

勞動部勞動及職業安全衛生研究所標準分析參考方法

2101 鄰二甲基對二氨基聯苯及其鹽類

<p>分子式：NH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(CH<sub>3</sub>)NH<sub>2</sub></p> <p>分子量：724.74</p>	<p>O-Tolidine</p> <p>參考資料：NIOSH 5013 (5/15/85)</p> <p>編輯日期：1/19/91</p>
<p>容許濃度標準(TLV)</p> <p>OSHA：無</p> <p>NIOSH：無</p> <p>ACGIH：無</p> <p>勞委會：無</p>	<p>基本物性：</p> <p>粉末，水溶性，蒸氣壓不顯著</p>
<p>化合物別名：Benzopurpurine 4B，CAS#992-59-6</p>	
<p>採 樣</p>	<p>分 析</p>
<p>採樣介質：濾紙(37mm，5μm 濾紙)</p> <p>流速：1~ 3 L/min</p> <p>採樣量：— 最小：150L @0.1 mg/m<sup>3</sup></p> <p>— 最大：500L</p> <p>樣品運送：保持在乾冷的環境下，避免光照</p> <p>樣品穩定性：25°C,黑暗中至少可保持 7 天</p> <p>現場空白樣品：樣品數的 10%(&gt;2)</p>	<p>方法：HPLC / UV</p> <p>分析物：o-tolidine</p> <p>脫附：2 mL 甲醇，超音波振盪</p> <p>反應：以 Sodium hydrosulfite 將分析物還原成 free-amine</p> <p>注射量：10μL</p> <p>管柱：250mm×4mm ID，</p> <p>Merck Lichrosphere RP-18，粒徑 5 μm</p>
<p>準 確 度</p>	<p>偵測器：UV，254nm</p>
<p>範圍：未測定</p> <p>偏差：未知</p> <p>全精密度偏差(CV<sub>T</sub>)：未評估</p>	<p>移動相：60% methanol /40% phosphate buffer；</p> <p>45°C，(0.7mL/分)</p> <p>標準樣品：o-tolidine 溶於甲醇</p>

	檢量線範圍：15-250 $\mu$ g／每個樣品  預估偵測極限：未測定  分析精密度偏差(CV <sub>1</sub> )：1.6%~4.0%
適用範圍：  本分析法祇針對鄰二甲基對二噁基聯苯之染料[o-tolidine-base dye，別名 benzopurine 4B CAS#992-59-6，分子式 C <sub>34</sub> H <sub>26</sub> N <sub>6</sub> S <sub>2</sub> O <sub>6</sub> Na <sub>2</sub> ]作測定分析，若要對鄰二甲基對二氨基聯苯(o-tolidine)做採樣測定，最好請參考 NIOSH benzidine 之採樣及分析方法，其在濾指上和矽膠管中之脫附效率並沒有測定。本方法的實驗範圍係對 250L，0.06-8mg/m <sup>3</sup> 的空氣樣品做測定，本方法無法區分不同染料上之 o-tolidine，因在分析時分析物已被還成 o-tolidine。	
干擾：Aniline, azobenzene, p-aminophenol, p-phenylenediamine or p-nitroaniline 不會干擾測定。	
其他方法：其它替代分析方法有 OSHA IMI 2450, IMP 225-36-2 和 IT 225-22。	

## 1. 試藥

1.1 分析物：o-Tolidine, 層析級

1.2 移動相：HPLC 移動相 buffer:

以水將 3.39 g 的 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>和 4.30 g 的 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>稀釋成 1L。每日製備。

1.3 純水。

1.4 標準溶液：以甲醇將 o-tolidine 稀釋成 10mL，在 4°C 下可保持一個月。

1.5 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

1.6 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

1.7 甲醇 HPLC 級

1.8 Reduction buffer:

將 1.179 g 的 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>和 4.30 g 的 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>用水稀釋成 1L。每日製備。

