

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

棉酚對於國人健康風險評估
Health risks assessment of gossypol
in Taiwanese population

邢化萱

Hua-Hsuan Hsing

指導教授：吳焜裕 博士

Advisor: Kuen-yuh Wu, Ph.D.

中華民國 106 年 7 月

July, 2017



國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書

棉酚對於國人健康風險評估
Health risk assessment of gossypol in Taiwanese population

本論文係邢化萱君 (R03841029) 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 106 年 7 月 25 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：

| | |
|-----------------|------------|
| <u>吳焜裕</u> (簽名) | |
| (指導教授) | |
| <u>李 志元</u> | <u>鄭育仁</u> |
| <u>楊 存 友</u> | |
| | |
| | |

中文摘要



2013 年，臺灣發生「棉籽油事件」，引起國內對於棉酚的關注，棉酚已被證實具有生殖毒性，會抑制男性的精子生成，導致無精子症，且毒性作用具不可逆性；對女性會導致子宮內膜萎縮和閉經症。文獻指出棉酚在動物組織中具有蓄積性，過去五年國內進口近十公噸的棉仔粕用於動物飼料中，推測相關農產品可能殘留棉酚，且國人可能因動物源性食品而暴露；鑒於目前仍未有棉酚對於國人健康影響等相關研究，因此本研究目的之一為評估棉酚對於國人的健康風險；第二是初步探討棉酚和不孕症的相關性。

健康風險評估採用世界衛生組織(WHO)的食品中化學物質之健康風險評估流程進行，而暴露評估則使用貝氏統計馬可夫鏈蒙地卡羅(BSMCMC)的抽樣方法作模擬，根據文獻中棉酚殘留的實驗數據或參數，建立模擬動物源性食品中棉酚的模型，得到合理的事後分布，並配合國家攝食資料數據估算終生平均每日暴露劑量(LADD)和危害指標(HI)。在資料有限的情況下，本研究假設兩種暴露情境，結果危害指標均大於 1，顯示棉酚對於國人的健康風險需要重視，並以此結果推算飼料中游離棉酚的建議含量，建議未來應對飼料和食品中棉酚殘留進行系統性監測。

本研究初探的個案來自茂盛醫院，共招募 28 位不孕症患者，透過問卷收集人口學變項、生活習慣和飲食習慣等，以及受試者血液檢體，並建立人體血漿中棉酚的線上固相萃取搭配液相層析串聯質譜儀方法，分析受試者血漿中棉酚含量。本研究的分析方法具有良好的線性($r^2 > 0.995$)，同日和異日的準確度與精密度皆落在 15% 誤差範圍內，偵測極限(LOD)為 0.25 ng/ml，而定量極限(LOQ)為 1 ng/ml。結果於 1 位受試者血漿中成功偵測到低濃度的棉酚，雖因樣本數的限制，無法更進一步探討與不孕症相關性，但仍可證實國人的棉酚暴露，未來研究需要較長時

間來納入更多不孕症和控制組受試者，另外亦可針對分析方式進行改善，如增加棉酚代謝物以及精液分析，來評估棉酚與不孕症的相關性。



關鍵字：棉酚、不孕症、貝氏統計馬可夫鏈蒙地卡羅、液相層析串聯式質譜儀

Abstract



In 2013, a food safety incidence occurred in some manufactures had illegally mixed cottonseed oil into other forms of cooking and edible oil. This event evoked public health concern. As an anti-fertility agent, gossypol was studied mainly in relation to its inhibition of spermatogenesis; however, the result shows that the spermatogenesis suppression is irreversible. For woman, gossypol resulted in amenorrhea and atrophic endometrium.

There is a lack of study on health effect of gossypol in Taiwan. Therefore, this study aims to demonstrate a health risk assessment process for Taiwanese to assess the potential health risk of gossypol in animal revived food. Second, we conducted a pilot study of the association between the infertility disease and gossypol exposure by developing an on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method to analyze gossypol in human serum.

Human health risk assessment was conducted using the United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA) risk assessment process. For exposure assessment, exposure levels given two exposure scenarios were simulated by Bayesian Statistic Markov chain Monte Carlo (BSMCMC). The information of gossypol residues was collected along with the residues model estimation as the prior distribution. The updated distribution of the estimated exposure was then used to determine the life average daily dose (LADD) and the hazard index (HI). As the result, the hazard indexes were all greater than 1, indicated the exposure of gossypol in Taiwan should be concerned. Thus, we estimated the recommended free gossypol

residues in animal feedstuffs. It is important to monitor the gossypol residues in food and in animal feedstuffs systematically in the future.

With REC approval and informed consented, a total of 28 infertility diseases patients at a hospital in Middle Taiwan were recruited in this pilot study. Subjects were asked to fill in the questionnaire to understand their diet and health conditions, and then the blood of subjects were collected.

The analysis method in this study provides good accuracy, precision and linearity. Low concentration of gossypol ($> \text{LOQ}$) was detected in one subject. This study successfully applied an analysis method to detect low concentration of gossypol to prove intake of gossypol. We recommend recruiting more patients to further discuss the association between the infertility disease and gossypol exposure. Besides, the analysis method could be improved by detecting semen samples and additional analytes.

Keyword: Gossypol, infertility disease, LC-MS/MS, BSMCMC

目錄



| | |
|-----------------------------------|------|
| 口試委員會審定書..... | i |
| 中文摘要..... | ii |
| Abstract..... | iv |
| 目錄..... | vi |
| 圖目錄..... | viii |
| 表目錄..... | ix |
| 第一章 簡介..... | 1 |
| 1.1 前言 | 1 |
| 1.2 棉酚(Gossypol) | 1 |
| 1.3 棉酚毒性機制 | 4 |
| 1.4 棉酚毒物動力學 | 6 |
| 1.5 國人棉酚暴露 | 7 |
| 1.5.1 暴露途徑 | 7 |
| 1.5.2 食品中棉酚殘留 | 7 |
| 1.6 健康風險評估 | 8 |
| 1.6.1 暴露劑量評估 | 9 |
| 1.6.2 貝氏統計馬可夫鏈蒙地卡羅模擬法 | 10 |
| 1.6.3 攝食資料庫 | 11 |
| 1.7 不孕症(Infertility disease)..... | 11 |
| 1.8 分析方法回顧 | 12 |
| 第二章 研究目的..... | 14 |
| 第三章 材料與方法..... | 15 |
| 3.1 健康風險評估架構 | 15 |
| 3.2 參考劑量(RfD)..... | 16 |
| 3.2.1 危害辨識 | 16 |
| 3.2.2 劑量反應關係 | 17 |
| 3.3 暴露劑量評估 | 18 |
| 3.3.1 食品中游離棉酚殘留 | 18 |
| 3.3.2 攝食資料庫 | 20 |
| 3.3.3 BSMCMC 模式建立..... | 20 |
| 3.4 風險特性化 | 21 |
| 3.5 化學標準品與溶劑 | 21 |
| 3.6 儀器設備及耗材 | 22 |
| 3.7 樣本收集及前處理方法 | 23 |

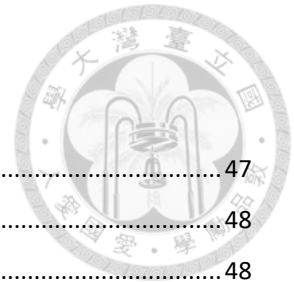
| | | |
|--------|-------------------------|----|
| 3.8 | 儀器分析 | 23 |
| 3.8.1 | 標準溶液配製 | 24 |
| 3.8.2 | 分析方法開發 | 24 |
| 3.9 | 質譜條件最佳化 | 25 |
| 3.10 | 分析方法確效 | 25 |
| 3.10.1 | 校正曲線的配製及結果 | 25 |
| 3.10.2 | 偵測極限與定量極限 | 26 |
| 3.10.3 | 同日及異日之精密度與準確度 | 26 |
| 3.10.4 | 基質效應 | 26 |
| 3.11 | 品質管制，定量與資料分析 | 27 |
| 3.12 | 應用軟體 | 28 |
| 第四章 | 結果 | 29 |
| 4.1 | 健康風險評估 | 29 |
| 4.1.1 | 參考劑量 | 29 |
| 4.1.2 | 飼料與動物性食品中游離棉酚 | 29 |
| 4.1.3 | LADD 和 HI | 30 |
| 4.2 | LOD、LOQ、校正曲線、基質效應 | 31 |
| 4.3 | 同日及異日之精密度與準確度 | 31 |
| 4.4 | 樣本分析 | 31 |
| 第五章 | 討論 | 33 |
| 5.1 | 健康風險評估 | 33 |
| 5.1.1 | 飼料中游離棉酚建議值 | 36 |
| 5.2 | 棉酚與不孕症 | 36 |
| 5.3 | 研究限制 | 37 |
| 第六章 | 結論與建議 | 39 |
| 參考文獻 | | 41 |
| 附錄 | | 92 |

圖目錄



| | |
|--|----|
| 圖 1、(±)棉酚異構物的化學結構式[1] | 2 |
| 圖 2、健康風險評估四個步驟 | 10 |
| 圖 3、每人每年的肉品可供消費量 | 13 |
| 圖 4、R-(-)-GOSSYPOL-DIAMINO-PROPANOL (GDP)的合成方法 | 24 |
| 圖 5、棉酚的劑量反應關係-以 GAMMA MODEL 為例 | 29 |
| 圖 6、2011-2016 年棉籽和棉籽油渣餅及固體殘渣之進口數量 | 49 |
| 圖 7、2011-2016 年粗製棉籽油和精煉棉籽油之相關製品的進口數量 | 49 |
| 圖 8、2006-2015 年全民健保不孕症就診率 | 51 |
| 圖 9、ONLINE-SPE LC-MS/MS 分析系統 | 53 |
| 圖 10、配製於乙腈中之標準品和內標準品的最佳化層析圖 | 56 |
| 圖 11、SPRAY VOLTAGE 條件最佳化 | 57 |
| 圖 12、VAPORIZER TEMPERATURE 和 CAPILLARY TEMPERATURE 條件最佳化 | 57 |
| 圖 13、SHEATH GAS PRESSURE 和 AUXILIARY GAS PRESSURE 條件最佳化 | 58 |
| 圖 14、本研究進行的健康風險評估架 | 59 |
| 圖 15、暴露情境(一)的評估流程 | 60 |
| 圖 16、暴露情境(二)的評估流程 | 61 |
| 圖 17、肉雞飼料中棉酚含量與肌肉組織殘留的相關性 | 63 |
| 圖 18、肉雞飼料中棉酚含量與各內臟殘留的相關性 | 64 |
| 圖 19、肉豬飼料中棉酚含量與各內臟組織中殘留的相關性 | 65 |
| 圖 20、羔羊飼料中棉酚含量與各內臟組織中殘留的相關性 | 66 |
| 圖 21、OPENBUGS 程式語言編寫 | 68 |
| 圖 22、OPENBUGS 程式語言編寫(續一) | 69 |
| 圖 23、OPENBUGS 程式語言編寫(續二) | 70 |
| 圖 24、配置於空白血漿中的低濃度檢量線 | 71 |
| 圖 25、配置於空白血漿中的高濃度檢量線 | 71 |
| 圖 26、配置於空白血漿中的品質控制樣本(10PPB)層析圖 | 74 |
| 圖 27、受試者血漿中偵測到棉酚的層析圖 | 75 |
| 圖 28、模式中各參數的抽樣 DENSITY | 80 |
| 圖 29、模式中各參數的 MCMC 收斂情形 | 80 |
| 圖 30、情境二中各年齡層在不同食品品項的風險 | 90 |

表目錄



| | |
|--|----|
| 表 1、棉酚在不同物種間的毒物動力學參數 | 47 |
| 表 2、棉籽、棉籽油和棉籽粕中的棉酚含量 | 48 |
| 表 3、國內農產品的棉酚殘留抽檢結果 | 48 |
| 表 4、不同物種間器官和組織中的棉酚蓄積性研究 | 50 |
| 表 5、血漿中棉酚及其衍生物的分析方法回顧 | 52 |
| 表 6、最佳化之層析梯度和移動相流速 | 54 |
| 表 7、棉酚及其內標準品的前驅離子、產物離子、撞擊能量和毛細管電壓 | 55 |
| 表 8、最佳化後游離源條件 | 58 |
| 表 9、棉酚作為男性避孕藥試驗之劑量反應關係 | 62 |
| 表 10、不同禽畜飼料中棉酚最高濃度推估 | 62 |
| 表 11、攝食資料庫參考數據品項 | 67 |
| 表 12、基質效應 | 72 |
| 表 13、同日與異日準確度和精密度 | 73 |
| 表 14、不孕症個案的人口特徵統計 | 76 |
| 表 15、各模式特性與 BMDL 值(在 95%信賴區間下以及 BMR 10%) | 79 |
| 表 16、兩種情境中各品項的游離棉酚推估濃度 | 81 |
| 表 17、使用 TFDA 公告分析方法之定量極限估算食用油的 LADD 及 HI | 82 |
| 表 18、情境(一)中各年齡層食用豬肉和豬內臟的 LADD 及 HI | 83 |
| 表 19、情境(一)中各年齡層食用羊肉和羊內臟的 LADD 及 HI | 84 |
| 表 20、情境(二)中各年齡層食用雞肉和雞內臟的 LADD 及 HI | 85 |
| 表 21、情境(二)中各年齡層食用豬肉和豬內臟的 LADD 及 HI | 86 |
| 表 22、情境(二)中各年齡層食用羊肉和羊內臟的 LADD 及 HI | 87 |
| 表 23、情境(二)中各年齡層食用雞蛋的 LADD 及 HI | 88 |
| 表 24、各年齡層食用各品項動物源性食品的總風險 | 89 |
| 表 25、經模式模擬棉酚在飼料劑量與組織殘留濃度的相關係數 | 91 |
| 表 26、不同禽畜中肌肉與內臟組織的含水量 | 92 |

第一章 簡介



1.1 前言

2013 年，台灣發生「油品混充」事件，起因為不肖業者進口便宜的棉籽油 (Cottonseed oil) 混充高價油品販售，當時影響遍及全台，因粗製棉籽油含有棉酚 (Gossypol)，必須經過精煉方可作為食用油，而棉酚對人類具有生殖毒性，故引發國人對於棉酚的關注；當時國內並未有油品中棉酚的含量標準，為此臺灣衛生福利部食品藥物管理署 (Taiwan Food and Drug Administration, TFDA) 緊急宣布食用油中游離棉酚之檢驗方法，並規定食用油品中不得檢驗出棉酚，事後清查混充油品，雖未檢驗出棉酚，但查閱進口資料顯示近年來棉籽和棉籽粕進口數量大增，而棉籽粕又可添加於動物飼料中，且文獻證實棉酚在動物組織中具有蓄積性，顯示國人暴露棉酚的風險須被重視。

1.2 棉酚 (Gossypol)

棉酚，分子式為 $C_{30}H_{30}O_8$ ，分子量為 518.55，是一種天然的多酚類，含有四個苯環以及兩個醛酸官能基的有機化合物，常溫下為深黃色晶體，難溶於水而易溶於有機溶劑和脂肪。棉酚來自於棉花植物，存在於莖、葉、花和種子中，其中以種子內含量最高；主要作為天然的殺蟲劑，抵抗病蟲害。

化學結構上，連結分子對稱結構的鍵結因旋轉上的阻礙，形成了非極性且兩折疊對稱軸的分子型態，使棉酚分子具有對掌性，因此棉酚又以兩種鏡像異構物 (+) 和 (-) 存在，(+) 棉酚為 S 型態，(-) 棉酚為 R 型態 [1]，如圖 1；(+) 和 (-) 棉酚一般來說會同時存在於棉花中，(+) 棉酚含量會較高 [2]，但仍因棉花種類的不同而異。棉酚結構中帶有醛基，易於和胺類反應，包含蛋白質中的游離胺基 [3] 以及希夫鹼 (Schiff bases)，反應後會轉換成另一種產物，稱為結合態棉酚 (Bound gossypol)，反應所形成的共價鍵結使棉酚無法被溶劑萃取，但可利用加酸讓棉酚

再次游離；在毒性上，結合態棉酚其毒性會減弱，甚至沒有毒性，但會使原本的蛋白質失去功能。

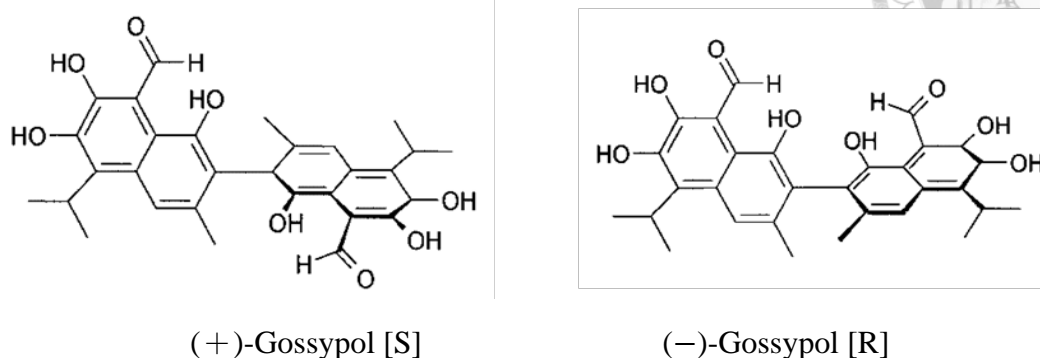


圖 1、(±)棉酚異構物的化學結構式[1]

棉酚已被證實具有生殖毒性，2010 年有研究觀察不同劑量的 Gossypol acetic acid(GAA)對於雄性大鼠的效用，劑量以腹腔注射的方式分別給予 0、5、10 以及 20 mg/kg b.w.，暴露時間為一週五天，持續兩週，結果發現暴露組在精子數量、精子活動力、血清中睪固酮、黃體生成素和促濾泡成熟激素有顯著的下降，在睪丸病理組織方面，發現暴露組大鼠其精子生成減少，賽爾托利氏細胞(Sertoli cell)產生細胞毒性，且曲細精管亦有退化的現象[4]。2008 年 Shaaban 等人觀察到棉酚會影響雄兔精漿中生化參數和酵素活性，結果顯示精漿中總蛋白和白蛋白顯著增加，而總脂質顯著減少；酵素方面，精漿中的乳酸脫精酶(lactate dehydrogenase)和谷丙轉氨酶(alanine aminotransferase)的活性在低劑量組顯著下降，反之，在高劑量組顯著提升，而鉀離子濃度在高劑量組顯著下降，鈉離子濃度顯著增加，在停藥之後，雄兔精漿中的酵素活性和鉀離子濃度降低現象為不可逆反應[5]；過去亦有研究觀察到棉酚會抑制雄猴的精子生成能力[6, 7]。

1985 年 Gu 等人觀察到雌性大鼠在注射棉酚後，卵巢重量顯著減少，且動情間期(Diestrus)被影響，使動情週期(oestrous cycles)延長[8]。同年 Lin 等人觀察週期正常以及懷孕的大鼠，在注射棉酚後，血清中的黃體素和雌二醇-17-β 的濃度顯著下降，因此推斷棉酚對於女性生育控制是有效用[9]。1992 年 Randel 等人指

出棉酚會影響腦下垂體和卵巢的賀爾蒙分泌，導致雌性齧齒動物的動情週期被擾亂[10]。

在流行病學上，有學者觀察到中國江蘇某個村莊於 1930 年至 1940 年間皆無新生兒誕生，後來有研究指出此次不孕事件的主因為村民食用了含有大量棉酚的棉籽油[11]；在 1960 年間，中國湖北和河北省的農民因食用了未精煉的自製棉籽油，導致疲勞以及身體和面部出現熱潮紅等症狀[12]，此後，棉酚被作為男性的避孕藥或女性的治療用藥來研究；過去中國曾進行一項大規模的人體試驗，七年間共多達八千多位男性受試者，服用 20 mg/day 的(±)棉酚作為避孕藥使用，該研究結果顯示了棉酚良好的效用和耐受度，且不會造成血壓或生化參數的變化，但仍有少數受試者出現低血鉀(hypokalemia)的副作用，該研究指出若服用藥物時間過長，停藥後其精子恢復緩慢，有可能會導致永久性不孕[13-15]。後來亦有研究進行人體試驗，共有 202 位來自不同種族的受試者，包含巴西、肯亞、奈及利亞和中國，案例組有 151 位受試者，控制組為 51 位，在試驗前段，受試者服用 15mg/day 的(±)棉酚(約為 0.24 mg/kg b.w./day)，長達 12 至 16 週，若受試者的精子生成已被抑制，則進入下個階段，第二階段會將受試者隨機分配成兩組，分別接受 0.12 和 0.17 mg/kg b.w./day 的棉酚，以較低劑量維持受試者抑制精子生成的作用，此研究觀察到受試者的血鉀皆在正常範圍，濾泡刺激素(FSH)不斷上升，顯示睪丸中史托利氏細胞(Sertoli cells)減少分泌抑制素(inhibin)以及睪丸體積減少，上述現象在停藥後皆恢復；其中 51% 受試者在停藥一年後，精子數量皆恢復到 20 million/mL，但仍有 18% 受試者在停藥一年後維持無精子症的情形，診斷是精索靜脈曲張所導致[16]。

在中國，女性食用自製的棉籽油後出現發熱症(burning fever)和無月經症(amenorrhea)，經理學檢查後應和子宮萎縮相關。有研究將棉酚做為女性治療用藥進行人體試驗，受試者為患有子宮內膜異位(endometriosis)、子宮肌瘤(uterine myomas)和功能性子宮出血(functional uterine bleeding)，前兩至三個月給予 20

mg/day，第四至五個月的期間給予 40 mg/week，結果顯示棉酚導致子宮萎縮和無月經症，而子宮組織切片上檢查出有細胞毒性作用發生並伴隨卵巢功能的系統性作用[12, 17]。

在胚胎毒性和發育毒性上，有研究將單一劑量之棉酚(10 或 20 mg/kg b. w.) 餵食予懷孕期的大鼠，結果並未觀察到母鼠出現負面效應，且對於胚胎退化、胚胎生長和畸形上亦沒有顯著作用[18]；2003 年 Jo 等人發現棉酚會抑制小鼠胚胎的囊胚形成機率，在 *in vitro* 中 2.5 mg/ml 的棉酚會使機率減少 50%[19]；1989 年 Li 等人研究棉酚對於懷孕中小鼠和雞胚胎之作用，結果顯示母鼠體重顯著減輕且子代生長遲緩，而雞胚胎出現高死亡率和畸形，因此推斷棉酚對於小鼠和雞胚胎具有胚胎毒性以及可能致畸胎性[20]。

過去研究顯示棉酚不具有致突變性[19, 20]，在一篇回顧性文獻中指出棉酚不會造成人類淋巴細胞的染色體畸變(Chromosomal aberrations)，亦不影響姊妹染色體交換以及倍數性[21]。致癌性上，1989 年 Ding 等人餵予大鼠 200 mg/kg b.w./day 的棉酚長達六個月，結果並未發現腫瘤，推論棉酚不是腫瘤的起始和促進因子[22]；同年 Gao 等人餵予大鼠棉酚一年，暴露組的腫瘤和其他病灶罹患率並無顯著增加[23]。

1.3 棉酚毒性機制

2003 年 Kovacic 等人的研究指出棉酚有促氧化力和抗氧化力，棉酚和其代謝物具有電子傳遞的功能，在生物系統中電子傳遞鏈的氧化還原特徵，如氧化壓力、活性氧物質的形成和 DNA 分裂皆可做為合理的證據[24]。

數項研究指出棉酚會抑制 11 β -hydroxy-steroid dehydrogenase(11 β -HSD)，11 β -HSD 的作用為氧化腎臟中的皮質醇(cortisol)，成為不活化的皮質醇，以及調節電解液中鉀、鈉離子；在過去人體試驗的研究中發現到受試者出現低血鉀的現象，原因推測為棉酚抑制 11 β -HSD 的作用[25, 26]。

1996 年 Herve 等人進行人體細胞和大鼠細胞的試驗，發現到棉酚對於塞爾托利氏細胞(Sertoli cell)或滋養層細胞(Trophoblastic cells)的通道連結有不可逆的損害，且有劑量反應的關係，在 5 μM 的劑量下，細胞間通訊(Gap junctional intercellular communication, GJIC)會被短暫中斷，但細胞中的鈣離子濃度並不會隨之增加；若長時間暴露 3 μM 棉酚會引發間隙解耦聯(junctional uncoupling)且影響人體細胞的滋養層；該研究指出棉酚會阻斷塞爾托利氏細胞之間溝通的間隙連結，而塞爾托利氏細胞提供生殖細胞(Gem cells)所需的全部營養和激素，而精子生成需要塞爾托利氏細胞之間的直接通訊，因此影響了精子生成[27]。

2008 年 Zhou 等人於 *In vitro* 的實驗中觀察棉酚對於細胞間通訊和蛋白質 Connexin 43 (Cx43)的影響，Cx43 為睪丸中主要的連接蛋白，位於曲細精管的塞爾托利氏細胞和萊氏細胞間，以及塞爾托利氏細胞和生殖細胞間，是細胞間通訊的必要成分之一，維持睪丸正常功能，該研究發現到棉酚會使塞爾托利氏細胞中的間隙連結蛋白質出現胞質離位的現象，且具有時間和劑量的反應關係，此外蛋白質 Cx43 的表現出現減弱的情形，因棉酚帶有醛基，容易和蛋白質中的氨基酸形成非共價或共價鍵結，使蛋白質的結構改變，該研究推測棉酚和 Cx43 反應後造成蛋白質結構被破壞，導致 Cx43 在細胞間通訊的表現下降，進而影響精子生成[28, 29]。

1983 年袁其曉等人觀察醋酸棉酚對於雌性大鼠的抗生育作用，發現醋酸棉酚會使懷孕母鼠血清中的孕酮濃度下降，其中 Δ^5 -3 β -羥甾脫氫酶為卵巢合成孕酮的必須酵素之一，但醋酸棉酚對於母鼠卵巢重量和 Δ^5 -3 β -羥甾脫氫酶的活性並沒顯著影響，該研究推測醋酸棉酚可能是藉由改變孕酮代謝或阻斷內源性孕酮作用；另外該研究在餵食棉酚的同時注射 hCG，結果顯示能夠有效對抗棉酚對於大鼠的抗著床作用，hCG 除了對抗棉酚降低孕酮濃度外，還能促進卵巢重量增加並提高 Δ^5 -3 β -羥甾脫氫酶的活性，該研究指出醋酸棉酚阻斷孕酮的途徑之一可能為抑制或對抗 LH 對黃體功能的支持作用[30]。

近年來研究發現棉酚會誘發細胞凋亡以及抑制癌細胞的增生，推測是和人類前列腺癌 PC3 細胞中的 TGF β 1 被誘發相關，進而影響細胞循環中調節蛋白質 cyclin D1 的表現[31, 32]。



1.4 棉酚毒物動力學

1987 年 Chen 等人比較兩種鏡像異構(±)-棉酚在大鼠體內的代謝情形[33]，以口服的方式給予 10 mg 棉酚後，發現肝臟的棉酚濃度最高，其次分別為脾臟、肺臟、血液、心臟和腎臟，而睪丸和脂肪中濃度較低，(±)-棉酚在組織間分布的情形相似，而大部分棉酚會由糞便排出，極少部分會由尿液排出；(+)-棉酚和(-)-棉酚的半衰期分別為 18.4 小時和 13.5 小時。

