

國立交通大學
環境工程研究所
碩士論文

以密閉式藻類毒性試驗方法評估二級、三級炔丙
基醇類之毒性與結構－活性關係之研究

The Study of Toxicity Assessment of Secondary and
Tertiary Propargylic Alcohols Using a Closed-System
Algal Test and The Quantitative Structure-Activity
Relationships



研究生：范哲偉

指導教授：陳重元 博士

中華民國九十七年七月

以密閉式藻類毒性試驗方法評估二級、三級炔丙基醇
類之毒性與結構－活性關係之研究

The Study of Toxicity Assessment of Secondary and Tertiary
Propargylic Alcohols Using a Closed-System Algal Test and
The Quantitative Structure-Activity Relationships

學生：范哲偉

Student : Je-Wei Fan

指導教授：陳重元

Adviser : Dr. Chung-Yuan Chen

國立交通大學
環境工程研究所
碩士論文



Submitted to Institute of Environmental Engineering

College of Engineering

National Chiao Tung University

In Partial Fulfillment of the Requirements

For a Degree of

Master of Science

In

Environmental Engineering

July 2008

Hsinchu, Taiwan, Republic of China

中華民國九十七年七月

以密閉式藻類毒性試驗方法評估二級、三級炔丙基醇類
之毒性與結構-活性關係之研究

學生：范哲偉

指導教授：陳重元

國立交通大學環境工程研究所

摘 要

本研究以藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) 利用 BOD 瓶進行一密閉式系統之毒性試驗，使用溶氧變化量 (ΔDO)，藻細胞的數量變化 (Final yield)，以及以藻類細胞密度變化量計算所得的生長率 (Growth rate) 三個終點，評估二級以及三級炔丙基醇類之毒性，藉由 Probit 模式求出半致死濃度 (50% Effect concentration, EC_{50})。以及利用物化參數 $\log P$ 以及 E_{lum0} 值來評估這一類化學物質之 QSAR。

本次實驗結果可發現三個參數中以 Final yield 的敏感度是最高的，而二級炔丙基醇類之毒性高低是和其炔基接的位置有一定的關聯性，三級炔丙基醇類之毒性則與疏水性的高低有關：疏水性越高其毒性越強。在與其他物種敏感度比較方面，敏感度的高低排列如下：BOD-FY > BOD-DO > Fathead minnow > BOD-GR > Tetrahymena Pyriformis。

在 QSAR 的分析方面，二級炔丙基醇當中去除三個炔基接在一的位置之化合物並且使用 $\log P$ 以及 E_{lum0} 值對其毒性做迴歸分析，能得到不錯的迴歸效果 ($R^2 = 0.852 \sim 0.926$)，然而三級炔丙基醇類，單純用 $\log P$ 值就能達到很好的效果了 ($R^2 = 0.914 \sim 0.965$)。此外，本研究以平均中斷值 (cut-off value) 作為選擇 NOEC 或 EC_{10} 的客觀參考點，結果顯示 NOEC

比 EC_{10} 較能提供生物更嚴謹的保護標準。

關鍵字: 月芽藻、QSAR、炔丙基醇、半影響濃度 (EC_{50})



The Study of Toxicity Assessment of Secondary and Tertiary Propargylic Alcohols Using a Closed-System Algal Test and The Quantitative Structure-Activity Relationships

Student: Je-Wei Fan

Advisor: Chung-Yuan Chen

Institute of Environmental Engineering
National Chiao Tung University

Abstract

A closed-system algal toxicity test was applied to evaluate the toxicity of secondary and tertiary propargylic alcohols to *Pseudokirchneriella subcapitata*. The effects of propargylic alcohols were evaluated by three kinds of response endpoints, i.e., dissolved oxygen production, cell density, algal growth rate. Median effective concentration (EC_{50}) were estimated using the Probit model. The quantitative structure-activity relationships (QSARs) were established based on the 1-octanol/water partition coefficient ($\log P$) and an electronic parameters-lowest unoccupied molecular orbit (E_{lumo}).

The result shows that the highest sensitivity is cell density between three end points, and the toxicity of secondary and tertiary propargylic alcohols is correlation to the position of alkynyl and hydrophobicity, respectively. Compare with sensitivity for other species, BOD-FY > BOD-DO > Fathead minnow > BOD-GR > Tetrahymena Pyriformis ◦

The QSAR about the secondary propargylic alcohols has a good fit ($R^2 = 0.852 \sim 0.926$) with the $\log P$ and E_{lumo} except three outliers that alkynyl attached to 1-position. The QSAR using $\log P$ for tertiary propargylic alcohols has a

good fit ($R^2 = 0.914\sim 0.965$). Moreover, a cut-off value approach is proposed to determine whether NOEC or EC_{10} should be chosen for estimating low toxic effects. The results indicate that NOEC offers better protection to test organisms than EC_{10} .

Keywords: *Pesudokirchneriella subcapitata*, QSAR, Propargylic alcohols, Median effective concentration (EC_{50})



誌 謝

在交大就讀兩年的時間裡，終於順利的完成了碩士論文，而在一路上非常感謝恩師 陳重元教授給我嚴格的指導與鼓勵，使我獲得許多專業上的知識，以及努力不懈的態度。也很感謝交大環工所 林志高教授、清大醫環系 董瑞安教授以及中山醫大職安系 趙木榮副教授在論文計畫書的審核以及口試期間提供了許多寶貴的意見給我，使得本論文更加的完整以及嚴謹。

在兩年的研究生涯裡，感謝學長 裕勝在研究上給我許多的教導，還有學姊 詔荼以及另外兩位同學 冠良、俊竹在實驗上的指導與幫助，以及在課業上所獲得的幫助；學弟妹 介華、欣妤、百珊雖然是新進成員，但他們認真努力學習的態度使得實驗室的運作良好，這些都是使我論文能夠順利完成的一大原因。也要謝謝其他研究室的同學 學詩、亮毅、青洲、偉志、精榮、立偉以及清華大學的朋友 偉群、朝陽等等，時常在生活中互相幫助、扶持，使得我的生活更加的多采多姿。

最重要的是感謝我的家人，他們在這兩年來對我的鼓勵以及支持，並且提供我生活上許多的幫助，使得我能夠順利地完成研究所的學業，並且使我對未來的方向更加的明確，特別謝謝你們！

目 錄

表次	頁次
中文摘要.....	I
英文摘要.....	III
誌 謝.....	V
目 錄.....	VII
表目錄.....	X
圖目錄.....	XI
第一章 前言.....	1
1.1 研究緣起.....	1
1.2 研究目的.....	3
1.3 研究方法與架構.....	4
第二章 文獻回顧.....	6
2.1 毒性試驗物種.....	6
2.2 試驗物種簡介.....	6
2.3 藻類毒性試驗方式.....	7
2.4 影響藻類毒性試驗的重要因子.....	9
2.5 定量結構-反應關係 (QSAR).....	12
2.5.1 QSAR簡介.....	12
2.5.2 QSAR的分類.....	13
2.6 毒性物質—炔丙基醇介紹.....	15
2.6.1 炔丙基醇的來源及物化特性.....	15

2.6.2 炔丙基醇之應用	18
2.6.3 炔丙基醇之毒理特性	18
2.6.4 炔丙基醇之QSAR.....	21
第三章 基本理論.....	22
3.1 毒性物質劑量-反應模式.....	22
3.2 基本生長動力學	23
3.3 NOEC	24
3.3 平均中斷值 (Cut-Off value)	25
第四章 實驗設計與方法.....	26
4.1 實驗設備	26
4.2 試驗藻種	32
4.3 培養基質的配製	32
4.4 試驗毒物	35
4.5 實驗前準備	35
4.6 實驗步驟.....	38
4.6.1 連續式母槽之培養	38
4.6.2 藻類毒性試驗	40
4.7 實驗數據之處理	41
第五章 結果與討論.....	42
5.1 藻類毒性試驗數據.....	42
5.2 EC ₁₀ 和NOEC值的比較.....	55
5.3 急慢性比(Acute-Chronic Toxicity Ratio ; ACR).....	60
5.4 試驗物種數據收集與比較	62
5.5 QSAR分析.....	70
5.5.1 利用QSAR預估急毒性.....	70
5.5.2 利用基線毒性預測毒性	76

第六章、結論與建議.....	79
6.1 結論	79
6.2 建議	80
參考文獻.....	81
附錄 原始數據.....	87



表目錄

Table. 2.6.1 化合物之物理化學特性	16
Table. 4.3.1 藻類營養基質之巨量營養組成份	34
Table. 4.3.2 藻類營養基質之微量營養組成份	34
Table. 4.5.1 電子計數器設定之條件	37
Table. 5.1.1 The raw data of algal toxicity test about 4-hexyn-3-ol.....	44
Table. 5.1.2 Median effective concentration values(EC_{50})based on three end-point.....	45
Table. 5.2.1 The relationship of NOEC and EC_{10}	58
Table. 5.2.2 The important statistical parameters in three test end-points	59
Table. 5.3.1 The ACR values in three test end-points	61
Table. 5.4.1 Comparison of algal toxicity test results with other species.....	64
Table. 5.5.1 $\log(1/EC_{50})$ value in three endpoints and $\log P$ 、molecular weight、 E_{lum}	71
Table. 5.5.2 Used baseline toxicity predicted toxicity and residual between observed.....	77

圖目錄

Fig. 1.3.1 研究架構流程圖	5
Fig. 2.5.1 QSAR分類.....	14
Fig. 2.6.1 炔丙基醇之基本結構	15
Fig. 2.6.2 炔丙基醇前親電性之毒性作用機制	19
Fig. 2.6.3 homopropargylic alcohol前親電性之作用機制.....	20
Fig. 4.2.1 月芽藻圖鑑	32
Fig. 4.6.1 連續式藻類培養裝置圖	40
Fig. 5.1.1 The Dose-response Curve of 1-hexyn-3-ol	46
Fig. 5.1.2 The Dose-response Curve of 1-pentyn-3-ol	46
Fig. 5.1.3 The Dose-response Curve of 3-butyn-2-ol	47
Fig. 5.1.4 The Dose-response Curve of 3-hexyne-2,5-diol.....	47
Fig. 5.1.5 The Dose-response Curve of 4-heptyn-2-ol	48
Fig. 5.1.6 The Dose-response Curve of 4-heptyn-3-ol	48
Fig. 5.1.7 The Dose-response Curve of 4-hexyn-3-ol	49
Fig. 5.1.8 The Dose-response Curve of 3-hexyn-2-ol	49
Fig. 5.1.9 The Dose-response Curve of 2-methyl-5-octyn-4-ol	50
Fig. 5.1.10 The Dose-response Curve of 5-methyl-1-hexyn-3-ol.....	50
Fig. 5.1.11 The Dose-response Curve of 2-methyl-3-butyn-2-ol	51
Fig. 5.1.12 The Dose-response Curve of 3-methyl-1-pentyn-3-ol	51
Fig. 5.1.13 The Dose-response Curve of 1-ethynyl-1-cyclohexanol.....	52
Fig. 5.1.14 The Dose-response Curve of 2,5-dimethy-3-hexyne-2,5-diol.....	52
Fig. 5.1.15 The Dose-response Curve of 3,5-dimethyl-1-hexyn-3-ol	53
Fig. 5.1.16 The Dose-response Curve of 2-phenyl-3-butyn-2-ol	53
Fig. 5.1.17 The Dose-response Curve of 1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol	54
Fig. 5.1.18 The Dose-response Curve of 3,4-dimethyl-1-pentyn-3-ol	54
Fig. 5.4.1 Comparison of relative sensitivity of <i>P. subcapitata</i> and Ciliate....	65
Fig. 5.4.2 Comparison of relative sensitivity of <i>P. subcapitata</i> and Fathead minnow	66

Fig. 5.4.3 Relationship between BOD-test and Fathead minnow data.....	68
Fig. 5.4.4 Relationship between BOD-test and Cilliate data.....	68
Fig. 5.5.1 QSAR analysis of the eight tertiary propargylic alcohols	75
Fig. 5.5.2 Correlation between Baseline and propargyl alcohols based on DO 、 Final yield and Growth rate.....	78



第一章 前言

1.1 研究緣起

由於工商業的發達，使得人們滿足了物質的享受，但每年大量的使用化學物質及新化合物的合成製造，迫使我們急需要了解化學物質對於排放水體的危害，是否會造成水體生物的威脅。然而傳統的水質標準像是生物需氧量（BOD）、化學需氧量（COD）等等，不見得能夠達到保護水體生物的要求，所以許多先進的國家除了訂定傳統水質標準外，同時對放流水毒性訂定放流水生物毒性規範，來彌補傳統水質參數不足。

藻類位於食物鏈的最底層，是重要的生產者，若是藻類受到影響則會導致其他的生物產生一些生理變化，且藻類的毒性試驗具備了簡單、敏感性高、再現性高等等的優點，故基於上述的理由，本實驗使用浮游植物—月芽藻（*Pseudokirchneriella subcapitata*）為試驗物種，研究其對於毒性物質之涵容能力。

傳統上藻類毒性試驗的標準方法中，大多是批次式開放培養的系統作為實驗方法，在此方法中由於為開放式，若測試物質為具揮發性的，則會因為揮發性的影響而導致低估其毒性的結果。基於上述的缺點，本研究使用 BOD 瓶來造成一完整的密閉環境系統，評估具有揮發性的物質並以藻類溶氧變化量（ ΔDO ）、細胞密度做為試驗終點，了解其毒性物質對於藻類的影響。

由於化學物質不斷的推陳出新，我們不可能一一的研究各種化學物質，故 QSAR（Quantitative Structure Activity Relationship）則為毒物學家常常使用的一個很好的模式。QSAR 為化學物質的物化特性或分子結構的參數和化學物質的生物毒性進行統計迴歸分析。藉由 QSAR 我們可以預測其它未做測試之化學物質之毒性。

本研究是選取炔丙基醇及其衍生物做為藻類毒性試驗之化合物。炔丙基醇為有機合成的重要中間體，並且被廣泛的應用於石油開採以及化學

醫藥中，目前在許多國家中已經把此類的物質歸類為列管物質，但目前對於這一類的物質來說，水體生物之毒性數據是相當缺乏的，以及其對於 QSAR 的研究也是相當稀少的，因此有更進一步對於此類化學物質做探討的必要，更突顯了本研究之重要性。



1.2 研究目的

- 一、利用連續式培養技術，配合 BOD 瓶進行密閉式藻類毒性試驗，並以溶氧以及細胞密度為試驗終點，探討一系列的二級以及三級炔丙基醇類之毒性，並以 Probit 模式計算出 EC_{50} 值。
- 二、討論此次研究中試驗結果所得到的 NOEC 以及 EC_{10} ，分析何者能對環境生物提供較好的保護。
- 三、將本篇藻類的數據，和其它學者使用不同方法、不同物種所做出來的數據做比較，並討論其敏感性及替代物種之研究。
- 四、利用化合物之 LogP 以及 E_{lumo} 值，對化合物進行 QSAR 之分析，並討論其在 QSAR 上之分類。



1.3 研究方法與架構

實驗首先是由參考文獻中收集相關資料及數據，經確定實驗毒物之後，將所選定之毒性物質之物化資料及研究文獻進行更進一步之整理，再建構實驗目的、實驗方法及實驗結果分析以完成毒性實驗。

本研究是以密閉式藻類毒性實驗，採連續培養、批次實驗之方式進行，再將實驗結果之數據以 Probit 模式分析求得 EC_{50} 值及劑量反應曲線 (dose-response curve)。最終再將實驗所得之結果進行更進一步之討論並提出本研究之結論。

整體實驗過程之架構如圖 1.3.1 所示：



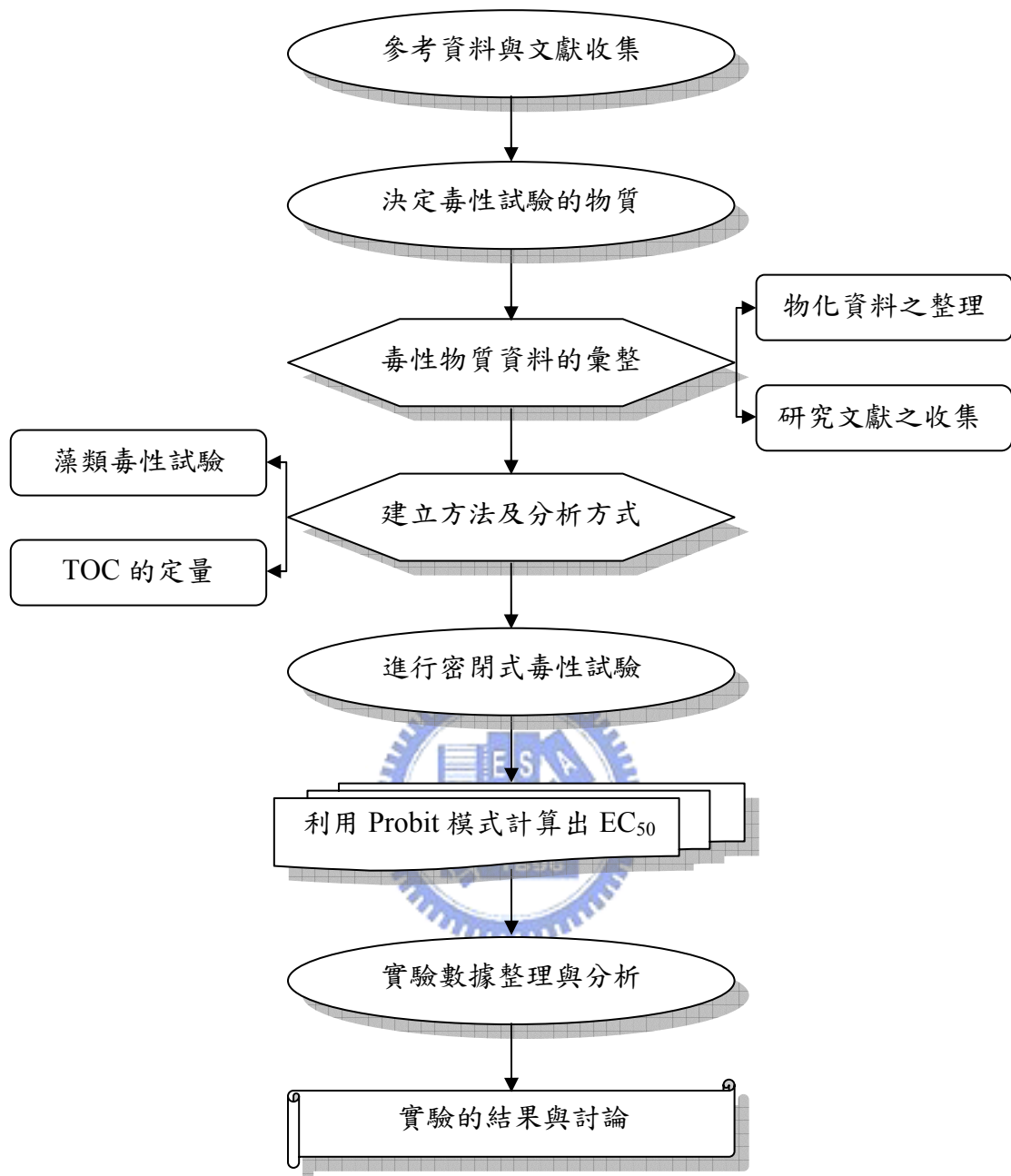


Fig. 1.3.1 研究架構流程圖

第二章 文獻回顧

2.1 毒性試驗物種

毒性試驗物種的選擇方面，一般來說考慮的大部分都是容易取得、容易觀察、生長期短、可以大量生長、培養簡單、具有地區代表性等。在現今標準試驗方法中，使用的毒性試驗物種種類很多，常見的包含了細菌（Madsen and Rasmussen, 1996; Xu and Nirmalakhandan, 1998）、藻類（Rojickova et al., 1998; Clarkson et al., 1998; Herman et al., 1990）、魚類（Slabbert and Venter, 1999; Zaho et al., 1998）、水蚤（Baun et al., 1998; Rose et al., 1998）等。

然而，本研究選取藻類做毒性試驗物種原因如下：

- (1) 藻類在水生生態系統中是主要的生產者，且其處於食物鏈底部，若其遭受到毒性化學物質的危害，則會對水生系統之營養層級造成很大的影響（Geis et al., 2000）。
- (2) 藻類的培養以及取得是比其他物種還要容易的，且所需要的成本較低，並可快速進行試驗，可以節省更多的時間與成本。
- (3) 相對於魚類及無脊椎動物試驗，藻類試驗有較佳的敏感度及較優的再現性。
- (4) 在毒性試驗過程中，由於藻類繁衍迅速，故試驗時間雖短，卻已歷經數個生命週期，因此試驗較不會受生物處於幼年期或衰老期之影響。

2.2 試驗物種簡介

由於在自然水體中的藻類有相當多的種類，標準方法中的試驗藻種也列出許多種，本實驗所使用的月芽藻（*Pseudokirchneriella subcapitata*）屬於綠藻（Chlorophyceae），其特色為單細胞成群但不糾結且不能移動，一般細胞體積為 $40-60 \mu\text{m}^3$ 。其體型成半月型。此類的藻類較其他微生物

試驗來的敏感 (Rojickova and Marsalek, 1999)，這也是本研究選取此類藻類做實驗的主要原因之一。月芽藻一旦生長條件不適或遭受毒性物質危害時，其顏色會由原先的綠色轉為微黃色，因此很容易於培養中觀察。且細胞變肥厚且半月型彎曲程度會變小，以顆粒記數器觀察其粒徑的分佈變化也可發現大粒徑的藻類分佈變多，而小顆粒的藻類分佈相對減少。

2.3 藻類毒性試驗方式

藻類毒性試驗可以依照培養方式分為**批次式**和**連續式**兩種。目前 OECD (Organization for Economic Cooperation and Development, 1984)、USEPA (United States Environmental Protection Agency, 1996)、ISO (International Organization for Standardization, 1987)、ASTM (American Society for Testing and Materials, 1994) 及 APHA (American Public Health Association, 1995) 等機構公告的都屬於批次式試驗方法。

批次式的培養在整個實驗中的一開始即加入飽和的基質，而在整個過程中不會加入新鮮基質，且藻類之代謝物也沒有流出，實驗期間藻類經歷了完整的成長週期，遲滯期 (lag phase)、指數生長期 (exponential phase)、穩定期 (stationary phase) 及死亡期 (death phase)。而其標準試驗方法可採用 U.S. EPA 所制定之“Fresh Algal Acute Toxicity Test” (1996)。批次式藻類毒性試驗具有技術簡便、成本低、樣品處理量大、實驗數據取得容易等優點，因此經常被採用。不過以批次式培養方式進行實驗，仍然存在許多缺點。例如在批次式系統中，為了確保藻類生長，大多使用高於自然水體甚多的營養鹽濃度，根據 Chen et.al., (1989) 的理論，如此將會影響藻類對毒性物質的容忍度，亦會造成 pH 的改變，也無法反應自然水體真實狀況。其次，批次式培養因為無新鮮基質的加入而導致營養鹽濃度會隨時間拉長而消耗，以致實驗後期逐漸產生營養鹽匱乏之情形，且代謝物累積無法移出，亦會對後續毒性試驗產生影

響。另外，批次式毒性試驗結果是具有再現性不佳之缺點的。

連續式的培養為新鮮基質的不斷流入，而代謝物不斷流出的方法，使得藻類保持在最佳的狀態，營養鹽也因為維持在低濃度流入的情況下，而使得更能模擬真實水體的情況。但連續式的培養需要一段相當的時間使得系統達成平衡，且每進行完實驗即需重新培養，相當的耗費人力、物力及時間，所以目前尚未有標準的試驗方法建立。

Chen and Lin, (1997) 所發展出的連續式藻類毒性試驗是以 Chemostat 為基礎之試驗。此試驗方法是使用四公升的母槽，以連續式的藻類培養技術來培養藻類，當系統達到穩定狀況時，即可取出藻液進行毒性實驗，也因為毒性試驗的藻液是另外取出，而不是直接在母槽中進行，母槽不會被毒物污染，沒有一般連續式試驗方法需要等待系統回復穩定而耗時的情況發生，使得實驗頻率能夠大幅的增加，並將毒性試驗時間縮短為 48 小時，大大增加試驗的頻率，也因而改善批次式培養中藻類代謝物之累積，並更能模擬自然水體之環境。

Chen and Huang, (2000) 利用連續式的培養方法結合了 BOD 瓶發展 48 小時的批次式 BOD 瓶藻類毒性試驗，將藻類、營養基質和試驗毒物加入 300mL 的 BOD 瓶，然後蓋子密封做密閉式毒性試驗，讓藻類與毒性物質接觸 48 小時後，由觀測終點量測實驗組與控制組（不加毒物）的抑制情形並進行比較分析。在操作更加簡單，時間與成本的耗費也大幅減少，且可處理較大量的樣品數、實驗數據取得容易，所以相對了提高實驗的再現性。

因此本研究是結合了上述兩種方法，也就是”連續式藻液的培養配合批次式毒性試驗”之方式。

目前的標準方法皆屬於**開放式**系統 (Open System)，此開放式系統在進行實驗時以激烈的搖晃震盪以利氣體交換、提供碳源。此類標準方法應用在揮發性有機物時，容易隨著時間的增長而使得揮發性有機物因為揮發而降低了濃度，因而低估了毒性。

有鑑於此，有學者採用以**密閉式**的系統來進行揮發性物質的毒性試驗。

密閉式系統中又可分為含上方空間 (head space) 的密閉式系統以及不含上方空間的完全密閉式系統兩類。比較上述兩種方法以及開放式系統，學者 Mayer et al., (2000) 提到完全密閉式系統中藻類抑制率最多可達 84%，而留有 head space 的密閉系統以及開放式系統中藻類抑制率最高僅達到 19% 以及 14%，有機物因為揮發而降低對藻類的敏感度之現象極為明顯。實驗結果證明不含 headspace 之完全密閉式系統是評估揮發性有機物毒性最佳的選擇。因此本實驗以 BOD 瓶進行完全密閉不留任何 head space 之密閉式藻類毒性試驗，以期有效的降低有機物揮發性所產生之實驗誤差，求得到更精準之試驗數據。

2.4 影響藻類毒性試驗的重要因子

進行實驗時，不同的操作參數都將影響實驗結果，在進行毒性試驗之前，我們必須對各種參數加以嚴格的控制，並了解各參數對於藻類毒性試驗之影響為何。在本實驗進行的同時，有以下參數列入考慮：

pH 值的控制

在自然界中，藻類會因為光和作用的原因而使得 pH 在一天中就產生很大的變化，若是不對 pH 加以控制而允許 pH 之變動，可能會降低毒性試驗的再現性，也因此不容易預測在一特定 pH 值之下試驗毒物對藻類所造成的毒性。因此標準藻類毒性試驗皆傾向其 pH 值維持在固定。不同的標準方法對於 pH 的變化皆有則不同之規定，如 U.S.EPA 要求最終之 pH 需在 8.5 之下，OECD 則規定 pH 的變化不可超過一個單位；ISO 則要求 pH 的變化不可超過 1.5 的單位。欲減少 pH 值之改變，大致的方法有下列幾種：(1) 使用較低之生物接種量 (2) 縮短整個試驗之時間 (3) 以空氣或是添加氣態二氧化碳並加以曝氣。

本研究依據早期之藻類毒性研究方法（林國清，1997）於進行毒性試驗前，將 pH 控制於 7.50 左右，使其減少 pH 變化所造成之可能誤差性。

試驗時間

毒性試驗的敏感性及數據結果皆易受試驗時間之長短而有所影響，當試驗時間過長時，會導致 BOD bottle 內之營養鹽不足進而影響控制組之生長，使得處理組與控制組於最終產量的差距漸漸縮小，另一方面，過長的試驗時間亦會使得毒性的反應消失。本試驗依據早期之密閉式藻類毒性試驗方法（林國清，1997），試驗時間為 48 小時。

光照

光照的強度會影響藻類行光合作用之速率，因而造成其產氧率之不同（Nyholm and Kallqvist, 1989）。不同標準方法有些許的差異，良好的混合可以減少自身遮蔽的現象，以避免因為與光源的距離不同而造成光照強度之差異。為了模擬真實的自然環境，另有一種光照方式為光暗交替循環的方式，雖然此方式較接近真實環境，但因為此光暗交替會使細胞同步分裂，而使細胞體積的變化更加複雜，無法以細胞數目代替生物質量。若是試驗生物能在連續光照的情況下生長良好，則其對毒性試驗的結果與光暗交替循環的方式並不會有太大的差異產生。

本研究依照 U.S.EPA（1996）標準方法針對 *Pseudokirchneriella subcapitata* 的規定，於連續式培養和批次試驗中所選擇的光照的強度為 $64.5 \pm 10\% \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ （4300 lux），且以連續式的光照來排除光暗交替循環式的光照所導致的藻類生物質量變異的缺點。

溫度與植種數量

當溫度逐漸增加時，藻類會呈現指數生長，而當達到其最適生長溫度後即迅速下降。本研究採用 U.S. EPA 建議的 24°C 環境下來培養藻類及進行實驗，整個培養及試驗過程中，溫度之變化不可大於 2°C。

在批次式的藻類毒性試驗中，藻液初始細胞密度的不同會對整個實驗

的結果產生影響。若在實驗開始時加入過量的藻液，使得藻類細胞大量的生長，將使代謝物大量累積且迅速消耗營養鹽及碳源而使得 pH 值增加進而影響到毒性試驗的結果。Lin (2001) 針對不同試驗時間和不同初始植種密度進行敏感度和變異性的分析，發現生物毒性試驗隨著時間增加，其敏感度提高而 C.V.值減少；而隨著初始植種密度減少，其敏感度提高但 C.V.值亦提高。考量實驗的變異性以及敏感度，本實驗選定藻類初始細胞密度為 1.5×10^4 cells/ml。

試驗用培養基

測試時使用之培養基對於藻類毒性試驗之影響極大 (Chen et al., 1994)，其主要之影響因子有 pH、硬度、螯合劑、氮、磷及一些主要陽離子。一般為使試驗之狀態符合自然環境狀況及讓藻類能有效利用微量元素，於試驗時會在培養基中加入固定量之螯合劑，如 ISO (1987) 於培養基中加入 $78 \mu\text{g/L}$ 的 EDTA 螯合劑。但是，因為螯合劑的加入會影響毒性試驗之結果，尤其是進行重金屬對藻類之毒性影響試驗時 (Sorvari and Sillanp, 1996)，因此，1996 年 U.S. EPA (1996) 建議在培養藻液時可加入固定量之螯合劑於培養基中，但在進行藻類毒性試驗時，則不加入任何之螯合劑。Lin (2001) 以初始細胞密度為 10^5 cells/ml，毒性物質為重金屬鋅，毒性試驗時間為 12 小時，分別對營養基質中 EDTA 含量為 0 (0% EDTA) 及 $300 \mu\text{g/l}$ (100% EDTA) 進行毒性試驗。結果正如預期中，加入 EDTA 會因為其和重金屬之螯合作用而降低重金屬對藻類之影響，進而降低了敏感度。因此本研究於試驗時亦不加 EDTA。

為了解 HCO_3^- 對於毒性試驗之影響，Lin (2001) 進行兩組試驗。一組初始細胞密度為 10^5 cells/ml，毒性試驗時間為 12 小時，毒性物質為重金屬鋅及鎘的條件下，分別進行營養基質採用原 U.S. EPA 營養基質 (HCO_3^- 濃度為 10mg/l) 及加入兩倍 HCO_3^- 之營養基質進行藻類毒性試驗，試驗終點為溶氧變化量；另一組初始細胞密度為 1.5×10^4 cells/ml，毒性試驗時間為 48 小時，毒性物質為重金屬鋅及有機物質酚。試驗結果發現， HCO_3^-

加倍後對毒性試驗敏感度之影響並沒有一定之趨勢，而且並不會對其毒性反應造成太大之影響。

藻類生長量測方法

在進行藻類毒性試驗時，我們必須要有一個能夠正確的反應出藻類生長情況之方法。一般藻類生長情況之參數有下列幾種：細胞密度、細胞總體積、乾重、葉綠素、活體內螢光值、營養基濁度、產氧量、ATP 及 DNA 等等之參數。研究人員可以基於其實驗室之器材設備、實驗條件下之可行性以及研究題目等相關因素來決定其所要使用之實驗參數 (Rehnberg et al., 1982)。

一般藻類毒性試驗之標準方法皆是於試驗終點時，測量藻類的生物質量。而量測生物質量最直接的方法就是量測生物之乾重，但是直接測量生物乾重之方法，非常之耗時費力，所以利用電子顆粒計數器、光學顆粒計數器等之間接量測生物質量的方法漸漸的將直接測量生物質量之法取而代之，這些方法不僅簡單、快速，所需的藻液量亦少，且與生物乾重間有良好的相關性。此外溶氧測定也擁有成本低廉、試驗時間短等優點。

故本研究是以測量藻類之細胞密度以及溶氧之變化當作觀測終點，以電子顆粒計數器測量細胞密度，溶氧測定儀測量藻液中溶氧量之變化量，並藉由 Probit 模式將實驗結果轉變成藻類生長抑制率及斜率。

2.5 定量結構-反應關係 (QSAR)

2.5.1 QSAR 簡介

每年皆有大量的化學物質不斷的產生，我們不可能一一的去對其做毒性試驗，來評估其環境風險，因為這樣會浪費時間及金錢。

QSAR (quantitative structure-activity relationship) 是以有機物的物性、化性及結構間的性質與毒性建立起之統計關係，毒物學學者可由化學物

