

行政院勞工委員會採樣分析建議方法

2101

聯苯胺及二氯聯苯胺

Benzidine and
3,3'-Dichlorobenzidine

容許濃度
勞委會：致癌物
OSHA：致癌物
NIOSH：致癌物
ACGIH：沒有上限值，致癌物（皮膚）
基本物性：
固體，熔點127°C，沸點400°C

參考資料：NIOSH 5509 (8/15/94) [1]

分子式： $C_{12}H_{12}N_2$
 $C_{12}H_{10}N_2Cl_2$
分子量：184.23 253.13

別名：
benzidine:[1,1'-biphenyl]-4,4'-diamine;
p-diaminodiphenyl; CAS No. 92-87-5, RTECS
No. DC9625000
3,3'-dichlorobenzidine: 3,3'-dichloro [1,1'-
biphenyl]-4,4'-diamine; CAS No.91-94-1

固體，熔點132°C

採	樣	分	析
採樣介質：13 mm 玻璃纖維濾紙+ 矽膠管(50 mg)(見圖1)		方 法：HPLC/UV	
流 率：200 mL/min		分析物：benzidine或3,3'-dichlorobenzidine	
採樣體積—最小 20 L @ 10 μ g/M ³ 最大 100 L：於30°C		脫 附：1.0mL 0.17% (v/v) triethylamine in methanol；靜置60 min	
80 RH 下最大採樣體積為12L		注射量：10 μ L 15 μ L	
樣品運送：於乾冰下運送		移動相：60% methanol/40% water	
樣品穩定性：11天 @ -15°C		流 率：0.8 mL/min；常溫下	
12天 @ 23°C		管 柱： μ Bondapak C18, 10- μ m particles, 30 cm x 4 mm	
現場空白樣品：樣品數之10%或二個以上。		偵檢器：UV, 254 nm	
準 確 度 [1]		標準樣品：分析物溶於添加內標定品之脫附劑	
範圍：21-63 μ g/M ³		檢量線範圍：0.14-2.1 μ g/mL	
20-130 μ g/M ³		0.05~7 μ g/mL	
偏差：3.0% 4.0%		可量化最低濃度：0.05 μ g/mL [3]	
總變異係數(CVT)：70% 7.0%		分析變異係數(CVa)：≤ 7%	
準確度：13.7% 15.2%			

適用範圍：50 L的空氣樣本，其有效分析濃度範圍約4-200 μ g/M³，樣品配製時，空氣中之benzidine及3,3'-dichlorobenzidine dihydrochloride 轉變成benzidine及3,3'-dichlorobenzidine。

干 擾：在測定benzidine 時，會受aniline 干擾，但可會還原[6]。4,4-methylene bis (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[6] 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成干擾[5,6]。(見備註1，步驟6.4)。

安全衛生注意事項：聯苯胺危害性分類為第六類6.1組毒性物質
聯苯胺(benzidine)是已被確認為人體致癌物質，能經由皮膚吸收[3,4]。使用時，需採用適當的預防方法，以避危害個人和區域受污染。它是白色或微紅色固體，暴露於空氣或照光後顏色變深。二氯聯苯胺(3,3'-dichlorobenzidine)為疑似致癌物質[3]，應採適當之防護措施，以避危害個人或區域受污染。

1. 試藥

- 1.1 脫附劑：甲醇(methanol)含0.17% (v/v)三乙胺(triethylamine)，另加甲苯為內標物。
- 1.2 分析物：聯苯胺、二氯聯苯胺
- 1.3 methanol：HPLC級。
- 1.4 triethylamine。
- 1.5 去離子水。

