

# 中國醫藥學院

碩士論文

編號：IEH-1005

## 尿中 BTEX 與其代謝產物關係之研究

Study on the Relationships between  
BTEX in Urine and its metabolites

所 別：環境醫學研究所

指導教授：郭錦堂

學 生：許麗秋

學 號：8765005

中 華 民 國 八 十 九 年 六 月

## 摘 要

對於環境中有害物濃度之監測，一般以採集空氣樣本來測定其暴露情況，如此只能提供單一暴露途徑的潛在危害，為了能同時瞭解有害物進入人體劑量的多寡，本研究不僅掌握空氣中有害物濃度，同時以較不具侵略性與便利性之尿液樣品作為生物偵測方法，以高效率液相層析儀進行 BTEX 多個標的物質代謝產物測定，並利用一種靈敏度高、使用方便、偵測極限可達 pg 之萃取技術—固相微萃取法(solid-phase microextraction, 簡稱 SPME)，測定尿中 BTEX 未代謝原形物質濃度。本研究選定中部某彩色印刷工廠勞工為對象，進行環境測定及生物偵測，以探討空氣中 BTEX 濃度與尿中代謝產物、尿中未代謝原形物質三者間的相關性。

本研究利用固相微萃取法經由測試評估後，其檢量線線性相關係數均高於 0.999，偵測極限可達 pg、再現性測試之變異係數均小於 13.62%，尿液樣品貯存於 4 時，其穩定性仍能維持 30 天。此技術應用於暴露 BTEX 作業勞工尿液之生物偵測確實為可行、便利之測定方法。另外，實際測定職業暴露者之結果顯示，空氣中 BTEX 濃度之分佈在 0.16 ~ 4.29 ppm 之間，其中以乙苯之濃度較其他物質為高；尿中 BTEX 代謝產物分析結果，各代謝產物濃度均低於 ACGIH 所規定之 BEIs 值，尿中未代謝原形物質之測定以乙苯濃度較高，三者經由統計相關性分析後，空氣中苯與尿中代謝產物 t,t-MA 相關性達 0.86，但無達統計上顯著意義，乙苯與尿中代謝產物 MA 相關為 0.56(經 creatinine 校正， $p < 0.05$ )及 0.57(經比重校正， $p < 0.05$ )，(間+對)-二甲苯與尿中代謝產物(m+p)-MHA 之相關性為 0.77(經 creatinine 校正， $p < 0.01$ )及 0.56(經比重校正， $p < 0.05$ )，尿中 BTEX 未代謝原形物質中僅有乙苯與空氣中乙苯相關較佳( $r = 0.60$ ， $p < 0.05$ )，其他則沒有良好相關性。

關鍵字：苯、甲苯、乙苯、二甲苯，生物偵測，固相微萃取，頂空法

## Abstract

The major method to determine the toxic benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes(BTEX) in the environment was performed by adapting air as sample directly and measuring its volume. It only could tell us the concentration of BTEX in the environment, but we had no idea about the concentration of BTEX in our human bodies. In this study, a more convenient and less invasive method was used; it could determine the concentration of BTEX both in the environment and in human urine. Solid-phase microextraction(SPME) has been used for sampling BTEX from the headspace(HS) of urine and gas chromatography(GC) has been applied for analysis. The urine samples were from a print factory in middle-Taiwan, and the relationships for concentration of BTEX among the environmental air, urinary metabolites and urinary unmetabolites were inspected.

The HS-SPME-GC method showed a very high relative linear correlation of 0.999 and the limit of detection was to pg. The coefficient of variances of reproducibility was less than 13.62%. Urine samples were stable for 30-day storage at 4 °C. It is a practicable and convenient method for biological monitoring of BTEX, which the workers were exposed to. In addition, it revealed that the concentration of BTEX in air was 0.16~4.29ppm, and that of ethylbenzene was the highest among them; the concentrations of BTEX in urinary metabolites were lower than BEIs value regulated by ACGIH; the concentration of ethylbenzene in urinary unmetabolites was the highest among BTEX.

After statistical analysis of correlation, it showed that the correlation of concentration between environmental air and t,t-MA in urinary metabolites was 0.86 and had no significant difference; the correlation of concentration between ethylbenzene in environmental air and MA in urinary metabolites were 0.56(corrected with creatinine,  $p < 0.05$ ) and 0.57(corrected by specific gravity,  $p < 0.05$ ), respectively; the correlation of concentration between (m+p)-xylene in environmental air and (m+p)-MHA in urinary metabolites were 0.77(corrected with creatinine,  $p < 0.01$ ) and 0.56(corrected by specific gravity,  $p < 0.05$ ), respectively; the correlation of concentration between ethylbenzene in environmental air and ethylbenzene in urinary unmetabolites was 0.60( $p < 0.05$ ).

Keyword: benzene, toluene, ethylbenzene, xylene, biological monitoring,  
solid-phase microextraction, headspace

# 目 錄

中文摘要.....	I
英文摘要.....	II
目錄.....	III
表目錄.....	V
圖目錄.....	VI

## 壹、前言

一、研究動機.....	1
二、研究目的.....	3

## 貳、文獻回顧

一、BTEX 化合物之性質、用途及危害 .....	4
二、BTEX 化合物之代謝產物 .....	6
三、尿中代謝產物之校正方法.....	8
四、尿中 BTEX 未代謝原形物質測定之相關研究 .....	9
五、固相微萃取技術之介紹與應用.....	12
六、固相微萃取法之優點.....	13

## 參、材料與研究方法

一、材料.....	14
(一)藥品.....	14
(二)實驗器具.....	15
(三)儀器設備.....	16
二、實驗方法.....	17
(一)空氣中 BTEX 採樣及分析方法 .....	17
(二)尿液樣品採集與分析方法.....	18

A)尿中 BTEX 代謝產物分析 .....	19
B)尿中 BTEX 未代謝原形物質分析 .....	21
(三)資料處理與分析.....	26
肆、結果	
一、作業環境測定分析結果.....	27
二、尿液樣品之生物偵測.....	28
(一)尿中 BTEX 代謝產物之分析 .....	28
A.分析方法之建立.....	28
B.尿中 BTEX 代謝產物之分析品質管制.....	29
C.職業暴露勞工尿中 BTEX 代謝產物之分析.....	30
(二)尿中 BTEX 未代謝原形物質之分析 .....	30
A.最適分析條件之建立.....	30
B.尿中 BTEX 未代謝原形物質之分析品質管制.....	33
C.職業暴露勞工尿中 BTEX 未代謝原形物質之分析.....	35
三、空氣中 BTEX 濃度與尿中代謝產物、未代謝原形物質相關性探討.....	35
伍、結論.....	38
陸、討論與建議.....	40
參考文獻.....	41
附錄一 固相微萃取裝置示意圖.....	73
附錄二 作業環境測定採樣記錄表.....	74

## 表 目 錄

表 1	作業環境空氣中 BTEX 化合物分析條件.....	47
表 2	尿中 BTEX 代謝產物分析條件.....	48
表 3	利用固相微萃取測定尿中 BTEX 原形物質分析條件.....	49
表 4	作業環境空氣中 BTEX 分析物質之檢量線.....	49
表 5	作業環境空氣中 BTEX 測定分析之方法偵測極限.....	50
表 6	長時間分析空氣中 BTEX 之 QC 樣品滯留時間、波峰面積 波峰高度之再現性變異情形 .....	50
表 7	尿中 BTEX 代謝產物之檢量線 .....	51
表 8	利用 HPLC 測定尿中 BTEX 代謝物之方法偵測極限 .....	52
表 9	尿中 BTEX 代謝產物分析方法之再現性.....	53
表 10	長時間分析尿中代謝物之 QC 樣品的滯留時間、波峰面積、波峰高度之再現性變異情形 .....	53
表 11	BTEX 化合物之生物暴露指標 .....	54
表 12	尿中 BTEX 未代謝原形物質之檢量線.....	55
表 13	利用固相微萃取技術測定尿中 BTEX 原形物質之方法偵測極限.....	56
表 14	利用固相微萃取測定尿中 BTEX 未代謝原形物質之分析方法再現性.....	57
表 15	利用固相微萃取之樣品儲存穩定性試驗.....	58
表 16	利用固相微萃取長時間分析尿液樣品之 QC 樣品的滯留時間 波峰面積、波峰高度之再現性變異情形 .....	59

## 圖 目 錄

圖 1	尿中 BTEX 代謝產物標準品分析層析圖 .....	61
圖 2	職業暴露勞工尿中 BTEX 代謝產物分析層析圖 .....	62
圖 3	利用固相微萃取測定 BTEX 標準品之分析層析圖 .....	63
圖 4	不同吸附溫度對固相微萃取纖維吸附量的影響.....	64
圖 5	不同脫附溫度對固相微萃取纖維吸附量的影響.....	65
圖 6	不同吸附時間對固相微萃取纖維吸附量的影響.....	66
圖 7.1-7.5	不同鹽類添加於對固相微萃取纖維吸附量的影響.....	67
圖 8	樣品攪拌與否對固相微萃取纖維吸附量的影響.....	70
圖 9	BTEX 標準品在尿液及去離子水中基質效應測試結果 .....	71
圖 10	職業暴露勞工尿中 BTEX 未代謝原形物質分析層析圖 .....	72

# 壹、前 言

## 一、研究動機

由於工業的蓬勃發展，人類的生活更與化學物質息息相關，而這些化學物質的製程，使勞工於作業場所難免暴露於有害物質中，如使用化學物質於作業時吸入、不慎食入、與皮膚接觸而進入體內，在長期的化學有害物暴露之下，會造成身體的不適，甚至中毒，為使勞工於有害作業環境下免於疾病、健康受損、不舒適、工作無效率等，評估特定工作場所暴露之化學物質危害性，乃是當務之急。

工業界對於化學物質使用量龐大，其中以揮發性有機溶劑 (volatile organic compounds, VOCs) 具有較大的潛在危險性，包括芳香族的苯 (benzene)、甲苯 (toluene)、乙苯 (ethylbenzene) 及二甲苯 (xylene) 等 (簡稱 BTEX)，此類化合物被廣泛應用於工業上，主要用途為化學合成、熱處理、樹脂合成、萃取、稀釋溶劑、橡膠合成等。苯環類有機溶劑具有高度揮發性，在常溫常壓下呈氣態流存於環境之中，容易經由各種途徑進入體內，如吸入、食入、皮膚接觸等，而以吸入為進入體內之主要途徑。

有害物的評估一般以作業環境測定 (workplace monitoring) 測量工作環境中有害物濃度，樣本取自空氣 (定點或個人採樣) 或工作環境表面，其測定結果只能提供單一暴露途徑的潛在暴露量 (空氣中的吸入)。而生物偵測結果卻是經由所有暴露途徑 (吸入、食入及皮膚吸收等) 進入受測者的暴露總和，進入人體內之有害物質，不是排出體外，即是蓄積於體內，為瞭解有害物質實際存在於人體內劑量的多寡，則需以生物偵測 (biological monitoring)，採集暴露者血液、尿液、呼出的氣體等，測量體內吸收劑量來評估健康不良影響情況。就職業醫學上，以尿液的測量較具便利性與不具侵略性，在現行開發方法中佔有較大比重。

為瞭解 BTEX 揮發至空氣中與實際進入體內劑量的關係，不僅



掌握空氣中存在濃度，並以尿液作為生物偵測之基礎，測定 BTEX 代謝產物、未代謝原形物質含量。本研究分為三部分，一、作業環境測定(workplace monitoring)：依據行政院勞工安全衛生委員會制定之「空氣中有害物標準分析參考方法」進行空氣採樣、分析、評估等<sup>(1)</sup>。二、生物偵測方面(biological monitoring)：測定 BTEX 代謝產物、未代謝原形物質含量。在代謝產物測定方面，本研究針對 BTEX 代謝途徑中較具代表性之代謝產物進行偵測，其中苯以 t,t-粘康酸(t,t-muconic acid)為代謝產物，甲苯以馬尿酸(hippuric acid)為代謝產物，乙苯以苯基乙醛酸(phenylglyoxylic acid)及杏仁酸(mandelic acid)為代謝產物，二甲苯以甲基馬尿酸(methylhippuric acid)為代謝產物。

另外，在尿中 BTEX 未代謝物原形物質測定方面，採用一種新的萃取技術—固相微萃取法<sup>(2)</sup>(solid-phase microextraction, 簡稱 SPME)，其偵測極限可達 pg 之高靈敏度，以彌補代謝產物測定的不確定性，增加有害物暴露濃度評估之參考依據，提供事業單位作為勞工健康管理的參考，以預防職業病的發生。

## 二、研究目的

- 1、利用固相微萃取法(SPME)建立免溶劑、偵測極限低、靈敏度高、再現性佳之分析方法，以評估其對生物偵測之可行性。
- 2、探討作業環境暴露者空氣中 BTEX 濃度與尿中代謝產物、尿中未代謝原形物質三者間之相關性。
- 3、將研究結果提供給事業單位或相關單位，作為勞工健康管理之參考，以預防職業病發生。

## 貳、文獻回顧

### 一、BTEX 化合物之性質、用途及危害

苯(benzene)的分子式為  $C_6H_6$ ，分子量為 78.11，無色至淡黃色之非極性流動性液體，有高折射率，具芳香氣味，有極高的揮發性。其比重為 0.8787，沸點 80.1，凝固點 5.5，閃火點-11，自燃溫度 562，可溶於醇類(alcohol)、醚類(ether)、丙酮(acetone)、二硫化碳(carbon disulfide)、四氯化碳(carbon tetrachloride)、氯仿(chloroform)及冰醋酸(glacial acetic acid)，難溶於水<sup>(3,4)</sup>。

苯之暴露吸收主要以吸入蒸氣及皮膚接觸兩種途徑，皮膚吸收約佔苯暴露吸收劑量的 20~40%<sup>(5)</sup>。長期暴露於苯環境中會造成慢性中毒之免疫功能的衰減、細胞酵素系統功能減弱，白血球(leukopenia)及血小板(thrombocytopenia)數目減少、貧血(anemia)及再生不良性之貧血症(aplasticanemia)、也會導致腫瘤(如淋巴腫瘤,lymphomas)發生率的增加。此外，在經常暴露於苯溶劑中的勞工，其染色體錯亂(chromosomal aberrations)之發生率顯著高出未暴露者許多<sup>(6,7)</sup>。

甲苯(toluene)的分子式為  $C_7H_8$ ，分子量為 92.13，無色液體，似苯的氣味，比重 0.866，凝固點-94.5，沸點 110.7，閃火點 4.4，自燃溫度 536，爆炸限界 1.27~7%，可溶於醇類(alcohol)、醚類(ether)、丙酮(acetone)、二硫化碳(carbon disulfide)、四氯化碳(carbon tetrachloride)、氯仿(chloroform)及冰醋酸(glacial acetic acid)，不溶於水<sup>(3,4)</sup>。

甲苯廣泛使用於工業界，主要為油漆、顏料、塗料、染料、橡膠、藥品、黏著劑之原料，航空汽油及高辛烷值的摻合料，硝

化纖維素漆的稀釋劑、塑膠玩具及模型飛機之黏合溶劑等。

甲苯之暴露吸收主要以蒸氣吸入,約有 40~60%的劑量是以吸入方式進入體內被吸收,皮膚接觸之吸收量也是很顯著<sup>(8)</sup>;甲苯經吸收後,會很快的擴散至身體各個部位,而以脂肪組織為最快擴散到達之處,而後逐漸到達骨髓、腎臟、肝臟、腦部及血液中<sup>(9)</sup>,個體間攝入量之變異及排出率變異均很大。

在一些研究案例中,甲苯會導致中樞神經系統(central nervous system, CNS)功能降低,甚至死亡。人體暴露於高濃度甲苯中,主要毒性影響為中樞神經系統(CNS)功能降低及造成昏迷<sup>(10,11)</sup>,動物實驗中也顯示甲苯的吸入會造成不可逆的中樞神經系統影響、肝腫大、尿毒症等<sup>(12,13,14)</sup>,此外,長期濫用甲苯溶劑也會使周邊神經系統病變、肝臟衰竭、心血管疾病、睪丸萎縮、精蟲數目減少及死亡<sup>(15,16,17)</sup>,Ono<sup>(18)</sup>等人也確定了暴露於高濃度(4000-6000ppm)甲苯中會造成雄性大頰鼠副睪丸精蟲數目減少、精蟲活動力降低且淋巴細胞發育不全等現象。

乙苯(ethylbenzene)的分子式為  $C_8H_{10}$ ,分子量為 106.16,無色液體,具芳香氣味,其比重為 0.866 沸點 136.2 ,凝固點-95 ,閃火點 15 ,自燃溫度 432 ,可溶於有機溶劑中,不溶於水<sup>(3,4)</sup>。

乙苯通常用於製造苯乙烯(styrene)的前驅物質 合成橡膠的製造、汽車及航空燃料成分等。

乙苯主要以吸入及皮膚接觸為主要暴露途徑,暴露吸收後之乙苯首先會累積於腸道、肝臟、腎臟及脂肪組織中<sup>(19)</sup>,其代謝途徑與苯乙烯(styrene)很相似。

二甲苯(xylene)的分子式為  $C_8H_{10}$ ,分子量為 106.16,無色澄清液體,其比重為 0.866。二甲苯是由三種同分構異物(isomers)所

組成，包括鄰-二甲苯(ortho-xylene)、間-二甲苯(meta-xylene)、對-二甲苯(para-xylene)，可溶於酒精、乙醚及有機溶劑中，不溶於水<sup>(3,4)</sup>。

二甲苯的使用非常的廣泛，環境中不管室內或室外都存在有此化合物，一般用來製造苯甲酸的原料，為醇酸樹脂、漆、珢瑯、橡膠接合劑之溶劑、有機溶劑化學品之合成、航空汽油成分之一，尚有用來當作塗料、保護層、黏著劑、殺蟲劑等用途。

二甲苯經由呼吸道吸入後，約有 55~65% 會滯留於肺中，皮膚接觸也是二甲苯暴露吸收的途徑之一，大面積皮膚接觸會造成全身性中毒。二甲苯暴露於人體吸收後，70% 以上會經由代謝排除，少於 10% 會以原形物呼出體外<sup>(20)</sup>。

## 二、BTEX 化合物之代謝產物

揮發性有機化合物進入人體後，經由體內代謝過程形成不同的代謝產物或以未代謝原形物質排出體外。苯暴露之尿中主要代謝產物為酚(phenol)，在現行之生物偵測方法中，以測定尿中總酚量(total phenol)、t,t-MA、血中苯及呼出氣體等方式為多。人體內的酚會因為個人腸胃不適服用含 phenylsalicylate 的藥物，促使細菌對於對酪胺酸(tyrosine)及苯丙胺酸(phenylalanine)的分解能力降低，而增加尿中酚(phenol)的濃度。暴露於低濃度(約 1ppm)之苯環境中，測定血中苯及尿中 t,t-MA 為較有用之生物偵測方法<sup>(21,22)</sup>，因為在低濃度環境中，暴露者尿中 t,t-MA 較酚(phenol)為更具可靠性之生物指標，也提供了較具敏感度之分析方法。Gerhard S.等人研究中<sup>(23)</sup>，測定低於 0.1ppm 苯濃度之職業暴露者呼出氣體及尿中低濃度 t,t-MA，發現兩者間相關性佳且分析靈敏度高，所以本研究對於苯暴露之生物指標，以尿中 t,t-MA 為對象。

