

巴拉刈工廠4,4'-雙吡啶原料及其廢水之分析

郭憲文¹ 王榮德²

台灣地區自民國七十二年發生部份巴拉刈作業員工罹患皮膚癌前期症狀以來，此種致皮膚癌因子是否為4,4'-雙吡啶及其異構物，或者落狀不純物至今尚無定論，而巴拉刈工人經常所接觸之合成原料及排放廢水之物質，是否含有這些物質，一直缺乏分析測量資料。故本研究旨在分析巴拉刈工廠所使用之原料及其排放之廢水，以作為未來研究巴拉刈工人致癌因子之參考。

本研究係利用高效率液相層析法(HPLC)，分析4,4'-雙吡啶及其異構物，其適當分析條件流動相為15/85氯甲烷/30mM磷酸銨溶於二次去離子水，以磷酸調整酸鹼值為4.6，流速1.0 ml/min，管柱為Inertial ODS-2。分析廢水之結果得知含有4,4'-雙吡啶濃度為147.6 μ g/ml吡啶為0.90 μ g/ml及2,3-雙吡啶為14.56 μ g/ml，2,4-雙吡啶為43.6 μ g/ml，另外有少量疑似皮膚致癌物的奎諾林之衍生物(Quinoline derivatives)，此物已經由氣相層析/質譜儀鑑定證實。至於國內自行合成之4,4'-雙吡啶，其產品內容物與廢水大致類同，而國外進口之4,4'-雙吡啶原料中，並未含有奎諾林之衍生物及2,4-雙吡啶，且其純度較前者低。由於僅從事國外進口之4,4'-雙吡啶相關作業，其工人亦有輕微之皮膚黑斑症狀，類似致癌之最初期變化；故我們推測從前廢水中仍有奎諾林之衍生物，但皮膚變化卻不能單由它來解釋；可能至少也需有雙吡啶之參與。(中華衛誌 1992；11(4)：269-276)

Key words: 4,4'-雙吡啶，巴拉刈工廠，原料，廢水

前言

巴拉刈(paraquat)是良好的除草劑，常用於除去果園或山坡之雜草[1]，但由於意外事件或蓄意自殺而喝農藥，世界上每年平均約有500名個案死於巴拉刈[2]，其主要暴露是經由皮膚或粘膜接觸，甚至亦可能吸入其液體及氣膠，而造成人體之傷害。1979年英國ICI公司Howard [3]調查巴拉刈製造工人有皮膚發紅(skin rashes)，指甲受損(nail

damage)及鼻出血(epistaxies)等症狀，但這些症狀持續一段時間，即復原沒有續發現象。另外1981年Howard等人[4]亦曾調查馬來西亞工人長期噴洒巴拉刈，並未發現有明顯異常之症狀。不過自1982年英國Bowra等人[5]首次發現生產4,4'-雙吡啶作業員工有20人罹患皮膚病變，其中有6人亦有鱗狀細胞癌(Squamous cell carcinoma)，作者推測可能和4,4'-雙吡啶製造過程所產生之“落狀”(tarry)副產物有關。而黎氏[6]在1983年發現國內製造巴拉刈工人亦有皮膚病變，分布在患者的臉、頸、手背及前臂等部位，以黑斑(hyperpigmented macule)較明顯，其中從7位取得皮膚病灶切片經病理檢查得知，表皮有基底層色素增加，上皮角化增殖及發育不良(dysplasia)等現象，其中有3人呈現波文氏病

