

生物有效性體外試驗應用於健康風險評估之問題與展望

江舟峰^{1,2} 張芳華¹ 許惠悰^{2,*}

本文首先闡述絕對生物有效性及相對生物有效性之意義及各種計算公式，接著評析1992-2003年體外生物試驗的重要發展沿革及成果，特別著重不同試驗程序及操作參數比較。本研究建議修改反應槽設計、攪拌方式及溫控設備，以避免開放系統的揮發逸散，並建議評估一階段胃相試驗程序，以簡化操作程序。試驗參數如：樣品前處理、溫度、酵素添加量、pH值與反應時間等，經過歷年的研究，雖然已漸趨一致，但本研究發現仍待釐清的三個問題為：是否應控制氧化還原電位？是否應模擬胃環境之蠕動強度？是否應控制胃之排空比？本研究另發現，不同體外試驗方法仍難相互評比，主要是因為並未建立系統品管基準，本文建議四種管制樣品：空白管制、重複管制、代理參考物質(surrogate reference material, SRM)管制及介質管制(matrix control)，期盼藉由後續實証研究，建立簡化且有效的評估程序，以應用於土壤改良劑、受污土壤、食品、中藥、牙材、玩具等健康風險評估。(台灣衛誌 2006；25(1)：1-10)

關鍵詞：絕對生物有效性係數、相對生物有效性係數、體外試驗、體內試驗、風險評估

前 言

生物有效性(bioavailability)是毒理學的重要觀念，是用來評估污染物經由不同暴露途徑，於一定暴露時間後，目標污染物進入血液循環系統的劑量與總暴露量的比例[1-3]，而生物有效性是特別應用於體內試驗(in vivo)，生物可及性(bioaccessibility)則應用在體外試驗(in vitro)，但一般不區別這兩個名詞。生物有效性的研究已廣泛應用於藥物、食品營養[4]及牙科材質的領域[5,6]。美國要求於超級基金(Superfund)場址復育時，需利

用生物有效性及風險評估訂定土壤復育的基準。由於動物實驗評估程序複雜且昂貴費時，而毒性特性溶出程序(toxicity characteristics leaching procedure, TCLP)僅適合判定受污土壤是否為有害廢棄物，美國乃於1992年開始發展一套模擬人體胃腸環境之體外試驗方法，以生物有效性及健康風險評估作為土壤及地下水復育之依據[7]。鑑於將廢棄物資源化為土壤改良劑(soil conditional)或有機肥(organic fertilizer)時，目前並無合適的評估方法，本研究乃提議使用生物有效性體外試驗方法作為評估與決策工具。雖然體外試驗方法發展至今已逾10年，且文獻中也詳細考量人體胃腸環境之各項試驗參數[7-12]，由於試驗程序較為繁雜，加上仍有若干問題並未釐清，本文之目的為探討這些問題，期能研擬一套簡易有效的體外試驗方法，並建立系統品管基準，據此建立風險評估工具，落實廢棄物資源永續發展的理念。

¹ 中國醫藥大學公共衛生學院環境醫學研究所

² 中國醫藥大學公共衛生學院風險管理學系

* 通訊作者：許惠悰

聯絡地址：台中市學士路91號

E-mail: hthsu@mail.cmu.edu.tw

投稿日期：94年1月31日

接受日期：94年7月4日

何謂生物有效性？

為了能夠正確的闡述生物有效性之意涵，實驗操作上必須先明確定義下列各項前提：

- 目標污染物(target compound)，如砷
- 目標污染物存在之介質(matrix)，如土壤或食物
- 體內試驗使用之動物及程序或體外試驗的反應槽及程序
- 試驗時使用之代理參考物質(surrogate reference material, SRM)，如 $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 或美國National Institute of Standards and Technology (NIST)標準土壤

就體內試驗而言，生物有效性是指介質中目標污染物經特定路徑，進入血液之劑量與總暴露量之百分比，絕對生物有效性係數(absolute bioavailability factor, ABvF)定義如下[1-3]：

$$\text{ABvF}(\%) = \left[\frac{D_B}{D_T} \right]_P \times 100\% \quad (1)$$

D_B = 進入血液循環系統之劑量(mg)， D_T = 總暴露量(mg)。下標P為暴露途徑方式。但在實驗操作上，因進入血液循環系統之污染物濃度隨攝入時間改變，必須使用藥物動力學模式，於一定的暴露期間內，將血液中的劑量加上分解及排出量，才能正確推估 D_B ，實務上均使用相對生物有效性係數(relative bioavailability factor, RBvF)，定義如下：

$$\text{RBvF}(\%) = \left[\frac{\frac{D_B}{D_T}}{\frac{D_B}{D_T}} \right]_P \times 100\% \quad (2)$$