甲苯進入人體後，有一部份(約 20 %)會以原形態被呼出體外，其餘的會經氧化作用由甲基(methyl)轉變為羧自由基(carboxyl radical)，大部份羧基會與氨基乙酸(glycine)結合產生馬尿酸(hippuric acid)，但僅有很少部份(約小於 1%)會經由羥化作用(hydroxylated)產生甲酚(o-,m-,p-cresol)<sup>(24)</sup>。一般正常人體尿液中均含有馬尿酸的成份，主要因為食品中含有苯甲酸(benzoic acid)或苯甲酸鹽(benzoate)所帶來，但在人體尿液中之含量並不會太高。尿中馬尿酸之半衰期約為 3 小時，終止暴露後，約 18 小時以後即可完全被排出。在代謝的過程中，也可能因為其他因素而影響代謝量，如大量攝入酒精(如喝酒)後血中甲苯濃度會增加，尿中馬尿酸排泄量則會減少，但是吸煙者尿中馬尿酸似乎不受吸煙行為所影響，而是血液中甲苯濃度較不吸煙者為高<sup>(25)</sup>。於職業暴露中，同時暴露於苯及甲苯中，尿中馬尿酸及鄰-甲酚濃度會減少；暴露於高濃度的甲苯及二甲苯中，尿中馬尿酸則會延緩排泄<sup>(26)</sup>。

乙苯主要代謝物為杏仁酸(mandelic acid)，也有部份會代謝為苯基乙醛酸(phenylglyoxylic acid)，同時暴露於乙苯及間-二甲苯時，其代謝情況會受到抑制使代謝量減少，並且會延緩代謝速率<sup>(20)</sup>。

二甲苯主要代謝途徑為甲苯酸(methylbenzoic acid)經氧化後與氨基乙酸(glycine)結合形成甲基馬尿酸(o-,m-,p-methylhippuric acid, -MHA)於尿液中被排泄出來，在二甲苯停止暴露後一至兩天，尿中甲基馬尿酸即可完全被排出體外<sup>(20)</sup>。二甲苯暴露時若有喝酒的行為，尿中甲基馬尿酸的代謝會受到抑制，並且會延緩甲基馬尿酸的代謝速率；而同時暴露

於乙苯的情況下，則會使血液中二甲苯濃度增加，尿中甲基馬尿酸含量的減少<sup>(27,28)</sup>。

綜合各文獻之測定指標物及美國工業安全衛生師協會(American Conference of Governmental Industrial Hygienists, ACGIH)所制定之生物偵測指標物<sup>(29)</sup>，本研究於 BTEX 代謝產物分析方面，分別選擇苯之代謝產物 - t,t-粘康酸(t,t-MA)、甲苯代謝產物 - 馬尿酸(HA)、乙苯代謝產物 - 苯基乙醛酸(PGA)及杏仁酸(MA)、二甲苯代謝產物 - 甲基馬尿酸(o-,m-,p-MHA)為測定對象。

### 三、尿中代謝產物之校正方法<sup>(30,31,32)</sup>

尿中代謝產物濃度會因個人差異、尿液代謝速率及尿流量等因素影響，為降低這些因素的影響，美國政府工業衛生師協會(ACGIH)制定了五種不同校正方法將尿液作標準化調整，分別為比重校正、尿中肌酸酐校正、二十四小時總尿量校正、排泄速率校正、尿流率校正等，本研究採用比重校正法及肌酸酐(creatinine)校正作為尿中 BTEX 代謝產物濃度之校正方式。

#### (一)比重校正法(corrected for specific gravity)

尿液比重會因個人飲水、排尿量或腎臟疾病等而有所差異，一般正常人尿液比重在 1.020~1.024 之間，校正公式可表示為：

$$\text{校正濃度} = \text{未校正濃度} \times (\text{SG} - 1.000) / (\text{sg} - 1.000)$$

SG 為參考比重(日本人 SG 為 1.020，美國人 SG 為 1.024，歐洲人為 1.016)；sg 為尿液樣品比重。本研究以日本人之尿液參考比重(1.020)作為校正依據，且尿液比重低於 1.010 或高於 1.030 之尿液樣品分析結果，將予以剔除，不納入統計分析之內。

## (二)尿中肌酸酐(creatinine)校正：

肌酸酐為人體活動情形的表示，為人體肌肉活動之代謝產物。人體肌肉中所含之 creatine 與 creatine phosphate 會代謝為 creatinine，由腎臟排泄，是一種穩定的排泄物，且不受高蛋白質食物的影響，具有其特異性；除了腎臟疾病、腎功能失調或肌肉大量損壞會受影響外，creatinine 為一良好之尿液校正方法，一般尿中 creatinine 濃度在 50 ~ 300 mg/dl 才符合用來校正尿中代謝物濃度。

## 四、尿中 BTEX 未代謝原形物質測定之相關研究

未代謝原形物質之生物偵測方法，較常測定呼出氣體、血中含量及尿中未代謝原形物質等，而呼出氣體之生物偵測較為複雜，於暴露後必須立即進行採樣，採樣技術與採樣時間會造成分析結果很大的差異，此外，暴露者之工作負荷、肺部容積、新陳代謝清除率及化合物之溶解度也會造成很大的變異，並且所呼出之氣體並無法完全代表化合物所暴露的量。

血液中原形物質之生物偵測方式，對受測者易造成侵略性 (invasive)，再者，其樣品前處理過程複雜且冗長，不符合經濟效益。

揮發性有機化合物一般不會存在於尿液中(除少數物質，如丙酮)，尿中未代謝原形物質於尿液中所佔比例雖低(約 0.1%~0.2%)<sup>(33)</sup>，樣品取得方面，不具侵略性、暴露者配合度高，且其半衰期較代謝產物之半衰期短。尿中未代謝原形物質在尿液中含量不多的情況下，則需要以靈敏度高、精確度佳之分析方法進行檢測。目前在這部份的研究並不多，少數專家學者已陸續進行這方面的研究，而使用方法各異。

就揮發性有機溶劑而言，在未代謝原形物質之生物偵測以



評估苯暴露之危害較多，Pezzagno G.等人<sup>(34)</sup>，利用熱脫附技術(thermal desorption)結合氣相層析儀，測定吸煙者與不吸煙者尿中苯濃度，結果發現吸煙者尿中苯濃度高於不吸煙者 7.2 倍。另外 Ong C.N.等研究小組<sup>(35)</sup>，利用頂空法結合氣相層析儀/光離子偵測器(GC/PID)，進行職業暴露者尿中及血中苯濃度測定，並同時測定尿中苯代謝物 - t,t-MA、phenol、catechol、hydroquinone 等，結果顯示，空氣中苯濃度與尿中未代謝苯濃度之相關最佳 ( $r = 0.76, p < 0.001$ )，其次為血中苯濃度( $r = 0.64, p < 0.001$ )及尿中代謝產物 t,t-MA( $r = 0.53, p < 0.001$ )，此外，分層探討空氣中更低濃度苯( $< 0.25\text{ppm}$ )之暴露，經統計結果指出，低濃度苯環境中與暴露者尿中未代謝苯濃度仍能保持良好相關性。

Asakawa F.等人的研究中<sup>(36)</sup>，以固相微萃取法/頂空部(headspace solid-phase microextraction, 簡稱 HS-SPME)尿液樣品萃取前處理方式，配合氣相層析儀/火焰離子偵測器(GC/FID)進行職業暴露者尿液中未代謝甲苯及二甲苯之測定，並同時採集作業環境空氣中甲苯及二甲苯及測定其尿中代謝產物 - 馬尿酸，最後再經由統計相關性分析比較。在分析方法中，利用固相微萃取法之最適分析條件，為尿液樣品添加 1 公克的氯化鈉，於室溫下進行樣品吸附(或萃取) 5 分鐘，可得到良好的萃取效果，分析結果顯示，空氣中甲苯濃度與尿中甲苯濃度之相關性  $r$  值為 0.820，而與尿中代謝產物馬尿酸之相關性  $r$  值為 0.614，且均達統計上顯著意義，研究者認為，測定尿中未代謝原形物質較代謝產物之特異性佳，且不受個人差異影響，除此之外，所應用之固相微萃法測定尿中未代謝原形物質，其分析方法變異性 (coefficient of variation) 均於 4.5 % 之內，偵測極限可達  $0.5 \mu\text{g/L}$ ，也顯示出此技術之靈敏度高及再現性良好。Fuyu G.等人研究中<sup>(37)</sup>，也同樣使用此技術測定人體血中及尿液中二硝

基苯胺(dinitroaniline)含量，其偵測極限可達 0.5 ng/mL 以下，分析方法之精密度及再現性良好，且前處理步驟簡單、容易且省時，較固相萃取法(solid phase extraction,簡稱 SPE)方便許多。

Ghittori S.等人<sup>(38)</sup>以熱脫附技術(thermal desorption)配合氣相層析儀/火焰離子偵測器(GC/FID)，測定化學工廠及加油站勞工尿中苯濃度，其分析方法偵測極限可達 0.05 ng/mL，測定結果顯示在職業暴露勞工尿中苯濃度與空氣中苯濃度之相關性  $r$  值為 0.559 ( $p < 0.0001$ )，其中排除吸煙者所測數值，此兩者相關性可提高至  $r$  值為 0.763 ( $p < 0.0001$ )，相對的以吸煙者之測定結果分析，尿中苯濃度與空氣中苯濃度之相關性則下降至  $r$  值為 0.450 ( $p < 0.0016$ )，此研究在各組間的統計分析都能得到良好相關性，且有達到統計上的顯著意義。而吸煙者較不吸煙者尿中苯含量為高，在過去研究報告<sup>(39)</sup>中指出，吸煙者於每根含有 16 mg 焦油(tar)及尼古丁(nicotine)的香煙吸取過程中，大約會產生 57  $\mu$ g 的苯，所以吸煙行為是人體內苯暴露含量測定之重要干擾因子，於職業性苯暴露者之評估易造成高估或估計錯誤。Hung I.F.等人的研究<sup>(40)</sup>，同樣也以熱脫附技術(thermal desorption)配合氣相層析/質譜分析儀(GC/MS)進行尿中 BTEX 原形物質分析，分析方法偵測極限達 0.05 ng/mL，再現性之相對標準偏差都在 7.3% 以內。針對非職業暴露者於吸煙與不吸煙行為，其尿中未代謝 BTEX 濃度測定比較，結果顯示，吸煙者尿中苯、甲苯、乙苯及二甲苯含量都比不吸煙者高，除甲苯之外，其餘三者均有達統計上的顯著意義。

## 五、固相微萃取技術之介紹與應用

固相微萃取(solid-phase microextraction, 簡稱 SPME) 是由 Pawliszyn J.博士近年來發展出之樣品前處理技術<sup>(2)</sup>, 主要是將披覆於熔融矽之固定靜相纖維(fiber)與一不鏽鋼管以耐高溫之環氧樹脂黏著, 再將之結合於微量注射器中, 即組裝完成一個固相微萃取元件(固相微萃取裝置圖見附錄一), 目前此裝置已商業化。固相微萃取是一種平衡式萃取, 其原理<sup>(41,42)</sup>為分析物於樣品基質(matrix)及可吸附之披覆固定相(coating stationary phase)進行平衡分配(equilibrium partition), 換言之, 即部份分析物由樣品基質中被萃取至纖維表面之固定相, 而後將纖維自樣品基質中抽離, 再將纖維插入氣相層析儀之注射部(injection port), 使吸附於纖維表面的分析物進行熱脫附, 進入分離管柱中進行氣相層析定性、定量分析。

固相微萃取技術大致可區分為直接固相微萃取(direct SPME)及頂空固相微萃取(headspace SPME)兩種<sup>(43)</sup>, 直接固相微萃取方法為將吸附纖維完全浸入樣品基質中(樣品基質為液態時), 等待液態樣品與吸附纖維二相間達吸附平衡後, 再將注射針注入氣相層析儀注射部進行脫附分析, 若樣品基質過於複雜(如血液、尿液、廢水)或污穢者, 或是樣品為固態, 分析物質為揮發性有機溶劑時可利用頂空固相微萃取方法, 此方法則為液態樣品、吸附纖維及頂空部三相間的平衡關係, 其平衡速度不僅較直接固相微萃取為快, 並且可避免油膩的水樣或血液在直接固相微萃取採樣時, 油脂緊緊吸附於纖維或大分子(如蛋白質)對吸附纖維造成的傷害, 更能延長吸附纖維使用壽命。

固相微萃取技術在近幾年已逐漸被廣泛使用在各領域中, 包括 1.飲料中之咖啡因<sup>(44)</sup>, 2.酒類中之乙醇<sup>(45)</sup>, 3.尿中及血中非法藥物<sup>(46,47)</sup>, 4.水中農藥分析<sup>(48)</sup>, 5.水樣中揮發性有機溶劑

(49,50,51,52,53) , 6.除草劑<sup>(54,55)</sup> , 7.水中多氯聯苯及多環芳香烴化合物<sup>(56,57)</sup> , 8.含氯化合物<sup>(58,59)</sup>等之分析測定。

## 六、固相微萃取法之優點

對於微量分析，樣品前處理即是非常重要的部分，樣品濃度低時，就需要進行樣品的濃縮，亦或是樣品基質複雜，易干擾分析物質的偵測，則需要將樣品基質與分析物質分離，這樣的技術對於水樣品而言，一般使用液-液萃取(liquid-liquid extraction)或固相萃取(solid phase extraction)，而液-液萃取經常需要使用到大量的溶劑，增加分析成本；固相萃取利用吸附劑吸附分析物質的方式使用的溶劑雖然較少，但是所使用的萃取溶劑都容易對環境造成污染，且處理過程麻煩、費時；吹氣捕集(purge and trap)的使用需要精密的控制氣體流量，而熱脫附管不易克服半揮發性脫附的問題等，面臨了諸多的前處理問題。固相微萃取法排除了上述各項問題，分析樣品無須使用任何溶劑(免溶劑, solvent free)，前處理時間短，使用設備簡單容易且便宜，並可自動化操作，樣品取樣、萃取、濃縮、樣品注入可於同一步驟完成，節省許多操作時間，大為提高工作效率。此設備適用於不同廠牌氣相層析儀，諸多優點提升了研究人員對此技術的使用接納度。

## 參、材料與研究方法

本研究主要探討空氣中揮發性有機溶劑苯、甲苯、乙苯、二甲苯經暴露者吸入進入人體後之代謝產物與未代謝原形物質之間關係。空氣中 BTEX 化合物以主動式採樣器進行採樣，並同時收集暴露者尿液進行 BTEX 代謝產物及未代謝原形物質之生物偵測，由於未代謝原形物質存在人體尿液中之含量甚微(約有 0.1~0.2 %)，需要以靈敏度高之分析方法進行測定，本研究選擇一種較新的前處理技術—固相微萃取法進行分析測試，評估此技術應用於生物偵測之可行性後，再進一步執行職業性暴露者尿中未代謝物質之測定，並探討尿中 BTEX 代謝物質及未代謝原形物質與空氣中 BTEX 濃度之相關性。

本研究以中部某一小型彩色平版印刷工廠勞工為對象，現場作業勞工共八人均參與此研究，行政人員四人，選取二人作為對照組，進行連續一週之環境測定及生物偵測樣品採集、測定。

### 一、材料

#### (一)藥品

1. 苯(benzene , assay > 99.96% , TEDIA)
2. 甲苯(toluene , assay > 99.8% , Fisher)
3. 乙苯(ethylbenzene , assay > 98 % , Fluka)
4. 鄰-二甲苯(ortho-xylene , assay > 99% , TEDIA)
5. 間-二甲苯(meta-xylene , assay > 98% , Fluka)
6. 對-二甲苯(para-xylene , assay > 98% , Fluka)
7. 甲醇(methyl alcohol , HPLC/Spectro , TEDIA)
8. 二硫化碳(carbon disulfide , ACS grade , TEDIA)
9. 氰甲烷(acetonitrile , HPLC/Spectro , TEDIA)

10. 磷酸(phosphoric acid 85% , HPLC grade , Fisher)
11. sodium 1-decanesulfonate(purity 98% , TCI)
12. 磷酸鉀(potassium dihydrogen phosphate , 試藥特級 , SHOWA)
13. 苯基乙醛酸(phenylglyoxylic acid , 試藥級 , TCI)
14. t,t-粘康酸(trans, trans-muconic acid , 試藥級 , TCI)
15. 杏仁酸(DL-mandelic acid , 試藥級 , TCI)
16. 馬尿酸(hippuric acid , 試藥級 , TCI)
17. 鄰-甲基馬尿酸(ortho-methylhippuric acid , 試藥級 , TCI)
18. 間-甲基馬尿酸(meta-methylhippuric acid , 試藥級 , TCI)
19. 對-甲基馬尿酸(para-methylhippuric acid , 試藥級 , TCI)
20. 肌酸酐(creatinine , SIGMA)
21. 碳酸鈉(sodium carbonate , HPLC grade , Fisher)
22. 氯化鈉(sodium chloride , ACS 級 , TEDIA)
23. 氯化鉀(potassium chloride , ACS 級 , Fisher)
24. 亞硫酸鈉(sodium sulfate , Anhydrous , 試藥一級 , OSAKA)

## (二)實驗器具

- 1.共栓試管：PYREX , 15 mm×110 mm
- 2.微量吸管：SIBATA , 0.5mL、 1mL、 2mL、 3mL、 4mL、 10mL
- 3.微量注射針：Hamilton , 10 $\mu$ L、 50 $\mu$ L、 500 $\mu$ L
- 4.定量瓶：SIBATA、 PYREX , 10mL、 25mL、 50mL、 100mL、 250mL、 500mL、 1000mL
- 5.分析用樣品瓶：CLR screw thread vial 12×32mm , NSC)
- 6.磁石：Bel-Art Products 10×6 mm、 40×8 mm
- 7.採樣管切割器：Dräger
- 8.樣本運送裝置：附有冷媒及隔熱材料之可攜帶式冰箱

### (三) 儀器設備

#### 1. 空氣採樣泵

i 低流量空氣採樣泵：SKC Inc. personal air sampler, 40~200 mL/min, model 222-3<sup>®</sup>

ii 空氣採樣泵：SKC AIRCHECK sampler model

2. 紅外線流量校正器：Gilian , P/N D800286

3. 酸鹼測定儀：HANNA , Hi 9017 Microprocessor pH meter

4. 五位數精密電子天平：AND , ER-182A , electronic balance

5. 磁石攪拌器：CORNING , PC-320 , stirrer/hotplate

6. 震盪器：VORTEX-2 GENIE , Scientific industries

7. 超音波震盪器：Ultrasonic cleaner , BRANSON , 8200

8. 去氣泡裝置：Shimadzu corporation Model DGU-2A

9. 固相微萃取裝置固定器：Supelco 公司之 solid-phase microextraction manual holder(No. 5-7330)

10. 固相微萃取吸附纖維：Supelco 公司之 SPME fiber , 100µm polydimethylsiloxane coating(No. 57300-U)

