

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研究 α,β -不飽和酯類—丙烯酸酯類
及甲基丙烯酸酯類之定量結構—活性關係

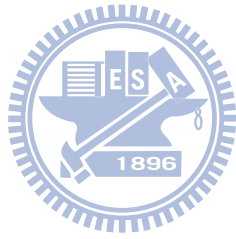
Toxicity and quantitative structure-activity relationships of α,β -unsaturated
acrylates and methacrylate evaluated using a closed-system algal testing
technique

The logo of National Central University (NCU) is a circular emblem. It features a central shield with a book and a torch, symbolizing knowledge and enlightenment. The year '1896' is inscribed at the bottom of the shield. The entire emblem is surrounded by a gear-like border, representing industry and engineering. The text '國立中央大學' is written around the perimeter of the circle.

研究生：陳心渝

指導教授：陳重元教授

中華民國九十九年十一月



以密閉式藻類毒性試驗研究 α,β -不飽和酯類－丙烯酸酯類

及甲基丙烯酸酯類之定量結構－活性關係

Toxicity and quantitative structure-activity relationships of α,β -unsaturated acrylates and methacrylate evaluated using a closed-system algal testing technique

學生：陳心渝

Student : Xin-Yu Chen

指導教授：陳重元

Adviser : Dr. Chung-Yuan Chen



A Thesis

Submitted to Institute of Environmental Engineering

College of Engineering

National Chiao Tung University

In Partial Fulfillment of the Requirements

For a Degree of

Master of Science

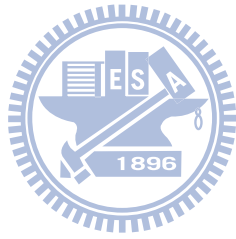
In

Environmental Engineering

November 2010

Hsinchu, Taiwan, Republic of China

中華民國九十九年十一月十九日



以密閉式藻類毒性試驗研究 α,β -不飽和酯類－丙烯酸酯類
及甲基丙烯酸酯類之定量結構－活性關係

學生：陳心渝

指導教授：陳重元

國立交通大學環境工程研究所

摘要

本研究以月芽藻為試驗物種進行密閉式藻類毒性試驗，以溶氧變化量 (ΔDO)、最終細胞產量 (Final Yield) 及生長率 (Growth Rate) 為反應終點，評估親電性物質－ α,β -不飽和酯類 (丙烯酸酯類及甲基丙烯酸酯類) 之毒性，並以穀胱甘肽 (GSH, Glutathione) 為親核示劑，與化合物進行反應性試驗，以求得之反應常數 k_{GSH} ，與 $\log k_{OW}$ 探討對毒性之影響，並建立定量結構－活性關係 (QSAR, Quantitative Structure-Activity Relationship)。

試驗結果中以反應終點 Final Yield 最為敏感，與其他試驗物種比較亦如此。由 QSAR 之結果顯示，甲基丙烯酸酯類 (扣除反應性高甲基丙烯酸乙酯) 以 $\log k_{OW}$ 為參數適合度最佳， $r^2(\text{adj})$ 、 Q^2 分別為 0.864~0.941 及 0.810~0.893；丙烯酸酯 (丙烯酸酯類與甲基丙烯酸酯類) 以 $\log k_{OW}$ 與 $\log k_{GSH}$ 為參數適合度最佳， $r^2(\text{adj})$ 、 Q^2 分別為 0.885~0.895 及 0.823~0.835，移除 Outlier ($\log k_{OW}$ 為負值之 2-Hydroxyethyl acrylate) 後之 $r^2(\text{adj})$ 、 Q^2 分別提升為 0.914~0.935 及 0.879~0.923。而以藻類毒性預測鱒魚毒性之 $r^2(\text{adj})$ 、 Q^2 分別為 0.808~0.815 及 0.688~0.692，預測纖毛蟲毒性之 $r^2(\text{adj})$ 、 Q^2 分別為 0.714~0.787 及 0.645~0.752。

關鍵字：月芽藻、親電性、穀胱甘肽、反應性、定量結構－活性關係

Toxicity and quantitative structure-activity relationships of α,β -unsaturated acrylates and methacrylate evaluated using a closed-system algal testing technique

Student: Xin-Yu Chen

Adviser: Dr. Chung-Yuan Chen

Institute of Environmental Engineering
National Chiao Tung University

Abstract

A closed-system algal toxicity test was applied to evaluate the toxicity of 15 α,β -unsaturated esters (6 acrylates and 9 methacrylates) to *Pseudokirchneriella subcapitata*. Dissolved oxygen production, final yield and growth rate based on cell density were the response endpoints. Reactivity assays employing glutathione (GSH) as a model nucleophile to quantify the electrophilic reactivity of α,β -unsaturated esters, in terms of k_{GSH} , the rate constant of reaction between electrophile and GSH.

Among all endpoints and other species, final yield was most sensitive to (meth)acrylates. The quantitative structure-activity relationship (QSAR) for methacrylates was developed well by 1-octanol/water partition coefficient ($\log k_{\text{OW}}$) except highly reactive vinyl methacrylate ($Q^2 = 0.810-0.893$). For (meth)acrylates, QSAR was model well by $\log k_{\text{OW}}$ and $\log k_{\text{GSH}}$ ($Q^2 = 0.823-0.835$), the predictive power enhanced without outlier, 2-Hydroxyethyl acrylate, which $\log k_{\text{OW}}$ value is negative ($Q^2 = 0.879-0.923$). The predictive power Q^2 for algal toxicity in this study to predict the toxicity of *Pimephales promelas* and *Tetrahymena pyriformis* were 0.688-0.692 and 0.645-0.752.

Keywords: α,β -unsaturated esters, *Pseudokirchneriella*, reactivity, glutathione, QSAR

致謝

能夠完成碩士學業及論文，感謝父母辛勞養育及栽培，我才能在研究所讀書以及安心地完成學業；感謝指導老師 陳重元教授對學生的教導，除了課業、研究上之學習外，從老師交代給學生的各項事務，也學習到許多經驗，感謝老師給學生學習的機會，以及對學生們的關心。感謝口試委員趙木榮、楊進木教授提供了不少修改論文的建議及疑點，讓此論文能更加完整。

感謝實驗室的詔茶學姊、介華學長、欣好學姊、百珊學姊的熱心指導，讓我在實驗上能夠更快上手；還有謝謝同學六年的庭宇以及共同研究藻類毒性的聖然，平時對我的照顧及幫助，這段期間一起經歷環工所搬家、藻種及儀器出問題等狀況，也算是同甘共苦；感謝學弟妹萱芳、思宏及家祥平時的幫忙，及碩一學弟妹們溫暖的問候及笑容，也給我莫大的鼓勵。除了實驗室的夥伴們，還感謝其他實驗室的理安學長，幫助我解決許多實驗及論文上的問題，及家人、室友、朋友們的支持與鼓勵。這段期間當然也發生了許多不如意的事，但也感謝有這樣的經歷，才能夠更加認識自己不足的存在，並警惕自己要更加努力。

目錄

頁次

摘要	i
Abstract	ii
致謝	iii
目錄	iv
表目錄	vi
圖目錄	vii
符號說明	viii
第一章 前言	1
1.1 研究緣起	1
1.2 研究目的	2
1.3 研究架構	3
第二章 文獻回顧	4
2.1 丙烯酸酯之介紹	4
2.1.1 基本特性	4
2.1.2 應用	7
2.1.3 毒理性質	7
2.2 定量結構－活性關係 (QSAR)	10
2.2.1 起源	10
2.2.2 毒性作用機制	11
2.2.3 反應性－親電性作用機制	12
2.2.4 丙烯酸酯之 QSAR	13
2.2.5 QSAR 建立之必要條件	16
2.3 藻類毒性試驗	17
2.3.1 月芽藻之介紹	17
2.3.2 藻類生長測定方法	18
2.3.3 藻類毒性試驗方法	18
2.3.4 試驗中之重要參數	20

第三章	基本原理.....	23
3.1	基本生長動力學.....	23
3.2	毒性物質之濃度反應關係模式.....	25
第四章	材料與方法.....	26
4.1	實驗設備與材料.....	26
4.2	實驗方法.....	30
4.2.1	藻類毒性試驗.....	30
4.2.2	化學反應性試驗.....	36
4.2.3	實驗數據之處理.....	38
第五章	結果與討論.....	40
5.1	藻類毒性試驗.....	40
5.1.1	毒性結果與風險評估.....	40
5.1.2	低濃度之影響及比較.....	42
5.1.3	與其他試驗物種之比較.....	45
5.2	反應性試驗.....	53
5.3	反應性及疏水性對毒性之影響.....	55
5.3.1	基線毒性.....	55
5.3.2	化學結構、反應性及疏水性與毒性之關係.....	58
5.4	QSAR 模式之建立.....	62
5.4.1	參數選用.....	62
5.4.2	疏水性參數.....	63
5.4.3	反應性參數及其他參數.....	64
第六章	結論與建議.....	69
6.1	結論.....	69
6.2	建議.....	70
參考文獻	71
附錄一	藻類毒性試驗結果.....	78
附錄二	反應性試驗結果.....	96

表目錄

頁次

Table 2.1.1 Physical and chemical properties[14] and abbreviation of (meth)acrylates	5
Table 2.1.2 Toxicity data for (meth)acrylates from literature	10
Table 2.2.1 QSAR models for (meth)acrylates from literature	15
Table 4.1.1 Supplier, purity, and manufacturer of toxicants in this study	29
Table 4.1.2 Chemicals for reactivity test (information and usage)	29
Table 4.2.1 The consist of macro-algal medium	32
Table 4.2.2 The consist of micro-algal medium.....	32
Table 4.2.3 The conditions of Coulter counter	34
Table 4.2.4 Molecular descriptors used in this study	39
Table 5.1.1 EC ₅₀ , 95% confidence limit, intercept(A) and slope(B) of dose-response curve based on three endpoints	41
Table 5.1.2 Substance classification for environmental effects	42
Table 5.1.3 NOEC, LOEC and EC ₁₀ based on three endpoints.....	43
Table 5.1.4 The ACR values based on three endpoints	45
Table 5.1.5 Comparisons of algal toxicity test results with other species.....	47
Table 5.1.6 Coefficients of determination (r^2) for toxicity of algae and other species .	49
Table 5.1.7 Regression models for Fathead minnow and Ciliate (with BOD-test).....	53
Table 5.2.1 RC ₅₀ and log k_{GSH} in this study and from literature.....	54
Table 5.2.2 Coefficients of determination (r^2) between RC ₅₀ and log k_{GSH}	54
Table 5.3.1 Toxicity, residual to the baseline toxicity and log k_{GSH}	56
Table 5.3.2 The parameter differences after methyl- substitute on α -C	58
Table 5.3.3 Chemicals of higher residual to the baseline toxicity in (meth)acrylates ..	62
Table 5.4.1 Correlation coefficients (r) between descriptors	63
Table 5.4.2 Multiple linear regression for (meth)acrylates based on FY	64
Table 5.4.3 Multiple linear regression for (meth)acrylates based on DO	65
Table 5.4.4 Multiple linear regression for (meth)acrylates based on GR	65

圖目錄

頁次

Figure 1.3.1 The flow chart of this investigation	3
Figure 2.1.1 General structure of acrylates and methacrylates	4
Figure 2.1.2 Chemical structures of acrylates and methacrylates [15]	6
Figure 2.1.3 Chemical structures of glutathione[21].....	8
Figure 2.1.4 Michael addition[19].....	9
Figure 2.2.1 Classification of the mechanism of toxic action [35]	12
Figure 2.3.1 <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> [40].....	17
Figure 5.1.1 Comparisons of relative sensitivity between algae and other species	48
Figure 5.1.2 Relationship between BOD-test and Fathead minnow data	50
Figure 5.1.3 Relationship between BOD-test and Ciliate data.....	51
Figure 5.1.4 Relationship between BOD-test and Daphnia data (unit: mM)	52
Figure 5.3.1 Correlation between baseline and observed toxicity of (meth)acrylates ..	57
Figure 5.3.2 Correlation between reactivity and toxicity of (meth)acrylates.....	59
Figure 5.3.3 Relationships between molecular weight, number of carbons in alkyl side-chain, and log k_{OW} for (meth)acrylates	60
Figure 5.4.1 Correlations between C_a , reactivity and toxicity based on FY	67

符號說明

DO	: Dissolved oxygen
C_{α} 、 C_{β}	: α 、 β 碳上之部分電荷
EC ₁₀	: 10% Effective Concentration
EC ₅₀	: 50% Effective Concentration
E _{LUMO}	: Energy of the Lowest Unoccupied Molecular Orbital
FY	: Final Yield
GR	: Growth Rate
GSH	: Glutathione
k _{GSH}	: 化合物與 GSH 之反應速率常數
k _{OW}	: n-octanol/water partition coefficient
LOEC	: Lowest Observed Effect Concentration
NOEC	: No Observed Effect Concentration
QSAR	: Quantitative Structure—Activity Relationships
RC ₅₀	: 50% Reactivity Concentration

第一章 前言

1.1 研究緣起

α,β -不飽和化合物—丙烯酸酯類及甲基丙烯酸酯類(以下合稱丙烯酸酯),為世界上普遍使用之工業有機化學物質之一,屬於高產量化學物質(HPV, High Production Volume chemicals)[1]。 α,β -不飽和化合物為Michael加成反應之接受者,會與富含電子之生物大分子產生反應,對生物體造成不可逆之影響。此類物質被廣泛使用、並流布於環境當中,但卻缺乏適當之毒性數據,因此,以分子結構求得化合物危害影響相關資訊之需求與日俱增[2,3]。丙烯酸酯對各物種之毒性數據當中,以纖毛蟲、魚類資料最多[3-5],而藻類毒性資料則寥寥無幾[6],因此建立此類化合物之藻類毒性資料是必要的。



藻類為水體生態系統之主要生產者,佔水體環境食物鏈之重要角色—食物鏈最基層。藻類廣泛分布於水體環境中、生長週期短、適合做為工業廢水之生物活性指標,以及對不同種有機化學物質有不同反應,為毒性測試物種之理想選擇[7]。

傳統藻類毒性試驗,大多使用批次式且開放性之系統來進行實驗,對於揮發性有機化學物質,會因為部分化學物質揮發,而造成毒性低估,因此利用Chemostat連續之方式培養藻類,使藻類於槽中穩定生長,並取穩定生長之藻於BOD瓶中進行毒性實驗,利用藻類溶氧變化量、細胞密度做為量測終點(Endpoint),了解化學物質對藻類之毒性影響。因BOD瓶為密閉性系統,故可藉此克服有機物揮發之問題[8,9]。

根據歐盟新化學品政策REACH (Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals)，於歐盟國家每年生產或進口一公噸或一公噸以上之化學品，皆須經過人類及環境之危害評估。若使用危害評估所需毒性資料之現有方法，需使用大量動物來進行毒性實驗，將會耗用大量資源及時間，故需增加定量結構活性關係 (QSAR, Quantitative Structure—Activity Relationship) 的使用，來評估較低產量之化學物質[10,11]，以提高評估效率。

本研究以單細胞綠藻類之月芽藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) 為毒性測試物種、以反應性物質 α,β -不飽和酯類—丙烯酸酯及甲基丙烯酸酯類為毒物，於密閉式BOD瓶系統中進行毒性測試。並將此類化合物之物化特性、結構或反應性，與毒性建立統計上之關係 (QSAR)，探討此類反應性物質對生物體造成毒性之毒性作用機制 (Mechanism of toxic action)。



1.2 研究目的

- (1) 以密閉性藻類毒性實驗，研究丙烯酸酯類 (Acrylates) 及甲基丙烯酸酯類 (Methacrylates) 對月芽藻之毒性—以溶氧變化、細胞密度最終產率及生長速率為反應終點，求得各毒性物質之 EC_{50} 值與濃度反應關係曲線。(以下合稱丙烯酸酯類及甲基丙烯酸酯類為丙烯酸酯)
- (2) 將本研究之毒性試驗結果，與其他文獻使用不同物種之毒性試驗結果，比較敏感性與毒性相關性。
- (3) 討論丙烯酸酯 (α,β -不飽和酯類) 的毒性作用機制、毒性試驗結果與化合物之物化特性之間的關係，找出適當的參數來建立QSAR模式。

1.3 研究架構

本研究自參考資料與文獻收集開始，先確定欲實驗之化合物（化合物需具結構多樣性），蒐集化合物之相關資料、文獻及數據收集，以本研究群建立之方法進行藻類毒性試驗，並參考相關文獻進行反應性試驗，探討化合物之反應性及物化參數與月芽藻毒性之關係。試驗流程如 Figure 1.3.1 所示。



Figure 1.3.1 The flow chart of this investigation

第二章 文獻回顧

2.1 丙烯酸酯之介紹

2.1.1 基本特性

丙烯酸酯為丙烯酸之官能基（羧基，Carbonyl-）上的氫原子被烷基取代之化合物，其結構通式如 Figure 2.1.1 所示：羰基（C=O）為主要官能基、R 為丙烯酸之取代烷基或其他官能基，鄰近於主要官能基之第一及第二個碳稱 α 及 β 碳，此二碳間以不飽和鍵（雙鍵）鍵結，甲基取代於 α 上則形成甲基丙烯酸酯。

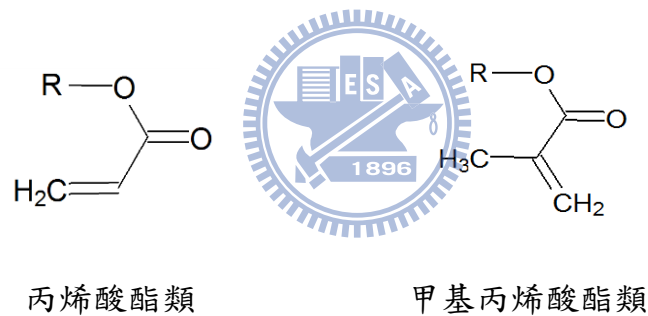


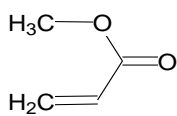
Figure 2.1.1 General structure of acrylates and methacrylates

丙烯酸酯為無色液體、具揮發性，部分有辛辣刺激味，其合成可由丙烯酸與醇類進行酯化反應而得[12]。丙烯酸酯具雙鍵及羧基，含雙鍵的聚合物單體受熱會行放熱聚合反應、且與氧化物質接觸後會產生激烈之聚合反應，引發氣體及能量大量釋放[13]。於本研究討論之丙烯酸酯類，其物化特性[14]及結構[15]如 Table 2.1.1 及 Figure 2.1.2 所示。為配合部分圖表討論之方便，將化合物之英文名稱縮寫對照於 Table 2.1.1 所示。

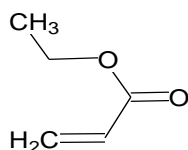
Table 2.1.1 Physical and chemical properties[14] and abbreviation of (meth)acrylates

化合物	縮寫	CAS	分子量	化學式	溶解度 (mg/L)	log k _{ow}	蒸氣壓 (kpa)	亨利常數 atm·m ³ /mole
Acrylate								
Methyl-	MA	96-33-3	86.09	C ₄ H ₆ O ₂	4.94E+04	0.73	11.5	1.99E-04
Ethyl-	EA	140-88-5	100.12	C ₅ H ₈ O ₂	1.50E+04	1.22	5.15	3.39E-04
Propargyl-	PA	10477-47-1	110.11	C ₆ H ₆ O ₂	1.72E+04	0.94	1.12	2.02E-05
Isobutyl-	IbA	106-63-8	128.17	C ₇ H ₁₂ O ₂	1.80E+03	2.13	1.08	7.56E-04
Hexyl-	HA	2499-95-8	156.23	C ₉ H ₁₆ O ₂	1.36E+02	3.18	0.0744	2.50E-04
2-Hydroxy ethyl-	2HEA	818-61-1	116.12	C ₅ H ₈ O ₃	1.00E+06	-0.25	0.00697	7.22E-10
Methacrylate								
Methyl-	MM	80-62-6	100.12	C ₅ H ₈ O ₂	1.50E+04	1.28	5.13	3.19E-04
Ethyl-	EM	97-63-2	114.15	C ₆ H ₁₀ O ₂	5.40E+03	1.77	2.75	5.73E-04
Vinyl-	VM	4245-37-8	112.13	C ₆ H ₈ O ₂	4.34E+03	1.63	2.33	7.56E-04
Allyl-	AIM	96-05-9	126.16	C ₇ H ₁₀ O ₂	1.47E+03	2.12	0.769	4.06E-04
Butyl-	BM	97-88-1	142.2	C ₈ H ₁₄ O ₂	2.85E+02	2.75	0.283	4.96E-04
Isobutyl-	IbM	97-86-9	142.2	C ₈ H ₁₄ O ₂	4.39E+02	2.67	0.484	5.23E-04
2-Ethoxy ethyl-	2EEM	2370-63-0	158.2	C ₈ H ₁₄ O ₃	3.71E+03	1.49	0.094	8.48E-07
Tetrahydrofurfuryl-	TM	2455-24-5	170.21	C ₉ H ₁₄ O ₃	1.79E+03	1.80	0.0199	2.20E-07
Benzyl-	BzM	2495-37-6	176.22	C ₁₁ H ₁₂ O ₂	3.97E+02	2.98	0.00435	3.79E-06

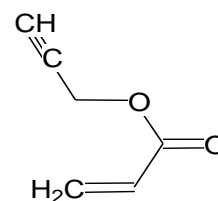
Acrylates 丙烯酸酯類



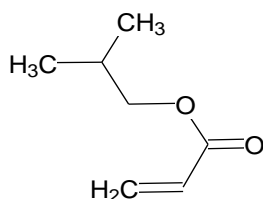
Methyl acrylate



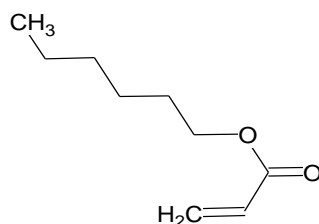
Ethyl acrylate



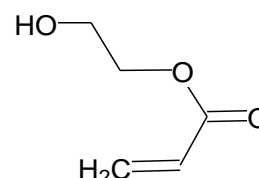
Propargyl acrylate



Isobutyl acrylate

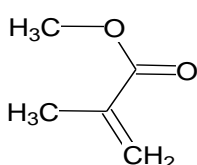


Hexyl acrylate

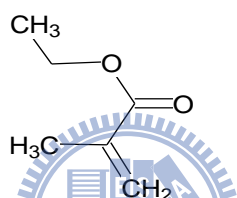


2-Hydroxyethyl acrylate

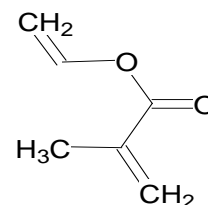
Methacrylates 甲基丙烯酸酯類



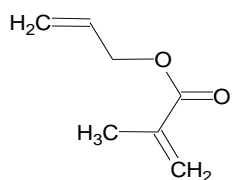
Methyl methacrylate



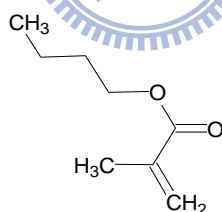
Ethyl methacrylate



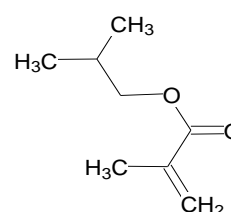
Vinyl methacrylate



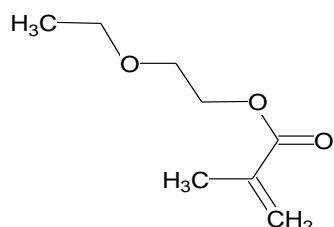
Allyl methacrylate



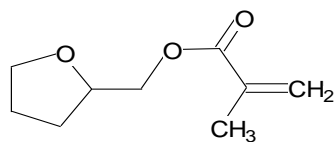
Butyl methacrylate



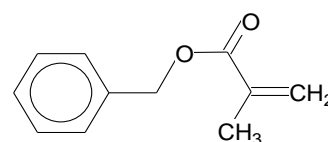
Isobutyl methacrylate



2-Ethoxyethyl methacrylate



Tetrahydrofurfuryl methacrylate



Benzyl methacrylate

Figure 2.1.2 Chemical structures of acrylates and methacrylates [15]

由Table 2.1.1中各化合物之物化特性，可知對丙烯酸酯而言，側鏈烷基(Alkyl side-chain)之碳數越多，溶解度及蒸氣壓越低、log k_{ow} 越高、亨利常數則無明顯差異；而有甲基取代基於丙烯酸酯類的 α 碳上(即甲基丙烯酸酯類)，也使其溶解度、蒸氣壓降低、log k_{ow} 增高、亨利常數則無明顯差異。此關係中，以側鏈烷基碳數(僅單純烷基)與log k_{ow} 之相關性最高，文獻中對甲基丙烯酸酯類之確定係數 r^2 (Coefficient of determination)高達0.997[16]，而對本研究探討之丙烯酸酯類及甲基丙烯酸酯類， r^2 分別為0.999及0.998，表示對此類化合物之疏水性與側鏈烷基碳數具高度相關。

2.1.2 應用

丙烯酸酯為一種高產量化學物質(HPV, High Production Volume chemical)，其應用為塑膠工廠中主要使用之單體、表面塗料、接著劑、可塑劑、纖維及皮革製造等[1,13,17]。台塑企業為國內主要生產丙烯酸酯之公司，海內外丙烯酸酯年產能為47.9萬噸(在台產能31.9萬噸，海外產能16萬噸)，居全球第二[18]，可見丙烯酸酯之市場於國內外都是相當大的，是值得重視的化學產品之一。

2.1.3 毒理性質

丙烯酸酯為 α,β -不飽和酯類(α 與 β 碳上以不飽和鍵鍵結之酯類)，屬於親電性物質(Electrophile)，其於生物體中可能之代謝途徑有[19,20]：

- (1) 由組織中之羧酸酯酶(Carboxylesterase enzymes)水解，酯之烷基分支可能會因龐大支鏈造成酵素反應之立體障礙(Steric hindrance)，使水解速率下降。

水解與生物之解毒機制有關，因為只有完整未經水解之丙烯酸酯可利用加成反應與生物大分子進行接合，且較易穿透脂肪層。

- (2) 與穀胱甘肽 (GSH, Glutathione) 利用 Michael addition 結合，穀胱甘肽之化學結構如 Figure 2.1.3 所示：為麩胺酸 (Glutamate)、半胱胺酸 (Cysteine) 和甘胺酸 (Glycine) 所組成之三肽 (Tripeptide)，存在於真核生物之細胞當中，是細胞內濃度最高之抗氧化劑，有抗氧化及協助解毒等功能。GSH 中之半胱胺酸具有硫醇基 (Thiol group, -SH 為親核性支鏈)，親電性物質 (如 α,β -不飽和物) 會與硫醇基產生共價鍵結，進而抑制蛋白質的重要功能，對生物體造成毒性，當丙烯酸酯濃度較低及高時，代謝途徑分別主要為與 GSH 之接合及酯水解[19,21-23]。

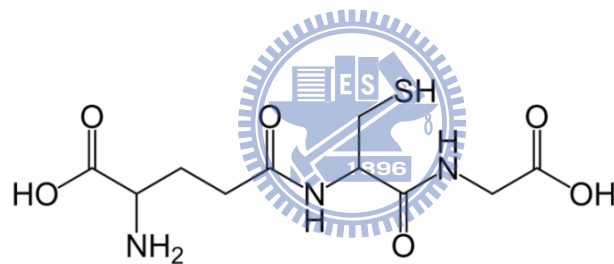


Figure 2.1.3 Chemical structures of glutathione[21]

丙烯酸酯之親電性結構特徵如 Figure 2.1.4 所示：烯基($C=C$)接於羰基($C=O$)之上，羰基之拉電子能力活化鄰接之雙鍵，使硫醇基於 β 碳上行親核性加成反應 (Nucleophilic addition)。甲基丙烯酸酯類上之甲基會障礙親核試劑於雙鍵上的加成，因此與 GSH 之接合反應程度會較丙烯酸酯類低。[19,20]。

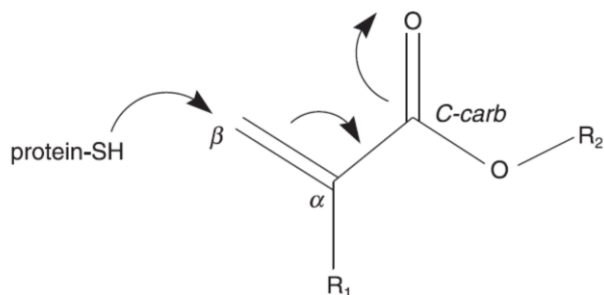


Figure 2.1.4 Michael addition[19]

生物降解性部分：丙烯酸酯可快速被微生物降解、不會永久留存於環境中而造成生物累積（Bioaccumulation）[12,16]。

丙烯酸酯對不同物種之毒性如Table 2.1.2所示：包含鱖魚（Fathead minnow, *Pimephales promelas*）96 h之 LC_{50} （50% Lethal Concentration）[4,24]、纖毛蟲（*Tetrahymena pyriformis*）40 h之 EC_{50} （50% Effective Concentration）[3,25,26]、老鼠肝細胞（Rat hepatocyte）之 LC_{50} [19]、月芽藻（*Pseudokirchneriella subcapitata*）72 h反應終點Growth rate之 EC_{50} [15,27]、水蚤（*Daphnia magna*）48 h之 EC_{50} [10]。

由Table 2.1.2可見丙烯酸酯對魚、月芽藻及水蚤為中～低毒性、對纖毛蟲及老鼠肝細胞毒性則較其他物種低，甲基丙烯酸酯類對生物體的毒性較丙烯酸酯類低。此表中之月芽藻毒性試驗為非專家執行（且部分試驗中有加分散劑進行），若應用於評估上需再確認此試驗結果，故不與本研究之試驗結果相比較。

