

戴奧辛生物快速篩檢法在農、畜及水產品的應用

徐慈鴻、李貽華、高清文

戴奧辛的定義

戴奧辛類化合物 (dioxin-like compounds) 涵蓋多氯二聯苯戴奧辛 (polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, PCDDs, 簡稱戴奧辛同源物, Dioxins)、多氯二聯苯呋喃 (polychlorinated dibenzo-furans, PCDFs, 簡稱呋喃同源物, Furans) 及戴奧辛類多氯聯苯 (dioxin-like polychlorinated biphenyls, DL-PCBs), 其基本化學結構如 (圖 1.); 根據苯環上的氯原子數目及氯原子在苯環上的位置不同, 已知的戴奧辛類及呋喃類同源物分別有 75 種及 135 種, 其中有 17 種具有生物毒性, 成為毒理學所關注的目標物; 而多氯聯苯類同源物有 209 種, 具有與 PCDDs/DFs 類似毒理學特性的包括 4 種 non-ortho PCBs 及 8 種 mono-ortho PCBs, 此 12 種 PCBs 即稱為戴奧辛類多氯聯苯 (DL-PCBs), 因此共有 29 種的戴奧辛類化合物為目前各國所關注及追蹤分析的對象, 具代表性同源物的化學結構如 (圖 2.)。(環保署 2005; 黃壬瑰等 2004; Commission Directive 2006/13/EC)。

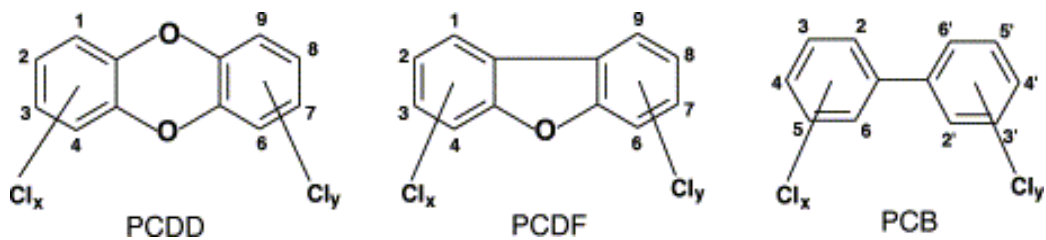
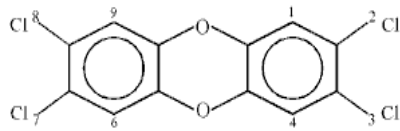
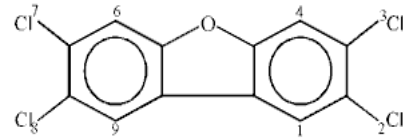


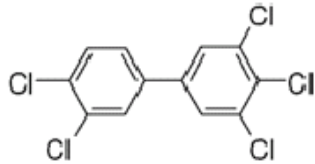
圖 1. 多氯二聯苯戴奧辛(PCDDs)、多氯二聯苯呋喃(PCDFs)及多氯聯苯(DL-PCBs) 基本化學結構圖。



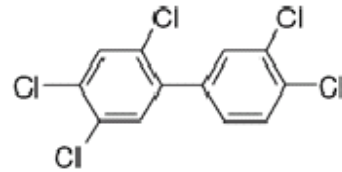
2,3,7,8-TCDD



2,3,7,8-TCDF



3, 3', 4, 4', 5-pentaCB
(PCB126)



2, 3', 4, 4', 5-pentaCB
(PCB118)

圖 2. 戴奧辛類化合物中具代表性的同源物(congeners)結構式：2,3,7,8-TCDD (PCDDs 類)、2,3,7,8-TCDF (PCDFs 類)、PCB126 (non-ortho-PCBs 類)及 PCB118 (mono-ortho-PCBs 類)。

戴奧辛的生物毒性

由於戴奧辛類化合物的安定性高，在環境中的分解性低(土壤中的半衰期為 2~103 年)，屬於持久性污染物(persistent organic pollutants, POPs)，戴奧辛類化合物一旦進入生物體，會在生物體內累積並產生毒害，高量短時間暴露於戴奧辛會導致皮膚氯痤瘡(chloracne)、色素沉積，也會使肝臟功能改變；而長時間低量暴露於戴奧辛則會導致免疫、神經、內分泌及生殖系統等受到損傷，動物慢性暴露試驗顯示最終會導致多種癌症產生(環保署; WHO 1999)；其生物毒性機制主要是戴奧辛類化合物進入生物體後會與細胞質中的轉錄因子-AhR(aryl hydrocarbon receptor)進行結合，結合後的 dioxins-AhR 會進入細胞核內，並結合到 DNA 上的一段特殊的基因片段 dioxin (或 xenobiotic) response element (DRE or XRE)，之後會啟動及影響包括 cytochrome P-450 等許多蛋白質的產生表現並引發一連串毒性效應(toxic effects)。(Bovee et al., 1998；Behnisch et al., 2001)

戴奧辛的毒性當量因子(TEFs)及毒性當量濃度(TEQ)

由於戴奧辛類化合物具有同源物，如何評估不同環境及生物體內累積的戴奧辛類化合物所造成的毒性及影響是很重要，因此 WHO 以毒性當量因子(toxic equivalency factors, TEFs)的概念來評估戴奧辛類化合物的毒性，戴奧辛類化合物

中以 PCDDs 的同源物 2,3,7,8-TCDD(2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin)的生物毒性最高，WHO 即以 2,3,7,8-TCDD 的毒性當量因子為 1 (TEF=1)，其他同源物則依據其與 PCDDs 結構的相關性、與 AhR 結合性、所引發的生化和毒性反應及其在食物鏈中的累積情形等特性而給予不同 TEF 值(van den Berg et al., 1998)。不同戴奧辛類化合物的 TEF 值會因為更多的研究及實驗結果的累積而有所變動，WHO 於 2005 年公告最新的 TEF 值(表 1.) (van den Berg et al., 2006)。建立 TEFs 值後，可以將樣品中戴奧辛類化合物的化學分析結果進一步轉換並得到毒性當量濃度 (toxicity equivalent, TEQ)，毒性當量濃度代表樣品中所有戴奧辛類化合物總毒性。毒性當量濃度的計算如下(van den Berg et al., 1998; BDS 2004.)：

$$TEQ = [(PCDD_i \times TEF_i)_n] + [(PCDF_j \times TEF_j)_n] + [(PCB_k \times TEF_k)_n]$$