2001 年 Gamboa 等人探討棉酚異構物在肉雞組織中的分布情形[34]，餵食雞隻不同來源的棉籽粕長達 21 天，結果顯示肝臟中總棉酚濃度最高，其次是腎臟、血漿和肌肉，且組織中棉酚濃度與飼料中游離棉酚濃度呈線性遞增。2003 年 Yildirim 等人探討飼料中棉酚濃度對於鉗魚(Channel catfish)的生長與免疫之影響[35]，結果顯示肝臟中棉酚濃度和飼料中棉酚含量之間有線性相關($R^2 = 0.991$)。

棉酚經由腸胃道吸收後，在肝臟中代謝，主要以葡萄糖醛酸、硫酸化以及氧化方式進行，過去研究利用同位素標定法(^{14}C -Gossypol)觀察棉酚代謝情形，結果在豬隻尿液中發現到未共軛鍵結的代謝物、葡萄糖醛酸苷以及硫酸鹽，但目前尚無這些代謝物量化數據[36, 37]。2008 年 Jia 等人指出經 4 小時培育後，大鼠和小鼠的血漿中剩餘 10-15% 的棉酚，而在人和狗的血漿中僅剩餘 1-4.7 % 的棉酚；在 *in vitro* 中，研究發現棉酚在肝臟微粒體會快速降解，經 1 小時培育後，小鼠和人的肝臟微粒體中剩餘棉酚分別佔 19.2 % 以及 23.9 %，研究觀察到人和動物的棉酚半衰期相對較長(見表 1) [36, 38, 39]，推測應是棉酚和蛋白質高度結合性所致，為防止棉酚在血液中被清除；而棉酚主要的排出途徑為糞便[33]。



1.5 國人棉酚暴露

1.5.1 暴露途徑

棉酚的暴露途徑為食入，因棉籽可作為食用油料和動物飼料。過去文獻指出中國某村落因食用自製棉籽油而導致大規模的不孕事件[11]，粗製棉籽油含有大量游離棉酚，必須經過精煉才可食用，有研究指出利用加熱和蒸氣的方式可大量降低游離棉酚的含量[40]，而榨油後所剩餘的棉籽殘渣稱為棉籽粕(cottonseed meal)，其蛋白質含量高且價格較大豆便宜，因此可添加於動物飼料中，大部分的游離棉酚在榨油階段已釋出到油品中，故棉籽粕所含游離棉酚濃度相對較低，但仍需再經由加熱或蒸氣方式來降低游離棉酚含量，有文獻指出經加熱後，棉籽粕中游離棉酚的含量可以降至 0.1~0.2 % [41]。2008 年歐洲食品安全局整理 OECD 對於棉籽、精煉棉籽油和棉籽粕中棉酚含量範圍資料(見表 2)，其中精煉棉籽油中的游離棉酚為未檢出，而棉籽粕中游離棉酚含量為 200-17,700 mg/kg dry weight[42]；2016 年 Chen 等人針對國內的農產品進行棉酚殘留分析，在 18 件棉籽、棉籽殼、棉籽餅及棉籽粕樣品中，均分析出棉酚殘留(見表 3)，其中有 4 件棉籽樣品殘留量為 6,347 至 7,325 mg/kg，在動物飼料中，6 件泌乳牛飼料中有 2 件驗出棉酚，殘留濃度為 76 至 206 mg/kg，而 6 件家禽飼料中皆未檢驗出棉酚 [43]。

1.5.2 食品中棉酚殘留

2012 年衛生福利部公告棉籽油為可供食品使用原料，在 2013 年爆發棉籽油事件後，食品藥物管理署針對當時事售油品進行清查和檢驗，結果均為未檢出。在棉籽粕方面，行政院農業委員會規定飼料用棉籽粕中游離棉籽油酚最高含量為 0.04%，依據財政部關務署的統計資料顯示 2011 年至 2016 年間進口將近一萬多公噸的棉籽粕(如圖 6)，且精煉棉籽油進口數量增加(如圖 7)；棉籽油事件後，農委會清查棉籽粕流向，有九成棉籽粕添加於動物飼料中，其餘作為菇類太空包的介質，顯示目前國內畜牧業者確實有使用棉籽粕。過去有不少研究指出，餵食

家禽、畜含有不同劑量棉酚的飼料或是棉籽粕，其肌肉和臟器組織中皆可分析出棉酚殘留，皆以肝臟中殘留濃度最高，肌肉組織殘留濃度較低，且劑量和殘留濃度呈線性相關，這些研究顯示了棉酚在動物體內具有蓄積性(見表 4) [44-49]；2016 年 Yuan 等人利用 LC-MS/MS 測定新疆市場中雞肝的棉酚異構物含量，結果 30 份雞肝樣品中有 23 份被檢驗出有游離棉酚，而(±)棉酚的濃度落在 208.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至 1473.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，30 份雞肉樣品中皆未分析出棉酚[50]，而過去文獻也對牛乳中棉酚殘留進行研究，結果未分析出游離棉酚[43, 51]；2016 年 Chen 等人於國內檢驗 5 件生乳樣品和 4 件菇類子實體樣品，均未檢出棉酚殘留[43]，但目前尚缺乏其他禽畜產品中棉酚殘留的相關資訊，唯由文獻與進口資料推測國人可能因食用動物源性食品而暴露棉酚。

1.6 健康風險評估

依世界衛生組織(WHO)的定義，食品中化學物質的健康風險評估包含四個基本步驟，分別為危害辨識(Hazard identification)、劑量反應評估(Dose-response assessment)、飲食暴露評估(Dietary exposure assessment)以及風險特性化(Risk characterization) (見圖 2)。

1. 危害辨識(Hazard identification)利用毒理研究或人體試驗來得知化學物質潛在的不良效應，並確定產生不良效應所須的暴露條件以及評估劑量反應關係；試驗的選擇應以能夠反映人體暴露情況、頻率和時間為優先。

2. 劑量反應評估(Dose-response assessment)一般採取的方式之一為建立健康指引值，如每日容許攝取量(ADI)或每日耐受劑量(TDI)，意即“沒有明顯健康風險”的人體暴露量，此方法適用於食品添加物或食品中農藥、動物用藥的殘留等暴露情況。劑量反應關係描述人體不良健康效應的可能性和嚴重度與化學物質暴露情形具相關性，利用動物實驗或人體試驗中劑量與反應的數據來建立模式，推測特定劑量下可能引起的健康效應。對於非致癌性物質會建立健康指引值，過去

通常利用 NOAEL 或 LOAEL，並考慮變異性和不確定性後所得之估計值；現今利用數學模式評估多種數據，不只局限於單一的 NOAEL 或 LOAEL 值，而發展出 Benchmark Dose (BMD) 或 Benchmark Dose Lower-confidence Limit (BMDL)，用以計算健康指引值。

3. 飲食暴露評估(Dietary exposure assessment)是利用食品攝食量和食品中化學物質含量數據，得到飲食中暴露量的估計值，再將此暴露估計值與相關的健康指引值或毒理學上的 POD(如 NOAEL、BMDL)比較，評估方法可分為兩種，一種為單一點估計，另一種是對消費者暴露的全分布進行描述。點估計法又可細分三種方法：(1)篩選法；(2)依靠對攝食量粗估的暴露評估方法；(3)依實際食品攝食數據和食品中化學物質含量進行暴露評估。

4. 風險特性化(Risk characterization)是將劑量反應關係和暴露評估的訊息整合後，針對非致癌性物質，將估計的人體暴露量和健康指引值進行比較，可提供風險管理者科學建議。此步驟應考量不確定性與變異性，不確定性是指風險評估者對時所使用的數據和模型了解的侷限性；而變異性反映了暴露或效應存在有生物異質性，應加以描述之。

1.6.1 暴露劑量評估

暴露劑量評估是藉由測量或估算人體暴露於飲食中化學物質的暴露量、頻率以及時間之過程，而食品中化學物質的含量數據來源包含最大限值(Maximum levels, MLs)、最大殘留限值(Maximum residue limits, MRLs)、建議最高使用量、監測數據、總膳食研究(TDS)、動物用藥殘留試驗、農藥監測試驗以及相關科學文獻等，其中最精確的方式為檢測食品而得到的數據。

暴露劑量推估包含 Applied dose、Potential dose 以及 Internal dose。Applied dose 是指在吸收屏障的有害物質被吸收的量；Potential dose 是指食入、吸入或是皮膚接觸到有害物質的量；Internal dose 是指被吸收且可與人體特定受器產生生物交互的量。本研究的暴露評估是估算 Potential dose，以貝氏統計馬可夫鏈蒙

地卡羅的方式來估算國人經由攝食途徑的棉酚暴露量。

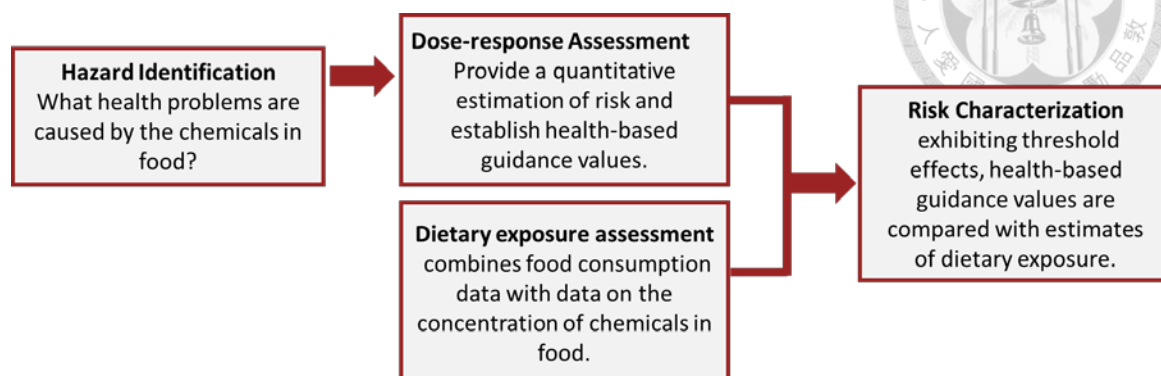


圖 2、健康風險評估四個步驟

1.6.2 貝氏統計馬可夫鏈蒙地卡羅模擬法

貝氏統計馬可夫鏈蒙地卡羅模擬法(Bayesian Statistic Markov chain Monte Carlo Simulation, BS/MCMC)所用的概念分為貝氏統計和蒙地卡羅馬可夫鏈兩部分，其中貝式統計的原始定義如下：

$$P(A|B) = \frac{P(B|A)P(A)}{P(B)}$$

$P(A)$ 和 $P(B)$ 表兩事件發生的機率； $P(A|B)$ 表示當 B 為真的條件下事件 A 發生的機率；而 $P(B|A)$ 表示當 A 為真條件下事件 B 發生的機率。

$P(A)$ 和 $P(B)$ 稱為事前機率(Prior)， $P(A|B)$ 稱為事後機率(Posterior)，是指在特定條件下事件發生的機率，而 $P(B|A)$ 則稱為此機率分佈的概似函數(Likelihood)。事後機率可寫成 $\text{Posterior probability} \propto \text{Likelihood} \times \text{Prior probability}$ 。貝氏統計概念模擬優點在於資料稀少的情況下，參考專家意見，包括先前文獻得到的實驗數據或是參數，建立模擬的模型，藉由納入專家意見，可將模式的不確定性降低，得到較接近實際情況的事後分布資料。

馬可夫鏈蒙地卡羅法(Markov chain Monte Carlo, MCMC)為結合馬可夫鏈和蒙地卡羅積分兩個步驟的一種抽樣方法，運用於複雜的機率分布來進行抽樣。蒙地卡羅法是藉由一機率分布，配合電腦運算來模擬參數不確定性，主要特點為大

量反覆疊帶運算，在此模擬下，建立馬可夫鏈矩陣，使抽樣的分布會收斂於特定的機率分布，藉此隨機抽樣出具有代表性的樣本。

1.6.3 攝食資料庫

國家攝食資料庫是利用國民健康營養狀況歷年調查而蒐集、彙整而成，提供各種國人食物攝食量資訊，調查自 2005 年開始，不同年份調查不同年齡族群的資料，可應用於食品安全風險評估。攝食量數據來源依時間和年齡而有所不同，2005 年至 2008 年為 0 至 6 歲以及 19 歲以上的攝食資料，2010 年至 2011 年為國高中生的資料，2012 年為國小學童。飲食分類為符合國人飲食習慣，食物分類結果為 4 層次飲食分類，共有 17 項食物大類、67 項食物小類以及 199 項食物細項及 131 食物品項，其中包括所有民眾對於各食物大、中、小類攝食量的數據，以及特別攝食(Consumer only)各大、中、小類食物的攝食量數據，特別攝食者(Consumer only)為已排除攝食量為 0 者，用以評估一般民眾的所暴露的風險和高暴露族群之風險。其年齡的分層包括 0 - 3 歲(≤ 3 歲)、3 - 6 歲(3 歲以上至 ≤ 6 歲)、6 - 12(6 歲以上至 ≤ 13 歲)、13 - 15 歲、16 - 18 歲、19 - 65 歲、65 歲以上以及 19 - 49 歲的育齡婦女；攝食量數據依不同性別、年齡分層、平均年齡、樣本數，呈現生重、熟重之平均值、最大值、最小值、標準差與標準誤等，所呈現之數據為已加權過的數值。除了攝食量外，該資料庫亦提供了各族群的體重暴露因子，體重呈現相同計算方式數據。

1.7 不孕症(Infertility disease)

不孕症的定義為：結婚後的夫妻，有正常的性行為關係，每周維持 2-3 次的頻率，而且沒有採取任何避孕措施，超過一年以上，仍沒有懷孕的跡象[52]。而在過去幾十年間，有越來越多研究發現到，工業化的國家中的不孕率有增加的趨勢[53-56]；根據世界衛生組織(WHO)的調查顯示，育齡期夫妻的不孕比率約為 8-12%[57, 58]；台灣方面，由健保資料庫得知 2006 年至 2015 年不孕症就診率在

男性約為每十萬人有 81-165 人，女性約為每十萬人有 549-825 人，如圖 8 所示，顯示國內不孕症就診率逐年增加。

影響不孕的因素相當多，如生理因素、生活習慣等，依據國民健康管理署 2012 年人工生殖分析報告中，不孕原因以女性輸卵管以外之其他女性因素佔 38%，包括了排卵功能異常、賀爾蒙失調以及子宮頸黏液分泌異常等，而男性因素佔 20.7%，包含精液異常、睪丸製造精子障礙及精子輸送系統異常等，而男女雙方共同因素佔了 22.7%。根據世界衛生組織(WHO)逐年的精液品質調查顯示，精液品質有下降的趨勢，不論是在精子數量、精液量和精子活動力等[59, 60]；然而影響精液品質的因素眾多，如遺傳、抽菸和喝酒等[61-64]。近年來有研究指出，隨著工業化的發展，環境中許多危害物質也可能是影響精液品質的因素[65-67]，而目前已有人體研究證實棉酚會抑制男性精子生成[13-16]。在女性方面，子宮的不孕因素包含子宮肌瘤、子宮內膜沾黏或子宮內膜異位等情形，影響胚胎著床，而過去人體研究觀察到棉酚會影響子宮內膜，使內膜萎縮或造成無月經症[12, 17]。

隨著高度工業化下，國人肉品可近性逐年提升(如圖 3)，顯示肉品攝食量亦隨之增加，且食用禽畜內臟類食品為國人飲食習慣的一環，推測棉酚可能為影響國人不孕的因素之一。

1.8 分析方法回顧

在生物性樣品分析上，近年來以液相層析-質譜儀法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC/MS)為主(如表 5)。1985 年 Wang 等人使用高效液相層析-電化學檢測器(HPLC-ECD)來建立人體血漿中棉酚的分析方法，目的為提供日後臨床藥物動力學研究使用，檢量線範圍為 5~250 ng/ml，偵測極限為 5 ng/ml [68]。2006 年 Coward 等人使用液相層析-串聯質譜儀法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC/MS/MS)定量分析小鼠體內的棉酚

衍生物(apogossypol) [69]，此衍生物在結構上只缺少兩個醛基，該方法的極低定量極限(Lower Limit of Qualification, LLOQ)為 10 ng/ml。2008 年 Jia 等人參考 Coward[69]的分析方法，同樣使用液相層析-串聯質譜儀法(LC/MS/MS)來分析棉酚和另外兩種衍生物，apogossypol 和 apogossypol hexaacetate，比較三者之間在藥物動力學上的差異[38]。2010 年 Lin 等人使用高效液相層析-紫外光分光光譜儀(HPLC-UV)來定量分析人體血漿中的棉酚，以 R-(-)-gossypol-diamino-propanol (GDP)作為內標準品，該方法的極低定量極限(LLOQ)為 56 ng/ml [70]。

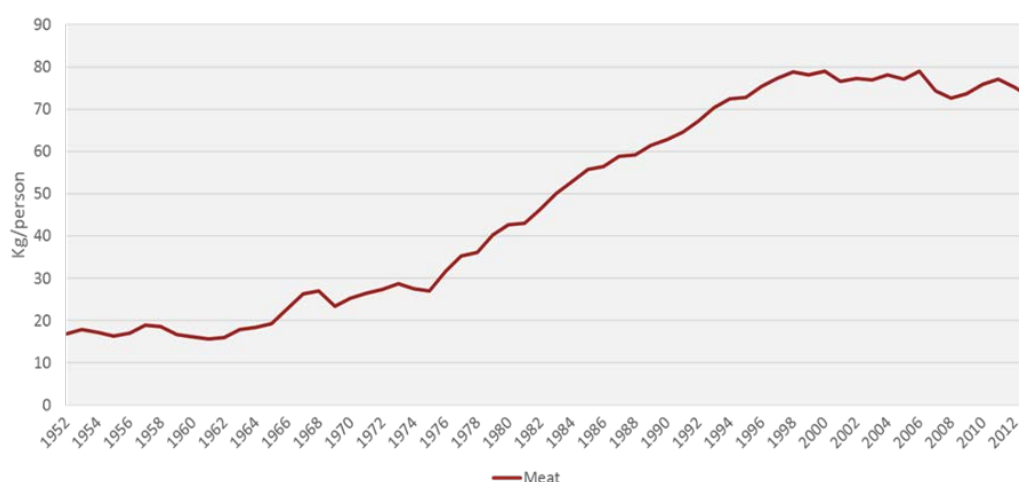


圖 3、每人每年的肉品可供消費量
(摘自 2014 年農業統計概要)

第二章 研究目的

本研究目的之一為評估棉酚對於國人的健康風險，因食用油和肉類製品為國人日常攝取的食物，而目前國內尚缺乏動物性源食品中棉酚殘留的相關研究，故本研究將藉由 BSMCMC 的模式模擬飲食中的棉酚含量並結合國家攝食資料庫的數據來推估國人可能的暴露量，並將風險量化。

第二，本研究將使用 LC-MS/MS 搭配線上固相萃取來建立人體血漿中棉酚的分析方法，回顧過去文獻，2008 年 Jia 等人使用 LC-MS/MS 進行棉酚藥物動力學相關研究，但因層析條件和儀器不同，故分析方法需重新建立，本研究將分析不孕症患者血漿中的棉酚，藉此證實國人從飲食中暴露到棉酚，並初步探討棉酚和不孕症的相關性。

第三章 材料與方法



3.1 健康風險評估架構

本研究所進行的健康風險評估是參考世界衛生組織(WHO)和美國環保署(U.S EPA)的方法，過程需藉由文獻資料與假說的數學模式來進行，先估算棉酚的參考劑量(Reference dose, RfD)，再加以推估國人飲食中的暴露劑量，並將健康風險量化，結果可提供決策者有用的資訊作參考。

本研究將參考 2016 年 Chen 等人檢測國內農產品中棉酚含量，結果 2 件棉籽粕樣品中檢驗出棉酚，6 件家禽飼料中未驗出棉酚[43]，作為國內棉籽粕中濃度依據。因目前國內尚缺乏動物性食品中棉酚殘量的相關研究，故將參考過去文獻在動物實驗中的棉酚殘留數據，1966 年 Sharma 等人進行棉酚對於肉豬組織中蓄積性研究，將 300, 600 mg/kg 的游離棉酚添加於飼料中，分別觀察 14 和 28 天後各組織中的殘留濃度，結果觀察到在肝、腎、心、肺和橫膈膜肌肉等組織中皆有棉酚蓄積[49]。1996 年 Kim 等人進行棉酚異構物在綿羊組織中蓄積性研究，共三隻羔羊分別接受 20 mg/kg/day 和 30 mg/kg/day，時間為 14 天和 16 天，結果觀察到肝、腎、心、肺和肌肉等組織中皆有棉酚蓄積[48]。2006 年 Lordelo 等人進行棉酚對於肉雞的毒性試驗，將 100, 200, 300, 400 mg/kg 的游離棉酚添加於飼料中，餵食 21 天和 42 天後發現在肝、腎、心和肌肉中皆有棉酚蓄積[44]。2007 年 Lordelo 等人進行棉酚對於蛋雞的毒性試驗，將 200, 400 mg/kg 的棉酚異構物添加於飼料中，時間以五天為間距，長達 20 天，結果於蛋黃中檢測出棉酚[45]。

本研究將參考上述文獻資料，以 BSMCMC 的模式模擬方法推估動物源性食品中可能的棉酚殘留濃度以及各年齡層的國人在飲食當中的棉酚暴露量，該方法能以有限的分析數據，提供有效的抽樣代表性，並同時降低食品中棉酚殘留數據中濃度分布的不確定性，進一步使用推估而得之暴露劑量，計算棉酚對於國人的危害指標(Hazard Index, HI)。本研究的評估架構如圖 14，詳細評估步驟將於後

續三節描述。



3.2 參考劑量(RfD)

目前國際間尚未對棉酚訂定出健康指引值(如 ADI 或 TDI)，故本研究將參考 U.S. EPA 的健康風險評估方法，並利用 Benchmark Dose Software (BMDS)推算棉酚的參考劑量(Reference dose, RfD)，其方法過程如下：

3.2.1 危害辨識

此步驟為決定暴露某化學物質是否會造成人類特定的負面健康效應，藉由回顧過去毒理學或流行病學的相關文獻，檢視該化學物質在生物體內的吸收、分布、代謝和排泄途徑，以決定該物質的作用機制。從文獻來源而言，以人類臨床研究為最佳，其次分別為流行病學研究和動物研究。

過去有研究曾將棉酚作為男性避孕藥，進行臨床試驗，1972 年中國男性節育臨床科研團隊展開長達七年的臨床研究，共納入 8806 位受試者，分別給予 15 mg/day 和 20 mg/day 棉酚，觀察棉酚的有效劑量、維持量、副作用和停藥後恢復情形，過程中有受試者出現無力、腸胃道症狀和性功能變化等副作用，於停藥後的 4326 位受試者中，有 2067 位的生殖功能恢復，但仍有 205 位的精子數量維持 0，且該研究觀察到若總服藥量超過 6 g，精子數量的恢復情形下降，且若服用超過兩年者的恢復率較低[15]。

2000 年 Coutinho 等人納入 151 位不同種族(巴西、奈及利亞、肯亞和中國)的處置組個案共和 51 位控制組個案進行試驗，給予棉酚 0.24 mg/kg b.w./day 長達至 16 週後，出現精子被抑制的受試者再分別給予 0.12 mg/kg b.w./day 和 0.17 mg/kg b.w./day 來維持抗生育作用，同樣觀察棉酚的有效劑量、維持量、副作用和停藥後恢復情形，在剩下的 48 位處置組受試者中有 18% 於停藥一年後仍維持無精子情形[16]。

3.2.2 劑量反應關係

此步驟為暴露和健康效應之間的劑量反應關係分析，實際上劑量反應關係包括了兩個步驟，第一步為定義 POD (Point of departure)，POD 是藉由實驗數據所建立的劑量反應關係曲線上的一點，如 Benchmark Dose，通常會對應到一效應發生率(1%~10%)，將依據化學物的毒性作用機轉和現有的文獻資料來決定；第二步驟是從 POD 外插至人體不會產生健康效應的暴露量(非致癌性，為參考劑量)或該物質的毒性效力(致癌性，又稱致癌斜率因子)，因此本研究將利用 Benchmark Doses 方法推演出 Benchmark Doses (BMD)和 Lower confidence limits (BMDL)，並進一步估算棉酚的參考劑量(Reference Dose, RfD)。

在進行 BMD 方法之前要選擇適合的研究來做為計算的基礎，需考量該研究的終點(Endpoints)和劑量反應關係的合適性。本研究於 3.2.1 之危害辨識步驟中於文獻中得知棉酚的人體臨床試驗數據，除了前述所提的合適性外，本研究亦考量有無設置控制組來評估劑量反應關係，因此最後選擇 2000 年 Coutinho 等人將棉酚作為男性避孕藥的研究數據來進行 BMD 計算[16]，該研究共納入 151 位不同種族(巴西、奈及利亞、肯亞和中國)的處置組個案和 51 位控制組個案，該試驗分為兩階段，第一階段受試者服用 0.24 mg/kg/day 的棉酚長達 12 週或 16 週，確定受試者精子生成被抑制後，方可進入第二階段，第二階段為維持期，受試者服用較低劑量的棉酚(0.12 mg/kg/day 或 0.17 mg/kg/day)以維持抑制精子生成的作用，考量第一階段已達本研究所需之終點，故納入第一階段的研究數據來計算，並將週數長短作為劑量反應關係之依據(如表 9)，利用 Benchmark dose software 進行計算，設定 BMR 為 10% 以及在 95%信賴區間下，將得到不同模式的結果，再依條件篩選出最適模式而得出 BMDL₁₀ 值，最後考量人個體間差異的不確定性(UF)，加以計算棉酚的參考劑量，方式如下：

$$RfD = \frac{BMDL}{UF_s \times MF}$$

RfD：參考劑量(mg/kg/day)

BMDL：Benchmark dose (lower confidence limit) (mg/kg/day)

UF_5 ：不確定因子(Uncertainty factors)

MF：修正因子(Modifying factor)

其中 UF_5 是考量變異性和不確定性而訂定，通常反應動物和人之間的差異，

其 UF 為 10，若是考量人群之間的變異性， UF 亦是 10，最後整體 $UF_5 = 10 \times 10$ ，

而 MF 通常預設為 1。



3.3 暴露劑量評估

3.3.1 食品中游離棉酚殘留

在食用油方面，2013 年棉籽油事件發生後，食品藥物管理署公告了食用油品游離棉酚的分析方法，其方法定量極限為 0.05 ppm，並抽檢市面上油品共 271 件，結果均為未檢測出棉酚，因此本研究假設油品中眠酚濃度為食藥署公告分析方法之定量極限(0.05 ppm)，評估該分析方法的靈敏度是否有足夠保護效用。

由於目前國內尚無動物性食品中棉酚殘留數據，將參考過去文獻所進行的動物實驗來獲得棉酚在家禽畜組織的殘留量[44-49, 51]，如同 3.1 所述，根據 2006 年 Lordelo 等人的研究結果顯示，肉雞分別餵食 0、100、200、300 和 400 mg/kg 棉酚長達 21 和 42 天後，雞隻各器官和組織中棉酚殘留和暴露量呈正相關[44]，以肌肉組織為例，飼料中棉酚含量和肌肉中殘留量呈高度線性相關($r^2 > 0.92$) (如圖 17，其餘禽畜組織見圖 18~20)，因此本研究假設飼料中棉酚量和肉品中殘留量呈線性正相關，再分別依兩種情境的飼料棉酚濃度來推估肉製品中棉酚殘留。本研究將參考 2008 年歐洲食品安全局的評估方法，將乾肉中的殘留濃度依據水分含量推算出生肉品中的殘留濃度[42]，考量動物實驗的劑量較高且時間較短，故將各種內臟(如肝、心及肺臟)的殘留濃度合併推算。

