

第五章 結果與討論

5.1 二十種有機物的毒性試驗結果

本實驗室利用密閉式藻類毒性試驗，在過去三年中，共進行了七十一種有機物的藻類毒性試驗，加上本研究所進行的二十種有機物毒性試驗，因此共包含了九十一種有機物的藻類毒性試驗結果。

依據 Russom et al., (1997)對毒性機制分類，可將本研究中的二十種有機物，分為十四種 Non polar narcosis，四種 Polar narcosis，和兩種反應性機制的有機物 (表 5.1)，並分別以 DO (Dissolved Oxygen)和 growth rate 做為毒性試驗終點，分析這二十種有機物的毒性之後，結果發現除了 2,6-dinitrotoluene 之外的有機物，皆以 Δ DO 做為毒性試驗終點所得的結果較敏感，顯示出 2,6-dinitrotoluene 在本研究中對月牙藻的毒性影響，主要在於生長率的抑制。

Schultz et al., (1998)將 Non polar narcosis 的毒性，定義為基線毒性 (Baseline toxicity)，因此將本研究中的十四種 Non polar narcosis，以 growth rate 為毒性試驗終點所得到的毒性，與 log P 進行回歸分析後 (圖 5.1.1)，可得到本研究方法下的基線毒性方程式：

$$\log(1/EC_{50}) = 0.5994 \log P + 1.9739 \dots \dots \dots (1)$$

$$n = 14, \quad R^2 = 0.616$$

另一方面，若以 DO 為毒性試驗終點，與 log P 回歸後，所得到的基線毒性方程式則為：

$$\log(1/EC_{50}) = 0.6328 \log P + 2.0696 \dots \dots \dots (2)$$

$$n = 14, \quad R^2 = 0.6085$$

表 5.1 二十種有機物毒性試驗結果

#	Chemical	MOA	log P	EC ₅₀ (mg/L)		log(1/EC ₅₀)*	
				DO	Growth rate	DO	Growth rate
1	2-nitrophenol	P	1.79	2.36	5.49	4.76	4.40
2	3-nitrophenol	P	2	7.29	13.68	4.28	4.00
3	4-nitrophenol	P	1.91	0.41	0.60	5.52	5.36
4	2,4-dimethylphenol	P	2.3	19.10	25.41	3.80	3.68
5	2,4-dinitrophenol	R	1.67	1.21	1.64	5.18	5.04
6	2,6-dinitrotoluene	R	2.1	31.66	18.80	3.75	3.98
7	ethylbenzene	NP	3.15	1.51	4.391	4.84	4.38
8	2-chloro-p-xylene	NP	3.86	2.63	4.129	4.72	4.53
9	nitrobenzene	NP	1.85	17.69	31.63	3.84	3.59
10	2-chlorotoluene	NP	3.42	10.32	13.35	4.08	3.97
11	methylene chloride	NP	1.25	48.00	71.88	3.24	3.07
12	trichloromethane	NP	1.97	57.39	81.55	3.31	3.16
13	tetrachloromethane	NP	2.83	34.61	40.90	3.64	3.57
14	1,2-dichloropropane	NP	1.98	69.51	94.90	3.21	3.07
15	1,3-dichloropropane	NP	2	251.43	565.8	2.65	2.30
16	1-chlorobutane	NP	2.64	36.85	51.29	3.40	3.25
17	cis-1,2-dichloroethylene	NP	1.86	66.23	72.36	3.16	3.12
18	trans-1,2-dichloroethylene	NP	2.09	42.93	46.63	3.35	3.31
19	trichloroethylene	NP	2.42	52.55	66.42	3.39	3.29
20	tetrachloroethylene	NP	3.4	14.90	27.72	4.04	3.77

#. ID number

MOA. Mode of action

P. Polar narcosis

R. Reactive

NP. Non polar narcosis

*. log(1/EC₅₀), unit of EC₅₀: mol/L

從圖 5.1.1 中可發現 1,3-dichloropropane (#15)的毒性明顯低於基線毒性，且其毒性與 1,2-dichloropropane 比較之後，相差大約六倍 (1,2-dichloropropane > 1,3-dichloropropane)；LeBlanc, (1980)以 *Daphnia magna* 對這兩種有機物進行毒性試驗時，亦發現類似的情況，兩者的毒性大約相差五倍 (1,2-dichloropropane = 52 mg/L，1,3-dicghloropropane = 280 mg/L)。

