



國立臺灣大學公共衛生學院
職業醫學與工業衛生研究所

碩士論文

Graduate Institute of Occupational Medicine and Industrial Hygiene

College of Public Health

National Taiwan University

master thesis dissertation

全氟碳化物於大鼠中分配係數之研究

Partition Coefficient of Perfluorinated Chemical in Rats

簡銘延

Ming-Yen Chien

指導教授：吳焜裕 教授

Advisor: Kuen-Yuh Wu, Ph.D.

中華民國 104 年 7 月

July, 2015

國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書



全氟碳化物於大鼠中分配係數之研究

Partition Coefficient of Perfluorinated Chemical in Rats

本論文係簡銘延君 (R02841014) 在國立臺灣大學職業醫學與工業衛生研究所完成之碩士學位論文，於民國 104 年 7 月 30 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

吳焜祿 (簽名)

李東明 (指導教授)

陳保中

系主任、所長

陳保中 (簽名)

中文摘要



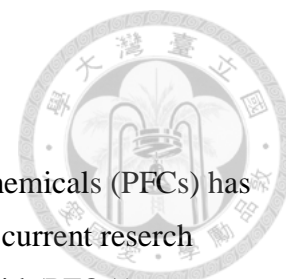
全氟碳化物的種類繁多，而大部分文獻聚焦在PFOS(C8)或PFOA(C8)等環境中濃度較高的全氟碳化物，為了建立更多種類的全氟碳化物之生理型藥物動力學(Physiologically based pharmacokinetic, PBPK) 模式，其中，化合物在生物體內各臟器之分配係數(Partition coefficient, PC) 可以說是重要的參數之一。本研究對雄性SD 大鼠(N=40)經單一胃管灌食的方式，暴露個別劑量為500 μ g/kg之PFBA、PFBS、PFPeA、PFHxA、PFHxS、PFHpA等六種全氟碳化物，在為期10天的動物實驗其間於不同犧牲點(2、4、8、12、24、48、96、144、196、240小時)，每個時間點包含暴露組(N=3)、控制組(N=4)，收集SD大鼠的血清、肝臟、腎臟、小腸、副睪旁之脂肪等五種臟器，經由前處理後以液相層析串聯質譜儀(LC-MS/MS)方法分析全氟碳化物之濃度，用於後續分配係數之運算。並根據選擇碳數不同(4~7C)以及官能基不同(-COOH與-SO₃)之全氟碳化物，探討碳數與官能基對於SD 大鼠全氟碳化物分配係數之影響。實驗結果發現除PFHxS以外，大部分的全氟碳化物在暴露後的48小時內，便經由小腸快速吸收至血液中進行循環並分配到不同的臟器，隨後經由腎臟排出體外；而PFHxS則是在收樣時間結束(240小時)後，仍持續存在於SD大鼠各臟器之中。在分配係數的部分，帶有羧基(R-COOH)之全氟碳化物(PFBA、PFPeA、PFHxA、PFHpA)其分配係數由大到小依序為腎臟>肝臟>小腸>脂肪，碳鏈長度的增加對於任何臟器/血清分配係數並無顯著影響；而帶有硫酸基(-SO₃)之全氟碳化物(PFBS、PFHxS)其分配係數由大到小依序為肝臟>腎臟>小腸>脂肪。這樣的差異歸因於帶有硫酸基(-SO₃)之全氟碳化物易與肝細胞脂肪酸結合蛋白(Hepatic fatty acid-binding protein)結合累積於肝臟之中，因而推算出較高的肝臟/血清分配係數(PC_{Liver/plasma})，另外，隨著碳鏈長度增

加PFHxS(6C)相較於PFBS(4C)其肝臟/血清分配係數($PC_{\text{Liver/plasma}}$)則有增加之現象
發生。



關鍵字：全氟碳化物、藥物動力學、分配係數、大鼠

英文摘要



The widespread environmental distribution of Perfluorinated chemicals (PFCs) has been considered as a public health issue for a long time. Most of the current research focus on perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) compare to other PFCs. In order to know the metabolism progress of the chemical in biota. Physiologically based pharmacokinetic model (PBPK model) is a well-known method. Among numerous parameters, the partition coefficient (PC) for each of the organ in biota is indispensable. The male SD rats (N=40) were treated with a single dose of PFBA、PFBS、PFPeA、PFHxA、PFHxS、PFHpA by oral gavage at 500 μ g/kg. Subsequently, the SD rats were classified into exposure group (N=3) and control group (N=1) in each of the sacrificed time point (2, 4, 8, 12, 24, 48, 96, 144, 196, 240 hour). Serum, liver, kidney, small intestine, epididymis fat were collected. After pre-treatment, the samples were analyzed for these PFCs via liquid chromatograph tandem mass spectrometer (LC-MS/MS). The aims of this study are finding out how the influences for partition coefficient of different carbon chain length and different function groups in male SD rats. After the gavage exposure, results shows that apart from PFHxS, most of the PFCs were quickly absorb from small intestine into blood circulation. Then distribute into other organs, at last excret out of the body via kidney in 48 hours. On the other hand, PFHxS keep exist in biota after 240 hours. PFCs with carboxyl group (-COOH), such as PFBA, PFPeA, PFHxA, PFHpA. The descending order of partition coefficient is kidney, liver, small intestine, epididymis fat. As the carbon chain length increase, the partition coefficient for each of the organ does not change significantly. PFCs with sulfur trioxide group (-SO₃), such as PFBS and PFHxS. The descending order of partition coefficient is liver, kidney, small intestine, epididymis fat. These differences attribute to PFCs with sulfur trioxide group (-SO₃) are likely combined with hepatic fatty acid-binding protein in hepatic cells. Therefore, we can estimate a higher value of partition coefficient in liver.

Keywords: Perfluorinated chemical, Pharmacokinetics, Partition coefficient, SD rat

目錄



口委審定書	i
中文摘要	ii
英文摘要	iv
第一章 文獻回顧	1
1.1. 全氟碳化物的物理及化學特性	1
1.2. 全氟碳化物的環境流佈	1
1.2.1. 水	2
1.2.2. 大氣	4
1.2.3. 食物	4
1.2.4. 動物	4
1.3. 全氟碳化物的毒理資料	5
1.3.1. 全氟碳化物的致癌性	8
1.3.2. 全氟碳化物的生殖發育毒性	9
1.3.3. 全氟碳化物的肝毒性	10
1.3.4. 全氟碳化物造成荷爾蒙失調	11
1.4. 全氟碳化物人體的暴露途徑以及暴露程度	12
1.5. 全氟碳化物的代謝機制	13
1.6. 全氟碳化物的藥物動力學研究	15
1.7. 全氟碳化物的分析方法	17
1.8. 全氟碳化物的分析儀器介紹	18
1.8.1. 線上固相萃取, On-Line SPE	18



1.8.2.	液相層析串聯質譜儀，LC-MS-MS	18
1.8.3.	同位素稀釋法搭配液相層析串聯質譜儀	19
1.9.	藥物動立學概述	20
1.9.1.	房室模式(Compartment Model)	20
1.9.2.	非室模式(Non-Compartment model)	21
1.9.3.	生理藥物動力學模式 (Physiological-Based Pharmacokinetic Model)	21
1.9.4.	藥物動力學模式的選擇	21
1.9.5.	分配係數(Partition-Coefficient)	22
第二章	研究方法	26
2.1.	研究目的	26
2.2.	樣品來源	27
2.2.1.	化學標準品	27
2.2.2.	實驗動物	29
2.3.	動物實驗	29
2.3.1.	暴露方式	29
2.3.2.	犧牲間隔	30
2.3.3.	器官檢體採集	30
2.3.4.	樣本保存處理	30
2.4.	檢體前處理	30
2.4.1.	血清檢體前處理	30
2.4.2.	器官檢體前處理	32



2.5. 儀器分析流程	33
2.5.1. 血漿檢體層析、線上固相萃取 OnLine-SPE	33
2.5.2. 器官檢體層析方法	34
2.5.3. 校正曲線配置	35
2.5.4. 基值效應、回收率、分析方法確效	36
2.5.5. 統計分析軟體與方法	38
3.1. 樣本分析	39
3.1.1. 全氟碳化物於血液中之分析圖譜	39
3.1.2. 全氟碳化物於器官中之分析圖譜	40
3.1.3. 全氟碳化物於各基質中之檢量線	41
3.1.4. 精密度、準確度與回收率分析	44
3.2. 全氟碳化物於血清中之濃度變化	48
3.2.1. PFPeA、PFBS 與 PFHxA	48
3.2.2. PFBA 與 PFHpA	49
3.2.3. PFHxS	49
3.2.4. 小結	50
3.3. 全氟碳化物於各臟器中之分配係數	50
3.3.1. PFBA 之分配係數	51
3.3.2. PFBS 之分配係數	55
3.3.3. PFPeA 之分配係數	57
3.3.4. PFHxA 之分配係數	59
3.3.5. PFHpA 之分配係數	61

3.3.6.	PFHxS 之分配係數·····	65
3.3.7.	小結·····	69
3.4.	碳鏈長度與官能基對全氟碳化物之分配係數影響·····	72
3.4.1.	肝臟分配係數之比較·····	74
3.4.2.	腎臟分配係數之比較·····	74
3.4.3.	脂肪分配係數之比較·····	75
3.4.4.	小腸分配係數之比較·····	76
第四章	結論與建議·····	77
參考文獻	·····	79



圖目錄



圖1-1、PFOA與PFOS在大鼠體內PBPK model的架構(Loccisano et al., 2011)..	17
圖1-2、藥物進入生物體後濃度分佈示意圖.	24
圖2-1、本研究納入之六種全氟碳化物.....	27
圖2-2、血液樣本前處理流程圖.....	31
圖2-3、器官檢體前處理步驟圖.....	32
圖2-4、基質效應與回收率計算方法.....	37
圖3-1、血清中OnLine-SPE+LC MS/MS全氟碳化物分析圖譜.....	39
圖3-2、臟器中LC MS/MS全氟碳化物分析圖譜.....	40
圖3-3、不同全氟碳化物於血清中之檢量線.....	41
圖3-4、不同全氟碳化物於肝臟中之檢量線.....	42
圖3-5、不同全氟碳化物於腎臟中之檢量線.....	42
圖3-6、不同全氟碳化物於脂肪中之檢量線.....	43
圖3-7、不同全氟碳化物於小腸中之檢量線.....	43
圖3-8、六種全氟碳化物於血清中濃度變化趨勢圖.....	48
圖3-9、PFBA於SD大鼠體內隨時間之分佈百分比.....	51
圖3-10、PFBA小腸之分配係數趨勢圖.....	52
圖3-11、PFBA肝臟之分配係數趨勢圖.....	53
圖3-12、PFBA脂肪之分配係數趨勢圖.....	53
圖3-13、PFBA腎臟之分配係數趨勢圖.....	54
圖3-14、PFBS於SD大鼠體內隨時間之分佈百分比.....	55
圖3-15、PFBS小腸之分配係數趨勢圖.....	56



圖3-16、PFBS腎臟之分配係數趨勢圖.....	56
圖3-17、PFBS肝臟之分配係數趨勢圖.....	56
圖3-18、PFBS脂肪之分配係數趨勢圖.....	56
圖3-19、PFPeA於SD大鼠體內隨時間之分佈百分比.....	57
圖3-20、PFPeA小腸之分配係數趨勢圖.....	58
圖3-21、PFPeA腎臟之分配係數趨勢圖.....	58
圖3-22、PFPeA肝臟之分配係數趨勢圖.....	58
圖3-23、PFPeA脂肪之分配係數趨勢圖.....	58
圖3-24、PFHxA於SD大鼠體內隨時間之分佈百分比.....	59
圖3-25、PFHxA小腸之分配係數趨勢圖.....	60
圖3-26、PFHxA腎臟之分配係數趨勢圖.....	60
圖3-27、PFHxA肝臟之分配係數趨勢圖.....	60
圖3-28、PFHxA脂肪之分配係數趨勢圖.....	60
圖3-29、PFHpA於SD大鼠體內隨時間之分佈百分比.....	61
圖3-30、PFHpA小腸之分配係數趨勢圖.....	62
圖3-31、PFHpA肝臟之分配係數趨勢圖.....	63
圖3-32、PFHpA脂肪之分配係數趨勢圖.....	63
圖3-33、PFHpA腎臟之分配係數趨勢圖.....	64
圖3-34、PFHxS於SD大鼠體內隨時間之分佈百分比.....	65
圖3-35、PFHxS小腸之分配係數趨勢圖.....	66
圖3-36、PFHxS肝臟之分配係數趨勢圖.....	67
圖3-37、PFHxS脂肪之分配係數趨勢圖.....	68



圖3-38、PFHxS腎臟之分配係數趨勢圖..... 69

圖3-39、不同碳鏈長度帶羧基(R-COOH)分配係數之比較..... 72

圖3-40、4C全氟碳化物
帶羧基(R-COOH)與硫酸基(-SO₃)對於分配係數之影響..... 72

圖3-41、6C全氟碳化物帶羧基
(R-COOH)與硫酸基(-SO₃)對於分配係數之影響..... 73

圖3-42、4C與6C帶硫酸基(-SO₃)之全氟碳化物對於分配係數之影響..... 73

表目錄



表1-1、不同國家水體中全氟碳化物的含量.....	3
表1-2、全氟碳化物在不同生物體內的半衰期.....	7
表2-1、19種全氟碳化物的母離子、子離子和CAS Number (Liu,2012).....	28
表2-2、全氟碳化物在電灑游離源中最佳化條件.....	33
表2-3、血漿檢體Online-SPE全氟碳化物分析梯度.....	33
表2-4、器官檢體全氟碳化物分析梯度.....	34
表2-5、全氟碳化物於各基質較正曲線配置.....	35
表3-1、6種全氟碳化物在血清中的精密度與準確度(N=3).....	45
表3-2、6種全氟碳化物在臟器中的精密度與準確度(N=3).....	46
表3-3、6種全氟碳化物分別在臟器及血清中的回收率 (Mean±SD, N=3)..	47
表3-4、本研究推算之全氟碳化物之臟器/血清分配係數(PC _{Tissue/plasma}).....	71

第一章 文獻回顧




1.1. 全氟碳化合物的物理及化學特性

全氟碳化合物(Perfluorinated chemicals, PFC)結構上由疏水性的長碳鏈為主體，加上親水性的各式官能基，主要為羧酸根、磺酸根和磷酸根，並因官能基的不同而命名(Fromme, et al. 2009)。全氟碳化合物結構中的碳—氟鍵結構而與其他的鹵化有機物有不同的化學特性，越長的氟化鍵結構會造成越強的疏水性與疏油性，使全氟碳化合物既不易溶於水亦不容易溶於油(Meussdoerffer et al., 1980)；此外，全氟碳化合物對於酸類、氧化劑與鹼類有相對較強的穩定性，不易被強氧化劑或光所分解，因此在工業上常用作為潤溼劑使用(Pan et al., 2008)。全氟碳化合物在 1950 年代起廣泛運用在工業以及商業方面，主要原因式來自其相當穩定的物化特性，如抗酸鹼、耐熱以及低表面活性，而這樣的性質來自於高親和力的共價碳氟鍵結，這樣的鍵結可以抵抗強酸、強鹼及各種氧化還原機制，對於生物與非生物分解方式都有相對高的耐受能力，因而造就了全氟碳化合物的穩定特性，使得全氟碳化合物在環境中能夠持續存在。

1.2 全氟碳化合物的環境流布

全氣碳化合物過去五十年來廣泛的使用在工商業中例如：表面張力劑、潤滑劑、拋光劑、油漆、紡織產品或是鍋具的塗料、滅火器以及食物的包裝材料年(Haug et al., 2009)，全氣碳化合物的工業產品充斥在我們周圍。2000 年美國 3M 公司，全世界全氣碳化合物的主要生產公司製造 650 萬磅的全氣碳化合物(Agency, 2000)，而近年美國杜邦公司研究發現，產品所使用的全氣碳化合物可能會造成人體危害(Renner, 2003)，加上科學們陸續在許多偏遠地區的環境中偵測到全氣碳化合物的存在，並發現許多動植物體內也有全氣碳化合物的生物積情況，但全氣碳化合物



在環境中也不易被分解，並具有生物累積以及生物放大作用，合在生態間因食物鏈而循環，進而累積至食物鏈包括人類的高級消費者體內，正因為如此，關注全氟碳化物的研究是十分重要的(Butt et al., 2010)。而在環境中的分布情況，以下就分為水、空氣、食物以及動物體內溫度來探討。

1.2.1 水

自然界水體中發現，當全氟碳化物的碳鏈越長時，越不容易被分解，因此存在環境中的時間就越長，通常以碳數大於 7 者，越容易存在於環境中 (Panchangamet al., 2009)，隨著水循環可以散布於全世界的大小水體中，不論是在美洲·亞洲·澳洲或是歐洲，而目前在全球的水體中都可發現全氟碳化物的存在(Lau et al., 2007)。在水體內的全氟碳化物會因蒸發作用而散佈在大氣中，使大氣中的全氟碳化物濃度提升，進而影響臭氧層的厚度；也能經由沉降作用沉積於土壤中，或是經由動植物所吸收，故水體中的全氟碳化物常被認為是汙染散佈的來源·研究中也發現全氟碳化物的當碳鏈越長時·在自來水處理廠和工廠廢水處理廠中，普遍污水處理方法無法將長碳鏈的全氟碳化物分解，因此導致工廠廢水排放區的河川，發現有全氟碳化物高汙染的情形，而在這些河川下游的居民·因長期使用這壘遭受全氟碳化物高濃度的汙水，是否會引起健康的危害也引起大家的關注(Lin et al., 2009)，從表 1-1 中可以發現，若水體上游有工廠區座落，此水體中的全氟碳化物濃度會有上升的情形，就此了解工廠排放廢水為全氟碳化物在水體中的主要來源。

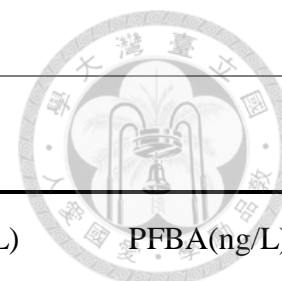


表 1-1、不同國家水體中全氟碳化物的含量

國家	水體	工業排放	PFOS(ng/L)	PFOA(ng/L)	PFDA(ng/L)	PFBA(ng/L)
台灣(Lin et al., 2009)	宵裡溪		82	17.3	11.3	
	頭前溪	有	48.9	10.9	58.2	
	容雅溪		5440	310	14.6	
日本(Zushi et al., 2008)	鶴見川	有	179.6-179.9	13.4-15.9	2.1-3.9	
	宇自川		8.7-10	100-110		
中國(So et al., 2007)	長江	有	<0.01-14	2.0-260	<0.01-3.8	
	球江		0.9-99	0.85-13	<0.13-0.57	
	黃河					
北義大利(Loos et al., 2008)	波河	有	<0.1-25	337		
	拖那洛河		2	1270		
美國(Hansen et al., 2002)	田納西河 喬治亞區域河	有	16.8-144	49.9-299		
德國	埃森河	無	15	23		19
	魯爾河		17	74		85



1.2.2 大氣


大氣中所偵測到的全氟碳化物，可能經由水箱環帶來，抑或是工廠排技廢氣，目前在許多國家環境中都有監測到全氟碳化物的濃度。揮發性的全氟碳化物如 Et-PFOSAA(C8)會揮發在空氣當中(Fromme et al., 2009)；非揮發性的全氟碳化物如 PFOA(C8)，則會附著在空氣的懸浮微粒中，使得空氣中微粒帶有全氟碳化物的成分(Lau et al., 2007)，而人類會因為呼吸空氣、打掃的揚塵等而接觸到全氟碳化物的污染源。這些空氣中的全氟碳化物含量，皆會因吸入而進入人體。城市空氣中全氟碳化物濃度會高於鄉村，因此顯示都市地區的人民，暴露於全氟碳化物情形會高於鄉村地區的居民。

1.2.3 食物

支獻中多在探討魚類中的全氟碳化物，主要因為全氟碳化物的生物累積和經由食物鏈的循環，多累積在大型魚類體內，而人類食用後有機會暴露於高濃度的全氟碳化物。在魚類當中，研究中發現 PFOS(C8)濃度比例占最高，PFOA(C8)次之，PFOS(C8)在魚類體內較易累積，另外也發現 PFNA 在遠洋魚類及哺乳類體內也有濃度攀高的趨勢並具生物放大作用(Zhang et al., 2012)，也就是在食物鏈越頂端的物種含量越高(Fromme et al., 2007)。

1.2.4 動物

由於全氟碳化物的生物累積及生物放大作用，野生動物經由食物鏈或是食物鏈循環而接觸到全氟碳化物，進而遭受到全氟碳化物的污染。研究發現全氟碳化物因為在動物體內不易分解，容易和蛋白質結合長期蓄積在動物體



內，尤其易累積在肝臟，在許多野外的動物體內都有發現全氟碳化物的存在，並且在肝臟部分濃度都有偏高的情形，獵食魚類為生的動物，因為食物鏈的原因，使得這些生物體內全氟碳化物濃度都較其他生物來的高(Lau et al., 2007)。

1.3 全氟碳化物的毒理資料

具疏水性與疏油性的全氟碳化物不易累積在動物及人體的脂肪組織內，但容易和血液中的蛋白質結合，且易累積在哺乳動物的肝臟中，而有蓄積性(Haug et al., 2009)，研究中顯示肝臟中的全氟碳化物濃度約為血液中的 1.3 倍(Hundley et al., 2006)。在動物實驗的結果顯示 PFOS(C8)在食蟹猴的體內會維持約 20 ml/kg 的穩定分布，這表示 PFOS 的分布主要是存在細胞外(Lau et al., 2007)，而留存於體內的方式是利用與 β -Lipoproteins、albumin 或 Liver fatty acid-binding protein (L-FABP) 形成親和力鍵結(Luebker et al., 2002)(Jones et al., 2003)。在表 1-2 中，可以看到全氟碳化物在人類體內的半衰期遠長於其他物種，甚至長達數十年，也可得知當碳鍊越長累積在體內的時間就越久。

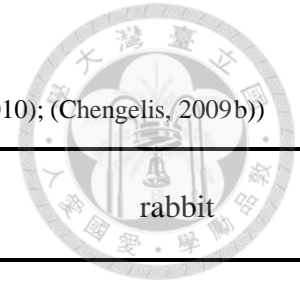
而從表 1-2 中的文獻可知，動物實驗中，全氟碳化物因性別不同造成半衰期長短有差別，以雄性動物半衰期時間較雌性動物為長。文獻中也發現在腎臟排除全氟碳化物情形以雄性動物排除率較高，可能是因為雌性動物腎臟的有機陰離子轉運蛋白和雄性不同而造成全氟碳化物排出以及半衰期長短的差異，在線馬魚暴露研究中同樣也看到全氟碳化物具有性別上的差異(Zhang et al., 2012)。雖然研究發現大鼠和人類的有機陰離子轉運蛋白活動情形雷同(Nakagawa et al., 2008)，但在人類研究當中，尚未有性別不同的結果產生，不過也有可能是因為人類的全氟碳化物研究的個案數比較少，而未能看出性別所造成的差異(olsen et al., 2007)。

研究顯示暴露於全氟碳化物會造成肝腫大·荷爾蒙失調·生殖發育毒性·免疫
毒性·肝毒性·發炎反應·脂蛋白減少·氧化傷害·癌症以及動物實驗中有導致新生
兒體重下降的現象(Lau et al., 2007)。

全氟碳化物對人體毒性的證據到目前為止是有限的，且血清中的全氟碳化物
濃度對一般族群不良健康效應的相關性，在許多研究中也沒有看到一致性的結果
(Fei et al., 2008) (Fei et al., 2007)。

表 1-2、全氟碳化物在不同生物體內的半衰期

((Lau et al., 2007) (Olsen et al., 2009); (Tatum-Gibbs et al., 2011); (Chengelis, 2009a; Ohmori et al., 2003) (Lieder et al., 2009); (Bartell et al., 2010); (Chengelis, 2009b))



Chemicals	human	Cynomolgus monley	rat	mice	dog	rabbit
PFBA(C4)	74.6hrs	1.68 days males 1.71 days females	7.2 hrs	17 hrs males 3 hrs females		
PFBS(C4)	25.8days	4 days males 3.5 days females	7-9 hrs males 1.6-1.8 hrs females			
PFHxA(C6)		1.45 days males 0.81 days females	1-2.4 hrs males 0.4-1.2 hrs females			
PFHxS(C6)	8.8 yrs	141 days males 87 days females				
PFOA(C8)	3.8 yrs	20.9 days males 32.6 days females	4-6 days males 2-4 hrs females	15-20 days	20-30 days males 8-13 days females	5.5 hrs males 7 hrs females
PFOS(C8)	5.4 yrs	132 days males 110 days females	30-50 days			
PFNA(C9)			29.6 days males 2.4 days females			
PFDA(C10)			40 days males 59 days females			



1.3.1 全氟碳化物的致癌性

在動物實驗當中，在施以高劑量的全氟碳化物時，會出現癌化現象，如在一個兩年期的老鼠實驗中，發現在飼料中加入 20ppb 的 PFOS(C8)，Sprague-Dawley 大鼠會增加罹患肝細胞癌的機率，而在相關研究中則發現暴露於 PFOS(C8)會使罹患甲狀腺癌機率增加(Seacat et al.,2003)；在其他研究中也發現，當暴露於 Et-PFOSE 的大鼠，會增加甲狀腺濾泡細胞癌的罹患機率；在 PFOA(C8)方面則在 SD 大鼠中，會現腺臟癌的情形(Biegei et al., 2001)；而同時暴露於 PFOA(C8)和 PFOS(C8)會使大鼠罹患華間質細胞瘤(Biegei et al., 2001)。

目前人類流行病學研究當中，都嘗試找全氟碳化物和癌間的相關性，雖然有些職業的研究的確有少許癌癥和全氟碳化物的暴露有顯著相關，但卻無法呈現劑量反應效應，使得在因果關係上無法有充分的證據證明；然而大部分研究的結果都顯示暴露全氟碳化物和癌有相關性(Lau et al., 2007)。在一系列的 PFOS(C8)的職業暴露研究中，可以發現長期暴露於高濃度的 PFOS 環境中的男性工作人員，罹患膀胱癌的機率比一般大眾高，雖然結果達統計上顯著相關，但卻無法觀察劑量反應關係，在女性工作人員身上也無法觀察這個現象，並且利用相同資料來源在其他癌症的探討結果中也無法找到相關性(Alexander et al., 2003)，美國一個回溯性世代研究中發現，暴露於 PFOA 環境中的男性化學工廠工作人員罹患攝護腺癌的機率比一般人高，若暴露時間越長癌症發生率就越高，但是若將暴露量具體的量化就無法看和癌症的相關性(Gilliland and Mandel, 1993)。在美國另一家性質類似的化學工廠中，也發現若是暴露於高濃度的 PFOA(C8)環境中，工作人員罹患膀胱癌和腎臟癌的機率也比一般人高(Company, 1999)，但是在 2006 年美國的一個回溯性的世代

研究中結果發現 PFOA(C8)、與糖尿病有顯著相關，則和其血癌症無顯著相關(Dinglasan et al., 2004)。



1.3.2 全氟碳化物的生殖發育毒性

不管在動物實驗或是人類流行病學研究中，文獻指出全氟碳化物可穿過胎盤經由臍帶血由母體帶給子代(Chen et al., 2012)，也會經由母乳餵食給子代，因此全球對全氟碳化物是否引起生殖發育毒性而產生關注(Hitchens et al., 2011)。