表 1. WHO (1998、2005)公告之 TEF 值及 DR CALUX REP 值比較

Compound	WHO 1998 TEF ^a	WHO 2005 TEF ^a	DR CALUX REP ^b
Chlorinated dibenzo-p-dioxins			
2,3,7,8-TCDD	1	1	1
1,2,3,7,8-PeCDD	1	1	0.54
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	0.1	0.30
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	0.1	0.14
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	0.1	0.066
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01	0.01	0.05
OCDD	0.0001	0.0003^c	0.0001
Chlorinated dibenzo-p-furans			
2,3,7,8-TCDF	0.1	0.1	0.32
1,2,3,7,8-PeCDF	0.05	0.03	0.21
2,3,4,7,8-PeCDF	0.5	0.3	0.50
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	0.1	0.13
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1	0.039
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	0.1	0.11
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1	0.18
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01	0.01	0.032
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01	0.01	0.041
OCDF	0.0001	0.0003	0.0001
Non-ortho-substituted PCBs			
3,4,3',4'-TCB (PCB77)	0.0001	0.0001	0.0013
3,4,5,3'-TCB (PCB 81)	0.0001	0.0003	0.0001
3,4,5,3',4'-PeCB (PCB126)	0.1	0.1	0.067
3,4,5,3',4',5'-HxCB (PCB169)	0.01	0.03	0.0034

(下頁續)

表 1. WHO (1998、2005)公告之 TEF 值及 DR CALUX REP 值比較

(續)

Compound	WHO 1998 TEF ^a	WHO 2005 TEF ^a	DR CALUX REP ^b
Mono-ortho-substituted- PCBs			
2,3,4,3',4'-PeCB (PCB105)	0.0001	0.00003	0.000012
2,3,4,5,4'-PeCB (PCB114)	0.0005	0.00003	0.000048
2,4,5,3',4'-PeCB (PCB118)	0.0001	0.00003	0.000000001
2',3,4,4',5'-PeCB (PCB123)	0.0001	0.00003	-
2,3,4,5,3',4'-HxCB (PCB156)	0.0005	0.00003	0.00021
2,3,4,3',4',5',-HxCB (PCB157)	0.0005	0.00003	0.00008
2,4,5,3',4',5'-HxCB (PCB167)	0.0001	0.00003	0.00001
2,3,4,5,3',4',5'-HpCB (PCB189)	0.0001	0.00003	0.0001

^a Reference :van den Berg et al., 2006.^b Reference :Behnisch et al., 2003.^c Bold values indicate a change in WHO TEF value

戴奧辛類化合物的生物篩檢方法

戴奧辛類化合物的化學分析法是利用高解析氣相層析質譜儀(high resolution gas chromatography mass, HRGC/MS)來進行，可分辨樣品中所含的戴奧辛類化合物的種類及單一同源物(congener)的濃度，達到定性及定量目的，但利用層析質譜儀進行分析之前，樣品需經過萃取及不同類型的管柱淨化等繁複的前處理步驟，耗費較多的時間，估計完整分析一個樣品約需 14~21 天的時程(陳元武 2007)；由於時間花費長，分析樣品的數量及種類會受到限制，當發生戴奧辛污染事件時必需在短時間進行大量樣品篩檢追蹤，若單靠化學分析方法追蹤污染源或鑑定農、畜、水產品是否受到污染的過程，會因耗時費事，易導致消費者對農、畜、水產品安全衛生產生不信任感，除造成農民損失，甚至會導致農業進出口貿易商機之延誤，因此發展穩定可信的生物快速篩檢方法先進行大量農、畜、水產品中戴奧辛含量的快速篩檢，針對無法通過生物篩檢的樣品再利用高解析氣相層析質譜儀進行定性及定量分析，如此雙軌並進的監控模式兼具安全及效率，成為檢測農、畜、水產品中戴奧辛含量的重要策略(Behnisch et al., 2001；Schoeters et al., 2004, Hoogenboom et al., 2004；Hoogenboom et al., 2007；Hasegawa et al., 2007)。

戴奧辛類化合物的生物偵測方法(bioanalytical detection method, BDMs)主要是利用關鍵生化分子(如抗體)可以辨識戴奧辛類化合物的獨特結構或是可與戴奧辛類化合物產生專一性結合反應(如生物體內的接受器及酵素)，根據這些生化反應的強弱可以對戴奧辛類化合物的總量進行定性及半定量的分析，已發表的戴奧

辛生物偵測方法包括有酵素免疫分析法(enzyme immunoassay)、報導基因的分析法(reporter gene assay, 如 CALUX、P450HRGS、CAFLUX)、酵素反應分析法(如 EROD、AHH bioassay)、凝膠遲滯分析法(gel retardation of AhR DNA binding, GRAB)等, 相關生物偵測法對 TCDD 的偵測極限、適用濃度範圍及 EC₅₀ 值(見表 2.)。

表 2. 不同的戴奧辛生物分析方法之 TCDD 偵測極限、適用濃度範圍及 EC₅₀ 值(Behnisch et al., 2001)

	MDL pg/well (pM)	MDL pg/assay (pM)	EC ₅₀ pg/well (pM)	Linear working range (pM)
(a) EROD				
1. rat H4IIE				
• Macro	0.19 (2.4) ^a ; (10) ^a ; 0.68 (1.8 to 2.4) ^{b,c}	10 pg/plate ^{c,d}	46 ^d ; 56 ^e ; (100) ^a ; (20) ^e	0.93–93 fmol/well ^c ; 8–1000 pg/plate ^d
• Micro	0.058 (1.8) ^{b,f}	3.2 (10) ^g	0.087 ^f	0.5–40 pg/well ^b
2. Chicken embryo hepatocytes				
		0.16 (1.0) ^a	(16) ^a ; (720) ^c	(1.0 to 100) ^a
3. Fish rainbow trout				
		(40) ^h	(3.81 pmol/L) ⁱ ; (24,000) ^j	(10–1000) ^h
(b) In vitro luciferase assays				
1. Rat H4IIE-luc				
	0.06–0.19 (0.8–2.4) ^{c,k} ; 0.043 (0.27) ^l	0.3 (1) ^g	0.45–1.6 (5.6 to 10) ^{c,k}	0.93–93 fmol/well ^c ; (0.27 to 1.64) ^l
2. Mouse Hepa 1.1c2				
	0.64–1.6 (0.1–1) ^{k,m}		11–13 (20 to 680) ^k	(1.0 to 1000) ^{m,n}
3. Human NR 101L				
	(NR) ^o ; (1.0) ^p		64 (100) ^o ; (350) ^p	
4. Fish rainbow trout to RLT 2.0				
	NR (1.0) ^k ; (4.0) ^{h,q}		2.6 (64) ^{h,k} ; 150 to 300 ^q	(1.0 to 1000) ^h
(c) CAFLUX				
		(0.3) ^f	(10.7) ^f	
(d) EIA				
1. DF1				
		3–4 ^{s,t}		0.1–1000 pg/well ^l
2. Sugawara et al. (1998)				
	0.5 ^s			2–240 pg/well
3. DD3				
	25 ^s	80 ^s		
(e) AhIA				
	(125) ^u	1.0 ^u	550 ^u	
(f) AhR binding assay				
		0.8–3.2 ^g ; 64 ^v	(0.1) ^w	
(g) GRAB				
	(1.0) ^m	0.04–0.2 ^g	(150) ^m	(1.0–1000) ^m

(a) Kennedy et al., 1993, 1996a,b; (b) Schwirzer et al., 1998; (c) Sanderson et al., 1996, 1998; (d) Hanberg et al., 1991a,b; (e) Tillitt et al., 1991a,b; (f) Li et al., 1999; (g) Brouwer et al., 1995; (h) Richter et al., 1997; (i) Brack et al., 2000; (j) Clemons et al., 1994; (k) Ziccardi et al., 2000; (l) Bovee et al., 1998; (m) Seidel et al., 2000; (n) Garrison et al., 1996; (o) Anderson et al., 1995; (p) Postlind et al., 1993; (q) Villeneuve et al., 1999; (r) Aarts et al., 1998; (s) Harrison and Eduljee, 1999; (t) Zennegg and Schmid, 1999; (u) Wheelock et al., 1996; (v) Bunce, 1995; (w) Safe, 1990.