11. 比重計：NOW , No.503 , hand refractometer P.U.R.1-12%

#### 12. 高效率液相層析儀

i. 採用島津製造所之幫浦(LC-9A) , 樣品自動注射裝置(SIL-6B) , 系統控制(SCL-6B) , 分離管柱恆溫箱(CTO-6A)

ii. 分離管柱：TSK gel ODS-80<sup>TM</sup> , 內徑 4.6 mm×150 mm 之不鏽鋼管製品

iii. 紫外-可見光偵測器：Shimadzu SPD-10AV(UV/VIS)

iv. 色層分析儀數據處理系統：SISC-LAB(32)

#### 13. 氣相層析儀設備

i 氣相層析儀：Shimadzu , GC-17A gas chromatograph

ii 火焰離子偵測器(flame ionization detector, 簡稱 FID)

iii 分離管柱：J&W Scientific , DB-1 , 0.53 mm×30 m , film thickness 3.0 μm

iv 積分處理系統：Shimadzu , GC workstation class-GC10

14.離心機：HITACHI 05-21

## 二、實驗方法

### (一)空氣中 BTEX 採樣及分析方法

#### (1)採樣方式：

作業環境空氣中 BTEX 的採集，依據行政院勞工委員會標準分析參考方法 # 1903 (碳氫化合物，BP 80-140 ) 及# 5032 (乙基苯)，採樣介質以活性碳管 ( 20/40 mesh, 前段 100mg, 後段 50 mg, SKC Lot 120, cat. 226-01 USA ) 進行採樣分析。因為勞工作業型態與業務量的不同，採樣規劃以作業勞工之個人暴露採樣為主，區域採樣則用以調查污染源之污染情形，採二個全程連續採樣(即二個 4 小時連續測定)，採樣時間為 8:00 ~ 12:00 及 12:00 ~ 16:00，每日約採樣 8 小時，持續一週(週一至週六)採樣測定，採樣記錄表見附錄二。

A.個人採樣：採樣器為主動式個人低流量計數型採樣泵 (personal air sampler, 40 ~ 200 mL/min, model 222-3<sup>®</sup>, SKC Inc.)，採樣流速控制為 50 mL/min，組裝好採樣介質後，協助作業勞工配戴於腰部，採樣管夾於勞工衣領靠近呼吸帶，以不防礙作業行動為原則。



**B. 區域採樣：**採樣器為主動式個人低流量採樣泵(SKC Aircheck sampler model)和加裝低流量等壓調節器(Cat No. 224-26-CPC, SKC Inc., PA 15330 USA)，採樣流速控制為 50 mL/min。

為了確保採樣結果的正確，採樣泵於採樣前均先經過校正與篩選，流量的校正使用電子式紅外線流量校正器(Gilian Inc. P/N D800286)。採樣泵於採樣前及採樣後之流量校正之準確度應在  $\pm 5\%$  以內，且流速應保持在定流量及無流量脈衝的情況下。

**(2)樣品的保存與分析方法：**

樣品採集結束後，立即以封套封住活性炭管兩端，纏上石臘膜，完成樣品密封動作，並清楚標明採樣時間、地點、條件等事項，運送樣品過程中應避免任何污染，送回實驗室後將它們放入  $4^{\circ}\text{C}$  之冰箱冷藏庫保存，直到分析。

分析樣品以 1 mL 二硫化碳( $\text{CS}_2$ )為脫附劑將吸附於採樣介質中的 BTEX 脫附出來，前段與後段分開處理，並參考行政院勞工委會標準分析參考方法 # 1903 之分析條件，並配合氣相層析儀/火焰離子偵測器(GC/FID)定量分析，分析條件見表 1。

**(二)尿液樣品採樣與分析方法：**

**(1)尿液樣品之採樣：**

作業勞工於環境採樣過程中，同時請勞工配合收集工作中(prior to shift)及工作後(end of shift)之尿液，連續收集 6 天，在現場 8 位作業勞工(實驗組)及 2 位行政人員(對照組)中，有 6 位現

場作業勞工願意配合收集 24 小時尿液(spot urine)連續 3 天(週一至週三)，尿液收集後立即將其裝入 40 ml 樣品瓶中，於裝入樣品瓶時，使其裝滿整個瓶內容積毫無空隙，避免尿中 BTEX 之流失。此外，取同一份尿液樣品約 5 mL 裝入 10 mL 之集尿瓶中，作為尿中 BTEX 代謝產物分析用。所有尿液樣品於封瓶後立即放置於冰桶中帶回實驗室，將其放入 4℃ 的冰箱中冷藏，直到分析。

## (2)尿液樣品分析：

### A) 尿中 BTEX 代謝產物分析：

本研究參考行政院勞委會勞工安全衛生研究所製定之「作業環境中有害物勞工暴露生物偵測分析方法驗證程序」<sup>(60)</sup>作為分析方法判定標準之依據。

#### (1)樣品前處理：

從 4℃ 冰箱中取出尿液樣品，待回室溫，以 3000 迴轉數(rpm)離心機離心 10 分鐘，取上清液再以 50%(v/v)甲醇水溶液稀釋 100 倍，直接進行 HPLC/UV 分析，此外，所有尿液樣品在分析之前皆以比重計測定尿液樣品比重。

#### (2)分析條件：

分析操作條件中移動相的組成為影響分析物滯留時間、波峰解析度及分離效果的重要因素，在本實驗針對會解離產生離子之樣品以加入離子對(ion pair)，另一目的即以控制尿中肌酐酸(creatinine)之滯留時間，同時移動相需要控制 pH 值及氰甲烷(acetonitrile)濃度，最適移動相之配製為 20 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH=3.2) 中含 2 mM sodium-1-decansulfonate，再加入氰甲烷(acetonitrile)以 85：15(v/v) 之比例混合均勻，然後通入氫氣趕出氣泡。在液相層析儀

流速設定為 0.7 mL/min、分離管柱溫度維持在 30 °C、樣品注射量為 10 µL、偵測波長 225 nm，以逆相分離管柱 (ODS 80™ 4.6 mm ×150 mm)進行分析，分析條件見表 2，於此條件中進行標準品測試之層析圖譜(圖 1)中可看出其分析物之分離效果良好，應用於實際尿液樣品亦能進行檢測(圖 2)。

(3)檢量線配製：

精稱 8 種化合物標準品，以 50 % 甲醇水溶液(v/v)當作稀釋液，配置儲備溶液(約 1000 µg/mL)，再經系列稀釋成六點後，各代謝物之檢量線範圍 PGA 為 0.53~127.75 µg/mL、t,t-MA 為 0.52~127.00 µg/mL、MA 為 0.52~126.88 µg/mL、HA 為 0.52~126.33 µg/mL、o-MHA 為 0.52~126.63 µg/mL、(m+p)-MHA 為 1.04 ~ 252.88 µg/mL、creatinine 為 0.53~127.63 µg/mL，檢量線範圍所求得的線性相關係數 r 值須大於 0.995 以上。

(4)偵測極限(Limit of Detection, LOD)：

分析儀器因為靈敏度的不同，對分析物質有一定之偵測極限，低於該濃度時則無法測定出化合物之濃度。本研究採用美國材料測試學會(American Society of Testing Materials, ASTM)之定義，以檢量線之最低濃度重複分析 7 次，所求得之波峰面積或波峰高度，計算其平均值及標準偏差，以 3 倍標準偏差除以平均值，再乘以分析濃度，即為分析方法偵測極限，以公式表示為：

$$\text{LOD} = (3 \times \text{SD} / \text{mean}_{(\text{peak area})}) \times \text{concentration}$$

(5)分析方法再現性：

分析方法的可信度，可由重複分析之再現性來證明，本實驗配製中濃度及低濃度之標準品，重複分析七次，分

別就各代謝物標準品之滯留時間、波峰面積、波峰高度之變異情形進行探討。

(6) 添加回收率

以 50% 甲醇水溶液為溶劑，配製兩種不同濃度之 PGA、t,t-MA、MA、HA、o-MHA、m-MHA 及 p-MHA 之標準品，每一種濃度之樣品均做三重覆分析，其添加回收率之計算為樣品分析濃度與實際添加濃度之比值。

(7) 尿液基質效應：

尿液樣品基質效應(matrix effect)的干擾與否，為尿中代謝物定量分析上的重要考量，本實驗參考黃氏碩士論文<sup>(61)</sup>中尿液基質效應之探討，從各分析物質在尿中建立之檢量線斜率與 50%(v/v) 甲醇水溶液中建立之檢量斜率之差異，瞭解是否有尿液基質效應的干擾問題。

(8) 樣品分析品質管制(QA/QC)：

為確保分析過程中實驗數據之可信度，本研究以固定濃度之標準品作為確定儀器穩定度及分析正確性，其測定頻率於每分析 12 個尿液樣品後以一個品管樣品進行管制檢測，待樣品分析結束，合併計算品保品管樣品之滯留時間、波峰面積、波峰高度之變異情形。

**B) 尿中 BTEX 未代謝原形物質分析**

本研究針對尿中 BTEX 未代謝原形物質之分析，使用頂空固相微萃取技術(Headspace Solid Phase Microextraction, 簡稱 HS-SPME)，採取部份頂空層氣相樣品進行分析，樣品的採集建立在塗覆特殊材質之纖維(fiber)，以吸附欲分析物質後再予以脫附分析之原理，其吸附纖維之選擇則依據「分析物質極性吸附極性，非極性吸附非極性」原則，本實驗選擇

具非極性材質之 100  $\mu$  m 聚二甲基矽氧烷 (polydimethylsiloxane, 簡稱 PDMS)。萃取過程中因為涉及液態樣品、頂空部及吸附纖維三相間之平衡關係，在平衡過程中容易受到數個不同參數之影響，為了確切掌握最佳之萃取效果，分別針對樣品吸附時間、吸附溫度、脫附溫度、不同鹽類添加及樣品攪拌與否等參數進行最適分析條件之尋找，並配合氣相層析儀/火焰離子偵測器 (GC/FID) 進行定性及定量分析，分析條件如表 1。

(1)標準溶液配製：

苯、甲苯、乙苯、二甲苯為弱極性物質，不溶於水，這四種物質要均勻溶於水中，必須藉助媒介物質使其互溶。甲醇具有能同時溶於極性及非極性物質的能力，所以本實驗，選擇甲醇作為配製標準溶液的媒介物質，分別取苯、甲苯、乙苯、二甲苯標準品各 50  $\mu$  l 添加入 10 mL 甲醇溶液中，混合均勻，此溶液作為儲備溶液(stock solution)，再從儲備溶液中取一定量溶於去離子水中進行樣本測試。

(2)標準品檢測：

由儲備溶液中取一固定量溶於去離水中，混合均勻，經固相微萃取/頂空法吸附樣品後，以 GC/FID 進行分析，以確認分析物質之滯留時間與良好分離度。

(3)檢量線配製：

檢量線配製至少應包括三種濃度以上，濃度範圍以能涵蓋樣品濃度範圍為原則，並且檢量線之線性相關係數 (correlation coefficient, r) 須大於 0.995 以上。

(4)最適分析條件測試

配製濃度苯為 21.20 ng/mL、甲苯為 20.89 ng/mL、乙苯為 20.89 ng/mL、鄰-二甲苯為 20.95 ng/mL、間-二甲苯為

21.23 ng/mL、對-二甲苯為 20.78 ng/mL 水溶液樣品，混合均勻，取 10 mL 已配製好之標準溶液裝入 20 mL 樣品瓶中，立即以附有 teflon/silicon 墊片之螺旋蓋密封，進行影響固相微萃取效率因子評估。

**a. 最適吸附溫度試驗**

樣品吸附量的效果受萃取時溫度之影響而有所改變。將以配置好的樣品，於不同萃取溫度下進行測試，溫度的選擇以室溫(約  $25 \pm 1$  )、30、40、50、60、70 等不同溫度於恆溫箱中先行調態 30 分鐘，再進行萃取效率測試評估。

**b. 最適脫附溫度試驗**

樣品脫附量與是否脫附完全受脫附溫度影響，而且吸附纖維有一定承受高溫之限制(本研究使用之 PDMS 吸附纖維最高承受溫度為 280 )，所以在注射口脫附溫度之設計分別以 170、190、210、230、250 進行脫附量測試評估。

**c. 最適吸附時間試驗**

樣品吸附(或萃取)時間長短，對分析物是否達平衡及吸附量是否達到最大量有關，吸附時間分別以 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 分鐘進行吸附量測試評估。

**d. 不同鹽類添加試驗**

欲使液態樣品之分析物質對水之溶解度降低，以加入鹽類來促進作用，此方式稱為「鹽析作用」(salting out)，水分子與溶解之鹽離子之親和性會減少與有機分析物質作用機會，進而使之分離或沉澱。通常加鹽以添加氯化鈉使其顯示效果，本實驗除了添加氯化鈉(sodium chloride)之外，另外分別以三種不同鹽類添加：氯化鉀

(potassium chloride)、碳酸鈉(sodium carbonate)、亞硫酸鈉(sodium sulfate)等，測試其對萃取效果的影響，每一種物質分別添加 0 公克、1 公克、2 公克、3 公克、4 公克進行萃取效果分析，以找尋最適鹽類添加物種及添加量。

e. 攪拌與否比較試驗

配製兩組相同濃度樣品，分別加入等量之碳酸鈉，以相同吸附時間進行吸附，一組以相同攪拌速度進行攪拌後的分析；另外一組，則不予攪拌，評估攪拌與不攪拌對萃取效果之影響。

(5)方法再現性試驗

分析方法之的可信度，可由重複分析之再現性來證明，本實驗配製中濃度及低濃度之標準品，各濃度重複分析七次，分別就分析物標準品之滯留時間、波峰面積、波峰高度之變異情形進行探討。

(6)偵測極限(Limit of Detection, LOD)：

利用固相微萃取技術之前處理方法，其偵測極限的求算，同前項“尿中 BTEX 代謝產物分析”之偵測極限求算法。分析方法偵測極限可以以公式表示為：

$$\text{LOD} = (3 \times \text{SD} / \text{mean}_{(\text{peak area})}) \times \text{concentration}$$

(7)樣品儲存穩定度試驗：

樣品儲存穩定度是決定樣品品質的重要因素之一。本試驗中，配製一標準品濃度苯為 10.61 ng/mL、甲苯為 10.46 ng/mL、乙苯為 10.46 ng/mL、鄰-二甲苯為 10.49 ng/mL、間-二甲苯為 10.63 ng/mL、對-二甲苯為 10.40 ng/mL 之標準樣品，混合均勻，將其裝入 40 mL 樣品瓶中，於裝入樣品

瓶時，使其裝滿整個瓶內容積毫無空隙，避免樣品中 BTEX 之流失。樣品分為室溫(約  $25 \pm 1$  )及冷藏(4 )儲存方式，當日分析 6 個樣品，作為儲存穩定度推算之參考值，其餘室溫組及冷藏組分別於第 3、6、9、12、15、18、21、24、27、30 天時，取出該天欲分析樣品分裝於 20 mL 樣品瓶中進行分析，各組分別配製三個樣品分析，各日分析之結果相對於第 0 天求得之結果，代表樣品之各日儲存穩定度。

(8)尿液基質效應：

尿液樣品基質效應(matrix effect)的干擾與否，為尿中分析物質的重要考量，本實驗參考曾氏碩士論文<sup>(62)</sup>中尿液基質處理方式，收集非暴露者尿液將之混合均勻(pool urine)，以氮氣置換趕出可能殘留之揮發性有機物質，並進一步測試確認尿液中已無任何殘留物時，視此尿液為空白尿液樣品(urine blank)，接著，添加 BTEX 標準品於空白尿液中及去離子水中，探討分析物質於此兩種基質中檢量線斜率之差異，瞭解是否有尿液基質效應的干擾。

(9)樣品分析品質管制(QA/QC)：

為確保分析過程中實驗數據之可信度，且固相微萃取吸附纖維有一定使用壽命，在多次使用後吸附纖維可能逐漸劣化，影響萃取效果甚至造成樣品分析結果的正確性，因此，本研究於檢量線建立及尿液樣品分析均使用同一支吸附纖維進行分析，並且對於大批樣品之分析品質管制，以固定濃度之標準品作為分析穩定度之確認，其測定頻率於每分析 12 個尿液樣品後以一個品保品管樣品進行管制檢測，待樣品分析結束，合併計算品保品管樣品之滯留時間、波峰面積、波峰高度之變異情形。



### 三、資料處理與分析

實驗室分析之所有數據，包括標準品測試、實際採集樣品(環境測定及生物偵測)分析數據及問卷基本資料均以 Excel 2000 應用軟體處理建檔,分析樣品未檢出及問卷填答不全者均視為缺失資料 (missing data) , 並轉以 dbase III 存檔後以 SAS 套裝軟體 6.12 版進行統計分析。

## 肆、結 果

### 一、作業環境測定分析結果

#### (一)分析品質管制

實際樣品分析前，分析方法之建立需於實驗室內完成，BTEX 化合物檢量線配製濃度各七點，同時以氣相層析儀/火焰離子偵測器(GC/FID)進行分析，其檢量線線性相關係數 r 值均在 0.9998 以上，採樣管之脫附效率如表 3 所示，苯、甲苯、乙苯、鄰-二甲苯及(間+對)-二甲苯分別為 103.3%、99.5%、103.9%、98.9%、102.8%(間及對-二甲苯無法分離，本實驗以合併計算之)，其偵測極限如表 4 所示，苯、甲苯、乙苯、鄰-二甲苯及(間+對)-二甲苯分別可達 2.34 ng、1.42 ng、1.15 ng、1.14 ng 及 2.22 ng。實際樣品之採樣分析應用於平版彩色印刷勞工實施連續一週之個人採樣及區域採樣，共採集 216 個樣品(含現場空白樣品)，樣品濃度計算全部經由採樣當日溫度及氣壓與標準溫度、壓力(標準溫壓採用 25℃，一大氣壓)校正後之採氣量計算而得，在所有採樣過程中並沒有發現採樣管有破出(break through)的現象，且樣品於採樣完成後一週內分析完成，在所有樣品分析過程中之品保品管樣分之變異情形均於 6.05 % 以內(表 5)。

#### (二)空氣中 BTEX 實際樣品分析結果：

實際樣品經定量分析後其濃度分佈，苯之平均濃度為 0.21(±0.12, n=17) ppm，甲苯之平均濃度為 0.43 (±0.31, n=24) ppm，乙苯之平均濃度為 1.13 (±0.83, n=35) ppm，鄰-二甲苯之平均濃度為 0.72 (±0.49, n=15) ppm，(間+對)-二甲苯之平均濃度為 0.44 (±0.21, n=26) ppm，各化合物之暴露濃度都在我國勞工作業環境空氣中有害物質容許濃度標準值以下，苯、甲苯、乙苯、

鄰-二甲苯及(間+對)-二甲苯在所有採集樣品中能檢出者佔採集總數之 19.8%、31.8%、46.9%、13.0%及 35.4%，由上述之情形可得知，該工作現場之 BTEX 化合物暴露濃度並不高，且每位勞工之個人採樣測定值差異大，可能為其工作性質及工作類別不同所造成，此外，行政區(對照組)空氣中 BTEX 各物質均沒有被測定出，很明顯的現場作業環境存在有 BTEX 的暴露，但暴露濃度都不高。

