

勞動部勞動及職業安全衛生研究所標準分析參考方法

2106 二氯聯苯胺

分子式：C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 分子量：253.13	3,3'-Dichlorobenzidine 參考資料：NIOSH 5509 (5/15/85) 編輯日期：05/25/92
容許濃度標準(TLV) OSHA：致癌物 NIOSH：致癌物〔1,2〕 ACGIH：沒有容限值，致癌物(皮膚) 勞委會：致癌物	基本物性： 固體，熔點 132°C
化合物別名：3,3-dichlorobenzidine；3,3-dichloro [1,1'-biphenyl]-4,4'diamine；CAS#91-94-1	
採 樣	分 析
採樣介質：13mm 玻璃纖維濾紙 + 矽膠管 (50 mg)(見圖 1) 流速：200 mL/min 採樣量：— 最小：20 L @ 10 µg/m <sup>3</sup> — 最大：100L；於 30°C， 80RH 下最大採樣體積為 12L 樣品運送：於乾冰下運送 樣品穩定性：12 天 @ 23°C [3] 現場空白樣品：樣品數之 10%	儀器：HPLC/UV 分析物：benzidine 或 3,3'-dichlorobenzidine 脫附：1.0mL 0.17% (v/v) triethyl- amine in methanol； 靜置 60 分 注射量：15µL 移動相：60% methanol/40% water 流 速：0.8 mL/min；常溫下 管柱：µBondapak C18, 10-µm particles, 30 cm × 4 mm 標準樣品：分析物溶於添加內標定品之脫附劑
準 確 度	檢量線範圍：0.5~4.5µg/樣品 預估偵測極限：0.05µg/mL [3] 分析精密度偏差(CV <sub>1</sub> )：≤0.7% [3]
範圍：(2)20-130µg/m <sup>3</sup> [3] 偏差：未測定	

全精密度偏差(CV <sub>r</sub> ) : 0.07 [3]
適用範圍：50L 的空氣樣本，其有效分析濃度範圍約 4-200µg/m <sup>3</sup> 空氣中之 3,3'-dichlorobenzidine dihydrochloride，會於樣品配製時，轉變成 3,3'-dichlorobenzidine。
干 擾：在測定 4,4'-Methylene vbis(2-chloroaniline)也對 3,3'-dichlorobenzidine 之分析造成干擾。使用 Waters 的 Radial Pak A 管柱或其它相當之管柱，並參考文獻 [4]之步驟，即可克服部分干擾。一些化合物對本測定方法並不會造干擾[3,4]。(見備註 1，步驟 6.4)。
其他方法：本方法之替代方法有 P& CAM 243 與 P& CAM 246 [5]

## 1. 試藥

- 1.1 脫附劑:Methanol 含 0.17% (v/v) triethylamine 內標定品。
- 1.2 Methanol, HPLC 級.
- 1.3 Triethylamine.
- 1.4 去離子水.
- 1.5 3,3-Dichlorobenzidine \*\*

\*\* 3,3-dichlorobenzidine 為疑似致癌物質[1]，應採適當之防護措施，以避免個人或區域之污染。

## 2. 設備

- 2.1 捕集設備:13mm 玻璃纖維濾紙 + 矽膠管 50mg。
- 2.2 個人採樣泵流量:約 200 mL/min。
- 2.3 高效率液相層析儀:備有 UV 偵測器,積分器,以及管柱。
- 2.4 2mL 玻璃小瓶(vials),備有聚氟乙烯的誘 1。
- 2.5 25µL 注射針筒。
- 2.6 0.5mL 吸管和吸球。
- 2.7 10 和 100ml 量瓶。
- 2.8 離心機。
- 2.9 試管振盪機。

## 3. 採樣

- 3.1 個人採樣泵連結濾紙匣(內含濾紙)和矽膠管，進行流量校正，見採樣通則。
- 3.2 以正確且已知的流量，採集空氣。採樣泵流速約 200 mL/min，採樣量為 20-100 L。
- 3.3 以誘 1 密封採樣介質。
- 3.4 在乾冰或-15°C 運送及儲存。

