

論文

氯乙烯暴露勞工尿中代謝物 (TDGA) 分析方法建立及現場驗證

沈穎¹ 方澤沛¹ 汪禧年³ 李聯雄³ 李俊璋^{1,2}

¹ 國立成功大學工業衛生學科暨環境醫學所

² 國立成功大學環境微量毒物研究中心

³ 勞動部勞動及職業安全衛生研究所

摘要

根據環保署毒性化學物質申報資料庫顯示，台灣氯乙烯單體 (Vinyl Chloride Monomer, VCM) 平均年產量將近200萬公噸，由於VCM具肝毒性，已在1987年被IARC (International Agency for Research on Cancer) 訂為第一類人類致癌物 (Group 1)。VCM易經由吸入途徑進入人體，並代謝成主要代謝產物TDGA (Thiodiglycolic Acid, TDGA) 由尿液排出。過去研究曾使用氣相層析質譜儀 (GC/MS) 進行尿中TDGA之分析，但受限於偵測極限偏高 (1mg/L)，無法對低濃度暴露情境進行完整之生物偵測與暴露評估。因此，本研究之目的為開發一套更精準的VCM尿中代謝物分析技術，降低TDGA之偵測極限，以利職業族群之低劑量VCM暴露及健康風險評估研究。本研究採用液相層析串聯質譜儀 (Liquid Chromatography-Tandem Mass, LC-MS/MS) 進行尿液樣本中TDGA定性與定量分析方法開發。測試結果顯示，分析方法偵測極限 (Method Detection Limit, MDL) 可達1.34 ng/mL。生物指標驗證方面，本研究選取2間大型VCM製造廠，並完成40名VCM職業暴露勞工之工作前、後尿中TDGA分析。進一步針對無肝腎病史、無每日服用綜合維他命，且工時正常之勞工 (n=30)，進行TDGA濃度數據解析。研究結果發現，工作後尿中TDGA濃度顯著高於工作前 ($p=0.03$, paired t-test)。本研究建置之分析方法未來應可用於VCM職業暴露之生物偵測評估。

關鍵字：氯乙烯單體、硫代二乙酸、生物偵測

民國 103 年 1 月 13 日投稿，民國 103 年 4 月 9 日修改，民國 103 年 5 月 7 日接受。

通訊作者：李俊璋，國立成功大學醫學院工業衛生科暨環境醫學研究所/環境微量毒物研究中心，電子信箱：cclee@mail.ncku.edu.tw。

前言

氯乙烯單體 (Vinyl chloride monomer, VCM) 為製造PVC粉 (Polyvinyl Chloride, PVC) 的必要原料, 此一原料可加工製成各式工業或民生用品, 如: 電線、塑膠管、塑膠瓶、塑膠玩具、人造塑料皮布等。VCM具高蒸氣壓 (2980 mm Hg, 25°C), 低沸點 (-13.4°C), 低熔點 (-153.8°C) 之特性, 常溫常壓下以氣態存在, 主要暴露途徑為吸入, 製程中以高壓儲槽存放。依據2011年環保署毒性化學物質申報資料庫顯示, 台灣VCM平均年產量將近200萬公噸[1]。IARC於1987年 (International Agency for Research on Cancer) 將VCM訂為第一類致癌物質 (Group I Carcinogen) [2]。先前的研究指出暴露VCM會對DNA造成損傷, 動物實驗也發現暴露VCM會引發肝血管肉瘤及肝癌[3-5], 而人類研究中亦發現VCM暴露與基因毒性的增加具有相關性[6,7]。流行病學研究則指出VCM暴露勞工之罹病勝算比、罹患肝癌的標準化死亡比皆高於對照組, 若勞工進入VCM廠工作前, 即已遭受B型肝炎病毒感染, 則較一般無肝病病史之健康勞工, 具有較高之慢性肝臟疾病風險 [8]。1966年Cordier等人發現VCM工廠的清槽工人罹患雷諾氏症候群、骨頭病變、鞏皮樣病變等症狀[9], 1974 Creech等人之研究也指出VCM暴露工人有肝功能指標異常、肝血管肉瘤、肝門纖維化等症狀發生[10]。由上述毒理文獻與流病研究調查可知, 暴露於VCM環境中, 具有明顯的健康危害情形。我國VCM職業暴露容許濃度標準, 八小時時量平均暴露容許濃度 (PEL-TWA) 為3 ppm, 短時間時量平均容許濃度 (PEL-STEL) 為6 ppm [11]。由於VCM暴露僅在某些特定的塑化製程或塑