其中 ABvF_P = 某特定暴露途徑之 ABvF ， ABvF_I = 藉由靜脈注射途徑所得之 ABvF 。 RBvF 是以靜脈注射的 ABvF 為基準，評估不同介質的污染物進入血液系統的比例，優點是可以降低未能準確估算污染物在血液中的分解及排出量所引起的誤差。

在體外試驗方面，若經由食入途徑，可利用生物有效性體外試驗分別計算胃及小腸

階段中污染物被萃取的百分比[2]，絕對生物可及性(ABsF)之操作型定義如下[2]：

$$\begin{aligned} \text{ABsF}(\%) &= \frac{M_Y}{M_T} \times 100\% \\ &= \frac{C_Y(\text{mg/L}) \times V(\text{L})}{C_T(\text{mg/kg}) \times W_s(\text{kg})} \times 100\% \quad (3) \end{aligned}$$

其中， M_Y = 胃或腸階段的萃取總量(mg)； M_T = 污染物在介質中的總量(mg，以EPA Method 3050或3051量測)。CY = 胃或腸階段所萃取出的濃度(mg/L)；V = 反應槽有效容積(L)； C_T = 污染物在介質中的全濃度(mg/kg)， W_s = 樣品總量(kg)。相對生物可及性是相對於SRM的 ABsF ，評估污染物在不同基質(如食物、土壤或水體)溶出的程度，定義如下[1-3]：

$$\begin{aligned} \text{RBsF}(\%) &= \frac{\text{ABsF}_X}{\text{ABsF}_{\text{SRM}}} \times 100\% \\ &= \left[\frac{\frac{M_Y}{M_T}}{\frac{M_Y}{M_T}} \right]_{\text{SRM}} \times 100\% \quad (4) \end{aligned}$$

其中， ABsF_X = 樣品X之 ABsF ， ABsF_{SRM} = SRM之 ABsF 。以砷為例，可使用 $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 為SRM。文獻中普遍並未報告SRM之 ABF 值，不易評比不同體外試驗的萃取效率差異。獲得RBF後，若欲評估致癌風險，可利用下列公式推估終身致癌風險(excess lifetime cancer risk, ELCR)：

$$\text{ELCR}_{X,i} = \frac{(\text{UCR}_i)(\text{LID}_X)(\text{RBF}_{X,i})}{(\text{BW})(\text{AT})} \quad (5)$$

其中， UCR_i = 目標污染物i之單位致癌風險(unit cancer risk, $(\text{mg/kg BW-d})^{-1}$)， LID_X = 樣品X之終身攝入劑量(lifetime intake dose, mg)，BW = 受評估族群之平均體重(kg)，AT = 該族群平均終身暴露時間(day)。

生物有效性體外試驗之重要歷史沿革與成果

表一為本研究彙整的生物有效性體外試

表一 生物有效性體外試驗重要歷史沿革表

參考文獻	研究目的	研究成果
Davls et al.[7]	探討土壤中鉛及砷胃腸體外試驗RBF，並與New Zealand White Rabbits試驗比較。	1. 使用 $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 與 $\text{Pb}(\text{OAc})_2$ 為SRM，ABF分別為73%與0.92%。 2. 體外試驗能準確推估砷ABF(11% vs. 12%)，但顯著低估鉛ABF (0.18% vs. 5.6%)。 體外試驗低估鉛RBF (5% vs.24%)。
Ruby et al.[9]	以體外試驗評估土壤中鉛之生物有效性，並與兔子試驗評比。	
Ruby et al.[10]	探討影響砷與鉛體外試驗參數。	1. 將氫氣通入分液漏斗底座進行攪拌並維持厭氧條件。 2. 胃與小腸階段pH值分別為2.5與7.0、反應時間分別為1與4小時，建立PBET方法。 3. 鉛RBF與動物試驗呈線性相關($\text{slope}=0.71$ ； $R^2=0.93$)，但低估29%。 4. 砷RBF值高估動物試驗18% (50% vs. 32%)。
Hamel et al.[8]	探討液固比對生物有效性的影響。	1. 液固比100：1(mL/gm)至5000：1，對鉛、鎳、鎘與鉻生物有效性影響不大，但高液固比砷ABF較高($R^2=0.58$)。 2. 建議1000：1為慣用值。
Rodriguez et al.[11]	1. 模擬成人胃腸環境中砷之生物有效性。 2. 使用iron hydroxide gel小腸吸收劑，並簡化PBET方法。	1. 胃相之砷RBF與動物試驗呈線性關係($\text{slope}=0.88$, $R^2=0.69$)，但低估12%。 2. 小腸相砷RBF值之IVG與IVG-AB試驗與動物試驗呈線性關係($\text{slope}=0.74$, $R^2=0.62$; $\text{slope}=0.76$, $R^2=0.67$)，但分別低估26%與24%。 3. IVG-AB雖然增加小腸吸收，但並無較好之準確性，且胃相較腸相準確。
Ruby et al.[1]	1. 評析64篇論文，探討無機金屬生物有效性各種體內及體外方法。 2. 討論其應用於訂定受污土壤復育標準與人體健康風險的優缺點。	1. 影響土壤中目標污染物之生物有效性因素：粒徑大小、晶格形狀、包封程度、胃腸酸鹼值、胃腸蠕動強度。 2. 研究發現受污場址之土壤中，RBF變異範圍很大，鉛之RBF為3-80%，砷之RBF為5-50%。
Sarkar et al.[12]	1. 評估含砷的農藥土壤之生物有效性。 2. 簡化小腸吸附劑之備製。	1. IVG-AI之砷RBF值較IVG-S高約16% ($\text{slope}=1.16$, $R^2=0.98$)。 2. 建議使用strip-coated ferric oxide簡化IVG-AB以提高萃取效率。