之物化性質預測其毒性，在環境影響評估方面，QSAR 是很重要的預測工具。

QSAR 應用的歷史，我們可追溯 Rabuteau 在 1870 年時將青蛙浸泡在含乙基、丁基、以及戊基醇的毒性試驗中。然而 Overton (1899, 1901) 這位學者證明了對於許多非電解質的有機化合物中，毒性以及水油分配係數 (oil/water partition coefficient) 會有規律性，並且是行麻醉性的作用機制。此種現象 Mayer (1899) 以及 Baum (1899) 這兩位學者也相繼的發現了，然而這些研究使得以 logP 參數使用在 QSAR 的模式上，提供了一個有力的基礎 (Lipnick et al., 1987)。

依據 McFarland (1970) 的理論，化合物的毒性是因為毒性進入生物相的穿透力以及毒物和反應位置的相互作用而產生。

$$\text{Log}(\text{toxicity})^{-1} = A [\text{log}(\text{penetration})] + B [\text{log}(\text{interaction})] + C$$

其中 penetration 最常使用的參數為 logP，而 interaction 則為許多不同的親電性參數，像是 pKa 以及分子軌域能量 (E_{homo} 和 E_{lumo}) 參數等等。

2.5.2 QSAR 的分類

早期 QSAR 的發展上是先將化合物進行分類，也就是一個 QSAR 的模型只能建立一系列相同或相類似化合物的毒性。但後來發現利用化合物毒性作用機制所建立的 QSAR 模式是較適當的 (Mekenyan and Veith, 1993)。

Russom (1997) 將有機物分成圖一的毒性機制，可分為一般的 (General) 和特異的 (Specific) 兩大類型。一般性主要指化合物並非以特定位置對生物體造成攻擊，而是與生物體之細胞膜進行反應；特異性會作用在細胞的特定位置上或抑制特定的反應。而一般性又可稱為麻醉性，特異性又可稱為反應性。

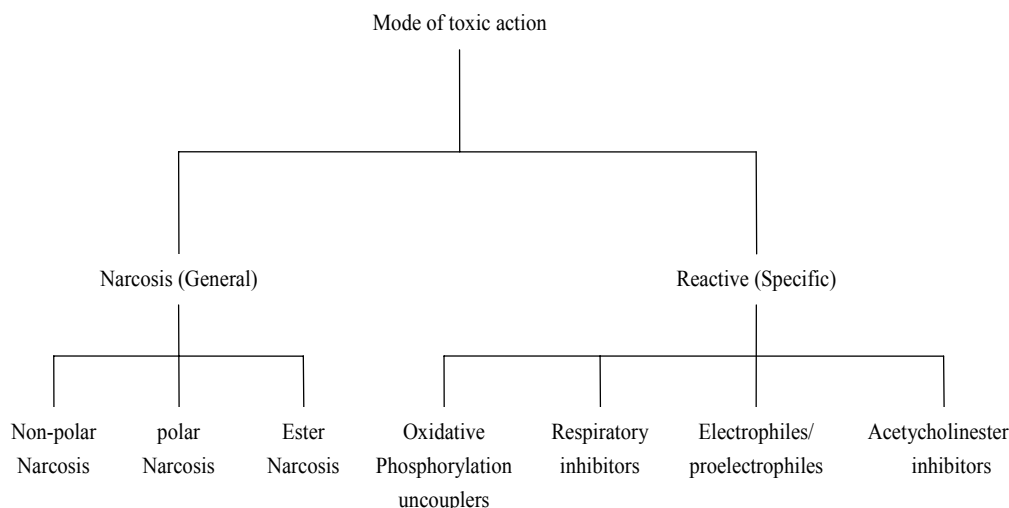


Fig. 2.5.1 QSAR 分類

麻醉性的作用機制又可分為極性 (Polar) 以及非極性 (Non-Polar) 兩種，屬於一種可逆的毒性。非極性麻醉物質的毒性大小可以和辛醇-水分配系數得到很好的線性關係，因此 Schultz (1998) 將非極性麻醉物質所造成的毒性，與 $\log P$ 所得的回歸關係定義為基線毒性 (Baseline toxicity)，認為其毒性低於極性麻醉性的物質，然而三級炔丙基醇類就屬於非極性麻醉性之物質 (Veith et al., 1989; Lipnick et al., 1987; Veith et al., 1983)。Verhaar (1992) 認為極性與非極性麻醉效應的差異在於氫鍵鍵結提供酸性的強弱不同，極性麻醉性之化合物通常比非極性麻醉性活潑。

而反應性的物質不但具有麻醉效應的毒性外，其官能基和生物體內所產生之化學變化為主要之毒性來源，此類化合物的官能基具有親電性，此種親電性會與生物體內的酵素、硫基、氨基等等產生種種的反應，包括取代、錯合、產生鍵結等等 (Joop et al., 1990)，使得物質傳遞以及養分吸收等路徑受到破壞，屬於一種不可逆的毒性，二級炔丙基醇則屬於這一類 (Veith et al., 1989)。

2.6 毒性物質－炔丙基醇介紹

炔丙基醇是接有三鍵的醇類，其化學結構如下圖所示：

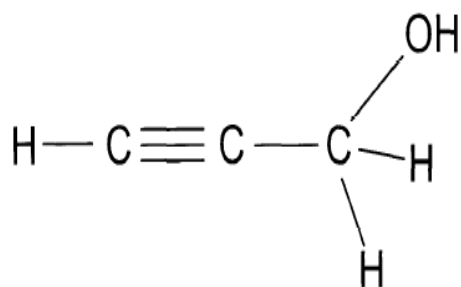


Fig. 2.6.1 炔丙基醇之基本結構

本研究是針對二級以及三級炔丙基醇及其衍生物做探討。

2.6.1 炔丙基醇的來源及物化特性

炔丙基醇的來源很多炔丙基醇是一種微黃色近似無色透明液體，具有天竺葵氣味，能與水，苯，氯仿，二氯乙烷，乙醇，乙醚互溶，微溶於四氯化碳，不與脂肪族碳氫化合物互溶。本研究所選取的化合物皆具有揮發性，且化學結構組成相當簡單，僅有碳、氫、氧三個元素，但高濃度之炔丙基醇對於眼睛、皮膚、黏膜以及呼吸道會有刺激的作用。然而，其來源有很多，它可由乙炔及甲醇催化加成而產生，抗結合藥乙胺丁醇的原料，有機合成的中間體，除草劑等等。其物化特性如表 2.6.1 所示：

Table. 2.6.1 化合物之物理化學特性


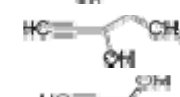
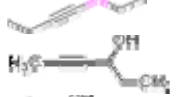
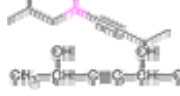
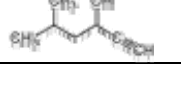




化合物名稱	化學式	CAS NO.	分子量	溶解性	logP	蒸氣壓	亨利常數	結構式
Secondary propargylic alcohols								
3-hexyn-2-ol	C ₆ H ₁₀ O	109-50-2	98.15	3.80E+04	1.2	0.138	6.93E-07	
1-hexyn-3-ol	C ₆ H ₁₀ O	0105-31-7	98.15	3.80E+04	1.2	0.219	1.37E-06	
1-pentyn-3-ol	C ₅ H ₈ O	4187-86-4	84.12	1.59E+05	0.67	0.712	1.04E-06	
3-butyn-2-ol	C ₄ H ₆ O	65337-13-5	70.1	4.415 E+005	0.14	1.9	7.8 E-007	
4-heptyn-2-ol	C ₇ H ₁₂ O	19781-81-8	112.17	1.724 E+004	1.18	0.04	9.2 E-007	
4-heptyn-3-ol	C ₇ H ₁₂ O	32398-69-9	112.17		1.73			
4-hexyn-3-ol	C ₆ H ₁₀ O	20739-59-7	98.15		1.2			
2-methyl-5-octyn-4-ol	C ₉ H ₁₆ O	60657-70-7	140.23		2.66			
3-hexyne-2,5-diol	C ₆ H ₁₀ O ₂	3031-66-1	114.15	1.28E+05	-0.1	0.0023	2.53E-08	
5-methyl-1-hexyn-3-ol	C ₇ H ₁₂ O	61996-79-0	112.17		1.6			

Table. 2.6.1 化合物之物理化學特性 (續)

化合物名稱	化學式	CAS NO.	分子量	溶解性	logP	蒸氣壓	亨利常數	結構式
Tertiary propargylic alcohols								
2-methyl-3-butyn-2-ol	C ₅ H ₈ O	115-19-5	84.12	1.00E+06	0.28	2.13	3.91E-06	
3-methyl-1-pentyn-3-ol	C ₆ H ₁₀ O	77-75-8	98.15	9.90E+04	1.07	0.7	6.85E-06	
1-ethynyl-1-cyclohexanol	C ₈ H ₁₂ O	78-27-3	124.18	1.04E+04	1.66	1.77E-02	1.07E-06	
2,5-dimethyl-3-hexyne-2,5-diol	C ₈ H ₁₄ O ₂	142-30-3	142.2	1.67E+04	0.69	1.30E-03	4.47E-08	
3,5-dimethyl-1-hexyn-3-ol	C ₈ H ₁₄ O	107-54-0	126.2	8112	2	0.113	2.42E-06	
2-phenyl-3-butyn-2-ol	C ₁₀ H ₁₀ O	127-66-2	146.19	9380	1.68	1.73E-03	6.30E-08	
1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol	C ₁₅ H ₁₂ O	3923-52-2	208.26		2.71			
3,4-dimethyl-1-pentyn-3-ol	C ₇ H ₁₂ O	1482-15-1	112.17	2.40E+04	1.26	0.436	1.83E-06	

溶解性：mg/L 蒸氣壓：kpa 亨利常數：atm·m³/mole

2.6.2 炔丙基醇之應用

炔丙基醇的應用有很多。在醫藥行業中，炔丙基醇是合成磷霉素鈉，磷霉素鈣，磺胺嘧啶的重要中間體，也用於生產丙烯醛，丙烯醇，維生素 A 等醫藥產品，在農業行業中，炔丙基醇主要是應用在合成克顛特農業中，有許多國家每年對於炔丙基醇這一類的物質需求量相當的大，例如中國，每年用在醫藥及農藥行業中炔丙基醇的需求量就在 1200 公噸以上。

炔丙基醇也可應用於電鍍行業中，由於炔丙基醇的衍生物具有良好的整平性和光亮性，在鍍鎳的過程中，可作為一種優良的鍍鎳快光劑使用，在電鍍行業中使用相當廣泛。炔丙基醇也是重要的除鏽劑，能抑止乙酸、磷酸、硫酸、鹽酸等對鐵、銅、鎳等金屬的腐蝕，被廣泛應用在鋼鐵行業中。炔丙基醇還可應用於石油的開採，還可用作溶劑、穩定劑、除草劑、殺菌劑等等。



2.6.3 炔丙基醇之毒理特性

二級炔丙基醇被分類為反應性裏的前親電性，而三級炔丙基醇被分類為麻醉性。前親電性的物質會因為生物反應 (bioreactivity) 的作用而變成軟親電性 (Bearden and Schultz, 1997)。此類化合物的毒性是因為它會經過一種藉由醇脫氫酶 (alcohol dehydrogenase, ADH) 的酵素使得化合物的結構代謝轉換為 α , β -不飽和之代謝物，此代謝物為 ” Michael-type acceptors ” (Mekenyan et al., 1993)，之後會經由 Michael reaction 的作用機制被一些生物大分子或是親核基攻擊，如： $-\text{SH}$ ， $-\text{NH}_2$ ， $-\text{NH}$ ， $-\text{OH}$ 基等，如圖2.6.2所示 (Veith et al., 1989; Lipnick, 1985)。

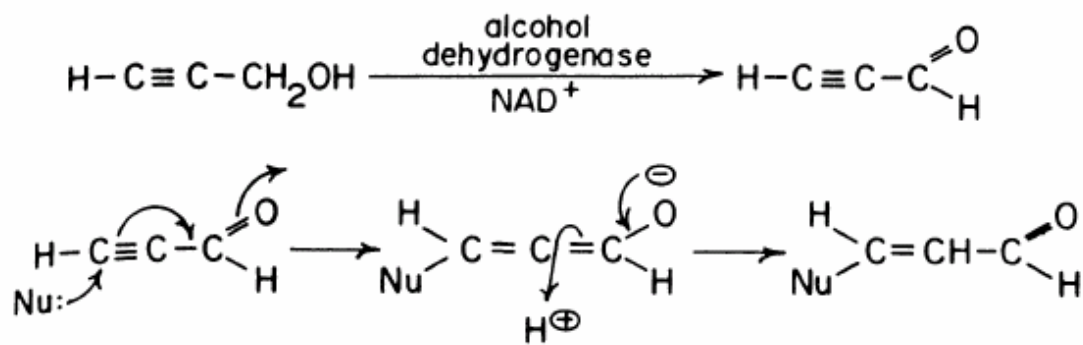


Fig. 2.6.2 炔丙基醇前親電性之毒性作用機制

本研究選取的二級炔丙基醇中，有一些分子結構是帶有亞甲基的（homo），homopropargylic alcohol這類的物質雖然不會發生醇脫氫酶的氧化作用，但它會經過一些烯醇化（enolization）作用以及互變異構化（tautomerization）作用變為丙二烯之後，再被一些親核基或是大分子攻擊，然後再經由互變異構化的作用形成一不可逆之加合物（irreversibly bound adduct），使毒性變高。如圖2.6.3所示（Veith et al., 1989）。

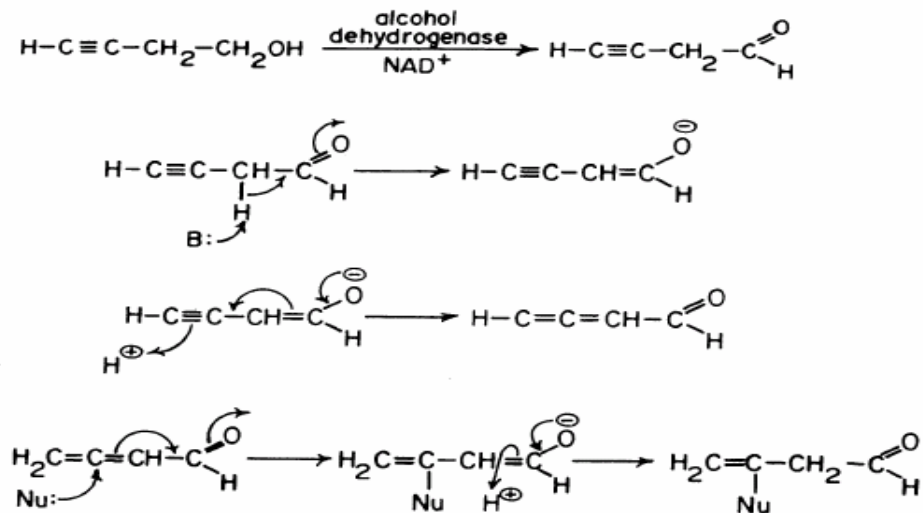


Fig. 2.6.3 homopropargylic alcohol 前親電性之作用機制

三級炔丙基醇被分類為麻醉性，此類的化合物在文獻上是較為不毒的（Veith et al., 1983; Lipnick et al., 1987; Veith et al., 1989）。過去有學者已經證明了三級的炔丙醇類是可以當做魚類以及水蚤的麻醉劑（Howlandr and Schoettger, 1969; Gannonj and Gannons, 1975）。縱使他們的毒性不高，但高劑量的三級炔丙基醇還是會導致死亡的。

Veith（1989）使用fathead minnow為試驗物種，針對四個二級以及七個三級炔丙基醇類做毒性試驗，文獻指出二級的炔丙基醇類其Te（Excess toxicity: $\text{LC50}_{\text{predicted}}/\text{LC50}_{\text{observed}}$ ）值是134~383倍，且這類的化合物會造成魚類產生脊椎側彎，水腫，痙攣等等的現象，其中最毒的物質為1-octyn-3-ol，其 EC_{50} 值為0.413mg/L。而對於三級炔丙基醇來說，其Te值的範圍為0.7~3.8倍，而最毒的化學物質為1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol，其 EC_{50} 值為11.1mg/L。

Schultz（2004）使用了纖毛蟲為毒性試驗物種，針對一連串的脂肪醇做毒性試驗。其中也包括了17種二級炔丙基醇類以及五種三級炔丙基醇

類。結果發現最毒的毒性試驗化合物為1-hexyn-3-ol，其EC₅₀值為21.47mg/L。最不毒的化學物質為2,5-dimethyl-3-hexyne-2,5-diol，其EC₅₀值為5406.29mg/L。

相同的結果也發生在Dowson (1990) 所做的實驗中，它選取了14種炔丙基醇類對於非洲蛙做其胚胎以及幼體的毒性試驗，結果發現被分類為前親電性的炔丙基醇類會造成胚胎之致突變性，而麻醉性的炔丙基醇類則不會。

2.6.4 炔丙基醇之 QSAR

由於三級之炔丙基醇為麻醉性的物質，所以此類的化合物用logP 對於毒性是能得到很好的回歸效果 (Veith et al., 1983)。但若是像二級炔丙醇這類會經由生物活化的作用而變成軟親電性的物質，則我們必須加一些分子參數去做回歸 (Mekenyan et al., 1997)。Bearden (1997) 這位學者使用了纖毛蟲 (*Tetrahymena*) 以及魚類 (fathead minnow) 去做毒性試驗，並且發現不管對於哪個物種而言，前親電性的物質若單單由logP 去對毒性做回歸的話，其回歸的效果都是不好的 (*Tetrahymena* : $r^2 = 0.57$, fathead minnow : $r^2 = 0.06$)。但在他加入一個空間性參數 S_{av}^n (average superdelocalizability) 之後，發現不管對於哪一種物種來說，其回歸效果都是增加許多的 (*Tetrahymena* : $r^2 = 0.71$, fathead minnow : $r^2 = 0.84$)。Schultz (2004) 選取了一系列的二級炔丙基醇對纖毛蟲做毒性試驗，發現其回歸效果也很不好 ($r^2 = 0.339$)，然而，他也建議對於這類的化學物質，是應該另外加一些親電性參數來做回歸的。

第三章 基本理論

3.1 毒性物質劑量-反應模式

當試驗物種受到毒性物質的抑制而造成 50%抑制或死亡，稱為 EC_{50} (Effect Concentration) 或 LC_{50} (Lethal Concentration)。而試驗物種受到毒性物質的抑制所造成的抑制或死亡之百分率，隨著毒性物質濃度成 S 型劑量反應關係曲線，利用數學轉換模式將 S 型曲線轉為直線，以方便求得 EC_{50} 或 EC_{10} ，便稱為劑量反應關係模式。

一般較為常見的毒性物質劑量-反應模式為 Probit，Probit 是假設受生物對毒性物質容忍度成對數常態分布 (log-normal distribution)。因此以常態分佈函數來表示毒物對生物抑制率 P 對毒物濃度 (劑量) Z 的濃度 (劑量) 反應曲線。在 Probit 轉換式中，毒性物質之 S 型濃度反應曲線先轉換成 NED (Normal Equivalent Deviation) scale 之直線，其中 50 % 抑制率 (P) 對應至 NED scale 上時為 0，而 84.1% 則對應為 1，而 NED scale 的座標值加上 5 即為 Probit 座標之概率單位 Y 值 ($Y = NED + 5$)，當 $Y = 5$ 時表示一半的測試生物受到毒性物質抑制，此時對應的毒物濃度就是 EC_{50} 。Probit 單位與反應率與毒性物質劑量間之轉換關係如下：

$$Y = A + B \log Z \quad (1)$$

$$P = 0.5 \left[1 + \operatorname{erf} \left(\frac{Y - 5}{\sqrt{2}} \right) \right] \quad (2)$$

其中 Y 為 Probit 單位，A、B 為劑量-反應曲線之截距與斜率，Z 為毒性物質劑量濃度 (單位：mg/l)，P 為測試物種對毒性物質之反應率 (如死亡率等，單位：%)，erf 為 error function。

3.2 基本生長動力學

在批次式藻類培養中，單細胞藻類的生長通常依循簡單的一階動力學：

$$\frac{dX}{dt} = \mu X$$

其中，X 為生物質量（一般以乾重或是細胞數表示之）； μ 為比生長率；t 為時間。影響生長率之因子有光照、溫度、營養鹽及碳源之供應，如果光照、營養鹽或碳源受到限制，則藻類之基本生長模式將由指數型態變成直線型態。

在連續式藻類培養中，當系統達到一平衡（Steady State）時：

一、由反應槽中生物質量之平衡可得下列式子：

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - DX = (\mu - D) X$$

其中，D 為稀釋率（ day^{-1} ）即入流量與反應槽體積之比值，當系統達到平衡穩定狀態時，

$$\frac{dX}{dt} = 0$$

則 $\mu = D$

此表示當反應槽達到平衡穩定狀態時，反應槽內生物之比生長率等於該系統之稀釋率。

二、由反應槽內之基質平衡可得下式：

$$\frac{dS}{dt} = DS_0 - DS - \mu \left(\frac{X}{Y} \right)$$

其中， S_0 為入流基質濃度（mg/l）；S 為系統達平衡穩定狀態時，限制性基質之濃度（mg/l）；X 為系統達平衡穩定狀態時，生物質量之密度（cells/ml）；Y 為無因次之生長係數。

當系統達平衡時，

$$\frac{dS}{dt} = 0$$

$$\text{則 } D(S_0 - S) = \mu \left(\frac{X}{Y} \right)$$

$$\text{又 } \mu = D$$

$$\text{所以 } X = Y(S_0 - S)$$

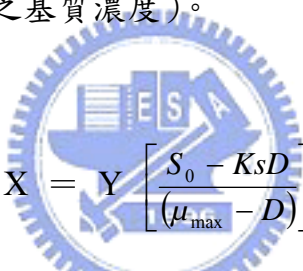
$$\text{再由 Monod's equation, } \mu = \frac{\mu_{\max} S}{(K_S + S)}$$

$$\text{及 } \mu = D$$

$$\text{所以 } S = \frac{K_S D}{(\mu_{\max} - D)}$$

其中， μ 為比生長率； μ_{\max} 為最大比生長率； K_S 為飽和常數（比生長率為最大比生長率一半時之基質濃度）。

最後可得


$$X = Y \left[\frac{S_0 - K_S D}{(\mu_{\max} - D)} \right]$$

由此是可知當反應槽達平衡穩定狀態時，其生物量可由稀釋率及進流基質濃度來控制。

3.3 NOEC

另一個判斷毒性反應的指標為「未造成生物產生明顯毒性反應的最高濃度」（no observed effect concentration, NOEC）即代表毒性物質對受測物的無影響之濃度。為了計算 NOEC 值，One-sample t test 以及 Dunnett's test 是常用以跟控制組比較的統計方法。本實驗所進行的 One-sample t test 主要根據所有實驗控制組的溶氧變化量和細胞密度增加量的平均值加減三倍標準偏差值定義出上下控制範圍決定 NOEC 值，而 Dunnett's test 則觀察重複組之間的差異以及控制組和處理組的差距以定義 NOEC。

3.3 平均中斷值 (Cut-Off value)

為了了解毒物在低濃度下分析方式結果 (模式迴歸分析及統計分析) 的差異及找出較適的水體保護指標, 本研究中分別比較兩種指標 NOEC 及 EC₁₀ 值, 並利用平均中斷值 (cut-off value) 作為選擇 NOEC 或 EC₁₀ 的客觀參考點。中斷值與一組試驗的組內變異之平方根成正比, 因此組內變異較小的精確試驗有較小的平均中斷值, 由於中斷值的濃度大於 NOEC 而小於 LOEC, 故中斷值亦指出 NOEC 所能達到之保護程度的極限, 其計算公式如下:

$$\text{cut-off value (\% reduction)} = \frac{X_c - X_i}{X_c} \times 100 = \frac{T}{X_c} \times Sw \sqrt{\frac{1}{n_c} + \frac{1}{n_i}} \times 100$$

T: 查表所得 (以 one-tail Dunnett's test 在顯著程度為 5% 之表格)

X_c 為控制組之平均值, X_i 為處理組之平均

Sw : 組內變異之平方根

n_c, n_i : 控制組與處理組重複試驗次數。



第四章 實驗設計與方法

4.1 實驗設備

1. 恆溫無塵室

恆溫無塵室大小約為五坪，其溫度控制在 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ，保持恆溫，藻類培養、試驗皆在此溫控室內進行。

2. 水質

實驗中清洗容器、器具之二次清洗水及藥品配製用水皆為自來水依次經過過濾、離子交換、蒸餾然後再經超過濾 (Milli-Qplus) 處理之去離子水。使用時需確定水質之比電阻 ≥ 18.2 Megaohm 才可開始使用。



3. 批次式培養器皿

以批次方式培養液態藻類時所使用之容器為 125ml, Erlmeyer 之三角錐瓶。

4. 培養裝置

培養裝置為自行裝配之培養箱，台面可依所需而更改、拆換，以角鋼為架構主體，長 × 寬 × 高為 $135 \times 110 \times 135\text{cm}$ ，頂面履以 120cm 長之白色螢光燈管 8 支，並設有迴轉式振盪混合器 (FIRSTEK 公司，型號 S103)，搖動速度可大於 100 rpm，其台面共有 112 個位置。培養設備置於恆溫室內，控制溫度在 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 。作為藻類批次式培養與毒性試驗之用。

5. 瓶塞

使用脫脂棉加上消毒紗布，每次使用前需先經過滅菌斧殺菌。

6. 連續式培養母槽

連續式培養之母槽使用體積 5 公升，直徑為 18cm 之玻璃容器。於體積 4 公升處開口做為溢流口，並且於體積 2 公升處開一口做為取樣之用。母槽上方亦有兩開口，一作為營養基質流入口、另一作為空氣進流用。

7. 電磁攪拌器

其作用為使藻液與進流之營養基質、空氣混合均勻，並且避免藻類之沉澱。



8. 蠕動幫浦

蠕動幫浦使用 Masterflex 公司，型號 7533-70 pump drive 及 7518-10 pump head 之定量幫浦，作為輸送營養基質到連續式培養母槽之動力，並可控制其流量。

9. 幫浦管

幫浦管使用 Materflex 公司，型號 H-96400-14。輸送管為矽膠材質，不具毒性，可避免影響母槽之培養及毒性試驗之結果。

10. 曝氣幫浦

所使用之曝氣幫浦為一般水族使用之曝氣幫浦。

11. 氣體流量計

其功用在量測曝氣氣體之流量，本實驗母槽之曝器量控制在 250ml/min。

12. 空氣洗滌器

洗滌器的功用在去除曝氣氣體中的雜質，並可以藉此濕潤氣體，增加氣體之溶解。

13. 庫德式電子顆粒計數器二代

功用為計數藻類細胞數。使用 Coulter Electronics 公司之 Coulter Counter，型號為 MULTISIZER II，並以 5.06 μm 標準顆粒乳液來校正。配有 50 及 100 μm 孔徑之玻璃管。本實驗使用 100 μm 孔徑之玻璃管，量測之顆粒直徑範圍為 2 μm ~60 μm 。

14. 電腦及分析軟體

使用中央處理器為 P-166 之桌上性電腦，視窗 98 (Windows98 Se) 之程式並配合電子顆粒計數器所需之軟體 (Multisizer Accucomp V. 2.01) 來進行顆粒計數之分析。使用時可直接將電子顆粒計數器之數值輸送至電腦中進行分析。

15. BOD 瓶

呼吸毒性試驗時使用之玻璃器皿。使用體積 300ml，直徑 8cm 之 BOD 玻璃瓶。上頭開口處有玻璃瓶塞，使其可以利用水封之形式，避免外界氣體、物質等進入，而減少干擾。整個系統為一個封閉式系統。

16. 光度測定計

使用 TOPCON 產牌，型號 IM-2D，單位為 lux。

17. pH 測定儀

使用 Suntex 公司，型號 SP-7 之 pH 測定儀。其精確度為 ± 0.01 。

18. 溶氧測定儀

美國 YSI 公司出品之微電腦溶氧測定儀，Model YSI 5100，附有 Model 5010 溶氧測定探頭（BOD Probe），其探頭部分裝有電動攪拌器，可以對樣品進行攪拌。溶氧量測定範圍為 0.0~60.0mg/L，精準度為 $\pm 0.1\%$ 。



19. 曝氣用氣體鋼瓶

使用含 0.5%CO₂ 之高壓氮氣鋼瓶，氮氣之純度達 99.9%，總氣體體積為 6m³。用於降低營養基質中之溶氧值，並確保能提供足夠之碳源。鋼瓶上備有一流量計，曝氣時之曝器流量控制在 600ml/min。

20. 純水曝氣設備

曝氣設備使用體積 10 公升之德國製下口瓶，。開口處嵌入一矽膠塞和玻璃管，玻璃管一頭接氣體鋼瓶，一頭接沸石並伸入純水筒底部曝氣，在純水筒開口處附近開一小洞以平衡壓力，曝氣完成後關緊筒蓋以減少外界空氣之進入。

21. 無菌操作台

使用造鑫公司製造的 Laminar Flow 操作台，內設有紫外光殺菌，以防止植種過程及配製營養鹽時受到污染。

22. 抽器幫浦

使用 SINKU KIKO 公司，型號 ULVACG-5 及 G-50 之幫浦。用於過濾營養基質及 ISOTON II 之用。

23. 冰箱

使用 Whirpool 之冰箱，其功用為維持藻種、藥品及營養鹽於 4°C 之下，以保存之。



24. 滅菌釜

使用 HIRAYAMA 公司，型號 HA-300M 之滅菌釜，最大壓力可達 1.9 kg/cm²，容積為 0.0521m³。使用時條件設定為高溫 (121 °C) 高壓 (1.1 kg/cm²) 來進行滅菌，每次對實驗器皿進行滅菌的時間設定為 15 分鐘。

25. 烘箱

使用 Memmet 公司之烘箱，做為烘乾玻璃器皿用。使用時溫度設為 52 ± 1°C，每次操作時間為 2 小時。

26. 分析天秤

量測藥品用，產牌 Precisa 205A，精確度至 0.01mg。

27. 定量吸管

使用 SOCOREX 公司，可調式移液器，容量為 100~1000 μ l 及 0.1~5 ml 兩種。

28. 濾膜

使用之濾膜分成兩種，過濾營養基質時使用 Gelman Science 九型號 66191 之 0.45 μ m 濾膜，過濾 Isoton II 時使用 60301 之 0.2 μ m 濾膜。

29. UV 紫外光燈

使用 8 watt 長型紫外線燈 with J138 Stand，可切換 365/302/254 三段波長，以便針對不同之 PAHs 光解所需之特定 UV-A 或 UV-B 波長進行照射，型號 UVLMS-38，115V/60Hz。



30. 紫外線強度測定儀

使用 UVP 公司生產的 UVX Radiometer，測定強度範圍 0~20 Mw/cm^{2P}，有三種切換sensor，分別UVX-25、UVX-31 及UVX-36。

31. 總有機碳 (TOC) 分析儀

廠牌為 Jena (耶拿)。

4.2 試驗藻種

本研究中，採用植物性浮游生物，月芽藻（*Pseudokirchneriella subcapitata*）。*Pseudokirchneriella subcapitata* 屬於綠藻綱（Chlorophyceae）其特徵為單細胞、成群體但不糾結、不能移動，一般細胞體積為 $40\text{-}60\mu\text{m}^3$ ，其體型呈半月型。此藻種之使用極為廣泛，例如 U.S. EPA、ISO、OECD 及 APHA 等單位之藻類毒性試驗法，皆使用此藻種為標準試驗物種之一。實驗藻種購自於 University of Texas, Austin。



Fig. 4.2.1 月芽藻圖鑑

4.3 培養基質的配製

本研究所使用之培養基質為參考 U.S. EPA 使用之營養基質組成，配製方法如下：

將下列 (1)~(7) 的貯備液（Stock Solution）各加 1 ml 至含 900 ml 去離子水中，再稀釋 1 公升。接著以 0.1 N 當量濃度的 NaOH 或 HCl 將營養基質之 pH 值調至 7.50 ± 0.10 。

(1)硝酸鈉貯備液：溶解 12.750 g NaNO_3 於 500 ml 去離子水。

(2)氯化鎂貯備液：溶解 6.082 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 於 500 ml 去離子水。

(3)氯化鈣貯備液：溶解 2.205 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 於 500 ml 去離子水。

(4)微營養鹽貯備液：溶解下列所有藥品於 500 ml 去離子水。

92.760 mg H_3BO_3

0.714 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

207.690 mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

3.630 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

1.635 mg ZnCl_2

0.006 mg $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

79.880 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

150 mg $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

(5)硫酸鎂貯備液：溶解 7.35 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 於 500 ml 去離子水中。

(6)磷酸氫二鉀貯備液：溶解 0.522 g K_2HPO_4 於 500 ml 去離子水中。

(7)碳酸氫鈉貯備液：溶解 7.5 g NaHCO_3 於 500 ml 去離子水中。

其中微營養鹽貯備液中，EDTA 分別有 100%、10%及 0%三種。100%是使用於活化藻類時，而在連續式母槽中培養藻類時使用 10%，進行實驗時則使用不含 EDTA 之貯備液。最後配成之營養基質，所含巨量及微量營養素濃度列於表 4.3.1 及表 4.3.2。營養基質的滅菌是以 0.45 μm 的濾膜過濾，過濾滅菌後的營養基質須保存在 4°C 且置於陰暗無光線照射處，以免產生光化學反應。