在動物實驗中，暴露於 PFOA(C8)和 PFOS(C8)的母體會造成妊娠期延長，子代出生體重下降，子代生理結構缺失以及子代發育遲緩的情形(von Ehrenstein et al., 2009)，在動物實驗中，不論是大鼠，小鼠或是兔子在暴露到高劑量的 PFOS(C8)後會引起胎兒的體重減輕，兔唇，骨骼發育延緩與心臟異常的情形發生，在這樣的劑量下同時也會引起母體的體重降低(Case et al., 2001)(Luebker et al., 2005)，在研究中，將犬隻母體暴露於 10 mg/kg 的高劑量時，產下的幼犬呈現虛弱無力的狀態，且在 30-60 分鐘之內猝死(Lau et al., 2003)，ApeLberg 等人研究指出，在接近三百人的臍帶血研究中，PFOS(C8)和 PFOA(C8)的平均濃度分別為 4.9 ng/mL 和 1.6 ng/mL(Colquhoun et al., 2009)，瑞典在 1996-2004 年，收集了母乳樣本中發現 PFOS(C8)濃度範圍為 60-470 ng/L，而 PFOA(C8)的濃度則為 209-492ng/L (Karrman et al., 2007)；而 2004 年在中國舟山地區，收集了 19 個母乳樣品進行分析，顯示 PFOA(C8)在母乳內的濃度為 47-210 ng/L，而 PFOS(C8)在母乳中的濃度介於 45-360 ng/L 之間(So et al., 2006)。由以上文獻可知，全氟碳化物確實，存在與臍帶血以及母乳當中，而這也表示全氟碳化物將經由臍帶血和母乳從母體帶給下一代




(Hitchens et al., 2011)(Wang et al., 2011)，因此全氟碳化物生殖發育毒性更值得大家的關注。

2010 年發現 PFDoA(C12)，在睪丸的 Leydig Cells 誘導許多造成氧化壓力的基因，並且干擾其性荷爾蒙相關基因的表現(Shi et al., 2010)，同樣的暴露 PFNA(C9)亦會造成 Leydig Cells 的細胞凋亡(Feng et al., 2009)，顯示出全氟碳化物造成生殖方面的危害。在 2007 年有兩個人類流行病學研究中發現，母親懷孕時體內的全氟碳化物濃度或是臍帶血中的全氟碳化物濃度，會影響新生兒出生時的體重(Apelberg et al., 2007a ; Fei et al., 2008) (Apelberg et al., 2007b)，在丹麥的生殖世代研究中，無法證實 PFOA(C8)的暴露和新生兒的發育行為有顯著相關(Fei et al., 2008)。在研究中，雖然發現全氟碳化物經由母乳或是臍帶血進入子代體內的濃度並不高，但是因為全氟碳化物在人體內並不易被分解，人體中的半衰期長達幾年到數十年，因此慢性毒性需要長期的追蹤，進一步的深入研究，才可做確切的定論(von Ehrenstein et al., 2009)。

1.3.3 全氟碳化物的肝毒性

在大鼠實驗中發現，全氟碳化物為過氧化物酶體增植物激活受體(peroxisome proliferator activated receptors, PPARs)的促進劑，作用結果會使大鼠產生肝毒性，且最終有癌化現象，研究中 PFOA(C8)與 PFOS(C8)會造成大鼠與靈長類實驗動物肝臟腫瘤發生機制可能是由於肝臟中的 α -過氧化體增生劑活化受體(peroxisome proliferator-activated receptor- α , PPAR- α) PFOS(C8)或 PFOA(C8)結合造成催動作用，進而引起肝臟細胞的異常增生(Vanden Heuvel et al., 2006)，Vandel Huevel 等人利用了轉染了冷光基因的 3T3-L1 細胞證明 PFOA(C8)和 PFOS(C8)確實會活化 PPAR- α (Case et al., 2001)，而相較



於大鼠體內的 PPAR-a 來說，人體內 PPAR-a 對於 PFOS(C8)與 PFOA(C8)具有更強烈的反應性(Lau et al., 2007)，而 PPAR-a 的路徑為啮齒類動物造成肝臟癌化的唯一路徑，顯示活化 PPAR-a 對於啮齒類動物有很高的致癌風險 (Guyton et al., 2009)。

1.3.4 全氟碳化物造成荷爾蒙失調


在大鼠實驗中發現，PFOS(C8)會干擾甲狀腺素的回饋機制，當暴露於 PFOS(C8)時，大鼠血液中的 T3 和 T4 濃度會降低，但卻不會引發腦下垂體產生甲狀腺促進激素，主要是因為 PFOS(C8)會使肝臟分泌一種類甲狀腺素，使得身體不會因為 T3 和 T4 下降，而呈現功能性假性甲狀腺素低下的情形，讓甲狀腺回饋機制無法發揮作用，進而使大鼠體內持續呈現低甲狀腺素狀態，美國國家健康營養調查局研究發現，血液中 PFOA(C8)和 PFOS(C8)濃度較高的民眾，患有甲狀腺疾病及服用甲狀腺藥物機率高於濃度較低的族群，此研究顯示全氟碳化物有可能造成人體的甲狀腺荷爾蒙失調而產生甲狀腺相關疾病(Melzer et al., 2010)。

在大鼠實驗中發現，每天餵食每公斤含 5 毫克 PFOA(C8)的飼料，將續暴露兩個星期，會使大鼠的萊氏細胞產生肥大，且睪固酮濃度降低，由這個研究結果，可見 PFOA(C8)會造成生物體內荷爾蒙影響，進而影響生物體生殖發育能力(Shi et al., 2007)(Lehmann et al., 2004)，暴露 PFDaA(C12)的雄鼠樣能觀察到內分泌紊亂的現象，睪固酮具有劑量反應關係(Shi et al., 2009)。


在細胞實驗中發現，暴露全氟碳化物如：PFOS(C8)後，會使芳香環轉化酶(aromatase)的基因表現受影響，因此會干擾睪固酮轉換成雌激素的機制，證實全氟碳化物確實會干擾生物體內的荷爾蒙生理機轉(Kraugerud et al.,

2011)。

1.4 全氟碳化物人體的暴露途徑以及暴露程度



在全球人類社會中，全氟碳化物廣泛存在於各種人口群當中，不管是在相關全氟碳化物的工廠員工，臨近全氟碳化物工廠的社區居民或是一般民眾的血液中都可供測到全氟碳化物的含量，因為全氟碳化物在人體中半衰期長達幾年到數十年，對於全氟碳化物長期存在於人體中是否會造成健康危害十分關注，人類暴露全氟碳化物的途徑主要除了職業暴露外，還包含飲水，空氣，落塵，食物，食物包裝，纖維，地毯及家具等，其中以飲水及食物中的海鮮最受關切(Loccisano et al., 2011)。Ingrid 等人評估了西班牙當地民眾每日經由飲食造成的全氟碳化物暴露量，研究結果發現一名 70 公斤的正常成年人每天大約攝取 62.5-74.2 ng 的 PFOS(C8)，其中魚類的攝食是最主要的 PFOS(C8)貢獻來源(Ericson et al., 2008a)；該研究團隊也針對飲用水的暴露進行了評估，依照每日攝取兩公升的飲用水的前提假設下，當地民眾每日暴露到的 PFOS(C8)量為 0.78-1.74 ng，而 PFOA(C8)的每日暴露為 12.6 ng (Ericson et al., 2008b)。加拿大在 2007 年研究中估計成人每日經由食物所攝取的全氟碳化物為 250 ng/day，而經由所有可能來源的總合則是 410 ng/day(Dufresne et al., 2007), (Tittlemier et al., 2007), (Tittlemier et al., 2006), (Ericson et al., 2008a)，研究中推測飲用水為全氟碳化物最重要的來源之一，在美國，歐洲及亞洲許多國家的飲用水中皆驗出全氟碳化物的存在，有些美國地區，暴露區的飲用水中全氟碳化物含量遠高於非暴露區，而日本研究發現，潛在暴露全氟碳化物地區的 PFOS(C8)及 PFOA(C8)含量分別為 5.4-40、1.1~1.6 ng/L；濃度相對高於其他地區，PFOS (C8) <0.1~ 0.2 ng/L，PFOA (C8) 0.1-0.7 ng/L(saito et al., 2004)，在美國及歐洲，污染源未知的地區其 PFOA(C8)及 PFOS(C8)的背景值皆高於偵測極限 PFOS (C8) 8 ng/L，PFOA (C8) 7.5



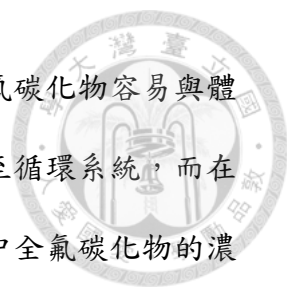
ng/L(NUSEPA, 2001), (Skutlarek et al.,2006)，上述提及的國家皆進行大規模的飲用水評估後發現，許多全氟碳化物污染地區的飲用水中皆含有高濃度的全氟碳化物，因此可見評估飲用水中全氟碳化物的暴露量為一個重要的課題，由其以受全氟碳化物污染區的民眾飲用水暴露的評估更為迫切。

由於全球最大 PFOS(C8)生產商，3M 公司，於 2000 年宣布停止生產 PFOS (C8)相關製品，在表六中發現美國的民眾血液中的全氟碳化物含量有逐年減少的趨勢(olsen et al., 2007)，但是表六的資料顯示，各國居民的血液中，多多少少皆含有全氟碳化物的存在，因此顯示全氟碳化物廣泛的存在全球各地。

從文獻中發現全氟碳化物的來源途徑多，且目前為止沒有一個確切的證據顯示，到底全球民眾體內的全氟碳化物含量主要源自何處，因此現行的全氟碳化物的暴露評估主要是以生物偵測來當作內在劑量執行暴露劑量的推估，而生物偵測多選擇以血液來做為樣本，是因為全氟碳化物疏水且疏油，不易累積在脂肪組織，部分會累積在肝臟組織和腎臟組織，而一部分會和蛋白質結合，尤其以血液中的蛋白質為主，而血液樣本較器官組織易取得且量多，做為全氟碳化物的暴露劑量推估最為適合(Haug et al., 2009)。

1-5 全氟碳化物的代謝機制

全氟碳化物中以 PFOA(C8)和 PFOS(C8)在全球環境中偵測到濃度最多，也以它們兩個物質在藥物動力學方面被研究的最為透徹，在研究中發現 PFOS(C8)為許多種全氟碳化物的烷基化產物例如 PFOA(C8)，PFOSA(C8)，PFHxS(C6) 等，也就是全氟碳化物經由化學或是生物降解最後以 PFOS(C8)為最終型態存於生物體中，無法再被代謝(Company, 1999)。在動物實驗中可以發現 PFOA(C8) 和 PFOS(C8)由口攝入很容易被腸化道吸收，但卻不易被排生物體外，主要是它們不



被代謝且容易和蛋白質結合，造就它們長久的半衰期，因為全氟碳化物容易與體內的蛋白質結合，且嘗試由腎臟排洩，但又容易被腎臟再吸收至循環系統，而在動物體內一直重複嘗試排洩又被再吸收的動作，故在循環系統中全氟碳化物的濃度一直維持在高濃度，如血液當中(Loccisano et al., 2011).(Genuis et al., 2010)，然而，研究發現支鏈的 PFOA(C8)異構體會比直鏈的 PFOA(C8)容易被代謝，而 PFOS(C8)也因為不同的支鏈而會有不同的代謝速度(Ridden et al., 2009)。


全氟碳化物半衰期長的原因受到各界的探討，目前最常被使用的假說：腎臟近小管的運輸過程已達飽和，而無法將全氟碳化物自體內排，讓腎臟再吸收這些全氟碳化物至血液中，而造成性別的半衰期長短的差異則是因為有不同的運輸蛋白，造成飽和程度的差異，因為 PFOA(C8)和 PFOS(C8)在生物體內會被離子化，故可由有機陰離子運輸蛋白運輸，在動物實驗發現，老鼠體內 PFOA(C8)是以有機陰離子運輸蛋白當運送介質，有機陰離子運輸蛋白分為 Oat1，Oat3，Oat4，Urat1，Oatplal 等五種類型，在人類身上研究發現 Oat1 和 Oat3 扮演從血液中將全氟碳化物分泌至近小管，而 Oat4 和 Urat1 型態的有機陰離子運輸蛋白會將全氟碳化物的再吸收至近曲小管中累積，造成一個全氟碳化物的分流，使 Oat1 和 Oat3 將全氟碳化物運輸至血液當中，因而造成全氟碳化物在血液中累積如圖一所示，且全氟碳化物碳鏈的長短會影響和有機陰離子運輸蛋白的親和力，隨著碳鏈越長越容易被 Oat4 和 Urat1 再吸收回近曲小管中，因此可知 Oat4 和 Urat1 型態的有機陰離子運輸蛋白在全氟碳化物對於人類中半衰期較長的這個現象中扮演著關鍵的因素(Yang et al., 2010)。這個吸收過程飽和的假說可以適用於各個物種，老鼠與人類擁有相似的 Oat1 和 Oat3 型態的有機陰離子運輸蛋白可以將全氟碳化物從血液分泌至近曲小管，唯獨 Oat4 只在人類近曲小管的腎根尖細胞膜中被發現，而研究發現老鼠型的 Oatplal 可以運輸 PFOA(C8)(Yang et al., 2009)，因此推論可

能是因為人類體內獨有的 Oat4 型有機陰離子運輸蛋白，會影響腎臟對全氟碳化物的再吸收進而影響腎臟排泄速率，造成半衰期較長的原因(Loccisano et al., 2011)。



1.6 全氟碳化物的藥物動力學研究

2006 年 Olsen 等人進行 Perfluorobutane sulfonic acid (PFBS) 在大鼠體內的藥物動力學實驗，分別以靜脈注射，胃灌食方式給予大鼠每公斤 30 毫克的劑量，每個實驗方式樣本數為雄性 3 隻和雌性 3 隻，並在進行暴露後的 0.25、0.5、2、4、8、18 和 24 小時利用頭靜脈導管收集靜脈血液；尿液及糞便收集則是每隔 24 小時利用代謝籠收集，總共收集三天，另一方面也進行 PFBS(C4) 在食蟹猴體內的藥物動力學實驗，利用手臂靜脈注射方式施與食蟹猴每公斤 10 毫克的劑量，在暴露後的 14 天收集尿液和糞便，而血液則在暴露後 2、4、8、24、48 小時及 4、7、11、14、31 天收集血液。此研究收集六位在 3M 製造 PFBS(C4) 部門工作的勞工的血液和尿液，收樣時間為期 6 個月，其中血液收集 10 次，尿液在實驗初期、中期及後期各收集一次，收集的數據與使用藥物動力學數學軟體(Win-Nonlin)預測的結果做相關性探討，可看見 PFBS(C4) 在大鼠血液中濃度很快的下降，一天後就可以排出血液，而 PFBS(C4) 在食蟹猴血液中明顯的比大鼠還要來的長，需要 25 天左右的時間才能完全排出體外，再對照人類的研究發現人類甚至要高達 200 天左右血液中 PFBS(C4) 的濃度才會下降至 10 ng/L 以下，而此實驗結果顯示 PFBS(C4) 在大鼠體內的濃度變化有性別的差異而食蟹猴和人類則無，雖然此實驗的樣本數過少(n=3)，但是結果符合預期，碳數越短的全氟碳化物越快從生物體內排出，不像碳數較長的全氟碳化物如 PFOS(C8) 在生物體的半衰期分別為大鼠 30-50 天，食蟹猴 100-130 天，而人類則長達 5.4 年(Olsen et al., 2009)。



Katoria 等人在 2011 年研究 SD 大鼠和 CD1 小鼠暴露 Perfluoronanoic acid (PFNA)(C9)後，血液中濃度變化情形，SD 大鼠以胃灌食方式進行每公斤含 1 毫克，3 毫克，10 毫克 PFNA(C9)的暴露，每組各暴露 3 隻豚鼠和 3 隻雄鼠，於暴露後的 1，2，3，4，7，16，21，28，35 和 42 天抽取靜脈血液；而 CD1 小鼠則以胃灌食方式進行每公斤含 1 毫克和 10 毫克 PFNA(C9)的暴露，每組各暴露 4 隻雌鼠和 4 隻雄鼠，於暴露後 4，8，12 小時與 1，2，3，4，7，11，16，21，28，35，42 和 50 天，每個時間點犧牲收集血液(Tatum-Gibbs et al., 2011)。

了解到 PFNA(C9)在 SD 大鼠體內的代謝會因性別不同而表現不同，雄鼠的代謝較緩慢，但是 CD1 小鼠中則沒有看到此結果，根據研究結果顯示 PFNA(C9)的碳鏈較長所以導致在老鼠體內的半衰期也較 PFBS(C4)長，也驗證了碳鏈較長的全氟碳化物易累積於體內的情況(Tatum-Gibbs et al., 2011)。

Anne 等人在 2011 年發表了一篇有關利用 PBPK model 預測大鼠體內 PFOA(C8)和 PFOS(C8)藥物動力學變化的研究，以胃灌食方式讓大鼠暴露於每公斤 1 毫克和 15 毫克的 PFOS(C8)，每組各有 3 隻雄鼠和 3 隻雌鼠，並在暴露後的 8，15，21，29，36，43，49，57，65 和 72 天收集大鼠血液，而 PFOA(C8)也以胃灌食方式讓大鼠暴露每公斤 25 毫克的 PFOA(C8)每組各有 4 隻雄鼠和 4 隻雌鼠，在暴露 0.25，0.5，1，2，4，8，12，16，24，36，48，72，96，192 和 528 小時收集血液，利用圖 1-1 表示的 PBPK model 搭配實際的 PFOA(C8)和 PFOS(C8)在大鼠體內濃度變化，此結果可以發現 PFOA(C8)在大鼠體內的暴露對於性別有很大的差異，雌鼠在一天內血液中濃度就已經下降，在雄鼠體內卻要達 20 天才達同等程度的濃度下降，但在 PFOS(C8)中卻沒有這樣的情況，因此可以了解部分全氟碳化物在大鼠體內的代謝會因為性別的不同而有所差異，但比較其它文獻在其他物種中，性別差異的狀況並不多見，可見暴露的生物不同，生理代



謝也有所不同，因此未來若以物實驗數據外插自人類的風險評估時，必須省慎思考物種間差異的存在(Loccisano et al., 2011)。

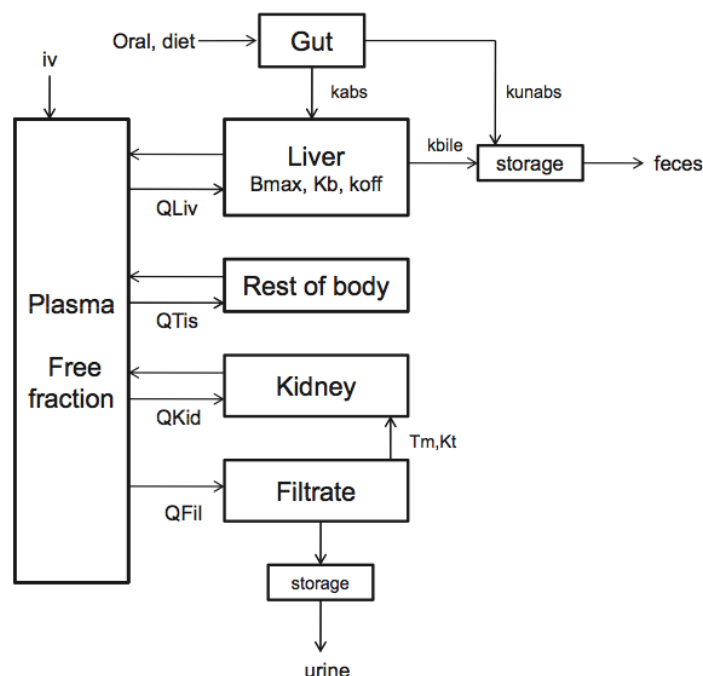



圖 1-1、PFOA 與 PFOS 在大鼠體內 PBPK model 的架構(Loccisano et al., 2011)

1.7 全氟碳化合物的分析方法

國際上普遍使用氣相層析質譜儀(GC-MS，Gas Chromatography Mass Spectrometry)和液相層析質譜儀(LC-MS，Liquid Chromatography Mass Spectrometry)來分析全氟碳化合物(Martin et al., 2002)，近年來因為高效能液相串連質譜儀(LC-MS-MS。Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry)的發展，使得質譜分析領域上的敏感度以及偵測極限大幅提高，造就了分析領域新的世代的來臨，因此於全氟碳化合物的研究，近年來也都陸續運用 LC-MS/MS 作為定量分析 (Haug et al., 2009 ; Hitchens et al., 2011 ; Kuklennyik et al., 2005 ; Pan et al., 2008 ; USEPA, 2001)。

在樣品前處理部分，近年來文獻中陸續使用線上固相萃取法(On-line solid




phase extraction)來做為前處理，於分析管柱前方連接一個捕集管柱(Trap column)，捕集管柱可將血液或是尿液中雜質和待測物分離，減少雜質進入分析管柱並濃縮分析物，達到與一般固相萃取相同的結果，線上固相萃取法的優點在於不需運用許多人力和時間在前處理上，相對於傳統固相萃取，節省固相萃取匣的費用，樣本前處理的回收率較佳，因此可使用較少的樣本分析且較為經濟，但和一般分析方法相比，其系統架設與方法開發較為複雜，分析時間較長，也由於上述優點，近年來對於生化領域的分析越來越重視線上固相萃取法，(Kote et al., 2011)。

1.8 全氟碳化物的分析儀器介紹

1.8.1 線上固相萃取，On-Line SPE(Solid-phase extraction)

將傳統的 SPE 置於系統上，放在分析管往前，利用六相閥的轉換，將樣本負載在捕集管柱上，利用捕集管柱和樣本的親和性將雜質去除，再利用六相閥的轉換，運用 wash pump 調整移動相的有機溶液比例，將樣本從捕集管柱中沖提進分析管柱，再使用 HPLC pump 調整移動相有機溶液比例將分析管柱中的樣本沖提進質譜儀中分析，線上固相萃取是利用六相閥的轉換主要分為 Load 模式，樣品於捕集管柱內純化時，利用 wash pump 的梯度將樣本沖提進入捕集管柱中滯留，將不必要的雜質或基質沖提至廢液，由其是鹽類，因此在 wash pump 的梯度一開始會以高水相為主，目的也就是要將樣本中的鹽類沖提至廢液桶中；而 Inject 模式，利用 LC pump 的梯度將樣本由捕集管柱中沖提至分析管柱純化後，進入質譜儀分析。

1.8.2 液相層析串聯質譜儀，LC-MS-MS (Liquid chromatograph-tandem mass Spectrometry)



本實驗使用的型號為 Thermo Fisher TSQ Quantum Access，產地美國。液相層析質譜儀原理是利用鑲嵌在固定相的膠體與移動相所負載的樣本親和力與否，來分離實際樣本(如血液，尿液)中的雜質與待測物，並利用移動相中有機溶液的比例將樣本沖出固定相，將樣本送入質譜儀，先經過電灑游離源，將液體氟化後經由三段四極板式質譜儀碰撞產生離子碎片，經由訊號接收器而被偵測，三段式四極柱式質譜儀主要由四支圓柱形的電極棒所組成，以四方形之對角線形成雙曲線之排列，電極棒的中央形成一個靜電場。其中相對的電極棒以電線連接，將直流電壓(DC)與射頻電壓(RF)通入其上。Y 軸方向的一對電極所加入之直流電壓為負電；X 軸方向的一對電極所加入之直流電壓為正電，且射頻電壓與 Y 軸的相位相差 180 度，這些直流電壓為正電，且射頻電壓所形成的電場使得離子在其中產生一定規則之振動軌跡，在某固定的施加電位下，只有某一個質荷比(m/z)的離子呈穩定振動並通過四極圓柱而到達訊號接收器並被偵測到，其他質荷比之離子則因軌道振幅越來越大而撞擊到四極板上而被中和。

不同質量之離子在電場中的解析能力(Mass Resolution)，決定於施加在電極柱上 DC 與 RF 電壓的比值，固定保持 DC 與 RF 電壓的比值，並同時改變 DC 與 RF 的電壓，則可改變穿過的 m/z 的大小，而使不同質量的離子被偵測到，故四極板式質譜儀亦可稱為質量過濾器(Mass Filter)，因快速改變 DC 和 RF 的電壓，使得四極板式質譜儀能在微秒的間距中很快地做質量掃描。

1.8.3 同位素稀釋法搭配液相層析串聯式質譜儀原理

同位素稀釋法的起源目前尚不明確，但於西元 1933 年有文獻指出其用於動物學計算島嶼中稀有鳥類的數量，而早在西元 1913 年 Hevesy 與 Paneth 就利

用放射性鉛同位素以分析硫化鉛在水中之溶解度，此同位素應用方式如今被稱為同位素稀釋法。而若干年後以同位素搭配質譜儀進行分析，即目前已知的同位素稀釋質譜法(Isotope dilution mass spectrometry, IDMS) (Vogl and Pritzkow 2010)。

在欲分析的樣本中加入與分析物組成相同之同位素標定內標準品，因為同位素標定內標準品具有與分析物相同的物理、化學性質，故利用質譜儀分析後得到分析物與同位素內標的比值(ratio)，可達到消除儀器之系統性誤差以達到準確定量的效果(Vogl and Pritzkow, 2010)，加上質譜儀利用離子的質荷比來區分化合物，使同位素稀釋法搭配液相層析串聯式質譜儀能同時具有準確定性與定量的優點 (Koc and Swenberg, 2002)。


1.9 藥物動力學概述

藥物動力學是探討藥物在生物體內吸收，分佈，代謝和排泄的研究，主要是利用動力學原理加上數學方程式的運算來描述物質在生物體內隨時間的變化情形，而藥物的作用與藥物在體內的濃度極為相關，因此藥物動力學的重要性涵蓋甚廣，如新藥開發，藥理作用的研究，劑型的設計，臨床上藥物治療的考量和風險評估，透過研究藥物動力學可以提供更有效且安全的用藥，找尋最適宜的給藥模式，具有相當重要的研究價值。

藥物動力學模式就是以數學所建構的模式嘗試解釋藥物在生物體內各個器官或是組織的吸收，分布，代謝情形，並計算出藥物在各個器官和組織中時間與濃度變化的關係，主要分為房室模式，非房室模式以及生理藥物動力學模式。

1.9.1 房室模式(Compartment Model)

假設身體是由許多房室組成的，而每個房室之間的血流速度相仿，藥物



對每個房室的親和度也相同。常見的有：一室模式(One-Compartment Model)是指將身體視為單一房室，藥物進入體內後迅速被吸收分佈於身體中，且呈現一集的排泄速率；二室模式(Two-Compartment Model)是將身體主要分為中央室和周邊室，中央室是指血液、細胞外液以及高血流灌注組織。周邊室指的是藥物分佈平衡較慢的組織，藥物在兩室之間的流動是採取一級速率，藥物於中央室的排出在二室模式中被分為分佈相以及排除相，也就是呈現一個雙指數下降的情形。

1.9.2 非室模式(Non-Compartment model)

將身體視為由許多不同房室組成，藥物在不同房室間以不同的速率進行動態的流動，非室模式常被用來評估精確的藥物動力學數據。

1.9.3 生理藥物動力學模式(Physiological-Based Pharmacokinetic Model)

依據化合物在生物體內的代謝模式、組織器官的相近程度，選擇出重要的目標組織或器官作為房室的區分原則，此模式估算藥物在不同組織及器官間的流動分佈，藉由各組織與血液間的分配係數，來推算化合物在各組織間的濃度時間變化，可以較精確的預測藥物在身體內的真實狀態，但必須有各個組織和器官的容積以及血流量等充分生理解剖上的數據，因此數據取得較難。