驗重要歷史沿革與研究成果。美國早於1992年開始研發胃腸相之生物有效性體外試驗方法，並應用於受污土壤的風險評估，研究成果發現，以 $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 及 $\text{Pb}(\text{OAc})_2$ 為砷與鉛之SRM，其ABF為73%及0.92%，體外試驗之砷ABF與動物試驗(New Zealand White Rabbits)無顯著差異(11% vs. 12%)；但鉛之體外試驗卻顯著低估動物試驗(0.18% vs. 5.6%)

[7]。Ruby等人[9]發現鉛體外試驗RBF亦低估動物試驗(New Zealand White Rabbits) (5% vs. 24%)，但並未報告SRM之ABF，不易評比不同實驗室的數據。Ruby等人[10]，提議以生理學為基礎的萃取方法(physiologically based extraction test, PBET)，並使用分液漏斗及底部氫氣曝氣維持厭氧以模擬胃蠕動，胃與小腸相pH分別為2.5與7.0，反應時間分別為1與

4小時，以不同介質評估PBET，鉛之RBF與動物試驗(Sprague-Dawley rats)結果雖有良好的線性相關($\text{slope}=0.71$ ； $R^2=0.93$)，但卻低估動物試驗29%，而砷之RBF低估動物試驗(New Zealand White Rabbits) 18% (50% vs. 32%)。Hamel等[8]探討胃液容積與受污土壤比例(liquid to solid ratio，簡稱液固比)對ABF的影響，結果顯示，液固比由100：1增加至5000：1 (mL/gm)時，對鉛、鎳、鎘及鉻影響不大。但對砷而言，高液固比似有較高之ABF ($R^2=0.58$)，但該研究並未使用SRM，以致未能與其他研究評比萃取效率。

Rodriguez等[11]進一步簡化PBET方法，詳盡考量各項人體生理參數，研擬in-vitro gastrointestinal method (IVG)及in-vitro gastrointestinal method with absorption (IVG-AB)之體外試驗(美國環保署第VIII區)方法。IVG為模擬胃及小腸消化作用，IVG-AB則使用狀似茶包的iron hydroxide gel為吸收劑來評估小腸吸收作用，並與immature pig動物試驗比對，結果顯示，胃相砷之RBF與動物試驗呈線性關係($\text{slope}=0.88$, $R^2=0.69$)，小腸相砷RBF之IVG與IVG-AB試驗也分別與動物試驗結果呈線性關係($\text{slope}=0.74$, $R^2=0.62$; $\text{slope}=0.76$, $R^2=0.67$)，但分別低估動物試驗26%與24%，IVG-AB雖考量小腸吸收，但並未顯著改善IVG，同時胃腸相(二階段)試驗反而低估胃相(一階段)試驗之RBF，這可能是腸相之pH值提高至7.0後，反而不利於萃取，本研究將進一步僅使用胃階段(一階段)之可行性，以簡化試驗程序。

Ruby等[1]評析64篇論文，探討無機金屬生物有效性的各種體內及體外試驗方法，並提出影響生物有效性因素：如污染物之礦物型態(mineral form)、粒徑大小(grain size)、包封程度(encapsulation)、胃腸酸鹼值、蠕動速度。就礦物形態而言，當砷與硫化物結合後，形成穩定之礦物，與砷之氧化物比較，其溶解度較低，生物有效性亦較低。而Fe-As oxide, Mn-As oxide, Pb-As oxide，則介於含硫化物與含氧化物之間。對同一物質而言，粒徑越大，生物有效性越小。在包封程度上，若含砷化合物被石英(quartz)包封，砷不

