

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
反應性與麻醉性有機物之混合毒性研究

The Study Of Combined Toxic Effects of Reactive and Polar
Narcosis Toxicants Using A Close-System Algae Test

研究生：李介華

指導教授：陳重元 教授

中華民國九十八年十二月

以密閉式藻類毒性試驗方法評估反應性與麻醉性有機物之混合毒性研究

學生：李介華

指導教授：陳重元

摘 要

本研究以連續式培養批次式試驗來針對氯酚類與醛類進行密閉式藻類混合毒性試驗藉以評估混合毒性效應，並利用本研究群所採用的混合預測模式來進行預測與比較，更進一步的利用 Isobologram 針對不符合的試驗加以討論。

進行混合毒性試驗時，以 ΔDO 之 EC_{50} 值為依據進行 1:1 的毒性單位比之混合毒性試驗，各個反應終點 EC_{50} 的不同 Final yield 及 Growth rate 的毒性單位比則不為 1:1。實驗結果發現，在 ΔDO 此反應終點之 15 組混合毒性試驗有 11 組符合模式預測，符合比例高達 73.3%；而在 Final yield 及 Growth rate 由於其毒性單位比相差過大，以致於與模式較不符合。但在此兩反應終點由於其相對斜率較大，因此出現拮抗或相加的機率有大幅提升的現象，顯示本研究所考慮的單一劑量反應曲線的斜率之重要性。此外，在物種比較之下亦發現月芽藻的預測能力來的比 Microtox 高出許多。

針對不符合的試驗進行 HPLC 的分析，可發現到 3-Hydroxybenzaldehyde 在 1.3 秒時有出現新的物質，在與個別單一毒物進行分析的結果比較發現，當含有營養基值時會有此一反應，無營養基值則否，再經過一些試驗結果發現此為一耗氧反應；交互作用主要討論兩毒性化學物質間的作用，但在分析結果發現並非如此，因此可預想其為更複雜的情況以致於實驗結果與模式不符合，使的本研究所評估之毒性化學物質的混合毒性效應時會更為複雜。

The Study Of Combined Toxic Effects of Reactive and Polar Narcosis Toxicants Using A Close-System Algae Test

Student : Jie-Hua Li

Adviser : Chung-Yuan Chen

Abstract

This study is using a close-system algae toxic tests to evaluate the toxicity of chlorophenols and aldehydes combined effects. By using RA model to make predictions and comparison. Furthermore, using the Isobologram discusses the data which do not tally anticipated .

Mixture toxicity tests using 1:1 mixture of toxic units which are according to the ΔDO and the EC_{50} value. Because the end point of EC_{50} was different to Final yield and Growth rate, so the toxic units was not 1:1 for both of them. The results found out that there are 11 tests fit the model predictions from 15 mixture toxicity tests which is base on the end point of ΔDO ,and the proportion was as high as 73.3%;but toxic units of final yield and growth rate differ too large, can not follow the predictions . However, because the slope of final yield and growth rate are relatively large, it enhanced the chances of antagonistic or additive. In addition, comparison of species showed that *R.subcapitata* had a higher predictive ability than Microtox.

For the unfitting tests, by using HPLC analysis found out that 3-Hydroxybenzaldehyde at 1.3 seconds emergences new substances. Comparing with single individual comparison found that when the base contains the nutritional value would show this one response, non-nutrient-based values were not. After some testing and found this as an oxygen reaction. This study should focused on the interaction between two chemical substances

toxic effect, but in this case the result of HPLC analysis was not follow. so that in this study assessed the toxic mix of chemical substances toxic effects will be more complex.



誌 謝

感謝陳重元教授在這兩年半的時間不間斷的指導與教誨，也多虧有老師的訓練才能讓我順利完成碩士論文，並感謝口試期間趙木榮教授、林志高教授及高正忠教授給予寶貴的建議，使得本論文能夠更加的完善嚴謹。

在這兩年半的時間，感謝學姐詔棻及學長冠良、哲偉、俊竹，謝謝你們的指導與順練，還有謝謝我的同學欣好、百珊在實驗上給予我極大的幫忙，最後特別感謝學弟們聖然、思宏、家翔和學妹心渝、庭宇、萱芳，謝謝你們送我一件強運外套，讓我順順利利的完成最後的實驗，讓我半夜還不會覺得很冷，還有人可以一起陪伴；還有特別感謝文彬、至誠、聖傑各位學長給我的心理建設及實驗上的幫助。

最後感謝我的老爸一路上的支持，在我做任何決定時總是放心的讓我去完成每一件事，以及我的奶奶對我的關愛及照顧，還有我水妞二姐雅雯、叉燒包小佑、爆帥、俊良及兄弟阿彥、勁鈞、明孝，謝謝大家一直督促我，有你們這群好友真是棒呆了。

目 錄

第一章 前言

1.1 研究緣起.....	1
1.2 研究目的.....	2

第二章 文獻回顧

2.1 常用之試驗物種.....	3
2.2 藻類毒性試驗.....	5
2.2.1 試驗物種和優點.....	5
2.2.2 藻類計數方法.....	7
2.2.3 藻類毒性試驗標準方法.....	8
2.2.4 連續式培養與密閉式毒性試驗.....	8
2.2.5 實驗參數控制與意義.....	12
2.2.6 觀測終點(end point)量測.....	16
2.3 毒性化學物質	
2.3.1 毒性物質-氯酚類	17
2.3.2 氯酚類有機物之應用.....	19
2.2.3 毒性物質-醛類.....	19

2.4 單一毒性	
2.4.1 有機物毒性作用機制.....	20
2.5 混合毒性	
2.5.1 非交互作用及交互作用.....	23
2.5.2 Isobologram.....	25
2.5.3 非反應性與非反應有機物的混合毒性.....	26
2.5.4 混合毒性之探討.....	27
第三章 基本理論	
3.1 有機物質之毒性機制	
3.1.1 反應性毒物之反應機制.....	29
3.1.2 非反應性毒物之反應機制.....	29
3.2 單一毒性模式(Probit model)	30
3.3 混合毒性理論	
3.3.1 非交互作用之混合毒性理論.....	31
3.3.2 混合毒性效應與 ρ 、 λ 的關係.....	34
3.4 混合毒性指標.....	35
3.5 Isobologram.....	36
第四章 實驗設備與方法	
4.1 實驗設備.....	38

4.2 實驗藥品.....	39
4.3 試驗藻種.....	40
4.4 培養基質配製.....	41
4.5 實驗前準備	
4.5.1 玻璃器皿.....	41
4.5.2 盤面光度之調整.....	43
4.5.3 ISOTON II 之配製.....	44
4.5.4 藻類之培養及保存.....	44
4.6 實驗條件之控制.....	45
4.7 毒物配置	
4.7.1 氯酚類有機毒物.....	45
4.7.2 醛類有機毒物.....	46
4.8 儀器之操作原理	
4.8.1 電子顆粒計數器及其操作原理.....	46
4.8.2 溶氧測定儀之校正.....	48
4.8.3 總有機碳分析儀(TOC)	48

4.9 實驗步驟	
4.9.1 連續式母槽之培養.....	49
4.9.2 批次式藻類毒性試驗.....	52
4.9.3 混合毒性試驗.....	55
4.10 實驗之品保及品管(QA/QC)	
4.10.1 藻類生長之監測.....	56
4.10.2 實驗設備定期檢查.....	56
第五章 結果與討論	
5.1 單一毒性結果.....	58
5.2 混合毒性試驗結果	
5.2.1 毒性單位之探討.....	65
5.2.2 物種比較.....	71
5.2.3 混合模式推估.....	73
5.3 化學分析.....	80
第六章 結論與建議	
6.1 結論.....	90
6.2 建議.....	91
Reference.....	92



附錄一 單一毒性數據.....	100
附錄二 混合毒性數據.....	107
附錄三 HPLC 之校正曲線.....	164



表目錄

表 2.3.1 Physicochemical properties of chlorophenol.....	18
表 2.5.1.1 四種不同的共同效應.....	25
表 2.5.1.2 常見的混合毒性名詞.....	25
表 2.5.3 四種常見的混合毒性效應及判斷指標.....	26
表 3.3.2.1 Definitions of basic modes of action.....	34
表 4.2.1 有機化學物質之物化特性(1).....	40
表 4.1.2 有機化學物質之物化特性(2).....	40
表 4.4.1 藻類營養鹽基值之巨量營養組成份.....	42
表 4.4.2 藻類營養基值之微量元素組成份.....	43
表 4.7.1 The water solubility of chlorophenols.....	46
表 4.8.1 電子計數器設定之條件.....	47
表 4.8.3.1 總有機碳分析儀之設定參數.....	48
表 5.1.1 本實驗之有機毒物.....	58
表 5.1.2 單一毒性試驗之 EC_{50} 值.....	59
表 5.1.3 <i>R.subcapitat</i> (by biomass)與其他物種之 EC_{50} 值.....	60
表 5.1.4 實驗毒物各個反應終點之斜率.....	64
表 5.2.1.1 醛類與氯酚類以 ΔDO 為反應終點之混合毒性(1 : 1).....	66
表 5.2.1.2 混合結果總數.....	68
表 5.2.1.3 醛類與氯酚類以 Biomass 為反應終點之混合毒性.....	69
表 5.2.1.4 醛類與氯酚類以 Growth rate 為反應終點之混合毒性.....	70
表 5.2.2.1 <i>R.subcapitat</i> 與 Microtox 之預測能力比較.....	71
表 5.2.2.2 <i>R.subcapitat</i> 以 ΔDO 為反應終點與 Microtox 之混合毒性比較	

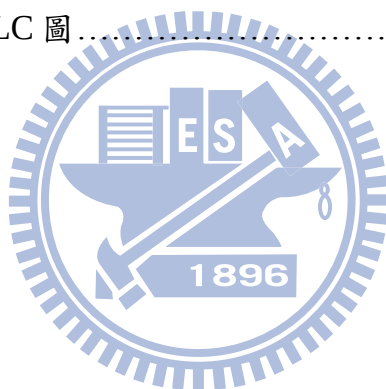
(TU=1 : 1).....	72
表 5.2.3.1 以 ΔDO 為反應終點之混合模式推估.....	74
表 5.2.3.2 不同預測模式之預測能力(ΔDO).....	75
表 5.2.3.3 不同預測模式之預測能力總整理.....	75
表 5.2.3.4 混合試驗之模式參數.....	77
表 5.3.1 HPLC 分析結果整理.....	88
表 5.3.2 溶氧試驗.....	89



圖目錄

圖 2.2.1 <i>Raphidocelis subcapitata</i> 圖鑑.....	6
圖 2.2.4 碳酸鹽系統與光合作用之 pH 恆定方式.....	12
圖 2.3.2 The structure of chlorophenol.....	18
圖 2.4.1 有機毒物之分類.....	20
圖 3.1 不同斜率的劑量反應關係.....	30
圖 3.3.2.1 The action mode of response.....	35
圖 3.5 Isobologram 示意圖.....	37
圖 4.9.1 The flow chart in close-system algal toxicity test.....	51
圖 4.9.2.1 The diffuser system of deion-water.....	52
圖 4.9.2.2 藻類毒性試驗流程圖.....	54
圖 5.1.1 2-Chlorophenol 之劑量反應曲線圖.....	61
圖 5.1.2 4-Chlorophenol 之劑量反應曲線圖.....	61
圖 5.1.3 2,3-Dichlorophenol 之劑量反應曲線圖.....	62
圖 5.1.4 2,4-Dichlorophenol 之劑量反應曲線圖.....	62
圖 5.1.5 2,4,6-Trichlorophenol 之劑量反應曲線圖.....	63
圖 5.1.6 Glutardialdehyde 之劑量反應曲線圖.....	63
圖 5.1.7 Propionaldehyde 之劑量反應曲線圖.....	64
圖 5.1.8 3-Hydroxybenzaldehyde 之劑量反應曲線圖.....	64
圖 5.2.3.1 2-CP+3-Hydroxybenzaldehyde 之 Isobologram(Δ DO).....	77
圖 5.2.3.2 2-CP+3-Hydroxybenzaldehyde 之 Isobologram(Biomass).....	78
圖 5.2.3.3 2-CP+3-Hydroxybenzaldehyde 之 Isobologram(Growth rate).....	78
圖 5.2.3.4 2-CP + Propionaldehyde 之 Isobologram(Δ DO).....	79
圖 5.2.3.5 2-CP + Propionaldehyde 之 Isobologram(Biomass).....	79
圖 5.2.3.6 2-CP + Propionaldehyde 之 Isobologram(Growth rate).....	80

圖 5.3.1 2,3-DP+3-Hydroxybenzaldehyde (no medium)之 HPLC 圖	83
圖 5.3.2 2,3-DP+3-Hydroxybenzaldehyde (medium)之 HPLC 圖	83
圖 5.3.3 2,4-DP+3-Hydroxybenzaldehyde (no medium)之 HPLC 圖	84
圖 5.3.4 2,4-DP+3-Hydroxybenzaldehyde (no medium)之 HPLC 圖	84
圖 5.3.5 2,3-Dichlorophenol (medium)之 HPLC 圖	85
圖 5.3.6 2,3-Dichlorophenol (no medium)之 HPLC 圖	85
圖 5.3.7 2,3-Dichlorophenol (medium)之 HPLC 圖	86
圖 5.3.8 2,4-Dichlorophenol (no medium)之 HPLC 圖	86
圖 5.3.9 3-Hydroxybenzaldehyde (medium)之 HPLC 圖	87
圖 5.3.10 3-Hydroxybenzaldehyde (no medium)之 HPLC 圖	87
圖 5.3.11 Medium 之 HPLC 圖	88



第一章 前言

1.1 研究緣起

環境中的有機汙染物，包含腐植性物質、殺蟲劑、酚類…等等，都是很廣泛的分布在環境中。而不同的化學汙染物會降解、分離成眾多不一樣的衍生物，如木質素(lignins)會降解成為 vanillic acid、p-hydroxybenzyl-cinnamic、vanillin...等等多種化學有機物質，而在這些有機化學物質當中，幾個主要有機物在環境中佔有非常重要的地位。

為了使產業的生產能力大增，殺蟲劑及化學物質的應用更加的廣泛，如：殺蟲劑的製造、染料工業、製藥廠及紙漿工業，在得到我們所預期的產物之間，常常會有許多副產物的發生，如：酚類或接有取代基的酚類。而當我們使用這些產物，將這些產物釋放至環境當中時，往往會因為生物的降解作用或是化學物質本身的衰退進而產生一些我們不可預期的有機毒物，如：農業上廣泛使用的有機磷殺蟲劑，其主要降解的產物為氯酚及硝基酚，而這些物質在過去研究發現，其對人體或是水體生物具有相當高的毒性，因此，這些化學物質若經由地表逕流沖刷到水體環境時或者是進入食物鏈當中，將會造成非常大的生物危害。

在毒性評估來說，實際環境會以慢毒性的試驗結果來評估其進入水體所造成的影響，但慢毒性試驗的測試時間長達半年至一年，在實際應用上是不符合效率的，因此，一些國際環境組織，如 USEPA、ISO、ASTM、OECD 皆有一系列急毒性試驗的規範，主要是讓我們能夠在最短時間內了解毒化物對生物體所造成的毒性危害，並且讓我們得以加速對這些毒化物加以管制防範。

水體生態中，藻類為食物鏈的最底層之生產者，因此排放到水體中的毒化物對其產生危害時，間接的會連帶影響上層的消費者，如 微生物、

浮游生物、魚類…等等，甚至有可能經由一些生物作用，如 生物濃縮作用、生物放大作用、生物累積作用進而影響到國民的健康。由此可知，藻類在水體環境中是扮演著重要的角色。因此，本實驗採用的物種亦是屬於最底層的生產者 - 月芽藻(*Pseudokirchneriella subcapitata*; previously named *Raphidocelis subcapitata* and *Selenastrum capricornutum*)，此物種實驗方法快速簡單、所花費的經費便宜、敏感度皆高於其他物種，且生命週期短能夠快速地繁衍，試驗期間內幼年期或老年期對毒性物質的敏感度差異也較小，因此非常適合作為評估毒性化學物質的試驗物種。故本研究將以月芽藻為試驗物種進行一連串對單一毒物氯酚類、醛類以及氯酚與醛類的混合毒性試驗。

另外，由於氯酚類、醛類皆具有高揮發性的特點，因此使用傳統的開放式或密閉式但具有 headspace 是不適合的，本實驗將採用完全密閉式(沒有 headspace)藻類毒性試驗系統來進行藻類毒性試驗，在實驗過程中可以減少毒性物質揮發造成水體濃度降低，以避免對實驗品質造成影響。

1.2 研究目的

- (1)利用連續培養批次實驗的方式，藉由 BOD 瓶進行 48 小時的藻類毒性試驗，以溶氧變化量、最終細胞數變化量、比生長率作為毒性試驗終點，再以 Probit 推算出氯酚與醛類之 EC_{50} 值，可建立出更完善的毒性資料。
- (2)利用氯酚類與醛類之 EC_{50} 進行混合毒性試驗，並利用 Chen.所建立的混合預測模式(Multox)對其斜率的大小進行混合毒性效應之預測，預測結果將與實驗結果進行比較。
- (3)實驗結果將與本研究群所用另外一個物種(Microtox)進行混合毒性效應之比較。

第二章 文獻回顧

2.1 常用之試驗物種

環境中的污染物會隨著時間與空間的變化，而以不同的形式存在環境中，這些千變萬化的污染物與環境獲生物體所產生錯綜複雜的作用若單單只利用化學分析來評估，並不能完完全全表達這些污染物對環境或生物體所造成的危害。生物的敏感性相當高，其所能感受到化學污染物的計量遠比儀器低很多，因此，若能直接觀察到污染物對生物體所產生的影響，將可以使我們更能了解污染物的危害程度。而在過去研究當中，利用生物測試污染物毒性的方法有很多，包含有植物性浮游生物、動物性浮游生物、珊瑚、甲殼類、無脊椎動物、水體昆蟲及軟體動物等，而在文獻上被廣泛使用之物種如下：

(1) 魚類

魚類是過去幾年來最常被作為水體環境及毒性測試的物種，其種類繁多，包括：Guppy (*Poecilia reticulata*) (Bradbury,1995)、Rainbow trout (Tao et al.,2002)和 Fathead minnow (*Pimephales promelas*) (Russom et al.,1997)，其中以 Fathead minnow^[3]流經急毒性的測試 (flow-through *Pimephales* acute toxicity)，96h-LC₅₀ 使用最為廣泛，為美國環保署所使用的標準方法之一。

(2) Microtox

Microtox 是 1980 年由 Beckman 公司所發展出來的測試方法，其利用 *Vibrio fischeri* (*Photobacterium phosphoreum*) 會行生物發光的特性，當此發光菌受到毒性物質影響時，其發光能力會受到抑制並減弱，利用在特定時間內發光程度減為一半時的抑制濃度作為判斷化合物毒性的依據(sixt et al.,1995)，而此方法會被廣泛適用之原因主要再於其反應時間快，一組實

驗在 15~30 分鐘即可完成，且其敏感性非常高，但為宜的缺點在於試驗上較為昂貴，此種方法常被廣泛用在沉積物毒性分析上。

(3) 纖毛蟲 (Ciliate)

纖毛蟲(*Tetrahymena pyriformis*)是一種單細胞原生動物，常用於水體環境的毒性測試，在過去研究中，常用 IC_{50} (50% Inhibitory Growth Concentration) 為水體毒性評估之指標。Mekapati and Hansch (2002) 曾利用纖毛蟲在三至四小時之內，即完成了毒性試驗。Schultz 等其他的研究群曾建立以纖毛蟲為測試物種的資料庫，其資料庫稱之為「TETRATOX」。

(4) 水蚤 (Water flea)

水蚤(*Daphnia magna*)常被利用為靜水式生物毒性試驗方法的物種之一，以四十八小時之半致死濃度(LC_{50})來檢測水體中污染物之急毒性程度。Ramos et al.(2002)發現，當水蚤與其他測試物種，包含藻類、兩棲類、環節動物、軟體動物…等，經過比較其資料庫後發現水蚤對苯胺類的敏感性均高於其他測試物種。Kaiser et al.(1991)^[2]的實驗結果也發現，水蚤類亦為敏感度高的測試物種。

(5) 植物與藻類

植物較適用於土壤環境及空氣中的毒性偵測，由於其生長速率及分佈的局限，所需的觀測時間相對的較長，大多數應用於長期毒性的監測。而藻類對於水體中污染物的毒性則相當敏感，常用來作為水體環境及毒性偵測的生物指標。方法為利用偵測葉綠素螢光方式來獲得 EC_{50} 或者利用其生長速率、光合作用生產氧氣的比率來求得半抑制濃度(EC_{50})，藉以評估水中污染物之毒性(Bringmami and Kuchn,1980)。Yen et al.(2002)以 chlorella(*Chlorella vulgaris*)、daphnia(*Daphnia pulex*)、carp(*Cyprinus pulex*) 和 tilapia(*Tilapia zilli*)對多種有機物進行毒性測試，發現綠藻 chlorella 對於氯酚類、鹵烷類和 Quinone 類的有積物，其敏感性皆高於其他三種測試物種。

而在現今各標準行生物毒性試驗方法中，雖然所用的試驗物種眾多，但以經濟合作暨發展組織（Organization for Economic Cooperation and Development, OECD）、美國測試暨材料學會（American Society for Testing and Materials, ASTM）、美國環保署（U.S. Environmental Protection Agency, U.S. EPA）、美國公共健康協會（American Public Health Association APHA）、美國自來水工程協會（American Water Works Association, AWWA）和水環境聯盟（Water Environment Federation, WEF）等六組織中所提的標準方法中仍建議以微小藻類作為試驗物種為最佳^[1]。

2.2 藻類毒性試驗

2.2.1 試驗物種和優點

本實驗所採用的試驗藻種為月芽藻 (*Raphidocelis subcapitata*, *Selenastrum capricornutum* or *Pseudokirchneriella subcapitata*) Strains UTEX 1648，為2007年12月份向The Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin (<http://www.bio.utexas.edu/research/utex/>) 所購得。*Raphidocelis subcapitata*是屬於綠藻綱（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40-60 μm^3 。一典型的 *Raphidocelis subcapitata* 體積約為45 μm^3 且重量介於10至20 pg/cell之間^[6]，因為體型呈半月型^[7]，所以稱為月芽藻。*Raphidocelis subcapitata*具備有取得容易、培養簡單、容易觀察、生長期短、可以大量生長、具有地區代表性等實驗用的藻種需具有的特點，並較其它微生物試驗來的敏感^[8]，圖2.2.1為典型月芽藻。

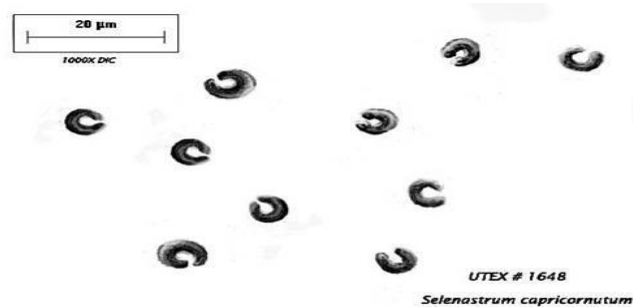


圖 2.2.1 *Raphidocelis subcapitata* 圖鑑

此外，當生長環境中缺少營養鹽或是溫度、光線、pH 等環境條件不佳時，藻體會逐漸呈現很明顯的黃綠色，因此當我們在實驗室培養的過程中，由外觀上可以容易的去判斷。若是以顯微鏡觀察其外型，則可發現其細胞外觀變得較為肥厚，半月型彎曲度也逐漸變小。以顆粒計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。在水體毒性評估試驗中，藻類會被廣泛拿來作為水體毒性評估，主要是由於以下幾種優點：

(1)因為藻類為生態系統中最低階之生產者之一，屬於食物鏈最下層，當藻類受到危害而死亡時會間接影響整個食物鏈的平衡，導致對環境生態的危害。而在食物鏈過程中亦會有生物濃縮作用(Bioconcentration)等生物作用，這些生物作用將會造成其他高階消費者體內存在著較高濃度的毒性物質^[4]。

(2)在毒性試驗過程當中，藻類生長可分為四個階段，分別為：遲滯期(Lag phase)、對數生長期(Exponential phase)、穩定期(Stationary phase)、死亡期(Death phase)。因為藻類的生命週期短，幾天之內即可完成一次的生命週期，故試驗時間雖短，卻已歷經數個生命週期，兼具著急毒和慢毒性的特色，且試驗期間較不會受幼年期或衰老期的影響。在良好的培養下，可以迅速的讓藻類達到對數生長期和穩定期，並持續一段時間，如此一來

有利於實驗的進行，另外在測試物種需求上可以短時間內培養出狀況良好的藻類以供實驗之用，且其培養成本相對於其他測試物種都要來的低，在進行毒性測試時可以選擇狀況較佳的藻類來進行實驗，以減少藻類狀況影響毒性試驗結果的問題發生。

(3)以藻類來進行毒性試驗，因為藻類細胞構造簡單，在毒性敏感度上會比其他試驗物種來的高，且不易因生物體內基因多樣性，而造成實驗結果再現性不佳的問題。尤其在密閉式藻類毒性試驗當中^[9]，當反應終點為 ΔDO 、Biomass 及 Growth rate 時，三者的變異係數(Coefficients of variation;CV)約為 10%，而傳統的藻類毒性試驗屬於開放性試驗，其藻類毒性試驗之 CV 值為 20~30%，由此可發現，密閉式藻類毒性試驗具有更高的再現性。

2.2.2 藻類計數方法

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。一般說明藻類生長情況之參數為細胞密度、細胞總體積、乾重、葉綠素、活體內螢光值、營養基濁度、產氣量、ATP 及 DNA 等。目前測量藻類生長質量之方法有下列幾種: (1)顯微鏡計數法(2)電子顆粒計數法(3)直接乾重量測法(4)光學顆粒計數法(5)分光光度計測量葉綠素 A 法(6)螢光光度計測量葉綠素 A 法(7)DNA 測定法(8)ATP 測定法(9)¹⁴C 輻射標定法(10)溶氧測定法^[10]等。

一般藻類毒性試驗之標準方法，例如 U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency)、OECD (Organization for Economic Cooperation and Development)、ISO (International Organization for Standardization)、ASTM (American Society for Testing and Materials)、APHA (American Public Health Association)，上述組織都以測量藻類的生物質量(biomass)為主，而生物質量都以直接稱重(乾重)之方法測得，但由於方法

較耗時之因素，因此現今則利用電子或光學顆粒計數器等以間接量測生物質量的方法取代直接稱重法。因為此方法簡單、迅速、所需藻液量少且與生物乾重間有良好之相關性。

溶氧測定法為直接量測水中溶氧之變化，再依此計算出藻類生長之情形。Hostetter,(1976)^[12]發展出一套量測水中溶氧之藻類試驗方法，試驗時間縮短至二十四小時，且在 *Raphidocelis subcapitata* 的試驗之中發現，當一或多種之營養鹽呈限制性狀態時，藻類之淨光合反應量會與限制性營養鹽呈現線性關係。Mingazzini *et al.*(1997)利用氣泡式呼吸儀連續監測氧氣之變化量，有效的在 1 小時之中量測出 atrazine 及 DCMU 對 *Raphidocelis subcapitata* 之毒性。

2.2.3 藻類毒性試驗標準方法

藻類毒性試驗可分為批次式和連續式兩種，目前已有的標準藻類毒性試驗方法，大都屬於批次式，如 U.S. EPA 所採用的「Fresh water algae acute toxicity test」^[13]、OECD 所採用的「Algal growth inhibition test guideline」^[14]、ISO 所採用的「Water quality-algal growth inhibition test」^[15]、APHA 所採用的「Toxicity testing with phyto- plankton」^[16]及 ASTM 所採用「Standard Guide for Conducting Static 96-h Toxicity Tests with Microalgae」^[17]等。

2.2.4 連續式培養與密閉式毒性試驗

本研究使用一兼具實用性、敏感性及簡便性的藻類毒性試驗法進行實驗，試驗期間所需的藻類由「連續式培養方法」建立的藻液培養母槽取得，在試驗方面則採「批次 BOD 瓶式的藻類毒性試驗」進行，內容描述分別如下：

(1)連續式培養方法(Continuous culture technique)

培養步驟可分為三，第一為藻類活化，即將保存於冰箱中含洋菜膠的

Raphidocelis subcapitata 活化，第二為批次培養，即經過數天活化後，將藻類加入定量的營養鹽基質的錐形瓶進行批次培養，第三為連續式培養，即待錐形瓶中藻類的數目已達最大生長量的 80%~90% (藻數約 $1.9\sim 2.0 \times 10^6$ cells / mL) 時，置入於四升連續式培養母槽中，而營養鹽的供給主要由蠕動幫浦控制，也就是可由控制稀釋率 (dilution rate, 即 $D = \text{基質流入量} / \text{反應槽體積}$) 來決定槽中細胞密度之多寡。當在低稀釋率時，會使營養鹽濃度降低，接著細胞的毒性容忍度也跟著降低，如此會導致細胞有較高的敏感性。當改變 dilution rate 則母槽約需 2~4 天即可達到新的 steady state。

藻類經歷的生長過程依序共分為四期，先有遲滯期(lag phase)、指數生長期(exponential phase)、穩定期(stationary phase)、最後為死滅期(death phase)，為了讓藻類達到較佳的敏感性，本實驗將稀釋率設為 0.25 day^{-1} (水力停留時間為 4 day) 來提供適量營養鹽使藻類的生長與營養鹽的供給達成一動態的平衡，讓藻類在 exponential phase 和 stationary phase 可停留較久，待系統達到穩定後，即可由母槽之取樣孔取出藻液進行毒性試驗而不會污染到母槽。

根據 Chen and Lin (1997)^[18] 以連續式藻類母槽系統(chemostat)為基礎進行培養藻類，chemostat 的容量為四公升，培養期間不僅有新鮮基質流入也有代謝物的流出，此狀態與自然水體較相似，可改善了「批次式培養(batch culture)」的缺點，即可避免加入的營養鹽完全侷限在一密閉空間，而導致的匱乏和變質的現象和代謝物累積情形。

(2) 批次藻類毒性試驗 (Batch of toxicity tests with microalgae)

批次性毒性試驗為起初提供藻類足夠的營養鹽，但在後續的試驗過程當中就不在有任何基質加入，亦無藻類代謝物流出。在此條件之下，飽和的生長基質會降低藻類毒性測試的敏感性，也很難反映出真實的情況，但由於實驗成本低廉，亦可同時處理大量的樣本，因而到目前為止被廣泛使

用。若在根據試驗過程當中是否與大氣接觸加以分類，可分為開放式批次實驗與密閉式批次實驗兩種。由於現今所有的標準或廣泛使用的藻類毒性試驗皆屬於一個開放式系統 (Open System)^[19] 所以無法偵測揮發性有機物的毒性。這類試驗方法是以提供激烈的振盪使試驗系統與外界空氣接觸，使氣體如無機碳源(CO_2)可與系統進行交換而達到提供碳源的目的，但若考慮到揮發性化學物質濃度會因試驗期間拉長及震盪試驗瓶過程中逐漸消失，則在濃度控制上將變的相當困難，以致低估其毒性，因此造成各個實驗室測試出的毒性大大地不同。相反的，在密閉的系統中進行試驗並無毒物揮發的問題存在。

密閉式系統以目前學者所發展出來的又可依系統是否有 headspace 的差別而分為含 headspace 的密閉式系統以及不含 headspace 的完全密閉式系統兩類。和開放式系統相比，含 headspace 的密閉式系統具有對揮性有機物試驗結果較開放式系統敏感的優點，然而此類設計還需針對碳源及有機物濃度加以控制，以及需要特殊的實驗設備的缺點。

Brack and Rottler(1994)^[20] 設計了一個間接提供碳源的密閉系統，採用雙層構造的玻璃瓶，將藻液及有機物置放於上方，下方則注入 $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ 緩衝液。Kuhn *et al.*(1989)^[21] 以柵藻(*Scenedesmus subspicatus*)為測試物種來進行毒試驗，使用無機碳與有機碳作為藻類生長所需碳源，並指出密閉的環境於 48 小時之內對藻類不會造成重大的衝擊。Glaassi and Vighi (1981)^[22] 利用一密閉式且恆溫的條件之下且可保證水中揮發性物質的濃度不變，因此發展出一套 AAPBT 的系統來測定揮發性物質的毒性。其利用一 2 升之密閉容器，其中試驗溶液僅 100 ml，目的在於利用剩餘大空間提供足夠之 CO_2 ，以避免碳源匱乏而影響藻類敏感度，但實驗中物質濃度僅由亨利定律推算，並無真正測得溶液中實際濃度。Herman *et al.*(1990)^[23] 改善此項缺點，其在密封之 125 ml 試管中進行試驗，除了於 50 ml 試驗溶液中添加

0.4% NaHCO₃ 至營養鹽中以提供充份的碳源，且同時監測試驗溶液與其上空間(head space)之濃度，證明濃度無顯著不同。有關這三種藻類毒性試驗系統（開放式、含 headspace 之密閉式、不含 headspace 之完全密閉系統）對揮發性有機物試驗敏感度比較可參閱 Mayer *et al.*(2000)^[24]的實驗，結果顯示在相同的實驗條件下，完全密閉式系統中藻類抑制率最多可達 84%，而留有 headspace 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。

Chen and Huang (2000)^[25]利用連續式的培養方法結合了 BOD 瓶(BOD bottle)發展出試驗方法為「48 小時的批次式 BOD 瓶藻類毒性試驗」，內容概要為使用體積為 300mL 的 BOD 瓶，將藻類、營養鹽和試驗毒物加入其內，再用蓋子密封，讓藻類暴露於毒性物質一段時間，由觀測終點量測實驗組與無暴露控制組的抑制情形並進行比較分析。整個實驗過程中沒有新鮮基質的加入，也沒有藻類之代謝物移出，在操作更加簡單，在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。Hsu (2002)^[40]以此系統評估苯類、甲苯類、氯甲苯類以及氯乙烷類等有機物質的毒性測試，與開放式結果互相比較後，發現若以完全密閉式系統進行試驗會有較高的敏感度。另外，Kao (2001)^[29]則是以完全密閉式與開放式藻類毒性試驗互相比較之後，發現兩種試驗方法之 EC₅₀ 值相差了數十倍，也間接證明了完全密閉式藻類試驗系統在揮發性有機物的毒性測試上有很好的適用性。

當進行批次式實驗時，需注意下列會影響毒性試驗結果的項目，在接種的藻類數量方面，當接種數量增加時，則化學物質的毒性便會降低，因此 EC₅₀ (50% Effective Concentration)值會提高^[26]。在藻類生長方面，若藻

類的培養狀況不佳時，會因藻類的健康度影響其對毒性物質的忍受度，因此會高估污染物之毒性。在毒性效應變化部分，毒性物質在試驗過程中會因為不同的反應而有減弱的情形，如藻類的生長代謝的解毒作用、試驗毒物附著於藻類表面上，揮發作用或光解作用等皆會影響試驗結果，以上現象常會讓不同實驗者的毒性試驗結果不同和造成再現性不佳。

2.2.5 實驗參數控制與意義

不同實驗室間的藻類毒性試驗結果可能不相同，這些潛在的變異性導因於某些物理或化學的實驗參數控制不一，因此在試驗之前瞭解並嚴格地控制試驗中各種參數對於藻類生長之影響及其對於毒性之交互作用是相當重要的。以下為本研究實驗前所考慮的重要實驗參數：

(1) 碳源供給和 pH 控制

在碳源方面，藻類生長時碳源的利用順序為先消耗水中溶解的二氧化碳即本實驗設備的曝氣幫浦和氣體鋼瓶所提供，次者為培養基(medium) 中的碳酸氫鈉(NaHCO_3)，碳源的供給不足會造成藻類死亡。在 pH 控制方面，pH 的改變會影響毒性物質在水中的型態和濃度，進而影響對產生毒性的大小，如 HCN 在 pH 由 7.8 降至 7.5 時，毒性會增強十倍，因此若決定在一固定 pH 值下進行試驗時，就必須小心地確保 pH 之變化為最小。然而碳源和 pH 值之間是會互相影響的，Nyholm *et al.*^[27] 提到藻類維持 pH 恒定的方式，如圖 2.2.4 所示：

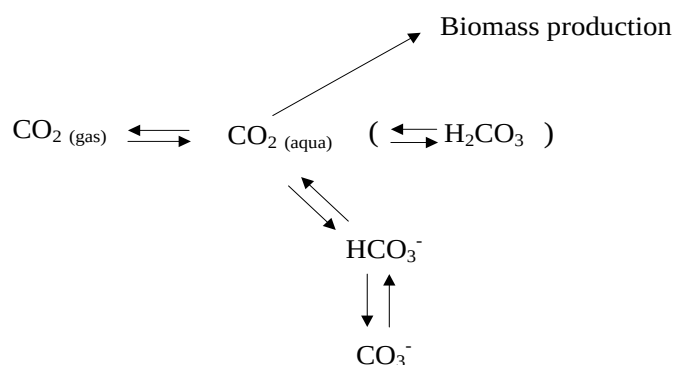
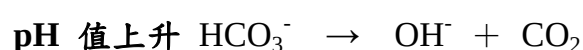
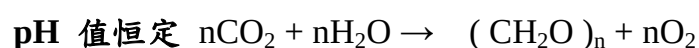


圖 2.2.4 碳酸鹽系統與光合作用之 pH 恒定的方式

在 Arensberg *et al.*^[28] 提到當藻類於培養時，如果二氧化碳溶解在水中的濃度與空氣保持平衡，則在光合作用中所消耗的二氧化碳所產生的碳水化合物並不會改變水體中的 pH 和鹼度，只有營養鹽的攝取才能改變 pH 值，如氮鹽的攝取，會釋出 H^+ 導致 pH 值下降，而在硝酸鹽和磷酸鹽攝取則會導致 pH 值上升如下所示：



因此，標準藻類毒性試驗必須其 pH 值維持在固定。固定 pH 值之毒性試驗隨著不同的標準方法而有所差異，U.S.EPA 規定最終 pH 值之變動必須在 8.5 之下，OECD 則要求 pH 值最大變動不得超過一個單位，ISO 則要求 pH 之變動須在 1.5 個單位之內。

而控制 pH 值改變的方法有：

- 降低接種生物量
- 系統加入二氧化碳加以曝氣
- 均勻振盪
- 維持空氣流通
- 縮短實驗時間

如 Arensberg *et al.*^[28] 利用 *Raphidocelis subcapitata* 為測試物種進行小型系統藻類毒性試驗，實驗中為避免 pH 值改變使用較小的測試量且也將試驗時間由三天縮短為二天。而 Lin(2001)^[30] 在密閉式藻類毒性試驗中，發現在水中溶解性金屬對於藻類的抑制若高於 20% 時，系統中 pH 值的變化大部分皆在 1.5 個單位之下，因此認為在溶解性藻類毒性試驗當中，不須限制系統中 pH 的變化。

(2)光照

光照強度會影響藻類行光合作用之速率，因而造成其產氧率的不同。Nyholm and Kälqvist (1989)^[31] 在其藻類毒性試驗的設計中提到如要使藻類維持在 exponential phase，則光照需設為常數，而要維持在該條件下有兩種方法，一為保持較低的生物質量(biomass)、縮小培養體積並充分混合，在此充分混合的目的是為了避免有「自身遮蔽 (self-shading)」現象發生，此效應會造成距光源較遠處之光照與較進處之光照強度之差異，因此藉由良好的混合效果可以減低自身的遮蔽現象並使光照有更好的利用效率。二為提供飽和的光照強度，使的藻類能吸收到一定量的光而不會影響到生長。

遵循 U.S. EPA^[32] 標準方法針對 *Raphidocelis subcapitata* 的規定，本實驗在連續式培養和批次試驗中所選擇的光照的強度為 4300 lux，與其它標準方法 ISO、OECD、EEC 的 8000 lux ($120\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$) 不同，採用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。

(3)溫度

溫度逐漸增加時，藻類會呈現指數生長，而達到其最是生長溫度後即迅速下降。本研究採用 U.S. EPA^[32] 建議的 24°C，在恒溫室下培養藻類及進行實驗，整個培養及試驗過程中需注意恒溫室中溫度的變化，讓溫度維持在平均溫度變化量 1°C，以確定實驗進行溫度分布的均勻度。

(4)植種之藻液初始密度和試驗時間

對批次式實驗而言，當植入 BOD bottle 的藻液初始密度過低時，即藻類細胞數目過少，會導致些微的細胞數量變動即可讓生長率產生大幅度的變化，將這樣的數據輸入 probit 等模式計算出的 EC_{50} 也會有較大的變異性 (C.V.值)，反之若植入的藻液初始密度過高時將會造成實驗後期由於藻類細胞大量增加造成代謝物累積及水中碳源耗盡而導致 pH 值升高和 EC_{50} 會隨之顯著升高等問題^[33]，進而影響毒性試驗結果之精確度，因此決定較適當的植種數量是影響試驗結果中很重要的因子。

試驗時間的長短會關係到毒性試驗的敏感性和數據結果，如過長的試驗時間，會使得存在於 BOD bottle 內的營養鹽不足，使得無加毒物的藻類也會與有加毒物的藻類發生出死亡的現象，使處理組與控制組在最終產量的差距會逐漸縮短，此外過長的試驗期間，也會使得毒性的反應消失，在 Lin(2001)^[34] 針對不同試驗時間與不同初始植種密度進行敏感度和變異性的分析，分析結果發現隨著時間增加，毒性試驗的敏感度提高而 C.V.值減少，隨著初始植種密度減少，則敏感度提高但 C.V.值亦提高。因此在兼顧兩者的考量下，本研究選定最佳化條件為控制 BOD bottle 內藻類初始植種密度在 1.5×10^4 cells/ml，試驗時間為 48 小時。

(5)實驗培養基

實驗培養基的成份是影響微生物毒性試驗結果的重要因子之一^[35]，而主要之影響培養因子有 pH、硬度、螯合劑、氮、磷及一些主要陽離子，其中對微生物之生長與毒性試驗結果影響最大的為氮、磷濃度及螯合物 EDTA 的添加量，如下分別探討：

- 氮、磷的影響

在一般的自然水體中，存在這各種不同的生長元素，就碳及微量元素對藻類生長而言大都並非限制性元素，在 Lin^[34] 針對重金屬鋅及有機物質酚，由試驗結果發現，U.S. EPA 營養基質的 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，而最直接影響藻類族群興衰則為氮或磷的濃度，此即為藻類生長的限制性因子。

在水中只有 PO_4^{3-} -P 形態能夠直接被藻類吸收，故於各種藻類試驗方法磷皆是以正磷酸鹽之型態存在(如：ISO 和 OECD 是 KH_2PO_4 ，U.S.EPA 則是 K_2HPO_4)，至於氮的形態，由於 NO_3^- -N 及 NH_4^+ -N 皆能被藻類吸收，在 ISO 和 OECD 用的是 NH_4^+ (NH_4Cl)形態，U.S.EPA 用的則為 NO_3^- (NaNO_3)形態。在 Millington *et al.*(1988)^[36] 提到自營菌無法像異營菌能快速利用

$\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 而快速生長，所以一般自然環境中藻類的氮源應是硝酸態 ($\text{NO}_3^- - \text{N}$)。

- EDTA 的影響

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，但根據文獻指出一些螯合物如 EDTA、NTA 等與常見之二價金屬 (Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+}) 所形成的親水性複合物，較之前未螯合時呈現的游離態時的毒性還低，因此倘若進行重金屬實驗時勢必會影響毒性試驗之結果^[37-39]。因此在 U.S. EPA^[13] 雖在培養藻液時允許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，卻規定不可加入任何螯合劑。

2.2.6 觀測終點(end point)量測

在進行藻類毒性評估時，需考慮能正確反應藻類生長的參數，才能以此訂出實驗的觀測終點(end point)反應出藻類受毒物抑制情形。量測藻類生長的參數有下列幾種：細胞密度、乾重、細胞總體積、葉綠素、活體內螢光值、營養基濁度、產氧量、碳源攝取量、ATP 及 DNA 等，而選擇量測藻類生長情況之方法的考慮有精密度、敏感度、偵測極限、量測時間、所需樣品量及儀器設備之需求等等，研究人員基於實驗室器材設備的可用性和研究問題的性質來選擇適當的實驗參數和方法。

現行的藻類毒性試驗標準方法採用批次式培養，在達到觀測終點時，測定生物質量 (biomass) 以瞭解生長狀況。所謂生物質量，最直接的測定方法就是量測生物乾重和數目。在 Christensen *et al.*^[4] 提到以生物質量 (biomass) 求得的抑制率定為實驗參數較其它參數如總細胞數目和細胞體積為佳。但直接量測生物乾重十分費時且程序繁瑣，於是間接量測生物乾重的方法便因應而生，例如利用電子顆粒計數器、光學顆粒計數器等，而這些方法不僅簡單、快速，需要的藻液量亦少，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、測量時間短等優點。

綜合上述優點，本實驗將觀察藻類的細胞密度和溶氧變化，由電子顆粒計數器量測細胞密度，以溶氧測定儀量測藻液中 DO 值的上昇變化量，並將實驗所得的數據再輸入 Probit 模式以求得抑制率(EC_{50})和劑量反應曲線之斜率。

2.3 毒性化學物質

2.3.1 毒性物質 - 氯酚類

主要結構為一個苯環接一個 OH 官能機為酚類，氯酚類為酚上的 H 被 Cl 原子給取代掉而形成氯酚，其製造方法有很多，如：取代反應或加入催化劑進行取代，亦可經由中間產物進行取代而得，除了工業製造外，仍有一部分是屬於意外產生的中間產物，如：燃燒含氯的有機物質、對飲用水的加氯消毒、造紙廠紙漿的漂白等^[54]。在世界上有非常多種氯酚的衍生物被製造生產，在 1978 年估計每年所生產的量達到 200,000 噸之多^[54]，使用的時間更長達 35 年之久。

下表 2.3.1 及圖 2.3.2 分別為本研究所使用之氯酚類的物化特性及化學結構：

表 2.3.1 Physicochemical properties of chlorophenol^[53]

	Molecular weight	Water solubility(mg/L at 20°C)	Log P _{ow}	pKa
2-chlorophenol	128.6	28500	2.17	8.29
4-chlorophenol	128.6	27100	2.41	9.14
2,3-dichlorophenol	163	4500	3.15	7.76
2,4-dichlorophenol	163	-	3.21	8.09
2,4,6-trichlorophenol	197.5	800	3.75	6.21

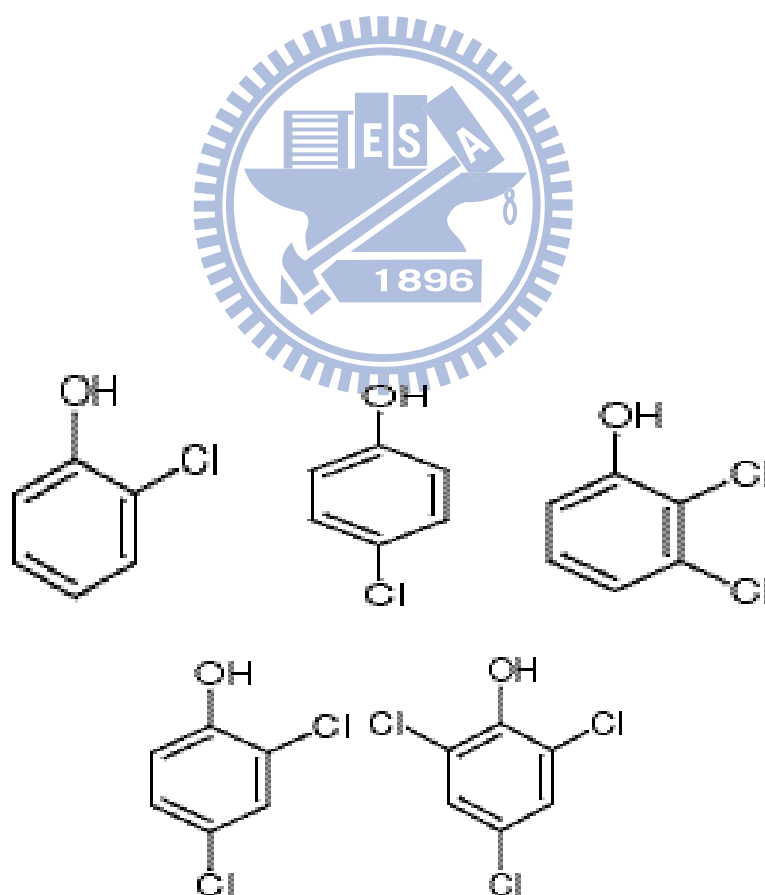


圖 2.3.2 The structure of chlorophenol

2.3.2 氯酚類有機物之應用

根據統計，氯酚化合物每年生產量多達二十萬噸之多^[54]，其在生活或工業上主要應用如下^[55]：

- 澱粉、糊精及葡萄糖等的防腐劑
- 殺軟體動物劑
- 可抑制許多物質發酵
- 木頭的防腐劑（殺黴菌劑）
- 土壤薰蒸劑，以消滅白蟻
- 除草劑及落葉劑
- 油漆、皮革、衣物之防腐劑
- 工業上常用來當殺黏液菌劑及抗藻劑
- 消毒、清潔時的抗菌劑