料加工廠中出現, VCM相關研究文獻較少針對職業暴露進行探討, 此外, VCM暴露濃度偏低, 作業現場VCM空氣濃度分布差異甚大 (0.05~13ppm), 可能會因不同天、不同時段而有不同的濃度分布, 僅以特定其中一天進行作業現場之空氣採樣, 可能無法代表工人之實際暴露情形[12], 因此, 生物偵測技術則顯得更為重要。人類暴露VCM之最代謝終產物為Thiodiglycolic acid (TDGA) 與N-acetyl-S-(2-hydroxyethyl) cysteine, TDGA約佔50%以上[13-16], 並隨尿液排出體外[16-22]。除暴露VCM會導致TDGA濃度上升外[12,23][24], 當暴露某些化學物質, 如: 1,2-二氯乙烷 (Ethylene Dichloride, EDC) [25]、二氯乙烯 (Vinylidene chloride) [26]等, 或是服用特定抗癌藥物Ifosfamide(IF)、cyclophosphamide CP) [27], 或是攝取維他命B時, 尿液中TDGA濃度亦會明顯升高[28]。過去曾有研究嘗試採用GC-MS分析尿中TDGA[12], 研究結果發現, 個人VCM暴露濃度高於5ppm時, 與尿中TDGA濃度具有顯著相關性, 但VCM暴露濃度低於5ppm時, 則未達統計上顯著相關。其主要原因為, GC-MS分析TDGA之偵測極限偏高 (1 mg/L), 當VCM暴露濃度低於5 ppm時, GC-MS無法有效分析及定量尿中TDGA濃度。根據文獻指出, 目前已有國際研究團隊以抗癌藥物Ifosfamide(IF)或cyclophosphamide(CP)進行動物實驗 (Male C57BL/6 mice), 並採用 LC-MS/MS進行TDGA之鑑認與分析工作[27]。該研究為探討藥物動力學參數所開發之TDGA分析方法, 目前僅用於短時間、高劑量藥物之試驗動物中, 否適用於VCM暴露情境、人類尿液樣本是否有基質干擾問題、以及完整的定性、定量測試, 則仍需進一步探討與解析。

本研究目的為開發一套更精準的VCM尿

中代謝物分析技術，克服GC-MS分析方法所遇到之困難點，如：待測物衍生化效率不穩定、氣相層析分離度不佳、質譜離子碎片不易鑑認等問題。LC-MS/MS可直接分析高極性、不易揮發、熱不穩定、以及大分子量之待測物質，且無需經過衍生化反應，可降低除前處理過程之干擾與簡化流程。本研究以LC-MS/MS做為TDGA分析之主要儀器，建置更為精準、穩定且有效之早期生物指標分析方法，以大幅降低TDGA之偵測極限，協助未來進一步探討低濃度VCM暴露實態與內在劑量之關係。

材料與方法

1. 試藥濃度及儀器

Thiodiglycolic acid (TDGA) (98%) 購自Sigma-Aldrich (St. Louis, MO); 4-nitrobenzoic acid (IS) (>98%) 購自Sigma-Aldrich (St. Louis, MO); HPLC-grade H₂O購自J.T. Baker (American); Acetonitril (ACN) 購自Merck (Darmstadt, Germany); Formic acid (FA) (98%) 購自Merck (Darmstadt, Germany)。儀器參考Fei等人發表之分析方法[27]，該研究採用HPLC-MS/MS (Biosystems API 2000 ESI triple quadrupole mass spectrometer)，層析管柱為Luna 3- μ m C18內徑50mm \times 46mm (Phenomenex, Torrance, CA)，針對TDGA及4-nitrobenzoic acid (內標) 進行分析。由於Fei等人之研究是以高劑量餵食之動物實驗為主，缺乏較為完整之QA/QC規範，若是針對低濃度TDGA之分析，則需再進一步修正。本研究使用之液相層析儀為Agilent 1200 series，搭配電灑式離子化 (electrospray ionization, ESI) 模組，質譜儀採用Agilent 6410B Series Tandem Mass (HPLC-ESI-MS/MS)。