在圖 5.1.1 中基線毒性的上半部，可發現除了 2,4-dimethylphenol (#4) 之外的五種有機物毒性，皆明顯高於基線毒性。這五種有機物，在結構上皆屬於帶有硝基的芳香族化合物；Robert, (1987)認為含有硝基的芳香族化合物在細胞中會產生一種劇毒的 C-nitroso 化合物，其毒性機制屬於 Uncouplers of oxidative phosphorylation 或是 Proelectrophiles。Cronin and Dearden, (1995)曾研究 2-nitrophenol 和 4-nitrophenol 的超額毒性 (Excess toxicity)，並認為這兩者的毒性機制屬於 Soft electrophiles。

若比較 nitrobenzene 與另外三種只含單一硝基的酚類 (2-nitrophenol, 3-nitrophenol, 4-nitrophenol)毒性，可發現這三種毒性機制屬於 Polar narcosis 的硝基酚類，毒性高於硝基苯，表示在原本接有硝基的苯環上，若再接了氫氧基 (Hydroxyl group)，則會使得毒性增高；Kamlet et al., (1986)表示，Polar narcosis 的毒性會高於 baseline toxicity 的原因在於其苯環上所接的氫氧基或胺基有很強的電子釋放能力，而這將導致比 Non polar narcosis 有較強的雙極化 (Dipolarity)或提供氫鍵酸度 (Hydrogen bond donor acidity)的能力。

將 Non polar narcotics 中不含 1,3-dichloropropane (#15)，以外的九種脂肪族毒性與 log P 回歸後 (圖 5.1.2)，可得到比基線毒性更好的相關性：