Table 2.1.2 Toxicity data for (meth)acrylates from literature

化合物	鱒魚 (LC ₅₀) ^a	纖毛蟲 (EC ₅₀) ^c	肝細胞 (LC ₅₀)	月芽藻 (EC ₅₀)	水蚤 (EC ₅₀)
Acrylate					
Methyl-	-	24.4	243	3.10	2.21
Ethyl-	2.51	31.0 ^d	159	2.30	4.37
Propargyl-	-	9.59 ^d	-	-	-
Isobutyl-	2.08	65.6	1410	-	-
Hexyl-	1.11	28.4	1330	-	-
2-Hydroxy ethyl-	4.84	23.7 ^e	12	6.00	0.784
Methacrylate					
Methyl-	259	2190 ^d	5020	-	69.2
Ethyl-	-	983	3530	-	-
Vinyl-	-	466	-	-	-
Allyl-	0.979	600	14	-	-
Butyl-	-	264	-	23.0	31.8
Isobutyl-	32.6 ^b	270	4010	-	31.8
2-Ethoxy ethyl-	27.7	951	-	-	-
Tetrahydrofurfuryl-	34.7	-	-	-	-
Benzyl-	4.64	39.5	-	-	-

單位：mg/L；^a 文獻[4]；^b 文獻[24]；^c 文獻[3]；^d 文獻[25] ^e 文獻[26]

2.2 定量結構—活性關係 (QSAR)

2.2.1 起源

QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) 定量化學—結構關係，此概念最早於西元 1868 年由 Crum Brown 與 Frazer 提出，用以定量化學結構與活性

之間的關係，關係式如下：

$$\Phi = f(C) \quad (2.1)$$

其中 Φ 為生物反應之表示、 C 為化合物組成之量測值。QSAR 早期最常見之關係式，為西元 1899 年 Meyer 與 Overton 提出：有機化合物之麻醉機制(Narcotic action) 與油水分配係數 (Oil/water partition coefficients) 之線性關係[28-31]。

2.2.2 毒性作用機制

早期QSAR的建立是依據化合物之分類（如同一種類之化合物），但後來發現以化合物毒性作用機制來建立QSAR較為適當[32-34]。

根據Russom毒性作用機制之分類，如Figure 2.2.1所示：分為一般性(General) 和特異性(Specific)兩大類。一般性指化合物並非以特定位置對生物體造成攻擊，而是與生物體之細胞膜進行反應；特異性會作用於細胞之特定位置上而造成功能上之抑制。一般性又稱麻醉性，分為非極性與極性兩類。非極性麻醉性在QSAR分析上，與辛醇與水分配係數 ($\log k_{ow}$) 呈良好線性關係，其毒性又稱作基線毒性(Baseline toxicity)。特異性亦稱為反應性，此類有機物除了有麻醉性機制外(分子之疏水結構具麻醉效應)，其官能基與生物體內所產生之化學變化為主要之毒性來源，通常此類有機物質之毒性超過基線毒性，比麻醉性有機物還要毒[35]。

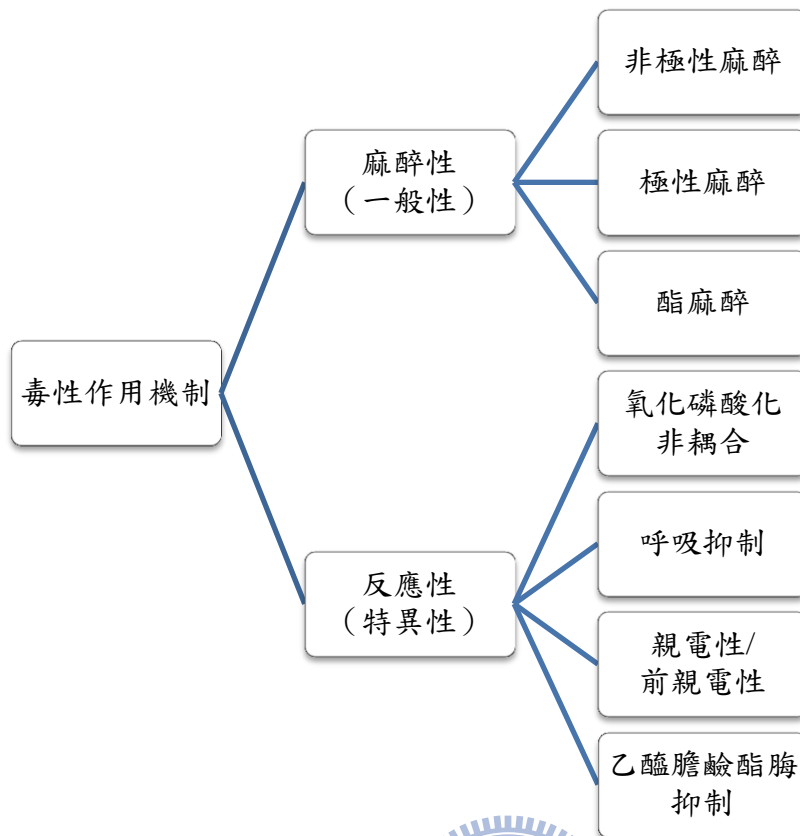
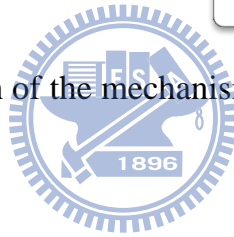


Figure 2.2.1 Classification of the mechanism of toxic action [35]



2.2.3 反應性—親電性作用機制

親電試劑 (Electrophile) 可與許多種親核試劑 (Nucleophile) 反應，許多親核性物質存在於許多生物大分子 (如蛋白質及 DNA) 中，如胺基 (Amino group, -NH_2)、羥基 (Hydroxy group, -OH) 及硫醇基 (Sulfhydryl group or thiol group, -SH) 等，親電試劑與親核性支鏈之反應，有親核性取代、親核性加成於碳氧鍵 (C-O) 或碳碳雙鍵 (C=C) 等不同機制[36]，丙烯酸酯之反應性即屬於親核試劑加成於親電試劑之碳碳雙鍵 (加成於丙烯酸酯之 β 碳上)。

化學物共價鍵結於重要細胞目標上為反應性毒性之分子起始事件 (Molecular

initiating event)，此反應引起生物效應如蛋白質變質或免疫上之反應，而對生物體造成不可逆之影響[37]。

化學物之反應性與路易斯酸鹼理論 (Lewis acid-base theory) 有關，此理論定義路易斯酸為缺乏電子之化合物 (親電試劑)，可接受其他化合物之電子；路易斯鹼則為富含電子之化合物 (親核試劑)，可供給電子給其他化合物。其中依電子缺乏之程度可分為強及弱親電試劑 (Hard/soft electrophile)，強親電試劑為低極化且正電荷密度高，弱親電試劑則相反；強親核試劑為高電負度且低極化性，不易被氧化 (如核酸)，而弱親核試劑則相反 (如蛋白質)。強、弱親電試劑分別易與強、弱親核試劑反應，本研究之丙烯酸酯即為一弱親電試劑，故容易與含硫醇基之弱親核試劑反應 (如穀胱甘肽 - GSH) [37]。

2.2.4 丙烯酸酯之 QSAR



如 Table 2.2.1 所示，過去文獻以化合物與穀胱甘肽 (GSH) 之半反應濃度 (RC_{50} , 50% Reactivity Concentration)、化合物與 GSH 之反應速率常數 k_{GSH} 、親電性參數 (E_{LUMO} , Energy of the Lowest Unoccupied Molecular Orbital)、 α 、 β 碳上之部分電荷 (C_α 、 C_β) 及疏水性參數 ($\log K_{OW}$) 等為參數 (Descriptor)，對生物之毒性數據進行迴歸[4,11,24,25]。

Table 2.2.1 中之 r^2 為確定係數用來評判參數與毒性之間的相關性、 Q^2 為模式之預測能力、 s 為均方誤差、 F 為 Fisher's criterion 用以比較模式之間統計上的顯著性。表中整理各物種之 QSAR 模式如：鱸魚 (*Pimephales promelas*)、纖毛蟲 (*Tetrahymena pyriformis*) 及老鼠肝細胞 (Rat hepatocyte)。

式 1：以 A_R （極性官能基 R 碳上之超離域能）、 $B_{\alpha-R}$ （ α 碳與官能基 R 碳上之鍵級）及 $\log K_{OW}$ 為參數。式 2-1：以 Te （Excess toxicity ratio）區分，即基線毒性之預測毒性/實測毒性（毒性表示以 LC_{50} ），若 $Te < 5$ 將此化合物視為麻醉性物質，並以 $\log K_{OW}$ 為參數如式 2-2；反之，若 $Te > 5$ 則將此化合物視為反應性物質，如式 2-3。式 3：以反應性參數 RC_{50} ，對纖毛蟲毒性迴歸，原樣本數為 44 個（15 個丙烯酸酯），扣除 3 離群值（Outlier，其中包含丙烯酸第三丁酯）迴歸而得。式 4：以反應性參數 $\log k_{GSH}$ ，對纖毛蟲毒性迴歸，丙烯酸酯毒性於此迴歸式僅六筆，式 5-1 至 5-5：以老鼠肝細胞之 LC_{50} 與 E_{LUMO} 、 C_α 、 C_β 、 k_{GSH} 及 RC_{50} 分別迴歸。

由 Table 2.2.1 之 QSAR 模式中觀察，發現以 $\log RC_{50}$ 、 $\log k_{GSH}$ 為參數預測丙烯酸酯對生物體之毒性，皆有不錯之結果（式 3 之 $r^2 = 0.846$ ；式 4 之 $r^2 = 0.91$ ；式 5-4 之 $r^2 = 0.92$ ；式 5-5 之 $r^2 = 0.918$ ）；式 5-2 及 5-3 以 C_α 、 C_β 為參數迴歸預測丙烯酸酯類對生物體之毒性， r^2 分別為 0.939 及 0.895，由此得之，丙烯酸酯對生物體造成之毒性，與化合物之反應性（以 GSH 測反應性）有很大之關聯。丙烯酸酯類對生物體之影響與 α 、 β 碳上之量子化學參數亦有關係，此皆與丙烯酸酯為親電性物質及 Michael addition 接受者（可與 GSH 上之硫醇基進行共價性鍵結）有關。

以 Te 值去評判是否為反應性物質，分別以親疏水性參數及反應性參數迴歸，提高了參數與毒性之間的相關性（從式 2-1 之 $r^2 = 0.82$ 至式 2-3 及 2-3 之 $r^2 = 0.86$ ）。而丙烯酸酯對生物體之毒性與 E_{LUMO} （式 5-1）、 A_R 及 $B_{\alpha-R}$ （式 1）等量子化學參數其相關性，雖較 $\log RC_{50}$ 及 $\log k_{GSH}$ 差，但仍有其相關性，顯示化合物之結構（官能基及親電能力等）與其對生物體造成之毒性有關。

Table 2.2.1 QSAR models for (meth)acrylates from literature

編號	化合物 ^a	n _{AM} /n ^b	模式	r ²	Q ²	s	F	物種	文獻
1	AM	13/18	$\log(\text{LC}_{50}^{-1}) = 28.6 A_R + 81.3 B_{\alpha-R} + 0.359 \log k_{\text{OW}} - 89.1$	0.78	0.43	0.574	16.5	鱒魚	[4]
2-1	AM	11/15	$\log \text{LC}_{50} = -0.30 \log k_{\text{OW}} - 0.67 k_{\text{GSH}} + 2.67$	0.82				鱒魚	[24]
2-2	M	5/5	$\log \text{LC}_{50} = -1.25 \log k_{\text{OW}} + 5.25$	0.86					
2-3	AM	6/10	$\log \text{LC}_{50} = -0.68 k_{\text{GSH}} + 2.45$						
3	AM	14/41	$\log (\text{EC}_{50}^{-1}) = 0.936 \log (\text{RC}_{50}^{-1}) + 0.508$	0.846	0.832	0.35	214	纖毛蟲	[25]
4	AM	6/26	$\log \text{EC}_{50} = -0.673 \log k_{\text{GSH}} - 2.88$	0.91	0.89	0.30	257	纖毛蟲	[38]
5-1	AM	8/8	$\log \text{LC}_{50} = 8.39 + 12.2 E_{\text{LUMO}}$	0.713		0.509	14.9	肝細胞	[19]
5-2	A	5/5	$\log \text{LC}_{50} = 76.8 - 461 C_{\beta}$	0.895		0.305	25.6		
5-3	A	5/5	$\log \text{LC}_{50} = 240 + 9.45 C_{\alpha}$	0.939		0.234	45.8		
5-4	AM	8/8	$\log \text{LC}_{50} = 4.00 + 1.83 \log k_{\text{GSH}} - 1.31 \log k_{\text{GSH}}^2$	0.92		0.167	28.6		
5-5	AM	6/6	$\log \text{LC}_{50} = 3.21 + 1.65 \log \text{RC}_{50}$	0.918		0.377	44.6		

^aA 代表甲基丙烯酸酯類，M 代表甲氧基丙烯酸酯類；^bn_{AM}/n 為資料中丙烯酸酯之個數/資料個數

單位：LC₅₀：μM（編號 1 為 M）；EC₅₀：mM（編號 4 為 M）；A_R：eV⁻¹；k_{GSH}：M⁻¹min⁻¹；RC₅₀：mM；E_{LUMO}：eV；C_α、C_β：au

2.2.5 QSAR 建立之必要條件

QSAR 為毒性評估（毒性預估）之重要工具，而建立可信且具效力之 QSAR 模式，有許多之必要條件及限制，若無適當之建立準則，則易犯下 QSAR 建立之錯誤，而影響毒性預測上之結果。本節根據 Schultz 等學者於西元 2003 發表之文獻[39]，整理建立 QSAR 建立之必要條件如下：

- (1) 可信之數據及反應終點：需有明確之反應終點，理想上，毒性數據應以單一試驗標準、同實驗室以及同一人所測得。
- (2) 資料集之多樣性：所選得之化合物結構與影響潛力應具多樣性，以此為基準建立之模式，應用於更多數據依然具有效力。而分子複雜度高，往往會出現 Outlier（離群值），此值之去除需要完善之理由：如分子特性不適用於試驗方法（如高揮發性物質於基於名義濃度之靜水試驗），或因不同之作用機制等。藉由 Outlier 可幫助確立模式可應用之範圍，對 QSAR 建立上有實質之幫助。
- (3) 參數（Descriptors）：須為高品質且具再現性，以可解釋 QSAR 作用機制之參數為上選，且應符合 QSAR 建立之目的及統計方法之限制。避免參數之間之共線性（Colinearity），模式中參數之間具高度相關時，會出現估計值不穩定，或是迴歸係數與相關係數正負符號不同等問題，因此參數間之相關性越低越好，觀測值與參數之比至少為五以上（5:1），比值越高對 QSAR 之建立越好。
- (4) 適當之預測：化合物應符合 QSAR 模式適用之對象，及化合物之參數應落於模式適用之參數範圍之中。

2.3 藻類毒性試驗

2.3.1 月芽藻之介紹

本實驗中所使用之月芽藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)，為一種單細胞、成群體但不糾結、不能移動之綠藻 (Chlorophyceae)，一般細胞體積為 $40\sim 60\ \mu\text{m}^3$ ，如Figure 2.3.1所示[40]。

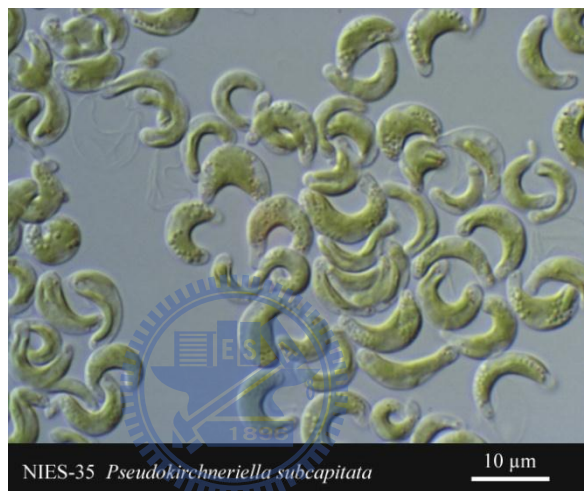


Figure 2.3.1 *Pseudokirchneriella subcapitata*[40]

典型的月芽藻體積約為 $45\ \mu\text{m}^3$ 、重量 $10\sim 20\ \text{pg/cell}$ ，為淡水單細胞藻類，因體型呈半月型，故稱月芽藻，其優點有：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藻種需具備之特點，並較大部分生物試驗敏感[41]。此外，當培養過程中缺少營養鹽或溫度、光線、pH、有毒物質侵害、細菌滋生等環境條件不佳時，母槽會逐漸呈現明顯之黃綠色，故由外觀上可容易判斷母槽之生長情形。除了外觀上的判斷，利用顆粒計數器觀察其粒徑之分佈變化，若發現顆粒數變少、大粒徑藻類分佈變多時，則可判斷此藻種之健康度不佳。

2.3.2 藻類生長測定方法

一般藻類生長情況之參數有下列幾種：細胞密度、細胞總體積、乾重、葉綠素、活體內螢光值、營養基濁度、產氧量、碳源攝取量、ATP 及DNA 等參數。理想的測定方法應具備以下條件：迅速、精確、高敏感度、低偵測極限、低成本，適合這些條件之方法有下列幾種：顯微鏡計數法、電子顆粒計數法、直接乾重量測法、光學顆粒計數法、分光光度計測葉綠素A法、螢光光度計測葉綠素A法、DNA測定法、ATP測定法、¹⁴C輻射標定法及溶氧測定法[42]等。

藻類毒性試驗之標準方法：United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA)[43]、Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)[44]、International Organization for Standardization (ISO)[45]、American Society for Testing and Materials (ASTM)[46]、American Public Health Association (APHA)[47] 皆於試驗終點時，測量藻類的生物質量。量測生物質量最直接的方法為量測生物之乾重，但耗時較久，因此利用電子顆粒計數器之間接量測生物質量的方法，其操作簡單、快速、所需藻液量少，且與生物乾重之間有良好的相關性。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，優點為低成本、試驗時間短。Hostetter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24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[48]。

2.3.3 藻類毒性試驗方法


根據培養方式的不同，藻類毒性試驗分為批次式和連續式。現有之藻類標準毒性試驗方法，大都屬於批次式，如U.S. EPA所用之"Fresh water algae acutetoxicity test"[43]、OECD所用之"Algal growth inhibition test guideline"[44]、ISO所用之"Water quality-algal growth inhibition test"[45]、APHA所用之 "Toxicity testing

with phyto-plankton"[47]及ASTM所用之"Standard guide for conducting static 96-h toxicity tests with microalgae"[46]等。

(1) 批次式：

批次式藻類毒性試驗為藻類暴露於毒性物質一段時間，再測其試驗終點，並與無暴露之控制組比較。實驗過程中沒有新鮮基質加入、藻類代謝物之移出，實驗期間藻經歷完整的成長週期，遲滯期（Lag phase）、指數生長期（Exponential phase）、穩定期（Stationary phase）及死亡期（Death phase）。標準試驗方法可採用U.S. EPA[43]所制定之“Fresh algal acute toxicity test”。

批次式藻類毒性試驗具有技術簡便、成本低、樣品處理量大、實驗數據取得容易等優點，因此經常被採用，但仍然存在許多缺點：

- 
- (a) 批次式系統中，為確保藻類生長，大多使用高於自然水體甚多的營養鹽濃度，如此將會影響藻類對毒性物質的容忍度，亦會造成pH的改變，也無法反應自然水體之真實狀況[49]。
 - (b) 批次式培養因無新鮮基質的加入，導致營養鹽濃度隨時間拉長而消耗，使實驗後期逐漸產生營養鹽缺乏之情形，且代謝物累積無法移出，亦會對後續毒性試驗產生影響。
 - (c) 以批次式培養進行毒性試驗，於同實驗室的試驗結果有20%~32%之變化；且在不同實驗室中EC₅₀甚至會有更大的變動，顯示批次式實驗結果的差異性大[50]。

(2) 連續式配合批次式試驗：

連續供應新鮮營養鹽至反應槽中，並持續將槽中之新陳代謝物排出，故藻類能保持在最佳之生長狀態。因為低濃度的營養鹽不斷注入系統中，所加入之營養鹽與藻類生長產生動力平衡，故此系統也較接近自然水體。但由於連續式藻類毒性試驗系統欲達平衡時，需要一段相當的時間，且每進行完實驗即需重新培養，相當耗費人力、物質及時間，所以目前尚未有標準之試驗方法。

由於批次式及連續式藻類毒性試驗都各有缺點，因此以Chemostat系統為基礎，使用連續式培養、批次式實驗，為兼具實用性、敏感性及簡便性之藻類毒性試驗。利用四公升的連續式母槽培養藻類，在培養過程中不斷有低濃度之新鮮基質流入，藻類之代謝物亦可流出，如此就更接近自然水體環境，且使母槽內之藻細胞更為健康。待系統達到穩定後，即可由母槽中取出藻液進行批次式毒性試驗，而不會污染到母槽，並將毒性試驗時間縮短為48小時，大大增加試驗的頻率，改善批次式培養中藻類代謝物之累積[51]；對於再現性的研究，發現以溶氧及生長速率為終點參數之下，兩組不同試驗之變異係數接近10%，改善了過去批次式實驗再現性不佳之缺點[52]。

利用連續式藻類培養方法，配合48小時的批次式BOD瓶藻類毒性試驗，將藻類、營養基質和試驗毒物加入300 mL之BOD瓶，蓋子密封（水封）做密閉式毒性試驗，讓藻類與毒性物質接觸48小時後，由觀測終點量測實驗組與控制組(不加毒物)的抑制情形並相比較。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，屬於批次式毒性試驗，操作更加簡單，時間與成本之耗費也大幅減少，且可處理較大量之樣品數、實驗數據易取得容易，故相對提高實驗之再現性[8]。因此本研究採用”連續式培養藻類配合批次式毒性試驗”之試驗方式。

2.3.4 試驗中之重要參數

(1) pH之控制

自然界中因為光合作用的關係，使一天中之pH變化很大，因此有人主張pH可以不需要控制，讓藻類在合理的pH值範圍內暴露於毒性物質。然而如此很難進行重複性試驗，且用來預測於特定pH下對物種之影響亦有困難。因此標準藻類毒性試驗皆傾向將pH維持固定。

以毒理學之觀念，pH若變化一個單位，可能導致毒性改變10倍以上；pH值之控制隨不同標準方法而有差異，U.S. EPA規定最終pH需在8.5之下[43]；OECD要求pH之最大變動不要超過一個單位[44]；ISO則要求pH之變動在1.5個單位之內[45]。若決定試驗在固定pH下進行時，則必須確保pH值之變化為最少。欲減少pH值改變之方法有：使用較低之生物接種量、縮短試驗時間，及以空氣或添加二氧化碳之空氣加以曝氣。

雖然各國際環境組織對pH變化皆有其控制範圍，但在密閉式藻類毒性試驗中，並未刻意對系統中之pH加以限制，水中溶解性金屬對藻類之抑制率若高於20%時，系統中pH之變化大部份在1.5個單位以下[52]，因此本研究依據藻類最適生長之pH值，將初始值控制為7.5，並不刻意限制系統中之pH變化。

(2) 光照強度

光照強度會影響藻類行光合作用之速率，因而造成產氧率之不同[50]。藻類毒性試驗中，光照強度依不同之試驗標準及藻種而有些許差異。且需考慮「自身遮蔽」效應（Self-shading），此效應會造成距光源較遠處與較近處光照強度之差異，良好的混合可以減低自身之遮蔽效應。光照強度應為一常數，並能使藻類呈現指數生長、縮小培養體積及維持充分之混合，而有助於達到理想狀態。

(3) 溫度

當溫度逐漸增加時，藻類會呈現指數生長，而當達到其最適生長溫度後即迅

速下降。本研究採用U.S. EPA建議之溫度（24 °C）來培養藻類及進行實驗，整個培養及試驗過程中，溫度之變化不可大於2 °C。

(4) 植種數量與時間

若實驗開始之植種數量過高，將會造成批次式實驗後期藻類細胞大量增加，造成代謝物累積及水中碳源耗盡，而導致pH升高等問題，進而影響毒性試驗結果。生物毒性試驗隨著時間增加，其敏感度提高而變異係數減少；隨著初始植種密度減少，其敏感度提高但變異係數亦提高[9]。改變初始生物量進行批次式毒性試驗，提高實驗初始生物量時，EC₅₀值也顯著提升[53]。在兼顧兩者之考量下，選定最佳藻類初始植種密度為 1.5×10^4 cells/ml。

試驗時間之長短關係著毒性試驗之敏感性與數據結果。試驗時間過長，會使得BOD瓶內營養鹽不足，而有藻類死亡之現象，亦會使得毒性之反應消失。一般標準藻類毒性試驗為96小時，但有鑑於前述之缺點，因此本研究所選定的時間縮短為48小時。

(5) 試驗基質

本研究所使用之營養基質根據U.S. EPA之規範，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，試驗期間會添加螯合劑使其生長穩定，但未受污染之水體中螯合物濃度不超過30 µg/L[54]，且毒性試驗過程中添加螯合劑會與常見二價金屬（Cu²⁺、Cd²⁺、Ni²⁺、Pb²⁺、Zn²⁺等）形成親水性錯合物，其對微生物的毒性比游離態之金屬來低，進而影響毒性試驗結果[55]，因此本研究於試驗時不加螯合劑。密閉式藻類毒性試驗中，將提供藻類生長所需碳源（NaHCO₃）由15 mg/L增為300 mg/L，會降低酚的毒性試驗敏感度[8]。因此將本實驗所需碳源（NaHCO₃）定為15 mg/L。

第三章 基本原理

3.1 基本生長動力學

批次式藻類培養中，單細胞藻類的生長通常依循簡單的一階動力學：

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (3.1)$$

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

在連續式藻類培養中，當系統達到平衡（Steady State）時：

- 由反應槽中生物質量之平衡可得下列式子：

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - DX = (\mu - D)X \quad (3.2)$$

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

$$\frac{dX}{dt} = 0 \quad (3.3)$$

由式(3.3)代入式(3.2)，得

$$\mu = D \quad (3.4)$$

得知當反應槽達到平衡穩定狀態時，反應槽內生物之比生長率等於該系統之稀釋率。

● 由反應槽內之基質平衡可得下式：

$$\frac{dS}{dt} = DS_0 - DS - \mu \left(\frac{X}{Y} \right) \quad (3.5)$$

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

當系統達平衡時，

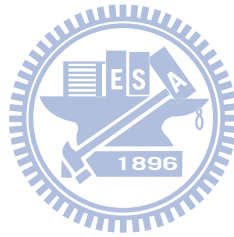
$$\frac{dS}{dt} = 0 \quad (3.6)$$

由式(3.4)及式(3.6)代入式(3.5)，得

$$X = Y (S_0 - S) \quad (3.7)$$

以式(3.4)代入 Monod equation

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{(K_S + S)} \quad (3.7)$$



得

$$S = \frac{K_S D}{(\mu_{\max} - D)} \quad (3.8)$$

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

最後由式(3.6)及式(3.8)得

$$X = Y \left[\frac{S_0 - K_S D}{(\mu_{\max} - D)} \right] \quad (3.9)$$

由此式可知當反應槽達平衡穩定狀態時，生物量可由稀釋率及進流基質濃度來控制。

3.2 毒性物質之濃度反應關係模式

當試驗物種受到毒性物質之抑制，造成 50% 抑制之毒物濃度稱為 EC_{50} (50% Effect Concentration)。而試驗物種受抑制之百分率，隨著毒性物質濃度成 S 型濃度反應關係曲線，利用數學轉換模式將 S 型曲線轉為直線，方便求得 EC_{50} 或 EC_{10} ，便稱為濃度反應關係模式。

Probit 為一般常見的模式之一，其假設生物對毒性物質容忍度成對數常態分布 (Log-normal distribution)。因此以常態分佈函數來表示毒物對生物抑制率 P 對毒物濃度 Z 的濃度反應曲線。以 Probit 模式將毒物之 S 型濃度反應曲線轉換成 NED 尺度 (Normal Equivalent Deviation)，其中 50% 抑制率對應至 NED 上時為 0，而 84.1% 則對應為 1，NED 的座標值加上 5 即為 Probit 座標之概率單位 Y 值 ($Y = NED + 5$)，當 $Y=5$ 時表示一半的測試生物受到毒性物質抑制，此時對應的毒物濃度就是 EC_{50} 。Probit 單位與反應率與毒性物質劑量間之轉換關係如下：

$$Y = A + B \log Z \quad (3.10)$$

$$P = 0.5 \left[1 + \operatorname{erf} \left(\frac{Y - 5}{\sqrt{2}} \right) \right] \quad (3.11)$$

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

第四章 材料與方法

4.1 實驗設備與材料

1. 恆溫室：大小約為5坪，溫度控制在 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ，藻類培養、毒性試驗與48小時後的分析，皆於此進行。
2. 無菌操作臺：內設有紫外光殺菌，防止植種過程中受到污染。
3. 純水設備：包括四道濾心過濾($0.5 \mu\text{m}$)、離子交換、蒸餾(Aquatron A4S, Bibby)，蒸餾水儲水桶(60 L container, Nalgene)；去離子水製造機(Milli-Q Plus, Millipore, outflow conductivity $18.2 \text{ M}\Omega\text{-cm}$)，水質之電阻值控制在 $18.2 \text{ Mega-ohm (M}\Omega\text{-cm)}$ 。
4. 抽氣泵浦：SINKU KIKO公司，型號ULVACG-5及G-50。用於過濾營養基質及 ISOTON II之用。
5. 電子顆粒計數器：量測藻類細胞數。使用CoulterElectronincs公司之Coulter Counter，型號MULTISIZER II，並以 $5.06 \mu\text{m}$ 標準顆粒乳液來校正。本實驗使用 $100\mu\text{m}$ 孔徑之玻璃管，量測之顆粒直徑範圍為 $2\sim 60 \mu\text{m}$ 。
6. 光度測定計：使用TOPCON廠牌，型號IM-2D，單位為Lux。
7. pH測定儀：購自Suntex，型號為Model SP-2200。其精確度為 ± 0.01 。
8. 冰箱：使用Whirpool之冰箱，將藻種及營養鹽於 4°C 之下保存。
9. 滅菌釜：HIRAYAMA公司，型號HA-300M之滅菌釜，最大壓力可達 1.9 kg/cm^2 ，容積為 0.0521 m^3 。使用時設定溫度 121°C 、壓力 1.1 kg/cm^2 滅菌15分鐘。
10. 烘箱：廠牌為Memmet，烘乾玻璃器皿用。使用溫度設為 $52 \pm 1^\circ\text{C}$ 。
11. 分析天秤：廠牌Precisa 205A，精確度至 0.01 mg 。
12. 定量吸管：使用SOCOREX之可調式移液器，容量為 $100\sim 1000 \mu\text{l}$ 及 $0.1\sim 5 \text{ ml}$ 兩種。以及NICHIRO，Nichipet EX， $20\sim 200 \mu\text{L}$ 、 $10\sim 100 \mu\text{L}$ 以及 $2\sim 20 \mu\text{L}$ 等3種。