2. 樣本前處理條件

尿液樣本前處理，為滿足最佳回收率與最低基質干擾之目標，實驗使用稀釋且高速離心的方式進行，以降低尿中雜質對分析結果之干擾。以Acetonitrile將尿液樣本稀釋50倍，接著進行18000 \times g離心，最後將樣本經過PTFE濾膜過濾不溶性固體雜質後，以20 μ L溶液上機分析。

3. 樣本採集

待分析方法建置完成，接續方法驗證之部分，首先彙整2008~2011之環保署毒性化學物質申報資料庫、工商名錄資料庫，以及環保署固定污染源申報資料庫，以氯乙烯、VCM、PVC粉為關鍵字，並設定年每年運作量大於等於500噸以上。選取國內產量最大的4家大型VCM製造廠，其VCM運作量如表1所示。研究再進一步挑選運作量與作業人數最高的ABC工廠進行現勘訪視。經考慮各廠VCM生產量並進行訪廠詳談後，最後以A、B兩廠為本次研究之採樣對象。此研究計畫以VCM廠勞工為研究對象，依據醫療法及人體試驗委員會組織及作業基準規定需經人體試驗委員會審核准可，此計畫已由成大醫院人體試驗委員會審查完畢，並准予執行計畫 (IRB approve number : ER-100-121)。

表1 各廠VCM近三年平均運作量申報資料

廠別	年份					
	2009		2010		2011	
	製造量	使用量	製造量	使用量	製造量	使用量
A廠	479,615	487,310	507,759	473,042	506,729	531,804
B廠	753,575	446,607	738,616	466,424	604,454	413,578
C廠 ¹	302,461		314,435		328,419	
D廠	236,932	162,557	228,033	164,188	445,416	333,969

¹ C廠僅生產VCM，無PVC粉製程。

資料來源：環保署毒性化學物質申報資料庫

http://flora2.epa.gov.tw/ToxicWeb/manage/ManagePort_New_Index.aspx

本研究收集之樣本資訊包含問卷以及尿液樣本兩部份。問卷內容包括個人基本資料、生活作息調查問卷以及工作時之時間活動模式問卷。尿液樣本則於取得勞工同意並簽署同意書後進行採樣，本研究共收集40位勞工上班前 (am07:30~08:30) 與下班後 (pm15:30~16:30)，合計共80支尿液樣本，尿液收集器皿為清洗乾淨之250mL玻璃棕色瓶，每次收集約50~100mL之中段尿液，並於4°C狀態下保存及運送至實驗室，採樣當日完成樣本分裝並置於-20°C冰箱中保存，採樣當日另取10mL尿液樣本進行尿中Creatinine分析，以作為尿中代謝物濃度之校正參數。

結果與討論

1. 最佳化串聯式質譜儀分析條件

(1) 最適溶劑測試結果

各種不同溶劑所測得之TDGA (1 ppm) 訊號值如圖1。測試結果發現，TDGA配置於ACN中訊號最強，且CV值小於5%，較其它溶劑所得之結果表現較為穩定。確認最適溶劑後，再重新進行游離源之電壓及溫度測試。測試結果發現，在電壓3.5KV、溫度350°C時，訊號值變動最小 (CV值均小於5%)。

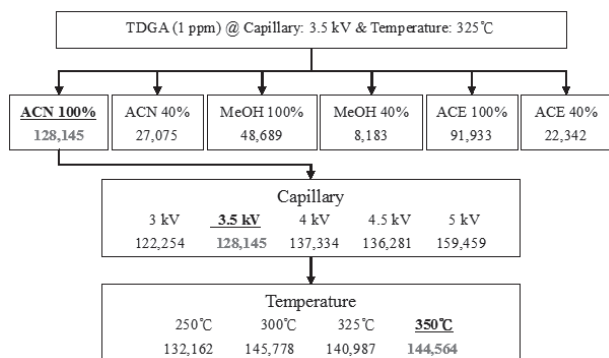


圖1 不同溶劑、壓力、溫度下TDGA訊號測試結果

(2) 最適儀器條件

以ACN 配置1 ppm TDGA 標準溶液，注射量設定為20 μL，進行TDGA之母離子及子離子碎片鑑定，TDGA與IS之離子碎片 (母離子、子離子) 及其最佳化電壓設定條件如表2所示。質譜儀其餘設定條件則如下所示：

- Ion source : ESI
- Polarity : Negative
- Nebulizer gas : Nitrogen
- Ion spray voltage : 3.5 kV
- Dry gas temperature : 350°C
- Dry gas : 10 μL/min
- Nebulizer pressure : 40 psi
- Resolution : Q1(unite)Q3(unite)
- Scan mode : Multiple Reaction Monitoring (MRM)
- Delta EMV : 400 V for negative
- Time Range : 0~16 negative

