

第4屆

環境荷爾蒙及持久性有機污染物

研討會論文集

The 4th Conference on
Environmental Hormones
and POPs



環境品質文教基金會
Environmental Quality Protection Foundation

第4屆
環境荷爾蒙及持久性有機污染物研討會論文集

九十五年六月九日

Hormones

Environment

- [時間] 民國95年6/9日(星期五)
[地點] 台灣大學集思會議中心蘇格拉底廳(台北市羅斯福路4段85號)
[主辦單位] 行政院環境保護署、環境品質文教基金會、嘉南藥理科技大學環境資源管理系
[協辦單位] 清華大學化學系綠色質譜實驗室、台大全球變遷研究中心

第四屆環境荷爾蒙及持久性有機 機污染物研討會

The 4th Conference on Environmental Hormones and POPs

論 文 集

時 間： 民國九十五年六月九日(星期五)

地 點： 台灣大學集思會議中心蘇格拉底廳

主 辦 單 位： 行政院環境保護署、環境品質文教基金會、嘉南藥理
科技大學環境資源管理系

協 辦 單 位： 清華大學化學系綠色質譜實驗室、台灣大學全球變遷
研究中心

致謝

本次研討會能順利舉辦，特別感謝以下單位的支持與贊助：

行政院衛生署、經濟部工業局、台灣電力股份有限公司、台灣肥料股份有限公司、台鹽實業股份有限公司、台灣杜邦公司。

第四屆環境荷爾蒙及持久性有機污染物研討會
The 4th Conference on Environmental Hormones and POPs

大會籌備委員會委員

姓名	單位	電話	電子信箱
洪楚璋教授	中研院化學所	02-2789-8582	tchung@chem.sinica.edu.tw
凌永健教授	清華大學化學系	03-5721-484	ycling@faculty.nthu.edu.tw
郭育良教授	成功大學環醫所	06-235-3535	leonguo@mail.ncku.edu.tw
翁祖輝教授	台灣大學毒理所	02-2397-0800	thueng@ha.mc.ntu.edu.tw
袁紹英副處長	環保署毒管處	02-2311-7722	syyuan@sun.epa.gov.tw
劉莉蓮教授	中山大學海洋生物所	07-525-2000	lilian@mail.nsysu.edu.tw
李宗霖教授	中山大學海洋環境所	07-525-2000	linnohc@mail.nsysu.edu.tw
葛應欽教授	高雄醫大醫藥研究所	07-311-4418	ycko@kmu.edu.tw
黃登福教授	海洋大學食品科學系	02-2462-2192	dfhwang@mail.ntou.edu.tw
陳美蓮所長	陽明大學環衛研究所	02-2826-7000	mlchen@ym.edu.tw
王正雄副所長	環保署環境檢驗所	03-491-5818	cswang@mail.niea.gov.tw
蕭東銘處長	衛生署食品衛生處	02-2321-0151	fstung@doh.gov.tw
陳健民教授	嘉南藥理科大環資系	06-266-0311	jimchen@mail.chna.edu.tw
劉銘龍博士	環境品質文教基金會	02-2733-4773	a4773@ms12.hinet.net

大會工作籌備單位

單位	聯絡人	聯絡電話	電子信箱
財團法人環境品質文教基金會	劉銘龍 董事長	02-2733-4773	a4773@ms12.hinet.net
嘉南藥理科技大學 環境資源管理系	陳健民 教授	06-266-0311	jimchen@mail.chna.edu.tw

第四屆環境荷爾蒙及持久性有機污染物研討會

The 4th Conference on Environmental Hormones and POPs

時間：民國 95 年 6 月 9 日(星期五)

地點：台灣大學集思會議中心蘇格拉底廳（台北市羅斯福路 4 段 85 號）

時間	講題	主講人
08:30-08:50	報到	
08:50-09:00	貴賓開幕致詞(蘇格拉底廳)	
主題演講	主持人：陳健民教授(嘉南藥理科技大學環境資源管理系)	
09:00-09:50	環境荷爾蒙及持久性有機污染物(POPs)之全球與區域管理現況	Chris Mobbs (Department of the Environment and Heritage, Australia)
09:50-10:10	茶敘/論文海報展示	
10:10-10:50	國內持久性有機污染物 (POPs) 管制現況	袁副處長紹英(行政院環保署)
10:50-11:30	環境污染與食品安全	蕭處長東銘(行政院衛生署)
11:30-12:10	戴奧辛在台灣	凌教授永健(清華大學化學系)
12:10-13:10	午餐/論文海報展示	
	蘇格拉底廳	尼采廳
主題演講	主持人：凌永健教授(清華大學化學系)	
13:10-13:40	1979 年台灣油症事件回顧 郭教授育良(成功大學環醫所)	五氯酚污染廠址與都市廢棄物焚化爐附近居民血液中戴奧辛濃度分布及健康風險評估 李教授俊璋(成功大學環醫所)
13:40-14:10	持久性有機污染物質的流行病學探討 王研究員淑麗(國衛院環職組)	臺鹼安順廠的過去與未來 黃副教授煥彰(中華醫事學院護理系)
14:10-14:40	二仁溪河口魚體體內多氯聯苯暴露途徑之研究 傅助理教授崇德(萬能科技大學環工系)	以活性碳吸附及觸媒轉化技術控制廢棄物焚化廠煙道氣中戴奧辛之效能評析 張教授木彬(中央大學環工所)
14:40-15:00	台灣西南海域多環芳香烴及氯化有機物之濃度及可能來源 李教授宗霖(中山大學海洋環境所)	北台灣水庫底泥中戴奧辛類污染物之垂直分佈特性及歷史變動趨勢 紀凱獻博士研究員(中央研究院環境變遷中心)
15:00-15:20	茶敘/論文海報展示	
15:20-15:50	環境荷爾蒙：台灣有機錫研究之回顧 洪楚璋(中研院化研所) 劉莉蓮(中山大學海生所)	臺灣環境中壬基酚之檢測與流布調查 丁教授望賢(中央大學化學系)
15:50-16:20	戴奧辛類化合物對雌性素代謝之影響 林副研究員嬪嬪(國衛院環職組)	綜觀壬基苯酚之暴露、健康效應及管理 陳教授美蓮(陽明大學環衛所)
論文發表	主持人：李宗霖教授(中山大學海洋環境所)	
16:20-16:35	多氯聯苯暴露對類固醇荷爾蒙合成的影響 李立安(國衛院環職組)	生物復育土壤縮模中辛基苯酚之生物分解與菌相研究 陳副教授錫金(美和技術學院生物科技系)
16:35-16:50	中部地區母乳中有機氯農藥之暴露以及對其子代甲狀腺荷爾蒙與發展之影響 趙助理教授浩然(屏東科技大學環工系)	污泥中壬基酚對土壤生態的影響 許副教授正一(屏東科技大學環工系)
16:50-17:05	市售化學農藥培丹與百滅寧在土壤環境中分解代謝及毒性研究 曹助理教授俊文(崑山科技大學環工系)	河口地區多環芳香烴與膠體性有機物結合係數之研究 謝冰潔(中山大學海洋環境及工程學系/博士生)
17:05-17:20	環境荷爾蒙-鄰苯二甲酸二丁酯對高等植物生理之影響 廖健森(台灣大學農化系/博士生)	工作及居家環境中多溴聯苯醚濃度分佈與曝露量評估 賴萬豪(清華大學化學所)
17:20-17:40	綜合討論及閉幕(蘇格拉底廳)	

第四屆環境荷爾蒙及持久性有機污染物研討會

論文集目錄

主題演講

A1 環境荷爾蒙及持久性有機污染物(POPs)之全球與區域管理現況 <i>Chris Mobbs</i>	1
A2 國內持久性有機污染物 (POPs) 管制現況 <i>袁紹英</i>	39
A3 環境污染與食品安全 <i>蕭東銘</i>	49
A4 戴奧辛在台灣 <i>凌永健</i>	55

蘇格拉底廳

B1 1979 年台灣油症事件回顧 <i>郭育良</i>	61
B2 持久性有機污染物質的流行病學探討 <i>王淑麗</i>	73
B3 二仁溪河口魚體體內多氯聯苯暴露途徑之研究 <i>傅崇德、吳先琪</i>	77
B4 台灣西南海域多環芳香烴及氯化有機物之濃度及可能來源 <i>Chon-Lin Lee(李宗霖), Meng-Der Fang, Fung-Chi Ko</i>	87
B5 環境荷爾蒙：台灣有機錫研究之回顧 <i>劉莉蓮、孟培傑、洪楚璋</i>	96
B6 戴奧辛類化合物對雌性素代謝之影響 <i>林嬪嬪</i>	106

尼采廳

C1 五氯酚污染廠址與都市廢棄物焚化爐附近居民血液中戴奧辛濃度分布及健康 風險評估 <i>李俊璋、蘇慧貞、廖寶琦、陳秀玲</i>	110
C2 臺鹼安順廠的過去與未來 <i>黃煥彰</i>	122
C3 以活性碳吸附及觸媒轉化技術控制廢棄物焚化廠煙道氣中戴奧辛之效能評析 <i>張木彬、張書豪、紀凱獻</i>	127
C4 北台灣水庫底泥中戴奧辛類污染物之垂直分佈特性及歷史變動趨勢 <i>Kai Hsien Chi (紀凱獻), Moo Been Chang, Shuh Ji Kao</i>	136
C5 臺灣環境中壬基酚之檢測與流布調查 <i>丁望賢</i>	144
C6 綜觀壬基苯酚之暴露、健康效應及管理 <i>陳美蓮</i>	146

論文發表

蘇格拉底廳

D1 多氯聯苯暴露對類固醇荷爾蒙合成的影響 <i>李立安</i>	151
D2 中部地區母乳中有機氯農藥之暴露以及對其子代甲狀腺荷爾蒙與發展之影響 <i>趙浩然、陳建行、王淑麗</i>	162
D3 市售化學農藥培丹與百滅寧在土壤環境中分解代謝及毒性研究 <i>曹俊文、郭孟臻</i>	166
D4 環境荷爾蒙-鄰苯二甲酸二丁酯對高等植物生理之影響 <i>廖健森、顏瑞泓、王一雄</i>	179

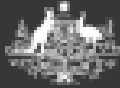
尼采廳

E1 生物復育土壤縮模中辛基苯酚之生物分解與菌相研究 陳錫金、宋秉育、郭家倫、曾迪華、黃雪莉.....	184
E2 污泥中壬基酚對土壤生態的影響 許正一、高博緒.....	195
E3 河口地區多環芳香烴與膠體性有機物結合係數之研究 謝冰潔、林俊宏、李宗霖.....	208
E4 工作及居家環境中多溴聯苯醚濃度分佈與曝露量評估 賴萬豪、凌永健.....	213

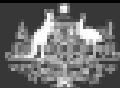
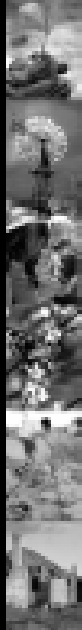
壁報張貼

F1 零價奈米鐵對有機氯化物脫氯反應之反應機制研究 高自宏、李茂田.....	218
F2 作物地下可食用根部對土壤中鎘之累積吸收 程淑芬、黃金源、蕭力升.....	230
F3 鄰苯二甲酸酯類化合物與其衍生物對離子管道受器之影響 陳姿吟、孫士閔、陳依吟、劉佩珊.....	235
F4 以果蠅Glutathione-S- transferase D gene family mRNA的即時定量，作為環境毒 化物-苯胺之生物暴露指標的評估 詹文喬、簡一治、簡正一.....	240
F5 Hexachlorobenaene 在泰國運河底泥水中之脫氯作用 黃淑郁、王炯強、徐紹文、林育冬、錢紀銘、陳意銘.....	244
F6 台灣河川底泥中六氯苯還原性脫氯作用之研究 黃皇文、郭馨文、黃漢哲、錢紀銘、陳意銘.....	255
F7 Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in fish samples from rivers and estuaries in Taiwan Jui-Hwa Peng, Ying-Ming Weng.....	263
F8 對二氯苯干擾細胞鈣離子恆定及細胞凋亡 林佳信、劉佩珊.....	269
F9 壬基酚在淡水紅樹林底泥生物降解特性之探討 劉建良、張碧芬、鄭智元、丁望賢.....	275
F10 多環芳香族碳氫化合物在淡水紅樹林底泥之生物降解特性探討 張義德、張碧芬、袁紹英.....	280
F11 高屏溪水體芳香烴化合物分佈特性之探討 謝季吟、洪甄嬪、高華聲... 284	
F12 貝氏蒙特卡羅分析應用於河川壬基酚生態風險評估 陳庭堅、許美芳、葉一隆、邱紹奇.....	296

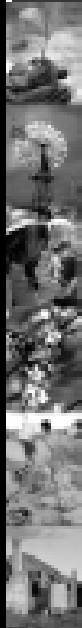
主題演講

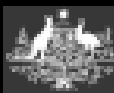


Management of Persistent Organic Pollutants in Australia



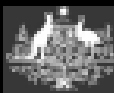
Chris Mobbs
Assistant Director
Chemical Policy Section –
Australian Government Department of
the Environment and Heritage





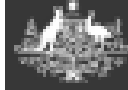
Topics to be covered

- Part 1 - Introduction – system of government and management of chemicals in Australia
- Part 2 - National Strategy for the Management of Scheduled Wastes
- Part 3 - Hexachlobenzene waste
- Part 4 - Polychlorinated biphenyls
- Part 5 - Organochlorine pesticides
- Part 6 - ChemCollect Programme
- Part 7 - National Dioxins Programme
- Part 8 - Stockholm Convention
- Part 9 - Lessons learnt



Department of the Environment and Heritage

- Australian Government's lead agency for the environment
- Develops and implements national policy, programs and legislation to protect and conserve Australia's natural environment and cultural heritage

 Australia Government
Department of the Environment and Heritage

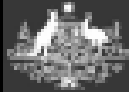
Key functions of DEH include

- Ecologically Sustainable Environment Protection and Biodiversity Conversation Act 1999
- Environmental Education
- Environmental Resources Information Unit
- Great Barrier Reef
- Greenhouse issues
- Indigenous Communities and the environment
- International Activities and Commitments
- National Action Plan for Salinity and Water Quality
- National Pollutant Inventory
- Natural Heritage Trust
- Natural Resource Management
- Oceans Policy
- Parks and Reserves
- State of the Environment reporting
- Supervising Scientist

 Australia Government
Department of the Environment and Heritage

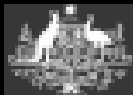
Government in Australia

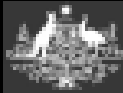
- **Australian Constitution (1901) created a federal system of government**
- **Power is divided between the Commonwealth Government and the six state governments and two Territories**
- **Local governments are established by state and territory governments to take responsibility for community services**



Australia...

- Population of 20 million
- 67% live in major cities
- 85% live within 50 kilometres of the coastline of Australia
- Sydney is largest city (4 million)
- Canberra (325,000)
- Total land area approx 7,600,000 sq km





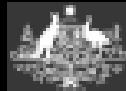
Management of chemicals

- Shared between the Australian Government and states and territories
- Spans several Australian Government departments:
 - Health – human health impacts, industrial chemicals, therapeutic goods, food additives
 - Agriculture – agricultural and veterinary chemicals
 - workplace relations – occupational health and safety
 - planning and transport – transport of dangerous goods
 - environment – environmental impact
- States and Territories have similar departments



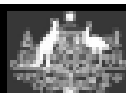
Management of chemicals cont'd

- Responsibilities are generally aligned with stages in the lifecycle of chemicals
- Australian Government assesses and registers chemicals including conditions up to point of sale
- Several Australian Government agencies are responsible for registration and approval of chemicals:
 - APVMA – Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority
 - NICNAS - National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme
 - Food Additives – Food Standards Australia New Zealand
 - Medicines - Therapeutic Goods Administration
 -



Management of chemicals cont'd

- Department of the Environment and Heritage:
 - assesses environmental affects of new and existing chemicals for the APVMA and NICNAS
 - national focal point for chemical and waste conventions:
 - Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants
 - Rotterdam Convention on Prior Informed Consent
 - Basel Convention

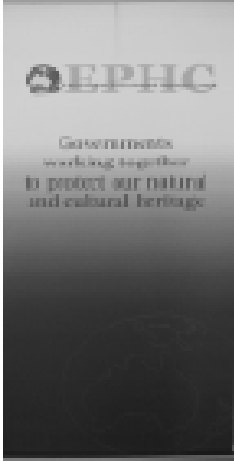


States and Territories

- Each State and Territory has an environment protection agency
- States and Territories have responsibility for
 - Management of land, water and air
 - License industries and facilities
 - Waste management
 - Day to day use of chemicals beyond the point of sale
 - may include enforcing recommendations made at the assessment stage
 - Regulate the storage, handling and disposal of chemicals and chemical wastes
- Commonwealth becomes involved if proposal will affect matters of national significance

Australian Government
Department of the Environment and Heritage

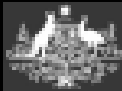
- Australian Government, States and Territories work together under a ministerial council:
 - Environment Protection and Heritage Council
- Priority is to develop nationally consistent approach to addressing environmental matters



Australian Government
Department of the Environment and Heritage

Australian Government websites

- DEH www.deh.gov.au
 - NATIONAL CHEMICALS INFORMATION GATEWAY
www.deh.gov.au/chemicals-gateway
 - National Chemicals Reference Guide
http://hermes.erin.gov.au/pts/crg_public/!CRG_OWNER.CRGPPUBLIC.pStart
- APVMA <http://www.apvma.gov.au/>
- NICNAS <http://www.nicnas.gov.au/>
- FSANZ <http://www.foodstandards.gov.au/>
- TGA <http://www.tga.gov.au/>
- Australian Government Environment Portal
 - <http://www.environment.gov.au/index.html>
- Environment Protection and Heritage Council
 - www.ephc.gov.au



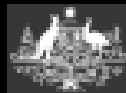
State and Territory EPAs websites

- Australian Capital Territory <http://www.environment.act.gov.au>
- New South Wales <http://www.epa.nsw.gov.au/>
- Northern Territory <http://www.nreta.nt.gov.au/>
- Queensland www.epa.qld.gov.au
- South Australia <http://www.epa.sa.gov.au/>
- Tasmania <http://www.dpiwe.tas.gov.au/>
- Victoria <http://www.epa.vic.gov.au/>
- Western Australia <http://www.environment.wa.gov.au>



Australian Government

Thank you

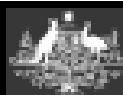


National Dioxins Programme



Four year Programme

- Aims of National Dioxins Programme
 - determine background levels of dioxins in environment and general population
 - assess the impact of dioxins on human health and the environment
 - determine appropriate measures, to reduce and where feasible, eliminate releases of dioxins
- \$5 million over four years
 - \$2.5 million for information studies and risk assessment

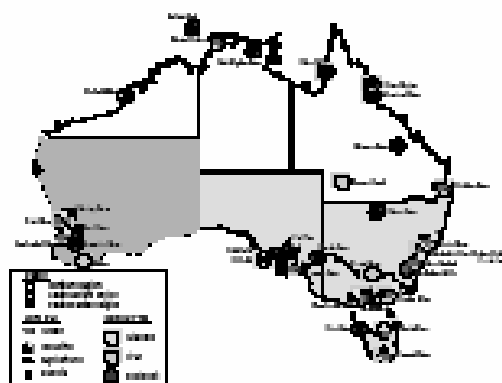


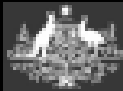
Information studies

- Invited tenders from qualified experts
- Indicated scope of the work and an indicative budget for each study
- Identified priority regions and three broad land uses:
 - urban/industrial areas
 - agricultural areas
 - remote areas



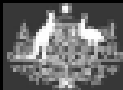
Priority regions





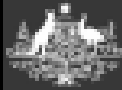
Information studies

- Emission sources
 - bushfires
 - motor vehicles
 - revised dioxins emissions inventory (based on UNEP Toolkit)
- Ambient environmental levels
 - air
 - soil
 - aquatic environment
 - fauna



Information studies cont'd

- Food levels
 - national diet survey
 - agricultural commodities
- Human body burden
 - blood serum
 - breast milk
- Ecological risk assessment
- Human health risk assessment



Limitations of studies

- Dioxins analysis very expensive (AUS\$1,800)
- Budget allowed for only small number of samples
- Care must be taken in interpreting the findings
- Despite limitations, these studies are most extensive ever undertaken in Australia



Emission sources

- Total emissions to air, land and water between 160–1,800 grams TEQ /year
- Around 20-30% from bushfires
- Other major emission sources:
 - Metal processing, power generation, production of chemicals, landfill and waste incineration 25%
 - Household heating 4%
 - Motor vehicles around 2%

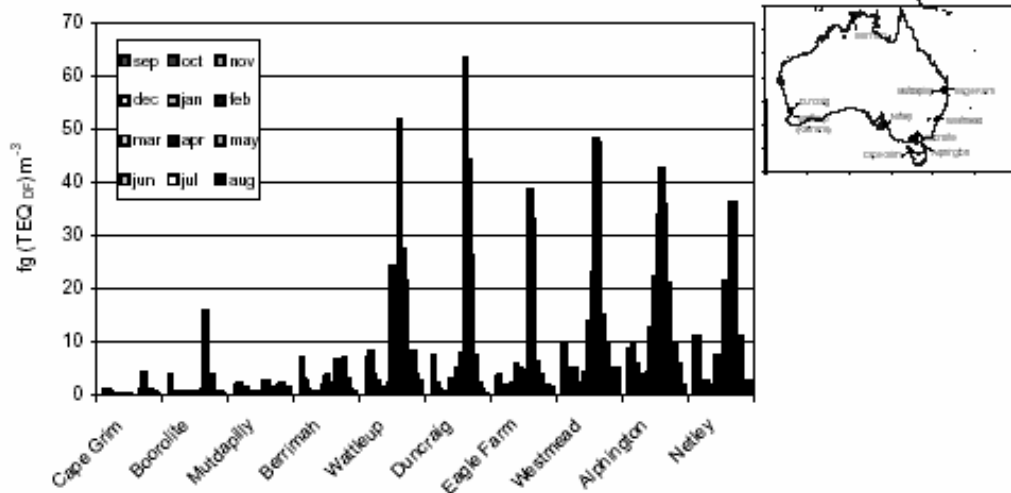


Emissions sources (top 12)

Source Category	Annual Estimated Release (g TEQ/annum)			
	Air	Water	Land	Total*
Biomass burning	240	0	1,020	1,270
Pulp and paper production	0.4	0.4	110	110
Waste burning and accidental fires	88	0	8.7	97
Zinc production	50	0	0	50
Fossil fuel power plants	14.3	0	27.7	42.0
Aluminium production	4.45	0	31.80	36.26
Sewage and sewage treatment	0	0.9	33	34
Metal ore sintering	32	0	0	32
Medical waste incineration	6.39	0.36	21.9	28.7
Household heating and cooking with biomass	20.2	0	1.6	21.8
Iron and steel production plants	20.3	0	0.03	20.3
Copper production	1	0	13	14
Other sources	1	0		58
Total	500	3.42	1,300	1,800



Ambient air

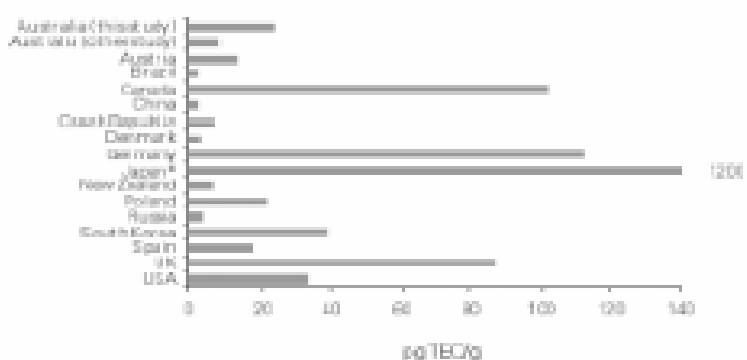




Soils

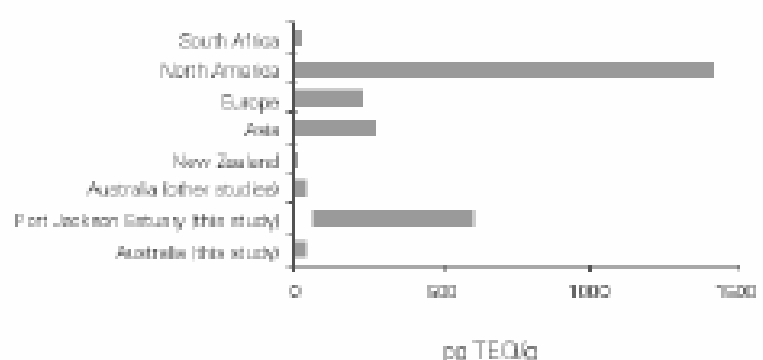
Dioxin levels in industrial and urban soils in Australia compared with other countries

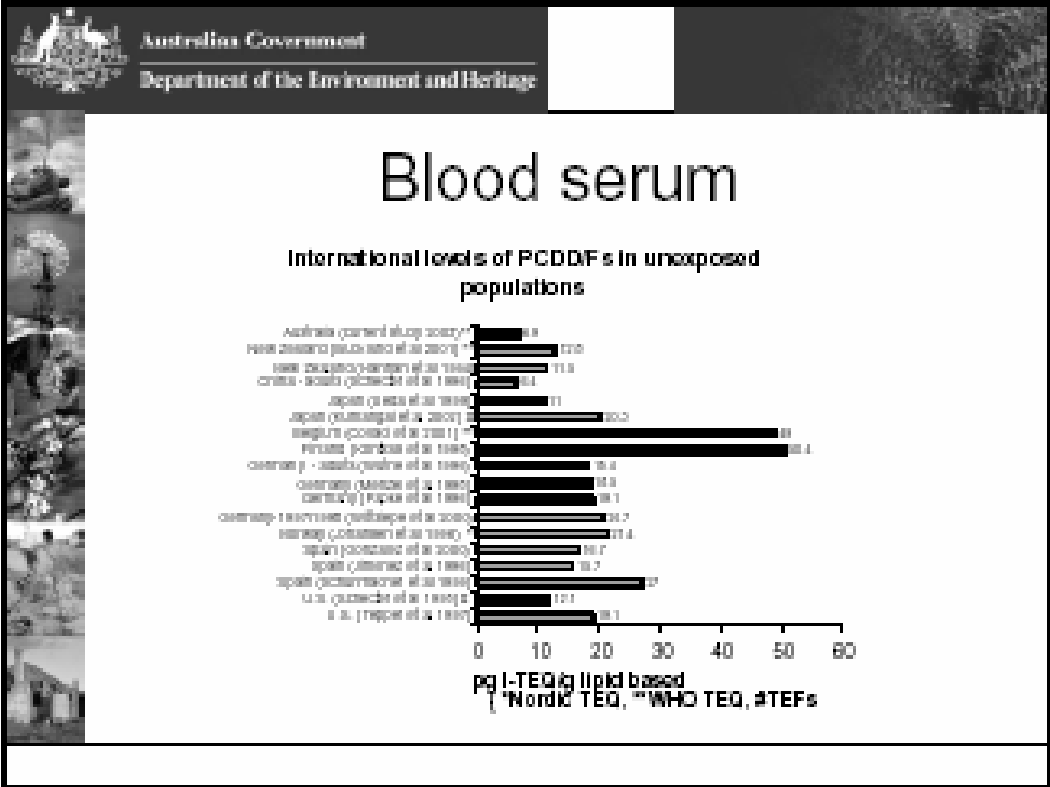
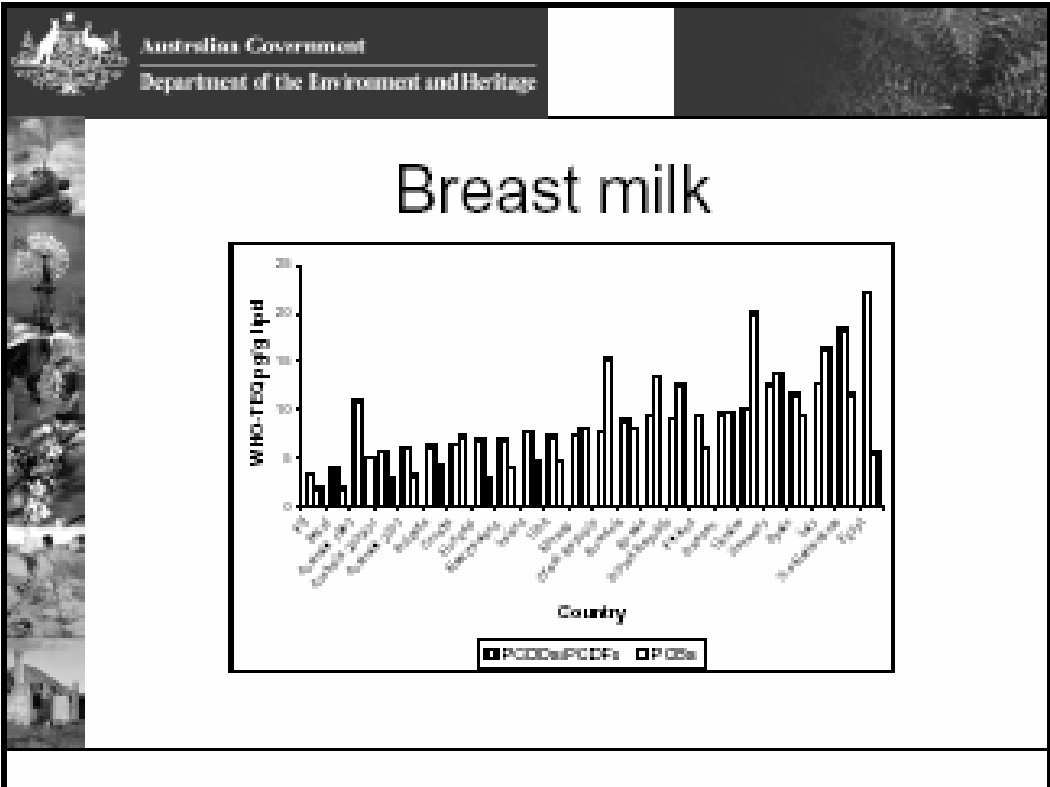
* Figure for Japan is 1200 pg TEQ/g

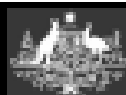


Aquatic environments

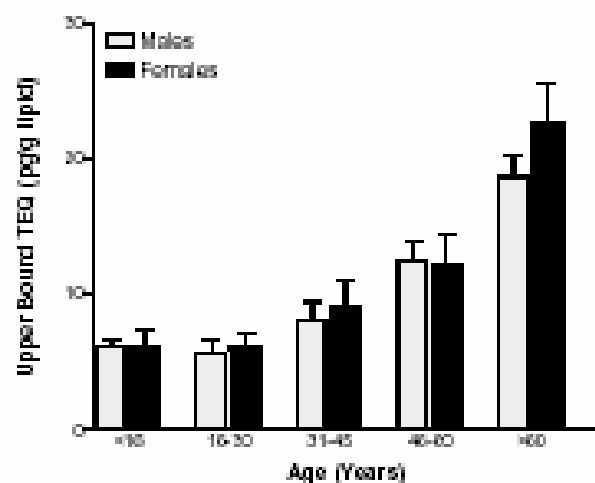
Dioxin levels in sediments in Australia compared with other countries





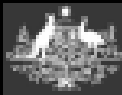


Blood serum



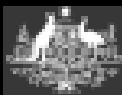
Food

- FSANZ examined 168 samples of 22 foods
- Targeted foods with high fat content:
 - bacon milk
 - eggs butter
 - fish lamb
- Levels well below 1.0 pg/gram



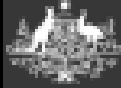
Monthly Intake

- Monthly intake determined from levels in food and dietary information from National Nutrition Survey
- Monthly intake between 3.9–15.8 pg TEQ/kg body weight/month
- 6–23% of the Australian Tolerable Monthly Intake of 70 picogram TEQ/kg bw/month



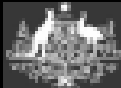
What is the risk to our health?

- Risk to the health of Australians is low
- 95% of intake through food
- Dietary intake of dioxins for the Australian population is lower than most other countries
- <5% intake through the skin, ingestion from soil and from air
- Cigarette smokers are likely to have higher intakes of dioxins than non-smokers



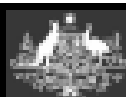
In summary...

- Overall, studies show background levels are low compared with other countries
- Levels higher in urban and industrial environments
- Lower in agricultural and remote areas
- Body burdens are low



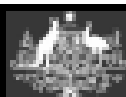
Why are levels generally low?

- Low level of industrial activity in Australia
- Higher levels in urban areas due to emissions from industrial facilities, motor vehicles and domestic wood heaters
- Highest levels in urban areas were associated with former industrial sites



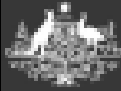
Past actions

- Actions over the past decade to address other chemicals have most likely also led to reduced emissions of dioxins including:
 - implementation of clean air regulations
 - industry in monitoring and reducing emissions
 - banning of backyard rubbish burning
 - replace older, polluting wood-heaters
 - phasing-out the use of leaded petrol
 - rejecting high temperature waste incinerator
 - banning use of chemicals known to be sources of dioxins including pentachlorophenol and 2,4,5-T



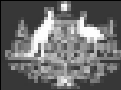
Governments' response to the findings

- 2005 - Environment Protection and Heritage Council endorsed the:
 - National Action Plan for Addressing dioxins in Australia
- Plan recognises that many existing measures have led to generally low dioxins levels



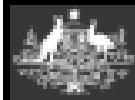
Measures include...

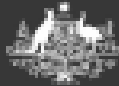
- Continuing with measures already in place
- Adopting or reaffirming 0.1 ng TEQ/m³ as a guideline emission level for new combustion facilities
- Adopting the Stockholm BAT/BEP guidelines
- Remediation contaminated sites
- Continuing with existing programs that discourage cigarette smoking and promote lower saturated fat intake



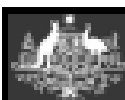
Further Information

- National Dioxins Programme:
 - <http://www.deh.gov.au/settlements/chemicals/dioxins/index.html>
- “Dioxins: Recommendation for a Tolerable Monthly Intake for Australians”, National Health and Medical Research Council and the Therapeutic Goods Administration at:
<http://www.nhmrc.gov.au>



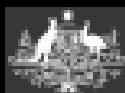


Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants



Development of Stockholm

- Entered into force on 17 May 2004
- Australia signed the Convention in 2001
- Australia ratified on 20 May 2004
- Entered into force for Australia on 18 August 2004
- Department of the Environment and Heritage is the lead agency
- Works closely with other departments:
 - Health, Agriculture Departments
 - Foreign Affairs, Industry, AUSAID
 - State EPAs



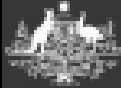
Article 3 - intentionally produced POPs

- Article 3 – parties must eliminate production, use, import and export of intentionally produced POPs i.e those on Annex A and B
- The annexes provide some exemptions on some of these obligations
 - banned - endrin and toxaphene
 - limited use - aldrin, chlordane, dieldrin, heptachlor, HCB, PCB, mirex
 - limited production and use for vector control - DDT



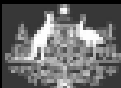
Article 4 - Register of Exemptions

- Article 4 - parties can register for continued use of some listed chemicals
- Australia has registered an exemption for Mirex as termiticide
- Exemption remains for up to 5 years
- Registration to use Mirex will cease in December 2006
- Australia would then withdraw its exemption



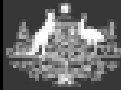
Article 5 - by-product POPs

- Take measures to minimise, and where feasible, eliminate releases of dioxins, furans, PCBs and HCB
- Promote application of available, feasible and practical measures to reduce releases
- Promote use of alternate materials, products or processes
- Promote BAT and BEP



National Action Plan

- Parties have to prepare National Action Plan for by-product POPs
- National Action Plan for Addressing Dioxins in Australia outlines how we will address dioxins



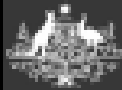
Article 6 - Wastes and Stockpiles

- Article 6 requires parties to manage and destroy wastes and stockpiles containing chemicals on Annex A, B and C
- Australia well advanced through work under the National Strategy for the Management of Scheduled Wastes
- Plans for OCPs, PCBs and HCB



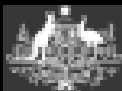
Wastes and Stockpiles cont'd

- Parties are to develop strategies to identify sites contaminated by POPs
- Remediation to be undertaken in an environmentally sound manner
- Remediation already underway
 - Sydney 2000 Olympics site was remediated in the 1990s
 - Work will start soon on Rhodes Peninsula, Sydney



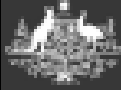
Article 7- National Implementation Plan

- Article 7 requires parties to develop a National Implementation Plan (NIP)
- Transmit to COP within two years of Convention coming into force
- We released draft NIP in September 2005 for a six-week public comment period
- Finalising NIP in next month



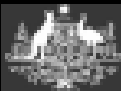
Topics covered by NIP

- Australia has made significant progress in reducing POPs
- Our NIP sets out the actions related to each relevant article that Australia:
 - has undertaken to date in reducing the presence of POPs and
 - proposes to undertake in the future to meet obligations under the Convention



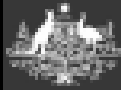
Article 12 – technical assistance

- Parties shall provide assistance to developing countries and countries with economies in transition
- The Australian Government overseas aid agency (AUSAID) has funded a project to remove toxic chemicals from Pacific Island countries



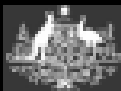
POPs in Pacific Island Countries

- Scheduled waste management plans allow for the import of POPs wastes from small island countries in our neighbourhood
- These countries do not have the facilities to store wastes or destroy wastes
- DEH has worked closely with AUSAID



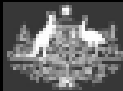
POPs in Pacific Island Countries

- \$4 million over three years
- 13 countries participating
- Private contractor engaged to survey, collect, sort and transport chemicals to Australia
- Have collected and imported to date:
 - 37.7 tonnes of pesticides
 - 27 tonnes solid PCBs
 - 3,000 litres PCB contaminates oil



Australia's treaty making process

- Australian Government has a domestic treaty-making process for considering treaties and amendments to existing treaties
- Prior to signing and ratifying the Convention, DEH prepared:
 - National Interest Analysis (NIA)
 - Regulatory Impact Statement (RIS)



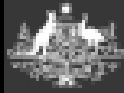
Parliamentary scrutiny

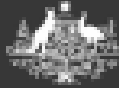
- NIA and RIS tabled in both Houses of Parliament for 14 days
- Joint Standing Committee on Treaties considers the NIA and RIS
 - Has public hearings
 - Make recommendations to Parliament
- Committee supported Australia signing and ratifying Stockholm Convention



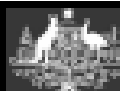
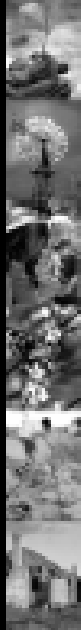
Further Information

- Draft National Implementation Plan
 - <http://www.deh.gov.au/settlements/chemicals/international/stockholm.html>
- Joint Standing Committee on Treaties
 - <http://www.aph.gov.au/house/committee/jsc/>



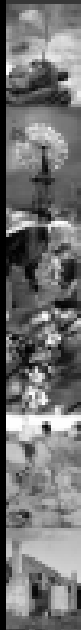


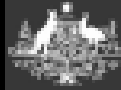
Managing POPs in Australia... Lessons learnt



Key features for success

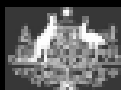
- Identify your stakeholders
- Develop a communication strategy
- Undertake consultation
- Provide clear information
- Allow for adequate time
- Evaluate and review





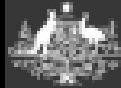
Identify your stakeholders

- Management of POPs involves wide range of stakeholders
- Many groups have been involved in all the Australian POPs programs
- Some only interested in a small component relevant to own specific needs
- The following four slides show the diversity of stakeholders:
 - government, industry, primary producers, environment and health groups



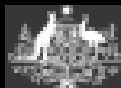
Government organisations

- Ministers
- Australian Government departments
 - Environment
 - Agriculture
 - Health
 - Foreign Affairs and Trade
 - Industry
 - Attorney-Generals
- State Territory Governments
- Local Governments



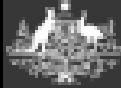
Industry bodies

- Plastics and Chemicals Industry Association
- Agvet chemicals manufacturers
- Electricity Supply Association
- Minerals Council of Australia
- Waste Management Association of Australia
- Australian Industry Group
- Cement Industry Federation
- Land remediation association



Primary producers

- National Farmers Federation
- Tuna Farmers
- Cattle Council
- Pork Council
- Chicken industry
- Dairy farmers



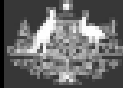
Environment and health

- Greenpeace
- National Toxics Network (IPEN)
- Australian Conservation Foundation
- Environmental Defenders Office
- Public Health Association
- Trade Unions



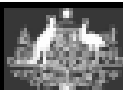
Research institutions

- National Measurement Institute (Government Analytical Laboratory)
- CSIRO - Commonwealth Scientific Industrial Research Organisation
- Universities
- Caution... these organisations may need to compete for research grants or contracts



Communication Strategy

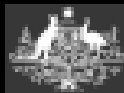
- Develop a communication participation strategy early
- Engage media or communication experts to prepare strategy
- Seek input from key stakeholders on advisory committee in developing strategy



Provide clear information

- Provide scientific information in plain language
- The Dioxin Community Summary contained summary of 13 scientific studies





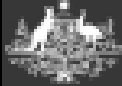
Undertake consultation

- Various methods for consultation
- Consult with key stakeholders by establishing advisory or consultative committees
- May want to have one for government officials and one for non-government:
 - National Dioxins Programme had two groups
 - National Dioxins Project Team (officials)
 - National Dioxins Consultative Forum (non-government)
- Broader community consultation
 - advertising through the media
 - Internet
 - mailing lists, e-bulletins, free phone call
 - public workshops, meetings – get your key stakeholders to talk as well as the government officials



Allow for adequate time

- Set a realistic timeframe for getting the work done
- Three and a half years were taken to develop the three scheduled waste management plans from planning stages through to endorsement by Ministers
- Dioxins Program was four years
- Development of the Stockholm Implementation Plan has taken two years



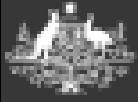
Evaluate and review

- PCB management plan requires a review on progress every five years – reviewed in 2001 and then 2005
- Stockholm Implementation Plan will be reviewed and amended to reflect decisions of the COPs



Further Information

- Dioxins Community Summary
 - <http://www.deh.gov.au/settlements/publications/chemicals/dioxins/community-summary/index.html>
- A case study of problem solving through effective community consultation
 - <http://www.deh.gov.au/settlements/publications/chemicals/scheduled-waste/community-consultation.html>



國內持久性有機污染物 (POPs) 管制現況

袁紹英

行政院環境保護署環境衛生及毒物管理處 副處長

摘要

持久性有機污染物 (Persistent Organic Pollutants, POPs) 因具有慢性毒性及生物累積性，在環境中難以分解，可藉由不同環境介質跨國境轉移，引起世界各國的重視。由聯合國主導的斯德哥爾摩公約於 2004 年 5 月 17 日生效，目前聯合國對持久性有機污染物管制的 12 種污染物 (Dirty Twelve)，國內已嚴格管制或禁用，其中滅蟻樂 (Mirex) 係由農藥管理法管理，尚未核准登記使用；滴滴涕 (DDT) 等 8 種有機氯農藥及多氯聯苯共 9 種化學物質，亦已於 1988 至 2001 年間分別依「毒性化學物質管理法」公告列管為毒性化學物質，全面禁用。至於呋喃 (Furans) 及戴奧辛 (Dioxins) 主要來自工業製程燃燒的副產物，在既有相關的污染防治法規下，我國自 1997 年起已加強管制其固定污染源排放，未來擬依該公約所發展的標準工具 (Standardized Toolkit) 及參考建議之排放因子，估算各主要產源的釋出量以掌握我國整體排放量，並研擬具體減量目標及行動計畫。

我國今後除強化及檢討持久性有機污染物之管制機制，降低其危害風險外，仍將持續進行全國環境流布調查，蒐集相關資訊，強化風險管理及溝通，審慎評估新增列管物質之國內管制工作外，同時亦將因應國際發展趨勢，與國際同步禁用及管制公約已列管或新增列管的持久性有機污染物的生產及使用。

一、前言

根據國際化學品安全論壇 (Intergovernmental Forum on Chemical Safety, IFCS) 的建議，1997 年聯合國環境規劃署 (UNEP) 理事會決議 (第 19/13 C 號) 開展國際行動，通過採取有效措施，減少並消除最初確定的 12 種持久性有機污染物的釋放與排放，以保護人類的健康和生活環境。為此聯合國成立了政府間談判委員會，負責制定一套有約束力的國際法律文件，以便對上述持久性有機污染物採取國際行動。2001 年該法律文件於斯德哥爾摩會議通過，並簽署斯德哥爾摩公約 (Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants)。該公約未來列管項目將不限於上述 12 種持久性有機污染物，審查委員會 (POPRC) 將依據最新科學證據考量新增管制清單項目。

我國毒性化學物質管理法 (以下簡稱毒管法) 於 1986 年公布，其管理範疇共分為四類毒性化學物質，即包括在環境中不易分解或具有生物累積性、會造成腫瘤等慢性疾病、急毒性或疑似危害人體健康等物質。行政院環保署依毒管法已公告 255 種毒化物，各級環保機關並依法進行運作管理。有鑑於毒化物影響深遠，環保署已將國際上持久性有機污染物之發展趨勢，納入毒化物管制策略之重要參考，以期妥善做好源頭管制工作，降低污染危害風險。

二、國際管理現況

斯德哥爾摩公約於 2001 年 5 月 22 日共獲 92 個國家簽署，成為聯合國下的一個公約。法國於 2004 年 2 月 17 日獲得批准成為第 50 個締約國，依該公約第 26 條「本公

約應自第 50 份批准接受、核准或加入文書交存之日後第 90 天起生效」，故聯合國秘書長安南於 2004 年 2 月 17 日宣布，該公約於 2004 年 5 月 17 日正式生效實施。

持久性有機污染物具慢性毒性及生物累積性，難以分解並具有蚱蜢效應 (Grasshopper Effect)，能經由不斷蒸發 (evaporation) 及沈降 (deposit) 過程，在大氣至遠離污染源排放地區間傳遞，可藉由空氣、水和遷徙物種作跨越國際邊界的轉移，遠在北極、南極地區的生物棲息地均難倖免。這些物質對野生動物會造成畸胎、腫瘤、免疫力降低、生殖障礙等毒害，人體長期暴露於高濃度的持久性有機污染物，疑似會增加畸形兒的比例、不孕、智能減退、致癌等機會，並會降低免疫功能使其較易受感染。持久性有機污染物亦會累積在人體組織內，再經由母體臍帶或受乳時之傳輸進入胎兒，對發育中的胎兒產生影響。表 1 為 12 種斯德哥爾摩公約列管之化學物質，表 2 為該公約列管物質之分類及管理策略。表 2 之附件 A 物質為禁止製造及使用；附件 B 物質為限制製造及使用，在瘧疾地區可有限度使用；附件 A 及 B 物質均受進出口管制。

2005 年 5 月 2 日至 6 日於烏拉圭埃斯特角城的康拉德舉行第一次締約國大會，我國非「斯德哥爾摩公約」締約方，以非政府組織 (NGO) 的方式派員參加，積極掌握國際動態。聯合國環境規劃署建議增列 16 類持久性有毒物質 (Persistent Toxic Substances, PTS) 如表 3，併同 12 種持久性有機污染物納入「持久性有毒物質區域性評估計畫」。

表 1 斯德哥爾摩公約列管之 12 種化學物質

編號	中文名稱	英文名稱	CAS No.	疑似環境荷爾蒙
1	多氯聯苯	Polychlorinated biphenyl (PCBs)	1336-36-3	✓
2	可氯丹	Chlordane	57-74-9	✓
3	地特靈	Dieldrin	60-57-1	✓
4	滴滴涕	4,4-Dichlorodiphenyl-trichloroethane(DDT)	50-29-3	✓
5	毒殺芬	Toxaphene (Campechlor)	8001-35-2	✓
6	安特靈	Endrin	72-20-8	✓
7	飛佈達	Heptachlor	76-44-8	✓
8	阿特靈	Aldrin	309-00-2	✓
9	六氯苯	Hexachlorobenzene (HCB)	118-74-1	✓
10	滅蟻樂	Mirex	2385-85-5	✓
11	戴奧辛	Dioxins	1746-01-6	✓
12	呋喃	Furans	1746-01-6	✓

表 2 斯德哥爾摩公約列管物質分類及管理策略

分類	化學物質	管理策略
有意生產或使用之化學物質	附表 A 阿特靈、可氯丹、地特靈、安特靈、飛佈達、六氯苯、滅蟻樂、毒殺芬、多氯聯苯等 9 種	除特定豁免外，禁止製造及使用，惟 PCBs 使用放寬至 2025 年，2028 年前全面銷毀。
	附表 B 滴滴涕	限制瘧疾疫區使用。
無意生產或使用之化學物質	附表 C 戴奧辛和呋喃 六氯苯 多氯聯苯	1. 前驅物質之減廢、再利用、替代品使用等； 2. 焚燒技術、廢棄處理技術等最佳可行技術進行減量。

表 3 聯合國環境規劃署建議增列之 16 類持久性有毒物質及我國管理現況

編號	中文名稱	英文名稱	我國管理現況	疑似環境荷爾蒙
1	六氯己烷	Hexachlorohexane	無。	
2	多環芳香烴化合物	Polyaromatic Hydrocarbons	無。	✓
3	硫丹	Endosulphan	依食品衛生管理法，食品或食品添加物有留農藥含量超過安全容許量者，不得製造、加工、調配、包裝、運送、貯存、販賣、輸入、輸出、贈與或公開陳列。	✓
4	五氯酚	Pentachlorophenol	1989 年毒管法全面禁止運作。	✓
5	有機汞化合物	Organic Mercury Compounds	1989 年毒管法公告甲基汞禁止運作及將汞用於穀類防蟲劑之製造。	✓
6	有機錫化合物	Organic Tin Compounds	1989 年毒管法全面禁止運作。另自 2005 年起禁止船舶使用含氧化三丁錫油漆。	✓
7	有機鉛化合物	Organic Lead Compounds	1998 年環境用藥管理法公告為環境用藥禁止含有之成分。	✓
8	鄰苯二甲酯類	Phthalates	鄰苯二甲酸二(2-乙基己基)酯、鄰苯二甲酸二甲酯、鄰苯二甲酸二丁酯 1999 年毒管法公告列管。	✓
9	多溴聯苯醚	PBDEs (Polybrominated biphenyl ethers)	無。	✓
10	克敵康	Chlordecone	「克敵康」藥劑並無在國內核准登記作為農藥使用，依農藥管理法不得進口、製造、販賣及使用。	✓
11	辛基酚	Octylphenols	無。	
12	壬基酚	Nonylphenols	1998 年環境用藥管理法公告為環境用藥禁止含有之成分。另將於 2006 年由毒管法公告列管。	✓
13	亞脫淨	Atrazine	依食品衛生管理法，食品或食品添加物有留農藥含量超過安全容許量者，不得製造、加工、調配、包裝、運送、貯存、販賣、輸入、輸出、贈與或公開陳列。	✓
14	短鏈氯化石蠟	Short-Chain Chlorinated Paraffins	無。	
15	全氟辛烷磺酸基化合物	PFOS (Perfluorooctanyl sulfonate)	是否依毒管法公告列管，尚研析中。	✓
16	六溴聯苯	Hexabromobiphenyl	是否依毒管法公告列管，尚研析中。	

*運作：即製造、輸入、販賣及使用等。

斯德哥爾摩公約第一次締約國大會主要討論並採行公約中訂定需於該次締約國大會中決議的事項，包括：提供持續使用滴滴涕於病蟲害控制需求的評估，建立一個特別豁免登錄項目的評估程序，接受財務作業機制的準則，建立報告的時程表，建立監測持久性有機污染物數據的作業，採行程序與財務的準則，核定秘書處的預算，以及建立持久性有機污染物評估委員會。其他討論的事項尚包括：滴滴涕登錄的格式以及特定排除的登錄，發展出協助締約國避免產生與排放非有意產生之持久性有機污染物的準則，以及最佳可行技術與最佳環境作業的準則。至於後續考慮增列於公約中的持久性有機污染物名單，主要被提出討論的有 5 項化學品，包括：靈丹 (Lindane)、五溴

二苯醚 (Pentabromodiphenyl ether, PBDE)、克敵康 (Chlordecone)、全氟辛烷磺酸鹽 (Perfluorooctane sulfonate, PFOS) 及六溴聯苯 (Hexabromobiphenyl) 等，但有些國家認為這些化學品增列於公約後影響很大，許多問題需要被詳加考慮，因此增列前應更謹慎。

2006 年 5 月 1 日至 5 日在瑞士日內瓦舉辦之第二次締約國大會，對上述 5 種化學物質審查結果，因尚須依該公約訂定之篩選程序進行審議，今年確定暫不納入持久性有機污染物管制名單。各國仍加強執行第一次締約國大會通過列管的 12 種化學物質。

除上述化學物質的審議工作，第二次締約國大會尚討論：確認滴滴涕繼續作為病媒控制的評估以及取代滴滴涕的替代性策略，審查特別豁免過程的標準，決定最佳可行技術 (Best Available Technologies, BAT) 指南和最佳環境作業 (Best Environmental Practices, BEP) 暫行指南，及確定與定量戴奧辛和呋喃排放情況。其他大會討論議題亦包括國家實施計畫 (National Implementation Plan, NIP) 準則、持久性有機污染物審查委員會及締約大會的行動方案、技術援助指南及區域、次區域中心之能力建設與技術轉移等多項。此外，列入議程的議題還有強化源頭化學品及廢棄物群組間的協調，並改進公約與「巴塞爾公約」、「鹿特丹公約」間的合作協調機制。

三、我國管制現況

我國現行與化學物質管理有關之法令概可分成依目的用途管理、依運作方式管理及依作業場所管理三類，各種法令各有所司。現行「毒管法」則以「源頭管理」精神，對各「物質」之不同「運作」行為予以規範。國內持久性有機污染物係由各主管機關依權責法令予以管理，表 4 為斯德哥爾摩公約 12 種持久性有機污染物之國內管理現況。

行政院農委會、環保署分別依「農藥管理法」、「環境用藥管理法」及「毒管法」對上述化合物進行管制，分別採禁用或限用。環保署自 1988 年起依據毒管法管制其中的多氯聯苯、可氣丹、地特靈、滴滴涕、毒殺芬、安特靈、飛佈達、阿特靈、六氯苯等 9 種物質，並公告列管為毒化物，規定除試驗、研究、教育用途外，均禁止製造、輸入、販賣及使用，故國內目前已無上述 9 種物質之運作，且環保署每年持續進行環境背景流布調查檢測，作為管制策略參考依據，以達預警作用。

表 4 斯德哥爾摩公約 12 種持久性有機污染物國內列管現況

編號	中文名稱	我國列管現況
1	多氯聯苯	1. 1988 年業已禁止製造、輸入、販賣及使用。 2. 自 2001 年起毒管法公告全面禁用。
2	可氣丹	1988 年毒管法公告禁止運作*。
3	地特靈	1975 年農藥管理法禁用於農藥，1989 年毒管法全面禁止運作。
4	滴滴涕	1973 年農藥管理法禁用於農藥，1989 年毒管法公告禁止運作。
5	毒殺芬	1983 年農藥管理法禁用於農藥，1989 年毒管法公告禁止運作。
6	安特靈	1971 年農藥管理法禁用於農藥，1989 年毒管法全面禁止運作。
7	飛佈達	1975 年農藥管理法禁用於農藥，1989 年毒管法全面禁止運作。
8	阿特靈	1975 年農藥管理法禁用於農藥，1989 年毒管法全面禁止運作。
9	六氯苯	1993 年毒管法公告禁止運作。
10	滅蟻樂	國內未曾使用，由農藥管理法管理。
11	戴奧辛	1. 空污法、廢清法、土污法已有排放及含量管制標準。
12	呋喃	2. 2006 年研擬我國總體管制策略。

*運作：即製造、輸入、販賣及使用等。

我國於 2002-2005 年間陸續完成 21 條主要河川底泥之有機氯農藥環境監測調查工作，檢測結果如圖 1。結果顯示以靈丹及阿特靈之檢出率為最高，所有底泥樣本有機氯農藥檢測值範圍為 ND-9.8 ug/kg 乾重，多數樣本檢測值為 ND，顯示有機氯毒化物及其代謝物在河川底泥中濃度已逐漸降低至可偵測範圍以下。

2002 年及 2004 年並陸續完成我國 21 條主要河川之多氯聯苯環境監測調查工作，檢測結果如圖 2 及圖 3。研究結果顯示，底泥樣本測值與過去近五年之量測結果相似，大多數樣本之測值均低於偵測極限。國內在毒管法明令禁用多氯聯苯後，共平面多氯聯苯在環境中測值已相當低。利用魚體中共平面多氯聯苯濃度推估人體暴露量為 8.6×10^{-3} pg TEQ/kg/day，遠低於世界衛生組織所規定之戴奧辛類化學物質容許攝入量 1-4 pg TEQ/kg/day，顯示環境測值已降低至安全的範圍內。21 條河川底泥樣本中 12 種共平面多氯聯苯濃度分布為南部 > 北部 > 中部 > 東部 (未達統計上顯著差異， $p=0.60$)，下游 > 中游 > 上游 (未達統計上顯著差異， $p=0.69$)。

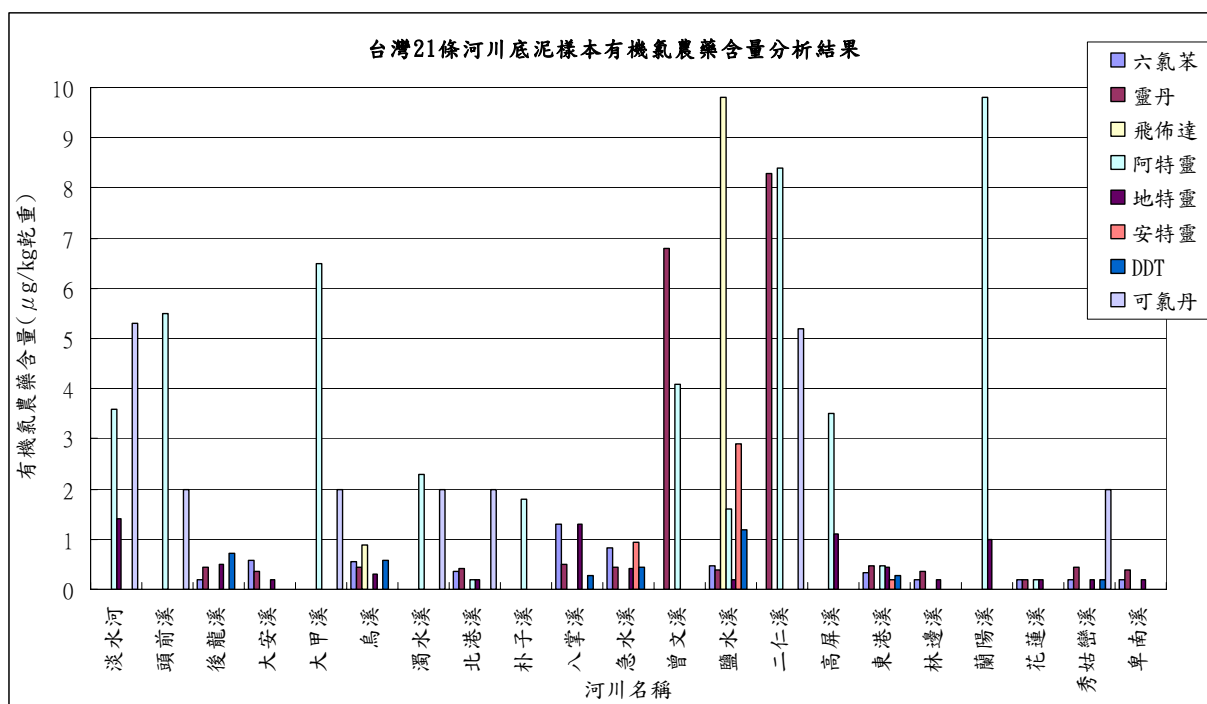


圖 1 台灣 21 條河川底泥樣本有機氯農藥含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 乾重) 分析結果

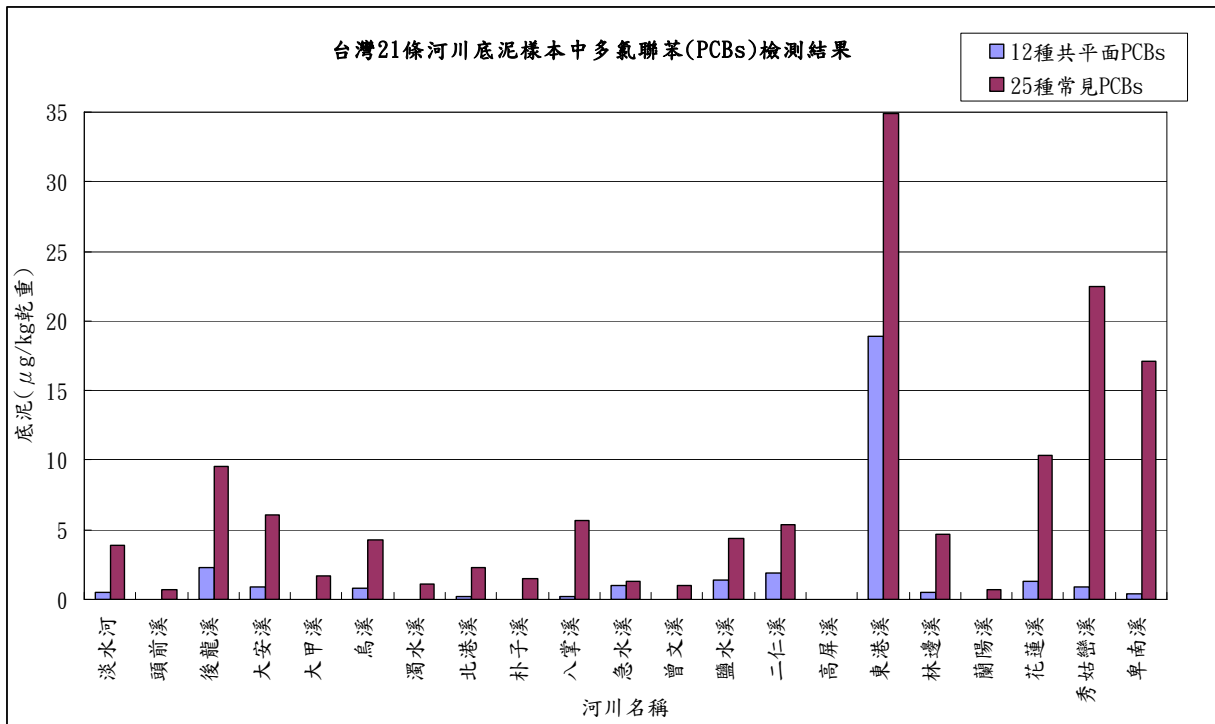


圖 2 台灣 21 條河川底泥樣本中多氯聯苯檢測結果

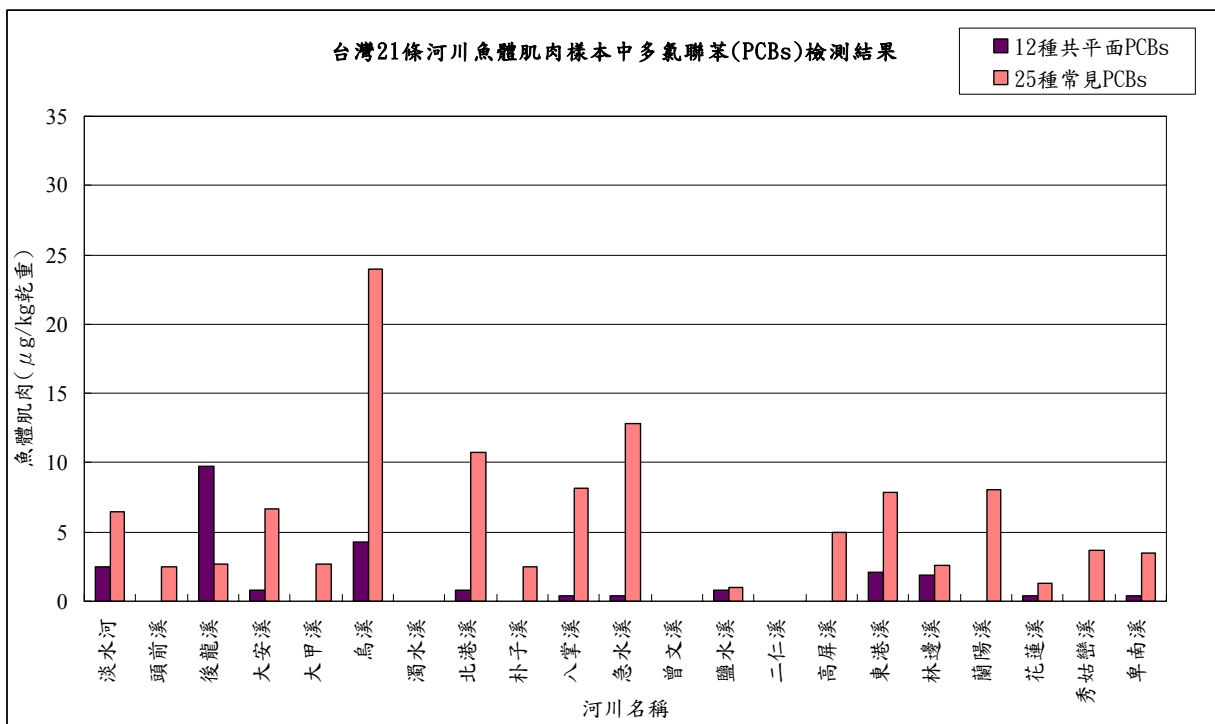


圖 3 台灣 21 條河川魚體肌肉樣本中多氯聯苯檢測結果

為加強戴奧辛排放管制，環保署已發佈有「廢棄物焚化爐戴奧辛管制及排放標準」、「中小型廢棄物焚化爐戴奧辛管制及排放標準」、「煉鋼業電弧爐戴奧辛管制及排放標準」及「鋼鐵業燒結工場戴奧辛管制及排放標準」、「鋼鐵業集塵灰高溫冶煉設施戴奧辛管制及排放標準」及「固定污染源戴奧辛排放標準」等，以有效管制所有污染源戴奧辛之排放。台灣已公告之戴奧辛排放管制標準如表 5。至 2006 年 3 月

止，共完成 23 座次大型焚化廠附近環境介質（週界空氣、土壤及植物）中戴奧辛含量調查工作，調查結果與國外調查數據相較並無較高情形。台灣 23 座焚化爐戴奧辛調查結果詳見表 6。

至於目前斯德哥爾摩公約被提出審查的另 5 種化學物質，我國管理現況如表 7。其中克敵康目前係由行政院農業委員會依「農藥管理法」管理；靈丹於 1989 年間依「毒管法」公告列管並已全面禁用；作為電子/電機產品溴化阻燃劑的五溴二苯醚，環保署於 2005 年 12 月 30 日公告為毒性化學物質加嚴予列管。至於近來民眾關心的熱門話題「不沾鍋鐵氟龍」有關的全氟辛烷磺酸基化合物，將於 2006 年評估是否依毒管法公告列管；六溴聯苯亦將進行研析。

表 5 台灣已公告之戴奧辛排放管制標準

管制對象	適用條件	排放標準 (ngI-TEQ/Nm ³)*	實施日期	
			新設	既存
廢棄物焚化爐	10 ton/hr 或 300 ton/day 以上	0.1	新設	1997/8/8
			既存	2001/8/8
中小型廢棄物焚化爐	4 ton/hr 以上	0.1	新設	2001/1/1
			既存	2003/1/1
	4 ton/hr 以下	0.5	新設	2001/1/1
			既存	2004/1/1
煉鋼業電弧爐	新設	0.5	2002/1/1	
	既存	5.0	2004/1/1	
		0.5	2007/1/1	
鋼鐵業燒結工場	新設	0.5	2004/6/16	
	既存	2.0	2006/1/1	
		1.0	2008/1/1	
鋼鐵業集塵灰高溫冶煉設施	新設	0.4	2005/10/12	
	既存	9	2005/10/12	
		1	2006/9/1	
固定污染源	新設	0.5	2006/1/2	
	既存	2.0	2007/1/1	
		1.0	2008/1/1	

*I-TEQ：International Toxic Equivalent (國際毒性當量)

表 6 台灣目前 26 座次大型焚化爐戴奧辛濃度調查現況

環境介質	戴奧辛調查濃度現況	國外戴奧辛濃度範圍
周界空氣濃度	0.0044 - 1.7 (pg WHO-TEQ/m ³)	0.010 - 1.8 (pg WHO-TEQ/g)
植物濃度	0.22 - 21.0 (pg WHO-TEQ/g)	0.62 - 71.4 (pg WHO-TEQ/g)
土壤濃度	0.003 - 25 (pg WHO-TEQ/g)	0.00067 - 110.0 (pg WHO-TEQ/g)

*WHO-TEQ：WHO's Toxic Equivalent measure (WHO 毒性當量)

表 7 我國對斯德哥爾摩公約第二次締約國大會審議之 5 種化學品之管理現況

編號	中文名稱	英文名稱	我國管理現況	疑似環境荷爾蒙
1	克敵康	Chlordecone	「克敵康」藥劑並無在國內核准登記作為農藥使用，依農藥管理法不得進口、製造、販賣及使用。	√
2	靈丹	Lindane	1.業已禁止製造、輸入、販賣及使用。 2.醫藥、試驗、研究、教育用者外，自 1989 年毒管法公告禁用。	√
3	六溴聯苯	Hexabromobiphenyl	是否依毒管法公告列管，尚研析中。	
4	全氟辛烷磺酸基化合物	PFOS	是否依毒管法公告列管，尚研析中。	√
5	五溴二苯醚	Penta-BDE	2005 年 12 月依毒管法公告列管。	

四、國內「持久性有機污染物」管制策略

由於持久性有機污染物管理涉及的層面及範圍相當廣泛且複雜，台灣為有效處理環境污染危害問題，加強環境污染物管制成效，將持續改善環境污染物處理機制，監測其在環境中流布狀況，強化危害風險管理功能及提昇專業人才執行能力。

2004 年環保署依據「環境基本法」及「國家環境保護計畫」，以環境教育、環境調和及預防性誘因工具為主軸，釐定台灣「環境保護施政三年行動計畫」，其中國際參與群組行動計畫就將斯德哥爾摩公約的管制內容列入。此外依據今年於日內瓦召開之第二次締約國大會決議，雖然新加入五種化學品未完成納入列管名單中，但仍規定於今年 5 月 17 日前完成國家實施計畫之提交工作，雖然目前完成提交國家僅瑞士、挪威、智利等 14 個，台灣仍積極執行策略訂定國家實施計畫，以與國際接軌，管制策略如下：

1. 掌握斯德哥爾摩公約發展趨勢，同步調整台灣管制方式

定期研議與國際同步禁用及管制公約列管污染物的生產及使用。除持續蒐集國際最新管制趨勢與資料外，針對公約新增管制對象，如其毒理特性符合本署訂定之「篩選毒性化學物質作業原則」，並確定有相關危害性時，即依「毒管法」研議列管，以防患該類物質透過食物鏈危害人體健康及生態環境。

2. 研訂持久性有機污染物管制國家實施計畫，落實與國際接軌之執行策略

國家實施計畫內容包括五個階段，

階段一：建立持久性有機污染物之協調性及程序性製作小組，此組織目前由行政院環保署擔任窗口，未來需整合經濟部、農委會等政府單位及其他環保組織、專家學者；

階段二：建立國內持久性有機污染物流佈與背景資料及評估機制；

階段三：設定國內流佈評估優先次序及目標，積極進行背景調查計畫；

階段四：評估國家實施計畫完成後，執行期間對國內經濟的衝擊與影響；

階段五：完成國家實施計畫的簽署，送請聯合國斯德哥爾摩公約秘書處參考。

3. 推動戴奧辛等污染源減量計畫，降低環境污染負荷

積極針對產生戴奧辛之污染源或自然環境介質，發布其戴奧辛排放及管制標準，並加強檢測分析及稽查。自民國 88 年起逐步建立國內戴奧辛之主要排放產生源檢測分析基線資料，並逐年估算我國每年戴奧辛排放總量。91 年起逐年已具體呈現戴奧辛排放總量下降趨勢。環保署已參照公約中的國家實施計畫精神，於今年 5 月起著手研擬「環境戴奧辛管制及減量五年行動方案（草案）」，建構我國戴奧辛總體管制策略及具體管制作法，透過「整體性污染預防及控制」（圖 4）概念，引進該公約 2005 年發展之戴奧辛與呔喃釋放認定與量化標準工具，針對不同介質排放係數建議值與不同活動強度估算我國年排放量，全面管制戴奧辛對於生態環境及人體健康之影響。

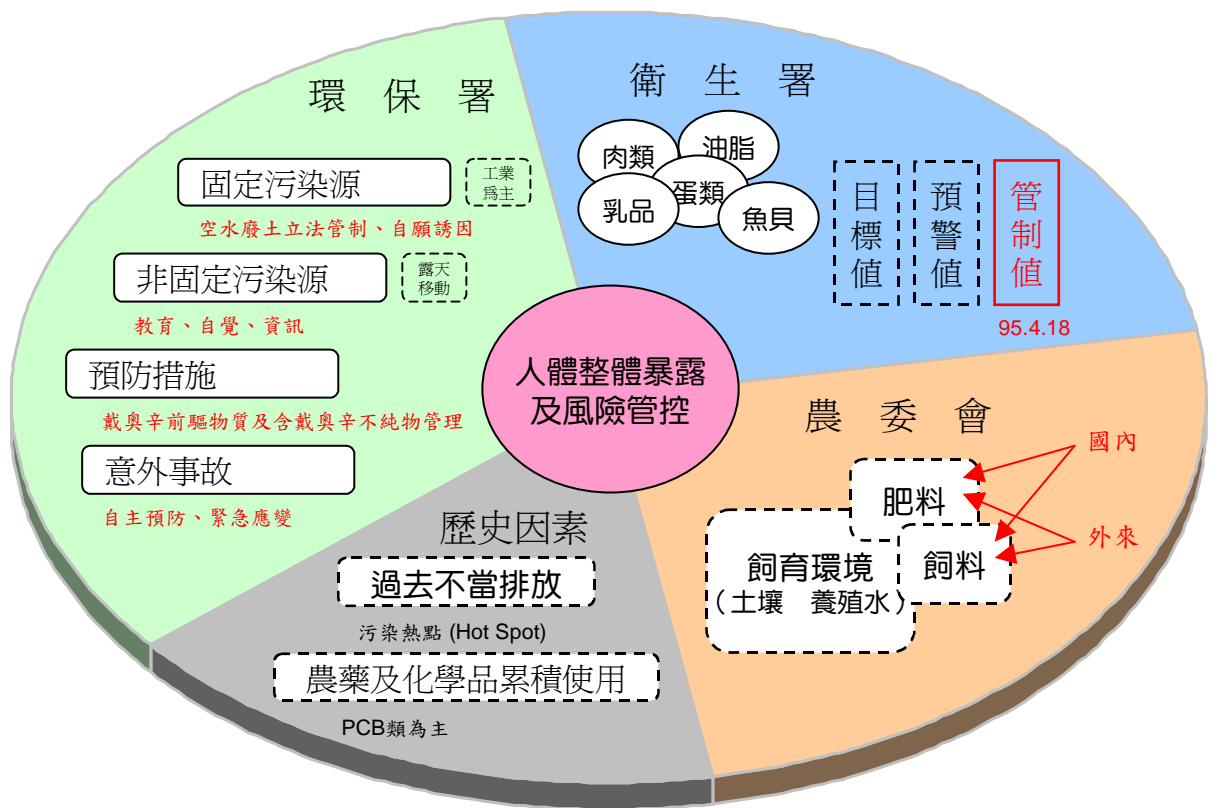


圖 4 我國戴奧辛總體管制策略

4. 持續辦理環境流布調查，加強相關資訊交流應用與宣導

台灣持續重點篩選持久性有機污染物質並進行台灣空氣、土壤、河川底泥、魚體等環境背景流布調查工作。台灣已設立超微量分析實驗室多處，其分析戴奧辛及部分持久性有機污染物質之技術已達國際水準。此外台灣環保單位亦密切注意國際間對持久性有機污染物之調查、檢測及管制動態，掌握彙整最新資訊與相關資料，適時公開台灣的環境背景調查資料，加強宣導民眾了解暴露風險的正確概念。

5. 強化權責機關縱向及橫向聯繫協調，建立整合危機處理機制

持久性有機污染物之管制需從源頭、傳輸途徑與危害風險等層面予以妥善管理，方可降低對環境與人體之影響。環保署將透過已建立之「環境保護與食品安全通報及應變處理流程」持續與衛生署和農委會密切聯繫，於問題發生時透過跨部會協調及縣市合作機制，迅速有效處理民眾關切之環境污染與食品安全問題。

五、參考文獻

1. 李俊璋，毒性化學物質環境流布調查分析期末報告，行政院環境保護署 93 年度委託研究計畫。
2. 行政院環保署毒管處網站，持久性有機污染物之危害管理，<http://www.epa.gov.tw/J/>。
3. 行政院環境保護署空氣品質保護及噪音管制處，我國固定污染源戴奧辛排放管制執行現況報告，2003.03.
4. 行政院環保署，「環境保護施政三年行動計畫」，2004.03。
5. 吳文娟、陳文德，「國內持久性有機污染物管理策略現況」，第三屆環境荷爾蒙及持久性有機污染物研討會，2004.11，台北。
6. *Endocrine Disruptors Strategy*, Illinois EPA, February 1997
7. Interim guidance for developing a national implementation plan for the Stockholm Convention Revised, December 2004 .
8. Our Stolen Future : <http://www.ourstolenfuture.org/Basics/chemist.htm>.
9. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs) : <http://www.pops.int/>.
10. Swiss National Implementation Plan, Berne, April 2006.
11. The National Implementation Plan of Japan under the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, 24 June 2005.
12. Strategic Programs on Environmental Endocrine Disruptor's , Japan, 1998
http://www.nies.go.jp/edc/edcdb/HomePage_e/sp_Table3.html.
13. Towards the establishment of a priority list of substances for further evaluation of their role in endocrine disruption, by BKH Consulting Engineer, Deft, The Netherlands.



環境污染與食品安全

行政院衛生署食品衛生處
蕭東銘處長

95年6月6日



前言

- 1999年元月比利時戴奧辛事件，比利時北部某動物脂肪工廠，其原料脂肪受含戴奧辛的機油所污染，這些脂肪混雜在17萬6千磅的雞、豬、牛飼料中，造成多項食品戴奧辛污染，引發全球污染事件及世界性大恐慌。

前言

- 衛生安全之食品，最基本必須使用良好的原料。
- 遭污染食品原料後續加工生產無法消除。
- 國際間管理，除持續執行食品監視工作，由消除環境中污染源，為其根本作法。

國內案件

- 台南中石化安順廠戴奧辛污染
- 彰化線西鄉及伸港鄉鴨蛋遭戴奧辛污染

行政作為(一)

- 訂定「食品中戴奧辛處理規範」
 - 各類食品戴奧辛限值
 - 行政處理(通報、處理流程、產品處置)
 - 健康風險溝通機制

食品類別	食品項目	戴奧辛限值多氯二聯苯戴奧辛(PCDDs)及多氯二聯苯呋喃(PCDFs)之總合，WHO-PCDD/F-TEQ	備註
肉類	牛、羊之肉及其製品	3皮克/克脂肪(pg /g fat)	脂肪基準(不適用脂肪含量低於1%者)。
	家禽之肉及其製品	2皮克/克脂肪(pg /g fat)	同上
	豬之肉及其製品	1皮克/克脂肪(pg /g fat)	同上
	內臟及衍生產品	6皮克/克脂肪(pg /g fat)	同上
乳品類	液態乳、乳粉、煉乳、調味液態乳、乳油、乳酪、乾酪、發酵乳及乳清粉	3皮克/克脂肪(pg /g fat)	同上
蛋類	雞蛋、鴨蛋及其製品	3皮克/克脂肪(pg /g fat)	同上
魚貝類	魚及其他水產動物之肉及其製品	4皮克/克濕重 (pg/ g fresh weight)	總重基準
油脂類	牛及羊之油脂	3皮克/克脂肪(pg /g fat)	脂肪基準
	家禽類之油脂	2皮克/克脂肪(pg /g fat)	脂肪基準
	豬油	1皮克/克脂肪(pg /g fat)	脂肪基準
	混合動物油脂	2皮克/克脂肪(pg /g fat)	脂肪基準
	植物油	0.75皮克/克脂肪(pg /g fat)	脂肪基準
	魚油	2皮克/克脂肪(pg /g fat)	脂肪基準

行政作為(二)

■ 落實跨部會之源頭管理合作機制

- 強化環保署農委會及衛生署3機關副首長聯繫機制，務求互相合作，共同在最短的時間內作有效決策及指揮，重要議題達成共識後共同對外發表。
- 訂定標準作業程序：3機關共同研訂「環境保護與食品安全通報及應變處理流程」，供為爾後處理類似食品事件之標準作業程序。

行政作為(三)

■ 重要案件決策納入風險評估機制：

1. 邀請健康風險評估專家參與
2. 接受公共團體參與
3. 風險溝通
4. 消費者資訊
5. 食品安全警報紅綠燈

行政作為（四）

- 採用國際標準之管理及資訊
隨時蒐集分析國內外食品衛生管理及事件資訊，以科學原理及科學證據為基礎，參考國際規範，適時採取因應措施。

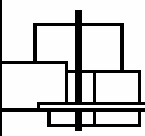
行政作為（五）

- 持續辦理國人總膳食調查計畫及食品安全監視工作
- 瞭解國人飲食之潛在性風險，作為執行風險管理及與民眾風險溝通之依據。
- 國人經由飲食的食品污染物危害風險並不高。
- 針對特定問題，與農委會及環保署合作，採取進一步追蹤及必要之措施。



未來努力

- 目前食品戴奧辛限值係針對多氯二聯苯戴奧辛(PCDDs)及多氯二聯苯呔喃(PCDFs)兩項之總合，擬似戴奧辛多氯聯苯將再收集背景值資料審慎評估後，於第二階段列入規範。



謝 謝

敬請指教

戴奧辛在台灣

凌永健

清華大學化學系綠色質譜實驗室

摘要

本論文先簡介戴奧辛類化合物，包括210種戴奧辛和209種多氯聯苯，和環境荷爾蒙及持久性有機物之關係。其次介紹國際間在削減環境和食品戴奧辛之努力，如斯德哥爾摩持久性有機物公約、戴奧辛和相關化合物的暴露和健康再評估、食物供應鏈中戴奧辛和戴奧辛類化合物：降低暴露之策略、歐盟降低食品與飼料中戴奧辛之方針、日本之政府在營業活動中削減戴奧辛計畫等，以為討論戴奧辛在台灣之基礎，國內最早發表之多氯聯苯食油幼童患者研究和五氯酚工廠的土壤和魚體中戴奧辛研究，迄今仍是持續研究重點，反映出戴奧辛問題之複雜和影響之深遠。最後建議政府訂定土壤和飼料中戴奧辛管制標準，適時調整戴奧辛監測措施，優先次序在戴奧辛暴露潛能高的地區(如工業區)、環境(如焚化和含氯化學製程行業、高排放潛能點下風區)、食品(如水產品、進口食品、地下食品)、生物(野生動物)、最後才是特定族群(將懷孕之婦女)；規劃整合性的監測計畫，納入社區監測和第三公正團體(如環保團體)查核之機制，以公開、公平、公正的方式產生數據，建立監測數據的公信力。改絃更張管末管理政策，兼採源頭管理，獎勵綠色製程，教導民眾綠色消費，善用消費者的力量，從源頭削減戴奧辛的生成，預防勝於治療，造成三贏的局面。找出高危險族群，預防和降低戴奧辛的危害，建立環境法科學和損害賠償等鑑定技術，以釐清污染者的責任，維護受害者之權益，履行斯德哥爾摩公約要求的國家行動計畫等，為繼續努力的方向。

關鍵字：戴奧辛、環境、食品、削減

1. 戴奧辛類化合物簡介

戴奧辛共有210種同源物，為75種多氯戴奧辛和135種多氯呋喃同源物的總稱，2,3,7,8位置被氯原子取代者，稱為2,3,7,8-氯取代多氯戴奧辛(有7種)和2,3,7,8-氯取代多氯呋喃(有10種)，毒性強，其中又以2,3,7,8-四氯戴奧辛(2,3,7,8-TCDD)毒性最強，有「世紀之毒」之稱。多氯聯苯共有209種同源物，在連接二個苯環的單鍵旁的4個鄰位，只有一個氯、或沒有氯存在者，毒性強類似戴奧辛，被稱為戴奧辛類多氯聯苯。多氯戴奧辛、多氯呋喃、與戴奧辛類多氯聯苯統稱「戴奧辛類化合物」(Dioxin-like compounds, DLCs)。

DLCs 為無色、無味的有機物質，在室溫下為固態，水溶性極低，屬於高度脂溶性物質，容易被吸收和累積在生物體的脂肪組織中。DLCs 具有高化學與生物安定性，不易在天然環境中被化學分解或生物分解，屬於持久性有機污染物(Persistent Organic Pollutants, POPs)。近年來 DLCs 逐漸被世人重視其危害的另一個原因，則是該類化合物具有「環境荷爾蒙」(environmental hormones)之特性，有時僅需極低濃度的暴露量，即可對生化與細胞作用機制造成巨大的改變，尤其對懷孕期胚胎形成與嬰幼兒成長初期影響最大，危害效應輕則造成嬰兒神經發育不全、免疫與生殖系統不良，重則引發致突變性，對人體的健康影響深遠。

2. 斯德哥爾摩持久性有機物公約

斯德哥爾摩持久性有機物公約(Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants)中，因此將多氯戴奧辛、多氯呋喃與多氯聯苯更與其他 9 種物質(艾氏劑

Aldrin、氣丹 Chlordane、狄氏劑 Dieldrin、滴滴涕 DDT、異狄氏劑 Endrin、七氯 Heptachlor、六氯代苯 Hexachlorobenzene、滅蟻靈 Mirex、毒殺芬 Toxaphene)列為優先管制的 12 種持久性有機污染物。持久性有機污染物具有毒性、難以降解、可產生生物蓄積以及往往通過空氣、水和遷徙物種作跨越國際邊界的遷移並沈積在遠離其排放地點的地區，隨後在那裏的陸地生態系統和水域生態系統中蓄積起來。特別是在發展中國家中，人們對因在當地接觸持久性有機污染物而產生的健康問題感到關注，尤其是對因此而使婦女以及通過婦女使子孫後代受到的不利影響感到關注。必須在全球範圍內對持久性有機污染物採取行動。因此該公約的目標是銘記《關於環境與發展的裏約宣言》之原則 15 確立的預防原則，保護人類健康和環境免受持久性有機污染物的危害。我國雖難以成為締約方，但未來勢必需遵照公約的約束，如減少或消除源自有意生產和使用的排放的措施。禁止和/或採取必要的法律和行政措施，以消除所列化學品的生產和使用。減少或消除源自無意生產的排放的措施。減少或消除源自庫存和廢物的排放的措施。努力執行旨在履行本公約所規定的各項義務的計劃。資訊交流。公眾宣傳、認識和教育。研究、開發和監測。技術援助。資金資源和機制。成效評估和報告。爭端解決等。

3. 戴奧辛和相關化合物的暴露和健康再評估

美國環保署的「戴奧辛和相關化合物的暴露和健康再評估初稿」報告，重要論點有：(1) 每人每日或多或少皆會接觸到DLCs，主要的暴露途徑來自於膳食的攝取(尤其是含脂肪量高的食品)，膳食攝取佔所有暴露途徑的90~95%以上。DLCs進入食物鏈與人類膳食主要的途徑有二：一為排放源→空氣→植物→動物；另一為排放源→水/底泥→水生動物。此外動物用飼料的污染也是重要的原因之一。瞭解DLCs如何在環境中變遷累積的量化資訊，將有助於釐清個別DLCs污染源在整個食物鏈系統中的排放貢獻度，並可據以評估各類管制排放策略對降低人體DLCs暴露的有效性。(2) DLCs可對人體產生效應不一的健康影響，輕微背景值程度的暴露，僅導致一些生化機能的改變；但是隨著暴露量增加超過閾值時，相關的健康危害就可能逐漸浮現。DLCs除具有致癌性外，尚有發育、生殖、免疫與內分泌等方面的危害性。2,3,7,8-TCDD為一已知人類致癌物，而其他同源物亦為可能性致癌物。DLCs的暴露量通常需要十倍甚至百倍的背景暴露值才會有引發癌症的可能。在較低暴露值時，DLCs則會產生畸胎、甲狀腺功能異常、神經系統失調、減弱免疫功能、損害生殖能力(精子數減少或生殖器畸形)、影響發育等健康危害，產生這些危害的劑量，是遠低於產生致癌所需的劑量。對某些人而言，每日的暴露量可能已達產生非致癌性危害的程度。(3) DLCs在環境中的濃度、排放量，以及人體暴露量在最近數十年間已逐漸降低，其原因為70年代所開始的排放源管制策略成功，包括降低露天燃燒，控管燃燒器懸浮微粒排放，逐步淘汰含鉛汽油使用，禁用多氯聯苯、六氯酚、2,4,5-三氯酚，限制五氯酚使用等。美國環保署估計從1987年至1995年，戴奧辛排放量約減少80%。主要是因成功管制對垃圾及醫療焚化爐的排放，每人的DLCs暴露量及風險因而相對減少。(4) 一般人體內皆含不等量的DLCs(背景值)，雖然可能相當接近於產生健康危害的程度，但目前並無明確的證據顯示民眾罹患疾病的機率有增加的趨勢。(5) 美國環保署以風險評估方式計算一般人的DLCs暴露，其致癌機率將因此而增加至1/100~1/1000，此數值為1994年初稿之評估結果的10倍，但實際的風險則應較低。(6) 母乳比起一般乳品具有較高的DLCs含量，因此以母乳哺育的嬰兒會比以嬰兒配方食品哺育的嬰兒有較高的DLCs暴露風險。但由於母乳對於新生嬰兒有著營養、免疫上的益處，加上相關研究數據顯現嬰兒的DLCs非致癌性健康

效應主要與出生前暴露與母體DLCs體負荷有關，而非出生後暴露或母乳中DLCs含量，因此不僅這份報告中仍舊鼓勵婦女以母乳哺育嬰兒，世界衛生組織與歐盟的食品科學委員會也都持相同看法。不過由於嬰幼兒的體重較輕，且此時期為人體主要的發育關鍵期之一，因此他們能容許的攝入量自然較成人低出許多，故針對此一敏感族群必須特別注意他們的DLCs暴露風險，世界衛生組織即建議在鼓勵婦女以母乳哺育嬰兒的同時，也要繼續努力管控DLCs污染源，以期降低母乳中的DLCs含量。斯德哥爾摩公約也將母乳中的DLCs濃度作為管制成效的指標之一。除了嬰幼兒之外，包括特定工作人員(如：漁民、焚化廠員工等)、攝取高量受污食品者，或意外暴露受害者，都是屬於具有較高DLCs暴露風險的族群。

4. 食物供應鏈中戴奧辛和戴奧辛類化合物：降低暴露之策略

美國國家科學院的「食物供應鏈中戴奧辛和戴奧辛類化合物：降低暴露之策略」一書之結論中指出：「雖然目前無法直接測定 DLCs 的人體健康危害效應，但在學界準備進行更廣泛深入研究，以釐清可能的 DLCs 潛存健康危害效應之同時，從動物和人類流行病學的調查觀點來看，則支持應繼續降低人體 DLCs 暴露量」。書中同時提出降低民眾膳食 DLCs 暴露風險的優先管制策略：(1)強化相關督導單位對 DLCs 風險管理的統合機制；(2)建立風險管制策略以阻斷 DLCs 經由動物來源飼料(主要是動物性油脂)不斷的在食物供給鏈中循環累積；(3)降低女孩與年輕婦女在懷孕前的 DLCs 攝入量。

5. 歐盟降低食品與飼料中戴奧辛之方針

1999 年比利時境內發生飼料遭多氯聯苯污染，連帶造成相關食品遭受污染，此一事件重創當地的畜牧產業，造成近 10 億歐元損失。歐盟因此在 2000 年 1 月提出食品安全白皮書中，同年 7 月提出降低食品與飼料中戴奧辛之方針，10 月正式通過降低環境、食品與飼料中戴奧辛和多氯聯苯之方針，歐盟訂定了嚴格但可達成的食品中戴奧辛最大限值(maximum levels)管制標準，2002 年 7 月 1 日起開始施行。2006 年 11 月起將納入 12 種戴奧辛類多氯聯苯。歐盟在施行降低環境、食品與飼料中 DLCs 之方針時，其主要目標有三：(1)降低人體 DLCs 攝入量低於 SCF 的建議值；(2)評估歐洲環境與生態系之現況；(3)降低 DLCs 的環境效應。方針中認為降低人體 DLCs 暴露，最重要的是降低食物鏈中的 DLCs 含量，因為人體 DLCs 攝入有超過 90%是來自食品。降低食物鏈中的 DLCs 含量最有效的方法為降低環境污染，可從避免新污染源的排放，與管制既有歷史污染源(historical pollution)著手。在執行上述方針時，除了制訂、公告與施行食品中戴奧辛最大限值、行動值和目標值外，歐盟更準備擬定五年期中短程計畫與十年期長程計畫，在中短程計畫中涵蓋了危害確認、風險評估、風險管理、研究、大眾溝通、建立與第三國及國際組織的合作關係等。在長程計畫中則包括資料收集、監測與調查等。上述計畫的執行將可提供全面且廣泛的環境 DLCs 問題，並了解現有之趨勢，以作為後續政策擬定和評估的參考。

6. 日本之政府在營業活動中削減戴奧辛計畫

日本於 1999 年 7 月成立「戴奧辛對策特別措置法」，自 2000 年 1 月開始實施，推行削減污染之對策。「政府在營業活動中削減戴奧辛計畫」(Government Plan to Reduce Dioxins Levels Resulting from Business Activities in Japan)，內容包括：

1. 擬定 2010 年時的排放目標，為削減 2003 年時的 14.3~15.3%。
2. 工商單位要達到此目標，需：
 - (1) 遵守戴奧辛排放標準：①符合空氣和水之戴奧辛排放標準，②防止戴奧辛污染

環境，包括防止意外發生，③適當措置因應大規模的戴奧辛意外排放，④監測戴奧辛污染，⑤指定污染控制督導人負責監控戴奧辛產生裝置的使用，⑥其他包括禁止在空地燃燒。

(2) 管理特定的化學物質的處置，包括戴奧辛，包括生產和使用。

(3) 鼓勵削減、再用和再循環會產生戴奧辛的廢棄物。

3. 中央和地方政府需採取下列措置，以鼓勵再循環和削減會產生戴奧辛的廢棄物：

(1) 削減廢棄物的措置：①依建立完善物質循環的社會基本法的鼓勵措置，②依廢棄物處理和公眾清理法的鼓勵措置，③支持削減廢棄物的資本投資。

(2) 全體政府共同努力達到削減廢棄物的目標。

(3) 其他①和適當處理政府設施產生的廢棄物，②提升環境教育和研究。

4. 營業活動需採取的其他措置，以削減戴奧辛排放

(1) 準確和圓滑的實施斯德哥爾摩持久性有機污染物公約(研發和實施行動計畫，鼓勵使用最佳既有技術 BAT 和最佳環境規範 BEP 等)。

(2) 鼓勵戴奧辛來源的措置：①鼓勵廢棄物管理，②鼓勵未列管戴奧辛排放源的措置，③鼓勵財政和技術上支援地方政府建立廢棄物處理設施，並便利其研發，鼓勵更新工業廢棄物焚化廠的設備，④支持削減排放的資本投資措置。

(3) 取得戴奧辛排放現況：①彙整和公開戴奧辛排放清單，②實施定期監測戴奧辛和其他野外調查，依調查結果採取措置，③鼓勵具成本效益的量測，如引入快速和低成本的量測方法，和鼓勵品管和品保。

(4) 鼓勵戴奧辛相關的研究發展和技術發展。

(5) 適當規範和公告資訊給民眾：①規範和公告戴奧辛資訊，如對人體健康和環境衝擊的現況，②組織 PR 活動，以削減會造成產生戴奧辛的廢棄物。

7. 戴奧辛在台灣

戴奧辛的來源主要來自不完全的燃燒和工業製程中的副產物，在以碳源為主要能源的今日，仍是不可避免的問題。人體暴露戴奧辛的途徑，包括空氣吸入、膳食/水源攝入、皮膚接觸吸收等途徑，透過日常、職場、意外、及環境等暴露條件，慢慢積累在動物或人體的脂肪組織中。據估計約有90~95%的人體戴奧辛暴露是來自食品，近80%的暴露量是來自於動物性食品。從戴奧辛生成機制推估，戴奧辛在台灣的最早時間，應是開始有人為活動時；搜尋SCI期刊中完全來自台灣研究成果的戴奧辛相關論文，最早為多氯聯苯食油幼童患者研究(Guo YL, Lai TJ, Chen SJ, Hsu CC, Gender-Related Decrease in Ravens Progressive Matrices Scores in Children Permanently Exposed to Polychlorinated-Biphenyls and Related Contaminants, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 55 (1): 8-13 JUL 1995)，環境調查方面為五氯酚工廠的土壤和魚體中戴奧辛研究(Soong DK, Hou PCC, Ling YC, Dioxins in soil and fish samples from a waste pentachlorophenol manufacturing plant, Journal of The Chinese Chemical Society 44 (5): 545-552 OCT 1997)，十多年年之後，此二篇論文探討之課題仍為研究對象，戴奧辛問題仍未完全解決，迄今仍是持續研究重點，反映出戴奧辛問題之複雜和影響之深遠。

從1997年起政府就陸續推出戴奧辛管制法規，包括(1)廢棄物焚化爐戴奧辛管制及排放標準(86.08.06, 92.08.20)，(2)煉鋼業電弧爐戴奧辛管制及排放標準(91.10.16)，(3)鋼鐵業燒結工場戴奧辛管制及排放標準(93.06.16.)，(4)中小型廢棄物焚化爐戴奧辛管制及排放標準(94.03.16.)，(5)鋼鐵業集塵灰高溫冶煉設施戴奧辛管制及排放標準(94.10.12.)，(6)固定污染源戴奧辛排放標準(95.01.02.) (7)火化場、輪胎裂解製程、電力業汽電共生業燃煤鍋爐、觸媒再生製程...等固定污染源，應每二年定期檢測戴奧辛排

放一次(95.04.06.)。環保方面法規，主要偏重在空氣和廢棄物基質，對食品戴奧辛有重大影響之土壤，仍未訂定管制標準。

衛生署在今年(95年)四月分發布「食品中戴奧辛處理規範」，採用歐盟最大限值，今後凡查獲食品戴奧辛含量超過限值時，就認定為食品衛生管理法第11條第3款所稱的「有毒或有害人體健康之物質或異物」，應予沒入銷毀，以降低國人從食物中攝入戴奧辛的機會。相較於衛生署宣稱我國是繼歐盟之後另一個訂定戴奧辛限值的國家，意義不凡。對食品戴奧辛有重大影響之飼料，仍未訂定管制標準，則是值得注意。比利時在1999爆發的食品戴奧辛事件，損失高達10億歐元，更造成執政黨的輪替。飼料和食品戴奧辛的管制，不可掉以輕心。

政府對戴奧辛的監測，一直以大型廢棄物焚化爐為主，除定期的煙道排氣檢測，另外有定期監測焚化爐週遭的空氣、植物、土壤、和人體血液，彙整歷年監測數據，發現直接來自煙道排氣的戴奧辛和周界環境基質中的戴奧辛，並未完全呈現正相關性，焚化爐週遭的空氣戴奧辛，居民血液中的戴奧辛，不見得比一般地區和一般族群高，再次映證焚化爐並非是戴奧辛唯一或最重要的來源。政府的戴奧辛監測措施，應適時調整，該有效應用跨部會之有限資源，優先序在戴奧辛暴露潛能高的地區(如工業區)、環境(如焚化和含氯化學製程行業、高排放潛能點下風區)、食品(如水產品、進口食品、地下食品)、生物(野生動物)、最後才是特定族群(將懷孕之婦女)；規劃整合性的監測計畫，納入社區監測和第三公正團體(如環保團體)查核之機制，以公開、公平、公正的方式產生數據，建立監測數據的公信力。改絃更張目前仍沿用的管末管理為主的政策，兼採源頭管理，獎勵綠色製程，教導民眾綠色消費，善用消費者的力量，從源頭削減戴奧辛的生成，預防勝於治療，造成三贏的局面，或許是讓戴奧辛少在台灣的有效作法。找出高危險族群，預防和降低戴奧辛的危害，建立環境法科學和損害賠償等鑑定技術，以釐清污染者的責任，維護受害者之權益，履行斯德哥爾摩公約要求的國家行動計畫等，皆是有待國人繼續共同努力的方向。

參考文獻

1. 徐明聖，台灣地區戴奧辛類化合物膳食攝入量調查及其健康風險評估。國立清華大學博士論文(2004)。
2. Scientific Committee on Food (SCF) (2000). Opinion of the SCF on the risk assessment of dioxins and dioxin-like PCBs in food, SCF/CS/CNTM/DIOXIN/8 FINAL, SCF, EC.
3. US Environmental Protection Agency (2000). Draft exposure and human health reassessment of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related compounds, US EPA.
4. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine (2003). Dioxins and dioxin-like compounds in the food supply: Strategies to decrease exposure, National Academies Press, USA.
5. European Commission (2000). White paper on food safety, COM (1999) 719 final, EC.
6. European Commission (2001). Commission proposes strategy to reduce dioxin in food and feed, IP/01/1045, EC.
7. European Commission (2001). The Commission adopts strategy to reduce dioxins and PCBs in environment, feed and food, IP/01/1492, EC.
8. Council Regulation No 2375/2001 (2001). Amending Commission Regulation (EC) No 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, EC.
9. Commission Recommendation of 4 March 2002 on the reduction of the presence of dioxins, furans and PCBs in feedingstuffs and foodstuffs (2002). 2002/201/EC, EC.
10. Environment Agency (1997). Dioxin Risk Assessment Committee Report, Environment Agency, Japan.
11. www.env.go.jp/en/press/2005/0620a-01.pdf (2005)

12. www.pops.int/documents/implementation/nips/submissions/JAPAN_full.pdf
(2005)
13. 林進修，食品含戴奧辛超量 將沒入銷毀，民生報 (2006/04/19)。

1979 年台灣油症事件回顧

郭育良教授
台灣大學醫學院環境職業學科

Introduction

An episode of rice oil contamination happened in Taiwan in 1979. A Japanese-produced polychlorinated biphenyl (PCB) mixture (Kanechlor 400, 500) was used as the heat-transfer medium in the process of deodorization and decolorization of rice oil by a rice oil company in central Taiwan. PCBs and their heat-degraded byproducts, polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), ter- and quaterphenyls (PCTs and PCQs), leaked into the rice oil and poisoned 2000 people who had consumed the oil. The initial clinical symptoms consisted of acne, pigmentation of the nails and skin, and hypersecretion of the Meibomian glands. Because the disease was caused by ingestion of rice oil, the syndrome was then referred to as Yucheng (pronounced as Yo-Jun), which translates to oil disease, and the exposed subjects were referred to as the Yucheng cohort.

Discovery and Epidemiologic Finding

On May 21, 1979, a local health bureau in Taichung county, central Taiwan, was notified of an outbreak of skin disease among staff and students boarded at the Hwei-Ming School for Blind Children. The initial clinical symptoms consisted of acne, pigmentation of the nails and skin, and hypersecretion of sebaceous glands. Routine microbiological and toxicologic tests were done on various foodstuffs and water but failed to yield any helpful result. When similar cases involving 85 of 150 workers from a nearby plastic shoe factory were reported in early September, 1979, an epidemiologic investigation was conducted and a common exposure, a rice bran cooking oil (C-rice bran oil) manufactured by a rice oil company in Changhua and purchased from an edible-oil store in Taichung, was identified. More cases from other companies and local households in both Changhua and Taichung counties were reported, and all were proven to have consumed the C-rice bran oil.

Local clinicians did not recognize the acne shown on the victims' faces and bodies as chloracne, a persistent form of acne characterized by hyperplasticity, hyperkeratinization, and alterations in pigmentation, and so analyses directed specifically towards acnegenic halogenated hydrocarbons were not done at first. After the cause of the outbreak, consumption of C-rice bran oil, was identified, and since both the etiology and the symptoms resembled the Japanese Yusho incident of PCB/PCDF intoxication, the Taiwan Department of Health consulted Japanese scientists who had been involved in the 1968 Yusho investigation. Samples of C-rice bran oil from the Hwei-Ming School and the oil store in Taichung and blood from victims were analyzed, and PCBs resembling Kanechlor-400, 500, were detected on October 6, 1979.

The etiology of the outbreak was announced by the government on October 8, 1979, and distribution of all C-rice bran oil was then prohibited. Local residents who had consumed the oil and physicians who had treated the victims started reporting cases to local health bureaus. As of February 1983, 2061 Yucheng subjects (including some children born to Yucheng women) were reported and included in the Yucheng registry that was maintained by the Taiwan Provincial Health Department. Sixty-eight percent of the victims were from Taichung, and 26% from Changhua county. Victims from other counties were mainly from two sources: monks and nuns in Shih-Tou Mountain temples who had purchased the contaminated oil in Taichung and students from Miaoli county who had come to Taichung for technique-training courses. There were similar numbers of female and male Yucheng subjects, and more than 50% of the victims were less than 25 years of age. In Taichung, 60% of the victims were factory workers and 15% were students; in Changhua, the majority of the victims were students (39%), and 19, 16, and 14% were factory workers, housewives, and farmers, respectively. Generally speaking, the Yucheng cohort is a young cohort of low socio-economic status.

Exposure Levels

Ninety-eight patients were interviewed by Lan et al.(1) on food and oil consumption patterns prior to and during the outbreak. It was estimated that patients consumed the contaminated oil on average at a rate of 1.4 kg/month (range from 1.0 to 1.6 kg/month) for two to three (average = 2.7) months before they became symptomatic, and then for another six months before the oil was withdrawn. The PCB and PCDF concentrations in the oil samples were about 67-99 ppm, and 0.21-0.40 ppm, respectively. Thus, the patients consumed on average 302 mg (range = 196-457) of PCBs and 1.3 mg (range = 0.5-1.9) of PCDFs before they developed symptoms, and about 1g (range = 0.7-1.4) of PCBs and 3.8 mg (range = 1.8-5.6) of PCDFs total. Because the rice oil in Taiwan was withdrawn at a later time, the Taiwanese patients consumed about ten times as much contaminated oil as the Japanese patients; however, since the PCB/PCDF concentration in the Japanese oil was 10 times that of the Taiwanese oil, patients from both countries consumed about the same amount of PCBs and PCDFs.

Total blood PCB/PCDF levels have been measured by several research groups at different times. Kashimoto et al.(2) and Masuda et al.(3) analyzed blood samples from two small groups of patients within the first year of exposure. P.H. Chen et al.(4,5,6) analyzed 165 blood samples from Yucheng patients attending a dermatology clinic within 18 months of exposure. Between 1979 and 1983, the Taiwan Provincial Department of Health collected 2,378 serial blood samples from 1,246 Yucheng subjects, with 1-8 samples per subject. Except 11 persons in the Department of Health collection, all persons tested in these studies had detectable PCB levels, and the mean levels ranged from 38 to 99 ppb. These levels were higher than those of 92 Taiwanese blood donors, which had a mean PCB level of 9.8 ppb (range = 0-25.3 ppb).(7) Serum PCDF and PCQ levels were measured by Kashimoto et al.(2) and Chen et al.(4,8). Chen et al. also identified 2,3,4,7,8-penta- and 1,2,3,4,7,8-hexaCDF as the major detectable congeners in 10 samples. Lundgren et al.(9) identified the same congeners in 12 samples collected from different subjects in 1985, but at a lower concentration, suggesting some metabolism or excretion over time. The PCB levels in the Yucheng subjects were found to be higher than those of the Japanese Yusho subjects (mean PCB value of 72 Yusho patients was 5.9 ppb),(10) probably because the Japanese samples were drawn much longer after the exposure incident. P.H. Chen et al.(11) studied the comparative elimination rates of individual PCB congeners from the blood of patients. The results indicate that the concentrations of those congeners with adjacent unsubstituted carbons at the meta- and para- positions, like 2,5,3',4'tetra-, 2,3,2',4',5'-, 2,5,2',3',4'-, and 2,3,6,3',4'pentaCBs, declined faster than those of other congeners. Mean total serum PCB concentration of 32 Yucheng samples drawn in 1985 was found to have declined to about 15 ppb (range = 0.6-86.8), and the major persistent congeners detected then were the hexachlorinated biphenyls, such as the 2,2',3,4,4',5- and the 2,2',4,4',5,5'-(9). In February 1991, 13 years after the Yucheng incident, blood levels were determined in 45 *in utero* exposed children and their age, sex, neighborhood, maternal age, and socioeconomic status-matched controls, age ranged from 6.5 to 12.5 years.(12) Twenty (44%) of the 45 exposed children had detectable PCBs (sum of 16 congeners) in blood, with a mean of the positive 7.6 ng/kg whole base (range = 0.9-36). Twenty-two (49%) had detectable 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran, with a mean of the positive 300 ng/kg lipid (range = 89-1230). Twenty-four (53%) had detectable 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzofuran, with a mean of the positive 620 ng/kg lipid (range = 120-3,040). The corresponding levels of the above chemicals in the pooled control sample were 0.56 ng/kg whole base for PCBs, 19 ng/kg lipid for 2,3,4,7,8-pentaCDF, and 25 ng/kg lipid for 1,2,3,4,7,8-hexaCDF, respectively. The serum levels of the dibenzofurans in Yucheng children were highly correlated with duration of breast-feeding, indicating that the main source of these chemicals in exposed child was lactation. In 1992, 14 years after the incident, blood levels were determined in 56 *Yucheng* women and their age, sex, neighborhood-matched controls.(13) Serum samples from all subjects had detectable PCBs, 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran, and 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzofuran. Mean serum levels of PCBs were $2,820 \pm 295$ ng/g lipid base (range = 602-13,420), or $11,590 \pm 1,500$ ng/kg whole base (range = 2,220-67,800). The corresponding levels in the pooled control sample were 386 ng/g lipid, or 1,670 ng/kg whole base. Mean serum levels of 2,3,4,7,8-penta- and 1,2,3,4,7,8-hexa-chlorodibenzofurans were $1,090 \pm 63$ ng/kg lipid (range = 390-2,300) and $2,560 \pm 167$ ng/kg lipid (range = 870-6,920). The corresponding levels of the

above chemicals in the pooled control sample were 28 ng/kg lipid and 20 ng/kg lipid, respectively. The serum levels of these chemicals in Yucheng women were negatively correlated with duration of their breast-feeding their children, indicating that breast-feeding was an effective way of eliminating these toxins from the body.