## 4. 樣品製備

- 4.1 打開矽膠管塑膠蓋，將 PTFE 環、鐵絲網與矽膠放入同一 2mL 的玻璃小瓶中；打開濾紙匣，將濾紙放入另一個 2mL 的玻璃小瓶中。
- 4.2 每一玻璃小瓶中，加入 1.0mL 的脫附劑，立即誘 W 瓶豪疇 H 錫箔紙包裹玻璃瓶以防光照。若使用棕色玻璃瓶則可不加錫箔紙。
- 4.3 於 0°C 下靜置 1 小時，偶爾搖動。
- 4.4 離心 10 分鐘。
- 4.5 儀器分析時，若使用自動送樣器(autosampler)，有時為保護其注射針則可把含矽膠/鐵絲網/PTFE 環之玻璃瓶內的溶液，先行汲取至另一個小瓶中(棕色或裹錫箔紙)再進行分析。

## 5. 檢量與品管

### 5.1 檢量線製定

5.1.1 見檢量與品管通則。

5.1.2 加已知量的標準品于盛有脫附劑的 10mL 量瓶中，再稀釋至其刻度。濃度範圍 3,3'-dichlorobenzidine 為 0.05~7  $\mu$ g/mL。配製不同濃度之標準溶液至少 5 瓶。

5.1.3 將樣品與空白樣品一起分析。

5.1.4 以分析物的波峰面積與內標準品之波峰面積之比值對分析物的濃度，繪製檢量圖。

### 5.2 脫附效率

5.2.1 見脫附效率通則。

5.2.2 以微量注射器取適量的分析物，分別直接注入濾紙上及採樣管內。添加量 3,3'-dichlorobenzidine 為 0.2~7  $\mu$ g。

5.2.3 以塑膠錫箔紙及石臘膜封管，冷藏靜置過夜。

5.2.4 以脫附劑脫附後進行分析。

## 6. 儀器分析

### 6.1 儀器分析條件

---

條件

---

儀器	600E HPLC/UV (Waters)
管柱	$\mu$ Bondapak C18
流速 (mL/min)	0.8
溫度( °C )	常溫

---

### 6.2 大約滯流時間(retention time)

---

化合物 分鐘

---

methanol 3.45  
triethylamine 8.48  
toluene\* 12.19  
3,3-dichlorobenzidine 13.60

---

\*Tolulene 為內標定品

### 6.3 脫附效率\*

化合物	相當採樣量 (L)	脫附濃度 (ug/mL)	脫附效率 (%)	CV <sub>1</sub> (%)
dichorobenzidine#	25-100	1.00-4.00	103.31	4.47

\* 採樣介質為 SKC 批號 226-10 矽膠管。

# 採樣介質為 13mm 玻璃纖維濾紙，SKC 批號 225-16。

6.4 注射樣品本進入液体層析儀,使用自動注射器或採用溶劑沖刷

注射技術(solvent flush injection technique)—25 μL 之注射器先以溶劑沖刷數次濕潤針管與活塞,針頭浸入樣品中吸入 10 μL 樣品。

6.5 面積計算:以電子積分器或其他適當之面積計算方法,分析結果自檢量線上求出.

備註 1:Benzidine, aniline, N-mlethylaniline, 2-tolidine 及 3,3'-dimethylbenzidine 對 3,3'-dichlorobezidine 之分析不會造成干擾。

## 7. 計算

7.1 濃度計算:

$$C = \frac{(W_f - B_f + W_b - B_b) \times 10^3}{V}$$

C : 濃度( μg/m<sup>3</sup>)

V : 氣體採樣體積(L)

W<sub>f</sub> : 前段濾紙所含之分析物濃度( μg/mL)

W<sub>b</sub> : 後段矽膠管所含之分析物濃度( μg/mL)

B<sub>f</sub> : 現場空白樣品前段的算術平均濃度( μg/mL)

Bb：現場空白樣品後段的算術平均濃度( $\mu\text{g/mL}$ )

註:如  $W_b > W_f / 10$  即表破出，樣品可能有損失。

## 8. NIOSH 5509 分析方法

8.1 本分析方法是延革下列諸方法而成,P&CAM 243 and P&CAM 246 [ 5 ] .

### 8.2 儀器分析條件

---

方 法 : HPLC/UV

分析物 : (1) benzidine, (2)3,3'-dichlorobenzidine.

脫 附 : 0.5mL 0.17% (v/v) triethylamine in methanol;

靜置 60 分鐘.