表2 離子碎片(母離子、子離子)及其電壓設定條件

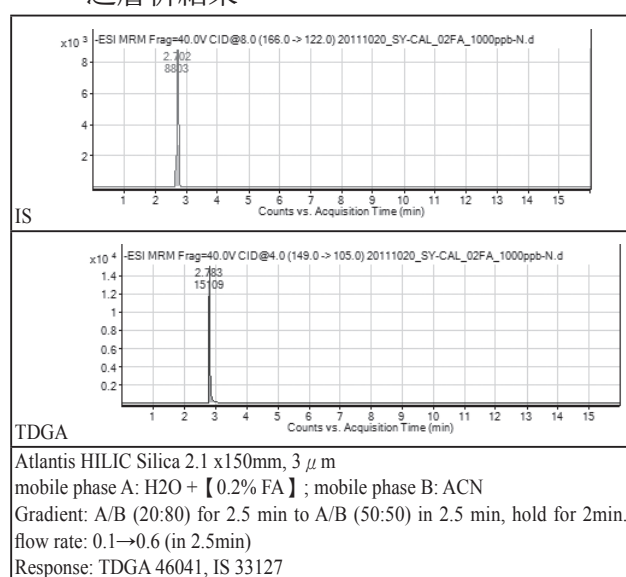
Tandem Mass 離子碎片最佳化操作電壓 (型號: Agilent 6410B)				
	Precursor	Fragment	Product Ion	CE
TDGA(thiodiglycolic acid)	149	40	105	4
	149	40	61.1	4
IS(4-nitrobenzoic acid)	166	40	122	8

2. 最佳化液相層析分析條件

共進行8支不同特性之層析管柱測試，首先參考Fei等人研究中所使用之管柱及選擇與其特性相似之管柱進行測試，主要包括Luna C18(2) 2.0 x150mm, 3 μm、Agilent ZORBAX Extend-C18 2.1 x100mm, 1.8 μm、Agilent ZORBAX SB-C18 2.1 x30mm, 3.5 μm等三支層析管柱。

由於TDGA具高極性，特別再選用Synergi Polar 2.0×100mm, 2.5 μm層析管柱。TDGA為有機酸的一種，亦可選用適於有機酸分析之層析管柱Synergi Hydro 2.0×100mm, 2.5 μm。一般條件下，親水性物質通常會使用正相 (Normal phase) 層析管柱作為分析管柱，但因正相管柱所使用之動相通常以低極性溶劑為主，待測物不易解離，通過管柱後進入電灑離子化階段時，因離子化程度不佳，可能導致分析結果出現較大之變異，因此本研究特別選用利於分析親水性物質之逆相管柱，Luna HILIC 3.0 x150mm, 3 μm，該層析管柱具有正相管柱之特性，但仍可使用一般逆相 (Reverse phase) 層析管柱之移動相溶劑，因而適用於TDGA之分析。測試結果發現，Atlantis HILIC管柱為測試管柱中結果最佳之層析管柱，當水相加入0.2%甲酸 (Formic acid, FA) 時其峰型、滯留時間及積分面積 (訊號) 均佳，且為所有測試條件中最穩定之條件，如表3所示。

表3 使用Atlantis HILIC管柱與動相中加入FA之層析結果



3. 檢量線建置及查核

考量進行真實樣本分析時，尿中基質干擾也會影響對應檢量線之準確性，因此進行配置尿液基質檢量線，以期檢量線和經前處理之尿液樣本之基質效應一致。檢量線共配置八點濃度 (5ppb、10ppb、20ppb、50ppb、200ppb、400ppb、800ppb、1000ppb)，各濃度點準確率均符合80%~120%準確度之要求。檢量線 $R^2 = 0.9978$ 。

4. 尿液中TDGA分析偵測極限建置

尿液中TDGA在99%的信賴度極限 (confidence limit) 內，可偵測到待測物的最低且大於零的濃度即為方法偵測極限 (method detection limit, MDL)，建置方法如下：