Clinical Findings of the Yucheng Cohort

Subjective complaints of the Yucheng subjects varied as the course of the illness changed. Ocular symptoms, such as increased eye discharge, swelling of eyelids, and disturbance of vision were the major complaints at early stages, and as time went by, constitutional symptoms like general malaise, numbness of limbs, pruritus (“itchiness”), and headache and dizziness became more obvious and serious.(14-16) Ten percent of the female victims also were found to have abnormal menstruation. S.J. Lan and Yen (17) reported decreased growth in both height and weight of 30 elementary school students in Changhua who had ingested the contaminated oil.

In 1993, the prevalence of medical conditions in the Yucheng people 30 years of age or older and a neighborhood control group matched for age, sex, and neighborhood in 1979 was studied and compared (18). Life-time prevalence of chloracne, abnormal nails, hyperkeratosis, skin allergy, goiter, headache, gum pigmentation, and broken teeth are more frequent in the exposed men and women. The exposed women reported anemia 2.3 times more frequently than controls. The exposed men reported arthritis 4.1 times and herniated intervertebral disk 2.9 times more frequently than their controls.

Skin symptoms of the Yucheng subjects have been studied in detail by two groups of dermatologists. Both groups reported that mucocutaneous pigmentation was the most common symptom, occurring in at least 90% of the patients; it usually occurred at conjunctiva (lining of eye), gingiva (gum) and buccal mucosa (cheek), nasal apex and ala, and finger and toenails, and the hue varied from brown to brownish gray to gray.(14-16,19,20) The next most common symptom was acneform eruptions, predominantly open comedones (blackheads), papules, and pustules. It differs from acne vulgaris in that it locates not only on the classical sites for acne but also on extremities, axilla (armpit), and external genital areas. Deformity of fingernails and toenails were found in more than 68% of Wong et al.'s patients, and in 38% of Lü 's patients. Lü et al. also found follicular accentuation and horny plugs (accentuated and elevated hair follicles with blackish keratinous material plugs in the enlarged orifice) to be prominent (at least 21%) in their patients, especially in the age group of 11-20. Other findings included keratotic plaques, horny growth like warts or callosity, of palms and soles, dry skin, and itching. When grouping the patients according to the Japanese Goto and Higuchi grading system [ocular signs alone for grade 0, pigmentation of nails and skin for grade I, comedo formation and follicular accentuation for grade II, localized acneform lesions and cysts for grade III, and widespread and extensive distribution of the above lesions for grade IV (21)], 79.5% of Wong's patients and 61.6% of Lü 's patients were in grades 0-II.(15,16,19,20)

Both Lü et al. and Wong et al. tried to relate the total blood PCB level to the severity of skin symptoms, but neither group showed any consistent association. The lack of associations plus the fact that neither report had any control or background rates for the skin lesions made the interpretation difficult. Nevertheless, the very high rates of mucocutaneous pigmentation, the unique distribution pattern of acneform eruptions, and the unusual picture of hyperkeratotic plaques make a strong case that these symptoms are related to the ingestion of PCB- and PCDF-contaminated rice bran oil. Histologic examination of 21 skin biopsies showed hyperkeratosis, increased pigmentation of epidermis, and cystic dilatation of hair follicles.(22) Except for the highly pigmented epidermis, the eruptions were indistinguishable from acne vulgaris. Fu studied the ocular manifestations of 117 patients and found a positive correlation between total blood PCBs level and severity of conjunctival pigmentation.(23,24)

Two groups of exposed subjects have been evaluated for neurological dysfunction. One hundred and fifty-five Yucheng subjects from the Hwei-Ming School for Blind Children, including

students, staff and their families, were seen by neurologists at National Taiwan University Hospital in early 1980;(25-27) all of them had neurologic examinations and nerve conduction velocity (NCV) tests. The most common neurologic complaints were numbness and paresthesia of extremities (36.1%) and headache and/or dizziness (34.8%). Neurologic examination showed that 7.7% of the patients had decreased vibration sensation in lower limbs, and 5.8% had hearing impairment. A few patients had hyperalgesia, absent or decreased ankle jerks. On NCV testing, 28.4% had sensory nerve slowing, 7.8% had motor nerve slowing, and an additional 16.1% had both deficits. However, the prevalence rates of the above mentioned symptoms/signs in general population were not reported. When compared with values of 63-150 non-exposed normal subjects, the exposed subjects were on average 4 m/sec slower than the controls in both sensory and motor NCV. Patients with blood PCB levels of 24 ppb or greater had significantly slower peroneal nerve motor NCV than those with blood PCB levels below 24 ppb. For 65 patients with known blood PCQ levels, blood PCQ level was negatively associated with median nerve sensory NCV. Chen et al.(25) suggested that these deficits might be due to a PCB-induced porphyria (abnormal porphyrin metabolism), and they did porphyrin analyses on 24-hour urine samples from 48 patients. Although a higher percentage of patients with abnormal NCV had abnormal urinary porphyrins (63% vs. 50%), the difference was not statistically significant. Ogawa(28) found motor paresis of the hind limbs and reduced motor NCV on experimentally induced PCB-poisoned rats, and histologic examination revealed segmental demyelination (loss of a nerve's myelin covering) with loss of large nerve fibers in peripheral nerves; this may explain how PCB exposure affect NCV.

Thirty-nine patients admitted to the Veterans General Hospital for treatment of skin lesions were examined by Chia and colleagues for neurological function in 1980.(29-31) Thirty-five of them (with 44 age-matched controls) had NCV tests, 27 had electroencephalography (EEG), and four had cerebrospinal fluid (CSF) samples drawn. Paresthesia and numbness of extremities (64%), pain over the back, limbs or orbits (41%), and headache (38%) were the most common neurological symptoms. Thirty-one percent of the patients had slower sensory nerve conduction, and 29% had slower motor nerve conduction. The patients had both sensory and motor NCV 5-6 m/sec slower than 44 non-exposed healthy subjects. Twenty-two percent of the 27 patients receiving EEG had mild abnormal EEG pattern of paroxysmal bilateral slow waves, occasionally mixed with spikes or sharp waves in the frontotemporal region, a pattern not specific to any defect. PCB levels in CSF were normal for all four patients. Twenty-eight of the 39 patients were re-examined two years later, and it was found that all symptoms had diminished except for dizziness and absent and sluggish deep tendon reflex. Although all NCV had improved, the values were still 4 to 10% slower than that of the controls.

Serum immunoglobulin tests on a subset of 30 patients who had blood PCB levels above 15 ppb and on 23 age, sex-matched controls showed significant decreases in IgA and IgM in the exposed (185 ± 88 vs. 245 ± 70 for IgA, and 105 ± 58 vs. $173 \text{ mg}\% \pm 48$ for IgM), suggesting suppression of humoral immunity.(32) The 30 patients had two-thirds the percentage of T cells (42% vs. 63%) of controls, and the percentages of active T cells (11% vs. 22%) and "helper" T cells (22% vs. 37%) were also decreased, while the percentages of B cells and "suppressor" T cells were not affected. This suggests that different types of lymphocytes may have different sensitivity toward PCB toxicity. Since "helper" T cells help the proliferation, differentiation, and immunoglobulin secretion of B cells, when the percentage of "helper" T cell decreases, serum immunoglobulin, like IgA and IgM, decreases too.(32) There were rough correlations among serum PCB concentration, clinical grade of the severity of the skin lesions, decreasing percentages of "active" T cells, and decreased size of induration on skin hypersensitivity testing.(33)

A significantly lower percentage of phagocytes, monocytes and polymorphonuclear leukocytes of the same patients bear immunoglobulin and complement receptors.(34) Phagocytes are responsible for the elimination of the infectious microorganisms, and the decrease of phagocyte complement and immunoglobulin receptors may be associated with the lowered resistance to infectious disease of the Yucheng patients. Three years later, using a newly developed monoclonal antibody technique, the percentage of T-cells and "active" T-cells of the same patients recovered to normal, yet the percentage of "helper" T-cells was still low.(35) Wu et al.(36) observed enhanced lymphocyte proliferation in

vitro in response to phytohemagglutinin, pokeweed mitogen, and purified protein derivative (PPD) in 83 patients in the first year after the outbreak, and they still found increases in both spontaneous and mitogen-induced in vitro lymphocyte proliferation in a subset of 30 patients studied three years after the exposure.(35) This suggests that the effect of heat-degraded PCBs on lymphocyte function still exists three years after the exposure.

Blood chemistry was studied on 143 patients from Hwei-Ming School for Blindness in late 1979 by Chang et al.(37) and 133 patients in a special clinic by Lü et al..(15) The profiles of the two groups were relatively similar: mild anemia of a normocytic type, leukocytosis, elevations of the liver enzymes, SGOT, SGPT, and alkaline phosphatase but not BUN or LDH. Serum triglyceride and conjugated bilirubin were elevated but total bilirubin was reduced. The elevated triglyceride may be due to abnormal lipid metabolism which is caused by liver damage. The low bilirubin is probably due to induction of bilirubin UDP-glucuronyl transferase in liver by PCBs and enhancement of conjugation of bilirubin to glucuronic acid which results in rapid biliary excretion of bilirubin.(37)

In 1993-1994, 356 Yucheng women aged 30 to 59 years and 312 neighborhood controls were identified and interviewed for their reproductive experience.(38) Of the Yucheng women, 16% reported abnormal menstrual bleeding compared to 8% ($p<0.05$) of control women; 4.2% vs 1.7% reported a stillbirth since 1979 ($p=0.068$). Other characteristics of the menses, fertility, frequency of intercourse, and age at menopause appeared unaffected. More of the Yucheng women reported that one of their offspring had died during childhood (10.2% vs 6.1%, $p<0.05$), and that they had decided to limit childbearing because of health problems (6% vs 2%, $p=0.01$). These findings suggest that high level PCB/PCDF exposure has some effect on female endocrine and reproductive function.

For the evaluation of reproductive health in exposed men, exposed men and their controls aged 37-50 years were recruited for physical examination followed by semen analysis in 1999-2002. A total of 40 men exposed to PCBs/PCDFs and 28 unexposed matched controls participated in the study. Participants were instructed to abstain from ejaculation for at least 4 days prior to providing semen specimens. Evaluations of sperm counts, morphology, motility, velocity were measured according to World Health Organization (WHO) guidelines. Sperm - hamster oocyte penetration was assessed after 1 cycle of storage in liquid nitrogen. All interview, examination, and laboratory tests were done in a blinded fashion. Exposed men were found to have higher abnormal morphology and oligospermia rate than controls. Semen volume, sperm count, motility, velocity, amplitude of lateral displacement, and beat cross frequency were similar in sperm of exposed and control men. The ability of sperm to penetrate hamster oocytes and number of sperm bound to hamster oocyte, however, were significantly reduced in exposed men (39).

Clinical Findings of the *In utero* Exposed Yucheng Children

Nine infants born between October 1979 and December 1980 were evaluated for birth defects at birth by three groups of researchers.(40,41,42) All were noticed at birth to have had hyperpigmentation of their skin, especially on the lip, gingiva, and nails, and hypersecretion of the Meibomian gland. K.C. Wong and Hwang (41) also reported skin desquamation (flaking of skin), black color of the nose, and deformed nails. Law et al.(42) examined twins and Lan et al.(40) reported on another infant that all had swelling of the upper eyelid, respiratory distress and pneumonia. Six of these nine infants were small for gestational age. Eight of these infants have been reviewed in Miller's(43) and Rogan's papers.(44) The Yucheng children's growth profile, bone mineral density and soft tissue composition, and joint laxity were examined in 1991 and compared with matched controls.(45) The Yucheng children were 3.1 cm smaller and had less total lean mass and soft tissue mass as compared to the control children. Bone mineral density and joint laxity were not different between exposed and control children.

To assess whether exposure to PCBs/PCDFs alter the sex ratio at birth, women who were

registered at the Yucheng registry, who had at least one child born during or after the incident, and who had at least one live child in spring 1985 were interviewed in summer 1985 (46). Seventy-four women reported 137 births, including 68 boys and 69 girls, occurring between June 1978 and spring 1985. The report suggests that sex ratio in the second generation is unlikely to be a sensitive indicator of women's exposures to chemicals of persistent polychlorinated double-ring structures, such as PCBs, PCDFs, and dioxins. On the other hand, men exposed to PCBs/PCDFs before age 20 years had a lower chance of having a baby boy than did age-matched and neighbourhood-matched controls (odds ratio 0.65, 95% CI 0.45–0.93). The male-to-female sex ratio of children born to men exposed to PCBs after age 20 years, however, approached that seen in controls (0.90, 0.59–1.35). These findings suggest that paternal exposure to PCBs before age 20 years affects the sex of a subsequently born child (47).

Lan et al.(48) reported the birth weight of 49 children born to Yucheng women between 1979 and 1985. The gestational age-adjusted birth weights for both female and male exposed babies were 83% and 87% of those of the "normal" babies, and the deficits were significant in the first and second child born after the outbreak, but not in the third. In April 1985, Rogan et al.(49) identified 132 *in utero* exposed children born between June 1978 and March 1985 and 190 age, sex, neighborhood-matched control children. Parents of 128 exposed and 115 control children were interviewed, and 117 *in utero* exposed and 108 control children attended physical examinations. The exposed children had lower reported birth weight (mean \pm SE; 2,749 \pm 46 g in exposed vs. 3,228 \pm 40 g in control babies) and were 7% lighter and 3% shorter at examination. One hundred and seven pairs of children were re-examined in February 1992, seven years after the initial examination; the Yucheng children were still 2% shorter than their controls. (50)

Information on birth and medical history of the 128 *in utero* exposed and 115 control children identified in 1985 by Rogan et al.(49) was derived from questionnaires filled out by parents. A significantly higher percentage of exposed children were reported to have hyperpigmentation, conjunctivitis, swelling of the eyelid, eye discharge, deformed or small nails, natal teeth, and swollen gums at birth; they also had more deformed finger and toe nails and acne scars in their lifetime history.(49,51) Children born longer after the exposure did not differ from those born earlier.(51) On examination, the exposed children had a much higher rate of dystrophic finger-nails and dystrophic or pigmented toe-nails than controls; dystrophic finger-nails were more specific, occurring only in the exposed children. They also had increased rates of hyperpigmentation, acne, and scaly or keratotic disorders than the controls. The dermatologic symptoms of these children were similar but weaker compared to those of the original cohort subjects. In addition, the exposed children had more generalized itching, localized skin infections and hair loss.(51) The effects in the children are more apparent in nails, hair, teeth, gums, skin hyperpigmentation, and growth and development; the characteristic defect was described by Rogan et al. as a type of acquired ectodermal dysplasia, which means the defects were formed on the ectodermal layer during the embryonic stage.(49) The dermatological manifestations of Yucheng children were followed up in 1991.(52) Most children recovered from chloracne, and chloracne scars were found in only one child. However, nail changes were found in about one-third of the exposed children. Transverse grooves, irregular depressions, and koilonychias/nail flattening were significantly more frequently found in Yucheng children as compared to their controls. The author suggested these findings to indicate developmental retardation of the fetal nail matrix.

When the Yucheng children and their controls were first examined and interviewed in 1985, 24% of the parents of Yucheng children compared to 4% of the parents of control children reported a medical history of bronchitis for their study children in the first 6 months after birth, and the Yucheng children were more likely to have abnormalities of pulmonary auscultation at examination. Higher frequencies of upper respiratory infection and otitis media were repeatedly reported by the Yucheng parents during the 6-year follow-up. (49) In 1993, two otolaryngologists examined the middle ears of 103 Yucheng and 96 control children with pneumatic otoscope and measured the middle-ear pressure by tympanometry with a Rion RS 20 impedance audiometer. (53) Forty-three percent of the Yucheng children versus 19% of the control children had abnormal tympanic membranes ($p=0.0003$). The

effect is most significant in Yucheng children born within the first 4 years after the Yucheng incident. For the 30 Yucheng children whose serum PCB and PCDF levels were measured in 1991, those who had middle ear diseases had significantly higher serum levels of 2,3,4,7,8-pentachloro- and 1,2,3,4,7,8-hexachloro-dibenzofurans than the Yucheng children with normal ears. Serum PCB levels were not related to middle ear diseases.

At the initial evaluation of Yucheng children and their controls, exposed mother reported a significantly higher percentage of natal teeth and swollen gums at childbirth (49). Complete dental examination was carried out on 73 Yucheng children and 75 matched controls, aged 7 to 11 years, in 1992. Ten among 73 (14%) exposed children were reported to bear teeth at the neonatal period, with none in the controls (54). The exposed group also had a significantly higher percentage of congenitally missing teeth (29% vs 2.7%) or rotation in teeth (19% vs 2.7%) than did the controls. The percentages of developmental defects increased significantly with increasing maternal serum PCB levels, children's PCB and PCDF levels, and duration of breast feeding. Maternal PCB level clearly played a more important role in increasing the risk of neonatal teeth and developmental defects. The defects were apparent at the start of the lowest tertile of total PCB level of <10 ppb in maternal serum measured nearest to the time of childbirth, in a dose-dependent manner. There tended to be fewer permanent teeth in the exposed group than in the control group, from the age of 11 years and onwards.

Neurology, Cognitive and Behavioral Development of the *In utero* Exposed Yucheng Children

In 1985, the 117 *in utero* exposed children and their controls examined by Rogan et al.(49) were also given neurologic tests. Ten percent of the exposed compared to 3% of the control children were considered by the neurologists to have developmental or psychomotor delay. This group of controls was originally selected to provide background rates for physical findings, and they were thought to be too loose for developmental assessment, so a new set of controls who matched 118 *in utero* exposed children on age, sex, maternal age, parents' combined educational level and occupation, and neighborhood were selected six months after the initial survey. These 118 pair of children were given age-appropriate cognitive and behavioral assessments. The exposed children scored 4 to 7 points lower than the control children on all cognitive tests except for verbal IQ, on which they scored the same, on the Chinese version of Wechsler Intelligence Scale for Children, revised version (WISC-R); and they had worse scores on Rutter's behavioral scale. The same group of children have been followed by Hsu and his research team with cognitive and behavioral tests biannually since Fall 1985. The yearly reports published by this team (55-61) continued for six years to show a mild yet consistent deficit of the *in utero* PCB exposed children on all scales of all cognitive tests. On behavioral assessment, the exposed children were more intense in reaction and more negative in quality of mood on temperament assessment, had more psychosomatic, habit, and behavioral problems than the controls on Rutter's Behavioral Scale, and were hyperactive on a modified Werry-Weiss-Peters Activity Scale. Chen et al.(62) merged data from 12 rounds of assessment and examined the hypothesis that the time elapsed between the exposure and the child's birth does affect the degree of development delay, and that the effect diminishes as the children grow. Their results showed that the exposed children scored approximately 5 points lower on all scales of all IQ tests for the ages of 4 through 7 years. Children born up to 5 or 6 years after their mothers' exposure continued to be affected, and the effect of *in utero* PCB and PCDF exposure on children's cognitive development persisted in the children up to the age of 7 years. By analyzing the same data set, Lai et. al. (63) expanded the findings to the ages of 6 months through 12 years. Yucheng children scored 4 to 11 points lower on Bayley scales for Infant Development for the ages of 6 to 30 months, 3 to 8 points lower on Stanford-Binet IQs for ages 2 and 3, and 3 to 9 points lower on WISC-R for the ages of 8 through 11. The children were also evaluated for spatial and deductive ability with Raven's Colored Progressive Matrices (CPM) and Standardized Progressive Matrices (SPM) (64). Yucheng boys scored significantly lower than their controls in CPM at ages 6,7, and 8, and borderlinely lower in SPM at age 9. The effect was not found for Yucheng girls. Cognitive function was also evaluated in the youngest elder siblings of 15 *in utero* exposed children, and WISC-R IQ scores of the *in utero* exposed children were 9 to 19 points lower than that of their youngest elder siblings at each year from

1985 to 1990.(65) To examine whether the time lapse between the exposure and the child's birth affects the degree of behavior and activity level, behavior and activity data from the same 12 rounds were analyzed (66). The Yucheng children scored 11% to 63% worse on the mean Rutter scale for the ages 3 through 12. The effect for children born later is the same as that for those born earlier. There was no improvement as the children aged. The finding for the activity score is similar but weaker. The later-born Yucheng children, those born 7 to 12 years after their mothers' exposure, were examined for developmental and behavioral problems in 1991-2 with the Chinese Child Development Inventory (CCDI), an instrument adopted and modified from the Minnesota Child Development Inventory (MCIDI) (67). The children born to Yucheng mothers had significantly lowered scores on the combined general development and several CCDI subscales; girls were more affected than boys. The children born of Yucheng fathers did not score differently from their controls. From 1992 through 1995, 118 children born between 1978 and 1985 (during or after their mothers' exposure) and 118 matched neighborhood control children had behavioral problems measured yearly with the Achenbach Child Behavior Checklist and the Rutter Child Behavior Scale A (68). The exposed children scored 3 points ($P=0.05$) lower than control children for IQ; 3 points ($P=0.002$) higher on the Child Behavior Checklist (an effect size similar to the sex difference); and 6 points ($P=0.001$) higher on the Rutter scale (3 times the sex difference). Birth year-exposure interactions, testing whether children born long after the exposure were as affected as those born soon after, were small and not significant. Age-exposure interactions, testing whether the children improved relative to control children as they got older, were significant only for the Rutter scale. It was concluded that prenatal exposure to these compounds produces long-lasting cognitive and behavioral damage, but there is some evidence of recovery.

In 1998, the reproductive system of 12 young men (sexually mature, aged 16 to 20 years old) born to Yucheng mothers was examined.(69) Semen analysis showed that the sperm in Yucheng men have increased abnormal morphology (37.6% vs. 25.9%), reduced motility (35.1% vs. 57.1%), and reduced capacity to penetrate hamster oocytes (65.8% vs. 73.5%) as compared to that of 25 control young men. The semen volume and sperm count were not different between Yucheng young men and their controls.

Summary

It has been 27 years since the Yucheng outbreak; and although the painful memory of the outbreak may have faded somewhat, among those involved, some of the chemicals persist in the body and continue to affect the original Yucheng cohort and their offspring. Most information regarding the outbreak and the effects of direct exposure to the chemicals came from case reports and clinical observations of subgroups of the cohort during the first 6 years after the incident. Most of the observations were done on small populations with no or poorly defined controls. Since April 1985, more carefully designed epidemiologic studies of children born to Yucheng mothers during or after the outbreak and proper controls have provided thorough information on physical, cognitive, and behavioral effects of *in utero* heat-degraded PCB exposure.

To understand the effect of PCBs and heat-degraded byproducts on various organs or systems of the body, several research projects are ongoing or in the planning stage. To investigate the long-term health effects of direct exposure to these chemicals, the original Yucheng cohort who had ingested the contaminated oil and proper controls have been identified, and the mortality rate, cancer and other chronic disease morbidity rates, and reproductive functions of the two groups have been and will continue to be studied and compared. More PCB and PCDF congener levels will be measured, and the relations of blood chemical levels to physical findings will be evaluated. The caffeine breath test (70) will be given to test the PCB/PCDF effect on cytochrome P450 IA2 activity in liver and the effect of the altered enzyme activity on the metabolism of sexual hormones and sexual maturation of Yucheng children. A second *in utero* PCB exposed child cohort, children born to either exposed mothers or exposed fathers between June 1985 and July 1992, has been identified, and the research questions of whether PCBs continue to affect offspring through transplacental transfer and nursing six to 13 years after the exposure and of whether PCB/PCDF affects the offspring through paternal

reproductive pathways will be studied. Reproductive systems in both exposed men and women will be further evaluated. Also, as immunosuppressants, the PCBs and PCDFs may contribute to a decreased ability to fight against cancers or infectious diseases. Thus, it is plausible to study the possible interaction between the two factors. The findings from the investigations of the Yucheng incident surely provide clues about the toxicities that background PCB exposure may cause, and because dibenzofurans and dioxins are thought to have a similar mechanism of action, the information found in this incident may contribute to the understanding of human health response to these compounds.

REFERENCES

1. C.-F. Lan, P. H. Chen, L.-L. Shieh, and Y.-H. Chen, An epidemiological study on polychlorinated biphenyls poisoning in Taichung area [in Chinese; English summary], *Clin. Med. (Taipei)* 7, 96-100 (1981).
2. T. Kashimoto, H. Miyata, S. Kunita, T.-C. Tung, S.-T. Hsu, K.-J. Chang, S.-Y. Tang, G. Ohi, J. Nakagawa, and S. Yamamoto, Role of polychlorinated dibenzofuran in Yusho (PCB poisoning), *Arch. Environ. Health* 36, 321-326 (1981).
3. Y. Masuda, H. Kuroki, T. Yamaryo, K. Haraguchi, M. Kuratsune, and S.-T. Hsu, Comparison of causal agents in Taiwan and Fukuoka PCB poisonings, *Chemosphere* 11, 199-206 (1982).
4. P. H. Chen, and S.-T. Hsu, PCB poisoning from toxic rice-bran oil in Taiwan. In: *PCBs and the Environment* (J.S. Waid, editor), pp. 27-38, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL (1987).
5. P. H. Chen, Y.-D. Lu, M.-H. Yang, and J.-S. Chen, Toxic compounds in the cooking oil which caused PCB poisoning in Taiwan. II. the presence of polychlorinated quaterphenyls and polychlorinated terphenyls [in Chinese; English summary], *Clin. Med. (Taipei)* 7, 77-82 (1981).
6. P. H. Chen, M.-L. Luo, C.-K. Wong, and C.-J. Chen, Polychlorinated biphenyls, dibenzofurans, and quaterphenyls in the toxic rice-bran oil and PCBs in the blood of patients with PCB poisoning in Taiwan, *Am. J. Indust. Med.* 5, 133-145 (1984).
7. S.-H. Liu, Y.-C. Ko, T.-L. Huang, et al., Residues of PCBs in blood of ordinary persons in central Taiwan [in Chinese], *Annu. Rep. Bureau Health Taiwan* 1, 269-275 (1985).
8. P. H. Chen, C.-K. Wong, C. Rappe, and M. Nygren, Polychlorinated biphenyls, dibenzofurans and quaterphenyls in toxic rice-bran oil and in the blood and tissue of patients with PCB poisoning (Yu-cheng) in Taiwan, *Environ. Health Perspect.* 59, 59-65 (1985).
9. K. Lundgren, G. W. Collman, S. Wang-Wuu, T. Tiernan, M. Taylor, C. L. Thompson, and G. W. Lucier, Cytogenetic and chemical detection of human exposure to polyhalogenated aromatic hydrocarbons, *Environ. Mol. Mutagen.* 11, 1-11 (1988).
10. Y. Masuda, R. Kagawa, K. Shimamura, M. Takada, and M. Kuratsune, Polychlorinated biphenyls in the blood of Yusho patients and ordinary persons, *Fukuoka Acta Med.* 65, 25-27 (1974).
11. P. H. Chen, M.-L. Luo, C.-K. Wong, and C.-J. Chen, Comparative rates of elimination of some individual polychlorinated biphenyls from the blood of PCB-poisoned patients in Taiwan, *Food Chem. Toxicol.* 20, 417-425 (1982).
12. J. J. Ryan, C.-C. Hsu, M. J. Boyle, and Y. L. Guo. Blood serum levels of PCDFs and PCBs in Yu-Cheng children perinatally exposed to a toxic rice oil. *Chemosphere* 29, 1263-1278 (1994).
13. Y. L. Guo, J. J. Ryan, B. P. Y. Lau, M.-L. Yu, and C.-C. Hsu. Serum levels of PCB/PCDF congeners 14 years after accidental exposure to contaminated rice oil. *Arch Environ Contamin Toxicol* 33, 104-108 (1997).
14. Y.-Y. Lee, P.-N. Wong, Y.-C. Lü, C.-C. Sun, Y.-C. Wu, R.-Y. Lin, S.-H. Jee, K.-Y. Ng, and H.-P. Yeh, An outbreak of PCB poisoning, *J. Dermatol. (Tokyo)* 7, 435-441 (1980).
15. Y.-C. Lü and P.-N. Wong, Dermatological, medical, and laboratory findings of patients in Taiwan and their treatments, *Am. J. Ind. Med.* 5, 81-115 (1984).
16. Y.-C. Lü and Y.-C. Wu, Clinical findings and immunological abnormalities in Yu-cheng patients, *Environ. Health Perspect.* 59, 17-29 (1985).
17. S.-J. Lan and Y.-Y. Yen, Study of the effects of PCBs poisoning on the growth of primary school children [in Chinese; English summary], *Kaohsiung J. Med. Sci.* 2, 682-687 (1986).
18. Y. L. Guo, M.-L. Yu, C.-C. Hsu, and W. J. Rogan. Goiter, skin diseases, arthralgia, and anemia after PCB/PCDF poisoning: 14 year Follow-up of the Taiwan Yucheng cohort. *Environ Health Persp* 107,715-719 (1999).
19. P.-C. Cheng, C.-J. Chen, C.-K. Wong, and P. H. Chen, Dermatological survey of 122 PCB poisoning patients in comparison with blood PCB levels [in Chinese; English summary], *Clin. Med. (Taipei)* 7, 15-22 (1981).

20. C.-K. Wong, C.-J. Chen, P.-C. Cheng, and P. H-S. Chen, Mucocutaneous manifestations of polychlorinated biphenyls (PCB) poisoning: a study of 122 cases in Taiwan, *Br. J. Dermatol.* 107, 317-323 (1982).
21. M. Goto and K. Higuchi, The symptomatology of Yusho (PCB poisoning) in dermatology, *Fukuoka Acta Med.* 60,409-431 (1969).
22. P.-C. Cheng and K.-Y. Liu, Dermatopathological findings of PCB poisoning patients [in Chinese; English summary], *Clin. Med. (Taipei)* 7, 41-44 (1981).
23. Y.-A. Fu, Ocular manifestations of PCB poisoning and its relationships between blood PCB levels and ocular findings [in Chinese; English summary], *Clin. Med. (Taipei)* 7, 28-34 (1981).
24. Y.-A. Fu, Ocular manifestation of polychlorinated biphenyls intoxication, *Am. J. Ind. Med.* 5, 127-132 (1984).
25. R.-C. Chen, Y.-C. Chang, K.-J. Chang, F.-J. Lu, and T.-C. Tung, Peripheral neuropathy caused by chronic polychlorinated biphenyls poisoning [in English; Chinese summary], *J. Formosan Med. Assoc.* 80, 47-54 (1981).
26. R.-C. Chen, Y.-C. Chang, T.-C. Tung, and K.-J. Chang, Neurological manifestations of chronic polychlorinated biphenyls poisoning [in English; Chinese summary], *Proc. Natl. Sci. Counc. ROC(A)* 7, 87-91 (1983).
27. R.-C. Chen, S.-Y. Tang, H. Miyata, T. Kashimoto, Y.-C. Chang, K.-J. Chang, and Tung, T.-C. Polychlorinated biphenyl poisoning: correlation of sensory and motor nerve conduction, neurologic symptoms, and blood levels of polychlorinated biphenyls, quaterphenyls, and dibenzofurans, *Environ. Res.* 37, 340-348 (1985)
28. M. Ogawa, Electrophysiological and histological studies of experimental chlorobiphenyls poisoning, *Fukuoka Acta Med.* 62, 74-78 (1971).
29. L.-G. Chia and F.-L. Chu, Neurological studies on polychlorinated biphenyl (PCB)-poisoned patients, *Am. J. Ind. Med.* 5, 117-126 (1984).
30. L.-G. Chia, and F.-L. Chu, A clinical and electrophysiological study of patients with polychlorinated biphenyl poisoning, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 48, 894-901 (1985).
31. L.-G. Chia, M.-S. Su, R.-C. Chen, Z.-A. Wu, and F.-L. Chu, Neurological manifestations in polychlorinated biphenyls (PCB) poisoning [in Chinese; English summary], *Clin. Med. (Taipei)* 7, 45-61 (1981).
32. K.-J. Chang, K.-H. Hsieh, T.-P. Lee, S.-Y. Tang, and T.-C. Tung, Immunologic evaluation of patients with polychlorinated biphenyl poisoning: determination of lymphocyte subpopulations, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 61, 58-63 (1981).
33. K.-J. Chang, K.-H. Hsieh, S.-Y. Tang, T.-C. Tung, and T.-P. Lee, Immunologic evaluation of patients with polychlorinated biphenyl poisoning: evaluation of delayed-type skin hypersensitive response and its relation to clinical studies, *J. Toxicol. Environ. Health* 9, 217-223 (1982).
34. K.-J. Chang, K.-H. Hsieh, T.-P. Lee, and T.-C. Tung, Immunologic evaluation of patients with polychlorinated biphenyl poisoning: determination of phagocyte Fc and complement receptors, *Environ. Res.* 28, 329-334 (1982).
35. Y.-C. Wu, R.-P. Hsieh, and Y.-C. Lü, Altered distribution of lymphocyte subpopulations and augmentation of lymphocyte proliferation in chronic PCB poisoned patients [in English; Chinese summary], *Chin. J. Microbiol Immunol.* 17, 177-187 (1984).
36. Y.-C. Wu, Y.-C. Lü, H.-Y. Kao, C.-C. Pan, and R.-Y. Lin, Cell-mediated immunity in patients with polychlorinated biphenyl poisoning [in English; Chinese summary], *J. Formosan Med. Assoc.* 83, 419-429, (1984).
37. K.-J. Chang, J.-S. Chen, P.-C. Huang, and T.-C. Tung, Study of patients with polychlorinated biphenyls poisoning. I. blood analyses of patients [in Chinese; English summary], *J. Formosan Med. Assoc.* 79, 304-313 (1980).
38. M.-L. Yu, Y. L. Guo, C.-C. Hsu, and W. J. Rogan. Menstruation and reproduction in women with polychlorinated biphenyl (PCB) poisoning: Long-term follow-up interviews of the women from the Taiwan Yucheng cohort. *Int J Epidemiol* 29,672-677(2000).
39. Hsu PC, Huang WY, Yao WJ, Wu MH, Guo YL, Lambert GH. Sperm changes in men exposed to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. *JAMA* 289, 2943-2944 (2003).
40. S.-J. Lan, S.-Y. Tang, and Y.-C. Ko, The effects of PCB poisoning; a study of a transplacental Yu-cheng baby: report of a case [in Chinese; English summary], *Kaohsiung J. Med. Sci.* 3, 64-68 (1987).
41. K.-C. Wong and M.-Y. Hwang, Children born to PCB poisoning mothers [in Chinese; English summary] *Clin. Med. (Taipei)* 7, 83-87 (1981).
42. K.-L. Law, B.-T. Hwang, and I.-S. Shaio, PCB poisoning in newborn twins [in Chinese; English summary], *Clin. Med. (Taipei)* 7, 88-91 (1981).
43. R. W. Miller, Teratogenesis, *Environ. Health Perspect.* 60, 211-214 (1985).
44. W. J. Rogan, PCBs and Cola-colored babies: Japan, 1968, and Taiwan, 1979, *Teratology* 26, 259-261 (1982).

45. Y. L. Guo, C.-J. Lin, W.-J. Yao, J. J. Ryan, and C.-C. Hsu. Musculoskeletal changes in children prenatally exposed to polychlorinated biphenyls and related compounds (Yu-Cheng children). *J Toxicol Environ Health* 41,83-93 (1994).
46. W. J. Rogan, B. C. Gladen, Y. L. Guo, and C.-C. Hsu. Sex ratio after exposure to dioxin-like chemicals in Taiwan. *Lancet* 353, 206-207 (1999).
47. I. del Rio-Gomez, T. Marshall, P. Tsai, Y. H. Shao, Y. L. Guo. Number of boys born to men exposed to polychlorinated biphenyls. *Lancet* 360, 143-144 (2002).
48. S.-J. Lan, Y.-Y. Yen, C.-H. Yang, C.-Y. Yang, and E.-R. Chen, A study on the birth weight of transplacental Yu-cheng babies [in Chinese; English summary], *Kaohsiung J. Med. Sci.* 3, 273-282 (1987).
49. W. J. Rogan, B. C. Gladen, K.-L. Hung, S.-L. Koong, L.-Y. Shih, J. S. Taylor, Y.-C. Wu, D. Yang, N. B. Ragan, and C.-C. Hsu, Congenital Poisoning by polychlorinated biphenyls and their contaminants in Taiwan, *Science* 241, 334-336 (1988).
50. S.-H. Ju, Y.-J. Chen, Y.-C. Chen, and C.-C. Hsu, Follow-up study of growth and health of children born to mothers intoxicated by polychlorinated biphenyls [abstract], *Pediatr Res* 28, 93A (1992).
51. B. C. Gladen, J. S. Taylor, Y.-C. Wu, N. B. Ragan, W. J. Rogan, and C.-C. Hsu. Dermatological findings in children exposed transplacentally to heat-degraded polychlorinated biphenyls in Taiwan, *Br. J. Dermatol.* 122, 799-808 (1990).
52. M. M.-L. Hsu, C.-P. Mak, and C.-C. Hsu. Follow-up of skin manifestations in Yu-Cheng children. *Br. J. Dermatol.* 132, 427-432 (1995).
53. W.-Y. Chao, C.-C. Hsu, and Y.-L. Guo. Middle-ear disease in children exposed prenatally to polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans. *Archives of Environmental Health* 52, 257-262 (1997).
54. S. L. J. Wang, T. T. Chen, J. F. Hsu, C. C. Hsu, L. Chang, J. J. Ryan, Y. L. Guo, G. H. Lambert. Neonatal and childhood teeth in relation to in utero exposure to PCBs/PCDFs- The observations from Yucheng children in Taiwan. *Env. Res.* 93, 131-137 (2003).
55. C.-C. Hsu, C.-C. Chen, W.-T. Soong, S.-J. Sue, C.-Y. Liu, C.-C. Tsung, S.-C. Lin, S.-H. Chang, and S.-L. Liao, A six-year follow-up study of intellectual and behavioral development of Yu-cheng children: cross-sectional findings of the first field work [in Chinese; English summary], *Chin. Psychiatry* 2:26-40 (1988).
56. C.-C. Chen, C.-C. Hsu, T.-L. Yeh, S.-C. Lin, and Y.-H. Duann, A six-year follow-up study of intellectual and behavioral development of Yu-cheng children: cross-sectional findings of the second field work study [in Chinese; English summary], *Chin. Psychiatry* 2, 257-266 (1988).
57. T.-L. Yeh, C.-C. Hsu, C.-C. Chen, Y.-H. Duann, S.-C. Lin, M.-C. Wen, and M.-J. Su, A six-year follow-up study of intellectual and behavioral development of Yu-cheng children: findings during the second year of field work [in Chinese; English summary], *Chin. Psychiatry* 2,172-185 (1988).
58. Y.-C. Chen, C.-C. Hsu, W.-T. Soong, H.-C. Ko, C.-C. Chen, T.-L. Yeh, S.-C. Lin, M.-C. Wen, and M.-J. Su, A six-year follow-up study of intellectual and behavioral development of Yu-cheng children: findings during the 3rd year of field work [in Chinese; English summary]. *Chin. Psychiatry* 3, 89-98 (1989).
59. C.-C. Hsu, Y.-C. Chen, W.-T. Soong, and H.-C. Ko, A six-year follow-up study of intellectual and behavioral development of Yu-cheng (oil disease) children: cross-sectional findings of the fourth year field work [in Chinese; English summary], *Chin. psychiatry* 3 Suppl 1, 101-111 (1989).
60. Y.-C. Chen, T.-L. Yeh, and C.-C. Hsu. A six year follow-up study on the intellectual and behavioral development of Yu-cheng (oil disease) children: findings for the fifth year of field work [in Chinese; English summary], *Chin Psychiatry*, 4, 40-51 (1990).
61. Y.-C. Chen, Y.-L. Guo, and C.-C. Hsu, The cognitive and behavioral development of children prenatally exposed to polychlorinated biphenyls and contaminants: sixth-year fieldwork report, *Chin. Psychiatry* 6, 116-125 (1992).
62. Y.-C. Chen, Y.-L. Guo, C.-C. Hsu, and W. J. Rogan, Cognitive development of Yu-Cheng ('oil disease') children prenatally exposed to heat-degraded PCBs, *JAMA* 268, 3213-3218 (1992).
63. T.-J. Lai, Y.-L. Guo, M.-L. Yu, H.-C. Ko, C.-C. Hsu. Cognitive development in Yucheng children. *Chemosphere* 29, 2405-2411 (1994).
64. Y.-L. Guo, T.-J. Lai, S.-J. Chen, and C.-C. Hsu. Gender-related decrease in Raven's progressive matrices scores in children prenatally exposed to polychlorinated biphenyls and related contaminants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 55, 8-13 (1995).
65. Y.-C. Chen, Y.-L. Guo, and C.-C. Hsu, Cognitive development of children prenatally exposed to polychlorinated biphenyls (Yu-Cheng children) and their siblings, *J. Formosan Med. Assoc.* 91, 704-707 (1992).
66. Y.-C. Chen, M.-L. Yu, W.J. Rogan, B.C. Gladen, and C.-C. Hsu. A 6-year follow-up of behavior and activity disorders in the Taiwan Yu-cheng children. *American Journal of Public Health* 84, 415-421 (1994).
67. Y.-L. Guo, Y.-C. Chen, M.-L. Yu, C.-C. Hsu. Early development of Yu-cheng children born seven to twelve years after the

Taiwan PCB outbreak. *Chemosphere* 29, 2395-2404 (1994).

68. T. J. Lai, X. C. Liu, Y. L. Guo, N. W. Guo, M. L. Yu, C. C. Hsu, W. J. Rogan. A cohort study of behavioral problems and intelligence in children with high prenatal polychlorinated biphenyls exposure. *Arch. General Psychiat.* 59, 1061-1066 (2002).
69. Y.-L. Guo, P.-C. Hsu, C.-C. Hsu, and G. H. Lambert. Sperm changes in human prenatally exposed to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. *Lancet*, 2000.
70. G. H. Lambert, D. A. Schoeller, A. N. Kotake, C. Flores, and D. Hay, The effect of age, gender, and sexual maturation on the caffeine breath test, *Dev. Pharmacol. Ther.* 9, 375-388 (1986)

持久性有機污染物質的流行病學探討

王淑麗 國衛院環職組

Environmental Epidemiological Studies of Persistent Organic Pollutants (Shu-Li Wang et al, DEHOM NHRI)

Among the impotent environmental pollutants and the related health effects in Taiwan, we have updates on persistent organic pollutants (POPs) since last dioxin meeting. These pollutants are ubiquitous and particularly prevalent in industrialized countries with high-density incinerators. They are environmental endocrine disruptors that have half-lives of 7-10 years in the human body. These xenobiotics exhibit adverse effects on development, endocrine systems, neural systems, immunity, and reproduction, even at background exposure levels. Some of the chemicals such as 2,3,7,8-tetrachlorinated-p-dioxin (TCDD) is group I human carcinogen by International Agency for research on Cancer (IARC). The POPs research in DEHOM includes dioxins, polychlorinated biphenyls, and organochlorine pesticides. The health effects published include thyroid hormone regulation changes, altered steroid hormone metabolisms, and occurrence of endometriosis.

We established the free transfer of dioxins and PCBs from mother to fetus through placenta. Placenta levels of the compounds could be served as in utero exposure for perspective observations such as the offspring growth and development. As shown in figure 1, the placenta concentrations were highly correlated with the levels in maternal venous blood, breast milk, and the infant cord blood. We also evaluated accumulative dose of dioxins and PCBs in infants with exclusively breastfeeding, partial breastfeeding, and formula feeding (figure 2). We have suggested that breastfeeding should be continuously promoted after the comparisons with other countries and reference to the World Health Organization (WHO) guideline.

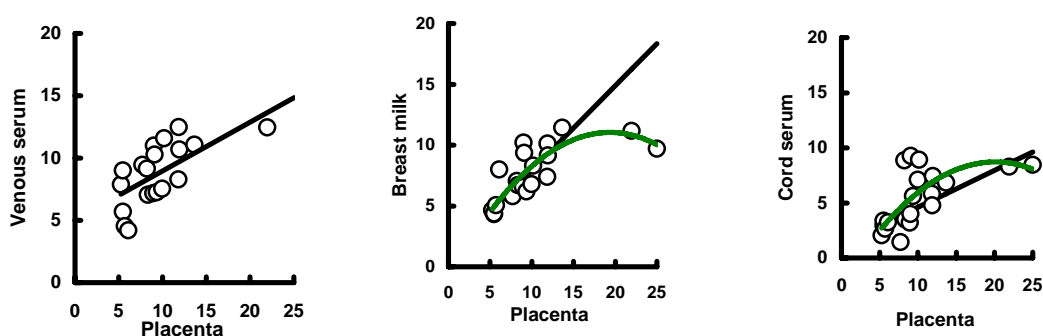


Figure 1. Relationship between the total level of dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) in TEq for placenta and those for breast milk, venous serum, and cord serum.

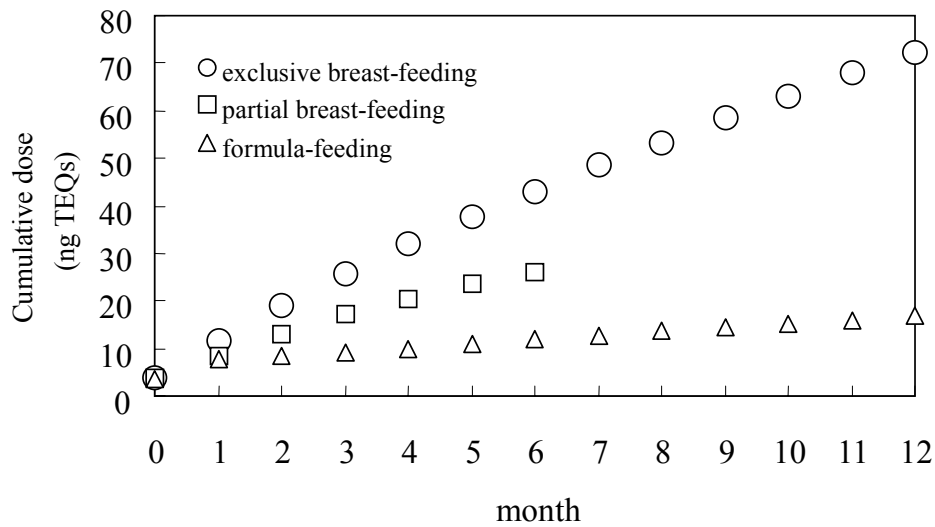


Figure 2. WHO-TEQ accumulative dose for infants who were exclusively breastfed, partially breastfed, and exclusively formula-fed from birth to the age of 1 year

We studied transplacental exposure to dioxins/PCB and thyroid/growth hormones in 118 newborns with detailed assessment of both structural and functional assessments. Multivariate analyses showed independently and significantly decreased FT₄*TSH (free thyroxine * thyroid stimulating hormone) with increasing non-ortho PCBs ($r = -0.2$, $p < 0.05$) (Figure 3). We suggest that significant FT₄ feedback alterations to the hypothalamus result from in-utero exposure to non-ortho PCB. Considering the vast existence of bio-accumulated dioxins and PCB and the resultant body burden in modern society, we suggest routine screening of both thyroid hormone levels and thyroid function in newborns.

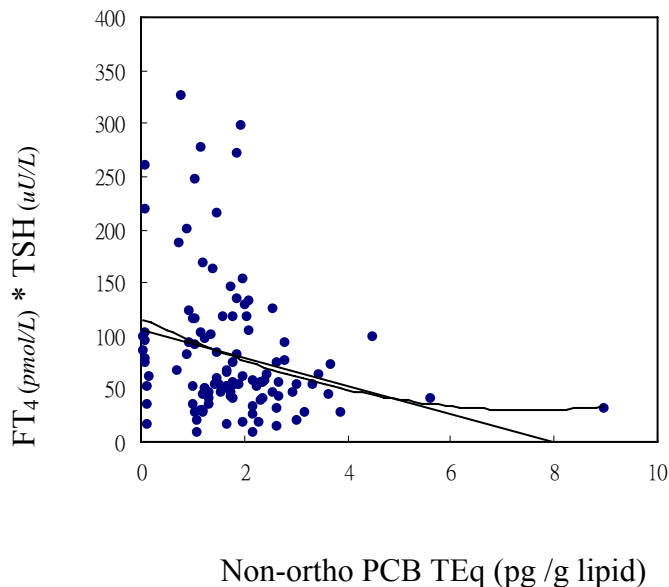


Figure 3. Decreased FT₄ * TSH levels according to concentrations of non-ortho-polychlorinated biphenyls (pg-TEq/g lipid) (By general linear model: $FT_4 * TSH = 8.32 - 1.05 * (\text{non-o-PCB})$; $R = 0.245$, $p = 0.009$. By quadratic model: $FT_4 * TSH = 9.06 - 1.77 * (\text{non-o-PCB}) + 0.116 * (\text{non-o-PCB})^2$; $R = 0.261$, $p = 0.022$)

Estrogen levels have been positively associated with breast cancer risk in the prospective cohort study. The carcinogenic effect of estrogens may be attributed to the initiation of estrogen metabolism by cytochrome P450 enzymes CYP1B1, CYP1A1, and CYP1A2. As shown in figure 4, dioxins, including PCDFs and some PCBs, can induce CYP1A1, CYP1A2, and CYP1B1 gene expression by serving as aryl-hydrocarbon receptor (AhR) agonists. The quinone metabolites of 4-OH-E₂ can interact with DNA and, in turn, lead to depurination of DNA – a potential mutagenesis event. Indeed, a high 4-OH-E₂/2-OH-E₂ ratio has been suggested as a marker for breast neoplasm. We examined the relationship of dioxin/PCB exposure to levels of estrogen metabolites in the sera of 50 pregnant women aged 25-34 years. The ratio of 4-OH-E₂/2-OH-E₂ decreased with increasing exposure to 2,3,7,8-TCDD ($\beta = -0.124$, $p = 0.004$ by general linear regression model, $R = 0.4$) (Figure 5). Thus altered estrogen catabolism might be associated with body burden of dioxins. It is necessary taking exposure situation into consideration when using the hydroxyl estradiol ratio as a breast cancer marker.

Ongoing studies include dioxins as etiologic factor for endometriosis, and the explorations in high dioxin exposure area in Tainan. Mission was directed also to the investigation of decreased body burden and excess effect in our high exposure group of people such as PCB incident cohort.

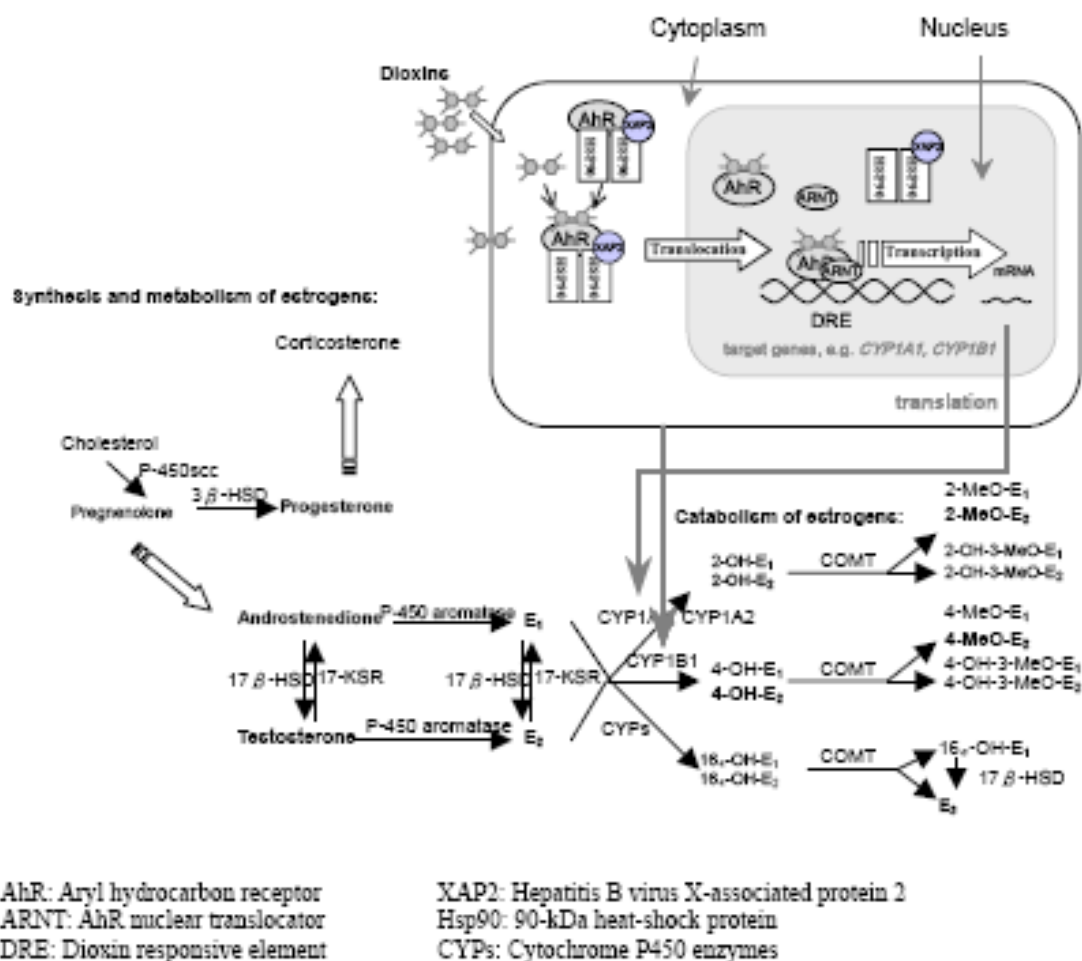
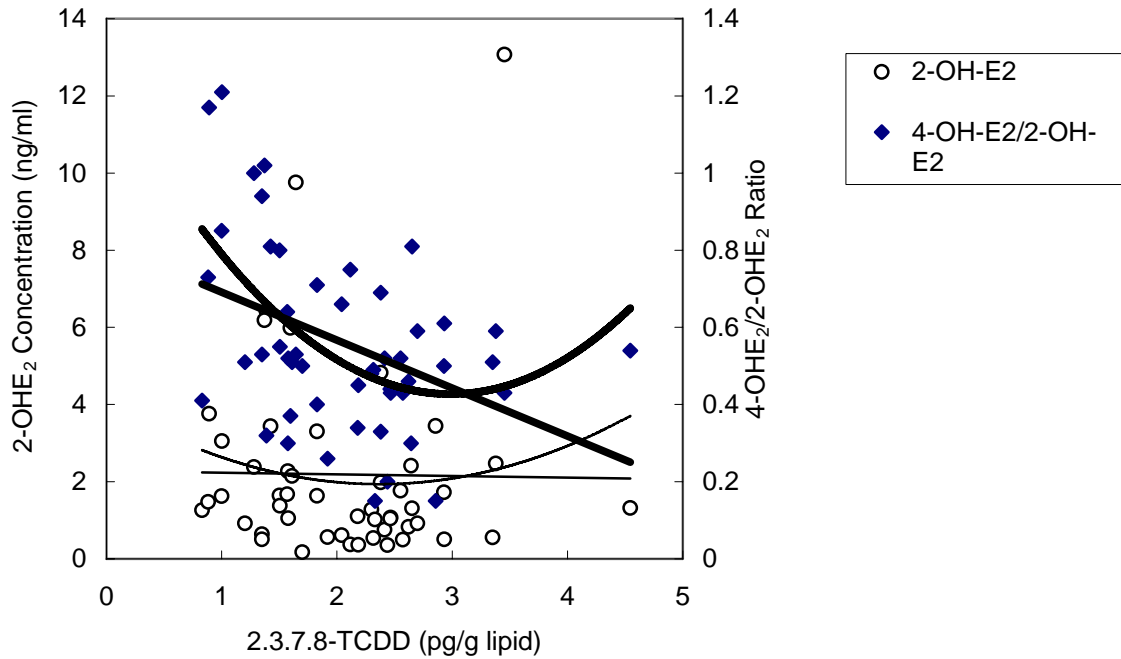
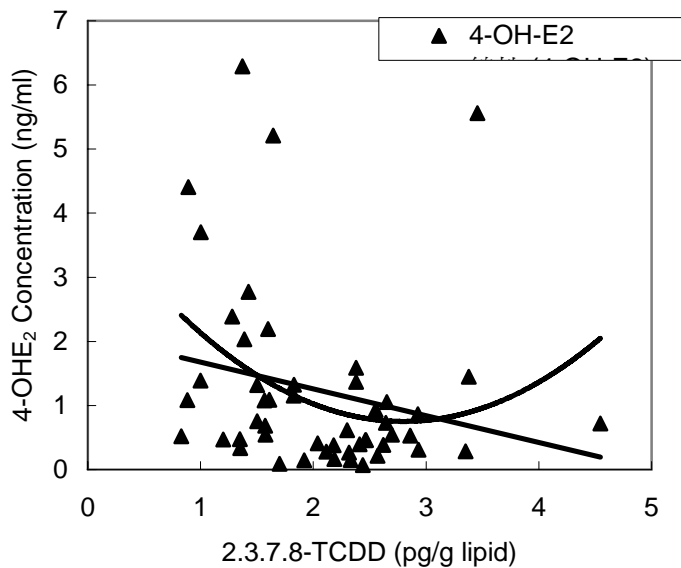


Figure 4. Estrogen metabolism and catabolism and potential modifications by dioxins or dioxin-like compounds



$2\text{-OH-E}_2 = -0.04 * (\text{TCDD}) + 2.28$ ($p=0.93$, $R^2=0.0002$)
 Quadratic model:
 $2\text{-OH-E}_2 = 0.37 * (\text{TCDD})^2 - 1.77 * (\text{TCDD}) + 4.03$
 ($p=0.66$, $R^2=0.02$)

$\text{Ratio} = -0.124 * (\text{TCDD}) + 0.82$ ($p=0.004$, $R^2=0.16$)
 Quadratic model: $\text{Ratio} = 0.09 * (\text{TCDD})^2 - 0.55 * (\text{TCDD}) + 1.25$
 ($p=0.001$, $R^2=0.27$)



$4\text{-OH-E}_2 = -0.42 * (\text{TCDD}) + 2.09$ ($p=0.12$, $R^2=0.05$)
 Quadratic model:
 $4\text{-OH-E}_2 = 0.43 * (\text{TCDD})^2 - 2.39 * (\text{TCDD}) + 4.10$ ($p=0.06$, $R^2=0.12$)

Figure 5. Relations of 2.3.7.8-tetra-chlorinated dibenzo-p-dioxins (TCDD) concentration to 2-OH-E₂ concentration (left axis of upper panel), 4-OH-E₂/2-OH-E₂ ratio (right axis of upper panel), and 4-OH-E₂ concentrations (lower panel)

二仁溪河口魚體體內多氯聯苯暴露途徑之研究

傅崇德^{1,2} 吳先琪¹

摘要

台南市灣裡地區的二仁溪河口之土壤、河川底泥及大氣環境中多氯聯苯含量始終為台灣地區之最。由於河口區域為許多水棲生物之覓食及生長空間，因此確定該區域中生物體內多氯聯苯之生物累積量及暴露途徑，對建立風險評估模式而言，實有其必要性也同時為最重要之基本資料。本研究旨在透過河口區域之魚體及底泥樣本之採集和多氯聯苯之分析，建立基本之底泥受多氯聯苯污染之資料庫，並透過季節性之變動差異將河口區域內之污染特性作進一步之探討，並將其和魚體之間之關係予以釐清。同時藉由分析河口區域和其他區域為棲息環境內魚體體內累積特性之不同，確立其間之差異性亦同時作為確立魚體暴露途徑之佐證。

實驗結果發現，降雨後河口區域之底泥不但在粒徑、有機質組成、PCB 含量，甚至同源物分布上均和降雨前有極大之差異。而觀察降雨前後魚體內多氯聯苯之分布型態，亦發現有顯著之差異($p < 0.001$)，降雨後魚體內之低氯數多氯聯苯比例的確隨著底泥之增加而增加，顯示降雨後底泥內 PCB 型態之變化快速的反應在以其為食物的底棲性魚體內。証實魚體之暴露途徑中底泥是主要之來源。而在不同之棲地所採集之魚體樣本中，魚體內 PCBs 濃度及型態分佈，和其棲地、污染程度及污染年代有相當之關連，安平港區由於污染時間較久，因此低氯數物種多半已經由大氣或水體浸淋而消失，只剩下揮發性低且溶解性低之物種殘存。而二仁溪流域中由於大規模之重金屬回收作業，所以具有最高之濃度。至於養殖池，由於沒有污染史加上未接觸受污染底泥，所以具有最低之濃度及最高之低氯數物種比例。

透過本項研究結果，建立魚體體內多氯聯苯暴露之途徑，同時揭示灣裡地區在三爺公溪下游至海口之間之區域仍殘留相當濃度之多氯聯苯在底泥中，這些多氯聯苯之來源一部份是來自於昔日河岸邊回收廢五金所遺留，另一部份則可能是灣裡區域內昔日受污染表土在暴雨逕流中攜入。殘存在底泥中之多氯聯苯可能透過底棲生物之攝取而進入食物鏈甚或人類消費者體內，為避免此一情勢之發生，有效且較大規模的監測此區域之底泥及該河川集水區域內表土之多氯聯苯含量，以作為進行土壤及底泥整治之重要依據，是目前刻不容緩之課題。

關鍵詞：多氯聯苯；二仁溪；底泥；暴露途徑；大鱗鯪

-
1. 國立台灣大學環境工程學研究所
 2. 萬能科技大學環境工程學系

一、前言

多氯聯苯為具有高度熱穩定性、高化學穩定性、低水溶性及高脂溶性之混合物，因此早期常被使用於絕緣及潤滑用途，許多電容器及變壓器中均大量使用此種混合物。然而由於其在環境中不易分解及在生物體內之低代謝性，造成許多生物體內均發現有生物累積之現象。由於多氯聯苯為致癌性物質，因此在 2001 年之斯德哥爾摩公約中和其他十一種持久性有機污染物一同被明定進行全球性之管制措施¹。然而由於在更早之前台灣地區發生之多氯聯苯中毒案件，我國更早於 1987 年便將其列為毒性物質而全面禁用。即使如此，在許多沿海河口及河川生物中仍發現多氯聯苯之蹤跡^{2,3}。其中台南市灣裡地區的二仁溪河口之土壤、河川底泥及大氣環境中多氯聯苯含量始終為台灣地區之最。即使多氯聯苯已禁用多年，研究中仍指出該區域內之魚類體內仍累積有高量之 PCBs，顯示多氯聯苯之問題並未因全面禁用而獲得解決。由於河口區域為許多水棲生物之覓食及生長空間，因此確定該區域中生物體內多氯聯苯之生物累積量及暴露途徑，對建立風險評估模式而言，實有其必要性也同時為最重要之基本資料。

一般持久性有機污染物在魚體內之暴露途徑並不完全相同，可能來自於水體⁴、底泥⁵或大氣⁶。取決之因素包括污染源之種類、距離污染源之距離、土壤及地表水之揮發作用、大氣中沈降作用及再揮發作用、生物食物鏈轉換⁷及污染物之物化特性等。對於一些從未使用過多氯聯苯之區域如兩極或偏遠區域，大氣之傳輸無疑是主要之途徑。然而對於一般曾使用過多氯聯苯之工業化國家及中緯度的區域而言，除了大氣擴散之因子以外，水體及底泥則是較為可能之污染源。

然而針對魚體體內 PCBs 之暴露途徑則一直有所爭辯，早期之研究中認為水體中之 PCBs 是魚體主要之暴露來源，

主要之立論點是認為魚體之總交換量遠大於攝食之食物量。然而最近之研究則逐漸偏向於環境中之營養物質及底泥似乎才是其主要之暴露來源，許多人工圈養實驗結果證實食物或是底泥才是主要之暴露途徑。但存在於這些實驗之間的設計及差異往往影響了其探討暴露途徑的正確性。一般可以接受之想法是生長之環境中具有受污染之底泥時，生物體內污染物之主要暴露途徑為底泥，而生長於不含有污染底泥之區域者之途徑則較有可能為經由大氣沉降至水體所造成。然而在兩個截然不同之區域中，同樣重污染區之底泥清除後，紐約哈得遜河之魚體暴露途徑較有可能是底泥或食物⁸，而丹麥之河口區域卻顯示水體仍是重要來源之一，因此暴露途徑似乎仍是必須取決於生態區域的特性而異。

台南市灣裡地區的二仁溪畔在八十年代至九十年代初期是全台灣廢五金回收之重要區域之一，由於在許多非法回收過程中將許多含有多氯聯苯之電容器及變壓器拆解、燃燒及酸洗，以致造成該區環境內之多氯聯苯含量始終為台灣地區之最。一些以底層碎屑為主之魚種如大鱗鯪⁹，¹⁰，在許多研究中均指出其體內累積量更是接近食品管制標準³。而該區域附近之養殖池內的魚體亦發現相當程度之多氯聯苯¹¹，在在均顯示其生物累積之傾勢不可輕忽。然而為求解決此一問題，在採取積極之施政措施或是藉助於工程手段之前，確立暴露途徑實為求根本並顧及事半功倍之效所不得不先行評估之前提。

本研究旨在透過河口區域之魚體及底泥樣本之採集和多氯聯苯之分析，建立基本之底泥受多氯聯苯污染之資料庫，並透過季節性之變動差異依照多氯聯苯之分布特性將河口區域內之污染源及污染特性作進一步之探討，並將其和魚體之間之關係予以釐清。另外，由於魚類在以河口區域和養殖池或是其他區域為棲息環境之差異性，因此其累積之來源及暴露途徑亦應不同，所以藉由不同生長區域內魚體體內

累積特性，確立其間之差異性亦同時作為確立魚體暴露途徑之佐證。

二、研究方法

樣品之採集 本研究選定污染最嚴重之二仁溪作為研究對象，於 2002 至 2004 年雨季前(五月)及雨季後(九月)在河口區域內採取魚體及底泥樣本。

其中底泥樣本選定十一個採樣點進行採集，並編號以 EJ1 至 EJ11 表示(如圖-1)。採樣點分布起自三爺公溪上游(EJ1)經過三爺公溪匯流口(EJ2)、南定橋(EJ4)、污水抽水站排放口(EJ6)、白沙崙安檢站(EJ8)至二仁溪出海口(EJ9、EJ10、EJ11)。底泥採樣方法為使用污泥抓斗於目標區處抓取表層之底泥，同時為求取代表性，每一採樣點均採樣三次後將污泥混合成一單一樣本，冷藏後儘速送回實驗室保存。

魚體樣本則分別採自二仁溪河口中段、附近之養殖池及安平港之航道內。

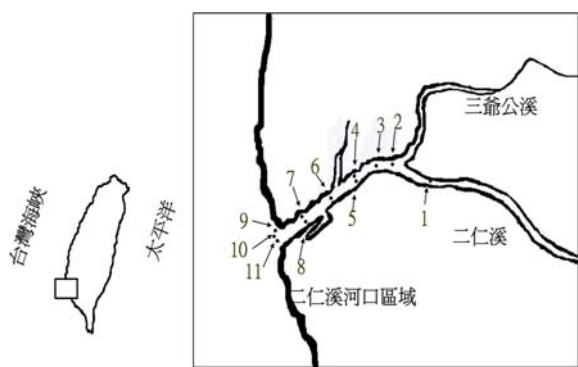


圖-1 採樣區域及採樣點示意圖

樣品之分析 底泥樣品經過一百小時之低溫真空乾燥後(-50°C, 100 mtor)，以不鏽鋼研鉢將底泥樣品粉碎，然後取約 10 克乾重之底泥進行前處理。將樣品置於殘量級之正己烷/丙酮(150 mL: 150 mL)混合溶劑中，以 70°C 之溫度進行 36 小時之萃取，萃取完之溶劑再以減壓濃縮機濃縮至 1 mL 後進行硫酸、酸性矽膠、矽酸鎂淨化及除硫，最後吹氮濃縮至 1mL 以備分

析。

魚體樣本則取約 5 克乾重之魚體組織進行前處理。將樣品經萃取、濃縮後以濃硫酸(Merck)淨化，最後再經過淨化後吹氮濃縮至 1mL 以備分析。組織內之油脂分析則是利用重量法，秤取萃取瓶空重及經過硫酸淨化後殘存油脂之總重以求得內含之油脂量。

多氯聯苯之定量分析標準品為 1:1:1 等體積混合之 Aroclor 1242、Aroclor 1254 及 Aroclor 1260。將各單個同源物依照停留時間定性並依照其在標準品內之比例反求其含量。分析設備為配備 ⁶³Ni 電子捕捉偵測器(ECD)之氣相層析儀(Agilent 6890N)，分析管柱長度 30m，管徑 0.25mm，膜厚 0.25um(J.W. RT5mx)，塗覆物為 5% phenyls。氣相層析儀升溫條件為初始溫度 80°C，定溫 4 分鐘後以每分鐘 20°C 之速率至 160°C，然後以每分鐘 2°C 之速率至 250°C，最後以每分鐘 25°C 之速率至 295°C。注射口溫度設定為 250°C，偵測器溫度則為 295°C。本研究中共計鑑別出 40 個同源物，佔整體多氯聯苯標準品質量為 80%。

為確保分析數據之可信度，在品保品管方面於每批樣品中均進行空白、重複及添加實驗。樣品於萃取前加入十氯聯苯(PCB209, Decachlobiphenyl)作為擬似標準品以檢核整個實驗流程之回收率。淨化完成之樣品於注射入氣相層析儀前加入 PCB30 (2,4,6-Trichlorobiphenyl) 作為內標準品。本研究同時利用標準參考物質(NIST1394a)檢核實驗方法之可行性及回收率，以同源物為基準之同源物回收率介於 73 % (CB118) 至 90 % (CB138)。以同源物為基準之方法偵測極限為 0.057± 0.02 ng/g，儀器偵測極限為 0.047 ± 0.02 pg，底泥樣本中所添加之 PCB209 回收率為 71± 9 %。魚體樣本中之 PCB209 回收率則為 85 ± 8%。所有分析之數據均未再經過回收率校正。

三、結果與討論

底泥基本性質之變化 採樣期間之底泥粒徑之變化如圖-2 所示。在五月降雨前之分析結果顯示，顆粒之粒徑由上游之以微細顆粒為主(80%)，逐漸向下游增加，至接近河口時，微細顆粒之比例已降至10%以下，而降雨後之粒徑分布變化則相對較不明顯。另一方面，底泥有機質之含量則在除了河口區域以外之區域內有降低之趨勢。此變化結果顯示在降雨前後的採樣期間在河口區域內顆粒的基本性質有明顯的變化，包括粒徑由以粗大顆粒為主轉成以微細顆粒為主之組成，而同時該區域內之有機質亦大幅增加，顯示河口區域內之底泥成分和原先之組成有所不同，表示由於降雨造成底泥性質之變化。

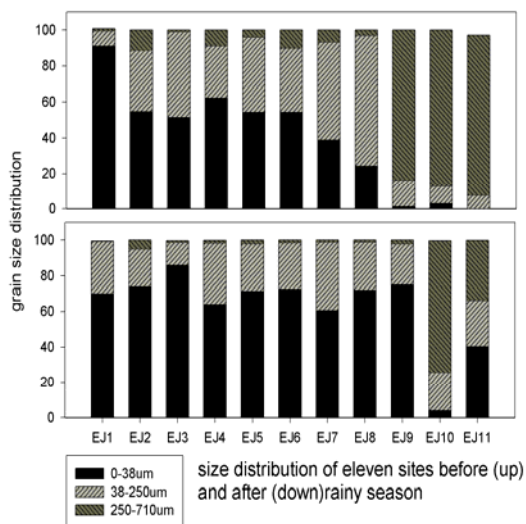


圖-2. 底泥中粒徑之組成比例在不同採樣點之變化

底泥中多氯聯苯含量 不同採樣點及採樣時間之底泥中 PCBs 含量如圖-3 所示。另由於 Burgess et al., (2001)曾指出多氯聯苯在海中底泥之分布在考慮有機質、碳黑、表面積、粒徑大小及元素組成後以有機物質含量最能表示 PCBs 之含量關係，因此本研究同時以有機質修正後之多氯聯苯含量表示如圖-3，在雨季之前，以二仁溪上游處(EJ1)之濃度最低，南定橋上下

游處(EJ4-EJ7)的河口中段最高。EJ1 所代表之位置為未經台南地區家戶及工業污水排入之二仁溪底泥，同時距離昔日燃燒廢五金之區域仍有一小段距離，所以在本研究所代表的是本區域底泥之背景濃度。而相較於其他採樣點偏低之濃度值亦證實其近似於背景濃度的特性。

相較於 EJ1，位於南定橋下之 EJ4 採樣點則測出最高之濃度，此和該處位於昔日廢五金回收之主要區域應有極大之關聯，顯示由該處河岸所沖入之表土有相當大之貢獻量。而三爺公溪匯流處相較於南定橋上游處較高之濃度，則可能是來自於三爺公溪所攜入之廢(污)水及昔日兩岸表土沖入河川中累積所致。至於河口下游之區域，其濃度相當低，表示此區域售多氯聯苯之污染並不明顯。然而在雨季之後，除了三爺公溪以上，底泥中多氯聯苯之含量均有增加，亦即位在雨水抽水站排水口(EJ4)至海口(EJ11)之間的底泥，則呈現濃度逐步增加之趨勢，表示在此區域內之底泥沉積傾向上，有愈趨海口濃度越高之情形。其中並以海口中心之位置最高，達到 3315 ng/g。由於 EJ6 以下各點之河兩岸並無回收廢五金之歷史紀錄，所以直接來自兩岸表土之貢獻應較為有限。加上其濃度高於河口中段之濃度，顯示來自該區之底泥之可能性也有限，至於降雨所造成之濕沉降所帶來之增加值也相當有限，所以抽水站排水口於雨季所貢獻之暴雨及地表逕流，便較有可能是造成此一增加傾勢的可能原因。

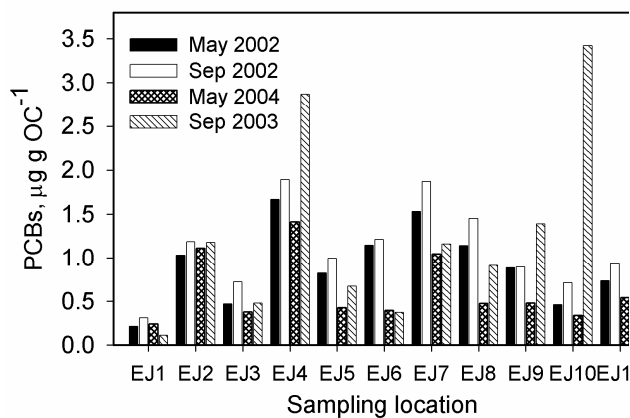


圖-3 二仁溪各採樣點底泥內經有機質校正之總 PCB 濃度

同源物分布 利用鑑定出之十二個環境中主要同源物進行特徵分布比較，分別將其依照含氯比例分為比較之代表，據此訂出三氯數及四氯數多氯聯苯之佔整體之比例為低氯數多氯聯苯百分比，表示成 light PCB (IPCBs)，同理五氯和六氯族群表示成中氯數之百分比或 medium PCBs (mPCBs)，以及七氯數及八氯數之和的高氯數多氯聯苯或 heavy PCBs (hPCBs)。各採樣點之低氯數物種比例在降雨前後之變化如圖-4。

由低氯數同源物之比例發現，降雨後河口區域之底泥不但在粒徑、有機質組成、PCB 含量，甚至同源物分布上均和降雨前有極大之差異，利用主成分分析之結果亦證實此點，如圖-5 所示。

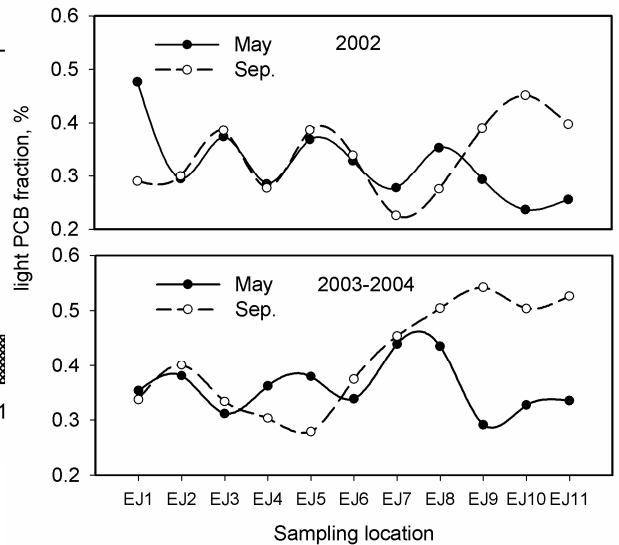


圖-4. 各採樣點之低氯數物種比例在降雨前後之變化¹²

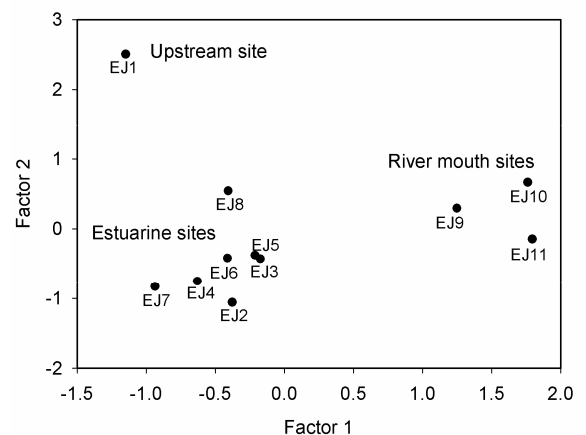


圖-5. 底泥中低氯數物種在 2002 年雨季前後之變化的主成分分析圖¹²

許多學者¹³⁻¹⁵曾提出利用土壤及底泥中含氯之比例可判斷大尺度範圍中污染物之來源，由於低氯數之多氯聯苯同源物具有較高之水中溶解度以及蒸汽壓，所以具有較高之潛勢會由污染源逸向大氣或水體中，所以通常發現較高之低氯數同源物之區域，常可以描述為一類似于背景濃度之分布區。相對於前者，中高氯數的多氯聯苯同源物之溶解度及蒸汽壓相對較低，所以向其他區間溢散之傾勢較低，所以在環境中之移動性較低，因此常會停留在污染源附近，而具有此類特性之樣本常被認

為是接近污染源之區域。利用此一觀念，對照本次採樣的各個河段。首先是 EJ1，此位置於河段上游處具有最低之多氯聯苯濃度以及最高之低氯數百分比，確實是類似於背景位置之特性。而南定橋上下游位置 (EJ3、EJ4 及 EJ5) 接近昔日燃燒廢五金之區域，具有較高之中高氯數比例，顯示了該區域應該接近污染之源頭，同時也印證了該處舊日不當處理廢五金所造成之遺害。然而對應至河口區域較高之低氯數物種比例，卻無法解釋成大氣或遠距輸送，因為其含量相較於背景點而言，實難將其歸類於背景值，但其較高之低氯數物種比例又和所謂之污染源特性有所不同。

為探討此一問題，應該界定清楚研究區域之尺度，於全球之尺度下，所謂 grasshopper 之效應應是無庸置疑的¹⁶。然而對於一個單純之小尺度河口區域而言，此效應應不至於如此明顯，而對照於此污染區域之污染物種比例，之前之研究曾指出此區域內之多氯聯苯組成類似於 Aroclor1242¹¹，表示其中低氯數之物種佔有較高之比例，所以附近環境中若有尚未完全受環境自然風解之 PCBs，則可能於降雨中被沖刷帶入河口區域，造成該處之底泥中具有高含量及高低氯數物種之比例。

觀察於 EJ6 到海口段之變化，雖然變化相當一致且低氯數之比例也較高，但是其原因卻較難直接推論，若是貿然以其較高之低氯數比例而認定其為背景值，則可能失之鹵莽。因為其低氯數比例雖高於 EJ1，但其濃度卻遠高於背景值，所以在認定上之理由有些牽強。另一方面其所在位置卻顯露出一可能的原因，便是來自於雨水下水道之暴雨逕流所攜帶之懸浮微粒。由於圖-4 中顯露出之交叉點之最明顯外來影響應是雨水下水道之排入，而圖-3 中多氯聯苯總量之變化似乎也隱喻了暴雨逕流所帶出之懸浮微粒在下游處逐步沈積之效應。因此此區之多氯聯苯來源之一應可能是下水道集水區內之表土，在暴雨中被沖刷入下水道中並沈積在海口而造成。

由於早期之廢五金回收在整個灣裡地區內廣泛進行，所以其表土中仍殘存一定含量之多氯聯苯。由於表土中之多氯聯苯僅能透過大氣作溢散，且此作用相對於雨水之浸淋作用較低，加上昔日污染源頭處之多氯聯苯中低氯數之同源物原本便較高氯數之為高，因此儘管揮發性較大之二氯數及三氯數物種溢散較高，但仍有相當比例之低氯數物種留存下來，並保留接近原始多氯聯苯之組成分配。所以這些表土上應累積有一定程度之 PCBs，這些表土也許被其他物質所遮蓋，但是在雨季中卻可能被沖刷入河流中並堆積在河口區域。

至於為何一些昔日之高污染區域之底泥中的低氯數物種會較低之原因則為這些物種在長期處於水中而被溶出而帶離此區域。因此當每年之雨季時，一些尚未完全風解(unweathered)的 PCBs 便被帶入進入河口區域內，然後經過一年之河水沖刷，其低氯數物種便逐漸減少，而類似於降雨前之特性。直到下一次之雨季來臨時，未完全風解(unweathered)的 PCBs 再被帶入進入河口區域內，而形成一季節性之循環。

河口區域魚體內之多氯聯苯 如果底泥是魚體之暴露來源，則底泥中多氯聯苯之變化理論上將會反映至以此底泥為食物來源之魚體身上。圖-6 為同時間魚體內之含量及同源物分布特性之變化。

結果顯示魚體內之多氯聯苯含量在雨季前後並未有明顯之差異，此和底泥之趨勢並不十分一致，原因可能是秋季之生長稀釋作用降低了食物中多氯聯苯增加之效應。然而觀察降雨前後魚體內多氯聯苯之分布型態，則發現有顯著之差異 ($p < 0.001$)，降雨後魚體內之低氯數多氯聯苯比例的確隨著底泥之增加而增加，顯示降雨後底泥內 PCB 型態之變化快速的反應在以其為食物的底棲性魚體內。証實魚體之暴露途徑中底泥是主要之來源。

不同棲地內魚體多氯聯苯之含量及型

態變化為佐證魚體受底泥之影響，研究中同時採取了二仍溪口附近之養殖池及安平港航道內之大鱗鯪作為比對之對象。這些魚體內之多氯聯苯含量如圖-7所示。和往昔及國外其他區域之比較如表-1。魚體內之 PCBs 含量基本上和棲息區之污染程度相關，其大小依序為二仁溪口>安平港>養殖池，顯示生長區域內底泥之污染程度是造成其體內濃度差異之主要原因。

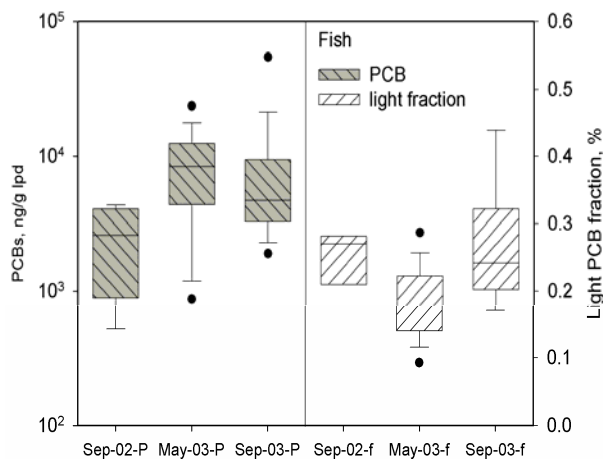


圖-6. 魚體內之多氯聯苯含量及同源物分布特性之變化

而魚體內多氯聯苯型態上之變化則如圖-8 所示。將多氯聯苯分成低中高三種氯數族群，其中代表近源污染主要之族群為五氯及六氯之中氯數物種，並以二仁溪之魚體內最高，其次為安平港及養殖池，顯示二仁溪之魚體污染為來自於該河口區域。而代表長程輸送的低氯數物種，則以養殖池最高，同時該區之樣本中 PCBs 之含量也最低，表示其主要之暴露途徑為來自於大氣輸送。此乃因該養殖池未和受污染之區域直接相連，所以池內並未有代表近源污染之中高氯數物種。至於代表高度風解之高氯數物種則以安平港為最高，表示該區域內之污染以舊有之污染為主，顯示其污染事件因發生於較早之前，且近期內無更新之污染源進入。

綜觀三地之魚體內 PCBs 濃度及型

態分佈，和其污染程度及年代有相當之關連，安平港區由於早年有拆船業之存在，所以伴隨拆船所產生之電子器材中所洩漏之 PCBs 殘留於港內，由於時間已久，因此低氯數物種多半已經由大氣或水體浸淋而消失，只剩下揮發性低且溶解性之物種殘存。而二仁溪流域中由於大規模之重金屬回收作業，所以具有最高之濃度，然而其高氯數物種較低之原因為其屬於開放之水體，不像其他兩個區域為封閉之水體，所以高氯數物種被河水淋滲而帶走之機會較大。至於養殖池，由於沒有污染史加上未接觸受污染底泥，所以具有最低之濃度及最高之低氯數物種比例。

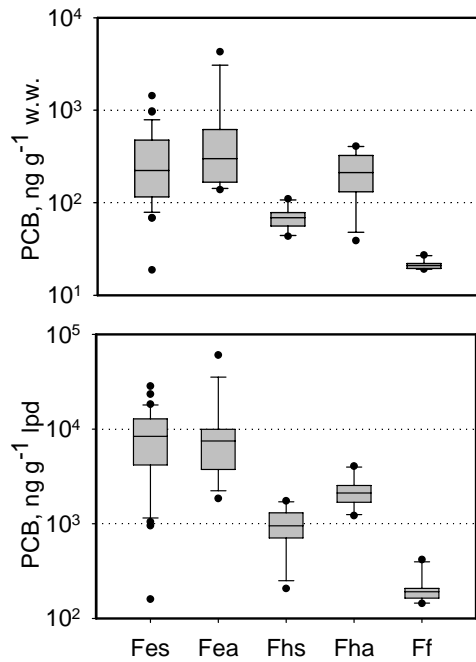


圖-7. 二仁溪河口(Fe)、安平港(Fh)及養殖池(Ff)於春季(s)及秋季(a)時所採魚體體內 PCBs 含量。

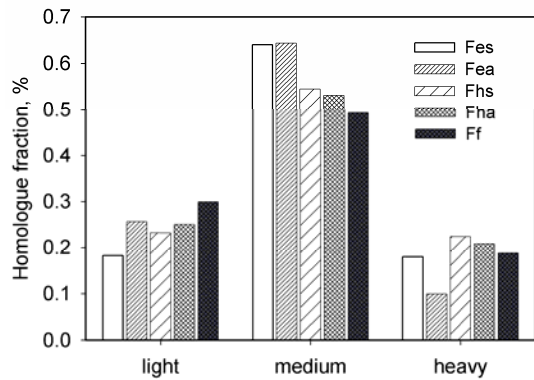


圖-8. 不同棲地內魚體體內多氯聯苯低中高含氯比例之變化¹⁷

透過本項研究結果，建立魚體體內多氯聯苯暴露之途徑，同時揭示灣裡地區在三爺公溪下游至海口之間之區域仍殘留相當濃度之多氯聯苯在底泥中，這些多氯聯苯之來源一部份是來自於昔日河岸邊回收廢五金所遺留，另一部份則可能是灣裡區域內昔日受污染表土在暴雨逕流中攜入。殘存在底泥中之多氯聯苯可能透過底棲生物之攝取而進入食物鏈甚或人類消費者體內，為避免此一情勢之發生，有效且較大規模的監測此區域之底泥及該河川集水區域內表土之多氯聯苯含量，以作為進行土壤及底泥整治之重要依據，是目前刻不容緩之課題。

參考文獻

1. Jones, K. C.; de Voogt, P., Persistent oOrganic pollutants (POPs): state of the science. *Environ. Pollut.* **1999**, 100, 209-221.
2. Chen, W. F.; Wang, H. C.; Liu, C. Z., Fish species and PCBs concentration in the Er-Jen River. *Ann. Rept. of Nat. Inst. Environ. Anal. Taiwan, R. O. C.* **1994**, 2, 305-318 (in Chinese).
3. Wang, C. H.; Huang, H. Z.; Hong, W. C., Analysis of PCBs in the fishes in rivers of Taiwan. *Ann. Rept. Nat. Inst. Environ. Anal. Taiwan, R. O. C.* **2000**, 8, 115-130 (in Chinese).
4. Bush, B.; Streeter, R. W.; Sloan, R. J., Polychlorobiphenyl (PCB) congeners in striped bass (*morone saxatilis*) from marine and estuarine waters of New York State determined by capillary gas chromatography. *Arch Environ. Contam. Toxicol.* **1989**, 19, (1), 49-61.
5. Chevreuil, M.; Carru, A. M.; Chesterikoff, A.; Boet, P.; Tales, E., Contamination of fish from different areas of the river Seine (France) by organic (PCB and pesticides) and metallic (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn) micropollutants. *Sci. Total Environ.* **1995**, 162, 31-42.
6. Carrera, G., Fernandez, P., Grimalt, J. O., Ventura, M., Camarero, L., Catalan, J., Nickus, U., Thies, H., Psenner, R., Atmospheric deposition of organochlorine compounds to remote high mountain lakes of Europe. *Environ. Sci. Technol.* **2002**, 36, 2581-2588.
7. Fisk, A. T.; Hobson, K. A.; Norstrom, R. J., Influence of chemical and biological factors on trophic transfer of persistent organic pollutants in the northwater polynya marine food web. *Environ Sci Technol* **2001**, 35, 732-738.
8. Ashley, J. T. F.; Secor, D. H.; Zlokovitz, E.; Wales, S. Q.; Baker, J. E., Linking habitat use of Hudson River striped bass to accumulation of polychlorinated biphenyl congeners. *Environ. Sci. Technol.* **2000**, 34, 1023-1029.
9. Kuo, S. R.; Shao, K. T., Species composition of fish in the coastal zones of the Tsengwen Estuary, with descriptions of five new records from Taiwan. *Zool. Stud.* **1999**, 38, 391-404.
10. Horinouchi, M.; Sano, M., Food habits of fishes in a *Zostera marina* bed at Aburatsubo. *Central Japan. Ichthyol. Res.* **2000**, 47, 163-1.
11. Ling, Y. C.; Soong, D. K.; Lee, M. K., PCDD/DFS and Coplanar PCBs in

- sediment and fish sample from the Er-Jen River in Taiwan. *Chemosphere* **1995**, 31, 2863-2872.
12. Fu, C. T.; Wu, S. C., Seasonal variation of the distribution of PCBs in sediments and biota in a PCB-contaminated estuary. *Chemosphere* **2006**, 62, 1786-1794.
 13. Ashley, J. T. F.; Baker, J. E., Hydrophobic organic contaminants in surficial sediment of Baltimore harbor: inventories and sources. *Environ. Toxicol. Chem.* **1999**, 18, 838-849.
 14. Meijer, S. N.; Steinnes, E.; Ockenden, W. A.; Jones, K. C., Influence of environmental variables on the spatial distribution of PCBs in Norwegian and U.K. soils: Implications for global cycling. *Environ. Sci. Technol.* **2002**, 36, 2146-2153.
 15. Wania, I. T.; Mackay, D., Global fractionation and cold condensation of low volatility organochlorine compounds in polar regions. *Ambio* **1993**, 22, 10-18.
 16. Wania, F.; Mackay, D., Tracking the distribution of persistent organic pollutants. *Environ. Sci. Technol.* **1996**, 30, 390A-396A.
 17. Fu, C. T.; Wu, S. C., Bioaccumulation of polychlorinated biphenyls in mullet fish in a former ship dismantling harbour, a contaminated estuary, and nearby coastal fish farms. *Mar. Pollut. Bull.* **2005**, 51, 932-939.

表-1 歷年來二仁溪流域及國外部份區域魚體體內多氯聯苯濃度¹⁷

Location	species	Concentration, ng/g	reference	note
Er-Jen River				
Er-Jen River ^s	<i>Liza macrolepis</i>	3400 ± 470	Cheng <i>et al.</i> , 1994	dw
Er-Jen River	<i>Oreochromis hybrids</i>	825 ± 451	Cheng <i>et al.</i> , 1994	dw
Er-Jen River	<i>Megalops cyprinoides</i>	918 ± 67	Cheng <i>et al.</i> , 1994	dw
Er-Jen River	<i>Liza macrolepis</i>	0-172	Hsu, 1997	dw
Er-Jen River	<i>Oreochromis hybrids</i>	130	Wang <i>et al.</i> , 2000	ww
Average of fish markets.	Oreochromis hybrid	0.18	Lung <i>et al.</i> , 2003	ww, *
Foreign area				
Housatonic River	bass	556000	Reiser, <i>et al.</i> , 2004	ww
Seine river	Rutilus rutilus	1300-16000	Chevreuil, <i>et al.</i> , 1995	dw
	white croaker	340		
San Fran. Bay	halibut	55	Fairey <i>et al.</i> , 1997	ww
	shiner surfperch	160		
Fish farm	Dicentrarchus labrax	155-294	Antunes, <i>et al.</i> , 2004	lpd

ww: Concentration of PCBs is represented as ng/g wet weight

dw: Concentration of PCBs is represented as ng/g dry weight

台灣西南海域多環芳香烴及氯化有機物之濃度及可能來源

Levels and possible sources of polycyclic aromatic hydrocarbons and chlorinated hydrocarbons along the coast of south-western Taiwan

Chon-Lin Lee^{1*}, Meng-Der Fang¹, Fung-Chi Ko²

¹Department of Marine Environment and Engineering, National Sun Yat-sen University, Kaohsiung, Taiwan, ROC

²National Museum of Marine Biology and Aquarium, Ping-Tung, Taiwan

摘要

本文主旨在回顧台灣西南海域沈積物及養殖牡蠣中多環芳香烴及氯化有機物之濃度分佈。整體而言，多環芳香烴濃度以各港區沈積物含量較高，尤其高雄港及東港漁港濃度均高於 effect range low 沈積物標準，而近岸沈積物部份則以高雄近岸含量較高。至於氯苯類及六氯丁二烯化合物亦以高雄近岸沈積物含量較高，其中六氯丁二烯以左營放流管及後勁溪口海域較高，而六氯苯則以高雄南岸較高。由氯苯類化合物之毒性指標(Toxic index)顯示左營及大林蒲放流管附近沈積物所含之氯苯類化合物可能會影響當地生物。台灣西部海域養殖牡蠣多氯聯苯含量則以鹿耳門溪養殖區較高，而以雲林縣養殖區較低，相較於南韓及美國(Mussel Watch)之牡蠣或貽貝濃度，台灣西部海域養殖牡蠣多氯聯苯之幾何平均濃度分別低於南韓及美國兩倍及五倍。

Introduction

PAHs and chlorinated hydrocarbons are ambiguous pollutants in coastal waters. Among them, some individual chemicals have been categorized as endocrine disruptors and/or PBTs (persistent, bioaccumulative and toxic chemicals) such as Benzo(a)pyrene, Hexachlorobenzene (HCB), Hexachlorobutadiene (HCBd) and Polychlorinated biphenyls (PCBs). Because PAHs and chlorinated hydrocarbons are hydrophobic pollutants, they tend to adhere to particulates when entering coastal waters. Therefore, coastal sediments can be used as a pollution-monitoring matrix for their accumulation of pollutants received from water bodies. In this work, we intend to review published results as well as our update data to obtain levels and possible sources of PAHs and chlorinated hydrocarbons along the coast of South-western Taiwan.

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), formed during the pyrolysis of virtually all organic matter, are ubiquitous organic contaminants in aquatic sediment. Their acute toxicity and sublethal effects to aquatic organisms, including the mutagenic and genotoxic potential of some PAHs through the food chain, has generated interest in the study of their composition and distribution in the environment. Anthropogenic PAHs are introduced to coastal areas via urban runoff (Hoffman et al., 1984; McCready et al., 2000), industrial processes (Simpson et al., 1996; NÆS and Oug, 1997), and vehicle exhausts and spillage of fossil fuel (Pettersen et al., 1997; Wang et al., 1999a). PAH isomer pairs were found useful in distinguishing PAH sources: e.g.

fluoranthene and pyrene (Fl/Py, MW 202) can be used to discriminate petroleum combustion from other types of combustion (Yunker et al. 2002). Some authors used isomer pairs to quantify contribution of specific combustion source based on a simple linear mixing model between two designated PAH sources (Dickhut et al. 2000; Hartmann et al. 2004).

In south-western Taiwan area, there are many fishing harbors, industrial parks dense populated cities and polluted rivers, which are more or less related to PAH emission to coastal sediments. In 1999, Fang et al (2004) measured total PAH concentrations ranged from 98.1 to 3,382 ng/g dry weight in the sediments of Shinta Harbor and its adjacent coastal area. MP/P (methylphenanthrenes/phenanthrene) values larger than 2 coincided with very low P/A (phenanthrene/anthracene) values at inner harbor stations, revealing that a significant portion of low molecular weight PAHs are probably from petrogenic pollution sources, specifically, illegal disposal of used motor oil. The 4,6-dimethyldibenzothiophene/ 3,6-dimethylphenanthrene (4,6-C₂D/3,6-C₂P) ratio is found to be more useful than the MP/P ratio in tracing petrogenic PAHs from the inner Shinta harbor area to the adjacent coastal environment. In a recent study, Fang et al. (2006) also measured PAH concentrations from the sediments of Kaoping River, Kaoping Submarine Canyon and adjacent harbors. Total PAH concentrations ranged from 22.6 to 45,100 ngg⁻¹ dry weight (dw)(Figure 1). Results of principal component analysis and hierarchical cluster analysis suggests PAHs of North-western shelf (near Kaohsiung coast), river sediment and canyon sediments were from coal burning and/or diesel vehicles, while petrogenic contribution was observed in sediments from south-eastern shelf (near Pingtung coast). Their results also indicate the seaward transport of riverine particulates is directed to north-western shelf and/or canyon.

In addition to harbors mentioned above, Kaohsiung Harbour is the fourth largest harbour in the world, which controls two thirds of the goods imported to Taiwan. It also receives river waters of both Qianzhen River and Love River before they reach the Taiwan Strait. In addition, the nearby area is complicated by heavily populated Kaohsiung City, second largest city in Taiwan with population of 1.5 millions, several industrial parks emphasized in petrochemical, steel, electronics and fire power plant, etc. Air-borne pollutants from these industrial parks and urban traffics are believed to have great impacts on nearby coastal water body through wet and dry deposition. Furthermore, polluted wastewaters were pumped into Kaohsiung coast via two major ocean outfalls. These sources plus several recent oil spills make these areas of high environmental concern. In 1999, Lee et al (2005) measured n-alkanes (n-C₁₂ to C₃₅) and aromatics (15 PAHs) in Kaohsiung Harbor and coastal area and found average total concentrations of were 4.33 µg/g dry weight (ranged 0.46-22.60) and 0.59 µg/g dry weight (ranged 0.09-1.75), respectively. The highest concentrations of aliphatic and aromatic hydrocarbons were recorded in stations near the estuaries of Qianzhen River and Love River, respectively. Recently, Fang et al. (2004) also analyzed sediments of Kaohsiung Harbor for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) to discriminate their compositional patterns and distributing characteristics. According to their results, concentrations of total PAH ranged from 63.5 ng/g dw to 6261.7 ng/g dw. In comparison with sediment quality guidelines (SQGs), only 21.7% of studied sites had total PAH concentrations higher than effect range low criteria. Similarly, Fang et al. (2004) also found highest PAH concentrations in the vicinities of Qianzhen and Love River estuaries. PAH sources into Kaohsiung Harbor were contributed from petroleum-related source and coal burning/ coal tar from industrial emission.

Overall, possible adverse biological effects induced by benzo(a)pyrene and total PAHs from coastal sediments of south-western Taiwan might be minor because of their concentrations are lower than effect-range low criteria (430 ng/g for benzo(a)pyrene and 4022 ng/g for total PAHs) (Figure 2). However, sediments from Kaohsiung, Yan-pu and Donggang harbors had higher concentrations than effect-range low criteria. One of stations from Donggang Harbor, even exceeded effect-range median (ER-M, 44792.0 ngg⁻¹).

Chlorobenzenes (CBs) and hexachlorobutadiene (HCBD)

Chlorobenzenes (CBs) and hexachlorobutadiene (HCBD) are also ubiquitous hydrophobic chlorinated organic compounds in the environment. These compounds enter the environment mainly through household waste as well as by-products of agro- or petro-chemical related manufacturing processes (Clark, 1994; Newhook and Meek, 1994). Among these compounds, hexachlorobenzene (HCB) gives more concern because it is on the list of PBTs (persistent, bioaccumulative and toxic chemicals) by US EPA. In 1992, the US and Canada recommended phasing out and eventually banning processes that create HCB as by-products (Hileman, 1992). According to Bailey (2001), global HCB emission rates via different categories of sources was estimated to be 23,000 kg/yr, of that 72% were due to manufacturing and combustion processes. Though an increasing number of investigations have performed sediment analysis on these organics, there are not many in literature regarding chlorobenzenes in coastal sediment and most of those were carried out in proximity to petro- and/or agro-chemical industrial areas (Pereira, et al., 1988; Masunaga et al., 1991; Lee and Fang, 1997; Lee et al., 2000). Compared with other CBs, HCB is investigated much more and appears on the target compound list in almost every investigation of organochlorines in various environmental matrices.

To build a baseline, Lee and Fang (1997) measured CB and HCBD concentrations in sediments along the coast of southwestern Taiwan (from Taichung to Pintung County coast). According to their results, congeners with higher chlorine numbers were only detected in Kaohsiung coast. Among results from this coastal area, sediments from Tso-yin outfall field had concentrations of 1,3,5-trichlorobenzene, pentachlorobenzene, hexachlorobenzene and hexachlorobutadiene 2-3 times higher than those from Chon-chou and Da-lin-pu outfall fields. Lee et al. (2000) investigated CBs and HCBD contamination in sediment along the Kaohsiung coast. According to their results, Tsoying outfall pipe and/or Ho-Chin River were blamed for the possible sources of HCBD while a significant HCB contribution was evident along the southern Kaohsiung coast.

In a recent work, Lee et al. (2005) found CB concentrations varied from 15.4 ng/g dw for 1,2,3-TCB to 56.8 ng/g dw for 1,2,4-TCB for the sediments of Kaohsiung coastal area. Higher HCBD concentrations were detected among north-bound stations (around the exit of the Tsoying outfall pipe) and its concentration decreases from north to south. Compared to results from Lee et al. (2000), there is no statistically significant difference in CB and HCBD congeners between these two surveys. To assess the quality of Kaohsiung coastal sediments, mean concentrations were compared with a sediment quality guideline (marine chemical criteria, State of Washington) (Figure 3). Average concentrations of 1,2,4-TCB detected in Tsoying and Dalinpu regions and HCB in all regions were higher than the marine chemical criteria. Moreover, mean HCB concentrations in Kaohsiung coastal sediments were five to twelve times higher than marine chemical criteria. Table 1 shows HCB concentrations in Kaohsiung coastal sediments are much higher than those of coastal sediments listed. This fact raises our concerns about the feasibility of coastal outfall of petrochemical waste with inadequate treatment.

To evaluate the toxicity of total CB in Kaohsiung coastal sediments, a toxic index model (eq. 1) which applied 20th percentile predicted effects threshold (PET) for each CB group is used (Fuchsman, et al., 1999).

$$\text{Toxic index} = \frac{[\text{MonoCB}]}{3.2} + \frac{[\text{DiCBs}]}{9.1} + \frac{[\text{TriCBs}]}{28} + \frac{[\text{TeCBs}]}{67} + \frac{[\text{PeCBs}]}{57} \quad (\text{eq.1})$$

Calculated CB toxicity indices in the sediments of the Kaohsiung coast are delineated in Figure 4. The spatial distribution of toxic index indicates biological effects might occur in relation to two outfall pipes which accept petrochemical wastewater, Tsoying and Dalinpu outfall pipelines.

Polychlorinated biphenyls (PCBs)

Polychlorinated biphenyls (PCBs) are ubiquitous persistent pollutants and have caused world-wide concern following their discovery in the environment. The toxicity of PCBs on humans has been evidenced from the number of adults and children suffering from Yucheng/Yusho (oil disease) in Taiwan and Japan (Yu et al., 1994; Guo et al., 1997; Chao et al., 1997). Although new evidence show that PCDFs may have played a major role in the etiology of Yucheng / Yusho (Soong and Ling, 1997a), some PCBs have dioxin-like toxicity and more investigations are needed to further understand their effects on the immune system or defense-related physiology of the organisms (Oliver et al., 2001). In 1983, Chou et al. (1984) found PCB concentrations ranging from 3.0 to 110 ng/g dw. in the oysters from Penghu Island, a remote island in Taiwan. Two years after that, Chou et al. (1987) reported that PCB concentrations were 1.7 ng/g dw in the oysters from the Tanshui River estuary of northern Taiwan. In 1995, Hung et al. (1998) found the average PCB concentration was 110 ng/g dw in the oysters from Machu Island, also a remote island away from Taiwan but very close to China. In 2003, Lung et al. (2003) found PCB concentrations (0.13-28 ng/g wet weight) in five kinds of fish species which are usually consumed by Taiwan residents. They concluded that fishes cultivated or caught along the southern coast had higher PCB levels than those from other areas of Taiwan.

Recently, Fang et al. (2006) reported total PCB concentrations as the sum of 110 individual congeners in cultivated oysters sampled along western Taiwan coast. Their results showed the highest total PCB concentration in cultivated oysters was found in oysters sampled from the Lu'ermen aquaculture area (TN7, Dec. 2003). This area is located near the estuary of Lu'ermen River which had received wastewater from a sodium hydroxide and pentachlorophenol (PCP) factory before 1982. Soong et al. (1997b) analyzed soils and fishes in the vicinity of the factory and found that TCDD TEQ values ranged from 0.24 to 1400 ng/g and 0.04 to 0.25 ng/g respectively. Relatively lower total PCB concentrations were found in the oysters from Yunlin County (stations YL1 to YL5) than those sampled from other stations. Sparse population and fewer industrial activities, except a petrochemical industrial complex near station YL1, could be one of the reasons for such a low PCBs burden in the oysters there.

Comparison of total PCB levels in bivalves for global coastal areas showed the highest PCB concentration (dry weight basis) presented in Taiwan western coast are less than those found in

the USA (coast along Gulf of Mexico and Carolinas) and much lower than those of central and southern America and the north-western Mediterranean coast (Table 2). Measurements of PCBs in oysters from Taiwan are at least an order of magnitude lower than those of some Asian areas, Germany, England and Spain (Alvarez Piñeiro ME et al., 1995; Connor et al., 2001; Lee et al., 1996b; and Monirith et al., 2003). The geometric PCB concentration in the oysters from western Taiwan is approximately two times and five times lower than those reported from South Korea and USA (Mussel Watch), respectively. It also shows that the geometric mean - 1 SD in western Taiwan is similar to that of South Korea but lower than that of USA. In addition, none of the PCB concentrations exceeds the geometric mean + 1 SD of South Korea and USA. Therefore, it can be concluded that the PCB contamination level of the cultivated oysters of western Taiwan is not as high as that of marine bivalves of South Korea and USA (Table 3).

References

- Ahrens, M. J. and C. V. Depree (2004). "Inhomogeneous distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in different size and density fractions of contaminated sediment from Auckland Harbour, New Zealand: an opportunity for mitigation." *Marine Pollution Bulletin* **48**(3-4): 341-350.
- Alvarez Piñeiro ME, Simal Lozano J, Lage Yusty MA (1995) Organochlorine compounds in mussels of the Estuarine Bay of Galicia (North-West Spain). *Mar. Pollut. Bull.* 30:484–487.
- Bailey, R. E., 2001. Global hexachlorobenzene emissions. *Chemosphere*, **43**, 167-182.
- Boehm, P. D., G. S. Douglas, W. A. Burns, P. J. Mankiewicz, D. S. Page and A. E. Bence (1997). "Application of petroleum hydrocarbon chemical fingerprinting and allocation techniques after the Exxon Valdez oil spill." *Marine Pollution Bulletin* **34**(8): 599-613.
- Chao WY, Hsu CC and Guo YL (1997) Middle-ear disease in children exposed prenatally to polychlorinated-biphenyls and polychlorinated dibenzofurans., *Arch. Environ. Health*, **52**:257-262.
- Chou SS, Ho KC and Chan HH (1987) Routine determination of PCBs residues in fish and shell fish in Taipei county., *Chemosphere*, **16**:1835-1840.
- Chou SS, Pan JK, Shy RJ and Chen LH (1984) Studies on PCBs and PBBs in fishes., *Food Science*, **11**:218-224.
- Clark, R. B. *Marine Pollution*, (3rd edn.), 83-87, Clarendon Press, Oxford (1994)
- Connor L, Johnson MS, Copplestone D, and Leah RT (2001) Recent trends in organochlorine residues in mussels (*Mytilus edulis*) from the Mersey Estuary. *Mar. Environ. Res.*, **52**:397–411.
- Dickhut, R. M., E. A. Canuel, K. E. Gustafson, K. Liu, K. M. Arzayus, S. E. Walker, G. Edgecombe, M. O. Gaylor and E. H. Macdonald (2000). "Automotive sources of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons associated with particulate matter in the Chesapeake Bay region." *Environmental Science & Technology* **34**(21): 4635-4640.