13. 濾膜：廠牌Advantec Toyo Kaisha，過濾營養基質使用型號A045G047A（孔徑0.45 μm ）、過濾Isoton II時使用型號A020G047A（孔徑0.2 μm ）之濾膜。

● **批次式培養藻類**

14. 批次式培養裝置：培養裝置為自行裝配，長、寬、高為135×110×135 cm，頂面裝有120 cm 長之白色螢光燈管8支。迴轉式振盪儀(EIRSTEK, model: S103)，搖動速度可大於100 rpm。
15. 批次式培養器皿：批次式培養藻時所使用之容器為125 mL之三角錐瓶。
16. 紗布：藻類培養時，使用消毒紗布覆蓋在三角錐瓶瓶口，防止異物進入。

● **連續式培養藻類**

17. 連續式培養母槽：體積5公升、直徑18 cm之玻璃容器。於體積4公升處開口做為溢流口，並且於體積2公升處開口做為取樣之用。母槽上方亦有兩開口，分別為營養基質流入口及空氣進流口。
18. 基質儲存瓶：容量約為5公升，直徑為25公分大小的血清瓶。用來存放培養母槽之連續入流基質；使用前需以蒸餾水清洗及已滅菌釜滅菌。
19. 蠕動泵浦：EYELA公司，型號MP-1000，用以控制供應母槽之流量。
20. 泵浦管：廠牌Materflex，型號H-96400-14。輸送管為矽膠材質，不具毒性，可避免影響母槽之培養及毒性試驗之結果。
21. 曝氣泵浦：使用之曝氣泵浦為一般水族使用之曝氣幫浦。
22. 浮子流量計：量測曝氣流量，本實驗將曝器量控制在400 mL/min。
23. 空氣洗滌器：去除曝氣氣體中的雜質，並濕潤氣體，增加氣體之溶解。
24. 電磁攪拌器：放置於連續式培養母槽之下方，使藻液與進流之營養基質、空氣混合均勻，避免藻類之沉澱。

● **BOD瓶毒性試驗**

25. BOD瓶：為毒性試驗時使用之玻璃器皿。使用體積300 mL，直徑8 cm，上頭

開口處有玻璃瓶塞，使其可以利用水封之形式，避免外界氣體、物質等進入，而減少干擾，使整個系統為一個封閉式系統。

26. 溶氧測定儀：美國YSI公司出品之微電腦溶氧測定儀，Model YSI5100，附有溶氧測定探頭（BOD probe），其探頭部分裝有電動攪拌器，可以對樣品進行攪拌。溶氧量測定範圍為0.0~60.0 mg/L，精確度為± 0.1%。
27. 氣體鋼瓶：購於洽隆，含0.5% CO₂、99.5% N₂之高壓氣體鋼瓶，氣體體積為6 m³。用於降低營養基質中之溶氧值，並確保能提供足夠之碳源。
28. 曝氣桶：使用體積10公升之純水桶。開口處嵌入一矽膠塞，一頭接氣體鋼瓶，一頭接沸石並伸入桶底部曝氣，於桶開口處附近開一小洞以平衡壓力，曝氣完成後關緊桶蓋以減少外界空氣之進入。
29. 試驗毒物：六種丙烯酸酯類及九種甲基丙烯酸酯類，其中文名稱、廠牌、純度及供應商等資訊如 Table 4.1.1 所示。
30. 總有機碳分析儀（TOC）：購自台灣耶拿公司，型號 Multi N/C 3100，用以定量配置好之毒物儲備液濃度。



● **化學物與還原態GSH之反應性試驗**

31. 藥品：反應性試驗所需藥品之資訊及用途如 Table 4.1.2 所示。
32. 樣品瓶：為反應性試驗時使用之玻璃瓶，容積 20 mL。
33. 分光光度計：廠牌 HITACHI、型號 U3010 之紫外—可見光分光光譜儀。

Table 4.1.1 Supplier, purity, and manufacturer of toxicants in this study

試驗毒物	中文名稱	廠牌	純度	供應商
Methyl acrylate	丙烯酸甲酯	Aldrich	99%	友和
Ethyl acrylate	丙烯酸乙酯	Aldrich	99%	友和
Propargyl acrylate	丙烯酸丙炔酯	Aldrich	98%	友和
Isobutyl acrylate	丙烯酸異丁酯	Fluka	99+%	友和
Hexyl acrylate	丙烯酸己酯	Aldrich	98%	友和
2-Hydroxyethyl acrylate	丙烯酸羥乙酯	Acros	97%	景明
Methyl methacrylate	甲基丙烯酸甲酯	Aldrich	99%	友和
Ethyl methacrylate	甲基丙烯酸乙酯	TCI	99%	景明
Vinyl methacrylate	甲基丙烯酸乙烯酯	Alfa aesar	98%	友和
Allyl methacrylate	甲基丙烯酸烯丙酯	Merck	98%	默克
Butyl methacrylate	甲基丙烯酸丁酯	TCI	99%	景明
Isobutyl methacrylate	甲基丙烯酸異丁酯	TCI	98%	景明
2-Ethoxyethyl methacrylate	甲基丙烯酸乙氧乙酯	Merck	99%	默克
Tetrahydrofurfuryl methacrylate	甲基丙烯酸四氫呋喃酯	Alfa aesar	97%	景明
Benzyl methacrylate	甲基丙烯酸苯基酯	TCI	98%	景明

Table 4.1.2 Chemicals for reactivity test (information and usage)

英文名稱	中文名稱	CAS	廠牌	純度	供應商	用途
Glutathione, reduced (GSH)	還原態穀胱甘肽	70-18-8	Aldrich	98%	友和	親核試劑
5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB)	5,5'-二硫代(2-硝基苯甲酸)	69-78-3	Aldrich	99%	友和	指示劑
Anhydrous di-sodium hydrogen phosphate	無水磷酸氫二鈉	7558-79-4	J.T.Baker	>99%	友和	緩衝溶液
Potassium phosphate, monobasic	磷酸二氫鉀	7778-77-0	J.T.Baker	>99%	友和	緩衝溶液
EDTA, disodium salt	乙二胺三醋酸鈉鹽	6381-92-6	J.T.Baker	>99%	友和	抗氧化劑

4.2 實驗方法

4.2.1 藻類毒性試驗

(1) 試驗藻種：

本實驗所選用的藻種為月芽藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)，為廣用於藻類毒性試驗之物種，如：US EPA、ISO、OECD及APHA等單位皆以此物種做為毒性試驗物種之一。實驗藻種於購自University of Texas, Austin (UTEX)，藻種保存於4 °C之冰箱。

(2) 培養基：

本研究採用U.S. EPA “The *Selenastrum capricornutum* printz algal assay bottle test: Experimental design, application, and data interpretation protocol. EPA-600/9-78-018.”所使用的營養鹽組成，再以此為基礎，對其組成加以修改而用於連續式母槽與藻類毒性試驗中。U.S. EPA營養鹽的配製方法如下：將下列(a)~(g)的貯備液 (stock solution) 各加1 mL至900 mL的去離子水中，再定量至1L。接著以0.1 N當量濃度之NaOH及HCl將營養鹽之pH值調至 7.50 ± 0.10 ，並立即以孔徑為0.45 μm 的濾膜過濾。

以下為營養鹽之配置：

- (a) 硝酸鈉貯備液：溶解12.750 g NaNO_3 於500 mL去離子水。
- (b) 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。
- (c) 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。
- (d) 微營養鹽貯備液：溶解下列所有藥品於500 mL 去離子水。

92.760 mg	H ₃ BO ₃	0.714 mg	CoCl ₂ · 6H ₂ O
207.690 mg	MnCl ₂ · 4H ₂ O	3.630 mg	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O
1.635 mg	ZnCl ₂	0.006 mg	CuCl ₂ · 2H ₂ O
79.880 mg	FeCl ₃ · 6H ₂ O	150 mg	Na ₂ EDTA · 2H ₂ O

- (e) 硫酸鎂貯備液：溶解7.350 g MgSO₄ · 7H₂O於500 mL去離子水中。
- (f) 磷酸氫二鉀貯備液：溶解0.522 g K₂HPO₄於500 mL去離子水中。
- (g) 碳酸氫鈉貯備液：溶解7.5 g NaHCO₃於500 ml去離子水中。

微營養鹽貯備液中，EDTA分別有100%、10%及0%三種。100%使用於活化藻類時，連續式母槽中培養藻類時使用10%，進行實驗時則使用不含EDTA之貯備液。最後配成的營養鹽其巨量及微量營養素濃度列於Table 4.2.1及Table 4.2.2。營養鹽以孔徑0.45 μm之濾膜過濾滅菌，並保存於4 °C之下，以免產生光化學反應。



(3) 連續式培養藻類之控制條件：

- (a) 溫度：控制溫度在24 ± 1 °C。
- (b) 光度：利用白冷光從系統的一方平行連續照射，使培養槽及試驗瓶中間段之光度在4300 ± 10% Lux (64.5 ± 10 μEm⁻² s⁻¹)。
- (c) 曝氣：以 400 mL/min之空氣流速曝氣培養母槽。
- (d) 溢流率：母槽溢流率控制在1140~1260 mL/day (稀釋率為0.3 /day)。

以上各個參數皆要每天量測，來確保實驗的穩定度。

Table 4.2.1 The consist of macro-algal medium

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

Table 4.2.2 The consist of micro-algal medium

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

(4) 玻璃器皿之清洗：

以不含磷之清潔劑清洗後再用自來水沖洗數次，再泡至10%鹽酸溶液至少1小時，最後再以自來水沖洗約5、6次、蒸餾水清洗3、4次後置於烘箱中烘乾（溫度保持於 52 ± 1 °C）。使用前以鋁箔紙封住開口，置於壓力 1.1 kg/cm^2 、溫度 121 °C條件下之滅菌釜中滅菌15分鐘。

(5) ISOTON II 溶液的配製：

加1 g NaCl於100 mL之超純水中完全混合，並以孔徑 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 濾紙過濾即得Isoton II溶液。作為電子顆粒計數器之導電溶液。

(6) 電子顆粒計數法及操作原理：

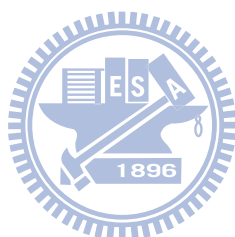
計數器內有一根玻璃管，操作中需浸入含有Isoton II稀釋樣品之燒杯中。玻璃管近底端之側面鑲有紅寶石的精準小圓孔，藉以吸取水樣。玻璃管內外各有一電極片通以直流電，水樣之顆粒經過圓孔時，會暫時性地干擾電流，形成某特定量的電阻。而電阻量化透過示波器的波峰顯示，其高度正比於顆粒的大小，且脈衝數即是顆粒的數目，直接由電子計數器記錄顯示。電子顆粒計數器主要條件設定如Table 4.2.3。本實驗採用孔徑 $50\text{ }\mu\text{m}$ 之毛細玻璃管，量測粒徑上限為 $2.622\text{ }\mu\text{m}$ 至 $60\text{ }\mu\text{m}$ 。量測時，取1 mL藻液以Isoton II定量至50 mL，將之倒入燒杯，置於顆粒計數器內量測。以顯示之讀數值扣除空白顆粒數之數值（Isoton II之背景值）。

$$\text{藻液顆粒數 (cells/mL)} = (\text{扣除空白值後之三次讀值平均值} / 0.5\text{ mL}) \times 50 \quad (4.1)$$

Table 4.2.3 The conditions of Coulter counter

項目	數值
滿刻度電流量 (Full scale)	10 mA
極性 (Polarity)	+
電流 (Currents, I)	100
粒度下限 (Diameter Lower Threshold, Tl)	2.177 μm
粒度上限 (Diameter Lower Threshold, Tu)	6.975 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

(7) 實驗步驟：



(a) 藻類培養：

將欲移植的藻類由4 °C冰箱中取出，進行批次式培養數天，以活化藻細胞，使其達到對數生長期。接著依比例再將達對數生長期的藻液和培養基植入4 L之連續式培養槽中。

將連續式培養槽培養於 24 ± 1 °C之恆溫室中，槽底放置磁石攪拌器，使藻液均勻混合、避免藻類沉澱及少量供應CO₂，另外曝氣裝置有供應CO₂及均勻混合之作用。連續式白冷光從培養槽一邊照射，讓培養槽中段之光照強度介於 $4300 \pm 10\%$ Lux之間。

培養槽的藻數達到相當數量，即以蠕動泵浦進流營養基質。由於培養槽體積固定（母槽設有溢流口），故可直接由流量控制所需之稀釋率（約為0.3 /d），亦即控制培養槽內藻類之生長率。每日更換進流基質，並量測槽中細

胞數量、溢流率、觀察粒徑分析儀中藻類細胞之分佈情形及細胞平均體積 (Mean cell volume, MCV)，以判定連續式培養槽是否達到穩定狀態。以連續3天之細胞數量為 $1.9 \times 10^6 \sim 2.2 \times 10^6$ cells/mL、MCV為 $39 \sim 46 \mu\text{m}^3$ 的範圍，且分析儀中藻細胞分佈為常態分佈，即認定系統達到穩定狀態。

(b) 稀釋水配置：

毒性試驗的營養鹽參考U.S. EPA建議配製，適當地修正濃度作為本試驗的營養鹽；以含0.5% CO₂的N₂氣體(流量為600 mL/min)對營養鹽進行曝氣，降低水中的溶氧值並提高CO₂含量，再以0.1 N的NaOH及HCl調整營養鹽之pH至 7.5 ± 0.1 ，即完成稀釋水之配製。

(c) 毒物添加：

從達穩態 (Steady state) 之培養母槽取出藻液，計算各BOD瓶所需加的藻液量，使各瓶初始細胞密度皆為 1.5×10^4 cells/ml，將藻液及稀釋水加入BOD瓶，再加入毒物，一組實驗做七個濃度、三重複 (含一組控制組及七組處理組)，量測初始溶氧值 (Initial DO)。

(d) 實驗終點：

經過48小時毒性物質曝露後，量測含不同毒物濃度之BOD瓶的溶氧值 (Final DO)，扣除起始溶氧值得淨溶氧值 (ΔDO)，並以顆粒計數器測量瓶中細胞密度及初始細胞密度 1.5×10^4 cells/ml，求得藻類生長率，DO、FY (Final Yield) 及GR (Growth Rate) 之抑制率IR (Inhibition Rate) 算法如式(4.2)~(4.4)所示： ΔDO_t 、 ΔDO_c 分別為處理組與控制組之淨溶氧值； N_t 及 N_c 為處理組與控制組之48小時後之藻類細胞密度。經由Probit模式分析，求出毒

性物質之 EC_{50} 值與濃度－反應關係曲線。

$$IR_{DO} = 1 - \frac{\Delta DO_t}{\Delta DO_c} \quad (4.2)$$

$$IR_{FY} = 1 - \frac{N_t - 15000}{N_c - 15000} \quad (4.3)$$

$$IR_{GR} = 1 - \frac{\ln N_t - \ln 15000}{\ln N_c - \ln 15000} \quad (4.4)$$

(e) 試驗濃度：

第一次實驗先進行範圍尋找試驗 (Range finding test)，取 5 或 10 倍數之濃度，找出毒性作用的主要範圍濃度，當範圍確定後，則以 1.5 或 2 為倍數取得適當濃度，進行確定試驗 (Definite test)。



4.2.2 化學反應性試驗

丙烯酸酯 (親電試劑) 與還原態 GSH (親核試劑) 行共價鍵結反應，此反應程度可簡單且快速地以分光光度計測得：以 DTNB (指示劑) 與自由硫醇基 (未被親電試劑反應的部分) 反應，並於波長 412 nm 下定量，由濃度－反應關係可得半反應濃度 (RC_{50} , 50% Reactivity Concentration) [56]，利用此試驗亦可求得化學物與 GSH 之反應常數 k_{GSH} [38,57]。

求得 RC_{50} 與 k_{GSH} 之方法分別參考 Schultz 等學者[56]、Freidig 等學者[57]發表之方法建立而得，方法描述如下：

(1) 藥品配置：

- (a) 緩衝溶液：配置 9.38 g/L 之磷酸二氫鉀與 9.98 g/L 之磷酸氫二鈉之混合液，並調 pH 至 7.4，配置好之緩衝溶液存放於室溫下。
- (b) GSH 儲備液：溶 0.042 g 之還原態 GSH 於 100 mL 緩衝溶液中，濃度為 1.375 mM，於每日實驗進行前現配，於 k_{GSH} 實驗中額外添加抗氧化劑 EDTA 二鈉鹽，抗氧化劑濃度為 50 μM 。
- (c) 指示劑 DTNB：溶 1.98 g 之 DTNB 於 100 mL 緩衝溶液中，並以 NaOH 調 pH 至 7.4，顏色呈現深橘色，存放於 4 °C，使用前須先取出退至室溫。

(2) RC_{50} 實驗：

- (a) 將計算好加藥量之親電試劑、1 mL 之 GSH 儲備液（GSH 最終濃度為 0.1375 mM）分別加入定量瓶中定量至 10 mL，蓋上蓋子混合均勻後，倒入容積為 20 mL 之樣品瓶中存放，並開始計時（室溫下進行）。每組實驗取五或六個濃度、加上一控制組（只有緩衝液與 GSH）及空白（只有緩衝液），每組試驗進行二重複。
- (b) 計時 2 小時後，加入 0.2 mL 之 DTNB 指示劑，溫和混合溶液，並於波長 412 nm 下測其吸光值（顏色越深代表自由硫醇基濃度越高，顏色深淺：控制組 > 低濃度親電試劑 > 高濃度親電試劑 > 空白值）。
- (c) 各濃度親電試劑所測得之吸光值以控制組為基準計算 GSH 衰減率，經由 Probit 模式分析，可得濃度－反應關係曲線及 RC_{50} 。

(3) k_{GSH} 實驗（添加抗氧化劑、反應時間及溫度參考[57]）：

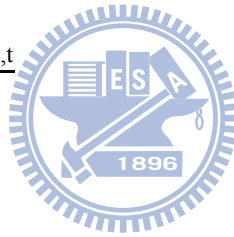
- (a) 將計算好加藥量之親電試劑（最終濃度需 > 0.1375 mM）、1 mL 之 GSH

儲備液(GSH 最終濃度為 0.1375 mM)分別加入定量瓶中定量至 10 mL，蓋上蓋子混合均勻後，倒入容積為 20 mL 之樣品瓶中存放(於 20 °C 下進行)，並開始計時。每組試驗需二重複，並建立 GSH 之檢量線。

- (b) 丙烯酸酯類及甲基丙烯酸酯類之分別計時 1 及 24 小時後，加入 0.2 mL 之 DTNB 指示劑，溫和混合溶液，並於波長 412 nm 下測其吸光值。
- (c) 吸光值以 GSH 檢量線 ($r^2 > 0.995$) 轉換成 GSH 之濃度，代入式(4.5)及式(4.6): $C_{\text{GSH},0}$ 、 $C_{\text{GSH},t}$ 分別為 GSH 於 0 及 t 分鐘後之濃度，單位皆為 M，由每單位時間 GSH 濃度之減少得擬一階常數 $k_{\text{GSH,obs}}$ ，此擬一階常數除以初始親電試劑之濃度(過量親電試劑，單位為 M)，得親電試劑與 GSH 之反應速率常數 k_{GSH} ($\text{M}^{-1}\text{min}^{-1}$)。

$$k_{\text{GSH,obs}} = \frac{\ln C_{\text{GSH},0} - \ln C_{\text{GSH},t}}{t} \quad (4.5)$$

$$k_{\text{GSH}} = \frac{k_{\text{GSH,obs}}}{C_{\text{E1},0}} \quad (4.6)$$



4.2.3 實驗數據之處理

- (1) 實驗濃度：實驗進行前以總有機碳分析儀定量配置好之藥品，所有數據皆以此定量後之濃度討論。
- (2) 有效位數：除DO及藻類細胞數保留原始位數外，其餘數據皆取三個有效位數處理。
- (3) EC_{10} 、 EC_{50} 及 RC_{50} ：將毒性試驗中所測出藻類細胞數之變化量、溶氧產生量

及化學反應性試驗之GSH衰減率，與相對應之有機物濃度代入Probit模式中計算，得到濃度－反應關係曲線之斜率與截距 EC_{10} 、 EC_{50} 及 RC_{50} 。

- (4) NOEC：另一判斷毒性反應之指標－未對生物體造成明顯毒性反應之最高濃度（No Observed Effect Concentration, NOEC），代表毒性物質對受測物無影響之濃度。本研究以Dunnett's test（單尾檢定）觀察控制組與處理組間出現顯著差異之濃度而求得NOEC。
- (5) 分子參數（Descriptor）：如Table 4.2.4所示， $\log K_{OW}$ 引用自EPI suite v.4.0[14]（KOWWIN v1.67之估計值）；其餘量子化學參數以MOPAC 2009之AM1 Hamiltonian之方法計算[58]。
- (6) 統計分析：以Minitab v.15進行多重線性迴歸，以建立QSAR模式。

Table 4.2.4 Molecular descriptors used in this study

化合物	$\log k_{ow}$	$C_{\alpha}(au)$	$C_{\beta}(au)$	$E_{LUMO}(eV)$
Acrylate				
Methyl-	0.73	-0.1812	-0.145	0.177
Ethyl-	1.22	-0.1813	-0.146	0.199
Propargyl-	0.94	-0.1856	-0.152	0.266
Isobutyl-	2.13	-0.200	-0.143	0.320
Hexyl-	3.18	-0.1812	-0.146	0.204
2-Hydroxy ethyl-	-0.25	-0.1819	-0.143	0.134
Methacrylate				
Methyl-	1.28	-0.1236	-0.153	0.222
Ethyl-	1.77	-0.1237	-0.153	0.243
Vinyl-	1.63	-0.1281	-0.164	0.125
Allyl-	2.12	-0.1228	-0.153	0.216
Butyl-	2.75	-0.1236	-0.153	0.248
Isobutyl-	2.67	-0.1239	-0.153	0.244
2-Ethoxy ethyl-	1.49	-0.1273	-0.174	0.254
Tetrahydrofurfuryl-	1.80	-0.1326	-0.164	0.299
Benzyl-	2.98	-0.1306	-0.166	0.191

第五章 結果與討論

5.1 藻類毒性試驗

5.1.1 毒性結果與風險評估

本研究以六種丙烯酸酯類及九種甲基丙烯酸酯類為試驗毒物、月芽藻為測試物種，進行密閉式藻類毒性試驗，以三反應終點—DO、FY (Final Yield) 及 GR (Growth Rate)，觀察此類化合物對月芽藻之毒性影響，並探討取代基或其他分子結構對毒性之影響。

實驗求得各反應終點之 EC_{50} 如 Table 5.1.1 所示(原始數據及濃度—反應關係曲線參見附錄一)，比較三反應終點對毒性之敏感度，以 FY 之敏感度為最高、DO 則與 GR 之敏感度相當(除了 Butyl methacrylate、Isobutyl methacrylate 及 Benzyl methacrylate 之外—DO 與 FY 之敏感度相當、GR 之敏感度為最低)。

根據歐盟 (EU, European Union) 對水體生物毒性之風險分級標準 (包含藻類 FY 及 GR 反應終點 72 h 之 EC_{50}) [59]，以 FY、GR、魚類及水蚤中最小之 EC_{50} 或 LC_{50} 值，評估丙烯酸酯對環境影響之風險：如 Table 5.1.2 所示，此風險分級標準依毒性大小、 $\log k_{ow}$ 、溶解度及生物降解難易度，定義對水體生物之風險代號 (R50~R53) 及其代表意義，丙烯酸酯類之分級有 R50/R53、R50 及 R51，分別代表高毒性且對環境具長期負面影響 (Very toxic, may cause long-term adverse effects)、高毒性 (Very toxic) 及有毒 (Toxic)；甲基丙烯酸酯類之分級則有 R50、R51、R52 及此分級之外，分別代表高毒性、有毒、有害 (Harmful) 及較低風險。而風險代號中以 R50、R50/R53 及 R51/R53 為對環境具危險性，表示本研究之丙烯酸酯類中除 Methyl acrylate 與 Ethyl acrylate 之外，其餘對環境皆具危險性，甲基丙烯酸酯類則除了 Allyl methacrylate 外，其餘對環境無危險性。

Table 5.1.1 EC₅₀, 95% confidence limit, intercept(A) and slope(B) of dose-response curve based on three endpoints

反應終點 化合物	DO				FY				GR			
	EC ₅₀ ^a	95% C.I	A	B	EC ₅₀	95% C.I	A	B	EC ₅₀	95% C.I	A	B
Acrylate												
Methyl-	5.62	4.45-7.38	3.39	2.15	4.05	2.80-5.28	3.14	3.06	6.53	3.58-9.44	3.23	2.17
Ethyl-	7.13	6.16-8.28	2.96	2.39	1.81	1.49-2.14	4.64	1.40	6.02	4.68-7.86	4.03	1.24
Propargyl-	0.98	0.728-1.37	5.02	2.65	0.647	0.510-0.999	5.69	3.64	0.916	0.445-1.71	5.13	3.30
Isobutyl-	2.51	1.91-3.35	4.40	1.51	0.759	0.522-1.03	5.18	1.53	2.52	1.93-3.25	4.54	1.14
Hexyl-	0.183	0.124-0.288	5.91	1.24	0.0942	0.0580-0.140	6.07	1.05	0.582	0.399-0.896	5.19	0.790
2-Hydroxy ethyl-	2.40	1.55-4.07	4.34	1.74	0.883	0.570-1.28	5.08	1.48	2.79	1.65-4.39	4.53	1.06
Methacrylate												
Methyl-	486	422-563	0.0192	1.85	256	216-306	0.0963	2.04	521	453-604	-0.767	2.12
Ethyl-	158	133-194	-0.501	2.47	101	83.1-126	0.198	2.37	173	123-309	-1.45	2.85
Vinyl-	4.90	4.30-5.67	3.72	1.78	3.25	2.74-3.80	3.79	2.25	7.68	6.48-9.09	3.44	1.71
Allyl-	62.4	46.8-88.5	2.90	1.17	13.2	10.5-16.2	3.10	1.69	33.1	25.3-42.9	2.84	1.42
Butyl-	11.0	9.47-12.6	1.38	3.47	11.4	9.55-13.7	0.00641	4.72	16.0	10.2-21.8	0.651	3.61
Isobutyl-	23.2	19.2-27.8	-0.550	4.06	23.5	20.6-26.3	-3.88	6.48	30.9	25.0-36.4	-2.30	4.90
2-Ethoxy ethyl-	240	186-345	0.519	1.88	203	182-225	-2.60	3.30	373	351-403	-2.01	2.72
Tetrahydrofurfuryl-	230	204-263	-0.265	2.23	168	148-189	-0.785	2.60	316	282-363	-1.34	2.54
Benzyl-	3.39	1.71-4.46	2.60	4.53	3.64	2.63-4.32	2.21	4.98	5.15	4.01-6.28	2.33	3.75

^a單位：mg/L；^b95% C.I：95% Confidence limit

Table 5.1.2 Substance classification for environmental effects

化合物	FY (EC ₅₀)	GR	鱒魚 (LC ₅₀) ^a	水蚤 (EC ₅₀)	Classification ^f
Acrylate					
Methyl-	4.05	6.53	-	2.21	R51
Ethyl-	1.81	6.02	2.51	4.37	R51
Propargyl-	0.647	0.916	-	-	R50 ^g
Isobutyl-	0.759	2.52	2.08	-	R50 ^g
Hexyl-	0.0942	0.582	1.11	-	R50/R53 ^g
2-Hydroxy ethyl-	0.883	2.79	4.84	0.784	R50 ^g
Methacrylate					
Methyl-	256	521	259	69.2	R52
Ethyl-	101	173	-	-	
Vinyl-	3.25	7.68	-	-	R51
Allyl-	13.2	33.1	0.979	-	R50 ^g
Butyl-	11.4	16.0	-	31.8	R52
Isobutyl-	23.5	30.9	32.6 ^b	31.8	R52
2-Ethoxy ethyl-	203	373	27.7 ^c	-	
Tetrahydrofurfuryl-	168	316	34.7 ^d	-	
Benzyl-	3.64	5.15	4.64	-	R51

單位：mg/L；^a 文獻[4]；^b 文獻[24]；^c 文獻[3]；^d 文獻[25]；^e 文獻[26]；^f 文獻[59]，R50：very toxic to aquatic organisms，E(L)C₅₀≤1；R51：toxic to aquatic organisms，1< E(L)C₅₀≤10；R52：harmful to aquatic organisms，10< E(L)C₅₀≤100；R53：水溶性<1 mg/L、生物不易降解及 log k_{OW} ≥ 3，may cause long-term adverse effects；^gDangerous for the environment (R50、R50/R53 及 R51/R53)

5.1.2 低濃度之影響及比較

(1) NOEC 與 EC₁₀

丙烯酸酯對藻類各反應終點之 NOEC、LOEC 及 EC₁₀ 如 Table 5.1.3 所示，其

Table 5.1.3 NOEC, LOEC and EC₁₀ based on three endpoints

化合物	DO			FY			GR		
	NOEC ^a	LOEC	EC ₁₀	NOEC	LOEC	EC ₁₀	NOEC	LOEC	EC ₁₀
Acrylate									
Methyl-	1.00	2.00	1.43	1.00	2.00	1.54	2.00	4.00	1.68
Ethyl-	2.85	5.70	2.07	<0.712	0.712	0.221	<0.712	0.712	0.560
Propargyl-	0.146	0.293	0.322	0.146	0.293	0.288	0.146	0.293	0.375
Isobutyl-	0.232	0.464	0.356	<0.232	0.232	0.110	<0.232	0.232	0.188
Hexyl-	0.0103	0.0257	0.0168	0.0103	0.0257	0.00561	0.0257	0.0643	0.0136
2-Hydroxy ethyl-	0.229	0.573	0.438	0.0917	0.229	0.120	0.229	0.573	0.175
Methacrylate									
Methyl-	62.5	125	99.0	31.3	62.5	60.1	62.5	125	130
Ethyl-	37.9	75.7	48.1	18.9	37.9	28.9	37.9	75.7	61.5
Vinyl-	0.376	0.752	0.936	0.376	0.752	0.876	0.752	1.50	1.37
Allyl-	9.61	19.2	4.98	2.40	4.80	2.31	2.40	4.80	4.14
Butyl-	<7.11 ^b	7.11	4.72	<7.11	7.11	6.12	7.11	10.7	7.08
Isobutyl-	10.7	16.0	11.2	10.7	16.0	14.9	10.7	16.0	16.9
2-Ethoxy ethyl-	40	80	50.0	80.0	160.0	82.8	80.0	160	126
Tetrahydrofurfuryl-	52.5	105	61.3	52.5	105	53.9	52.5	105	98.8
Benzyl-	1.58	2.37	1.77	2.37	3.56	2.01	2.37	3.56	2.35