在飼料方面，根據 2016 年 Chen 等人的研究結果顯示，抽檢國內的棉籽、

棉籽殼、棉籽餅、棉籽粕和乳牛飼料中均有分析出游離棉酚，而家禽飼料中未驗出(如表 3) [43]，而農委會規定飼料用棉籽粕中游離棉籽油酚最高含量為 0.04% (400 ppm)，並針對不同禽畜類給予棉籽粕建議的添加比例，因棉酚對於單胃動物毒性較大[42]，故家禽類的添加比例為 2~3%，豬隻為 6%，而反芻動物可添加至 10%，本研究分別設置兩種暴露情境：

1. 情境(一)：本研究將參考 2016 年 Chen 等人的研究結果[43]，以檢測數據作為國內棉籽粕中棉酚濃度的依據，因唯有家禽飼料未驗出棉酚，故本研究將抽檢數據以 BSMCMC 模式模擬國內棉籽粕的棉酚濃度後，再依農委會建議添加比例來計算豬、羊飼料中棉酚濃度，在以此飼料中濃度藉由 BSMCMC 模式推估至動物源性食品中殘留濃度(如圖 15)。

2. 情境(二)：本研究將以保守的方式，根據農委會所訂定的法規限量值和建議添加比例，計算三種禽畜飼料中棉酚的最高容許濃度(如表 10)，在以此飼料中最高濃度藉由 BSMCMC 模式推估至動物源性食品中殘留濃度(如圖 16)。

最後加以估算兩種情境下動物性食品中棉酚殘留對於國人可能暴露量。

由於國人從食用油和動物性食品中暴露到棉酚為慢性低濃度之暴露，故本研究是以終生平均每日暴露劑量(Life-time Average Daily Dose, LADD)作為其暴露量之推估，其計算公式如下：

$$LADD_{\text{ingestion}} = \frac{C \times IR_{\text{ingestion}} \times EF \times ED}{BW \times AT}$$

$LADD_{\text{ingestion}}$ ：藉食入暴露之終生平均每日暴露劑量(mg/kg/day)

C：油品或動物源性食品中推估之棉酚濃度(mg/kg)

$IR_{\text{ingestion}}$ ：食物之每日攝入量(kg/day)

EF：暴露頻率

ED：暴露期間(year)

BW：人體平均體重(kg)

AT：暴露發生的平均時間(year)

3.3.2 攝食資料庫

由於本研究進行暴露評估的對象是各年齡層的國人，使用攝食資料庫於 2005 至 2012 年所收集的攝食量數據。因棉酚可能會殘留於油品和肉類製品中，而目前文獻中查閱到豬、雞和羊隻的肌肉和組織棉酚殘留實驗數據[44-49, 51]，因此本研究將相對應的攝食量數據分為植物性油脂、雞肉和雞肉加工品類、雞內臟類(肝及其他內臟)、豬肉和豬肉加工品類、豬內臟類(肝、腎及其他內臟)、羊肉和羊肉加工品和其他羊內臟、雞蛋(見表 11)，上述品項皆採用”生重”的攝食量；因攝食資料庫在「其他內臟」中無法得知更詳細的資訊，因此本研究計算時以國內市面上常見的心臟和肺臟代表其他內臟類的攝食。

3.3.3 BSMCMC 模式建立

由於文獻所查閱到的飼料中棉酚檢測數據[43]以及動物組織中棉酚殘留數據[44-49, 51]，無法代表市面上所有飼料和肉製品的濃度分布，所以本研究藉由 BSMCMC 模式模擬的方式推估飼料和肉品中棉酚的可能含量，並以模式所得的分布推估國人對於棉酚的暴露劑量。

在 3.3.1 所述之情境(一)中，本研究將參考一般食品中測得化學物質的濃度應呈現對數(Lognormal)函數的分布，以抽樣數據來推估國內飼料中棉酚濃度，因此在建立模型時，將給定一個 Lognormal 分布作為事前分布，該分布所需要的參數 μ 和 τ 是參考 Paulo 等人在暴露評估研究中的定義[71]， μ 定為常態(Normal)分布， τ 定為 Gamma 分布，並給予 τ 一限值，避免抽樣範圍過大。

在肉品濃度推估上，本研究假設飼料中棉酚含量和動物組織中棉酚殘留之間為線性正相關，若未暴露棉酚則無殘留，因此假定為不具截距項的簡單線性迴歸關係式 $y = \beta x$ ， x 為飼料中棉酚含量，而 y 為動物組織中棉酚殘留濃度，參考 Gelfand 等人於階層模式中設定的參數[72]，給定 Normal 分布作為事前分布， μ 定為常態(Normal)分布， τ 定為 Gamma 分布，依據殘留數據的性質給予 τ 一限值，避免抽樣範圍過大。

兩種情境依前述給定事前分布後，再以推估肉品中棉酚濃度數據作為 Likelihood 而建立模式，而後得到一個較接近實際肉品中濃度分布的事後分布，再以此事後分布結合攝食資料庫的攝食量數據，以馬可夫鏈蒙地卡羅抽樣方式估算 LADD，可得到比用事前分布估算而得的 LADD 更接近於實際暴露情況的暴露劑量。

在馬可夫鏈蒙地卡羅的抽樣方法中，其中的一種抽樣方式稱為 Gibbs sampling，本研究使用之 OpenBUGS 軟體(Bayesian inference Using Gibbs Sampling, BUGS)則為利用此原理進行模擬的軟體。為確保數據皆能穩定收斂，每一筆數據會抽樣十萬次，並在模式建立時，將落在平均值加減三倍標準差範圍外的數據視為極端值不予估計。(程式編寫的部分見圖 21-23, p.68-70)

3.4 風險特性化

棉酚具有生殖毒性，為非致癌性物質，因此本研究將利用危害指標(Hazard Index, HI)來描述風險特性，危害指標是指暴露劑量和參考劑量的比值，若其值小於 1 表示該物質的暴露量對於人體沒有立即危害，其健康風險可以被接受，若是等於或大於 1 的話，表示該暴露量對人體會產生健康效應，必須加以關注。其公式如下：

$$\text{Hazard Index} = \frac{\text{LADD}}{\text{RfD or ADI}}$$

3.5 化學標準品與溶劑

棉籽中(±)-棉酚異構物標準品購買自 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)，純度 99 % 以上。乙腈(LC grade ACN, ≥99.9%)和甲醇(LC grade MeOH, ≥99.9%)購買自 Merck (Darmstadt, Germany)，(R)-(-)-1-amino-2-propanol，乙酸(acetic acid, J.T Baker, ≥98%)，二甲基甲醯胺(dimethylformamide, ≥99.9%)和人體血漿(Human

plasma)購買自 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, United States) , 液相層析質譜級甲酸 (formic acid, $\geq 98\%$)購買自 Fluka(Sigma-Aldrich Co. LLC., St. Louis, MO, USA) 。



3.6 儀器設備及耗材

1. 液相串聯式質譜儀系統(LC-MS/MS):
 - i. 三段式四極柱質譜儀(triple-quadrupole mass spectrometry): TSQ Quantum Access MAX™, Thermo Scientific, Austin, TX, United States.
 - ii. 液相層析儀(liquid chromatography): Accela LC systems, Thermo Scientific, Austin, TX, United States.
2. Milli-Q 超純水純化系統(RiOs Water Purification Systems): Millipore, Billerica, MA, United States.
3. Hitachi L-2100 幫浦: Hitachi High Technologies America, Schaumburg, IL, USA
4. 試管震盪器(vortex mixture): Vortex-Genie 2, Scientific Industries, Bohemia, NY, United States.
5. 離心機(centrifuge): Universal 320R centrifuge, Andreas Hitachi GmbH & Co.KG, Germany.
6. 層析管柱:
 - i. ACE C₄ column (50mm×2.1mm, 5μm): Advanced Chromatography Technologies Ltd., Aberdeen, Scotland
 - ii. ACE C₄ column (100mm×2.1mm, 3μm): Advanced Chromatography Technologies Ltd., Aberdeen, Scotland

3.7 樣本收集及前處理方法

本研究收案對象為茂盛醫院門診患者，收案對象為不孕門診的夫妻患者，其年齡均為 20 歲以上之有行為能力者，經患者同意參加研究後，會抽取個案血液 3 c.c，並進行飲食和生活習慣等問卷調查，血液樣品在分析前會放置-20℃冰箱保存。本臨床研究經臺大醫院研究倫理委員會核可，倫委會案號：

201612215RINA。收案時間從 2017 年 5 月至 6 月，分別為 11 位男性和 17 位女性，其中 5 對為夫妻，共計 28 位個案，年齡為 34.07 ± 3.17 歲。

樣品前處理方面，分析前一天需將樣品放置於 4℃ 冰箱解凍，分析當天取 100 μ L 的血漿樣品和 200 μ L 配置於甲醇的內標準品(600 ng/mL)於 1.5 ml 的離心管中，利用振盪器震盪 5 分鐘使蛋白質沉澱，接著在 4℃ 下以轉速 17,310 g 離心 15 分鐘，最後取出上清液進行分析。

3.8 儀器分析

本研究利用 LC-MS/MS 搭配線上固相萃取(online solid phase extraction) 來建立分析方法，游離源為電灑游離法，在負離子模式下(ESI-)搭配選擇性反應偵測模式(Selected reaction monitoring, SRM)進行分析。最終選定 ACE C₄ (50mm×2.1mm, 5 μ m)作為固相萃接管柱，分析管柱為 ACE C₄ (100mm×2.1mm, 3 μ m)；線上固相萃取和液相層析串聯質譜儀分析系統安排如下：(1)樣品注入：注射 10 μ L 樣品至樣品環(sample loop)，(2)線上固項萃取：首先六向閥會從位置 A 轉至位置 B，將樣品送至 ACE C₄ 萃接管柱，此時移動相的比例為 70% 的 0.01% 甲酸/甲醇溶液(移動相 A)和 30% 的 0.01% 甲酸/水溶液(移動相 B)，持續 0.5 分鐘，0.5 至 0.8 分鐘時梯度會轉變成 100% 的移動相 A，並持續 3.7 分鐘。(3)液相層析串聯質譜分析：六向閥會在 2.0 分鐘時會從 Loading 轉至 Eluting 的位置，此時樣品會被 100% 的 0.01% 甲酸/甲醇溶液(移動相 C)沖提出來，當目標分析物從萃取

管柱沖提完成時，六向閥在 3.1 分鐘會再度轉回位置 A，此時線上固相萃取系統於 4.5 至 4.8 分鐘時將梯度會回到 70% 的移動相 A 和 30% 移動相 B，持續 3.2 分鐘，而液相層析系統沖提的濃度梯度始終維持 100% 的移動相 C，整體分析時間為 8.0 分鐘。(分析系統見圖 9，層析梯度見表 6)

3.8.1 標準溶液配製

(±)棉酚標準品配製 1000 mg/L 於乙腈中作為儲存溶液，存放於-20°C 冰箱，於使用當天待其回溫後再以序列稀釋之方式使用；內標準品 R-(-)-gossypol-diamino-propanol (GDP)參考[70]的合成方法(如圖 4)，將 5 mg 的(±)棉酚加入含有 0.2 ml 的(R)-(-)-1-amino-2-propanol、1.0 ml 的乙酸和 8.8 mL 的二甲基甲醯胺混合試劑中，在 95°C 下以 400 rpm 攪拌 30 分鐘，冷卻後再以甲醇稀釋 100 被後作為內標準品，存放於-20°C 冰箱，於使用當天再待其回溫後以序列稀釋之方式使用。

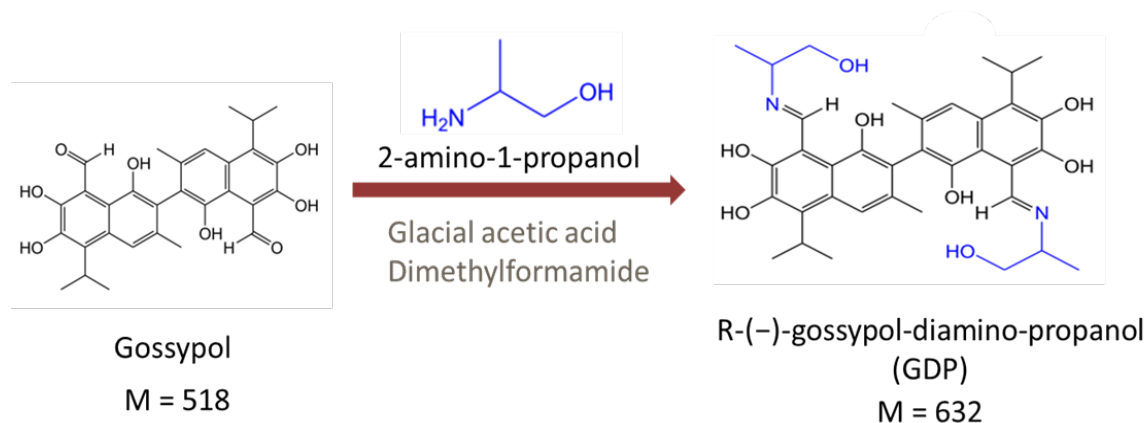


圖 4、R-(-)-gossypol-diamino-propanol (GDP)的合成方法

3.8.2 分析方法開發

在建立分析方法前，先將標準品以 infusion 的方式注入質譜儀，會得到棉酚及其內標準品的前驅離子(Precursor ion, $[M-H]^-$)、產物離子(Product ion)、碰撞能

量(Collision energy)和毛細管電壓(Tube Lens voltage)(見表 7)。管柱分為兩個部分，首先線上固相萃取的管柱選定 ACE C₄(50mm×2.1mm, 5μm)來進行分離與萃取，而分析管柱的部分則是選定 ACE C₄ (100mm×2.1mm, 3μm)管柱進行分析方法開發，經過質譜條件最佳化之後，從層析圖譜我們可以得到管柱的分析的結果(如圖 10)。

3.9 質譜條件最佳化

質譜游離條件的最佳化是利用相同濃度的標準品，在不同游離條件下將每一標準品分析三次，最後以層析峰面積平均值最高的參數作為最佳化條件。質譜條件最佳化可以分成三個部分進行，分別是先進行 Spray voltage 的最佳化，Sheath gas pressure 和 Auxiliary gas pressure 的最佳化，以及 Vaporizer temperature 和 Capillary temperature 的最佳化。最終得到的 Spray voltage 為 3000 伏特，Sheath gas pressure 和 Auxiliary gas pressure 分別為 20 psi 和 15 psi，Vaporizer temperature 和 Capillary temperature 皆為 300°C。(見圖 11-13、表 8，p.57-p.58，最終最佳化之層析圖見圖 10，p.56)

3.10 分析方法確效

分析方法確效的部分包括校正曲線的配製、基質效應(Matrix effect)以及同日(Intra-day)和異日(Inter-day)的精密度(Precision)和準確度(Accuracy)。

3.10.1 校正曲線的配製及結果

本研究使用 LC-MS/MS 搭配內標準品進行分析，校正曲線的配製是利用標準品和內標準品經儀器分析得到之面積比值(Peak area of standard/Peak area of internal standard, A_s/A_i)和預期濃度繪製成迴歸曲線而得。校正曲線是使用不含棉酚的人體血漿作為基質而配製在該基質中，本研究將配製兩條檢量線。首先低劑

量檢量線的濃度是介於 1 µg/L 至 50 µg/L 之間，包含五個點，分別是 1 µg/L, 5 µg/L, 10 µg/L, 20 µg/L, 50 µg/L，內標準品的濃度則是 400 ng/mL；高劑量檢量線的濃度介於 50 µg/L 至 2 mg/L 之間，包含六個點，分別是 0.05 mg/L, 0.1 mg/L, 0.2 mg/L, 0.5 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L，內標準品的濃度亦為 400 ng/mL。

3.10.2 偵測極限與定量極限

分析方法的偵測極限(Limit of detection, LOD)定義為樣本經前處理後可以產生離子訊雜比(signal-to-noise ratio, S/N ratio)為 3 之待測物濃度，定量極限(Limit of quantitation, LOQ)則定義為樣本經此前處理方法後可以產生離子訊雜比為 10 之待測物濃度。由濃度為 0.1 µg/L, 0.25 µg/L, 0.5 µg/L, 1 µg/L, 2.5 µg/L, 5 µg/L, 10 µg/L, 25 µg/L, 50 µg/L 之標準品從低濃度往高濃度分析，直到出現離子訊雜比為 3 和 10 時，則將該濃度訂為 LOD 和 LOQ。

3.10.3 同日及異日之精密度與準確度

同日及異日之精密度與準確度是使用不含棉酚的人體血漿作為基質，在其中添加低、中、高三個濃度的標準品和固定濃度的內標準品，用以估算在不同濃度條件下的精密度與準確度，連續三天皆配製三個不同濃度的樣本，每天每個樣本皆分析三次。分別取濃度為 1 ng/ml、50 ng/ml 及 2000 ng/ml 為代表，其計算公式如下：

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

$$\text{Precision (RSD, \%)} = \frac{\text{Standard deviation of Concentration}}{\text{Mean of Concentration}} \times 100\%$$

3.10.4 基質效應

本研究參考 2007 年 Funk 等人的分析確效方法以「Recovery function」來評估基質效應[73]，利用統計方法來估算血漿樣本的基質效應是否顯著，首先要建立分析方法的檢量線，其方程式為：

$$Y = a_c + b_c \times x_c$$

接著使用檢量線和上機得到的儀器訊號值 y_f 來計算分析樣品的濃度值 x_f ，其計算方式如下：

$$x_f = \frac{y_f - a_c}{b_c}$$

將計算出的實際濃度 x_f 依序點在縱軸，並對上橫軸的理論濃度序列後，可得到一條「recovery 曲線」，因此可利用數學式來表示 recovery function，其式子如下：

$$x_f = a_f + b_f \times x_c$$

理想情況下，recovery function 的斜率 b_f 會等於 1，而截距 a_f 會等於 0。

本研究將配置 11 個濃度點，濃度範圍介於 1 $\mu\text{g/L}$ 至 2 mg/L 之間，分別配置於溶劑(乙腈)和血漿中，比較配兩條校正曲線斜率間的差異，而 recovery function 是將兩條校正曲線的相對應濃度點繪出來後，可得出該方程式的斜率與截距，並利用成對 t-檢定(95%信賴區間)來評估基質效應是否顯著。

3.11 品質管制，定量與資料分析

做進行樣本前處理時，以十個樣品為一批次，每一批次的樣本皆會做一個查核樣本，一個重複分析樣本、一個空白樣本，用以確認每一批次的樣本是否有污染以及分析樣本的精密度和背景值。查核樣本是與代測樣品執行相同前處理及分析步驟，查核樣品配置濃度一般為檢量線的中點濃度。在上機分析時，會先等儀器訊號達穩定狀況後，分析溶劑樣本三次，確認儀器和管柱沒有污染或殘留時才開始分析，分析過程中，每一批次樣品分析後，會進樣溶劑兩次，確認沒有殘留後再進行下一個批次的分析。

3.12 應用軟體

層析質譜圖的面積是利用 Xcalibur 2.0.7, Quantum 2.0 作計算，統計部分是利用 Excel 2013、SPSS 19.0 以及 Sigmaplot 10.0 進行數據計算和圖檔繪製，健康風險評估的部分是使用 Benchmark Dose Software (BMDS) v 2.6 和 OpenBUGS v

3.2.3 作計算。

第四章 結果



4.1 健康風險評估

4.1.1 參考劑量

本研究使用 BMDS 計算出棉酚在不同模式下的 $BMDL_{10}$ ，結果如表 15 和圖 5，依據 p -value ($p > 0.1$)、Scaled residual (絕對值 >2)以及 AIC (最小值)的條件來篩選出最適模式，最後因六個模式的 AIC 值皆相等，故將六個模式的 $BMDL_{10}$ 值平均後得出 3.69 mg/kg b.w.，因當初將服用棉酚的時間納入劑量反應關係做計算(見表 9)，因此將國人生育年齡納入考量，假設國人平均攝取食用油和動物性源食品的時間為 50 年，故 $BMDL_{10}$ 為 2.02×10^{-4} mg/kg b.w./day，進一步考量人個體間變異性($UF = 10$)，最終計算出棉酚的參考劑量為 2.02×10^{-5} mg/kg b.w./day。

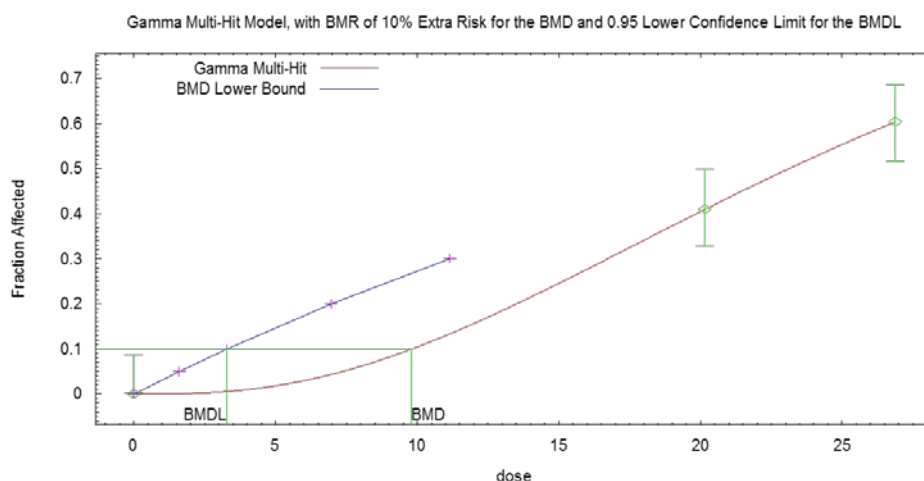


圖 5、棉酚的劑量反應關係-以 Gamma model 為例

4.1.2 飼料與動物性食品中游離棉酚

本研究利用 BSMCMC 模式模擬國內棉籽粕和動物源性食品中的棉酚濃度，再以不同禽畜的添加比例推估動物源性食品殘留濃度，其中參考 2007 年 Lordelo 等人研究棉酚在雞蛋蛋黃中的殘留[45]，原採用該研究第 15 至 20 天的殘留量數據，但經模擬結果發現原始數據變異性較大，即使給予 τ 一限值，仍無法避免抽樣範圍過大，因此後來使用了第 1 至 5 天的殘留量數據進行推估。在模式中，

會給予各項參數一個分布，確定抽樣十萬次後均達到收斂，以 19 至 65 歲族群攝取雞肉和雞內臟為例，其各參數的分布和收斂情形如圖 28、29，而本研究利用模式所建立飼料中濃度和棉酚殘留之線性回歸斜率如表 25。

情境(一)參考 2016 年 Chen 等人抽檢國內市售棉籽粕的棉酚殘留數據[43]，經模式模擬棉籽粕中棉酚平均含量為 347 mg/kg，而豬肉中棉酚平均濃度為 0.202 $\mu\text{g/g}$ ，豬內臟(肝、腎、心及肺)的棉酚平均濃度為 0.348 $\mu\text{g/g}$ ，羊肉中棉酚平均濃度為 0.91 $\mu\text{g/g}$ ，羊內臟(心及肺)為的棉酚平均濃度為 1.45 $\mu\text{g/g}$ (見表 16)。

情境(二)以動物飼料最高容許濃度，使用 BSMCMC 模式模擬推估出國內動物性食品中棉酚含量，結果雞肉中棉酚平均濃度為 0.152 $\mu\text{g/g}$ ，雞內臟(肝、心及肺)的棉酚平均濃度為 3.058 $\mu\text{g/g}$ ，豬肉中棉酚平均濃度為 0.232 $\mu\text{g/g}$ ，豬內臟(肝、腎、心及肺)的棉酚平均濃度為 0.400 $\mu\text{g/g}$ ，羊肉中棉酚平均濃度為 1.05 $\mu\text{g/g}$ ，羊內臟(心及肺)為的棉酚平均濃度為 1.68 $\mu\text{g/g}$ ，雞蛋蛋黃中棉酚平均濃度為 1.273 $\mu\text{g/g}$ (見表 16)。

4.1.3 LADD 和 HI

本研究利用估算之參考劑量和各食品品項攝食量以 BSMCMC 模式來估算不同年齡層國人的 LADD 和 HI。首先，植物油的結果如表 17，各年齡層的 LADD 平均值落在 1.036E-05 至 2.33E-05 mg/kg b.w./day，而 HI 平均值落在 0.51~1.15，其中 3 至 6 歲孩童的 HI 平均值大於 1，而每個年齡層的 HI₉₅ 皆大於 1，顯示其暴露是需要被關注的。

情境(一)的結果如表 18-19，各年齡層食用豬肉和豬內臟的 HI 平均值為 51.86~163.9，3 至 6 歲族群的風險最高，12 至 16 歲族群最低；各年齡層食用羊肉和羊內臟的 HI 平均值落在 86.04~131.6，19 至 65 歲族群的風險最高，16 至 18 歲族群最低。

情境(二)的結果如表 20-23，各年齡層食用雞肉和雞內臟的 HI 平均值為 7.122~461.2，12 至 16 歲族群的風險最高，65 歲以上族群的風險最低；各年齡層食

用豬肉和豬內臟的 HI 平均值為 60.26~187.4；各年齡層食用羊肉和羊內臟的 HI 平均值落在 98.61~152.4，食用雞蛋的 HI 平均值 53.35~217.0。

最後將攝取不同動物源性食品的 HI 加總可得到總風險，結果如表 24，兩種情境下的 HI 值皆大於 1，且情境(二)的風險確實高於情境(一)，而其中 12 至 16 歲族群的風險最高，65 歲以上族群的風險最低。

4.2 LOD、LOQ、校正曲線、基質效應

棉酚於血漿基質內的 LOD 為 0.25 ng/mL，LOQ 為 1 ng/mL，和過去文獻的分析方法相比是較低的。在本研究的分析方法中，棉酚具有良好的線性關係，高、低濃度的校正曲線之決定係數(coefficient of determination, r^2)皆大於 0.995 以上，檢量線 X 軸為待測物標準品之濃度，Y 軸為代測物與其內標準品的面積比。(見圖 24-25)

在基質效應上，使用 recovery function 方法，以成對 t-檢定計算(見表 12)，結果 p 值大於 0.05，表示棉酚在血漿中的基質效應是不顯著的。

4.3 同日及異日之精密度與準確度

同日及異日之精密度與準確度是選定低、中、高三個劑量來進行分析，連續三天，每天每個樣本分析三次，依據實驗結果(如表 13)顯示棉酚的同日和異日精密度與準確度範圍皆落在 15 % 的誤差範圍之內，顯示此分析方法是穩定且具有良好再現性，無論是在同一天或是不同天分析皆有相近的結果。

4.4 樣本分析

本研究共分析 28 位不孕症患者的血漿樣本，分別為 11 位男性和 17 位女性受試者，分析結果僅於一位男性受試者血漿中偵測出訊號大於定量極限的棉酚(層

析圖請見圖 26-27)，濃度為 2.03 ng/ml，其餘受試者樣本皆沒有訊號，定義為未檢出。

問卷共回收 16 份，回收率 57%，其中三份為無效問卷，個案年齡為 34.07 ± 3.17 歲，而個案的飲食習慣和生活習慣等詳見表 14。針對目前受試者的飲食習慣來看，豬肉和雞肉為受試者食用較頻繁的肉品，相較之下羊肉食用頻率較低，而豬內臟的食用種類最多，雞內臟類次之；油品方面，以橄欖油、葵花油和大豆沙拉油為受試者最常食用的植物油品。