Table. 4.3.1 藻類營養基質之巨量營養組成份

化合物	濃度 (mg/l)	元素	各元素實際濃度 (mg/l)
NaNO ₃	25.5	N	4.2
NaHCO ₃	15.0	C	2.14
		Na	11.0
K ₂ HPO ₄	1.04	P	0.186
		K	0.649
MgSO ₄ -7H ₂ O	14.7	S	1.91
MgCl ₂	5.7	Mg	2.9
CaCl ₂ -2H ₂ O	4.41	Ca	1.20

Table. 4.3.2 藻類營養基質之微量營養組成份

化合物	濃度 (µg/L)	元素	各元素實際濃度 (µg/L)
H ₃ BO ₃	186	B	32.5
MnCl ₂	264	Mn	115
ZnCl ₂	3.27	Zn	1.57
CoCl ₂	0.780	Co	0.354
CuCl ₂	0.009	Cu	0.04
Na ₂ MoO ₄ -2H ₂ O	7.26	Mo	2.88
FeCl ₃	96.0	Fe	30.0
Na ₂ EDTA-2H ₂ O	300		

4.4 試驗毒物

本研究是選取 18 種二級以及三級炔丙基醇類做密閉式藻類毒性試驗，由於 1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol 此類化合物的溶解性較低，故在配置貯備液時是需要添加溶劑的（DMSO）。而此類的物質是具有揮發性的，所以貯備液的配置過程中是使用 BOD 瓶來配置，使得毒性化學物質在整個試驗中都能達到密閉式的效果，降低揮發性對於實驗準確度的影響。其物化特性可參見表 2.6.1。

4.5 實驗前準備

1. 玻璃器皿

玻璃器皿使用前需先用不含磷之清潔劑浸泡、清洗，然後以自來水沖洗 5 至 6 次，接下來則用 10% 之鹽酸（HCl）浸泡最少一個小時，之後再以自來水沖洗 5 至 6 次後，再的去離子水沖洗 3 至 4 次，至入烘箱中以 52°C 之溫度烘乾。使用前需在其開口處封上鋁箔，置入滅菌釜中，以 1.1Kg/cm²、121°C 的條件滅菌 15 分鐘（定量瓶於泡酸液清洗完後，置於架上陰乾即可）。


2. 藻類之培養及保存

開始時先進行固態培養基的培養，固態培養基組成和液態培養基相同但加 1% 之洋菜膠（Agar），通常可保存約 6 個月（在 4°C 下）。藻類每四個星期移植至新的培養皿以保持菌種的健康。另外也做液態培養基的培養，通常可保存 4 個星期（4°C 下），四個星期後繼續做移植以保存菌種。

3. ISOTON II 之配製及電子顆粒計數器之操作

ISOTON II 之作用主要是作為電子顆粒計數器之導電溶液，也就是說，電子顆粒計數器中所用之溶液皆為 ISOTON II。ISOTON II 的配製比例為 1 公升的超純水中加入 10g 氯化鈉 (NaCl)，攪拌使其混合均勻，然後以電導計測量其導電度，所需要之導電度為 17mmho。若是導電度低於 17mmho，則再慢慢加入氯化鈉，攪拌均勻，直到導電度為 17mmho；相反的，如果導電度超過了 17mmho，則慢慢加入超純水，攪拌均勻，直到導電度降至 17mmho。待導電度達 17mmho 後再以 0.2 μ m 之濾膜過濾此溶液，其濾液即是我們所要之 ISOTON II 溶液，以顆粒計數器量測到之食鹽顆粒數空白值須小於 200。

電子顆粒計數法及操作原理:



電子顆粒計數器在使用前須先暖機約半小時以使機器內之管路可抽至真空狀態，使用前後皆須流洗管路，並補充上方之 300ml ISOTON 抽取溶液。在電子顆粒計數器內有一根玻璃管，操作中需浸入含有 Isoton 稀釋樣品的燒杯中。而在玻璃管近底端的側面具有半透膜的精密小圓孔，用以吸取水樣。在玻璃管內外各有一電極片通以直流電，當水樣中所含之顆粒經過圓孔時，會暫時性地干擾到電流，其干擾正比於每個顆粒的大小。所產生的電阻則由示波器的波峰顯示，其高度正比於顆粒的多少，個別的脈衝數由電子數位器直接記錄顯示。而水樣在量測的過程須加以攪拌以使顆粒均勻分佈。電子顆粒計數法適用於單顆粒藻類之計數，如 *Pseudokirchneriella subcapitata*。電子顆粒計數器主要條件設定如下表 4.4。本實驗採用 50 μ m 孔徑之毛細玻璃管，其設定之量測粒徑上下限為 2.622 μ m 至 30 μ m。量測時，所取之藻液量依生長情形而定，若藻液色澤較深時則取 1 ml，若藻液色澤較淺則取 5 ml，放入 50 ml 之量瓶內，再加

入 Isoton 至 50 ml 。將之倒入燒杯，放進顆粒計數器內量測。以顯示之讀數值扣除空白顆粒數之數值（純 Isoton 之背景值），連續三次其值相差在 2 % 者之平均值為量測值。

Table. 4.5.1 電子計數器設定之條件

項 目	數 值
滿刻度電流量 (Full scale)	10mA
極性 (Polarity)	+
電流 (Currents , I)	100
粒度下限 (Diameter Lower Threshold , Tl)	2.622 μ m
粒度上限 (Diameter Lower Threshold , Tu)	30 μ m
脈衝衰減倍率 (Attenuation , A)	1
脈衝放大倍率 (Preset Gain)	1
警戒粒徑限度 (Alarm Threshold)	OFF
分析量	500 μ L

4. 盤面光度之調整

使用單面為白色亮面具反射光線效果之木板和錫箔紙，組裝於震盪器四周，調整木板大小及形狀，使整個震盪器盤面之光度落在 $64.5 \pm 10\%$ $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ 之範圍內，以減少實驗之誤差。

5. 溶氧測定儀之校正

本研究以溶氧為試驗終點時需記錄實驗之初始溶氧與 48 小時恆溫震盪實驗後之最終溶氧，進而將溶氧增加量與控制組比較計算出不同處理

濃度之抑制率。使用溶氧測定儀之前須先將其偵測頭以去離子水沖洗充分濕潤後，放置一段時間觀測其在空氣中之飽和溶氧量是否為8.5 mg/L上下，若其值相去甚遠則需進行校正，校正方法為將電極置於 2.5 公分左右水量之 BOD 瓶（可視同 100%溼度），轉鈕至校正鍵，輸入校正值（100%），確認後轉回一般測定鍵，連續反覆校正三次。每月定期更換 CLARK-TYPE 薄膜與 3M 氯化鉀電解質；若有必要時，需以亞硫酸鈉 30%將 PROBE 表面清洗乾淨，不要殘留任何化學物質，而得 0%之 DO 溶液，進行零點校正。

4.6 實驗步驟

4.6.1 連續式母槽之培養

本實驗選擇以連續式母槽培養方法配合批次式藻類毒性試驗，以下將介紹連續式母槽培養之方法與步驟。

1 連續式藻類培養之步驟如下：

- (1) 接種環以酒精燈滅菌後，刮取固態培養基上之藻種些許，將其放入 250ml 錐形瓶中加入基質（含 100% EDTA）至 100ml，錐形瓶瓶口封上滅菌紗布後放到震盪器上震盪以活化藻類。
- (2) 當 250ml 錐形瓶中之瓶藻類生長至一定大小(顏色明顯變綠)時，將之倒入 1000 ml 錐形瓶中加入 900ml 基質培養。

- (3) 當 1000 ml 錐形瓶中之藻類生長至一定數目時即可將之到入 5 公升之連續式培養母槽中，並加入 3 公升之基質。通常 2~3 天後藻細胞數目達到一定數目後即可開始入流新鮮基質。
- (4) 每日皆需配製約 1~2 公升新鮮之基質（含 10% EDTA）以提供藻類充足之養份，確實測量溢流率以調整 pump 進流速度至液流率為 1000ml/day 為準，並每日量測連續式培養母槽中藻細胞之細胞密度（Cell Density）、平均細胞體積（Mean Cell Volume）以了解藻類之生長情況。
- (5) 當母槽之 Cell Density 達到 $1.7\sim 2.2 \times 10^6$ cells/ml，MCV 值達到 39~46 時即可自母槽取出藻液開始進行毒性試驗。

2. 藻類培養環境設計如下：

5 公升之連續式培養母槽及裝營養基質之廣口瓶、無菌膠管等經過清洗、殺菌之後，置於 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 之溫度控制室中，並將連續式培養母槽放置在磁石攪拌器上連續攪拌，攪拌具有混合和避免藻類沈澱之功能，能使藻液和加入之營養鹽以及曝氣之氣體均勻的混合。連續式培養母槽所需之燈光由一方照射，使用白冷光燈，其光照強度為 $4300 \pm 10\%$ lux。本實驗中，連續式培養母槽之曝氣設備所提供之曝氣量為 250 ml/min，且空氣進入母槽之前先經洗滌瓶和空氣濾膜，以去除空氣中之雜質，並藉此濕潤空氣。

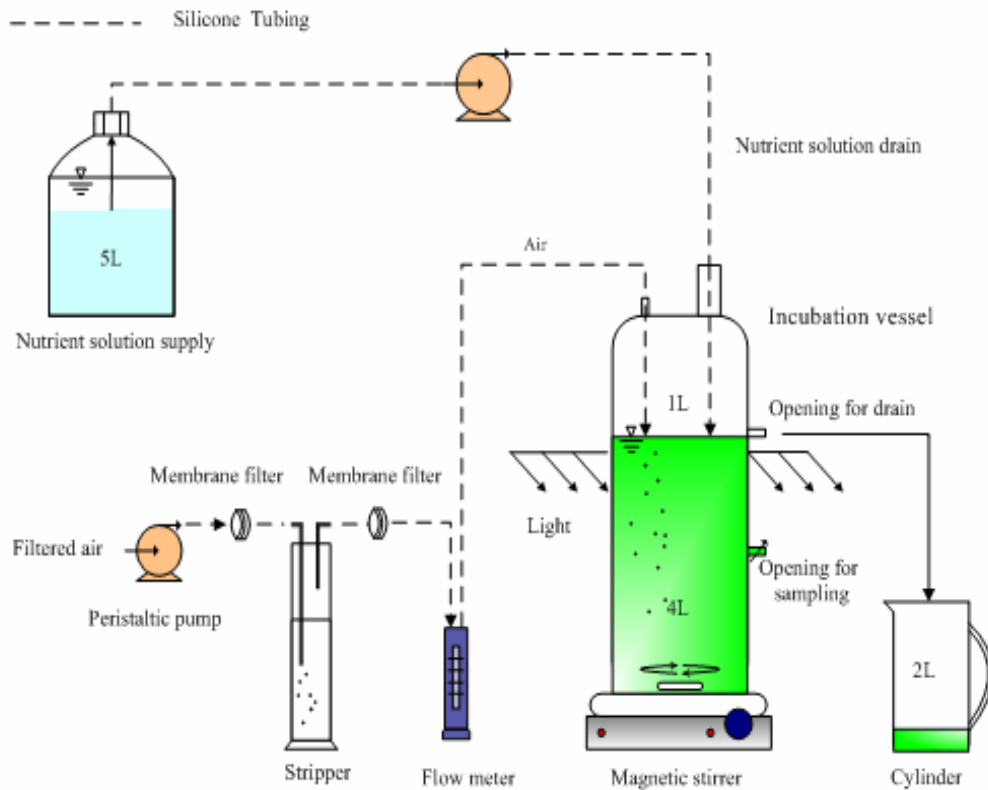


Fig. 4.6.1 連續式藻類培養裝置圖

4.6.2 藻類毒性試驗

當母槽之 Cell Density 達到 $1.7\sim 2.2 \times 10^6$ cells/ml，MCV 值達到 39~46 時，就可以做密閉式藻類毒性試驗。首先必須配置稀釋水，接下來以二氧化碳（CO₂）及氮氣（N₂）之混合氣進行曝氣約十五分鐘，曝氣步驟可以降低營養基質中之溶氧值使初始溶氧降低至 1.0 mg/l 上下並增加其 CO₂ 濃度。並且由母槽所測得之藻細胞數換算得到欲使每個 BOD 瓶初始細胞密度為 1.5×10^4 cells/ml 所需加之藻液量，隨後自培養母槽中取出適量之藻液，分別加入各個 BOD 瓶內。隨後加入曝氣好之純水，然後逐瓶加入所需之營養基質和不同體積的毒性物質以達到所需的濃度。之後一一測量每個 BOD 瓶之初始溶氧值並紀錄之，BOD 瓶測完溶氧後以瓶蓋進密封以達到水封之目的，然後將 BOD 瓶置於震盪器上震盪 48 小時。實驗條件

控制在溫度 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ，光照來自於上方平行照射，強度為 $4300 \pm 10\%$ lux 之白冷光燈，震盪頻率為 100rpm。於 48 個小時後 BOD 瓶自震盪器上取下，隨後量測各個 BOD 瓶中之最終溶氧值 (Final DO, DO_f)。由最終溶氧值減掉初始溶氧值可得到一溶氧差，為淨溶氧值 (ΔDO)。測完溶氧後接著利用顆粒計數器測量每個 BOD 瓶的藻類細胞密度。透過劑量反應關係模式之分析可以得到以淨溶氧差值 (ΔDO) 以及藻細胞密度為試驗終點之 EC_{50} 值，並可以得到毒性物質與藻類之劑量反應關係圖。

每一化合物至少做兩次以上的試驗，第一次會先做 range finding，找出其可能的濃度抑制範圍，接著才做確定試驗。而每一組試驗中做七個濃度，包含控制組就有八瓶，每一濃度做三重複，而控制組是不加任何毒性物質的。

4.7 實驗數據之處理



實驗前會把貯備液先經由 TOC 做濃度之定量，並且將實驗所測出之各參數值 (如淨生長細胞數及淨產氧量) 與對應之有機物濃度帶入模式 (Probit) 中計算，得到其劑量-反應曲線及 EC_{50} 值；並且由圖中求得生長曲線之斜率，作為日後討論。

第五章 結果與討論

5.1 藻類毒性試驗數據

本研究是選用總共 18 個二級以及三級炔丙基醇進行 BOD 瓶密閉系統藻類毒性試驗，分別在實驗前後測溶氧量及細胞密度，作為反應終點；並且利用 Probit 模式所求得之數據，來計算其 EC_{50} 值以及劑量反應曲線。

表 5.1.1 為以 4-heptyn-3-ol 為測試毒物之毒性試驗原始數據，所呈現的為試驗三重複下的平均值，Initial DO、Final DO 及 Final cells 之測定是藉由溶氧測定儀及顆粒計數器所分析而得，再進一步進行轉換以得知三種 end-point 之抑制率 (Inhibition rate; IR)。 μ_{specific} 、 μ_{relative} 及抑制率為利用公式所計算出來之值。由表中可知當濃度越大時其抑制率也會相對的提高，且當濃度最小時 (1.48mg/L)，三種反應終點之抑制率為其負值。其主要因素為藻類對其毒性呈現毒物興奮效應 (Hormesis)，即毒物激活了體內細胞的修復和維護系統，使得當毒物若為低劑量時，則會幫助藻細胞的生長。

將抑制率與濃度帶入 Probit 模式中，求得劑量與反應曲線之截距 (A) 與斜率 (B)，則可畫出劑量與反應曲線如圖 5.1.1~圖 5.1.18。可藉由這些圖當中來檢視試驗是否精確且嚴謹。

表 5.1.2 為不同反應終點利用 Probit 模式所求得各化合物之 EC_{50} 值、95%信賴區間、劑量反應曲線之截距 (A) 與斜率 (B)。可由表中發現對於炔丙基醇此類的化合物，利用藻類為毒性試驗物種，其細胞密度 (Final yield) 為最敏感的反應終點，而最不敏感的為生長率 (Growth rate)。

由實驗結果可發現，單看二級炔丙基醇的話，其 EC_{50} 值的範圍分別為 0.743mg/L (1-pentyn-3-ol) 至 93.83mg/L (4-heptyn-2-ol) (DO)、0.515mg/L

(1-pentyn-3-ol) 至 64.08mg/L (4-heptyn-2-ol) (Final yield)、0.954mg/L (1-pentyn-3-ol) 至 218.7mg/L (4-heptyn-2-ol) (Growth rate)。且其炔基接在碳一的位置時 (1-hexyn-3-ol、1-pentyn-3-ol、5-methyl-1-hexyn-3-ol) 其毒性是會比炔基接在碳三的位置是還要強的 (3-butyn-2-ol、3-hexyne-2,5-diol、3-hexyn-2-ol)，炔基接在碳三的位置其毒性也是比接在碳四的位置還要強的，並且不管在哪個反應終點都得到相似的結果，但炔基接在碳五的位置 (2-methyl-5-octyn-4-ol) 時，毒性是比 4-heptyn-2-ol 以及 4-heptyn-3-ol 兩個還要強的，但是是比 4-hexyn-3-ol 還要弱的。也就是說對於密閉式藻類毒性試驗評估二級炔丙基醇的實驗當中，我們可以發現其毒性會隨著炔基接的位置的變化而有一定的規律。其中二級炔丙基醇中最毒的化合物為 1-pentyn-3-ol (EC_{50} : 0.515mg/L based on final yield)，在文獻上可發現此化合物對於纖毛蟲之 EC_{50} 為 1273mg/L (Shultz et al., 2004)，其間相差了 2472.25 倍，推斷為此化合物對於藻類具有較高的選擇性，使得其毒性會比纖毛蟲強很多倍，而至於更精確的原因，則需要做更進一步的研究。

對於三級炔丙基醇類來說其 EC_{50} 值的範圍分別為 10.07mg/L (1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol) 至 3078mg/L (2-methyl-3-butyn-2-ol)(DO)、7.214mg/L (1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol) 至 1465mg/L (2-methyl-3-butyn-2-ol) (Final yield)、27.26mg/L (1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol) 至 4568mg/L (2-methyl-3-butyn-2-ol) (Growth rate)。且其毒性的高低和化合物的親疏水性有相當大的關係，由結果可發現，對於三級炔丙基醇類的化合物來說，當化合物越疏水時，其毒性就越強，且不論是以哪個終點來比較，都發現相同的結果。觀察此類的化合物之毒性與分子量的結果發現，除了 2,5-dimethyl-3-hexyne-2,5-diol 這類的化合物之外，其毒性會隨著分子量的增高而增高。

Table. 5.1.1 The raw data of algal toxicity test about 4-hexyn-3-ol

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ_{specific}	μ_{relative}	IR (growth rate)	IR (Biomass)	IR (DO)
Control	1.510	7.033	2.526E+05	5.523	1.412	1	0	0	0
94.61	2.120	2.663	2.960E+04	0.543	0.324	0.229	0.759	0.939	0.902
47.30	1.637	2.670	3.843E+04	1.033	0.465	0.329	0.667	0.901	0.813
23.65	1.480	3.850	4.960E+04	2.370	0.590	0.418	0.576	0.854	0.571
11.83	1.410	5.497	9.883E+04	4.087	0.934	0.662	0.332	0.647	0.260
5.910	1.413	6.013	1.540E+05	4.600	1.164	0.825	0.175	0.415	0.167
2.960	1.290	6.167	2.169E+05	4.877	1.335	0.946	0.054	0.150	0.117
1.480	1.567	8.147	2.651E+05	6.580	1.436	1.017	-0.017	-0.053	-0.191



Table. 5.1.2 Median effective concentration values(EC50)based on three end-point

Toxicants	based on Δ DO				based on Final yield				based on Growth rate			
	EC ₅₀	95%C.I.	α	β	EC ₅₀	95%C.I.	α	β	EC ₅₀	95%C.I.	α	β
Secondary propargylic alcohols												
1-hexyn-3-ol	2.711	1.682-4.544	4.562	1.012	1.710	1.391-2.073	4.620	1.632	5.870	4.210-8.137	4.057	1.227
1-pentyn-3-ol	0.743	0.544-0.941	5.228	1.569	0.515	0.298-0.722	5.658	1.950	0.954	0.611-1.368	5.025	1.699
3-butyn-2-ol	8.267	6.862-10.01	4.098	0.983	3.591	2.307-5.262	4.520	0.864	40.44	31.14-54.58	3.900	0.685
3-hexyne-2,5-diol	6.086	4.734-8.004	4.349	0.833	1.390	1.082-1.793	4.851	1.044	9.483	7.660-11.97	4.127	0.894
4-heptyn-2-ol	93.83	78.48-113.2	2.523	1.256	64.08	54.25-75.72	2.352	1.465	218.7	172.9-295.5	1.660	1.428
4-heptyn-3-ol	85.74	76.85-95.61	1.823	1.643	40.90	32.95-50.86	1.299	2.296	95.98	67.24-132.6	1.721	1.654
4-hexyn-3-ol	19.28	15.24~24.79	2.599	1.868	8.038	6.389-9.839	3.311	1.866	23.29	18.10-29.77	3.085	1.401
3-hexyn-2-ol	16.26	13.31-20.12	3.283	1.418	5.769	4.406-7.470	3.792	1.587	21.86	16.35-29.76	3.401	1.194
2-methyl-5-octyn-4-ol	37.92	30.22-50.69	2.193	1.778	17.67	14.08-22.86	2.879	1.701	40.01	30.34-56.11	1.773	2.014
5-methyl-1-hexyn-3-ol	5.582	2.506-27.15	4.325	0.904	3.208	2.164-5.015	4.459	1.069	14.00	8.381-25.24	3.750	1.091
Tertiary propargylic alcohols												
2-methyl-3-butyn-2-ol	3078	2634-3659	0.721	1.640	1464	1286-1664	0.742	1.814	4568	4014-5303	0.865	1.603
3-methyl-1-pentyn-3-ol	815.8	712.4-938.3	0.480	1.553	355.9	294.3-425.9	0.012	1.955	945.9	747.8-1219	0.507	1.851
1-ethynyl-1-cyclohexanol	126.4	89.28-180.3	2.533	1.174	72.56	56.89-91.16	2.624	1.277	305.4	230.3-437.6	1.858	1.264
2,5-dimethyl-3-hexyne-2,5-diol	1020	752.1-2746.4	1.235	1.252	530.2	403.8-726.5	1.497	1.286	2099	1543-3340	0.887	1.238
3,5-dimethyl-1-hexyne-3-ol	136.8	95.86-213.4	2.101	1.357	50.69	40.70-62.83	2.649	1.379	198.4	151.1-272.3	1.786	1.399
2-Phenyl-3-butyn-2-ol	137.3	108.4-174.4	0.326	2.491	111.6	69.69-219.6	1.038	1.935	233.0	174.2-306.8	0.549	1.880
1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol	10.07	9.001-11.29	3.662	1.334	7.214	6.477-8.024	3.723	1.489	27.26	23.79-31.71	3.089	1.331
3,4-dimethyl-1-pentyn-3-ol	132.4	94.03-203.0	2.796	1.039	84.68	75.12-95.67	2.408	1.344	352.3	304.8-416.1	1.855	1.235