1.9.4 藥物動力學模式的選擇

主要依據 Akaike's information criterion，也就是 AIC 準則，以及 Schartz criterion 也就是 SC 準則來評估何種藥物動力學模式較適合使用此藥物動力



學數據。通常會選擇 AIC 以及 SC 數據較小的模式來進行模擬，但若是兩者數據不一致時，就考慮選擇以非室模式來進行藥物動力學參數的估算。

(1). 藥物動力學之參數

- i. Tmax：藥物達血中最高濃度時所需時間。
- ii. Cmax：藥物在血中最高濃度。
- iii. AUC：藥物的血中濃度—時間曲線下從 $t=0$ 至 $t=\infty$ 的面積，表達藥物作用在身體內的總量，以濃度*時間為單位。
- iv. 半衰期(Half-Life)：指藥物從原本血中濃度降至一半所需時間。

$$T_{1/2} = 0.693/k, \quad k = \text{排除速率常數。}$$

- v. 分佈半衰期($T_{1/2\alpha}$)： $T_{1/2\alpha} = 0.693/\alpha$ ， α 為分佈常數。
- vi. 排除半衰期($T_{1/2\beta}$)： $T_{1/2\beta} = 0.693/\beta$ ， β 為排除常數。
- vii. 藥物清除率(CL)：只藥物從體內排除的參數，將身體視為一個排除系統，描述有多少體積的體液中藥物被排除。

$$CL = \text{排除速率} / \text{血中藥物濃度}, \quad \text{單位為體積} / \text{時間。}$$

- viii. 藥物的平均滯留時間(MRT)：敘述藥物在身體內的平均滯留時間，有些藥物進入體內迅速就會被代謝，有些則會在體內停留較長的時間。

$$MRT = \text{體內所有藥物分子的總滯留時間} / \text{藥物分子總數}$$

- ix. 藥物達穩定狀態之分佈體積(V_D)：由於藥物在身體內的量無法時間測量，因此利用數學方程式估算體內的藥物量。先假設藥物在體內可以迅速達到平衡，再利用不同時間點來估算，可以用來估算藥物在體內分布的情形。

$V_D = V(1 + K_{12}/K_{21})$ ， K_{12} 為藥物在中央事項組織移行的速率常數， K_{21} 則是組織向中央事移行的速率常數。



1.9.5 分配係數(Partition-Coefficient)

分配係數對於藥物動力學來說是一個重要的參數，其描述了一個化合物在生物體內如何在組織器官間吸收、分佈、代謝、與排除的整個過程，皆會受到此參數之調控(Gary W. Jepson , 1993)。

對於納入模式中的各組織房室，為了有效應用生理藥物動力學模式(PBPK model)，在藥物達平衡狀態之各個組織:血清分配係數($PC_{t,p}$)這項參數，基本上是不可或缺的(Walter Schmitt ,2007)。

(1)傳統定義

分配係數(Partition Coefficient, PC)被定義為當化合物在生物體中完成分配，也就是進入動態平衡狀態時，組織臟器之濃度與靜脈血中之濃度的比值(Jiunn Lin et al,1982)。如圖 1-2 所示，藥物經由單一劑量之靜脈注射後在血液中會很快達到峰值，隨後進入分配期(Distribution phase)，會有一明顯的驟降，此驟降即藥物經由血流分配進入其他臟器之中，並達臟器與血液之間的動態平衡，隨後進入排除期(Elimination phase)，這個階段的藥物濃度斜率明顯比分配期來的緩，表示藥物透過負責排泄之器官將藥物排出生物體外之過程，而臟器中的藥物也會緩慢滲透進入血液之中帶往排泄器官進行排出。

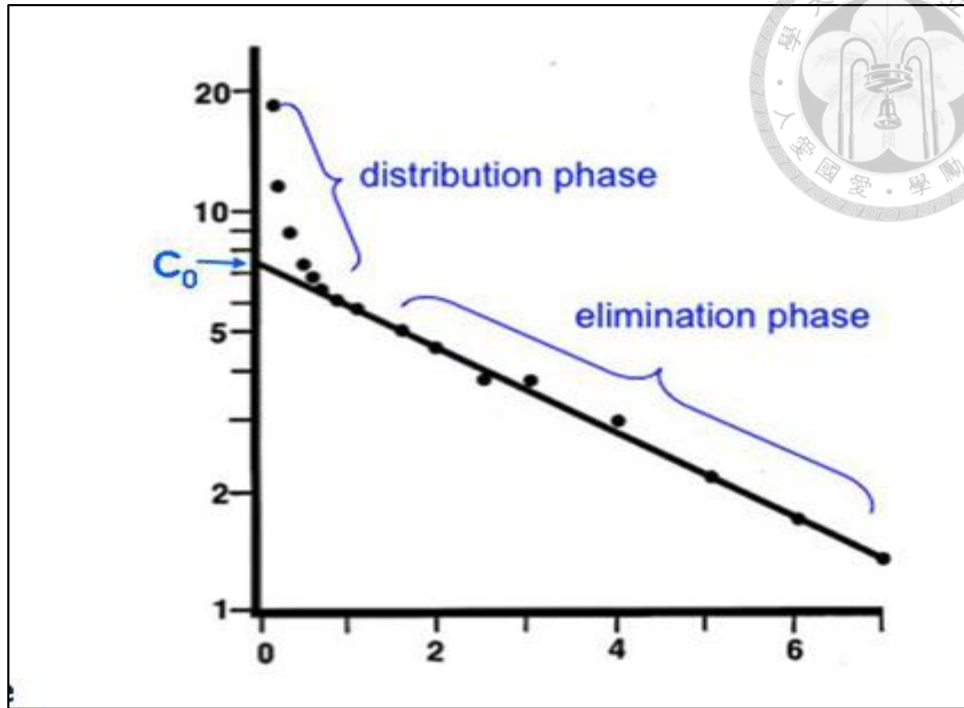


圖 1-2、藥物進入生物體後濃度分佈示意圖。

(資料來源: <http://sepia.unil.ch/pharmacology/index.php?id=100>)

$$PC_{i/p} = \frac{C_{i,ss}}{C_{p,ss}}$$

$C_{i,ss}$ 為組織器官達平衡時之化合物濃度。

$C_{p,ss}$ 為血液達平衡時之化合物濃度。

(2). Hansch partition coefficient (π_x)

由 Hansch 在 1971 年提出，主要貢獻為探討結構對於藥物之分配係數的影響。在擁有類似母結構的化合物之中，不同官能機或是碳鏈長度對於分配係數具有不同的修飾作用，目前被廣泛運用於計算毒理學之中 (Joseph Rice, 2013)。

$$\pi_x = \log (P_x/P_H) = \log P_x - \log P_H$$

P_x 為有官能基之化合物的分配係數(PC)

P_H 為母化合物的分配係數(PC)

π_x 為 Hansch 之一個官能基影響之分配係數

根據上述公式，化合物之分配係數(PC)可以視為其所有結構之
Hansch partition coefficient 之總和。



第二章 研究方法



2.1 研究目的

全氟碳化物的種類繁多，而大部分文獻主要聚焦在 PFOS(C8)或 PFOA(C8)等環境中濃度較高的全氟碳化物，但仍然有相當多其他種類的全氟碳化物，為了瞭解更多種全氟碳化物對於人體之毒性，必須先建立相對應的藥物動力學模式。然而，大部分全氟碳化物的毒理及動物實驗文獻甚少，因而無法建構完善的藥物動力學模式，目前常使用之藥物動力學模式為以生理學為基礎之藥物動力學 (Physiologically based pharmacokinetic, PBPK) 模式，其優點為可依據特定的暴露條件與生理參數，模擬出完整的內在劑量變化。對於一般分析儀器無法偵測的極低濃度，PBPK 模式可提供具有健康風險評估參考價值的數據與模擬結果。因此，類似的內在劑量模擬模式亦引起環境衛生科學家的重視與討論。其中，化合物在生物體內各臟器之分佈係數 (Partition coefficient, PC) 可以說是重要的參數之一。

本研究為建構更多種類之全氟碳化物之藥物動力學模式，透過選擇碳數不同的全氟碳化物進行大鼠之暴露，了解碳數以及其臟器分佈係數之關係，以建立更完善之藥物動力學研究。



2.2 樣品來源

2.2.1 化學標準品

為了探討單一碳鏈對於分配係數之影響，因此選擇 PFBA (4C)、PFPeA (5C)、PFHxA (6C)、PFHpA (7C) 做為定義一個碳鏈對於分配係數影響之參考。另外，為了探討不同官能機對於分配係數之影響，因此選擇 PFBS (4C) 和 PFBA (4C) 以及 PFHxA (6C) 和 PFHxS (6C) 根據動物實驗實際量測之分配係數，進行切換官能基對於分配係數影響之參考，如圖 2-1，本實驗共選擇 6 種 PFCs 作為 SD 大鼠共暴露之化合物 (PFBA、PFBS、PFPeA、PFHxA、PFHxS、PFHpA)。內標準品的部分，則包含 $^{13}\text{C}_4$ -PFBA、 $^{13}\text{C}_3$ -PFPeA、 $^{13}\text{C}_2$ -PFHxA、 $^{13}\text{C}_4$ -PFHpA、 $^{13}\text{C}_2$ -PFDoA。表 2-1 為 19 種長見之全氟碳化物的母離子、子離子與其 CAS Number (Liu, 2012)。

	Acronym	construction	
4C-A	PFBA		<div style="background-color: #f4a460; padding: 5px; text-align: center;">Carbon chain contribution</div> $\begin{array}{l} \text{CH}_3-\text{CO}_2\text{H} \quad \log P = -0.31 \\ \text{CH}_3\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H} \quad \log P = 0.33 \\ \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H} \quad \log P = 0.79 \end{array} \left. \begin{array}{l} \\ \\ \end{array} \right\} \begin{array}{l} \Delta \log P = 0.64 \\ \Delta \log P = 0.46 \end{array}$
5C-A	PFPeA		
6C-A	PFHxA		
7C-A	PFHpA		<div style="background-color: #76b82a; padding: 5px; text-align: center;">SO₃ Function group contribution</div> $\begin{array}{l} \pi(\text{OCH}_3) = \log P_{\text{anisole}} - \log P_{\text{benzene}} \\ \pi(\text{OCH}_3) = 2.11 - 2.13 \\ \pi(\text{OCH}_3) = -0.02 \end{array}$
4C-S	PFBS		
6C-S	PFHxS		

圖 2-1、本研究納入之六種全氟碳化物



表 2-1、19 種全氟碳化物的母離子、子離子和 CAS Number (Liu, 2012)

名稱	分子量 (M)	Product ion(m/z)	Collision energy	Tube Lens voltage(V)	CAS
PFBA	213.04	169	10	-24	375-22-4
PFPeA	263.04	219	10	-29	2706-90-3
PFBS	299.1	80/99	35	-65	29420-49-3
PFHxA	313.05	269	10	-63	307-24-4
PFHpA	363.06	319	12	-43	375-85-9
PFHxS	399.1	80/99	37	-91	3871-99-6
PFOA	413.07	369/169	12	-49	335-67-1
PFHpS	449.1	80/99	42	-95	NA
PFNA	463.08	419	12	-56	375-95-1
PFOSA	498.14	370	20	-45	754-91-6
PFOS	499.13	80/99	40	-75	1763-23-1
PFDA	513.08	469	12	-58	335-76-2
PFUnDA	563.1	519	12	-61	4234-23-5
Me- PFOSAA	570.21	419	20	-79	NA
Et- PFOSAA	584.23	419	25	-81	NA
PFDS	599.1	80/99	50	-109	13419-61-9
PFDoDA	613.1	569	12	-57	307-55-1
PFTTrDA	663.11	619	12	-57	72629-94-8
PFTeDA	713.11	669	12	-66	376-06-7



2.2.2 實驗動物

由認證實驗室-樂斯科生技公司所生產未經環境汙染之 Sprague-Dawley 大鼠，簡稱 SD 大鼠，購買 40 隻，性別皆為雄性，初始體重約為 300 公克。

為了降低實驗動物各體差異，於動物房適應一週後第二周才開始進行實驗，將 SD 大鼠置於 12 小時日夜循環之動物房，是溫調控在 22 ± 1 度，濕度 $45\pm 5\%$ ，實驗過程中使用固定廠牌之飼料，不同籠的大鼠之水瓶不互相交換使用每一個飼養箱至多放至 6 隻大鼠，控制環境質到犧牲採樣點結束為止，如此盡可能減少環境因子的不同，有利於減少因人為因素造成之大鼠各體影響。

2.3 動物實驗

2.3.1 暴露方式

在周齡第 7 週進行暴露，30 隻用於暴露組，10 隻用於控制組。共分 10 組，每組暴露組 3 隻、控制組 1 隻。暴露組：每一種 PFC 以 $500\mu\text{g}/\text{kg-bw}$ 之濃度溶於 5%MeOH 中。以胃灌食的方式依據暴露時體重給予 0.5ml 左右之溶液單暴露。控制組：以胃灌食的方式依據暴露時體重給予 0.5ml 左右之 5%MeOH 溶液單暴露。

由於本研究並非為了看見毒理現象而進行暴露，為了避免任何健康上的不良效應影響全氟碳化物於 SD 大鼠體內之分佈，進而影響分配係數之推算，根據文獻得知個別 PFC 以不超過 $500\mu\text{g}/\text{kg-bw}$ 之劑量進行暴露為低於任何不良健康效應之安全劑量。



2.3.2 犧牲間隔

為了在達動態平衡之狀態下去計算分配係數，因此回顧文獻中對於各 PFC 在 SD 大鼠體內之分佈半衰期，得知短碳鏈之 PFC 在大鼠體內之分配速率非常迅速，為了避免錯失達動態平衡之時間點，將第一天之犧牲點設得較為密集，共進行 10 天之暴露實驗。最後選取的犧牲時點為：2hr、4hr、8hr、12hr、24hr、48hr、4 天、6 天、8 天、10 天。

2.3.3 器官檢體採集

根據文獻上對於大鼠 PFC 之生理藥物動力學模式所選定之房室 (Loccisano et,al. 2013)，模式中所列入的房室均須計算其分配係數才能進行藥物動力學其他參數之推估，因此，本實驗所收取之器官包含肝、腎、小腸、副睪旁脂肪、血漿等 5 處。

2.3.4 樣本保存處理

採集下來的器官隨即用液態氮進行冷凍，並儲存於-80 冰箱；血液與尿液採集完後經由離心機於 4 °C，6000rpm 下離心 10 分鐘，並取上清液保存於-20°C 冰箱之中。

2.4 檢體前處理

2.4.1 血清檢體前處理

取 200 μ L 血清樣本置入容量 2mL 的離心管中，加入 6 μ L、濃度為 1000ng/ml 之內標準品混合液，使每個內標準品最終濃度約為 5ng/ml，並加入 400 μ L 甲醇進行蛋白質沉澱，使最終體積為 600 μ L，放入離心機，以

13200rpm 離心 25 分鐘後，取上清液 200 μ L，以孔徑 0.22 μ m 之 PTFE 濾膜過濾後，即可上機進行分析。

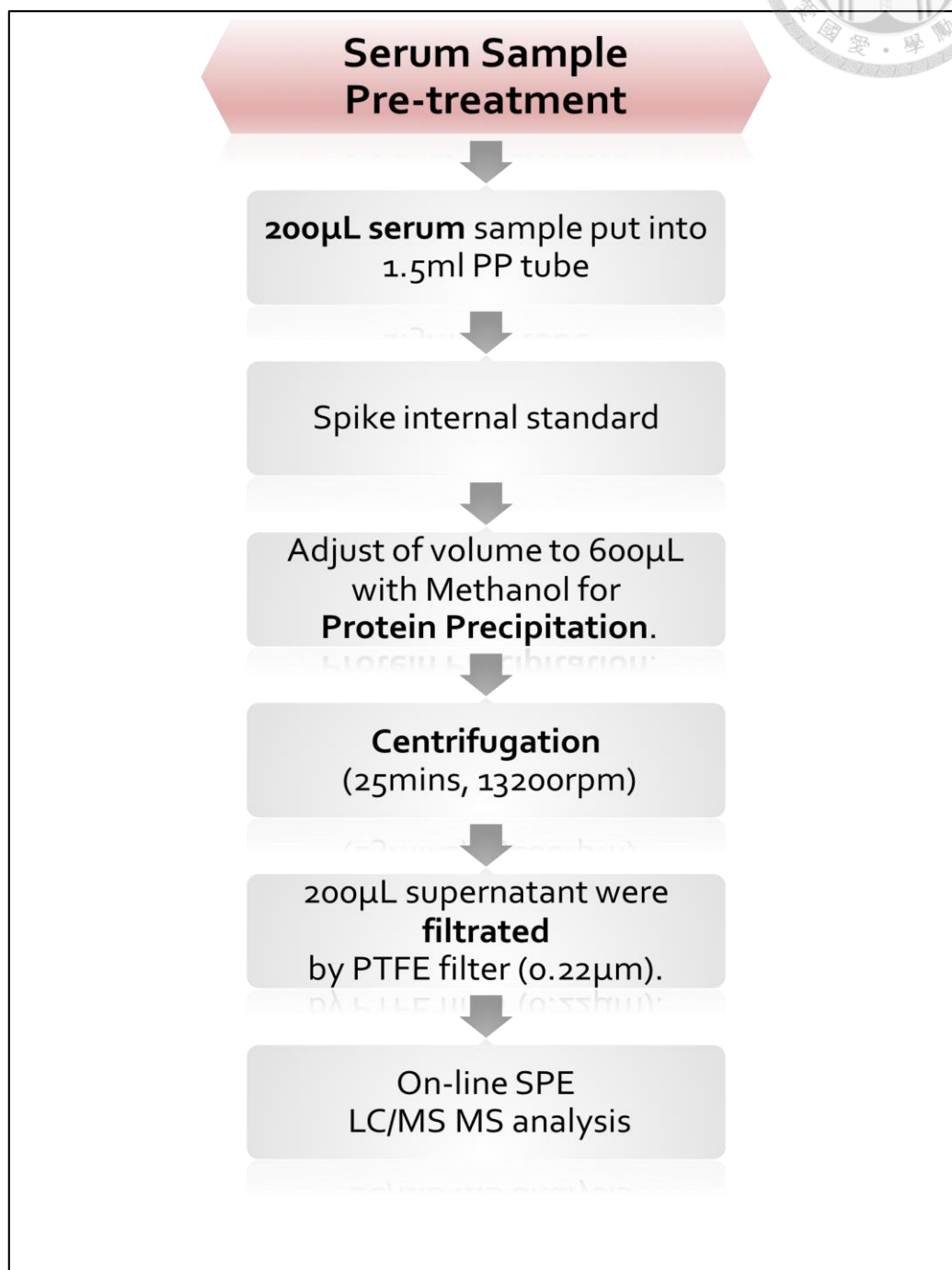


圖 2-2、血液樣本前處理流程圖

2.4.2 器官檢體前處理



Tissue Sample Pre-treatment

Organ Grinding

- Using mortar pounding the organ into powder.
- Adding liquid nitrogen while pounding prevent tissue metamorphism.
- Transfer 1g of the tissue to PP tube.

KOH Digestion

- Adjust of Volume to 10ml with 0.05N KOH/Methanol.
- Spike internal standard.
- Shake at 250 rpm for 16 hrs.
- After centrifugation (13200rpm 10 mins), transfer 1ml of sample and dilute with 100ml Milli-Q water.

Oasis@WAX -SPE

- Conditioning: 0.1% NH₄OH/MeOH -> Methanol -> Water
- Loading sample on to the cartridge.
- Wash with 4ml 25mM acetate buffer (pH4).
- Wash with 4ml methanol
- Elute with 4ml 0.1% NH₄OH / methanol.

Concentration and Clean-up

- Filtration by PTFE filter (0.22 μm)
- Concentration by SpeedVac 2hrs
- Redissolution to 200 μL in 50% MeOH
- LC MS/MS analysis

圖 2-3、器官檢體前處理步驟圖



2.5 儀器分析流程

參考(Liu,2012)將 19 種全氟碳化物和 7 種內標準品，利用 infusion 的方式使用質譜儀之游離化的最佳條件，表 2-1(P.27)中列出 19 種全氟碳化物和 7 種內標準品在負離子模式下的母離子、子離子 Collision energy、Tube Lens voltage 以及它們的 CAS number。在表 2-2 中列出所有全氟碳化物在電灑游離源中的最佳游離條件。

表 2-2、全氟碳化物在電灑游離源中最佳化條件

Inject Volume	10 μ L
Ion Source	Negative ESI
Spray voltage	-3000 V
Vaporizer temperature	130 $^{\circ}$ C
Sheath gas pressure (Nitrogen)	60 psi
Auxiliary gas pressure (Nitrogen)	60 A.U.(arbitrary unit)
Capillary temperature	270 $^{\circ}$ C

2.5.1 血漿檢體層析、線上固相萃取 OnLine-SPE (Solid Phase Extraction)

表 2-3、血漿檢體 Online-SPE 全氟碳化物分析梯度				
LC-MS/MS	Thermo SCIENTIFIC Accela – TSQ Quantum Access			
Column	Analytical: ACT, ACE C4 (50 \times 2.1 mm, 5 μ m) Trap: GL, Science OD2 C8 (50 \times 2.1 mm, 5 μ m)			
Flow Rate	LC: 0-1min : 100 μ L/min 1~25min : 300 μ L/min Wash pump: 100 μ L/min			
Mobile Phase	A	Methanol		
	B	20 mM ammonium acetate buffer solution (pH 4)		
	Gradient (Analytical)	Time(min)	A%	B%
		0	15	85
	7.5	20	80	

		8.5	20	80
		10.5	40	60
		14.5	80	20
		17	90	10
		20.5	90	10
		23.5	15	85
		25	15	85
	A	Methanol		
	B	20 mM ammonium acetate buffer solution (pH 4)		
	Gradient (Trap)	Time(min)	A%	B%
0~25		15	85	

2.5.2 器官檢體層析方法

表 2-4、器官檢體全氟碳化物分析梯度				
LC-MS/MS	Thermo SCIENTIFIC Accela – TSQ Quantum Access			
Column	Analytical: ACT, ACE C4 (50 × 2.1 mm, 5 μm)			
Flow Rate	LC: 300 μL/min			
Mobile Phase	A	Methanol		
	B	20 mM ammonium acetate buffer solution (pH 4)		
	Gradient (Analytical)	Time(min)	A%	B%
		0	20	80
		1	20	80
		3	40	60
		7	80	20
		9.5	90	10
		14	90	10
		16	20	80
18	20	80		

2.5.3 校正曲線配置

表 2-5、全氟碳化物於各基質校正曲線配置

PFBA	concentration (ppb)
Serum	750 , 500 , 200 , 100 , 75 , 50 , 25 , 10 , 5
Liver	250 , 100 , 50 , 25 , 10 , 5 , 2.5
Kidney	250 , 100 , 80 , 50 , 25 , 5 , 2.5
Fat	80 , 50 , 25 , 10 , 5 , 2.5 , 1
Intestine	250 , 80 , 25 , 10 , 5 , 2.5
PFPeA	concentration (ppb)
Serum	200 , 100 , 75 , 50 , 25 , 10 , 5 , 2.5
Liver	100 , 50 , 25 , 10 , 5 , 2.5
Kidney	100 , 80 , 50 , 25 , 5 , 2.5
Fat	80 , 50 , 25 , 10 , 5 , 2.5 , 1
Intestine	250 , 100 , 80 , 25 , 10 , 5 , 2.5
PFBS	concentration (ppb)
Serum	500 , 250 , 100 , 75 , 50 , 25 , 10 , 5
Liver	250 , 100 , 50 , 25 , 10 , 5 , 2.5
Kidney	250 , 100 , 80 , 50 , 25 , 5 , 2.5
Fat	80 , 50 , 25 , 10 , 5 , 2.5 , 1
Intestine	250 , 100 , 80 , 25 , 10 , 5 , 2.5
PFHxA	concentration (ppb)
Serum	500 , 200 , 75 , 50 , 25 , 10 , 5
Liver	200 , 100 , 50 , 25 , 10 , 5 , 2.5
Kidney	250 , 100 , 80 , 50 , 25 , 5 , 2.5
Fat	80 , 50 , 25 , 10 , 5 , 2.5 , 1
Intestine	250 , 100 , 80 , 25 , 10 , 5 , 2.5
PFHpA	concentration (ppb)
Serum(low)	100 , 50 , 25 , 10 , 2.5
Serum(high)	750 , 500 , 200 , 100 , 75
Liver	200 , 100 , 50 , 25 , 10 , 5 , 2.5



Kidney	250, 100, 80, 50, 25, 5, 2.5
Fat	80, 50, 25, 10, 5, 2.5, 1
Intestine	250, 100, 80, 25, 10, 5, 2.5
PFHxS	concentration (ppb)
Serum	750, 500, 250, 100, 75
Liver(low)	200, 100, 50, 25, 10, 5, 2.5
Liver(high)	1,000,800,600,400,250
Kidney	250, 100, 80, 50, 25, 5
Fat	80, 50, 25, 10, 5, 2.5, 1
Intestine	250, 80, 25, 10, 5, 2.5

2.5.4 基質效應、回收率、分析方法確效

本研究之基質效應，回收率，過程效率實驗方法參考 Matuszewski 等人(Matuszewski,Constanzer et al.2003)提出之方法：

- A：將標準品與同位素內標配在水中，直接進行質譜分析。
- B：將基質經過固相萃取後，加入標準品與同位素內標，以質譜分析。
- C：將標準品與同位素內標配在基質中，再經固相萃取後以質譜分析。

以上皆配製低(5ppb)、高(500ppb)兩種不同濃度之標準品，計算方法如下：

$$\text{基質效應} = B/A \times 100$$

$$\text{回收率}(\%) = C/B \times 100$$

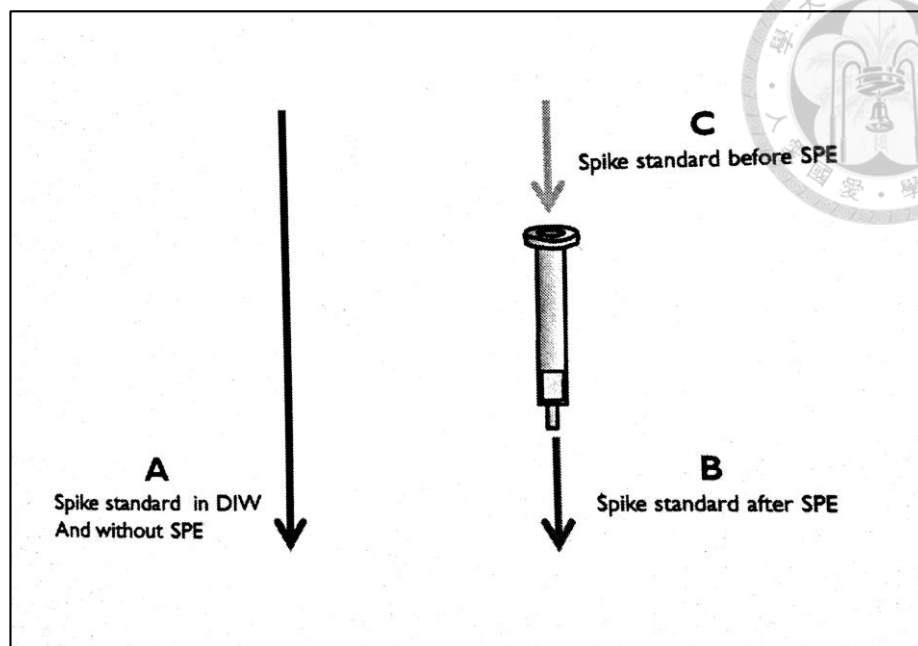


圖 2-4、基質效應與回收率計算方法

而同日(Intra)與異日(Inter)檢測穩定度，一樣在血漿、肝、腎、脂肪、小腸等五個基值中，於檢測當天配置低(5ppb)、高(500ppb)兩種濃度，每個樣本每日各檢驗三次，並分別挑選不同的三天檢測，以檢測分析方法的精確度和準確度來確認此分析方法與 LC-MS-MS 的穩定度與再現性。計算方法如下：

$$\text{Accuracy}(\%) = \frac{(\text{Analytical concentration} - \text{Spiked concentration})}{\text{Spike concentration}} \times 100$$

$$\text{Percision(R. S. D, \%)} = \frac{(\text{Standard deviation of concentration})}{\text{Mean of concentration}} \times 100$$