2.3.3 毒性物質 – 醛類

醛類化學物質為接有一-COH 官能機之碳氫化合物，其具有高揮發性、難以保存且具有毒性的特性，在毒理學上來說，其具有高反應的特性而造成生物體的危害，主要的毒性作用在於醛類毒性化學物質進入生物體內會與蛋白質中的胺基反應結合造成蛋白質變性而失去原有的功能，生物體的細胞有極大的危害。因此，在應用方面，主用作為消毒劑、除草劑、殺菌劑或保存標本^[57]（如：甲醛），而在環境中也是相當普遍可以發現其存在，對環境中亦會造成相當大的危害，在 1995 年，亦被國際癌症機構(IARC)確定為可疑致癌物質及致突變物質。而本研究中所選取的醛類化學物質為丙醛、戊二醛及三氫基苯甲醛。

2.4 單一毒性

2.4.1 有機物毒性作用機制

在水體毒理學中針對現在的有機物的性質分類出多種機制，而大多數的分類法是將化學物質分成反應性物質(Reactive)與非反應性物質(Non-reactive)兩類型。而非反應性物質(Non-reactive)又可分為非極性麻醉型(nonpolar narcotic)和極性麻醉型(polar narcotic)，圖 2.4.1 是最常見的有機物分類方式：

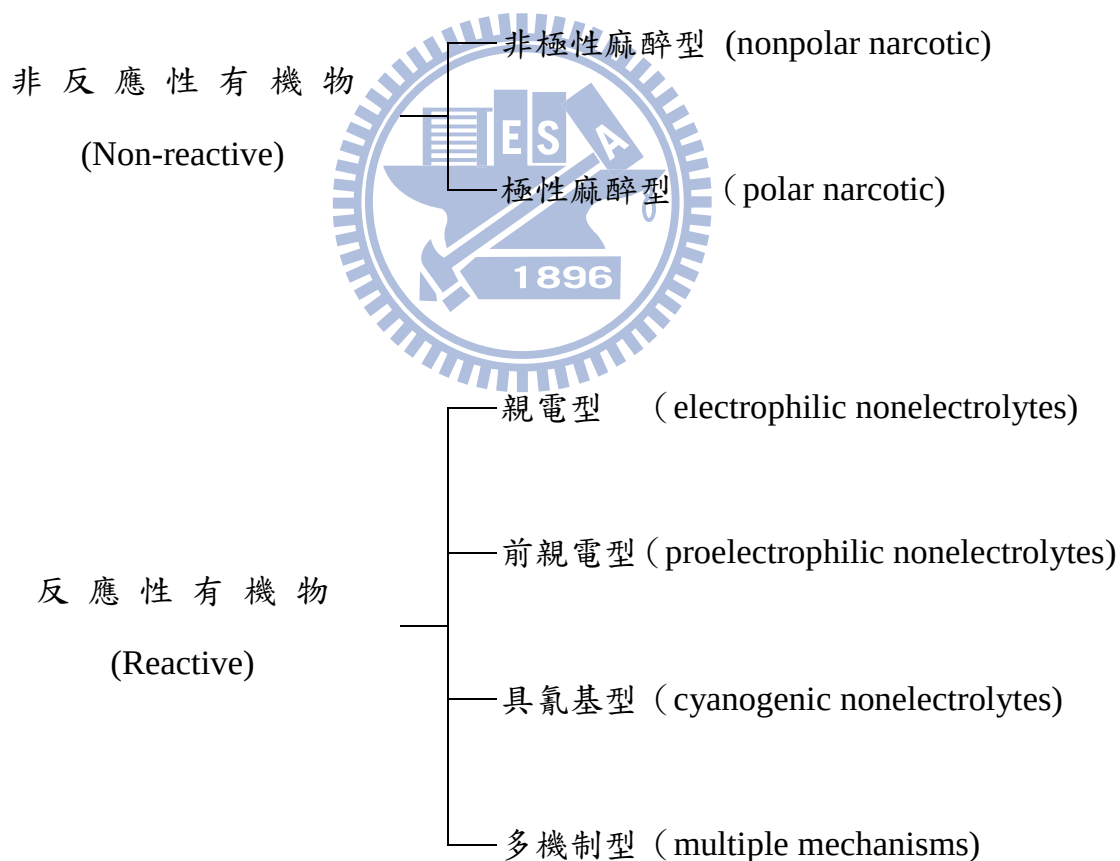


圖 2.4.1 有機毒物的分類

(1)非反應有機物(Nonreactive)毒性機制

一般又可稱為麻醉效應毒性 (Narcosis Effect)，本機制符合辛醇-水係數模式，即與親脂力有關，而親脂力屬於物理作用，其描述生物暴露於某一程度的劑量內，當毒性物質移去，生物原有抑制反應因此消失，毒性呈現可逆反應，該現象也因此可稱為可逆性生理效應 (reversible physiological effect)，在 Veith *et al.* (1983)^[43] 的 *fathead minnow*(鰱魚)針對屬非極性麻醉型工業化學物質的急毒性試驗中，就觀察到這類可逆型的效應，該效應產生與通常非共價鍵交互作用 (non-covalent interactions) 有關，即細胞膜內的脂質或蛋白質或兩者間的凡得瓦爾力的交互作用 (van der Waals interactions)^[44] 瓦解有關。

現今工業中所使用的有機化學物質大多是屬於麻醉型式(narcotic mode)毒性物質^[45]，且又以非極性麻醉型有機物占的量又最多，下列針對麻醉型有機物進行分類探討：

- 非極性麻醉型 (Nonpolar narcotic or Narcosis I)

Schultz *et al.* (1998)^[46] 的實驗結果發現，屬於這類型的化學物質所觀測到的毒性會與 QSAR 模式之辛醇-水係數所預測到的毒性有良好的相關性，換句話說，其毒性與辛醇與水分佈係數成正比，顯示毒性作用主要來自親脂性，藉由覆蓋於細胞膜上造成生化通徑阻塞，或造成細胞膜的「非極化」而形成毒性，因此我們可稱這類型有機物為「非極性麻醉」型。此外因為這類型毒物的毒性與辛醇-水係數迴歸有較佳相關性的毒性，且毒性較與其它類型毒物還要低，學者便將其定義成基線毒性 (baseline toxicity)，而常見化學物質有烷類、醇類、醚類、苯類或帶有鹵素取代基等製藥業、農藥和染料等工業常用的物質。Cronin and Schultz (1997)^[47] 由其弧菌實驗中，發現此類物質不發生生物性的反應，它們的毒性強弱和在作用位置 (site of action or reaction site) 的濃度有關。

- 極性麻醉型 (Polar narcotic or Narcosis II)

Ren and Frymier (2002)^[48]認為這類型的化學物質毒性會較 Narcosis I 的毒性要高一些，而常見的毒物包含了的酚類、苯胺類、硝基苯類等。由於這類毒物毒性較 baseline toxicity 還高，原因推測可能與其取代基的不同或是取代基的數目有關。在 Jawecki and Sawicki (2002)^[49]則指出這類型毒物主要是含有可強烈釋放電子的氨基或氫氧根的芳香族，其表現的毒性約為 nonpolar narcotic compounds 的 2 倍以上，Liao *et al.*^[50]則認為其稍高的毒性可能和電荷有關，而常見化學物質有脂肪胺、芳香胺、亞硝苯胺、胺類和酚。

(2)反應有機物(Reactive)毒性機制

這類型有機物除了具有非反應有機物毒性機制即分子之疏水結構具有麻醉效應毒性外，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，通常此類有機物質的毒性超過基線毒性，比非反應有機物還要毒。Verhaar *et al.* (1992)^[51]發現 reactive compounds 的毒性會大於 baseline toxicity 有數個 order 以上。

反應性有機物其官能基具有親電性 (Electrophile) 能與生物體內之酵素、反應位址之氨基及巯基產生鍵結、取代、錯合等之化學變化，促使養分吸收、物質傳遞等新陳代謝循環之生化路徑因而受到破壞，造成生命功能損壞。由於有機物質及生物體內之反應位址皆已產生化學變化，無法像非反應有機物具有可逆性的效應，因此反應性有機物質是屬於「不可逆毒性」。Lipnick (1991)^[52]將反應性有機物分為四類，分別為反應性親電型毒性 (Electrophilic toxicity)、反應性前親電型毒性 (Pro-electrophilic toxicity)、反應性具氰基型毒性 (Cyanogenic toxicity) 和反應性多機制型毒性 (Multiple toxicity)，而這四類代表生化作用如下：

- Electrophilic toxicity :

主要由於有機物擁有的親電基(Electrophilic group)和生物體內大型分

子上的硫氧基等親核部分(Nucleophilic moiety)，產生取代或相加反應而造成毒性。

- Pro-electrophilic toxicity：

該類有機物原本為非反應性物質，但經由一連串生化作用，將原來物質轉變為 Electrophilic toxicity 的物質。

- Cyanogenic toxicity：

由於毒物由水解或酵素活化放出氰酸離子而造成毒性。

- Multiple toxicity：

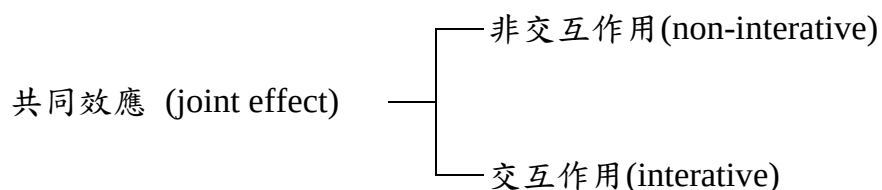
這類物質的毒性作用機制較為複雜，可能是因為毒性的產生是必須經過數階段或多重作用而形成毒性的。



2.5 混合毒性

2.5.1 非交互作用(Non-interactive) 及交互作用(Interactive)

Marking (1975,1977)曾說過混合毒性的研究只討論化學物質與生理系統間的作用，而不討論化學物質間的作用，當只討論兩種化學物質共同導致反應的發生，即可稱此特殊的反應為共同效應(joint effect)，而此 joint effect 可分為二類：



回顧過去大多數的生態毒理學家大多以魚類為試驗物種針對兩種或多種以上的化學物質進行實驗，進行 joint effect 的探討，而在這門領域的先驅者為 Bliss(1939)和 Gaddum(1948)，由 Bliss (1939)首先提出辨別混合毒性作用的量化方法，針對單一毒性物質配合 probit 模式(常態分布函數)得到劑量-反應曲線，依照曲線的平行與否來判定化學物質的混合毒性，理論中將生物體對於毒性物質的容忍度相關性定義在 0 至 1 之間($\rho=0\sim1$)，當 $\rho=1$ 時表示兩毒物具有平行的劑量-反應曲線及呈現完全正相關的毒性容忍度，而當 $\rho=0$ 則指反應獨立和零相關。此外 Bliss 將毒性作用分成二種：

(1)簡單相似作用(Simple similar action, simple joint action or concentration dose addition)：用來描述非交互作用(Non-interactive)的狀況，混合過程中化學物質間不會交互影響，且各化學物質各會提供等比例的毒性單位，可用於了解同分異構物(isomer)和結構相似物(analogue)。

(2)簡單非相似作用(Simple dissimilar action, simple independent action or response addition)：指化學物質間不會影響彼此的在生物反應位置(reaction site)產生的反應，活體動物所受的毒性是各混合物的總和，而反應相加(response addition)指生物產生的毒性反應必須等到毒物的劑量大於生物容忍度才會顯現出來。

Plackett and Hewlitt (1952)提出的理論為擴充 Bliss 毒性容忍度至負值，並使用二維的常態分布函數計算，其明確的定義出四種反應作用的型式：

(1)以兩化學品首要反應的作用位置和型式的相同和不同可分為相似(similar)和不相似(dissimilar)

(2)在兩化學品前提下，其中一個化學品是否會或者不會去干擾另一化學品所引發的生化反應，而可分為交互作用(interactive) 和非交互作用(Non-interactive)

爾後 D.Calamari (1992)將 Plackett and Hewlitt 所提出的觀念整理成表 2.5.1.1 而則為常見的混合毒性的名詞則整理表 2.5.1.2。

表 2.5.1.1 四種不同的共同效應^[16]

Condition	Similar joint action	Dissimilar joint action
Interaction absent	simple similar action	Independent action
Interaction present	complex similar action	dependent action

表 2.5.1.2 常見的混合毒性的名詞

Joint action		
synergism	additive	antagonism
synergism	expected action	antagonism
greater than additive	additive	less than additive
positive summation	summation	competitive addition
supra-additive	simple addition	infra-additive

2.5.2 Isobologram

Lloyd (1961)為最早提出 TU、AI 和 MTI 三種參數即相關的觀念，該作者當初選用 rainbow trout (彩紅鱒)針對兩種重金屬鋅和銅進行實驗，並導入三參數來量化抽象的 Joint effect 作用，最後並以圖來表示該現象；Joint effect 又可細分為四類，分別為簡單相加(simple additive)、協同作用(synergism)、拮抗作用(antagonism)和不作用(no ineration)，如表 2.5.3 所示：

表 2.5.3 四種常見的混合毒性效應及判定指標。

Type of action	Identification	Index
simply additive	ideal additive effects are observed when	$TU(\text{ or } M) = 1$
	the joint toxic response is equal to the sum	$AI = 0$
	of the single chemical toxicity	$MTI = 1$
synergism	combined effect is greater than the sum of	$TU < 1$
	the toxicity of individual chemical	$AI < 0$
		$MTI > 1$
antagonism	overall toxic effect is less than the sum of	$TU > 1$
	the toxicity of individual chemical	$AI > 0$
		$MTI < 0$
no interaction	joint toxic effect is equal to that caused by the component with the greatest toxicity	

TU = Toxic Unit, AI = Additive Index, MTI = Mixture Toxicity Index

2.5.3 非反應性與非反應有機物的混合毒性

在非反應性有機物的混合所呈現的效應部分，最早由 Hewlett and Plackett (1959)發現可由 CA (concentration – additivity, $\rho=1$, $\lambda=1$) mode 預測這類化學物質的 similar effect。Broderius and Kahl 以共同毒性理論(Joint effect theory)和 isobole diagrams 為根據，利用 fathead minnow(鱈魚)為試驗物種探討 Narcosis I 與 Narcosis II 的混和毒性，發現醇類等 27 種非反應有機性毒物不論是兩兩相加，抑或是多種有機物混合在一起，結果均為毒性相加，尤與 n-octanol 混合最為明顯，而其混合毒性指標 M 值範圍落在 0.87~1.23，AI 值範圍為 -0.233~0.149，而 MTI 值範圍則為 0.932~1.2 之間。

Hermen *et al.* 以 *Daphnia* (水蚤) 針對醇類和含氯碳氫化合物等 10 種非反應性有機物進行研究，結果顯示混合毒性效應主要偏向於毒性相加，而 Wolf *et al.* 也以 *Daphnia* 進行醇類等 25 種非反應性有機物進行混合毒性研究，結果 M 值範圍在 1.04~1.20，而 MTI 值範圍則為 0.921~0.988 之間，指標呈現簡單相加。Broderius *et al.* 以 fathead minnow 評估 46 種工業常用非反應型有機物的毒性，結果歸納有機物多呈現簡單相加且毒性反應無發生交互作用。Veith and Broderius 發現非反應有機物若與酚進行混合試驗時，其結果會呈現強烈相加性。Chen and Chiou 以 Microtox 的試驗中，在 26 組的非反應有機物的混合毒性試驗有 22 組 (85%) 呈現毒性相加、3 組為協同效應，而有一組為拮抗作用。在 Cheng and Lu 的 E-coli 實驗中，7 組非反應有機物試驗中有 2 組為毒性相加其它皆為拮抗作用。此外大多數的學者也皆認為非反應有機物的混合毒性多呈現相加效應，由以上的結果可得一有趣的現象，大多數的非反應有機物混合效應的結果一致呈現簡單的相加效應。

2.5.4 混合毒性之探討

混合毒性研究在過去就有許多學者探討研究，其所採用的混合毒性理論主要分為兩大類，為：

(1) Concentration addition (CA)：即混合毒性作用位置一致，毒性機制

相同，可以 $\sum_{i=1}^n \frac{C_i}{EC_{50}} = 1$ 來表示。

(2) Independent action (IA)：即混合毒性作用位置不同且毒性機制亦不

同，以 $E_{mix} = 1 - \prod [1 - E(C_i)]$ 來表示。

在過去的混合毒性研究上，長以上述兩種混合模式來評估混合毒性效應，大部分的學者皆認為 Concentration addition (CA) 具有較高的預測能力，而 Independent action (IA) 模式會低估混合毒性效應。

在 2008 年，Juan Bell^[67] 這位學者以海膽的胚胎對 Antifouling paints 作混合毒性研究發現，在 Zpt 與 Sea-Nine 的混合試驗當中發現 CA 及 IA 皆會高估毒性效應，並以 IA 具有較高的預測能力，因此，Bell 學者認為，單純以 CA、IA model 並不能非常正確的來預測混合毒性效應。而 Olivier *et al.*^[68] 這位學者在 2009 年的所作的不同機制之混合毒性研究，發現 CA、IA 對於所得到的結果呈現一致的情況，其主要原因在於，某個反應終點相較於其他反應終點更容易受到危害，雖然其為不同機制，但仍會有較強的毒性效應^[66]，因此對於過去所得到 CA 會高估毒性性應的結果明顯不符。

Chen and Yeh^[69] 針對反應性物質亦作混合毒性研究，Chen 認為單單以 CA、IA 來評估混合毒性效應是不夠的，因此，加入兩個參數分別為作用位置相似度(λ)及毒性容忍度之相關性(ρ)並利用劑量-反應曲線之斜率(β)來加以探討，過去研究皆認為 CA 模式會高估毒性效應，IA 則否，此時是以 ρ 為 1、 λ 為 1 (CA) 的情況下去評估，但當 ρ 為 -1、 λ 為 1 時，即作用位置不同，其毒性效應仍然有可能比 CA 模式來的更嚴重。其研究發現，當作用機制相同時，混合毒性效應皆以毒性相加(simple addition)或毒性減弱(antagonism)為主；若毒性作用機制不同時，其劑量-反應曲線之斜率可以得到一趨勢；當毒性物質兩者之斜率甚大時，其毒性效應易呈現拮抗作用(antagonism)，相反之，當毒性物質兩者之斜率甚小時，其混合毒性效應容易呈現協同作用(synergism)。

第三章 基本理論

3.1 有機物質之毒性機制

毒性化學物質可分為兩大類：一為反應性機制(Reactive)，另一種為非反應性機制(Non-reactive)。

3.1.1 反應性毒物之反應機制

反應性有機物質因其具有分子之疏水性結構，因此對於測試物種具有麻醉毒性。另外，其官能機與測試物種體內所產生的化學變化為主要的毒性來源，由於官能基具有親電性(Electrophile)因而能與生物體內的酵素、反應位置所具有的氨基及硫基發生取代、鍵結、錯合等反應，進而造成生物體的營養吸收、消化代謝、物質傳輸等生物作用受到破壞，造成測試物種的生物危害。由於測試物種毒性反應位置已經發生化學變化，因此反應性有機毒性反應機制是屬於不可逆的反應機制。

3.1.2 非反應性毒物之反應機制

非反應性有機毒物之反應機制又稱為麻醉性反應機制，當非反應性有機毒物進入生物體內時，其並不會與測試物種發生化學反應，其毒性來源主要是毒性物質的親脂性(Lipophilic)，有機物質的親脂性會使毒性物質吸附在生物細胞膜上之疏水性結構，猶如膜一般包附住細胞，進而阻擋生物作用之通道而影響生物體養分吸收、物質傳輸等新陳代謝之功能，造成生命受到危害。一般而言，因為毒性物質並未與生物體產生生化反應，因此非反應性有機物質之毒性機制在物理上是屬於可逆性之吸附及脫附作用。

另外，有些有機物質原本並不據以反應性之官能基，但在生物體內經

由生物吸收並經過新陳代謝之作用後，其會轉變成反應性有機物質而使其帶有反應性毒性，進而危害生物體，此類有機物質稱為前親電性有機物 (Proelectrophile Organic)，是反應性有機物質的前驅物。

3.2 單一毒性模式 (Probit model)

當測試物種進行毒性測試時，物種受到毒性物質的影響會隨著毒性物質的濃度增加而增加形成一 S 型曲線，此取線稱之為濃度反應曲線。如圖 3.1 所示，

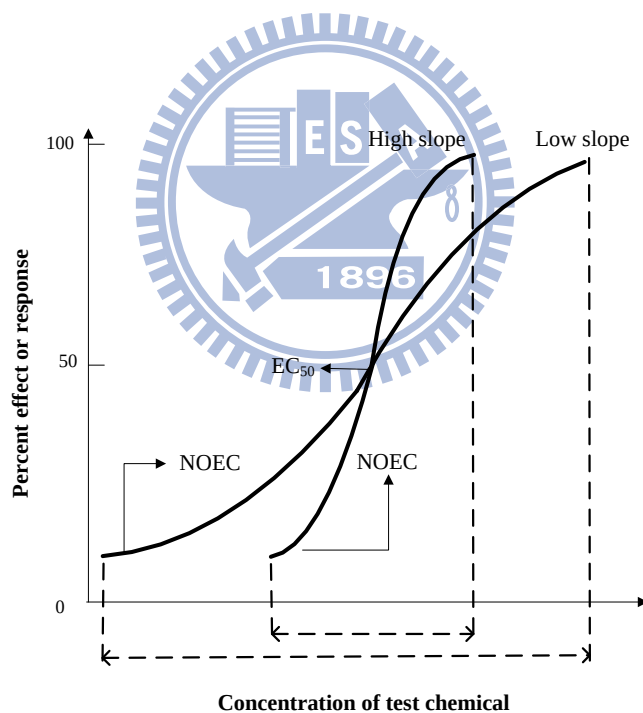


圖 3.1 不同斜率的劑量反應關係

x 軸為有機物濃度，而 y 軸為反應百分比。當達到 50% 的反應時，其相對應的毒物濃度則為 EC_{50} 值 (Effect Concentration 50%) 或 LC_{50} 值 (Lethal Concentration 50%)。毒性物質的不同則會有不同的斜率大小的劑量反應關

係。

而 Probit 模式為最常用的劑量-反應(dose-response)模式，除了一些理論基礎外，主要是由實驗經驗所得的一個模式。其假設生物對毒性物質的容忍度分布為常態分布(Log-normal distribution)，其主要以毒性物質濃度的 Log 值與反應率的 NED 值(Normal equivalent deviation)具有線性關係為基礎，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，原來劑量-應曲線上 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 座標之機率單位 Y 值（ $Y = NED + 5$ ），Probit 單位與反應率、毒性物質劑量關係間之轉換關係如下：

$$Y = a + b \text{Log} Z$$

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

其中 Y 為 Probit 單位，a 為劑量-反應曲線之截距，b 為劑量-反應曲線之斜率，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(單位：%)，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} 。

3.3 混合毒性理論

3.3.1 非交互作用之混合毒性理論

Hewlett & Plackett (1959)^[41]最早提出非交互作用(Non-interaction)混合毒性模式，是一種二維的混合模式，亦即假設兩種毒性物質之間沒有任何

交互作用發生，並假設生物反應為非生及死(quantal)，亦即另一種毒性物質加入不影響原毒性物質與受體的結合能力，而當生物反應與毒性物質劑量呈一常態分布時，其二維毒性試驗之不反應率(Non-response fraction ,Q)如下：

$$Q = \Pr\left(\delta_1^{\frac{1}{\lambda_{12}}} + \delta_2^{\frac{1}{\lambda_{12}}} \leq 1\right)$$

$$\delta_i = \frac{Z_i}{\overline{Z_i}}$$

其中

Q：：毒性試驗中，生物不反應部份分率(non-response fraction)，由機率分布函數內的積分區間決定其大小；

Pr：機率分布函數(可能為常態分布或其他機率分佈)，生物體對兩種毒性物質的容忍度分布，而這兩種不同的容忍度分布有一相關係數 ρ 存在；

Z_i ：毒性物質 i 之試驗濃度；

$\overline{Z_i}$ ：單醫生物體對毒性物質 i 之毒性容忍濃度；

λ_{12} ：相似係數(Similarity)，在混合毒性理論中，為兩者毒性作用系統相似度的度量指標，而 $0 < \lambda_{12} < 1$ 。相似係數越趨近於 1 時代表兩毒性物質作用系統越相近，即作用位置越相近。

Christensen & Chen (1985)^[42]擴充此二維理論至多維數學模式，以描述多種毒性物質混合的情況，並將原本二維的常態分佈模式擴展為可以容許多種不同分佈模式的多維非交互作用混合毒性模式理論。

以多為常態分佈的生物毒性分佈為例，其機率分佈函數為：

$$\Pr(\bar{U}) = \frac{1}{(2\pi)^{\frac{n}{2}} (A)^{\frac{1}{2}}} \exp\left(-\frac{1}{2} U^* A^{-1} U\right)$$

$$A = \begin{bmatrix} 1 & \rho_{12} & \cdot & \cdot & \rho_{1n} \\ \rho_{21} & 1 & \cdot & \cdot & \rho_{2n} \\ \cdot & \cdot & 1 & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & 1 & \cdot \\ \rho_{n1} & \rho_{n2} & \cdot & \cdot & 1 \end{bmatrix}_{n \times n}$$

U^* 是物種對毒性物質的容忍度經對數轉換後，在 NED 尺度上的向量，
 $U^* = [U_1, U_2, \dots, U_n]$ ； U^* 是 U 的轉置矩陣， A^{-1} 是 A 矩陣的反矩陣。
 將 A 矩陣斜角化 (diagonalized) 後，得到的 eigenvalues λ_i 做旋轉後新的座標軸，可以得到如下的積分式：

$$Q = \int_R \frac{1}{(2\pi)^{\frac{n}{2}}} \exp\left(-\frac{1}{2} \sum V_i'^2\right) dV_1' dV_2' \dots dV_n'$$

$$V_i' = \frac{V_i}{\sqrt{\lambda_i}} (NEDs)$$

其中， V_i ：旋轉後的座標軸，以上的計算可以經由電腦程式 Multox (Chen & Christensen, 1984, 1986a, 1986a) 求得。

3.3.2 混合毒性效應與 ρ 、 λ 的關係

在作用位置之相似係數(λ)和毒性容忍度之相關係數(ρ)這兩種參數互相配對下，混合毒性效應模式的 active mode 主要分為四種: Response multiplication (RM)、No addition (NA)、Concentration addition (CA)、Response addition (RA)，這四種不同的組合與相似係數(λ)、相關係數(ρ)的關係可由表 3.3.2.1 觀察得知，包括各種 action mode 的 response。兩種毒性物質彼此之間與相關係數的表現上如圖 3.3.2.1 所示， Z_1 、 Z_2 分別代表兩種不同毒性物質之容忍度濃度，(a)、(b)、(c) 分別是兩種毒性物質在 $\rho=1$ 、 0 、 -1 的情況下所產生的情形，當 $\rho=1$ 時，表示兩毒性物質容忍度分佈為正相關，以此類推， $\rho=-1$ 時則為負相關， $\rho=0$ 時則為不相關。經由以上的數學模式推導，發現在相關係數 ρ 趨近於 -1 時，亦即兩毒性物質容忍度分佈為負相關的情況下，產生 Response addition (RA)，使的生物體對混合毒性物質容忍度降低效應機率最大，因而產生所謂的協同作用(synergism)，毒性加強的作用。

表 3.3.2.1 Definitions of basic modes of action

Parameter values		Type of action	Abbreviation	Response
ρ	λ			
0	0	Response multiplication	RM	$1-(1-P_1)(1-P_2)$
1	0	No addition	NA	$\max (P_1, P_2)$
1	1	Concentration addition	CA	-
-1	0	Response addition	RA	$\min (1, P_1+P_2)$

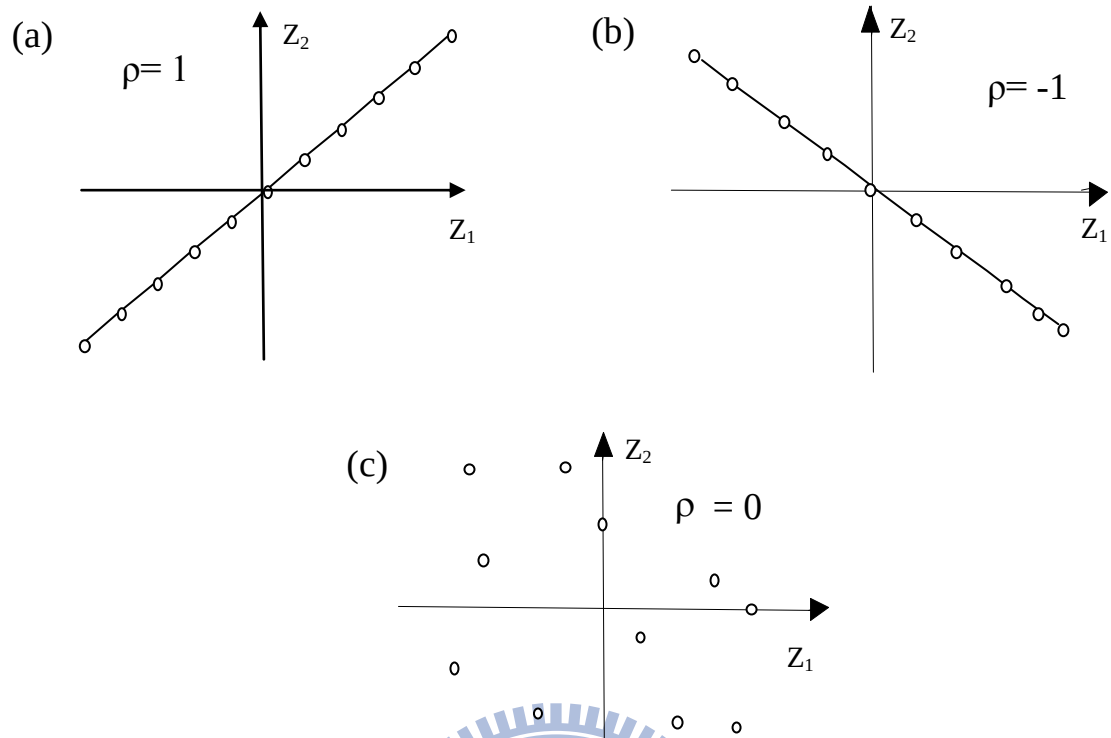


圖 3.3.2.1 The action mode of response

3.4 混合毒性指標

一般研究常用的混合毒性指標有毒性單位(toxic unit , TU)、加性指標(additive index ,AI)、混合毒性指標(mixture toxicity index ,MTI) 三種，而本研究採用混合毒性指標，介紹如下：

$$TU = \frac{Z_1}{Z_1} + \frac{Z_2}{Z_2} + \frac{Z_3}{Z_3} + \dots$$

其中， $\overline{Z}_i$ 為一特定毒性容忍度(Toxicity Tolerance)，即 EC_{50}

Z_i 為毒性物質 i 的濃度

TU 為毒性單位

而混合毒性單位若大於一 ($TU > 1$)，代表混合毒性效應為毒性減弱 (antagonistic)；若混合毒性單位等於一 ($TU = 1$)時，代表混合毒性效應為毒性相加(additive)；若混合毒性單位小於一 ($TU < 1$)時，代表混合毒性效應為毒性加強(synergistic)。

3.5 Isobologram

將混合毒性試驗中之兩種毒性物質以不同的毒性單位比例加以混合，在一個固定的抑制率或死亡率下(如 EC_{50} 或 LC_{50})，兩軸分別代表兩毒性物質對此抑制率之個別貢獻的毒性單位，按不同的混合比例畫出一條等抑制率或死亡率曲線，如圖 3.3，此一圖形則稱為 Isobologram。

當此曲線在 (1,0) 及 (0,1) 兩點相連之直線的右上方，即曲線向外凸出偏離原點時，表示混合毒性效應為毒性減弱(antagonism)；當此曲線在 (1,0) 及 (0,1) 兩點相連之直線的左下方，即曲線向內凹接近原點時，表示混合毒性效應為毒性加強(synergism)；當曲線進四重疊在(1,0) 及 (0,1) 兩點相連之直線時，則表示混合毒性效應為毒性相加(simple addition)。通常兩毒性物質會以毒性單位 1:3、1:1 和 3:1 的比例互相混合，將實驗結果繪製成 Isobologram 以判斷混合毒性的效應。

Isobologram 另一個主要的功能，即可用來判斷混合毒性效應是否為

complex joint action。而 complex joint action 的主要特性如下: (1) 在任何毒性單位比例之下，均呈現混合毒性減弱的現象。(2) 不同毒性單位比例，其混合毒性效應減弱之強度會有所不同，即在某一毒性單位比例下會有較強的毒性減弱現象發生。(3) 對於劑量-反應曲線斜率較大之毒性物質，其在毒性單位較小時，對另一種毒性物質會有解毒作用。因此我們可以依此特性對 Isobologram 加以應用。

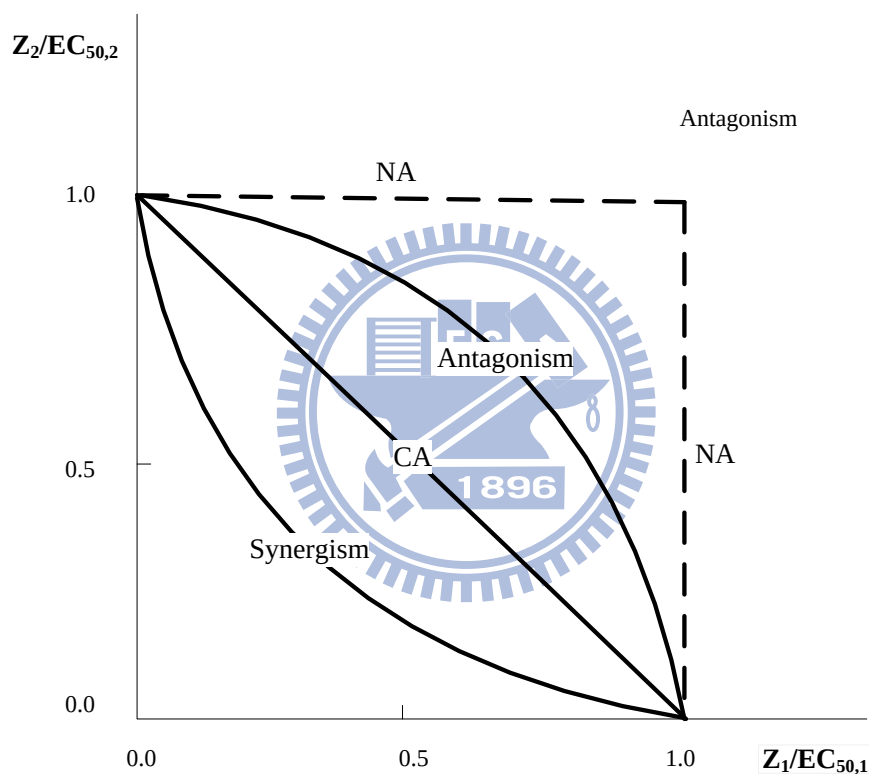


圖 3.5 Isobologram 示意圖

第四章 實驗流程及設備

4.1 實驗設備

1. 恆溫無塵室

恆溫無塵室溫度控制在 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ，保持恆溫，藻類毒性測試、培養皆在此恆溫室進行。

2. 水質

所有實驗及培養用水皆經過過濾、離子交換、RO 逆滲透及蒸餾，最後再經由超過濾 (Milipore) 處理之去離子水，實驗前必須將去離子水以 $0.45\mu\text{m}$ 之濾紙過濾，其水質之比電阻 $\geq 18.2 \text{ Megaohm}$ 才可開始使用。

3. 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 18 cm 之玻璃容器。於體積 4 公升之處開口作為溢流口，並且於體積 2 公升之處開一口作為取樣之用，母槽上方亦有兩個開口，一作為營養基質流入之用，另一作為空氣進流用。

4. 蠕動幫浦

蠕動幫浦使用 Masterflex 公司，型號為 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。其幫浦管採用矽膠材質，不具毒性，可避免影響母槽培養及毒性測試的結果。

5. 電子顆粒計數器

以電子顆粒計數器來計數細胞數。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 50 μm 孔徑之玻璃管，其量測之顆粒直徑範圍為 1 μm ~ 30 μm 。

6. 溶氧測定儀

使用美國 YSI 公司出產之數字型溶氧測定器，型號 Model 59，BOD 探頭型號為 YSI5730。於 BOD 探頭處設有電動攪拌器，可以對樣品進行攪拌，精準度為 $\pm 0.01\text{mg/l}$ 。

7. 培養裝置

培養裝置為自行裝配之培養箱，檯面上可依需求而更換、拆裝，以角鋼為架構主體，長、寬、高各為 135、107、90cm，頂面予以 120cm 長 40W 之白色螢光燈管，可控制光照強度為 4300lux，並設有迴轉式震盪混合器 (WEST 公司，型號 S103)，震盪速度設定為 100rpm。而培養箱設置於無塵恆溫室內，溫度控制在 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ，作為藻類批次式培養與毒性試驗之用。

8. BOD 瓶

毒性試驗時所使用的玻璃器皿，體積為 300ml，直徑為 8cm 之 BOD 玻璃瓶，上頭開口處有玻璃瓶塞，使毒性試驗可在水封情況下進行，如此即可避免外界物質或氣體進入干擾實驗，更可防治揮發性毒物揮發散失，亦即整個系統為封閉系統。

4.2 實驗藥品

本實驗所做的目標毒性物質包含急性麻醉性毒物以及反應性讀物，均為用途廣大且常見之化合物，其物化特性如下表 4.2.1 及表 4.2.2 所示：

表 4.2.1 有機化學物質之物化特性(1)

作用機制	化學物質	分子式	分子量
Polar narcosis	2-Chlorophenol	C ₆ H ₅ ClO	128.6
	4-Chlorophenol	C ₆ H ₅ ClO	128.6
	2,3-Dichlorophenol	C ₆ H ₄ Cl ₂ O	163.0
	2,4-Dichlorophenol	C ₆ H ₄ Cl ₂ O	163.0
	2,4,6-Trichlorophenol	C ₆ H ₃ Cl ₃ O	197.4
Electrophile nonelectrolytes	Propionaldehyde	C ₃ H ₆ O	58.08
	Glutardialdehyde	OCH(CH ₂) ₃ CHO	100.1
	3-Hydroxybenzaldehyde	HOC ₆ H ₄ CHO	122.1

表 4.2.2 有機化學物質之物化特性(2)

化學物質	Log P	pka	純度(%)
2-Chlorophenol	2.29	8.29	99%
4-Chlorophenol	2.53	9.14	99%
2,3-Dichlorophenol	3.26	7.76	99%
2,4-Dichlorophenol	3.20	8.09	99%
2,4,6-Trichlorophenol	3.67	6.21	99%
Propionaldehyde	-	-	100%
Glutardialdehyde	-0.61	-	25%
3-Hydroxyaldehyde	-	-	98%

4.3 試驗藻種

本研究採用植物性浮游生物一月芽藻 (*Raphidocelis subcapitata*)。
Raphidocelis subcapitata 屬於綠藻綱 (Chlorophyceae)，購於 University of Texas, Austin，其特徵為單細胞、成群體但不糾結、不能移動，培養達穩定時藻類平均細胞體積在 40-60 μm^3 之間，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。

4.4 培養基質配製

本研究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，再稀釋至 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 。

儲備液的配法如下：

- (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：共配製 stock1 (100% EDTA)、stock2 (10% EDTA) 和 stock3 (0% EDTA) 三瓶不同編號的貯備溶液，100% 是使用於活化藻類時，而在連續式母槽中培養藻類時所使用之入流基質則為 10%，進行實驗時則使用不含 EDTA 之貯備液。每瓶的配法為先秤取下列七種藥品加入 500 ml 去離子水中，加完後，再加入螯合劑 (EDTA)，然後定量為一升。

而各藥品所需加的量如下：

- 92.760 mg H_3BO_3
- 207.690 mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
- 1.635 mg ZnCl_2
- 79.880 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- 0.714 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- 3.630 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- 0.006 mg $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

stock1 : 150 mg Na₂EDTA · 2H₂O

stock2 : 15 mg Na₂EDTA · 2H₂O

stock3 : 不加

最後配成之營養基質，其所含巨量及微量營養素濃度列於表 4.4.1 和表 4.4.2。配置完成的營養鹽基質必須用 0.45 μm 的濾膜過濾以達到滅菌的效果，配置營養基質的容器必需經過高壓滅菌釜滅菌後方可使用，而容器需用錫箔紙包附以避免光照產生光化學反應，並放在陰暗處存放於 4°C 冰箱中保存。而所有培養用之營養鹽均需在一個月更換一次，以防止其變質對培養造成影響，另外，在使用期間也必須隨時檢測氮、磷營養鹽是否有損失以確保實驗品質。而本實驗是採用環保署公佈之水質標準檢測方法(分光光度計法)檢驗之。



表 4.4.1 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	Na	11.0
K ₂ HPO ₃	1.04	C	2.14
MgSO ₄ · 7H ₂ O	14.7	K	0.649
MgCl ₂	5.7	P	0.186
CaCl ₂ · 2H ₂ O	4.41	S	1.91
		Mg	2.9
		Ca	1.20

表 4.4.2 藻類營養基質之微量營養組成份

化合物	濃度(mg/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
FeCl ₃	7.26	Fe	30.0
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	96.0	Mo	2.88
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	300	-	

4.5 實驗前準備

4.5.1 玻璃器皿

玻璃器皿使用前須先使用不含磷之清潔劑進行浸泡、清洗，浸泡一天後再以自來水反覆沖洗 3~5 次，清洗完後再以 10% 的鹽酸(HCl)浸泡至少一小時以上，之後再以碳酸鈉溶液進行清洗中和，並用自來水沖洗 3 ~ 5 次，然後再以去離子水進行潤洗 3~5 次，再放進烘箱中以 52 °C 之溫度烘乾。而在使用前必須在其開口處封上鋁箔，以防止外界物質進入，再放進滅菌釜中，以 1.1Kg/cm²、121°C 的條件進行滅菌 20 分鐘。另外，定量容器則不可加熱烘乾或放進滅菌釜中滅菌，以避免定量容器因加熱變形而改變容量，只要浸泡酸液清洗完後至於架上風乾即可。

4.5.2 盤面光度之調整

培養箱頂部採用螢光色燈管，周圍以鋁箔圍住培養箱內之震盪器，光度不足的地方以鋁箔加以調整，使震盪器盤面上光度落在 64.5±10μEm⁻²s⁻¹(4300±10% Lux)之範圍內，以減少實驗之誤差。

4.5.3 ISOTON II 之配製

ISOTON II 之作用主要是作為電子顆粒計數器之導電液，當再使用顆粒計數器量測藻類細胞數目時，所使用之溶液皆為 ISOTON II。ISOTON II 的配製方法為用 2 公升的超純水，稱取 20 克之氯化鈉(NaCl)加入其中，攪拌使其混合均勻，再以導電度計量測其導電度，所要達到之導電度為 17mmho，若是導電度低於 17mmho 時，則在慢慢加入氯化鈉(NaCl)，攪拌均勻直到導電度達到 17mmho 為止；相反的，如果導電度大於 17mmho，則加入超純水攪拌均勻，直到導電度降至 17mmho 為止，當溶液配製完成後再以 0.2 μ m 的濾膜過濾三次，其濾液即是進行藻類細胞計數時所需之 ISOTON II 溶液。

4.5.4 藻類之培養及保存

本實驗所使用之實驗物種 *Raphidocelis subcapitata* (另一學名: *Pseudokirchneriella subcapitata*)，藻類之培養從最出之固態培養開始，其以固態培養基培養並保存，其固態培養基之成分與液態培養基成分相同，唯一不同就是固態培養基有多加 1% 的洋菜膠(Agar)，在固體培養基的型態下，通常可以再 4 °C 下保存六個月。此外，亦做液體培養基培養，取藻種時必須在無菌操作台中，而無菌操作台必須先以 UV 燈管滅菌半小時以上才可使用，操作人員必須以 95% 的酒精進行殺菌，再以白金刮取固態培養基上之藻種，將其至於液態培養基質 (含 100% EDTA) 中培養。通常液態培養基中之藻類可在 4 °C 下保存四個星期，於四星期後作移植以繼續培養、保存菌種。

4.6 實驗條件之控制

- **溫度**：藻類之培養及毒性試驗皆在 $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 下進行。
- **光度**：藻類之培養及毒性試驗皆在光度為 $64.5 \pm 10\% \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ($4300 \pm 10\% \text{Lux}$) 進行，所使用之光源為連續白冷光。
- **氮、磷濃度**：培養藻類之入流基質使用 USEPA 規定濃度的一半濃度進行培養，活化及毒性試驗時則維持規定濃度。
- **HCO_3^- 濃度**：原濃度不變。
- **pH**：稀釋水的初始 pH 值需控制在 7.5 ± 0.1 下實驗。
- **EDTA 含量**：在批次培養活化藻類時使用 USEPA 規定的 EDTA 濃度 (100%)，而在連續式母槽中培養藻類時使用 USEPA 規定 EDTA 濃度的 10%，進行實驗時則使用不含 EDTA 之貯備液。
- **試驗時間**：48 小時。
- **藻類初始植種密度**： $1.5 \times 10^4 \text{ cells/ml}$ 。

4.7 毒物配置

4.7.1 氯酚類有機毒物

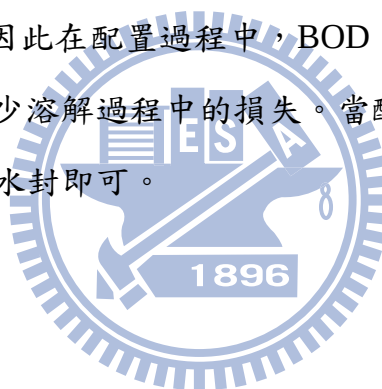
在本研究中，氯酚類仍是以去離子水進行配置，在步驟方面，以 BOD 瓶裝置去離子水進行配置，利用 BOD 瓶的水封特性將此類毒物溶液加以水封，最後以磁石攪拌器攪拌即可。而由文獻可得知(表 4.7.1)，當氯酚所接的氯原子越多時，其溶解度會下降，在文獻上 Boyd *et al.*^[64] 有提到，接三個氯原子以上可以強鹼(0.1N NaOH)進行配置，在以 0.1N 之 HCl 滴定回 pH=7 以進行實驗。

表 4.7.1 The water solubility of chlorophenols [54]

毒性物質	分子量(M.W.)	Water solubility (mg/L at 20°C)
2-Chlorophenol	128.6	28500
4-Chlorophenol	128.6	27100
2,3-Dichlorophenol	163.0	-
2,4-Dichlorophenol	163.0	4500
2,4,6-Trichlorophenol	197.5	800

4.7.2 醛類有機毒物

醛類有機物配置仍是以 BOD 瓶來進行配置，由於醛類具有非常高揮發性及密度皆小於 1，因此在配置過程中，BOD 瓶中 headspace 必須減至最小再進行水封，以減少溶解過程中的損失。當醛類完全溶於水之後再用去離子水將其補滿進行水封即可。



4.8 儀器之操作原理

4.8.1 電子顆粒計數器及其操作原理

電子顆粒計數器量測設備為玻璃管及攪拌器，操作時玻璃管需浸入含有 ISOTON II 稀釋樣品的燒杯中，水樣在計數的過程需攪拌以使顆粒均勻分佈。其原理為玻璃管近底端的側面鑲有紅寶石的精準小圓孔，玻璃管利用虹吸原理從小圓孔吸入水樣，而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被帶經圓孔時，會暫時性地干擾到電流，形成某特定量的電阻。而電阻量透過示波器的派衝波顯示，其高度正比於顆粒的大小，

脈衝數為顆粒的數目，直接以電子計數器紀錄顯示，如此即可得到水中顆粒粒徑分佈及數量，最終資料可輸送到電腦，以軟體程式（Multisizer Accucomp V. 2.01）進行分析。電子顆粒計數器主要條件設定如下表 4.8.1，本實驗採用 50 μm 孔徑之毛細玻璃管，其量測之顆粒直徑範圍為 1 μm ~ 30 μm 。

表 4.8.1 電子計數器設定之條件

項 目	數 值
滿刻度電流量 (Full scale)	10 mA
極性 (Polarity)	+
電流 (Currents I)	100
粒徑下限 (Diameter Lower Threshold, Tl)	1 μm
粒徑上限 (Diameter Lower Threshold, Tu)	30 μm
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 μL

進行藻類計數時，僅需吸取 1 ml 的藻液置入 50 ml 之定量瓶內，再加入 ISOTON II 至 50 ml，然後倒入燒杯中，置入顆粒計數器內計數。顯示之數值需扣除 ISOTON II 之背景值(即純 ISOTON II 之測量值)，連續三次值相差皆在 2%者之平均值為測量值。

藻液每毫升顆粒數(cells/ml)

$$= (\text{測量值} / 0.5\text{ml}) \times (100\text{ml} / \text{所取的藻液量})$$

4.8.2 溶氧測定儀之校正

一般溶氧測定儀可使用飽和空氣於水中校正與空氣校正兩種，但前者須將水曝氣至 100%，操作上相當困難，因此在此採用空氣校正法。空氣校正之方法是將電極置於盛有 2.5 公分左右水量之 BOD 瓶上，將此可視為 100% 之溼度，轉鈕至校正鍵 (calibrate)，輸入校正值 (100%)，確認後轉回測定鍵，連續重覆校正三次。每個月定期更換 CLARK-TYPE 薄膜與 3 M 氯化鉀電解質。必要時，需以 30% 之亞硫酸鈉將 PROBE 表面清洗乾淨，使其不殘留任何化學物質，而得 0% 之 DO 溶液，進行零點校正。