α :劑量反應關係曲線之截距 β :劑量反應關係曲線之斜率

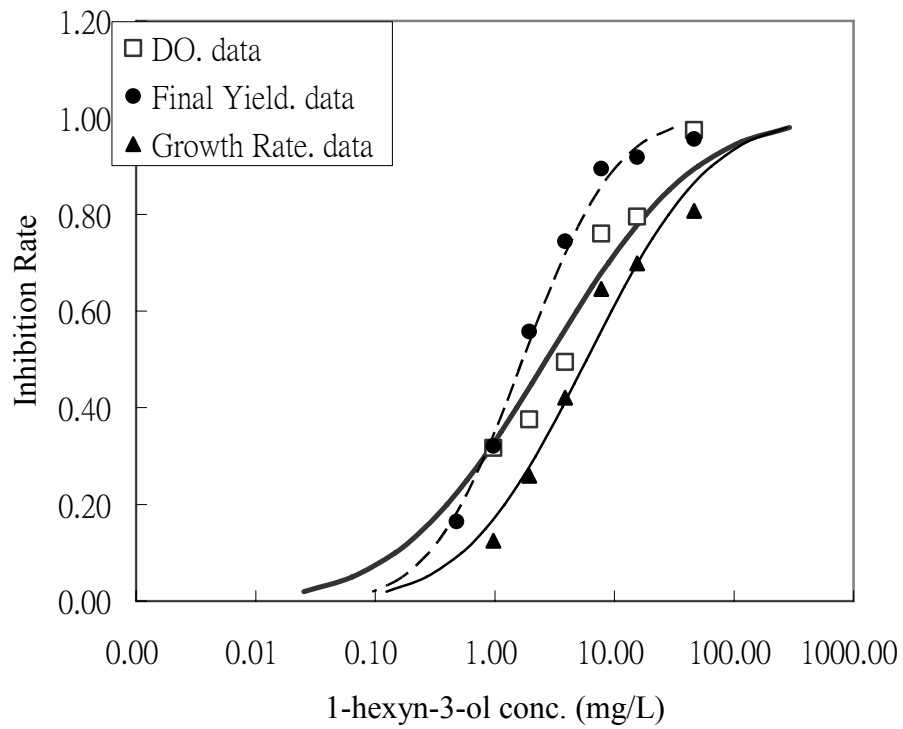


Fig. 5.1.1 The Dose-response Curve of 1-hexyn-3-ol

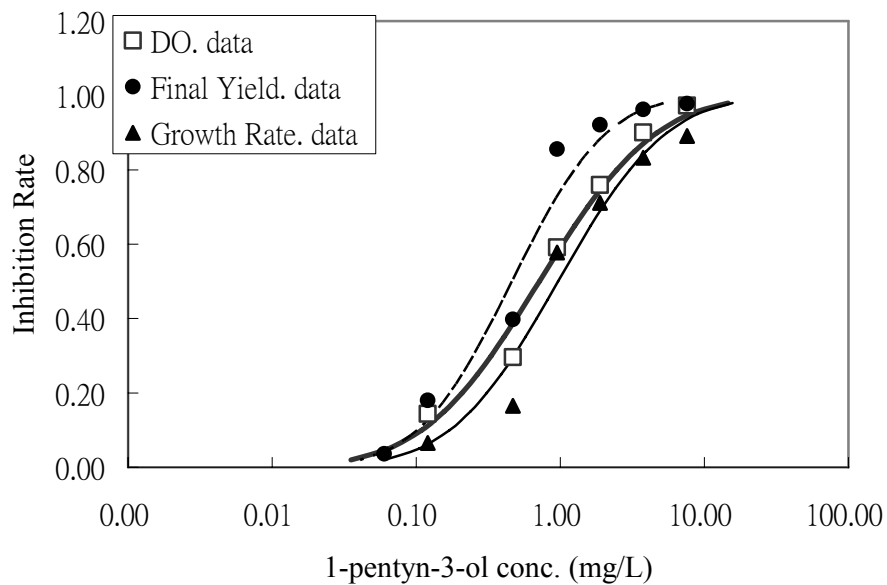


Fig. 5.1.2 The Dose-response Curve of 1-pentyn-3-ol

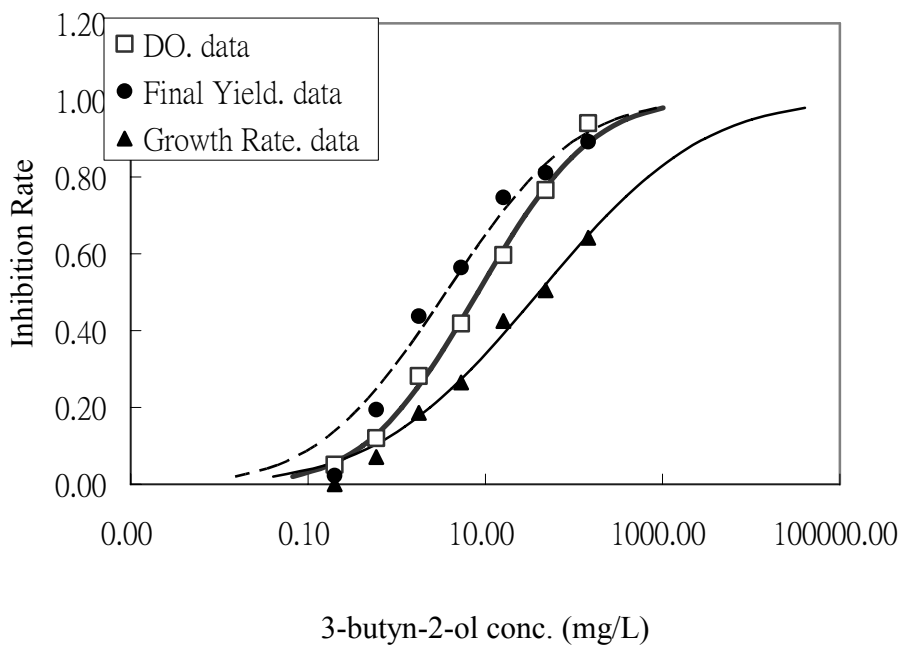


Fig. 5.1.3 The Dose-response Curve of 3-butyn-2-ol

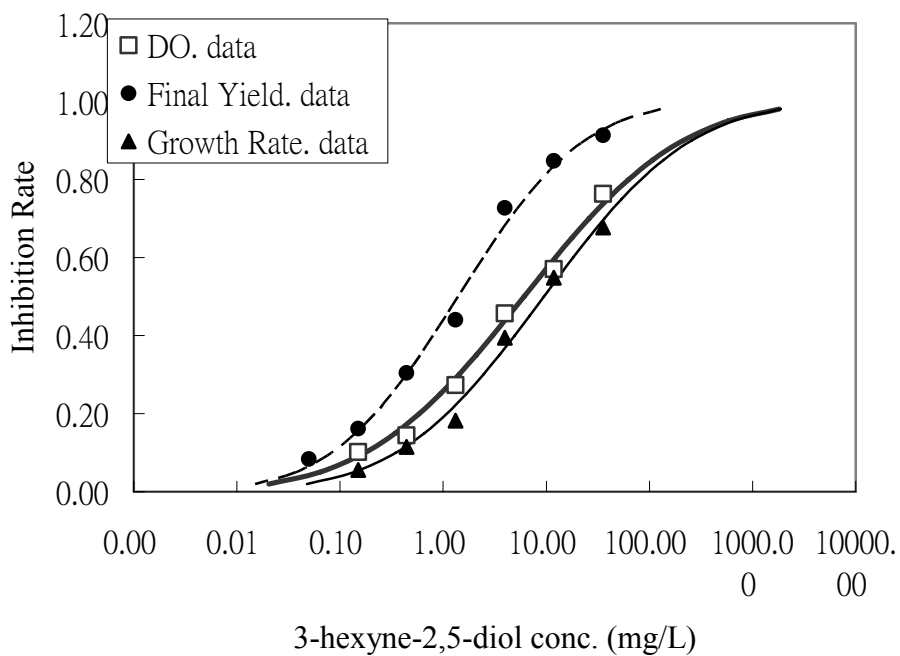


Fig. 5.1.4 The Dose-response Curve of 3-hexyne-2,5-diol

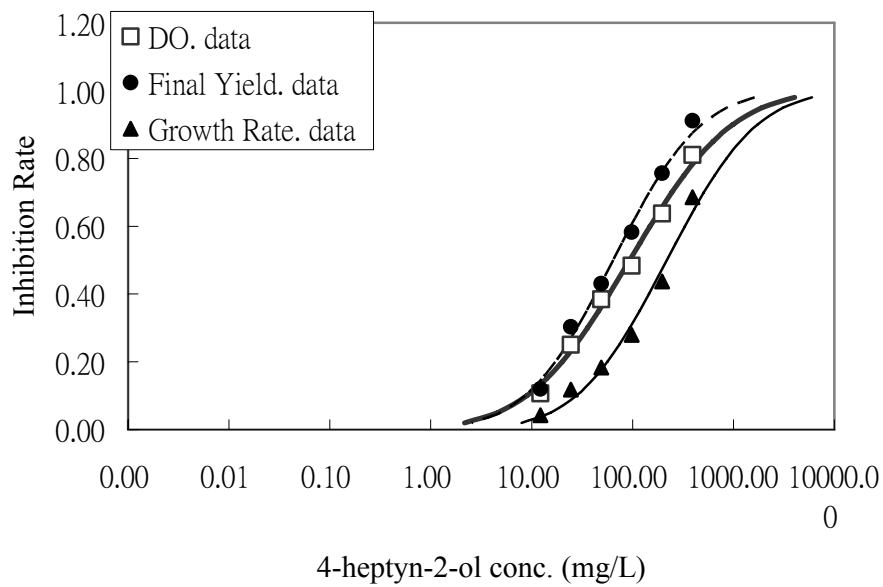


Fig. 5.1.5 The Dose-response Curve of 4-heptyn-2-ol

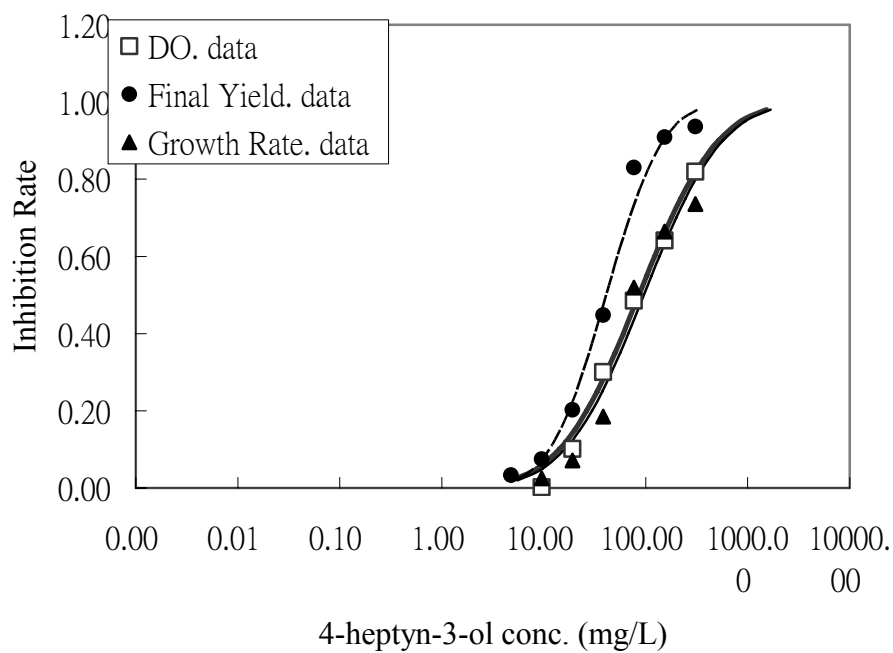


Fig. 5.1.6 The Dose-response Curve of 4-heptyn-3-ol

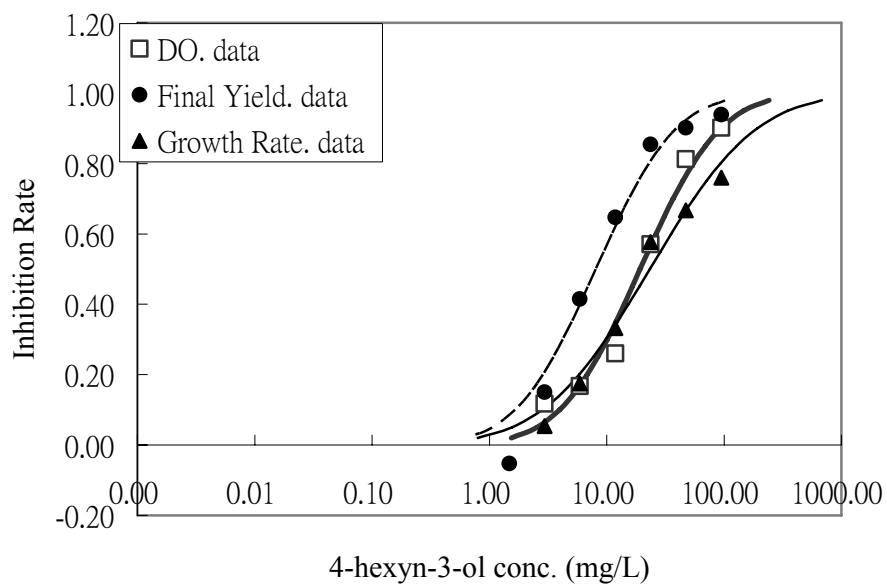


Fig. 5.1.7 The Dose-response Curve of 4-hexyn-3-ol

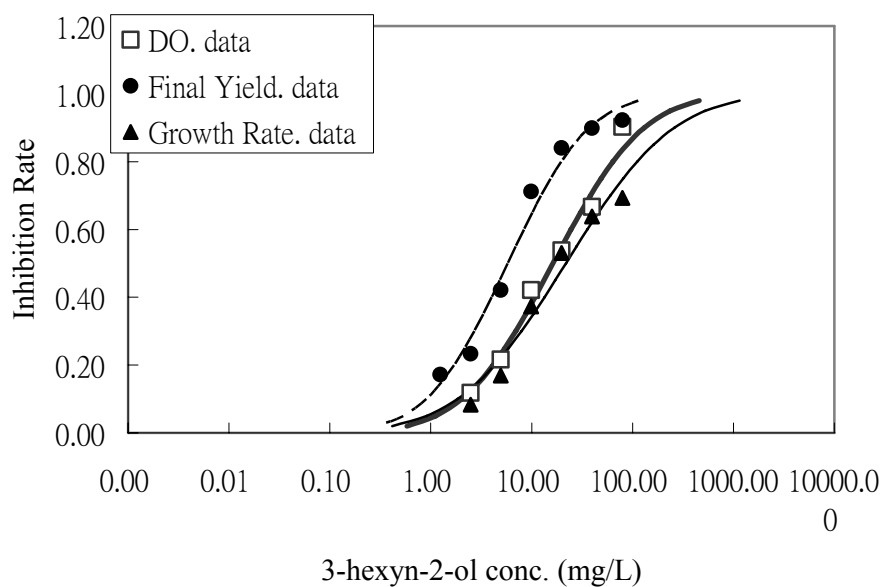


Fig. 5.1.8 The Dose-response Curve of 3-hexyn-2-ol

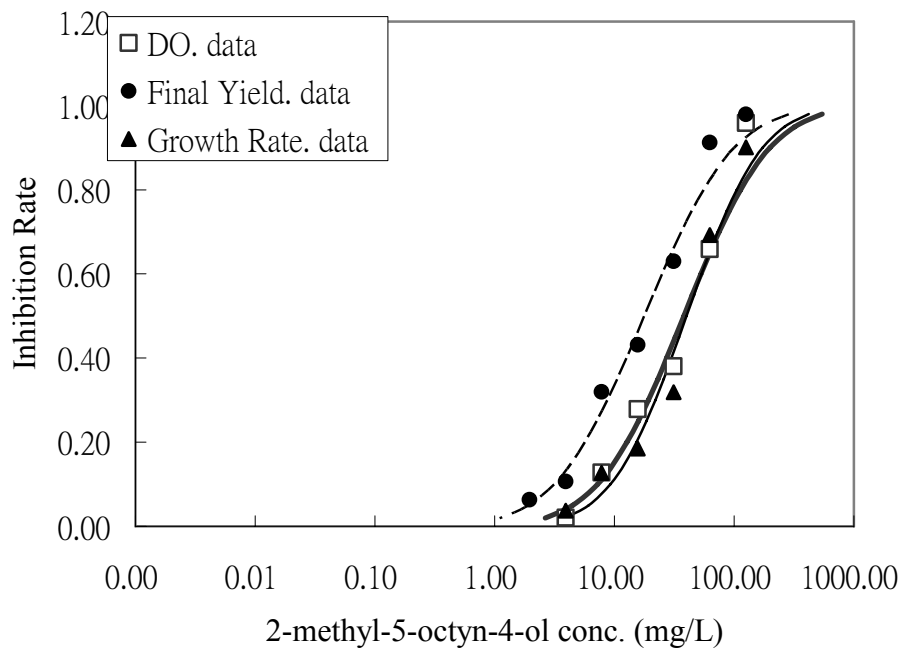


Fig. 5.1.9 The Dose-response Curve of 2-methyl-5-octyn-4-ol

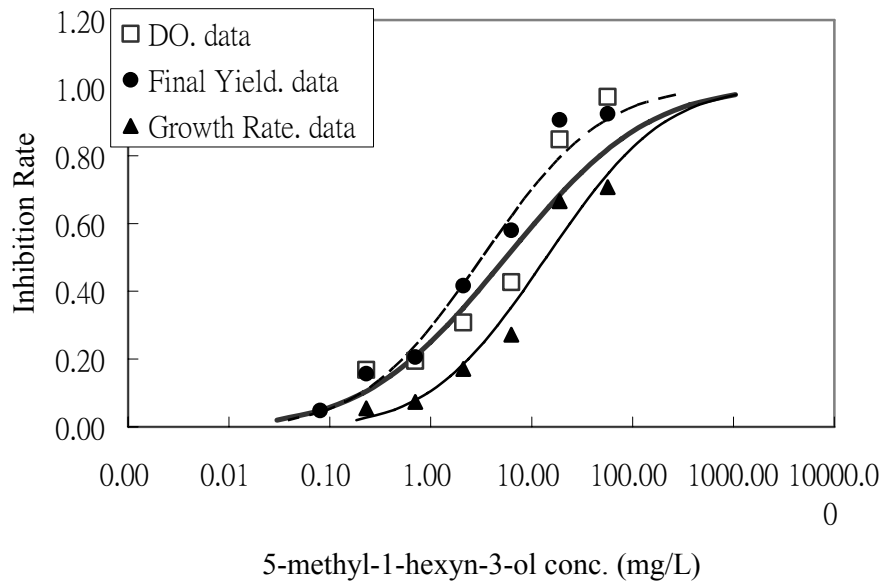


Fig. 5.1.10 The Dose-response Curve of 5-methyl-1-hexyn-3-ol

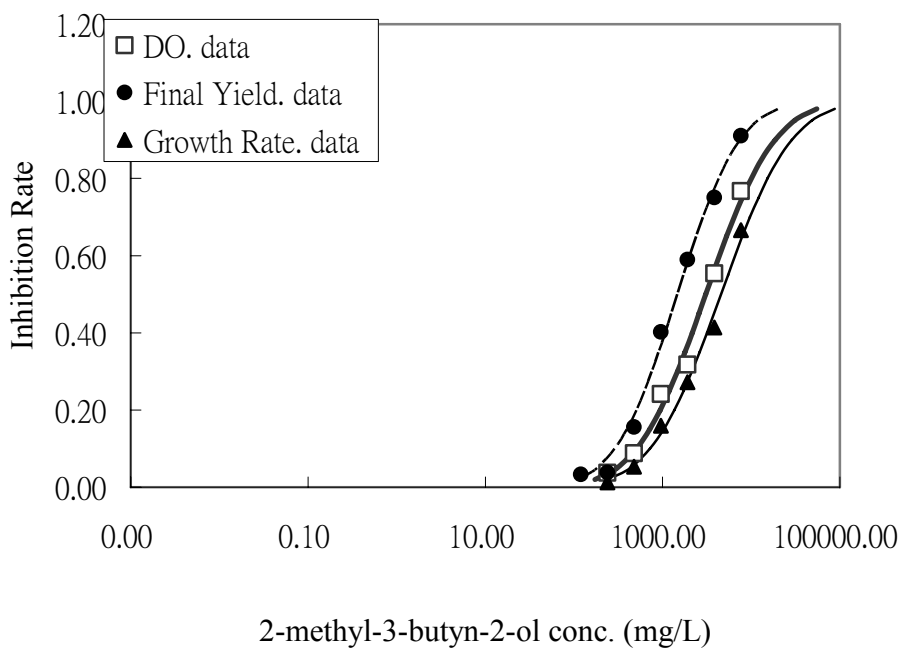


Fig. 5.1.11 The Dose-response Curve of 2-methyl-3-butyn-2-ol

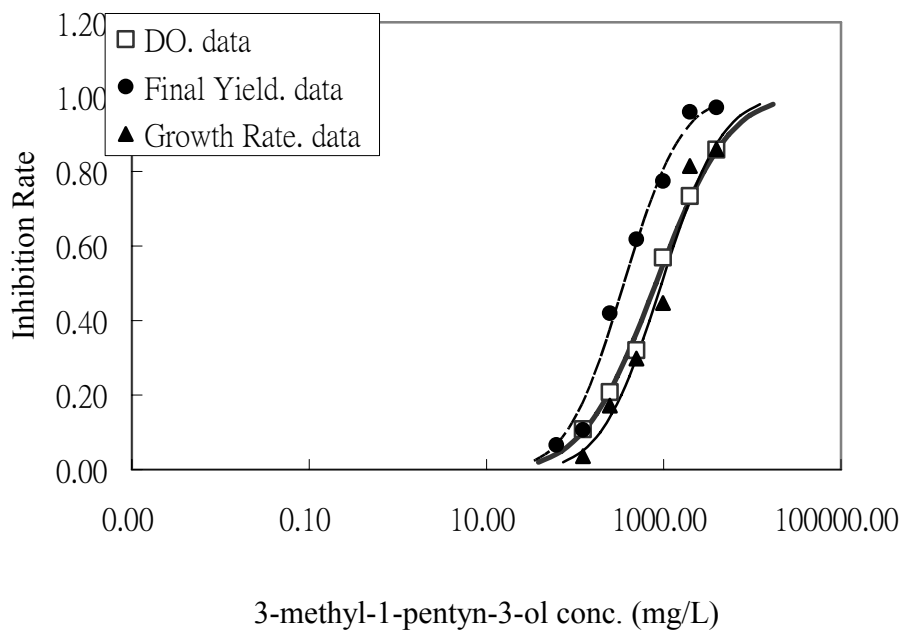


Fig. 5.1.12 The Dose-response Curve of 3-methyl-1-pentyn-3-ol

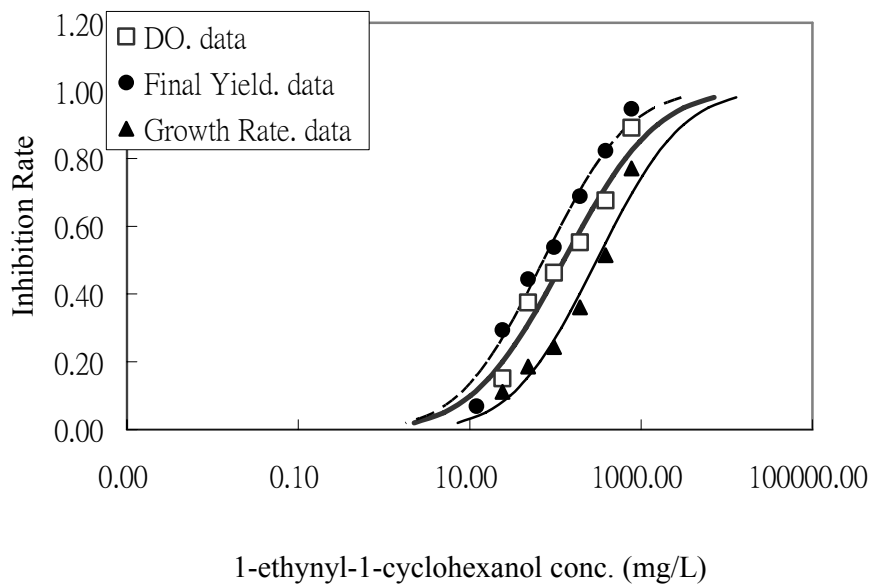


Fig. 5.1.13 The Dose-response Curve of 1-ethynyl-1-cyclohexanol

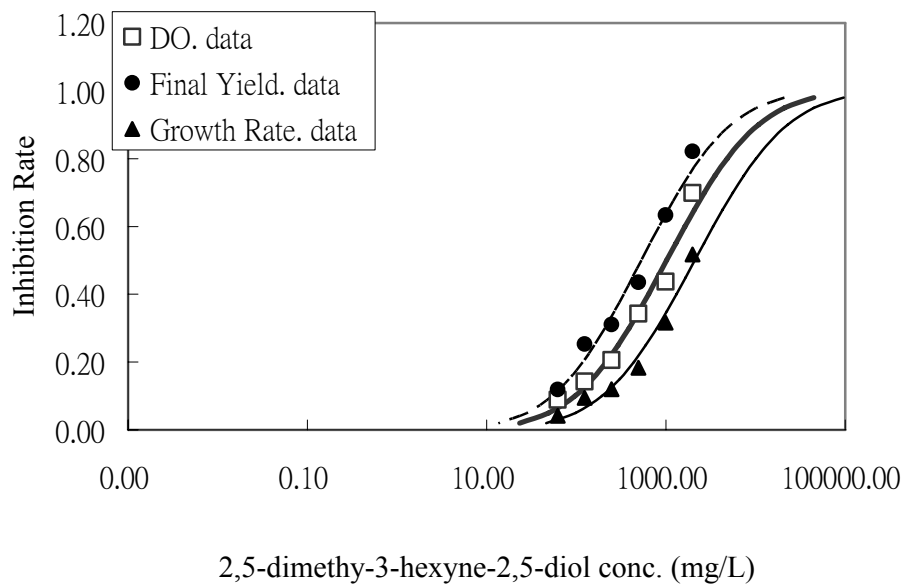


Fig. 5.1.14 The Dose-response Curve of 2,5-dimethy-3-hexyne-2,5-diol

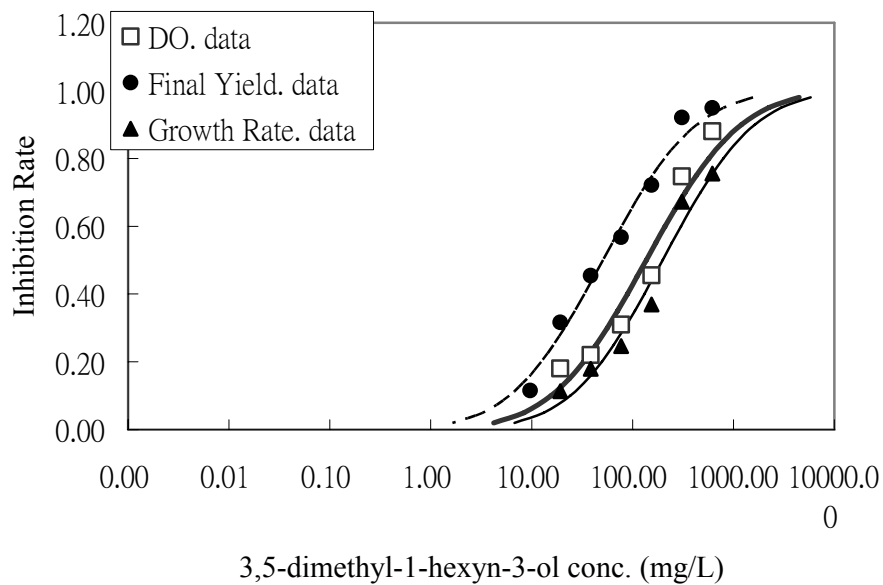


Fig. 5.1.15 The Dose-response Curve of 3,5-dimethyl-1-hexyn-3-ol

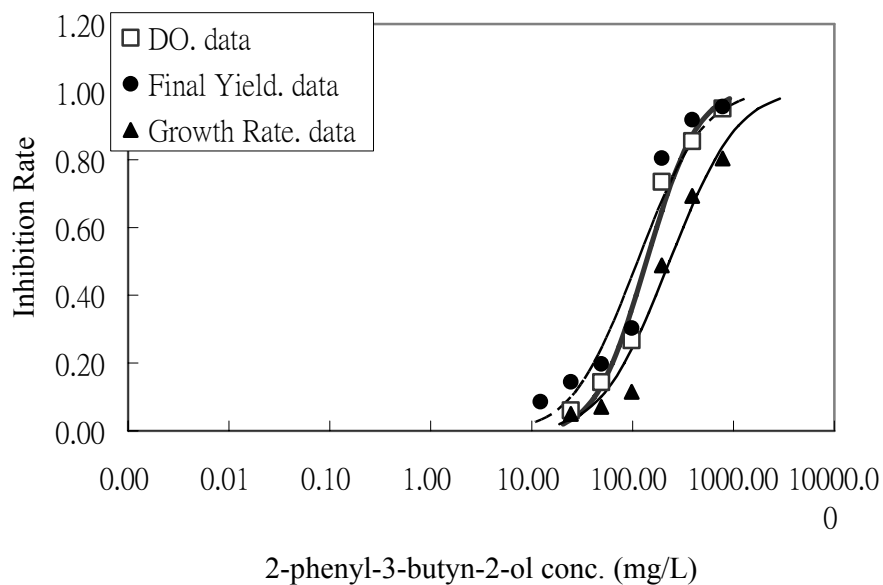


Fig. 5.1.16 The Dose-response Curve of 2-phenyl-3-butyn-2-ol

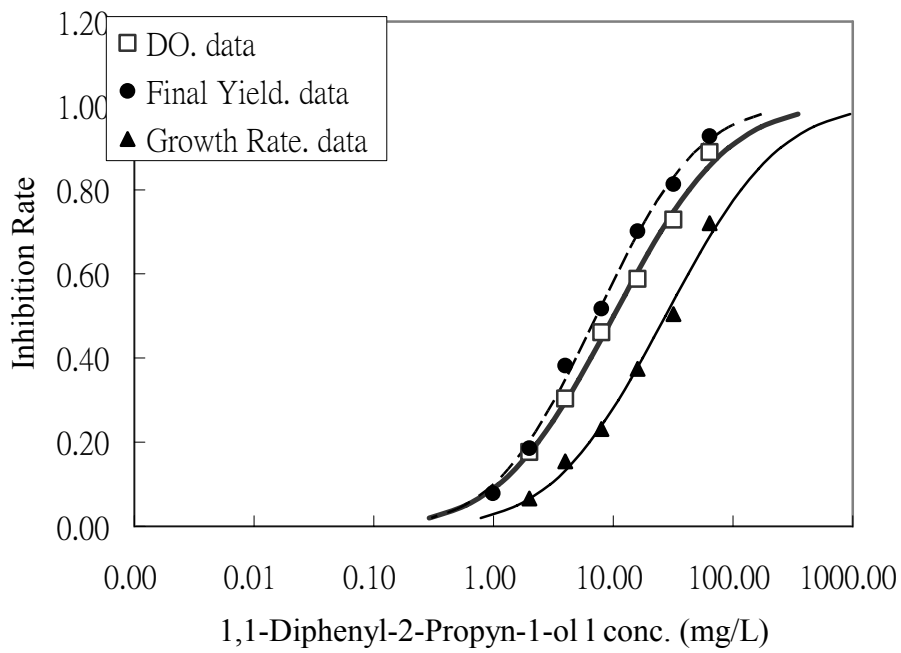


Fig. 5.1.17 The Dose-response Curve of 1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol

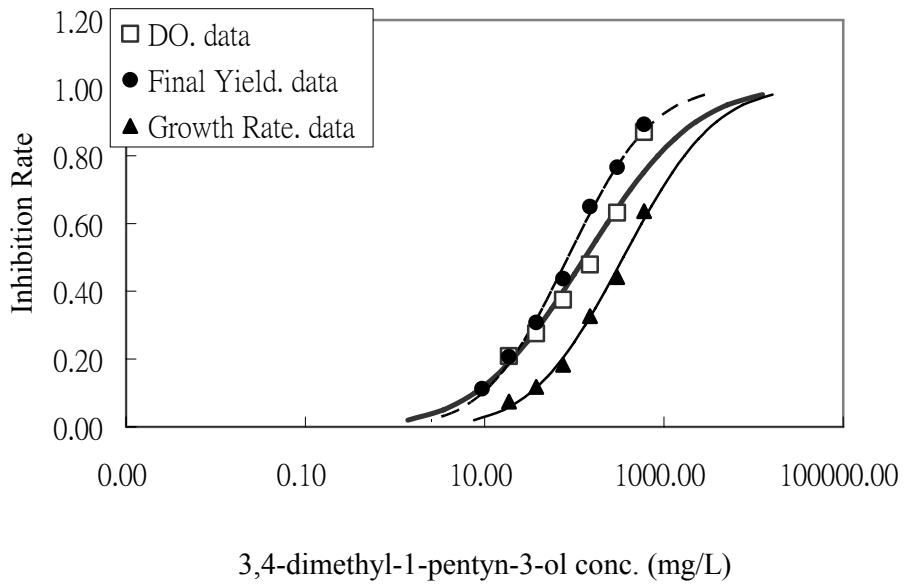


Fig. 5.1.18 The Dose-response Curve of 3,4-dimethyl-1-pentyn-3-ol

5.2 EC₁₀ 和 NOEC 值的比較

在本研究中會利用三種不同的試驗終點 (Δ DO, Final Yield 及 Growth Rate) 來討論密閉式 BOD 瓶藻類毒性試驗之 EC₁₀ 值以及 NOEC 值 (No-Observed-Effect Concentration)。

NOEC 值的判定取決於不同的實驗設計條件，毒物處理濃度的選決、重複組的數量和變異情形，以及所選定的試驗終點，以上因素皆會造成 NOEC 值有所差異。一般 NOEC 值是用統計方法中的 Dunnett's test 方法來進行分析，若空白組之重複組間的差異不大時，則與處理組的差距便較為明顯，所求得的 NOEC 值也較為準確，通常較不嚴謹的實驗易出現較高的 NOEC 值。




表 5.2.1 列出了利用 Dunnett's test 所求得的 NOEC 值，而 EC₁₀ 值則是利用 Probit 模式所求得。並列出了三種不同參數的 EC₁₀ 與 NOEC 值比例。在表 5.2.1 中可發現有幾組 NOEC 值因為濃度取決不夠低而導致其無法計算出，也就是說發生了 NOEC 值小於實驗濃度的最小值的現象，對於 DO、Final yield、Growth rate 三個終點來說分別有 28%、44%、6% 無法計算出其 NOEC 值。由這點可判斷出 Final yield 這個參數對於 NOEC 值是較敏感的，因為當最低濃度的生長率已經和控制組沒有明顯的差異時，毒化物還是會對藻類細胞密度造成抑制，因此在這樣的濃度下對於藻類還是會造成危害，這點和 EC₅₀ 值的敏感度比較是相符合的，同樣都是以 Final yield 為最敏感的參數。

與 EC_{10} 的比較下，以溶氧產生量為參數時的 $EC_{10}/NOEC$ 的比值 >1 的組數有 12 組，佔了 67%。就 Final yield 來討論時可發現有 10 組物質的 $EC_{10}/NOEC$ 比值 >1 ，佔了 56%。而以生長率來看的話，有 17 組數據的比值 >1 ，佔了 94%。而有些情況是因為無法確切的算出其 NOEC 值所以才可能會導致其 $EC_{10}/NOEC$ 的比值 <1 的情況。大體來說不管以哪個終點來看， EC_{10} 的值都是比 NOEC 還來的大的，這代表了 NOEC 具有較佳的敏感度，也就是說在毒性評估中 NOEC 能較 EC_{10} 提供較好的保護。

雖然有些學者認為運用變異數分析法所求的 NOEC 值並不可靠 (Moore and Caux, 1997; OECD, 1997; OECD, 1998; Laskowski, 1995; Kooijman, 1996; Champman, 1996)，因為它會受到實驗時的濃度選擇、重複組組數以及實驗的設計所影響，不足以當作毒性評估的最低限值。不過，Chao (2001) 針對密閉式藻類毒性試驗研究，發現 NOEC 比 EC_{10} 可對藻類提供更高的保護層級；該研究也提出可以利用中斷值 (cut-off value) 來判斷 NOEC 或 EC_{10} 作為低毒性的影響。

NOEC 的定義為在統計上與控制組相比最高沒有觀測到變異的濃度，實際上在環境中較安全或是沒影響的濃度應該是介於 NOEC 與 LOEC 之間。NOEC 之決定主要與實驗設計或實驗濃度之選取有很大的關連，由於 NOEC 之變動性很大，因此許多文獻研究亦指出 NOEC 並非環境中量測未影響濃度之最佳指標，因此必須透過 cut-off value 之檢定來比較 NOEC 與 EC_{10} 何者較適合提供更好之保護標準。

為了更深入比較 EC_{10} 與 NOEC 之相關性，本研究將更進一步地利用 ANOVA (analysis of variance) 檢定三項重要參數：Sw、F ration 以及中斷值 (cut-off value)。Sw 代表的是試驗的組內變異，而 F ration 為組間變異與組內變異的比值，用以表示組間與組內變異的差異程度。

由表 5.2.2 發現到 Sw 值在三種參數下的差異性皆很大，主要是溶氧產生量的單位是 mg/L，細胞密度變化量的單位是 cells/mL，使得 Sw 不能用以直接比較三種反應終點的組內變異，也因此 F ration 基於相同理由，同樣無法判斷哪一個觀測參數較為精準。為了能夠比較不同參數的準確度，本研究使用了判斷參數中斷值，此中斷值與 Sw 成比例關係，且介於 NOEC 與 LOEC 之間，能夠更嚴謹地判斷藻類受到抑制的顯著性，並使之包含單位的複雜參數與控制組的平均值比較，並以抑制的百分率作為單位，使其能夠用於不同單位的試驗終點間的比較。

表 5.2.2 顯示出溶氧產生量、細胞密度變化量及生長率為反應終點的平均中斷值分別是 7.151、7.967 及 2.59，而全部試驗中以生長率為反應終點所得到的中斷值較細胞密度變化量和溶氧產生量小的分別各佔了全部的 94%，顯示以這此項參數作為反應終點比細胞密度變化量和溶氧的變化量要好許多。



因為中斷值介於 NOEC 與 LOEC 之間，但高於 NOEC，故當中斷值小於 10% 時，生物受到 NOEC 的影響濃度會比 10% 的抑制濃度要低，也就是說，此時建議選擇 NOEC 值會比 EC₁₀ 提供更加嚴謹的保護標準。表 5.2.2 中，三種不同反應終點：溶氧產生量、細胞密度變化量及生長率的中斷值分別有 83%、83%、100% 是小於 10 的，由此可知以本研究的毒性物質而言，NOEC 值比 EC₁₀ 能提供最佳的保護標準。而整個分析中，其中幾組中斷值大於 10% 造成的原因可能來自於所使用的藻類未達穩定狀態、或試驗過程不夠嚴謹以及毒性物質濃度設定不理想，都會產生分析上的偏差。而一個較小的 cut-off value 顯示此試驗組內變異相對地較小，因而有一定的精準度。綜合上述的討論可知，NOEC 比起 EC₁₀ 更能提供對生物較好的保護。

Table. 5.2.1 The relationship of NOEC and EC10

Toxicants	NOEC (mg/L)			EC10(mg/L)			EC10/NOEC		
	ΔDO	Final yield	Growth rate	ΔDO	Final yield	Growth rate	ΔDO	Final yield	Growth rate
Secondary propargylic alcohols									
1-hexyn-3-ol	<0.480	<0.480	0.480	0.147	0.280	0.529	>0.306	>0.583	1.103
1-pentyn-3-ol	0.060	0.060	0.470	0.116	0.112	0.165	1.933	1.867	0.350
3-butyn-2-ol	0.590	0.200	0.590	0.411	0.118	0.543	0.696	0.590	0.921
3-hexyne-2,5-diol	0.150	0.050	0.150	0.174	0.082	0.350	1.160	1.645	2.331
4-heptyn-2-ol	<12.25	<12.25	12.25	8.947	8.554	27.67	>0.730	>0.7	2.259
4-heptyn-3-ol	9.560	9.560	19.11	14.23	11.31	16.12	1.489	1.183	0.844
4-hexyn-3-ol	5.910	1.480	2.960	3.973	1.653	2.833	0.672	1.117	0.957
3-hexyn-2-ol	1.240	<1.24	2.480	2.029	0.899	1.845	1.636	>0.725	0.744
2-methyl-5-octyn-4-ol	3.920	3.920	3.920	7.211	3.117	9.243	1.840	0.795	2.358
5-methyl-1-hexyn-3-ol	0.080	0.080	0.080	0.213	0.203	0.936	2.666	2.534	11.71
Tertiary propargylic alcohols									
2-methyl-3-butyn-2-ol	239.0	239.0	477.9	509.2	287.8	724.4	2.131	1.205	1.516
3-methyl-1-pentyn-3-ol	61.56	61.56	123.1	121.9	78.68	192.0	1.981	1.278	1.560
1-ethynyl-1-cyclohexanol	12.06	<12.06	12.06	10.23	7.194	29.59	0.848	>0.848	2.454
2,5-dimethyl-3-hexyne-2,5-diol	<61.88	<61.88	<61.88	96.54	53.43	193.5	>1.560	>0.863	>3.128
3,5-dimethyl-1-hexyne-3-ol	9.640	9.640	9.640	15.55	5.966	24.07	1.613	0.619	2.496
2-phenyl-3-butyn-2-ol	12.21	<12.21	12.21	42.01	24.28	48.49	3.440	>1.988	3.971
1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol	<0.990	<0.990	0.990	1.102	0.994	2.969	>1.113	>1.004	2.999
3,4-dimethyl-1-pentyn-3-ol	<9.370	<9.370	9.370	7.725	9.429	32.29	>0.824	>1.006	3.446
mean							>1.542	>1.178	2.649

NOEC is conducted by Dunnett's test, EC₁₀ is conducted by Probit models.