- (1) 以檢量線最低點 (5ppb) 為方法偵測極限之預估，分別製備七支5ppb標準品
- (2) 重覆分析七個樣品，標準差 (SD) 為0.613，用以計算方法偵測極限值
- (3) 計算MDL， $MDL = 3 \times SD$ ，即 $3 \times 0.613 = 1.84$ (ppb)
- (4) 製作一條新的檢量線，包含3倍的SA (1~5ppb, $r > 0.95$)
- (5) 以上述MDL (1.84ppb→以2ppb配置) 重覆分析七個樣品，標準差 (SD) 為0.355
- (6) 利用兩次MDL重覆分析之變異數 (S^2) 值，計算F比例
- (7) $F \text{ 比例} = \text{較大之 } S^2 \text{ 值 } (S_A^2) / \text{較小之 } S^2 \text{ 值 } (S_B^2)$ ，即 $1.84^2 / 0.355^2 = 2.98$
- (8) 將F比例與3.05做比較，若 $S_A^2 / S_B^2 < 3.05$ ，利用下述公式計算共同的標準偏差 (pooled standard deviation, Spooled)
- (9) $S_{\text{pooled}} = [(6 S_A^2 + 6 S_B^2) / 12]^{1/2}$ ，即 $[(6 \times 1.84^2 + 6 \times 0.355^2) / 12]^{1/2} = 0.50$
- (10) 利用上述計算得到之Spooled值，計算最後的MDL值

(11) MDL = 2.681 × (Spooled) ，即2.681 × 0.50=1.34 (ppb)

5. VCM現場作業勞工，工作前、後尿液樣品中TDGA分析結果

共40名男性勞工同意參與本研究，其中70%來自VCM精餾製程與VCM裂解製程，其他則為室內作業之盤面控制與業務督導人員。VCM作業勞工之個人基本資料則如表4所示，勞工平均年齡為42歲，平均身高及體重為169.79cm、70.67kg，BMI平均為24.54，屬於一般體重範圍（18.5~24.9），平均年資為17年，研究對象皆為男性勞工（100%），教育程度以高中（職）為主（37.5%），其次為大專（30%），不抽菸、不喝酒的勞工占多數，其比例分別為70%及82.5%。

表4 VCM作業勞工基本資料

項目	VCM勞工 (n=40)
基本特徵資料	
年齡 (歲)	42.43 (10.24) ^a
身高 (公分)	169.79
體重 (公斤)	70.67
BMI	24.54
年資 (年)	17.76 (10.58)
性別	
男	100% (n=40)
女	0% (n=0)
教育程度	
高中 (職)	37.5% (n=15)
大專	30.0% (n=12)
大學	15.0% (n=6)
研究所以上	17.5% (n=7)
吸菸情形	
吸菸	30.0% (n=12)
不吸菸	70.0% (n=28)
喝酒情形	
喝酒	17.5% (n=7)
不喝酒	82.5% (n=33)

尿液樣本經前處理稀釋50倍上機後，兩廠共16個樣本之TDGA濃度小於檢量線最低點（5ppb），17個樣本小於偵測極限（1.34ppb），故個別以2.5ppb（檢量線最低點

的1/2）及0.67ppb（1/2 MDL）表示。進一步檢視無肝腎病史、無每日服用綜合維他命，且工時正常之勞工共30位，工作前、後尿中TDGA濃度分別為300.4 μg/g-Cre與 340.3 μg/g-Cre，且勞工個人之下班後尿中TDGA濃度顯著高於上班前（*p* = 0.03, paired t-test）。

6. 實際尿液樣品中TDGA貯存安定性分析

共分析六位VCM製程勞工下班時之尿中TDGA濃度，結果顯示，第14天至第21天尿液樣本中TDGA濃度平均變化範圍約為3%，表示為尿液樣本之保存，可冰存於-20°C條件下，尿中TDGA之濃度變化穩定。第21天至第28天尿液樣本中的TDGA濃度，平均約下降26.8%。若觀察第14天至第28天之平均變化量，其濃度衰減百分比約為31.7%，可知尿中TDGA濃度於第21天開始之變化情形趨於明顯。

7. 數據品保品管規範

本研究採集40位VCM製程勞工上班前後之尿液樣本，共計80件尿液樣本，分為10批次進行樣本中VCM代謝物的分析。尿液樣本分析方法之相關品質保證/品質管制規範如表5所示，所有批次之結果皆符合品保/品管規範，表6為尿液樣本分析方法之品質保證及管制（QA/QC）執行成果。

