

第五章、結果與討論

5.1 藻類毒性試驗數據

本實驗主要將一系列二至五環的 PAHs 化合物，分別在 UV 燈光照前後進行 BOD 瓶藻類毒性試驗並以溶氧增加量、最終產量與生長率為反應終點。為了避免試驗毒物因為揮發性而逸散，所以實驗進行前先以 HPLC 進行濃度的定量分析，並在實驗過程中以玻璃蓋緊閉 BOD 瓶進行密閉式實驗避免毒物揮發而造成其毒性改變及實驗誤差。試驗所使用之毒物由於在水中溶解度極低，所以先以 DMSO 將其溶解，而試驗所使用之毒物螢蒽 (Fluoranthene)、菲 (Phenanthrene)、苯蒽 (Benzo[a]anthracene)、芘 (Benzo[b]fluorine)、兩苯駢嘧啶 (Acridine)、蔥酮苯 (Benzanthrone) 等等十一種 PAHs 毒物其水及辛醇係數最小為 3.32，最大為 6.54。

表 5.1.1 為 Acridine 光照前之原始毒性試驗數據，表中數據為三重複實驗之平均值，其濃度由上到下分別是 Control 組與六個不同濃度處理組，可發現濃度越高抑制率越大，根據不同濃度所得之淨溶氧差值與最終細胞密度可以計算出以三參數為試驗終點之抑制率，將所得數值帶入 Probit 模式中可求得不同參數之 EC_{50} 值與截距 (α)、斜率 (β) 並繪出以毒物濃度為橫軸，抑制率為縱軸之劑量反應曲線，推測其劑量反應關係。而 EC_{10} 與 NOEC 之值則分別由 G Test 最佳化模式與 Dunnett's test 計算得到，其方法後續將作進一步討論。

表 5.1.2 為使用 BOD 瓶進行藻類毒性試驗分別以溶氧增加量、最終產量與生長率為反應終點所得到之 UV 光照前十一種 PAHs 其 EC_{50} 值與 95% 信賴區間。在本研究所試驗的十一種 PAHs 毒物中，其 UV 光照前之毒性試驗結果以五環之 Benzo[b]chrysene 毒性最強，不論是以溶氧增加量

($EC_{50}=0.001\text{mg/L}$)、最終產量($EC_{50}=0.005\text{ mg/L}$)或是生長率($EC_{50}=0.012\text{ mg/L}$)為試驗終點所得到之 EC_{50} 值皆以B[b]c為最低，顯示其毒性最強。而毒性最弱者為兩環之Naphthalene，其 EC_{50} 值分別為 3.528 mg/L (based on DO)、 2.510 mg/L (based on FY)以及 4.793 mg/L (based on GR)。而由表 5.1.2 之 EC_{50} 值實驗結果同時亦可發現環數越低之PAHs如二環之Naphthalene及三環之 Acridine 其毒性越弱，反之環數越高之PAHs如四環之 Benzo[a]anthracene與五環之Benzo[b]chrysene其毒性較強，因此可以發現PAHs之毒性會隨苯環環數增加而有毒性增強的趨勢，此現象亦與Sverdrup et al.^[50]以土壤中之躍尾蟲針對八種PAHs進行毒性試驗所得之結果一致。

表 5.1.3 為本研究十一種PAHs經過UV光照後進行BOD瓶藻類毒性試驗之結果其 EC_{50} 值與 95%信賴區間，經UV光照後毒性最強之毒物，以溶氧增加量為試驗終點時為Benzo[b]chrysene($EC_{50}=0.0012\text{ mg/L}$)，以最終產量時為 Benzo[a]anthracene($EC_{50}=0.0007\text{mg/L}$)，以生長率時為 Benzo[a]anthracene($EC_{50}=0.0022\text{ mg/L}$)。而毒性最弱者與光照前結果相同，在三個反應終點下皆為Naphthalene，其 EC_{50} 值分別為 3.75 mg/L (based on DO)、 2.04 mg/L (based on FY)以及 5.53 mg/L (based on GR)。

而在UV光照前後之光誘導毒性方面，比較光照前後藻類毒性試驗之結果(表 5.1.2 及表 5.1.3)，可以發現本研究所進行之十一種PAHs結果顯示其中有六種PAHs經過UV光照後其 EC_{50} 值較光照前明顯下降許多，顯示其光照後毒性增強而產生光誘導毒性現象。其中三環含氧分子取代基之 Benzanthrone以溶氧增加量為試驗終點時其 EC_{50} 值由光照前的 0.058 mg/L 降低為 0.0072 mg/L ，以最終產量為試驗終點時其 EC_{50} 值由 0.048 mg/L 下降為 0.0046 mg/L ，而以生長率為試驗終點時其 EC_{50} 值亦由 0.211 mg/L 降為 0.0208 mg/L ；比較三個反應終點下光照前後所得之 EC_{50} 值可發現經由UV光照後之Benzanthrone其毒性較光照前提高約十倍左右，顯示出其具有強烈之光誘導毒性效應發生。除了Benzanthrone之外的五種PAHs，如三環之

Anthracene、四環之Fluoranthene及Benzo[a]anthracene、五環之Perylene，以及含氮取代基之Acridine，在三種不同試驗終點下皆發現其光照後之 EC_{50} 值明顯下降，證明以上六種PAHs經UV光照後有光誘導毒現象產生。而此六種具光毒性之PAHs除了四環之Fluoranthene之外，其餘五種之 $\Delta E_{HOMO-LUMO}$ Gap能量差皆落在Mekenyan [22]以水蚤對PAHs進行光毒實驗所定義之光毒鐘型曲線範圍內，也顯示了此光毒窗範圍預測PAHs光毒性具極高之準確性。

圖 5.1.1 至圖 5.1.3 為在三種不同的試驗終點下比較其光照前後之毒性強弱，毒性以 $\log(1/EC_{50})(mmole/l)$ 來表示，因此 EC_{50} 值越低表毒性越強，其 $\log(1/EC_{50})$ 也越高。由圖中可發現本研究之 11 種PAHs，其中有六種PAHs，分別為Ben, Flu, Ant, B[a]A, Acr, Per，於圖中光照後之毒性明顯比光照前提升而產生光誘導毒性的現象。

關於三種試驗終點之敏感度比較上，圖 5.1.4 至 5.1.25 為本研究 11 種PAHs其光照前後之劑量反應曲線圖；光照前之 11 組PAHs中僅有B[b]c以溶氧增加量為試驗終點時較為敏感，其餘十組皆以最終產量為試驗終點時較為敏感；而在光照後的結果方面，亦僅有B[b]c與Acr以溶氧增加量為試驗終點時較為敏感，其餘九組皆以最終產量為試驗終點時較為敏感，顯示本研究之十一種PAHs，無論光照前後皆對最終產量此參數具有較高的敏感度。在Hsu [51]對苯類、氯苯類、甲苯、氯甲苯類等非極性麻醉有機物實驗中發現以DO為參數較敏感，Kao [52]以甲苯為毒物的藻類毒性試驗中也發現相同的結果，此外在Lin [53]的研究中分別對重金屬以及酚類有機物進行藻類毒性試驗，其結果顯示對重金屬而言以最終產量為參數時具有較高的敏感度，而酚類有機物也有相同的趨勢。另外Lee [54]以苯胺類進行實驗時發現DO與GR此兩參數敏感性差異並不明顯，而Chen [49]在研究醛類的毒性實驗時，發現醛類以DO為參數時較敏感。

除了不同試驗終點之敏感性比較之外，亦須探討其彼此之間之相關

性，雖然本研究之結果發現PAHs對最終產量最敏感，但依據圖 5.1.26 至圖 5.1.28 光照前三種試驗終點所得到之EC₅₀值作相關性迴歸，發現不同試驗終點間之相關係數可達約 0.9 上下，顯示出三種試驗終點間具有極高之相關性，而光照後之結果進行迴歸不同參數間亦具有相同之高相關性。

表 5.1.1 Acridine 光照前之原始實驗數據

Conc mg/L	Initial DO mg/L	Final DO mg/L	Final cells cells/ml	Delta DO mg/L	μ specific	μ relative (growth rate)	IR (Final Yield)	IR (DO)
Control	1.11	7.67	234100	6.56	1.37	1	0	0
1.25	1.16	2.41	34366	1.25	0.41	0.30	0.69	0.91
1	0.91	3.31	41600	2.39	0.50	0.37	0.62	0.87
0.76	0.92	3.65	73100	2.73	0.79	0.57	0.42	0.73
0.62	0.94	4.74	99166	3.80	0.94	0.68	0.31	0.61
0.5	0.90	5.55	129366	4.65	1.07	0.78	0.21	0.47
0.38	0.98	6.43	173066	5.45	1.22	0.89	0.10	0.27
		DO				F.Y.		G.R.
	EC ₅₀	0.717				0.524		0.850
	EC ₁₀	0.233				0.175		0.349
	NOEC	<0.38				<0.38		<0.38

表 5.1.2 光照前試驗毒物之藻類毒性試驗數據

Chemical(Dark)	DO		Final Yield		Growth Rate	
	EC ₅₀	95% Confidence	EC ₅₀	95% Confidence	EC ₅₀	95% Confidence
	(mg/l)	Limit	(mg/l)	Limit	(mg/l)	Limit
Benanthrone	0.058	0.0277-0.0903	0.048	0.0386-0.0592	0.211	0.177-0.259
Phenanthrene	0.221	0.202-0.248	0.124	0.117-0.131	0.193	0.177-0.214
Fluoranthene	0.061	0.0454-0.0816	0.033	0.0275-0.0388	0.074	0.0685-0.0799
Anthracene	0.629	0.477-0.826	0.402	0.371-0.433	0.913	0.845-0.996
Benzo[a]anthrace	0.024	0.0099-0.0466	0.008	0.001-0.0174	0.050	0.0101-0.219
Acridine	0.717	0.656-0.783	0.524	0.506-0.542	0.850	0.812-0.893
Benzo[b]fluorene	0.357	0.143-0.891	0.043	0.0312-0.0547	0.395	0.286-0.619
Dibenzo[b,i]anthracene	0.266	0.189-0.387	0.194	0.137-0.258	0.767	0.606-1.057
Perylene	0.298	0.223-0.412	0.053	0.0395-0.0672	0.348	0.285-0.435
Benzo[b]chrysene	0.001	0.0003-0.0021	0.005	0.0037-0.0076	0.012	0.0095-0.0153
Napthalene	3.528	2.973-4.155	2.510	1.953-3.006	4.793	3.919-5.808

表 5.1.3 光照後試驗毒物之藻類毒性試驗數據

Chemical(+UV)	DO		Final Yield		Growth Rate	
	EC ₅₀	95% Confidence	EC ₅₀	95% Confidence	EC ₅₀	95% Confidence
	(mg/l)	Limit	(mg/l)	Limit	(mg/l)	Limit
Benanthrone	0.0072	0.0058-0.0091	0.0045	0.0036-0.0058	0.0208	0.0169-0.0263
Phenanthrene	0.1320	0.127-0.137	0.1083	0.098-0.118	0.2097	0.184-0.263
Fluoranthene	0.0175	0.0124-0.0246	0.0160	0.013-0.0191	0.0507	0.0434-0.0607
Anthracene	0.1417	0.107-0.184	0.1173	0.0715-0.352	0.1536	0.122-0.195
Benzo[a]anthrace	0.0033	0.0026-0.0045	0.0007	0.0005-0.0008	0.0022	0.0017-0.0029
Acridine	0.0264	0.0046-0.053	0.0391	0.0252-0.0575	0.1647	0.1191-0.2385
Benzo[b]fluorene	0.2111	0.118-0.405	0.0538	0.0464-0.0616	0.3786	0.296-0.505
Dibenzo[b,i]anthracene	0.3096	0.2511-0.3865	0.1746	0.1452-0.2086	0.5966	0.4694-0.8089
Perylene	0.0772	0.0366-0.159	0.0476	0.0325-0.0632	0.15	0.1185-0.1953
Benzo[b]chrysene	0.0012	0.00039-0.0021	0.0042	0.0031-0.0058	0.0107	0.0086-0.0134
Napthalene	3.7522	3.3747-4.1533	2.0398	1.3621-2.6196	5.527	4.538-7.0112

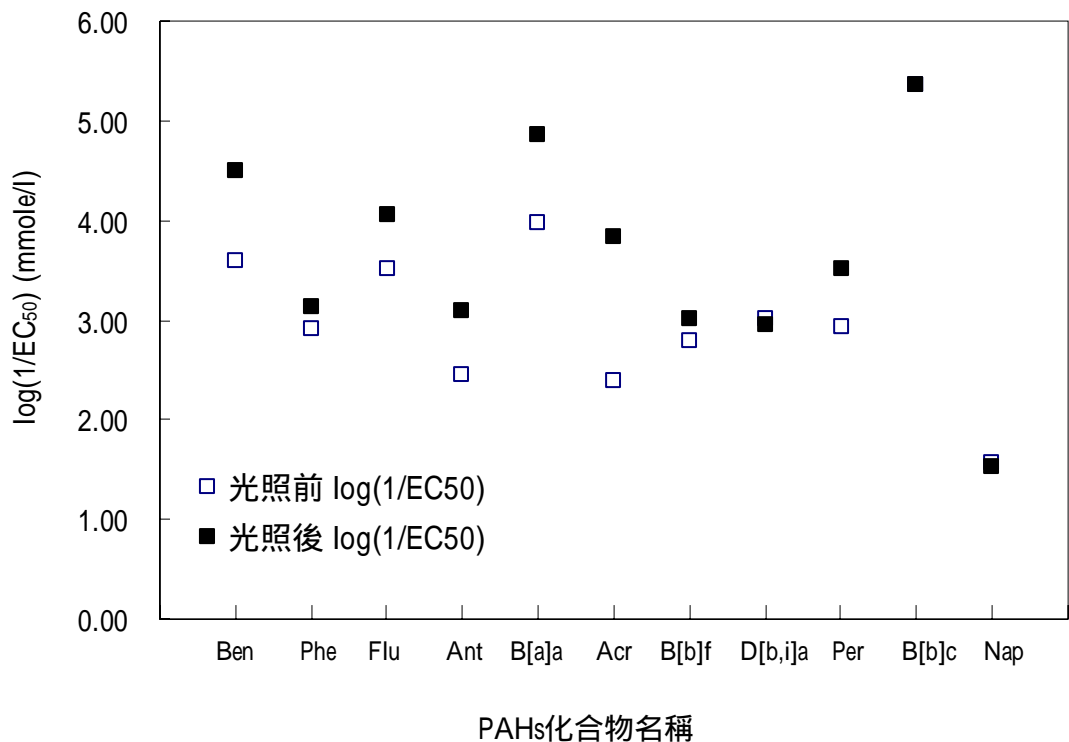


圖 5.1.1 光照前後毒性強弱比較圖(based on DO)

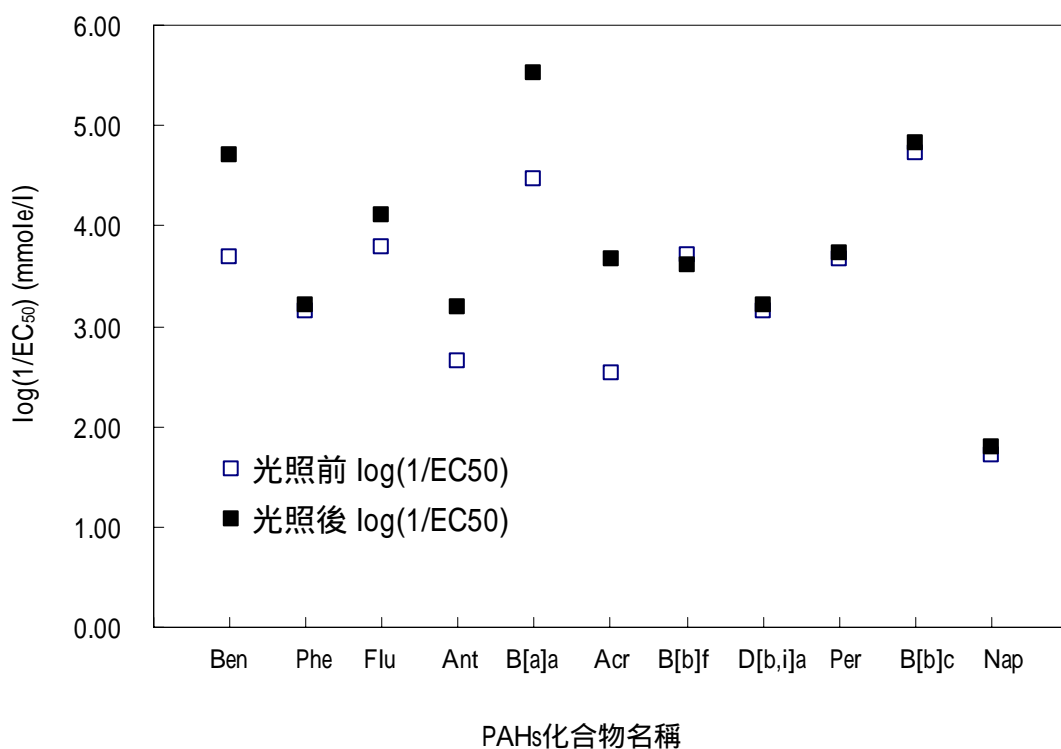


圖 5.1.2 光照前後毒性強弱比較圖(based on FY)

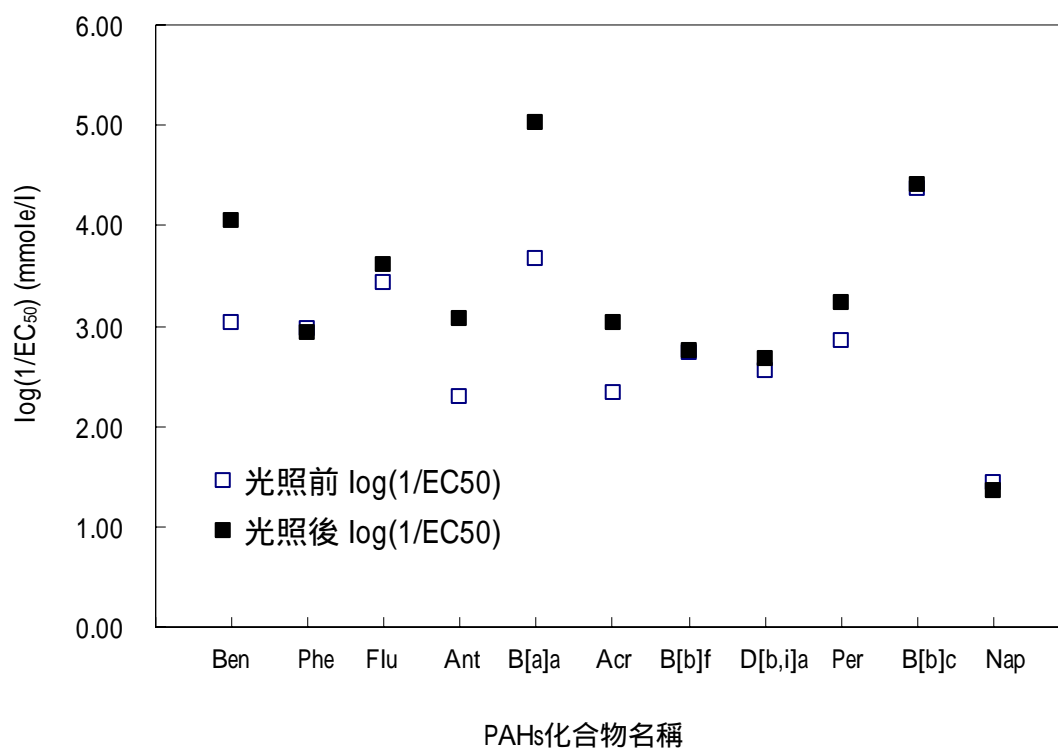


圖 5.1.3 光照前後毒性強弱比較圖(based on GR)



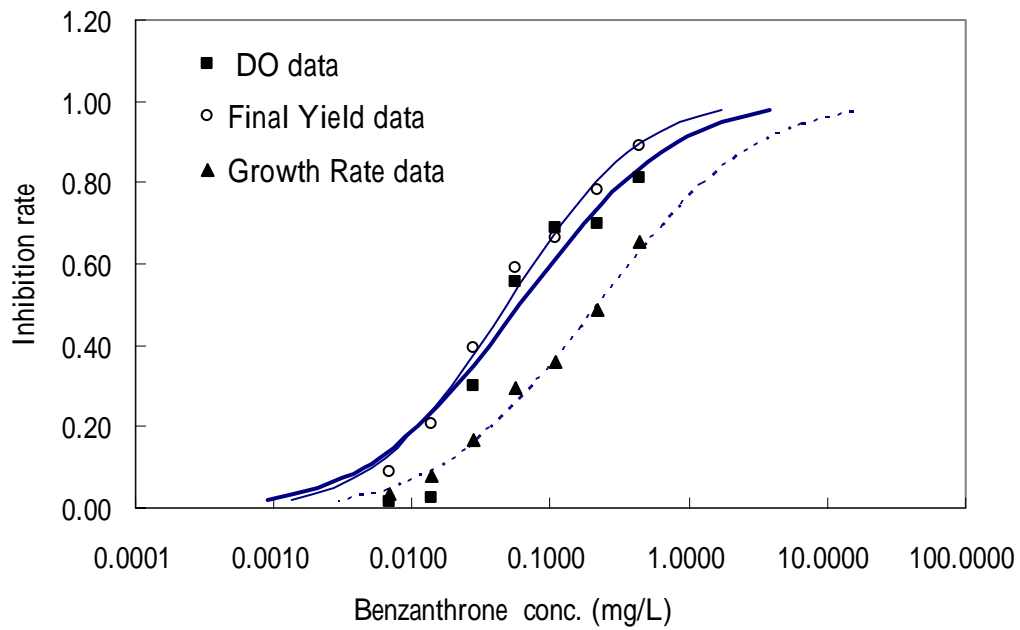


圖 5.1.4 三種試驗終點下 Ben 之劑量反應曲線

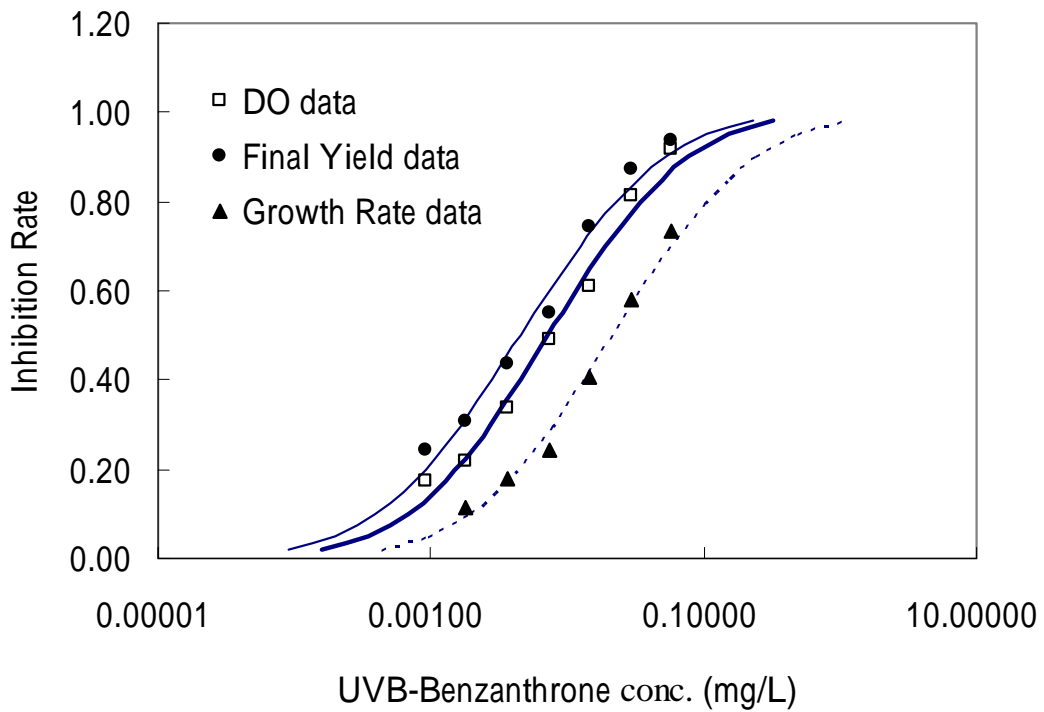


圖 5.1.5 三種試驗終點下 UVB-Ben 之劑量反應曲線

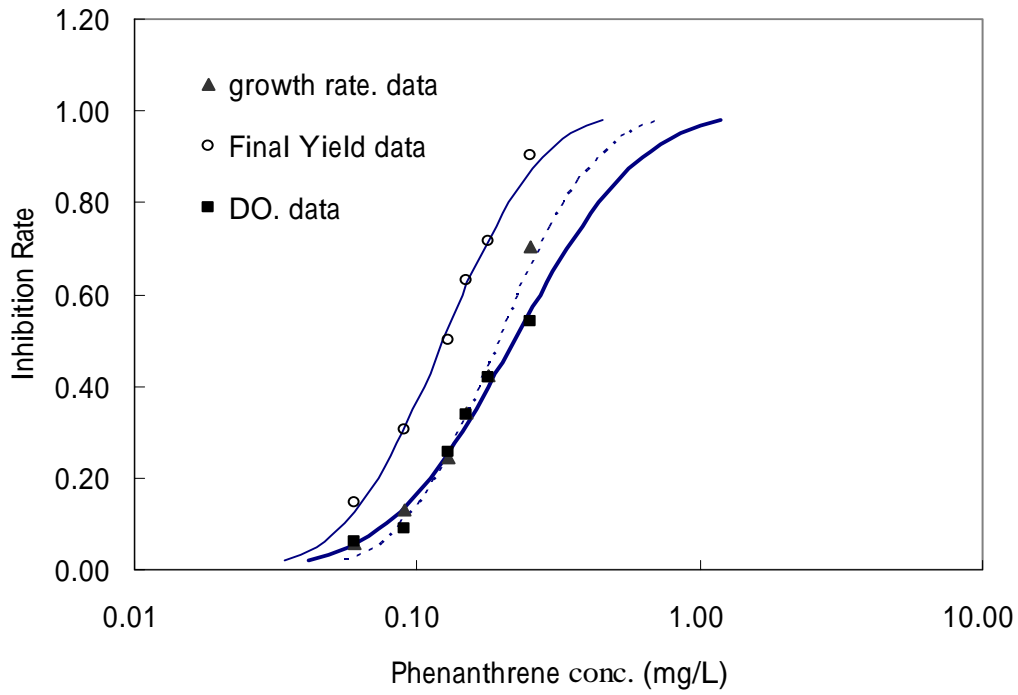


圖 5.1.6 三種試驗終點下 Phe 之劑量反應曲線

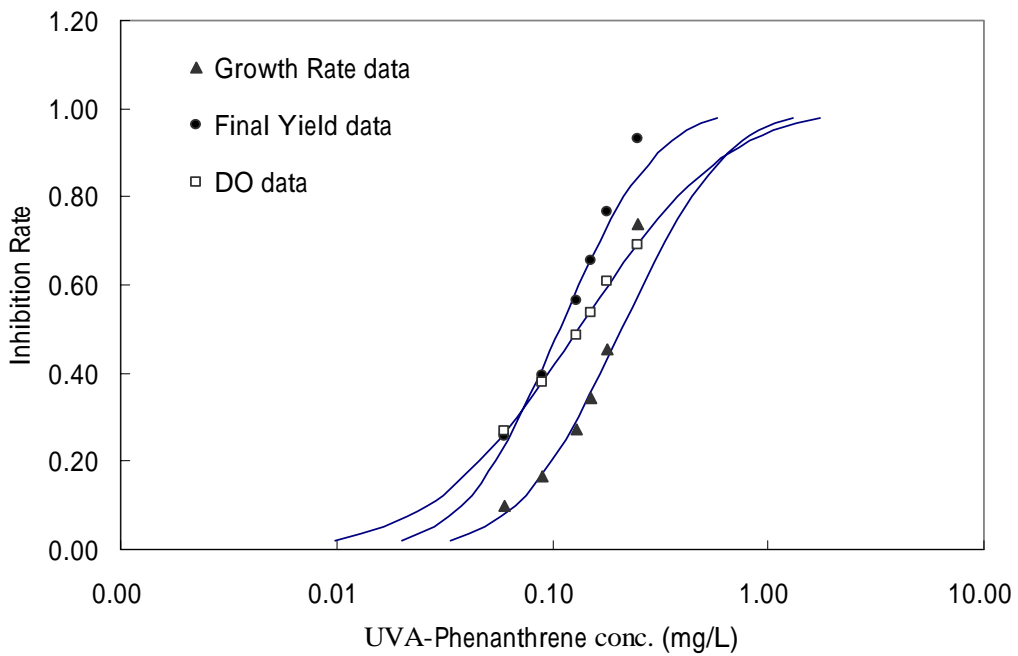
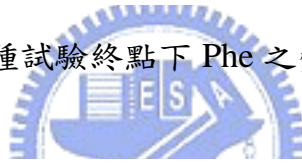