在每次進行上機分析時，先將 50%MeOH 打入 10 μ L 進行質譜分析，以確定系統以及分析管柱是乾淨無汙染的狀況之外，也打入配置於不同基質之預知濃度標準品，帶入檢量線後推看是否相符，以確保此次樣品分析濃度之可信度與再現性。



2.5.5 統計分析軟體與方法

本研究中使用統計軟體為 SAS 9.2 版，以 One way ANOVA(單一變異數分析)與 T-Test 探討不同檢體中濃度或是分配係數之平均質是否存在差異。

第三章 研究結果與討論



3.1. 樣本分析

3.1.1. 全氟碳化物於血液中之分析圖譜

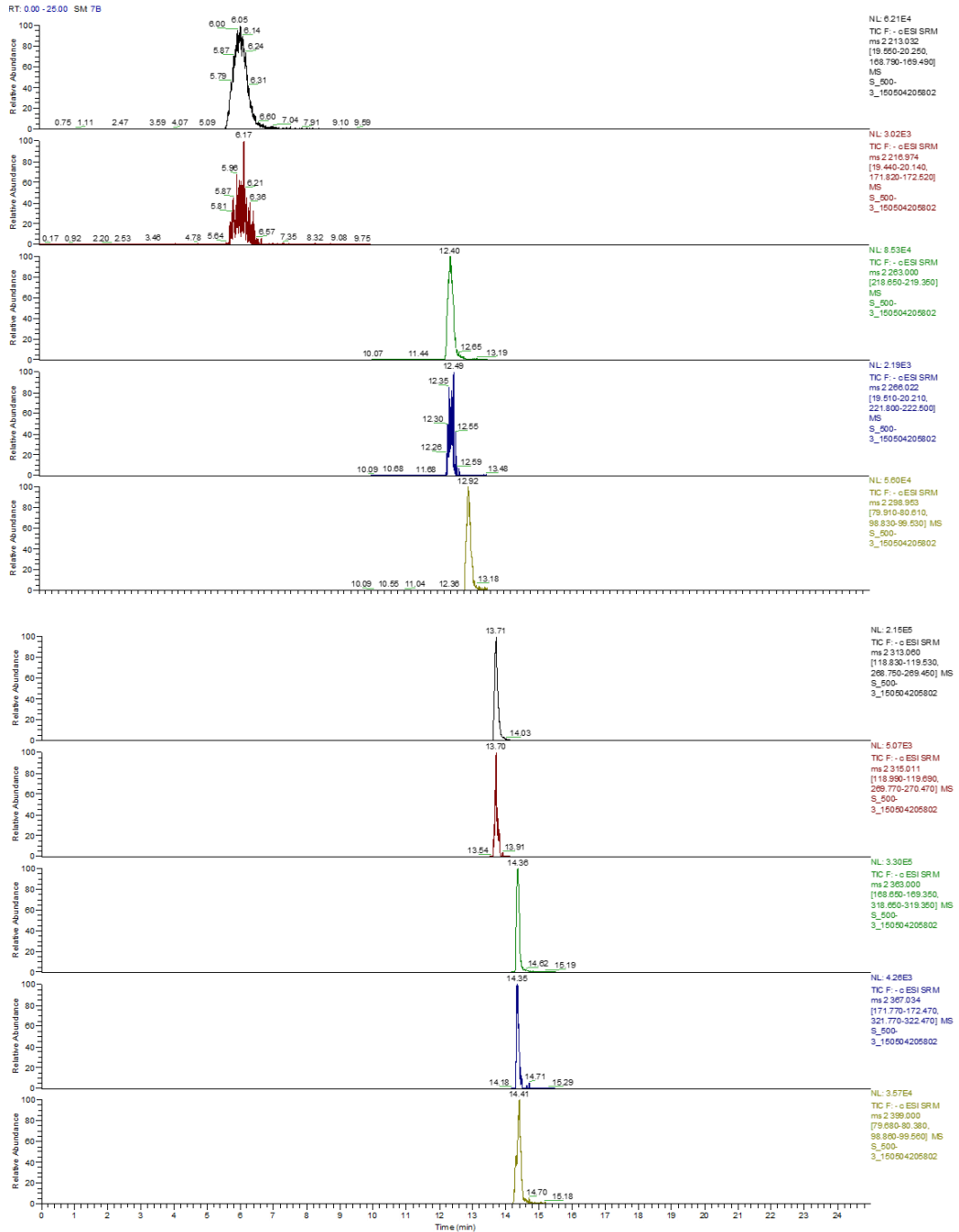


圖 3-1、血清中 OnLine-SPE+LC MS/MS 全氟碳化物分析圖譜

3.1.2. 全氟碳化物於器官中之分析圖譜

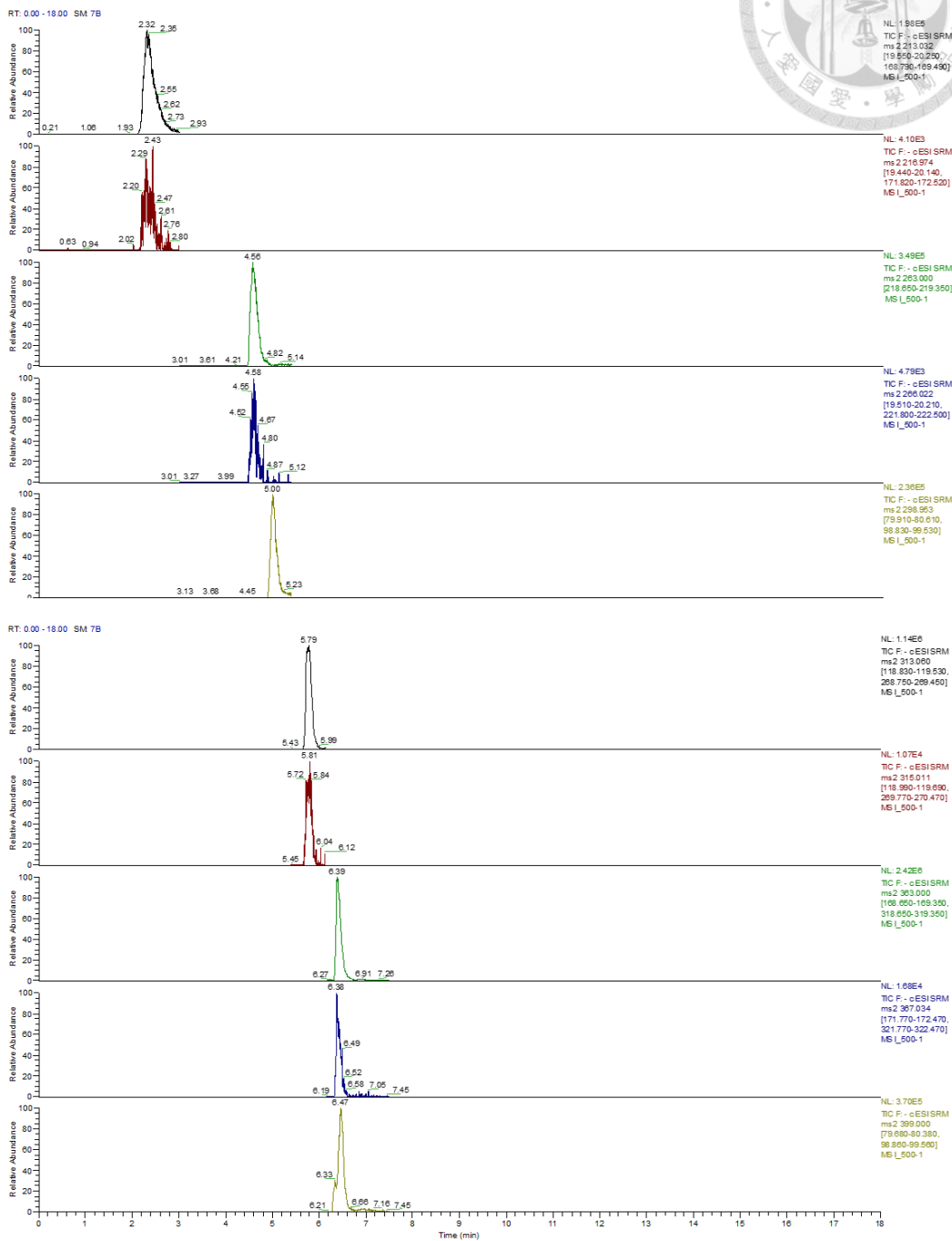


圖 3-2、臟器中 LC MS/MS 全氟碳化物分析圖譜



3.1.3. 全氟碳化物於各基質中之檢量線

圖 3-3~圖 3-7 呈現六種全氟碳化物，包括 PFBA、PFBS、PFPeA、PFHxA、PFHxS、PFHpA 分別在血清、肝臟、腎臟、脂肪、小腸中之檢量線，該基質為本研究 10 隻控制組大鼠之混合血液與臟器，藉以標準化個體基質之差異，達到最佳的定量結果。

根據 TW-EPA 對於檢量線建置之建議(TW-EPA,2007)，檢測之濃度應落在檢量線範圍上下 80% 以內為宜，因此針對不同臟器不同 PFC 所量測到之濃度製做適宜之檢量線。從圖中顯示這六種全氟碳化物的檢量線都具有良好的線性， R^2 都達 0.995 以上，在樣本的濃度定量時，會採用該基質所配置的檢量線進行定量。

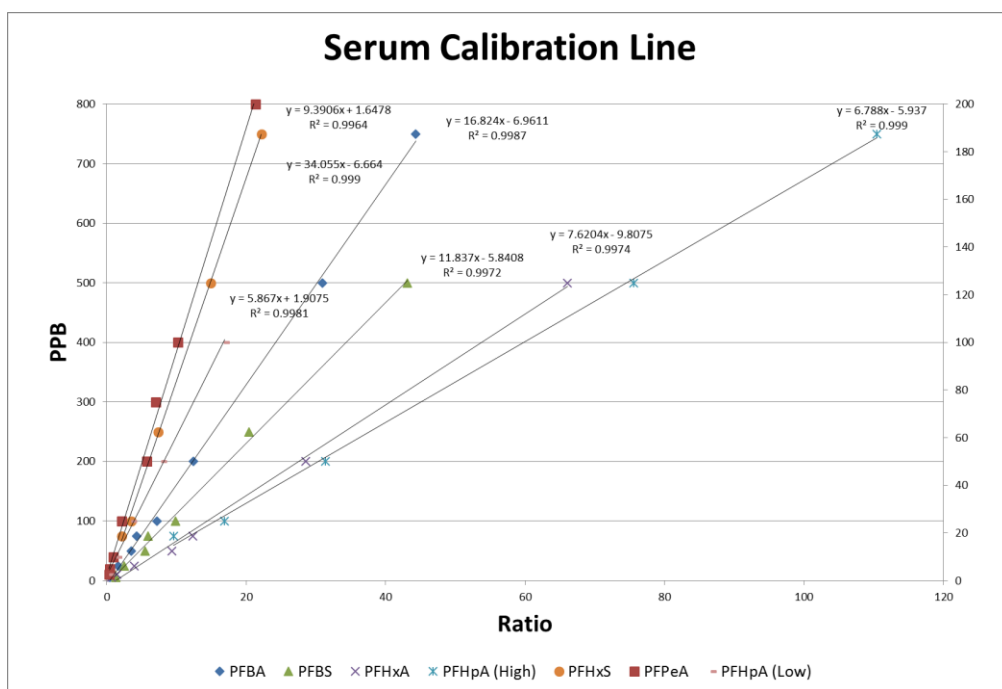


圖 3-3、不同全氟碳化物於血清中之檢量線

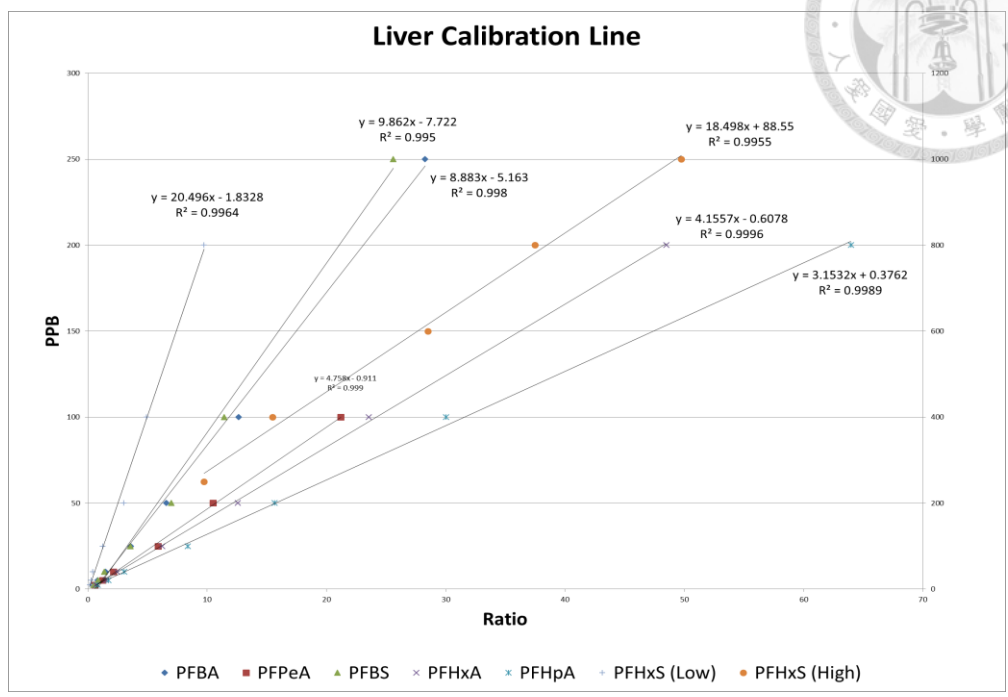


圖 3-4、不同全氟碳化物於肝臟中之檢量線

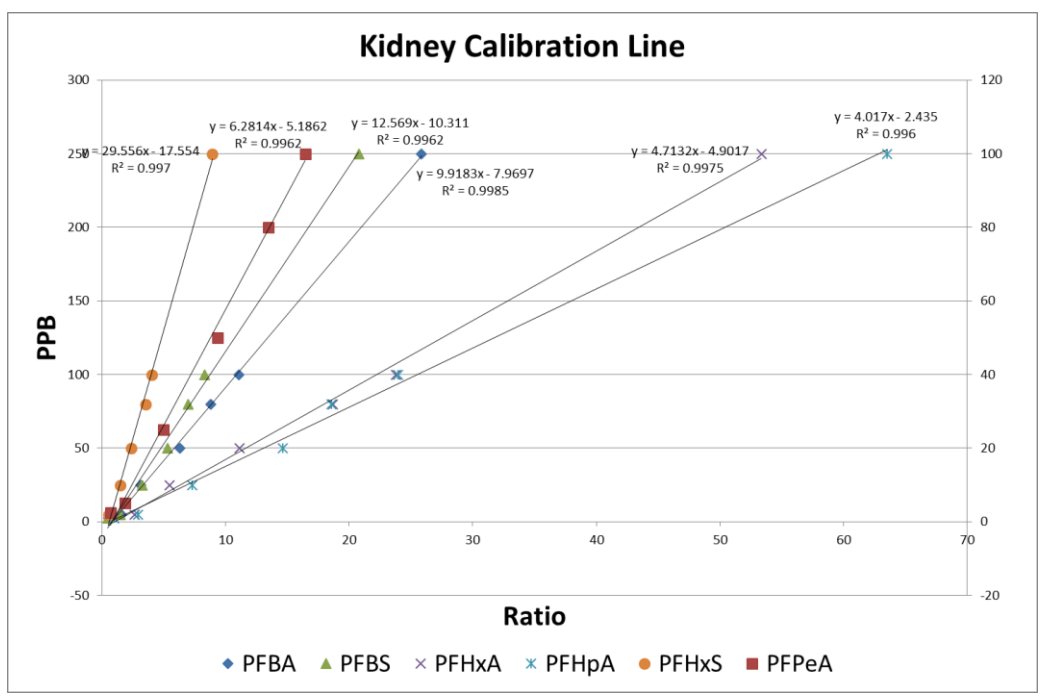


圖 3-5、不同全氟碳化物於腎臟中之檢量線

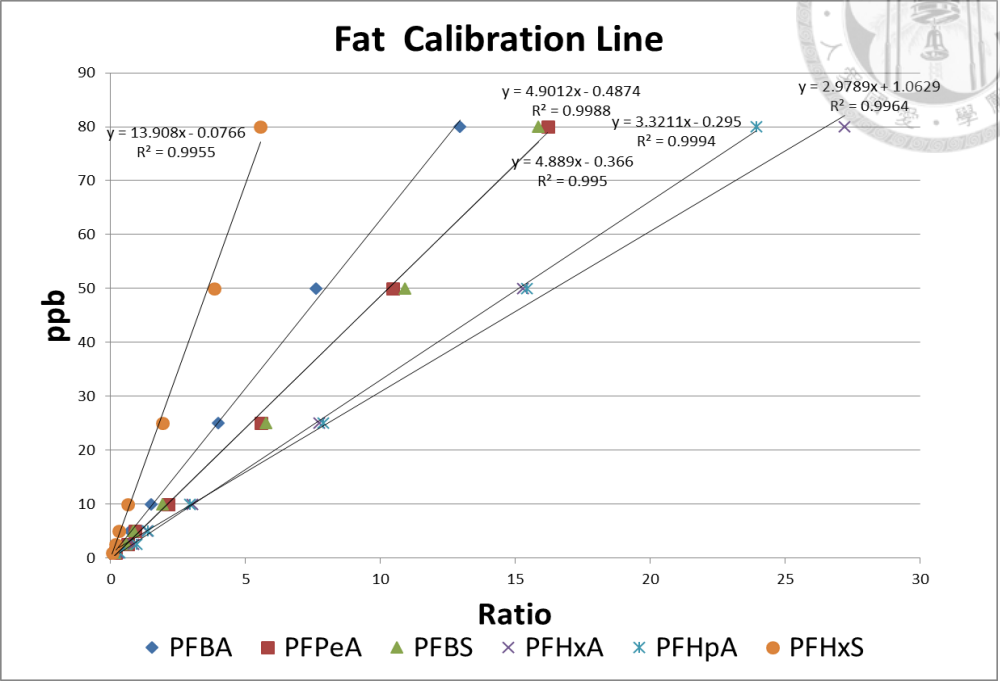


圖 3-6、不同全氟碳化物於脂肪中之檢量線

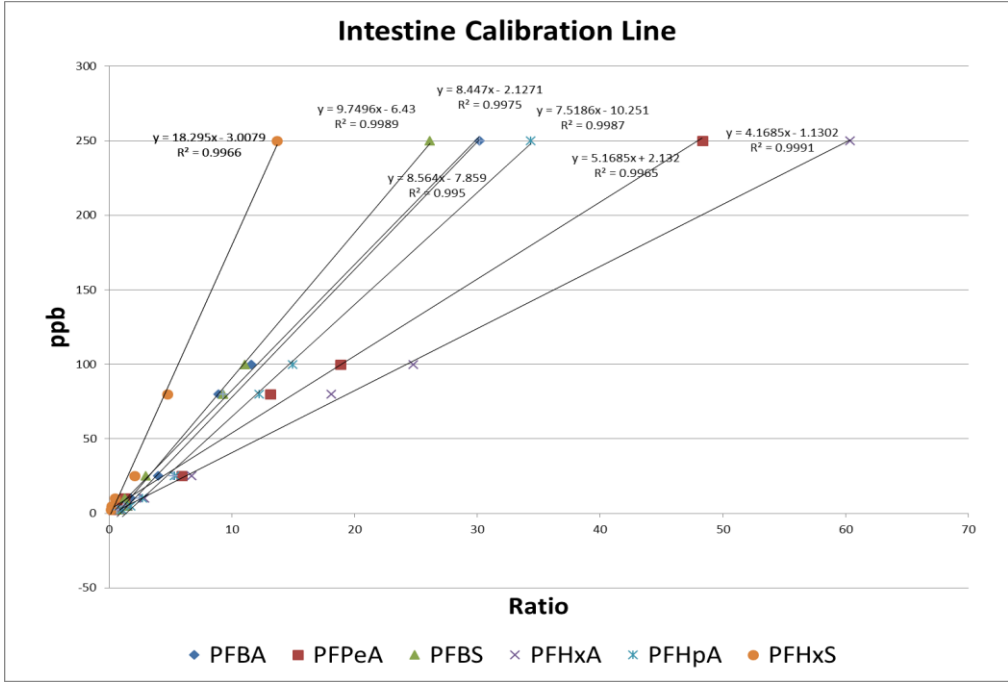


圖 3-7、不同全氟碳化物於小腸中之檢量線



3.1.4. 精密度、準確度與回收率分析

從表 3-1 與表 3-2 可以發現低濃度時精密度與準確度較高濃度時偏高，但是六種全氟碳化物不管是在血清或是臟器中的精密度皆小於 15%，準確度範圍介於±10%之間，因此顯示此方法是穩定的，且由 Inter-day precision 皆小於 15%之中也可知不同天的檢測結果具有再現性與穩定性。

表 3-3 呈現六種全氟碳化物在不同基質中，分別以 5ng/ml(ng/g)、500 ng/ml(ng/g)帶表低、高兩種濃度的回收率，PFBA 在臟器中回收率為 96~113%，在血清中為 99~107%；PFBS 在臟器中回收率為 84~100%，在血清中為 97~99%；PFPeA 在臟器中回收率為 102~107%，在血清中為 100~108%；PFHxA 在臟器中回收率為 94~102%，在血清中為 96~100%；PFHxS 在臟器中回收率為 92~115%，在血清中為 99~113%；PFHpA 在臟器中回收率為 94~102%，在血清中為 96~100%；PFHpA 在臟器中回收率為 92~98%，在血清中為 90~99%。

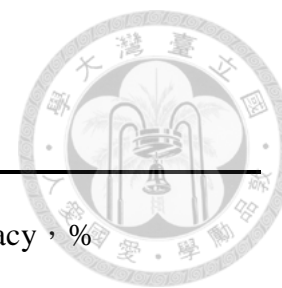


表 3-1、6 種全氟碳化物在血清中的精密度與準確度(N=3)

名稱	Intra-day precision , %		Inter-day precision , %		Accuracy , %	
	5 ng/mL	500 ng/mL	5 ng/mL	500 ng/mL	5 ng/mL	500 ng/mL
PFBA	9.60	0.53	11.67	2.41	3.57	-1.03
PFPeA	1.05	7.99	7.45	3.39	-9.23	-3.79
PFBS	4.82	9.34	6.81	3.22	3.24	-2.43
PFHxA	2.28	3.18	0.73	6.49	-4.52	-0.08
PFHpA	3.67	6.61	7.94	2.79	3.45	-0.57
PFHxS	5.34	6.54	3.83	1.91	-8.64	0.18

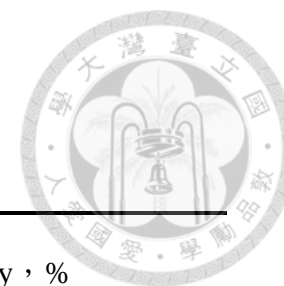


表 3-2、6 種全氟碳化物在臟器中的精密度與準確度(N=3)

名稱	Intra-day precision , %		Inter-day precision , %		Accuracy , %	
	5 ng/mL	500 ng/mL	5 ng/mL	500 ng/mL	5 ng/mL	500 ng/mL
PFBA	9.78	8.02	4.62	6.32	9.95	0.65
PFPeA	1.03	1.79	0.11	2.21	-8.44	2.69
PFBS	7.95	2.77	14.26	0.96	-8.02	-2.03
PFHxA	7.78	1.21	3.35	2.59	1.27	-0.91
PFHpA	1.82	1.73	4.96	1.77	4.79	-0.39
PFHxS	10.16	0.16	13.39	5.59	-8.61	-0.80

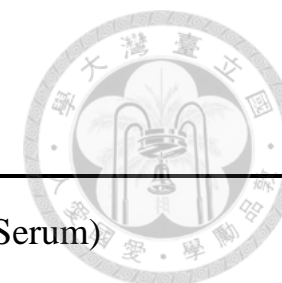


表 3-3、6 種全氟碳化物分別在臟器及血清中的回收率 (Mean±SD, N=3)

名稱	Recovery, % (Organ)		Recovery, % (Serum)	
	5 ng/mL	500 ng/mL	5 ng/mL	500 ng/mL
PFBA	113.99±11.15	108.99±8.74	107.38±10.31	107.16±0.57
PFPeA	101.21±1.05	102.96±1.85	100.33±1.05	96.48±7.71
PFBS	84.27±6.69	99.02±2.75	97.69±4.71	98.62±9.22
PFHxA	106.14±8.26	107.44±1.29	100.07±2.29	108.34±3.45
PFHpA	115.01±2.09	99.25±1.72	113.55±4.18	99.07±6.55
PFHxS	105.37±3.22	102.26±3.05	91.28±6.38	103.47±6.99



3.2. 全氟碳化物於血清中之濃度變化

過去的研究習慣將血清之濃度單位表示為 ng/ml，而在本研究中為了後續進行分配係數之運算，且由於不同全氟碳化物之分子量並不相同，為了比較上之可比性，因此將濃度單位標準化為 nmol/g 作為後續圖表濃度表示之統一的單位。

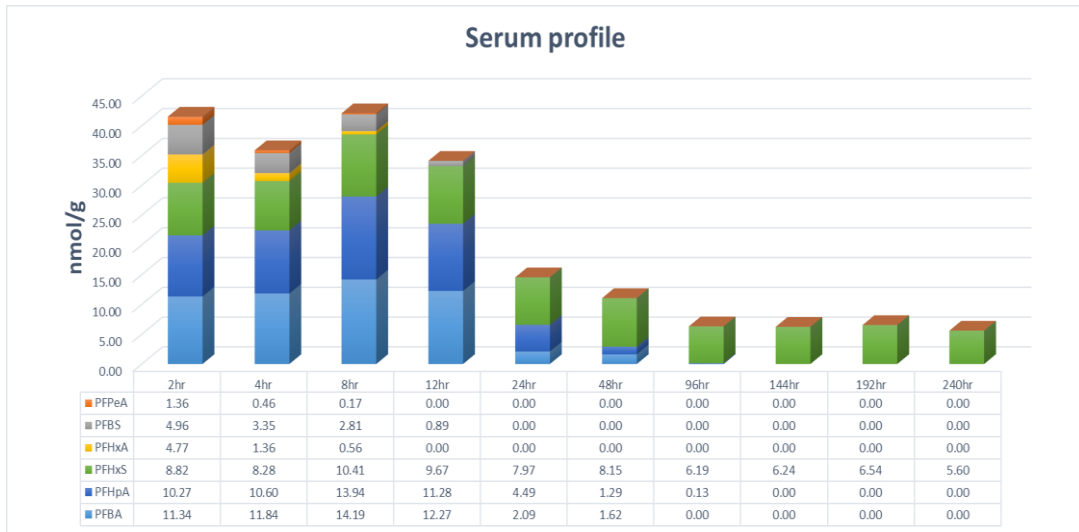



圖 3-8、六種全氟碳化物於血清中濃度變化趨勢圖

3.2.1. PFPeA、PFBS 與 PFHxA

從圖 3-18 中可以發現 SD 大鼠經由胃灌食暴露後 2 小時 PFPeA(5C)、PFBS(4C)、PFHxA(6C)達到血清中的峰值，為 1.36~4.96 nmol/g，之後濃度隨即驟降，在 8 小時後低於偵測極限。推測此三種全氟碳化物一進入 SD 大鼠體內立刻由腸胃道吸收至血液中，並且隨即進入腎臟中由尿液排泄，從表 1-2(P.7)中可得知 PFBS 在雄性大鼠體內的半衰期為 4.5 小時；PFHxA 為 1-2.4 小時，與本研究結果相吻合。