注射量 : 10  $\mu\text{L}$

移動相 : (1)60% methanol / 40% water

(2)70% acetonitrile/30% $\text{H}_2\text{O}$

流 速 : 1.5 mL/min;常溫

檢測器 : UV,254 nm

管 柱 :  $\mu$  Bondapak C18, 10-  $\mu\text{m}$  particles,

30 cm  $\times$  4 mm

---

### 8.3 方法評估

NIOSH 5509 方法評估是以 20-130  $\mu\text{g/m}^3$  之 3,3'-dichlorobenzidine 標準氣體，於 30  $^{\circ}\text{C}$ ,80%相對濕度下做測試。採樣流速是 0.8 L/min。對 28 個 3,3'-dichlorobenzidine 之測試樣品。其全精密度均為( $\text{CV}_T$ )0.07。相對濕度及溫度對採樣方法的影響並不顯著 [3]。3,3'-dichlorobenzidine 及其 dihydrochloride 其濾紙及矽膠管為分於 15 $^{\circ}\text{C}$  及室溫下貯存，於 21 天內，其回收率為仍 $\geq$ 88%。

## 8.4 其他驗證分析方法

### 8.4.1 dichlorobenzidine

	測試 1*	測試 2*
儀器	HPLC (Shimadzu 9A)	HPLC (HP)
管 柱	Lichrosphere RP-18 (Merck)	Waters $\mu$ Bondapak C18
移動相	60% MeOH/40% $\text{H}_2\text{O}$	60% MeOH/40% $\text{H}_2\text{O}$
流速	1.0 mL/min	1.0 mL/min
偵測器	UV, 254 nm	UV, 254 nm
注射量	20 $\mu\text{L}$	20 $\mu\text{L}$

平均脫附效率	101.39%	95.51%
平均 CV <sub>1</sub> 值	2.71%	7.4%

\* 濾紙測試結果

※本實驗曾進行濾紙+矽膠管，抽氣組與非抽氣組比較，即將 1/2~2TLV 濃度之檢量儲存溶液添加於濾紙上，測試濾紙之脫附效率為未抽氣組，將 1/2~2TLV 濃度之檢量儲備溶液添加於濾上，並於連接採集矽膠管後進行抽氣為抽氣組，經實驗室顯示，經 200mL/min 抽氣四小時後，濾紙之回收率仍可達 91%，而矽膠管部分，則因濃度均低於偵測下限，故無法測得由濾紙部份損失之分析物濃度。

9. 高濕環境下破出測試與樣品貯放穩定性測試

本方法評估是以  $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$  之 Benzidine 標準氣體，於  $30^\circ\text{C}$ ，80%相對濕度下做測試，以流速 200 mL/min 之高濕 Benzidine 標準氣體通過矽膠管，在 60 分鐘內有破出現象產生，在 50 mg 之矽腔管是用來捕集穿透前段濾紙之蒸氣，在本測試中是單獨對矽膠管之破出進行測試，前段來接 13mm 採集濾紙，當  $0.75 \mu\text{g}$  的 Benzidine 添加於玻璃纖維濾紙上，並冷藏貯存於其 10 天內其回收率為 90%，但經 15 天後，其回收率則降至 85%， $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$  之 Benzidine 高濕標準氣體採集 40 分鐘後，冷藏貯存，於 15 天後其回收率為 75%。

10. 文獻

- [1] Carcinogenicity and Metabolism of Azo Dyes, Especially Those Derived from Benzidine, NIOSH Technical Report, U.S. Department of Health and Human Services, Publ. (NIOSH) 80-119 (1980).
- [2] NIOSH/NCI, Current Intelligence Bulletin 24, Benzidine-Derived Dyes, U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Publ. (NIOSH) 78-148 (1978).
- [3] Morales, R., S. M. Rappaport, R. W. Weeks, Jr., E. E. Campbell, and H. J. Ettinger. Development of Sampling and Analytical Methods for Carcinogens, January 1-September 30, 1976, Los Alamos Scientific Laboratory, Los Alamos, NM (1977) available as No. LA-7058-PR, from NTIS, Springfield, VA 22161.
- [4] Kennedy, E. R. and M. J. Seymour. ACS Symposium Series, No. 149, Chemical Hazards in the Workplace-Measurement and Control, 21-35, American Chemical Society, Washington, DC (1981).
- [5] NIOS Manual of Analytical Methods, 2nd ed., vol. 1, P& CAM 243 and P& CAM 246, U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Publ. (NIOSH) 77-157-B (1977). 方法校訂參考：M. J. Seymour, NIOSH/DPSE.

測試撰寫人：陳雅慧、歐芬芳、張火炎、楊淑瑤

驗證人：黃榮茂、林光烈、張恆諄、郭錦堂

圖 1 兩段式採樣器(13mm 玻璃纖維濾紙+50mg 矽膠管)

二氯聯苯胺

採樣及分析流程圖