圖 5.1.7 三種試驗終點下 UVA-Phe 之劑量反應曲線

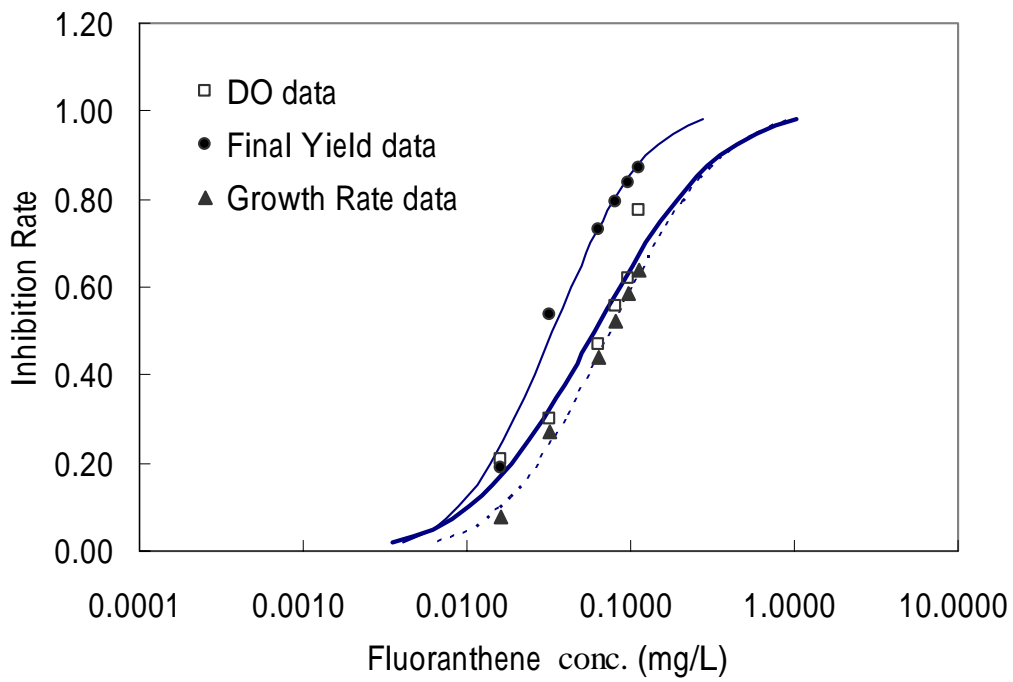


圖 5.1.8 三種試驗終點下 Flu 之劑量反應曲線

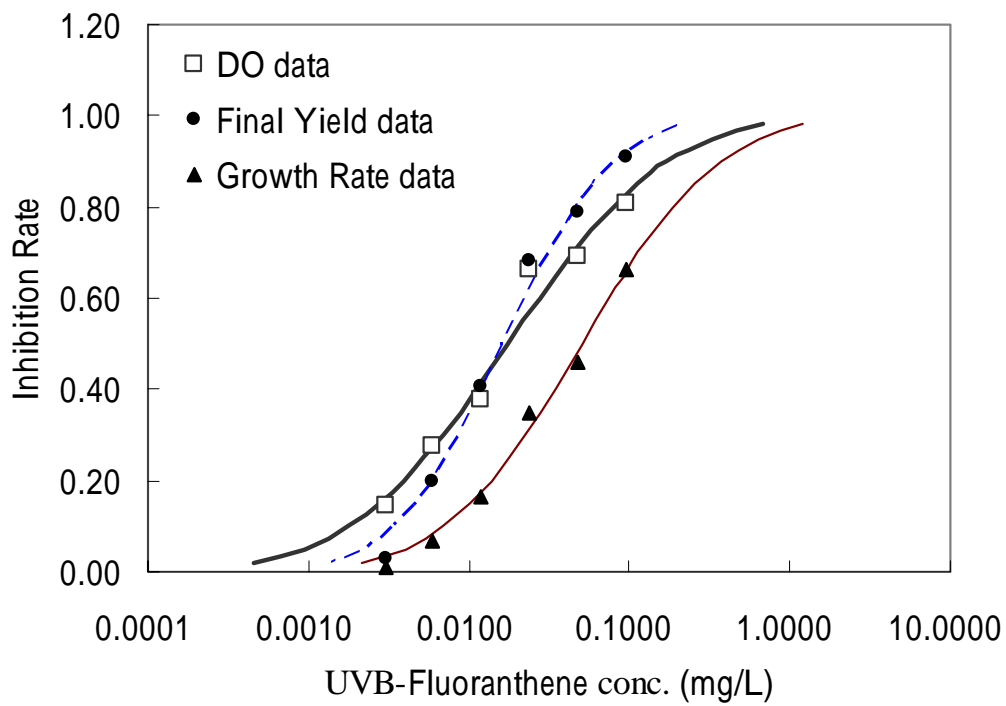


圖 5.1.9 三種試驗終點下 UVB-Flu 之劑量反應曲線

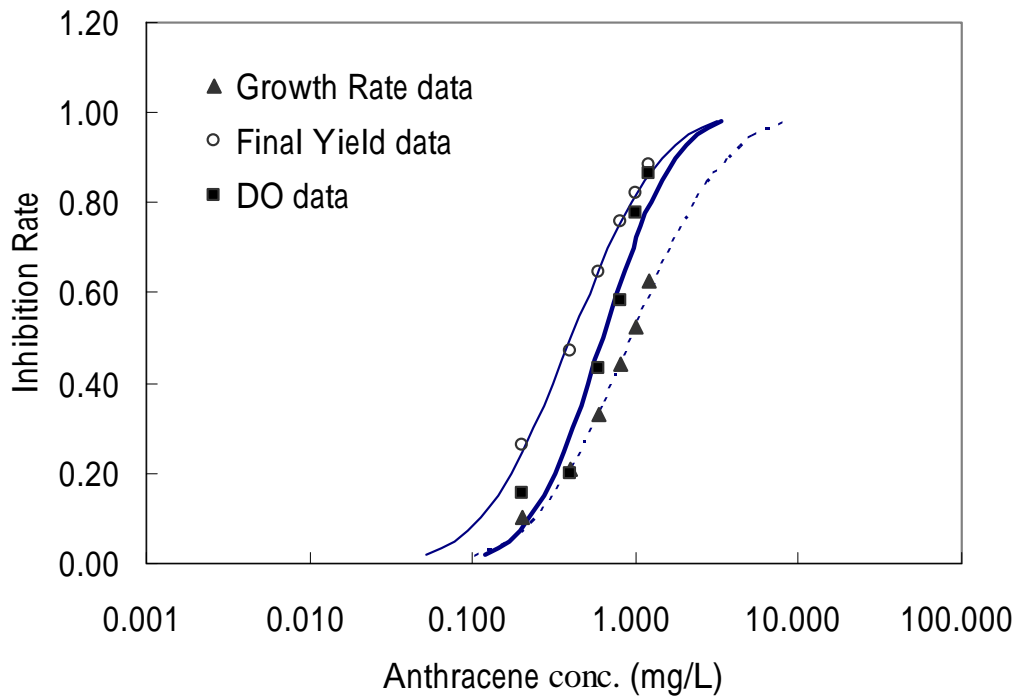


圖 5.1.10 三種試驗終點下 Ant 之劑量反應曲線

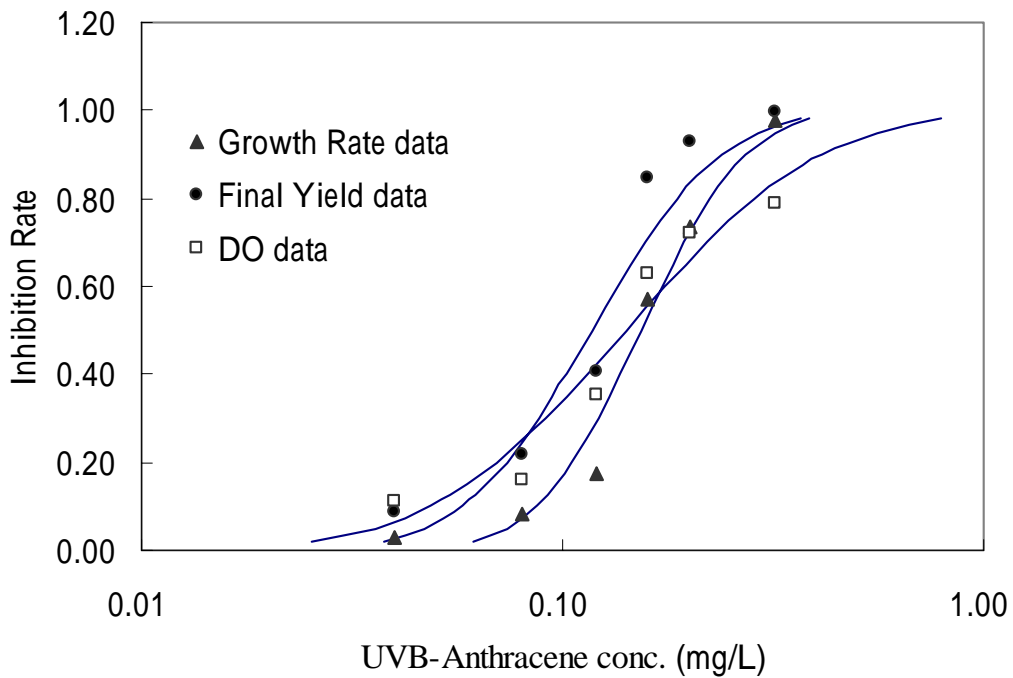


圖 5.1.11 三種試驗終點下 UVB-Ant 之劑量反應曲線

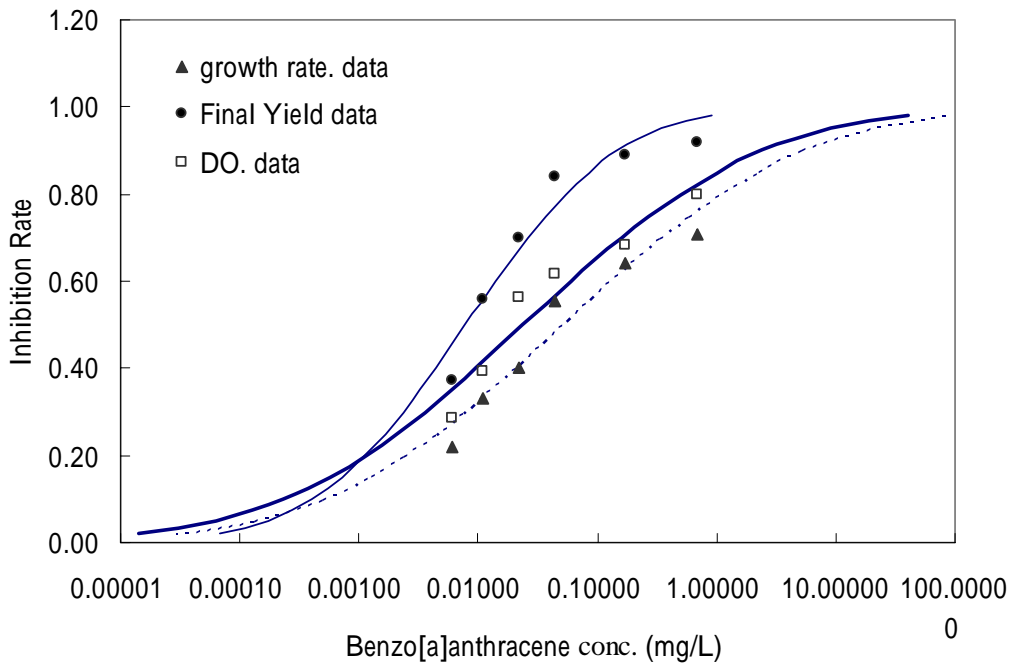


圖 5.1.12 三種試驗終點下 B[a]A 之劑量反應曲線

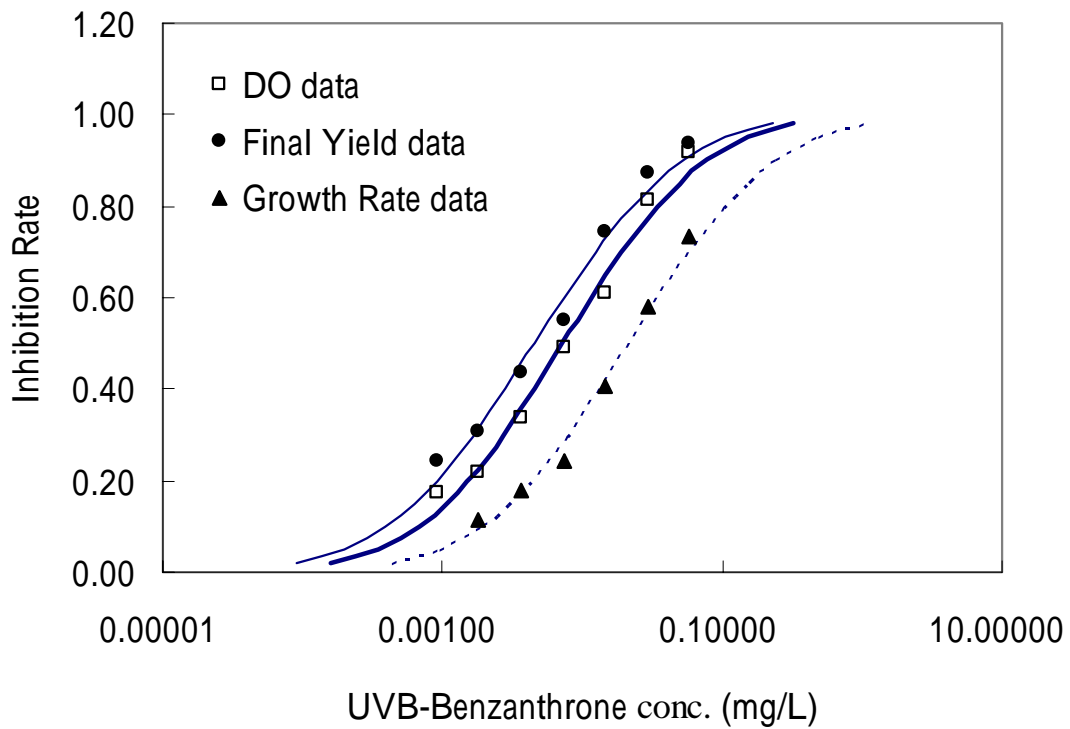


圖 5.1.13 三種試驗終點下 UVB-B[a]A 之劑量反應曲線

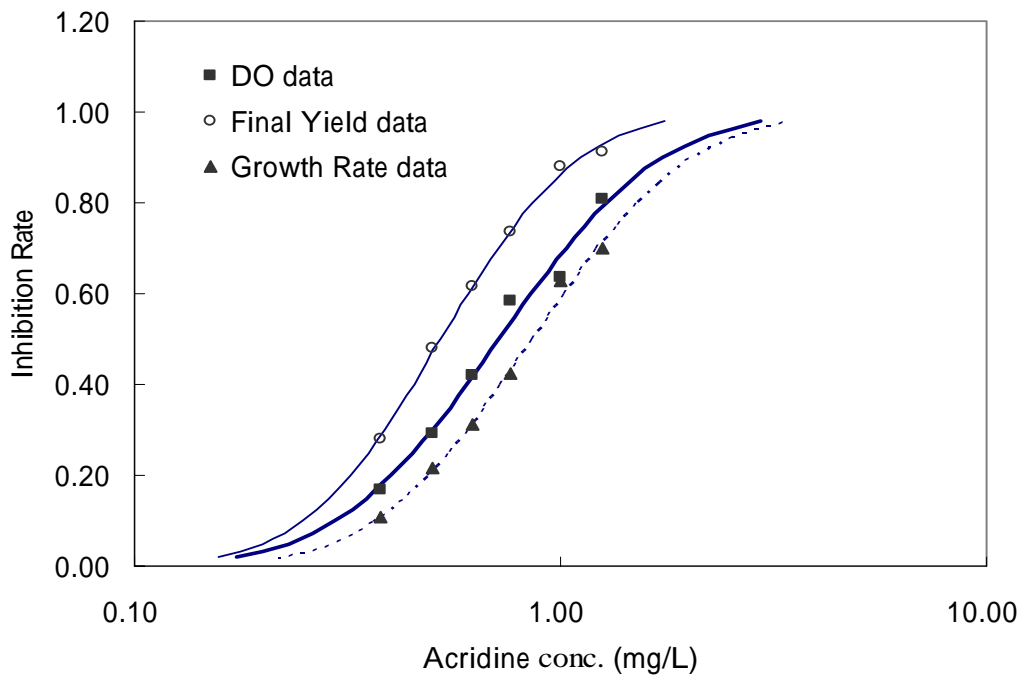


圖 5.1.14 三種試驗終點下 Acr 之劑量反應曲線

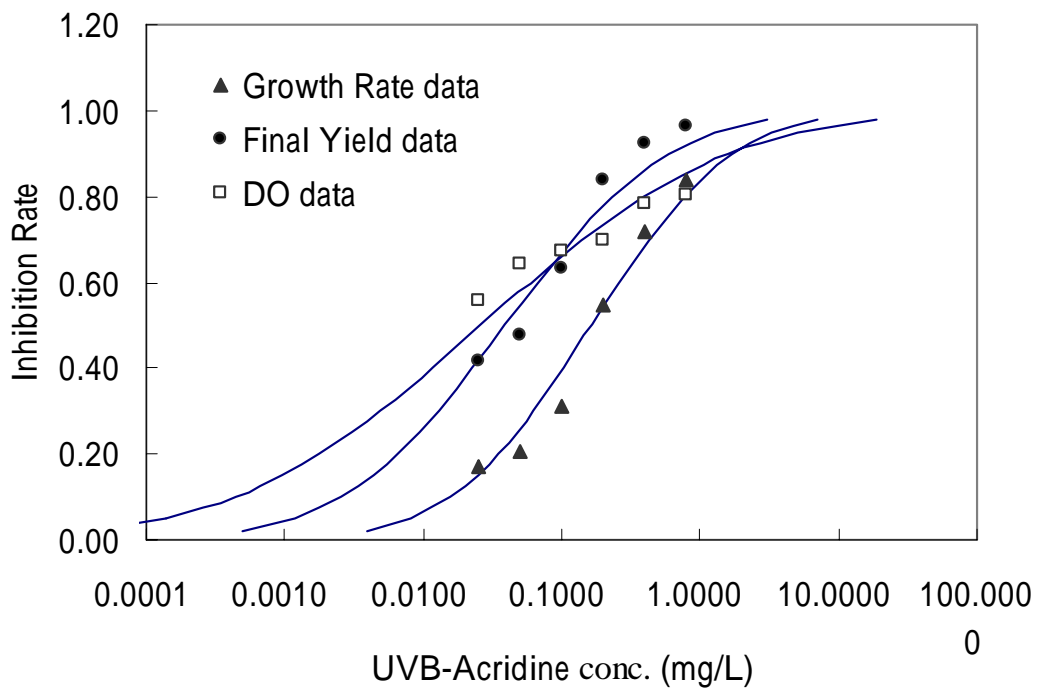


圖 5.1.15 三種試驗終點下 UVB-Acr 之劑量反應曲線

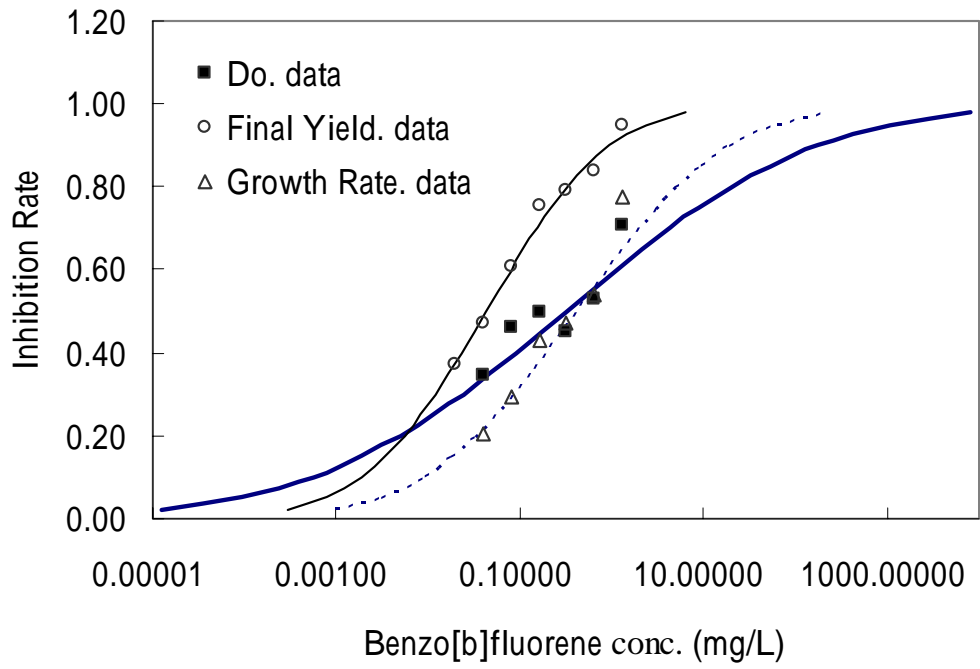


圖 5.1.16 三種試驗終點下 B[b]f 之劑量反應曲線

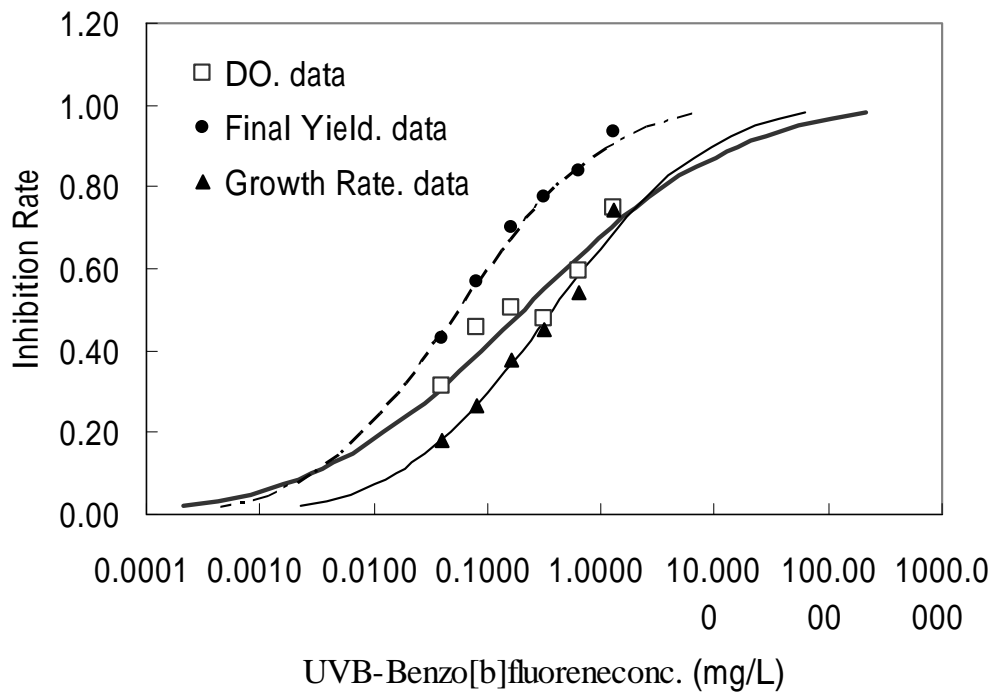


圖 5.1.17 三種試驗終點下 UVB-B[b]f 之劑量反應曲線

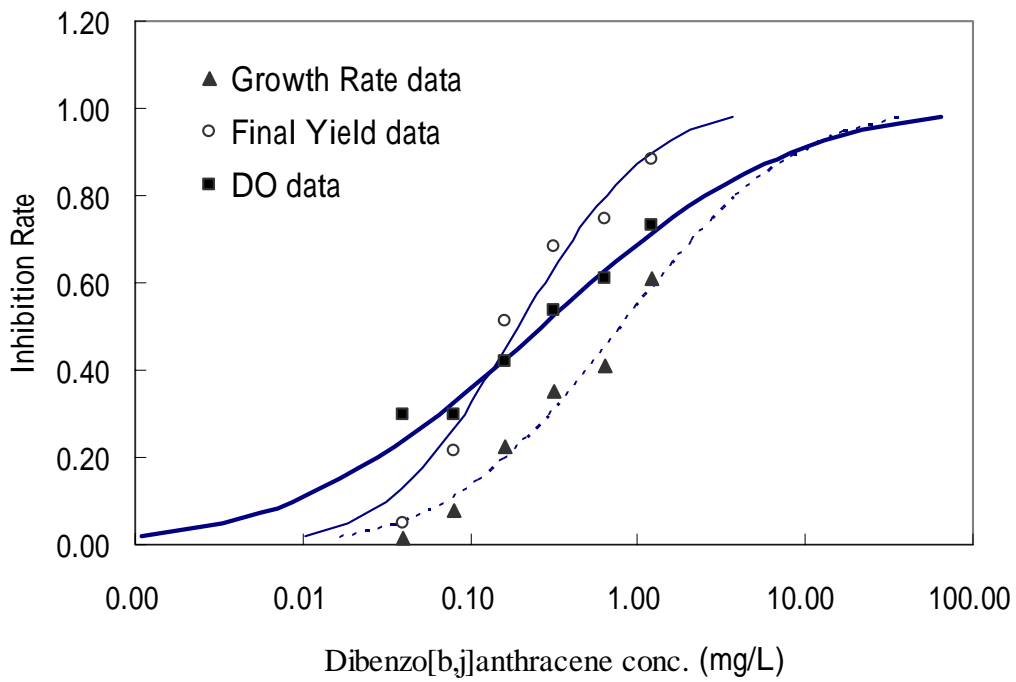


圖 5.1.18 三種試驗終點下 D[b,i]a 之劑量反應曲線

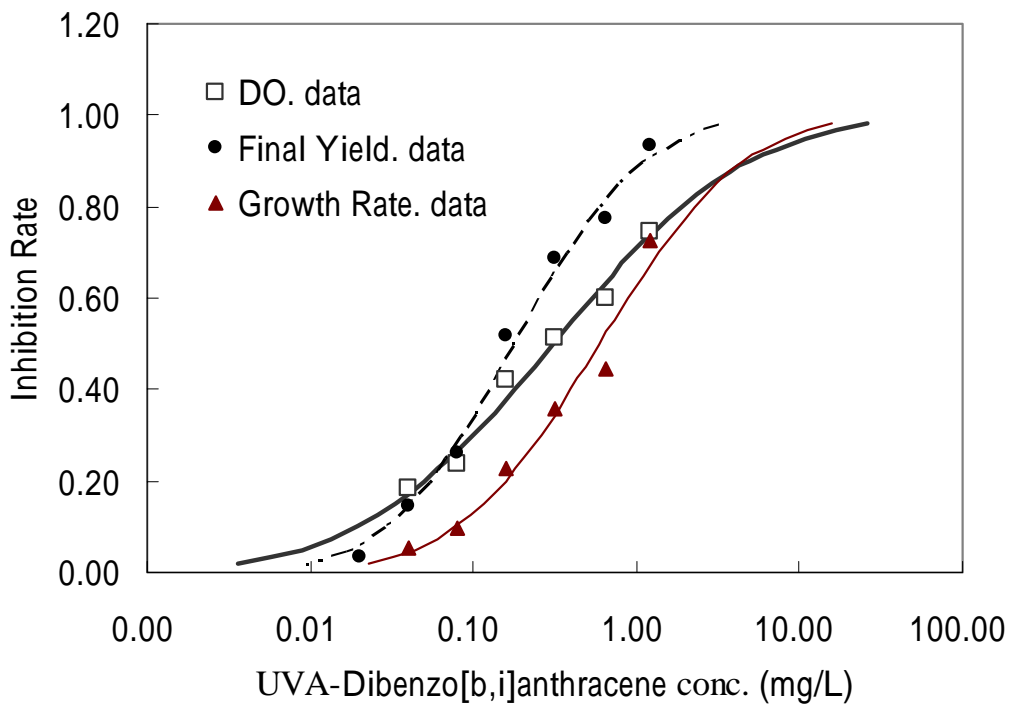


圖 5.1.19 三種試驗終點下 UVA-D[b,i]a 之劑量反應曲線

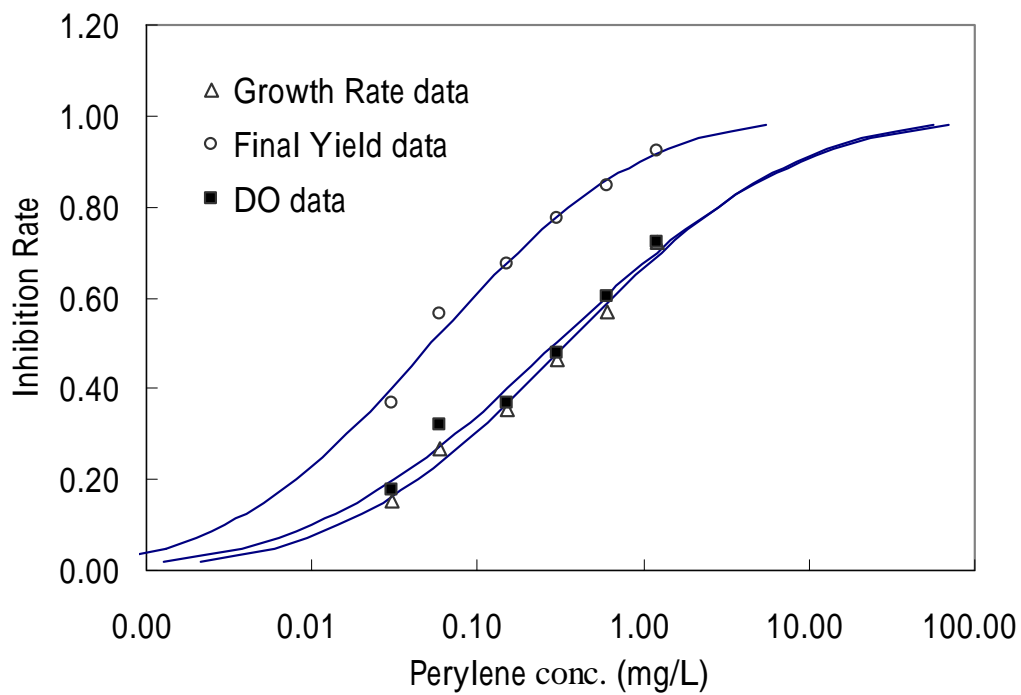


圖 5.1.20 三種試驗終點下 Per 之劑量反應曲線

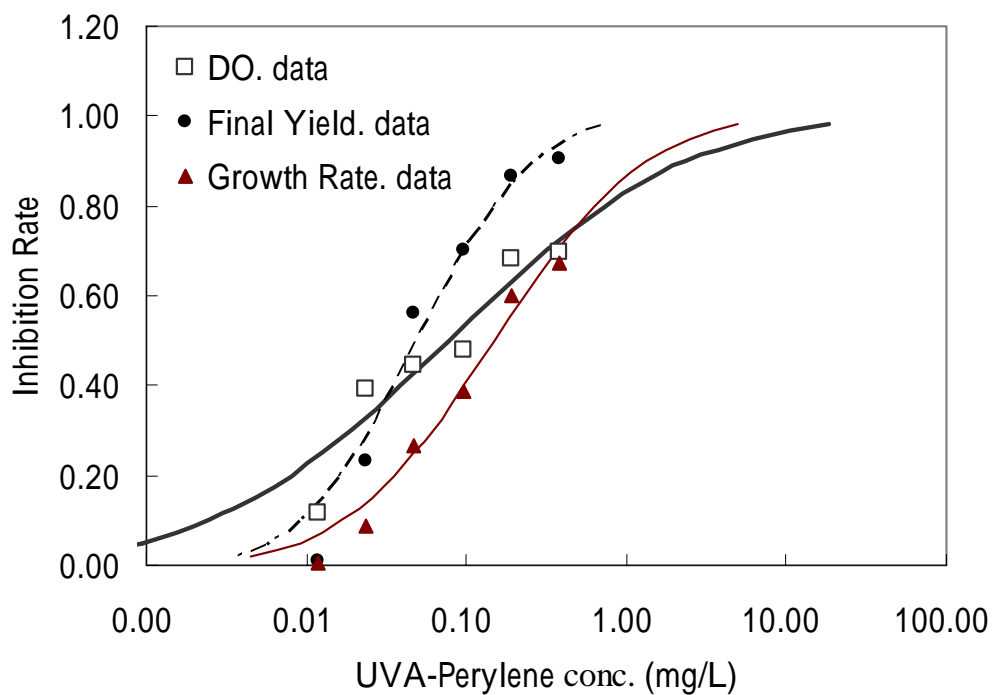


圖 5.1.21 三種試驗終點下 UVA-Per 之劑量反應曲線

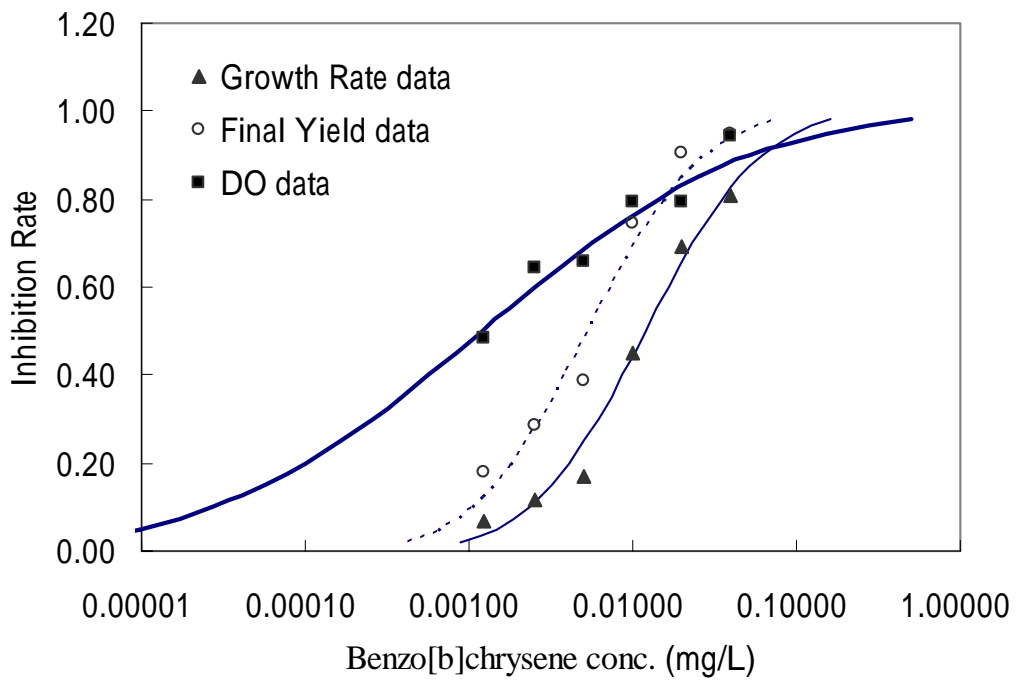


圖 5.1.22 三種試驗終點下 B[b]c 之劑量反應曲線

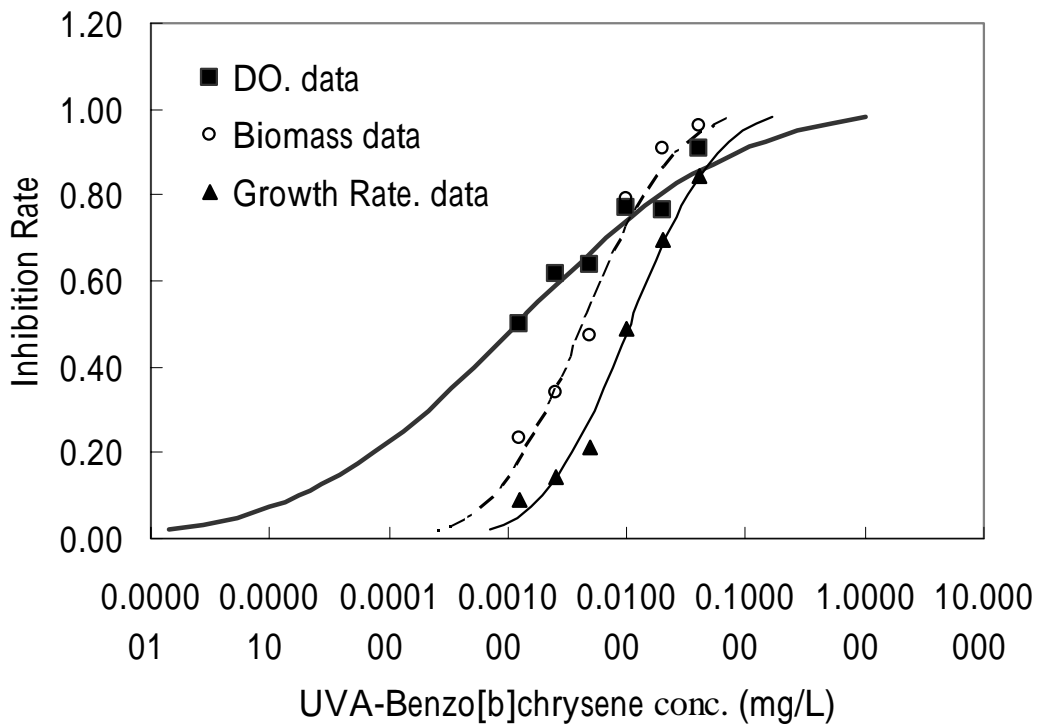


圖 5.1.23 三種試驗終點下 UVA-B[b]c 之劑量反應曲線

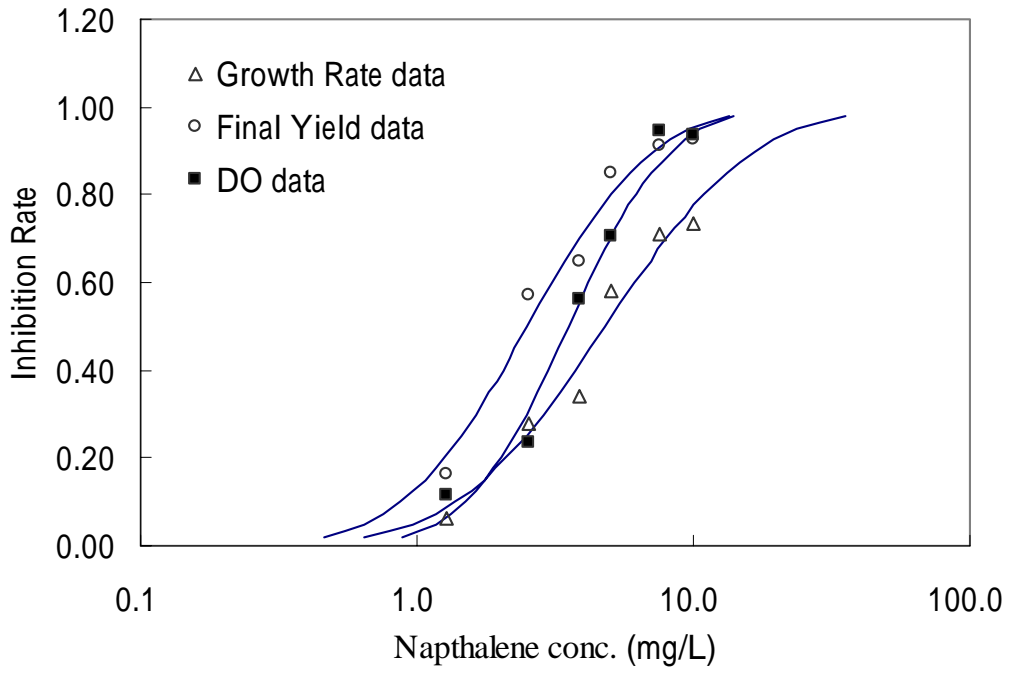


圖 5.1.24 三種試驗終點下 Nap 之劑量反應曲線

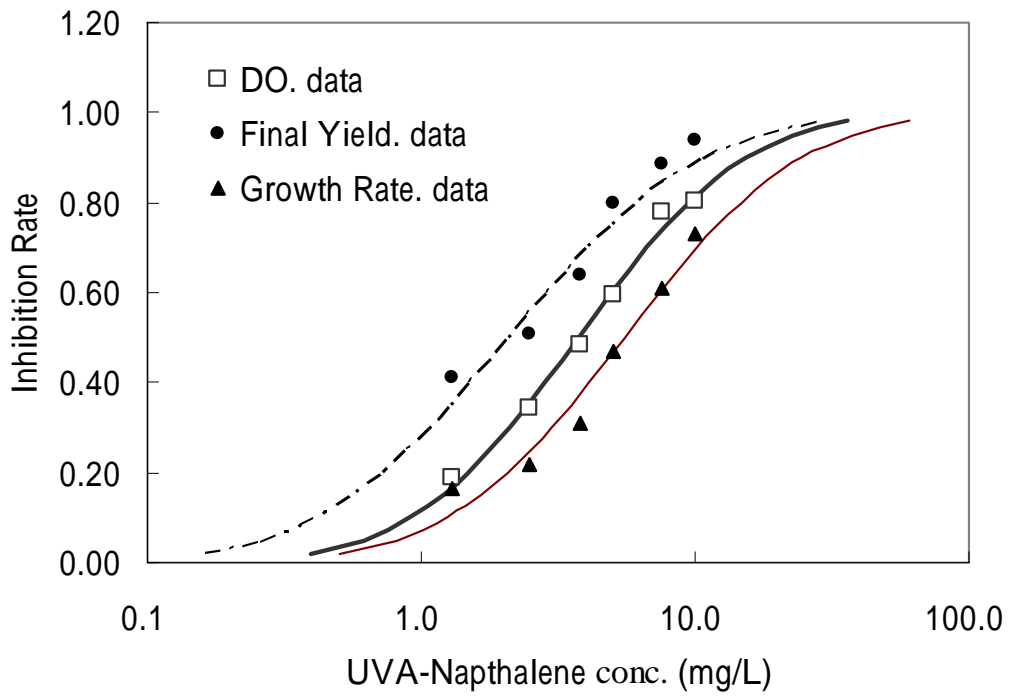


圖 5.1.25 三種試驗終點下 UVA-Nap 之劑量反應曲線

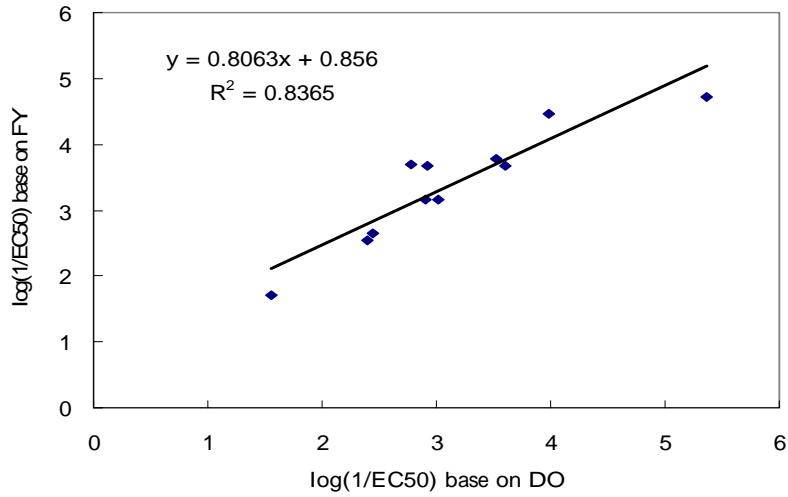


圖 5.1.26 DO與FY試驗終點之 EC_{50} 相關性分析

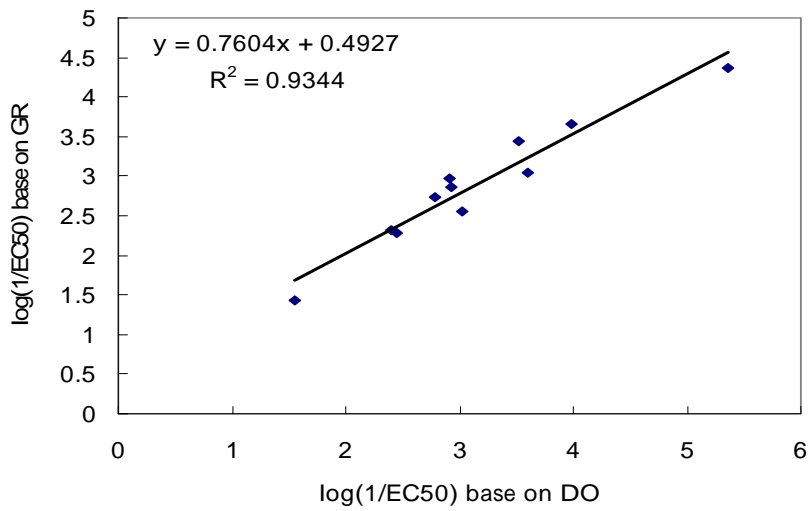


圖 5.1.27 DO與GR試驗終點之 EC_{50} 相關性分析

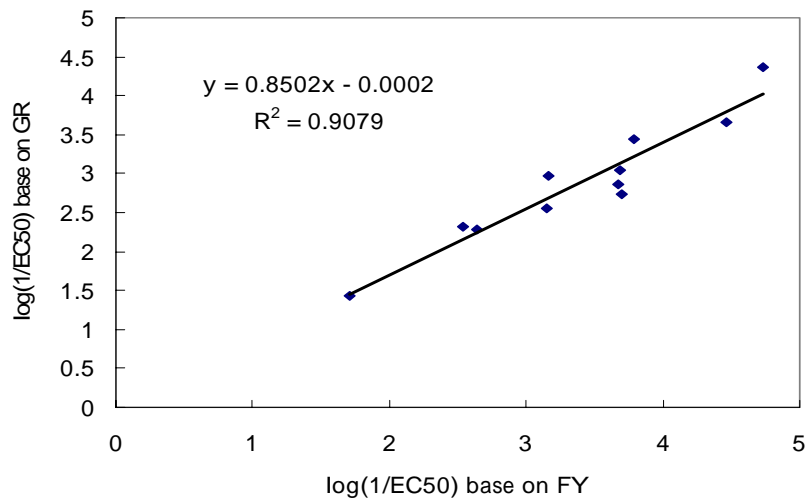


圖 5.1.28 FY與GR試驗終點之 EC_{50} 相關性分析

5.2 PAHs 之光解與光誘導毒性效應

5.2.1 PAHs 光解現象探討：