4.8.3 總有機碳分析儀(TOC)

總有機碳分析儀主要使用於有機毒物之定量，利用所偵測到的碳量回推出毒性有機物質的濃度，以確保所配置的毒物濃度品質，而總有機碳分析儀有高溫燃燒式與濕式氧化兩種，本研究所採用為高溫燃燒式總有機碳分析儀，其設定參數如下表 4.8.3.1 所示。在使用上，必須先開啟儀器熱機，使其達到工作溫度(850°C)，達到工作溫度時，再使用 Device control 吸取超純水清洗管路，再將探針插入樣品中即可。其作用原理，利用 10%磷酸去除樣品中的無機碳(Inorganic carbon)，在將樣品打入高溫觸媒轉化爐進行燃燒，燃燒後的氣體經由富含紅銅絲與黃銅絲之管柱以吸附鹵素保護有機碳偵測器(NDIR)，最後氣體再經由 NDIR 測得 CO₂ 量之多寡。因此在使用儀器之前必須確保 10%磷酸溶液及超純水足夠，以確保偵測品質。

表 4.8.3.1 總有機碳分析儀之設定參數

項目	設定值
溫度(Temperature)	850 °C
氣體進流量(Gas flow in)	>190 ml/min
氣體出流量(Gas flow out)	>190 ml/min
注射體積(Inject volume)	1000 μ L

4.9 實驗步驟

4.9.1 連續式母槽之培養

連續式母槽培養步驟如圖 4.9.1 所示。首先，將移植的藻類由 4°C 的冰箱中取出，以藻液體積比上培養基質（含 100% EDTA）體積比 1：10 的比例將藻液培養三天，藉以活化藻細胞，使其能夠達到指數生長期。將 4 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°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，以避免藻類沈澱並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 64.5 $\pm$ 10% μ Em⁻²s⁻¹(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 250ml/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。整個裝置架設好後，即可植入藻液。植入藻液時，以藻液：營養基質體積比為 1：3 之比例，將藻液植入連續式培養母槽之中。

當連續式培養母槽中藻細胞數量達到約為最大可能藻細胞數量之 80~90% 時(約為 $1.9\sim 2.0 \times 10^6$ cells/mL),則開始以蠕動幫浦輸入營養基質,此處使用之營養基質參考 U.S. EPA 標準方法中之營養基質,但將其中之 EDTA 濃度降為原本之 10%。因為連續式培養母槽有一固定之體積,所以可以藉由流入之營養基質體積直接來計算、控制所需之稀釋率,也就是藉此來控制連續式培養母槽中藻細胞之生長率。本實驗中所稀釋之比率為 0.25 day^{-1} ,因此此時生長率為 0.25。

每日量測連續式培養母槽中藻細胞之細胞濃度 (Cell Density)、平均細胞體積 (Mean Cell Volume)、pH 值、溢流率等數值,以判定連續式培養母槽是否已經達到穩定狀態 (Steady State Condition)。本實驗以連續三天之上述參數值皆在一定控制範圍之內,即認為系統達到穩定狀態。



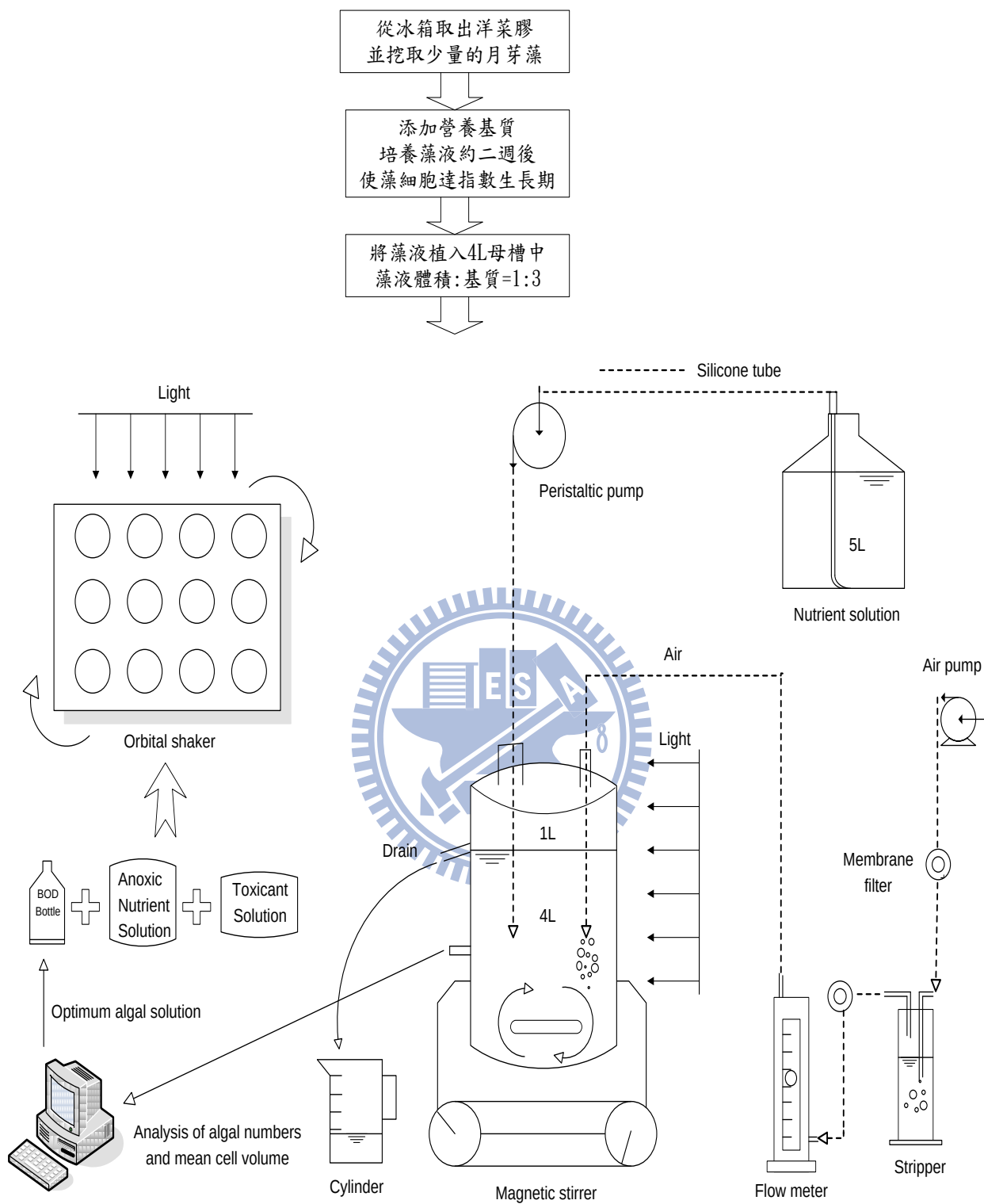


圖 4.9.1 The flow chart in close-system algal toxicity test

4.9.2 批次式藻類毒性試驗

當確定連續式培養母槽穩定之後，即可以開始藻類毒性試驗。毒性試驗之營養基質為參考 U.S. EPA 標準方法，而後修改濃度配製。將自行設計之純水曝氣設備儲存實驗所需使用之稀釋水，以含 0.5% 二氧化碳 (CO_2) 及 99.5% 氮氣 (N_2) 之混合氣體進行曝氣，藉此降低營養基質中之溶氧值並增加其 CO_2 濃度以提高藻類所需的碳源。而當 CO_2 溶於水時會使 pH 下降，因此曝氣前稀釋水會先加入些許 0.1N 之氫氧化鈉 (NaOH)，使曝氣後之 pH 值可控制在 7.5 ± 0.1 的範圍內。曝氣時之氣體流量約為 600ml/min，經過 15 至 20 分鐘的曝氣後，溶氧值可接近 1.7 mg/l。迅速將純水筒之蓋子蓋上，以防止空氣中的氧氣溶進稀釋水中。

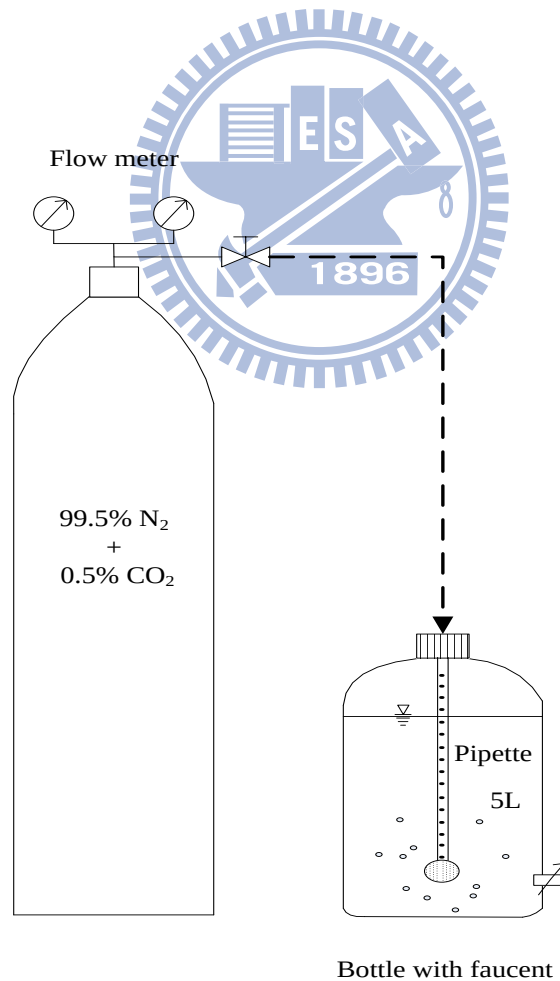


圖 4.9.2.1 The diffuser system of deion-water

再由穩定狀態之連續式培養母槽中取出適量之藻液，分別加入 BOD 瓶中使試驗時藻類之初始細胞密度為 1.5×10^4 cells/ml。之後再迅速加入曝氣好之稀釋水至八分滿，然後加入所需濃度之毒性物質以達到試驗濃度，最後在補滿稀釋水做最後的水封動作，以防止試驗期間毒性物質的逸散。每次實驗一組八瓶，重複三次。每組之第一瓶為控制組，即不加入任何毒性物質，藉此了解在移植之過程中是否有其他因素影響到藻類之正常生長。

當藻液、稀釋水及毒性物質皆分別加入 BOD 瓶中後，測量各瓶之溶氧值，視為初始溶氧值 (Initial DO, DO_i)，並由各瓶中取出少量之溶液 (約 1ml)，以計數初始藻液細胞密度是否為 1.5×10^4 cells/ml。然後將 BOD 瓶置於培養箱內迴轉式震盪混合器上震盪。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 $64.5 \pm 10 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ($4300 \pm 10\%$ Lux) 之白冷光燈，震盪頻率為 100rpm。

從植入藻種開始，每 8 ~ 12 小時須注意 BOD 瓶上水封是否因蒸發或其他因素而減少，適當的加上去離子水，使水封確實。於 48 個小時後量測各個 BOD 瓶中之溶氧值，視為最終溶氧值 (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)。即 $DO_f - DO_i = \Delta DO$ 。由此淨溶氧值及毒性物質濃度即可由 Probit 模式分析求得此毒性物質於試驗終點為溶氧值時之 EC_{50} 值。

在量測完溶氧值後，緊接著用顆粒計數器量測每個 BOD 瓶的藻類細胞密度，由此計算藻類之生長率，並藉由 Probit 模式分析求得以藻類細胞密度為試驗終點時之 EC_{50} 值。

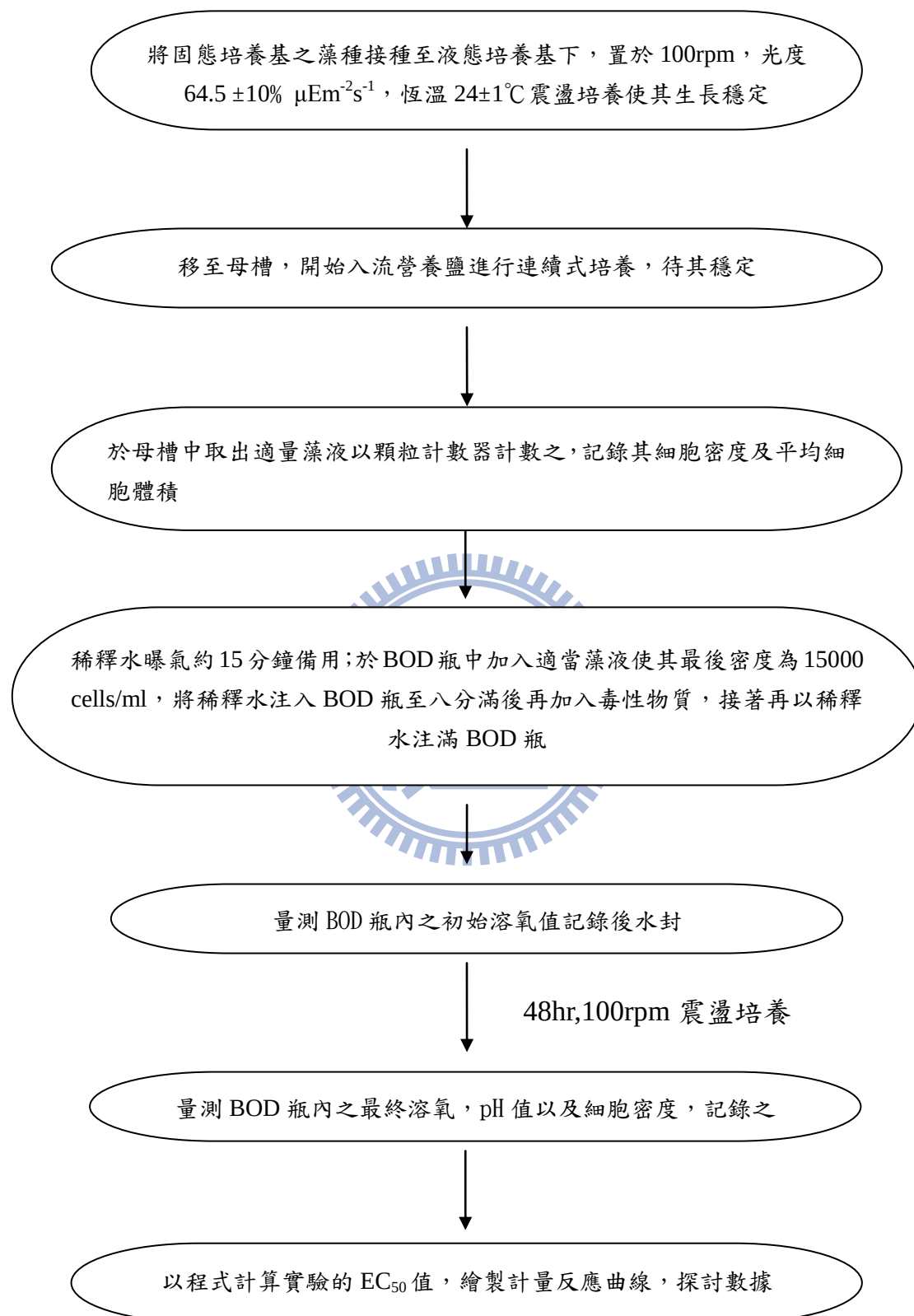


圖 4.9.2.2 藻類毒性試驗流程圖

4.9.3 混合毒性試驗

本研究中為五個氯酚類混三個醛類總共 15 組的混合毒性試驗，其混合比例以溶氧量(ΔDO)這個反應終點為基礎，以毒性單位比 1：1 的比例進行混合毒性試驗。毒性單位算法如下：

$$TU_1 : TU_2 = \frac{Z_1}{EC_{50\ 1}} : \frac{Z_2}{EC_{50\ 2}}$$

其中， Z_1 、 Z_2 ：毒物濃度

$EC_{50\ 1}$ 、 $EC_{50\ 2}$ ：個別毒性物質之半抑制濃度

TU_1 、 TU_2 ：個別毒性物質之毒性單位

實驗上，所配置之毒性物質會先經由 TOC 的定量，再由已知的毒性單位比及 EC_{50} 計算出實驗中所需加的毒性物質體積，實驗步驟比照 4.9.2 節批次式藻類毒性試驗之方法，反應終點為 ΔDO 、Biomass、Growth Rate。實驗結果以 Probit 模式進行計算，進而得到半抑制之毒性單位值。另外，值得注意的是，因為三個反應終點的個別單一毒性之 EC_{50} 不同，因此除了 ΔDO 之毒性單位比為 1：1 外，Biomass 及 Growth rate 則不是。

另外，本研究會進行製作 Isobologram 以更進一步的探討混合毒性效應。實驗方法上，仍然以 ΔDO 為基礎，分別進行 3：1、1：1、1：3 的混合毒性試驗，再以 Probit 模式及 Multox 程式計算處理繪製。以 ΔDO 所做的毒性試驗可同時得到以 Biomass、Growth Rate 為基礎的 Isobologram，為求圖上點分布平均，對於實驗點較不足或實驗點偏向任何一方之組合，會進行額外的實驗，以增加 Isobologram 的可信度。

4.10 實驗之品保及品管(QA/QC)

在每次實驗過程中，可能因為儀器使用太頻繁而忽略儀器的保養，進而導致實驗數據的重複性不高甚至會有很大的偏差，因此再每次進行實驗之前，所需要使用到之儀器及早類的生長狀況都必須要定期檢驗，如此一來才能維持實驗之重複性及實驗品質。以下為本實驗對於藻類培養及儀器方面所做的檢驗程序：

4.10.1 藻類生長之監測

為確保實驗時所使用的藻類品質為最佳狀態，每天必須進行監測，取 1mL 的藻液，利用顆粒計數器進行藻類細胞計數，量測其藻類細胞密度以及其平均細胞體積(MCV)等參數變動情形，並控制連續是母槽之溢流率為 1000mL/day，即稀釋率為 0.25 day^{-1} ，當這些參數落於長期平均值正負三倍標準偏差內才可進行實驗。另外，為了確保藻類培養之穩定性，培養藻類所需要之營養鹽必須每一個月進行重新配置，以確保營養鹽的品質。

4.10.2 實驗設備定期檢查

實驗設備誤差會影響實驗結果，為降低誤差的發生必須定期檢查所用之設備：

- 光度：光度強弱會影響藻類生長狀況，為減少光度所帶來的誤差，在每次實驗進行之前，要將震盪器上之盤面光度調整至 $64.5 \pm 10\% \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ($4300 \pm 10\% \text{ Lux}$)，以提供密閉式藻類試驗穩定的光源。
- 顆粒計數器：顆粒計數器在量測高濃度之處理組(低藻類密度)時，也會受到 ISOTON II 背景值之影響，因此本實驗要求 ISOTON II 背景值需小於 300 以下，且實驗前後皆須以 ISOTON II 進行取樣管的流洗，已去除取樣管壁的結晶。
- DO meter：如果薄膜或電解液受到污染，也會影響到以溶氧為反

應終點之藻類毒性試驗的敏感度，因此本實驗會定期更換 CLARK-TYPE 薄膜以及 3M 氯化鉀電解質和進行校正。

- pH meter：如電極棒有為例附著在表面上時，因為會導致兩點校正(pH=4 and 7)其斜率低於 90 時，則應立即將電擊棒泡於 0.1N 之鹽酸中以達到去除表面微粒之效果，另外校正液也應定期更換，以確保校正品質。
- TOC：總有機碳分析儀在每次使用前皆必須注意更換洗滌用之去離子水以及去除無機碳之 10%磷酸 (H_3PO_4)是否足夠，在氣體流量方面則須注意到空氣濾膜及除水膜是否阻塞，而吸附鹵素之管柱則須注意管柱內的銅絲是否已達飽合或更換，以保護儀器上的 NDIR。校正曲線方面，則是以每一個月利用葡萄糖來進行 Double check 來檢測校正取縣的準確度，以確保儀器使用上的品質。



第五章 結果與討論

5.1 單一毒性試驗結果

本實驗主用為利用密閉性藻類毒性試驗對不同機制之氯酚類及醛類進行毒性試驗，其中反應物質如表 5.1.1 所示，本研究以淨溶氧量(ΔDO)、生物量(Biomass)、生長率(Growth Rate)作為實驗之反應終點，因此，實驗結束後會量測各個 BOD 瓶之溶氧(DO)及細胞顆粒數(cell number/ml)，再將此兩參數帶入 Probit 模式中，以求得毒性物質之個別劑量反應曲線與劑量反應曲線之斜率(α)、截距(β)及 EC_{50} 值。而斜率(α)及 EC_{50} 值將作為往後混合毒性試驗之依據，以上述兩個參數來進行不同比例之混合毒性試驗。

表 5.1.1 本實驗之有機毒物

Polar narcosis	Reactive toxicant
2-Chlorophenol	Propionaldehyde
4-Chlorophenol	Glutardialdehyde
2,3-Dichlorophenol	3-Hydrobenzaldehyde
2,4-Dichlorophenol	
2,4,6-Trichlorophenol	

單一毒性試驗包含 5 種麻醉性物質及 3 種反應性物質之 EC_{50} 值如下表 5.1.2 所示，經由 Probit 模式分析過後，可以得到各個反應終點之 EC_{50} 值、截距(α)及斜率(β)，而劑量反應曲線如圖 5.1.1 至圖 5.1.8 所示。由表 5.1.2 可發現，三個反應終點當中，以 Biomass 敏感度最高，其次為 ΔDO ，最後為 Growth rate。

表 5.1.2 單一毒性試驗之 EC₅₀ 值(mg/L)

Toxicant	DO	Biomass	Growth rate
2-CP	60.077	29.247	51.192
4-CP	14.557	8.038	21.799
2,3-DP	3.533	3.215	6.097
2,4-DP	13.226	10.902	19.636
2,4,6-DP	6.318	4.363	8.377
Propionaldehyde	36.634	11.471	32.294
Glutardialdehyde	3.713	3.480	12.075
3-Hydroxybenzaldehyde	27.377	32.109	79.405

氯酚類毒性強弱方面，根據 1988 年 Takuo and Kuino^[53]的研究發現，當氯酚類所接的氯原子越多則毒性越強，其主要原因在於當所接的氯原子越多時，其脂溶性越高，因此對於細胞膜之攻擊越具效果因而造成毒性效應；另外在結構方面亦可發現規律性，即當氯原子接在間位(meta-)時毒性最強，其次為對位(para-)，最後為鄰位(ortho-)，當氯原子在鄰位時即越靠近 OH 官能基，因為氯原子有很高的電負度(EN 值 3.16)，會吸引 OH 官能基上的電子進而降低 OH 自由電子的反應能力，另外位於鄰位(ortho-)時會與 OH 基產生分子內氫鍵而阻礙 OH 基的反應能力；而位於對位(para-)時，其結構位置與 OH 基屬對稱結構也會降低氯酚類之毒性，因此在結構上，為間位(meta-)的毒性最強。本研究，由上表 5.1.2 可發現，

mono-chlorophenol 方面，4-CP 的毒性大於 2-CP；di-chlorophenol：2,3-CP 大於 2,4-CP；值得注意的是，在本研究中可發現 2,3-DP 的毒性比 2,4,6-TCP 強，如下表 5.1.3 所示，根據 1988 年 Tadayoshi *et al.*^[54]及 2002 年 Akane Miyazaki^[56]的藻類及水蚤類研究部分，仍有此類情況的發生，而在纖毛蟲及魚類研究部分則遵循著所接氯原子越多毒性越強的現象，因此，可發現物種上的差異亦會影響氯酚類毒性效應；但本研究所採用為單細胞藻類，

排除生物體內的作用，發生此現象的原因主要在於 2,4,6-TCP 之 pKa 為 6.21，而本實驗之 pH 須控制在 7.5 ± 0.1 ，因此 2,4,6-TCP 已經解離成較不毒的離子態，進而產生 2,4,6-TCP 之毒性較 2,3-DP 弱的現象。在醛類方面，由於本實驗只採用三種醛類毒性物質，在毒性數據上的對照過少，因此在本實驗中無法討論其毒性效應強弱之趨勢，以最敏感的反應終點(Biomass)而言，從實驗結果可得知 Glutardialdehyde 之毒性最強，其次為 Propionaldehyde，最後為 3-Hydroxybenzaldehyde；但在毒性機制方面，醛類屬於反應性物質，主要在於其羰基具有很高的反應性，很容易穿透細胞膜且會與細胞之核酸、蛋白質反應進而對生物體造成危害。

表 5.1.3 *R. subcapitat* (by biomass)與其他物種之 EC₅₀ 值(mg/L)^{[54][56]}

	Algae (<i>R. subcapitat</i>)	Microtox (<i>E. coli</i>)	Crustacean (<i>D. magna</i>)	Fish (<i>O. latipes</i>)
2-CP	29.247	16.82	12.860	41.152
4-CP	8.038	1.12	7.716	4.887
2,3-CP	3.215	3.51	4.075	4.075
2,4-CP	10.902	2.57	3.097	6.357
2,4,6-TCP	4.363	1.37	3.950	2.370

另外，圖 5.1.1 至圖 5.1.8 為本研究中單一毒性試驗之劑量反應曲線圖，此為利用 Probit 分析出來的結果，由表 5.1.4 可得知本研究之毒性化學物質在各個反應終點之斜率大小，可得知五個氯酚類毒性化學物質當中，以 4-CP 之斜率屬於小斜率的部分，其餘四個氯酚(2-CP、2,3-DP、2,4-DP、2,4,6-TCP)皆屬於大斜率，而醛類毒性化學物質則皆屬於小斜率；會作此分類乃因於本研究之混合毒性試驗所採用的混合預測模式為 RA(Response addition)模式，與 CA(Concentration addition)、IA(Independent action)的差別在於 RA 模式有考慮到斜率的影響，以使本研究之預測模式更完整。

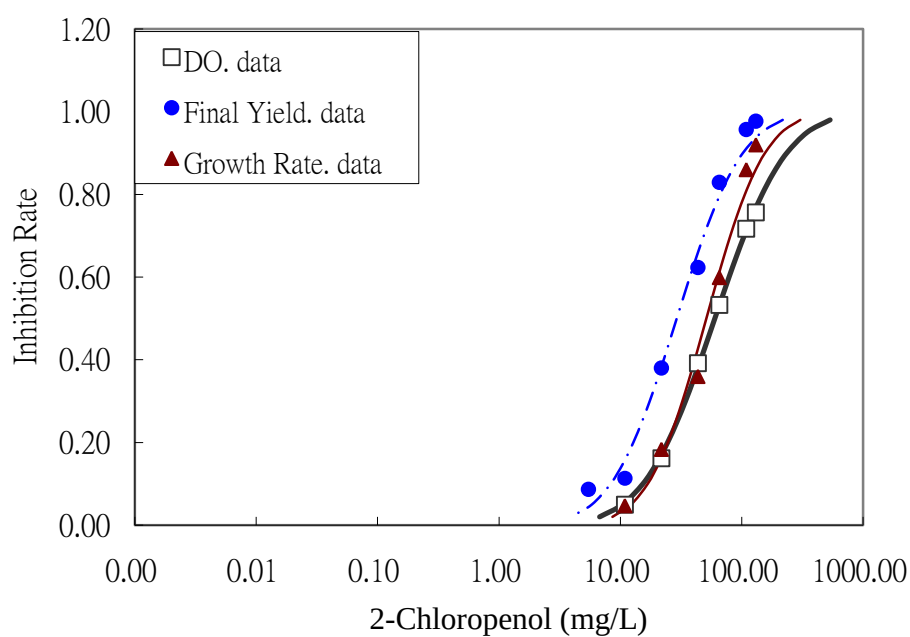


圖 5.1.1 2-Chlorophenol 之劑量反應曲線圖

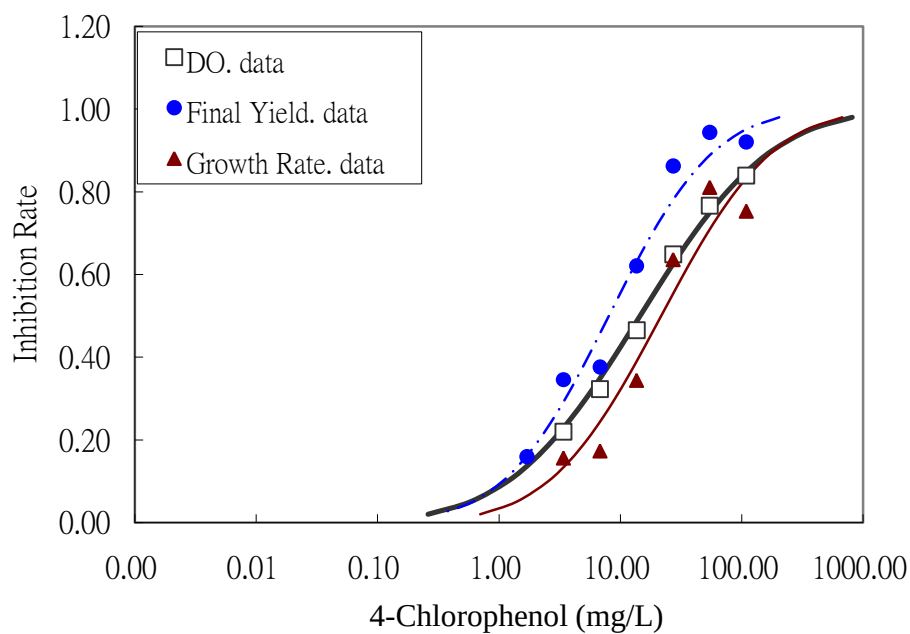


圖 5.1.2 4-Chlorophenol 之劑量反應曲線圖

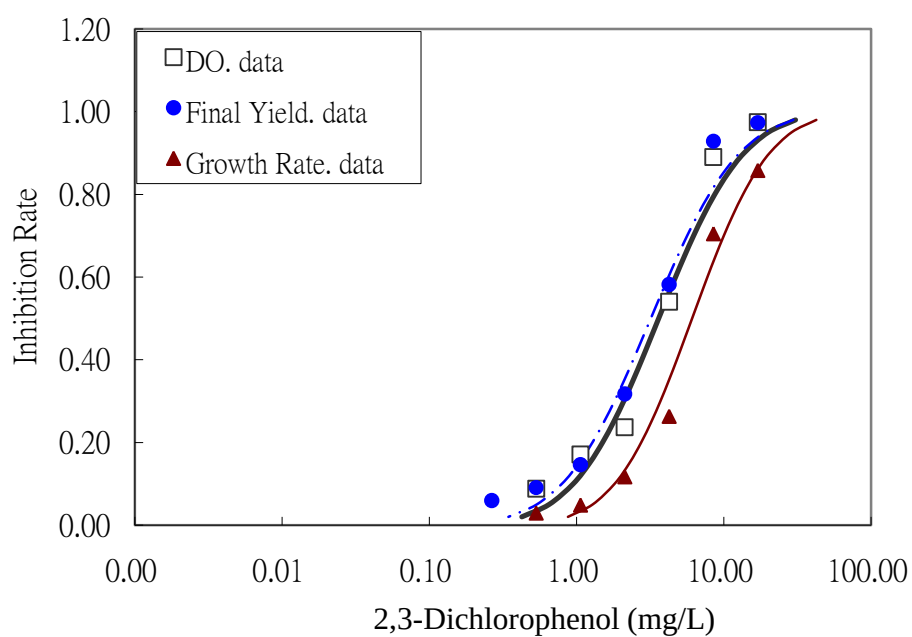


圖 5.1.3 2,3-Dichlorophenol 之劑量反應曲線圖

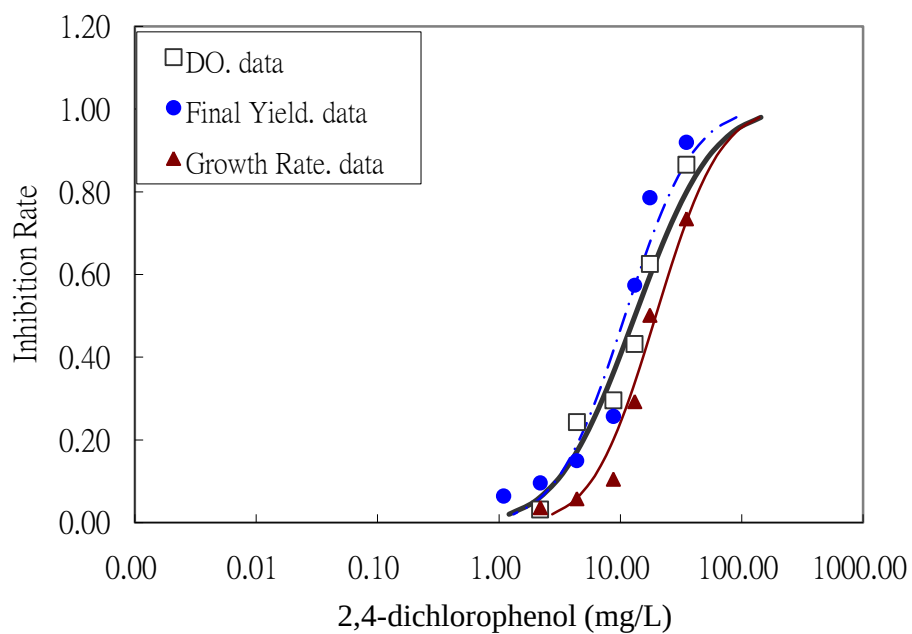


圖 5.1.4 2,4-Dichlorophenol 之劑量反應曲線圖

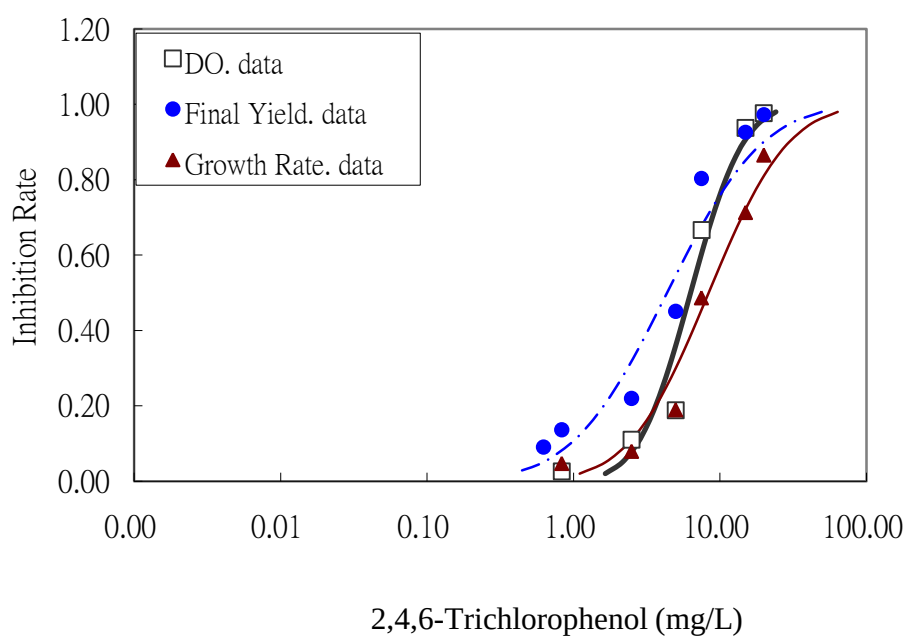


圖 5.1.5 2,4,6-Trichlorophenol 之劑量反應曲線圖

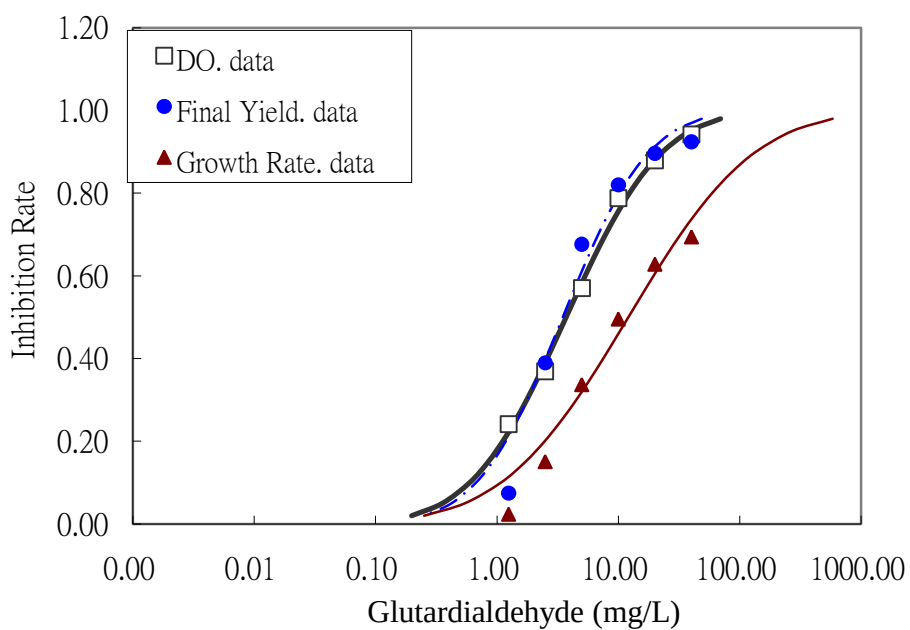


圖 5.1.6 Glutardialdehyde 之劑量反應曲線圖

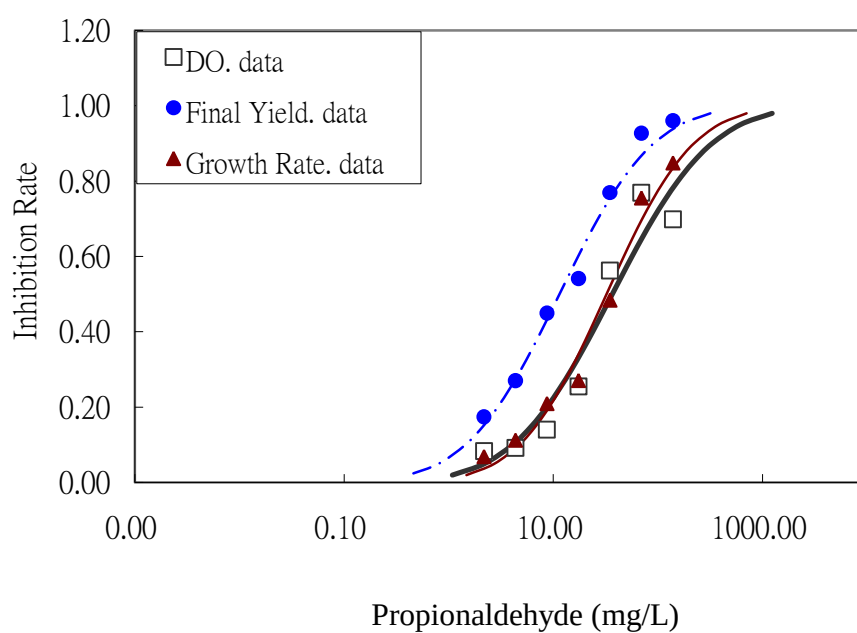


圖 5.1.7 Propionaldehyde 之劑量反應曲線圖

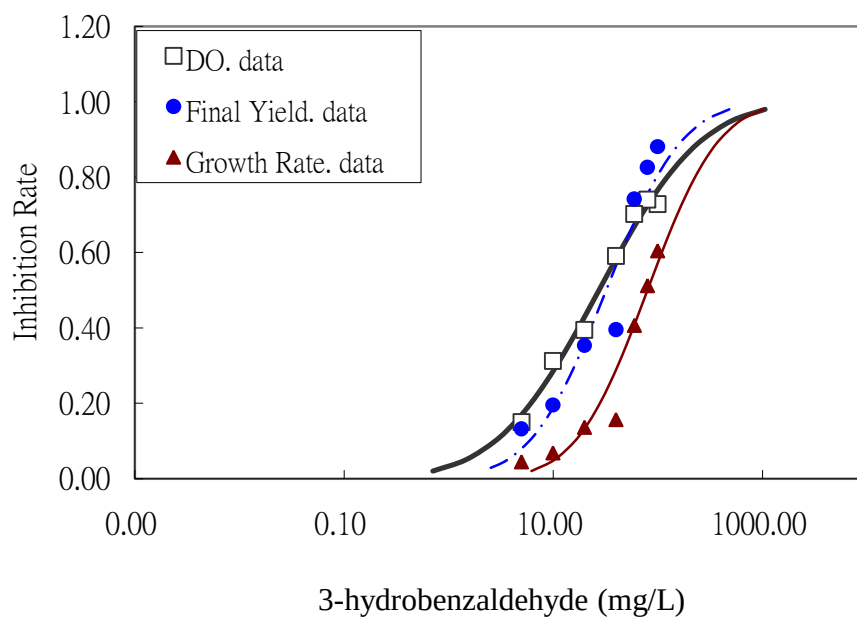


圖 5.1.8 3-Hydrobenzaldehyde 之劑量反應曲線圖

表 5.1.4 實驗毒物各個反應終點之斜率

Toxicant	Δ DO	Biomass	Growth rate
2-CP	2.162	2.352	2.655
4-CP	1.175	1.464	1.377
2,3-DP	2.070	1.937	2.436
2,4-DP	1.979	2.239	2.408
2,4,6-TCP	3.525	1.945	2.333
Propionaldehyde	1.343	1.425	1.534
Glutardialdehyde	1.615	1.795	1.220
3-Hydrobenzaldehyde	1.294	1.746	1.852

5.2 混合毒性試驗結果

5.2.1 毒性單位之探討

混合毒性試驗效應，在本研究中是以毒性單位(Toxic unit, TU)之 95% 信賴區間來加以判別，當 95%信賴區間小於 1 時，則為協同作用(Synergism)，反之，當 95%信賴區間大於 1 時，則為拮抗作用(Antagonism)，若 95%信賴區間有包含到 1 時，則為相加作用(Simple addition)。文獻回顧中曾提到，當毒性物質作用機制不同時，其實驗結果主要以毒性減弱呈現，而 Chen^[69] 提出不同的觀點，得到一趨勢為當兩毒性物質的劑量-反應曲線之斜率甚小時，其容易協同作用(Synergism)；相反之，當兩毒性物質的劑量-反應曲線之斜率甚大時，則容易產生拮抗作用(Antagonism)。因此，本研究採用 Chen 所提出的觀點，以單一試驗所得到的劑量-反應曲線之斜率來加以探討反應性物質(Aldehyde)與極性麻醉性物質(Chlorophenol)的混合毒性效應，並利用 Christensen & Chen 在 1989 年所建立的混合預測模式，即 Response addition (RA)模式($\rho=-1$ 、 $\lambda=1$)，來預測兩種不同作用機制之毒性物質的混

合效應。

實驗以 ΔDO 此反應終點之 EC_{50} 值為依據進行毒性單位 1:1 的混合毒性試驗，由下表 5.2.1.1 之實驗結果及表 5.2.1.2 之整理結果發現，在 ΔDO 此反應終點下之 15 組混合毒性試驗當中，產生協同作用的有 9 組，相加作用的有 4 組，拮抗作用僅有 2 組；也就是說產生拮抗的機率只有 13.3%，與文獻中所提到，多數學者認為不同機制毒化物混合為毒性減弱互相抵觸，但卻與 Olivier *et al.* [68] 的研究結果相符，在混合模式基本假設下，其原因可能為，生物體中部分毒物受體相較於其他受體來的敏感，進而造成更強的毒性效應，但這些推測對於混合效應之推測稍顯不足，因此，本研究進而探討由劑量-反應曲線所得到之斜率對混合毒性效應的影響。

表 5.2.1.1 醛類與氯酚類以 ΔDO 為反應終點之混合毒性(TU=1:1)

Toxicant (slope)	Toxicant (slope)	EC_{50}	95% C.I.	Predict
Glutardialdehyde (1.615)	2-chlorophenol (2.162)	0.78	0.64~0.89(S)	0.88(S)
	4-chlorophenol (1.175)	0.40	0.18~0.56(S)	0.63(S)
	2,3-dichlorophenol (2.070)	0.70	0.63~0.79 (S)	0.87(S)
	2,4-dichlorophenol (1.979)	0.74	0.66~0.83 (S)	0.83(S)
	2,4,6-trichlorophenol (3.525)	0.90	0.79~1.00 (+)	1.06(+)
3-Hydroxybenzaldehyde (1.294)	2-chlorophenol (2.162)	1.51	1.15~2.25 (A)	0.80(S)
	4-chlorophenol (1.175)	0.27	0.22~0.32 (S)	0.56(S)
	2,3-dichlorophenol (2.070)	0.44	0.44~0.45 (S)	0.81(S)
	2,4-dichlorophenol (1.919)	0.23	0.22~0.23 (S)	0.76(S)
	2,4,6-trichlorophenol (3.525)	0.39	0.39~0.39 (S)	1.02(+)
Propionaldehyde (1.343)	2-chlorophenol (2.162)	0.74	0.59~0.92 (S)	0.58(S)
	4-chlorophenol (1.175)	1.49	1.21~2.06 (A)	0.58(S)
	2,3-dichlorophenol (2.070)	1.32	1.06~1.73 (+)	0.8(S)
	2,4-dichlorophenol (1.919)	0.92	0.79~1.06 (+)	0.78(S)
	2,4,6-trichlorophenol (3.525)	1.08	0.99~1.18 (+)	1.02(+)

S : Synergism ; A : Antagonism ; + : Simple addition

The predict results based on RA model ($\rho=-1$ 、 $\lambda=0$) .

本研究所採用的預測模式為 Christensen & Chen 在 1989 年所建立的混合預測模式，即 Response addition (RA) 模式($\rho=-1$ 、 $\lambda=1$)，由表 5.2.1.1 可得知所預測的結果當中，符合預測的共有 10 組，另外在丙醛與 2,4-DP 的結果當中發現其預測值非常接近 95% 信賴區間的下限，因此，包含此組試驗可得到共有 11 組試驗是符合預測的，也就是說，符合預測比例為 73%，若扣除丙醛此化合物之混合試驗，可發現在 10 組試驗當中，有 8 組是符合預測的，符合率高達 80%；此外，本研究所採用之醛類皆為小斜率($\beta < 1.5$)，氯酚類除 4-CP 外皆為大斜率($\beta > 2.0$)，可發現 3 組小斜率混小斜率的試驗當中，有 2 組是符合協同效應的預測，因此，以本研究針對 ΔDO 此反應終點的試驗結果，更加證實本研究群所考慮到的斜率之重要性。

而另外兩個反應終點(Biomass、Growth rate)之混合毒性試驗當中，由於 EC_{50} 值的不同，使的毒性單位比不為 1:1，因此，此兩個反應終點之混合毒性試驗是由其個別 EC_{50} 值來決定混合毒性單位比。由下表 5.2.1.2 可發現，在 Biomass、Growth rate 兩反應終點之 30 組毒性試驗中，兩種毒性物質作用機制不同的情況下，共有 20 組呈現毒性相加或毒性減弱的現象，發生機率為 66%；而在此 30 組試驗當中，扣除掉 Propionaldehyde 較不符合的部分可發現，符合預測的比例為 60%，在小斜率部分，4-CP 是唯一屬於小斜率的部分，在與小斜率的醛類的混合試驗當中，本研究群預測為協同作用(Synergism)，由下列小斜率的組合之六組試驗當中，亦可發現符合比例為 50%，此外，由於 Biomass、Growth rate 此兩反應終點之斜率皆比 ΔDO 此反應終點高，由表 5.2.1.3 及表 5.2.1.4 可以發現，在 3-Hydroxybenzaldehyde 及 Propionaldehyde 的部分，其斜率皆比 ΔDO 大上許多，因此在結果上比 ΔDO 此反應終點之混合試驗結果更容易出現毒性相加或毒性減弱的現象，而在預測結果上也反應出斜率對混合毒性結果的影響，也證實了本研究利用單一毒性之劑量反應曲線斜率對於混合毒性預測的能力。而在預測的部分，一般用來預測的毒性單位比為 1:1 是較具

說服力，但可由表 5.2.1.3 及表 5.2.1.4 發現，在毒性單位比例的部分可看出兩毒物間之毒性單位相差非常大，造成在 Final yield、Growth rate 此兩反應終點下預測能力較差。

而對於實驗結果與預測明顯不符的部份，由於混合毒性之基本假設為兩毒性化學物質沒有交互作用(Non-interactive)，因此基於這個假設下，預測上會有限制性乃因物質間可能存在著未知的化學反應，以至於實驗結果與預測不符，然而，對於這些不符合的試驗，本研究會進行化學分析在下一節中加以研究探討。在風險評估方面，Synergism 的混合毒性效應是必須值得注意的，由上述結果發現，以 ΔDO 為反應終點之 Glutadialdehyde 與 Chlorophenol 的 15 組混合試驗當中，就有 11 組產生協同效應，在評估上很容易去低估對環境毒性危害，因此，在本研究中也顯現出 Glutadialdehyde 與 Chlorophenol 存在環境中的危害性及重要性。



表 5.2.1.2 混合結果總數

End point	Effect	組數	發生機率(%)
ΔDO	Synergism	9	60.0 ^a
	Addition	4	26.7 ^a
	Antagonism	2	13.3 ^a
Biomass	Synergism	4	13.3 ^b
	Addition	5	16.7 ^b
	Antagonism	6	20.0 ^b
Growth rate	Synergism	6	20.0 ^b
	Addition	3	10.0 ^b
	Antagonism	6	20.0 ^b

^a：在 ΔDO 此反應終點之 15 組毒性試驗下，毒性效應的發生機率

^b：在 Biomass、Growth rate 此兩反應終點之 30 組毒性試驗下，毒性效應的發生機率

表 5.2.1.3 醛類與氯酚類以 Biomass 為反應終點之混合毒性

Toxicant (slope)	Toxicant (slope)	TU ratio ^a	EC ₅₀	95% C.I.	Predict
Glutardialdehyde (1.795)	2-chlorophenol (2.352)	1 : 1.92	1.00	0.61~1.30 (+)	0.94(+)
	4-chlorophenol (1.464)	1 : 1.63	0.50	0.38~0.62 (S)	0.73(S)
	2,3-dichlorophenol (1.937)	1 : 1.19	0.74	0.67~0.81 (S)	0.89(S)
	2,4-dichlorophenol (2.239)	1 : 0.88	0.69	0.62~0.75 (S)	1.06(+)
	2,4,6-trichlorophenol (1.945)	1 : 1.23	0.93	0.79~1.00 (+)	0.93(+)
3-Hydroxybenzaldehyde (1.746)	2-chlorophenol (2.352)	1 : 2.41	1.39	1.31~1.48 (A)	0.95(+)
	4-chlorophenol (1.464)	1 : 2.12	1.77	1.46~1.91(A)	0.79(S)
	2,3-dichlorophenol (1.937)	1 : 1.31	0.88	0.71~1.00(+)	0.90(+)
	2,4-dichlorophenol (2.239)	1 : 1.43	1.00	0.96~1.14 (+)	0.96(+)
	2,4,6-trichlorophenol (1.945)	1 : 1.69	0.56	0.22~0.83 (S)	0.86(S)
Propionaldehyde (1.425)	2-chlorophenol (2.352)	1 : 0.64	2.21	1.82~2.63 (A)	0.91(+)
	4-chlorophenol (1.464)	1 : 0.57	0.87	0.70~1.06 (+)	0.28(S)
	2,3-dichlorophenol (1.937)	1 : 0.35	2.71	2.20~3.54 (A)	0.87(S)
	2,4-dichlorophenol (2.239)	1 : 0.38	1.46	1.30~1.65 (A)	0.94(+)
	2,4,6-trichlorophenol (1.945)	1 : 0.45	1.57	1.40~1.76 (A)	0.83(S)

S : Synergism ; A : Antagonism ; + : Simple addition

The predict results based on RA model ($\rho=-1$ 、 $\lambda=0$) .