本所於 2005 年底奉農委會指派成立戴奧辛生物快速篩檢實驗室, 並根據環保署及衛生署的建議及經驗(黃壬瑰等 2004; 陳元武 2005; 朱正明 2005), 採用荷蘭 BDS 公司(BioDetection Systems b.v.)開發的 DR CALUX[®](Chemical-Activated Luciferase eXpression)快速篩檢法, 此方法是根據 dioxins-AhR-DRE 的結合機制所開發, 利用基因重組的技術, 在老鼠肝癌細胞株(H4IIE)內的植入同時具有 DRE 片段及冷光基因(luciferase gene, luc gene)的質體(plasmid)作為報導基因(reporter gene), 當樣品中存在戴奧辛/呔喃(PCDD/PCDF)及共平面多氯聯苯(co-planar PCBs)

等戴奧辛類化合物時，經由 dioxins-AhR-DRE 的結合機制啟動冷光基因產生冷光酵素(luciferase)，加入冷光素(luciferine, luciferase 的受質)反應後會產生冷光(圖 3.)，以序列稀釋的 2,3,7,8-TCDD 濃度值及冷光強弱(RLU 值)依 Hill reaction 公式求出劑量反應標準曲線，分析樣品則依據細胞反應後冷光的相對強弱值(RLU)顯示所含的戴奧辛類物質濃度的高低(圖 3.)，BDS 公司已應用 DR CALUX 方法針對每一種戴奧辛同源物進行細胞毒性反應，並建立類似毒性當量因子(TEF)的 relative potency (REP)來表示毒性的高低，同樣以 2,3,7,8-TCDD 的細胞毒性最高，其 CALUX REP 值為 1 (表 1.)；通常經由 DR CALUX 方法得到的是戴奧辛/呔喃/戴奧辛類多氯聯苯的總毒性當量值(total PCDDs/PCDFs/dioxin-like PCBs)，並以 pg DR CALUX TEQ/g product (or g fat)值顯示篩檢結果(Bovee et al., 1998; Behnisch et al., 2003)。

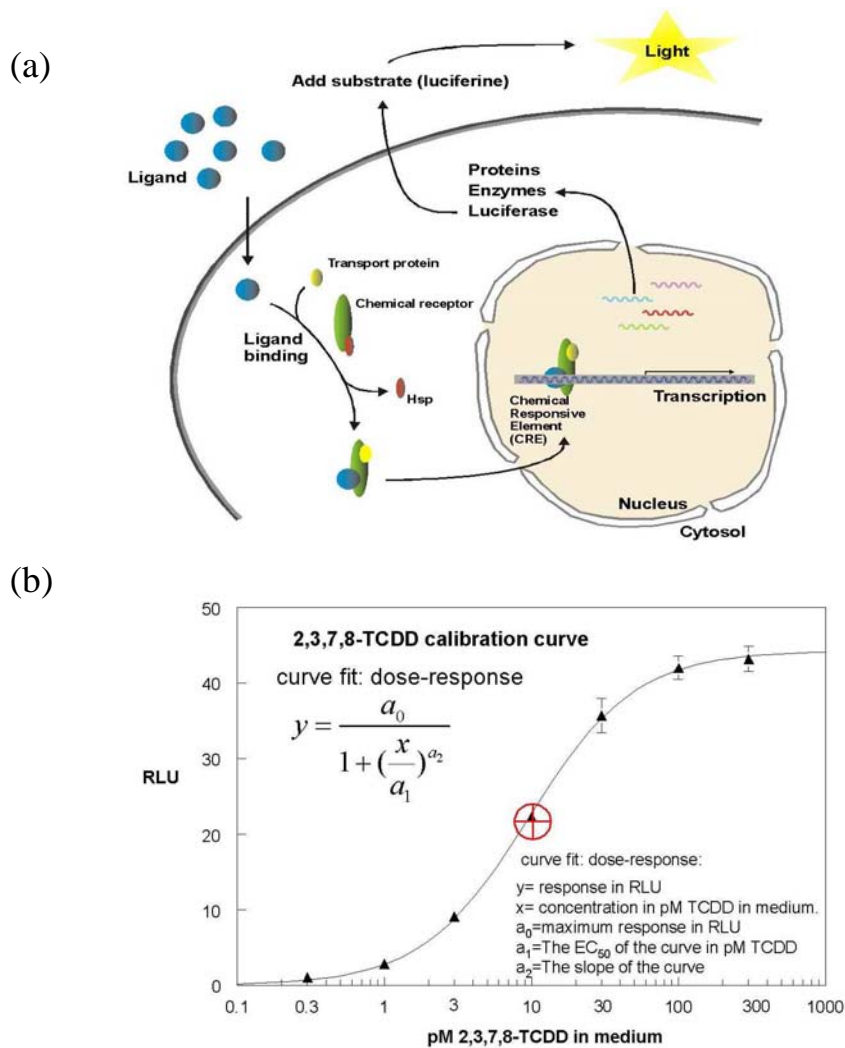


圖 3. DR CALUX®生物篩檢法(a)利用 dioxins-AhR-DRE 的結合機制及報導基因(冷光基因)進行樣品中戴奧辛類化合物的篩檢。(b)利用 Hill Reaction 公式求出劑量反應曲線(BDS 2004)。