## 二、尿液樣品之生物偵測

### (一)尿中 BTEX 代謝產物之分析

#### A.分析方法之建立

本研究對於尿中 BTEX 代謝產物之分析，參考郭氏<sup>(63)</sup>研究小組之分析方法，利用高效率液相層析儀(HPLC)配合紫外-可見光偵測器(UV-VIS)對分析物質之特定波長吸收來進行偵測，PGA 之吸收波長為 254 nm、MA 之吸收波長為 225 nm、HA 之吸收波長為 225 nm、o-MHA 之吸收波長為 222 nm、m-MHA 之吸收波長為 238 nm、p-MHA 之吸收波長為 238 nm、creatinine 之吸收波長為 237 nm，於上述多種分析物質同時測定時之最佳吸收波長選擇以 225 nm。移動相之配製在加入 sodium-1-decanesulfonate 試劑後，能控制 creatinine 之滯留時間，且其 pH 之調整與加入不同 acetonitrile 濃度之測試後，所得最佳移動相為 [ 20 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ( pH = 3.2 ) + 2 mM sodium-1-decanesulfonate ]：氘甲烷(acetonitrile) = 85 : 15(v/v)，流速設定在 0.7 mL/min、分離管柱溫度維持在 30 °C、樣品注射量為 10  $\mu$ L，以逆相分離管柱(ODS 80<sup>TM</sup> 4.6 mm $\times$ 150 mm)進行分析，除 m 及 p-MHA 無法分離外，其餘分析物質皆可獲得良好之分離效果分析層析圖如圖 1 所示，分析條件如表 2 所示。

## B.尿中 BTEX 代謝產物之分析品質管制

### 1.檢量線

為了能準確定量分析物質，檢量線範圍配製以能含蓋所有分析樣品濃度範圍為原則，尿中 BTEX 代謝產物之檢量線線性範圍及線性相關係數，如表 6 所示，各分析物質均能達到 0.99999 以上之良好線性關係。

### 2.偵測極限

本研究以檢量線最低濃度作為偵測極限之測定，採用 ASTM 之定義求得，以掌握分析儀器之靈敏度及檢測極限，其方法偵測極限如表 7 所示，PGA 為 0.53 ng、t,t-MA 為 0.77 ng、MA 為 0.45 ng、HA 為 0.34 ng、o-MHA 為 0.56 ng、(m+p)-MHA 為 0.57 ng、creatinine 為 0.65 ng。

### 3.分析方法再現性

本實驗經由重複分析確認其分析方法再現性，分析結果如表 8 所示，各分析物質之滯留時間變異係數皆小於 0.35%、波峰面積變異皆小於 5.01%、波峰高度變異皆小於 3.41%。

### 4.添加回收率

尿中 PGA、t,t-MA、MA、HA、o-MHA、(m+p)-MHA、creatinine 等各代謝產物之添加回收率分析測定，PGA 之平均回收率為 95.0%、t,t-MA 為 97.3%、MA 為 97.2%、HA 為 100.4%、o-MHA 為 96.7%、(m+p)-MHA 為 98.5%、creatinine 為 98.6%，各代謝產物之平均變異係數都在 6.5% 以內，顯示其添加回收率結果不錯。

### 5.尿液基質效應

尿液基質樣品干擾問題，於黃氏碩士論文<sup>(61)</sup>中特別針對 PGA、MA、HA、o-MH、(m+p)-MHA、creatinine 分別在尿液中與 50% 甲醇水溶液中建立檢量線，由檢量線斜率之差異探討

尿液基質干擾問題，結果發現標準品添加於 50% 甲醇水溶液中或尿液中，兩者之檢出值並無統計上之顯著差異，無須考慮其尿液基質干擾問題，可使用 50% 甲醇水溶液建立檢量線。

#### 6. 樣品分析品質管制(QA/QC)

本研究所有採集之尿液樣品共 266 個，在大批且長時間之樣品分析過程中以品保品管樣品(配製固定濃度標準品)作為分析準確度確認，在每分析 12 個尿液樣品及分析結束後均分析一個品管樣品，經過長時間之樣品測定後，其品保品管樣品之滯留時間、波峰面積、波峰高度變異皆小於 2.0 %，如表 9 所示。

#### C. 職業暴露勞工尿中 BTEX 代謝產物之分析

尿液樣品經前處理後以 HPLC 分析之層析圖譜如圖 2 所示，由於尿中複雜基質影響，以致於 PGA 無法進行濃度比對定量，乙苯暴露則以 MA 為之代謝產物評估。所有尿液樣品之分析結果均以比重校正及 creatinine 校正後之濃度值進行統計分析，尿中 t,t-MA 濃度為 44.78(± 32.8, n=12) mg/g creatinine，HA 濃度為 298.12 (± 163.1, n=69) mg/g creatinine，MA 濃度為 34.60 (± 28.8, n=24) mg/g creatinine，o-MHA 濃度為 58.75 (± 34.4, n=39) mg/g creatinine，(m+p)-MHA 濃度為 42.67 (± 22.56, n=66) mg/g creatinine，各代謝產物濃度值都在 ACGIH 制定之生物暴露指標值(Biological exposure indices, BEIs)(如表 10 所示)以下，其測出率 t,t-MA 為 4.5 %，HA 為 25.9 %，MA 為 9.2 %，o-MHA 為 14.7 %，(m+p)-MHA 為 24.8 %。在 Mao<sup>(64)</sup> 研究中測定塗料工廠作業勞工尿中甲苯、乙苯、二甲苯及苯乙烯代謝產物濃度，結果發現，因作業性質與暴露濃度不同，大致上所測定出之濃度值均不高，其 HA 濃度為 354 mg/g creatinine(n=16)、MHA 濃度為 95 mg/g creatinine(n=16)、MA 濃度為 355 mg/g creatinine(n=8)、PGA 濃度為 56 mg/g creatinine(n=8)；張氏

碩士論文<sup>(65)</sup>之研究結果中測定之尿中 BTEX 代謝產物濃度值也有偏低之情形。

## (二)尿中 BTEX 未代謝原形物質之分析

### A.最適分析條件之建立

#### (1)最適吸附溫度

本實驗配製固定濃度標準分析樣品分別為苯 21.20 ng/mL, 甲苯為 20.89 ng/mL, 乙苯為 20.89 ng/mL, 鄰-二甲苯為 20.95 ng/mL, (間+對)-二甲苯為 42.01 ng/mL(間-二甲苯及對-二甲苯無法分離, 其分析結果本實驗以合併計算之), 層析圖如圖 3 所示。不同吸附溫度對固相微萃取纖維吸附分析物量之影響, 由圖 4 所示, 各分析物質隨著溫度的上升而波峰面積有下降的趨勢, 而且在 70 吸附溫度時其標準偏差較大, 本實驗中發現在室溫下( $25 \pm 1$ )進行樣品吸附可獲得較佳之吸附量, 本研究與其他研究<sup>(36)</sup>結果一致, 所以樣品均於室溫下進行萃取。

#### (2)最適脫附溫度

固相微萃取吸附纖維在注入 GC 注射口中進行脫附時, 吸附纖維有一定承受高溫之限制, 溫度太高會破壞吸附纖維之本質, 溫度太低則無法完全將分析物質脫附。本實驗配製一固定濃度標準品, 分析物質濃度分別為苯 21.20 ng/mL, 甲苯為 20.89 ng/mL, 乙苯為 20.89 ng/mL, 鄰-二甲苯為 20.95 ng/mL, (間+對)-二甲苯為 42.01 ng/mL, 進行 GC 注射口不同脫附溫度對固相微萃取纖維脫附量之影響, 由圖 5 所示, 脫附溫度以分析物質之波峰面積予以比較, 各物質之波峰面積在不同脫附溫度中雖然沒有顯著的差異, 但是以 230 時之脫附溫度所得到的波峰面積較其他溫度來的大, 且分析物於一分鐘內即可完全脫附, 本研究則以 230 之注射口脫附溫度進行樣品脫附。

### (3)最適吸附時間

固相微萃取吸附纖維與分析物質為一種平衡關係，在一定的時間後即可達到飽和平衡關係，本實驗配製一固定濃度標準品，分析物質濃度分別為苯 21.20 ng/mL，甲苯為 20.89 ng/mL，乙苯為 20.89 ng/mL，鄰-二甲苯為 20.95 ng/mL，(間+對)-二甲苯為 42.01 ng/mL，吸附時間對固相微萃取纖維吸附量之影響，由圖 6 所示，苯在 2 分鐘時可達到平衡，甲苯在 4 分鐘時可達到平衡，乙苯在 8 分鐘時可達到平衡，鄰-二甲苯在 9 分鐘時可達到平衡，(間+對)-二甲苯在 9 分鐘時可達到平衡，為了能達到各分析物質萃取之最大量，萃取時間太長顯得不必要，太短則無法得到良好之吸附量，本實驗經測試後，選取 9 分鐘之吸附時間為分析樣品之最適萃取條件。

### (4)鹽類添加試驗

鹽類的添加主要使液態樣品之分析物質溶解度降低，促進揮發至頂空層予以進行吸附，本實驗配製一固定濃度標準品，分析物質濃度分別為苯 21.20 ng/mL，甲苯為 20.89 ng/mL，乙苯為 20.89 ng/mL，鄰-二甲苯為 20.95 ng/mL，(間+對)-二甲苯為 42.01 ng/mL，分別加入氯化鈉、氯化鉀、亞硫酸鈉及碳酸鈉四種不同鹽類，由圖 7.1 至圖 7.5 所示，苯、甲苯、乙苯、鄰-二甲苯及(間+對)-二甲苯均以添加碳酸鈉所得之分析波峰面積較其他三種鹽類之回應為大，其次為亞硫酸鈉、氯化鈉、氯化鉀。碳酸鈉的添加量在 3 公克時即可達到飽和，意即鹽類添加以碳酸鈉添加 3 公克則可獲良好之樣品吸附量。

### (5)樣品攪拌與否試驗

液態樣品之攪拌可以促進分析物質的質傳效應，增進萃取效率，本實驗配製一固定濃度標準品，分析物質濃度分別為苯 21.20 ng/mL，甲苯為 20.89 ng/mL，乙苯為 20.89 ng/mL，鄰-

二甲苯為 20.95 ng/mL，(間+對)-二甲苯為 42.01 ng/mL，設計以樣品攪拌及不攪拌兩組進行試驗，由圖 8 所示，攪拌組以 1200 rpm 迴轉速率進行樣品攪拌，各分析物質之波峰面積再與不攪拌組相比較，結果顯示，兩組經由統計 t 檢定後，並未發現有顯著的差異，但不攪拌組之分析變異情形較攪拌為大且萃取量較小，本研所得結果與參考文獻<sup>(36)</sup>之建議，以樣品攪拌狀態進行分析物質之萃取前處理條件。

由上述諸多條件之探討建立本方法之標準操作程序如下：

- ↓將分析樣品置入 20 mL 之 headspace 樣品瓶中
- ↓加入 3 公克碳酸鈉及小磁石
- ↓立即蓋上附有 teflon/silicon 墊片之螺旋瓶蓋
- ↓激烈振盪使碳酸鈉溶解
- ↓SPME fiber 戳穿墊片，使 fiber 處於樣品瓶頂空部
- ↓樣品予以磁石攪拌並於室溫中進行吸附
- ↓9 分鐘後收回 fiber，停止吸附
- ↓將 SPME fiber 注入 GC 注射部進行樣品脫附及分析
- ↓樣品完成分析後，收回 fiber 進行下一樣品之吸附

## B.尿中 BTEX 未代謝原形物質之分析品質管制

### 1.檢量線

為了能準確定量分析物質，檢量線範圍配製以能含蓋所有分析樣品濃度範圍為原則，利用固相微萃取法測定尿中 BTEX 未代謝原形物質之檢量線線性範圍及線性迴歸相關係數，如表 11 所示，其線性迴歸相關係數都在 0.9995 以上，各分析物質均能達到很好之線性關係。



## 2.偵測極限

本研究以檢量線最低濃度作為偵測極限之測定，採用 ASTM 之定義求得，以掌握分析儀器之靈敏度及檢測極限，其方法偵測極限如表 12 所示，苯為 279 pg/mL、甲苯為 145 pg/mL、乙苯為 203 pg/mL、鄰-二甲苯為 153 pg/mL、(間+對)-二甲苯為 246 pg/mL，本方法之測試與其他研究結果相似<sup>(38,51,55)</sup>，均能達到 pg 之良好偵測極限，以此靈敏度高之分析方法對於測定尿中含量低之分析物質，應該可建立一良好之生物偵測分析方法。

## 3.分析方法再現性

本實驗經由重複分析確認其分析方法再現性，分析結果如表 13 所示，各分析物質之滯留時間變異係數皆小於 0.61 %、波峰面積變異皆小於 6.71 %、波峰高度變異皆小於 6.16 %。

## 4.儲存穩定度

樣品保存穩定度是決定樣品品質的重要因素之一，本實驗之測試結果，室溫儲存組(約  $25 \pm 1$ )之樣品，於第六天之後樣品之穩定性不佳，已超出 $\pm 10\%$ 之穩定度容許範圍；而冷藏於 4 之樣品，在 30 日內之穩定度良好，均能保持在儲存穩定度之容許範圍內( $\pm 10\%$ )，如表 14 所示，結果顯示，樣品採集回實驗室後於一個月內完成分析，應該不會造成樣品品質變化之影響。樣品儲存若要達更長(大於一個月)時間，則需要再進一步作測試探討。

## 5.尿液基質效應

尿液中複雜基質，在分析上有可能造成測量上之嚴重干擾，本研究添加 BTEX 標準品於空白尿液及去離子水中，探討分析物於尿液基質中是否會造成定量上之誤差，結果發現，兩種不同基質配製之檢量線，各分析物質之線性迴歸相關係數皆

可達 0.999 以上(如圖 9 所示), 進一步比較其斜率差異, 發現尿液與去離子水兩種之斜率差並沒有達統計上之顯著差異(  $\alpha = 0.05$ , p-value 均大於 0.05), 所以本研究以去離子水替代尿液來進行各項分析條件之確立, 可避免空白尿液處理之麻煩。

#### 6. 樣品分析品質管制(QA/QC)

本研究所有採集之尿液樣品共 266 個, 在大批且長時間之樣品分析過程中以品保品管樣品(配製固定濃度標準品)作為分析準確度確認, 在每分析 12 個尿液樣品及分析結束後均分析一個品保品管樣品, 經過長時間之樣品測定後, 其品保品管樣品之滯留時間、波峰面積、波峰高度變異皆小於 13.6 %, 如表 15 所示。

#### C. 職業暴露勞工尿中 BTEX 未代謝原形物質之分析

利用固相微萃取法尋找出之最適分析條件, 為尿液樣品添加 3 公克碳酸鈉, 於室溫( $25 \pm 1$  )中以攪拌狀態下吸附纖維於頂空層吸附 9 分鐘之樣品萃取, 以 230 之脫附溫度將吸附於纖維上之分析物質脫附進入分離管柱中, 進行定性及定量分析, 實際尿液樣品分析層析圖如圖 10 所示。

揮發有機溶劑進入人體內後, 大部份會隨新陳代謝過程代謝為其他物質排泄掉, 但仍有少數會以原形態存在於體內, 隨之被帶出體外, 主要因為這些物質在排泄系統中會直接滲透至腎臟而排泄出來, 所以在計算尿中 BTEX 未代謝原形物質濃度時, 無須以 creatinine 或其他尿液校正方法予以校正<sup>(38,40)</sup>。

所有尿液樣品均於測試之儲存穩定期間內完成分析, 分析結果尿中苯平均濃度為  $5.21 (\pm 6.93, n=9)$  ng/mL, 甲苯平均濃度為  $0.78 (\pm 0.88, n=24)$  ng/mL, 乙苯平均濃度為  $9.84 (\pm 20.29, n=44)$  ng/mL, 鄰二甲苯平均濃度為  $1.20 (\pm 1.21, n=17)$  ng/mL, (間+對)-二甲苯平均濃

度為 2.90 ( $\pm$  4.85, n=24) ng/mL, 其檢出率分別為 3.4 %、9.0 %、16.5 %、9.0 %、6.4 % , 其餘未能檢出者均低於偵測極限, 無法定量。在尿中 BTEX 未代謝原形物測定中, 以乙苯之測定濃度值較其他四種物質為高, 檢出率也較高。由於本研究的對象, 勞工於此作業環境中受 BTEX 之暴露濃度較低, 許多尿液樣品中之未代謝原形物質並不足以存在於人體內即被代謝或排出體外。

### 三、空氣中 BTEX 濃度與尿中代謝產物、未代謝原形物質

#### 相關性探討(表 16)

作業環境空氣中 BTEX 濃度值以 TWA 表示, 一週中各物質之平均濃度值苯為 0.21 ppm 甲苯為 0.43 ppm 乙苯為 1.13 ppm 鄰-二甲苯為 0.72 ppm、(間+對)-二甲苯為 0.44 ppm, 分析結果發現作業環境空氣 BTEX 暴露濃度不高, 個人採樣測定值與區域採樣測定值兩者間之相關性 r 值甲苯為 0.84 乙苯為 0.57 (間+對)-二甲苯為 0.91, 個人採樣測定濃度值與區域採樣測定濃度值之相關性良好, 顯示其暴露源確實為作業區使用之有機溶劑所致, 而苯及鄰-二甲苯因檢出樣品數較少而無法觀察其相關性。

暴露勞工尿中 BTEX 代謝產物 t,t-MA、HA、MA、o-MAH 及(m+p)-MHA 測定, 在比重校正方面, 先剔除其比重低於 1.010 或高於 1.030 之尿液樣品, 則實際可納入統計分析者佔 65%; 尿液樣品在 creatinine 校正方面, 將符合用來校正之 creatinine 濃度樣品篩選過後, 可納入統計分析用數值佔總數之 83%。由於尿中 BTEX 代謝產物分析濃度值偏差較大, 而呈現為非常態分佈, 所以欲進行相關性比較之分析濃度值均先將由對數(log)轉換後, 利用 SAS 套裝軟體進行相關性統計分析比較, 結果顯示空氣中苯濃度與尿中 t,t-MA(經 creatinine 校正)之相關係數可達 0.86(n = 3),

但因檢出個數太少，並沒有達到統計上之顯著意義( $p=0.3411$ )，在比重校正後之 *t,t*-MA 與空氣中苯濃度則相關不佳；空氣中甲苯濃度與尿中 HA(經 creatinine 校正及比重校正)濃度之相關不佳，主要有可能因為受測勞工個人飲食關係，造成大多數勞工尿中 HA 濃度都較高(均無超出 BEIs 值)，而本研究並無法在實驗中控制其飲食問題。空氣中乙苯濃度與尿中 MA(經 creatinine 校正及比重校正)濃度之相關性可達 0.56 ( $p=0.0370$ ) 及 0.57 ( $p=0.04911$ )，兩者均達統計上之顯著意義，同樣的，空氣中(間+對)-二甲苯濃度與尿中(m+p)-MHA(經 creatinine 校正及比重校正)濃度之相關性可達 0.77( $p=0.0001$ )及 0.55 ( $p=0.0111$ )，均達統計上之顯著意義，但空氣中鄰-二甲苯濃度與尿中代謝產物 *o*-MHA 之相關不佳。