^aNOEC、LOEC 及 EC₁₀ 單位：mg/L；^b 該組實驗最低濃度未達 NOEC

中 NOEC 及 EC₁₀ 除了部分化合物之毒性以 DO 較為敏感外 (NOEC 部分為 2-Ethoxy ethyl methacrylate 及 Benzyl methacrylate; EC₁₀ 則為 Methyl acrylate、Butyl methacrylate、Isobutyl methacrylate、2-Ethoxy ethyl methacrylate 及 Benzyl methacrylate)，其餘皆以反應終點 FY 較為敏感，此與 EC₅₀ 之結果一致。

而將 EC₁₀ 除以 NOEC 之值比較兩者之敏感性，若比值大於 1 則以 NOEC 較為敏感，無法求得 NOEC 之部分 (表該組實驗最低濃度不夠低)，因無法計算此比值而不加入統計。反應終點 DO、FY 及 GR 中 EC₁₀/NOEC > 1 之比例分別為 86%、75% 及 69%，表示對於各反應終點來說，NOEC 之敏感度皆 EC₁₀ 較佳，故以 NOEC 於毒性評估上能提供較好之保護。

(2) 急慢毒性比 ACR (Acute to Chronic toxicity ratio)

由於慢毒性試驗所需時間、成本及人力皆較急毒性試驗來得多，且毒性化學物質於環境危害之評估上，缺乏長時間暴露之慢毒性實驗數據，因此以急慢毒性比去推估慢毒性之影響，極為重要。ACR 值之計算為急毒性除以慢毒性，本研究以藻類毒性試驗各反應終點之 EC₅₀ 為急毒性結果、NOEC 及 EC₁₀ 則作為慢毒性結果，以求得 ACR 值。

Table 5.1.4 為藻類毒性試驗各反應終點之 ACR 值，以 EC₅₀/NOEC 來計算 ACR 值，平均上為 5.37~7.64、以 EC₅₀/EC₁₀ 計算平均則為 4.81~8.14，其中 Hexyl acrylate 之 ACR 值為最高，因其濃度—反應曲線其斜率接近於 1，故使其具高 ACR 值，其餘 ACR 值大於 10 之化合物，斜率皆小於二。本研究中以不同反應終點及計算方式求得之 ACR 平均值為 6.35，而大部分實際應用上所使用之值為 10，為合理範圍之內。

Table 5.1.4 The ACR values based on three endpoints

化合物	EC ₅₀ /NOEC			EC ₅₀ /EC ₁₀		
	DO	FY	GR	DO	FY	GR
Acrylate						
Methyl-	5.62	4.05	3.27	3.94	2.62	3.89
Ethyl-	2.50	-	-	3.44	8.19	10.8
Propargyl-	6.71	4.43	6.27	3.04	2.25	2.44
Isobutyl-	10.8	-	-	7.05	6.90	13.4
Hexyl-	17.8	9.15	22.6	10.9	16.8	42.8
2-Hydroxy ethyl-	10.5	9.63	12.2	5.48	7.36	15.9
Methacrylate						
Methyl-	7.78	8.18	8.34	4.91	4.26	4.01
Ethyl-	4.17	5.34	4.57	3.28	3.49	2.81
Vinyl-	13.0	8.65	10.2	5.24	3.71	5.61
Allyl-	6.49	5.50	13.8	12.5	5.71	8.00
Butyl-	^a	-	2.25	2.33	1.86	2.26
Isobutyl-	2.18	2.20	2.90	2.07	1.58	1.83
2-Ethoxy ethyl-	6.00	2.54	4.66	4.80	2.45	2.95
Tetrahydrofurfuryl-	4.38	3.20	6.02	3.75	3.12	3.20
Benzyl-	2.15	1.54	2.17	1.92	1.81	2.20
平均	7.15	5.37	7.64	4.98	4.81	8.14

^a 因該組實驗最低濃度下無法求得 NOEC，故無法計算 ACR 值

5.1.3 與其他試驗物種之比較

以藻類毒性試驗各反應終點與不同試驗物種，比較不同物種對丙烯酸酯之毒性，如 Table 5.1.5：包含鱖魚 (*Fathead minnow, Pimephales promelas*) 96 h 之 LC₅₀ (50% Lethal Concentration) [4,24]、纖毛蟲 (*Tetrahymena pyriformis*) 40 h 之 EC₅₀ (50% Effective Concentration) [3,25,26]、老鼠肝細胞 (Rat hepatocyte) 之 LC₅₀[19] 及水蚤 (*Daphnia magna*) 48 h 之 EC₅₀[10]，毒性數值之單位為 mM，並將此值之倒數取對數 (-log(毒性值))，比較物種間敏感度及相關性 (替代物種)。

(1) 敏感度比較

Table 5.1.5 中，根據藻類及各物種之毒性（表中呈現之值越大毒性越強）進行敏感度排序，利用 Excel 以各化合物對不同物種之毒性排序取平均值，將此平均值排序而得到物種敏感度排序。根據敏感度排序（高至低）：藻類 FY > 水蚤 > 鱒魚 > 藻類 DO > 藻類 GR > 纖毛蟲 > 肝細胞，水蚤之敏感度雖居第二，但其資料數目未超過半數（僅六筆），故較不具代表性。

若以資料較齊全之物種比較，藻類之反應終點 FY 敏感度為最高、反應終點 DO、GR 則僅次於鱒魚，故以敏感度最佳之反應終點與其他試驗物種之毒性，繪製物種對此類化合物敏感度之比較圖，如 Figure 5.1.1 所示：橫、縱軸分為月芽藻與其他物種之毒性試驗結果， EC_{50} 或 LC_{50} 之單位為 mM，將此值之倒數取對數值作圖（此對數值越大表示毒性越高），並另作 45° 之對角線以方便判斷化合物對何物種較敏感，若毒性點位於對角線之上，則代表其他試驗物種對丙烯酸酯較為敏感，反之則表示月芽藻較為敏感。



Figure 5.1.1 中纖毛蟲與老鼠肝細胞之毒性皆分佈於對角線之下，表示此其敏感度皆較月芽藻差；鱒魚及水蚤之毒性則分布於對角線附近；反應終點 DO 中，水蚤毒性於線之上分布比較多，鱒魚毒性則分布較為平均；而對 FY，鱒魚及水蚤之毒性於線之下分布較多—由此可知，大體上鱒魚及水蚤與月芽藻 (DO 及 FY) 之敏感度相當，但仍可分出敏感度高下，與敏感度排序之結果相同。空心正方形及三角形分別為 Allyl methacrylate 對魚及肝細胞之毒性，此毒性為化合物之水解產物丙烯醇 (Allyl alcohol) 於生物體轉換成毒性、親電性更強之丙烯醛 (Acrolein) 之貢獻 [19,57]，故落於對角線之上或線附近。

Table 5.1.5 Comparisons of algal toxicity test results with other species

化合物	藻類 BOD-test			其他物種			
	DO	FY	GR	鱒魚	纖毛蟲	肝細胞	水蚤
	-log EC ₅₀			-log LC ₅₀ ^b	-log EC ₅₀ ^d	-log LC ₅₀	-log EC ₅₀
Acrylate							
Methyl-	1.19 [3] ^a	1.33 [2]	1.12 [4]	-	0.547 [5]	-0.450 [6]	1.59 [1]
Ethyl-	1.15 [5]	1.74 [1]	1.22 [4]	1.60 [2]	0.509 ^c [6]	-0.200 [7]	1.36 [3]
Propargyl-	2.05 [3]	2.23 [1]	2.08 [2]	-	1.06 ^e [4]	-	-
Isobutyl-	1.71 [3]	2.23 [1]	1.71 [3]	1.79 [2]	0.291 [5]	-1.04 [6]	-
Hexyl-	2.93 [2]	3.22 [1]	2.43 [3]	2.15 [4]	0.741 [5]	-0.930 [6]	-
2-Hydroxy ethyl-	1.68 [3]	2.12 [2]	1.62 [4]	1.38 [5]	0.69 ^f [7]	1.00 [6]	2.17 [1]
Methacrylate							
Methyl-	-0.686 [4]	-0.407 [2]	-0.717 [5]	-0.413 [3]	-1.34 ^e [6]	-1.70 [7]	0.16 [1]
Ethyl-	-0.143 [2]	0.0551 [1]	-0.181 [3]	-	-0.935 [4]	-1.49 [5]	-
Vinyl-	1.36 [2]	1.54 [1]	1.16 [3]	-	-0.619 [4]	-	-
Allyl-	0.306 [5]	0.98 [2]	0.581 [4]	2.11 [1]	-0.677 [6]	0.950 [3]	-
Butyl-	1.11 [1]	1.09 [2]	0.948 [3]	-	-0.269 [5]	-	0.65 [4]
Isobutyl-	0.787 [1]	0.782 [2]	0.663 [3]	0.64 ^c [5]	-0.279 [6]	-1.45 [7]	0.65 [4]
2-Ethoxy ethyl-	-0.181 [3]	-0.108 [2]	-0.373 [4]	0.757 [1]	-0.779 [5]	-	-
Tetrahydrofurfuryl-	-0.131 [3]	0.00676 [2]	-0.269 [4]	0.691 [1]	-	-	-
Benzyl-	1.72 [1]	1.69 [2]	1.53 [4]	1.58 [3]	0.650 [5]	-	-
敏感度平均	2.73	1.60	3.53	2.70	5.21	5.89	2.33
敏感度排序	4	1	5	3	6	7	2

單位：mM；^a 敏感度排序；^b 文獻[4]；^c 文獻[24]；^d 文獻[3]；^e 文獻[25]；^f 文獻[26]

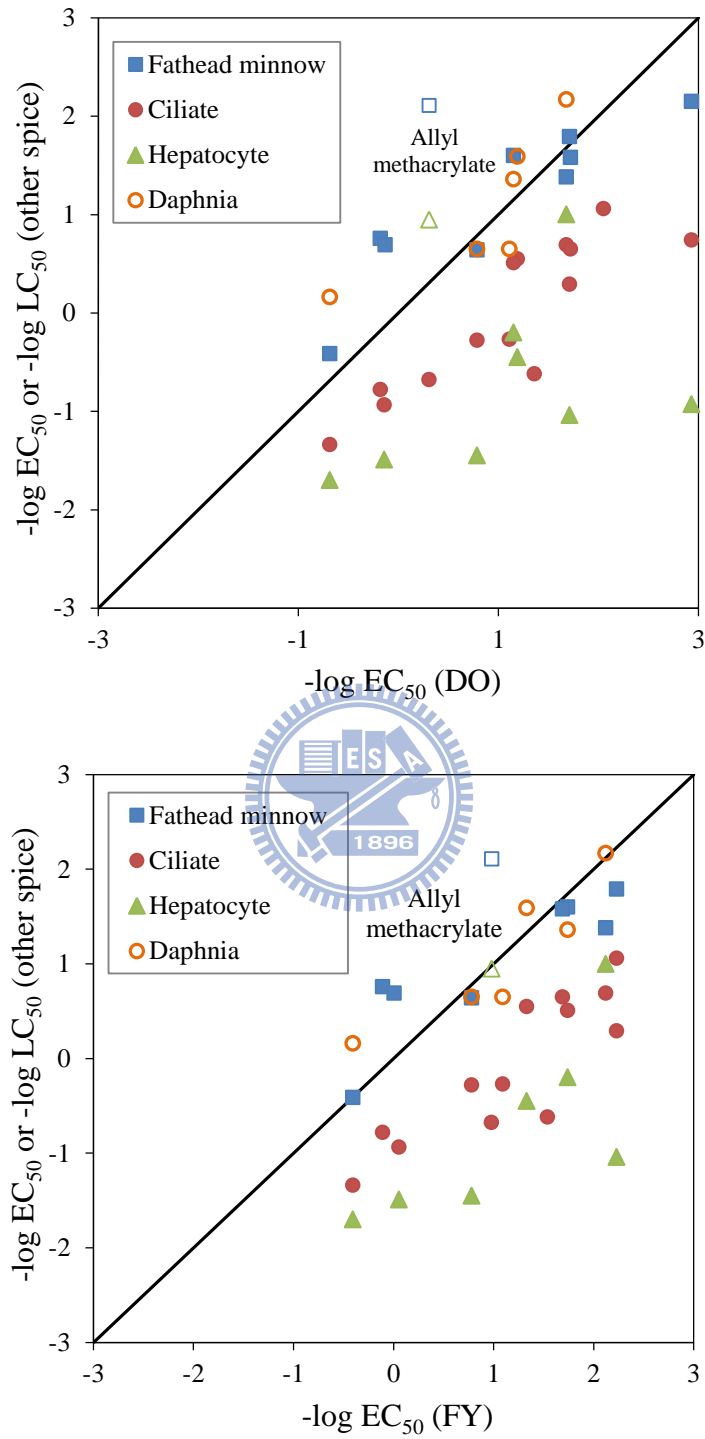


Figure 5.1.1 Comparisons of relative sensitivity between algae and other species

(2) 與其他試驗物種之相關性 (替代物種):

以月芽藻之毒性結果與其他物種之毒性進行相關性分析，所得之確定係數 r^2 如 Table 5.1.6 所示，並對不同物種之相關性分別探討如下：

- (a) 月芽藻與鱒魚毒性之 R^2 為最高，其迴歸圖見 Figure 5.1.2，Outlier (離群值) Allyl methacrylate 標示為空心菱形。
- (b) 其次為纖毛蟲，當中以 Vinyl methacrylate 與迴歸線之距離最遠 (Figure 5.1.3 之空心菱形)，此化合物碳鍊中含有不飽和鍵 (C=C)，毒性較僅含飽和鍵 (C-C) 且結構類似物強，此現象於纖毛蟲毒性亦觀察出，唯此結構對各生物毒性之影響程度不同，對月芽藻之影響甚劇。
- (c) 與水蚤毒性 (Figure 5.1.4) 之 R^2 為 0.680~0.809，雖具有相關性，但因其樣本數少，較不具代表性，需要更多資料才能更真確地分析。
- (d) 與老鼠肝細胞毒性之 R^2 僅 0.236~0.302 (Outlier 為 Allyl methacrylate)，推測低相關性之可能原因：丙烯酸酯對藻類與肝細胞之主要毒性作用機制不同；或是樣本數目少，部分特例 (離群值) 影響分析結果。

Table 5.1.6 Coefficients of determination (r^2) for toxicity of algae and other species

月芽藻 -log EC ₅₀ ^b	其他物種(n) ^a			
	鱒魚 -log LC ₅₀ (9) ^c	纖毛蟲 -log EC ₅₀ (14)	水蚤 -log EC ₅₀ (6)	肝細胞 -log LC ₅₀ (8) ^c
DO	0.832	0.758	0.680	0.236
FY	0.838	0.735	0.809	0.288
GR	0.838	0.804	0.729	0.302

^a: 樣本數目；^bEC₅₀ 或 LC₅₀ 單位：mM；^c: Allyl methacrylate 不納入分析

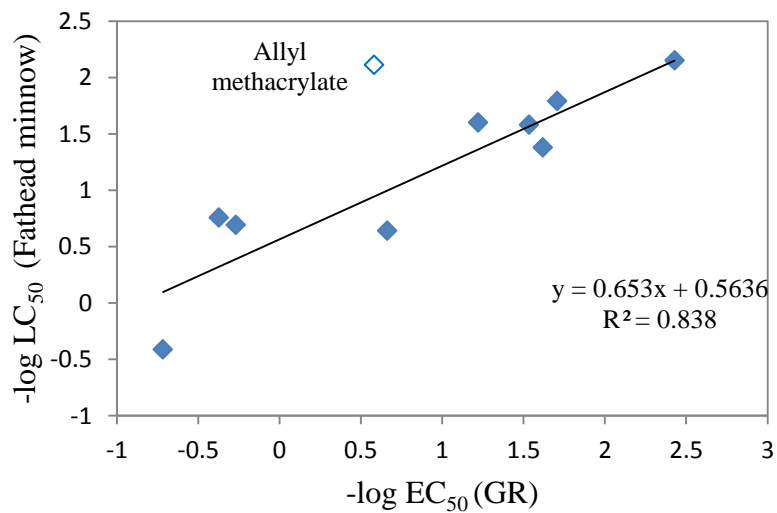
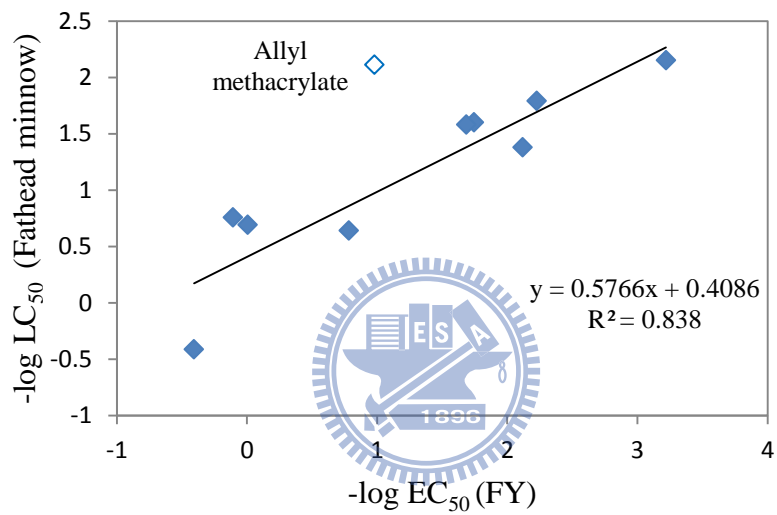
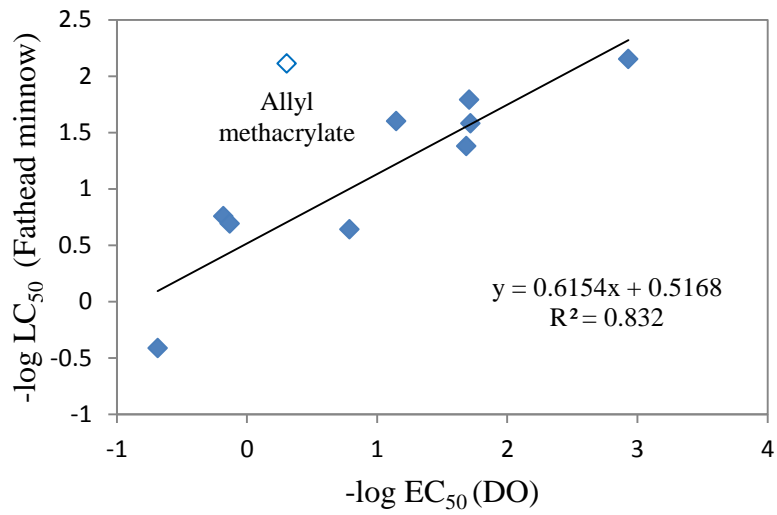


Figure 5.1.2 Relationship between BOD-test and Fathead minnow data

Toxicity unit: mM, outlier: allyl methacrylate (empty diamond)

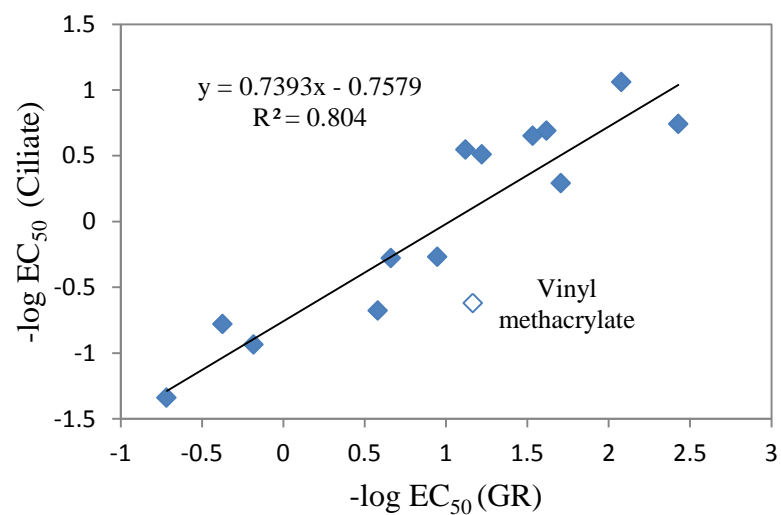
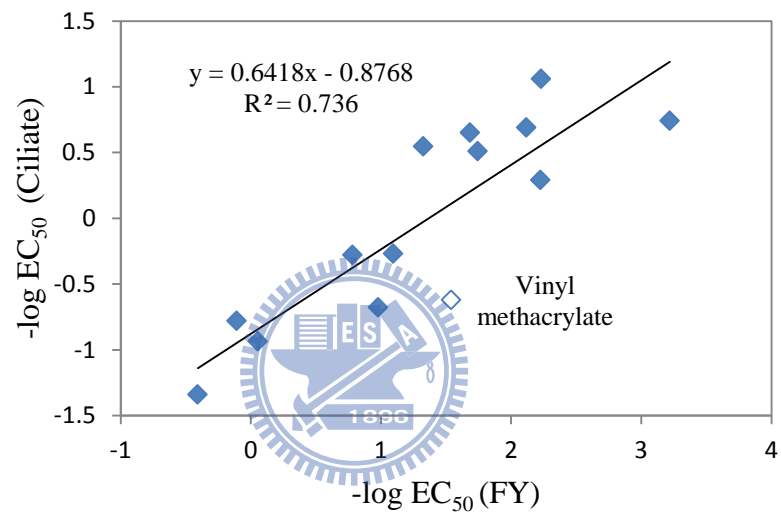
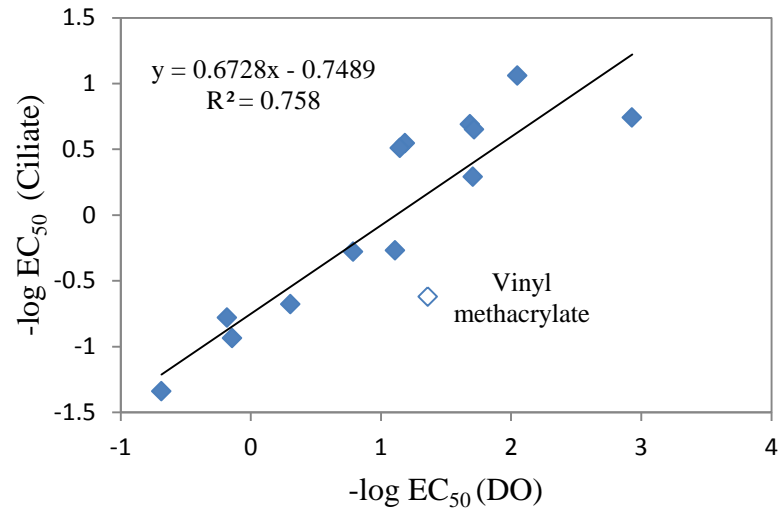


Figure 5.1.3 Relationship between BOD-test and Ciliate data
 Toxicity unit: mM, empty diamond: vinyl methacrylate

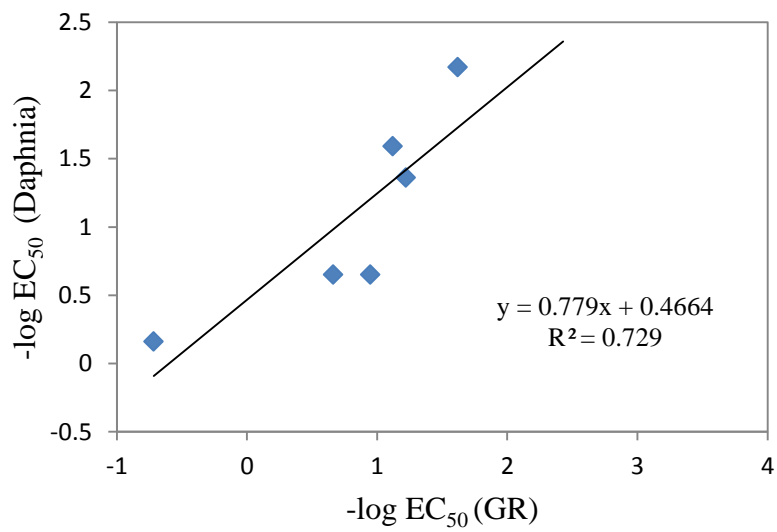
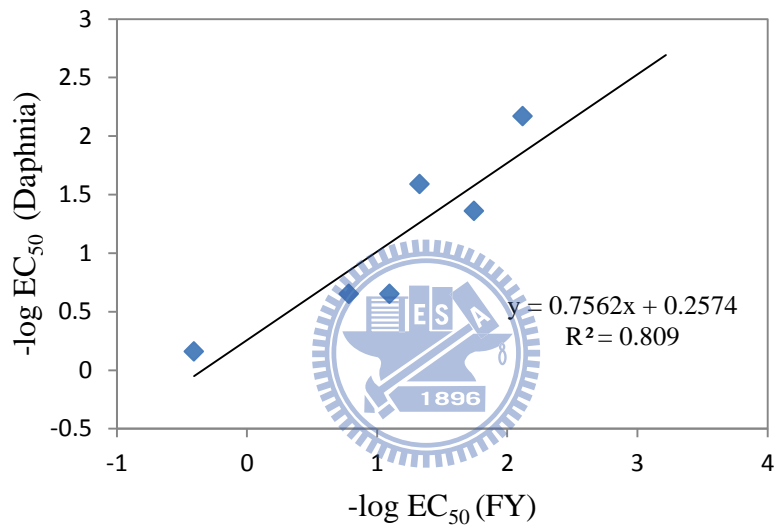
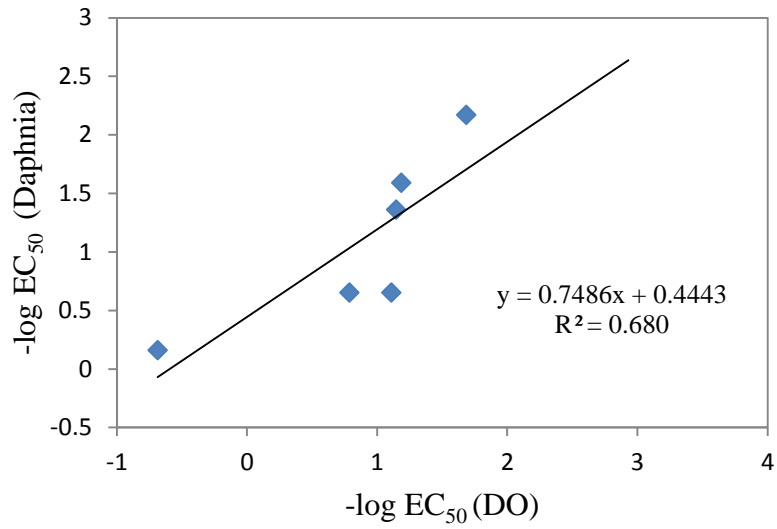


Figure 5.1.4 Relationship between BOD-test and Daphnia data (unit: mM)

Table 5.1.7 為鱒魚及纖毛蟲毒性（相關性較高、且樣本數目較多），與月芽藻各反應終點毒性迴歸之詳細結果：n 為回歸式之樣本數（Allyl methacrylate 為鱒魚之 Outlier）、s 為均方誤差、F（Fisher's criterion）用以比較模式之間統計上的顯著性、 r^2 為確定係數用來評判參數與毒性之間的相關性， $r^2(\text{adj})$ 為以自由度調整後之確定係數、Q 則為自變數 X 預測應變數 Y 之能力（ $Y = \text{截距} + \text{斜率} \cdot X$ ）。

由表可觀察出月芽藻之反應終點 GR 與二物種之相關性及預測能力最佳，其中 GR 預測纖毛蟲毒性之能力最高（ $Q^2 = 0.752$ ），其他反應終點對此二物種之預測能力 Q^2 則為 0.645~0.690，亦具有預測之效力，表示月芽藻為鱒魚及纖毛蟲之適當替代物種（Surrogate）。

Table 5.1.7 Regression models for Fathead minnow and Ciliate (with BOD-test)

Equation	s	F	r^2	$r^2(\text{adj})$	Q^2
鱒魚 (n = 9)					
$-\log LC_{50} = 0.516 + 0.616 -\log EC_{50(\text{DO})}$	0.343	34.7	0.832	0.808	0.688
$-\log LC_{50} = 0.408 + 0.576 -\log EC_{50(\text{FY})}$	0.338	36.9	0.838	0.814	0.690
$-\log LC_{50} = 0.564 + 0.653 -\log EC_{50(\text{GR})}$	0.337	36.2	0.838	0.815	0.692
纖毛蟲 (n = 14)					
$-\log EC_{50} = -0.749 + 0.673 -\log EC_{50(\text{DO})}$	0.388	37.7	0.758	0.738	0.671
$-\log EC_{50} = -0.877 + 0.642 -\log EC_{50(\text{FY})}$	0.406	33.4	0.736	0.714	0.645
$-\log EC_{50} = -0.758 + 0.739 -\log EC_{50(\text{GR})}$	0.349	49.2	0.804	0.787	0.752

5.2 反應性試驗

以反應性試驗求得之 RC_{50} 、 k_{GSH} 與文獻值比較如 Table 5.2.1 所示， RC_{50} 大部分較文獻值敏感、 $\log k_{\text{GSH}}$ 則相反。甲基丙烯酸酯類之 $\log k_{\text{GSH}}$ 僅 Vinyl methacrylate 為正值，其餘皆為負值，可知甲基取代於 α 碳上使反應性降低，而碳鍊具雙鍵之 Vinyl methacrylate 為甲基丙烯酸酯類中最具反應性之化合物。