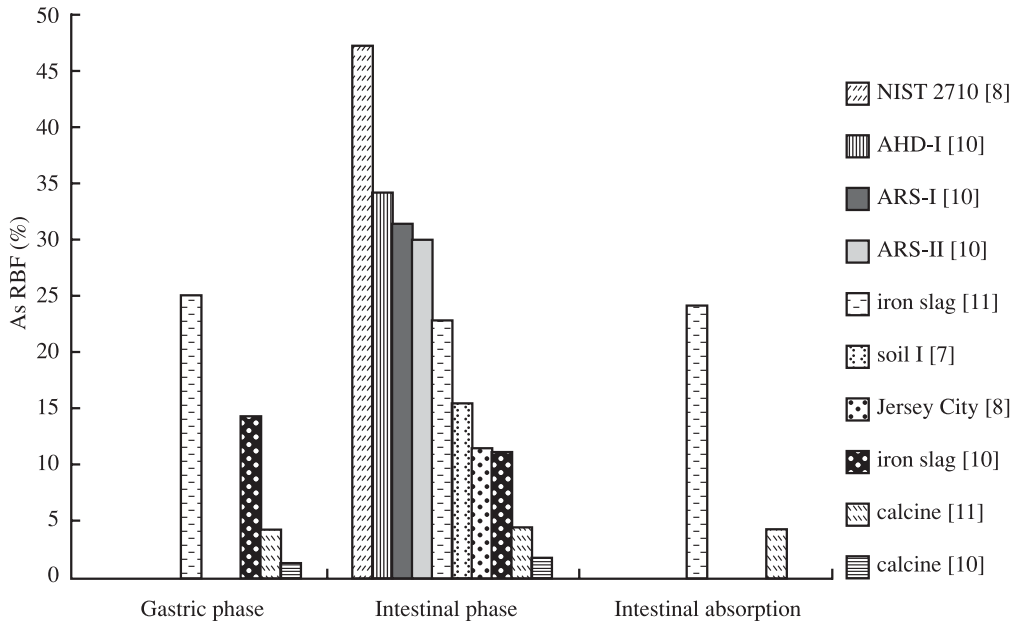
易溶解，但若砷化合物被礦渣(slag)包封，因礦渣較石英容易分解，生物有效性會較高。圖一為本研究進一步彙整不同土壤砷之RBF比較圖，顯示不同土壤砷之RBF變異很大(5-50%)，就腸相而言，經由燃燒製程所產生物質，如iron slag[10]及calcine[10]較一般的土壤低，可能是受到上述礦物型態等因素的影響，但大部份試驗均未報告 $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 的ABF，故難以評估此一變異是否受到不同試驗萃取效率的影響。

Sarkar等人[12]則將體外試驗應用於評估含砷農藥之土壤，評估一階段之in vitro stomach phase (IVG-S)及二階段in vitro absorbed-intestinal phase (IVG-AI)方法，該方法與IVG及IVG-AB類似，最大不同為於二階段的小腸相改用strip-coated ferric oxide為吸收劑。結果顯示在液固比150：1時，IVG-S與IVG-AI之砷RBF平均值分別為74%與83%，將兩者之萃取率(mg/Kg)進行線性迴歸，顯示兩者有良好之線性相關($\text{slope}=1.16$, $R^2=0.98$)，但IVG-AI萃取效率較IVG-S高出16%，IVG-AB不僅簡化小腸吸收劑的備製程序，同時也提高了萃取效率，但研究並未進行動物試驗，無法進一步評比。

體外試驗參數及程序

生物有效性研究歷經十年，已發展擬出幾種體外試驗方法，大多朝向使用適當的生理參數，以正確評估人體胃腸生物有效性。表二彙整文獻中各種體外試驗參數，將試驗參數分三大類：樣品前處理及反應槽設計(樣品量、反應槽體容積、溫度、厭氧條件及攪拌方式)、胃相萃取條件(pH、酵素的添加、液固比、食物添加及排空率)、小腸相萃取條件(pH、胰液與膽汁酵素添加、吸附劑及輸送率)。對於試驗參數採用的原因，因文獻中已有相當多的討論[7-11]，故本文並不再詳加探討，表二之重要結果歸納如下：

- 樣品經風乾後，過篩取粒徑 $<250\ \mu\text{m}$ ，以模擬可為手指沾染而誤食者，樣品量0.4~10 gm，液固比10~5000 mL/gm，本研究建議使用0.5 gm，液固比1000：1。