關於PAHs光解之機制與原理在第三章已有詳盡的說明，而PAHs光毒方面文獻請參閱 2.5 節的介紹。本研究所進行的光照實驗分析，是將已定量的PAHs透過不同UV光照種類、強度以及時間照射後，以HPLC分析其光解產物，判斷其是否產生光解，再透過密閉式藻類毒性試驗評估其光解後光毒性之強弱。此外，在Hsu^[55]的研究中指出PAHs低濃度時光變化速率較高濃度時快，因此本研究之PAHs在進行UV光照實驗前先將濃度稀釋至5ppm，以HPLC分析光照前波峰(peak)進而得到面積(Area)與滯留時間(Retention time)後，再進行UV光照實驗，觀測光照後原化合物之波峰面積是否減少。由於HPLC分析時，分子量較小、結構較簡單之化合物較易沖提分析，其滯留時間較短因此波峰較早出現，而PAHs經過UV光斷鍵後所產生之光解中間產物及最終產物其結構較原化合物簡單，分子量亦較小，所以分析時其波峰滯留時間會較短而較早出現，反之最後出現的波峰必是光解後的原化合物。此外由於相同化合物分析之滯留時間必相同，因此藉由比對光照前後之滯留時間亦可找出光照後原化合物之波峰。

圖 5.2.1 至圖 5.2.8 為本研究經UV光照產生光解產物之八種PAHs光照前後波峰變化圖，可看出其光解前後原化合物及產物之波峰變化情形。其中Ben、Flu、Ant、B[a]a、Acr、Per此六種PAHs在上一節已討論過其光照後產生光誘導毒性的現象。根據Papadopoulos et al.^[56]研究指出Acridine經過單重態氧分子加入並透過電子能量轉移後迅速光氧化形成中間產物及含氮之甲基自由基團，此化合物極不穩定，因此氫原子及甲基自由基團會對其上之取代基位置透過氫原子轉移及自由基結合後反應形成氨基化合

物，此即為最終產物

而Phe及Nap雖然會光解產生中間及最終產物，但由本實驗之結果並未發現其具有光誘導毒性的現象，其中Nap經光照後甚至有毒性減弱的現象，根據Hsu^[55]的研究指出Nap之光解產物中 2-OH-1,4-NAP與 1,4-Nap兩化合物之毒性雖較原Nap毒性強，但由於光照後在眾多產物中所佔得比例過低，因此未能展現其較高之毒性，造成整體毒性仍未較光照前提升的結果。

表 5.2.1 為整理光照前後化合物 HPLC 圖譜分析之波峰面積變化情形並將光照前後化合物面積相除得到光照後化合物殘留之百分比，由表中可明顯發現本研究 11 種 PAHs 共有八種會光解造成原化合物濃度下降，降解最多的是 Phe，光照後僅存 44%，但其光解產物並未展現光毒性，顯示並非所有 PAHs 之光解產物皆會產生光誘導毒性。其中 Ant 與 Acr 經過 3 天之 UVB 照射後會完全光解形成最終產物，原化合物光照後濃度面積降為零而完全無殘留濃度產生，其毒性效應完全由光照後產物提供。

表 5.2.1 光照前後化合物圖譜波峰面積變化及殘留面積百分比

Toxicant	Conc. (ppm)	Retention Time (minute)	Area (Dark)	Area (+UV)	Remaining -Percentage (%)
Benzanthrone	5	7.76	512572	379817	74%
Phenanthrene	5	8.79	2166897	956080	44%
Fluoranthene	5	11.91	459436	403933	88%
Anthracene	5	54.92	55979542	0	0%
Benzo[a]anthracene	5	20.11	978540	554601	57%
Acridine	5	5.106	862188	0	0%
Benzo[b]fluorene	5	17.63	1283702	1251688	98%
Dibenzo[b,i]anthracene	5	5.91	916422	915728	100%
Perylene	5	26.842	1148903	826376	72%
Benzo[b]chrysene	5	4.447	83740859	82118425	98%
Napthalene	5	5.053	292930	172943	59%

