 與 85%。

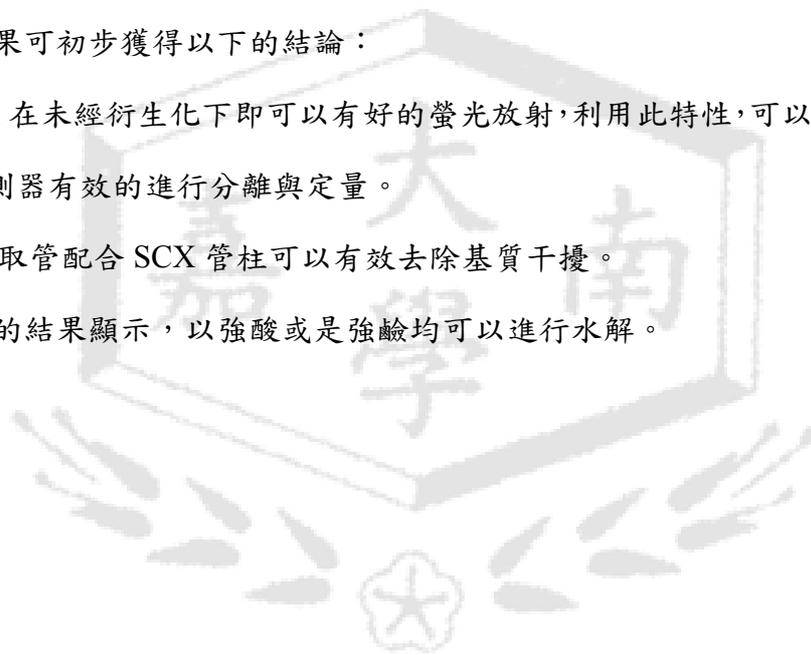
結 論

由以上結果可初步獲得以下的結論：

兩種 TDA 在未經衍生化下即可以有好的螢光放射，利用此特性，可以使用 HPLC/螢光偵測器有效的進行分離與定量。

以 C18 萃取管配合 SCX 管柱可以有效去除基質干擾。

動物實驗的結果顯示，以強酸或是強鹼均可以進行水解。



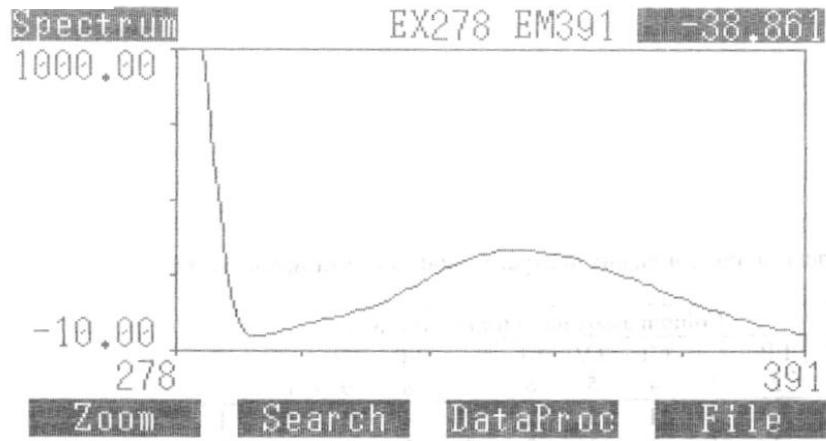
誌 謝

本研究經費承蒙嘉南藥理科技大學王校長昭雄資助 (CNIS-91-01)，謹此致謝。



附 錄

(a)2,4-TDA



(b) 2,6-TDA



圖 1 2,4-TDA (a) 與 2,6-TDA (b) 之螢光放射光譜圖