第五章 討論



5.1 健康風險評估

本研究以食用油中游離棉酚檢驗方法之定量極限(0.05 ppm)來進行評估，結果 3~6 歲孩童的 HI 平均值大於 1，因孩童為敏感族群，且各年齡層的 HI_{95} 皆大於 1，顯示該暴露量需被關注。回顧 2014 年吳敏等人以超高效液相層析搭配串聯質譜(UPLC-MS/MS)建立食用植物油中的游離棉酚分析方法，利用空白橄欖油中添加棉酚標準溶液後，依據訊噪比(S/N)計算後得出偵測極限(Limit of detection)為 1 $\mu\text{g/kg}$ (1 ppb)，而定量極限(Limit of quantitation)為 5 $\mu\text{g/kg}$ (5 ppb) [74]，顯示目前已有更靈敏的分析方法，且在此方法的定量極限下風險是可被接受的，未來可提供給相關單位參考。

情境(一)所推估的棉籽粕平均濃度 347 mg/kg，符合農委會規定棉籽粕中游離棉酚含量的規範($\leq 400 \text{ mg/kg}$)。過去有研究分析中國等地棉籽粕中棉酚含量，1994 年馬春暉等人使用間苯三酚法測定南疆地區部分縣市、牧場和個體榨油廠的棉籽粕，共採集 20 個樣品，結果游離棉酚平均含量為 628.89 mg/kg，其中有 12 個樣品超過國家飼料衛生標準(GB13078-91)的規定上限(400 mg/kg)，作者推測和油料加工方法有關[75]。2010 年王安平等人調查中國不同產地的棉籽粕棉酚含量，採集了 5 個不同主要產區(山東、新疆、湖南、江蘇和河北)的棉籽粕樣品，結果游離棉酚平均含量為 1021.14 mg/kg，五個樣品濃度在 902.27-1159.63 mg/kg，已經接近國家飼料衛生標準(GN13078-2001)的限量值 1200 mg/kg[76]。和過去文獻比較，國內棉籽粕中游離棉酚濃度是相對較低，且符合法規規範，但目前檢驗數據較少，因此模式模擬的結果仍然有限，未來應針對相關農產品需要建立系統性的監測。

在動物源性食品的推估中，情境(二)中豬、羊品項的殘留濃度確實高於情境(一)，整體而言，內臟中濃度高於肌肉組織，其中雞內臟所推估出的濃度最高，

其原因推測為該 2006 年 Lordelo 等人進行棉酚對肉雞毒性實驗時，餵食棉酚時間較長，導致雞隻器官和肌肉組織中殘留濃度較高[44]。近期中國有研究進行動物性食品中的棉酚檢測，2014 年王晶採集烏魯木齊市場的雞肝、豬肝、魚肝和肉品，使用 HPLC-MS 分析，結果 17 件雞肝樣品的游離棉酚檢出率為 76%，(-)棉酚含量為 0.0337-0.6358 $\mu\text{g/g}$ ，(+)棉酚含量為 0.0753-0.5664 $\mu\text{g/g}$ ，8 件豬肝樣品的檢出率為 88%，(-)棉酚含量為 0.0626-0.7713 $\mu\text{g/g}$ ，(+)棉酚含量為 0.0301-0.4392 $\mu\text{g/g}$ ，6 件魚肝樣品的檢出率為 50%，(-)棉酚含量為 0.0316-0.0510 $\mu\text{g/g}$ ，(+)棉酚含量為 0.0342-0.0737 $\mu\text{g/g}$ ，在肉品中並未偵測出游離棉酚[77]。

2015 年周晨枕於烏魯木齊市、阜康市和昌吉市市場採集了雞肝、豬肝、魚肝、雞肉、豬肉和魚肉各 15 件樣品，利用 LC-MS/MS 分析樣品中的游離棉酚和棉酚氧化物 Gossypolone，結果肝臟樣品中游離棉酚含量為 0.2231~1.5463 $\mu\text{g/g}$ ，檢出率為 82.2%；(-)棉酚含量為 0.2045~0.7372 $\mu\text{g/g}$ ，檢出率為 64.4%；(+)棉酚 0.2143~0.7420 $\mu\text{g/g}$ ，檢出率為 71.1%；棉酚氧化物 Gossypolone 均未檢出，而肌肉樣品均未檢出棉酚和 Gossypolone[78]。

2016 年 Yuan 等人檢測新疆市場中雞肝和雞肉中的游離棉酚，30 件雞肝樣品的檢出率為 76.7%，含量為 0.208-1.4734 $\mu\text{g/g}$ ，其中 56% 樣品的(-)棉酚含量低於(+)棉酚，而大部分雞肉樣品未檢驗出棉酚，只有個別樣品中的棉酚達偵測極限，但未達定量極限[50]。上述文獻的肌肉樣品皆未驗出棉酚，而多數肝臟樣本有檢驗到棉酚，其中肝臟濃度最高達 1.55 $\mu\text{g/g}$ ，而本研究所推估的雞內臟(肝、心和肺)濃度為 3.058 $\mu\text{g/g}$ ，豬內臟(肝、腎、心和肺)濃度為 0.348~0.40 $\mu\text{g/g}$ ，羊內臟(心和肺)為 1.45~1.68 $\mu\text{g/g}$ ，和文獻相比，本研究所推估的雞內臟濃度是較高的，而豬內臟濃度是較接近的，除了本研究將內臟殘留合併估算外，推測其他原因是 2006 年 Lordelo 等人在進行雞隻殘留實驗的時間較長[44]，而 1966 年 Sharma 等人進行豬隻殘留實驗時在飼料中額外添加 14% 蛋白質，使游離棉酚殘留較低[49]，導致兩物種在肝臟中殘留的差異；另外從肌肉組織的推估濃度和文獻結果之間的

差異來看，因本研究是以農委會建議的最高添加比例為假設，來推估國內飼料中棉酚濃度，故和實際飼料中濃度相比可能會有高估的情形，導致本研究所推估的殘留濃度較高。

本研究評估兩種情境下的健康風險皆偏高，因棉籽粕實際添加於飼料的情況並不清楚，雖然 2016 年 Chen 等人進行國內農產品中的游離棉酚監測[43]，但抽檢的樣本數有限，且仍缺乏豬、羊飼料的檢測資訊，因此本研究只能以較保守的方式，假設兩種情境皆以棉籽粕最高添加比例下作為估算的依據；且目前仍缺乏國內動物性食品中棉酚殘留等相關研究，只能藉由過去動物實驗來推估殘留量，由於動物實驗進行時間較短，且餵予劑量較高，導致模式所推估的殘留濃度亦較高，故存在高估風險的可能性。另外在攝食資料上，本研究採用 Consumer Only(僅計算有攝食量資料者)的攝食資料，屬於高暴露族群，因此評估的風險亦會較高。

在情境(二)中，相同肉品中各族群的差異則和攝食量相關(如圖 30)，每個年齡層所食用的內臟種類都有差異，如幼童和老人較少食用雞隻內臟類製品，因此中間年齡層的群體所評估出來的風險較高；而豬內臟的部分可能因國人飲食習慣，每個年齡層皆有攝食豬肝、豬腎或其他內臟類，因此對於幼童的風險較高；而羊內臟只有 19~65 歲的族群食用，因此風險相對較高。

2008 年歐洲食品安全局依據 2006 年 Lordelo 等人的殘留研究[44]，假設家禽飼料中含有 30 mg/kg 游離棉酚，分別計算雞肉、雞肝和雞腎的殘留濃度，並進行棉酚的暴露評估，結果以一般人攝食量而言，其棉酚暴露為 0.0036~0.036 mg/kg b.w./day，而以攝食量較大的族群而言，其棉酚暴露為 0.01~0.06 mg/kg b.w./day[42]，因歐盟法規以及東西方飲食習慣不同，但相比之下，本研究所推估的國人暴露量是較低的。

本研究所假設的兩種情境的總風險皆偏高，而情境(一)的風險是低於情境(二)，顯示以目前僅有的實測資料來看，風險是較低的，代表實際情形的暴露量可能較低，但危害指標(HI)仍大於 1，顯示棉酚的暴露量可能產生負面效應，需

要加以關注。考量棉籽粕近年來仍有進口，雖比過去減少，但也代表國內農產品仍存有棉酚殘留的疑慮，因此建議未來應該要查明棉籽粕的流向和用途，並了解飼料中的添加情形，且應對飼料和相關食品中的棉酚殘留進行系統性監測。

5.1.1 飼料中游離棉酚建議值

由於本研究所評估出的風險較高，因此利用 BSMCMC 模式來推估飼料中棉酚含量的安全建議值，將以參考劑量以及肉類製品中劑量和殘留的線性回歸曲線之斜率(見表 25)來進行估算(程式編寫的部分見圖 23, p.70)，因各年齡層之間攝食量和體重的差異，考量以各品項中最高風險的族群來進行推算，以保護敏感族群。推估結果顯示雞飼料中游離棉酚建議含量為 0.014 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，豬飼料中游離棉酚建議含量為 0.069 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，羊飼料中游離棉酚建議含量為 0.137 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，考量棉酚對於單胃動物和反芻動物的毒性不同[42]，因此建議未來可以針對不同物種訂定標準，本研究的推算結果可提供參考。

5.2 棉酚與不孕症

本研究成功發展出使用線上固相萃取搭配液相層析串聯質譜儀分析人體血漿中棉酚的方法，此方法可縮短前處理的步驟和時間，且從有限的樣本中偵測出棉酚，可證實國人的暴露，但因樣本數及問卷回收率較低，且無法招募到控制組個案，故在相關性探討上仍有限制。除了收案時間的限制外，其次原因在於患者意願較低，過去文獻指出不孕症為慢性壓力源，在診斷和療程中充滿不確定性且需耗費時間，患者在過程中難免產生負向情緒[79, 80]；且文獻也指出不孕婦女在求診時會感到沒面子，會藉由資訊控制策略來降低自己的污名特質[81]，因此多數患者希望能維護隱私，等待過程中不被打擾；且本研究控制組招募對象為孕婦，屬於敏感性高的族群，且因需採集檢體，故納入試驗的意願較低。未來可能盡量請受試者當場將問卷填寫完畢，已增加問卷回收率。

考量到影響不孕的因素眾多，未來需要納入更多案例組和控制組的個案，而

控制組可多招募其他醫院非不孕門診的個案，以達到足夠代表性之樣本數，如此棉酚與不孕症相關性探討可更加完善。

在分析上，本研究僅於一位受試者檢體偵測出棉酚，檢出率偏低，除了樣本數限制外，推測可能的原因之一為棉籽油事件過後引起國內重視，棉籽粕進口數量於 2014 年後逐年下降(如圖 6)，因此飼料中使用量可能減少；其次推測和分析方法有關，未來可以使用更靈敏的儀器來分析，如 TOF-MS/MS，可偵測更低濃度的棉酚。參考 2004 年 Kim 等人於 *in vitro* 試驗中比較(±)棉酚、(+)棉酚、(-)棉酚和 Gossypolone 對於不同物種的殺精作用，該研究結果發現同樣濃度的(+)棉酚以及(-)棉酚具有和(±)棉酚等效的殺精作用，因過去多數研究指出(+)棉酚的生殖毒性較弱，卻在 *in vitro* 試驗中卻出現等效的作用；而 Gossypolon 為棉酚主要代謝產物，在試驗中也顯示出有殺精作用，但效用比(±)棉酚弱[82]，考量(-)棉酚的半衰期較短(見表 1)，因此未來分析方法上可將棉酚的兩種鏡像異構物分開偵測，並同時分析代謝產物 Gossypolone，以避免棉酚因代謝等因素而無法被偵測。另外參考 2000 年 Coutinho 等人進行人體試驗時觀察到精子抑制的發生和血液中棉酚濃度沒有直接相關，但精子生成的恢復情形和血中濃度是有相關性的[16]，考量棉酚的毒性作用機制，且毒性對於男性較大，因此未來可增加分析男性受試者精液中棉酚，和血液中棉酚的濃度作比較。

5.3 研究限制

在健康風險評估上，本研究主要的限制為使用次級資料，因目前尚缺乏國內動物性食品中棉酚殘留資訊，且飼料中棉酚的相關研究仍然有限，因此藉由過去文獻的動物實驗數據和情境假設來進行評估，目前國內棉籽粕抽樣數據有限，且缺乏家畜飼料的抽檢數據，只能利用法規值和建議比例來假設推估，加上一般動物實驗給予劑量較高，且時間較短，導致組織中殘留濃度較高，亦缺乏不同物種對於棉酚的代謝能力，故可能無法完全代表實際的情形。而 BSMCMC 模式本質

中亦有不確定性存在，因相關研究有限，本研究僅能參考現有文獻來進行參數的分布設定，一般情形下多假設為常態分布，因此可能和參數的實際分布情形有所差異；另外本研究是採用攝食資料庫中各品項的生重重量，文獻指出游離棉酚經由加熱或加濕處理後會轉變成毒性較小的結合態棉酚[42]，但目前無法得知食品烹調後游離棉酚的濃度變化。攝食資料庫為 2005 年、2010 年至 2012 年所收集的資料，距今至少有 5 年之久，且本研究採用 Consumer Only 的攝食資料，因此現今民眾的飲食習慣可能會改變。

不孕症相關性上，本研究因收案時間較短，收集到的樣本數較少，故代表性較小，且缺少控制組個案，加上問卷回收率較低，無法進行統計分析，因此在棉酚與不孕症相關性探討上仍有限制。

第六章 結論與建議

由於過去棉籽油事件引起國內對於食品中棉酚殘留的關注，且飼料中棉酚會在禽畜體內有蓄積性，因此本研究藉由文獻資料收集，並利用 BSMCMC 模式模擬推估動物性食品中的棉酚濃度，並推估國人的棉酚暴露劑量，完成棉酚對於國人的健康風險評估。

從研究結果來看，目前國際間尚未訂有棉酚的每日容許攝取量(ADI)或每日耐受劑量(TDI)，而本研究以 Benchmark dose 估算出棉酚的參考劑量，可提供未來相關研究參考；在風險量化的部分，兩種情境中各年齡層的國人因攝取雞、豬和羊肉及其內臟製品而暴露棉酚的危害指標(HI)皆大於 1，顯示該暴露量需要加以關注，故本研究以 MCMC 模式回推飼料中建議含量，未來可提供相關單位參考。

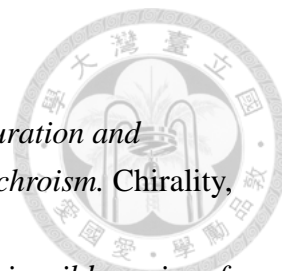
因文獻資料有限，本研究是採取保守的方式，以最高棉籽粕添加比例作為暴露情境的假設，實際添加情形可能會不同，故有高估風險的可能，以下提出幾點建議：第一，目前國內棉籽粕添加於飼料等資訊並不完善，考量近年來仍有進口棉籽粕，應需查清流向及使用情況，且棉酚有殘留於動物組織中的疑慮，未來對於各種禽畜飼料中棉酚需要持續監測；第二，國內尚缺乏動物性食品中棉酚殘留數據，而已有研究建立了肉品和蛋黃中游離棉酚的分析方法[50, 77, 78, 83]，盼未來有研究能夠直接檢測動物源性食品中棉酚，更能貼近國人實際的暴露情況；第三，攝食資料庫未來可再更新，因應國人飲食習慣，評估會更接近實況。本研究結果可提供給未來研究和相關單位參考，待日後有新的科學證據出現，得以再更新評估結果。

本研究成功建立以線上固相萃取搭配液相層析串聯質譜儀測定人體血漿中棉酚的分析方法，此方法快速、穩定且再現性良好，結果於有限的血漿樣本中檢測出低濃度的棉酚，可證實國人的暴露；但因樣本數限制，無法更進一步探討棉酚與不孕症的相關性，建議未來可收集更多的案例組和控制組個案，第二是在分

析上，可使用更靈敏的儀器，並增加受試者精液樣本以及棉酚兩種鏡像異構物與代謝產物的分析。



參考文獻



1. Freedman, T.B., et al., *Determination of the absolute configuration and solution conformation of gossypol by vibrational circular dichroism*. Chirality, 2003. **15**(2): p. 196-200.
2. Stipanovic, R.D., et al., *Occurrence of (+)- and (-)-gossypol in wild species of cotton and in Gossypium hirsutum Var. marie-galante (Watt) Hutchinson*. J Agric Food Chem, 2005. **53**(16): p. 6266-71.
3. Strom-Hansen, T., C. Cornett, and J.W. Jaroszewski, *Interaction of gossypol with amino acids and peptides as a model of enzyme inhibition*. Int J Pept Protein Res, 1989. **34**(4): p. 306-10.
4. El-Sharaky, A.S., et al., *Spermatotoxicity, biochemical changes and histological alteration induced by gossypol in testicular and hepatic tissues of male rats*. Food and Chemical Toxicology, 2010. **48**(12): p. 3354-3361.
5. Shaaban, W.F., et al., *Reproductive toxicologic effects of gossypol on male rabbits: biochemical, enzymatic, and electrolytic properties of seminal plasma*. Fertility and Sterility, 2008. **89**(5, Supplement): p. 1585-1593.
6. Kalla, N.R., et al., *Studies on the male antifertility agent gossypol acetic acid. VI. Effect of gossypol acetic acid on the fertility of bonnet monkey. Macaca radiata*. Andrologia, 1984. **16**(3): p. 244-8.
7. Shandilya, L.N. and T.B. Clarkson, *Hypolipidemic effects of gossypol in cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis)*. Lipids, 1982. **17**(4): p. 285-90.
8. Gu, Y. and N.O. Anderson, *Effects of gossypol on the estrous cycle and ovarian weight in the rat*. Contraception, 1985. **32**(5): p. 491-496.
9. Lin, Y.C., et al., *Gossypol in female fertility control: ovum implantation and early pregnancy inhibited in rats*. Life Sci, 1985. **37**(1): p. 39-47.
10. Randel, R.D., C.C. Chase, Jr., and S.J. Wyse, *Effects of gossypol and cottonseed products on reproduction of mammals*. J Anim Sci, 1992. **70**(5): p. 1628-38.
11. Qian, S.Z. and Z.G. Wang, *Gossypol: a potential antifertility agent for males*. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1984. **24**: p. 329-60.
12. Wu, D., *An overview of the clinical pharmacology and therapeutic potential of gossypol as a male contraceptive agent and in gynaecological disease*. Drugs, 1989. **38**(3): p. 333-41.
13. *Gossypol--a new antifertility agent for males*. Chin Med J (Engl), 1978. **4**(6): p. 417-28.
14. Liu, G.Z., *[Clinical trial of gossypol as a male contraceptive: a randomized controlled study]*. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 1985. **65**(2): p. 107-9.

15. 章仁安, 男用节育药棉酚的临床研究——8806 例. 生殖與避孕, 1985. **4**: p. 001.
16. Coutinho, E.M., et al., *Gossypol blood levels and inhibition of spermatogenesis in men taking gossypol as a contraceptive. A multicenter, international, dose-finding study.* Contraception, 2000. **61**(1): p. 61-7.
17. Zhu, P.D., [Electron microscopic observations on the effect of gossypol on the human endometrium]. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, 1984. **19**(4): p. 246-9, 258.
18. Beaudoin, A.R., *The embryotoxicity of gossypol.* Teratology, 1985. **32**(2): p. 251-7.
19. Jo, C., et al., *Irradiation effects on embryotoxicity and oxidative properties of gossypol dissolved in methanol.* Food Chem Toxicol, 2003. **41**(10): p. 1329-36.
20. Li, Y.F., G.M. Booth, and R.E. Seegmiller, *Evidence for embryotoxicity of gossypol in mice and chicks with no evidence of mutagenic activity in the Ames test.* Reprod Toxicol, 1989. **3**(1): p. 59-62.
21. de Peyster, A. and Y.Y. Wang, *Genetic toxicity studies of gossypol.* Mutat Res, 1993. **297**(3): p. 293-312.
22. Ding, L.A., et al., [Hepatoma initiating and promoting effects of gossypol]. Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao, 1985. **7**(1): p. 55-6.
23. Gao, H., Z.S. Yang, and S.X. Jin, [Primary observations on distal renal tubule acidosis in 177 cases caused by gossypol intoxication]. Zhonghua Nei Ke Za Zhi, 1985. **24**(7): p. 419-21, 447.
24. Kovacic, P., *Mechanism of drug and toxic actions of gossypol: focus on reactive oxygen species and electron transfer.* Curr Med Chem, 2003. **10**(24): p. 2711-8.
25. Song, D., B. Lorenzo, and M.M. Reidenberg, *Inhibition of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase by gossypol and bioflavonoids.* J Lab Clin Med, 1992. **120**(5): p. 792-7.
26. Waites, G.M., C. Wang, and P.D. Griffin, *Gossypol: reasons for its failure to be accepted as a safe, reversible male antifertility drug.* Int J Androl, 1998. **21**(1): p. 8-12.
27. Herve, J.C., et al., *Contraceptive gossypol blocks cell-to-cell communication in human and rat cells.* Eur J Pharmacol, 1996. **313**(3): p. 243-55.
28. Fiorini, C., et al., *Sertoli cell junctional proteins as early targets for different classes of reproductive toxicants.* Reprod Toxicol, 2004. **18**(3): p. 413-21.
29. Zhou, D.R., et al., *Gossypol repressed the gap junctional intercellular communication between Sertoli cells by decreasing the expression of*

- Connexin43*. *Toxicol In Vitro*, 2008. **22**(7): p. 1719-25.
30. 袁其晓, 高德伟, and 李春忠, 醋酸棉酚在雌性大鼠的抗着床作用及其机理分析. *生殖与避孕*, 1983. **3**(2): p. 25-25.
31. Jiang, J., et al., *The inhibitory effects of gossypol on human prostate cancer cells-PC3 are associated with transforming growth factor beta1 (TGFbeta1) signal transduction pathway*. *Anticancer Res*, 2004. **24**(1): p. 91-100.
32. Liu, Y.X., *Control of spermatogenesis in primate and prospect of male contraception*. *Arch Androl*, 2005. **51**(2): p. 77-92.
33. Qiao-Qin, C., C. Hui, and L. Hai-Peng, *Comparative study on the metabolism of optical gossypol in rats*. *Journal of Ethnopharmacology*, 1987. **20**(1): p. 31-37.
34. Gamboa, D.A., et al., *Tissue distribution of gossypol enantiomers in broilers fed various cottonseed meals*. *Poult Sci*, 2001. **80**(7): p. 920-5.
35. Yildirim, M., et al., *Growth performance and immune response of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed diets containing graded levels of gossypol-acetic acid*. *Aquaculture*, 2003. **219**(1-4): p. 751-768.
36. Abou-Donia, M.B., *Physiological effects and metabolism of gossypol*. *Residue Rev*, 1976. **61**: p. 125-60.
37. Abou-Donia, M.B. and J.W. Dieckert, *Metabolic fate of gossypol: the metabolism of [¹⁴C] gossypol in swine*. *Toxicology and applied pharmacology*, 1975. **31**(1): p. 32-46.
38. Jia, L., et al., *Comparison of pharmacokinetic and metabolic profiling among gossypol, apogossypol and apogossypol hexaacetate*. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2008. **61**(1): p. 63-73.
39. Wu, D.F., et al., *Pharmacokinetics of (+/-)-, (+)-, and (-)-gossypol in humans and dogs*. *Clin Pharmacol Ther*, 1986. **39**(6): p. 613-8.
40. Danke, R.J. and A.D. Tillman, *Effect of free gossypol and supplemental dietary iron on blood constituents of rats*. *J Nutr*, 1965. **87**(4): p. 493-8.
41. O'Brien, R.D., et al., *Cottonseed Oil*, in *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. 2005, John Wiley & Sons, Inc.
42. European Food Safety, A., *Gossypol as undesirable substance in animal feed - Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain*. *EFSA Journal*, 2009. **7**(1): p. 908-n/a.
43. 陳慧珊, et al., 農產品中棉酚含量檢測方法之開發及應用. *臺灣農藥科學*, 2016(1): p. 183-194.
44. Lordelo, M.M., et al., *Relative toxicity of gossypol enantiomers in broilers*. *Poult Sci*, 2005. **84**(9): p. 1376-82.
45. Lordelo, M.M., et al., *Relative toxicity of gossypol enantiomers in laying and*

- broiler breeder hens. *Poult Sci*, 2007. **86**(3): p. 582-90.
46. Clawson, A.J. and F.H. Smith, *Effect of dietary iron on gossypol toxicity and on residues of gossypil in porcine liver*. *J Nutr*, 1966. **89**(3): p. 307-10.
 47. Smith, F.H. and A.J. Clawson, *Effect of diet on accumulation of gossypol in the organs of swine*. *J Nutr*, 1965. **87**(3): p. 317-21.
 48. Kim, H.L., M.C. Calhoun, and R.D. Stipanovic, *Accumulation of gossypol enantiomers in ovine tissues*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 1996. **113**(2): p. 417-20.
 49. Sharma, M.P., F.H. Smith, and A.J. Clawson, *Effects of levels of protein and gossypol, and length of feeding period on the accumulation of gossypol in tissues of swine*. *J Nutr*, 1966. **88**(4): p. 434-8.
 50. 袁洁, 周晨忱, and 姚军, *LC-MS/MS 法测定新疆市场鸡肝中棉酚旋光异构体*. *分析试验室*, 2016. **35**(11): p. 1250-1253.
 51. Wang, A.P., et al., *Effects of different sources and levels of dietary gossypol on gossypol residues in plasma and milk of lactating cows*. *Journal of Dairy Science*, 2012. **95**(9): p. 5127-5132.
 52. Practice Committee of the American Society for Reproductive, M., *Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss*. *Fertility and Sterility*, 2008. **90**(5, Supplement): p. S60.
 53. Wyshak, G., *Infertility in American college alumnae*. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 2001. **73**(3): p. 237-242.
 54. Geelhoed, D.W., et al., *Infertility in rural Ghana*. *Int J Gynaecol Obstet*, 2002. **79**(2): p. 137-42.
 55. Chandra, A., et al., *Fertility, family planning, and reproductive health of U.S. women: data from the 2002 National Survey of Family Growth*. *Vital Health Stat* 23, 2005(25): p. 1-160.
 56. Bushnik, T., et al., *Estimating the prevalence of infertility in Canada*. *Hum Reprod*, 2012. **27**(3): p. 738-46.
 57. Sciarra, J., *Infertility: an international health problem*. *Int J Gynaecol Obstet*, 1994. **46**(2): p. 155-63.
 58. Mascarenhas, M.N., et al., *National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys*. *PLoS Med*, 2012. **9**(12): p. e1001356.
 59. Esteves, S.C. and A. Agarwal, *Impact of the new WHO guidelines on diagnosis and practice of male infertility*. *Open Reprod Sci J*, 2011. **3**: p. 7-15.
 60. Carlsen, E., et al., *Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years*. *British Medical Journal*, 1992. **305**(6854): p. 609-613.
 61. Aggerholm, A.S., et al., *Is overweight a risk factor for reduced semen quality*

- and altered serum sex hormone profile? *Fertility and Sterility*, 2008. **90**(3): p. 619-626.
62. Ramlau-Hansen, C.H., et al., *Is smoking a risk factor for decreased semen quality? A cross-sectional analysis*. *Hum Reprod*, 2007. **22**(1): p. 188-96.
 63. Goverde, H.J., et al., *Semen quality and frequency of smoking and alcohol consumption--an explorative study*. *Int J Fertil Menopausal Stud*, 1995. **40**(3): p. 135-8.
 64. Gaur, D., M. Talekar, and V.P. Pathak, *Alcohol intake and cigarette smoking: Impact of two major lifestyle factors on male fertility*. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 2010. **53**(1): p. 35-40.
 65. Pacey, A., *Environmental and lifestyle factors associated with sperm DNA damage*. *Human Fertility*, 2010. **13**(4): p. 189-193.
 66. Duty, S.M., et al., *The relationship between environmental exposures to phthalates and DNA damage in human sperm using the neutral comet assay*. *Environ Health Perspect*, 2003. **111**(9): p. 1164-9.
 67. Jurewicz, J., et al., *Environmental factors and semen quality*. *Int J Occup Med Environ Health*, 2009. **22**(4): p. 305-29.
 68. Wang, M.-Z., D.-F. Wu, and Y.-W. Yu, *High-performance liquid chromatography with electrochemical detection of gossypol in human plasma*. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 1985. **343**: p. 387-396.
 69. Coward, L., et al., *Quantitative determination of apogossypol, a pro-apoptotic analog of gossypol, in mouse plasma using LC/MS/MS*. *J Pharm Biomed Anal*, 2006. **42**(5): p. 581-6.
 70. Lin, H., et al., *A validated HPLC assay for the determination of R-(-)-gossypol in human plasma and its application in clinical pharmacokinetic studies*. *J Pharm Biomed Anal*, 2012. **66**: p. 371-5.
 71. Paulo, M.J., et al., *Risk assessment of dietary exposure to pesticides using a Bayesian method*. *Pest Manag Sci*, 2005. **61**(8): p. 759-66.
 72. Gelfand, A.E., et al., *Illustration of Bayesian inference in normal data models using Gibbs sampling*. *Journal of the American Statistical Association*, 1990. **85**(412): p. 972-985.
 73. Funk, W., V. Dammann, and G. Donnevert, *Quality assurance in analytical chemistry: applications in environmental, food and materials analysis, biotechnology, and medical engineering*. 2007: John Wiley & Sons.
 74. 吴敏, et al., *超高效液相色谱-串联质谱法测定食用植物油中的游离棉酚*. *食品安全质量检测学报*, 2014(4).
 75. 马春晖 and 万英, *南疆地区部分县, 团场棉籽饼棉酚含量的测定*. *塔里*

- 木农垦大学学报, 1994. **6**(1): p. 30-32.
76. 王安平, et al., 我国棉粕和棉籽蛋白营养成分和棉酚含量调研. 华北农学报, 2010. **25**(B08): p. 301-304.
77. 王晶, 动物源性食品中游离棉酚检测方法研究. 2014, 新疆农业大学.
78. 周晨忱, 动物源性食品中棉酚及其代谢产物 gossypolone 检测技术研究. 2015, 新疆农业大学.
79. Zucker, A.N., *The psychological impact of reproductive difficulties on women's lives*. Sex Roles, 1999. **40**(9): p. 767-786.
80. Wallach, E.E., M.M. Seibel, and M.L. Taymor, *Emotional aspects of infertility*. Fertility and sterility, 1982. **37**(2): p. 137-145.
81. 吳青沛, 不孕污名與醫院空間對不孕婦女生育意願與隱私侵犯因應之探討, in 醫藥總論. 2005, 臺北醫學大學. p. 1-87.
82. Kim, I.C., et al., *Comparative in vitro spermicidal effects of (+)-gossypol, (+)-gossypol, (-)-gossypol and gossypolone*. Contraception, 1984. **30**(3): p. 253-259.
83. 施琦貽, 液质联用法测定鲜蛋黄中的棉酚. 现代食品科技, 2012(2012 年 05): p. 598-600.
84. Othman, M.A. and M.B. Abou-Donia, *Pharmacokinetic profile of (+/-)-gossypol in male Sprague-Dawley rats following single intravenous and oral and subchronic oral administration*. Proc Soc Exp Biol Med, 1988. **188**(1): p. 17-22.
85. Abou-Donia, M.B., M.A. Othman, and P. Obih, *Interspecies comparison of pharmacokinetic profile and bioavailability of (±)-gossypol in male Fischer-344 rats and male B6C3F mice*. Toxicology, 1989. **55**(1): p. 37-51.
86. Lin, Y., et al., *Gossypol pharmacokinetics in mid-lactation Brown Swiss dairy cows*. Veterinary research communications, 1991. **15**(5): p. 379-385.