1.9 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

1.10 Reducing solution :

將 200mg 的 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>以適量的 Reduction buffer 稀釋成 10mL,於使用前立即配製。

\* o-tolidine 有致癌性之虞，應小心處置。

## 2. 設備

2.1 捕集設備：PTFE 薄膜濾紙，5  $\mu$ m，37mm 及運送濾紙之濾紙匣。

2.2 個人採樣泵：流速約 1 ~ 3 mL/min。

- 2.3 HPLC;280-nm UV detector;積分儀;管柱。
- 2.4 1 mL 的定量吸管。
- 2.5 鑷子。
- 2.6 有栓的試管 (10mm  $\varphi$  ×120mm)。
- 2.8 10, 25, 50  $\mu$ L 之注射針筒或備有自動注射器。
- 2.9 10;100 mL 及 1 L 的量瓶。
- 2.10 超音波振盪水槽。

### 3. 採樣

3.1 個人採樣泵連結濾紙。進行流量校正,

3.2 以正確且已知的流量，採集空氣。採樣泵流量是介 1~3L/min，總採集空氣量約為 150~500L。

### 4. 樣品準備

4.1 用乾淨的鑷子將濾紙從濾紙匣中取出，並將濾紙面朝內摺疊後置入 10 mL 的試管中。

4.2 加入 1 mL 的甲醇使濾紙濕潤。

4.3 再加入 1mL 的甲醇，並搖動試管。

4.4 以超音波振盪萃取法將試管振盪 5 分鐘後，去除管內氣泡再度振盪 5 分鐘。

4.5 取 1.0mL 的萃取物入 10mL 的試管中。

4.6 加入 1mL 的 reducing solution 。

4.7 將反應後的試管離心(3000 回轉速度,5 分鐘)。

4.8 取 1.0mL 的上清液入 5mL 的小瓶中。

4.9 蓋上瓶蓋進行分析。

### 5. 檢量與品管

5.1 檢量線制定

5.1.1 見檢量與品管通則

5.1.2 加已知量的標準品於盛有甲醇(脫附劑)的 10 mL 量瓶中，再稀釋至其刻度。濃度範圍約為 2.90-91.042  $\mu$ g/mL，應配 5 種製不同濃度之標準溶液測定分析，以建立檢量線。

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對分析物的濃度，繪製檢量圖。

5.2 脫附效率

5.2.1 以微量注射器取適量的分析物，直接滴於濾紙上。

5.2.2 濾紙匣加蓋後，靜置過夜。

5.2.3 以脫附劑脫附後，進行分析。

5.2.4 以脫附效率(DE)相對於分析物回收毫克數繪置圖形。

### 5.3 品質管制

5.3.1 見檢量與品管通則。

## 6 儀器分析

### 6.1 儀器分析條件

---

條 件

---

儀器 HPLC /UV

管柱 Merck LiChrosphere , RP-18250mm\*4mmID , 5  $\mu$  m.

移動相 60%甲醇及 40% Phosphate Buffer

流速 (mL/min) 0.7 mL/min

溫度 (°C) 45°C

---

### 6.2 大約滯留時間 (retention time)

---

化 合 物分鐘

---

methanol3.33

o-tolidine5.83

---

### 6.3 脫附效率\*

化 合 物	相當採樣量 (L)	脫附濃度 (mg/mL)	脫附效率 (%)	CV <sub>1</sub> (%)
O-tolidine	150-500	10.93~43.70	87.70	1.64

\*PTEF , 5  $\mu$  m 37mm ID , (LOT 807808) 濾紙 (Gelman Sci.)。

6.4 注射樣品 10uL 進入 HPLC , 使用自動注射器或採用溶劑沖刷注射技術(solvent flush injection technique)- 10uL 之注射器先以溶劑沖刷數次濕洗針管與活塞 , 取 3uL 溶劑後 , 吸入0.2uL 空氣,以分開溶劑與樣品,針頭再浸入樣品中析入 2uL 樣品後 , 在空氣中後退 1.2uL , 以減少針頭樣品蒸發之機會 , 檢視注射針之針管樣品佔 1.9~2.1mL。