表5 尿液樣本分析方法之品質保證/品質管理表

品保/品管項目	規範內容
檢量線	1.檢量線由至少5個不同濃度之TDGA標準品配製而成，其各點回收率介於±20%。 2.RF值之CV值<20%。 3.本研究中檢量線範圍為5ppb~1000ppb。
試劑空白	空白樣本濃度小於2倍方法偵測極限。
查核樣品	所添加之標準品回收率落在70~130%。
基質添加樣品	尿液樣品添加回收率70~130%。
樣品重複分析	RPD < 30 %。

表6 尿液樣本分析方法之品質保證及管制 (QA/QC) 執行成果

	空白樣本	查核樣品 ^a	添加樣品 ^b		偵測極限 (ng/mL)
	平均濃度 (ng/mL)	準確度(%)	RPD(%)	基質添加回收率(%)	
TDGA	<2MDL	104.4 (74.4-119.1)	10.5 (0.2-22.3)	98.9 (81.5-122.7)	1.37
^a 查核樣本TDGA濃度為50 ng/mL					
^b 添加樣本TDGA添加濃度為50 ng/mL					

結論與建議

1. 在方法建置部份，經由測試可知，將標準品及樣本配置於ACN當中可達最好的分析效果，層析管柱則以Atlantis HILIC Silica 具最佳之滯留效果，其訊號值及峰型也遠優於其他測試管柱，水相中加入0.2%甲酸可達最穩定且最佳之結果，梯度及流速經測試後，以高有機相 (80% ACN) 降至50%且搭配流速由0.1 mL/min在第2.5分時升至0.6% mL/min，可使波峰之峰型及訊號達最佳之條件。
2. 檢量線之建置非以一般所使用之溶劑配置，而是以無VCM暴露一般民眾之尿液稀釋100倍，配置尿液基質檢量線，此檢量線較可對應同樣經稀釋之尿液樣本，因基質效應相近，也可減少真實樣本對應檢量線濃度之差異。
3. 以VCM製造廠兩廠之現場勞工之上下班尿液樣本進行TDGA檢測方法驗證，共完成40名VCM職業暴露勞工之工作前、後尿液樣本，共80個尿液樣本，並以尿中肌酸酐 (Creatinine) 進行尿中TDGA濃度校正。其中無肝腎病史、無每日服用綜合維他命，且工時正常之勞工共30位，統計結果發現勞工個人下班前之尿中TDGA濃度 (340.3 µg / g-Cre)，高於上班前之尿液濃度

(300.4 µg / g-Cre)，進一步以paired-T test 統計則達顯著差異 ($p < 0.05$)，顯示勞工於一天工作天之VCM暴露後，尿中TDGA濃度確實有升高之趨勢。

4. 在尿液儲存安定測試中，比較全程之樣本儲存安定性測試結果，可發現，由第14天至28天，尿中TDGA濃度平均衰退約31.7%，顯示尿中TDGA濃度有下降之情形。但測試結果顯示，在21天內的TDGA濃度衰減仍在10%以內，此即表示，尿液TDGA樣本應於三週內完成分析，以免造成樣本濃度衰減過多。
5. 樣本採集時需注意採樣對象是否有服用維他命B、綜和維他命，或具有B型肝炎、C型肝炎等肝臟疾病，亦或前日晚間進行VCM高暴露活動項目。若採樣勞工符合上述所提及項目，則應將該樣本排除，因服用維他命及前日高暴露皆會造成尿中TDGA濃度增加，可能有高估的情形；肝炎疾病則可能導致VCM之代謝有所變化，可能造成分析結果之誤差。因此研究建議在問卷調查部份，上述所提及之特點皆應包含於問卷詢問項目當中。
6. 本研究並未採集個人VCM與EDC空氣暴露濃度，參與本研究之勞工70%來自VCM精餾製程與VCM裂解製程，其他則為室內作業之盤面控制與業務督導人員。依據廠方工安主管表示，EDC在該製程區段時，均已完全反應為VCM，因此環境中應以VCM逸散為主，且因工作權責與製程設置位置等因素，VCM製程人員甚少進入EDC儲槽及其輸送管線作業區；此外，參考採樣當日之勞工個人時間活動模式問卷，亦未記錄到有任何勞工進入EDC製程區。因此，本研究取得之尿液樣本應可代

表以VCM為主之暴露情境。但由於EDC與VCM皆會在體內代謝為TDGA，未來如有類似之職業暴露評估或研究調查，仍應特別注意EDC與VCM之共同暴露，是否會對生物指標濃度造成明顯之影響。