- Fang, M. D., H.-T. Fang, C.-L. Lee, F.-C. Ko and J. E. Baker, 2006a, Concentrations of Polychlorinated Biphenyl Congeners in Cultivated Oysters (*Crassostrea gigas*) in Western Taiwan, Archives of Environmental Contamination and Toxicology, (in press).
- Fang, M. D., B. C. Hsieh, C.-L. Lee, F.-C. Ko and J. E. Baker, 2006b, Sources and Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Sediments of Kaoping River and Submarine Canyon System. (under preparation)
- Fang, M. D., C. L. Lee and C. S. Yu (2003). Distribution and source recognition of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of Hsin-ta Harbour and adjacent coastal areas, Taiwan. *Marine Pollution Bulletin* **46**(8): 941-953.
- Fuchsman P. C., D. J. Duda and T. R. Barber, 1999. A model to predict threshold concentrations from toxic effects of chlorinated benzenes in sediment. *Environ. Toxicol. Chem.* **18**, 2100-2109.
- Hartmann, P. C., J. G. Quinn, R. W. Cairns and J. W. King (2004). "The distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in Narragansett Bay surface sediments." *Marine Pollution Bulletin* **48**(3-4): 351-358.
- Hileman, B., Ban on persistent toxic compounds urged. *Chemical & Engineering News* **6**, p.6(1992)
- Hung TS, Ling YC and Jeng WL (1998) Asia/Pacific Mussel Watch: Distribution of organic compounds along the machu-minjiang estuarine and coastal environment., Journal of the Environmental Protection Society of the Republic of China, 21:38-56.
- Kim SK, Lee DS, Oh JR, Shim WJ, Lee DH, Yim UH, Hong SH and Shin YB (2002) Geographical distribution and accumulation features of organochlorine residues in bivalves from coastal areas of South Korea. *Mar. Pollut. Bull.* 45:268- 279.
- Lee KM, Kruse H and Wassermann O (1996b) Seasonal fluctuation of organochlorines in *Mytilus Edulis L.* from the South West Baltic Sea. *Chemosphere.* 32:1883-1895.
- Lee, Chon-Lin. and Fang, M. D., 1997. Sources and distribution of chlorobenzenes and hexachlorobutadiene in surficial sediments along the coast of southwestern Taiwan. *Chemosphere*, **35**, 2039-2050.
- Lee, Chon-Lin., H. J. Song and Fang, M. D., 2000. Concentrations of chlorobenzenes, hexachlorobutadiene and heavy metals in surficial sediments of Kaohsiung coast, Taiwan. *Chemosphere*, **41**, 97-107.
- Lee, Chon-Lin, Huei-Jing Song and Meng-Der Fang, 2005 Pollution topography of chlorobenzenes and hexachlorobutadiene in sediments along Kaohsiung coast, Taiwan – a comparison of two consecutive years' survey with statistical interpretation. , *Chemosphere*, 58, 1503-1516
- Lee, Chon-Lin, Ming-Tsuen Hsieh and Meng-Der Fang, 2005 Aliphatic and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Sediments of Kaohsiung Harbour and Adjacent Coast, Taiwan. *Environmental Monitoring & Assessment*, 100 (1-3) 217-234
- Lung SCC, Chen CF, Hu SC and Bau YP (2003) Exposure of Taiwan residents to polychlorinated biphenyl congeners from farmed, ocean-caught, and imported fish., *Environ. Sci. Technol.*, 37:4579-4585.

- Long, E. R., D. D. Macdonald, S. L. Smith and F. D. Calder (1995). "Incidence of Adverse Biological Effects within Ranges of Chemical Concentrations in Marine and Estuarine Sediments." *Environmental Management* **19**(1): 81-97.
- Masunaga, S., Yonezawa Y. and Urushigawa Y., 1991. The distribution of chlorobenzenes in the bottom sediments of Ise Bay. *Water Res.* **25**, 275-288
- Monirith I, UenoD, Takahashi S, Nakata H, Sudaryanto A, Subramanian A, Karuppiah S, Ismail A, Muchtar M, Zheng J, Richardson BJ, Prudente M, Duc Hue N, Seang Tana T, Tkalin AV, Tanabe S (2003) Asia-Pacific mussel watch: monitoring contamination of persistent organochlorine compounds in coastal waters of Asian countries., *Mar. Pollut. Bull.*, 46:281-300
- Newhook, R. and Meek, M. E., Hexachlorobenzene: evaluation of risks to health from environmental exposure in Canada, *Environmental Carcino. & Ecotox. Revs.* **C12**, 345-360 (1994)
- O'Connor TP (2002) National distribution of chemical concentrations in mussels and oysters in the USA., *Mar. Environ. Res.*, 53:117-143.
- Pereira, W. E., Rostad, C. E., Chiou, C. T., Brinton T. I. and L. B. Barber II, 1988. Contamination of estuarine water, biota, and sediment by halogenated organic compounds: a field study. *Environ. Sci. Technol.* **22**, 772-778.
- Soong DK and Ling YC (1997a) Reassessment of PCDD/DFs and co-pcbs toxicity in contaminated rice-bran oil responsible for the disease Yu-Cheng, *Chemosphere*, 34:1579-1586.
- Soong DK, Hou PCC, Ling YC (1997b) Dioxin in soil and fish samples from a waste pentachlorophenol manufacturing plant., *Journal of the Chinese Society*, 44:545-552.
- Venkatesan, M. I. (1988). "Occurrence and Possible Sources of Perylene in Marine-Sediments - a Review." *Marine Chemistry* **25**(1): 1-27.
- Yunker, M. B., R. W. Macdonald, R. Vingarzan, R. H. Mitchell, D. Goyette and S. Sylvestre (2002). "PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition." *Organic Geochemistry* **33**(4): 489-515.

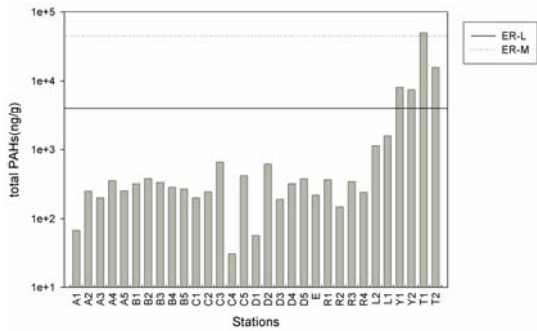


Figure 1. Distribution of total PAH concentrations from the stations of KPSC system. Solid and dashed lines in the figure represent sediment quality guidelines: effect range low (ER-L, 4022.0 ngg^{-1}) and effect-range median (ER-M, 44792.0 ngg^{-1}), respectively (Long et al. 1995). (Fang et al. 2006b)

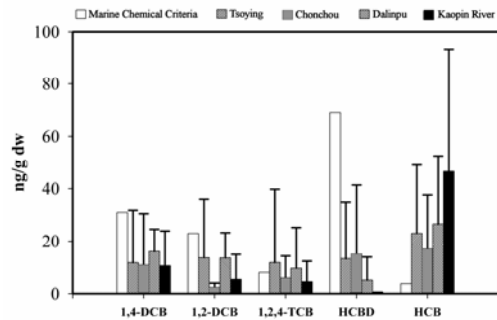


Figure 3 Comparison of average concentrations (normalized based on 1% organic carbon content of sediment) of some CBs and HCB with those of Marine chemical criteria, Washington state (data retrieved from Fuchsman et al., 1999, 2000) (Lee et al. 2005).

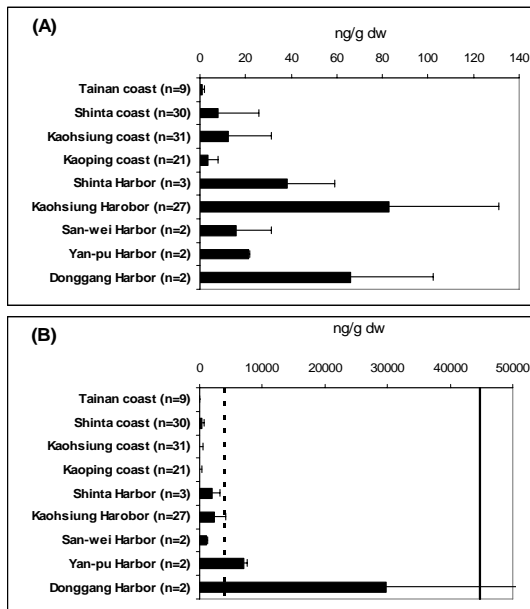


Figure 2. (A) benzo(a)pyrene and (B) total PAH concentrations in the sediments along south-western Taiwan coast. (data from Fang et al., 2003; Fang et al., 2004; Fang et al., 2006b and Lee et al., 2005)

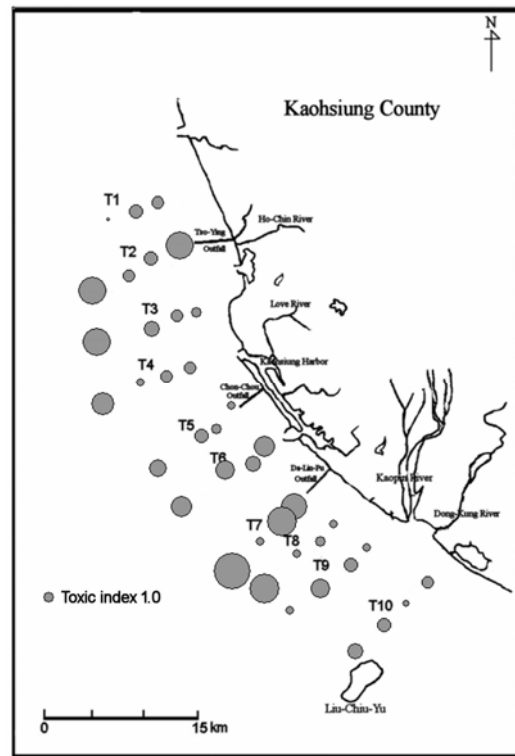


Figure 4 Spatial distribution of chlorobenzenes toxic indices along the Kaohsiung coast. (Lee et al. 2005)

Table 1. Worldwide concentrations of HCB in coastal sediments (ng/g) (Lee et al. 2005)

Location	Range (ng/g)	Reference
Kaohsiung coast, Taiwan	<0.1-47.5 <0.1-27.7 0.2-39.4	This study Lee et al. (2000) Lee and Fang (1997)
Global distribution in background soil	0.01-5.21	Meijer et al. (2003)
Ise Bay, Japan	2.2 ± 1.8	Masunaga et al. (1991)
Masan Bay, Korea	0.02-0.59	Hong et al. (2003)
Ulsan Bay and its inland area, Korea	<0.01-3.23	Khim et al. (2001)
Northern coast of Vietnam	0.1-6.5	Nhan et al. (1999)
West coast of Sri Lanka	<0.01-0.02	Garuge and Tanabe (2001)
Ocean outfall area, Australia	0.9-3.2	Matthai and Birch (2000)
Ghana, Africa	0.9 ± 0.1	Ntow (2001)
Black Sea, Ukraine	0.006-1.300	Fillmann et al. (2002)
Black Sea, Russian Federation	0.021-0.26	Fillmann et al. (2002)
Black Sea, Turkey	0.016-0.250	Fillmann et al. (2002)
Northern part of Baltic Sea	0.79-0.94	Strandberg et al. (1998)
Near shore, Dominican Republic	N.D.-0.07	Shriz et al. (1998)

(1) TeCBs*: 1,2,3,5- and 1,2,4,5-TeCBs; (2) "N.D." not detected.

Table 2. Global comparison of total PCB concentrations in bivalves. (Fang et al., 2006a)

Area	PCBs (ng/g dw)	PCBs (ng/g ww)	Reference
Taiwan coast	3.4-94	0.3-8.6	This study
Asian countries	— ^a	<0.05-84	Monirith <i>et al.</i> 2003
Germany (Baltic Sea)	—	4.7-97	Lee <i>et al.</i> 1996b
England (Mersey Estuary)	—	32-110	Connor <i>et al.</i> 2001
Spain	—	ND-620	Alvarez Piñeiro <i>et al.</i> 1995
United States (Gulf of Mexico)	>10-630	—	Sericano <i>et al.</i> 1995
United States (coast of Carolinas)	100 (median) 450(85 th percentile)	—	O'Connor (2002)
Central and Southern America	<10-3,800	—	Sericano <i>et al.</i> 1995
France and Italy (NW Mediterranean coast)	50-3,500 ^b	—	Villeneuve <i>et al.</i> 1999

^a Data not available.

^b Concentration reported based on Aroclor no.1254 equivalent value.

PCB = Polychlorinated biphenyl.

Table 3. Geometric mean and geometric mean ± 1 SD (standard deviation) of total PCB concentrations (ng/g dw.) in Western Taiwan, South Korea and USA marine bivalves. (Fang et al., 2006a)

Means	ΣPCB ^a	Study areas
Geometric mean -1 SD	8.89 ^a	Western Taiwan (this study)
Geometric mean +1 SD	45.4 ^a	
Geometric mean	20.1 ^a	
Geometric mean -1 SD	11.1 ^b	South Korea ^d
Geometric mean +1 SD	122.7 ^b	
Geometric mean	36.9 ^b	
Geometric mean -1 SD	25.7 ^c	United States (Mussel Watch) ^d
Geometric mean +1 SD	470 ^c	
Geometric mean	110 ^c	

^a Sum of 110 PCB congeners.

^b Sum of 108 PCB congeners.

^c ΣPCB was approximated by 2 times of the sum of 18 PCB congeners.

環境荷爾蒙：台灣有機錫研究之回顧

劉莉蓮¹ 孟培傑² 洪楚璋³

¹ 中山大學海洋生物研究所 ² 國立海洋生物博物館

³ 中央研究院化學研究所

摘要

本省有機錫的研究始於 1968 年，以研究主題區分有檢測分析技術類、有機錫累積及生態影響類、急慢毒性類、有機錫合成類，環境流布類、防污效能類等；整體而言，台灣的有機錫污染研究偏重於海域的檢測，以區域來看，檢測研究以西部地區佔最大的比例，魚及螺貝類之累積量最高皆可達 1600ng/g dry wt；以時間序列來看，有機錫污染並未減緩，增加量在 4 - 10 倍之間；丁基錫及苯基錫污染量比例有地區上的差異，其中大型港口以丁基錫為主，而四丁基錫及單甲基錫亦被發現，且有些地區之水產品有食用風險，從螺類雄化污染指標來看，現在不但海水螺有雄化現象淡水的福壽螺也有，在英國發現的耐高污染適應表現“Dunpton syndrome”（陰莖發育不良的遺傳性雄性生殖缺失）在本省也被發現，這些現象顯示本省有機錫污染情形嚴重，亟待積極有效的管理防止進一步的惡化。

有機錫化合物是環境荷爾蒙亦稱內分泌干擾物質(endocrine disrupting chemicals, EDCs)的成員之一，其用途十分廣泛，由於對水中的附著生物如藤壺、管蟲與藻類等有致死的作用，所以常被添加在船隻的塗料中防止藻類附生，或是作為漁塘漁網的防污劑；而在農業上則被用為殺蟲劑或是殺螺劑等，另外在塑膠工業及玻璃工業的製造中亦會在原料中添加有機錫，做為安定劑或是催化劑；這些船隻底部的塗料、工業廢水或是殺蟲劑使用的有機錫可經由不同的途徑進入環境，對環境造成污染並經由呼吸及攝食而進入生物體內危害各種生物及生態系統。為瞭解本省有機錫的研究狀況，我們搜尋國家圖書館全國博碩士論文資訊網、科資中心資料庫、SDOS 資料庫、SCOPUS 資料庫，以有機錫(如丁基錫、苯基錫、甲基錫)與臺灣為關鍵字搜尋，整理歷年發表之研究成果，文中之敘述則側重於環境流布及生物體累積。

在博碩士論文方面，自 1968-2006 年共 76 篇，其中以自然科學類 54 篇最多(圖一)，數量上則在 83-92 年這十年間較多(圖二)，但在扣除非直接相關部分之篇數後僅剩 44 篇(圖三)，這其中博士論文有 4 篇碩士論文有 40 篇；以研究主題區分則以檢測分析技術類最多占了 24 篇，次之為有機錫累積及生態影響類、急慢毒性類、有機錫合成類，環境流布類最少只有 3 篇。以研究計畫來看，科資中心資料庫顯示在 1984-2005 年間共有 36 件(圖四)，檢測分析技術類 10 件，其次為有機錫合成類、急慢毒性類、有機錫累積及生態影響類、環境流布類、防污效能類，總經費約 3 仟 8 佰萬台幣，相對於其他熱門科技產業而言，本部分之研究經費應屬偏低。

在所佔比例最高的開發有機錫檢測分析技術上，包括樣品之前處理方法-萃取、衍生化及淨化等，至層析分離及分析測定均有；萃取方法有酸性萃取、皂化法、微波萃取、超臨界流體萃取法、固相萃取法等，在衍生化則有氫化衍生法、格林鈉試劑烷基化、乙基化衍生法、氯化衍生法等，使用之層析檢測儀器有層析儀(如氣相層析儀、液相層析儀、超臨界流體層析儀)搭配偵測器(如原子吸收光譜儀、原子放射光譜儀、質譜儀、火焰光度偵測器、脈衝式火焰光度偵測器、螢光偵測器、感應耦合電漿質譜儀、微波誘導電漿質譜儀、串聯式質譜儀)，進行檢測條件試驗，期能精簡實驗流程，提高分析效率。

除了分析技術的持續研發方向不變，有機錫在提昇防污效能上有防污塗料之效果評估(鄭等, 1988)以及有機錫藥劑處理木材之耐腐朽性研究(王等, 1989; 許, 1990, 1991; 許 & 張, 1991a, b; 蔡, 1997; 蔡 & 賴, 1997)，還有有機錫進入地下水與土壤性質之關係等(Yen et al., 2001)。對人的急毒影響研究，則發現中毒症狀有噁心、嘔吐、腹瀉、視力模糊甚至死亡(Wu et al., 1990; Lin & Hsueh, 1993; Lin et al., 1998)；在動物試驗上則發現有機錫會影響老鼠肌肉收縮(Kang et al., 1998)、花身雞魚、黃錫鯛和銀紋笛鯛感覺器官及滲透壓調節功能(Wang & Huang 1999; 鄭國有, 2000; 黃, 2004)、蚵岩螺的滲透壓調節及引發螺類雄化反應(imposex)(廖, 1994; 劉 & 孫, 1996)等。

雄化(imposex)，是指在雌雄異體的腹足類雌螺身上發現長有雄性的生殖構造，例如陰莖及輸精管，螺的雄化，主要是由環境中的有機錫引發。台灣西海岸潮間帶和亞潮帶的腹足類如蚵岩螺、織紋螺、象牙鳳螺和台灣鳳螺(後 3 者為亞潮帶的種類)都有雄化的現象(Liu & Suen, 1996; Liu et al., 1997; Hung et al., 2001)，此外，較深海域之旋梯螺(水深 300 - 400 公尺)及淡水域之福壽螺亦有雄化現象，可見雄化的情況是普遍存在本省環境，換言之，有機錫 染充斥各處。

在致死效應研究上，72 小時毛蝦 TBT-LC₅₀ 為 47ug/l(表一)，較牡蠣之 18ug/l 高，而 TBT 與 TPT 的毒性效應相當，三甲錫(trimethyltin, TMT)之毒性較弱，在福壽螺 72h-TPT-LC₅₀ 之濃度為 4800ug/l，明顯高於其他研究，此部份資料仍需再確認。

水體環境中有機錫的濃度以港區較高，例如 2004 年 2 月高雄港水體丁基錫的總濃度為 697ng/l(表二)，三丁基錫是 308ng/l，墾丁地區的丁基錫總濃度在 12 - 18ng/l 之間，相對較低。在底泥有機錫的研究上主要集中在港區，彰濱地區除了有三丁基錫濃度最高達 8548ng/g dry wt(表三)，還檢測到三苯基錫，濃度為 399ng/g dry wt。而生物體累積有機錫的研究較多，從毛蝦、牡蠣、螺類、魚類到海豚均有有機錫累積，濃度為 23 - 2315ng/g dry wt(表四)，生物體不同部位之累積量亦有差異，一般而言，肝臟之累積量高於肌肉部位，魚腹部肌肉之有機錫累積量高於魚背部之肌肉，例如興達港嘉蠟魚肝、腸、魚腹部肌肉、魚背部肌肉有機錫累積量分別為 20738、5713、6382、2314ng/g dry wt(表五)。

整體而言，台灣的有機錫污染研究偏重於海域的檢測，在淡水及陸域的檢測研究不多，以區域來看，檢測研究以西部地區佔最大的比例，東部及離島僅有零星的檢測報告；魚及螺貝類之累積量最高皆可達 1600ng/g dry wt；以時間序列來看，有機錫污染並未減緩，如鹿港蚵岩螺有機錫含量在 1993 及 1998 年分別為 796、717ng/g dry wt，香山、台西、布袋、東港牡蠣丁基錫含量在 2002 年均高於 1996 年(表四)，增加量在 4 - 10 倍之間，各地區的污染是隨著時間持續增加中。

以目前之檢測結果來看，臺灣有機錫污染仍然嚴重，丁基錫及苯基錫污染量比例有地區上差異，其中大型港口以丁基錫為主，而四丁基錫及單甲基錫亦在有些研究中被發現，在食用風險評估研究則顯示有些地區之水產品有食用風險。

從螺類雄化污染指標來看，在 1990 年雄化現象即廣泛存在，現在不但淡水的福壽螺也有雄化現象，在英國蚵岩螺發現的”Dunpton syndrome”(陰莖發育不良，沒有陰莖或是輸精管發育不全的遺傳性雄性生殖缺失; DS) 症狀在本省也被發現，受到 DS 影響的雌螺雄化程度較低，因此，被認為是一種耐高污染的適應表現，這些現象在在顯示本省有機錫污染情形嚴重，積極有效的管理機制亟待建立。

參考文獻

王振瀾; 許振福; 謝堂州 1989 有機錫藥劑處理木材之耐腐朽性研究. 林產工業, 8:55-64.
白書禎; 陳瑤湖 1988 防污塗料之效果評估研究試驗. 台電工程月刊, 484:594-580.

- 李淑惠 2002 墾丁海域有機錫之研究. 國立中山大學海洋資源研究所碩士論文.
- 徐天琦 2003 有機錫對高雄港區毛蝦之毒性研究. 國立中山大學海洋資源研究所碩士論文.
- 許振福 1990 有機錫木材保護劑之研究:(一)低汙染有機錫化合物之研製及其性質. 林業試驗所研究報告季刊, 5:69-79.
- 許振福 1991 有機錫木材保護劑之研究:(二)水溶性有機錫化合物之研製. 林業試驗所研究報告季刊, 6:1-5.
- 許振福; 張上鎮 1991a 有機錫木材保護劑之研究(三)新型雜環有機錫化合物之開發. 林產工業, 10:95-102.
- 許振福; 張上鎮 1991b 有機錫木材保護劑之研究(四)有機錫化合物的耐腐性試驗. 林產工業, 10:103-112.
- 紀則賢 2004 高雄愛河水域有機錫分布之研究. 國立中山大學海洋資源研究所碩士論文.
- 陳淑貞 1999 熱帶斑海豚與小虎鯨體內有機錫累積之初步研究結果. 國立中山大學海洋生物研究所.
- 張貴能 2004 高雄港區有機錫分佈及其污染史之研究. 國立中山大學海洋資源研究所碩士論文.
- 廖信惠 (1994) 鹽度及三丁基錫對蚵螺滲透壓調節之影響. 國立中山大學海洋生物研究所碩士論文.
- 蔡明哲 1997 研發細胞化學染色法應用於檢測有機錫防腐劑在木材之分布研究. 林產工業, 16:189-199.
- 蔡明哲; 賴麗娜 1997 有機錫防腐劑處理材在地上暴露後之降解. 林產工業, 16:215-230.
- 孫斐, 翁慎素, 李國欽 1998 三苯醋錫和嘉磷賽對水蚤(*Scapholeberis kingi* Sars)繁殖之評估。植物保護學會會刊, 40:73-79.
- 黃寶貴 2004 有機錫化合物(TBT、TPT)對台灣沿近海漁業資源之影響. 九十三年漁業資源評估管理及利用研討會論文集.
- 劉莉蓮; 孫玉娟 1996 有機錫促進台灣蚵螺的雄化. 台灣水產學會刊, 23:149-154.
- 鄭國有 2000 三甲錫(trimethyltin, TMT)對花身雞魚(*Terapon jarbua*)之毒性作用. 國立臺灣海洋大學漁業科學學系碩士論文.
- Dong, C.D., C.W. Chen, L.L. Liu 2004 Seasonal variation in the composition and concentration of butyltin compounds in marine fish of Taiwan. *Environ. Poll.*, 131:509-514.
- Hsia, M.P., S.M. Liu 2003 Accumulation of organotin compounds in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, collected from aquaculture sites in Taiwan. *Sci Total Environ.* 313:41-48.
- Hung, T.C., T.Y. Lee, T.F. Liao 1998 Determination of butyltins and phenyltins in oysters and fishes from Taiwan coastal waters. *Environ. Poll.* 102:197-203.
- Hung, T.C., W.K. Hsu, P.J. Mang, A. Chuang 2001 Organotins and imposex in the rock shell, *Thais clavigera*, from oyster mariculture areas in Taiwan. *Environ. Poll.*, 112: 145-152.
- Kang, J.J., S.H. Liu, I.L. Chen, Y.W. Cheng, S.Y. Lin-Shiau 1998 Comparative studies on the induction of muscle contracture in mouse diaphragm and Ca²⁺ release from sarcoplasmic reticulum vesicles by organotin compounds *Pharmacol Toxicol.* 82:23-7.
- Lee, C.C., T. Wang, C.Y. Hsieh, C.J. Tien 2005 Organotin contamination in fishes with different living patterns and its implications for human health risk in Taiwan. *Environ. Pollut.* 137:198-208.

- Lee, C.C., C.Y. Hsieh, C.J. Tien 2006 Factors influencing organotin distribution in different marine environmental compartments, and their potential health risk. *Chemosphere* (in press).
- Lin, J.L., S. Hsueh 1993 Acute nephropathy of organotin compounds. *Am J Nephrol*, 3:124-8.
- Lin, T-J., D-Z. Hung, C-H. Kao, W-H. Hu, D-Y Yang 1998 Unique cerebral dysfunction following triphenyltin acetate poisoning. *Human & Experimental Toxicology*, 17:403-405.
- Liu, L.L. and I.J. Suen 1996 Prosobranch gastropods imposex in the west coast of Taiwan. *Venus*, 55:207-214.
- Liu, L.L., S.J. Chen, W.Y. Peng and J.J. Hung 1997 Organotin concentrations in three intertidal neogastropods from the coastal waters of Taiwan. *Environ. Poll.* 98:113-118.
- Liu, L.L., S. J. Chen, L. S. Chou, C.D. Dong, C.W. Chen 2003 Accumulation of butyltin compounds in the Pantropical spotted dolphin, *Stenella attenuate*, from the coasts of Taiwan. *J. Food & Drug Analysis*, 11:320-323.
- Liu, S.M., M.P. Hsia, C.M. Huang 2006 Accumulation of butyltin compounds in cobia *Rachycentron canadum* raised in offshore aquaculture sites. *Sci Total Environ*, 355:167-75.
- Lo, C.C. and T.T. Hsieh 2000 Acute toxicity to the golden apple snail and estimated bioconcentration potential of triphenylphosphine oxide and series of related compounds. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.* 65:104-111.
- Meng, P.J., T. J.T. Wang, L.L. Liu, M.H. Chen, T.C. Hung 2005 Toxicity and bioaccumulation of tributyltin and triphenyltin on oysters and rock shells collected from Taiwan mariculture area. *Sci. Total Environ.*, 349:140-149.
- Wang, D.Y. and B.Q. Huang 1999 TBT (Tributyltin) Toxicity to the visual and olfactory functions of Tigerperch (*Terapon jarbua* Forsskål). *Zool. Stud.* 38:189-195.
- Wu, R.M., Y.C. Chang and H.C. Chiu 1990 Acute triphenyltin intoxication: a case report. *J. Neurology, Neurosurgery, & Psychiatry*, 53:356-357.
- Yen, J.H.; C.C. Tsai, C.C. Su, Y.S. Wang 2001 Environmental dissipation of fungicide triphenyltin acetate and its potential as a groundwater contaminant. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 49:164-170.

表一、有機錫對各種水生生物半致死濃度(ug/l)。

種名	TBT-LC ₅₀				TPT-LC ₅₀			TMT-LC ₅₀	文獻
	24h	48h	72h	96h	24h	48h	72h	96h	
水蚤						12			孫等, 1998
毛蝦			47						徐, 2003
福壽螺							4800		Lo & Hsieh, 2000
高背紅螺		38	27		26	25			Unpublished data
牡蠣		45	18	18					Meng et al., 2005
花身雞魚							880		鄭, 2000
黃錫鯛成魚	70								黃, 2004
銀紋笛鯛仔魚					3				“

表二、本省水域環境水體有機錫濃度(ng/l)。

地點	時間	TeBT	TBT	BTs	文獻
愛河河口	200404		81	163	紀, 2004
澎湖	200307		10	30	Liu et al., 2006
	200311	3	43	131	“
高雄	199804		21	90	Dong et al., 2004
高雄港	200209		62	257	徐, 2003
高雄港	200402		308	697	張, 2004
核三進水口	199911		3	13	李, 2002
後壁湖	199911		1	12	“
南灣	199911		3	18	“
石牛溪	199911		ND	16	“

表三、本省水域環境底泥有機錫濃度(ng/g dry wt)。

地點	時間	TBT	BTs	TPT	PTs	文獻
愛河河口	200402	20	133	0	0	紀, 2004
彰濱	2003	8548		399		Lee et al., 2006
將軍	2004	29		ND		“
前鎮	2003	1178		ND		“
王功	2004	23		ND		“
東港	2003	645		ND		“
布袋	2004	62		ND		“
高雄港	199804	18	57			Dong et al., 2004
高雄港	200402	7	12			張, 2004
核三進水口	199911	1	7			李, 2002
後壁湖	199911	2	18			“
南灣	199911	4	20			“
石牛溪	199911	3	22			“

表四、本省水域環境各物種有機錫濃度(ng/g dry wt)。

Species	Site-date	TBT	BTs	TPT	PTs	OTs	%BTs	文獻
毛蝦	高雄港 200209	1340	2211					徐, 2003*
牡蠣	香山 199608	174	228	112	130	358	64	Hung et al., 1998
	199701	1510	1660	33	33	1690	98	“
鹿港	199608	68	97	204	153	350	28	“
	199701	834	915	0	0	915	100	“
台西	199608	74	185	170	205	420	44	“
	199701	39	433	77	77	510	85	“
東石	199608	42	91	102	102	193	47	“
	199701	240	362	33	33	395	92	“
布袋	199608	217	260	375	458	718	36	“
	199701	807	903	0	0	903	100	“
青鯤身	199608	70	99	0	0	99	100	“
	199701	473	564	20	20	584	97	“
東港	199608	134	173	590	590	763	23	“
	199701	289	335	27	27	362	92	“
香山	200208	271	843					Hsia & Liu, 2003*
	200211	380	2070					“
王功	200208	733	1312					“
	200211	ND	ND					“
台西	200208	645	1319					“
	200211	527	1831					“
布袋	200208	1649	2456					“
	200211	2240	4139					“
七股	200208	821	1334					“
	200211	ND	941					“
東港	200208	462	1217					“
	200211	2364	5018					“
結螺	三仙台 199310					310		Liu et al., 1997
	澎湖鎖港 199309					1402		“
	綠島大白砂 199310					242		“
	蘭嶼東清 199310					693		“
角岩螺	綠島大白砂 199310					23		“
蚶岩螺	香山 199307					258		“
	鹿港 199409					796		“
	台西 199307					186		“
	布袋 199409					1125		“
	東港 199409					426		“
	鹿港 199811	415	415	173	302	717	58	Hung et al., 2001
	199901	680	770	58	91	861	89	“
	七股 199808	117	117	70	70	187	63	“
199811	106	106	41	67	173	61	“	
199901	172	249	0	0	249	100	“	
嘉鱻魚	高雄 199704	ND	19	ND	ND	19	100	Hung et al., 1998
斑點九刺酯	高雄 199704	ND	46	ND	ND	46	100	“
金目鱸	高雄 199704	ND	55	ND	ND	55	100	“
鸚哥魚	高雄 199704	ND	40	ND	ND	40	100	“
鱈	八斗子 200207	130	349	477	1030	1379	25	Lee et al., 2005
	200301	242	293	280	625	918	32	“
	梧棲 200207	100	259	556	1120	1379	19	“
	200301	1234	1364	264	951	2315	59	“
	興達港 200207	152	365	397	710	1075	34	“
	200301	848	1034	253	571	1605	64	“

	成功 200207	168	370	378	716	1086	34	“
嘉臘魚	八斗子 200207	65	268	482	814	1082	25	“
	200301	81	166	392	701	867	19	“
	梧棲 200207	51	82	655	1142	1224	7	“
	200301	261	434	399	1122	1556	28	“
	興達港 200207	130	321	506	1052	1373	23	“
	200301	508	769	328	869	1638	47	“
	成功 200301	199	410	219	532	942	44	“
大黃魚	八斗子 200207	93	169	473	757	926	18	“
	200301	140	171	273	685	856	20	“
	梧棲 200301	158	208	198	460	668	31	“
赤綜	成功 200207	152	311	165	534	845	37	“
虱目魚	梧棲 200207	84	180	121	297	477	38	“
烏尾鮫	成功 200301	195	351	413	800	1151	30	“
熱帶斑海豚	蘇澳 199406	104	384					Liu et al., 2003*

*:濃度單位為濕重，以含水量 80%換算為乾重濃度;魚及海豚有機錫濃度以肌肉為代表。

表五、本省水域環境生物體不同組織有機錫濃度(ng/g dry wt)。

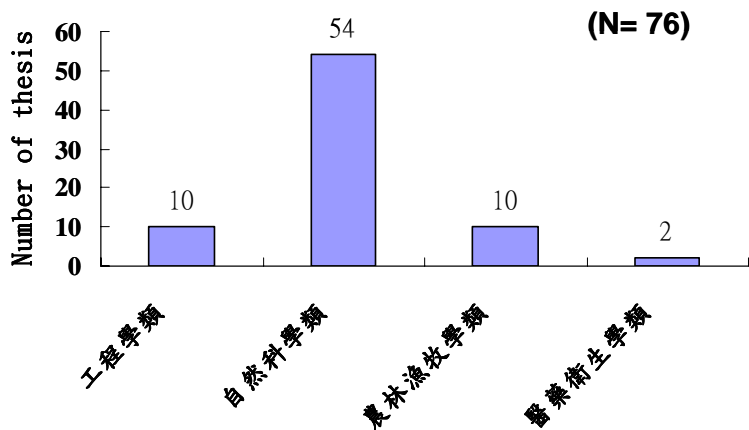
Site/species	Date/tissue	TBT	BTs	TPT	PTs	OTs	%BTs	文獻
興達港	200304							Lee et al., 2005
嘉臘魚	肝	780	7762	7217	12976	20738	37	“
	鰓	425	1288	642	3064	4352	30	“
	腸	193	1790	2078	3923	5713	31	“
	魚腹	1183	2790	611	3592	6382	44	“
	魚背	175	940	322	1374	2314	41	“
赤綜	肝	622	6184	8933	14168	20352	30	“
	鰓	371	1659	849	5078	6737	25	“
	腸	97	458	1373	7163	7621	6	“
	魚腹	660	1011	873	6954	7965	13	“
	魚背	111	564	425	1458	2022	28	“
高雄	199707							“
狗母魚	肌肉	440	636					Dong et al., 2004*
	肝	4932	22996					“
狗母魚	199711							Dong et al., 2004*
	肌肉	172	308					“
	肝	6236	45892					“
南灣	199911							李淑惠, 2002
烏尾冬	肝	111	946					“
	肌肉	4	20					“
南灣	200003							李淑惠, 2002
尾紋九刺鮨	肝	25	331					“
	肌肉	8	26					“
南灣	200003							李淑惠, 2002
克氏海葵魚	肝	17	143					“
	肌肉	4	48					“
南灣	200003							李淑惠, 2002
花斑狗母	肝	36	1162					“
	肌肉	31	58					“
澎湖	200307							Liu et al., 2006*
海鱷	魚腹	1240	6860					“
	肝	4560	13360					“
	200311							Liu et al., 2006*
海鱷	魚腹	600	4584					“
	肝	788	9252					“
台中	199604							陳, 1999*
熱帶斑海豚	肝					856		“
	肌肉					120		“
台南	199602							陳, 1999*
小虎鯨	肝					904		“
	肌肉					72		“

*：濃度單位為濕重，以含水量 80%換算為乾重濃度。

國家圖書館全國博碩士論文資訊網

Searching key words:

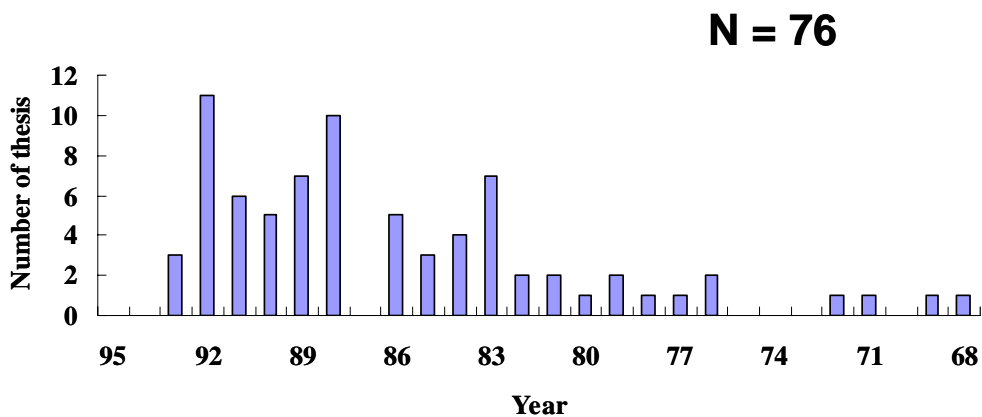
有機錫,三苯錫或三丁錫 (1956 - 2006)



圖一、全國博碩士論文資訊網搜尋有機錫相關論文分類圖。

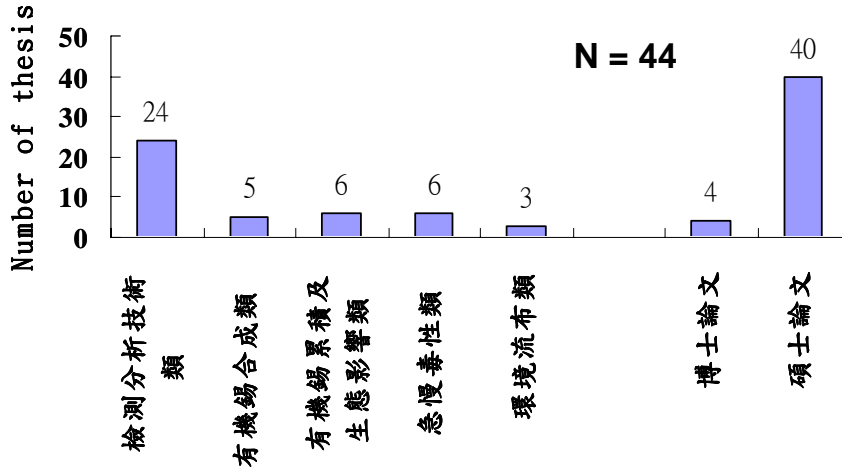
國家圖書館全國博碩士論文資訊網

(有機錫,三苯錫或三丁錫)

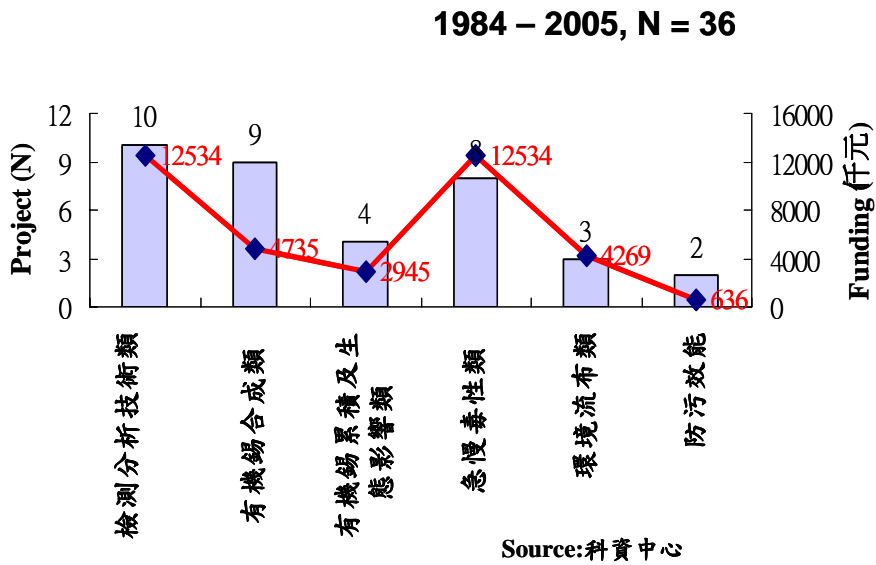


圖二、全國博碩士論文資訊網搜尋有機錫相關論文發表年份圖。

扣除非有機錫,三苯錫或三丁錫相關論文後



圖三、全國有機錫相關博碩士論文統計圖。



圖四、有機錫相關研究計畫及預算統計圖。

戴奧辛類化合物對雌性素代謝之影響
Effects of dioxin-like compounds in estrogen metabolism

林嬪嬪 教授 (Prof. Pinpin Lin)
國家衛生研究院 環境衛生與職業醫學組

Dioxins and polychlorinated biphenyls (PCBs) are persistent organic pollutants in the environment and have diverse toxic effects in living organisms. Epidemiological studies suggested that exposure to dioxins highly enhanced the risks of chronic obstructive pulmonary diseases, decreased lung function, and lung cancer (1-4). In animal studies, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)-induced lung lesions appeared to be gender-dependent, with predominant increase of the incidence of respiratory tract cancers in female but not in male rats (5). More recently, Trischer et al. (6) also reported that TCDD induced alveolar-bronchiolar metaplasia in female rats. Although PCB was also considered as a general tumor promoter (7), there was no epidemiological or animal evidence on PCB-associated lung lesions or lung cancer. There are ample evidences showing that TCDD induced toxic effects are AhR dependent (8). It has also been demonstrated that AhR signaling pathway would up-regulate cytochrome P4501A1 (*CYP1A1*) and 1B1 (*CYP1B1*) expression in lung cells (9, 10) leading to 2-hydroxylation and 4-hydroxylation of 17-beta estradiol (E2) respectively (11-13). In vivo, the hydroxylated E2 metabolites are relatively unstable and are rapidly converted into methoxy metabolites (14).

PCB has 209 congeners. PCB126 was the major non-*ortho*-substituted PCB congener found in human milk from Asian population (15). Since both TCDD and PCB126 are potent AhR agonists, they are expected to induce similar profiles of E2 metabolites in the presence of E2. However, Pang et al. (16) reported that the ratio of CYP1A1 versus CYP1B1 induced by TCDD was different from that by PCB126 in MCF-7 cells. This study demonstrated that PCB126 might actually have antagonized TCDD-induced estrogen metabolism instead. Studies by other investigators also indicated that E2 metabolites resulted from 2-hydroxylation and 4-hydroxylation of E2 had considerable adverse effects on cells (17, 18). E2 has four major metabolites. 2-Hydroxyestradiol (2-OHE2) was reported to produce DNA damage (19) and 4-hydroxyestradiol (4-OHE2) was found to be carcinogenic in animals (20). While 2-methoxyestradiol (2-MeOE2) inhibited cell proliferation (17), the biological action of 4-

methoxyestradiol (4-MeOE2) at present is still undefined. As in MCF-7 cells (16), TCDD and PCB126 would probably also induce different profiles of E2 metabolites in the lung cells. The potential toxicity induced in the lung cells by these chemicals, with or without the presence of estrogen and its metabolites, need to be investigated.

Potential “environmental factors” associated with the development of female lung cancer are many. The most concerning ones in Taiwan include cooking oil fumes (COF), motorcycle emission particulates (MEP), environmental cigarette smoke (ECS), and dioxins (1, 21, 22). Among these four factors, COF bared the most epidemiological evidence in the association with female lung cancer development (21, 22). Chemical analyses indicated that three of the concerned risk factor, COF, MEP, and ECS, all shared a common chemical constituent, benzo[a]pyrene (BaP), which is a known carcinogenic agent (23-25). Because of its chemical nature and reactivity, BaP is also a potent aryl hydrocarbon receptor (AhR) ligand (26) and induces CYP 1A1 and 1B1 expressions. Since estrogen metabolism is highly influenced by some P450 enzymes which are regulated by AhR, AhR activation by AhR ligands, such as BaP, was therefore proposed to be involved in the development of estrogen-associated cancers via enhancement of the estrogen metabolism (Cavalieri *et al.*, 2000)

1. Kogevinas, M. Studies of cancer in humans. *Food Addit Contam*, 17: 317-324, 2000.
2. Pesatori, A. C., Zocchetti, C., Guercilena, S., Consonni, D., Turrini, D., and Bertazzi, P. A. Dioxin exposure and non-malignant health effects: a mortality study. *Occup Environ Med*, 55: 126-131, 1998.
3. Bertazzi, P. A., Consonni, D., Bachetti, S., Rubagotti, M., Baccarelli, A., Zocchetti, C., and Pesatori, A. C. Health effects of dioxin exposure: a 20-year mortality study. *Am J Epidemiol*, 153: 1031-1044, 2001.
4. ten Tusscher, T., de Weerd, J., Roos, C. M., Griffioen, R. W., De Jongh, F. H., Westra, M., van der Slik, J. W., Oosting, J., Olie, K., and Koppe, J. G. Decreased lung function associated with perinatal exposure to Dutch background levels of dioxins. *Acta Paediatr*, 90: 1292-1298, 2001.
5. Kociba, R. J., Keyes, D. G., Beyer, J. E., Carreon, R. M., Wade, C. E., Dittenber, D. A., Kalnins, R. P., Frauson, L. E., Park, C. N., Barnard, S. D., Hummel, R. A., and Humiston, C. G. Results of a two-year chronic toxicity and oncogenicity study of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 46: 279-303, 1978.
6. Tritscher, A. M., Mahler, J., Portier, C. J., Lucier, G. W., and Walker, N. J. Induction of lung lesions in female rats following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Pathol*, 28: 761-769, 2000.

7. Silberhorn, E. M., Glauert, H. P., and Robertson, L. W. Carcinogenicity of polyhalogenated biphenyls: PCBs and PBBs. *Crit Rev Toxicol*, 20: 440-496, 1990.
8. Fernandez-Salguero, P. M., Hilbert, D. M., Rudikoff, S., Ward, J. M., and Gonzalez, F. J. Aryl-hydrocarbon receptor-deficient mice are resistant to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*, 140: 173-179, 1996.
9. Chang, K. W., Lee, H., Wang, H. J., Chen, S. Y., and Lin, P. Differential response to benzo[A]pyrene in human lung adenocarcinoma cell lines: the absence of aryl hydrocarbon receptor activation. *Life Sci*, 65: 1339-1349, 1999.
10. Mollerup, S., Ovrebo, S., and Haugen, A. Lung carcinogenesis: resveratrol modulates the expression of genes involved in the metabolism of PAH in human bronchial epithelial cells. *Int J Cancer*, 92: 18-25, 2001.
11. Spink, D. C., Eugster, H. P., Lincoln, D. W., 2nd, Schuetz, J. D., Schuetz, E. G., Johnson, J. A., Kaminsky, L. S., and Gierthy, J. F. 17 beta-estradiol hydroxylation catalyzed by human cytochrome P450 1A1: a comparison of the activities induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in MCF-7 cells with those from heterologous expression of the cDNA. *Arch Biochem Biophys*, 293: 342-348, 1992.
12. Hayes, C. L., Spink, D. C., Spink, B. C., Cao, J. Q., Walker, N. J., and Sutter, T. R. 17 beta-estradiol hydroxylation catalyzed by human cytochrome P450 1B1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93: 9776-9781, 1996.
13. Lee, A. J., Cai, M. X., Thomas, P. E., Conney, A. H., and Zhu, B. T. Characterization of the oxidative metabolites of 17beta-estradiol and estrone formed by 15 selectively expressed human cytochrome p450 isoforms. *Endocrinology*, 144: 3382-3398, 2003.
14. Spicer, L. J., Walega, M. A., and Hammond, J. M. Metabolism of [3H]2-hydroxyestradiol by cultured porcine granulosa cells: evidence for the presence of a catechol-O-methyltransferase pathway and a direct stimulatory effect of 2-methoxyestradiol on progesterone production. *Biol Reprod*, 36: 562-571, 1987.
15. Chao, H. R., Wang, S. L., Lin, L. Y., Yu, H. Y., Lu, Y. K., Chou, W. L., Guo, Y. L., and Chang, L. W. Polychlorinated biphenyls in taiwanese primipara human milk and associated factors. *Bull Environ Contam Toxicol*, 70: 1097-1103, 2003.
16. Pang, S., Cao, J. Q., Katz, B. H., Hayes, C. L., Sutter, T. R., and Spink, D. C. Inductive and inhibitory effects of non-ortho-substituted polychlorinated biphenyls on estrogen metabolism and human cytochromes P450 1A1 and 1B1. *Biochem Pharmacol*, 58: 29-38, 1999.
17. Qadan, L. R., Perez-Stable, C. M., Anderson, C., D'Ippolito, G., Herron, A., Howard, G. A., and Roos, B. A. 2-Methoxyestradiol induces G2/M arrest and apoptosis in prostate cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 285: 1259-1266, 2001.
18. Zhu, B. T. and Conney, A. H. Functional role of estrogen metabolism in target cells: review and perspectives. *Carcinogenesis*, 19: 1-27, 1998.
19. Yagi, E., Barrett, J. C., and Tsutsui, T. The ability of four catechol estrogens of 17beta-estradiol and estrone to induce DNA adducts in Syrian hamster embryo fibroblasts. *Carcinogenesis*, 22: 1505-1510, 2001.
20. Liehr, J. G., Fang, W. F., Sirbasku, D. A., and Ari-Ulubelen, A. Carcinogenicity of catechol estrogens in Syrian hamsters. *J Steroid Biochem*, 24: 353-356, 1986.
21. Zhong, L., Goldberg, M. S., Parent, M. E., and Hanley, J. A. Risk of developing lung cancer in relation to exposure to fumes from Chinese-style cooking. *Scand J Work Environ Health*, 25: 309-316, 1999.

22. Ko, Y. C., Cheng, L. S., Lee, C. H., Huang, J. J., Huang, M. S., Kao, E. L., Wang, H. Z., and Lin, H. J. Chinese food cooking and lung cancer in women nonsmokers. *Am J Epidemiol*, *151*: 140-147, 2000.
23. Hecht, S. S. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *J Natl Cancer Inst*, *91*: 1194-1210, 1999.
24. Zhu, L. and Wang, J. Sources and patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons pollution in kitchen air, China. *Chemosphere*, *50*: 611-618, 2003.
25. Lung, S. C., Guo, K. J., Chen, P. Y., Tsai, P. F., and Chen, P. C. Participants' exposure to PM(2.5) and gaseous/particulate polycyclic aromatic hydrocarbons during the Ma-tsu Goddess parade. *J Expo Anal Environ Epidemiol*, 2004.
26. Whitlock, J. P., Jr. Induction of cytochrome P4501A1. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, *39*: 103-125, 1999.

五氯酚污染廠址與都市廢棄物焚化爐附近居民血液中戴奧辛濃度分布及健康風險評估

李俊璋^{1,2} 蘇慧貞^{1,2} 廖寶琦^{1,2} 陳秀玲³

¹國立成功大學環境醫學研究所

²國立成功大學環境微量毒物研究中心

³弘光科技大學工業安全衛生系

壹、序論

多氯戴奧辛/呔喃 (polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins/dibenzofurans, PCDD/Fs) 為化學結構類似的物質，數十年來因環境暴露所引起之毒性效應及衍生之公共衛生問題備受世界各國所關切(Fishbein, 1987; Gochfeld et al., 1988)。以往對於長期低濃度暴露者的研究，沒有較為穩定之健康效應，可能受限於少量的研究樣本及並沒有對長期暴露於低濃度的研究族群進行長時間之追蹤及觀察。以台灣而言，垃圾處理以焚化為主，民眾除了對於焚化廠興建地之土地利用有所疑慮之外，對於附近民眾其未來因長期暴露於低濃度的戴奧辛所衍生之健康影響也非常關切。緣此，環保署自 1999 年底開始連續四年推動焚化廠附近居民血液中戴奧辛及呔喃濃度資料建立專案工作計畫，期能完整建立國內廢棄物焚化廠周界環境與人體血液資料及其潛在健康影響。

執行本研究期間意外發現台南市城西里焚化爐附近居民血液中戴奧辛濃度偏高，經進一步環境介質及居民血液採樣分析與飲食調查確認居民血液中戴奧辛濃度偏高，係因食用中石化安順廠海水貯存池水生物所致。因此，除立即對安順廠之海水貯水池周邊地區進行嚴格管制，防止附近居民進入該區從事垂釣或養殖之行為外，針對中石化安順廠附近居民血液中戴奧辛濃度進行調查，並釐清是否導致健康影響及當地之癌症死亡率及發生率較高。爰此在衛生署國建局及環保署補助下進行流行病學及健康風險研究，進而阻絕當地居民暴露污染，減少健康風險，以保障國民健康。

貳、材料與方法

一、大型垃圾焚化廠附近居民血液中戴奧辛濃度資料建立及健康風險評估

- (一) 研究族群選取準則及抽樣方法：以 19 座垃圾焚化爐過去排放管道廢氣中戴奧辛及呔喃之檢測資料，利用 ISC3 (Industrial Sources Complex) 擴散模式進行煙道排氣擴散模擬，最後利用等濃度圖及周圍人口聚集之敏感區域圖重疊，依不同暴露濃度劃分四個研究區域，藉由焚化廠所在位址之鄉鎮市公所提供最新之村里分布圖，比對出四研究區域所涵蓋之村里，最後依鄉鎮市戶政事務所之最新各村里人口統計資料 (18-25、26-35、36-45、46-55、56-65 五組年齡層及性別分布) 及空氣中戴奧辛擴散模擬年平均濃度高低，分配各村里採樣之人數。
- (二) 健康、飲食問卷設計與調查方法：健康與飲食問卷設計內容為參考文獻資料所列之戴奧辛暴露族群流行病學調查所應考量之各因子探討，調查時間為血液採樣之當日。均由受標準訓練之工作人員進行一對一之訪視，完成一般健康問卷及營養飲食問卷之填寫。健康問卷之設計為針對經醫生確認診斷之疾病史及自覺認知之症狀進行調查；飲食本問卷之設計包括飲食來源、飲食頻率及飲食份量之調查。

- (三) 健康門診之內容及執行方法：安排醫師於血液採樣當日，對志願參加者進行體格檢查服務。檢查內容除一般常規之理學檢查，包括列入文獻上曾報導之戴奧辛暴露之健康影響項目及過去疾病史與服藥記錄。
- (四) 時間-活動模式調查：依前項族群選取、抽樣結果，於執行健康問卷訪視時，一併登錄受訪者於研究區域內之行為活動範疇、疑似暴露來源之場所、活動時間比例與活動區域之可能煙燻暴露機會，以作為估算及校正個人總暴露之參考。
- (五) 血液採集與生化檢查等生物指標之量測及分析：於採血當日先對自願者仔細說明抽血之數量及可能之副作用，再取得自願者之人體試驗同意書後進行抽血，抽血方式為以靜脈抽血針先插入手肘內側之靜脈中，再以紅頭之真空抽血管抽取總共 60mL 之靜脈血。血液取得之後靜置約 1 小時再進行離心，取其血清以進行血脂及血液生化檢測分析，其餘則為血液中戴奧辛濃度之檢測。
- (六) 血液中戴奧辛/呋喃及其平面型多氯聯苯之量測：血清中十七種戴奧辛/呋喃同源物含量分析方法係參考美國環保署所制定的M1613B「Tetra- through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS」標準分析方法及1993年美國Chang等學者(1993)所開發的方法修改而成。M1613B標準分析方法主要為使用同位素稀釋(isotope dilution)技術以高解析氣相層析儀/高解析質譜儀器分析17種四氯至八氯戴奧辛同源物，而Chang等學者所開發的方法則是使用各種不同管柱及溶劑進行樣本的萃取及淨化。而本計畫經修改後的分析方法程序主要分為樣本前處理及儀器分析，前處理流程分為萃取、淨化、濃縮、添加標準品等步驟。在儀器分析部份，主要是參考美國環保署M1613B標準分析方法，以高解析層析儀/高解析質譜儀對17種戴奧辛及呋喃進行定量分析，品管與品保均依據M1613B執行。
- (七) 潛在健康影響風險評估：對於戴奧辛及呋喃之終生平均暴露劑量則分別以經由空氣吸入途徑進入人體之終生平均暴露劑量，以及由人體血液濃度推估之人體之終生平均暴露劑量，除能與世界衛生組織所容許之建議值 1-4 pg WHO-TEQ_{DFB}/kg BW/day 比較，更能了解空氣吸入途徑之暴露對人體終生平均暴露劑量的貢獻有多大。

二、五氯酚污染廠址附近居民血液中戴奧辛濃度資料建立及健康風險評估

- (一) 研究族群選取準則及抽樣方法：本研究之暴露組選取居住於台南市鹿耳及顯宮兩里民眾，對照組則選取自居住於台南市非鹿耳及顯宮兩里之民眾。暴露組經第一階段飲食半定量調查統計結果，依據民眾回答曾經吃過海水儲存池之魚及曾經吃過台鹼安順廠內海水儲存池之魚為主要篩選條件，通知 80 位里民進行血液中戴奧辛檢測及健康影響調查（腹部超音波及血液生化檢查等）。
- (二) 計算顯宮及鹿耳兩里居民歷年之癌症發生率及死亡率：本計畫由台南市安南區戶政資料收集台南市七個行政區域之癌症登記資料，發現安南區之食道癌及鼻咽癌之死亡率位居台南市七個行政區域之第一位，因此在分析癌症發生率及死亡率時，則分別將顯宮里及鹿耳里之癌症死亡及發生資料與安南區其他里、台南市及台灣地區進行比較。

參、結果與討論

一、大型垃圾焚化廠附近居民血液中戴奧辛濃度資料建立及健康風險評估

表 1 顯示居住於 19 座焚化廠附近民眾 1712 人血液中戴奧辛平均濃度為 19.7 pg WHO-TEQ/g lipid，其中以台中縣后里焚化廠附近民眾血液中戴奧辛平均濃度（25.9 pg WHO-TEQ/g lipid）最高，台北縣新店最低（14.7 pg WHO-TEQ/g lipid）。總平均濃度低於美國 2000 年之調查結果 22.1 pg I-TEQ/g lipid (CDC, 2000)，但高於 1996 年 Jimenez 調查一般西班牙居民血液中平均濃度為 17.74 pg I-TEQ/g lipid (Jimenez et al., 1996) 及 1998 年於德國之研究調查結果：(1)18-30 歲：13.1(2)31-42 歲：16.3(3)43-71 歲：19.1 pg/g-lipid (Papke, 1998)。

表 2 為居住於 19 座焚化廠附近民眾基本資料及血液中戴奧辛濃度分布，結果顯示女性的血液平均戴奧辛濃度(21.4 pg WHO-TEQ/g lipid)顯著高於男性(19.0 pg WHO-TEQ/g lipid)；年紀較大者的血液中戴奧辛平均濃度亦顯著高於年紀較輕者（由 18-25 歲之 13.3 pg-WHO TEQ/g lipid 上升至 >65 歲之 24.1 pg-WHO TEQ/g lipid）；將體脂比例分成 0-25%、25-50%、50-75%、75-100%，顯示體脂肪比例較高者，其血液中戴奧辛濃度有顯著增高之情形。在抽煙習慣部分，民眾為二手煙暴露者，其血液中戴奧辛濃度值最高，非吸煙者次之，吸煙者濃度最低，三者之間有顯著差異（ $p < 0.0001$ ）。此外，若依據民眾居住離焚化爐的距離遠近將其區分為 <1 公里、1-2 公里、2-3 公里及 >3 公里，則發現居住離焚化爐越遠的民眾血液中戴奧辛濃度明顯高於居住離焚化爐較近的民眾；而依據空氣擴散模擬所推估戴奧辛的暴露濃度將其分組後，則發現民眾雖然可能暴露於較高濃度的戴奧辛，但其血液並沒有呈現顯著較高的現象，但是不同暴露分組的民眾血液中戴奧辛濃度有呈現顯著差異的現象。因此，焚化爐附近居民血液中戴奧辛濃度可能主要受到其他環境或個人因素如飲食、居住區域、性別、年紀等所影響，且高於焚化爐排放戴奧辛直接吸入之貢獻量。

表 3 係根據居民所在該區域的空氣擴散模擬平均值進行分組後，將其暴露之空氣濃度與焚化爐操作時間加乘進行計算暴露指標，依據其空氣暴露指標由低至高共分成 4 組（0-25%，25%-50%，50-75%，75-100%），分別檢定此四組民眾之居民特性、環境暴露特性及血液中戴奧辛及多氯呋喃濃度是否有所差異。結果發現此四組民眾於性別比、平均年齡、體脂比例及 BMI 均無顯著差異。而此四組民眾之抽煙比例及二手煙暴露比例及其居住於焚化爐附近的平均時間、焚化爐平均操作時間及平均血液戴奧辛濃度均呈現統計上顯著差異（ $p < 0.0001$ ）。但此血液中戴奧辛濃度跟空氣中戴奧辛暴露劑量、焚化廠操作時間長短均沒有呈現正向關係之趨勢，顯示焚化爐排放之戴奧辛經吸入暴露後，對血液中戴奧辛濃度值之貢獻量不足以影響血液中之戴奧辛濃度。

表 4 為 19 座焚化廠依據其所在地區之都市型態進行分組後，分析各區域居民之一般特性及其血液中 17 種戴奧辛及多氯呋喃的濃度分布情形，結果發現其中居民血液平均濃度以漁村及海港型最高(24.1 pg WHO-TEQ/g lipid)，往後依序為工業型(21.8)，鄉村型(17.9)，都會型(17.0)，最低為都會及城鎮(16.5)，且各區域民眾血液濃度呈統計上顯著差異。因此懷疑造成此趨勢之原因為居民是否有其他暴露污染來源如露天燃燒或食物型態不同之影響。圖 1 為不同區域型態之民眾血液中 17 種戴奧辛及多氯呋喃的濃度模式分布情形，結果發現不同區域民眾血液中戴奧辛濃度比例

以 OCDD 最高，此外於工業型地區，居民血液中的 OCDF 的濃度分布比例明顯的高於其他地區($P<0.005$)。

表 5 回答有吃自產蔬果及自家有養雞鴨鵝者與購買自傳統市場及超級市場者血液中戴奧辛濃度之差異，結果發現有吃自產食物者血液中戴奧辛濃度有顯著高於購自市場者，但因所吃食品來自當地的民眾其平均年齡有稍微較高的趨勢，因此進一步利用回歸分析方法以調整性別、年齡、體脂比例、抽煙行為後的結果顯示，所吃為自產食品的民眾與較高的血液戴奧辛濃度有關($p=0.001$)。

表 6 顯示血液中戴奧辛濃度與食物攝取及空氣暴露之關係，結果發現血液中戴奧辛濃度與海水魚之攝取有顯著的正向關係，與蛋類及豆腐類食品之攝取則為顯著負向關係，同時，空氣暴露劑量越高者民眾的血液濃度值越低，而民眾的居住區域類型依然是顯著會影響血液濃度分布的因子之一。

圖 2 為十九座焚化廠附近居民依血液中多氯戴奧辛及呔喃平均濃度推估之終生平均日暴露劑量介於 1.8 至 3.2 pg WHO-TEQ/kg/day 之間，符合世界衛生組織建議之平均日暴露量 1-4 pg WHO-TEQ_{DFB}/kg BW/day 之規範，而各廠由空氣中濃度推估之終生平均日暴露劑量均不到血液中濃度推估之終生平均日暴露劑量的百分之一 (0.04-0.93%)，顯示空氣吸入途徑並非人體血液中多氯戴奧辛及多氯呔喃濃度的主要來源，由此推知經由飲食之暴露途徑對人體血液中多氯戴奧辛及多氯呔喃濃度將佔極大之貢獻。

二、五氯酚污染廠址附近居民血液中戴奧辛濃度資料建立及健康風險評估

表 7 為五氯酚污染廠址(以下簡稱暴露族群)與 19 座焚化爐附近居民(以下簡稱對照族群)基本資料與血液中多氯戴奧辛/呔喃濃度比較。由表可知，暴露族群在年齡要較對照族群來的高 (52.6 vs. 45.7 歲, $p<0.0001$)，但教育程度則為較低 (55.1% vs. 37.1% 國中程度以下, $p=0.0026$)，此外暴露族群在男性比例上也較對照族群來的高，而暴露族群其血液中戴奧辛濃度也較對照族群來的高 (75.2 vs. 19.7 pg WHO-TEQ/g lipid, $p<0.0001$)，進一步比較暴露及對照組不同年齡層血液中戴奧辛濃度分布情形，可以看出無論是年齡高低為何，暴露組血液中戴奧辛濃度皆較對照組要來的高。

圖 3 為暴露及對照組血液中多氯戴奧辛/呔喃同源物原始濃度分布情形，結果顯示二者在戴奧辛同源物分佈型態有顯著的不同，暴露組血液中多氯戴奧辛/呔喃同源物原始濃度除 OCDF、TCDD 較對照組濃度低外，其餘皆比對照組濃度高，此差異為戴奧辛暴露來源不同所致。

表 8 為暴露及對照組血液生化檢查結果異常人數統計表，各項血液生化檢查結果發現暴露組在血糖($p=0.0012$)、膽固醇($p=0.0109$)及三酸甘油脂(TG)($p=0.0464$)之異常率顯著高於對照組，白蛋白($p=0.0137$)異常率則較對照組低。此外，在肝功能指標 GPT、GGT 方面，暴露組異常率亦有高於對照組之情形，唯在顯著邊緣($p=0.0531$ 、0.0666)。表 9 及表 10 分別顯示血液中戴奧辛濃度與身體質量指數對脂肪肝罹患率及 GGT 異常率之交互作用，由結果可知血液中戴奧辛濃度與身體質量指數對脂肪肝罹患率具顯著協力作用，而血液中戴奧辛濃度高於 41 pg WHO-TEQ/g lipid 時 GGT 異常率有顯著增加之情形。

肆、結論與建議

一、結論

1. 本研究經過長達四年共執行 19 座焚化廠鄰近 1712 位居民血液中戴奧辛濃度調查結果顯示目前並無證據顯示鄰近焚化爐的居民受到焚化爐所排放的多氯戴奧辛及呋喃暴露，而導致累積於體內使得血液中戴奧辛濃度值增高之情形，此論點經由釐清飲食影響後仍發現一樣的結果。
2. 本研究發現民眾之飲食習慣確實會影響其體內血液濃度的累積，如多食用海水魚者其血液中戴奧辛濃度明顯較高，多食用豆腐者血液濃度明顯較低。
3. 依據風險評估結果顯示，只計算 17 種多氯戴奧辛及呋喃之終生平均暴露劑量時，約有 9% 民眾之終生平均暴露劑量高於世界衛生組織訂定之高限值 4 pg WHO-TEQ/kg/day，另約有 60% 民眾之終生平均暴露劑量高於歐盟將於 2004 年執行之 14 pg WHO-TEQ/kg/week (2 pg WHO-TEQ/kg/day)。顯示台灣地區居民戴奧辛暴露劑量偏高，應積極執行污染源管制及減量措施。
4. 五氯酚污染廠址附近居民血液中戴奧辛濃度顯著高於 19 座焚化爐附近居民。
5. 五氯酚污染廠址附近居民血液中戴奧辛同源物原始濃度除 OCDF、TCDD 較 19 座焚化爐附近居民低外，其餘皆比對照組濃度高，顯示污染來源不同。
6. 五氯酚污染廠址附近居民在血糖、膽固醇、三酸甘油酯異常率顯著高於 19 座焚化爐附近居民。GPT、GGT 異常率亦有較高於對照組之情形，唯在顯著邊緣。

(二) 建議

1. 未來應善用本研究所建立之基本背景值，於焚化廠操作較長時間（建議五-七年）後以同一批居民抽樣進行第二次檢查，以釐清民眾經過數年的焚化爐排放暴露後，其血液中的濃度變化情形。
2. 應詳細調查各大型焚化爐之鄰近區域蔬果及畜產食品的生產狀況，並加以追蹤及管制，以確保民眾攝取該地食品後，仍能符合世界衛生組織所規定戴奧辛安全攝取劑量 1-4pg WHO-TEQ/Kg body weight/day 的範圍。
3. 對於焚化廠所排放的戴奧辛暴露風險評估需要建立環境流佈參數，並依禽畜飼養方式、民眾飲食習慣而校正以上模式之參數，明訂風險評估準則。
4. 由於目前台灣地區居民之戴奧辛暴露劑量仍偏高，建議利用模式進一步推估各排放來源所排放戴奧辛對環境中介質（空氣、土壤、植物等）及食物中 PCDD/Fs 及 PCBs 含量，以及居民終生暴露劑量之影響，藉以建立短中長程減量目標及管制策略。
5. 綜合研究結果，五氯酚污染廠址附近居民健康有持續建立及追蹤之必要，尤其是著重於建立民眾之脂肪肝、B 型肝炎、C 型肝炎檢查。
6. 根據調查結果，仍有許多民眾曾經吃過安順廠所產的魚及海鮮而仍未被納入，故應深入該地掌握潛在暴露民眾，以確實釐清該地的環境暴露來源及建立健康追蹤檔案。
7. 由於戴奧辛在文獻上已證明足以造成下一代之生殖功能異常，因此，以本研究發現血液中戴奧辛濃度之高，對於下一代的生殖健康影響亦有追蹤及管理的必要。
8. 未來應整合該地社區服務及社區營造單位以共同進行衛生教育規劃及執行，以確實整合及加強環境衛生、衛生教育及公共衛生的角色與功能。
9. 根據中石化安順廠初步的環境分析調查，發現該地尚有其他污染物如重金屬汞之嚴重污染情形，而根據本研究第一階段簡易神經學檢查發現顯宮及鹿耳民眾之平衡感異常率為 8.45~9.72%，因此未來對於當地民眾健康之追蹤研究，汞暴露是否會造成具體

健康影響仍值得進一步釐清。

伍、致謝

本研究感謝參與之民眾，環保署空保處及衛生署國民健康局提供經費，以及參與採樣分析之環境微量毒物研究中心同仁。

陸、參考文獻

- Chang, R.R., Jarman, W.M., Hennings, J.A., 1993. Sample cleanup by solid-phase extraction for the ultratrace determination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in biological samples. *Anal. Chem.* 65 (18), 2420–2427.
- Fishbein L. Health-risk estimates for 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo -p-dioxin : an overview. *Toxicol Ind Health* 1987, 3: 91-134.
- Gochfeld M., Gallo M. and Kahn P. Dioxin exposure and health. *New Jersey Medicine* 1988, 85: 907-12.
- Jimenez B., Hernandez L. M., Eljarrat E., et al. Levels of PCDDs and non-ortho PCBs in serum samples of non-exposed individuals living in Madrid (Spain). *Chemosphere* 1996, 33(12): 2403-10.
- Papke O. PCDD/PCDF: human background data for Germany, a 10-year experience. *Environ Health Persp* 1998, 106 (2): 723-31.

表 1 十九座焚化廠鄰近居民血液中戴奧辛及多氯呋喃濃度分布差異 (平均值±標準差)

廠別	濃度排序 [‡]	人數	平均年齡	pg WHO-TEQ/g lipid
台中縣后里	1	95	44.6	25.9 ± 14.0
高雄市南區 [†]	2	163	44.2	23.5 ± 8.8
新竹市	3	82	47.4	22.6 ± 7.9
屏東縣崁頂	4	89	50.5	22.4 ± 8.6
高雄市中區	5	90	44.8	22.0 ± 8.4
高雄縣仁武	6	78	43.2	21.6 ± 8.5
台北縣八里	7	96	48.1	21.3 ± 7.2
高雄縣岡山	8	95	44.9	21.1 ± 8.6
台南市*	9	86	45.3	21.1 ± 9.4
彰化縣溪州	10	88	45.3	18.6 ± 8.4
台中市	11	84	44.1	18.1 ± 7.3
桃園市南區	12	59	46.2	17.4 ± 10.0
嘉義縣鹿草	13	81	49.1	17.2 ± 5.8
台北市北投	14	68	47.3	17.0 ± 6.7
台北縣樹林	15	103	44.2	16.9 ± 9.0
台北市內湖	16	78	50.4	16.3 ± 8.2
嘉義市	17	99	42.8	16.1 ± 6.6
台北市木柵	18	89	44.4	14.9 ± 10.0
台北縣新店	19	89	44.8	14.7 ± 9.2
全部 19 廠		1712	45.7	19.7 ± 9.3

[†]: 電弧爐煉鋼廠。[‡]: 濃度排序 1 代表當地居民血液平均戴奧辛濃度值為最高，18 則表示濃度最低

*: 扣除顯宮及鹿耳里 21 位民眾

表 2 研究對象民眾基本資料及血液中戴奧辛及多氯呋喃濃度分布

		人數	Pg WHO-TEQ/g lipid	P value [‡]
性別	男性	861	19.0±11.5	<0.0001**
	女性	872	21.4±11.1	
年齡	18-25	139	13.3±3	<0.0001**
	25-35	222	16.2±8.0	
	35-45	512	18.8±8.8	
	45-55	488	22.4±10.9	
	>65	372	24.1±15.0	
Lipid content %	<22.7	373	18.6±9.5	<0.0001**
	22.7-26.8	363	20.8±9.5	
	26.8-31.2	356	22.7±15.2	
	>31.2	358	22.8±10.6	
抽煙習慣	無	610	20.7±12.7	<0.0001**
	吸煙者	501	18.0±9.4	
	二手煙暴露者	631	21.3±10.7	
居住焚化廠距離(扣除顯宮與鹿耳民眾)	≤1000 公尺	396	19.6±8.1	0.001*
	1000-2000 公尺	333	20.3±9.3	
	2000-3000 公尺	322	20.5±9.7	
	>3000 公尺	313	22.1±8.9	
根據擴散模擬所界定之暴露劑量(扣除顯宮與鹿耳民眾)	第 25 百分位	440	19.4±8.1	<0.004*
	第 50 百分位	412	20.9±9.6	
	第 75 百分位	435	19.3±10.1	
	第 75 百分位以上	425	19.0±9.2	

[‡]: Kruskal Wallis test

*: p<0.05

** : p<0.001

表 3 居民所在區域之空氣擴散模擬平均濃度百分位分組與其居民特性、環境暴露特性及血液中多氯戴奧辛/呔喃濃度之比較

平均空氣暴露指標 [‡]	≤0.053	0.053-0.2	0.2-25.1	>25.1	P value ^φ
人數	444	453	459	443	
性別比 (%) [†]	52.7	50.3	48.6	47.6	0.181
年紀	46.7±13.2	45.7±11.6	45.0±12.0	45.2±11.3	0.181
抽菸比例	33.9	28.0	26.7	26.4	<0.0001**
二手煙暴露比例 (%)	36.9	38.2	34.8	28.2	
BMI	24.2±3.5	24.3±3.8	24.4±3.8	24.1±3.5	0.548
Lipid %	26.4±6.8	27.0±6.1	26.5±6.8	26.7±6.7	0.624
平均居住時間(年)	33.3±19.1	29.9±16.5	29.2±16.6	24.8±14.4	<0.0001**
鄰近焚化爐的操作時間	0.7±1.2	2.4±1.1	4.1±1.6	5.4±2.7	<0.0001**
血液中戴奧辛平均濃度	19.4±8.1	22.2±12.4	20.1±14.3	19.0±9.2	0.0003**

[‡]: 該居住區域經空氣擴散模式推估後之空氣中戴奧辛平均濃度×焚化爐平均操作年數

[†]: 男性比例 ^φ: Kruskal Wallis test ** : p<0.001

表 4 十九座焚化廠鄰近居民血液中戴奧辛及多氯呔喃濃度分布差異

地區型態	都會型	工業型	鄉村型	漁村或海港型	都市及城鎮型	P value
焚化廠名稱	木柵、新店、內湖、北投、高雄市區	桃園市南區、岡山、仁武、台中市、后里、高雄市南區 [†]	溪州、鹿草	八里、崁頂、台南市、新竹市	樹林、嘉義市	
人數	428	613	169	386	203	
性別比 (%) [†]	45.8	48.8	53.9	52.6	52.7	0.304
年紀	45.9±11.8	44.5±11.6	47.1±12.0	47.6±12.6	43.5±12.2	0.001*
抽菸比例	23.6	28.4	34.9	30.6	32.0	<0.0001**
二手煙暴露 ^φ	28.0	36.0	33.7	40.5	33.5	0.0001**
BMI	24.1±3.3	23.9±3.6	24.2±4.0	24.6±3.7	25.0±4.1	0.0001**
Lipid %	27.5±6.5	26.0±6.5	26.4±6.2	27.3±6.6	26.2±7.3	0.008*
平均血液濃度	17.0±9.1	21.8±10.1	17.9±7.3	24.1±15.9	16.5±7.9	<0.0001**
有露天燃燒暴露 (%)	28.9	41.1	28.6	37.8	38.0	0.003*
素食者血液濃度	13.0(9.4-19.8)	14.9(5.8-27.1)	17.6(8.6-30.8)	21.7(13.1-52.2)	14.6(10.9-17.5)	0.834

[†]: 該地區男性佔該地區全部參加人數的比例

[‡]: 該地區抽菸人數: 該地區全部人數

^φ: 該地區暴露二手菸人數: 該地區全部人數(%)

*: p<0.05

** : p<0.001

表 5 吃自家生產的蔬果及肉品者與吃市場販賣蔬果的民眾之一般特性及血液中戴奧辛濃度分析

食物來源 [‡]	自產	市場購買	P value
人數	242	1206	
男性比例	47.5	50.1	0.482
年齡	46.9±13.4	45.7±11.91	0.065
血液濃度(pg WHO-TEQ/g lipid)	23.4±11.5	20.6±10.9	0.0002*

[‡]: 有吃自產蔬果者將其定義為吃自產者

*: p<0.05

表 6 影響血液戴奧辛因子複回歸分析結果（經調整性別、年齡、脂重比、抽煙），R² 值=0.300，p <0.0001**

		β	P value
海水魚		0.003	<0.0001**
全脂牛奶		-0.0004	0.470
葉菜類蔬菜		0.0004	0.258
蛋		-0.002	0.044*
豆腐		-0.004	0.009*
空氣暴露指標 [†]		-0.0004	<0.0001**
居住地區類型 ^A	1.都會型	-0.034	0.160
	2.工業型	0.157	<0.0001**
	3.鄉村型	-0.096	0.0003**
	4.漁村或海港型	0.119	<0.0001**
	5.都市及城鎮型		

^A: 與都市及城鎮型區域比較之結果；*: p<0.05，**: p<0.001

表 7 五氯酚污染廠址與 19 座焚化爐附近居民基本資料及血液戴奧辛濃度分布分布

類別		污染廠址附近居民(n=91)	焚化爐附近居民 (n=1712)	P value
年齡 ^a		52.6 ± 12.5	45.7 ± 12.1	<0.0001**
17 ≤ Age < 36		38.1± 13.9(n=8)	14.6± 6.9(n=349)	<0.0001**
36 ≤ Age < 46		35.6± 15.4(n=27)	18.5± 8.3(n=506)	<0.0001**
46 ≤ Age < 56		65.3± 42.9(n=18)	21.9± 8.8(n=484)	<0.0001**
56 ≤ Age < 66		115.1± 83.1(n=23)	23.3± 10.8(n=324)	<0.0001**
66 ≤ Age < 76		110.5± 57.9(n=14)	23.3± 9.2(n=44)	<0.0001**
性別 ^b	男性	58 (63.7)	851 (49.7)	0.0097**
	女性	33 (36.3)	861 (50.3)	
體脂肪(%)		26.2± 6.9	26.7± 6.6	0.5770
抽菸習慣 ^b	不吸菸	27 (30.0)	622 (36.5)	0.4571
	抽菸	29 (32.2)	497 (29.2)	
	二手菸	34 (37.8)	585 (34.3)	
血液戴奧辛濃度 (pg WHO-TEQ/g lipid) ^c		75.2± 63.2	19.7± 9.3	<0.0001**

^a: Wilcoxon Rank-Sum test，^b: Chi-squared test，^c: Kruskal-Wallis test，*: p<0.05，**: p<0.01

表 8 污染廠址與 19 座焚化爐附近居民之血液生化檢查異常人數 (%)

生化檢查項目	污染廠址附近居民 (n=91)	焚化爐附近居民 (n=1712)	P value
GLU (血糖)	20(22.0)	171(10.0)	0.0012**
TP (總蛋白質)	9(9.9)	204(11.9)	0.7382
ALB (白蛋白)	0(0.0)	97(5.7)	0.0137*
BUN (尿素氮)	6(6.6)	62(3.6)	0.1518
CREA (血清肌酸酐)	0(0.0)	7(0.4)	1.0000
UA (尿酸)	20(22.0)	275(16.1)	0.1456
CHOL (膽固醇)	47(51.7)	651(38.0)	0.0109*
TG (三酸甘油酯)	13(14.3)	135(7.9)	0.0464*
GOT (麩草酸轉胺基酵素)	5(5.5)	77(4.5)	0.6036
GPT (麩丙酮轉胺基酵素)	13(14.3)	141(8.2)	0.0531
T-BIL (總膽紅素)	8(8.8)	148(8.6)	1.0000
ALP (鹼性磷酸酵素)	1(1.0)	85(5.0)	0.1246
GGT (加瑪麩胺醯轉移酵素)	27(29.7)	363(21.2)	0.0666

統計方法: Fisher Exact test * : p<0.05 ** : p<0.01

表 9 不同血液中戴奧辛濃度與身體質量指數對脂肪肝罹患率之交互作用

PCDD/Fs levels [†]	BMI levels [‡]	Case (n)	Control (n)	Crude OR	95% CI	Adjusted OR [§]	95% CI
≤ median	≤ median	3	18	1.00		1.00	
≤ median	> median	13	8	9.75*	2.39-52.03	13.42*	2.90-83.90
> median	≤ median	8	13	3.70	0.88-19.43	3.11	0.53-21.96
> median	> median	19	3	38.0*	7.87-264.02	27.00*	4.47-229.58

[†] 血液中戴奧辛濃度 : ≤ median 為 ≤ 40.89 pg WHO-TEQ/g lipid ; > median 為 > 40.89 pg WHO-TEQ/g lipid

[‡] BMI : ≤ median 為 ≤ 25.22 kg/m² ; > median 為 > 25.22 kg/m²

[§] : 校正年齡、TG、喝酒習慣

* : p<0.05

表 10 不同血液中戴奧辛濃度與身體質量指數對 GGT 異常率之交互作用

PCDD/Fs levels [†]	BMI levels [‡]	Case (n)	Control (n)	Crude OR	95% CI	Adjusted OR [§]	95% CI
≤ median	≤ median	2	19	1.00		1.00	
≤ median	> median	7	14	4.75	0.97-35.27	5.86	0.82-78.81
> median	≤ median	6	15	3.80	0.75-28.57	8.99	1.10-148.47
> median	> median	12	12	6.58*	1.41-47.99	9.01*	1.12-136.63

[†] : GGT 正常範圍 : 男性為 11-50 U/L ; 女性為 7-32 11-50 U/L

[†] : 血液中戴奧辛濃度 : ≤ median 為 ≤ 40.89 pg WHO-TEQ/g lipid ; > median 為 > 40.89 pg WHO-TEQ/g lipid

[‡] : BMI : ≤ median 為 ≤ 25.22 kg/m² ; > median 為 > 25.22 kg/m²

[§] : 校正年齡、TG、喝酒習慣

* : p<0.05

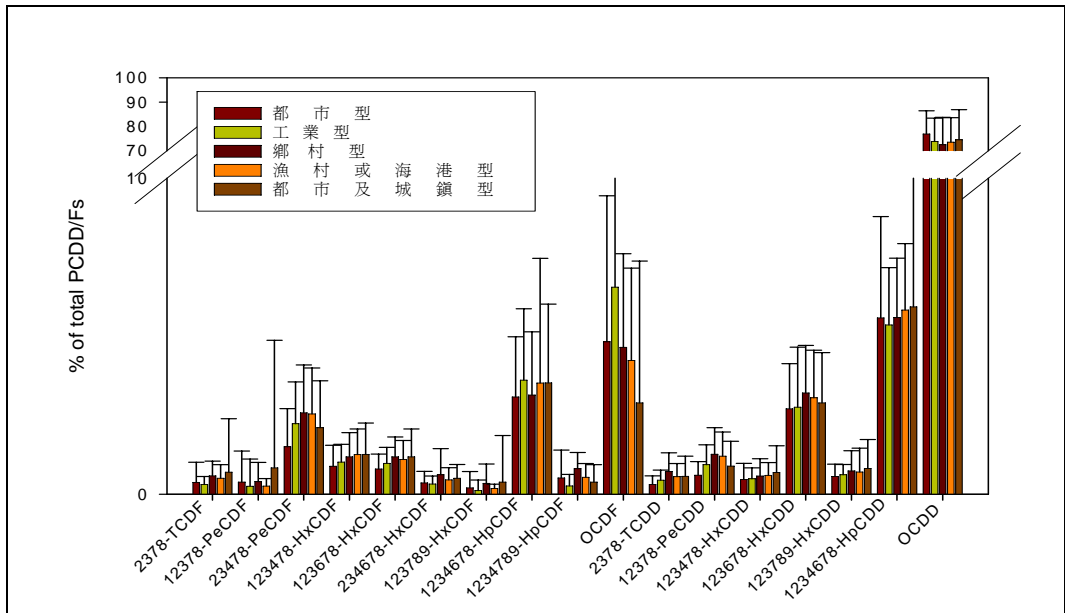


圖 1 居民居住於不同型態地區之血液中 17 種戴奧辛之濃度分佈

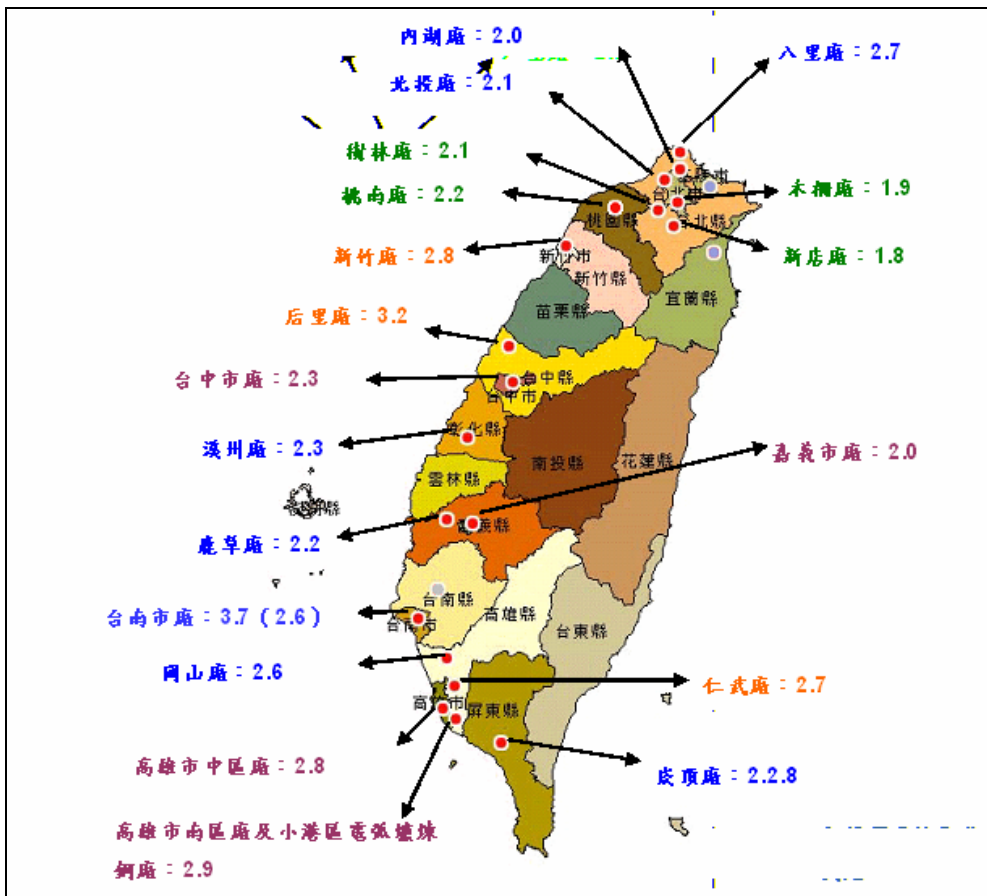


圖 2 19 座廢棄物焚化廠及六座電弧爐煉鋼廠附近居民血液中 PCDD/Fs 終生平均日暴露量 (pg WHO-TEQ/kg BW/day)

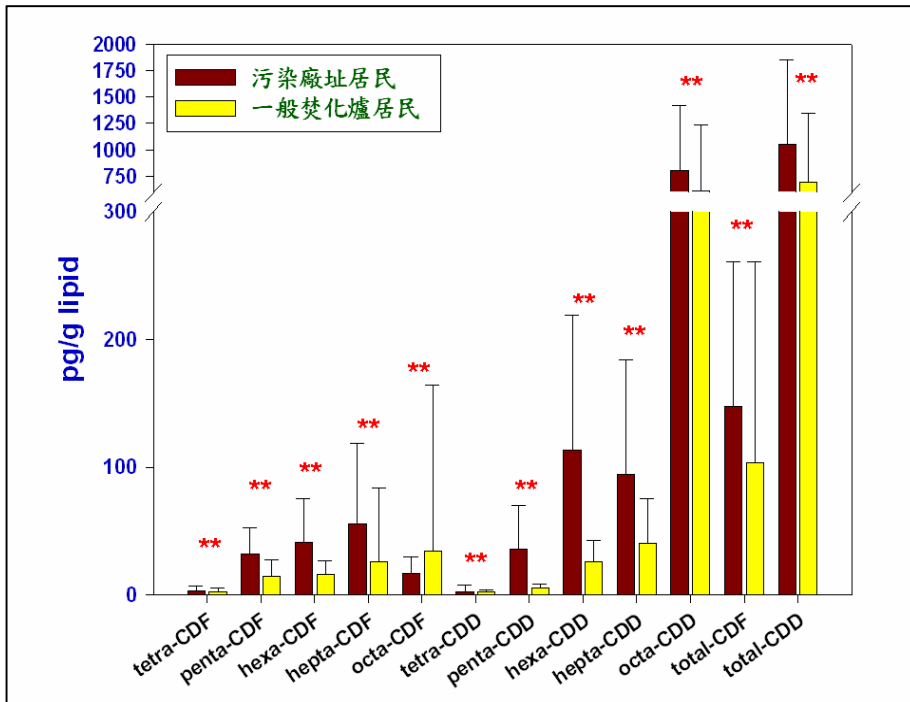


圖 3 五氯酚污染廠址與一般焚化爐居民血液中多氯戴奧辛/呔喃同源物原始濃度分布

台鹼安順廠的過去與未來

黃煥彰

中華醫事學院護理系副教授/
台南市社區大學研究發展學會理事長

歷史沿革

1942年由日本鐘淵曹達株式會社強租民地所興建，生產固鹼、鹽酸和液氯，亦是日本海軍製造毒氣的工廠，台灣光復後於1946年更名為台灣製鹼公司台南廠，民國四十年更名為台灣鹼業公司安順廠，民國七十一年六月因經濟因素關廠並與中國石油化學工業開發股份有限公司（中石化公司）合併。四十年間台鹼公司先後生產燒鹼、鹽酸、液氯和五氯酚。

汞污泥

汞（mercury）又名為水銀，是常溫下唯一存在的金屬，汞可以元素汞、無機汞和有機汞的狀態存在，被廣泛應用於水銀溫度計、鹼氣工業、農藥、水銀燈、紅藥水、牙科填補蛀牙等之重要原料，元素汞經細菌分解可轉換成有機汞，汞與其化合物屬脂溶性，其中以有機汞毒性最強，日本熊本縣水俣灣於1953~1960年間曾引起水俣病，主要污染物質即由甲基汞污染所引起，當時魚體內汞含量達50ppm，貝類達85ppm，有34人發病，48人死亡，病人中毒症狀主要以神經中毒為主，如語言失調、視覺障礙、走路失衡與記憶喪失等，同時亦發現有胎兒智能障礙與畸形的案例。我國政府於民國61年公告禁止使用有機汞農藥，民國78年公告禁止以水銀電解法生產液鹼台鹼安順廠生產鹼氣近40年然大部分的汞污泥竟不知去向。

五氯酚與戴奧辛污染

台鹼安順廠於民國五十三年試製成功五氯酚鈉，五十八年實施五氯酚增產計畫，並興建當時號稱東亞最大可日產四公噸的五氯酚鈉工廠，台鹼公司主要產品增加了五氯酚，以外銷日本為主。民國六十九年因五氯酚污染嚴重關掉五氯酚工廠，並封存了近5000公斤五氯酚於廠區內。民國七十一年台鹼公司在環保與經濟因素的考量下，於當年六月停工關廠，民國七十二年併入中國石油化學工業開發股份有限公司（中石化公司）。

五氯酚為白色結晶體，五氯酚鈉為淡黃色粉末，具劇毒，可溶於水，主要應用於農藥及木材防腐劑。

據筆者訪談當時附近養殖業業主林停諸先生口述，當時五氯酚污染確實對附近養殖業造成很大的傷害，因漁塭四周土壤及底泥會長出五氯酚的白色刺針狀晶體，造成虱目魚上唇內縮，下唇外張。同時魚鰭與魚尾逐漸產生破洞，最後虱目魚因無法游水導致翻肚死亡。五氯酚的製程中會產生更具毒性的副產品：戴奧辛。戴奧辛不溶於水，為脂溶性物質，可透過食物鏈持續累積體內不易排除，整個戴奧辛家族共有75種相似的化合物。戴

奧辛的毒性是砒霜的數千倍。根據醫學上報導戴奧辛易造成牙齒缺陷、免疫系統不健全、內分泌系統失衡、生殖系統異常、以及心血管疾病與糖尿病等各疾病，並會導致各種癌症。

台鹼廠污染範圍近年來如滾雪球般愈滾愈大，台南市環保局已於 2002 年 4 月 11 日依土壤及地下水整治法公告為土壤污染控制場址，污染區域涵蓋 15.5 公頃的工廠、13.5 公頃蓄水池、2.76 公頃草叢區、4 公頃石灰污泥棄置區、27 公頃部份魚塭、挖除的二等九號道路、鹿耳門溪與竹筏港溪。土壤汞檢測值高達 9550ppm 戴奧辛檢測值更飆高至 64100,000 pg-TEQ/g，遠高於環保署土壤與地下水污染整治法規定，汞的管制標準為 20ppm，戴奧辛為 1,000pg-TEQ/g。污染地圖彙整如圖一所示(檢測單位環保署環檢所)，污染情形分述如下。

沉重的污染歷史

根據 1981 年 12 月 30 日台灣省水污染防治所第 7096 號密件文，即提到最近於顯宮鹽場貯水池捕獲魚類一批，其中已檢測的十二條吳郭魚含水銀量均超過可食限界(400ppb)，請加強派人巡察，切實嚴禁捕魚，貯水池引水處加設阻網以防外游致遭誤捕食用，文中更提及貯水池污泥應即進行訂定清除計畫。

1982 年 1 月 18 日，台鹼與台鹽有關人員協商加強措施如下：(1) 公告限期拆除貯水池內各種捕捉魚具，逾期由雙方會同當地派出所及保警人員予以拆除之。(2) 張貼公告及協調附近村里利用廣播器加強宣導。(3) 豎立看板禁止入池捕魚。(4) 引水水門處加設攔阻網以防魚類外游(台鹽辦理)。(5) 晝夜守望請台鹽 50 馬力值班室人員就近協助辦理。(6) 於安順廠加裝採照燈乙盞，以利夜間守望貯水池。(7) 為維護產權商請當地派出所協助取締。(8) 貯水池四周圍加設鐵絲網(費用台鹽、台鹼各分擔一半)。

但當時經濟部部長趙耀東先生於 1982 年 3 月 16 日以特急件下令台鹼公司應予裁撤，並即依公司法規定辦理解散清算事宜，並裁示由中石化接管。該廠於 1982 年 5 月 30 日關廠，貯水池與鹿耳門溪底泥之清除最後石沉大海，而八大措施均未執行。然而污染毒害卻未隨著時間的流逝而消失，反而經由食物鏈的累積濃縮，而危害到人體的健康，尤其是附近的樸實百姓。

1995 年在清華大學凌永健教授博士班學生宋德高先生的博士學位論文中首次檢測出貯水池的 7 條 14 公分的吳郭魚戴奧辛含量竟高達 247 pg-TEQ/g (乾重)，是世界衛生組織所規定 4 pg WHO-TEQ/g 的 60 倍，遠高於環保署 1997 年及 1998 年間調查淡水河、頭前溪及朴子溪魚類、範圍在 0.06~0.15 pg-TEQ /g 的戴奧辛含量。而所捕獲魚隻均屬幼魚，當變成成魚時毒性將增加 3 倍，所以此區所生存魚類已受到嚴重污染。

2001 年成功大學環境微量毒物中心主任李俊璋教授測到貯水池吳郭魚戴奧辛含量為 8.2~12 pg TEQ/g。該學者 2003 年再測吳郭魚為 23.1 pg TEQ/g，虱目魚為 28.3 pg TEQ/g，皆顯著高於世界衛生組織所規定之標準。

2002 年李俊璋教授於其所主持的台灣地區八座垃圾焚化廠附近居民血液戴奧辛濃度資料建立研究計畫中發現，鹿耳里與顯宮里受檢居民血液戴奧辛含量平均值達 50 pg-TEQ/g，是一般正常水準的 2.5 倍。

2003 年李俊璋教授於其所主持的台南市中石化安順廠附近居民流行病學及健康照護研究發現，54 位研究對象之血液戴奧辛濃度平均值高達 81.5 pg WHO-TEQ/g lipid (範圍為 13.0~202 pg WHO-TEQ/g lipid)，其中血液戴奧辛濃度 50~100 pg WHO-TEQ/g lipid 者有 16 人，高於 100 pg WHO-TEQ/g lipid 以上有 18 人。

2004 年成功大學環境微量毒物中心主任李俊璋教授測到蓄水池不同魚類肌肉戴奧辛含量草蝦 58.1 pg-TEQ/g lipid、螃蟹 91.4 pg-TEQ/g lipid、環球海鱈 123.0 (肝臟 223.0) pg-TEQ/g lipid、虱目魚 27.9 (肝臟 201.0) pg-TEQ/g lipid、吳郭魚 15.7 (肝臟 39.6) pg-TEQ/g lipid、大鱗鰻魚 56.5(肝臟 178.0) pg-TEQ/g lipid。

2004 年 1 月根據台南市衛生局的調查，1999 年至 2003 年顯宮里死亡人數共 61 人，死於惡性腫瘤人數為 24 人，惡性腫瘤死亡率高達 39.34%，遠較全國的惡性腫瘤平均死亡率為高：在衛生署所公佈的 2001 年國人十大死因的調查報告中，國人惡性腫瘤平均死亡率為 25.5%。

2005 年根據環保署委託工研院環安中心進行台南市中石化安順廠整治場址土壤及地下水污染範圍調查及整治工作建議計畫期中報告。位於台鹼安順廠周圍 100 公尺內之魚塢共 27 公頃，其中位於場址西側之魚塢，根據筆者早期的田野調查該地於 71 年年代初鹿耳門溪縮減河道時，由漁民抽取鹿耳門溪底泥圍堤成魚塢，而該處之前正緊臨嚴重污染的海水蓄水池三處出水口排出位置，鹿耳門溪底泥當然受到污染。故場址西側之魚塢底泥戴奧辛與汞大都超過工研院環安中心建議影響人體健康底泥標準戴奧辛 32pg-I-TEQ/g、汞 1ppm。環保署環檢所 94 年檢測西側魚塢虱目魚汞含量為 0.34ppm，戴奧辛 4.49pg-WHO-TEQ/g。其中水門排水道一處底泥戴奧辛含量為 131pg-I-TEQ/g、汞 2.17ppm，一處戴奧辛含量為 136pg-I-TEQ/g、汞 6.13ppm 相對偏高。同時根據環保署環檢所 92 年檢測水門排水道虱目魚汞含量為 0.42ppm，戴奧辛 5.45pgWHO-TEQ/g，93 年大鱗鰻、帶點石斑、大眼海鱈汞含量為 0.30-0.57ppm，戴奧辛 0.72-5.6pgWHO-TEQ/g，紅蟳汞含量為 0.28ppm，戴奧辛為 3.3pgWHO-TEQ/g。(衛生署甲基汞魚蝦類可食用標準為 0.5ppm，歐盟魚及魚產品戴奧辛標準為 4pgWHO-TEQ/g。)另場址南側魚塢土堤戴奧辛含量高達 3700 pg-I-TEQ/g。同時發現鹿耳門溪、竹筏港溪底泥亦遭戴奧辛與汞的污染，其中竹筏港溪底泥戴奧辛最高值高達 10 萬 pg-I-TEQ/g、沙蝦戴奧辛含量為高達 8.78pgWHO-TEQ/g。

消失的正義

台鹼公司於 1946 年接收日方產權後，當時經濟部資源委員會持股 60%，台灣省政府持股 40%；1967 年後中油公司 100%持股，1982 年 6 月因經濟因素關廠。1983 年併入中石化公司。

中石化公司成立於 1969 年，當時股本為 8 億，1980 年現金增資至 25 億，1983 年合併台鹼公司增資至 72 億，根據經濟部所屬事業民營化書中所述，當時中油持中石化股權 96.6%；1991 年 7 月 12 日股票正式掛牌上市，承銷價為 15 元，中油首次釋出中石化 19.88%股權；1994 年 5 月，中油以每股 18.4 元釋出股權 43.49%，釋股收入共 76.67 億元，並於 1994 年 5 月 31 日全數繳入中油公司帳戶，民股至此合計占中石化 63.37%，公股僅餘 36.63%(中油占 32.90%)；中石化公司於 1994 年 6 月 20 日正式轉於民營，為經濟部所屬事業第一家民營公司，1997 年 6 月再釋出 15%股權，1998、1999 年度再陸續釋出持股；2003 年 5 月 12 日中油公司選任中石化公司 2 席董事，1 席監察員，截至 2003 年 6

月底中油尚有 11.68% 持股，歷年售股總收入 160.68 億；2003 年 9 月 16 日監察院因中石化案行文糾正經濟部，中油至此開始大量拋售持股，2003 年 10 月 29 日持股低於選任時持股一半，並於 2003 年年底出清持股。由上面陳述可知台鹼安順廠的真相污染行為人非常明確是經濟部、台灣省政府與中油，民營化的中石化公司原應是從中獲得土地增值利益的土地關係人。

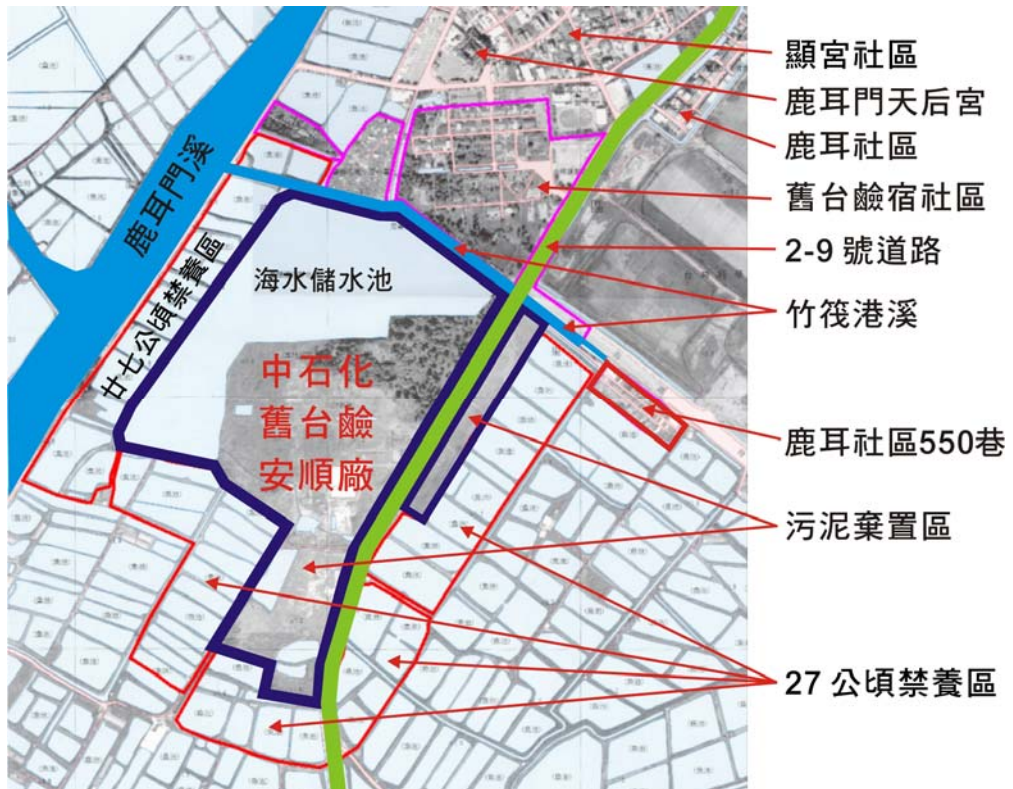
希望工程

2005 年 7 月初，台南市政府在民意的壓力下，以人道關懷的理由，針對居民健康照護、生活救助、底泥移除、漁產收購禁養、學童營養午餐等五大項計畫，編列了約 13 億的經費向中央爭取預算。而原本效果不彰的行政院跨部會會議，則在新任環保署長張國龍的召集下，立即予以回應，並全數通過。非營利組織認為這是一個好的開始，希望政府能建立制度將台鹼安順廠污染處理事件變成台灣污染事件處理的典範。因此非營利組織（NGO）團體堅持五點訴求：

- 一、伸張正義：政府應儘速承認過去錯誤，主動重新認定經濟部與中油亦為「污染行為人」，向受害居民道歉，並進行國家賠償。
- 二、全面整治：政府應儘速比照德國「魯爾工業區」、劃設整治專區，做好污染流佈調查，研擬各項整治的可行方案，並以鹿耳門溪、竹筏港溪底泥清除為第一優先。
- 三、醫療專案：政府應針對所有潛在受害族群，進行全面戴奧辛檢測，依其戴奧辛檢測值結合家族健康史調查與醫師醫學認定，確認真正的污染受害人，擬定健康照護計畫與生活補助辦法。
- 四、透明平台：結合政府官員、醫師、學者、社會公正人士、自救會成員共組處理委員會監控經費運用及各項計畫，並將各種檢測數據透明化，時常溝通、交換意見；誠實面對問題，解決問題，成為全國最佳典範。
- 五、公平正義：五年十三億元之人道照護汙染補償費用實為「全民買單」，其運用應符合公平正義原則，運用過程及運用計畫、時間表皆應公開及透明化。

另類思維—污染博物館

長久以來，台灣政治決策是以經濟成果為最高指導原則，對土地需索無度，臺灣，需要一個污染紀念館，讓人民一起重新思考土地倫理的價值，而台鹼安順廠便是最好的地點。台鹼公司位於鹿耳門，是鄭成功登陸的位置，具有歷史記憶的空間價值。從鹿耳門天后宮至出海口鎮海宮，長約六公里，如將鹿耳門溪加以整治（將是臺灣第一條被整治成功的河川），並由文建會負責設計規劃，將鹿耳門溪沿岸搖身變成親水空間與歷史記憶走廊，銜接鹿耳門天后宮的廟宇文化。迎面是日據時期的建築—台鹼員工宿舍區，在此可欣賞典雅的日式建築與 30 年代完整的社區規劃，接著轉入台鹼污染博物館（將空間與藝術結合），思索人與土地的關係。進而前進四草大眾廟，冥思古戰場（鄭成功與荷蘭人交戰地點），搭上竹筏，進入綠蔭隧道，欣賞紅樹林曼妙的生態。最後轉入台南四草溼地保護區，感受溼地原始的生命力，並至南寮文化村回首鹽田文化，發思古之幽情。一個超級污染區的轉變，將留下掌聲或是噓聲？是否能創造多贏與典範？成功與否，在乎執政的中央政府是否真心與具有城市的遠見。