Table 5.2.1 RC₅₀ and log k_{GSH} in this study and from literature

化合物	本研究		文獻值	
	RC ₅₀ (mM)	log k _{GSH} (M ⁻¹ min ⁻¹)	RC ₅₀ (mM)[25]	log k _{GSH} (M ⁻¹ min ⁻¹)[57]
Acrylate				
Methyl-	0.409	1.11	0.55	1.72
Ethyl-	0.393	1.19	0.52	1.60
Propargyl-	0.118	1.71	0.21	-
Isobutyl-	0.314	1.17	-	1.62
Hexyl-	0.343	1.2	-	1.31
2-Hydroxy ethyl-	0.303	1.49	0.269 ^b	1.71
Methacrylate				
Methyl-	70.4	-1.29	76	-0.70
Ethyl-	a	-1.26	NRAS ^c	-0.85
Vinyl-	2.16	0.128	4.5	-
Allyl-	a	-1.02	-	-0.29
Butyl-	a	-0.597	-	0.00
Isobutyl-	a	-0.642	-	-0.73
2-Ethoxy ethyl-	a	-0.998	-	-0.60
Tetrahydrofurfuryl-	a	-1.01	-	-0.52
Benzyl-	a	-0.435	-	-0.49

^a於飽和濃度下，無法達到 50% 之反應；^b文獻[60]；^c文獻記載於飽和狀態下無法反應

將本研究求得之 log RC₅₀、log k_{GSH}，與文獻值比較相關性 (Table 5.2.2)，文獻與本研究之 log RC₅₀ 及 log k_{GSH} 之間皆有好的相關性。

Table 5.2.2 Coefficients of determination (r²) between RC₅₀ and log k_{GSH}

	log RC ₅₀ (mM)	文獻 log RC ₅₀ (mM)	文獻 log k _{GSH} (M ⁻¹ min ⁻¹)
log k _{GSH} (M ⁻¹ min ⁻¹)	0.985	0.999	0.947
log RC ₅₀ (mM)		0.981	0.975

5.3 反應性及疏水性對毒性之影響

5.3.1 基線毒性

Table 5.3.1 為各反應終點之毒性、與基線毒性之殘差值及 $\log k_{GSH}$ ，與基線毒性之殘差值計算，根據式(5.1)、(5.3)[61]及(5.2)[62]，以各化合物之 $\log k_{OW}$ 代入式中求得基線毒性預測值，經由毒性試驗求得之毒性觀測值減去毒性預測值，即得基線毒性之殘差值，此值若介於正負 1 之間則表示此化合物於作用機制上之分類屬麻醉性化合物[63]。

$$\log (1/EC_{50,DO}) = 0.978 \log k_{OW} - 1.83$$
$$n = 26, r^2 = 0.94, Q^2=0.932, s=0.332, F=380.2 \quad (5.1)$$

$$\log (1/EC_{50,FY}) = 0.9 \log k_{OW} - 1.4$$
$$n = 48, r^2 = 0.87, Q^2=0.866, s=0.49, F=303.7 \quad (5.2)$$

$$\log (1/EC_{50,GR}) = 0.974 \log k_{OW} - 1.95$$
$$n = 26, r^2 = 0.943, Q^2=0.933, s=0.325, F=393.5 \quad (5.3)$$

以 Figure 5.3.1 比較各反應終點之毒性觀測值與基線毒性，圖中橫軸為 $\log k_{OW}$ 、縱軸為各反應終點之毒性，空心菱形為丙烯酸酯類，實心菱形則為甲基丙烯酸酯類。甲基丙烯酸酯類中，僅 Vinyl methacrylate（結構具不飽和鍵）之殘差值大於 1，其餘甲基丙烯酸酯類皆接近基線毒性，表示主要毒性作用機制為麻醉性。其他如 Allyl methacrylate 及 Benzyl methacrylate 之殘差值於此類化合物中偏高，二者分別為具不飽和鍵及苯基之化合物。

由圖中丙烯酸酯類（空心菱形）之分布情形，可觀察出除了接羥基及碳鏈中含雙鍵之 2-Hydroxy ethyl acrylate 及 Propargyl acrylate 外，其餘與 $\log k_{OW}$ 呈線性關係；由圖中丙烯酸酯類與基線毒性之距離（殘差值見 Table 5.3.1），可觀察出

Table 5.3.1 Toxicity, residual to the baseline toxicity and log k_{GSH}

化合物	-log EC ₅₀ (mM)			殘差值			log k _{OW}	log k _{GSH} (M ⁻¹ min ⁻¹)
	DO	FY	GR	DO	FY	GR		
Acrylate								
Methyl-	1.19	1.33	1.12	2.3	2.07	2.36	0.73	1.11
Ethyl-	1.15	1.74	1.22	1.78	2.05	1.98	1.22	1.19
Propargyl-	2.05	2.23	2.08	2.96	2.78	3.11	0.94	1.71
Isobutyl-	1.71	2.23	1.71	1.45	1.71	1.58	2.13	1.17
Hexyl-	2.93	3.22	2.43	1.65	1.76	1.28	3.18	1.2
2-Hydroxy ethyl-	1.68	2.12	1.62	3.76	3.74	3.81	-0.25	1.49
Methacrylate								
Methyl-	-0.686	-0.407	-0.717	-0.108	-0.159	-0.013	1.28	-1.29
Ethyl-	-0.143	0.0551	-0.181	-0.0436	-0.138	0.0452	1.77	-1.26
Vinyl-	1.36	1.54	1.16	1.6	1.47	1.53	1.63	0.128
Allyl-	0.306	0.980	0.581	0.0627	0.472	0.466	2.12	-1.02
Butyl-	1.11	1.09	0.948	0.251	0.0192	0.22	2.75	-0.597
Isobutyl-	0.787	0.782	0.663	0.00576	-0.221	0.0121	2.67	-0.642
2-Ethoxy ethyl-	-0.181	-0.108	-0.373	0.192	-0.049	0.126	1.49	-0.998
Tetrahydrofurfuryl-	-0.131	0.00676	-0.269	-0.0615	-0.213	-0.0721	1.80	-1.01
Benzyl-	1.72	1.69	1.53	0.632	0.403	0.581	2.98	-0.435

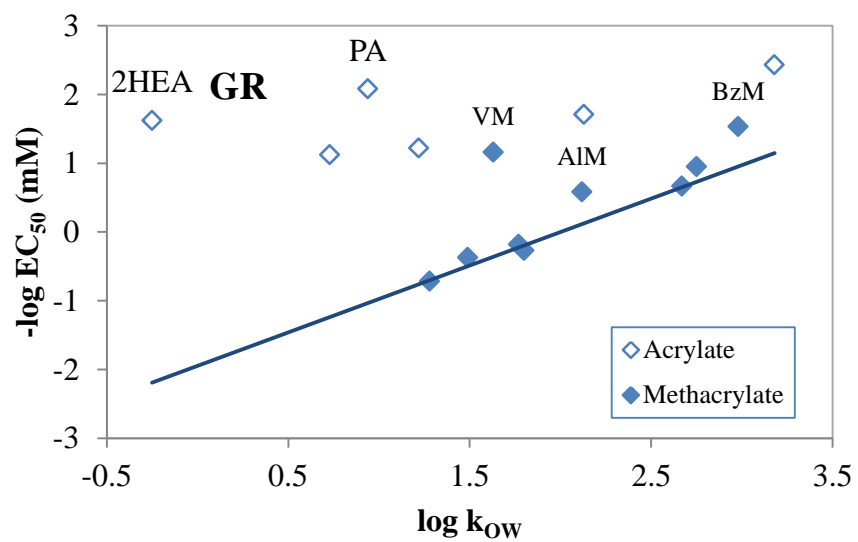
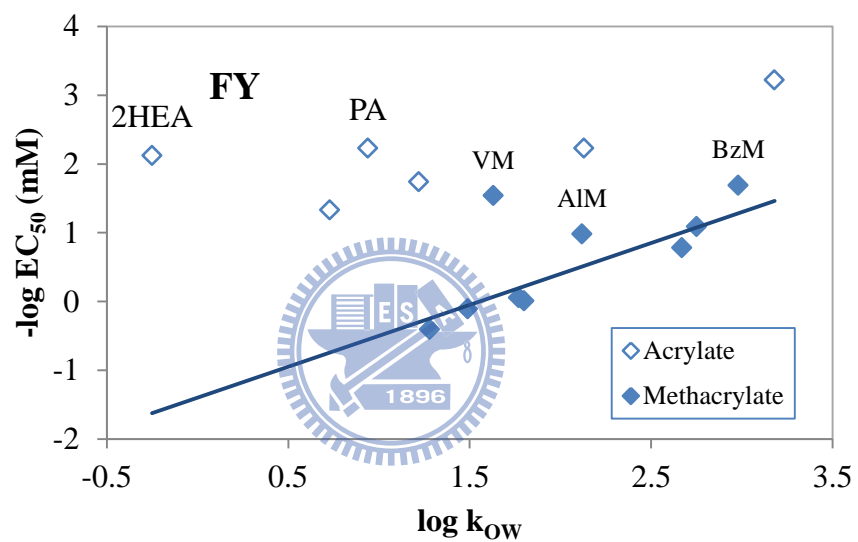
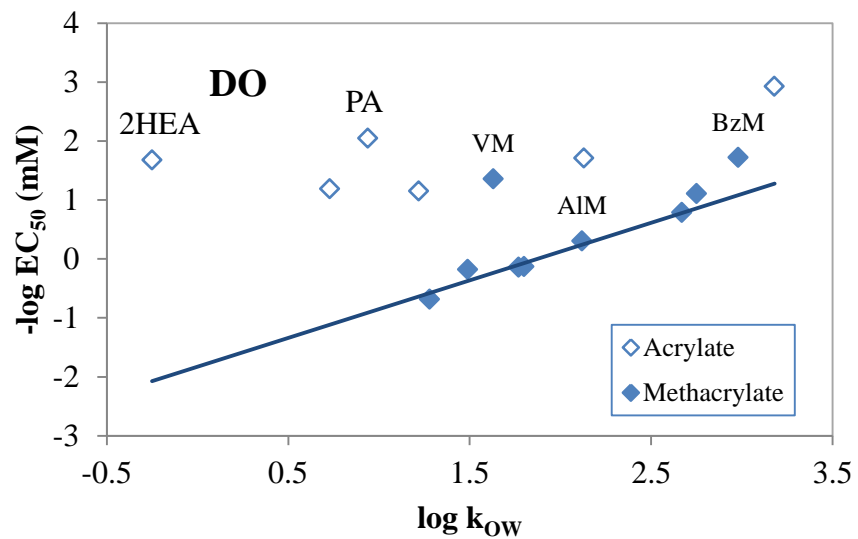


Figure 5.3.1 Correlation between baseline and observed toxicity of (meth)acrylates

$\log k_{ow}$ 與殘差值成反比，隨著 $\log k_{ow}$ 之增加圖中之點越接近基線毒性（反應終點 DO、FY 及 GR 之殘差值與 $\log k_{ow}$ 之 R^2 分別為 0.683、0.658 及 0.821），如 $\log k_{ow}$ 最小之 2-Hydroxy ethyl acrylate 及 Propargyl acrylate（分別為 -0.25 及 0.94），殘差值為最大（分別為 3.74~3.81 及 2.78~3.11）。由此可知，麻醉性機制影響丙烯酸酯類毒性之程度，隨著 $\log k_{ow}$ 之值增加而上升。

5.3.2 化學結構、反應性及疏水性與毒性之關係

主要以 Table 5.3.1 探討結構對反應性及毒性之影響，佐以 Figure 5.3.1 及 Figure 5.3.2（反應性與毒性之相關圖）分析反應性及疏水性對毒性之影響：

- (1) 取代基接於 α 碳上：由 Table 5.3.1 比較相同鍊長之化合物一如 Methyl acrylate 與 Methyl methacrylate、Ethyl acrylate 與 Ethyl methacrylate 及 Isobutyl acrylate 與 Isobutyl methacrylate，甲基取代後毒性與反應性降低、 $\log k_{ow}$ 約增加 0.55），而 Figure 5.3.2（甲基）丙烯酸酯之分布，可丙烯酸酯類之反應性明顯高於甲基丙烯酸酯類，甲基取代造成毒性降低之可能原因有兩種：甲基取代於 α 碳上，因立體障礙阻礙化合物與作用位置之鍵結而影響反應性及毒性； α 碳上之甲基取代基貢獻電子，降低 β 碳上之部分正電荷，使其親電性減低[56]。甲基取代影響毒性與反應性之程度，隨著側鏈碳數、分子量與 $\log k_{ow}$ 之增加而減少（Table 5.3.2）。

Table 5.3.2 The parameter differences after methyl- substitute on α -C

	$\log k_{GSH}^a$	DO ^b	FY ^b	GR ^b
Methyl-	-2.154	-1.876	-1.737	-1.837
Ethyl-	-2.142	-1.293	-1.6849	-1.401
Isobutyl-	-1.405	-0.923	-1.448	-1.047

^a 單位： $M^{-1}min^{-1}$ ；^b 各反應終點之 $-\log EC_{50}$ ，單位為 mM

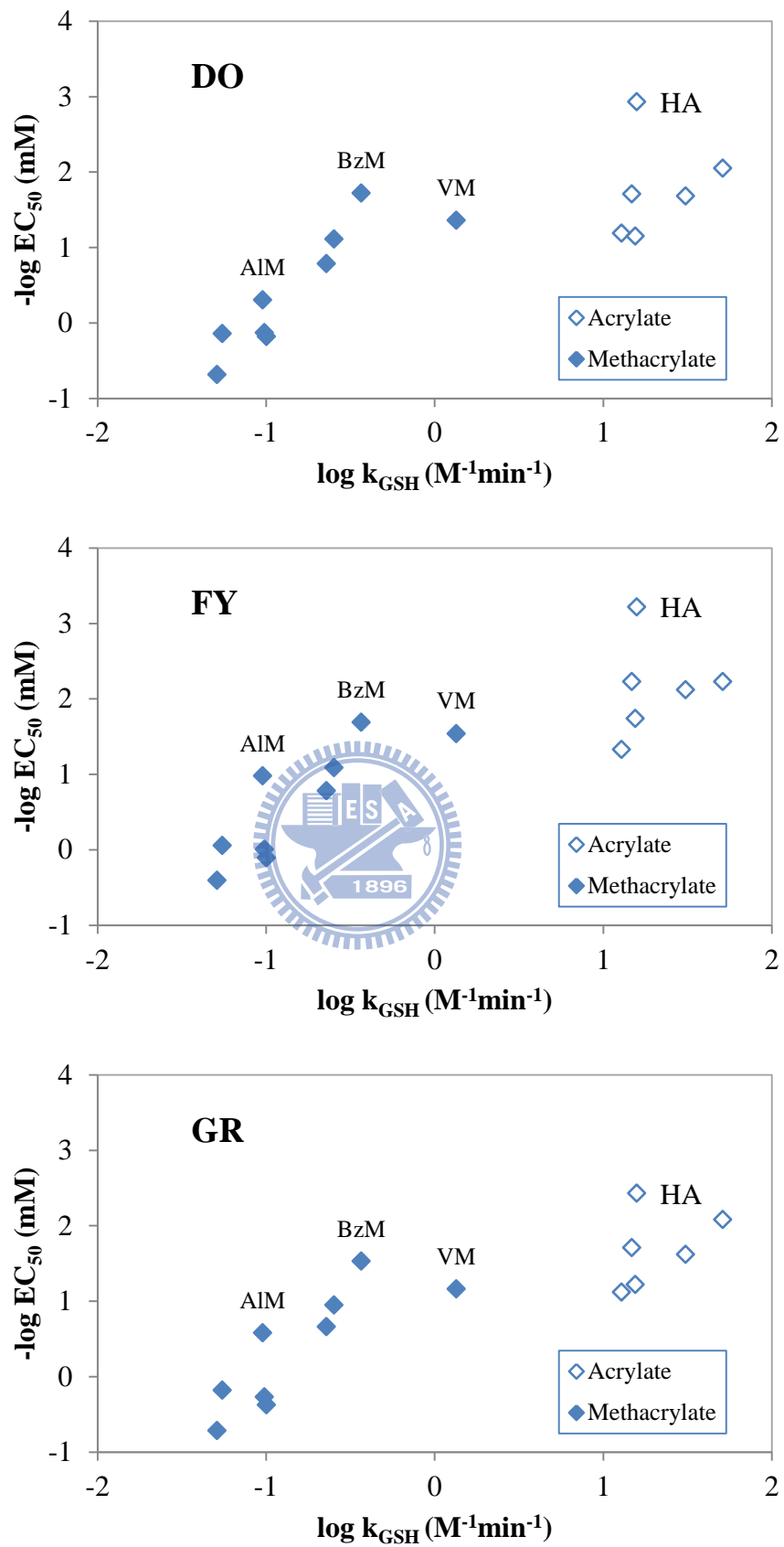


Figure 5.3.2 Correlation between reactivity and toxicity of (meth)acrylates

(2) 側鏈烷基鍊長與 $\log k_{ow}$: 由 Table 5.3.1 中丙烯酸甲酯至己酯 (Methyl- ~ Hexyl-) 及甲基丙烯酸甲酯至丁酯 (Methyl- ~ Butyl-) 之毒性變化, 可知其毒性隨側鏈烷基碳數越多, 毒性越強, 此與 $\log k_{ow}$ 有極大關係, 如 Figure 5.3.3 所示, 丙烯酸酯之分子量、側鏈碳數與 $\log k_{ow}$ 呈現高度相關, 其中以 Propargyl acrylate 影響迴歸結果最大, 若移除此點, 丙烯酸酯類之側鏈碳數、分子量與 $\log k_{ow}$ 之 R^2 分別提升為 0.999 及 0.997。於藻類毒性觀察到鏈長(或 $\log k_{ow}$) 越大、毒性越高之現象, 於反應性中亦觀察到, 但較不明顯。

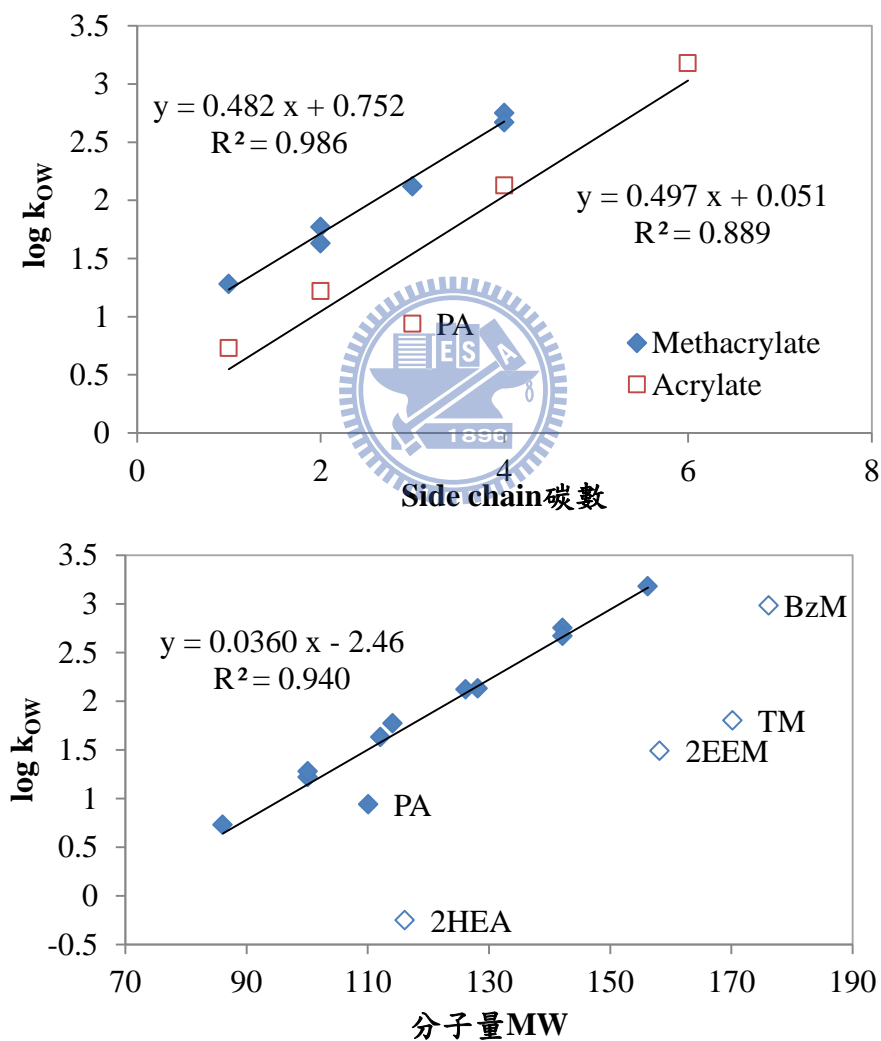


Figure 5.3.3 Relationships between molecular weight, number of carbons in alkyl side-chain, and $\log k_{ow}$ for (meth)acrylates

- (3) 直鏈與支鏈：比較同分異構物一側鏈為直鏈之 Butyl methacrylate 與支鏈之 Isobutyl methacrylate，側鏈為支鏈之化合物毒性、反應性及 $\log k_{ow}$ 皆較低，從反應性觀點探討，可能原因為立體/空間障礙 (Steric hindrance) 阻擋親核試劑 (如含親核性支鏈之胺基酸) 與親電試劑之鍵結，而使反應性及毒性降低[3,19]，此例中反應性之差異較不明顯，且僅二化合物相比較，應以更多例子佐證此論點。
- (4) 碳鏈中含不飽和鍵或其他取代基：丙烯酸酯類及甲基丙烯酸酯類中，與基線毒性殘差值較高之化合物，包含參鏈之 Propargyl acrylate、含雙鍵之 Vinyl methacrylate 及 Allyl methacrylate、含其他取代基之 2-Hydroxyethyl acrylate 及 Benzyl methacrylate，整理其與基線毒性之殘差值、 $\log k_{ow}$ 、 $\log k_{GSH}$ 及影響毒性之可能原因，如 Table 5.3.3 所示。

比較相同鏈長之化合物—含雙鍵之 Vinyl methacrylate 毒性及反應性大於單鍵之 Ethyl methacrylate ($\log k_{ow}$ 相反)，可知此碳鏈中若含不飽和鍵會使反應性及毒性增強，此現象於纖毛蟲毒性亦觀察到—碳鏈為丙烯基、丙炔基或乙烯基之化合物，其毒性較碳鏈為丙基及乙基之化合物強，但碳鏈含不飽和鍵對反應性及毒性之增強於文獻中亦未有明確之理由[64]。

碳鏈中具其他取代基之 2-Hydroxyethyl acrylate 及 Benzyl methacrylate 分別為丙烯酸酯類及甲基丙烯酸酯類中反應性較高之化合物，以反應性之觀點推測影響毒性之可能原因，推電子基之取代基接於 α 碳上使反應性下降[3,56]，假設於碳鏈上之官能基有相同效應，2-Hydroxyethyl acrylate 及 Benzyl methacrylate 為拉電子基 (前者拉電子效應較強) [65]，為反應性較高之可能原因。此外 2-Hydroxyethyl acrylate 因其羥基 (-OH) 之氫鍵使反應性增強[3]，故毒性較高。

Table 5.3.3 Chemicals of higher residual to the baseline toxicity in (meth)acrylates

化合物	與基線毒性之殘差	log k _{ow}	log k _{GSH}	影響毒性之因(反應性)
Acrylate				
2-Hydroxyethyl-	3.74~3.81	-0.25	1.49	拉電子基及氫鍵
Propargyl-	2.78~3.11	0.94	1.71	不飽和鍵
Methacrylate				
Vinyl-	1.47~1.6	1.63	0.128	不飽和鍵
Allyl-	0.0627~0.472	2.12	-1.02	不飽和鍵
Benzyl-	0.403~0.632	2.98	-0.435	拉電子基

於章節 5.3.1 討論 Figure 5.3.1 之基線毒性中，五個殘差值於(甲基)丙烯酸酯類中較高之化合物，其可能影響原因為碳鏈具不飽和鍵及特殊取代基而使反應性增加 (Table 5.3.3)。由以上之討論，可知反應性與疏水性對丙烯酸酯之毒性皆有貢獻，log k_{ow} 值越大疏水性影響毒性程度越大，反之此值越小疏水性影響程度小，相對地反應性影響增強：如 log k_{ow} < 1 之 Propargyl acrylate 及 2-Hydroxyethyl acrylate，毒性以反應性(親電性機制)為主要貢獻；而 log k_{ow} > 3 之 Hexyl acrylate，疏水性則佔大部分之影響(如 Figure 5.3.2 中，其分佈點遠離於其他丙烯酸酯類之分佈)，而 log k_{ow} 為 2.98 之 Benzyl methacrylate，疏水性影響之程度則較低。

5.4 QSAR 模式之建立

5.4.1 參數選用

根據章節 2.2.5 QSAR 建立之必要條件，建立 QSAR 之參數間共線性應越低越佳(即同一方程式中之參數間相關性越低越好)，且觀測值(各反應終點之毒性)與參數間之比值須至少為五以上，本研究毒性樣本數為十五，故在無 Outlier 之狀況下，單一模式至多選用三個參數建立。

Table 5.4.1 為參數之間及與藻類毒性之相關係數，與毒性相關性較高之參數，皆與親電性機制有關： $\log k_{\text{GSH}}$ 、 $-\log \text{RC}_{50}$ 及 α 碳上之部分電荷 C_{α} （此參數間具高相關性，故不能共同建立模式），故本研究 QSAR 之建立主要以此三參數及 $\log k_{\text{OW}}$ （貢獻麻醉性毒性之部分）討論。共線性亦可由迴歸分析中可選取之功能一變異數膨脹因素 VIF（Variance Inflation Factor）判斷，此值為 1、1~5 及 5~10 時分別為無、中度及高度相關，若此值大於 10 則會嚴重影響迴歸結果。

Table 5.4.1 Correlation coefficients (r) between descriptors

	$\log k_{\text{OW}}$	$\log k_{\text{GSH}}$	$-\log \text{RC}_{50}$	C_{α}	C_{β}	E_{LUMO}
$\log k_{\text{GSH}}$	-0.363					
$-\log \text{RC}_{50}$	-0.0377	0.992				
C_{α}	0.375	-0.946	-0.903			
C_{β}	-0.423	0.598	0.528	-0.616		
E_{LUMO}	-0.188	0.430	0.489	-0.547	0.461	
$-\log \text{EC}_{50,\text{DO}}$	0.161	0.814	0.842	-0.686	0.283	0.158
$-\log \text{EC}_{50,\text{FY}}$	0.0881	0.853	0.856	-0.749	0.401	0.188
$-\log \text{EC}_{50,\text{GR}}$	0.0960	0.846	0.912	-0.719	0.326	0.203

5.4.2 疏水性參數

將作用機制為麻醉性（酯麻醉）之 Methacrylate，以 $\log k_{\text{OW}}$ 迴歸如式(5.4)~(5.6)所示，Outlier 皆為 Vinyl methacrylate，與基線毒性之殘差值大於 1，因其側鏈具雙鍵，反應性較其他甲基丙烯酸酯類強，毒性作用機制屬反應性，由此三式可知 $\log k_{\text{OW}}$ 對此類化合物有好的預測能力及相關性。

$$\log (1/ \text{EC}_{50,\text{DO}}) = 1.24 \log k_{\text{OW}} - 2.27$$

$$n = 8, r^2 = 0.949, r^2(\text{adj}) = 0.941, Q^2 = 0.893, s = 0.194, F = 113 \quad (5.4)$$

$$\log (1/EC_{50,FY}) = 1.09 \log k_{OW} - 1.78$$

$$n = 8, r^2 = 0.884, r^2(\text{adj}) = 0.864, Q^2 = 0.810, s = 0.268, F = 45.7 \quad (5.5)$$

$$\log (1/EC_{50,GR}) = 1.19 \log k_{OW} - 2.24$$

$$n = 8, r^2 = 0.937, r^2(\text{adj}) = 0.927, Q^2 = 0.891, s = 0.209, F = 89.9 \quad (5.6)$$

5.4.3 反應性參數及其他參數

以反應性參數為主，疏水性參數及親電性參數為輔，對丙烯酸酯進行多重線性迴歸如 Table 5.4.2~Table 5.4.4 所示，分別為 FY、DO 及 GR 三反應終點之迴歸結果，三者迴歸之結果皆相似。Table 5.4.2~Table 5.4.4 之編號 1 及 4 分別以反應性參數 $\log k_{GSH}$ 及 $-\log RC_{50}$ 迴歸，迴歸之結果雷同，但大部分之甲基丙烯酸酯類於飽和溶解度下未達 RC_{50} ，故 $-\log RC_{50}$ 之樣本數僅八筆，此二參數與毒性皆有

Table 5.4.2 Multiple linear regression for (meth)acrylates based on FY

參數	n	$r^2(\text{adj})$	Q^2	s	F	Outlier
1 $\log k_{GSH}$	15	0.707	0.640	0.560	37.7	-
	13	0.805	0.758	0.410	50.5	Hexy acrylate Benzyl methacrylate
2 $\log k_{GSH}$ + $\log k_{OW}$	15	0.895	0.835	0.335	60.5	-
	14	0.935	0.923	0.266	94.3	2-Hydroxyethyl acrylate
3 $\log k_{GSH}$ + $\log k_{OW}$ + E_{LUMO}	15	0.928	0.890	0.278	60.9	-
4 $\log (1/RC_{50})$	8	0.689	0.522	0.582	16.5	-
	7	0.871	0.683	0.333	41.5	Hexy acrylate
5 C_a	15	0.521	0.425	0.715	16.3	-

Table 5.4.3 Multiple linear regression for (meth)acrylates based on DO

參數	n	r ² (adj)	Q ²	s	F	Outlier
1 log k _{GSH}	15	0.636	0.600	0.600	25.5	-
	13	0.775	0.726	0.411	42.3	Hexy acrylate Benzyl methacrylate
2 log k _{GSH} +log k _{OW}	15	0.885	0.823	0.337	55.0	-
	14	0.926	0.903	0.275	82.5	2-Hydroxyethyl acrylate
3 log k _{GSH} +log k _{OW} +E _{LUMO}	15	0.927	0.885	0.268	60.6	-
4 log (1/RC ₅₀)	8	0.661	0.459	0.598	14.7	-
	7	0.866	0.618	0.382	39.7	Hexy acrylate
5 C _α	15	0.416	0.296	0.76	11.0	-