2. 設備

- 2.1 捕集設備：13 mm 玻璃纖維濾紙+矽膠管(50mg)，見通則之採樣介質。
- 2.2 個人採樣泵流率：約 200 mL/min。
- 2.3 液相層析儀：備有紫外光偵檢器 (UV)、積分器，以及管柱。
- 2.4 2 mL玻璃小瓶，備有聚四氟乙烯 (PTFE) 內襯的蓋子。
- 2.5 0.5 mL定量吸管和吸球。
- 2.6 25 μ L之注射針筒。
- 2.7 10,100 mL量瓶。
- 2.8 離心機。
- 2.9 超音波振盪器。
3. 採樣
 - 3.1 個人採樣泵連結濾紙匣 (內含濾紙) 和矽膠管，進行流率校正，見通則之採樣。
 - 3.2 以正確且已知的流率，採集空氣。採樣泵流率為 200 mL/min，應採集的空氣體積約20~100 L。
 - 3.3 密封採樣介質。
 - 3.4 以乾冰或在-15°C 以下運送及儲存。
4. 脫附效率測定與樣品脫附
 - 4.1 脫附效率測定
 - 4.1.1 見通則之脫附效率。
 - 4.1.2 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。添加量聯苯胺為0.35~1.4 μ g，二氯聯苯胺為 1~4 μ g。
 - 4.1.3 以塑膠蓋，錫箔紙及石蠟膜封管，冷藏靜置過夜。
 - 4.1.4 以脫附劑脫附後進行分析。
 - 4.2 樣品脫附
 - 4.2.1 打開矽膠管塑膠蓋，將PTFE環、鐵絲網與矽膠放入同一 2 mL 的玻璃小瓶中；打開濾紙匣，將濾紙放入另一個 2 mL 的玻璃小瓶中。
 - 4.2.2 每一玻璃小瓶中，加入 1.0 mL 的脫附劑，立即蓋上瓶蓋並以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。
 - 4.2.3 於冰水浴 (0°C) 靜置 1 小時，偶爾搖動。
 - 4.2.4 離心 10 分鐘。
 - 4.2.5 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. 檢量線製作與品管
 - 5.1 檢量線製作
 - 5.1.1 見通則之檢量線製作與品管。
 - 5.1.2 加已知量的標準品於盛有脫附劑的 10mL 量瓶中，再稀釋至其刻度。濃度範圍聯苯胺約為 0.14~2.1 μ g/mL，二氯聯苯胺為 0.05~7 μ g/mL。
(註：至少應配製 5 種不同濃度，以建立檢量線。)
 - 5.1.3 將標準溶液與試藥空白樣品一起分析。
 - 5.1.4 以分析物的波峰面積 (或高度) 對分析物的濃度，繪製檢量線。
 - 5.2 品質管制
 - 5.2.1 見通則之檢量線製作與品管。
6. 儀器分析
 - 6.1 儀器分析條件

儀器	HPLC/UV
管柱	30 cm× 4 mm ID, μ Bondapak C18
移動相	60% / 40% (v/v) 甲醇 / 水
流率	0.8 mL/min
偵測波長	254 nm
注射體積	10 μ L (聯苯胺) 10 μ L (二氯聯苯胺)

註：以Waterss 600E為例，亦可使用其它廠牌同級之儀器，但分析條件需另訂之。

6.2 大約滯留時間(retention time)

化合物	滯留時間 (分鐘)
甲醇 (methanol)	3.5
聯苯胺 (benzidine)	4.9
三乙胺 (triethylamine)	8.5
甲苯 (toluene*)	12.2
二氯聯苯胺(3,3'-dichlorobenzidine)	13.6

* 甲苯為內標物

6.3 脫附效率 *

化合物	相當採樣體積 (L)	脫附濃度 (μ g/mL)	脫附效率 (%)	分析變異係數 CVa (%)
聯苯胺(benzidine)	25-100	0.35-1.40	96.9	8.6
二氯聯苯胺 (3,3'-dichlorobenzidine)#	25-100	1.00-4.00	103.3	4.5

*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 注射樣品進入液相層析儀。

6.5 以電子積分器或其他適當方法計算之面積 (或高度)，分析結果自檢量線上求出。

備註 1：若存在 o-, p- and m-chloroaniline; 4,4'-methylenedianiline β -naphthylamine. 2-chloro-4-methylaniline; 3,3'-dichlorobenzidine; 4,4'-methylene bis (2-chloroaniline); hydrazobenzene; and 1, 2- and 1,4-naphthoquinone等化合物時，將不會對benzidine的測定造成影響 [5]。benzidine, aniline, N-methylaniline, 2-toluidine及3,3'-dimethylbenzidine對 3,3'-dichlorobenzidine之

分析不會造成干擾。

7. 計算

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

C : 空氣中有害物濃度($\mu\text{g}/\text{M}^3$)

V : 採樣氣體體積(L)

W_f : 前段濾紙所含之分析物質量(μg)

W_b : 後段矽膠管所含之分析物質量(μg)

B_f : 現場空白樣品前段的算術平均質量(μg)

B_b : 現場空白樣品後段的算術平均質量(μg)

註：如(W_b)(W_f/10)即表破出，樣品可能有損失。

8. 方法驗證

8.1 聯苯胺(benzidine)

	測 試 1 *	測 試 2 *
儀 器	HPLC (Shimadzu 9A)	HPLC (HP 1050)
分析條件	Lichrosphere RP-18 (Merck)	μ Bondapak C18 (Waters)
管 柱	50% CH ₃ OH/ 50% H ₂ O	60% CH ₃ OH/ 40% H ₂ O
移 動 相	1.0 mL/min	0.8 mL/min
流 速	UV, 254 nm	UV, 254 nm
偵 測 器	20 μ L	20 μ L
注 射 量	100.4%	101.0%
平均脫附效率	3.9%	4.1%
CV _a		