$$\log(1/EC_{50}) = 0.3816 \log P + 2.5542 \dots \dots \dots (2)$$

$$n = 9, \quad R^2 = 0.7707$$

利用方程式(2)即可預測氯烷類和氯烯類的毒性。

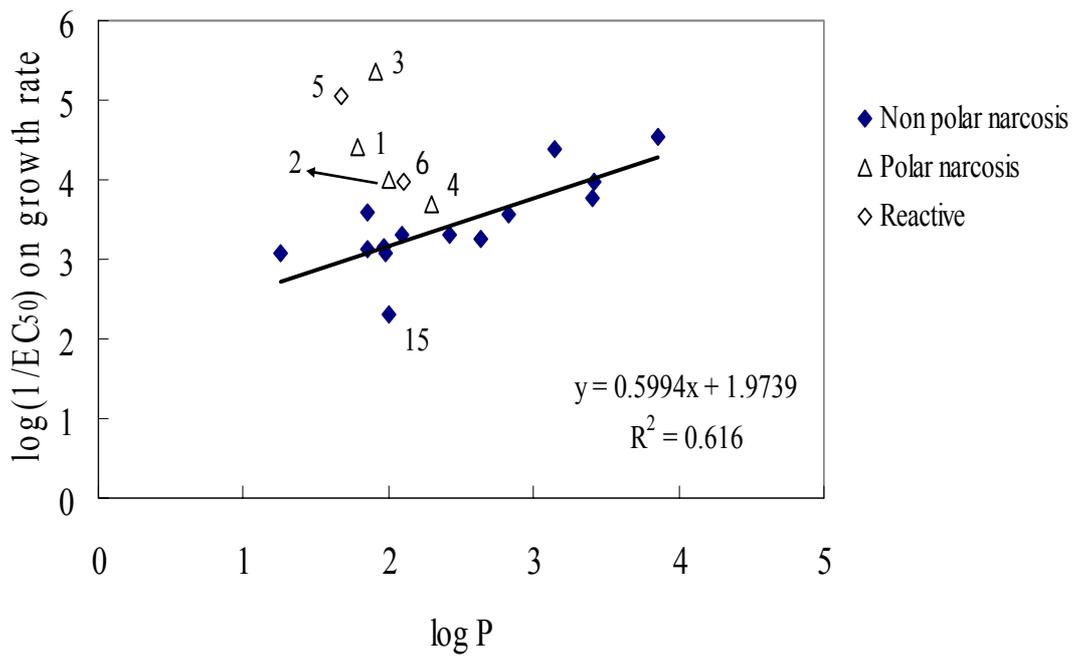


圖 5.1.1 二十種有機物毒性與 $\log P$ 的關係

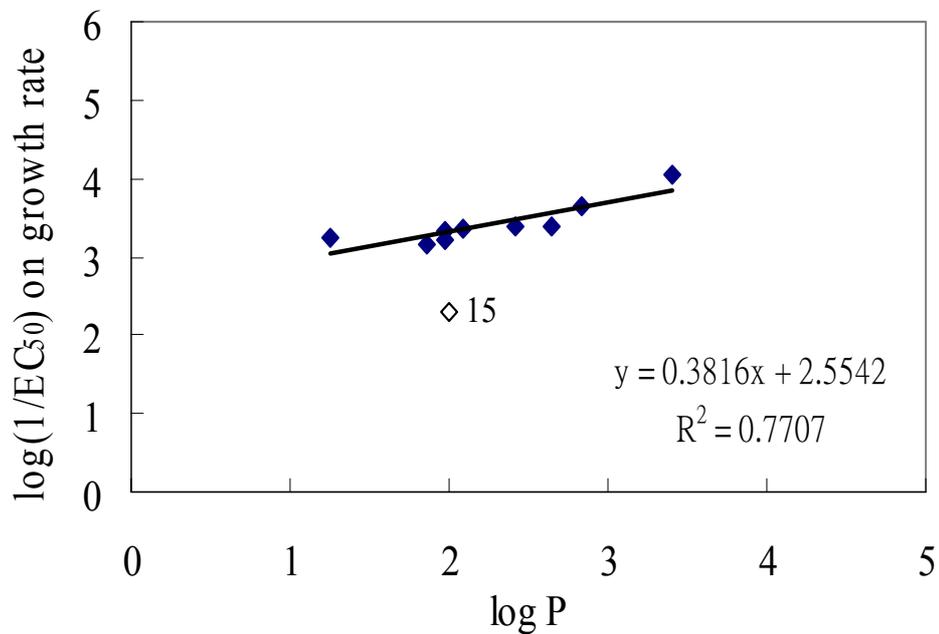


圖 5.1.2 氯烷類和氯烯類與 $\log P$ 的關係

5.2 二十種有機物毒性與物化參數的關係

本研究嘗試利用各種有機物的物化參數，與毒性之間的關係，找出適合用來預測某些特定化學物質毒性的方程式。表 5.2.1 中列出本研究所中所包含的五種帶有硝基的酚類毒性，和各別的解離常數 (pKa)與log P。經回歸分析後，在圖 5.2.1 至圖 5.2.4 中發現，除了 4-nitrophenol (#3)以外的酚類毒性與pKa或log P皆有很高的相關性。(Robert, 1987)認為帶有硝基的芳香族化合物，會產生高毒性的C-nitroso化合物，其毒性機制屬於Uncouplers of oxidative phosphorylation或Proelectrophiles。在此可能由於 4-nitrophenol與其他硝基酚類的毒性不同，而導致屬於outlier。若再將pKa和log P同時與毒性進行回歸後(不包含 4-nitrophenol)，亦發現有很好的預測效果，分別是若以DO為毒性試驗終點時，可得到的回歸方程式為

$$\log(1/EC_{50}) = -1.28 \log P - 0.09 \text{ pKa} + 7.69, n = 4, R^2 = 0.99;$$

若以 growth rate為毒性試驗終點，則方程式為

$$\log(1/EC_{50}) = 0.03 \log P - 0.21 \text{ pKa} + 5.87, n = 4, R^2 = 0.98。$$

之後所要討論的是本研究中脂肪族的毒性與四種水溶性參數之間的關係。表 5.2.2 所列的四種水溶性參數分別為：R代表超額莫耳分率(Excess molar refraction)， π_H 代表溶液的極性(Solute's dipolarity/dipolarizability)， $\sum\alpha^H$ 代表溶液的有效氫鍵酸度(Solute's effective or summation hydrogen-bond acidity)， $\sum\beta^H$ 代表溶液的有效氫鍵鹼度(Solute's effective or summation hydrogen-bond basicity)。結果發現此四種參數對於預測氯烷類和氯烯類的毒性有很好的效果，以DO為毒性試驗終點時，可得到方程式為

$$\log(1/EC_{50}) = 0.44 R - 1.61 \pi_H - 0.89 \sum\alpha^H - 12.38 (\sum\beta^H)^2 + 4.08, n = 8, R^2 = 0.91;$$