Table 5.4.4 Multiple linear regression for (meth)acrylates based on GR

參數	n	r ² (adj)	Q ²	s	F	Outlier
1 log k _{GSH}	15	0.693	0.630	0.523	32.6	-
	13	0.783	0.731	0.412	44.3	Hexy acrylate Benzyl methacrylate
2 log k _{GSH} +log k _{OW}	15	0.885	0.832	0.319	55.1	-
	14	0.914	0.879	0.281	69.8	2-Hydroxyethyl acrylate
3 log k _{GSH} +log k _{OW} +E _{LUMO}	15	0.908	0.848	0.286	47.2	-
4 log (1/RC ₅₀)	8	0.804	0.712	0.419	29.7	-
	7	0.911	0.816	0.270	62.1	Hexy acrylate
5 C _α	15	0.472	0.369	0.685	13.5	-

一定程度之相關性及預測能力，而根據章節 5.3 之討論，丙烯酸酯對月芽藻之毒性，疏水性及反應性為主要之貢獻， $\log k_{ow}$ 越大疏水性影響毒性之程度越大，相對地反應性之影響程度則降低，疏水性與反應性對毒性之影響有相互消長、補足之特性，若單以反應性參數迴歸，疏水性為主要毒性影響（高 $\log k_{ow}$ ）之化合物則會造成干擾，故將 $\log k_{ow}$ 最大之化合物 Hexyl acrylate 及 Benzyl methacrylate 移除（ $\log k_{ow}$ 分別為 3.18 及 2.98），迴歸結果皆有提升。

將 $\log k_{ow}$ 加入迴歸如表中之編號 2，相關性、預測能力及模式之顯著性皆提升、誤差降低，由此可證明此二參數對預測毒性上之互補性，此模式於丙烯酸酯毒性之預估上具有好的效力。雖反應性與疏水性相互補足，但當此值太小（如反應性為主要影響之 2-Hydroxyethyl acrylate，其 $\log k_{ow}$ 為 -0.25），疏水性對模式建立之影響反而大於反應性，因此將 $\log k_{ow}$ 為負值之 2-Hydroxyethyl acrylate 當作 Outlier，使模式誤差降低、相關性、預測能力及模式之顯著性皆明顯提升，此模式對 $\log k_{ow}$ 為 0.94~3.18 之丙烯酸酯有良好之預測能力。

將親電性參數 E_{LUMO} 加入編號 2 之迴歸（未移除 Outlier），迴歸結果如 Table 5.4.2~Table 5.4.4 之編號 3 所示，僅於 GR 之顯著性下降外，其餘迴歸結果皆有小幅度之提升，但較編號 2 移除 Outlier 後之迴歸結果差。

Table 5.4.2~Table 5.4.4 中之編號 5 以 C_{α} 為參數，其迴歸結果以反應終點 FY 最佳，但皆較反應性參數 $\log k_{GSH}$ 及 $\log (1/RC_{50})$ 差，雖迴歸結果不好，但仍能以 Figure 5.4.1 親電性參數 C_{α} 與毒性（FY）及反應性之相關圖，觀察到甲基取代於 α 碳上，對 α 碳上之部分電荷值、反應性及毒性皆具有相當程度之影響。

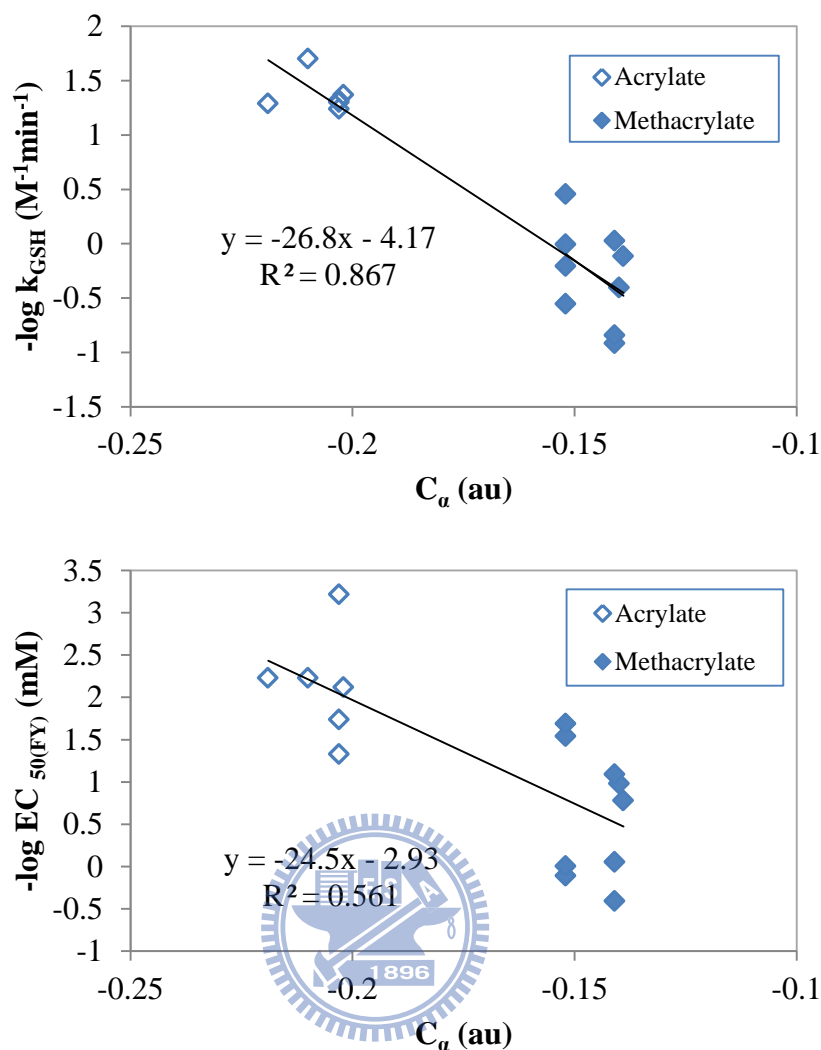


Figure 5.4.1 Correlations between C_α , reactivity and toxicity based on FY

由各參數之迴歸結果顯示，甲基丙烯酸酯類屬麻醉性物質(除了側鏈具雙鍵、反應性於甲基丙烯酸酯類最高之 Vinyl Methacrylate)，以 $\log k_{\text{OW}}$ 為參數可提供良好之毒性預測；而對整體之丙烯酸酯，以 $\log k_{\text{OW}}$ 及 $\log k_{\text{GSH}}$ 為參數與 QSAR 模式適合度(Goodness of fit)最佳，對於此類化合物之藻類毒性有良好之預測能力。將 Table 5.4.2~Table 5.4.4 中適合度較好之迴歸式陳列如下：

- (1) 反應性參數 $\log k_{\text{GSH}}$ + 疏水性參數 $\log k_{\text{OW}}$

$$\log (1/ EC_{50,DO}) = 0.885 \log k_{GSH} + 0.565 \log k_{OW} - 0.050$$

$$n = 15, r^2 = 0.902, r^2(\text{adj}) = 0.885, Q^2 = 0.823, s = 0.337, F = 55.0 \quad (5.7)$$

$$\log (1/ EC_{50,FY}) = 0.933 \log k_{GSH} + 0.512 \log k_{OW} + 0.284$$

$$n = 15, r^2 = 0.910, r^2(\text{adj}) = 0.895, Q^2 = 0.835, s = 0.335, F = 60.5 \quad (5.8)$$

$$\log (1/EC_{50,GR}) = 0.847 \log k_{GSH} + 0.473 \log k_{OW} + 0.025$$

$$n = 15, r^2 = 0.902, r^2(\text{adj}) = 0.885, Q^2 = 0.832, s = 0.319, F = 55.1 \quad (5.9)$$

去除 Outlier ($\log k_{OW}$ 為 -0.25 之 2-Hydroxyethyl acrylate) 後之結果如(5.10)~(5.12)

$$\log (1/ EC_{50,DO}) = 0.851 \log k_{GSH} + 0.711 \log k_{OW} - 0.370$$

$$n = 14, r^2 = 0.938, r^2(\text{adj}) = 0.926, Q^2 = 0.903, s = 0.275, F = 82.5 \quad (5.10)$$

$$\log (1/ EC_{50,FY}) = 0.898 \log k_{GSH} + 0.664 \log k_{OW} - 0.048$$

$$n = 14, r^2 = 0.945, r^2(\text{adj}) = 0.935, Q^2 = 0.923, s = 0.266, F = 94.3 \quad (5.11)$$

$$\log (1/EC_{50,GR}) = 0.819 \log k_{GSH} + 0.593 \log k_{OW} - 0.236$$

$$n = 14, r^2 = 0.927, r^2(\text{adj}) = 0.914, Q^2 = 0.879, s = 0.281, F = 69.8 \quad (5.12)$$

(2) 反應性參數 $\log k_{GSH}$ + 疏水性參數 $\log k_{OW}$ + 親電性參數 E_{LUMO}

$$\log (1/ EC_{50,DO}) = 0.859 \log k_{GSH} + 0.628 \log k_{OW} - 3.97 E_{LUMO} + 0.726$$

$$n = 15, r^2 = 0.943, r^2(\text{adj}) = 0.927, Q^2 = 0.885, s = 0.268, F = 60.6 \quad (5.13)$$

$$\log (1/ EC_{50,FY}) = 0.909 \log k_{GSH} + 0.571 \log k_{OW} - 3.71 E_{LUMO} + 1.01$$

$$n = 15, r^2 = 0.943, r^2(\text{adj}) = 0.928, Q^2 = 0.890, s = 0.278, F = 60.9 \quad (5.14)$$

$$\log (1/EC_{50,GR}) = 0.827 \log k_{GSH} + 0.523 \log k_{OW} - 3.14 E_{LUMO} + 0.638$$

$$n = 15, r^2 = 0.931, r^2(\text{adj}) = 0.912, Q^2 = 0.860, s = 0.280, F = 49.1 \quad (5.15)$$

第六章 結論與建議

6.1 結論

本研究以丙烯酸酯為毒物、月芽藻為試驗物種，進行 BOD 瓶密閉式藻類毒性試驗，以三反應終點 DO、FY 及 GR 探討毒物對月芽藻之毒性影響，而根據本研究之毒性試驗、反應性試驗及 QSAR 建立上之成果，歸納結論如下：

毒性敏感度與替代物種

- (1) 丙烯酸酯對月芽藻之 EC_{50} 、 EC_{10} 及 NOEC 皆以反應終點 FY 最為敏感，而 NOEC 較 EC_{10} 敏感，意即於毒性評估上較具保護力。
- (2) 物種敏感度：依試驗物種對丙烯酸酯之敏感度排序，月芽藻之反應終點 $FY >$ 水蚤 $>$ 鱒魚 $>$ 月芽藻之反應終點 $DO >$ 月芽藻之反應終點 $GR >$ 纖毛蟲 $>$ 肝細胞。
- (3) 替代物種：以藻類毒性為參數，建立預測其他試驗物種毒性之迴歸式中，以反應終點 GR 預測鱒魚、纖毛蟲毒性之結果最好一對鱒魚毒性之 $r^2(\text{adj})$ 及 Q^2 分別為 0.815 及 0.692、對纖毛蟲則為 0.787 及 0.752，表示月芽藻可作為鱒魚及纖毛蟲之替代物種。

結構與毒性及反應性之關係

- (4) 毒性增強之特性：對側鏈未接官能基及雙鍵之丙烯酸酯，毒性隨碳鏈越長 ($\log k_{ow}$ 越大) 而越強。碳鏈中含不飽和鍵亦使毒性及反應性增強。
- (5) 毒性減低之特性：側鏈為支鏈，因空間障礙關係使反應性及毒性低於側鏈為直鏈之丙烯酸酯。甲基接於 α 碳上因立體障礙及電荷轉移 (使親電性減低)，使反應性及毒性降低。

疏水性與反應性對毒性之貢獻

- (6) 丙烯酸酯對月芽藻之毒性，疏水性及反應性為主要之貢獻， $\log k_{ow}$ 越大疏水性影響毒性之程度越大，相對地反應性之影響程度則降低，疏水性與反應性對毒性之影響有相互消長、補足之特性

QSAR 迴歸

- (7) 甲基丙烯酸酯類(扣除反應性高之 Vinyl methacrylate): 對此類物質以 $\log k_{ow}$ 為參數適合度最佳， $r^2(\text{adj})$ 、 Q^2 分別為 0.864~0.941 及 0.810~0.893。
- (8) 丙烯酸酯(丙烯酸酯類與甲基丙烯酸酯類): 以 $\log k_{ow}$ 與 $\log k_{GSH}$ 為參數適合度最佳， $r^2(\text{adj})$ 、 Q^2 分別為 0.885~0.895 及 0.823~0.835，移除 Outlier ($\log k_{ow}$ 為負值之 2-Hydroxyethyl acrylate) 後之 $r^2(\text{adj})$ 、 Q^2 分別為 0.914~0.935 及 0.879~0.923。

6.2 建議



本研究僅以疏水性參數與反應性參數迴歸，得到適合度佳之 QSAR 模式，而未能以親電性參數建立預測能力佳之 QSAR 模式，由於統計及量子化學計算背景之缺乏，故在研究上有許多限制，加強此方面之背景及資源，對本研究群之研究會有極大之幫助。

參考文獻

1. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) (2009) The 2007 OECD list of High Production Volume chemicals.
2. Koleva, Y.K., Madden, J.C. and Cronin, M.T.D. (2008) Formation of categories from structure-activity relationships to allow read-across for risk assessment: toxicity of alpha,beta-unsaturated carbonyl compounds. *Chem. Res. Toxicol.* 21, 2300-2312.
3. Schultz, T.W., Netzeva, T.I., Roberts, D.W. and Cronin, M.T.D. (2005) Structure-toxicity relationships for the effects to *Tetrahymena pyriformis* of aliphatic, carbonyl-containing, alpha,beta-unsaturated chemicals. *Chem. Res. Toxicol.* 18, 330-341.
4. Karabunarliev, S., Mekenyan, O.G., Karcher, W., Russom, C.L. and Bradbury, S.P. (1996) Quantum-chemical descriptors for estimating the acute toxicity of electrophiles to the fathead minnow (*Pimephales promelas*): An analysis based on molecular mechanisms. *Quant. Struct.-Act. Relat.* 15, 302-310.
5. Russom, C.L., Drummond, R.A. and Hoffman, A.D. (1988) Acute toxicity and behavioral effects of acrylates and methacrylates to juvenile fathead minnows. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 41, 589-596.
6. Cronin, M.T.D., Netzeva, T.I., Dearden, J.C., Edwards, R. and Worgan, A.D.P. (2004) Assessment and modeling of the toxicity of organic chemicals to *Chlorella vulgaris*: Development of a novel database. *Chem. Res. Toxicol.* 17, 545-554.
7. Xia, B.B., Liu, K.P., Gong, Z.G., Zheng, B., Zhang, X.Y. and Fan, B.T. (2009) Rapid toxicity prediction of organic chemicals to *Chlorella vulgaris* using quantitative structure-activity relationships methods. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72, 787-794.
8. 黃祥瑞 (2000)。以光合作用為反應參數之藻類毒性實驗設計。國立交通大學環境工程研究所碩士學位論文。
9. 林瑞合 (2001)。BOD 瓶之藻類毒性設計。國立交通大學環境工程研究所

碩士學位論文。

10. Papa, E., Battaini, F. and Gramatica, P. (2005) Ranking of aquatic toxicity of esters modelled by QSAR. *Chemosphere* 58, 559-570.
11. Aptula, A.O. and Roberts, D.W. (2006) Mechanistic applicability domains for nonanimal-based prediction of toxicological end points: General principles and application to reactive toxicity. *Chem. Res. Toxicol.* 19, 1097-1105.
12. Staples, C.A., Murphy, S.R., McLaughlin, J.E., Leung, H.W., Cascieri, T.C. and Farr, C.H. (2000) Determination of selected fate and aquatic toxicity characteristics of acrylic acid and a series of acrylic esters. *Chemosphere* 40, 29-38.
13. 張承明、歐新榮 (2007)。抑制劑對丙烯酸酯安全儲存溫度之影響。勞工安全衛生研究季刊，11 期，369-379 頁。
14. United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA) (2009) EPISuite™. Estimation Program Interface (EPI) Suite Version 4.0.
15. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) (2008) (Q)SAR Application Toolbox Version 1.1.
16. Staples, C.A., Farr, C., Hunt, E.K., McLaughlin, J.E., Mullerschön, H. and Pemberton, M.A. (2009) Using quantitative structure-activity relationships to support the assessment of the environmental fate and aquatic toxicity of a series of methacrylic acid esters. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 15, 503-525.
17. 蘇韋欣 (2005)。反應性蒸餾程序生產丙烯酸乙酯之研究。國立台灣科技大學化學工程系碩士學位論文。
18. 台塑關係企業 (2008)。企業社會責任報告。
19. Chan, K. and O'Brien, P.J. (2008) Structure-activity relationships for hepatocyte toxicity and electrophilic reactivity of alpha,beta-unsaturated esters, acrylates and methacrylates. *J. Appl. Toxicol.* 28, 1004-1015.
20. Greim, H., Ahlers, J., Blas, R., Broecker, B., Hollander, H., Gelbke, H.P., Jacobi, S., Klimisch, H.J., Mangelsdorf, I., Mayr, W., Schon, N., Stropp, G., Stahnecker, P., Vogel, R., Weber, C., Zieglerskylakakis, K., and Bayer, E. (1995) Assessment of structurally related chemicals: Toxicity and ecotoxicity of acrylic

- acid and acrylic acid alkyl esters (acrylates), methacrylic acid and methacrylic acid alkyl esters (methacrylates). *Chemosphere* 31, 2637-2659.
21. 維基百科 (2009) : <http://zh.wikipedia.org/zh-tw/File:Glutathione-skeletal.png>
 22. Fahey, R.C., Buschbacher, R.M. and Newton, G.L. (1987) The evolution of glutathione metabolism in phototrophic microorganisms. *J. Mol. Evol.* 25, 81-88.
 23. Ahner, B.A., Wei, L.P., Oleson, J.R. and Ogura, N. (2002) Glutathione and other low molecular weight thiols in marine phytoplankton under metal stress. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 232, 93-103.
 24. Freidig, A.P. and Hermens, J.L.M. (2001) Narcosis and chemical reactivity QSARs for acute fish toxicity. *Quant. Struct.-Act. Relat.* 19, 547-553.
 25. Yarbrough, J.W. and Schultz, T.W. (2007) Abiotic sulfhydryl reactivity: A predictor of aquatic toxicity for carbonyl-containing alpha,beta-unsaturated compounds. *Chem. Res. Toxicol.* 20, 558-562.
 26. Ren, S.J., Frymier, P.D. and Schultz, T.W. (2003) An exploratory study of the use of multivariate techniques to determine mechanisms of toxic action. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 55, 86-97.
 27. Ministry of the Environment (MOE) (2010) Results of Eco-toxicity tests of chemicals conducted by Ministry of the Environment in Japan. .
 28. Crum-Brown, A. and Fraser, T. (1868-9) On the connection between chemical constitution and physiological action. Part 1. On the physiological action of the ammonium bases, derived from Strychia, Brucia, Thebaia, Codeia, Morphia and Nicotia. *Trans. R. Soc. Edinburgh* 25, 151-203.
 29. Meyer, H. (1899) On the theory of alcohol narcosis I. Which property of anesthetics gives them their narcotic activity. *Arch. Exper. Pathol. Pharmacol.* 42, 109-118.
 30. Overton, E. (1899) *Vierteljahrsschr. Naturforsch. Ges. Zurich* 44, 88.
 31. Livingstone, D. (1995) *Data analysis for chemists: Applications to QSAR and chemical product design.* Oxford University Press.
 32. Abernethy, S.G., Mackay, D. and McCarty, L.S. (1988) Volume fraction

- correlation for narcosis in aquatic organisms: the key role of partitioning. Environ. Toxicol. Chem. 7, 469-481.
33. Cronin, M.T.D. and Schultz, T.W. (1996) Structure-toxicity relationships for phenols to *Tetrahymena pyriformis*. Chemosphere 32, 1453-1468.
 34. Mekenyan, O.G. and Veith, G.D. (1993) Relationships between descriptors for hydrophobicity and soft electrophilicity in predicting toxicity. SAR QSAR Environ. Res. 1, 335-344.
 35. Russom, C.L., Bradbury, S.P., Broderius, S.J., Hammermeister, D.E. and Drummond, R.A. (1997) Predicting modes of toxic action from chemical structure: Acute toxicity in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). Environ. Toxicol. Chem. 16, 948-967.
 36. Hermens, J.L.M. (1990) Electrophiles and acute toxicity to fish. Environ. Health Perspect. 87, 219-225.
 37. Schultz, T.W., Carlson, R.E., Cronin, M.T.D., Hermens, J.L.M., Johnson, R., O'Brien, P.J., Roberts, D.W., Siraki, A., Wallace, K.B. and Veith, G.D. (2006) A conceptual framework for predicting the toxicity of reactive chemicals: modeling soft electrophilicity. SAR QSAR Environ. Res. 17, 413-428.
 38. Böhme, A., Thaens, D., Paschke, A. and Schüürmann, G. (2009) Kinetic glutathione chemoassay to quantify thiol reactivity of organic electrophiles-application to alpha,beta-unsaturated ketones, acrylates, and propiolates. Chem. Res. Toxicol. 22, 742-750.
 39. Schultz, T.W. and Cronin, M.T.D. (2003) Essential and desirable characteristics of ecotoxicity quantitative structure-activity relationships. Environ. Toxicol. Chem. 22, 599-607.
 40. National BioResource Project. (2009) : <http://www.shigen.nig.ac.jp/algae/images/strainsimage/nies-0035.jpg>
 41. Rojickova-Padrtova, R., Marsalek, B. and Holoubek, I. (1998) Evaluation of alternative and standard toxicity assays for screening of environmental samples: Selection of an optimal test battery. Chemosphere 37, 495-507.
 42. Chao, M.R. and Chen, C.Y. (2000) No-observed-effect concentrations in batch

- and continuous algal toxicity tests. *Environ. Toxicol. Chem.* 19, 1589-1596.
43. United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA) (1996) Ecological Effect Test Guidelines. OPPTS 850.5400. Algal Toxicity, Tiers I and II.
 44. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) (1984) Guideline for testing chemicals. No. 201. Alga growth inhibition test. Paris, France.
 45. International Organization for Standardization (ISO) (1987) Water quality- Algal growth inhibition test. Draft International Standard ISO/DIS 8692. Geneva, Switzerland.
 46. 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.
 47. American Public Health Association (APHA) (1995) American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, Toxicity testing with phytoplankton, in *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 19th edn, APHA, Washington, DC.
 48. Hostetter, H.P. (1976) A rapid bioassay for algal nutrients and toxins. *J. Phycol.* 12, 10.
 49. Chen, C.Y. (1989) The effects of limiting nutrient to algal toxicity assessment: A theoretical approach. *Toxic. Assess.* 4, 35-42.
 50. Nyholm, N. and Kallqvist, T. (1989) Methods for growth inhibition toxicity tests with freshwater algae. *Environ. Toxicol. Chem.* 8, 689-703.
 51. Chen, C.Y. and Lin, K.C. (1997) Optimization and performance evaluation of the continuous algal toxicity test. *Environ. Toxicol. Chem.* 16, 1337-1344.
 52. Lin, J.H., Kao, W.C., Tsai, K.P. and Chen, C.Y. (2005) A novel algal toxicity testing technique for assessing the toxicity of both metallic and organic toxicants. *Water Res.* 39, 1869-1877.
 53. Vasseur, P., Pandard, P. and Burnel, D. (1988) Influence of some experimental factors on metal toxicity to *Selenastrum capricornutum*. *Toxic. Assess.* 3, 331-343.

54. Bergers, P.J.M. and Degroot, A.C. (1994) The analysis of EDTA in water by HPLC. *Water Res.* 28, 639-642.
55. Mazidji, C.N., Koopman, B., Bitton, G. and Neita, D. (1992) Distinction between heavy metal and organic toxicity using EDTA chelation and microbial assays. *Environ. Toxicol. water Qual.* 7, 339-353.
56. Schultz, T.W., Yarbrough, J.W. and Johnson, E.L. (2005) Structure-activity relationships for reactivity of carbonyl-containing compounds with glutathione. *SAR QSAR Environ. Res.* 16, 313-322.
57. Freidig, A.P., Verhaar, H.J.M. and Hermens, J.L.M. (1999) Quantitative structure-property relationships for the chemical reactivity of acrylates and methacrylates. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 1133-1139.
58. Stewart, J.J.P. (2009) MOPAC 2009TM. Stewart Computational Chemistry. Colorado Springs, CO, USA
59. Faucon, J.C., Bureau, R., Faisant, J., Briens, F. and Rault, S. (1999) Ecotoxicological endpoints in European notification procedure impact on the classification for the aquatic environment. *Chemosphere* 38, 2849-2863.
60. Aptula, A.O., Patlewicz, G., Roberts, D.W. and Schultz, T.W. (2006) Non-enzymatic glutathione reactivity and in vitro toxicity: A non-animal approach to skin sensitization. *Toxicol. in Vitro* 20, 239-247.
61. Hsieh, S.H., Hsu, C.H., Tsai, D.Y. and Chen, C.Y. (2006) Quantitative structure-activity relationships for toxicity of nonpolar narcotic chemicals to *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Environ. Toxicol. Chem.* 25, 2920-2926.
62. Tsai, K.P. and Chen, C.Y. (2007) An algal toxicity database of organic toxicants derived by a closed-system technique. *Environ. Toxicol. Chem.* 26, 1931-1939.
63. Verhaar, H.J.M., Solbe, J., Speksnijder, J., van Leeuwen, C.J. and Hermens, J.L.M. (2000) Classifying environmental pollutants: Part 3. External validation of the classification system. *Chemosphere* 40, 875-883.
64. Schultz, T.W. and Yarbrough, J.W. (2004) Trends in structure-toxicity relationships for carbonyl-containing alpha,beta-unsaturated compounds. *SAR QSAR Environ. Res.* 15, 139-146.

65. Dailey, B.P. and Shoolery, J.N. (1955) The electron withdrawal power of substituent groups. *J. Am. Chem. Soc.* 77, 3977-3981.