8.2 二氯聯苯胺(3,3'-dichlorobenzidine)

	測 試 1 *	測 試 2 *
儀 器	HPLC (Shimadzu 9A)	HPLC (HP 1050)
分析條件	Lichrosphere RP-18 (Merk)	μ Bondapak C18 (Waters)
管 柱	60% CH ₃ OH/ 40% H ₂ O	60% CH ₃ OH/ 40% H ₂ O
移 動 相	1.0 mL/min	1.0 mL/min
流 速	UV, 254 nm	UV, 254 nm
偵 測 器	20 μ L	20 μ L
注 射 量	101.4%	95.5%
平均脫附效率	2.7%	7.4%
CV _a		

* 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 1/2~2 PEL 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

~2 PEL 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 200 mL/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°C ，80% 相對濕度下做測試，以流率 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 50mg 之矽膠管是用來補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，前段未接 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 40 分鐘後，冷藏貯存，於 15 天後其回收率為 75%。

10. 文獻

[1] NIOSH Manual of Analytical Method, 4th Ed. NIOSH, Cincinnati, Ohio, Method 5509, 1994.

[2] “勞工作業環境空氣中有害物容許濃度標準”，行政院勞工委員會，民國84年6月。

[3] 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).

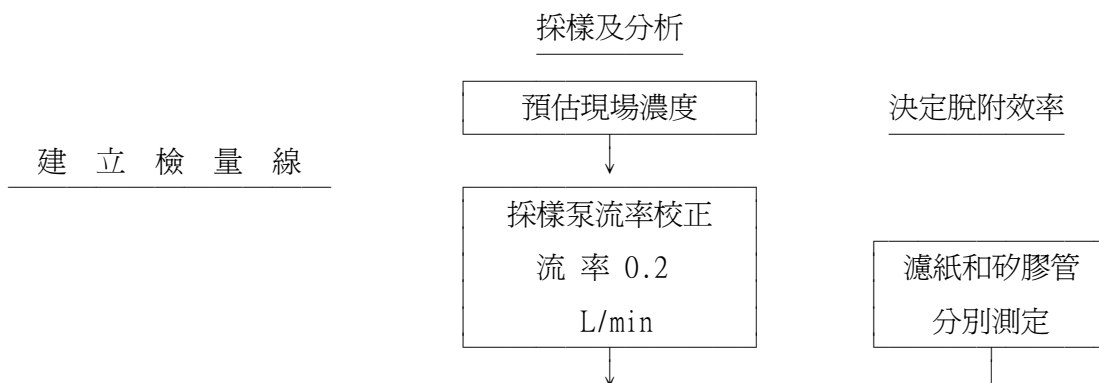
[4] NIOSH/NCI, Current Intelligence Bulletin 24, Benzidine-Derived Dyes, U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Publ. (NIOSH) 78-148 (1978).