¹ 中國醫藥學院環境醫學研究所

² 台大公共衛生研究所

聯絡人：郭憲文

地址：台中市學士路91號 環境醫學研究所

(Bowen's disease)的變化。1987年王氏[7]等人亦對台灣地區228位巴拉刈作業員工作全面皮膚檢查，結果發現69位(佔30%)在身體各側處有黑斑，其中有17名有併發角化現象，經控制年齡及陽光等影響變項，得知皮膚症狀與從事雙吡啶結晶溶液離心脫水及結晶槽處理有密切關聯性。故作者懷疑皮膚病變和吡啶、雙吡啶異構物有關而與其他落狀不純物可能較無關，且此症狀可能經光毒作用機轉而產生。到底巴拉刈製造工人之皮膚病變為4,4'-雙吡啶或其它異構物，或者落狀不純物中成份所引起，至今尚無定論。為更進一步了解整個巴拉刈製程中所產生的各種成份，本研究擬分析原曾發生皮膚病變之製造工廠使用原料及廢水，以適當分析方法來定性及定量其內含物，作為未來研究致皮膚癌因子之參考。

材料與方法

分析樣品取自國內3家巴拉刈工廠，其中A工廠是採用高溫鈉法(high temperature sodium method)，其製造程序是將吡啶加鈉金屬混合後形成4,4'-雙吡啶，再經結晶及離心過程，及甲基化(methylation)作用後形成巴拉刈，故至離心槽取得部分尚未離心之4,4'-雙吡啶及其上澄液(未經處理排放成廢水)，並取部分已曬乾燥之4,4'-雙吡啶。此樣本之採集時間在民國77年間，這段時期均妥善貯存在4℃下。由於B及C工廠自民國76年已經將生產程序改變，直接國外進口4,4'-雙吡啶再合成巴拉刈，故無法取得其廢水樣本，而直接取得進口4,4'-雙吡啶原料當作分析樣本，這兩家工廠原料，經廠方自行檢驗結果成份及含量均類似。利用清洗過之塑膠瓶，取得樣本後立即用石蠟膜密封貯存於4℃之冰庫內，以避免直接暴露在陽光下。分析時則秤重以甲醇溶解後，先使用SEP-PARK C18 CARTRIDGE (Waters Associates, Milford, MA, U.S.A.)過濾去除雜質，再使用HPLC分析及GC/MS來鑑定。

使用試劑與藥品包括甲醇(試藥級)，異丙醇(試藥級)及去離子水，使用前均用

Millipore過濾設備去除雜質；磷酸及磷酸銨(NH₄)₃PO₄均選購分析試藥級(Wako Pure Clean公司，日本)，此磷酸緩衝液之配置先稱重定量磷酸銨溶於1升水，再以磷酸調節酸鹼值為4.6。雙吡啶異構物係購於Aldrich公司(美國)純度均大於98%以上，包括2,2'-雙吡啶，2,3-雙吡啶，2,4-雙吡啶，3,3'-雙吡啶，4,4'-雙吡啶及購自德國Merck公司之吡啶及奎諾林之衍生物。分析儀器主要有高效率液相層析儀及氣相層析儀/質譜儀(GC/MS)分析鑑定巴拉刈工廠之原料及其廢水，前者採用紫外線偵測器波長設定在254 nm，分析條件根據郭氏[8]研究，簡述如下：流動相為15/85氘甲烷/30mM磷酸銨溶於二次去離子水，以磷酸調整酸鹼值為4.6，流速1.0 ml/min，管柱為Inertial ODS-2分析，以確認巴拉刈工廠原料及其廢水所含之物質，進一步使用GC/MS來定性：質譜儀之機型為HP 5971A GC, mass selective detector, 70 eV, ion energy, 10-650 M/E scan range。分析之條件如下：管柱HP5 (長25公尺*內徑0.2毫米)填充物為5% diphenyl, 95% dimethyl polysiloxane注射口溫度為250℃、管柱溫度每次升溫10℃/min從70℃至290℃、注射量為0.1毫升，氮氣流量為1 ml/min。為了偵測HPLC之再現性注射兩種濃度之4,4'-雙吡啶(32.9 µg/ml及1.0 µg/ml)連續注射10次，以其面積求得其相對變異量(RSD)分別為5.4%及2.4%，同時每次計算各種雙吡啶異構物在巴拉刈工廠原料及廢水之濃度均至少使用5種不同濃度，求出校正曲線後利用面積內插法計算其濃度(請見圖1)。