圖一 不同土壤中砷RBF之比較圖

- 雖然成人的胃容量約為1~2 L，平均每天可分泌1~2 L的胃液[13]，但反應槽有效容積並不一致(150~600 mL)，且為開放性容器，本研究建議使用500 mL密閉式血清瓶，有效容積500 mL。
- 以氫氣曝氣控制厭氧狀態或機械提供攪拌，但未能探討是否正確模擬胃蠕動，本研究建議使用較易控制轉速的磁力攪拌，並以速度梯度(velocity gradient簡稱G)為控制參數，較能考量不同的有效容積與攪拌方式， $G = \sqrt{P / \mu V}$ ，單位1/s，其中P為功率，單位W(N·m/s)； μ 為黏度，單位N·s/m²；V為反應槽有效容積，單位m³。
- 胃相pH 1.8較無爭議，但液固比變化相當大(10-5000 mL/gm)，本研究建議僅添加NaCl及pepsin，反應1小時，液固比500：1、1000：1及2000：1 mL/gm，但不添加食物以模擬飢餓狀態。
- 小腸pH 7.0，本研究建議僅添加pancreatin及bile，反應1小時，但不使用吸收劑。

文獻之體外試驗程序雖已詳細考量人體胃腸生理條件，但仍有若干缺點諸如：採用開放式的反應槽、使用曝氣容易產生逸散問

題、未正確使用通用性的攪拌參數、使用水浴溫控不易觀察攪拌情形等問題，圖二為本研究提議之體外試驗程序，除採用上述各項操作參數外，本研究簡化反應槽設計，改用密閉式500 mL血清瓶，可避免污染物的逸散，另使用可調速之磁力攪拌及具載重環磁石，可有效控制攪拌強度，同時將水浴溫控改採氣控溫控，以利試驗進行時觀察與採樣。本研究進一步建議體外試驗應使用一致性的SRM，以評估試驗之複現性與準確度，同時利用RBF建立各類物質之風險評估模式及資料庫，作為決策之依據。

是否應控制氧化還原電位？

pH值是影響體外試驗相當重要的因素之一[9,10]，為模擬人體胃腸環境，過去研究大多建議分別定為1.8與5.5，但亦有研究指出，在不同的胃腸消化階段有不同的氧化還原電位(oxidation reduction potential, ORP)：胃-150 mv、十二指腸、空腸-50 mv、迴腸-150 mv、盲腸-200 mv、直腸-250 mv[14]。顯示物質由胃往小腸傳輸時，ORP由正值轉變為