利用固相微萃取測定尿中 BTEX 未代謝原形物質濃度，只發現在空氣中存在濃度較高之乙苯化合物與尿中未代謝乙苯濃度之相關性較佳，相關係數達 0.60 ( $p = 0.0003$ )之良好相關性，並且有達到統計上之顯著意義，而其他化合物在空氣中與尿中原形物質之相關性則不佳，可能原因為環境空氣中之暴露濃度低，要再經由體內存留於尿液中之比例會變得更為微量，甚至無法偵測到。

## 伍、結 論

1. 本研究利用高效率液相層析儀/紫外-可見光偵測器(HPLC/UV)測定尿中 BTEX 代謝產物之分析方法靈敏度高、再現性佳、各物質分離度及儀器穩定度良好,尿液樣品直接以 50% 甲醇水溶稀釋 100 倍後即可上機分析,前處理簡單、不費時,分析物質於 14 分鐘內即可完全分離,可節省許多分析時間。
2. 利用固相微萃取法測定尿液樣品,不需加入任何溶劑(solvent free),樣品取樣、萃取、濃縮、樣品注入可以在同一步驟完成,樣品添加 3 公克碳酸鈉於室溫下( $25 \pm 1$ )萃取 9 分鐘,即可達到良好之萃取效果,其前處理步驟簡單、省時,容易使用。
3. 固相微萃取法經由各項方法驗證, BTEX 各化合物之檢量線性線性相關良好均可達 0.999 以上,其偵測極限可達 pg 之高靈敏度,對於低濃度樣品之偵測為良好方法。實際分析尿液樣品時,苯、甲苯、乙苯、二甲苯四種物質均可檢測出,此方法應用於職業暴露者尿液樣品之測定為一便利、可行之生物偵測方法。
4. 對於揮發性有機溶劑(如 BTEX 等化合物)之儲存穩定度測試時,樣品於裝瓶時應完全裝滿使瓶內毫無空隙,並以 teflon/silicon 材質之墊片封瓶,避免揮發性有機分析物質流失,如此操作,樣品於 4 之冷藏室儲存其穩定度可達一個月的時間,尿液樣品於一個月內完成分析應該不會造成分析上之誤差。
5. 本研究對象受 BTEX 化合物暴露之現場作業勞工暴露濃度低,在空氣中 BTEX 濃度與尿中代謝產物、未代謝原形物質濃度之相關

性分析，發現空氣中苯濃度與尿中代謝產物 t,t-MA(經 creatinine) 相關良好，但未達統計上顯著意義，另外空氣中乙苯及(間+對)-二甲苯分別與尿中 MA 及(m+p)-MHA 代謝產物之相關良好，且有達統計上顯著意義。其中尿中馬尿酸濃度較高，但與空氣中甲苯濃度相關不佳，Kawai<sup>(66)</sup>曾提出人體中馬尿酸主要由攝取的食品衍生代謝而來所致。

## 陸、討論與建議

1. 本研究對象勞工因為工作性質差別大，可能因為個人暴露情況差異大，造成部分分析物質無法觀察出其環境測定與生物偵測之相關性。
2. 利用固相微萃取法測定尿中未代謝之揮發性有機溶劑，不會受到個人差異影響，且無須經由肌酸酐(或尿液比重)校正，可直接評估尿中有害物含量。
3. 尿中 BTEX 代謝產物與尿中未代謝原形物質濃度之相關性均不佳，可能與暴露濃度低的情況有關係，空氣中暴露濃度低時，吸入之有害物以原形態存在於體內的情形會更為微量，大部份會隨著新陳代謝過程代謝為其他物質排出體外。
4. 本研究選定之職業暴露現場作業勞工人數太少，對於其他變項(如抽煙、不抽煙、實驗與對照組等)之影響，在統計分析上之探討時，多半因個數太少而無法得到欲觀察之結果，此為本研究設計上遇到之最大困擾，建議在研究設計上應注意樣品數之選取。

## 參考文獻

1. 作業環境空氣中有毒物標準分析參考方法第一版. 行政院勞工委員會, 83年3月.
2. Zhang, Z., Pawliszyn J. Headspace solid-phase microextraction. *Analytical chemistry*. Vol. 65:1843-1852,1993.
3. 黃榮茂、王禹文、林聖富、楊得仁、林基興, 化學化工百科辭典, 曉園出版社有限公司
4. The Merck Index, Merck & Co., Inc., 11<sup>th</sup> Editio, 1989.
5. Susten, A.S., Dames B.L., Burg J.R., Niemeier R.W., Percutaneous penetration of benzene in hairless mice: an estimate of dermal absorption during tire-building operations. *American Journal of Industrial Medicine*. 7(4):323-335, 1985.
6. Robles, H. Benzene. In: Wexler, P.(Ed.), *Encyclopedia of Toxicology*, vol. 1. Academic Press, San Diego, CA, 133-134. 1998.
7. Türkel, B., Egeli U. Analysis of chromosomal aberrations in shoe workers exposed long term to benzene. *Occupatinal and Environmental Medicine*. 51:50-53. 1994.
8. ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for toluene. US Public Health Service. ATSDR/TP 89/23.1989
9. WHO. IPCS. International Programme on Chemical Safety. Environmental health criteria 52: Toluene. World Health Organization. Geneva, 1985.
10. Benignus, V.A. Neurobehavioral effects of toluene: a review. *Neurobehav. Toxicol. Teratol*. 3:407-415. 1981.
11. Takeuchi, Y., Hisanaga N., Engl J., Ogawa T., Hamaguchi Y., Okamoto S. Cerebellar dysfunction caused by sniffing of toluene-containing thinner. *Industrial Health*. 19:163-169. 1981.
12. Ladefoged, O., Strange P., Moller A., Lam HR., Ostergaard G., Larsen J.J., Arlien-Soborg P. Irreversible effects in rats of toluene (inhalation) exposure for six months. *Pharmacology & Toxicology*. 68(5):384-390, 1991.



13. Ungvary, G., Tatrai E., Szeberenyi S., Rodics K., Lorincz M., Barcza G. Effect of toluene exposure on the liver under different experimental conditions. *Experimental & Molecular Pathology*. 36(3):347-360, 1982.
14. Ono, A., Sekita K., Ogawa Y., Hirose A., Suzuki S., Saito M., Naito K., Kaneko T., Furuya T., Kawashima K., Yasuhara K., Matsumoto K., Tanaka S., Inoue T., Kurokawa Y. Reproductive and developmental toxicity studies of toluene. II. Effects of inhalation exposure on fertility in rats. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology & Oncology*. 15(1):9-20, 1996.
15. Filley, C.M., Heaton R.K., Rosenberg NL. White matter dementia in chronic toluene abuse [see comments]. *Neurology*. 40:532-534, 1990.
16. Kamijima, M., Nakazawa Y., Yamakawa M., Shibata E., Hisanaga N., Ono Y., Toida M., Takeuchi Y. Metabolic acidosis and renal tubular injury due to pure toluene inhalation. *Archives of Environmental Health*. 49(5):410-413, 1994.
17. Suzuki, T., Kashimura S., Umetsu K. Thinner abuse and aspermia. *Medicine, Science & the Law*. 23(3):199-202, 1983.
18. Ono, A., Kawashima K., Sekita K., Hirose A., Ogawa Y., Saito M., Naito K., Yasuhara K., Kaneko T., Furuya T., Inoue T., Kurokawa Y. Toluene inhalation induced epididymal sperm dysfunction in rats. *Toxicology*. 139:193-205. 1999.
19. ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for ethylbenzene. US Public Health Service. ATSDR/TP 89/23.1990.
20. Robert, R. Lauwerys and Perrine Hoet. –2<sup>nd</sup> ed. Industrial chemical exposure: guidelines for biological monitoring. Lewis publishers, 1993.
21. Ducos, P., Gaudin R., Robert A., Francin JM., Maire C. Improvement in HPLC analysis of urinary trans,trans-muconic acid, a promising substitute for phenol in the assessment of benzene exposure. *International Archives of Occupational & Environmental Health*. 62(7):529-534, 1990.
22. Medeiros, AM., Bird MG., Witz G. Potential biomarkers of benzene exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 51:519- 539, 1997.
23. Gerhard, S., Thomas R., Michael M. Analysis and evaluation of trans,trans-muconic acid as a biomarker for benzene exposure. *Journal of Chromatography B*. 717:179-199, 1998.
24. Nise, G. Urinary excretion of o-cresol and hippuric acid after toluene exposure

- in rotogravure printing. *International Archives of Occupational & Environmental Health*. 63(6):377-381, 1992.
25. Inoue, O., Seiji K., Watanabe T., Kasahara M., Nakatsuka H., Yin S.N., Li G.L., Cai S.X., Jin C., Ikeda M. Mutual metabolic suppression between benzene and toluene in man. *International Archives of Occupational & Environmental Health*. 60(1):15-20, 1988.
  26. Tardif, R., Lapare S., Plaa G.L., Brodeur J. Effect on simultaneous exposure to toluene and xylene on their respective biological exposure indices in humans. *International Archives of Occupational & Environmental Health*. 63(4):279-284, 1991.
  27. Liira, J., Riihimaki V., Engstrom K., Pfaffli P. Coexposure of man to m-xylene and methyl ethyl ketone. Kinetics and metabolism. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*. 14(5):322-327, 1988.
  28. Huang, M.Y., Jin C., Liu Y.T.. Exposure of workers to a mixture of toluene and xylene. I metabolism. *Occupational and Environmental Medicine*. 51:42-46, 1994.
  29. ACGIH(American Conference of Governmental Industrial Hygienists). Based on the documentations for threshold limit values for chemical substances and physical agents biological exposure indices. 1999.
  30. Araki, S. et al. Units of determinants in urine. Biological monitoring of exposure to industrial chemicals edited by V.F. Bergerova, M. Ogata. American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Inc. p.203-212, 1990.
  31. 陳健林、郭錦堂. Pyrene 暴露之尿中代謝物 1-Hydroxypyrene 分析方法探討及應用. 中國醫藥學院環境醫學研究所碩士論文, IEH-0805, p.14-15, 1998.
  32. 郭錦堂. 利用 HPLC 和 Jaffe's 測定尿中 creatinine 之研究, 勞工安全衛生研究季刊, 1(2):75-82, 1993.
  33. Ong, C.N., Lee B.L. Determination of benzene and its metabolites: application in biological monitoring of environmental and occupational exposure to benzene. *Journal of Chromatography B.*, (review) 660:1-22, 1994.
  34. Pezzagno, G., Maestri L., fiorentino M.L. Trans,trans-muconic acid, a biological indicator to low levels of environmental benzene: some aspects of its specificity. *American journal of industrial medicine*. 35:511-518, 1999.

35. Ong, C.N., Kok P.W., Ong H.Y., Shi C.Y., Lee B.L., Phoon W.H., Tan K.T. Biomarkers of exposure to low concentrations of benzene: a field assessment. *Occupational and Environmental Medicine*. 53:328-333, 1996.
36. Asakawa, F., Jitsunari F., Choi J., Takeda N., Kitamado T. Method for analyzing urinary toluene and xylene by solid-phase microextraction(SPME), and its application to workers using organic solvents. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 62:109-116, 1999.
37. Fuyu, G., Kanako W., Akira I., Hiroshi S., Takeshi K., Hideki H., Osamu S., Headspace solid-phase microextraction and gas chromatographic determination of dinitroaniline herbicides in human blood, urine and environmental water. *Journal of Chromatography B*. 714: 205-213, 1998.
38. Ghittori, S., Fiorentino M.L., Maestri L., Cordioli G., Imbriani M. Urinary excretion of unmetabolized benzene as an indicator of benzene exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 38:233-243, 1993.
39. Wallace, L., Pellizzari E., Hartwell T.D., Perrit R., Ziegenfus R. Exposure to benzene and other volatile compounds from active and passive smoking. *Archives Environmental Health*. 42:272-279, 1987.
40. Hung, I.F., Lee S.A., Chen R.K. Simultaneous determination of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes in urine by thermal desorption-gas chromatography. *Journal of Chromatography B*. 706:352-357, 1998.
41. Arthur, C.L., Pawliszyn J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical chemistry*. 62:2145-2148,1990.
42. Prosen, H., Zupanèè-K L. Solid-phase microextraction. *Trends in analytical chemistry*. 18:272-282, 1999.
43. 黃敬德、謝有容. 固相微萃取技術之原理及其應用, 化學期刊, 第五十卷第四期, p.311-318, 1998.
44. Yang, M., Orton M., Pawliszyn J. Quantitative determination of caffeine in beverages, using a combined SPME-GC-MS method. *Journal of Chemical Education*. 74(9):1130-1132, 1997.
45. Wasowicz, E., Kaminski E., Jelen H., Wlazly K. Solid phase microextraction for the analysis of some alcohols and esters in beer: comparison with static headspace method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46(4):1469-1473, 1998.

46. Makino, Y., Takagi T., Ohta S., Hirobe M. Rapid analysis of methamphetamine and cocaine in the urine of drug abusers with SPME. *Chromatography*. 18(3): 185-188, 1996.
47. Nagasawa, N., Yashiki M., Iwasaki Y., Hara K., Kojima T. Rapid analysis of amphetamines in blood using headspace SPME and selected-ion monitoring. *Forensic Science International*. 78(2):95-102, 1996.
48. Magdic, S., Pawliszyn JB. Analysis of organochlorine pesticides using solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*. 723:111-122, 1996.
49. Nilsson, T., Ogaard-Madison J., Montanrilla L., Larsen B., Facchetti S., Pelusioj F. An evaluation of solid phase microextraction for analysis of volatile organic compounds in drinking water. *HRC-Journal of High Resulution Chromatography*. 18:617-624, 1995.
50. Huang, S., Cheng C., Sung Y. Determination of benzene derivatives in water by SPME. *Analytica Chimica Acta*. 343:101-108, 1997.
51. Popp, P., Paschke A., Solid phase microextraction of volatile compounds using carboxen-polydimethylsiloxane fibers. *Chromatographia*. 46:419-424, 1997.
52. Santos, F., Galceran M., Fraisse D., Application of solid-phase microextraction to the analysis of volatile organic compounds in water. *Journal of Chromatography A*. 742:181-189, 1996.
53. Zhang, Z., Pawliszyn J. Sampling volatile organic compounds using a modified solid-phase microextraction device. *Journal of High Result Chromatography*. 19:155, 1996.
54. Boyd-Boland, A., Pawliszyn J. Solid phase microextraction of nitrogen-containing herbicides. *Journal of Chromatography*. 704:163-172, 1995.
55. Nilsson, T., Ferrari R., Basta R., Dellavedove P. Validation of SPME for the analysis of triazine herbicides at ppt level in aqueous samples. *Journal of Chromatography A*. 795:371-376, 1998.
56. Llompart, M., Fingas M., Li K. SPME and headspace SPME for the determination of PCBs in water samples. *Analytical Chemistry*. 70:2510-2515, 1998.
57. Daimon, H., Pawliszyn J. High temperature water extraction combined with SPME. *Anal. Commun*. 33:421-424, 1996.

58. Romos, E., Meijer S., Vaes W., Verhaar H., Hermens J. Using SPME to determine partition coefficients to humic acids and bioavailable concentrations of hydrophobic chemicals. *Environmental Science & Technology*.32:3430-3435, 1998.
59. Magdic, S., Pawliszyn J.B., Analysis of organochlorine pesticides using solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*. 723 (1):111-122, 1996.
60. 石東生、何國榮、林德賢、張吳名任等人. 作業環境中有害物勞工暴露生物偵測驗證程序. 行政院勞工委員會勞工安全衛生研究所, 第一版, 2000年
61. 黃灶生. 苯乙烯暴露勞工尿檢體之生物偵測及應用. 中國醫藥學院環境醫學研究所碩士論文, IEH-0401, 1994.
62. 曾逸竹. 建立結合固相微萃取與氣相層析量測尿中未代謝的苯、甲苯、乙苯、二甲苯之技術. 中國醫藥學院環境醫學研究所碩士論文, IEH-0801, 1998.
63. 郭錦堂、石東生、周瑞淑、黃灶生、戴如淳. 職業性苯乙烯暴露勞工尿檢體之生物偵測技術研發. 行政院勞工委員會勞工安全衛生研究所研究報告, 1994.
64. Mao, I.F., Chen M.L., and et al. Simultaneous determination of urinary metabolites of toluene, xylene, styrene and ethylbenzene by solid-phase extraction technique and HPLC/photo diode array detection. *International Journal of Environmental Analysis Chemistry*. 64:1-9, 1996.
65. 張湘明. 尿液中BTEX代謝物之研究. 國立清華大學原子科學研究所環境科學組碩士論文, 1999.
66. Kawai, T., Horiguchi S. Normal limit of urinary hippuric acid measured by gas chromatography in the male Japanese subjects. *Osaka City Medical Journal*. 27:111-116, 1981.