DR CALUX 生物篩檢法具有高敏感度及低偽陰性(false negative)的優點，可檢測濃度低於 50 fg(10⁻¹²g)2,3,7,8-TCDD 的細胞毒性反應，部分食品及生物基質樣品的定量極限值(LOQ)低於歐盟之管制值(表 3.) (BDS 2004)，且樣品檢測出現偽陰性的機率<1%，同時符合歐盟 2002/69/EC 及 2002/70/EC 指令(Directives)，被接受作為食品(foodstuffs)及飼料(feedingstuffs)中戴奧辛含量的生物快速篩檢法 (Commission Directive 2002/69/ EC ; Commission Directive 2002/70/ EC ; Gizzi et al., 2005)，此外，DR CALUX 的分析結果和 HRGC/MS 的 Total TEQ 結果有好的相關性(Tsutsumi et al., 2003 ; Schoeters et al., 2004, Hoogenboom, 2005 ; Hasegawa et al., 2007)；荷蘭政府在 1998 年巴西柑橘果泥(Brazilian citrus-pulp)戴奧辛污染事件、1999 年比利時奶粉戴奧辛污染事件及 2006 年豬飼料遭到戴奧辛污染而使得豬油脂戴奧辛含量偏高事件，皆成功的應用 DR CALUX 生物篩檢法進行大量樣品的戴奧辛含量篩檢(Hoogenboom et al., 2006a & 2007)。以 DR CALUX 生物快速篩檢法搭配高解析氣相層析質譜儀分析法(HRGC/MS)為現今荷蘭政府監控其國內農畜牧產品中的戴奧辛含量的主要策略(林等 2007 ; Hoogenboom, 2005)，目前包括歐洲、美洲、亞洲及澳洲等至少已有 21 處政府單位所屬的戴奧辛監控實驗室採用 DR CALUXR 的生物檢測法(BDS unpublished information)。

表 3. DR CALUX 生物篩檢法的定量極限(LOQ)與歐盟管制值(BDS 2004)

Matrix	DR CALUX LOQ (ng TEQ/Kg)	EU-Limits (ng TEQ/Kg)
Fat from milk and milk products	0.6	3.0
Egg fat	0.6	3.0
Fish oil	0.6	2.0
Fish and fish products	0.1	1.25
Fish feed	0.1	2.25
Animal feed	0.1	0.75
Fat from meat and meat products	0.3	1.0

藥毒所戴奧辛生物快速篩檢認證實驗室的成立及進展

本所研究人員於 2006 年 2 月與荷蘭 BDS 公司進行技術轉移訓練，經過 21 天的分析技術流程訓練後(圖 4.)，必須針對所使用設備與材料的品質、細胞的培養、不同基質樣品的萃取淨化技術、分析數據的品質及運算分析、結果的判斷及實驗室各種環境背景值的監控等建立基本資料及標準操作步驟，於 2006 年 3 月開始進行三階段的實驗室認證過程，包括執行實驗室間各類數據的交叉比對及完整的盲樣測試步驟等(表 4.)，於 2006 年 7 月正式取得認證，顯示本所實驗室設備及研究人員皆達專業能力，並可正確的以 DR-CALUX 的方法進行樣品的戴奧辛快速篩檢。

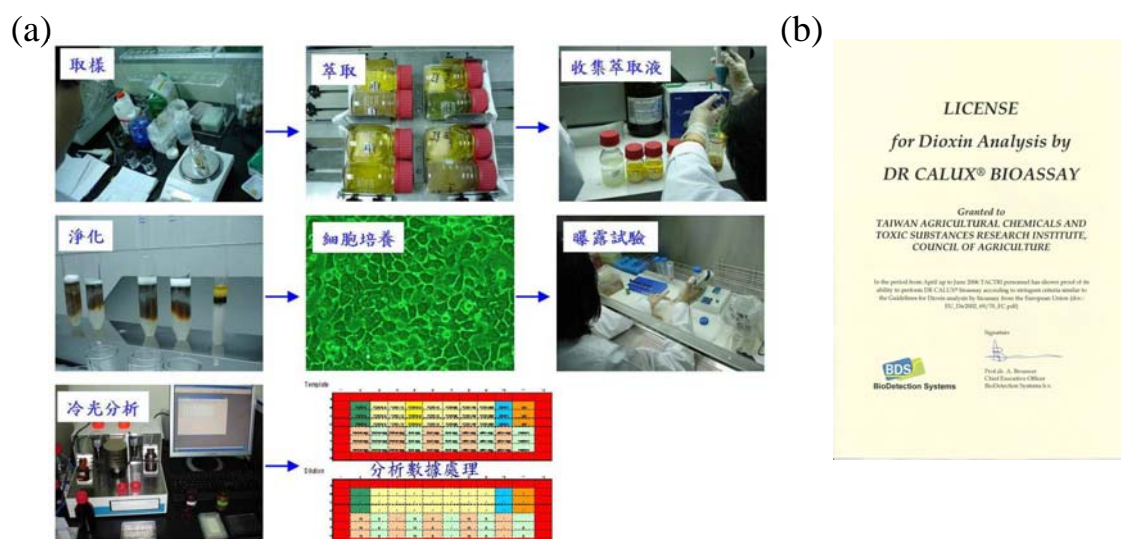


圖 4. (a)戴奧辛生物篩檢法之分析流程。(b)於 2006 年 7 月取得分析技術認證。
(藥毒所資料)

表 4. DR CALUX 生物快速篩選實驗室認證過程

階段認證內容	A	B	C	完成日期
Phase I	數據處理及判讀能力測試	建立標準品檢量線能力測試	細胞培養能力確認(3代細胞的活性檢測)	2006年3月
Phase II	未知濃度標準品溶液樣品檢測	微量樣品萃取液稀釋及細胞暴露試驗能力檢測	--	2006年4月
Phase III	實際盲樣測試(魚油及飼料)			2006年6月
2006年7月實驗室取得認證				

由於各國的農、畜及水產品的生產、製造及國民的取食習慣有其地域性，本所在取得實驗室認證後，一方面必需針對不同的樣品基質建立適當的萃取淨化技術，一方面必須持續實驗室環境及操作步驟 QA/QC (quality assurance/quality control) 資料的累積，針對 DR CALUX 方法檢量線的相關係數(R^2)、 EC_{50} 值已建立特定的可接受範圍，針對分析樣品要求進行不同濃度的稀釋(1 倍、3 倍及 10 倍)，所有濃度的樣品皆需進行三重複的細胞毒性測試且重複間之標準偏差需小於 15% (BDS 2004)，除上述已設定的 QA/QC 參數外，對於批次樣品的試驗流程空白 (procedure blank) 的容許值 (<1.0pM TEQ/well)、定量極限值 (LOQ, 1pM 2,3,7,8-TCDD in the well) 及標準參考物質 (certificated reference samples) 的數據皆需要累積並建立許華特管制圖 (Shewhart control chart)，以掌握整個生物篩檢實驗系統的變異源自於一般原因或者是特殊事件，本所實驗室目前所累積的資料包括試驗流程空白的容許值範圍、1pM 及 3pM 許華特管制圖 (圖 5.)、標準參考物質 (例如：飼料) 的許華特管制圖 (圖 6.)，由於上述管制圖的結果皆能符合歐盟指令之要求，顯示本所戴奧辛生物篩檢實驗系統及實驗步驟流程運作穩定。