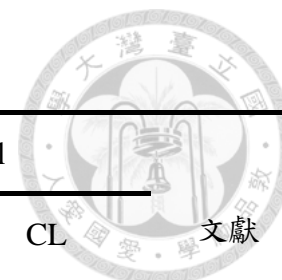


表 1、棉酚在不同物種間的毒物動力學參數

| 物種 | (+) -gossypol | | (-) -gossypol | | | (±) -gossypol | | 文獻 |
|---------------------------------------|---------------|----|---------------|---------------|------------------------------|---------------|-------|----------|
| | $T_{1/2}$ | CL | $T_{1/2}$ | CL | C_{max} | $T_{1/2}$ | CL | |
| 人類 | 133 | | 3.33-4.55 | 9.99 (L/h) | 0.66 ($\mu\text{g/mL}$) | 286 | | [39, 70] |
| SD 大鼠 | | | | | | 64.8 | 160 | [84] |
| Fisher 大鼠 | | | | | | 4.3 | 1840 | [85] |
| B6C3F 小鼠 | | | | | | 36 | 1230 | [85] |
| CD₂F₁ 小鼠 | | | 0.74 | 243 | | 0.33 | 137 | [38] |
| 狗 | 79.5 | 50 | 16.6 | 50 | | 74.5±34 | 32±12 | [38, 39] |
| 牛 | | | | | | 40-67 | | [86] |
| 豬 | | | | | | 78 | | [36, 37] |
| 雞 | | | | | | 30 | | [36, 37] |

* $T_{1/2}$ 的單位為小時，其他 CL 的單位以 ml/h/kg 表示(靜脈注射)

表 2、棉籽、棉籽油和棉籽粕中的棉酚含量

| | 總棉酚(mg/kg DM) | 游離棉酚(mg/kg DM) |
|---------|---------------|----------------|
| 完整棉籽 | 5,100-14,300 | 4,700-7,000 |
| 精煉後的棉籽油 | 0-900 | ND |
| 棉籽粕 | 9,300-14,300 | 200-17,700 |

表 3、國內農產品的棉酚殘留抽檢結果

| | 總樣品數 | 檢測出棉酚樣品數 | 棉酚殘留濃度(mg/kg) |
|------|------|----------|---------------|
| 棉籽 | 8 | 8 | 2,809 - 7,325 |
| 棉籽殼 | 7 | 7 | 186 - 379 |
| 棉籽餅 | 1 | 1 | 749 |
| 棉籽粕 | 2 | 2 | 268 - 426 |
| 乳牛飼料 | 6 | 2 | 79 - 206 |
| 雞飼料 | 3 | 0 | ND |
| 鴨飼料 | 3 | 0 | ND |

*(摘自 2016 年 Chen 等人研究[43])

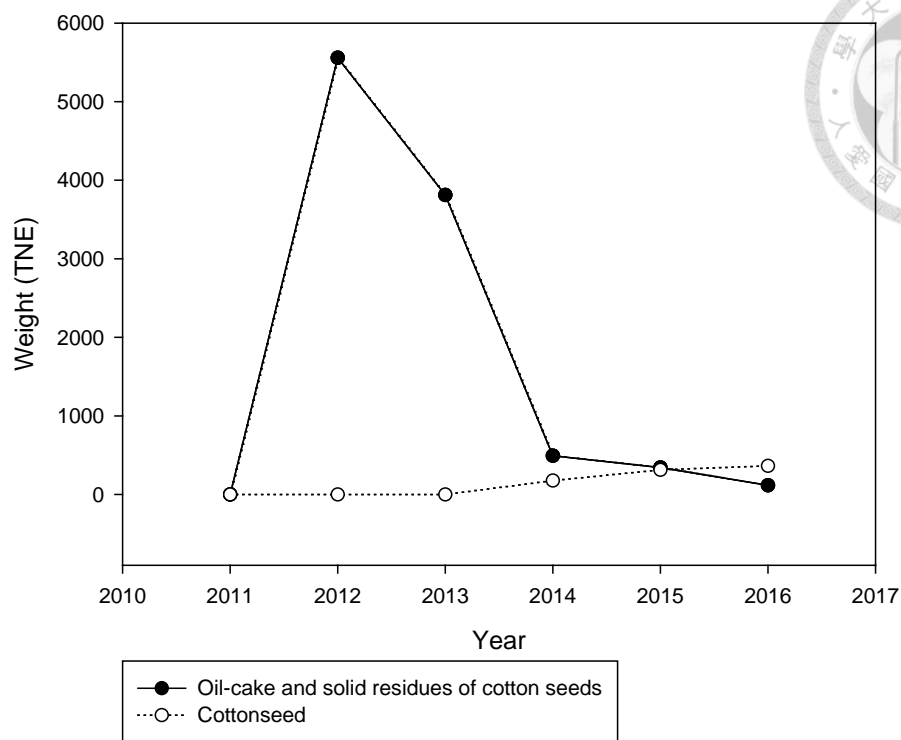


圖 6、2011-2016 年棉籽和棉籽油渣餅及固體殘渣之進口數量

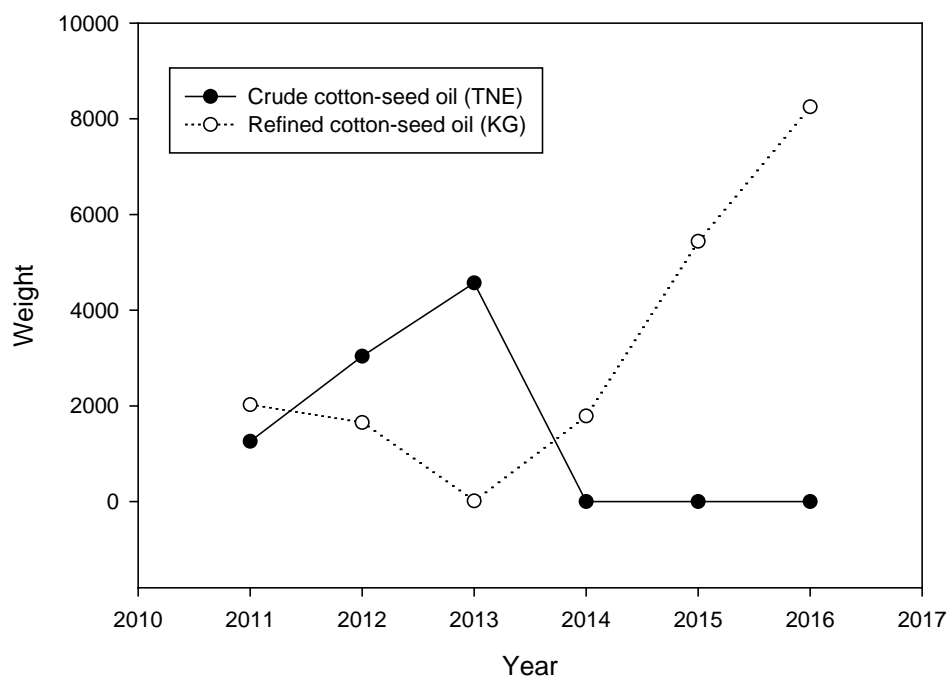


圖 7、2011-2016 年粗製棉籽油和精煉棉籽油之相關製品的進口數量



表 4、不同物種間器官和組織中的棉酚蓄積性研究

| 物種 | 飼料中棉酚含量 | 餵食時間 | 棉酚殘留的器官/組織 | 殘留情形 | 參考文獻 |
|----|-------------------------|---------------------------------------|-------------------------|---|------|
| 肉雞 | 0,100,200,300,400 mg/kg | 21,42 天 | 肝臟、心臟、腎臟、肌肉 | 肝臟中棉酚殘留濃度高，肌肉組織最低。 餵食 21 天的殘留量和飼料中含量呈正相關($r^2 > 0.95$)，但餵食 42 天的相關性下降。 | [44] |
| 蛋雞 | 200,400 mg/kg | 1-5 天 6-10 天 11-15 天 16-20 天 | 蛋黃 | 餵食時間和殘留量呈現正相關。相同劑量下，(+)棉酚的殘留量皆高於(-)棉酚。 | [45] |
| 豬 | 0,300,600 ppm | 14,28 天 | 肝臟、肺臟、心臟、腎臟、脾臟、胰臟、橫膈膜肌肉 | 肝臟和橫膈膜肌肉的游離棉酚含量高於結合棉酚；而腎臟、肺臟和脾臟卻相反。 | [49] |
| 豬 | 80,244,400 mg/kg | 90 天 | 肝臟 | 相同劑量下，結合棉酚殘留量高於游離棉酚。 | [46] |
| 羔羊 | 20,30 mg/kg/day | 14,16 天 | 肝臟、肺臟、心臟、腎臟、脾臟、胰臟、肌肉 | 肝臟中殘留量最高，肌肉中最低；因動物隻數少，使同樣器官和組織的殘留結果差異較大。 | [48] |
| 乳牛 | 91.15,117.31 mg/kg | 30,60 天 | 牛乳 | 皆未偵測出棉酚。 | [51] |

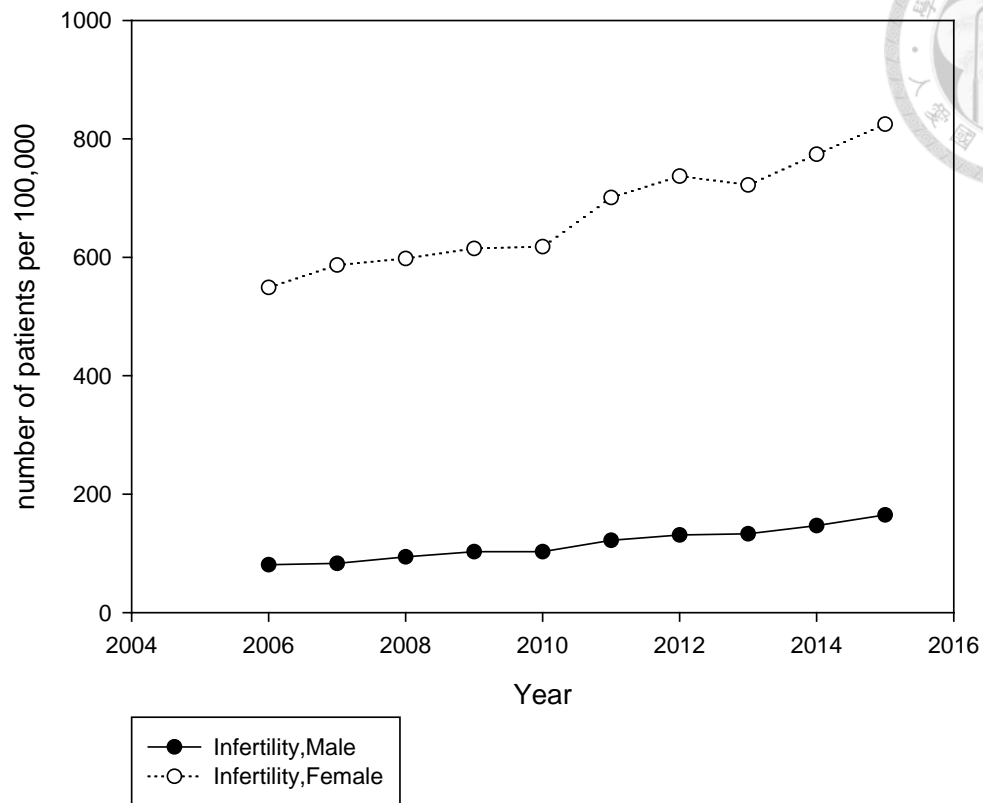


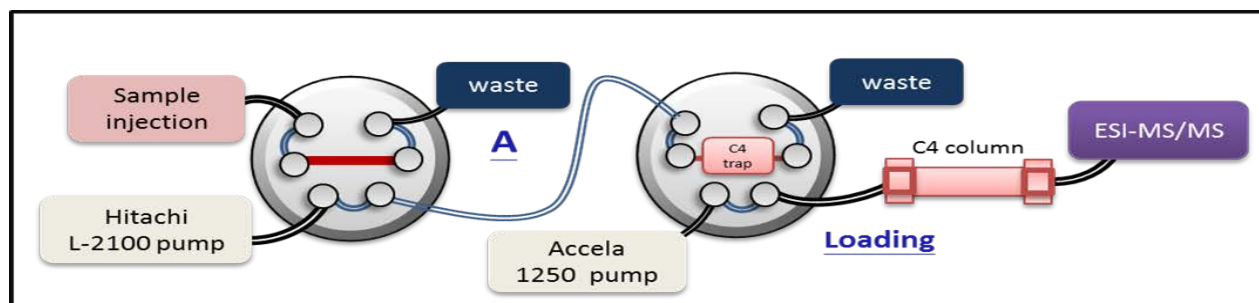
圖 8、2006-2015 年全民健保不孕症就診率

* 每十萬人口就診率(number of patients per 100,000)： $\frac{\text{不孕症患者人數}}{\text{年中人口數}} \times 100,000$

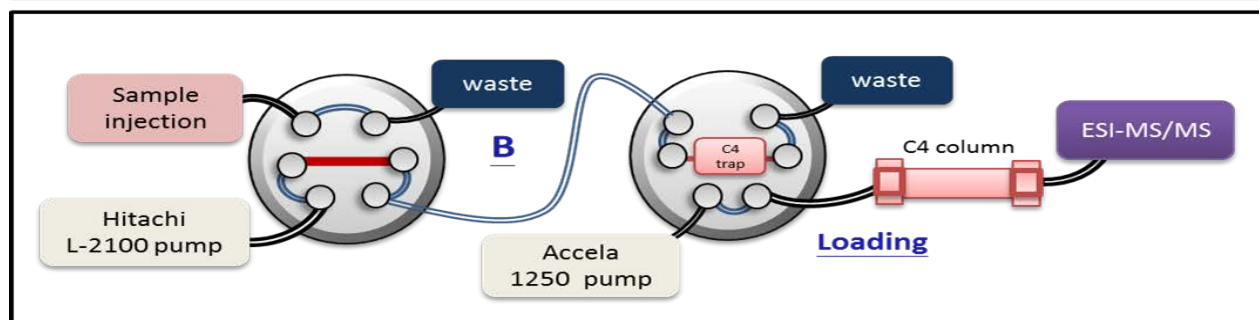


表 5、血漿中棉酚及其衍生物的分析方法回顧

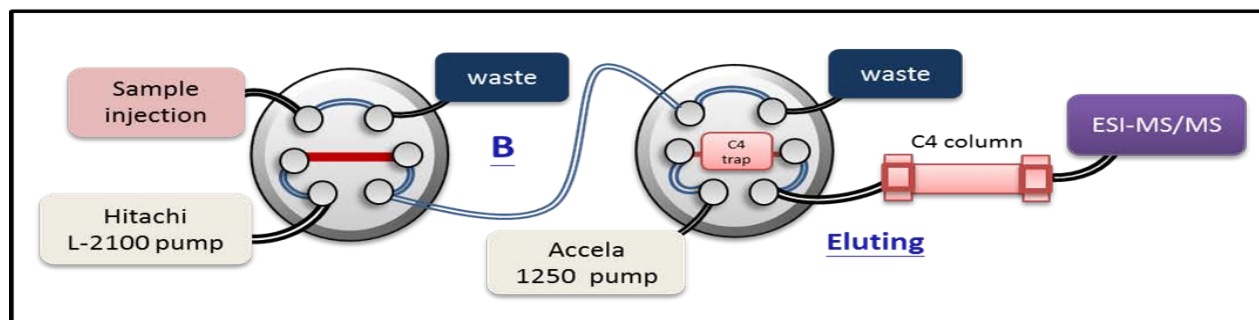
| 分析方法 | 偵測器 | 分析物質 | 偵測極限 (LOD) | 極低定量極限 (LLOQ) | 準確度 (%) | 精密度 (% CV) | 分析應用 | 文獻 |
|----------|-------|---------------|---------------|------------------|------------|---------------|------|------|
| HPLC | ECD | gossypol | 5 | - | 85.7-96.7 | 2.41-3.81 | 人體血漿 | [68] |
| LC-MS/MS | MS/MS | apogossypol | - | 10 | 96.2-105.9 | 3.3-19.7 | 小鼠血漿 | [69] |
| HPLC | UV | R-(-)gossypol | 28 | 56 | 92.7-107.1 | 0.5-13.2 | 人體血漿 | [70] |



a. Sample injection



b. On-line SPE



c. LC-MS/MS

圖 9、Online-SPE LC-MS/MS 分析系統

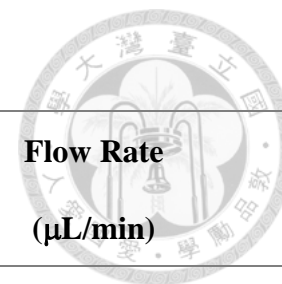


表 6、最佳化之層析梯度和移動相流速

| Time (min) | On-line SPE system | | LC system | Flow Rate ($\mu\text{L}/\text{min}$) |
|------------|------------------------|------------------|------------------|---|
| | 0.01% FA _{aq} | 0.01% FA in MeoH | 0.01% FA in MeoH | |
| 0.0 | 30% | 70% | 100% | 400 |
| 0.5 | 30% | 70% | 100% | 400 |
| 0.8 | 0% | 100% | 100% | 400 |
| 4.5 | 0% | 100% | 100% | 400 |
| 4.8 | 30% | 70% | 100% | 400 |
| 8.0 | 30% | 70% | 100% | 400 |



表 7、棉酚及其內標準品的前驅離子、產物離子、撞擊能量和毛細管電壓

| | 分子量 (Da) | 前驅離子 (m/z) | 產物離子 (m/z) | 碰撞能量 (V) | 毛細管電壓 (V) |
|----------|-------------|---------------|---------------|-------------|--------------|
| Gossypol | 518 | 517 | 259 | 34 | -98 |
| | | | 231 | 46 | |
| GDP(IS) | 632 | 633 | 556 | 29 | -182 |
| | | | 483 | 42 | |



NL: 1.72E5
TIC MS 50_ppb

NL: 1.09E5
TIC F: -c ESI SRM
ms2 517.000
[230.600-231.600,
258.600-259.600] MS
50_ppb

NL: 1.72E5
TIC F: -c ESI SRM
ms2 631.000
[482.800-483.800,
555.900-556.900] MS
50_ppb

