

生物樣品中有機化合物之分析研究

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：90-IS-08

執行期間：90年1月1日至90年12月31日

計畫主持人：李美貴

共同主持人：

計畫參與人員：

執行單位：工安系

中華民國 91 年 2 月 27 日

嘉南藥理科技大學專題計劃成果報告

生物樣品中有機化合物之分析研究

計劃編號：90-IS-08

計劃類型：個別型

主持人：李美貴

整合型

計劃總主持人：陳連輝

摘要

PGME 有兩種異構物分別為 1M2P 佔 95%及佔 2M1P5%，1M2P 在工業上應用相當的廣泛。由 Miller 研究指出 1M2P 經吸收分布及代謝後，60%是經由呼出 CO₂ 氣體排出，25%是由尿液排出，其中尿液中未活化代謝物 1M2P 存在尿液的比例尚存有 12%。本實驗即以尿液中 1M2P 為生物暴露指標物(BEI)並且利用固相微萃取技術(SPME)為主要的樣品前處理步驟，具有整合萃取及注入分析之裝置等優點。

以 PDMS/DVB 浸入添加 300mgNaCl 的尿液中振盪吸附 30min 後，以 GC/FID 分析之。結果顯示，線性範圍從 0.2~200 ppm，R² 達 0.9953；從尿液、去離子水及混合尿液之檢量線計算各配製濃度之相對回收率均在 80%~120%，應無存在基質效應之問題。而樣品之回收率分析結果平均回收率為 108.3%，穩定性分析結果，除低濃度 0.5 ppm 的 C.V 值為 13.96% 稍微偏高外，其他的 C.V 值皆小於 10%。偵測極限為 0.025 μ g/mL。

一、前言

早期醚醇類常使用在工業中的溶劑、清潔劑和乳化劑以及一般的容器產品中，主要是以單甲基醚乙二醇(EGME)為最常使用的溶劑，由於它的毒性代謝物為甲氧基醋酸(MAA)及乙氧基醋酸(EAA)累積於體內會造成生殖、血液、神經毒性及致畸胎性等潛在性危害；進而使用單甲基醚丙二醇(PGME)取代單甲基醚乙二醇(EGME)。

PGME 有兩種異構物分別為 1M2P 佔 95%及佔 2M1P5%，1M2P 在工業上應用相當的廣泛，如作為覆膜於產品表面上的樹脂溶劑、或墨水成分、乳化劑、油漆、塗料、皮革或織物的染料溶劑，以及應用在水溶性清潔劑等。由於 1M2P 屬醇醚類本身具親水性及親脂性，對皮膚有良好的滲透性，其主要的暴露途徑以空氣中及溶劑接觸皮膚，以及藉吸入方式進入體內。所以可利用生物偵測量測經吸收、分佈及代謝後的物質之體內暴露劑量，作為(1)健康影響的評估(2)作為因果關係的判斷(劑量與反應)(3)輔助作業環境測定暴露安全性的參考(4)協助特殊受暴露對象的鑑認等特點。

1M2P 在生物體代謝情形在過去的動物研究中指出，以吸收劑量來看，60%

是經由呼出 CO₂ 氣體排出，25 % 是由尿液排出，其中尿液中未活化代謝物 1M2P 存在尿液的比例尚存有 12 %，本實驗即以尿液中 1M2P 為生物暴露指標物(BEI) 並且利用固相微萃取技術(SPME)為主要的樣品前處理步驟，具有整合萃取及注入分析之裝置等優點，以 GC/FID 分析之，以建立靈敏度高、準確度好、精密度及再線性佳之分析方法。

二、實驗內容

2.1 藥品

本實驗使用藥品為 1M2P(1-methoxy-2-propanol, 99.5%) 與內標 3MIT(3-methoxy-1-butanol) GC 級，純度為 99.5%，均購自 Aldrich；NaCl (sodium chloride) 為 GR 級，購自 Merck。

2.2 儀器設備及條件

以 Varian CP-3800 型氣相層析儀(GC)連接火燄離子偵測器(flame ionization detector, FID)，並且以 Varian Auto-sampler 8200 型自動注射器連接振盪器使 fiber 自動振盪且注入 GC。GC 所使用之分離管柱為 SUPELCO simplicity-wax 毛細管柱，30m 長 × 0.25mm 管徑，膜厚 0.25 μm。氣相層析儀注入口溫度為 220°C，昇溫條件為起始溫度為 70°C，維持 2 分鐘後，以每分鐘 10°C 上升至 180°C 後停留 1 分鐘，再以每分鐘 10°C 上升至最終溫度 220°C 停留 2 分鐘，全程分析時間為 20 分鐘。載流氣體為高純度氮氣，壓力為 15 psi；燃燒氣體為空氣及氫氣，流速分別為 300 及 30 mL/min。偵檢器溫度為 250°C。