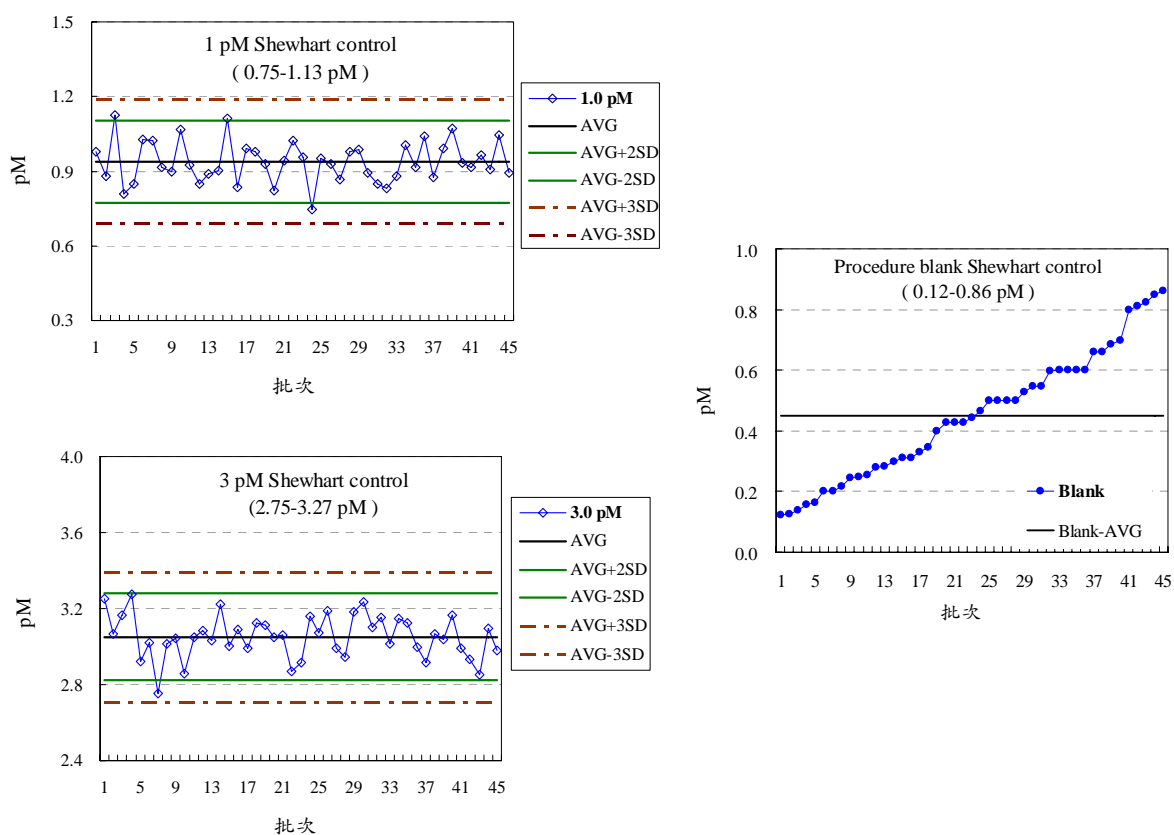


圖 5. DR CALUX® 生物篩檢法試驗 2,3,7,8-TCDD 劑量反應曲線 1pM 及 3pM 濃度變化之管制圖及試驗流程空白容許值的範圍(藥毒所資料)。

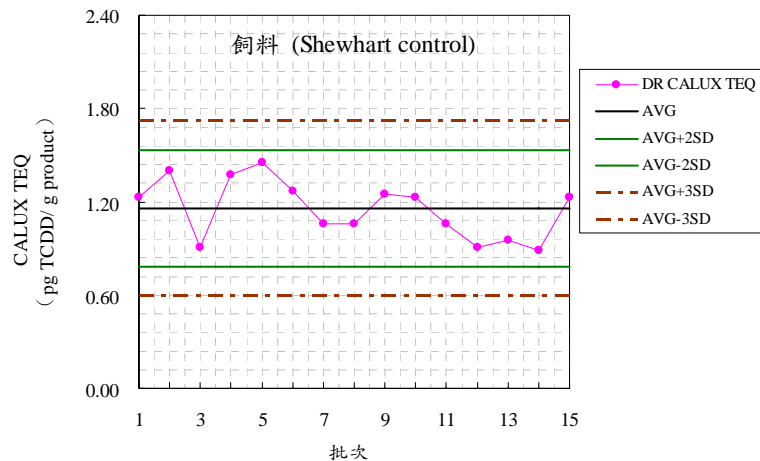


圖 6. DR CALUX®生物篩檢法檢測標準參考物質飼料(BRM-03)的戴奧辛含量控制圖。(藥毒所資料)

飼料(BRM-03)：1.4 pg DR CALUX TEQ/g product
 uncertainty：0.63 pg DR CALUX TEQ/g product
 (HRGC/MS PCDD/PCDF/PCB TEQ = 1.5 pg TEQ/g product)
 (Certificate of analysis of BDS reference material BRM-03 data are from BDS b.v.)

DR CALUX 篩檢法已被應用於環境、食品及農、畜及水產品等介質，已發表之相關文獻資料涵蓋飼料、魚肉、魚油、禽畜肉、雞蛋、牛奶及相關乳製品等、在農業體系中篩檢監測的對象包括相關飼料生產或配置工廠、水產養殖場、畜牧場、酪農場等(Hamers et al., 2000；Behnisch et al., 2002；Soechitram et al., 2003；Tsutsumi et al., 2003；Hoogenboom et al., 2004；Schoeters et al., 2004、Hoogenboom et al., 2006b & c；Hoogenboom et al., 2007；Hasegawa et al., 2007；Fochi et al., 2008)。本所目前已完成飼料、雞蛋、鴨蛋、牛奶及魚油等介質中戴奧辛含量 DR CALUX 快速篩檢法的建立，並逐步進行樣品的檢測篩選，未來戴奧辛生物快速篩檢法的工作重點包括：

- 一、強化不同基質的萃取淨化技術。生物篩檢法不若化學分析方法使用內標準品 (internal standards)來評估樣品萃取淨化流程並減少分析結果可能出現的誤差；對所有的生物快速篩檢法而言，樣品的萃取淨化流程是影響分析結果的主要因素，因此更需要加強實驗操作人員分析經驗的累積及分析步驟的標準化，包括使用樣品自動萃取進化裝置(如 accelerated solvent extraction system, ASE；high pressure liquid extraction, PLE)等 (Gizzi et al., 2005；Hoogenboom et al., 2006a)。此外，進一步建立基質中 PCDDs/DFs 及 DL-PCBs 的分離淨化技術，有助於釐清基質中主要戴奧辛類同源物的風險貢獻度(Tsutsumi et al., 2003；BDS, 2004；Hasegawa et al., 2007)。