以活性碳吸附及觸媒轉化技術控制廢棄物焚化廠煙道氣中戴奧辛之效能評析

張木彬* 張書豪* 紀凱獻**

國立中央大學 環境工程研究所* 中央研究院 環境變遷研究中心**

摘要

由於美國環保署(US EPA)執行之戴奧辛風險評估研究已確認戴奧辛之致癌性及其對人體免疫及生殖系統的危害，因此如何有效降低污染源煙道排氣中戴奧辛之排放確有其深入研究必要性。本研究針對國內分別使用活性碳注入系統(ACI)搭配袋濾室集塵器(BF)以及選擇性觸媒反應器(SCR)作為戴奧辛控制技術之兩座大型都市垃圾焚化廠進行煙道氣戴奧辛之採樣工作，針對活性碳吸附及觸媒轉化技術對實廠煙道氣中戴奧辛之效能進行評析，相關結果並搭配本研究所建立之戴奧辛反應載體測試系統以及戴奧辛氣流產生系統模擬戴奧辛各物種於活性碳之吸附特性及觸媒轉化效率。研究結果顯示焚化廠煙道氣中之氣相戴奧辛經活性碳注入吸附之後，其戴奧辛去除率約 93%，但由於 BF 對固相戴奧辛之捕集效果更佳，故其固相戴奧辛之去除率高於氣相。另外，當煙道氣流經溼式洗滌塔(WS)+SCR 後其氣固相之戴奧辛皆有明顯之去除效率，其中以氣相戴奧辛之去除效率最高(99.5%)，顯示 WS+SCR 對煙道氣流中之氣相戴奧辛具備極佳之破壞效率。而戴奧辛反應載體測試系統以及戴奧辛氣流產生系統之測試結果顯示，戴奧辛各物種於活性碳之吸附率隨其含氯數之增加而上升，而 De-dioxin 觸媒對戴奧辛各物種之轉化率則隨著隨其含氯數之增加而下降，值得注意的是氣流溫度之變化以及粉塵(飛灰)之存在與否，將明顯影響戴奧辛於活性碳及觸媒表面之生成量並進而影響戴奧辛之去除效率。

關鍵字：戴奧辛、持久性有機污染物、空氣污染控制、活性碳、觸媒

一、前言

戴奧辛為全球性之污染物，因具劇毒性及穩定性，所以其排放來源及生成機制已成為各國研究之重點。聯合國環境規劃署之研究報告指出(UNEP, 2001)，食物攝入為戴奧辛同源物影響人類健康主要途徑，佔吸入量的百分之九十五以上。戴奧辛之基本鍵結架構為三環芳香族含氯碳氫化合物，共有八個位置能與氯原子結合，因氯原子鍵結數及位置的不同，PCDDs 共有 75 種同源物；而 PCDFs 則有 135 種，這些同源物的物理、化學及毒性皆不盡相同。一般熔、沸點隨著氯原子鍵結數的增加而變高(Atkinson, 1997; Brubaker and Hites, 1997)，溶解度及蒸氣壓則隨著氯原子鍵結數的增加而降低(介於 5×10^{-10} 至 2×10^{-7} Pa, 25°C)。如何在焚化及高溫程序中有效降低戴奧辛之生成，一直是許多學者研究的重點。一般來說，控制戴奧辛的排放就方法而論可歸納為 2 類：1. 抑制戴奧辛生成，2. 管末控制。雖然從源頭進行戴奧辛生成前驅物的排放減量比管末處理要經濟許多，對整體的環境負荷來說較為積極且正面，但目前國內都市垃圾焚化廠受限於焚化進料及操作條件之要求從源頭進行戴奧辛生成減量相當困難，為了有效控制戴奧辛的排放，國內廢棄物焚化廠仍多採用管末之空氣污染控制設備(APCDs)對戴奧辛進行控制。而國內 20 座運轉中之大型都市垃圾焚化廠所採用之戴奧辛控制技術主要分為活性碳注入系統(ACI)搭配袋濾室集塵器(BF)以及選擇性觸媒反應器(SCR)兩種，隨各污染源所使用之不同其對煙道氣中氣固相戴奧辛之去除效率亦隨之產生變化，進而影響戴奧辛於煙道氣中之氣固相分布。本文

針對都市垃圾焚化廠煙道氣中戴奧辛之氣固相分佈特性進行煙道採樣，以釐清其於污染源排放管道中之去除與分布機制，並藉由相關實驗設計進一步釐清煙道氣中戴奧辛之去除及生成特性。

二、實驗方法

2.1 煙道戴奧辛採樣

本研究中之戴奧辛煙道採樣設備，係將 Modified Method 5 採樣設備，依照 USEPA Method 23 改裝而成，氣-固相戴奧辛樣品收集方面，煙道採樣設備前半部(front half)主要是以濾紙過濾粒狀物，藉此收集煙道氣中固相之戴奧辛，而後半部(back half)則以 XAD-2 樹脂吸附煙道氣中氣相之戴奧辛。本研究探討之大型都市垃圾焚化廠 MWI-1 其 APCDs 包括旋風集塵器(CY)、乾式洗滌塔(DSI)、袋濾式集塵器(BF)並配合活性炭注入(ACI)以控制戴奧辛排放。MWI-2 所配置之 APCDs 則包括靜電集塵器(EP)濕式洗滌塔(WS)並以選擇性觸媒反應器(SCR)做為戴奧辛污染控制設備。煙道氣樣品之採樣位置如圖 1 所示。

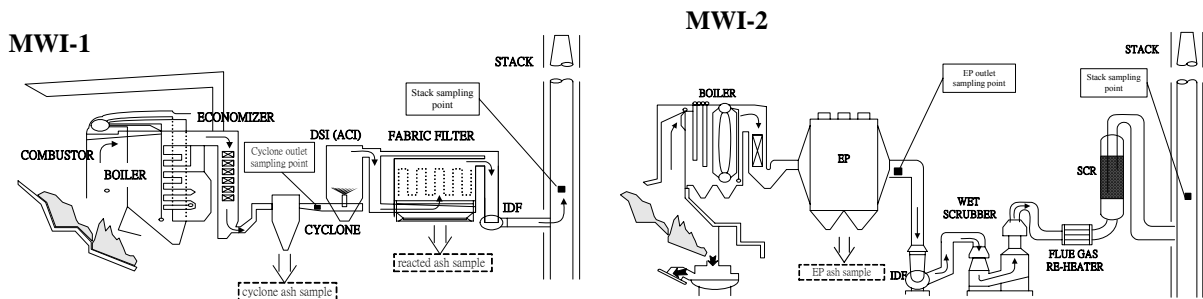


圖 1 都市垃圾焚化廠(MWI-1 及 MWI-2)煙道採樣位置

2.2 戴奧辛反應載體測試系統

為了進一步瞭解活性炭及觸媒對戴奧辛之吸附及轉化特性，本研究初步設計一戴奧辛反應載體測試系統並以四組戴奧辛反應載體（活性炭、活性炭+飛灰、De-Dioxin 觸媒及 De-Dioxin 觸媒+飛灰）模擬戴奧辛氣流通過載體時戴奧辛之反應特性，並藉由移動式高溫烘箱改變煙道氣流之溫度以掌握環境溫度之變化對煙道氣流戴奧辛氣固相轉移之分佈特性，戴奧辛反應載體測試系統之配製如圖 2 所示。

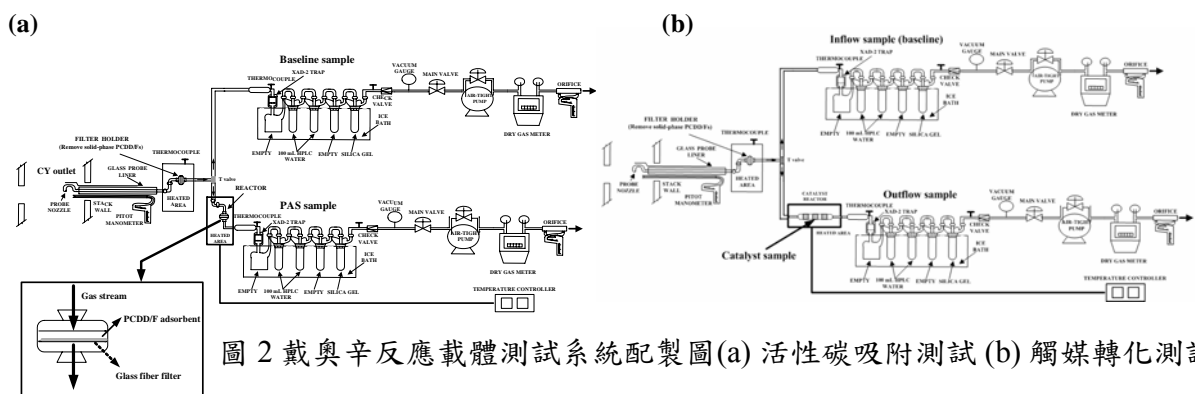


圖 2 戴奧辛反應載體測試系統配製圖(a) 活性炭吸附測試 (b) 觸媒轉化測試

2.3 戴奧辛氣流連續產生系統

由於焚化系統中會產生許多污染物質於煙道排氣中，其中重金屬、酸性氣體(HCl)、粉塵都有可能對煙氣下游所配置之活性炭及觸媒造成效能之降低及觸媒活性的喪失及。此外，實廠煙道氣流之不穩定性亦增加戴奧辛樣品採集的困難度，致使無法有效掌握相關控制設備對戴奧辛之操作效能及相關影響因子的探討。本研究初步建立一套實驗室規模(Lab-Scale)之戴奧辛氣流連續產生系統，模擬實廠煙道排氣中戴奧辛之排放特性，搭配上上述之戴奧辛反應載體測試系統評估活性炭對氣相戴奧辛之吸附特性以及觸媒之 De-dioxin 效能，並進一步掌握其戴奧辛於空氣污染控制設備中之生成之去除機制，戴奧辛氣流連續產生系統裝置如圖 3 所示。

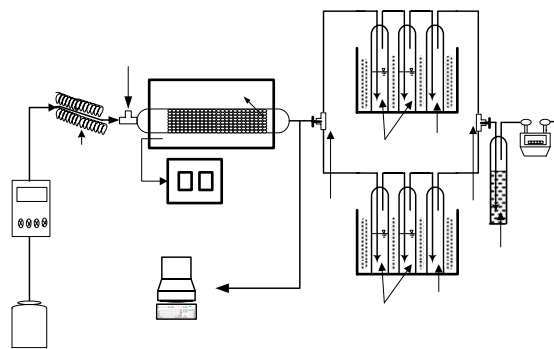


圖 3 戴奧辛氣流連續產生系統

2.4 戴奧辛樣品分析

本研究所採集之戴奧辛樣品依據環保署環境檢驗所公告之「排放管道中戴奧辛及呋喃檢驗方法 (NIEA A808.72B)」進行樣品前處理及上機工作，由於戴奧辛濃度極低，為考量儀器的偵測極限，戴奧辛之分析係以有廣泛性及高選擇性的 HRGC (Hewlett Packard 6890 plus) / HRMS (JEOL JMS-700) 搭配 DB-5 MS 層析管柱 (60m x 0.25 mm x 0.25 μ m). 配合選擇離子偵測法 (SIM) 進行分析，該儀器本身的解析度 (resolution) 設定至少 10,000 以上，即使樣品中含有少量干擾物質，仍能透過儀器加以區別。

三、結果與討論

3.1 焚化廠煙道氣中戴奧辛氣固相分物特性

隨各焚化廠所使用之 APCDs 不同其對煙道氣中氣固相戴奧辛之去除效率亦隨之產生變化，進而影響戴奧辛於煙道氣中之氣固相分布。圖 4 即針對 MWI-1 及 MWI-2 空氣污染控制設備前後煙道氣流中氣固相戴奧辛濃度分布進行探討。當焚化廠煙道氣經過 CY 後，其煙道氣中近 60% 之戴奧辛分布於氣相中，其原因不外乎是因為 CY 操作溫度多半維持在 200⁰C 以上，其操作溫度接近 de novo 合成反應之溫度窗導致戴奧辛於飛灰表面再生成後，揮發至氣相中。當煙道氣流通過 ACI+BF 後，因其去除煙道氣流中之氣/固相戴奧辛效率不同，故煙道氣流中之戴奧辛之氣固相分布亦產生變化。當煙道氣流通過 ACI+BF 之後因注入之活性炭可有效吸附氣相戴奧辛，使得煙道氣中之氣相戴奧辛由 60% 下降至 40%。此外，由於袋濾式集塵器可有效去除煙道氣中之粒狀物並同步捕集附著於粒狀物上

之固相戴奧辛。因此固相戴奧辛之去除效率亦可達到 98.4%，略低於氣相戴奧辛之 99.3%。

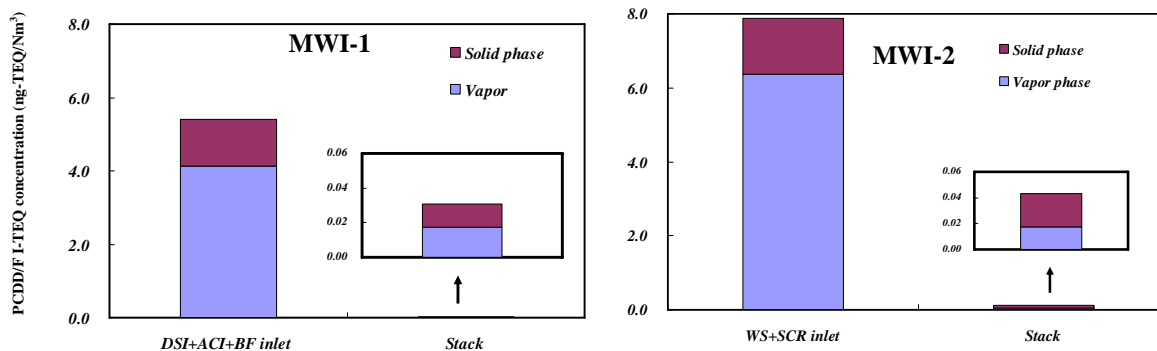


圖 4 MWI-1 及 MWI-2 煙道氣流中戴奧辛氣固相濃度變化特性

另外 MWI-2 的採樣結果亦顯示，EP 後之煙道氣中氣相戴奧辛分布百分比近 80%)，可歸因為 EP 能有效去除粒狀物並同時捕集附著於粒狀物上之固相戴奧辛，另外由於 EP 之集塵板放電過程中所產生之高溫以及其操作溫度多半維持在 230⁰C 以上，其操作溫度接近 de novo 合成反應之溫度窗(介於 250~400⁰C)導致氣相戴奧辛之再生成，使得氣相戴奧辛比率增加。當煙道氣流經 WS+SCR 後其氣固相之戴奧辛皆有明顯之去除效率，其中以氣相戴奧辛之去除效率最高 (99.5%)，顯示 WS+SCR 對煙道氣流中之氣相戴奧辛具備極佳之破壞效率。由於 SCR 主要係針對氣相戴奧辛進行破壞，其對固相戴奧辛並未具有顯著之去除效率。

3.2 活性碳對氣相戴奧辛之吸附特性

為了進一步探討一般商用活性碳對氣相戴奧辛之吸附特性，並評估操作溫度之改變對戴奧辛吸附效率之影響，本研究使用戴奧辛反應載體測試系統進行商用活性碳之戴奧辛吸附測試，並抽引 MWI-1 CY 出口之煙道氣作為氣相戴奧辛進流氣體(固相戴奧辛以濾紙篩除)，其進流濃度約為 3.34 ng-TEQ/Nm³。該商用活性碳之特性如表 1 所示。

表 1 商用活性碳之基本特性

微孔表面積	BET	微孔體積	總孔體積	N	C	H	S	O
(m ² /g)	(m ² /g)	(ml/g)	(ml/g)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
360	916	0.155	0.497	1.68	73.61	1.39	0.34	22.99

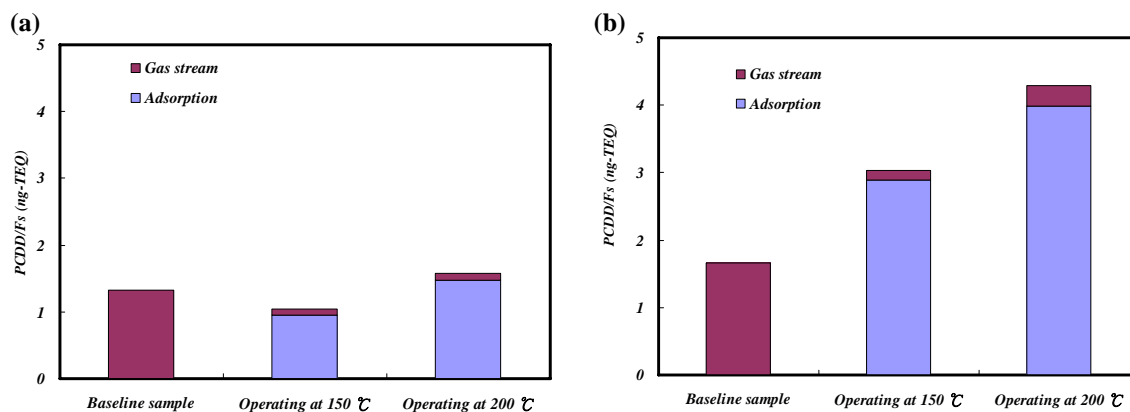


圖 5 不同溫度下(a) 商用活性碳及 (b)商用活性碳(15% wt) +CY ash(85% wt)兩種反應載體對煙道氣中氣相戴奧辛之吸附特性

活性碳測試結果如圖 5(a)所示，以商用活性碳作為吸附載體時其可有效降低出流氣體 (Gas stream)中之戴奧辛含量，於 150°C 時其戴奧辛去除率可達 95%，但隨著溫度的增加，出流氣體中的戴奧辛含量亦隨之上升。Eitzer and Hites (1988)指出戴奧辛各物種之蒸汽壓隨著環境溫度之上升而增加，將影響戴奧辛物種之吸附比率，當操作溫度上升至 200°C 時(接近 de novo 再合成之溫度窗)，活性碳表面之戴奧辛(Adsorption)與出流氣體中戴奧辛總和超過進流，顯示活性碳上有戴奧辛再生成的現象發生，de novo 合成反應是一種由碳、氧、氫、氯以及過渡催化金屬在飛灰中之異相合成反應生成 PCDD/Fs 之反應機制。此外，本研究亦將商用活性碳(15% wt)及 CY 飛灰(85% wt)依比例進行混和，藉此模擬活性碳注入系統搭配 BF 時之戴奧辛與濾袋上濾餅之吸附特性，為了避免 CY 飛灰本身所存在之戴奧辛濃度對吸附測試造成影響，實驗測試前已經由索式萃取程序將原本吸附於 CY 飛灰上之戴奧辛予以去除(戴奧辛濃度低於 0.1 pg-TEQ/g)。測試結果如圖 5(b)所示。於 150°C 時活性碳濾餅對戴奧辛之去除效率可達 90%，但隨著操作溫度上升至 200°C 時戴奧辛之去除效率卻下降至 80%，其結果與國外實廠測試(Tejima et al., 1996)數據相當吻合。值得注意的是以活性碳混和飛灰作為戴奧辛吸附載體時，其活性碳表面之戴奧辛與出流氣體中戴奧辛總和將遠遠超過煙氣進流之戴奧辛含量，其顯示戴奧辛於活性碳濾餅上經由 de novo 反應之再生成的現象相當顯著。

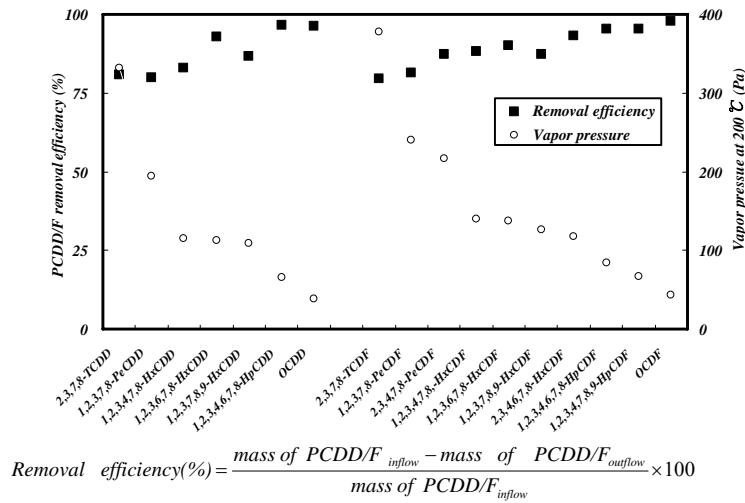


圖 6 商用活性碳對戴奧辛之吸附效率與各物種蒸汽壓之變化趨勢(戴奧辛進流濃度: 9.14 ng-TEQ/Nm³, 反應溫度: 200°C, 氣體流量: 2.0 slpm)

為了避免戴奧辛於活性碳表面之再生成效應進而干擾活性碳對戴奧辛各物種之去除效率探討，圖 6 之研究結果即使用戴奧辛氣流連續產生系統作為吸附測試之戴奧辛進流氣體來源，其測試結果顯示活性碳對戴奧辛各物種之去除效率隨著各物種之含氯鍵結數增加而下降，其主要與各物種之蒸汽壓變化有關，圖 6 亦顯示隨著戴奧辛各物種蒸汽壓之下降，其去除效率亦隨之上升。一般來說蒸汽壓越高的物種其沸點越低而更容易分佈於固相中，進而容易被活性碳所吸附。與過去實廠之研究相比較(Chi et al., 2002)，ACI+BF 似乎對低氯數之戴奧辛去除效果較佳，其主要係受煙道氣中氣固分佈差異所影響，而本研究僅針對氣相戴奧辛且無受戴奧辛再生成效應之影響，因此其結果符合戴奧辛本身之物化性質。

3.3 De-dioxin 觸媒對氣相戴奧辛之轉化特性

早期 SCR 程序主要運用於火力發電廠 NOx 排放之減量，後續研究才將其功能運用於一般都市廢棄物焚化爐中 PCDD/Fs 排放之控制。一般在焚化系統中要以 SCR 系統同步去除 NOx 及 PCDD/Fs 時，觸媒的選擇及配置極為重要。為了進一步探討 De-dioxin 觸媒對氣相戴奧辛之轉化及吸附(毒化)特性，並評估操作溫度之改變對戴奧辛轉化效率之影響，本研究使用戴奧辛反應載體測試系統進行 De-dioxin 觸媒之戴奧辛反應測試，並抽引 MWI-1 CY 出口之煙道氣作為氣相戴奧辛進流氣體(固相戴奧辛以濾紙篩除)，其進流濃度約為 2.91 ng-TEQ/Nm³。該 De-dioxin 觸媒之特性如表 2 所示。試驗結果如圖 7 所示當操作溫度升高，出流氣體中之戴奧辛含量亦隨之降低，操作溫度均以 250°C 時為最佳，此結果與國內外相關研究結果相同，一般隨觸媒床之操作溫度升高，氣相戴奧辛的去除效率應隨之增加(Ide et al., 1996; Liljilind et al., 2001; Yim et al., 2002)。戴奧辛在觸媒系統中行氧化反應，主要產物為 CO₂、H₂O 及 HCl，反應過程中溫度供給所需之活化能，促使戴奧辛進行分解反應，故觸媒床操作溫度對戴奧辛去除效率影響甚鉅。本研究之 De-dioxin 觸媒可有效降低出流氣體中戴奧辛之含量，其去除效率亦可達到 90% 以上，但是於 200°C 以

下之操作溫度進行測試時，約有 20% 以上之戴奧辛吸附於觸媒上，其吸附比例隨著操作溫度之上升而下降。

表 2 De-dioxin 觸媒之基本特性

Catalyst	BET surface area (m ² /g)	Pore volume (cm ³ /g)	Micropore* distribution (%)
Fe/C	608	0.295	98

● the diameter of micropore is defined as < 20 Å

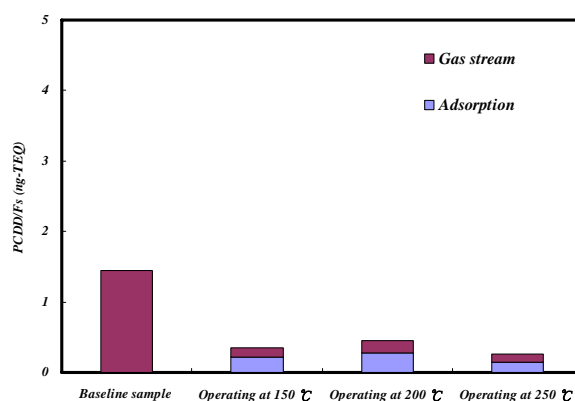


圖 7 不同溫度下 De-dioxin 觸媒反應載體對煙道氣中氣相戴奧辛之轉化特性

另外，17 種戴奧辛物種之去除效率與操作溫度之關係如圖 8 所示。整體而言，觸媒對低氯數戴奧辛物種(4 氯及 5 氯 PCDD/Fs)的去除效率明顯高於高氯辛物種(6 氯至 8 氯 PCDD/Fs)，此結果與國內外相關研究結果相同(Weber et al., 1999 ; Liljelind et al., 2001)。主要由於觸媒對化合物的破壞難易程度取決於化合物的揮發性(沸點及蒸氣壓)及氧化作用，而這兩者皆與化合物的氯化程度有關，含氯芳香族的分解亦效率隨氯數增加而降低。

$$Destruction\ efficiency(\%) = \left[\frac{\text{mass of PCDD/F}_{inflow} - (\text{mass of PCDD/F}_{outflow} + \text{mass of PCDD/F}_{on\ catalyst})}{\text{mass of PCDD/F}_{inflow}} \right] \times 100$$

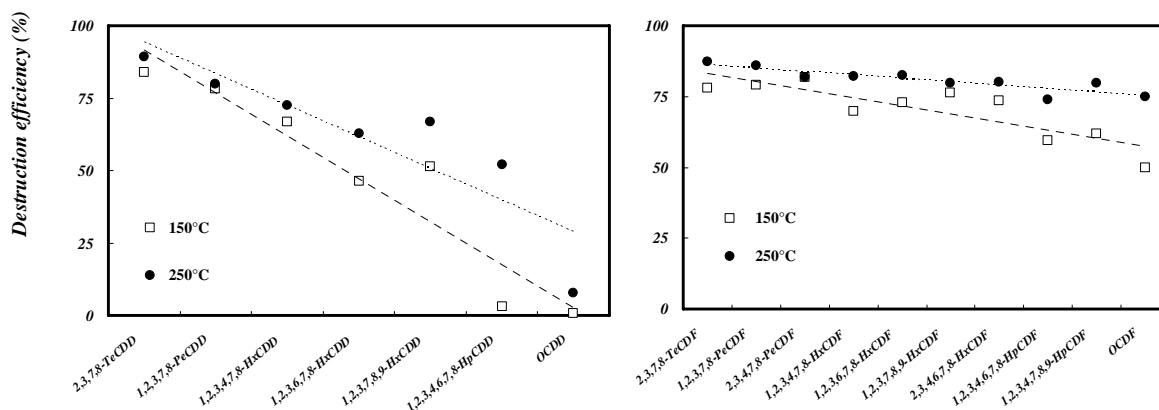


圖 8 不同溫度下 De-dioxin 觸媒對戴奧辛各物種之破壞效率

表 2 不同溫度下 De-dioxin 觸媒床中添加飛灰對戴奧辛去除效率之影響 (戴奧辛進流濃度: 2.0 ng-TEQ/Nm³, 空間流速: 5,000 h⁻¹, 氣體流量: 0.35 slpm)

觸媒操作溫度 (°C)	戴奧辛去除效率 (%)		A - B
	觸媒床中 無添加飛灰 (A)	觸媒床中 添加 0.2g 之飛灰 (B)	
250	71.9	63.3	8.6
280	78.6	62.2	16.4
320	82.8	62.9	19.9

由於實廠煙道氣中之飛灰可提供戴奧辛生成所需之碳源、氣源及催化金屬，除了造成觸媒表面阻塞及重金屬毒化現象之外，當觸媒操作溫度落於戴奧辛生成的高峰區時(操作溫度>250°C)，亦提供戴奧辛再生成的條件，進而影響觸媒對戴奧辛的轉化效率。為了確實掌握飛灰在觸媒床中對戴奧辛生成所造成的影響，本研究嘗試將 EP 飛灰添加至顆粒狀觸媒床中予以混和以進行相關參數的探討。表 3 之研究結果採用戴奧辛氣流連續產生系統作為戴奧辛進流氣體來源，在無添加飛灰的條件下當操作溫度升高，戴奧辛之轉化效率則隨之增加，操作溫度以 320°C 時為最佳。然而，在添加 0.2 g 飛灰的條件下，當操作溫度升高，戴奧辛之轉化效率則隨之減少，以操作溫度為 250°C 為最佳。由本次實驗可初步驗證觸媒床內部之積灰，在 250°C~320°C 的溫度區間，會促使飛灰表面戴奧辛的生成，且隨著飛灰之添加及觸媒床操作溫度升高，戴奧辛的生成量將隨之增加，進而造成觸媒床對戴奧辛之轉化效率隨溫度上升而下降，因此觸媒床內部之積灰現象對戴奧辛去除效率的影響甚鉅。

四、結論與建議

使用活性碳注入技術控制戴奧辛排放時，戴奧辛各物種之去除效率不盡相同，其受操作溫度之變化亦相當顯著，當煙道氣流溫度達 de novo 再合成之溫度窗時(250⁰C)，濾餅上將會有戴奧辛再生成的現象發生，其相關特性亦可作為國內都市垃圾焚化廠空氣污染控制設備操作溫度之參考。目前國內大型都市垃圾焚化廠使用率最高之活性碳注入技術搭配袋濾式集塵器，雖可有效控制煙道氣中之氣固相戴奧辛，但其僅能算是『相的轉移』，只有觸媒轉化技術，方能有效降低戴奧辛排放源整廠之戴奧辛排放量。此外若要使觸媒之戴奧辛轉化效率更臻完善，適當之操作溫度以及避免飛灰於觸媒床上之累積亦顯得相當重要。相關研究結果亦證實，本研究初步建立之戴奧辛反應載體測試系統以及戴奧辛氣流產生系統能客觀的針對戴奧辛各物種於活性碳之吸附特性及觸媒轉化效率進行深入之探討。

參考文獻

- Atkinson, R., Atmospheric Chemistry of PCBs, PCDDs and PCDFs. Issues in Environmental Science and Technology 6, Chlorinated Organic Micro-pollutants, The Royal Society of Chemistry, 1997, pp. 53-72
- Brubaker, W. W. and R. A. Hites, Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans: Gas-phase Hydroxy Radical Reactions and Related Atmospheric Removal, Environ. Sci. Technol., Vol. 31, 1997, pp. 1805-1810.
- Chang, M. B., J. J. Lin, and S. H. Chang, Characterization of Dioxin Emissions from Two Municipal Solid Waste Incinerators in Taiwan, Atmospheric Environment, Vol. 36, 2002, pp. 279-286.
- Eitzer, B. D. and R. A. Hites, Vapor Pressures of Chlorinated Dioxins and Furans. Environ. Sci. Technol., Vol. 22, 1988, pp. 1362-1364.
- Ide, Y., K. Kashiwabara, S. Okada, T. Mori and M. Hara, Catalytic Decomposition of Dioxin from MSW Incinerator Flue Gas, Chemosphere, Vol. 32, 1996, pp. 189-198
- Liljelind, P., J. Unsworth, O. Maaskant and S. Marklund, Removal of Dioxins and Related Aromatic Hydrocarbons from Flue Gas Streams by Adsorption and Catalytic Destruction, Chemosphere, 2001, Vol. 42, pp. 615-623.
- Tejima, H., I. Nakagawa, T. A. Shinoda and I. Maeda, PCDDs/PCDFs Reduction by Good Combustion Technology and Fabric Filter with/without Activated Carbon Injection, Chemosphere, Vol. 32, , 1996, 169-175.
- United Nations Environment Program. Thailand Dioxin Sampling and Analysis Program, 2001.
- Weber R., T. Sakurai and H. Hagenmaier, Low Temperature Decomposition of PCDD/PCDF, Chlorobenzenes and PAHs by TiO₂-based V₂O₅-WO₃ Catalysts, Applied Catalysis B: Environmental, Vol.20, 1999, pp. 249-256.
- Yim S. D., D. J. Koh and I. S. Nam, A pilot plant study for Catalytic Decomposition of PCDDs/PCDFs over Supported Chromium Oxide Catalysts, Catalysis Today, Vol. 75, 2002, pp. 269-276.

北台灣水庫底泥中戴奧辛類污染物之垂直分佈特性及歷史變動趨勢

Vertical Profiles and Historical Trends of Dioxin-like Compounds in a Sediment Core from the Reservoir in Northern Taiwan

Kai Hsien Chi*, **Moo Been Chang**** and **Shuh Ji Kao***

Research Center for Environmental Changes, Academia Sinica, Taipei 115, Taiwan*
Graduate Institute of Environmental Engineering, National Central University, Chungli 320, Taiwan**

Abstract

To evaluate the historical changes in polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin (PCDD), polychlorinated dibenzofuran (PCDF) and polychlorinated biphenyl (PCB) inflows in the reservoir investigated in Taiwan, their concentrations in the sediment core were analyzed in 1~2 cm interval. The maximum concentrations of PCDD/Fs and PCBs were 14.4 pg-I-TEQ/g dry (13-15 cm) and 0.261 pg-TEQ_{WHO}/g dry (13-15 cm), respectively. The PCDD/F concentrations of sediment core measured in the reservoir investigated are consider lower than the sediment standards proposed in Japan (150 pg-TEQ/g). Age of the different levels of sediment core was estimated by the sedimentation rate. The results indicate that the sediment core PCDD/F concentrations measured in the reservoir investigated reached their peak as the municipal waste incinerators (MWIs) in the vicinity area started to operate. In addition, the decrease of sediment core PCDD/F concentration is related to the PCDD/F emission limit proposed by Taiwan EPA in effect. Input flux of PCDD/Fs (5.75~158 ng-I-TEQ/m²-yr) and PCBs (0.248~3.71 ng-TEQ_{WHO}/m²-yr) into the reservoir investigated is also calculated from the concentration and sedimentation rate of the sediment. The PCDD/F input flux measured in the reservoir investigated is possible the sum of PCDD/F input flux in the reservoir and its catchments area.

Keywords : dioxin, PCDD/F, PCB, sediment, municipal waste incinerator.

1. INTRODUCTION

Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), and polychlorinated biphenyls (PCBs) are environmental hormones. Well-known sources of PCBs include those released by the use or disposal of industrial PCB products or formed as by-products during municipal waste incineration or smelting with electric arc furnaces. PCDDs, PCDFs and PCBs can be formed in combustion processes in the presence of carbon source and chlorine. Non-ortho PCBs, in particular, are reportedly formed during coal combustion and municipal wastes incineration processes and do not originate solely from commercial PCB mixtures (Boers et al, 1994). To determine the relative importance of various dioxin sources

over time, vertical distribution of concentrations of major dioxin congeners in sediment cores has been investigated (Kubota et al., 2002). Sediments are ultimate sink for dioxins. As with soils, sediment samples are accumulating matrices for lipophilic substances and can receive inputs via different pathways including atmospheric deposition, industrial and domestic effluents, storm water, spills, etc (European Commission DG Environment UK, 1999). Sediment samples can be collected as grab samples or as cores, which allow for time adjustment. In addition, vertical profiles of residues in dated sediment cores have been used as historical records of pollution (Gevao et al., 1998). In this study, we report vertical concentration profiles and fluxes of a wide variety of PCDD/F and PCB compounds in a sediment core collected from the reservoir investigated in northern Taiwan. Relevant results can provide a historical record of dioxin-like compounds inputs into the reservoir and will be used by other researchers to study temporal trends in PCDD/F deposition.

2. EXPERIMENTAL

2.1 Description of the reservoir investigated

The reservoir investigated started to operate in 1987 with an initial storage of 406 million m³. The main dam is located at the downstream of Peishih Creek, a tributary of Hsintien Creek (Fig. 1). The reservoir has a surface area of 10.24 km² and a mean depth of 40m with maximum depth of 113.5m near the dam. The reservoir is one of the most extensively monitored reservoirs in Taiwan and its catchments area is 30 times the reservoir area, consisting of 11% of the Tanshui drainage area. The main landscape in the reservoir watersheds is terrace and hardwood montane. Most banks of this reservoir are the previous agricultural farms, primarily tea farms, which were flooded after the reservoir operation. Mean annual precipitation in this area is around 2,500 mm or more. The main geological substrates are interstratified with sandstone and shale formed after the Oligocene.

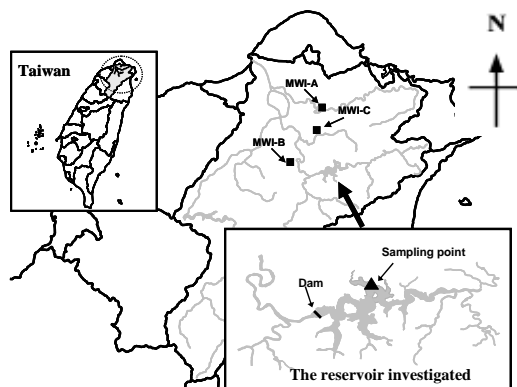


Figure 1 Sampling point and the relevant locations of the reservoir investigated.

2.2 Sample collection and analysis

A 20-cm sediment core was collected at a location near the middle part of the reservoir (Fig. 1), where was the previous tea farms on terraces along riverbanks and was flooded after reservoir completion. Core collection was carried out directly by inserting plastic tubes into bottom sediments by hand with caution in August 2002. The 20 cm modern sediments deposited in the bottom since reservoir completion correspond to a time span of 15 years (from June 1987 to

August 2002). It allows us to estimate a mean sedimentation rate of 1.3 cm/yr. Therefore, the representative age of sediment core in different depth can also be estimated and listed in Table 1. For PCDD/Fs and PCBs analysis, the sediment core samples were then spiked with known amounts of US EPA Method 1613 and 1668A, respectively, as internal quantification standard. Finally, seventeen 2,3,7,8-substituted PCDD/F and twelve toxic PCB congeners are analyzed with high resolution gas chromatography (HRGC) (Hewlett Packard 6890 plus)/high resolution mass spectrometer (HRMS) (JEOL JMS-700) equipped with a fused silica capillary column DB-5 MS (60m x 0.25 mm x 0.25 μ m, J&W).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 PCDD/F and PCB concentrations in sediment core at different level

Table 1 lists the PCDD/F and PCB concentrations (based on TEQ) measured at different levels of sediment core in the reservoir investigated. The results indicate that the PCDD/F concentrations range from 0.948 to 14.4 pg-I-TEQ/g and PCB concentrations range from 0.041 to 0.261 pg-TEQ_{WHO}/g, respectively. However, the PCDD/F concentrations of sediment core measured in the reservoir investigated are consider lower than the sediment standards proposed in Japan (150 pg-TEQ/g). Table 1 also indicate that there are two major phases of increasing PCDD/F concentrations, one in the 1991, and the second in the 1996. In addition, PCDD/F concentrations in sediment core decrease with time since 1997, and PCBs decrease with time since 1992. Before 1991, no significant PCDD/F emission sources existed in the vicinity area of the reservoir investigated. During 1991 to 1996, three large-scale MWIs in the vicinity area of the reservoir investigated were built and started to operate. Relevant information of those three MWIs (MWI-A, MWI-B and MWI-C) are listed in Table 2.

Table 1 PCDD/F and PCB concentration measured at different level of sediment core in the reservoir investigated.

Depth (cm)	Approximate year	PCDD/F concentration (pg-I-TEQ/g, dw)	PCB concentration (pg-TEQ _{WHO} /g, dw)
0-1	2002	0.948	0.041
1-2	2001	1.97	0.048
2-3	2000	2.78	0.072
3-5	1998	2.36	0.064
5-7	1997	4.04	0.080
7-9	1996	6.10	0.063
9-11	1995	3.13	0.061
11-13	1993	2.97	0.081
13-15	1992	14.4	0.261
15-17	1991	2.81	0.113
17-19	1989	3.60	0.230
19-20	1987	2.48	0.231

Table 2 The operating condition of three MWIs in northern Taiwan.

Incinerators	MWI-A	MWI-B	MWI-C
Location	Taipei city (about 7 km from the reservoir investigated)	Taipei county (about 11 km from the reservoir investigated)	Taipei city (about 13 km from the reservoir investigated)
Capacity (tons/day/incinerator)	300*3	450*2	300*4
Flue gas flow rate (kNm ³ /hr/incinerator)	145	175	123
APCDs formerly adopted (before 2001)	Electrostatic Precipitator +Wet Scrubber	Cyclone + Spray Dryer Absorber +Bag Filter	Electrostatic Precipitator +Wet Scrubber
PCDD/F emission (before 2001)	1.5 to 289 ng-TEQ/Nm ³ (Chang and Lee, 1998)	2.41 to 10.5 ng-TEQ/Nm ³ (Chang and Lee, 1998)	4.23-5.35 ng-TEQ/Nm ³ (Taiwan EPA, 2000)
Retrofitted APCDs (after 2001)	Cyclone + Spray Dryer Absorber + Activated Carbon Injection + Bag Filter	Cyclone + Spray Dryer Absorber + Activated Carbon Injection +Bag Filter	Electrostatic Precipitator +Wet Scrubber + Selective Catalytic Reduction
PCDD/F emission (after 2001) (ng-TEQ/Nm ³)	0.0093 ng-TEQ/Nm ³ (Taiwan EPA, 2002)	0.017 to 0.048 ng-TEQ/Nm ³ (Taiwan EPA, 2002)	0.018-0.061 ng-TEQ/Nm ³ (Taiwan EPA,2002)
Stack height (m)	74	120	150

In the case of MWI-A, the PCDD/F concentration measured in stack gas was even higher than 280 ng-I-TEQ/Nm³ in the early stage of the operation (Chang and Lee, 1998). Significant amounts of PCDD/Fs were generated from de novo synthesis, causing relative high PCDD/F emission in MWI-A. Those three MWIs adopted with traditional APCDs could not effectively reduce the PCDD/F emission. Figure 2 shows time trends in PCDD/F concentrations of sediment core in the reservoir investigated. Compared to previous studies (Rose et al., 1997), the sediment core PCDD/F concentrations (386~2,756 pg/g) measured in the reservoir investigated are significantly higher than that measured in the lake of United States (18~176 pg/g) and United Kingdom (275~630 pg/g).

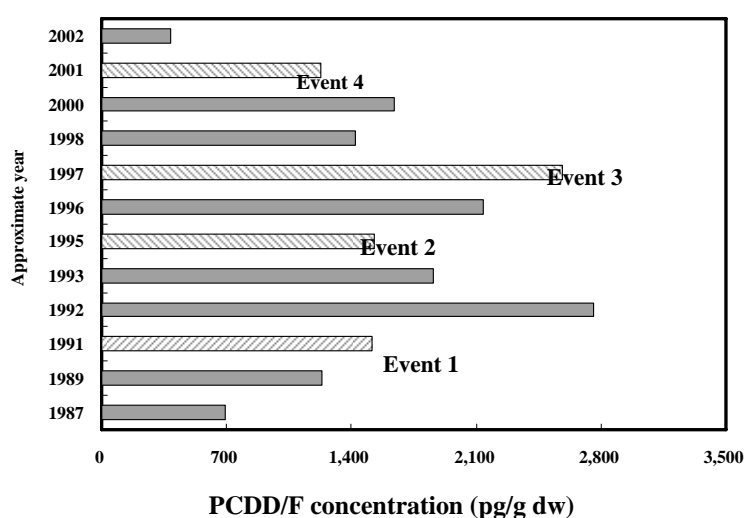


Figure 2 Time trends in seventeen 2,3,7,8-substituted PCDD/F concentrations of sediment core at the reservoir investigated.

3.2 Relationship between PCDD/F and PCB concentrations in sediment core with historical events

Table 3 lists the relevant historical events regarding to those three MWIs and the limit of dioxin compound emission in Taiwan.

Table 3 The historical events regarding to the emission sources in the vicinity area of the reservoir investigated.

<i>Event</i>	<i>Description</i>
1	In 1991, MWI-A started to operate.
2	In 1995, MWI-B and MWI-C started to operate.
3	In 1997, PCDD/F emission limit (1.0 ng-TEQ/Nm ³) for existing large-scale MWIs was promulgated.
4	In 2001, PCDD/F emission limit (0.1 ng-TEQ/Nm ³) for existing large-scale MWIs was in effect.

The results indicate that the increasing of sediment core PCDD/F concentration is related to the operation of MWIs in the vicinity area of the reservoir investigated. The results of Figure 2 and Table 3 prove that the sediment core PCDD/F concentration measured in the reservoir investigated is significantly affected by the operation of MWIs in the vicinity area. Figure 2 shows that the sediment core PCDD/F concentration decreased from 2,580 pg/g to 1,427 pg/g in 1998 (Event 3). Therefore, the significant decrease of the sediment core PCDD/F concentration in the reservoir investigated is affected by the PCDD/F emission limits (1.0 ng-TEQ/Nm³) promulgated in August 1997. In addition, the retrofit technologies for reducing PCDD/F emissions from existing MWIs were evaluated at the same time. Due to the simplicity in engineering and its high efficiency, activated carbon injection (ACI) has become the popular retrofit technology for reducing dioxin emissions at most MWIs (such as MWI-A and MWI-B). In addition, the selective catalytic reduction system (SCR) has been applied in the MWI-C for reducing PCDD/F emissions in November 2002. Table 2 also indicates that the PCDD/F concentration measured in stack gas of those three MWIs in 2002 are significantly lower than the new PCDD/F emission limits (0.1 ng-TEQ/Nm³). Therefore, the significant decreases of the sediment core PCDD/F concentrations in the reservoir investigated is observed in 2002 (Event 4). The PCDD/F concentration of sediment core (386 pg/g) measured in 2002 of the reservoir investigated is the lowest in all sediment core samples within 15 years.

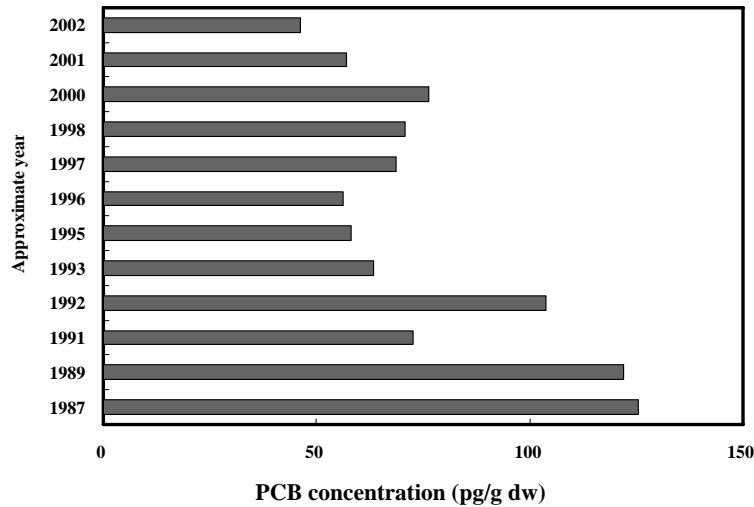


Figure 3 Time trends in twelve toxic PCB concentrations of sediment in the reservoir.

With time elapsed, the sediment core PCB concentration decrease from 125 pg/g to 46 pg/g (Figure 3). Only a slight increase of PCB concentration in sediment core is observed in 1992 (Event 1). Generally, well-known sources of PCBs include those released by the use or disposal of industrial PCB products or formed as by-products during industrial waste incineration or smelting with electric arc furnaces (Kim et al., 2004). Therefore, we speculate that the sediment core PCB concentration measured in the reservoir investigated is not mainly contributed by those three MWIs.

3.3 Estimation of PCDD/ and PCB input flux in the reservoir investigated

Based on the PCDD/F and PCB concentrations measured in different level sediment core, the PCDD/ and PCB annual input flux in the reservoir investigated can be calculated. Figure 4 shows that the PCDD/F input flux between 1987 and 2002 in the reservoir investigated ranges from 5.75 to 158 ng-I-TEQ/m²-yr and the PCB input flux ranges from 0.248 to 3.71 ng-TEQ_{WHO}/m²-yr at same period. Except for the result observed in 1992, the PCB input flux in the reservoir investigated decrease significantly with time. Relevant study (Japan EPA, 1998) indicates that the ambient air PCDD/F deposition flux in Japan is around 0.073~3.09 ng-I-TEQ/m²-yr in the background area and around 0.146~61.2 ng-I-TEQ/m²-yr in the vicinity area of the significant PCDD/F emission sources. Hence, the PCDD/F input flux measured in this study of the reservoir investigated is significantly higher than that measured in other countries. However, the manner of PCDD/F input flow in this study includes ambient air deposition and erosion of the surface soil upstream of the reservoir investigated. Owing to the steep landscape in Taiwan, the magnitude of the erosion by the river upstream of the reservoir investigated is significant. In the case of the lake in United Kingdom (Rose et al., 1997), the deposit rate is around 0.08 cm/yr, but the deposit rate in the reservoir investigated in this study is higher than 1.3 cm/yr. In addition, the catchments area of the reservoir investigated is 30 times the reservoir area (10.24 km²). Hence, the PCDD/F input flux measured in the reservoir investigated is possible the sum of PCDD/F input flux in the reservoir and its catchments area.

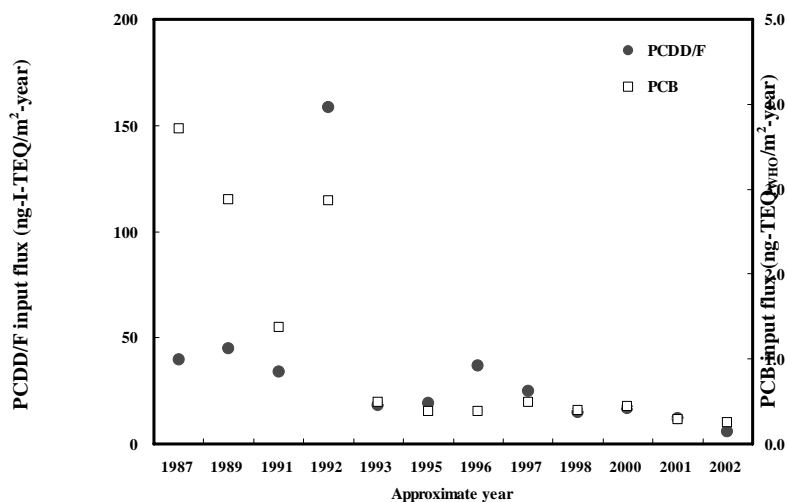


Figure 6 Time trends in PCDD/F and PCB input flux of the reservoir investigated.

4. CONCLUSIONS

In this study, the history of contamination by PCDD/Fs agreed with the age determination of the sediment core based on deposit rare. The results indicated that the major sources of PCDD/Fs after 1991 in the vicinity area of the reservoir investigated were municipal wastes incineration. The products containing PCBs had been widely used in Taiwan more than 20 years ago. PCBs remained in drainage areas, and flowed continuously into the aquatic environment. The PCDD/F input flux measured of the reservoir investigated is significantly higher than that measured in other countries. With significant input flux, the contribution of ambient PCDD/F deposition and erosion of soil containing PCDD/Fs is needed to be evaluated.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors greatly appreciate Taipei Feitsui Reservoir Administration for valuable discussion. Assistance provided by Prof. W. H. Ding and Mr. S. H. Chang of National Central University in analyzing the samples is also acknowledged.

REFERENCE

- Boers, J. P., Leer, E. W. B., Gramberg, L. and Koning, J. D., Levels of Coplanar PCB in Flue Gases of High Temperature Processes. *Fresenius J. Anal. Chem.*, Vol. 348, 1994, pp. 163~166.
- Chang, M. B. and Lee, C. H. Dioxins Levels in the Emissions from Municipal Waste Incinerators in Taiwan. *Chemosphere*, Vol. 36, 1998, pp. 2483-2490.

- European Commission DG Environment UK. Compilation of EU Dioxin Exposure and Health Data: Summary Report, 1999.
- Gevao, B., Jones, K. C. and Hamilton-Taylor, J., Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Deposition to and Processing in a Small Rural Lake, Cumbria UK. *Sci. Total Environ.*, Vol. 215, 1998, pp. 231-242.
- Japan EPA, *The Measurement Report of Atmospheric deposition of PCDD/Fs in Different Area in Japan* 1998. <http://www.env.go.jp/press/press.php3?serial=1908> (in Japanese).
- Kim, K. S., Hirai, Y., Kato, H. M., Urano, K. and Masunage, S., Detailed PCB Congener Patterns in Incinerator Flue Gas and Commercial PCB Formulations (Kanechlor). *Chemosphere*, Vol. 55, 2004, pp. 539~553.
- Kubota, A., Someya, M., Watanabe, M. and Tanabe, S., Contamination Status of PCBs (including coplanar congeners), Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and Dibenzofurans (PCDFs) in Sediments from Uwa Sea, Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi.*, Vol. 68, 2002, pp. 695–700 (in Japanese).
- Rose, C. L., Rose, N. L., Harlock, S. and Fernandes, A., An Historical Record of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxin (PCDD) and Polychlorinated Dibenzofuran (PCDF) Deposition to a Remote Lake Site in North-west Scotland, UK, *Science of the Total Environment*, Vol. 198, 1997, pp. 161-173.
- Taiwan EPA, *The Report of PCDD/F Concentration measured in Stack gases of MWIs in Taipei* 2000; <http://www.mcrip.taipei.gov.tw/chinese/main-c.htm> (in Chinese).
- Taiwan EPA. *The Report of PCDD/F Concentration measured in Stack gases of MWIs in Taiwan* 2002; <http://ivy3.epa.gov.tw/swims/> (in Chinese).

臺灣環境中壬基酚之檢測與流布調查

丁望賢

(e-mail: wding@cc.ncu.edu.tw)

國立中央大學化學系

美國的暢銷書 Our Stolen Future (國內中譯本「失竊的未來—生命的隱形浩劫」) 再一次喚醒人類對化學污染物的重視，書中舉出許多化學污染物對人類與生態的深遠影響，甚至禍延後代，並將這些物質命名為「外因性內分泌干擾化學物質(Environmental Endocrine Disrupting Chemicals)」，或稱為 Endocrine Disruptors，而日本學術界認為此名詞一般人不易瞭解，因此創出較為大眾接受的「環境荷爾蒙(Environmental Hormones)」。環境荷爾蒙即指存在於周遭環境中的持久性微量化學物質，通常經由食物鏈進入動物體內，形成假性荷爾蒙，傳送假性化學訊號，進而干擾內分泌之原本機制，造成內分泌失調。對懷孕期胚胎或成長初期影響頗大，並導致雌雄不分。而壬基酚 (Nonylphenol，簡稱 NP) 便是被證實的環境荷爾蒙一種。

壬基酚主要來源為非離子型介面活化劑：壬基酚聚乙氧基醇類(Nonylphenol Polyethoxylates，簡稱 NPEO)，因大量使用於工業和民生用品上，其殘留物質壬基酚在水環境中不易再被分解，使得此類有機物質在世界各國河川皆被檢測到，其濃度足以影響水中生態，而被廣泛研究。其中壬基酚之化學結構與動物的雌性激素結構相似，會干擾內分泌激素的調節機制，使得動物後代失去性別特徵，而喪失繁衍能力。因此在許多歐洲國家已明確規範此類物質之使用，尤其禁止在民生用品上的使用。

由於台灣的民生或工業廢水處理廠短缺，很多溪流水樣和沉積底泥裡已被檢測出壬基酚殘留物之殘存，且其濃度較其它各國要高。雖然在許多歐洲國家已禁止或自願放棄 NPEO 的使用，但卻依然還可應用於添加在乳膠漆中作為乳化劑，或在塑膠中添加 tris(nonylphenyl)phosphite (TNPP)作為抗氧化劑，或是以界面活性劑的形式添加於殺蟲劑與除草劑的配方中，作為提高殺蟲劑懸浮和乳化作用的穩定劑，以提高殺蟲劑與除草劑的效率。而對人類而言飲食是最直接曝露於這些殘留物的路徑之一，且由於國內對於食物中壬基酚殘留物之相關文獻資料相當缺乏，特別是國人每日飲食習慣上攝取新鮮水果和蔬菜有相當高的量，而這些新鮮蔬果藉由噴灑農藥或是在運送及銷售等產銷過程中，為了美觀或運送方便而加以塑膠包裝等之直接或間接的接觸，都很容易造成壬基酚的殘留。

經多年的努力，本實驗室已建立起檢測不同基質中壬基酚殘留物的相關檢測技術，其中基質包括：河流與沿海水樣、河川及沿海底泥、水產食品、新鮮蔬果、糊狀嬰兒副食品、洗衣劑與清潔劑等。檢測技術包含有樣品前處理與以現代化的氣相層析質譜儀(GC-MS)及液相層析質譜儀(LC-MS)為主的定性及定量技術。目前本實驗室正與環保署環境檢驗所合作，使用該所新進之二維氣相層析質譜儀(GC×GC-MS)進行壬基酚在環境不同基質中之指紋鑑定與比對，以建立其在環境中之可能流布與污染源之基本資料庫。表一列出本實驗室對臺灣環境中不同基質所開發出的檢測技術及相關文獻，以供有興趣的專家學者參考，並於研討會中作回顧性之說明。

表一、本實驗室檢測不同基質中壬基酚殘留物的相關文獻

基質	檢測技術	相關文獻
河水、放流水	SPE、GC-MS	<i>J. Chromatog. A</i> (1998) 824 , 79-90. <i>Chemosphere</i> (1999) 38 , 2597-2606. <i>J. Chromatogr. A</i> (1999) 862 , 113-120. <i>Chemosphere</i> (2006) in press.
河川底泥	PLE、GC-MS	<i>J. Chromatogr. A</i> (2000) 866 , 79-85.
沿海底泥	SDE、GC-MS	<i>Chemosphere</i> (2006) in press.
洗衣劑與清潔劑	HPLC、LC-MS	<i>J. Chromatogr. A</i> (2002) 968 , 143-150.
新鮮蔬果	SDE、GC-MS	<i>J. Chromatogr. A</i> (2005) 1088 , 200-204.
水產食品	SDE、GC-MS	<i>J. Chinese Chem. Soc.</i> (2005) 52 , 1257-1262. <i>Chemosphere</i> (2006) in press.
糊狀嬰兒副食品	SDE、GC-MS	in preparation for publication

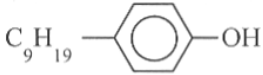
SPE: Solid-phase extraction; PLE: Pressurized liquid extraction;
SDE: Steam distillation extraction.

綜觀壬基苯酚之暴露、健康效應及管理

陳美蓮 陽明大學環境衛生研究所

一、介紹壬基苯酚

1. 壬基苯酚之物化特性

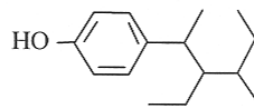
壬基苯酚 (nonylphenol, 以下簡稱 NP) 含一大群異構物，主要構造式為 C_9H_{19} ，工業上製造及使用的 NP 主要為 C_9H_{19} 烷基上具各種分支的 4-nonylphenol 之混合物，CAS No. 歸類為 84852-15-3。其主要特性如下：

- (1) 不易生物分解
- (2) 疏水性
- (3) 中等揮發性
- (4) 辛醇/水分配係數約 4 左右
- (5) 中度生物累積性

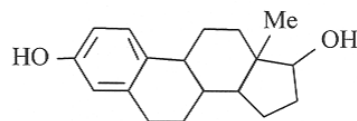
2. NP 受到關注的理由

- (1) 毒性：對水生物具毒性，對人及環境具風險。
- (2) 雌激素效應：其構造類似雌二醇，如下所示。

4-Nonylphenol (one isomer):



17 β -Estradiol:



- (3) 在環境中無所不在：具長期且持續性環境污染。

3. NP 之用途

3.1. NP 生命週期

從環境及人體暴露之觀點，我們可以把工業上所利用之 NP，依生命週期分為兩部分：
(1) NP 之製造 (2) NP 衍生物之使用，前者所製造的 NP 幾乎全部作為各種 NP 衍生產品的原料或中間產物，因此，廣泛的環境及人體暴露可以著重在 NP 衍生物的使用上。

3.2. NP 衍生物之使用

NP 衍生物之使用上，最大宗為 nonylphenol ethoxylates (以下簡稱 NPE)之製造。以歐盟為例，1997 年 NP 之使用量共 78500 噸，其中 60%用來製造 NPE，37%用來製造 resins, plastics, stabilizers 等，3%用來製造 phenolic oximes。

3.2.1 NPE 之使用

NPE 為 Alkylphenol ethoxylate (以下簡稱 APE) 之一員，後者為支鏈狀 AP，作為非離子型介面活性劑，市售配方均是 homologues, oligomers 及 isomers 之組合，NPE 占全球 APE 介面活性劑之 85%以上，其餘主要為 OPE (octylphenol ethoxylate)。NP 及 NPE 已被大量使用了超過 40 年，作為 detergents, emulsifiers, wetting agents & dispersing agents 等用途，因此在許多工業程序上被廣為使用，包括 laundry & cleaning products, textile processing, pulp & paper processing, resins, protective coatings, oil & gas recovery, steel manufacturing, pest control products & power generation 等,以歐盟為例，NP 及 NPE 之使用量及工業類別如圖 1，顯示，NP 及 NPE 產品普遍使用在各產業且普遍為一般民眾日常生活所接觸。

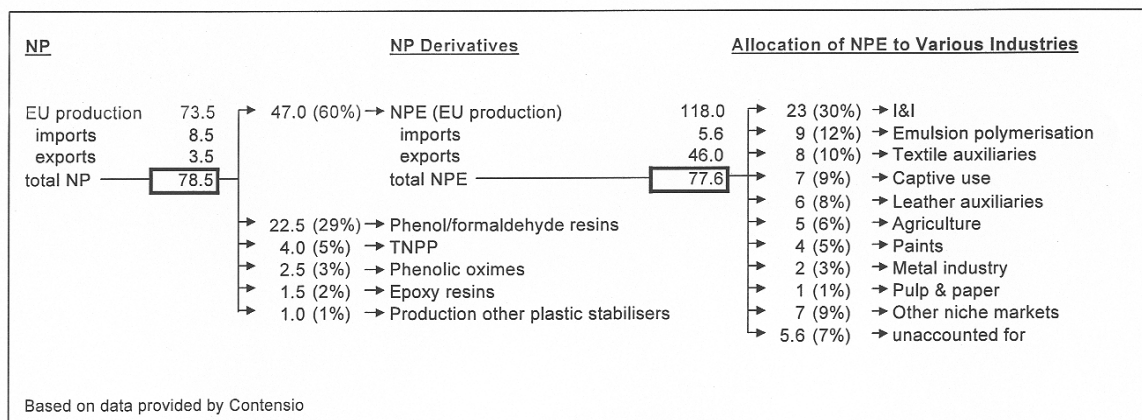


圖 1.NP and NPE Market in Western Europe 1997 (figures expressed in kilotonnes)

二、 NP之環境污染及人體暴露

由於NP主要用在NPE之製造，因此NPE之使用為環境中NP污染之主要來源，其他像樹脂，塑膠製品之使用，亦為NP之污染來源。

1. NPE之生物分解

- (1) 雖然NPE之最初分解很容易發生，但是最終並不容易完全分解。
- (2) 在活性污泥處理廠，NPE生物降解的產物是carboxylated NPE；在厭氧環境下，最重要的降解產物是NP。
- (3) 在厭氧環境下，NP很不容易繼續降解，同時NP易於吸附在廢水中的固體物質上，因此，底泥及污泥中容易偵測到NP。

NPE在環境中之生物分解如圖2所示。

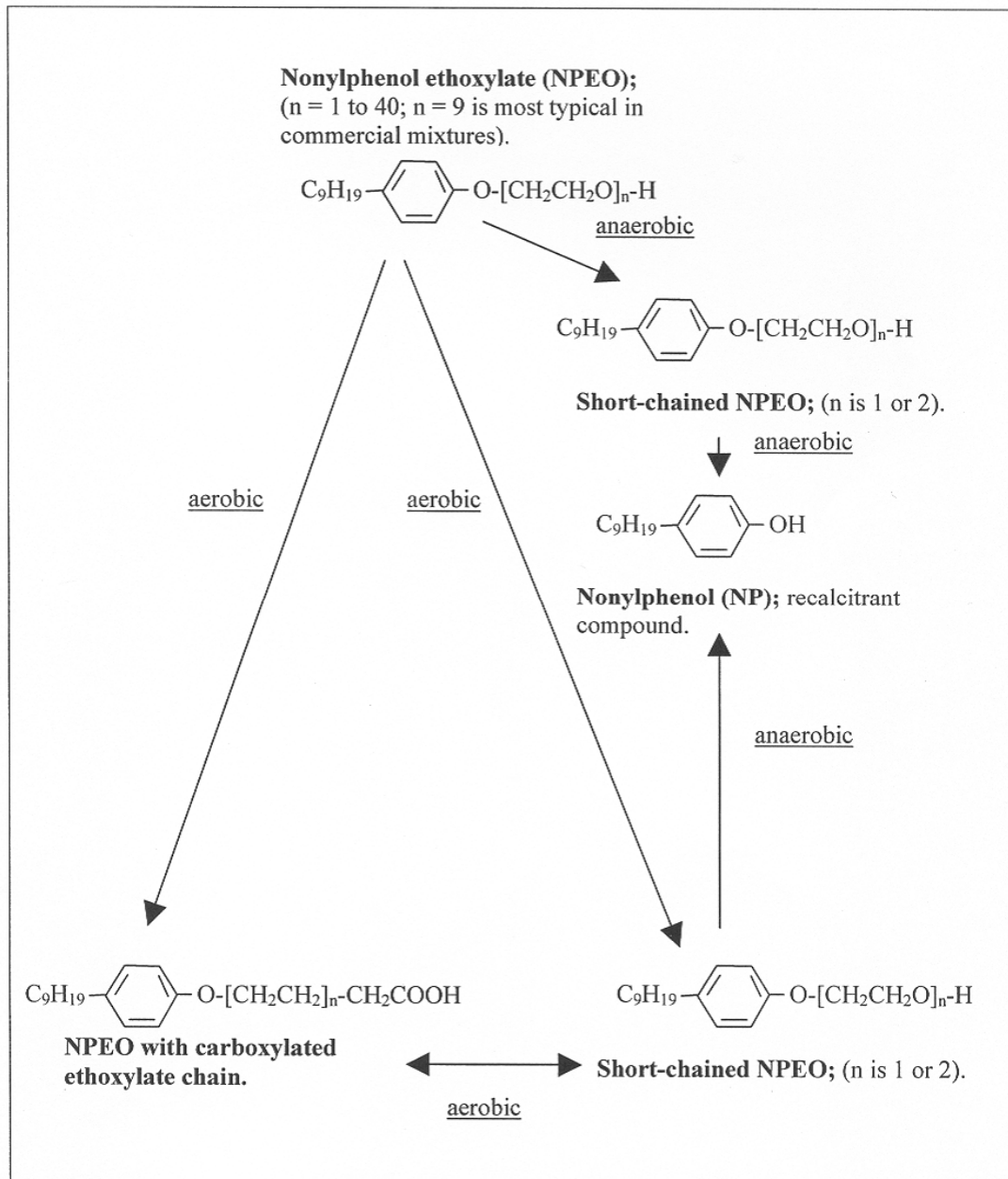


圖2. Biological Breakdown Pathways for Nonylphenol Ethoxylates in the Environment.

2. 環境污染

- (1) 污水處理廠的放流水及污泥是環境中NP污染的重要來源。
- (2) 空氣及飲水：可能不是一般民眾NP暴露的顯著來源。
- (3) 食物：食物中NP可能有各種不同的來源。
- (4) 個人衛生用品

3. 人體暴露

每日暴露量估計(daily exposure intake)：文獻記載，在加拿大約0.017mg/kg/d，歐盟約0.002mg/kg/d。一般民眾最顯著的暴露來源應該是飲食攝取。

三、 NP之健康效應

文獻上，NP被報告可能的效應有：

- (1) estrogen receptor：表現雌激素效應。
- (2) immunoregulatory properties：對胎兒發育有關鍵影響。
- (3) modify hormone levels in serum：影響血中正常的荷爾蒙濃度。
- (4) potent cytotoxicity：影響細胞凋零。
- (5) cancer induction：增加致癌風險。
- (6) 8-OHdG：增加細胞氧化壓力。

在1~6項健康效應中，NP最被確認的是雌激素效應，無論在細胞試驗或水生物上均獲得證實，主要的原因是NP構造與雌二醇(17- β -estrodinol)相似，可與雌激素受體作用，而表現雌激素效應。重點是NP的雌激素效應是雌二醇的 $1/10^3 \sim 1/10^5$ 倍，環境中的NP濃度是否足以顯著地增加健康風險，是爭議所在。

四、 NP之管理

環境化學物質的管理，最困難的部分是「毒性」的認定沒有直接且清楚的證據（尤其是對人體之健康效應而言）時，尤其是在其環境污染濃度不高，需要靠風險的演算與判定來決定管理準則時，這時候，大致上有兩種處理方式：(1)在化學物質被廣泛使用及流佈之前，先確定其安全性；(2)除非其毒性及風險已被證實，否則就經濟及實用價值的觀點，寧可選擇去利用它。NP的使用，就是典型的例子，很容易陷入兩難之中。以下以歐盟為例，說明其NP之風險評估及風險管理，希望能提供我國NP管理的參考。本文之所以舉歐盟為例，主要是歐陸是國際上最早對NP進行風險評估及管理的地區。歐盟國家對NP管理之思考邏輯及作法，值得我們省思參考。

早在1986年NPE的使用已經在歐陸被嚴格限制，其主要的理念在於歐洲國家對環境化學物質管理的態度：在化學物質被廣泛使用及流佈之前，應先確定其安全性。NP被限用的關鍵理由有三：

- (1) NP之生態毒性已被證明，而NP及NPE又被大量使用。
- (2) NP在環境中不易降解。
- (3) 歐陸地面水體的NP估計濃度為 $0.6\mu\text{g/L}$ ，超過其預估無效應濃度（the Predicted No-Effect Concentration, PNEC），此值在歐盟設定為 $0.33\mu\text{g/L}$ 。

1. 風險評估

風險評估是決定化學物質管制與否的核心要件。歐盟根據ECC 793/93(Council regulation)之規定，對現存商用化學物質，當生產及進口量每年超過10公噸時，或者是，化學物質在地面水體的預估濃度超過 $0.01\mu\text{g/L}$ 時，即必須評估其環境及人體健康風險。因此，歐洲國家對NP之風險評估已有完整報告。NP之風險評估可分為三個部分：

- (1) 環境風險評估
 - (2) 人體健康效應風險評估
 - (3) 來自化學物質物理化學性質之風險
- 風險評估的結果以三級來描述：

第一級：需要進一步的資訊及/或測試

第二級：目前不需要進一步的資訊及/或測試，且除了已經正在執行中的辦法之外，不需要執行降低風險策略。

第三級：需要限制風險；包括已經正在執行的降低風險策略都要列入。

最後再依風險評估結論達到第三級者，執行降低風險策略。

在環境風險評估中，分別針對①水體、②陸地、③大氣之濃度，以及④食物鏈作用 (secondary poisoning) 來估計風險。至於這四項風險如何估計，則是依NP生命週期的每一階段所涉及的排放分別加以評估：

(1) NP之生產

(2) NPE及NP其他衍生物之生產

(3) NPE產品之配製

(4) 依工業類別NP產品之使用

經風險評估之後，水體濃度達到第三級風險的適用對象為所有NP產品使用的工業（除了TNPP (trisnonylphenyl phosphite) 製造工業外）；陸地濃度及食物鏈作用之評估達到第三級的適用對象為大部分NPE生產及使用的工業；大氣濃度則均達到第二級風險。因此，必須對NP及NPE從生產、配製到使用，整體生命週期所涉及的工業執行降低風險策略，以減低環境風險。

在人體健康效應方面，除了某些職業暴露工人之評估，達到第三級風險結論之外，對一般民眾及工廠周界民眾而言，風險僅達到1至2級，來自NP物理化學性質之風險評估結論為第二級風險。

2. 風險管理

依據風險評估的結果，歐盟各國紛紛採行各種NP管制措施，包括Marketing and use restrictions, IPPC (integrated pollution prevention and control, environmental limits and standards, voluntary agreements, classification and labeling等。另外，歐盟亦對NP之替代品及其風險、可行性加以研究，許多工業上使用的NPE已為Alcohol Ethoxylates (AE) 所取代。

五、 結語

我國台灣地區地狹人稠，NP及NPE使用量大，塑化產品使用亦廣，造成環境中普遍存在NP的污染，應儘快收集及建立國內NP及NPE製造、使用及排放清單等資料，結合環境及人體暴露濃度資料，完成我國NP風險評估報告，同時，由政府、業界及學術研究團體組成工作小組，研討可行的管理方向及策略。

論文發表

多氯聯苯暴露對類固醇荷爾蒙合成的影響

李立安

國家衛生研究院環境衛生與職業醫學組

PCB exposure and adrenal steroidogenesis

Lih-Ann Li

Division of Environmental Health and Occupational Medicine

Abstract

Adrenal cortex is a major accumulation site of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the body. However, little is known about the effects of these **endocrine disruptors** on adrenal steroidogenesis. Our studies showed that **high concentrations of PCB126 raised cortisol and** aldosterone synthesis alongside increased **CYP11B1 and CYP11B2 mRNA expression** in **the human adrenocortical H295R cells, respectively**. The PCB126-induced steroidogenic alterations did not involve **nuclear receptor** AhR. Indeed, PCB39, 77, 132, 156 and 169, no matter being AhR ligands or not, all could increase **CYP11B1** and **CYP11B2** mRNA accumulation. **Promoter analyses revealed that** PCB126 had little effects on **the transcription rate** of both genes. On the other hand, RNA stability assays demonstrated that PCB126 protected both transcripts from degradation, and an internal region of **CYP11B1** mRNA (nucleotide 881-1285) was important for PCB126-mediated transcript stabilization. **From these findings, we concluded** that PCB126 upregulated **steroidogenic CYP11B1 and CYP11B2** mRNA expression not via AhR-mediated transcriptional activation, but by increasing post-transcriptional **mRNA** stability.

keywords : cortisol, aldosterone, *CYP11B1*, *CYP11B2*, AhR, mRNA stability

I. Introduction

Polychlorinated biphenyls (PCBs) are widespread organic pollutants in the global. People are frequently exposed to these pollutants through ingestion of contaminated food and accumulate them in the fat-rich tissue. Because of their resistance to biodegradation, PCBs have long been a great threat to human health. In 2001, UN delegates approved PCBs as one of the 12 most dangerous persistent pollutants.

Adrenal cortex, which contains massive blood supply and high lipid content, is a major PCB accumulation site in the body (Brandt, 1997). Because steroid hormones

刪除: have

刪除: (3,3',4,4',5-pentachloro biphenyl)

刪除: by increasing *CYP11B2* and *CYP11B1* mRNA expression, respectively.

刪除: However,

刪除: However,

刪除: promoters

刪除: T

刪除: demonstrated

produced by the adrenal cortex are vital to health, understanding the toxic effects of PCB exposure on adrenal steroidogenesis is critically relevant for human risk assessment. However, research on the endocrine toxicity of PCBs has historically focused on estrogenicity and antiestrogenicity of these compounds. Little is known about their effects on adrenal steroidogenesis, in particular the synthesis of cortisol and aldosterone.

Cortisol, the primary glucocorticoid synthesized in the human adrenal cortex, regulates a variety of physiological processes including metabolism, stress response, immune response, vasoconstriction, growth and development, whereas aldosterone, the primary human mineralocorticoid, is essential for salt and water homeostasis and vascular tone. Despite functional differences, both steroids are converted from cholesterol through reactions catalyzed by the same group of enzymes, except (1) cortisol synthesis requires the 17 α -hydroxylase activity of CYP17; and (2) two similar but distinct 11 β -hydroxylases, CYP11B1 and CYP11B2, are responsible for the final rate-limiting conversion of cortisol and aldosterone, respectively.

Our study is aimed to investigate the effects of PCB exposure on cortisol and aldosterone biosynthesis using the human adrenocortical H295R cell line as a model. In addition, we employed coplanar pentachlorinated PCB126 as a prototype because this congener exhibits strong affinity to aryl hydrocarbon receptor (AhR) and has the highest toxic equivalency in the family.

II. Results

2.1 Dose effects of PCB126 on basal and cAMP-induced aldosterone and cortisol production

Because of lacking information on the adrenal PCB concentrations in exposed people, the PCB126 doses examined in this study were selected based on the blood and adipose tissue concentrations of “Yu-Cheng” patients who ingested contaminated cooking oil and capacitor manufacture workers who had direct contact in jobs. The blood of “Yu-Cheng” patients sampled 9 to 18 months after the poisoning outbreak contained 10 to 720 ppb of PCBs (about 18 to 1300 ppb on a plasma basis) (Chen *et al.*, 1985). The body burden of PCBs was even higher in industrially exposed workers. Over 2500 ppb was found in the plasma for an ongoing exposure. The adipose tissue concentrations were hundreds to thousands folds of the plasma levels (Wolff *et al.*, 1982). Taking the lipid content into consideration, we assumed that the adrenal PCB concentrations should be between the blood and adipose tissue concentrations. Hence, we treated the human adrenocortical H295R cells with 10^{-9} to 10^{-5} M PCB126 (about 0.33 ppb to 3.3 ppm).

The basal P4, 17-OH-P4, aldosterone and cortisol productions of the H295R cells were gradually elevated in response to increasing concentrations of PCB126 supplemented to the medium in a 10-day treatment. The amounts of P4, 17-OH-P4, aldosterone and cortisol produced within a 24-hour period following the 10-day 10^{-5} M PCB126 treatment were 1.57 ± 0.14 , 1.40 ± 0.14 , 3.31 ± 0.85 and 5.03 ± 1.27 folds of the vehicle control, respectively (Fig. 1).

Under stress or other physiological stimuli, pituitary would secrete ACTH to increase adrenal steroid synthesis. So as to understand the interaction of PCB126 and ACTH in the regulation of steroidogenesis, 1 mM 8-Br-cAMP (an analogue of the intracellular messenger cAMP) was added to the H295R cells during the 24-h incubation to mimic the ACTH upsurge. The 8-Br-cAMP addition greatly increased the synthesis of all the steroids examined. However, while cAMP and PCB126 synergistically increased aldosterone synthesis, the cAMP treatment abolished the stimulation of PCB126 on P4, 17-OH-P4 and cortisol yields. Similar levels of P4, 17-OH-P4 and cortisol were produced under cAMP induction regardless of the PCB126 concentrations during the 10-day treatment (Fig.1).

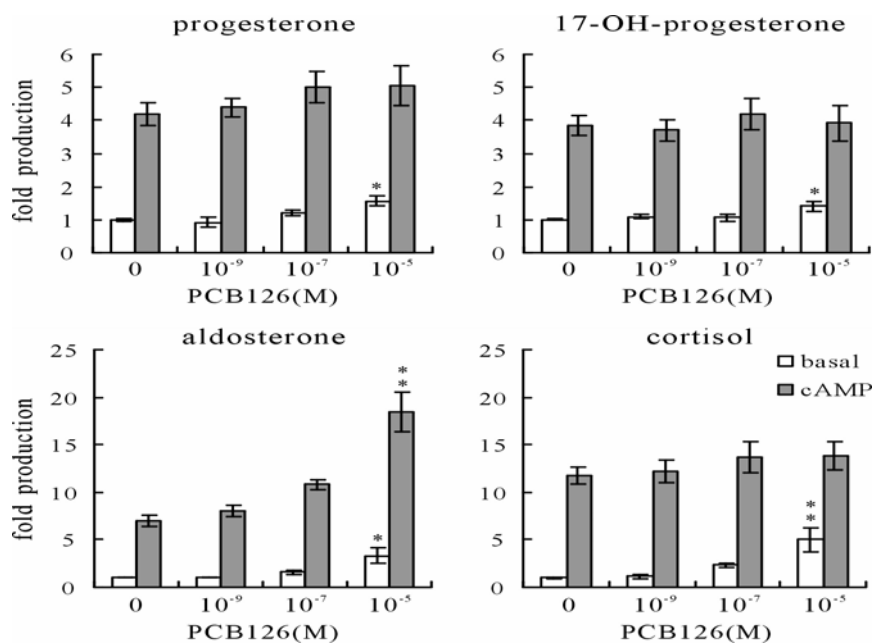


Fig. 1. Dose effects of PCB126 on basal and cAMP-induced steroid production. Following a 10-day treatment with indicated concentrations of PCB126, the 24-h production of steroids by human adrenocortical H295R cells in the absence and presence of 1 mM 8-Br-cAMP was determined relatively to the basal vehicle control. The results were means \pm S.E. of at least 5 independent experiments. * $P < 0.05$, ** $P < 0.005$ vs. the vehicle control (0 M) in the post-hoc test.

2.2 PCB126 effects on mRNA expression and enzyme activity of genes required for aldosterone and cortisol biosynthesis

CYP21B together with CYP11B2 converts P4 to aldosterone, while converting 17-OH-P4 to cortisol in conjunction with CYP11B1 (Fig. 2A). PCB126 displayed opposite effects on *CYP21B* mRNA expression in the absence and presence of cAMP (Fig. 2B). *CYP11B1* and *CYP11B2* were insensitive to low concentrations of PCB126 under either the basal condition or cAMP stimulation. When the PCB126 concentration was raised to 10^{-5} M, the steady-state mRNA abundances of both genes went up. The stimulatory effect of 10^{-5} M PCB126 was particularly enormous on cAMP-induced *CYP11B2* expression (Fig. 2C and 2D). The conversion of aldosterone from P4 was synergistically increased by cAMP and PCB126 (Fig. 2E) along with the transcriptional induction of *CYP21B* (Fig. 2B) and *CYP11B2* (Fig. 2D). In contrast, cAMP abolished the stimulation of 10^{-5} M PCB126 on the 17-OH-P4-to-cortisol conversion (Fig. 2E), implying that PCB126-induced *CYP21B* repression (Fig. 2B) may neutralize the mild up-regulation of *CYP11B1* in the presence of cAMP (Fig. 2C).

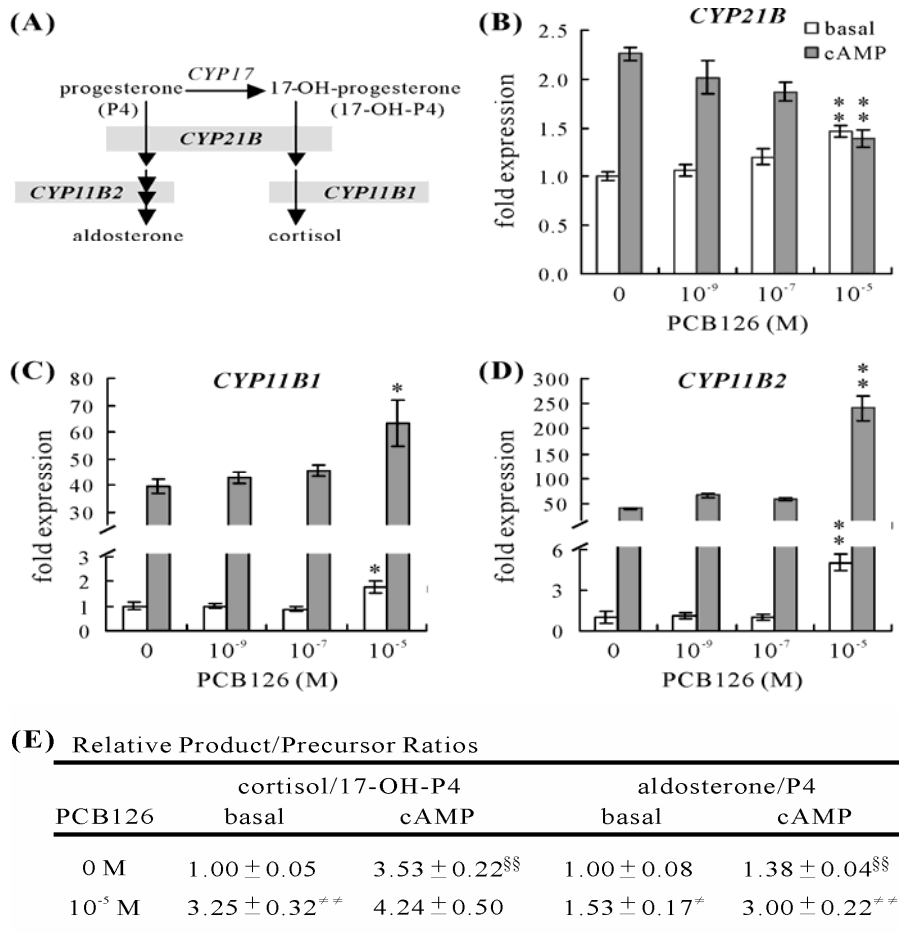


Fig. 2. Dose effects of PCB126 on aldosterone and cortisol synthesis in H295R cells. (A) Genes controlling the conversion of aldosterone from progesterone and cortisol from 17-OH-progesterone. (B-D) Steady-state mRNA levels after a 10-day PCB treatment with and without 1 mM 8-Br-cAMP induction in the last 24 h (n=6). * $P < 0.05$, ** $P < 0.005$ vs. the vehicle control in the post-hoc test. (E) The ratios of product and precursor steroids produced in the absence and presence of 1 mM 8-Br-cAMP during a 24-h period following the vehicle or PCB treatment (n ≥ 9). ^{§§} $P < 0.005$ vs. the basal control, and [#] $P < 0.05$, ^{*#} $P < 0.005$ vs. the vehicle control in the *t*-test.

2.3 PCBs upregulated *CYP11B1* and *CYP11B2* expression in an AhR-independent manner

3',4'-dimethoxyflavone (3',4'-DMF) is a potent AhR antagonist in human breast cancer cells (Lee and Safe, 2000). This study also demonstrated that 3',4'-DMF at 10 μM could successfully block PCB126 from inducing transcription of the AhR target gene *CYP1A1* in the adrenocortical H295R cells. The inhibition went on at least 6

删除: (Lee and Safe, 2000)

days (Fig. 3). However, 3',4'-DMF did not reduce PCB126-stimulated *CYP11B1* and *CYP11B2* mRNA expression. On the contrary, 3',4'-DMF enhanced the stimulation of PCB126. The synergistic stimulation was particularly notable 3 days after the cotreatment started (Fig. 4A and 4B). The results revealed that AhR was not necessary for PCB126-induced *CYP11B1* and *CYP11B2* expression.

Do other PCBs possess similar stimulatory effects on these two genes? To solve this question, PCBs with different structures have been examined. Among them, PCB77, 156 and 169 are coplanar PCBs like PCB126, but they are weaker AhR ligands compared to PCB126. PCB39 also contains a coplanar structure, but lacks affinity for AhR. PCB132 is an ortho-substitutive non-coplanar PCB. Treating the H295R cells with each of these PCBs at 10 μ M for 3 days significantly elevated *CYP11B1* and *CYP11B2* mRNA levels (Fig. 5A and 5B). These results further confirmed that AhR was irrelevant to PCB stimulation on *CYP11B1* and *CYP11B2* mRNA expression. Upregulation of *CYP11B1* and *CYP11B2* expression seemed to be a common effect among PCBs. However, the strength of stimulation varied with congeners and genes.

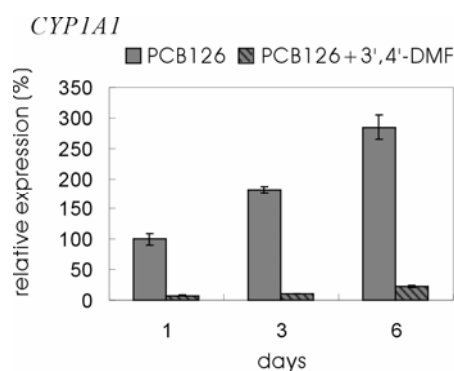


Fig. 3. 10 μ M 3',4'-dimethoxyflavone (3',4'-DMF) persistently suppressed 10 μ M PCB126-induced *CYP1A1* mRNA expression for 6 days (n=6).

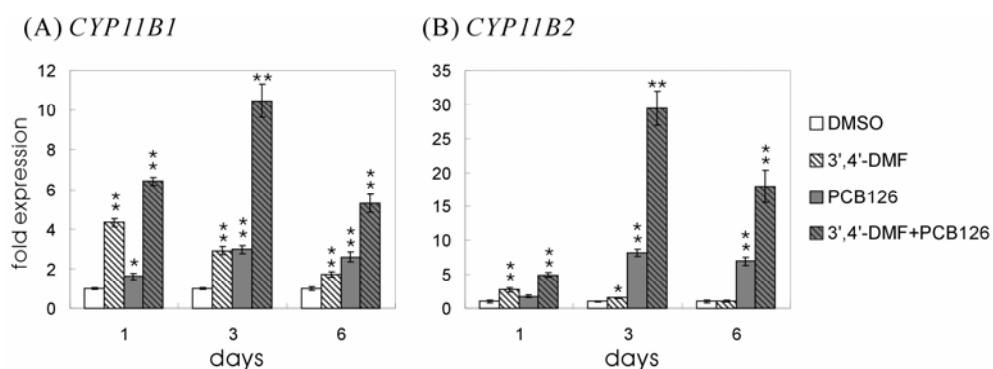


Fig. 4. AhR antagonist 3',4'-DMF increased PCB126-stimulated *CYP11B1* and *CYP11B2* mRNA expression. RNA was extracted from H295R cells after treated with either 0.1% DMSO (vehicle), 10 μ M 3',4'-DMF, 10 μ M PCB126, or

combination of both drugs for 1, 3 and 6 days. Expression levels of *CYP11B1* (A) and *CYP11B2* (B) were determined relatively to the vehicle control (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$ vs. the vehicle control.

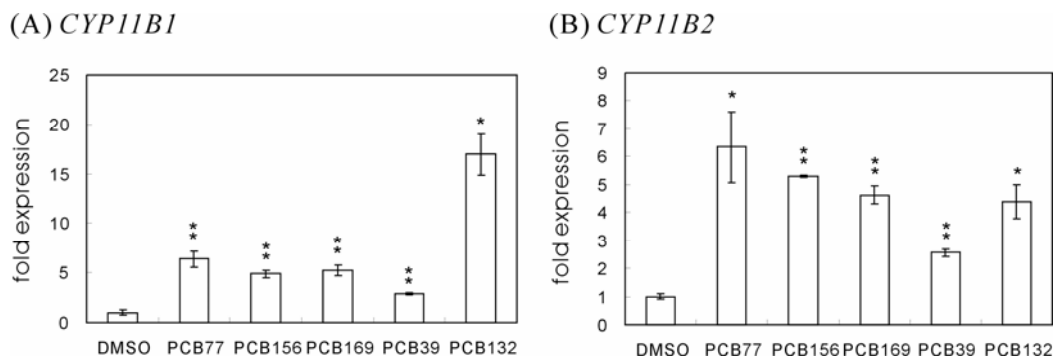


Fig. 5. Effects of various PCBs on *CYP11B1* and *CYP11B2* mRNA expression. H295R cells were treated with 10 μ M of each indicated PCB for 3 days before RNA was isolated for RT-real time PCR analysis of *CYP11B1* (A) and *CYP11B2* (B) expression levels (n=5). PCB77, 156, and 169: dioxin-like coplanar PCBs; PCB39: non-dioxin-like coplanar PCB; PCB132: non-coplanar PCB. * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$ vs. the vehicle control.

2.4 PCB126 lacked effects on *CYP11B1* and *CYP11B2* promoter activation

To investigate the effects of PCB126 on the transcription rate of *CYP11B1* and *CYP11B2* genes, we cloned varying lengths of human *CYP11B1* and *CYP11B2* upstream sequences before a luciferase reporter gene. Transient transfection experiments showed that each promoter-luciferase plasmid of both genes produced similar levels of luciferase activity when the transfected cells were treated 3 days with vehicle and 10 μ M PCB126 (Fig. 6A and 6B). Obviously, PCB126 elevated *CYP11B1* and *CYP11B2* mRNA levels not by increasing the transcriptional rate of these two promoters.

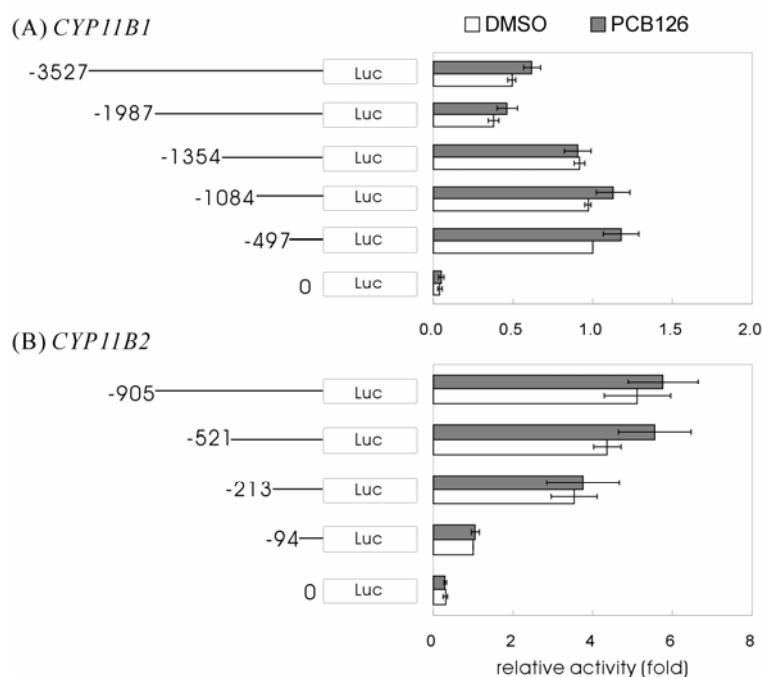


Fig. 6. PCB126 lacked effects on activation of *CYP11B1* and *CYP11B2* promoters. H295R cells were transiently transfected with a series of luciferase reporters that contain different lengths of *CYP11B1* promoter (A) or *CYP11B2* promoter (B). After transfection, cells were treated with 0.1% DMSO (vehicle) or 10 μ M PCB126 for 3 days (n=3). Data were represented relatively to *CYP11B1*(-497) or *CYP11B2*(-94) under the vehicle treatment.

2.5 PCB126 treatment increased *CYP11B1* and *CYP11B2* mRNA stability

Because PCB126 had little effects on the *CYP11B1* and *CYP11B2* promoters, we speculated that PCB126 increased *CYP11B1* and *CYP11B2* mRNA expression by increasing mRNA stability. To test this hypothesis, we added the RNA synthesis inhibitor Act D (5 μ g/ml) to vehicle- and PCB126-treated H295R cells so that the stability of transcripts in cells could be monitored without the interference of mRNA neo-synthesis. The amounts of stable RNA 18S rRNA in samples were used for normalization in this analysis. As shown in Fig. 7A and 7B, the *CYP11B1* and *CYP11B2* transcripts appeared degraded in a slower pace in the PCB126-treated cells. Taking the results of Fig. 4, 6 and 7 together, we demonstrated that PCB126 increased *CYP11B1* and mRNA expression by increasing transcript stability.

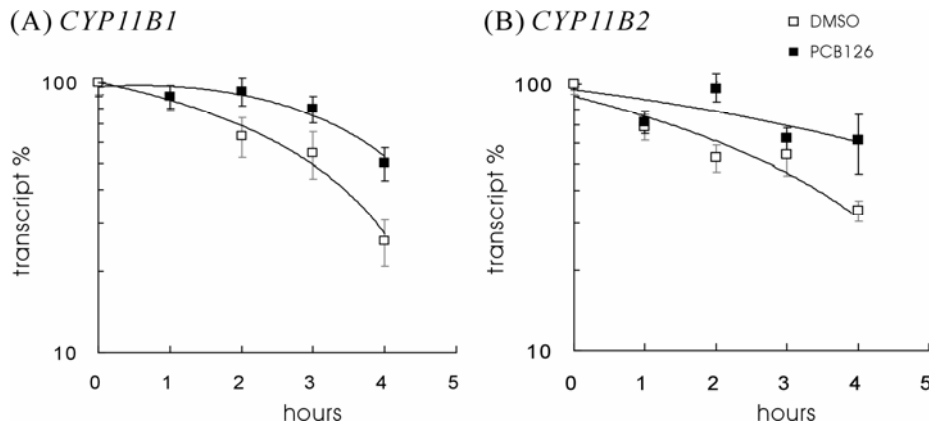


Fig. 7. PCB126 increased *CYP11B1* and *CYP11B2* mRNA stability. 5 μ g/ml of actinomycin D (Act D) was added to H295R cells that were treated with 0.1 % DMSO (vehicle) or 10 μ M PCB126 for 7 days. Percentage of *CYP11B1* (A) and *CYP11B2* (B) transcripts remained after 2-h Act D incubation was measured by RT-real time PCR and normalized to 18S rRNA (n=6).

III. Discussion

The rise of **cortisol and aldosterone** may increase risk for diabetes mellitus and cardiovascular mortality in highly exposed people (Gustavsson and Hogstedt, 1997; Hay and Tarrel, 1997; Longnecker *et al.*, 2001; Fierens *et al.*, 2003). It has been known that cortisol and aldosterone modulate insulin sensitivity and glucose tolerance. Elevated levels of circulating cortisol impair the action of insulin on suppression of glucose production and stimulation of glucose utilization (Rizza *et al.*, 1982; Dimitriadis *et al.*, 1997), while excess aldosterone diminishes insulin secretion and sensitivity (Corry and Tuck, 2003). Research has suggested that insulin resistance and hyperglycemia alter cardiac and vascular functions, greatly increasing risk for cardiovascular diseases (Nesto, 2004). In addition to the diabetes-related cardiovascular risk, cortisol and aldosterone have pharmacological effects on vascular tone. Excess cortisol or aldosterone induces hypertension. Moreover, aldosterone impairs vascular matrix, damages endothelial function and causes vascular smooth muscle cell hypertrophy and hyperplasia (Duprez *et al.*, 2000). Chronic high circulating aldosterone leads to myocardial fibrosis (Sun *et al.*, 1997).

PCB126 elevates cortisol and aldosterone synthesis in the H295R cells mainly by increasing the conversion of cortisol from 17-OH-progesterone and aldosterone from progesterone. The increases in the cortisol and aldosterone conversions are accompanied by increased mRNA expression of cytochrome P450 enzymes CYP11B1 and CYP11B2 that catalyze the rate-limiting final conversion steps in the respective cortisol and aldosterone synthesis pathways. PCB126 is a well-recognized

删除: T

删除: of cortisol and aldosterone

删除: may be

删除: (Fierens *et al.*, 2003; Gustavsson and Hogstedt, 1997; Hay and Tarrel, 1997; Longnecker *et al.*, 2001; Vena *et al.*, 1998)

删除: (Dimitriadis *et al.*, 1997; Nielsen *et al.*, 2004; Rizza *et al.*, 1982)

删除: (Corry and Tuck, 2003)(Campion *et al.*, 1999)

删除: that

删除: es

删除: (Beckman *et al.*, 2002; Duprez *et al.*, 1996; Nesto, 2004)

删除: (Duprez *et al.*, 2000)

删除: (Sun *et al.*, 1997)

删除: (Li and Wang, 2005; Li *et al.*, 2004)

ligand for the nuclear receptor AhR. However, our results show that PCB126 regulates *CYP11B1* and *CYP11B2* expression through an AhR-independent post-transcriptional pathway.

Growing evidence indicates that regulation of transcript stability is an important mechanism in the steroid hormone system. Steroid hormones utilize this mechanism to control expression levels of their own receptors, thus autoregulating their hormonal actions (Ing, 2005). It is likely that environmental chemicals employ a similar post-transcriptional mechanism to disrupt steroid homeostasis. This study provides evidence that PCB126 can modulate the stability of key steroidogenic gene transcripts to influence cortisol and aldosterone biosynthesis. The perturbation can be magnified when combined with other endocrine modulators, such as 3',4'-DMF. Despite lack of direct proof that the increasing metabolic and cardiovascular risk among exposed people (Gustavsson and Hogstedt, 1997; Hay and Tarrel, 1997; Longnecker *et al.*, 2001; Fierens *et al.*, 2003), is caused by chronic cortisol and aldosterone excess, our study coupled with the well-established knowledge of adrenal dysfunction raises a warning that the adrenal PCB accumulation as a consequence of constant exposure may lead to the above hazards. More mechanistic information of how PCB126 regulates the stability of steroidogenic gene transcripts may help to reduce the risk.

删除: (Fierens et al., 2003; Gustavsson and Hogstedt, 1997; Hay and Tarrel, 1997; Longnecker et al., 2001; Vena et al., 1998)

IV. References

Brandt, I. Tissue localization of polychlorinated biphenyls. Chemical structure related to pattern of distribution. Acta Pharmacol Toxicol (Copenh), 1977, 40 Suppl 2: 1-108.

Chen, PH, Wong, CK, Rappe C, and Nygren, M. Polychlorinated biphenyls, dibenzofurans and quaterphenyls in toxic rice-bran oil and in the blood and tissues of patients with PCB poisoning (Yu-Cheng) in Taiwan. Environ Health Perspect. 1985, 59: 59-65.

Wolff, M S, Fischbein A, Thornton J, Rice C, Lilis R, and Selikoff IJ. Body burden of polychlorinated biphenyls among persons employed in capacitor manufacturing. Int. Arch Occup Environ Health, 1982, 49: 199-208.

Lee JE, Safe S. 3',4'-dimethoxyflavone as an aryl hydrocarbon receptor antagonist in human breast cancer cells. Toxicol Sci, 2000, 58: 235-242.

Gustavsson P, Hogstedt C. A cohort study of Swedish capacitor manufacturing workers exposed to polychlorinated biphenyls (PCBs). Am J Ind Med, 1997, 32: 234-239.

删除: (Bertazzi et al., 2001; Cranmer et al., 2000; Fierens et al., 2003; Flesch-Janys, 1997; Gustavsson and Hogstedt, 1997; Hay and Tarrel, 1997; Henriksen et al., 1997; Longnecker et al., 2001; Michalek et al., 1998; Steenland et al., 1999; Vena et al., 1998)

Hay A, Tarrel J. Mortality of power workers exposed to phenoxy herbicides and polychlorinated biphenyls in waste transformer oil. Ann N Y Acad Sci, 1997, 837: 138-156.

Longnecker MP, Klebanoff MA, Brock JW, Zhou H. Polychlorinated biphenyl serum levels in pregnant subjects with diabetes. Diabetes Care, 2001, 24: 1099-1101.

Fierens S, Mairesse H, Heilier JF, De Burbure C, Focant JF, Eppe G, De Pauw E, Bernard A. Dioxin/polychlorinated biphenyl body burden, diabetes and endometriosis: findings in a population-based study in Belgium. Biomarkers, 2003, 8: 529-534.

Rizza RA, Mandarino LJ, Gerich JE. Cortisol-induced insulin resistance in man: impaired suppression of glucose production and stimulation of glucose utilization due to a postreceptor defect of insulin action. J Clin Endocrinol Metab, 1982, 54: 131-138.

Dimitriadis G, Leighton B, Parry-Billings M, Sasson S, Young M, Krause U, Bevan S, Piva T, Wegener G, Newsholme EA. Effects of glucocorticoid excess on the sensitivity of glucose transport and metabolism to insulin in rat skeletal muscle. Biochem J, 1997, 321 (Pt 3): 707-712.

Corry DB, Tuck ML. The effect of aldosterone on glucose metabolism. Curr Hypertens Rep, 2003, 5: 106-109.

Nesto RW. Correlation between cardiovascular disease and diabetes mellitus: current concepts. Am J Med, 2004 116 Suppl 5A: 11S-22S.

Duprez D, De Buyzere M, Rietzschel ER, Clement DL. Aldosterone and vascular damage. Curr Hypertens Rep, 2000 2:327-334.

Sun Y, Ramires FJ, Weber KT. Fibrosis of atria and great vessels in response to angiotensin II or aldosterone infusion. Cardiovasc Res, 1997, 35:138-147.

Ing NH. Steroid hormones regulate gene expression posttranscriptionally by altering the stabilities of messenger RNAs. Biol Reprod, 2005, 72: 1290-1296.

中部地區母乳中有機氯農藥之暴露以及對其子代甲狀腺荷爾蒙與發展之影響

Levels of organochlorine pesticides in breast milk from central Taiwan and their relations to infant thyroid hormone and children development

趙浩然* 陳建行* 王淑麗**

*國立屏東科技大學 環境工程與科學系 **國家衛生研究院 環境衛生與職業醫學研究組

摘要

本研究的目的是在探討母乳中有機氯農藥與新生兒甲狀腺荷爾蒙與幼童(約三歲)心理及動作發展的關係,樣品收集中部地區 80 個孕婦產後的母乳使用氣相層析質譜儀分析母乳中之有機氯農藥(如 p,p'-DDT, p,p'-DDE, α -Chlordane, Heptachlor, Heptachlor epoxide, β -HCH 及 γ -HCH),母乳中 p,p'-DDE, p,p'-DDT 及 Σ DDT 殘留量分為 304 ± 293 、 35.8 ± 31.9 及 340 ± 314 ng/g-lipid。七種有機氯農藥除了 β -HCH 及 γ -HCH 外其餘五種有機氯農藥皆有良好的相關性,比較母乳中有機氯農藥與母體血液及臍帶血甲狀腺荷爾蒙之間並無明顯的相關性,有機氯農藥暴露值與幼童的心理及動作發展之間也無明顯相關。有機氯農藥的產後暴露是否會對嬰幼兒或幼童身長發育造成影響至今尚未定論,本研究的結果雖然並未發現其之間的相關性,後續仍有持續探討之必要。

關鍵字: 母乳、有機氯農藥、甲狀腺荷爾蒙、心理發展、動作發展、滴滴涕、滴滴涕

一、前言

如同許多已開發和工業化國家一樣,台灣亦面臨著因有機氯農藥之使用對公眾健康所產生的影響。早期從 1940 年到 1970 年間,有機氯農藥已在台灣被廣泛地使用於病媒防治、作為控制瘧疾的目的及農業與林業病蟲害防治以及建築物結構保護上,儘管台灣從 1975 年起公告禁止使用有機氯農藥,但由於六氯環己烷(HCH)和滴滴涕(DDT)在台灣累積使用 30 年及靈丹長期持續使用 34 年後,使得有機氯農藥廣泛的殘存在環境介質中和生物體內,例如河川底泥(Doong et al., 2002)、傳統市場的食品(Doong et al., 1999)、牡蠣(Han et al., 2000)、中草藥(Ling et al., 1999)和母乳 (Chao et al., 2006),目前台灣關於人體有機氯農藥暴露值的報告仍是明顯不足,然而有機氯農藥對於台灣正常族群的健康風險仍須再進一步調查評估。

在調查人體中有機氯農藥之累積分析時，母乳是一個方便取樣的檢體，且母乳裡有機氯農藥的累積量亦能反映出母親體內的負荷，並作為評估餵食母乳幼體內的生物累積劑量。本研究的目的首先調查中部地區母乳有機氯農藥的測值，探討其與母體及嬰兒體內甲狀腺荷爾蒙的關係，以及對幼童生理及心理的發展。

二、實驗步驟與方法

2-1. 研究族群

本研究的族群乃依據國家衛生研究院環境衛生與職業醫學研究組(國衛院環職組)所建立的健康孕婦與其幼兒體內戴奧辛暴露調查研究主題之一—母乳的檢體與其問卷資料庫(Chao et al., 2003; Chao et al., 2004; Wang et al., 2004)，這個研究族群孕婦年齡介於 20 至 40 歲產檢及生產地點均在台中某醫學中心，收案期間 2000 年 12 月至 2001 年 11 月。有關母乳方面的研究流程簡述如下：採隨機抽樣的方式於產檢的門診選取健康且願意配合研究的孕婦，問卷包含年齡、身高、體重、胎次、健康狀況、懷孕前與懷孕後之飲食習慣、社經地位、教育程度等。個案所給與的母乳量充足時(90-150 ml)且按照規定程序收集則列為母乳研究個案，人數共有 175 位，本計畫共計分析 80 個樣品。關於甲狀腺荷爾蒙方面，將使用國衛院環職組已建立的母體及新生兒臍帶血甲狀腺荷爾蒙測值，其包含三碘甲狀腺素 (Triiodothyronine, T3)、四碘甲狀腺素 (Thyroxine, T4)、甲狀腺刺激激素 (Thyroid Stimulating Hormone, TSH)。學齡前兒童發展量表 (Chinese Child Development Inventory, CCDI) 及目前極普遍應用於測量嬰幼兒心智與動作發展以及臨床評估嬰幼兒發展之工具-貝萊嬰兒發展量表第二版 (Bayley Scales of Infant Development-Second Edition, 簡稱 BSID-II, 1993) 中的心理量表 (Mental Scale, MDI) 與動作量表 (Motor Scale, PDI) 來初步探討幼兒發展與母乳中有機氯農藥的關係。

2-2. 樣品收集

母乳之樣品乃收集產後二週內所產出的母乳，研究者提供三個無化學藥劑污染的玻璃瓶含鐵弗龍墊片及瓶蓋，參與者母乳收集後先置於家中冰箱中，直到母乳之玻璃瓶介於 30-50 ml 時研究人員會將母乳移至國衛院環職組內冰凍於-20 °C 之冰箱，經淨化處理後於國衛院環職組環境與毒理分析實驗室進行分析。

2-3. 樣品與數據分析

母乳樣本中有機氯農藥的分析方法是參考國內外的文獻加以改良(Dmitrovic et al., 2002、Dmitrovic and Chan 2002、Chao et al., 2006)，以多種固相萃取管柱淨化樣品，再使用氣相層析質譜儀進行分析中部地區產婦所收集的母乳樣品(HP GC6890 / HP-5973 MSD)。在分析樣本中有機氯農藥 2,4,5,6-Tetrachloro-m-xylene, p,p'-DDE、p,p'-DDD 及 p,p'-DDT 使用電子撞擊法分析(EI)，其餘有機氯農藥如 β -HCH、 γ -HCH、Heptachlor、Heptachlor epoxide、 α -Chlordane 等則採用負離子

化學游離法(NCI)。有機氯農藥偵測極限(LODs)值介於 1.00 到 4.83 ng/g lipid，如果量測值低於偵測極限假設為一半的偵測極限。80 個有機氯農藥暴露值、甲狀腺荷爾蒙測值及其問卷資料將使用常態檢定(Normality tests)、斯皮曼相關檢定(Spearman correlation coefficients)、無母數曼-惠尼氏 U 檢定(Mann-Whitney U tests)分析，本研究所使用之統計軟體為 SPSS 13.0 版。

三、結果與討論

為瞭解台灣地區產婦母乳中有機氯農藥之含量與相關影響因子的關係，本研究選定台中地區 80 位生產的婦女作為本研究分析的樣本。母親的年齡層介於 20~40 歲之間，產婦的平均年齡為 29.4 ± 4.5 (標準差) 歲，懷孕之前的平均 BMI (Body Mass Index) 值為 $21.0 \pm 3.31 \text{ kg/m}^2$ 。在嬰兒方面，80 位嬰兒出生時的平均體重為 $3.11 \pm 0.43 \text{ kg}$ 、身長為 $51.4 \pm 2.40 \text{ cm}$ 。有機氯農藥在人體內大多累積於脂肪之中，故目前研究大多以母乳脂肪中的濃度來表示其殘留量，本研究母乳樣本中的平均脂含量為 $3.07 \pm 1.34\%$ 。並由問卷統計結果得知，在母親教育程度方面，高中 35 位，專科 30 位，大學以上 15 位。宗教信仰方面，佛教 23 位，道教 22 位，無宗教信仰 29 位，其餘 6 位，80 位產婦中，共有 5 人抽煙，40 位每天接觸到二手煙，並沒有喝酒及素食者。

在母乳中有機氯農藥的個別平均含量分別為： p,p' -DDE 為 $304 \pm 293 \text{ ng/g-lipid}$ ， p,p' -DDT 為 $35.8 \pm 31.9 \text{ ng/g-lipid}$ ， Σ DDT 殘留量則是 $340 \pm 314 \text{ ng/g-lipid}$ 。此外， β -HCH 為 $4.07 \pm 8.16 \text{ ng/g-lipid}$ ， γ -HCH 為 $5.05 \pm 3.70 \text{ ng/g-lipid}$ 。而 α -Chlordane 濃度為 $6.71 \pm 5.51 \text{ ng/g-lipid}$ ，Heptachlor 濃度為 $5.24 \pm 4.28 \text{ ng/g-lipid}$ ，Heptachlor epoxide 濃度為 $9.78 \pm 7.10 \text{ ng/g-lipid}$ 。本研究列出五種有機氯農藥並利用 Spearman correlation coefficient 探討彼此間之相關性。其中可以發現，同組間的物種： p,p' -DDE 與 Heptachlor epoxide 分別為 p,p' -DDT 與 Heptachlor 的代謝物，彼此間有顯著的正相關，而 α -Chlordane 與 Heptachlor epoxide 及 Heptachlor 則並無顯著相關性。

本研究利用 Spearman correlation coefficient 進行 MDI、PDI 及 CCDI 與母乳中有機氯農藥之相關分析，初步觀察可發現母乳中有機氯農藥暴露值與幼兒心智發展(MDI 與 PDI)及 CCDI 發展呈現無任何的相關性。甲狀腺賀爾蒙為調節生長、發育及成熟等重要的激素，本研究利用 Spearman correlation coefficient 來探討母乳中有機氯農藥 (p,p' -DDE、 p,p' -DDT、 β -HCH、 γ -HCH、 α -Chlordane、Heptachlor、Heptachlor epoxide) 與母親及嬰兒甲狀腺賀爾蒙之間的相關性。結果可看出母親血液中 T3 及嬰兒臍帶血中 T4、TSH 與母乳中有機氯農藥呈負相關，但結果並不顯著，故須進一步將樣本數提高，以獲得更完整的結果。國內外的相關文獻對於有機氯農藥造成幼童發育與發展以及新生兒甲狀腺荷爾蒙的影響之相關研究非常缺乏，而嬰幼兒又是較敏感且容易受到傷害的個體，故關於此方面之研究非常重要，值得更進一步的探討。

四、參考文獻

- Chao HR, Wang SL, Lin LY, Yu HY, Lu YK, Chou WL, Chang LW. (2003) Polychlorinated biphenyls in taiwanese primipara human milk and associated factors. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 70, 1097-1103.
- Chao, H.R., Wang, S.L., Lee, C.C., Yu, H.Y., Lu, Y.K., Papke, O. (2004). Level of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and biphenyls (PCDD/Fs, PCBs) in human milk and the input to infant body burden. Food and Chemical Toxicology 42, 1299-1308.
- Chao HR, Wang SL, Lin TC, Chung XH. (2006) Levels of organochlorine pesticides in human milk from central Taiwan. Chemosphere 62, 1774-85.
- Dmitrovic, J., Chan, S.C. (2002) Determination of polychlorinated biphenyl congeners in human milk by gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry after sample clean-up by solid-phase extraction. Journal of Chromatography B 778, 147-155.
- Dmitrovic, J., Chan, S.C., Chan, S.H. (2002). Analysis of pesticides and PCB congeners in serum by GC/MS with SPE sample cleanup. Toxicological Letters 134, 253-258.
- Doong RA, Lee CY, Sun YC. (1999) Dietary intake and residues of organochlorine pesticides in foods from Hsinchu, Taiwan. Journal of AOAC International 82, 677-682.
- Doong RA, Peng CK, Sun YC, Liao PL. (2002) Composition and distribution of organochlorine pesticide residues in surface sediments from the Wu-Shi River estuary, Taiwan. Marine Pollution Bulletin 45, 246-253.
- Han BC, Jeng WL, Hung TC, Ling YC, Shieh MJ, Chien LC. (2000) Estimation of metal and organochlorine pesticide exposures and potential health threat by consumption of oysters in Taiwan. Environmental Pollution 109, 147-156.
- Ling, Y.C., Teng, H.C., Cartwright, C. (1999). Supercritical fluid extraction and clean-up of organochlorine pesticides in Chinese herbal medicine. Journal Chromatography A. 835, 145-157.
- Wang, S.L., Lin, C.Y., Guo, Y.L., Lin, L.Y., Chou, W.L., Chang, L.W., (2004) Infant exposure to polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and biphenyls (PCDD/Fs, PCBs) – correlation between prenatal and postnatal exposure. Chemosphere 54, 1459-1473.