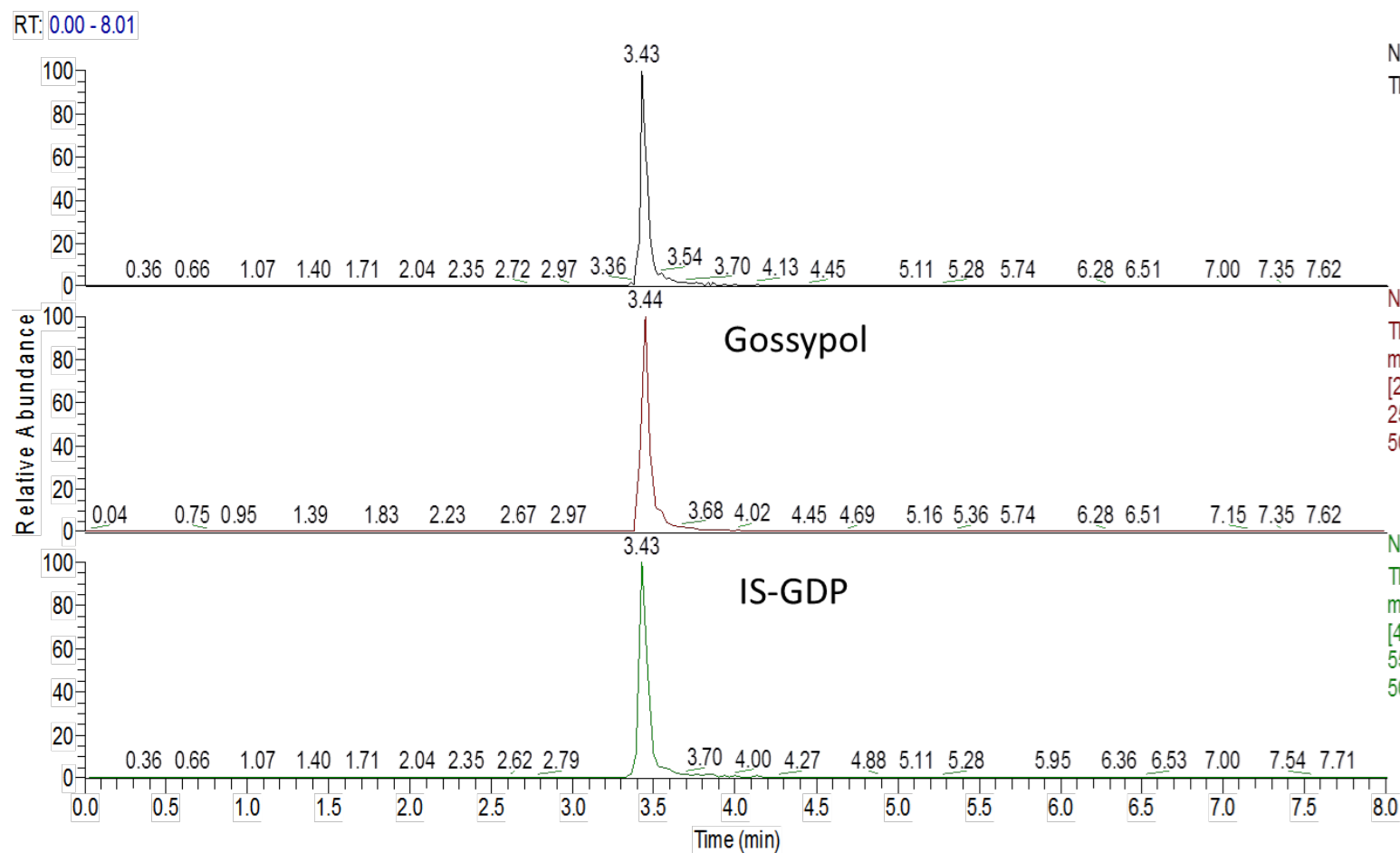


圖 10、配製於乙腈中之標準品和內標準品的最佳化層析圖

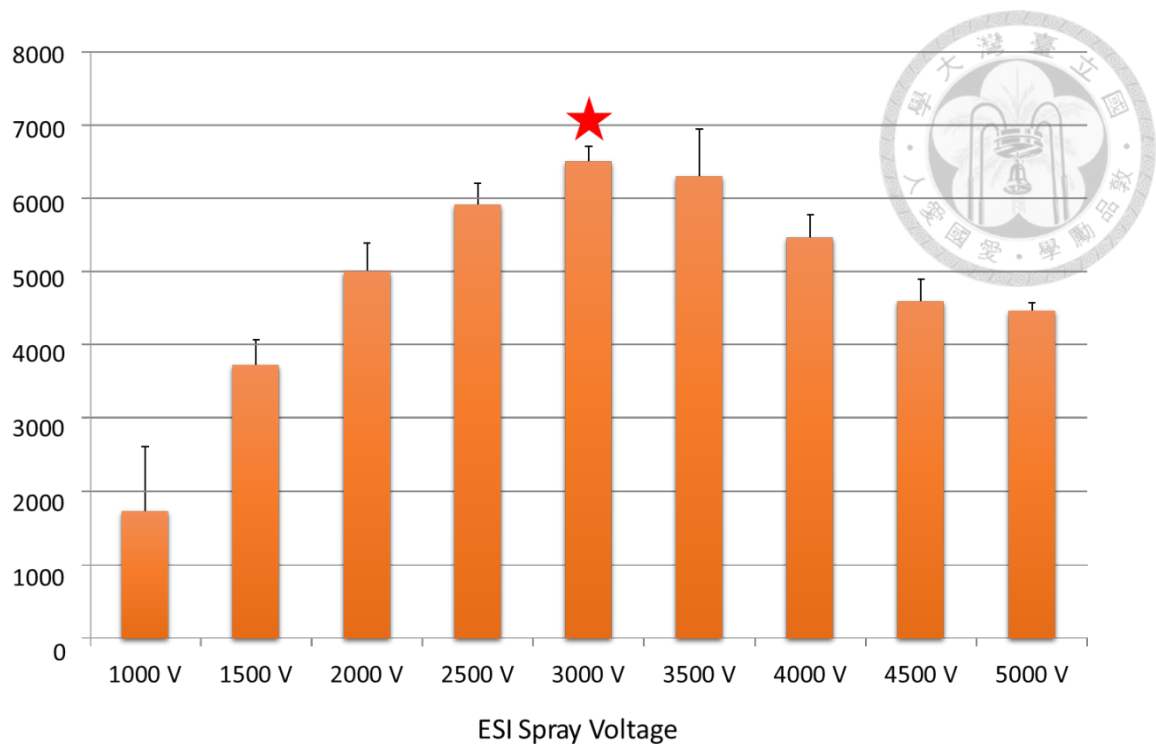


圖 11、Spray voltage 條件最佳化

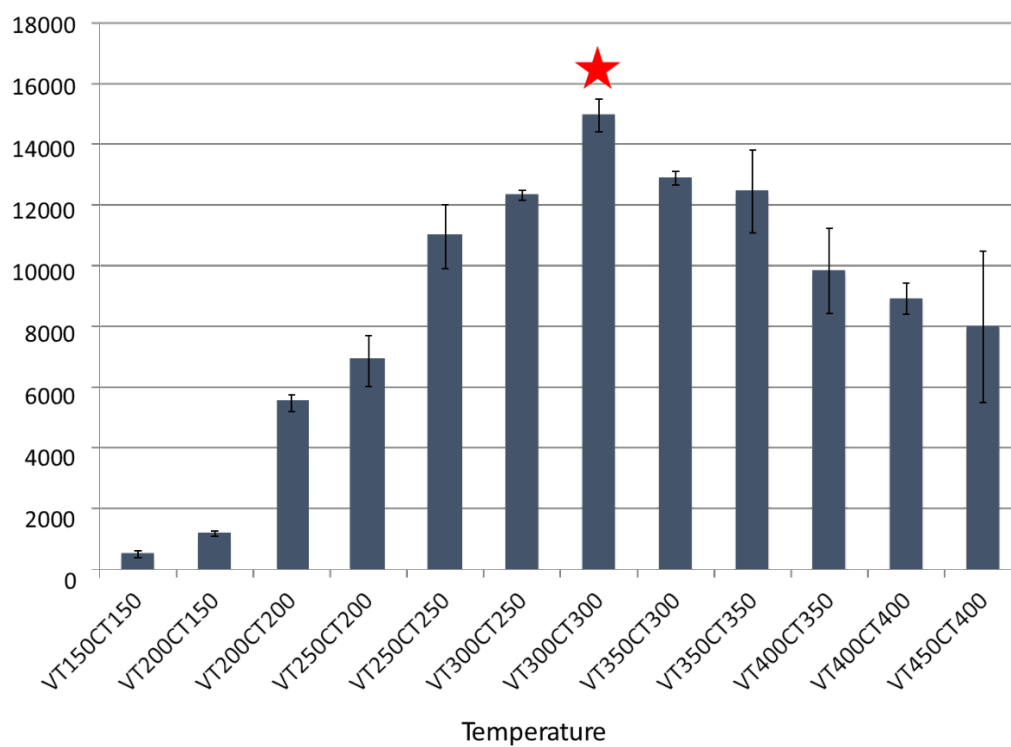


圖 12、Vaporizer temperature 和 Capillary temperature 條件最佳化

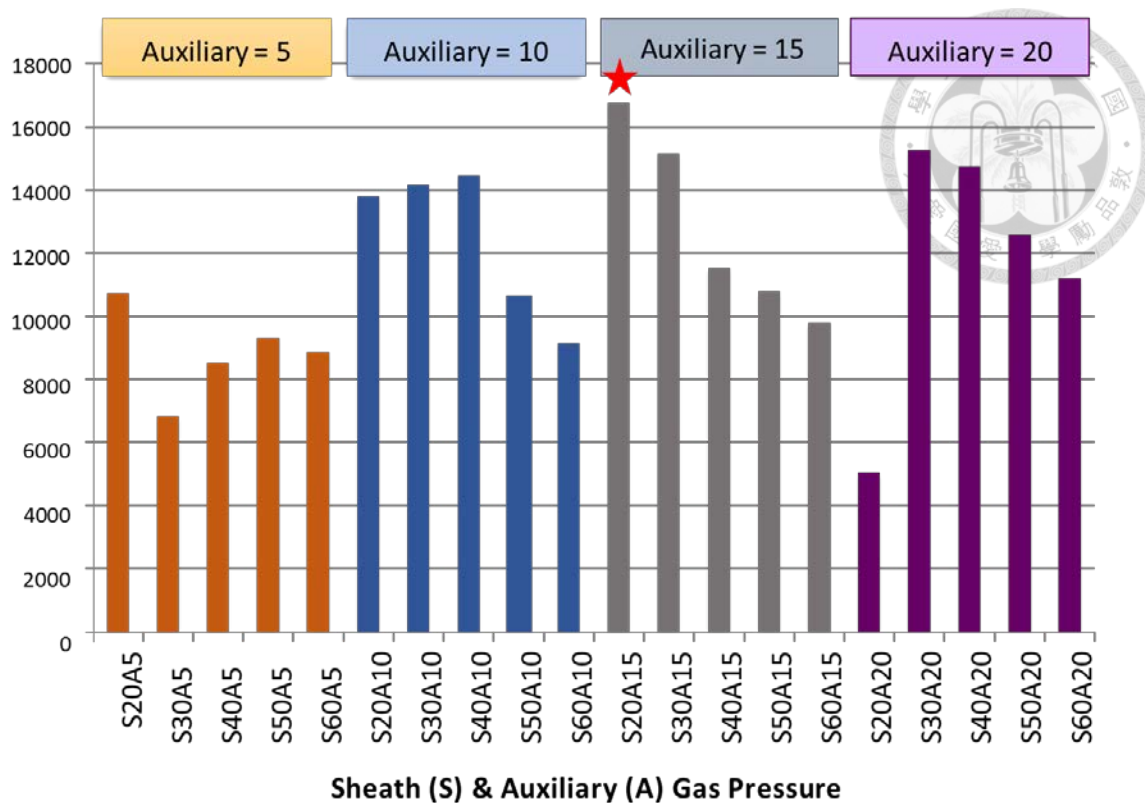


圖 13、Sheath gas pressure 和 Auxiliary gas pressure 條件最佳化

表 8、最佳化後游離源條件

| Ion source | ESI |
|------------------------------|---------------|
| Mode | Negative mode |
| Spray voltage (V) | 3000 |
| Vaporizer temperature (°C) | 300 |
| Sheath gas pressure (psi) | 20 |
| Auxiliary gas pressure (psi) | 15 |

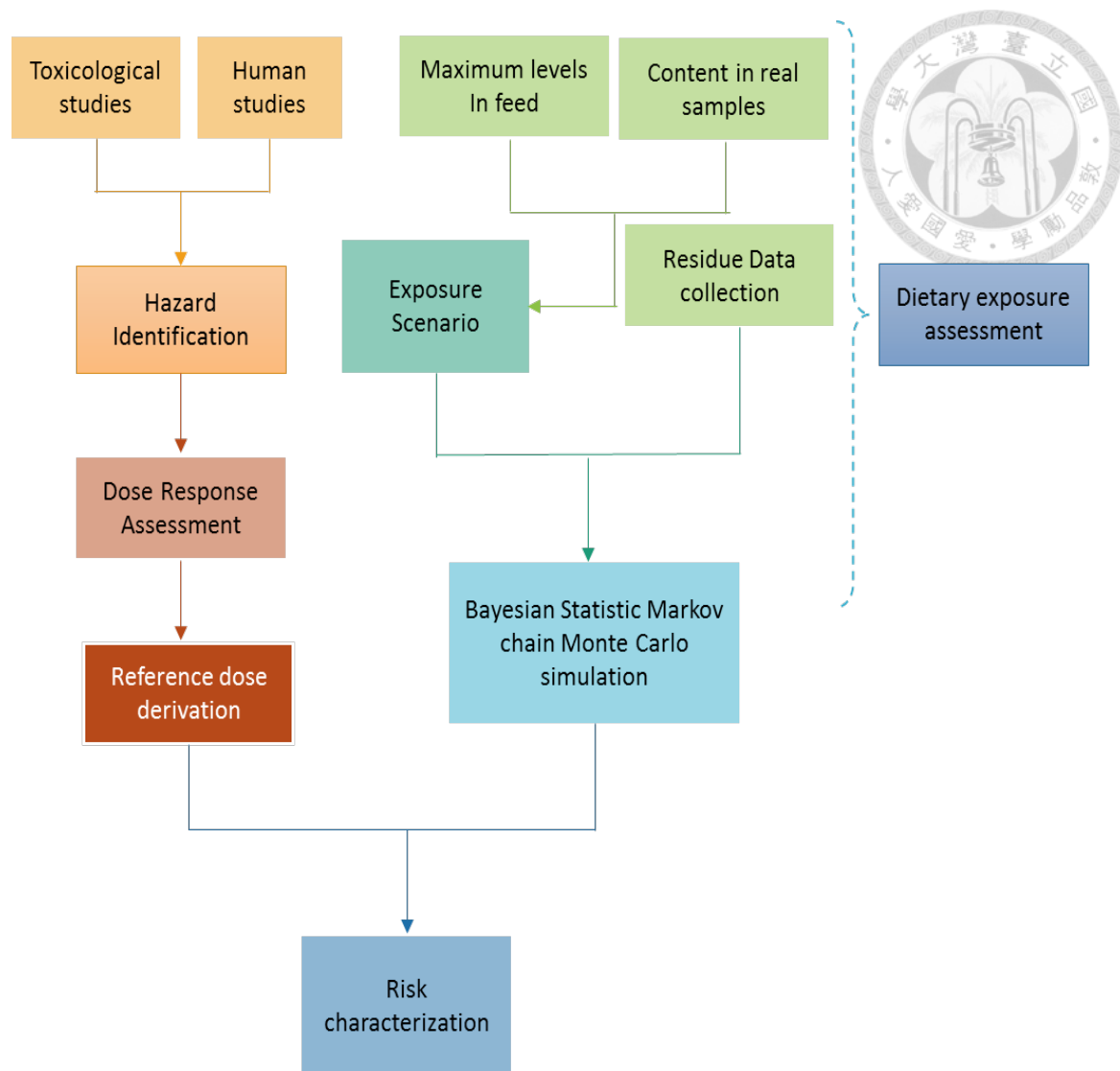


圖 14、本研究進行的健康風險評估架

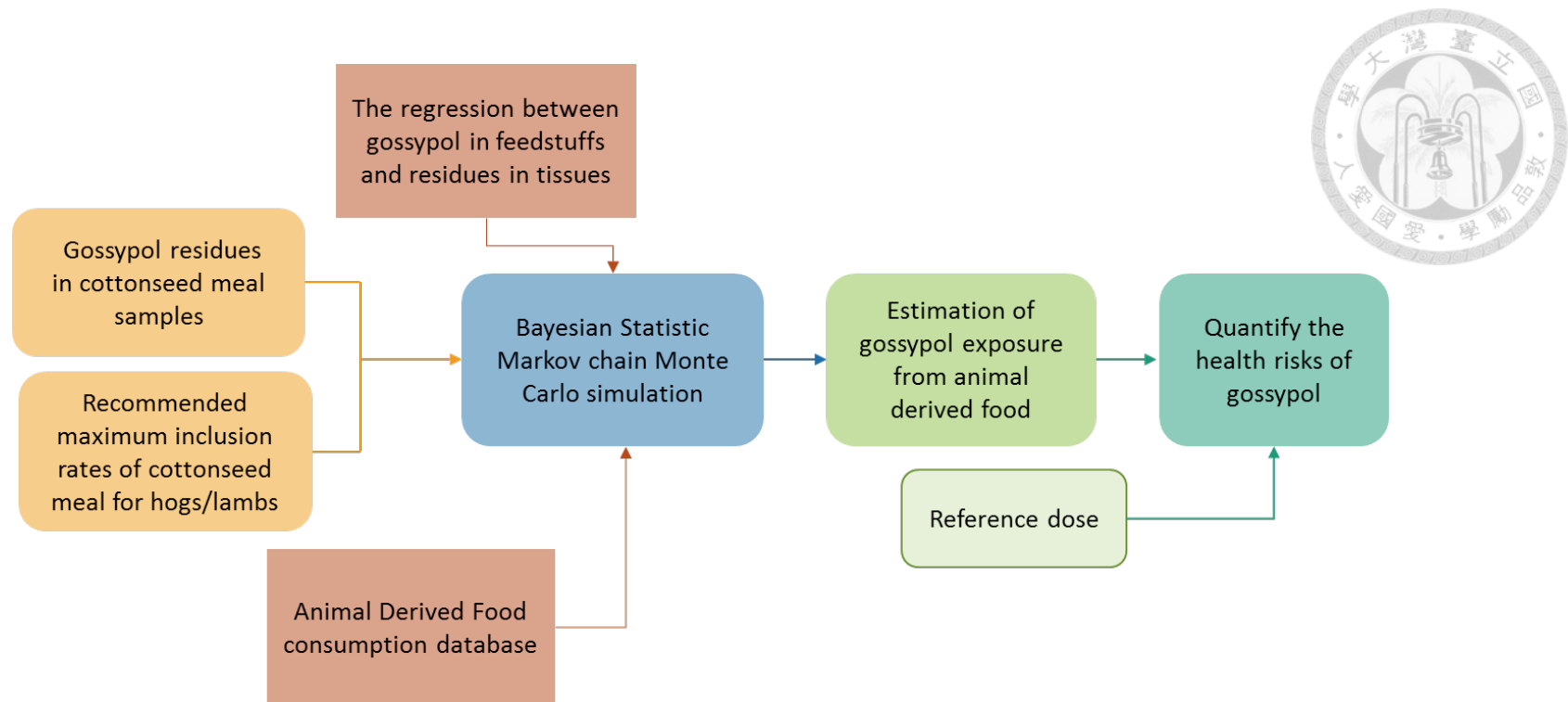


圖 15、暴露情境(一)的評估流程

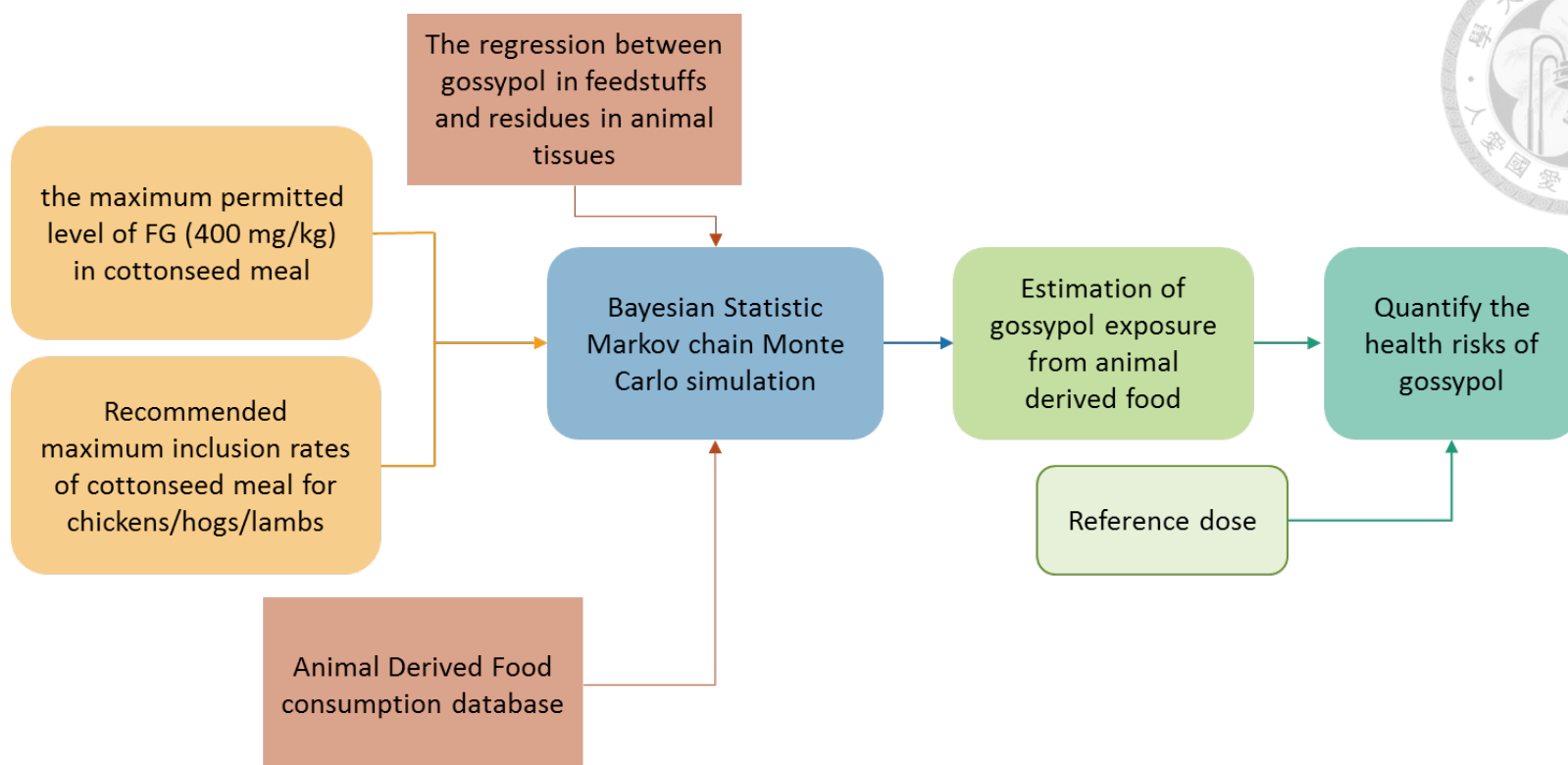


圖 16、暴露情境(二)的評估流程

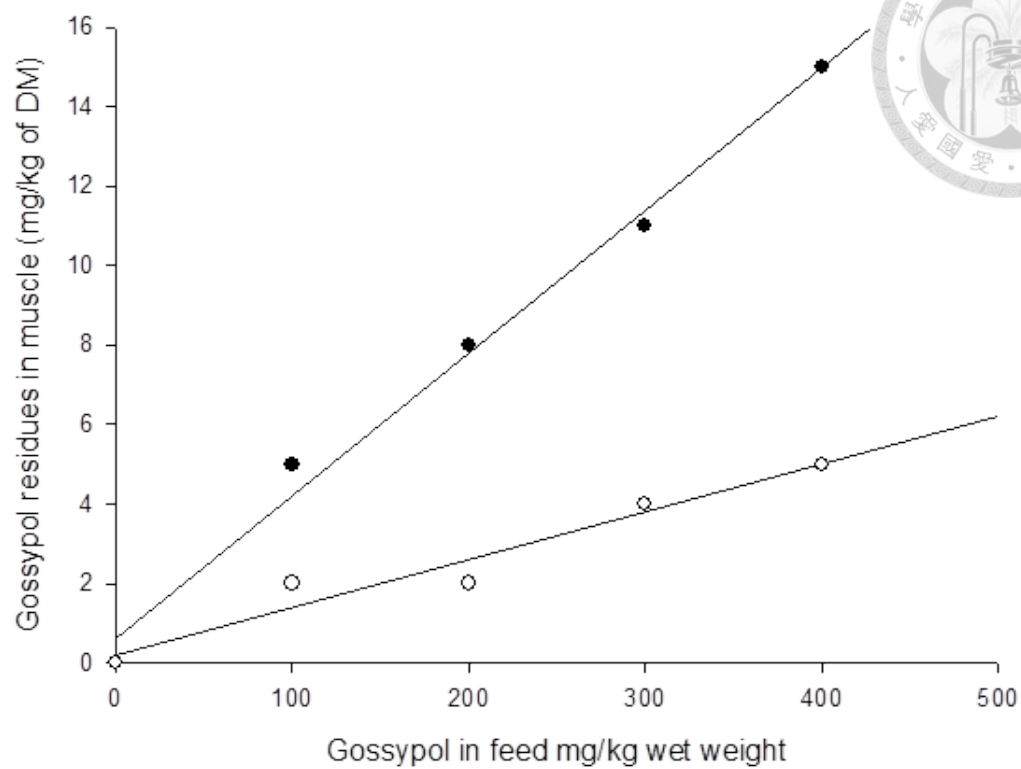
表 9、棉酚作為男性避孕藥試驗之劑量反應關係

| 劑量 (mg/kg b.w/day) | 時間 (day) | 換算劑量 (mg/kg) | 個案數 | 發生數 | 發生率 (%) |
|-----------------------|-------------|-----------------|-----|-----|------------|
| 0 | 112 | 0 | 51 | 0 | 0 |
| 0.24 | 84 | 20.16 | 134 | 55 | 41 |
| 0.24 | 112 | 26.88 | 134 | 81 | 60 |

表 10、不同禽畜飼料中棉酚最高濃度推估

| | 法規值* (mg/kg) | 棉籽粕添加比例 | 飼料最高容許濃度 (mg/kg) |
|-----|-----------------|---------|---------------------|
| 雞、鴨 | 400 | 2~3% | 12 |
| 豬 | 400 | 6% | 24 |
| 牛、羊 | 400 | 10% | 40 |

*飼料用棉籽粕中游離棉籽油酚最高含量為 0.04% (400 ppm)。



- (+)Gossypol ($y = 0.036x + 0.6, R^2 = 0.9908$)
- (-)Gossypol ($y = 0.012x + 0.2, R^2 = 0.9474$)

圖 17、肉雞飼料中棉酚含量與肌肉組織殘留的相關性
(摘自 2006 年 Lordelo 等人的研究[44])

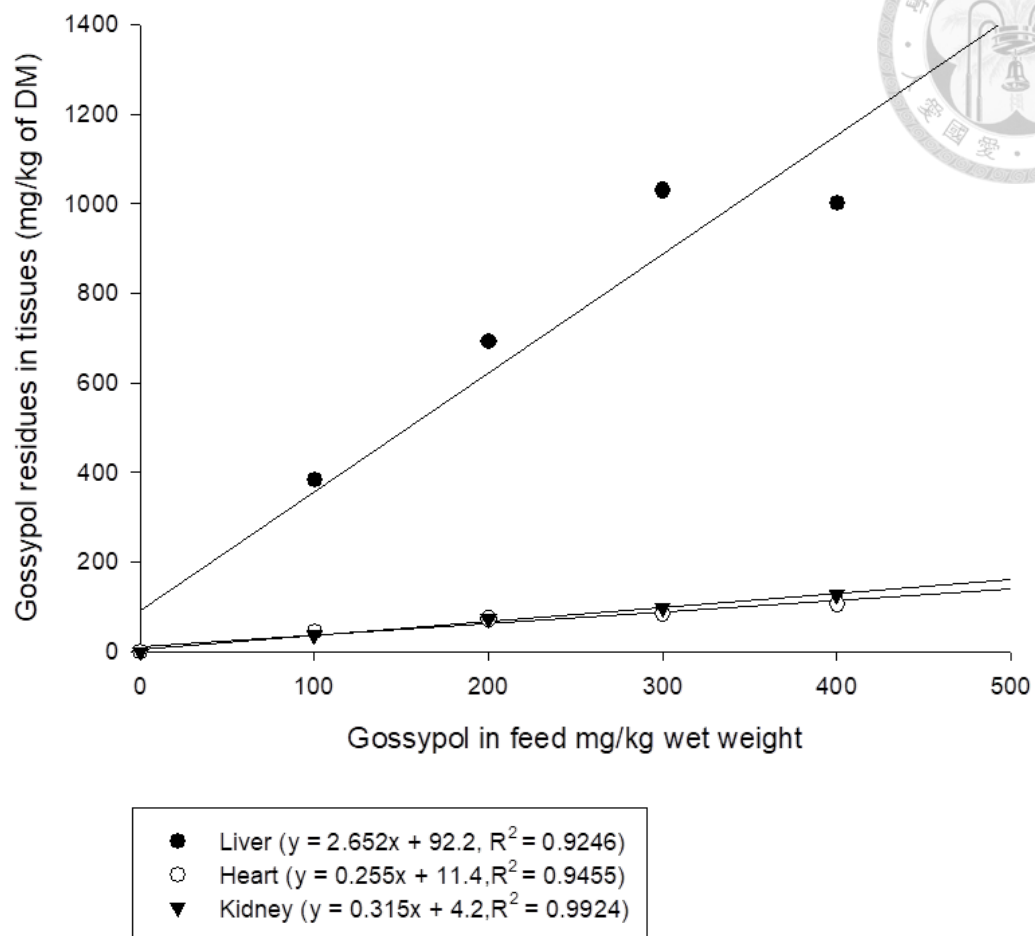


圖 18、肉雞飼料中棉酚含量與各內臟殘留的相關性
(摘自 2006 年 Lordelo 等人的研究[44])

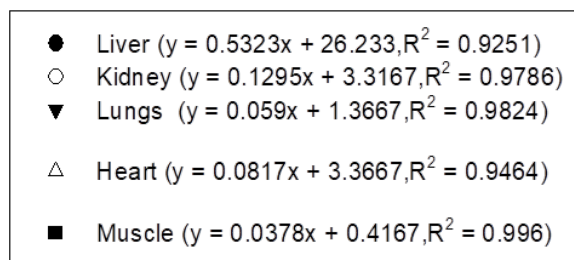
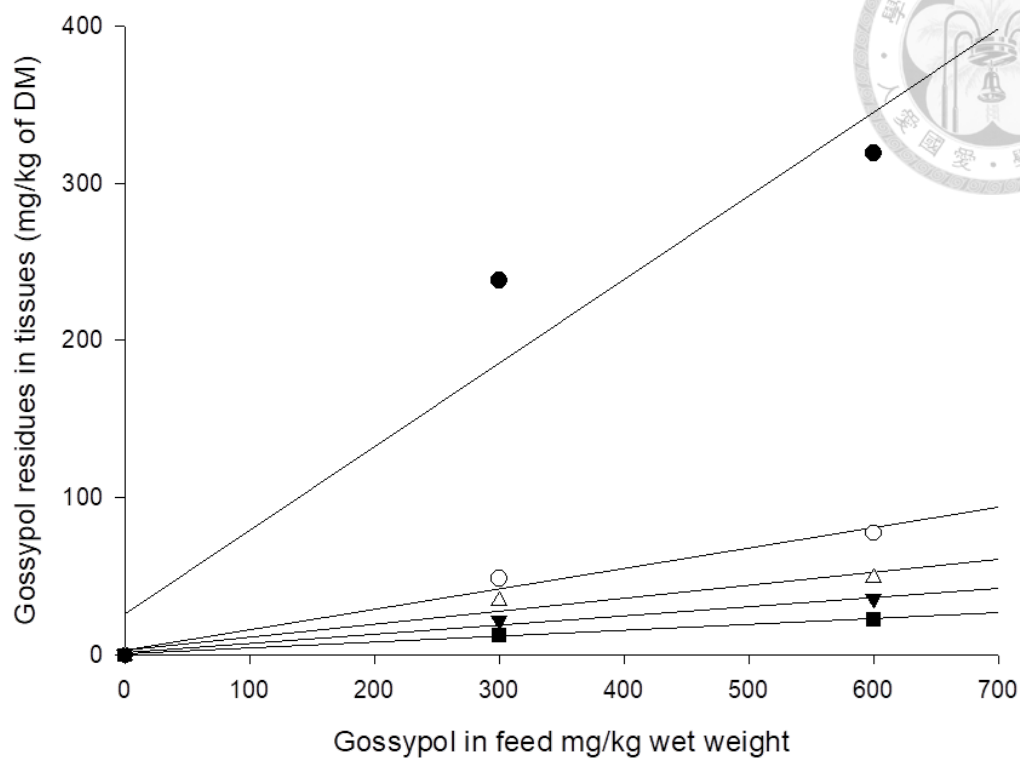