Table. 5.2.2 The important statistical parameters in three test end-points

Toxicants	DO			FY			GR		
	Sw	F ration	cut-off value(%)	Sw	F ration	cut-off value(%)	Sw	F ration	cut-off value(%)
Secondary propargylic alcohols									
1-hexyn-3-ol	0.260	75.75	11.31	1.06E+04	167.8	8.347	0.040	281.9	1.833
1-pentyn-3-ol	0.200	304.8	7.61	8.95E+03	356.2	7.368	0.100	94.62	3.882
3-butyn-2-ol	0.290	68.15	14.65	1.11E+04	159.0	8.919	0.050	153.4	2.010
3-hexyne-2,5-diol	0.200	116.6	8.93	1.41E+04	130.4	10.193	0.060	138.7	2.276
4-heptyn-2-ol	0.210	154.7	7.51	8.53E+03	210.4	6.930	0.040	231.7	1.553
4-heptyn-3-ol	0.200	333.7	6.62	1.40E+04	197.0	9.890	0.090	83.81	3.538
4-hexyn-3-ol	0.390	96.35	3.083	1.31E+04	150.1	5.145	0.090	69.58	1.553
3-hexyn-2-ol	0.160	277.4	6.77	7.72E+03	450.7	5.248	0.090	62.18	3.522
2-methyl-5-octyn-4-ol	0.220	170.4	9.86	1.09E+04	184.3	9.252	0.060	192.8	9.028
5-methyl-1-hexyn-3-ol	0.180	688.3	4.91	1.18E+04	188.8	8.956	0.030	566.8	1.188
Tertiary propargylic alcohols									
2-methyl-3-butyn-2-ol	0.220	357.8	5.54	1.62E+04	122.7	11.078	0.050	179.2	1.844
3-methyl-1-pentyn-3-ol	0.280	235.0	7.45	8.25E+03	470.8	6.020	0.030	699.9	1.340
1-ethynyl-1-cyclohexanol	0.130	544.7	4.58	9.20E+03	230.0	6.966	0.040	318.6	1.396
2,5-dimethyl-3-hexyne-2,5-diol	0.100	408.4	4.09	5.73E+03	397.4	4.486	0.020	545.8	2.764
3,5-dimethyl-1-hexyne-3-ol	0.430	107.0	10.6	2.93E+04	40.43	17.08	0.080	90.75	2.236
2-phenyl-3-butyn-2-ol	0.130	1866	3.48	4.49E+02	1658	3.305	0.030	966.1	1.012
1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol	0.100	862.5	3.69	8.40E+03	290.7	6.480	0.030	498.6	4.110
3,4-dimethyl-1-pentyn-3-ol	0.240	134.6	8.03	1.02E+04	174.2	7.745	0.040	211.5	1.540
mean	0.219	377.9	7.151	1.10E+04	310.0	7.967	0.054	299.2	2.590

Sw : Variation between columns F-ration : The ration of variation within columns to variation between column

5.3 急慢性比(Acute-Chronic Toxicity Ratio ; ACR)

由於慢性試驗所需要的時間較長，且耗費的成本以及人力也較急性試驗多出許多，所以在環境毒物學上經常使用急慢性比，ACR (Acute to Chronic toxicity ratio) ，來推估化合物慢毒性的影響。計算公式如下：

$$ACR = \frac{\text{Acute toxicity}}{\text{Chronic toxicity}}$$

慢毒性的結果本研究是使用 Dunnett's test 所計算出之 NOEC 值以及利用 Probit 計算出來的 EC₁₀ 值來帶入，而急性則是用 Probit 計算出的 EC₅₀ 值帶入，在三個不同的反應終點下所得到的結果如表 5.3.1，由結果可以看出，由於有幾組 NOEC 值是以小於的形式表示，所以在平均值的時候會出現大於的情況。總體來說，由 NOEC 當作慢性標準所計算出來的 ACR 值之平均大致上落在 10~30 之間，其中 3-butyn-2-ol，3-hexyne-2,5-diol，5-methyl-1-hexyn-3-ol 此三種化合物顯示出較高之 ACR 值。而由 EC₁₀ 為慢性指標所計算出的結果其 ACR 值落在 9~14 之間，其中 3-butyn-2-ol 顯示出有較高的 ACR 值，造成 ACR 值較高的原因有許多，化學物質之劑量反應曲線的斜率偏低、化合物的毒理特性、實驗過程不夠嚴謹，都是有可能造成 ACR 值會有較高的結果，因為本研究中出現 ACR 值偏高之化合物之劑量反應曲線其斜率皆小於 1，故在此推測，本研究造成較高 ACR 值的原因為劑量反應曲線的斜率偏低所造成。

由本研究的結果可發現，利用不同低濃度抑制值所得到三種試驗終點下的 ACR 平均值為 8.953 ~ > 28.96 之間，因此可以考慮使用 30 來做為急慢性之比值。

Table. 5.3.1 The ACR values in three test end-points

Toxicants	DO(ACR)		Final yield(ACR)		Growth rate(ACR)	
	NOEC	EC10	NOEC	EC10	NOEC	EC10
Secondary propargylic alcohols						
1-hexyn-3-ol	>5.648	18.49	>3.563	6.099	12.23	11.09
1-pentyn-3-ol	12.38	6.383	8.591	4.597	2.031	5.800
3-butyn-2-ol	14.01	20.13	17.96	30.43	68.54	74.43
3-hexyne-2,5-diol	40.57	34.96	27.80	16.90	63.22	27.13
4-heptyn-2-ol	>7.660	10.49	>5.231	7.491	17.85	7.902
4-heptyn-3-ol	8.968	6.024	4.278	3.615	5.022	5.953
4-hexyn-3-ol	3.262	4.852	5.431	4.863	7.868	8.222
3-hexyn-2-ol	13.11	8.013	4.652	6.417	8.814	11.85
2-methyl-5-octyn-4-ol	9.674	5.259	4.507	5.667	10.21	4.329
5-methyl-1-hexyn-3-ol	69.78	26.18	40.10	15.82	175.0	14.95
Tertiary propargylic alcohols						
2-methyl-3-butyn-2-ol	12.88	6.045	6.130	5.089	9.558	6.306
3-methyl-1-pentyn-3-ol	13.25	6.691	5.782	4.524	7.684	4.926
1-ethynyl-1-cyclohexanol	10.48	12.35	>6.016	10.09	25.32	10.32
2,5-dimethyl-3-hexyne-2,5-diol	>16.49	10.57	>8.567	9.923	>3.207	10.84
3,5-dimethyl-1-hexyne-3-ol	14.19	8.799	5.259	8.799	20.58	8.245
2-phenyl-3-butyn-2-ol	11.25	3.269	>9.139	4.597	19.08	4.805
1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol	>10.18	9.139	>7.287	7.261	27.53	9.180
3,4-dimethyl-1-pentyn-3-ol	>14.13	17.14	>9.037	8.981	37.60	10.91
mean	>16.00	11.93	>9.962	8.953	>28.96	13.18

$$\text{ACR} = \text{EC}_{50}/(\text{NOEC or EC}_{10}) \quad \text{EC}_{50}、\text{NOEC}、\text{EC}_{10} \text{ unit : mg/L}$$

5.4 試驗物種數據收集與比較

由於可進行毒性試驗物種包羅萬象，物種間生理結構及體內生化反應機制並不一樣，因此對毒性的容忍度也有所差異，即使是相同的試驗物種，也會因為實驗條件和設計的不同而得到不一樣的試驗結果。雖然無法在這麼多的生物中判定其中哪個為最為敏感的物種，但是毒性數據與其他物種研究結果之間的比較仍略顯得必要；這樣的比較可以提供出較為明確且完整評估毒性物質的方法。

本研究將收集以往文獻裡利用不同物種所做的毒性試驗結果，表 5.4.1 為以密閉式藻類毒性試驗 (Δ DO、Final yield 及 Growth rate) 與纖毛蟲 (*Tetrahymena pyriformis*) 及鱖魚 (Fathead minnow) 所得之實驗結果。在水體生物中，和本研究物質有關毒性試驗數據並不多，其中魚毒資料庫 Fathead minnow 毒性數據只有七組。比較這七組數據可發現，炔丙基醇以藻類的數據較為敏感。另一方面比較原生動物 *Tetrahymena Pyriformis* 的數據，也可發現大致上也是以藻類的數據較為敏感。在表 5.4.1 每一筆數據後面會以中括弧表示其敏感度的排名，敏感度越高數字越低，之後可利用排名的平均值比較出敏感度高低，由表 5.4.1 的結果可發現 BOD-FY > BOD-DO > Fathead minnow > BOD-GR > *Tetrahymena pyriformis*。

圖 5.4.1 以及圖 5.4.2 是分別將以 *Tetrahymena Pyriformis* 以及 Fathead minnow 當作測試物種的毒性數據與本研究所利用三種不同反應參數所描繪出的敏感度比較圖 (EC_{50} 值倒數後取 log 作圖，因此值越大代表越敏感)，經由畫出 45 度的對角線來判別物種敏感度的差別。X 軸為本實驗室之實驗結果，Y 軸為其他物種之實驗結果，若點是分佈於對角線之上半部，代表其他物種較敏感，反之則為本實驗室之敏感度較高。由圖中可明顯發現，不管是 *Tetrahymena Pyriformis* 或是 Fathead minnow 其敏感

度都是較藻類還要低的。



Table. 5.4.1 Comparison of algal toxicity test results with other species

Toxicants	<i>Algae</i> (BOD bottle)(48hr)			<i>*T.pyriformis</i>	<i>F.minnow</i>
	Δ DO	F.yield	G.R	40hr	96hr
	Log(1/EC ₅₀)	Log(1/EC ₅₀)	Log(1/EC ₅₀)	Log(1/EC ₅₀)	Log(1/LC ₅₀)
Secondary propargylic alcohols					
1-hexyn-3-ol	1.559 [2]	1.759 [1]	1.223[3]	0.66[4]	
1-pentyn-3-ol	2.054 [2]	2.213[1]	1.945[3]	-1.18[4]	
3-butyn-2-ol	0.928[2]	1.290[1]	0.239[4]	-0.4[5]	&0.78[3]
3-hexyne-2,5-diol	1.273 [2]	1.915[1]	1.081[3]	-0.46[4]	
4-heptyn-2-ol	0.078 [2]	0.243[1]	-0.290[3]	-0.62[4]	
4-heptyn-3-ol	0.117[2]	0.438[1]	0.068[3]	-0.03[4]	
4-hexyn-3-ol	0.707[2]	1.087[1]	0.625[3]	-0.19[4]	
3-hexyn-2-ol	0.781[2]	1.231[1]	0.652[3]	0.51[4]	
2-methyl-5-octyn-4-ol	0.568[2]	0.900[1]	0.545[3]	0.4[4]	
5-methyl-1-hexyn-3-ol	1.303[2]	1.544[1]	0.904[3]	0.62[4]	
Tertiary propargylic alcohols					
2-methyl-3-butyn-2-ol	-1.563[3]	-1.241[1]	-1.735[5]	-1.31[2]	#-1.592[4]
3-methyl-1-pentyn-3-ol	-0.920[2]	-0.559[1]	-0.984[3]	-1.32[5]	#-1.094[4]
1-ethynyl-1-cyclohexanol	-0.008[2]	0.233[1]	-0.391[4]		#-0.314[3]
2,5-dimethyl-3-hexyne-2,5-diol	-0.856[2]	-0.571[1]	-1.169[3]	-1.58[4]	
3,5-dimethyl-1-hexyne-3-ol	-0.035[2]	0.396[1]	-0.197[3]	-0.55[4]	
2-phenyl-3-butyn-2-ol	0.027[3]	0.117[1]	-0.202[4]	-0.18[5]	#0.112[2]
1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol	1.315[2]	1.460[1]	0.883[4]		#1.273[3]
3,4-dimethyl-1-pentyn-3-ol	-0.072[2]	0.122[1]	-0.497[4]		#-0.262[3]
Ave.Ranking	2.444[2]	1[1]	3.389 [4]	4.067[5]	3.143[3]

* : data from Schultz et al.,2004 & : data from Mekenyan et al., 1993

: data from Veith et al., 1989

EC₅₀ 、 LC₅₀ unit : mmole/L

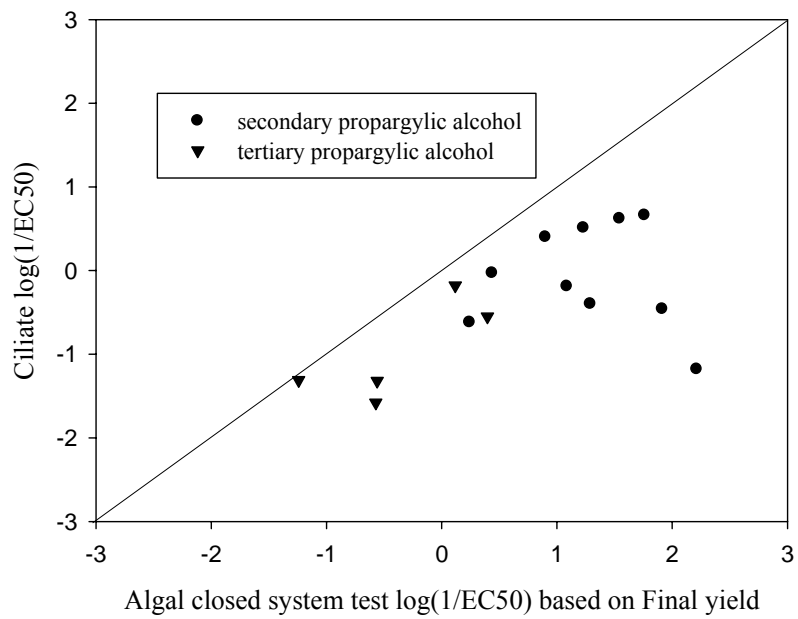
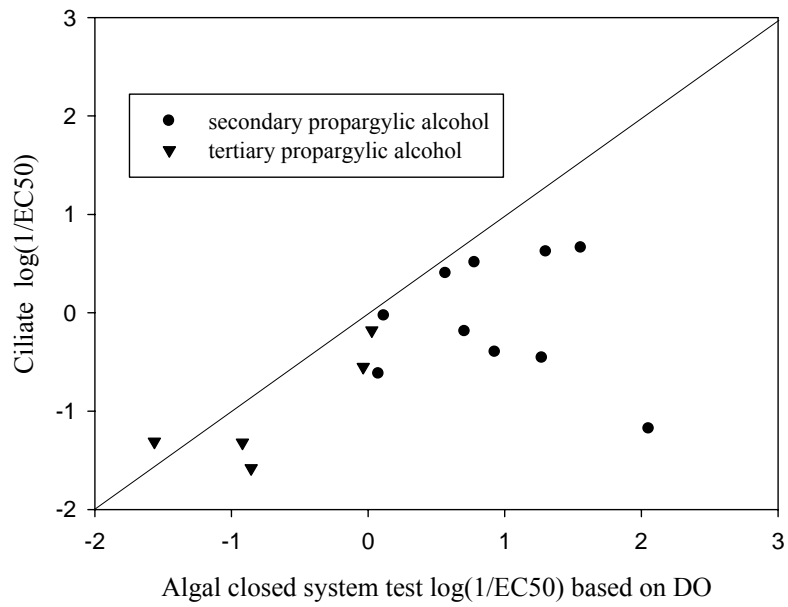


Fig. 5.4.1 Comparison of relative sensitivity of *P. subcapitata* and Ciliate

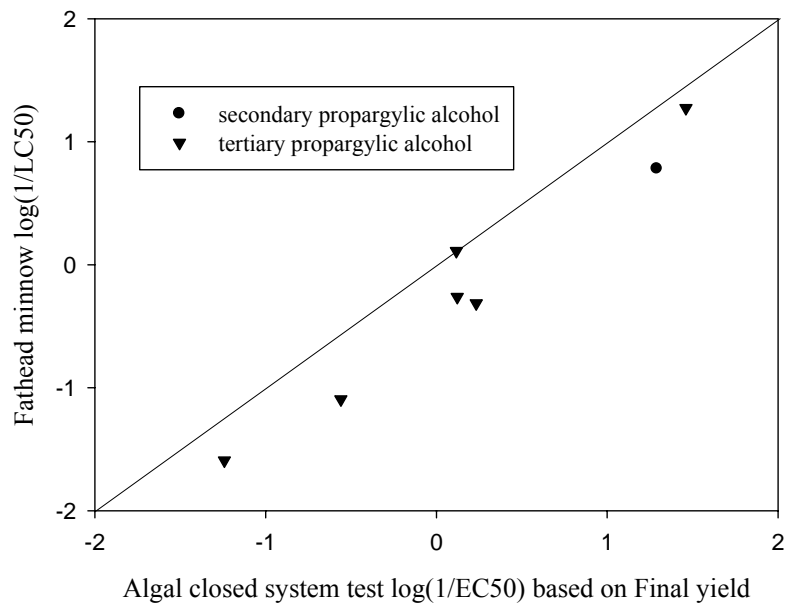
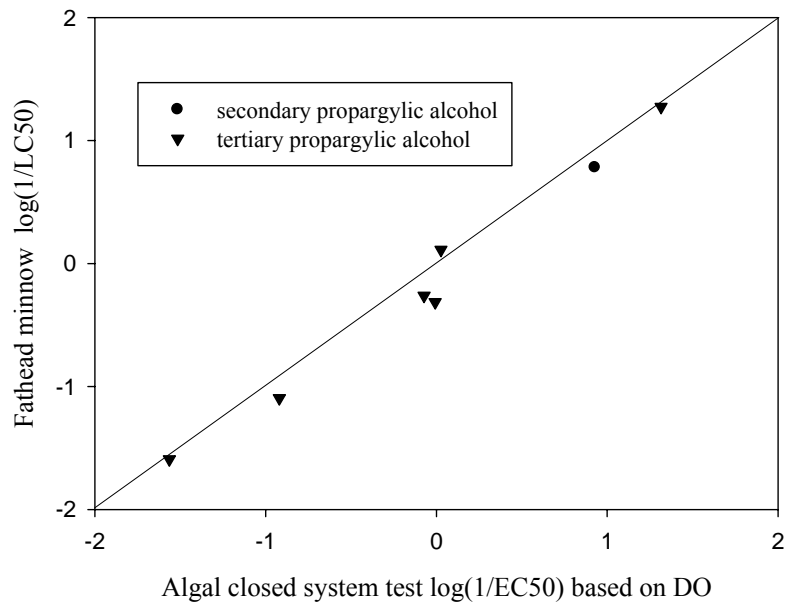


Fig. 5.4.2 Comparison of relative sensitivity of *P. subcapitata* and Fathead minnow

由於成本與時間的考量，為了能夠迅速預估毒性物質對生物造成的毒性，透過物種之間對於毒物的敏感度之相關性的分析能簡單的預測出毒物對生物所造成的影響而不需透過實驗。本研究將針對溶氧、生物質量以及生長率此三種參數對 Ciliate 以及 Fathead minnow 試驗進行相關性分析。

圖 5.4.3 為以 Fathead minnow 與本試驗的 BOD 瓶藻類毒性試驗系統之三種反應終點的相關性分析，包括一個二級炔丙基醇以及六個三級炔丙基醇。由圖中可發現三個終點的回歸 R^2 值為 0.960~0.983 之間，顯示在這兩種物種間有高度相關性，這也證明了使用密閉式藻類毒性試驗的方法來評估化合物之毒性是很適當的，且我們可以成功的利用月芽藻來預估較高營養階層的魚類之急毒性，但由於毒性數據的組數並不多，故更進一步的研究是需要的。

而在與纖毛蟲比較的部分，由於文獻上所得的數據較多，故在這裡會對其討論的較為深入。首先對於在文獻上所能收集到和本實驗相同的化合物的毒性數據，共有 15 組，其中包括 10 組二級炔丙基醇類以及 5 組三級炔丙基醇類，對其做相關性之分析，發現三種終點之 R^2 值為 0.313~0.314 之間，由於發現其迴歸效果是不好的，試著刪除 1-pentyn-3-ol 此一藻類和纖毛蟲之毒性相差許多之化合物，所得到之 R^2 值為 0.621~0.739 之間，圖 5.4.4 為迴歸出來所得到之線性關係，可發現迴歸效果是大大的提升了許多。然而再進一步的將二級以及三級做一區分，對於 10 組二級炔丙基醇類藻類和纖毛蟲的相關性而言，三種終點之 R^2 值為 0.014~0.018，而 5 組三級炔丙基醇類藻類和纖毛蟲之相關性，在三種終點之下之 R^2 值為 0.608~0.715 之間，此結果可以說明了在藻類和纖毛蟲之間，三級炔丙基醇類之作用機制是較為相近的，而二級炔丙基醇類在兩者之間之作用機制或許則為不同的。

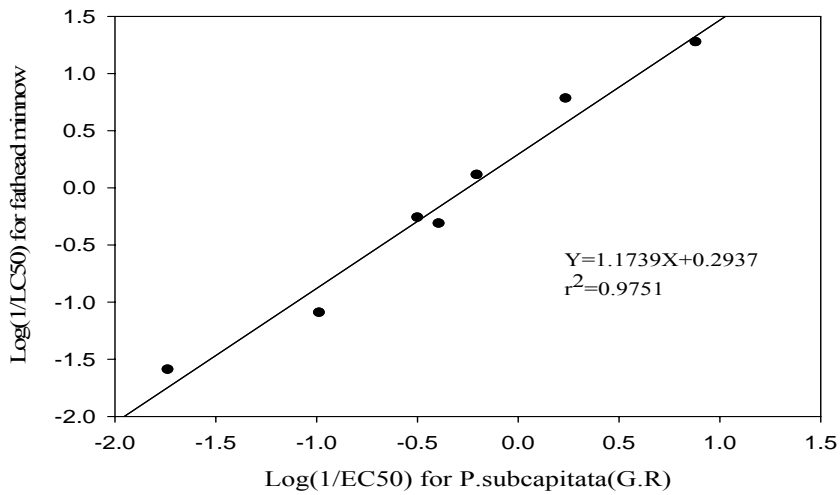
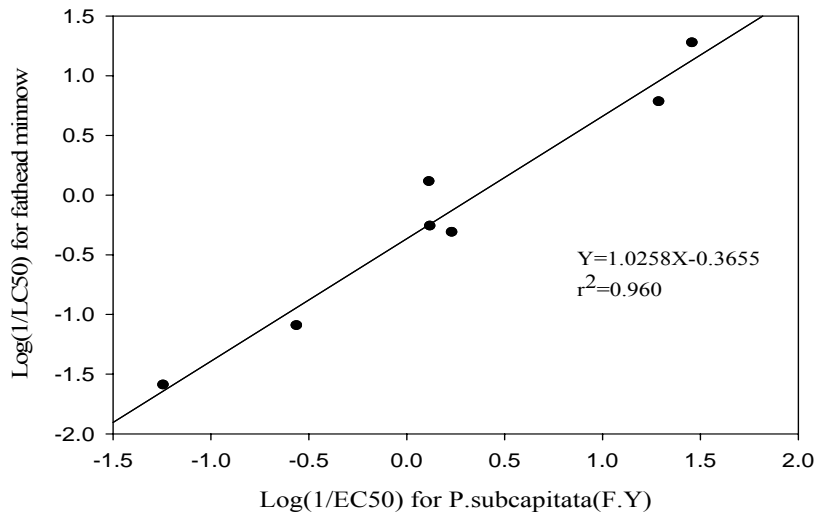
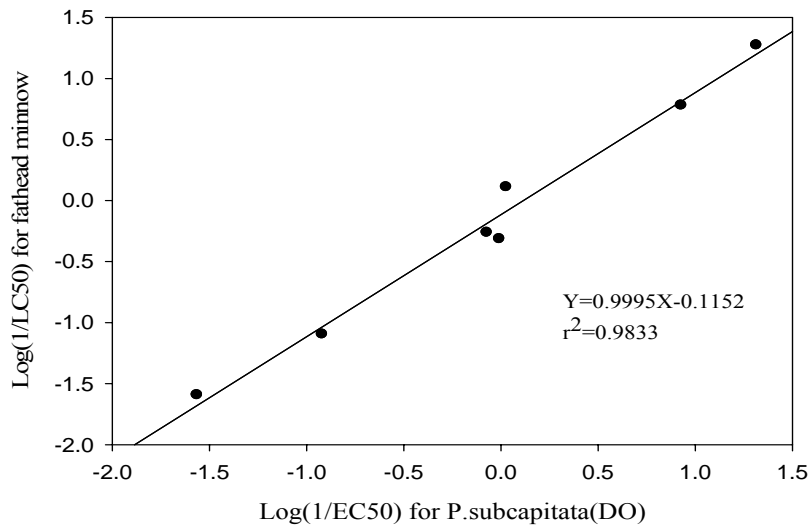


Fig. 5.4.3 Relationship between BOD-test and Fathead minnow data

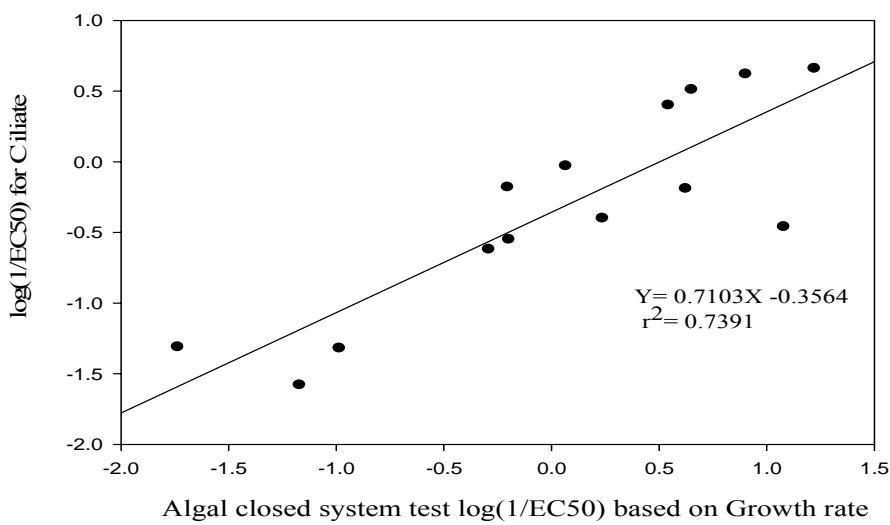
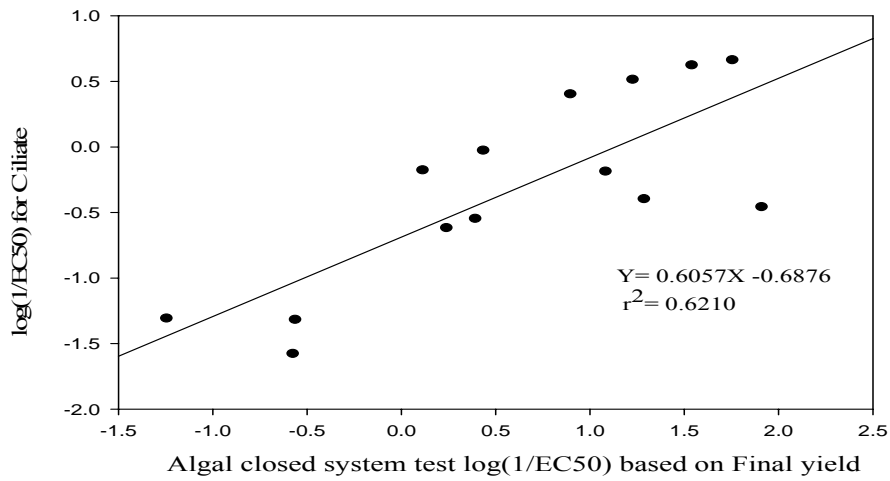
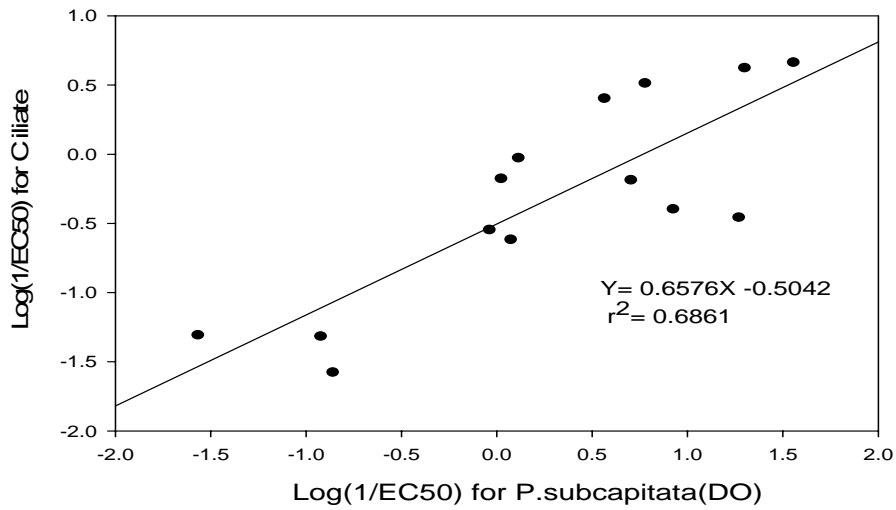


Fig. 5.4.4 Relationship between BOD-test and Ciliate data

5.5 QSAR 分析

5.5.1 利用 QSAR 預估急毒性

QSAR 最初用於製藥及醫藥部份。在 70 年代時，QSAR 才被引入環境工程學中應用。所謂 QSAR，是以有機物的物理特性，化學特性及結構間的性質與毒性建立起統計上的關係，環境學者可以由化學物質的物理特性，預測其毒性，以運用在環境影響評估的範疇。儘管製藥及醫學工業早已經使用 QSAR 於許多特殊生化機制，而在環工領域，QSAR 的應用尚侷限在非反應性有機物麻醉作用上，少數反應性有機物實驗結果亦不佳。環境毒理學家著重在有機物之毒性及其對於生物活動之抑制性；生態學家及環境工程師則是著重在有機物之分解過程及其對環境生態之影響。

依據不同化學物質之毒性作用機制，可大致分為麻醉性及反應性，在預估不同作用機制所使用的參數也會有所不同，例如在非極性麻醉機制之下通常是利用疏水性參數，最常見的是正辛醇與水分配係數（log P 值）。雖然不能明確了解非極性麻醉機制的的作用方式，但一般認為是化學物質以被動滲透的方式累積在細胞膜而造成毒性，因此可利用「辛醇」模擬細胞膜，藉以了解化學物質與細胞膜之親和力（Schultz and Seward, 2000）；故一般非極性麻醉性機制即可單純利用此參數來描述化學物質之急毒性。而反應性的化合物則往往需要加入一些親電性參數像是 E_{lumo} 、 E_{homo} 等等，而本研究則試著使用 logP 值以及 E_{lumo} 值對炔丙基醇類之毒性做回歸分析。

本研究將對於 18 種炔丙基醇類的 EC_{50} 值與不同參數來進行相關性之探討，因為這部份過去的文獻資料並不多，故這類毒性物質的 QSAR 建立之必要性也相對地提高。因此本實驗的數據也以不同參數來建立 QSAR。表 5.5.1 是三種試驗終點之毒性數據以及所會用到的回歸參數值。

Table. 5.5.1 log(1/EC50) value in three endpoints and log P、
molecular weight、E_{lumo}

toxicants	Molecular weight	logP	E _{lumo}	log(1/EC50)		
				DO	FY	GR
Secondary propargylic alcohols						
1-hexyn-3-ol	98.15	1.20	1.74	1.56	1.76	1.22
1-pentyn-3-ol	84.12	0.67	1.65	2.05	2.21	1.95
3-butyn-2-ol	70.10	0.14	1.77	0.93	1.29	0.24
3-hexyne-2,5-diol	114.15	-0.10	1.35	1.27	1.91	1.08
4-heptyn-2-ol	112.17	1.18	1.98	0.08	0.24	-0.29
4-heptyn-3-ol	112.17	1.73	1.71	0.12	0.44	0.07
4-hexyn-3-ol	98.15	1.20	1.69	0.71	1.09	0.62
3-hexyn-2-ol	98.15	1.20	1.69	0.78	1.23	0.65
2-methyl-5-octyn-4-ol	140.23	2.66	1.60	0.57	0.90	0.54
5-methyl-1-hexyn-3-ol	112.17	1.60	1.67	1.30	1.54	0.90
Tertiary propargylic alcohols						
2-methyl-3-butyn-2-ol	84.12	0.28	1.80	-1.56	-1.24	-1.73
3-methyl-1-pentyn-3-ol	98.15	1.07	1.72	-0.92	-0.56	-0.98
1-ethynyl-1-cyclohexanol	124.18	1.66		-0.01	0.23	-0.39
2,5-dimethyl-3-hexyne-2,5-diol	142.20	0.69	1.58	-0.86	-0.57	-1.17
3,5-dimethyl-1-hexyne-3-ol	126.20	2.00	1.73	-0.04	0.40	-0.20
2-phenyl-3-butyn-2-ol	146.19	1.68	0.17	0.03	0.12	-0.20
1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol	208.26	2.71	0.20	1.32	1.46	0.88
3,4-dimethyl-1-pentyn-3-ol	112.17	1.26		-0.07	0.12	-0.50

EC₅₀ unit : mmole/L

由於從文獻中可發現二級炔丙基醇類與三級炔丙基醇類機制上的不同，故本 QSAR 之研究會利用不同的參數來對其兩類化合物做迴歸分析。首先是使用 logP 對二級炔丙基醇類做迴歸分析，結果發現其迴歸效果是很差的（DO：R²=0.1693，FY：R²=0.2459，GR：R²=0.0619），Schultz, (2004) 也是把二級炔丙基醇類用 logP 值做迴歸，所得到的 R² = 0.339，此結果是和本研究是相近的，這也可以發現對於二級炔丙基醇類來說，單用 logP 值去做迴歸分析是不夠的。

接下來則是用 logP 值對三級炔丙基醇類做迴歸分析，其結果如下：

$$\log(1/EC_{50}) = 1.0763\log P - 1.7909 \quad n = 8, R^2 = 0.9143, \text{ based on DO. (1)}$$

$$\log(1/EC_{50}) = 1.0248\log P - 1.4593 \quad n = 8, R^2 = 0.9474, \text{ based on FY. (2)}$$

$$\log(1/EC_{50}) = 1.0053\log P - 1.9628 \quad n = 8, R^2 = 0.9649, \text{ based on GR. (3)}$$

由結果可以發現所得之 Eq(1)、Eq(2)、Eq(3)之 logP 之斜率近似於 1，且三種觀測終 $R^2 = 0.9143 \sim 0.9649$ ，其中以 GR 之相關性最好 ($R^2 = 0.9649$)。圖 5.5.1 為三個參數對 logP 值迴歸之結果。此研究的結果也為藻類毒性試驗建立了一條基線毒性 (baseline toxicity)。