實驗結果發現 5C 的 PFPeA 排出速度 > 6C 的 PFHxA > 4C 的 PFBS，研究結果也從文獻中 PFHxA 的半衰期較 PFBS 短得到驗證。Chengelis 等人




在 2009 年的 PFHxA 之藥物動力學研究中顯示 PFHxA 在不同性別的猴子和大鼠中有不同的藥物動力學表現，發現在雌性的半衰期會比在雄性中短。此研究也發現在雄性大鼠中的半衰期為 2 小時左右，驗證了本研究在暴露兩小時後只能在血清中發現為亮的 PFHxA 含量，並且文獻中顯示在 PFHxA 暴露 6 小時暴露量與 PFHxA 的尿液排出量比例高達 90% 而暴露 24 小時暴露量與尿液累積排出量比例達 100%，這個結果與本研究相符(Chengelis, 2009)。

3.2.2. PFBA 與 PFHpA

從圖 3-18 中可以發現 SD 大鼠經由胃灌食暴露後 PFBA(4C)、PFHpA(7C)有著相同的趨勢，在 8 小時達到血清中的峰值，為 13.91~14.39 nmol/g，之後濃度隨即驟降，在 24~48 小時後低於偵測極限與先前研究相符合(Chang et al.,2008)。從表 1-2(P.7)中可得知 PFBA 在雄性大鼠體內的半衰期為 7 小時，而研究結果也發現的確比前述之 PFBS 與 PFHxA 在大鼠體內有著更長的半衰期相吻合。從圖中也可發現兩者在 24 小時內之血液全氟碳化物總濃度佔有 50% 以上，文獻中曾探討短碳鏈之全氟碳化物如：PFBA 在生物體中不易累積於臟器之中，因而推測此兩種全氟碳化物一進入 SD 大鼠體內由腸胃道吸收至血液中，並且傾向進入腎臟中由尿液排泄而非累積於其他臟器之中。

3.2.3. PFHxS

從圖 3-18 中可以發現 SD 大鼠經由胃灌食暴露後 PFHxS(6C)於 8 小時左右達濃度之峰值，為 10.41nmol/g，略低於上述 PFBA 與 PFHpA，但值得注



意的是在後續的採樣點中 PFHxS 仍持續存在。這樣的研究結果符合先前文獻中曾經對猴子進行 PFHxS 的單一劑量暴露研究，發現在雄性猴子的半衰期為 141 天，遠大於同為 6C 的 PFHxA 的 1.45 天；在雌猴也有同樣的發現 87 天 > 0.81 天 (Olsen et al., 2009)。而至於在血液中的整體比例略低於 PFBA 與 PFHpA 可推測和 PFHxS 相較於前兩者傾向於累積在臟器內有關，在後續的章節將會說明。

3.2.4. 小結

六種全氟碳化物在血液中偵測到的濃度與排除速度和碳鏈並無直接的相關，偵測濃度最高的為 PFBA(4C) 與 PFHpA(7C)，最快排出 SD 大鼠為 PFBS(4C)、PFPeA(5C) 和 PFHxA(6C)，而 PFHxS(6C) 則是持續存在於血液之中，顯示其半衰期為最長。

3.3. 全氟碳化物於各臟器中之分配係數

在接下來的章節將探討關於六種全氟碳化物在大鼠體內於各臟器和血清之間分配係數 (Partition Coefficient) 之關係，幫助後續研究者了解全氟碳化物在大鼠內之分佈情形。

3.3.1. PFBA 之分配係數

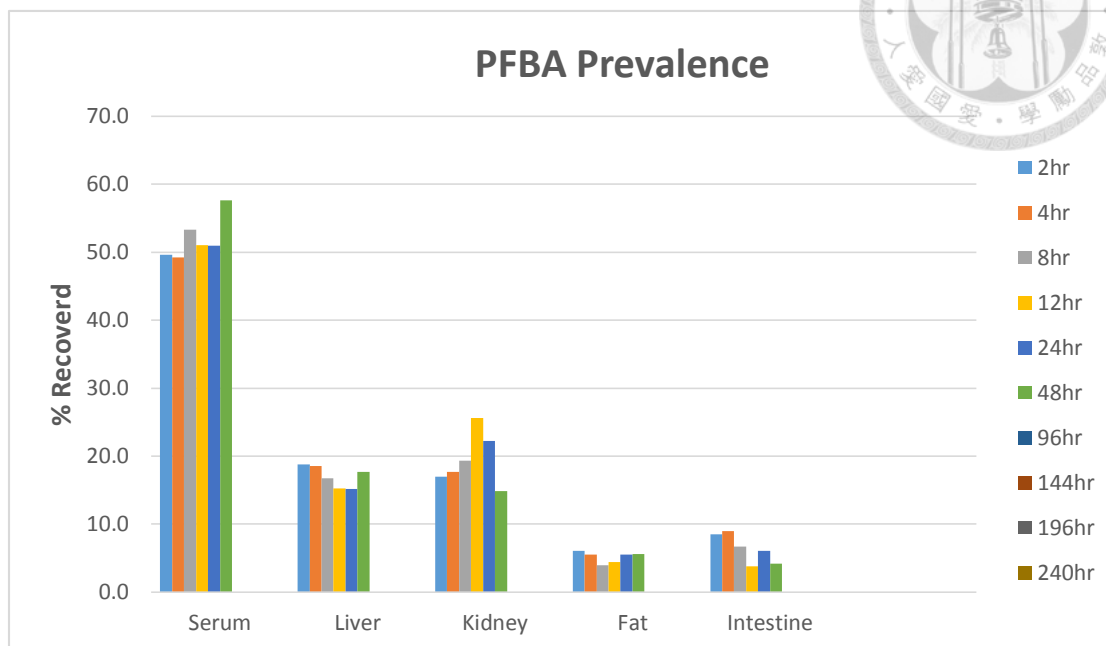


圖 3-9、PFBA 於 SD 大鼠體內隨時間之分佈百分比

從圖中可以發現 PFBA 在大鼠體內的 48 小時左右會全數排出體外，血清為 PFBA 佔有最高比例的組織，約 49~57%，肝臟與肺腎臟約為 20%，脂肪與小腸則是不到 10% 的比例。

隨著時間的推進，我們可以發現小腸作為吸收的臟器在整體所佔的比例非但不高且有逐漸下降的趨勢，顯示 PFBA 可以快速的經由小腸吸收進入整體的血液循環。而血清和腎臟的比例隨著時間推進有提升之趨勢，可以說明 PFBA 在體內會快速經由血液運送至腎臟，進而排出體外。而肝臟的比例維持一定水準甚至有些微下降，代表 PFBA 雖然會進入肝臟，但並不會累積過長的時間，而是逐步透過血液排出臟器外。

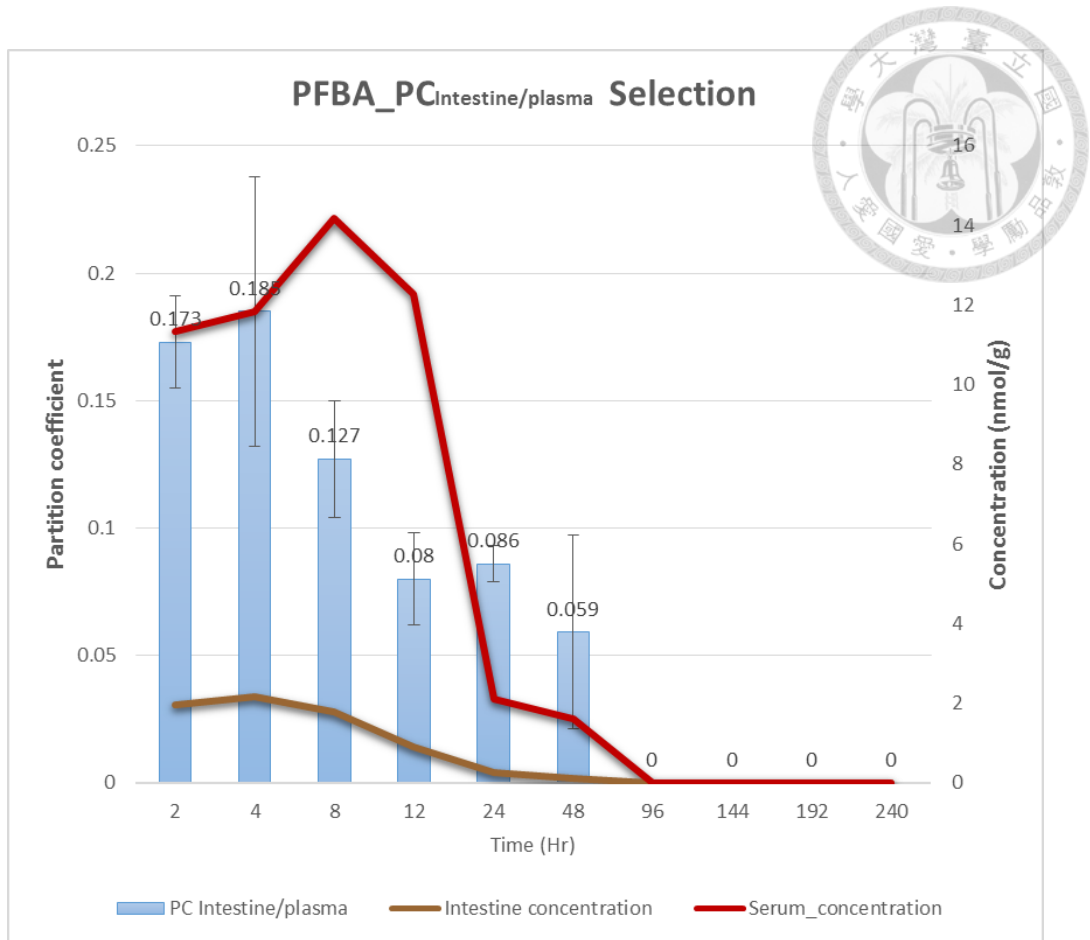


圖 3-10、PFBA 小腸之分配係數趨勢圖

從圖 3-10 中可以發現小腸作為 SD 大鼠胃灌食暴露臟器，隨即開始進入分配期(Distribution phase)在四個臟器中最快達到與血清之分配之動態平衡，在暴露 4 小時時分配係數屈於穩定，隨後開始進入排除期(Elimination phase)，可以發現分配係數忽高忽低的不穩定性，顯示在排除期並不適合作為計算分配係數的時期，最後選定 4 小時的平均值(標準差)0.185(0.053)為 PFBA 於小腸之分配係數。

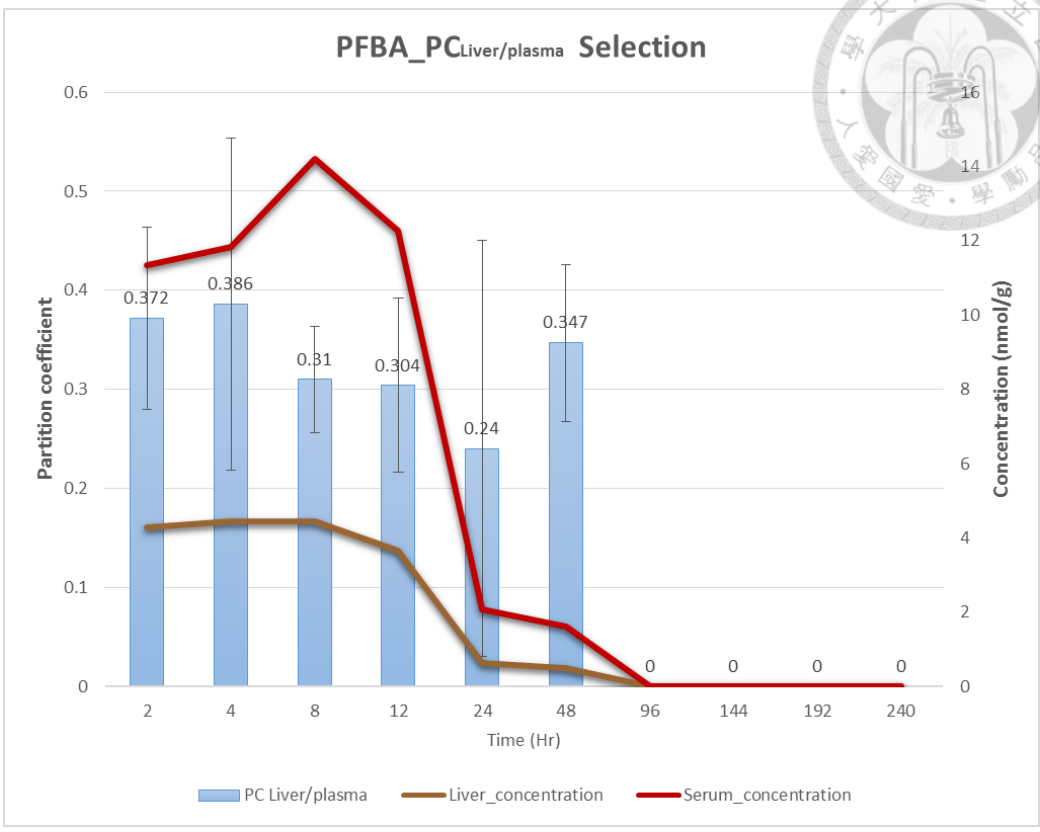


圖 3-11、PFBA 肝臟之分配係數趨勢圖

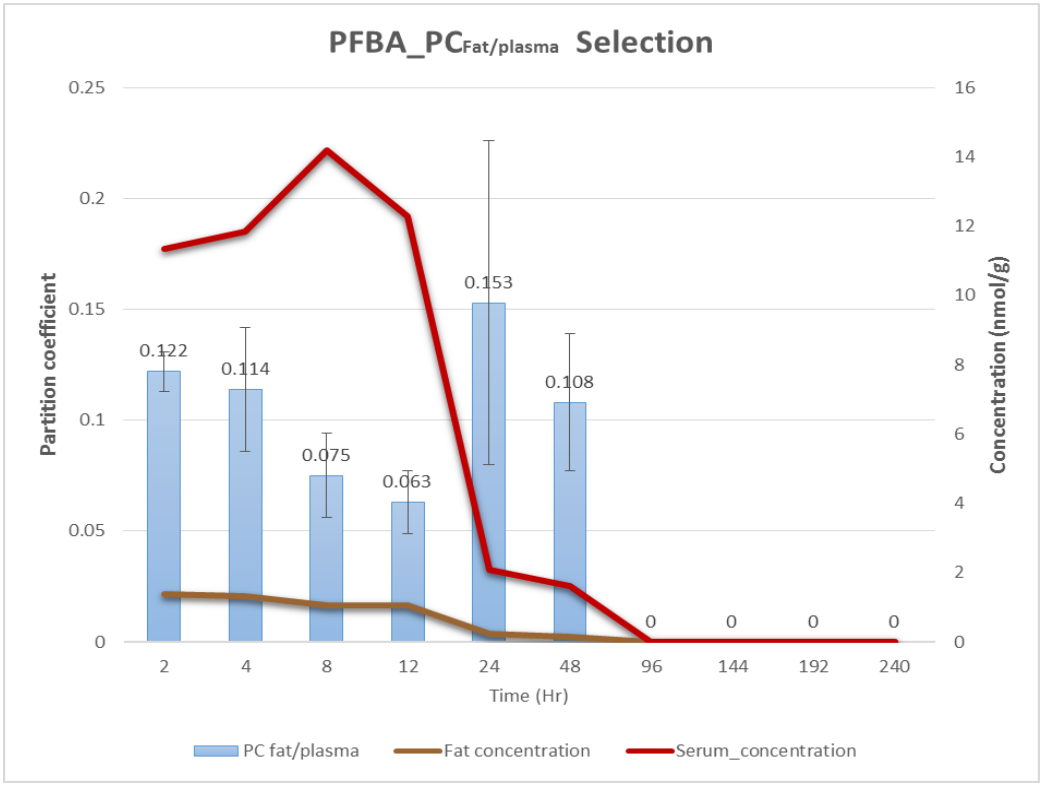


圖 3-12、PFBA 脂肪之分配係數趨勢圖

從圖 3-11 與圖 3-12 中可以發現，肝臟與脂肪作為全氟碳化物之作用臟器與儲存臟器，其分配係數變化有著類似的趨勢，在 2~4 小時由血液運送的 PFBA 開始進入兩器官，分配係數有著顯著的提升，在 8~12 小時的分配期開始達到臟器與血液的動態平衡，24 小時開始進入排除期，其分配係數趨於不穩定，最後我們選定 8~12 小時的平均值(標準差)作為兩者之分配係數，肝臟 0.307(0.054)、脂肪 0.069(0.014)。

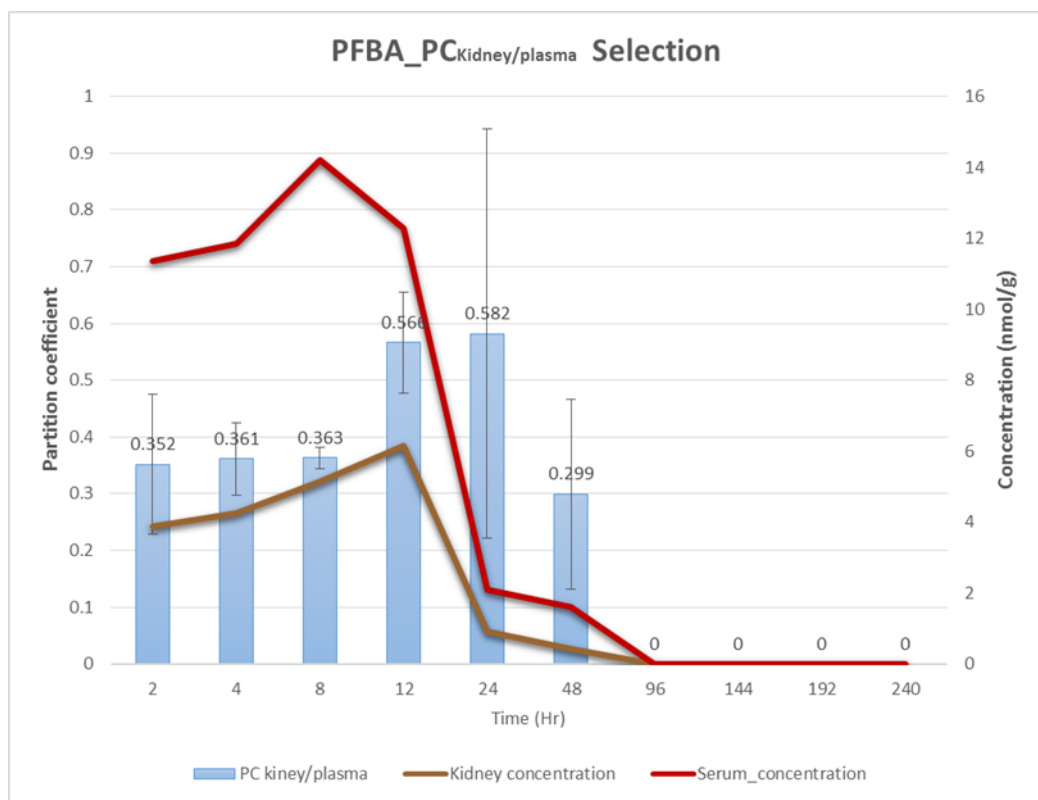


圖 3-13、PFBA 腎臟之分配係數趨勢圖

從圖 3-13 中可以發現腎臟作為排除 PFBA 的主要臟器，其分配係數最晚達到分配之動態平衡，從文獻中探討，腎臟除了為全氟碳化物主要的排除器官外，在腎臟也存在著再吸收全氟碳化物的機制(Olsen et al., 2009)。最後我們選定 12 小時的平均值(標準差)作為 PFBA 於腎臟之分配係數 0.566(0.089)。



3.3.2. PFBS 之分配係數

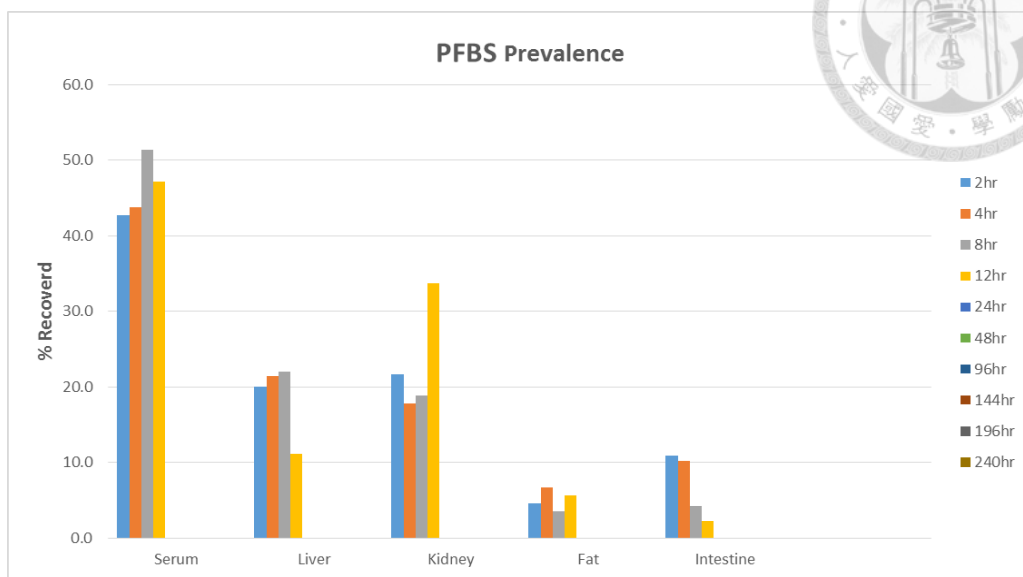


圖 3-14、PFBS 於 SD 大鼠體內隨時間之分佈百分比

從圖中可以發現 PFBS 在大鼠體內的 12 小時左右會全數排出體外，血清為 PFBS 佔有最高比例的組織，約 42~51%，肝臟與腎臟約為 20%，脂肪與小腸則是約 10% 的比例。

隨著時間的推進，我們可以發現小腸作為吸收的臟器在整體所佔的比例非但不高且有逐漸下降的趨勢，顯示 PFBS 可以快速的經由小腸吸收進入整體的血液循環。而血清和腎臟的比例隨著時間推進有提升之趨勢，可以說明 PFBS 在體內會快速經由血液運送至腎臟，進而排出體外。而肝臟的比例維持一定水準甚至有些微下降，代表 PFBS 雖然會進入肝臟，但並不會累積過長的時間，而是逐步透過血液排出臟器外。

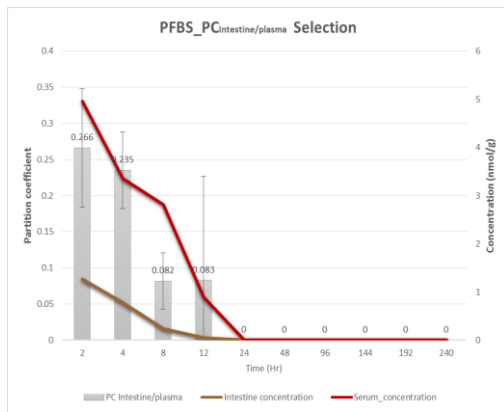


圖 3-15、PFBS 小腸之分配係數趨勢圖

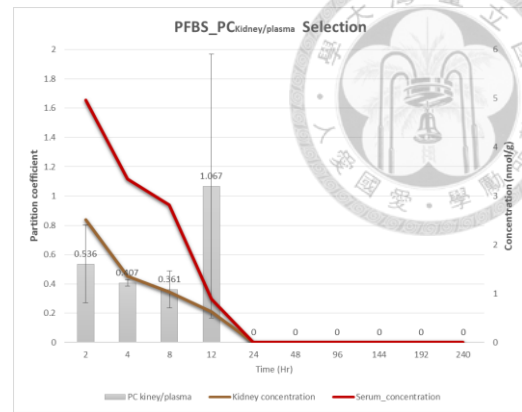


圖 3-16、PFBS 腎臟之分配係數趨勢圖

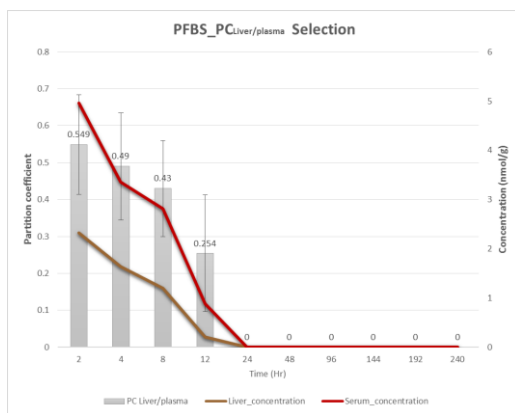


圖 3-17、PFBS 肝臟之分配係數趨勢圖

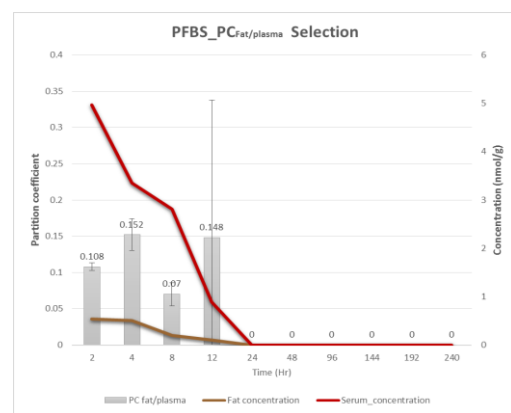


圖 3-18、PFBS 脂肪之分配係數趨勢圖

從圖 3-15~圖 3-18 為 SD 大鼠在經過胃灌食後 PFBS 之分配係數趨勢圖，從圖中可以發現和 PFBA 很不同的為並無看見一個明顯的分配期 (Distribution Phase) 與排除期 (Elimination phase) 的區別。從表 1-2 (P.7) 文獻中可知 PFBS 的半衰期為 4.5 小時左右，因此可以推估我們設定的第一個採樣點可能已經進入 PFBS 的排除期，因而無法準確推估 PFBS 在臟器與血液達動態平衡時的分配係數，最後決定選擇可能最靠近動態平衡時期的 2 小時平均值(標準差)作為 PFBS 於各臟器間之分配係數—小腸 0.266(0.082)、腎臟 0.536(0.265)、肝臟 0.549(0.135)、脂肪 0.108(0.005)。