圖 19、肉豬飼料中棉酚含量與各內臟組織中殘留的相關性
(摘自 1966 年 Sharma 等人研究[49])

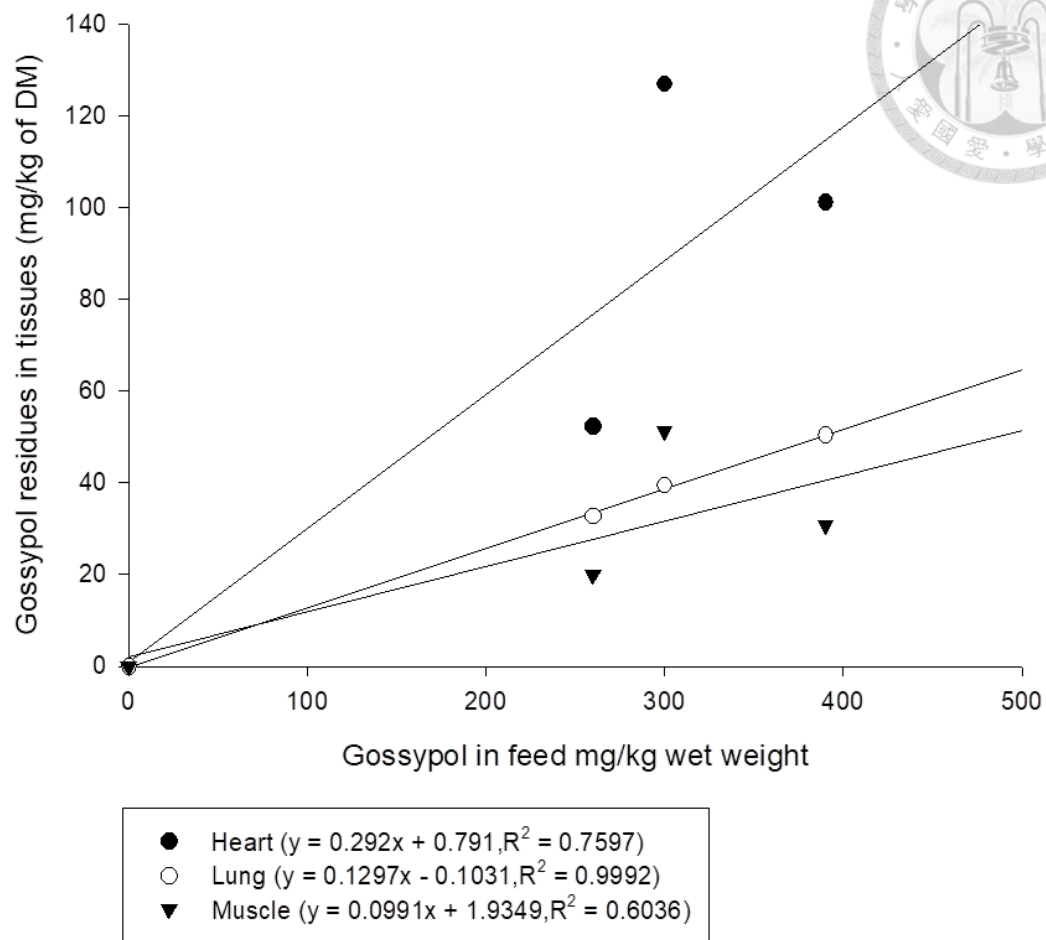


圖 20、羔羊飼料中棉酚含量與各內臟組織中殘留的相關性
(摘自 1996 年 Kim 等人研究[48])

表 11、攝食資料庫參考數據品項

| 編號 | 品項 | 編號 | 品項 |
|--------------|--------|--------------|--------|
| C1 | 植物性油脂 | E1.06 | 豬肉加工製品 |
| D1.01 | 雞肉 | E3.01 | 羊肉 |
| D1.02 | 雞肝 | E1.04 | 其他羊內臟 |
| D1.04 | 其他雞內臟 | E1.06 | 羊肉加工製品 |
| D1.06 | 雞肉加工製品 | G1.01 | 雞蛋 |
| E1.01 | 豬肉 | | |
| E1.02 | 豬肝 | | |
| E1.03 | 豬腎 | | |
| E1.04 | 其他豬內臟 | | |

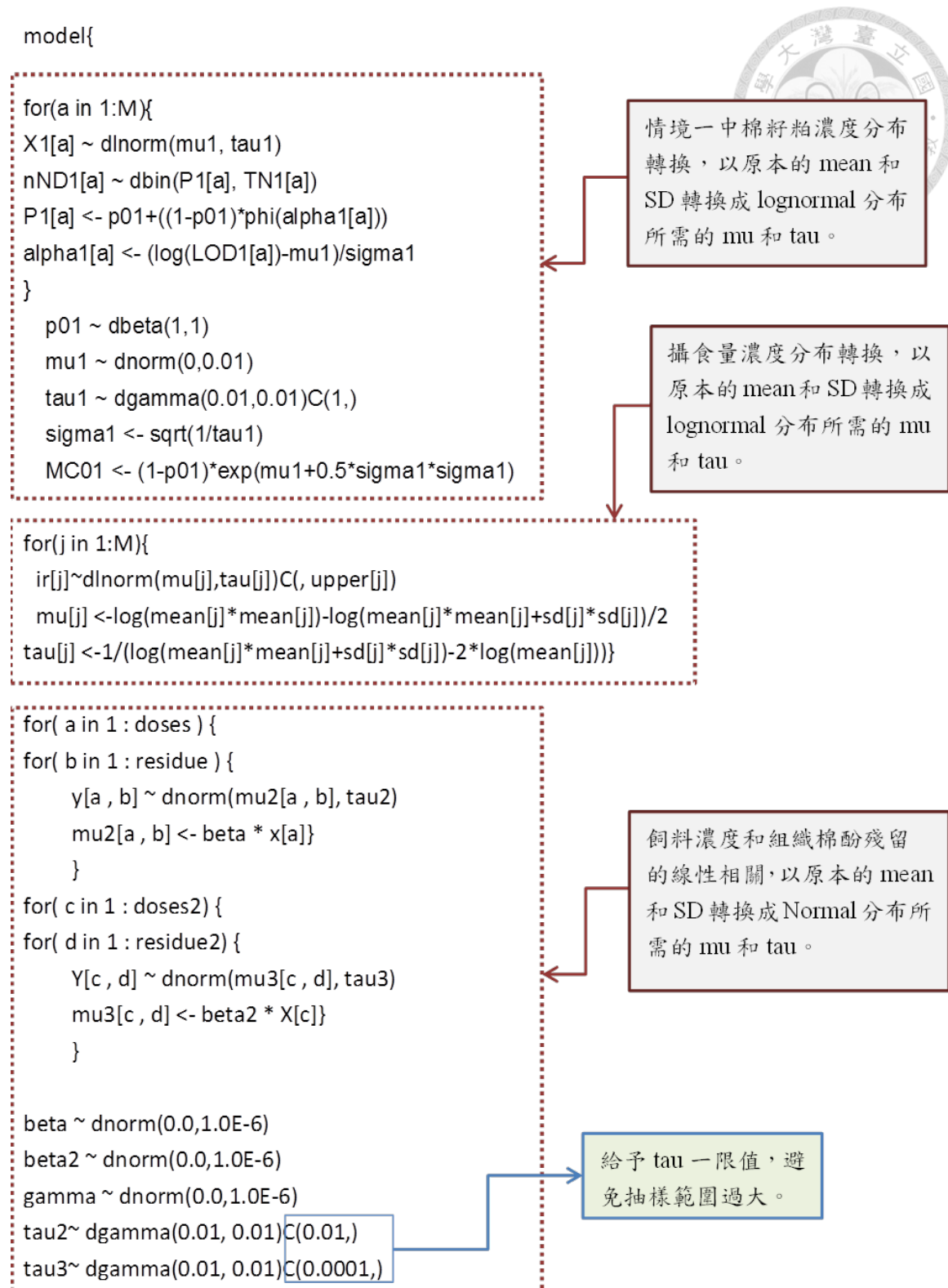


圖 21、OpenBUGS 程式語言編寫

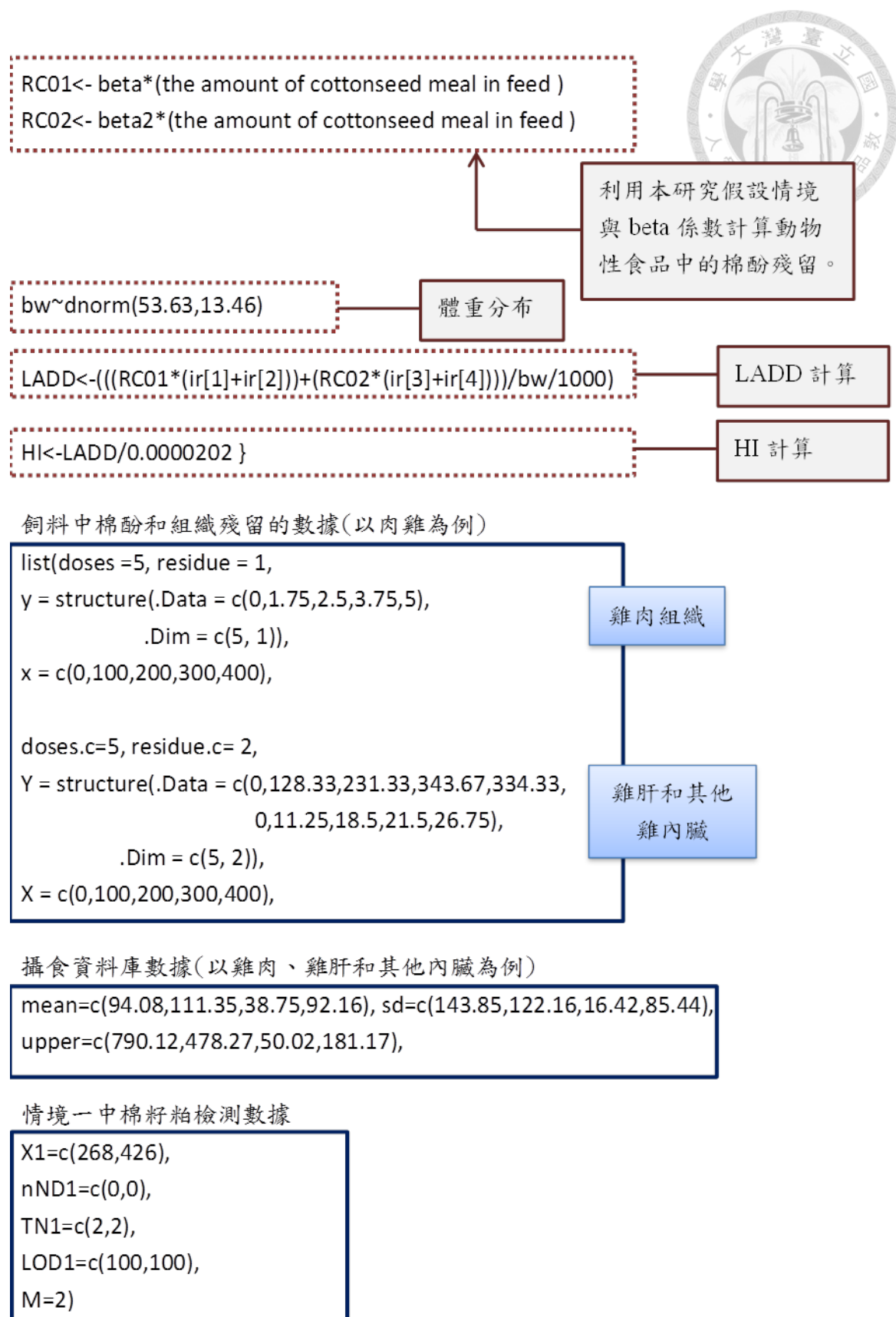


圖 22、OpenBUGS 程式語言編寫(續一)

推估飼料中建議含量

```
model{
```

```
for(j in 1:M){
```

```
  ir[j]~dlnorm(mu[j],tau[j])C(, upper[j])
```

```
  mu[j] <-log(mean[j]*mean[j])-log(mean[j]*mean[j]+sd[j]*sd[j])/2
```

```
  tau[j] <-1/(log(mean[j]*mean[j]+sd[j]*sd[j])-2*log(mean[j]))}
```

```
for (j in 1:M)
```

```
{
```

```
RRC[j] <- TRC*P[j]
```

```
FC[j] <- RRC[j] /beta[j]}
```

```
TIR <- sum(ir[ ])
```

```
TRC<- 0.02*bw/TIR
```

```
bw~dnorm(63.05,12.00))}
```

```
# j=1~M, M是某品項攝食量
```

```
# RRC是某禽畜器官或組織中的殘留濃度
```

```
# TRC是某禽畜體內的總殘留濃度
```

```
# FC是飼料中棉酚建議含量
```

攝食量濃度分布轉換

攝食量、beta係數和某組織佔總殘留濃度的比例

```
list(
```

```
mean=c(94.08,111.35,38.75,92.16), sd=c(143.85,122.16,16.42,85.44),
```

```
upper=c(790.12,478.27,50.02,181.17),
```

```
beta = c(0.01267, 0.01267, 0.2549,0.2549),
```

```
P = c(0.05,0.05, 0.95, 0.953),
```

```
M = 4)
```

圖 23、OpenBUGS 程式語言編寫(續二)

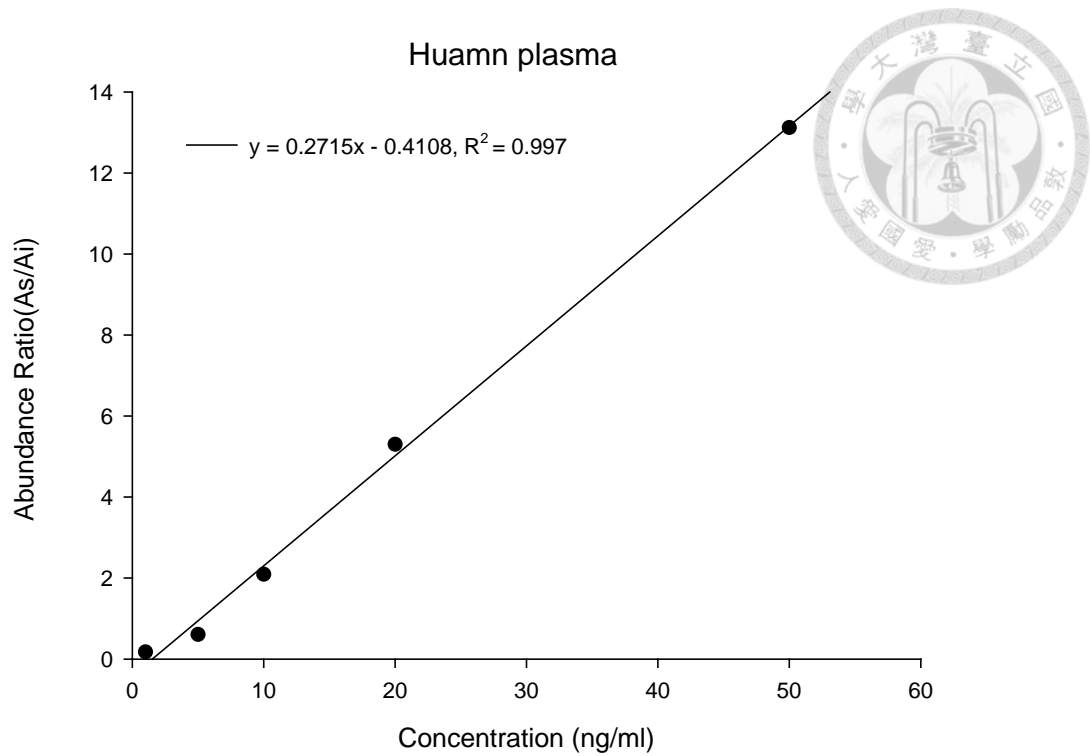


圖 24、配置於空白血漿中的低濃度檢量線

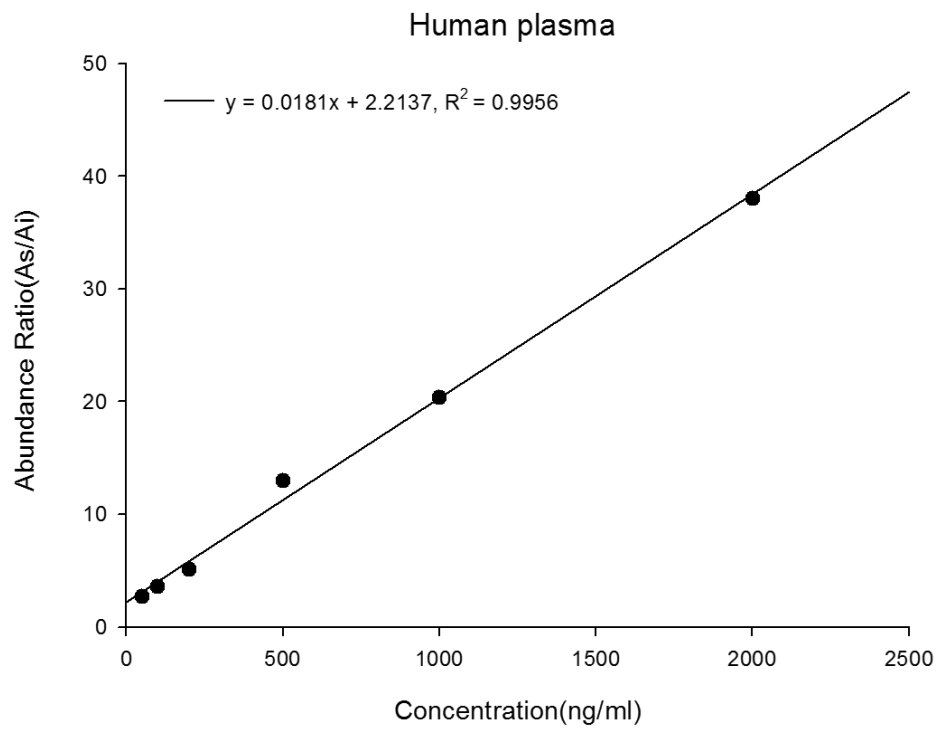


圖 25、配置於空白血漿中的高濃度檢量線

表 12、基質效應

| Sample | $\text{Slope}_{r1} \pm S_{r1}$ | t – claculated ^a | t – tabulated ^b (df=9) | p – value ^c |
|--------|--------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|------------------------|
| plasma | 1.007 ± 0.0805 | 0.705 | 1.812 | 0.499 |

a. 若 t-calculated 小於 t-tabulated，表示在統計上基質效應不顯著。

b. 95%信賴區間。

c. 若 p-value 大於 0.05，表示在統計上基質效應不顯著。

表 13、同日與異日準確度和精密度

| Intra-day (n=3) | | | Inter-day (n=3) | | |
|--------------------------|-----------------|----------------------|--------------------------|-----------------|----------------------|
| Concentration (ng/mL) | Accuracy (%) | Precision (% RSD) | Concentration (ng/mL) | Accuracy (%) | Precision (% RSD) |
| 1 | 93.6 | 6.4 | 1 | 87.8 | 12.6 |
| 5 | 112.8 | 4.4 | 50 | 108.5 | 10.3 |
| 10 | 106.5 | 0.4 | 2000 | 102.9 | 2.7 |
| 20 | 101.2 | 1.4 | | | |
| 50 | 94.6 | 9.8 | | | |
| 100 | 85.2 | 3.0 | | | |
| 200 | 108.6 | 3.6 | | | |
| 500 | 112.7 | 1.2 | | | |
| 1000 | 92.1 | 4.0 | | | |
| 2000 | 101.7 | 2.7 | | | |



RT: 0.00 - 8.01

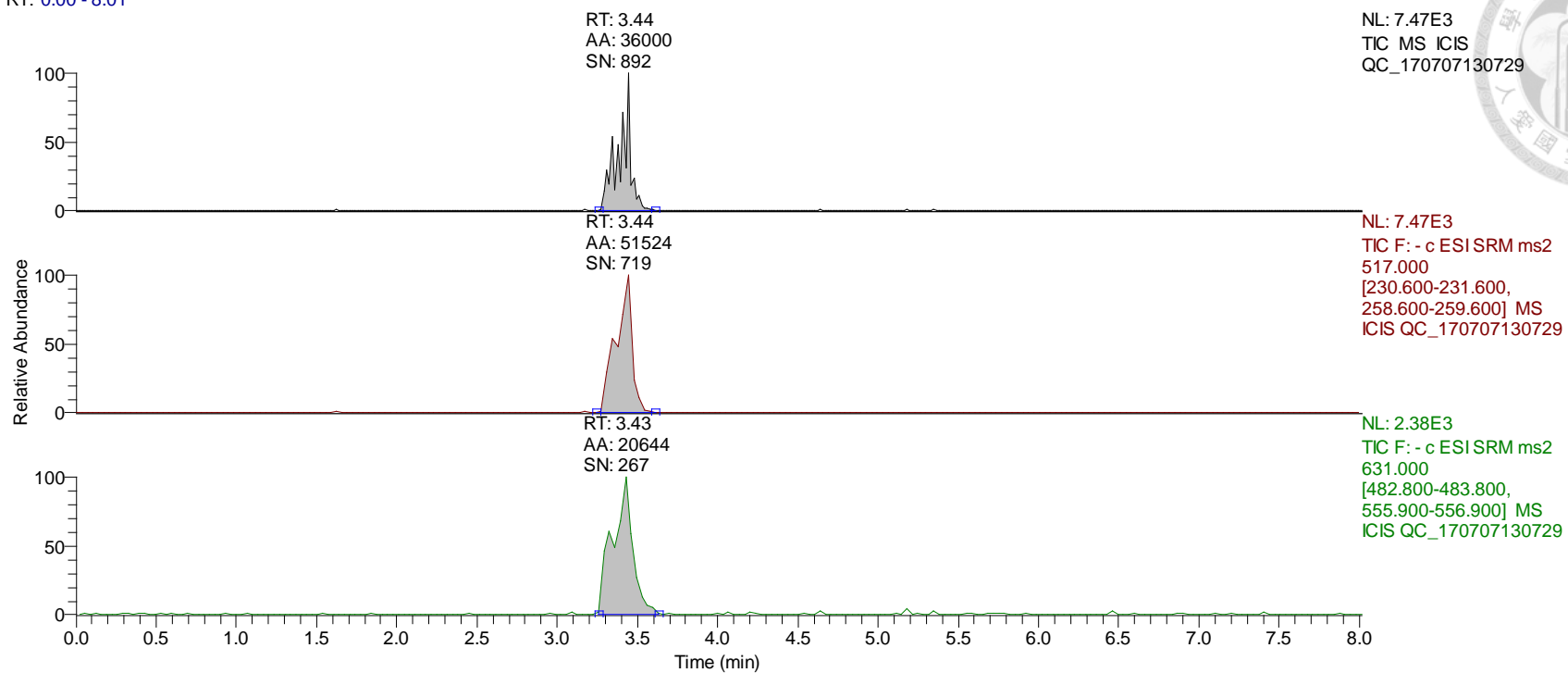


圖 26、配置於空白血漿中的品質控制樣本(10ppb)層析圖

RT: 0.00 - 8.01

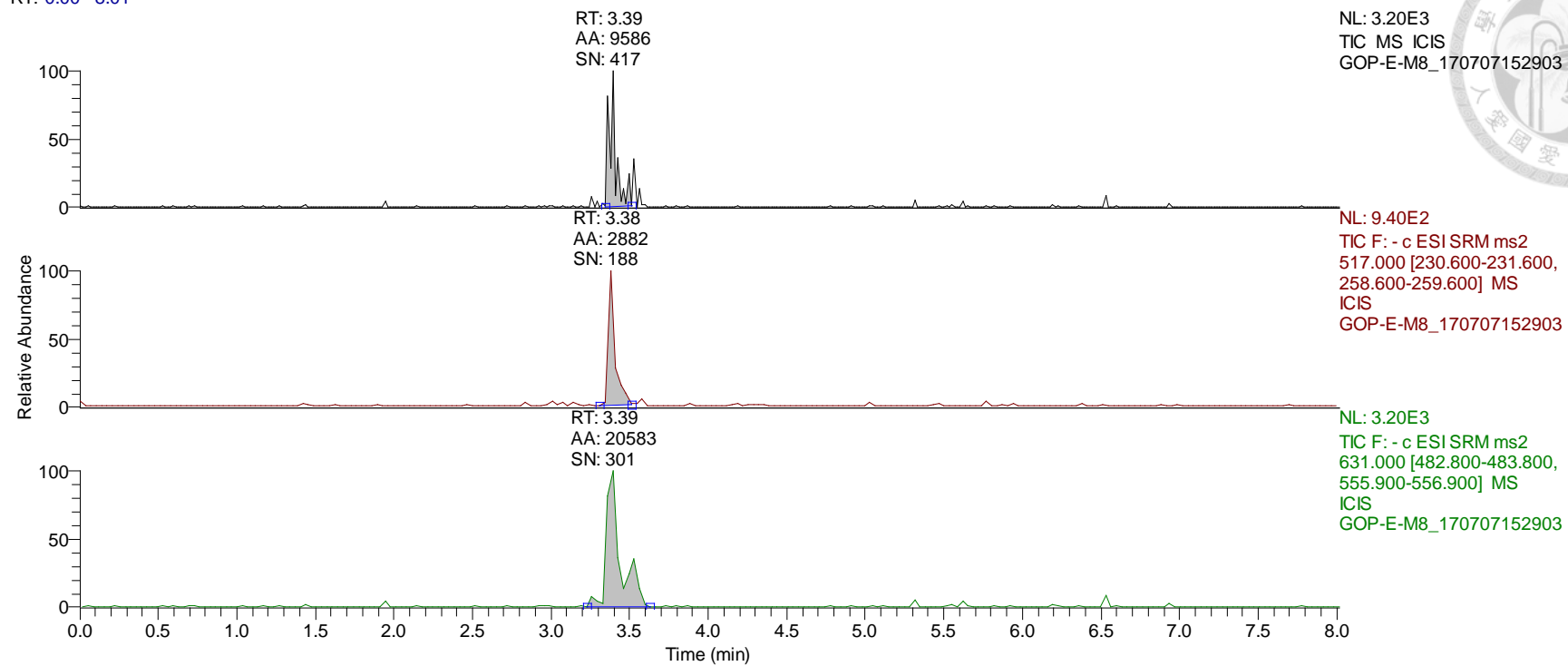
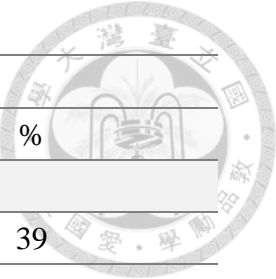