由於觀察毒性試驗的結果發現，三級炔丙基醇類對於分子量也呈現了一定的規律，故本研究也試著以 logP 值再加入了分子量對其做迴歸分析，所得到的結果如下所示：

$$\log(1/EC_{50}) = 0.8287\log P + 0.0064MW - 2.2716 \quad n = 8, R^2 = 0.945, \text{ based on DO. (4)}$$

$$\log(1/EC_{50}) = 0.8640\log P + 0.0042MW - 1.7710 \quad n = 8, R^2 = 0.962, \text{ based on FY. (5)}$$

$$\log(1/EC_{50}) = 0.8515\log P + 0.0040MW - 2.2620 \quad n = 8, R^2 = 0.979, \text{ based on GR. (6)}$$

由結果可發現，加入了分子量之後，迴歸效果是更好的 ($R^2 = 0.945 \sim 0.979$)。所以對於三級炔丙基醇類 QSAR 的研究，使用分子量以及 logP 當作參數，對毒性作迴歸分析，所得到的結果如 Eq(4)、Eq(5)、Eq(6)三式所示，得到最佳的迴歸效果。

而對於二級炔丙基醇類，本研究試著加入了 E_{lumo} 值下去做迴歸，所得到的結果如下所示：

$$\log(1/EC_{50}) = -0.2675\log P - 1.3798E_{lumo} + 3.5689 \quad n = 10 \quad R^2 = 0.283, \text{ based on DO. (7)}$$

$$\log(1/EC_{50}) = -0.3096\log P - 2.0171E_{lumo} + 5.0162 \quad n = 10 \quad R^2 = 0.488, \text{ based on FY. (8)}$$

$$\log(1/EC_{50}) = -0.1153\log P - 2.0516E_{lumo} + 4.2884 \quad n = 10 \quad R^2 = 0.305, \text{ based on GR. (9)}$$

雖然其迴歸效果有明顯的提高 ($R^2 = 0.283 \sim 0.488$)，但還是不夠好的。

接著本研究試著判斷其 outlier，發現在迴歸分析時 1-hexyn-3-ol，1-pentyn-3-ol，5-methyl-1-hexyn-3-ol 此三個化合物的殘差值都是很高的，故在此把這三類化合物當作 outlier，並對剩下之化合物做迴歸分析，所得到的結果如下所示：

$$\log(1/EC_{50}) = -0.2270\log P - 1.4350E_{lumo} + 3.3129 \quad n = 7 \quad R^2 = 0.777, \text{ based on DO. (10)}$$

$$\log(1/EC_{50}) = -0.2807\log P - 2.0754E_{lumo} + 4.8312 \quad n = 7 \quad R^2 = 0.848, \text{ based on FY. (11)}$$

$$\log(1/EC_{50}) = -0.0364\log P - 2.1199E_{lumo} + 4.0291 \quad n = 7 \quad R^2 = 0.833, \text{ based on GR. (12)}$$

由結果可發現，其迴歸效果提高了不少，進一步的把 1-hexyn-3-ol，1-pentyn-3-ol，5-methyl-1-hexyn-3-ol 此三個化合物的 $\log P$ 值以及 E_{lumo} 值帶入 Eq(14) 式中可發現所得到的 $\log(1/EC_{50})$ 分別為 0.877、1.217、0.922，此預測的毒性和實際做實驗所得到的毒性是相差許多的 (1.759，2.213，1.544)，尤其是 1-pentyn-3-ol，其值差到 10 倍左右，再次觀測 outlier 的特性可發現，此三個 outlier 的炔基都是接在碳一的位置，由此可見，對於二級炔丙基醇類這類的化合物來說，炔基接在碳一的位置時，會有增強毒性的現象發生，而此現象也可以在纖毛蟲當中觀察出 (Shultz et al., 2004)；

1-hexyn-3-ol, 5-methyl-1-hexyn-3-ol, 4-methyl-1-heptyn-3-ol 此三種炔基接在碳一位置所得到的 $\log 1/EC_{50}$ (EC_{50} Unit: mmole/L) 分別為 0.66、0.62、0.74，也是比炔基接在碳三位置 (3-hexyne-2,5-diol, 3-butyn-2-ol, 3-hexyn-2-ol) 的毒性還要高的 (-0.46, -0.40, 0.51)，這說明了二級炔丙基醇這類的化合物，炔基接在碳一的位置確實是會使毒性增高的。

但是 Eq(10)、Eq(11)、Eq(12)三式之 $\log P$ 值之係數是負的，此情況是不符合預期的 (疏水性越高毒性越強)。故在此本研究加入了 $\log P$ 值以及 E_{lumo} 值之互乘項，之後所得到的結果如下所示：

$$\log(1/EC_{50}) = 2.1145\log P - 0.4903E_{lumo} - 1.4766 \text{Log} P * E_{lumo} + 1.9344 \quad n=7 \quad R^2=0.903, \\ \text{based on DO. (13)}$$

$$\log(1/EC_{50}) = 2.1320\log P - 1.1020E_{lumo} - 1.5210 \text{Log} P * E_{lumo} + 3.411 \quad n=7 \quad R^2=0.926, \\ \text{based on FY. (14)}$$

$$\log(1/EC_{50}) = 0.9049\log P - 1.7403E_{lumo} - 0.5935 \text{Log} P * E_{lumo} + 3.4751 \quad n=7 \quad R^2=0.852, \\ \text{based on GR. (15)}$$

由 Eq(13)、Eq(14)、Eq(15)三式發現其迴歸效果也比 Eq(10)、Eq(11)、Eq(12)三式來說明顯的提高了許多 ($R^2 = 0.852 \sim 0.926$)，且 $\log P$ 之係數也得到了正值。由此三式可發現對於二級炔丙基醇類之 QSAR 迴歸分析來說， $\log P$ 以及 E_{lumo} 兩物化參數之間之交互影響是很大的。

綜合以上的結果，對於二級炔丙基醇類之 QSAR 的研究，所得到最好的結果為 Eq(13)、Eq(14)、Eq(15)式，而三級炔丙基醇類所得到最好的結果為 Eq(4)、Eq(5)、Eq(6)式。

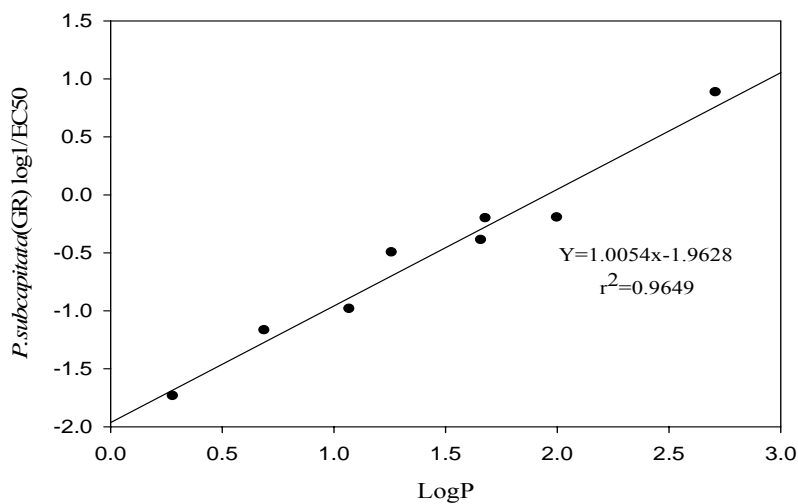
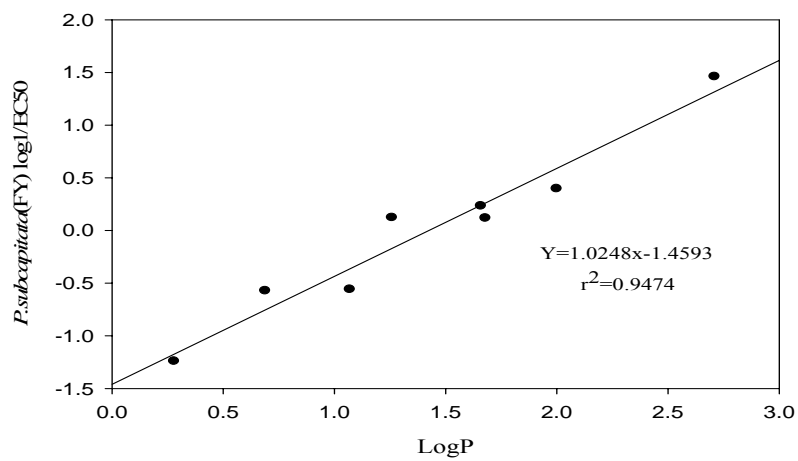
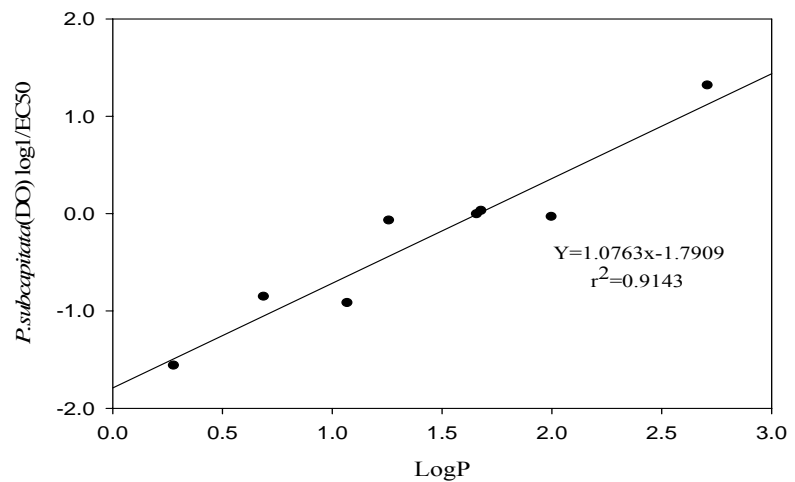


Fig. 5.5.1 QSAR analysis of the eight tertiary propargylic alcohols

5.5.2 利用基線毒性預測毒性

過去文獻曾指出，利用基線毒性預測毒性的結果與實際觀測毒性之差一直若介於 log 單位 ± 1 之間則代表此化合物同樣為非極性麻醉毒性機制 (Henk et al., 2004)。本研究室利用一系列非極性麻醉毒性之化合物與 log P 值迴歸後分別得到反應終點 Δ DO、Growth rate (Hsieh et al., 2006) 與 Final yield (Tsai and Chen 2007) 之基線毒性 (baseline toxicity)，方程式如下表示：

$$\log (1/EC_{50,DO}) = 0.978\log P - 1.83 \quad (16)$$

$$n = 26, R^2 = 0.94, Q^2 = 0.932, S = 0.332, F = 380.2$$

$$\log (1/EC_{50,Final\ yield}) = 0.90\log P - 1.40 \quad (17)$$

$$n = 48, \quad r^2 = 0.87$$

$$\log (1/EC_{50,Growth\ rate}) = 0.974\log P - 1.95 \quad (18)$$

$$n = 26, R^2 = 0.943, Q^2 = 0.933, S = 0.325, F = 393.5$$

在本節就希望利用此基線毒性預測二級、三級炔丙基醇類之毒性，進而判斷毒性作用機制。

表 5.5.2 為利用基線毒性預測結果與實際毒性之殘差，一般而言基線毒性代表的就是最低的毒性，若是毒性比基線毒性更低的情形，會因為水溶解度或因離子化造成毒性較低 (Schultz et al., 2003)。

由表 5.5.2 中可發現對於二級炔丙基醇來說，除了 2-methyl-5-octyn-4-ol 以外，其他的化合物皆比基線毒性還要高，有的甚至高出三個 order 以上 (1-pentyn-3-ol, 3-hexyne-2,5-diol)，而三級炔丙基醇類之殘差值則在 ± 1 之間，再將化合物毒性與 log P 迴歸結果與 baseline toxicity 做個比較，如 Fig 5.5.2 顯示，由圖中可明顯發現三級炔丙基醇類整體的趨勢與 baseline 很接近，介由這樣的結果就判定此類化合物是屬於非極性麻醉毒性機制。而二級炔丙基醇類所顯示的毒性大部份都是比基線毒性還要高的。

Table. 5.5.2 Used baseline toxicity predicted toxicity and residual between observed.

chemicals	logP	DO			FY		
		$\log(1/EC_{50})_{\text{observed}}$	$\log(1/EC_{50})_{\text{predict}}$	Residual	$\log(1/EC_{50})_{\text{observed}}$	$\log(1/EC_{50})_{\text{predict}}$	Residual
1-hexyn-3-ol	1.20	1.559	-0.656	2.215	1.759	-0.320	2.079
1-pentyn-3-ol	0.67	2.054	-1.175	3.229	2.213	-0.797	3.010
3-butyn-2-ol	0.14	0.928	-1.693	2.621	1.290	-1.274	2.564
3-hexyne-2,5-diol	-0.10	1.273	-1.928	3.201	1.915	-1.490	3.405
4-heptyn-2-ol	1.18	0.078	-0.676	0.753	0.243	-0.338	0.581
4-heptyn-3-ol	1.73	0.117	-0.138	0.255	0.438	0.157	0.281
4-hexyn-3-ol	1.20	0.707	-0.656	1.363	1.087	-0.320	1.407
3-hexyn-2-ol	1.20	0.781	-0.656	1.437	1.231	-0.320	1.551
2-methyl-5-octyn-4-ol	2.66	0.568	0.771	-0.204	0.900	0.994	-0.094
5-methyl-1-hexyn-3-ol	1.60	1.303	-0.265	1.568	1.544	0.040	1.504
2-methyl-3-butyn-2-ol	0.28	-1.563	-1.556	-0.007	-1.241	-1.148	-0.093
3-methyl-1-pentyn-3-ol	1.07	-0.920	-0.784	-0.136	-0.559	-0.437	-0.122
1-ethynyl-1-cyclohexanol	1.66	-0.008	-0.207	0.199	0.233	0.094	0.139
2,5-dimethyl-3-hexyne-2,5-diol	0.69	-0.856	-1.155	0.299	-0.571	-0.779	0.208
3,5-dimethyl-1-hexyne-3-ol	2.00	-0.035	0.126	-0.161	0.396	0.400	-0.004
2-phenyl-3-butyn-2-ol	1.68	0.027	-0.187	0.214	0.117	0.112	0.005
1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol	2.71	1.315	0.820	0.495	1.460	1.039	0.421
3,4-dimethyl-1-pentyn-3-ol	1.26	-0.072	-0.598	0.526	0.122	-0.266	0.388

Residual = $\log(1/EC_{50})_{\text{Observed}} - \log(1/EC_{50})_{\text{Predicted}}$

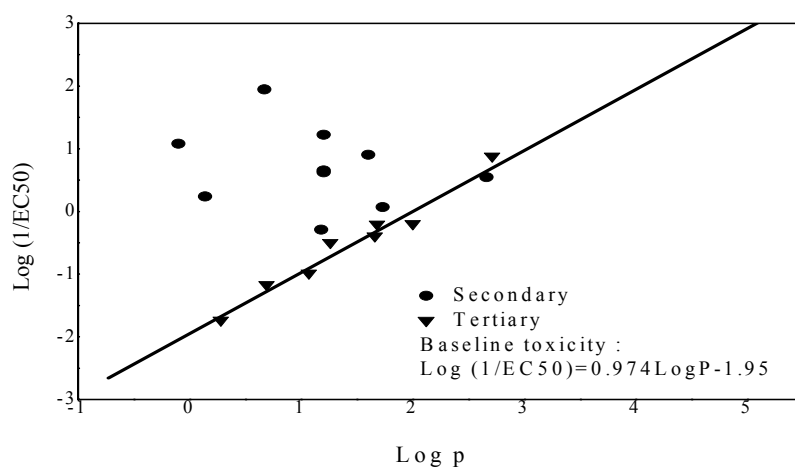
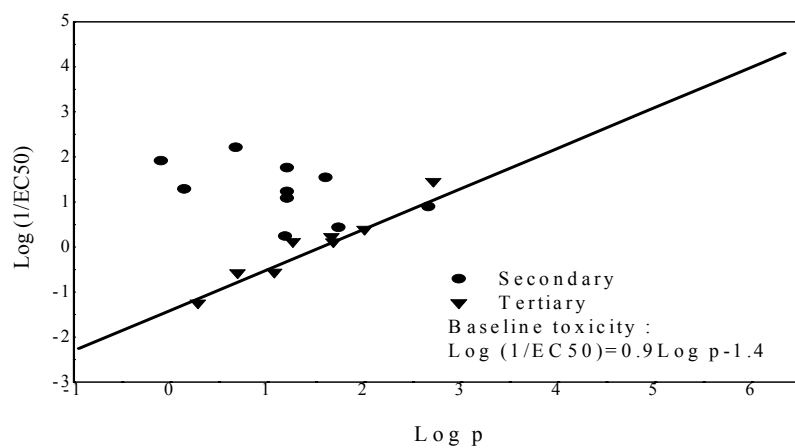
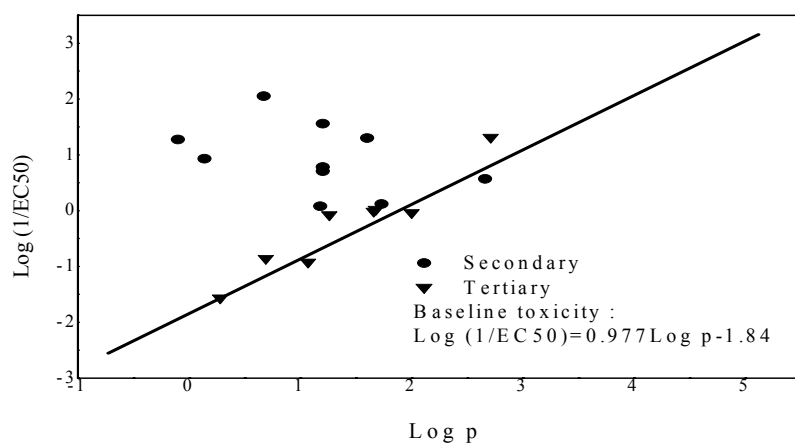


Fig. 5.5.2 Correlation between Baseline and propargyl alcohols based on DO、Final yield and Growth rate

第六章、結論與建議

6.1 結論

本研究為針對 18 種炔丙基醇類進行密閉式之藻類毒性試驗，其所得之結果如下：

1. 在一系列的二級炔丙基醇類當中，1-pentyn-3-ol 為最毒之化合物（0.515mg/L based on FY），且其藻類毒性試驗的結果為纖毛蟲之 2472.25 倍。然而對於二級炔丙基醇類而言，藻類毒性試驗之毒性高低和其炔基接的位置有一定的關聯性（炔基位置越小毒性越高）。
2. 在一系列的三級炔丙基醇類當中，1,1-diphenyl-2-propyn-1-ol 為最毒之化合物（7.214 mg/L based on FY），且對於這一類的化合物而言，藻類毒性試驗之毒性高低和其疏水性有很大的關聯性（疏水性越高毒性越高），且和分子量也有一定的規律（分子量越大毒性越大）。
3. 在敏感度的比較方面，本研究所使用的三個反應終點對於炔丙基醇類之敏感度最高者為 final yield（ave.ranking = 1），而最低的為 Growth rate（ave.ranking = 3.389）。與其他生物種類進行比較的話，其敏感度之排序如下所示：BOD-FY > BOD-DO > Fathead minnow > BOD-GR > Protozoa。
4. 在低濃度影響的結果，利用 Dunnett's test 得到的 NOEC 與利用 probit 模式得到的 EC₁₀ 比較，發現利用 NOEC 能提供對環境較嚴謹的保護，且經由計算 cut of value 值 83~100% 是低於 10 的，代表實驗精準度較高，因此利用 NOEC 來當作保護標準是可行的；而在 cut of value 的比較上，發現 Final yield 的變異性在三個參數來說是最高的，而 Growth rate 敏感度雖然較低，但是變異性是最低的，因此每個參數都有其優缺點，且都代表藻類對於毒性會有如何的

反應，所以三個參數都是很重要的。

5. 替代物種方面發現 8 個三級炔丙基醇類對於鱖魚 (Fathead minnow) 會有不錯的迴歸效果， R^2 在 0.960~0.9833 之間，因此對於此類化合物可利用藻類之毒性數據來預估較高等生物魚類的急毒性。
6. 在二級炔丙基醇類 QSAR 分析上面，發現去除掉炔基接在碳一的位置之化合物，並且使用 $\log P$ 以及 E_{lumo} 兩個物化參數和其毒性數據做迴歸分析， R^2 值達到 0.852~0.926；而在三級炔丙基醇類方面，單用 $\log P$ 值就能達到很好的迴歸效果 ($R^2 = 0.9143 \sim 0.9649$)，若再加入分子量的話，其迴歸效果會更加提高 ($R^2 = 0.945 \sim 0.979$)。

6.2 建議

1. 經過最後之數據分析，發現了實驗之過程是很重要的，一開始的母槽培養，營養鹽的配置，儀器的穩定，濃度的取決，藻類的健康，溢流率的變化等等，都是會影響到實驗數據的結果的，需特別注意。
2. 對於二級以及三級炔丙基醇類 QSAR 之研究，日後需要選取更多之化合物以及利用更多不同的物化參數去建立迴歸方程式，以達到更加之迴歸效果。
3. 對於 1-pentyn-3-ol 這一類的化合物，建議有更專業的藻類研究人員對其作進一步的探討，並找出其毒性比纖毛蟲高出許多的原因。

參考文獻

- American Society for Testing and Materials (ASTM)**. 1994. Standard Guide for Conducting Static 96h Toxicity Tests with Microalgae. Annual Book of ASTM Standards. ASTM E1218-90. Philadelphia, PA.
- American Public Health Association (APHA)** . 1995. Toxicity testing with phytoplankton, in Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 19th edn, APHA, Washington, DC
- Bearden, A. P. and Schultz, T. W.** 1997. Structure-activity relationships for *Pimephales* and *Tetrahymena*: A mechanism of action approach. *Environ Toxicol Chem*, Vol. 16, No. 6, pp. 1311–1317
- Baun, A., Bussarawit, N., Nyholm, N.** 1998. Screening of pesticide toxicity in surface water from an agricultural area at Phukert Island. *Environ Pollut*, 102, 185-190
- Chapman P. M., Caldwell R. S., Chapman P. F.** 1996. A warning: NOECs are inappropriate for regulatory use. *Environ Toxicol Chem* 15:77-79
- Chao, M. R., Shieh, J. N., Chen, C.Y.** 2001. Statistical comparisons of the no-observed-effect concentration and the effective concentration at 10% inhibition (EC10) in algal toxicity test. *Water Sci Technol*, 43:141-146
- Chen, C.Y.** 1989. The effects of limiting nutrient to algal toxicity assessment : A theoretical approach. *Toxic Assess*, 4, 35-42.
- Chen, C.Y.** 1994. Theoretical evaluation of the inhibitory effects of mercury on algal growth at various orthophosphate levels. *Water Res.* 28, 931-937.
- Chen, C.Y., Lin, C.K.,** 1997. Optimization and performance evaluation of the continuous algal toxicity test. *Environ Toxicol Chem.* 16, 1337-1344.
- Clarkson, N.** 1998. An assessment of the cage-culture turbidostat as an alternative algal bioassay. *Water Res*, 32(4): p. 1162-1168.9.
- Dowson, D.A., Shultz, T.W., Baker, L.L, and Wilke, T.S.** 1990, Comparative developmental toxicity of acetylenic alcohols on embryos and larvae of *Xenopus laevis*. *Aquat toxicol*, p267-277

- Gannonj, E., and Gannons. A.** 1975, Observations on the narcotization of crustacean zooplankton. *Crustaceana (Leiden)*, 28, 220-224.
- Geiger, D.L., Poirier, S.H., Brooke, L. T., Call, D. J.** 1986, Acute Toxicities of Organic Chemicals to Fathead Minnows (*Pimephales promelas*). *Ctr.for Lake Superior Environ.Stud.*, Univ.of Wisconsin-Superior, Superior, WI :328
- Geis, S.W., Fleming, K. L., Korthals, E. T., Searle, G., Reynolds, L., Karnera, D.** .2000. Modifications to the algal growth inhibition test for use as a regulatory ASSAY. *Environ Toxicol Chem.* 19(1), 36-41.
- Henk, J. M., Verhaar, J. S., John, S., Cees, J. L., Joop, L. M. Hermens.** 2000. Classifying environmental pollutants: Part 3. External validation of the classification system. *Chemosphere* 40 : 875~883.
- Herman, D. C., Inniss, W. E., Mayfield, C. I.** 1990. Impact of volatile aromatic hydrocarbons, alone and in combination, on growth of the freshwater alga *Selenastrum Capricornutum*. *Aquat Toxicol.* 18, 87-100.
- Howlandr, M., and Schoettger, A.** 1969, Efficiency of methylpentynol as an anesthetic on four salmonids, *Investigations in Fish Control*, No. 29
- Hsieh, S. H, Hsu., C. H, Tsai., D. Y, Chen., C.Y.** 2006, Quantitative Structure–Activity Relationships For Toxicity Of Nonpolar Narcotic Chemicals To *Pseudokirchneriella Subcapitata*. *Environ Toxicol Chem*, Vol. 25, No. 11, pp. 2920–2926,
- Huang, H. J.** 2000. Experimental design of the algal toxicity test based on photosynthetic response. A Thesis Submitted to Institute of Environmental Engineering of National Chiao Tung University.
- International Organization for Standardization(ISO).** 1987. Water quality- Algal growth inhibition test. Draft International Standard ISO/DIS 8692. Geneva, Switzerland
- Joop, L. M. Hermens** 1990. Electrophiles and Acute Toxicity to Fish *Environl Health Persp*, Vol. 87., pp. 219-225.

- Kooijman, S. A. L. M., Hanstiveit, A. O., Hynolmn, N.** 1996. No-effect-concentration in algal growth inhibition test. *Water Res* 30:1625-1632
- Laskowski, R.** 1995. Some good reasons to ban the use of NOEC, LOEC and related concepts in ecotoxicology. *Oikos* 73:40-144
- Lin, J. H.** 2001. Experimental design of the algal toxicity test based on BOD bottle. A Thesis of Institute of Environmental Engineering of National Chiao Tung University.
- Lipnick, R. L.** 1985. Validation and extension of fish toxicity QSARs and interspecies comparisons for certain classes of organic chemicals. In: Tichy M, editor. *QSAR in toxicology and xenobiochemistry*. Amsterdam: Elsevier. p 39–52.
- Lipnick, R. L., Pritzker, C. S, and Bentley, D. L.** 1987. Application of QSAR to model the toxicology of industrial organic chemicals to aquatic organisms and mammals. *QSAR in Drug Design and Toxicology*, pp. 301-306.
- Lipnick, R. L., Watson, K. R., Strausz, K. A.** 1987. A QSAR study of the acute toxicity of some industrial organic chemicals to goldfish, Narcosis, electrophile and proelectrophile mechanisms. *Xenobiotica*. 17, 1011-1025
- Madsen, T. and Rasmussen, H. B.** 1996. A method for screening the potential toxicity of organic chemicals to methanogenic gas production. *Water Sci Technol*, 33(6): p. 213-220.
- Mayer, M., Nyholm, N., Verbruggen, E. M. J., Hermens, J. M. L and Tolls, J.** 2000. Algal growth inhibition test in filled, closed bottles for volatile and sorptive materials. *Environ Toxicol Chem*. 19:2551-2556.
- McFarland, J. W.** 1970. On the parabolic relationship between drug potency and hydrophobicity. *J. Med. Chem*. 13:1092–1196.
- Mekenyan, O. G., Veith, G. D.** 1993. Relationships between descriptors for hydrophobicity and soft electrophilicity in predicting toxicity. *SAR QSAR Environ. Res.* 1 : 335–344.

- Mekenyan, O.G., Veith, G. D., Bradbury, S. P., Russom, C. L.** 1993. Structure– toxicity relationships for alpha,beta-unsaturated alcohols in fish. *Quant Struct-Act Relat* 12:132–136
- Moore D. R. J., Caux P. Y.** 1997. Estimating low toxic effects. *Environ Toxicol Chem* 16:794-801.
- Nyholm, N., Källqvist, T.** 1989. Methods for growth inhibition toxicity tests with freshwater algae. *Environ Toxicol Chem.* 8:689-703.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD).** 1984. Guideline for testing chemicals. No. 201. Alga growth inhibition test. Paris, France.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD).** 1997. Report of the Final Ring Test of the Daphnia magna Reproduction Test. OECD Environmental Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment, n^o 6, OECD/GD(97)19: Paris
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD).** 1998. Report of the OECD workshop on Statistical Analysis of Aquatic Toxicity Data. OECD Environmental Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment, n^o 10, OECD/GD(98)18: Paris
- Rehnberg, B. G., Schultz, A, and Raschke, R. L.** 1982. Limitations for electronic particle counting in reference to algal assays. *Journal of WPCF.* 54:181-186.
- Rojickova-Padrtova, R., Marsalek, B. and Holoubek, I.** 1998. Evaluation of alternative and standard toxicity assays for screening of environmental samples: Selection of an optimal test battery. *Chemosphere*, 37(3): p. 495-507.
- Rojickova-Padrtova, R., Marsalek, B.** 1999. Selection and sensitivity comparisons of algal species for toxicity testing. *Chemosphere.* 38:3329-3338.

- Rose, R. M., Warne, M. J., Lim, R. P.** 1998. Quantitative Structure activity relationship and volume fraction analysis for nonpolar narcotic chemicals to the Australian cladoceran *Ceriodaphnia cf. dubia*. *Arch. Environ. Contam Toxicol.* 34, 248-252
- Russom, C. L., Bradbury, S. P., Broderius, S. J., Hammermeister, D. E., Drummond, R. A.** 1997. Predicting modes of toxic action from chemical structure : acute toxicity in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environ. Toxicol. Chem.* 16 (5), 948-967.
- Schultz, T. W., and M. Tichy,** 1993, Structure-Toxicity Relationships for Unsaturated Alcohols to *Tetrahymena pyriformis*: C5 and C6 Analogs and Primary Propargylic Alcohols. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 51(5):681-688
- Schultz, T. W., and Seward, J. R,** 2000. Dimyristoyl phosphatidylcholine/water partitioning-dependent modeling of narcotic toxicity to *Tetrahymena pyriformis* . *Quant. Struct-Act. Relat.*, 19 : 339-344.
- Schultz, T. W., Cronin, M. T. D., Netzeva, T. I.** 2003. The present status of QSAR in toxicology. *J. Mol. Struct*, 622, 23-38.
- Schultz, T. W., Julie S. N., Karen, A. F., Vera, A. T.** 2004, Population Growth Impairment of Aliphatic Alcohols to *Tetrahymena*. *Environ Toxicol* 19 (1): 1-10
- Schultz, T. W., Sinks, G. D., Bearden, A. P.,** 1998. QSAR in aquatic toxicology : A mechanism of action approach comparing toxic potency to *Pimephales promelas*, *Tetrahymena pyriformis*, and *Vibrio fischeri*. In : Devillers J, editor. Comparative QSAR. New York : Taylor & Francis. 51-109.
- Slabbert, J. L. and Venter, E. A.** 1999. Biological assays for aquatic toxicity testing. *Water Sci Technol*, 39(10-11): p. 367-373.
- Sorvari, J. and Sillanp, M.** 1996. Influence of metal complex formation on heavy metal and free EDTA and DTPA acute toxicity determined by *Daphnia magna*. *Chemosphere*. 33:1119-1127

Tsai, K .P. and Chen, C.Y. 2007. An algal toxicity database of organic toxicants derived by a closed-system technique. *Environ Toxicol Chem*, Vol. 26, No. 9

United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA) .1996. Ecological Effect Test Guidelines. OPPTS 850.5400. Algal Toxicity, Tiers I and II.

Veith, G. D., Call, D. J. and Brooke, L. T. 1983. Structure-toxicity relationships for the fathead minnow, *Pimephales promelas* : Narcotic industrial chemicals. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 40 : 743-748

Veith, G. D., Lipnick, R. L., Russom, C. L. 1989. The toxicity of acetylenic alcohols to the fathead minnow, *Pim ephales prom elas*: narcosis and proelectrophile activation. *Xenobiotic* No.5 555-564

Verhaar, H. J. M., Van C.J., Hermens, J. L. M. 1992. Classfying environmental pollutants: 1-structure-activity relationships for prediction of aquatic toxicity. *Chemosphere.* 25, 471-491.

Xu, S. and Nirmalakhandan, N. 1998. Use of QSAR models in predicting joint effects in multi-component mixtures of organic chemicals. *Water Res*, 32(8): p. 2391-2399.