市售化學農藥培丹與百滅寧在土壤環境中分解代謝及毒性研究

曹俊文* 郭孟臻**

崑山科技大學環境工程系助理教授* 崑山科技大學環境工程系四技部學生**

摘要

本研究主要針對化學農藥(agrochemicals)在土壤中受微生物分解代謝時，所產生之礦化作用(mineralization)所作之研究。此篇研究，主要針對坊間市售的二種化學農藥不同農藥類別的百滅寧(Permethrin)及培丹(carpat)，在不同濃度之下，土壤分解代謝中所釋放之 CO₂ 累積量，來判斷在不同濃度之下，此二種化合物在土壤中之分解效率，以期能了解污染物對土壤環境之影響。此研究以生物分解實驗瓶 (Biometer flask) 中加入 20 克砂質土壤，並加入濃度分別為每克乾土含 0.3mg、3mg、及 30mg 之培丹與百滅寧化學農藥，經約 85 天之培養及滴定過程，其中所產生之二氧化碳以鹼液(0.5 N, KOH)吸收，在以酸液(0.5 N, HCl)滴定之，最後再換算其二氧化碳產生量。約經一段時間，將分解瓶中的土壤取出進行索氏萃取，並進行濃縮，將萃取所得之萃取物，以低毒性的 dimethylsulfoxide(DMSO)當作攜帶溶劑溶出，一半以海洋螢光菌 *Vibrio fischeri* 來進行毒性試驗(microtox)，另外一半以青鱒魚的魚卵來觀察此土壤萃取液是否會對其生長產生變異。

結果顯示，此二種之化學農藥在經過一段時間培養下，培丹 30mg 與百滅寧 0.3mg 在土壤中受微生物之分解效率佳。在毒性試驗中，可以明顯看出在經過 85 的試驗過程中，此二種不同的化學農藥其毒性皆有顯著的降低，意即在土壤中受微生物之分解代謝後，使其化合物原毒性降低，並在青鱒魚魚卵試驗中與毒性試驗得到相互映證，除了當中百滅寧所造成的生物活化作用(bioactivation)使其孵化率降低之外，其餘皆與毒性試驗中結論相同。而利用此研究結果，可了解其他化合物或已與土壤鍵結之農藥來進一步分析與推論其對生態之影響或其宿命(fate)。

關鍵字：化學農藥、生物分解代謝、Microtox、青鱒魚(Medaka)

The metabolism and toxicity studies of commercial pesticides-permethrin and carpat in soil

Chun-Wen Tsao and Meng-Jhen Guo

Dept. of Environmental Engineering, Kun Shan University of Technology, Tainan, Taiwan 701

Abstract

This studies evaluated the biodegradation and toxicity of agrochemicals in soil environment. Two commercial pesticides, named permethrin and carpat, were studied for the biodegradability at different concentration in soil. The evolved CO₂ was used as chemical mineralization parameter. The contaminated soil was later subjected for different toxicity tests- Microtox and Medaka embryotoxicity.

The results indicated that, after 85 days of incubation, 30 mg carpat and 0.3 mg permethrin g⁻¹soil evolved more CO₂ than other treatments. The toxicity tests revealed that the toxicity of two agrochemicals were reduced, which represented that the chemicals were biodegraded or became soil bound materials and thus reduced the toxic effect. However, permethrin showed higher toxicity in Medaka hatching experiment during incubation period, which could be concluded as bioactivation effect.

The results were not only studied the biodegradability of the agrochemicals, but also the toxicity change of the metabolic intermediates. Hopefully, this studies could be informative for the evaluation of environmental impacts or fate of pesticide contamination in soil in future.

Key words: agrochemical, Microtox, biodegradation, Medaka(*Oryzias latipes*)

一、前言

自工業革命後，人類的生產製造技術便大幅提升。在文明科技一日千里持續發展下，有許多環境安全問題仍似乎未被察覺到。在過去百餘年間對於外來或人造化學物質，不斷地被使用而釋放到土壤、水或大氣環境後，其間所歷經的路徑，自食物鏈間接或直接地展開生態循環從進入生物體內，產生「生物累積(bioaccumulation)」及「生物擴大(biomagnification)」的現象(Hung et al, 2002;)。在以往許多醫學上莫名的疾病症狀，一直是蒙著一層紗無法被解釋，這些對生物的成长、發育、生殖等產生不良影響的化學物質，例如多氯聯苯、重金屬、多苯環化合物、農藥、戴奧辛等等(He et al, 2001; Binelli et al, 2004; Safe, 2004;)，已漸漸被科學家所了解。而近年來上述化合物及其他為環境荷爾蒙(environmental hormones)的問題被提出後，已漸漸成為世界各先進國家重視及關心的重要環保議題(邱瑞斌, 2002)。

台灣位處於熱帶/亞熱帶氣候區，在此環境條件之下的農業生產極易受到病蟲及雜草影響，而造成品質不佳及產量低落。目前普遍使用化學農藥來防除農作物被昆蟲、雜草及病菌的侵襲，藉此來提高農作物的產量。雖然使用農藥能以較低的生產成本達到防治害蟲與雜草等功效，但過量或以不正確的使用方式仍會造成許多生態環境的負面作用，例如經常用於殺蟲劑中的有機磷(organic phosphate)與氮甲基酸鹽類(carbamate)的農藥，非常容易使鳥類呼吸失調而造成立即死亡；

部分的非選擇性除草劑可能造成植被的死亡，也可能引發土石流等問題(Tanabe, 2002; 林霧霆, 2004; 賴正偉, 2004)。所以農藥除了直接影響動植物的死亡之外，也有可能間接的影響野生動物賴以生存的自然條件。由於農藥其化學穩定性高、具高脂性及不易受生物分解，以及可藉由土壤、地下水傳輸擴散至環境中的問題，於今日逐漸浮上檯面，而受到大家的重視(陳新傑, 2000; Loewy et al, 1999)。基本上，農藥在土壤中的消失除了生物性降解(biodegradation)(Sa'nchez et al, 2004)，亦包含非生物性的因素，例如，水解作用 (Hydrolysis)、光分解作用 (Photodecomposition)(Mansour, 1997)、氧化還原作用 (Oxidation and Reduction) 及揮發作用 (Volatilization) 等，而這些作用的強弱除了取決於農藥本身的理化安定性外，環境因子包含土壤水分含量、溫度、土壤酸鹼值、日照強弱、微生物活性等亦是影響消散的重要因素(張秀齡, 2001)。

而近年來由於污染物意外的滲漏或不當處置而造成的土壤或地下水層汙染的情形日益嚴重，而相關法令的訂定與執行也日益嚴格，復育(remediation)技術的開發與應用也逐漸受到重視，而近年頗受科學家青睞的生物復育技術有著技術費用低廉、較為環境接受及可與其它處理技術配合使用等優點(中華民國環境工程學會, 1999)。因此，此實驗主要是針對坊間市售一般較常使用的化學農藥殺蟲劑百滅寧(Permethrin)及培丹(carpat)，來探討其不同濃度之下在土壤環境中之宿命(fate)，及是否使其產生分解及毒性降低，來進行研究。此結果對將來類似之污染廠址復育時，可提供一重要依據。

二、研究方法與材料

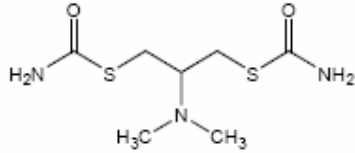
2.1 實驗土壤處理：

本實驗為了不影響實驗結果，其土壤選至未有農地污染紀錄的乾淨土壤，經過土壤沉澱試驗之後，得知其土壤結構，砂(sand)佔 75.27%、泥(silt)佔 26.67%、黏土(clay)佔 5.9%，經三角結構圖分析，被定為壤質沙土(Loamy Sand)，土壤飽和含水率 25.34%，有機質含量 11.99%。

土壤採樣後除去雜物，以 2mm 網篩過濾，無法通過的土塊再次磨碎，反覆數次取得完整土壤。經取 1g 土壤溶於 10ml 二段水中，測得其 pH 為 7.5，接近中性，因此未再做任何處理。過篩之土壤經 3-5 天之翻攪，使其多餘二氧化碳釋出，減少誤差。

2.2 化合物質：

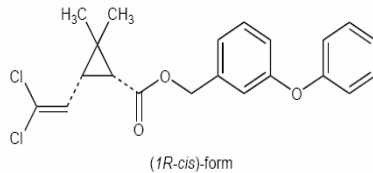
本實驗以市售的化學農藥殺蟲劑培丹(carpat)純度 50%及百滅寧(Permethrin)純度 25%為主要實驗對象，常溫下皆為可濕性粉劑，設計其濃度分別定為 0.3、3 及 30mg/g dw soil，來針對此二種污染物在土壤中之分解代謝，並另外設立一組空白實驗組(未添加任何污染物)來比對污染組。



IUPAC 化學名稱: S,S'-(2-Dimethylaminotrimethylene) bis(thiocarbamate)

普通名稱: 培丹

農藥類別: 氨基甲酸鹽類(Carbamates)



IUPAC化學名稱: 3-phenoxybenzyl (1R)-cis, trans-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate

普通名稱: 百滅寧

農藥類別: 除蟲菊精類殺蟲劑(Pyrethroid)

2.3 化學農藥之分解：

- (1) 不同濃度之藥品依實驗分裝於生物分解瓶中(圖 1)，並設置一控制組及不含任何化合物之土壤以作為對照之用。
- (2) 各藥品皆秤取後，置於小型試管中(每種藥品濃度各為 0.3, 3,及 30 mg/g soil)。
- (3) 取 19 g 乾重的土壤加入 Biometer flask 瓶中。
- (4) 算出此二種化合物的比重，並取出實驗中所設計的量，以 1g 的烘乾土壤(100°C, 24hr)當作加入化合物之引子互相混合，再加入生物分解瓶中。
- (5) 輕輕搖晃實驗瓶使土壤與含農藥之土壤再次均勻混合，並加入 1% 的 (NH₄)₂HPO₄ 及適量的水(調至約 60%之土壤飽合含水量)。
- (6) 加入 10mL 的 0.5 N 之 KOH 至 Biometer flask 之側支瓶(side arm)中。
- (7) 於每隔 3-4 天將系統內之 KOH 取出，以 0.5 N 的 HCl 滴定之，由滴定量可計算 CO₂ 之莫耳數，即可得降解結果。在此濃度下滴定之換算 1cc 0.5N HCl=0.25 mmole CO₂。
- (8) 將取出的鹼液加入 1-2 滴的酚酞指示劑(1%)後，利用酸液(0.5 N HCl)滴定，當液體顏色由紅色轉為無色，此為滴定終點，記錄其滴定量。
- (9) 滴定之酸量轉化成二氧化碳之釋放量。
- (10) 每三至四天，取出側支瓶中的鹼液，利用幫浦曝氣，並在置換完新的鹼液後，繼續實驗。

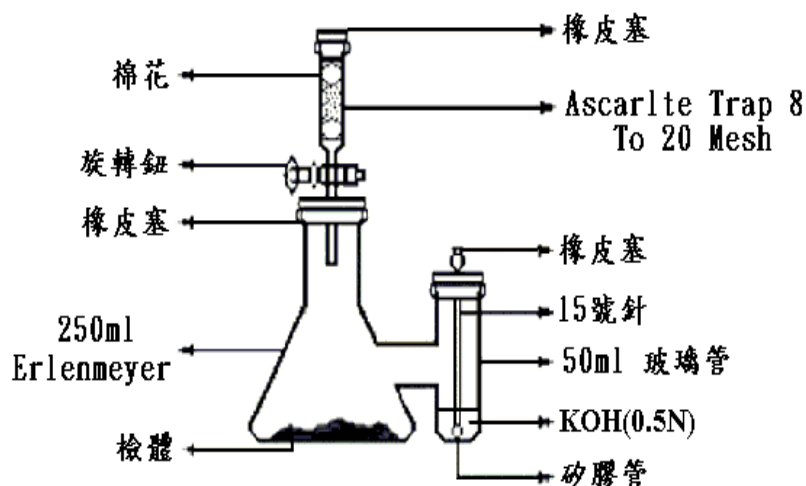


圖 1 生物分解性之測驗錐瓶(Biometer Flask) 【Bartha and Pramer,1965】

2.4 索氏萃取法(Soxxhlet extraction):

索氏萃取法是萃取方法中歷史最久的一個，早在一個世紀之前就是萃取的標準方法。此方法是也可利用固體物如土壤、污泥及固體廢棄物中萃取非揮發性及揮發性化合物的步驟，利用這個方法可確保萃取溶劑與樣品的充分混合，為其缺點有萃取時間長及溶劑使用量多(Dean, 2000; Barriada-Pereira et al, 2003)。

首先將生物分解瓶中不同濃度約經 35、61、85 天的污染土各取出一瓶稱重，裝進圓桶濾紙(cellulose thimble)中，以正己烷(hexane)經過 60-80 次的淋洗循環時間，萃取完成之後，將萃取液在真空濃縮乾燥器進行濃縮，秤重後，並選擇以 DMSO 當作攜帶溶劑溶出，裝入棕色採樣瓶中儲存，隨後進行各種毒性試驗。

2.5 Microtox 毒性試驗：

我們依據 Microtox-Model 500 型的操作原理來判別五分鐘及十五分鐘時的 EC50 值，來紀錄污染物對試驗菌種的毒性大小。

Microtox 急毒性試驗(Micortox acute toxicity test)所使用的螢光菌本身具有發光性的 *Vibrio fischeri*，當螢光菌與毒性物質接觸反應時，毒性物質可能抑制其代謝作用，甚至導致死亡，使得發出的螢光強度降低或消失。藉由發光強度的不同變化，可測出不同的毒性物質對螢光生物菌的生物毒性，其測試指標為發光強度，而毒性單位為 EC50 值(50% effect concentration)，係指發光強度減弱為 50%。一般而言我們選擇毒性越低的有機溶劑當作攜帶溶劑，並且理論上，攜帶溶劑的加入量只要低於其 EC10 值，便不會對毒性試驗的結果造成干擾，然而，實際上不同的攜帶溶劑對於化合物的毒性表現是有影響的(Hsien et al, 2004; Kahru et al,

1996; Trevizo et al, 1999; 趙木榮, 2000)。我們依據 Microtox-Model 500 型的操作原理來判別五分鐘及十五分鐘時的 EC50 值，來紀錄污染物對試驗菌種的毒性大小。

2.6 青鱗魚卵(Medaka)試驗

必須先在顯微鏡下觀察是否為一正常魚卵，例如：魚卵內是否無胚胎；或是外觀上已有明顯成白色不透明狀，表示魚卵可能已死亡。(嘉南藥理科技大學陳健民老師提供) 我們將萃取所得之二種農藥不同濃度經過一段時間培養之後的液體經過真空乾燥濃縮稱重之後，以 3cc 的 DMSO(dimethyl sulfoxide)當作攜帶溶劑溶出，除了做 Microtox 以海洋螢光菌 *Vibrio fischeri* 來進行毒性試驗之外，並計算出秤重之後的汙染物有多少，設計約以 600ppm 的濃度，分別加入我們觀察正常的青鱗魚魚卵中，我們將每一顆魚卵分別裝入 2ml 的透明培養罐中並加入 1cc 的培養水(KCl 1%、NaCl 1%、MgSO₄*7H₂O 1%、CaCl₂*2H₂O 1%、甲基藍 1%、去離子水 95%(Bentivegna, C et al,1998))，每一個濃度我們以 10 顆魚卵來做試驗，以減少應實驗中魚卵死亡所造成的偏差過大。在添加污染物的過程中，我們應避免將 DMSO 的濃度高於 5 μ l，因為 dimethyl sulfoxide 濃度要在 0.05% 以下才可確保不會對生物細胞造成毒性(曹俊文, 2005)，而污染物若超過我們所設計的濃度，則以 DMSO 做適量的稀釋，以確保試驗中的結果正確。

三、實驗結果與討論:

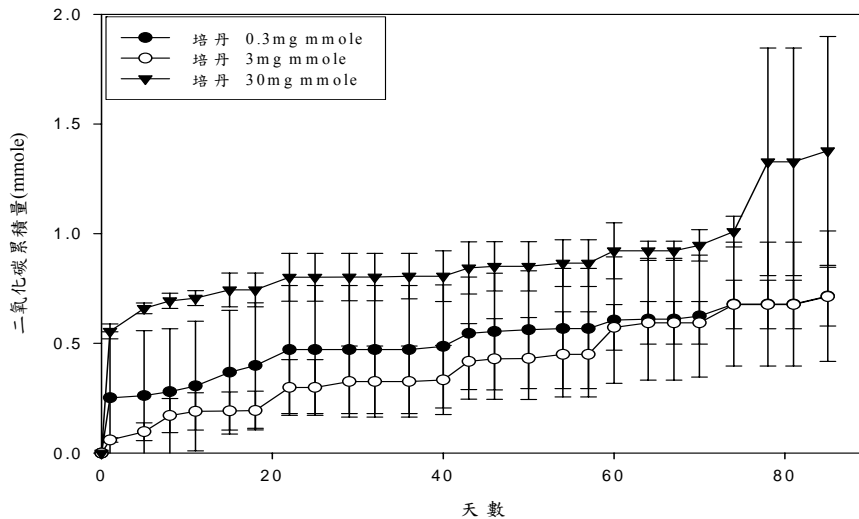


圖 2 培丹三種不同濃度 0.3、3 及 30mg/g soil 在土壤中分解代謝所產生之 CO₂ 累積圖。

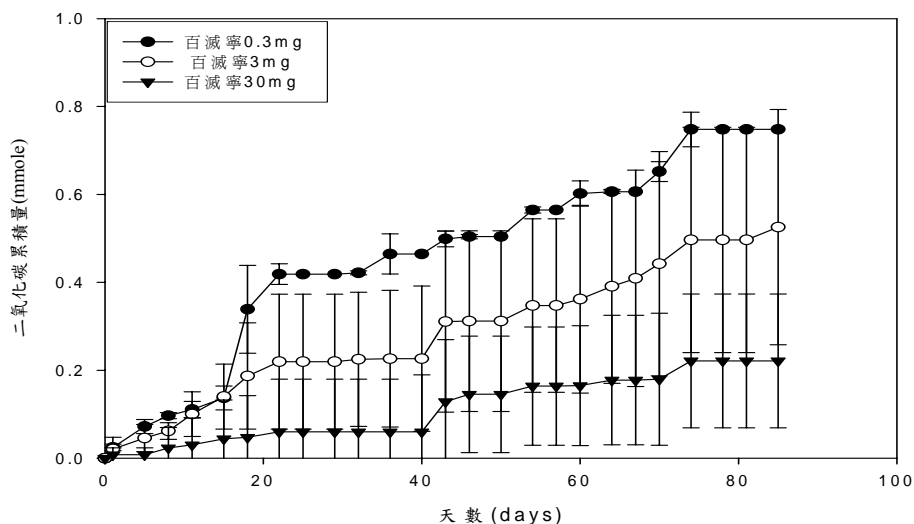


圖 3 百滅寧三種不同濃度 0.3、3 及 30mg/g soil 在土壤中分解代謝所產生之 CO₂ 累積圖。

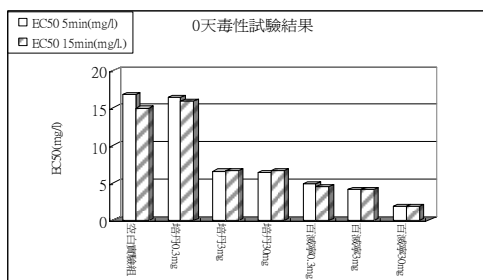


圖 4 不同濃度之培丹及百滅寧在第 0 天(未開始培養)時，毒性試驗所測得之劑量。此圖中空白代表未添加任何化學物質之土壤萃取物。

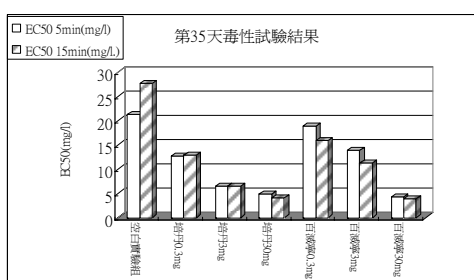


圖 5 不同濃度之培丹及百滅寧在培養 35 天時毒性試驗所測得之劑量。

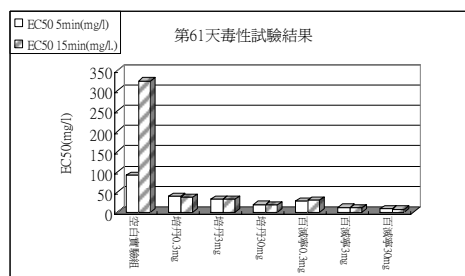


圖 6 不同濃度之培丹及百滅寧在培養 61 天時毒性試驗所測得之劑量。

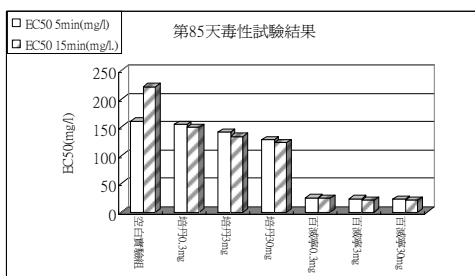


圖 7 不同濃度之培丹及百滅寧在培養 85 天時毒性試驗所測得之劑量。

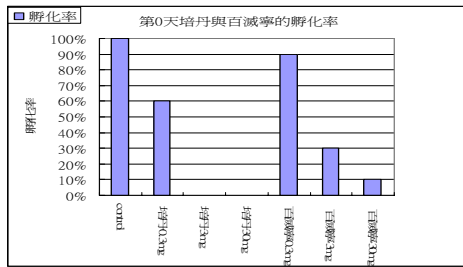


圖 8 利用青鱈魚魚卵在第 0 天培丹與百草寧的孵化率。

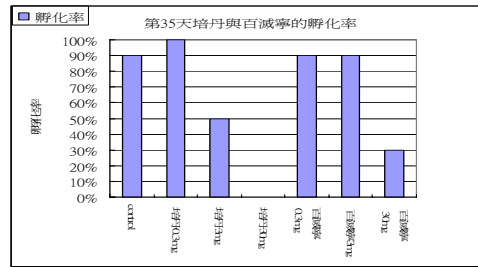


圖 9 利用青鱈魚魚卵在第 35 天培丹與百草寧的孵化率。

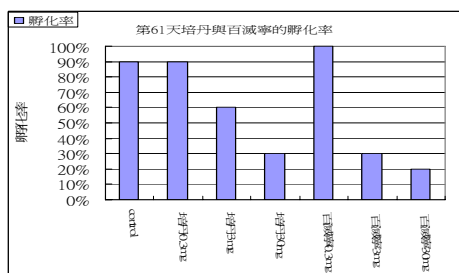


圖 10 利用青鱈魚魚卵在第 61 天培丹與百草寧的孵化率。

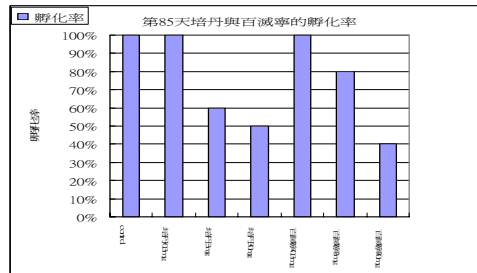


圖 11 利用青鱈魚魚卵在第 85 天培丹與百草寧的孵化率。

3.1 化合物之分解代謝

本實驗是在 Biometer flask 進行，由土壤微生物分解污染物所釋出之 CO_2 ，被分解瓶中的鹼液 (0.5N KOH) 吸收，吸收 CO_2 之鹼液再以同當量之酸液 (0.5N HCl) 滴定之。理論上，每滴定 1 ml 0.5N HCl 約相當 0.25mmole CO_2 (曹俊文, 2004)。此時驗進行約 85 天，此二種不同濃度之化學農藥在土壤中進行分解代謝時所產生之二氧化碳累加量之高低，而可以判別出胺甲基酸鹽類的培丹 30mg 所產生之 CO_2 最多如圖 2 所示，其受到土壤中微生物分解效率最好，而濃較低的 0.3mg 及 3mg，其分解情形可能受到土壤有機質鍵結的影響，以至 3mg 的分解效率高於 0.3mg；另外屬於除蟲菊精類的百草寧在實驗中則以 0.3mg 在土壤受生物分解代謝活躍，故所產生的 CO_2 量最多，其次濃度增高 10 倍的 3mg 與 100 倍的 30mg 的 CO_2 量，又以 3mg > 30mg，其所產生的 CO_2 量如圖 3 所示。

而在實驗過程當中，初期 15 天內發現百草寧 3mg 的生物分解瓶中有植物生長發芽的情形，則表示其毒性受到的土壤中微生物的分解代謝而減弱，使其無法再抑制土壤中植物種子的發芽，但是隨後因為土壤中並沒有任何營養物質的添加，所以在之後的幾天中發芽的植物並沒有持續發芽，而是逐漸枯萎，此結果可由後續毒性測試之毒性減少得知。

就生物的代謝實驗來看，似乎化合物的濃度及其與土壤中鍵結的情況左右了土壤微生物分解代謝的影響。在圖 2 和圖 3 中可以明顯的看出，在高濃度時其分解過程會有所延遲，這與微生物之遲滯適應期(lag phase)有正面相關。就本實驗總體而言，以培丹 30mg 和百滅寧 0.3mg 在土壤中之分解代謝最好，而培丹 3mg 和百滅寧 30mg 則是最不理想的。

3.2 不同濃度化合物在不同培養時間之毒性試驗

以毒性試驗來說，我們將所得的 EC50 值進行換算，所得到的數據，在第 0 天時二種農藥三種不同濃度的毒性，以培丹 0.3mg 與空白實驗之值較接近，而百滅寧 0.3mg 則比空白實驗的土壤更富毒性如圖 3 所示，經過 31 天的分解代謝之後，可以明顯的看出百滅寧 0.3mg 的毒性比起培丹的毒性來的減低許多如圖 5 所示，繼續在經過 63 天培養之後，其二種農藥的毒性的反應皆比 31 天強，但是百滅寧 30mg 的毒性仍是最低如圖 6 表示，但是到了第 85 天時，胺甲基酸鹽類之培丹三種濃度的毒性皆有明顯低於除蟲菊精類的百滅寧，則表示說培丹在低濃度下受到土壤中微生物的分解代謝旺盛，其代謝物毒性也因此而逐漸降低，而百滅寧即使是在 0.3mg 的低濃度之下，可能因為其化合物的特性，不易受到土壤中微生物的分解如圖 3，所以在 31 及 63 天的毒性試驗中看不出來有明顯的毒性減緩趨勢，到了第 85 天時，其毒性試驗之結果相似於之前，即有可能表示說，之前在土壤中的微生物已慢慢的在適應此毒性物質，而逐漸將其毒性緩慢的代謝，但是隨著濃度的增加 10 和 100 倍，其毒性經過 85 天之後仍然存在，對螢光菌的影響仍然遠大於 0.3mg 所造成的影響。所以我們可以做個合理的假設，可能百滅寧的化學特性對本次試驗中土壤的微生物，可能造成其毒性而使其有延遲的特性，所以需要更長的時間來分解代謝，其應証可以從以上 CO₂ 的產生量來得到解答。因此，在本次實驗中可以應証，污染物的濃度對毒性的影響是絕對的相關，在低濃度之下受到土壤中之微生物分解代謝較佳，因而使其毒性降低。

3.3 青鱗魚魚卵孵化試驗

在本次試驗的結果中，我們可以看出在 0 天時，控制組(未添加任何污染物)的孵化率是 100%，於培丹跟百滅寧的試驗中，我們可以看到第 0 天未經培養培丹 0.3mg 有 60%的孵化率，但是隨著 10 倍增加的 3mg 及 30mg 其孵化率皆為 0%，而百滅寧則隨著濃度的增加其孵化率有遞減的趨勢，但是可以看出百滅寧 0.3mg 的濃度之下對青鱗魚的魚卵孵化率並沒有多大的影響，但是 3mg 及 30mg 濃度的影響卻遠大於 0.3mg 的濃度對魚卵的影響如圖 8 所示，經過 35 天的培養之後培丹 0.3mg 及 3mg 皆有明顯孵化率的增加，則表示說其土壤代謝物已對青鱗魚魚卵的毒性不再如以往一般，但是 30mg 的毒性仍使其孵化率為 0%如圖 9，培養

經過 61 天時，培丹 30mg 已有 30% 的孵化率，所以表示說其土壤代謝物的毒性以獲減緩使其孵化率成長，而百滅寧 0.3mg 在經過 61 天的培養之後，其孵化率已有 100%，但是 3mg 及 30mg 的毒性似乎增強而使其孵化率降低，表示說再這段時間之內土壤的分解代謝物毒性增高，有可能是因為生物活化作用 (bioactivation) 的關係如圖 10 所示，其詳細結果尚需使用儀器分析則可得知，在最後 85 天的培養中如圖 11，我們可以得知培丹 0.3mg、3mg 及 30mg 其孵化率皆有顯著的增加，由以 3mg 及 30mg 的濃度最為明顯，然而在百滅寧這部份則可以看出 3mg 及 30mg 的濃度下孵化率明顯提高，則表示其生物活化作用停止使其孵化率提高，也可以看出其土壤代謝物的毒性已不復以往一般了。

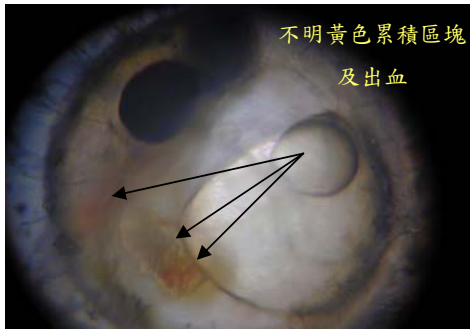


圖 12 未經土壤培養的 0 天培丹 3mg 在青鱒魚魚卵孵化試驗中第 14 天不明的黃色累積區塊及出血的情形。

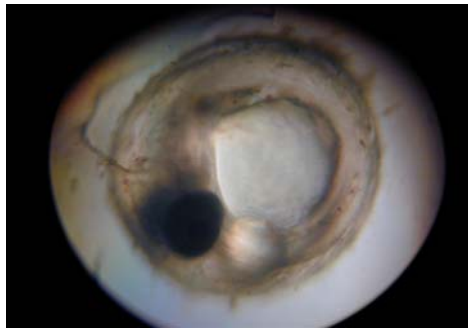


圖 13 為正常孵化之下同時其之魚卵，與左圖作為對照之用。

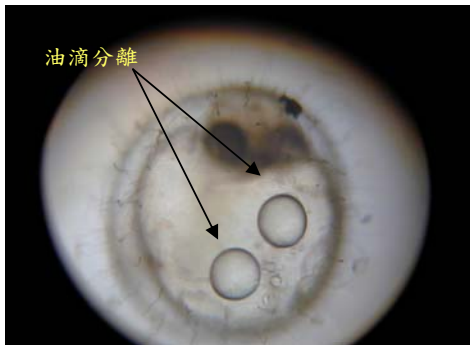


圖 14 未經土壤培養的 0 天百滅寧 3mg 在青鱒魚魚卵孵化試驗中第七天油滴分離的情形。

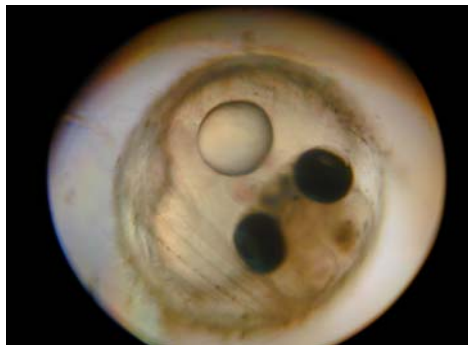


圖 15 為正常孵化之下同時其之魚卵，與左圖作為對照之用。

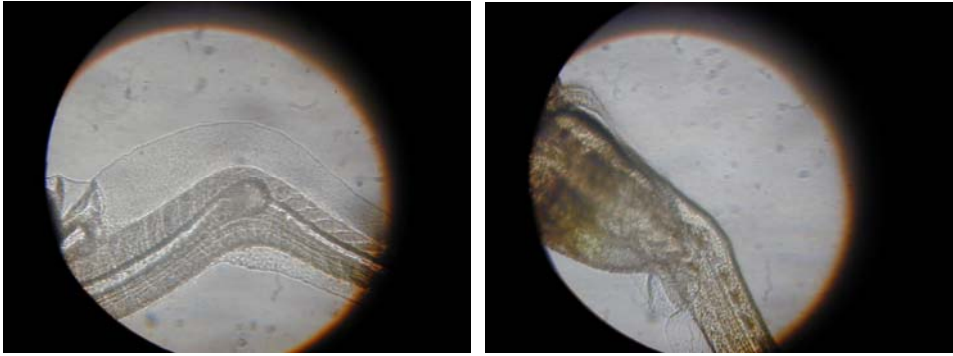


圖 16、17 未經土壤培養的 0 天培丹 0.3mg 在青鱗魚魚卵孵化試驗中第十七天孵化後脊椎彎屈及尾鰭彎屈的情形，此情形則造成青鱗魚的行動不靈活。

從以上的青鱗魚魚卵變異的照片中，我們可以知道在不同培養天數及不同濃度之下污染物對魚卵的影響，我們可以從孵化率和魚卵變異的照片中得到應証。以 0 天未培養的農藥隨著濃度的增加，分別以 600ppm 加入魚卵中，經過一段時間的觀察培養，可以看出隨著濃度 3mg 及 30mg 十倍的增加則孵化率有明顯的降低，而濃度較低的 0.3mg 則有較好的孵化率，但是其中的代謝物可能對魚卵有刺激使其在生長過程中產生變異，例如我們發現二種農藥在 0 天未培養時我們所加入的量，可能對魚卵有致畸胎的情形及其他變異的情形，例如出血、魚體上有不明的黃色區塊累積、油滴分離(圖 12 和 14)、發展遲緩、脊椎彎屈、尾鰭彎屈(圖 14 和 15)及循環緩慢 (Werner, I et al,2002；Hamm, J et al,2000；朱錦忠，2003)，隨著我們加入培養大約 35 及 61 天的農藥，隨著培養天數的增加濃度的遞增，魚卵的孵化率有漸增的情型，除了百滅寧 3mg 和 30mg 可能是因為代謝物的活化作用使其孵化率降低，最後到了 85 天左右，我們可以看出這些化學農藥對魚卵的影響不僅只在其發展過程中，在圖 16 和 17 中我們可以看到未經培養 0 天的 0.3mg 培丹最終孵化出來的魚有脊椎彎屈和尾鰭彎屈等等的情況，則可能表示說其代謝物雖對魚體不會造成立即的致死性，但是會對魚體造成傷害。

結論

不同化合物在土壤中之分解受其濃度影響，而其代謝物之毒性，則會因毒性試驗之選擇而有不同之結果，因此，毒性之判斷仍要多方評估。

而利用此研究結果，設計以台灣地區使用量最大的水田商品級殺蟲劑培丹和百滅寧)，除了對青鱗魚進行孵化率與魚卵生展過程觀察外，另亦觀察農藥對魚體的形態影響，期能以此探討青鱗魚族群減少與使用農藥是否有關，並提供推展復育工作的環境評估參考。

參考文獻

1. Barriada-Pereira, M., E. Concha-Granã, M.J. Gonza'lez-Castro, S. Muniategui-Lorenzo*, P. Lo'pez-Mah'ia, D. Prada-Rodr'iguez, E. Fern'andez-Fern'andez, Microwave-assisted extraction versus Soxhlet extraction in the q analysis of 21 organochlorine pesticides in plants, Journal of Chromatography A, Vol.1008,2003,pp.115-122
2. Bentivegna, Carolyn S. and Tabatha Piatkowski, Effects of tributyltin on medaka (*Oryzias latipes*) embryos at different stages of development, Aquatic Toxicology, Vol.44,1998,pp.117-128
3. Binelli, A., F. Ricciardi and A. Provini, Present status of POP contamination in Lake Maggiore (Italy), Chemosphere, Vol.57,2004,pp. 27 - 34
4. Dean, John R., Extraction of organic pollutants from environmental matrices: selection of extraction technique, trends in analytical chemistry, vol.19, no.9, 2000
5. Hamm, J.T. and D.E. Hinton, The role of development and duration of exposure to the embryotoxicity of diazinon, Aquatic Toxicology, Vol.48,2000,pp.403-418
6. Hao, Oliver J., Chien-Jen Shin, Cheng-Fang Lin, Fu-Tien and Zen-Chyuan Chen, Use of microtox test for screening industrial wastewater toxicity, PII:S0273-1223(99)00695-6
7. He, Mengchang., Zijian Wang and Hongxiao Tang, Modeling the ecological impact of heavy metals on aquatic ecosystems: a framework for the development of an ecological model, The Science of the Total Environment, Vol.266,2001,pp.291-298
8. Hung, Dang Quang and Wolfram Thiemann, Contamination by selected chlorinated pesticides in surface waters in Hanoi, Vietnam, Chemosphere, Vol.47,2002,pp.357 - 367.
9. Hsieh, Chi-Ying Hsieh., Meng-Hsiun Tsaib, David K. Ryanc, Oscar C. Pancorbo, Toxicity of the 13 priority pollutant metals to *Vibrio fisheri* in the Microtox chronic toxicity test, The Science of the Total Environment, Vol.320,2004,pp.37-50
10. Kahru, A., K. Tomson., T. Pall and I. Kulm, Study of toxicity of pesticides using luminescent bacteria *photobacterium phosphoreum*, PII:S027-1223(96)00292-2
11. Loewy, Miriam., Veronica Kirs, Gabriela Carvajal, Andres Venturino and Ana M. Pechen de D'Angelo, Groundwater contamination by azinphos methyl in the Northern Patagonic Region, Argentina, The Science of the Total Environment, Vol.225,1999,pp.211-218
12. Mansour M., E.A. Feicht, A. Behechti and I. Scheunert, Experimental approaches to studying the photostability of selected pesticides in water and soil., PII:S0045-6535(97)00137-9
13. Safe, S. , Endocrine disrupters and human health : is there a problem, Toxicology, Vol. 205, pp.3-10(2004)
14. Sa'nchez a, M.E., Sa'nchez a, I.B. Estrada a, O. Mart'inez a, J. Mart'ın-Villacorta b, A. Aller a, A. Mora'n, Influence of the application of sewage sludge on the degradation of pesticides in the soil, Chemosphere, Vol.57,2004,pp.673-679

15. Shima, Akihiro, Hiroshi Mitani, Medaka as a research: past, present and future, Mechanisms of Development, Vol. 121, 2004, pp. 599-604
16. Tanabe, Shinsuke., Contamination and toxic effects of persistent endocrine disrupters in marine mammals and birds, Marine Pollution Bulletin, Vol. 45, 2002, pp. 69-77
17. Trevizo, C. and N. Nirmalakhandan, Prediction of microbial toxicity of industrial organic chemicals, PII: S0273-1223(99)00254-1
18. Werner, Ingeborg, Juergen Geist, Mark Okihiro, Philipp Rosenkranz and David E Hinton, Effects of dietary exposure to the pyrethroid pesticide esfenvalerate on Medaka (*Oryzias latipes*), Marine Environmental Research, Vol. 54, 2002, pp. 609-614
19. 中華民國環境工程學會，環境微生物，第 401-405 頁，1999
20. 王一雄，土壤環境污染與農藥，文海書局，1997
21. 朱錦忠，2003，水中常用農藥對蓋斑於鬥魚 (*Macropodus opercularis* (Linnaeus)) 之毒性研究 - **Toxic effect of common pesticide on *Macropodus opercularis* (Linnaeus)**，國立台灣海洋大學環境生物與漁業科學系碩士論文，p5~6
22. 邱瑞斌，“受五氯酚污染土壤復育技術之研究”，碩士論文，國立屏東科技大學，2002
23. 林霧霆，“PCDD/Fs 污染水域水生物及鳥類之生物濃縮及生物放大研究”，碩士論文，國立成功大學環境醫學研究所，2004
24. 張秀齡，“醃胺類除草劑在不同土壤中的吸附、降解及移動之研究”，碩士論文，國立台灣大學農業化學研究所，2001
25. 曹俊文、李典澤，“不同濃度之多環化次在土壤環境中之研究”，第二屆土壤地下水研討會論文集，台南(2004)，第 2 頁
26. 曹俊文、劉書祥、董巧文、張兮之，“多苯環化合物(PAHs)對 Medaka(青鱗魚) 魚卵的影響”，第十屆海峽兩岸環境保護學術研討會，台中(2005)
27. 陳新傑，“除草劑三福林、倍尼芬、施得圃及歐拉靈在環境中之消散”，碩士論文，國立台灣大學農業化學研究所，2000
28. 趙木榮，“螢光菌對空氣中半揮發性有機物之毒性測試方法建立及其運用”，博士論文，國立成功大學環境工程所，台南市(2000)
29. 賴正偉，“農藥對於鳥類毒害之生態風險評估”，碩士論文，國立東華大學自然資源管理研究所，花蓮(2004)

環境荷爾蒙-鄰苯二甲酸二丁酯對高等植物生理之影響

Effects of Endocrine Disruptor Di-*n*-butyl Phthalate on the Physiology of higher plants

廖健森*、顏瑞泓、王一雄
國立台灣大學 農業化學系

摘要

鄰苯二甲酸酯類化合物 (Phthalate esters, PAEs) 為一種被應用為塑化劑的化學添加物，此類化合物於環境中的流佈調查、動物毒性、以及微生物分解模式，以被各國研究單位所重視。然而，其對於需要大量引用河水或地下水作為灌溉的農作物更具有不可忽略的潛藏危機，因此本研究即欲探討PAEs中用量最多、污染情形最嚴重的鄰苯二甲酸二丁酯 (Di-*n*-butyl phthalate, DBP) 對高等植物生理上所造成的影響。

研究結果發現，DBP 對小白菜葉片會造成白化作用，且 DBP 會累積在植體之根莖葉等部位。由穿透式電子顯微鏡的結果發現，DBP 亦造成小白菜細胞內葉綠體結構的改變，並在蛋白質二維電泳與質譜儀的分析結果中發現，DBP 會造成小白菜體內四種生長酵素之異常降低 (protein disulfide isomerase precursor、apocytochrome f precursor、RNA polymerase beta subunit 與 heat shock cognate protein 80)，以及兩種分解自由基之相關酵素 (superoxide dismutase 與 peroxidase 21 precursor) 的大量增生。而 DBP 對青江菜的影響，則是會造成植體葉片的黃化，並使得以 DBP 處理後之青江菜生長受阻，乾物重降低等現象。由以上研究結果推論，環境中殘留的鄰苯二甲酸二丁酯 (DBP)，的確會對高等植物造成程度不一的影響與衝擊，因此值得深入探討其相關的作用機制與影響途徑。

關鍵字：鄰苯二甲酸二丁酯 (Di-*n*-butyl phthalate, DBP)、蛋白質二維電泳 (2-dimensional gel electrophoresis)、植物生理 (plant physiology)

Abstract

The effects of the endocrine disruptor, di-*n*-butyl phthalate (DBP), on the growth of leaf vegetable white stem Bok choy (*Brassica rapa* subsp. *chinensis*) and green stem Bok choy (*Brassica rapa* var. *chinensis*) were investigated. The results showed that leaves of WBC and GBC became white or yellow in color with the occurrence of chlorosis and etiolation upon treating with DBP. Transmission electron microscopic images of WBC revealed that changes in the chloroplast structures accompanied the chlorosis. In addition, a decrease in biomass and chlorophyll, and accumulation of DBP, were found in DBP-treated WBC. The growth and morphology of WBC and GBC showed a significant dose-response relationship upon treatment with DBP in a hydroponic culture medium. The proteome of the leaf tissue was analyzed using 2-dimensional gel electrophoresis (2-DE) and mass spectrometry (MS). Six protein spots were identified in 2-DE that showed reproducible differences in expression between the normal control and the DBP-treated sample. Based on proteome level studies two protein spots increased and were identified as superoxide dismutase (SOD) and peroxidase 21 precursor. These proteins are believed to increase in expression in response to free radical exposure as a detoxification mechanism. This

study indicated that DBP affects the proteome formation as well as the physiology and the morphology of WBC and GBC during growth.

Key words: Di-*n*-butyl phthalate, DBP, 2-dimensional gel electrophoresis, plant physiology

通訊作者：廖健森 (E-mail: d91623404@ntu.edu.tw)

一、內文

1.1 前言

鄰苯二甲酸酯類化合物 (Phthalate esters, PAEs) 為一種被應用為塑化劑的化學添加物，隨著塑膠類製品的產量與廢棄量逐年增加，此類化合物於環境中的流佈調查、動物毒性、以及微生物分解模式，以被各國研究單位所重視 (Staples et al., 1997; Yuan et al., 2002)。然而，相較於河川環境的嚴重污染，PAEs 對需要大量引用河水或地下水作為灌溉的農作物更具有不可忽略的潛藏危機，但直至今日，相關的研究卻仍未如生物毒性般被重視。近年來，已有數篇疑似 PAEs 對農作物造成危害的論文於國際期刊發表 (Dueck et al., 2003; Yin et al., 2003)，但都僅止於探討 PAEs 對作物所造成的表面危害，並無進一步的深入探討 PAEs 的相關作用機制。本研究即欲探討 PAEs 中用量最多、污染情形最嚴重的鄰苯二甲酸二丁酯 (Di-*n*-butyl phthalate, DBP) 對高等植物生理上所造成的影響。基於台灣河川及沿岸日益嚴重的有機物污染，本研究選擇了小白菜與青江菜此二類須引用河水或地下水灌溉、種植面積最廣、生產期最長、食用人口最多的葉菜類作物做為供試植物。

主要研究內容包括：一、觀察植體於添加 DBP 的水耕系統中，其外觀大小、葉綠素濃度與根系發展的影響，並以氣相層析儀分析 DBP 於植體各部位累積的程度。二、以穿透式電子顯微鏡比較正常與受影響植體內的單一細胞變化。三、利用蛋白質二維電泳與毛細管柱液相層析/四極棒-飛行時間式質譜儀組合出植物總蛋白質體的變化情形，並以電腦軟體預測出受影響蛋白質的立體結構與相關作用。並於最終探討 DBP 污染對高等植物生理及其蛋白質體的影響，以期做為環境中 DBP 影響植物生理相關機制的參考依據。

1.2 材料方法

1.2.1 供試植物之栽培：

本研究選用台灣本土種植面積最廣之葉菜類作物為研究對象，分別為小白菜 (*Brassica rapa* subsp. *chinensis*) 與青江菜 (*Brassica rapa* var. *chinensis*)。以水耕培養的方式，種植於台灣大學生農學院附設之人工氣候室。

1.2.2 DBP 處理與植體外觀觀察：

水耕試驗中，配置成含有濃度 1、10、30、50 及 100 mg L⁻¹ DBP 之培養液，過程中不再重複添加。以上試驗均為三重覆。待測植物在含不同濃度 DBP 的水耕箱中開始培養後，於培養期間定期觀察紀錄植體的整體外觀變化並拍照建檔。

1.2.3 測定葉綠素濃度：

取 10 片水稻切離葉片，以 2 mL sodium phosphate buffer (50 mL, pH 6.8) 研磨成均質後，取 40 μL 均質液加入 960 μL 絕對酒精混合均勻後，於 4°C 黑暗下靜置

30 分鐘。之後以 1,000 g 離心 10 分鐘後，取上清液利用光電比色計測定波長 665nm, 649nm 之吸光值(A_{665} , A_{649})。葉綠素濃度(total chlorophyll, $\mu\text{g Chl mL}^{-1}$ FW) 依據公式 $6.1 \times A_{665 \text{ nm}} + 20.04 \times A_{649 \text{ nm}}$ 計算而得。

1.2.4 植體內 DBP 的累積部位：

為了探討 DBP 是否被植物體所吸收，因此將培養期間與培養終了之植體，經無菌水反覆沖洗表面三次後，分別秤取植體的鮮重，之後以 10 mL sodium phosphate buffer(50 mL, pH 6.8)將各部位植體研磨成均質後，以 10 mL 的正己烷(*n*-hexane)進行萃取，最終以行政院環保署公告之氣相層析儀/電子捕捉偵測器法 NIEA R811.21C，進行 DBP 的分析。

1.2.5 穿透式電子顯微鏡 (Transmission electron microscope, TEM)觀察：

穿透式電子顯微鏡可以觀察到細胞內部的細微變化，因此本研究遂利用此技術來觀察植物細胞間的生理現象。前處理步驟包括：組織染色、超薄切片、切片染色、切片觀察與照相。

1.2.6 植物蛋白質體分析：

植體之蛋白質萃取液經定量後取出進行第一維電泳分析。將 220 μL 蛋白質樣本均勻注入 13 cm 長之電泳槽中，以 13 cm、pH 4.0-7.0 的 immobilized pH gradient 膠條緩緩覆蓋於蛋白質樣本上開始進行第一維電泳，結束後取出膠條，置於 SDS-PAGE 上端進行第二維電泳分析。將電泳分析完成之凝膠，以銀染法進行膠體染色。並以利用質譜儀以分析蛋白質水解後之肽段，並配合資料庫的分析結果，找出受影響蛋白質的正確名稱 (Perkins et al., 1999)。

1.3 結果與討論

研究結果發現，DBP 對小白菜葉片會造成白化作用，而對青江菜葉片則是會造成黃化的現象。由穿透式電子顯微鏡的結果發現，DBP 造成小白菜細胞內葉綠體膜的不規則外翻，但對青江菜則無明顯的影響 (圖 1)。經 DBP 處理後的兩種受測植物，都會造成生質量與葉綠素濃度的下降，並且發現 DBP 於植體內的累積 (表 1, 2)。在蛋白質二維電泳與質譜儀的分析結果中發現，DBP 會造成小白菜體內四種生長酵素之異常降低(protein disulfide isomerase precursor、apocytochrome f precursor、RNA polymerase beta subunit 與 heat shock cognate protein 80)，以及兩種分解自由基之相關酵素(superoxide dismutase 與 peroxidase 21 precursor)的大量增生(圖 2, 表 3)。由以上研究結果推論，環境中殘留的鄰苯二甲酸二丁酯 (DBP)，的確會對高等植物造成程度不一的影響與衝擊，因此值得深入探討其相關的作用機制與影響途徑。

二、圖與表

2.1 圖

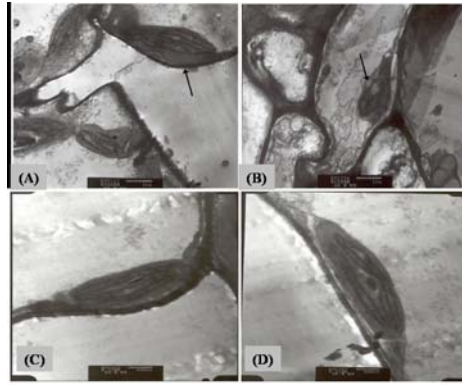


圖 1 植體葉部細胞之穿透式電子顯微影像。(A)小白菜對照組; (B)小白菜控制組(30 mg L⁻¹ DBP treated for 42 days); (C)青江菜對照組; (D)青江菜控制組(30 mg L⁻¹ DBP treated for 42 days)。

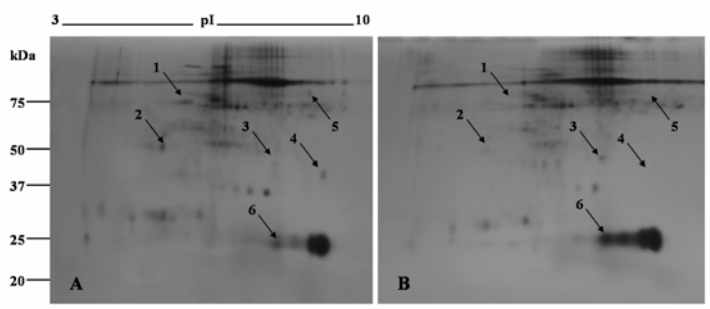


圖 2 小白菜葉部細胞之蛋白質二維電泳圖譜。(A)小白菜對照組; (B)小白菜控制組(30 mg L⁻¹ DBP treated for 42 days)。

2.2 表

表 1 小白菜經 DBP 處理 42 天後之生質量、葉綠素濃度與 DBP 累積量的變化。

	DBP treatment (mg L ⁻¹)					
	0	1	10	30	50	100
Biomass (g, dry wt) ^a	2.41 ±0.42	2.31 ±0.38	2.30 ±0.26	2.19 ±0.26	1.87 ±0.28	1.39 ±0.24
Chlorophyll concentration (mg g ⁻¹ fresh wt)	0.2085 ±0.036	0.1241 ±0.045	0.0649 ±0.022	0.0514 ±0.012	0.0477 ±0.012	0.0352 ±0.014
DBP accumulated in whole plant (μg g ⁻¹)	n.d. ^b	0.21 ±0.08	1.85 ±0.34	2.26 ±0.54	2.98 ±0.74	3.96 ±0.70

^aAverage of three plants.

^bn.d. = not detectable (all three replicates were below the detection limit of 0.1 μg g⁻¹ in triplicate).

表 2 青江菜經 DBP 處理 42 天後之生質量、葉綠素濃度與 DBP 累積量的變化。

	DBP treatment (mg L ⁻¹)					
	0	1	10	30	50	100
Biomass (g, dry wt) ^a	4.59 ±0.51	4.01 ±0.44	3.34 ±0.36	2.59 ±0.28	1.42 ±0.24	1.12 ±0.28
Chlorophyll concentration (mg g ⁻¹ fresh wt)	0.2693 ±0.048	0.2518 ±0.056	0.1906 ±0.032	0.1632 ±0.046	0.1607 ±0.038	0.1534 ±0.064
DBP accumulated in whole plant (µg g ⁻¹)	n.d. ^b	n.d. ^b	0.32 ±0.08	0.96 ±0.24	2.11 ±0.56	3.03 ±0.74

^aAverage of three plants.

^bn.d. = not detectable (all three replicates were below the detection limit of 0.1 µg g⁻¹ in triplicate).

表 3 六種於 DBP 處理後，具有顯著變化之小白菜蛋白質名稱及特性。

Spots	Protein name	Accession no.	Estimated MW (kDa)	Estimated pI
1	Heat shock cognate protein 80	P36181	80.1	4.96
2	Protein disulfide isomerase precursor	P80284	56.4	5.02
3	Peroxidase 21 precursor	Q42580	36.7	7.09
4	Apocytochrome f precursor	P16013	35.3	8.65
5	RNA polymerase beta` subunit	P11705	78.1	8.69
6	Superoxide dismutase	P11796	25.5	7.86

三、參考文獻

- Dueck, Th.A., Dijk, C.J.Van., David, F., Scholz, N., Vanwalleghem, F., Chronic effects of vapour phase di-n-butyl phthalate on six plant species. Chemosphere, Vol. 53, 2003, pp. 911-920.
- Perkins, D.N., Pappin, D.J., Creasy, D.M., Cottrell, J.S., Probability-based protein identification by searching sequence databases using mass spectrometry data. Electrophoresis, Vol. 20, 1999, pp. 3551-3567.
- Staples, C.A., Peterson, D.R., Parkerton, T.F., Adams, W.J., The environmental fate of phthalate esters: a literature review. Chemosphere, Vol. 35, 1997, pp. 667-749.
- Yin, R., Lin, X.G., Wang, S.G., Zhang, H.Y., Effect of DBP/DEHP in vegetable planted soil on the quality of capsicum fruit. Chemosphere, Vol. 50, 2003, pp. 801-805.
- Yuan, S.Y., Liu, C., Liao, C.S., Chang, B.V., Occurrence and microbial degradation of phthalate esters in Taiwan river sediments. Chemosphere, Vol. 49, 2002, pp. 1295-1299.

生物復育土壤縮模中辛基苯酚之生物分解與菌相研究
Degradation of octylphenol and microbial community in bioremediation microcosms
containing three exogenous bacteria

陳錫金²、宋秉育¹、郭家倫¹、曾迪華³、黃雪莉^{1*}

1. 國立中央大學生命科學系
2. 美和技術學院生物科技系副教授
3. 國立中央大學環境工程研究所教授

*通訊作者:slhuang@cc.ncu.edu.tw, 03-4227151-65051

摘要

辛基苯酚 (octylphenol, OP) 為辛基苯酚聚氧乙基醇 (octylphenol polyethoxylates, OPEO_n) 界面活性劑分解之代謝產物，由於其易於環境中累積，並具有類雌激素之環境荷爾蒙活性，為一生態和環境危害物質，其難分解之特性更使其在環境保護範圍中漸受重視；本研究利用通氣和外加營養鹽之土壤縮模，探討外添加分解菌 *Pseudomonas nitroreducens* TX1、*P. putida* TX2 和 *Pseudomonas* sp. OP2 對土壤中 OP 之分解與形成之微生物菌群。研究結果顯示，於外加 10,000 mg/kg OPEO_n 之縮模中添加菌株 *P. nitroreducens* TX1 的縮模，OP 於 20 天後，累積至 1200 mg/kg，添加菌株 *P. putida* TX2 之縮模，45 天後 OP 之累積量減少 50%，顯示菌株 TX2 在降解 OPEO_n 的同時，並同時降解 OP。土壤中多添加菌株 *Pseudomonas* sp. OP2 約可於 90 天中提高 15-20% 的 OP 移除效果，分段置放 *Pseudomonas nitroreducens* TX1、*P. putida* TX2 和 *Pseudomonas* sp. OP2 三株外添加菌株於土壤中，可達成約 75% 的 OP 分解量。土壤微生物菌相分析結果顯示，以 *Proteobacteria* 中的 *Pseudomonas*、*Aeromonas* 和 *Stenotrophomonas* 為主要菌屬，菌相中菌株 *Stenotrophomonas maltophilia*、*Aeromonas hydrophila* 及 *Alcaligenes faecalis* 在文獻中已顯示其具有分解芳香族化合物及 APEO_n 相關化合物之能力，顯示 OP 之分解確實為微生物活動所形成，此外，外添加菌 *P. nitroreducens* TX1 和 *P. putida* TX2 可於土壤中保持優勢生長，然而當菌株 *Pseudomonas* sp. OP2 分別和菌株 *P. nitroreducens* TX1 及菌株 *P. putida* TX2 一起放入土壤中時，由於菌株 TX1 的優勢生長，菌株 OP2 在約 50 天後才出現明顯的生長優勢。

關鍵字：辛基苯酚聚氧乙基醇，辛基苯酚，環境荷爾蒙，生物分解，生物縮模，生物復育

一、前言

烷基苯酚聚氧乙基醇類 (Alkylphenol Polyethoxylates, APEO_n) 化合物為常用的非離子性界面活性劑，其中壬基苯酚聚氧乙基醇類 (Nonylphenol Polyethoxylates, NPEO_n) 佔烷基苯酚聚氧乙基醇類總產量的 80%，而辛基苯酚聚氧乙基醇類 (Octylphenol Polyethoxylates, OPEO_n) 則約佔總產量的 20%。APEO_n 於環境中降解時，會產生難分解之代謝產物蓄積於環境中，且這些代謝物，如 Nonylphenol (NP), Octylphenol (OP) (NP 與 OP 統稱為 AP (烷基苯酚))，

Nonyphenol Monoethoxylate (NPEO₁), Octylphenol Monoethoxylate (OPEO₁)等類化合物，研究顯示其具有環境荷爾蒙的效應(Ying *et al.*, 2002)，對生物體的影響更甚於原物質。AP 之所以可以模仿雌激素而與雌激素受體結合，主要的原因一是兩者之間皆存在有相同的酚(phenolic)結構(詳如 Figure 1)，而此相似性可與雌激素受體產生兩個氫鍵之鍵結，就如同雌激素之 A 環上的-OH 基一樣；而另一原因則是 AP 烷基鏈之存在，此部份結構之疏水性可提高 AP 和雌激素受體之間的疏水性親和力(hydrophobic affinity)作用，一如雌激素與受體之疏水性作用，故當烷基鏈之碳數越多時，疏水性親和力越強，使得結合狀態更形穩定。因此造成 NP 和 OP 之環境荷爾蒙效應較酚更為顯著(Tanenbaum *et al.*, 1998)。由活體試驗結果亦顯示 NP 及 OP 均有相似的雌性激素效應，NP 為雌二醇的 0.000030 倍，而 OP 之雌性激素效應是壬基苯酚的 10 到 20 倍左右(La Guardia *et al.*, 2001)故本研究採用 OP 為分解目標物。此外，研究指出，AP 對魚類的急毒性，半致死濃度(LC₅₀)為 17~3000 μg/L (以 *Pleuronectes americanus* 為例)，對於無脊椎動物的 LC₅₀ 為 20~3000 μg/L (以 *Hyalella azteca*、*Mytilus edulis* 等為例)，而對藻類則為 27~2500 μg/L (以 *Skeletonema costatum*、*Chlamydomonas segnis* 等為例)(王正雄等人，2002)，此亦顯示此類 APEO_n 代謝產物對環境之毒害。

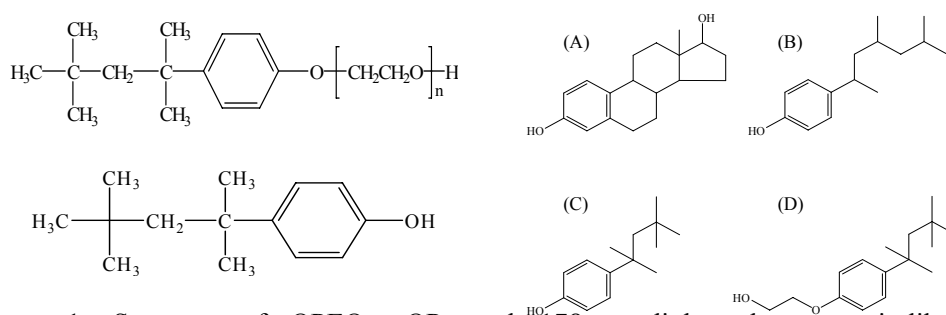


Figure 1. Structure of OPEO_n, OP, and 17β-estradiol and estrogenic-like alkylphenol-related compounds: (A) 17β-estradiol, (B) nonylphenol, (C) octylphenol, (D) octylphenol monoethoxylate.

全球合成界面活性劑年產量超過 7,200,000 公噸，約 30% 為非離子性(其中的 6% 為烷基苯酚聚氧乙基醇類)、而台灣每年生產及使用此類界面活性劑約 48,000 公噸(Ding *et al.*, 1999)。且由於 OP 具有比 NP 更高之環境賀爾蒙活性，且 OP 具有 4 級之分支烷基鏈，非常不易分解。而 NPEO_n 和 NP 之烷基鏈則有不同組成的一混和物，因此，本研究群過去數年來，致力於 OPEO_n 生物分解菌之篩選及生物分解生化特性之研究，根據過去數年之研究結果發現，篩選自土壤中之 OPEO_n 分解菌與土壤原生菌，皆可有效降解 OPEO_n (Huang *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2004)，主要降解途徑為 EO 鏈之逐步轉化與分解，產物為 OPEO₃、OPEO₂、OPEO₁ 及 OP。此一結果證實，OPEO_n 類化合物之環境生物代謝機轉，且會造成環境賀爾蒙物質的累積，為進一步探討環境賀爾蒙物質生物分解的可能性，我們以 OP 做為碳源，自土壤中篩選出可以以 OP 為碳源之微生物菌株，並以此菌株做為外添加菌，於本研究之復育縮膜中，探討土壤中 OP 分解菌之生物分解效果，並經由 PCR 及 DNA cloning，探討土壤微生物分解 OP 之微生物菌相變化。因此，本研究之研究目的包括分析土壤中不同微生物對 OP 降解效果之影響，及探討土壤中 OP 分解之微生物菌相變化，並期待此一研究成果，能對環境賀爾蒙在土壤中生物分解效果之增進，並探討不同菌株之影響。

二、材料與方法

2.1 外添加分解菌

本研究所使用之外添加菌株共有三株，分別是：(1) *Pseudomonas nitroreducens* TX1(Chen et al., 2005):篩選自常受界面活性劑污染之排水溝底泥中，並以 Biolog method、16S rDNA sequence analysis 及 fatty acid methyl ester analysis 鑑定為 *Pseudomonas nitroreducens* TX1(Chen et al., 2006)，此菌並於美國菌株中心 ATCC 寄存(Huang et al., 2004;黃, 2005);(2) *Pseudomonas putida* TX2:篩選自先前 OPEO_n 分解縮模中，經與菌株 TX1 相同之鑑定程序後，確認為 *Pseudomonas putida*，命名為 *Pseudomonas putida* TX2；(3) *Pseudomonas sp.*OP2:篩選自先前 OPEO_n 分解縮模中，經相同之鑑定方法，故命名為 *Pseudomonas sp.* OP2(謝孝正，2004)。以上菌株皆培養於 MSB (Minimal Salts Basal)培養(Nguyen and Sigoillot, 1997)，將其接種於 10 支 5 ml MSB 溶液中，每支各含 OPEO_n 及 OP，以 30°C，200rpm 震盪培養，當微生物達 late-log 期，將菌液以 10,000 g 離心 10 分鐘，離心後之菌體併同調節土壤含水率之土壤添加水，均勻混合加入土壤中。

2.2 土壤

本研究之縮模所用土壤取自宜蘭縣員山鄉水稻田土壤，該土壤長久以來一直施用各式農藥如 S-methyl-N((methyl carbonyl)oxy) thioacetimidate, o,o-diethyl-o-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl)phosphorothioate and butyl(R)-2-(4-(5-trifluoro methyl-2- pyridyloxy)，並以界面活性劑 NPEO_n 為農藥添加劑(展著劑)，因此本研究以此土壤為實驗對象，乃推測該土壤長期使用該類界面活性劑後，土壤中原生微生物，應具有一定程度，分解該類界面活性劑及其代謝產物之能力。土壤經採集後，破碎並以 20 mesh 篩網過篩後，利用 0.2M, pH 7.35 之鉀磷酸緩衝溶液，調節土壤至 pH = 7 之中性環境，隨即加入縮模中。

2.3 土壤縮模

土壤縮模設計，乃將 600 g 水稻田土，置入體積為 1280 ml 之錐形瓶中，用矽膠塞封口，以打氣機通入 0.3 liter/min 之空氣進行縮模通氣，為減少水份散失，氣體通入土壤縮模前，先經一 500 ml 蓄水瓶，瓶內裝入 300 ml 超純水，並以 0.22µm 濾膜過濾空氣，以去除外在環境中微生物之干擾。土壤縮模系統操作條件示如 Table 1 和 Table 2。操

Table 1. The microcosms for OPEO_n and/or OP remediation with addition of three exogenous degraders

Microcosm ^a	Exogenous degraders (day added)			Endogenous microorganism ^b
	TX1	TX2	OP2	
M4-1	+(1)	—	—	+
M4-2	+(1)	—	+(21)	+
M4-3	—	+(1)	—	+
M4-4	—	+(1)	+(21)	+
M4-5	—	—	—	+
M4-6	—	—	—	—

^a OPEO_n(10,000 mg/kg of soil) was added in all microcosms

^b —: sterilized at 121°C, 1.32 kg/cm² for 2 hours. +: no autoclaved

The nitrogen source is (NH₄)₂SO₄ in the concentration of 3,200 mg/kg of soil in M4-1 to M4-6.

作時間約 100 天，土壤含水率維持於 50%，土壤原生菌滅菌組縮模土壤於 121°C, 1.32 kg/cm² 條件下，高溫高壓滅菌 2 小時。

Table 2. The microcosms for OP remediation with the addition of *Pseudomonas sp* OP2.

Microcosm ^a	<i>Pseudomonas sp.</i>	Endogenous microorganism ^b
	OP2	
M5-1	+	+
M5-2	-	+
M5-3	-	-

^aOP (3,000 mg/kg of soil) and the (NH₄)₂SO₄ (960 mg/kg of soil) were included in every microcosm.

^b-: sterilized at 121°C, 1.32 kg/cm² for 2 hours. +: no autoclaved

2.4 OPEO_n 與 OP 之分析

將 2 g 土樣置入圓筒濾紙中，以 200 ml 二氯甲烷與甲醇(50:50)混合液，在 80°C 水浴中，進行 4 小時索氏萃取(陳瑞玲, 1996)，萃取液在 50°C 水浴溫度下，進行減壓濃縮至 1 ml 樣品，以 20 ml 氬甲烷沖洗出萃取物，再以 0.45 μm 濾膜過濾後，4°C 冷藏以備 HPLC 分析。OPEO_n 萃取平均回收率 78%，OP 萃取平均回收率為 68%，OPEO_n 分析條件為：HPLC UV detector，波長 274.8 nm，流速 1.5 ml/min，移動相 ACN:H₂O=70:30，OP 分析條件為：HPLC UV detector，波長 264 nm，流速 1.5 ml/min，移動相 ACN:H₂O=50:50 (陳錫金等人, 2003)。

2.5 微生物菌相分析

取 0.5g 土壤，外加 0.5 ml 之 0.1M 鉀磷酸緩衝溶液(PH 7.5)及 0.5 g 0.1 mm 玻璃珠，經 2500 rpm 旋轉震盪，以打破細胞，再以 12000 g 高速離心 3 分鐘，取上清液，以 5 g Polyvinylpolypyrrolidone(PVPP)去除 DNA 中之腐植酸(Duineveld et al., 2001)。利用聚合酵素鏈反應(Polymerase chain reaction, PCR)複製出所有 eubacteria 之 16S rDNA(Busse et al., 1996)，並建立 eubacteria 之 16S rDNA 指紋資料庫，再利用變性梯度膠體電泳，分析 DNA 序列之差異，電泳反應完成後，取出膠體以 silver strain 染色(Brown-Howland et al., 1992)。此外，建立土壤微生物之 clone library，將所 clone 出之菌株加以培養，當菌株呈白色 colony 後，將白色菌落培養皿進行 DNA 定序，利用 BLASTN 指令來比對已知序列，即可得知具有該序列之菌種，並分析出土壤縮模中微生物之菌相分布(Chen et al., 2004)。

三、結果與討論

3.1 OPEO_n 分解菌對 OP 分解之影響

OP 在縮模中經由 OPEO_n 之降解而逐漸在土壤中產生，縮模 M4-1 中之添加菌在大量分解 OPEO_n 之後，亦同時產生了大量 OP 之累積，其 OP 濃度可達 1,200 mg/kg(Fig 2A)，此一濃度較僅有原生菌作用之縮模(M4-5)，有更明顯之 OP 累積，其濃度僅達 700 mg/kg。從圖中 OP 之變化趨勢來看，在 40 天之生物復育程序中，OP 在土壤縮模 M4-1 中先累積，後降解，其降解比率約為 20%，由於菌株 *P. nitroreducens* TX1 並無分解 OP 之能力，此一 20% OP 在土壤縮模中之削減，應該是由土壤原生菌作用所造成，此一結果顯示了土壤已有馴化之原生菌具降解

OP 之可能性，在僅有土壤原生菌作用之縮模 M4-5 中，OP 的累積趨勢則較緩慢，累積濃度則僅有縮模 M4-1 的 60%，累積之時間也延遲至 40 天。

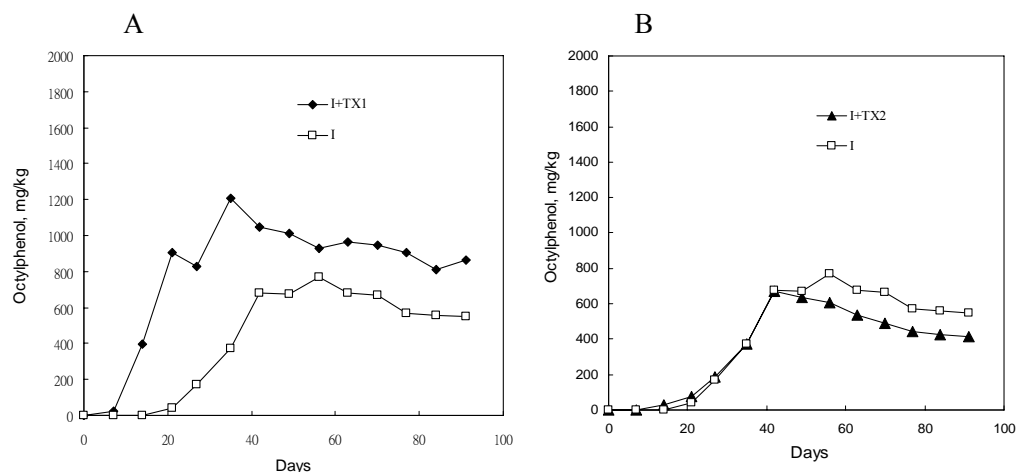


Figure 2. The effect of exogenous bacteria for the OP bioremediation. I=Indigenous microorganism, TX1=*P. nitroreducens* TX1, TX2=*P. putida* TX2. (A)The OP concentration in the microcosm contain strain TX1 and the indigenous microorganism; (B)The OP concentration in the microcosm contain strain TX2 and the indigenous microorganism.

此外，縮模 M4-3 中添加了另一株外添加菌 *Pseudomonas putida* TX2，其和僅原生菌作用之縮模在降解 OPEO_n 時，OP 的累積趨勢亦有差異，(Figure 2(B))，其中發現添加菌株 TX2 之縮模和僅原生菌作用之縮模(M4-5)，所產生之 OP，在縮模操作前期，呈現幾乎相同之 OP 產生趨勢，在縮模操作 50 天之後，其 OP 的累積量甚至比原生菌作用之縮模還低，由於 TX2 為一可利用 OPEO_n 及其大部分代謝產物之菌株(謝孝正，2004)，因此，本文推測，菌株 TX2 在降解 OPEO_n 以產生 OP 之同時，似乎亦同時在降解 OP，此點需與先前在水相研究中，菌株 TX2 可分解 OP 相同(謝孝正,2004)。

3.2 不同 OP 分解菌對 OP 生物分解之影響

菌株 OP2 和菌株 TX2 為相同之篩菌來源，菌株 OP2 能以 OP 及 Phenol 為唯一生長碳源(謝孝正，2004)，本研究試圖經由 TX1、TX2、OP2 三菌株之添加，以便觀察 OP 之生物分解效果。如 Figure 3(A)所示，縮模土壤在縮模操作第 1 天添加菌株 TX1 後，在 21 天的生物復育操作期間後，再添加菌株 OP2(縮模 M4-2)，此種添加方式，目的是在 OP 產生之高峰期，加入 OP 分解菌，以提升 OP 之生物復育效果，圖中結果顯示，於 21 天之 OPEO_n 生物復育程序後，加入菌株 OP2，在 40 天後，OP 的累積量約有 15%至 20% 的下降的趨勢，由於菌株 TX1 並無 OP 降解之能力，而土壤原生菌和菌株 OP2 則具有 OP 降解之能力，縮模 M4-2 中 OP 的下降，應是原生菌作用的結果(Figure 3(A))來看，而縮模 M4-2 和縮模 M4-1 之間的 20%之 OP 降解差異，應是菌株 OP2 所完成。可見，在菌株 OP2 在通氣縮模之土壤中，的確具有 OP 生物復育之能力，在菌株 TX1 產生 OPEO_n 初級降解而造成 OP 的累積之後的約 30 天後，菌株 OP2 發揮了 OP 的降解能力，達成去除此環境荷爾蒙物質之效果。

本研究也同時針對添加菌株 TX2 的縮模，評估菌株 OP2 添加後之 OP 生物復育效果，在添加菌株 TX2 後的第 21 天，本實驗再加入菌株 OP2(縮模 M4-4) 於土壤中，進行 OP 生物復育效果之探討，Figure 3(B)顯示，僅外添加菌株 TX2 之縮模(M4-3)，所產生之 OP 累積已有明顯的下降趨勢，菌株 OP2 的添加，在 40 天生物復育期之後，OP 之降解更加的明顯，此一結果，應是菌株 TX2 和菌株 OP2 兩者共同作用之成果，在這兩個縮模的 OP 降解趨勢差異上，其差異約為 10%至 15%之 OP 生物復育效果，此一差異較前述菌株 TX1 和 OP2 之間的差異為小，其原因可能是因為菌株 TX2 和 OP2 皆具有以 OP 為唯一碳源之能力，並且由於 OP 的難分解性，使得兩株 OP 分解菌在同時作用之情況下，無法獲得如單一菌株所獲得之效果。

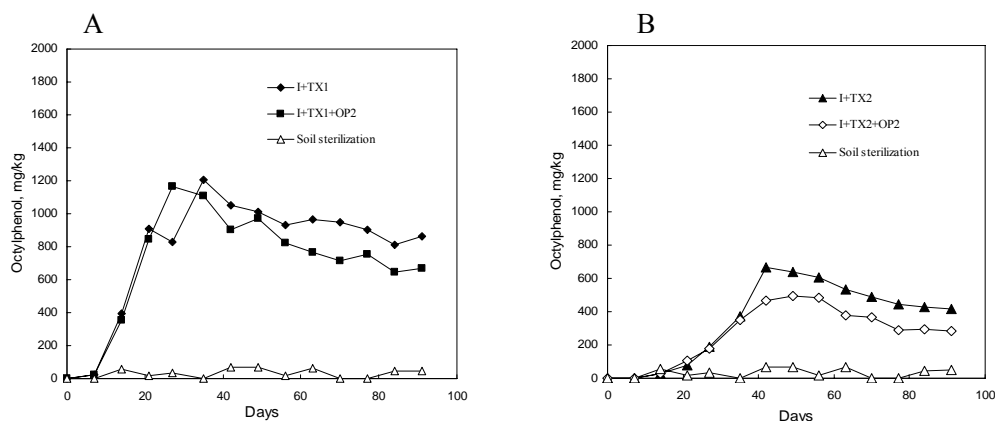


Figure 3. The effect of the addition of exogenous bacteria for the OP bioremediation. I=Indigenous microorganism, TX1=*P. nitroreducens* TX1, TX2=*P. putida* TX2, OP2=*Pseudomonas* sp. OP2. (A)The OP concentration in the microcosm contain strain TX1, OP2 and the indigenous microorganism;(B)The OP concentration in the microcosm contain strain TX2, OP2 and the indigenous microorganism.

Octylphenol (OP)並不是人類農工業活動中常用之化合物，它在環境中的累積，大部分是經由烷基苯酚聚氧乙基氧化物之生物降解而來，然而，為確實了解菌株 OP2 對 OP 生物分解效果之影響，本研究也以菌株 *Pseudomonas* sp. OP2 直接加入縮模中，並直接以 OP 為污染物，探討菌株 OP2 直接對 OP 生物復育之影響，縮模設計以 3,000 mg/kg 之 OP 直接加入土壤中，以 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 為氮源，C/N ratio= 12，土壤含水率為 50%，縮模採通氣方式操作，以菌株 *Pseudomonas* sp. OP2 為外添加菌(Figure 4)。

在添加分解菌 *Pseudomonas* sp. OP2 與原生菌共同之操作條件下(縮模 M5-1)，發現添加菌株 OP2 與原生菌的確可以使 OP 在土壤中的降解效果增加，其與對照組縮模 M5-2 中的 OP 降解相比較，可發現在 90 天的生物復育過程中，約有 25%之 OP 在土壤中達到降解的效果。若將原生菌操作組和空白對照組(M5-3)相比較，可發現，即使僅由土壤原生菌作用，亦可促使 OP 在土壤中分解，其分解效率約為添加總量之 15%，所耗費之時間約為 90 天之縮模操作期。比對縮模 M5-1 及 M5-2 之處理效果則可發現，經由外添加菌株 OP2，可較未添加者提高 15-20%的去除效果。綜合上述結果，發現，OP 的確可以在土壤中經由通氣及原生菌的作用，達成去除的效果，唯去除之速率仍然偏低。添加外加菌 OP2 亦能

對土壤中 OP 的分解提供一定程度的效果，其所增加之 15% 分解量，實際上已為土壤中 OP 的分解提高一倍的分解效果。

3.3 OPEO_n 及 OP 生物復育縮模中菌相變化

在三株外添加菌菌株之生物復育縮模實驗中，(縮模 M4-1 至 M4-6 及 M5-1 至 M5-3) 之微生物經由 16S rDNA 比對分析，建立了菌株之指紋資料庫(clone library)(曾迪華等人

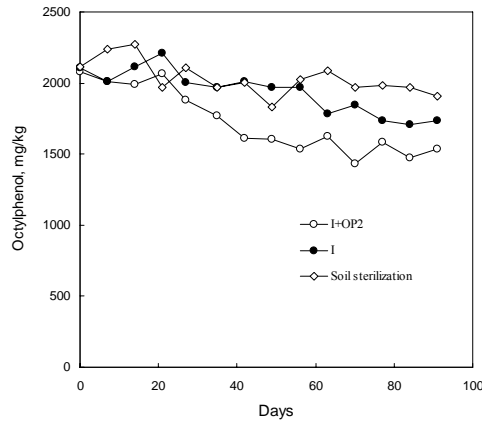


Figure 4. The effect of *Pseudomonas* sp. OP2 for the OP bioremediation, I=Indigenous microorganism, OP2=*Pseudomonas* sp. OP2.

，2004)，其菌株鑑定結果分別為(1) *Enterobacter aerogenes*，(2) *Nitrobacter* sp. NRB 5220，(3) *Herbaspirillum* sp. Chnp3-5，(4) *Phyllobacterium myrsinace*，(5) *Stenotrophomonas* sp. Fa6，(6) *Pseudomonas* sp. AEBL3，(7) *Gamma-Proteobacterium* PII GH4.2，(8) *Aeromonas* sp. PG3-3，(9) *Brucellaceae bacterium*，(10) *Achromobacter xylosoxidans*，(11) *Pseudomonas* sp. YG-1，(12) *Agrobacterium tumefaciens* Zutra F/1，(13) *Stenotrophomonas maltophilia*，(14) *Stenotrophomonas maltophilia*，(15) *Acidobacteriaceae bacterium* KBS8，(16) *Aeromonas hydrophila*，(17) *Denitrobacter permanens*，(18) *Swingsiella fulva*，(19) *Alcaligenes faecalis*，(20) *Pseudomonas* sp. NZ099，(21) *Alcaligenes* sp. YCX-20，(22) *Dyemonas todarii* gene，(23) *Frateuria* sp. WJ64，(24) *Alcaligenes* sp. PCNB-2，(25) *Pseudomonas nitroreducens* TX1，(26) *Pseudomonas putida* TX2 和(27) *Pseudomonas* sp. OP2。

上述 clone library 顯示土壤縮模中微生物菌群以 *Proteobacteria* 中之 *Pseudomonas*，*Aeromonas* 和 *Stenotrophomonas* 為主要菌株，clone library 中菌株 *Stenotrophomonas maltophilia*，*Aeromonas hydrophila* 及 *Alcaligenes faecalis* 在文獻中已顯示其具有分解芳香族化合物及 APEO_n 相關化合物之能力(Barberio *et al.*, 2001; Soares *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2004)，此三菌株在土壤中可能也具有降解 OPEO_n 之能力，是為本研究土壤樣品中之內生菌。

縮模 M4-1 及 M4-2 之優勢菌為 *Nitrobacter* sp. NRB 5220，*Stenotrophomonas* sp. Fa6，*Brucellaceae bacterium*，*Stenotrophomonas maltophilia*，*Acidobacteriaceae bacterium* KBS8，*Pseudomonas nitroreducens* TX1 (Figure 5)。其中菌株 *Stenotrophomonas maltophilia* 及 *Pseudomonas nitroreducens* TX1 為可能降解

OPEO_n 之主要菌群；縮模 M4-3 及 M4-4 之優勢菌則為 *Phyllobacterium myrsinace*, *Brucellaceae bacterium*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas putida* TX2 和 *Pseudomonas* sp. OP2, 其中 *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas hydrophila*, *P. nitroreducens* TX1 及 *Pseudomonas* sp. OP2 為可能與降解 OPEO_n 有關, 而外添加菌株 *P. nitroreducens* TX1 和 *P. putida* TX2 則在土壤通氣, 外添加營養源, 土壤 pH 調整等適當的環境調控中, 成為優勢菌群。在有外添加菌株 *P. nitroreducens* TX1 與 *Pseudomonas* sp. OP2 的縮模(M4-2)中, 菌株 *Pseudomonas* sp. OP2 直到生物復育操作第三個月, 才明顯有優勢之表現, 而外添加菌株 *P. putida* TX2 與 *Pseudomonas* sp. OP2 的縮模中(M4-4), 菌株 *Pseudomonas* sp. OP2 在生物復育操作初期, 就有優勢之表現, 此一現象發生的原因, 可以從 OP 在土壤中的生成剖面曲線(profile of OP

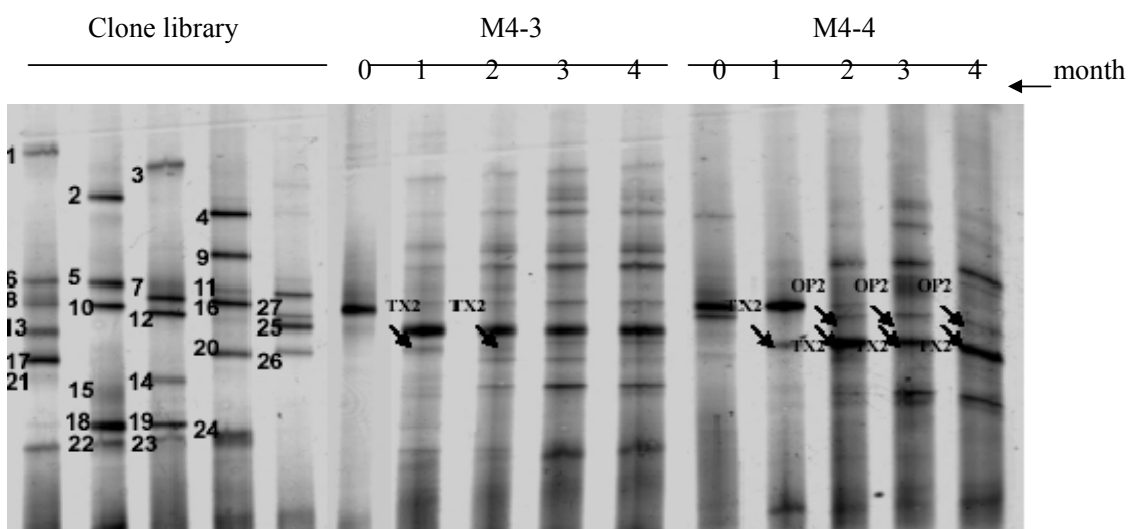
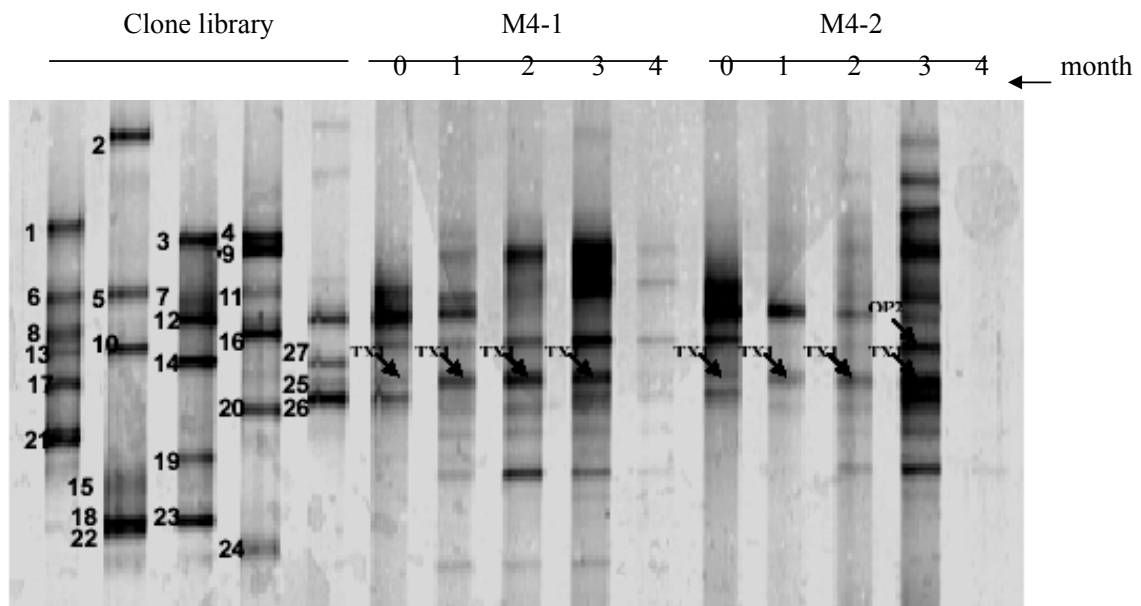


Figure 5. DGGE fingerprints of the bacterial communities from OPEO_n remediation in the soil microcosms with the addition of different degrader.

generation)和微生物菌像兩方面加以討論，從 OP 的生成剖面曲線來看，在縮模 M4-2 中原生菌和菌株 OP2 的作用皆非常明顯，而在縮模 M4-4 中，由於 OP 的生成較慢，原生菌的作用效果也有較長的遲滯時間，因此，OP 的生成速率也同時影響著 OP 的降解；從土壤微生物菌相的角度，則當原生菌與菌株 OP2 的作用均旺盛時，菌株 OP2 的優勢現象就比較沒有那麼明顯，雖然菌相上的表現如此，但是從 OP 的分解剖面曲線來看，菌株 OP2 在土壤中的活動依然是非常旺盛的。

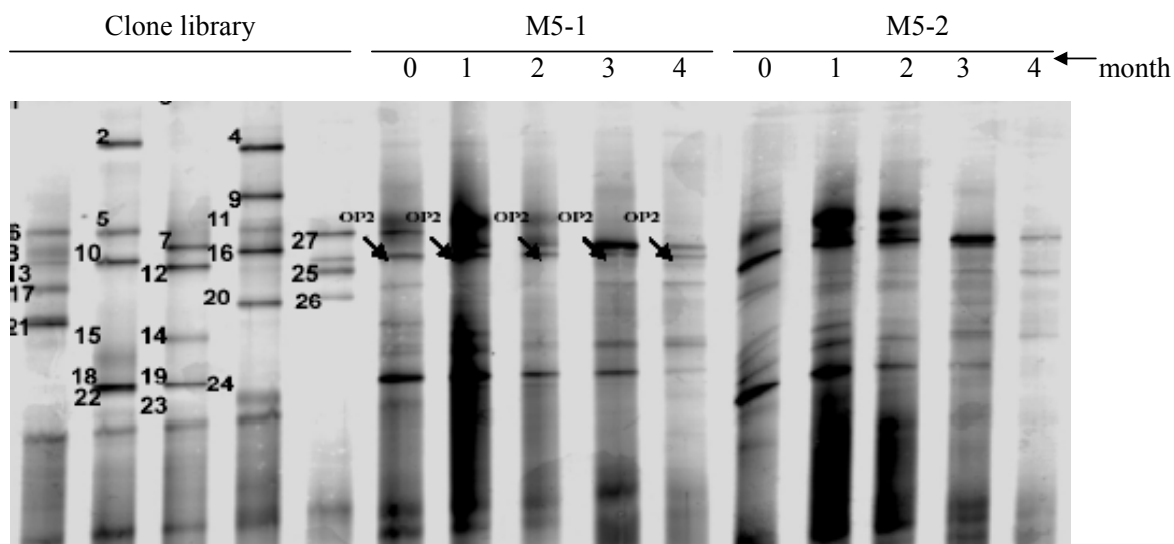


Figure 6. DGGE fingerprints of the bacterial communities from OP remediation microcosms with the addition of OP degrader, *Pseudomonas* sp. OP2.

在 OP 生物復育縮模中 (M5-1, M5-2) 之優勢菌為 *Pseudomonas* sp. YG-1, *Aeromonas hydrophila*, *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas* sp. OP2, 此四株優勢菌株中, *Pseudomonas* sp. OP2 為外添加之 OP 分解菌之外, 菌株 *Aeromonas hydrophila* 及 *Alcaligenes faecalis* 則是文獻中已經證實之 APEO_n 分解菌 (Barberio et al., 2001; Soares et al., 2003; Kim et al., 2004), 可見, 除了外添加之 OP 分解菌 *Pseudomonas* sp. OP2 可於土壤中有優勢生長趨勢外, 土壤原生菌群中, 也有在 OP 污染之環境中可以優勢生長之菌株, 而上述兩菌是否可直接利用 OP 為生長碳源則須再證實。

四、結論

本研究所設計之通氣土壤縮模中, 三株外添加菌 *P. nitroreducens* TX1、*P. putida* TX2 和 *Pseudomonas* sp. OP2 明確增加土壤中之 OPEO_n 及 OP 的降解, 約

100 天的實驗操作中，在實驗的起始點添加 OPEO_n 及並分別添加菌株 *P. nitroreducens* TX1 及 *P. putida* TX2，並於實驗進行第 21 天時添加菌株 *Pseudomonas* sp. OP2，可明確發現不同外添加菌的作用效果，也可清楚看到原生菌對 OP 的分解作用，微生物菌相的變化也較具多樣性，在整體生物降解過程中，約 75% 之 OP 在縮模土壤中分解。直接添加菌株 *Pseudomonas* sp. OP2，則可於 70 天的實驗操作中，提高約 25% 之 OP 分解效果。OP 分解土壤縮模中微生物菌群以 *Proteobacteria* 中之 *Pseudomonas* species，*Aeromonas* species 和 *Stenotrophomonas* species 為主要分布菌種。除外添加菌之外，菌株 *Brucellaceae bacterium*，*Stenotrophomonas maltophilia* 及 *Aeromonas hydrophila* 為縮模中普遍存在之優勢菌種。而外添加菌株 TX1，TX2 及 OP2 皆能在添加之後，成為縮模土壤中之優勢菌種，證實外添加菌做為生物復育菌源為一可行之方式，且環境賀爾蒙物質辛基苯酚可經由特定微生物的作用，在土壤中加以去除。

參考文獻

- Barberio, C., Pagliai, L., Cavalieri, D. and Fani, R.**, Biodiversity and horizontal gene transfer in culturable bacteria isolated from activated sludge enriched in nonylphenol ethoxylates. Res. Microbiol. 2001,152, 105-12.
- Brown-Howland, E. B., Danielsen, S. A., Nierzwicki-Bauer, S. A.**, Development of a rapid method for detecting bacterial cells in situ using 16S-targeted probes. Bio Techniques, 1992,13: 928-933.
- Busse, H. J., Denner, E. M. B., and Lubitz, W.**, Classification and identification of bacteria: current approaches to an old problem. Overview of methods used in bacterial systematics. Journal of Biotechnology, 1996, 47: 3-38.
- Chen H. J, Huang, S. L. and Tseng, D. H.**, Aerobic biotransformation of octylphenol polyethoxylate surfactant in soil microcosms. Environ. Technol. 2004, 25, 201-210.
- Chen, H. J., Guo, G. L., Tseng, D. H., Chen-Li Cheng, and Huang, S. L., **Growth factors, Kinetics and biodegradation mechanism associated with *Pseudomonas nitroreducens* TX1 grown on Octylphenol polyethoxylates.** Journal of Environmental Management, 2006, (In press).
- Chen, H. J., Tseng, D. H. and Huang, S. L.**, Biodegradation of octylphenol polyethoxylate surfactant Triton X-100 by selected microorganisms. Bioresource Technology, 2005, V96, 1483-1491.
- Ding, W.H., Tzing, S.H. and Lo, J.H.**, Occurrence and concentrations of aromatic surfactants and their degradation products in river waters of Taiwan. Chemosphere, 1999, 38, 2597-2606.
- Duineveld, B. M., Kowalchuk, G. A., Keijzer, A. Elsas, J. D. and Veen, J. A.**, Analysis of Bacterial Communities in the Rhizosphere of Chrysanthemum via

Denaturing Gradient Gel Electrophoresis of PCR-Amplified 16S rDNA as Well as DNA Fragments Coding for 16S rRNA. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67, 172-178.

Huang, S. L., Yang, C. J., Guo, G. L. and Chou, S. H., Isolation, identification and properties of bacterial strains degrading octylphenol polyethoxylates. Taiwan Journal of Agricultural Chemistry and Food Science, 2004, 42, 356-365.

Kim, J. S., Kim, S. J. and Lee, B.H., Effect of *Alcaligenes faecalis* on nitrous oxide emission and nitrogen removal in three phase fluidized bed process. J. Environ. Sci. Health A, 2004, 39, 1791-1804.

La Guardia, M. J., Hale, R. C. Harvey, E. and Mainor, T. M., Alkylphenol ethoxylate degradation products in land-applied sewage sludge (Biosolids), Environ. Sci. Technol., 2003, 35, pp 4798-4804.

Nguyen, M.H., Sigoillot, J.C., Isolation from coastal sea water and characterization of bacterial strains involved in non-ionic surfactant degradation., Biodegradation, 1997, 7, 369-375.

Soares, A., Guieysse, B., Delgado, O. and Mattiasson, B., Aerobic biodegradation of nonylphenol by cold-adapted bacteria. Biotechnol. Letters, 2001, 25, 731-738.

Tanenbaum, D. M., Wang, Y. ,Williams, S. and Sigler, P., Crystallographic comparison of the estrogen and progesterone receptor's ligand binding domains. Proc. Natl. Acad. Sci., 1998, 95, 5998-6003.

Ying, G.G., Williams, B. and Kookana, R., Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates-a review. Environ. Int., 2002, 28, 215-226.

王正雄、張小萍、黃壬瑰、李宜樺、王世冠、洪文宗、陳珮珊。環境荷爾蒙-壬基苯酚殘留調查及其對雄鯉魚生理效應之研究。環境檢驗所環境調查研究年報。2002。9：291-312。

曾迪華、黃雪莉、陳錫金、宋秉育、謝孝正。土壤中辛基苯酚聚氧乙烯醇與辛基苯酚生物分解及微生物菌群之研究。第二屆土壤與地下水技術研討會。(2004)。台南。

陳瑞玲。不同界面活性劑對土壤及底泥吸附非離子性有機化合物之影響。中央大學環境工程研究所碩士論文。1996。第 14-45 頁。

陳錫金、黃雪莉、曾迪華、郭家倫、謝孝正。土壤縮模中辛基苯酚聚氧乙烯醇類界面活性劑 Triton X-100 生物分解之探討。第一屆土壤與地下水技術研討會。2003。pp. 52-56。

謝孝正。*Pseudomonas putida* TX2 分解辛基苯酚聚氧乙烯醇及其雌激素活性代謝物之研究。國立中央大學生命科學研究所碩士論文。2004。第 26-70 頁。

黃雪莉、曾迪華、陳錫金。可去除有機高分子的生物方法。中華民國發明第 206817 專利。

黃雪莉。可分解有機高分子化合物之菌株。中華民國發明第 I240001 專利。

污泥中壬基酚對土壤生態的影響

許正一* 高博緒

國立屏東科技大學環境工程與科學系

(*通訊作者 E-mail: zyhseu@mail.npust.edu.tw)

摘 要

污泥土地施用能增加土壤中有機質含量並改善土壤構造及保水能力，提升土壤肥力，但污泥中可能含有壬基酚等環境荷爾蒙，極可能因而影響土壤生態或地下水品質。本研究以兩種不同性質的 A(強酸性黏質地)、B(鹼性砂質地)兩種土壤，施用含不同比例壬基酚(4-nonylphenol, 4-NP)之下水污泥進行室溫孵育，探討施用含此類環境荷爾蒙污泥對土壤生態之影響。研究結果顯示，孵育 50 天後，供試土壤 A 及 B 之 4-NP 殘留率為 3-8%及 5-18%，120 天後皆低於 7%，顯示土壤中微生物能夠降解 4-NP，同時污泥施用後能提高土壤碳、氮礦化量，但高濃度 4-NP 處理(160 mg kg⁻¹ 及 240 mg kg⁻¹)之碳礦化量分別較低濃度(80 mg kg⁻¹)減少 31%及 40%，氮礦化量除 A 土壤之高比例 4-NP(240 mg kg⁻¹)處理會降低 44%外，其餘處理組並無顯著不同。同時研究結果顯示，兩種供試土壤之微生物生質碳/氮比分別由初期 10-30 增加至末期的 50，及 14-32 增加至 80，孵育期間土壤微生物優勢族群可能由初期的細菌相逐漸轉變為末期之真菌相。

關鍵字：壬基酚、污泥、土壤、微生物活性、生質量

The Effect of nonylphenol in sewage sludge application on soil ecology

Zeng-Yei Hseu* Po-Hsu Kao

Department of Environmental Science and Engineering, National Pingtung University
of Science and Technology, Pingtung 91201, Taiwan

(*Corresponding author E-mail: zyhseu@mail.npust.edu.tw)

Abstract

In the application of biosolids on agricultural lands, 4-nonylphenol (4-NP) in soils is an important environmental concern because of its associated estrogenic risk to animals and human beings. Incubation experiments that involved the mixing of two contrasting soils (A: calcareous sandy soil; B: acidic clayey soil) and biosolids in 4-NP were performed to examine the effect of 4-NP on the rate of production of CO₂, the mineralization of N and the microbial biomass, by considering the biodegradation of 4-NP for the evaluation of soil health. The experimental results indicated that the half-life ($t_{1/2}$) of 4-NP increased with the supplementary concentration of 4-NP (80, 160 and 240 mg kg⁻¹) in the two soils, and the $t_{1/2}$ values in the soil A are always lower than that in soil B. The 4-NP supplement in the biosolids reverses C mineralization in soil B more than it does in soil A, but it reverses N mineralization in soil A more than in soil B. The aeration status and microbial population of the biosolids treated soils are key factors in determining the time course of 4-NP degradation associated with the microbial activities. The 4-NP was biodegraded mainly by bacteria, and the effect on C and N mineralization of 4-NP input is determined by a balance of the reductions in microbial biomass C (MBC) and N (MBN). After destruction in microbial cell membrane and protein structures by the 4-NP, C and N mineralization, MBC and MBN were subsequently followed by a final decline phase for the later period of incubation.