表 1 作業環境空氣中 BTEX 化合物與固相微萃取法  
之分析條件

氣相層析儀	Shimadzu GC-17A
偵測器	火焰離子偵測器(FID)
注射口溫度	230
檢測器溫度	250
分流型式	不分流
注射量	2 $\mu$ L
流速	4.5 mL/min
分離管柱	J & W fused silica megabore column DB-1, id 0.53 mm $\times$ 30 m
管柱溫度	65 , 24 mins $\xrightarrow{30 /min}$ 180 , 1 min
積分處理系統	Shimadzu, GC workstation class-GC10
<b>固相微萃取法最適吸附條件</b>	
吸附溫度	25 $\pm$ 1
脫附溫度	230
吸附時間	9 分鐘
鹽類添加	碳酸鈉添加 3 公克
攪拌與否	1200 rpm 攪拌速率

表 2 尿中 BTEX 代謝產物分析條件

高效率液相層析儀	Shimadzu 系列設備
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 幫浦：LC-9A</li> <li>• 樣品自動注射裝置：SIL-6B</li> <li>• 系統控制：SCL-6B</li> </ul>
偵測器	紫外光/可見光分光光度計(UV/VIS)
偵測波長	225 nm
分離管柱	TSKgel ODS 80Tm, id 4.6mm×150mm
流速	0.7 mL/min
注射量	10 μ L
分離管柱溫度	30
流動相	[20 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (pH = 3.2) + 2 mM sodium-1-decanesulfonate] : [CH <sub>3</sub> CN] = 85 : 15(v/v)
積分處理系統	SISC-LAB 層析積分處理系統

表 3 作業環境空氣中 BTEX 分析物質之檢量線

分析物質	檢量線範圍 (mg/mL)	線性迴歸方程式	r	脫附效率 (%)
benzene	0.01 ~ 8.40	$Y=30585147x+197760$	0.99989	103.3
toluene	0.01 ~ 8.34	$Y=31549054x+427801$	0.99995	99.5
ethylbenzene	0.01 ~ 8.40	$Y=32199128x+630704$	0.99995	103.9
o-xylene	0.01 ~ 8.31	$Y=32224469x+722086$	0.99995	98.9
(m+p)-xylene	0.02 ~ 16.85	$Y=31913804x+870677$	0.99995	102.8

r : 線性迴歸相關係數

表 4 作業環境空氣中 BTEX 測定分析之方法偵測極限

分析物質	配製濃度 ( $\hat{i}$ g/mL)	波峰面積 平均值 <sup>a</sup>	標準差 (SD)	變異係數 (CV%)	偵測極限 (ng)
benzene	7.7	335863	16990	5.06	2.34
toluene	7.7	379958	11652	3.07	1.42
ethylbenzene	7.7	405254	10130	2.05	1.15
o-xylene	7.7	409088	10057	2.46	1.14
(m+p)-xylene	15.4	801693	19275	2.40	2.22

a : n = 7



表 5 長時間分析空氣中 BTEX 之 QC 樣品滯留時間 波峰面積  
波峰高度之再現性變異情形

	benzene	toluene	ethylbenzene	o-xylene	(m+p)-xylene
滯留時間 (CV%)	2.91	3.31	3.51	3.56	3.63
波峰面積 (CV%)	3.77	4.70	5.72	5.93	5.68
波峰高度 (CV%)	3.68	4.99	6.05	5.81	5.85

\* n=18

表 6 尿中 BTEX 代謝產物之檢量線

分析物質	檢量線範圍( $\hat{i}$ g/mL)	線性迴歸方程式	r
PGA	0.53 ~ 127.75	$Y=16361x - 3284$	0.999999
t,t-MA	0.52 ~ 127.00	$Y=26489x - 3247$	1.000000
MA	0.52 ~ 126.88	$Y=12008x + 687$	0.999998
HA	0.52 ~ 126.33	$Y=44766x - 517$	1.000000
o-MHA	0.52 ~ 126.63	$Y=24036x - 1239$	1.000000
(m+p)-MHA	1.04 ~ 252.88	$Y=34448x - 3472$	1.000000
creatinine	0.53 ~ 127.63	$Y=25498x - 4756$	0.999997

PGA : phenylglyoxylic acid  
t,t-MA : trans,trans-muconic acid  
MA : mandelic acid  
HA : hippuric acid  
o-MHA : ortho-methylhippuric acid  
(m+p)-MHA : (meta+para)-methylhippuric acid  
r : 線性迴歸相關係數

表 7 利用 HPLC 測定尿中 BTEX 代謝物之方法偵測極限

分析物質	配製濃度 (ng/mL)	波峰面積 平均值 <sup>a</sup>	標準差 (SD)	變異係數 (CV%)	偵測極限 (ng)
PGA	512	5866	204	3.48	0.53
t,t-MA	525	32993	1609	4.88	0.77
MA	527	5181	149	2.88	0.45
HA	525	18970	412	2.17	0.34
o-MHA	523	9564	340	3.55	0.56
(m+p)-MHA	1036	28399	522	1.84	0.57
creatinine	515	9472	398	4.20	0.65

a : n = 7

PGA : phenylglyoxylic acid

t,t-MA : trans,trans-muconic acid

MA : mandelic acid

HA : hippuric acid

o-MHA : ortho-methylhippuric acid

(m+p)-MHA : (meta+para)-methylhippuric acid

表 8 尿中 BTEX 代謝產物分析方法之再現性

	PGA	t,t-MA	MA	HA	o-MHA	(m+p)-MHA	Creatinine
低濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	0.51	0.53	0.53	0.53	0.52	1.04	0.52
滯留時間 (CV%)	0.27	0.13	0.11	0.07	0.11	0.11	0.11
波峰面積 (CV%)	3.48	4.88	2.88	2.17	3.55	1.84	4.20
波峰高度 (CV%)	1.16	3.41	1.32	0.99	1.09	0.89	2.03
中濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	4.73	4.70	4.70	4.68	4.69	4.73	9.37
滯留時間 (CV%)	0.14	0.11	0.12	0.15	0.15	0.22	0.35
波峰面積 (CV%)	2.66	4.23	5.01	1.83	2.51	1.26	2.30
波峰高度 (CV%)	0.97	1.04	0.99	0.72	0.57	0.46	1.00

PGA : phenylglyoxylic acid

t,t-MA : trans,trans-muconic acid

MA : mandelic acid

HA : hippuric acid

o-MHA : ortho-methylhippuric acid

(m+p)-MHA : (meta+para)-methylhippuric acid

CV : 變異係數(coefficient of variation)

n = 10

表 9 長時間分析尿中代謝物之 QC 樣品的滯留時間、波峰面積、波峰高度之再現性變異情形

	PGA	t,t-MA	MA	HA	o-MHA	(m+p)-MHA	Creatinine
滯留時間 (CV%)	0.36	0.73	1.09	0.90	0.92	0.81	1.10
波峰面積 (CV%)	2.54	6.53	4.89	1.34	2.09	3.20	1.94
波峰高度 (CV%)	1.17	3.97	1.87	0.71	0.74	1.38	0.77

CV：變異係數(coefficient of variation)  
n = 25

表 10 BTEX 化合物之生物暴露指標<sup>(29)</sup>

分析物質	代謝產物 <sup>a</sup>	半衰期(小時)	BEIs <sup>b</sup>
benzene	trans,trans-muconic acid	12.0	500 ì g/g creatinine
toluene	hippuric acid	3.0	1.6 g/g creatinine
ethylbenzene	mandelic acid	3.6	1.5 g/g creatinine
	phenylglyoxylic acid	7.0	350 mg/g creatinine
xylene	methylhippuric acid	4.0	1.5 g/g creatinine

a：尿中代謝產物

b：生物暴露指標值(Biological Exposure Indices)

表 11 尿中 BTEX 未代謝原形物質之檢量線

分析物質	檢量線範圍(ng/mL)	線性迴歸方程式	r
benzene	1.06 ~ 105.59	$Y=2735.4x+7734.5$	0.9995
toluene	1.05 ~ 104.05	$Y=6885.2x+14607$	0.9996
ethylbenzene	1.05 ~ 104.05	$Y=15235x+31432$	0.9997
o-xylene	1.05 ~ 104.35	$Y=19916x+46752$	0.9994
(m+p)-xylene	2.10 ~ 209.25	$Y=15525x+61484$	0.9998

r : 線性迴歸相關係數

表 12 利用固相微萃取技術測定尿中 BTEX 原形物質之方法偵測極限

分析物質	配製濃度 (ng/mL)	波峰面積 平均值 <sup>a</sup>	標準差 (SD)	變異係數 (CV%)	偵測極限 (pg/mL)
benzene	1.06	3229.6	283.2	8.77	279.18
toluene	1.05	10501.5	487.3	4.64	145.57
ethylbenzene	1.05	20311.0	1319.1	6.49	203.74
o-xylene	1.05	7340.8	1337.9	4.89	153.96
(m+p)-xylene	2.10	45515.2	1780.3	3.91	246.76

a : n = 7

表 13 利用固相微萃取測定尿中 BTEX 未代謝原形物質  
之分析方法再現性

	benzene	toluene	ethylbenzene	o-xylene	(m+p)-xylene
低濃度 (ng/mL)	1.06	1.05	1.05	1.05	2.10
滯留時間 (CV%)	0.32	0.54	0.49	0.61	0.25
波峰面積 (CV%)	3.24	4.98	5.88	4.51	3.29
波峰高度 (CV%)	2.11	3.97	4.21	2.47	1.98
中濃度 (ng/mL)	10.61	10.45	10.45	10.48	21.02
滯留時間 (CV%)	0.20	0.42	0.55	0.59	0.56
波峰面積 (CV%)	5.23	6.71	5.57	4.15	4.93
波峰高度 (CV%)	3.71	4.24	3.28	2.59	6.16

CV : 變異係數(coefficient of variation)

n = 10

表 14 尿液樣品之儲存穩定性試驗<sup>a</sup>

儲存穩定性(%) <sup>b</sup>					
化合物	benzene	toluene	ethylbenzene	o-xylene	(m+p)-xylene
配製濃度 (ng/mL)	21.20	20.89	20.89	20.95	42.01
儲存天數					
0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
3	100.5	100.9	102.3	104.6	103.3
6	93.8	94.0	95.3	97.7	95.6
9	91.6	96.4	96.8	97.4	96.1
12	93.8	93.5	93.5	96.8	94.0
15	96.0	97.1	97.6	105.3	96.4
18	97.6	97.2	97.8	101.9	97.6
21	99.1	97.7	98.1	100.1	98.1
24	108.2	100.4	102.0	105.3	101.2
27	96.3	92.0	91.3	92.5	90.4
30	107.0	103.3	106.6	107.9	105.5

a：樣品儲存於 4 °C 之冷藏室中， n = 3

b：指相對於第一天分析結果之回收百分率



表 15 利用固相微萃取長時間分析尿液樣品之 QC 樣品的滯留時間、波峰面積、波峰高度之再現性變異情形

	benzene	toluene	ethylbenzene	o-xylene	(m+p)-xylene
滯留時間 (CV%)	0.75	0.57	0.65	0.67	0.66
波峰面積 (CV%)	13.62	10.28	10.02	9.37	9.77
波峰高度 (CV%)	9.53	10.03	8.84	8.87	9.02

CV：變異係數(coefficient of variation)

n = 25

表 16 一週作業環境空氣中 BTEX 濃度與尿中代謝物、未代謝原形物質之相關性

尿中代謝物	benzne	toluene	ethylbenzene		(m+p)-xylene	o-xylene
	t,t-MA	HA	HA	MA	(m+p)-MHA	o-MHA
creatinine 校正	<b>0.8599<sup>a</sup></b>	-0.1725	-0.0440	<b>0.5607*</b>	<b>0.76735**</b>	-0.1363
	n=3	n=24	n=33	n=14	n=25	n=15
比重校正	-1.0000	0.0852	-0.1379	<b>0.5656*</b>	<b>0.5550*</b>	-0.4009
	n=2	n=20	n=27	n=12	n=20	n=12
未代謝原形物質	-1.0000	-0.1924	<b>0.6010**</b>		0.2321	-0.4735
	n=2	n=16	n=31		n=19	n=11

a : 相關係數 ; 所有測定之濃度值均經由對數(log)轉換後進行統計分析

\* : P < 0.05

\*\* : P < 0.001

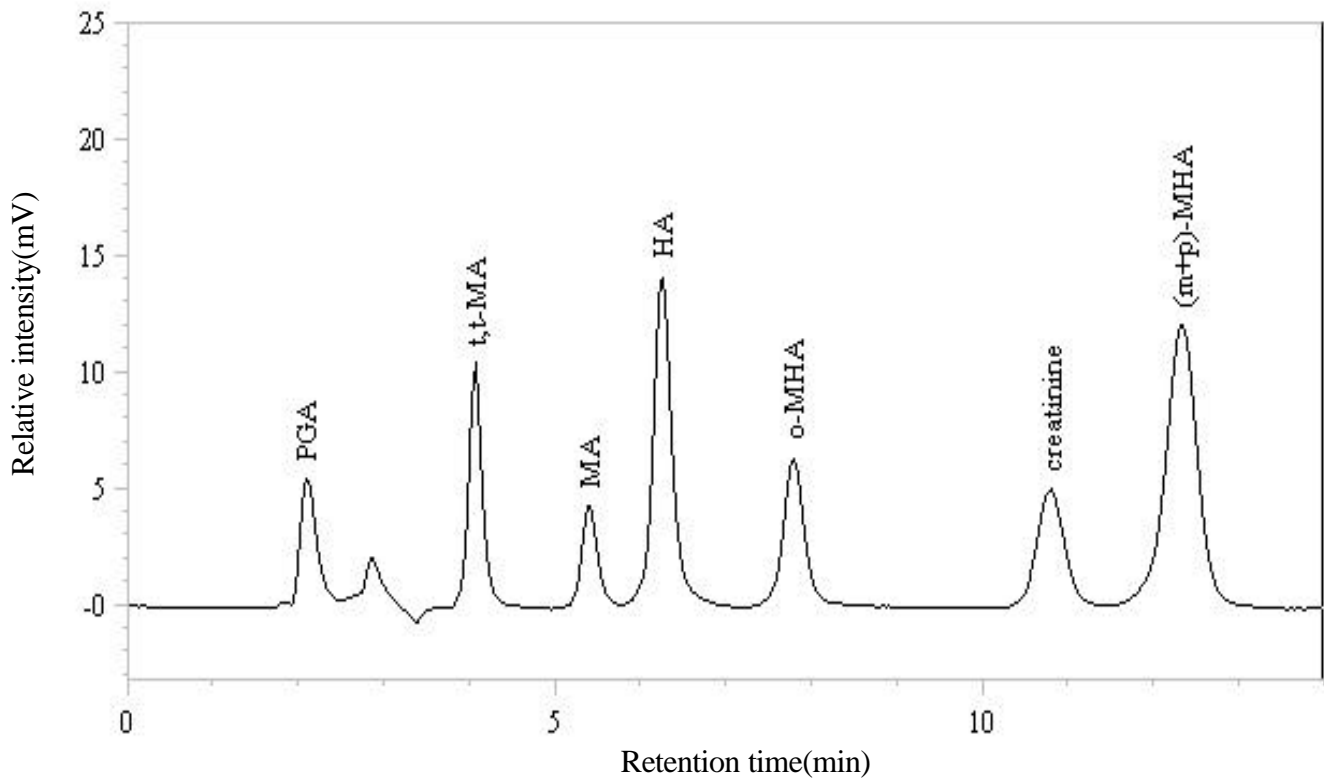


圖 1 尿中 BTEX 代謝產物標準品分析層析圖

- PGA : phenylglyoxylic acid(配製濃度 : 4.73  $\mu$ g/mL)  
t,t-MA : trans,trans-muconic acid(配製濃度 : 4.70  $\mu$ g/mL)  
MA : mandelic acid(配製濃度 : 4.70  $\mu$ g/mL)  
HA : hippuric acid(配製濃度 : 4.68  $\mu$ g/mL)  
o-MHA : ortho-methylhippuric acid(配製濃度 : 4.69  $\mu$ g/mL)  
(m+p)-MHA : (meta+para)-methylhippuric acid  
(配製濃度 : 9.37  $\mu$ g/mL)  
creatinine : (配製濃度 : 4.73  $\mu$ g/mL)

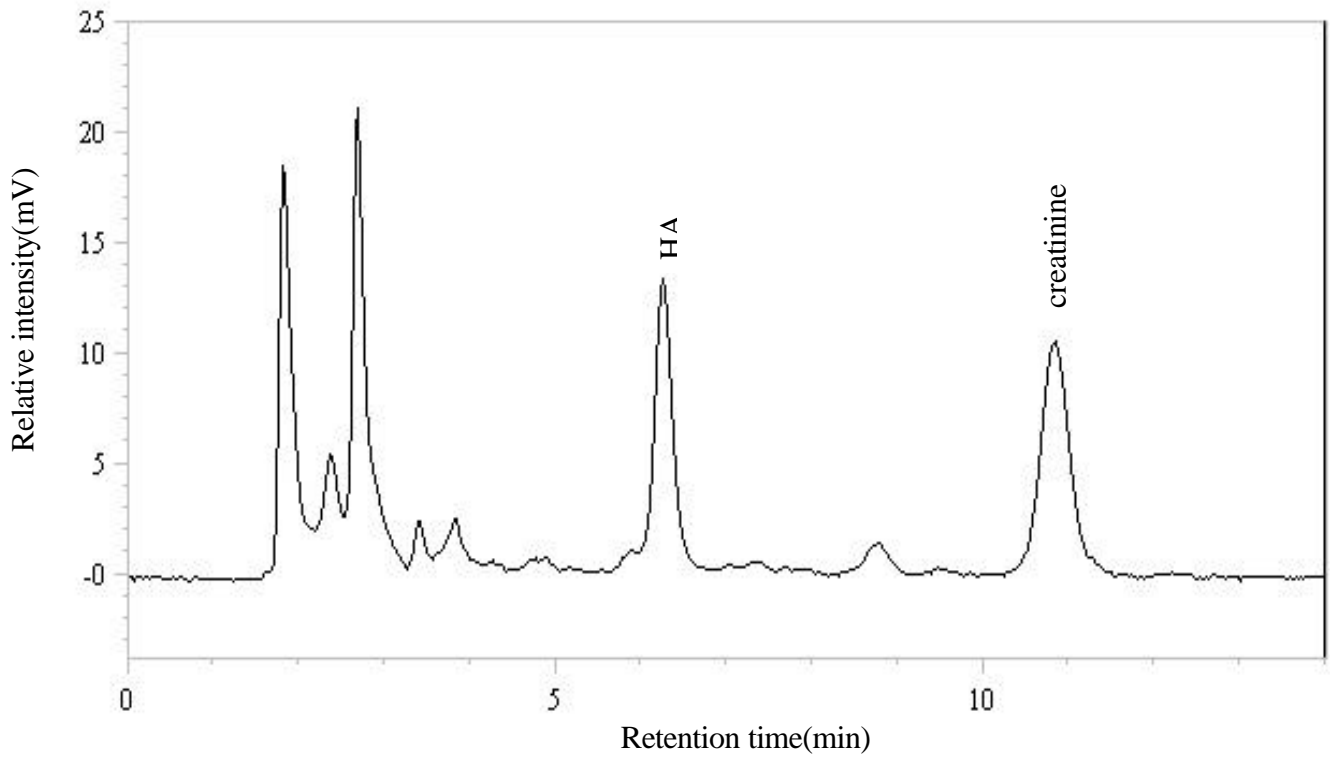


圖 2 職業暴露勞工尿中 BTEX 代謝產物分析層析圖

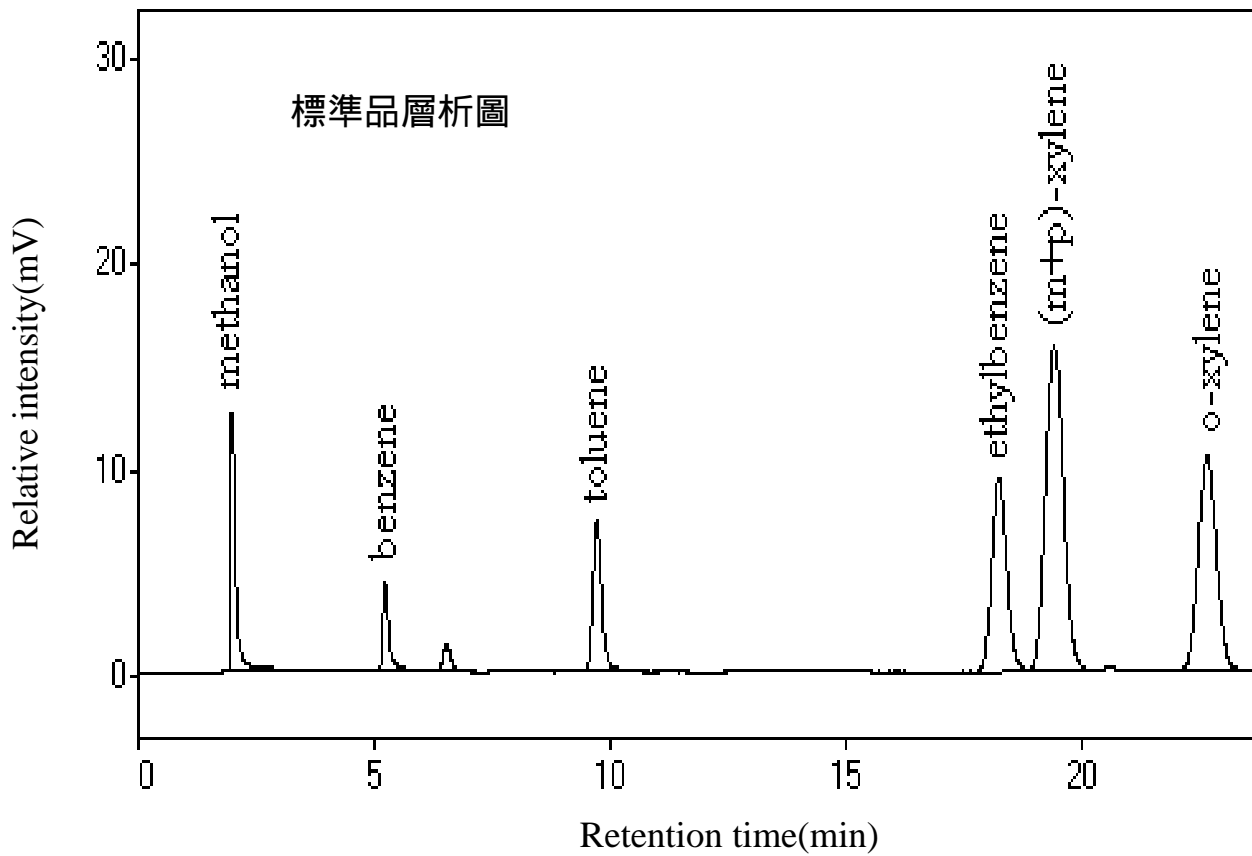


圖 3 利用固相微萃取測定 BTEX 標準品之分析層析圖  
 [配製濃度 benzene : 1.06 ng/mL、toluene : 1.05 ng/mL  
 ethylbenzene : 1.05 ng/mL、o-xylene : 1.05 ng/mL、  
 (m+p)-xylene : 2.10 ng/mL]