二、增加並建立不同基質種類及不同戴奧辛含量標準參考物質(certificated reference materials, CRM)的分析資料。分別利用 DR CALUX 方法及 HRGC/MS 方法分析標準參考物質，比較二種方法的分析結果，可得知以 DR CALUX 方法分析特定樣品基質的回收率如何，並可判斷基質中是否存在未知的 AhR 增效劑(agonist，非戴奧辛類化學分子但是會和 AhR 結合，並使冷光反應增強)或 AhR 拮抗劑(antiagonist，導致 AhR 和戴奧辛類物質結合被抑制的化學物質，使冷光反應下降)，增效劑及拮抗劑的存在都會影響 DR CALUX 的最終反應結果(Behnisch et al., 2001； Hoogenboom, 2002； Hoogenboom et al., 2006a; van Karin et al., 2008)。除此外，需要建立標準參考物質的分析結果管制圖(Shewhart control chart)，作為進行未知濃度樣品基質篩檢之 QA/QC 用。

建構適合我國農、畜及水產品中戴奧辛監控的體系

我國於 2005 年 6 月發生彰化縣線西鄉及伸港鄉鴨蛋戴奧辛含量偏高事件(撲殺 20,853 隻蛋鴨，銷毀 158,900 台斤蛋品)、2006 年 8 月發生台北縣林口及八里的羊肉戴奧辛含量偏高事件(撲殺 50 頭，收購 146 頭)，造成鴨、羊等相關禽畜產品價格劇跌，對農友造成莫大損失。從污染源追查、污染樣品的追蹤檢測、受污染樣品的收購銷毀到協助農友離牧或復養等過程皆耗損經濟及社會成本，為避免類似事件再度發生，造成農漁民生計受到影響及維護我國農、畜及水產品的食用安全性，積極建構符合我國農情的戴奧辛監控體系是非常重要的，而監控體系需要涵蓋檢測策略的建立及監控策略層面的規劃二個層面。

一、檢測策略的建立

仿效歐盟國家及日本國的運作模式，以生物快速篩檢法配合高解析氣相層析質譜儀(HRGC/MS)化學分析法的雙軌模式進行戴奧辛含量的監測(圖 7.)(BDS, 2004)，其重要優點包括：1. 加快樣品檢測的速度、增加檢測樣品的件數及樣品的種類；2. 大幅降低檢測過程花費的時間及經費，同時降低龐大的行政負擔。目前農政體系以藥毒所為主要檢測技術建立單位，現階段已完成戴奧辛生物快速篩檢實驗室的建置並取得技術認證，建立飼料、雞蛋、鴨蛋、牛奶及魚油等基質樣品的戴奧辛生物快速篩檢流程，後續逐步建立其他類基質樣品的篩檢流程；另一方

面高解析氣相層析質譜儀化學分析實驗室已建置完成，正積極建立相關儀器分析條件及樣品分析技術。

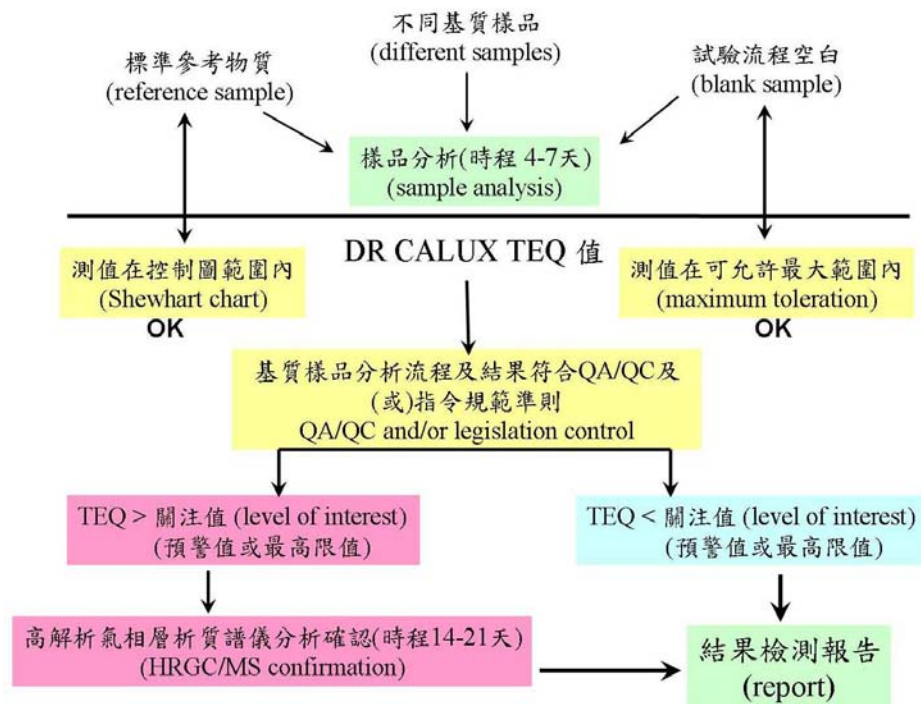


圖 7. 結合生物快速篩檢法與高解析度氣相層析質譜儀雙軌並進的戴奧辛檢測策略。
(架構源自 BDS 2004 內容經修改)

二、監控策略層面的規劃

在監控策略規劃上須考量的因素包括：1.人體中戴奧辛的累積 90%源自於食物，而動物源食物的貢獻度則佔其中的 80%(Commission Directive 2006/13/EC)，因此應依據國民總膳食調查結果，條列出國民消費最多的農、畜、水產品種類，以消費最多的禽、畜、魚肉及其相關產品的戴奧辛含量為優先監控的對象；2.針對禽、畜及水產養殖所用的飼料進行嚴格檢測，飼料成分複雜，其來源包括動物源(如畜禽屠宰場副產品、水產製品、乳製品、蛋製品)、植物源(如牧草、玉米、穀物)、微生物、抗生素、人工添加劑等等，而養殖動物的種類、性別、年齡、用途(如肉鴨、蛋鴨)皆會影響飼料成分，發生於 1997 年美國雞蛋及養殖鯰魚戴奧辛含量偏高事件(飼料中作為抗結塊劑的粘土球遭含戴奧辛污染)、1999 年比利時蛋品及畜產品戴奧辛含量偏高事件(動物飼料用油脂被戴奧辛污染)及最近 2006 年荷蘭豬油脂戴奧辛含量偏高事件皆起因於飼料受到戴奧辛污染所導致(王忠恕 1999; 林宗毅&黃振芳 2006；Hoogenboom et al., 2004；Hoogenboom et al., 2007)，形成

完整的飼料中戴奧辛含量監控系統有助於禽、畜、魚肉相關產品之安全及衛生管理機制的建立；3.針對大宗進口的禽、畜、魚肉及相關產品以批次抽驗的篩檢方式進行戴奧辛含量的監控；4.以衛星定位及地理資訊系統調查農、畜、水產品重要產地周邊環境可能存在的污染源及污染途徑，加強污染源周邊農畜水產養殖業相關產品戴奧辛含量的監控，此有助於產品中戴奧辛背景值資料的累積及污染事件發生時的比較判斷。