^a : The TU ratio (Aldehyde : Chlorophenol)

表 5.2.1.4 醛類與氯酚類以 Growth rate 為反應終點之混合毒性

Toxicant (slope)	Toxicant (slope)	TU ratio ^a	EC ₅₀	95% C.I.	Predict
Glutardialdehyde (1.220)	2-chlorophenol (2.655)	1 : 3.87	0.66	0.24~0.94 (S)	0.83(S)
	4-chlorophenol (1.377)	1 : 2.10	0.21	0.13~0.28 (S)	0.43(S)
	2,3-dichlorophenol (2.436)	1 : 2.22	0.66	0.60~0.72 (S)	0.91(+)
	2,4-dichlorophenol (2.408)	1 : 1.71	0.42	0.35~0.50 (S)	0.60(S)
	2,4,6-trichlorophenol (2.333)	1 : 2.24	0.83	0.60~1.12 (+)	1.15(A)
3-Hydroxybenzaldehyde (1.852)	2-chlorophenol (2.655)	1 : 3.36	1.31	1.23~1.39 (A)	1.01(+)
	4-chlorophenol (1.377)	1 : 1.94	1.13	1.04~1.28 (A)	0.80(S)
	2,3-dichlorophenol (2.436)	1 : 1.71	2.30	1.81~3.34 (A)	1.50(A)
	2,4-dichlorophenol (2.408)	1 : 1.95	0.84	0.69~1.14 (+)	0.92(+)
	2,4,6-trichlorophenol (2.333)	1 : 2.20	0.61	0.37~0.89 (S)	0.96(+)
Propionaldehyde (1.534)	2-chlorophenol (2.655)	1 : 1.03	1.86	1.64~2.16 (A)	0.94(+)
	4-chlorophenol (1.377)	1 : 0.59	0.76	0.62~0.99 (S)	0.77(S)
	2,3-dichlorophenol (2.436)	1 : 0.52	2.29	1.87~3.11 (A)	0.96(+)
	2,4-dichlorophenol (2.408)	1 : 0.60	0.98	0.80~1.18 (+)	0.94(+)
	2,4,6-trichlorophenol (2.333)	1 : 0.67	1.25	1.09~1.44 (A)	0.93(+)

S : Synergism ; A : Antagonism ; + : Simple addition

The predict results based on RA model ($\rho=-1$ 、 $\lambda=0$) .

^a : The TU ratio (Aldehyde : Chlorophenol)

5.2.2 物種比較

由於不同試驗物種對於毒性物質的容忍度不一，而本實驗所採用之試驗物種為食物鏈最底層的藻類－月芽藻(*Raphidocelis subcapitata*)，其試驗結果在此與本研究群所採用之另一物種－Microtox 的相同試驗組別進行比較，由於 Microtox 試驗是以 1:1 的毒性單位進行試驗，在此，本研究選擇毒性單位比 1:1 之反應終點 ΔDO 來進行比較。

由表 5.2.2.1 的預測能力比較及表 5.2.2.2 的毒性試驗結果可發現，就斜率而言，不管是 *R.subcapitata* 或是 Microtox，醛類均屬於小斜率，氯酚類則差異較大，在 *R.subcapitata* 的部分，除 4-CP 外其餘屬於大斜率，而 Microtox 則除了 2,4,6-TCP 外皆屬於小斜率。在比較之下的結果，本研究所採用之物種 *R. subcapitata* 的預測能力比 Microtox 高出許多，相較之下，雖然 Microtox 實驗時間短，但在實驗成本及預測能力方面，仍是本研究所採用的物種 - *R. subcapitata* 較佳。

表 5.2.2.1 *R.subcapitata* 與 Microtox 之預測能力比較

	<i>R.subcapitata</i>		Microtox	
	組數	機率	組數	機率
符合	8	80%	6	60%
不符合	2	20%	4	40%
Total	10	100%	10	100%

表 5.2.2.2 *R.subcapitata* 以 ΔDO 為反應終點與 Microtox 之混合毒性比較(TU=1:1)

Toxicant (slope)	Toxicant (slope)	EC ₅₀	95% C.I.	Predict	Toxicant (slope)	Toxicant (slope)	EC ₅₀	95% C.I.	Predict
Glutardialdehyde (1.615)	2-chlorophenol (2.162)	0.78	0.64~0.89 (S)	0.88 (S)	Glutardialdehyde (1.51)	2-chlorophenol (1.30)	0.35	0.28~0.43 (S)	0.62 (S)
	4-chlorophenol (1.175)	0.40	0.18~0.56 (S)	0.63 (S)		4-chlorophenol (1.28)	0.40	0.34~0.48 (S)	0.68 (S)
	2,3-dichlorophenol (2.070)	0.70	0.63~0.79 (S)	0.87 (S)		2,3-dichlorophenol (1.29)	0.54	0.37~0.81 (S)	0.69 (S)
	2,4-dichlorophenol (1.979)	0.74	0.66~0.83 (S)	0.83 (S)		2,4-dichlorophenol (1.52)	0.22	0.17~0.29 (S)	0.75 (S)
	2,4,6-trichlorophenol (3.525)	0.90	0.79~1.00 (+)	1.06 (+)		2,4,6-trichlorophenol (2.35)	0.77	0.67~0.90 (S)	0.96 (+)
Propionaldehyde (1.343)	2-chlorophenol (2.162)	0.74	0.59~0.92 (S)	0.58 (S)	Propionaldehyde (1.69)	2-chlorophenol (1.30)	1.43	1.17~1.88 (A)	0.70 (S)
	4-chlorophenol (1.175)	1.49	1.21~2.06 (A)	0.58 (S)		4-chlorophenol (1.28)	0.85	0.64~1.07 (+)	0.70 (S)
	2,3-dichlorophenol (2.070)	1.32	1.06~1.73 (+)	0.80 (S)		2,3-dichlorophenol (1.29)	1.50	1.19~1.97 (A)	0.70 (S)
	2,4-dichlorophenol (1.919)	0.92	0.79~1.06 (+)	0.78 (S)		2,4-dichlorophenol (1.52)	0.68	0.61~0.74 (S)	0.76 (S)
	2,4,6-trichlorophenol (3.525)	1.08	0.99~1.18 (+)	1.02 (+)		2,4,6-trichlorophenol (2.35)	1.39	1.27~1.52 (A)	0.93 (+)

S : Synergism ; A : Antagonism ; + : Simple addition

The predict results based on RA model ($\rho=-1$ 、 $\lambda=0$) .

5.2.3 混合模式推估

在過去學者研究指出，若以 CA 模式來評估混合毒性效應會較實際情形來的嚴重，而以 IA 模式則會低估混合毒性效應，因此，大部分的學者皆推薦以 CA 模式來評估混合毒性較為適當，而 CA 模式的基本假設為 $\rho=1$ 、 $\lambda=1$ ，此時所預測的結果一定會比 IA($\rho=1$ 、 $\lambda=0$)來的嚴重許多，但研究毒物學理論發現， ρ 值是介於 1 與 -1 之間，過去的文獻當中未曾考慮到 ρ 值的變異性，當 ρ 值為 -1、 λ 值為 0 時，其混合毒性效應是有可能比 CA 模式所預估的來的嚴重，此外，單一毒性之斜率變動亦會對混合毒性效應帶來一定程度的影響，這些都是過去學者研究混合毒性效應所未曾考慮到的，因此，本研究在評估混合毒性效應時，將會把 ρ 值的變異以及斜率的觀點納入考慮。

基本上來說，混合模式分為四種，分別為 Concentration addition(CA)、No addition(NA)、Response multiplication(RM)、Response addition(RA)，由表 5.2.3.1 可以清楚看到各個模式的基本假設，其中當 $\lambda=0$ 時，即作用位置不同，有三種不同的作用模式，在過去學者的研究當中，只採用 $\rho=1$ 、 $\lambda=0$ (NA)模式來推估，很顯然是不足的，因此本研究針對各個預測模式之預測能力進行比較。

模式推估的部分，由於 Final yield 及 Growth rate 此兩反應終點之毒性單位比相差甚大，在模式的預測下 ρ 值的重要性卻減弱許多，毒性效應會偏向毒性單位較大的那一方，因此在討論時會以 ΔDO 此反應終點來加以探討。由表 5.2.3.1 可發現，RA 模式所預測的結果較為嚴重，RM 模式所預測的毒性效應則較輕微，由於 ρ 值所代表的意義為作用位址對毒物之容忍度的相關性，在 ΔDO 此反應終點其毒性單位比為 1:1，以 CA 模式來說，其作用位址相同且 ρ 值為 1，即兩毒性之容忍度為完全正相關，毒物間彼此競爭作用位置，其毒性效應會比 RA 模式所預測的來的輕微，而 RM 模式之 ρ 值為 0，則表示毒性容忍度無相關性；另外，在 ΔDO 此反應終點

毒性單位 1:1 的情況下更能顯現出各個預測模式的預測能力，由表 5.2.3.2 可發現 RA 模式的預測能力高達 60%，相較之下，CA、RM 模式的預測能力則低了許多。

將模式所預測出的所有結果與實驗結果總整理於表 5.2.3.8，以總體上來說，可以得到本研究所採用之 RA 模式的預測能力最佳，符合預測比例為 53.3%，而 CA 與 RM 模式的預測能力則同(26.7%)，因此 RA 模式的預測能力明顯比 CA、RM 高出許多，以本研究所評估的醛類及氯酚類化學物質而言，兩者作用機制不同，理論上必須以 IA model 來評估，而實驗結果也大大證實 IA model 比 CA model 所預測的效果來的好。

表 5.2.3.1 以 ΔDO 為反應終點之混合模式推估

Toxicant	Toxicant	Prediction				Pred. – Obs.		
		Obs. ^a	RA ^b	CA ^b	RM ^b	RA	CA	RM
Glutardialdehyde	2-CP	0.78(S)	0.88(S)	1.00(+)	1.02(+)	0.10*	0.22	0.34
	4-CP	0.40(S)	0.63(S)	1.00(+)	0.80(S)	0.23*	0.60	0.40
	2,3-DP	0.70(S)	0.87(S)	1.00(+)	1.00(+)	0.17*	0.30	0.30
	2,4-DP	0.74(S)	0.83(S)	1.00(+)	1.00(+)	0.09*	0.26	0.26
	2,4,6-TCP	0.90(+)	1.06(+)	1.00(+)	1.20(A)	0.16	0.10	0.10*
3-Hydroxybenzaldehyde	2-CP	1.51(A)	0.80(S)	1.00(+)	0.96(+)	0.71	0.51*	0.55
	4-CP	0.27(S)	0.56(S)	1.00(+)	0.72(S)	0.29*	0.73	0.45
	2,3-DP	0.44(S)	0.81(S)	1.00(+)	0.94(+)	0.37*	0.56	0.50
	2,4-DP	0.23(S)	0.76(S)	1.00(+)	0.92(+)	0.53*	0.77	0.69
	2,4,6-TCP	0.39(S)	1.02(+)	1.00(+)	1.14(A)	0.63	0.61*	0.75
Propionaldehyde	2-CP	0.74(S)	0.82(S)	1.00(+)	0.96(+)	0.08*	0.26	0.22
	4-CP	1.49(A)	0.58(S)	1.00(+)	0.74(S)	0.91	0.49*	0.75
	2,3-DP	1.32(+)	0.80(S)	1.00(+)	0.96(+)	0.52	0.32*	0.36
	2,4-DP	0.92(+)	0.78(S)	1.00(+)	0.92(+)	0.14	0.08	0.00*
	2,4,6-TCP	1.08(+)	1.02(+)	1.00(+)	1.16(A)	0.06*	0.08	0.08
Summery						9	4	2

*：模式與實驗結果相差最小者

^a：實驗值之 EC₅₀ 值(TU)； S：Synergism； A：Antognism； +：Simple addition

^b：實驗預測值，因無 95% C.I.值，故將 0.9~1.1 定義為 simple addition

表 5.2.3.2 不同預測模式之預測能力整理(ΔDO)

模式種類	與實驗符合之組數	符合比例	實驗差值最小者
RA	10	66.7%	9(60.0%)
CA	4	26.7%	4(26.7%)
RM	4	26.7%	2(13.3%)

表 5.2.3.3 不同預測模式之預測能力總整理

模式種類	與實驗符合之組數	符合比例	實驗差值最小者
RA	24	53.3%	22(48.9%)
CA	12	26.7%	12(26.7%)
RM	12	26.7%	11(24.4%)

在 Isobologram 的部分，本研究特別針對與預測模式較不符合的組合 2-CP + 3-Hydroxybenzaldehyde 及 2-CP + Propionaldehyde 的部分進行探討，圖 5.2.3.1 至圖 5.2.3.6 為各個反應終點下之 Isobologram，圖中的實線為利用最短距離的概念所求出的最佳之 ρ 與 λ 值，此為最接近實驗點的一條曲線，至於 CA、RA、RM 及 NA 是根據第三章所討論之混合毒性基本理論所定義之 ρ 與 λ 值所畫出的曲線，由圖中可發現，RA 與 RM 兩種模式會因為毒性物質之斜率變化而改變曲線的曲度；反觀 CA 與 NA 則否，其曲線無論毒性物質斜率為何只固定在特定位置。

在 2-CP + 3-Hydroxybenzaldehyde 的 Isobologram 的部分(圖 5.2.3.1 至圖 5.2.3.3)，可明顯看到在三個反應終點之曲線皆為拮抗作用，而在 ΔDO 此反應終點可看到 CA、NA 模式所預測的曲線較接近實際情況，反而 RA、RM 的預測情形較為嚴重；反觀 Biomass 及 Growth rate 此兩個反應終點，RM 所預測的曲線較接近實際情況。而在 2-CP + Propionaldehyde 試驗(圖 5.2.3.12 至圖 5.2.3.14)，在 ΔDO 部分可清楚的看到 RA 模式最符合實驗情況，而在 Biomass 及 Growth rate 此兩個反應終點則為 RM 模式最為符合。

而上述所提到，在 Final yield 及 Growth rate 毒性單位差距的影響，在圖 5.2.3.3 可以明顯看到，某一實驗點毒性單位接近 1：1 時，其混合毒性效應式與本研究所預測是相符的，即為相加作用，主要因為當兩毒性物質之毒性單位相差甚大時，其在 Isobologram 上的點則會偏向角落而造成誤判，因此在判斷混合毒性效應以毒性單位比 1：1 是比較恰當的。綜合上述幾點，在本研究所評估的反應性醛類及麻醉性氯酚類毒性物質，在兩作用機制不同的情況下，IA 模式比 CA 來的更具有預測能力；在 Isobologram 亦可清楚看到幾個實驗點超出所定義的非交互作用之界線，產生強烈的拮抗作用(Antagonism)，Chen 曾對此現象定義為 Complex joint action，即兩毒性物質之間可能存在著化學反應，因此，這部分會在下節化學分析來加以討論。

此外，從模式的參數的角度來探討混合效應， ρ 值在 5.2.3 節討論過，為毒物容忍度之相關性； λ 值則為作用位置相似度，當 $\lambda=1$ 時則代表作用位置一致，反之，當 $\lambda=0$ 則表示毒物作用位置不同；表 5.2.3.9 為 Isobologram 之參數，由最小的 χ^2 來選擇出最適當的 ρ 、 λ 值，由表 5.2.3.9 可發現，實驗中拮抗部分的 λ 接近於零，而協同的試驗之 λ 值則接近於 1，此現象可由數學模式之積分區間來加以解釋，當 λ 值越大時，反應之曲線會往未反應區移動，因而造成更嚴重的毒性危害，反之，當 λ 值越小時，其反應曲線會涵蓋更多位反應的積分區間；而 ρ 值則非常接近 1 或 -1，也符合單一物種對毒性物質容忍度的假設。

表 5.2.3.4 混合試驗之模式參數

Toxicant	End point	ρ	λ	χ^2
2-CP + 3-Hydroxybenzaldehyde	ΔDO	0.8	0	0.00274
	Biomass	0.7	0.1	0.00434
	Growth rate	0.2	0	0.01855
2-CP + Propionaldehyde	ΔDO	-0.9	1	0.02215
	Biomass	0.9	0	0.04450
	Growth rate	1.0	0.1	0.01038

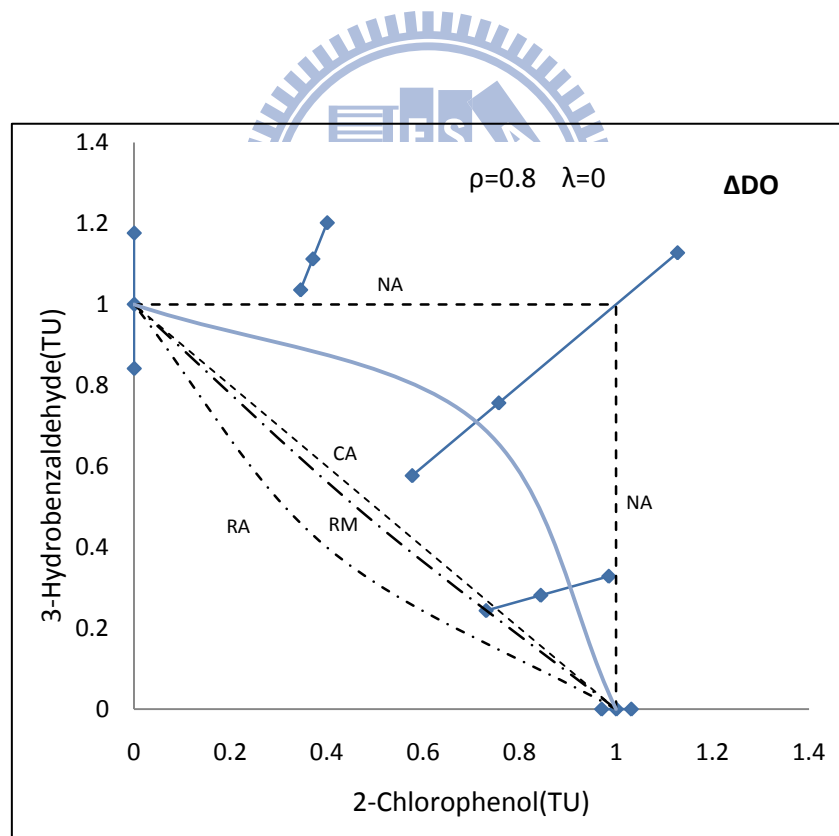


圖 5.2.3.1 2-CP + 3-Hydroxybenzaldehyde 之 Isobologram(ΔDO)

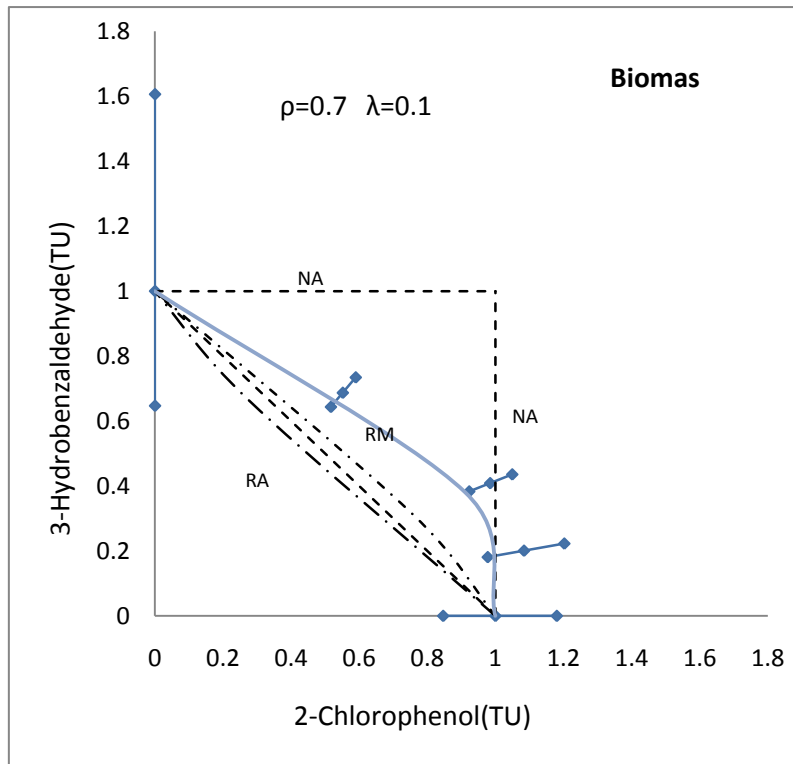


圖 5.2.3.2 2-CP + 3-Hydroxybenzaldehyde 之 Isobologram(Biomass)

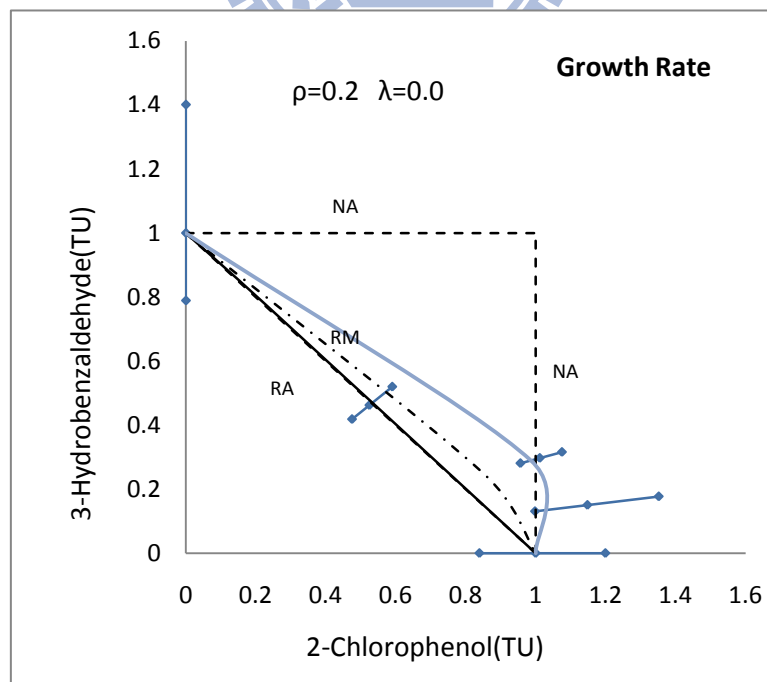


圖 5.2.3.3 2-CP + 3-Hydroxybenzaldehyde 之 Isobologram(Growth rate)

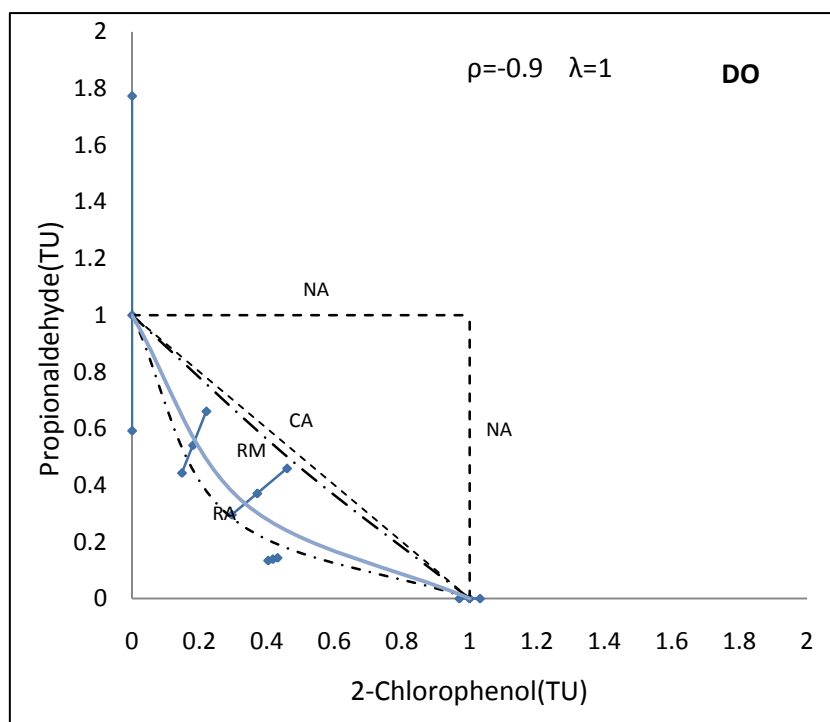


圖 5.2.3.4 2-CP + Propionaldehyde 之 Isobologram(ΔDO)

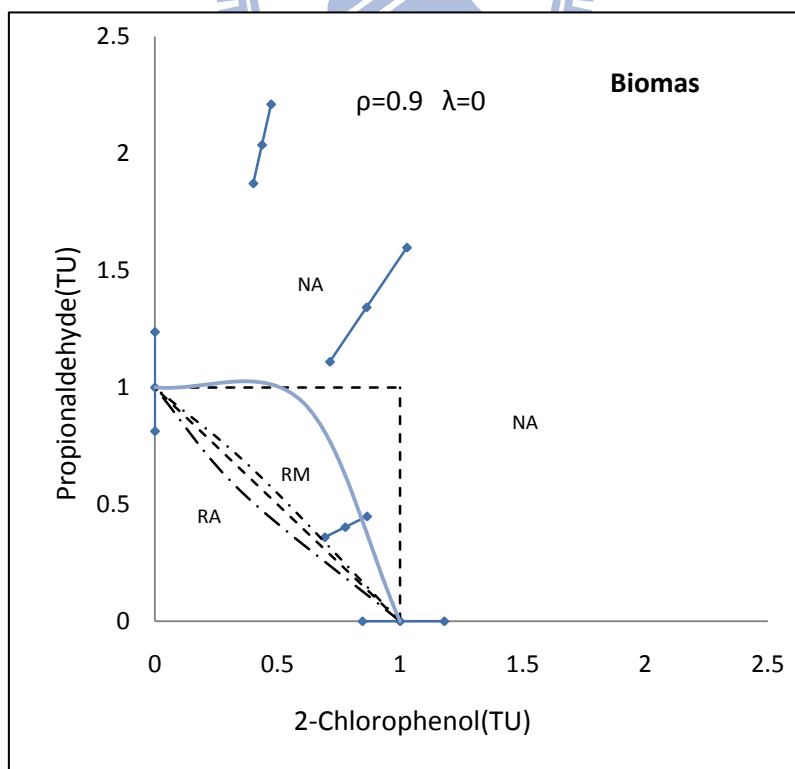


圖 5.2.3.5 2-CP + Propionaldehyde 之 Isobologram(Biomass)

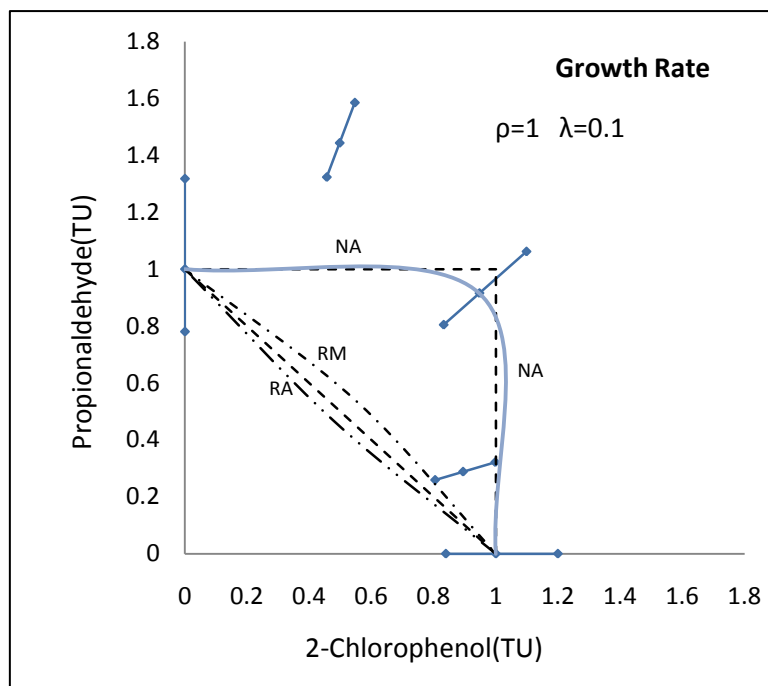
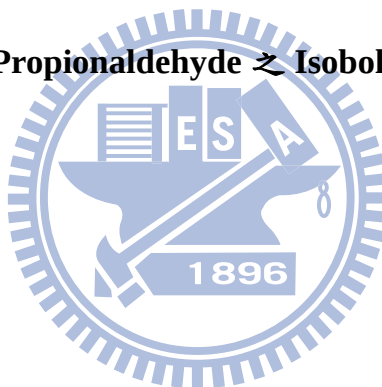


圖 5.2.3.6 2-CP + Propionaldehyde 之 Isobologram(Growth rate)



5.3 化學分析

在混合毒性的基本理論，其幾本假設為兩毒性化學物質間無交互作用，主要考量在於，當兩毒性化學物質有交互作用時，代表著有化學反應的產生，此時情況會更為複雜，以單純的相關係數與相似係數來描述混合毒性效應來說是不足的。而在 1980 年，Shinkai *et al.*發現，長鏈的醛類與 Cyanide ion 會發生化學反應產生一中間物 Carboxylic acids，因而降低混合毒性效應；另外，2006 年 Haaksman *et al.*發現含有醛基的澱粉類會受到鹵素離子的氧化而產生 Carboxylic acids；因此，本研究特別針對不符合的部分進行化學分析來加以探討。

在分析部分，本研究選用 HPLC 來進行，在同樣的設定條件下，同一化學物質出現波峰的時間應為一致。因此在實驗方法上，會基於各種情況下來加以測試，sample 的部分分別針對單一及混合毒物及毒物是否有含營養基質來加以分析探討，並比較是否有新 peak 產生。在此本研究所選用的偵測器為 UV detector，移動相選用經過測試之後採用甲醇：水(75%：25%)的比例來進行分析，流速設定為 1ml/min，注射量為 20 μ L，由於偵測極限的因素，本研究採用 2 個毒性單位的濃度去進行分析。

圖 5.3.1 至圖 5.3.8 為 HPLC 之分析圖(括號部分為吸光值)，由一開始的定性作業可以看到在 HPLC 的分析圖上，在 2.1 秒左右為 3-Hydroxybenzaldehyde，4.1 秒為 2,3-Dichlorophenol，4.6 秒為 2,4-Dichlorophenol，由圖 5.3.1 及 5.3.3 分析圖上可以明顯看到，當兩毒性物質混合沒有 medium 時，並沒有新的 peak 產生，也就是說兩毒物間並沒有交互作用；但當含有 medium 時，由圖 5.3.2 及 5.2.4 可看到在 1.3 秒及 1.8 秒時卻有新 peak 的出現，因此本研究在對單一且含有 medium 的情況去進行 HPLC 的分析並探討 medium 本身是否會造成分析的影響，可發現到除了 2,3-DP 外，3-Hydroxybenzaldehyde 在 1.3 秒及 1.8 秒有大量新的物質產生，但單單只有 medium 在 HPLC 的分析下卻無新物質產生，因此本研究推估藻類毒性試驗所使用的 medium 與 3-Hydroxybenzaldehyde 存在著化學反應，並生成一新的物質。

而在濃度部分，表 5.3.1 為毒性化學物質混合時，有無 medium 的面積減少百分比，可發現此兩組混合試驗與預測模式不符合的試驗組別，其 3-Hydroxybenzaldehyde 面積減少相當多，分別為 57.71%及 43.10%，而在 2,3-DP 及 2,4-DP 的部分亦有減少的情況，分別為 12.35%及 14.92%；另外在個別毒物的部分，亦可發現 3-Hydroxybenzaldehyde 有大量的濃度損失，並有新的 peak 出現，在 2,4-DP 的部分亦有少量的濃度損失且亦有新的 peak 出現，而 2,3-DP 則無；比較其 peak 出現的時間可發現同為 1.3 秒左右，

由於 HPLC 的定性為相同物質其 peak 出現的時間一致，再觀察兩毒性化學物質的共通性，因此可以初步推估此化學物質可能接有苯環並更加確定本研究之混合毒性試驗當中存在著化學反應。