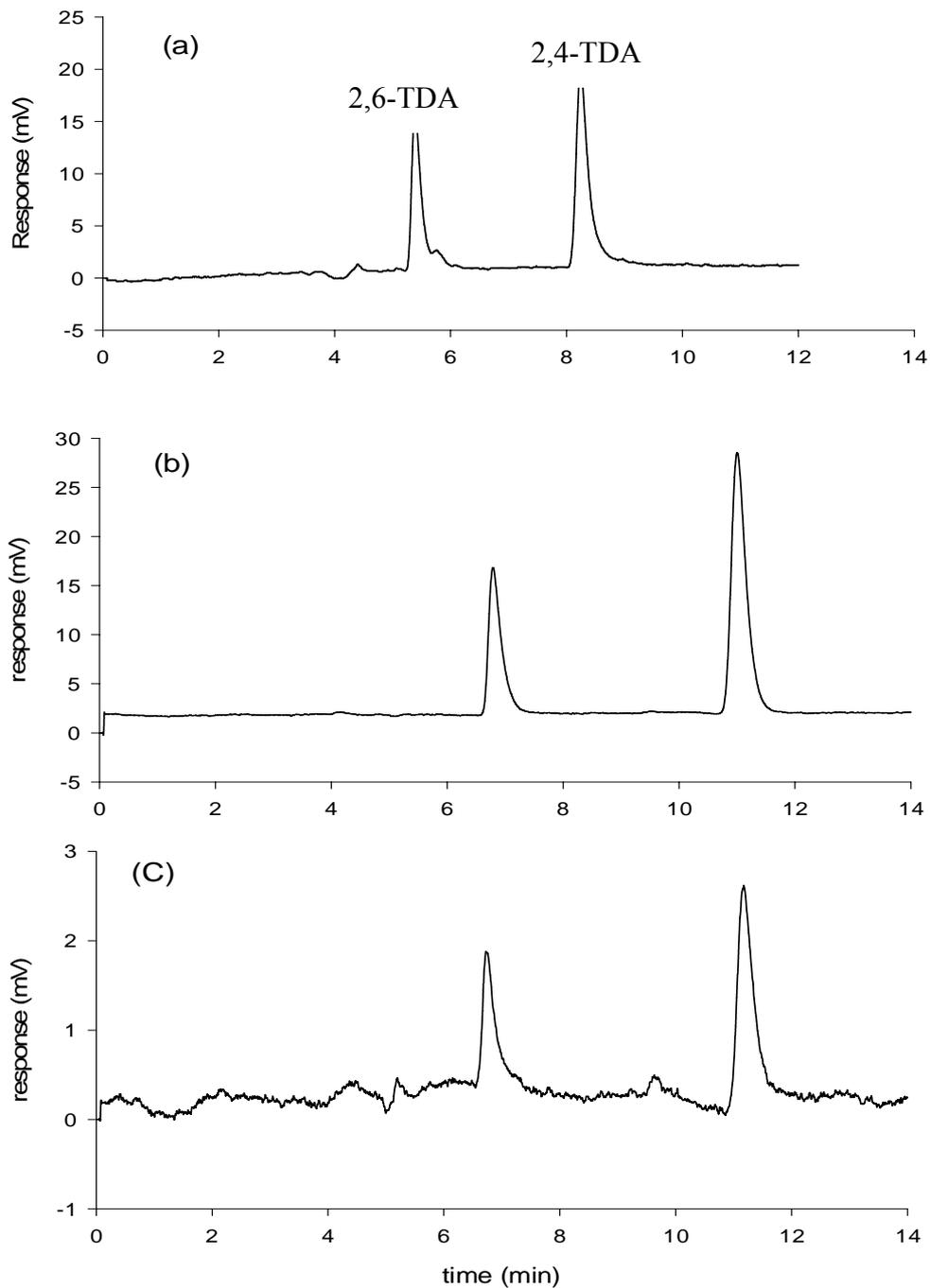


圖2 2,4-TDA與2,6-TDA之HPLC圖譜，激發波長為280 nm，放射波長為380 nm，流速為0.8 mL，移動相組成為96% H₂O (50 mM NaH₂PO₄) +4%ACN+0.05M NaClO₄ (pH=3)。(a)為50 ng/mL TDA標準溶液以Hypersil管柱分離之圖譜，(b)為50 ng/mL TDA標準溶液以Luna管柱分離之圖譜，(c)為5 ng/mL TDA標準溶液以Luna管柱分離所得之圖譜。

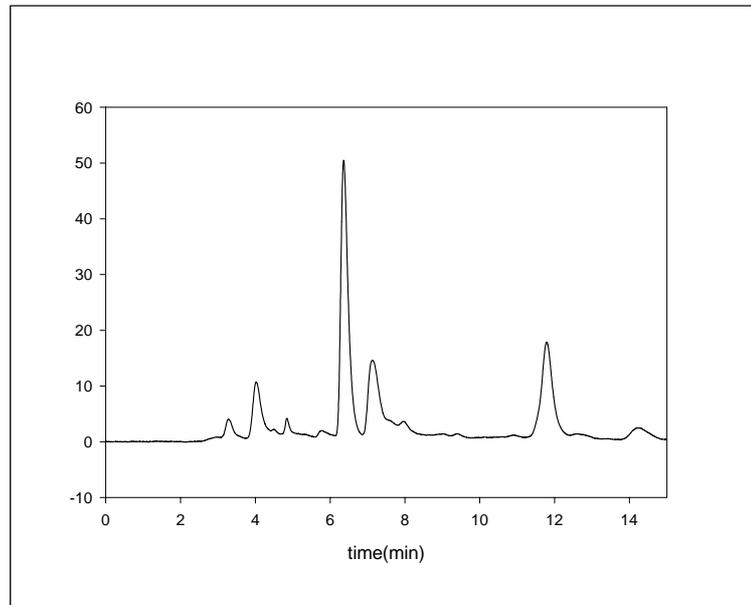


圖 3 真實尿液添加 50 ng/mL TDA 後經前處理後之層析圖