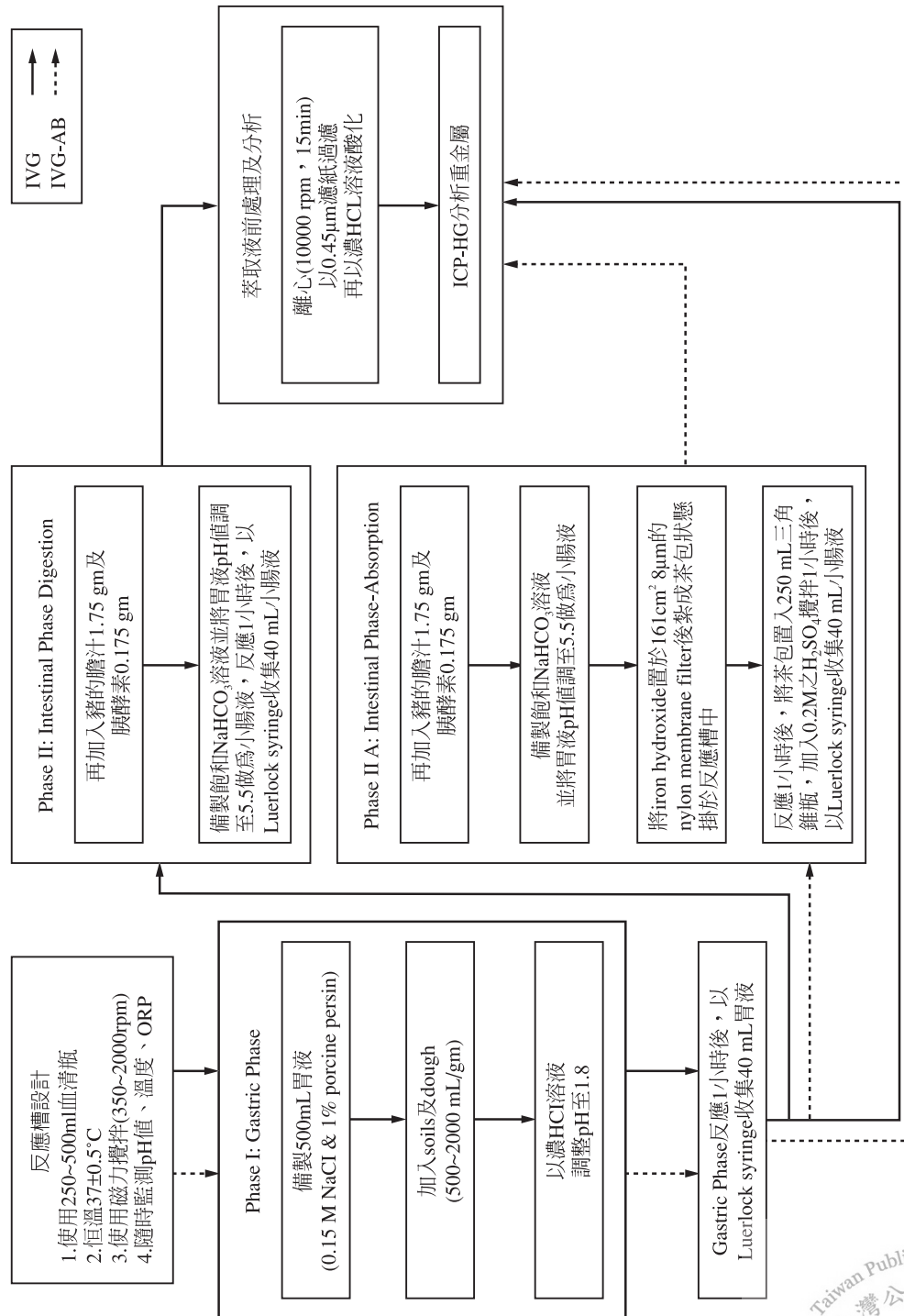
表二 各種生物有效性體外試驗參數比較表

參考文獻	Davls et al. [7]	Ruby et al. [9]	Ruby et al. [10]	Rodriguze et al. [11]	Sarkar et al. [12]
試驗參數			(PBET)	(IVG & IVG-AB)	(IVG-S & IVG-AI)
樣品前處理	風乾後<250 μm (可為手指沾食)	風乾後<250 μm (可為手指沾食)	50°C烘乾24 hr 過篩<250 μm	風乾後<250 μm (可為手指沾食)	無
反應槽型式	250 mL燒杯	250 mL燒杯	250 mL PE 分液漏斗	1 L canning jar	250 mL燒杯
有效容積	140 mL	40 mL	40 mL	600 mL	150 mL
溫度	37°C	37°C	37°C	37°C	37°C
厭氧方式	無	無	1.0 L/min 氬氣	1.0 L/min 氮氣	氬氣
攪拌方式	wrist-action shaker	wrist-action shaker	底座70 μm 網孔曝氣	100 rpm機械攪拌	stirrer攪拌
樣品重量	10 gm	4 gm	0.4 gm	4 gm	1 gm
胃相萃取					
pH	1.3	1.3	空腹1.3 進食4.0 平均值2.5	1.8	1.8
NaCl	無	無	無	0.15 M	0.15 M
pepsin	無	1.25 gm/L	1.25 gm/L	12.5 gm/L	12.5 gm/L
citrate	無	12.5 gm/L	0.50 gm/L	無	無
malate	無	12.5 gm/L	0.50 gm/L	無	無
lactic	無	10.5 mL/L	420 $\mu\text{L/L}$	無	無
acetate	無	12.5 mL/L	500 $\mu\text{L/L}$	無	無
液固比	14 : 1	10 : 1	100 : 1	150 : 1	150 : 1
(mL/gm)					
食物	無	無	無	200 gm dough	無
排空率	2 hr	2 hr	1 hr 可消化80~90%	1 hr	1 hr
小腸相萃取					
pH	7.0	7.0 (dialysis bag)	7.0	5.5	7.0
pancreatin	無	0.5 gm/L	0.5 gm/L	0.35 gm/L	0.35 gm/L
bile	無	1.75 gm/L	1.75 gm/L	3.5 gm/L	3.5 gm/L
吸收劑	無	無	無	iron hydroxide gel	strip-coated ferric oxide
輸送率	2 hr	2 hr	4 hr 流經小腸至大腸 進口所需時間	1 hr	1 hr

負值，即由氧化狀態轉變為還原狀態，可能改變污染物化學物種，而改變其毒性，例如 As^{+5} 在還原態時會轉變成毒性較高之 As^{+3} 。ORP 似為一項影響生物毒性之重要參數，但過去研究，尚未重視此一參數，有必要在後續研究中利用化學平衡模式釐清此一議題。