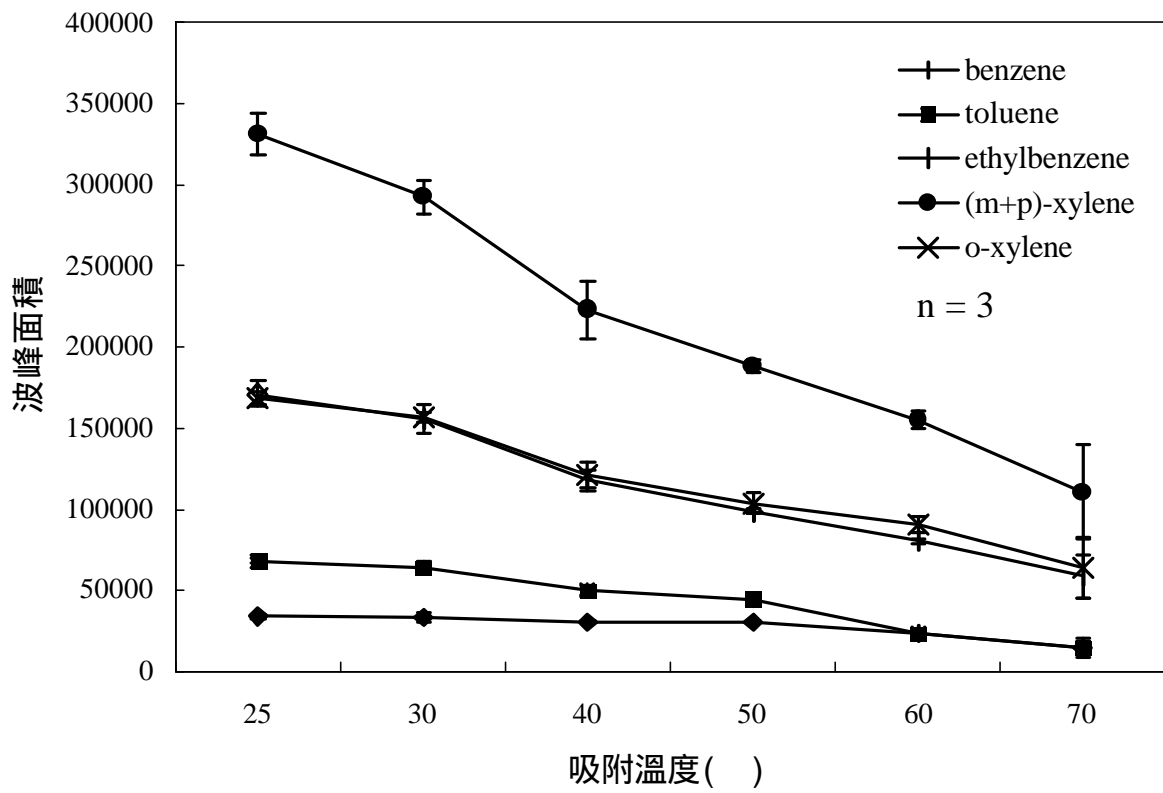


圖 4 不同吸附溫度對固相微萃取纖維吸附量的影響

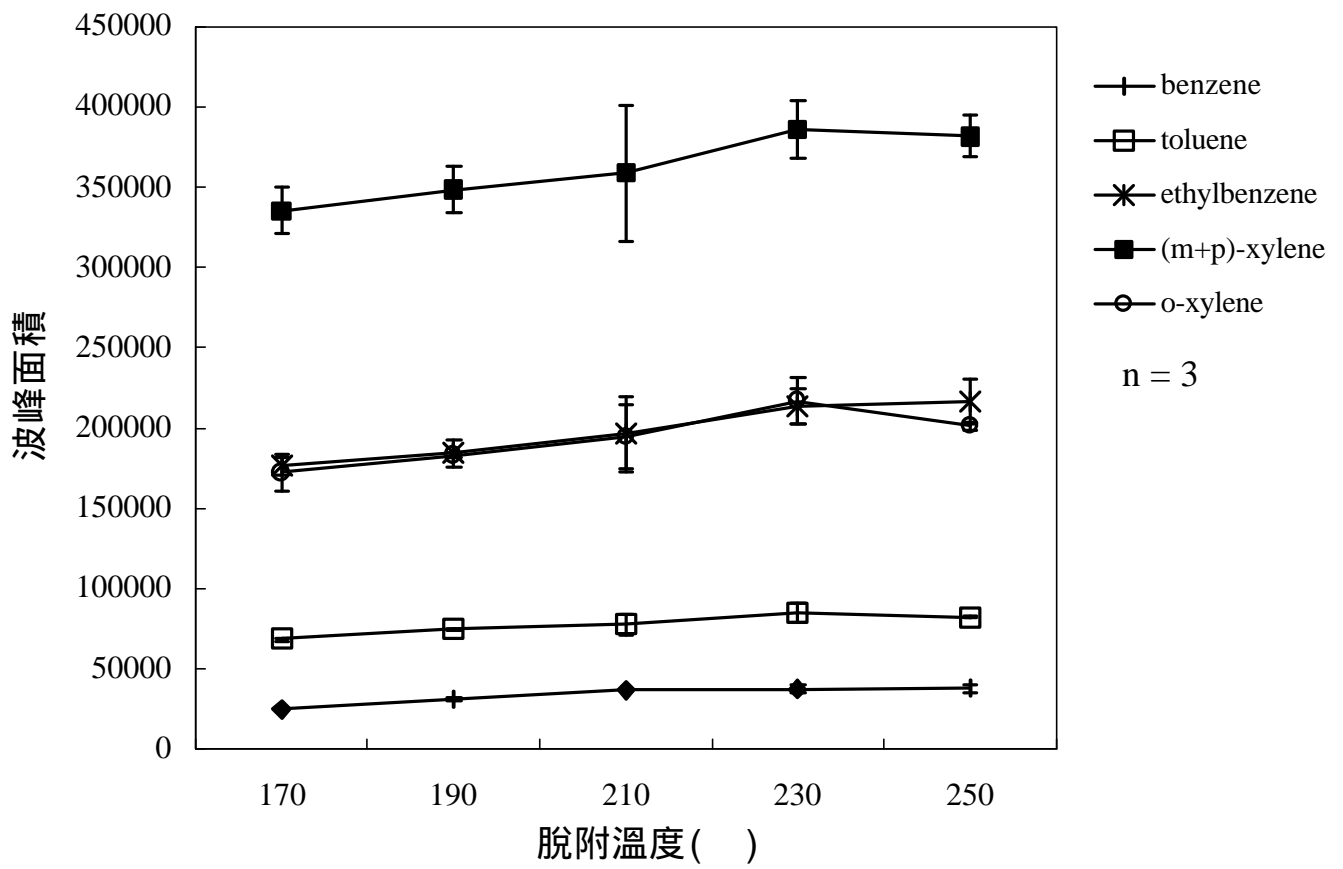


圖 5 不同脫附溫度對固相微萃取纖維吸附量的影響

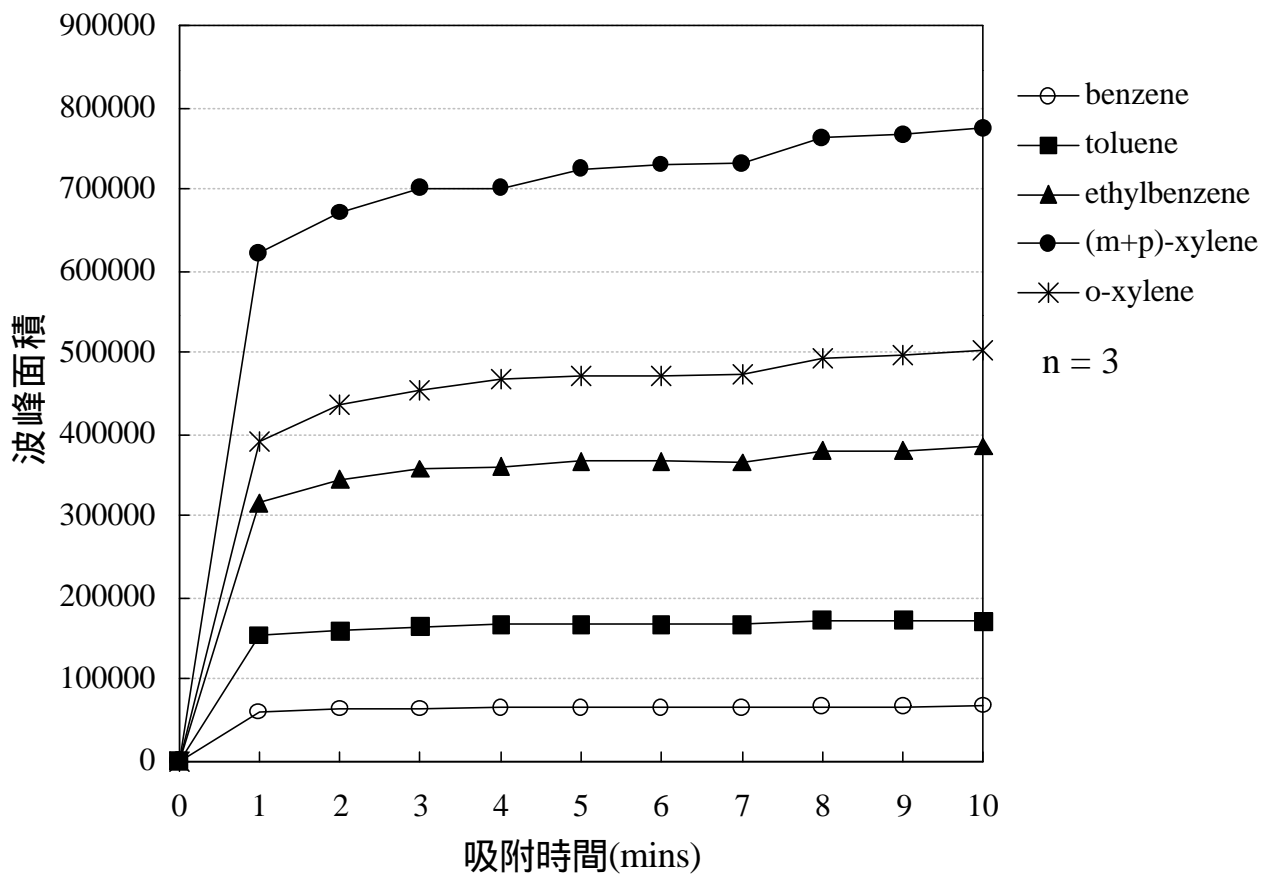


圖 6 不同吸附時間對固相微萃取纖維吸附量的影響



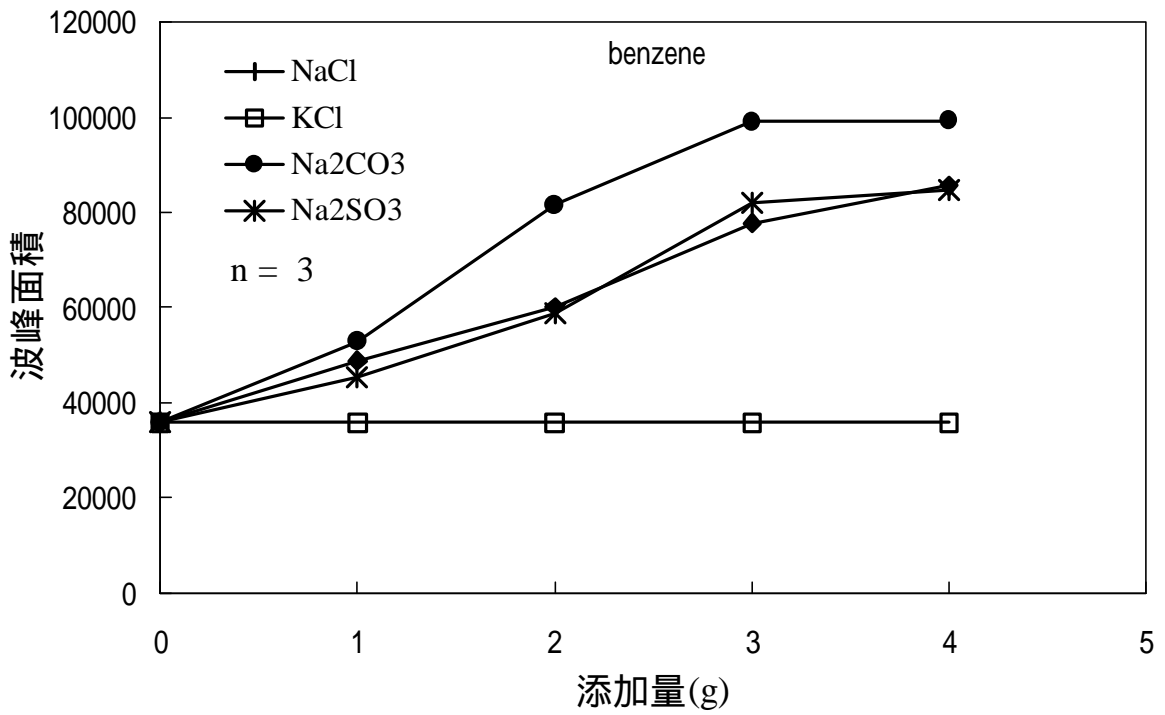


圖 7.1 不同鹽類添加於對固相微萃取纖維吸附量的影響

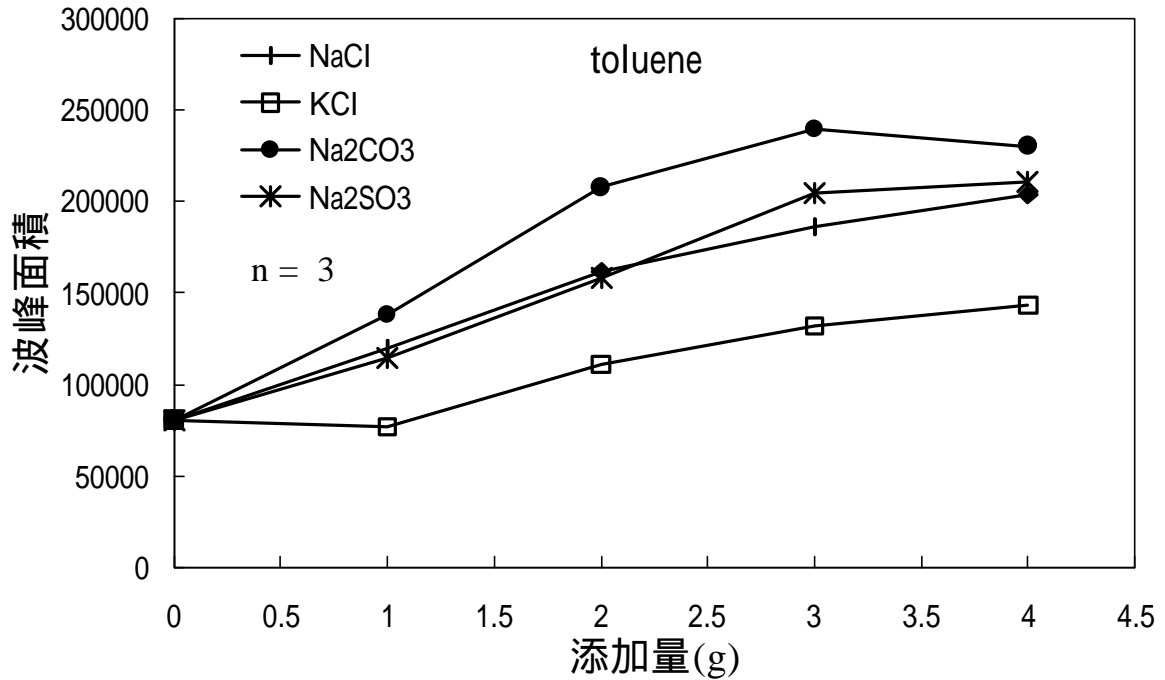


圖 7.2 不同鹽類添加於對固相微萃取纖維吸附量的影響

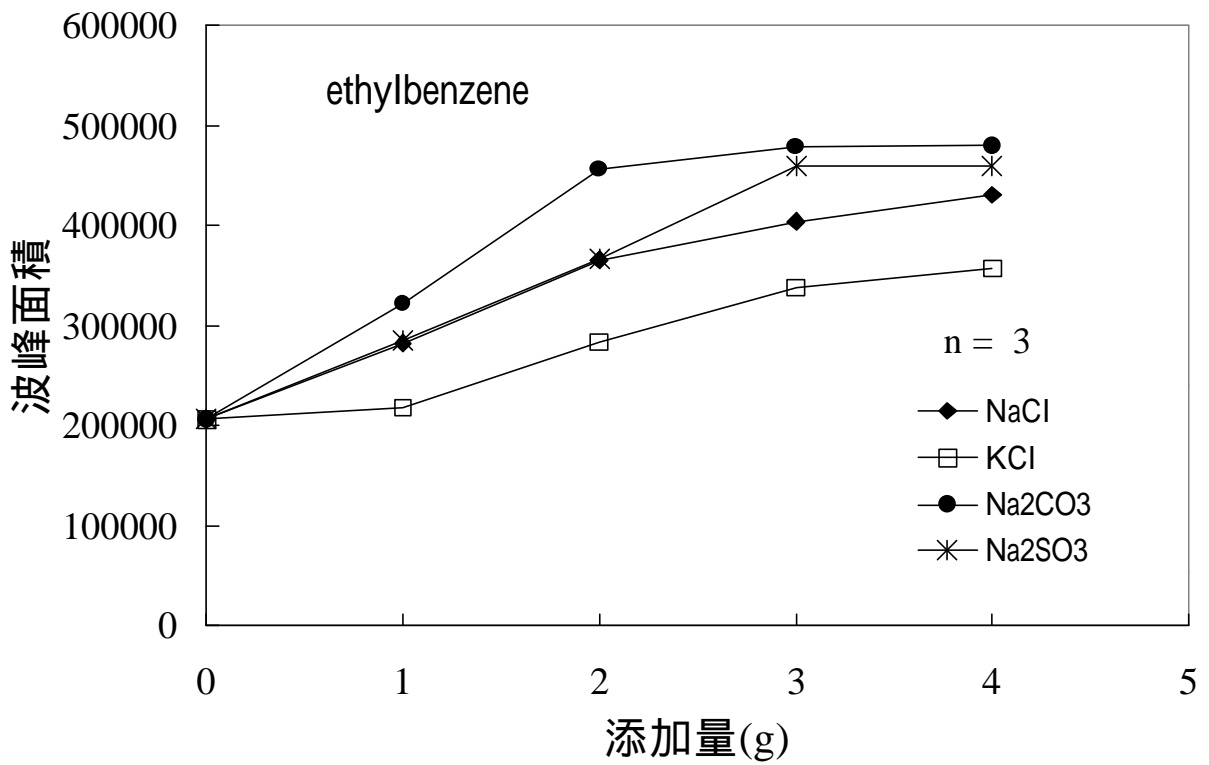


圖 7.3 不同鹽類添加於對固相微萃取纖維吸附量的影響

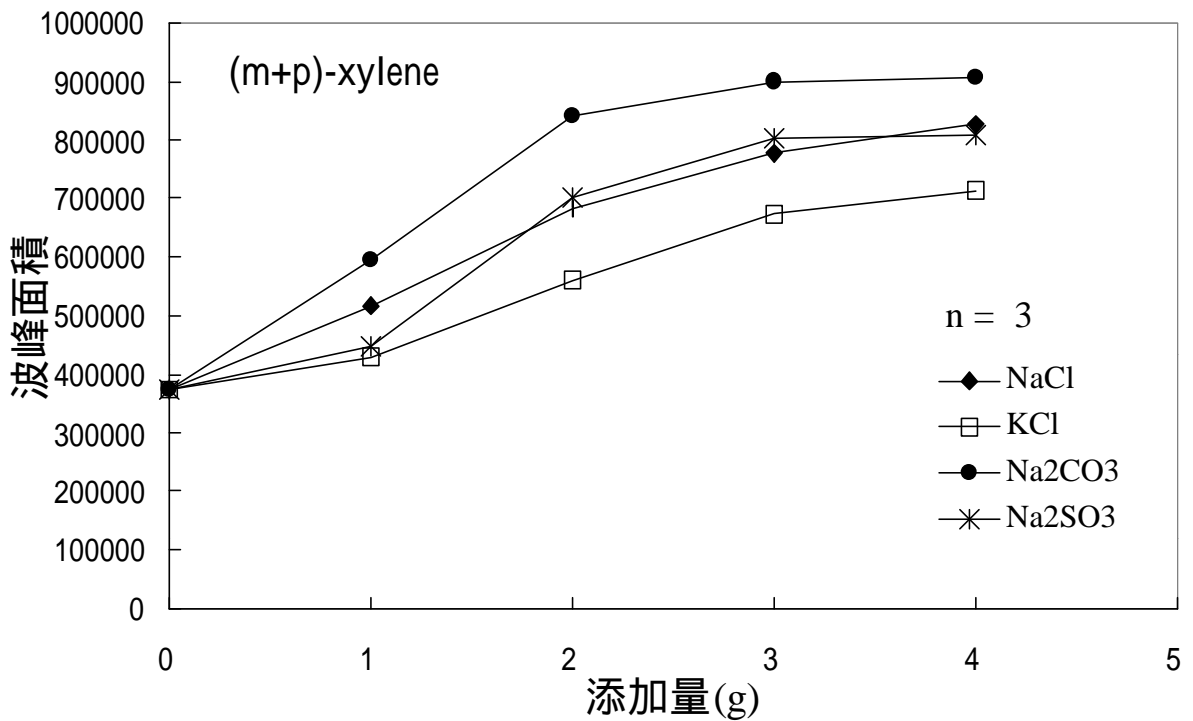


圖 7.4 不同鹽類添加於對固相微萃取纖維吸附量的影響