3.3.3. PFPeA 之分配係數

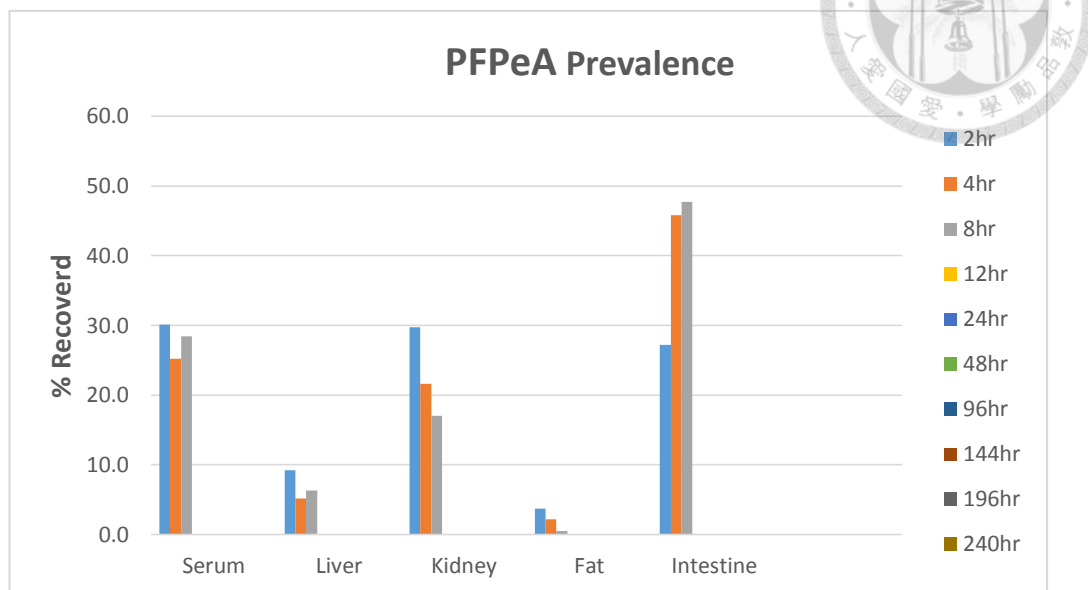


圖 3-19、PFPeA 於 SD 大鼠體內隨時間之分佈百分比

從圖中可以發現 PFPeA 在大鼠體內的 8 小時左右會全數排出體外，和其他全氟碳化物不同的是血清只有在一開始的採樣點佔有最高比例，約 30%，之後則呈現持平的趨勢。值得注意的是，小腸的分佈百分比隨著時間的推進不減反增，從 30% 推進到 50% 左右，腎臟一開始和血清一樣佔有很高的比例，但隨後便快速的下降，肝臟與脂肪則維持不到 10% 的比例。

從時序變化來看，我們可以發現小腸作為吸收的臟器在整體所佔的比例非但沒有逐漸下降反而是增加的趨勢，與前述的全氟碳化物有所不同，因而推測，PFPeA 在大鼠體內的低吸收性以及除了腎臟以外可能存在另外的排出方式，例如：糞便。由於本研究並無採集糞便，因而無法佐證這樣的想法，尚待其他研究輔佐證明。而肝臟的比例維持一定水準甚至有些微下降，代表 PFPeA 雖然會進入肝臟，但並不會累積過長的時間，而是逐步透過血液排出臟器外。

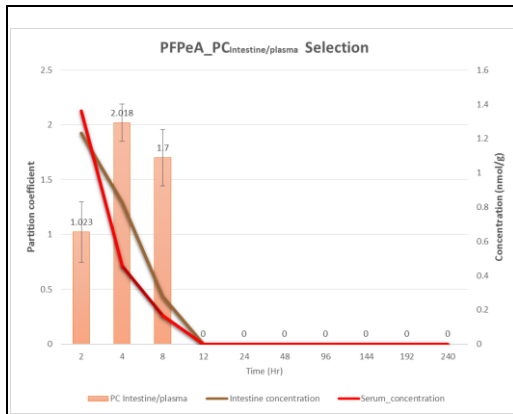


圖 3-20、PFPeA 小腸之分配係數趨勢圖

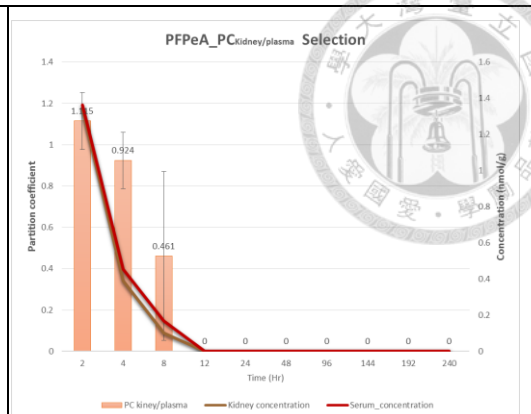


圖 3-21、PFPeA 腎臟之分配係數趨勢圖

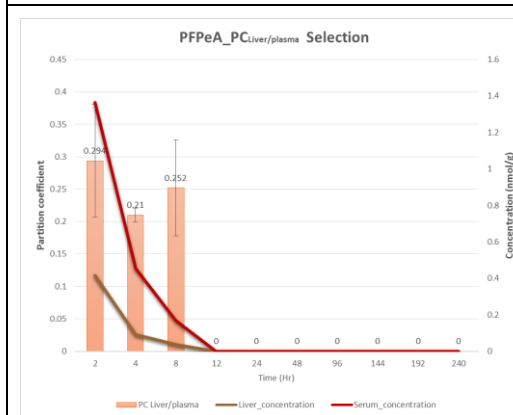


圖 3-22、PFPeA 肝臟之分配係數趨勢圖

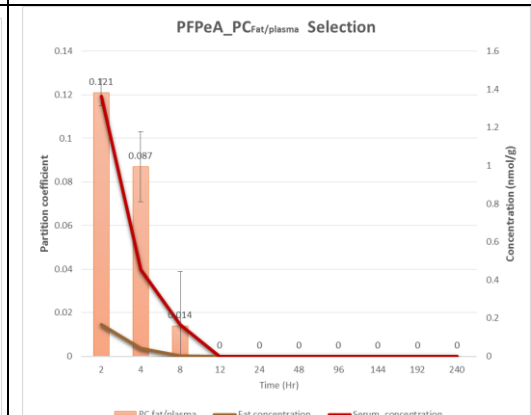


圖 3-23、PFPeA 脂肪之分配係數趨勢圖

從圖 3-20~圖 3-23 為 SD-大鼠在經過胃灌食後 PFPeA 之分配係數趨勢圖，從圖中可以發現和 PFBS 一樣無法看見一個明顯的分配期(Distribution Phase)與排除期(Elimination phase)的區別。因此可以推估我們設定的第一個採樣點可能已經進入 PFPeA 的排除期，因而無法準確推估 PFPeA 在臟器與血液達動態平衡時的分配係數，最後決定選擇可能最靠近動態平衡時期的 2 小時平均值(標準差)作為 PFPeA 於各臟器間之分配係數—小腸 1.023(0.276)、腎臟 1.115(0.137)、肝臟 0.294(0.087)、脂肪 0.121(0.006)。

3.3.4. PFHxA 之分配係數

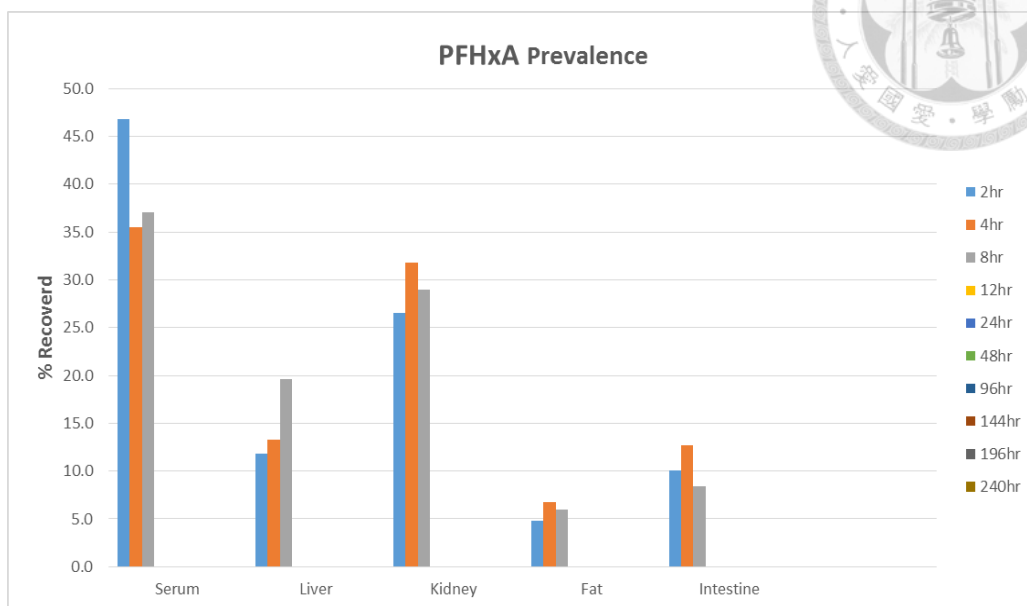


圖 3-24、PFHxA 於 SD 大鼠體內隨時間之分佈百分比

從圖中可以發現 PFHxA 在大鼠體內的 8 小時左右會全數排出體外，血清為 PFHxA 佔有最高比例的組織，約 35~45%，腎臟約為 25~30%，脂肪與小腸則是約 5~10% 的比例。

隨著時間的推進，我們可以發現小腸作為吸收的臟器在整體所佔的比例非但不高且有逐漸下降的趨勢，顯示 PFHxA 可以快速的經由小腸吸收進入整體的血液循環。而血清和腎臟的比例隨著時間仍維持著高的比例，可以說明 PFHxA 在體內會快速經由血液運送至腎臟，進而排出體外。而肝臟的比例雖然不高，但隨著時間的推進有增高的趨勢，代表 PFHxA 根據表 1-2 (P.7) 雖然有著最短的半衰期(1~2.4 小時)，但其相較於其他半衰其短的全氟碳化物，其累積於肝臟的能力有些微提升，從文獻推測可能和碳鏈的增加造成親脂性提升有關(Sundstrom et al.,2012)，但並不會累積過長的時間，仍是逐步透過血液排出臟器外。

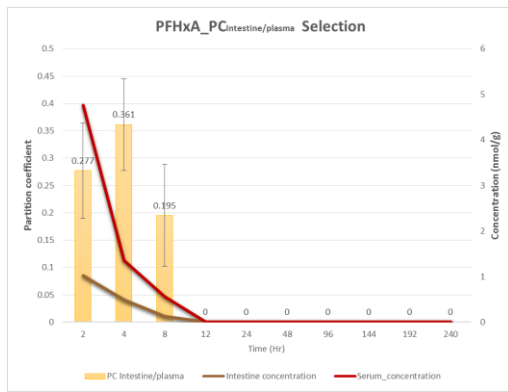


圖 3-25、PFHxA 小腸之分配係數趨勢圖

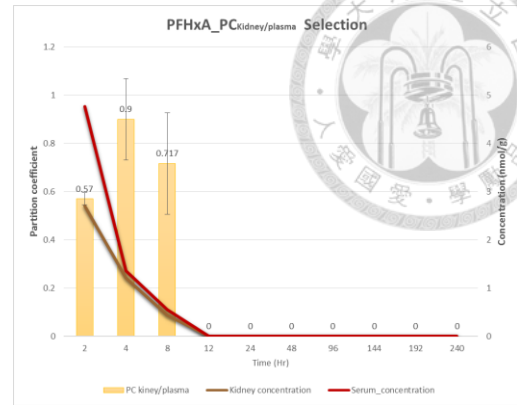


圖 3-26、PFHxA 腎臟之分配係數趨勢圖

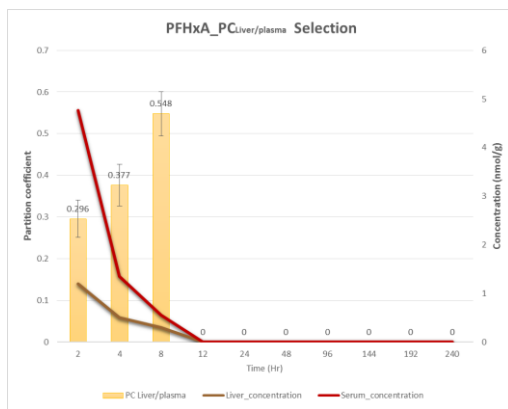


圖 3-27、PFHxA 肝臟之分配係數趨勢圖

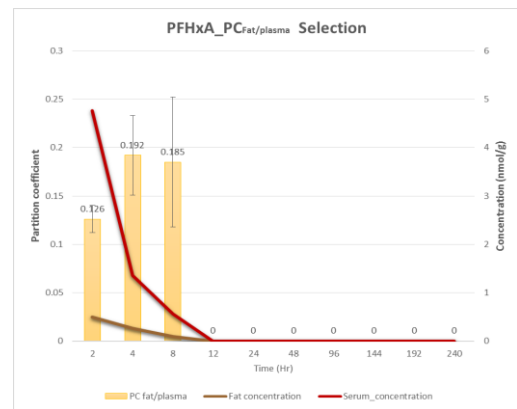


圖 3-28、PFHxA 脂肪之分配係數趨勢圖

從圖 3-25~圖 3-28 為 SD 大鼠在經過胃灌食後 PFHxA 之分配係數趨勢圖，從圖中可以發現和 PFBS、PFPeA 一樣無法看見一個明顯的分配期 (Distribution Phase) 與排除期 (Elimination phase) 的區別。從表 1-2 (P.7) 文獻中可知 PFHxA 的半衰期為 1~2.4 小時左右，因此可以推估我們設定的第一個採樣點可能已經進入 PFHxA 的排除期，因而無法準確推估 PFHxA 在臟器與血液達動態平衡時的分配係數，最後決定選擇可能最靠近動態平衡時期的 2 小時平均值(標準差)作為 PFHxA 於各臟器間之分配係數—小腸 0.296(0.045)、腎臟 0.57(0.025)、肝臟 0.277(0.087)、脂肪 0.126(0.014)。

3.3.5. PFHpA 之分配係數

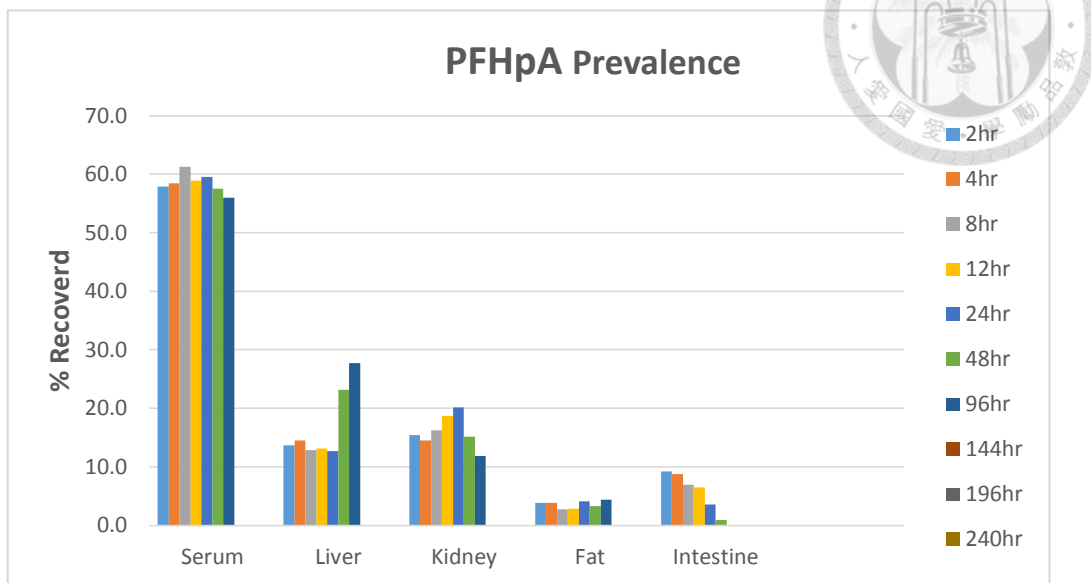


圖 3-29、PFHpA 於 SD 大鼠體內隨時間之分佈百分比

從圖中可以發現 PFHpA 在大鼠體內的 96 小時左右會全數排出體外，血清為 PFHpA 佔有最高比例的組織，約 60%，腎臟約為 20%，脂肪與小腸則是約 5~10% 的比例。

隨著時間的推進，我們可以發現小腸作為吸收的臟器在整體所佔的比例非但不高且有快速下降的趨勢，顯示 PFHpA 可以快速的經由小腸吸收進入整體的血液循環。而血清和腎臟的比例隨著時間仍維持著高的比例，可以說明 PFHpA 在體內會快速經由血液運送至腎臟，進而排出體外。在 48 小時的時後，PFHpA 經由腎臟排除的比例趨緩，取而代之的是可以發現肝臟的比例上升，代表 PFHpA 和 PFHxA 一樣，其累積於肝臟的能力有些微提升，從文獻推測可能和碳鏈的增加造成親脂性提升有關(Sundstrom et al.,2012)，但並不會累積過長的時間，仍是逐步透過血液排出臟器外。

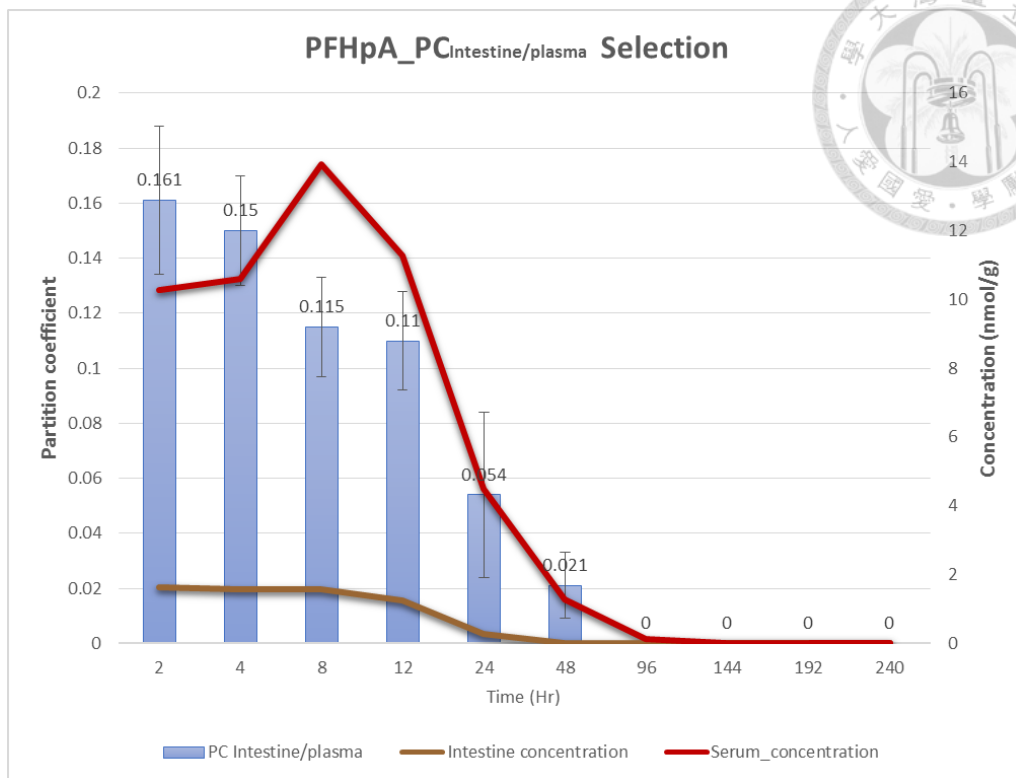


圖 3-30、PFHpA 小腸之分配係數趨勢圖

從圖 3-30 中可以發現小腸作為 SD 大鼠胃灌食暴露臟器，隨即開始進入分配期(Distribution phase)在四個臟器中最快達到與血清之分配之動態平衡，在暴露 8 小時開始分配係數屈於穩定，較上述短碳鏈(4~6C)的全氟碳化物來的所花的時間來的長。隨後開始進入排除期(Elimination phase)，可以發現分配係數忽高忽低的不穩定性，顯示在排除期並不適合作為計算分配係數的時期，最後選定 8~12 小時的平均值(標準差)：0.1125(0.018)為 PFHpA 於小腸之分配係數。

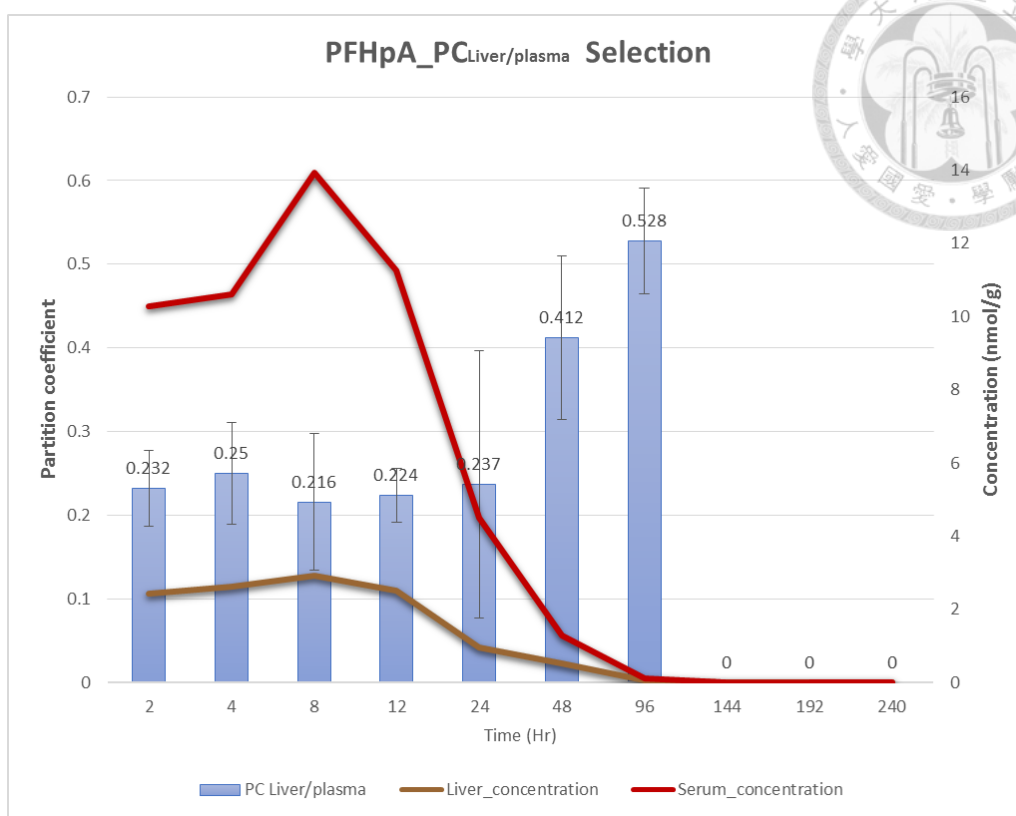


圖 3-31、PFHpA 肝臟之分配係數趨勢圖

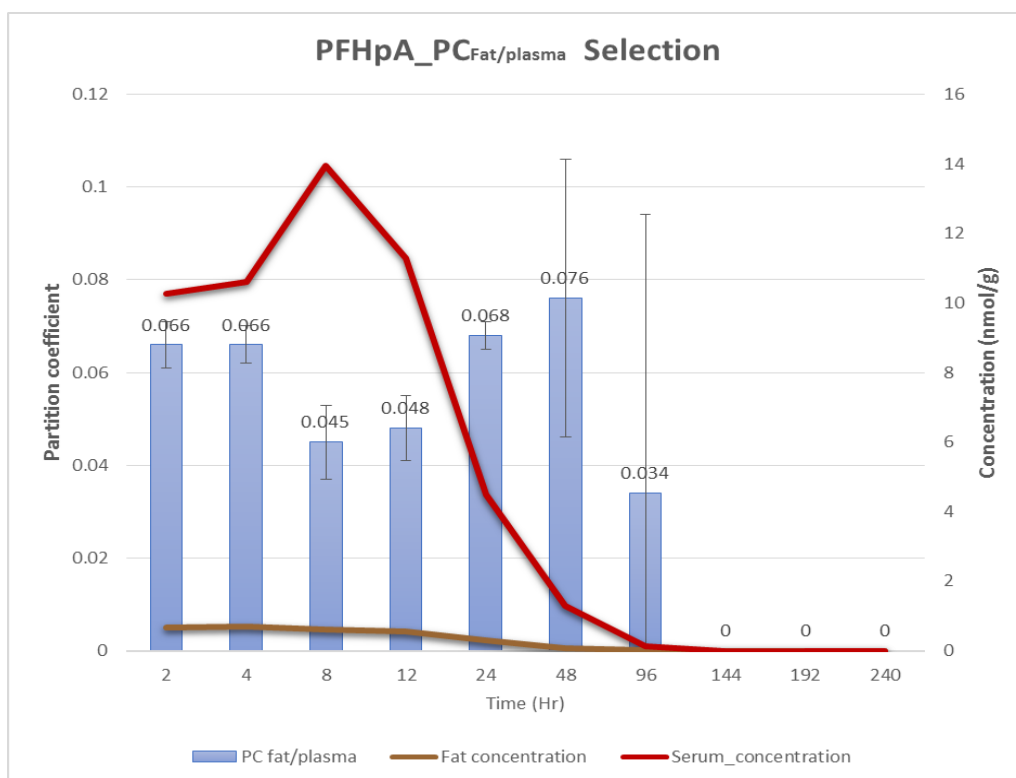


圖 3-32、PFHpA 脂肪之分配係數趨勢圖

從圖 3-31 與圖 3-32 中可以發現，肝臟與脂肪作為全氟碳化物之作用臟器與儲存臟器，其分配係數變化有著類似的趨勢，在 2~4 小時由血液運送的 PFHpA 開始進入兩器官，分配係數有著顯著的提升，在 8~12 小時的分配期開始達到臟器與血液的動態平衡，24 小時開始進入排除期，其分配係數趨於不穩定，最後我們選定 8~12 小時的平均值(標準差)作為兩者之分配係數，肝臟 0.2305(0.16)、脂肪 0.058(0.004)。

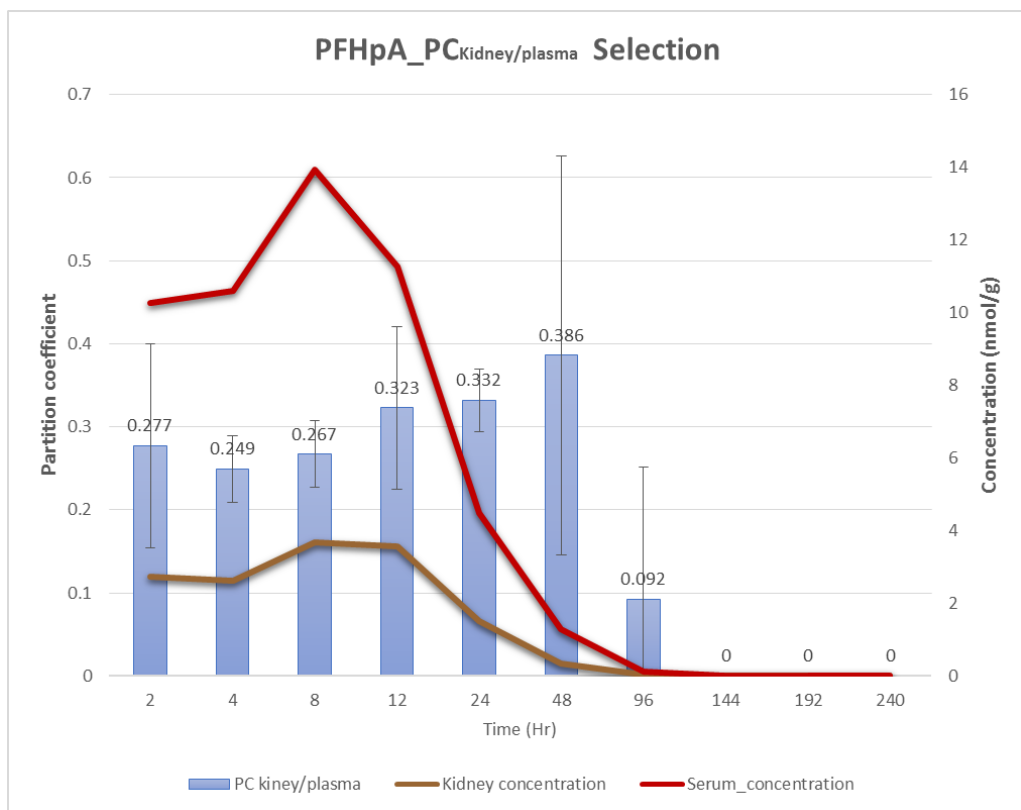


圖 3-33、PFHpA 腎臟之分配係數趨勢圖

從圖 3-33 中可以發現腎臟作為排除 PFHpA 的主要臟器，其分配係數最晚達到分配之動態平衡，從文獻中探討，腎臟除了為全氟碳化物主要的排除器官外，在腎臟也存在著再吸收全氟碳化物的機制(Olsen et al., 2009)。最後