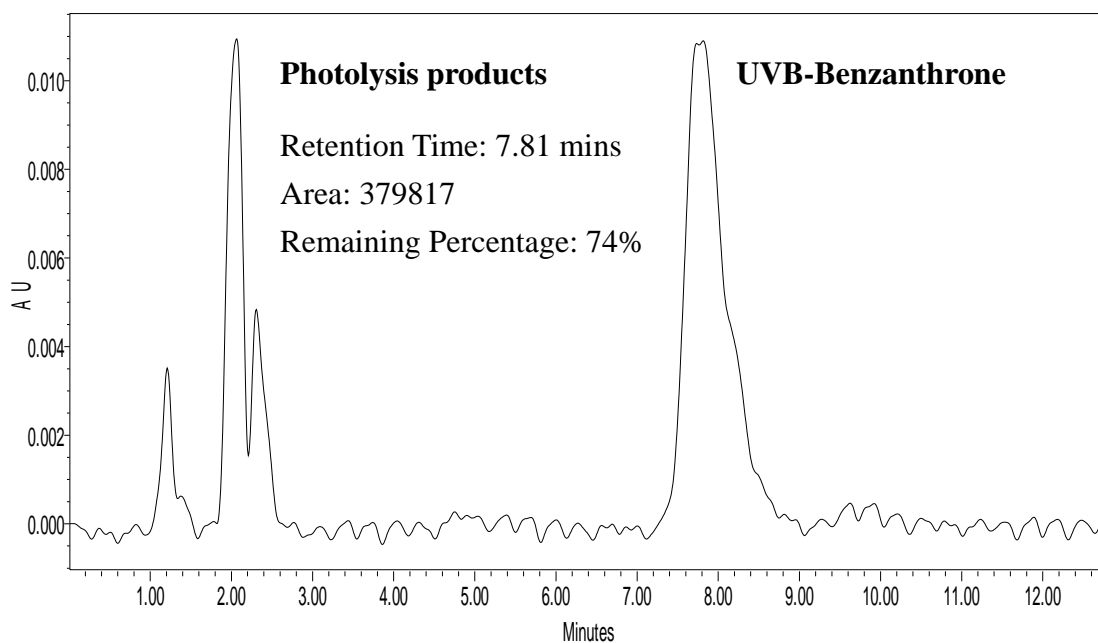
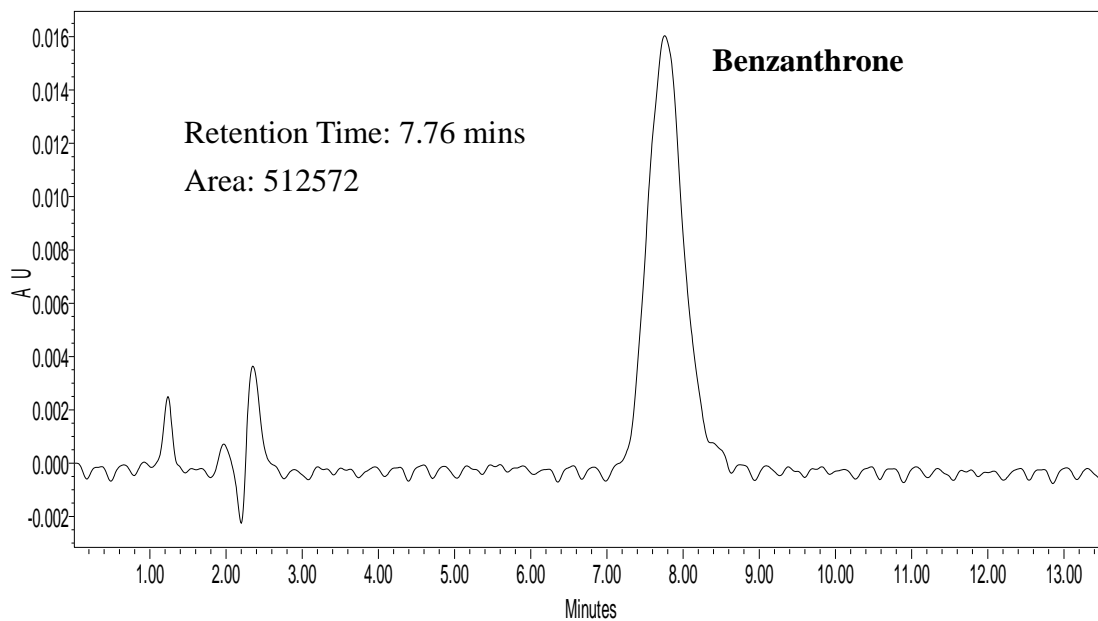


圖 5.2.1 UVB 光照前後 Benzanthrone 之波峰變化圖

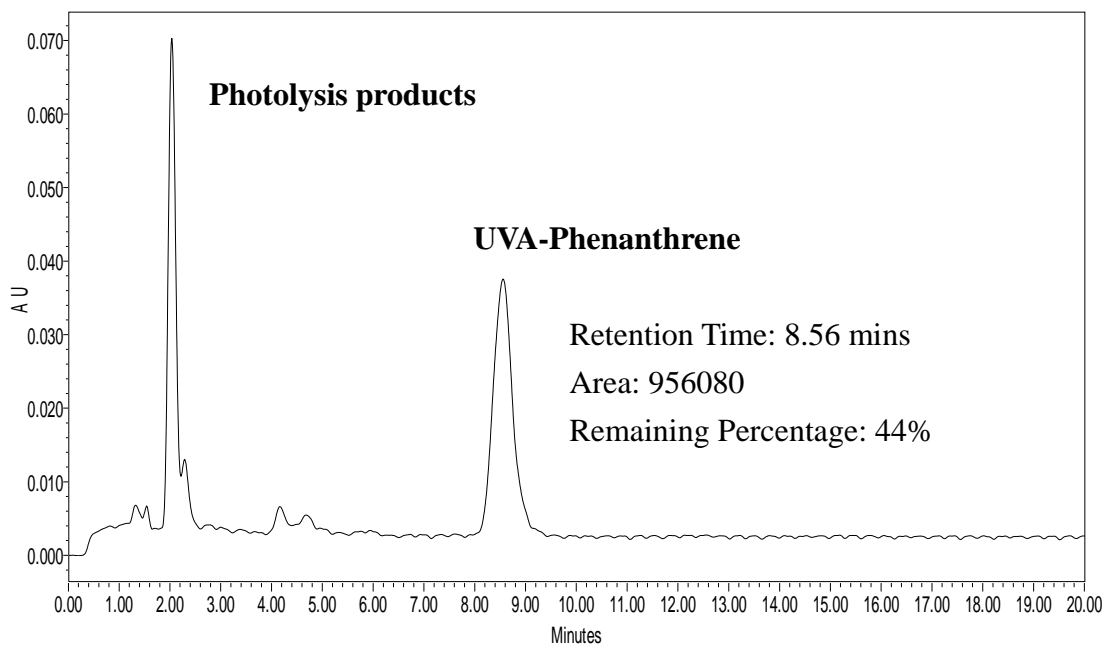
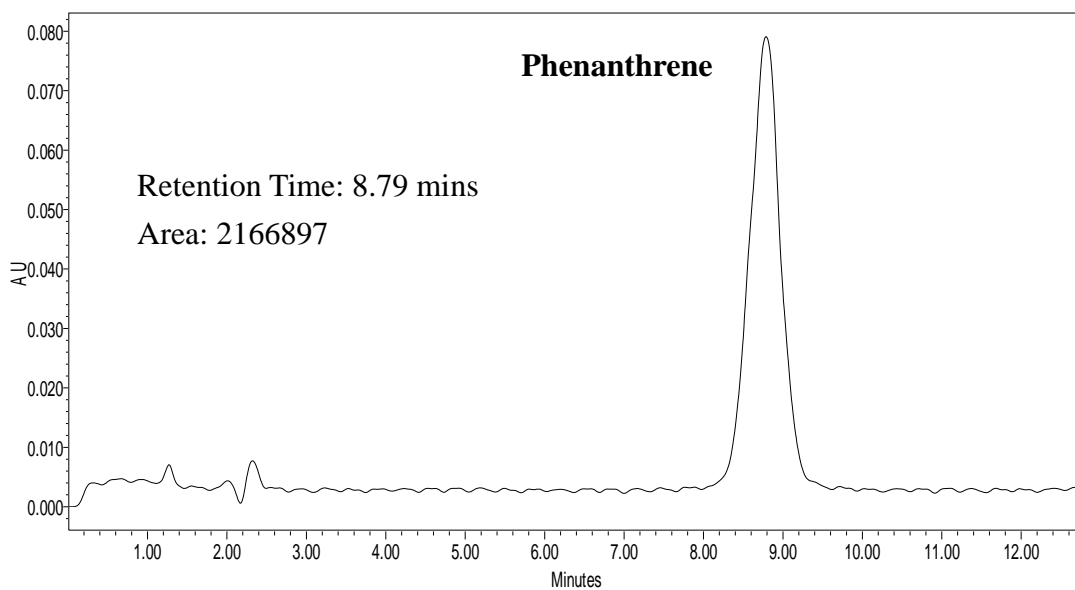


圖 5.2.2 UVA 光照前後 Phenanthrene 之波峰變化圖

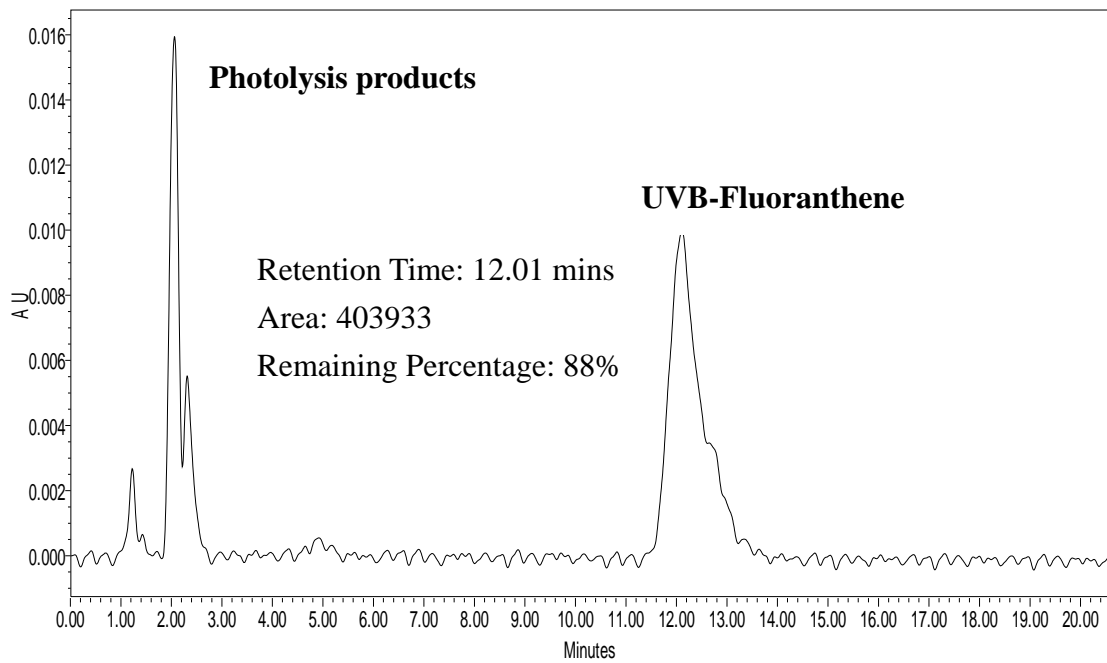
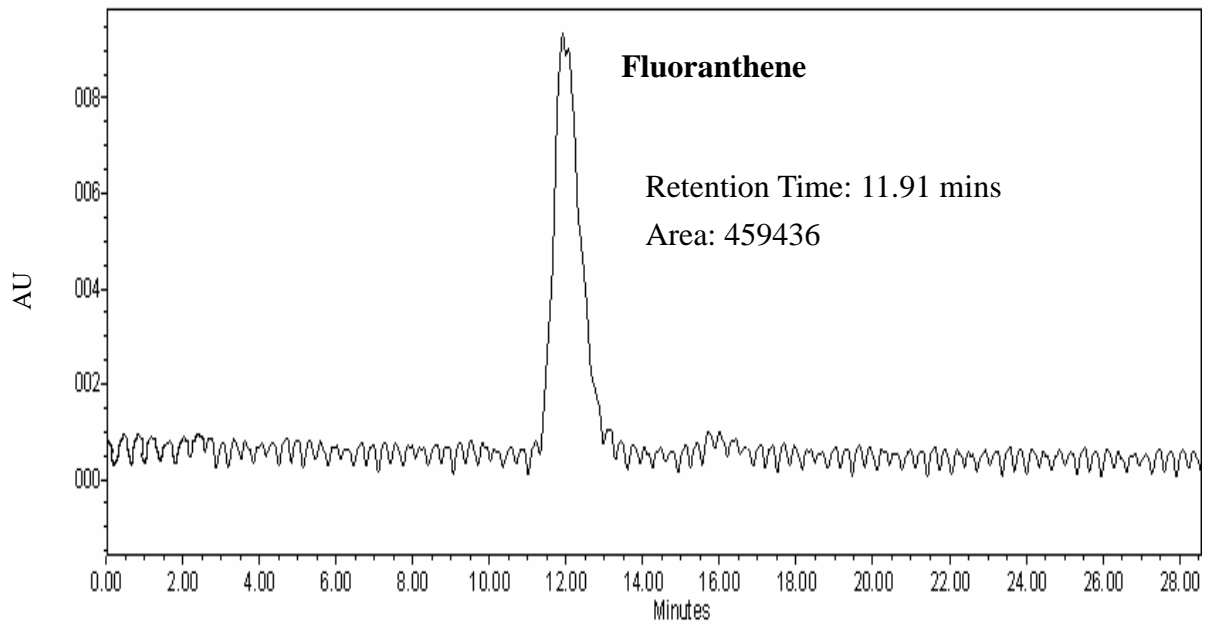


圖 5.2.3 UVB 光照前後 Fluoranthene 之波峰變化圖

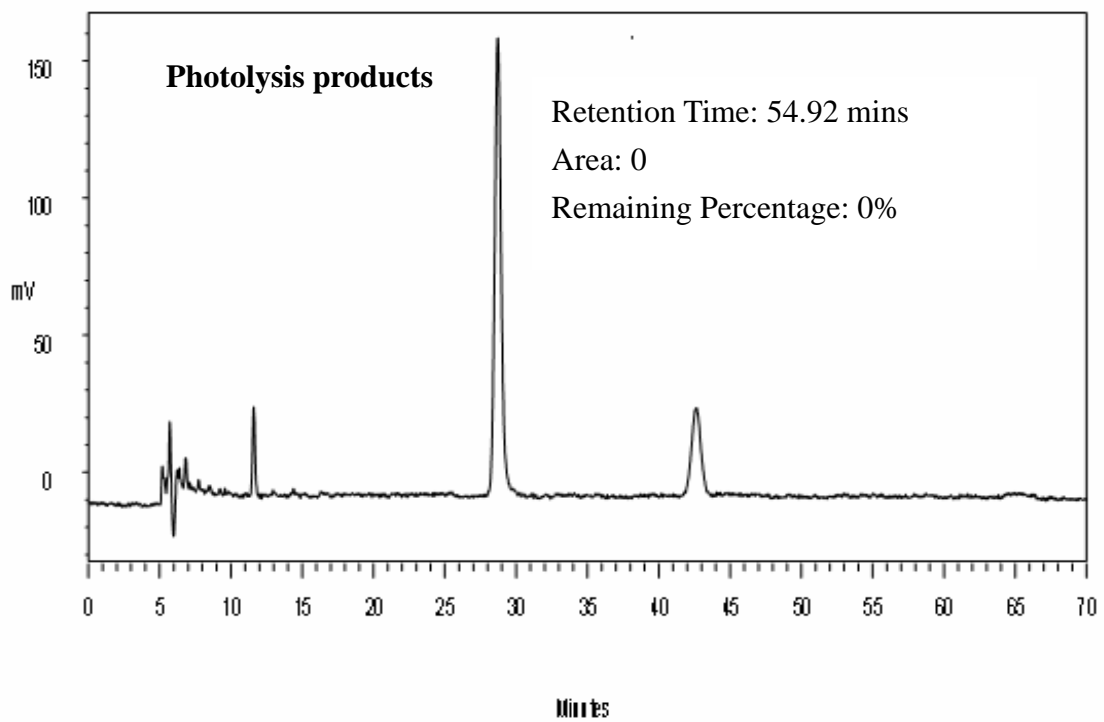
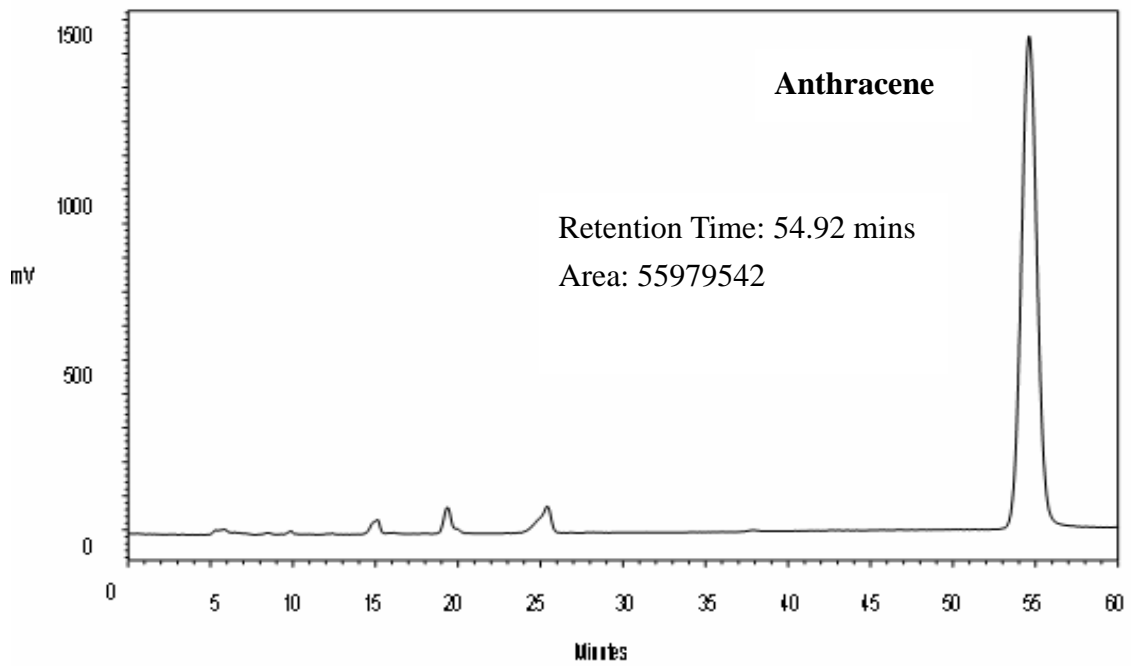


圖 5.2.4 UVB 光照前後 Anthracene 之波峰變化圖

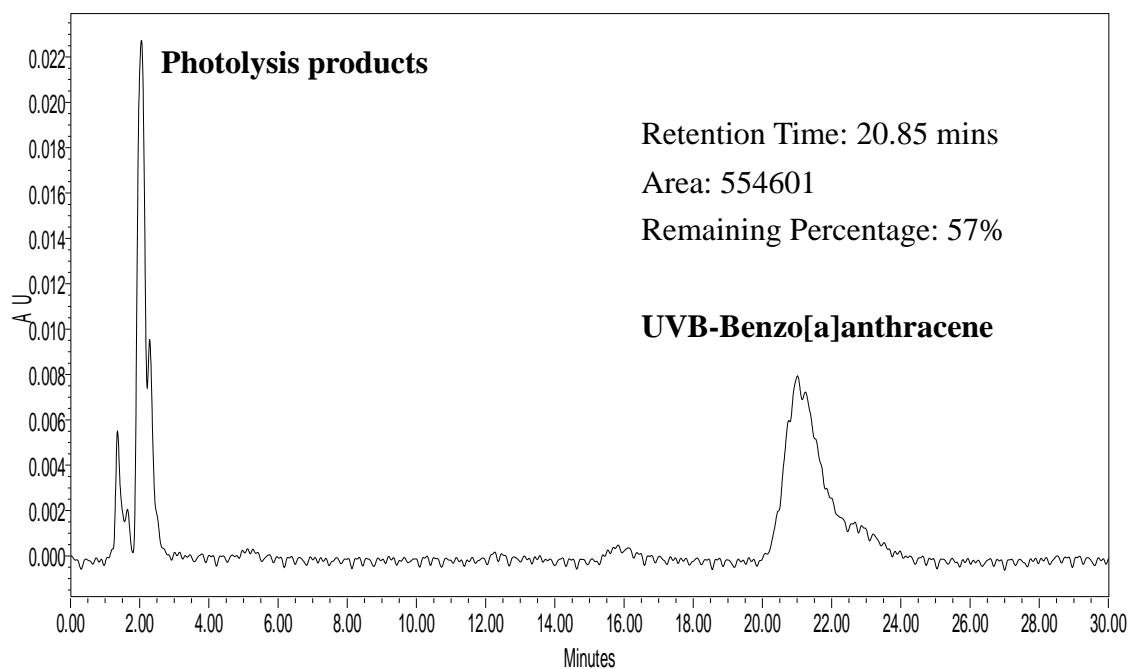
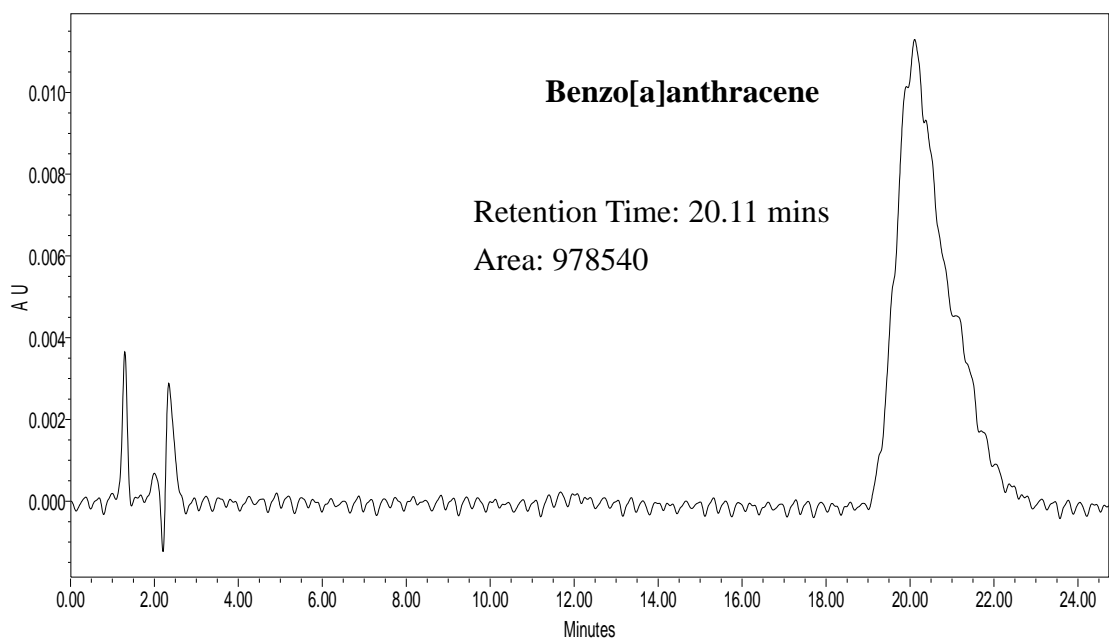


圖 5.2.5 UVB 光照前後 Benzo[a]anthracene 之波峰變化圖

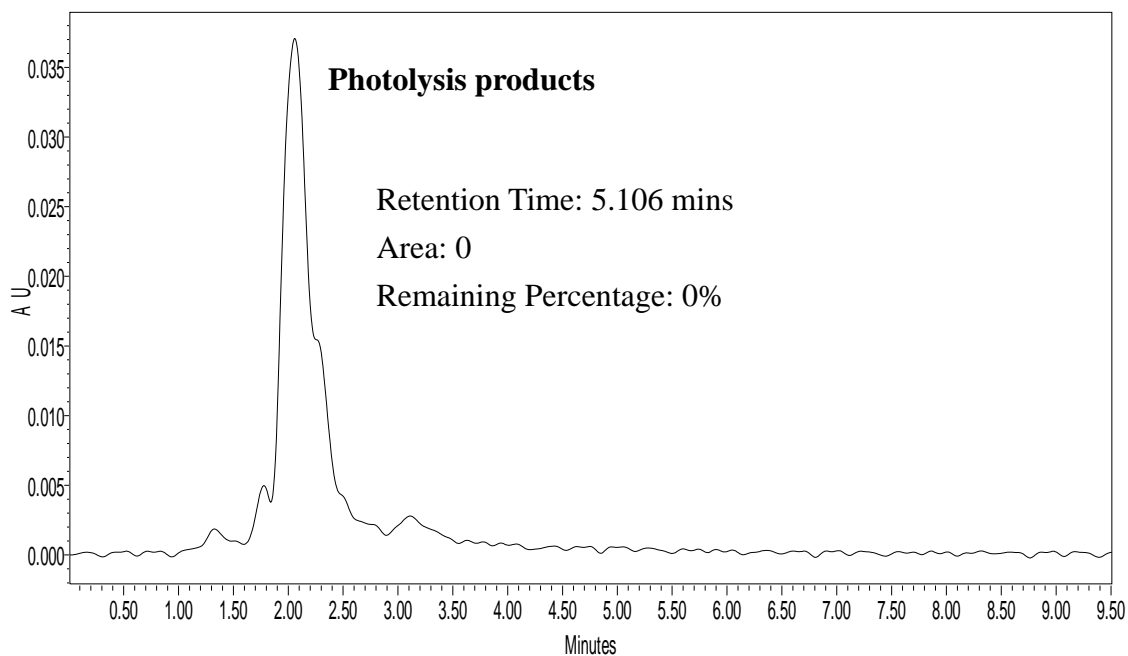
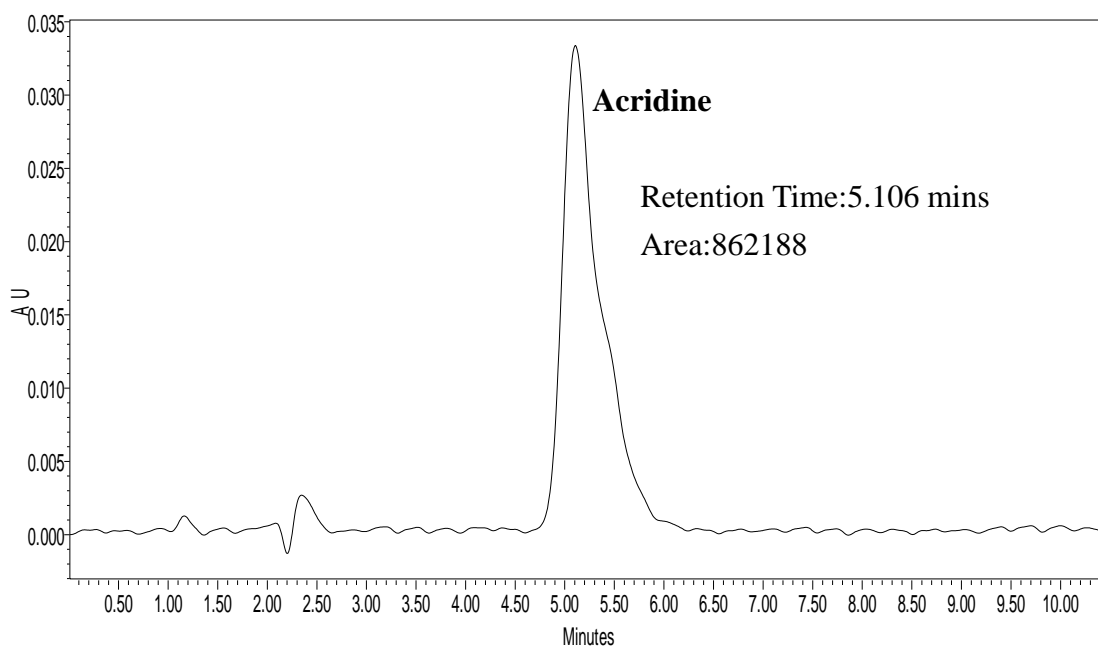