2.3 固相微萃取法裝置及條件

以 SUPELCO 的 Solid Phase Microextraction Holder 57331 連接 SUPELCO 的 Solid Phase Microextraction Fiber，如圖 5，本實驗採取直接萃取法，以自動注射器連接 SUPELCO 的振盪器自動振盪，萃取時間為 30 分鐘，熱脫附時間為 10 分鐘。

三、結果與討論

3.1 披覆固定靜相之種類

對不同種類的 fiber 進行吸附量測試，以 CAR/PDMS 的吸附量最高，CAR/PDMS/DVB 及 PDMS/DVB 兩者次之，而以 PDMS 及 PA 兩者吸附幾乎測不到 1M2P 訊號。主要原因為 1M2P 本身具極性及水溶性相當高的物質，對非極性的 PDMS 及微極性的 PA，無法吸附。最後以 PDMS/DVB 未受其他訊號干擾作為本實驗的 fiber 來進行以下的實驗。

3.1 振盪吸附平衡時間

振盪吸附平衡時間是為了建立 fiber 與樣品基質間的分配平衡而所需要的平衡時間，以 PDMS/DVB 靜相浸入尿液中振盪吸附，最後 30 min 之振盪吸附平衡時間為本實驗的振盪吸附平衡時間。

3.3 脫附溫度

以 PDMS/DVB 靜相振盪吸附 30 min 後注入氣相層析儀脫附，依廠商建議的脫附溫度範圍進行脫附。結果顯示，脫附溫度與吸附量無關，顧及 fiber 使用壽

命，因此以 220°C 作為本實驗氣相層析儀的脫附溫度。

3.4 鹽類效應

添加鹽類可增加離子強度使不會解離的有機物在樣品中溶解度降低，強迫進入 fiber 中被吸附，提高萃取效果。結果顯示，待測物吸附量會隨著 NaCl 的增加而增加，最後選擇相當於飽和的 300 mg NaCl 過量添加至樣品尿液中來增加 fiber 吸附量作樣品分析。

3.5 分析方法的適用性

以 1M2P 與內標之波峰面積比建立之檢量線，其線性範圍從 0.2 ~ 200 ppm 可呈線性關係相當好， R^2 達 0.9953，且變異小穩定性高。為了解尿液樣品之基質效應 (matrix effect) 是否會造成分析上的干擾，以尿液、去離子水及混合尿液之檢量線計算各配製濃度之相對回收率，此三種基質配製之檢量線求得回收率皆達 80 % 以上，且計算得到的濃度均在 80 % ~ 120 %，所以在本實驗應無存在基質效應之問題。

以尿液配製之檢量線計算推得樣品之回收率分析結果，其中所得之回收率在 90 ~ 120 % 間，平均回收率為 108.3 %。穩定性分析結果，除低濃度 0.5 ppm 的 C.V 值為 13.96 % 稍微偏高外，其他的 C.V 值皆小於 10 %，穩定性良好。偵測極限為 0.025 $\mu\text{g/mL}$ 。

四、結論

本研究使用 SPME 具有的取樣、萃取、濃縮及導入分析物於一個單一步驟中之裝置，以及高靈敏度、再線性佳等優點，來分析尿液中未活化代謝物 1M2P。首先我們確定了 PDMS/DVB 披覆靜相以 30 分鐘的振盪吸附在添加 300 mg NaCl 在尿液中進行吸附平衡可達最佳萃取效果。以尿液、去離子水及混合尿液之檢量線計算各濃度之相對回收率，皆達 90% 以上，因此本實驗無基質效應之問題。以方法適用性的評估而言，1M2P 檢量線 R^2 達 0.995 以上、平均回收率為 108.3% 以、偵測極限達 0.025 $\mu\text{g/mL}$ 及穩定性除低濃度外 C.V 稍微偏高，其餘穩定性良好，皆小於 10%。由以上結果可知，以 SPME 為樣品前處理，減少繁瑣的步驟、分析時間及分析物流失，且達高靈敏度、再線性佳，使偵測極限可達到 ppb。