Zaho, Y. H., Ji, G. D., Cronin, M. T. D., Dearden, J. C., 1998. QSAR study of the toxicity of benzoic acids to *Vibrio Fischeri*, *Daphnia magna* and carp. *The Science of the Total Environment.* 216, 205-215

林國清，1997，連續式藻類毒性試驗之實驗設計及效能評估，國立交通大學土木工程研究所，博士論文。

附錄 原始數據

實驗毒物 : 1-hexyne-3-ol 初始細胞密度 (cells/mL) : 15000

MCV (μm³) : 43.62 D (μm) : 4.212 Initial pH : 7.44 EDTA(%) : 0

T(°C) : 24 Test duration : 48-h

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO			IR (growth rate)	IR (Biomass)	IR (DO)
				mg/L	μspecific	μrelative			
Control	1.33	6.12	267200	4.79	1.43997	1	0	0	0
42.88	2.25	2.45	26300	0.2	0.28076	0.19498	0.80502	0.95519	0.95825
14.29	1.53	2.28	38700	0.75	0.47389	0.32910	0.67090	0.90603	0.84342
7.15	1.43	2.49	40000	1.06	0.49041	0.34057	0.65943	0.90087	0.77871
3.57	1.41	3.56	78200	2.15	0.82561	0.57335	0.42665	0.74941	0.55115
1.79	1.34	4.28	134500	2.94	1.09676	0.76165	0.23835	0.52617	0.38622
0.89	1.14	4.34	185700	3.2	1.25804	0.87366	0.12634	0.32316	0.33194
0.45	1.28	4.57	242400	3.29	1.39127	0.96618	0.03382	0.09833	0.31315
Control	1.29	6.02	278300	4.73	1.46032	1	0	0	0
42.88	2.46	2.51	22500	0.05	0.20273	0.13883	0.86117	0.97152	0.98943
14.29	1.67	2.76	33200	1.09	0.39725	0.27203	0.72797	0.93088	0.76956
7.15	1.53	2.38	43200	0.85	0.52890	0.36218	0.63782	0.89290	0.82030
3.57	1.29	3.91	74800	2.62	0.80338	0.55014	0.44986	0.77288	0.44609
1.79	1.3	4.11	112400	2.81	1.00701	0.68958	0.31042	0.63008	0.40592
0.89	1.24	4.45	184100	3.21	1.25371	0.85852	0.14148	0.35777	0.32135
0.45	1.28	4.5	198700	3.22	1.29187	0.88465	0.11535	0.30232	0.31924
Control	1.19	6.21	256800	5.02	1.42012	1	0	0	0
42.88	2.35	2.47	29700	0.12	0.34155	0.24051	0.75949	0.93921	0.97610
14.29	1.74	2.88	35300	1.14	0.42792	0.30132	0.69868	0.91605	0.77291
7.15	1.43	3.01	41700	1.58	0.51123	0.35999	0.64001	0.88958	0.68526
3.57	1.37	3.95	85600	2.58	0.87082	0.61320	0.38680	0.70802	0.48606
1.79	1.31	4.64	133200	3.33	1.09190	0.76888	0.23112	0.51117	0.33665
0.89	1.24	4.76	189600	3.52	1.26843	0.89319	0.10681	0.27792	0.29880
0.45	1.22	5.04	236700	3.82	1.37937	0.97130	0.02870	0.08313	0.23904
Control	1.27000	6.11667	267433.33	4.84667	1.44014	1	0	0	0
42.88	2.35333	2.47667	26166.67	0.12333	0.27501	0.19144	0.80685	0.95576	0.97455
14.29	1.64667	2.64000	35733.33	0.99333	0.43302	0.30082	0.69869	0.91787	0.79505
7.15	1.46333	2.62667	41633.33	1.16333	0.51018	0.35424	0.64564	0.89449	0.75997
3.57	1.35667	3.80667	79533.33	2.45000	0.83327	0.57890	0.42095	0.74435	0.49450
1.79	1.31667	4.34333	126700.00	3.02667	1.06522	0.74004	0.25932	0.55751	0.37552
0.89	1.20667	4.51667	186466.67	3.31000	1.26006	0.87512	0.12518	0.32074	0.31706
0.45	1.26000	4.70333	225933.33	3.44333	1.35417	0.94071	0.05854	0.16440	0.28955

實驗毒物 :1-pentyn-3-ol

初始細胞密度
(cells/mL) :

15000

MCV (μm³) : 42.95

D (μm) : 4.214

Initial pH : 7.54

EDTA(%) : 0

T(°C) : 24.5 Test duration : 48-h

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO			IR	IR	IR
				mg/L	μspecific	μrelative	(growth rate)	(Biomass)	(DO)
Control	1.35	6.89	254900	5.54	1.41641	1	0	0	0
7.57	1.95	2.04	13500	0.09	-0.05268	-0.03719	1.03719	1.00625	0.98375
3.76	1.54	2.11	19800	0.57	0.13882	0.09801	0.90199	0.97999	0.89711
1.89	1.64	2.89	34800	1.25	0.42078	0.29708	0.70292	0.91747	0.77437
0.95	1.58	3.45	58300	1.87	0.67878	0.47922	0.52078	0.81951	0.66245
0.47	1.24	5.01	150100	3.77	1.15163	0.81306	0.18694	0.43685	0.31949
0.12	1.44	5.88	205400	4.44	1.30845	0.92378	0.07622	0.20634	0.19856
0.06	1.36	6.43	251400	5.07	1.40950	0.99512	0.00488	0.01459	0.08484
Control	1.22	6.94	268800	5.72	1.44296	1	0	0	0
7.57	1.85	2.08	28900	0.23	0.32790	0.22724	0.77276	0.94523	0.95979
3.76	1.45	2.01	31100	0.56	0.36458	0.25266	0.74734	0.93656	0.90210
1.89	1.33	2.74	38700	1.41	0.47389	0.32842	0.67158	0.90662	0.75350
0.95	1.24	3.65	45600	2.41	0.55593	0.38527	0.61473	0.87943	0.57867
0.47	1.54	5.12	153100	3.58	1.16152	0.80496	0.19504	0.45587	0.37413
0.12	1.44	6.01	210100	4.57	1.31977	0.91463	0.08537	0.23128	0.20105
0.06	1.68	6.45	241500	4.77	1.38941	0.96289	0.03711	0.10757	0.16608
Control	1.48	6.48	246800	5.14	1.40026	1	0	0	0
7.57	1.88	2.01	18900	0.13	0.11556	0.08252	0.91748	0.98318	0.97400
3.76	1.45	1.94	21500	0.49	0.18000	0.12855	0.87145	0.97196	0.90200
1.89	1.64	2.89	28700	1.25	0.32442	0.23169	0.76831	0.94090	0.75000
0.95	1.48	3.84	45600	2.36	0.55593	0.39702	0.60298	0.86799	0.52800
0.47	1.24	5.33	178900	4.09	1.23939	0.88511	0.11489	0.29292	0.18200
0.12	1.32	6.23	224600	4.91	1.35314	0.96634	0.03366	0.09577	0.01800
0.06	1.41	6.55	251300	5.14	1.40930	1.00645	-0.00645	-0.01941	-0.02800
Control	1.35000	6.77000	256833.33	5.42000	1.41988	1	0	0	0
7.57	1.89333	2.04333	20433.33	0.15000	0.13026	0.09086	0.89117	0.97753	0.97232
3.76	1.48000	2.02000	24133.33	0.54000	0.22780	0.15974	0.83258	0.96223	0.90037
1.89	1.53667	2.84000	34066.67	1.30333	0.40637	0.28573	0.71121	0.92116	0.75953
0.95	1.43333	3.64667	49833.33	2.21333	0.59688	0.42050	0.57730	0.85596	0.59164
0.47	1.34000	5.15333	160700.00	3.81333	1.18418	0.83438	0.16508	0.39752	0.29643
0.12	1.40000	6.04000	213366.67	4.64000	1.32712	0.93492	0.06528	0.17974	0.14391
0.06	1.48333	6.47667	248066.67	4.99333	1.40274	0.98815	0.01223	0.03625	0.07872

實驗毒物 :3-butyn -2-ol

初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm3) : 43.6

D (μm) : 4.234

Initial pH : 7.46

EDTA(%) : 0

T(°C) : 24 Test duration : 48-h

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μspecific	μrelative	IR (growth rate)	IR (Biomass)	IR (DO)
Control	1.33	5.42	243800	4.09	1.39415	1	0	0	0
144.35	2.21	2.28	43500	0.07	0.53236	0.38185	0.61815	0.87544	0.98289
48.12	1.61	2.58	67200	0.97	0.74981	0.53783	0.46217	0.77185	0.76284
16.04	1.35	3.03	89500	1.68	0.89309	0.64060	0.35940	0.67439	0.58924
5.35	1.13	3.57	124100	2.44	1.05652	0.75782	0.24218	0.52316	0.40342
1.78	1.25	4.18	175800	2.93	1.23065	0.88272	0.11728	0.29720	0.28362
0.59	1.18	5.09	212300	3.91	1.32498	0.95038	0.04962	0.13767	0.04401
0.2	1.26	5.49	251700	4.23	1.41009	1.01144	-0.01144	-0.03453	-0.03423
Control	1.06	5.26	287300	4.2	1.47624	1	0	0	0
144.35	2.46	2.25	43200	-0.21	0.52890	0.35827	0.64173	0.89644	1.05000
48.12	1.57	2.61	55800	1.04	0.65686	0.44496	0.55504	0.85017	0.75238
16.04	1.49	3.24	70500	1.75	0.77378	0.52416	0.47584	0.79618	0.58333
5.35	1.26	3.48	134500	2.22	1.09676	0.74294	0.25706	0.56115	0.47143
1.78	1.26	4.39	154700	3.13	1.16672	0.79033	0.20967	0.48696	0.25476
0.59	1.13	4.95	221700	3.82	1.34664	0.91221	0.08779	0.24091	0.09048
0.2	1.04	5.05	265000	4.01	1.43584	0.97263	0.02737	0.08189	0.04524
Control	1.15	5.38	256700	4.23	1.41993	1	0	0	0
144.35	2.56	3.45	38900	0.89	0.47647	0.33556	0.66444	0.90112	0.78960
48.12	1.72	2.64	62800	0.92	0.71595	0.50422	0.49578	0.80223	0.78251
16.04	1.43	3.05	73400	1.62	0.79394	0.55914	0.44086	0.75838	0.61702
5.35	1.13	3.75	110300	2.62	0.99758	0.70255	0.29745	0.60571	0.38061
1.78	1.23	4.16	132100	2.93	1.08775	0.76606	0.23394	0.51552	0.30733
0.59	1.21	4.5	209600	3.29	1.31858	0.92862	0.07138	0.19487	0.22222
0.2	1.19	4.83	254600	3.64	1.41582	0.99711	0.00289	0.00869	0.13948
Control	1.18000	5.35333	262600.00	4.17333	1.43011	1	0	0	0
144.35	2.41000	2.66000	41866.67	0.25000	0.51257	0.35856	0.64143	0.89149	0.94010
48.12	1.63333	2.61000	61933.33	0.97667	0.70754	0.49567	0.50464	0.81045	0.76597
16.04	1.42333	3.10667	77800.00	1.68333	0.82027	0.57463	0.42496	0.74637	0.59665
5.35	1.17333	3.60000	122966.67	2.42667	1.05028	0.73444	0.26505	0.56395	0.41853
1.78	1.24667	4.24333	154200.00	2.99667	1.16171	0.81304	0.18598	0.43780	0.28195
0.59	1.17333	4.84667	214533.33	3.67333	1.33006	0.93040	0.07062	0.19413	0.11981
0.2	1.16333	5.12333	257100.00	3.96000	1.42059	0.99373	0.00739	0.02221	0.05112

實驗毒物 :3-hexyne-2,5-diol

初始細胞密度
(cells/mL) :

15000

MCV (μm3) : 41.65

D (μm) : 4.224

Initial pH : 7.45

EDTA(%) :0

T(°C) : 24

Test duration : 48-h

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO			IR	IR	IR
				mg/L	μspecific	μrelative	(growth rate)	(Biomass)	(DO)
Control	1.61	6.38	293100	4.77	1.48623	1	0	0	0
35.52	2.06	2.74	35400	0.68	0.42933	0.28887	0.71113	0.92665	0.85744
11.84	1.67	3.74	44100	2.07	0.53920	0.36280	0.63720	0.89536	0.56604
3.95	1.62	4.18	89900	2.56	0.89532	0.60241	0.39759	0.73067	0.46331
1.32	1.46	4.98	176500	3.52	1.23264	0.82937	0.17063	0.41927	0.26205
0.44	1.48	5.61	212300	4.13	1.32498	0.89150	0.10850	0.29054	0.13417
0.15	1.64	5.77	250400	4.13	1.40750	0.94703	0.05297	0.15354	0.13417
0.05	1.71	5.94	277400	4.23	1.45871	0.98148	0.01852	0.05645	0.11321
Control	1.55	6.13	296600	4.58	1.49217	1	0	0	0
35.52	2.31	3.5	37000	1.19	0.45143	0.30254	0.69746	0.92188	0.74017
11.84	1.72	3.55	65200	1.83	0.73470	0.49237	0.50763	0.82173	0.60044
3.95	1.59	3.88	83000	2.29	0.85540	0.57326	0.42674	0.75852	0.50000
1.32	1.62	4.85	165800	3.23	1.20137	0.80511	0.19489	0.46449	0.29476
0.44	1.59	5.56	203500	3.97	1.30381	0.87377	0.12623	0.33061	0.13319
0.15	1.53	5.73	265600	4.2	1.43697	0.96301	0.03699	0.11009	0.08297
0.05	1.61	6.05	238900	4.44	1.38400	0.92751	0.07249	0.20490	0.03057
Control	1.52	6.08	286500	4.56	1.47484	1	0	0	0
35.52	2.23	3.65	44900	1.42	0.54819	0.37170	0.62830	0.88987	0.68860
11.84	1.63	3.71	62600	2.08	0.71436	0.48436	0.51564	0.82468	0.54386
3.95	1.44	4.15	98700	2.71	0.94202	0.63872	0.36128	0.69171	0.40570
1.32	1.55	4.91	168300	3.36	1.20885	0.81965	0.18035	0.43536	0.26316
0.44	1.63	5.43	207800	3.8	1.31426	0.89112	0.10888	0.28987	0.16667
0.15	1.6	5.77	226100	4.17	1.35646	0.91973	0.08027	0.22247	0.08553
0.05	1.73	6.01	290500	4.28	1.48178	1.00470	-0.00470	-0.01473	0.06140
Control	1.56000	6.19667	292066.67	4.63667	1.48441	1	0	0	0
35.52	2.20000	3.29667	39100.00	1.09667	0.47632	0.32103	0.67730	0.91302	0.76348
11.84	1.67333	3.66667	57300.00	1.99333	0.66276	0.44651	0.54857	0.84733	0.57009
3.95	1.55000	4.07000	90533.33	2.52000	0.89758	0.60480	0.39451	0.72738	0.45651
1.32	1.54333	4.91333	170200.00	3.37000	1.21428	0.81804	0.18189	0.43985	0.27318
0.44	1.56667	5.53333	207866.67	3.96667	1.31435	0.88546	0.11455	0.30390	0.14450
0.15	1.59000	5.75667	247366.67	4.16667	1.40031	0.94326	0.05595	0.16133	0.10137
0.05	1.68333	6.00000	268933.33	4.31667	1.44149	0.97123	0.02779	0.08349	0.06902

實驗毒物 :4-heptyn-2-ol
 初始細胞密度 (cells/mL) : 15000
 MCV (µm³) : 43.85 D (µm) : 4.217 Initial pH : 7.44 EDTA(%) : 0
 T(°C) : 24 Test duration : 48-h

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	µspecific	µrelative	IR (growth rate)	IR (Biomass)	IR (DO)
Control	1.85	11.69	299900	9.84	1.49770	1	0	0	0
142.93	3.2	4.83	47100	1.63	0.57211	0.38199	0.61801	0.88733	0.83435
47.64	1.87	5.62	143200	3.75	1.12810	0.75322	0.24678	0.55002	0.61890
15.88	1.87	6.95	83800	5.08	0.86019	0.57434	0.42566	0.75851	0.48374
5.29	1.8	8.32	135200	6.52	1.09935	0.73403	0.26597	0.57810	0.33740
1.76	2.12	9.78	175600	7.66	1.23008	0.82131	0.17869	0.43629	0.22154
0.59	1.94	10.69	257900	8.75	1.42226	0.94963	0.05037	0.14742	0.11077
0.2	2.15	11.32	270500	9.17	1.44611	0.96555	0.03445	0.10319	0.06809
Control	2.45	11.95	299300	9.5	1.49670	1	0	0	0
142.93	3.69	5.01	61300	1.32	0.70386	0.47028	0.52972	0.83714	0.86105
47.64	2.21	5.87	85800	3.66	0.87198	0.58261	0.41739	0.75097	0.61474
15.88	2.04	6.75	81000	4.71	0.84320	0.56337	0.43663	0.76785	0.50421
5.29	2.11	9.05	152900	6.94	1.16087	0.77562	0.22438	0.51495	0.26947
1.76	2.1	9.65	168400	7.55	1.20915	0.80788	0.19212	0.46043	0.20526
0.59	2.47	9.63	243200	7.16	1.39292	0.93066	0.06934	0.19733	0.24632
0.2	2.35	10.59	279700	8.24	1.46283	0.97737	0.02263	0.06894	0.13263
Control	2.47	11.12	290900	8.65	1.48246	1	0	0	0
142.93	3.42	5.21	45900	1.79	0.55921	0.37721	0.62279	0.88800	0.79306
47.64	2.53	5.99	71300	3.46	0.77942	0.52576	0.47424	0.79594	0.60000
15.88	2.1	6.32	91300	4.22	0.90305	0.60915	0.39085	0.72345	0.51214
5.29	1.94	8.98	158300	7.04	1.17822	0.79477	0.20523	0.48061	0.18613
1.76	2.25	9.55	187500	7.3	1.26286	0.85187	0.14813	0.37477	0.15607
0.59	2.37	9.56	264200	7.19	1.43433	0.96753	0.03247	0.09677	0.16879
0.2	2.2	11.21	281300	9.01	1.46569	0.98868	0.01132	0.03480	-0.04162
Control	2.25667	11.58667	296700.00	9.33000	1.49229	1	0	0	0
142.93	3.43667	5.01667	51433.33	1.58000	0.61173	0.40983	0.58715	0.87067	0.83065
47.64	2.20333	5.82667	100100.00	3.62333	0.92650	0.62053	0.36404	0.69791	0.61165
15.88	2.00333	6.67333	85366.67	4.67000	0.86881	0.58229	0.41739	0.75021	0.49946
5.29	1.95000	8.78333	148800.00	6.83333	1.14615	0.76814	0.23122	0.52503	0.26760
1.76	2.15667	9.66000	177166.67	7.50333	1.23403	0.82702	0.17276	0.42433	0.19578
0.59	2.26000	9.96000	255100.00	7.70000	1.41650	0.94927	0.05061	0.14767	0.17471
0.2	2.23333	11.04000	277166.67	8.80667	1.45821	0.97720	0.02282	0.06934	0.05609

實驗毒物 :4-hexyn-3-ol

初始細胞密度
(cells/mL) :

15000

MCV (μm³) : 42.75 D (μm) : 4.146 Initial pH : 7.54 EDTA(%) :0

T(°C) : 24 Test duration : 48-h

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO			IR (growth rate)	IR (Biomass)	IR (DO)
				mg/L	μspecific	μrelative			
Control	1.49	6.99	245800	5.5	1.39823	1	0	0	0
94.61	1.97	2.1	21800	0.13	0.18693	0.13369	0.86631	0.97054	0.97636
47.3	1.85	2.47	36800	0.62	0.44872	0.32092	0.67908	0.90555	0.88727
23.65	1.37	4.34	55700	2.97	0.65596	0.46914	0.53086	0.82366	0.46000
11.83	1.26	5.42	125400	4.16	1.06173	0.75934	0.24066	0.52166	0.24364
5.91	1.77	6.1	158000	4.33	1.17727	0.84197	0.15803	0.38042	0.21273
2.96	1.29	6.21	203400	4.92	1.30356	0.93229	0.06771	0.18371	0.10545
1.48	1.55	8.44	264600	6.89	1.43508	1.02636	-0.02636	-0.08146	-0.25273
Control	1.46	7.05	264100	5.59	1.43414	1	0	0	0
94.61	2.04	2.38	39900	0.34	0.48916	0.34108	0.65892	0.90004	0.93918
47.3	1.45	2.66	46400	1.21	0.56462	0.39370	0.60630	0.87395	0.78354
23.65	1.54	3.94	55100	2.4	0.65055	0.45362	0.54638	0.83902	0.57066
11.83	1.49	5.46	88300	3.97	0.88634	0.61803	0.38197	0.70574	0.28980
5.91	1.36	6.1	154300	4.74	1.16542	0.81263	0.18737	0.44079	0.15206
2.96	1.43	6.15	211100	4.72	1.32214	0.92191	0.07809	0.21277	0.15564
1.48	1.68	8.41	276200	6.73	1.45654	1.01562	-0.01562	-0.04857	-0.20394
Control	1.58	7.06	247800	5.48	1.40229	1	0	0	0
94.61	2.35	3.51	27100	1.16	0.29574	0.21090	0.78910	0.94802	0.78832
47.3	1.61	2.88	32100	1.27	0.38040	0.27127	0.72873	0.92655	0.76825
23.65	1.53	3.27	38000	1.74	0.46477	0.33144	0.66856	0.90120	0.68248
11.83	1.48	5.61	82800	4.13	0.85419	0.60914	0.39086	0.70876	0.24635
5.91	1.11	5.84	149800	4.73	1.15063	0.82054	0.17946	0.42096	0.13686
2.96	1.15	6.14	236300	4.99	1.37853	0.98306	0.01694	0.04940	0.08942
1.48	1.47	7.59	254500	6.12	1.41563	1.00951	-0.00951	-0.02878	-0.11679
Control	1.51000	7.03333	252566.67	5.52333	1.41155	1	0	0	0
94.61	2.12000	2.66333	29600.00	0.54333	0.32394	0.22856	0.75927	0.93854	0.90163
47.3	1.63667	2.67000	38433.33	1.03333	0.46458	0.32863	0.66678	0.90136	0.81291
23.65	1.48000	3.85000	49600.00	2.37000	0.59043	0.41806	0.57645	0.85436	0.57091
11.83	1.41000	5.49667	98833.33	4.08667	0.93409	0.66217	0.33228	0.64712	0.26011
5.91	1.41333	6.01333	154033.33	4.60000	1.16444	0.82505	0.17513	0.41476	0.16717
2.96	1.29000	6.16667	216933.33	4.87667	1.33474	0.94575	0.05386	0.14999	0.11708
1.48	1.56667	8.14667	265100.00	6.58000	1.43575	1.01716	-0.01715	-0.05276	-0.19131

實驗毒物 :3-hexyn-2-ol

初始細胞密度
(cells/mL) :

15000

MCV (μm³) : 45.95

D (μm) : 4.3442

Initial pH : 7.4

EDTA(%) :0

T(°C) : 24.5

Test duration : 48-h

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO			IR (growth rate)	IR (Biomass)	IR (DO)
				mg/L	μspecific	μrelative			
Control	1.05	6.4	317900	5.35	1.52684	1	0	0	0
79.23	2.23	2.89	42100	0.66	0.51600	0.33795	0.66205	0.91053	0.87664
39.63	1.87	3.24	50600	1.37	0.60795	0.39817	0.60183	0.88247	0.74393
19.82	1.41	3.87	61800	2.46	0.70793	0.46365	0.53635	0.84549	0.54019
9.91	1.54	4.53	103500	2.99	0.96576	0.63252	0.36748	0.70782	0.44112
4.95	1.3	5.35	190800	4.05	1.27159	0.83282	0.16718	0.41961	0.24299
2.48	1.51	5.98	248600	4.47	1.40390	0.91948	0.08052	0.22879	0.16449
1.24	1.41	6.21	254300	4.8	1.41523	0.92690	0.07310	0.20997	0.10280
Control	1.61	6.35	305800	4.74	1.50744	1	0	0	0
79.23	2.54	2.96	48900	0.42	0.59086	0.39196	0.60804	0.88343	0.91139
39.63	1.88	3.81	51200	1.93	0.61384	0.40721	0.59279	0.87552	0.59283
19.82	1.52	3.88	60400	2.36	0.69647	0.46202	0.53798	0.84388	0.50211
9.91	1.37	4.32	99300	2.95	0.94505	0.62692	0.37308	0.71011	0.37764
4.95	1.44	5.48	189200	4.04	1.26738	0.84075	0.15925	0.40096	0.14768
2.48	1.5	5.87	234800	4.37	1.37534	0.91237	0.08763	0.24415	0.07806
1.24	1.52	6.25	264800	4.73	1.43546	0.95225	0.04775	0.14099	0.00211
Control	1.54	6.51	309300	4.97	1.51313	1	0	0	0
79.23	2.75	3.14	23000	0.39	0.21372	0.14124	0.85876	0.97282	0.92153
39.63	1.82	3.54	33100	1.72	0.39574	0.26154	0.73846	0.93850	0.65392
19.82	1.51	3.65	64300	2.14	0.72775	0.48096	0.51904	0.83248	0.56942
9.91	1.58	4.36	98200	2.78	0.93948	0.62088	0.37912	0.71730	0.44064
4.95	1.49	5.21	178700	3.72	1.23883	0.81872	0.18128	0.44376	0.25151
2.48	1.64	6.08	242300	4.44	1.39106	0.91933	0.08067	0.22766	0.10664
1.24	1.69	6.38	261100	4.69	1.42843	0.94402	0.05598	0.16378	0.05634
Control	1.40000	6.42000	311000.00	5.02000	1.51580	1	0	0	0
79.23	2.50667	2.99667	38000.00	0.49000	0.44019	0.29039	0.69340	0.92230	0.90239
39.63	1.85667	3.53000	44966.67	1.67333	0.53918	0.35564	0.63787	0.89876	0.66667
19.82	1.48000	3.80000	62166.67	2.32000	0.71072	0.46888	0.53104	0.84065	0.53785
9.91	1.49667	4.40333	100333.33	2.90667	0.95010	0.62678	0.37315	0.71171	0.42098
4.95	1.41000	5.34667	186233.33	3.93667	1.25926	0.83076	0.16914	0.42151	0.21580
2.48	1.55000	5.97667	241900.00	4.42667	1.39010	0.91706	0.08288	0.23345	0.11819
1.24	1.54000	6.28000	260066.67	4.74000	1.42637	0.94106	0.05899	0.17207	0.05578

實驗毒物 :4-heptyn-3-ol

初始細胞密度
(cells/mL) :

15000

MCV (µm³) : 43.6

D (µm) : 4.214

Initial pH : 7.44

EDTA(%) : 0

T(°C) : 24

Test duration : 48-h

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO			IR	IR	IR
				mg/L	µspecific	µrelative	(growth rate)	(Biomass)	(DO)
Control	1.82	8.63	295800	6.81	1.49082	1	0	0	0
305.8	2.13	3.33	41500	1.2	0.50882	0.34130	0.65870	0.90563	0.82379
152.9	1.82	4.27	50500	2.45	0.60696	0.40713	0.59287	0.87358	0.64023
76.45	1.79	5.32	75400	3.53	0.80738	0.54157	0.45843	0.78490	0.48164
38.23	1.68	6.03	141100	4.35	1.12071	0.75174	0.24826	0.55093	0.36123
19.11	1.78	7.88	246200	6.1	1.39905	0.93844	0.06156	0.17664	0.10426
9.56	1.8	8.1	280400	6.3	1.46408	0.98207	0.01793	0.05484	0.07489
4.78	1.71	8.45	289200	6.74	1.47953	0.99243	0.00757	0.02350	0.01028
Control	1.99	7.99	298600	6	1.49553	1	0	0	0
305.8	2.27	3.52	35300	1.25	0.42792	0.28613	0.71387	0.92842	0.79167
152.9	1.86	3.99	39200	2.13	0.48031	0.32117	0.67883	0.91467	0.64500
76.45	1.66	4.76	48600	3.1	0.58779	0.39303	0.60697	0.88152	0.48333
38.23	1.64	6.28	190400	4.64	1.27054	0.84956	0.15044	0.38152	0.22667
19.11	1.69	7.44	236900	5.75	1.37979	0.92261	0.07739	0.21756	0.04167
9.56	1.77	8.05	286800	6.28	1.47537	0.98652	0.01348	0.04161	-0.04667
4.78	1.79	8.3	277000	6.51	1.45798	0.97490	0.02510	0.07616	-0.08500
Control	1.89	8.42	301200	6.53	1.49986	1	0	0	0
305.8	2.38	3.43	22500	1.05	0.20273	0.13517	0.86483	0.97379	0.83920
152.9	1.79	4.15	33100	2.36	0.39574	0.26385	0.73615	0.93676	0.63859
76.45	1.63	4.96	65800	3.33	0.73928	0.49290	0.50710	0.82250	0.49005
38.23	1.72	6.27	183200	4.55	1.25126	0.83425	0.16575	0.41230	0.30322
19.11	1.62	7.15	240300	5.53	1.38692	0.92470	0.07530	0.21279	0.15314
9.56	1.75	8.48	264700	6.73	1.43527	0.95694	0.04306	0.12753	-0.03063
4.78	1.77	8.64	301300	6.87	1.50003	1.00011	-0.00011	-0.00035	-0.05207
Control	1.90000	8.34667	298533.33	6.44667	1.49540	1	0	0	0
305.8	2.26000	3.42667	33100.00	1.16667	0.37982	0.25420	0.73536	0.93616	0.81903
152.9	1.82333	4.13667	40933.33	2.31333	0.49434	0.33072	0.66434	0.90854	0.64116
76.45	1.69333	5.01333	63266.67	3.32000	0.71148	0.47583	0.51876	0.82977	0.48501
38.23	1.68000	6.19333	171566.67	4.51333	1.21417	0.81185	0.18520	0.44780	0.29990
19.11	1.69667	7.49000	241133.33	5.79333	1.38859	0.92858	0.07140	0.20245	0.10134
9.56	1.77333	8.21000	277300.00	6.43667	1.45824	0.97517	0.02467	0.07489	0.00155
4.78	1.75667	8.46333	289166.67	6.70667	1.47918	0.98915	0.01066	0.03304	-0.04033

實驗毒物 :2-methyl-5-octyn-4-ol

初始細胞密度
(cells/mL) :

15000

MCV (µm³) : 42.3 D (µm) : 4.327 Initial pH : 7.48 EDTA(%) :0

T(°C) : 24.5 Test duration : 48-h

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO			IR (growth rate)	IR (Biomass)	IR (DO)
				mg/L	µspecific	µrelative			
Control	1.77	6.23	231100	4.46	1.36740	1	0	0	0
125.32	2.61	2.91	16700	0.3	0.05368	0.03926	0.96074	0.99213	0.93274
62.66	1.73	3.45	35000	1.72	0.42365	0.30982	0.69018	0.90745	0.61435
31.33	1.39	4.32	123200	2.93	1.05288	0.76999	0.23001	0.49931	0.34305
15.66	1.34	4.88	157100	3.54	1.17442	0.85887	0.14113	0.34243	0.20628
7.83	1.19	5.02	169800	3.83	1.21329	0.88729	0.11271	0.28366	0.14126
3.92	1.54	6.05	223300	4.51	1.35023	0.98745	0.01255	0.03609	-0.01121
1.96	1.72	6.21	239000	4.49	1.38421	1.01229	-0.01229	-0.03656	-0.00673
Control	1.62	6.15	236900	4.53	1.37979	1	0	0	0
125.32	2.59	2.81	17700	0.22	0.08276	0.05998	0.94002	0.98783	0.95143
62.66	1.77	3.55	36600	1.78	0.44600	0.32324	0.67676	0.90266	0.60706
31.33	1.38	4.21	101200	2.83	0.95452	0.69179	0.30821	0.61154	0.37528
15.66	1.49	4.75	145000	3.26	1.13434	0.82211	0.17789	0.41415	0.28035
7.83	1.33	5.35	171000	4.02	1.21681	0.88188	0.11812	0.29698	0.11258
3.92	1.37	6.15	233600	4.78	1.37278	0.99492	0.00508	0.01487	-0.05519
1.96	1.55	6.1	219300	4.55	1.34120	0.97203	0.02797	0.07932	-0.00442
Control	1.68	6.89	281300	5.21	1.46569	1	0	0	0
125.32	2.95	3.01	25100	0.06	0.25741	0.17562	0.82438	0.96207	0.98848
62.66	2.27	3.61	35200	1.34	0.42650	0.29099	0.70901	0.92415	0.74280
31.33	0.97	4.01	81400	3.04	0.84566	0.57697	0.42303	0.75066	0.41651
15.66	1.44	4.89	143400	3.45	1.12879	0.77015	0.22985	0.51784	0.33781
7.83	1.28	5.81	183300	4.53	1.25154	0.85389	0.14611	0.36801	0.13052
3.92	1.39	6.01	217200	4.62	1.33638	0.91178	0.08822	0.24071	0.11324
1.96	1.31	6.35	246400	5.04	1.39945	0.95481	0.04519	0.13106	0.03263
Control	1.69000	6.42333	249766.67	4.73333	1.40429	1	0	0	0
125.32	2.71667	2.91000	19833.33	0.19333	0.13128	0.09162	0.90069	0.97941	0.95915
62.66	1.92333	3.53667	35600.00	1.61333	0.43205	0.30802	0.69269	0.91225	0.65915
31.33	1.24667	4.18000	101933.33	2.93333	0.95102	0.67958	0.31865	0.62970	0.38028
15.66	1.42333	4.84000	148500.00	3.41667	1.14585	0.81704	0.18487	0.43135	0.27817
7.83	1.26667	5.39333	174700.00	4.12667	1.22721	0.87435	0.12710	0.31975	0.12817
3.92	1.43333	6.07000	224700.00	4.63667	1.35313	0.96471	0.03760	0.10677	0.02042
1.96	1.52667	6.22000	234900.00	4.69333	1.37495	0.97971	0.02182	0.06333	0.00845

實驗毒物 :5-methyl-1-hexyn-3-ol

初始細胞密度
(cells/mL):