附錄一 藻類毒性試驗結果

實驗毒物 : Methyl acrylate

MCV (μm^3) : 39.0

Initial pH : 7.59

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ specific	μ relative	IR (GR)	IR (FY)	IR (DO)
Control	1.28	6.53	185800	5.25	1.26	1.00	0.000	0.000	0.000
32.0	1.55	1.65	22500	0.10	0.203	0.161	0.839	0.956	0.981
16.0	1.37	1.97	26200	0.60	0.279	0.222	0.778	0.934	0.886
8.00	1.27	3.16	33400	1.89	0.400	0.318	0.682	0.892	0.640
4.00	1.20	4.55	93900	3.35	0.917	0.729	0.271	0.538	0.362
2.00	1.24	5.11	165500	3.87	1.20	0.954	0.0460	0.119	0.263
1.00	1.23	5.20	190700	3.97	1.27	1.01	-0.0103	-0.0287	0.244
Control	1.15	5.66	171900	4.51	1.22	1.00	0.000	0.000	0.000
32.0	1.61	1.76	22800	0.15	0.209	0.172	0.828	0.950	0.967
16.0	1.32	1.63	20800	0.31	0.163	0.134	0.866	0.963	0.931
8.00	1.19	3.03	33600	1.84	0.403	0.331	0.669	0.881	0.592
4.00	1.21	4.66	96800	3.45	0.932	0.765	0.235	0.479	0.235
2.00	1.25	5.01	169000	3.76	1.211	0.993	0.00698	0.0185	0.166
1.00	1.22	5.86	195600	4.64	1.284	1.05	-0.0530	-0.151	-0.0288
Control	1.15	5.94	174500	4.79	1.23	1.00	0.000	0.000	0.000
32.0	1.49	1.70	15700	0.21	0.0228	0.0186	0.981	0.996	0.956
16.0	1.18	1.63	25600	0.45	0.267	0.218	0.782	0.934	0.906
8.00	1.23	3.03	31400	1.80	0.369	0.301	0.699	0.897	0.624
4.00	1.24	4.48	93600	3.24	0.915	0.746	0.254	0.507	0.324
2.00	1.18	5.12	164500	3.94	1.20	0.976	0.0240	0.0627	0.1775
1.00	1.19	6.02	195400	4.83	1.28	1.05	-0.0461	-0.131	-0.00835
Control	1.19	6.04	177400	4.85	1.23	1.00	0.000	0.000	0.000
32.0	1.55	1.70	20333	0.15	0.145	0.117	0.877	0.967	0.968
16.0	1.29	1.74	24200	0.45	0.237	0.191	0.806	0.943	0.907
8.00	1.23	3.07	32800	1.84	0.391	0.317	0.683	0.890	0.620
4.00	1.22	4.56	94767	3.35	0.922	0.747	0.254	0.509	0.310
2.00	1.22	5.08	166333	3.86	1.20	0.974	0.0261	0.0681	0.205
1.00	1.21	5.69	193900	4.48	1.28	1.04	-0.0360	-0.102	0.0763

IR : Inhibition rate

GR : Growth rate

FY : Final yield based on cell density

實驗毒物 : Ethyl acrylate

MCV (μm^3) : 44.4

Initial pH : 7.50

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ specific	μ relative	IR (GR)	IR (FY)	IR (DO)
Control	1.77	4.35	179000	2.58	1.24	1.00	0.000	0.000	0.000
22.8	1.75	1.95	31100	0.20	0.365	0.294	0.706	0.902	0.922
11.4	1.69	2.30	32300	0.61	0.384	0.309	0.691	0.895	0.764
5.70	1.68	2.92	45600	1.24	0.556	0.448	0.552	0.813	0.519
2.85	1.55	3.66	80900	2.11	0.843	0.680	0.320	0.598	0.182
1.42	1.71	4.03	111100	2.32	1.00	0.808	0.192	0.414	0.101
0.712	1.69	4.01	127800	2.32	1.07	0.864	0.136	0.312	0.101
Control	1.71	3.95	172700	2.24	1.22	1.00	0.000	0.000	0.000
22.8	1.70	1.93	28000	0.23	0.312	0.255	0.745	0.918	0.897
11.4	1.38	1.97	31500	0.59	0.371	0.304	0.696	0.895	0.737
5.70	1.57	3.35	56100	1.78	0.660	0.540	0.460	0.739	0.205
2.85	1.49	3.57	84900	2.08	0.867	0.709	0.291	0.557	0.0714
1.42	1.67	3.88	101200	2.21	0.955	0.781	0.219	0.453	0.0134
0.712	1.66	4.02	132700	2.36	1.09	0.892	0.108	0.254	-0.0536
Control	1.65	4.01	180900	2.36	1.24	1.00	0.000	0.000	0.000
22.8	1.63	1.94	31100	0.31	0.365	0.293	0.707	0.903	0.869
11.4	1.73	2.67	33100	0.94	0.396	0.318	0.682	0.891	0.602
5.70	1.66	3.01	50800	1.35	0.610	0.490	0.510	0.784	0.428
2.85	1.64	3.62	77100	1.98	0.819	0.657	0.343	0.626	0.161
1.42	1.62	3.87	95600	2.25	0.926	0.744	0.256	0.514	0.0466
0.712	1.87	4.09	141600	2.22	1.12	0.902	0.0984	0.237	0.0593
Control	1.71	4.10	177533	2.39	1.24	1.00	0.000	0.000	0.000
22.8	1.69	1.94	30067	0.25	0.347	0.281	0.719	0.907	0.897
11.4	1.60	2.31	32300	0.71	0.383	0.310	0.690	0.894	0.702
5.70	1.64	3.09	50833	1.46	0.608	0.493	0.506	0.780	0.391
2.85	1.56	3.62	80967	2.06	0.843	0.682	0.318	0.594	0.141
1.42	1.67	3.93	102633	2.26	0.961	0.778	0.222	0.461	0.0557
0.712	1.74	4.04	134033	2.30	1.09	0.886	0.114	0.268	0.0390

IR : Inhibition rate

GR : Growth rate

FY : Final yield based on cell density

實驗毒物 : Propargyl acrylate

MCV (μm^3) : 45.3

Initial pH : 7.47

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ specific	μ relative	IR (GR)	IR (FY)	IR (DO)
Control	2.12	6.34	238000	4.22	1.38	1.00	0.000	0.000	0.000
4.68	1.72	2.19	19300	0.47	0.126	0.0912	0.909	0.981	0.889
1.17	2.16	3.71	31900	1.55	0.377	0.273	0.727	0.924	0.633
0.585	2.11	5.18	143200	3.07	1.13	0.816	0.184	0.425	0.273
0.293	1.92	6.07	216700	4.15	1.34	0.966	0.0339	0.0955	0.0166
0.146	2.04	6.25	232800	4.21	1.37	0.992	0.00799	0.0233	0.00237
Control	2.04	6.21	222600	4.17	1.35	1.00	0.000	0.000	0.000
4.68	1.72	1.92	17100	0.20	0.0655	0.0486	0.951	0.990	0.952
1.17	1.82	3.31	29000	1.49	0.330	0.244	0.756	0.933	0.643
0.585	1.86	5.31	151800	3.45	1.16	0.858	0.142	0.341	0.173
0.293	2.13	5.96	192800	3.83	1.28	0.947	0.0533	0.144	0.0815
0.146	2.00	6.22	231700	4.22	1.37	1.01	-0.0149	-0.0438	-0.0120
Control	2.04	6.40	236500	4.36	1.38	1.00	0.000	0.000	0.000
4.68	1.80	2.07	16300	0.27	0.0416	0.0301	0.970	0.994	0.938
1.17	1.70	3.26	31100	1.56	0.365	0.264	0.736	0.927	0.642
0.585	2.07	5.50	145700	3.43	1.14	0.824	0.176	0.410	0.213
0.293	1.97	5.60	199100	3.63	1.29	0.938	0.0624	0.169	0.167
0.146	1.93	6.11	231800	4.18	1.37	0.993	0.00728	0.0212	0.0413
Control	2.07	6.32	232367	4.25	1.37	1.00	0.000	0.000	0.000
4.68	1.75	2.06	17567	0.31	0.0777	0.0566	0.942	0.988	0.926
1.17	1.89	3.43	30667	1.53	0.357	0.261	0.739	0.928	0.639
0.585	2.01	5.33	146900	3.32	1.14	0.833	0.167	0.393	0.220
0.293	2.01	5.88	202867	3.87	1.30	0.950	0.0495	0.136	0.0894
0.146	1.99	6.19	232100	4.20	1.37	1.00	0.000	0.00123	0.0110

IR : Inhibition rate

GR : Growth rate

FY : Final yield based on cell density

實驗毒物 : Isobutyl acrylate

MCV (μm^3) : 44.2

Initial pH : 7.59

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ specific	μ relative	IR (GR)	IR (FY)	IR (DO)
Control	1.96	4.73	193100	2.77	1.28	1.00	0.000	0.000	0.000
14.8	1.85	2.10	26500	0.25	0.285	0.223	0.777	0.935	0.910
7.42	1.80	2.20	32200	0.40	0.382	0.299	0.701	0.903	0.856
3.71	1.70	3.13	44300	1.43	0.541	0.424	0.576	0.835	0.484
1.86	1.67	3.17	58400	1.50	0.680	0.532	0.468	0.756	0.458
0.928	1.62	3.73	83900	2.11	0.861	0.674	0.326	0.613	0.238
0.464	1.79	4.19	135900	2.40	1.10	0.863	0.137	0.321	0.134
0.232	2.01	4.45	162200	2.44	1.19	0.932	0.0682	0.173	0.119
Control	1.95	4.65	188300	2.70	1.26	1.00	0.000	0.000	0.000
14.8	2.07	2.34	27200	0.27	0.298	0.235	0.765	0.930	0.900
7.42	1.62	1.92	33500	0.30	0.402	0.318	0.682	0.893	0.889
3.71	1.49	2.75	45700	1.26	0.557	0.440	0.560	0.823	0.533
1.86	1.49	3.09	58000	1.60	0.676	0.535	0.465	0.752	0.407
0.928	1.74	3.82	90700	2.08	0.900	0.711	0.289	0.563	0.230
0.464	1.89	4.25	139400	2.36	1.11	0.881	0.119	0.282	0.126
0.232	1.95	4.95	188300	3.00	1.26	1.00	0.000	0.000	-0.111
Control	1.90	4.75	214400	2.85	1.33	1.00	0.000	0.000	0.000
14.8	2.02	2.53	27600	0.51	0.305	0.229	0.771	0.937	0.821
7.42	1.63	2.16	28900	0.53	0.328	0.247	0.753	0.930	0.814
3.71	1.64	2.89	43900	1.25	0.537	0.404	0.596	0.855	0.561
1.86	1.45	2.94	52300	1.49	0.624	0.470	0.530	0.813	0.477
0.928	1.72	3.74	83100	2.02	0.856	0.644	0.356	0.658	0.291
0.464	1.59	3.91	125400	2.32	1.06	0.798	0.202	0.446	0.186
0.232	1.84	4.62	172600	2.78	1.22	0.918	0.0815	0.210	0.0246
Control	1.94	4.71	198600	2.77	1.29	1.00	0.000	0.000	0.000
14.8	1.98	2.32	27100	0.34	0.296	0.229	0.771	0.934	0.876
7.42	1.68	2.09	31533	0.41	0.371	0.288	0.712	0.910	0.852
3.71	1.61	2.92	44633	1.31	0.545	0.423	0.578	0.839	0.526
1.86	1.54	3.07	56233	1.53	0.660	0.512	0.488	0.775	0.448
0.928	1.69	3.76	85900	2.07	0.872	0.676	0.324	0.614	0.254
0.464	1.76	4.12	133567	2.36	1.09	0.847	0.154	0.354	0.149
0.232	1.93	4.67	174367	2.74	1.23	0.950	0.0504	0.132	0.0120

IR : Inhibition rate

GR : Growth rate

FY : Final yield based on cell density

實驗毒物 : Hexyl acrylate

MCV (μm^3) : 44.0

Initial pH : 7.49

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	$\mu\text{specific}$	$\mu\text{relative}$	IR (GR)	IR (FY)	IR (DO)
Control	2.02	4.78	211400	2.76	1.32	1.00	0.000	0.000	0.000
2.51	2.17	2.05	32700	-0.12	0.390	0.295	0.705	0.910	1.04
1.01	1.93	2.34	36200	0.41	0.441	0.333	0.667	0.892	0.851
0.402	1.97	3.00	71900	1.03	0.784	0.592	0.408	0.710	0.627
0.161	2.07	3.26	61600	1.19	0.706	0.534	0.466	0.763	0.569
0.0643	1.94	4.27	127800	2.33	1.07	0.810	0.190	0.426	0.156
0.0257	1.98	4.22	169800	2.24	1.21	0.917	0.0828	0.212	0.188
0.0103	2.13	5.01	220900	2.88	1.34	1.02	-0.0166	-0.0484	-0.0435
Control	1.92	4.85	209100	2.93	1.32	1.00	0.000	0.000	0.000
2.51	2.20	2.14	34000	-0.06	0.409	0.311	0.689	0.902	1.02
1.01	1.87	2.13	45800	0.26	0.558	0.424	0.576	0.841	0.911
0.402	1.98	2.99	46500	1.01	0.566	0.429	0.571	0.838	0.655
0.161	1.76	3.24	82300	1.48	0.851	0.646	0.354	0.653	0.495
0.0643	1.86	3.86	113700	2.00	1.01	0.769	0.231	0.491	0.317
0.0257	1.99	4.13	144900	2.14	1.13	0.861	0.139	0.331	0.270
0.0103	1.96	5.00	200100	3.04	1.30	0.983	0.0167	0.0464	-0.0375
Control	2.02	4.59	205800	2.57	1.31	1.00	0.000	0.000	0.000
2.51	1.99	1.96	45100	-0.03	0.550	0.420	0.580	0.842	1.01
1.01	1.81	1.92	55300	0.11	0.652	0.498	0.502	0.789	0.957
0.402	1.91	2.99	56100	1.08	0.660	0.504	0.496	0.785	0.580
0.161	1.98	3.43	89000	1.45	0.890	0.680	0.320	0.612	0.436
0.0643	1.92	4.18	151800	2.26	1.16	0.884	0.116	0.283	0.121
0.0257	1.97	4.25	166400	2.28	1.20	0.919	0.0811	0.206	0.113
0.0103	1.98	4.59	198100	2.61	1.29	0.985	0.0146	0.0404	-0.0156
Control	1.99	4.74	208767	2.75	1.32	1.00	0.000	0.000	0.000
2.51	2.12	2.05	37267	-0.07	0.450	0.342	0.654	0.885	1.03
1.01	1.87	2.13	45767	0.26	0.550	0.418	0.576	0.841	0.906
0.402	1.95	2.99	58167	1.04	0.670	0.508	0.485	0.777	0.622
0.161	1.94	3.31	77633	1.37	0.816	0.620	0.376	0.677	0.501
0.0643	1.91	4.10	131100	2.20	1.08	0.821	0.177	0.401	0.202
0.0257	1.98	4.20	160367	2.22	1.18	0.899	0.100	0.250	0.194
0.0103	2.02	4.87	206367	2.84	1.31	0.995	0.00439	0.0124	-0.0327

IR : Inhibition rate

GR : Growth rate

FY : Final yield based on cell density

實驗毒物 : 2-Hydroxyethyl acrylate

MCV (μm^3) : 44.2

Initial pH : 7.59

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ specific	μ relative	IR (GR)	IR (FY)	IR (DO)
Control	1.67	4.97	189000	3.30	1.27	1.00	0.000	0.000	0.000
21.0	1.80	1.95	30400	0.15	0.353	0.279	0.721	0.911	0.955
8.40	1.46	1.63	31100	0.17	0.365	0.288	0.712	0.907	0.948
3.36	1.41	2.38	38400	0.97	0.470	0.371	0.629	0.866	0.706
1.34	1.48	3.93	71000	2.45	0.777	0.614	0.386	0.678	0.258
0.538	1.74	4.43	112700	2.69	1.01	0.796	0.204	0.439	0.185
0.215	1.43	4.35	172200	2.92	1.22	0.963	0.0367	0.0966	0.115
0.0860	1.60	4.50	174400	2.90	1.23	0.968	0.0317	0.0839	0.121
Control	1.61	4.45	179400	2.84	1.24	1.00	0.000	0.000	0.000
21.0	2.11	2.26	25300	0.15	0.261	0.211	0.789	0.937	0.947
8.40	1.80	1.97	30900	0.17	0.361	0.291	0.709	0.903	0.940
3.36	1.37	2.53	37800	1.16	0.462	0.372	0.628	0.861	0.592
1.34	1.35	3.72	69600	2.37	0.767	0.618	0.382	0.668	0.165
0.538	1.43	4.16	113800	2.73	1.01	0.817	0.183	0.399	0.0387
0.215	1.54	4.46	162500	2.92	1.19	0.960	0.0399	0.103	-0.0282
0.0860	1.68	4.50	180000	2.82	1.24	1.00	-0.00135	-0.00365	0.00704
Control	1.61	4.67	187000	3.06	1.26	1.00	0.000	0.000	0.000
21.0	2.10	2.20	23900	0.10	0.233	0.185	0.815	0.948	0.967
8.40	1.61	1.81	32800	0.20	0.391	0.310	0.690	0.897	0.935
3.36	1.28	2.30	34600	1.02	0.418	0.331	0.669	0.886	0.667
1.34	1.36	3.48	68300	2.12	0.758	0.601	0.399	0.690	0.307
0.538	1.48	4.31	128600	2.83	1.07	0.852	0.148	0.340	0.0752
0.215	1.66	4.43	164000	2.77	1.20	0.948	0.0520	0.134	0.0948
0.0860	1.64	4.64	180800	3.00	1.24	0.987	0.0134	0.0360	0.0196
Control	1.63	4.70	185133	3.07	1.26	1.00	0.000	0.000	0.000
21.0	2.00	2.14	26533	0.13	0.282	0.225	0.773	0.932	0.957
8.40	1.62	1.80	31600	0.18	0.372	0.296	0.704	0.902	0.941
3.36	1.35	2.40	36933	1.05	0.450	0.358	0.641	0.871	0.658
1.34	1.40	3.71	69633	2.31	0.768	0.611	0.389	0.679	0.246
0.538	1.55	4.30	118367	2.75	1.03	0.821	0.178	0.392	0.103
0.215	1.54	4.41	166233	2.87	1.20	0.957	0.0429	0.111	0.0641
0.0860	1.64	4.55	178400	2.91	1.24	0.985	0.0147	0.0396	0.0522

IR : Inhibition rate

GR : Growth rate

FY : Final yield based on cell density

實驗毒物 : Methyl methacrylate

MCV (μm^3) : 44.2

Initial pH : 7.58

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ specific	μ relative	IR (GR)	IR (FY)	IR (DO)
Control	2.14	4.93	180700	2.79	1.24	1.00	0.000	0.000	0.000
2000	3.11	3.24	19200	0.13	0.123	0.0992	0.901	0.975	0.953
1000	2.39	3.62	28500	1.23	0.321	0.258	0.742	0.919	0.559
500	2.26	3.65	63700	1.39	0.723	0.581	0.419	0.706	0.502
250	2.12	4.34	106400	2.22	0.980	0.787	0.213	0.448	0.204
125	2.18	4.74	126800	2.56	1.07	0.858	0.142	0.325	0.0824
62.5	2.27	5.13	153900	2.86	1.16	0.935	0.0645	0.162	-0.0251
31.3	2.11	5.17	178700	3.06	1.24	0.996	0.00447	0.0121	-0.0968
Control	2.29	5.61	187000	3.32	1.26	1.00	0.000	0.000	0.000
2000	2.84	3.17	17500	0.33	0.0771	0.061	0.939	0.985	0.901
1000	2.25	3.07	23800	0.82	0.231	0.183	0.817	0.949	0.753
500	2.11	3.57	58100	1.46	0.677	0.537	0.463	0.749	0.560
250	2.08	4.37	113600	2.29	1.01	0.802	0.198	0.427	0.310
125	2.11	4.72	142800	2.61	1.13	0.893	0.107	0.257	0.214
62.5	2.14	5.01	156900	2.87	1.17	0.930	0.0696	0.175	0.136
31.3	2.12	5.05	163100	2.93	1.19	0.946	0.0542	0.139	0.117
Control	2.27	5.30	174300	3.03	1.23	1.00	0.000	0.000	0.000
2000	2.83	3.16	20700	0.33	0.161	0.131	0.869	0.964	0.891
1000	2.49	3.31	31300	0.82	0.368	0.300	0.700	0.898	0.729
500	2.19	3.55	46600	1.36	0.567	0.462	0.538	0.802	0.551
250	2.11	4.33	111000	2.22	1.00	0.816	0.184	0.397	0.267
125	1.90	4.44	131100	2.54	1.08	0.884	0.116	0.271	0.162
62.5	2.09	5.06	170400	2.97	1.22	0.991	0.00923	0.0245	0.0198
31.3	2.22	5.56	177000	3.34	1.23	1.01	-0.00627	-0.0169	-0.102
Control	2.23	5.28	180667	3.05	1.24	1.00	0.000	0.000	0.000
2000	2.93	3.19	19133	0.26	0.121	0.0972	0.902	0.975	0.914
1000	2.38	3.33	27867	0.96	0.307	0.247	0.751	0.922	0.686
500	2.19	3.59	56133	1.40	0.656	0.527	0.470	0.752	0.539
250	2.10	4.35	110333	2.24	0.998	0.802	0.198	0.425	0.264
125	2.06	4.63	133567	2.57	1.09	0.878	0.121	0.284	0.156
62.5	2.17	5.07	160400	2.90	1.18	0.952	0.0478	0.122	0.0481
31.3	2.15	5.26	172933	3.11	1.22	0.983	0.0176	0.0467	-0.0208

IR : Inhibition rate

GR : Growth rate

FY : Final yield based on cell density

實驗毒物 : Ethyl methacrylate

MCV (μm^3) : 43.6

Initial pH : 7.50

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ specific	μ relative	IR (GR)	IR (FY)	IR (DO)
Control	1.64	4.81	203800	3.17	1.30	1.00	0.000	0.000	0.000
320	2.13	2.77	22600	0.64	0.205	0.157	0.843	0.960	0.798
160	1.68	3.38	78400	1.70	0.827	0.634	0.366	0.664	0.464
80.0	1.39	3.79	132400	2.40	1.09	0.835	0.165	0.378	0.243
40.0	1.52	4.24	160600	2.72	1.19	0.909	0.0913	0.229	0.142
20.0	1.39	4.15	187500	2.76	1.26	0.968	0.0319	0.0863	0.129
Control	1.89	5.07	197800	3.18	1.29	1.00	0.000	0.000	0.000
320	2.33	3.02	22300	0.69	0.198	0.154	0.846	0.960	0.783
160	1.68	3.33	62300	1.65	0.712	0.552	0.448	0.741	0.481
80.0	1.40	4.04	129600	2.64	1.08	0.836	0.164	0.373	0.170
40.0	1.42	4.32	163300	2.90	1.19	0.926	0.0743	0.189	0.0881
20.0	1.42	4.53	188200	3.11	1.26	0.981	0.0193	0.0525	0.0220
Control	1.70	4.56	186900	2.86	1.26	1.00	0.000	0.000	0.000
320	2.42	3.00	23100	0.58	0.216	0.171	0.829	0.953	0.797
160	1.83	3.57	94500	1.74	0.920	0.730	0.270	0.538	0.392
80.0	1.42	3.72	124700	2.30	1.06	0.840	0.160	0.362	0.196
40.0	1.28	4.02	167000	2.74	1.20	0.955	0.0446	0.116	0.0420
20.0	1.55	4.72	203800	3.17	1.30	1.03	-0.0343	-0.0983	-0.108
Control	1.74	4.81	196167	3.07	1.29	1.00	0.000	0.000	0.000
320	2.29	2.93	22667	0.64	0.206	0.161	0.839	0.958	0.793
160	1.73	3.43	78400	1.70	0.820	0.639	0.357	0.650	0.447
80.0	1.40	3.85	128900	2.45	1.08	0.837	0.163	0.371	0.203
40.0	1.41	4.19	163633	2.79	1.19	0.930	0.0705	0.180	0.0923
20.0	1.45	4.47	193167	3.01	1.28	0.994	0.00599	0.0166	0.0185

IR : Inhibition rate

GR : Growth rate

FY : Final yield based on cell density

實驗毒物 : Vinyl methacrylate

MCV (μm^3) : 45.3

Initial pH : 7.47

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ specific	μ relative	IR (GR)	IR (FY)	IR (DO)
Control	1.86	6.43	225200	4.57	1.35	1.00	0.000	0.000	0.000
25.6	1.76	1.65	27400	-0.11	0.301	0.222	0.778	0.941	1.024
12.8	1.62	2.61	35900	0.99	0.436	0.322	0.678	0.901	0.783
6.40	1.51	3.49	62800	1.98	0.716	0.529	0.471	0.773	0.567
3.20	1.77	4.72	118200	2.95	1.03	0.762	0.238	0.509	0.354
1.60	1.83	5.42	180500	3.59	1.24	0.918	0.0817	0.213	0.214
0.800	1.85	5.92	211400	4.07	1.32	0.977	0.0233	0.0657	0.109
0.400	1.64	6.10	217000	4.46	1.34	0.986	0.0137	0.0390	0.0241
Control	1.66	6.14	227200	4.48	1.36	1.00	0.000	0.000	0.000
25.6	2.04	1.87	31500	-0.17	0.371	0.273	0.727	0.922	1.038
12.8	1.49	2.48	38600	0.99	0.473	0.348	0.652	0.889	0.779
6.40	1.51	3.75	73700	2.24	0.796	0.586	0.414	0.723	0.500
3.20	1.58	4.68	113500	3.10	1.01	0.745	0.255	0.536	0.308
1.60	1.87	5.54	194000	3.67	1.28	0.942	0.0581	0.156	0.181
0.800	1.82	5.80	212500	3.98	1.33	0.975	0.0246	0.0693	0.112
0.400	1.81	6.15	223200	4.34	1.35	0.993	0.00654	0.0189	0.0312
Control	1.62	6.10	220200	4.48	1.34	1.00	0.000	0.000	0.000
25.6	2.32	2.12	27500	-0.20	0.303	0.226	0.774	0.939	1.045
12.8	1.69	2.56	35300	0.87	0.428	0.319	0.681	0.901	0.806
6.40	1.62	3.47	62900	1.85	0.717	0.534	0.466	0.767	0.587
3.20	1.41	4.57	126500	3.16	1.07	0.794	0.206	0.457	0.295
1.60	1.81	5.64	182000	3.83	1.25	0.929	0.0709	0.186	0.145
0.800	1.78	5.81	217200	4.03	1.34	0.995	0.00511	0.0146	0.100
0.400	1.83	6.30	228900	4.47	1.36	1.01	-0.0144	-0.0424	0.00223
Control	1.71	6.22	224200	4.51	1.35	1.00	0.000	0.000	0.000
25.6	2.04	1.88	28800	-0.16	0.325	0.240	0.759	0.934	1.035
12.8	1.60	2.55	36600	0.95	0.446	0.330	0.670	0.897	0.789
6.40	1.55	3.57	66467	2.02	0.743	0.549	0.450	0.754	0.551
3.20	1.59	4.66	119400	3.07	1.04	0.767	0.233	0.501	0.319
1.60	1.84	5.53	185500	3.70	1.26	0.930	0.0701	0.185	0.180
0.800	1.82	5.84	213700	4.03	1.33	0.982	0.0177	0.0502	0.107
0.400	1.76	6.18	223033	4.42	1.35	0.998	0.00193	0.00558	0.0192

IR : Inhibition rate

GR : Growth rate

FY : Final yield based on cell density

實驗毒物 : Allyl methacrylate

MCV (μm^3) : 40.7

Initial pH : 7.52

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ specific	μ relative	IR (GR)	IR (FY)	IR (DO)
Control	1.66	4.31	145800	2.65	1.14	1.00	0.000	0.000	0.000
154	2.91	3.89	25300	0.98	0.261	0.230	0.770	0.921	0.630
76.9	2.21	3.83	24300	1.62	0.241	0.212	0.788	0.929	0.389
38.4	1.74	3.06	37800	1.32	0.462	0.406	0.594	0.826	0.502
19.2	1.67	3.67	63200	2.00	0.719	0.632	0.368	0.631	0.245
9.61	1.68	3.89	85400	2.21	0.870	0.765	0.235	0.462	0.166
4.80	1.76	3.88	114900	2.12	1.02	0.895	0.105	0.236	0.200
2.40	1.69	4.08	131200	2.39	1.08	0.954	0.0464	0.112	0.0981
Control	1.68	4.40	141600	2.72	1.12	1.00	0.000	0.000	0.000
154	3.07	3.99	25500	0.92	0.265	0.236	0.764	0.917	0.662
76.9	2.16	3.39	25900	1.23	0.273	0.243	0.757	0.914	0.548
38.4	1.83	3.24	37700	1.41	0.461	0.411	0.589	0.821	0.482
19.2	1.77	3.98	69800	2.21	0.769	0.685	0.315	0.567	0.188
9.61	1.57	3.99	85200	2.42	0.868	0.774	0.226	0.445	0.110
4.80	1.64	4.06	133600	2.42	1.09	0.974	0.0259	0.0632	0.110
2.40	1.66	4.50	166200	2.84	1.20	1.07	-0.0714	-0.194	-0.0441
Control	1.67	4.36	143700	2.69	1.13	1.00	0.000	0.000	0.000
154	3.06	3.82	25600	0.76	0.267	0.237	0.763	0.918	0.717
76.9	2.45	3.43	26300	0.98	0.281	0.248	0.752	0.912	0.636
38.4	1.87	3.44	44300	1.57	0.541	0.479	0.521	0.772	0.416
19.2	1.69	3.73	58100	2.04	0.677	0.599	0.401	0.665	0.242
9.61	1.54	3.97	93800	2.43	0.917	0.811	0.189	0.388	0.0967
4.80	1.58	4.07	117000	2.49	1.03	0.909	0.0910	0.207	0.0743
2.40	1.70	4.47	153900	2.77	1.16	1.03	-0.0303	-0.0793	-0.0297
Control	1.67	4.36	143700	2.69	1.13	1.00	0.000	0.000	0.000
154	3.01	3.90	25467	0.89	0.265	0.234	0.766	0.919	0.670
76.9	2.27	3.55	25500	1.28	0.265	0.235	0.765	0.918	0.525
38.4	1.81	3.25	39933	1.43	0.488	0.432	0.567	0.806	0.467
19.2	1.71	3.79	63700	2.08	0.722	0.639	0.360	0.622	0.225
9.61	1.60	3.95	88133	2.35	0.885	0.783	0.216	0.432	0.124
4.80	1.66	4.00	121833	2.34	1.05	0.926	0.0731	0.170	0.128
2.40	1.68	4.35	150433	2.67	1.15	1.02	-0.0203	-0.0523	0.00744

IR : Inhibition rate

GR : Growth rate

FY : Final yield based on cell density

實驗毒物 : Butyl methacrylate

MCV (μm^3) : 46.0

Initial pH : 7.60

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ specific	μ relative	IR (GR)	IR (FY)	IR (DO)
Control	1.27	9.46	190200	8.19	1.27	1.00	0.000	0.000	0.000
36.0	2.95	3.53	24300	0.58	0.241	0.190	0.810	0.947	0.929
24.0	2.41	3.32	26100	0.91	0.277	0.218	0.782	0.937	0.889
16.0	2.13	4.02	37500	1.89	0.458	0.361	0.639	0.872	0.769
10.7	1.95	6.52	123800	4.57	1.06	0.831	0.169	0.379	0.442
7.11	1.60	7.74	153600	6.14	1.16	0.916	0.0841	0.209	0.250
Control	1.22	9.40	191600	8.18	1.27	1.00	0.000	0.000	0.000
36.0	2.97	3.68	22200	0.71	0.196	0.154	0.846	0.959	0.913
24.0	2.44	3.27	22200	0.83	0.196	0.154	0.846	0.959	0.899
16.0	2.03	4.11	52100	2.08	0.623	0.489	0.511	0.790	0.746
10.7	1.90	6.29	106100	4.39	0.978	0.768	0.232	0.484	0.463
7.11	1.70	7.92	171300	6.22	1.22	0.956	0.0440	0.115	0.240
Control	1.22	9.30	190200	8.08	1.27	1.00	0.000	0.000	0.000
36.0	3.03	3.59	23700	0.56	0.229	0.180	0.820	0.950	0.931
24.0	2.41	3.04	23600	0.63	0.227	0.178	0.822	0.951	0.922
16.0	2.09	4.14	47300	2.05	0.574	0.452	0.548	0.816	0.746
10.7	1.92	6.19	122700	4.27	1.05	0.827	0.173	0.385	0.472
7.11	1.51	7.48	162500	5.97	1.19	0.938	0.0620	0.158	0.261
Control	1.24	9.39	190667	8.15	1.27	1.00	0.000	0.000	0.000
36.0	2.98	3.60	23400	0.62	0.222	0.175	0.825	0.952	0.924
24.0	2.42	3.21	23967	0.79	0.233	0.183	0.816	0.949	0.903
16.0	2.08	4.09	45633	2.01	0.552	0.434	0.562	0.826	0.754
10.7	1.92	6.33	117533	4.41	1.03	0.809	0.190	0.416	0.459
7.11	1.60	7.71	162467	6.11	1.19	0.937	0.0630	0.161	0.250