7. 未來應進一步建立個人VCM暴露與尿中TDGA濃度之相關性，以探討該項生物指標使用於VCM職場暴露情境時，可能會遇到的採樣或分析干擾、以及相關限制等問題。

致謝

本研究承蒙行政院勞工委員會勞工安全衛生研究所100年度研究計畫(IOSH100-A322)經費支持，及氯乙烯製造廠各級主管、工安衛人員及現場作業勞工之協助與配合，謹此敬表謝忱。

參考文獻

- [1] 環保署毒性化學物質申報資料庫。
http://flora2.epa.gov.tw/ToxicWeb/manage/ManagePort_New_Index.aspx
- [2] IARC. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs, vol. 1-42, WHO, IARC 1987; 7 (Suppl): 373-6.
- [3] Mundt KA, Dell LD, Austin RP, Luippold RS, Noess R, Bigelow C. Historical cohort study of 10109 men in the North American vinyl chloride industry, 1942-1972. *Occupational and Environmental Medicine* 2000; 57: 774-81.
- [4] Ward E, Boffetta P, Anderson A, Colin D, Pietro C, Deddens JA, et al. Update of the

follow-up of mortality and cancer incidence among European workers employed in the vinyl chloride industry. *Epidemiology* 2001; 12: 710-8.

- [5] Wong RH, Chen PC, Du CL, Wang JD, Cheng TJ. An increased standardised mortality ratio for liver cancer among polyvinyl chloride workers in Taiwan. *Occupational and Environmental Medicine* 2002; 59: 405-9.
- [6] Giri Ak. Genetic toxicology of vinyl chloride a review. *Mutation Research* 1995; 1-14.
- [7] Wong RH, Wang JD, Hsieh LL, Du CL, Cheng TJ. Effects on sister chromatid exchange frequency of aldehyde dehydrogenase 2 genotype and smoking in vinyl chloride workers. *Mutation Research* 1998; 420: 99-107.
- [8] Du CL, Wang JD. Increased morbidity odds ratio of Primary liver cancer and cirrhosis of the liver among vinyl chloride monomer workers. *Occupational and Environmental Medicine* 1998;55:528-32.
- [9] Cordier JM, Fievez C, Lefenre MJ, Severin A. Acroosteolysis Combined With Skin Lesions In 2 Workers Exposed In Cleaning Autoclaves. *Cahiers Med Travail* 1996; 4:14.
- [10] Creech JL, Jahns MN. Liver Damage And Angiosarcoma In Vinyl Chloride Workers. *Journal of the American Medical Association* 1974; 30: 64-8.
- [11] 行政院勞工委員會。勞工作業環境空氣中有害物容許濃度標準; 2010。
- [12] Cheng TJ, Huang YF, Ma YC. Urinary thiodiglycolic acid levels for vinyl chloride monomer-exposed polyvinyl chloride

- workers. *Journal of Occupational and Environmental Medicine* 2001; 43: 934-8.
- [13] Antweiler. Studies on the metabolism of vinyl chloride. *Environmental Health Perspectives* 1976;17: 217-9.
- [14] Samcová E, Kvasnicová V, Urban J, Jelínek I, Coufal P. Determination of thiodiglycolic acid in urine by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A* 1999; 847: 135-9.
- [15] Marion MJ, Devivo I, Smith S, Luo JC, Brandt-Rauf PW The molecular epidemiology of occupational carcinogenesis in vinyl chloride exposed workers. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 1996; 68: 394-8.
- [16] Muller G, Norpoth K, Eckard R. Identification of two urine metabolites of vinyl chloride by GC-MS-investigations. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 1976; 38: 69-75.
- [17] Green T, Hathway DE. The biological fate in rats of vinyl chloride in relation to its oncogenicity. *Chemico-Biological Interactions* 1976; 11: 545-62
- [18] MOiler G, Norpoth K, Eckard R. Identification of two urine metabolites of vinyl chloride by GC-MS investigations. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 1976; 38: 69-75
- [19] Miiller G, Norpoth K, Kuster E, Herweg K, Versin E. Determination of Thiodiglycolic acid in urine specimens of vinyl chloride exposed workers. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 1978; 41: 199-205
- [20] MOiler G, Norpoth K, Wukramasingke RW. An analytical method using GC-MS for the quantitative determination of urinary thiodiglycolic acid. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 1979; 44: 185-91
- [21] Tarkowski S, Wiñiewska-Knypl JM, Klimczak J, Dramifiski W, Wrblewska K. Assessment of urinary excretion of thiodiglycolic acid and hepatic free thiols content in rats at different levels of exposure to vinyl chloride. *Journal of hygiene, epidemiology, microbiology, and immunology* 1980; 24: 253-61
- [22] Watanabe PG, McGowan GR, Gehring PJ. Fate of ¹⁴C vinyl chloride after single oral administration in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1976; 36:339-52
- [23] Chen ZY, Gu XR, Cui MZ, Zhu XX. Sensitive flame-photometric-detector analysis of thiodiglycolic acid in urine as a biological monitor of vinyl chloride. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 1983; 52: 281-4.
- [24] Heger M, Muller G, Norpoth K. Investigations on the correlation between vinyl chloride (VCM)-uptake and excretion of its metabolites by 15 VCM-exposed workers. II. Measurements of the urinary excretion of the VCM-metabolite thiodiglycolic acid. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 1982; 50: 187-96.
- [25] Payan JP, Beydon D, Fabry JP, Brondeau MT, Ban M, Ceaurriz J. Urinary thiodiglycolic acid and thioether excretion in male rats dosed with 1,2-dichloroethane, *Journal of Applied*