我們選定 12 小時的平均值(標準差)作為 PFHpA 於腎臟之分配係數

0.323(0.098)。

3.3.6. PFHxS 之分配係數

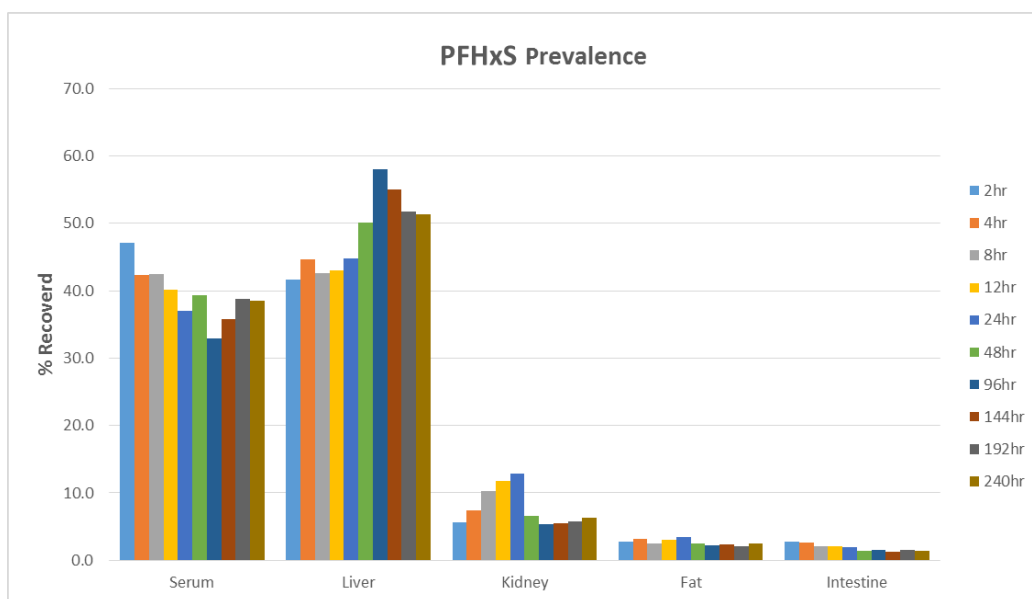


圖 3-34、PFHxS 於 SD 大鼠體內隨時間之分佈百分比

從圖中可以發現 PFHxS 在大鼠體內在實驗結束時間點尚無法完全排出體外，和上述全氟碳化物不同的是肝臟取代血清為 PFHxS 佔有最高比例的器官，介於 40~60%，血清除了在第一個採樣點高於肝臟外，在後續的採樣點都持續低於肝臟，約在 40% 左右。腎臟在 24 小時的採樣點來到最大值，隨後呈現低分佈的情形，約為 5~10%，脂肪與小腸則是不到 5% 的比例。

隨著時間的推進，我們可以發現小腸作為吸收的臟器在整體所佔的比例非但不高且有逐漸下降的趨勢，顯示 PFHxS 可以快速的經由小腸吸收進入整體的血液循環。而血清的比例隨著時間呈現先降後升，可以說明 PFHxS 在體內會快速經由血液運送至各臟器，隨著經由腎臟排出的比例下降，而持續累積在血液循環之中。在 24 小時的時後，PFHxS 經由腎臟排除的比例趨

緩，取而代之的是可以發現肝臟的比例上升，代表 PFHxS 相較於其他全氟
 碳化物其累積於肝臟的能力有顯著的提升，從文獻推測可能和碳鏈的增加與
 官能基不同造成親脂性提升有關(Olsen et al.,2009)(Sundstrom et al.,2012)，在
 96 小時達到比例的峰值(58%)，隨後才有緩慢下降的趨勢，至採樣時間結束
 仍發現一定濃度的 PFHxS 存在其中，從表 1-2 (P.7)推測可能與 PFHxS 在大
 鼠中的半衰期較長(male rat=141 天)有所相關。

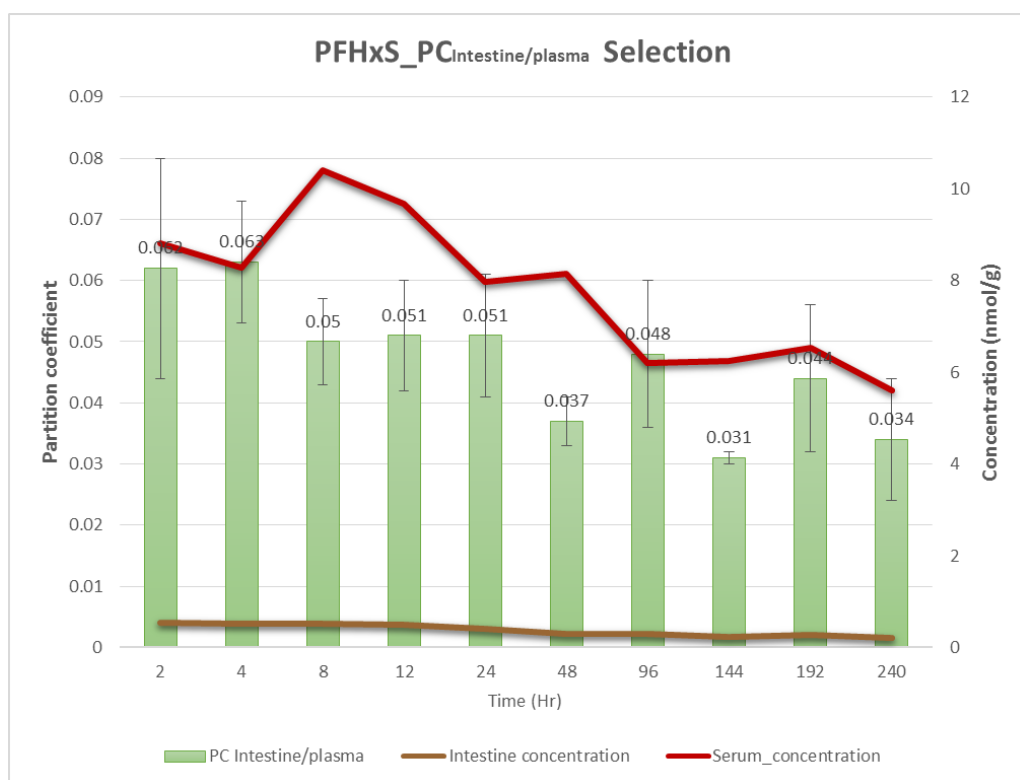


圖 3-35、PFHxS 小腸之分配係數趨勢圖

從圖 3-35 中可以發現小腸作為 SD 大鼠胃灌食暴露臟器，隨即開始進入
 分配期(Distribution phase)在四個臟器中最快達到與血清之分配之動態平衡，
 在暴露 8~24 小時開始分配係數屈於穩定，較上述短碳鏈(4~6C)的全氟碳化
 物來的所花的時間來的長。隨後開始進入排除期(Elimination phase)，可以發
 現分配係數忽高忽低的不穩定性，顯示在排除期並不適合作為計算分配係數



的時期，最後選定 8~24 小時的平均值(標準差)：0.05(0.0086)為 PFHxS 於小腸之分配係數。

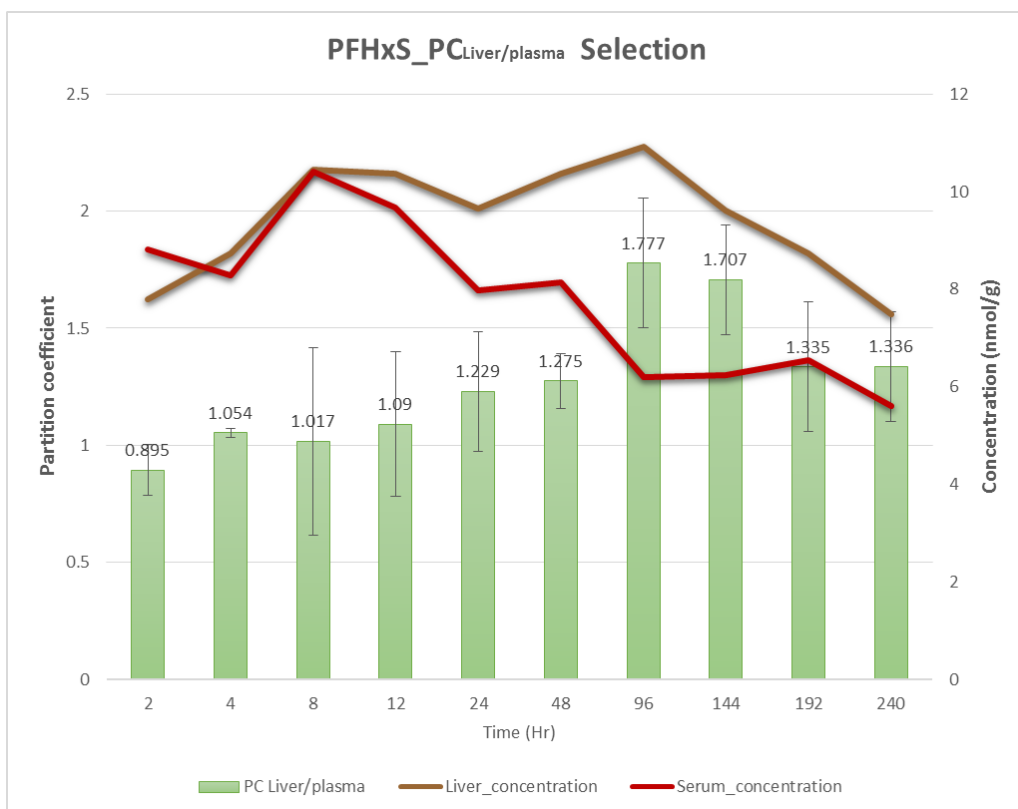


圖 3-36、PFHxS 肝臟之分配係數趨勢圖

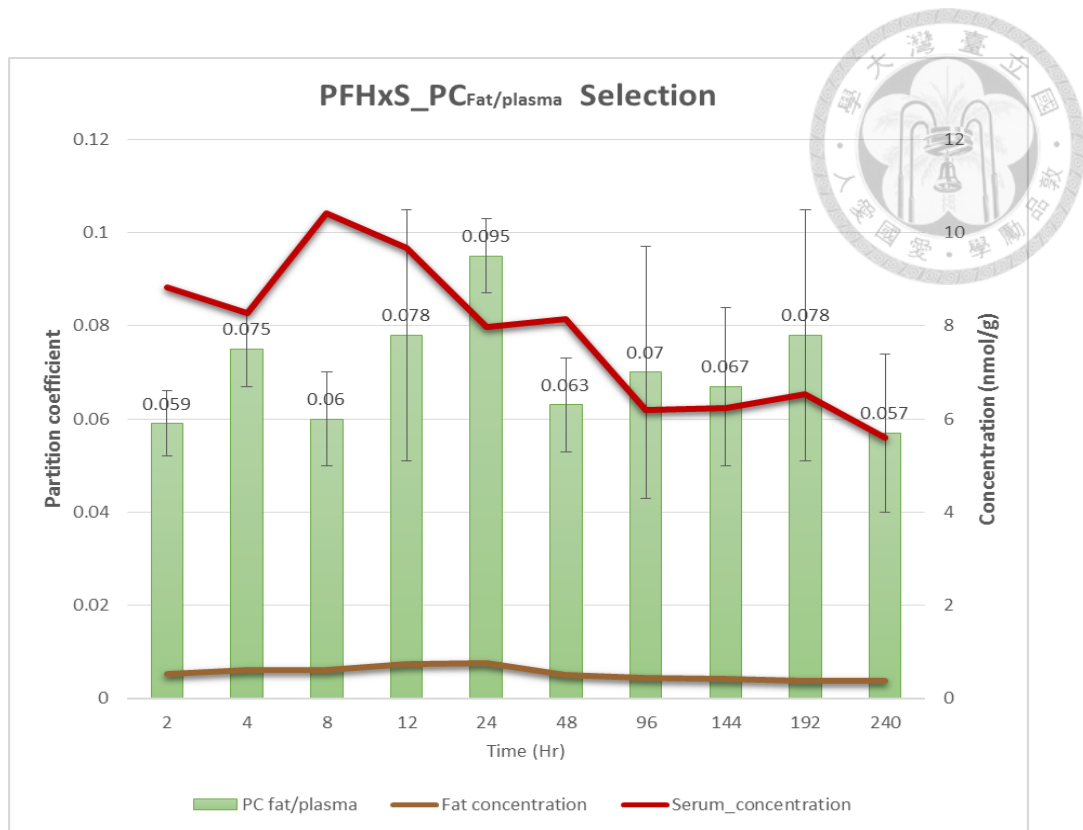


圖 3-37、PFHxS 脂肪之分配係數趨勢圖

從圖 3-36 與圖 3-37 中可以發現，肝臟作為全氟碳化物之作用臟器與儲存臟器，當 PFHxS 開始進入肝臟時，其分配係數有逐漸增加的趨勢，在 24~48 小時分配期達到臟器與血液的動態平衡，48 小時開始進入排除期，其分配係數趨於不穩定，直至採樣時間結束仍發現一定濃度的 PFHxS 存在其中。脂肪可能因為檢出的濃度非常低，受到血清濃度的影響幅度比較大。最後我們選定 24~48 小時的平均值(標準差)作為兩者之分配係數，肝臟 1.252(0.185)、脂肪 0.095(0.008)。

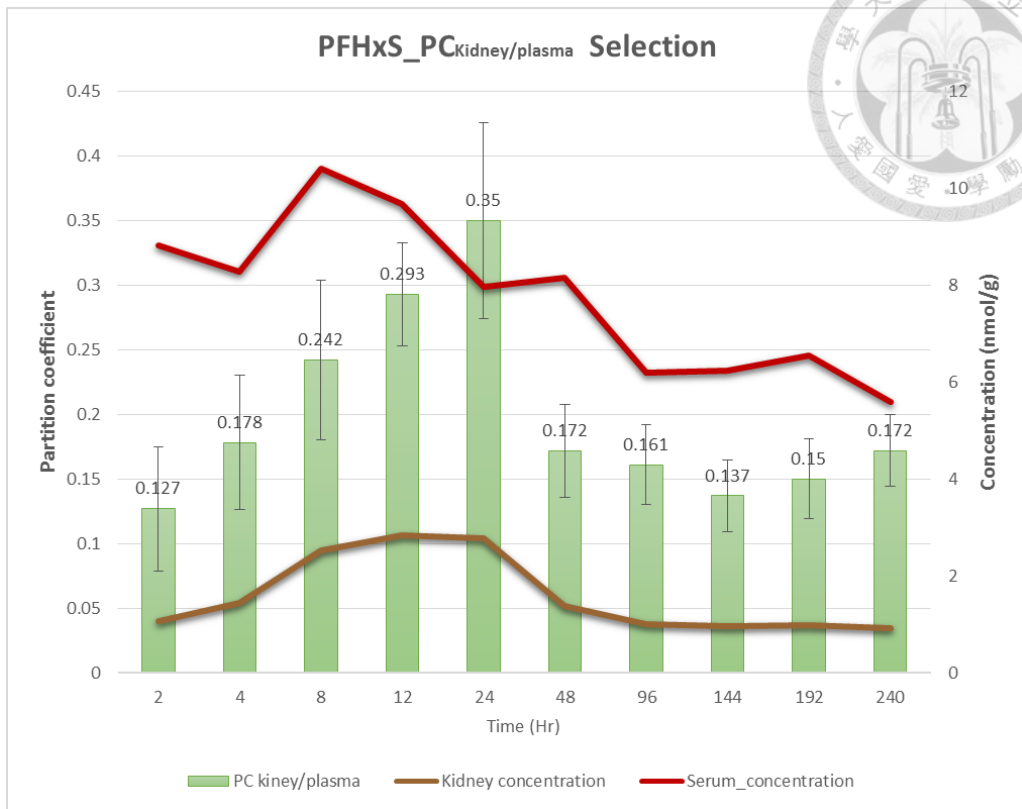



圖 3-38、PFHxS 腎臟之分配係數趨勢圖

從圖 3-38 中可以發現腎臟作為排除 PFHxS 的主要臟器，其分配係數最晚達到分配之動態平衡，從文獻中探討，腎臟除了為全氟碳化物主要的排除器官外，在腎臟也存在著再吸收全氟碳化物的機制(Olsen et al., 2009)。最後我們選定 12~24 小時的平均值(標準差)作為 PFHxS 於腎臟之分配係數 0.3215(0.058)。

3.3.7. 小結

在這一節中，我們探討了選取分配係數的過程，由於是使用胃灌食的方式進行暴露，可以發現小腸在大部分的全氟碳化物中作為最主要的吸收臟器，而在 PFPeA 發現隨著時間的推進小腸在整體測得的濃度仍維持一定比例，可能按試著 PFPeA 存在低吸收率以及經由糞便排出的機制。



大部分的全氟碳化物在血清中維持著相當高濃度與比例從文獻中得知可能和全氟碳化物易與血清中的白蛋白(albumin)結合有關(Zhang et al.,2009)。肝臟作為全氟碳化物的主要累積器官，在 PFHxA、PFHpA 和 PFHxS 三種全氟碳化物的累積現象尤為明顯，從文獻中得知可能與碳數增加以及帶有-SO₃官能基等等類似脂肪酸鏈的構造，造成親脂溶性的現象，幫助在肝臟中持續累積(Olsen et al.,2009)。

本研究中所有全氟碳化物中在脂肪所測得的濃度皆十分低，且在整體所佔的比例也相當低，和先前文獻關於 PFBS 與 PFOS 在脂肪組之測得低濃度與低分配係數相符合(Bogdanska ,2011) (Bogdanska ,2014)。

表 3-4 為本研究囊括之全氟碳化物於血清與各臟器所選取之分配係數值(標準差)，將用於後續章節比較之用。



表 3-4、本研究推算之全氟碳化物之臟器/血清分配係數($PC_{\text{Tissue/plasma}}$) Mean (std)

	Liver	Kidney	Fat	Intestine
PFBA	0.31 (0.054)	0.566 (0.089)	0.075 (0.019)	0.185 (0.053)
PFPeA	0.294 (0.087)	1.115 (0.137)	0.121 (0.006)	1.023 (0.276)
PFBS	0.549 (0.135)	0.536 (0.265)	0.108 (0.005)	0.266 (0.082)
PFHxA	0.296 (0.045)	0.57 (0.025)	0.126 (0.014)	0.277 (0.087)
PFHpA	0.231 (0.096)	0.323 (0.098)	0.058 (0.004)	0.113 (0.018)
PFHxS	1.252 (0.185)	0.322 (0.058)	0.095 (0.008)	0.05 (0.007)



3.4. 碳鏈長度與官能基對全氟碳化物之分配係數影響

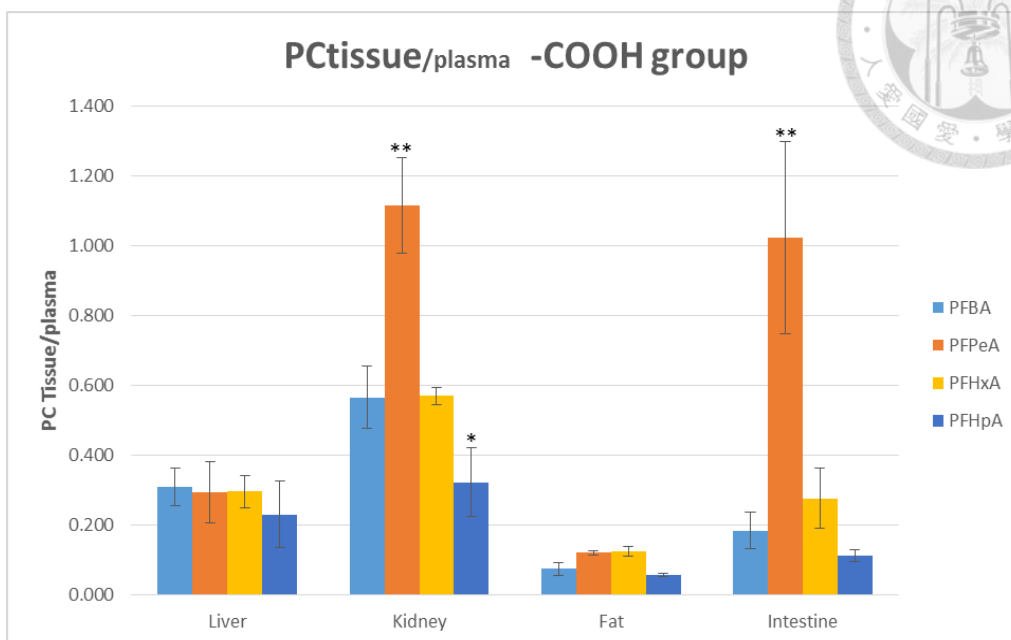


圖 3-39、不同碳鏈長度帶羧基(R-COOH)分配係數之比較

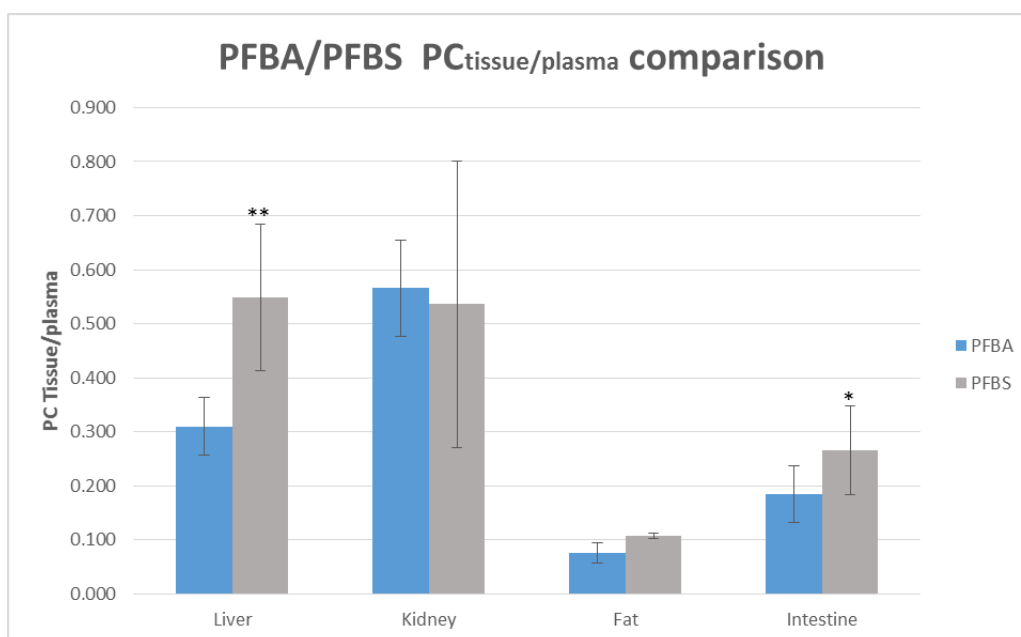


圖 3-40、4C 全氟碳化物帶羧基(R-COOH)與硫酸基(-SO₃)對於分配係數之影響

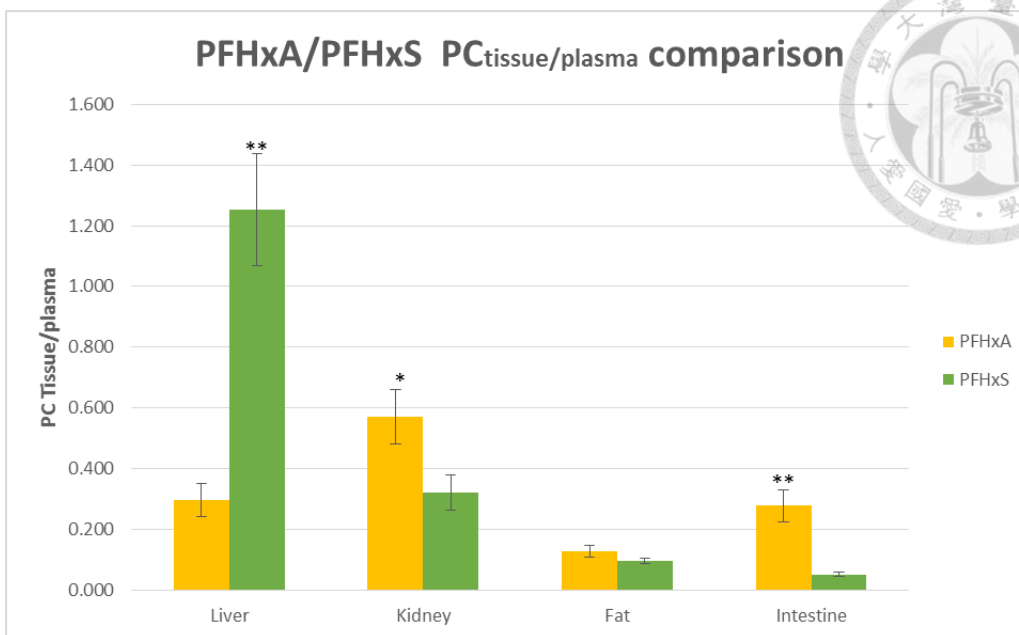


圖 3-41、6C 全氟碳化物帶羧基(R-COOH)與硫酸基(-SO₃)對於分配係數之影響

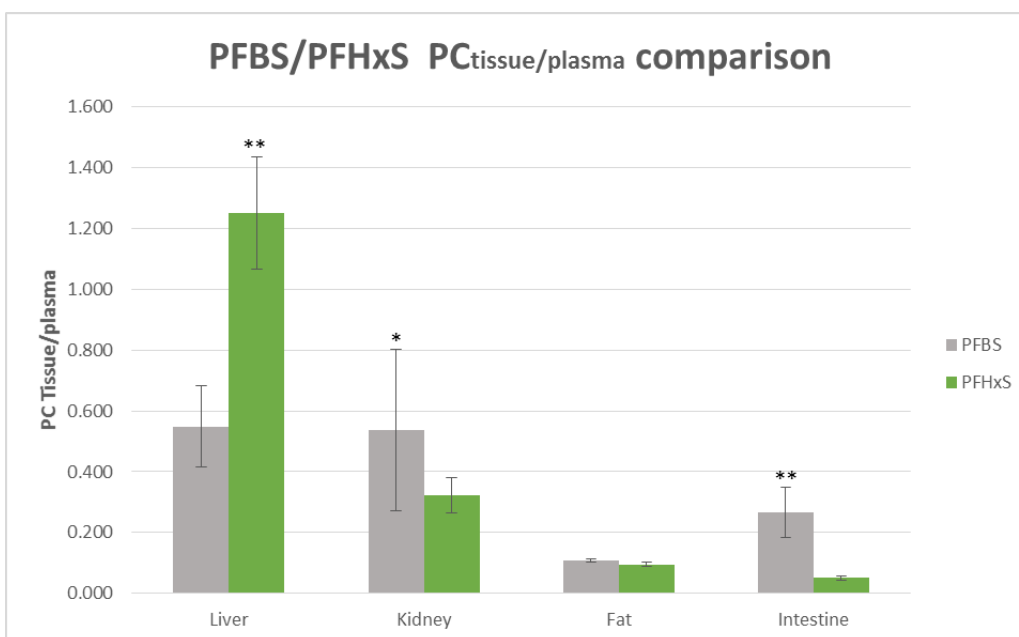


圖 3-42、4C 與 6C 帶硫酸基(-SO₃)之全氟碳化物對於分配係數之影響

圖 3-39 比較了不同碳鏈長度帶羧基(R-COOH)之全氟碳化物分配係數之比較，包含了 PFBA(4C)、PFPeA(5C)、PFHxA(6C)、PFHpA(7C)，試圖探討碳鏈長度是否會影響分配係數，並以單一變異數分析(One-way ANOVA)比較各全氟碳化物於同一臟器之間分配係數之間是否存在差異。；**表示達統計上顯著 $\alpha < 0.01$ ；*表是達統計上顯著 $\alpha < 0.05$