圖 27、受試者血漿中偵測到棉酚的層析圖

表 14、不孕症個案的人口特徵統計



| 個案 | | |
|-------|----|----|
| | n | % |
| 總人數 | 28 | |
| 男性 | 11 | 39 |
| 女性 | 17 | 61 |
| 年齡 | | |
| 25-30 | 1 | 8 |
| 31-35 | 9 | 69 |
| 36-40 | 3 | 23 |
| 飲食習慣 | | |
| 外食 | | |
| 偶爾吃 | 4 | 31 |
| 經常吃 | 9 | 69 |
| 豬肉 | | |
| 不吃 | 0 | 0 |
| 很少吃 | 0 | 0 |
| 偶爾吃 | 8 | 62 |
| 經常吃 | 5 | 38 |
| 豬內臟 | | |
| 不吃 | 4 | 31 |
| 豬肝 | 7 | 54 |
| 豬心 | 2 | 15 |
| 豬小腸 | 4 | 31 |
| 豬大腸 | 5 | 38 |
| 雞肉 | | |
| 不吃 | 0 | 0 |
| 很少吃 | 0 | 0 |
| 偶爾吃 | 9 | 69 |
| 經常吃 | 4 | 31 |
| 雞內臟 | | |
| 不吃 | 5 | 38 |
| 雞肝 | 2 | 15 |
| 雞胗 | 4 | 31 |
| 雞心 | 3 | 23 |

| | | |
|--------|----|----|
| 牛肉 | | |
| 不吃 | 3 | 23 |
| 很少吃 | 3 | 23 |
| 偶爾吃 | 3 | 23 |
| 經常吃 | 4 | 31 |
| 羊肉 | | |
| 不吃 | 4 | 31 |
| 很少吃 | 5 | 38 |
| 偶爾吃 | 4 | 31 |
| 經常吃 | 0 | 0 |
| 魚肉 | | |
| 不吃 | 1 | 8 |
| 很少吃 | 1 | 8 |
| 偶爾吃 | 8 | 62 |
| 經常吃 | 3 | 23 |
| 植物油 | | |
| 橄欖油 | 6 | 46 |
| 葵花油 | 7 | 54 |
| 大豆沙拉油 | 5 | 38 |
| 花生油 | 2 | 15 |
| 香油 | 2 | 15 |
| 麻油 | 2 | 15 |
| 調和油 | 4 | 31 |
| 外食不知油種 | 7 | 54 |
| 抽菸 | | |
| 不抽菸 | 12 | 92 |
| 已戒菸 | 0 | 0 |
| 有抽菸習慣 | 1 | 8 |
| 喝酒 | | |
| 不喝酒 | 10 | 77 |
| 已戒酒 | 1 | 8 |
| 有喝酒習慣 | 2 | 15 |
| 喝茶 | | |
| 不喝茶 | 3 | 23 |

| | | |
|--------|----|----|
| 已戒茶 | 0 | 0 |
| 有喝茶習慣 | 10 | 77 |
| 喝咖啡 | | |
| 不喝咖啡 | 7 | 54 |
| 已戒咖啡 | 0 | 0 |
| 有喝咖啡習慣 | 6 | 46 |
| 嚼檳榔 | | |
| 不吃 | 12 | 92 |
| 已戒檳榔 | 0 | 0 |
| 有吃檳榔 | 1 | 8 |
| 長期服藥習慣 | | |
| 有 | 1 | 8 |
| 無 | 12 | 92 |
| 運動習慣 | | |
| 有 | 6 | 46 |
| 無 | 6 | 46 |
| 攝取保健食品 | | |
| 有 | 3 | 23 |
| 無 | 9 | 69 |

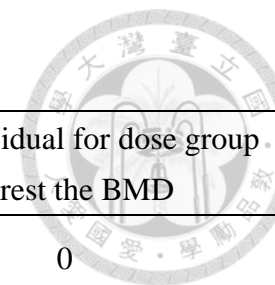


表 15、各模式特性與 BMDL 值(在 95%信賴區間下以及 BMR 10%)

| No. | Model Name | BMD | BMDL | P-value | AIC | Scaled residual for dose group nearest the BMD |
|-----|--------------------|---------|----------------|---------|---------|--|
| 1 | Gamma* | 9.80044 | 3.29187 | 1 | 365.311 | 0 |
| 2 | Logistic | 10.9081 | 8.71577 | 0.1143 | 369.028 | 0.884 |
| 3 | LogLogistic* | 10.3013 | 4.26267 | 1 | 365.311 | 0 |
| 4 | LogProbit* | 10.8689 | 4.77701 | 1 | 365.311 | 0 |
| 5 | Multistage* | 8.71909 | 3.24777 | 1 | 365.311 | 0 |
| 6 | Multistage-Cancer* | 8.71904 | 3.29187 | 1 | 365.311 | 0 |
| 7 | Probit | 10.6027 | 8.2768 | 0.2064 | 367.567 | 0.767 |
| 8 | Weibull* | 8.84046 | 3.29187 | 1 | 365.311 | 0 |
| 9 | Quantal-Linear | 3.4526 | 2.99783 | 0.3031 | 365.717 | 0 |

*為本研究最終所選取的六個模式

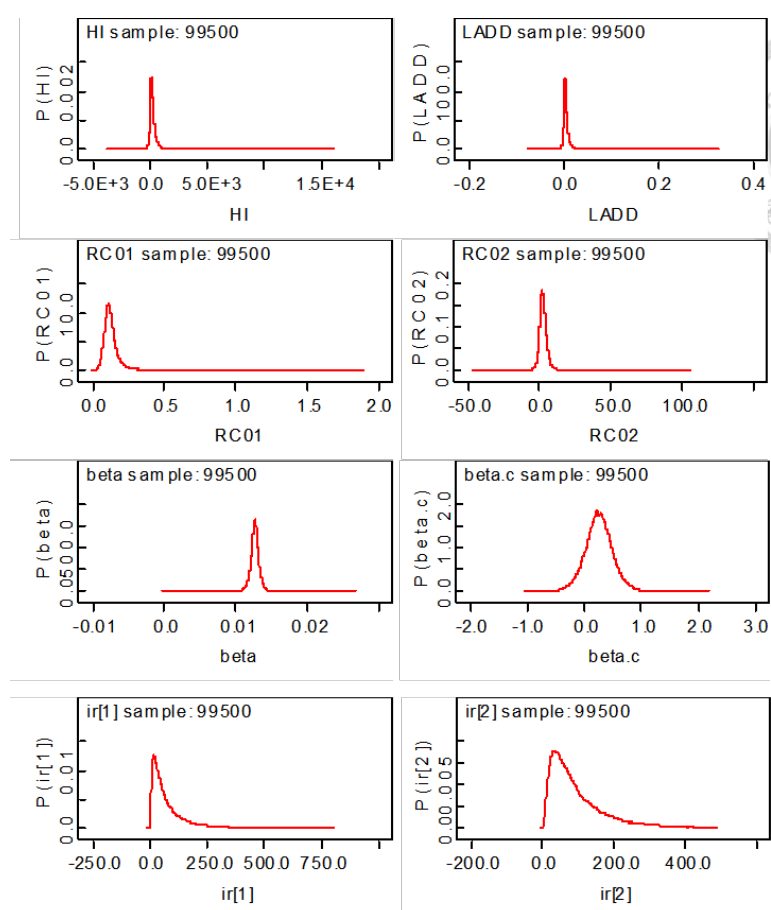


圖 28、模式中各參數的抽樣 density

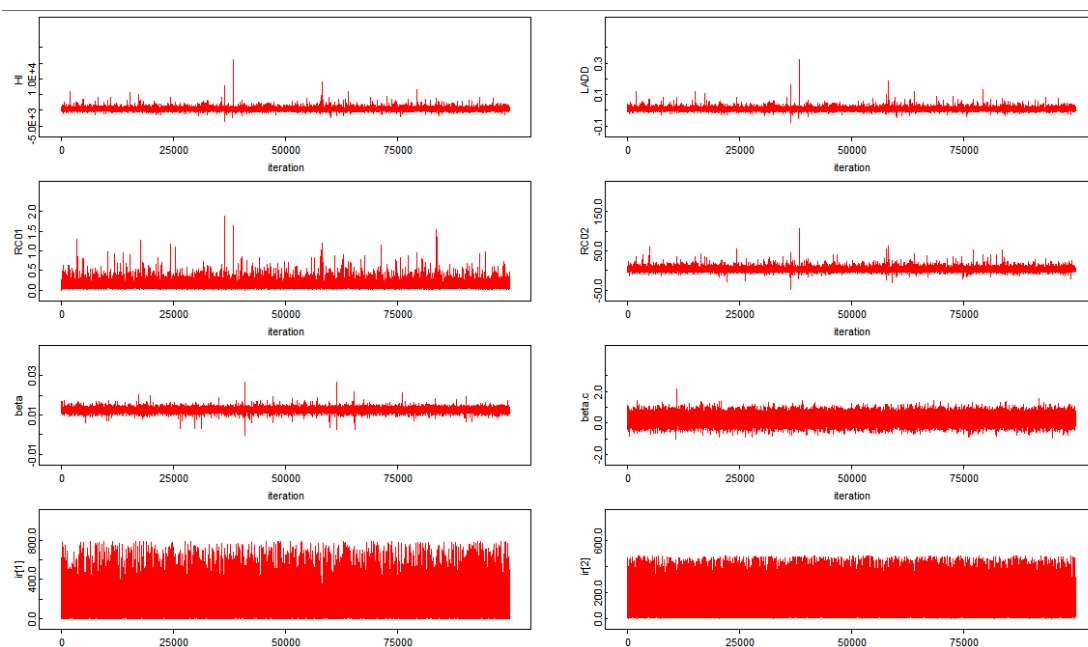


圖 29、模式中各參數的 MCMC 收斂情形

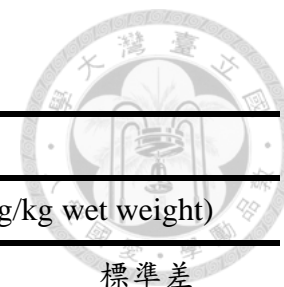


表 16、兩種情境中各品項的游離棉酚推估濃度

| 情境(一) | | | 情境(二) | | |
|--------------|-------------------------|-------|--------------|-------------------------|-------|
| 品項 | 殘留濃度 (mg/kg wet weight) | | 品項 | 殘留濃度 (mg/kg wet weight) | |
| | 平均值 | 標準差 | | 平均值 | 標準差 |
| 棉籽粕 | 347.5 | 181.4 | 雞肉 | 0.152 | 0.008 |
| 豬肉 | 0.202 | 0.108 | 雞內臟 (肝、心、肺) | 3.058 | 2.898 |
| 豬內臟(肝、腎、心、肺) | 0.348 | 0.813 | 雞內臟 (心、肺) | 0.879 | 0.086 |
| 豬內臟(肝、心、肺) | 0.344 | 0.789 | 豬肉 | 0.232 | 0.021 |
| 羊肉 | 0.910 | 0.559 | 豬內臟(肝、腎、心、肺) | 0.400 | 0.798 |
| 羊內臟(心、肺) | 1.450 | 1.020 | 豬內臟(肝、心、肺) | 0.334 | 0.020 |
| | | | 羊肉 | 1.050 | 0.321 |
| | | | 羊內臟(心、肺) | 1.680 | 0.733 |
| | | | 雞蛋(蛋黃) | 1.273 | 0.455 |

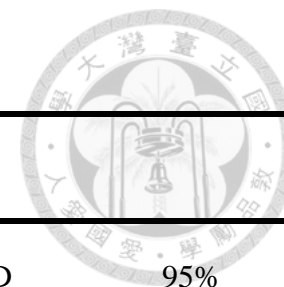


表 17、使用 TFDA 公告分析方法之定量極限估算食用油的 LADD 及 HI

| Group (age) | LADD (mg/kg b.w./day) | | | | HI | | |
|----------------|--------------------------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|------|
| | Mean | SD | 95% | 97.5% | Mean | SD | 95% |
| 0-3 | 1.789E-05 | 2.307E-05 | 6.342E-05 | 8.678E-05 | 0.8858 | 1.142 | 3.14 |
| 3-6 | 2.330E-05 | 2.800E-05 | 7.774E-05 | 1.049E-04 | 1.153 | 1.388 | 3.84 |
| 6-12 | 1.702E-05 | 2.482E-05 | 6.511E-05 | 9.198E-05 | 0.8424 | 1.229 | 3.22 |
| 12-16 | 1.170E-05 | 1.133E-05 | 3.297E-05 | 4.300E-05 | 0.5528 | 0.561 | 1.63 |
| 16-18 | 1.272E-05 | 2.203E-05 | 4.756E-05 | 7.004E-05 | 0.6297 | 1.09 | 2.35 |
| 19-64 | 1.284E-05 | 1.721E-05 | 4.264E-05 | 5.873E-05 | 0.6355 | 0.8521 | 2.11 |
| ≥ 65 | 1.036E-05 | 1.445E-05 | 3.786E-05 | 5.290E-05 | 0.5129 | 0.7152 | 1.87 |

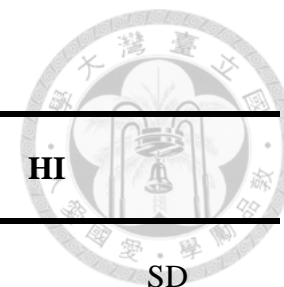


表 18、情境(一)中各年齡層食用豬肉和豬內臟的 LADD 及 HI

| Group (age) | LADD (mg/kg b.w./day) | | | | HI | |
|----------------|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-------|-------|
| | Mean | SD | 95% | 97.5% | Mean | SD |
| 0-3 | 2.631E-03 | 1.775E-03 | 5.613E-03 | 7.012E-03 | 130.3 | 87.88 |
| 3-6 | 3.311E-03 | 5.630E-03 | 1.214E-02 | 1.551E-02 | 163.9 | 278.7 |
| 6-12 | 1.791E-03 | 4.276E-03 | 8.202E-03 | 1.110E-02 | 88.66 | 211.7 |
| 12-16 | 1.048E-03 | 2.153E-03 | 4.283E-03 | 5.819E-03 | 51.86 | 106.6 |
| 16-18 | 1.400E-03 | 3.906E-03 | 7.232E-03 | 9.923E-03 | 69.3 | 193.4 |
| 19-64 | 1.690E-03 | 3.321E-03 | 6.648E-03 | 8.973E-03 | 83.68 | 164.4 |
| ≥ 65 | 1.199E-03 | 3.205E-03 | 6.169E-03 | 8.039E-03 | 59.35 | 158.7 |

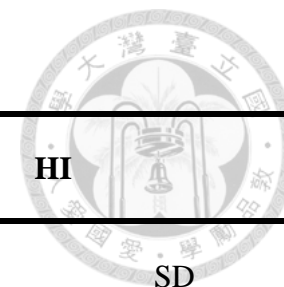


表 19、情境(一)中各年齡層食用羊肉和羊內臟的 LADD 及 HI

| Group (age) | LADD (mg/kg b.w./day) | | | | HI | |
|----------------|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-------|-------|
| | Mean | SD | 95% | 97.5% | Mean | SD |
| 0-3 | 2.328E-03 | 1.713E-03 | 5.221E-03 | 6.502E-03 | 115.2 | 84.78 |
| 3-6 | 1.787E-03 | 2.254E-03 | 5.730E-03 | 7.655E-03 | 88.48 | 111.6 |
| 6-12 | 2.309E-03 | 2.093E-03 | 5.938E-03 | 7.343E-03 | 114.3 | 103.6 |
| 12-16 | 2.017E-03 | 2.856E-03 | 7.247E-03 | 9.658E-03 | 99.84 | 141.4 |
| 16-18 | 1.738E-03 | 2.362E-03 | 5.739E-03 | 7.908E-03 | 86.04 | 116.9 |
| 19-64 | 2.659E-03 | 1.873E-03 | 5.812E-03 | 7.222E-03 | 131.6 | 92.73 |
| ≥ 65 | 2.489E-03 | 1.650E-03 | 5.255E-03 | 6.555E-03 | 123.2 | 81.69 |

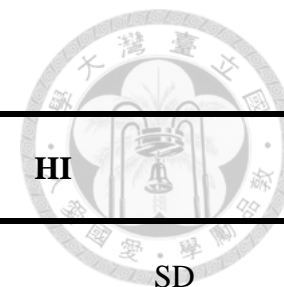


表 20、情境(二)中各年齡層食用雞肉和雞內臟的 LADD 及 HI

| Group (age) | LADD (mg/kg b.w./day) | | | | HI | |
|----------------|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-------|-------|
| | Mean | SD | 95% | 97.5% | Mean | SD |
| 0-3 | 8.291E-04 | 3.795E-04 | 1.548E-03 | 1.747E-03 | 41.04 | 18.79 |
| 3-6 | 8.442E-04 | 3.781E-04 | 1.579E-03 | 1.759E-03 | 41.79 | 18.72 |
| 6-12 | 3.029E-03 | 1.153E-03 | 5.336E-03 | 5.992E-03 | 150.0 | 57.08 |
| 12-16 | 9.317E-03 | 1.263E-02 | 3.169E-02 | 4.148E-02 | 461.2 | 625.4 |
| 16-18 | 1.103E-03 | 4.657E-03 | 1.974E-03 | 2.272E-03 | 54.61 | 23.06 |
| 19-64 | 5.412E-03 | 5.480E-03 | 1.537E-02 | 1.841E-02 | 267.9 | 271.3 |
| ≥ 65 | 1.439E-04 | 1.105E-04 | 3.774E-04 | 4.546E-04 | 7.122 | 5.472 |

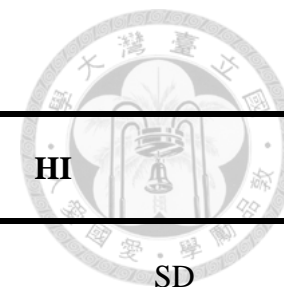


表 21、情境(二)中各年齡層食用豬肉和豬內臟的 LADD 及 HI

| Group (age) | LADD (mg/kg b.w./day) | | | | HI | |
|----------------|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-------|-------|
| | Mean | SD | 95% | 97.5% | Mean | SD |
| 0-3 | 2.631E-03 | 1.775E-03 | 5.613E-03 | 7.012E-03 | 130.3 | 87.88 |
| 3-6 | 3.768E-03 | 5.379E-03 | 1.263E-02 | 1.494E-02 | 187.4 | 266.3 |
| 6-12 | 2.078E-03 | 4.349E-03 | 8.826E-03 | 1.128E-02 | 102.9 | 215.3 |
| 12-16 | 1.217E-03 | 2.134E-03 | 4.660E-03 | 6.105E-03 | 60.26 | 105.6 |
| 16-18 | 1.647E-03 | 3.922E-03 | 8.148E-03 | 1.054E-02 | 81.54 | 194.1 |
| 19-64 | 1.938E-03 | 3.322E-03 | 7.075E-03 | 9.076E-03 | 95.96 | 164.4 |
| ≥ 65 | 1.392E-03 | 3.212E-03 | 6.683E-03 | 8.200E-03 | 68.9 | 159.0 |

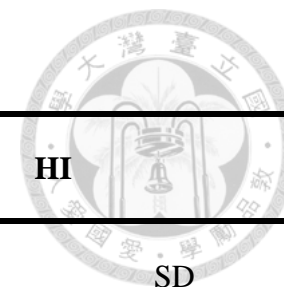


表 22、情境(二)中各年齡層食用羊肉和羊內臟的 LADD 及 HI

| Group (age) | LADD (mg/kg b.w./day) | | | | HI | |
|----------------|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-------|-------|
| | Mean | SD | 95% | 97.5% | Mean | SD |
| 0-3 | 2.668E-03 | 1.251E-03 | 4.970E-03 | 5.619E-03 | 132.1 | 61.92 |
| 3-6 | 2.057E-03 | 2.132E-03 | 6.266E-03 | 8.092E-03 | 101.8 | 105.5 |
| 6-12 | 2.645E-03 | 1.734E-03 | 6.034E-03 | 6.893E-03 | 130.9 | 85.85 |
| 12-16 | 2.311E-03 | 2.739E-03 | 8.236E-03 | 8.425E-03 | 114.4 | 135.6 |
| 16-18 | 3.078E-03 | 1.330E-03 | 5.547E-03 | 6.379E-03 | 98.61 | 112.8 |
| 19-64 | 2.863E-03 | 1.110E-03 | 4.792E-03 | 5.309E-03 | 152.4 | 65.86 |
| ≥ 65 | 2.668E-03 | 1.251E-03 | 4.970E-03 | 5.619E-03 | 141.7 | 54.94 |

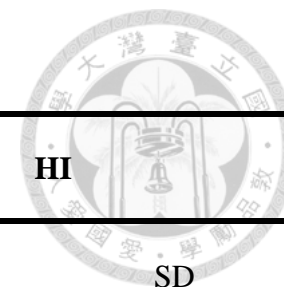


表 23、情境(二)中各年齡層食用雞蛋的 LADD 及 HI

| Group (age) | LADD (mg/kg b.w./day) | | | | HI | |
|----------------|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-------|-------|
| | Mean | SD | 95% | 97.5% | Mean | SD |
| 0-3 | 4.383E-03 | 4.684E-03 | 1.314E-02 | 1.708E-02 | 217.0 | 231.9 |
| 3-6 | 2.997E-03 | 3.059E-03 | 9.303E-03 | 1.177E-02 | 148.4 | 151.4 |
| 6-12 | 3.967E-03 | 4.667E-03 | 1.314E-02 | 1.744E-02 | 196.4 | 231.1 |
| 12-16 | 1.772E-03 | 6.707E-04 | 2.903E-03 | 3.176E-03 | 87.7 | 33.2 |
| 16-18 | 1.864E-03 | 1.544E-03 | 4.755E-03 | 5.861E-03 | 92.2 | 76.45 |
| 19-64 | 1.255E-03 | 1.189E-03 | 3.458E-03 | 4.385E-03 | 62.14 | 58.87 |
| ≥ 65 | 1.078E-03 | 8.525E-04 | 2.704E-03 | 3.310E-03 | 53.35 | 42.21 |



表 24、各年齡層食用各品項動物源性食品的總風險

| 年齡層 | 植物油 | 情境一 | | | 情境二 | | | | |
|-------|--------|-------|-------|---------------------|-------|-------|-------|-------|---------------------|
| | | 豬肉和內臟 | 羊肉和內臟 | HI _{total} | 雞肉和內臟 | 豬肉和內臟 | 羊肉和內臟 | 雞蛋 | HI _{total} |
| 0-3 | 0.8858 | 130.3 | 115.2 | 246.3858 | 41.04 | 130.3 | 132.1 | 217 | 521.3258 |
| 3-6 | 1.153 | 163.9 | 88.48 | 253.533 | 41.79 | 187.4 | 101.8 | 148.4 | 480.543 |
| 6-12 | 0.8424 | 88.66 | 114.3 | 203.8024 | 150 | 102.9 | 130.9 | 196.4 | 581.0424 |
| 12-16 | 0.5528 | 51.86 | 99.84 | 152.2528 | 461.2 | 60.26 | 114.4 | 87.7 | 724.1128 |
| 16-18 | 0.6297 | 69.3 | 86.04 | 155.9697 | 54.61 | 81.54 | 98.61 | 92.2 | 327.5897 |
| 19-65 | 0.6355 | 83.68 | 131.6 | 215.9155 | 267.9 | 95.96 | 152.4 | 62.14 | 579.0355 |
| >65 | 0.5129 | 59.35 | 123.2 | 183.0629 | 7.122 | 68.9 | 141.7 | 53.35 | 271.5849 |

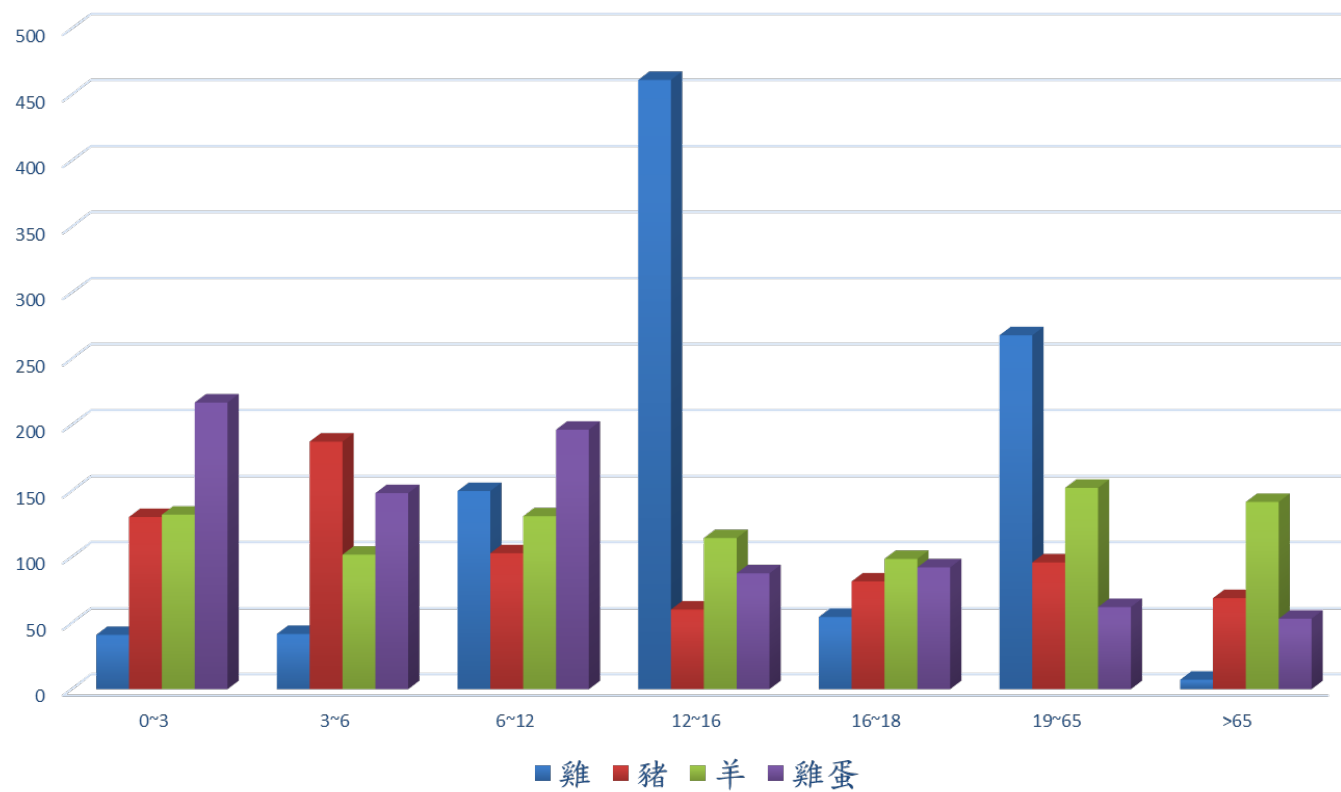


圖 30、情境二中各年齡層在不同食品品項的風險

表 25、經模式模擬棉酚在飼料劑量與組織殘留濃度的相關係數

| Livestock | β coefficient ($y = \beta x$) | | |
|-----------|---------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|
| | Muscle | Offal (liver, heart, lung) | Offal (heart, lung) |
| Poultry | 0.01267 | 0.2549 | 0.07326 |
| | Muscle | Offal (liver, kidney, heart, lung) | Offal (liver, heart, lung) |
| Swine | 0.0097 | 0.01657 | 0.01376 |
| | Muscle | Offal (heart, lung) | |
| Lamb | 0.02625 | 0.0421 | |

附錄

表 26、不同禽畜中肌肉與內臟組織的含水量

| 品項 | 含水量(%) | 品項 | 含水量(%) |
|----|--------|----|--------|
| 雞肉 | 75 | 豬肉 | 75 |
| 雞肝 | 70 | 豬肝 | 70 |
| 雞心 | 76 | 豬心 | 76 |
| 雞腎 | 79 | 豬肺 | 75 |
| 蛋黃 | 49 | 豬腎 | 79 |
| 羊肉 | 75 | | |
| 羊心 | 76 | | |
| 羊肺 | 75 | | |

*參考 FAO,2007