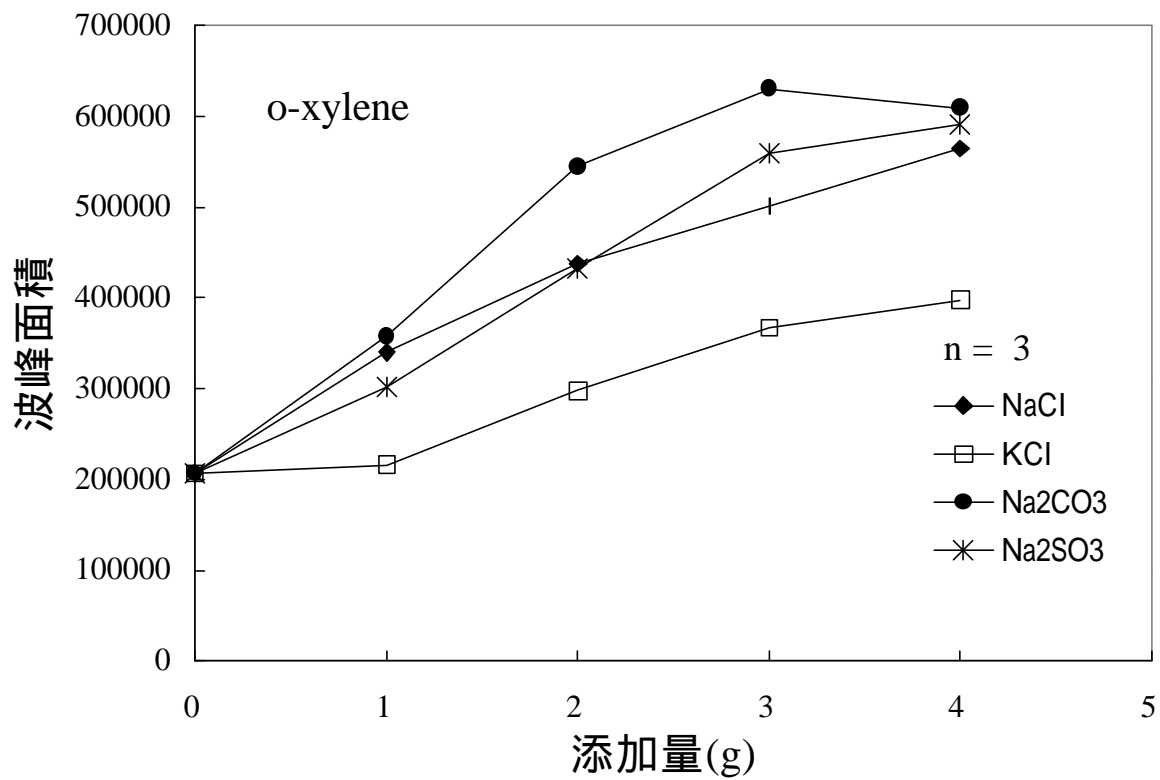


圖 7.5 不同鹽類添加於對固相微萃取纖維吸附量的影響

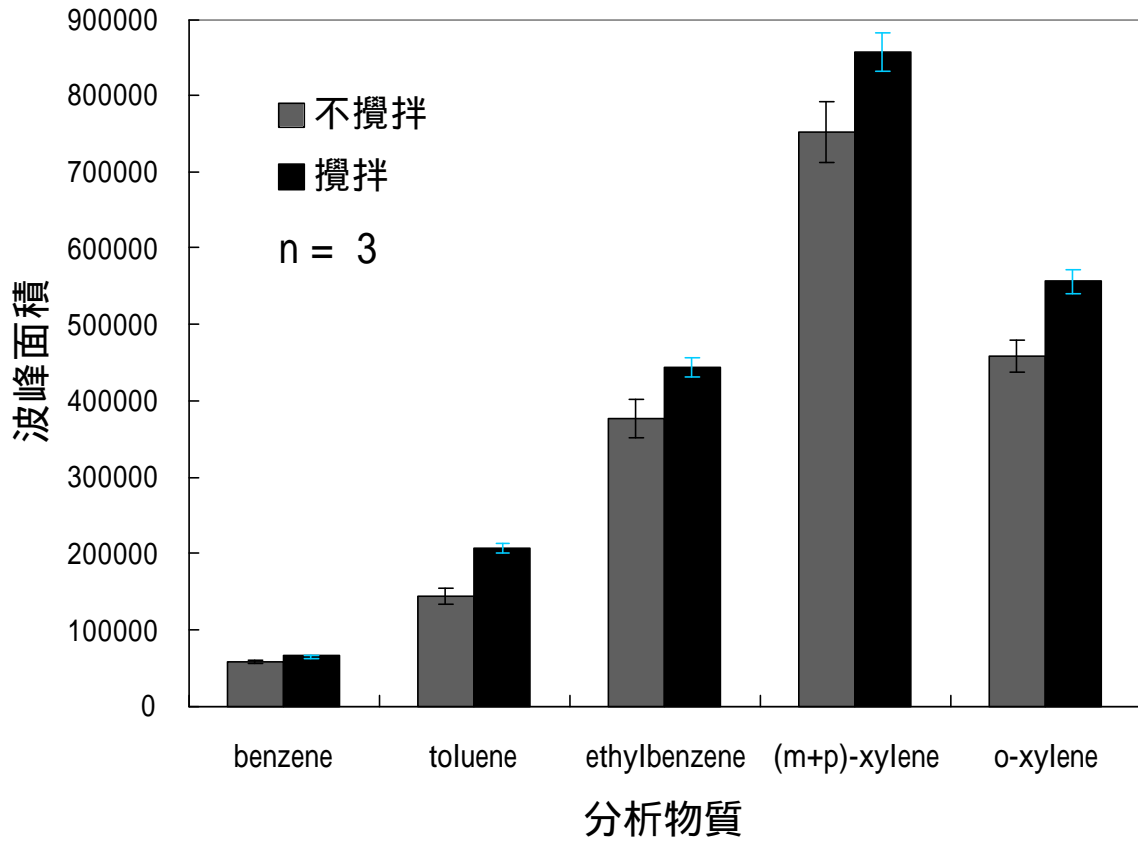


圖 8 樣品攪拌與否對固相微萃取纖維吸附量的影響  
攪拌速率：1200 rpm

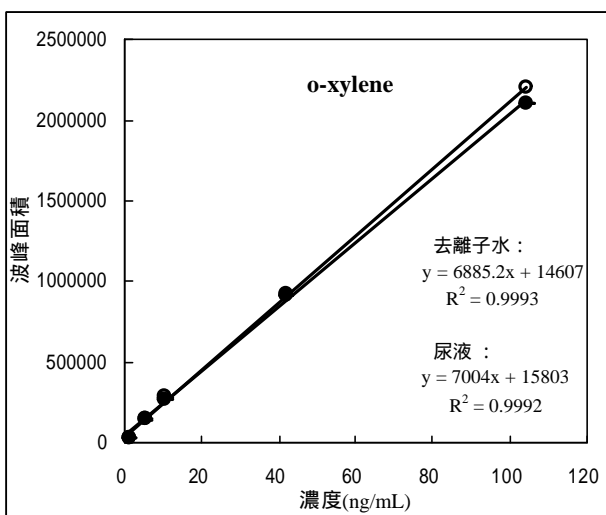
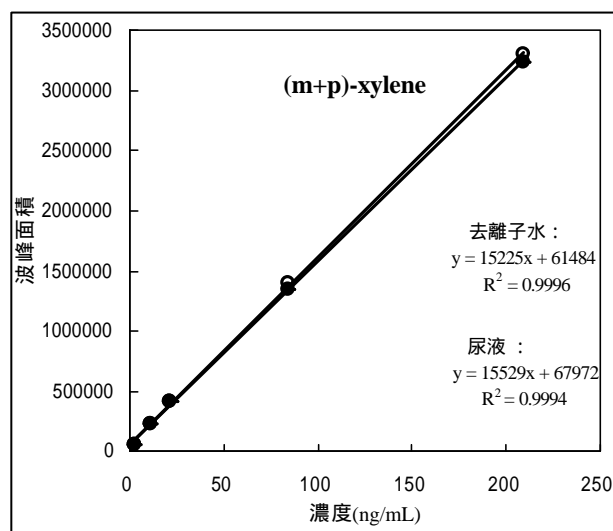
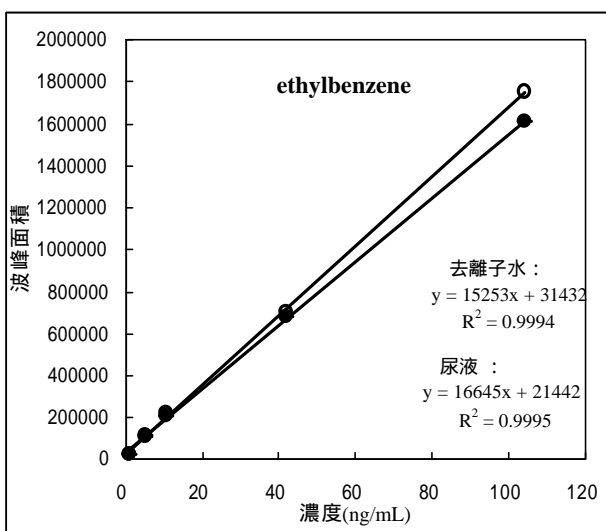
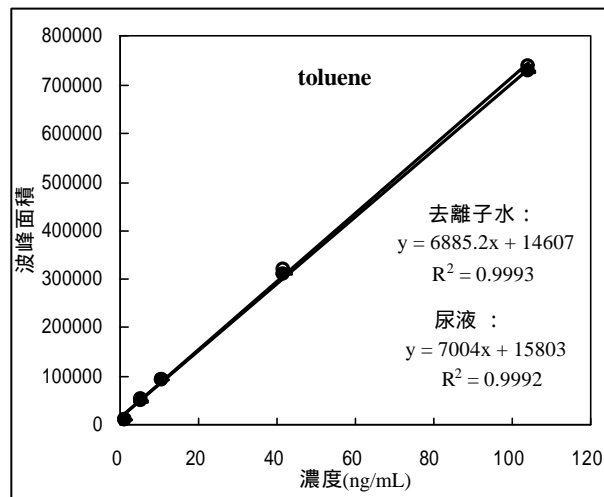
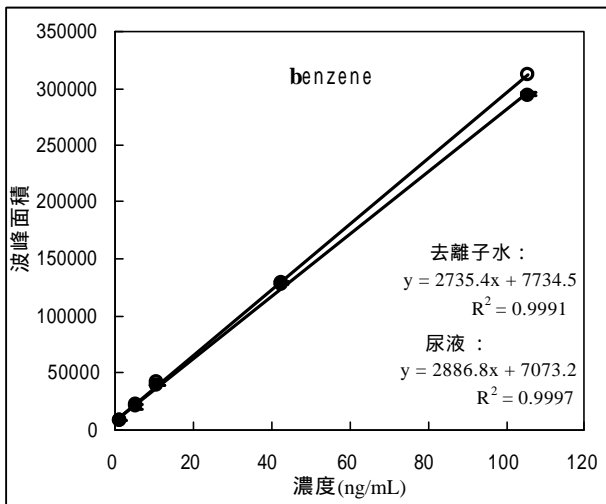


圖 9 BTEX 標準品在尿液及去離子水中基質效應測試結果  
 每一點濃度皆為三重覆分析

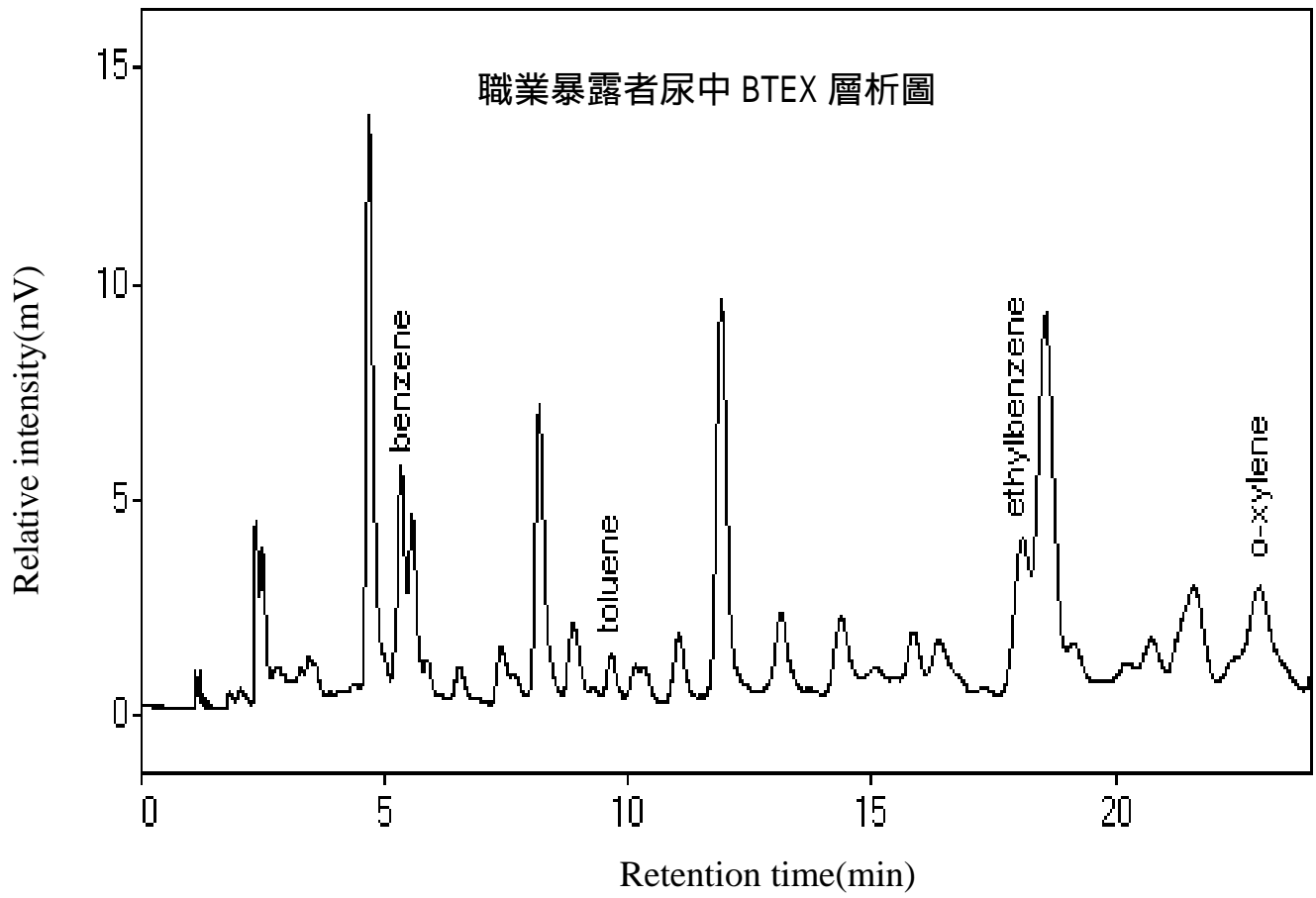


圖 10 職業暴露勞工尿中 BTEX 未代謝原形物質分析層析圖