圖 5.2.6 UVB 光照前後 Acridine 之波峰變化圖

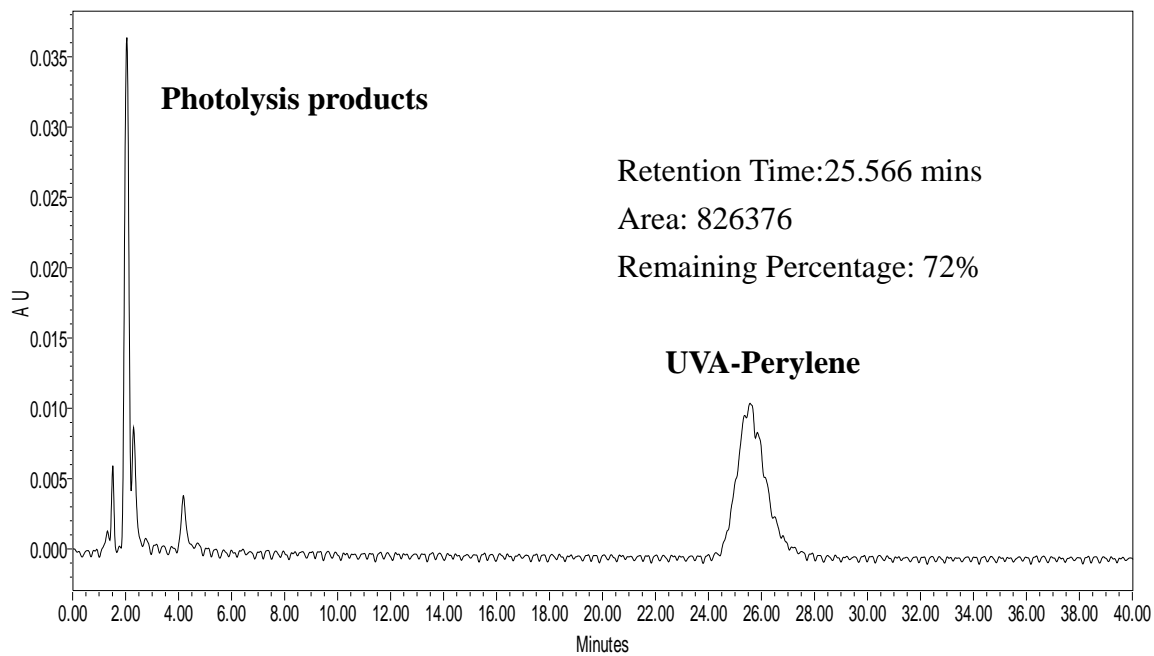
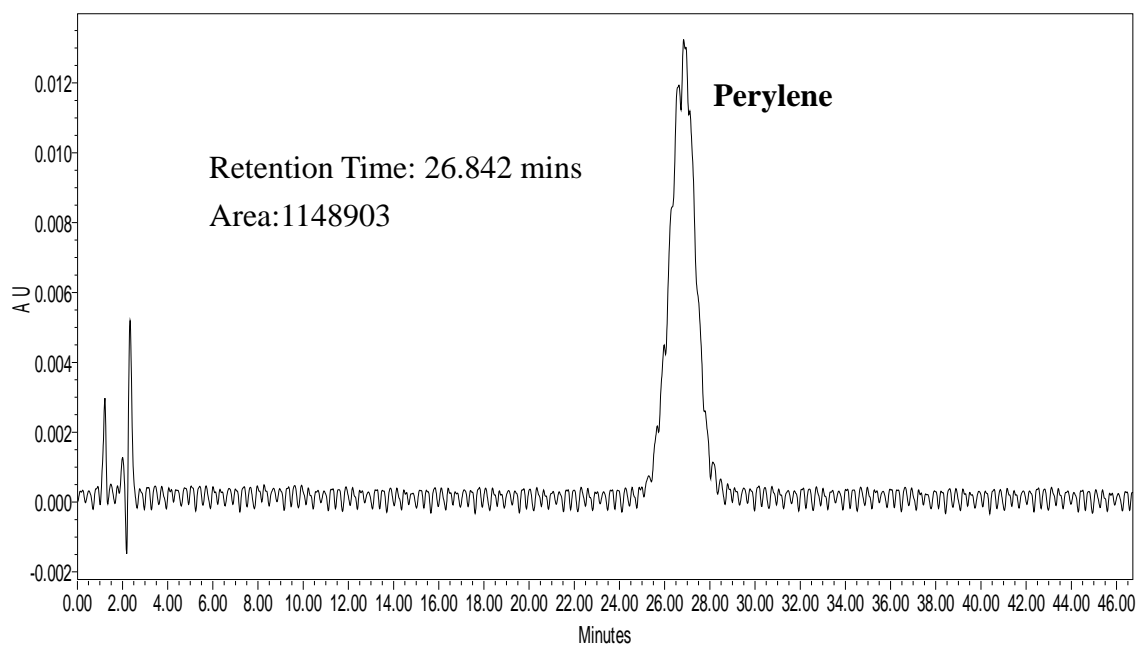


圖 5.2.7 UVA 光照前後 Perylene 之波峰變化圖

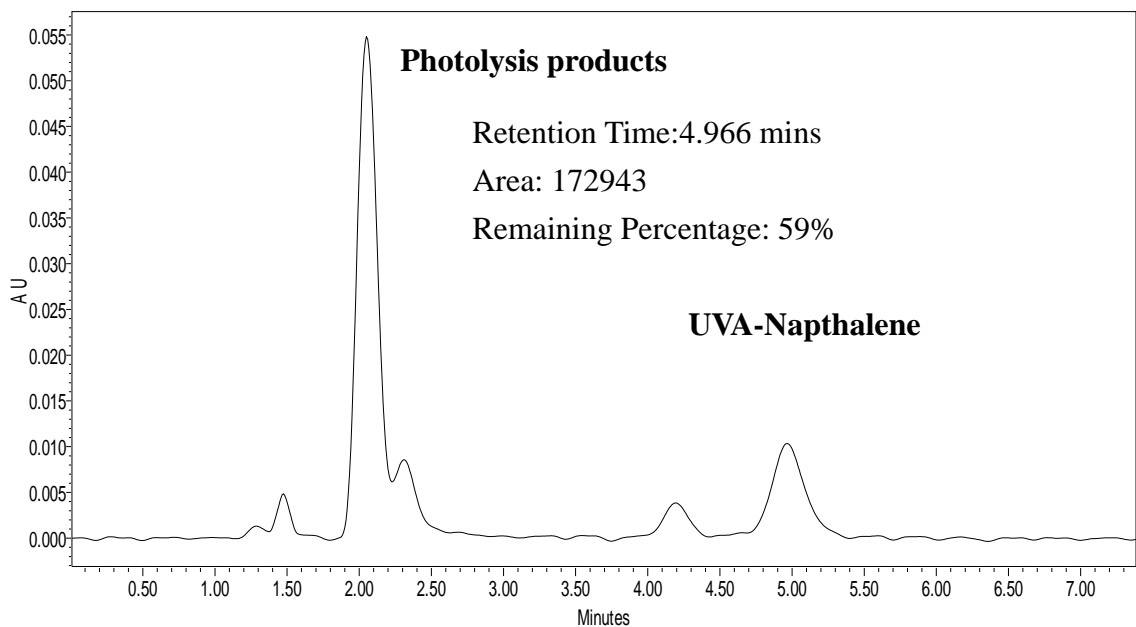
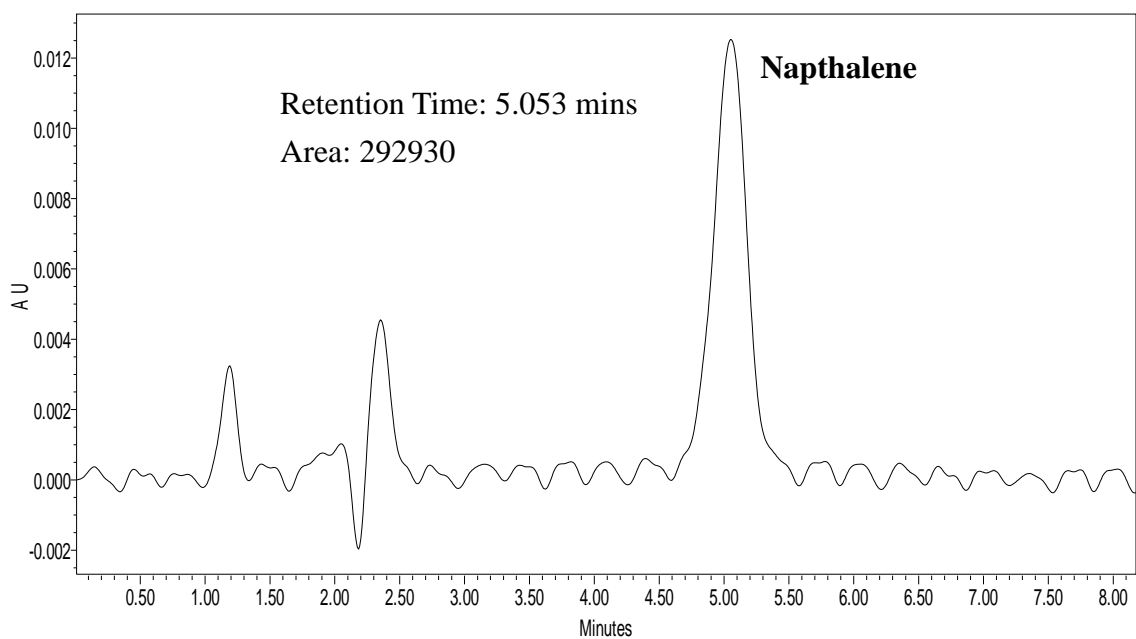


圖 5.2.8 UVA 光照前後 Naphthalene 之波峰變化圖

5.2.2 光照前後 PAHs 劑量反應曲線比較

本研究的 11 種 PAHs 其中共有六種在 UV 光照後產生光誘導毒性的現象，其光照後毒性明顯較光照前提升許多，請參考表 5.1.2 至 5.1.3 光照前後藻類毒性試驗結果比較及 5.1 節敘述。此節要探討其光照前後之劑量反應曲線在溶氧增加量、最終產量與生長率三個試驗終點下之變化情形。圖 5.2.9 至 5.2.26 為本研究之六種具有光誘導毒性之 PAHs 在三個不同參數下所得到光照前後相疊之劑量反應曲線圖，由圖上可明顯看出無論是以溶氧增加量、最終產量或生長率作為試驗終點時，在經過不同時間不同波長 UV 光照射後，劑量反應曲線明顯向左偏移，顯示其在相同抑制率下光照後所造成的抑制濃度明顯較光照前下降；而以抑制率來看時亦可發現相同濃度下所造成的抑制率，光照後明顯比光照前要高出許多，證明了其毒性增強而產生光誘導毒性的現象。

除此之外，Anthracene、Benzo[a]anthracene、以及 Perylene 光照後之劑量反應曲線斜率明顯較光照前提升，其高斜率表示生物體所能忍受由低到高的抑制濃度分布在非常狹小的範圍內；在此情況下，若濃度改變上過於劇烈，將會造成生物受體的反應大幅增加，造成實驗初期測試其抑制濃度分佈範圍時的難度，因此在取處理濃度做抑制濃度測試分析時要多加細心與留意。