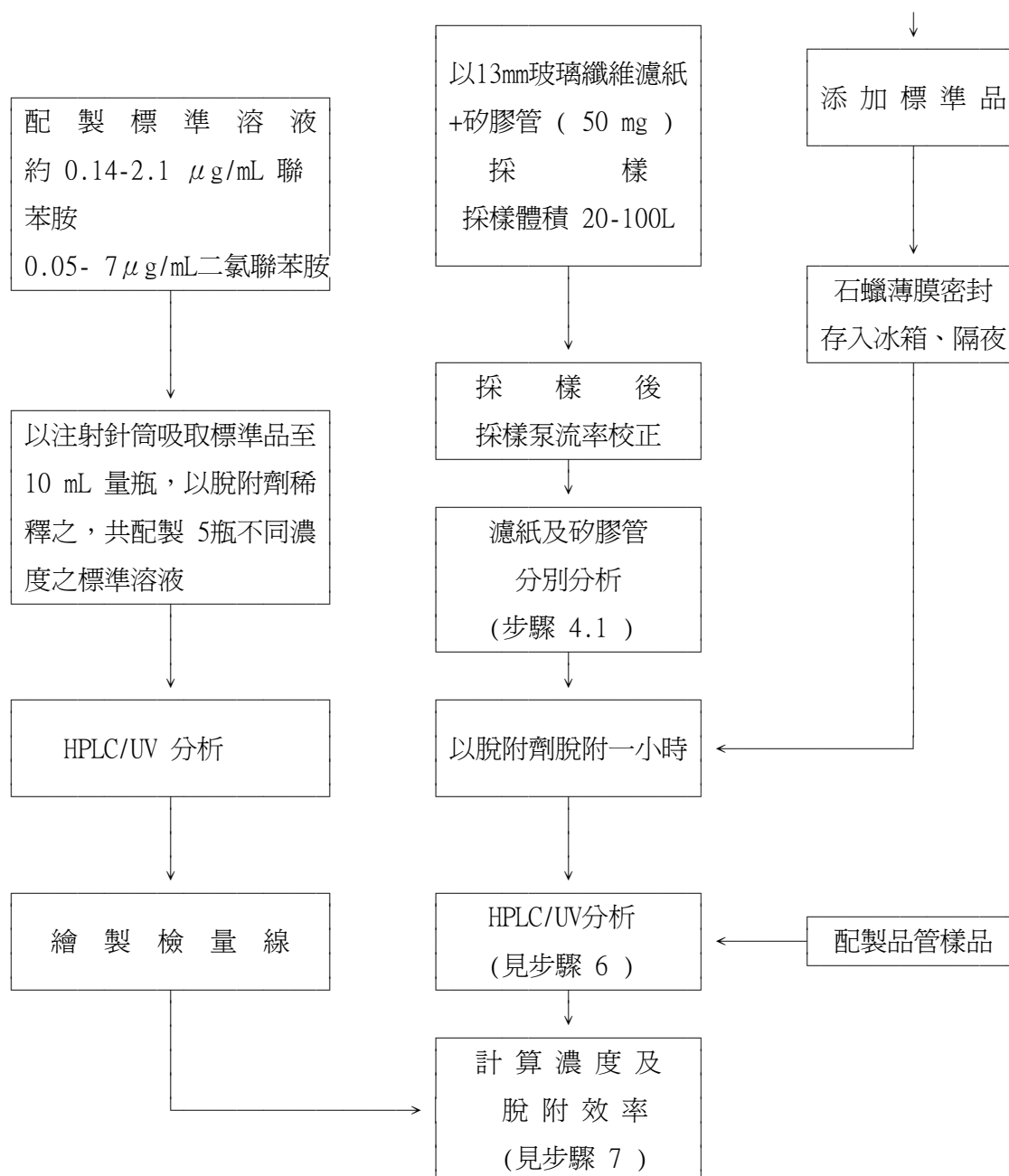
[5] Morales, R., S. M. Rappaport, R. W. Weeks, Jr., E. E. Campbell, and H. J. Ettinger. Development of Sampling and Analytical Methods for Carcinogens, January 1-September 30, 1976, Los Alamos Scientific Laboratory, Los Alamos, NM (1977) available as No. LA-7058-PR, from NTIS, Springfield, VA 22161.

[6] 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).

[7] NIOS Manual of Analytical Methods, 2nd ed., vol. 1, P& CAM 243 and P& CAM 246, U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Pub. (NIOSH) 77-157-B (1977).

附註一 採樣分析流程圖





附註二 所參考分析方法之主要數據

1. 本分析方法是參照NIOSH 5509而成，而NIOSH 5509則是沿用下列諸方法而成，P& CAM 243 及 P& CAM 246 [7]。
2. 儀器分析條件

方 法：HPLC/UV

分析物： benzidine, 3,3'-dichlorobenzidine.

脫 附：0.5 mL 0.17% (v/v) triethylamine in methanol; 靜置
60分鐘。

注射量：10 μ L

移動相： 60% methanol / 40% water
70% acetonitrile/ 30% H₂O

流 率：1.5 mL/min; 常溫

偵檢器：UV, 254 nm

管 柱： μ Bondapak C18, 10- μ m particles, 30 cm \times 4 mm

3. 方法評估[5]

NIOSH 5509方法評估是以 21-63 μ g/M³ 之benzidine及20-130 μ g/M³ 之 3,3'-dichlorobenzidine標準氣體，於 30°C，80% 相對濕度下做測試。採樣流率是 0.8 L/min。對 29 個 benzidine 測試樣品及 28 個 3,3'-dichlorobenzidine 之測試樣品。其總變異係數均為 (CVT) 7 %。相對濕度及溫度對採樣方法的影響並不顯著 [5]。50-mg 矽膠是用來捕集穿透前段濾紙的蒸氣，在 180°C，以 300 mL/min 製備於乾燥氮氣中的benzidine標準氣體通過矽膠，在 3 小時內 [5]，並沒有破出現象發生 [5]。當 0.2-2.0 μ g 的 benzidine 添加於玻璃纖維濾紙上，並儲藏於 -15°C 的狀態下，於 11 天內其回收率為 97 %，但經 15 天及 21 天後，其回收率分別降至 89 % 及 75 %。從濾紙和矽膠中所回收之 benzidine 和 benzidinium sulfate 顯示出此化合物在室溫下並不穩定。3,3'-dichlorobenzidine及其dihydrochloride 其濾紙及矽膠管為分別於 -15°C 及室溫下貯存，於 21 天內，其回收率仍 \geq 88%。

-