結 語

我國公部門中與戴奧辛類化合物監控有關的單位包括環保署、衛生署及農委會，依據“衛生署農委會環保署環境保護與食品安全通報及應變處理流程”(圖 8.)，農委會需要檢測對象包括農、畜、水產品等，由於所涉及檢測對象多且涵蓋基質種類複雜，因此利用生物快速篩檢法進行不同樣品基質戴奧辛含量的篩選監測，並配合高解析氣相層析質譜儀的分析方法進行精確的污染物定性及定量分析，如此可達到經濟、快速、精準及完善的監控體系，建立我國農、畜、水產品的戴奧辛含量背景值及相關管制標準，提供國人安全衛生的農、畜、水產品。

衛生署農委會環保署環境保護與食品安全通報及應變處理流程

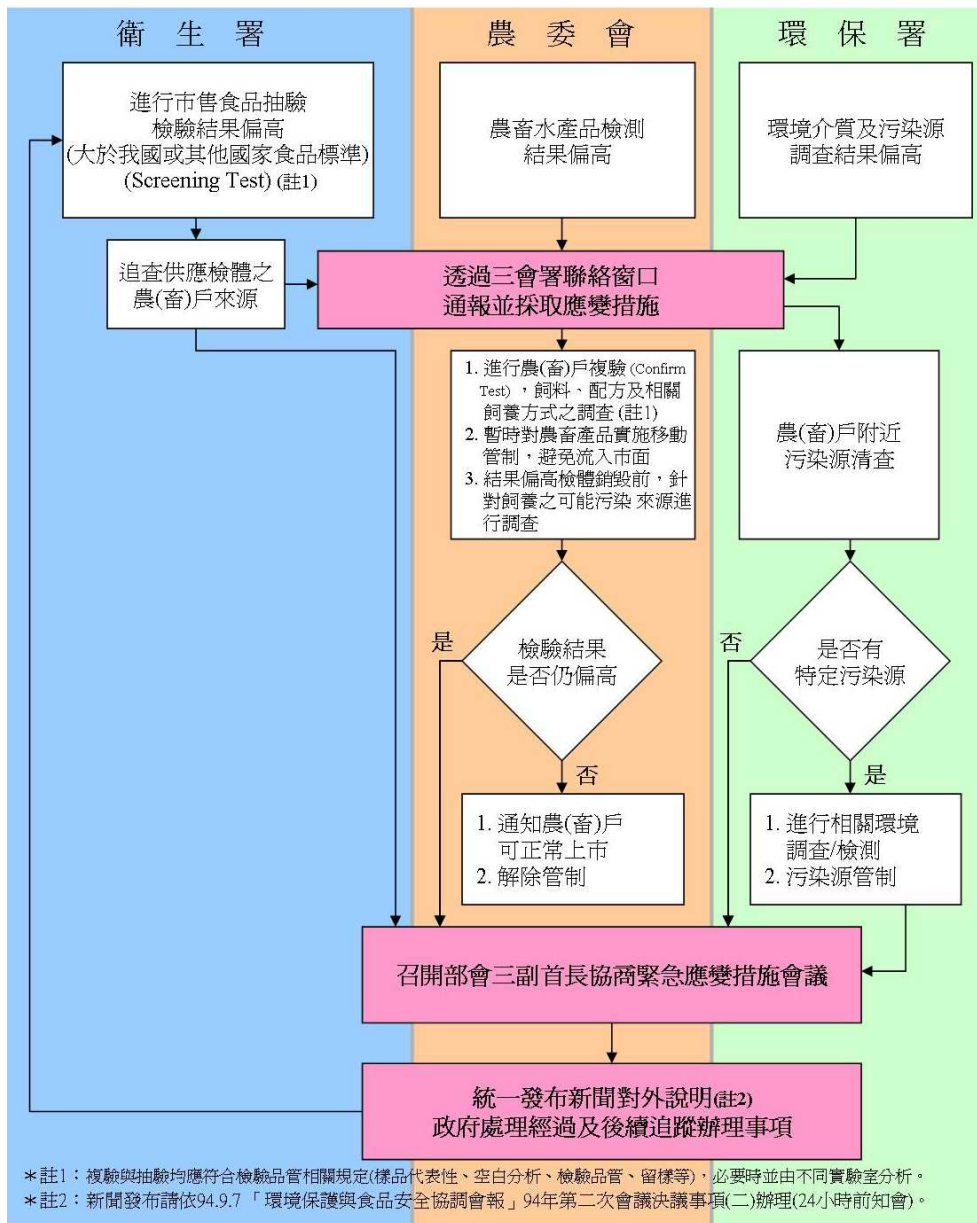


圖 8. 衛生署、農委會及環保署等三部會之環境保護與食品安全通報及應變處理流程。
(food.doh.gov.tw/files/post/)

參考文獻

1. 王忠恕。1999。比利時戴奧辛事件對國內畜產品之影響。農政與農情。85期。
<http://www.coa.gov.tw/view.php?catid=2525>。
2. 朱正明。2005。戴奧辛生物快速篩檢研討會 Pp167-199。行政院衛生署藥物食品檢驗局。台北。
3. 行政院環境保護署環境衛生及毒物管理處。2005。戴奧辛環境毒理簡介。
4. 林宗毅、黃振芳。2006。土壤及飼料中戴奧辛含量與飼料家禽蛋中戴奧辛含量之關係。行政院及所屬各機關出國報告。
5. 陳元武。2005。DR CALUX 生物快速篩選檢測技術。台北市政府衛生局衛生期刊。
<http://www.health.gov.tw/Default.aspx?tabid=417&mid=537&language=zh-TW&itemid=15253>
6. 陳元武。2007。戴奧辛生物快速篩選法在環境樣品分析之應用。農產品戴奧辛(Dioxin)分析技術教育訓練課程講義。台灣層析暨分離科技學會。
7. 黃壬瑰、楊喜男、李以彬、魏佩玉、許永華、陳元武、許元正、翁英明。2004。戴奧辛生物快速篩選檢測技術建立。行政院環境保護署環境檢驗所。
8. Behnisch, P. A., Hosoe, K., Sakai, S. 2001. Bioanalytical screening methods for dioxins and dioxin-like compounds — a review of bioassay/biomarker technology. *Environ. Internal.* 27 : 413-439.
9. Behnisch, P. A., Hosoe, K., Shiozaki, K., Ozaki, H., Nakamura, K. and Sakai, S. 2002. Low-temperature thermal decomposition of dioxin-like compounds in fly ash: combination of chemical analysis with in vitro bioassays (EROD and DR-CALUX). *Environ. Sci. Technol.* 36 : 5211-5217
10. Behnisch, P. A., Hosoe, K. and Sakai, S. 2003. Brominated dioxin-like compounds : in vitro assessment in comparison to classical dioxin-like compounds and other polyaromatic compounds. *Environ. Int.* 29 : 861-877.
11. BioDetection System b. v. (BDS). 2004. Training-handouts BDS' DR CALUX[®] bioassay. TACTRI. Wufeng Taichung, Taiwan., R. O. C.
12. Bovee, T. F. H., Hoogenboom, L. A. P., Hamers, A. R.M., Tragg, A. W., Zuidema, T., Arts, J. M. M. J. G., Brouwer, A. and Kuiper H. A. 1998. Validation and use of the CALUX-bioassay for the detection of dioxins and coplanar PCBs in bovine milk. *Food Add. Contam.* 15 : 863-875.
13. Commission Directive 2002/69/ EC of 26 July 2002. *Offic. J. Eur. Commun.* (6.8.2002) L 209/5.
14. Commission Directive 2002/70/ EC of 26 July 2002. *Offic. J. Eur. Commun.* (6.8.2002) L 209/15.
15. Commission Directive 2006/13/ EC of 3 February 2006. *Offic. J. Eur. Commun.* (4.2.2006) L 32/44.
16. Fochi, Igor., Brambilla, G., de Filippis, S. P., de Luca, S., Diletti, G., Filgenzi, A., Gallo, P., Iacovella, N., Scortichini, G., Serpe, L., Vinci, F. and di Domenico, A. 2008. Modeling of DR CALUX bioassay response to screen PCDDs, PCDFs, and dioxin-like PCBs in farm milk from dairy herds. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 50 : 366-375.