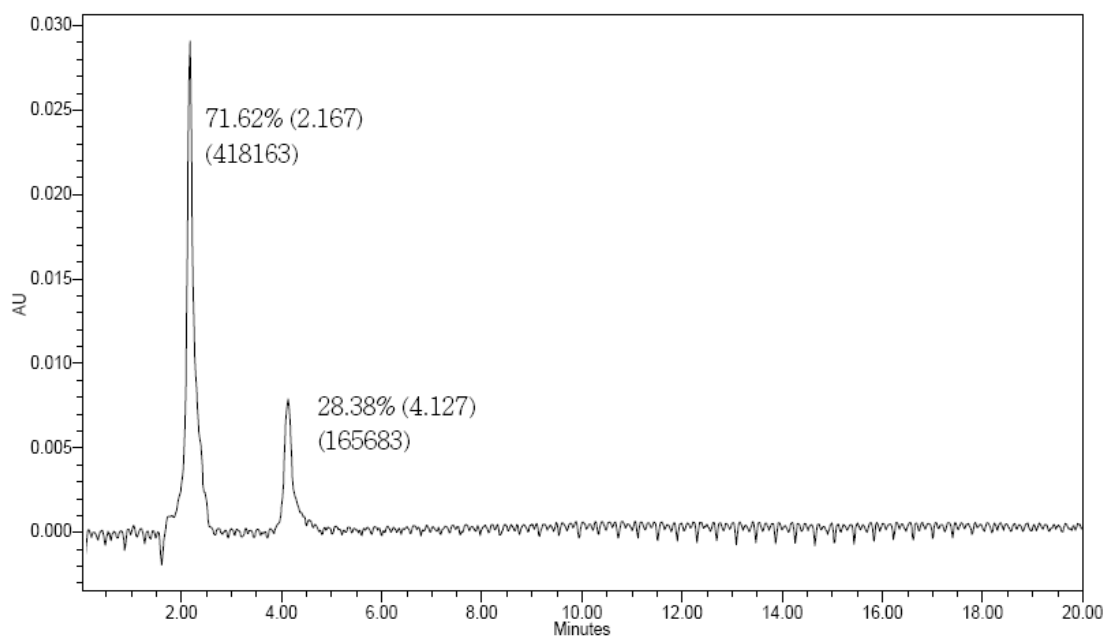


圖 5.3.1 2,3-DP+3-Hydroxybenzaldehyde (no medium)之 HPLC 圖

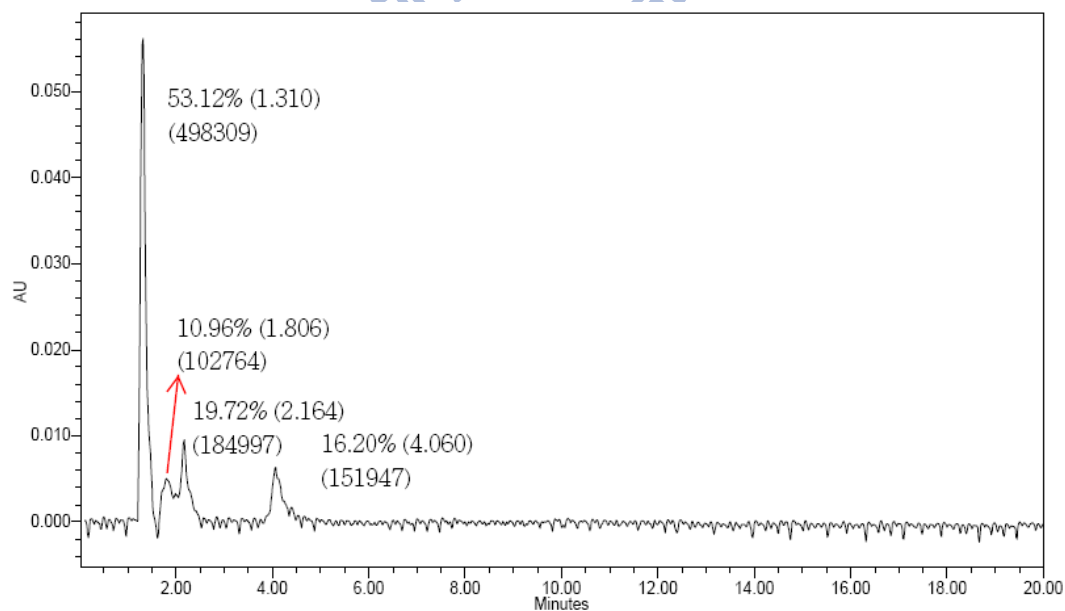


圖 5.3.2 2,3-DP+3-Hydroxybenzaldehyde (medium)之 HPLC 圖

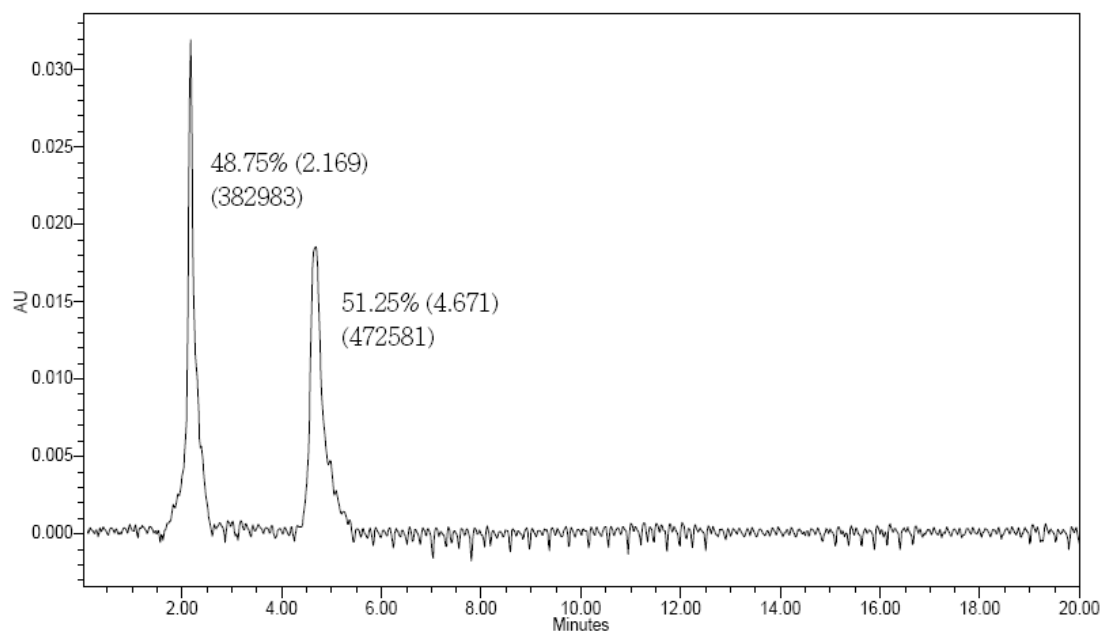


圖 5.3.3 2,4-DP+3-Hydroxybenzaldehyde (no medium)之 HPLC 圖

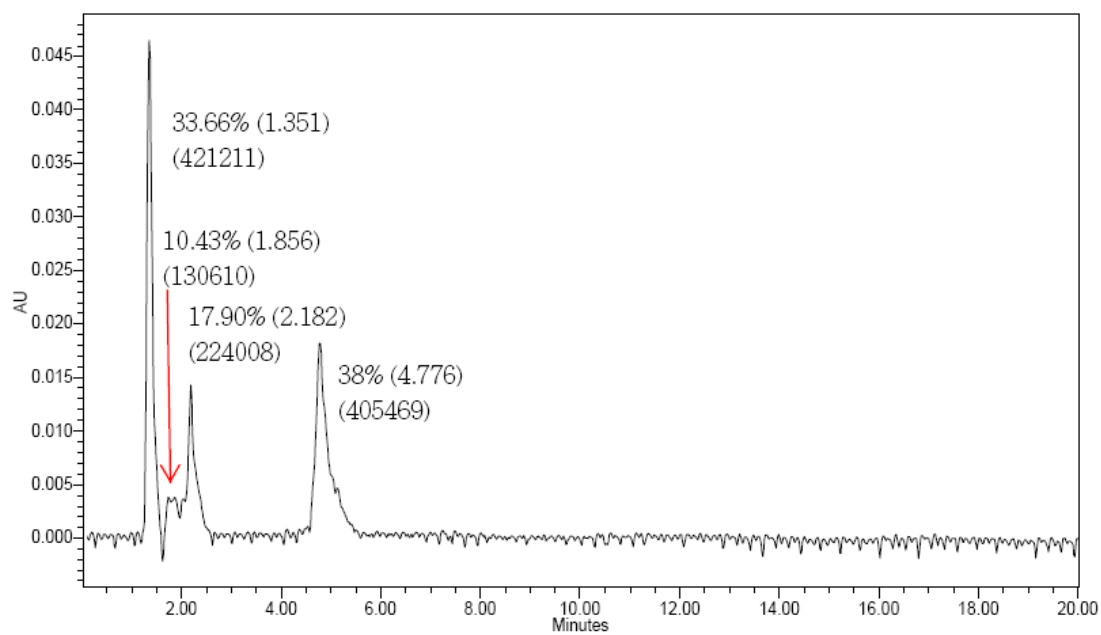


圖 5.3.4 2,4-DP+3-Hydroxybenzaldehyde (medium)之 HPLC 圖

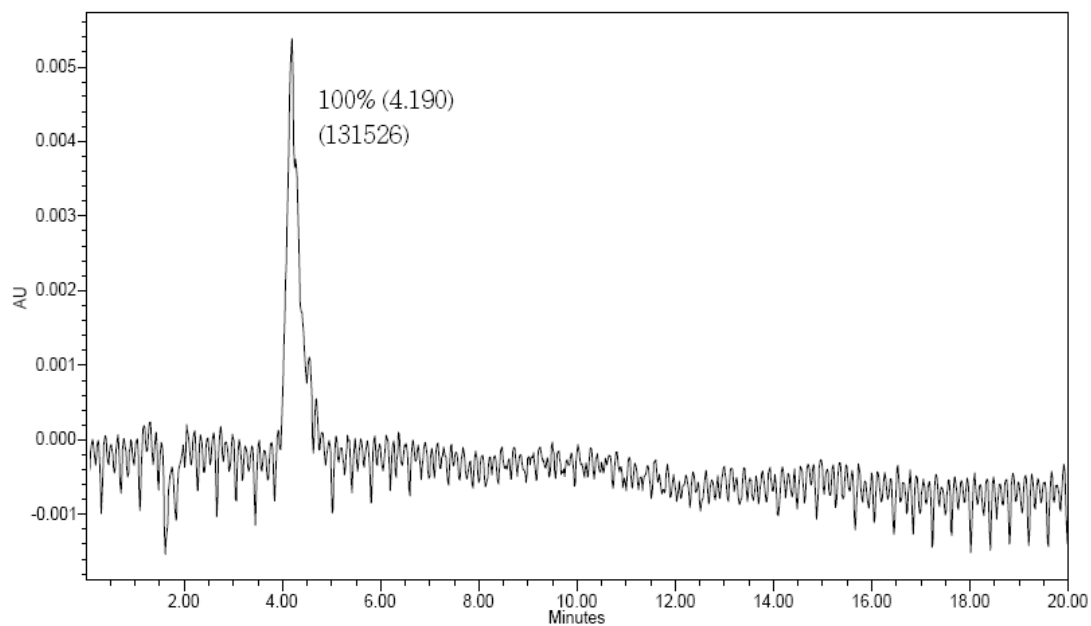


圖 5.3.5 2,3-Dichlorophenol (medium)之 HPLC 圖

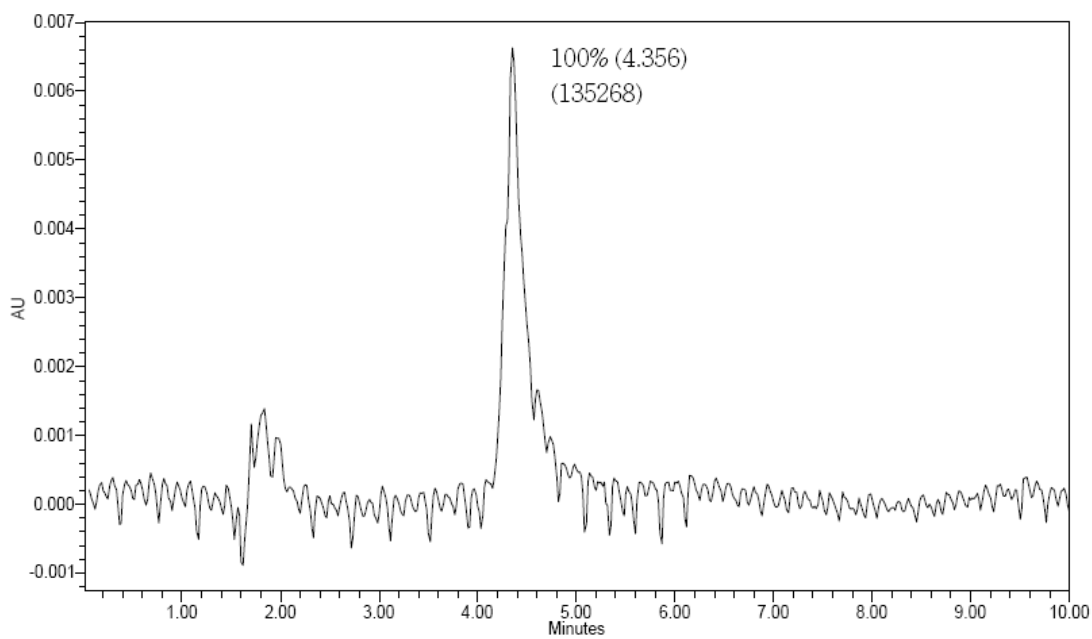


圖 5.3.6 2,3-Dichlorophenol (no medium)之 HPLC 圖

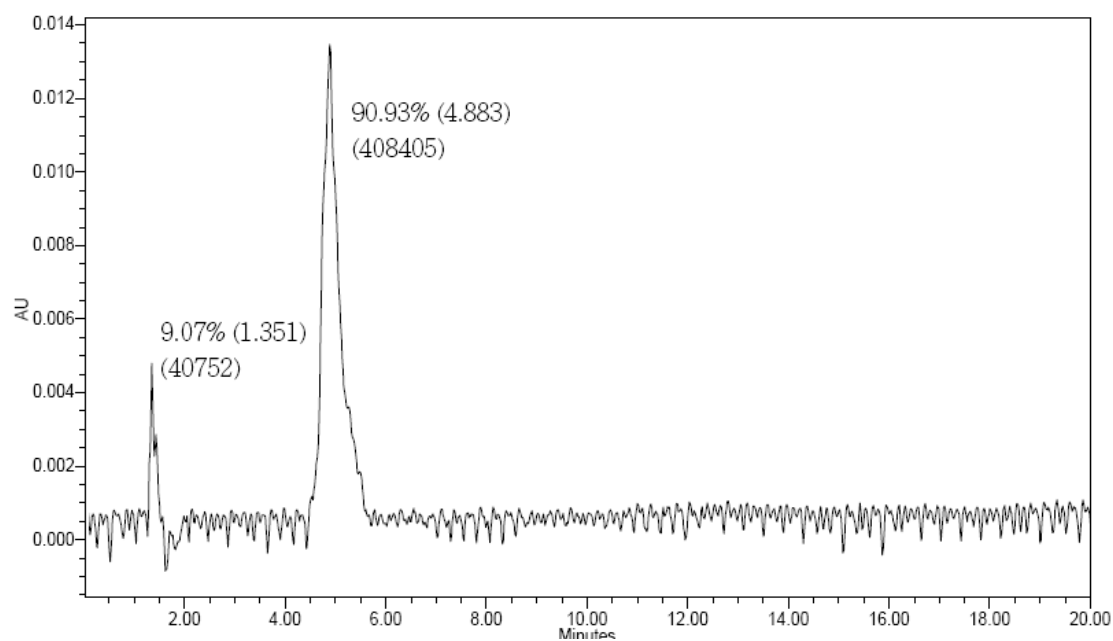


圖 5.3.7 2,4-Dichlorophenol (medium)之 HPLC 圖

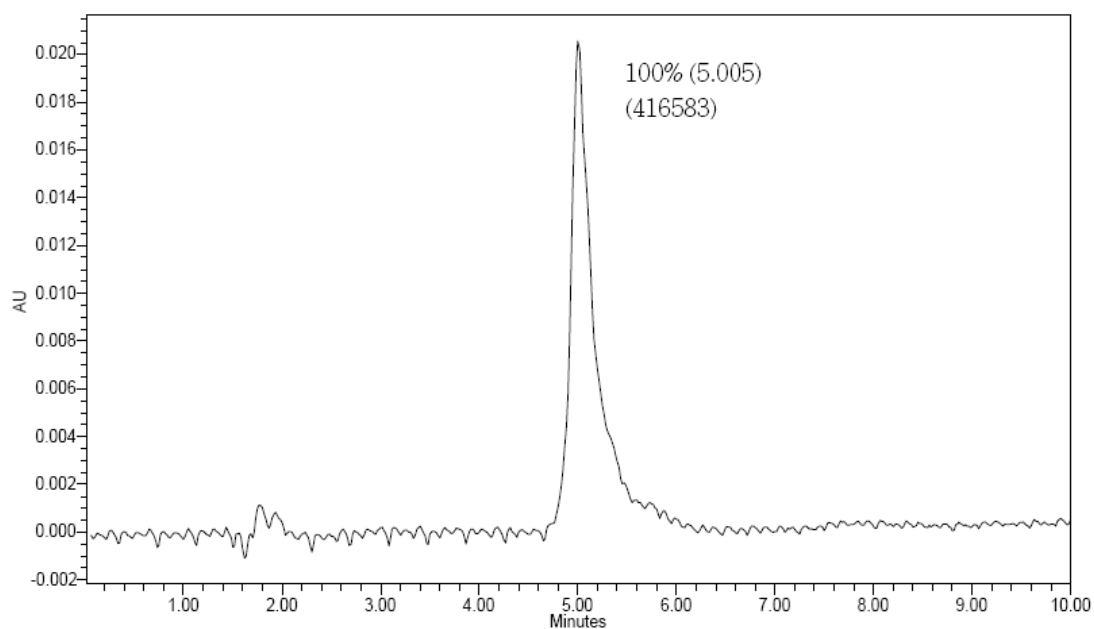


圖 5.3.8 2,4-Dichlorophenol (no medium)之 HPLC 圖

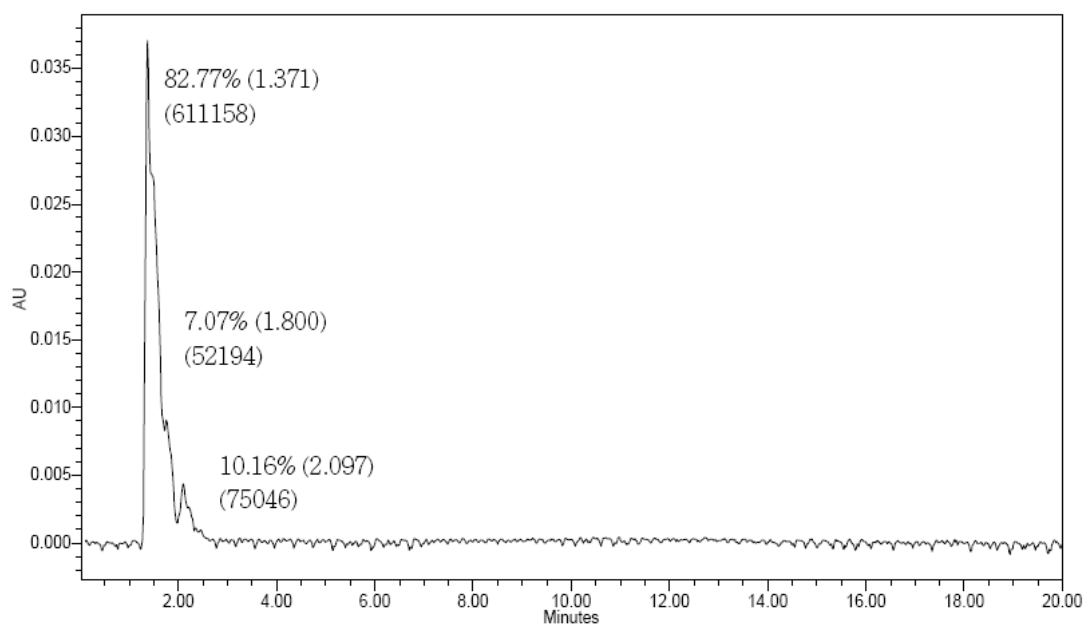


圖 5.3.9 3-Hydroxybenzaldehyde (medium)之 HPLC 圖

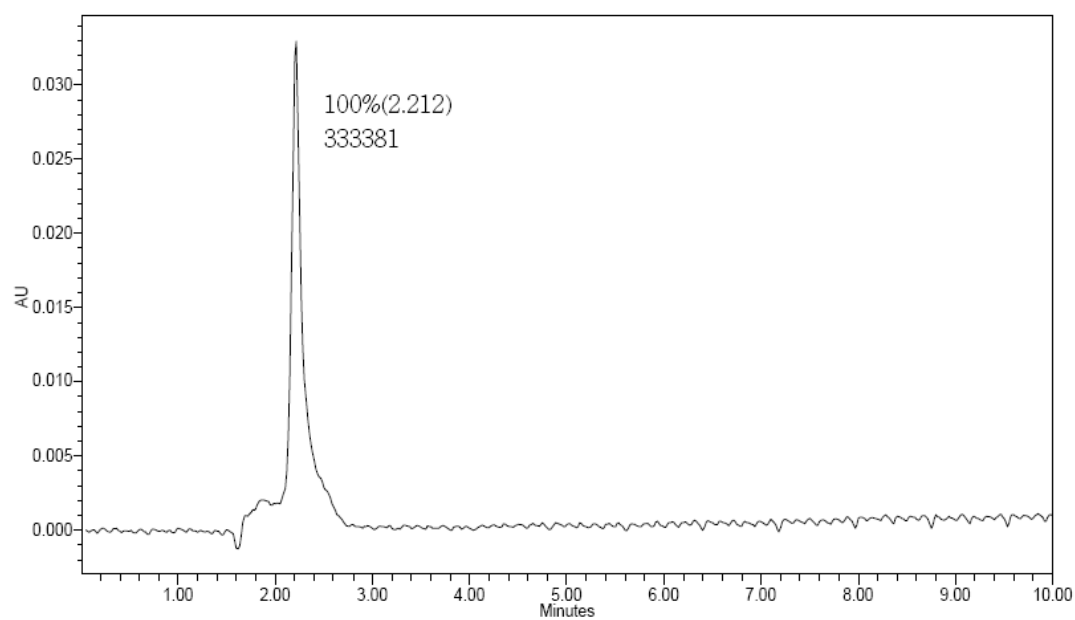


圖 5.3.10 3-Hydroxybenzaldehyde (no medium)之 HPLC 圖

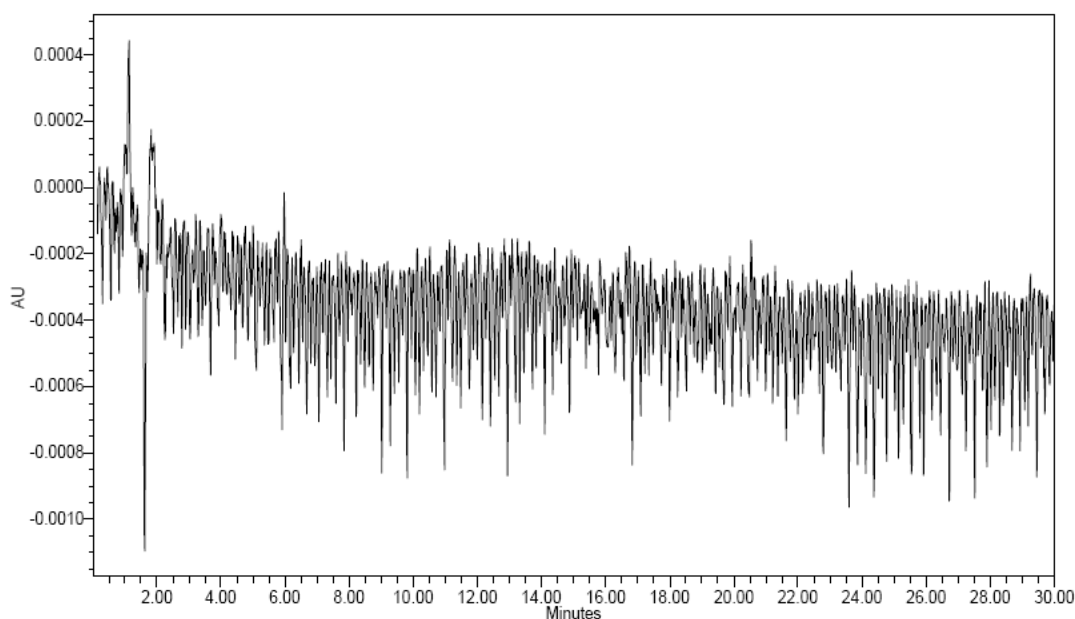


圖 5.3.11 Medium 之 HPLC 圖

表 5.3.1 HPLC 分析結果整理

Toxicants	No medium(mg/L)	Medium(mg/L)	減少百分比(%)
3-Hydroxybenzaldehyde	80.80	34.17	57.71
2,3-Dichlorophenol	11.09	9.72	12.35
3-Hydroxybenzaldehyde	73.76	41.97	43.10
2,4-Dichlorophenol	31.44	26.75	14.92

此外，為了能夠更加確定此化學反應所具有的特性，本研究根據實驗中所出現的異常現象，即在觀察 ΔDO 此反應終點時會出現負值的情況，因此本研究進行不加藻液只加毒性化學物質及試驗基質的試驗，以利觀察其特性。由表 5.3.2 可發現其 ΔDO 皆為負值，而在上述討論中有提到主要產生反應的為 3-Hydroxybenzaldehyde，在查看單一毒性試驗的結果，可觀

察到 ΔDO 此反應終點的敏感度較 Final yield 敏感，因此推估其為一耗氧反應。在一開始的假設當中，本研究所推估的為兩毒性物質有著交互作用，以致實驗結果與模式預測不符的情況，但在經過 HPLC 的分析後發現並非兩毒性化學物質產生交互作用，而是個別毒物與 Medium 發生反應，這使混合毒性效應更加的複雜，值得我們更進一步的去研究。

表 5.3.2 溶氧試驗

Toxicant	3-Hydroxybenzaldehyde Conc. (mg/L)	Chlorophenool Conc. (mg/L)	DO(mg/L)	DO(mg/L)	ΔDO (mg/L)
Control	-	-	5.2	5.46	0.26
2,3-DCP	37.89	4.99	5.04	0.46	-4.58
	25.26	3.33	4.94	0.45	-4.49
	16.84	2.22	5.02	0.47	-4.55
2,4-DCP	35.11	16.96	5.02	5.18	0.16
	23.407	11.31	4.96	0.46	-4.5
	15.61	7.54	4.99	0.47	-4.52
2,4,6-TCP	47.13	10.88	4.97	4.26	-0.71
	31.42	7.25	4.91	0.44	-4.47
	20.94	4.83	4.91	0.47	-4.44

第六章 結論與建議

6.1 結論

本研究為對工業上常用之急慢性麻醉毒物-氯酚和反應性醛類有機物進行單一及混合毒性研究，在最後本研究做出以下結論，並提出未來可以進一步研究之建議：

- (1) 在五個氯酚與三個醛類之單一密閉式藻類毒性試驗當中，氯酚類毒性物質會隨著所接氯的數量越多而毒性越毒；在解離方面，分子態會比離子態來的更具毒性，因此在氯酚毒性上仍須考慮到 pKa 值；而在結構毒性部分，以間位(meta-)的毒性最強，鄰位(ortho-)的毒性最弱；總體上來說，以月芽藻為試驗物種時，2,3-DP 最具毒性，而 2-CP 則毒性最弱。在醛類部分，則無一定的規律性，由本實驗之結果可發現 Glutardialdehyde 之毒性最強，3-Hydroxybenzaldehyde 之毒性最弱。
- (2) 在混合毒性試驗當中，可發現當小斜率之氯酚(4-CP)與小斜率醛類(Glutardialdehyde)混合時容易產生協同效應(Synergism)，而大斜率之氯酚類與相對斜率較大之醛類混合時則容易產生毒性相加或結抗作用(Antagonism)。
- (3) 由不同模式對混合預測能力比較中，針對本研究所評估的兩毒性作用機制不同之化學物質，可發現 IA 模式(RA、RM)來的比 CA 模式更具有預測能力，總體上來說，本研究所採用之 RA 模式的預測準確度最高(53.3%)。
- (4) 在過去學者的研究，一致上認為 CA 模式來的 IA 更嚴重，這是在未考慮 ρ 值的情況所下的定論；事實上，當 ρ 值 = -1 時，IA 是有可能來的比 CA 更嚴重，因此，本研究採用 RA 模式($\rho = -1$ 、 $\lambda = 0$)

來評估混合毒性效應，並利用 Isobologram 來加以探討。由實驗中可得知，若兩毒性物質皆為小斜率時，以 IA 模式來評估的結果較為嚴重；反之，若兩毒性物質皆為大斜率時，以 CA 模式來評估則較為保守。

- (5) 在本研究中與模式不符合的部分，經由 Isobologram 可發現混合試驗當中，產生 complex joint action 的現象，因此推估當中存在著化學反應以致與模式不符的情況；在經由一些簡單的試驗及 HPLC 的分析之後，發現溶液中之 ΔDO 的情形，原物質皆有面積減少的情況，並且發現第三種物質的出現(Retention Time = 1.310s)，因此可推測此反應為一耗氧反應。

6.2 建議

由於要建立一個完整的預測模式必須有龐大的毒性數據來加以測試，因此，未來如果能夠以其他不同物種針對本研究所評估之反應性醛類及急性麻醉性氯酚類來進行混合毒性試驗，並且增加評估毒物之種類，已使本研究所採用之 RA 模式更加完善，並更進一步的運用在環境風險評估上，相信對未來的環境保護有一定程度的貢獻。

此外在模式選用的部分，由於在分析結果發現並非兩毒性物質互相產生交互作用，而是單一毒性物質與試驗 Medium 產生化學反應，因此可以將所發現的現象納入考慮，以讓我們能夠更詳細的考慮各種會影響混合毒性效應的現象並能更加準確的預測混合毒性效應。

Reference

1. **Okumura Y, Koyama J, Takaku H, Satoh H.** 2001. Influence of Organic Solvents on the Growth of Marine Microalgae. *Arch Environ Contam Toxicol* **41**:123–128
2. **Kaiser KLE, Esterby SR.** 1991. Regression and cluster analysis of the acute toxicity of 267 chemicals to six species of biota and the octanol/water partition coefficient. *Sci Total Environm* 109/110, 499-514
3. **Diane JW, Blum RE.** 1991. Speece A database of chemical toxicity to environmental bacteria and its use in interspecies comparisons and correlations. *Research Journal WPCF* **6**:198-207
4. **Christensen ER, Chen D, Nyholm N, and Kusk O.** 2001. Joint action of chemicals in algal toxicity tests: influence of response level and dose – response regression model. *Environ Toxicol Chem* **20**:2361-2369
5. **Arensberg P, Hemmingsen VH, Nyholm N.** 1995. A miniscale algal toxicity test. *Chemosphere* **30**:2103-2115
6. **Mayer P, Nyholm N, Verbruggen EMJ, Hermens JLM, Tolls J.** 2000. Algal growth inhibition test in filled, closed bottles for volatile and sorptive materials. *Environ Toxicol Chem* **19** : 2551–2556
7. **Nyholm N, Kälqvist T.** 1989. Methods for growth inhibition toxicity tests with freshwater algae. *Environ Toxicol Chem* **8**:689-703
8. **Padrtova RR, Marsalek B, Holoubek I.** 1998. Evaluation of alternative and standard toxicity assays for screening of environmental samples: selection of an optimal test battery. *Chemosphere* **37** : 495-507
9. **Lin JH, Kao WC, Tsai KP, Chen CY.** 2005. Anovel algal toxicity testing technique for assessing the toxicity of both metallic and organic toxicants. *Water Res.* 39, 1869-1877.

- 10. Chen CY, Chao MR.** 2000. No-observed-effect concentrations in batch and continuous algal toxicity tests. *Environ. Toxicol. Chem.* 19, 1589-1596.
- 11. Nyholm N, Damgaard BM.** 1990. A comparison of the algal growth inhibition toxicity test method with the short term ^{14}C -assimilation test. *Chemosphere*. 21, 671-679.
- 12. Hostetter HP.** 1976. A rapid bioassay for algal nutrients and toxins. *J. Phycol.* 12, 10.
- 13. United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA)** . 1996. Ecological Effect Test Guidelines. OPPTS 850.5400. Algal Toxicity, Tiers I and II.
- 14. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)** . 1984. Guideline for testing chemicals. No. 201. Alga growth inhibition test. Paris, France.
- 15. International Organization for Standardization (ISO)** . 1987. Water quality- Algal growth inhibition test. Draft International Standard ISO/DIS 8692. Geneva, Switzerland
- 16. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association and Water Pollution Control Federation.** 1995. Toxicity testing with phytoplankton, in *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 19th edn, APHA, Washington, DC.
- 17. 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.
- 18. Chen CY, Lin KC.** 1997. Optimization and performance evaluation of the continuous algal toxicity test. *Environmental Toxicology Chemistry* 16:1337-1344.

19. **Brack W, Rottlern H.** 1994. Toxicity testing of highly volatile chemicals with green algae-A new assay. *Environ Sci Pollut Res* **1**:223-228
20. **Brack W, Rottlern H.** 1994. Toxicity testing of highly volatile chemicals with green algae. *ESPR.* **4**, 223-228.
21. **Kuhn R, Pattard M, Pernak K, Winter A.** 1989. Results of the Harmful Effects of Selected Water Pollutants (Anilines, Phenols, Aliphatic Compounds) to *Daphnia magna*. *Water. Res.* **23**, 495-499.
22. **Galassi S, Vighi M.** 1981. Testing toxicity of volatile substances with algae. *Chemosphere.* **10**, 1123-1126.
23. **Herman DC, Inniss WE, Mayfield CI.** 1990. Impact of volatile aromatic hydrocarbons, alone and in combination, on growth of the freshwater alga *Selenastrum Capricornutum*. *Aquatic. Toxicology.* **18**, 87-100.
24. **Mayer P, Nyholm N, Verbruggen EMJ, Hermens JLM, Tolls J.** 2000. Algal growth inhibition test in filled, closed bottles for volatile and sorptive materials. *Environ. Toxicol. Chem.* **19**, 2551–2556.
25. **Huang HJ.** 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.
26. **Vasseur P., Pandard P.** 1988. Influence of some experimental factors on metal toxicity to *Selenastrum capricornutum*. *Toxic. Assess.* **3**:331-343
27. **Halling-Sørensen B, Nyholm N, Baun A.** 1996. Algal toxicity tests with volatile and hazardous compounds in air-tight test flasks with CO₂ enriched headspace. *Chemosphere* **32**: 1513 – 1526
28. **Arensberg P, Hemmingsen VH, Nyholm N.** 1995. A miniscale algal toxicity test. *Chemosphere* **30**:2103-2115
29. **Kao WC.** A comparison of the results of several freshwater aquatic toxicity

- testing on synthetic and real wastewaters. A Thesis Submitted to Institute of Environmental Engineering of National Chiai Tung University.2001.
- 30. Lin JH**, 2001. Experimental design of the algal toxicity test based on BOD bottle. A Thesis Submitted to Institute of Environmental Engineering of National Chiao Tung University.
- 31. Nyholm N, Kälqvist T**. 1989. Methods for growth inhibition toxicity tests with freshwater algae. *Environ Toxicol Chem* **8**:689-703
- 32. United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA)** . 1996. Ecological Effect Test Guidelines. OPPTS 850.5400. Algal Toxicity, Tiers I and II.
- 33. Vasseur P, Pandard P**, 1988. Influence of some experimental factors on metal toxicity to *Selenastrum capricornutum*. *Toxic. Assess.* **3**:331-343
- 34. Lin JH**. 2001. Experimental design of the algal toxicity test based on BOD bottle. A Thesis Submitted to Institute of Environmental Engineering of National Chiao Tung University.
- 35. Chen CY**. 1994. Theoretical evaluation of the inhibitory effects of mercury on algal growth at various orthophosphate levels. *Water Research.* **28** : 931-937 .
- 36. Millington LA, Goulding KH, Adams N**. 1988. The influence of growth medium composition on the toxicity of chemicals to algae. *Water Research.* **22** :1593-1597.
- 37. Newman MC, McIntosh AW**. 1991. *Metal Ecotoxicology*. pp.1-26. Lewis, Michigan.
- 38. Mazidji CN, Koopman B, Bitton G, Neita D**. 1992. Distinction between heavy metal and organic toxicity using EDTA chelation and microbial assays. *Environ Toxicol Water Qual* **7**: 339-353.

39. **Sorvari J, Sillanpaa 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
40. **Hsu CH.** Toxicity assessment of non-polar narcotic chemicals using a close-system algal test. A Thesis Submitted to Institute of Environmental Engineering of National Chiai Tung University. 2002.
41. **Plackett RL, Hewlett PS.** 1952 Quantal responses to mixtures of poison, *J. Roy. Stat Soc* **14**:141-163
42. **Christensen ER, Chen CY.** 1985. A general noninteractive multiple toxicity model including *probit*, *logit*, and *Weibull* transformations. *Biometrics* **41**: 711-725.
43. **Veith GD, Call DJ, Brooke LT.** 1983. Structure-toxicity relationships for the fathead minnow, *Pimephales promelas*: Narcotic industrial chemicals. *Can J Fish Aquat Sci* **40**:743-748
44. **Franks NB, Lieb WR.** 1990. Mechanisms of general anesthesia. *Environ. Health Perspect.* **87**, 199.
45. **Bradbury SP, Lipnick RL.** 1990. Introduction: Structural properties for determining mechanisms of toxic action. *Environ Health Perspect* **87**:181–182.
46. **Schultz TW, Sinks GD, Bearden AP.** 1998. QSAR in aquatic toxicology: A mechanism of action approach comparing toxic potency to *Pimephales promelas*, *Tetrahymena pyriformis*, and *Vibrio fischeri*. In Devillers J, ed, *Comparative QSAR*. Taylor & Francis, New York, NY, USA, pp 51–109.
47. **Cronin MTD, Schultz TW.** 1997. Validation of *Vibrio fischeri* acute toxicity data: mechanism of action-based QSARs for non-polar narcotics and polar narcotic phenols. *The Science of the Total Environment*. **204**:75-88

48. **Ren S, Frymier PD.** 2002. Modeling the toxicity of polar and nonpolar narcotic compounds to luminescent bacterial SHK1. *Environmental Toxicology and Chemistry* **21**:2649-2653
49. **Jawecki GN, Sawicki J.** 2002. A comparison of sensitivity of spirotox biotest with standard toxicity tests. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **42**:389-395
50. **Liao YY, Wang LS, He YB, Yang H.** 1996. Toxicity QSAR of substituted benzenes to yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **56**:460-466
51. **Verhaar HJM, Van Leeuwen CJ, Hermens JLM.** 1992. Classifying environmental pollutants. Structure-activity relationships for prediction of aquatic toxicity. *Chemosphere* **25**:471-491.
52. **Lipnick RL.** 1991. "Outliers : their origin and use in the classification of molecular mechanisms of toxicity". *The Science of the Total Environment* **109**:131-153
53. **Takuo K, Kuino K.** 1995 Acute toxicity and structure-activity relationships of chlorophenols in fish. *Water Research.* 30, No.2, pp. 387-392
54. **Tadayoshi S, Yasuo S, Yuko T, Kikuo Y and Fumio Y.** 1988. Acute toxicity of chlorophenols to green algae , *Selenastrum Capricornutum* and *Chlorella Vulgaris*, and quantitative structure-activity relationships. *Environment Toxicology and Chemistry*, Vol. 7,847-7,854.
55. 中華民國環保署環境資料庫
56. **Miyazaki A, Amano T, Saito H, Nakano Y.** 2002. Acute toxicity of chlorophenols to earthworms using a simple paper contact method and comparison with toxicities to fresh water organisms. *Chemosphere* **47** 65-69.

57. **Clotilde B, Yves P.**- 2008. Joint-action ecotoxicity of binary mixtures of glutaraldehyde and surfactants used in hospitals: Use of the Toxicity Index model and isoblogram representation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71 (2008) 252–259.
58. **Kim KT, Lee YG, Kim SD.** 2005. Combined toxicity of copper and phenol derivatives to *Daphnia magna*: Effect of complexation reaction. *Environment International* 32 (2006) 487 – 492.
59. **Wang C, Lu G, Tang Z, Guo X.** 2008. Quantitative structure-activity relationships for joint toxicity of substituted phenols and anilines to *Scenedesmus obliquus*. *Journal of Environmental Sciences* 20(2008) 115–119.
60. **Kim KT, Kim IS, Hwangb SH, Kim SD.** 2006. Estimating the combined effects of copper and phenol to nitrifying bacteria in wastewater treatment plants. *Water Research* 40 (2006) 561 – 568.
61. **Kristian S, Anders E, Henrik P, Nina C, Valery E.F.** 2008. Mixture toxicity of three toxicants with similar and dissimilar modes of action to *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 69 (2008) 428–436.
62. **Wang L, Zheng Bi, Meng W.** 2008. Photo-induced toxicity of four polycyclic aromatic hydrocarbons, singly and in combination, to the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71 (2008) 465–472.
63. **Lu G, Wang C, Tang Z, Guo X.** 2007. Joint toxicity of aromatic compounds to algae and QSAR study. *Ecotoxicology* (2007) 16:485–490.
64. **Elaine M.B, Ken K, Andrew A.M.** 2001. Toxicity of mono-, di- and tri-chlorophenols to *lux* marked terrestrial bacteria, *Burkholderia* species

Rasc c2 and *Psedomonas fluorescens*. Chemosphere 43 (2001) 157-166.

- 65. Christensen ER, Chen D, Nyholm N and Kusk KO** 2001. Joint action of chemicals in algal toxicity test : influence of response level and dose-response regression model. Environmental Toxicology and Chemistry(2001) 2361-2369.
- 66. Duan Z, Zhu L, Zhu L, Yao K, Zhu X.** 2008. Individual and joint toxic effects of pentachlorophenol and biphenol A on the development of zebrafish (*Danio rerio*) embryo. Ecotoxicology and Environmental safety 71 (2008) 774-780.
- 67. Juan B.** (2008). Prediction and assessment of mixture toxicity of compounds in antifouling paints using the sea-urchin embryo-larval bioassay. Aquatic Toxicology 88 (2008) 308-315.
- 68. Adam O, Badot P, Degiorgi F, Crini G.** (2009). Mixture toxicity assessment of wood preservative pesticides in the freshwater amphipod *Gammarus pulex*(L.). Ecotoxicology and Environmental safety 72 (2009) 441-449.
- 69. Chen CY and Yeh JT** (1996). Toxicity of binary mixtures of reactive toxicants. Environmental Toxicology and Water Quality (1996) 83-90.

附錄一 單一原始數據

初始細胞密度

實驗毒物： DPHP in DMSO (cells/mL)： 15000
 MCV (μm3)： 40.26 D (μm)： 4.252 Initial pH： 7.58 EDTA(%)： 0
 T(°C)： 24 Test duration： 48-h

Conc	Initial DO	Final DO	Final cells	Delta DO			IR (growth rate)	IR (Biomass)	IR (DO)
mg/L	mg/L	mg/L	cells/ml	mg/L	μspecific	μrelative			
Control	1.44	5.21	149600	3.77	1.14996	1	0	0	0
130.800	1.83	2.74	18700	0.91	0.11024	0.09586	0.90414	0.97251	0.75862
109.000	1.72	2.73	22800	1.01	0.20936	0.18205	0.81795	0.94205	0.73210
65.400	1.69	3.37	38100	1.68	0.46608	0.40530	0.59470	0.82838	0.55438
43.600	1.34	3.55	57700	2.21	0.67360	0.58576	0.41424	0.68276	0.41379
21.800	1.42	4.47	93700	3.05	0.91602	0.79657	0.20343	0.41530	0.19098
10.900	1.3	5.28	137000	3.98	1.10597	0.96174	0.03826	0.09361	-0.05570
5.450	1.35	5.12	130300	3.77	1.08089	0.93994	0.06006	0.14339	0.00000
Control	1.67	5.08	135200	3.41	1.09935	1	0	0	0
130.800	2.47	3.46	19400	0.99	0.12861	0.11699	0.88301	0.96339	0.70968
109.000	1.64	2.83	15700	1.19	0.02281	0.02074	0.97926	0.99418	0.65103
65.400	1.44	3.12	37900	1.68	0.46345	0.42157	0.57843	0.80948	0.50733
43.600	1.74	4.07	66200	2.33	0.74232	0.67523	0.32477	0.57404	0.31672
21.800	1.34	4.36	90900	3.02	0.90085	0.81944	0.18056	0.36855	0.11437
10.900	1.4	4.86	129100	3.46	1.107627	0.97900	0.02100	0.05075	-0.01466
5.450	1.62	5.1	127900	3.48	1.07160	0.97475	0.02525	0.06073	-0.02053
Control	1.46	5.35	153300	3.89	1.16217	1	0	0	0
130.800	2.5	3.3	15900	0.8	0.02913	0.02507	0.97493	0.99349	0.79434
109.000	1.83	2.76	23400	0.93	0.22234	0.19132	0.80868	0.93926	0.76093
65.400	1.42	3.23	36100	1.81	0.43912	0.37784	0.62216	0.84743	0.53470
43.600	1.38	3.57	69300	2.19	0.76520	0.65842	0.34158	0.60738	0.43702
21.800	1.33	4.54	104000	3.21	0.96817	0.83307	0.16693	0.35647	0.17481
10.900	1.47	4.55	127400	3.08	1.06964	0.92038	0.07962	0.18727	0.20823
5.450	1.45	5.48	145800	4.03	1.13709	0.97842	0.02158	0.05423	-0.03599
Control	1.52333	5.21333	146033.33	3.69000	1.13716	1	0	0	0
130.800	2.26667	3.16667	18000.00	0.90000	0.08933	0.07931	0.91989	0.97711	0.75610
109.000	1.73000	2.77333	20633.33	1.04333	0.15150	0.13137	0.85989	0.95701	0.71725
65.400	1.51667	3.24000	37366.67	1.72333	0.45622	0.40157	0.59894	0.82931	0.53297
43.600	1.48667	3.73000	64400.00	2.24333	0.72704	0.63980	0.35975	0.62300	0.39205
21.800	1.36333	4.45667	96200.00	3.09333	0.92835	0.81636	0.18341	0.38031	0.16170
10.900	1.39000	4.89667	131166.67	3.50667	1.08396	0.95371	0.04718	0.11346	0.04968
5.450	1.47333	5.23333	134666.67	3.76000	1.09653	0.96437	0.03561	0.08675	-0.01897

實驗毒物：		4-chlorophenol		初始細胞密度(cells/mL)：		15000			
MCV (μm3)：		46.1	D (μm)：	4.252	Initial pH：	7.56	EDTA(%)：		0
T(℃)：		23.5	Test duration：		48-h				
Conc	Initial DO	Final DO	Final cells	Delta DO			IR	IR	IR
							(growth		
mg/L	mg/L	mg/L	cells/ml	mg/L	μspecific	μrelative	rate)	(Biomass)	(DO)
Control	1.46	6.34	196900	4.88	1.28732	1	0	0	0
109.000	2.19	2.98	19900	0.79	0.14133	0.10979	0.89021	0.97306	0.83811
54.500	1.59	2.74	23000	1.15	0.21372	0.16602	0.83398	0.95602	0.76434
27.250	1.57	3.4	40300	1.83	0.49415	0.38386	0.61614	0.86091	0.62500
13.625	1.34	3.38	57700	2.04	0.67360	0.52326	0.47674	0.76526	0.58197
6.813	1.23	4.36	116500	3.13	1.02492	0.79616	0.20384	0.44200	0.35861
3.406	1.23	4.76	119300	3.53	1.03680	0.80539	0.19461	0.42661	0.27664
1.703	1.69	5.2	143200	3.51	1.12810	0.87631	0.12369	0.29522	0.28074
Control	1.62	6.23	171600	4.61	1.21856	1	0	0	0
109.000	1.9	2.72	31500	0.82	0.37097	0.30443	0.69557	0.89464	0.82213
54.500	1.46	2.53	27200	1.07	0.29758	0.24421	0.75579	0.92209	0.76790
27.250	1.58	2.98	36300	1.4	0.44188	0.36263	0.63737	0.86398	0.69631
13.625	1.41	4.62	101300	3.21	0.95502	0.78373	0.21627	0.44891	0.30369
6.813	1.29	4.46	121500	3.17	1.04593	0.85834	0.14166	0.31992	0.31236
3.406	1.25	4.87	108100	3.62	0.98750	0.81039	0.18961	0.40549	0.21475
1.703	1.89	5.53	145900	3.64	1.13744	0.93343	0.06657	0.16411	0.21041
Control	1.42	5.75	142400	4.33	1.12529	1	0	0	0
109.000	1.98	2.59	30600	0.61	0.35647	0.31678	0.68322	0.87755	0.85912
54.500	1.79	2.8	21100	1.01	0.17061	0.15161	0.84839	0.95212	0.76674
27.250	1.57	3.19	32400	1.62	0.38505	0.34218	0.65782	0.86342	0.62587
13.625	1.42	3.56	62600	2.14	0.71436	0.63482	0.36518	0.62637	0.50577
6.813	1.28	4.34	97600	3.06	0.93641	0.83215	0.16785	0.35165	0.29330
3.406	1.2	4.83	122400	3.63	1.04962	0.93275	0.06725	0.15699	0.16166
1.703	1.43	5.75	147500	4.32	1.14289	1.01564	-0.01564	-0.04003	0.00231
Control	1.50000	6.10667	170300.00	4.60667	1.21039	1	0	0	0
109.000	2.02333	2.76333	27333.33	0.74000	0.28959	0.24367	0.75301	0.92058	0.83936
54.500	1.61333	2.69000	23766.67	1.07667	0.22731	0.18728	0.81057	0.94355	0.76628
27.250	1.57333	3.19000	36333.33	1.61667	0.44036	0.36289	0.63586	0.86263	0.64906
13.625	1.39000	3.85333	73866.67	2.46333	0.78099	0.64727	0.34381	0.62095	0.46527
6.813	1.26667	4.38667	111866.67	3.12000	1.00242	0.82888	0.17298	0.37626	0.32272
3.406	1.22667	4.82000	116600.00	3.59333	1.02464	0.84951	0.15592	0.34578	0.21997
1.703	1.67000	5.49333	145533.33	3.82333	1.13614	0.94179	0.06469	0.15948	0.17004

初始細胞密度

實驗毒物： 2,3-dichlorophenol (cells/mL) : 15000

MCV (μm3) : 40.16 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.41 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	1.33	8.39	325800	7.06	1.53912	1	0	0	0
16.992	1.46	1.72	22400	0.26	0.20051	0.13027	0.86973	0.97619	0.96317
8.496	1.42	2.18	38900	0.76	0.47647	0.30957	0.69043	0.92310	0.89235
4.248	1.17	4.18	131200	3.01	1.08434	0.70452	0.29548	0.62613	0.57365
2.124	1.16	6.52	226800	5.36	1.35801	0.88233	0.11767	0.31853	0.24079
1.062	1.21	7.21	274600	6	1.45363	0.94446	0.05554	0.16474	0.15014
0.531	1.21	7.5	295700	6.29	1.49065	0.96851	0.03149	0.09685	0.10907
0.266	1.38	7.77	309900	6.39	1.51410	0.98375	0.01625	0.05116	0.09490
Control	1.52	8.59	329100	7.07	1.54416	1	0	0	0
16.992	2.05	2.2	25000	0.15	0.25541	0.16541	0.83459	0.96816	0.97878
8.496	1.39	2.19	35700	0.8	0.43355	0.28077	0.71923	0.93410	0.88685
4.248	1.25	4.58	142700	3.33	1.12635	0.72943	0.27057	0.59344	0.52900
2.124	1.11	6.58	216300	5.47	1.33431	0.86410	0.13590	0.35912	0.22631
1.062	1.22	7.04	288100	5.82	1.47763	0.95692	0.04308	0.13053	0.17680
0.531	1.12	7.63	297300	6.51	1.49335	0.96710	0.03290	0.10124	0.07921
0.266	1.36	7.42	307300	6.06	1.50989	0.97781	0.02219	0.06940	0.14286
Control	1.41	8.37	320700	6.96	1.53123	1	0	0	0
16.992	2	2.13	22200	0.13	0.19602	0.12802	0.87198	0.97645	0.98132
8.496	1.4	2.16	36900	0.76	0.45008	0.29393	0.70607	0.92836	0.89080
4.248	1.41	4.77	159900	3.36	1.18325	0.77275	0.22725	0.52601	0.51724
2.124	1.31	6.57	237200	5.26	1.38043	0.90152	0.09848	0.27314	0.24425
1.062	1.37	7.03	276800	5.66	1.45762	0.95193	0.04807	0.14360	0.18678
0.531	1.1	7.53	297900	6.43	1.49435	0.97592	0.02408	0.07458	0.07615
0.266	1.29	7.87	302900	6.58	1.50268	0.98135	0.01865	0.05823	0.05460
Control	1.42000	8.45000	325200.00	7.03000	1.53817	1	0	0	0
16.992	1.83667	2.01667	23200.00	0.18000	0.21731	0.14123	0.85824	0.97357	0.97440
8.496	1.40333	2.17667	37166.67	0.77333	0.45337	0.29476	0.70506	0.92854	0.89000
4.248	1.27667	4.51000	144600.00	3.23333	1.13131	0.73556	0.26345	0.58221	0.54007
2.124	1.19333	6.55667	226766.67	5.36333	1.35758	0.88265	0.11719	0.31732	0.23708
1.062	1.26667	7.09333	279833.33	5.82667	1.46296	0.95110	0.04884	0.14625	0.17117
0.531	1.14333	7.55333	296966.67	6.41000	1.49278	0.97051	0.02952	0.09102	0.08819
0.266	1.34333	7.68667	306700.00	6.34333	1.50889	0.98097	0.01904	0.05964	0.09768

初始細胞密度

實驗毒物：		2,4-dichlorophenol		(cells/mL)：		15000			
MCV (μm3)：		42.35	D (μm)：	4.252	Initial pH：	7.41	EDTA(%)：		0
T(℃)：		23.6	Test duration：		48-h				
Conc	Initial DO	Final DO	Final cells	Delta DO			IR	IR	IR
							(growth		
mg/L	mg/L	mg/L	cells/ml	mg/L	μspecific	μrelative	rate)	(Biomass)	(DO)
Control	1.77	5.94	194400	4.17	1.28093	1	0	0	0
35.008	2.48	2.94	27400	0.46	0.30125	0.23518	0.76482	0.93088	0.88969
17.504	1.72	3.3	55600	1.58	0.65507	0.51140	0.48860	0.77369	0.62110
13.128	1.58	3.95	102800	2.37	0.96237	0.75130	0.24870	0.51059	0.43165
8.752	1.43	4.72	176400	3.29	1.23235	0.96207	0.03793	0.10033	0.21103
4.376	1.46	5.03	178100	3.57	1.23715	0.96582	0.03418	0.09086	0.14388
2.188	1.65	5.28	185300	3.63	1.25696	0.98129	0.01871	0.05072	0.12950
1.094	1.56	5.43	190900	3.87	1.27185	0.99291	0.00709	0.01951	0.07194
Control	1.63	5.82	198500	4.19	1.29137	1	0	0	0
35.008	2.47	3.13	29600	0.66	0.33986	0.26318	0.73682	0.92044	0.84248
17.504	1.84	3.6	56400	1.76	0.66221	0.51280	0.48720	0.77439	0.57995
13.128	1.6	3.79	85900	2.19	0.87257	0.67569	0.32431	0.61362	0.47733
8.752	1.47	4.22	125300	2.75	1.06133	0.82186	0.17814	0.39891	0.34368
4.376	1.74	4.74	163600	3	1.19469	0.92513	0.07487	0.19019	0.28401
2.188	1.31	5.7	180600	4.39	1.24412	0.96341	0.03659	0.09755	-0.04773
1.094	1.35	5.79	180600	4.44	1.24412	0.96341	0.03659	0.09755	-0.05967
Control	1.57	5.81	205100	4.24	1.30772	1	0	0	0
35.008	2.31	2.88	32400	0.57	0.38505	0.29445	0.70555	0.90847	0.86557
17.504	2.05	3.43	51500	1.38	0.61677	0.47163	0.52837	0.80800	0.67453
13.128	1.54	4.14	91900	2.6	0.90633	0.69306	0.30694	0.59548	0.38679
8.752	1.59	4.42	154300	2.83	1.16542	0.89119	0.10881	0.26723	0.33255
4.376	1.34	4.31	173500	2.97	1.22406	0.93603	0.06397	0.16623	0.29953
2.188	1.39	5.57	178900	4.18	1.23939	0.94774	0.05226	0.13782	0.01415
1.094	1.38	5.74	191000	4.36	1.27211	0.97277	0.02723	0.07417	-0.02830
Control	1.65667	5.85667	199333.33	4.20000	1.29334	1	0	0	0
35.008	2.42000	2.98333	29800.00	0.56333	0.34205	0.26427	0.73464	0.91971	0.86587
17.504	1.87000	3.44333	54500.00	1.57333	0.64468	0.49861	0.50128	0.78571	0.62540
13.128	1.57333	3.96000	93533.33	2.38667	0.91375	0.70668	0.29249	0.57396	0.43175
8.752	1.49667	4.45333	152000.00	2.95667	1.15304	0.89171	0.10480	0.25678	0.29603
4.376	1.51333	4.69333	171733.33	3.18000	1.21863	0.94233	0.05761	0.14973	0.24286
2.188	1.45000	5.51667	181600.00	4.06667	1.24682	0.96415	0.03602	0.09620	0.03175
1.094	1.43000	5.65333	187500.00	4.22333	1.26269	0.97636	0.02366	0.06420	-0.00556

初始細胞密度

實驗毒物： 2,4,6-trichlorophenol (cells/mL)： 15000

MCV (μm3)： 42.69 D (μm)： 4.252 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
							(growth		
mg/L	mg/L	mg/L	cells/ml	mg/L	μspecific	μrelative	rate)	(Biomass)	(DO)
Control	1.42	7.46	282400	6.04	1.46764	1	0	0	0
19.968	2.64	2.86	21400	0.22	0.17767	0.12106	0.87894	0.97607	0.96358
14.976	1.93	2.53	36200	0.6	0.44050	0.30015	0.69985	0.92072	0.90066
7.488	1.65	3.67	67500	2.02	0.75204	0.51241	0.48759	0.80366	0.66556
4.992	1.39	6.22	164800	4.83	1.19834	0.81651	0.18349	0.43979	0.20033
2.496	1.43	6.76	225300	5.33	1.35469	0.92304	0.07696	0.21354	0.11755
0.832	1.54	7.36	246900	5.82	1.40047	0.95423	0.04577	0.13276	0.03642
0.624	1.45	7.4	260900	5.95	1.42804	0.97302	0.02698	0.08040	0.01490
Control	1.62	7.63	288500	6.01	1.47832	1	0	0	0
19.968	2.51	2.38	22900	-0.13	0.21154	0.14310	0.85690	0.97112	1.02163
14.976	1.72	1.79	34000	0.07	0.40916	0.27677	0.72323	0.93053	0.98835
7.488	1.69	3.66	68100	1.97	0.75646	0.51170	0.48830	0.80585	0.67221
4.992	1.43	6.38	161200	4.95	1.18730	0.80314	0.19686	0.46545	0.17637
2.496	1.39	6.73	224300	5.34	1.35247	0.91487	0.08513	0.23473	0.11148
0.832	1.29	7.11	247200	5.82	1.40107	0.94775	0.05225	0.15101	0.03161
0.624	1.5	7.48	259300	5.98	1.42497	0.96391	0.03609	0.10676	0.00499
Control	1.47	7.45	280600	5.98	1.46444	1	0	0	0
19.968	2.48	2.81	22600	0.33	0.20495	0.13995	0.86005	0.97139	0.94482
14.976	1.83	2.29	34500	0.46	0.41645	0.28438	0.71562	0.92658	0.92308
7.488	1.51	3.53	68100	2.02	0.75646	0.51655	0.48345	0.80008	0.66221
4.992	1.41	6.26	161800	4.85	1.18916	0.81202	0.18798	0.44729	0.18896
2.496	1.25	6.63	225000	5.38	1.35403	0.92460	0.07540	0.20934	0.10033
0.832	1.31	7.24	247500	5.93	1.40168	0.95714	0.04286	0.12462	0.00836
0.624	1.67	7.6	258100	5.93	1.42265	0.97146	0.02854	0.08471	0.00836
Control	1.50333	7.51333	283833.33	6.01000	1.47013	1	0	0	0
19.968	2.54333	2.68333	22300.00	0.14000	0.19805	0.13470	0.86514	0.97285	0.97671
14.976	1.82667	2.20333	34900.00	0.37667	0.42204	0.28710	0.71281	0.92598	0.93733
7.488	1.61667	3.62000	67900.00	2.00333	0.75499	0.51356	0.48646	0.80322	0.66667
4.992	1.41000	6.28667	162600.00	4.87667	1.19160	0.81056	0.18947	0.45096	0.18857
2.496	1.35667	6.70667	224866.67	5.35000	1.35373	0.92084	0.07920	0.21934	0.10982
0.832	1.38000	7.23667	247200.00	5.85667	1.40107	0.95304	0.04700	0.13627	0.02551
0.624	1.54000	7.49333	259433.33	5.95333	1.42522	0.96946	0.03057	0.09076	0.00943

初始細胞密度

實驗毒物： 3-hydroxybenzaldehyde

(cells/mL)： 15000

MCV (μm3)： 41.76

D (μm)： 4.252

Initial pH： 7.4

EDTA(%)： 0

T(°C)： 24

Test duration： 48-h

Conc	Initial DO	Final DO	Final cells	Delta DO			IR	IR	IR
							(growth		
mg/L	mg/L	mg/L	cells/ml	mg/L	μspecific	μrelative	rate)	(Biomass)	(DO)
Control	1.68	8.13	330500	6.45	1.54628	1	0	0	0
99.200	1.97	3.74	59700	1.77	0.69064	0.44665	0.55335	0.85832	0.72558
79.360	1.87	3.44	84900	1.57	0.86671	0.56051	0.43949	0.77845	0.75659
59.520	1.99	3.59	86500	1.6	0.87605	0.56655	0.43345	0.77338	0.75194
39.680	1.57	4.8	192700	3.23	1.27654	0.82556	0.17444	0.43677	0.49922
19.840	2.19	5.65	213800	3.46	1.32850	0.85916	0.14084	0.36989	0.46357
9.920	1.92	6.52	229900	4.6	1.36480	0.88263	0.11737	0.31886	0.28682
4.960	1.6	6.69	269500	5.09	1.44426	0.93402	0.06598	0.19334	0.21085
Control	1.66	8.08	299400	6.42	1.49687	1	0	0	0
99.200	2.23	4.04	56300	1.81	0.66132	0.44180	0.55820	0.85478	0.71807
79.360	1.87	3.71	59600	1.84	0.68980	0.46083	0.53917	0.84318	0.71340
59.520	1.81	4.25	89000	2.44	0.89029	0.59477	0.40523	0.73980	0.61994
39.680	1.97	4.19	187200	2.22	1.26206	0.84314	0.15686	0.39451	0.65421
19.840	1.61	5.67	188500	4.06	1.26552	0.84545	0.15455	0.38994	0.36760
9.920	1.68	5.88	258400	4.2	1.42323	0.95081	0.04919	0.14416	0.34579
4.960	1.65	6.87	270100	5.22	1.44537	0.96560	0.03440	0.10302	0.18692
Control	1.57	7.69	276100	6.12	1.45636	1	0	0	0
99.200	2.3	3.88	31500	1.58	0.37097	0.25472	0.74528	0.93681	0.74183
79.360	1.91	3.43	50200	1.52	0.60398	0.41472	0.58528	0.86519	0.75163
59.520	1.8	3.41	91600	1.61	0.90469	0.62120	0.37880	0.70663	0.73693
39.680	1.61	3.93	185700	2.32	1.25804	0.86383	0.13617	0.34623	0.62092
19.840	1.68	5.65	199300	3.97	1.29338	0.88809	0.11191	0.29414	0.35131
9.920	1.84	6.1	249400	4.26	1.40550	0.96508	0.03492	0.10226	0.30392
4.960	1.65	7.49	252700	5.84	1.41208	0.96960	0.03040	0.08962	0.04575
Control	1.63667	7.96667	302000.00	6.33000	1.49983	1	0	0	0
99.200	2.16667	3.88667	49166.67	1.72000	0.57431	0.38106	0.60459	0.88095	0.72828
79.360	1.88333	3.52667	64900.00	1.64333	0.72017	0.47869	0.51212	0.82613	0.74039
59.520	1.86667	3.75000	89033.33	1.88333	0.89034	0.59418	0.40682	0.74204	0.70247
39.680	1.71667	4.30667	188533.33	2.59000	1.26555	0.84417	0.15693	0.39535	0.59084
19.840	1.82667	5.65667	200533.33	3.83000	1.29580	0.86423	0.13637	0.35354	0.39494
9.920	1.81333	6.16667	245900.00	4.35333	1.39784	0.93284	0.06845	0.19547	0.31227
4.960	1.63333	7.01667	264100.00	5.38333	1.43390	0.95641	0.04466	0.13206	0.14955