結 果

由於各種雙吡啶異構物沸點均較高，使用GC分析時，其解析力一直不佳，故作者使用HPLC分析，經測試結果以磷酸緩衝液可有效分離此六種雙吡啶異構物，其混合液之標準分析圖譜請見圖2。將A工廠巴拉刈離心及結晶作業之上澄液利用HPLC分析，由圖3得知其內容物經校正曲線換算其濃度分別為4,4'-雙吡啶濃度為147.6 µg/ml，2,3-

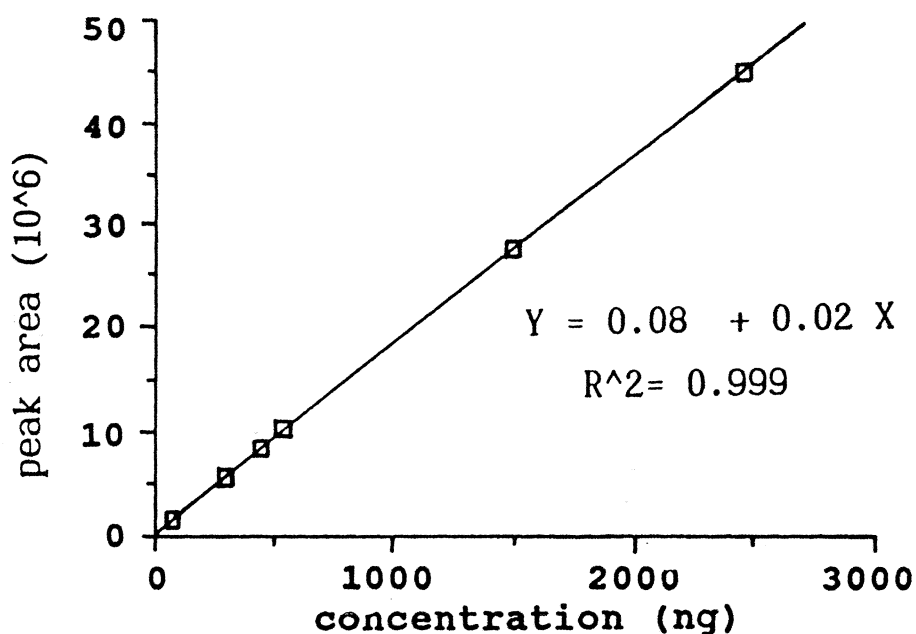


圖 1. 4,4'-雙吡啶之標準校正曲線

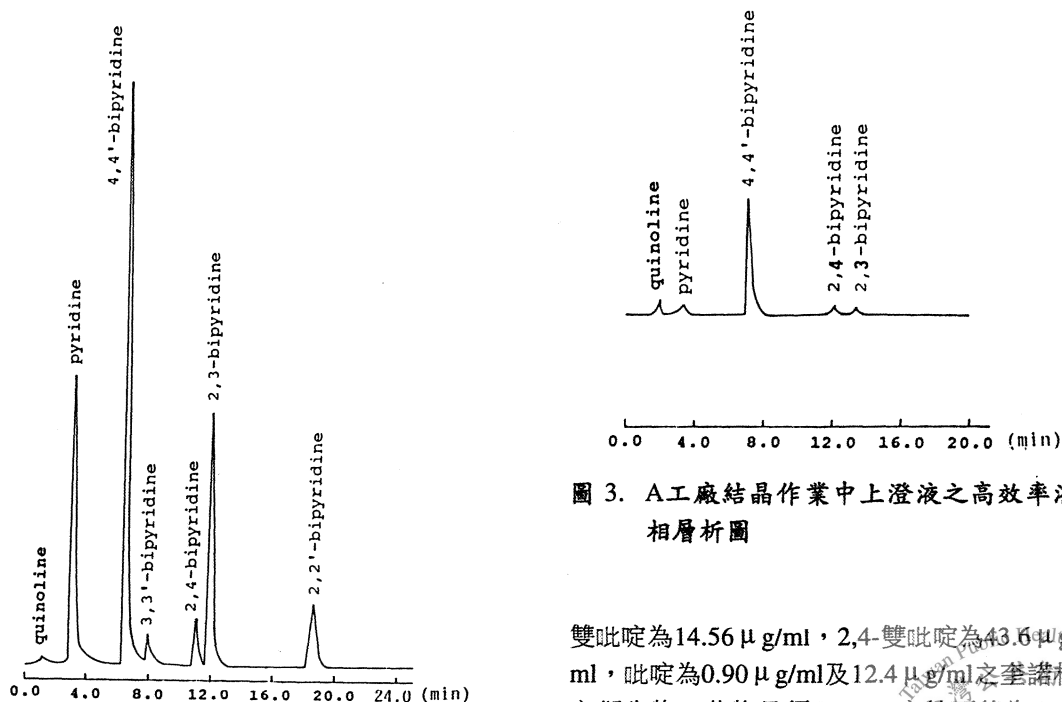


圖 2. Quinoline，吡啶，雙吡啶異構物之標準液高效率液相層析圖

圖 3. A工廠結晶作業中上澄液之高效率液相層析圖

雙吡啶為14.56 $\mu\text{g/ml}$ ，2,4-雙吡啶為43.6 $\mu\text{g/ml}$ ，吡啶為0.90 $\mu\text{g/ml}$ 及12.4 $\mu\text{g/ml}$ 之奎諾林之衍生物。此物且經GC/MS定性可能為decahydro quinoline，其質譜圖請見圖4。另外亦取得這三家巴拉刈工廠之4,4'-雙吡啶中間