17. Gizzi, G., Hoogenboom, L. A. P., von Holst, C., Rose, M. and Anklam, E. 2006. Determination of dioxins (PCDDs/PCDFs) and PCBs in food and feed using the DR CALUX bioassay: Results of an international validation study. *Food Add. Contam.* 22 : 472–481.
18. Hamers, T., Schaardenburg, M. D. van., Felzel, E.C., Murk, A.J., Koeman, J.H. 2000. The application of reporter gene assays for the determination of the toxic potency of diffuse air pollution. *The Science of the Total Environ.* 262 : 159-174
19. Hasegawa, J., Guruge, K. S., Seike, N., Shirai, Y., Yamata, T., Nakamura, M., Handa, H., Yamanaka, N. and Miyazaki, S. 2007. Determination of PCDD/Fs and dioxin-like PCBs in fish oils for feed ingredients by congener-specific chemical analysis and CALUX bioassay. *Chemosphere* 69 : 1188-1194.
20. Hoogenboom, L., Goyens, L., Carbonnelle, S., van Loco, J., Beernaert, H., Baeyens, W., Traag, W., Bovee, T., Jacobs, G., Schoeters, G. 2006a. The CALUX bioassay: current status of its application to screening food and feed. *Trends Anal. Chem.* 25 : 410-420.
21. Hoogenboom, L. A. P., Kan, C. A., Zeilmaaker., M. J., Eijkereen, J. Van., Traag, W. A. 2006b. Carry-over of dioxins and PCBs from feed and soil to eggs at low contamination levels – influence of mycotoxin binders on the carry-over from feed to eggs. *Food Add. Contam.* 23 : 518-527.
22. Hoogenboom, L. A. P., van Eijkereen, J. C. H., Zeilmaaker, M. J., Mengelers, M. J. B., Herbes, R., Immerzeel, J. And Tragg, W. A. 2007. A novel source for dioxins present in recycled fat from gelatin production. *Chemosphere* 68 : 814-823.
23. Hoogenboom, R. 2002. The combined use of the CCALUX bioassay and the HRGC/HRMS method for the detection of the novel dioxin sourced and new dioxin-like compounds. *Environ Sci & Pollut Res.* 9 : 304-306.
24. Hoogenboom, R. 2005. Five year experience with applying the DR CALUX assay for routine monitoring of feed and food. Pp39-79. 2005. Symposium on Dioxin Bioassay. Bureau of Food and Drug Analysis, Department of Health, Executive Yuan, Taiwan.
25. Hoogenboom, R., Bovee, T., Portier, L., Bor, G., van der Weg, G., Onstenk, C. and Tragg, W. 2004. The German bakery waste incident; use of a cobined approach of screening and confirmation for dioxins in feed and food. *Talanta.* 63 : 1249-1253.
26. Hoogenboom, R., Bovee, Toine., Tragg, W., Hoogerbrugge, R., Baumann, B., Portier, L., van der Weg, G. and de Vries, J. 2006c. The use of the DR CALUX bioassay and indicator polychlorinated biphenyls for screening of elevated levels of dioxins and dioxin-like polychlorinated biphenyls in eel. *Mol Nutr. Food Res.* 50 : 945-957.
27. Schoeters, G., Goyvaerts, M. P., Ooms, D. and van Cleuvenbergen, R. 2004. The evaluation of dioxin and dioxin-like contaminants in selected food samples obtained from the Belgian market: comparison of TEQ measurements obtained through the CALUX bioassay with congener specific chemical analyses. *Chemosphere.* 54 : 1289-1297.
28. Soechitram, S. D., Chan, S. M. Nelson, E. A. S., Brouwer, A. and Sauer, P. J. J. 2003. Comparison of dioxin and PCB concentrations in human breast milk samples from Hong Kong and the Netherlands. *Food Add. Contam.* 20 : 65–69.

29. Tsutsumi, T., Amakura, Y., Nakamura, M., Brown, D. J., Clark, G. C., Sasaki, K., Toyoda, M. and Maitania, T. 2003. Validation of the CALUX bioassay for the screening of PCDD/Fs and dioxin-like PCBs in retail fish. *Analyst*. 128 : 486–492.
30. Van den Berg, M., Birnbaum, L., Bosveld, A.T., Brunstrom, B., Cook, P., Feeley, M., Giesy, J.P., Hanberg, A., Hasegawa, R., Kennedy, S.W., Kubiak, T., Larsen, J.C., van Leeuwen, R.F.X., Liem, A.K., Nolt, C., Peterson, R.E., Poellinger, L., Safe, S., Schrenk, D., Tillitt, D., Tysklind, M., Younes, M., Waern, F., Zacharewski, T. 1998. Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, and PCDFs for humans and wildlife. *Environ. Health Persp.* 106, 775–792.
31. Van den Berg, M., Birnbaum, L.S., Denison, M., De Vito, M., Farland, W., Feeley, M., Fiedler, H., Hakansson, H., Hanberg, A., Haws, L., Rose, M., Safe, S., Schrenk, D., Tohyama, C., Tritscher, A., Tuomisto, J., Tysklind, M., Walker, N., Peterson, R.E. 2006. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol. Sci.* 93, 223–241.
32. Van Karin, E., Li, A., Antunes-Fernandes, E., Mulder, P., Peijnenburg, A. and Hoogenboom, R. 2008. Bioassay directed identification of natural aryl hydrocarbon-receptor agonists in marmalade. *Analytica Chimica Acta*. 617 : 238-245.
33. WHO. 1999. Dioxins and their effects on human health.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs225/en/print.html>