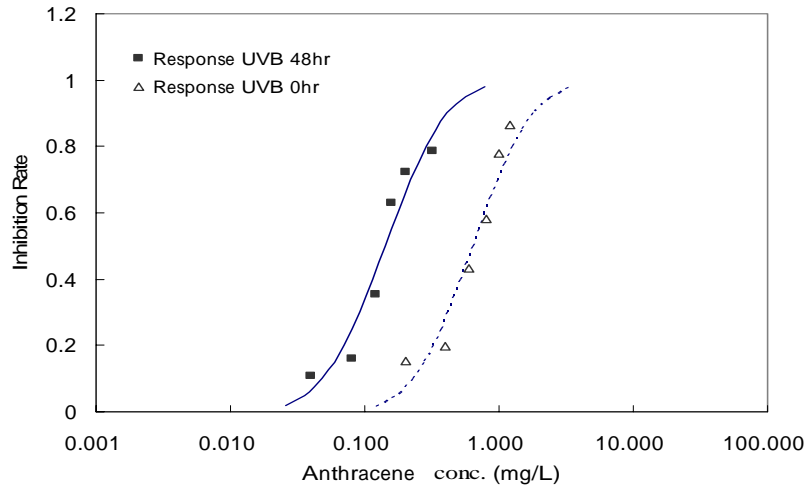


圖 5.2.9 Anthracene 光照前後對藻類 DO 之劑量反應曲線比較

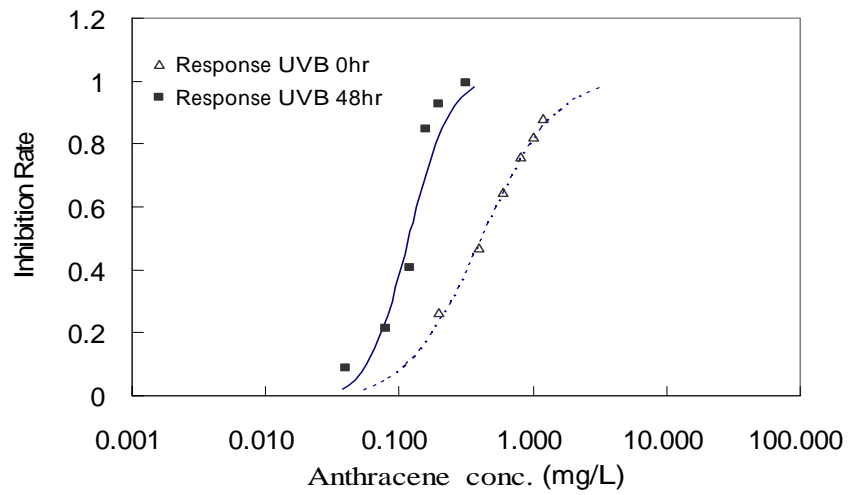


圖 5.2.10 Anthracene 光照前後對藻類 Final Yield 之劑量反應曲線比較

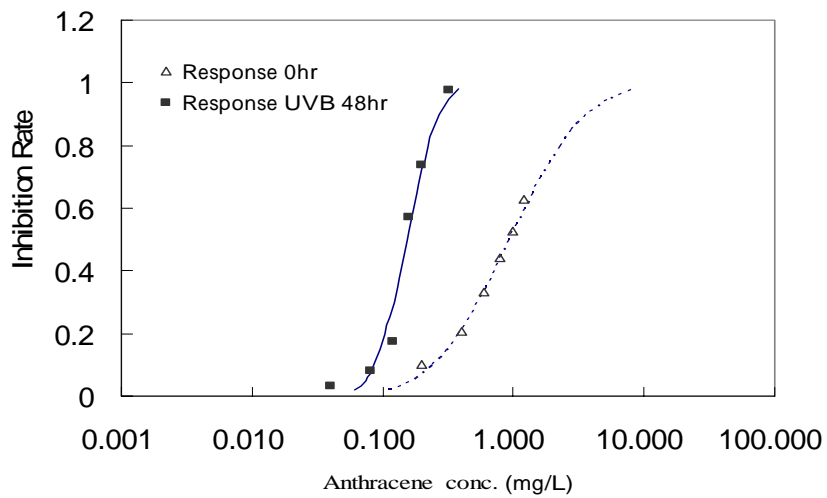


圖 5.2.11 Anthracene 光照前後對藻類 Growth Rate 之劑量反應曲線比較

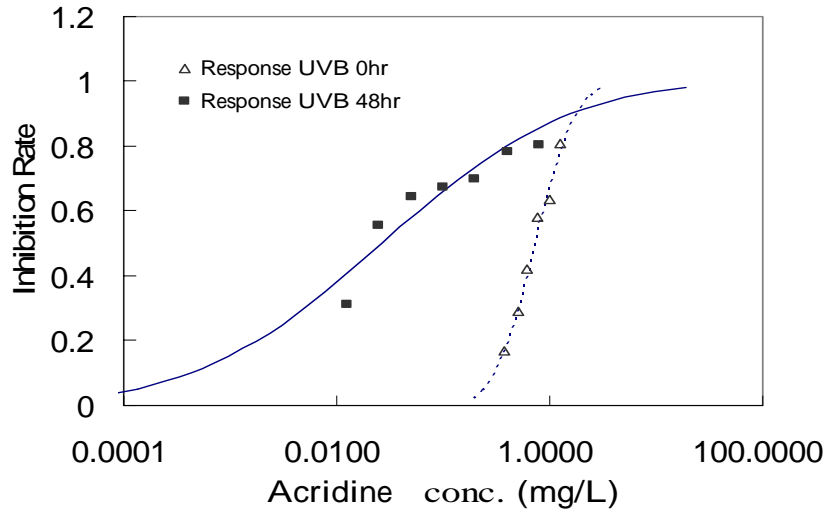


圖 5.2.12 Acridine 光照前後對藻類 DO 之劑量反應曲線比較

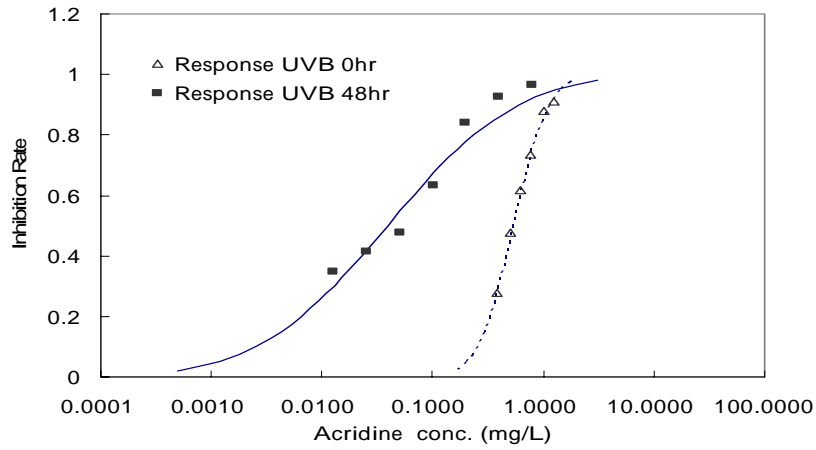


圖 5.2.13 Acridine 光照前後對藻類 Final Yield 之劑量反應曲線比較

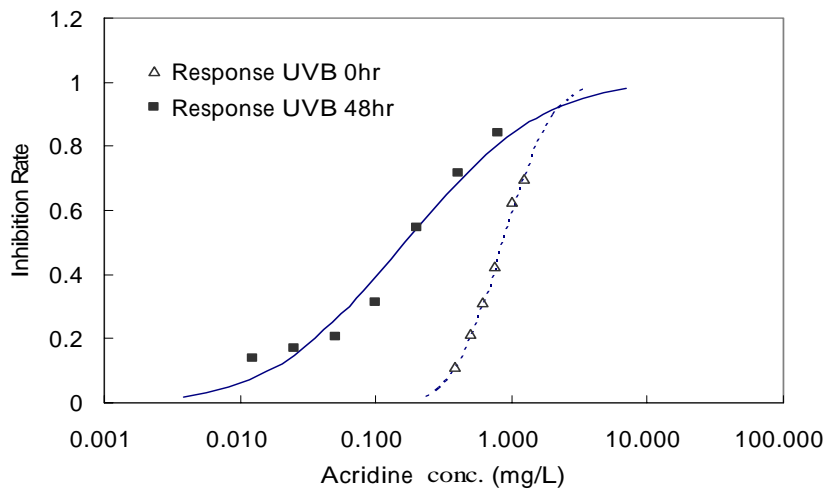


圖 5.2.14 Acridine 光照前後對藻類 Growth Rate 之劑量反應曲線比較

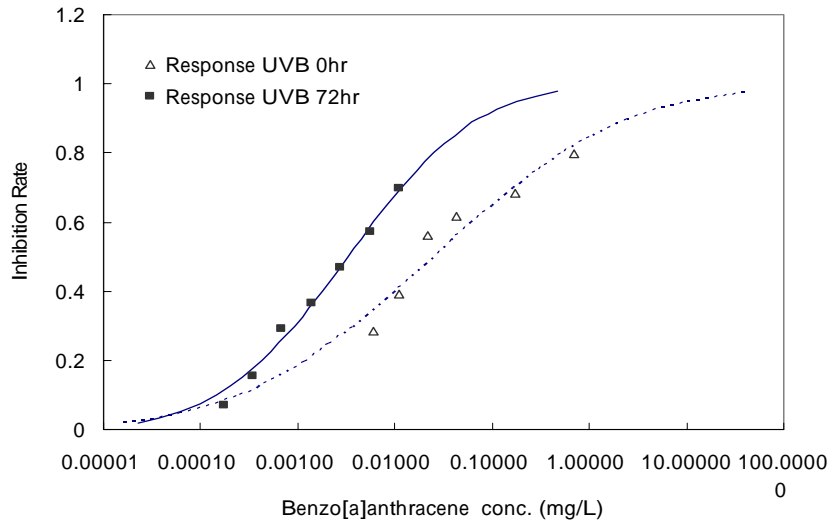


圖 5.2.15 B[a]A 光照前後對藻類 DO 之劑量反應曲線比較

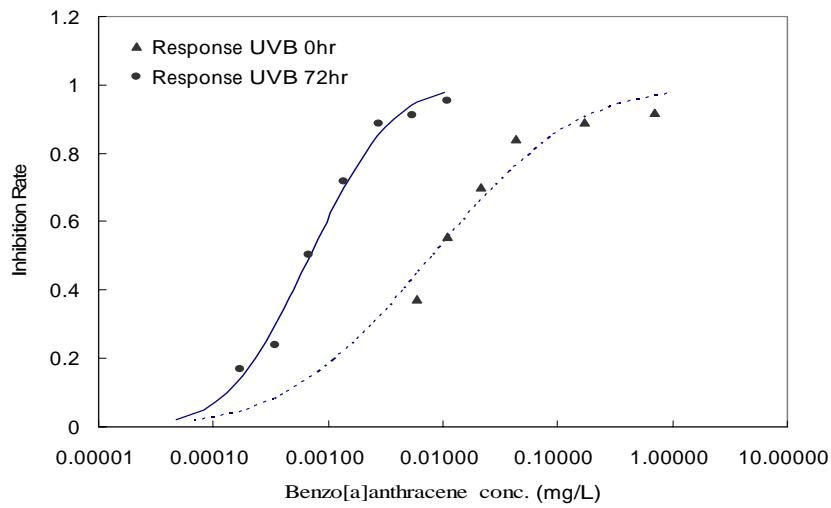


圖 5.2.16 B[a]A 光照前後對藻類 Final Yield 之劑量反應曲線比較

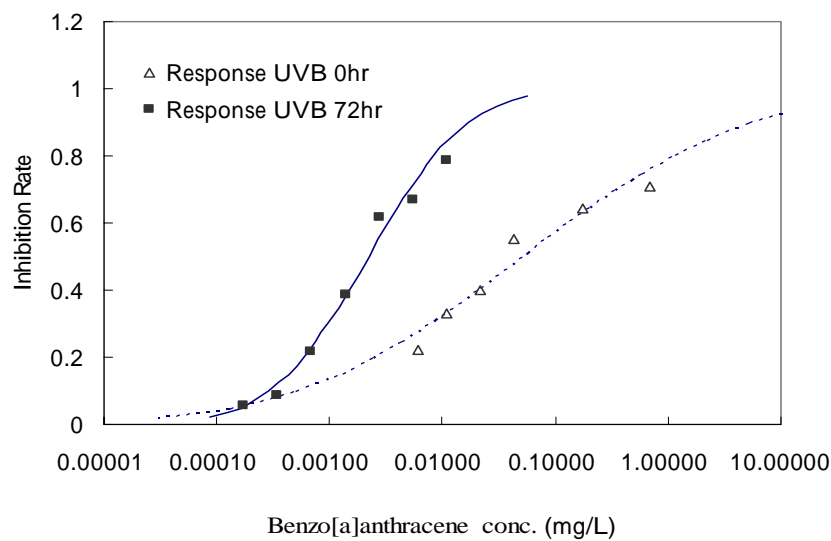


圖 5.2.17 B[a]A 光照前後對藻類 Growth Rate 之劑量反應曲線比較

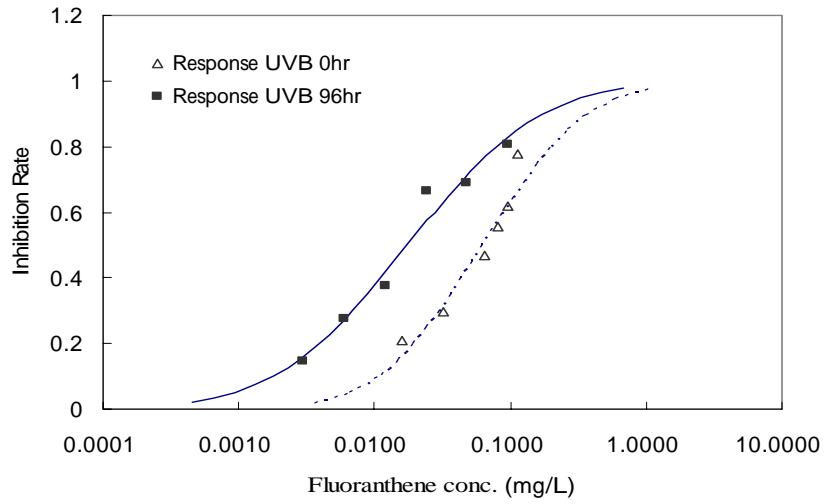


圖 5.2.18 Flu 光照前後對藻類 DO 之劑量反應曲線比較

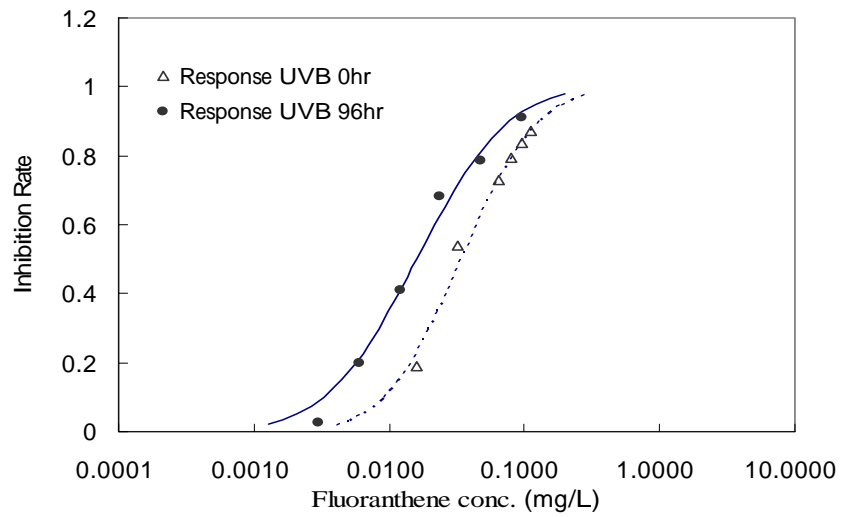


圖 5.2.19 Flu 光照前後對藻類 Final Yield 之劑量反應曲線比較

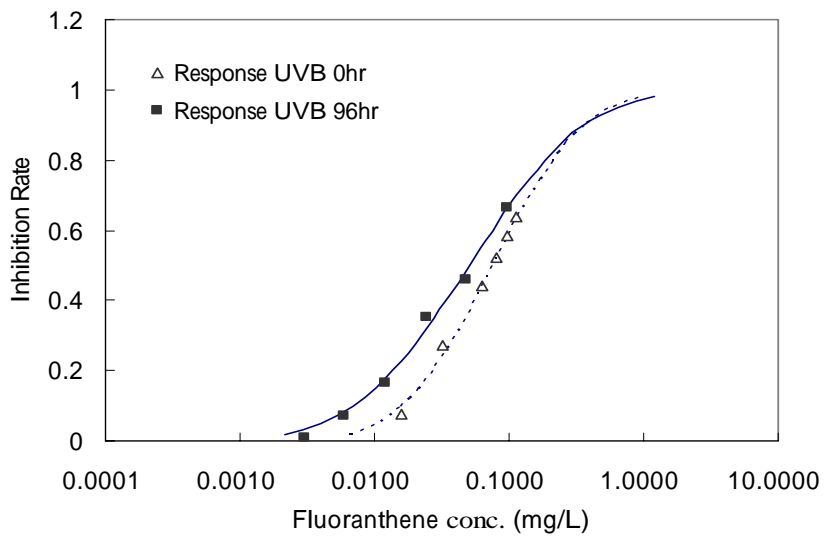


圖 5.2.20 Flu 光照前後對藻類 Growth Rate 之劑量反應曲線比較

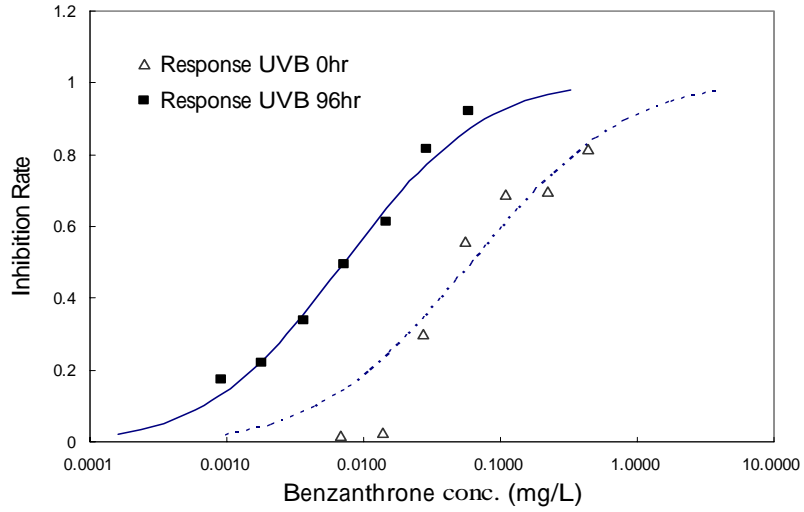


圖 5.2.21 Ben 光照前後對藻類 DO 之劑量反應曲線比較

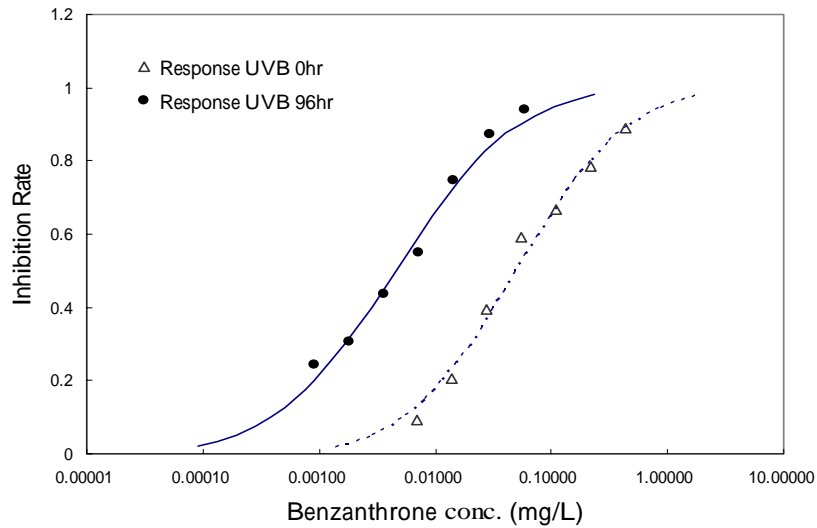


圖 5.2.22 Ben 光照前後對藻類 Final Yield 之劑量反應曲線比較

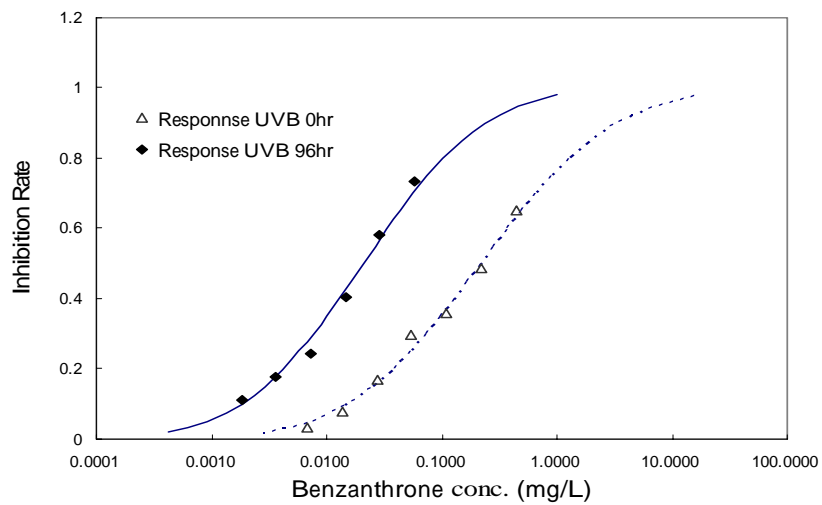


圖 5.2.23 Ben 光照前後對藻類 Growth Rate 之劑量反應曲線比較

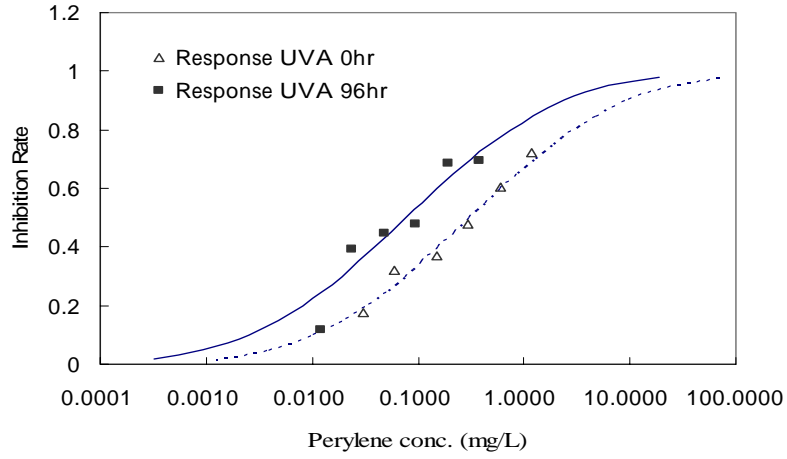


圖 5.2.24 Perylene 光照前後對藻類 DO 之劑量反應曲線比較

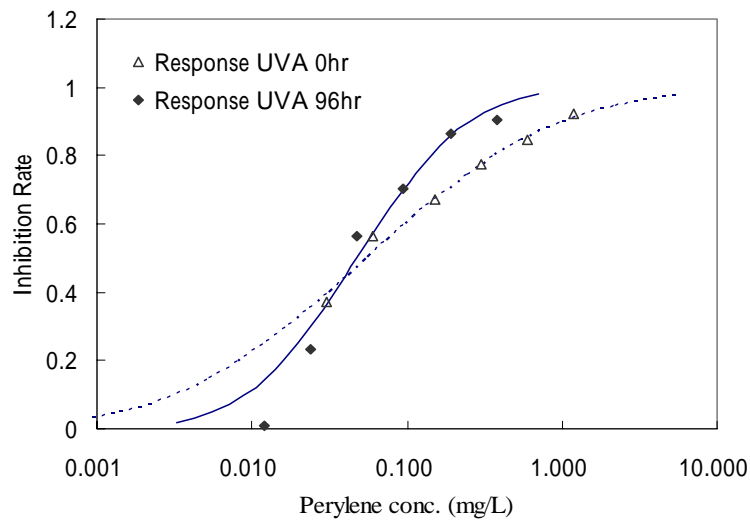


圖 5.2.25 Perylene 光照前後對藻類 Final Yield 之劑量反應曲線比較

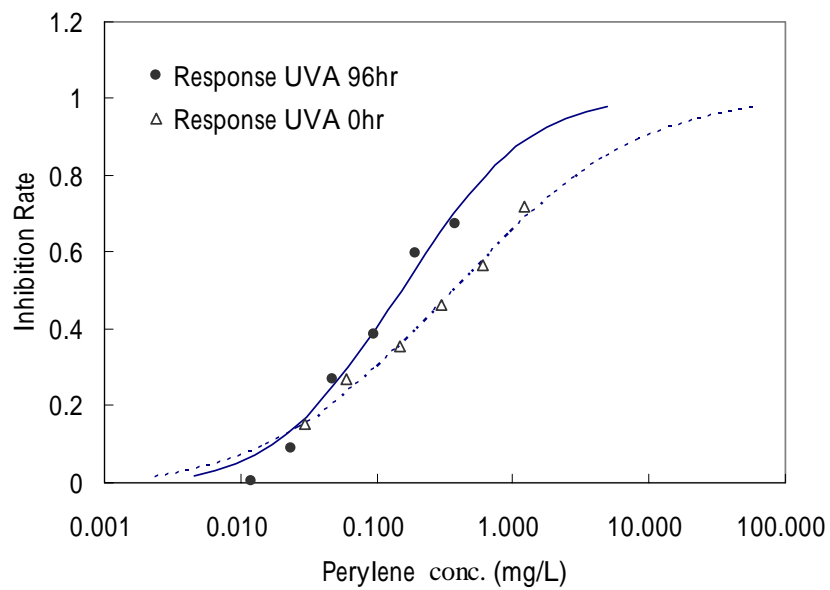


圖 5.2.26 Perylene 光照前後對藻類 Growth Rate 之劑量反應曲線比較

5.3 最佳化模式之選擇

實驗中為了了解系統對毒性物質的敏感度，常以EC或LC值判斷並比較敏感度的高低，通常透過數學模式來求取EC值與LC值，在毒性研究裡常用的數學模式有Probit、Weibull、與Logit三種模式。同一組數據利用不同之數學模式也可能出現不同之EC值，通常EC值信賴區間較小時代表較高的可信度，以上述三種模式計算得到之EC₅₀值較穩定且不同模式分析之差異性較小，但在進行EC₉₀或EC₁₀值的分析計算時由於其信賴區間過大使的可信度大大降低，因此一般實驗大多以最穩定的EC₅₀值來表示其敏感度。而計算EC₉₀或EC₁₀時隨著不同之數學模式其計算結果也將有所差異，因此必須利用G Test分析找出最佳化之計算模式以求出EC₁₀之值。

表 5.3.1 至 5.3.3 為光照前所得實驗結果分別以溶氧增加量 (DO)、最終產量 (FY) 與生長率 (GR) 為試驗終點所計算出之G值。當以溶氧增加量為試驗終點時，除了Anthracene、Benzo[b]fulorene以Probit、Acridine以Weibull模式分析較佳外，其餘皆以Logit模式最佳；而以最終產量為試驗終點時發現除了Phenanthrene以Probit、Anthracene及Acridine以Weibull模式分析較佳外，其餘亦以Logit模式為佳；而生長率的結果則是除了Anthracene與Benzo[a]anthracene外其餘也都是以Logit迴歸模式為最佳。而在光照後三參數G Test分析部份，由圖 5.3.4 至 5.3.6 也發現大多以Logit迴歸模式為最佳化模式，在Chao^[57]的研究中顯示連續式實驗以Probit最適合，而批次式實驗則以Logit最適合，其批次實驗結果與本研究優選模式結果一致。此外，Hsu^[51]與Lee^[54]在與本研究相同的試驗方法下，針對非極性麻醉毒物及極性麻醉性機制毒物進行實驗，分析結果則是以Weibull模式較佳，而Huang以腈類為毒物經G Test分析後也同樣得到以Weibull為最佳模式之結果。

表 5.3.1 光照前以 DO 為試驗終點三種模式 G value

Chemical	G of probit	G of logit	G of weibull
Benzanthrone	734.049	727.536*	762.339
Phenanthrene	1025.879	962.441*	983.58
Fluoranthene	1015.856	1002.259*	1058.105
Anthracene	46.314*	68.927	121.144
Benzo[a]anthrace	753.217	739.702*	601.235
Acridine	315.867	182.613	11.254*
Benzo[b]fluorene	482.095*	485.199	696.638
Dibenzo[b,i]anthracene	714.982	683.665*	743.276
Perylene	587.799	577.406*	633.843
Benzo[b]chrysene	753.613	725.692*	779.714
Napthalene	5239.876	408.98*	626.776

* : the lowest absolute value of G among three models

表 5.3.2 光照前以 Final Yield 為試驗終點三種模式 G value

Chemical	G of probit	G of logit	G of weibull
Benzanthrone	925.654	913.470*	947.621
Phenanthrene	870.265*	937.098	879.277
Fluoranthene	773.579	763.167*	782.798
Anthracene	52.06	56.447	6.144*
Benzo[a]anthrace	636.825	629.713*	637.999
Acridine	928.415	778.905	420.885*
Benzo[b]fluorene	656.249	640.749*	677.282
Dibenzo[b,i]anthracene	714.129	705.236*	728.697
Perylene	499.568	485.979*	509.865
Benzo[b]chrysene	816.13	813.002*	817.11
Napthalene	4604.492	205.512*	333.556

* : the lowest absolute value of G among three models

表 5.3.3 光照前以 Growth Rate 為試驗終點三種模式 G value

Chemical	G of probit	G of logit	G of weibull
Benanthrone	857.970	835.245*	893.064
Phenanthrene	951.823	949.92*	963.047
Fluoranthene	1042.259	1031.248*	1071.837
Anthracene	261.801*	274.23	575.592
Benzo[a]anthrace	758.006*	869.811	766.055
Acridine	126.891	12.267*	251.537
Benzo[b]fluorene	682.862	680.297*	739.116
Dibenzo[b,i]anthracene	627.597	590.468*	736.284
Perylene	588.231	578.403*	636.066
Benzo[b]chrysene	894.813	893.615*	896.834
Napthalene	2680.572	797.795*	944.925

* : the lowest absolute value of G among three models

表 5.3.4 光照後以 DO 為試驗終點三種模式 G value

Chemical	G of probit	G of logit	G of weibull
Benanthrone	1077.836	1063.943*	1089.234
Phenanthrene	918.056	904.086*	945.528
Fluoranthene	986.578	973.236*	1004.4
Anthracene	867.009	861.994*	877.47
Benzo[a]anthrace	1110.446*	1110.785	1120.855
Acridine	684.552	665.278*	705.166
Benzo[b]fluorene	660.387	594.015*	634.107
Dibenzo[b,i]anthracene	764.921	745.367*	802.135
Perylene	808.179	784.066*	845.642
Benzo[b]chrysene	784.766	753.011*	820.079
Napthalene	2773.376	576.687*	873.456

* : the lowest absolute value of G among three models

表 5.3.5 光照後以 Final Yield 為試驗終點三種模式 G value

Chemical(Biomass)	G of probit	G of logit	G of weibull
Benzanthrone	1021.139	1006.704*	1031.590
Phenanthrene	815.178	667.617*	717.395
Fluoranthene	784.505	780.01*	786.615
Anthracene	626.116	621.817*	636.76
Benzo[a]anthrace	850.196	849.908*	850.2
Acridine	766.951	724.731*	808.134
Benzo[b]fluorene	698.612	674.995*	715.751
Dibenzo[b,i]anthracene	787.698	773.615*	797.928
Perylene	672.61	663.887*	678.134
Benzo[b]chrysene	819.952	815.504*	821.256
Napthalene	2642.874	454.973	275.858*

* : the lowest absolute value of G among three models

表 5.3.6 光照後以 Growth Rate 為試驗終點三種模式 G value

Chemical(GR)	G of probit	G of logit	G of weibull
Benzanthrone	1042.870	1033.191*	1061.000
Phenanthrene	931.665*	964.43	982.482
Fluoranthene	888.678*	905.831	908.599
Anthracene	248.994	247.875*	251.531
Benzo[a]anthrace	984.895	983.329*	985.208
Acridine	895.128	873.232*	923.94
Benzo[b]fluorene	753.121	695.536*	758.627
Dibenzo[b,i]anthracene	714.524	660.325*	763.67
Perylene	808.459	794.334*	833.142
Benzo[b]chrysene	937.915	934.971*	940.595
Napthalene	2140.273	904.567*	1063.58

* : the lowest absolute value of G among three models

5.4 EC₁₀與NOEC之比較

此節將討論密閉式BOD瓶藻類毒性試驗根據溶氧增加量、最終產量與生長率為反應終點所得到之EC₁₀與NOEC值。NOEC值的判定取決於不同的實驗設計條件，毒物處理濃度的選決、重複組的數量和變異情形以及所選定的試驗終點，以上因素皆會造成NOEC值有所差異。一般而言NOEC值之計算主要是由統計方法中的Dunnett's Test，若重複組之間的差異縮小，其與處理組間的差距亦會比較明顯，如此由Dunnett's Test所得到之值也較為準確。回顧過去文獻可得到許多關於EC₁₀與NOEC值之探討比較及評估兩者間何者較適合作為實驗的基準，因此本節將針對此兩者進行討論與比較。

表 5.4.1 至表 5.4.2 為將光照前後之結果利用Dunnett's Test分析之NOEC值，而EC₁₀則是經過G Test 最佳化模式分析後所得到之值，觀察EC₁₀與NOEC之比值可發現有些呈現大於一的趨勢，而比值小於一的部份可能是因為實驗過程中並未求得精確之NOEC值(0~10%抑制之濃度)導致EC₁₀與NOEC相除後比值未呈現大於一之結果。

為了更深入的比較EC₁₀與NOEC，本研究進一步利用ANOVA (analysis of variance) 檢定兩項重要參數，Sw、F ration以及中斷值 (cut-off value)。Sw代表試驗組內變異之平方根，而F ration為組間變異與組內變異的比值，用以表示組間變異與組內變異的差異程度。由表 5.4.3 至 5.4.4 之結果，可發現無論光照前後，此三種試驗終點之Sw值差異性皆大，其原因是以溶氧量的單位是 mg/L而細胞密度的單位是cells/ml，由於使用不同的單位，使得Sw 不能用以直接比較三反應終點的組內變異，根據以上之結果 F ration 同樣也無法判斷哪一觀測參數較為精確。為了能夠比較參數的準確度，本研究利用判斷參數中斷值，此中斷值與Sw成比例關係且介於NOEC與

LOEC之間，且其單位為抑制百分率，因此可用於不同單位試驗終點間的比較，更嚴謹的判斷藻類受到抑制的顯著性。

NOEC的定義為在統計上與控制組相比最高沒有觀測到變異的濃度，實際上在環境中較安全或是沒影響的濃度應該是介於NOEC與LOEC之間。NOEC之決定主要與實驗設計或實驗濃度之選取有很大的關連，由於NOEC之變動性很大，因此許多文獻研究亦指出NOEC並非環境中量測未影響濃度之最佳指標，因此必須透過cut-off value 之檢定來比較NOEC與EC₁₀何者較適合提供更好之保護標準。cut-off value 之計算是以生長減少百分比為計算之依據，其公式如下：

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

其中T為一關鍵值可由查表所得(one-tail Dunnett's test, P<0.05)，X_c與X_i為控制組與處理組之平均觀測值，n_c與n_i為控制組與處理組重複試驗次數，S_w為組內變異之平方根。cut-off value與組內變異平方根S_w成正比關係，因此其值大小也顯示了組內變異的大小，此外cut-off value之計算標準化了S_w值並使之成為較公平的比較基準而不會因為不同種類試驗或不同之試驗終點造成差異性。使用cut-off value之其中一項優點為他可以直接指出特定處理組其與控制組產生統計上明顯差異之最低生長減少率。除此之外，cut-off value也顯示了NOEC所能提供環境中最小保護之相關訊息。計算求得之平均cut-off value提供了選取NOEC或EC₁₀做為評估最低毒性影響之標準，若計算得到之cut-off value小於 10%顯示實驗結果十分精準因為組內變異很小，在此情況下選擇NOEC會比EC₁₀佳因為NOEC所造成之抑制率會比EC₁₀所造成之 10% 抑制率為低，因此可以提供更好之保護。

觀察光照前以溶氧增加量、最終產量與生長率為試驗終點時的平均中

斷值分別為 5.05、6.35、6.04，顯示以溶氧增加量為反應終點較最終產量與生長率要稍佳；而光照後三參數的平均中斷值則分別為 4.39、4.43、11.42，同樣顯示以溶氧增加量為反應終點時組內變異較小，為較佳之選擇。本研究之結果亦與Hsu^[51]針對非極性麻醉有機物的兩種反應終點之中斷值比較具一致性，Hsu的結果亦指出以溶氧增加量為試驗種點的組內變異較低。因為中斷值位於NOEC與LOEC之間高於NOEC，故當中斷值小於10%時，生物受到NOEC的影響濃度會比10%的抑制濃度要低，換言之，此時以NOEC能夠比EC₁₀提供更加嚴謹的保護標準。對於本研究的PAHs而言，光照前以溶氧增加量為試驗終點時中斷值皆小於10%，而以最終產量及生長率為試驗終點時中斷值皆只有一組大於10%；而光照後的實驗以溶氧增加量及最終產量為試驗終點時中斷值皆小於10%，以生長率時中斷值只有一組大於10%，証明了本研究之PAHs無論光照前後皆以NOEC值能提供比EC₁₀值更好的保護標準。



表 5.4.1 以 Dunnett's Test 分析光照前之 NOEC 值

Chemicals(Dark)	NOEC(mg/l)			EC ₁₀ (mg/l) (by G Test)			EC ₁₀ /NOEC		
	based on	based on	based on	based on	based on	based on	based on	based on	
	DO	FY	GR	DO	FY	GR	DO	FY	GR
Benzanthrone	0.0138	<0.0069	0.0069	0.0040	0.0047	0.0117	0.29	>0.68	1.70
Phenanthrene	<0.06	<0.06	0.06	0.0741	0.0550	0.0859	>1.24	>0.92	1.43
Fluoranthene	<0.016	<0.016	<0.016	0.0095	0.0084	0.0143	>0.59	>0.53	>0.89
Anthracene	<0.2	<0.2	<0.2	0.2226	0.0755	0.2348	>1.11	>0.37	>1.174
Benzo[a]anthracene	<0.006	<0.006	<0.006	0.0002	0.0005	0.0005	>0.033	>0.08	>0.08
Acridine	<0.38	<0.38	<0.38	0.2327	0.1745	0.3494	>0.61	>0.46	>0.92
Benzo[b]fluorene	<0.02	<0.02	<0.02	0.0008	0.0017	0.0070	>0.04	>0.085	>0.35
Dibenzo[b,i]anthracene	0.02	0.04	0.04	0.0059	0.0280	0.0499	0.29	0.70	1.25
Perylene	<0.03	<0.03	<0.03	0.0081	0.0027	0.0123	>0.27	>0.09	>0.41
Benzo[b]chrysene	<0.0013	<0.0013	<0.0013	0.00002	0.00097	0.0025	>0.015	>0.75	>1.92
Napthalene	<1.279	<1.279	1.279	1.4949	0.8547	1.2840	>1.17	>0.67	>1.00

表 5.4.2 以 Dunnett's Test 分析光照後之 NOEC 值

Chemicals(+UV)	NOEC(mg/l)			EC ₁₀ (mg/l) (by G test)			EC ₁₀ /NOEC		
	based on	based on	based on	based on	based on	based on	based on	based on	
	DO	FY	GR	DO	FY	GR	DO	on FY	GR
Benzanthrone	<0.0009	<0.0009	<0.0009	0.00057	0.00033	0.00170	>0.63	>0.37	>1.8
Phenanthrene	<0.06	<0.06	<0.06	0.02368	0.03754	0.06720	>0.39	>0.63	>1.12
Fluoranthene	<0.003	0.003	0.003	0.00311	0.00311	0.00699	>1.04	1.04	2.33
Anthracene	<0.04	0.04	0.2	0.04790	0.05847	0.08964	>1.20	1.46175	0.4482
Benzo[a]anthracene	<0.00017	<0.00017	<0.00017	0.00015	0.00017	0.00027	>0.88	>1	>1.59
Acridine	<0.0125	<0.0125	<0.0125	0.00035	0.00193	0.01429	>0.03	>0.15	>1.14
Benzo[b]fluorene	<0.02	<0.02	<0.02	0.00125	0.00224	0.01064	>0.06	>0.11	>0.53
Dibenzo[b,i]anthracene	0.02	0.02	0.02	0.01574	0.02545	0.05712	0.787	1.2725	2.856
Perylene	<0.0119	0.0119	0.0119	0.00181	0.00854	0.01465	>0.15	0.74	1.42
Benzo[b]chrysene	<0.0013	<0.0013	<0.0013	0.00001	0.00067	0.00192	>0.0077	>0.52	>1.48
Napthalene	<1.3	<1.3	<1.3	0.86896	0.22555	1.19000	>0.67	>0.17	>0.92

表 5.4.3 光照前三種試驗終點之重要統計參數

Chemicals(Dark)	data based on DO			data based on Final Yield			data based on Growth Rate		
	Sw	F-ration	cut-off value(%)	Sw	F-ration	cut-off value(%)	Sw	F-ration	cut-off value(%)
Benanthrone	0.16	437.66	5.49	5117.62	369.12	4.81	0.02	294.85	3.7
Phenanthrene	0.04	1289.12	1.9	8797.38	94.57	9.58	0.05	97.14	8.63
Fluoranthene	0.22	102.18	7.56	4379.81	312.56	4.93	0.03	273.34	4.7
Anthracene	0.14	663.22	4.17	4431.52	479.88	3.69	0.02	471.05	3.33
Benzo[a]anthrace	0.07	1774.62	1.64	6784.82	180.72	5.57	0.03	314.74	4.49
Acridine	0.19	190.8	6.24	5537.5	278.6	4.98	0.03	413.56	4.15
Benzo[b]fluorene	0.15	109.25	4.69	4840	323.5	3.61	0.02	305.23	3.28
Dibenzo[b,i]anthracene	0.33	57.03	9.37	7160.77	462.25	5.12	0.02	540.51	2.74
Perylene	0.17	176.72	5.44	13981.61	34.36	11.84	0.09	32.76	13.12
Benzo[b]chrysene	0.1	351.47	3.08	6616.46	287.79	6.64	0.05	182.69	8.59
Napthalene	0.21	466.01	5.92	9751.54	120.73	9.03	0.06	100.29	9.75
mean	0.16	510.73	5.05	7036.28	267.64	6.35	0.04	275.11	6.04