是否應模擬胃環境之蠕動強度？

在模擬胃的蠕動上，早期研究是以 wrist-action shaker 的方式提供攪拌[7]，爾後改以分液漏斗下方之孔隙通入氮氣(1 L/min)，以控制厭氧條件[10]，但成本較高。最近則採用較簡單之機械攪拌(100 rpm)，但仍輔以氮氣曝氣[11,12]。人體胃蠕動方式由賁門下方沿著胃小彎處移動而終止於胃竇[15]，不易



圖二 二階段生物有效性IVG及IVG-AB體外試驗程序(修正自[11])

正確模擬，文獻中並未明確說明各種攪拌方式是否能夠正確模擬胃腸蠕動。就攪拌原理而言，使用一般評估反應槽攪拌強度(mixing intensity)之速度梯度較為合理，可嘗試將文獻之各種攪拌方式換算為G，以探討G對不同包封程度物質生物有效性的影響。

是否應控制胃之排空比？

不同介質中污染物的溶解度為影響生物有效性之重要參數[1]，理論上，未達飽和溶解度前，液固比愈高溶解度愈高，正常成年人胃容量為1~2 L，平均每天可分泌1~2 L的胃液[13]，飢餓狀態時有較高液固比。過去研究卻多使用低液固比(10~150 mL/gm)[7,9-12]。Hamel等人[8]以美國NIST標準土壤(Montana SRM 2710)與Jersey City土壤進行胃腸體外試驗，結果顯示兩種土壤之液固比在100:1~5000:1 mL/gm時，對銻、銅、鎳、鉛之ABF影響不大。但對砷而言，Jersey City土壤於高液固比有較高之ABF，但Montana土壤卻無顯著影響(ABF=46~48%)，但該研究並未報告腸相數據。

該研究建議以1000:1 mL/gm做為體外試驗之排空比(fasting ratio)，但使用fasting ratio這個名詞並不恰當，所謂排空比乃是胃液與食物之比值，而非體外試驗中胃液對毒性物質(土壤)之比值，胃液主要為食物所形成之乳糜而非誤食之土壤，因此液固比與排空比之意義不同。而Rodriguez等人[11]探討麵糰(dough)的添加對砷的生物有效性影響，以slag及calcine進行胃腸體外試驗。結果顯示在slag中，食物的添加與否對砷RBF並無顯著差異；但在calcine中，添加麵糰(200 gm)提升砷RBF約33-66%，但原因與機制仍不明確。儘管如此，本研究建議使用不添加食物的飢餓狀態以簡化體外試驗，後續研究應確認1000:1 mL/gm液固比是否可作為通用試驗參數。

是否應建立標準管制樣品之品管基準？

為了解體外試驗之可靠性，一般而言，

應進行標準管制樣品(control sample)之平行測定。綜觀過去研發之體外試驗方法，多數並未報告各種管制樣品測定結果[2,7,9-12]，如PBET[10]、IVG與IVG-AB[11]、IVG-S與IVG-AI[12]僅報告RBF，但未報告 $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 的ABF，且亦未使用一致的標準土壤，故不易評比不同試驗的萃取效率，由於各試驗程序與條件不盡相同，導致無法評比不同試驗結果，後續研究應建立各種管制樣品之品管基準。本研究建議參考江等人[16]建立四種管制樣品：空白管制(blank control)、重複管制(replicate control)、與SRM管制(SRM control)及介質標準管制(matrix control)。空白管制是用於了解使用的試劑中是否含有待測污染物。為了解試驗方法之複現性及準確性，應平行測定SRM，並進行3~5次重複試驗，以求得ABF之變異係數(coefficient of variation, CV)及回收率(recovery, R)。若必須求得RBF，則應進行3~5重複介質標準樣品(如美國NIST土壤)，亦可決定其CV及R值，作為評比不同方法的萃取效率。當測定待測樣品時，必須平行分析這些管制樣品，當管制樣品的試驗結果符合品管基準時，才能接受待測樣品的試驗結果。

生物有效性體外試驗之展望

展望生物有效性體外試驗，本研究建議：(1)確認各項試驗操作參數，(2)簡化試驗程序與設備，於後續研究中探討僅以胃相評估生物有效性之可行性，以簡化試驗程序降低成本，(3)建立嚴謹之系統品管基準，如試劑空白、重複樣品、標準樣品等，以了解實驗之信賴性，(4)利用美國環保署已建立之化學物種平衡模式，以探討pH及ORP對化學物種濃度分配的影響，(5)建立標準試驗程序及品管基準後，廣泛測量各種樣品，包括土壤改良劑、受污土壤、食物、玩具、中藥等，以作為健康風險評估及決策的依據。