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

求出。

## 7. 計算

### 7.1

$$C = \frac{(W - B)}{V} \text{ mg/m}^3$$

C=計算濃度(mg/m<sup>3</sup>)

V=採集氣體量(L)

W=分析物濃度(ug/mL)

B=現場空白樣品(ug/mL)

## 8. NIOSH5013 分析方法評估

8.1 本分析方法是總合下列諸方法而成:OSHA 2450,IMP 225-36-2 和 IT 225-22。

### 8.2 儀器分析條件

方法:HPLC/UV

脫附: 2mL H<sub>2</sub>O,超音波振盪

反應:以 sodium hydrosulfite 將分析物還原成 free-amine

注射量: 10uL

管柱:10cm×8mmID;water Radial-pak C18,10 μ m particles,with Radial compression

Module or equivalent.

偵測器:UV ,280nm.

移動相:60%甲醇/40% phosphate buffer;任何溫度

標準樣品:分析物溶於甲醇

範圍:15~250ug/mL.

預估偵測極限:3ug/樣品

分析精密度偏差(CV<sub>1</sub>):4%~8%

### 8.3 NIOSH 5013 方法評估

NIOSH 5013 方法是以 16.7~334ug/樣品之樣品做評估，經還原後的 dye 之殘留量約圍 0~6%

### 8.4 其它驗證分析方法

	測試 1*	測試 2**
儀器	HPLC	HPLC

管 柱	Merck Lichrospherere · RP18 250×4mm,5µm	Merck Lichrospher · RP18 250×4mm,5µm
移動相	60% methanol 40% phosphate buffer	60% methanol 40% phosphate buffer
流速	0.7mL/min(170bar)	0.8mL/min
偵測器	UV(254nm)	UV(254nm)
平均脫附效率	87.19%	94.63%
平均 CV <sub>1</sub> 值	4.65%	4.19%

## 9. 文獻

- [1] Special Occupational Hazard Review for benzidine-based Dyes.U.S.Department of Health,Education, and Welfare , Publ. (NIOSH)80- 109 (1979) 。
- [2] Preventing Health Hazards from Exposure to Benzidine Dyes,U.S.Department of Health and Human Services.,publ.(NIOSH) 83-105 (1983).
- [3] User check ,Wisconsin Occupational Health Laboratory (NIOSH,unpublished,September 27 ,1984).
- [4] NIOSH Manual of Analytical Methods,2nd ed.,Vol .6,p&CAM 325,U.S.Department of Health and services ,Publ. (NIOSH) 80-125 1980.
- [5] Kennedy ,Eugene R.and Martha J.Seymour.Development of an analytical Methodfor Benzidine-Based Dyes,Chemical Hazards in the workplace measurement andPreventing Health Hazards from Exposure to Benzidine Dyes,U.S.Department of Health and Human Services.,publ.(NIOSH) 83-105 (1983).21-35(1981).
- [6] NIOSH Manual of Analytical Methods,2nd ed.,Vol .1,p&CAM 234,User check ,Wisconsin Occupational Health Laboratory (NIOSH,unpublished,U.S.Department of Health and services ,Publ. (NIOSH) 77-157-A (1977)
- [7] NIOSH/NCI Current Intelligence Bulletin 24, Benzidine-Derived Dyes,U.S.Department of Health,Education, and Welfare , Publ. (NIOSH)78-148(1978)
- [8] 勞工作業環境空氣中有毒物質容許濃度標準，行政院勞工委員會，民國 77 年 6 月。

方法定參考:

Eugene R.Kennedy,PH.D.,Martha J.Seymour and Charles E.Neumeister,NIOSH/DPSE

測試撰寫人:郭錦堂

驗證人:張火言.歐芬芳.張恆諄

含鄰二甲基對二氨基聯苯之染料  
採樣及分析流程圖