表 5.4.4 光照後三種試驗終點之重要統計參數

Chemicals(+UV)	data based on DO			data based on Final Yield			data based on Growth Rate		
	Sw	F-ration	cut-off value(%)	Sw	F-ration	cut-off value(%)	Sw	F-ration	cut-off value(%)
Benanthrone	0.18	354.35	4.76	7205.75	326.14	4.75	0.03	307.91	3.99
Phenanthrene	0.05	1306.99	1.54	5880.71	265.65	5.15	0.03	343.78	4.54
Fluoranthene	0.15	636.06	3.81	6818.32	626.59	4.82	0.03	414.06	4.52
Anthracene	0.2	321.88	5.96	7621.27	401.23	6.71	0.56	5.03	85.81
Benzo[a]anthrace	0.22	89.41	7.78	5699.42	749.41	4.1	0.06	138.69	8.61
Acridine	0.1	322.64	3.35	4655.52	511.87	3.59	0.02	610.4	3.44
Benzo[b]fluorene	0.13	172.46	4.17	4826.32	323.31	3.75	0.02	315.4	3.26
Dibenzo[b,i]anthracene	0.16	238.22	4.94	5328.33	735.64	3.85	0.02	816.78	2.25
Perylene	0.14	3.22	4.34	6084.77	567.26	5.16	0.03	658.41	3.83
Benzo[b]chrysene	0.12	223.98	3.52	4923.86	534.6	4.55	0.02	1077.62	3.47
Napthalene	0.12	453.2	4.16	3432.61	1023.92	2.3	0.01	1853.87	1.91
mean	0.14	374.76	4.39	5679.72	551.42	4.43	0.075	594.72	11.42

5.5 PAHs 之 QSAR

5.5.1 QSAR 預測 PAHs 之光誘導毒性

關於文獻上以QSAR預測PAHs光毒之文獻在 2.6.2 節中已有詳盡的探討，本研究主要是以最高佔用分子軌域及最低未佔用分子軌域之能量差(HOMO-LUMO gap)與光照前後之EC₅₀比值，在三種不同的試驗終點下進行迴歸。HOMO-LUMO軌域的能量可視為是分子貢獻或接受電子對的能力，兩者間的能階差代表將電子由HOMO激發到LUMO所需的能量，其值亦與吸收光子的頻率成比例關係。根據Fabianna et al. [58]研究指出化合物具較大之GAP值時在連續的UV暴露照射下，會吸附較低波長的能量且可能會產生較強的光毒性。而Mekenyan [22]其研究中亦提出化合物之結構堅硬度如同GAP一般對光誘導毒性有很大的影響，而結構堅硬度之計算則是以GAP/2之值求得，此參數直接與多環芳香族化合物之能量穩定成比例關係。而關於化合物穩定度的討論，化合物穩定性與吸光性主要依據分子結構而決定，分子結構可以電子參數來描述，而較小的結構變動性影響了軌域的能量變化並直接與光毒所需之能量有很大的關係。Fabianna et al. [58]提出利用上述電子參數與光誘導毒性結果迴歸出之高斯光毒鐘型曲線分佈主要與以下四點有關：

1. UV 光吸附特性
2. 化合物的穩定度
3. UV 光照射能量
4. UV 光照射強度。

表 5.5.1 列出QSAR分析PAHs光毒性之重要參數，根據表中之參數值，透過四次多項式迴歸後可畫出如圖 5.5.1 至 5.5.3 以HOMO-LUMO gap為橫軸、光照前後EC₅₀比值為縱軸，在三種不同試驗終點下之迴歸曲線。由圖 5.5.1 至 5.5.3 可發現迴歸之結果呈現鐘型分佈，由於以四次多項式迴歸之曲線會呈現波峰與波谷之趨勢，但觀察文獻上之光毒鐘型曲線可發現波峰前後之曲線會慢慢呈現斜率接近零之直線，因此本研究之迴歸曲線將波谷之曲線去掉而改以虛線顯示其波峰兩端之PAHs無光毒之效應。大致上

本研究所得之曲線與文獻上之迴歸結果一致。其中GAP值較小之PAHs，如Dibenzo[b,i]anthracene、Benzo[b]chrysene、Perylene主要會分佈在曲線的左邊，造成其光毒性較低之原因主要是因為其GAP值小、能量小且結構堅硬度亦較低造成其毒性下降；一般而言結構堅硬度較小之化合物對於結構上的變動會較易受影響，且其通常吸附較高波長之UV光而較容易降解，進而造成其較低之光毒效應。而增加GAP值會加強PAHs之穩定度造成較強之光毒性，但是其它一些外在因素例如UV光強度亦會影響光毒性之潛能進而造成其迴歸結果呈現非線性的關係。GAP值分佈在中間區域的化合物如Anthracene、Benzo[a]anthracene、Benzanthrone、Acridine...等等，其較不易降解且由於吸收存在於地球表面的UV光波長範圍而利於光誘導毒性反應的發生，因此其光毒性較強。而GAP值過高之化合物，如Benzo[b]fluorene、Phenanthrene、Naphthalene，由於本身結構過於穩定，抵達地球表面之光波長不在其吸收之光波長範圍內，因此無法吸收足夠的能量產生光毒性。

關於QSAR預測光毒之部分，本研究依HOMO-LUMO gap與光照前後之EC₅₀比值迴歸所建立之光毒窗預測範圍，在以溶氧量為試驗終點時 Δ GAP值分佈在6.7~8.1eV時具光毒性，而以最終產量時 Δ GAP值分佈在6.8~8 eV時具光毒性，以生長率時 Δ GAP值則是以分佈在6.7~7.9 eV時具光毒性；由以上三種不同試驗終點所建立之光毒窗預測範圍可發現結果十分接近，而與Mekenyan^[22]所定義之6.7~7.5eV之光毒 Δ GAP範圍比較時則發現本研究定義之光毒窗預測範圍要比其上下限高出一些。

根據Mekenyan^[22]研究中指出PAHs其 Δ GAP值在7.2-7.4eV時具有極強之光毒性，因此本研利用 Δ GAP=7.4eV為基準，將本實驗之11種PAHs分為GAP值小於7.4eV(五組)與GAP值大於7.4eV(六組)左右兩半部進行線性迴歸，在去除掉Dibenzo[b,i]anthracene與Naphthalene兩個Outliers後其結果展現極佳之線性關係。以下為其三參數之迴歸關係式：

$$\begin{aligned} \log(\text{EC}_{50} \text{ ratio}) &= 0.7616\Delta\text{GAP} - 4.8025 & R^2 &= 0.6611 & n &= 4, \text{ based on DO} \\ \log(\text{EC}_{50} \text{ ratio}) &= -1.313\Delta\text{GAP} + 10.872 & R^2 &= 0.6817 & n &= 5, \text{ based on DO} \\ \log(\text{EC}_{50} \text{ ratio}) &= 1.0956\Delta\text{GAP} - 7.2346 & R^2 &= 0.8648 & n &= 4, \text{ based on FY} \\ \log(\text{EC}_{50} \text{ ratio}) &= -1.5342\Delta\text{GAP} + 12.411 & R^2 &= 0.7815 & n &= 5, \text{ based on FY} \\ \log(\text{EC}_{50} \text{ ratio}) &= 1.3342\Delta\text{GAP} - 8.6996 & R^2 &= 0.8854 & n &= 4, \text{ based on GR} \\ \log(\text{EC}_{50} \text{ ratio}) &= -1.2918\Delta\text{GAP} + 10.414 & R^2 &= 0.814 & n &= 5, \text{ based on GR} \end{aligned}$$

表 5.5.2 為根據本研究所建立之迴歸方程式，在三個不同試驗終點下所計算出之 PAHs 光誘導毒性預測值並與實驗值進行比較，其結果顯示本研究所建立的迴歸模式，在以溶氧為試驗終點時，其實驗值與預測值迴歸相關係數為 0.68，標準誤差為 0.21；當以最終產量為試驗終點時，其迴歸相關係數為 0.81，標準誤差為 0.20；而以生長率為試驗終點時其相關係數為 0.86，標準誤差為 0.18，因此以生長率為試驗終點時其迴歸模式所計算所得之預測值最為接近實驗值。



表 5.5.1 QSAR 預測光毒性重要參數

Toxicant	DO	FY	GR	E_{LUMO}	E_{HOMO}	GAP
	Log(Dark/Light EC ₅₀ Ratio)	Log(Dark/Light EC ₅₀ Ratio)	Log(Dark/Light EC ₅₀ Ratio)	ev	ev	ev
	-	-	-			
Benzanthrone	0.91	1.02	1.01	-1.27	-8.70	7.43
Phenanthrene	0.22	0.06	-0.04	-0.41	-8.62	8.21
Fluoranthene	0.54	0.32	0.16	-0.93	-8.63	7.70
Anthracene	0.65	0.53	0.77	-0.84	-8.12	7.28
Benzo[a]anthrace	0.88	1.05	1.36	-0.81	-8.21	7.40
Acridine	1.43	1.13	0.71	-1.04	-8.58	7.53
Benzo[b]fluorene	0.23	-0.10	0.02	-0.49	-8.48	7.99
Dibenzo[b,i]anthrace ne	-0.07	0.05	0.11	-1.52	-6.90	5.39
Perylene	0.59	0.05	0.37	-1.15	-7.86	6.71
Benzo[b]chrysene	0.00	0.09	0.05	-0.99	-8.05	6.61
Napthalene	-0.03	0.09	-0.06	-0.27	-10.88	10.16

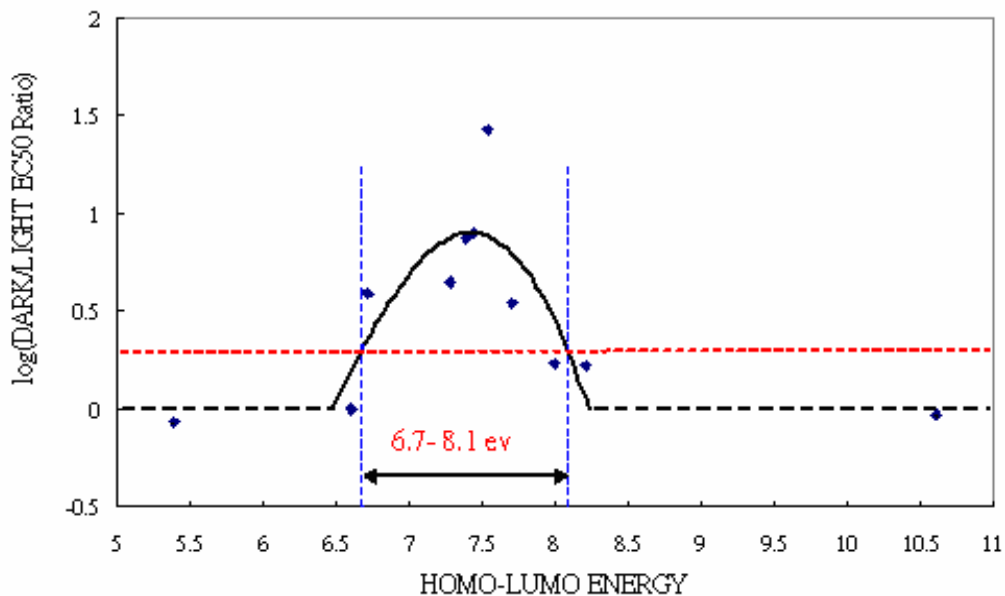


圖 5.5.1 QSAR 預測 PAHs 光誘導毒性(based on DO)

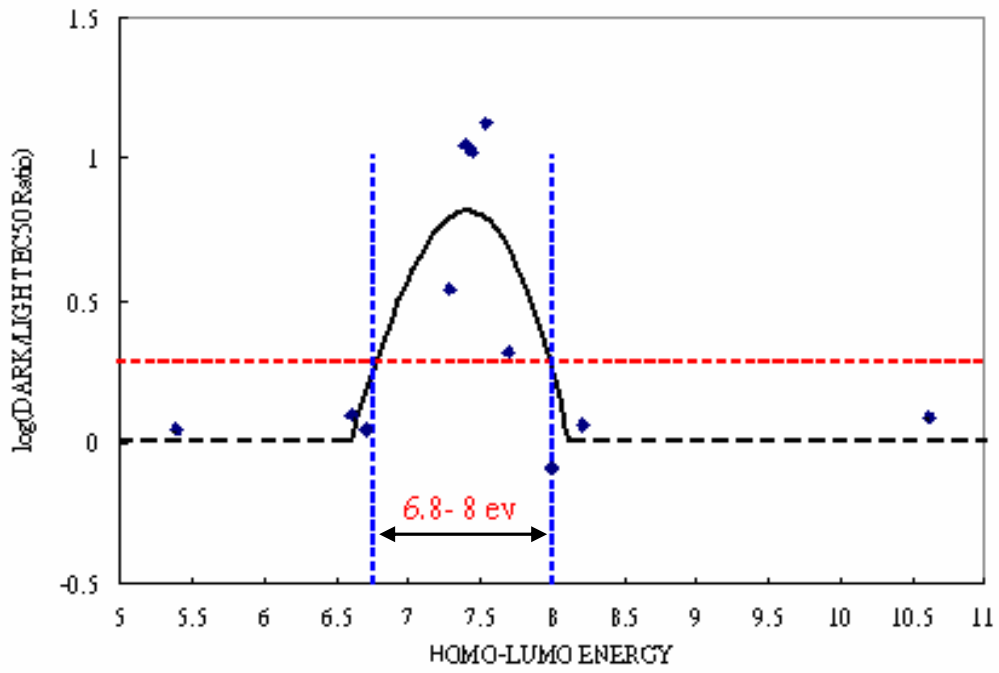


圖 5.5.2 QSAR 預測 PAHs 光誘導毒性(based on Final Yield)

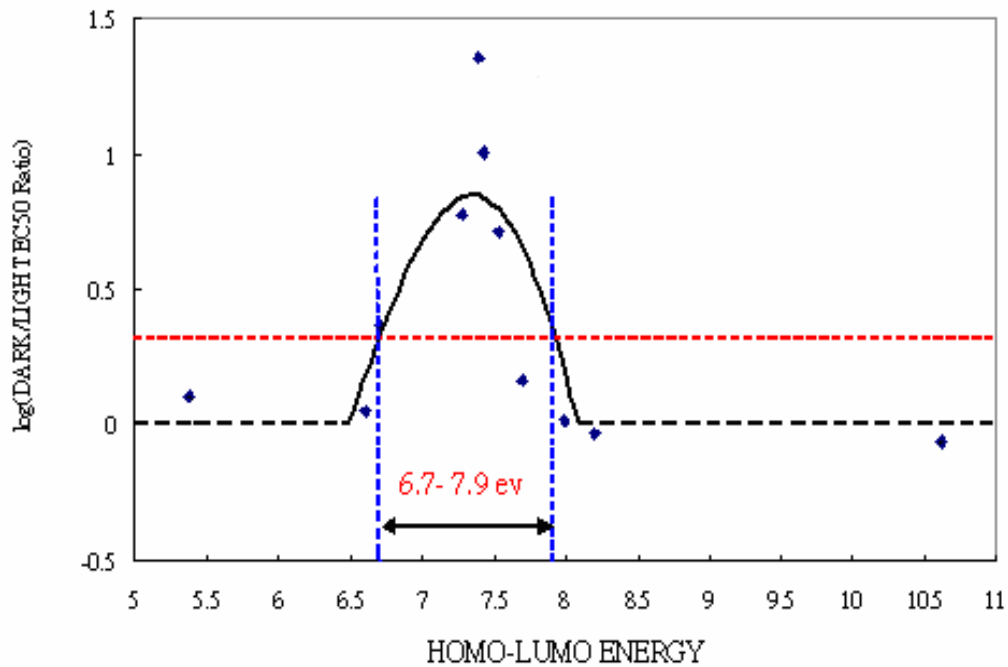
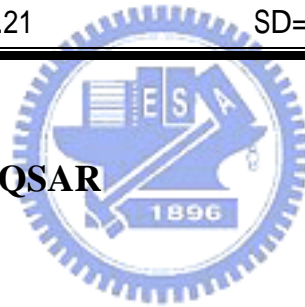


圖 5.5.3 QSAR 預測 PAHs 光誘導毒性(based on Growth Rate)

表 5.5.2 QSAR 在三種試驗終點下預測光毒性之實驗值與預測值比較

Chemical	based on DO		based on FY		based on GR	
	log	log	log	log	log	log
	(EC ₅₀ Ratio)	(EC ₅₀ Ratio)	(EC ₅₀ Ratio)	(EC ₅₀ Ratio)	(EC ₅₀ Ratio)	(EC ₅₀ Ratio)
	experiment	Prediction	experiment	Prediction	experiment	Prediction
Benzo[b]chrysene	0	0.23	0.09	0	0.05	0.11
Perylene	0.59	0.31	0.05	0.12	0.37	0.25
Anthracene	0.65	0.74	0.53	0.74	0.77	1.01
Benzo[a]anthracene	0.88	0.83	1.05	0.87	1.36	1.17
Benzanthrone	0.91	1.11	1.02	1.01	1.01	0.81
Acridine	1.43	0.98	1.13	0.86	0.71	0.68
Fluoranthene	0.54	0.76	0.32	0.60	0.16	0.47
Benzo[b]fluorene	0.23	0.38	-0.10	0.15	0.02	0.09
Phenanthrene	0.22	0.09	0.06	-0.18	-0.04	-0.19
	R ² =0.68		R ² =0.81		R ² =0.86	
	SD=0.21		SD=0.20		SD=0.18	

5.5.2 其他參數建立之 QSAR



本研究針對 11 種 PAHs 利用水及辛醇係數 (n-Octanol / Water Partition Coefficient, LogP) 此參數與實驗結果建立預測毒性之 QSAR 模式，由於 PAHs 光照後會產生光誘導毒性導致無法與 LogP 進行線性迴歸，因此本研究與 LogP 之迴歸主要建立在光照前 PAHs 實驗結果部份。表 5.5.3 為本研究 11 種 PAHs 光照前實驗結果與其 LogP、E_{LUMO} 參數值，根據表中數值可迴歸出圖 5.5.4 至圖 5.5.6 三種試驗終點下與 LogP 之關係曲線，其迴歸關係式分別如下：

$$\log(1/EC_{50}) = 0.790 \log P + 2.5083, \quad R^2 = 0.5058, \quad n=11, \text{ based on DO}$$

$$\log(1/EC_{50}) = 0.6165 \log P + 0.3103, \quad R^2 = 0.6041, \quad n=11, \text{ based on FY}$$

$$\log(1/EC_{50}) = 0.4807 \log P + 0.48, \quad R^2 = 0.4614, \quad n=11, \text{ based on GR}$$

以上結果可發現三參數下其迴歸相關係數皆偏低，但經去除 Perylene、Dibenzo[b,i]anthracene 兩個 outliers 化合物之後即可得到高相關性之迴歸結果，其關係式如下：

$$\log(1/EC_{50}) = 0.9802 \log P - 1.449, R^2 = 0.8291 \quad n=9, \text{ based on DO}$$

$$\log(1/EC_{50}) = 0.8844 \log P - 0.7919, R^2 = 0.878 \quad n=9, \text{ based on FY}$$

$$\log(1/EC_{50}) = 0.7575 \log P - 0.6563, R^2 = 0.8097 \quad n=9, \text{ based on GR}$$

經去除兩個明顯之 outliers 後(Nap、D[b,i]a)發現其迴歸相關係數在三種試驗終點下皆可達 0.8 以上，顯示其結果與 LogP 具良好之相關性，而 LogP 是表示分子疏水性的重要參數，因此可知本研究之 11 種 PAHs 毒性與其分子疏水性有相當程度的關連性。而三種試驗終點之實驗結果與 LogP 相關性以最終產量最高，其相關係數可達 0.878。

將本研究與 LogP 之迴歸結果與文獻上以非極性麻醉性有機物 (Nonpolar Narcosis) 與 LogP 迴歸所建立之基線毒性 (baseline toxicity) 比較，發現本研究 11 種 PAHs 毒性試驗之結果高出基線毒性許多，而 Lee ^[54] 以極性麻醉性之苯胺類及氯酚類有機物進行實驗，並將結果與 LogP 迴歸得到與基線毒性相近之趨勢，因此證明 PAHs 具有比非極性或極性麻醉有機物更強之毒性。

表 5.5.3 QSAR 分析參數

	log(1/EC ₅₀) (mmole/l)			logP	E _{LUMO}
Benzanthrone	3.60	3.68	3.04	4.81	-1.27
Phenanthrene	2.91	3.16	2.96	4.35	-0.41
Fluoranthene	3.52	3.79	3.44	4.93	-0.93
Anthracene	2.45	2.65	2.29	4.45	-0.84
Benzo[a]anthrace	3.98	4.47	3.66	5.53	-0.81
Acridine	2.40	2.53	2.32	3.32	-1.04
Benzo[b]fluorene	2.78	3.70	2.74	5.19	-0.49
Dibenzo[b,i]anthracene	3.02	3.16	2.56	6.32	-1.52
Perylene	2.93	3.68	2.86	6.11	-1.15
Benzo[b]chrysene	5.36	4.73	4.36	6.54	-0.99
Napthalene	1.56	1.71	1.43	3.32	-0.27

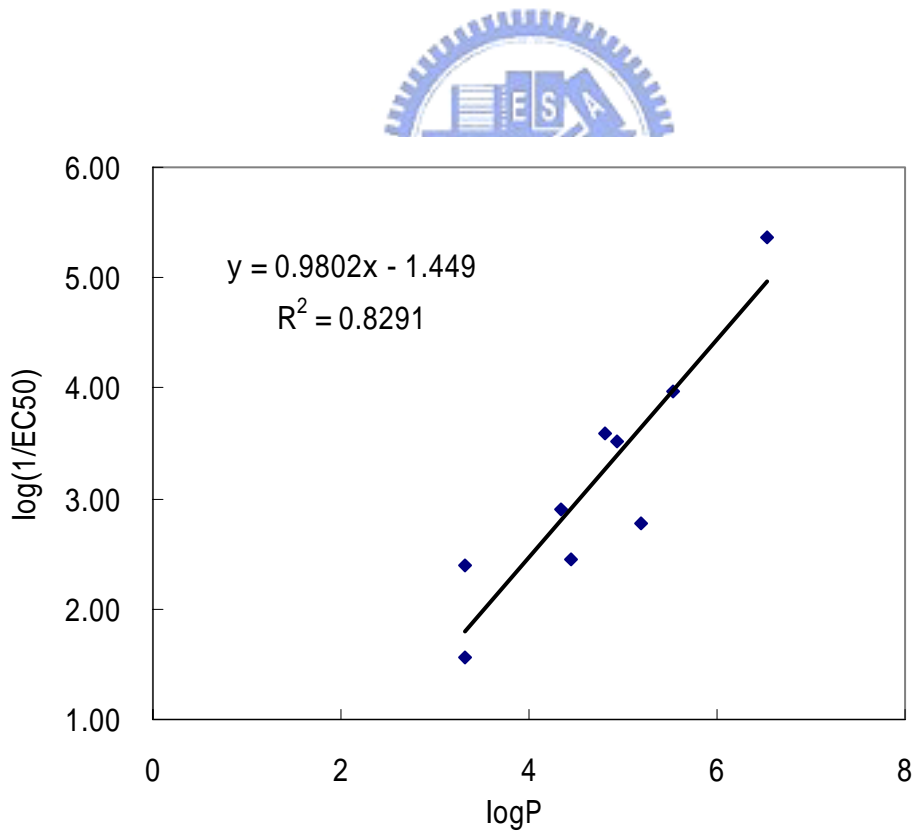


圖 5.5.4 去除outlier後LogP對Log(1/EC₅₀) on DO關係圖

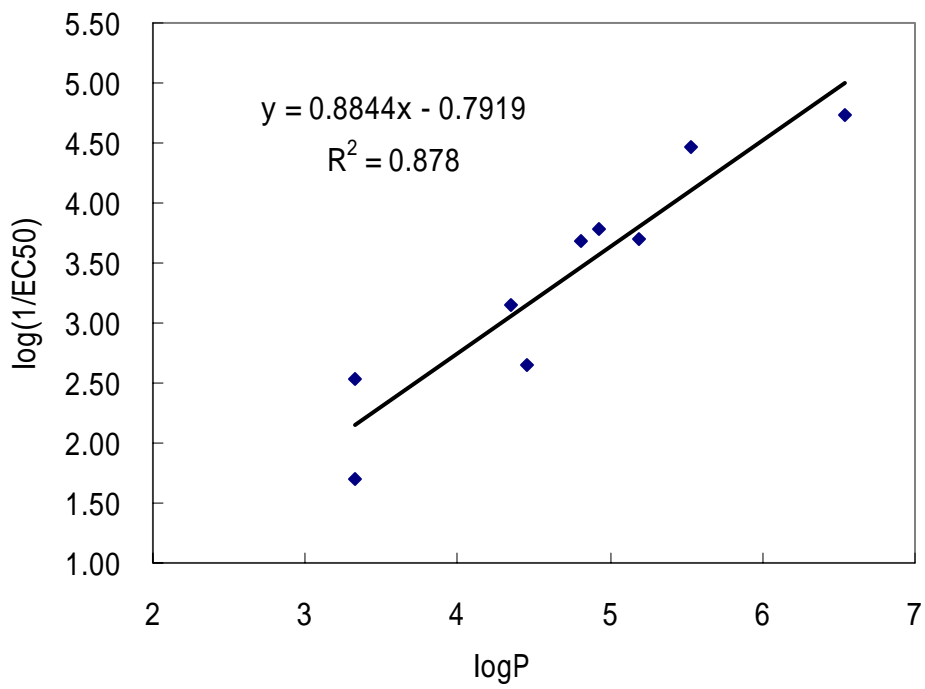


圖 5.5.5 去除outlier後LogP對Log(1/EC₅₀) on FY關係圖

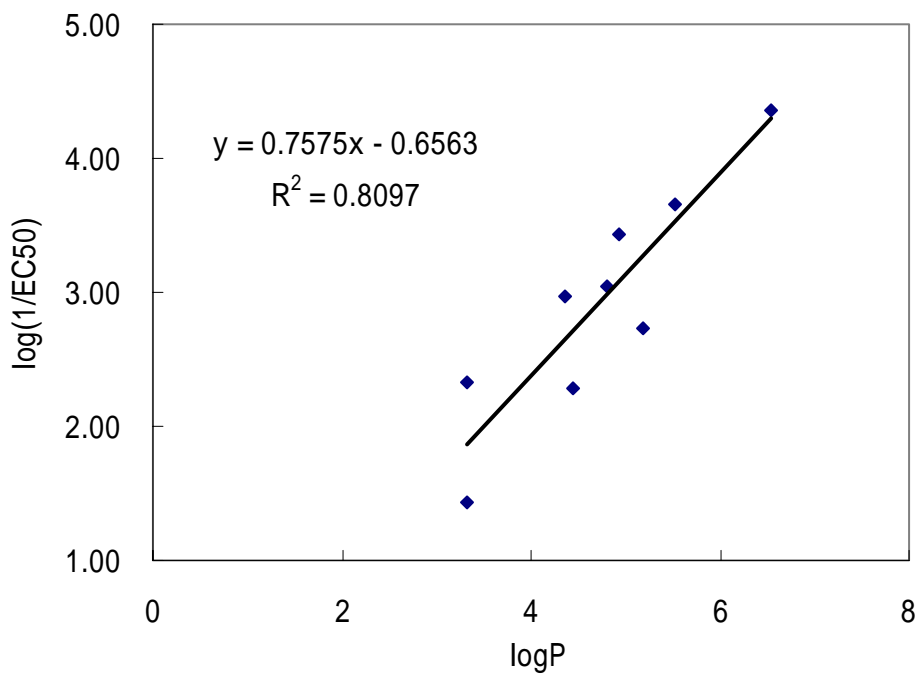


圖 5.5.6 去除outlier後LogP對Log(1/EC₅₀) on GR關係圖

5.6 藻類與其他毒性試驗物種比較

由於光照後之PAHs在文獻上有列出其EC₅₀實驗數值的資料較少，因此本節主要就光照前之PAHs與其他物種試驗結果進行討論。基於許多考量因素如敏感度、區域代表性、生物圈重要性或是試驗時間與成本等等因素的考量，毒性試驗可選用之物種種類相當繁多，不同物種間其生物體本身之反應機制亦有所不同。不同試驗物種對於同一物質亦會有敏感度上的差異性存在，就算是同一試驗物種也可能因為試驗條件之不同造成其實驗結果上之差別。因此若能將不同物種間毒性試驗結果建立起關係，則可依靠毒性機制分類進而迅速預測出其他物種之毒性數據，節省了實驗上的時間與成本，可做為其他物種毒性預測之參考。