Key words: Biomass; microbial activity; 4-nonylphenol; sewage sludge; soil

一、前言

1.1 污泥中壬基苯酚

烷基酚聚乙氧基醇(alkylphenol ethoxylates, APEs)為一般清潔劑廣泛使用的非離子型界面活性劑，全球年產量約 500,000 噸，而台灣年生產量約為 35,000 噸。此化合物於使用過程中約以 60%之最終代謝產物壬基酚(4-nonylphenol, 4-NP)排放至水體，若廢水處理不當則易流佈於河川、地下水、及下水污泥。4-NP 因具有模擬自然界所存在荷爾蒙的能力，進入動物體後可能會干擾內分泌系統功能，導致雌性化現象，因而被列為環境荷爾蒙(Ying et al., 2002)。

由於各國污水處理廠設計及處理效率的差異，污泥中 4-NP 濃度分佈範圍相當廣泛(表 1)。文獻結果指出，英國下水污泥中 NP 含量約為 100-500 mg kg⁻¹(Lin et al., 1999)，美國污泥中 NP 濃度範圍則為 1130-1840 mg kg⁻¹(Scott et al., 2002)，台北迪化污水處理廠之污泥 NP 濃度約為 243.9 mg kg⁻¹(Lin et al., 1999)。下水污泥因富含有機質、氮和磷等養份，除能增加土壤肥力促進植物生長外，也可以改善土壤理化性質而提高生物活性，因而歐美許多國家已將土地施用作為污泥之主要資源化利用途徑。

表 1 各國下水污泥中 NP 之濃度

國家	濃度(mg kg ⁻¹)	參考文獻
美國		Scott et al. (2002)
Syracuse	1840	
Ithaca	1790	
Cortland	1480	
Cayuga Heights	1240	
Monroe County NW Quadrant	1130	
日本東京	0.5-13.0	Isobe et al. (2001)
英國	100-500	Lin et al. (1999)
多倫多(Leslie)	470	
(Highland Creek)	637.5	
加拿大 (2001)	7.2	Kuch and Ballschmitter
德國	10	Bennie et al. (1997)
台灣(迪化)	243.9	Lin et al. (1999)

1.2 污泥之土地施用

La Guardia et al. (2001)以美國 11 個污水處理廠之下水污泥進行土地施用，供試污泥樣品之處理有堆肥、石灰、熱處理及厭氧消化等四種方式，結果顯示堆肥處理之 OP(Octylphenol)、NP、NP1Es (壬基苯酚聚一氧基醇)及 NP2Es (基苯酚聚二氧基醇)總量(6.1-176 mg kg⁻¹)較其它三種處理方式低(529-981 mg kg⁻¹)，然而

多數污泥土地施用試驗結果皆超過許多國家法規管制值。丹麥於 1997 年立法限制，污泥土地施用時 NP、NP1Es 和 NP2Es 總量不得超過 30 mg kg^{-1} ，並於 2002 年修法訂為 10 mg kg^{-1} ，歐盟及瑞典與德國分別為 50 mg kg^{-1} 及 60 mg kg^{-1} (Erhardt, 2001)，加拿大建議陸棲動物無影響值(estimated no effect value)為 0.34 mg kg^{-1} (La Guardia et al., 2001)。由以上結果可知，污泥雖含有豐富營養物質，同時亦存在如 NP 等多種有機污染物，若施用含高濃度 NP 之污泥，極可能造成土壤中污染物的累積，衝擊土壤品質並提高健康危害風險。

1.2 土壤及污泥中壬基苯酚之宿命

Tanghe et al. (1998)指出，好氧活性污泥中 NP 於 28°C 下能夠完全被降解，但 NP 之殘留率會隨溫度降低而提高。Hesselsøe et al.(2001)混合 NP 濃度 3 mg kg^{-1} 之好氧消化污泥及 75 mg kg^{-1} 之厭氧消化污泥進行孵育，發現 NP 之降解半衰期約 3-6 天，Ekelund et al.(1993)指出，厭氧污泥中 NP 之半衰期約 58 天。張和江(2003)探討不同產業污泥中 NP 之降解作用，結果發現統一麵包廠、中油煉油廠、新竹園區污水、畜產試驗所等污泥中 NP，在厭氧狀態之降解半衰期為 46-60 天，好氧為 4.0-19 天，而污泥中 NP 濃度增加會抑制微生物活性，導致降解速率降低，研究結果也顯示具 NP 降解能力之微生物族群多為革蘭氏陰性菌株。Duffner and Muller(1998)研究結果發現，許多 *Bacillus* 之菌株同樣具有降解 NP 的能力。

Marcomini et al. (1989)施用 NP 濃度為 4.7 mg/kg 之污泥至土壤，20 天內約有 80% NP 會被降解，320 天後 NP 之殘留率約為 11%，另外研究結果也發現未施用污泥之土壤，NP 濃度低於 100 mg kg^{-1} 時能被迅速降解，但濃度高於 $1,000 \text{ mg kg}^{-1}$ 降解作用則被抑制。Jacobsen et al. (2004)以一砂質壤土管柱，頂端再鋪上 15 cm 厚之厭氧消化污泥，測定土壤中初始 NP 濃度(0.56 mg kg^{-1})後進行孵育試驗，0-10 天 NP 之降解率為 45%，110 天後可達 91%。Kollmann et al. (2003)分別添加 NP 濃度為 6.6×10^{-6} 及 $3.8 \times 10^{-7} \text{ M}$ 之污泥至土壤進行研究，結果顯示 NP 對真菌族群未產生毒害效應，NP 能刺激 *Fusarium* 菌株製造孢子並增加其生質產量。Petersen et al. (2003)以二種污泥(以 PAH、DEHP、NP+NPE 與 LAS 含量高低分類)、廚餘堆肥與豬糞堆肥進行三年之農地施用及溫室栽種試驗，試驗期間進行植體分析以了解上述有機污染物是否被植物所吸收，結果顯示植體中並未檢測出，而試驗週期 6 個月後土壤中 NP 及 LAS 殘留率皆低於 5%，12 個月後 DEHP 殘留率則低於 6%，因此推論供試污泥中可能存在具降解 NP、DEHP 及其它有機污染物能力之微生物族群。

1.3 研究目的

雖然過去已有許多關於水體中 NP 之降解過程及 NP 對人體或魚類影響方面之研究，但極少有研究探討 NP 進入土壤後，對土壤生態及地下水品質所造成的

衝擊，而 NP 進入土壤的主要途徑為污泥之土地施用。因此本研究即針對下水污泥中之 NP，探討污泥土地施用過程中 NP 對土壤生物性質之影響，以期能提供台灣地區評估污泥土地施用之參考依據及環境荷爾蒙生態風險評估模式之參數。

二、材料與方法

2.1 土壤與污泥的收集

本研究所採用之供試土壤，依不同母質與特性，分別選取下水埔土系(A) 老埤土系(B)之表土。老埤土系為第四紀洪積母質之強酸性紅壤，而下水埔土系則為粘板岩石灰性之新沖積土，選用此二種土壤之原因，主要是其 pH 值及質地等土壤性質差異頗大，較易突顯污泥施用於此二種土壤後之差異性。供試污泥取自台北八里污水廠，所收集之土壤與新鮮污泥經風乾、磨碎、過篩(10 mesh)後，進行基本性質分析。其中 A 土壤屬砂質地(clay 10%; silt 22%; sand 68%)，CEC 為 6.8 cmol kg^{-1} ，pH 值為 8.3，有機碳含量為 0.45%。B 土壤屬粘質地(clay 48%; silt 37%; sand 15%)，CEC 為 5.6 cmol kg^{-1} ，pH 值為 4.1，有機碳含量為 0.13%。兩種土壤之 NP 濃度均低於偵測極限。污泥中 NP 濃度為 480 mg kg^{-1} ，pH 值為 5.2，有機碳含量為 59%，總氮含量為 2.4%， $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 為 107 mg kg^{-1} ，而 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 則為 19 mg kg^{-1} 。

2.2 孵育試驗

將 4-NP (Merck, USA)配製於丙酮後添加至石英砂中，待丙酮揮發後再與污泥均勻混合，以調製不同 4-NP 濃度之污泥。污泥施用量以提高兩種供試土壤有機碳含量至 5%為基準，因此設定為 20%，約每公頃 400 公噸的施用量。在此一施用量下供試土壤之 4-NP 濃度為 80 mg kg^{-1} ，因此再行添加含 4-NP 之石英砂使各種土壤之處理組分為控制組(soil alone)、土壤 + 污泥($80 \text{ mg 4-NP kg}^{-1}$)、土壤 + 污泥($160 \text{ mg 4-NP kg}^{-1}$)及、土壤 + 污泥($240 \text{ mg 4-NP kg}^{-1}$)。各處理為 6 重覆，每一重覆總重為 10 kg，置於 25°C 之暗室中並維持 50%之田間容水量 120 天，每 7、14、21、28、49、84、120 天後取出土樣進行下列分析。

2.3 分析方法

2.3.1 二氧化碳釋放量與可礦化性氮含量

取土壤樣品 15 g，置於 50 mL 玻璃瓶中，再將 10 mL 1.0 N NaOH 溶液盛裝於另一個玻璃瓶中，將此兩玻璃瓶置於塑膠瓶中，以 1.0 N NaOH 吸收土壤所釋放出來之 CO_2 ，取出 NaOH 溶液，加入過量的 3.0 N BaCl_2 ，並加入 3 滴酚酞指

示劑，以 0.5 N HCl 滴定至終點(Zibilsje, 1994)，以決定二氧化碳釋放量。秤取 2 g 土壤樣品，以 2.0 N KCl 萃取後，其萃取液以凱氏氮法測定 NH₄-N 與 NO₃-N 含量(Keeney and Nelson, 1982)。碳與氮之礦化過程以一階動力方程式，進行礦化潛能預測，即 $C_m = C_o[1 - e^{-k_c t}]$ ，其中 C_m 為有機質隨時間 t 被礦化的量， C_o 為有機質可被礦化的最大潛在量， k_c 值為碳礦化速率常數(day⁻¹)。

2.3.2 微生物生質量

秤取約 30 g 新鮮土樣，分成二部分，其中一部分(15g)之樣品放入 50 mL 燒杯內，再置入乾燥器中，以氯仿薰蒸 24 hrs 後取出，另一部分樣品則不加入氯仿薰蒸。薰蒸之後將樣品加入 200 mL 0.5 M K₂SO₄，經振盪 30 mins 後收集濾液(Vance et al., 1987)。取 8 mL 濾液加入 10 mL 之 0.4 N K₂Cr₂O₇ 與約 70 mg HgO 及 20 mL 混合酸(兩份濃 H₂SO₄ + 一份濃 H₃PO₄)後，緩慢加熱至沸騰(起泡後回流 30 mins)。冷卻至室溫後，加入 20-25 mL 去離子水稀釋及菲囉琳指示劑，以硫酸亞鐵銨滴定至終點，以下列算式求得生質量碳量 $B_c = F_c/k_c$ ，其中 B_c 為 Biomass C， F_c 為[(氯仿薰蒸 CO₂-C)-(未氯仿薰蒸 CO₂-C)]， k_c 為常數 0.5(Jenkinson and Ladd, 1981)。取上述生質量碳中經 0.5M K₂SO₄ 萃取之濾液 10 mL，以凱氏法測定氮含量，以下列算式求得生質量氮量 $B_n = F_n/k_n$ ，其中 B_n 為 Biomass N， F_n 為[(氯仿薰蒸總氮)-(未氯仿薰蒸總氮)]， k_n 為常數 0.54(Brookes et al., 1985a)。

2.3.3 壬基苯酚之測定

秤取 2 g 土樣，以丙酮及正己烷 1:1(v/v)為萃取液，萃取溶液體積為 25 mL，並以微波萃取系統進行萃取後，經過矽膠管柱淨化，以真空濃縮裝置濃縮後進行吹氮定容至 1 mL，將所得之溶液經管柱(DB-5 capillary column)分離以 MS(Agilent 5973)偵測以 GC 定量之(HP 6890N)。不同時間 4-NP 的濃度以一階動力方程式加以描述，即 $S = S_o \exp(-k_1 t)$ ，式中 S_o 為最初濃度， S 為不同採樣時間濃度， t 為時間，而 k_1 為降解速率常數，且半衰期定義為 $t_{1/2} = \ln 2/k_1$ 。

三、結果

3.1 壬基苯酚在供試土壤中的降解過程

圖 1 結果顯示，污泥中 4-NP 於 120 天孵育期內皆能被土壤微生物降解，但降解過程在兩種供試土壤間則有差異。孵育初期(0-28 天)，不同濃度之 4-NP 在 A 土壤殘留率為 3-20%，在 B 土壤則為 6-40%，而孵育 28-49 天後，A 土壤不同濃度 4-NP 處理之殘留率 B 土壤低，此 A 土壤之 4-NP 降解作用呈現明顯的兩階段(0-13 天及 13-28 天)降解趨勢(圖 1a)。

此外表 2 結果顯示，A 土壤之 4-NP 降解半衰期(7.2-14 天)較 B 土壤(7.7-19 天)低，而降解速率常數(k_1)亦較高，因此由動力學結果可知 A 土壤之 4-NP 降解速率較快，降解程度亦較高。另外，兩種供試土壤之不同濃度 4-NP 降解半衰期具有明顯差異。

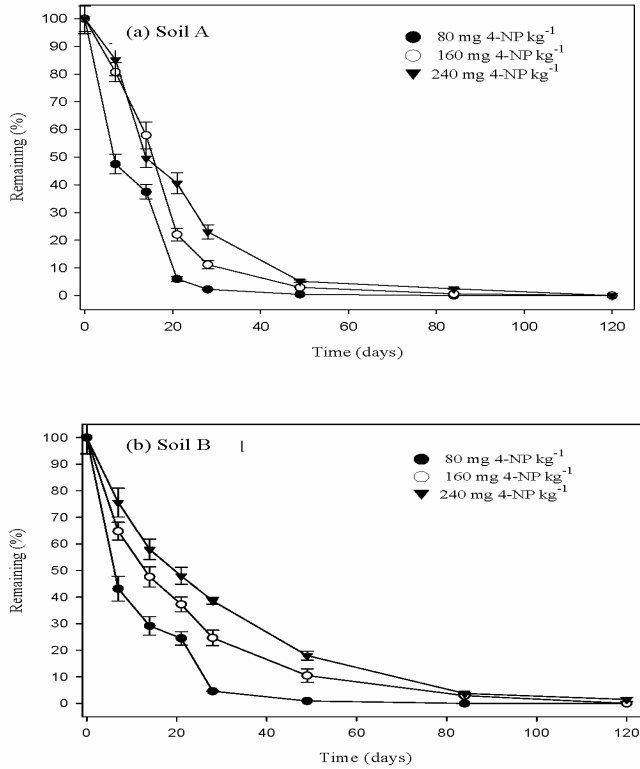


圖 1 孵育期間 4-NP 在供試土壤中的殘留率

表 2 不同比例污泥處理之土壤中 NP 之降解參數

Treatment	$t_{1/2}$ day	k_1 day ⁻¹	r^2
Soil A			
soil + biosolids (80 mg 4-NP kg ⁻¹)	7.2 (1.5) b ¹	0.096 (0.010) a	0.97
soil+ biosolids (160 mg 4-NP kg ⁻¹)	12 (1.8) ab	0.058 (0.018) b	0.95
soil+ biosolids (240 mg 4-NP kg ⁻¹)	14 (1.1) a	0.048 (0.012) b	0.98
Soil B			
soil + biosolids (80 mg 4-NP kg ⁻¹)	7.7 (1.2) c	0.090 (0.021) a	0.99
soil + biosolids (160 mg 4-NP kg ⁻¹)	14 (1.6) b	0.049 (0.018) b	0.98
soil + biosolids (240 mg 4-NP kg ⁻¹)	19 (2.0) a	0.035 (0.011) b	0.98

¹ Values in parentheses are standard deviations of mean; numbers within a column followed by the different letter are significantly different according to Duncan's test ($p < 0.05$).

3.2 壬基苯酚降解過程對土壤呼吸與氮礦化作用的影響

施用污泥能提高土壤微生物活性，促進土壤呼吸作用，增加土壤中碳礦化量(Giller et al., 1998; Vig et al., 2003)。表 3 結果顯示，兩種土壤施用污泥之土壤碳礦化潛勢(C_0)分別為 2854-4129 mg kg^{-1} 及 2289-3030 mg kg^{-1} ，明顯較未施用之土壤 1361 mg kg^{-1} 及 1398 mg kg^{-1} 高，碳礦化速率($C_0 \times K_c$)也較快，說明了污泥中有效性養分能被土壤中微生物利用，加速土壤呼吸作用。孵育實驗結果同時顯示，兩種供試土壤添加高濃度 4-NP 可能對土壤中微生物產生毒害效應，造成土壤碳礦化潛勢及碳礦化速率隨 4-NP 濃度增加而降低。此外由表 3 相關係數($r^2 > 0.90$)推論，一階反應動力方程式應能夠準確預估施用污泥之土壤碳礦化作用。

在氮礦化作用方面，施用污泥也能夠促進土壤中氮的礦化反應，以一階反應動力方程式預測氮礦化作用結果發現，污泥添加後 A 土壤之氮礦化潛勢約增加 2-3 倍，氮礦化速率提升了 1 倍左右，B 土壤之氮礦化潛勢也增加 2-3 倍，但氮礦化速率則提高了 2 倍(表 4)。此外 B 土壤之氮礦化潛勢及礦化速率均較供試土壤 A 來得高。

3.3 壬基苯酚降解過程對土壤生質量的影響

由上述結果可知，污泥含有豐富的有效性營養源，施用於土壤可增加土壤中碳、氮礦化量，因此也能夠提高土壤微生物活性，即生質量。圖 2 結果顯示，施用污泥孵育 7 天後，土壤生質碳量較對照組高，兩種土壤間並無明顯不同，但不同比例 4-NP 處理則有些微差異，推測可能因添加較高濃度 4-NP 對微生物代謝產生抑制作用，因而降低土壤生質碳量。孵育 50 天後，因無足夠有效性養份供給，土壤中微生物活性降低，造成土壤生質碳量減少，且兩種供試土壤、不同濃度 4-NP 處理之變化已無明顯差異。土壤生質氮量方面，施用污泥後之變化趨勢與生質碳量類似，但不同土壤、不同濃度 4-NP 處理之結果並無顯著差異(圖 3)。

四、討論

文獻曾指出，含 4-NP 污泥施用至土壤可被微生物降解，初始濃度 3-75 mg kg^{-1} 、120 天孵育期間 4-NP 降解率可達 80-90% (Hesselsøe et al., 2001)，本研究結果與上述數據並無明顯差異，不過 Petersen et al. (2003)則指出，不同比例 4-NP(2.7-60 mg kg^{-1})處理於 40-50 天孵育期之降解率可達 70%，6 個月後降解率達 95%以上。部份文獻曾探討土壤中有機化合物呈現不同降解結果之原因，指出生物降解作用可能受土壤或污泥性質(如質地及有機碳、重金屬或持久性有機污染物含量)影響，造成不一致的降解結果(Topp and Starratt, 2000; Hesselsøe et al., 2001; Chang et al., 2005)。在本研究不同濃度 4-NP 處理之降解率中，以偏鹼性、粗質地之 A 土壤，較酸性、細質地之 B 土壤來的高，推論極可能是土壤性質的

差異所導致之結果。

表 3 不同 4-NP 濃度處理之土壤碳礦化動力學參數

Treatment	C_0 mg kg ⁻¹	k_c day ⁻¹	$C_0 \times k_c$ mg kg ⁻¹ day ⁻¹	r^2
Soil A				
soil	1361 (150) c ¹	0.026 (0.008) a	35.4 (2.1) c	0.88
soil + biosolids (80 mg 4-NP kg ⁻¹)	4129 (211) a	0.026 (0.007) a	107 (12) a	0.93
soil + biosolids (160 mg 4-NP kg ⁻¹)	2947 (185) b	0.027 (0.007) a	80.0 (5.6) b	0.95
soil + biosolids (240 mg 4-NP kg ⁻¹)	2854 (174) b	0.038 (0.008) a	108 (9.4) a	0.92
Soil B				
soil	1398 (213) c	0.016 (0.005) a	22.4 (3.1) d	0.93
soil + biosolids (80 mg 4-NP kg ⁻¹)	3030 (156) a	0.021 (0.007) a	63.6 (4.5) a	0.94
soil + biosolids (160 mg 4-NP kg ⁻¹)	2495 (270) b	0.020 (0.006) a	49.9 (6.6) b	0.94
soil + biosolids (240 mg 4-NP kg ⁻¹)	2289 (186) b	0.017 (0.006) a	38.9 (4.9) c	0.96

¹ Values in parentheses are standard deviations of mean; numbers within a column followed by the different letter are significantly different according to Duncan's test ($p < 0.05$).

表 4 不同 4-NP 濃度處理之土壤氮礦化動力學參數

Treatment	N_0 mg kg ⁻¹	k_n day ⁻¹	$N_0 \times k_n$ mg kg ⁻¹ day ⁻¹	r^2
Soil A				
soil	510.0 (78) c ¹	0.038 (0.004) a	19.5 (4.2) b	0.93
soil + biosolids (80 mg 4-NP kg ⁻¹)	1880 (102) a	0.024 (0.008) b	44.9 (8.7) a	0.91
soil + biosolids (160 mg 4-NP kg ⁻¹)	1704 (188) a	0.016 (0.008) b	27.3 (5.6) b	0.96
soil + biosolids (240 mg 4-NP kg ⁻¹)	1057 (212) b	0.019 (0.010) c	20.1 (3.3) b	0.96
Soil B				
soil	781.3 (79) b	0.029 (0.009) a	23.4 (8.1) b	0.92
soil + biosolids (80 mg 4-NP kg ⁻¹)	2334 (154) a	0.032 (0.005) a	74.0 (4.5) a	0.99
soil + biosolids (160 mg 4-NP kg ⁻¹)	2295 (314) a	0.032 (0.005) a	73.4 (5.8) a	0.94
soil + biosolids (240 mg 4-NP kg ⁻¹)	2154 (311) a	0.034 (0.008) a	73.0 (6.2) a	0.93

¹ Values in parentheses are standard deviations of mean; numbers within a column followed by the different letter are significantly different according to Duncan's test ($p < 0.05$).

本研究 4-NP 一階反應動力學結果顯示，兩種土壤不同比例 4-NP 處理之降解過程呈現兩階段趨勢，添加 80 mg kg⁻¹ 4-NP 之降解速率較其它兩種比例高，160 mg kg⁻¹ 4-NP 及 240 mg kg⁻¹ 4-NP 之降解率並無太大差異，造成兩階段降解過程的主因可能是 4-NP 吸附於土壤固相表面或與土壤有機質鍵結，降低土壤微生物接觸並代謝 4-NP 的機會，

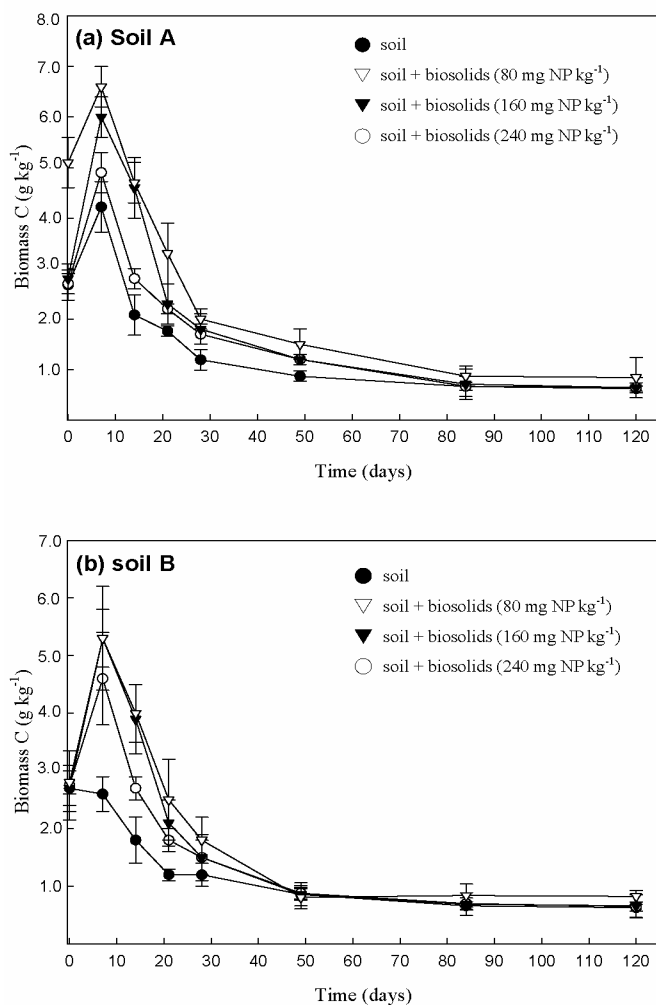


圖 2 孵育期間土壤微生物生質碳之變化

因此產生孵育初期(0-12 天)降解率急遽下降後卻漸趨平緩，此原因也可能是 B 土壤 4-NP 之降解率較低的原因，因為 A 土壤砂粒含量較高，故 4-NP 之吸附量會較高粘粒含量之 B 土壤來的低 (Madsen et al., 1999; Jacobsen et al., 2004)。

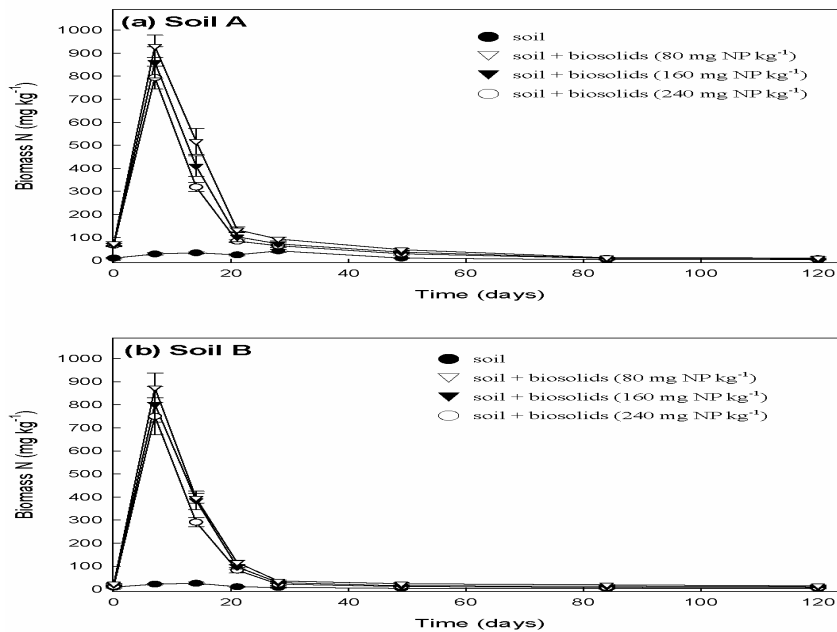


圖 3 孵育期間土壤微生物生質氮之變化

土壤施用污泥能增加有機質，提高土壤微生物活性而促進呼吸作用，一階反應動力方程式預測碳、氮礦化潛勢結果顯示，碳礦(即 CO₂ 釋出量)及氮礦化作用速率明顯提高，不過添加不同比例 4-NP 則可能抑制微生物的酵素活性，改變酵素中的蛋白質結構，因而減緩碳、氮礦化作用(Scott-Fordsmann and Krogh, 2004)。孵育中、末期(50-120 天)，C 及 N 來源缺乏致使部份微生物呼吸作用趨緩，碳、氮礦化作用即降低。由上述結果可知，污泥施用後可促進土壤微生物之同化作用(assimilation)的快速進行而增加微生物數量，生質碳及氮量因而增加，而添加高濃度 4-NP 處理之生質量 C 及 N 較低濃度處理低，顯示細胞分裂增殖機制已遭受破壞(Rost et al., 2001)。

氮為微生物細胞主要組成元素，因微生物族群代謝機制的不同而使含量差異頗大。曾有文獻指出，土壤中真菌之生質碳/氮比值較細菌高(Bogomolov et al., 1996; Banerjee et al., 1997)，本研究添加含不同比例 4-NP 之污泥後，兩種土壤之生質碳/氮比分別由初期 10-30 增加至末期的 50，及 14-32 增加至 80，故推測孵育期間土壤微生物族群已產生變化，可能由初期的細菌相逐漸轉變為末期之真菌相(Khan and Scullion, 2002; Yuan et al., 2004; Chang et al., 2005)。

五、參考文獻

張碧芬、江帆，壬基苯酚在污泥中生物降解與菌群解析之研究，微生物生態在農

工業上之應用，2003，頁 209-219。

- Banerjee, M.R., D.L. Burton, and S. Depoe, Impact of sewage sludge application on soil biological characteristics, Agri. Ecosys. Environ., 1997, Vol. 66, pp. 241-249.
- Bennie, D. T., C. A. Sullivan, H. B. Lee, T. E. Peart, and R. J. Maguire, Occurrence of alkylphenols and alkylphenol mono- and diethoxylates in natural waters of the Laurentian Great Lakes basin and upper St. Lawrence river, Sci Total Environ., 1997, Vol. 193, pp. 263-275.
- Bogomolov, D.M., S.K. Chen, R.W. Parmelee, S. Subler, and C.A. Edwards, An ecosystem approach to soil toxicity testing: a study of copper contamination in laboratory soil microcosms, Appl. Soil Ecol., 1996, Vol. 4, pp. 95-105.
- Chaney, R. L., Twenty years of land application research, Bio. Cycle., 1990, Vol. 31, pp. 54-59.
- Chang, B.V., F. Chiang, and S.Y. Yuan, Anaerobic degradation of nonylphenol in sludge, Chemosphere, 2005, Vol. 59, pp. 1415-1420.
- Brookes, P. C., A. Landman, G. pruden, and D. S. Jenkinson, Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil, Soil Biol. Biochem., 1985a, Vol. 17, pp. 837-842.
- Duffner, F. M. and R. Muller, A novel phenol hydroxylase and catechol 2,3-dioxygenase from the thermophilic *Bacillus thermoleovorans* strain A2: nucleotide sequence and analysis of the genes, FEMS. Microbiol. Lett., 1998, Vol. 161, pp. 37-45.
- Ekelund, R. A. Granmo, K. Magnusson, M. Beegren, and A. Bergman, Biodegradation of 4-nonylphenol in seawater and sediment, Environ. Pollut., 1993, Vol. 79, pp. 59-61.
- Erbardt, W., Organic of sewage sludge contaminants in sewage sludge for agricultural use, European commission, 2001.
- Giller, K.E., E. Witter, and S.P. McGrath, Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review, Soil Biol. Biochem., 1998, Vol. 30, pp. 1389-1414.
- Hesselsøe, M., D. Jensen, K. Skals, T. Olesen, P. Moldrup, P. Roslev, G. K. Mortensen, and K. Henriksen, Degradation of 4-nonylphenol in Homogeneous and nonhomogeneous mixtures of soil and sewage sludge, Environ. Sci. Technol., 2001, Vol. 35, pp. 3695-3700.
- Isobe, T., H. Nishiyama, A. Nakashima, and H. Takata, Distribution and behaviour of nonylphenol, octylphenol, and nonylphenol monoethoxylate in Tokyo metropolitan area: their association with aquatic particles and sedimentary distributions, Environ. Sci. Technol., 2001, Vol. 35, pp. 1041-1049.
- Jacobsen, A. M., G. K. Mortensen, and H. C. B. Hansen, Degradation and mobility of linear alkylbenzene sulfonate and nonylphenol in sludge-amended soil, J. Environ. Qual., 2004, Vol. 33, pp. 232-240.
- Jenkinson, D. S., and J. N. Ladd, Soil Biochemistry, 1981, New York, Marcel Dekker, pp. 415-471.
- Keeney, D. R., and D. W. Nelson, 1982. Nitrogen-inorganic forms. pp. 643-689. In A. L. Page et al. (eds.) Methods of soil analysis, Part 2. 2nd ed. Agron. Monoger. 9. ASA and SSSA, Madison, WI, USA.
- Khan, M., and J. Scullion, Effect of metal (Cd, Cu, Ni, Pb or Zn) enrichment of sewage-sludge on soil micro-organisms and their activities, Appl. Soil Ecol., 2002, Vol. 20, pp.145-155.
- Kollmann, A., A. Brault, I. Touton, J. Dubroca, V. Chaplain, and C. Mougin, Effect of

- Nonylphenol surfactants on fungi following the application of sewage sludge on agricultural, J. Environ. Qual., 2003, Vol. 32, pp. 1269-1276.
- Kuch, H. M., and K. Ballschmitter, Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the pictogram per liter range, Environ. Sci. Technol., 2001, Vol. 35, pp. 3201-3206.
- La Guardia, M. J., R. C. Hale, E. Harvey, and T. M. Mainor, Alkylphenol ethoxylate degradation products in land-applied sewage sludge (Biosolids), Environ. Sci. Technol., 2001, Vol. 35, pp. 4798-4804.
- Lin, J. G., R. Arunkumar, and C. H. Liu, Determining 4-nonylphenol in municipal sewage sludge, J. Chromatogr. A, 1999, Vol. 840, pp. 71-79.
- Madsen, P.L., J.B. Thyme, K. Henriksen, P. Møldrup, and P. Roslev, Kinetics of di-(2-ethylhexyl)phthalate mineralization in sludge-amended soil, Environ. Sci. Technol., 1999, Vol. 33, pp. 2601-2606.
- Marcomini, A., P. D. Capel, Th. Lichtensteiger, P. H. Brunner, and W. Giger, Behavior of aromatic surfactants and PCBs in sludge-treated soil and landfills, J. Environ. Qual., 1989, Vol. 18, pp. 523-528.
- Petersen, S. O., K. Henriksen, G. K. Mortensen, P. H. Krogh, K. K. Brandt, J. Sørensen, T. Madaen, J. Petersen, C. Grøn, Recycling of sewage sludge and household compost to arable land: fate and effects of organic contaminants, and impact on soil fertility, Soil Tillage. Res., 2003, Vol. 72, pp. 139-152.
- Rost, U., R.G. Joergensen, and K. Chander, Effects of Zn enriched biosolids on microbial activities and biomass in soil, Soil Biol. Biochem., 2001, Vol. 33, pp. 633-638.
- Scott-Fordsmann, J.J., and P.H. Krogh, The influence of application form on the toxicity of nonylphenol to *Folsomia fimetaria* (Collembola: Isotomidae), Ecotoxi. Environ. Safe., 2004, Vol. 58, pp. 294-299.
- Scott, W. P., G. H. Anthony, and P. L. Walker, Nonylphenol in anaerobically digested sewage sludge from New Yourk State, Environ. Sci. Technol., 2002, Vol. 36, pp. 3678-3682.
- Sole, M., M. J. Lopez de Alda, M. Castillo, C. Porte, K. Ladegaard- Pedersen, and D. Barcelo, Estrogenicity determination in sewage treatment plants and surface waters from the Catalanian area (NE Spain), Sci. Technol., 2000, Vol. 34, pp. 5076-5083.
- Tanghe, T., G. Devriese, and W. Verstraete, Nonylphenol degradation in lab scale activated sludge units is temperature dependent, Water Res., 1998, Vol. 32, pp. 2889-96.
- Topp, E., and A. Starratt, Rapid mineralization of the endocrine-disrupting chemical 4-nonylphenol in soil. Environ. Toxicol. Chem., 2000, Vol. 19, pp. 313-318.
- Vance, E. D., P. C. Brookes and D. S. Jenkinson, An extraction method for measuring soil microbial biomass C, Soil Biol. Biochem., 1987, Vol. 19, pp. 703-707.
- Vig, M., M. Megharaj, N. Sethunathan, and R. Naidu, Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review, Adv. in Environ. Res., 2003, Vol. 8, pp. 121-135.
- Ying, G. G., R. S. Kookana, and Y. J. Ru. Occurrence and fate of hormone steroids in the environment, Environ. Int., 2002, Vol. 28, pp. 545-551.
- Yuan, S.Y., C.H. Yu, and B.V. Chang, Biodegradation of nonylphenol in river sediment, Chemosphere, 2004, Vol. 127, pp. 425-430.
- Zibilsje, L. M., 1994. Carbon mineralization. pp. 835-859. In R. W. Weaver et al. (eds.) Methods of soil analysis, Part 2. 2nd ed. Agron. Monoger. 9. ASA and SSSA, Madison, WI, USA.

河口地區多環芳香烴與膠體性有機物結合係數之研究

謝冰潔、林俊宏、李宗霖

國立中山大學 海洋環境及工程學系

摘要

多環芳香烴碳氫化合物，為持久性有機污染物之一，由於高疏水的特性，使得在水環境中往往以吸附行為為主。然而在複雜河口地區，除了為淡水及海水交互作用，更具鹽度及 pH 值的變動；此外，此地區膠體性有機物也具有陸源性及海源性膠體性有機物相互混合的重要特性，如此，在估計多環芳香烴碳氫化合物於此地區的傳輸現象將顯得更為複雜。本研究主要以模擬現場膠體性有機物於河口地區混合效應對多環芳香烴碳氫化合物之第三相結合係數(K_{COC})之影響。研究中以混合三種不同的來源的腐植質以模擬河口地區膠體性有機物之混合作用，並利用螢光衰減法量得 pyrene 之 K_{COC} 值。研究結果顯示，利用 Pyrene 為探測污染物觀察腐植質的溶解及混合效應發現，此類反應屬於較緩慢的反應，並且動力學反應亦受不同的反應機制所控制，主要受控於腐植質結構形體官能基特性及腐植質分子間作用，而造成動力學上反應時間之不同，因此無論是溶解腐植質或腐植質間混合的動力學效應皆成為估計 PAHs 第三相分配係數準確性之關鍵。此外，藉由混合兩種不同來源腐植質來模擬河口地區膠體性有機物混合現象發現，混合時 pyrene 之 K_{COC} 呈現保守性行為，即可以於單一膠體性有機物下之 K_{COC} 直接以線性函數計算出，此結果可提供做為現場數值模式，在估計 PAHs 傳輸現象於流佈之重要參數。

Binding Behaviors of PAHs with Colloid Organic Matters in Estuarine Environment

Ping-Chieh Hsieh(謝冰潔), Jain-Hung Lin (林俊宏), and Chon-Lin Lee (李宗霖)

Department of Marine Environment and Engineering, National Sun Yat-sen University, Kaohsiung 804, Taiwan

Abstract

Estuary is a complicated region with the mixing of fresh and sea water as well as the mixing of two types of very different colloid organic matters (COMs), namely terrestrial and marine COMs. As such, in this region the sorption behaviors of hydrophobic organic pollutants (HOPs) on COMs become more sophisticated to describe. To move one step closer toward the real world, binary mixtures of humic substances from three distinct sources, two soil humic acids and one nature organic matter, were used to simulate the mixing behaviors of colloid organic matters in estuary. Fluorescence quenching method was employed to obtain the pyrene's binding constant, K_{COC} , of humic substance. Pyrene was proved to be an effective probe in monitoring the kinetics of dissolving and mixing humic substances. We investigated the processes of dissolving humic substance singly as well as mixing binary humics mixtures and found relatively slow kinetics, which is crucial to the precision and accuracy of measurements of the pyrene binding constant, K_{COC} . Results also indicate that the kinetics of dissolving humic substance was under control of either the hydrophobicity of humics or intermolecular interaction between humic molecules, in contrast, the kinetics of mixing binary humic substance mixture was mostly dominated by intermolecular interaction. Furthermore, pyrene's K_{COC} of binary humic mixtures was found to follow the conservative mixing rule in this study. This conclusion in mixing of humics on K_{COC} could, very likely, be applied to other hydrophobic organic pollutants and humics and should provide an important information in modeling the pollutant transport and fates in aquatic, especially estuarine, environment.

Keywords: Binding constant, Kinetics, Humic mixture

Introduction

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), known to be carcinogenic and mutagenic compounds (Howerton et al., 2002), are anthropogenically emitted to the environment either through pyrolytic process or petrogenic input. In addition, due to their low water solubility, they tend to sorb onto particulates in aquatic environment where their degradation pathways and rates are altered. Colloid organic matters (COMs) play a very important role in controlling the transport and toxicity of various

pollutants, including heavy metal ions and hydrophobic organic pollutants (HOPs), such as PAHs (Peravuori, 2001). Several past studies found humic substance able to enhance the solubility of HOPs, so much that their sorption affinity on solid phase and bioavailability are reduced (Mackay and Gschwend, 2001). This enhancement has been termed the “third-phase effect” (Lee and Kuo, 1999). K_{COC} , the binding constant between HOPs and COMs, is used to quantify this effect (Backhus and Gschwend., 1990).

To date the information we have can serve as general background knowledge when investigating the fate of PAHs in the environment. However, more knowledge is required when we study their fate in an estuarine area, which is more complicated in many aspects. Samples of COMs collected in this area contain both terrestrial and marine COMs, and when COMs from distinct sources are mixed in a certain area, then the pathway and fates of PAHs associated are thought to be altered. Not much has been done, however, to identify the mechanism underlying this phenomenon. In this study, we use the fluorescence quenching method to measure pyrene’s K_{COC} values of several humic substances and use binary mixtures of humic substances from distinct sources to simulate COMs in estuarine area so that we can study the kinetic effect of mixing humic substances and obtain a mixing rule for pyrene’s K_{COC} . Knowledge gained from such an investigation could be used to study the kinetics of other hydrophobic organic pollutants and humics and help in creating a model for the transport and fate of pollutants in an aquatic, especially estuarine, environment.

Materials and Method

Three colloid organic matters (COMs), two soil humic acids and one natural organic matter, were used in this study. The soil humic acids, Leonardite Soil HA (LHA, catalog no., 1S104H) and Summit Hill Soil HA (SHHA, 1R106H), and Suwannee River natural organic matter (SRNOM, 1R101N) were purchased from International Humic Substance Society (IHSS; St. Paul, MN, USA). The binary HS solution was mixed two humic substances with specified ratio. Pyrene stock solutions were prepared by dissolving pyrene (purity, 98%; Aldrich, Milwaukee, USA) in HPLC grade methanol (Merck KGaA, Darmstadt, Germany).

The fluorescence quenching method was used to measure the binding constant, K_{COC} , between pyrene and humic substance. The procedure and instrumental settings of fluorescence intensity measurements are identical to those of Kuo and Lee (2005).

Results and Discussion

The fluorescence intensity of pyrene increases initially and reaches a plateau as time elapses during the restructuring process of humic substances (figure 1). Monitoring this process, we found the mechanisms behind the kinetics in dissolving single humic substances to be different from those behind the mixing of binary humic mixtures. Hydrophobic functional groups of humics were found in control of the kinetics of dissolving Leonardite HA or Summit Hill HA alone, but intermolecular interactions were found in control of the kinetics of dissolving Suwannee River NOM alone and mixing binary humic mixtures. In addition, we found the concentration of humics to be another important factor in the kinetics of dissolving or mixing humics. The restructuring factor defined and used in this study shows that the increase of the composition ratio of more hydrophilic humic substances tend to increase the intensity of change in size and shape of humics. Overall, experimentally, the kinetics involved in the restructuring process of humic substance was crucial in measuring the pyrene's K_{COC} . Finally, we have found that pyrene's K_{COC} in binary humic mixtures follow a conservative mixing rule (figure 2).

Reference

- Howerton, S.B., Goodpaster, J.V., McGuffin, V.L., 2002. Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples by selective fluorescence quenching. Anal. Chim. Acta 459, 61-73.
- Kuo, L.J., Lee, C.L., 2005. Stage change in binding of pyrene to selected humic substances under different ionic strengths. Environ. Toxicol. Chem. 24, 58-66.
- Mackay, A.A., Gschwend, P.M., 2001. Enhanced concentrations of PAHs in groundwater at a coal tar site. Environ. Sci. Technol. 35, 1320-1328.
- Lee, C.L., and Kuo, L.J., 1999. Quantification of the dissolved organic matter effect on the sorption of hydrophobic organic pollutant: application of an overall mechanistic sorption model. Chemosphere 38, 807-821.
- Peuravuori, J., 2001. Binding of pyrene on lake aquatic humic matter: The role of structural descriptors. Anal. Chim. Acta 429, 75-89.

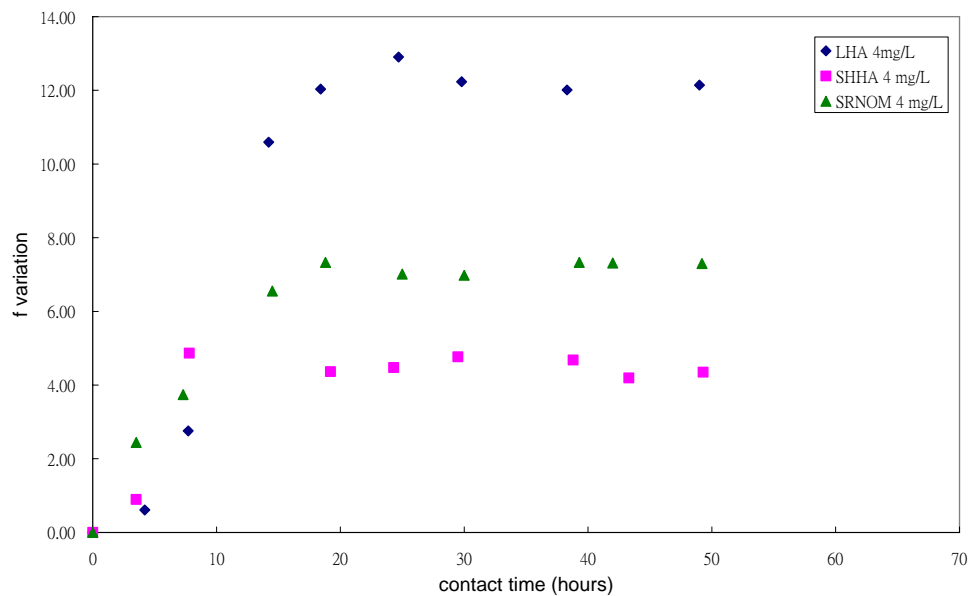


Figure 1. The variation of fluorescence intensities of pyrene in several solutions containing 4 mg l^{-1} of humic substances, $11.9 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ of pyrene.

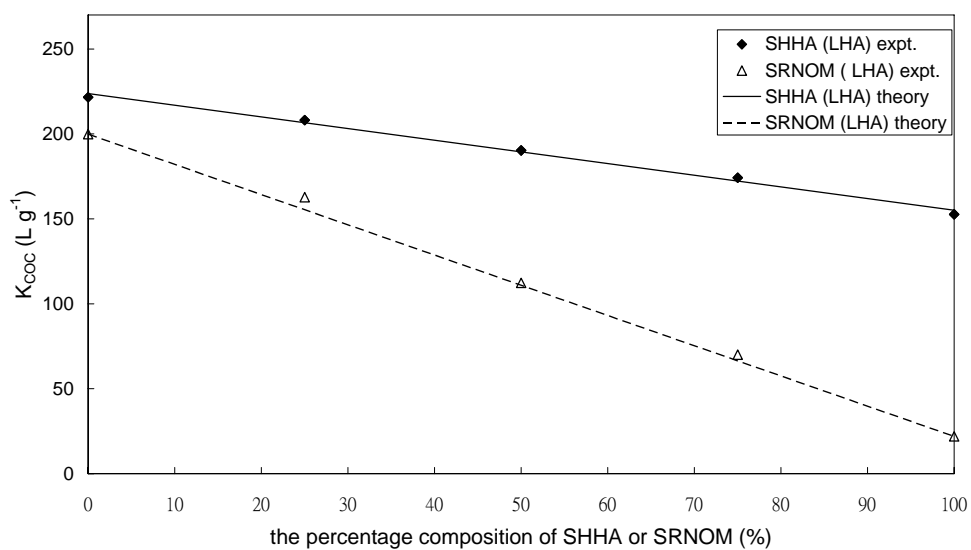


Figure 2. The organic carbon-normalized binding constant of humic substance and pyrene (K_{Coc}) distribution with different mixing ratios of binary COMs (SRNOM/LHA and SHHA/LHA) after achieving equilibrium state.

工作及居家環境中多溴聯苯醚濃度分佈與曝露量評估

賴萬豪，凌永健*

清華大學化學所

G933466@oz.nthu.edu.tw

摘要

本研究為多溴聯苯醚 (Polybrominated Diphenyl Ethers, PBDEs) 於空氣環境中的濃度分佈調查，以及人體曝露量評估。真實樣品依工作、居家的環境不同，共採集 17 件室內粉塵和 7 件室內空氣樣品，另外也以 3 個地點及 2 段時間採集室外空氣 6 件樣品。以此初步評估國人 PBDEs 之曝露量。室內粉塵方面，27 個 PBDEs 同源物總濃度平均為 2831.4 ng/gw；可分為工作環境 3757.8 ng/gw，居家環境為 2326.1 ng/gw；室內空氣方面，PBDEs 濃度平均為 140.9 pg/m³，分為工作環境 160.0 pg/m³ 和居家環境 95.3 pg/m³；室外空氣部份 PBDEs 濃度為 48.5 pg/m³。不論是粉塵或空氣，室內工作環境皆比居家環境高，這可能是因為在現代化的環境中，工作環境中電子電器的密度較高所造成。若與國外環境比較，在室內空氣和粉塵方面，美國和英國之濃度皆高於我國，歐洲西班牙、葡萄牙和比利之室內粉塵濃度時則低於我國；我國室內空氣濃度較科威特高；室外空氣部分，我國比英國和中國低，與日本相當。整體趨勢而言，工業開發程度越好之國家，空氣環境中 PBDEs 濃度較高。

關鍵字：多溴聯苯醚、曝露量評估。

一、前言

多溴聯苯醚 (Polybrominated Diphenyl Ethers, PBDEs) 目前為市面上溴化阻燃劑的主要成分，被大量使用於石化產品、軟性或硬質塑膠，例如電話、電腦外殼。製造、使用或拋棄家電及其他消費性產品的行為，則是造成這些污染物釋放到環境的主要途徑。歐盟要求自 2006 年 7 月 1 日起，電子產品輸入歐洲必須符合有害物質限用禁令 (RoHS) 標準，是指產品必須將 6 項有害物質，控制在標準劑量之下，包括鉛、鎘、汞、六價鉻、溴化阻燃劑 PBBs 與 PBDEs 含量必須在總重量的 1000 ppm (0.1%) 以下，這項禁令勢將影響電子產品廠商的營運。

2004 年捷克共和國食品化學部門發表一篇當地婦女與其他各國的母乳比較¹，包括美洲的加拿大，歐洲的瑞典、芬蘭，亞洲的日本。其中以 BDE-47 與 BDE-99 在生物體中為最主要之同源物，濃度以美洲加拿大 (BDE47=3.39, BDE99=1.19 ng/g lipid weight) 含量最高、亞洲日本 (BDE47= 0.48, BDE99=0.11 ng/g lipid weight) 與歐洲捷克共和國 (BDE47=0.86, BDE99= 0.28 ng/g lipid weight) 較低。這個結果與溴科學環境論壇 2001 年公佈各洲 PBDEs 之產量結果相同²，與美洲

為最高，歐洲、亞洲則大致相同。PBDEs 對人體健康之影響，目前仍有許多相關研究，國立中山大學劉莉蓮教授研究 BDE-47 與 BDE-183 對單孔蚓 (Monopylephorus Limosus) 之存活與蛋白質表現之影響³，指出 PBDEs 對單孔蚓生物具有毒性，且 BDE-183 之毒性比 BDE-47 還要高。

PBDEs 現在於環境中已經是到處可見，在環境中的濃度迅速增加，成為時下新興有機污染物。美國加州廢水處理廠的 PBDEs 總濃度在底泥中為 61- 1440 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，在排放廢水中為 4-29000 pg/L ⁴。日本在魚類 (17.7-1720 pg/g fresh wet)、肉類 (6.25-63.6 pg/g fresh wet) 和蔬菜 (38.4-134 pg/g fresh wet) 中發現 PBDEs 的存在⁵。加拿大多倫多等城鄉交界住家窗戶所附著之有機膜，發現城區 (2.5-14.5 ng/m^2) 有機膜內之 PBDEs 濃度約為郊區 (0.56-1.1 ng/m^2) 之 10 倍。城區室內 (34.4 ng/m^2) 平均為郊區室內 (10.3 ng/m^2) 的三倍，以溶解度觀念計算 PBDEs 在空氣中的濃度，室內平均 (42.1 pg/m^3) 也比室外平均 (4.8 pg/m^3) 高上許多^{3,6}。北歐挪威發表實驗室室內空氣方面，測試結果以 BDE-47 (12-59 pg/m^3) 和 BDE-99 (7-20 pg/m^3) 最高⁷。英國地區也發現室內空氣比室外空氣 (18-21 pg/m^3) 高出許多，工作環境 (1082 pg/m^3) 比居家環境 (128 pg/m^3) 高出甚多⁸。加拿大也有實驗結果表示，依照不同工作環境，人體曝露最嚴重的來源為室內粉塵⁹。

二、實驗步驟

2.1 樣品收集

考慮 PBDEs 主要添加在電腦、電視、沙發、聚氨酯泡棉材料之家具 (例如地毯、椅子及床墊) 以及電子電器產品等等。而現代化工作環境所使用之電子產品密度較高，理論上 PBDEs 的釋放機會也比較多。以工作環境和居家環境做為區分來採集樣品，室外空氣樣品則依不同時間、地點，分兩段時間和三個地點，初步以新竹做為台灣地區之代表。

2.2 實驗方法

2-2.1 空氣採樣方法

室外空氣使用高流量採樣器；室內空間方面，為避免高流量採樣器抽氣速率過快造成室外新鮮空氣回饋，則使用低流量採樣器。因目前尚無 PBDEs 相關之空氣採樣的標準方法，考慮 PBDEs 與戴奧辛物性相似，高流量採樣器參考環保署公告『空氣中戴奧辛及呋喃採樣方法』(NIEA A809.10B) 中之石英纖維濾紙和聚氯甲酸酯吸附材料，採集約 300 m^3 的空氣體積。低流量採樣器則使用 SKC 個人採樣器，搭配實驗室自行開發之採樣頭，也使用石英纖維濾紙以及聚氯甲酸酯吸附材料為吸附劑，採集約 100 m^3 的空氣體積。

2.2.2 樣品處理

主要參考美國環保署公告方法¹⁰，流程包括樣品萃取、硫酸酸洗、管柱淨化（圖一）。但收集酸性氧化鋁管柱樣品溶液前，多增加二氯甲烷/正己烷(3/97, v/v)沖提，以降低一溴(M^+ , $m/z = 250$)、二溴(M^+ , $m/z = 328$)、三溴(M^+ , $m/z = 484$)以及六溴($(M-2Br)^+$, $m/z = 406$) PBDEs 的定性定量離子干擾（圖二）。樣品萃取包括索氏萃取法(S Soxhlet Extraction)和微波輔助萃取法(Microwave Assisted Extraction, MAE)兩種，使用時機依實驗方便，但主要以 MAE 為主，萃取條件亦參考美國環保署公告方法¹¹，以達到節省萃取溶劑之環保目的。

2.2.3 儀器設備

使用 Agilent 6890 氣相層析與 5973 低解析質譜儀，文獻中報導之母離子(M^+)和其碎裂離子($M-2Br^+$)¹²，以 70 eV 電子撞擊離子化法配合選擇離子偵測模式，對 27 種 PBDEs，以滯留時間和同位素離子定性，同位素稀釋法定量。

2.2.4 曝露評估方法

空氣曝露評估參考英國之評估方法¹⁷（表一）以及台灣地區時間運用調查報告²⁰，國人平均在室內時間約佔一天 94.2%，其中工作環境佔 27.8%，居住環境佔 66.4%。粉塵則參考環境評估系統（表二），其中參數皆參考美國環保署所建議參數²¹。

三、結果與討論

室內粉塵樣品，27 個 PBDEs 同源物總濃度（單位 ng/gw）平均為 2831.4，可分為工作環境 3757.8，居家環境為 2326.1（因為各國文獻所針對 PBDEs 同源物不同，為與文獻比較時更有參考性，後續比較皆基於相同之同源物）。本研究 19 種同源物總濃度為 2824.3，比美國地區的濃度 5840.1 為低¹³；比較 21 種同源物總濃度，台灣地區濃度 2401.7 比歐洲各國（西班牙、義大利、葡萄牙和比利時）190~581 ng/gw 為高¹⁴。

室內空氣方面，27 種 PBDEs 同源物總濃度(單位為 pg/m^3)平均為 140.9，分為工作(160.0)和居家環境(95.3)。工作環境室內空氣，比較 7 個 PBDE 同源物，台灣地區(109.9)比科威特¹⁶(32.7)高，居家環境室內空氣，台灣地區(47.6)亦比科威特¹⁶(15.2)高。與英國相比，比較 5 個同源物，無論工作環境和居家環境，台灣地區(40.9、128)均比英國(85.1、1082.0)低¹⁷。與美洲 10 個同源物相比，台灣(92.62)也比美洲(260)²³低。

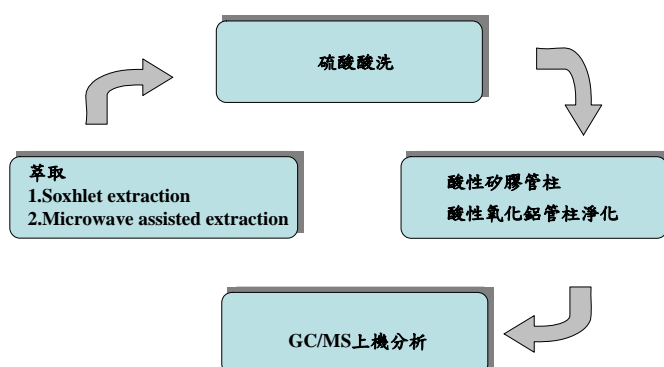
室外空氣方面，PBDEs 濃度(單位為 pg/m^3)平均為 48.5。與英國比較 5 個同源物，台灣地區(6.7)比英國(18)低¹⁷。與日本比較 5 個同源物，台灣地區(34.9)與日本(34.6)相當¹⁸；與中國比較 11 個同源物相比，台灣地區(37.7)比中國(141.2)低¹⁹。

本研究測得之室內粉塵、室內空氣以及室外空氣中 PBDEs 濃度，皆落在文獻範圍內。不論是粉塵中或空氣中之 PBDEs 濃度，工作環境皆高於居家環境，有可能是工作環境中使用電子電器產品密度較高。

依本研究測得之 PBDEs 之濃度，推算出成人呼吸曝露量為 31.6 pg/kg-d，粉塵曝露量為 78.7 ng/kg-d；小孩呼吸曝露量為 61.2 pg/kg-d，粉塵曝露量為 183.5 ng/kg-d。遠低於美國環保署健康部門公佈之最低風險值（Minimal Risk Limit, MRL）（>40000 ng/kg-d）²²。

四、圖與表

4.1 圖



圖一 實驗主要流程圖

4.2 表

表 1 空氣曝露評估方法

$$\Sigma \text{ exposure} = [(C_w F_w) + (C_h F_h) + (C_o F_o)] RR$$

C	濃度 (pg/m ³)	w	工作
F	時間比例 (%)	h	居家
RR	呼吸量 (m ³)	o	戶外

表 2 室內粉塵曝露評估方法

$C D I (m g / k g - d) = \frac{C S \times I R \times E F \times E D}{B W \times A T}$			
C S (m g / k g) =	濃度		
A T (day / year) =	一年之天數	365	
B W (成人,小孩) (K g) =	體重	70	15
I R (成人,小孩) (k g / day) =	攝入速率	0.0001	0.0002
E D (成人,小孩) (year) =	評估年份	24	6
E F	曝露頻率	360	

五、參考文獻

1. Radek K., Jan P. *Analytica Chimica Acta*, **2004**, 237-243.
2. Bromine Science and Environmental Forum. <http://www.bsef.com/>
3. 林純如。多溴聯苯醚 (PBDEs)對單孔蚓 (Monopylephorus limosus)之存活與蛋白質表現之影響。 **2004**.
4. Karin D. *Environ. Sci. Technol.* **2004**, 38, 4484-4488
5. Souichi O., Daisuke I. *Chemosphere.* **2002**, 46, 689
6. Graig M., Butt Mirian L. *Environ. Sci. Technol.* **2004**, 38, 724-731.
7. C. Thomsen, H. Leknes, E. Lundanes, G. Becher. *J. Chrom. A*, **2001**, 923, 229-304.
8. Stuart H., Ramanee Wijesekera., Stuart Hunter. *Environ. Sci. Technol.* **2004**, 38, 2345-2350.
9. Heather A., John P., Miriam L., Josephine A. *Environ. Sci. Technol.* **2005**, 39, 5121-5130.
10. EPA method 1614 draft
11. EPA method 3546.
12. E. Eljarrat, S. Lacorte, D. Barcelo. *J. Mass Spectrom.* **2002**, 37, 76-84.
13. Heatherm S., Nathang D. *Environ. Sci. Technol.* **2005**, 39, 925
14. Begoña F., Angeles M., Belen R. *Organohal. compds.* **2005**, 452-454
15. Andreas S., Olaf P., Ernest M. *Organohal. compds.* **2004**, 66:3817-3822
16. Bondi G., Majed A., Abdul Nabi A. *Atmospheric Environment* **2006**, 40, 1419-1426
17. Stuart H . Ramanee, W. *Environ. Sci. Technol.* **2004**, 38, 2345
18. Kenichi H., Hiroshi T., *Organohal. compds.* **2002**, 59, 299-302
19. L. G. Chen, X. H. Wang. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, 40, 1190-1196
20. 行政院主計處，台灣地區時間運用調查報告，民國 76、83 年。
21. <http://risk.lsd.ornl.gov/> 風險評估資訊系統 (The Risk Assessment Information System, RAIS)
22. Washington State Polybrominated Diphenyl Ether (PBDE) Chemical Action Plan. January, 19, 2006
23. Bryony H., Wilfor D., *Environ. Sci. Technol.* **2004**, 38, 5312-5318

壁報論文

零價奈米鐵對有機氯化物脫氯反應之反應機制研究

The mechanism of degradation of chlorinated organic compound by use zero-valent iron

高自宏 李茂田*

國立嘉義大學應用化學研究所碩士班二年級;

國立嘉義大學應用化學系教授 *通訊作者

摘要

利用奈米過渡金屬來對有機氯化物作反應已經變的越來越普遍了，奈米粒子的表面積較大且反應性強，同時對於現場實地操作也比較方便。研究顯示，奈米鐵粒子對於一般大部分的環境污染物的轉化以及解毒具有相當大的影響，如含氯的有機溶劑或沉澱物等，然而，在這麼多的研究當中，都只能提出相關的反應機制而不能證明，因此，本文將利用溶液法製備奈米鐵微粒，並用來對氯仿進行脫氯反應，藉由 pH 值的變化、氯離子濃度的變化、IR 圖譜、GC 圖譜等來觀察鐵微粒對氯仿所進行之反應，同時從結果中找出脫氯反應正確的反应機制。

關鍵字：奈米鐵、脫氯反應、反應機制。

Abstract

It is generally to remediation of chlorinated organic compound by use transition metals. Nanoscale particles have large surface areas and high surface reactivity. They provide more convenient for in situ applications. Research has shown that nanoscale iron particles are very effective for the transformation and detoxification of a wide variety of common environmental contaminants, such as chlorinated organic solvents and pesticides. In these research, however, they provide the mechanism but not prove. In this research, we use solution method to synthesis Fe nanoparticles, and dechlorinated chloform. By the change of pH、concentration of hydride、spectrogram of IR and GC, we can observe the reaction of Fe nanoparticles and chloform, and find the correct mechanism of dechlorination from the result.

keyword: nanoscale iron、dechlorination、mechanism

一、前言

地下水以及土壤中的污染物規模是很龐大且錯綜複雜的，而且很棘手。這些污染源包括垃圾掩埋場、工廠以及政府相關部門，以一般的處理方式來解決環境汙染問題，將會是一筆龐大的金額。

在這些污染物質中，其中以含氯之有機溶劑最被注意，絕大多數的含氯有機物質都有劇毒且不易自然分解；由於這些有機氯化物比水重，因此容易沉在水流下方，不會隨著水流流動，並一點一滴的汙染地下水，造成長久的危害。

鐵在地層中含量豐富，對人體無害，並具有良好的反應性，在近期的研究中常被用來和有機氯化物反應如四氯乙烯 (PCE) (Hwang I. and Batchelor B., 2000)、多氯聯苯 (PCBs) (Grittini C. et. al., 1995)、三氯乙烯 (TCE) (Liu Y. et. al., 2005)、除草劑 (Volpe A. et. al., 2004)、地下水中的重金屬 (Cantrell K. J. et. al., 1995)、殺蟲劑 (Sayles G. D. et. al., 1997) 等等，反應從數小時到數個月不等，但都能有效的降解水中的有機氯化物。粒子越小其反應性越強，顆粒越均勻，反應性也越佳，鐵奈米粒子的製備即為本反應的第一要務。主要

的化學合成方法有四種，溶液法（solution method）、溶液溶膠法（sol-gel method）、熱分解（thermal decomposition method）以及微乳化法（micro emulsion method）（Li F. et. al.,2003），其中溶液法最便宜也最簡單，但所合成出來的奈米粒子也最粗糙，顆粒最大，均勻度也不好，而微乳化法所合成之粒子最小，最均勻，反應性也最好。

研究方向有 pH 值的影響（Matheson L. J. and Tratnyek P. G.,1994）（Chen J. L. et. al.,2001）、雙金屬的合成（Lien H. L. and Zhang W. X.,2002）以及保護劑的應用（Zhang W. X.,2003）等等，不同的方法有不同的結果，但目的都希望能夠現場操作，如 Zhang W. X. 在 2003 發表的實地處理地下水污染的實例，因此，對於地下水污染問題，可以說已經有一個初步的成果。

上述的許多種研究都顯示出鐵能夠有效降解有機氯化物，同時也提出幾種反應機制，如（Monson S. J. et. al.,1998）、（Lien H. L. and Zhang W. X.,2001）、（Clark, II C. J. et. al.,2003）以及（Gusmão A. D. et. al.,2004）等，可惜都未有確切的證據來證明反應機制，本次研究希望能夠藉由鐵和三氯甲烷的脫氯反應，來探討其反應機制為何。

現將過去以零價金屬對水中有機氯降解之文獻做一個簡單的回顧。

表 1 以零價金屬做水中有機氯降解之研究文獻

編號	日期	標題	作者	出處	摘要
1	1998	Effects of Solution Composition and pH on the Reductive Dechlorination of Hexachloroethane by Iron Sulfide	Butler E. C., Hayes K. F.	Environ Sci. Technol., Vol.32, 1276-1284	利用硫化鐵對六氯乙烷的反應來探討環境中不同因素對反應速率的影響，例如 pH、離子性以及有機溶液的組成等。
2	2001	EXAFS characterization of ferric oxyhydroxides	Suzuki S., Suzuki T., Kimura M., Takagi Y., Shinoda K., Tohji K., Waseda Y.	Applied Surface Science, Vol.169-170, 109-112	利用泡在鹽水中的和暴露在空氣中的氧化鐵，以及兩種原始鐵礦利用 EXAFS 來做比較。
3	2003	Synthesis of platinum nanoparticles in microemulsions and their catalytic activity for the oxidation of carbon monoxide	Yadav O. P., Palmqvist A., Cruise N., Holmberg K.	Colloids and Surfaces A, Vol.221, 131-134	利用不同比例的乳化劑所製造出來的 pt 來對 CO 做催化反應。
4	2000	Reductive Dechlorination of Tetrachloroethylene by Fe(II) in Cement Slurries	Hwang I., Batchelor B.	Environ Sci. Technol., Vol.34, 5017-5022	將 Fe(II) 置於水泥泥漿中來和四氯乙烯作用，控制 pH 在 12.1，可使得 98% 的 PCE 降解。
5	2004	A Polymer Membrane Containing Fe0 as a Contaminant Barrier	Shimotori T., Nuxoll E. E., Cussler E. L., Arnold W. A.	Environ Sci. Technol., Vol.38, 2264-2270	將鐵包在 PVA 中來對不同化合物做反應，如 Cu ²⁺ 、硝基苯、四氯化碳等等。

6	1997	Synthesizing Nanoscale Iron Particles for Rapid and Complete Dechlorination of TCE and PCBs	Wang C. B., Zhang W. X.	Environ Sci. Technol., Vol.31, NO.7	合成奈米鐵以及鐵鈮合金，比較這兩者對 TCE 以及 PCB 的去氯化反應。
7	2001	Nanoscale iron particles for complete reduction of chlorinated ethenes	Lien H. L., Zhang W. X.	Colloids and Surfaces A, Vol.191, 97-105	合成鐵鈮合金，並對六種含氯的乙烯來做降解。
8	1999	Bondlength Alternation of Nanoparticles Fe ₂ O ₃ Coated with Organic Surfactants Probed by EXAFS	Liu T., Guo L., Tao Y., Hu T. D., Xie Y. N., Zhang J.	NanoStructured Materials, Vol.11, NO.8, 1329-1334	將鐵 coat 在不同的介面活性劑，再利用 EXAFS 來探測其鍵長的變化。
9	2003	Microemulsion and solution approaches to nanoparticle iron production for degradation of trichloroethylene	Li F., Vipulanandan C., Mohanty K. K.	Colloids and Surfaces A, Vol.223, 103-112	利用溶液法以及微乳化法製造鐵，並且和市售的鐵粉比較其粒子大小、均勻度以及對 TCE 的降解效果。
10	2000	Synthesis and Characterization of CdS Nanoclusters in a Quaternary Microemulsion : the Role of the Cosurfactant	Curri M. L., Agostiano A., Manna L., Monica M. D., Catalano M., Chiavarone L., Spagnolo V., Lugarà M.	J. Phys. Chem. B, Vol.104, 8391-8397	比較三種和四種成分所使用的乳化劑來製造的 CdS。
11	2001	Preparation of Monodispersed Fe-Mo Nanoparticles as the Catalyst for CVD Synthesis of Carbon Nanotubes	Li Y., Liu J., Wang Y., Wang Z. L.	Chem. Mater., Vol.13, 1008-1014	觀察各種條件所製造的奈米粒子並比較大小，再利用大小不同的粒子當觸媒製造奈米碳管。
12	1999	Use of Surfactant Micelles to Control the Structure Phase of Nanosize Iron Clusters	Wilcoxon J. P., Provencio P. P.	J. Phys. Chem. B, Vol.103, 9809-9812	利用不同種類的介面活性劑來得到不同相的鐵。
13	2000	Dechlorination of Pentachlorophenol by Zero Valent Iron and Modified Zero Valent Irons	Kim Y. H., Carraway E. R.	Environ Sci. Technol., Vol.34, 2014-2017	用鐵以及在鐵上鍍金屬來對有機氯化物做降解。
14	1995	In situ XAS-study on transition metal doped metal oxides	Hoser A., Hilbrandt N., Martin M., Denecke M.	Physica B, Vol.208&209, 321-322	利用氧活性的改變來看能量變化，利用銅來看價電數以及配位數的變化。

15	1995	Magnetic EXAFS study of pure Fe and Fe-oxides at Fe K-edge	Kobayashi K., Maruyama H., Maeda H., Iwazumi T., Kawata H., Yamazaki H.	Physica B, Vol.208&209, 779-780	比較鐵和氧化鐵在 EXAFS 和 magnetic EXAFS 中鍵長的不同。
16	1995	EXAFS study on Iron(III) sorbitol complexes	Winkler H., Meyer W., Trautwein A. X., Hegetschweiler K., Nolting H.-F.	Physica B, Vol.208&209, 733-734	從單核，pH14；雙核，pH13；多核，pH10~13 來看鐵的錯合物
17	2005	TCE Dechlorination Rates, Pathways, and Efficiency of Nanoscale Iron Particles with Different Properties	Liu Y., Majetich S. A., Tilton R. D., Sholl D. S., Lowry G. V.	Environ. Sci. Technol., Vol.39, 1338-1345	利用市面上以及合成的鐵過量與否來對 TCE 做降解反應，比較之間的反應速率以及產物有何不同。
18	2004	Chlorinated herbicide (triallate) dehalogenation by iron powder	Volpe A., Lopez A., Mascolo G., Detomaso A.	Chemosphere, Vol.57, 579-586	用零價鐵來對除草劑做降解反應，降解反應是在 25°C、不含氧的情況下。
19	2002	Enhanced dehalogenation of halogenated methanes by bimetallic Cu/Al	Lien H. L., Zhang W. X.	Chemosphere, Vol.49, 371-378	將銅還原後沉澱到鋁表面行成雙金屬，再將雙金屬和鹵化烴類做反應，銅的存在是避免鋁和水作用。
20	1995	Rapid Dechlorination of Polychlorinated Biphenyls on the Surface of a Pd/Fe Bimetallic System	Grittini C., Malcomson M., Fernando Q., Korte N.	Environ. Sci. Technol., Vol.29, NO.11	利用雙金屬來和 PCBs 作用，可以快速降解。
21	1994	Reductive Dehalogenation of Chlorinated Methanes By Iron Metal	Matheson L. J., Tratnyek P. G.	Environ. Sci. Technol., Vol.28, 2045-2053	表面積越大，反應速率越快，pH 值越高，反應速率越低；四氯化碳可反應至二氯甲烷，即不再反應。
22	1995	Zero-valent iron for the in situ remediation of selected metals in groundwater	Cantrell K. J., Kaplan D. I., Wietsma T. W.	Jouurnal of Hazardous Materials, Vol.42, 201-212	利用鐵來還原地下水中的重金屬；找出反應方程式以及反應速率。
23	1996	Kinetics of Halogenated Organic Compound Degradation by Iron Metal	Johnson T. L., Scherer M. M., Tratnyek P. G.	Environ. Sci. Technol., Vol.30, 2634-2640	飽和的碳反應速率比不飽和的快；將各篇論文中利用不同方法合成的鐵，對不同有機氯所做的反應做整理，並針對

					表面積對反應速率的影響做探討。
24	1997	DDT,DDD,and DDE Dechlorination by Zero-Valent Iron	Sayles G. D., You G., Wang M., Kupferle M. J.	Environ. Sci. Technol., Vol.31, 3448-3454	利用鐵還原有機氯，降低毒性，探討各種有機氯的反應方程式，並找出反應常數。
25	1998	Confirmation and method development for dechlorinated atrazine from reductive dehalogenation of atrazine with Fe0	Monson S. J., Ma L., Cassada D. A., Spalding R. F.	Analytica Chimica Acta, Vol.373, 153-160	利用鐵提供電子來還原有機氯，並利用 GC/MS 和 HPLC/MS 來找出產物。
26	1998	Degradation of carbon tetrachloride by iron metal : Complexation effects on the oxide surface	Johnson T. L., Fish W., Gorby Y. A., Tratnyek P. G.	Journal of Contaminant Hydrology, Vol. 29 , 379-398	利用陰離子以及 ligand 來探討鐵表面氧化層對去氯化反應的影響。有機氯的起始濃度也會影響反應速率常數。
27	1998	Reaction of 1,1,1-trichloroethane with Zero-Valent Metals and Bimetallic Reductants	Fennelly J. P., Roberts A. L.	Environ. Sci. Technol., Vol.32, 1980-1988	產物和產率會因反應物不同而不同；比較金屬和雙金屬的反應性以及產物，並繪出可能的反應機制。
28	1995	EXAFS study of nanocrystalline iron	Cicco D. A., Berrettoni M., Stizza S., Bonetti E.	Physica B, Vol.208&209, 547-548	磨的細，鐵的配位數降低，是由於密度下降的緣故；從研磨的時間造成大小不同來看配位數的變化。高溫退火後可提高配位數。

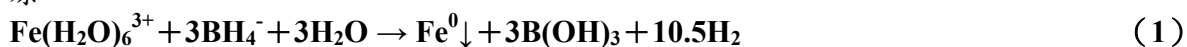
二、 實驗步驟

奈米鐵粒子製備：

材料

硫酸鐵 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{XH}_2\text{O}$ ，分子量 399.88，來源是 Osaka 藥品；硼氫化鉀 KBH_4 ，分子量 53.94，純度 >97%，來源是 Merck 藥廠；氯仿 CHCl_3 ，分子量是 119.38，純度 >99.8%，密度 1.484kg/L，來源是 Merck 藥廠；二氯甲烷 CH_2Cl_2 ，分子量是 84.93，純度 >99.9%，密度 1.3kg/L，來源是 Merck 藥廠。

本文乃是利用溶液法製備奈米鐵微粒，所合成出之奈米粒子較粗糙，大小不均，但是最方便也最便宜。首先配製 0.125M 的硫酸鐵溶液以及 0.75M 的硼氫化鉀溶液至樣品瓶中，以體積 1：1 的比例將硼氫化鉀溶液慢慢滴入硫酸鐵溶液中，由於反應劇烈，因此要注意量不可過大，緩慢搖晃、混合，反應瞬間發生，根據下面的方程式三價鐵會被硼氫根離子還原



，並產生黑色固體以及大量氫氣，將溶液加蓋密封備用。整個實驗流程如圖 1

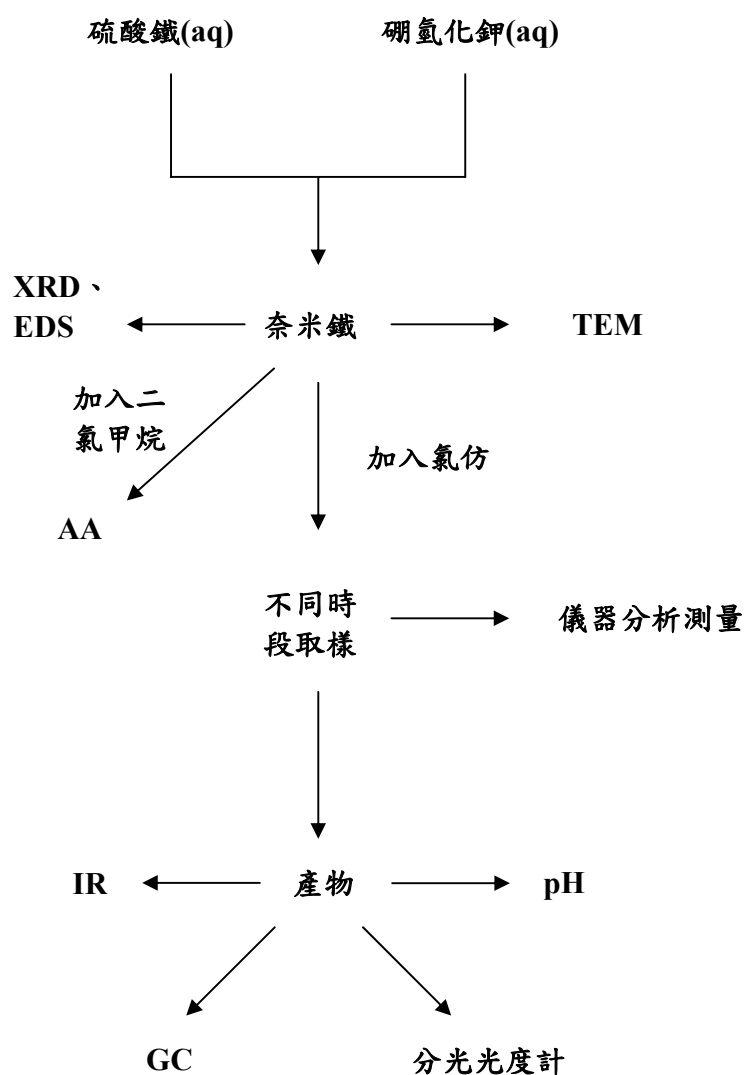


圖 1 實驗流程圖

利用乙醇將奈米鐵溶液反覆洗滌，並儲存在乙醇溶液中，將洗滌過的奈米鐵溶液取出一滴，滴在 mesh 300 的銅網上，乾燥至隔夜，利用型號 Hitachi H-7100 之 TEM 觀察奈米粒子大小。接著利用 XRD 圖譜來鑑定反應所得到之奈米粒子，確保合成出來之產物為鐵；再將奈米鐵粒子均勻塗抹在鋁座上，鍍金一個小時後，利用型號 Hitachi S-3500N 的 SEM 作 EDS 元素分析，找出整個奈米溶液中所有的元素。

在製備完成之奈米鐵水溶液中加入 1ml 氯仿，加蓋密封，等待反應發生。以 pH meter 測試水溶液中 pH 值的變化，每天取樣一次，測試一週，觀察整個水溶液的變化。接著取出 1ml 水溶液，加入去離子水稀釋至 25ml，然後加入 2ml Mercuric Thiocyanate 以及 1ml Ferric Ion Solution，利用分光光度計測試其中氯離子的變化；為了避免水溶液濃度不均，導致取

樣有誤差，分別取不同位置之水溶液做測試，確定整個水溶液的狀態均勻，之後每天取樣一次做測試，維持一週。由於加入之有機氯化物太少量，不容易取得，因此，取水溶液部分來做 IR 試驗，希望可以藉由溶解在水中的有機氯化物看出官能基的變化；以 ZnSe 鹽片當背景值，將反應前之水溶液滴在鹽片上，用 IR 做測試；依同樣的方法，將反應三天後的水溶液滴在鹽片上，做 IR 測試。接下來以 HP-5 的管柱，FID 偵測器，型號 HP-6890 的 GC 找出反應後的產物。注入器的溫度為 200°C，偵測器的溫度控制為 250°C，升溫條件為 30°C 維持 5 分鐘，接著以每分鐘 10°C 上升至 120°C，再維持五分鐘；為了避免污染以及損害到 GC，抽取樣品瓶中氣體的部分打入 GC 做測試，並用純的氯仿以及二氯甲烷當標準品作為對照。

在反應過程中，為了肯定產物不會有其他變化，另取一組奈米鐵溶液，並在溶液中加入二氯甲烷，利用 AA 以及 GC 來確定奈米鐵粒子不會和二氯甲烷發生反應。先以 AA 做鐵離子濃度測試，將不同反應時間之樣品過濾，直到濾液澄清，將溶液稀釋 20 倍避免濃度過高，然後注入到 AA 中作測試。接著以上述的方法來測出 GC 圖譜。

三、 結果與討論

首先從 TEM 圖譜來看，由於鐵具有磁性，容易吸附在一起，如圖 2，雖然鐵粒子的大小並不均勻，但大小仍然可以達到 50~100nm 的大小。

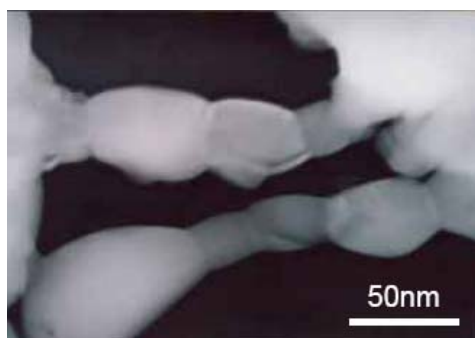


圖 2 奈米鐵金屬之 TEM 圖

利用 XRD 圖譜鑑定反應所得到之奈米粒子，如圖 3，可以從 peak 的位置看出零價的鐵的存在，但同時也有其他雜質的存在，圖中箭頭所標示的部份為鐵的訊號。

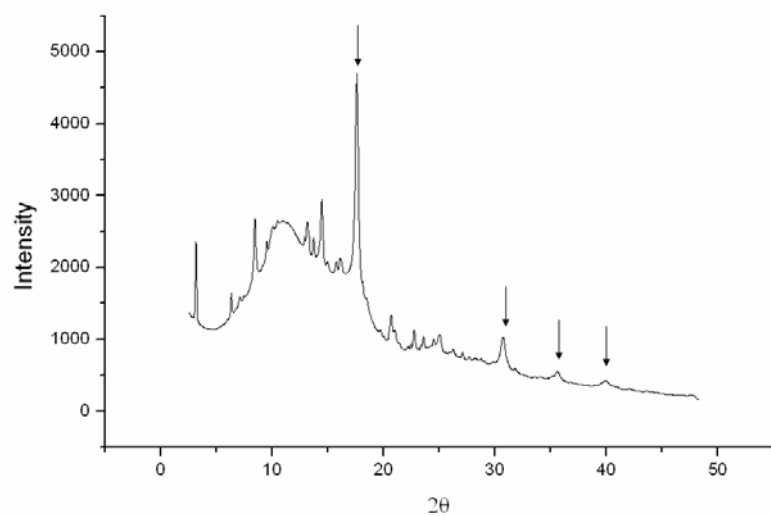


圖 3 奈米鐵粒子之 XRD 圖譜

從 EDS 圖譜可以得知，奈米鐵的製備沒有其他雜質的干擾，溶液中所包含的元素有鐵、硼、氧、硫以及鉀，其中金的部分乃是在電鍍時所產生，如圖 4。

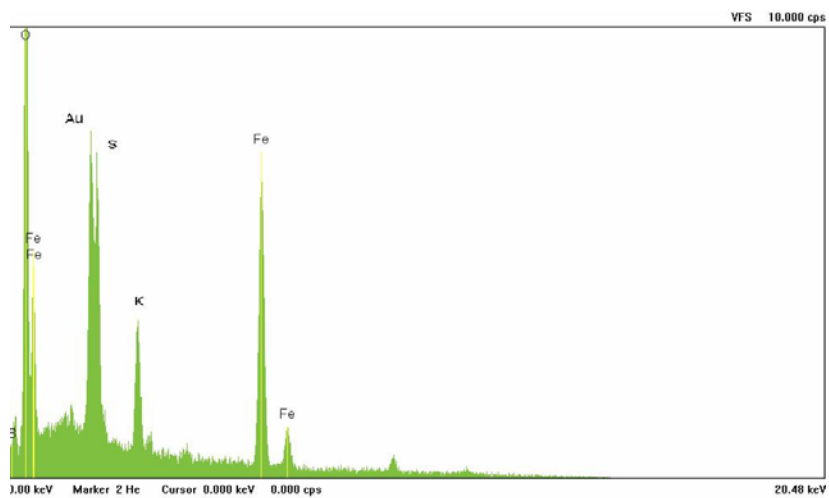


圖 4 奈米鐵粒子 EDAX 圖譜，其中 Au 為鍍金所產生

接下來觀察加入有機氯化物後溶液的變化。從 pH 值變化來看，如圖 5，整個溶液的 pH 值大約在 8.5~8.9 之間變化，推測由於反應太過微量，造成 pH 值變化不明顯。

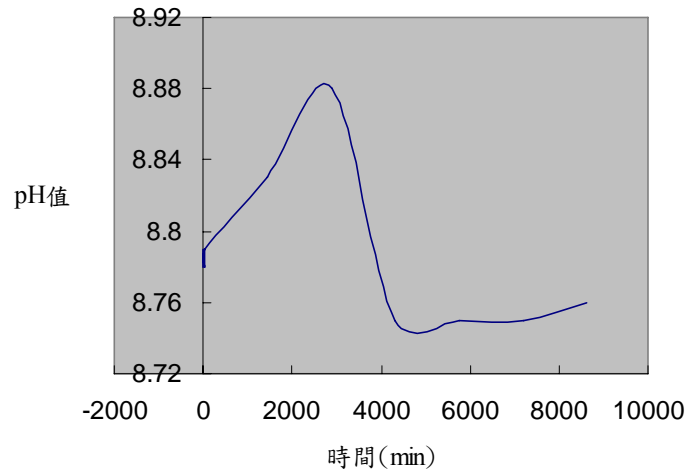


圖 5 pH 值變化圖

從分光光度計來看氯離子濃度變化，根據圖 7，可以很容易看出氯離子明顯增加，而且在第二天開始已經有反應發生，並確定反應有氯離子的生成。

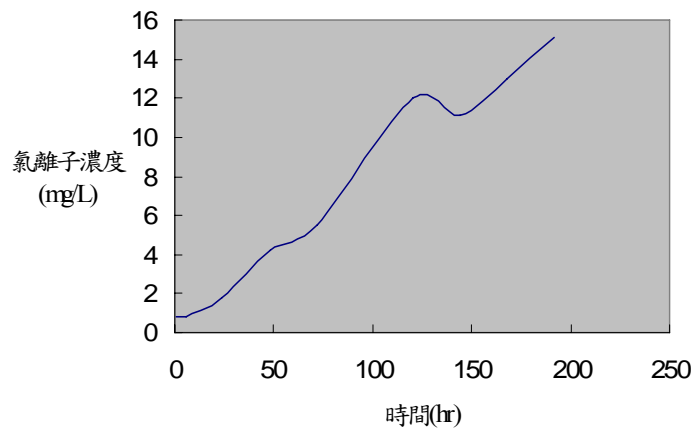


圖 6 氯離子濃度變化圖

在不同時間測量鐵離子的變化，如表二，可以看出在鐵離子濃度方面並沒有明顯增加，若鐵和二氯甲烷發生反應，應該可以看到較大的變化，因此推測鐵和二氯甲烷並不發生反應。

表二 奈米鐵和二氯甲烷之 AA 測試結果

樣品標識	濃度 mg/L	%RSD	平均吸光度
Fe-0	41.8165	1.6	0.0442
Fe-0	41.8463	1.2	0.0439
Fe-20	52.1571	2.1	0.0404
Fe-20	52.5383	2.9	0.0421
Fe-40	54.3166	1.5	0.0432
Fe-40	52.8893	1.9	0.0421
Fe-60	52.2073	2.3	0.0428
Fe-60	50.0498	2.9	0.0419

從氯離子濃度測試可以知道，兩天即可發生反應，因此取反應三天後之樣品來做 IR 測試。由於氯仿以及二氯甲烷在水中溶解度極低，因此水的干擾很大，如圖 7，所得到的兩張圖譜上的 peak 都是屬於水的 peak，因此無法從水溶液相來得到所需要的 IR 圖譜。

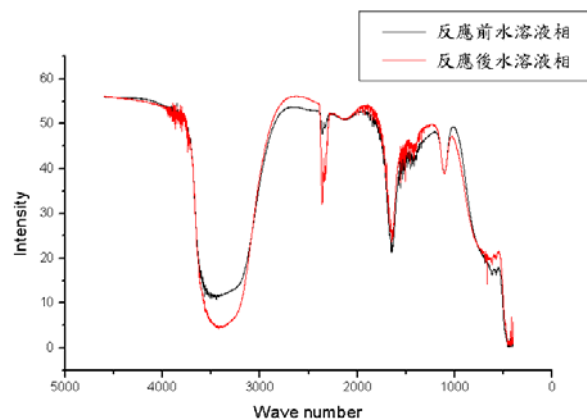


圖 7 反應前與反應三天後之 IR 圖譜

將反應數天後之二氯甲烷之樣品打入 GC，反應前後所得到的 peak 皆為二氯甲烷，因此可以看出二氯甲烷並不會與鐵反應；接著取加入氯仿之樣品打入 GC，對照標準圖譜，如圖 8，明顯得到氯仿以及二氯甲烷的 peak，因此，反應產物應包含二氯甲烷，且二氯甲烷為最終產物。

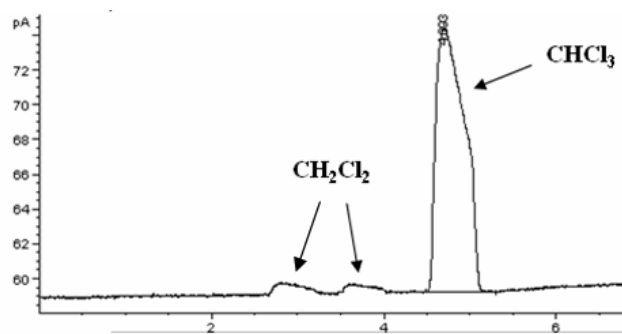
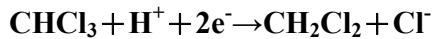
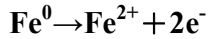


圖 8 氯仿樣品氣相部份之 GC 圖譜

四、 結論

首先，經由 XRD 以及 EDS 圖譜，本文證實了奈米鐵粒子可以由一般的前驅物，如 Fe(II)、Fe(III)來合成。氯仿能夠與鐵發生反應，並生成二氯甲烷，同時也利用 AA 以及 GC 證明二氯甲烷為最終產物；表示有機氯化物可以經由奈米鐵粒子來進行脫氯反應，達到降低毒性，甚至解毒的功能。在整個反應中，氯仿降解為二氯甲烷必定有氫離子與之發生鍵結，但太過微量，因此對 pH 的影響不大。而從分光光度計可以看出氯離子明顯的增加，因此，整個反應方程式可以寫成



，即為最終之反應機制。

參考文獻

1. Butler E. C., Hayes K. F., "Effects of Solution Composition and pH on the Reductive Dechlorination of Hexachloroethane by Iron Sulfide", 1998, Environ Sci. Technol., Vol.32, 1276-1284
2. Cantrell K. J., Kaplan D. I., Wietsma T. W., "Zero-valent iron for the in situ remediation of selected metals in groundwater", 1995, Journal of Hazardous Materials, Vol.42, 201-212
3. Cicco D. A., Berrettoni M., Stizza S., Bonetti E., "EXAFS study of nanocrystalline iron", 1995, Physica B, Vol.208&209, 547-548
4. Clark II C. J., Rao P. S. C., Annable M. D., "Degradation of perchloroethylene in cosolvent solutions by zero-valent iron", 2003, Journal of Hazardous Materials B, Vol.96, 65-78
5. Curri M. L., Agostiano A., Manna L., Monica M. D., Catalano M., Chiavarone L., Spagnolo V., Lugarà M., "Synthesis and Characterization of CdS Nanoclusters in a Quaternary Microemulsion: the Role of the Cosurfactant", 2000, J. Phys. Chem. B, Vol.104, 8391-8397
6. Elliott, D. W., Zhang, W.-X., "Field Assessment of Nanoscale Bimetallic Particles for Groundwater Treatment", 2001, Environ. Sci. Technol., Vol.35, 4922-4926
7. Fennelly J. P., Roberts A. L., "Reaction of 1,1,1-trichloroethane with Zero-Valent Metals and Bimetallic Reductants", 1998, Environ. Sci. Technol., Vol.32, 1980-1988
8. Grittini C., Malcomson M., Fernando Q., Korte N., "Rapid Dechlorination of Polychlorinated Biphenyls on the Surface of a Pd/Fe Bimetallic System", 1995, Environ. Sci. Technol., Vol.29, NO.11
9. Gusmão A. D., Campos T. M. P., Nobre M. M. M., Vargas Jr. E. A., "Laboratory tests for reactive barrier design", 2004, Journal of Hazardous Materials, Vol.110, 105-112
10. Hoser A., Hilbrandt N., Martin M., Denecke M., "In situ XAS-study on transition metal doped metal oxides", 1995, Physica B, Vol.208&209, 321-322
11. Hwang I. and Batchelor B., "Reductive Dechlorination of Tetrachloroethylene by Fe(II) in Cement Slurries", 2000, Environ Sci. Technol., Vol.34, 5017-5022
12. Johnson T. L., Fish W., Gorby Y. A., Tratnyek P. G., "Degradation of carbon tetrachloride by iron metal: Complexation effects on the oxide surface", 1998, Journal of Contaminant Hydrology, Vol. 29, 379-398
13. Johnson T. L., Scherer M. M., Tratnyek P. G., "Kinetics of Halogenated Organic Compound Degradation by Iron Metal", 1996, Environ. Sci. Technol., Vol.30, 2634-2640
14. Kim Y. H., Carraway E. R., "Dechlorination of Pentachlorophenol by Zero Valent Iron and Modified Zero Valent Irons", 2000, Environ Sci. Technol., Vol.34, 2014-2017

15. Kobayashi K., Maruyama H., Maeda H., Iwazumi T., Kawata H., Yamazaki H., "Magnetic EXAFS study of pure Fe and Fe-oxides at Fe K-edge", 1995, *Physica B*, Vol.208&209, 779-780
16. Lien H. L., Zhang W. X., "Enhanced dehalogenation of halogenated methanes by bimetallic Cu/Al", 2002, *Chemosphere*, Vol.49, 371-378
17. Lien H. L., Zhang W. X., "Nanoscale iron particles for complete reduction of chlorinated ethenes", 2001, *Colloids and Surfaces A*, Vol.191, 97-105
18. Li F., Vipulanandan C., Mohanty K. K., "Microemulsion and solution approaches to nanoparticle iron production for degradation of trichloroethylene", 2003, *Colloids and Surfaces A*, Vol.223, 103-112
19. Liu T., Guo L., Tao Y., Hu T. D., Xie Y. N., Zhang J., "Bondlength Alternation of Nanoparticles Fe₂O₃ Coated with Organic Surfactants Probed by EXAFS", 1999, *NanoStructured Materials*, Vol.11, NO.8, 1329-1334
20. Liu Y., Majetich S. A., Tilton R. D., Sholl D. S., Lowry G. V., "TCE Dechlorination Rates, Pathways, and Efficiency of Nanoscale Iron Particles with Different Properties", 2005, *Environ. Sci. Technol.*, Vol.39, 1338-1345
21. Li Y., Liu J., Wang Y., Wang Z. L., "Preparation of Monodispersed Fe-Mo Nanoparticles as the Catalyst for CVD Synthesis of Carbon Nanotubes", 2001, *Chem. Mater.*, Vol.13, 1008-1014
22. Matheson L. J., Tratnyek P. G., "Reductive Dehalogenation of Chlorinated Methanes By Iron Metal", 1994, *Environ. Sci. Technol.*, Vol.28, 2045-2053
23. Monson S. J., Ma L., Cassada D. A., Spalding R. F., "Confirmation and method development for dechlorinated atrazine from reductive dehalogenation of atrazine with Fe⁰", 1998, *Analytica Chimica Acta*, Vol.373, 153-160
24. Sayles G. D., You G., Wang M., Kupferle M. J., "DDT, DDD, and DDE Dechlorination by Zero-Valent Iron", 1997, *Environ. Sci. Technol.*, Vol.31, 3448-3454
25. Shimotori T., Nuxoll E. E., Cussler E. L., Arnold W. A., "A Polymer Membrane Containing Fe⁰ as a Contaminant Barrier", 2004, *Environ. Sci. Technol.*, Vol.38, 2264-2270
26. Suzuki S., Suzuki T., Kimura M., Takagi Y., Shinoda K., Tohji K., Waseda Y., "EXAFS characterization of ferric oxyhydroxides", 2001, *Applied Surface Science*, Vol.169-170, 109-112
27. Volpe A., Lopez A., Mascolo G., Detomaso A., "Chlorinated herbicide (triallate) dehalogenation by iron powder", 2004, *Chemosphere*, Vol.57, 579-586
28. Wang C. B., Zhang W. X., "Synthesizing Nanoscale Iron Particles for Rapid and Complete Dechlorination of TCE and PCBs", 1997, *Environ. Sci. Technol.*, Vol.31, NO.7
29. Wilcoxon J. P., Provencio P. P., "Use of Surfactant Micelles to Control the Structure Phase of Nanosize Iron Clusters", 1999, *J. Phys. Chem. B*, Vol.103, 9809-9812
30. Winkler H., Meyer W., Trautwein A. X., Hegetschweiler K., Nolting H.-F., "EXAFS study on Iron(III) sorbitol complexes", 1995, *Physica B*, Vol.208&209, 733-734
31. Yadav O. P., Palmqvist A., Cruise N., Holmberg K., "Synthesis of platinum nanoparticles in microemulsions and their catalytic activity for the oxidation of carbon monoxide", 2003, *Colloids and Surfaces A*, Vol.221, 131-134

作物地下可食用根部對土壤中鎘之累積吸收

程淑芬¹ 黃金源² 蕭力升³

朝陽科技大學環境工程與管理系^{1,3} 聯勤兵工整備發展中心²

摘 要

植物的地下根部是土壤重金屬進入植物體的主要門戶，土壤中的重金屬污染物質可以藉由植物對水分、養分的吸收及離子交換等作用而進入植物地下根部組織中。本研究針對甘藷、紅蘿蔔及白蘿蔔三種具有地下可食用根部組織的作物，探討其生長過程中各部位組織對重金屬鎘的累積吸收情形，藉此以了解重金屬進入植物可食用根部組織之主要途徑及累積濃度。

研究結果顯示，三種作物之可食用根部組織對重金屬鎘的累積吸收濃度皆遠小於根部組織，重金屬鎘不容易由土壤直接經離子交換累積在可食用根部，主要經由根、莖及葉再輸送到地下可食用根部。在本研究中三種作物之可食用根部組織的鎘含量都遠超過各國的食用作物容許量範圍。

關鍵字：鎘、根菜作物、植物累積

一、前言

近年來台灣農地遭受重金屬污染的事件時有所聞，工業廢水及廢棄物未經妥善規劃、處理及處置為土壤遭受重金屬污染的主要原因。農田遭受重金屬污染的問題需高度受到關注，因重金屬污染物會隨著植物的代謝機制而累積吸附在植物體內。重金屬污染物在生物體內無法分解，透過食物鏈的濃縮放大效應，其對食用者的健康將可能產生相當嚴重的威脅。

鎘是農地污染中常見的污染物，主要用於塑膠安定劑、塗料及漆類之製造。鎘在人體中不易代謝排出，它會累積在人體器官中，主要影響腎臟及骨骼系統。在近年的研究報告中指出，鎘是一種具有高度干擾內分泌系統的物質，被列為是一種環境荷爾蒙。文獻報告中指出，鎘是八種重金屬中最容易被植物吸收者，鎘在作物中之移性相當大，當鎘被作物根部吸收後，容易轉移至莖、葉等其它部位(Kabata-Pendias and Pendias, 2001; Lin and Chiou, 1990)。植物體內積存過量的鎘會影響其生長及代謝(Barber and Brennan, 1974)。鎘在某些化學特性上與鋅、錳相當接近，可以取代鋅、錳離子的作用位置，抑制酵素的活性，導致植物體會有枯萎、發黃及矮小等現象(Taiz and Zeiger, 2002)。

研究報告中指出，葉菜類作物對於鎘的累積能力較高；穀類作物的穀粒對於鎘之累積能力較低(Chen et al., 2004)。土壤重金屬主要藉由植物對水分、養分的吸收、陽離子交換作用、形成螯合物或經由攜帶物質由根部吸收進入植物體內(Evanko and Dzombak, 1997; Taiz and Zeiger, 2002)。植物根部組織會釋放出一些低分子量有機酸，如 acetic、oxalic、fumaric、citric 及 tartaric acid 等，容易與土壤中的重金屬形成溶解性的複合物或螯合物，能夠改變重金屬的移動性，使植物根部組織容易吸收重金屬(Mench and Martin, 1991; Taiz and Zeiger, 2002; Chen et al., 2003)。研究報告指出，重金屬在植物根部的累積濃度要較莖葉高出許多，

Silene vulgaris 及 *Elsholtzia splendens* 兩種植物其 root 對銅的累積濃度較 shoot 分別高出 11 倍及 30 倍(Song et al., 2004); *Phragmites australis* 其根部對銅的累積濃度較 shoot 可以高出 5 至 65 倍(Ye et al., 2003)。

根菜類作物如 sweet potato (*Ipomoea batatas* L.)、carrot (*Daucus carota* L.) 及 radish(*Raphanus sativus* L.) 其主要食用部位生長於土壤之中，亦屬於根部組織，與土壤中的重金屬直接接觸，重金屬可能由食用根部表面直接進入食用根部中。除此之外，食用根部是營養儲存器官，重金屬可能隨著葉部光合作用所合成的養分輸送到食用根部儲存。因此對於根菜類作物，重金屬鎘在植體各部位及食用根部的累積吸收情形是否有別於一般葉菜類植物，是本研究要探討的主題。

二、材料與方法

2.1 植物栽種方法

本研究選擇甘藷、紅蘿蔔及白蘿蔔三種經常食用之根菜類植物做為研究對象，探討其各部位組織對重金屬累積吸收能力之變化。三種作物分別栽種於受重金屬鎘污染土壤之中。試驗用受污染的土壤取自台灣中部虎尾鎮一處受鎘污染的農田，其土壤中鎘的濃度平均為 247.4 mg kg^{-1} 。

一面積約 40 m^2 的土地，挖去其上方 30 cm 深的表面土壤，改填入試驗用之鎘污染土壤。所有土壤在種植作物前均先添加有機肥進行調理。甘藷的種植選在秋季，採用植苗法，選擇先端苗進行栽種，種植時植株的間距約 25 cm，栽種 50 株。紅蘿蔔及白蘿蔔採用播種的方式種植，每種作物種植面積各約 3 m^2 ，播種個數約 600 粒種子，播種時間在秋季 9 月，於植株食用根部發育時，株距平均維持在 10 cm 以上。

2.2 採樣及分析

甘藷於種植後第 60 天進行第一次採樣，之後每隔 20 天採樣一次。紅蘿蔔及白蘿蔔於發芽後每隔 20 天採樣一次。每次採樣均採取三個相同樣品進行重複分析，採樣方式以平均隨機採樣方式，使採樣植株平均分佈在栽種面積中。

每個植物樣品切分為根、莖、葉及地下可食用根部，分別量測其重量、水分含量及重金屬鎘含量。重金屬鎘之萃取採用王水消化法。取 3 g 乾燥後的樣品，先經 300°C ，1 個小時的高溫灰化後，以 3:1 鹽酸和硝酸的混合液於室溫進行 16 小時的消化，經過濾後，濾液再以火焰式原子吸收光譜儀(Variance, AA 220)進行鎘濃度分析。

三、結果與討論

3.1 重金屬鎘在植物體各部位組織的累積變化

圖 1. 為甘藷、紅蘿蔔及白蘿蔔三種根菜類作物在生長期間其各部位組織對重金屬鎘累積濃度的變化情形，本研究發現三種作物的結果有相當多的共同處，三種作物其各部位組織大都以根部所含的重金屬濃度最高，三種作物其根、莖、葉各部位組織的鎘含量會隨著種植時間而逐漸累積升高，在其地下可食用根部組織開始增長前後，根部組織對鎘的累積吸收濃度會達到最高，而莖、葉部的鎘含量也隨之增加，在三種作物的生長末期，其根、莖、葉各部位組織的質量會有減少的趨勢，而其各部位的鎘含量會明顯的降低。三種作物之地下可食用根部雖直接與土壤接觸，亦同屬根部組織，但其對鎘的累積

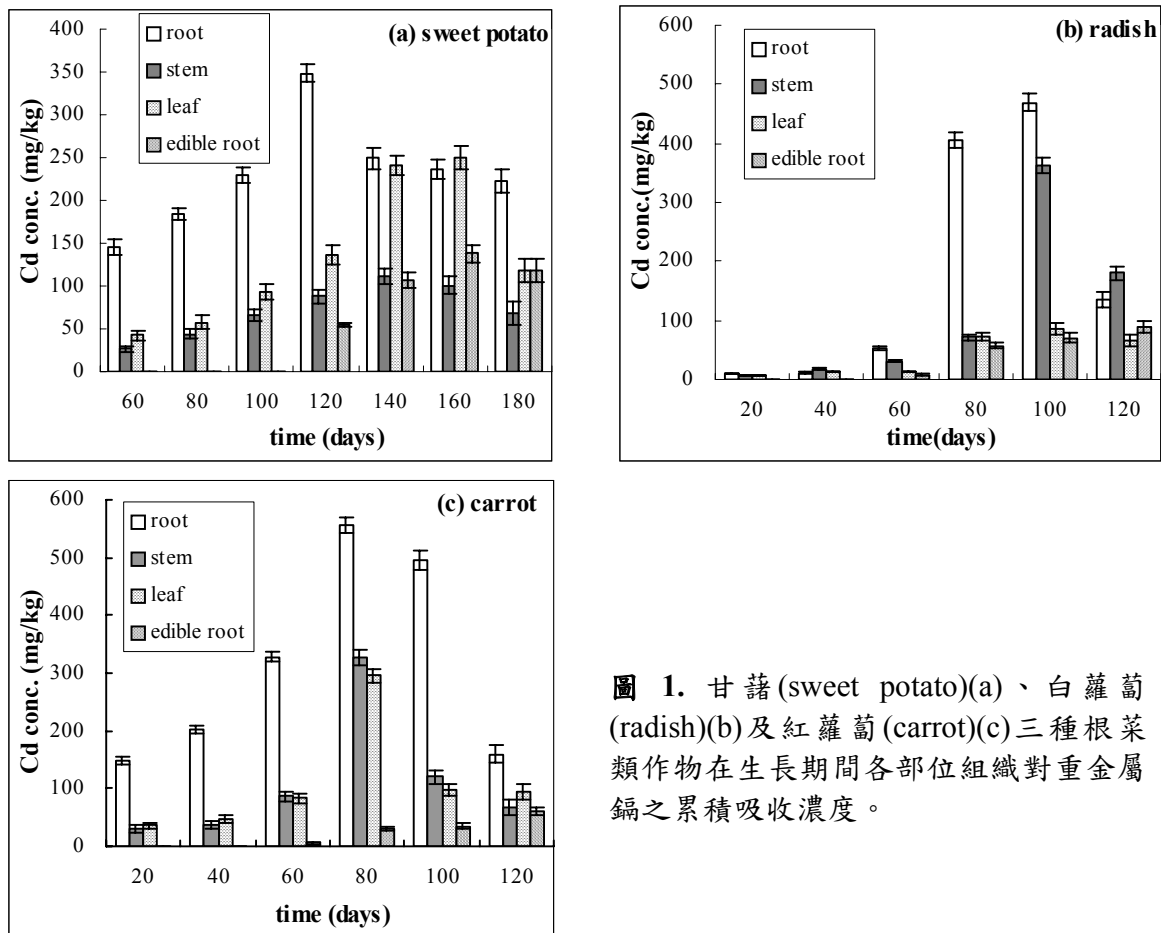


圖 1. 甘藷 (sweet potato)(a)、白蘿蔔 (radish)(b) 及紅蘿蔔 (carrot)(c) 三種根菜類作物在生長期間各部位組織對重金屬鎘之累積吸收濃度。

吸收情形與根部組織不同，雖然其對鎘的累積濃度隨時間同樣有增加現象，但其增長速率較慢，累積濃度與根部組織仍有相當大的差距，其對鎘的累積與根、莖、葉各部位鎘濃度的消長變化相關，似乎顯示大部份的鎘是經由根、莖、葉再傳輸到地下可食用根部，並非直接自土壤中吸收進入。

3.2 鎘在食用根部中的累積情形

甘藷、紅蘿蔔及白蘿蔔三種根菜類植物，其主要可食用根部在污染土壤中對重金屬鎘的累積吸收情形如圖 1 所見。鎘在三種根菜類植物的食用根部含量隨生長時間逐漸的累積增加；白蘿蔔在 80 天左右即可採收食用，其在第 80 天時，食用根部組織的鎘含量平均為 57.5 mg kg^{-1} ，至第 120 天時，其累積濃度平均達 89.5 mg kg^{-1} 。在三種作物中，紅蘿蔔食用根部對鎘的累積濃度最低，在第 120 天時，其平均累積濃度為 60.1 mg kg^{-1} 。甘藷的食用根部在三種作物中對鎘之累積吸收能力最強，在栽種第 120 天，第一次所採得的樣品中，其鎘含量平均即高達 53.7 mg kg^{-1} ，此後隨生長時間快速的累積，在第 160 天時，累積濃度達到最高，平均為 137.6 mg kg^{-1} ；在第 180 天時，平均累積濃度略下降至 118.3 mg kg^{-1} ，其主要原因據文獻中指出 (Taiz and Zeiger, 2002)，植物在生長末期不會再由根部大量吸收土壤中的水分、養分包括重金屬鎘，因此會開始出枯黃凋萎的現象。本研究之甘藷在第 180 天時，其植株的根、莖、葉各部份已開始枯黃凋萎，根、莖、葉平均質量下降，但食用根部

質量仍持續在增長。此時可能因根部對鎘的吸收速率已逐漸降低，因此使得第 180 天時食用根部的平均鎘濃度下降。

3.3 食用之安全性

參考世界各國對作物中重金屬鎘的容許限量，大都在 0.05 至 1.0 mg kg⁻¹ 之間，如德國對蔬菜的容許限值為 0.05 mg kg⁻¹，穀物為 0.1 mg kg⁻¹ (Chen et al., 2004)；日本對稻米的最大容許限值為 1.0 mg kg⁻¹ (Asami, 1981)，瑞士對蔬菜及水果的容許限值為 0.1 mg kg⁻¹ (Avigdor, 1987)。本研究所栽種的三種根菜類植物，其食用根部所累積的鎘濃度都遠超過世界各國對作物之容許限值。依據世界糧食組織 (FAO) 及世界衛生組織 (WHO) 所推薦之每日容許之鎘攝取量為 1 μg kg⁻¹ (Chen et al., 2004)，對一個平均體重 60 kg 的人，其每日所能容許攝取之鎘量為 60 μg，以本研究污染土壤所栽種的甘藷、carrot 及 radish 估算，每人每日所容許之食用量不到 1 g，顯示其非常不適合食用

四、結論與建議

甘藷、紅蘿蔔及白蘿蔔三種根葉類作物，其食用部位雖與土壤直接接觸且同屬根部組織，但其對重金屬的累積吸收濃度都低於根部組織。雖然三種作物其地下可食用根部直接自土壤中吸收重金屬的能力不高，但經由根、莖、葉的輸送累積，其濃度逐漸升高，甘藷在最後採收時，其累積濃度已高達 118.3 mg.kg⁻¹；紅蘿蔔為 60.1 mg.kg⁻¹；白蘿蔔為 89.5 mg.kg⁻¹，均已遠遠超過世界各國對作物中鎘的容許範圍，對食用者的健康將有很大威脅。

五、參考文獻

- Asami, T., Maximum allowable limits of heavy metals in rice and soils. In: Kitagishi, K., Yamane, I. (Eds.). Heavy Metal Pollution in Soils of Japan. Japan Scientific Society Press, Tokyo, Japan, 1981, pp. 257-274.
- Avigdor, L.T., Food contaminants: safety and regulatory aspects. Swiss Food 9, 1987, 13-35.
- Barber, A., Brennan, E., Phytotoxic effects of cadmium. Phytopathology 64, 1974, pp. 578-586.
- Chen, Y.X., Lin, Q., Luo, Y.M., He, Y.F., Zhen, S.J., Yu, Y.L., Tian, G.M. and Wong, M.H., The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil. Chemosphere 50, 2003, pp. 807-811.
- Chen, Z.S., Lai, H.Y., Tsai, C.C. and Lee, C.H., Heavy metal concentrations affect crop quality and phytoremediation of heavy metal-contaminated rural soils. In: Ho, C.C., Tzeng, C.C., Yang, J.T. and Wang, S.C. (Eds.). Proceedings of the Symposium of Innovative Strategy on Plant Protection- Agricultural Productivity, Product Safety and Environmental Protection. Taichung, Taiwan, 2004, pp. 157-182.
- Evanko, C.R. and Dzombak, D.A., Remediation of Metals-Contaminated Soils and Groundwater. Technology Evaluation Report, TE-97-01, Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center, 1997.
- Kabata-pendias, A. and Pendias, H., Trace elements in soil and plants. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA., 2001.
- Lin, H.C. and Chiou, C.K., Response of lettuce, mustard, rice and corn crops to cadmium treatment. Proceeding of the 2nd workshop of Soil Pollution Prevention, 1990, pp. 257-272.