若以 growth rate為毒性試驗終點，則可得到

$$\log(1/EC_{50}) = 0.05 R - 1.56 \pi_H - 0.87 \sum\alpha^H - 20.72 (\sum\beta^H)^2 + 4.10, n = 8, R^2 = 0.93。$$

表 5.2.1 硝基酚類的毒性與 log P 和 pKa

#	chemical	log(1/EC ₅₀)		log P	pKa
		based on DO	based on growth rate		
1	2-nitrophenol	4.77	4.40	1.79	7.23
2	3-nitrophenol	4.28	4.01	2	8.36
3	4-nitrophenol	5.53	5.36	1.91	7.15
4	2,4-dimethylphenol	3.81	3.68	2.3	10.6
5	2,4-dinitrophenol	5.18	5.05	1.67	4.09

unit of EC₅₀: mole/L

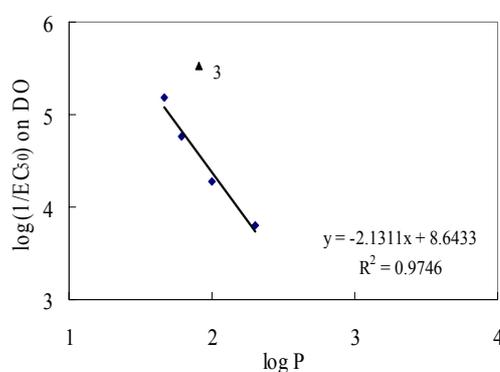


圖 5.2.1 硝基酚類毒性 based on DO 與 log P 的關係

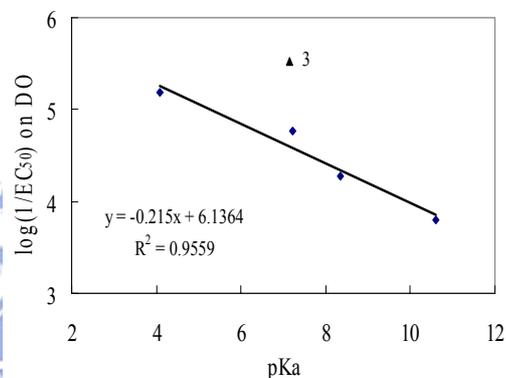


圖 5.2.2 硝基酚類毒性 based on DO 與 pKa 的關係

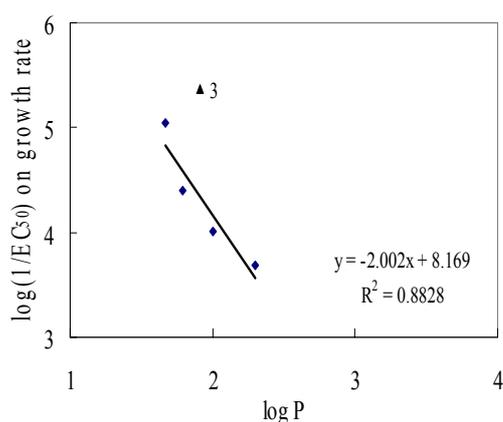


圖 5.2.3 硝基酚類毒性 based on growth rate 與 log P 的關係

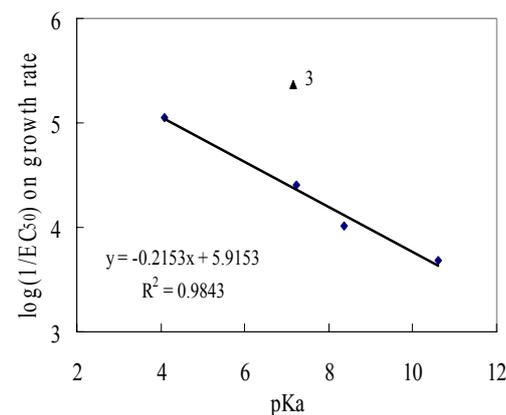


圖 5.2.4 硝基酚類毒性 based on growth rate 與 pKa 的關係