表 5.6.1 至 5.6.2 為本研究光照前之 11 種PAHs在三種試驗終點下所得之EC₅₀值與其他試驗物種數據之比較，而圖 5.6.1 至 5.6.8 為將不同之物種實驗結果迴歸其相關性，以本研究之實驗結果為基準橫軸，文獻上其它物種試驗結果為縱軸進行比較，並在圖上利用通過原點之 45 度中線判斷其敏感度。由於數據比較是以log(1/EC₅₀)為參考，即取了EC₅₀倒數之緣故，因此若迴歸點落在中線以下區域顯示其本研究之密閉式藻類毒性試驗較敏感，反之落在中線以上區域則表示文獻上其他物種較敏感。

若為相同物種且在相同試驗終點下所得之敏感度差異性應較小，但是若將本研究之結果與文獻上同為月芽藻之實驗數據進行比較時，發現揮發性較高之PAHs如NAP..等，本研究之試驗結果在三種試驗終點下其EC₅₀值皆較文獻上得到之月芽藻與柵狀藻低，顯示本研究較為敏感。推測原因可能為本實驗之條件屬於密閉式系統加上無headspace，可降低揮發性較高之PAHs如Nap..等之逸散，因此結果較文獻上開放式系統或有headspace之其它藻類毒性試驗敏感許多。此外由於魚類毒性試驗多屬於開放式的環境，

因此本研究之密閉式藻類毒性試驗也較文獻上得到之鯉魚與鱒魚毒性試驗敏感許多。

當與柵狀藻(*Scenedesmus subspicatus*)進行比較時，透過迴歸圖形可得到以溶氧量與最終產量為試驗終點時，本研究之藻類與其有較高之相關性，除了 Dib[b,i]a 與 Per 外，本研究之月芽藻有七組數據較其敏感，佔可比較數據的 77%；而與鯉魚(*Fathead minnow*)進行比較時，則是發現以最終產量與生長率為試驗終點時其物種迴歸相關係數可高達 0.89 與 0.81，証明了月芽藻與鯉魚在 PAHs 毒性方面有很高之關連性，而以 FY 為參數時本研究全部的數據皆比 *Fathead minnow* 敏感度高，而以 GR 為參數時則發現除了 Ant 與 Per 外，本研究之月芽藻有七組數據較其敏感，佔可比較數據的 77%。由表 5.6.1 可發現本研究之月芽藻對 Dib[b,i]a 與 Per 兩種 PAHs 敏感性普遍較其它物種為低，推測原因可能為月芽藻對於苯環數目較高之 Dib[b,i]a 與 Per，由於物理結構上之特性與關係，使得月芽藻具有比其它物種更佳之生物降解反應，可能透過共代謝作用轉化為酚類或酸類等產物，或是非專一性自由基氧化作用利用過氧化酵素將 PAHs 氧化分解，造成 Dib[b,i]a 與 Per 濃度降低，進而使月芽藻之試驗敏感性下降。

當與水蚤(*Daphnia magna*)進行比較的結果發現溶氧量與最終產量為試驗終點進行迴歸時其相關係數可達 0.6 上下，而敏感度比較上兩物種間則無顯著之差異；最後是與鱒魚(*Rainbow trout*)比較時則發現兩物種間相關性較低，而本研究較敏感之數據在兩反應終點下各有五組，佔可比較數據之 71%，僅 Acridine 與 Dibenzo[b,i]a 較鱒魚不敏感，根據 Dijkman et al.^[12] 研究指出月芽藻會透過自身之代謝作用對低濃度之 PAHs 如 Acridine.. 等進行生物降解反應，因此可能造成其濃度下降產生較低之抑制進而造成其較低之敏感度，月芽藻也是唯一可對 Acridine 產生生物降解之藻類物種，除此兩種 PAHs 以外，本研究之月芽藻對於其他 PAHs 皆較鱒魚敏感許多。

表 5.6.1 藻類毒性試驗數據與其他藻種、水蚤、草蝦之數據比較

Test species	BOD bottle test			Algae ^[59]	Algae	Water flea ^[62]	Brine Shrimp ^[64]
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>			<i>Scenedesmus subspicatus</i>	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	<i>Daphnia magna</i>	<i>Artemia salina</i>
Toxicant	DO	FY	GR	FY	FY	EC ₅₀	EC ₅₀
	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)
Benzanthrone	0.058	0.048	0.211	0.439	-	-	-
Phenanthrene	0.22	0.124	0.193	0.737	0.18 ^[72] (48hr)	0.23 (48hr)	0.28 (24hr)
Fluoranthene	0.061	0.033	0.074	0.256	4.14 ^[73] (72hr)	0.196 ^[63] (24hr)	-
Anthracene	0.629	0.402	0.913	0.737	0.112 ^[74] (24hr)	0.211 (24hr)	0.044 (96hr)
Benzo[a]anthrace	0.024	0.0078	0.05	0.087	-	0.027 (48hr)	-
Acridine	0.717	0.524	0.85	0.84	0.78 ^[75] (96 days, 10000 cells/ml)	1.024 ^[63] (24hr)	0.858 (96hr)
Benzo[b]fluorene	0.357	0.043	0.395	-	-	0.215 (48hr)	-
Dibenzo[b,i]anthracene	0.266	0.194	0.767	0.01	-	0.012 (48hr)	-
Perylene	0.298	0.053	0.348	0.029	-	0.036 (48hr)	0.000393 (96hr)
Benzo[b]chrysene	0.0012	0.0052	0.012	-	-	0.012 (48hr)	-
Napthalene	3.528	2.51	4.793	5.866	25 ^[76] (14day)	2.5 (48hr)	2.89 (24hr)

表 5.6.2 藻類毒性試驗數據與其他蚯蚓、螢光菌、魚類之數據比較

Test species	BOD bottle test			Earthworm ^[65]	Microtox ^[66]	Fish ^[60]	Fish ^[60]
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>			<i>Lumbriculus variegatus</i>	<i>V. fischeri</i>	<i>Fathead minnow</i>	<i>Rainbow trout</i>
Toxicant	DO	FY	GR	LC ₅₀	EC ₅₀	LC ₅₀	LC ₅₀
	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)
Benzanthrone	0.058	0.048	0.211	0.204 (14day)	-	0.463	-
Phenanthrene	0.22	0.124	0.193	0.207 (14day)	0.144	0.817 (96hr)	0.35 (60day)
Fluoranthene	0.061	0.033	0.074	0.148 (96hr)	-	0.095 (96hr)	0.187 (96hr)
Anthracene	0.629	0.402	0.913	0.207 (14day)	-	0.535 (48hr)	0.817 (96hr)
Benzo[a]anthrace	0.024	0.0078	0.05	0.115 (14day)	-	0.083 (96hr)	-
Acridine	0.717	0.524	0.85	-	-	2.3 (96hr)	0.044 ^[67] (23day)
Benzo[b]fluorene	0.357	0.043	0.395	-	-	-	0.484 ^[67] (14day)
Dibenzo[b,i]anthracene	0.266	0.194	0.767	-	-	-	0.03 ^[67] (14day)
Perylene	0.298	0.053	0.348	-	-	0.089 ^[61] (14day)	-
Benzo[b]chrysene	0.0012	0.0052	0.012	-	-	0.03 ^[61] (14days)	-
Napthalene	3.528	2.51	4.793	-	5.84	6.14 (96hr)	5.5 (96hr)

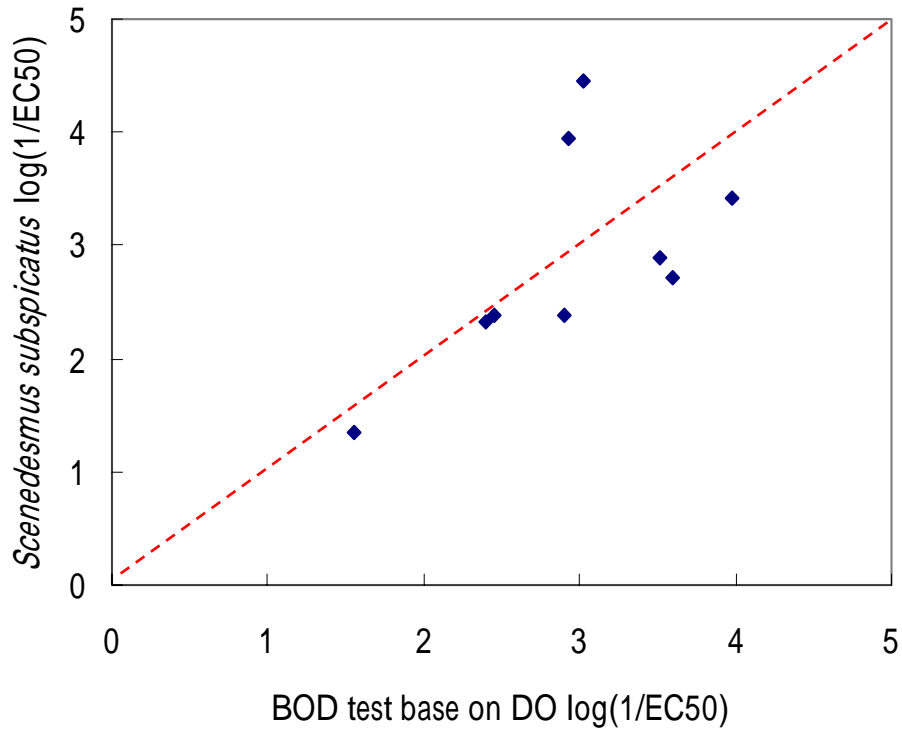


圖5.6.1 以DO為試驗終點之BOD bottle test 與 *S.subspicatus*試驗之關係圖

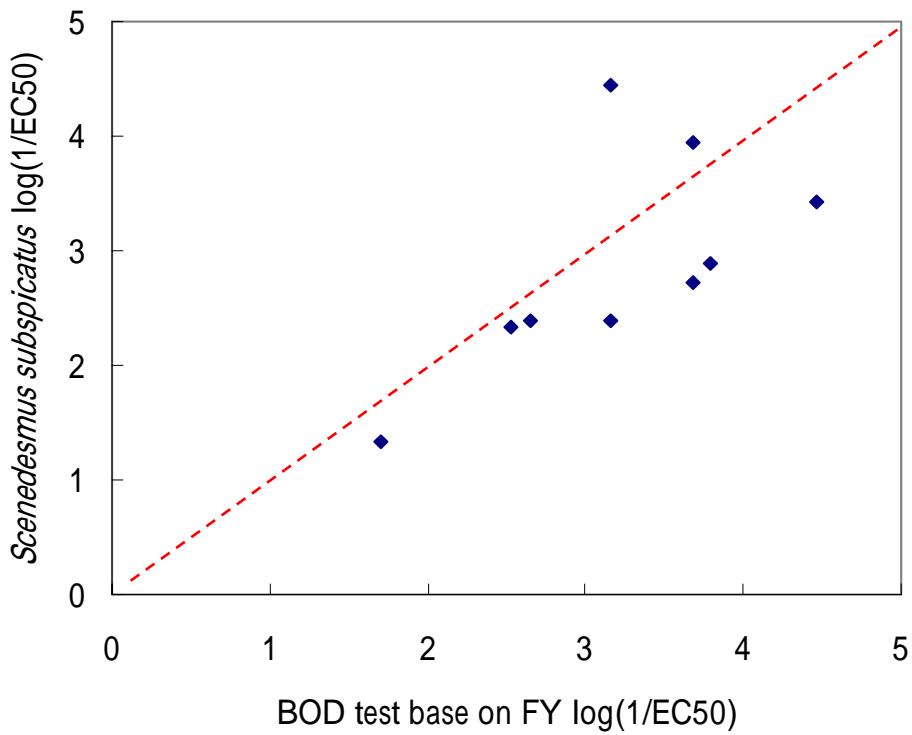


圖5.6.2 以FY為試驗終點之BOD bottle test 與 *S.subspicatus*試驗之關係圖

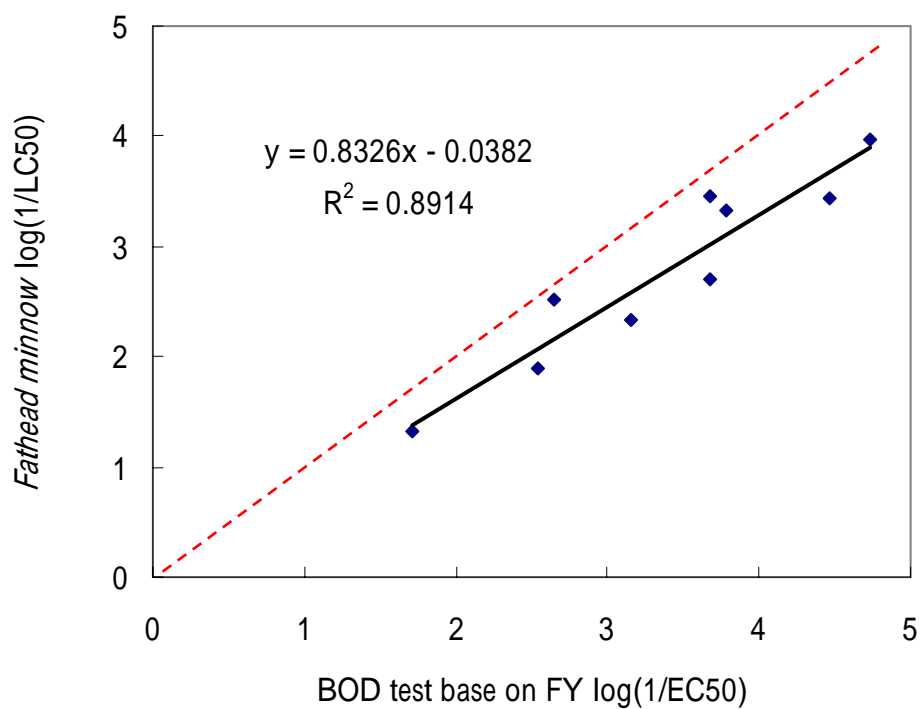


圖 5.6.3 以 FY 為試驗終點之 BOD bottle test 與 *Fathead minnow* 試驗之關係圖

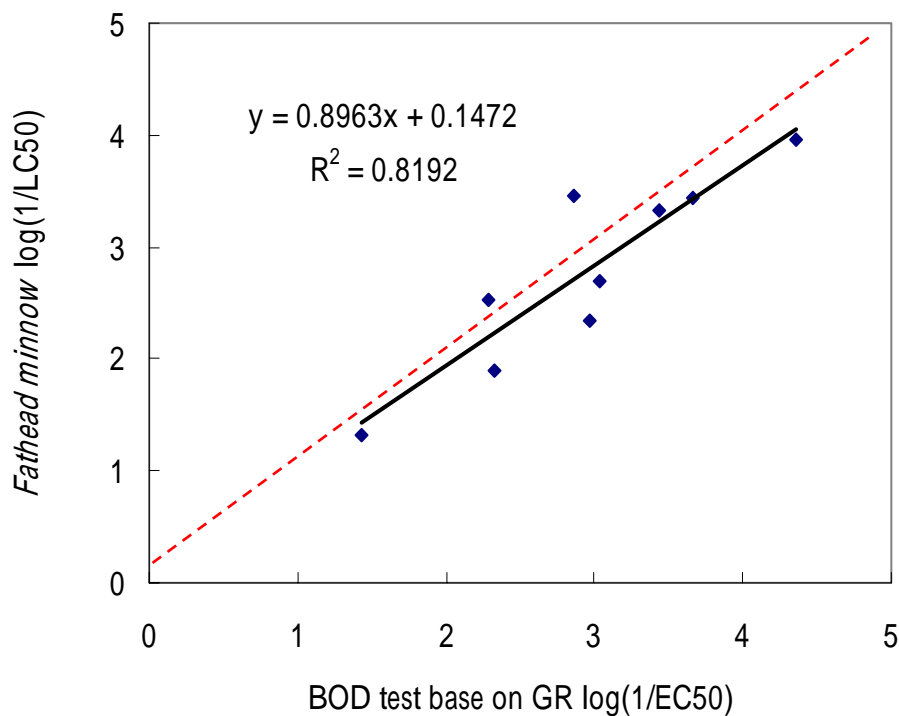


圖 5.6.4 以 GR 為試驗終點之 BOD bottle test 與 *Fathead minnow* 試驗之關係圖

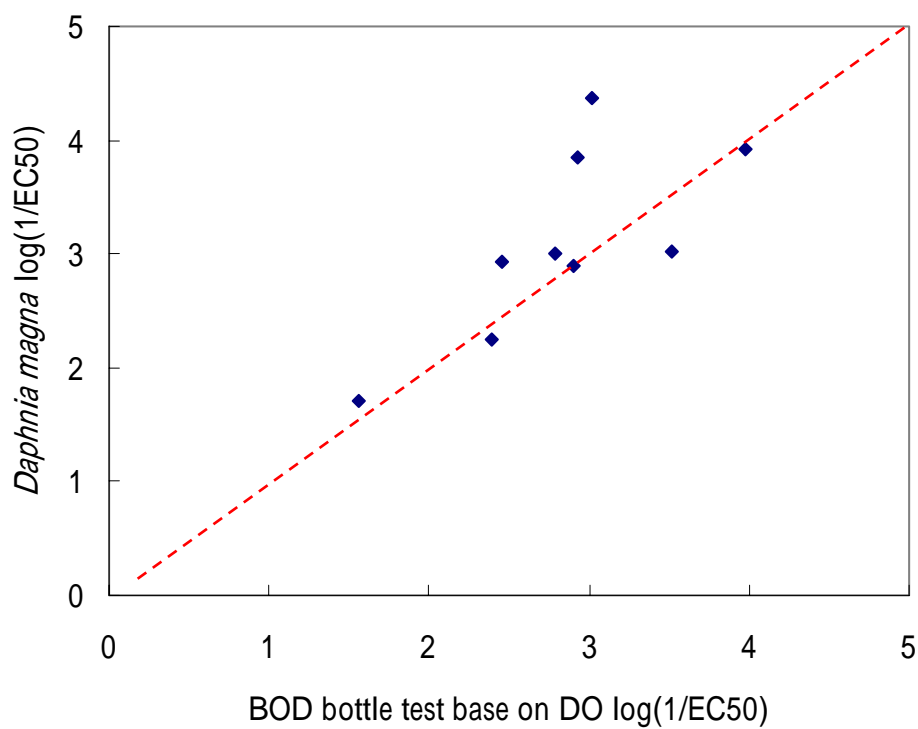


圖 5.6.5 以 DO 為試驗終點之 BOD bottle test 與 *Daphnia magna* 試驗之關係圖

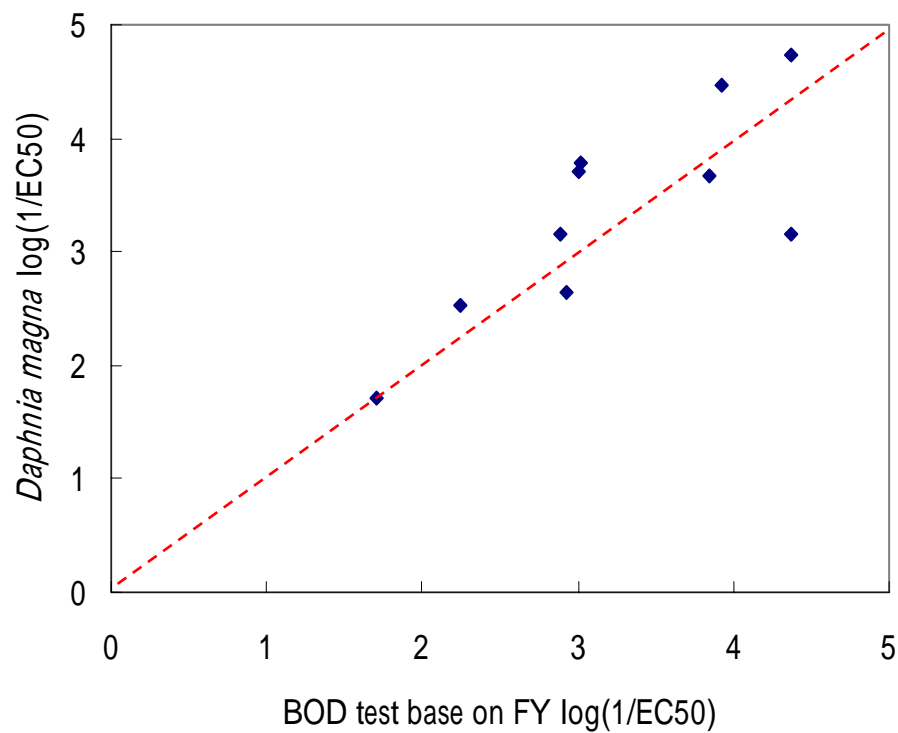


圖 5.6.6 以 FY 為試驗終點之 BOD bottle test 與 *Daphnia magna* 試驗之關係圖

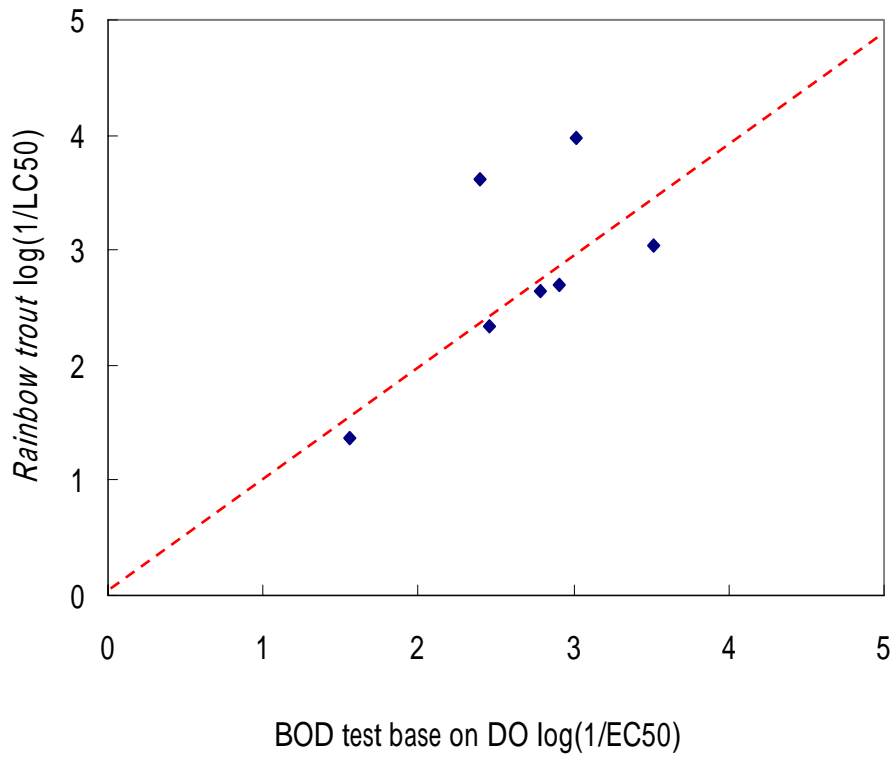


圖 5.6.7 以 DO 為試驗終點之 BOD bottle test 與 *Rainbow trout* 試驗之關係圖

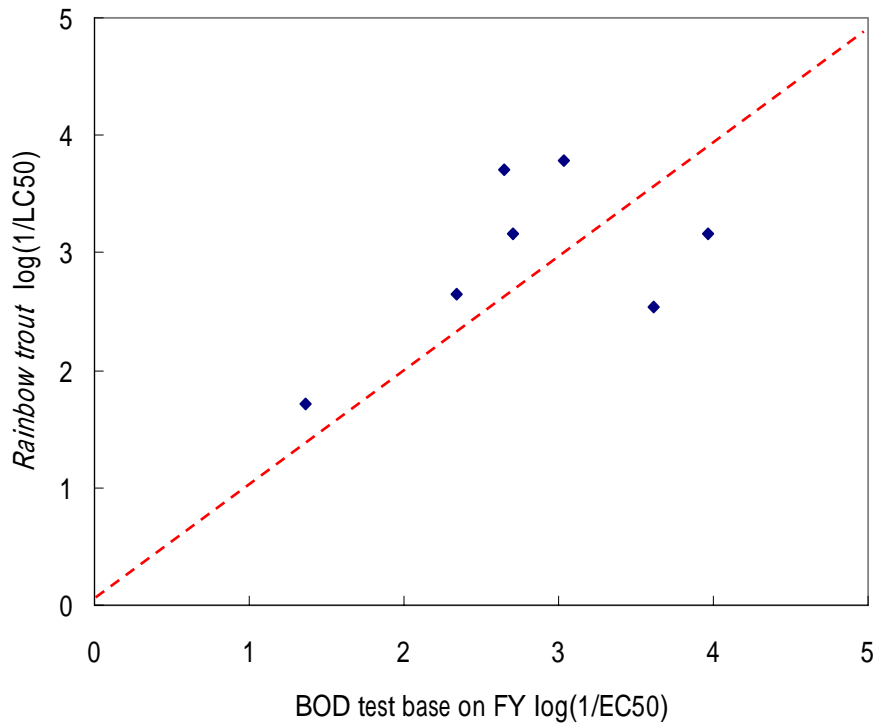


圖 5.6.8 以 FY 為試驗終點之 BOD bottle test 與 *Rainbow trout* 試驗之關係圖