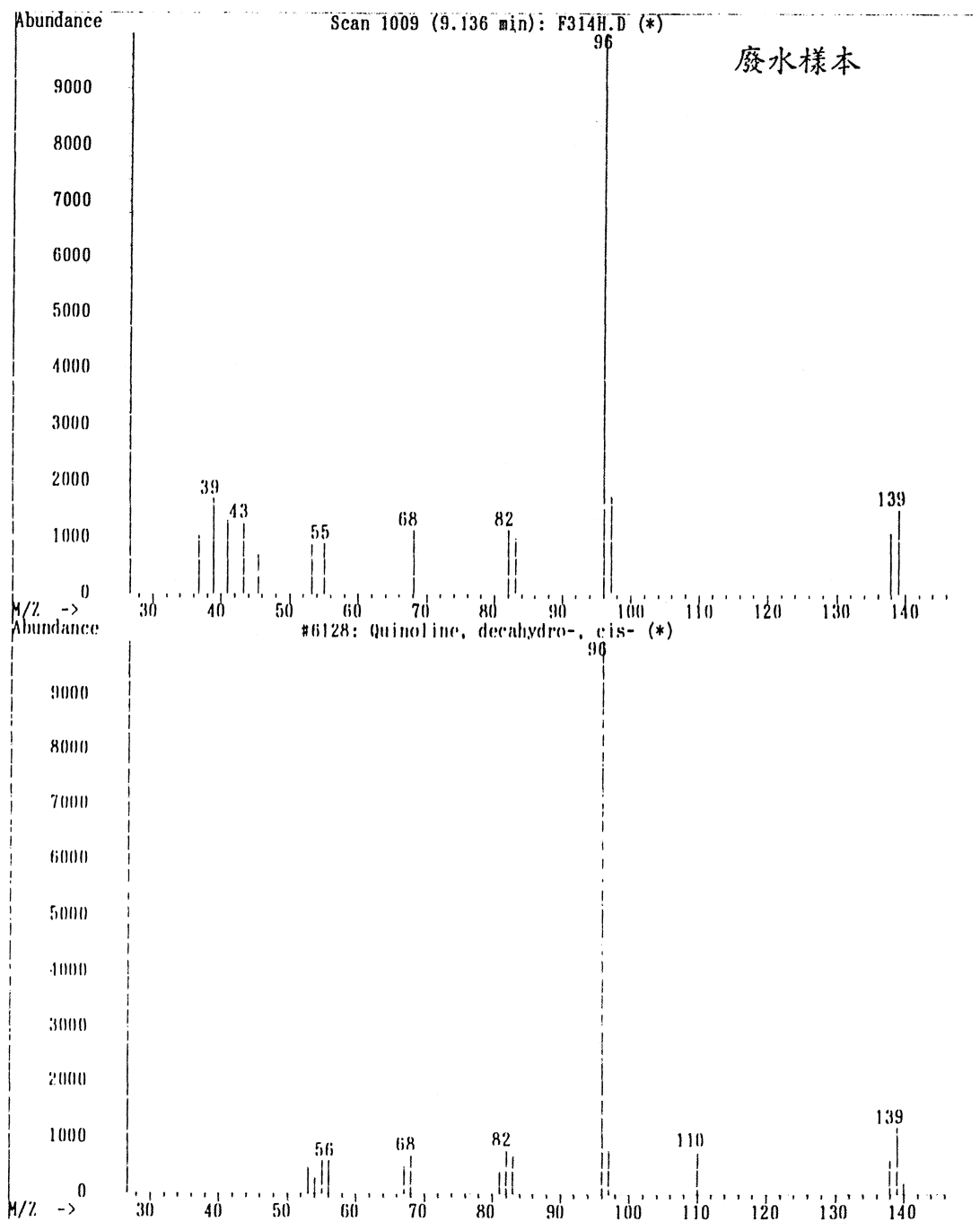


圖 4. Quinoline之質譜圖

體，其中A工廠是由國內自行合成4,4'-雙吡啶及巴拉刈，取其已曬乾之中間體發現內容物是以4,4'-雙吡啶含量最多佔92%，其他物質包括2,3-雙吡啶濃度為149 $\mu\text{g/g}$ ，2,4-雙吡啶為34 $\mu\text{g/g}$ ，吡啶為7.53 $\mu\text{g/g}$ ，並不含奎

諾林之衍生物。而經離心未曬乾之4,4'-雙吡啶中間體其內容物，除上述物質外，尚含有少量奎諾林之衍生物，其濃度為2.47 $\mu\text{g/g}$ （圖5）。在圖6可知B及C工廠之國外進口4,4'-雙吡啶中間體之內容物，均以4,4'-雙吡啶含