3.4.1. 肝臟分配係數之比較

在肝臟方面，見圖 3-39 四種帶羧基(R-COOH)之全氟碳化物對於肝臟的分配係數並無顯著的差異，表示碳鏈的長短對於帶羧基(R-COOH)全氟碳化物達穩定狀態時的分配係數並無影響。見圖 3-42 然而在兩種帶硫酸基(-SO₃)之全氟碳化物則發現，PFHxS 之肝臟/血清分配係數(PC_{Liver/plasma})大於 PFBS，達統計上的顯著。

見圖 3-40 與圖 3-41 若將相同碳鏈長度，但官能基為羧基(R-COOH)與硫酸基(-SO₃)的全氟碳化物相比(PFBA 與 PFBS)、(PFHxA 與 PFHxS)，則發現帶有硫酸基(-SO₃)的全氟碳化物之肝臟/血清分配係數(PC_{Liver/plasma})大於帶有羧基(R-COOH)的全氟碳化物，達統計上的顯著差異。

從文獻上探討可以得知，肝臟中存在許多肝細胞脂肪酸結合蛋白(Hepatic fatty acid-binding protein)，此蛋白容易與帶有 SO₃ 官能基的全氟碳化物結合，例如：PFBS、PFHxS、PFOS (Luebker et al., 2002)，而這樣的結合對於長碳鏈而言有著更顯著的增強。

3.4.2. 腎臟分配係數之比較

在腎臟方面，見圖 3-39 四種帶羧基(R-COOH)之全氟碳化物對於腎臟的分配係數的顯著差異，主要來自於四種物質在大鼠體內半衰期之差異，半衰期越長，如：PFHpA 其腎臟/血清分配係數(PC_{Kidney/plasma})越低，顯示越不易從腎臟排出體外，而 PFPeA 之腎臟/血清分配係數(PC_{Kidney/plasma})很高，則代表此物質極易排出大鼠體外，其在第一個採樣點(2 小時)於大鼠體內偵測到之總濃度為 4.5nmol/g，遠低於其他全氟碳化物，如 PFBA 的 22.9nmol/g、PFBS 的 11.6nmol/g、PFHxA 的 10.2nmol/g。見圖 3-42 而在

兩種帶硫酸基(-SO₃)之全氟碳化物中，PFBS 之腎臟/血清分配係數(PC_{Kidney/plasma})大於 PFHxS，達統計上的顯著，一來可能是 PFBS 之分配係數變異性頗大，二來如之前所述為兩者半衰期之差異。


見圖 3-40 與圖 3-41 若將相同碳鏈長度，但官能基為羧基(R-COOH)與硫酸基(-SO₃)的全氟碳化物相比(PFBA 與 PFBS)、(PFHxA 與 PFHxS)，則發現 PFHxA 之腎臟/血清分配係數(PC_{Kidney/plasma})大於 PFHxS，達統計上的顯著差異。而 PFBA 雖大於 PFBS，但並不顯著，原因同上段所述 PFBS 之分配係數變異性較大所致。因而推測帶有羧基(R-COOH)的全氟碳化物之腎臟/血清分配係數(PC_{Kidney/plasma})大於帶有硫酸基(-SO₃)之全氟碳化物。

從文獻上探討可以得知，腎臟中存在許多有機陰離子運輸蛋白(Organic anion transporter proteins)，這類蛋白經過實驗認定對於全氟碳化物的排除與再吸收有所相關(Anderson et al., 2002)。這樣的機制，不論對於羧基(R-COOH)或是硫酸基(-SO₃)之全氟碳化物皆是存在的，然而帶有硫酸基(-SO₃)之全氟碳化物於尿液中的低排出率與其過長的半衰期，對於腎臟/血清分配係數(PC_{Kidney/plasma})有著更大的影響(Harada et al., 2005)(Thibodeaux et al., 2003)。

3.4.3. 脂肪分配係數之比較

見圖 3-39~圖 3-42，可以發現無論何種全氟碳化物於脂肪所求得之脂肪/血清分配係數(PC_{Fat/plasma})皆十分低，這樣的結果與先前文獻所得到的結果相符合(Bogdanska et al., 2011) (Bogdanska et al., 2014) (Lin et al., 2009)，且各組間之分配係數並無顯著差異。

3.4.4. 小腸分配係數之比較




見圖 3-39~圖 3-42，目前文獻上對於消化道之分配係數探討較少，普遍皆認為消化道是作為全氟碳化物主要之吸收器官(Bogdanska et al., 2011)(Bogdanska et al., 2014)，在大部分之全氟碳化物中，當達到動態平衡時，小腸/血清分配係數($PC_{Intestine/plasma}$)皆十分低，表示大部分之全氟碳化物可以快速的經由消化道進入血液循環系統中與血清中的白蛋白(Albumin)結合，部分全氟碳化物如：PFPeA、PFBS、PFHxA 求得較高之小腸/血清分配係數($PC_{Intestine/plasma}$)，可能原因為這幾個全氟碳化物擁有較短的半衰期，我們的採樣點沒有囊括到其達分配平衡的時間與從消化道吸收至血清的時間所致。

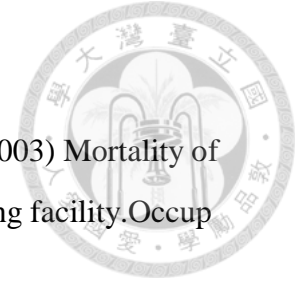
第四章 結論與建議




1. 本研究使用胃灌食的方式對 SD 大鼠進行 PFBA、PFBS、PFPeA、PFHxA、PFHxS、PFHpA 等 6 種全氟碳化物，每種全氟碳化物劑量(500 $\mu\text{g}/\text{kg}$)之單一劑量暴露，並測得血清、肝臟、腎臟、小腸、副睪旁脂肪等五處臟器個別全氟碳化物之濃度，並進行分配係數之運算。
2. 大部分的全氟碳化物在血清中維持著相當高濃度與比例，從文獻中得知可能和全氟碳化物易與血清中的白蛋白(albumin)結合有關(Zhang et al.,2009)。六種全氟碳化物在血清中偵測到的濃度與排除速度和碳鏈並無直接的相關，偵測濃度最高的為 PFBA(4C)與 PFHpA(7C)，最快由 SD 大鼠體內排出為 PFBS(4C)、PFPeA(5C)和 PFHxA(6C)，而 PFHxS(6C)則是持續存在於血液之中，顯示其半衰期為最長。
3. 由於使用胃灌食的方式進行暴露，可以發現小腸在大部分的全氟碳化物中作為最主要的吸收臟器，可以快速經由小腸吸收，並進入整體血液循環之中，在大鼠體內為最快達到分配平衡之臟器。而在 PFPeA、PFBS 與 PFHxA 計算出相對高的分配係數，可能是因為這三種全氟碳化物的易排出特性，使我們在血清中測得相對較低之濃度所致。
4. 肝臟作為全氟碳化物的主要累積器官，在 PFHxA、PFHpA 和 PFHxS 三種全氟碳化物的累積現象尤為明顯，從文獻中得知可能與碳數增加以及帶有 SO_3 官能基等等類似脂肪酸鏈的構造，造成親脂溶性的現象，幫助在肝臟中持續累積(Olsen et al.,2009)。肝臟中存在許多肝細胞脂肪酸結合蛋白(Hepatic fatty acid-binding protein)，此蛋白容易與帶有 SO_3 官能基的全氟碳化物結合，例如：PFBS、PFHxS、PFOS (Luebker et al., 2002)，而這樣的結合對於長碳鏈而言有著更顯著的增強。

- 
5. 腎臟作為全氟碳化物的主要排除臟器，可以發現短碳鏈(4A、5A、6A)相較於長碳鏈(7A)之全氟碳化物容易由腎臟進行排出，因而推算出較高的腎臟/血清分配係數。此外帶有羧基(R-COOH)的全氟碳化物之腎臟/血清分配係數大於帶有硫酸基(-SO₃)之全氟碳化物。從文獻上探討可以得知，腎臟中存在許多有機陰離子運輸蛋白(Organic anion transporter proteins)，這類蛋白經過實驗認定對於全氟碳化物的排除與再吸收有所相關(Anderson et al., 2002)。這樣的機制，不論對於羧基(R-COOH)或是硫酸基(-SO₃)之全氟碳化物皆是存在的。然而，帶有硫酸基(-SO₃)之全氟碳化物由於易和肝細胞中的肝細胞脂肪酸結合蛋白(Hepatic fatty acid-binding protein)結合，因此不易排出生物體外。
6. 本研究中所有全氟碳化物中在脂肪所測得的濃度皆十分低，且在整體所佔的比例也相當低，和先前文獻關於 PFBS 與 PFOS 在脂肪中之測得低濃度與低分配係數相符合(Bogdanska, 2011) (Bogdanska, 2014)。顯示脂肪相較於肝臟，並非全氟碳化物之累積場所。

參考文獻



- Alexander BH, Olsen GW, Burris JM, Mandel JH and Mandel JS (2003) Mortality of employees of a perfluorooctanesulphonyl fluoride manufacturing facility. *Occup Environ Med* 607 22-729.
- Apelberg BJ, Goldman LK Calafat AM, Herbstman JB, Kuklennyik z. Heidler J, Needham LL, Halden RU and Witter FR (2007a) Determinants of fetal exposure to polyfluoroalkyl compounds in Baltimore, Maryland. *Environ Sci Technol* 41 : 3891-3897.
- Apelberg BJ, Witter FR, Herbstman JB, Calafat AM, Halden RU, Needham LL And Goldman LR (2007b) Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth. *Environ Health Persp* 115 : 1670-1676.
- Bartell SM, Calafat AM, Lyu c, Kato K Ryan PB and Steenland K (2010) Rate of Decline in Serum PFOA Concentrations after Granular Activated Carbon Filtration at Two Public Water Systems in Ohio and West Virginia. *Environ Health Persp* 118 : 222-228.
- Biegel LB, Hurtt ME, Frame O'Connor JC and Cook JC (2001) Mechanisms of extrahepatic tumor induction by peroxisome proliferators in male CD rats. *Toxicol Sci* 60 : 44-55.
- Boulanger B, Peck AM, Schnoor JL and Hombuckle KC (2005) Mass budget of Perfluorooctane surfactant in Lake Ontario. *Environ Sci Technol* 39 : 74-79.
- Butenhoff JL, Bjork JA Chang SC, Ehresman DJ, Parker GA Das K hu c, Lieder PH, van Otterdijk FM and Wallace KB (2012) Toxicological evaluation of ammonium perfluorobutyrate in rats : twenty eight-day and ninety-day oral gavage studies. *Reprod Toxicol* 33 : 513-530.
- Butt CM, Berger u, Bossi R and Tomy GT (2010) Levels and trends of poly- and perfluorinated compounds in the arctic environment. *Sci Total Environ* 408 : 2936-2965.
- Calat AM, Wong LY, Kuklennyik Ł Reidy JA and Needham LL (2007) Polyfluoroalkyl chemicals in the US population : Data from the National Health and Nutrition

- 
- Examination Survey) 2003-2004 and comparisons with NHANES 1999-2000.
 Environ Health Persp
- Case MT, York RG and Christian MS (2001) Rat and rabbit oral developmental toxicology studies with two perfluorinated compounds. *Toxicol*
- Chang SC, Das K, Ehresman DJ, Ellefson ME, Gorman GS, Hart JA, Noker PE, Tan YM, Lieder PH, Lau C, Olsen GW and Butenhof JL (2008) Comparative pharmacokinetics of perfluorobutyrat in rats, mice, monkeys, and humans and relevance to human exposure via drinking water. *Toxicol Sci* 104 : 40-53.
- Chen MH, Ha EH, Wen TW, Su YN, Lien GW, Chen CY, Chen PC and Hsieh WS (2012) Perfluorinated compounds in umbilical cord blood and adverse birth outcomes. *Plos one* 7:e42474
- Chengelis CE, Kirkpatrick, J. B., Myers, N. R., Shinohara, M., Stetson, p. L., Sved, D. w., (2009a) Comparison of the toxicokinetic behavior of perfluorohexanoic acid (PFHxA) and nonafluorobutane-1-sulfonic acid (PFBS) in cynomolgus monkeys and rats. *Reprod Toxicol* 27 :400-406.
- Chengelis C, Kirkpatrick, J. B., Radovsk A., Shinohara, M., (2009b) A 90-day repeated dose oral (gavage) toxicity study of perfluorohexanoic acid (PFHxA) in rats (with functional observational battery and motor activity determinations). *Reprod. Toxicol* 27 : 342-351.
- Colquhoun DR, Goldman LK, Cole RN, Gucek M, Mansharamani M, Witter FK, Apelberg BJ and Halden RU (2009) Global Screening of Human Cord Blood Proteomes for Biomarkers of Toxic Exposure and Effect. *Environ Health Persp* 117 : 832-838.
- Company M (1999) Fluorochemical use, distribution and release overview, (EPA ed), Docket OPPT.
- Dinglasan MJA, Ye Y, Edwards EA and Mabury SA (2004) Fluorotelomer alcohol biodegradation yields poly- and perfluorinated acids. *Environ Sci Technol* 38 : 2857-2864.
- Dufresne GL, Fouquet A, Forsyth D and Tittlemier SA (2007) Multiresidue determination of quinolone and fluoroquinolone antibiotics in fish and shrimp by



liquid chromatography tandem mass spectrometry.

Ericson I, Marti-Cid K, Nadal M, Van Bavel B, Lindstrom G and Domingo JL (2008a)

Human exposure to Perfluorinated chemicals through the diet : Intake of perfluorinated compounds in foods from the Catalan (Spain) Market. *J Agr Food Chem* 56 : 1787-1794.

Ericson I, Nadal M, van Bavel B, Lindstrom G and Domingo JL (2008b) Levels of perfluorochemicals in water samples from Catalonia, Spain : is drinking water a significant contribution to human exposure? *Environ Sci Pollut Res* 15 : 614-619.

Falandysz J, Albanis T, Bachmann J, Bettinetti K, Bochentin I, Boti v Bristeau s, Daehne B, Dagnac T, Galassi s, Jeannot K, Oehlmann J, Orlikowska A, Sakkas Szczerski K, Valsamaki v and Schulte Oehlmann (2006) Some chemical contaminants of surface sediments at the Baltic Sea coastal region with special emphasis on androgenic and anti-androgenic compounds. *J Environ Sci Health* 41 : 2127-2162.

Fei CY, McLaughlin J, Tarone RE and Olsen J (2007) Perfluorinated chemicals and fetal growth : A study within the Danish National Birth Cohort. *Environ Health Persp* 115 : 167-1682.

Fei CY, McLaughlin JK, Tarone RE and Olsen J (2008) Fetal growth indicators and perfluorinated chemicals : A study in the Danish National Birth Cohort. *Am J Epidemiol* 168 : 66-72.

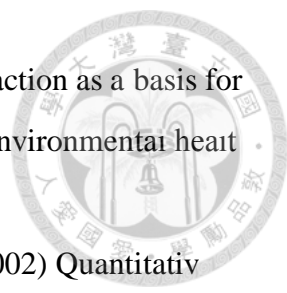
Feng Y, Smith z, Fang x, Xu M and Dai J (2009) Perfluorononanoic acid induces apoptosis involving the Fas death receptor signaling pathway in rat testis. *Toxicol*


Fromme H, Schlummer w, Moller Gruber L, Woitz q, Ungewiss J, Bobmer s, Dekant w, Mayer and Twardella D (2007) Exposure of an adult Population to perfluorinated substances using duplicate diet portions and biomonitoring data. *Environ Sci Technol* 41 : 7928-7933.

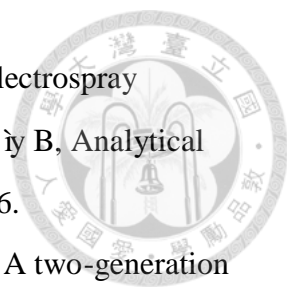
Fromme H, Tittlemier SA, Volkel W, Wilhelm M and Twardella D (2009) Perfluorinated compounds. *Public Health* 124 : 367-375.

Gilliland FD and Mandel JS (1993) Mortality among employees of a perfluorooctanoic acid production plant. *Occup Med* 35 : 950-954.

Guyton KZ, Chiu WA, Bateson Tf, Jinot J, Scott CS, Brown RC and Caldwell JC

- 
- (2009) A reexamination of the PPAR-alpha activation mode of action as a basis for assessing human cancer risks of environmental contaminants. *Environmental Health Perspectives* 111:1664-1672.
- Hansen KJ, Johnson HO, Eldridge JS, Butenhof JL and Dick LA (2002) Quantitative characterization of trace levels of PFOS and PFOA in the Tennessee River. *Environmental Science and Technology* 36 : 1681-1685.
- Harada K, Nakanishi S, Saito N, Tsutsui T and Koizumi A (2005) Airborne perfluorooctanoate may be a substantial source of contamination in Kyoto area, Japan. *Bioenvironmental Contamination Toxicology* 74 : 64-69.
- Haug LS, Thomsen C and Becher G (2009) A sensitive method for detection of a broad range of perfluorinated compounds in serum suitable for large-scale human biomonitoring. *Journal of Chromatography A* 1216 : 385-393.
- Hitchens TK, Ye Q, Eytan D, Janjic JM, Ahrens ET and Hockley C (2011) ¹⁹F MRI detection of acute allograft rejection with in vivo perfluorocarbon labeling of lymphocytes. *Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 65 : 1144-1153.
- Holzer J, Midasch O, Rauchfuss K, Kraft M, Reupert K, Angerer J, Kleeschulte E, Marschall N and Wilhelm M (2008) Biomonitoring of perfluorinated compounds in children and adults exposed to perfluorooctanoate-contaminated drinking water. *Environmental Health Perspectives* 116 : 651-657.
- Hundley SG, Sarrif AM and Kennedy GL (2006) Absorption, distribution and excretion of ammonium perfluorooctanoate (APFO) after oral administration to various species. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 29 : 137-145.
- Jahnke A, Aens L, Ebinghaus R and Temme C (2007) Urban versus remote air concentrations of fluorotelomer alcohols and other polyfluorinated alkyl substances in Germany. *Environmental Science and Technology* 41 : 745-752.
- Jones PD, Hu WY, De Coen W, Newsted JL and Giesy JP (2003) Binding of perfluorinated fatty acids to serum proteins. *Environmental Toxicology and Chemistry* 22 : 2639-2649.

- 
- Kannan K, Tao L, Sinclair E, Pastva SD, Jude DJ and Giesy JP (2005) Perfluorinated compounds in aquatic organisms at various trophic levels in a Great Lakes food chain. *Arch Environ Con Tox* 48 : 559-566.
- KarTman A, Ericson I, van Bavel B, Damerud PO, Aune M, Glynn A, Lignell s and Lindstrom (2007) Exposure of perfluorinated chemicals through lactation : Levels of matched human milk and serum and a temporal trend, 1996-2004, in Sweden. *Environ Health Persp* 115 : 226-230.
- Karrman A, Mueller JF, Van Bavel B, Harden F, Toms LML and Lindstrom G (2006) Levels of 12 perfluorinated chemicals in pooled Australian serum collected 2002-2003, in relation to age, gender, and region. *Environ Sci Technol* 40 : 3742-3748.
- Keller JM, Kannan K Taniyasu s, Yamashita N, Day RD, Arendt MD, Segars AL and Kucklick JR (2005) Perfluorinated compounds ; n the nlaqma nf lnpperlml adrenocortical carcinoma (H295R) in vitro II asy. *Toxicol Lett* 205 : 62-71
- Kuklenyik z, Needham LL and Calafat AM (2005) Measurement of 18 perfluorinated organic acids and amides in human serum using on-line solid-phase extraction. *Anal Chem* 77 : 6085-6091.
- Lau c, Anitole k Hodes c, Lai D, Pfahles-Hutchens A and Seed J (2007) Perfluoroalkyl acids : A review of monitoring and toxicological findings. *Toxicol Sci* 99 : 366-394.
- Lau c, Thibodeaux JR, Hanson Rq Rogers JM, Grey BE, Stanton ME, ButenhofF JL and Stevenson LA (2003) Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. II : Postnatal evaluation. *Toxicol Sci* 74 : 382-392.
- Lelunann KP, Phillips s, Sar M, Foster PMD and Gaido KW (2004) Dose-dependent alterations in gene expression and testosterone synthesis in the fetal testes of male rats exposed to di (n-butyl) phthalate. *Toxicol Sci* 81 : 60-68.
- Leon Sharge ABCY ed (1999) *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics* Appleton & Lange, New York.
- Liao HT, Hsieh CJ, Chiang SY, Lin MH, Chen PC and Wu KY (2011) Simultaneous analysis of chlorpyrifos and cypermethrin in cord blood plasma by online solid

- 
- phase extraction coupled with liquid chromatography, heated electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences* 879 : 1961-1966.
- Lieder PH, York Rq Hakes DC, Chang SC and ButenhofF JL (2009) A two-generation oral gavage reproduction study with Potassium perfluorobutanesulfonate (PFBS) in Sprague Dawley rats. *Toxicology* 259 : 33-45.
- Lin AYC, Panchangam SC and Lo CC (2009) The impact of semiconductor, electronics and optoelectronic industries on downstream perfluorinated chemical contamination in Taiwanese rivers. *Environ Polut* 157 : 1365-1372.
- Loccisano AE, Campbell JL, Jr., Butenhoi'JL, Andersen ME and Clewell HJ, 3rd (2011) Comparison and evaluation of pharmacokinetics of PFPOA and PFOS in the adult rat using a physiologically based pharmacokinetic model. *Reprod Toxicol*.
- Loos k Locoro q Huber T, Wollgast J, Christoph EH, De Jager A Gawlik BM, Hanke q Umlauf G and Zaldivar JM (2008) Analysis of perfluorooctanoate (PFOA) and other perfluorinated compounds (PFCs) in the River Po watershed in N-Italy. *Chemosphere* 71 : 306-313.
- Luebke r DJ, Case MT, York Rq Moore JA, Hansen KJ and ButenhofFJL (2005a)' J I p "Hu" octm" lfonate (PFOS) in rats. *Toxicology* 215 : 126-148.
- Luebker DJ, Hansen KJ, Bass NM, ButenhofF JL and Seacat AM (2002) Interactions of fluorochemicals with rat liver fatty acid-binding protein. *Toxicology* 176 : 175-185.
- Luebker DJ, York Rq Hansen KJ, Moore JA and Butenhofì JL (2005b) Neonatal mortality from in utero exposure to perfluorooctanesulfonate (PFOS) in Sprague Dawley rats : Dose-response, and biochemical and pharmacokinetic parameters. *Toxicology* 215 : 149-169.
- Martin JW"uir DCG Moody CA. Ellis D Kwan WC. Solomon KR and Mabury SA (2002) Collection of airborne fluorinated organics and analysis by gas chromatography chemical ionization mass spectrometry. *Anal Chem* 74 : 584-590.
- Melzer D, Rice N, Depledge MH, Henley WE and Galloway TS (2010) Association between Serum Perfluorooctanoic Acid (PFOA) and Thyroid Disease in the US National Health and Nutrition Examination Survey. *Environ Health Persp* 118 :

686-692.

Meussdoerfer JN and Niederprum H (1980) Fluorinated Surfactants and Fluorinated Oil and Water Repellents-Perfluoro Surfactants. Chem Ztg 104 : 45-52.

Nakagawa H, Hirata T, Terada T, Jutabha p, Miura D, Harada KH, Inoue K, Aoki N, Endou H, Inui KI, Kanai Y and Koizumi A (2008) Roles of organic anion transporters in the renal excretion of perfluorooctanoic acid. Basic Clin Pharmacol 103 : 1-8.

Ohmori Kudo N, Katayama K and Kawashima Y (2003) Comparison of the toxicokinetics between perfluorocarboxylic acids with different carbon chain length Toxicology 184 : 135-140.

Olivero-Verbel J, Tao L, Johnston-Restrepo B, Guette-Fernandez J, Baldiris-Avila K, O'byrne-Hoyos I and Kannan K (2006) Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in biological samples from the north coast of Colombia Environ Pollut 142 : 367-372.

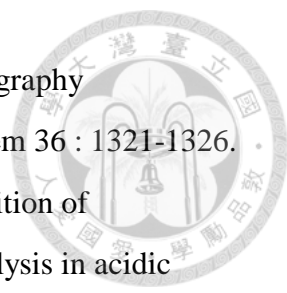
Oken GW, Buiris M, Ehresman DJ, Froehlich JW, Seacat AM, Butenhoff JL and Zobel LR (2007) Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, production workers. Environ Health Persp 115 : 1298-1305.

Olsen GW, Chang SC, Noker PE, Gomran GS, Ehresman DJ, Lieder PH and Butenhoff JL (2009) A comparison of the pharmacokinetics of perfluorobutanesulfonate (PFBS) in rats, monkeys, and humans. Toxicology 256 : 65-74.

Olsen GW, Church TK, Miller JE, Burris JM, Hansen KJ, Lundberg m, Armitage JB, Herron RM, Medhdizadehkashi L, Nobiletti JB, O'Neill EM, Mandel JH and Zobel LR (2003a) Perfluorooctanesulfonate and other fluorochemicals in the serum of American Red Cross adult blood donors. Environ Health Persp 111 : 1892-1901.

Olsen GW, Hansen KJ, Stevenson LA, Burris JM and Mandel JH (2003b) Human donor liver and serum concentrations of perfluorooctanesulfonate and other perfluorochemicals. Environ Sci Technol 37 : 888-891.

Pan w, Shi YL and Cai YQ (2008) Determination of Perfluorinated Compounds in

- 
- Human Blood Samples by High Performance Liquid Chromatography
Electrospray Tandem Mass Spectrometry. Chinese Journal of Chemistry 36 : 1321-1326.
- Panchangam SC, Lin AYC, Shaik KL and Lin CF (2009) Decomposition of
perfluorocarboxylic acids (PFCAs) by heterogeneous photocatalysis in acidic
aqueous medium. Chemosphere 77 : 242-248.
- Renner R (2003) Concerns over common perfluorinated surfactant. Environ Sci
Technol 37 : 201a-202a.