IR : Inhibition rate

GR : Growth rate

FY : Final yield based on cell density

實驗毒物：Isobutyl methacrylate

MCV (μm^3) : 45.6

Initial pH : 7.52

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ specific	μ relative	IR (GR)	IR (FY)	IR (DO)
Control	1.28	8.24	211000	6.96	1.32	1.00	0.000	0.000	0.000
54.0	3.36	4.19	23300	0.83	0.220	0.167	0.833	0.958	0.881
36.0	2.57	3.58	34700	1.01	0.419	0.317	0.683	0.899	0.855
24.0	2.19	6.12	113500	3.93	1.01	0.765	0.235	0.497	0.435
16.0	1.77	7.46	198400	5.69	1.29	0.977	0.0233	0.0643	0.182
10.7	1.59	8.05	210600	6.46	1.32	0.999	0.000718	0.00204	0.0718
Control	1.19	8.34	209200	7.15	1.32	1.00	0.000	0.000	0.000
54.0	3.36	4.13	24300	0.77	0.241	0.183	0.817	0.952	0.892
36.0	2.63	3.63	32200	1.00	0.382	0.290	0.710	0.911	0.860
24.0	1.78	5.01	103300	3.23	0.965	0.732	0.268	0.545	0.548
16.0	1.75	7.67	193400	5.92	1.28	0.970	0.0298	0.0814	0.172
10.7	1.56	8.01	205900	6.45	1.31	0.994	0.00603	0.0170	0.0979
Control	1.25	8.61	207400	7.36	1.31	1.00	0.000	0.000	0.000
54.0	3.35	4.24	22200	0.89	0.196	0.149	0.851	0.963	0.879
36.0	2.56	3.98	31800	1.42	0.376	0.286	0.714	0.913	0.807
24.0	2.15	4.68	93100	2.53	0.913	0.695	0.305	0.594	0.656
16.0	1.55	7.13	185700	5.58	1.26	0.958	0.0421	0.113	0.242
10.7	1.54	7.97	201200	6.43	1.30	0.988	0.0116	0.0322	0.126
Control	1.24	8.40	209200	7.16	1.32	1.00	0.000	0.000	0.000
54.0	3.36	4.19	23267	0.83	0.219	0.166	0.833	0.957	0.884
36.0	2.59	3.73	32900	1.14	0.392	0.298	0.702	0.908	0.840
24.0	2.04	5.27	103300	3.23	0.963	0.731	0.268	0.545	0.549
16.0	1.69	7.42	192500	5.73	1.28	0.968	0.0316	0.0860	0.199
10.7	1.56	8.01	205900	6.45	1.31	0.994	0.00603	0.0170	0.0992

IR : Inhibition rate

GR : Growth rate

FY : Final yield based on cell density

實驗毒物：2-Ethoxyethyl methacrylate

MCV (μm^3) : 41.4

Initial pH : 7.55

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ specific	μ relative	IR (GR)	IR (FY)	IR (DO)
Control	1.28	9.16	236700	7.88	1.38	1.00	0.000	0.000	0.000
320	2.34	5.21	65600	2.87	0.738	0.535	0.465	0.772	0.636
160	1.67	6.46	147400	4.79	1.14	0.828	0.172	0.403	0.392
80.0	1.38	8.18	221500	6.80	1.35	0.976	0.0241	0.0686	0.137
40.0	1.26	8.68	251300	7.42	1.41	1.02	-0.0217	-0.0659	0.0584
20.0	1.18	7.83	228500	6.65	1.36	0.987	0.0128	0.0370	0.156
Control	1.09	8.78	248900	7.69	1.40	1.00	0.000	0.000	0.000
320	2.35	5.55	87300	3.20	0.881	0.627	0.373	0.691	0.584
160	1.61	6.39	141300	4.78	1.12	0.798	0.202	0.460	0.378
80.0	1.37	7.39	202200	6.02	1.30	0.926	0.0740	0.200	0.217
40.0	1.22	8.98	266400	7.76	1.44	1.02	-0.0242	-0.0748	-0.00910
20.0	1.19	8.45	251000	7.26	1.41	1.00	-0.00299	-0.00898	0.0559
Control	1.13	8.45	200600	7.32	1.30	1.00	0.000	0.000	0.000
320	2.55	5.43	61700	2.88	0.707	0.545	0.455	0.748	0.607
160	1.76	6.70	154000	4.94	1.16	0.898	0.102	0.251	0.325
80.0	1.40	8.39	244200	6.99	1.39	1.08	-0.0758	-0.235	0.0451
40.0	1.33	9.05	278100	7.72	1.46	1.13	-0.126	-0.418	-0.0546
20.0	1.21	8.94	244700	7.73	1.40	1.08	-0.0766	-0.238	-0.0560
Control	1.17	8.80	228733	7.63	1.36	1.00	0.000	0.000	0.000
320	2.41	5.40	71533	2.98	0.775	0.569	0.427	0.735	0.609
160	1.68	6.52	147567	4.84	1.14	0.842	0.161	0.380	0.366
80.0	1.38	7.99	222633	6.60	1.35	0.993	0.00992	0.0285	0.135
40.0	1.27	8.90	265267	7.63	1.44	1.06	-0.0544	-0.171	0.000
20.0	1.19	8.41	241400	7.21	1.39	1.02	-0.0198	-0.0593	0.0546

IR : Inhibition rate

GR : Growth rate

FY : Final yield based on cell density

實驗毒物：Tetrahydrofurfuryl methacrylate

MCV (μm^3) : 43.2

Initial pH : 7.60

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ specific	μ relative	IR (GR)	IR (FY)	IR (DO)
Control	1.06	7.51	195300	6.45	1.28	1.00	0.000	0.000	0.000
420	2.27	3.64	37000	1.37	0.451	0.352	0.648	0.878	0.788
210	1.81	5.28	80200	3.47	0.838	0.653	0.347	0.638	0.462
105	1.43	6.59	152900	5.16	1.16	0.905	0.0954	0.235	0.200
52.5	1.33	7.36	193500	6.03	1.28	0.996	0.00361	0.0100	0.0651
26.3	1.13	7.64	196400	6.51	1.29	1.00	-0.00219	-0.00610	-0.00930
Control	1.05	7.48	191700	6.43	1.27	1.00	0.000	0.000	0.000
420	2.35	3.88	27600	1.53	0.305	0.239	0.761	0.929	0.762
210	1.86	5.50	97400	3.64	0.935	0.734	0.266	0.534	0.434
105	1.47	6.28	133000	4.81	1.09	0.857	0.143	0.332	0.252
52.5	1.32	7.37	190200	6.05	1.27	0.997	0.00308	0.00849	0.0591
26.3	1.12	7.57	194800	6.45	1.28	1.01	-0.00630	-0.0175	-0.00311
Control	1.00	7.44	193300	6.44	1.28	1.00	0.000	0.000	0.000
420	2.32	4.65	49700	2.33	0.599	0.469	0.531	0.805	0.638
210	1.82	5.47	93000	3.65	0.912	0.714	0.286	0.563	0.433
105	1.52	6.10	126700	4.58	1.07	0.835	0.165	0.374	0.289
52.5	1.24	7.47	192000	6.23	1.27	0.997	0.00264	0.00729	0.0326
26.3	1.34	7.72	189300	6.38	1.27	0.992	0.00818	0.0224	0.00932
Control	1.04	7.48	193433	6.44	1.28	1.00	0.000	0.000	0.000
420	2.31	4.06	38100	1.74	0.452	0.353	0.635	0.871	0.729
210	1.83	5.42	90200	3.59	0.895	0.700	0.298	0.579	0.443
105	1.47	6.32	137533	4.85	1.11	0.865	0.133	0.313	0.247
52.5	1.30	7.40	191900	6.10	1.27	0.997	0.00311	0.00859	0.0523
26.3	1.20	7.64	193500	6.45	1.28	1.00	0.000	0.000	-0.00104

IR : Inhibition rate

GR : Growth rate

FY : Final yield based on cell density

實驗毒物：Benzyl methacrylate

MCV (μm^3) : 45.0

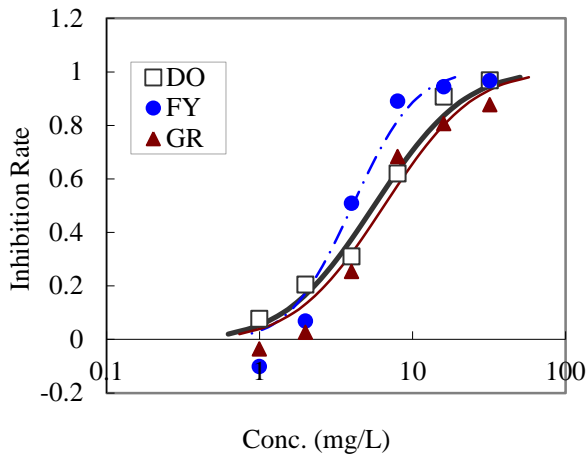
Initial pH : 7.41

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ specific	μ relative	IR (GR)	IR (FY)	IR (DO)
Control	1.31	7.60	190400	6.29	1.27	1.00	0.000	0.000	0.000
8.00	1.90	2.40	30400	0.50	0.353	0.278	0.722	0.912	0.921
5.33	1.51	2.49	45700	0.98	0.557	0.438	0.562	0.825	0.844
3.56	1.56	4.21	107100	2.65	0.983	0.774	0.226	0.475	0.579
2.37	1.39	6.89	188100	5.50	1.26	0.995	0.00478	0.0131	0.126
1.58	1.33	7.44	205400	6.11	1.31	1.03	-0.0298	-0.0855	0.0286
Control	1.23	7.59	199100	6.36	1.29	1.00	0.000	0.000	0.000
8.00	1.94	2.64	30500	0.70	0.355	0.274	0.726	0.916	0.890
5.33	1.61	2.51	38000	0.90	0.465	0.359	0.641	0.875	0.858
3.56	1.53	3.99	108200	2.46	0.988	0.764	0.236	0.494	0.613
2.37	1.30	7.13	192600	5.83	1.28	0.987	0.0128	0.0353	0.083
1.58	1.31	7.41	189900	6.10	1.27	0.982	0.0183	0.0500	0.041
Control	1.09	7.59	202000	6.50	1.30	1.00	0.000	0.000	0.000
8.00	1.95	2.69	31000	0.74	0.363	0.279	0.721	0.914	0.886
5.33	1.63	2.94	44900	1.31	0.548	0.422	0.578	0.840	0.798
3.56	1.40	3.67	109200	2.27	0.993	0.763	0.237	0.496	0.651
2.37	1.45	7.27	190100	5.82	1.27	0.977	0.0234	0.0636	0.105
1.58	1.34	7.70	203900	6.36	1.30	1.00	-0.00360	-0.0102	0.0215
Control	1.21	7.59	197167	6.38	1.29	1.00	0.000	0.000	0.000
8.00	1.93	2.58	30633	0.65	0.357	0.277	0.723	0.914	0.899
5.33	1.58	2.65	42867	1.06	0.523	0.407	0.592	0.847	0.833
3.56	1.50	3.96	108167	2.46	0.988	0.767	0.233	0.489	0.615
2.37	1.38	7.10	190267	5.72	1.27	0.986	0.0138	0.0379	0.104
1.58	1.33	7.52	199733	6.19	1.29	1.01	-0.00502	-0.0141	0.0303

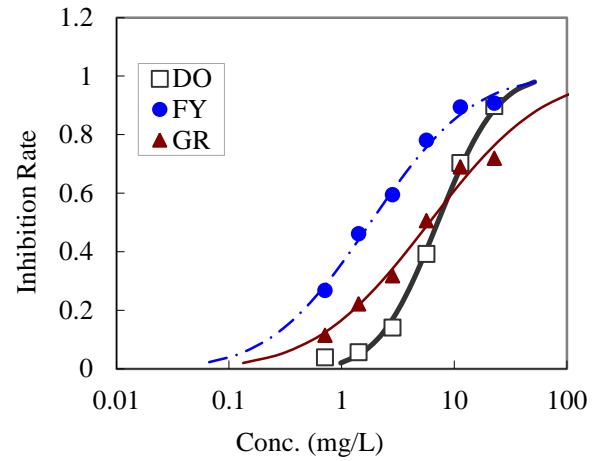
IR : Inhibition rate

GR : Growth rate

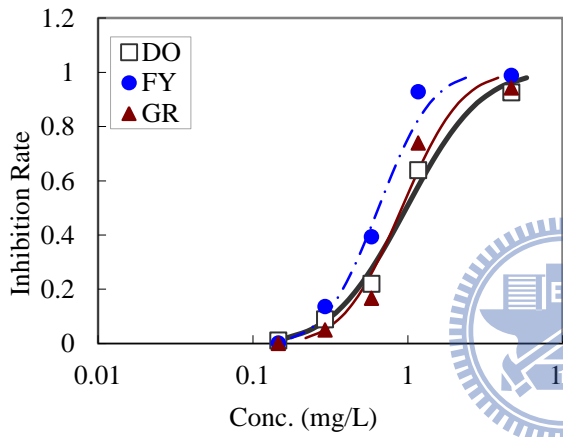
FY : Final yield based on cell density



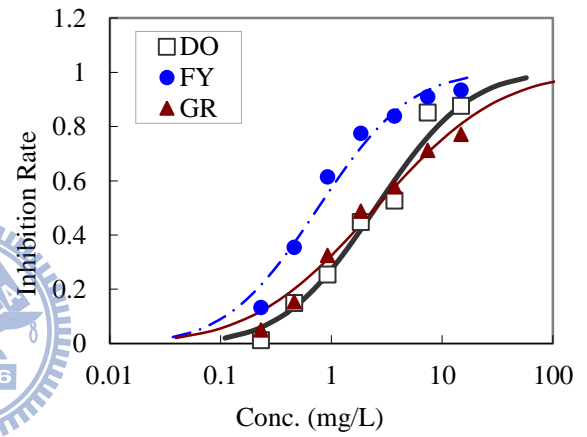
Methyl acrylate



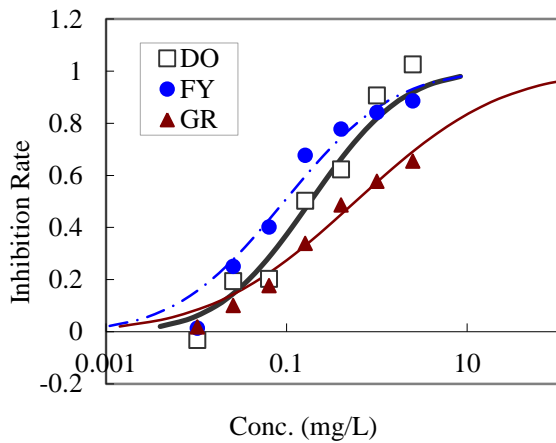
Ethyl acrylate



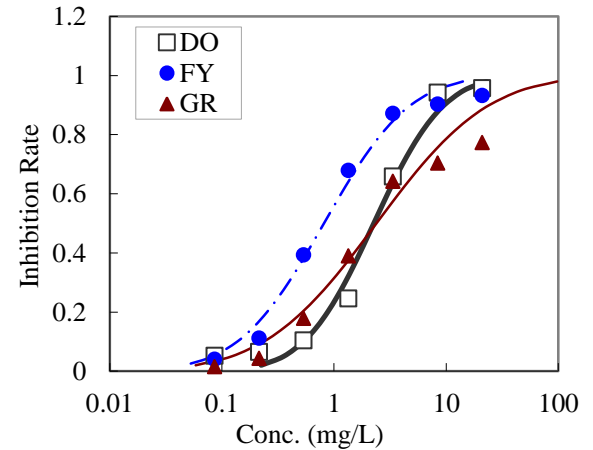
Propargyl acrylate



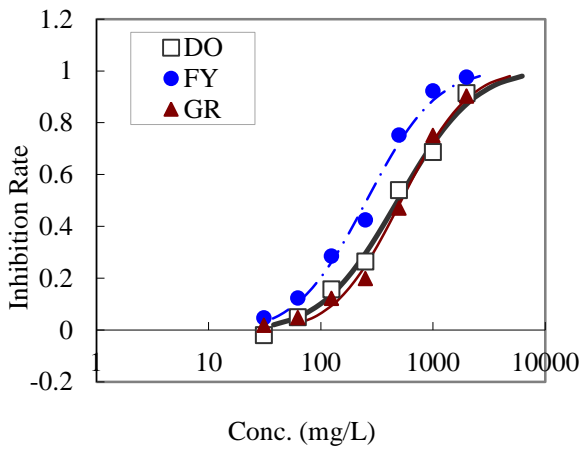
Isobutyl acrylate



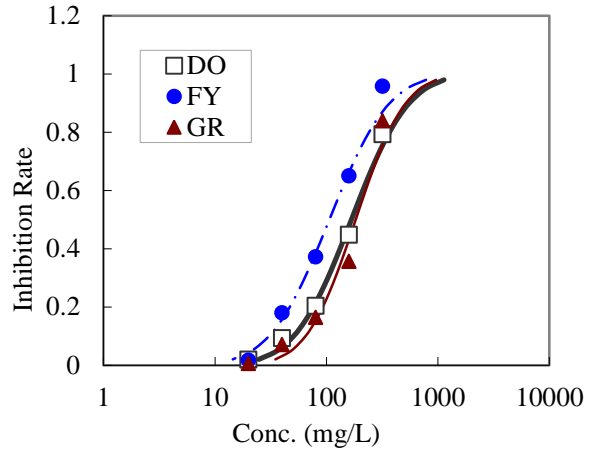
Hexyl acrylate



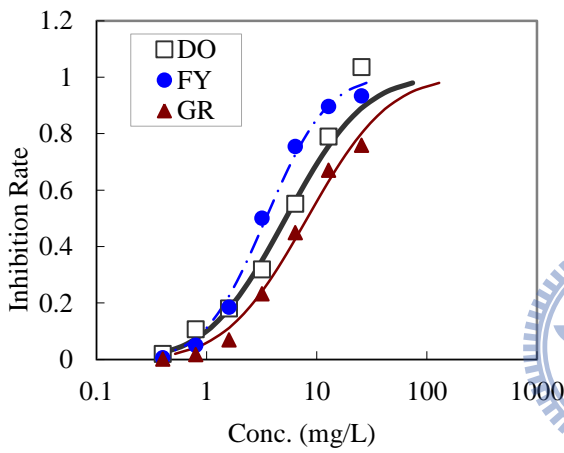
2-Hydroxyethyl acrylate



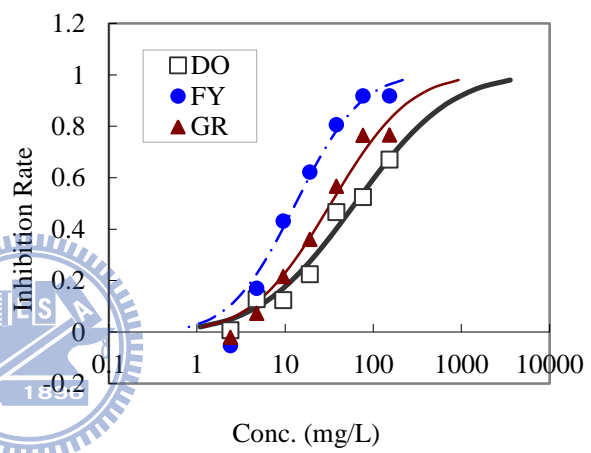
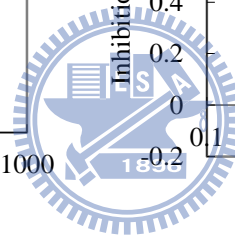
Methyl methacrylate



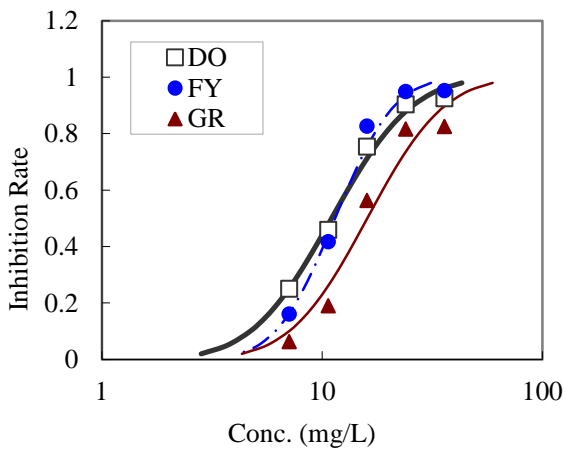
Ethyl methacrylate



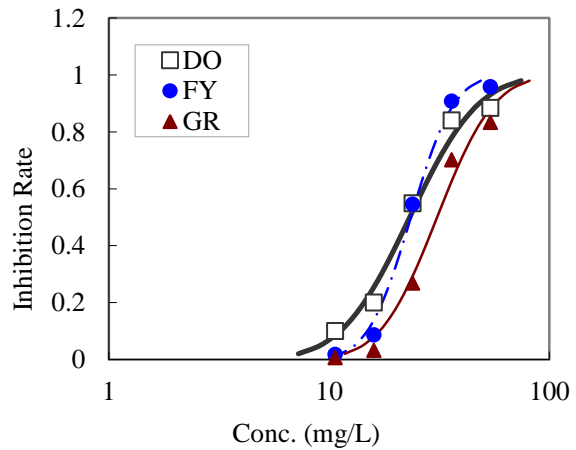
Vinyl methacrylate



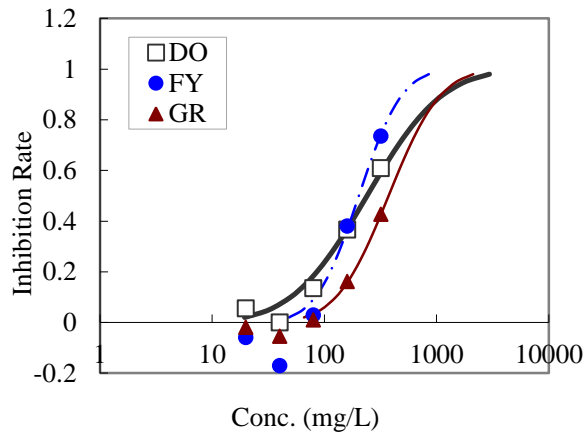
Allyl methacrylate



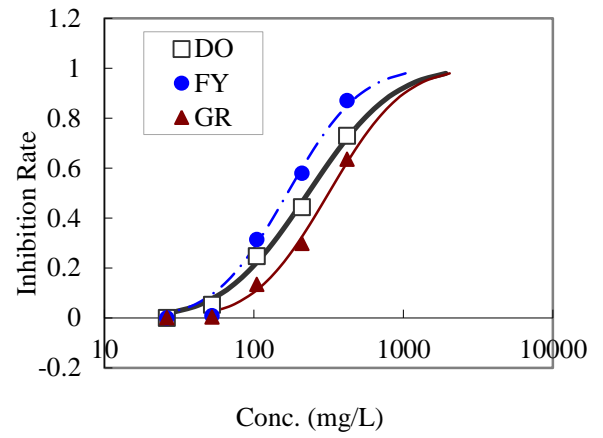
Butyl methacrylate



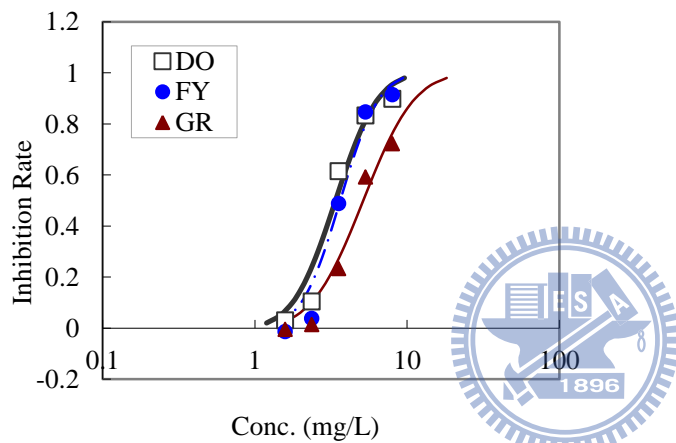
Isobutyl methacrylate



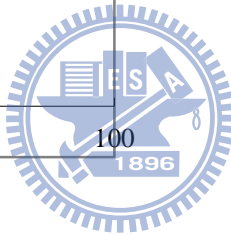
2-Ethoxyethyl methacrylate



Tetrahydrofurfuryl methacrylate



Benzyl methacrylate



附錄二 反應性試驗結果

Methyl acrylate

Conc. mg/L	Absorbance			IR
	1	2	Mean	
Control	1.80	1.76	1.78	0.000
130	0.151	0.163	0.157	0.912
65.1	0.540	0.550	0.545	0.694
48.8	0.728	0.715	0.722	0.595
32.6	0.970	0.967	0.969	0.456
16.3	1.34	1.32	1.33	0.255
8.14	1.54	1.52	1.53	0.142

IR : Inhibition rate

Ethyl acrylate

Conc. mg/L	Absorbance			IR
	1	2	Mean	
Control	1.70	1.73	1.71	0.000
124	0.233	0.220	0.227	0.868
61.9	0.628	0.598	0.613	0.642
46.4	0.805	0.774	0.790	0.539
30.9	1.03	1.03	1.03	0.399
15.5	1.31	1.33	1.32	0.230
7.74	1.52	1.52	1.52	0.114

IR : Inhibition rate

Propargyl acrylate

Conc. mg/L	Absorbance			IR
	1	2	Mean	
Control	1.82	1.81	1.82	0.000
98.8	0.00208	0.0140	0.00803	0.996
49.4	0.110	0.125	0.117	0.935
24.7	0.490	0.527	0.508	0.720
12.4	0.970	1.022	0.996	0.451
6.18	1.34	1.37	1.35	0.254
3.09	1.57	1.63	1.60	0.121

IR : Inhibition rate

Isobutyl acrylate

Conc. mg/L	Absorbance			IR
	1	2	Mean	
Control	1.83	1.81	1.82	0.000
142	0.151	0.171	0.161	0.912
71.2	0.548	0.590	0.569	0.688
35.6	1.05	1.06	1.06	0.420
17.8	1.39	1.40	1.39	0.237
8.90	1.59	1.58	1.58	0.131
4.45	1.73	1.74	1.74	0.0478

IR : Inhibition rate

Hexyl acrylate

Conc. mg/L	Absorbance			IR
	1	2	Mean	
Control	1.73	1.82	1.77	0.000
115	0.549	0.580	0.564	0.682
57.6	0.775	0.841	0.808	0.545
28.8	1.14	1.26	1.20	0.323
14.4	1.39	1.50	1.45	0.184
7.20	1.55	1.64	1.59	0.102
3.60	1.62	1.70	1.66	0.0627

IR : Inhibition rate

2-Hydroxyethyl acrylate

Conc. mg/L	Absorbance			IR
	1	2	Mean	
Control	1.82	1.83	1.83	0.000
139	0.147	0.136	0.141	0.923
69.6	0.501	0.512	0.506	0.723
34.8	0.986	0.984	0.985	0.460
17.4	1.33	1.34	1.34	0.268
8.70	1.56	1.55	1.56	0.147
4.35	1.68	1.70	1.69	0.0717

IR : Inhibition rate

Methyl methacrylate				
Conc. mg/L	Absorbance			IR
	1	2	Mean	
Control	1.79	1.77	1.78	0.000
8750	0.749	0.786	0.768	0.569
7470	0.842	0.870	0.856	0.519
3730	1.20	1.24	1.22	0.315
1870	1.48	1.49	1.49	0.165
934	1.60	1.62	1.61	0.0976
467	1.69	1.71	1.70	0.0433

IR : Inhibition rate

Vinyl methacrylate				
Conc. mg/L	Absorbance			IR
	1	2	Mean	
Control	1.80	1.78	1.79	0.000
911	0.166	0.164	0.165	0.908
600	0.367	0.368	0.368	0.795
300	0.848	0.839	0.844	0.529
150	1.21	1.21	1.21	0.325
75.0	1.47	1.42	1.45	0.193
37.5	1.64	1.64	1.64	0.086

IR : Inhibition rate

飽和濃度下未達 RC₅₀

Ethyl methacrylate		
Conc. mg/L	Abs.	IR
Control	1.75	0.000
4000	1.35	0.229
2000	1.52	0.130
1000	1.61	0.0821
500	1.65	0.0543
250	1.67	0.0447

IR : Inhibition rate

Allyl methacrylate		
Conc. mg/L	Abs.	IR
Control	1.82	0.000
804	1.58	0.133
429	1.62	0.113
214	1.71	0.0615
107	1.72	0.0568
53.6	1.76	0.0330

IR : Inhibition rate

Butyl methacrylate		
Conc. mg/L	Abs.	IR
Control	1.70	0.000
212	1.49	0.126
118	1.62	0.0482
70.7	1.66	0.0273
35.3	1.68	0.0114
17.7	1.69	0.00802

IR : Inhibition rate

Isobutyl methacrylate		
Conc. mg/L	Abs.	IR
Control	1.80	0.000
200	1.59	0.120
100	1.70	0.0586
50.0	1.74	0.0347
25.0	1.73	0.0384
12.5	1.76	0.0220

IR : Inhibition rate

2-Ethoxyethyl methacrylate		
Conc. mg/L	Abs.	IR
Control	1.77	0.000
2010	1.45	0.182
1070	1.62	0.0852
536	1.68	0.0493
268	1.76	0.00493
134	1.79	-0.0146

IR : Inhibition rate

Tetrahydrofurfuryl methacrylate		
Conc. mg/L	Abs.	IR
Control	1.79	0.000
1800	1.35	0.246
800	1.58	0.119
400	1.68	0.0620
200	1.73	0.0343
100	1.75	0.0206

IR : Inhibition rate

Benzyl methacrylate		
Conc. mg/L	Abs.	IR
Control	1.73	0.000
160	1.66	0.0442
80.0	1.69	0.0260
40.0	1.69	0.0234
20.0	1.71	0.0107
10.0	1.71	0.0108

IR : Inhibition rate

Abs. : Absorbance

未加抗氧化劑之 k_{GSH} 實驗

GSH 之氧化校正參考[38]

甲基丙烯酸酯類與 GSH 之反應速率常數，須以式(4.7)GSH 氧化生成 GSSG 之速率常數代入式(4.8)校正。以 t 分鐘（24×60 分鐘）後控制組（未加親電試劑）之 GSH 濃度變化，得 GSH 氧化速率常數 $k_{\text{GSSG}}^{\text{O}_2}$ ，代入式(4.5)修正：

$$k_{\text{GSSG}}^{\text{O}_2} = \frac{\ln C_{\text{GSH},0} - \ln C_{\text{GSH},t}'}{t} \quad (\text{未加親電試劑}) \quad (4.7)$$

$$k_{\text{GSH}} = \frac{k_{\text{GSH,obs}} - k_{\text{GSSG}}^{\text{O}_2}}{C_{\text{EI},0}} \quad (4.8)$$

化合物	$\log k_{\text{GSH}}$ ($\text{M}^{-1}\text{min}^{-1}$)	化合物	$\log k_{\text{GSH}}$ ($\text{M}^{-1}\text{min}^{-1}$)
Acrylate		Methacrylate	
Methyl-	1.24	Methyl-	-0.914
Ethyl-	1.30	Ethyl-	-0.842
Propargyl-	1.70	Vinyl-	0.456
Isobutyl-	1.29	Allyl-	-0.404
Hexyl-	1.32	Butyl-	0.0253
2-Hydroxy ethyl-	1.37	Isobutyl-	-0.115
		2-Ethoxy ethyl-	-0.207
		Tetrahydrofurfuryl-	-0.552
		Benzyl-	-0.00636