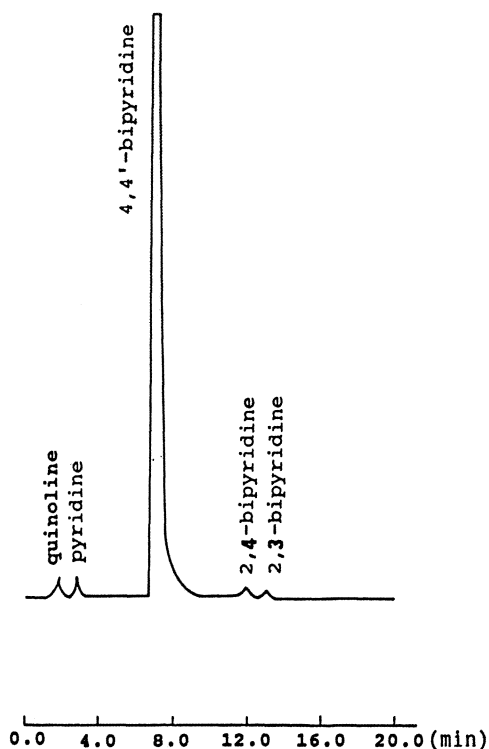


圖 5. A工廠自行合成4,4'-雙吡啶中間體之高效率液相層析圖

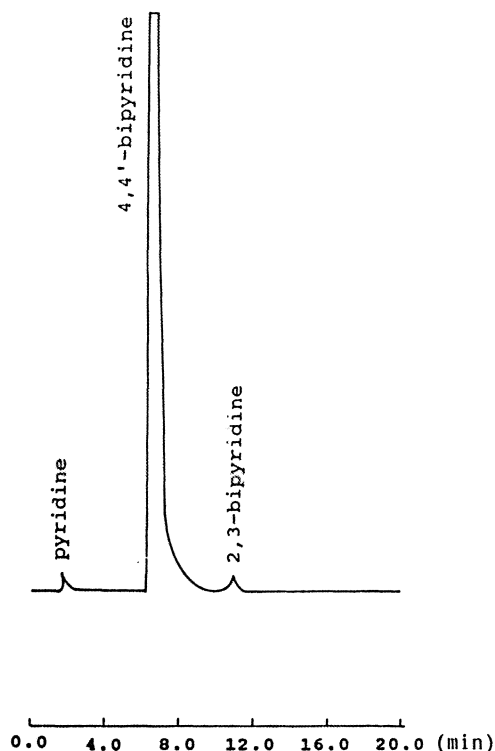


圖 6. B及C工廠國外進口4,4'-雙吡啶中間體之高效率液相層析圖

量佔96%，其它含少量2,3-雙吡啶濃度為 $17.3 \mu\text{g/g}$ 及吡啶為 $9.52 \mu\text{g/g}$ ，顯示國外進口4,4'-雙吡啶之原料成份相似，此外，並沒有含其它雙吡啶或雜質。

討論

1982年吳氏曾用GC方法分析國內三家巴拉刈工廠廢水成份[9]，由於其分析方法較粗略，只能分析吡啶及4,4'-雙吡啶，無法檢出巴拉刈及其它同分異構物。後來，1987年郭明良亦曾用HPLC分析台灣地區一家巴拉刈工廠廢水，發現除了吡啶及4,4'-雙吡啶，尚含有3,3'-及2,2'-雙吡啶等同分異構物，但在其圖譜上尚有若干尖峰無法鑑定其成份[10]。我們以HPLC方法可分離6種雙吡啶同分異構物(圖2, 3)外，尚發現一個奎諾

林之衍生物(圖3)，為了確認奎諾林之衍生物，我們又用GC/MS作物質結構鑑定，在質譜中4,4'-雙吡啶分子之離子呈現主要尖峰(base peak)之質荷比(M/Z)為156，而奎諾林之衍生物在質譜上其主要尖峰之質荷比為96，分子量為139，此物經與標準圖譜比較可能為decahydro quinoline (圖4)。同時我們亦曾利用HPLC在其它的流動相(60%甲醇和40%水)來測試奎諾林之衍生物，其HPLC之圖譜與奎諾林之衍生物標準液比較，得知巴拉刈工廠離心及結晶作業上澄液，確實含有少量奎諾林之衍生物，若排放至廠外後形成廢水，除濃度有差異外其內容物則相似。且國內生產未曬乾4,4'-雙吡啶樣本中亦發現它的存在。依Merck Index書[11]得知奎諾林之物化性質為熔點 -15°C ，沸點 237.7°C 易溶於沸水，且互溶於甲醇，乙醚及二硫化碳等