- Toxicology 1993; 13: 417-22.
- [26] McKenna MJ, Zempel JA, Madrid EO, Braun WH, Gehring PJ. Metabolism and pharmacokinetic profile of vinylidene chloride in rats following oral administration. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1978; 45: 821-35.
- [27] Fei L, Andrew DP, Hofer C C, Krausz KW, Gonzalez FJ, Idle JR. Comparative metabolism of cyclophosphamide and ifosfamide in the mouse using UPLC-ESI-QTOFMS-based metabolomics. *Biochemical Pharmacology* 2010; 80: 1063-74.
- [28] NAVRÁTIL T, PETR M, ŠENHOLDOVÁ Z, PŘISTOUPILOVÁ K, PŘISTOUPIL TI, HEYROVSKÝ M. Diagnostic Significance of Urinary Thiodiglycolic Acid as a Possible Tool for Studying the Role of Vitamins B 12 and Folates in the Metabolism of Thiolic Substances. *Physiological Research* 2007; 56: 113-122.

Research Articles

The Analytical Method Development and Field Validation of Urinary Metabolite (TDGA) for Vinyl Chloride Exposure Workers

Shen Ying¹ Jer-Pei Fong¹ Shi-Nian Uang³ Lien-Hsiung Li³
Ching-Chang Lee^{1,2}

¹ Department of Environmental and Occupational Health

² Research Center for Environmental Trace Toxic Substances, National Cheng Kung University

³ Institute of Labor, Occupational Safety and Health, Ministry of Labor

Abstract

According to the Environmental Protection Administration of Toxic Chemical Database, the production quantity of VCM (Vinyl Chloride Monomer) in Taiwan was 2 million tons. VCM exposure has been associated with toxicity of the liver and was classified as a group 1 carcinogen by IARC (1987). Due to the extremely volatile property, the major exposure route is inhalation. The main urinary metabolites is thiodiglycolic acid (TDGA). Urinary TDGA can be detected by GS/MS method, but the higher detection limit (>1 mg/L) was the limitation for low exposure workers in VCM plants. In order to assess the relationship of low exposure level of VCM and health risk, development of a precise and accurate analytical method for measurement of urinary TDGA is needed. The high performance liquid chromatography electro-spray ionization tandem mass spectrometry (HPLC-ESI-MS/MS) was used as analytical instrument. The method detection limit (MDL) of developed method is 1.34 ng/mL. Forty workers in two VCM plants were recruited as subjects to measure urinary TDGA in pre- and post-shift urine sample for each subject. For biomarker validation, the advanced analysis was complied to compare the measures of urinary TDGA within the thirty subjects without histories of liver or kidney diseases, taking daily vitamin supplements, and standard working hours. Study results showed that the post-shift urinary TDGA levels were significantly higher than those of pre-shift. The results showed that the developed analytical method in this study could be used for the low level VCM exposure assessment.

KeyWords: Vinyl chloride monomer, Thiodiglycolic acid, Biological monitoring

Accepted 7 May, 2014

Correspondence to: Ching-Chang Lee, E-mail: clee@mail.ncku.edu.tw