- Mench, M. and Martin, E., Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates of *Zea may. L.*, *Nicotiana tabbacum L.*, and *Nicatiana rustica L.*, Plant and soil 137, 1991, pp. 187-196.
- Song, J., Zhao, F.J., Luo, Y.M., McGrath, S.P. and Zhang, H., Copper uptake by *Elsholtzia splendens* and *Silene vulgaris* and assessment of copper phytoavailability in contaminated soils. Environmental Pollution 128, 2004, pp. 307-315.
- Taiz, L. and Zeiger, E., Plant Physiology. Sinauer Associates, Massachusertts, 2002.
- Ye, Z.H., Baker, A.J.M., Wong, M.H. and Willis, A.J., Copper tolerance, uptake and accumulation by *Phragmites australis*. Chemosphere 50, 2003, pp. 795-800.

鄰苯二甲酸酯類化合物與其衍生物對離子管道受器之影響

The Effects of Phthalates and its Derivatives on P2X Ion Channel Receptor

陳姿吟、孫士閔、陳依吟、劉佩珊
東吳大學微生物學系

摘要

鄰苯二甲酸酯類化合物 (phthalate esters, PAEs) 具有類雌激素效應 (estrogen-like activity)，會和雌激素競爭雌激素受器結合位，並且影響受器所連結的基因調控(Harris, et al., 1997)，因此被稱為環境賀爾蒙。雌激素除了透過雌激素受器調控生理外，細胞膜上之尼古丁受器(nicotinic acetylcholine receptor, nAChR)及 P2X receptor 亦為其調控對象(Arias, et al., 2000)。過去我們實驗室發現多種 PAEs 可影響 nAChR 所連結的功能 (Liu et al., 2002; 2003; Lu et al., 2004)。本實驗室先前的研究發現，不同結構的 phthalates 對由 nAChR 的抑制能力不同 (Liu et al., 2004)，抑制能力隨烷基長度而成鐘型圖，無論在牛腎上腺髓質嗜鉻細胞或人類神經腫瘤細胞 (SH-SY5Y) 上 Butyl Benzyl Phthalate(BBP) 的抑制效果都是最好的。本實驗欲研究 BBP 對 P2X receptor 訊號之影響，結果發現以老鼠的腎上腺髓質嗜鉻細胞 PC12 細胞為材料時，BBP 對 P2X receptor 訊號有良好抑制作用， IC_{50} 為 $8 \mu M$ ，以人類骨肉瘤 HOS 細胞為材料時，BBP 對 P2X receptor 訊號之 IC_{50} 為 $156 \mu M$ ，在此我們也發現 BBP 會影響 HOS 細胞之增生與存活，且干擾 ATP 對增生與存活的調控。

關鍵字：鄰苯二甲酸酯類化合物、P2X 受器、人類骨肉瘤 HOS 細胞、老鼠的腎上腺髓質嗜鉻細胞 PC12 細胞

一、前言

鄰苯二甲酸酯類化合物 (phthalates) 的主要結構為 1,2-benzene-dicarboxylic acid，依其 carboxylic acid group (-COOR) 上之烷基碳數不同有各種衍生物，在工業上作為塑化劑 (plasticizer)，主要運用於聚氯乙烯 (polyvinyl chloride, PVC) 的製造過程，可使塑膠製品軟化、具有延展及可塑性，此外油漆、墨水、紙袋等物品亦含有，是最大宗人類環境污染物(歐瑞，1996)。然而 phthalates 並沒有以共價鍵結於塑膠製品上，因此隨著塑膠製品的製造、使用與廢棄過程中會約有 1% 的 phthalates 會釋放到環境中進而污染食物或水體。根據美國環保署的調查，一般人體的暴露量約為 $30mg/kg/day$ ($0.1mmole/kg/day$)。phthalates 會與雌激素競爭雌激素受器 (estrogen receptor, ER)，並且有類雌激素反應(Harris, et al., 1997)。雌激素除了透過 ER 調控生理外，細胞膜上之尼古丁受器(nicotinic acetylcholine receptor, nAChR)及 P2X 亦為其主要調控對象(Arias, et al., 2000)。過去我們實驗室發現，多種 phthalates 可影響 nAChR，於此研究中探討 phthalates 對 P2X receptor 之影響。P2X receptor 屬於 Purinergic receptor family，且和 nAChR 同屬於 Ligand-gated ion channel，P2X receptor 共有七種亞型 (P2X₁~P2X₇)，廣泛分部於許多細胞與組織上，如神經系統、肌肉細胞、血球細胞、骨細胞、肝細胞等；於周邊神經系統上，P2X 受器主要負責痛覺及嗅覺的訊號傳遞。此論文以

PC12 細胞株及為材料，以 Butyl Benzyl Phthalate (BBP)作為 phthalates 的代表，探討 BBP 對 P2 受器功能之影響，而後探討 phthalates 對骨細胞生長存活之影響。

二、材料與方法

1. 藥品：BBP,98%及其他 phthalates 購自 Tokyo Kasei Kogyo co., LTD。Fura-2 acrotoxymethyl ester (Fura-2/AM) 購自 Molecular Probes co., LTD。Medium 及血清購自 GibcoBRL。ATP、EGTA 等 購自 Sigma Chemical Co.。

2.細胞內鈣離子濃度的測定(Grynkiewicz et.al. 1985)：將細胞填充 10 μ M Fura-2，置於 37 $^{\circ}$ C 水浴槽中震盪培養 40 分鐘，用 buffer 洗兩次，進行實驗。使用 340 nm 及 380 nm 激發，測量放射 505 nm 的變化情形，在定點時間加入測試藥物實驗時，經由公式算得細胞內鈣離子濃度變化。

3. PC12 細胞及 HOS 細胞培養方法與條件(Bradford, 1976)：HOS 及 PC12 細胞株購自 ATCC。PC12 細胞培養在塗有 poly-L-lysine 的培養皿上，人類骨癌細胞培養在含有 2mM L-glutamine 和 Earle' s BBS 的 MEM 中 10% fetal bovine serum，以 trypsin-EDTA 進行繼代培養，培養條件皆為 37 $^{\circ}$ C,5%CO₂ 培養箱中，每二到三天更換一次培養基。

三、結果及討論

1. BBP 對 purinergic P2 受器連結鈣訊之影響

P2 受器有 P2X 及 P2Y 二亞型，P2X 連結離子管道，引起細胞外鈣離子流入細胞，P2Y 連結 G 蛋白，引起細胞內胞器釋鈣(Chen et al., 1995)，ATP 為 purinergic P2 受器之刺激物，當人類骨肉瘤 HOS 細胞及老鼠的腎上腺髓質嗜鉻細胞 PC12 受到 100 μ M ATP 刺激時，細胞內鈣離子濃度快速上升現象（圖二），簡稱為鈣訊。在二種細胞上，ATP 在無細胞外鈣離子時皆引起很小的反應（data not shown），因此細胞上皆以 P2X 受器為主。BBP 會抑制 ATP 所引發之鈣訊(圖二)；此抑制作用具有濃度的依存性，在 HOS 細胞上 IC₅₀ 為 156 μ M，在 PC12 細胞上 IC₅₀ 為 8 μ M。

2.其他 phthalates 對 purinergic P2 受器連結鈣訊之影響

使用支鏈長度不同的 phthalates，碳鏈由 2 碳至 8 碳排列。以 ATP 100 M 的反應為淨值，看 phthalate 對 ATP receptor 連結鈣訊之影響。在 PC12 細胞上以 DPP 的抑制效果最佳(圖二)，BBP 次之，其餘 phthalate 也有抑制效果；此結果類似於實驗室之前 phthalates 對另一個離子管道型受器—尼古丁受器之作用 (Liu et al., 2002)。在 HOS 細胞上 DPrP 以及 DBP 有較大的抑制效果，其餘待測試中 (data not shown)。

3. BBP 長期毒性分析

於 PC12 細胞上，BBP 至 1mM，40 小時尚無任何毒性；於 HOS 細胞上，10 μ M BBP 處理 40 小時後，細胞數約增加 20 %，250 μ M 則對細胞數約減少增加 40 % (圖三)，由於二株細胞相同的為其上皆具有 P2X 受器，因此進一步探討 BBP 對細胞增生存活之影響與 P2X 受器之相關性。

ATP 處理 HOS 細胞，發現 100 μ M ATP 可引起細胞增加 40%，而 200 μ M 則造成 30% 的減少，BBP 使得 ATP 可引起細胞增加消失，但對 ATP 降低細胞數的效果則無影響。

4. 總結

BBP 對 P2X 受器連結反應有抑制效果，其效果以在神經細胞上為最顯著，但對細胞的存活增生上，則以於骨細胞上為最顯著。

四、參考文獻

Arias H. R. 1998. Noncompetitive inhibition of nicotinic acetylcholine receptors by endogenous molecules. J Neurosci Res. **52**: 369-379

[Bradford DS](#), [Schumacher WL](#), [Lonstein JE](#), [Winter RB](#). 1987. Ankylosing spondylitis: experience in surgical management of 21 patients. Spine. **12**(6):590-592.

Chen ZP, Levy A, Lightman SL. 1995. Nucleotides as extracellular signalling molecules. Neuroendocrinol. **7**(2):83-96.

European Council of Plasticizers and Intermediates. Phthalate esters used in plasticized PVC: Assessment of the release occurrence and possible effects of plasticizers in the environment. CEFIC, Brussels, Belgium. 1996.

Gray L. E. Jr., Ostby J., Price M., Veeramachaneni D. N., and Parks L. (2000). Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. Toxicology science. **58**(2):350-365

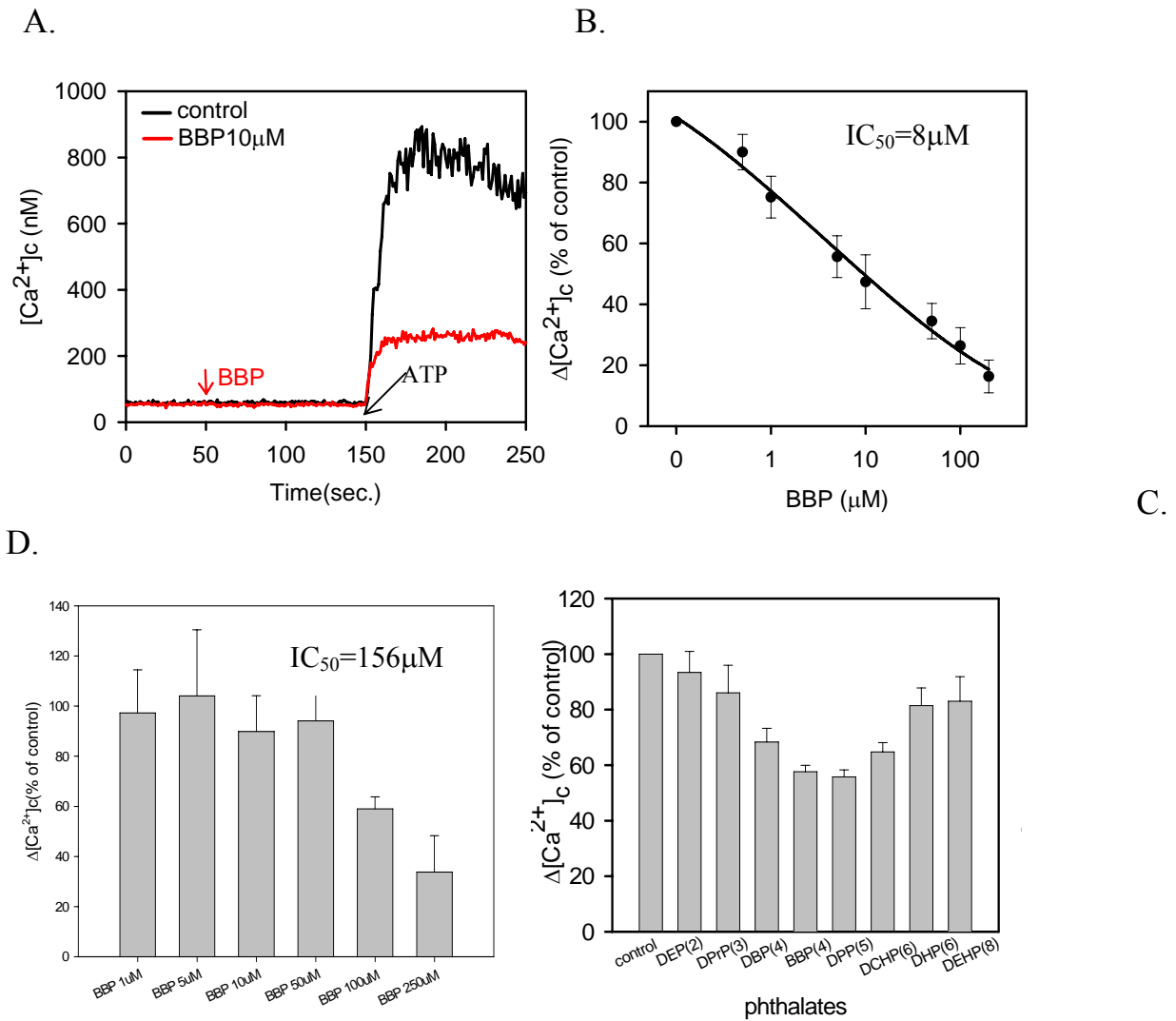
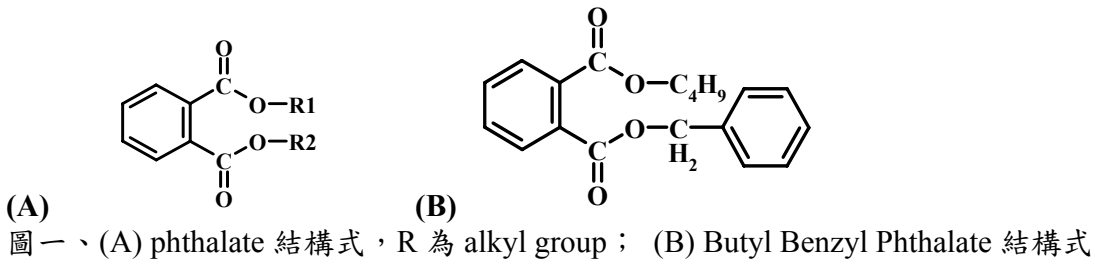
Harris C. A., Henttu P., Parker M. G., and Sumpter J. P. 1997. The estrogenic activity of phthalate esters *in vitro*. Environmental Health Perspectives. **105**: 802-811

Liu P. S., and Lin C. M. 2002. Phthalates suppress the calcium signaling nicotinic acetylcholine receptor in bovine adrenal chromaffin cells. Toxicology and Applied Pharmacology. **183**: 92-98.

Liu P. S., Lin C. M., Kao L. S., and Tseng F. W. 2003. Butyl benzyl phthalate blocks Ca²⁺ signaling and catecholamine secretion couple with nicotinic acetylcholine receptors in bovine adrenal chromaffin cells. Neurotoxicology. **24**(1): 97-105

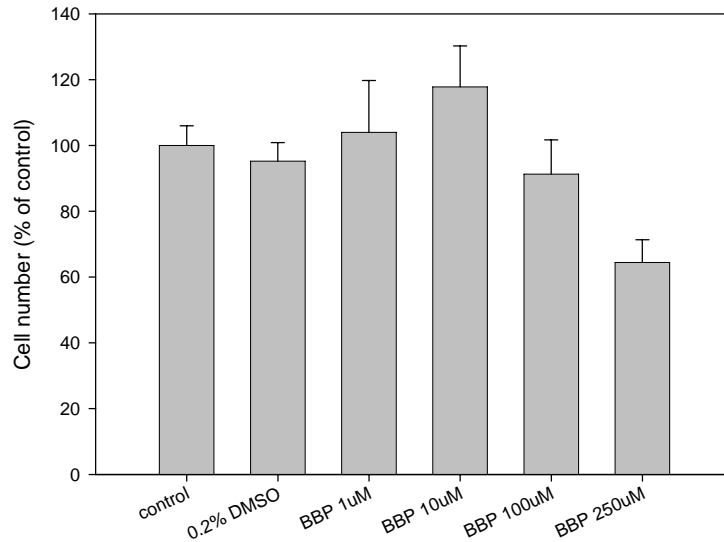
Lu K. Y., Tseng F. W., Wu C. J., and Liu P. S. 2004. Suppression by phthalates of the calcium signaling of human nicotinic acetylcholine receptors in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. Toxicology. **200**: 113-121

五、圖

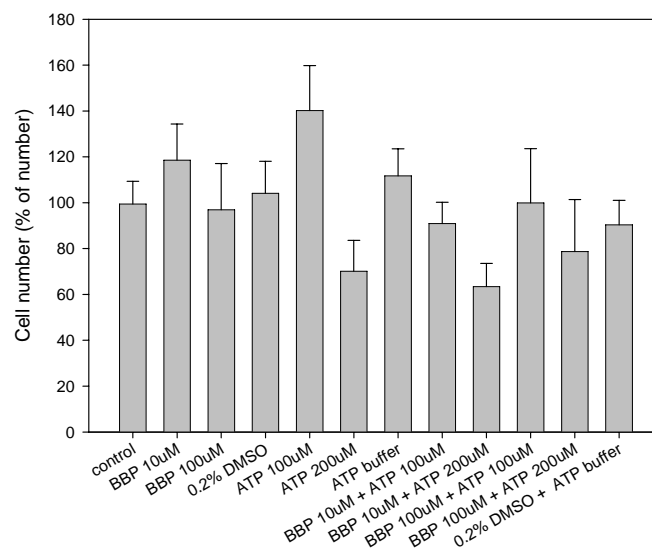


圖二. 老鼠腎上腺髓質嗜鉻細胞 PC12 上(A,B,D)及人類骨肉瘤細胞 HOS 上(C),BBP 對 ATP 受器連結鈣訊之影響。(A)、fura-2 填充之 PC12 細胞以 100 μMATP 刺激 (↓ATP), 於 ATP 刺激前 100 秒時加入 10 μM BBP (紅, ↓BBP), 或等體積之 DMSO(黑)。(B)、不同濃度 BBP 對 ATP 之反應濃度依存曲線(PC12 細胞); 以 ATP 引起 $[Ca^{2+}]_c$ 上升之淨值 (反應前後之差值) 為 100%, IC_{50} 為 8 μM, n=4。(C) BBP 對 ATP 受器連結鈣訊之影響(HOS 細胞), IC_{50}

為 156 μM ， $n=3$ 。(D)八種 phthalates(10 μM ，DEP、DPrP、DBP、BBP、DPP、DCHP、DHP、DEHP)對 ATP 受器連結鈣訊之影響， $n=3$ 。



圖三、人類骨肉瘤HOS細胞長期曝露BBP之毒性分析。細胞經不同濃度BBP 曝露40小時後，添加10 μl MTT進行染色後，進行波長590nm與690nm吸光測定，代入吸光值對細胞數之標準曲線，計算細胞存活率。



圖四、人類骨肉瘤 HOS 細胞長期曝露 BBP 之毒性分析。細胞經不同濃度 BBP 以及 ATP 暴露 40 小時後，添加 10 μl MTT 進行染色後，進行波長 590nm 與 690nm 吸光測定，代入吸光值對細胞數之標準曲線，計算細胞存活率， $n=5$ 。

以果蠅 Glutathione-S- transferase D gene family mRNA 的即時定量，作為環境毒化物-苯胺之生物暴露指標的評估

The assessment of quantification of gene expression of Glutathione-S- transferase D family genes from *Drosophila melanogaster* by real-time PCR technology as an exposure biomarker of the environmental toxic-aniline

詹文喬*

簡一治*

簡正一**

*國立彰化師範大學生物學系 **私立逢甲大學環境工程與科學學系

摘要

苯胺是工業上常用的合成原料，也是造成環境汙染的物質之一，不當的處理含有苯胺的工業污水非但造成環境危害，甚至對生物體的生命造成威脅。本研究的方向是以生物體暴露在環境毒害物--苯胺之下所導致生理生化的變異，顯示環境毒害的程度。試驗的對象為果蠅 *Drosophila melanogaster*，探討果蠅體內解毒基因 glutathione S-transferase D(*gst D*) gene family 中，*gstD1* 到 *gstD10* 的 10 個成員基因對於苯胺在不同時間及劑量的處理下的基因表現量，即利用 Real-time PCR 技術對 *gstD1* 到 *gstD10* mRNA 作精確的定量，藉以透過這一系列基因表現量的變化來反映果蠅受到苯胺毒害的影響，建立苯胺的暴露與生物體 glutathione S-transferase gene 表現量之間的劑量反應關係(Dose-response relationship)。結果中顯示，*gstD1*、*D2*、*D5*、*D6* 及 *D7* 在 LD₅₀ 劑量暴露不同時間下，基因表現量有顯著的提高，對於生物體而言，*gst D* gene family 中的成員可能以合作的關係對苯胺入侵生物體進行解毒作用；此外 *gstD1*、*D2* 及 *D5* 表現倍數的增加與劑量的提高呈現正向的相關。因此果蠅 *gstD1*、*D 2* 及 *D5* 在基因表現量的改變有劑量依賴的關係，對於監測環境汙染程度及生物體受毒害程度，是有潛力作為有效的生物指標。

關鍵字: 苯胺、黃果蠅、*GstD* gene family, Real-time PCR、生物暴露指標

導論

苯胺是一種普遍的化工原料，為聚氨酯的重要組分，已知是一高污染高毒性環境毒害物。本研究的方向是以生物體暴露在苯胺之下所導致生理生化的變異，顯示環境毒害的程度。試驗的對象為果蠅 *D. melanogaster*，探討果蠅體內 glutathione S-transferase D gene family 中，*gstD1* 到 *gstD10* 的 10 個成員基因(Chelvanayagam et al., 2001; Sawicki et al., 2003) 對於苯胺在不同劑量及時間的處理下的基因表現量，由於生物體內 glutathione S-transferase 為參與進行解毒反應 phass II 中不可或缺的重要反應酵素，在生物體遭受毒物入侵時，發揮解毒機制，對生命產生自我保護抵禦外來度誤的迫害。利用 Real-time PCR 技術對 *gstD1* 到 *gstD10* mRNA 作精確的定量，因此可以透過這一系列基因表現量的變化來反映果蠅受到苯胺毒害的影響，建立苯胺的暴露與生物體 glutathione S-transferase gene 表現量之間的劑量反應關係(Dose-response relationship)。利用果蠅 glutathione S-transferase gene 與環境汙染間的關係作為生物指標，評估苯胺對於生物體的閾值及容許限度，提供苯胺汙染對生物及環境安全性評估資料，此乃作為執行環境中有機汙染物之危害評估必要參考之數據。

材料與方法

一、果蠅培養(*Drosophila culture*)：

本實驗所培養之果蠅為黃果蠅(*Drosophila melanogaster* Oregon-R strain)於彰化師範大學生物系分子生物研究室以標準玉米培養基培養繁殖。

二、毒性處理試驗方法(Toxicity experiments)：

第一階段：以 5%蔗糖水作為溶液，等體積 DMSO(SIGMA)作為苯胺的助溶劑(V/V)，分別將苯胺製備成四濃度(0.1%，0.4%，0.7%及 1%)。將濾紙置於果蠅培養瓶中，取四種不同濃度 400 μ l 製備溶液滴於濾紙上，將飢餓 12 小時果蠅成蟲短暫處理四小時，隨後將果蠅轉置標準培養基中 12 小時。將短暫處理四小時的個別存活及死亡個體數紀錄下來，總共處理的蟲數 0.1% 2,400 隻；0.4% 2,460 隻；0.7% 2,520 隻及 1% 2,620 隻，最後以線性迴歸估算其 LD₅₀ 的濃度。

第二階段：以第一階段所計算之 LD₅₀ 濃度(=0.5%)，分別處理果蠅 0.5、1、2、4、6、8、10、12、24 及 48 小時並收集處理後存活之成蟲，存活之成蟲抽其 RNA，反轉錄成 cDNA，之後以 real-time PCR 偵測 *gstD1* 到 *gstD10* 的基因表現量，並進行至少三次重覆；之後選擇十個處理時間點之果蠅體內 Glutathione S-Transferase D genes 表現量最高的時間點五種苯胺濃度(0.3%，0.35%，0.4%，0.45%及 0.5%)進行處理，並且收集處理後存活之成蟲，並以 real-time PCR 偵測 *gstD1* 到 *gstD10* 的基因表現量，且進行至少三次重覆。

三、RNA 萃取及純化(Isolation and purification of RNA)：

將毒性處理後所存活隻果蠅成蟲以 TRI Reagent(Molecular Research Center)進行 RNA 萃取。

四、反轉錄製備 cDNA(Reverse transcription , RT)：

cDNA 的製備是根據廠商提供的方法(Invitrogen™ Life Technologies)。

五、即時定量聚合酶連鎖反應(Real-time Quantitative PCR)：

GstD1，*D3*，*D7*，*D10* 及 *rp49* 採用 LightCycler FastStart DNA master SYBR Green I (Roche Molecular Biochemicals)進行即時定量聚合酶連鎖反應；而 *gstD2*，*D4*，*D5*，*D6*，*D8*，*D9* 及 *rp49* 則以 *Taqman* Probe 進行即時定量聚合酶連鎖反應。其基因表現相對量則以比較性 Ct 法分析(Comparative Ct method)計算之。

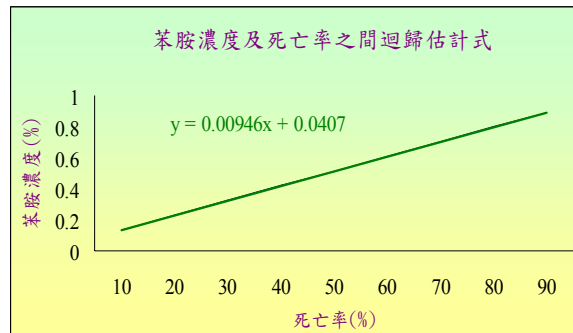
比較性 Ct 法的計算方法，是以校正者(calibrator 即未經處理的樣本)作為相對參考樣本。偵測每一 cDNA 樣本的目標基因(Target gene)(*gst D* family genes)和參考基因(reference gene)(*rp49*) 的 Ct 值。參考基因作為內部控制組，可以標準化每一個反應中加入樣本濃度及反應時的效率不同，計算出 Δ Ct(Δ Ct = target gene Ct-internal gene Ct)(Ginzinger, 2002；Lehmann and Kreipe, 2001)。再將實驗樣本的 Δ Ct 減去校正者的 Δ Ct 即可得到 $\Delta\Delta$ Ct ($\Delta\Delta$ Ct = experimental Δ Ct-calibrator Δ Ct)(Lehmann and Kreipe, 2001)。將每一組實驗樣本經 internal 標準化後，相對於 reference 所計算出的目標基因表現量為 $2^{-\Delta\Delta$ Ct} 倍(Lehmann and Kreipe, 2001)。

不同時間點的 *gstD* 基因表現量的比較則以 ANOVA 加上 Tukey Post Hoc test ($\alpha = 0.05$) 進行統計分析。

結果與討論

一、苯胺處理 LD₅₀ 的建立:

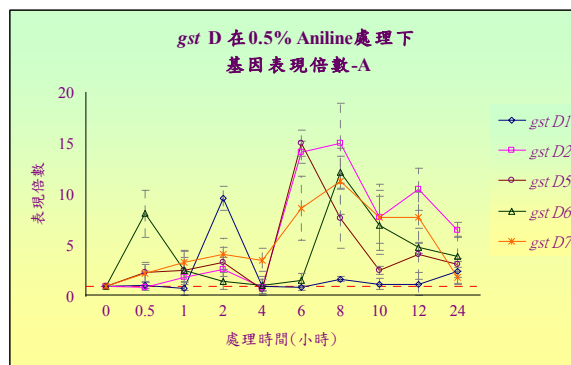
以四個濃度處理果蠅建立的迴歸方程式是 $y=0.00946x+0.0407$ (見圖一)，計算出的 LD₅₀ = 0.513%



圖一

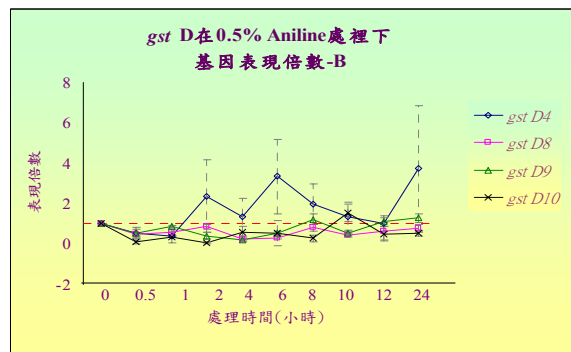
二、*gstD1* 到 *gstD10* 對於苯胺在不同時間的處理下的基因表現量:

以 0.5% 苯胺分別處理成蟲 0.5、1、2、4、6、8、10、12、24 及 48 小時，存活之果蠅其 *gstD1*、*D2*、*D5*、*D6*、*D7* 基因表現量有被誘導上升，*D1* 的高峰出現在 2 小時；*D2* 出現在 6-8 小時；*D5* 出現在 6 小時；*D6* 出現在 0.5 及 8 小時；而 *D7* 出現在 8 小時 (圖二)。*D1* 及 *D6* 對於苯胺的刺激是早期反應者，而 *D2*、*D5*、*D6* 及 *D7* 是晚期反應者。



圖二

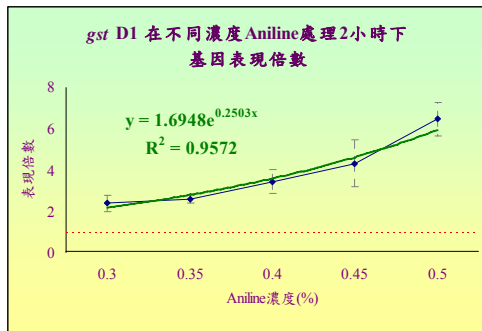
gstD4、*D8*、*D9* 及 *D10* 則在苯胺的刺激下，基因的表現反而呈無誘導或抑制的現象 (圖三)。此外值得注意的是測不到 *gstD3* 基因的表現。



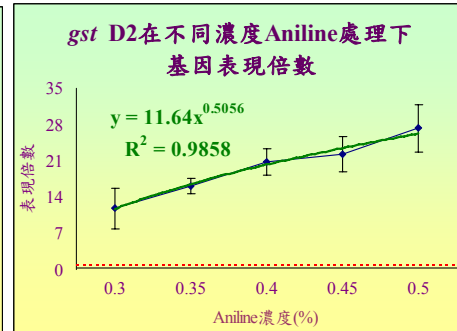
圖三

三、*GstD1*、*D2*、*D5* 及 *D6* 在不同劑量的苯胺處理下的基因表現量:

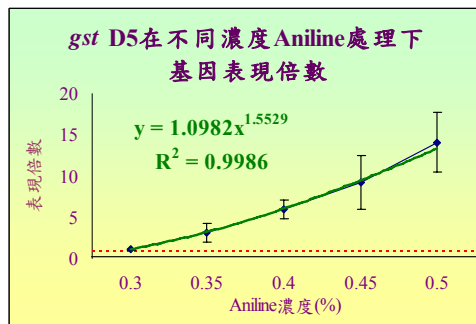
由於此四個基因對苯胺的刺激呈現誘導的現象，故進一步分別在各別的高峰時段以不同苯胺濃度處理，並對存活的果蠅測此四基因的表現量，結果 *D1* 的表現量隨劑量的上升呈指數關係的上升 (圖四)，*D2* 及 *D5* 則以乘冪關係上升 (圖五及六)，*D6* 的表現在低劑量處理下 (0.3%-0.4%) 無上升趨勢，在 0.45% 以上有上升現象 (圖七)，然而上升趨勢為何需進一步偵測。



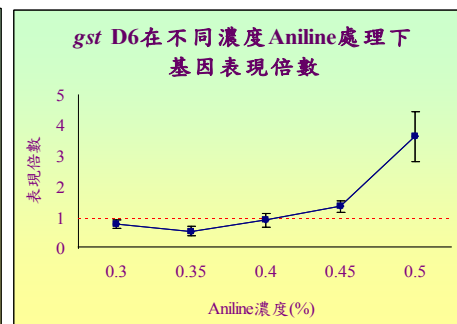
圖四



圖五



圖六



圖七

以上結果中顯示，*gstD1*、*D2*、*D5*、*D6* 及 *D7* 在 LD₅₀ 劑量暴露不同時間下，基因表現量有顯著的提高，對於生物體而言，*gst D* gene family 中的成員可能以合作的關係對苯胺入侵生物體進行解毒作用；此外 *gstD1*、*D2* 及 *D5* 表現倍數的增加與劑量的提高呈現正向的相關。因此果蠅 *gstD1*、*D2* 及 *D5* 在基因表現量的改變有劑量依賴的關係，對於監測環境汙染程度及生物體受毒害程度，是有潛力作為有效的生物指標。

參考文獻

- Chelvanayagam G, Parker MW, Board PG. 2001 Fly fishing for GSTs: a unified nomenclature for mammalian and insect glutathione transferase. *Chem. Biol. Interact.* 133:256-260
- Ginzinger D. G. 2002 Gene quantification using real-time quantitative PCR: an emerging technology hits the mainstream. *Experimental hematology* .30(6):503-12
- Lehmann U. and Kreipe H. 2001 Real-time PCR analysis of DNA and RNA extracted from formalin-fixed and paraffin-embedded biopsies. *Method* 25:409-418
- [Sawicki R](#), [Singh SP](#), [Mondal AK](#), [Benes H](#), [Zimniak P](#). 2003 Cloning, expression and biochemical characterization of one Epsilon-class (GST-3) and ten Delta-class (GST-1) glutathione S-transferases from *Drosophila melanogaster*, and identification of additional nine members of the Epsilon class. *Biochem J.* 370(Pt 2):661-9

Hexachlorobenaene 在泰國運河底泥水中之脫氯作用

黃淑郁* 王炯強* 徐紹文** 林育冬** 錢紀銘* 陳意銘**

* 嘉南藥理科技大學環境工程科學系

** 嘉南藥理科技大學環境資源管理系

摘要

在泰國運河收集 10 點的底泥來進行分析，有 4 個點發現六氯苯(Hexachlorobenzene, HCB)和 1,3,5-三氯苯(1,3,5-trichlorobenzene, 1,3,5-TCB)，因為 1,3,5-TCB 大多皆由高氯數之氯苯化合物降解而來，這顯示出泰國運河底泥微生物有自行脫氯能力。本研究以運河底泥中的厭氧微生物來進行 HCB 的還原脫氯作用，實驗分兩個階段，一是由 10 點取得的底泥微生物並應用於脫氯實驗上。使用底泥加河水之底泥水再添加 5g/L 的 yeast extract (YE)或是不添加。所有點中之 HCB 在 14 天後開始脫氯，28-42 天完全脫氯，未添加 YE 部份則在 14 至 28 天後有較緩慢的脫氯活動。事先添加養份和厭氧處理之組別在 7 天後，運河底泥微生物具有 HCB 脫氯的能力，並在 6 星期內使 HCB 完全脫氯，另一階段為評估 HCB 在經前處理及未處理的新鮮底泥水之脫氯作用，與上述的收集點相同，在前處理底泥水的 HCB 脫氯實驗中，自然底泥水中沒有添加額外營養，底泥水以不同的方法進行前處理，包括底泥與水的不同比例，及有無滅菌、過濾及不同的前厭氧處理時間做為培養基，之後接種 5ml 菌液並添加 HCB。結果顯示，底泥與水比例越高的脫氯能力越強。底泥水不論過濾與否，都有 HCB 脫氯作用發生，另外，底泥水經前厭氧處理的時間越長，則對 HCB 的脫氯能力越佳。本研究結果顯示 HCB 脫氯菌廣闊的分佈在泰國運河沿岸的底泥，而且也顯示 HCB 污染的運河底泥可能有環境復育之進行。

關鍵字：六氯苯、脫氯作用、泰國運河

一、前言

六氯苯(Hexachlorobenzene, HCB)被廣泛使用在工業及農業直到上個世紀，大部份的 HCB 污染物是直接的沈澱在土壤及水的表面，然後揮發、掩埋或轉化到水生系統中 (Simonich and Hites, 1995; Fellin et al., 1996)，HCB 在環境中是非降解及持久性的，因此，在排放出來的十年後，HCB 的量仍明顯的被發現在世界各地 (Pearson, 1982; Weber and Goerke, 1996)，無論如何，這與 Bailey, R. E. (2001) 的研究一致，近代 HCB 仍然被釋放在環境中，並且在近代 HCB 的污染並未消失，考慮全面的禁止農業及工業上的使用。

氯苯可以進入水體環境中像是溶劑，殺蟲劑，誘電性的液體，防臭劑，及化學污染物及中間產物，它們大多是工業的排出物，固態及液態兩者都有，並進入大氣中，由於在這幾十年間它們被廣泛的使用，結果導致 HCB 廣泛的存在於水生環境中，水中、底泥中、及水生動植物中到目前為止都有被測出。

去除水生環境中的 HCB 可能的方法有揮發、光降解及生物降解，對於 MCB 及 DCBS 揮發看起來好像是最主要的辦法，光學轉化一些 HCB 在過去一直是有實驗證實是可行的 (Jacobus and Connle, 1994)，微生物對較少氯的氯苯進行礦化在厭氧的水中是可能發生的，

然而其報告指出在表面水之降解速率是非常慢的，而且 CBS 有相對的疏水性，所以大量的累積在底泥中。

含氯芳香族化合物在微生物降解中，還原性脫氯作用是重要的，像是 CBs、CPs 及 PCBs (Chang et al. 1997, Holliger et al. 1992, Quensen et al. 1990)，含氯有機化合物的還原性脫氯會發生在被還原的環境下，就像是土壤深處及底泥，並且是藉由自然的微生物接種到這些污染物而促成的，在五大湖區中隨著底泥深度的增加其 di、tri 氯至 penta、hexa 氯苯的比率是增加的，在這個微生物的過程中，對於高含氯的化合物(如 HCB 在自然環境中)，被認為是唯一的降解方法，在這研究的幾年後，HCB 分子的化學特性、脫氯微生物群(Fathepure et al., 1988; Nowak et al., 1996; Chang et al., 1997)、微生物的特性(Chen et al. 2001)，這些影響脫氯的因子(Chen et al. 2002)都是很好的評估值，無論如何，HCB 的脫氯在自然的生態環境中及 HCB 的復育程序是相當難了解的，這個研究致力於在運河底泥水中 HCB 脫氯的調查，藉由使用唯一純環境基質像是培養基及接種，HCB 脫氯在自然污染組是被模擬的並且受污染的運河其生物復育是被評估的，為了測試在不同培養情況下混合菌的脫氯活性，藉由提供各種前處理的底泥水來執行 HCB 脫氯實驗。

二、材料和方法

2.1 底泥與河水

所有的底泥及河水是從 Hua-Lum-Poo 運河 10 個點(S1-S10，廢水排出口點到出海口)經過整個運河收集而來的(圖 1)。

2.2 氯苯化合物

MCB、1,2- 1,3- 1,4-DCB、1,2,3- 1,2,4- 1,3,5-TCB、1,2,3,4- 1,2,3,5-TeCB、QCB、HCB。

2.3 培養基

2.3.1 運河底泥微生物脫氯實驗之培養基

2.3.1.1 底泥水培養基

400ml 的底泥泥漿和 400ml 的河水裝入 1L 血清瓶中，藉由手搖 2 分鐘充份混合，靜置，取出 50ml 上層液為底泥水(SW)，SW 放入密封的血清瓶，並充氮氣。

2.3.1.2 人工培養基

NH₄Cl 2.7 g/L；MgCl₂·6H₂O 0.1 g/L；CaCl₂·2H₂O 0.1 g/L；FeCl₂·4H₂O 0.02g/L；K₂HPO₄ 0.27 g/L；KH₂PO₄ 0.35 g/L。yeast extract(YE) 作為營養源添加濃度 5g/L。

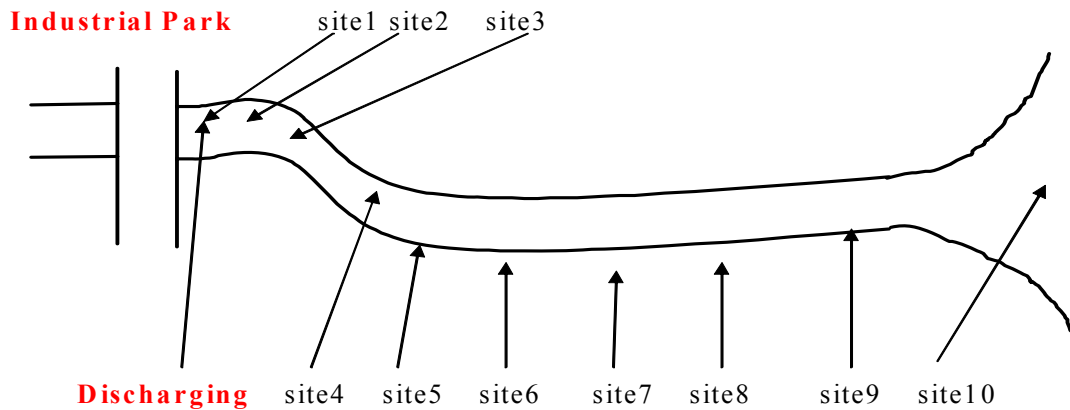


圖 1. 泰國 Hua-Lum-Poo 運河的 10 個採樣點

2.3.2 經前處理的底泥水及未處理的新鮮底泥水之 HCB 脫氯作用

2.3.2.1 以底泥水及接種進行 HCB 的脫氯實驗

底泥水的製造是從點 7 獲得，底泥水的比例分別是 1:2 及 1:4，之後在接種前血清瓶中包括環境培養基蓋緊並保持 7 天。

2.3.2.2 以前處理底泥水及接種進行 HCB 的脫氯實驗

底泥及河水從點 4 收集且比例為 1:2，然後分成兩個組，一個是有過濾另一個是沒過濾，這種組合藉由各種的前處理繼續區分，像是滅菌、以氮氣沖洗，在接種前以兩個不同的時間儲存。

2.3.2.3 以未處理的底泥水且沒有接種進行 HCB 的脫氯實驗

底泥及河水分別從點 3、5、8 取得，比例分別為 1:1 及 1:2，在加入 HCB 之前，血清瓶以氮氣沖洗 30 秒並保存 7 天這是為了在接種前厭氧，一個很重要的事情被意識到，在這三個主題中，新鮮的底泥水是被應用在脫氯期間，提供所有大的小的營養物並且沒有額外的營養物，像是 yeast extract(YE)。

2.4 接種

2.4.1 由 10 點取得的底泥微生物並應用於脫氯實驗之培養基

添加 YE 使混合菌液增殖以作為接種用。收集底泥和河水(50ml:50ml)加 1gYE，放入血清瓶中，搖 1 分鐘，密封，儲存於室溫黑暗一星期，之後搖晃均勻接種血清瓶，取出 5ml 豐富的混合菌液並注入含有 45ml 的培養基中和 2mg/L 的 HCB。

2.4.2 評估 HCB 在經前處理的底泥水及未處理的新鮮底泥水之脫氯作用

2.4.2.1 以底泥水及接種進行 HCB 的脫氯實驗：

混合菌是從 S7-RW-YE 取得，一直培養 60 天後接種。

2.4.2.2 以前處理底泥水及接種進行 HCB 的脫氯實驗：

S4-RW-YE 混合菌在 60 天的培養後接種

2.4.2.3 以未處理的底泥水且沒有接種進行 HCB 的脫氯實驗：

底泥水的提供像是培養基及未處理的接種源，因此沒有額外的接種。

2.5 分析

取出 2ml 的培養菌樣品，以 *n*-hexane 萃取，然後以氣相層析儀-ECD(Hewlett Packard 4890, Rockville, MD)分析。

三、結果與討論

3.1 在運河底泥中的 CBs：

進行運河底泥 CBs 的含量調查之結果顯示，最前面排放口 4 點的底泥 HCB 含量為 0.182 至 1.25ppm(表 1)，令人驚訝的，1,3,5-TCB 在 2 個點被發現，不同於 HCB，1,3,5-TCB 沒有任何的工業和農業用途，然而很多研究報告指出 1,3,5-TCB 為 HCB 脫氯作用時重要的中間產物，這個發現提供了部份的證據，證明 HCB 能夠在 Hua-Lum-Poo 運河的自然環境的底泥中發生脫氯作用。

表 1. Hua-Lum-Poo 運河底泥中 HCB 及 1,3,5-TCB 的濃度

Sampling site	HCB (ppm)	1,3,5-TCB (ppm)
S1	0.182	ND*
S2	1.250	0.238
S3	0.261	0.160
S4	0.153	ND

3.2 自然底泥水的 HCB 脫氯作用：

經 1 星期之 yeast extract (YE) 的增殖作用後，在 10 組未添加 YE 之底泥水培養基中的厭氧混合菌液顯示 HCB 脫氯作用活性(表 2)，有 8 點在馴化 14 天後 HCB 開始脫氯。另外 2 點遲滯期為 28 天，HCB 在 42 天的培養期後完全脫氯。和台灣南部河川底泥微生物對 HCB 脫氯作用比較之下，在自然底泥水培養基只有二仁溪 1 點和後勁溪 1 點能夠對 HCB 進行脫

氣(表 2)。使用 SW 培養基的相似情況下，所有 Hua-Lum-Poo 運河的微生物在從最初到完全脫氯只需要非常短的時間。

HCB 脫氯的過程所發現的脫氯中間產物只有 QCB、1.2.3.5-/1.2.4.5-TeCB、1.3.5-TCB。Hua-Lum-Poo 運河微生物脫氯主要途徑：HCB → QCB → 1.2.3.5-TeCB → 1.3.5-TCB。如 Chen et al. (2004) 建議，台灣之未馴化微生物要順利的使 HCB 脫氯需要大量的能量釋放，本研究進行之途徑與上述的建議一致，在 Hua-Lum-Poo 運河底泥，有些受到 HCB 輕微的污染而有些不是，因此就算是受到輕微污染地點的微生物，也會順著能量的釋放多寡來進行脫氯作用。

3.3 添加 YE 底泥水的 HCB 脫氯作用

添加 YE 以增加培養基的有機物含量，表 3 顯示運河 10 個點的厭氧混合菌液其 HCB 脫氯遲滯期有 14 天，有 2 個點的遲滯期短於未添加 YE 的實驗(表 2)，和 Chen et al. (2004) 相似，調查二仁溪和後勁溪未馴化的底泥厭氧微生物對 HCB 脫氯作用活性，全部的微生物族群從二仁溪和後勁溪和 Hua-Lum-Poo 運河的底泥顯示 HCB 脫氯活性需要 YE，這顯示 HCB 脫氯作用的微生物族群是廣泛的，遍及台灣的河川和泰國的運河底泥，並且藉由來自污染地點中的微生物對受 HCB 污染的環境進行復育是可能及潛力的，無論如何，在 Hua-Lum-Poo 運河的混合菌其 HCB 脫氯作用的發生是相當明顯的，在添加 YE 和未添加 YE(表 2.3)，兩條件中 10 個點的 HCB 脫氯發生大都快過台灣河川的點，遲滯期和脫氯期(從開始脫氯至結束脫氯)泰國的運河需比台灣河川的點快過 2 至 4 倍。

表 2. HCB 在自然底泥微生物的脫氯作用，泰國運河 (S1 ~ S10)，二仁溪(E1,E2) 及後勁溪(H1, H2)的底泥水(SW)作為培養基並沒有添加 yeast extract。

接種源 ^a	培養基	Yeast extract 添加(g/L)	遲滯期 (day)	完全脫氯 所需天數	HCB 降解率 (%)	最終產物 t
S1	SW ^b	0	14	28	100	1,3,5-TCB
S2	SW	0	14	42	100	1,3,5-TCB
S3	SW	0	28	42	100	1,3,5-TCB
S4	SW	0	14	28	100	1,3,5-TCB
S5	SW	0	14	42	100	1,3,5-TCB
S6	SW	0	14	42	100	1,3,5-TCB
S7	SW	0	28	42	100	1,3,5-TCB
S8	SW	0	14	42	100	1,3,5-TCB
S9	SW	0	14	42	100	1,3,5-TCB
S10	SW	0	14	42	100	1,3,5-TCB
E1 ^c	SW	0	ND ^d	ND	0	ND
E2	SW	0	90	NC ^e	59	1,3,5-TCB
H1	SW	0	ND	ND	0	ND
H2	SW	0	75	NC	62	1,3,5-TCB

^a從 Hua-Lum-Poo 運河收集 S1 ~ S10 的接種源 事先以 yeast extract 增殖 1 週;從二仁溪底泥水 E1-E2 及後勁溪底泥水 H1~H2 事先以厭氧的方式培養 2 週，並沒有添加 YE。

^bSW: 底泥水，將底泥及河水混合 (1:1) 然後取出上層液體。

^c數據 E1 ~ H2 的取得來自“台灣河川底泥中六氯苯還原性脫氯作用之研究”，第四屆環境荷爾蒙與持久性有機物研討會，2006.06。

^dND: 在 150 天的培養期後沒有脫氯發生。

^eNC: 在 150 天的培養期後並沒有完全的脫氯

3.4 添加 YE 人工無機培養基之 HCB 脫氯作用

使用人工無機培養基添加 5g/L YE 作為培養基，HCB 脫氯作用(表 4)和使用 SW 添加 YE(表 3)看起來沒有什麼不同，大多數的瓶子均有相同的遲滯期和脫氯期，除了第 9 點外，MM-YE 的脫氯期有 28 天，短過 SW-YE(42 天)。在 MM-YE 條件，泰國運河的微生物影響脫氯作用高過台灣河川的微生物。由結果解釋，在泰國運河中有效的 HCB 脫氯作用不只有一個，這是因為其運河底泥水有更多的養份，也因此這運河中固有的微生物有非常強力的脫氯活性。

表 3. HCB 在自然底泥微生物的脫氯作用，泰國運河 (S1 ~ S10)，二仁溪(E1,E2) 及後勁溪(H1, H2)的底泥水(SW)作為培養基並添加 yeast extract。

接種源 ^a	培養基	Yeast extract 添加(g/L)	遲滯期 (day)	完全脫氯 所需天數	最終產物
S1	SW ^b	5	14	28	135-TCB
S2	SW	5	14	28	135-TCB
S3	SW	5	14	42	135-TCB
S4	SW	5	14	42	135-TCB
S5	SW	5	14	42	135-TCB
S6	SW	5	14	42	135-TCB
S7	SW	5	14	28	135-TCB
S8	SW	5	14	28	135-TCB
S9	SW	5	14	42	135-TCB
S10	SW	5	14	42	135-TCB
E1 ^c	SW	5	60	110	135-TCB
E2	SW	5	30	90	1,3,5-TCB
H1	SW	5	60	110	135-TCB
H2	SW	5	30	90	1,3,5-TCB

^a從 Hua-Lum-Poo 運河收集 S1 ~ S10 的接種源 事先以 yeast extract 增殖 1 週;從 二仁溪底泥水 E1-E2 及後勁溪底泥水 H1~H2 事先以厭氧的方式培養 2 週，並沒有添加 YE。

^bSW: 底泥水，將底泥及河水混合 (1:1) and 然後取出上層液體。

^c數據 E1 ~ H2 的取得來自“台灣河川底泥中六氯苯還原性脫氯作用之研究”，第四屆環境荷爾蒙與持久性有機污染物研討會，2006.06。

3.5 接種微生物之自然底泥水的 HCB 脫氯作用

為了能找到與自然環境基基相似的合適培養基，兩個不同的底泥水比例被應用在配製的底泥水中，藉由使用從點 7 取得(S7-RW-YE 混合菌)，在培養的 42 天時有明顯的 HCB 脫氯，結果在表 5。

HCB 在 2:1 比例的底泥水中，有驚人的脫氯作用，遲滯期只要 7 天且完全的脫氯只要 21 天，而且即使是 4:1 的底泥水中，脫氯在第 21 天開始且在 35 天前完全脫氯(表 5)，藉

由對照 HCB 在自然基質中脫氯的極限研究中，這個發現顯示在運河中的底泥水是最適合支持 HCB 脫氯的環境基質，過去顯示乳酸鹽增殖土壤微生物對 HCB 脫氯的遲滯期大約在 28 天，並且在各種土壤基質中培養 140 天前結束，在台灣未經馴化的微生物對 HCB 脫氯的研究中，前厭氧處理的微生物其 HCB 的脫氯最低限度也要經過 30 天的遲滯期，並且也要添加 5mg/l 的 yeast extract 這類的額外營養物，其結果也顯示底泥水比例為 1:2 是最具有脫氯活性的大於 1:4 的，這表示支持 HCB 脫氯的養份底泥比河水充足，這兩個底泥水的實驗中 1.3.5-TCB 都是唯一的最終產物，在點 7 微生物的脫氯模式為 HCB→PCB→1.2.3.5-TeCB→1.3.5-TCB，並且沒有發現次要途徑的中間產物 1.2.4-TCB、1.3-DCB 及 1.4-DCB。

表 4. HCB 在自然底泥微生物的脫氯作用，泰國運河 (S1~S10)，二仁溪(E1,E2) 及後勁溪 (H1, H2)的底泥添加人工培養基(MM)及 yeast extract 作為培養基。

接種源 ^a	培養基	Yeast extract 添加(g/L)	遲滯期 (day)	完全脫氯 所需天數	最終產物
S1	MM ^b	5	14	28	135-TCB
S2	MM	5	14	28	135-TCB
S3	MM	5	14	42	135-TCB
S4	MM	5	14	42	135-TCB
S5	MM	5	14	42	135-TCB
S6	MM	5	14	42	135-TCB
S7	MM	5	14	28	135-TCB
S8	MM	5	14	28	135-TCB
S9	MM	5	14	28	135-TCB
S10	MM	5	14	42	135-TCB
E1 ^c	MM	5	45	90	135-TCB
E2	MM	5	30	60	135-TCB
H1	MM	5	45	90	135-TCB
H2	MM	5	30	75	135-TCB

^a從 Hua-Lum-Poo 運河收集 S1 ~ S10 的接種源事先以 yeast extract 增殖 2 週;從二仁溪底泥水 E1~E2 及後徑溪底泥水 H1~ H2 事先以厭氧的方式培養 2 週，並沒有添加 YE。

^bSW: 底泥水，將底泥及河水混合 (1:1) and 然後取出上層液體。

^c數據 E1 ~ H2 的取得來自“台灣河川底泥中六氯苯還原性脫氯作用之研究”，第四屆環境荷爾蒙與持久性有機污染物研討會，2006.06。

表 5. Hua-Lum-Poo 運河 S7 的底泥微生物在不同的底泥水中之 HCB 脫氯作用

底泥：水之比例	接種來源	遲滯期 (days)	完全脫氯時間 (days)	最終產物
1:2	S7-RW-YE	7	21	135-TCB
1:4	S7-RW-YE	21	35	135-TCB

3.6 不同前處理與接種流程之底泥水的 HCB 脫氯作用

從點 4 收集而來的底泥及河水應用在各種前處理中(圖 2)，表 6 為 HCB 之脫氯結果，滅菌組極少有脫氯作用因為只有較少的菌存在於底泥水中，只能藉由提供營份或消耗氧氣來支持脫氯，從過濾及未過濾的底泥水結果來對照，兩組的 HCB 脫氯都有相似的遲滯期及完全脫氯的時間，無論如何，在相同被過濾的瓶子中其遲滯期沒有明顯的長於未過濾的，舉個例子，F-NS-7-1 是 21 天可是 NF-NS-7-1 只要 7 天，不過 F-NS-7-2 也是 7 天相同於 NF-NS-7-2，前厭氧期對於縮短 HCB 脫氯遲滯期的階段中被視為是重要的，在 3 天的前厭氧期組中，遲滯期總是會長於 7 天組的。

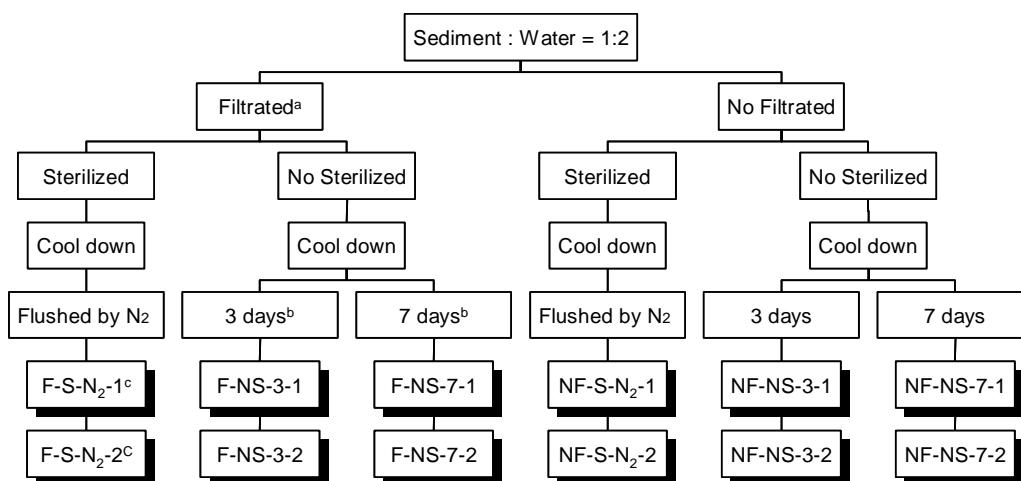


圖 2. 不同前處理與接種流程之 HCB 脫氯實驗培養基配製流程圖

^a 以濾紙 whatman No 1 過濾

^b 3days 代表在接種前密封並靜置 3 天，7days 代表在接種前密封並靜置 7 天

^c 編號 1 及 2 表示二重覆。

對於底泥厭氧菌在脫氯程序中，評估 HCB 脫氯作用中有兩個現象是很基本的，就是甲烷的產生及 ORP 的下降(Prytula and Pavlostathis 1996; Chang et al., 1998; Chen et al., 2002)，HCB 的脫氯被認為是在絕對厭氧的情況下發生的，這兩個現象都可以完全的解釋厭氧的程度，而且甲烷菌的活性在很多研究被認為是 HCB 脫氯的主要因子(Nowak et al., 1996;

Rosenbrock et al., 1997)，在目前的研究中，大量甲烷產生的期間大部份的組別都與脫氯期有相當大的關連(沒有顯示數據)，藉由檢驗 ORP 值，也發現沒有滅菌組提供較厭氧的狀況大於有滅菌組的，並且確定在較低 ORP 值的狀況下是適合僅有厭氧菌生長的情況像是甲烷菌。

表 6. 從 Hua-Lum-Poo 點 4 取的菌源接種在各種前處理的底泥水中進行 HCB 的脫氯實驗

連續編號	滅菌 ^a	過濾 ^a	沖氮氣 ^a	預先厭氧處理 ^a	遲滯期 (days)	完全脫氯時間 (weeks)	最終產物
F-S-N ₂ -1	Yes	Yes	Yes	No	35	49	1,3,5-TCB
F-S-N ₂ -2	Yes	Yes	Yes	No	35	63	1,3,5-TCB
F-NS-3-1	No	Yes	No	3	21	35	1,3,5-TCB
F-NS-3-2	No	Yes	No	3	35	49	1,3,5-TCB
F-NS-7-1	No	Yes	No	7	21	35	1,3,5-TCB
F-NS-7-2	No	Yes	No	7	7	21	1,3,5-TCB
NF-S-N ₂ -1	Yes	No	Yes	No	49	49	1,3,5-TCB
NF-S-N ₂ -2	Yes	No	Yes	No	35	49	1,3,5-TCB
NF-NS-3-1	No	No	No	3	21	35	1,3,5-TCB
NF-NS-3-2	No	No	No	3	21	35	1,3,5-TCB
NF-NS-7-1	No	No	No	7	7	21	1,3,5-TCB
NF-NS-7-2	No	No	No	7	7	21	1,3,5-TCB

^a在接種前預先以滅菌、過濾、沖氮氣及前厭氧處理等程序

3.7 未處理且沒有接種的底泥水之 HCB 脫氯作用

本實驗模擬在自然界中受 HCB 污染的場址之脫氯作用(表 7)，結果顯示 HCB 在每個點的底泥水中均可被脫氯，無論底泥水的比例是 1:1 或 1:2，或者不同地點收集來的底泥及河水，HCB 在這個自然的基質中之脫氯遲滯期約 21-35 天，在 49 天前完全脫氯，因此在這運河中，HCB 應可藉由本地的底泥微生物群在短期內被移除，而不會造成令人擔憂的 HCB 累積作用，此外，這條運河的研究成果對於受高含氯量污染的場址是值得參考的案例，也可幫助這類污染場址的建立環境復育的藍圖。

表 7. Hua-Lum-Poo 點 3、點 5 及點 8 之未接種的自然底泥水中的 HCB 脫氯作用

底泥/水樣本收集點	底泥：水之比例	連續編號 ^a	預先厭氧處理 (days) ^a	遲滯期 (weeks)	完全脫氯時間 (weeks)	最終產物
Site 3	1:1	1	7	21	35	1,3,5-TCB
Site 3	1:1	2	7	21	35	1,3,5-TCB
Site 3	1:2	1	7	21	35	1,3,5-TCB
Site 3	1:2	2	7	21	35	1,3,5-TCB
Site 5	1:1	1	7	21	35	1,3,5-TCB
Site 5	1:2	1	7	35	49	1,3,5-TCB
Site 5	1:2	2	7	35	49	1,3,5-TCB
Site 8	1:2	1	7	21	35	1,3,5-TCB
Site 8	1:2	2	7	21	35	1,3,5-TCB

^a連續編號 1、2.表示相同的情況下做二重覆實驗

四、結論與建議

HCB 分子的一些特殊化學特性及 HCB 污染物的特性使得 HCB 在自然環境中相當的頑固且幾乎不降解，Barry 及 Nicol (1982)發現在美國的五大湖區 HCB 只存在於深土層中，經過十年的沈澱後方有可能進行脫氯。無論如何，脫氯是能在天然底泥環境中主動發生並且有效分解這些危險化學物質的唯一途徑，受污染的場址以環境復育的方式來進行恢復動作是一個構想，比較重要的是這些工作必須要有環境同理心來帶領，因此，會強力的干擾自然界的結構及交互作用的任何技術或行為，需要事前的仔細思考，至少，在移除污染底泥或土壤前，應先瞭解場址中的污染物質可否經由環境復育而排除，本研究結果顯示泰國的運河底泥中蘊含大量且具有 HCB 脫氯活性的微生物，這發現對於受污染的場址進行環境復育的可行度提供堅實的支持，更提醒未來再進行環境排污前，確切評估環境自淨的工作應是最重要的第一步驟。

五、參考文獻

- Simonich, S. L., and Hites, R. A, Global distribution of persistent organochlorine compounds, Science 269, 1995, 1851-1854.
- Fellin, P., Barrie, L. A., Dougherty, D., Toom, D., Muir, D., Grift, N., Lockhart, L., and Billeck, B, Air monitoring in the arctic: results for selected persistent organic pollutants for 1992, Environ. Toxicol. Chem. 1996, 253-261.
- Pearson, C. R, Halogenated aromatics, In O. Huntzinger (ed.) The handbook of environmental chemistry, Vol.3, Part B, 1982, Springer-Verlag. New York.
- Weber and Goerke, Organochlorine compounds in fish off the Antarctic Peninsula, Chemosphere 33, 1996, 377-392.
- Jacobus E. M. Beurskens, Connle G. C. Dekker, Dechlorination of Chlorinated Benzenes by an Anaerobic Microbial Consortium That Selectively Mediates the Thermodynamic Most Favorable Reaction, Environ. Sci. Technol. 25, 1994, 701-706.
- Chang, B.V., Chen, I. M., Yuan, S.Y., and Wang Y. S., Reductive dechlorination of hexachlorobenzene by an anaerobic mixed culture, Water Air Soil poll. 100, 1997, 25-32.
- Holliger C., Schraa, G., Stams, A. J. M., and Zehnder, A.J.B, Enrichment and properties of an anaerobic mixed culture reductively dechlorinating 1,2,3-trichlorobenzene to 1,3-dichlorobenzene, Appl. Environ. Microbiol., 1992, 1636-1644.
- Quensen, J. F. III, Boyd, S. A., Tiedje, J. M, Dechlorination of four commercial polychlorinated biphenyl mixtures (Aroclors) by anaerobic microorganism from sediments, Appl. Environ. Microbiol. 1990, 2360-2369.
- Fathepure, B. Z., Tiedje, J. M., and Boyd, S. A, Reductive dechlorination of hexachlorobenzene to tri- and dichlorobenzenes in anaerobic sewage sludge, Appl. Environ. Microbiol. 1988, 327-330.
- Nowak, J., Kirsch, N.H., Hegemann, W., and Stan, H. J, Total reductive dechlorination of chlorobenzenes to benzene by a methanogenic mixed culture enriched from Saale river sediment., Appl. Microbiol. Biotechnol. 1996, 700-709.
- Chen, I.M., Chang, F. C., and Wang, Y. S, Correlation of gas chromatographic properties of chlorobenzenes and polychlorinated biphenyls with the occurrence of reductive dechlorination by untamed microorganisms, Chemosphere 45 (2), 2001, 223-229.
- Chen, I.M., Chang, B. V., Yuan, S. Y., and Wang, Y. S, Reductive dechlorination of hexachlorobenzene under various additions, Water, Air, and Soil Poll. 2002, 61-74.

- Rosenbrock, P., Martens, R., Buscot, F., and Munch, J. C, Initiation of [³⁶Cl] hexachlorobenzene dechlorination in three different soils under artificially induced anaerobic conditions. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1997, 115-120.
- Chen, I. M., Chang, Y. F., and Lin, H, Microbial Dechlorination of hexachlorobenzene by untamed sediment microorganisms in Taiwan, Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management 8(2), 2004, 73-78.
- Chen, I. M., Chang, F. C., Chang, B. V., and Wang, Y. S, Specificity of the microbial activities in the reductive dechlorination of chlorinated benzenes, Water Environ. Res. 72(6), 2000, 675-679.
- Prytula, M. T., and Pavlostathis, S. G, Effect of contaminant and organic matter bioavailability on the microbial dehalogenation of sediment-bound chlorobenzenes, Wat. Res. 30(11), 1996, 2669-2680.
- Chang, B. V., Su, C. J., and Yuan, S. Y, Microbial hexachlorobenzene dechlorination under three reducing conditions, Chemosphere 36(13), 1998, 2721-2730.

台灣河川底泥中六氯苯還原性脫氯作用之研究

黃皇文* 郭馨文** 黃漢哲** 錢紀銘* 陳意銘**

* 嘉南藥理科技大學環境工程科學系

** 嘉南藥理科技大學環境資源管理系

摘要

本研究在測試台灣本土固有菌種對於六氯苯(Hexachlorobenzene, HCB)之脫氯能力，研究過程採集二仁溪、後勁溪中下游各一點，共四點底泥與河水，分別萃取出天然的底泥水，部分組別加入 yeast extract 5g/l，最後添加 HCB 進行培養。結果顯示，添加 yeast extract 之組別在 60 天後開始脫氯，無添加 yeast extract 只有兩點有脫氯作用發生。此外，人工培養基添加 yeast extract 5g/l 之組別中，四點之底泥微生物的遲滯期皆為 45-60 天。所有組別在 HCB 脫氯的過程中，均伴隨著甲烷產生。綜合以上結果顯示，在台灣河川底泥中固有的微生物具有六氯苯之脫氯能力，若添加營養源，則能有效促進微生物之脫氯作用。

關鍵字：六氯苯、本土固有微生物、脫氯作用

一、前言

六氯苯(Hexachlorobenzene, HCB)為持久性有機污染物(Persistent Organic Pollutants, POPs)，有機污染物於環境中大都藉由揮發、分解、雨水淋洗等等各種方式，在環境中不斷的循環或是分解(陳意銘, 1997)。持久性有機污染物(POPs)特性分別為 1.不易光分解、化學或生物分解；2.具微揮發性，當溫度愈低時，揮發性愈低；3.低水溶性，高脂溶性。由於持久性有機污染物具有以上特性，因此它們能進入生物體，並有生物濃縮性與生物累積性。此外，由於持久性有機污染物能在環境中與生物體中長時間存在，因此，不斷的以一些形式（如揮發、風力）再釋放於大氣中，再經由沉降作用（如降雨）回到陸地上。正因持久性有機污染物在經由揮發至大氣中後，再經由空氣長程傳輸而沉降，因此，造成 POPs 成了一個全球的污染(行政院環保署,2001)。

當婦女長期暴露於持久性有機污染物的環境中，可能產生畸形兒，並造成不孕及智能減退等不良影響，相關研究指出，POPs 物質多數是由殺蟲劑及各種含鹵有機化學物質所組成，利用大氣傳輸至各處，不但會累積在食物鏈中，並且會長期滯留於自然環境。至於在生態方面，野生動物長久暴露於 POPs 之下，造成許多生理機能的改變，並形成嚴重的病變，受到影響的動物包括鳥類、魚類、貝類、龜類及哺乳類等，這些持久性有機污染物會造成野生動物產生畸胎、腫瘤、免疫力降低及生殖障礙等等的毒害(行政院環保署,2001)。

六氯苯(Hexachlorobenzene; HCB)最早於 1945 年開使被使用於防腐劑上，HCB 大多數是經由含氯的化學製品所產生的副產物，造成環境中土壤、水體、空氣及生物體的污染，因其含有致癌性，對於環中各種生物造相當大的危害(陳健民, 2002; Langlolis et al., 1989; Pearson et al., 1982)。氯苯化合物在環境中有擴散性和生物累積性，並且不易降解具環境持久性，長久以來對環境及各種生物造成危害。加上部分氯苯化合物有疏水性及高揮發性等特性，因此使得氯苯化合物在處理方面面臨許多的困難(陳意銘 1994)。在 Fathepure 等人(1988)之實驗中，由厭氧微生物對六氯苯進行還原性脫氯作用，發現氯苯化合物有兩種脫氯途徑：

六氯苯→五氯苯→1,2,3,5-四氯苯→1,3,5-三氯苯(主要脫氯途徑)

六氯苯→五氯苯→1,2,4,5-四氯苯→1,2,4-三氯苯(次要脫氯途徑)

因此，六氯苯經厭氧微生物行還原脫氯作用，主要會有 1,3,5-三氯苯的累積(Brahushi et al., 2004; Fathepure et al., 1988)。

厭氧微生物的還原性脫氯作用是生物降解中重要的處理方式，包括含氯芳香族如：CBs、CPs、PCBs 的脫氯作用(Holliger et al, 1992; Quensen et al, 1990)。環境中生物降解的影響因子有：1.微生物的種類：土壤中含有大量的微生物，包括厭氧菌、真菌...等等，這些微生物可分解土壤中原有的有機物，在環境脫氯中，仍是由混合的微生物族群進行(盧志人, 1998)；2.厭氧狀況：可將有機物降解成甲烷、二氧化碳和氫氣；3.化學物質干擾特性：例如重金屬毒性大小對微生物脫氯的抑制依序為 $Ni > Cu > Pb > Cr > Zn$ (Suthan et al., 1996)；4.營養源：微生物生長所需之營養源(Peikang et al., 1996)，其中以微生物的種類和化學干擾為脫氯作用的主要影響因子，先前的研究發現由不同的厭氧微生物群會將產生不同的脫氯型態(Brown et al, 1987; Chang et al., 1997; Chen et al., 2001)。而 Quensen et al. (1990)，針對不同的多氯聯苯(Aroclors)所造成不同汙染的微生物群種，進行檢測脫氯能力和脫氯型態，發現受到不同汙染的微生物群種具有的脫氯能力皆不相同。此外，在不同時期下，添加微生物抑制劑，有明顯的影響脫氯的活動(Jacobus et al., 1994)，這些結果皆證實了不同的微生物將產生不同的脫氯結果。

本研究將探討台南二仁溪和高雄後勁溪之本土底泥微生物，在分別經由增殖或馴化培養後，對 HCB 之脫氯作用進行研究，研究主要目的在了解環境中 CBs 之降解，實驗中強調天然的基質及本土固有微生物的利用，此外添加人工無機培養基和酵母萃取液(yeast extract)，作為厭氧微生物的營養源，來進行脫氯實驗，探討經由馴化過後和未經馴化過的微生物，以及添加不同量的營養源對脫氯作用的影響。

二、材料和方法

2.1 底泥與河水

於 2002 年 10 月採樣，收集高雄縣後勁溪中游於後勁橋附近(H1)，下游於藍昌橋附近(H2)；台南縣二仁溪於下游於南楚橋附近 (E1)，中游二層行橋附近 (E2)，共 4 點 (E1：底泥為多氯聯苯(PCBs)和重金屬汙染；E2：底泥為家庭廢水汙染；H1：底泥為石化廢水汙染；H2：底泥為地面填充物滲出水汙染)。

2.2 無機培養基

無機培養基(MM)組成成份: NH_4Cl 2.7g/L、 $MgCl \cdot 6H_2O$ 0.1g/L、 $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.1g/L、 $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ 0.02g/L、 K_2HPO_4 0.27g/L、 KH_2PO_4 0.35g/L，在部分實驗中 yeast extract(YE)被當作營養物，其添加濃度範圍在 0.1-5g/L。

2.3 六氯苯脫氯測試

2.3.1 菌源

直接取自震盪後之底泥與河水。

2.3.2 混合菌馴化

馴化混合菌的準備如下，於厭氧操作箱內，分別將底泥放入血清瓶內(1L)，以底泥與無機培養基以 1:1(v/v)混合，加入 HCB，HCB 起始濃度為 2 mg/L，手搖 1 分鐘後，將血清瓶密封儲存於室溫 30°C 黑暗培養，經過 4 個月的培養適應，取出血清瓶中的已馴化混和培養菌測試脫氯能力。

2.3.3 培養液製備

底泥取回後，分別小心地去除表面水，將底泥以過濾紙過濾(Whatman NO,1)，收集過濾的底泥水。之後將過濾底泥水再與一部分過濾底泥以 2:1 體積比混合，並搖晃 30 分鐘，將浮於表面之底泥水(SW)回收，並以高溫高壓滅菌釜滅菌後於脫氯實驗中作為培養液。

2.3.4 測試條件如下

底泥水培養液中未添加 yeast extract 之六氯苯脫氯測試：

於厭氧操作箱操作，血清瓶中加入 45mL 培養液和 5mL 未馴化菌液，並添加 HCB，血清瓶中 HCB 起始濃度為 2mg/l，在 30°C 黑暗下馴化 150 天；控制組則不添加馴化菌液。

底泥水培養液中添加 yeast extract 之六氯苯脫氯測試：

如上述相同過程，但各血清瓶再分別添加 yeast extract 5、1、0.1 g/l 做為養分，進行脫氯測試。

無機培養液中添加 yeast extract 之六氯苯脫氯測試：

血清瓶中加入 45mL 的人工無機培養基和 5mL 未馴化菌液，並添加 HCB，血清瓶中 HCB 起始濃度為 2mg/l，再分別添加 yeast extract 5、1、0.1 g/L 做脫氯測試，在 30°C 黑暗下馴化。

無機培養液添加 yeast extract 之馴化厭氧菌的六氯苯脫氯測試：

血清瓶中加入 45mL 的人工無機培養基和 5mL 已馴化菌液，於血清瓶添加 HCB，血清瓶中 HCB 起始濃度為 2mg/l，再添加 yeast extract 5 g/L 做脫氯測試。

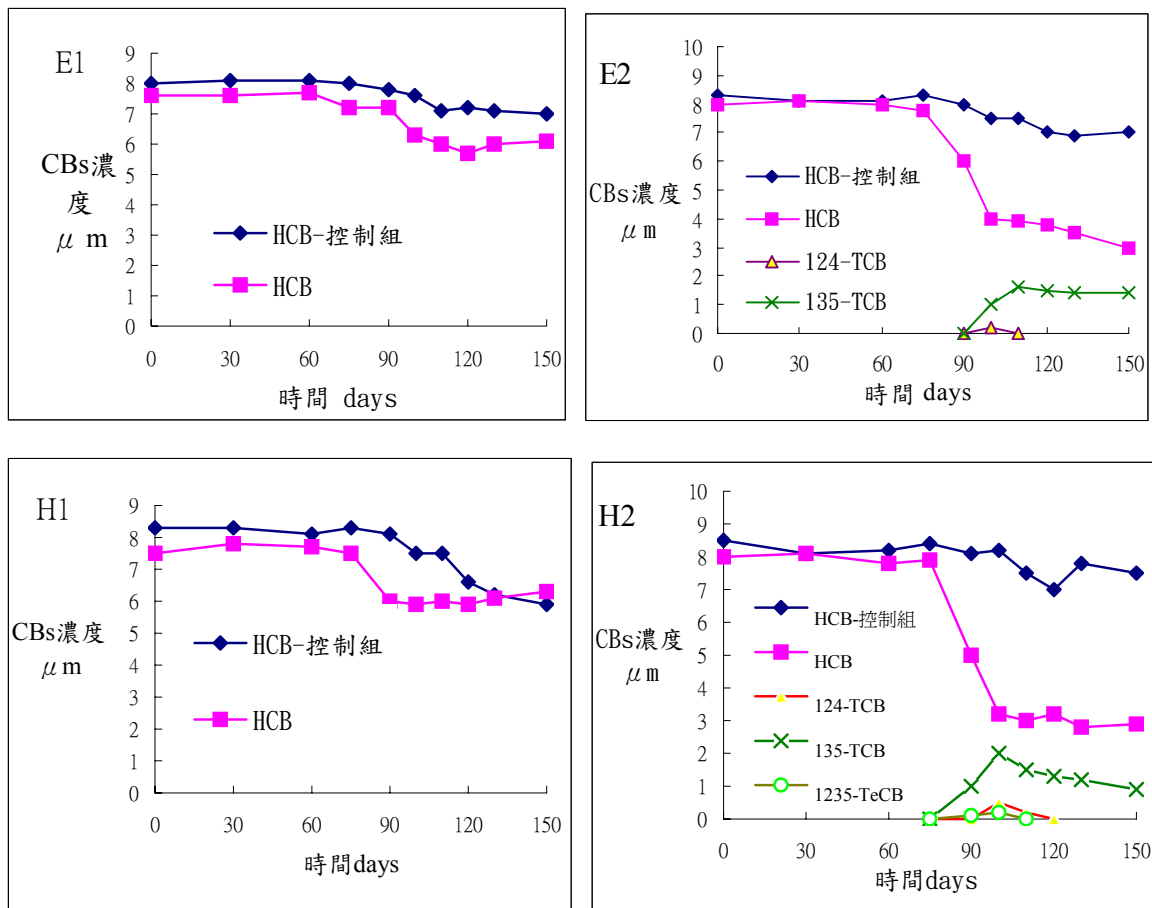
以上樣品分別定期利用注射器於馴化樣品瓶中取出的 2mL 馴化菌液，使用正己烷萃取後用 gas chromatography (GC-ECD) 分析。

三、結果與討論

3.1 培養液中未添加 yeast extract 之 HCB 脫氯測試：

萃取底泥水作為培養基，4 個點的 COD 值濃度值分別為 E1:182 mg/L, E2:22 mg/L, H1:122 mg/L, H2:193 mg/L，在馴化 150 天的底泥水後，有 2 個點的底泥微生物，E2 和 H2，指出 HCB 脫氯能力有相似的比例、形式和程度；E2 和 H2 脫氯菌種分別在 60 和 75 天遲滯期後開始脫氯，HCB 降解百分比分別為 36% 和 42%。但其他 2 個點(E1、H1)無 HCB 脫氯現象，由於 E1 的污染為重金屬及 PCBs 污染，而 H1 點為石化業工業區石化業污染，因此，E1 和 H1 可能因污染過嚴重而抑制了微生物原本的脫氯能力(圖一)。

雖然 HCB 在馴化 150 天中沒有完全的轉換，但結果指出底泥水中未經馴化的微生物已有能力使 HCB 脫氯，且確定環境中 HCB 能自動脫氯的可能性。此外由圖一 E2、H2 的結果指出，1,2,4-TCB 消失不會產生任何脫氯產物，缺乏次要途徑 1,2-DCB、1,3-DCB、1,4-DCB 產物，原因有可能是這些化合物濃度在偵測極限下。



圖一 四點地點 E1, E2, H1, H2 自然底泥水中 HCB 的脫氯狀況

3.2 培養液中加入不同量 yeast extract 之 HCB 脫氯測試：

在底泥水中加入 0.1、1 和 5 mg/L 的 yeast extract，E2 和 H2 在 30 天馴化後，已開始有脫氯的情形(表一)。而 E1 和 H1 遲滯期較 E2 和 H2 晚 30 天，這四個點顯示 HCB 在 110 天前完全脫氯。值得注意的是，在 E1 點的底泥微生物，分別加入 5g/L 和 1g/L yeast extract 的測試中，兩者的脫氯產物相同且擁有相似的脫氯速率；E2 點的底泥微生物，在添加 5g/L yeast extract 的組別中，微生物有較高的脫氯能力，可將 HCB 脫氯至二氯苯，雖然和添加 1g/l yeast extract 無相同的遲滯期，但皆能在 90 天前完全脫氯；在 H1 點的底泥微生物，分別加入 5g/L 和 1g/L yeast extract，有相同的中間產物和最終產物；在 H2 點的底泥微生物，分別加入 5g/L 和 1g/L yeast extract，發現有相同的遲滯期，並都在 90 天前完全脫氯，因此，點 H2 只需添加 1g/L yeast extract 就足夠來促進微生物的脫氯活動(表一)。

研究結果發現，H2 和 E2 有相似的脫氯情形，皆在 90 天前完全脫氯，而 E1 和 H1 點在底泥中添加 1g/L yeast extract 卻無法促進脫氯，其原因可能是 E1 和 H1 點之底泥分別含重金屬、PCBs 和石化業污染，這些化學物質的毒性可能抑制脫氯微生物的活動，因此要利用更多的營養源來促進脫氯菌的活性。

利用人工無機培養基(MM)加上不同量的 yeast extract 作為培養基，結果發現微生物脫氯能力較強於使用底泥水作為培養基(表二)。在點 H2 有 1,3-DCB、1,4-DCB 脫氯產物，因此，脫氯菌可有效的將 HCB 脫氯為 1,2,4-TCB，並將 1,2,4-TCB 快速的脫氯為 1,3-DCB、1,4-DCB，此外，在 H2 點添加 5、1g/L yeast extract 時有相同的脫氯速率，也都偵測出 1,3-DCB、1,4-DCB，此結果和表一的底泥水有相同的情形，不論添加 5g/L 或 1g/L yeast extract 皆可提高 HCB 脫氯至相同的狀況。在點 E1、E2、H1 的結果顯示，不論使用底泥水或無機培養基作為培養液，分別添加 1 和 5g/L yeast extract 的中間產物和最終產物皆相同。由以上的結果證明，四個點皆使用底泥水添加 1g/L yeast extract 就足夠維持其底泥微生物建立一個適宜的環境，使 HCB 進行脫氯作用。

已馴化的微生物在所有的點對 HCB 脫氯的實驗中，遲滯期皆在 6 天內，而 HCB 在 12-18 天的脫氯實驗中完全脫氯，並產生 1,3,5-TCB 為最終產物(圖二)。比較未馴化微生物和已馴化微生物對六氯苯之脫氯作用，結果證明受到重金屬和 PCBs 污染的微生物會因這些物質的毒性而抑制脫氯菌的脫氯作用，然而經由添加營養源、馴化，則可增進脫氯菌的活動，使原本受到抑制的脫氯菌強化活動的能力，再進行脫氯作用。在已馴化微生物的實驗中，六氯苯之脫氯過程會經由主要的脫氯途徑而非次要途徑，這顯示出經由長時間馴化後的脫氯菌種會選擇性地採取主要途徑來進行脫氯作用。

表一 河川底泥水中未馴化之底泥微生物，在不同添加量的 Yeast extract 培養基中進行之 HCB 脫氯作用

菌源	培養基	Yeast extract	遲滯期 (day)	HCB 完全轉化 (day)	中間產物	最終產物
E1	E1 SW	5	60	110	1235-1245-TeCB ^a 124-TCB	135-TCB
E2	E2 SW	5	30	90	1235-1245-TeCB 124-TCB	135-TCB ^b 13-14-DCB ^{a c}
H1	H1 SW	5	60	110	1235-1245-TeCB 124-TCB	135-TCB
H2	H2 SW	5	30	90	1235-1245-TeCB 124-TCB	135-TCB
E1	E1 SW	1	90	150	1235-1245-TeCB 124-TCB	135-TCB
E2	E2 SW	1	60	90	1235-1245-TeCB 124-TCB	135-TCB
H1	H1 SW	1	75	120	1235-1245-TeCB 124-TCB	135-TCB
H2	H2 SW	1	30	90	1235-1245-TeCB 124-TCB	135-TCB
E1	E1 SW	0.1	NO	NO	NO	NO
E2	E2 SW	0.1	75	DNC	1235-1245-TeCB 124-TCB	NO
H1	H1 SW	0.1	NO	NO	NO	NO
H2	H2 SW	0.1	75	DNC	1235-1245-TeCB 124-TCB	NO

^a：為同分異構物

^b：主要產物

^c：次要產物

^d：在培養期間並無脫氯作用發生

^e：在培養期間並未完成全部脫氯作用

NO：在培養期間並無脫氯作用發生

DNC：在培養期間並未完成全部脫氯作用

表二 河川底泥水中未馴化之底泥微生物，在不同添加量的 Yeast extract 之人工無機培養基中之 HCB 脫氯作用

菌源	培養基	Yeast extract	遲滯期(day)	HCB 完全轉化(day)	中間產物	最終產物
E1	MM	5	45	90	1235- / 1245-TeCB ^a 124-TCB	135-TCB
E2	MM	5	30	60	1235-1245-TeCB 124-TCB	135-TCB ^b 13-14-DCB ^{a c}
H1	MM	5	45	90	1235-1245-TeCB 124-TCB	135-TCB
H2	MM	5	30	75	1235-1245-TeCB	135-TCB ^b 13-14-DCB ^{a c}
E1	MM	1	60	90	1235-1245-TeCB 124-TCB	135-TCB
E2	MM	1	30	75	1235-1245-TeCB 124-TCB	135-TCB
H1	MM	1	45	105	1235-1245-TeCB 124-TCB	135-TCB
H2	MM	1	30	75	1235-1245-TeCB	135-TCB ^b 13-14-DCB ^{a c}
E1	MM	0.1	NO	NO	NO	NO
E2	MM	0.1	90	DNC	1235-1245-TeCB 124-TCB	135-TCB
H1	MM	0.1	NO	NO	NO	NO
H2	MM	0.1	NO	NO	NO	NO

^a：為同分異構物

^b：主要產物

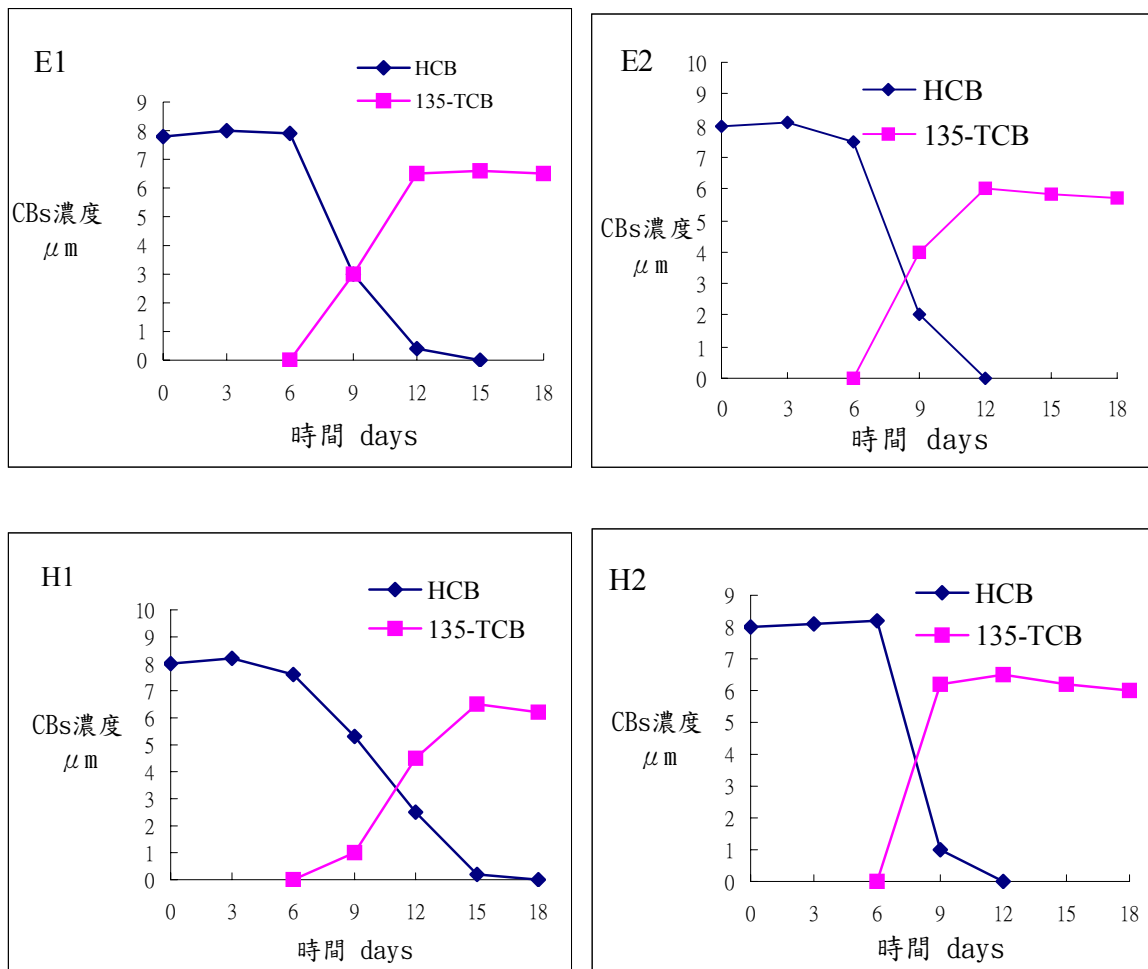
^c：次要產物

^d：在培養期間並無脫氯作用發生

^e：在培養期間並未完成全部脫氯作用

NO：在培養期間並無脫氯作用發生

DNC：在培養期間並未完成全部脫氯作用



圖二 台灣河川底泥中固有的微生物經馴化培養後，對 HCB 之脫氯作用，研究中使用無機培養基以及 yeast extract 5g/l 作為營養來源

四、結論與建議

4.1 結論

本研究主要的目的在於了解台灣本土厭氧菌於天然基質中對六氯苯之脫氯作用情形，以及添加營養物質的探討。本研究結果可得到以下的結論：在生物降解污染物方面，主要的關鍵是微生物能自主發展出適合降解的程序，在一般微生物去除含氯芳香族和多氯聯苯化合物的研究中，許多的研究主要專注在直接採用外來的微生物或是添加電子提供者，使脫氯作用加快，增進脫氯微生物的脫氯能力，或者使脫氯微生物提高活動力、適應力和分解力等過程來獲得降解作用。但此種方法並非適合環境中污染物降解作用之應用，因此培養受污染點固有的脫氯微生物、評估固有的培養菌之脫氯能力變得越來越重要。

本研究結果證實在二仁溪和後勁溪四個點的底泥中的確存在著六氯苯的脫氯微生物，於 E2 和 H2 兩點使用天然的底泥水作為唯一的營養來源即可使六氯苯進行脫氯；此外，所

有微生物於天然底泥水中只需添加 1g/L yeast extract 就能產生微生物對六氯苯之脫氯活性，而經由氯苯化合物馴化的微生物，可快速的將六氯苯脫氯成 1,3,5-TCB。綜合以上結果得知，雖然台灣環境中沒有嚴重的六氯苯污染，但在台灣河川底泥中發現仍有豐富的脫氯微生物，在使用天然底泥水做為培養基質的條件下，可對六氯苯成功地進行脫氯作用。

五、參考文獻

- 盧志人，地下水的污染整治，國立編譯館，1998。
- 行政院環保署 第35期 雙月刊 90年3月 全民公敵--持久性有機污染物 [http:// www.epa.gov.tw/b/b0100.asp](http://www.epa.gov.tw/b/b0100.asp)
- 陳健民著，環境毒物學，2002，初版，台北縣中和市，新文京開發出版社有限公司 315-355
- 陳意銘，馴化厭氧菌對六氯苯還原性脫氯作用影響因子之探討，碩士論文，私立東吳大學微生物學研究所，1994。
- 陳意銘，台灣本土厭氧菌對多氯聯苯還原性脫氯作用之研究，博士論文，國立台灣大學農業化學研究所，1997。
- Brahushi F., Dorfler, U., Schroll, R., Munch, J.C., Stimulation of reductive dechlorination of hexachlorobenzene in soil by inducing the native microbial activity, Chemosphere, 2004, 55:1477-1484.
- Brown J.F., Wagner, R.E., Feng, H., Bedard, D. L., Brennan, M. J., Carnahan, J. C., May, R. J., Environmental dechlorination of PCBs. Environ. Toxicol. Chem., 1987, 6:579-593.
- Chang B.V., Chen, I. M., Yuan, S. Y., and Wang Y.S., Reductive dechlorination of Hexachlorobenzene by an anaerobic mixed culture., Water Air Soil poll., 1997, 100: 25-32.
- Chang B.V., SU C. J., Yuan S. Y., Microbial Hexachlorobenzene dechlorination under three reducing conditions., Chemosphere, 1998, 36: 2721-2730.
- Chen, I. M., Chang, F.C., and Wang, Y.S., Correlation of gas chromatographic properties of chlorobenzenes and polychlorinated biphenyls with the occurrence of reductive dechlorination by untamed microorganisms., Chemosphere, 2001, 45(2):223-229.
- Fathepure, B. Z., J. M. Tiedje, and S.A. Boyd., Reductive dechlorination of hexachlorobenzene to tri- and dichlorobenzene in anaerobic sewage sludge., Appl. Environ. Microbiol., 1988, 54:327-330.
- Holliger C., Schraa, G., Stams, A. J. M., and Zehnder, A.J.B., Enrichment and properties of an anaerobic mixed culture reductively dechlorinating 1,2,3-trichlorobenzene to 1,3-dichlorobenzene., Applied and Environmental Microbiology, 1992, 58:1636-1644.
- Jacobus E. M. Beurskens, Connlá G. C., Dekker, Henny van den Heuvel, Martlen Swart, and Johan de Wolf., "Dechlorination of chlorineate benzenes by an anaerobic microbial consortium that selectively mediates the thermodynamic most favorable reactions., Environ. Sci. Technol., 1994, 26:701-706.
- Langlols, C. and H. Sloterdijk., Contamination of Lake Saint-Pierre (St. Lawrence River) by organic and inorganic pollutants, Rev. Sic. Eau., 1989, 2:659-670.
- Quensen J. f. III, Boyd, S. A., Tiedje, J.M., "Dechlorination of four commercial polychlorinated biphenyls mixtures (Aroclors) by anaerobic microorganism from sediments., Applied and Environmental Microbiology, 1990, 56:2360-2369.
- Peikang Jin and S. K. Bhattacharya. Anaerobic removal of pentachlorophenol in presence of Zinc. Journal of Environmental Engineering, 1996, Vol.122, 590-598.
- Suthan S. Suthersan. Remediation engineering desing concepts. CRC Press, Inc. 1996.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in fish samples from rivers and estuaries in Taiwan

Jui-Hwa Peng^{1,2}, Ying-Ming Weng¹

1 Environmental Analysis Laboratory, Environmental Protection Administration, No. 260, Sec 3, Ming Tsu Rd., Chung-Li, Taiwan 320, Republic of China

2 Department of Chemistry, Chung Yuan Christian University, Chung-Li, Taiwan 32023, Republic of China

Introduction

Brominated flame retardants (BFRs) are widely used as flame retardants in polymer materials, textiles, electronic boards and various other materials¹. Recently, the toxicological work suggests that PBDEs have endocrine disrupting effects on the thyroid system and can also affect the liver as well as the nervous and immune systems. PBDEs are structurally similar to other environmental pollutants like dioxins and PCBs, they are lipophilic, persistent components and widespread in the environment²⁻⁵. Due to their massive use, PBDEs have become ubiquitously present in aquatic organisms and it was recently evidenced that their levels seem to increase rapidly. This study reports on the concentration of 7 prominent PBDE congeners (28, 47, 99, 100, 153, 154 and 183) in fish samples. Recoveries measured for the internal standards range between 63 and 104 %. Recoveries measured for the matrix spike samples quantified by internal standards range between 100 and 118 %.

Keywords: Polybrominated diphenyl ethers; Brominated flame retardants; GC/HRMS; Fish fillet

Materials and Methods

Sampling and preparation

Fishes of the same species from the same place were pooled as one sample. Sixty tissue, otstyer and crab samples were collected from six rivers and three estuaries in 2003. Muscle and tissue samples were weighed, freeze-dried, homogenized, and 20~50 g was extracted with Soxhlet extraction. Before extraction a mixture of 7 internal PBDE standards was added to the sample (800 pg / sample for each congener). For Soxhlet extraction a 1 : 1 mixture of hexane and dichloromethane was applied. After solvent evaporation gravimetric lipid determination was performed. The lipid were removed by mixing with acidified silica gel, and then followed by acid silica gel and AX-21 carbon column clean up. The final extract was reduced to near dryness by a stream of nitrogen. Ten µl containing 800 pg ¹³C₁₂ Mass-Labeled PBDE 139 recovery standard (Wellington) was spiked to sample before GC/HRMS analysis.

Instrumental analysis

Native and Mass-Labeled PBDE congeners including PBDE-MXA (BDE Nos. 47, 99, 153), PBDE-MXB (BDE Nos. 28, 154, 183), PBDE-100, MBDE-MXA, MBDE-MXB and MBDE-139 were obtained from Wellington Laboratories Inc. (Ontario, Canada). All analyses were performed

following the isotope dilution method. The measurements were performed using high-resolution gas chromatography / high-resolution mass spectrometry (Hewlett-Packard 6890 GC connected to a JMS-700 MS and equipped with a HP 7683 autosampler) at RP = 10,000. The GC was operated in 1 μ L splitless injection mode with a constant flow rate of 1.0 mL/min of helium gas through a 30 m \times 0.25 mm i.d. (0.25- μ m film thickness) DB-5MS capillary column. The GC oven program was as follows: isothermal at 120°C for 2 min, and heated to 320°C at a 10°C/min rate then held at 320°C for 5 min. The GC to MS transfer line was held at 300°C. The two most abundant masses were used for measurement ($M+2^+$ 、 $M+4^+$ for Tri- to Tetra-BDE, $M+4^+$ 、 $M+6^+$ for Penta- to Hexa-BDE and $M+6^+$ 、 $M+8^+$ for Hepta-BDE). Compounds were identified only when the GC-HRMS data satisfied all of the following criteria: (i) The signal-to-noise ratio resulting from the peak response of the two corresponding ions was greater than 3 for proper quantification of the congener, (ii) the retention time of the specific peaks eluted from GC column should fall within ± 5 seconds compared to calibration standards or ± 3 seconds compared to ^{13}C -labelled standards, (iii) the internal standard recoveries of ^{13}C -labelled standards were between 50% and 120%, and (iv) the observed isotope ratios of two ions monitored per congener were within 15% of the theoretical isotopic ratio. Quantification was done by the internal standard method relative to a multilevel calibration for all compounds. Recoveries measured for the internal standards used range between 63 and 104 %. Recoveries measured for the matrix spike samples quantified by internal standards range between 100 and 118 %.

Results and Discussion

The results of the investigation are calculated based on lipid content and the concentration for all congeners are in ng/g lipid weight basis. At most sites, individual PBDE congeners were present at detectable levels in fish tissue. The mean Σ PBDE concentration for samples collected from six rivers and three estuaries is 87.1 ng/g lipid. The highest average levels of PBDEs were measured from Erh-Jen estuary, while the lowest levels were measured from Lan-Yang River. PBDEs concentration measured in fishes from other investigators are as shown in Table 1. Our data are mostly in good agreement with data published by European countries^{6-9,11} and lower than those from USA^{10,12-13}. The highest values are found for samples originating from the San Francisco Bay Area¹⁰ and San Francisco Estuary¹³.

The contribution of each PBDE congener to the total PBDEs in each investigated aquatic species from rivers and estuaries is presented in Figure 1. As reported in other literature¹¹ PBDE-47 is the dominant congeners in tissues and accounts for 50 to 75% of total measured PBDEs. The congener pattern found in the fish samples from other countries is PBDE-47 > 99 > 100 > 154, 153. However the congener pattern found in the fish samples from this study indicates that PBDE-154 contributes more than PBDE-99 and PBDE-100, and in some species, PBDE-154 were even the predominant congener. During the past seven years, roughly 8000 tons of octa-BDE as opposed to 40 tons of penta-BDE was consumed in Taiwan. This pattern strongly correlates the domestic consumption of PBDEs to the later contamination in the environment.

The method detection limits (MDLs) were found by calculating the mean concentration of blank runs of each sample set and counting three times the standard deviation of those blank

concentrations. The results are shown in Table 2. Both PBDE-47 and PBDE-99 congeners were found in most of the blanks and was expected to have higher MDL . Fortunately, these values are low enough and do not affect the quantification of these analytes. The instrument detection limits (IDLs) were determined as three times the signal-to-noise ratio of the blank samples which is the average additive heights of the carbon 13 and carbon 12 mass channels in the blank samples, respectively. If no analyte is present in the blank samples, the IDL would be the optimum detection limit of the blank. The linear range is calculated by the concentration of the calibration standards used for making the standard curve and is close to the MDLs for most of the PBDEs monitored in this method. Recovery rates for all samples are also shown in Table 2. The recoveries were good for samples including blanks, QA/QC, and real samples.

Table1: PBDEs found in fish samples from other studies (in ng/g lipid).

Area	Author	Year of collection	Sample	n	Mean values (Range)
Norway (13 Lakes)	Schlabach et al. 2001 (6)	1999	Trout	1/ lake	43,2 (7,9 – 124) ¹
Baltic Sea (7 Sites)	Nylund et al. 2001 (7)	1999	Herring	12-20 /site	17,0 (12 – 30,7) ²
German Market	CVUA Annual Report, 2001(8)	2001	Plaice	44	30 (151) ³
			Rosefish	64	14 (196) ³
Scotland	Jacobs et al., 2002. (9)	1999	Salmon	8	53,6 (1,1 – 85,2) ¹
Belgian Market		2001		5	19,6 (3,1 – 52,1) ¹
San Francisco Bay Area	Holden et al.,2003 (10)	2002	Perch	6	696
			Halibut	4	2235
			Bass	4	1925
			Shark	1	489
River Elbe	Lepom et al. 2002 (11)	2001	Bream	22	198 (26 – 728) ¹
			Eel	5	6,3 (3,6 – 21,4) ¹
Superior Lake	Ling et al. 2004 (12)	2000	Fishes	3	989 ± 132
Michigan Lake	Ling et al. 2004	2000	Fishes	3	1395 ± 56
Huron Lake	Ling et al. 2004	2000	Fishes	2	369 ± 15
Erie Lake	Ling et al. 2004	2000	Fishes	3	600 ± 102
Ontario Lake	Ling et al. 2004	2000	Fishes	3	546 ± 23
San Francisco Estuary	Danilel et al. 2005 (13)	2002	Bivalves	80	2382 ~ 13502

¹ = range of individual data ² = range of means ³ = maximum value

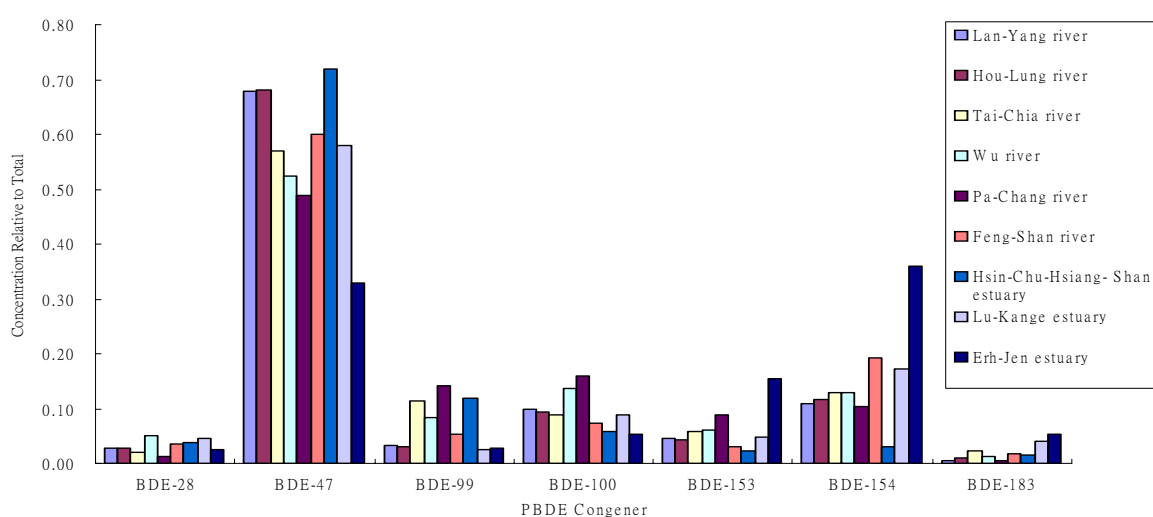


Figure 1. Relative amount of PBDEs congeners in fish samples. Congener concentration are expressed as a fraction of total PBDEs

Table2: Results of recovery rate, linear range, and detection limits for PBDEs^a analysis

analyte	Method recovery(%) blk + OA/OC + real samples n = 75		Metrix spike recovery(%) OA/OC n = 6		calibration curve (ng/g lipid)	detection limits (ng/g lipid) n=6	
	recovery	SEM ^b	recovery	SEM ^b	linear range	MDL ^c	IDL ^d
	BDE-28	63	17	113	16	0.010 ~ 4	0.010
BDE-47	88	21	114	7	0.010 ~ 4	0.127	0.001
BDE-100	n/a ^e	n/a	101	8	0.010 ~ 4	0.028	0.003
BDE-99	93	29	113	9	0.010 ~ 4	0.104	0.002
BDE-154	95	11	100	5	0.010 ~ 4	0.013	0.004
BDE-153	104	10	104	5	0.010 ~ 4	0.016	0.006
BDE-183	95	16	118	9	0.010 ~ 4	0.040	0.014

^a All concentrations are in nanogram per gram lipid (assuming 1 gram of lipid was extracted).

^b SEM = standard error of the mean.

^cMDL = method detection limit (mean concentration in blank + 3 × standard deviations of blank concentrations).

^dIDL = instrument detection limit (3 × signal-to-noise ratio of blanks).