有機溶劑，在常溫下極易揮發。此物是否在巴拉刈製造同時產生？根據Field [12]之報告吡啶可在高溫約600°C下，形成各種類似異構物，包括各種Bipyridyls, Indole, Pyrrole及奎諾林，此奎諾林之衍生物之結構式和雙吡啶類似，所以我們推測奎諾林之衍生物可能是吡啶在合成4,4'-雙吡啶時，經高溫作業時所得之不純物。由於國內生產4,4'-雙吡啶之作業為高溫鈉法其產物中，未曬乾者比曬乾者多含奎諾林之衍生物，所以我們推測此衍生物可能經陽光曝曬後，易揮發成氣體使得濃度降低至檢測不出。除了揮發之可能外，國外進口之4,4'-雙吡啶中乃是採取低溫鈉法，其產品可能較純，而其中奎諾林之衍生物可能很少或不存在，而使得我們無法檢測到出來。由於目前巴拉刈工廠之生產程序較過去改變許多，無法收集過去合成吡啶之中間體；我們由過去中間體已曬乾及未曬乾者檢測出，得知後者至少多含有奎諾林之衍生物。因此，我們推測這些中間體所含之奎諾林之衍生物或不存在，或易受熱揮發至大氣中，以致我們無法檢測出來。

由於奎諾林已知在小白鼠皮膚可引起腫瘤[13]，未來驗證巴拉刈工人若有皮膚病變時，也須考慮此種物質的可能性。最近我們和台大皮膚科紀秀華醫師再度前往各巴拉刈之工廠，檢查工人皮膚，得知B工廠除原來病例外還有兩個新病例，其皮膚已呈黑斑變化，但我們分析4,4'-雙吡啶原料及其廢水，並未發現有奎諾林之衍生物存在。由於其未曾從事直接合成雙吡啶，且其4,4'-雙吡啶均為國外進口，而以乾燥型式存在，其4,4'-雙吡啶之純度為96%並含有少量雙吡啶異構物，但不含奎諾林之衍生物。按其工作史他們未曾接觸到奎諾林之衍生物，卻有最初期之皮膚症狀產生，故我們推測巴拉刈製造工人皮膚之變化可能非單純由奎諾林之衍生物導致；而至少也需有雙吡啶之參與。

目前國內僅存四家合成巴拉刈之工廠，自民國76年起生產製程已有改變，其中3家均無自行合成雙吡啶，改由英國及美國ICI公司進口4,4'-雙吡啶，經熱水浴及熱蒸氣將其融解，再至反應槽經甲基化後合成巴拉刈

，可減少雙吡啶廢水之產生。不過此三家工廠其製程是將4,4'-雙吡啶經過約90°C熱水浴融解後打開桶蓋，此時會有大量4,4'-雙吡啶蒸氣及氣膠揮發出來，員工再用吸管抽4,4'-雙吡啶至反應槽內，整個過程歷時1小時。尤其沸點低之物質在高熱下，更容易飄散在大氣中。我們最近所調查北部某家巴拉刈工廠，發現有兩個新皮膚個案，分析其熱水浴內水，附近水溝及吸管桶內之水，均發現均有少量4,4'-雙吡啶，其中放置吸管的桶內水，4,4'-雙吡啶濃度最高約有121.5 $\mu\text{g/ml}$ ，但並未檢測出其它同分異構物或奎諾林之衍生物。顯示單只暴露4,4'-雙吡啶的工人其皮膚即有初期的皮膚變化。所以我們建議工廠在操作以局部排氣裝置減少4,4'-雙吡啶揮發至大氣中，若這些廢水亦傾倒在水溝排放至廠外，可能會影響附近水體生物，故其融解槽內水最好應先妥善加以處理才放流。同時未來亦應定期作環境及個人測定，以確知巴拉刈工人暴露4,4'-雙吡啶及其它同分異構物之濃度。

參考文獻

1. Hayes WJ. Pesticide studies in man. Baltimore, William & Wilkins Inc. 1982; 543-58.
2. World Health Organization. Environment Health Criteria: Paraquat and Diquat. Geneva, World Health Organization, 1984.
3. Howard JK. A clinical survey of paraquat formulation workers. Br J Ind Med 1979; 36: 220-3.
4. Howard JK, Sabaqath NN and Whitehead PA. A study of the health of Malaysian plantation workers with particular reference to paraquat spraymen. Br J Ind Med 1987; 38: 23-33.
5. Borwa GT, Duffield DP, Osborn AJ and Purchase IFH. Premalignant and neoplastic skin lesions associated with occupational exposure to "tarry" byproducts during manufacture of 4,4'-bipyridyl. Br J Ind Med 1982; 39: 76-81.
6. Li WM. premalignant skin lesions associated with occupational exposure during the manufacture of herbicide paraquat. Dermatologica Sinica 1984; 2: 1-10.
7. Wang JD, Li WM, Hu FC and Fu KH. Occupational risk and the development of premalignant