初始細胞密度

實驗毒物：		Propinaldehyde		(cells/mL)：		15000			
MCV (μm3)：		43.19	D (μm)：	4.252	Initial pH：	7.48	EDTA(%)：		0
T(℃)：		24	Test duration：		48-h				
Conc	Initial DO	Final DO	Final cells	Delta DO			IR	IR	IR
							(growth		
mg/L	mg/L	mg/L	cells/ml	mg/L	μspecific	μrelative	rate)	(Biomass)	(DO)
Control	1.92	6.15	188900	4.23	1.26658	1	0	0	0
139.200	2.03	3.47	21800	1.44	0.18693	0.14759	0.85241	0.96090	0.65957
69.600	1.76	2.82	36800	1.06	0.44872	0.35428	0.64572	0.87464	0.74941
34.800	1.68	3.69	55900	2.01	0.65776	0.51932	0.48068	0.76481	0.52482
17.400	1.63	4.75	87600	3.12	0.88237	0.69665	0.30335	0.58252	0.26241
8.700	1.5	5.23	98000	3.73	0.93846	0.74094	0.25906	0.52271	0.11820
4.350	1.5	5.2	147300	3.7	1.14221	0.90180	0.09820	0.23922	0.12530
2.175	1.73	5.68	156100	3.95	1.17122	0.92471	0.07529	0.18861	0.06619
Control	1.88	5.81	184700	3.93	1.25534	1	0	0	0
139.200	2.56	3.8	24100	1.24	0.23708	0.18886	0.81114	0.94638	0.68448
69.600	1.78	2.42	23100	0.64	0.21589	0.17198	0.82802	0.95227	0.83715
34.800	1.65	3.46	56000	1.81	0.65865	0.52468	0.47532	0.75840	0.53944
17.400	1.65	4.87	115100	3.22	1.01888	0.81163	0.18837	0.41014	0.18066
8.700	1.48	5.21	135400	3.73	1.10009	0.87633	0.12367	0.29051	0.05089
4.350	1.55	5.39	150700	3.84	1.15362	0.91897	0.08103	0.20035	0.02290
2.175	1.58	5.22	184700	3.64	1.25534	1.00000	0.00000	0.00000	0.07379
Control	1.66	6.11	205900	4.45	1.30967	1	0	0	0
139.200	2.34	3.46	20400	1.12	0.15374	0.11739	0.88261	0.97171	0.74831
69.600	1.9	3.11	24200	1.21	0.23915	0.18260	0.81740	0.95181	0.72809
34.800	1.87	3.57	56300	1.7	0.66132	0.50495	0.49505	0.78366	0.61798
17.400	1.62	4.67	87500	3.05	0.88179	0.67329	0.32671	0.62022	0.31461
8.700	1.66	5.04	105900	3.38	0.97722	0.74616	0.25384	0.52383	0.24045
4.350	1.69	5.6	137100	3.91	1.10633	0.84474	0.15526	0.36040	0.12135
2.175	1.63	5.6	145500	3.97	1.13606	0.86744	0.13256	0.31640	0.10787
Control	1.82000	6.02333	193166.67	4.20333	1.27720	1	0	0	0
139.200	2.31000	3.57667	22100.00	1.26667	0.19258	0.15128	0.84836	0.96015	0.69865
69.600	1.81333	2.78333	28033.33	0.97000	0.30126	0.23629	0.75530	0.92685	0.76923
34.800	1.73333	3.57333	56066.67	1.84000	0.65924	0.51632	0.48406	0.76950	0.56225
17.400	1.63333	4.76333	96733.33	3.13000	0.92768	0.72719	0.27063	0.54125	0.25535
8.700	1.54667	5.16000	113100.00	3.61333	1.00526	0.78781	0.20946	0.44939	0.14036
4.350	1.58000	5.39667	145033.33	3.81667	1.13405	0.88850	0.11215	0.27016	0.09199
2.175	1.64667	5.50000	162100.00	3.85333	1.18754	0.93072	0.06861	0.17437	0.08327

附錄二 混合毒性數據

實驗毒物：3-H + 2-CP

初始細胞密度(cells/mL)： 15000

MCV (μm3)： 42.40 D (μm)： 4.252 Initial pH： 7.43 EC₅₀ A： 27.377

EDTA(%)： 0 T(°C)： 24 Test duration： 48-h EC₅₀ B： 60.077

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	2.44	5.62	3.18	0
36.959	81.104	2.700	2.28	3.41	1.13	0.64465
24.639	54.069	1.800	1.96	3.54	1.58	0.50314
16.426	36.046	1.200	2.35	4.31	1.96	0.38365
10.951	24.031	0.800	1.94	3.97	2.03	0.36164
7.255	15.902	0.530	1.89	4.16	2.27	0.28616
4.928	10.814	0.360	1.89	4.6	2.71	0.14780
3.285	7.029	0.237	2.02	4.27	2.25	0.29245
Control	Control	Control	2.37	5.5	3.13	0
36.959	81.104	2.700	2.84	3.86	1.02	0.67412
24.639	54.069	1.800	2.27	3.92	1.65	0.47284
16.426	36.046	1.200	2.4	3.98	1.58	0.49521
10.951	24.031	0.800	1.92	3.97	2.05	0.34505
7.255	15.902	0.530	1.8	4.05	2.25	0.28115
4.928	10.814	0.360	1.98	4.52	2.54	0.18850
3.285	7.029	0.237	1.87	4.5	2.63	0.15974
Control	Control	Control	2.2	5.8	3.6	0
36.959	81.104	2.700	2.51	3.73	1.22	0.66111
24.639	54.069	1.800	2.26	3.92	1.66	0.53889
16.426	36.046	1.200	2.27	4.22	1.95	0.45833
10.951	24.031	0.800	1.94	4.19	2.25	0.37500
7.255	15.902	0.530	1.84	4.25	2.41	0.33056
4.928	10.814	0.360	1.78	4.53	2.75	0.23611
3.285	7.029	0.237	1.86	4.42	2.56	0.28889
Control	Control	Control	2.33667	5.64000	3.303333333	0
36.959	81.104	2.700	2.54333	3.66667	1.123333333	0.65994
24.639	54.069	1.800	2.16333	3.79333	1.63	0.50656
16.426	36.046	1.200	2.34000	4.17000	1.83	0.44601
10.951	24.031	0.800	1.93333	4.04333	2.11	0.36125
7.255	15.902	0.530	1.84333	4.15333	2.31	0.30071
4.928	10.814	0.360	1.88333	4.55000	2.666666667	0.19273
3.285	7.029	0.237	1.91667	4.39667	2.48	0.24924

實驗毒物 : 3-H + 2-CP				初始細胞密度 (cells/mL) : 15000		
MCV (μm3) :	42.40	D (μm) :	4.252	Initial pH :	7.43	EC ₅₀ A : 32.109
EDTA(%) :	0	T(°C) :	24	Test duration :	48-h	EC ₅₀ B : 29.247
Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	174200	1.22608	1	0
36.959	81.104	3.924	31500	0.37097	0.30257	0.89636
24.639	54.069	2.616	49800	0.59998	0.48935	0.78141
16.426	36.046	1.744	71000	0.77731	0.63399	0.64824
10.951	24.031	1.163	99300	0.94505	0.77079	0.47048
7.255	15.902	0.770	128400	1.07355	0.87560	0.28769
4.928	10.814	0.523	140800	1.11965	0.91319	0.20980
3.285	7.029	0.343	184900	1.25588	1.02431	-0.06721
Control	Control	Control	143600	1.12949	1	0
36.959	81.104	3.924	26500	0.28455	0.25193	0.91058
24.639	54.069	2.616	41200	0.50519	0.44728	0.79627
16.426	36.046	1.744	78700	0.82880	0.73378	0.50467
10.951	24.031	1.163	88900	0.88973	0.78773	0.42535
7.255	15.902	0.770	108400	0.98889	0.87552	0.27372
4.928	10.814	0.523	154100	1.16478	1.03124	-0.08165
3.285	7.029	0.343	177400	1.23518	1.09357	-0.26283
Control	Control	Control	160300	1.18450	1.00000	0
36.959	81.104	3.924	33200	0.39725	0.33537	0.87474
24.639	54.069	2.616	48400	0.58572	0.49449	0.77013
16.426	36.046	1.744	77900	0.82369	0.69539	0.56710
10.951	24.031	1.163	102800	0.96237	0.81247	0.39573
7.255	15.902	0.770	130400	1.08128	0.91286	0.20578
4.928	10.814	0.523	147300	1.14221	0.96430	0.08947
3.285	7.029	0.343	199800	1.29463	1.09298	-0.27185
Control	Control	Control	159366.67	1.18002	1	0
36.959	81.104	3.924	30400.00	0.35092	0.29662	0.89333
24.639	54.069	2.616	46466.67	0.56363	0.47704	0.78204
16.426	36.046	1.744	75866.67	0.80993	0.68772	0.57839
10.951	24.031	1.163	97000.00	0.93238	0.79033	0.43200
7.255	15.902	0.770	122400.00	1.04791	0.88799	0.25606
4.928	10.814	0.523	147400.00	1.14221	0.96958	0.08289
3.285	7.029	0.343	187366.67	1.26190	1.07029	-0.19395

實驗毒物：3-H + 2-CP				初始細胞密度 (cells/mL)：			15000
MCV (μm3)：	42.40	D (μm)：	4.252	Initial pH：	7.43	EC ₅₀ A：	79.405
EDTA(%)：	0	T(°C)：	24	Test duration：	48-h	EC ₅₀ B：	51.192
Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR (growth rate)			
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	rate)	
Control	Control	Control	174200	1.22608	1	0	
36.959	81.104	2.050	31500	0.37097	0.30257	0.69743	
24.639	54.069	1.366	49800	0.59998	0.48935	0.51065	
16.426	36.046	0.911	71000	0.77731	0.63399	0.36601	
10.951	24.031	0.607	99300	0.94505	0.77079	0.22921	
7.255	15.902	0.402	128400	1.07355	0.87560	0.12440	
4.928	10.814	0.273	140800	1.11965	0.91319	0.08681	
3.285	7.029	0.179	184900	1.25588	1.02431	-0.02431	
Control	Control	Control	143600	1.12949	1	0	
36.959	81.104	2.050	26500	0.28455	0.25193	0.74807	
24.639	54.069	1.366	41200	0.50519	0.44728	0.55272	
16.426	36.046	0.911	78700	0.82880	0.73378	0.26622	
10.951	24.031	0.607	88900	0.88973	0.78773	0.21227	
7.255	15.902	0.402	108400	0.98889	0.87552	0.12448	
4.928	10.814	0.273	154100	1.16478	1.03124	-0.03124	
3.285	7.029	0.179	177400	1.23518	1.09357	-0.09357	
Control	Control	Control	160300	1.18450	1.00000	0	
36.959	81.104	2.050	33200	0.39725	0.33537	0.66463	
24.639	54.069	1.366	48400	0.58572	0.49449	0.50551	
16.426	36.046	0.911	77900	0.82369	0.69539	0.30461	
10.951	24.031	0.607	102800	0.96237	0.81247	0.18753	
7.255	15.902	0.402	130400	1.08128	0.91286	0.08714	
4.928	10.814	0.273	147300	1.14221	0.96430	0.03570	
3.285	7.029	0.179	199800	1.29463	1.09298	-0.09298	
Control	Control	Control	159366.67	1.18002	1	0	
36.959	81.104	2.050	30400.00	0.35092	0.29662	0.70108	
24.639	54.069	1.366	46466.67	0.56363	0.47704	0.52154	
16.426	36.046	0.911	75866.67	0.80993	0.68772	0.31408	
10.951	24.031	0.607	97000.00	0.93238	0.79033	0.21010	
7.255	15.902	0.402	122400.00	1.04791	0.88799	0.11168	
4.928	10.814	0.273	147400.00	1.14221	0.96958	0.03303	
3.285	7.029	0.179	187366.67	1.26190	1.07029	-0.06849	

實驗毒物：3-Hydroxybenzaldehyde +

2,3-dichlorophenol (DO)

初始細胞密度(cells/mL)： 15000

MCV (μm³)： 40.23 D (μm)： 4.252 Initial pH： 7.53 EC₅₀ A： 27.377

EDTA(%)： 0 T(°C)： 24 Test duration： 48-h EC₅₀ B： 3.611

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	1.77	4.41	2.64	0
37.890	4.998	2.768	2.5	0.35	-2.15	1.81439
25.255	3.331	1.845	2	0.32	-1.68	1.63636
16.837	2.221	1.230	2.13	0.36	-1.77	1.67045
11.225	1.481	0.820	1.83	1.89	0.06	0.97727
7.488	0.988	0.547	1.9	2.21	0.31	0.88258
4.996	0.659	0.365	1.8	3.9	2.1	0.20455
4.326	0.439	0.280	1.91	5.2	3.29	-0.24621
Control	Control	Control	1.8	4.48	2.68	0
37.890	4.998	2.768	2.54	0.72	-1.82	1.67910
25.255	3.331	1.845	2.2	0.32	-1.88	1.70149
16.837	2.221	1.230	2.18	0.35	-1.83	1.68284
11.225	1.481	0.820	1.97	2	0.03	0.98881
7.488	0.988	0.547	1.84	2.17	0.33	0.87687
4.996	0.659	0.365	1.77	3.7	1.93	0.27985
4.326	0.439	0.280	1.82	5.09	3.27	-0.22015
Control	Control	Control	1.65	4.17	2.52	0
37.890	4.998	2.768	3.18	0.72	-2.46	1.97619
25.255	3.331	1.845	2.17	0.32	-1.85	1.73413
16.837	2.221	1.230	2.12	0.35	-1.77	1.70238
11.225	1.481	0.820	1.92	1.98	0.06	0.97619
7.488	0.988	0.547	1.86	2.71	0.85	0.66270
4.996	0.659	0.365	1.9	4.09	2.19	0.13095
4.326	0.439	0.280	1.64	4.75	3.11	-0.23413
Control	Control	Control	1.74000	4.35333	2.613333333	0
37.890	4.998	2.768	2.74000	0.59667	-2.143333333	1.82015
25.255	3.331	1.845	2.12333	0.32000	-1.803333333	1.69005
16.837	2.221	1.230	2.14333	0.35333	-1.79	1.68495
11.225	1.481	0.820	1.90667	1.95667	0.05	0.98087
7.488	0.988	0.547	1.86667	2.36333	0.496666667	0.80995
4.996	0.659	0.365	1.82333	3.89667	2.073333333	0.20663
4.326	0.439	0.280	1.79000	5.01333	3.223333333	-0.23342

實驗毒物：3-Hydroxybenzaldehyde + 2,3-dichlorophenol (Biomass)				初始細胞密度 (cells/mL)：		15000
MCV (μm ³)：40.23		D (μm)：4.252		Initial pH：7.53		EC ₅₀ A：32.109
EDTA(%)：0		T(°C)：24		Test duration：48-h		EC ₅₀ B：3.215
Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	319000	1.52857	1	0
37.890	4.998	2.735	84000	0.86138	0.56352	0.77303
25.255	3.331	1.823	117700	1.03004	0.67386	0.66217
16.837	2.221	1.215	126600	1.06649	0.69770	0.63289
11.225	1.481	0.810	160300	1.18450	0.77491	0.52204
7.488	0.988	0.541	205300	1.30821	0.85584	0.37401
4.996	0.659	0.361	217900	1.33799	0.87532	0.33257
4.326	0.439	0.271	281800	1.46657	0.95944	0.12237
Control	Control	Control	335700	1.55408	1	0
37.890	4.998	2.735	80500	0.84010	0.54058	0.79576
25.255	3.331	1.823	121200	1.04470	0.67223	0.66885
16.837	2.221	1.215	127800	1.07121	0.68929	0.64827
11.225	1.481	0.810	224300	1.35247	0.87027	0.34737
7.488	0.988	0.541	224400	1.35269	0.87041	0.34705
4.996	0.659	0.361	232800	1.37106	0.88223	0.32086
4.326	0.439	0.271	275900	1.45599	0.93688	0.18647
Control	Control	Control	323600	1.53573	1.00000	0
37.890	4.998	2.735	53000	0.63112	0.41096	0.87686
25.255	3.331	1.823	114200	1.01495	0.66089	0.67855
16.837	2.221	1.215	116800	1.02621	0.66822	0.67012
11.225	1.481	0.810	202300	1.30085	0.84706	0.39307
7.488	0.988	0.541	207800	1.31426	0.85579	0.37524
4.996	0.659	0.361	239100	1.38442	0.90147	0.27382
4.326	0.439	0.271	303300	1.50334	0.97891	0.06578
Control	Control	Control	326100.00	1.53946	1	0
37.890	4.998	2.735	72500.00	0.77754	0.50502	0.81517
25.255	3.331	1.823	117700.00	1.02990	0.66899	0.66988
16.837	2.221	1.215	123733.33	1.05464	0.68507	0.65049
11.225	1.481	0.810	195633.33	1.27927	0.83074	0.41937
7.488	0.988	0.541	212500.00	1.32505	0.86068	0.36516
4.996	0.659	0.361	229933.33	1.36449	0.88634	0.30912
4.326	0.439	0.271	287000.00	1.47530	0.95841	0.12568

實驗毒物：3-Hydroxybenzaldehyde + 2,3-dichlorophenol (Growth rate) 初始細胞密度 (cells/mL) : 15000

MCV (μm3) : 40.23 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.53 EC₅₀ A : 79.405

EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 3.199

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Final cells cells/ml	μspecific	μrelative	IR (growth)
Control	Control	Control	319000	1.52857	1	0
37.890	4.998	2.040	84000	0.86138	0.56352	0.43648
25.255	3.331	1.359	117700	1.03004	0.67386	0.32614
16.837	2.221	0.906	126600	1.06649	0.69770	0.30230
11.225	1.481	0.604	160300	1.18450	0.77491	0.22509
7.488	0.988	0.403	205300	1.30821	0.85584	0.14416
4.996	0.659	0.269	217900	1.33799	0.87532	0.12468
4.326	0.439	0.192	281800	1.46657	0.95944	0.04056
Control	Control	Control	335700	1.55408	1	0
37.890	4.998	2.040	80500	0.84010	0.54058	0.45942
25.255	3.331	1.359	121200	1.04470	0.67223	0.32777
16.837	2.221	0.906	127800	1.07121	0.68929	0.31071
11.225	1.481	0.604	224300	1.35247	0.87027	0.12973
7.488	0.988	0.403	224400	1.35269	0.87041	0.12959
4.996	0.659	0.269	232800	1.37106	0.88223	0.11777
4.326	0.439	0.192	275900	1.45599	0.93688	0.06312
Control	Control	Control	323600	1.53573	1.00000	0
37.890	4.998	2.040	53000	0.63112	0.41096	0.58904
25.255	3.331	1.359	114200	1.01495	0.66089	0.33911
16.837	2.221	0.906	116800	1.02621	0.66822	0.33178
11.225	1.481	0.604	202300	1.30085	0.84706	0.15294
7.488	0.988	0.403	207800	1.31426	0.85579	0.14421
4.996	0.659	0.269	239100	1.38442	0.90147	0.09853
4.326	0.439	0.192	303300	1.50334	0.97891	0.02109
Control	Control	Control	326100.00	1.53946	1	0
37.890	4.998	2.040	72500.00	0.77754	0.50502	0.48832
25.255	3.331	1.359	117700.00	1.02990	0.66899	0.33096
16.837	2.221	0.906	123733.33	1.05464	0.68507	0.31472
11.225	1.481	0.604	195633.33	1.27927	0.83074	0.16594
7.488	0.988	0.403	212500.00	1.32505	0.86068	0.13908
4.996	0.659	0.269	229933.33	1.36449	0.88634	0.11348
4.326	0.439	0.192	287000.00	1.47530	0.95841	0.04148

實驗毒物：3-Hydroxybenzaldehyde +

2,4-dichlorophenol (DO)

初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm3): 40.88 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.48 EC₅₀ A: 27.377

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 13.226

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	1.79	4.06	2.27	0
35.111	16.962	2.565	2.87	0.63	-2.24	1.98678
23.407	11.308	1.710	2.35	1.2	-1.15	1.50661
15.605	7.539	1.140	2.29	0.41	-1.88	1.82819
10.403	5.026	0.760	2.35	0.31	-2.04	1.89868
6.940	3.353	0.507	2.09	0.36	-1.73	1.76211
4.627	2.235	0.338	1.95	2.65	0.7	0.69163
3.080	1.488	0.225	2.13	3.26	1.13	0.50220
Control	Control	Control	1.83	4.3	2.47	0
35.111	16.962	2.565	2.83	0.54	-2.29	1.92713
23.407	11.308	1.710	2.35	0.38	-1.97	1.79757
15.605	7.539	1.140	2.13	0.44	-1.69	1.68421
10.403	5.026	0.760	2.09	0.32	-1.77	1.71660
6.940	3.353	0.507	2.06	0.32	-1.74	1.70445
4.627	2.235	0.338	2.01	2.8	0.79	0.68016
3.080	1.488	0.225	2.12	3.13	1.01	0.59109
Control	Control	Control	1.82	4.22	2.4	0
35.111	16.962	2.565	2.96	0.44	-2.52	2.05000
23.407	11.308	1.710	2.51	0.41	-2.1	1.87500
15.605	7.539	1.140	2.16	0.26	-1.9	1.79167
10.403	5.026	0.760	2.16	0.36	-1.8	1.75000
6.940	3.353	0.507	2.12	0.36	-1.76	1.73333
4.627	2.235	0.338	2.15	2.81	0.66	0.72500
3.080	1.488	0.225	2.03	3.5	1.47	0.38750
Control	Control	Control	1.81333	4.19333	2.38	0
35.111	16.962	2.565	2.88667	0.53667	-2.35	1.98739
23.407	11.308	1.710	2.40333	0.66333	-1.74	1.73109
15.605	7.539	1.140	2.19333	0.37000	-1.82333333	1.76611
10.403	5.026	0.760	2.20000	0.33000	-1.87	1.78571
6.940	3.353	0.507	2.09000	0.34667	-1.74333333	1.73249
4.627	2.235	0.338	2.03667	2.75333	0.716666667	0.69888
3.080	1.488	0.225	2.09333	3.29667	1.203333333	0.49440

實驗毒物：3-Hydroxybenzaldehyde + 2,4-dichlorophenol (Biomass)				初始細胞密度 (cells/mL)：		15000
MCV (μm ³)：40.88	D (μm)：	4.252	Initial pH：	7.48	EC ₅₀ A：	32.109
EDTA(%)：0	T(°C)：	24	Test duration：	48-h	EC ₅₀ B：	10.902
Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	220000	1.34279	1	0
35.111	16.962	2.649	24500	0.24531	0.18269	0.95366
23.407	11.308	1.766	74300	0.80003	0.59580	0.71073
15.605	7.539	1.178	86800	0.87778	0.65370	0.64976
10.403	5.026	0.785	166400	1.20317	0.89602	0.26146
6.940	3.353	0.524	172900	1.22233	0.91029	0.22976
4.627	2.235	0.349	220900	1.34483	1.00152	-0.00439
3.080	1.488	0.232	241100	1.38858	1.03410	-0.10293
Control	Control	Control	241500	1.38941	1	0
35.111	16.962	2.649	22200	0.19602	0.14108	0.96821
23.407	11.308	1.766	69400	0.76592	0.55125	0.75982
15.605	7.539	1.178	88800	0.88917	0.63996	0.67417
10.403	5.026	0.785	120600	1.04221	0.75011	0.53377
6.940	3.353	0.524	177200	1.23461	0.88859	0.28389
4.627	2.235	0.349	224000	1.35180	0.97293	0.07726
3.080	1.488	0.232	277400	1.45871	1.04987	-0.15850
Control	Control	Control	217800	1.33776	1.00000	0
35.111	16.962	2.649	22500	0.20273	0.15155	0.96302
23.407	11.308	1.766	77100	0.81853	0.61186	0.69379
15.605	7.539	1.178	86700	0.87720	0.65572	0.64645
10.403	5.026	0.785	170000	1.21387	0.90739	0.23570
6.940	3.353	0.524	201200	1.29812	0.97037	0.08185
4.627	2.235	0.349	200800	1.29713	0.96963	0.08383
3.080	1.488	0.232	223500	1.35068	1.00966	-0.02811
Control	Control	Control	226433.33	1.35665	1	0
35.111	16.962	2.649	23066.67	0.21469	0.15844	0.96185
23.407	11.308	1.766	73600.00	0.79483	0.58630	0.72284
15.605	7.539	1.178	87433.33	0.88138	0.64979	0.65742
10.403	5.026	0.785	152333.33	1.15309	0.85118	0.35047
6.940	3.353	0.524	183766.67	1.25169	0.92308	0.20180
4.627	2.235	0.349	215233.33	1.33125	0.98136	0.05297
3.080	1.488	0.232	247333.33	1.39932	1.03121	-0.09885

實驗毒物：3-Hydroxybenzaldehyde + 2,4-dichlorophenol (Growth rate) 初始細胞密度 (cells/mL) : 15000

MCV (μm³) : 39.74 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.54 EC₅₀ A : 79.405

EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 19.636

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Final cells cells/ml	μspecific	μrelative	IR (growth)
Control	Control	Control	220000	1.34279	1	0
35.111	16.962	1.306	24500	0.24531	0.18269	0.81731
23.407	11.308	0.871	74300	0.80003	0.59580	0.40420
15.605	7.539	0.580	86800	0.87778	0.65370	0.34630
10.403	5.026	0.387	166400	1.20317	0.89602	0.10398
6.940	3.353	0.258	172900	1.22233	0.91029	0.08971
4.627	2.235	0.172	220900	1.34483	1.00152	-0.00152
3.080	1.488	0.115	241100	1.38858	1.03410	-0.03410
Control	Control	Control	241500	1.38941	1	0
35.111	16.962	1.306	22200	0.19602	0.14108	0.85892
23.407	11.308	0.871	69400	0.76592	0.55125	0.44875
15.605	7.539	0.580	88800	0.88917	0.63996	0.36004
10.403	5.026	0.387	120600	1.04221	0.75011	0.24989
6.940	3.353	0.258	177200	1.23461	0.88859	0.11141
4.627	2.235	0.172	224000	1.35180	0.97293	0.02707
3.080	1.488	0.115	277400	1.45871	1.04987	-0.04987
Control	Control	Control	217800	1.33776	1.00000	0
35.111	16.962	1.306	22500	0.20273	0.15155	0.84845
23.407	11.308	0.871	77100	0.81853	0.61186	0.38814
15.605	7.539	0.580	86700	0.87720	0.65572	0.34428
10.403	5.026	0.387	170000	1.21387	0.90739	0.09261
6.940	3.353	0.258	201200	1.29812	0.97037	0.02963
4.627	2.235	0.172	200800	1.29713	0.96963	0.03037
3.080	1.488	0.115	223500	1.35068	1.00966	-0.00966
Control	Control	Control	226433.33	1.35665	1	0
35.111	16.962	1.306	23066.67	0.21469	0.15844	0.84146
23.407	11.308	0.871	73600.00	0.79483	0.58630	0.41402
15.605	7.539	0.580	87433.33	0.88138	0.64979	0.35057
10.403	5.026	0.387	152333.33	1.15309	0.85118	0.14603
6.940	3.353	0.258	183766.67	1.25169	0.92308	0.07692
4.627	2.235	0.172	215233.33	1.33125	0.98136	0.01869
3.080	1.488	0.115	247333.33	1.39932	1.03121	-0.03253

實驗毒物：

3-Hydroxybenzaldehyde+2,4,6-Trichlorophenol (DO)

初始細胞密度(cells/mL)： 15000

MCV (μm3)： 41.53

D (μm)： 4.252

Initial pH： 7.50

EC₅₀ A： 27.377

EDTA(%)： 0

T(°C)： 24

Test duration： 48-h

EC₅₀ B： 6.318

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	2.2	4.29	2.09	0
47.129	10.876	3.443	2.52	0.4	-2.12	2.01435
31.415	7.250	2.295	2.3	0.36	-1.94	1.92823
20.943	4.833	1.530	2.17	0.36	-1.81	1.86603
13.962	3.222	1.020	2.15	0.38	-1.77	1.84689
9.308	2.148	0.680	2.22	0.42	-1.8	1.86124
6.201	1.432	0.453	2.21	3.11	0.9	0.56938
4.134	0.954	0.302	2.21	4.1	1.89	0.09569
Control	Control	Control	2.02	4.56	2.54	0
47.129	10.876	3.443	2.69	0.37	-2.32	1.91339
31.415	7.250	2.295	2.38	0.37	-2.01	1.79134
20.943	4.833	1.530	2.16	0.36	-1.8	1.70866
13.962	3.222	1.020	2.37	0.37	-2	1.78740
9.308	2.148	0.680	2.1	0.43	-1.67	1.65748
6.201	1.432	0.453	2.19	2.44	0.25	0.90157
4.134	0.954	0.302	2.24	4	1.76	0.30709
Control	Control	Control	2.21	4.71	2.5	0
47.129	10.876	3.443	2.73	0.37	-2.36	1.94400
31.415	7.250	2.295	2.54	0.36	-2.18	1.87200
20.943	4.833	1.530	2.3	0.36	-1.94	1.77600
13.962	3.222	1.020	2.31	0.37	-1.94	1.77600
9.308	2.148	0.680	2.31	0.38	-1.93	1.77200
6.201	1.432	0.453	2.25	2.97	0.72	0.71200
4.134	0.954	0.302	2.21	4.49	2.28	0.08800
Control	Control	Control	2.14333	4.52000	2.376666667	0
47.129	10.876	3.443	2.64667	0.38000	-2.266666667	1.95372
31.415	7.250	2.295	2.40667	0.36333	-2.043333333	1.85975
20.943	4.833	1.530	2.21000	0.36000	-1.85	1.77840
13.962	3.222	1.020	2.27667	0.37333	-1.903333333	1.80084
9.308	2.148	0.680	2.21000	0.41000	-1.8	1.75736
6.201	1.432	0.453	2.21667	2.84000	0.623333333	0.73773
4.134	0.954	0.302	2.22000	4.19667	1.976666667	0.16830

實驗毒物：

3-Hydroxybenzaldehyde+2,4,6-Trichlorophenol (Biomass)

初始細胞密度(cells/mL)：

15000

MCV (μm3)： 41.53

D (μm)： 4.252

Initial pH： 7.50

EC₅₀ A：

32.109

EDTA(%)： 0

T(°C)： 24

Test duration： 48-h

EC₅₀ B：

4.363

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	173100	1.22291	1	0
47.129	10.876	3.961	31100	0.36458	0.29812	0.89817
31.415	7.250	2.640	30900	0.36135	0.29549	0.89943
20.943	4.833	1.760	33200	0.39725	0.32484	0.88488
13.962	3.222	1.173	57700	0.67360	0.55082	0.72992
9.308	2.148	0.782	61700	0.70712	0.57822	0.70462
6.201	1.432	0.521	92100	0.90741	0.74201	0.51233
4.134	0.954	0.347	167800	1.20736	0.98729	0.03352
Control	Control	Control	176900	1.23377	1	0
47.129	10.876	3.961	32800	0.39119	0.31707	0.89006
31.415	7.250	2.640	33800	0.40621	0.32924	0.88388
20.943	4.833	1.760	31600	0.37255	0.30196	0.89747
13.962	3.222	1.173	52200	0.62352	0.50538	0.77023
9.308	2.148	0.782	71300	0.77942	0.63174	0.65225
6.201	1.432	0.521	101900	0.95797	0.77646	0.46325
4.134	0.954	0.347	166000	1.20197	0.97423	0.06733
Control	Control	Control	182000	1.24798	1.00000	0
47.129	10.876	3.961	36600	0.44600	0.35738	0.87066
31.415	7.250	2.640	30300	0.35155	0.28169	0.90838
20.943	4.833	1.760	36100	0.43912	0.35187	0.87365
13.962	3.222	1.173	52700	0.62828	0.50344	0.77425
9.308	2.148	0.782	55200	0.65146	0.52201	0.75928
6.201	1.432	0.521	115400	1.02018	0.81746	0.39880
4.134	0.954	0.347	162000	1.18977	0.95336	0.11976
Control	Control	Control	177333.33	1.23489	1	0
47.129	10.876	3.961	33500.00	0.40059	0.32419	0.88604
31.415	7.250	2.640	31666.67	0.37304	0.30214	0.89733
20.943	4.833	1.760	33633.33	0.40297	0.32622	0.88522
13.962	3.222	1.173	54200.00	0.64180	0.51988	0.75852
9.308	2.148	0.782	62733.33	0.71267	0.57733	0.70595
6.201	1.432	0.521	103133.33	0.96185	0.77864	0.45708
4.134	0.954	0.347	165266.67	1.19970	0.97162	0.07433

實驗毒物：3-Hydroxybenzaldehyde+2,4,6-Trichlorophenol

初始細胞密度

15000

(Growth)

(cells/mL) :

MCV (μm^3) : 41.53D (μm) : 4.252

Initial pH : 7.50

EC₅₀ A : 79.405

EDTA(%) : 0

T(°C) : 24

Test duration : 48-h

EC₅₀ B : 8.377

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR (growth rate)		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	$\mu\text{specific}$	$\mu\text{relative}$	rate)
Control	Control	Control	173100	1.22291	1	0
47.129	10.876	1.892	31100	0.36458	0.29812	0.70188
31.415	7.250	1.261	30900	0.36135	0.29549	0.70451
20.943	4.833	0.841	33200	0.39725	0.32484	0.67516
13.962	3.222	0.560	57700	0.67360	0.55082	0.44918
9.308	2.148	0.374	61700	0.70712	0.57822	0.42178
6.201	1.432	0.249	92100	0.90741	0.74201	0.25799
4.134	0.954	0.166	167800	1.20736	0.98729	0.01271
Control	Control	Control	176900	1.23377	1	0
47.129	10.876	1.892	32800	0.39119	0.31707	0.68293
31.415	7.250	1.261	33800	0.40621	0.32924	0.67076
20.943	4.833	0.841	31600	0.37255	0.30196	0.69804
13.962	3.222	0.560	52200	0.62352	0.50538	0.49462
9.308	2.148	0.374	71300	0.77942	0.63174	0.36826
6.201	1.432	0.249	101900	0.95797	0.77646	0.22354
4.134	0.954	0.166	166000	1.20197	0.97423	0.02577
Control	Control	Control	182000	1.24798	1.00000	0
47.129	10.876	1.892	36600	0.44600	0.35738	0.64262
31.415	7.250	1.261	30300	0.35155	0.28169	0.71831
20.943	4.833	0.841	36100	0.43912	0.35187	0.64813
13.962	3.222	0.560	52700	0.62828	0.50344	0.49656
9.308	2.148	0.374	55200	0.65146	0.52201	0.47799
6.201	1.432	0.249	115400	1.02018	0.81746	0.18254
4.134	0.954	0.166	162000	1.18977	0.95336	0.04664
Control	Control	Control	177333.33	1.23489	1	0
47.129	10.876	1.892	33500.00	0.40059	0.32419	0.67470
31.415	7.250	1.261	31666.67	0.37304	0.30214	0.69748
20.943	4.833	0.841	33633.33	0.40297	0.32622	0.67309
13.962	3.222	0.560	54200.00	0.64180	0.51988	0.47990
9.308	2.148	0.374	62733.33	0.71267	0.57733	0.42071
6.201	1.432	0.249	103133.33	0.96185	0.77864	0.21944
4.134	0.954	0.166	165266.67	1.19970	0.97162	0.02853

實驗毒物：3-Hydrobenzaldehyde +

4-chlorophenol (DO)

初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm3): 39.74 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.54 EC₅₀ A: 27.377

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 14.557

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	1.67	3.87	2.2	0
26.063	13.858	1.904	2.59	0.55	-2.04	1.92727
17.371	9.236	1.269	1.96	0.3	-1.66	1.75455
11.580	6.158	0.846	2.04	0.29	-1.75	1.79545
7.720	4.105	0.564	1.77	0.29	-1.48	1.67273
5.147	2.737	0.376	2.01	2.64	0.63	0.71364
3.436	1.827	0.251	2.04	4.05	2.01	0.08636
2.286	1.216	0.167	2.18	5	2.82	-0.28182
Control	Control	Control	1.62	4.18	2.56	0
26.063	13.858	1.904	2.67	0.36	-2.31	1.90234
17.371	9.236	1.269	2.1	0.3	-1.8	1.70313
11.580	6.158	0.846	1.88	0.29	-1.59	1.62109
7.720	4.105	0.564	2.1	0.3	-1.8	1.70313
5.147	2.737	0.376	1.93	2.46	0.53	0.79297
3.436	1.827	0.251	2.09	2.07	-0.02	1.00781
2.286	1.216	0.167	2	3.24	1.24	0.51563
Control	Control	Control	1.73	4.29	2.56	0
26.063	13.858	1.904	2.77	0.31	-2.46	1.96094
17.371	9.236	1.269	2.46	0.29	-2.17	1.84766
11.580	6.158	0.846	2.06	0.29	-1.77	1.69141
7.720	4.105	0.564	1.87	0.3	-1.57	1.61328
5.147	2.737	0.376	1.84	3.24	1.4	0.45313
3.436	1.827	0.251	2.15	3.49	1.34	0.47656
2.286	1.216	0.167	1.98	4.19	2.21	0.13672
Control	Control	Control	1.67333	4.11333	2.44	0
26.063	13.858	1.904	2.67667	0.40667	-2.27	1.93033
17.371	9.236	1.269	2.17333	0.29667	-1.87666667	1.76913
11.580	6.158	0.846	1.99333	0.29000	-1.70333333	1.69809
7.720	4.105	0.564	1.91333	0.29667	-1.61666667	1.66257
5.147	2.737	0.376	1.92667	2.78000	0.85333333	0.65027
3.436	1.827	0.251	2.09333	3.20333	1.11	0.54508
2.286	1.216	0.167	2.05333	4.14333	2.09	0.14344

實驗毒物：3-Hydrobenzaldehyde + 4-chlorophenol (Biomass) 初始細胞密度 (cells/mL) : 15000

MCV (μm³) : 39.74 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.54 EC₅₀ A : 32.109

EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 8.038

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	177000	1.23405	1	0
26.063	13.858	2.536	58900	0.68390	0.55419	0.72901
17.371	9.236	1.690	84000	0.86138	0.69801	0.57407
11.580	6.158	1.127	149100	1.14828	0.93050	0.17222
7.720	4.105	0.751	169600	1.21270	0.98270	0.04568
5.147	2.737	0.501	203300	1.30332	1.05613	-0.16235
3.436	1.827	0.334	176800	1.23348	0.99954	0.00123
2.286	1.216	0.222	266100	1.43791	1.16520	-0.55000
Control	Control	Control	177900	1.23659	1	0
26.063	13.858	2.536	57600	0.67274	0.54403	0.73849
17.371	9.236	1.690	110100	0.99667	0.80598	0.41621
11.580	6.158	1.127	140200	1.11751	0.90371	0.23143
7.720	4.105	0.751	170100	1.21417	0.98187	0.04788
5.147	2.737	0.501	169900	1.21358	0.98140	0.04911
3.436	1.827	0.334	180900	1.24495	1.00676	-0.01842
2.286	1.216	0.222	198500	1.29137	1.04430	-0.12646
Control	Control	Control	180100	1.24273	1.00000	0
26.063	13.858	2.536	77700	0.82240	0.66177	0.62023
17.371	9.236	1.690	90400	0.89810	0.72268	0.54331
11.580	6.158	1.127	143700	1.12984	0.90916	0.22047
7.720	4.105	0.751	178700	1.23883	0.99686	0.00848
5.147	2.737	0.501	187900	1.26393	1.01706	-0.04724
3.436	1.827	0.334	201900	1.29986	1.04597	-0.13204
2.286	1.216	0.222	245000	1.39660	1.12382	-0.39310
Control	Control	Control	178333.33	1.23779	1	0
26.063	13.858	2.536	64733.33	0.72634	0.58666	0.69551
17.371	9.236	1.690	94833.33	0.91872	0.74223	0.51122
11.580	6.158	1.127	144333.33	1.13188	0.91445	0.20816
7.720	4.105	0.751	172800.00	1.22190	0.98714	0.03388
5.147	2.737	0.501	187033.33	1.26028	1.01819	-0.05327
3.436	1.827	0.334	186533.33	1.25943	1.01743	-0.05020
2.286	1.216	0.222	236533.33	1.37529	1.11111	-0.35633

實驗毒物：3-Hydrobenzaldehyde + 4-chlorophenol (Growth rate) 初始細胞密度 (cells/mL) : 15000

MCV (μm³) : 39.74 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.54 EC₅₀ A : 79.405

EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 21.799

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Final cells cells/ml	μspecific	μrelative	IR (growth)
Control	Control	Control	177000	1.23405	1	0
26.063	13.858	0.964	58900	0.68390	0.55419	0.44581
17.371	9.236	0.642	84000	0.86138	0.69801	0.30199
11.580	6.158	0.428	149100	1.14828	0.93050	0.06950
7.720	4.105	0.286	169600	1.21270	0.98270	0.01730
5.147	2.737	0.190	203300	1.30332	1.05613	-0.05613
3.436	1.827	0.127	176800	1.23348	0.99954	0.00046
2.286	1.216	0.085	266100	1.43791	1.16520	-0.16520
Control	Control	Control	177900	1.23659	1	0
26.063	13.858	0.964	57600	0.67274	0.54403	0.45597
17.371	9.236	0.642	110100	0.99667	0.80598	0.19402
11.580	6.158	0.428	140200	1.11751	0.90371	0.09629
7.720	4.105	0.286	170100	1.21417	0.98187	0.01813
5.147	2.737	0.190	169900	1.21358	0.98140	0.01860
3.436	1.827	0.127	180900	1.24495	1.00676	-0.00676
2.286	1.216	0.085	198500	1.29137	1.04430	-0.04430
Control	Control	Control	180100	1.24273	1.00000	0
26.063	13.858	0.964	77700	0.82240	0.66177	0.33823
17.371	9.236	0.642	90400	0.89810	0.72268	0.27732
11.580	6.158	0.428	143700	1.12984	0.90916	0.09084
7.720	4.105	0.286	178700	1.23883	0.99686	0.00314
5.147	2.737	0.190	187900	1.26393	1.01706	-0.01706
3.436	1.827	0.127	201900	1.29986	1.04597	-0.04597
2.286	1.216	0.085	245000	1.39660	1.12382	-0.12382
Control	Control	Control	178333.33	1.23779	1	0
26.063	13.858	0.964	64733.33	0.72634	0.58666	0.40935
17.371	9.236	0.642	94833.33	0.91872	0.74223	0.25510
11.580	6.158	0.428	144333.33	1.13188	0.91445	0.08545
7.720	4.105	0.286	172800.00	1.22190	0.98714	0.01273
5.147	2.737	0.190	187033.33	1.26028	1.01819	-0.01924
3.436	1.827	0.127	186533.33	1.25943	1.01743	-0.01816
2.286	1.216	0.085	236533.33	1.37529	1.11111	-0.11409

實驗毒物:Propinaldehyde(1.615) + 2-CP(2.162) 初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm3): 40.89 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.43 EC₅₀ A: 60.077

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 36.634

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	1.88	6.41	4.53	0
83.132	50.692	2.767	2.15	2.91	0.76	0.83223
55.421	33.795	1.845	2.16	2.83	0.67	0.85210
36.947	22.530	1.230	1.96	3.3	1.34	0.70419
24.632	15.020	0.820	1.87	3.23	1.36	0.69978
16.401	10.001	0.546	1.87	4.92	3.05	0.32671
10.934	6.667	0.364	1.81	5.13	3.32	0.26711
7.299	4.451	0.243	1.88	5.96	4.08	0.09934
Control	Control	Control	1.68	6.28	4.6	0
83.132	50.692	2.767	2.41	2.54	0.13	0.97174
55.421	33.795	1.845	2.2	2.24	0.04	0.99130
36.947	22.530	1.230	2.03	3.64	1.61	0.65000
24.632	15.020	0.820	1.97	3.92	1.95	0.57609
16.401	10.001	0.546	1.79	4.84	3.05	0.33696
10.934	6.667	0.364	1.8	5.18	3.38	0.26522
7.299	4.451	0.243	2	5.93	3.93	0.14565
Control	Control	Control	1.8	5.94	4.14	0
83.132	50.692	2.767	2.65	3.56	0.91	0.78019
55.421	33.795	1.845	2.07	2.74	0.67	0.83816
36.947	22.530	1.230	2.08	3.57	1.49	0.64010
24.632	15.020	0.820	2.01	3.49	1.48	0.64251
16.401	10.001	0.546	1.96	4.92	2.96	0.28502
10.934	6.667	0.364	1.86	5.2	3.34	0.19324
7.299	4.451	0.243	1.94	5.97	4.03	0.02657
Control	Control	Control	1.78667	6.21000	4.423333333	0
83.132	50.692	2.767	2.40333	3.00333	0.600000000	0.86436
55.421	33.795	1.845	2.14333	2.60333	0.460000000	0.89601
36.947	22.530	1.230	2.02333	3.50333	1.480000000	0.66541
24.632	15.020	0.820	1.95000	3.54667	1.596666667	0.63904
16.401	10.001	0.546	1.87333	4.89333	3.020000000	0.31726
10.934	6.667	0.364	1.82333	5.17000	3.346666667	0.24341
7.299	4.451	0.243	1.94000	5.95333	4.013333333	0.09269

實驗毒物:Propionaldehyde(1.425) + 2-CP(2.352)

初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm3) : 40.89 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.43 EC₅₀ A : 29.247

EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 11.471

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	159800	1.18294	1	0
83.132	50.692	7.262	31900	0.37728	0.31893	0.88329
55.421	33.795	4.841	51700	0.61870	0.52302	0.74655
36.947	22.530	3.227	55200	0.65146	0.55071	0.72238
24.632	15.020	2.152	70900	0.77661	0.65651	0.61395
16.401	10.001	1.433	129600	1.07820	0.91146	0.20856
10.934	6.667	0.955	140100	1.11715	0.94439	0.13605
7.299	4.451	0.638	146800	1.14051	0.96414	0.08978
Control	Control	Control	162800	1.19224	1	0
83.132	50.692	7.262	34000	0.40916	0.34318	0.87145
55.421	33.795	4.841	43100	0.52774	0.44264	0.80988
36.947	22.530	3.227	54900	0.64873	0.54413	0.73004
24.632	15.020	2.152	94600	0.92080	0.77233	0.46143
16.401	10.001	1.433	147000	1.14119	0.95719	0.10690
10.934	6.667	0.955	148600	1.14660	0.96173	0.09608
7.299	4.451	0.638	149700	1.15029	0.96482	0.08863
Control	Control	Control	183500	1.25208	1.00000	0
83.132	50.692	7.262	34400	0.41500	0.33145	0.88487
55.421	33.795	4.841	41600	0.51002	0.40734	0.84214
36.947	22.530	3.227	70200	0.77165	0.61629	0.67240
24.632	15.020	2.152	76500	0.81462	0.65061	0.63501
16.401	10.001	1.433	125700	1.06292	0.84893	0.34303
10.934	6.667	0.955	160300	1.18450	0.94602	0.13769
7.299	4.451	0.638	173400	1.22378	0.97739	0.05994
Control	Control	Control	168700.00	1.20908	1	0
83.132	50.692	7.262	33433.33	0.40048	0.33119	0.88007
55.421	33.795	4.841	45466.67	0.55216	0.45767	0.80178
36.947	22.530	3.227	60100.00	0.69061	0.57038	0.70657
24.632	15.020	2.152	80666.67	0.83734	0.69315	0.57276
16.401	10.001	1.433	134100.00	1.09411	0.90586	0.22511
10.934	6.667	0.955	149666.67	1.14942	0.95071	0.12383
7.299	4.451	0.638	156633.33	1.17153	0.96878	0.07851

實驗毒物:Propinaldehyde(1.534) + 2-CP(2.655)

初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm3) : 40.89 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.43 EC₅₀ A : 51.192

EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 32.294

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR (growth rate)		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	
Control	Control	Control	159800	1.18294	1	0
83.132	50.692	3.194	31900	0.37728	0.31893	0.68107
55.421	33.795	2.129	51700	0.61870	0.52302	0.47698
36.947	22.530	1.419	55200	0.65146	0.55071	0.44929
24.632	15.020	0.946	70900	0.77661	0.65651	0.34349
16.401	10.001	0.630	129600	1.07820	0.91146	0.08854
10.934	6.667	0.420	140100	1.11715	0.94439	0.05561
7.299	4.451	0.280	146800	1.14051	0.96414	0.03586
Control	Control	Control	162800	1.19224	1	0
83.132	50.692	3.194	34000	0.40916	0.34318	0.65682
55.421	33.795	2.129	43100	0.52774	0.44264	0.55736
36.947	22.530	1.419	54900	0.64873	0.54413	0.45587
24.632	15.020	0.946	94600	0.92080	0.77233	0.22767
16.401	10.001	0.630	147000	1.14119	0.95719	0.04281
10.934	6.667	0.420	148600	1.14660	0.96173	0.03827
7.299	4.451	0.280	149700	1.15029	0.96482	0.03518
Control	Control	Control	183500	1.25208	1.00000	0
83.132	50.692	3.194	34400	0.41500	0.33145	0.66855
55.421	33.795	2.129	41600	0.51002	0.40734	0.59266
36.947	22.530	1.419	70200	0.77165	0.61629	0.38371
24.632	15.020	0.946	76500	0.81462	0.65061	0.34939
16.401	10.001	0.630	125700	1.06292	0.84893	0.15107
10.934	6.667	0.420	160300	1.18450	0.94602	0.05398
7.299	4.451	0.280	173400	1.22378	0.97739	0.02261
Control	Control	Control	168700.00	1.20908	1	0
83.132	50.692	3.194	33433.33	0.40048	0.33119	0.66881
55.421	33.795	2.129	45466.67	0.55216	0.45767	0.54178
36.947	22.530	1.419	60100.00	0.69061	0.57038	0.42648
24.632	15.020	0.946	80666.67	0.83734	0.69315	0.30487
16.401	10.001	0.630	134100.00	1.09411	0.90586	0.09485
10.934	6.667	0.420	149666.67	1.14942	0.95071	0.04947
7.299	4.451	0.280	156633.33	1.17153	0.96878	0.03067

實驗毒物: Propinaldehyde(1.343) + 4-CP(1.175) 初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm3): 40.03 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.60 EC₅₀ A: 14.557

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 36.634

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	2.02	5.28	3.26	0
14.248	35.856	1.958	2.05	3.27	1.22	0.62577
9.498	23.904	1.305	1.84	3.89	2.05	0.37117
6.332	15.936	0.870	1.77	4.28	2.51	0.23006
4.222	10.624	0.580	1.68	4.46	2.78	0.14724
2.817	7.089	0.387	1.67	4.87	3.2	0.01840
1.878	4.726	0.258	1.64	4.98	3.34	-0.02454
1.252	3.151	0.172	1.55	5.2	3.65	-0.11963
Control	Control	Control	1.59	5.22	3.63	0
14.248	35.856	1.958	2.19	3.48	1.29	0.64463
9.498	23.904	1.305	1.77	4.18	2.41	0.33609
6.332	15.936	0.870	1.72	4.27	2.55	0.29752
4.222	10.624	0.580	1.78	4.53	2.75	0.24242
2.817	7.089	0.387	1.6	4.63	3.03	0.16529
1.878	4.726	0.258	1.71	5.01	3.3	0.09091
1.252	3.151	0.172	1.63	5.1	3.47	0.04408
Control	Control	Control	1.57	5.36	3.79	0
14.248	35.856	1.958	2.44	3.53	1.09	0.71240
9.498	23.904	1.305	1.8	4.01	2.21	0.41689
6.332	15.936	0.870	1.7	4.17	2.47	0.34828
4.222	10.624	0.580	1.87	4.51	2.64	0.30343
2.817	7.089	0.387	1.64	5.14	3.5	0.07652
1.878	4.726	0.258	1.59	4.72	3.13	0.17414
1.252	3.151	0.172	1.52	5.06	3.54	0.06596
Control	Control	Control	1.72667	5.28667	3.56	0
14.248	35.856	1.958	2.22667	3.42667	1.2	0.66292
9.498	23.904	1.305	1.80333	4.02667	2.223333333	0.37547
6.332	15.936	0.870	1.73000	4.24000	2.51	0.29494
4.222	10.624	0.580	1.77667	4.50000	2.723333333	0.23502
2.817	7.089	0.387	1.63667	4.88000	3.243333333	0.08895
1.878	4.726	0.258	1.64667	4.90333	3.256666667	0.08521
1.252	3.151	0.172	1.56667	5.12000	3.553333333	0.00187

實驗毒物:Propionaldehyde(1.425) + 4-CP(1.464)				初始細胞密度 (cells/mL):		15000
MCV (μm3):	40.03	D (μm):	4.252	Initial pH:	7.60	EC ₅₀ A: 29.247
EDTA(%):	0	T(°C):	24	Test duration:	48-h	EC ₅₀ B: 11.471
Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	141100	1.12071	1	0
14.248	35.856	3.613	33700	0.40472	0.36113	0.85170
9.498	23.904	2.409	43600	0.53350	0.47604	0.77320
6.332	15.936	1.606	51500	0.61677	0.55034	0.71055
4.222	10.624	1.071	59700	0.69064	0.61625	0.64552
2.817	7.089	0.714	94000	0.91762	0.81879	0.37351
1.878	4.726	0.476	98500	0.94100	0.83965	0.33783
1.252	3.151	0.318	112800	1.00878	0.90013	0.22443
Control	Control	Control	147300	1.14221	1	0
14.248	35.856	3.613	28700	0.32442	0.28403	0.89645
9.498	23.904	2.409	49500	0.59696	0.52264	0.73923
6.332	15.936	1.606	52100	0.62256	0.54505	0.71958
4.222	10.624	1.071	58700	0.68219	0.59726	0.66969
2.817	7.089	0.714	94300	0.91922	0.80477	0.40060
1.878	4.726	0.476	97300	0.93487	0.81848	0.37793
1.252	3.151	0.318	118400	1.03301	0.90439	0.21844
Control	Control	Control	142000	1.12389	1.00000	0
14.248	35.856	3.613	25400	0.26335	0.23432	0.91811
9.498	23.904	2.409	48300	0.58469	0.52024	0.73780
6.332	15.936	1.606	54900	0.64873	0.57722	0.68583
4.222	10.624	1.071	60000	0.69315	0.61674	0.64567
2.817	7.089	0.714	98200	0.93948	0.83592	0.34488
1.878	4.726	0.476	108400	0.98889	0.87988	0.26457
1.252	3.151	0.318	124600	1.05853	0.94185	0.13701
Control	Control	Control	143466.67	1.12894	1	0
14.248	35.856	3.613	29266.67	0.33083	0.29316	0.88895
9.498	23.904	2.409	47133.33	0.57172	0.50631	0.74987
6.332	15.936	1.606	52833.33	0.62935	0.55753	0.70550
4.222	10.624	1.071	59466.67	0.68866	0.61008	0.65387
2.817	7.089	0.714	95500.00	0.92544	0.81982	0.37338
1.878	4.726	0.476	101400.00	0.95492	0.84600	0.32745
1.252	3.151	0.318	118600.00	1.03344	0.91546	0.19357

實驗毒物:Propionaldehyde(1.534) + 4-CP(1.337)				初始細胞密度 (cells/mL): 15000		
MCV (μm ³):	40.03	D (μm):	4.252	Initial pH:	7.60	EC ₅₀ A: 51.192
EDTA(%):	0	T(°C):	24	Test duration:	48-h	EC ₅₀ B: 32.294
Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR (growth rate)		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	
Control	Control	Control	141100	1.12071	1	0
14.248	35.856	1.389	33700	0.40472	0.36113	0.63887
9.498	23.904	0.926	43600	0.53350	0.47604	0.52396
6.332	15.936	0.617	51500	0.61677	0.55034	0.44966
4.222	10.624	0.411	59700	0.69064	0.61625	0.38375
2.817	7.089	0.275	94000	0.91762	0.81879	0.18121
1.878	4.726	0.183	98500	0.94100	0.83965	0.16035
1.252	3.151	0.122	112800	1.00878	0.90013	0.09987
Control	Control	Control	147300	1.14221	1	0
14.248	35.856	1.389	28700	0.32442	0.28403	0.71597
9.498	23.904	0.926	49500	0.59696	0.52264	0.47736
6.332	15.936	0.617	52100	0.62256	0.54505	0.45495
4.222	10.624	0.411	58700	0.68219	0.59726	0.40274
2.817	7.089	0.275	94300	0.91922	0.80477	0.19523
1.878	4.726	0.183	97300	0.93487	0.81848	0.18152
1.252	3.151	0.122	118400	1.03301	0.90439	0.09561
Control	Control	Control	142000	1.12389	1.00000	0
14.248	35.856	1.389	25400	0.26335	0.23432	0.76568
9.498	23.904	0.926	48300	0.58469	0.52024	0.47976
6.332	15.936	0.617	54900	0.64873	0.57722	0.42278
4.222	10.624	0.411	60000	0.69315	0.61674	0.38326
2.817	7.089	0.275	98200	0.93948	0.83592	0.16408
1.878	4.726	0.183	108400	0.98889	0.87988	0.12012
1.252	3.151	0.122	124600	1.05853	0.94185	0.05815
Control	Control	Control	143466.67	1.12894	1	0
14.248	35.856	1.389	29266.67	0.33083	0.29316	0.70399
9.498	23.904	0.926	47133.33	0.57172	0.50631	0.49296
6.332	15.936	0.617	52833.33	0.62935	0.55753	0.44240
4.222	10.624	0.411	59466.67	0.68866	0.61008	0.39002
2.817	7.089	0.275	95500.00	0.92544	0.81982	0.18023
1.878	4.726	0.183	101400.00	0.95492	0.84600	0.15369
1.252	3.151	0.122	118600.00	1.03344	0.91546	0.08430

初始細胞密度(cells/mL)：

實驗毒物:2,3-DP(2.209)+Propionaldehyde(1.343)

15000

MCV (μm³)： 45.24 D (μm)： 4.252 Initial pH： 7.57 EC₅₀ A： 3.565

EDTA(%)： 0 T(°C)： 24

Test duration： 48-h

EC₅₀ B： 36.634

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	1.85	5.56	3.71	0
4.997	50.692	2.785	1.99	2.78	0.79	0.78706
3.331	33.795	1.857	1.9	3.14	1.24	0.66577
2.221	22.530	1.238	1.82	3.94	2.12	0.42857
1.481	15.020	0.825	1.73	4	2.27	0.38814
0.988	10.019	0.551	1.69	4.33	2.64	0.28841
0.659	6.686	0.367	1.85	4.35	2.5	0.32615
0.439	4.451	0.245	1.86	5.15	3.29	0.11321
Control	Control	Control	2	5.4	3.4	0
4.997	50.692	2.785	2.71	3.37	0.66	0.80588
3.331	33.795	1.857	2.01	3.33	1.32	0.61176
2.221	22.530	1.238	1.8	4.28	2.48	0.27059
1.481	15.020	0.825	1.8	4.36	2.56	0.24706
0.988	10.019	0.551	1.73	4.59	2.86	0.15882
0.659	6.686	0.367	1.72	4.73	3.01	0.11471
0.439	4.451	0.245	1.83	5.23	3.4	0.00000
Control	Control	Control	1.87	5.47	3.6	0
4.997	50.692	2.785	2.29	2.78	0.49	0.86389
3.331	33.795	1.857	2.02	3.57	1.55	0.56944
2.221	22.530	1.238	1.84	3.56	1.72	0.52222
1.481	15.020	0.825	1.79	4.15	2.36	0.34444
0.988	10.019	0.551	1.75	4.75	3	0.16667
0.659	6.686	0.367	1.79	4.8	3.01	0.16389
0.439	4.451	0.245	1.85	4.94	3.09	0.14167
Control	Control	Control	1.90667	5.47667	3.57	0
4.997	50.692	2.785	2.33000	2.97667	0.646666667	0.81886
3.331	33.795	1.857	1.97667	3.34667	1.37	0.61625
2.221	22.530	1.238	1.82000	3.92667	2.106666667	0.40990
1.481	15.020	0.825	1.77333	4.17000	2.396666667	0.32866
0.988	10.019	0.551	1.72333	4.55667	2.833333333	0.20635
0.659	6.686	0.367	1.78667	4.62667	2.84	0.20448
0.439	4.451	0.245	1.84667	5.10667	3.26	0.08683

實驗毒物:2,3-DP(2.123)+Propionaldehyde(1.425) 初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm³): 45.24 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.57 EC₅₀ A: 3.215

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 11.471

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells			IR
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	238500	1.38316	1	0
4.997	50.692	5.973	47800	0.57949	0.41896	0.85324
3.331	33.795	3.982	70500	0.77378	0.55943	0.75168
2.221	22.530	2.655	132500	1.08927	0.78752	0.47427
1.481	15.020	1.770	141100	1.12071	0.81025	0.43579
0.988	10.019	1.181	163900	1.19560	0.86440	0.33378
0.659	6.686	0.788	191600	1.27368	0.92085	0.20984
0.439	4.451	0.525	207500	1.31354	0.94967	0.13870
Control	Control	Control	205300	1.30821	1	0
4.997	50.692	5.973	45800	0.55812	0.42663	0.83815
3.331	33.795	3.982	78000	0.82433	0.63012	0.66894
2.221	22.530	2.655	130900	1.08319	0.82799	0.39096
1.481	15.020	1.770	167800	1.20736	0.92291	0.19706
0.988	10.019	1.181	170200	1.21446	0.92834	0.18445
0.659	6.686	0.788	175100	1.22865	0.93919	0.15870
0.439	4.451	0.525	187300	1.26233	0.96493	0.09459
Control	Control	Control	203700	1.30430	1.00000	0
4.997	50.692	5.973	52100	0.62256	0.47731	0.80339
3.331	33.795	3.982	105800	0.97675	0.74887	0.51881
2.221	22.530	2.655	130600	1.08204	0.82960	0.38739
1.481	15.020	1.770	159500	1.18200	0.90623	0.23423
0.988	10.019	1.181	162400	1.19101	0.91314	0.21887
0.659	6.686	0.788	164900	1.19864	0.91900	0.20562
0.439	4.451	0.525	203200	1.30307	0.99906	0.00265
Control	Control	Control	215833.33	1.33189	1	0
4.997	50.692	5.973	48566.67	0.58672	0.44097	0.83286
3.331	33.795	3.982	84766.67	0.85829	0.64614	0.65261
2.221	22.530	2.655	131333.33	1.08483	0.81504	0.42075
1.481	15.020	1.770	156133.33	1.17002	0.87980	0.29726
0.988	10.019	1.181	165500.00	1.20036	0.90196	0.25062
0.659	6.686	0.788	177200.00	1.23366	0.92634	0.19237
0.439	4.451	0.525	199333.33	1.29298	0.97122	0.08216

實驗毒物:2,3-DP(2.436)+Propionaldehyde(1.534) 初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm³): 45.24 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.57 EC₅₀ A: 6.097

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 32.294

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR (growth rate)		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	
Control	Control	Control	238500	1.38316	1	0
4.997	50.692	2.389	47800	0.57949	0.41896	0.58104
3.331	33.795	1.593	70500	0.77378	0.55943	0.44057
2.221	22.530	1.062	132500	1.08927	0.78752	0.21248
1.481	15.020	0.708	141100	1.12071	0.81025	0.18975
0.988	10.019	0.472	163900	1.19560	0.86440	0.13560
0.659	6.686	0.315	191600	1.27368	0.92085	0.07915
0.439	4.451	0.210	207500	1.31354	0.94967	0.05033
Control	Control	Control	205300	1.30821	1	0
4.997	50.692	2.389	45800	0.55812	0.42663	0.57337
3.331	33.795	1.593	78000	0.82433	0.63012	0.36988
2.221	22.530	1.062	130900	1.08319	0.82799	0.17201
1.481	15.020	0.708	167800	1.20736	0.92291	0.07709
0.988	10.019	0.472	170200	1.21446	0.92834	0.07166
0.659	6.686	0.315	175100	1.22865	0.93919	0.06081
0.439	4.451	0.210	187300	1.26233	0.96493	0.03507
Control	Control	Control	203700	1.30430	1.00000	0
4.997	50.692	2.389	52100	0.62256	0.47731	0.52269
3.331	33.795	1.593	105800	0.97675	0.74887	0.25113
2.221	22.530	1.062	130600	1.08204	0.82960	0.17040
1.481	15.020	0.708	159500	1.18200	0.90623	0.09377
0.988	10.019	0.472	162400	1.19101	0.91314	0.08686
0.659	6.686	0.315	164900	1.19864	0.91900	0.08100
0.439	4.451	0.210	203200	1.30307	0.99906	0.00094
Control	Control	Control	215833.33	1.33189	1	0
4.997	50.692	2.389	48566.67	0.58672	0.44097	0.55938
3.331	33.795	1.593	84766.67	0.85829	0.64614	0.35050
2.221	22.530	1.062	131333.33	1.08483	0.81504	0.18630
1.481	15.020	0.708	156133.33	1.17002	0.87980	0.12143
0.988	10.019	0.472	165500.00	1.20036	0.90196	0.09958
0.659	6.686	0.315	177200.00	1.23366	0.92634	0.07397
0.439	4.451	0.210	199333.33	1.29298	0.97122	0.02983

實驗毒物:2,4-DP(1.979)+Propionaldehyde(1.343) 初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm3): 43.57 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.60 EC₅₀ A: 13.226

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 36.634

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	2.03	5.68	3.65	0
17.409	48.220	2.633	2.07	2.64	0.57	0.84384
11.606	32.146	1.755	1.94	2.94	1	0.72603
7.737	21.431	1.170	1.97	3.22	1.25	0.65753
5.158	14.287	0.780	1.91	3.72	1.81	0.50411
3.439	9.525	0.520	1.62	4.63	3.01	0.17534
2.295	6.356	0.347	1.87	5.33	3.46	0.05205
1.528	4.231	0.231	1.83	5.35	3.52	0.03562
Control	Control	Control	1.83	5.68	3.85	0
17.409	48.220	2.633	2.37	3.02	0.65	0.83117
11.606	32.146	1.755	2.07	2.71	0.64	0.83377
7.737	21.431	1.170	1.8	2.99	1.19	0.69091
5.158	14.287	0.780	1.92	4.18	2.26	0.41299
3.439	9.525	0.520	1.81	4.85	3.04	0.21039
2.295	6.356	0.347	1.63	5.17	3.54	0.08052
1.528	4.231	0.231	1.62	5.36	3.74	0.02857
Control	Control	Control	1.67	5.56	3.89	0
17.409	48.220	2.633	2.36	2.99	0.63	0.83805
11.606	32.146	1.755	1.89	2.87	0.98	0.74807
7.737	21.431	1.170	1.95	3.26	1.31	0.66324
5.158	14.287	0.780	1.84	3.99	2.15	0.44730
3.439	9.525	0.520	1.86	4.84	2.98	0.23393
2.295	6.356	0.347	1.79	5.19	3.4	0.12596
1.528	4.231	0.231	1.75	5.24	3.49	0.10283
Control	Control	Control	1.84333	5.64000	3.796666667	0
17.409	48.220	2.633	2.26667	2.88333	0.616666667	0.83758
11.606	32.146	1.755	1.96667	2.84000	0.873333333	0.76997
7.737	21.431	1.170	1.90667	3.15667	1.25	0.67076
5.158	14.287	0.780	1.89000	3.96333	2.073333333	0.45391
3.439	9.525	0.520	1.76333	4.77333	3.01	0.20720
2.295	6.356	0.347	1.76333	5.23000	3.466666667	0.08692
1.528	4.231	0.231	1.73333	5.31667	3.583333333	0.05619

實驗毒物:2,4-DP(2.239)+Propionaldehyde(1.425) 初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm³): 43.57 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.60 EC₅₀ A: 10.902

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 11.471

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells			IR
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	175900	1.23093	1	0
17.409	48.220	5.801	25400	0.26335	0.21394	0.93536
11.606	32.146	3.867	31300	0.36778	0.29878	0.89869
7.737	21.431	2.578	36000	0.43773	0.35561	0.86948
5.158	14.287	1.719	68600	0.76012	0.61752	0.66687
3.439	9.525	1.146	136200	1.10304	0.89610	0.24674
2.295	6.356	0.765	153800	1.16380	0.94546	0.13735
1.528	4.231	0.509	173800	1.22493	0.99512	0.01305
Control	Control	Control	174700	1.22751	1	0
17.409	48.220	5.801	24000	0.23500	0.19145	0.94364
11.606	32.146	3.867	29600	0.33986	0.27687	0.90858
7.737	21.431	2.578	33300	0.39875	0.32485	0.88541
5.158	14.287	1.719	91500	0.90414	0.73657	0.52098
3.439	9.525	1.146	108200	0.98797	0.80485	0.41641
2.295	6.356	0.765	132300	1.08851	0.88676	0.26550
1.528	4.231	0.509	165200	1.19955	0.97722	0.05949
Control	Control	Control	179600	1.24134	1.00000	0
17.409	48.220	5.801	22900	0.21154	0.17042	0.95200
11.606	32.146	3.867	30500	0.35484	0.28585	0.90583
7.737	21.431	2.578	35700	0.43355	0.34926	0.87424
5.158	14.287	1.719	90700	0.89975	0.72482	0.54010
3.439	9.525	1.146	123800	1.05531	0.85014	0.33900
2.295	6.356	0.765	148300	1.14559	0.92287	0.19016
1.528	4.231	0.509	148600	1.14660	0.92368	0.18834
Control	Control	Control	176733.33	1.23326	1	0
17.409	48.220	5.801	24100.00	0.23663	0.19193	0.94373
11.606	32.146	3.867	30466.67	0.35416	0.28717	0.90437
7.737	21.431	2.578	35000.00	0.42335	0.34324	0.87634
5.158	14.287	1.719	83600.00	0.85467	0.69297	0.57585
3.439	9.525	1.146	122733.33	1.04877	0.85036	0.33388
2.295	6.356	0.765	144800.00	1.13264	0.91836	0.19744
1.528	4.231	0.509	162533.33	1.19036	0.96534	0.08780

實驗毒物:2,4-DP(2.408)+Propionaldehyde(1.534) 初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm³): 43.57 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.60 EC₅₀ A: 19.636

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 32.294

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR (growth rate)		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	
Control	Control	Control	175900	1.23093	1	0
17.409	48.220	2.380	25400	0.26335	0.21394	0.78606
11.606	32.146	1.586	31300	0.36778	0.29878	0.70122
7.737	21.431	1.058	36000	0.43773	0.35561	0.64439
5.158	14.287	0.705	68600	0.76012	0.61752	0.38248
3.439	9.525	0.470	136200	1.10304	0.89610	0.10390
2.295	6.356	0.314	153800	1.16380	0.94546	0.05454
1.528	4.231	0.209	173800	1.22493	0.99512	0.00488
Control	Control	Control	174700	1.22751	1	0
17.409	48.220	2.380	24000	0.23500	0.19145	0.80855
11.606	32.146	1.586	29600	0.33986	0.27687	0.72313
7.737	21.431	1.058	33300	0.39875	0.32485	0.67515
5.158	14.287	0.705	91500	0.90414	0.73657	0.26343
3.439	9.525	0.470	108200	0.98797	0.80485	0.19515
2.295	6.356	0.314	132300	1.08851	0.88676	0.11324
1.528	4.231	0.209	165200	1.19955	0.97722	0.02278
Control	Control	Control	179600	1.24134	1.00000	0
17.409	48.220	2.380	22900	0.21154	0.17042	0.82958
11.606	32.146	1.586	30500	0.35484	0.28585	0.71415
7.737	21.431	1.058	35700	0.43355	0.34926	0.65074
5.158	14.287	0.705	90700	0.89975	0.72482	0.27518
3.439	9.525	0.470	123800	1.05531	0.85014	0.14986
2.295	6.356	0.314	148300	1.14559	0.92287	0.07713
1.528	4.231	0.209	148600	1.14660	0.92368	0.07632
Control	Control	Control	176733.33	1.23326	1	0
17.409	48.220	2.380	24100.00	0.23663	0.19193	0.80777
11.606	32.146	1.586	30466.67	0.35416	0.28717	0.71273
7.737	21.431	1.058	35000.00	0.42335	0.34324	0.65649
5.158	14.287	0.705	83600.00	0.85467	0.69297	0.30350
3.439	9.525	0.470	122733.33	1.04877	0.85036	0.14783
2.295	6.356	0.314	144800.00	1.13264	0.91836	0.08080
1.528	4.231	0.209	162533.33	1.19036	0.96534	0.03396

實驗毒物:2,4,6-TCP(3.525)+Propionaldehyde(1.343) 初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm3): 44.52 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.57 EC₅₀ A: 6.318

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 36.634

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	1.81	5.09	3.28	0
10.875	63.056	3.443	2.31	2.75	0.44	0.86585
7.250	42.038	2.295	2.02	2.84	0.82	0.75000
4.833	28.025	1.530	2.07	3.1	1.03	0.68598
3.222	18.683	1.020	1.84	3.81	1.97	0.39939
2.148	12.456	0.680	1.69	4	2.31	0.29573
1.431	8.298	0.453	1.77	4.54	2.77	0.15549
0.954	5.532	0.302	1.6	4.62	3.02	0.07927
Control	Control	Control	1.76	5.41	3.65	0
10.875	63.056	3.443	2.25	2.25	0	1.00000
7.250	42.038	2.295	2.11	3.38	1.27	0.65205
4.833	28.025	1.530	1.97	3.49	1.52	0.58356
3.222	18.683	1.020	1.91	3.65	1.74	0.52329
2.148	12.456	0.680	1.82	4.31	2.49	0.31781
1.431	8.298	0.453	1.58	4.62	3.04	0.16712
0.954	5.532	0.302	1.7	4.83	3.13	0.14247
Control	Control	Control	1.6	5.43	3.83	0
10.875	63.056	3.443	2.32	3.15	0.83	0.78329
7.250	42.038	2.295	2.14	3.16	1.02	0.73368
4.833	28.025	1.530	1.97	3.25	1.28	0.66580
3.222	18.683	1.020	1.89	3.79	1.9	0.50392
2.148	12.456	0.680	1.74	3.93	2.19	0.42820
1.431	8.298	0.453	1.6	4.42	2.82	0.26371
0.954	5.532	0.302	1.59	4.8	3.21	0.16188
Control	Control	Control	1.72333	5.31000	3.586666667	0
10.875	63.056	3.443	2.29333	2.71667	0.423333333	0.88197
7.250	42.038	2.295	2.09000	3.12667	1.036666667	0.71097
4.833	28.025	1.530	2.00333	3.28000	1.276666667	0.64405
3.222	18.683	1.020	1.88000	3.75000	1.87	0.47862
2.148	12.456	0.680	1.75000	4.08000	2.33	0.35037
1.431	8.298	0.453	1.65000	4.52667	2.876666667	0.19796
0.954	5.532	0.302	1.63000	4.75000	3.12	0.13011

實驗毒物:2,4,6-TCP(1.945)+Propionaldehyde(1.425) 初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm³): 44.52 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.57 EC₅₀ A: 4.363

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 11.471

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells			IR
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	216900	1.33569	1	0
10.875	63.056	7.990	21300	0.17533	0.13126	0.96880
7.250	42.038	5.326	28000	0.31208	0.23364	0.93561
4.833	28.025	3.551	54600	0.64599	0.48364	0.80386
3.222	18.683	2.367	64800	0.73163	0.54775	0.75334
2.148	12.456	1.578	116400	1.02449	0.76701	0.49777
1.431	8.298	1.051	146700	1.14017	0.85362	0.34770
0.954	5.532	0.701	180400	1.24356	0.93102	0.18078
Control	Control	Control	215700	1.33292	1	0
10.875	63.056	7.990	30300	0.35155	0.26374	0.92377
7.250	42.038	5.326	30400	0.35320	0.26498	0.92327
4.833	28.025	3.551	47400	0.57529	0.43160	0.83857
3.222	18.683	2.367	63000	0.71754	0.53832	0.76084
2.148	12.456	1.578	105600	0.97580	0.73208	0.54858
1.431	8.298	1.051	153300	1.16217	0.87190	0.31091
0.954	5.532	0.701	181600	1.24688	0.93545	0.16991
Control	Control	Control	210300	1.32024	1.00000	0
10.875	63.056	7.990	30000	0.34657	0.26251	0.92320
7.250	42.038	5.326	32900	0.39271	0.29745	0.90835
4.833	28.025	3.551	49600	0.59797	0.45292	0.82284
3.222	18.683	2.367	63300	0.71992	0.54529	0.75269
2.148	12.456	1.578	122400	1.04962	0.79502	0.45008
1.431	8.298	1.051	162400	1.19101	0.90211	0.24526
0.954	5.532	0.701	191800	1.27420	0.96513	0.09473
Control	Control	Control	214300.00	1.32962	1	0
10.875	63.056	7.990	27200.00	0.29115	0.21917	0.93879
7.250	42.038	5.326	30433.33	0.35266	0.26536	0.92256
4.833	28.025	3.551	50533.33	0.60642	0.45605	0.82171
3.222	18.683	2.367	63700.00	0.72303	0.54379	0.75564
2.148	12.456	1.578	114800.00	1.01664	0.76470	0.49925
1.431	8.298	1.051	154133.33	1.16445	0.87588	0.30189
0.954	5.532	0.701	184600.00	1.25488	0.94387	0.14902

實驗毒物:2,4,6-TCP(2.333)+Propionaldehyde(1.534) 初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm³) : 44.52 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.57 EC₅₀ A : 8.377

EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 32.294

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR (growth rate)		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	
Control	Control	Control	216900	1.33569	1	0
10.875	63.056	3.251	21300	0.17533	0.13126	0.86874
7.250	42.038	2.167	28000	0.31208	0.23364	0.76636
4.833	28.025	1.445	54600	0.64599	0.48364	0.51636
3.222	18.683	0.963	64800	0.73163	0.54775	0.45225
2.148	12.456	0.642	116400	1.02449	0.76701	0.23299
1.431	8.298	0.428	146700	1.14017	0.85362	0.14638
0.954	5.532	0.285	180400	1.24356	0.93102	0.06898
Control	Control	Control	215700	1.33292	1	0
10.875	63.056	3.251	30300	0.35155	0.26374	0.73626
7.250	42.038	2.167	30400	0.35320	0.26498	0.73502
4.833	28.025	1.445	47400	0.57529	0.43160	0.56840
3.222	18.683	0.963	63000	0.71754	0.53832	0.46168
2.148	12.456	0.642	105600	0.97580	0.73208	0.26792
1.431	8.298	0.428	153300	1.16217	0.87190	0.12810
0.954	5.532	0.285	181600	1.24688	0.93545	0.06455
Control	Control	Control	210300	1.32024	1.00000	0
10.875	63.056	3.251	30000	0.34657	0.26251	0.73749
7.250	42.038	2.167	32900	0.39271	0.29745	0.70255
4.833	28.025	1.445	49600	0.59797	0.45292	0.54708
3.222	18.683	0.963	63300	0.71992	0.54529	0.45471
2.148	12.456	0.642	122400	1.04962	0.79502	0.20498
1.431	8.298	0.428	162400	1.19101	0.90211	0.09789
0.954	5.532	0.285	191800	1.27420	0.96513	0.03487
Control	Control	Control	214300.00	1.32962	1	0
10.875	63.056	3.251	27200.00	0.29115	0.21917	0.77620
7.250	42.038	2.167	30433.33	0.35266	0.26536	0.73396
4.833	28.025	1.445	50533.33	0.60642	0.45605	0.54327
3.222	18.683	0.963	63700.00	0.72303	0.54379	0.45620
2.148	12.456	0.642	114800.00	1.01664	0.76470	0.23472
1.431	8.298	0.428	154133.33	1.16445	0.87588	0.12393
0.954	5.532	0.285	184600.00	1.25488	0.94387	0.05610

實驗毒物 :2-Chlorophenol+Glutaraldehyde

初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm3): 39.77 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.57 EC₅₀ A: 3.713EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 60.077

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	2.02	5.24	3.22	0
5.644	91.317	3.040	2.4	2.63	0.23	0.92857
3.769	60.978	2.030	2.32	2.39	0.07	0.97826
2.506	40.552	1.350	2.12	2.45	0.33	0.89752
1.671	27.035	0.900	2.24	3.18	0.94	0.70807
1.114	18.023	0.600	1.98	4.74	2.76	0.14286
0.743	12.015	0.400	2.2	6.23	4.03	-0.25155
0.501	8.110	0.270	2.42	7.26	4.84	-0.50311
Control	Control	Control	2.12	5.38	3.26	0
5.644	91.317	3.040	2.79	2.77	-0.02	1.00613
3.769	60.978	2.030	2.1	2.2	0.1	0.96933
2.506	40.552	1.350	2.21	2.66	0.45	0.86196
1.671	27.035	0.900	2.5	3.62	1.12	0.65644
1.114	18.023	0.600	1.74	4.56	2.82	0.13497
0.743	12.015	0.400	2.08	6.17	4.09	-0.25460
0.501	8.110	0.270	2.48	6.69	4.21	-0.29141
Control	Control	Control	1.71	5.89	4.18	0
5.644	91.317	3.040	3	3.13	0.13	0.96890
3.769	60.978	2.030	2.05	2.52	0.47	0.88756
2.506	40.552	1.350	2.05	2.45	0.4	0.90431
1.671	27.035	0.900	1.83	3.04	1.21	0.71053
1.114	18.023	0.600	2.17	4.8	2.63	0.37081
0.743	12.015	0.400	2.03	5.95	3.92	0.06220
0.501	8.110	0.270	2.22	7.02	4.8	-0.14833
Control	Control	Control	1.95000	5.50333	3.55333	0
5.644	91.317	3.040	2.73000	2.84333	0.11333	0.96811
3.769	60.978	2.030	2.15667	2.37000	0.21333	0.93996
2.506	40.552	1.350	2.12667	2.52000	0.39333	0.88931
1.671	27.035	0.900	2.19000	3.28000	1.09000	0.69325
1.114	18.023	0.600	1.96333	4.70000	2.73667	0.22983
0.743	12.015	0.400	2.10333	6.11667	4.01333	-0.12946
0.501	8.110	0.270	2.37333	6.99000	4.61667	-0.29925

實驗毒物 :2-Chlorophenol+Glutaraldehyde				初始細胞密度 (cells/mL):		15000
MCV (μm3): 39.77		D (μm): 4.252		Initial pH: 7.57		EC ₅₀ A: 3.48
EDTA(%): 0		T(℃): 24		Test duration: 48-h		EC ₅₀ B: 29.247
Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	203700	1.30430	1	0
5.644	91.317	4.744	24400	0.24327	0.18651	0.95019
3.769	60.978	3.168	30900	0.36135	0.27705	0.91574
2.506	40.552	2.107	28300	0.31741	0.24335	0.92952
1.671	27.035	1.405	40400	0.49539	0.37981	0.86539
1.114	18.023	0.936	134700	1.09750	0.84145	0.36566
0.743	12.015	0.624	206100	1.31016	1.00449	-0.01272
0.501	8.110	0.421	251600	1.40990	1.08096	-0.25384
Control	Control	Control	209100	1.31738	1	0
5.644	91.317	4.744	25700	0.26922	0.20436	0.94487
3.769	60.978	3.168	27100	0.29574	0.22449	0.93766
2.506	40.552	2.107	32700	0.38966	0.29579	0.90881
1.671	27.035	1.405	43200	0.52890	0.40147	0.85471
1.114	18.023	0.936	133300	1.09228	0.82913	0.39052
0.743	12.015	0.624	205700	1.30918	0.99378	0.01752
0.501	8.110	0.421	238200	1.38253	1.04945	-0.14992
Control	Control	Control	229600	1.36414	1.00000	0
5.644	91.317	4.744	25500	0.26531	0.19449	0.95107
3.769	60.978	3.168	24900	0.25341	0.18576	0.95387
2.506	40.552	2.107	31800	0.37571	0.27542	0.92171
1.671	27.035	1.405	44400	0.54259	0.39775	0.86300
1.114	18.023	0.936	117300	1.02834	0.75384	0.52330
0.743	12.015	0.624	207900	1.31450	0.96361	0.10112
0.501	8.110	0.421	228100	1.36087	0.99760	0.00699
Control	Control	Control	214133.33	1.32861	1	0
5.644	91.317	4.744	25200.00	0.25927	0.19512	0.94878
3.769	60.978	3.168	27633.33	0.30350	0.22910	0.93656
2.506	40.552	2.107	30933.33	0.36093	0.27152	0.91999
1.671	27.035	1.405	42666.67	0.52229	0.39301	0.86106
1.114	18.023	0.936	128433.33	1.07271	0.80814	0.43036
0.743	12.015	0.624	206566.67	1.31128	0.98729	0.03800
0.501	8.110	0.421	239300.00	1.38443	1.04267	-0.12638

實驗毒物 :2-Chlorophenol+Glutaraldehyde

初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm³) : 39.77

D (μm) : 4.252

Initial pH : 7.57

EC₅₀ A : 12.075

EDTA(%) : 0

T(°C) : 24

Test duration : 48-h

EC₅₀ B : 51.192

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(growth rate)
Control	Control	Control	203700	1.30430	1	0
5.644	91.317	2.251	24400	0.24327	0.18651	0.81349
3.769	60.978	1.503	30900	0.36135	0.27705	0.72295
2.506	40.552	1.000	28300	0.31741	0.24335	0.75665
1.671	27.035	0.666	40400	0.49539	0.37981	0.62019
1.114	18.023	0.444	134700	1.09750	0.84145	0.15855
0.743	12.015	0.296	206100	1.31016	1.00449	-0.00449
0.501	8.110	0.200	251600	1.40990	1.08096	-0.08096
Control	Control	Control	209100	1.31738	1	0
5.644	91.317	2.251	25700	0.26922	0.20436	0.79564
3.769	60.978	1.503	27100	0.29574	0.22449	0.77551
2.506	40.552	1.000	32700	0.38966	0.29579	0.70421
1.671	27.035	0.666	43200	0.52890	0.40147	0.59853
1.114	18.023	0.444	133300	1.09228	0.82913	0.17087
0.743	12.015	0.296	205700	1.30918	0.99378	0.00622
0.501	8.110	0.200	238200	1.38253	1.04945	-0.04945
Control	Control	Control	229600	1.36414	1.00000	0
5.644	91.317	2.251	25500	0.26531	0.19449	0.80551
3.769	60.978	1.503	24900	0.25341	0.18576	0.81424
2.506	40.552	1.000	31800	0.37571	0.27542	0.72458
1.671	27.035	0.666	44400	0.54259	0.39775	0.60225
1.114	18.023	0.444	117300	1.02834	0.75384	0.24616
0.743	12.015	0.296	207900	1.31450	0.96361	0.03639
0.501	8.110	0.200	228100	1.36087	0.99760	0.00240
Control	Control	Control	214133.33	1.32861	1	0
5.644	91.317	2.251	25200.00	0.25927	0.19512	0.80486
3.769	60.978	1.503	27633.33	0.30350	0.22910	0.77019
2.506	40.552	1.000	30933.33	0.36093	0.27152	0.72775
1.671	27.035	0.666	42666.67	0.52229	0.39301	0.60679
1.114	18.023	0.444	128433.33	1.07271	0.80814	0.19228
0.743	12.015	0.296	206566.67	1.31128	0.98729	0.01353
0.501	8.110	0.200	239300.00	1.38443	1.04267	-0.04180

實驗毒物 :4-Chlorophenol+Glutaraldehyde

初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm3): 41.76 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.40 EC₅₀ A: 3.713EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 14.557

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	1.62	6.31	4.69	0
3.769	14.109	1.984	2.4	2.8	0.4	0.91471
2.506	9.403	1.321	2.34	2.49	0.15	0.96802
1.671	6.269	0.881	2.1	2.69	0.59	0.87420
1.114	4.179	0.587	2.06	4.01	1.95	0.58422
0.743	2.786	0.391	1.92	5.44	3.52	0.24947
0.501	1.881	0.264	2.01	6.37	4.36	0.07036
0.334	1.254	0.176	2.09	6.83	4.74	-0.01066
Control	Control	Control	2	6.35	4.35	0
3.769	14.109	1.984	2.7	2.86	0.16	0.96322
2.506	9.403	1.321	2.32	2.47	0.15	0.96552
1.671	6.269	0.881	2.02	2.49	0.47	0.89195
1.114	4.179	0.587	1.99	3.9	1.91	0.56092
0.743	2.786	0.391	1.92	5.41	3.49	0.19770
0.501	1.881	0.264	1.9	6.22	4.32	0.00690
0.334	1.254	0.176	1.78	6.42	4.64	-0.06667
Control	Control	Control	1.86	6.47	4.61	0
3.769	14.109	1.984	2.59	2.69	0.1	0.97831
2.506	9.403	1.321	2.09	2.27	0.18	0.96095
1.671	6.269	0.881	2.23	2.84	0.61	0.86768
1.114	4.179	0.587	1.94	3.82	1.88	0.59219
0.743	2.786	0.391	1.87	5.38	3.51	0.23861
0.501	1.881	0.264	2.07	6.25	4.18	0.09328
0.334	1.254	0.176	1.89	6.61	4.72	-0.02386
Control	Control	Control	1.82667	6.37667	4.55000	0
3.769	14.109	1.984	2.56333	2.78333	0.22000	0.95165
2.506	9.403	1.321	2.25000	2.41000	0.16000	0.96484
1.671	6.269	0.881	2.11667	2.67333	0.55667	0.87766
1.114	4.179	0.587	1.99667	3.91000	1.91333	0.57949
0.743	2.786	0.391	1.90333	5.41000	3.50667	0.22930
0.501	1.881	0.264	1.99333	6.28000	4.28667	0.05788
0.334	1.254	0.176	1.92000	6.62000	4.70000	-0.03297

實驗毒物 :4-Chlorophenol+Glutaraldehyde
 MCV (μm3) :
 41.76 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.40
 EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h

初始細胞密度 (cells/mL) : 15000

EC₅₀ A : 3.48
 EC₅₀ B : 8.038

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	203700	1.30430	1	0
3.769	14.109	2.838	24400	0.24327	0.18651	0.95019
2.506	9.403	1.890	30900	0.36135	0.27705	0.91574
1.671	6.269	1.260	28300	0.31741	0.24335	0.92952
1.114	4.179	0.840	40400	0.49539	0.37981	0.86539
0.743	2.786	0.560	134700	1.09750	0.84145	0.36566
0.501	1.881	0.378	206100	1.31016	1.00449	-0.01272
0.334	1.254	0.252	251600	1.40990	1.08096	-0.25384
Control	Control	Control	209100	1.31738	1	0
3.769	14.109	2.838	25700	0.26922	0.20436	0.94487
2.506	9.403	1.890	27100	0.29574	0.22449	0.93766
1.671	6.269	1.260	32700	0.38966	0.29579	0.90881
1.114	4.179	0.840	43200	0.52890	0.40147	0.85471
0.743	2.786	0.560	133300	1.09228	0.82913	0.39052
0.501	1.881	0.378	205700	1.30918	0.99378	0.01752
0.334	1.254	0.252	238200	1.38253	1.04945	-0.14992
Control	Control	Control	229600	1.36414	1.00000	0
3.769	14.109	2.838	25500	0.26531	0.19449	0.95107
2.506	9.403	1.890	24900	0.25341	0.18576	0.95387
1.671	6.269	1.260	31800	0.37571	0.27542	0.92171
1.114	4.179	0.840	44400	0.54259	0.39775	0.86300
0.743	2.786	0.560	117300	1.02834	0.75384	0.52330
0.501	1.881	0.378	207900	1.31450	0.96361	0.10112
0.334	1.254	0.252	228100	1.36087	0.99760	0.00699
Control	Control	Control	214133.33	1.32861	1	0
3.769	14.109	2.838	25200.00	0.25927	0.19512	0.94878
2.506	9.403	1.890	27633.33	0.30350	0.22910	0.93656
1.671	6.269	1.260	30933.33	0.36093	0.27152	0.91999
1.114	4.179	0.840	42666.67	0.52229	0.39301	0.86106
0.743	2.786	0.560	128433.33	1.07271	0.80814	0.43036
0.501	1.881	0.378	206566.67	1.31128	0.98729	0.03800
0.334	1.254	0.252	239300.00	1.38443	1.04267	-0.12638

實驗毒物 :4-Chlorophenol+Glutaraldehyde

初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm3) : 41.76

D (μm) : 4.252

Initial pH : 7.40

EC₅₀ A : 12.075

EDTA(%) : 0

T(°C) : 24

Test duration : 48-h

EC₅₀ B : 21.799

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(growth rate)
Control	Control	Control	203700	1.30430	1	0
3.769	14.109	0.959	24400	0.24327	0.18651	0.81349
2.506	9.403	0.639	30900	0.36135	0.27705	0.72295
1.671	6.269	0.426	28300	0.31741	0.24335	0.75665
1.114	4.179	0.284	40400	0.49539	0.37981	0.62019
0.743	2.786	0.189	134700	1.09750	0.84145	0.15855
0.501	1.881	0.128	206100	1.31016	1.00449	-0.00449
0.334	1.254	0.085	251600	1.40990	1.08096	-0.08096
Control	Control	Control	209100	1.31738	1	0
3.769	14.109	0.959	25700	0.26922	0.20436	0.79564
2.506	9.403	0.639	27100	0.29574	0.22449	0.77551
1.671	6.269	0.426	32700	0.38966	0.29579	0.70421
1.114	4.179	0.284	43200	0.52890	0.40147	0.59853
0.743	2.786	0.189	133300	1.09228	0.82913	0.17087
0.501	1.881	0.128	205700	1.30918	0.99378	0.00622
0.334	1.254	0.085	238200	1.38253	1.04945	-0.04945
Control	Control	Control	229600	1.36414	1.00000	0
3.769	14.109	0.959	25500	0.26531	0.19449	0.80551
2.506	9.403	0.639	24900	0.25341	0.18576	0.81424
1.671	6.269	0.426	31800	0.37571	0.27542	0.72458
1.114	4.179	0.284	44400	0.54259	0.39775	0.60225
0.743	2.786	0.189	117300	1.02834	0.75384	0.24616
0.501	1.881	0.128	207900	1.31450	0.96361	0.03639
0.334	1.254	0.085	228100	1.36087	0.99760	0.00240
Control	Control	Control	214133.33	1.32861	1	0
3.769	14.109	0.959	25200.00	0.25927	0.19512	0.80486
2.506	9.403	0.639	27633.33	0.30350	0.22910	0.77019
1.671	6.269	0.426	30933.33	0.36093	0.27152	0.72775
1.114	4.179	0.284	42666.67	0.52229	0.39301	0.60679
0.743	2.786	0.189	128433.33	1.07271	0.80814	0.19228
0.501	1.881	0.128	206566.67	1.31128	0.98729	0.01353
0.334	1.254	0.085	239300.00	1.38443	1.04267	-0.04180

實驗毒物 :2,3-Dichlorophenol+Glutaraldehyde 初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm3) : 42.18 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.58 EC₅₀ A : 3.713

EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 3.533

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	2.42	6	3.58	0
5.013	5.519	2.912	2.72	3.03	0.31	0.91341
3.342	3.679	1.941	2.24	2.7	0.46	0.87151
2.228	2.453	1.294	2.12	2.99	0.87	0.75698
1.485	1.635	0.863	2.14	3.43	1.29	0.63966
0.984	1.083	0.572	2.24	4.78	2.54	0.29050
0.668	0.736	0.388	2.13	5.22	3.09	0.13687
0.446	0.491	0.259	2.28	5.56	3.28	0.08380
Control	Control	Control	2.24	5.97	3.73	0
5.013	5.519	2.912	2.93	3.27	0.34	0.90885
3.342	3.679	1.941	2.26	2.86	0.6	0.83914
2.228	2.453	1.294	1.98	2.8	0.82	0.78016
1.485	1.635	0.863	2.05	3.58	1.53	0.58981
0.984	1.083	0.572	2.03	4.55	2.52	0.32440
0.668	0.736	0.388	1.97	4.95	2.98	0.20107
0.446	0.491	0.259	2.19	5.5	3.31	0.11260
Control	Control	Control	1.97	5.8	3.83	0
5.013	5.519	2.912	2.58	2.81	0.23	0.93995
3.342	3.679	1.941	2.27	2.74	0.47	0.87728
2.228	2.453	1.294	2.25	3.06	0.81	0.78851
1.485	1.635	0.863	2.01	3.49	1.48	0.61358
0.984	1.083	0.572	2.2	4.76	2.56	0.33159
0.668	0.736	0.388	2.02	5.18	3.16	0.17493
0.446	0.491	0.259	2.15	5.46	3.31	0.13577
Control	Control	Control	2.21000	5.92333	3.71333	0
5.013	5.519	2.912	2.74333	3.03667	0.29333	0.92101
3.342	3.679	1.941	2.25667	2.76667	0.51000	0.86266
2.228	2.453	1.294	2.11667	2.95000	0.83333	0.77558
1.485	1.635	0.863	2.06667	3.50000	1.43333	0.61400
0.984	1.083	0.572	2.15667	4.69667	2.54000	0.31598
0.668	0.736	0.388	2.04000	5.11667	3.07667	0.17145
0.446	0.491	0.259	2.20667	5.50667	3.30000	0.11131

實驗毒物 :2,3-Dichlorophenol+Glutaraldehyde

初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm³) : 42.18 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.58 EC₅₀ A : 3.48

EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 3.215

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	161700	1.18885	1	0
5.013	5.519	3.157	24400	0.24327	0.20462	0.93592
3.342	3.679	2.105	32800	0.39119	0.32905	0.87866
2.228	2.453	1.403	60400	0.69647	0.58584	0.69052
1.485	1.635	0.935	78700	0.82880	0.69714	0.56578
0.984	1.083	0.620	117000	1.02706	0.86391	0.30470
0.668	0.736	0.421	144800	1.13365	0.95357	0.11520
0.446	0.491	0.281	165700	1.20106	1.01028	-0.02727
Control	Control	Control	185400	1.25723	1	0
5.013	5.519	3.157	28500	0.32093	0.25526	0.92077
3.342	3.679	2.105	38000	0.46477	0.36968	0.86502
2.228	2.453	1.403	64500	0.72931	0.58009	0.70951
1.485	1.635	0.935	85200	0.86848	0.69078	0.58803
0.984	1.083	0.620	106700	0.98099	0.78027	0.46185
0.668	0.736	0.421	123000	1.05207	0.83681	0.36620
0.446	0.491	0.281	159600	1.18231	0.94041	0.15141
Control	Control	Control	180100	1.24273	1.00000	0
5.013	5.519	3.157	25400	0.26335	0.21191	0.93701
3.342	3.679	2.105	34500	0.41645	0.33511	0.88189
2.228	2.453	1.403	64200	0.72698	0.58498	0.70200
1.485	1.635	0.935	79300	0.83259	0.66997	0.61054
0.984	1.083	0.620	109400	0.99348	0.79943	0.42823
0.668	0.736	0.421	133700	1.09377	0.88014	0.28104
0.446	0.491	0.281	165200	1.19955	0.96526	0.09025
Control	Control	Control	175733.33	1.22960	1	0
5.013	5.519	3.157	26100.00	0.27585	0.22393	0.93094
3.342	3.679	2.105	35100.00	0.42414	0.34461	0.87495
2.228	2.453	1.403	63033.33	0.71758	0.58364	0.70116
1.485	1.635	0.935	81066.67	0.84329	0.68597	0.58897
0.984	1.083	0.620	111033.33	1.00051	0.81454	0.40253
0.668	0.736	0.421	133833.33	1.09316	0.89017	0.26068
0.446	0.491	0.281	163500.00	1.19431	0.97198	0.07611

實驗毒物 :2,3-Dichlorophenol+Glutaraldehyde

初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm³) : 42.18

D (μm) : 4.252

Initial pH : 7.58

EC₅₀ A : 12.075

EDTA(%) : 0

T(°C) : 24

Test duration : 48-h

EC₅₀ B : 6.097

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(growth rate)
Control	Control	Control	161700	1.18885	1	0
5.013	5.519	1.320	24400	0.24327	0.20462	0.79538
3.342	3.679	0.880	32800	0.39119	0.32905	0.67095
2.228	2.453	0.587	60400	0.69647	0.58584	0.41416
1.485	1.635	0.391	78700	0.82880	0.69714	0.30286
0.984	1.083	0.259	117000	1.02706	0.86391	0.13609
0.668	0.736	0.176	144800	1.13365	0.95357	0.04643
0.446	0.491	0.117	165700	1.20106	1.01028	-0.01028
Control	Control	Control	185400	1.25723	1	0
5.013	5.519	1.320	28500	0.32093	0.25526	0.74474
3.342	3.679	0.880	38000	0.46477	0.36968	0.63032
2.228	2.453	0.587	64500	0.72931	0.58009	0.41991
1.485	1.635	0.391	85200	0.86848	0.69078	0.30922
0.984	1.083	0.259	106700	0.98099	0.78027	0.21973
0.668	0.736	0.176	123000	1.05207	0.83681	0.16319
0.446	0.491	0.117	159600	1.18231	0.94041	0.05959
Control	Control	Control	180100	1.24273	1.00000	0
5.013	5.519	1.320	25400	0.26335	0.21191	0.78809
3.342	3.679	0.880	34500	0.41645	0.33511	0.66489
2.228	2.453	0.587	64200	0.72698	0.58498	0.41502
1.485	1.635	0.391	79300	0.83259	0.66997	0.33003
0.984	1.083	0.259	109400	0.99348	0.79943	0.20057
0.668	0.736	0.176	133700	1.09377	0.88014	0.11986
0.446	0.491	0.117	165200	1.19955	0.96526	0.03474
Control	Control	Control	175733.33	1.22960	1	0
5.013	5.519	1.320	26100.00	0.27585	0.22393	0.77493
3.342	3.679	0.880	35100.00	0.42414	0.34461	0.65454
2.228	2.453	0.587	63033.33	0.71758	0.58364	0.41663
1.485	1.635	0.391	81066.67	0.84329	0.68597	0.31439
0.984	1.083	0.259	111033.33	1.00051	0.81454	0.18657
0.668	0.736	0.176	133833.33	1.09316	0.89017	0.11068
0.446	0.491	0.117	163500.00	1.19431	0.97198	0.02932

實驗毒物 :2,4-Dichlorophenol+Glutaraldehyde 初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm3): 45.37 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.40 EC₅₀ A: 3.713

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 13.226

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	1.62	6.31	4.69	0
5.013	13.774	2.392	2.4	2.8	0.4	0.91471
3.342	9.183	1.594	2.34	2.49	0.15	0.96802
2.228	6.122	1.063	2.1	2.69	0.59	0.87420
1.485	4.081	0.709	2.06	4.01	1.95	0.58422
0.984	2.704	0.469	1.92	5.44	3.52	0.24947
0.668	1.837	0.319	2.01	6.37	4.36	0.07036
0.446	1.377	0.224	2.09	6.83	4.74	-0.01066
Control	Control	Control	2	6.35	4.35	0
5.013	13.774	2.392	2.7	2.86	0.16	0.96322
3.342	9.183	1.594	2.32	2.47	0.15	0.96552
2.228	6.122	1.063	2.02	2.49	0.47	0.89195
1.485	4.081	0.709	1.99	3.9	1.91	0.56092
0.984	2.704	0.469	1.92	5.41	3.49	0.19770
0.668	1.837	0.319	1.9	6.22	4.32	0.00690
0.446	1.377	0.224	1.78	6.42	4.64	-0.06667
Control	Control	Control	1.86	6.47	4.61	0
5.013	13.774	2.392	2.59	2.69	0.1	0.97831
3.342	9.183	1.594	2.09	2.27	0.18	0.96095
2.228	6.122	1.063	2.23	2.84	0.61	0.86768
1.485	4.081	0.709	1.94	3.82	1.88	0.59219
0.984	2.704	0.469	1.87	5.38	3.51	0.23861
0.668	1.837	0.319	2.07	6.25	4.18	0.09328
0.446	1.377	0.224	1.89	6.61	4.72	-0.02386
Control	Control	Control	1.82667	6.37667	4.55000	0
5.013	13.774	2.392	2.56333	2.78333	0.22000	0.95165
3.342	9.183	1.594	2.25000	2.41000	0.16000	0.96484
2.228	6.122	1.063	2.11667	2.67333	0.55667	0.87766
1.485	4.081	0.709	1.99667	3.91000	1.91333	0.57949
0.984	2.704	0.469	1.90333	5.41000	3.50667	0.22930
0.668	1.837	0.319	1.99333	6.28000	4.28667	0.05788
0.446	1.377	0.224	1.92000	6.62000	4.70000	-0.03297

實驗毒物 :2,4-Dichlorophenol+Glutaraldehyde

初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm3) : 45.37 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.40 EC₅₀ A : 3.48
 EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 10.902

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	224600	1.35314	1	0
5.013	13.774	2.704	22300	0.19827	0.14653	0.96517
3.342	9.183	1.803	24400	0.24327	0.17978	0.95515
2.228	6.122	1.202	29300	0.33477	0.24740	0.93177
1.485	4.081	0.801	89100	0.89085	0.65836	0.64647
0.984	2.704	0.531	164800	1.19834	0.88560	0.28531
0.668	1.837	0.360	194100	1.28016	0.94607	0.14552
0.446	1.377	0.254	225200	1.35447	1.00099	-0.00286
Control	Control	Control	244200	1.39497	1	0
5.013	13.774	2.704	19400	0.12861	0.09220	0.98080
3.342	9.183	1.803	21700	0.18463	0.13235	0.97077
2.228	6.122	1.202	27800	0.30849	0.22115	0.94415
1.485	4.081	0.801	98700	0.94202	0.67530	0.63482
0.984	2.704	0.531	156300	1.17186	0.84006	0.38351
0.668	1.837	0.360	197900	1.28986	0.92465	0.20201
0.446	1.377	0.254	218100	1.33845	0.95949	0.11387
Control	Control	Control	221700	1.34664	1.00000	0
5.013	13.774	2.704	24400	0.24327	0.18065	0.95452
3.342	9.183	1.803	24500	0.24531	0.18217	0.95404
2.228	6.122	1.202	31800	0.37571	0.27900	0.91872
1.485	4.081	0.801	97900	0.93795	0.69651	0.59894
0.984	2.704	0.531	152400	1.15923	0.86083	0.33527
0.668	1.837	0.360	193800	1.27939	0.95006	0.13498
0.446	1.377	0.254	215800	1.33315	0.98999	0.02854
Control	Control	Control	230166.67	1.36491	1	0
5.013	13.774	2.704	22033.33	0.19005	0.13979	0.96731
3.342	9.183	1.803	23533.33	0.22440	0.16477	0.96034
2.228	6.122	1.202	29633.33	0.33966	0.24918	0.93199
1.485	4.081	0.801	95233.33	0.92361	0.67672	0.62711
0.984	2.704	0.531	157833.33	1.17648	0.86217	0.33617
0.668	1.837	0.360	195266.67	1.28314	0.94026	0.16220
0.446	1.377	0.254	219700.00	1.34202	0.98349	0.04864

實驗毒物 :2,4-Dichlorophenol+Glutaraldehyde

初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm³) : 45.37 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.40 EC₅₀ A : 12.075

EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 19.636

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(growth rate)
Control	Control	Control	224600	1.35314	1	0
5.013	13.774	1.117	22300	0.19827	0.14653	0.85347
3.342	9.183	0.744	24400	0.24327	0.17978	0.82022
2.228	6.122	0.496	29300	0.33477	0.24740	0.75260
1.485	4.081	0.331	89100	0.89085	0.65836	0.34164
0.984	2.704	0.219	164800	1.19834	0.88560	0.11440
0.668	1.837	0.149	194100	1.28016	0.94607	0.05393
0.446	1.377	0.107	225200	1.35447	1.00099	-0.00099
Control	Control	Control	244200	1.39497	1	0
5.013	13.774	1.117	19400	0.12861	0.09220	0.90780
3.342	9.183	0.744	21700	0.18463	0.13235	0.86765
2.228	6.122	0.496	27800	0.30849	0.22115	0.77885
1.485	4.081	0.331	98700	0.94202	0.67530	0.32470
0.984	2.704	0.219	156300	1.17186	0.84006	0.15994
0.668	1.837	0.149	197900	1.28986	0.92465	0.07535
0.446	1.377	0.107	218100	1.33845	0.95949	0.04051
Control	Control	Control	221700	1.34664	1.00000	0
5.013	13.774	1.117	24400	0.24327	0.18065	0.81935
3.342	9.183	0.744	24500	0.24531	0.18217	0.81783
2.228	6.122	0.496	31800	0.37571	0.27900	0.72100
1.485	4.081	0.331	97900	0.93795	0.69651	0.30349
0.984	2.704	0.219	152400	1.15923	0.86083	0.13917
0.668	1.837	0.149	193800	1.27939	0.95006	0.04994
0.446	1.377	0.107	215800	1.33315	0.98999	0.01001
Control	Control	Control	230166.67	1.36491	1	0
5.013	13.774	1.117	22033.33	0.19005	0.13979	0.85919
3.342	9.183	0.744	23533.33	0.22440	0.16477	0.83508
2.228	6.122	0.496	29633.33	0.33966	0.24918	0.75067
1.485	4.081	0.331	95233.33	0.92361	0.67672	0.32316
0.984	2.704	0.219	157833.33	1.17648	0.86217	0.13815
0.668	1.837	0.149	195266.67	1.28314	0.94026	0.06022
0.446	1.377	0.107	219700.00	1.34202	0.98349	0.01704

實驗毒物 :2,4,6-Trichlorophenol+Glutaraldehyde

初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm3): 45.38 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.56 EC₅₀ A: 3.713EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 6.318

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	1.82	5.06	3.24	0
7.519	11.605	3.862	2.96	3.04	0.08	0.97531
5.013	7.737	2.575	2.3	2.56	0.26	0.91975
3.342	5.158	1.716	2.2	2.55	0.35	0.89198
2.228	3.439	1.144	2.02	3.17	1.15	0.64506
1.485	2.292	0.763	2	3.66	1.66	0.48765
0.984	1.519	0.505	1.89	4.65	2.76	0.14815
0.668	1.032	0.343	1.88	5.49	3.61	-0.11420
Control	Control	Control	1.73	5.05	3.32	0
7.519	11.605	3.862	2.69	2.87	0.18	0.94578
5.013	7.737	2.575	2.37	2.48	0.11	0.96687
3.342	5.158	1.716	2.21	2.71	0.5	0.84940
2.228	3.439	1.144	1.97	3.08	1.11	0.66566
1.485	2.292	0.763	2.03	3.75	1.72	0.48193
0.984	1.519	0.505	1.89	4.69	2.8	0.15663
0.668	1.032	0.343	1.92	5.26	3.34	-0.00602
Control	Control	Control	1.73	5	3.27	0
7.519	11.605	3.862	2.76	2.83	0.07	0.97859
5.013	7.737	2.575	2.48	2.61	0.13	0.96024
3.342	5.158	1.716	2.29	2.72	0.43	0.86850
2.228	3.439	1.144	2.13	3.24	1.11	0.66055
1.485	2.292	0.763	2.03	3.75	1.72	0.47401
0.984	1.519	0.505	2	4.99	2.99	0.08563
0.668	1.032	0.343	1.88	5.62	3.74	-0.14373
Control	Control	Control	1.76000	5.03667	3.27667	0
7.519	11.605	3.862	2.80333	2.91333	0.11000	0.96643
5.013	7.737	2.575	2.38333	2.55000	0.16667	0.94914
3.342	5.158	1.716	2.23333	2.66000	0.42667	0.86979
2.228	3.439	1.144	2.04000	3.16333	1.12333	0.65717
1.485	2.292	0.763	2.02000	3.72000	1.70000	0.48118
0.984	1.519	0.505	1.92667	4.77667	2.85000	0.13021
0.668	1.032	0.343	1.89333	5.45667	3.56333	-0.08749

實驗毒物 :2,4,6-Trichlorophenol+Glutaraldehyde

初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm³) : 45.38 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.56 EC₅₀ A : 3.48
 EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 4.363

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	145900	1.13744	1	0
7.519	11.605	4.820	29500	0.33817	0.29731	0.88923
5.013	7.737	3.214	26400	0.28266	0.24850	0.91291
3.342	5.158	2.143	27000	0.29389	0.25838	0.90833
2.228	3.439	1.428	51800	0.61967	0.54480	0.71887
1.485	2.292	0.952	70500	0.77378	0.68029	0.57601
0.984	1.519	0.631	88500	0.88748	0.78024	0.43850
0.668	1.032	0.428	117500	1.02919	0.90484	0.21696
Control	Control	Control	138200	1.11033	1	0
7.519	11.605	4.820	27300	0.29942	0.26967	0.90016
5.013	7.737	3.214	26200	0.27885	0.25115	0.90909
3.342	5.158	2.143	28300	0.31741	0.28587	0.89205
2.228	3.439	1.428	61400	0.70468	0.63466	0.62338
1.485	2.292	0.952	74200	0.79936	0.71993	0.51948
0.984	1.519	0.631	91100	0.90195	0.81233	0.38231
0.668	1.032	0.428	104000	0.96817	0.87197	0.27760
Control	Control	Control	121600	1.04634	1.00000	0
7.519	11.605	4.820	27000	0.29389	0.28088	0.88743
5.013	7.737	3.214	27300	0.29942	0.28616	0.88462
3.342	5.158	2.143	30300	0.35155	0.33598	0.85647
2.228	3.439	1.428	53500	0.63582	0.60765	0.63884
1.485	2.292	0.952	75400	0.80738	0.77162	0.43340
0.984	1.519	0.631	85900	0.87257	0.83392	0.33490
0.668	1.032	0.428	113900	1.01364	0.96874	0.07223
Control	Control	Control	135233.33	1.09803	1	0
7.519	11.605	4.820	27933.33	0.31049	0.28262	0.89243
5.013	7.737	3.214	26633.33	0.28698	0.26194	0.90324
3.342	5.158	2.143	28533.33	0.32095	0.29341	0.88744
2.228	3.439	1.428	55566.67	0.65339	0.59570	0.66260
1.485	2.292	0.952	73366.67	0.79351	0.72394	0.51456
0.984	1.519	0.631	88500.00	0.88733	0.80883	0.38869
0.668	1.032	0.428	111800.00	1.00367	0.91518	0.19490

實驗毒物 :2,4,6-Trichlorophenol+Glutaraldehyde

初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm³) : 45.38 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.56 EC₅₀ A : 12.075

EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 8.377

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(growth rate)
Control	Control	Control	145900	1.13744	1	0
7.519	11.605	2.008	29500	0.33817	0.29731	0.70269
5.013	7.737	1.339	26400	0.28266	0.24850	0.75150
3.342	5.158	0.893	27000	0.29389	0.25838	0.74162
2.228	3.439	0.595	51800	0.61967	0.54480	0.45520
1.485	2.292	0.397	70500	0.77378	0.68029	0.31971
0.984	1.519	0.263	88500	0.88748	0.78024	0.21976
0.668	1.032	0.179	117500	1.02919	0.90484	0.09516
Control	Control	Control	138200	1.11033	1	0
7.519	11.605	2.008	27300	0.29942	0.26967	0.73033
5.013	7.737	1.339	26200	0.27885	0.25115	0.74885
3.342	5.158	0.893	28300	0.31741	0.28587	0.71413
2.228	3.439	0.595	61400	0.70468	0.63466	0.36534
1.485	2.292	0.397	74200	0.79936	0.71993	0.28007
0.984	1.519	0.263	91100	0.90195	0.81233	0.18767
0.668	1.032	0.179	104000	0.96817	0.87197	0.12803
Control	Control	Control	121600	1.04634	1.00000	0
7.519	11.605	2.008	27000	0.29389	0.28088	0.71912
5.013	7.737	1.339	27300	0.29942	0.28616	0.71384
3.342	5.158	0.893	30300	0.35155	0.33598	0.66402
2.228	3.439	0.595	53500	0.63582	0.60765	0.39235
1.485	2.292	0.397	75400	0.80738	0.77162	0.22838
0.984	1.519	0.263	85900	0.87257	0.83392	0.16608
0.668	1.032	0.179	113900	1.01364	0.96874	0.03126
Control	Control	Control	135233.33	1.09803	1	0
7.519	11.605	2.008	27933.33	0.31049	0.28262	0.71724
5.013	7.737	1.339	26633.33	0.28698	0.26194	0.73891
3.342	5.158	0.893	28533.33	0.32095	0.29341	0.70758
2.228	3.439	0.595	55566.67	0.65339	0.59570	0.40447
1.485	2.292	0.397	73366.67	0.79351	0.72394	0.27810
0.984	1.519	0.263	88500.00	0.88733	0.80883	0.19282
0.668	1.032	0.179	111800.00	1.00367	0.91518	0.08654

實驗毒物 :2-CP+3-H (3:1)

初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm³): 40.95 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.53 EC₅₀ A: 60.077EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 27.377

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	1.9	5.2	3.3	0
121.656	24.728	2.928	1.95	3.11	1.16	0.64848
81.104	16.485	1.952	1.86	3	1.14	0.65455
54.069	10.990	1.301	1.91	3.76	1.85	0.43939
36.046	7.327	0.868	1.88	3.86	1.98	0.40000
23.881	4.854	0.575	1.84	3.84	2	0.39394
16.221	3.297	0.390	1.74	4.06	2.32	0.29697
10.814	2.198	0.260	1.93	4.33	2.4	0.27273
Control	Control	Control	1.7	5.29	3.59	0
121.656	24.728	2.928	2.23	3.07	0.84	0.76602
81.104	16.485	1.952	1.98	2.79	0.81	0.77437
54.069	10.990	1.301	1.97	3.76	1.79	0.50139
36.046	7.327	0.868	1.99	4.01	2.02	0.43733
23.881	4.854	0.575	1.82	4.31	2.49	0.30641
16.221	3.297	0.390	1.86	4.49	2.63	0.26741
10.814	2.198	0.260	1.76	4.91	3.15	0.12256
Control	Control	Control	1.86	5.29	3.43	0
121.656	24.728	2.928	2.35	3.28	0.93	0.72886
81.104	16.485	1.952	1.93	3.23	1.3	0.62099
54.069	10.990	1.301	1.76	3.42	1.66	0.51603
36.046	7.327	0.868	1.84	3.64	1.8	0.47522
23.881	4.854	0.575	1.88	4.23	2.35	0.31487
16.221	3.297	0.390	1.85	4.42	2.57	0.25073
10.814	2.198	0.260	1.61	4.53	2.92	0.14869
Control	Control	Control	1.82000	5.26000	3.44	0
121.656	24.728	2.928	2.17667	3.15333	0.976666667	0.71609
81.104	16.485	1.952	1.92333	3.00667	1.083333333	0.68508
54.069	10.990	1.301	1.88000	3.64667	1.766666667	0.48643
36.046	7.327	0.868	1.90333	3.83667	1.933333333	0.43798
23.881	4.854	0.575	1.84667	4.12667	2.28	0.33721
16.221	3.297	0.390	1.81667	4.32333	2.506666667	0.27132
10.814	2.198	0.260	1.76667	4.59000	2.823333333	0.17926

實驗毒物 :2-CP+3-H (3:1)

初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm³) : 40.95 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.53 EC₅₀ A : 29.247EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 32.109

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	173600	1.22435	1	0
121.656	24.728	4.930	20400	0.15374	0.12557	0.96595
81.104	16.485	3.286	27300	0.29942	0.24455	0.92245
54.069	10.990	2.191	53600	0.63675	0.52007	0.75662
36.046	7.327	1.461	87500	0.88179	0.72021	0.54288
23.881	4.854	0.968	109200	0.99257	0.81069	0.40605
16.221	3.297	0.657	139300	1.11429	0.91011	0.21627
10.814	2.198	0.438	151400	1.15594	0.94412	0.13997
Control	Control	Control	178800	1.23911	1	0
121.656	24.728	4.930	15800	0.02598	0.02097	0.99512
81.104	16.485	3.286	28300	0.31741	0.25616	0.91880
54.069	10.990	2.191	71600	0.78152	0.63071	0.65446
36.046	7.327	1.461	97800	0.93744	0.75654	0.49451
23.881	4.854	0.968	103000	0.96334	0.77745	0.46276
16.221	3.297	0.657	135300	1.09972	0.88751	0.26557
10.814	2.198	0.438	158800	1.17980	0.95213	0.12210
Control	Control	Control	165600	1.20076	1.00000	0
121.656	24.728	4.930	28300	0.31741	0.26434	0.91169
81.104	16.485	3.286	51500	0.61677	0.51365	0.75764
54.069	10.990	2.191	68200	0.75720	0.63060	0.64675
36.046	7.327	1.461	83800	0.86019	0.71637	0.54316
23.881	4.854	0.968	108400	0.98889	0.82355	0.37981
16.221	3.297	0.657	124100	1.05652	0.87987	0.27556
10.814	2.198	0.438	164000	1.19591	0.99596	0.01062
Control	Control	Control	172666.67	1.22141	1	0
121.656	24.728	4.930	21500.00	0.16571	0.13696	0.95877
81.104	16.485	3.286	35700.00	0.41120	0.33812	0.86871
54.069	10.990	2.191	64466.67	0.72516	0.59379	0.68626
36.046	7.327	1.461	89700.00	0.89314	0.73104	0.52622
23.881	4.854	0.968	106866.67	0.98160	0.80389	0.41734
16.221	3.297	0.657	132900.00	1.09018	0.89250	0.25222
10.814	2.198	0.438	158066.67	1.17721	0.96407	0.09260

實驗毒物 :2-CP+3-H (3:1)

初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm³) : 40.95 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.53 EC₅₀ A : 51.192EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 79.405

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(growth rate)
Control	Control	Control	173600	1.22435	1	0
121.656	24.728	2.688	20400	0.15374	0.12557	0.87443
81.104	16.485	1.792	27300	0.29942	0.24455	0.75545
54.069	10.990	1.195	53600	0.63675	0.52007	0.47993
36.046	7.327	0.796	87500	0.88179	0.72021	0.27979
23.881	4.854	0.528	109200	0.99257	0.81069	0.18931
16.221	3.297	0.358	139300	1.11429	0.91011	0.08989
10.814	2.198	0.239	151400	1.15594	0.94412	0.05588
Control	Control	Control	178800	1.23911	1	0
121.656	24.728	2.688	15800	0.02598	0.02097	0.97903
81.104	16.485	1.792	28300	0.31741	0.25616	0.74384
54.069	10.990	1.195	71600	0.78152	0.63071	0.36929
36.046	7.327	0.796	97800	0.93744	0.75654	0.24346
23.881	4.854	0.528	103000	0.96334	0.77745	0.22255
16.221	3.297	0.358	135300	1.09972	0.88751	0.11249
10.814	2.198	0.239	158800	1.17980	0.95213	0.04787
Control	Control	Control	165600	1.20076	1.00000	0
121.656	24.728	2.688	28300	0.31741	0.26434	0.73566
81.104	16.485	1.792	51500	0.61677	0.51365	0.48635
54.069	10.990	1.195	68200	0.75720	0.63060	0.36940
36.046	7.327	0.796	83800	0.86019	0.71637	0.28363
23.881	4.854	0.528	108400	0.98889	0.82355	0.17645
16.221	3.297	0.358	124100	1.05652	0.87987	0.12013
10.814	2.198	0.239	164000	1.19591	0.99596	0.00404
Control	Control	Control	172666.67	1.22141	1	0
121.656	24.728	2.688	21500.00	0.16571	0.13696	0.85266
81.104	16.485	1.792	35700.00	0.41120	0.33812	0.64511
54.069	10.990	1.195	64466.67	0.72516	0.59379	0.40323
36.046	7.327	0.796	89700.00	0.89314	0.73104	0.26803
23.881	4.854	0.528	106866.67	0.98160	0.80389	0.19636
16.221	3.297	0.358	132900.00	1.09018	0.89250	0.10714
10.814	2.198	0.239	158066.67	1.17721	0.96407	0.03616

實驗毒物 :2-CP+3-H (1:3)

初始細胞密度(cells/mL) : 15000

MCV (μm3) : 43.34 D (μm) : 4.252 Initial pH : 7.58 EC₅₀ A : 60.077EDTA(%) : 0 T(°C) : 24 Test duration : 48-h EC₅₀ B : 27.377

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	1.8	4.42	2.62	0
46.635	63.754	3.105	1.62	2.58	0.96	0.63359
31.090	42.503	2.070	2.13	2.99	0.86	0.67176
20.727	28.335	1.380	1.73	3.28	1.55	0.40840
13.818	18.890	0.920	1.74	3.84	2.1	0.19847
9.162	12.525	0.610	1.7	3.85	2.15	0.17939
6.158	8.418	0.410	1.66	4.22	2.56	0.02290
4.055	5.544	0.270	1.65	4.4	2.75	-0.04962
Control	Control	Control	1.77	4.61	2.84	0
46.635	63.754	3.105	2.27	2.7	0.43	0.84859
31.090	42.503	2.070	1.88	2.88	1	0.64789
20.727	28.335	1.380	1.98	3.35	1.37	0.51761
13.818	18.890	0.920	1.68	3.25	1.57	0.44718
9.162	12.525	0.610	1.61	3.73	2.12	0.25352
6.158	8.418	0.410	1.54	3.94	2.4	0.15493
4.055	5.544	0.270	1.54	4.41	2.87	-0.01056
Control	Control	Control	1.5	4.17	2.67	0
46.635	63.754	3.105	2.32	2.95	0.63	0.76404
31.090	42.503	2.070	1.87	2.85	0.98	0.63296
20.727	28.335	1.380	1.88	3.47	1.59	0.40449
13.818	18.890	0.920	1.78	3.63	1.85	0.30712
9.162	12.525	0.610	1.73	3.82	2.09	0.21723
6.158	8.418	0.410	1.67	3.95	2.28	0.14607
4.055	5.544	0.270	1.59	3.98	2.39	0.10487
Control	Control	Control	1.69000	4.40000	2.71	0
46.635	63.754	3.105	2.07000	2.74333	0.673333333	0.75154
31.090	42.503	2.070	1.96000	2.90667	0.946666667	0.65068
20.727	28.335	1.380	1.86333	3.36667	1.503333333	0.44526
13.818	18.890	0.920	1.73333	3.57333	1.84	0.32103
9.162	12.525	0.610	1.68000	3.80000	2.12	0.21771
6.158	8.418	0.410	1.62333	4.03667	2.413333333	0.10947
4.055	5.544	0.270	1.59333	4.26333	2.67	0.01476

實驗毒物 :2-CP+3-H (1:3)				初始細胞密(cells/mL): 15000		
MCV (μm3): 43.34		D (μm): 4.252		Initial pH: 7.58		EC ₅₀ A: 29.247
EDTA(%): 0		T(°C): 24		Test duration: 48-h		EC ₅₀ B: 32.109
Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	209300	1.31786	1	0
46.635	63.754	3.580	54900	0.64873	0.49226	0.79465
31.090	42.503	2.387	74500	0.80137	0.60809	0.69377
20.727	28.335	1.591	95700	0.92658	0.70310	0.58466
13.818	18.890	1.061	113900	1.01364	0.76915	0.49099
9.162	12.525	0.703	136700	1.10487	0.83838	0.37365
6.158	8.418	0.473	173800	1.22493	0.92948	0.18271
4.055	5.544	0.311	181600	1.24688	0.94614	0.14256
Control	Control	Control	207800	1.31426	1	0
46.635	63.754	3.580	49600	0.59797	0.45499	0.82054
31.090	42.503	2.387	81800	0.84811	0.64531	0.65353
20.727	28.335	1.591	95700	0.92658	0.70502	0.58143
13.818	18.890	1.061	104300	0.96961	0.73776	0.53683
9.162	12.525	0.703	148800	1.14728	0.87294	0.30602
6.158	8.418	0.473	164200	1.19652	0.91041	0.22614
4.055	5.544	0.311	171400	1.21797	0.92674	0.18880
Control	Control	Control	194500	1.28119	1.00000	0
46.635	63.754	3.580	51700	0.61870	0.48291	0.79554
31.090	42.503	2.387	69200	0.76448	0.59669	0.69805
20.727	28.335	1.591	104300	0.96961	0.75680	0.50251
13.818	18.890	1.061	127100	1.06846	0.83396	0.37549
9.162	12.525	0.703	131700	1.08624	0.84783	0.34986
6.158	8.418	0.473	153600	1.16315	0.90787	0.22786
4.055	5.544	0.311	169600	1.21270	0.94654	0.13872
Control	Control	Control	203866.67	1.30444	1	0
46.635	63.754	3.580	52066.67	0.62180	0.47672	0.80374
31.090	42.503	2.387	75166.67	0.80465	0.61670	0.68143
20.727	28.335	1.591	98566.67	0.94093	0.72164	0.55754
13.818	18.890	1.061	115100.00	1.01724	0.78029	0.47000
9.162	12.525	0.703	139066.67	1.11279	0.85305	0.34310
6.158	8.418	0.473	163866.67	1.19487	0.91592	0.21179
4.055	5.544	0.311	174200.00	1.22585	0.93980	0.15708

實驗毒物 :2-CP+3-H(1:3)				初始細胞密(cells/mL) : 15000		
MCV (μm ³) : 43.34		D (μm) : 4.252		Initial pH : 7.58	EC ₅₀ A :	51.192
EDTA(%) : 0		T(°C) : 24		Test duration : 48-h	EC ₅₀ B :	79.405
Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(growth rate)
Control	Control	Control	209300	1.31786	1	0
46.635	63.754	1.714	54900	0.64873	0.49226	0.50774
31.090	42.503	1.143	74500	0.80137	0.60809	0.39191
20.727	28.335	0.762	95700	0.92658	0.70310	0.29690
13.818	18.890	0.508	113900	1.01364	0.76915	0.23085
9.162	12.525	0.337	136700	1.10487	0.83838	0.16162
6.158	8.418	0.226	173800	1.22493	0.92948	0.07052
4.055	5.544	0.149	181600	1.24688	0.94614	0.05386
Control	Control	Control	207800	1.31426	1	0
46.635	63.754	1.714	49600	0.59797	0.45499	0.54501
31.090	42.503	1.143	81800	0.84811	0.64531	0.35469
20.727	28.335	0.762	95700	0.92658	0.70502	0.29498
13.818	18.890	0.508	104300	0.96961	0.73776	0.26224
9.162	12.525	0.337	148800	1.14728	0.87294	0.12706
6.158	8.418	0.226	164200	1.19652	0.91041	0.08959
4.055	5.544	0.149	171400	1.21797	0.92674	0.07326
Control	Control	Control	194500	1.28119	1.00000	0
46.635	63.754	1.714	51700	0.61870	0.48291	0.51709
31.090	42.503	1.143	69200	0.76448	0.59669	0.40331
20.727	28.335	0.762	104300	0.96961	0.75680	0.24320
13.818	18.890	0.508	127100	1.06846	0.83396	0.16604
9.162	12.525	0.337	131700	1.08624	0.84783	0.15217
6.158	8.418	0.226	153600	1.16315	0.90787	0.09213
4.055	5.544	0.149	169600	1.21270	0.94654	0.05346
Control	Control	Control	203866.67	1.30444	1	0
46.635	63.754	1.714	52066.67	0.62180	0.47672	0.52308
31.090	42.503	1.143	75166.67	0.80465	0.61670	0.38237
20.727	28.335	0.762	98566.67	0.94093	0.72164	0.27850
13.818	18.890	0.508	115100.00	1.01724	0.78029	0.21908
9.162	12.525	0.337	139066.67	1.11279	0.85305	0.14659
6.158	8.418	0.226	163866.67	1.19487	0.91592	0.08370
4.055	5.544	0.149	174200.00	1.22585	0.93980	0.06027

實驗毒物:Propionaldehyde+2-chlorophenol(1:3) 初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm3): 43.75 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.60 EC₅₀ A: 60.077

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 36.634

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	1.85	5.25	3.4	0
124.250	25.346	2.760	2.27	2.6	0.33	0.90294
83.132	16.897	1.845	1.98	2.72	0.74	0.78235
55.421	11.265	1.230	1.98	2.74	0.76	0.77647
36.947	7.510	0.820	1.83	3.21	1.38	0.59412
24.647	5.010	0.547	1.75	3.42	1.67	0.50882
13.446	3.343	0.315	1.89	4.11	2.22	0.34706
10.949	2.226	0.243	1.88	4.22	2.34	0.31176
Control	Control	Control	1.83	5.15	3.32	0
124.250	25.346	2.760	2.5	2.85	0.35	0.89458
83.132	16.897	1.845	2.13	2.63	0.5	0.84940
55.421	11.265	1.230	1.89	2.86	0.97	0.70783
36.947	7.510	0.820	1.87	3.24	1.37	0.58735
24.647	5.010	0.547	1.79	3.46	1.67	0.49699
13.446	3.343	0.315	1.77	4.02	2.25	0.32229
10.949	2.226	0.243	1.83	4.27	2.44	0.26506
Control	Control	Control	1.69	4.92	3.23	0
124.250	25.346	2.760	2.85	3.37	0.52	0.83901
83.132	16.897	1.845	2.01	2.74	0.73	0.77399
55.421	11.265	1.230	1.9	2.91	1.01	0.68731
36.947	7.510	0.820	1.84	2.9	1.06	0.67183
24.647	5.010	0.547	1.8	3.4	1.6	0.50464
13.446	3.343	0.315	1.74	3.84	2.1	0.34985
10.949	2.226	0.243	1.59	4.18	2.59	0.19814
Control	Control	Control	1.79000	5.10667	3.31667	0
124.250	25.346	2.760	2.54000	2.94000	0.40000	0.87940
83.132	16.897	1.845	2.04000	2.69667	0.65667	0.80201
55.421	11.265	1.230	1.92333	2.83667	0.91333	0.72462
36.947	7.510	0.820	1.84667	3.11667	1.27000	0.61709
24.647	5.010	0.547	1.78000	3.42667	1.64667	0.50352
13.446	3.343	0.315	1.80000	3.99000	2.19000	0.33970
10.949	2.226	0.243	1.76667	4.22333	2.45667	0.25930

實驗毒物: Propionaldehyde+2-chlorophenol(1:3) 初始細胞密度 (cells/mL): 15000

MCV (μm³): 43.75 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.60 EC₅₀ A: 29.247

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 11.471

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	187700	1.26340	1	0
124.250	25.346	6.458	22200	0.19602	0.15515	0.95831
83.132	16.897	4.315	36700	0.44736	0.35410	0.87435
55.421	11.265	2.877	39300	0.48159	0.38118	0.85929
36.947	7.510	1.918	55100	0.65055	0.51492	0.76781
24.647	5.010	1.279	108600	0.98981	0.78345	0.45802
13.446	3.343	0.751	117300	1.02834	0.81395	0.40764
10.949	2.226	0.568	138700	1.11213	0.88027	0.28373
Control	Control	Control	183900	1.25317	1	0
124.250	25.346	6.458	19100	0.12082	0.09641	0.97573
83.132	16.897	4.315	32700	0.38966	0.31094	0.89520
55.421	11.265	2.877	45500	0.55483	0.44274	0.81942
36.947	7.510	1.918	63500	0.72149	0.57574	0.71285
24.647	5.010	1.279	99200	0.94454	0.75372	0.50148
13.446	3.343	0.751	112100	1.00567	0.80250	0.42510
10.949	2.226	0.568	134700	1.09750	0.87578	0.29130
Control	Control	Control	168600	1.20974	1.00000	0
124.250	25.346	6.458	23300	0.22020	0.18202	0.94596
83.132	16.897	4.315	29700	0.34155	0.28233	0.90430
55.421	11.265	2.877	38800	0.47519	0.39280	0.84505
36.947	7.510	1.918	66900	0.74757	0.61796	0.66211
24.647	5.010	1.279	96800	0.93230	0.77066	0.46745
13.446	3.343	0.751	137400	1.10742	0.91542	0.20313
10.949	2.226	0.568	151600	1.15660	0.95607	0.11068
Control	Control	Control	180066.67	1.24210	1	0
124.250	25.346	6.458	21533.33	0.17901	0.14453	0.96042
83.132	16.897	4.315	33033.33	0.39286	0.31579	0.89075
55.421	11.265	2.877	41200.00	0.50387	0.40558	0.84128
36.947	7.510	1.918	61833.33	0.70654	0.56954	0.71628
24.647	5.010	1.279	101533.33	0.95555	0.76928	0.47577
13.446	3.343	0.751	122266.67	1.04715	0.84396	0.35016
10.949	2.226	0.568	141666.67	1.12208	0.90404	0.23263

實驗毒物: Propionaldehyde+2-chlorophenol(1:3) 初始細胞密度 (cells/mL): 15000

MCV (μm³): 43.75 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.60 EC₅₀ A: 51.192

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 32.294

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(growth rate)
Control	Control	Control	187700	1.26340	1	0
124.250	25.346	3.212	22200	0.19602	0.15515	0.84485
83.132	16.897	2.147	36700	0.44736	0.35410	0.64590
55.421	11.265	1.431	39300	0.48159	0.38118	0.61882
36.947	7.510	0.954	55100	0.65055	0.51492	0.48508
24.647	5.010	0.637	108600	0.98981	0.78345	0.21655
13.446	3.343	0.366	117300	1.02834	0.81395	0.18605
10.949	2.226	0.283	138700	1.11213	0.88027	0.11973
Control	Control	Control	183900	1.25317	1	0
124.250	25.346	3.212	19100	0.12082	0.09641	0.90359
83.132	16.897	2.147	32700	0.38966	0.31094	0.68906
55.421	11.265	1.431	45500	0.55483	0.44274	0.55726
36.947	7.510	0.954	63500	0.72149	0.57574	0.42426
24.647	5.010	0.637	99200	0.94454	0.75372	0.24628
13.446	3.343	0.366	112100	1.00567	0.80250	0.19750
10.949	2.226	0.283	134700	1.09750	0.87578	0.12422
Control	Control	Control	168600	1.20974	1.00000	0
124.250	25.346	3.212	23300	0.22020	0.18202	0.81798
83.132	16.897	2.147	29700	0.34155	0.28233	0.71767
55.421	11.265	1.431	38800	0.47519	0.39280	0.60720
36.947	7.510	0.954	66900	0.74757	0.61796	0.38204
24.647	5.010	0.637	96800	0.93230	0.77066	0.22934
13.446	3.343	0.366	137400	1.10742	0.91542	0.08458
10.949	2.226	0.283	151600	1.15660	0.95607	0.04393
Control	Control	Control	180066.67	1.24210	1	0
124.250	25.346	3.212	21533.33	0.17901	0.14453	0.85452
83.132	16.897	2.147	33033.33	0.39286	0.31579	0.68234
55.421	11.265	1.431	41200.00	0.50387	0.40558	0.59345
36.947	7.510	0.954	61833.33	0.70654	0.56954	0.43009
24.647	5.010	0.637	101533.33	0.95555	0.76928	0.23053
13.446	3.343	0.366	122266.67	1.04715	0.84396	0.15577
10.949	2.226	0.283	141666.67	1.12208	0.90404	0.09651

實驗毒物:Propionaldehyde+2-chlorophenol(3:1) 初始細胞密度(cells/mL): 15000

MCV (μm3): 41.57 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.57 EC₅₀ A: 60.077

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 36.634

Conc A mg/L	Conc B mg/L	Toxic Unit	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Delta DO mg/L	IR (DO)
Control	Control	Control	1.98	5.42	3.44	0
46.635	85.311	3.105	2.41	2.64	0.23	0.93314
31.090	56.874	2.070	2.09	2.36	0.27	0.92151
20.727	37.916	1.380	2.01	2.48	0.47	0.86337
13.818	25.277	0.920	1.93	3.35	1.42	0.58721
9.207	16.842	0.613	1.94	4.2	2.26	0.34302
6.143	11.237	0.409	2.3	4.53	2.23	0.35174
4.100	7.501	0.273	2	5.27	3.27	0.04942
Control	Control	Control	2.21	5.85	3.64	0
46.635	85.311	3.105	3.08	3.39	0.31	0.91484
31.090	56.874	2.070	2.18	2.39	0.21	0.94231
20.727	37.916	1.380	2.12	2.51	0.39	0.89286
13.818	25.277	0.920	2.05	3.75	1.7	0.53297
9.207	16.842	0.613	1.95	4.16	2.21	0.39286
6.143	11.237	0.409	2.02	4.46	2.44	0.32967
4.100	7.501	0.273	2.01	5.32	3.31	0.09066
Control	Control	Control	1.87	5.29	3.42	0
46.635	85.311	3.105	2.73	3.05	0.32	0.90643
31.090	56.874	2.070	2.3	2.73	0.43	0.87427
20.727	37.916	1.380	2.02	2.5	0.48	0.85965
13.818	25.277	0.920	2.14	3.75	1.61	0.52924
9.207	16.842	0.613	2.15	3.94	1.79	0.47661
6.143	11.237	0.409	1.99	4.46	2.47	0.27778
4.100	7.501	0.273	2.05	4.93	2.88	0.15789
Control	Control	Control	2.02000	5.52000	3.50000	0
46.635	85.311	3.105	2.74000	3.02667	0.28667	0.91810
31.090	56.874	2.070	2.19000	2.49333	0.30333	0.91333
20.727	37.916	1.380	2.05000	2.49667	0.44667	0.87238
13.818	25.277	0.920	2.04000	3.61667	1.57667	0.54952
9.207	16.842	0.613	2.01333	4.10000	2.08667	0.40381
6.143	11.237	0.409	2.10333	4.48333	2.38000	0.32000
4.100	7.501	0.273	2.02000	5.17333	3.15333	0.09905

實驗毒物: Propionaldehyde+2-chlorophenol(3:1) 初始細胞密度 (cells/mL): 15000

MCV (μm³): 41.57 D (μm): 4.252 Initial pH: 7.57 EC₅₀ A: 29.247

EDTA(%): 0 T(°C): 24 Test duration: 48-h EC₅₀ B: 11.471

Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(Biomass)
Control	Control	Control	197800	1.28960	1	0
46.635	85.311	9.032	32700	0.38966	0.30216	0.90317
31.090	56.874	6.021	48600	0.58779	0.45579	0.81619
20.727	37.916	4.014	53400	0.63488	0.49231	0.78993
13.818	25.277	2.676	97600	0.93641	0.72613	0.54814
9.207	16.842	1.783	127900	1.07160	0.83095	0.38239
6.143	11.237	1.190	164400	1.19713	0.92829	0.18271
4.100	7.501	0.794	182100	1.24825	0.96794	0.08589
Control	Control	Control	197000	1.28758	1	0
46.635	85.311	9.032	32600	0.38813	0.30144	0.90330
31.090	56.874	6.021	41300	0.50641	0.39330	0.85549
20.727	37.916	4.014	66400	0.74382	0.57769	0.71758
13.818	25.277	2.676	94500	0.92027	0.71473	0.56319
9.207	16.842	1.783	146200	1.13846	0.88419	0.27912
6.143	11.237	1.190	160000	1.18356	0.91922	0.20330
4.100	7.501	0.794	184900	1.25588	0.97538	0.06648
Control	Control	Control	198200	1.29061	1.00000	0
46.635	85.311	9.032	33700	0.40472	0.31359	0.89793
31.090	56.874	6.021	45100	0.55042	0.42648	0.83570
20.727	37.916	4.014	58100	0.67706	0.52460	0.76474
13.818	25.277	2.676	104500	0.97057	0.75202	0.51146
9.207	16.842	1.783	125200	1.06093	0.82204	0.39847
6.143	11.237	1.190	166600	1.20377	0.93271	0.17249
4.100	7.501	0.794	187000	1.26153	0.97746	0.06114
Control	Control	Control	197666.67	1.28926	1	0
46.635	85.311	9.032	33000.00	0.39417	0.30573	0.90146
31.090	56.874	6.021	45000.00	0.54820	0.42519	0.83577
20.727	37.916	4.014	59300.00	0.68525	0.53153	0.75748
13.818	25.277	2.676	98866.67	0.94242	0.73096	0.54088
9.207	16.842	1.783	133100.00	1.09033	0.84573	0.35347
6.143	11.237	1.190	163666.67	1.19482	0.92674	0.18613
4.100	7.501	0.794	184666.67	1.25522	0.97360	0.07117

實驗毒物:Propinaldehyde+2-chlorophenol(3:1)				初始細胞密度 (cells/mL):		15000
MCV (μm ³): 43.57		D (μm): 4.252		Initial pH: 7.57	EC ₅₀ A:	51.192
EDTA(%): 0		T(°C): 24		Test duration: 48-h	EC ₅₀ B:	32.294
Conc A	Conc B	Toxic	Final cells	IR		
mg/L	mg/L	Unit	cells/ml	μspecific	μrelative	(growth rate)
Control	Control	Control	197800	1.28960	1	0
46.635	85.311	3.553	32700	0.38966	0.30216	0.69784
31.090	56.874	2.368	48600	0.58779	0.45579	0.54421
20.727	37.916	1.579	53400	0.63488	0.49231	0.50769
13.818	25.277	1.053	97600	0.93641	0.72613	0.27387
9.207	16.842	0.701	127900	1.07160	0.83095	0.16905
6.143	11.237	0.468	164400	1.19713	0.92829	0.07171
4.100	7.501	0.312	182100	1.24825	0.96794	0.03206
Control	Control	Control	197000	1.28758	1	0
46.635	85.311	3.553	32600	0.38813	0.30144	0.69856
31.090	56.874	2.368	41300	0.50641	0.39330	0.60670
20.727	37.916	1.579	66400	0.74382	0.57769	0.42231
13.818	25.277	1.053	94500	0.92027	0.71473	0.28527
9.207	16.842	0.701	146200	1.13846	0.88419	0.11581
6.143	11.237	0.468	160000	1.18356	0.91922	0.08078
4.100	7.501	0.312	184900	1.25588	0.97538	0.02462
Control	Control	Control	198200	1.29061	1.00000	0
46.635	85.311	3.553	33700	0.40472	0.31359	0.68641
31.090	56.874	2.368	45100	0.55042	0.42648	0.57352
20.727	37.916	1.579	58100	0.67706	0.52460	0.47540
13.818	25.277	1.053	104500	0.97057	0.75202	0.24798
9.207	16.842	0.701	125200	1.06093	0.82204	0.17796
6.143	11.237	0.468	166600	1.20377	0.93271	0.06729
4.100	7.501	0.312	187000	1.26153	0.97746	0.02254
Control	Control	Control	197666.67	1.28926	1	0
46.635	85.311	3.553	33000.00	0.39417	0.30573	0.69422
31.090	56.874	2.368	45000.00	0.54820	0.42519	0.57394
20.727	37.916	1.579	59300.00	0.68525	0.53153	0.46692
13.818	25.277	1.053	98866.67	0.94242	0.73096	0.26868
9.207	16.842	0.701	133100.00	1.09033	0.84573	0.15337
6.143	11.237	0.468	163666.67	1.19482	0.92674	0.07320
4.100	7.501	0.312	184666.67	1.25522	0.97360	0.02638

附錄三 HPLC校正曲線