^en/a, not applicable (no spiking to matrix)

References

1. de Wit C.A. (2002) Chemosphere 46, 583 –624
2. Burreau, S., Broman, D., and Zubuhr, Y. (1999) Organohalogen Comput. 40, 363.
3. Sellström, U., Jansson, B., Kierkegaard, A., and de Wit, C. (1993) Chemosphere 26, 1703.
4. Haglund, P., Zook, D.R., Buser, H. R., and Hu, J. (1997) Environ. Sci. Technol. 31, 3281.
5. Darnerud, P. O., Eriksen, G. S., Johannesson, T., Larsen, P. B., and Viluksela, M. (2001) Environ. Health Perspect. 109, 49.
6. Schlabach M., Fjeld E., Brevik E.; Polybrominated diphenylethers and other persistent organic pollutants in Norwegian Freshwater Fish. Brominated Flame Retardant Workshop (BFR), Stockholm, 371-374, 2001
7. Nylund K., Kierkegaard A., Erikson U., Asplund L., Biegnert A., Olsson M.; Spatial Distribution of some Polybrominated Diphenyl Ethers and Hexabromocyclododecane in Herring (*Clupea harengus*) along the Swedish Coast. Brominated Flame Retardant Workshop (BFR), Stockholm, 349-352, 2001
8. Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Freiburg, Annual Report (Jahresbericht), 2001
9. Jacobs M., Covaci A., Schepens P.; Investigation of Selected Persistent Organic Pollutants in Farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*), Salmon Aquaculture Feed, and Fish Oil Compartments of Feed. Environ. Sci. Technol., 36, 2797-2805, 2002

10. Holden A., She J., Tanner M., Lunder S., Sharp R., Hooper K. PBDEs in San Francisco Bay Area: Measurements in Fish, *Organohalogen Compounds*, 61, 255-258, 2003
11. Lepom P., Karasova T., Sawal G., Occurrence of Polybrominated Diphenylethers in Freshwater fish from Germany. *Organohalogen Compounds*, 58, 209-212, 2002
12. Ling Y. Z., Ronald A. H.; Temporal Trends and Spatial Distribution of Brominated Flame Retardants in Archived Fishes from the Great Lakes. *Environ. Sci. Technol.*, 38, 2779-2784, 2004
- 13 Daniel R. O., Dale H., Francois R., David C., Jose S.; Levels and Distribution of Polybrominated Diphenyl Ethers in Water, Surface Sediments, and Bivalves from San Francisco Estuary. *Environ. Sci. Technol.*, 39,33-41, 2005

對二氯苯干擾細胞鈣離子恆定及細胞凋亡

1,4-Dichlorobenzene Interferes Calcium Homeostasis and Apoptosis

林佳信、劉佩珊
東吳大學微生物學系

摘要

對二氯苯 (1,4-Dichlorobenzene, DCB) 主要用於廁所及垃圾桶的除臭劑和消除霉菌及蛾類的燻煙劑，少量用於製造聚苯硫醚樹脂及其他化學物質時所添加的中間物質。文獻報導動物實驗發現除肝臟危害外亦會造成腎臟毒性，研究報告顯示 DCB 為非基因型致癌物，在鼠類動物上，提高肝臟致癌性，增加 DNA 合成，並抑制細胞凋亡，但是其中的分子機轉至今不明；由於 DCB 亦具有具有類雌激素效應 (estrogen-like activity)，而雌激素可干擾細胞內游離鈣離子，因此此研究以人類肝癌細胞及直腸癌細胞為材料，探討 DCB 對細胞內鈣離子濃度之影響，以及 DCB 是否藉此干擾而降低了粒腺體途徑的細胞凋亡，因而致癌。我們研究結果發現，DCB 可引起細胞內鈣離子濃度上升，此鈣離子來自細胞外流入及細胞內釋出；經 DCB 處理後下降了粒腺體內的儲鈣，因而抑制了 staurosporine 所引起之細胞凋亡。

關鍵字：對二氯苯、細胞內鈣離子游離濃度、人類肝癌 PLC/PRF/5 細胞、粒腺體儲鈣量、細胞凋亡

一、前言

對二氯苯化學式為 $C_6H_4Cl_2$ ，蒸氣壓為 1.277mmHg，室溫下為白色固體，會逐漸由固體揮發為氣體，其驅蟲、防蟲及除臭功效皆仰賴釋出的氣體，可做成樟腦丸。其他工業用途包括用於製造聚苯硫醚樹脂及其他化學物質時所添加的中間物質，用途廣泛 (Umemura *et al.*, 1996)。文獻顯示對二氯苯對人體的健康危害，包括：上呼吸道刺激過敏、肺組織病變、肝腎組織病變、造血系統異常、皮膚及黏膜組織異常等。慢性暴露的健康危害，主要為肝臟，會有黃疸、硬化、甚至死亡的可能。若暴露在高濃度下，會有虛弱、頭昏眼花、頭痛、體重減輕、嘔吐、鼻炎、面部肌肉痙攣等，亦被懷疑是造成白內障的原因之一 (Berliner, 1939)。誤食患者血紅素可能會轉變成變性血紅素而導致缺氧，產生類似紫質症的症狀。對老鼠除造成肝臟障害外亦會造成腎臟毒性，並有證據指出其為動物肝臟致癌性物質 (NTP, 1987)。動物體內試驗或體外試驗均發現造成 DNA 合成增加，並抑制細胞凋亡 (James *et al.*, 1998)。此研究以人類肝癌細胞及人類直腸癌細胞

株 colon 為材料探討 DCB 的細胞毒性，於實驗中發現 DCB 可引起細胞內鈣離子濃度上升，因此進一步探討此現象與致癌性的相關性。

二、材料與方法

1. 藥品：DCB、HEPES、digitonin、EGTA、thapsigargin、staurosporine、Carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazone 等 購自 Sigma Chemical Co.。Fura-2 acrtoxymethyl ester (Fura-2/AM) 購自 Molecular Probes co., LTD。Medium 及血清購自 GibcoBRL。NaCl、KCl 與其他鹽類購自 Merck Co.

2. 人類肝癌細胞 PLC/PRF/5 及人類直腸癌細胞 COLO205 培養方法與條件(Saito *et al.*, 1982 ; Stround *et al.*, 1991)：PLC/PRF/5 及 COLO205 細胞株購自 ATCC。人類直腸癌細胞培養在含有 2g/L sodium bicarbonate, 1mM sodium pyruvate, 10mM HEPES 的 RPMI1640 培養基中，添加 10% fetal bovine serum；人類肝癌細胞培養在含有 2g/L sodium bicarbonate, 1mM sodium pyruvate 的 MEM 中，添加 10% fetal bovine serum，以 trypsin-EDTA 進行繼代培養，培養條件皆為 37°C, 5%CO₂ 培養箱中，每二到三天更換一次培養基。

3. 細胞內鈣離子濃度的測定(Grynkiwicz *et al.*, 1985)：將細胞填充 10 μM Fura-2，置於 37 °C 水浴槽中震盪培養 40 分鐘，用 buffer 洗兩次，進行實驗。使用 340 nm 及 380 nm 激發，測量放射 505 nm 的變化情形，在定點時間加入測試藥物實驗時，經由公式算得細胞內鈣離子濃度變化。

4. MTT Kit 分析細胞存活(Machara *et al.*, 1986)：細胞培養於培養皿中，去除培養基，加入 PBS 緩衝液清洗細胞表面，加入 trypsin-EDTA 溶液，37°C 處理 5 分鐘，若為懸浮性細胞，則直接收取，1200rpm 離心後，懸浮成 1ml，置於冰上備用。將細胞懸浮液進行連續稀釋成每毫升約 1×10^6 至 1×10^3 個細胞，添加連續稀釋後之細胞懸浮液 100 μl 至 96 孔培養盤，再添加 10 μl MTT(5mg/ml) 試劑至每個孔洞，37°C 培養培養 4 小時後；添加溶於 0.1N 鹽酸溶液的 10% SDS 100 μl，置於 37°C 培養箱中 24 小時，使紫色的色塊溶解，以波長 590nm 吸光測定，並製作細胞數對吸光值的標準曲線。

三、結果及討論

2. DCB 干擾細胞內鈣恆定

我們以人類肝癌細胞株(PLC/PRF/5)及人類直腸癌細胞株 colon 為材料，測試 DCB 對細胞內游離鈣離子的影響。發現 DCB 具有引起細胞內鈣離子濃度上升的能力，而且鈣離子上升量與 DCB 濃度具有濃度依存性關係（圖一）。600 μ MDCB 引發最大的鈣離子上升(464 \pm 145nM)。此外，在有及無外鈣環境下，DCB 皆可引起細胞內內鈣離子濃度上升。根據以上數據，我們首度報導 DCB 可干擾細胞內鈣離子濃度。進一步我們探討了細胞內內質網及粒腺體中的儲鈣狀況，發現 DCB 可降低內質網鈣幫浦抑制劑 Thapsigargin 的釋鈣能力，且 Thapsigargin 可降低 DCB 引起的細胞內鈣離子濃度上升（圖二），因此推測 DCB 可干擾細胞內內質網儲鈣情況。有以 CCCP 觀測粒腺體中的儲鈣狀況，發現 DCB 可降低 CCCP 對粒腺體的釋鈣能力（圖三），因此推測 DCB 可干擾細胞內粒腺體儲鈣情況。

2. DCB 對細胞凋亡之影響

DCB 於有及無血清的培養基中處理 24 小時，DCB 自身對細胞存活及增生無顯著影響（data not shown），而有血清處理後觀測 staurosporine 所引起的細胞凋亡，發現 DCB 可降低 staurosporine 所引起的細胞凋亡（圖四）。

3. 總結

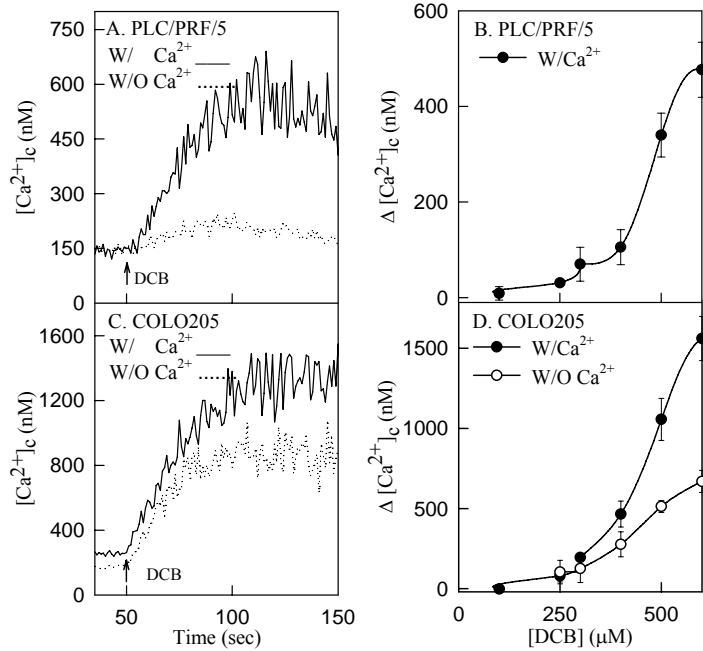
Scorrano 等人於 2003 Science 雜誌中提出對細胞凋亡的新看法，提出內直網的儲鈣量下降時，會導致粒腺體於釋鈣時無法自內直網補充鈣，於是會降低由粒腺體引起之細胞凋亡，我們在此研究中發現，DCB 可引起細胞內鈣離子濃度上升，主要是空乏了內直網中的儲鈣量，因此也下降了粒腺體釋鈣時的釋鈣量（CCCP 反應），並且我們也觀察到 DCB 降低 staurosporine 所引起的細胞凋亡，因此我們根據結果推測，DCB 引起細胞內直網釋鈣，於是降低粒腺體途徑的細胞凋亡。

四、參考文獻

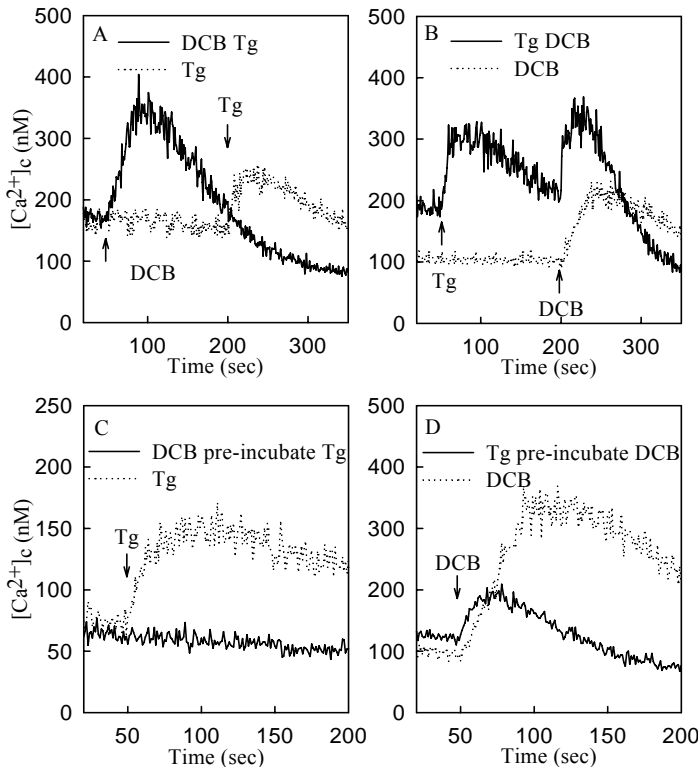
- Berliner M. L. 1939. Cataract following the inhalation of paradichlorobenzene vapor. Arch Ophthalmol. **22**:1023-34.
- Grynkiewicz. 1985. A new generation of Ca²⁺ indicators with greatly improved fluorescence properties. J. Biol. Chem. **260** : 3440-3450.
- James N. H., Anthony R. S., and Ruth A. R. 1998. Suppression of apoptosis and induction of DNA synthesis by the rat and mouse hepatocarcinogen diethylhexylphathate (DEHP) and the mouse hepatocarcinogen 1,4-dichlorobenzene (DCB). ARCH Toxicol. **72**: 784-790.
- Liu P. S., and Lin C. M. 2002. Phthalates suppress the calcium signaling nicotinic acetylcholine receptor in bovine adrenal chromaffin cells. Toxicology and Applied Pharmacology. **183**: 92-98.

- Maehara Y. 1986. The ATP assay is more sensitive than the succinate dehydrogenase inhibition test for predicting cell viability. Eur. J. Cancer Clin. Oncol. **23**, 273–276.
- National Toxicology Program (NTP). 1987. Toxicology and carcinogenesis studies of 1,4-dichlorobenzene in F344/N Rats and B6C3F1 Mice, technical report. NTP TR 319.
- Saito H., Goodnough L. T., Knowles B.B, and Aden D.P. 1982. Synthesis and secretion of α_2 -plasmin inhibitor by established human liver cell line. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **79** : 5684-5687.
- Scorrano L., Oakes S. A., Opferman J. T., Cheng E. H., Sorcinelli M. D., Pozzan T., and Korsmeyer S. 2003. Bax and Bak regulation of endoplasmic reticulum Ca^{2+} : A control point of apoptosis. Science. **300** : 135-139.
- Stroud M., Levery S.B., Nudelman E.D., Salyan M. E. K., Towell J. A., Roberts C.E., Watanabe M., and Hakomori S. 1991. J.Biol. Chem. Extended Type I Chain glycosphingo Dimeric Le (III⁴V⁴Fu₂LC₆) as human tumor-associated antigen. J.Biol.Chem. **266** : 8439-8446.
- Umemura T., Saito. M., Takagi A., and Kurokawa Y. 1996. Isomer-Specific Acute Toxicity and Cell Proliferation in Livers of B6C3F1 Mice Exposed to Dichlorobenzene. Toxicol. Appl. Pharmacol. **137**: 268-274.

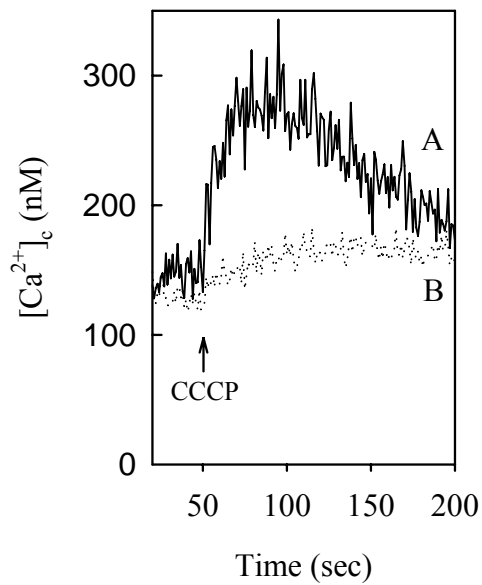
五、圖



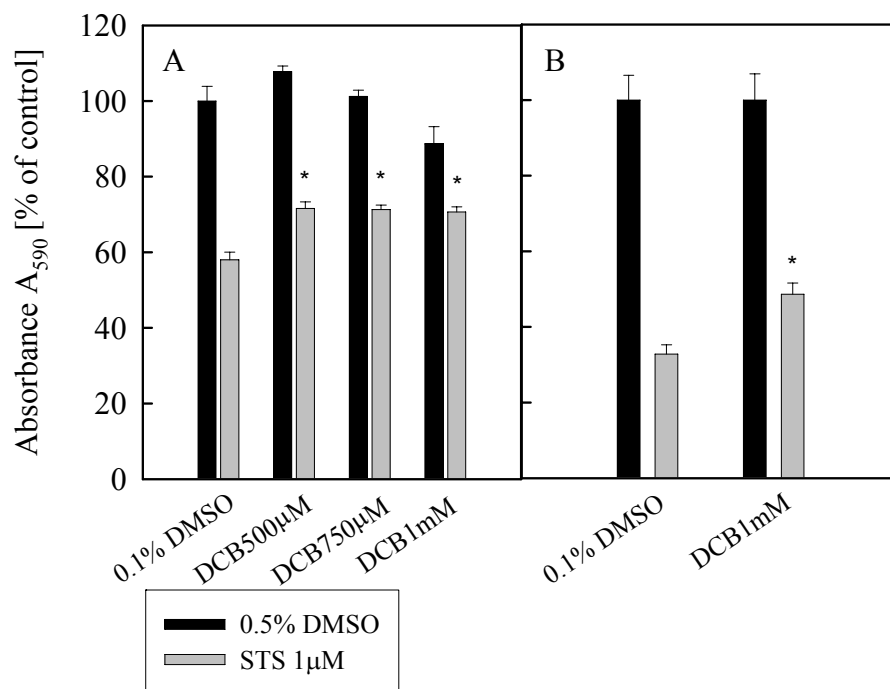
圖一、DCB 自身對 $[Ca^{2+}]_c$ 的影響。Fura-2 填充之肝癌細胞(A, B)與直腸癌細胞(C, D), 分別於有外鈣與無外鈣緩衝液下, 於50秒加入 600 μM 刺激劑 DCB; DCB 引起之 $[Ca^{2+}]_c$ 高峰值扣除 $[Ca^{2+}]_c$ 基礎值, 經統計後繪於 B, D, $n=3$ 。



圖二、鈣離子幫浦抑制劑(Thapsigargin, Tg)對 DCB 自身引起鈣訊的影響(直腸癌細胞)。A, B: 於無外鈣緩衝液下, 先加入 1 μM Tg 後加入 500 μM DCB 或反之; C: 細胞以 DCB 500 μM 前處理 5 分鐘後, 加入 Tg 1 μM 刺激; D: 細胞以 Tg 1 μM 前處理 5 分鐘後加入 DCB 刺激。



圖三、DCB 對粒線體 protonophore(CCCP) 引起鈣訊的影響。Fura-2 填充之直腸癌細胞，於無外鈣緩衝液下，前處理 DCB 5 分鐘後加入 1 μ M DCB 刺激 (line B) 與其為前處理對照組 (line A)。



圖四、DCB 對 staurosporine 引發細胞凋亡的影響。直腸癌細胞 (panel A) 與肝癌細胞 (panel B)，前處理不同濃度的 DCB 24 小時，再以 staurosporine 1 μ M (黑直方圖) 處理 24 後，白直方圖為對照組，以 MTT assay 偵測細胞存活。*: 前處理 DCB 組與非處理組 staurosporine 存活率以 student t test 相比較， $p < 0.05$ 。

壬基酚在淡水紅樹林底泥生物降解特性之探討

Studies on the biodegradation of nonylphenol in Tamshui mangrove sediments

劉建良¹, 張碧芬¹, 鄭智元² 丁望賢²,
東吳大學微生物學系¹, 中央大學化學系²

摘要

本研究主要探討淡水紅樹林底泥中壬基酚之生物降解速率及其影響因子, 結果顯示關渡竹圍紅樹林底泥中壬基酚濃度範圍介於 ND ~ 1150 ng/g。在測試各地點不同環境下, 發現好氧環境下降解速率以 A 地點最快, 半衰期為 10.7 天; 厭氧環境下以 D 地點最快, 半衰期為 68 天。溫度越高會使得生物降解速率提高。添加 NaCl(3%) 會抑制生物降解, 而 NaCl(1%) 則促進降解; 添加過氧化氫、酵母菌萃取物、纖維素、brij35 皆會促進生物性降解。此外篩選出 3 株具有較強具降解壬基酚能力純菌, 皆為 *Bacillus* sp.。

關鍵詞: 內分泌干擾物質、壬基酚、紅樹林底泥、生物降解。

一、前言

台灣四面環海, 海洋資源豐富, 海陸間的緩衝區便是所謂的溼地。在北部地區濕地則大都為水筆仔, 尤其是竹圍的紅樹林規模也是全台灣最大的, 更是全世界面積最大的紅樹林純林。濕地除可幫助漁獲量增加, 更具有緩衝區的作用, 特別是在河口地區濕地中紅樹林, 吸取上游的無機物質經過植物體內作用轉化為有機養分。

壬基酚為無色透明液體、強疏水性、低水溶性, 於環境中之累積量相當高, 化學結構類似動物及人類之雌性荷爾蒙, 已列為疑似環境荷爾蒙之一。聯合國環境規劃署建議增列之持久性毒性物質有 16 種, 其中壬基酚為其中一種(吳與陳, 2004)。

有關紅樹林毒性物質之研究, 目前研究多為被石油污染的紅樹林, 或是利用其可以吸附或濃縮重金屬的特性。Tam 等人(2001)研究香港紅樹林底泥中多環芳香族碳氫化合物含量為 365~11098 ng/g。Ke 等人(2003)利用紅樹林底泥中的微生物菌群移除 pyrene。Tam 等人(2002)研究從紅樹林底泥分離菌株降解 phenanthrene, 發現 phenanthrene 不會擴散, 卻消失約九成 phenanthrene。關於河口溼地及紅樹林底泥有機污染物之分布及生物降解本土化資料之研究並不多, 尤其壬基酚類之研究更少。本研究目的為建立壬基酚在淡水紅樹林底泥生物降解之最適條件, 以作為生物復育可行性之評估與參考。

二、材料與方法

2.1. 環境樣品採樣之規劃

紅樹林河底泥樣本採樣地點為淡水河沿岸之關渡、竹圍、紅樹林、淡水之紅樹林河底泥樣本, 共計五個採樣點。採樣方法為以底泥抓取式採樣器, 底泥厚度較小之採樣點取河道中央表層底泥; 厚度較大之採樣點則是以管柱式採樣器進行採取。

2.2 不同採樣點底泥特性分析

好氧異營菌總菌數、大腸桿菌群數、化學需氧量(COD)、酸鹼值(pH)、氧化還原電位(ORP)、壬基酚含量等項目。

2.3 好氧降解實驗

無菌操作箱中取出 1 克底泥懸浮液於總體積為 100 mL 的血清瓶, 並加入 49 mL 好氧基礎培養基, 再加入含有壬基酚 2 mg/kg, 依下列不同條件之處理, 置於 30°C 培養箱中黑暗震盪培養, 每隔一段時間取出測量壬基酚的殘留量。

2.4 壬基酚之分析及偵測條件

取培養液 2 mL 加入鹽酸酸化，加入 2 mL 二氯甲烷，以震盪器震盪 1 min，置於超音波振盪器於 40°C 震盪 30 分鐘，以 4000 rpm 離心 5min，抽取下層 2 mL 二氯甲烷，重複三次，蒐集二氯甲烷萃取液，利用 C18 固相萃取管純化後，作為分析之用。質譜儀偵測器條件：Trap 溫度: 200 °C、Manifold 溫度 40 °C、Transfer Line 溫度 300 °C、為避開溶劑波峰，偵測器在樣本注射後 5.5 分鐘開啟。壬基酚之定性以標準品相同 Retention time，輔以樣品特性質譜相似度 ≥ 80% 於標準品特性質譜資料庫(NIST)判斷之。定量以單位時間內樣品特徵斷裂碎片峰，累積圖層總面積作為定量依據，以 m/z 135+14 計量。

2.5 速率及統計分析之計算

1. 生物降解速率以 first order 方程式作動力學之探討

$$-\ln(S/S_0) = k \cdot t, \quad t_{1/2} = 0.693 / k。$$

S: 實驗測得濃度, S₀: 原始濃度 (mg/L), t: 降解時間, k: 降解速率, t_{1/2}: 半衰期。

2. 統計分析

以 T-test 統計方法分析所有實驗結果數據之間差異性。

三、結果與討論

3.1 採樣點背景值之調查

表一為不同採樣點原始菌數、pH 值、與 C/N。結果顯示 E 地點菌數最多為 3.9×10⁶ CFU/g，而 A 地點菌數次多為 2.9×10⁶ CFU/g；A、E 地點較相近分別為 7.24 與 7.34，而 B、C、D 則在 pH 值 6.25~6.52 間；B 地點最高 C/N 為 12.64，A 地點居次 C/N 為 7.166，D 地點最低 C/N 為 1.076。壬基酚在淡水紅樹林底泥中流佈如表二所示，顯示各地點壬基酚濃度，在底泥表層 A 地點壬基酚濃度最高為 1015 ng/g，B 地點次高為 835 ng/g，C、E 地點則次之，D 地點則低於偵測極限；而在底泥裡層 A 與 B 地點殘留壬基酚濃度接近分別為 1140、1155 ng/g 而 C、E 地點居次，而 D 地點低於偵測極限。濃度趨勢顯示顯示底泥中壬基酚濃度為 D 地點 < E 地點 < C 地點 < B 地點 < A 地點，亦發現裡層壬基酚濃度較表層高。

表一、各地點紅樹林底泥菌數、pH 值與 C/N

Sediment	Bacterial counts					
	(CFU/g)	PH	N(%)	C(%)	H(%)	C/N
A	2.9×10 ⁶	7.24	0.15±0.07	1.075±0.095	0.685±0.035	7.166
B	6.1×10 ⁵	6.33	0.125±0.095	1.58±0.06	0.725±0.135	12.64
C	4.5×10 ⁵	6.25	0.215±0.015	0.895±0.045	0.605±0.045	4.162
D	5.1×10 ⁵	6.52	0.195±0.015	0.21	0.445±0.015	1.076
E	3.9×10 ⁶	7.34	0.25	1.08±0.1	0.72±0.01	4.32

表二、紅樹林底泥樣品中壬基酚檢測結果

Sediment	Surface layer (ng/g)	
	Surface layer (ng/g)	Subsurface layer (ng/g)
A	1015	11140
B	835	1155
C	620	690
D	ND	ND
E	405	620

ND: not detected.

3.2 紅樹林底泥壬基酚生物性降解之實驗

不同採樣點紅樹林底泥對壬基酚降解速率結果如表三所示，結果顯示紅樹林底泥 A 地點在好氧情況下，對壬基酚之降解速率為最快。壬基酚厭氧降解速率結果顯示底泥 D 地點在厭氧情況下，對壬基酚之降解速率為最快。

表三、好氧及環境下各地點降解壬基酚常數(k)、半衰期($t_{1/2}$)及相關係數(r^2)

Sediment	Aerobic conditions			Anaerobic conditions		
	R	K	$t_{1/2}$	r^2	K	$t_{1/2}$
A	0.929	0.065	10.7 ^a	0.925	0.006	125
B	0.758	0.051	13.7 ^a	0.974	0.006	116
C	0.960	0.062	11.1 ^a	0.886	0.006	114
D	0.917	0.055	12.7 ^a	0.783	0.010	68
E	0.970	0.039	17.8	0.755	0.004	156

* a 為 t-test 統計分析結果後沒有顯著差異, $P < 0.005$

3.3 好氧批次降解實驗

如表四所示，結果顯示滅菌組底泥控制組於第 30 天時，仍有 85%，顯示在此實驗期間內，壬基酚降解主要是來自於底泥中微生物的作用。不同培養溫度對於紅樹林底泥好氧降解之結果顯示，當溫度提升至 30°C 時降解速率跟著提高，以 30 天內 10°C 下仍殘存 64.52% 最為明顯。不同起始 pH 值培養可發現將 pH 值提至 9 可提升降解速率，而將 pH 值降低至 5 則有抑制的現象，但經由統計分析發現這兩者與控制組 pH7 相比較並無顯著差異。而添加不同濃度壬基酚發現濃度提高對於降解壬基酚有延遲的影響。

表五為添加物對於紅樹林底泥生物性降解壬基酚的影響，結果顯示鹽分濃度 1% 可促進降解，而高鹽分的環境則可以看到明顯抑制降解。不同濃度 NP1EO 5、50 mg/L 對於紅樹林底泥生物性降解，其 $t_{1/2}$ 分別為 1.0 及 8.5 天。添加 cellulose 可提高降解壬基酚，相似的情形也出現在 brij35、酵母菌萃取物、與過氧化氫，亦有明顯促進效果。

表四、不同理化因子好氧生物降解壬基酚之降解常數(k)、半衰期($t_{1/2}$)及相關係數(r^2)

Treatment	r^2	K	$t_{1/2}$
Inoculated control	0.931	0.137	5.0 ^a
10°C	0.904	0.016	43.4
20°C	0.981	0.057	12.1
30°C	0.986	0.097	7.1 ^a
PH9	0.901	0.145	4.7 ^b
PH5	0.932	0.129	5.3 ^b
Nonylphenol 1ppm	0.761	0.683	1.0
Nonylphenol 10ppm	0.977	0.082	8.4

* a、b 為 t-test 統計分析結果沒有顯著差異, $P < 0.005$

表五、添加物對底泥好氧生物降解壬基酚之降解常數(k)、半衰期($t_{1/2}$)及相關係數(r^2)

Treatment	r^2	K	$t_{1/2}$
Inoculated control	0.931	0.137	5.0 ^a
NaCl (1%)	0.959	0.14	4.9 ^a
NaCl (3%)	0.926	0.043	16.2
H ₂ O ₂ (0.5mg/L)	0.724	0.346	2.0
YE (5mg/L)	0.777	0.482	1.4
Cellulose(0.96g/L)	0.822	0.508	1.3
Brij35(1CMC)	0.814	0.527	1.3
NP1EO 5ppm	0.976	0.180	3.8
NP1EO 50ppm		a	a

^a Did not degrade within 30 days.

3.4 純菌篩選、鑑定與降解壬基酚能力實驗

從具有最佳降解能力 A 地點篩選好氧純菌，依不同外觀共分離出 15 株菌。表六顯示降解壬基酚以 A10 菌株降解能力最好，半衰期為 1.4 天，而 A9、A13 居次皆為 1.4 天；A12 降解能力最差為 8.6 天。降解能力最強的三株菌株以 16S rDNA 定序鑑定，菌株 A9, A10 及 A13 分別為 *Bacillus spp*, *Bacillus mycooides*, *Bacillus cereus*，其相似度皆為 99%。

表六、好氧純菌降解壬基酚常數(k)、半衰期($t_{1/2}$)及相關係數(r^2)

	r^2	k	$t_{1/2}$
A1	0.779	0.305	3.9
A2	0.764	0.302	4.0
A3	0.771	1.300	4.9
A4	0.987	0.086	7.8
A8	0.962	0.102	6.6
A9	0.808	0.491	1.4
A10	0.857	0.510	1.3
A12	0.910	0.081	8.5
A13	0.805	0.491	1.4
A14	0.976	0.091	7.6

誌謝

本研究承蒙國科會研究計畫(NSC94-2745-B-031-004-URD) 經費支持，僅此致謝。

參考文獻

- Ke, L., Wang, W.Q., Wong, T. W.Y., Wong, Y.S., and Tam, N.F.Y. 2003. Removal of pyrene from contaminated sediments by mangrove microcosms. *Chemosphere* 51: 25–34
- Tam, N.F.Y., Ke, L., Wang, X.H., and Wong, Y.S. 2001. Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of mangrove swamps. *Environ. Pollu.* 114: 255-263
- Tam, N.F.Y., Guo, C.L., Yau, W.Y. and Wong, Y.S. 2002. Preliminary study on biodegradation of phenanthrene by bacteria isolated from mangrove sediments in Hong Kong. *Mar. Pollu. Bull.* 45: 316–324

吳文娟、陳文德。2004。國內持久性有機污染物管理策略現況。第三屆環境荷爾蒙及持久性有機污染物研討會論文集, p.3-8

多環芳香族碳氫化合物在淡水紅樹林底泥之生物降解特性探討

Studies on the biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Tamshui mangrove sediments

張義德 張碧芬 袁紹英
東吳大學微生物學系

摘要

本研究主要探討淡水紅樹林底泥對 Phenanthrene 與 Pyrene 之生物降解速率及其影響因子。結果顯示在好氧狀態下關渡紅樹林底泥具有最佳生物降解 PAHs 的能力，Phenanthrene 半衰期 ($t_{1/2}$) 為 1.9 天，Pyrene 為 3.1 天；在厭氧狀態下社子紅樹林底泥有最佳生物降解 PAHs 的能力，Phenanthrene 半衰期 ($t_{1/2}$) 為 89.6 天，Pyrene 為 93.4 天，厭氧狀態下生物降解 PAHs 比好氧狀態時緩慢。在好氧批次降解實驗中發現越高濃度的 PAHs 其半衰期越長，底泥添加 NaCl (0.3 %) 可促進降解，而 NaCl (3 %) 則抑制降解、Humic acid 與 Yeast extract 對於 PAHs 生物降解有促進作用。底泥中篩選具降解 PAHs 能力的菌株，經鑑定後分別為 *Mycobacterium barrassi*、*Dyella ginsengisoli*、*Rhodococcus equi*、*Bacillus pumilus*、*Bacillus weihenstephanensis* 與 *Labrys* sp.

關鍵詞：多環芳香族碳氫化合物、紅樹林底泥、生物降解

一、前言

台灣紅樹林面積約有 287 公頃，北部淡水竹圍的紅樹林規模是全台灣最大的，更是全世界面積最大的紅樹林純林。紅樹林濕地是地球上生產力最豐沛的生態系，孕育豐富的野生動植物及微生物多樣性，在生態環境中包含淨化水質、過濾污染物、製造氧氣、調節氣候、保護海岸等功能。

多環芳香族碳氫化合物 (PAHs) 已被聯合國環境規劃署建議增列為持久性有機污染物，PAHs 在生物體吸收後，經由新陳代謝作用形成的衍生物可與 DNA 上的鹼基作用而導致突變，是目前世界已知的致癌化學物最龐大的一群。台灣環保署將 PAHs 中的蔥列為第一類毒性化學物質，此化學物質在環境中不易分解或因生物蓄積、生物濃縮、生物轉化等作用，致污染環境或危害人體健康者有污染環境或危害人體健康之虞，依規定須定期申報運作紀錄及釋放量紀錄 (吳及陳, 2004)。

Tam 等人 (2001) 研究香港紅樹林底泥 PAHs 含量為 365~11098 ng/g。Quantin 等人 (2005) 發現河底泥在厭氧下生物降解 PAHs 很緩慢。Tam 等人 (2005) 在高濃度 PAHs 下篩選紅樹林底泥中的增值菌群，發現主要由紅球菌屬、靜止菌屬與假單胞菌屬所組成。Tam 等人 (2005) 發現紅樹林底泥微生物對 Fluorene、Phenanthrene (PhA) 與 Pyrene (Py) 具有降解的能力。

有關台灣河口溼地及紅樹林底泥有機污染物之分布及生物降解本土化資料之研究並不多。本研究目的為探討 PAHs 在紅樹林底泥生物降解之最適條件，並分離及鑑定具分解能力之純菌，以作為日後溼地環境中生物復育可行性之評估與參考。

二、材料與方法

2.1 環境樣品採樣之規劃

紅樹林河底泥樣本採樣地點為淡水河沿岸之關渡、竹圍、紅樹林、淡水之紅樹林底泥樣本，共計五個採樣點，經緯度如表一所示。採樣方法為以底泥抓取式採樣器 (grab sampler) 在紅樹林植物根系之表層(0-10 cm)底泥進行採取。

表一 採樣地點經緯度

採樣地點	經度	緯度	備註
A	25°06, 753'	121°27, 373'	社子紅樹林保護區
B	25°114, 191'	121°460, 399'	關渡紅樹林保護區
C	25°07, 547'	121°27, 109'	關渡野鳥保護區
D	25°09, 666'	121°27, 550'	竹圍紅樹林保護區，近出海口
E	25°09, 627'	121°26, 828'	竹圍紅樹林保護區，深入水筆仔保護區

2.2 多環芳香族碳氫化合物之分析方法

取底泥培養液 2 mL 加入正己烷，置於超音波震盪器，在室溫下震盪 5 分鐘，以震盪混合器震盪 30 秒，5000 rpm 離心 10 分，取上層懸浮液，加入正己烷重複以上步驟；將 2 次取得的懸浮液混合均勻後，取 1.5 mL 懸浮液以 0.22 μm 濾膜過濾，取濾出液打入高效能液相層析儀中，以 System Gold 32 Karat 7.0 電腦軟體分析 PAHs 的濃度。

2.3 生物降解速率及統計分析之計算

2.3.1 生物降解速率

以 first order 方程式作動力學之探討： $-\ln(S/S_0) = k \cdot t$ ， $t_{1/2} = 0.693 / k$ 。
S：實驗測得濃度， S_0 ：原始濃度 (mg/L)，t：降解時間，k：降解速率， $t_{1/2}$ ：半衰期。

2.3.2 統計分析

以 T-test 統計方法分析所有實驗結果數據之間差異性。

三、結果與討論

3.1 採樣點底泥特性之調查

如表二所示，顯示各地點原始菌數、pH 值、與 C/N 比。B 地點菌數最多為 2.4×10^7 CFU/g；pH 以 E 地點最高為 7.57，而 D 地點最低為 6.49；C/N 以 A 地點最高 C/N 為 12.15，B 地點居次，C/N 為 7.2，D 地點最低 C/N 為 1.05。

表二 不同採樣點紅樹林底泥好氧異營菌菌數、pH 值與 C/N

Sediment	Bacterial count (CFU/g)	pH	N (%)	C (%)	H (%)	C/N
A	1.1×10^6	7.27	0.13	1.58±0.09	0.73±0.19	12.15
B	2.4×10^7	7.41	0.15	1.08±0.13	0.69±0.05	7.2
C	5.6×10^6	7.05	0.22	0.9±0.06	0.61±0.06	4.09
D	1.4×10^5	6.49	0.2	0.21	0.45±0.02	1.05
E	3.1×10^6	7.57	0.25	1.08±0.14	0.72±0.01	4.32

3.2 紅樹林底泥生物降解 PAHs

3.2.1 不同地點紅樹林底泥好氧生物降解 PAHs 實驗

不同地點紅樹林底泥對 PAHs 之降解速率結果如表三所示，結果顯示 B 地點在好氧狀態對 PAHs 之降解速率為最快，之後選定以此地點之紅樹林底泥進行各項實驗。

表三 好氧環境下各地點降解 PAHs 之相關係數(r^2)、反應常數(k)及半衰期($t_{1/2}$)

Sediment	PhA			Py		
	r^2	K	$t_{1/2}$	r^2	k	$t_{1/2}$
A	0.960	0.376	1.9 ^a	0.808	0.226	3.1 ^a
B	0.958	0.372	1.9 ^a	0.836	0.231	3.0 ^a
C	0.926	0.262	2.7 ^b	0.844	0.235	3.0 ^a
D	0.957	0.378	1.8 ^a	0.894	0.095	7.3 ^b
E	0.875	0.252	2.8 ^b	0.819	0.230	3.0 ^a

* 字母相同為 T-test 統計分析結果後沒有顯著差異， $P < 0.05$

3.2.2 不同地點紅樹林底泥厭氧生物降解 PAHs 實驗

不同地點紅樹林底泥對 2 mg/L PAHs 之降解速率比較結果如表四所示，結果顯示 A 地點在厭氧狀態對 PAHs 降解速率為最快；厭氧狀態降解速率皆比在好氧狀態下緩慢。

表四 厭氧環境下各地點降解 PAHs 之相關係數(r^2)、反應常數(k)及半衰期($t_{1/2}$)

Sediment	PhA			Py		
	r^2	K	$T_{1/2}$	r^2	k	$t_{1/2}$
A	0.980	0.008	89.6	0.875	0.007	93.4
B	0.958	0.006	123.1	0.721	0.004	167.1
C	0.926	0.007	95.6	0.833	0.006	111.6
D	0.908	0.011	63.3	0.912	0.005	133.2
E	0.953	0.006	111.0	0.753	0.005	131.2

3.3 好氧批次降解

如表五所示，濃度 PAHs 5、10 mg/L 對於紅樹林底泥生物降解 PAHs，發現越高濃度的 PAHs 其半衰期越長，高濃度的 PAHs 可能對微生物生長造成影響。不同鹽分濃度 0.3、3 % 對於底泥生物降解 PAHs，發現鹽分濃度 0.3 % 可促進降解，而高鹽分(NaCl 3 %) 抑制降解。不同添加物中發現添加 Humic acid 與 YE 可提高生物降解 PAHs 的效果；添加 Tween 80、Cellulose、過氧化氫、NP 與 DEHP，則沒有明顯影響。

表五 不同處理對底泥好氧生物降解 PAHs 之相關係數(r^2)、反應常數(k)及半衰期($t_{1/2}$)

Treatment	PhA			Py		
	r^2	k	$t_{1/2}$	r^2	K	$t_{1/2}$
Inoculated control	0.554	0.403	1.7	0.942	0.204	3.4
PAHs 5 mg/L	0.763	0.113	6.1	0.562	0.034	20.2
PAHs 10 mg/L	0.552	0.077	9.1	0.319	0.029	23.6
Brij30	0.554	0.409	1.7	0.946	0.236	2.9
Tween 80	0.754	0.418	1.7	0.956	0.208	3.3
EDTA	0.630	0.410	1.7	0.916	0.227	3.1
Fe	0.493	0.089	7.8	0.318	0.068	10.2
NaCl 0.3%	0.700	0.419	1.7	0.903	0.166	4.2
NaCl 3%	0.523	0.346	2.0	0.607	0.103	6.7
Cellulose	0.555	0.390	1.8	0.930	0.183	3.8
Humic acid	0.571	0.429	1.6	0.898	0.234	3.0
Yeast extract	0.682	0.434	1.6	0.924	0.222	3.1
Hydrogen peroxide	0.625	0.412	1.7	0.950	0.216	3.2
Nonylphenol	0.586	0.405	1.7	0.893	0.217	3.2
DEHP	0.586	0.411	1.7	0.937	0.205	3.4
Salicylic acid	0.835	0.359	1.9	0.846	0.069	10.1

3.3 純菌篩選與鑑定

將降解能力最佳的六株好氧純菌以其 16S rDNA 進行定序鑑定，結果如表六所示。

表六 好氧純菌定序鑑定

Strain	Identification	Accession No.	Nucleotide similarity
MS1	<i>Mycobacterium barrassii</i> CIP 108545	AY859685	1361/1371 (99%)
MS2	<i>Dyella ginsengisoli</i>	AB245367	1352/1370 (98%)
MS3	<i>Rhodococcus equi</i>	AY771327	1373/1374 (99%)
MS4	<i>Bacillus pumilus</i> strain KL-052	AY030327	1496/1410 (99%)
MS5	<i>Bacillus weihenstephanensis</i>	AM062686	1385/1388 (99%)
MS13	<i>Labrys</i> sp. CC-BB4	DQ062742	1324/1325 (99%)

誌謝

本研究承蒙行政院國科會研究計畫(NSC94-2745-B-031-004-URD) 經費支持，僅此致謝。

參考文獻

- Quantin, C., Joner, E.J., Portal, J.M., Berthelin, J., 2005. PAH dissipation in a contaminated river sediment under oxic and anoxic conditions. *Environ. Pollut.* 134, 315-322.
- Tam, N.F.Y., Ke, L., Wang, X.H., Wong, Y.S., 2001. Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of mangrove swamps. *Environ. Pollut.* 114, 255-263.
- Yu, K.S.H., Wong, A.H.Y., Yau, K.W.Y., Wong, Y.S., Tam, N.F.Y., 2005. Natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation on biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mangrove sediments. *Mar. Pollut. Bull.* 51, 1071-1077.
- Yu, S.H., Ke, L., Wong, Y.S., Tam, N.F.Y., 2005. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by a bacterial consortium from mangrove sediment. *Environ. Inter.* 31, 149-154.
- 吳文娟、陳文德。2004。國內持久性有機污染物管理策略現況。第三屆環境荷爾蒙及持久性有機污染物研討會論文集, p.3-8

高屏溪水體芳香烴化合物分佈特性之探討

謝季吟¹ 洪甄嬪² 高華聲^{3*}

¹國立屏東科技大學環境工程與科學系 助理教授

²大仁科技大學環境管理研究所 碩士

^{3*}大仁科技大學環境工程與科學系 助理教授

摘要

芳香烴化合物 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) 為環境中常見之污染物，部分 PAHs 化合物更已被證實具有致癌性，其中又以 Benzo(a)pyrene (BaP) 之致癌性最強，因此在歐盟的飲用水標準中已有明確規定總 PAHs 濃度不得超過 0.1ppb。台灣目前飲用水管制標準監測項目中，對此類污染物尚無明確規範，當飲用水水源受到大氣沉降或廢水排放之 PAHs 污染時，將直接或間接影響人體健康。有鑑於此，本研究以高屏地區自來水源之高屏溪主流上至下游五個樣站為研究對象，以了解飲用水源水體中 PAHs 之含量及分佈趨勢。

研究結果顯示，在高屏溪總 PAHs 濃度最高為高屏大橋測站 (178~1126ng/L)，最低為攔河堰測站 (34.6~123.3ng/L)，而水體中最常見之 PAHs 污染物質種類為 Naphthalene、Fluorene、Phenanthrene 等。另外，經 FL/Pyr 及 LMW/HMW 之比值來推估污染源的結果發現，樣品大都同時受到石油與燃燒之影響。本研究亦針對溶解性有機碳、潮汐與 PAHs 濃度之相關性進行研究。結果顯示，當水中溶解性有機碳與 PAHs 總含量呈正相關性。而在潮汐方面，發現當漲潮時，水中 PAHs 含量較低，而當退潮時，PAHs 濃度則較高。

關鍵詞：多環芳香族碳氫化合物、固相萃取、高效能液相層析、指紋鑑定

一、前言

多環芳香族碳氫化合物 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) 是由兩個或兩個以上的苯環所構成的線狀、角型或團狀之化合物，因此具有穩定的化學結構，不易在自然環境中自行分解，當人類長期吸收此類化合物時，將可能暴露於致癌風險。例如煉焦爐工廠工作之勞工，因長期暴露在 PAHs 環境下，若暴露時間長達 15 年時，產生肺癌之危險性將是一般人的 16 倍 (Redmond, 1972)。Hanson 在 1991 年也指出在瀝青工廠工作 30 年的勞工，其肺癌、肝硬化、支氣管炎、氣腫、氣喘的病例則有明顯增加。近年來，Lipiatou and saliot 等學者更證實，有好幾種多環芳香族碳氫化合物具有高致癌性和誘導突變。法國國際癌症研究中心及美國環保署亦指出在 PAHs 化合物當中，以 Benzo(a)anthracene (BaA)、Benzo(b)fluoranthene (BbFL)、Benzo(k)fluoranthene (BkFL)、Dibenzo(a,h)anthracene (DBA) 及 Benzo(a)pyrene (BaP) 之致癌性最強，對人體健康危害最大。

雖然歐盟已經對於飲用水中之總 PAHs 濃度及 BaP 濃度規範不得超過 0.0001mg/L 及 0.00001mg/L。但是截至目前為止，台灣仍未規範飲用水中之總 PAHs 及 BaP 之濃度。因此，本研究擬針對高屏溪水體中之 PAHs 濃度進行調查，以了解其分佈情形及推估可能污染來源。同時，由於 PAHs 濃度變化也會受環境及氣象因子，例如水中溶解性有機碳濃度 (DOC)、潮汐及季節等因素之影響 (Olsen et al., 1982; Jaffe., 1991)，因此本研究也針對環境因子與 PAHs 濃度變化進行探討，以瞭解其間之相關性。

二、採樣位置與頻率

2.1 採樣位置與頻率

根據陳佳玫 (2003) 分析台灣中部大氣中 PAHs 結果顯示，冬季大氣中的 PAHs 濃度最高，其次為春季，最低為夏季，而 Dörr 等學者在 1996 年的研究也顯示各種 PAHs 在冬天之濃度為夏天之 1.9~14 倍，因此本研究將選擇於冬季及春季進行採樣，採樣時間為九十四年一至五月，採樣頻率則受限於人力及經費，因此僅每月進行一次採樣；採樣地點由上游至下游共五個採樣點；採樣方式則依據環保署 NIEA W104.51C 規定之方法進行採樣及運送，樣品之前處理必須在 7 天內處理完畢，前處理完後需置於 -20°C 冷藏，且必須於 40 天完成分析。

三、材料與方法

3.1 水質樣品前處理

本研究採用固相萃取法 (solid-phase extraction, SPE) 進行樣品前處理 (NIEA M188.00C, 2003)，處理流程如下：將 5ml 二氯甲烷加入固相萃取管柱中，並使其緩慢流過靜相，以去除靜相中的不純物，然後加入 5ml 甲醇於管柱中進行活化，接著再加入 5ml 超純水清洗管柱。將 1000ml 水樣過濾，以每分鐘 2ml 流速通過萃取管柱，待水樣萃取完後，再用 5ml 超純水清洗管柱，抽氣 30 分鐘，然後用 8ml 的二氯甲烷溶出 PAHs，並分兩次沖提，第一次為 5ml，第二次為 3ml，並用無水硫酸鈉除水，使用氮氣濃縮，並將溶劑置換成乙腈，使水樣濃縮到 1ml，並進行過濾後，注入 HPLC 進行 PAHs 濃度分析。

3.2 HPLC 分析條件

本研究採用 HPLC 螢光偵檢器來進行 PAHs 濃度分析，分析使用之層析管柱為 waters PAH C18，其規格為 4.6×250mm，移動相為水及乙腈，其體積分配比例在 0 分鐘時為 55:45，30 分鐘時為 0:100 及 50 分鐘時為 55:45 流速為 1.5ml/min，注射體積為 50 μ l。螢光偵測器波長設定條件如下：0 分鐘為 250nm、345nm，20.3 分鐘為 240nm、425nm，25.5 分鐘為 265nm、380nm，29.9 分鐘為 290nm、430nm 及 37.5 分鐘為 300nm、500nm。

3.3 標準品檢量線建立

本研究利用 20、50、100、200、500 μ g/L 等 5 種不同濃度之標準品進行濃度分析，並利用線性迴歸方法，建立 HPLC 儀器感應訊號值與濃度相對應之檢量線。由於樣品檢測之濃度是經濃縮 1000 倍後之濃度，因此在使用時，必須將推估之濃度除於 1000，才是實際之濃度。

3.4、PAHs 來源鑑定

多環芳香族碳氫化合物污染來源鑑定主要是應用多環芳香族碳氫分子指數來判定其污染來源，目前已有許多研究學者利用不同比值來判定污染來源，將這些比值及判斷污染條件整理如表一所示。Benner 等學者利用 PA/Ant 的比值來判斷污染來源，主要是因 PA 較 Ant 為更穩定之同分異構體，且石油中含 PA 量較高，因此當 PA/Ant > 10，可判定其污染來源為石油。相反的，當 PA/Ant < 10 時其污染來源為熱裂解及燃燒。Gschwend and Hites(1981)利用 FL/Pyr 之比值判別 PAHs 污染來源，當 FL/Pyr > 1，主要為燃燒造成之污染；當 FL/Pyr < 1，則可能是石油污染所造成。到目前為止還有其他研究利用 PA/Ant、FL/Pyr 來判定 PAHs 污染來源 (Budzinski et al, 1997；Ahmed et al, 2003；Zhou et al, 2003)。Soclo et al.(2000)則利用 Chr/BaA 比值進行判斷，當 Chr/BaA < 1，主要為燃燒污染；當 Chr/BaA > 1 則為石油污染。近年來，也有利用低分子量/高分子量 (LMW/HMW) 來判別污染源 (Magi et al, 2002)，所謂低分子量是其分子量小於或等於 202 者，如 PA、Ant、Fl、Pyr 等，高分子量的化合物則包括 BaA、Chr、BbFL、BkFL、BaP、DBA、BghiP 等。經由燃燒所產生的 PAHs，主要為高分子量 PAHs；而經由石油污染而產生的 PAHs，則以低分子量為主，因此當 LMW/HMW 之比值小於 1 時，其污染來源為燃燒。本研究依據實際測得 PAHs 存在之項目與濃度，並利用表一所示之方法，來判斷高屏溪 PAHs 污染來源。

表一、多環芳香族碳氫化合物污染來源判定

資料來源	燃燒來源	石油來源
Benner et al.	PA/Ant < 10	PA/Ant > 10
Gschwend and Hites	FL/Pyr > 1	FL/Pyr < 1
Soclo et al.	Chr/BaA < 1	Chr/BaA > 1
Gogou et al.	Fl/(Fl+Pyr)=0.51~0.82	
Magi et al.	LMW/HMW < 1	LMW/HMW > 1
Gogou et al.	IP/IP+Bper=0.52~0.65	

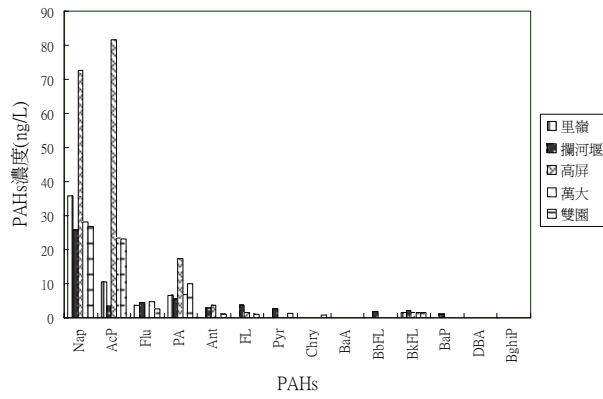
四、結果與討論

4.1 高屏溪 PAHs 濃度之含量

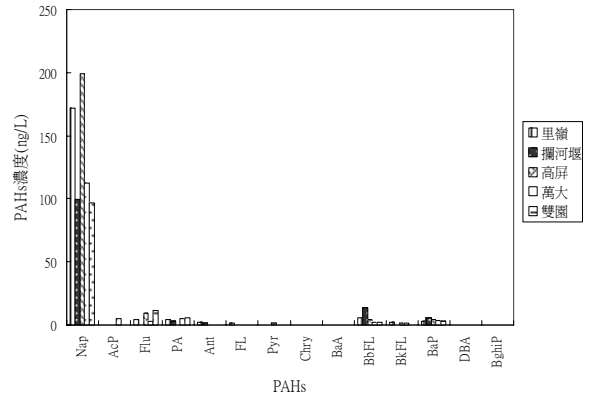
本研究結果顯示五個樣站 PAHs 出現之種類均以 Nap、AcP、Flu 及 PA 等四種低分子量之物質為主，其中除了一月份以外，又都以 Nap 的濃度最高，而其他化合物之濃度都非常低，尤其中 DBA 與 BghiP 已低於偵測極限(如圖一所示)。

由於形成 PAHs 之機制甚為複雜，不同溫度之燃燒，將會形成不同環數之化合物，例如焚化廠及汽機車，可能排放出二環之 PAHs(陳佳玫，2003)；另外 Zaho et al(1992)也指出香菸燃燒會形成 Pyr 及 BaP 等高環化合物，因此瞭解河水中不同環之濃度，有助於推估 PAHs 污染源。圖二是 1 月份到 5 月份各測站中，2~6 環 PAHs 之濃度分布。圖中顯示，高屏溪各測站的 PAHs 濃度，一至五月採樣結果，均以 2 環 PAHs(Nap)之濃度最高，3 環 PAHs 濃度則隨著地點與時間有相當大的變化，例如一月、四月及五月，在高屏大橋都有明顯的 3 環 PAHs 濃度，在二、三月則相對甚低。而在其他測站，除了一月及四月在萬大大橋及雙園大橋有偵測到較高之 3 環 PAHs 濃度外，其餘時間所測到之濃度也都不高。至於 4、5、6 環 PAHs (FL、Pyr、Chr、BaA、BkFL、BaP、DBA) 之濃度，除了高屏大橋在一月份仍有測得外，其餘測得之濃度都相當低，例如一月份高屏攔河堰及二月份的里嶺大橋及高屏攔河堰，其 4 環之 PAHs 之濃度皆低於偵測極限。至於 6 環之 PAHs(BghiP) 濃度，無論任何測站或時間，其濃度均低於偵測極限。因此，調查結果顯示，高屏溪中之 PAHs 濃度以 2 環 PAHs 之貢獻最多，其次為 3 環 PAHs，至於 4~6 環之 PAHs 之貢獻量並不多。此結論與 Manoli et al (2000)、及 Zhang et al. (2002) 之結論一致。

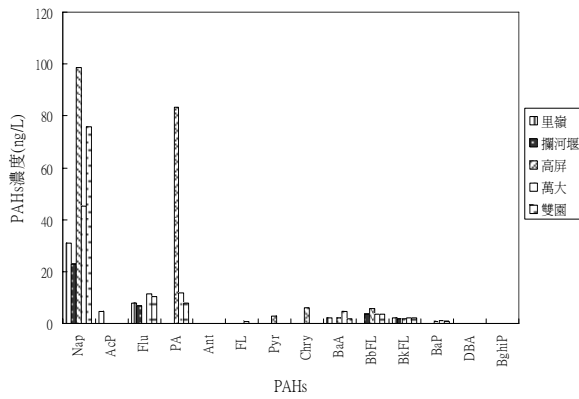
圖三為一月至五月高屏溪從上游到下游 PAHs 之變化情況。結果顯示高屏溪流域中 1~5 月份中，總 PAHs 濃度最高皆發生在高屏大橋，總 PAHs 濃度範圍為 202~1126ng/L 之間，其次為萬大大橋、里嶺大橋。最低濃度則出現在不同測站，1 月及 4 月份時 PAHs 濃度最低在高屏攔河堰，2 月及 3 月份時 PAHs 最低濃度在雙園大橋，5 月份時 PAHs 最低濃度出現在萬大大橋。若由上游至下游之濃度變化顯示，從里嶺大橋到高屏攔河堰之間，濃度呈現遞減之趨勢，但是到了高屏大橋濃度反而升高，經過高屏大橋以後，污染物濃度則大都呈現遞減趨勢。此結果顯示，在高屏攔河堰與高屏大橋之間，應有污染物進入河川中。由於支流武洛溪在高屏攔河堰與高屏大橋之河段間匯入高屏溪，因此是否因為武洛溪將污染源帶入而使濃度增加，則需對武洛溪進行採樣分析，才能進行評論。另外，根據王雅玟(1994)及 Tuoninen et al(1988)之研究指出，交通工具所排放之氣體會使交通流量高的地區或是都會區之濃度約比郊區高 6~10 倍。由於高屏大橋為連接屏東市與鳳山市之橋樑，附近地區之交通流量大。因此，是否因汽機車排放之 PAHs 經由乾、濕沉降或道路落塵經雨水沖刷進入水體，而使得高屏大橋測站之 PAHs 濃度較其他測站為高，值得進一步對空氣進行採樣分析及探討。此外，根據歐盟規定，飲用水之 PAHs 總濃度不得超過 0.0001mg/L(0.1 μ g/L)，而圖三顯示，不論那個測站，其 PAHs 總濃度都超過歐盟之規定甚多。目前在於此溪段之 PAHs 是否會影響河川生態之變化，值得進一步觀察。



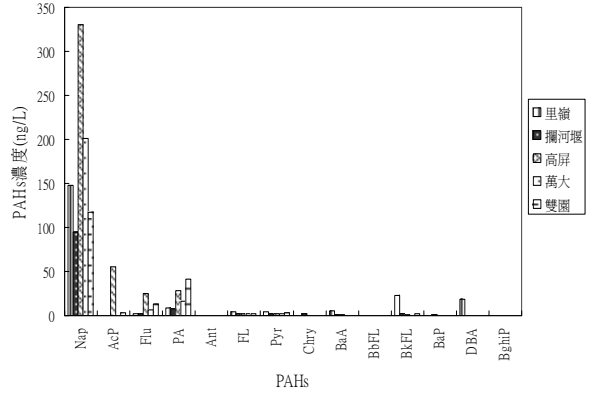
(a) 一月



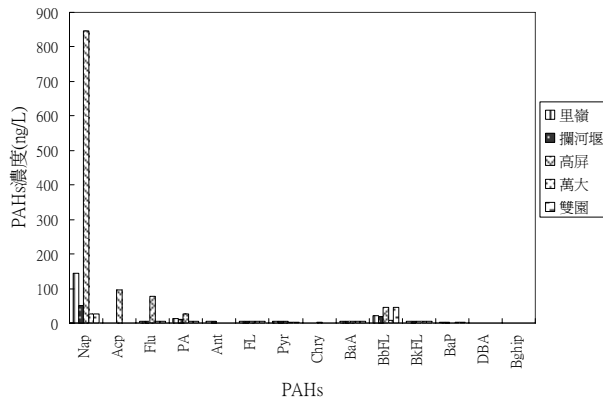
(b) 二月



(c) 三月

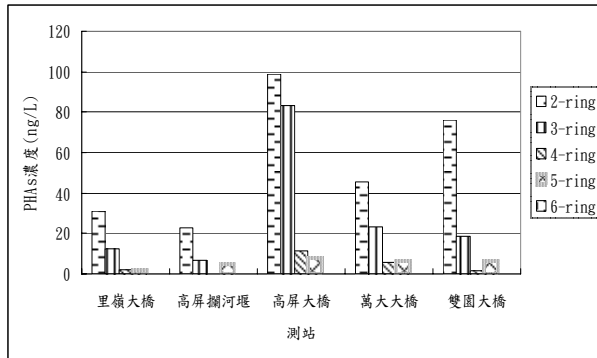


(d) 四月

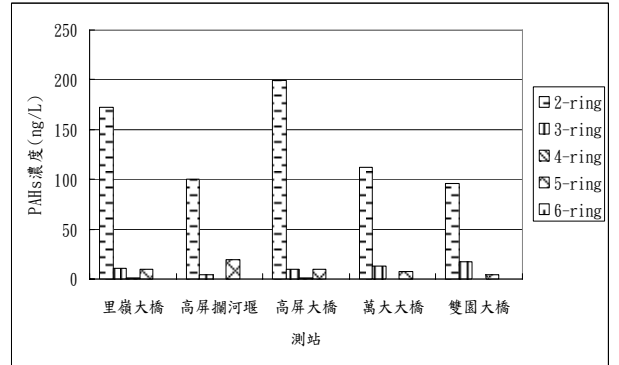


(e) 五月

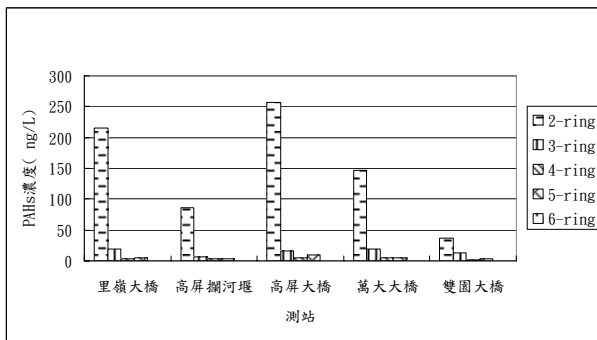
圖一、高屏溪各測站 1~5 月 PAHs 濃度之含量



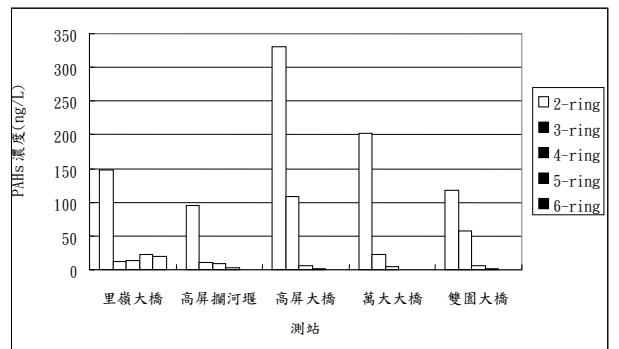
(a) 一月份



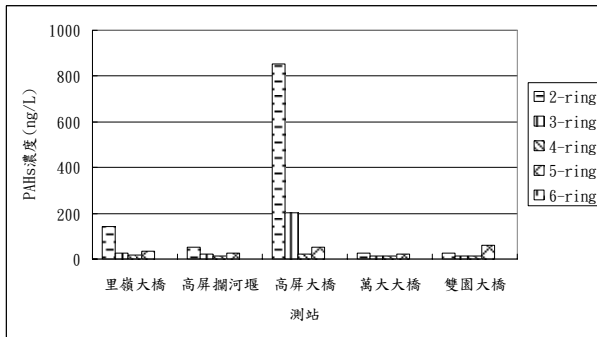
(b) 二月份



(c) 三月份

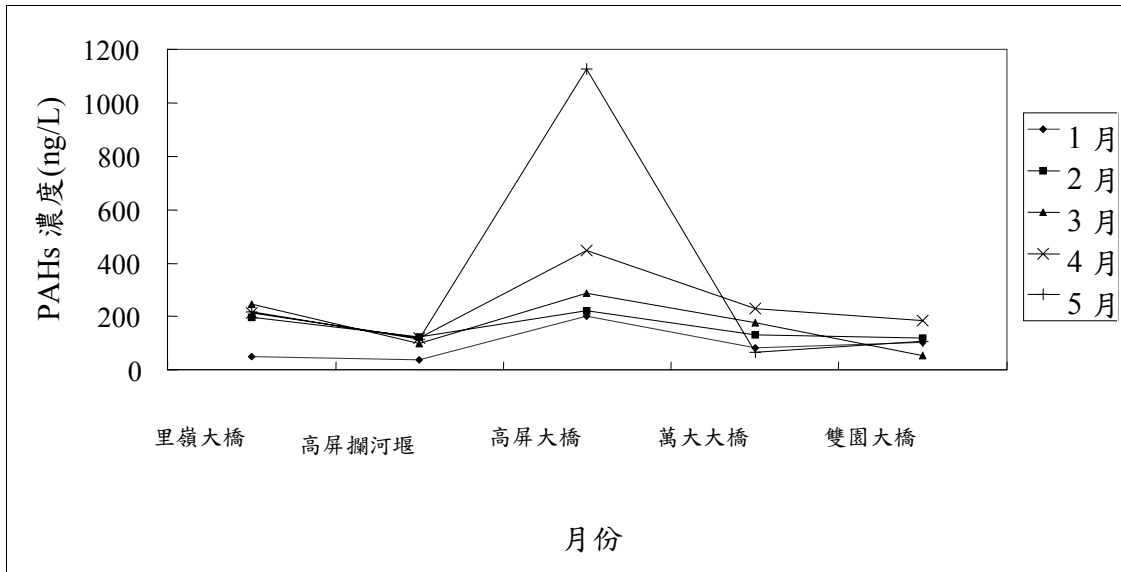


(d) 四月份



(e) 五月份

圖二、高屏溪各測站 1~5 月 2~6 環之 PAHs 濃度之含量



圖三、高屏溪測站 1~5 月份總 PAHs 濃度趨勢圖

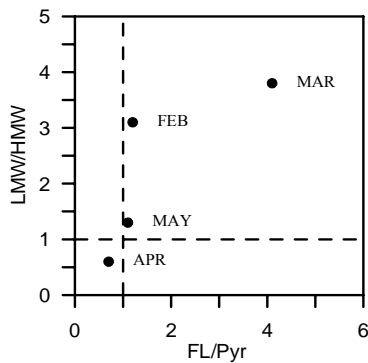
4.2 高屏溪 PAHs 來源推估

雖然表一整理出五種判斷污染來源之方法，但是並非每月或每個測站，均可以偵測到濃度值，因此研究中僅能採用每月中，各測站可偵測到濃度次數較多之化合物，進行比值計算。由於 Ant、Chr、BaA 能偵測到濃度之次數甚低，而 Fl 及 Pyr 雖然在一、二月也沒有偵測到，但相對的在三月、四月及五月大部分測站均能偵測到濃度，因此最後決定採用 FL/Pyr 比值及 LMW/HMW 比值，進行污染來源判斷之指標。為了能同時判別兩指標之變化情況，因此以 LMW/HMW 之比值為縱軸，FL/Pyr 之比值為橫軸，進行散佈圖之繪製。根據表 1 之說明，當 FL/Pyr > 1 時，為燃燒所引起之 PAHs 污染，相反的，若 FL/Pyr < 1 時則為石油污染；當 LMW/HMW > 1 時，為石油引起之 PAHs 污染，當 LMW/HMW < 1 時則為燃燒污染。因此當兩比值之交點落於 FL/Pyr > 1 且 LMW/HMW < 1 之區域時，可認定污染源主要來自燃燒污染；若兩比值之交點落於 FL/Pyr < 1 且 LMW/HMW > 1 時，可認定污染源主要來自石油污染；若兩比值之交點無法落再上述之區域時，則可能同時受到燃燒及石油污染。雖然 FL/Pyr 與 LMW/HMW 雖然利用相同臨界值判斷屬 PAHs 污染之來源，但是當兩比值相同時，並不代表具有相同之貢獻度，因此本文無法根據比值大小判斷石油或燃燒污染所貢獻之百分比。

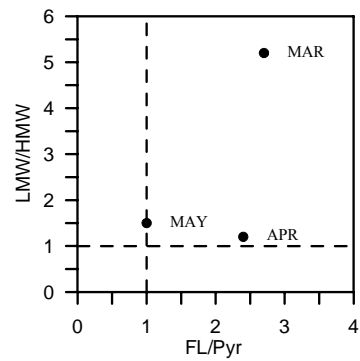
圖四即為各測站 FL/Pyr 比值及 LMW/HMW 比值在不同月份之散佈圖。在里嶺大橋測站中，除了一月份無法同時得到兩比值外，其餘月份之比值均可點繪在散佈圖上，根據結果顯示，二月、三月及五月之 LMW/HMW 比值皆大於 1，因此可能是石油污染，但是其 FL/Pyr 比值也大於 1，因此又有可能是燃燒污染，故推斷二月、三月及五月之污染源應同時受石油及燃燒之影響；此外，四月之 LMW/HMW 比值小於 1，因此可能為燃燒污染，但是其 FL/Pyr 比值也小於 1，因此又可能是石油污染，故四月之污染源也同時受石油及燃燒之影響。在高屏攔河堰測站，只有三月、四月及五月之比值可點繪在散佈圖上，根據 LMW/HMW 及 FL/Pyr 比值，推斷其污染源也同時受石油及燃燒所影響；五月份之 LMW/HMW 大於 1，而 FL/Pyr 剛好在臨界值上，因此推測為石油污染。在高屏大橋測站，僅有四月及五月測點可點繪

於圖上，依據 LMW/HMW 及 FL/Pyr 比值，推斷四月主要受石油及燃燒之影響；五月份之比值雖然也落在石油及燃燒污染之區域內，但是由於五月份之 FL/Pyr 非常接近臨界值，因此推斷受石油影響之程度較大。在萬大大橋測站，只有三月及五月可點繪於圖上，其中三月份測點落在同時受石油與燃燒影響之區域內，但是五月份測點則落在石油污染區內。雙園大橋僅五月份測點可點繪，且該點落在石油污染區內。

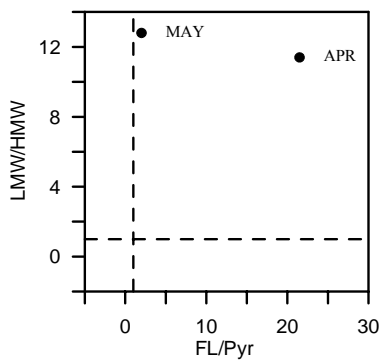
由於本研究區域內，僅有一處焚化爐，而工業區，例如林園工業區及大寮工業區都集中在下游處，因此燃燒污染可能是受汽機車排放所影響；至於石油污染，因無法對本區產業之生產流程、廢污水之排放方法進行全面調查，因此無法推論石油污染之來源。



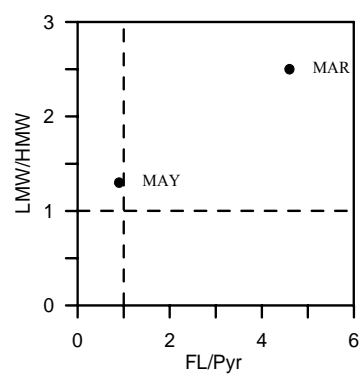
(a) 里嶺大橋



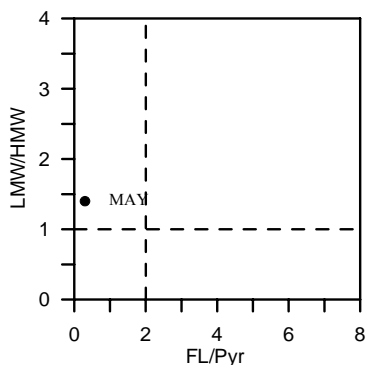
(b) 高屏攔河堰



(c) 高屏大橋



(d) 萬大大橋

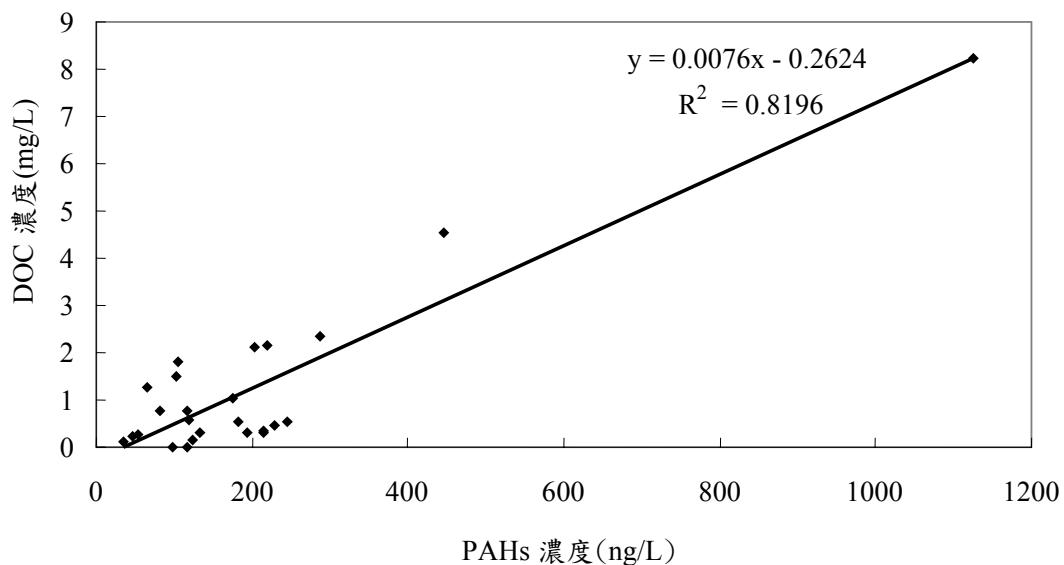


(e) 雙園大橋

圖四、高屏溪各測站 LMW/HMW 與 FL/Pyr 散佈圖

4.3 DOC 含量與 PAHs 濃度相關性

高屏溪流域主要污染來源為畜牧污染、工業廢水及家庭廢水，而以上這些污染都會導致河水中有機質增加。因此本研究另外進行水中 DOC 濃度試驗，分析結果顯示，在高屏溪流域以高屏大橋 DOC 含量為最高 (2.1~8.23 mg/L)，高屏溪攔河堰為最低 (0~0.779 $\mu\text{g/L}$)。將所測得水中 DOC 含量與對應之 PAHs 濃度進行線性相關分析，結果如圖五所示。圖中顯示 DOC 與 PAHs 濃度間之線性曲線之 R^2 值在 0.8 以上，因此 DOC 濃度與 PAHs 濃度具有線性正相關之趨勢，此結果與 Zhang et al (2004) 之結果一致。因此，當水中含有較高濃度的 DOC 時，將會吸附溶於水中之 PAHs，而使得水中之 PAHs 濃度增高。



圖五、DOC 與 PAHs 相關分析圖

4.4 潮汐變化與 PAHs 濃度之相關性

由於 Olsen et al (1982) 及 Jaffe (1991) 發現河水中 PAHs 含量會受潮汐影響，因此研究中選擇接近在高屏溪流域出海口的雙園大橋當做測站，以瞭解潮汐對於 PAHs 濃度之影響。根據本研究在一月、二月、四月及五月皆在漲潮時採樣；三月則是在退潮時採樣。若比較萬大大橋及雙園大橋兩站 PAHs 濃度之變化，可發現在從一月到四月，萬大大橋之 PAHs 濃度持續上升，直到五月濃度才減少。雙園大橋之 PAHs 濃度，除了在三月份特別低之外，其變化趨勢與萬大大橋之變化趨勢一致，可見，三月份 PAHs 濃度特別低之原因，即因受到退潮之影響，PAHs 得以快速排放到海洋中，而使得河水中之濃度降低，此種現象在 Fernandes (1997) 之研究中有同樣之發現。因此結果可推論 PAHs 濃度和潮汐有相關性存在，當在退潮時之 PAHs 濃度將比漲潮時之濃度為高。

4.5 結果與國內外文獻比較

表二為本研究與其他國內外河川 PAHs 濃度之比較表。在國內方面，林郁婷 (2000) 曾經針對高屏溪進行 PAHs 濃度調查，其濃度分佈之範圍與本研究之結果非常接近，顯示從 1999 年到 2005 年，水中 PAHs 並沒有太大差異。在國外方面，

高屏溪之濃度比法國 Seine River 及美國 York River 還高，但是比中國 Jiulong River、Daya Bay 及中東歐 Baltic Sea 還低。由研究報告顯示，歐美國家對於河川保護之措施較為完善，因此河川污染較不嚴重。相對的，中國河川之 PAHs 濃度顯的相當高，主要原因可能是中國之工業與產業正蓬勃發展，但又缺乏環境意識與保護措施所致。至於高屏溪，雖然 PAHs 濃度並非最高，但若與歐美國家比較，仍有改善空間。

表二、各國河川 PAHs 濃度調查結果

河川名稱	採樣時間	測站數目	樣品數目	PAHs 濃度 (ng/L)	資料來源
高屏溪	1999~2000	12	16	110~10760	林郁婷 (2000)
Seine River, France	1993	6	11	4~36	Fernandes <i>et al.</i> (1997)
Jiulong River, China	1999	19	16	6960~26920	Maskaoui <i>et al.</i> (2002)
York River, USA	1999	6	20	2~123	Rebecca <i>et al.</i> (2003)
Daya Bay, China	1999	14	16	4228~29325	Zhou and Maskaoui (2003)
高屏溪	2005	5	14	463.8~1629	本研究

五、結論與建議

本研究結果顯示，在高屏溪水體中較常見之 PAHs 化合物為 NaP、Flu 及 PA。整體而言，分子量小之化合物，其濃度也較高，總 PAHs 濃度分布在 34.6~446.7ng/L 之間，部分測站之含量已經高於歐盟飲用水之標準 100ng/L。將實驗分析之 PAHs 濃度，分別計算 FL/Pyr 及 LMW/HMW 之比值，並根據比值之大小，分析可能之污染源，結果顯示除了五月份可能因石油污染外，其餘月份則同時受到石油與燃燒之影響。另外，本研究也探討 DOC、潮汐與河水中 PAHs 含量之影響，結果顯示，當水中 DOC 含量高時其相對 PAHs 含量也較高，表示兩者具有正線性相關性存在。在潮汐方面，發現當漲潮時，水中 PAHs 含量較低，相反的，當退潮時，水中 PAHs 濃度則較高。

由於本研究期間只包含冬、春兩季，因此無法瞭解整年度 PAHs 濃度之變化，因此若在未來能於夏秋兩季進行採樣分析，將有助於瞭解 PAHs 濃度變化之趨勢。此外，由於分子量小的 PAHs 化合物具有較大的溶解度，因此若只計算水體中 LMH/HMW 之比值，將會有高估該比值之疑慮，因此未來研究中，計算 LMH 及 HMW 時，必需考慮空氣、土壤及底泥中 PAHs 濃度，如此才可符合質量平衡概念及得到客觀之結果。此外，結果顯示水體中總 PAHs 濃度已超過歐盟飲用水之標準，因此水中之 PAHs 濃度是否會對水生生態產生影響，也應進一步進行風險評估。

參考文獻

1. Ahmed El Nemr, Aly M.A. Abd-Allah. Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs) in microlayer and subsurface waters along Alexandria coast, Egypt, Chemosphere, 2003, 52: 1711-1716.
2. Benner B.A., Gordon G. E. and Wise S. A. Mobil sources of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons:A roadway tunnel study. Environ.Sci.Technol, 1989, 23: 1269-1278.
3. Budzinski H., Jones I., Bellocq J., Pierard C. and Garrigues P. Evaluation of Sediment Contamination by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Gironde Estuary. Marine Chemistry, 1997, 58: 85-97.
4. Dörr G., Martin, H., Heike, K., Otto, H. Baseline Contamination Assessment for A New Resource Recovery Facility in Germany:Part VI :Levels and Profiles of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Ambient Air. Chemosphere, 1996, 33 (8) :1569-1578.
5. Fernandes M.B., Sicre, M. A., Boireau, A., Tronszynski, J. Polyaromatic hydrocarbon (PAH) distributions in the Seine River and its estuary. Marine Pollution Bulletin, 1997, 34:857-867.
6. Gschwend P. M. and Hites R.A. Fluxes of The Polycyclic Aromatic Compounds to Marine and Lacustrine Sediments in The Northeastern United States. Geochim. Cosmochim. Acta, 1981, 45: 2359-2367.
7. Hanson E. S. Mortality of mastic asphalt workers. Scand J work Environ Hlth, 1991, 17:20-24.
8. Jaffe R. Fate of hydrophobic organic pollutants in the aquatic environment: a review. Environmental Pollution, 1991, 69:237-257.
9. Lizhong Zhu, Baoliang Chen, Jing Wang, Hongxin Shen, Pollution survey of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water of Hangzhou, China, Chemosphere, 2004, Vol.56, pp1085-1095.
10. Lipiatou E., Saliot, A. Fluxes and transport of anthropogenic and natural polycyclic aromatic hydrocarbons in the western Mediterranean Sea. Mar Chem, 1991, 32: 51-71.
11. Maskaoui K., Zhou, J.L., Hong, H.S., Zhang, Z.L. Occurrence of PAHs, PCBs and organochlorine pesticides in the Tonghui River of Beijing, China. Environmental Pollution, 2002, 130: 249-261.
12. Magi E., Bianco R., Ianni C., Carro Di M. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the Adriatic Sea, Environmental Pollution, 2002, 119: 91-98.
13. Manoli E., Samara C., Konstantinou I., Albanis T. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the bulk precipitation and surface waters of Northern Greece. Chemosphere, 2000, 41: 1845-1855.
14. Olsen C. R., Cutshall, N. H., Larsen, I. L. Pollutant particle associations and dynamics in coastal marine environment:a review. Marine Chemistry, 1982, 11:501-533.
15. Rebecca E. C., Rebecca M. D., Elizabeth A. C. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) distributions and associations with organic matter in surface waters of the York River, VA Estuary. Organic Geochemistry, 2003, 34: 209-224.

16. Redmond C.K. long-term mortality study of steel-works:mortality from malignant neoplasms amog coke oven works. J Occup Med, 1972, 14: 621-629.
17. Soclo H. H., Garrigues P. H. and Ewald M. Origin of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons(PAHs)in Coastal Marine Sediments: Case Studies in Cotonou(Benin) and Aquitaine (France) Areas. Marine Pollution Bulletin, 2000, 40 (5): 387-396.
18. Tuominen J., Salomaa, S., Pyysalo, H., Skytta, E., Tikkanen, L., Nurmela, T., Sorsa, M., Pohjola, V., Sauri, M., and Himberg, K. Polynuclear Aromatic Compounds and Genotoxicity in Particulate and Vapor Phases of Ambient Air : Effect of traffic, Season, and Meteorological Conditions. Environmental Science & Technology, 1988, 22 (10): 1228~1234.
19. Zhang Z., Huang, J., Yu, G., Hong, H. Occurrence of PAHs, PCBs and organochlorine pesticides in the Tonghui River of Beijing, China. Environmental Pollution, 2004, 130:249-261.
20. Zhang Z.L., Hong, H.S., Wang, X.H., Lin, J.Q., Chen, W. Q., Xu, L. Determination and load of Organophosphorus and Organochlorine pesticides at water from Jiulong River Estuary, China. Marine Pollution Bulletin, 2002, 45(1-12): 397-402.
21. Zhao Z. H., Quan, W. Y., Tian, D. H. The relationship between polynuclear aromatic hydrocarbons in ambient air and 1-hydroxypyrene in human urine, Environ Sci Health, 1992, A27 (7): 1949-1966.
22. Zhou J. L., Maskaoui K. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and surface sediments from Daya Bay,China. Environmental Pollution, 2003, 121: 269-281.
23. Zulin Zhang, Jun Huang, Gang Yu Huasheng Hong“Occurrence of PAHs,PCBs and organochlorine pesticides in the Tonghui River of Beiling, China” Environmental Pollution, 2004 vol.130, pp.249-261.
24. 王雅玢，交通污染源大氣中多環芳香氫化合物特徵之探討，成功大學環境工程研究所碩士論文，1994
25. 林郁婷，河川底泥中多環芳香族碳氫化合物分布及潛在污染來源研探-以高屏溪為例，清華大學原子科學研究所，2000
26. 陳佳玫，大氣中多環芳香烴化合物特性與來源分析，朝陽科技大學環境工程與管理系碩士論文，2003
27. 潘金城，二仁河流域水中多苯環芳香族碳氫化合物之定性及定量檢定分析之研究，成功大學化學研究所，1989
28. 鄭智元，大氣降水中多環芳香烴的定量分析，中央大學化學研究所，2001
29. 謝季吟，辦理東港溪河川生態調查暨生物毒性分析研究，屏東縣環境保護局，2003年

貝氏蒙特卡羅分析應用於河川壬基酚生態風險評估

Ecological Risk Assessment by Nonylphenol Using Bayesian Monte Carlo Analysis

陳庭堅^{1*}、許美芳²、葉一隆³、邱紹奇⁴
¹屏東科技大學環工系、²大仁科技大學環工系
³屏東科技大學土木系、⁴高鳳技術學院

一、摘要

由於人類大量製造、使用合成化學物質，排放到環境，此化學物質的潛在生物毒性，經生物濃縮效應將直接影響人類的健康及自然生態。壬基酚(NP)廣泛應用於許多產業，其毒性對水生生物造成不良影響。本研究於高屏溪五個測站採樣二十次，計有 100 樣本。壬基酚濃度介於 0.15~466.4 $\mu\text{g/L}$ ，濃度分佈隨著採樣時間與地點有很大的差異，所有樣本使用貝氏馬可夫鏈蒙特卡羅方法以常態以及對數常態分佈模擬，對數常態分佈較符合濃度機率密度。由模擬的 NP 濃度機率分佈配合預期無效應濃度機率分佈(採均勻分佈)，使用蒙特卡羅模擬得到水生生物風險之有害性商數 HQ。HQ 介於 1.45×10^{-3} 與 83.4 之間，眾數為 3.77×10^{-2} 平均值為 1.73，此代表河川中 NP 的濃度對水生生物仍有潛在的毒性。

關鍵詞：壬基酚、有害商數、生態風險、貝氏推論、蒙特卡羅模擬。

二、前言

由於人類開始大量製造、使用合成化學物質，若不當排放至環境介質，對環境將造成嚴重的污染。化學物質釋放於環境介質造成人類與野生生物的暴露，這些污染物的潛在生物毒性，經生物濃縮效應將直接影響人類的健康及自然生態，有些污染化學物質經環境介質進入生物體可能干擾內分泌系統之荷爾蒙分泌、合成、代謝以及與受體結合而造成成長、發育及生殖等產生不良影響，此類化學物質統稱內分泌干擾物質 (Endocrine Disruptors)，俗稱環境荷爾蒙[1]。近年來，自然界發現一些與環境荷爾蒙有關之不尋常現象如雄鱷魚的生殖器發育不良、雌貝雄性化及雌雄同體的鯉魚，造成族群數量減少，影響其生態之平衡[2]。環境荷爾蒙不只對野生生物造成影響，人類為食物鏈的最頂端，當食用此受化學物質污染的水體或水生生物經生物濃縮效應達一定暴露劑量及時間時則可能影響人類的內分泌系統尤其是生殖系統[3]。

日本 1997 年公布具環境荷爾蒙疑似物質七十種(67 種有機化合物及 3 種重金屬)其中含有壬基酚(Nonylphenol, NP)[4]。壬基酚為界面活性劑具有潤濕、滲透、乳化、分散、洗淨、等多種功能，廣泛應用於各種產業[5]。國內界面活性劑中，非離子性界面活性劑之應用量約佔一半，而年使用量約為 1.6 萬公噸。

目前已知壬基酚對水生生物造成危害，例如英國河川水體裡的鯉魚中性化，鱒魚也有相同之現象，雌雄幼魚暴露於雌性激素 (EE2) 4 小時後，魚體即產生 Vtg，而 mRNA 開始消失。國內環保署環檢所以雄性鯉魚為模式動物，結果顯示壬基酚會刺激鯉魚分泌卵黃前質[6, 7]。

台灣地區水體環境調查顯示壬基酚的存在:例如中壢老街溪水中平均濃度為 3.0 $\mu\text{g/L}$ ，台北市民生污水處理廠放流水中含量 1.60 $\mu\text{g/L}$ ，桃園山區未受污染河川表面水 0.60 $\mu\text{g/L}$ [8]。台灣地區 40 條河川水體(107 個水樣)壬基酚殘量檢出率 54.2%，樣品濃度 0.89-50.0 $\mu\text{g/L}$ [7]。東港溪流域 21 個樣品中壬基酚檢出率達 72%，分布範圍介 ND—0.5113 $\mu\text{g/l}$ [9]。高屏溪 44 個水樣，壬基酚檢出率 100%，NP 濃度值介於 0.19~183.4 $\mu\text{g/L}$ [10]。壬基酚在世界各國普遍存在地面水中[11]。

生態風險評估於估算暴露採用保守性的假設。潛在性的風險採用有害性商數估算 (Hazard quotient, HQ)，即環境暴露濃度除以環境安全濃度(預期無效應濃度, PNEC)。

$$\text{HQ} = (\text{暴露濃度}) \div \text{PNEC} \quad (1)$$

當 $\text{HQ} < 1$ 視為可接受風險， $\text{HQ} \geq 1.0$ 代表不可接受風險。

NP 在水中之預測無效應濃度 PNEC 值在歐盟(0.33 $\mu\text{g/l}$)[12]，日本(0.608 $\mu\text{g/l}$)[13]，美國為 5.7 $\mu\text{g/l}$ 。由於高屏溪是高雄地區重要飲用水水源，本研究探討水體 NP 殘留對生態系統與人類健康的潛在風險。

三、研究材料及方法

本研究所使用藥品皆為分析級，NP (Aldrich)，溶劑(甲醇、丙酮)為 HPLC 級 (Merck)，DDW 導電度為 18 $\text{M}\Omega\text{ cm}^{-1}$ (Millipore, USA)。固相萃取管為 500 mg 6 ml EN (Merck)。標準品以 1 g 之 NP 溶於 1000 ml 甲醇中，配置成儲備標準溶液，濃度為 1000 mg/L，並將其置於 4°C 冰箱備用。標準溶液使用甲醇逐步稀釋儲備標準溶液，濃度分別為 0.05、0.1、0.5、1.0、2.0 mg/L。

樣品收集：研究採樣點為高屏溪主流上中下游 3 點、支流 2 點，上游（三地門大橋），支流（九如橋），中游（攔河堰），下游（萬大大橋），支流（昌農橋）。樣品採集後先以 Whatmane 濾紙做粗濾，部份再以 MFS 0.45 μm 的濾膜細濾。過濾完成的水樣分裝後儲藏於 4°C 的冰箱保存，再進行 NP 分析。水樣經前處理後進行固相萃取(流速控制 10~15 ml/min)，取 500 ml 樣本液或 DDW (pH=2.0~2.3; 導電度 $\approx 0.5\%$ NaCl 溶液)，載入已活化固相萃取管 EN cartridge 內(活化步驟:2 次 6 ml 甲醇再以 2 次 6 ml 水(pH=2.0)活化)，樣本以 2 次 6 ml DDW 清洗，排乾約 30 分鐘，再以 2 次 6 ml 甲醇沖提出來，40°C 減壓濃縮至乾涸，再以 2 ml 甲醇定容，取 20 μL 樣本液，注入 HPLC 分析分析 NP。

HPLC 分析：NP 分析使用高效能液相層析儀 (Hitachi, Japan) 其系統分別為；系統泵浦 (D-7100)、螢光檢測儀(D-7485)、自動注入器(D-7200)、介面裝置(D-7000)、後置反應泵浦(655A-13)、層析軟體 Version4.1。NP 分析設定流速 1 ml min^{-1} ，螢光 ex 為 275 nm、em 為 300 nm，分離管柱 Inertsil pH 5 μm 4.6 \times 150 mm (GL Sciences Inc, Japan)。移動相 0-25 min 60-80% (methanol/water)，25-30 min 80-60% (methanol/water)，30-40 min 60%(methanol/water)，注入 HPLC 分析體積 20 μL 。

四、資料分析

貝氏方法使用機率量化不確定性[14-16]，即對一組資料配套機率模式。貝氏推論對未觀測的數量或對新的觀測資料的預測，例如模式的參數，以機率分佈呈現其結果。

貝氏方法對特定兩個分佈的推論：

- 1、參數的事前分佈 $P(\theta)$ ，在知道資料之前反應對此參數的知識。
- 2、已知參數對此資料的分佈 $P(Y|\theta)$ ，即收集的資料，事後分佈結合上述 2 種分佈，並反應 θ 的知識以及收集資料後更新 θ 。

$$P(\theta|Y) = \frac{P(Y|\theta)P(\theta)}{\int P(Y|\theta)P(\theta)dy} \quad (2)$$

當有新的資料加入可以利用一系列的分析，其中前一分析的結果，當作事前分佈，再得到事後分佈。

統計模式：由於濃度的變異很大，事後濃度採用二種分佈，一為常態分佈、另一為對數常態分佈。

模式假設：(1)常態模式

$$\begin{aligned} \theta &\sim N(\mu, \tau) \\ \mu &\sim N(0, 1 \times 10^{-6}) \\ \tau &\sim \text{gamma}(1 \times 10^{-3}, 1 \times 10^{-3}) \\ \sigma &= \frac{1}{\sqrt{\tau}} \end{aligned} \quad (3)$$

(2) 對數常態模式

$$\begin{aligned} \theta &= \ln(x_i) \\ \theta &\sim N(\mu, \tau) \\ \mu &\sim N(0, 1 \times 10^{-6}) \\ \tau &\sim \text{gamma}(1 \times 10^{-3}, 1 \times 10^{-3}) \\ \sigma &= \frac{1}{\sqrt{\tau}} \end{aligned} \quad (4)$$

其中 θ 為欲推論的濃度分佈， $N(\mu, \tau)$ 代表濃度為常態分佈， μ 為平均值， τ 為精度， σ 為標準偏差，同時 μ 為常態分佈， τ 為 Gamma 分佈。事後機率分佈的參數估計使用貝氏推論採用馬可夫鏈蒙特卡羅方法[17]。

五、結果與討論

壬基酚濃度分布:本研究共有二十次採樣，計有 100 樣本，有 3 個水樣濃度低於偵測極限，另有一個樣本未能完成分析。壬基酚濃度介於 0.15~466.4 $\mu\text{g/L}$ ，濃度分布隨著採樣時間與地點有很大的差異，表 1 顯示五個測站濃度以及總樣本統計摘要。5 個測站以昌農橋之平均濃度最大，高達 81.8 $\mu\text{g/L}$ ，而標準偏差以萬大橋最大，達 105.7 $\mu\text{g/L}$ ，其次為昌農橋達 101.2 $\mu\text{g/L}$ ，變異性最高者為攔河堰以及次高為萬大橋，變異係數分別為 2.76 以及 2.69。壬基酚濃度由上游至下游濃度逐漸升高，上游三地門測站平均濃度最低為 1.027 $\mu\text{g/L}$ ，次低為攔河堰平均濃度 2.238 $\mu\text{g/L}$ ，而下游的萬大橋壬基酚平均濃度達 39.39 $\mu\text{g/L}$ 。支流武洛溪的九如橋測站，以及牛稠溪的昌農橋測平均濃度分別為 2.24 $\mu\text{g/L}$ 及 81.8 $\mu\text{g/L}$ 。96 個樣本平均濃度為 26.38 $\mu\text{g/L}$ ，然而標準偏差達 71.96 $\mu\text{g/L}$ 。圖 1 為三地門測站與九如橋測站之盒狀圖，兩測站百分之七十五之濃度分別低於 0.852 與 3.07 $\mu\text{g/L}$ 。圖 2 顯示攔河堰測站，萬大橋測站，

昌農橋測站與總樣本之壬基酚濃度盒狀圖。三測站之百分之七十五濃度分別低於 3.09, 25.13, 及 89.06 $\mu\text{g/L}$, 而總樣本低於百分之七十五濃度為 18.19 $\mu\text{g/L}$ 。圖 3 及圖 4 為 5 個測站及總濃度的時間系列圖, 其中濃度異常高者出現在 5、8、及 11 月。5 月及 11 月為枯水期, 水流量低導致 NP 濃度較高。8 月為豐水期, 可能底部沖刷導致水體偶爾有異常高濃度。

表 1 各測站水樣壬基酚濃度統計摘要

	山地門	九如橋	攔河堰	萬大橋	昌農橋	總樣本
Min	0.15	0.31	0.17	0.23	6.99	0.15
Max	6.31	6.85	70.08	466.4	388.6	466.4
Mean	1.027	2.238	5.688	39.39	81.8	26.38
SD	1.455	1.831	15.67	105.7	101.2	71.96

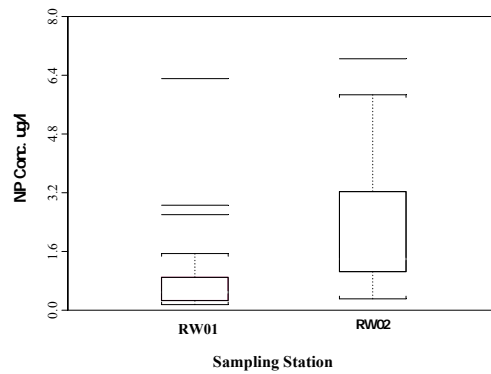


圖 1 三地門與九如橋 NP 濃度分布盒狀圖

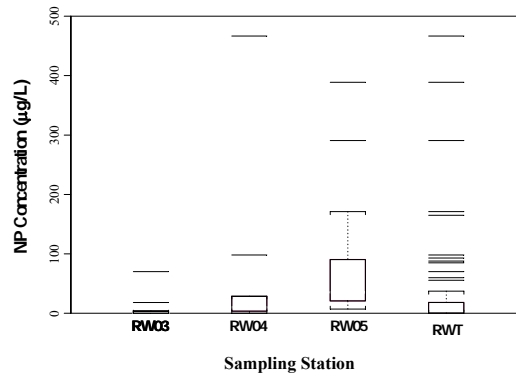


圖 2 攔河堰,萬大橋昌農橋測站 NP 濃度分布盒狀圖

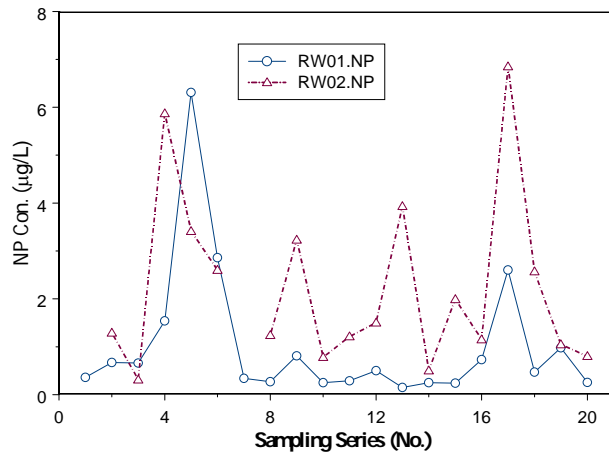


圖 3 三地門與九如橋 NP 濃度時間序列圖

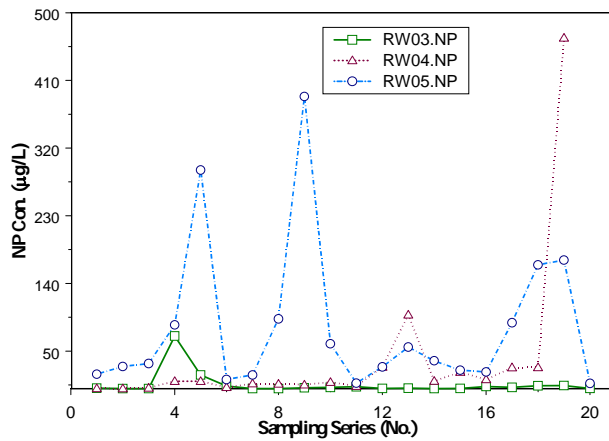


圖 4 攔河堰,萬大橋及昌農橋 NP 濃度時間序列圖

樣本壬基酚平均值，變異數及盒狀圖等統計數據顯示，三地門、九如橋、攔河堰，及萬大橋等測站大部分 NP 濃度偏向於較低濃度。而以全部樣本考慮，濃度介於 0.15~466.4µg/L，平均值為 26.38µg/L，而且標準偏差達 71.96µg/l，圖 5 顯示總測站對數轉換後頻率分布圖。由於所有濃度機率密度呈偏右分布，僅以常態分布配套並不適當，環境介質中污染物濃度一般呈現對數常態分布[18]，因此濃度同時採用常態以及對常態分佈模擬。總樣本濃度以常態與對數常態模擬後之平均值以及標準偏差之數值以及分佈圖顯示於表 2 及 3 以及圖 6 及 7。常態分佈之平均值(26.55µg/L)相當接近算術平均值(26.38µg/L)。然而對數常態之平均值取指數後為 3.32µg/L 遠小於算術平均值。圖 5 亦顯示總樣本以對數常態模擬之機率密度分佈圖。

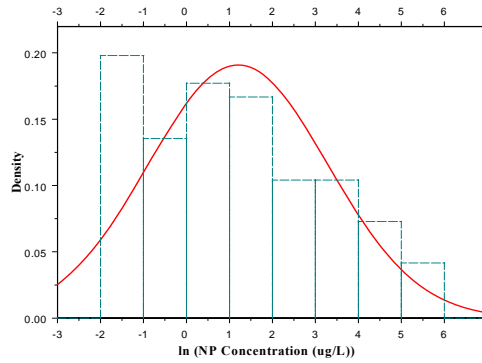


圖 5 總測站對數轉換後頻率分布圖

表 2 貝氏對數常態分佈模擬之參數數值

node	Mean	Sd	MC error	2.5%	Median	97.5%	sample
σ^2 (S2)	4.365	0.6467	0.001941	3.274	4.303	5.79	100000
μ (mu)	1.2	0.2124	6.969E-4	0.7843	1.2	1.616	100000
τ (tau)	0.2341	0.03402	9.902E-5	0.1727	0.2324	0.3054	100000

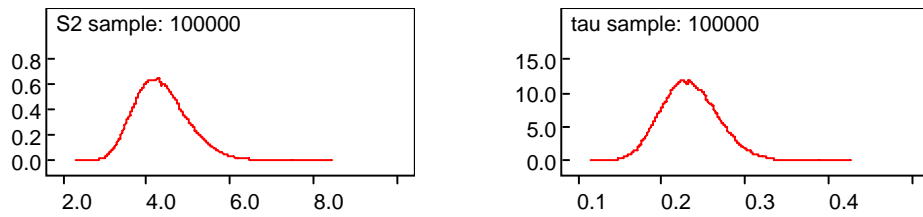


圖 6 貝氏對數常態分佈模擬平均值與變異數分佈圖

表 3 貝氏常態分佈模擬之參數數值

node	Mean	sd	MC error	2.5%	median	97.5%	sample
σ^2 (phi)	5341	791.5	2.38	4007.0	5266	70875.79	100000
μ (theta)	26.55	7.431	0.02437	12.02	26.56	41.13	100000
τ (psi)	1.913E-4	2.78E-5	8.12E-8	1.411E-4	1.899E-4	2.496E-4	100000

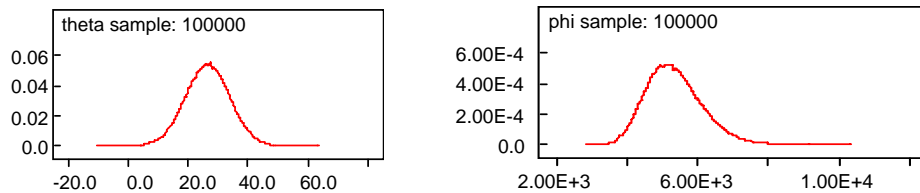


圖 7 貝氏常態分佈模擬平均值與變異數分佈圖

風險計算：一般計算生物體的風險需計算生物體之攝食量除以生態毒性值。攝取模式中考慮的因素有環境介質濃度，受體攝取率，攝食分量，場址因素，同化效率及生物可用性，上述特性均與生物體及場址有關。本次風險計算暫以介質濃度與預期無效應濃度(PNEC)比較，探討 NP 產生的潛在風險，已發表 NP 之 PNEC：歐盟 0.33 $\mu\text{g/L}$ 、日本 0.608 $\mu\text{g/L}$ 、美國 5.7 $\mu\text{g/L}$ 。假設預期無效應濃度為介於 0.33 至 5.7 $\mu\text{g/L}$ 均勻分佈。生態風險分析採用蒙特卡羅模擬[19]，模擬之 HQ 值分佈圖如圖 8 所示。HQ 介於 1.45×10^{-3} 與 83.4 之間，眾數為 3.77×10^{-2} 平均值為 1.73，而 95 百分位為 6.89。此結果顯示以目前(93 年度)高屏溪之 NP 濃度大部份高於預測效應濃度，即對水生物有潛在風險。

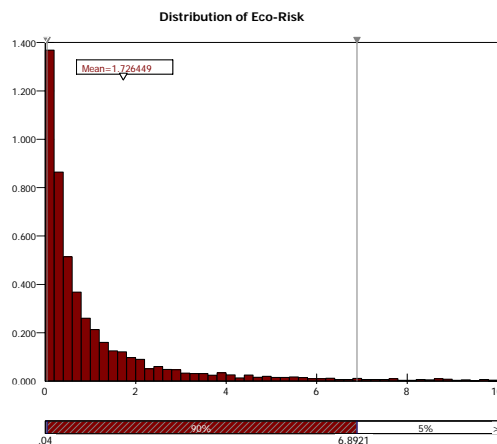


圖 8 NP 造成水生生物風險 HQ 分佈圖

六、結論

使用貝氏方法求得河川之濃度機率分佈，以及採用蒙特卡羅模擬得到河川水生生物有害商數 HQ 平均值為 1.73。而濃度較高為河川下游，尤其是萬大橋測站以及昌農橋，萬大橋為所有污染的匯集，同時也呈現污染累積濃縮的可能性。昌農橋為屏東市污水的匯集，目前屏東市並無污水處理系統，生活污水直接排入河川水體。由於潛在的 $HQ > 1$ ，因此廢污水應進一步降低 NP 的排放量。

致謝:本文的完成感謝國科會經費的支援。計畫編號：NSC 93-2211-E-020-012

七、參考文獻

1. Sonnenschien, C and Soto, AM, An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists, *J. Steroid. Biochem. Molec. Biol.*, 1998. 65(1-6): 143-150.
2. 李美慧，常見環境荷爾蒙物質及其影響，新環境，2000, 3-12.
3. Colborn T, Vom Saal FS; Soto AM, Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans, *Environ. Health Perspect.*, 1993. 101:378-384.
4. Iguchi, T; Manabu Sumi ; Shinsuke Tanabe, Endocrine disruptor issues in Japan, *Congenital Anomalies*, 2002. 42:106-119.

5. 經濟部技術處, 2003 特用化學品工業年鑑, 工業技術研究院 產業經濟與資訊服務中心出版, 2003。
6. Jobling S, Tyler CR, Nolan M, & Sumpter JP, The identification of estrogenic effects in wild fish. London: UK Environment Agency, 1998, R&D Technical Report W119.
7. 王正雄, 張小萍, 黃壬瑰, 李宜樺, 王世冠, 洪文宗, 陳佩珊, 環境荷爾蒙-壬基苯酚殘留調查及其對雄鯉魚生理效應之研究, 環境檢驗所環境調查研究年報, 2002, 9:291.
8. Ding, WH; Tzing, SH; Lo, JH, Occurrence and concentrations of aromatic surfactants and their degradation products in river waters of Taiwan, Chemosphere, 1999. 38(11):597-606.
9. 陳庭堅, 許美芳, 陳福安, 環境荷爾蒙規劃調查, EAP-91-E3S5-02-01, 2002.
10. 許美芳, 陳庭堅, 陳福安, 環境荷爾蒙調查研究, EAP-92-E3S5-02-01, 2003.
11. Ying, G.-G.; Williams, B.; Kookana, P., Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates- a review. Environment International. 2002, 28, 215-226.
12. European Commission Joint Research Centre, "European Union Risk Assessment Report 4-nonylphenol (branched) and Nonylphenol," 2nd Priority List Volume:10, 2002.
13. Japan MOE, Report on the Test Results of Endocrine Disrupting Effects of Nonylphenol on Fish. (Draft) August 2001.
14. Lee, P.M., Bayesian Statistics: an Introduction, 3rd ED. 2004, Hodder Arnold.
15. Gelman, A.; Carlin, J.B.; Stern, H.S.; Rubin, D.B., Bayesian Data Analysis, 2rd ED. 2004, Chapman & Hall/CRC.
16. Congdon, P. Bayesian Statistical Modeling, 2003, John Wiley & Sons.
17. WinBUGS 1.4, Biostatistics Unit, Cambridge, UK, 2005.
18. USEPA "Risk Assessment Guidance for Superfund: Vol. III-Part A, Process for Conducting Probabilistic Assessment", EPA 540-R-02-002.
19. @risk 4.5, Risk Analysis and Simulation Add-In for Microsoft Excel. 2002, Palisade Corporation, USA.

安全、環保 是杜邦的企業生命

請看國際專業的評選

全球『綠色企業』榜首 ----- 美國商業週刊
全美最受尊崇的化學公司 ----- 美國財富雜誌

綠十字安全勳章 ----- 美國國家安全委員會
全美第一，全球第二氣候變遷控管模範 ----- Ceres Report
永續成長指數成員 ----- 美國道瓊股市

引領未來工作與生活趨勢的50大 ----- 美國快速雜誌
全球科技先驅50強 ----- 美國科學人雜誌

杜邦建築創新™ 被評選為綠色住宅
杜邦Sorona® 被推崇為環境永續創新發明
杜邦的科技創新獲美國環保署總裁獎
榮獲美國卓越食品安全的黑珍珠獎
四度獲得全美科技獎座



The miracles of science™



電線頻遭宵小竊取牟利

嚴重影響民生農漁用電

並危及公共安全

台電需要您的協助

一同來檢緝不法之徒

檢舉：1911 台電專線

110 警政單位專線

檢舉獎金最高6萬元



台灣電力公司

<http://www.taipower.com.tw>