15000

MCV (µm3) : 43.25 D (µm) : 4.148 Initial pH : 7.52 EDTA(%) : 0

T(°C) : 24 Test duration : 48-h

Conc	Initial DO	Final DO	Final cells	Delta DO			IR	IR	IR
mg/L	mg/L	mg/L	cells/ml	mg/L	µspecific	µrelative	(growth rate)	(Biomass)	(DO)
Control	1.56	9.24	284300	7.68	1.47099	1	0	0	0
56.67	2.07	2.32	34500	0.25	0.41645	0.28311	0.71689	0.92759	0.96745
18.89	1.53	2.67	38900	1.14	0.47647	0.32391	0.67609	0.91125	0.85156
6.3	1.39	5.76	113200	4.37	1.01055	0.68699	0.31301	0.63535	0.43099
2.1	1.26	6.78	168700	5.52	1.21004	0.82260	0.17740	0.42926	0.28125
0.7	1.46	7.32	215600	5.86	1.33269	0.90598	0.09402	0.25511	0.23698
0.23	1.65	7.89	234800	6.24	1.37534	0.93498	0.06502	0.18381	0.18750
0.08	1.62	8.54	269800	6.92	1.44482	0.98221	0.01779	0.05384	0.09896
Control	1.3	8.86	268400	7.56	1.44221	1	0	0	0
56.67	2.26	2.33	36500	0.07	0.44463	0.30830	0.69170	0.91515	0.99074
18.89	1.55	2.65	39700	1.1	0.48665	0.33743	0.66257	0.90253	0.85450
6.3	1.43	5.89	135700	4.46	1.10120	0.76355	0.23645	0.52368	0.41005
2.1	1.42	6.48	159800	5.06	1.18294	0.82022	0.17978	0.42857	0.33069
0.7	1.56	7.81	243200	6.25	1.39292	0.96582	0.03418	0.09945	0.17328
0.23	1.56	7.96	258900	6.4	1.42420	0.98751	0.01249	0.03749	0.15344
0.08	1.6	8.65	274600	7.05	1.45363	1.00792	-0.00792	-0.02447	0.06746
Control	1.55	8.9	284500	7.35	1.47134	1	0	0	0
56.67	2.38	2.67	34800	0.29	0.42078	0.28599	0.71401	0.92653	0.96054
18.89	1.59	2.78	41000	1.19	0.50276	0.34170	0.65830	0.90353	0.83810
6.3	1.46	5.58	128700	4.12	1.07472	0.73043	0.26957	0.57811	0.43946
2.1	1.49	6.55	178900	5.06	1.23939	0.84235	0.15765	0.39184	0.31156
0.7	1.6	7.68	215600	6.08	1.33269	0.90576	0.09424	0.25566	0.17279
0.23	1.57	7.72	219700	6.15	1.34211	0.91217	0.08783	0.24045	0.16327
0.08	1.55	8.88	254800	7.33	1.41621	0.96253	0.03747	0.11020	0.00272
Control	1.47000	9.00000	279066.67	7.53000	1.46152	1	0	0	0
56.67	2.23667	2.44000	35266.67	0.20333	0.42729	0.29247	0.70757	0.92325	0.97300
18.89	1.55667	2.70000	39866.67	1.14333	0.48863	0.33435	0.66563	0.90583	0.84816
6.3	1.42667	5.74333	125866.67	4.31667	1.06216	0.72699	0.27236	0.58016	0.42674
2.1	1.39000	6.60333	169133.33	5.21333	1.21079	0.82839	0.17129	0.41631	0.30766
0.7	1.54000	7.60333	224800.00	6.06333	1.35276	0.92585	0.07397	0.20550	0.19478
0.23	1.59333	7.85667	237800.00	6.26333	1.38055	0.94488	0.05474	0.15627	0.16822
0.08	1.59000	8.69000	266400.00	7.10000	1.43822	0.98422	0.01589	0.04797	0.05710

實驗毒物 :2-methyl-3-butyn-2-ol
 初始細胞密度 (cells/mL) : 15000
 MCV (μm³) : 40.64 D (μm) : 4.189 Initial pH : 7.49 EDTA(%) : 0

T(°C) : 24.5 Test duration : 48-h

Conc	Initial DO	Final DO	Final cells	Delta DO			IR	IR	IR
mg/L	mg/L	mg/L	cells/ml	mg/L	μspecific	μrelative	(growth rate)	(Biomass)	(DO)
Control	1.42	9.62	304700	8.2	1.50564	1	0	0	0
7646.36	2.37	4.2	37000	1.83	0.45143	0.29983	0.70017	0.92406	0.77683
3823.18	1.9	5.54	89700	3.64	0.89421	0.59391	0.40609	0.74215	0.55610
1911.59	1.61	6.84	115000	5.23	1.01844	0.67642	0.32358	0.65482	0.36220
955.8	1.59	7.77	168900	6.18	1.21063	0.80406	0.19594	0.46876	0.24634
477.9	1.67	9.26	288100	7.59	1.47763	0.98140	0.01860	0.05730	0.07439
238.95	1.64	9.55	307600	7.91	1.51038	1.00315	-0.00315	-0.01001	0.03537
119.47	1.39	10.01	309300	8.62	1.51313	1.00498	-0.00498	-0.01588	-0.05122
Control	1.19	9.77	303700	8.58	1.50400	1	0	0	0
7646.36	2.58	4.51	44600	1.93	0.54484	0.36226	0.63774	0.89747	0.77506
3823.18	1.84	5.77	87800	3.93	0.88351	0.58744	0.41256	0.74784	0.54196
1911.59	1.59	7.44	128000	5.85	1.07199	0.71276	0.28724	0.60859	0.31818
955.8	1.55	8.04	200000	6.49	1.29513	0.86113	0.13887	0.35920	0.24359
477.9	1.59	9.21	240300	7.62	1.38692	0.92216	0.07784	0.21961	0.11189
238.95	1.63	9.43	283700	7.8	1.46993	0.97735	0.02265	0.06928	0.09091
119.47	1.45	9.83	296500	8.38	1.49200	0.99202	0.00798	0.02494	0.02331
Control	1.29	9.45	318700	8.16	1.52810	1	0	0	0
7646.36	2.41	4.45	42000	2.04	0.51481	0.33690	0.66310	0.91110	0.75000
3823.18	1.91	5.47	87400	3.56	0.88122	0.57668	0.42332	0.76161	0.56373
1911.59	1.68	7.61	164100	5.93	1.19621	0.78281	0.21719	0.50905	0.27328
955.8	1.47	7.72	203400	6.25	1.30356	0.85306	0.14694	0.37965	0.23407
477.9	1.54	9.07	260900	7.53	1.42804	0.93452	0.06548	0.19032	0.07721
238.95	1.52	9.81	302000	8.29	1.50119	0.98239	0.01761	0.05499	-0.01593
119.47	1.64	9.84	292300	8.2	1.48487	0.97171	0.02829	0.08693	-0.00490
Control	1.30000	9.61333	309033.33	8.31333	1.51258	1	0	0	0
7646.36	2.45333	4.38667	41200.00	1.93333	0.50370	0.33300	0.66603	0.91089	0.76744
3823.18	1.88333	5.59333	88300.00	3.71000	0.88631	0.58601	0.41406	0.75071	0.55373
1911.59	1.62667	7.29667	135700.00	5.67000	1.09555	0.72400	0.27203	0.58950	0.31796
955.8	1.53667	7.84333	190766.67	6.30667	1.26977	0.83942	0.15945	0.40222	0.24138
477.9	1.60000	9.18000	263100.00	7.58000	1.43086	0.94603	0.05319	0.15622	0.08821
238.95	1.59667	9.59667	297766.67	8.00000	1.49383	0.98763	0.01228	0.03832	0.03769
119.47	1.49333	9.89333	299366.67	8.40000	1.49666	0.98957	0.01050	0.03288	-0.01043

實驗毒物 :3-methyl-1-pentyn-3-ol

初始細胞密度

(cells/mL) :

15000

MCV (µm³) : 41.14 D (µm) : 4.233 Initial pH : 7.46 EDTA(%) : 0

T(°C) : 24.5 Test duration : 48-h

Conc	Initial DO	Final DO	Final cells	Delta DO			IR	IR	IR
mg/L	mg/L	mg/L	cells/ml	mg/L	µspecific	µrelative	(growth rate)	(Biomass)	(DO)
Control	1.26	8.98	304500	7.72	1.50531	1	0	0	0
3939.65	2.21	3.29	23200	1.08	0.21805	0.14485	0.85515	0.97168	0.86010
1969.83	1.68	3.84	25800	2.16	0.27116	0.18014	0.81986	0.96269	0.72021
984.91	1.5	4.89	71700	3.39	0.78222	0.51964	0.48036	0.80415	0.56088
492.46	1.53	6.45	117100	4.92	1.02749	0.68258	0.31742	0.64732	0.36269
246.23	1.54	7.71	170800	6.17	1.21622	0.80795	0.19205	0.46183	0.20078
123.11	1.69	8.55	257300	6.86	1.42110	0.94406	0.05594	0.16304	0.11140
61.56	1.67	9.01	270000	7.34	1.44519	0.96006	0.03994	0.11917	0.04922
Control	0.95	9.02	282200	8.07	1.46728	1	0	0	0
3939.65	2.24	3.46	21500	1.22	0.18000	0.12268	0.87732	0.97567	0.84882
1969.83	1.77	3.55	23800	1.78	0.23082	0.15731	0.84269	0.96707	0.77943
984.91	1.45	4.84	75800	3.39	0.81002	0.55206	0.44794	0.77246	0.57993
492.46	1.4	7.17	108900	5.77	0.99119	0.67553	0.32447	0.64858	0.28501
246.23	1.38	7.77	173100	6.39	1.22291	0.83345	0.16655	0.40831	0.20818
123.11	1.46	9.03	273200	7.57	1.45108	0.98896	0.01104	0.03368	0.06196
61.56	1.76	9.22	283500	7.46	1.46958	1.00157	-0.00157	-0.00487	0.07559
Control	1.65	9.48	283100	7.83	1.46887	1	0	0	0
3939.65	2.36	3.41	23400	1.05	0.22234	0.15137	0.84863	0.96867	0.86590
1969.83	1.61	3.96	28400	2.35	0.31917	0.21729	0.78271	0.95002	0.69987
984.91	1.48	4.88	83700	3.4	0.85959	0.58521	0.41479	0.74375	0.56577
492.46	1.42	6.78	134400	5.36	1.09639	0.74641	0.25359	0.55464	0.31545
246.23	1.55	7.7	179700	6.15	1.24162	0.84529	0.15471	0.38568	0.21456
123.11	1.45	8.09	251700	6.64	1.41009	0.95998	0.04002	0.11712	0.15198
61.56	1.57	8.78	262000	7.21	1.43015	0.97363	0.02637	0.07870	0.07918
Control	1.28667	9.16000	289933.33	7.87333	1.48049	1	0	0	0
3939.65	2.27000	3.38667	22700.00	1.11667	0.20680	0.13963	0.86010	0.97199	0.85817
1969.83	1.68667	3.78333	26000.00	2.09667	0.27372	0.18491	0.81427	0.95999	0.73370
984.91	1.47667	4.87000	77066.67	3.39333	0.81728	0.55230	0.44739	0.77425	0.56901
492.46	1.45000	6.80000	120133.33	5.35000	1.03835	0.70151	0.29749	0.61760	0.32049
246.23	1.49000	7.72667	174533.33	6.23667	1.22692	0.82890	0.17137	0.41974	0.20787
123.11	1.53333	8.55667	260733.33	7.02333	1.42742	0.96433	0.03584	0.10621	0.10796
61.56	1.66667	9.00333	271833.33	7.33667	1.44830	0.97842	0.02177	0.06583	0.06816

實驗毒物 :1-ethynyl-1-cyclohexanol

初始細胞密度
(cells/mL) :

15000

D (μm) :
4.343

Initial pH : 7.48

EDTA(%) :0

MCV (μm³) : 42.84

T(°C) : 24

Test duration : 48-h

Conc	Initial DO	Final DO	Final cells	Delta DO			IR	IR	IR
mg/L	mg/L	mg/L	cells/ml	mg/L	μspecific	μrelative	(growth rate)	(Biomass)	(DO)
Control	1.21	7.28	283400	6.07	1.46940	1	0	0	0
772	1.98	2.87	27800	0.89	0.30849	0.20994	0.79006	0.95231	0.85338
386	1.54	3.54	57400	2	0.67100	0.45665	0.54335	0.84203	0.67051
193	1.35	4.01	98900	2.66	0.94303	0.64178	0.35822	0.68741	0.56178
96.5	1.64	4.87	138700	3.23	1.11213	0.75686	0.24314	0.53912	0.46787
48.25	1.48	5.35	164900	3.87	1.19864	0.81573	0.18427	0.44151	0.36244
24.13	1.35	6.47	210300	5.12	1.32024	0.89849	0.10151	0.27235	0.15651
12.06	1.47	7.18	257000	5.71	1.42051	0.96673	0.03327	0.09836	0.05931
Control	1.35	7.43	289700	6.08	1.48040	1	0	0	0
772	1.87	2.51	28900	0.64	0.32790	0.22149	0.77851	0.94940	0.89474
386	1.58	3.68	67400	2.1	0.75130	0.50750	0.49250	0.80925	0.65461
193	1.45	4.21	103400	2.76	0.96528	0.65204	0.34796	0.67819	0.54605
96.5	1.59	4.99	151000	3.4	1.15461	0.77994	0.22006	0.50491	0.44079
48.25	1.76	5.54	173500	3.78	1.22406	0.82685	0.17315	0.42301	0.37829
24.13	1.47	6.68	201400	5.21	1.29862	0.87721	0.12279	0.32144	0.14309
12.06	1.33	7.01	268100	5.68	1.44165	0.97383	0.02617	0.07863	0.06579
Control	1.47	7.54	264700	6.07	1.43527	1	0	0	0
772	2.01	2.47	31400	0.46	0.36938	0.25736	0.74264	0.93432	0.92422
386	1.68	3.48	61400	1.8	0.70468	0.49097	0.50903	0.81418	0.70346
193	1.48	4.21	89800	2.73	0.89477	0.62341	0.37659	0.70044	0.55025
96.5	1.58	4.74	121100	3.16	1.04428	0.72758	0.27242	0.57509	0.47941
48.25	1.41	5.15	147300	3.74	1.14221	0.79581	0.20419	0.47016	0.38386
24.13	1.54	6.68	193200	5.14	1.27784	0.89031	0.10969	0.28634	0.15321
12.06	1.45	7.43	257800	5.98	1.42207	0.99080	0.00920	0.02763	0.01483
Control	1.34333	7.41667	279266.67	6.07333	1.46169	1	0	0	0
772	1.95333	2.61667	29366.67	0.66333	0.33526	0.22960	0.77025	0.94564	0.89078
386	1.60000	3.56667	62066.67	1.96667	0.70899	0.48504	0.51433	0.82190	0.67618
193	1.42667	4.14333	97366.67	2.71667	0.93436	0.63908	0.36034	0.68832	0.55269
96.5	1.60333	4.86667	136933.33	3.26333	1.10368	0.75479	0.24372	0.53860	0.46268
48.25	1.55000	5.34667	161900.00	3.79667	1.18831	0.81280	0.18645	0.44412	0.37486
24.13	1.45333	6.61000	201633.33	5.15667	1.29890	0.88867	0.11139	0.29377	0.15093
12.06	1.41667	7.20667	260966.67	5.79000	1.42808	0.97712	0.02318	0.06925	0.04665

實驗毒物：

2,5-dimethyl-3-hexyne-2,5-diol

初始細胞密度(cells/mL)： 15000

MCV (µm³) : 42.89 D (µm) : 4.344 Initial pH : 7.54 EDTA(%) : 0
 T(°C) : 24 Test duration : 48-h

Conc	Initial DO	Final DO	Final cells	Delta DO			IR	IR	IR
mg/L	mg/L	mg/L	cells/ml	mg/L	µspecific	µrelative	(growth rate)	(Biomass)	(DO)
Control	1.43	6.61	268700	5.18	1.442773	1	0	0	0
1980	1.93	3.57	58700	1.64	0.682195	0.47284	0.52716	0.82775	0.68340
990	1.42	4.32	103200	2.9	0.964309	0.66837	0.33163	0.65235	0.44015
495	1.53	4.87	153400	3.34	1.162499	0.80574	0.19426	0.45447	0.35521
247.5	1.49	5.56	187600	4.07	1.263131	0.87549	0.12451	0.31967	0.21429
123.75	1.54	5.99	203200	4.45	1.303070	0.90317	0.09683	0.25818	0.14093
61.88	1.63	6.32	238900	4.69	1.383997	0.95926	0.04074	0.11746	0.09459
Control	1.56	6.87	264800	5.31	1.435462	1	0	0	0
1980	1.84	3.43	59200	1.59	0.686436	0.47820	0.52180	0.82306	0.70056
990	1.54	4.54	108900	3	0.991190	0.69050	0.30950	0.62410	0.43503
495	1.48	4.92	167800	3.44	1.207361	0.84110	0.15890	0.38831	0.35217
247.5	1.55	5.82	183200	4.27	1.251264	0.87168	0.12832	0.32666	0.19586
123.75	1.53	6.15	201400	4.62	1.298621	0.90467	0.09533	0.25380	0.12994
61.88	1.58	6.53	235700	4.95	1.377255	0.95945	0.04055	0.11649	0.06780
Control	1.35	6.68	274300	5.33	1.453086	1	0	0	0
1980	1.88	3.41	63200	1.53	0.719127	0.49490	0.50510	0.81411	0.71295
990	1.54	4.55	112100	3.01	1.005671	0.69209	0.30791	0.62553	0.43527
495	1.5	5.12	154400	3.62	1.165748	0.80226	0.19774	0.46240	0.32083
247.5	1.5	5.72	199900	4.22	1.294884	0.89113	0.10887	0.28693	0.20826
123.75	1.52	6.02	210100	4.5	1.319767	0.90825	0.09175	0.24759	0.15572
61.88	1.56	6.34	242100	4.78	1.390650	0.95703	0.04297	0.12418	0.10319
Control	1.4467	6.72000	269266.67	5.27333	1.443774	1	0	0	0
1980	1.8833	3.47000	60366.67	1.58667	0.695919	0.48198	0.51781	0.82158	0.69912
990	1.5000	4.47000	108066.67	2.97000	0.987057	0.68366	0.31616	0.63398	0.43679
495	1.5033	4.97000	158533.33	3.46667	1.178536	0.81636	0.18345	0.43550	0.34260
247.5	1.5133	5.70000	190233.33	4.18667	1.269760	0.87943	0.12032	0.31083	0.20607
123.75	1.5300	6.05333	204900.00	4.52333	1.307153	0.90536	0.09460	0.25315	0.14223
61.88	1.5900	6.39667	238900.00	4.80667	1.383968	0.95858	0.04144	0.11943	0.08850

實驗毒物 :3,5-dimethyl-1-hexyn-3-ol

初始細胞密度
(cells/mL) :

15000

MCV (μm³) : 43 Initial pH : 7.53 D (μm) : 4.213 EDTA(%) :0 T(°C) :24.5 Test duration :48-h

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO		μrelative	IR (growth rate)	IR (Biomass)	IR (DO)
				mg/L	μspecific				
Control	1.59	9.95	376400	8.36	1.61130	1	0	0	0
587.39	1.74	2.96	30300	1.22	0.35155	0.21818	0.78182	0.95766	0.85407
293.7	1.52	3.43	35800	1.91	0.43495	0.26994	0.73006	0.94245	0.77153
146.85	1.68	6.6	124300	4.92	1.05732	0.65619	0.34381	0.69757	0.41148
73.42	1.47	7.92	203200	6.45	1.30307	0.80871	0.19129	0.47925	0.22847
36.71	1.06	8.48	251300	7.42	1.40930	0.87463	0.12537	0.34615	0.11244
18.36	1.5	8.97	298100	7.47	1.49469	0.92763	0.07237	0.21666	0.10646
9.18	1.51	9.35	335800	7.84	1.55423	0.96458	0.03542	0.11234	0.06220
Control	1.58	10.09	345600	8.51	1.56862	1	0	0	0
587.39	2.03	3.04	33300	1.01	0.39875	0.25421	0.74579	0.94465	0.88132
293.7	1.5	3.71	43100	2.21	0.52774	0.33643	0.66357	0.91500	0.74031
146.85	1.48	5.96	93500	4.48	0.91496	0.58329	0.41671	0.76255	0.47356
73.42	1.35	7.21	158900	5.86	1.18011	0.75233	0.24767	0.56473	0.31140
36.71	1.43	7.98	198900	6.55	1.29238	0.82390	0.17610	0.44374	0.23032
18.36	1.58	8.51	257800	6.93	1.42207	0.90657	0.09343	0.26558	0.18566
9.18	1.59	9.68	331800	8.09	1.54824	0.98701	0.01299	0.04174	0.04935
Control	1.74	10.43	367800	8.69	1.59974	1	0	0	0
587.39	2.28	3.12	34500	0.84	0.41645	0.26033	0.73967	0.94473	0.90334
293.7	1.53	3.88	48900	2.35	0.59086	0.36935	0.63065	0.90391	0.72957
146.85	1.44	5.98	117900	4.54	1.03089	0.64441	0.35559	0.70833	0.47756
73.42	1.55	6.88	134800	5.33	1.09787	0.68628	0.31372	0.66043	0.38665
36.71	1.57	7.54	164700	5.97	1.19804	0.74889	0.25111	0.57568	0.31300
18.36	1.4	7.96	203500	6.56	1.30381	0.81501	0.18499	0.46570	0.24511
9.18	1.53	9.03	301500	7.5	1.50036	0.93787	0.06213	0.18793	0.13694
Control	1.63667	10.15667	363266.67	8.52000	1.59322	1	0	0	0
587.39	2.01667	3.04000	32700.00	1.02333	0.38892	0.24424	0.75547	0.94918	0.87989
293.7	1.51667	3.67333	42600.00	2.15667	0.51785	0.32524	0.67249	0.92075	0.74687
146.85	1.53333	6.18000	111900.00	4.64667	1.00106	0.62796	0.36947	0.72176	0.45462
73.42	1.45667	7.33667	165633.33	5.88000	1.19368	0.74910	0.24642	0.56748	0.30986
36.71	1.35333	8.00000	204966.67	6.64667	1.29990	0.81581	0.17957	0.45454	0.21987
18.36	1.49333	8.48000	253133.33	6.98667	1.40685	0.88307	0.11334	0.31623	0.17997
9.18	1.54333	9.35333	323033.33	7.81000	1.53428	0.96316	0.03683	0.11552	0.08333

實驗毒物 :2-phenyl-3-butyn-2-ol

初始細胞密度

(cells/mL) :

15000

MCV (µm³) : 42.13 D (µm) : 4.441 Initial pH : 7.48 EDTA(%) :0

T(°C) : 24 Test duration : 48-h

Conc	Initial DO	Final DO	Final cells	Delta DO			IR	IR	IR
mg/L	mg/L	mg/L	cells/ml	mg/L	µspecific	µrelative	(growth rate)	(Biomass)	(DO)
Control	1.88	9.4	289200	7.52	1.47953	1	0	0	0
781.61	2.2	2.57	30500	0.37	0.35484	0.23983	0.76017	0.94347	0.95080
390.8	1.69	2.81	38800	1.12	0.47519	0.32117	0.67883	0.91320	0.85106
195.4	1.4	3.48	65300	2.08	0.73547	0.49710	0.50290	0.81656	0.72340
97.7	1.51	6.88	204200	5.37	1.30552	0.88239	0.11761	0.30999	0.28590
48.85	1.37	7.93	225800	6.56	1.35580	0.91637	0.08363	0.23122	0.12766
24.43	1.58	8.78	237500	7.2	1.38106	0.93344	0.06656	0.18855	0.04255
12.21	1.41	9.21	262200	7.8	1.43053	0.96688	0.03312	0.09847	-0.03723
Control	1.53	9.35	283400	7.82	1.46940	1	0	0	0
781.61	2.41	2.89	25800	0.48	0.27116	0.18454	0.81546	0.95976	0.93862
390.8	1.79	3.01	35500	1.22	0.43074	0.29314	0.70686	0.92362	0.84399
195.4	1.5	3.48	67800	1.98	0.75426	0.51331	0.48669	0.80328	0.74680
97.7	1.59	7.25	204800	5.66	1.30699	0.88947	0.11053	0.29285	0.27621
48.85	1.58	8.1	235800	6.52	1.37747	0.93743	0.06257	0.17735	0.16624
24.43	1.77	8.96	255200	7.19	1.41700	0.96434	0.03566	0.10507	0.08056
12.21	1.44	9.63	263200	8.19	1.43243	0.97484	0.02516	0.07526	-0.04731
Control	1.86	9.31	281400	7.45	1.46586	1	0	0	0
781.61	2.49	2.76	23900	0.27	0.23291	0.15889	0.84111	0.96659	0.96376
390.8	1.92	2.89	36900	0.97	0.45008	0.30704	0.69296	0.91779	0.86980
195.4	1.56	3.54	70100	1.98	0.77094	0.52593	0.47407	0.79317	0.73423
97.7	1.48	7.14	199800	5.66	1.29463	0.88319	0.11681	0.30631	0.24027
48.85	1.44	7.89	232700	6.45	1.37085	0.93518	0.06482	0.18281	0.13423
24.43	1.6	8.63	244100	7.03	1.39476	0.95150	0.04850	0.14002	0.05638
12.21	1.74	9.66	259000	7.92	1.42439	0.97171	0.02829	0.08408	-0.06309
Control	1.75667	9.35333	284666.67	7.59667	1.47160	1	0	0	0
781.61	2.36667	2.74000	26733.33	0.37333	0.28630	0.19442	0.80367	0.95649	0.95086
390.8	1.80000	2.90333	37066.67	1.10333	0.45200	0.30712	0.69263	0.91817	0.85476
195.4	1.48667	3.50000	67733.33	2.01333	0.75355	0.51211	0.48780	0.80445	0.73497
97.7	1.52667	7.09000	202933.33	5.56333	1.30238	0.88502	0.11499	0.30309	0.26766
48.85	1.46333	7.97333	231433.33	6.51000	1.36804	0.92966	0.07034	0.19740	0.14305
24.43	1.65000	8.79000	245600.00	7.14000	1.39761	0.94976	0.05015	0.14487	0.06011
12.21	1.53000	9.50000	261466.67	7.97000	1.42912	0.97114	0.02888	0.08603	-0.04914

實驗毒物 :1,1-Diphenyl-2-Propyn-1-ol

初始細胞密度
(cells/mL) :

15000

MCV (μm³) : 43.41

D (μm) : 4.411

Initial pH :

7.58

EDTA(%) :0

T(°C) :

24

Test duration :

48-h

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μspecific	μrelative	IR (growth rate)	IR (Biomass)	IR (DO)
Control	1.43	6.91	276200	5.48	1.45654	1	0	0	0
63.67	1.64	2.15	34800	0.51	0.42078	0.28889	0.71111	0.92420	0.90693
31.84	1.38	2.89	57400	1.51	0.67100	0.46068	0.53932	0.83767	0.72445
15.92	1.35	3.56	98400	2.21	0.94050	0.64571	0.35429	0.68070	0.59672
7.96	1.47	4.43	142100	2.96	1.12424	0.77186	0.22814	0.51340	0.45985
3.98	1.51	5.35	173200	3.84	1.22320	0.83980	0.16020	0.39433	0.29927
1.99	1.47	5.88	221400	4.41	1.34596	0.92408	0.07592	0.20980	0.19526
0.99	1.46	6.48	251200	5.02	1.40910	0.96743	0.03257	0.09571	0.08394
Control	1.55	7.1	281300	5.55	1.46569	1	0	0	0
63.67	1.64	2.32	32300	0.68	0.38351	0.26166	0.73834	0.93504	0.87748
31.84	1.48	3.04	67400	1.56	0.75130	0.51259	0.48741	0.80323	0.71892
15.92	1.54	3.78	88700	2.24	0.88860	0.60627	0.39373	0.72324	0.59640
7.96	1.47	4.41	143200	2.94	1.12810	0.76967	0.23033	0.51859	0.47027
3.98	1.45	5.29	187300	3.84	1.26233	0.86126	0.13874	0.35299	0.30811
1.99	1.33	6.05	243200	4.72	1.39292	0.95035	0.04965	0.14307	0.14955
0.99	1.38	6.64	261400	5.26	1.42900	0.97497	0.02503	0.07473	0.05225
Control	1.44	7.03	264700	5.59	1.43527	1	0	0	0
63.67	1.69	2.33	34300	0.64	0.41355	0.28813	0.71187	0.92271	0.88551
31.84	1.51	2.95	65100	1.44	0.73394	0.51136	0.48864	0.79936	0.74240
15.92	1.48	3.88	89800	2.4	0.89477	0.62341	0.37659	0.70044	0.57066
7.96	1.48	4.54	134800	3.06	1.09787	0.76492	0.23508	0.52022	0.45259
3.98	1.34	5.24	164700	3.9	1.19804	0.83471	0.16529	0.40048	0.30233
1.99	1.41	5.96	213200	4.55	1.32709	0.92463	0.07537	0.20625	0.18605
0.99	1.42	6.58	248800	5.16	1.40430	0.97842	0.02158	0.06368	0.07692
Control	1.47333	7.01333	274066.67	5.54000	1.45250	1	0	0	0
63.67	1.65667	2.26667	33800.00	0.61000	0.40595	0.27956	0.72037	0.92743	0.88989
31.84	1.45667	2.96000	63300.00	1.50333	0.71874	0.49488	0.50441	0.81356	0.72864
15.92	1.45667	3.74000	92300.00	2.28333	0.90796	0.62513	0.37460	0.70162	0.58785
7.96	1.47333	4.46000	140033.33	2.98667	1.11674	0.76882	0.23112	0.51737	0.46089
3.98	1.43333	5.29333	175066.67	3.86000	1.22786	0.84526	0.15427	0.38214	0.30325
1.99	1.40333	5.96333	225933.33	4.56000	1.35532	0.93302	0.06648	0.18580	0.17690
0.99	1.42000	6.56667	253800.00	5.14667	1.41413	0.97361	0.02644	0.07823	0.07100

實驗毒物 :3,4-dimethyl-1-pentyn-3-ol

初始細胞密度(cells/mL) :

15000

MCV (μm³) : 44.5

D (μm) : 4.428

Initial pH :

7.47

EDTA(%) : 0

T(°C) : 24.5

Test duration : 48-h

Conc	Initial DO	Final DO	Final cells	Delta DO			IR	IR	IR
mg/L	mg/L	mg/L	cells/ml	mg/L	μspecific	μrelative	(growth rate)	(Biomass)	(DO)
Control	1.86	7.8	268200	5.94	1.44184	1	0	0	0
629.59	2.28	3.06	43100	0.78	0.52774	0.36602	0.63398	0.88902	0.86869
314.8	2.02	3.95	87800	1.93	0.88351	0.61276	0.38724	0.71248	0.67508
157.4	1.62	4.78	118700	3.16	1.03427	0.71733	0.28267	0.59044	0.46801
78.7	1.69	5.58	165800	3.89	1.20137	0.83322	0.16678	0.40442	0.34512
39.35	2.03	6.23	184700	4.2	1.25534	0.87065	0.12935	0.32978	0.29293
19.67	1.94	6.95	210500	5.01	1.32072	0.91599	0.08401	0.22788	0.15657
9.84	1.77	7.01	239800	5.24	1.38588	0.96119	0.03881	0.11216	0.11785
Control	1.45	7.68	284000	6.23	1.47046	1	0	0	0
629.59	2.36	3.23	45700	0.87	0.55702	0.37881	0.62119	0.88587	0.86035
314.8	1.7	4.08	67800	2.38	0.75426	0.51294	0.48706	0.80372	0.61798
157.4	1.72	4.98	99400	3.26	0.94555	0.64303	0.35697	0.68625	0.47673
78.7	1.67	5.84	154300	4.17	1.16542	0.79256	0.20744	0.48216	0.33066
39.35	1.73	6.21	193200	4.48	1.27784	0.86900	0.13100	0.33755	0.28090
19.67	2	6.89	225800	4.89	1.35580	0.92202	0.07798	0.21636	0.21509
9.84	1.93	7.23	258400	5.3	1.42323	0.96788	0.03212	0.09517	0.14928
Control	1.23	7.96	281700	6.73	1.46640	1	0	0	0
629.59	2.73	3.54	41200	0.81	0.50519	0.34451	0.65549	0.90176	0.87964
314.8	1.79	4.44	74200	2.65	0.79936	0.54512	0.45488	0.77803	0.60624
157.4	1.79	5.23	103000	3.44	0.96334	0.65694	0.34306	0.67004	0.48886
78.7	1.91	5.66	168900	3.75	1.21063	0.82558	0.17442	0.42295	0.44279
39.35	1.65	6.66	213200	5.01	1.32709	0.90500	0.09500	0.25684	0.25557
19.67	1.99	7.05	234700	5.06	1.37513	0.93776	0.06224	0.17623	0.24814
9.84	1.8	7.35	247200	5.55	1.40107	0.95545	0.04455	0.12936	0.17533
Control	1.51333	7.81333	277966.67	6.30000	1.45957	1	0	0	0
629.59	2.45667	3.27667	43333.33	0.82000	0.52998	0.36311	0.63662	0.89226	0.86984
314.8	1.83667	4.15667	76600.00	2.32000	0.81237	0.55694	0.44149	0.76575	0.63175
157.4	1.71000	4.99667	107033.33	3.28667	0.98105	0.67243	0.32690	0.65002	0.47831
78.7	1.75667	5.69333	163000.00	3.93667	1.19247	0.81712	0.18283	0.43719	0.37513
39.35	1.80333	6.36667	197033.33	4.56333	1.28676	0.88155	0.11787	0.30777	0.27566
19.67	1.97667	6.96333	223666.67	4.98667	1.35055	0.92526	0.07445	0.20649	0.20847
9.84	1.83333	7.19667	248466.67	5.36333	1.40339	0.96151	0.03843	0.11218	0.14868