- skin lesions among paraquat manufacturers. *Br J Ind Med* 1987; **44**: 196-200.
8. Kuo HW, Wang JD and Lin JM. Determination of 4,4'-bipyridine vapor. *Am Ind Hyg Assoc* 1992; **53**: 514-8.
 9. Wu TC, Kuo CL and Lee CD. Studies on some properties of herbicide paraquat manufacturing waste water. *Proc 7th Conf on Waste water Treatment Technology in R.O.C.*, 1982; 621-30.
 10. Kuo ML, Wang JD and Lin JK. Mutagenicity and cytotoxicity of dipyridyl derivatives and waste water discharged from paraquat manufactory. *J Chinese Oncol Soc* 1987; **2**: 1-8.
 11. The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, 12th edition, Merck & Co., Inc. Rahway, N.J., U.S.A.
 12. Fields EF. Arylation by aromatic nitro compounds at high temperatures VI. Reactions of nitrobenzene and nitrobenzene-d5 with pyridine. *J Org Chem* 1970; **34**: 62-7.
 13. LaVoie E, Shigematsu JA, Adams EA, Rigotty J and Hoffman D. Tumor-initiating activity of quinoline and methylated quinolines on the skin of SENCAR mice. *Cancer letter* 1984; **22**: 269-73.

ANALYSIS OF COMPONENTS OF WASTE WATER AND RAW MATERIALS FROM THREE PARAQUAT MANUFACTURING FACTORIES

HSIEN-WEN KUO¹, JUNG-DER WANG²

The procedure of high performance liquid chromatography (HPLC) for the determination of bipyridyl derivatives in waste water and raw materials of paraquat manufacturing factories is described. Samples were collected from three paraquat factories in Taiwan. One of the three factories (factory A) produces self-synthesized paraquat products by the high temperature sodium process, while the others directly imported 4,4'-bipyridine from the ICI Corp, and then formulated paraquat products with methyl chloride. Samples were extracted with methanol and then purified by passing them through a SEP-PARK® C18 cartridge (Waters Associates). Reverse phase HPLC with an ultraviolet detector was developed to analyze the above material by comparing it with a mixture of standard solutions of six bipyridyl derivatives. All samples were further verified by a GC/MS (Gas Chromatography/Mass Spectrometry) instrument.

The results indicate that the waste water taken from Factory A contained 4,4'-bipyridine, pyridine, 2,3-, 2,4-bipyridine and a quinoline derivative. Their concentrations in the waste water were 147.6 mg/mL, 0.90 mg/mL, 14.5 mg/mL, 43.6 mg/mL and 12.4 mg/mL, respectively. The raw materials imported by the other two factories also contained 4,4'-bipyridine, pyridine, and 2,3-bipyridine, but did not contain the quinoline derivative or 2,4-bipyridine. Although quinoline is a known carcinogen, two workers who were only exposed to imported 4,4'-bipyridine still developed freckles, we conclude that the quinoline derivative alone may not be responsible for the development of skin lesions among workers, but rather, 4,4'- or 2,4-bipyridine, or a combination of all of them may be the cause. (*J Natl Public Health Assoc (ROC)*: 1992; 11(4): 269-276)

Key words: 4,4'-bipyridine, paraquat factory, waste water, quinoline derivative

¹ Department of Public Health, China Medical College, Taichung, Taiwan, R.O.C.

² Department of Public Health, College of Medicine, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, R.O.C.