誌謝

感謝中國醫藥大學提供本研究部分經費，計畫編號CMU93-RM-01。感謝中國醫藥

大學環境醫學研究所宋鴻樟所長及中醫研究所江素瑛教授的指導。

參考文獻

1. Ruby MV, Schoof R, Brattin W, et al. Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganics in soil for use in human health risk assessment. *Environ Sci Technol* 1999;**33**:3697-705.
2. Kelley ME, Brauning SE, Schoof RA, Ruby MV. Assessing Oral Bioavailability of Metal in Soil. Columbus, Ohio: Battelle Press, 2002;4-79.
3. Caussy D. Case study of the impact of understanding bioavailability: arsenic. *Ecotoxicol Environ Saf* 2003; **56**:164-73.
4. Miller DD, Schricker BR, Rasmussen RR, Compen DV. An in vitro method for estimation of iron availability from meals. *Am J Clin Nutr* 1981;**34**:2248-56.
5. Fusayama T, Katayori T, Nomoto S. Corrosion of gold and amalgam placed in contact with each other. *J Dental Res* 1963;**42**:1183-97.
6. Katz SA, Samitz MH. Leaching of nickel from stainless steel consumer commodities. *Acta Derm Venereol* 1975;**55**:113-5.
7. Davls A, Ruby MV, Bergstrom PD. Bioavailability of arsenic and lead in soils from the butte, Montana, mining district. *Environ Sci Technol* 1992;**26**:461-8.
8. Hamel SC, Buckley B, Liroy P J. Bioaccessibility of metals in soils for different liquid to solid ratios in synthetic gastric fluid. *Environ Sci Technol* 1998;**32**:358-62.
9. Ruby MV, Davis A, Link TE, et al. Development of an in vitro screening test to evaluate the in vivo bioaccessibility of ingested mine-waste lead. *Environ Sci Technol* 1993;**27**:2870-7.
10. Ruby MV, Davis A, Schoof R, Eberle S, Sellstone CM. Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test. *Environ Sci Technol* 1996;**30**:422-30.
11. Rodriguez RR, Basta NT, Casteel SW, Pace LW. An in vitro gastrointestinal method to estimate bioavailable arsenic in contaminated soils and soils media. *Environ Sci Technol* 1999;**33**:642-9.
12. Sarkar D, Datta R. A modified in vitro method to assess bioavailable arsenic in pesticide-applied soils. *Environ Pollut* 2003;**126**:363-6.
13. 江紹基：臨床胃腸病學。上海：上海科學技術出版社，1981；222-7。
14. 光岡知足：腸內細菌の話。東京：波岩新書出版社，1978；82。
15. 趙有誠：胃腸疾病學—病態生理研討。初版。台北：合記圖書出版社，1984；64-152。
16. 江舟峰、紀子文、吳勇興：以稀釋法測定生化需氧量之品管基準與最新趨勢。朝陽學報2002；7：247-59。

Problems and perspectives in the application of gastrointestinal bioavailability in-vitro test to health risk assessment

CHOW-FENG CHIANG^{1,2}, FANG-HUA CHANG¹, HUI-TSUNG HSU^{2,*}

As a methodological review, this paper begins by introducing the concepts and definitions of absolute bioavailability factor (ABF) and relative bioavailability factor (RBF) and the relevant mathematical equations for the bioavailability test of gastrointestinal function. The critical literature review was then concentrated on the historical development of in-vitro test and important outcomes reported during 1992-2003. Based on this review, we suggest modifying the reactor design, mixing method, and temperature control to reduce fugitive emission from the unsealed reactor. We also identified three key issues for the in-vitro test: the control of oxidation-reduction potential (ORP), the simulation of actual mixing intensity in the stomach, and the range of liquid-to-solid ratio. This study further concludes that a set of systematic quality control criteria must be established for the in-vitro test. Four types of control sample are available for quality control test in parallel with the test sample: blank materials, replicated sample, surrogate reference material (SRM), and matrix control. The ultimate goal of this study is to develop a simple but reliable in-vitro bioavailability method for assessing the potential risk of waste recycling materials, such as soil conditioners, contaminated soil, food, Chinese herbs, orthodontic appliances, and toys. (*Taiwan J Public Health*. 2006;25(1):1-10)

Key Words: absolute bioavailability factor (ABF), relative bioavailability factor (RBF), in-vitro test, in-vivo test, risk assessment

¹ Institute of Environmental Health, College of Public Health, China Medical University, Taichung, Taiwan, R.O.C.

² Department of Risk Management, College of Public Health, China Medical University, 91 Hsueh-shih Road, Taichung 404, Taiwan, R.O.C.

*Correspondence author. E-mail: hthsu@mail.cmu.edu.tw

Received: Jan 31, 2005 Accepted: Jul 4, 2005

